

天冬氨酸的衍生物及其在肝纤维化、非酒精性肝炎等代谢等疾病的治疗的应用

技术领域

- 5 本发明涉及生物医药领域，具体涉及天冬氨酸的衍生物及其在肝纤维化、非酒精性肝炎等代谢等疾病的治疗的应用。

背景技术

- 10 纤维化（fibrosis）可发生于多种组织器官，主要病理改变为器官组织内纤维结缔组织增多，实质细胞减少，持续进展可致器官结构破坏和功能减退，乃至衰竭，严重威胁人类健康和生命。在全世界范围内，组织纤维化是许多疾病致残、致死的主要原因，据美国有关统计资料证明，美国因各种疾病而致死的病人中，接近45%可以归于组织纤维增生疾病。

- 15 肝纤维化在组织纤维化患者中尤其常见，它是肝脏受损后，机体在修复过程中纤维结缔组织在肝组织中过度沉积的一种可逆性病理现象。肝纤维化的诱因有多种，各种慢性病毒性肝类疾病患者，都是肝纤维化、肝硬化最易发生的高危人群；酗酒或长期饮酒者初期发生脂肪肝，后期可发展为肝纤维化、肝硬化，其他如肥胖等非酒精性因素导致的脂肪肝，也可以发展为肝纤维化、肝硬化；另外，反复感染血吸虫容易引起门脉性肝纤维化；慢性胆汁淤积可产生胆汁性肝纤维化；肝豆状核变性和血色素沉积可产生代谢性肝纤维化；各种有毒物质可引起中毒性肝纤维化；喜好低蛋白饮食和偏爱肥肉煎炸食品的人可产生营养不良性肝纤维化；慢性充血性心衰患者可产生心源性肝纤维化。此外，肝纤维化也是非酒精性脂肪肝病(Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)及非酒精性脂肪性肝炎(Nonalcoholic Steatohepatitis, NASH)的重要病理诊断指标。

- 25 肝纤维化的发生和发展机制十分复杂，目前研究主要围绕肝星状细胞的激活和转化，其可能途径是各种慢性刺激激活转化生长因子- β （Transforming growth factor beta, TGF- β ）、血小板衍生生长因子（Platelet-derived growth factor, PDGF）、肿瘤坏死因子 α （Tumour necrosis factor α , TNF- α ）等介导的信号转导通路及前列腺素内氧化还原酶（cyclooxygenase-2, COX-2）、弥漫性细胞外基质（extracellular matrix, ECM）和氧化应激等激活肝星状细胞，使其转化为肌成纤维细胞和成纤维细胞导致细胞外基质分泌增多或降解减少，进而形成肝纤维化等。由于肝纤维化的发生和发展机制尚未明确，因此，治疗肝纤维化的药物开发进展比较缓慢。

- 30 目前临床对于病毒性肝炎（乙型肝炎或丙型肝炎为主）引起的肝纤维化或肝硬化的治疗，主要使用核苷（酸）类似物或者干扰素进行抗病毒治疗，通过抑制病毒复制，控制炎症因子的反应，减缓肝纤维化或肝硬化进展。但对于酒精性、代谢性、药物性等其他诱因引起的肝纤维化或肝硬化，尚无有效治疗手段，主要以中药或中成药进行辅助治疗。

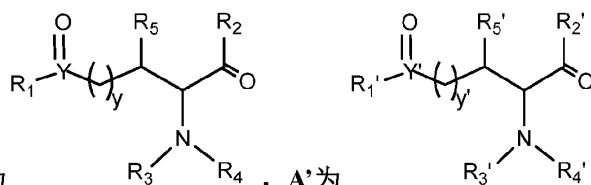
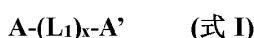
- 通过抑制消减杂交和生物信息学方法，首次筛选并克隆了 NS3TP1 (HCV nonstructural protein 3-transactivated protein 1, NS3TP1)，也被命名为 ASNSD1(asparagine synthetase domain containing 1, ASNSD1)，在 GenBank 中注册号为 AY11696，位于人类 2q32.2 染色体上。该基因编码序列总长度为 1,932 个核苷酸，编码产物由 643 个氨基酸残基组成。NS3TP1 广泛分布于体内，在肝内主要分布在肝细胞和胆囊腺上皮细胞中。Janine Meienberg 等人通过 MLPA 分析发现完全 COL3A1（编码 collagen III，主要肝纤维化细胞外基质沉积成分）半合子缺失会影响 ASNSD1 的表达，说明 ASNSD1 的表达可能与 COL3A1 相互作用。因此，NS3TP1 调节剂的开发可作为 NAFLD 新药研发方向。
- 45

发明内容

本发明目的是：获得对NS3TP1有调节作用的化合物，获得对肝纤维化、非酒精性脂肪肝病有治疗效果的化合物。发明人通过创造性的研究发现，本发明的天冬氨酸衍生物对肝纤维化、非酒精性脂肪肝病有治疗效果，且这些分子具有较好的成药性（例如溶解度、AUC和/或口服生物利用度等性质）和安全性。

为此，在本发明的第一方面，本发明提供了下式 I 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物在制备药物或试剂中的用途，所述药物用于以下的至少一种：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、或炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达；



其中 A 为 $R_1-C(=O)-CH(R_5)-CH(R_2)-N(R_3)R_4$ ，A' 为 $R_1'-C(=O)-CH(R_5')-CH(R_2')-N(R_3')R_4'$ ，A 与 A' 相同或者不同；其中：

x 选自 0、1 和 2；

1) 当 x 为 0 时，A' 不存在；对于 A，其中：

R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-O- R^{a1} 、-NR^{a2}R^{a3}；

R_3 和 R_4 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-C(R^b)₂-R^{d1}、-(CO)-(L)_n-R^{d2}、-(CO)O-(L)_n-R^{d3}、-(SO₂)-(L)_n-R^{d4}、-P(O)(OR^e)₂，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环基的基团取代；

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-R^{b1}、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-O-R^{b2}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b3}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O-R^{b4}、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-NR^{b5}R^{b6}、-(C1-C6 烷基)_n-NR^{b7}-(CO)-R^{b8}、-(C1-C6 烷基)_n-NR^{b9}-(CO)-O-R^{b10}，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

R^{b1} 、 R^{b2} 、 R^{b3} 、 R^{b4} 、 R^{b5} 、 R^{b6} 、 R^{b7} 、 R^{b8} 、 R^{b9} 、 R^{b10} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-O-R^{c1}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{c2}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O-R^{c3}，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代；

R^{c1} 、 R^{c2} 、 R^{c3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

L 各自独立选自下组基团：不存在、O、NR^{d5}、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基；

R^e 各自独立选自氢、氘、Na、K、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7

环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基的基团取代；

R^h 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、 $-NHC(O)R^{g1}$ 、 $-OC(O)R^{g2}$ 、 $-OP(O)(ONa)_2$ 、 $-NHC(O)OR^{d6}$ 、 $-OC(O)OR^{d7}$ 、 $-OC(O)NHR^{d8}$ ；

5 R^{d1} 、 R^{d2} 、 R^{d3} 、 R^{d4} 、 R^{d5} 、 R^{d6} 、 R^{d7} 、 R^{d8} 各自独立选自下组基团：氢、氘、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个 R^f 取代；

R^f 各自独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C6-C10 芳基、卤代 C6-C10 芳基、C3-C7 环烷基、3-15 元杂环基、 $-NR^{g3}R^{g4}$ 、 $-OR^{g5}$ 、 $-NHC(O)R^{g6}$ 、 $-OC(O)R^{g7}$ ；

10 R^{g1} 、 R^{g2} 、 R^{g3} 、 R^{g4} 、 R^{g5} 、 R^{g6} 、 R^{g7} 各自独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

R_s 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；或者 R_s 选自氢、氨基；

Y 为 C 或 S；

15 y 为 0 及 0 以上的整数；或者 y 选自 0、1、2、3；再或者 y 为 0 或 1；

n 为 0 或 1；

2) 当 x 为 1 或者 2 时，A 与 A' 相同或者不同，其中：

一个单元 A 的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A' 的 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 中的任意一个相连；

20 各 L_1 独立地选自下组的单元连接基团组成：不存在、O、S、羰基、烷基（或者 C1-C6 烷基）、烯基（或者 C2-C6 烯基）、炔基（或者 C2-C6 炔基）、 $-O$ -烯基- O -（或者 $-O$ -C2-C6 烯基- O -）、 $-O$ -炔基- O -（或者 $-O$ -C2-C6 炔基- O -）、环烷基（或者 C3-C7 环烷基）、杂烷基（或者 3-7 元杂烷基；例如， $-O$ -烷基- O -（或者 $-O$ -C1-C6 烷基- O -）），其中烷基、环烷基、杂烷基任选地被一个或多个独立选自 Z 的基团取代；

25 Z 各自独立选自下组基团：卤素、氨基、烷基（或者 C1-C6 烷基）、烯基（或者 C2-C6 烯基）、炔基（或者 C2-C6 炔基）、卤代烷基（或者卤代 C1-C6 烷基）、环烷基（或者 C3-C7 环烷基）、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环；

或者 L_1 选自：不存在、 $-CR'R''$ ，其中 R' 和 R'' 各自独立地为 H、C1-C6 烷基（或者 C1-C3 烷基）；

30 再或者 L_1 选自：不存在、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ ；

对于 A，其中：

R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、 $-O-$ 、 $-O-R^{a1}$ 、 $-NR^{a2}R^{a3}$ ；

35 R_3 和 R_4 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-C(R^h)_2-R^{d1}$ 、 $-(CO)-(L)_n-R^{d2}$ 、 $-(CO)O-(L)_n-R^{d3}$ 、 $-(SO_2)-(L)_n-R^{d4}$ 、 $-P(O)(OR^e)_2$ ，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环的基团取代；

40 R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-R^{b1}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-O-R^{b2}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-R^{b3}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-O-R^{b4}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-NR^{b5}R^{b6}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-NR^{b7}-(CO)-R^{b8}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-NR^{b9}-(CO)-O-R^{b10}$ ，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(C6-C10 \text{ 芳基})$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(3-15 \text{ 元杂环基})$ 的基团取代；

45 R^{b1} 、 R^{b2} 、 R^{b3} 、 R^{b4} 、 R^{b5} 、 R^{b6} 、 R^{b7} 、 R^{b8} 、 R^{b9} 、 R^{b10} 各自独立选自下组基团：氢、

氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-O-R^{c1}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{c2}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O-R^{c3}，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代；

5 R^{c1}、R^{c2}、R^{c3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

L 各自独立选自下组基团：不存在、O、NR^{d5}、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基；

10 R^e 各自独立选自氢、氘、Na、K、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基的基团取代；

R^h 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-NHC(O)R^{g1}、-OC(O)R^{g2}、-OP(O)(ONa)₂、-NHC(O)OR^{d6}、-OC(O)OR^{d7}、-OC(O)NHR^{d8}；

15 R^{d1}、R^{d2}、R^{d3}、R^{d4}、R^{d5}、R^{d6}、R^{d7}、R^{d8} 各自独立选自下组基团：氢、氘、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个 R^f 取代；

R^f 各自独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C6-C10 芳基、卤代 C6-C10 芳基、C3-C7 环烷基、3-15 元杂环基、-NR^{g3}R^{g4}、-OR^{g5}、-NHC(O)R^{g6}、-OC(O)R^{g7}；

20 R^{g1}、R^{g2}、R^{g3}、R^{g4}、R^{g5}、R^{g6}、R^{g7} 各自独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

R_s 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；或者 R_s 选自氢、氨基；

Y 为 C 或 S；

y 为 0 及 0 以上的整数；或者 y 选自 0、1、2、3；再或者 y 为 0 或 1；

25 n 为 0 或 1；

对于 A'，其中：

R₁'和 R₂'各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-O-、-O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3}；

30 R₃'和 R₄'各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-C(R^h)₂-R^{d1}、-(CO)-(L)_n-R^{d2}、-(CO)O-(L)_n-R^{d3}、-(SO₂)-(L)_n-R^{d4}、-P(O)(OR^e)₂，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环的基团取代；

35 R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-R^{b1}、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-O-R^{b2}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b3}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O-R^{b4}、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-NR^{b5}R^{b6}、-(C1-C6 烷基)_n-NR^{b7}-(CO)-R^{b8}、-(C1-C6 烷基)_n-NR^{b9}-(CO)-O-R^{b10}，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

40 R^{b1}、R^{b2}、R^{b3}、R^{b4}、R^{b5}、R^{b6}、R^{b7}、R^{b8}、R^{b9}、R^{b10} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-O-R^{c1}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{c2}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O-R^{c3}，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代；

45 R^{c1}、R^{c2}、R^{c3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6

烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

L 各自独立选自下组基团：不存在、O、NR^{d5}、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基；

R^e 各自独立选自氢、氘、Na、K、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环任
5 选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基的基团取代；

R^h 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-NHC(O)R^{g1}、-OC(O)R^{g2}、-OP(O)(ONa)₂、
-NHC(O)OR^{d6}、-OC(O)OR^{d7}、-OC(O)NHR^{d8}；

R^{d1}、R^{d2}、R^{d3}、R^{d4}、R^{d5}、R^{d6}、R^{d7}、R^{d8} 各自独立选自下组基团：氢、氘、氨基、
10 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，
所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个 R^f 取代；

R^f 各自独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、
C6-C10 芳基、卤代 C6-C10 芳基、C3-C7 环烷基、3-15 元杂环基、-NR^{g3}R^{g4}、-OR^{g5}、
-NHC(O)R^{g6}、-OC(O)R^{g7}；

15 R^{g1}、R^{g2}、R^{g3}、R^{g4}、R^{g5}、R^{g6}、R^{g7} 各自独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C2-
C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

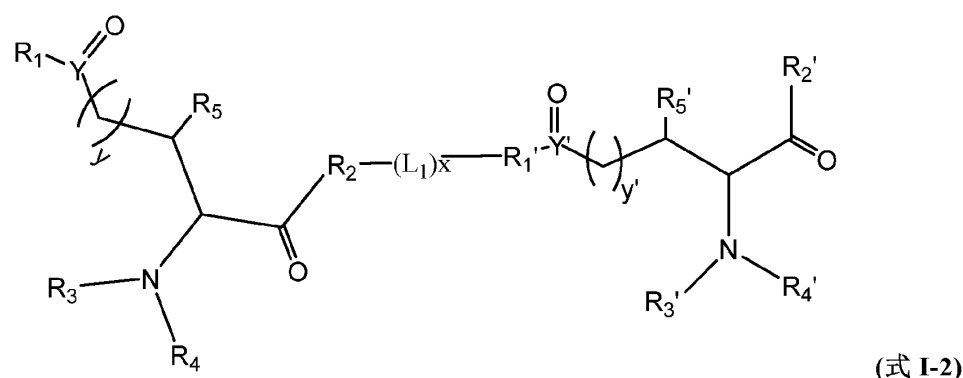
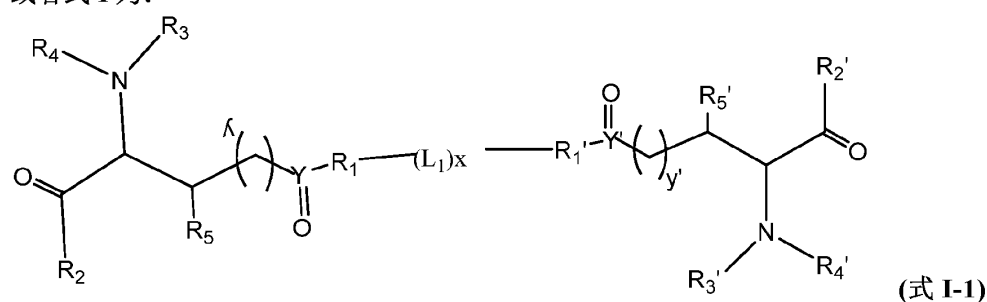
R_s' 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；或者 R_s 选自氢、氨基；

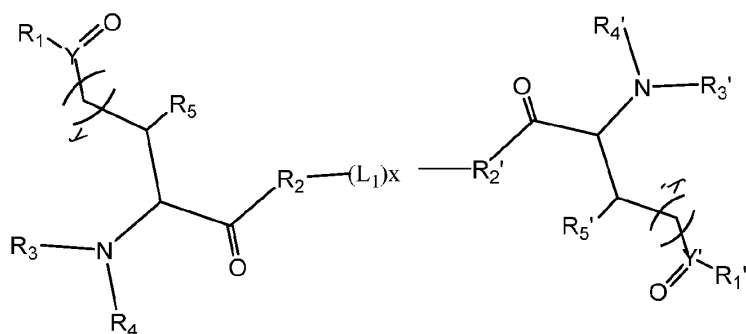
Y' 为 C 或 S；

y' 为 0 及 0 以上的整数；或者 y' 选自 0、1、2、3；又或者 y' 为 0 或 1；

20 n 为 0 或 1；

或者式 I 为：





(式 I-3)。

在一些实施方案中，在上述式 I 中，当 x 为 0 时， A' 不存在；对于 A ，其中：
 R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团：

5 C1-C6 烷基，

-O- R^{a1} ，其中， R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)- R^{b1} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)-O- R^{b2} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b3} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)-O- R^{b4} ，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-
 10 C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

-NR a2 R a3 ，其中， R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自：氢、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)- R^{b1} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)-O- R^{b2} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b3} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)-O- R^{b4} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)-NR b5 R b6 ，
 15 所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

R^{b1} 、 R^{b2} 、 R^{b3} 、 R^{b4} 、 R^{b5} 、 R^{b6} 各自独立选自下组基团：氢、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)-O- R^{c1} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{c2} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)-O- R^{c3} ，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基
 20 任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代；

R^{c1} 、 R^{c2} 、 R^{c3} 各自独立选自下组基团：氢、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基。
 25

在一些实施方案中，在上述式 I 中，当 x 为 0 时， A' 不存在；对于 A ，其中：

R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团：

羟基，

C1-C6 烷基，

30 -O- R^{a1} ，其中， R^{a1} 选自：任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代的 C1-C6 烷基，C3-C7 环烷基，C2-C6 烯基，-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)-O- R^{b4} ，其中 R^{b4} 选自 C1-C6 烷基， n 为 1；

-NR a2 R a3 ，其中， R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自：

氢，

35 C1-C6 烷基，其中 C1-C6 烷基任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代；

-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b3} ， R^{b3} 为 C1-C6 烷基，其进一步被 C6-C10 芳基取代；

-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)- R^{b1} ， R^{b1} 为羟基， n 或 1；

-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)-NR b5 R b6 ， n 为 1， R^{b5} 、 R^{b6} 各自独立为氢，或 3-15 元杂环基，

所述杂环进一步被一个或多个 C1-C6 烷基取代；

-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-O-R^{b2}，烷基被一个或多个 C6-C10 芳基取代，n 为 1，R^{b2} 为 C1-C6 烷基或-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O-R^c，R^c 为 C1-C6 烷基。

5 在一些实施方案中，在上述式 I 中，当 x 为 0 时，A' 不存在；对于 A，其中：

R₃ 与 R₄ 各自独立地选自：氢、羟基、C1-C6 烷基、-(CO)-(L)_n-R^{d2}、-(CO)O-(L)_n-R^{d3}，所述烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环的基团取代；

L 各自独立选自下组基团：不存在、O、NR^{d5}、C1-C6 烷基；

10 R^{d5}、R^{d2}、R^{d3} 各自独立选自下组基团：氢、氨基、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个 R^f 取代；

R^f 各自独立选自氨基、卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、卤代 C6-C10 芳基、C3-C7 环烷基、3-15 元杂环基。

15 在一些实施方案中，在上述式 I 中，当 x 为 0 时，A' 不存在；对于 A，其中：

R₃ 与 R₄ 各自独立地选自：氢，

羟基，

C1-C6 烷基，

20 -(CO)-(L)_n-R^{d2}：其中，(L)_n 与 R^{d2} 的组合选项分别选自以下组合：

1) L 为不存在，R^{d2} 为 C1-C6 烷基，进一步被一个或多个 R^f 取代，R^f 为氨基；

2) L 为不存在，R^{d2} 为 H；

3) L 为不存在，R^{d2} 为 C1-C6 烷基；

4) L 为不存在，R^{d2} 为 C1-C6 烷基，进一步被一个或多个 R^f 取代，R^f 选自 C1-C6 烷基、氨基；

5) L 为不存在，R^{d2} 为 3-15 元杂环基；

6) L 为 NR^{d5}，R^{d5} 为 C1-C6 烷基，n 为 1，R^{d2} 为 H；

25 -(CO)O-(L)_n-R^{d3}：其中，(L)_n 与 R^{d3} 的组合选项选自：L 为不存在，R^{d3} 为 C1-C6 烷基，其任选地进一步被一个或多个 R^f 取代，R^f 选自 C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、多环芳基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环的基团取代；

30 在一些实施方案中，在上述式 I 中，当 x 为 1 或者 2 时，A 与 A' 相同或者不同，其中

对于 A，其中：

35 R₁ 和 R₂ 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-O-、-O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3}；

R₃ 和 R₄ 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环的基团取代；

40 R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

45 R₅ 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；或者 R₅ 选自氢、氨基；再或者 R₅ 选自氢；

Y 为 C；

y 选自 0、1、2、3；或者 y 为 0 或 1。

在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 1 或者 2 (或者 x 为 1) 时, A 与 A' 相同或者不同,其中

对于 A', 其中:

- 5 R_1' 和 R_2' 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、-O-、-O- R^{a1} 、- $NR^{a2}R^{a3}$;
 R_3' 和 R_4' 各自独立选自下组基团: 氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环的基团取代;
- 10 R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;
- 15 R_5' 选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基; 或者 R_5 选自氢、氨基; 再或者 R_5 选自氢;
- Y' 为 C;
- y' 选自 0、1、2、3; 或者 y 为 0 或 1。

在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 0 时, A' 不存在; 对于 A, 其中:

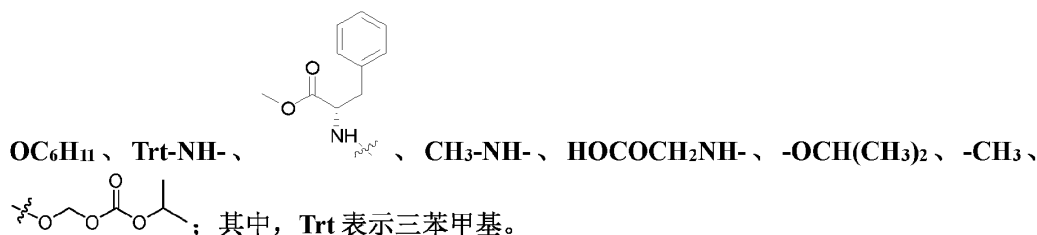
- 20 R_1 选自:
 C1-C6 烷基,
 -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)- R^{b3} , 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;
- 25 - $NR^{a2}R^{a3}$, 其中, R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自: 氢、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基)_n-(CO)- R^{b1} 、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)- R^{b3} , 所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;
- 30 R^{b1} 、 R^{b3} 各自独立选自下组基团: 氢、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基, 所述烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代。

在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 0 时, A' 不存在; 对于 A, 其中:

- 35 R_1 选自: 羟基,
 C1-C6 烷基,
 -O- R^a , 其中, R^a 选自: 任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代的 C1-C6 烷基, C3-C7 环烷基, C2-C6 烯基, -(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O- R^{b4} , 其中 R^{b4} 选自 C1-C6 烷基, n 为 1;
- 40 - $NR^{a2}R^{a3}$, 其中, R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自: 氢; C1-C6 烷基, 其任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代; -(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)- R^{b3} , R^{b3} 为 C1-C6 烷基, 其进一步被 C6-C10 芳基取代; -(C1-C6 烷基)_n-(CO)- R^{b1} , R^{b1} 为羟基, n 为 1。

在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 0 时, A' 不存在; 对于 A, 其中:

- 45 R_1 选自: 羟基、甲氧基、-OCH₂CH=CH₂、乙氧基、-OC(CH₃)₃、-OCH₂C₆H₅、-



在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 0 时, A' 不存在;对于 A, 其中:

5 R_2 选自:

C1-C6 烷基,

$-\text{O-R}^{\text{a1}}$, 其中, R^{a1} 选自: 氢、 C1-C6 烷基、 C2-C6 烯基、 C6-C10 芳基、 $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $\text{O}-(\text{CO})-\text{O-R}^{\text{b4}}$, 所述烷基、烯基、芳基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、 C1-C6 烷基、 C6-C10 芳基、 $-(\text{C1-C6}$ 烷基)- $(\text{C6-C10}$ 芳基)的基团取代;

10 $-\text{NR}^{\text{a2}}\text{R}^{\text{a3}}$, 其中, R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自: 氢、 C1-C6 烷基、 $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $(\text{CO})-\text{R}^{\text{b1}}$ 、 $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $(\text{CO})-\text{O-R}^{\text{b2}}$ 、 $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $(\text{CO})-\text{NR}^{\text{b5}}\text{R}^{\text{b6}}$ 、3-15 元杂环基, 所述烷基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、 C1-C6 烷基的基团取代;

R^{b1} 、 R^{b2} 、 R^{b4} 、 R^{b5} 、 R^{b6} 各自独立选自下组基团: 氢、羟基、 C1-C6 烷基、 C3-C7 环烷基、 $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $\text{O}-(\text{CO})-\text{O-R}^{\text{c3}}$, 所述环烷基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、 C1-C6 烷基、 C6-C10 芳基的基团取代;

15 R^{c3} 各自独立选自下组基团: 氢、羟基、氨基、 C1-C6 烷基、 C3-C7 环烷基。

在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 0 时, A' 不存在;对于 A, 其中:

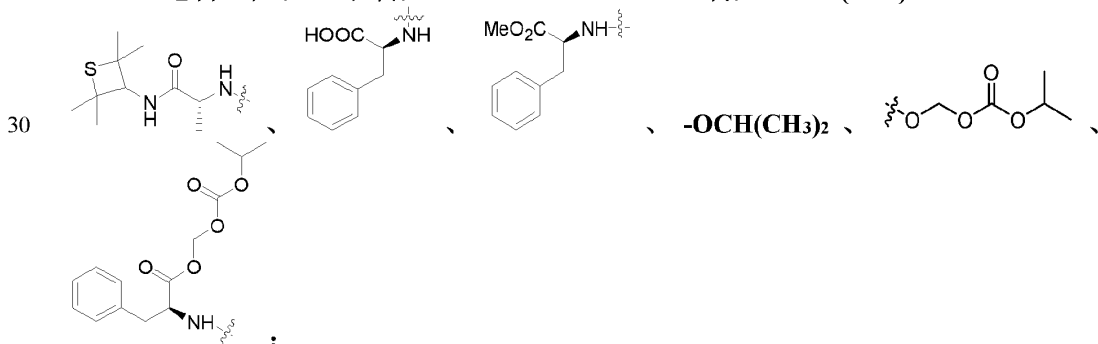
R_2 选自: 羟基,

20 $-\text{O-R}^{\text{a1}}$: 其中, R^{a1} 选自: 任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代的 C1-C6 烷基, C2-C6 烯基, $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $\text{O}-(\text{CO})-\text{O-R}^{\text{b4}}$, 其中 R^{b4} 选自 C1-C6 烷基, n 为 1;

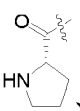
$-\text{NR}^{\text{a2}}\text{R}^{\text{a3}}$: R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自: 氢; $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $(\text{CO})-\text{NR}^{\text{b5}}\text{R}^{\text{b6}}$, n 为 1, R^{b5} 、 R^{b6} 各自独立为氢, 或 3-15 元杂环基, 所述杂环进一步被一个或多个 C1-C6 烷基取代; $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $(\text{CO})-\text{R}^{\text{b1}}$, n 为 1, R^{b1} 为羟基; $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $(\text{CO})-\text{O-R}^{\text{b2}}$, 所述烷基被一个或多个 C6-C10 芳基取代, n 为 1, R^{b2} 为 C1-C6 烷基或 $-(\text{C1-C6}$ 烷基) $_n$ - $\text{O}-(\text{CO})-\text{O-R}^{\text{c3}}$, R^{c3} 为 C1-C6 烷基。

在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 0 时, A' 不存在;对于 A, 其中:

R_2 选自: 羟基、甲氧基、 $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ 、乙氧基、 $-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ 、



R_3 与 R_4 各自独立地选自: 氢、羟基、 Boc 、 Cbz 、 $-\text{CH}_3$ 、 Fmoc 、 $-\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ 、-

COCH₂NH₂、-CHO、-COCH₃、、-COCH₂CH₃、-COCH(CH₃)₂、-COCH(CH₂)₂、-COOCH₃、-CON(CH₃)₂、-COCH(CH₃)(NH₂)；其中，Boc表示叔丁氧羰基，Cbz表示苄氧羰基，Fmoc表示芴甲氧羰基。

- 5 在一些实施方案中，在上述式 I 中，当 x 为 1 时，A 与 A' 相同或者不同，其中对于 A，其中：
- R₁ 选自：-O-，C1-C6 烷基，-O-R^{a1}，其中，R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；
- 10 或者，R₁ 选自：-O-，羟基，-O-R^a；R^a 为 C1-C6 烷基；
再或者，R₁ 选自：-O-、羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂；
Y 为 C；
y 为 0；
- 15 R₂ 选自：-O-，C1-C6 烷基，-O-R^{a1}，其中，R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；
或者，R₂ 选自：羟基，-O-，-O-R^a；R^a 为 C1-C6 烷基；
- 20 再或者，R₂ 选自：羟基、-O-、甲氧基；
R₃ 与 R₄ 各自独立地选自：氢、羟基、C1-C6 烷基；
或者，R₃ 和 R₄ 各自独立地为氢；
R₅ 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；或者 R₅ 选自氢、氨基；再或者 R₅ 选自氢。
- 25 在一些实施方案中，在上述式 I 中，当 x 为 1 时，A 与 A' 相同或者不同，其中对于 A'，其中：
- R₁' 选自：-O-，C1-C6 烷基，-O-R^{a1}，其中，R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；
- 30 或者，R₁' 选自：-O-，羟基，-O-R^a；R^a 为 C1-C6 烷基；
再或者，R₁' 选自：-O-、羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂；
Y' 为 C；
y' 为 0；
- 35 R₂' 选自：-O-，C1-C6 烷基，-O-R^{a1}，其中，R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；
或者，R₂' 选自：羟基，-O-，-O-R^a；R^a 为 C1-C6 烷基；
- 40 再或者，R₂' 选自：羟基、-O-、甲氧基；
R₃' 与 R₄' 各自独立地选自：氢、羟基、C1-C6 烷基；
或者，R₃' 和 R₄' 各自独立地为氢；
R₅' 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；
- 45 或者 R₅' 选自氢、氨基；

再或者 R_5' 选自氢。

在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 2 时, A 与 A' 相同或者不同,其中一个单元 A 的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A' 的 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、

5 R_4' 中的任意一个相连;

各 L_1 独立地选自下组的单元连接基团组成:不存在、O、S、羰基、烷基(或者 C1-C6 烷基)、烯基(或者 C2-C6 烯基)、炔基(或者 C2-C6 炔基)、-O-烯基-O-(或者-O-C2-C6 烯基-O-)-、-O-炔基-O-(或者-O-C2-C6 炔基-O-)-、环烷基(或者 C3-C7 环烷基)、杂烷基(或者 3-7 元杂烷基;例如,-O-烷基-O-(或者-O-C1-C6 烷基-O-)),其中烷基、环烷基、杂烷基任选地被一个或多个独立选自 Z 的基团取代;

10 Z 各自独立选自下组基团:卤素、氨基、烷基(或者 C1-C6 烷基)、烯基(或者 C2-C6 烯基)、炔基(或者 C2-C6 炔基)、卤代烷基(或者卤代 C1-C6 烷基)、环烷基(或者 C3-C7 环烷基)、芳基(或者 C6-C12 芳基)、杂环;

或者 L_1 选自:不存在、-CR'R'',其中 R' 和 R'' 各自独立地为 H、C1-C6 烷基(或者 C1-C3 烷基);

再或者 L_1 选自:不存在、-CH₂-、-CH(CH₃)-、-C-(CH₃)₂;

进而再或者, L_1 选自: -CH₂-。

在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 2 时, A 与 A' 相同或者不同,其中

20 对于 A , 其中:

R_1 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基,所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

25 或者, R_1 选自: -O-, 羟基, -O- R^a : R^a 为 C1-C6 烷基;

再或者, R_1 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

再进一步或者, R_1 选自: 甲氧基;

Y 为 C;

y 为 0;

30 R_2 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基,所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R_2 选自: 羟基, -O-, -O- R^a : R^a 为 C1-C6 烷基;

35 再或者, R_2 选自: 羟基、-O-, 甲氧基;

再进一步或者, R_2 选自: -O-;

R_3 与 R_4 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;

或者, R_3 和 R_4 各自独立地为氢;

40 R_5 选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基; 或者 R_5 选自氢、氨基; 再或者 R_5 选自氢。

在一些实施方案中,在上述式 I 中,当 x 为 2 时, A 与 A' 相同或者不同,其中

对于 A' , 其中:

45 R_1' 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基,所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R_1 选自: -O-, 羟基, -O- R^a ; R^a 为 C1-C6 烷基;
 再或者, R_1' 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;
 再进一步或者, R_1' 选自: 甲氧基;
 Y' 为 C;

5 y' 为 0;

R_2' 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

10 或者, R_2' 选自: 羟基, -O-, -O- R^a ; R^a 为 C1-C6 烷基;

再或者, R_2' 选自: 羟基、-O-, 甲氧基;

再进一步或者, R_2' 选自: -O-;

R_3' 与 R_4' 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;

或者, R_3' 和 R_4' 各自独立地为氢;

15 R_5' 选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基;

或者 R_5' 选自氢、氨基;

再或者 R_5' 选自氢。

20 在一些实施方案中, 本发明提供了下式 I 所示的化合物, 或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物在制备药物或试剂中的用途, 所述药物用于以下的至少一种:

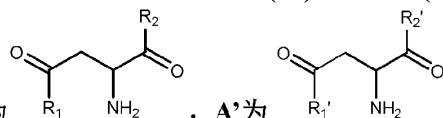
1) 治疗、改善、或预防肝脏相关疾病 (如 NAFLD、NASH、肝纤维化);

2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、或炎症;

3) 抑制星状细胞的激活;

25 4) 调节 NS3TP1 的表达;

A-(L₁)_x-A' (式 I)



其中 A 为 R_1 NH_2 R_2 , A' 为 R_1' NH_2 R_2' , A 与 A' 相同或者不同;

其中:

x 选自 0、1、2;

30 1) 当 x 为 0 时, A' 不存在;

对于 A, 其中:

R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团: -O- R^{a1} 、-NR^{a2}R^{a3};

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

35 2) 当 x 为 1 或者 2 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中:

一个单元 A 的 R_1 、 R_2 中的任意一个通过 L₁ 与相邻单元 A' 的 R_1' 、 R_2' 中的任意一个相连;

各 L₁ 独立地选自下组的单元连接基团组成: 不存在、O、烷基 (或者 C1-C6 烷基)、烯基 (或者 C2-C6 烯基)、炔基 (或者 C2-C6 炔基)、-O-烷基-O- (或者 -O- C1-C6 烷基-O-), -O-烯基-O- (或者 -O- C2-C6 烯基-O-), -O-炔基-O- (或者 -O- C2-C6 炔基-O-);

40 对于 A, 其中:

R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团: -O- R^{a1} 、-NR^{a2}R^{a3};

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

对于 A', 其中:

R₁' 和 R₂' 各自独立选自下组基团: -O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3};

R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

5

在一些实施方案中, 在上述式 I 中, 当 x 为 0 时, A' 不存在; 对于 A, 其中:

R₁ 各自独立选自下组基团: -O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3};

R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

10 或者, R₁ 各自独立选自下组基团: -OH、-O-(C1-C3 烷基)、-O-(C1-C3 烯基)、-NH₂、-NH(C1-C3 烷基)、-N(C1-C3 烷基)₂;

再或者, R₁ 各自独立选自下组基团: -OH、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂、-NH₂;

R₂ 各自独立选自下组基团: -O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3};

15 R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

或者, R₂ 各自独立选自下组基团: -OH、-O-(C1-C3 烷基)、-O-(C1-C3 烯基)、-NH₂、-NH(C1-C3 烷基)、-N(C1-C3 烷基)₂;

再或者, R₂ 各自独立选自下组基团: -OH、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂、-NH₂;

20

在一些实施方案中, 在上述式 I 中, 当 x 为 1 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中:

一个单元 A 的 R₁、R₂ 中的任意一个通过 L₁ 与相邻单元 A' 的 R₁'、R₂' 中的任意一个相连;

25 各 L₁ 独立地选自下组的单元连接基团组成: 不存在、O、烷基 (或者 C1-C6 烷基)、烯基 (或者 C2-C6 烯基)、炔基 (或者 C2-C6 炔基)、-O-烷基-O- (或者 -O- C1-C6 烷基-O-)、-O-烯基-O- (或者 -O- C2-C6 烯基-O-)、-O-炔基-O- (或者 -O-C2-C6 炔基-O-);

或者 L₁ 选自: 不存在、烷基 (或者 C1-C3 烷基)、烯基 (或者 C2-C3 烯基);

再或者 L₁ 选自: 不存在、-CH₂-、-CH(CH₃)-、-C(CH₃)₂;

进而再或者, L₁ 选自: -CH₂-。

30

在一些实施方案中, 在上述式 I 中, 当 x 为 1 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中:

对于 A, 其中:

R₁ 选自: -O-, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

35 或者, R₁ 选自: -O-, 羟基, -O-(C1-C3 烷基);

再或者, R₁ 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

R₂ 选自: -O-, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

或者, R₂ 选自: -O-, 羟基, -O-(C1-C3 烷基);

40 再或者, R₂ 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

在一些实施方案中, 在上述式 I 中, 当 x 为 1 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中:

对于 A', 其中:

45 R₁ 选自: -O-, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

或者, R₁ 选自: -O-, 羟基, -O-(C1-C3 烷基);

再或者, R₁ 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

R_2 选自: -O-, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

或者, R_2 选自: -O-, 羟基, -O-(C1-C3 烷基);

再或者, R_2 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

5

在一些实施方案中, 在上述式 I 中, 当 x 为 2 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中:

一个单元 A 的 R_1 、 R_2 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A' 的 R_1' 、 R_2' 中的任意一个相连;

各 L_1 独立地选自下组的单元连接基团组成: 不存在、O、烷基 (或者 C1-C6 烷基)、烯基 (或者 C2-C6 烯基)、炔基 (或者 C2-C6 炔基)、-O-烷基-O- (或者 -O- C1-C6 烷基-O-)、-O-烯基-O- (或者 -O- C2-C6 烯基-O-)、-O-炔基-O- (或者 -O-C2-C6 炔基-O-);

或者 L_1 选自: 不存在、烷基 (或者 C1-C3 烷基)、烯基 (或者 C2-C3 烯基);

再或者 L_1 选自: 不存在、-CH₂-, -CH(CH₃)-, -C(CH₃)₂;

15

进而再或者, L_1 选自: -CH₂-。

在一些实施方案中, 在上述式 I 中, 当 x 为 2 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中:

对于 A, 其中:

R_1 选自: -O-, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

或者, R_1 选自: -O-, 羟基, -O-(C1-C3 烷基);

再或者, R_1 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

20

R_2 选自: -O-, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

或者, R_2 选自: -O-, 羟基, -O-(C1-C3 烷基);

25

再或者, R_2 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

在一些实施方案中, 在上述式 I 中, 当 x 为 2 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中:

对于 A', 其中:

R_1 选自: -O-, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

或者, R_1 选自: -O-, 羟基, -O-(C1-C3 烷基);

再或者, R_1 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

30

R_2 选自: -O-, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C3 烷基、C2-C4 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基;

或者, R_2 选自: -O-, 羟基, -O-(C1-C3 烷基);

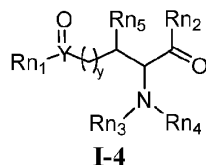
35

再或者, R_2 选自: -O-, 羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂。

在本发明的第二方面, 本发明提供了下式 I-4 所示的化合物, 或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物在制备药物或试剂中的用途, 所述药物用于以下的至少一种:

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病 (如 NAFLD、NASH、肝纤维化);
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、或炎症;
- 3) 抑制星状细胞的激活;
- 4) 调节 NS3TP1 的表达;

45

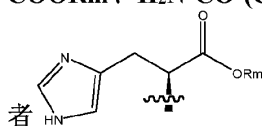


其中:

- 5 **Rn1** 和 **Rn2** 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、-O-R^{a4}、-O-L2-O-R^{a4}、-NR^{a5}R^{a6};
 各 **R^{a4}** 独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7
 环烷基、C3-C7 环烷基 C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷基、3-15 元杂
 10 环基、3-15 元杂环基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基、-(O=C)-CH₂-CH(NH₂)-COOR_m、-
 (O=C)-CH(NH₂)-CH₂-COOR_m、Ph-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、NH₂-CH₂-C(=O)-、CH₃-
 CH(NH₂)-C(=O)-、R_mOOC-(CH₂)₂-CH(NH₂)-C(=O)-、-C(=O)-(CH₂)₂-CH(NH₂)-COOR_m、
 R_mOOC-CH(NH₂)-CH₂-S-S-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、H₂N-CO-(CH₂)₂-CH(NH₂)-C(=O)-、

- 15 *N=CH-NH-CH=*C-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)- (或者), HO-p-Ph-
 CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、HO-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、CH₃-S-(CH₂)₂-CH(NH₂)-C(=O)-、
 HN=C(NH₂)-NH-(CH₂)₃-CH(NH₂)-C(=O)-、(CH₃)₂CH-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-; 其中, Ph
 表示苯基, HO-p-Ph-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-表示对羟基苯甲基氨基甲基羰基;

- 20 **R^{a5}** 和 **R^{a6}** 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、
 C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基氨基酰基 C1-C6 烷基、Ph-
 CH₂-CH(COOR_m)-、-CH₂-COOR_m、-CH(COOR_m)-CH₂-COOR_m、-CH(CH₃)-
 COOR_m、R_mOOC-(CH₂)₂-CH(COOR_m)-、-CH(COOR_m)-CH₂-S-S-CH₂-CH(NH₂)-
 COOR_m、H₂N-CO-(CH₂)₂-CH(COOR_m)-、*N=CH-NH-CH=*C-CH₂-CH(COOR_m)- (或



者), HO-p-Ph-CH₂-CH(COOR_m)-、HO-CH₂-CH(COOR_m)-、CH₃-
 S-(CH₂)₂-CH(COOR_m)-、HN=C(NH₂)-NH-(CH₂)₃-CH(COOR_m)-、(CH₃)₂CH-CH₂-
 CH(COOR_m)-;

- 25 各 **R_m** 独立选自下组基团: 氢、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基-O-L3-;
L2 和 **L3** 各自独立的选自下组基团: C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7
 环烷基、3-7 元杂烷基, **L2** 和 **L3** 各自任意的被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基的
 基团取代;

- 30 **Rn3** 和 **Rn4** 各自独立选自下组基团: 氢、氘、羟基、H(C=O)-, C1-C6 烷基、C2-C6
 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、氨基酰基、C1-C6 烷
 基酰基、C1-C6 烷氧酰基、C1-C6 烷氨基酰基, 氨基 C1-C6 烷酰基、3-15 元杂环基酰基、
 C3-C7 环烷基酰基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷氧基酰基;

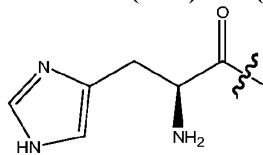
Y 为 C 或 S;

y 为 0、1、2 或 3。

- 35 在一些实施方案中, 在上述式 I-4 中, **Rn1** 和 **Rn2** 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷
 基、-O-R^{a4}、-O-L2-O-R^{a4}、-NR^{a5}R^{a6};

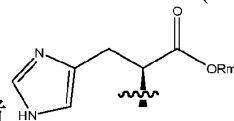
各 **R^{a4}** 独立选自下组基团: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C3-C7 环
 烷基 C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环

基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基、 $-(O=)C-CH_2-CH(NH_2)-COOR_m$ 、 $Ph-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $NH_2-CH_2-C(=O)-$ 、 $CH_3-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $R_mOOC-(CH_2)_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $R_mOOC-CH(NH_2)-CH_2-S-S-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $H_2N-CO-(CH_2)_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、



* $N=CH-NH-CH=*C-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ (或者 ), $HO-p-Ph-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $HO-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $CH_3-S-(CH_2)_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $HN=C(NH_2)-NH-(CH_2)_3-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $(CH_3)_2CH-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$;

R^{a5} 和 R^{a6} 各自独立选自下组基团: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基氨酰基 C1-C6 烷基、 $Ph-CH_2-CH(COOR_m)-$ 、 $-CH_2-COOR_m$ 、 $-CH(COOR_m)-CH_2-COOR_m$ 、 $-CH(CH_3)-COOR_m$ 、 $R_mOOC-(CH_2)_2-CH(COOR_m)-$ 、 $-CH(COOR_m)-CH_2-S-S-CH_2-CH(NH_2)-COOR_m$ 、 $H_2N-CO-(CH_2)_2-$



$CH(COOR_m)-$ 、 $*N=CH-NH-CH=*C-CH_2-CH(COOR_m)-$ (或者 ), $HO-p-Ph-CH_2-CH(COOR_m)-$ 、 $HO-CH_2-CH(COOR_m)-$ 、 $CH_3-S-(CH_2)_2-CH(COOR_m)-$ 、 $HN=C(NH_2)-NH-(CH_2)_3-CH(COOR_m)-$ 、 $(CH_3)_2CH-CH_2-CH(COOR_m)-$;

各 R_m 独立选自下组基团: 氢、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基-O-L3-;

L2 和 L3 各自独立的选自下组基团: C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、3-7 元杂烷基, L2 和 L3 各自任意的被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基的基团取代;

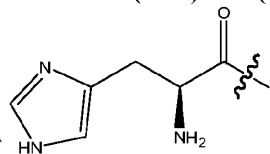
R_{n3} 和 R_{n4} 各自独立选自下组基团: 氢、羟基、 $H(C=O)-$ 、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、氨基酰基、C1-C6 烷基酰基、C1-C6 烷氧酰基、C1-C6 烷氨基酰基、氨基 C1-C6 烷酰基、3-15 元杂环基酰基、C3-C7 环烷基酰基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷氧基酰基;

Y 为 C;

y 为 0、1 或 2。

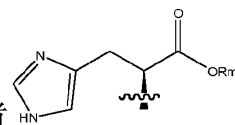
在一些实施方案中,在上述式 I-4 中, R_{n1} 和 R_{n2} 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、 $-O-R^{a4}$ 、 $-O-L2-O-R^{a4}$ 、 $-NR^{a5}R^{a6}$;

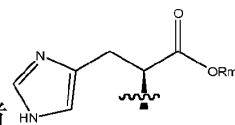
各 R^{a4} 独立选自下组基团: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基 C1-C6 烷基、 $-(O=)C-CH_2-CH(NH_2)-COOR_m$ 、 $Ph-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $NH_2-CH_2-C(=O)-$ 、 $CH_3-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $R_mOOC-(CH_2)_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $R_mOOC-CH(NH_2)-CH_2-S-S-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $H_2N-CO-(CH_2)_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $*N=CH-NH-CH=*C-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$



(或者 ), $HO-p-Ph-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $HO-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $CH_3-S-(CH_2)_2-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $HN=C(NH_2)-NH-(CH_2)_3-CH(NH_2)-C(=O)-$ 、 $(CH_3)_2CH-CH_2-CH(NH_2)-C(=O)-$;

R^{a5} 和 R^{a6} 各自独立选自下组基团: 氢、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基氨酰基 C1-C6 烷基、 $Ph-CH_2-CH(COOR_m)-$ 、 $-CH_2-COOR_m$ 、 $-CH(COOR_m)-CH_2-COOR_m$ 、 $-CH(CH_3)-COOR_m$ 、 $R_mOOC-(CH_2)_2-CH(COOR_m)-$ 、 $-CH(COOR_m)-CH_2-S-S-CH_2-CH(NH_2)-COOR_m$ 、 $H_2N-CO-(CH_2)_2-$



CH(COORm)-、*N=CH-NH-CH=*C-CH₂-CH(COORm)- (或者 )、HO-p-Ph-CH₂-CH(COORm)-、HO-CH₂-CH(COORm)-、CH₃-S-(CH₂)₂-CH(COORm)-、HN=C(NH₂)-NH-(CH₂)₃-CH(COORm)-、(CH₃)₂CH-CH₂-CH(COORm)-;

各 Rm 独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基-O-L3-;

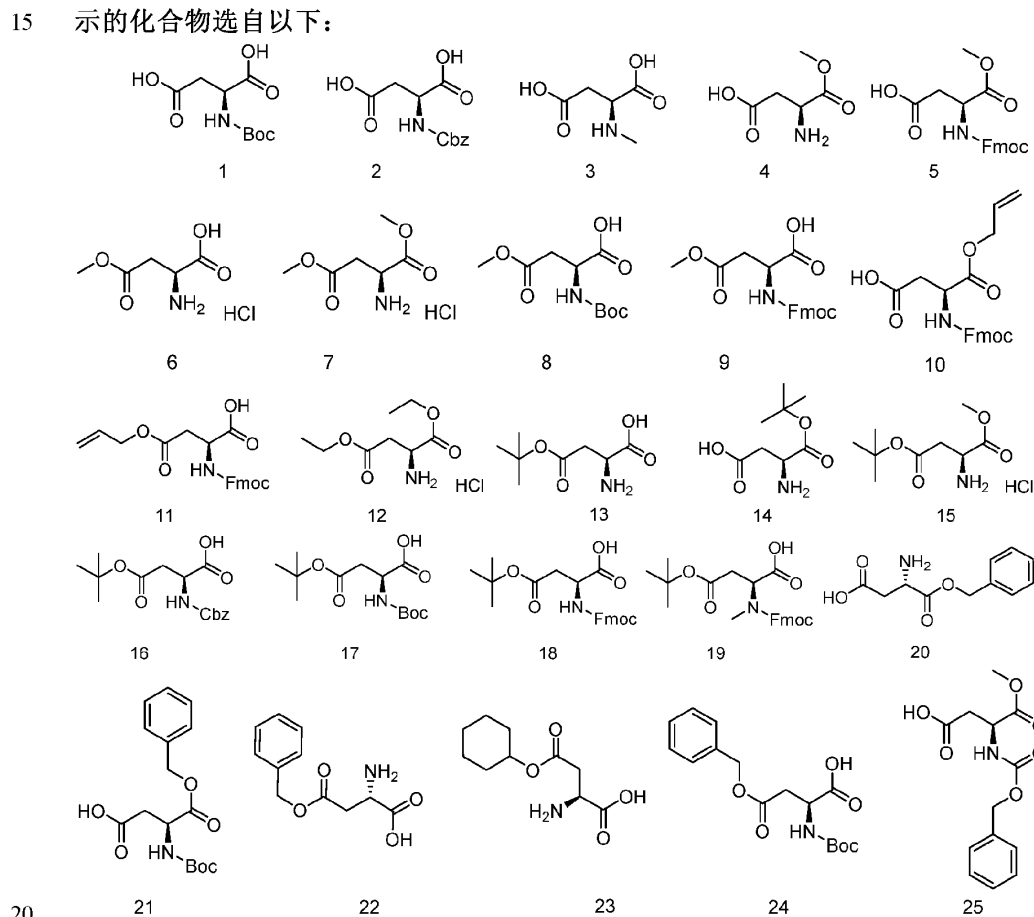
- 5 L2 和 L3 各自独立的选自下组基团：C1-C6 烷基，L2 和 L3 各自任选的被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基的基团取代；

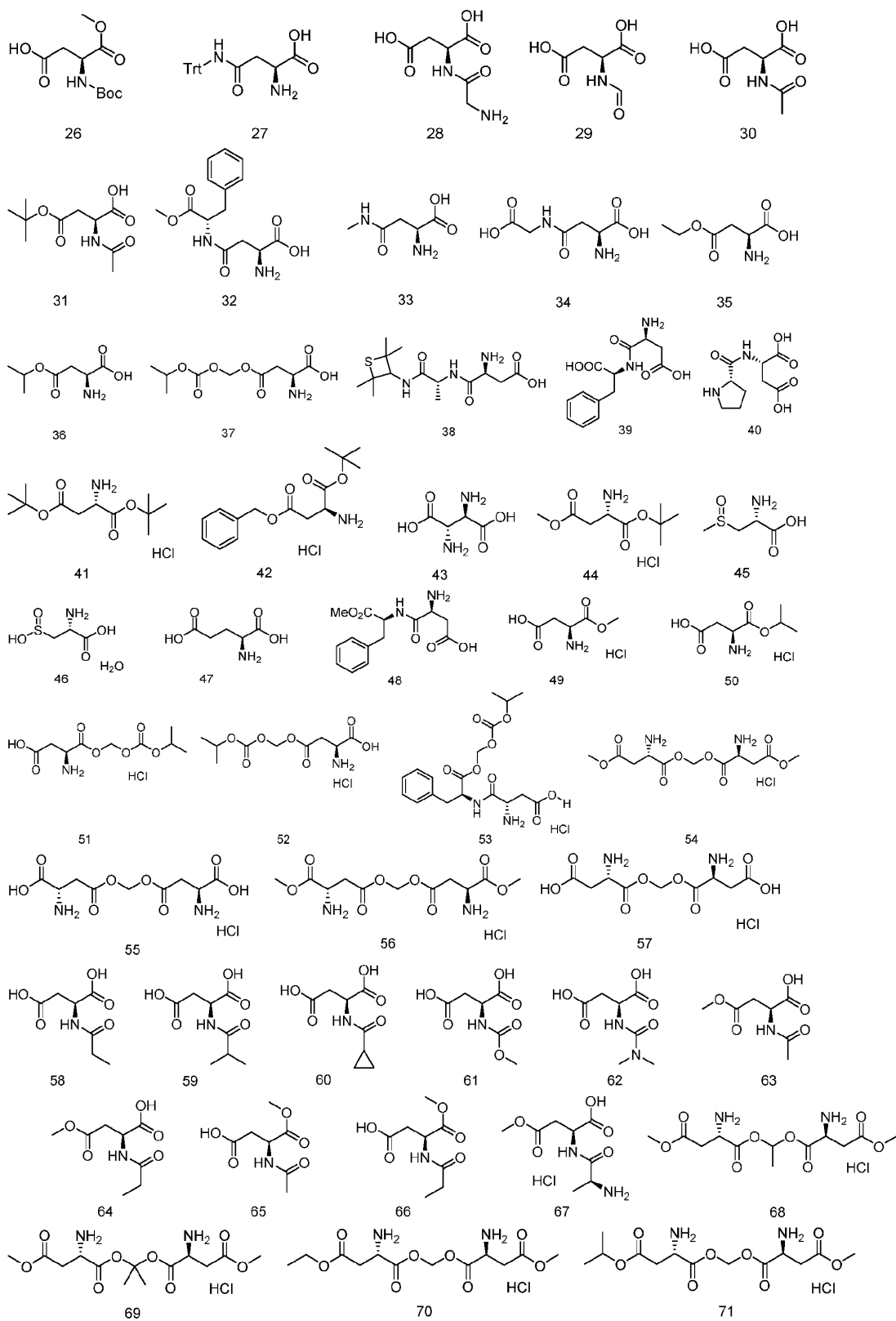
Rn3 和 Rn4 各自独立选自下组基团：氢、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、氨基酰基、C1-C6 烷基酰基、C1-C6 烷氧酰基、C1-C6 烷氨基酰基、氨基 C1-C6 烷基酰基、3-15 元杂环基酰基、C3-C7 环烷基酰基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷氧基酰基；

Y 为 C；

y 为 0、1 或 2。

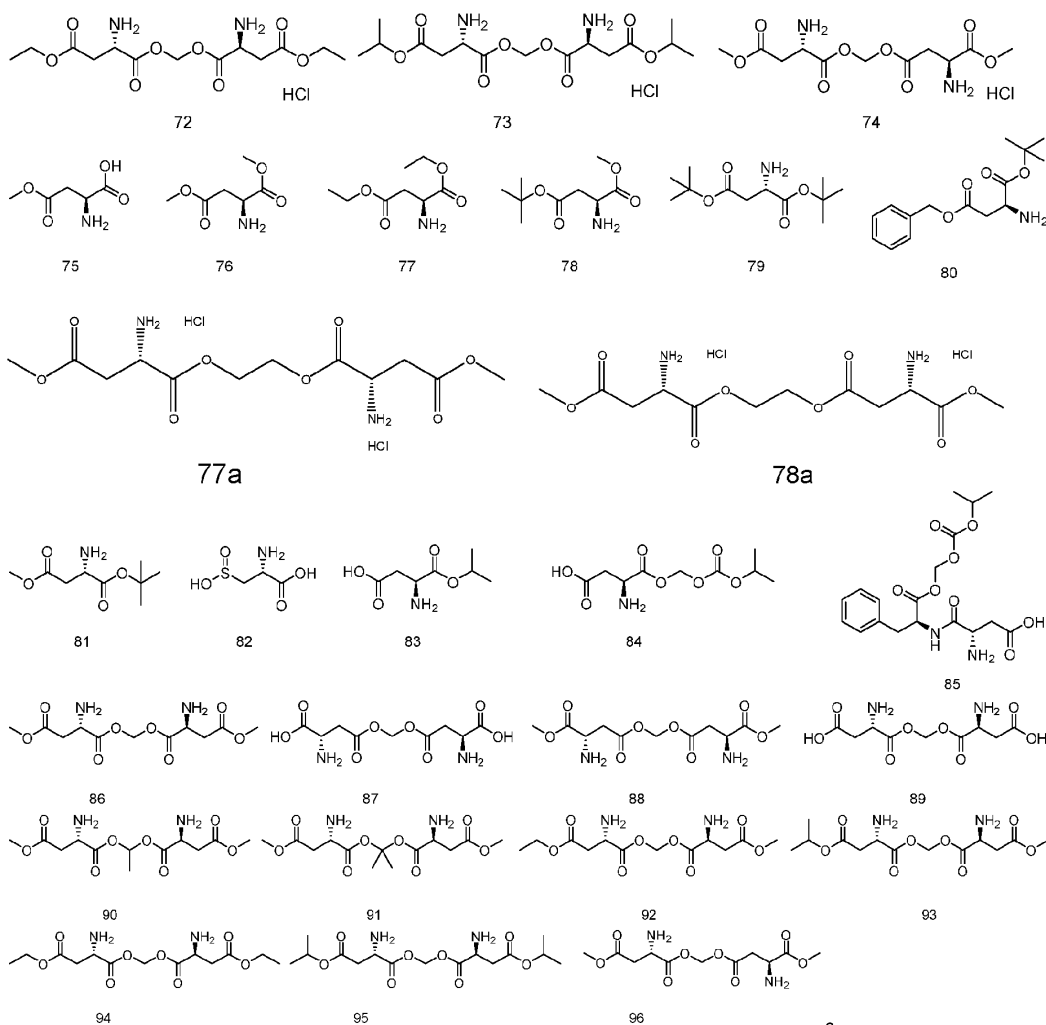
在本发明的第一方面和第二方面的一些实施方案中，式 I 或 I-1、I-2、I-3 或 I-4 所示的化合物选自以下：



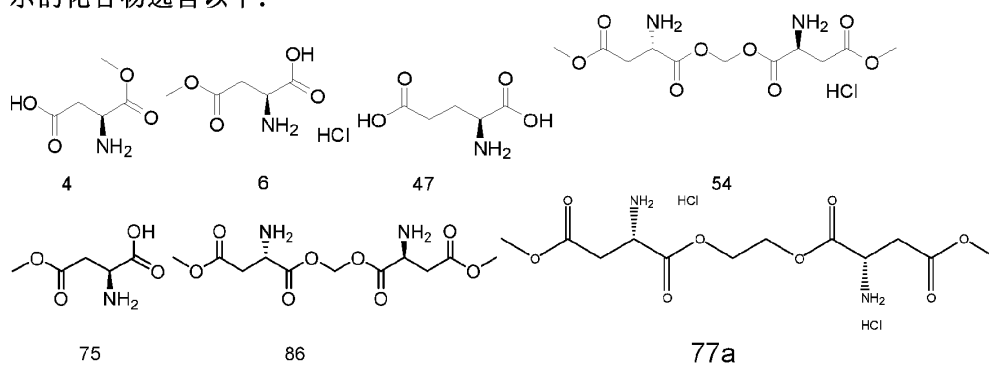


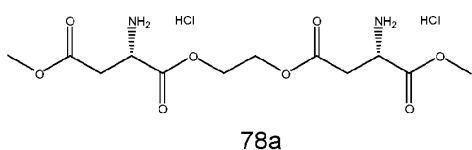
5

10



10 在本发明的第一方面和第二方面的一些实施方案中，式 I 或 I-1、I-2、I-3 或 I-4 所示的化合物选自以下：





在本发明的第三方面，本发明提供了一种含有 2-10 个或者 2-3 个氨基酸的肽，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物在制备药物或试剂中的用途，

所述药物或试剂用于以下的至少一种：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、或炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达；

在所述肽中，至少一个氨基酸为天冬氨酸，当天冬氨酸具有游离羧基时，所述游离羧基任意的与 C1-C6 烷基-OH 成酯；

任选的，所述氨基酸为天冬氨酸，苯丙氨酸、甘氨酸，丙氨酸、谷氨酸、胱氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、酪氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、精氨酸或亮氨酸；

或者，位于肽一侧的游离氨基酸为天冬氨酸，且任选地，该游离天冬氨酸的游离羧基任意的与 C1-C6 烷基-OH 成酯；

任选的，其余氨基酸为天冬氨酸，苯丙氨酸、甘氨酸，丙氨酸、谷氨酸、胱氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、酪氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、精氨酸或亮氨酸。

在本发明的第四方面，本发明提供了上述式 I 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述式 I-4 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述第三方面所述的一种含有 2-10 个或者 2-3 个氨基酸的肽，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，

其用于以下的至少一种：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达。

在本发明的第五方面，本发明提供了获得以下效应的方法：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达；

其包括给予有需要的受试者治疗有效量的上述式 I 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述式 I-4 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述第三方面所述的一种含有 2-10 个或者 2-3 个氨基酸的肽，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、

同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物。

在本发明的上述第一方面至第五方面，

5 在一些实施方案中，所述肝纤维化包括但不限于：慢性病毒性肝类疾病引起导致的肝纤维化、酗酒或长期饮酒引起导致的肝纤维化、肥胖等非酒精性因素引起导致的肝纤维化、反复感染血吸虫引起导致的门脉性肝纤维化、慢性胆汁淤积引起导致的胆汁性肝纤维化、肝豆状核变性和血色素沉积引起导致的代谢性肝纤维化、各种有毒物质引起导致的中毒性肝纤维化、喜好低蛋白饮食和偏爱肥肉煎炸食品导致的营养不良性肝纤维化、慢性充血性心衰导致的心源性肝纤维化。

10 在本发明的第六方面，本发明提供了药物组合物在制备药物中的用途，所述药物组合物包含上述式 I 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述式 I-4 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，
15 或上述第三方面所述的一种含有 2-10 个或者 2-3 个氨基酸的肽，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，所述药物用于以下的至少一种：

- 20 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、炎症；
3) 抑制星状细胞的激活；
4) 调节 NS3TP1 的表达。

在本发明的第七方面，本发明提供了药物组合物，其用于以下的至少一种：

- 25 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、炎症；
3) 抑制星状细胞的激活；
4) 调节 NS3TP1 的表达；

30 所述药物组合物包含上述式 I 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述式 I-4 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述第三方面所述的一种含有 2-10 个或者 2-3 个氨基酸的肽，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物。

35 在本发明的第八方面，本发明提供了获得以下效应的方法：

- 40 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、炎症；
3) 抑制星状细胞的激活；
4) 调节 NS3TP1 的表达；

45 其包括给予有需要的受试者治疗有效量的所述药物组合物，所述药物组合物包含上述式 I 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述式 I-4 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述第三方面所述的一种含有 2-10 个或者 2-3 个氨基酸的肽，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它

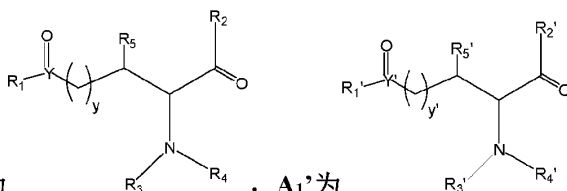
在本发明的上述第六方面至第八方面,

在一些实施方案中，所述药物组合物还包含另外的活性成分：其他用于改善肝功能的氨基酸（包括但不限于丙氨酸、谷氨酸、胱氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、酪氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、精氨酸、亮氨酸）、胆固醇吸收抑制剂（如依替米贝）、HSC活化增殖抑制剂（如吡非尼酮、氟非尼酮、Pegbelfermin）PCSK9 抑制剂、PPAR 激动剂（如吉非罗齐、非诺贝特、氯贝特、苯扎贝特、培马贝特、Elafibranor）、ACE 抑制剂、CCR2/5 抑制剂、TLR4 抑制剂、LOXL2 抑制剂、TIMP-1 抑制剂、FXR 激动剂、AT1R 阻滞剂、NOX 抑制剂、钙离子通道阻断剂、ARBs、利尿剂、肾素、GLP-1 或其合成变体、胰岛素或其合成变体、二甲双胍、磺酰脲化合物、噻唑烷二酮(TZD)、SGLT2 抑制剂、DPP-IV 抑制剂、HMGCoA 还原酶的抑制剂、前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9 型(PCSK9)的抑制剂、吉卡宾(CI-1027)、ACC 抑制剂、ApoC-III 抑制剂、ACL-抑制剂（如贝派地酸）、处方鱼油、CETP 抑制剂、熊去氧胆酸、奥贝胆酸、多烯磷脂酰胆碱、糖皮质激素、水飞蓟素、甘草酸类制剂（如异甘草酸镁注射液和甘草酸二铵肠溶胶囊）以及它们的组合。

在一些实施方案中，所述药物组合物还包含药学上可接受的载体或辅料。

在一些实施方案中，所述药物组合物为固体制剂、注射剂、外用制剂、喷剂、液体制剂或复方制剂。

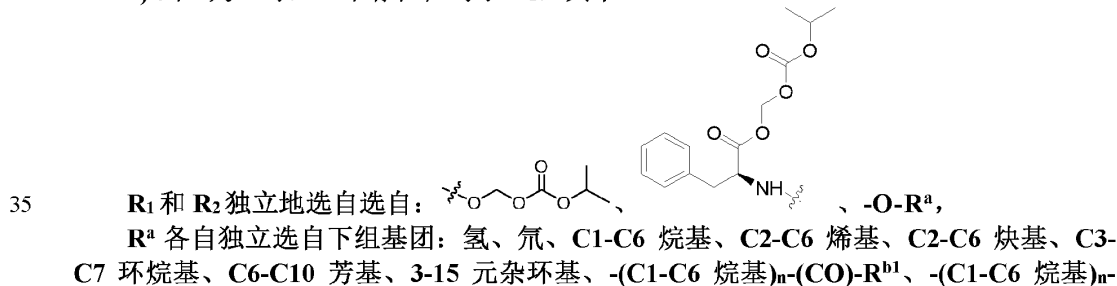
在本发明的第九方面，本发明提供了式 II 所示的化合物，其药学上可接受的盐或酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、晶型、它们的代谢物形式，



其中, $\mathbf{A}_1$ 为 , $\mathbf{A}_1'$ 为 , $\mathbf{A}_1$ 与 $\mathbf{A}_1'$ 相同或者不同;

x 选自 0、1 和 2;

1) 当 x 为 0 时, A' 不存在; 对于 A_1 , 其中:

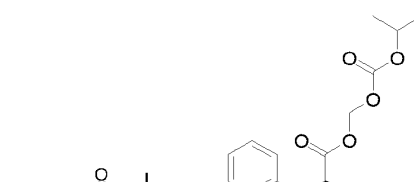
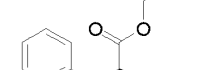


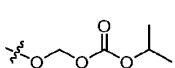
(CO)-O-R^{b2}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b3}、-(C1-C6 烷基)_n-NR^{b4}-(CO)-R^{b5}、-(C1-C6 烷基)_n-NR^{b6}-(CO)-O-R^{b7}，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环可选被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

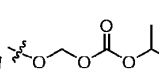
5 R^{b1}、R^{b2}、R^{b3}、R^{b4}、R^{b5}、R^{b6}、R^{b7} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

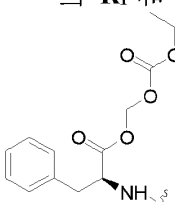
 R₃ 和 R₄ 独立地选自：-COCH(CH₃)(NH₂)、氢、-COCH₂CH₃、氘、C1-C6 烷基，所述烷基可选被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基、杂环的基团取代；

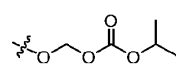
10 且满足以下条件：

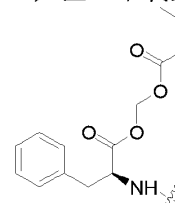
R₁ 和 R₂ 中至少之一为 、或 ；
或者 R₃ 和 R₄ 中至少之一为 -COCH(CH₃)(NH₂) 或 -COCH₂CH₃；

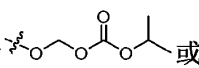
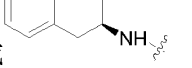
15 或者，R₁ 和 R₂ 独立地选自选自：、羟基、甲氧基，
R₃ 和 R₄ 独立地选自：氢、-COCH₂CH₃ 和 -COCH(CH₃)(NH₂)，
且满足以下条件：

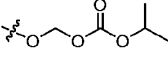
 当 R₁ 和 R₂ 中的之一为羟基或甲氧基时，R₁ 和 R₂ 中的另一为  或

 或者 R₃ 和 R₄ 之一为 -COCH(CH₃)(NH₂)；

20 再或者，R₁ 选自：、羟基、甲氧基，

R₂ 选自：、羟基、
R₃ 和 R₄ 独立地选自：氢、-COCH₂CH₃ 和 -COCH(CH₃)(NH₂)，
且满足以下条件：

当 R_1 为羟基或甲氧基时, R_2 为  或  或者 R_3 和 R_4 之一为 $-\text{COCH}(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)$;

当 R_2 为羟基或甲氧基时, R_1 为  或者 R_3 和 R_4 之一为 $-\text{COCH}(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)$;

5

2) 当 x 为 1 时, A_1 与 A_1' 相同或者不同, 其中

一个单元 A_1 的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A_1' 的 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 中的任意一个相连;

各 L_1 独立地选自下组的单元连接基团组成: 不存在、O、S、羰基、烷基 (或者 C1-C6 烷基)、烯基 (或者 C2-C6 烯基)、炔基 (或者 C2-C6 炔基)、-O-烷基-O- (或者 -O-C1-C6 烷基-O-)、-O-烯基-O- (或者 -O-C2-C6 烯基-O-)、-O-炔基-O- (或者 -O-C2-C6 炔基-O-)、环烷基 (或者 C3-C7 环烷基)、杂烷基 (或者 3-7 元杂烷基), 其中烷基、环烷基、杂烷基任选地被一个或多个独立选自 Z 的基团取代;

Z 各自独立选自下组基团: 卤素、氨基、烷基 (或者 C1-C6 烷基)、烯基 (或者 C2-C6 烯基)、炔基 (或者 C2-C6 炔基)、卤代烷基 (或者卤代 C1-C6 烷基)、环烷基 (或者 C3-C7 环烷基)、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环;

或者 L_1 选自: 不存在、 $-\text{CR}'\text{R}''$, 其中 R' 和 R'' 各自独立地为 H、C1-C6 烷基 (或者 C1-C3 烷基);

再或者 L_1 选自: 不存在、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$;

20

对于 A_1 , 其中:

R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、-O-、 $-\text{O}-R^{a1}$ 、 $-\text{NR}^{a2}R^{a3}$;

R_3 和 R_4 各自独立选自下组基团: 氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环基的基团取代;

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(\text{C1-C6 烷基})-(\text{C6-C10 芳基})$ 、 $-(\text{C1-C6 烷基})-(3-15 元杂环基)$ 的基团取代;

或者, R_1 选自: -O-, C1-C6 烷基、 $-\text{O}-R^{a1}$, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, $-(\text{C1-C6 烷基})_m-\text{O}-(\text{CO})-R^{b1}$, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(\text{C1-C6 烷基})-(\text{C6-C10 芳基})$ 、 $-(\text{C1-C6 烷基})-(3-15 元杂环基)$ 的基团取代;

再或者, R_1 选自: -O-, 羟基、 $-\text{O}-R^a$; R^a 为 C1-C6 烷基;

进而再或者, R_1 选自: -O-、羟基、甲氧基、乙氧基、 $-\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$;

40

- 或者, R_2 选自: $-O-$, C1-C6 烷基, $-O-R^{a1}$, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-R^{b1}$, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(C6-C10 \text{ 芳基})$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(3-15 \text{ 元杂环基})$ 的基团取代;
- 再或者, R_2 选自: 羟基, $-O-$, $-O-R^a$; R^a 为 C1-C6 烷基;
- 进而再或者, R_2 选自: 羟基、 $-O-$ 、甲氧基,
- R_3 与 R_4 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;
- 或者, R_3 和 R_4 各自独立地为氢;
- R_5 选自下组基团: 氢、氖、C1-C6 烷基、卤素、氨基;
- 或者 R_5 选自氢、氨基;
- 再或者 R_5 选自氢;
- Y 为 C;
- y 选自 0、1、2、3; 或者 y 为 0 或 1; 再或者 y 为 0;
- 对于 A_1' , 其中:
- R_1' 和 R_2' 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、 $-O-$ 、 $-O-R^{a1}$ 、 $-NR^{a2}R^{a3}$;
- R_3' 和 R_4' 各自独立选自下组基团: 氢、氖、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环的基团取代;
- R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氖、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(C6-C10 \text{ 芳基})$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(3-15 \text{ 元杂环基})$ 的基团取代;
- 或者, R_1' 选自: $-O-$, C1-C6 烷基, $-O-R^{a1}$, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-R^{b1}$, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(C6-C10 \text{ 芳基})$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(3-15 \text{ 元杂环基})$ 的基团取代;
- 再或者, R_1' 选自: $-O-$, 羟基, $-O-R^a$; R^a 为 C1-C6 烷基;
- 进而再或者, R_1' 选自: $-O-$ 、羟基、甲氧基、乙氧基、 $-OCH(CH_3)_2$;
- 或者, R_2' 选自: $-O-$, C1-C6 烷基, $-O-R^{a1}$, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-R^{b1}$, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(C6-C10 \text{ 芳基})$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(3-15 \text{ 元杂环基})$ 的基团取代;
- 再或者, R_2' 选自: 羟基, $-O-$, $-O-R^a$; R^a 为 C1-C6 烷基;
- 进而再或者, R_2' 选自: 羟基、 $-O-$ 、甲氧基;

R_3' 与 R_4' 各自独立地选自：氢、羟基、C1-C6烷基；
或者， R_3' 和 R_4' 各自独立地为氢；

R_5' 选自下组基团：氢、氖、C1-C6烷基、卤素、氨基；
或者 R_5' 选自氢、氨基；
再或者 R_5' 选自氢；

Y' 为C；

y' 选自0、1、2、3；或者 y 为0或1；再或者 y' 为0；

3) 当 x 为2时， A_1 与 A_1' 相同或者不同，其中

一个单元 A_1 的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A_1' 的 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 中的任意一个相连；

各 L_1 独立地选自下组的单元连接基团组成：不存在、O、S、羰基、烷基（或者C1-C6烷基）、烯基（或者C2-C6烯基）、炔基（或者C2-C6炔基）、-O-烷基-O-（或者-O-C1-C6烷基-O-）、-O-烯基-O-（或者-O-C2-C6烯基-O-）、-O-炔基-O-（或者-O-C2-C6炔基-O-）、环烷基（或者C3-C7环烷基）、杂烷基（或者3-7元杂烷基），其中烷基、环烷基、杂烷基任选地被一个或多个独立选自 Z 的基团取代；

Z 各自独立选自下组基团：卤素、氨基、烷基（或者C1-C6烷基）、烯基（或者C2-C6烯基）、炔基（或者C2-C6炔基）、卤代烷基（或者卤代C1-C6烷基）、环烷基（或者C3-C7环烷基）、芳基（或者C6-C12芳基）、杂环；

或者 L_1 选自：不存在、-CR'R''，其中 R' 和 R'' 各自独立地为H、C1-C6烷基（或者C1-C3烷基）；

再或者 L_1 选自：不存在、-CH₂-、-CH(CH₃)-、-C(CH₃)₂；
进而再或者， L_1 选自：-CH₂-；

对于 A_1 ，其中：

R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团：C1-C6烷基、-O-、-O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3}；

R_3 和 R_4 各自独立选自下组基团：氢、氖、羟基、C1-C6烷基、C2-C6烯基、C2-C6炔基、C3-C7环烷基、C6-C10芳基、3-15元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6烷基、卤代C1-C6烷基、芳基（或者C6-C12芳基）、杂环的基团取代；

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氖、C1-C6烷基、C2-C6烯基、C2-C6炔基、C3-C7环烷基、C6-C10芳基、3-15元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6烷基、C6-C10芳基、3-15元杂环基、-(C1-C6烷基)-(C6-C10芳基)、-(C1-C6烷基)-(3-15元杂环基)的基团取代；

或者， R_1 选自：-O-，C1-C6烷基，-O-R^{a1}，其中， R^{a1} 选自：氢、C1-C6烷基、C2-C6烯基、C3-C7环烷基、C6-C10芳基、3-15元杂环基，-(C1-C6烷基)_n-O-(CO)-R^{b1}，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6烷基、C6-C10芳基、3-15元杂环基、-(C1-C6烷基)-(C6-C10芳基)、-(C1-C6烷基)-(3-15元杂环基)的基团取代；

再或者， R_1 选自：-O-，羟基，-O-R^a； R^a 为C1-C6烷基；

进而再或者， R_1 选自：-O-，羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂；

再进一步或者, R_1 选自: 甲氧基;

或者, R_2 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)- R^{b1} , 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

再或者, R_2 选自: 羟基, -O-, -O- R^a ; R^a 为 C1-C6 烷基;

进而再或者, R_2 选自: 羟基、-O-、甲氧基,

再进一步或者, R_2 选自: -O-;

R_3 与 R_4 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;

或者, R_3 和 R_4 各自独立地为氢;

R_5 选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基;

或者 R_5 选自氢、氨基;

再或者 R_5 选自氢;

Y 为 C;

y 选自 0、1、2、3; 或者 y 为 0 或 1; 再或者 y 为 0;

对于 A_1' , 其中:

R_1' 和 R_2' 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、-O-、-O- R^{a1} 、-NR^{a2} R^{a3} ;

R_3' 和 R_4' 各自独立选自下组基团: 氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环的基团取代;

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R_1' 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)- R^{b1} , 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

再或者, R_1' 选自: -O-, 羟基, -O- R^a ; R^a 为 C1-C6 烷基;

进而再或者, R_1' 选自: -O-、羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

再进一步或者, R_1' 选自: 甲氧基;

或者, R_2' 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)- R^{b1} , 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷

基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

再或者, R_2' 选自: 羟基, $-O-$, $-O-R^a$; R^a 为 C1-C6 烷基;

进而再或者, R_2' 选自: 羟基、 $-O-$ 、甲氧基;

再进一步或者, R_2' 选自: $-O-$;

5

R_3' 与 R_4' 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;

或者, R_3' 和 R_4' 各自独立地为氢;

R_5' 选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基;

10

或者 R_5' 选自氢、氨基;

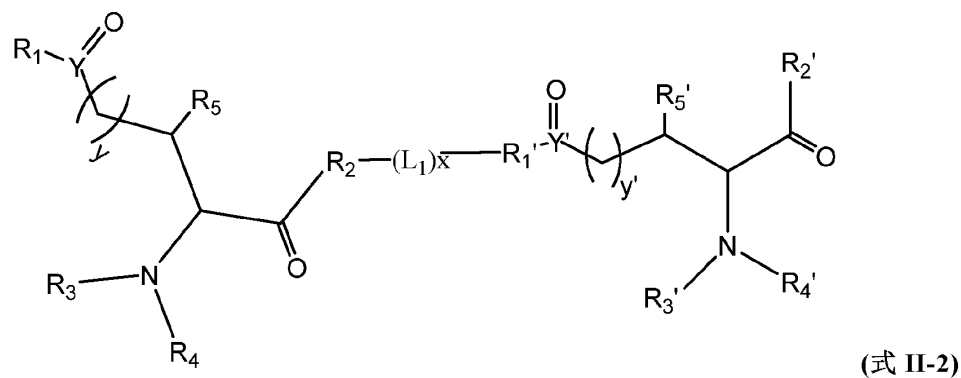
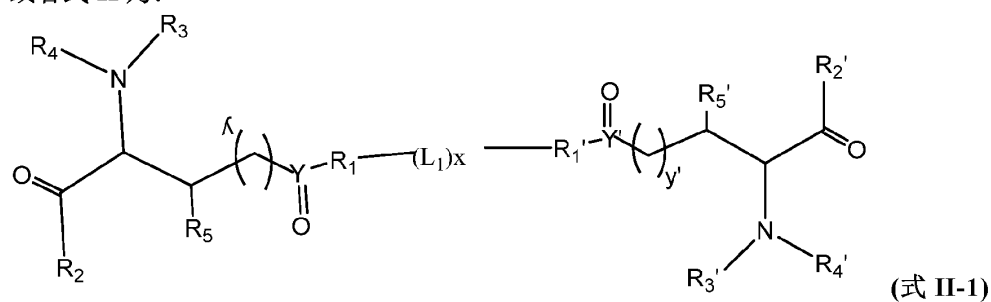
再或者 R_5' 选自氢;

Y' 为 C;

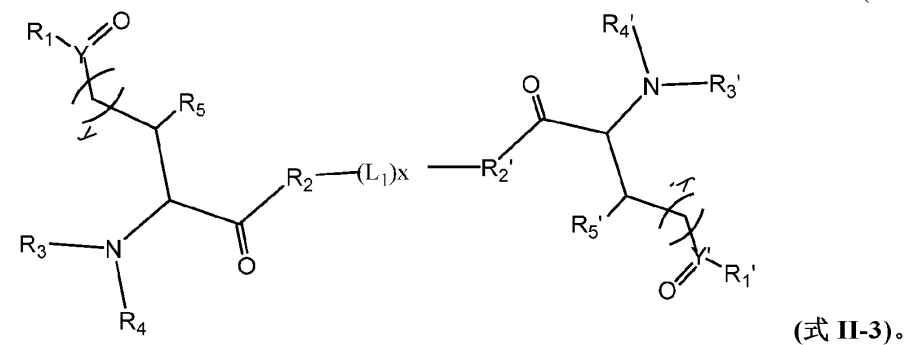
15

y' 选自 0、1、2、3; 或者 y 为 0 或 1; 再或者 y' 为 0;

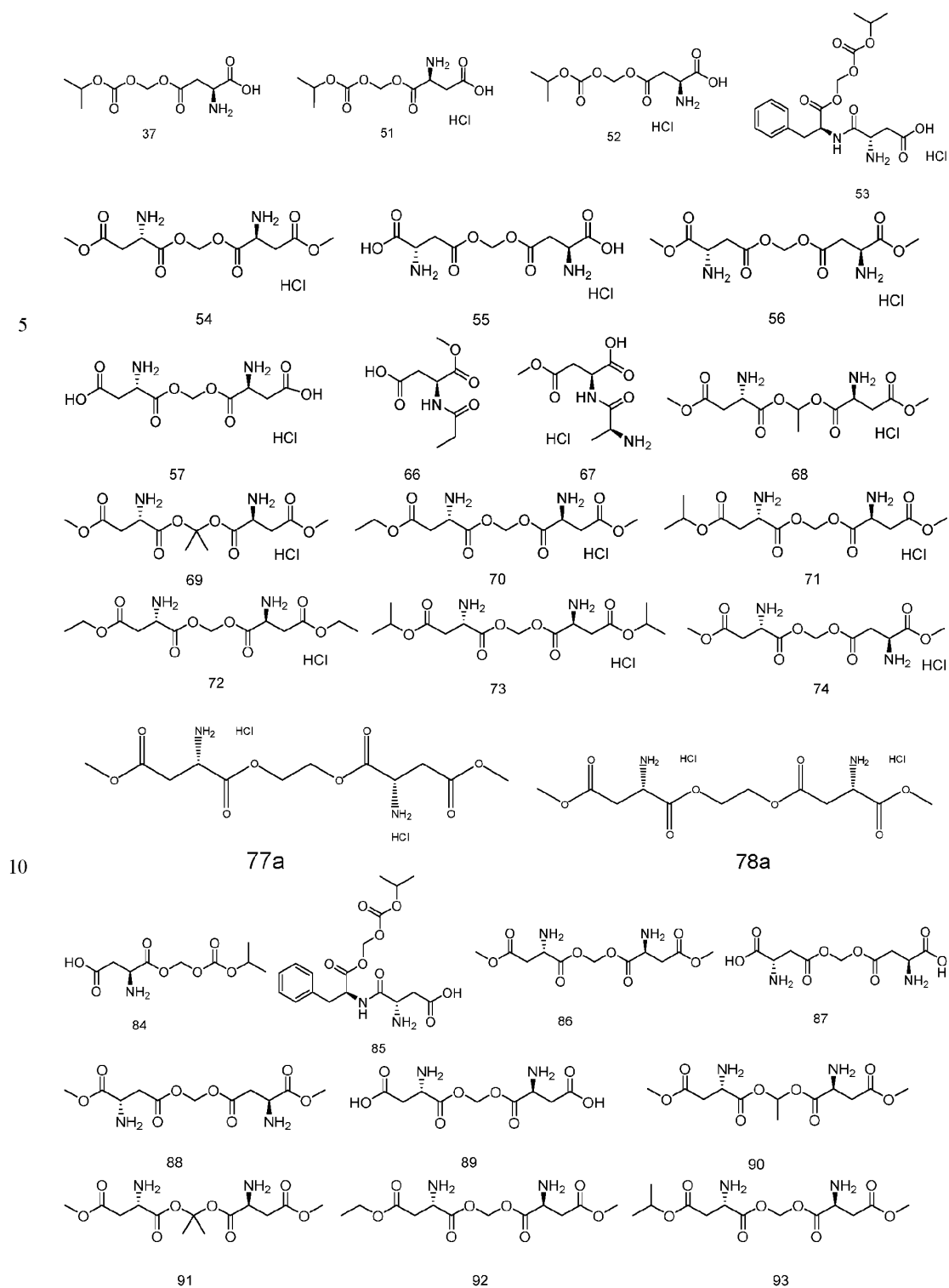
或者式 II 为:

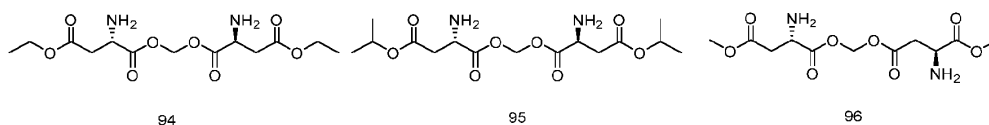


20



在一些实施方案中，式 II 或 II-1、II-2、II-3 所示的化合物选自以下：





在本发明的第十方面，本发明提供了药物组合物，其包含上述式 II 所示的化合物，其药学上可接受的盐或酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物。

在本发明的第十一方面，本发明提供了上述式 II 所示的化合物，其药学上可接受的盐、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，在制备药物或试剂中的用途，所述药物用于以下的至少一种：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、或炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达。

在本发明的第十二方面，本发明提供了药物组合物在制备药物或试剂中的用途，所述药物用于以下的至少一种：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、或炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达；

所述药物组合物包含上述式 II 所示的化合物，其药学上可接受的盐或酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物。

在本发明的第十三方面，本发明提供了上述式 II 所示的化合物，其药学上可接受的盐、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物或上述包含式 II 所示的化合物，其药学上可接受的盐或酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物的药物组合物，其用于以下的至少一种：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达。

在本发明的第十四方面，本发明提供了获得以下效应的方法：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达；

其包括给予有需要的受试者治疗有效量的上述式 II 所示的化合物，其药学上可接受的盐、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或上述包含式 II 所示的化合物，其药学上可接受的盐或酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物的药物组合物。

在本发明的上述第九方面至第十四方面，

在一些实施方案中，所述肝纤维化包括但不限于：慢性病毒性肝类疾病引起导致的肝纤维化、酗酒或长期饮酒引起导致的肝纤维化、肥胖等非酒精性因素引起导致的肝纤维化、反复感染血吸虫引起导致的门脉性肝纤维化、慢性胆汁淤积引起导致的胆汁性肝纤维化、肝豆状核变性和血色素沉积引起导致的代谢性肝纤维化、各种有毒物质引起导致的中毒性肝纤维化、喜好低蛋白饮食和偏爱肥肉煎炸食品导致的营养不良性肝纤维化、慢性充血性心衰导致的心源性肝纤维化。

在一些实施方案中，所述药物组合物还包含另外的活性成分：其他用于改善肝功能作用的氨基酸（包括但不限于丙氨酸、谷氨酸、胱氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、酪氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、精氨酸、亮氨酸）、胆固醇吸收抑制剂（如依替米贝）、HSC活化增殖抑制剂（如吡非尼酮、氟非尼酮、Pegbelfermin）PCSK9 抑制剂、PPAR 激动剂（如吉非罗齐、非诺贝特、氯贝特、苯扎贝特、培马贝特、Elafibranor）、ACE 抑制剂、CCR2/5 抑制剂、TLR4 抑制剂、LOXL2 抑制剂、TIMP-1 抑制剂、FXR 激动剂、AT1R 阻滞剂、NOX 抑制剂、钙离子通道阻断剂、ARBs、利尿剂、肾素、GLP-1 或其合成变体、胰岛素或其合成变体、二甲双胍、磺酰脲化合物、噻唑烷二酮(TZD)、SGLT2 抑制剂、DPP-IV 抑制剂、HMGCoA 还原酶的抑制剂、前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9 型(PCSK9)的抑制剂、吉卡宾(CI-1027)、ACC 抑制剂、ApoC-III 抑制剂、ACL-抑制剂（如贝派地酸）、处方鱼油、CETP 抑制剂、熊去氧胆酸、奥贝胆酸、多烯磷脂酰胆碱、糖皮质激素、水飞蓟素、甘草酸类制剂（如异甘草酸镁注射液和甘草酸二铵肠溶胶囊）以及它们的组合。

在一些实施方案中，所述药物组合物还包含药学上可接受的载体或辅料。

在一些实施方案中，所述药物组合物为固体制剂、注射剂、外用制剂、喷剂、液体制剂或复方制剂。

在本发明的以上各个方面及其实施方式中，

“C1-C6 烷基”以及各种涉及“C1-C6 烷基”的复合基团（例如，“卤代 C1-C6 烷基”）中的“C1-C6 烷基”可以替换为“C1-C20 烷基”、“C1-C12 烷基”、“C1-C10 烷基”、“C1-C8 烷基”、“C1-C4 烷基”、“C1-C3 烷基”或“C1-C2 烷基”；

“C2-C6 烯基”以及各种涉及“C2-C6 烯基”的复合基团中的“C2-C6 烯基”可以替换为“C2-C12 烯基”、“C2-C8 烯基”或“C2-C4 烯基”；

“C2-C6 炔基”以及各种涉及“C2-C6 炔基”的复合基团中的“C2-C6 炔基”可以替换为“C2-C12 炔基”、“C2-C8 炔基”或“C2-C4 炔基”；

“C3-C7 环烷基”以及各种涉及“C3-C8 环烷基”的复合基团中的“C3-C8 环烷基”可以替换为“C3-C20 环烷基”、“C3-C12 环烷基”或“C3-C10 环烷基”；

“C1-C6 烷氧基”以及各种涉及其的复合基团中的“C1-C6 烷氧基”可以替换为“C1-C20 烷氧基”、“C1-C12 烷氧基”或“C1-C10 烷氧基”；

“C6-C10 芳基”以及各种涉及其的复合基团中的“C6-C10 芳基”可以替换为“C6-C12 芳基”；

“3-7 元杂烷基”以及各种涉及其的复合基团中的“3-7 元杂烷基”可以替换为“2-14 元杂烷基”；

“3-15 元杂环基”以及各种涉及其的复合基团中的“3-15 元杂环基”可以替换为“3-20 元杂环基”、“3-12 元杂环基”或“3-10 元杂环基”。

附图说明

图 1 显示化合物 6、化合物 47、化合物 54 对 collagen I 和 collagen III 蛋白表达的抑制作用；GAPDH（甘油醛-3-磷酸脱氢酶）作为对照。

其中，“con”表示对照孔，“P1”表示阳性对照孔（羟尼酮），“ASP-50”表示天冬氨酸

浓度为 50 μ M；其余编号均为化合物编号-浓度(μ M)的形式：“6-50”表示化合物 6 浓度为 50 μ M，“6-100”表示化合物 6 浓度为 100 μ M，“6-200”表示化合物 6 浓度为 200 μ M；“47-50”表示化合物 47 浓度为 50 μ M，“47-100”表示化合物 47 浓度为 100 μ M，“47-200”表示化合物 47 浓度为 200 μ M；“54-50”表示化合物 54 浓度为 50 μ M，“54-100”表示化合物 54 浓度为 100 μ M，“54-200”表示化合物 54 浓度为 200 μ M。

图 2 显示化合物 4、化合物 6、化合物 41、化合物 47、化合物 48、化合物 52 对 α -SMA 蛋白表达的抑制作用；GAPDH 作为对照。

其中，“con”表示对照孔，“P1”表示阳性对照孔（羟尼酮），“ASP-50”表示天冬氨酸浓度为 50 μ M；其余编号均为化合物编号-浓度(μ M)的形式。

图 3 显示化合物 50、化合物 52、化合物 54 对 FN 蛋白表达的抑制作用；GAPDH 作为对照。

其中，“con”表示对照孔，“P1”表示阳性对照孔（羟尼酮），“ASP-50”表示天冬氨酸浓度为 50 μ M；其余编号均为化合物编号-浓度(μ M)的形式。

图 4 显示化合物 54、化合物 77a、化合物 78a 对给予 TGF β 刺激的 LX2 细胞的 Collagen I 蛋白和 α -SMA 蛋白表达的抑制作用；GAPDH 作为对照。

图 5 显示肝损伤小鼠模型的肝组织中 NS3TP1 表达的下降及不同剂量的化合物 6 对于肝损伤小鼠模型的肝组织中 NS3TP1 表达的调节作用，图中的“mpk”表示“mg per kg”。

图 6 显示腹腔注射四氯化碳后，给予化合物 4、化合物 6、化合物 47、化合物 54 治疗后，小鼠肝组织的马松染色切片。

其中，“40 $\times$ ”表示显微镜放大倍数为 40 倍，“100 $\times$ ”表示显微镜放大倍数为 100 倍。

图 7 显示腹腔注射四氯化碳后，给予不同剂量的化合物 6 治疗后，小鼠肝组织的马松染色切片。

其中，“40 $\times$ ”表示显微镜放大倍数为 40 倍，“100 $\times$ ”表示显微镜放大倍数为 100 倍。

图 8 显示口服和注射化合物 6 后大鼠体内的化合物 6 浓度（上左）、口服和注射化合物 6 后大鼠体内的天冬氨酸的浓度（上右）、注射生理盐水后大鼠体内的化合物 6 的浓度（下左）、注射生理盐水后大鼠体内的天冬氨酸的浓度（下右）。

图 9 显示给予 HFD 饮食饲喂后，不同剂量的化合物 6 治疗后，小鼠肝组织的 H&E 染色切片。

其中，“100 $\times$ ”表示显微镜放大倍数为 100 倍，“200 $\times$ ”表示显微镜放大倍数为 200 倍。

图 10 显示给予 CHOL 饮食饲喂后，不同剂量的化合物 6 治疗后，小鼠肝组织的 H&E 染色切片。

其中，“100 $\times$ ”表示显微镜放大倍数为 100 倍，“200 $\times$ ”表示显微镜放大倍数为 200 倍。

具体实施方式

下面详细描述本发明的实施例，下面描述的实施例是示例性的，旨在用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

本发明中，术语“有效量”或“治疗有效量”是指在合理的医学判断范围内，足以治疗或预防患者疾病但足够低地避免严重副作用（在合理的利益/风险比）的量。化合物的治疗有效量将根据所选择的具体化合物（例如考虑化合物的效力、有效性和半衰期）、所选择的给药途径、所治疗的疾病、所治疗的疾病的严重性、所治疗的患者的年龄、大小、体重和身体疾病、所治疗的患者的医疗史、治疗持续时间、并行疗法的性质、所需的治疗效果等因素发生变化，但仍可以由本领域技术人员常规确定。

本发明中，术语“哺乳动物”是指患有或有风险发生本文所述疾病的温血动物，包括但不限于豚鼠、狗、猫、大鼠、小鼠、仓鼠和灵长类动物，包括人。

另外需要指出, 所述式 I 或式 I-4 或式 II 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐和/或其溶剂化物和/或其水合物针对不同患者的特定使用剂量和使用方法决定于诸多因素, 包括患者的年龄, 体重, 性别, 自然健康状况, 营养状况, 药物的活性强度, 服用时间, 代谢速率, 病症的严重程度以及诊治医师的主观判断。这里优选使用剂量介于 0.001-1000mg/kg 体重/天。

本发明式 I 或式 I-4 或式 II 所示化合物的药学上可接受的盐包括其无机或有机酸盐, 以及无机或有机碱盐, 本发明涉及上述盐的所有形式。其中包括但不限于: 钠盐、钾盐、钙盐、锂盐、葡甲胺盐、盐酸盐, 氢溴酸盐, 氢碘酸盐, 硝酸盐, 硫酸盐, 硫酸氢盐, 磷酸盐, 磷酸氢盐, 乙酸盐, 丙酸盐, 丁酸盐, 草酸盐, 三甲基乙酸盐, 己二酸盐, 藻酸盐, 乳酸盐, 柠檬酸盐, 酒石酸盐, 琥珀酸盐, 马来酸盐, 富马酸盐, 苦味酸盐, 天冬氨酸盐, 葡糖酸盐, 苯甲酸盐, 甲磺酸盐, 乙磺酸盐, 苯磺酸盐, 对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐等。

本发明涉及的药物组合物可以包括药学上可接受的载体, 载体包括但不限于: 离子交换剂, 氧化铝, 硬脂酸铝, 卵磷脂, 血清蛋白如人血白蛋白, 缓冲物质如磷酸盐, 甘油, 山梨酸, 山梨酸钾, 饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物, 水, 盐或电解质, 如硫酸鱼精蛋白, 磷酸氢二钠, 磷酸氢钾, 氯化钠, 锌盐, 胶态氧化硅, 三硅酸镁, 聚乙烯吡咯烷酮, 纤维素物质, 聚乙二醇, 羧甲基纤维素钠, 聚丙烯酸酯, 蜂蜡, 羊毛脂。

本发明所述药物组合物可以根据不同给药途径而制备成各种形式。

根据本发明, 所述的药物组合物可以以下面的任意方式施用: 口服、喷雾吸入、直肠用药、鼻腔用药、颊部用药、阴道用药、局部用药、非肠道用药如皮下、静脉、肌内、腹膜内、鞘内、心室内、胸骨内和颅内注射或输入、或借助一种外植储器用药。其中优选口服、腹膜内或静脉内用药方式。

当口服用药时, 所述式 I 或式 I-4 或式 II 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐和/或其溶剂化物和/或其水合物可制成任意口服可接受的制剂形式, 包括但不限于片剂、胶囊、水溶液或水悬浮液。其中, 片剂一般使用的载体包括乳糖和玉米淀粉, 另外也可加入润滑剂如硬脂酸镁。胶囊制剂一般使用的稀释剂包括乳糖和干燥玉米淀粉。水悬浮液制剂则通常是将活性成分与适宜的乳化剂和悬浮剂混合使用。如果需要, 以上口服制剂形式中还可加入一些甜味剂、芳香剂或着色剂。

当直肠用药时, 所述式 I 或式 I-4 或式 II 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐和/或其溶剂化物和/或其水合物一般可制成栓剂的形式, 其通过将药物与一种适宜的非刺激性赋形剂混合而制得。该赋形剂在室温下呈现固体状态, 而在直肠温度下熔化释出药物。该类赋形剂包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

当局部用药时, 特别是治疗局部外敷容易达到的患面或器官, 如眼睛、皮肤或下肠道神经性疾病时, 所述式 I 或式 I-4 或式 II 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐和/或其溶剂化物和/或其水合物可根据不同的患面或器官制成不同的局部用药制剂形式, 具体说明如下:

当眼部局部施用时, 所述式 I 或式 I-4 或式 II 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐和/或其溶剂化物和/或其水合物可配制成一种微粉化悬浮液或溶液的制剂形式, 所使用载体为等渗的一定 pH 的无菌盐水, 其中可加入也可不加防腐剂如氯化苄基乙醇盐。此外对于眼用, 也可将化合物制成膏剂形式如凡士林膏。

当皮肤局部施用时, 所述式 I 或式 I-4 或式 II 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐和/或其溶剂化物和/或其水合物可制成适当的软膏、洗剂或霜剂制剂形式, 其中活性成分悬浮或溶解于一种或多种载体中。这里软膏即可使用的载体包括但不限于: 矿物油、液体凡士林、白凡士林、丙二醇、聚氧化乙烯、聚氧化丙烯、乳化蜡和水; 洗剂或霜剂可使用的载体包括但不限于: 矿物油、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯、吐

温 60、十六烷酯蜡、十六碳烯芳醇、2-辛基十二烷醇、苜醇和水。

当下肠道局部施用，所述式 I 或式 I-4 或式 II 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐和/或其溶剂化物和/或其水合物可制成如上所述的直肠栓剂制剂或适宜的灌肠制剂形式，另外也可使用局部透皮贴剂。

- 5 所述式 I 或式 I-4 或式 II 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐和/或其溶剂化物和/或其水合物还可以无菌注射制剂形式用药，包括无菌注射水或油悬浮液，或无菌注射溶液。其中，可使用的载体和溶剂包括水，林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外，灭菌的非挥发油也可用作溶剂或悬浮介质，如单甘油酯或二甘油酯。

上述各种剂型的药物均可以按照药学领域的常规方法制备。

- 10 在本说明书的各部分，本发明公开化合物的取代基按照基团种类或范围公开。特别指出，本发明包括这些基团种类和范围的各个成员的每一个独立的次级组合。例如，术语“C1-C6 烷基”特别指独立公开的甲基、乙基、C3 烷基、C4 烷基、C5 烷基和 C6 烷基，或者“C1-C4 烷基”，或者“C1-C3 烷基”。

- 15 另外，需要说明的是，除非以其他方式明确指出，在本文中通篇采用的描述方式“...各自独立选自”应做广义理解，其是指不同的符号之间所表达的具体选项之间互不影响，可以相同，也可以不同。

“任选地”表示所提及的情况可以为存在，也可以为不存在。例如，描述某一结构“任选地”被某些基团取代时，表示所述的“取代”可以存在，也可以不存在。

- 20 除非其他方面表明，本发明所描述的结构式包括所有的同分异构形式(如对映异构、非对映异构，和几何异构(或构象异构)：例如含有不对称中心的 R、S 构型，双键的(Z)、(E)异构体，和(Z)、(E)的构象异构体。因此，本发明的化合物的单个立体化学异构体或其对映异构体，非对映异构体，或几何异构体(或构象异构体)的混合物都属于本发明的范围。

- 25 本发明公开化合物的任何不对称原子(例如，碳等)都可以以外消旋或对映体富集的形式存在，例如 (R)、(S) 或(R,S) 构型形式存在。在某些实施方案中，各不对称原子在(R) 或(S) 构型方面具有至少 50%对映体过量，至少 60%对映体过量，至少 70%对映体过量，至少 80%对映体过量，至少 90%对映体过量，至少 95%对映体过量，或至少 99%对映体过量。

- 30 本发明所使用的术语“前药”，代表一个化合物在体内转化为式(I)所示的化合物。这样的转化受前体药物在血液中水解或在血液或组织中经酶转化为母体结构的影响。本发明前体药物类化合物可以是酯，在现有的发明中酯可以作为前体药物的有苯酯类、脂肪族(C1-24)酯类，酰氧基甲基酯类，碳酸酯，氨基甲酸酯类和氨基酸酯类。

- 35 “代谢产物”是指具体的化合物或其盐在体内通过代谢作用所得到的产物。一个化合物的代谢产物可以通过所属领域公知的技术来进行鉴定，其活性可以通过如本发明所描述的那样采用试验的方法进行表征。这样的产物可以通过给药化合物经过氧化、还原、水解、酰氨化、脱酰氨作用、酯化、脱脂作用、酶裂解等等方法得到。相应地，本发明包括化合物的代谢产物，包括将本发明的化合物与哺乳动物充分接触一段时间所产生的代谢产物。

- 40 本发明的“溶剂化物”是指一个或多个溶剂分子与本发明的化合物所形成的缔合物。形成溶剂化物的溶剂包括，但并不限于，水、异丙醇、乙醇、甲醇、二甲亚砜、乙酸乙酯、乙酸、氨基乙醇。术语“水合物”是指溶剂分子是水所形成的缔合物。

术语“卤素”和“卤代”在本发明中可互换使用，是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)。

- 45 本发明使用的术语“烷基”包括 1-20 个碳原子饱和直链或支链的单价烃基 (C1-C20 烷基)，其中烷基可以独立任选地被一个或多个本发明所描述的取代基所取代。其中一些实施例是，烷基基团含有 1-12 个碳原子 (C1-C12 烷基)；另外一些实施例是，烷基基团含有 1-10 个碳原子 (C1-C10 烷基)；另外一些实施例是，烷基基团含有 1-8 个碳

原子 (C1-C8 烷基); 另外一些实施例是, 烷基基团含有 1-6 个碳原子 (C1-C6 烷基); 另外一些实施例是, 烷基基团含有 1-4 个碳原子 (C1-C4 烷基); 另外一些实施例是, 烷基基团含有 1-3 个碳原子 (C1-C3 烷基); 另外一些实施例是, 烷基基团含有 1-2 个碳原子 (C1-C2 烷基)。烷基基团更进一步的实例包括, 但不限于, 甲基(Me, -CH₃)、乙基(Et, -CH₂CH₃)、正丙基(n-Pr, -CH₂CH₂CH₃)、异丙基(i-Pr, -CH(CH₃)₂)、正丁基(n-Bu, -CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-甲基丙基或异丁基(i-Bu, -CH₂CH(CH₃)₂)、1-甲基丙基或仲丁基(s-Bu, -CH(CH₃)CH₂CH₃)、叔丁基(t-Bu, -C(CH₃)₃)、正戊基(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-戊基(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃)、3-戊基(-CH(CH₂CH₃)₂)、2-甲基-2-丁基(-C(CH₃)₂CH₂CH₃)、3-甲基-2-丁基(-CH(CH₃)CH(CH₃)₂)、3-甲基-1-丁基(-CH₂CH₂CH(CH₃)₂)、2-甲基-1-丁基(-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃)、正己基(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-己基(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃)、3-己基(-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃))、2-甲基-2-戊基(-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃)、3-甲基-2-戊基(-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃)、4-甲基-2-戊基(-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂)、3-甲基-3-戊基(-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂)、2-甲基-3-戊基(-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂)、2,3-二甲基-2-丁基(-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂)、3,3-二甲基-2-丁基(-CH(CH₃)C(CH₃)₃)、正庚基、正辛基, 等等。

术语“C1-C6 烷基”指的是任意的含有 1—6 个碳原子烷基, 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“烯基”表示含有 2-12 个碳原子 (C2-C12 烯基), 或 2-8 个碳原子 (C2-C8 烯基), 或 2-6 个碳原子 (C2-C6 烯基), 或 2-4 个碳原子 (C2-C4 烯基) 的直链或支链的一价烃基, 其中至少有一个位置的 C-C 为 sp² 双键, 包括有“顺”、“反”或“Z”、“E”异构体, 其中具体的实例包括, 但不限于, 乙烯基(-CH=CH₂), 丙烯基(-CH=CHCH₃)、烯丙基(-CH₂CH=CH₂)等等。

术语“C2-C6 烯基”指的是任意的含有 2—6 个碳原子且含有至少一个双键的烯基, 例如乙烯基、烯丙基、1-丙烯基、异丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-戊烯基、1-己烯基等。

术语“炔基”表示含有 2-12 个碳原子 (C2-C12 炔基), 或 2-8 个碳原子 (C2-C8 炔基), 或 2-6 个碳原子 (C2-C6 炔基), 或 2-4 个碳原子 (C2-C4 炔基) 的直链或支链的一价烃基, 其中至少有一个位置的 C-C 为 sp 三键, 具体的实例包括, 但不限于, 乙炔基(-C≡CH)、炔丙基(-CH₂C≡CH)、丙炔基(-C≡C-CH₃)、1-炔丁基(-CH₂CH₂C≡CH)、2-炔丁基(-CH₂C≡CCCH₃)、3-炔丁基(-C≡CCCH₂CH₃)等等。

术语“C2-C6 炔基”指的是任意的含有 2—6 个碳原子且含有至少一个三键的炔基, 例如乙炔基、2-丙炔基、4-戊炔基等。

术语“烷氧基”表示烷基基团通过氧原子与分子其余部分相连, 其中烷基基团具有如本发明所述的含义。除非另外详细说明, 所述烷氧基基团含有 1-12 个碳原子, 可以表示为 C1-C12 烷氧基。在一些实施方案中, 烷氧基基团含有 1-8 个碳原子, 可以表示为 C1-C8 烷氧基; 在另一些实施方案中, 烷氧基基团含有 1-6 个碳原子, 可以表示为 C1-C6 烷氧基; 在另一些实施方案中, 烷氧基基团含有 1-4 个碳原子, 可以表示为 C1-C4 烷氧基; 在又一些实施方案中, 烷氧基基团含有 1-3 个碳原子, 可以表示为 C1-C3 烷氧基。烷氧基基团的实例包括, 但不限于, 甲氧基(MeO、-OCH₃)、乙氧基(EtO、-OCH₂CH₃)、1-丙氧基(n-PrO、n-丙氧基、-OCH₂CH₂CH₃)、2-丙氧基(i-PrO、i-丙氧基、-OCH(CH₃)₂)、1-丁氧基(n-BuO、n-丁氧基、-OCH₂CH₂CH₂CH₃)、2-甲基-1-丙氧基(i-BuO、i-丁氧基、-OCH₂CH(CH₃)₂)、2-丁氧基(s-BuO、s-丁氧基、-OCH(CH₃)CH₂CH₃)、2-甲基-2-丙氧基(t-BuO、t-丁氧基、-OC(CH₃)₃)、1-戊氧基(n-戊氧基、-OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-戊氧基(-OCH(CH₃)CH₂CH₂CH₃)、3-戊氧基(-OCH(CH₂CH₃)₂)、2-甲基-2-丁氧基(-OC(CH₃)₂CH₂CH₃)、3-甲基-2-丁氧基(-OCH(CH₃)CH(CH₃)₂)、3-甲基-1-丁氧基(-OCH₂CH₂CH(CH₃)₂)、2-甲基-1-丁氧基(-

OCH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 等等。

术语“烷基”或“烷基氨基”包括“N-烷基氨基”和“N,N-二烷基氨基”，其中氨基基团分别独立地被一个或两个烷基基团所取代，其中烷基基团具有如本发明所述的含义。合适的烷基氨基基团可以是单烷基氨基或二烷基氨基，这样的实例包括，但并不限于，
5 N-甲氨基，N-乙氨基，N,N-二甲氨基，N,N-二乙氨基等等。所述烷基氨基基团任选地被一个或多个本发明所描述的取代基所取代。

术语“卤代烷氧基”表示烷氧基基团被一个或多个卤素原子所取代，其中烷氧基基团具有如本发明所述的含义，这样的实例包含，但并不限于，-OCHF₂、-OCF₃、-OCHFCH₂F、-OCF₂CHF₂、-OCH₂CF₃、-OCHFCH₃、-OCH₂CH₂F、-OCF₂CH₃、-OCH₂CF₂CHF₂等。在一实施方案中，C1-C6 卤代烷氧基包含氟取代的 C1-C6 烷氧基；在另一实施方案中，C1-C4 卤代烷氧基包含氟取代的 C1-C4 烷氧基；在又一实施方案中，C1-C2 卤代烷氧基包含氟取代的 C1-C2 烷氧基。

术语“环烷基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，环烷基环包含 3 至 20 个碳原子（即“C3-C20 环烷基”），优选包含 3 至 12 个碳原子（即“C3-C12 环烷基”），更优选包含 3 至 10 个碳原子（即“C3-C10 环烷基”），最优选包含 3 至 7 个碳原子（即“C3-C8 环烷基”）。单环环烷基（例如，“C3-C7 环烷基”）的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基等；多
15 环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基。

术语“卤代 C1-C6 烷基”是指 C1-C6 烷基骨架被一个或多个卤素取代所成的基团，
20 例如，单氟甲基，二氟乙基，三氟甲基等。

术语“卤素”指的是氟、氯、溴、碘。

术语“C6-C12 芳基”指的是具有 6-12 个碳原子的碳环芳族体系的基团。

术语“C6-C10 芳基”指的是具有 6-10 个碳原子的碳环芳族体系的基团，例如苯基、萘基等。

术语“杂烷基”指的是直链或支链烷基（优选具有 2 至 14 个或者 3 至 7 个碳的烷基）中的一个或多个碳被独立选自 S、O、P 或 N 的杂原子替代（即“2-14 元杂烷基”或“3-7 元杂烷基”）。示例性杂烷基包括烷基醚、烷基胺、仲烷基胺、硫醚等。

术语“杂环基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，其包含 3 至 20 个环原子（即“3-20 元杂环基”），其中一个或多个环原子为选自氮、氧或 S(O)_m（其中 m 是整数 0 至 2）的杂原子，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-的环部分，其余环原子为碳。优选包含
30 3 至 15 个环原子（即“3-15 元杂环基”）或 3 至 12 个环原子（即“3-12 元杂环基”），其中 1-4 个是杂原子；更优选环烷基环包含 3 至 10 个环原子（即“3-10 元杂环基”）。单环杂环基（例如，3-7 元杂环基）的非限制性实例包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。

术语“3-15 元杂环基”指的是 3-、4-、5-、6-和 7-元直至 15 元饱和或部分不饱和碳环，其中一个或多个碳原子被杂原子例如氮、氧和硫替代。“3-15 元杂环基”包括例如
35 “3-7 元杂环基”，其非限制性实例，例如硫杂环丁烷基、吡喃、吡咯烷、吡咯啉、咪唑啉、咪唑烷、吡唑烷、吡唑啉、噻唑啉、噻唑烷、二氢呋喃、四氢呋喃、1,3-二氧戊环、哌啶、哌嗪、吗啉、吗啡啉基、四氢吡咯基、硫吗啉基等。

术语“多环芳香烃基”指的是 1-2 个 C5-C6 芳香环与 1-2 个芳香环或非芳香环稠合在一起形成的基团，其非限制性实例，例如茚基、萘基、菲基、苝基等。

复合结构如“-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b3}”，其指的是任意 n 个上述 C1-C6 烷基（如甲基、乙基）等，其通过氧（-O-）以及羰基（-(C=O)-）连接到 R^{b3}。其他类似的复合结构的含义可以参照前述内容进行理解。

肽：一个氨基酸的氨基与另一个氨基酸的羧基缩合成肽；例如：C[#]OOH-CH(N[#]H₂)-CH₂-C[#]OOH，可以通过一个、两个或三个#号标记的原子与其他氨基酸形成肽键。

本发明给出的任何结构式也意欲表示这些化合物未被同位素富集的形式以及同位素富集的形式。同位素富集的化合物具有本发明给出的通式描绘的结构，除了一个或多个原子被具有所选择原子量或质量数的原子替换。可引入本发明化合物中的示例性同位素包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯的同位素，如 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{18}F 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 和 ^{125}I 。

$^*\text{N}=\text{CH}-\text{NH}-\text{CH}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 中 N 与 C 有 * 号标记，表示的是 * 号标记的两个原子单键相连。

简写说明

Boc: 叔丁氧羰基

Cbz: 苄氧羰基

Ph: 苯基

Fmoc: 芴甲氧羰基

Trt: 三苯甲基

HO-p-Ph-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-: 对羟基苯甲基氨基甲基羧基

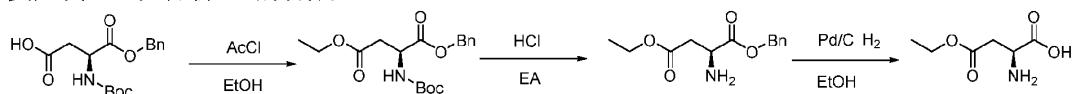
下面结合具体实施例对本发明进行进一步的解释说明。

部分已知化合物的购买来源

化合物	CAS	供应商	化合物	CAS	供应商
1	13726-67-5	毕得医药	24	7536-58-5	毕得医药
2	1152-61-0	毕得医药	25	4668-42-2	毕得医药
3	4226-18-0	毕得医药	26	98045-03-5	毕得医药
4	17812-32-7	毕得医药	27	132388-58-0	毕得医药
5	145038-52-4	毕得医药	28	4685-12-5	毕得医药
6	16856-13-6	毕得医药	29	19427-28-2	毕得医药
7	32213-95-9	毕得医药	30	997-55-7	毕得医药
8	59768-74-0	毕得医药	31	117833-18-8	毕得医药
9	145038-53-5	毕得医药	32	22839-61-8	毕得医药
10	144120-53-6	毕得医药	33	7175-34-0	毕得医药
11	146982-24-3	毕得医药	34	3790-52-1	毕得医药
12	16115-68-7	毕得医药	38	80863-62-3	京东
13	3057-74-7	毕得医药	39	13433-09-5	毕得医药
14	4125-93-3	毕得医药	40	85227-98-1	毕得医药
15	2673-19-0	毕得医药	41	1791-13-5	毕得医药
16	5545-52-8	毕得医药	42	52615-97-1	毕得医药
17	1676-90-0	毕得医药	43	23220-52-2	毕得医药
18	71989-14-5	毕得医药	44	34582-30-4	毕得医药
19	152548-66-8	毕得医药	45	6853-87-8	毕得医药
20	7362-93-8	毕得医药	46	207121-48-0	毕得医药
21	30925-18-9	毕得医药	47	56-86-0	毕得医药
22	2177-63-1	毕得医药	48	22839-47-0	毕得医药
23	112259-66-2	毕得医药			

合成实施例

实施例 1: 化合物 35 的合成



5

步骤 1: 合成 1-苄基 4-乙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将(S)-4-(苄氧基)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸 (1 g, 3.096 mmol)溶解在二氯甲烷 (10 mL)中, 向反应体系滴加乙酰氯 (490 mg, 6.19 mmol), 反应液室温搅拌 1 小时。浓缩反应液, 然后加二氯甲烷稀释, 将上述液体滴加入无水乙醇 (10 ml), 反应液室温搅拌 1 小时。检测反应完全后, 水洗反应液, 分离并干燥有机相, 浓缩有机相得到 1-苄基 4-乙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 900 mg, MS m/z (ESI): 352 [M+H]⁺。

10

步骤 2: 合成 1-苄基 4-乙基 L-天冬氨酸

室温下, 将 1-苄基 4-乙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (900 mg, 2.56 mmol) 溶解在乙酸乙酯 (5 mL)中, 向反应体系加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (2M) (7.7 ml, 15.38 mmol), 反应液在室温下反应 1 小时。TLC 监测反应完全后, 浓缩反应液得到 1-苄基 4-乙基 L-天冬氨酸 600 mg。MS m/z (ESI): 252[M+H]⁺。

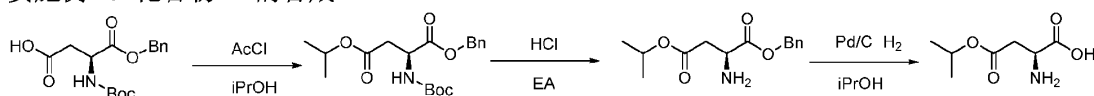
15

步骤 3: 合成 4-乙基 L-天冬氨酸

将 1-苄基 4-乙基 L-天冬氨酸 (600 mg, 2.39 mmol)溶解在乙醇 (5 mL)中, 加入钯碳 (120 mg), 在氢气气氛下室温搅拌反应 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩滤液得到 4-乙基 L-天冬氨酸 (化合物 35) 200 mg。MS m/z (ESI): 162[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.92 (s, 1H), 8.49 (s, 2H), 4.17 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.13 – 4.06 (m, 2H), 2.98 – 2.86 (m, 2H), 1.18 (t, J = 7.1 Hz, 3H)。

20

实施例 2: 化合物 36 的合成



25

步骤 1: 合成 1-苄基 4-异丙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将(S)-4-(苄氧基)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸 (1 g, 3.096 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 向反应体系滴加乙酰氯 (490 mg, 6.19 mmol), 反应液室温搅拌 1 小时。浓缩反应液, 加二氯甲烷稀释, 将上述液体滴加至异丙醇 (10 ml), 反应液室温搅拌 1 小时。TLC 检测反应完全后, 水洗反应液, 分离并干燥有机相, 浓缩有机相得到 1-苄基 4-异丙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 850 mg, MS m/z (ESI): 366 [M+H]⁺。

30

步骤 2: 合成 1-苄基 4-异丙基 L-天冬氨酸

室温下, 将 1-苄基 4-异丙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (860 mg, 2.35 mmol) 溶解在乙酸乙酯 (5 mL)中, 然后加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (2M) (7.07 ml, 14.14 mmol), 该溶液在室温下反应 1 小时。TLC 监测反应完全, 浓缩反应液得到 1-苄基 4-异丙基 L-天冬氨酸 500 mg。MS m/z (ESI): 266[M+H]⁺。

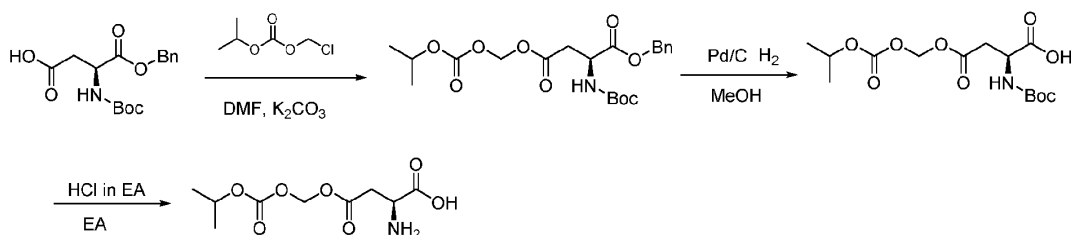
35

步骤 3: 合成 4-异丙基 L-天冬氨酸

将 1-苄基 4-异丙基 L-天冬氨酸 (500 mg, 1.88 mmol)溶解在乙醇 (5 mL)中, 加入钯碳 (100 mg), 在氢气气氛下室温搅拌反应 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩滤液得到 4-异丙基 L-天冬氨酸 (化合物 36) 200 mg。MS m/z (ESI): 176 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.90 (s, 2H), 4.99 – 4.93 (m, 1H), 4.17 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 2.92 – 2.89 (m, 2H), 1.18 (dd, J = 6.2, 1.5 Hz, 6H)。

40

实施例 3: 化合物 37 的合成



步骤 1: 合成 1-苄基 4-((异丙氧基羰基)氧基)甲基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将(S)-4-(苄氧基)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸 (2 g, 6.19 mmol), 氯甲基异丙基碳酸酯 (1.47 g, 9.29 mmol) 和碳酸钾 (1.7 g, 12.38 mmol) 溶解在 DMF (10 mL) 中, 反应液室温搅拌 16 小时。反应完全后, 加水稀释反应液, 用乙酸乙酯萃取、盐水洗反应液, 分离并干燥有机相, 浓缩有机相得到 1-苄基 4-((异丙氧基羰基)氧基)甲基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 900 mg。MS m/z (ESI): 440 [M+H]⁺。

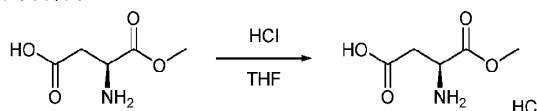
步骤 2: 合成 (S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-4-氧代丁酸

将 1-苄基 4-((异丙氧基羰基)氧基)甲基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (900 mg, 2.05 mmol) 溶解在甲醇 (5 mL) 中, 加入钯碳 (180 mg), 在氢气气氛下室温搅拌反应 16 h。TLC 监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩滤液得到 (S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-4-氧代丁酸 500 mg。MS m/z (ESI): 350 [M+H]⁺。

步骤 3: 合成 4-((异丙氧基羰基)氧基)甲基)-L-天冬氨酸

室温下, 将 (S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-4-氧代丁酸 (500 mg, 1.43 mmol) 溶解在乙酸乙酯 (5 mL) 中, 加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (2M) (4.3 mL, 8.6 mmol), 该溶液在室温下反应 1 小时。TLC 监测反应完全, 浓缩反应液, 加水稀释反应液, 加入碳酸氢钠将溶液调节 pH 至中性。乙酸乙酯萃取混合物, 分离有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥、减压浓缩得到 4-((异丙氧基羰基)氧基)甲基)-L-天冬氨酸 (化合物 37) 100 mg。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.93 (s, 1H), 8.66 (s, 2H), 5.69 (d, J = 12.8 Hz, 2H), 4.79 (h, J = 6.2 Hz, 1H), 4.18 (s, 1H), 3.16 – 2.94 (m, 2H), 1.23 (d, J = 6.2 Hz, 6H)。MS m/z (ESI): 250 [M+H]⁺。

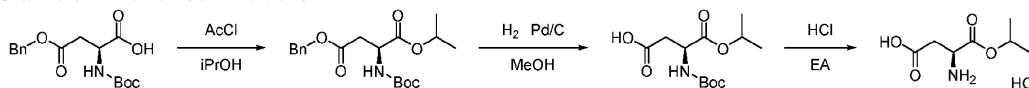
实施例 4: 化合物 49 的合成



25 合成 (S)-3-氨基-4-甲氧基-4-氧代丁酸盐酸盐

将 (S)-3-氨基-4-甲氧基-4-氧代丁酸 (100 mg, 0.68 mmol) 溶解于四氢呋喃 (3 mL) 中, 加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (0.34 mL, 0.68 mmol), 室温搅拌 30 分钟后可见固体析出。过滤混合物取滤渣, 干燥滤渣即得 (S)-3-氨基-4-甲氧基-4-氧代丁酸盐酸盐 (化合物 49) 80 mg。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.60 (s, 1H), 4.23 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.94 (d, J = 5.2 Hz, 2H)。MS m/z (ESI): 184 [M+H]⁺。

实施例 5: 化合物 50 的合成



步骤 1: 合成 4-苄基 1-异丙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将 (S)-4-(苄氧基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸 (1 g, 3.096 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 向反应体系滴加乙酰氯 (490 mg, 6.19 mmol), 反应液室温搅拌 1 小时。浓缩反应液, 加入二氯甲烷稀释, 将上述液体滴加至异丙醇 (10 mL) 中, 反应液室温搅拌 1 小时。TLC 检测反应完全后, 水洗反应液, 分离并干燥有机相, 浓缩有机相得到 4-苄基

1-异丙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 840 mg, MS m/z (ESI): 366 [M+H]⁺。

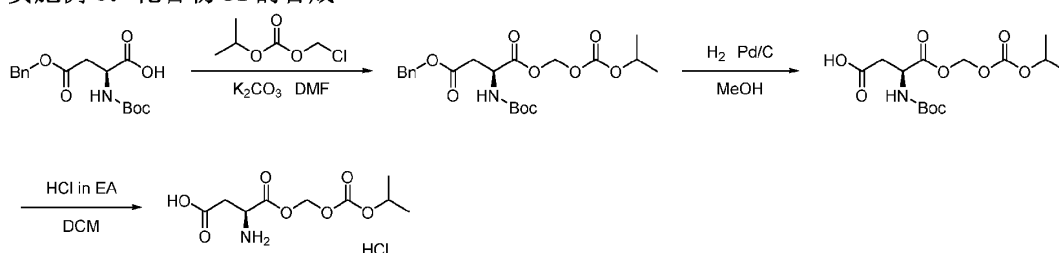
步骤 2: 合成 (S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酸

将 4-苄基 1-异丙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸(840 mg, 2.3 mmol)溶解在乙醇 (5 mL)中, 加入钯碳 (160 mg), 在氢气气氛下室温搅拌反应 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩滤液得到(S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酸 300 mg。MS m/z (ESI): 276 [M+H]⁺。

步骤 3: 合成 1-异丙基 L-天冬氨酸盐酸盐

室温下, 将(S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酸 (300 mg, 1.1mmol)溶解在乙酸乙酯(5 mL)中, 向反应体系加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (2M) (3.3 mL, 6.55 mmol), 该溶液在室温下反应 1 小时。TLC 监测反应完全, 浓缩反应液得到 1-异丙基 L-天冬氨酸盐酸盐 (化合物 50) 130 mg。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.00 (s, 1H), 8.58 (s, 2H), 4.97 (p, J = 6.3 Hz, 1H), 4.19 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 2.90 (dd, J = 5.2, 1.8 Hz, 2H), 1.20 (dd, J = 10.2, 6.2 Hz, 6H)。MS m/z (ESI): 212[M+H]⁺。

实施例 6: 化合物 51 的合成



步骤 1: 合成 4-苄基 1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲基)(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将(S)-4-(苄氧基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸 (10 g, 30.96 mmol), 氯甲基异丙基碳酸酯 (5.65 g, 37.15 mmol) 和碳酸钾 (8.54 g, 61.92 mmol) 溶解在 DMF(100 mL)中, 反应液室温搅拌 16 小时。反应完全后, 加水稀释反应液, 用乙酸乙酯萃取、盐水洗涤反应液, 分离并干燥有机相, 浓缩有机相得到 4-苄基 1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲基)(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 4.2 g。MS m/z (ESI): 440 [M+H]⁺。

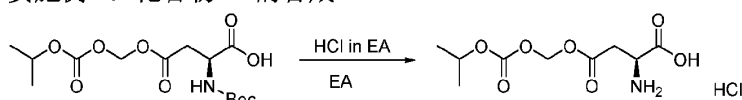
步骤 2: 合成 (S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-4-氧代丁酸

将 4-苄基 1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲基)(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (4.2 g, 9.57mmol) 溶解在甲醇 (50 mL)中, 加入钯碳 (810 mg), 在氢气气氛下室温搅拌反应 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩滤液得到(S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-4-氧代丁酸 3 g。MS m/z (ESI): 350 [M+H]⁺。

步骤 3: 合成 1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲基)L-天冬氨酸盐酸盐

室温下, 将(S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-4-氧代丁酸 (3 g, 8.60mmol) 溶解在乙酸乙酯 (30 mL) 中, 加入氯化氢的乙酸乙酯溶液(2M) (25.8 mL, 51.58 mmol), 该溶液在室温下反应 1 小时。TLC 监测反应完全, 反应液浓缩, 得到 1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲基)L-天冬氨酸盐酸盐 (化合物 51) 1.2 g。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.80 (s, 2H), 5.79 – 5.68 (m, 2H), 4.80 (p, J = 6.2 Hz, 1H), 4.34 (s, 1H), 2.97 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 1.23 (d, J = 6.2 Hz, 6H)。MS m/z (ESI): 286[M+H]⁺。

实施例 7: 化合物 52 的合成

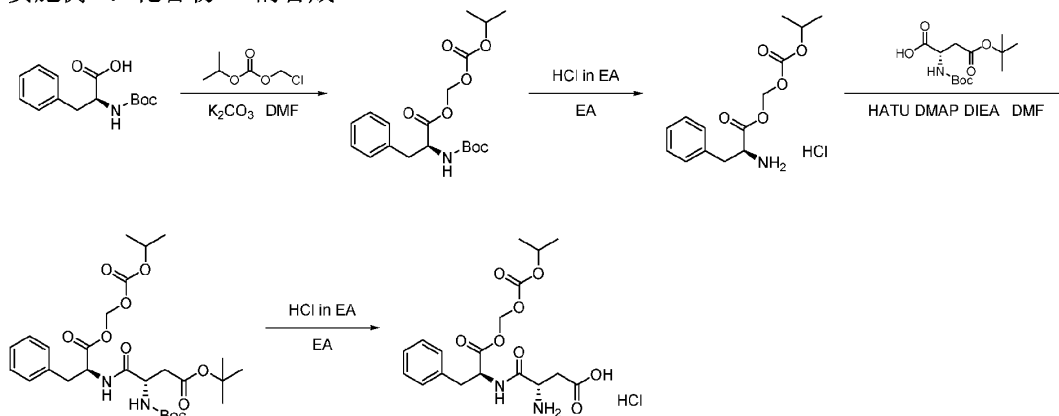


合成 4-(((异丙氧基羰基)氧基)甲基)-L-天冬氨酸盐酸盐

室温下, 将(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-4-氧代丁酸

- (500 mg, 1.43 mmol) 溶解在乙酸乙酯 (5 mL) 中, 加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (2M) (4.3 mL, 8.6 mmol), 该溶液在室温下反应 1 小时。TLC 监测反应完全, 浓缩反应液得到 4-(((异丙氧基羰基)氧基)甲基)-L-天冬氨酸盐酸盐 (化合物 52) 130 mg。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.93 (s, 1H), 8.66 (s, 2H), 5.69 (d, *J* = 12.8 Hz, 2H), 4.79 (h, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.18 (s, 1H), 3.16 – 2.94 (m, 2H), 1.23 (d, *J* = 6.2 Hz, 6H)。MS *m/z* (ESI): 286[M+H]⁺。

实施例 8: 化合物 53 的合成



步骤 1: 合成((异丙氧基羰基)氧基)甲基(叔丁氧基羰基)-L-苯丙氨酸

- 10 将(叔丁氧基)-L-苯丙氨酸 (2 g, 7.55 mmol)、氯甲基异丙基碳酸酯 (1.38 g, 9.06 mmol) 和碳酸钾 (2.08 g, 15.09 mmol) 溶解在 DMF (10 mL) 中, 反应液室温搅拌 16 小时。反应完全后, 加水稀释反应液, 用乙酸乙酯萃取、盐水洗反应液, 分离并干燥有机相, 浓缩得到((异丙氧基羰基)氧基)甲基(叔丁氧基羰基)-L-苯丙氨酸 550 mg。MS *m/z* (ESI): 382[M+H]⁺。

- 15 步骤 2: 合成((异丙氧基羰基)氧基)甲基 L-苯丙氨酸盐酸盐

室温下, 将((异丙氧基羰基)氧基)甲基(叔丁氧基羰基)-L-苯丙氨酸 (550 mg, 1.44 mmol) 溶解在乙酸乙酯 (5 mL) 中, 然后加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (2M) (4.33 mL, 8.66 mmol), 上述反应液在室温下反应 1 小时。TLC 监测反应完全, 反应液浓缩, 得到((异丙氧基羰基)氧基)甲基 L-苯丙氨酸盐酸盐 416 mg。MS *m/z* (ESI): 318[M+H]⁺。

- 20 步骤 3: 合成(S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(((S)-1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基)氨基)-4-氧代丁酸叔丁酯

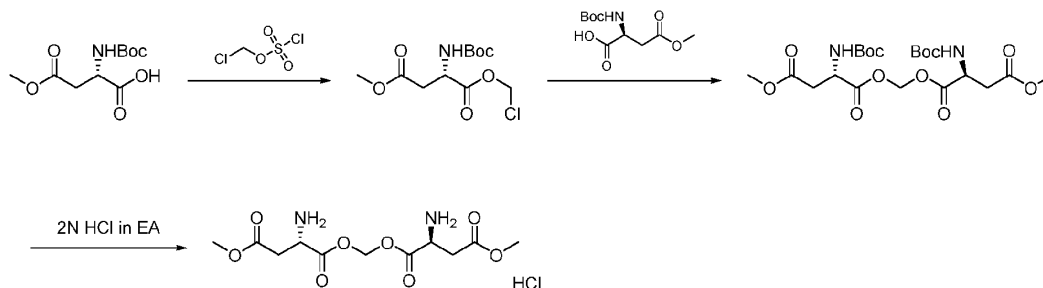
将((异丙氧基羰基)氧基)甲基 L-苯丙氨酸盐酸盐(416 mg, 1.3 mmol)、(S)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸(416 mg, 1.44 mmol)、HATU(994 mg, 2.62 mmol) 和 DMAP(16 mg, 0.13 mmol)溶解在 DMF(5 mL)中, 滴加 DIPEA (506 mg, 3.9 mmol), 室温搅拌反应 2 h。TLC 监测反应完全后, 加水稀释反应液, 乙酸乙酯 (5 mL*2)萃取反应液, 分离有机相, 有机相经干燥、浓缩、色谱柱纯化得到(S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(((S)-1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基)氨基)-4-氧代丁酸叔丁酯 500 mg。MS *m/z* (ESI): 553[M+H]⁺。

- 30 步骤 4: 合成(S)-3-氨基-4-(((S)-1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基)氨基)-4-氧代丁酸盐酸盐

将(S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(((S)-1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基)氨基)-4-氧代丁酸叔丁酯(500 mg, 0.91 mmol)溶解在乙酸乙酯(5 mL)中, 加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (2M) (2.72 mL, 5.43 mmol), 上述反应液在室温下反应 1 小时。TLC 监测反应完全, 浓缩反应液得到(S)-3-氨基-4-(((S)-1-(((异丙氧基羰基)氧基)甲氧基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基)氨基)-4-氧代丁酸盐酸盐 (化合物 53) 320 mg。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.86 (s, 1H), 9.17 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 8.31 (s, 2H), 7.31 – 7.22 (m, 5H), 5.74 –

5.63 (m, 2H), 4.81 (hept, $J = 6.2$ Hz, 1H), 4.56 (ddd, $J = 8.6, 7.3, 5.6$ Hz, 1H), 4.10 – 4.03 (m, 1H), 3.09 – 2.95 (m, 2H), 2.89 – 2.69 (m, 2H), 1.24 (d, $J = 6.2$ Hz, 6H). MS m/z (ESI): 433 $[M+H]^+$.

实施例 9: 化合物 54 的合成



步骤 1: 合成 1-(氯甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将 Boc-L-天冬氨酸 4-甲酯 (1.2 g, 5.0 mmol) 及四丁基硫酸氢铵 (84.0 mg, 0.3 mmol) 溶解于二氯甲烷 (5 mL) 中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。按顺序向体系中滴加碳酸钾 (2.7 g, 20.0 mmol) 的水 (5 mL) 溶液和氯甲基氯磺酸酯 (1.0 g, 6.0 mmol) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜。TLC 监测反应完成后, 加入 5 mL 二氯甲烷, 水洗 3 次, 分离有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化 (EA/PE 梯度洗脱, 20:1~5:1) 得到 1-(氯甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 1.1 g (无色油状物, 产率 83%)。

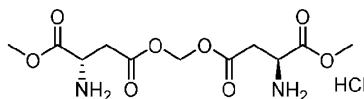
步骤 2: 合成 4-二甲基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)

将碘化钠 (174 mg, 1.1 mmol)、碳酸钾 (276 mg, 2.0 mmol) 溶解于 DMF (1.5 mL) 中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。将 Boc-L-天冬氨酸 4-甲酯 (296.7 mg, 1.2 mmol) 溶解于 DMF (1.0 mL) 中并滴入上述反应体系, 置于冰浴中搅拌 30 分钟。将 1-(氯甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (295.7 mg, 1.0 mmol) 溶解于 DMF (1.0 mL) 中并滴入反应体系, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜, TLC 监测反应。原料反应完后, 加入 10 mL 水, 用乙酸乙酯萃取 3 次后水洗 3 次, 分离合并有机相, 经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化 (EA/PE 梯度洗脱, 10:1~3:1) 得到 4-二甲基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯) 60 mg (白色固体, 产率 12%)。

步骤 3: 合成 4-二甲基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-氨基琥珀酸酯)盐酸盐

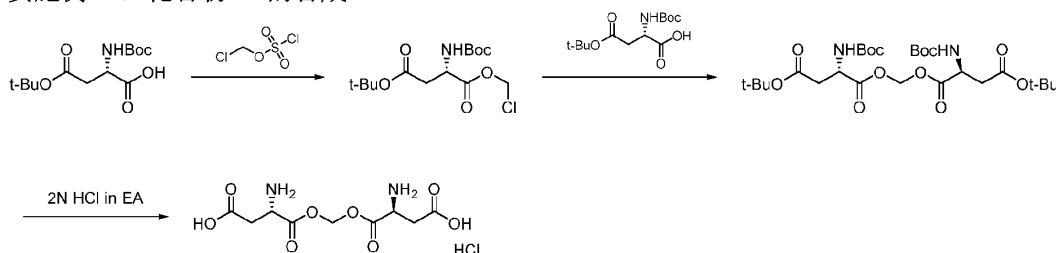
将 4-二甲基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯) (1.0 g, 2.0 mmol) 溶解于二氯甲烷 (6 mL) 中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C, 滴入 2N 盐酸乙酸乙酯溶液 (12 mL), 搅拌并缓慢升温至室温搅拌约 2 小时, HPLC 监测反应完成后, 抽滤反应液, 并用少量乙酸乙酯清洗滤饼, 干燥滤饼得到 4-二甲基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-氨基琥珀酸酯)盐酸盐 (化合物 54) 530 mg (白色固体, 产率 60%)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD), δ 5.99 (s, 2H), 4.52 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.77 (s, 6H), 3.10 (m, 4H). MS m/z (ESI): 343 $[M+H]^+$.

实施例 10: 化合物 56 的合成



其合成方法参照本文实施例 9 中化合物 54 的合成。将步骤 1 和步骤 2 中的 Boc-L-天冬氨酸 4-甲酯替换为 N-叔丁氧基-L-天门冬氨酸 1-甲酯可得到 1-二甲基 O'4,O4-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-氨基琥珀酸酯)盐酸盐 (化合物 56), 收率 46%, 为白色固体。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD), δ 5.88 (s, 2H), 4.45 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 3.85 (s, 6H), 3.02 (m, 4H). MS m/z (ESI): 343 $[M+H]^+$.

实施例 11: 化合物 57 的合成



步骤 1: 合成 1-(氯甲基) 4-正丁基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

- 5 将叔丁氧羰基-L-天冬氨酸-4-叔丁酯 (2.3 g, 8.0 mmol) 以及四丁基硫酸氢铵 (136 mg, 0.4 mmol) 溶解于二氯甲烷 (8 mL) 中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。按顺序向反应体系中滴加碳酸钾 (4.4 g, 32 mmol) 的水 (8 mL) 溶液和氯甲基氯磺酸酯 (1.7 g, 10.0 mmol) 的二氯甲烷 (8 mL) 溶液, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜。TLC 监测反应完成后, 加入 8mL 二氯甲烷, 水洗 3 次, 分离有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥、过滤、
- 10 浓缩、色谱柱纯化 (EA/PE 梯度洗脱, 20:1~5:1) 得到 1-(氯甲基) 4-正丁基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 1.4 g (无色油状物, 产率 53%)。

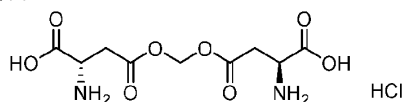
步骤 2: 合成 4-二正丁基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-((叔丁氧羰基)氨基)琥珀酸酯)

- 将碘化钠 (349 mg, 2.1 mmol)、碳酸钾 (552 mg, 4.0 mmol) 溶解于 DMF (2 mL) 中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。将 1-(氯甲基) 4-正丁基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸
- 15 (694.0 mg, 2.4 mmol) 溶解于 DMF (2 mL) 中并滴入上述反应体系, 置于冰浴中搅拌 30 分钟。将 1-(氯甲基) 4-正丁基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (676.0 mg, 2.0 mmol) 溶解于 DMF (2 mL) 中并滴入反应体系, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜。TLC 监测反应完成后, 加入 10 mL 水, 用乙酸乙酯萃取 3 次, 分离并水洗有机相, 有机相经合并、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化 (EA/PE 梯度洗脱, 10:1~3:1) 得到 4-二正丁基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-((叔丁氧羰基)氨基)琥珀酸酯) 619 mg (白色固体, 产率 52%)。
- 20

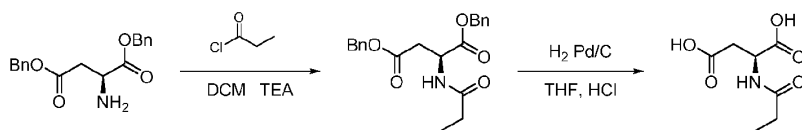
步骤 3: 合成 (3S,3'S)-4,4'-(亚甲基双(氧基))双(3-氨基-4-氧代丁酸)盐酸盐

- 将 4-二正丁基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-((叔丁氧羰基)氨基)琥珀酸酯) (295.0 mg, 0.5 mmol) 溶解于二氯甲烷 (2 mL) 中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C, 滴入 2N 盐酸乙酸乙酯溶液 (6 mL), 搅拌并缓慢升温至室温搅拌约 2 小时。HPLC 监测反应完成后, 抽滤反应液, 用少量乙酸乙酯清洗滤饼, 干燥滤饼, 得到 (3S,3'S)-4,4'-(亚甲基双(氧基))双(3-氨基-4-氧代丁酸) 盐酸盐 (化合物 57) 95 mg (白色固体, 产率 61%)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD), δ 5.99 (s, 2H), 4.16 (t, J = 4 Hz, 2H), 3.05 (m, 4H)。MS m/z (ESI): 315[M+H]⁺。
- 25
- 30

实施例 12: 化合物 55 的合成



- 其合成方法参照本文实施例 11 中化合物 57 的合成。将步骤 1 和步骤 2 中的叔丁氧羰基-L-天冬氨酸-4-叔丁酯替换为 N-叔丁氧羰基-L-天冬氨酸 1-叔丁酯可得到 (2S,2'S)-4,4'-(亚甲基双(氧基))双(2-氨基-4-氧代丁酸)盐酸盐 (化合物 55), 收率为 54%, 为白色固体。
- 35 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD), δ 5.89 (s, 2H), 4.36 (dd, J₁ = 8 Hz, J₂ = 4 Hz, 2H), 3.12 (m, 4H)。MS m/z (ESI): 315[M+H]⁺。
- 实施例 13: 化合物 58 的合成



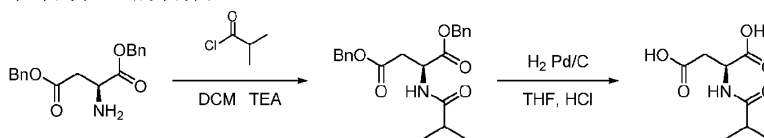
步骤 1: 合成二苄基丙酰-L-天冬氨酸

将 L-天冬氨酸二苄酯 (1 g, 3.19 mmol) 和丙酰氯 (353 mg, 3.83 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 向反应体系滴加三乙胺 (0.88 mL, 6.39 ml), 反应液室温搅拌 2 h。向反应液中加适量水并用二氯甲烷萃取, 分离有机相, 有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到二苄基丙酰-L-天冬氨酸 980 mg。MS m/z (ESI): 370[M+H]⁺。

步骤 2: 合成丙酰-L-天冬氨酸

将二苄基丙酰-L-天冬氨酸 (200 mg, 0.54 mmol) 和钯碳 (40 mg) 溶解在四氢呋喃 (3 mL) 中, 滴加两滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相得到丙酰-L-天冬氨酸 (化合物 58) 80 mg。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.48 (s, 2H), 8.07 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.51 (td, J = 7.5, 5.7 Hz, 1H), 2.69 – 2.51 (m, 2H), 2.09 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 0.96 (t, J = 7.6 Hz, 3H)。MS m/z (ESI): 190 [M+H]⁺。

实施例 14: 化合物 59 的合成



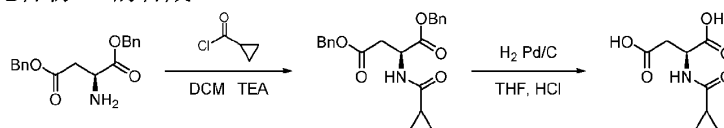
步骤 1: 合成二苄基异丁酰-L-天冬氨酸

将 L-天冬氨酸二苄酯 (1 g, 3.19 mmol) 和异丁酰氯 (406 mg, 3.83 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 然后滴加三乙胺 (0.88 mL, 6.39 ml), 反应液室温搅拌 2 h。向反应液中加适量水并用二氯甲烷萃取, 分离有机相, 有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到二苄基异丁酰-L-天冬氨酸 960 mg。MS m/z (ESI): 384[M+H]⁺。

步骤 2: 合成异丁酰-L-天冬氨酸

将二苄基异丁酰-L-天冬氨酸 (200 mg, 0.52 mmol) 和钯碳 (40 mg) 溶解在四氢呋喃 (3 mL) 中, 滴加两滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相得到异丁酰-L-天冬氨酸 (化合物 59) 85 mg。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.47 (s, 2H), 8.02 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.50 (td, J = 7.6, 5.7 Hz, 1H), 2.70 – 2.51 (m, 2H), 2.40 (p, J = 6.8 Hz, 1H), 0.97 (t, J = 6.5 Hz, 6H)。MS m/z (ESI): 204 [M+H]⁺。

实施例 15: 化合物 60 的合成



步骤 1: 合成二苄基 (环丙烷羧基) -L-天冬氨酸

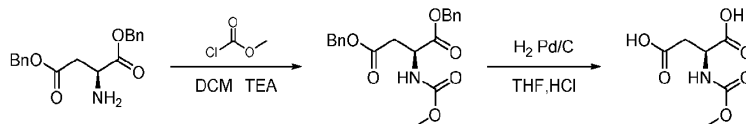
将 L-天冬氨酸二苄酯 (1 g, 3.19 mmol) 和环丙基甲酰氯 (398 mg, 3.83 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 然后滴加三乙胺 (0.88 mL, 6.39 ml), 反应液室温搅拌 2 h。向反应液中加适量水并用二氯甲烷萃取, 分离有机相, 有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到二苄基 (环丙烷羧基) -L-天冬氨酸 480 mg。MS m/z (ESI): 382[M+H]⁺。

步骤 2: 合成 (环丙烷羧基) -L-天冬氨酸

将二苄基 (环丙烷羧基) -L-天冬氨酸 (200 mg, 0.52 mmol) 和钯碳 (40 mg) 溶解在四氢呋喃 (3 mL) 中, 滴加两滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相得到 (环丙烷羧基) -L-天冬氨酸 (化合物 60)

90 mg. ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.51 (s, 2H), 8.39 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.53 (td, $J = 7.4, 5.6$ Hz, 1H), 2.70 – 2.52 (m, 2H), 1.66 – 1.59 (m, 1H), 0.68 – 0.61 (m, 4H). MS m/z (ESI): 202 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

实施例 16: 化合物 61 的合成



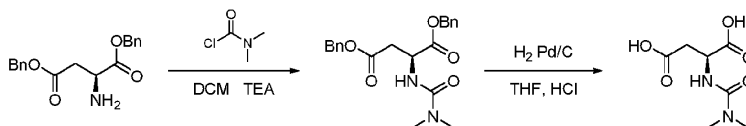
步骤 1: 合成二苄基 (甲氧基羰基) -L-天冬氨酸

将 L-天冬氨酸二苄酯 (1 g, 3.19 mmol) 和氯甲酸甲酯 (360 mg, 3.83 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 然后滴加三乙胺 (0.88 mL, 6.39 ml), 反应液室温搅拌 2 h。向反应液中加入适量水并用二氯甲烷萃取, 分离有机相, 有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化二苄基 (甲氧基羰基) -L-天冬氨酸 600 mg。MS m/z (ESI): 372 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 合成 (甲氧基羰基) -L-天冬氨酸

将二苄基 (甲氧基羰基) -L-天冬氨酸 (500 mg, 1.35 mmol) 和钯碳 (100 mg) 溶解在四氢呋喃 (5 mL) 中, 滴加两滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相得到 (甲氧基羰基) -L-天冬氨酸 (化合物 61) 130 mg。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.55 (s, 2H), 7.43 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.30 (td, $J = 8.2, 5.4$ Hz, 1H), 3.53 (s, 3H), 2.73 – 2.51 (m, 2H). MS m/z (ESI): 192 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 17: 化合物 62 的合成



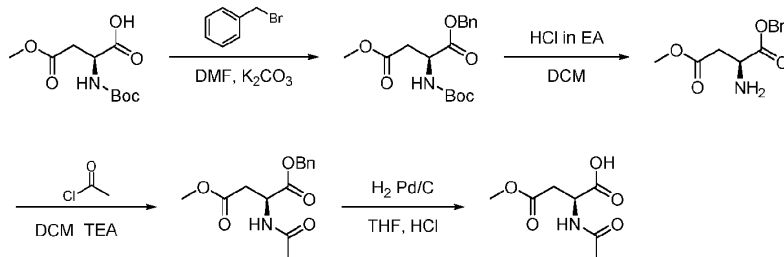
步骤 1: 合成二苄基 (二甲氨基甲酰基) -L-天冬氨酸

将 L-天冬氨酸二苄酯 (1 g, 3.19 mmol) 和二甲氨基甲酰氯 (411 mg, 3.83 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 然后滴加三乙胺 (0.88 mL, 6.39 ml), 反应液室温搅拌 2 h。向反应液中加入适量水并用二氯甲烷萃取, 分离有机相, 有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到二苄基 (二甲氨基甲酰基) -L-天冬氨酸 940 mg。MS m/z (ESI): 385 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 合成 (二甲基氨基甲酰基) -L-天冬氨酸

将二苄基 (二甲基氨基甲酰基) -L-天冬氨酸 (500 mg, 1.30 mmol) 和钯碳 (100 mg) 溶解在四氢呋喃 (5 mL) 中, 滴加两滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相得到 (二甲基氨基甲酰基) -L-天冬氨酸 (化合物 62) 120 mg。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.38 (s, 2H), 6.47 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.39 (td, $J = 7.6, 5.7$ Hz, 1H), 2.77 (s, 6H), 2.73 – 2.53 (m, 2H). MS m/z (ESI): 205 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 18: 化合物 63 的合成



步骤 1: 合成 1-苄基 4-甲基 (叔丁氧羰基) -L-天冬氨酸

将 (S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-甲氧基-4-氧代丁酸 (9 g, 36.44 mmol), 苄溴 (7.47 g, 43.72 mmol) 和碳酸钾 (10.06 g, 72.87 mmol) 溶解在 DMF (10 mL) 中, 反应液室温搅拌

16 小时。反应完全后，加水稀释反应液，用乙酸乙酯萃取、盐水洗反应液，分离有机相，有机相经干燥、浓缩得到 1-苄基 4-甲基（叔丁氧羰基）-L-天冬氨酸 9 g。MS m/z (ESI): 338[M+H]⁺。

步骤 2: 合成 1-苄基 4-甲基 L-天冬氨酸

- 5 室温下，将 1-苄基 4-甲基（叔丁氧羰基）-L-天冬氨酸 (9 g, 26.71 mmol) 溶解在二氯甲烷 (20 mL) 中，然后加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (2M) (80 mL, 160.24 mmol)，该溶液在室温下反应 1 小时。监测反应完全，过滤收集析出固体得到 1-苄基 4-甲基 L-天冬氨酸 6 g。MS m/z (ESI): 238[M+H]⁺。

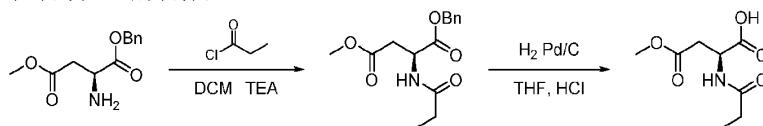
步骤 3: 合成 1-苄基 4-甲基乙酰-L-天冬氨酸

- 10 将 1-苄基 4-甲基 L-天冬氨酸 (1 g, 4.22 mmol) 和乙酰氯 (397 mg, 5.06 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中，然后滴加三乙胺 (1.17 mL, 8.44 mL)，反应液室温搅拌 2 h。向反应液中加适量水并用二氯甲烷萃取，分离有机相，有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到 1-苄基 4-甲基乙酰-L-天冬氨酸 900 mg。MS m/z (ESI): 280[M+H]⁺。

步骤 4: 合成 4-甲基乙酰-L-天冬氨酸

- 15 将 1-苄基 4-甲基乙酰-L-天冬氨酸 (900 mg, 3.23 mmol) 和钯碳 (180 mg) 溶解在四氢呋喃 (5 mL) 中，滴加两滴浓盐酸，反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后，用硅藻土过滤掉钯碳，浓缩有机相，经柱层析纯化得到 4-甲基乙酰-L-天冬氨酸（化合物 63）50 mg。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.68 (s, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.54 (ddd, *J* = 8.0, 7.3, 5.9 Hz, 1H), 3.59 (s, 3H), 2.78 – 2.59 (m, 2H), 1.82 (s, 3H)。MS m/z (ESI): 190 [M+H]⁺。

实施例 19: 化合物 64 的合成



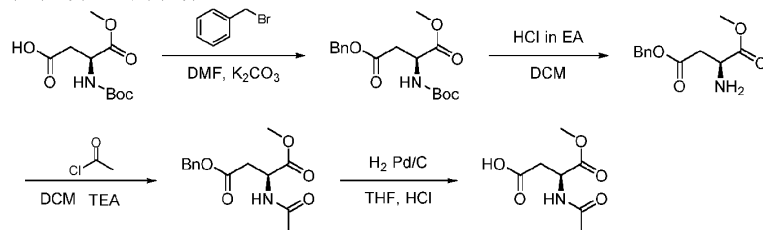
步骤 1: 合成 1-苄基 4-甲基丙酰-L-天冬氨酸

- 25 将 1-苄基 4-甲基 L-天冬氨酸 (1 g, 4.22 mmol) 和丙酰氯 (468 mg, 5.06 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中，然后滴加三乙胺 (1.17 mL, 8.44 mL)，反应液室温搅拌 2 h。向反应液中加适量水并用二氯甲烷萃取，分离有机相，有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到 1-苄基 4-甲基丙酰-L-天冬氨酸 860 mg。MS m/z (ESI): 294[M+H]⁺。

步骤 2: 合成 4-甲基丙酰-L-天冬氨酸

- 30 将 1-苄基 4-甲基丙酰-L-天冬氨酸 (860 mg, 2.93 mmol) 和钯碳 (180 mg) 溶解在四氢呋喃 (5 mL) 中，滴加两滴浓盐酸，反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后，用硅藻土过滤掉钯碳，浓缩有机相，经柱层析纯化得到 4-甲基丙酰-L-天冬氨酸（化合物 64）65 mg。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.70 (s, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.55 (td, *J* = 7.6, 6.0 Hz, 1H), 3.59 (s, 3H), 2.79 – 2.58 (m, 2H), 2.09 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 0.96 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H)。MS m/z (ESI): 204 [M+H]⁺。

- 35 实施例 20: 化合物 65 的合成



步骤 1: 合成 4-苄基 1-甲基（叔丁氧羰基）-L-天冬氨酸

将 (S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-1-甲氧基-1-氧代丁酸 (9 g, 36.44 mmol)，苄溴 (7.47 g,

43.72 mmol) 和碳酸钾 (10.06 g, 72.87 mmol) 溶解在 DMF(10 mL) 中, 反应液室温搅拌 16 小时。反应完全后, 加水稀释反应液, 用乙酸乙酯萃取、盐水洗反应液, 分离有机相, 有机相经干燥、浓缩得到 4-苄基 1-甲基 (叔丁氧羰基) -L-天冬氨酸 12 g。MS m/z (ESI): 338[M+H]⁺。

5 步骤 2: 合成 4-苄基 1-甲基 L-天冬氨酸

室温下, 将 4-苄基 1-甲基 (叔丁氧羰基) -L-天冬氨酸 (12 g, 35.6 mmol) 溶解在二氯甲烷 (50 mL) 中, 然后加入氯化氢的乙酸乙酯溶液(2M) (106 ml, 213.65 mmol), 该溶液在室温下反应 1 小时。监测反应完全, 过滤收集析出固体得到 4-苄基 1-甲基 L-天冬氨酸 9 g。MS m/z (ESI): 238[M+H]⁺。

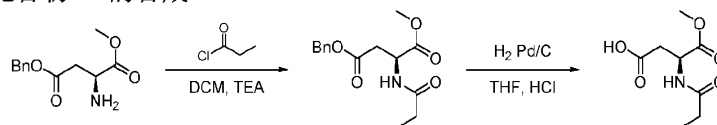
10 步骤 3: 合成 4-苄基 1-甲基乙酰-L-天冬氨酸

将 4-苄基 1-甲基 L-天冬氨酸 (1 g, 4.22 mmol) 和乙酰氯 (397 mg, 5.06 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 然后滴加三乙胺 (1.17 mL, 8.44 ml), 反应液室温搅拌 2 h。向反应液中加适量水并用二氯甲烷萃取, 分离有机相, 有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到 4-苄基 1-甲基乙酰-L-天冬氨酸 600 mg。MS m/z (ESI): 280[M+H]⁺。

15 步骤 4: 合成 1-甲基乙酰-L-天冬氨酸

将 4-苄基 1-甲基乙酰-L-天冬氨酸 (600 mg, 2.15 mmol) 和钯碳 (120 mg) 溶解在四氢呋喃 (5 mL) 中, 滴加两滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相, 经柱层析纯化得到 1-甲基乙酰-L-天冬氨酸 (化合物 65) 40 mg。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.43 (s, 1H), 8.31 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.56 (td, *J* = 7.4, 5.6 Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.72 – 2.53 (m, 2H), 1.82 (s, 3H)。MS m/z (ESI): 190 [M+H]⁺。

实施例 21: 化合物 66 的合成



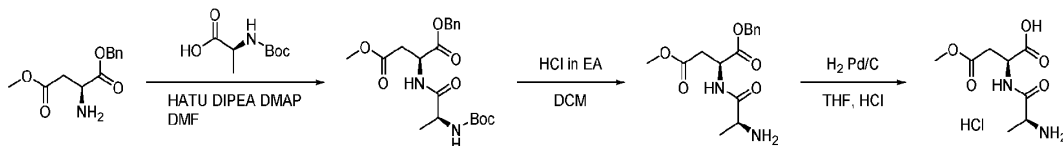
步骤 1: 合成 4-苄基 1-甲基丙酰-L-天冬氨酸

25 将 4-苄基 1-甲基 L-天冬氨酸 (1 g, 4.22 mmol) 和丙酰氯 (468 mg, 5.06 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 然后滴加三乙胺 (1.17 mL, 8.44 ml), 反应液室温搅拌 2 h。向反应液中加适量水并用二氯甲烷萃取, 分离有机相, 有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到 4-苄基 1-甲基丙酰-L-天冬氨酸 650 mg。MS m/z (ESI): 294[M+H]⁺。

步骤 2: 合成 1-甲基丙酰-L-天冬氨酸

30 将 4-苄基 1-甲基丙酰-L-天冬氨酸 (650 mg, 2.22 mmol) 和钯碳 (130 mg) 溶解在四氢呋喃 (5 mL) 中, 滴加两滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相, 经柱层析纯化得到 1-甲基丙酰-L-天冬氨酸 (化合物 66) 37 mg。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.40 (s, 1H), 8.21 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.57 (td, *J* = 7.5, 5.8 Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.72 – 2.54 (m, 2H), 2.10 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 0.97 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H)。MS m/z (ESI): 204 [M+H]⁺。

实施例 22: 化合物 67 的合成



步骤 1: 合成 1-苄基 4-甲基 (叔丁氧羰基) -L-丙氨酸-L-天冬氨酸

40 将 1-苄基 4-甲基 L-天冬氨酸 (500 mg, 2.11 mmol)、(叔丁氧羰基) -L-丙氨酸 (479 mg, 2.5 mmol)、HATU (962 mg, 2.53 mmol) 和 DMAP (26 mg, 0.21 mmol) 溶解在 DMF (5 mL)

中, 滴加 DIPEA (506 mg, 3.9mmol) 然后室温搅拌反应 2 h。监测反应完全后, 加水稀释反应液, 用乙酸乙酯 (5 mL*2) 萃取反应液, 有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到 1-苄基 4-甲基 (叔丁氧羰基)-L-丙氨酰-L-天冬氨酸 400 mg。MS m/z (ESI): 409[M+H]⁺。

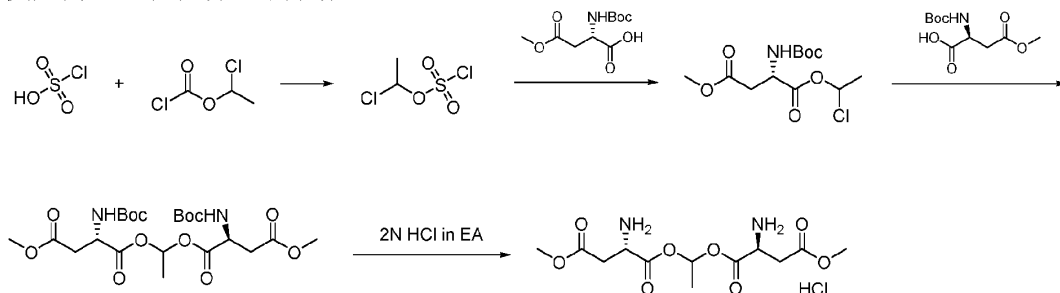
5 步骤 2: 合成 1-苄基 4-甲基 L-丙氨酰-L-天冬氨酸

将 1-苄基 4-甲基 (叔丁氧羰基)-L-丙氨酰-L-天冬氨酸(400 mg, 0.98 mmol)溶解在二氯甲烷(5 mL)中, 向反应体系中加入氯化氢的乙酸乙酯溶液 (2M) (2.9 mL, 5.88 mmol), 该溶液在室温下反应 1 小时。监测反应完全, 浓缩反应液得到 1-苄基 4-甲基 L-丙氨酰-L-天冬氨酸 100 mg。MS m/z (ESI): 309[M+H]⁺

10 步骤 3: 合成(S)-2-((S)-2-氨基丙酰胺基)-4-甲氧基-4-氧代丁酸盐盐酸盐

将 1-苄基 4-甲基 L-丙氨酰-L-天冬氨酸 (100 mg, 0.32 mmol) 和钯碳 (50 mg) 溶解在四氢呋喃 (3 mL) 中, 滴加一滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相, 经柱层析纯化得到(S)-2-((S)-2-氨基丙酰胺基)-4-甲氧基-4-氧代丁酸盐盐酸盐 (化合物 67) 20 mg。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.60 (s, 1H), 8.94 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.35 (s, 2H), 4.62 – 4.55 (m, 1H), 3.84 (dd, J = 7.0, 2.9 Hz, 1H), 3.59 (d, J = 8.2 Hz, 3H), 2.83 – 2.69 (m, 2H), 1.35 (d, J = 7.0 Hz, 3H)。MS m/z (ESI): 255 [M+H]⁺。

实施例 23: 化合物 68 的合成



20

步骤 1: 合成 1-氯乙基磺酰氯

0℃下, 10 分钟内向氯甲酸 1-氯乙酯 (3.02 mL, 28.0 mmol) 的无水二氯甲烷 (40 mL) 中的溶液中缓慢加入氯磺酸(3.72 mL, 56.0 mmol)。将混合物在 0℃的氮气氛围下搅拌 4 小时。向反应体系中加入冰水淬灭反应, 用二氯甲烷(200mL)萃取。分离有机层, 有机层经盐水溶液洗涤、无水硫酸钠干燥、浓缩得到 1-氯乙基磺酰氯 4.0 g, 为淡黄色液体。

25

步骤 2: 合成 1-(1-氯乙基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将(S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲氧基-4-氧代丁酸、四丁基硫酸氢铵溶解于二氯甲烷中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0℃。按顺序向反应体系中滴加碳酸钾的水溶液和 1-氯乙基磺酰氯的二氯甲烷溶液, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜。TLC 监测反应完成后, 加入二氯甲烷, 水洗 3 次, 分离有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化 (EA/PE 梯度洗脱, 20:1~5:1) 得到 1-(1-氯乙基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 1.0 g, 为无色油状物。

30

步骤 3: 合成 O¹,O¹-(乙烷-1,1-二基)4-二甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)

将碘化钠、碳酸钾溶解于 DMF 中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0℃。将 Boc-L-天冬氨酸 4-甲酯溶解于 DMF 中并滴入上述反应体系, 置于冰浴中搅拌 30 分钟。将 1-(1-氯乙基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸溶解于 DMF 中并滴入反应体系, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌约过夜, TLC 监测反应。原料反应完后, 加入 10 mL 水, 用乙酸乙酯萃取 3 次后水洗 3 次, 分离合并有机相, 经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化 (EA/PE 梯

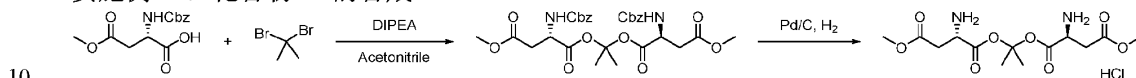
35

度洗脱, 10:1~3:1) 得到 O'1,O1-(乙烷-1,1-二基)4-二甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)200 mg, 为白色固体。

步骤 4: 合成 O'1,O1-(乙烷-1,1-二基)4-二甲基(2S,2'S)-双(2-氨基琥珀酸酯)盐酸盐

将 O'1,O1-(乙烷-1,1-二基)4-二甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)溶解于二氯甲烷中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C, 滴入 2N 盐酸乙酸乙酯溶液, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌约 2 小时, HPLC 监测反应完成后, 抽滤反应液, 并用少量乙酸乙酯清洗滤饼, 干燥滤饼得到 O'1,O1-(乙烷-1,1-二基)4-二甲基(2S,2'S)-双(2-氨基琥珀酸酯)盐酸盐 (化合物 68) 105 mg, 为白色固体。MS m/z (ESI): 357[M+H]⁺。

实施例 24: 化合物 69 的合成



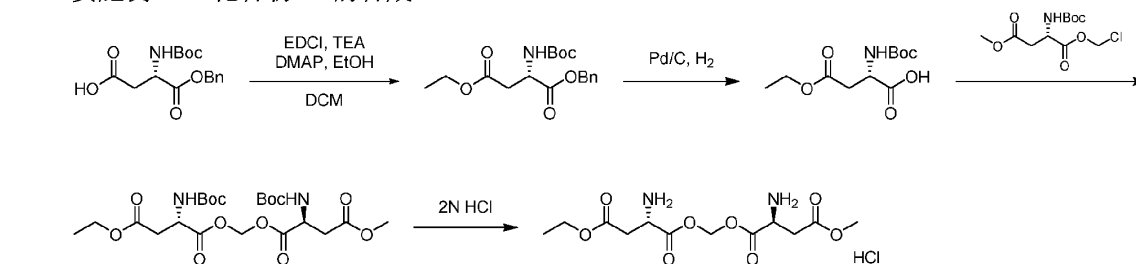
步骤 1: 合成 4-二甲基 O'1,O1-(丙烷-2,2-二基)(2S,2'S)-双(2-(((苄氧基)羰基)氨基)琥珀酸酯)

将(S)-2-(((苄氧基)羰基)氨基)-4-甲氧基-4-氧代丁酸、2,2-二溴丙烷溶解在乙腈中, 滴加 DIPEA, 室温搅拌反应 2 h。监测反应完全后, 加水稀释反应液, 用乙酸乙酯萃取反应液, 分离有机相, 有机相经水洗、干燥、浓缩、柱层析纯化得到 4-二甲基 O'1,O1-(丙烷-2,2-二基)(2S,2'S)-双(2-(((苄氧基)羰基)氨基)琥珀酸酯)。

步骤 2: 合成 4-二甲基 O'1,O1-(丙烷-2,2-二基)(2S,2'S)-双(2-氨基琥珀酸酯)盐酸盐

将 4-二甲基 O'1,O1-(丙烷-2,2-二基)(2S,2'S)-双(2-(((苄氧基)羰基)氨基)琥珀酸酯)和钯碳溶解在四氢呋喃中, 滴加一滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相, 经柱层析纯化得到 4-二甲基 O'1,O1-(丙烷-2,2-二基)(2S,2'S)-双(2-氨基琥珀酸酯)盐酸盐 (化合物 69)。MS m/z (ESI): 371[M+H]⁺。

实施例 25: 化合物 70 的合成



步骤 1: 合成 1-苄基 4-乙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将(S)-4-(苄氧基)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸 (5 g)、EDCI、三乙胺、DMAP 及乙醇加入二氯甲烷中, 室温搅拌, TLC 检测反应。检测反应完全后, 向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液, 分离有机层, 有机层经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、柱层析纯化得到 1-苄基 4-乙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 4.8 g。

步骤 2: 合成(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-乙氧基-4-氧代丁酸

将 1-苄基 4-乙基 (叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (4.8 g) 和钯碳溶解在四氢呋喃中, 滴加一滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相, 经柱层析纯化得到(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-乙氧基-4-氧代丁酸 3.2 g。

步骤 3: 合成 1-(((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-乙氧基-4-氧代丁酰)氧基)甲基 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

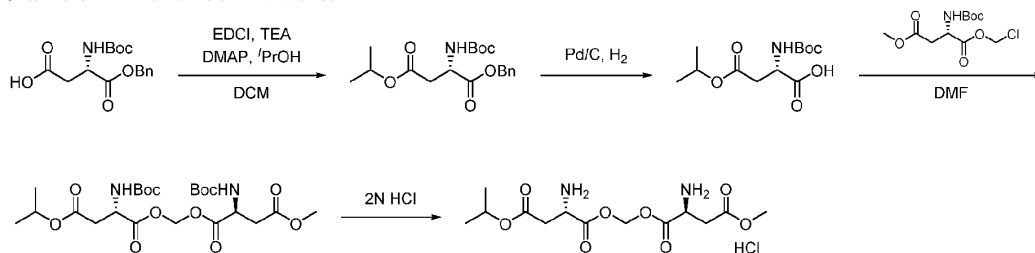
将碘化钠、碳酸钾溶解于 DMF 中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。将(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-乙氧基-4-氧代丁酸 (1.2 g) 溶解于 DMF 中并滴入上述反应体系, 置于冰浴中

搅拌 30 分钟。将 1-(氯甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸溶解于 DMF 中并滴入反应体系, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜, TLC 监测反应。原料反应完后, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 3 次后水洗 3 次, 分离合并有机相, 经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化得到 1-(((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-乙氧基-4-氧代丁酰)氧基)甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 720 mg。

步骤 4: 合成 1-(((S)-2-氨基-4-乙氧基-4-氧代丁酰)氧基)甲基) 4-甲基 L-天冬氨酸盐酸盐

将 1-(((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-乙氧基-4-氧代丁酰)氧基)甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (720 mg) 溶解于二氯甲烷中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C, 滴入 2N 盐酸乙酸乙酯溶液, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌约 2 小时, HPLC 监测反应完成后, 抽滤反应液, 并用少量乙酸乙酯清洗滤饼, 干燥滤饼得到 1-(((S)-2-氨基-4-乙氧基-4-氧代丁酰)氧基)甲基) 4-甲基 L-天冬氨酸盐酸盐 (化合物 70) 225 mg。MS m/z (ESI): 357[M+H]⁺。

实施例 26: 化合物 71 的合成



步骤 1: 合成 1-苄基 4-异丙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将(S)-4-(苄氧基)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-氧代丁酸 (10 g)、EDCI、三乙胺、DMAP 及异丙醇加入二氯甲烷中, 室温搅拌, TLC 检测反应。检测反应完全后, 向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液, 分离有机层, 有机层经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、纯化得到 1-苄基 4-异丙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (8.8 g)。

步骤 2: 合成(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酸

将 1-苄基 4-异丙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (8.8 g) 和钯碳溶解在四氢呋喃中, 滴加一滴浓盐酸, 反应液在氢气气氛下室温搅拌 16 h。监测反应完全后, 用硅藻土过滤掉钯碳, 浓缩有机相, 经柱层析纯化得到(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酸 6.0 g。

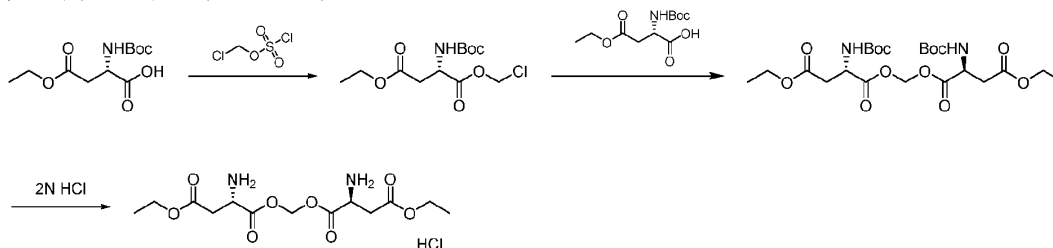
步骤 3: 合成 1-(((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酰基)氧基)甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

将碘化钠、碳酸钾溶解于 DMF 中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。将(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酸 (1.6 g) 溶解于 DMF 中并滴入上述反应体系, 置于冰浴中搅拌 30 分钟。将 1-(氯甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸溶解于 DMF 中并滴入反应体系, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜, TLC 监测反应。原料反应完后, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 3 次后水洗 3 次, 分离合并有机相, 经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化得到 1-(((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酰基)氧基)甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 870 mg。

步骤 4: 合成 1-(((S)-2-氨基-4-异丙氧基-4-氧代丁酰基)氧基)甲基) 4-甲基 L-天冬氨酸盐酸盐

将 1-(((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酰基)氧基)甲基) 4-甲基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (570 mg) 溶解于二氯甲烷中, 置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C, 滴入 2N 盐酸乙酸乙酯溶液, 搅拌并缓慢升温至室温搅拌约 2 小时, HPLC 监测反应完成后, 抽滤反应液, 并用少量乙酸乙酯清洗滤饼, 干燥滤饼得到 1-(((S)-2-氨基-4-异丙氧基-4-氧代丁酰基)氧基)甲基) 4-甲基 L-天冬氨酸盐酸盐 (化合物 71) 140 mg。MS m/z (ESI): 371[M+H]⁺。

实施例 27: 化合物 72 的合成



步骤 1: 合成 1-(氯甲基) 4-乙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

- 5 将(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-乙氧基-4-氧代丁酸(3.2 g)以及四丁基硫酸氢铵溶解于二氯甲烷中,置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。按顺序向反应体系中滴加碳酸钾的水溶液和 1-氯甲基磺酰氯的二氯甲烷溶液,搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜。TLC 监测反应完成后,加入二氯甲烷,水洗 3 次,分离有机相,有机相经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化得到 1-(氯甲基) 4-乙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 1.6 g。

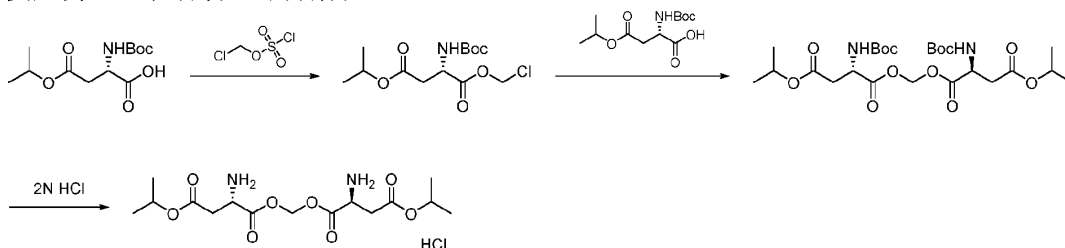
10 步骤 2: 合成 4-二乙基 O'1,O1-亚甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)

- 将碘化钠、碳酸钾溶解于 DMF 中,置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。将(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-乙氧基-4-氧代丁酸溶解于 DMF 中并滴入上述反应体系,置于冰浴中搅拌 30 分钟。将 1-(氯甲基) 4-乙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸(1.6 g)溶解于 DMF 中并滴入反应体系,搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜, TLC 监测反应。原料反应完后,加入水,用乙酸乙酯萃取 3 次后水洗 3 次,分离合并有机相,经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化得到 4-二乙基 O'1,O1-亚甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)850 mg。

步骤 3: 合成(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-甲氧基-4-氧代丁酸盐盐酸盐

- 20 将 4-二乙基 O'1,O1-亚甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)(850 mg)溶解于二氯甲烷中,置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C,滴入 2N 盐酸乙酸乙酯溶液,搅拌并缓慢升温至室温搅拌约 2 小时, HPLC 监测反应完成后,抽滤反应液,并用少量乙酸乙酯清洗滤饼,干燥滤饼得到(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-甲氧基-4-氧代丁酸盐盐酸盐(化合物 72) 174 mg。MS m/z (ESI): 371[M+H]⁺。

实施例 28: 化合物 73 的合成



25

步骤 1: 合成 1-(氯甲基) 4-异丙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸

- 30 将(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酸(4.0 g)以及四丁基硫酸氢铵溶解于二氯甲烷中,置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。按顺序向反应体系中滴加碳酸钾的水溶液和 1-氯甲基磺酰氯的二氯甲烷溶液,搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜。TLC 监测反应完成后,加入二氯甲烷,水洗 3 次,分离有机相,有机相经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化得到 1-(氯甲基) 4-异丙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 4.0 g。

步骤 2: 合成 4-二异丙基 O'1,O1-亚甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)

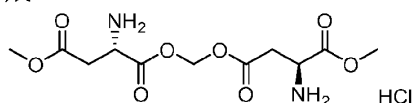
将碘化钠、碳酸钾溶解于 DMF 中,置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C。将(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酸溶解于 DMF 中并滴入上述反应体系,置于冰浴中搅拌 30 分钟。将 1-(氯甲基) 4-异丙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸(4.0 g)溶解于 DMF 中并滴入反应体系,搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜, TLC 监测反应。原料反应完后,加入水,用乙酸乙酯萃取 3 次后水洗 3 次,分离合并有机相,经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化得到 4-二异丙基 O'1,O1-亚甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)850 mg。

基)氨基)-4-异丙氧基-4-氧代丁酸溶解于 DMF 中并滴入上述反应体系,置于冰浴中搅拌 30 分钟。将 1-(氯甲基) 4-异丙基(叔丁氧基羰基)-L-天冬氨酸 (2.5 g) 溶解于 DMF 中并滴入反应体系,搅拌并缓慢升温至室温搅拌过夜,TLC 监测反应。原料反应完后,加入水,用乙酸乙酯萃取 3 次后水洗 3 次,分离合并有机相,经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩、色谱柱纯化得到 4-二异丙基 O'1,O1-亚甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯)1.3 g。

步骤 3: 合成 4-二异丙基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-氨基琥珀酸酯)盐酸盐

将 4-二异丙基 O'1,O1-亚甲基(2S,2'S)-双(2-((叔丁氧基羰基)氨基)琥珀酸酯) (0.8 g) 溶解于二氯甲烷中,置于冰浴中搅拌冷却至 0 °C,滴入 2N 盐酸乙酸乙酯溶液,搅拌并缓慢升温至室温搅拌约 2 小时,HPLC 监测反应完成后,抽滤反应液,并用少量乙酸乙酯清洗滤饼,干燥滤饼得到 4-二异丙基 O'1,O1-亚甲基 (2S,2'S)-双(2-氨基琥珀酸酯)盐酸盐 (化合物 73) 270 mg。MS m/z (ESI): 399[M+H]⁺。

实施例 29: 化合物 74 的合成



其合成方法参照本文实施例 9 中化合物 54 的合成。将和步骤 2 中的 Boc-L-天冬氨酸 4-甲酯替换为 N-叔丁氧羰基-L-天门冬氨酸 1-甲酯可得到 4-((((S)-2-氨基-4-甲氧基-4-氧代丁酰基)氧基)甲基)-1-甲基-L-天冬氨酸盐酸盐 (化合物 74),为白色固体。MS m/z (ESI): 343[M+H]⁺。

实施例 30: 化合物 77a 的合成

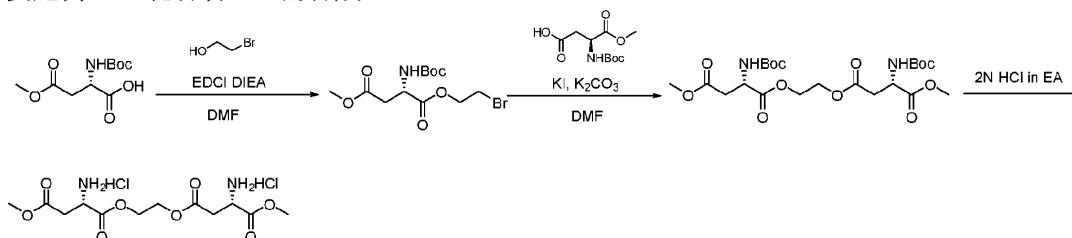
步骤 1:合成 O'1, O1- (乙烷-1, 2-二基) 4-二甲基 (2S, 2'S) -双 (2- (叔丁氧羰基) 氨基) 丁二酸)

将乙二醇(0.3 g, 4.84 mmol)、S-2- (叔丁氧羰基) 氨基-4-甲氧基-4-氧代丁酸(2.5 g, 10.16 mmol)、EDCI(2.32 g, 12.1 mmol)、DIPEA(3.12 g, 24.2 mmol)溶解在 DMF(20 mL) 中,反应液在氮气气氛下室温搅拌 2 小时,反应完全后加入适量冰水和乙酸乙酯,分离出有机相,有机相经水洗、干燥、柱层析后(PE:EA=3:1)得到 O'1, O1- (乙烷-1, 2-二基) 4-二甲基 (2S, 2'S) -双 (2- (叔丁氧羰基) 氨基) 丁二酸) 1.5 g, MS (ESI): mass calcd. For C₂₂H₃₆N₂O₁₂ 520.2 m/z found 521.2 [M+H]⁺。

步骤 2: 合成 O'1, O1- (乙烷-1, 2-二基) 4-二甲基 (2S, 2'S) -双 (2-氨基琥珀酸酯) 盐酸盐

室温下,将 O'1, O1- (乙烷-1, 2-二基) 4-二甲基 (2S, 2'S) -双 (2- (叔丁氧羰基) 氨基) 丁二酸) (1.5 g, 2.88 mmol) 溶解在二氯甲烷(20 mL)中,然后冰浴下加入盐酸乙酸乙酯溶液 (17.29 mL, 2M, 34.58 mmol),该溶液在室温下反应 1 小时,监测反应完全,倒掉上清液,固体干燥后得到 O'1, O1- (乙烷-1, 2-二基) 4-二甲基 (2S, 2'S) -双 (2-氨基琥珀酸酯) 盐酸盐 800 mg, MS (ESI): mass calcd. For C₁₂H₂₀N₂O₈+2HCl, 320.1 m/z found 321.1 [M+H]⁺。1H NMR (DMSO-d₆) δ: 8.88 (br s, 6H), 4.32-4.42 (m, 6H), 3.66 (s, 6H), 3.00-3.12 (m, 4H)。

实施例 31: 化合物 78a 的合成



步骤 1:合成 1-(2-溴乙基)-4-甲基(叔丁氧羰基)-L-天冬氨酸

将 S-2-(叔丁氧羰基)氨基-4-甲氧基-4-氧代丁酸 (1.9 g, 7.68 mmol)、2-溴乙醇(1.06 g, 8.45 mmol)、EDCI (2.21 g, 11.53 mmol)、DIPEA (3.82 ml, 23.05 mmol)溶解在 DMF (20 mL)中, 反应液在氮气气氛下室温搅拌 2 小时, 反应完全后加入适量冰水和乙酸乙酯, 分离出有机相, 有机相经水洗、干燥、柱层析后(PE:EA=4:1)得到 1-(2-溴乙基)-4-甲基(叔丁氧羰基)-L-天冬氨酸 1.1 g, MS (ESI): mass calcd. For $C_{12}H_{20}BrNO_6$ 353.0 m/z found 354.0 $[M+H]^+$ 。

步骤 2: 合成 4-(2-((S)-2-(叔丁氧羰基)氨基)-4-甲氧基-4-氧代丁酰基)氧基)乙基)1-甲基(叔丁氧羰基)-L-天冬氨酸

将 1-(2-溴乙基)-4-甲基(叔丁氧羰基)-L-天冬氨酸 (1 g, 2.82 mmol)、(S)-3-(叔丁氧羰基)氨基-4-甲氧基-4-氧代丁酸(837 mg, 3.39 mmol)、碘化钾(938 mg, 5.65 mmol)、碳酸钾 (780 mg, 5.65 mmol)溶解在 DMF (20 mL)中, 反应液在氮气气氛下室温搅拌 2 小时, 反应完全后加入适量冰水和乙酸乙酯, 分离出有机相。有机相经水洗、干燥、柱层析(PE:EA=3:1)后得到 4-(2-((S)-2-(叔丁氧羰基)氨基)-4-甲氧基-4-氧代丁酰基)氧基)乙基)1-甲基(叔丁氧羰基)-L-天冬氨酸 460 mg, MS (ESI): mass calcd. For $C_{22}H_{36}N_2O_{12}$ 520.2 m/z found 521.2 $[M+H]^+$ 。

步骤 3:合成 4-(2-(S)-2-氨基-4-甲氧基-4-氧代丁酰基)乙基)1-甲基 L-天冬氨酸酯盐酸盐

室温下, 将 4-(2-((S)-2-(叔丁氧羰基)氨基)-4-甲氧基-4-氧代丁酰基)氧基)乙基)1-甲基(叔丁氧羰基)-L-天冬氨酸 (460 mg, 0.88 mmol)溶解在二氯甲烷(10 mL)中, 冰浴下向反应体系中加入盐酸乙酸乙酯溶液 (5.3 mL, 2M, 10.6 mmol), 该溶液在室温下反应 1 小时, 监测反应完全, 倒掉上清液, 固体干燥后得到 4-(2-(S)-2-氨基-4-甲氧基-4-氧代丁酰基)乙基)1-甲基 L-天冬氨酸酯盐酸盐 180 mg, MS (ESI): mass calcd. For $C_{12}H_{20}N_2O_8 + 2HCl$, 320.1 m/z found 321.1 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 8.87 (br s, 6H), 4.33-4.42 (m, 4H), 4.26-4.32 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 2.98-3.14 (m, 4H)。

活性试验例

测试方法

(a) 化合物的体外药效评价

1. LX2 细胞复苏:

准备: 超净工作台提前紫外线灯管照射 30 min; 水浴锅 37℃ 预热; 完全培养基 37℃ 预热;

超净工作台紫外消毒结束后, 打开通风开关, 用 75%酒精棉球擦拭台面。准备 10cm 细胞培养皿, 加入含 10%胎牛血清的完全培养基 7 mL, 盖上盖子备用;

等待水浴锅工作温度达到 37℃后, 从液氮罐中取出一支冻存的 LX2 细胞, 快速转移至水浴锅中。高频度、低幅度摇晃冻存管, 以确保冻存液快速融化, 从而降低对细胞的损伤。观察冻存液接近完全融化时, 快速取出冻存管, 擦拭表面水分, 用 75%酒精消毒冻存管, 擦拭干净冻存管封口膜处残存酒精, 撕开封口膜。快速、轻柔吸出冻存液放入准备好的细胞培养皿中。“十”字法轻柔晃动细胞培养皿, 确保细胞均匀铺于细胞培养皿。将培养皿置于 37℃, 5% CO₂ 孵箱。尽量靠近内部放置培养皿, 以减少 CO₂ 和温度波动。

2. 细胞换液:

细胞复苏后, 根据细胞生长状态、贴壁程度以及培养基的颜色, 更换完全培养基。LX2 细胞体积较大, 贴壁后细胞呈多形性, 且以梭形为主, 显微镜下细胞折光性较好, 第 2~3 天细胞增殖明显。根据培养皿中 LX2 细胞的密度、状态, 更换新鲜细胞培养基。注意: 换液前需要将新鲜完全培养基置于 37℃水浴锅, 预热 10~15 min。负压吸引装置吸干净旧培养基, 1 ×PBS 缓冲液 4 mL, 清洗细胞 2 遍, 之后换上预热好的完全培养基。

置于 37℃ 孵箱，继续培养。

3. 细胞传代：当细胞融合度达到 90% 左右时，即可进行细胞传代培养。

消化：负压吸引装置吸干净旧培养基，1 × PBS 缓冲液 4 mL，清洗细胞 2 遍。加入胰酶 1 mL，轻柔晃动细胞培养皿，从而使细胞被消化液完全浸润；

- 5 终止消化：倒置显微镜下观察细胞形态，当细胞慢慢从梭形开始变圆，细胞间隙逐渐变明显，迅速加入 1 mL 含 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基，以中止消化。轻轻吹打细胞，使细胞全部从细胞培养板脱落。吹打成单细胞悬液后，转移至 5 mL 玻璃流式管，盖紧盖子，800 rpm，5 min 离心；

- 10 重悬：弃去玻璃流式管中培养液，手指轻弹流式管，将细胞弹起后，加入 2 mL 含 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基重悬细胞，枪头轻柔吹打成后单细胞悬液。按 1:2 传代或 5×10^5 个/mL 细胞密度分板，置于孵箱中继续培养。注意：每个细胞培养板共需要培养基 12 mL，因此 96 孔板每孔 125 μ L 完全培养基，48 孔板每孔 250 μ L 完全培养基，24 孔板每孔 500 μ L 完全培养基，12 孔板每孔 1 mL 完全培养液，6 孔板每孔 2 mL 完全培养液。常规“十字”法轻柔晃动细胞培养板，确保细胞均匀铺于细胞培养板；

- 15 4. 蛋白免疫印迹检测蛋白水平表达

- 4.1 细胞总蛋白提取：取出细胞，弃去原培养基，加入 1~2 mL 1×PBS，清洗两次，胰酶消化，弃去上清，轻轻弹起管底细胞，再次加入 1 mL PBS 洗涤细胞两次，1200 rpm，离心 5 min，完全弃去上清，弹匀管底细胞，根据细胞量，加入 50~100 μ L 含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的蛋白裂解液，充分吹打混匀细胞，置于冰上裂解 30 min 后，4℃，20 12,000 rcf，离心 15 min，吸取上清放入新的 EP 管中，所得即为细胞总蛋白。可直接进行后续蛋白浓度的测定或 -80℃ 保存。

- 4.2 BCA 法测蛋白浓度：将 BCA 试剂 A 液与 B 液按照 50:1 的比例混匀，制备工作液；取 5 μ L 待测样本，加入 95 μ L 去离子水混匀，稀释 20 倍，取 20 μ L 稀释后的待测样本加入到 96 孔板中；加入 200 μ L 工作液后，将 96 孔板置于 37℃ 孵箱，孵育 30 min，上机检测。

- 4.3 蛋白变性：分别取 100 μ g 样品，用蛋白裂解液将各样本体积补齐，加入 1/3 总体积的 4×loading buffer，充分混匀，99℃ 变性 10 min，离心后 -80℃ 保存。

- 4.4 蛋白电泳：将预制胶安装入电泳槽中，加入 1×MOPS 电泳液，拔掉预制胶顶层梳子，轻轻吹打上样孔，去除孔内残余凝胶；将预染蛋白 Marker 及等质量的蛋白样品小心加入凝胶孔中；将电压调至 60 V~80 V，30 min 后，调整电压为 110 V~120 V，当溴酚蓝跑至凝胶底部凹槽处，断开电源，停止电泳，整个电泳过程约 2 h~2.5 h。

- 4.5 电转印：将 PVDF 膜浸入无水甲醇中激活 1 min；将转膜夹黑色面朝下，由下向上依次放置海面-滤纸-PAGE 胶-PVDF 膜-滤纸-海绵，小心赶出胶/膜和滤纸之间的气泡，扣紧转膜夹，放入转膜槽中，PAGE 胶朝向负极，PVDF 膜朝向正极；放入冰盒，倒入预冷的 1×电转液；将电源调至 100 V，转膜 1~1.5 h。

- 4.6 封闭：转膜结束后，取出 PVDF 膜，放入 1×TBST 清洗数次，去除膜上残留的电转液后，浸入 5% 脱脂牛奶中封闭，室温 2 h，或 4℃ 过夜。

4.7 孵育一抗：按照 1/1000 稀释一抗 GAPDH，HCBP6；按照蛋白分子量的大小，将相应位置的 PVDF 膜与上述抗体封闭于杂交袋中，4℃ 孵育过夜。

- 40 4.8 洗膜：剪开杂交袋，回收一抗，取出 PVDF 膜，放入 1×TBST 中，置于摇床上洗膜三次，每次 10 min。

4.9 孵育二抗：按照 1/5,000~1/10,000 的比例稀释二抗，将上述 PVDF 膜浸入相应二抗中，置于摇床上，室温孵育 45-60 min。

- 45 4.10 洗膜：回收二抗，取出 PVDF 膜，放入 1×TBST 中，置于摇床上洗膜三次，每次 10 min；检测磷酸化蛋白时，需适当减少洗膜次数和洗膜时间。

4.11 曝光显色：将膜置于 Fusion Solo 成像仪暗箱中，滴加 ECL 曝光液，进行显

影。

5. Q-PCR检测目的基因表达

5.1 细胞总RNA提取

- LX-2 细胞分别加入受测化合物，48 h 后提取细胞中的总RNA，本实验严格按照
- 5 **Total RNA Kit** 试剂盒说明书进行，步骤如下（注意：本实验全程冰上进行，全程使用无RNA酶的专用枪头）：
- 1）从孵箱中取出12孔细胞培养板，弃去细胞培养液，1×PBS 1 mL 清洗细胞2次，负压吸引装置吸干净PBS；
- 2）根据需要配制350 μL TRK Lysis Buffer 混合液/孔（混合液配制方法：1 mL
- 10 **TRK Lysis Buffer** + 20 μL β-巯基乙醇），涡旋混匀。12孔细胞培养板每孔分别加入350 μL，室温静置5 min，使细胞充分裂解；
- 3）根据需要配制70%乙醇/孔，涡旋混匀。12孔细胞培养板每孔分别加入350 μL，摇晃混匀，转移至离心柱（离心柱+收集管组装好）内；
- 4）4℃离心机，12000 g，60 sec，离心后弃废液，保留离心柱；
- 15 5）加入500 μL RNA Wash Buffer I，4℃离心机，12000 g，60 sec，离心后弃废液，保留收集柱；
- 6）加入500 μL RNA Wash Buffer II（确认已加乙醇），4℃离心机，12000 g，60 sec，离心后弃废液，保留收集柱；
- 7）重复步骤6）一遍，4℃离心机，12000 g，90 sec，离心后弃废液，保留收集柱；
- 20 8）4℃离心机，12000 g，120 sec，以保证离心柱充分干燥；
- 9）干燥后的离心柱插入新的1.5 mL EP管中，在离心柱中心的膜上加入30 μL DEPC水。注意该步骤不要触碰到EP管盖子。室温静置5 min，以确保RNA被DEPC水充分溶解。4℃离心机，12000 g，60 sec，保留EP管；
- 10）NanoDrop 超微量分光光度计检测RNA浓度；
- 25 5.2 RNA 逆转录为 cDNA：按照 PrimeScript™ RT reagent Kit（Perfect Real Time）说明书，具体实验步骤如下：
- 5.2.1 配制逆转录反应体系（冰上操作）：

表 1-10 逆转录反应体系

组分	体积
5×PrimeScript Buffer	4 μL
PrimeScript RT Enzyme Mix I	1 μL
Oligo dT Primer（50 μM）	1 μL
Random 6 mers（100 μM）	1 μL
Total RNA	1 μg
RNase Free H ₂ O	补齐至总体积 20 μL /Sample

- 30 5.2.2 逆转录上机反应条件如下：

表 1-11 逆转录反应条件

反应温度	反应时间	循环次数
37℃	15 min	1
85℃	5 sec	1
4℃	+∞	--

5.2.3 所得产物即为 cDNA，可直接用于后续 Q-PCR 实验或者 -20℃ 保存。

5.3Q-PCR 检测目的基因表达：按照 Power SYBR® Green PCR Master Mix 说明书，具体操作如下：

5.3.1 根据说明书配制 Q-PCR 反应体系如下：

表 1-12 Q-PCR 反应体系

组分	体积 (μL)
SYBR Green qPCR Master Mix	5
cDNA (5 倍稀释)	2
Forward Primer (10 μM)	0.25
Reverse Primer (10 μM)	0.25
DNase Free dH ₂ O	2.5
Total	10 μL/Sample

5.3.2 使用 ABI PRISM[®] 7500 system 采用下列两步法标准扩增程序：

表 1-13 Q-PCR 反应条件

步骤	温度 (°C)	时间	循环数
1 预变性	95	2 min	1
2 热循环	95 60	15 sec 1 min	40
3 融解曲线程序			

反应结束后，确认 Q-PCR 的扩增曲线和溶解曲线，采用相对定量法 ($2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法) 对实验结果进行数据分析。

5.3.3 所用引物序列如下：

表 1-14 Q-PCR 实验所用引物序列

检测基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
Actin	GTACTCTGTGTGGATCGGTGG	GCAGCTCAGTAACAGTCCG
COL1A1	TTTGGATGGTGCCAAGGGA	CACCATCATTTCCACGAGC
COL3A1	TCGCCCTCCTAATGGTCAAG	TTCTGAGGACCAGTAGGGC
COL1A2	AAAGAACCCAGCTCGCACA	ACCAGTTCTTGGCTGGGAT
α-SMA	GGGAATGGGACAAAAAGAC	CTTCAGGGGCAACACGAA
Smad3	TGGACGCAGGTTCTCCAAA	CCGGCTCGCAGTAGGTAAC
IL-1β	TGGCAATGAGGATGACTTG	GTGGTGGTCGGAGATTCTG
IL-18	ATCGCTTCCTCTCGCAACAA	TCCAGGTTTTTCATCATCTTC
TGFβ	CAGTGGTTGAGCCGTGGAG	CCGGTAGTGAACCCGTTGA
		TGT

NS3TP1	GATGTCCTGAGTGTAGCAG	TGCTTTCCTATCACACGTTT
TCA		TCA

(b) 化合物的体内药效评价

1. 四氯化碳诱导小鼠肝纤维化模型的建立与治疗

5 长期腹腔注射四氯化碳 (carbon tetrachloride, CCl₄) 诱发可逆性肝纤维化, 通常用于筛选和评估抗肝纤维化药物。C57BL/6 野生型小鼠随机分为对照组, 四氯化碳组及治疗组, 处理如下:

四氯化碳组小鼠: 腹腔注射四氯化碳总量 0.5 μL/g, 以玉米油稀释后 10 μL/g, 3 次/周。造模满 4 周后, 四氯化碳组随机分组, 加上阴性对照组:

10 ① 阴性对照组小鼠: 腹腔注射玉米油溶液, 10 μL/g, 3 次/周; 同时饮用水 200 μL 灌胃。

② 四氯化碳组小鼠: 腹腔注射四氯化碳总量 0.5 μL/g, 以玉米油稀释后 10 μL/g, 3 次/周; 200μL 生理盐水灌胃。

③ 天冬氨酸组小鼠: 腹腔注射四氯化碳总量 0.5 μL/g, 以玉米油稀释后 10 μL/g, 3 次/周; 30 mg/kg 天冬氨酸灌胃。

15 ④ 治疗组小鼠: 腹腔注射四氯化碳总量 0.5 μL/g, 以玉米油稀释后 10 μL/g, 3 次/周; 不同剂量的本发明化合物灌胃。

治疗 4 周, 最后一次四氯化碳注射 48 h 后, 进行眼球取血。抗凝管收集全血约 1mL/只, 立即于冰上静置 1 h。4℃、3000 rpm, 离心 15 min。取上清约 0.4mL 于 EP 管中, 注意不要吸取到下层液体, 之后-80℃冰箱保存。小鼠安乐死, 取新鲜肝脏组织, 一部分置于冻存管, 液氮中保存备用; 另一部分置于 4%多聚甲醛溶液中固定 16 h~24 h, 以备后续实验。

2. HFD 或 CHOL 诱导小鼠 NAFLD 模型的建立与治疗

25 ①选取 6~8 周龄 C57BL/6J 雄性小鼠, 随机分为正常饮食组 (n=10) 和 HFD 或 CHOL 组; 造模期间记录小鼠体重变化, 造模 8 周 (CHOL) 或 10 周 (HFD) 后, 根据小鼠体重, 将 HFD 或 CHOL 组小鼠随机分组, 加上阴性对照组共 5 组:

②阴性对照组小鼠 (n=10): 正常饮食饲喂, 同时饮用水 200 μL 灌胃, bid。

HFD 或 CHOL 组小鼠 (n=10): HFD 或 CHOL 饮食饲喂, 同时生理盐水 200μL 灌胃, bid。(注: HFD (60%高脂) 饲料 (惠特比科技发展 (北京) 有限公司) (D12492)、CHOL (40% 高脂 +1.25% 胆固醇) 饲料 (惠特比科技发展 (北京) 有限公司) (D12108C))

30 ③ 化合物 6-低组小鼠 (n=10): HFD 或 CHOL 饮食饲喂, 同时化合物 6 10 mg/kg 灌胃, bid。

④ 化合物 6-中组小鼠 (n=10): HFD 或 CHOL 饮食饲喂, 同时化合物 6 50 mg/kg 灌胃, bid。

35 ⑤ 化合物 6-高组小鼠 (n=10): HFD 或 CHOL 饮食饲喂, 同时化合物 6 150 mg/kg 灌胃, bid。

给药 8 周后, 通过摘眼球取血, 抗凝管收集全血约 1mL/只, 立即于冰上静置。4℃、3000 rpm, 离心 15 min。取上清约 0.4ml 于 EP 管中, 注意不要吸取到下层液体, 之后-80℃冰箱保存, 检测血脂和转氨酶等生化指标。小鼠安乐死, 取新鲜肝脏组织, 称重, 一部分置于冻存管, 液氮中保存备用; 另一部分置于 4%多聚甲醛溶液中固定 16 h~24 h, 进行组织学 HE 染色和油红 O 染色, 判定脂肪肝严重程度。

3. 肝脏的组织学分析

(1) 石蜡包埋

45 ①固定: 将小鼠按照标准操作, 取出组织, 将组织放入 4% 多聚甲醛中固定 24 h;

②脱水：将固定好的组织放入 70% 乙醇中过夜，然后依次放入 85%、95%、95%、95%、100%、100% 的乙醇中各 1 h，进行逐级脱水；

③透明：将经过脱水的组织依次放入 50% 二甲苯（二甲苯与乙醇等体积）、100% 二甲苯中、100% 二甲苯中各 20 min，进行透明处理；

5 ④浸蜡：将透明好的组织放入 60℃ 的石蜡中，每隔 1 h 换一次石蜡，一共四次，注意使用新的石蜡；

⑤包埋：向小铁槽内加入已经融化的石蜡（60℃），夹取浸好石蜡的组织放入其中，扣上带有标记一侧的包埋盒，再次加入融化的石蜡，操作过程中注意去除气泡；

10 ⑥将用石蜡包埋好的组织置于自动包埋机的冰台之上，待石蜡凝固后，放入 -20℃ 冰箱中，进一步冷却。

(2) 连续切片

①将包埋好的组织蜡块放置于切片机的相应位置上；

②调整切片厚度至实验所需的厚度，一般选用 3~4 μm 进行切片；

③将 6~8 个连续的组织切片轻轻放置于 55℃ 水浴展片机中，使其充分舒展；

15 ④用镊子轻轻将连续的组织切片分开；

⑤选取完全舒展、组织无褶皱的蜡片，用黏附载玻片将其取出，使切片附着与载玻片上；

⑥将载玻片水平放置于 70℃ 烘片机上，进行初步烘干，然后将其放入 70℃ 烤箱中烤片约 1 h。

20 (3) H&E 染色 (hematoxylin eosin staining, H&E)

①烤片：将组织切片放置于 70℃ 烤箱中 1 h；

②脱蜡：将组织切片依次放入二甲苯（I）→二甲苯（II）→二甲苯（III）中各 10 min，进行脱蜡；

25 ③复水：将脱蜡后的组织切片依次放入 100% 乙醇 2 min→100% 乙醇 2 min→95% 的乙醇 2 min→85% 乙醇 2 min→70% 乙醇 2 min→蒸馏水洗 3 min；

④染细胞核：将复水后的组织切片放入苏木素溶液中染色约 3~5 min，具体时间根据显微镜下观察情况而定；将切片放入自来水中清洗两次，每次数十秒；

⑤分化：将切片放入 1% 盐酸乙醇溶液（70% 乙醇配制）中分化数十秒，显微镜下控制时间，直至细胞核染色清晰；

30 ⑥反蓝：流水冲洗，直至切片变蓝，约 15~30 min；将组织切片放入蒸馏水中短洗；

⑦将切片放入伊红溶液中，染色约 30 s，显微镜下观察调整时间，若着色困难，可在染液中加入 1~2 滴冰醋酸，使组织切片更易着色，且不易脱色；

⑧脱水：将组织切片依次放入 70% 乙醇 2 min→85% 乙醇 2 min→95% 乙醇 2 min→100% 的乙醇 2 min→100% 乙醇 2 min；

35 ⑨透明：将切片一次放入二甲苯（I）→二甲苯（II）→二甲苯（III）中各 10 min；

⑩封片：向组织上滴加适量中性树胶，盖上盖玻片封片，避免产生气泡。

(4) 马松染色

马松（Masson）染色是胶原纤维染色中经典且权威的染色方法之一。胶原纤维显红色。染色步骤如下：

40 常规烤片、脱蜡（步骤同前）；高锰酸钾溶液氧化 5 min，水洗；Masson 染液染色 5 min；0.2% 醋酸溶液 2~3 s；5% 磷钨酸溶液 5 min；苯胺蓝溶液 7 min；0.2% 醋酸溶液洗 3 次；常规脱水、透封片，封片，自然晾干，室温保存。

使用成像系统采集组织染色切片上的图像，利用分析软件自动读取组织测量区域，计算测量区域中的阳性面积以及组织面积，并计算出阳性面积占比。

45 4. 肝功能指标检测

取小鼠血清，检测血清中 ALT、AST 的相关水平。

5. Q-PCR检测小鼠肝组织中目的基因表达

(1) 组织总 RNA 的提取

- ①称取10 mg组织放入研磨器中，加入液氮，用研磨棒充分研磨，研磨过程中，注意随时加入液氮，防止组织融化，导致RNA降解；
- ②将研磨后的组织放入1.5 mL EP中，加入1 mL Trizol裂解液，混匀；
- ③将样品置于恒温混匀器上，室温震荡，至组织完全溶解，约3~5 h；
- ④加入200 mL 三氯甲烷，剧烈震荡数十秒，室温静置5~10 min；
- ⑤4℃，12,000 rcf，离心15 min；离心时配制75%酒精（DEPC水配制），-20℃保存备用；
- ⑥取离心后的上清，置于新的EP管中，加入同体积的异丙醇，上下颠倒10次，室温静置10 min；
- ⑦4℃，12,000 rcf，离心15-20 min；
- ⑧弃去上清，留下沉淀，加入1 mL提前预冷的75%乙醇，洗去异丙醇，4℃，12,000 rcf，离心10 min；重复该步骤一次，晾干；
- ⑨根据沉淀量，加入30-100 μL DEPC水，溶解沉淀，即为所提组织RNA。
- ⑩ 用紫外分光光度计测定所提RNA浓度和纯度，-80℃保存。

(2) RNA 逆转录为 cDNA:

按照PrimeScript™ RT reagent Kit（Perfect Real Time）说明书，具体实验步骤如下：

① 配制逆转录反应体系（冰上操作）：

表 3-1 逆转录反应体系

组分	体积
5×PrimeScript Buffer	4 μL
PrimeScript RT Enzyme Mix I	1 μL
Oligo dT Primer（50 μM）	1 μL
Random 6 mers（100 μM）	1 μL
Total RNA	1 μg
RNase Free H ₂ O	补齐至总体积 20 μL /Sample

② 逆转录上机反应条件如下：

表 3-2 逆转录反应条件

反应温度	反应时间	循环次数
37℃	15 min	1
85℃	5 sec	1
4℃	+∞	--

所得产物即为cDNA，可直接用于后续Q-PCR实验或者-20℃保存。

(3) Q-PCR 检测目的基因表达：

按照 Power SYBR® Green PCR Master Mix 说明书，具体操作如下：

① 根据说明书配制Q-PCR反应体系如下：

表 3-3 Q-PCR 反应体系

组分	体积（μl）
SYBR Green qPCR Master Mix	5
cDNA（5 倍稀释）	2

Forward Primer (10 μM)	0.25
Reverse Primer (10 μM)	0.25
DNase Free dH ₂ O	2.5
Total	10 μl/Sample

② 使用ABI PRISM[®] 7500 system采用下列两步法标准扩增程序:

表 3-4 Q-PCR 反应条件

步骤	温度 (°C)	时间	循环数
1 预变性	95	2 min	1
2 热循环	95 60	15 sec 1 min	40
3 融解曲线程序			

反应结束后, 确认 Q-PCR 的扩增曲线和溶解曲线, 采用相对定量法 ($2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法) 对实验结果进行数据分析。

③ 所用引物序列如下:

表 3-5 Q-PCR 实验所用引物序列

检测基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
Mus-β-actin	GGCTGTATTCCCCTCCATCG	CCAGTTGGTAACAATGCCATGT
Mus-COL1A1	CTGGCGGTTTCAGGTCCAAT	TTCCAGGCAATCCACGAGC
Mus-COL3A1	CCTGGCTCAAATGGCTCAC	GACCTCGTGTTCGGGTAT
Mus-α-SMA	GGCACCCTGAACCCTAAGG	ACAATACCAGTTGTACGTCCAG
Mus-NS3TP1	TTGCTGCATAATCTTAGACGG C	ACAGGTTGGATAGTCAAAACAC C

(c) 化合物的热力学溶解度测试

取数份药物, 配制从不饱和溶液到饱和溶液的系列溶液, 置恒温条件下振荡至平衡, 经滤膜过滤, 取滤液分析, 测定药物在溶液中的实际浓度S, 并对配制溶液浓度c作图, 图中曲线的转折点A, 即为该药物的平衡溶解度。

热力学溶解度的测定采用的是摇瓶法 (pH=7.4), 并用高效液相-二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 或高效液相-串联质谱 (LC/MS/MS) 进行分析。

(d) 药代动力学测试

- 研究目的:
以大鼠为受试动物, 研究以下化合物在大鼠体内血浆的药代动力学行为。
- 试验方案:
 - 试验药品:
本发明实施例, 自制。
 - 试验动物:
SD大鼠, 6-8周龄, 每种给药方式3只/实施例, 雄性。
 - 进食状态:
禁食一晚, 服药后8小时进食, 自由饮水。
 - 样品收集:

在给药前、给药后5min、15min、30min、1hr、2hr、4hr、8hr和24hr采集血液。

2.5 样品处理:

将血液置于湿冰上离心获得血浆标本(2000 g, 4℃下5 min)。

2.6 液相分析

5 采用LC-MS/MS法测定血药浓度, HPLC条件为流动相A: H₂O-0.5%FA; 流动相B: ACN-0.5%FA;

3.试验结果与分析

采用WinNonlin 8.2非室型模型估算药代动力学参数(PK parameter, 包括但不限于药峰浓度(Cmax)、达峰时间(Tmax)、末端消除速率(Ke)、末端消除半衰期(T1/2)、药时曲线下面积(AUC)、清除率(CL)、表观分布容积(Vd)、平均驻留时间(MRT)、生物利用度(F)等)。

测试结果:

(a) 半活化LX2细胞中的对NS3TP1的调控情况-qPCR

15 LX2细胞正常传代分板, 贴壁生长12小时后, 加入200 μM的待测化合物, 48小时后收集细胞, 提取总RNA, 应用Q-PCR方法检测NS3TP1基因的表达。

结果(表1)显示, 本发明的化合物可上调的mRNA表达水平。

表1 对LX-2细胞中NS3TP1表达的上调情况

实施例	NS3TP1 上调作用
4**	B
6	A
54	A
77a	C
78a*	C

20 注: 与对照组相比, 未见明显上调作用为NA; 上调1~20%评级为C; 上调20~40%评级为B; 上调40%及以上评级为A; “-”表示未提供结果; “*”标记的化合物测试浓度为12.5 μM; “**”标记的化合物测试浓度为10 mM。

(b) 半活化LX2细胞中的体外药效评价-qPCR

25 LX2细胞正常传代分板, 贴壁生长12小时后, 加入50μM的待测化合物, 48小时后收集细胞, 提取总RNA, 应用Q-PCR方法检测肝纤维化相关基因(编码α-SMA的ACTA2、编码collagen I的COL1A1和COL1A2、编码collagen III的COL3A1、编码Smad3的SMAD3)和炎症相关基因(编码IL-1β的IL1B、编码TNFα的TNFα)mRNA表达水平的变化(具体方法参见前述5. Q-PCR检测目的基因表达)。α-SMA是肝星状细胞激活标志, collagen I、collagen III为主要细胞外基质沉积成分。

30 结果(表2)显示, 本发明的化合物可抑制肝纤维化相关基因的mRNA表达水平。其中, 化合物2、化合物4、化合物6、化合物8、化合物10、化合物12、化合物14、化合物15、化合物18、化合物19、化合物21、化合物22、化合物26、化合物28、化合物30、化合物33、化合物35、化合物38、化合物40、化合物42、化合物44、化合物47、化合物48、化合物50、化合物52、化合物53、化合物54、化合物59、化合物61、化合物63、化合物66、化合物70、化合物71、化合物72、化合物74等在mRNA水平上抑制collagen I和collagen III的表达; 化合物4、化合物6、化合物26、化合物28、化合物33、化合物53、化合物54、化合物68、化合物70、化合物73等在mRNA水平上抑制α-SMA的表达; 化合物1、化合物4、化合物6、化合物9、化合物12、化合物15、化合物22、化合物26、化合物28、在mRNA水平上抑制Smad3的表达。整体来说, 化合物4、化合物6、化合物12、化合物26、化合物47、化合物48、化合物52、化合物54抑制肝纤维化相关基因的mRNA表达水平的效果较强。

40

表2

实施例	COL1A1	COL1A2	COL3A1	α -SMA	Smad3	IL-1 β	TNF- α
1	E	NA	NA	E	D	NA	E
2	C	E	D	E	E	E	D
3*	C	E	E	NA	E	E	E
4	C	E	C	C	C	E	C
5	NA	NA	NA	NA	NA	E	NA
6	C	E	C	D	C	E	D
7**	NA	NA	NA	NA	NA	E	NA
8	D	NA	D	NA	E	E	NA
9	NA	NA	NA	E	D	C	NA
10	E	E	D	E	E	E	D
11	NA	NA	NA	NA	E	C	E
12	C	E	C	E	D	E	D
13	NA	E	NA	E	NA	E	E
14	D	NA	E	NA	NA	NA	E
15	D	NA	D	E	D	NA	E
16	E	NA	NA	NA	NA	NA	E
17	E	NA	NA	E	E	NA	D
18	D	E	E	NA	NA	NA	NA
19	D	D	D	NA	NA	NA	NA
20*	E	NA	E	E	E	NA	NA
21	E	NA	D	E	E	NA	NA
22	D	NA	E	NA	D	E	E
23	E	E	E	NA	E	E	E
24	E	NA	E	NA	NA	NA	NA
25	E	NA	NA	E	NA	NA	NA
26	C	E	C	D	D	NA	D
27	NA	NA	NA	NA	E	NA	NA
28	D	E	D	D	D	D	E
29	E	E	NA	E	NA	NA	NA
30	C	E	NA	E	NA	D	NA
31	E	NA	NA	E	NA	E	NA
32	D	NA	E	E	NA	NA	NA
33	C	E	E	C	E	E	NA
34	NA	NA	E	E	E	E	E
35	D	NA	E	NA	NA	NA	NA
36	NA	NA	E	E	E	NA	E
38	C	NA	E	NA	NA	NA	NA
39	NA	E	E	NA	NA	NA	E
40	C	NA	C	NA	E	E	E
41	NA	NA	E	NA	NA	E	NA
42	C	NA	E	NA	E	E	D
43	NA	NA	E	E	E	NA	NA
44	D	NA	E	NA	NA	E	NA
45**	E	E	E	E	E	E	E
46**	NA	E	NA	NA	NA	NA	NA
47	C	NA	D	NA	E	E	D
48	C	NA	D	NA	NA	NA	E
50	C	NA	E	NA	NA	NA	NA

51	NA	NA	NA	E	NA	NA	NA
52	C	E	C	NA	NA	NA	NA
53	D	E	D	D	NA	NA	NA
54	C	NA	D	NA	NA	NA	E
55**	E	E	E	E	NA	E	NA
57**	NA	NA	NA	NA	E	NA	NA
58	NA	E	E	E	NA	E	NA
59	D	NA	NA	E	NA	NA	E
60	NA	NA	NA	E	E	NA	NA
61	C	E	E	NA	E	E	E
62	E	NA	NA	E	E	E	E
63	NA	-	D	E	-	-	-
65*	D	-	E	E	-	-	-
66	C	-	NA	NA	-	-	-
67	NA	-	E	NA	-	-	-
68***	E	-	E	C	-	-	-
70***	E	-	D	B	-	-	-
71*	D	-	E	NA	-	-	-
72**	C	-	C	NA	-	-	-
73*	NA	-	NA	D	-	-	-
74***	C	-	C	C	-	-	-

注：与对照组相比，未见明显抑制作用为NA；抑制1~10%评级为E；抑制10~25%评级为D；抑制25%~50%评级为C；抑制50%~75%评级为B；抑制75%~100%评级为A；“-”表示未提供结果；“*”标记的化合物测试浓度为12.5 μ M；“**”标记的化合物测试浓度为25 μ M；“***”标记的化合物测试浓度为100 μ M。

(c) 活化LX2细胞中的体外肝纤维化模型的药效评价-qPCR

LX2细胞正常传代分板，贴壁生长12小时后，给予TGF β 1 (5 ng / mL) 激活，加入25 μ M浓度的待测化合物，24小时后收集细胞，提取总RNA，应用real-time PCR方法检测肝纤维化相关基因和炎症相关基因的表达水平。 α -SMA是肝星状细胞激活标志，collagen 1、collagen 3为主要细胞外基质沉积成分。

表3 对活化LX-2细胞中肝纤维化相关基因表达的调节情况

实施例	collagen 1	collagen 3	α -SMA
4	A	A	B
6	B	A	A

注：与对照组相比，未见明显抑制作用为NA；抑制1~10%评级为C；抑制10~25%评级为B；抑制25%以上评级为A；“-”表示未提供结果。

结果显示，在此项测试中，本发明的化合物可抑制肝纤维化相关基因的mRNA表达水平。

(d) 半活化LX2细胞中的体外药效评价-Western blot

LX2细胞正常传代分板，贴壁生长12小时后，加入不同浓度 (50 μ M、100 μ M、200 μ M、400 μ M) 的待测化合物，48小时后收集细胞，提取蛋白，应用Western blot方法检测肝纤维化相关基因的蛋白 (α -SMA、collagen I、collagen III、FN) 表达水平变化 (具体方法参见前述4 蛋白免疫印迹检测蛋白水平表达)。 α -SMA是肝星状细胞激活标志，collagen I、collagen III为主要细胞外基质沉积成分，纤维连接蛋白 (Fibronectin, FN) 是一种主要参与细胞黏附相互作用的黏附糖蛋白。

结果显示，本发明的化合物可抑制肝纤维化相关基因的mRNA表达水平，结果未展

示完全 (con为对照孔, P1为阳性对照孔, “ASP-50”为50 μ M天冬氨酸, 其余编号均为化合物编号-浓度(μ M)的形式)。其中化合物6、化合物47、化合物54对collagen I和collagen III蛋白表达的(图1)抑制作用强于ASP; 化合物4、化合物6、化合物41、化合物47、化合物48、化合物52对 α -SMA蛋白表达的(图2)抑制作用强于ASP; 化合物50、化合物52、化合物54对FN蛋白表达的(图3)抑制作用强于ASP。

(e) 活化LX2细胞中的体外药效评价-Western blot

LX2细胞正常传代分板, 贴壁生长12小时后, 给予TGF β 1 (5 ng/mL) 激活, 加入不同浓度的待测化合物, 24小时后收集细胞, 提取蛋白, 应用Western blot方法检测肝纤维化相关基因的蛋白(α -SMA、collagen I)表达水平变化(具体方法参见前述4蛋白免疫印迹检测蛋白水平表达)。 α -SMA是肝星状细胞激活标志, collagen I为主要细胞外基质沉积成分。

结果显示, LX2细胞给予TGF β 刺激后, 细胞中Collagen I表达增多, 给予化合物54、77a、78a后, 细胞中Collagen I和 α -SMA表达量明显减少(图4)。

(f) 化合物对肝纤维化动物模型中NS3TP1基因的调节效果

CCl₄诱导后, 小鼠肝组织中的小鼠肝组织NS3TP1表达明显下降, 说明小鼠肝纤维化和NS3TP1表达异常可能存在相关性。给予不同剂量的化合物6治疗后, 与未治疗组相比, 小鼠肝组织中NS3TP1表达逐渐升高, 且呈剂量依赖性(图5)。

(g) 化合物对肝纤维化模型动物的药效

观察及计算机分析马松染色切片情况, 可见CCl₄诱导后, 鼠肝脏组织中胶原(蓝色)明显沉积。给予化合物4 (20 mg/kg/d)、化合物6 (25 mg/kg/d)、化合物47 (20 mg/kg/d)、化合物54 (40 mg/kg/d) 治疗后, 与未治疗组和天冬氨酸组 (30 mg/kg/d) 相比, 小鼠肝组织中胶原沉积减少, 说明本发明的化合物(如化合物4、化合物6、化合物47、化合物54)可能具有减少胶原沉积, 抑制肝纤维化的作用(图6)。

观察及计算机分析马松染色切片情况, 可见CCl₄诱导后, 鼠肝脏组织中胶原(蓝色)明显沉积。给予化合物6 (10 mg/kg/bid、50 mg/kg/bid、150 mg/kg/bid) 治疗后, 与未治疗组相比, 小鼠肝组织中胶原沉积减少, 说明本发明的化合物(如化合物6)可能具有减少胶原沉积, 抑制肝纤维化的作用(图7)。

CCl₄诱导后, 小鼠转氨酶ALT、AST水平明显升高, 出现明显肝脏损伤, 给予本发明的化合物后, 与未治疗组相比, 小鼠血浆中ALT下降, 说明本申请的化合物对肝细胞具有保护作用, 可以减轻小鼠肝脏损伤, 改善肝功能。

从活性结果可知,

1. CCl₄诱导的肝纤维化小鼠模型中, 肝组织中的NS3TP1表达水平下降, 说明小鼠肝纤维化和NS3TP1表达异常可能存在相关性。

2. 从活性表征结果可知, 本发明中的化合物在细胞实验和体内实验中有上调NS3TP1表达的作用。

3. 从活性表征结果可知, 本发明中的化合物在细胞层面和动物层面的肝纤维化模型中也表现出减轻肝纤维化症状的作用。

(h) 化合物对NAFLD模型动物的药效

观察及计算机分析H&E染色切片情况, 可见给予HFD饮食饲喂后, 小鼠肝组织中可见大量脂滴积聚, 肝组织呈皂状弥漫性脂肪变。给予化合物6治疗后, 与未治疗组相比, 小鼠肝组织中脂滴聚集减少, 且呈剂量依赖性, 说明本发明的化合物(如化合物6)可能具有抑制脂肪肝的形成的作用(图9)。

观察及计算机分析H&E染色切片情况, 可见给予CHOL饮食饲喂后, 小鼠肝组织中可见大量脂滴积聚, 肝组织呈皂状弥漫性脂肪变。给予化合物6治疗后, 与未治疗组相比, 小鼠肝组织中脂滴聚集减少, 且呈剂量依赖性, 说明本发明的化合物(如化合物6)可能具有抑制脂肪肝的形成的作用(图10)。

(i) 溶解度测试

本发明部分化合物表现出良好的溶解度，明显优于天冬氨酸。

(j) 化合物的药代动力学测试

结果显示，向大鼠给予生理盐水后，24小时内大鼠体内的化合物6和天冬氨酸浓度在
5 1000~3000ng/mL之间波动，提示本发明的化合物6和天冬氨酸为大鼠的内源性物质；

向大鼠给予化合物6后（IV 10 mg/kg，PO 40 mg/kg），体内的化合物6水平显著提升
（IV 10 mg/kg 的Cmax为6100 ng/mL、PO 40 mg/kg 的Cmax为22500 ng/mL），但未见
天冬氨酸水平显著提升（IV 10 mg/kg 的Cmax为3017 ng/mL、PO 40 mg/kg 的Cmax为
4020 ng/mL），提示给予化合物6之后在大鼠体内主要以原型形式发挥药理作用，而不是
10 代谢为天冬氨酸发挥药理作用。

向大鼠分别给予天冬氨酸及化合物6后（PO 20 mg/kg），可见给予化合物6的大鼠的
Cmax和AUC显著高于给予天冬氨酸的大鼠，提示化合物6较天冬氨酸在体内暴露量上有
明显提升。同时可见给予化合物6的大鼠的Tmax显著小于给予天冬氨酸的大鼠，提示化
合物6能够更快地达到最高浓度。

15 表4 化合物在大鼠体内的药代动力学参数

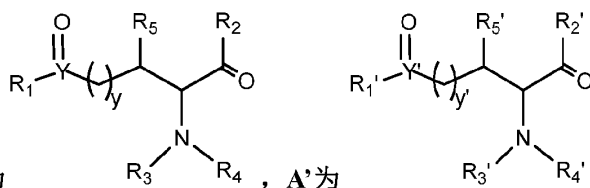
	天冬氨酸	化合物6
Tmax(hr)	24	0.5
Cmax(ng/mL)	1960	14800
AUClast (hr*ng/mL)	26671.815	71261.16

结果表明，本发明的化合物具有良好的药代动力学参数，在例如：AUC、Cmax和/
或生物利用度等多个药代动力学参数表现均优于天冬氨酸，具有更佳的成药性。

权 利 要 求

1、下式 I 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物在制备药物或试剂中的用途，所述药物用于以下的至少一种：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、或炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达；



其中 A 为 $R_1-C(=O)-[CH_2]_y-CH(R_5)(R_2)-N(R_3)(R_4)$ ，A' 为 $R_1'-C(=O)-[CH_2]_{y'}-CH(R_5')(R_2')-N(R_3')(R_4')$ ，A 与 A' 相同或者不同；

其中：

x 选自 0、1 和 2；

1) 当 x 为 0 时，A' 不存在；对于 A，其中：

R₁ 和 R₂ 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3}；

R₃ 和 R₄ 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-C(R^h)₂-R^{d1}、-(CO)-(L)_n-R^{d2}、-(CO)O-(L)_n-R^{d3}、-(SO₂)-(L)_n-R^{d4}、-P(O)(OR^e)₂，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环基的基团取代；

R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-R^{b1}、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-O-R^{b2}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b3}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O-R^{b4}、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-NR^{b5}R^{b6}、-(C1-C6 烷基)_n-NR^{b7}-(CO)-R^{b8}、-(C1-C6 烷基)_n-NR^{b9}-(CO)-O-R^{b10}，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

R^{b1}、R^{b2}、R^{b3}、R^{b4}、R^{b5}、R^{b6}、R^{b7}、R^{b8}、R^{b9}、R^{b10} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-O-R^{c1}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{c2}、-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O-R^{c3}，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代；

R^{c1}、R^{c2}、R^{c3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

L 各自独立选自下组基团：不存在、O、NR^{d5}、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基；

R^e 各自独立选自氢、氘、Na、K、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基的基团取代；

R^h 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-NHC(O)R^{d6}、-OC(O)R^{d7}、-OP(O)(ONa)₂、-NHC(O)OR^{d6}、-OC(O)OR^{d7}、-OC(O)NHR^{d8}；

R^{d1} 、 R^{d2} 、 R^{d3} 、 R^{d4} 、 R^{d5} 、 R^{d6} 、 R^{d7} 、 R^{d8} 各自独立选自下组基团：氢、氘、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个 R^f 取代；

R^f 各自独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C6-C10 芳基、卤代 C6-C10 芳基、C3-C7 环烷基、3-15 元杂环基、 $-NR^{g3}R^{g4}$ 、 $-OR^{g5}$ 、 $-NHC(O)R^{g6}$ 、 $-OC(O)R^{g7}$ ；

R^{g1} 、 R^{g2} 、 R^{g3} 、 R^{g4} 、 R^{g5} 、 R^{g6} 、 R^{g7} 各自独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

R_s 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；或者 R_s 选自氢、氨基；

Y 为 C 或 S；

y 为 0 及 0 以上的整数；或者 y 选自 0、1、2、3；再或者 y 为 0 或 1；

n 为 0 或 1；

2) 当 x 为 1 或者 2 时，A 与 A' 相同或者不同，其中：

一个单元 A 的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A' 的 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 中的任意一个相连；

各 L_1 独立地选自下组的单元连接基团组成：不存在、O、S、羰基、烷基（或者 C1-C6 烷基）、烯基（或者 C2-C6 烯基）、炔基（或者 C2-C6 炔基）、 $-O$ -烯基- O -（或者 $-O$ -C2-C6 烯基- O -）、 $-O$ -炔基- O -（或者 $-O$ -C2-C6 炔基- O -）、环烷基（或者 C3-C7 环烷基）、杂烷基（或者 3-7 元杂烷基；例如， $-O$ -烷基- O -（或者 $-O$ -C1-C6 烷基- O -）），其中烷基、环烷基、杂烷基任选地被一个或多个独立选自 Z 的基团取代；

Z 各自独立选自下组基团：卤素、氨基、烷基（或者 C1-C6 烷基）、烯基（或者 C2-C6 烯基）、炔基（或者 C2-C6 炔基）、卤代烷基（或者卤代 C1-C6 烷基）、环烷基（或者 C3-C7 环烷基）、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环；

或者 L_1 选自：不存在、 $-CR'R''$ ，其中 R' 和 R'' 各自独立地为 H、C1-C6 烷基（或者 C1-C3 烷基）；

再或者 L_1 选自：不存在、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ ；

对于 A，其中：

R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、 $-O-$ 、 $-O-R^{a1}$ 、 $-NR^{a2}R^{a3}$ ；

R_3 和 R_4 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-C(R^h)_2-R^{d1}$ 、 $-(CO)-(L)_n-R^{d2}$ 、 $-(CO)O-(L)_n-R^{d3}$ 、 $-(SO_2)-(L)_n-R^{d4}$ 、 $-P(O)(OR^e)_2$ ，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环的基团取代；

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-R^{b1}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-O-R^{b2}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-R^{b3}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-O-R^{b4}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-NR^{b5}R^{b6}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-NR^{b7}-(CO)-R^{b8}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-NR^{b9}-(CO)-O-R^{b10}$ ，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(C6-C10 \text{ 芳基})$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(3-15 \text{ 元杂环基})$ 的基团取代；

R^{b1} 、 R^{b2} 、 R^{b3} 、 R^{b4} 、 R^{b5} 、 R^{b6} 、 R^{b7} 、 R^{b8} 、 R^{b9} 、 R^{b10} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-O-R^{c1}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-R^{c2}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-O-R^{c3}$ ，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代；

R^{c1} 、 R^{c2} 、 R^{c3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

L 各自独立选自下组基团：不存在、O、 NR^{d5} 、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基；

R^e 各自独立选自氢、氘、Na、K、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基的基团取代；

R^h 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、 $-NHC(O)R^{g1}$ 、 $-OC(O)R^{g2}$ 、 $-OP(O)(ONa)_2$ 、 $-NHC(O)OR^{d6}$ 、 $-OC(O)OR^{d7}$ 、 $-OC(O)NHR^{d8}$ ；

R^{d1} 、 R^{d2} 、 R^{d3} 、 R^{d4} 、 R^{d5} 、 R^{d6} 、 R^{d7} 、 R^{d8} 各自独立选自下组基团：氢、氘、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个 R^f 取代；

R^f 各自独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C6-C10 芳基、卤代 C6-C10 芳基、C3-C7 环烷基、3-15 元杂环基、 $-NR^{g3}R^{g4}$ 、 $-OR^{g5}$ 、 $-NHC(O)R^{g6}$ 、 $-OC(O)R^{g7}$ ；

R^{g1} 、 R^{g2} 、 R^{g3} 、 R^{g4} 、 R^{g5} 、 R^{g6} 、 R^{g7} 各自独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

R_s 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；或者 R_s 选自氢、氨基；

Y 为 C 或 S；

y 为 0 及 0 以上的整数；或者 y 选自 0、1、2、3；再或者 y 为 0 或 1；

n 为 0 或 1；

对于 A'，其中：

R_1' 和 R_2' 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、 $-O-$ 、 $-O-R^{a1}$ 、 $-NR^{a2}R^{a3}$ ；

R_3' 和 R_4' 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-C(R^h)_2-R^{d1}$ 、 $-(CO)-(L)_n-R^{d2}$ 、 $-(CO)O-(L)_n-R^{d3}$ 、 $-(SO_2)-(L)_n-R^{d4}$ 、 $-P(O)(OR^e)_2$ ，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环的基团取代；

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-R^{b1}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-O-R^{b2}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-R^{b3}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-O-R^{b4}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-NR^{b5}R^{b6}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-NR^{b7}-(CO)-R^{b8}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-NR^{b9}-(CO)-O-R^{b10}$ ，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(C6-C10 \text{ 芳基})$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})-(3-15 \text{ 元杂环基})$ 的基团取代；

R^{b1} 、 R^{b2} 、 R^{b3} 、 R^{b4} 、 R^{b5} 、 R^{b6} 、 R^{b7} 、 R^{b8} 、 R^{b9} 、 R^{b10} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-(CO)-O-R^{c1}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-R^{c2}$ 、 $-(C1-C6 \text{ 烷基})_n-O-(CO)-O-R^{c3}$ ，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代；

R^{c1} 、 R^{c2} 、 R^{c3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

L 各自独立选自下组基团：不存在、O、 NR^{d5} 、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基；

R^e 各自独立选自氢、氘、Na、K、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7

环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基的基团取代；

R^h 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、 $-NHC(O)R^{g1}$ 、 $-OC(O)R^{g2}$ 、 $-OP(O)(ONa)_2$ 、 $-NHC(O)OR^{d6}$ 、 $-OC(O)OR^{d7}$ 、 $-OC(O)NHR^{d8}$ ；

R^{d1} 、 R^{d2} 、 R^{d3} 、 R^{d4} 、 R^{d5} 、 R^{d6} 、 R^{d7} 、 R^{d8} 各自独立选自下组基团：氢、氘、氨基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个 R^f 取代；

R^f 各自独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C6-C10 芳基、卤代 C6-C10 芳基、C3-C7 环烷基、3-15 元杂环基、 $-NR^{g3}R^{g4}$ 、 $-OR^{g5}$ 、 $-NHC(O)R^{g6}$ 、 $-OC(O)R^{g7}$ ；

R^{g1} 、 R^{g2} 、 R^{g3} 、 R^{g4} 、 R^{g5} 、 R^{g6} 、 R^{g7} 各自独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基；

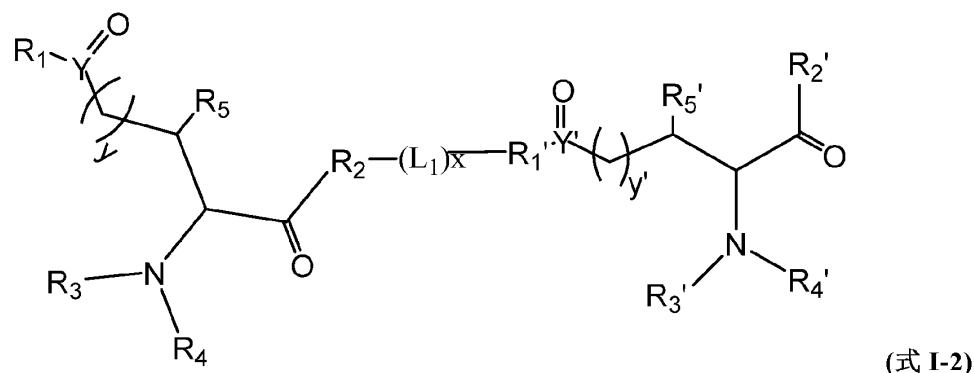
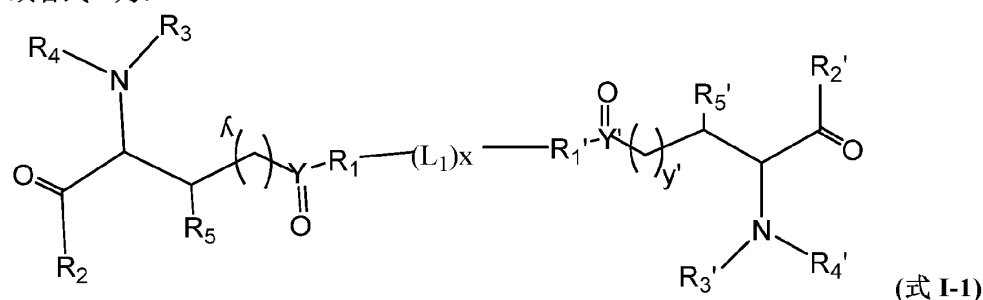
R^s 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；或者 R^s 选自氢、氨基；

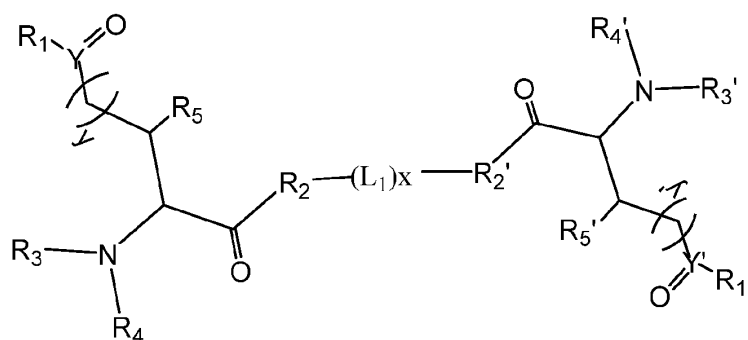
Y' 为 C 或 S；

y' 为 0 及 0 以上的整数；或者 y' 选自 0、1、2、3；再或者 y' 为 0 或 1；

n 为 0 或 1；

或者式 I 为：





(式 I-3)。

2、权利要求 1 的用途，其中，

1) 当 x 为 0 时， A' 不存在；对于 A ，其中：

R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团：

C1-C6 烷基，

-O- R^{a1} ，其中， R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)- R^{b1} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)-O- R^{b2} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b3} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)-O- R^{b4} ，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

- $NR^{a2}R^{a3}$ ，其中， R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自：氢、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)- R^{b1} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)-O- R^{b2} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b3} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)-O- R^{b4} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)- $NR^{b5}R^{b6}$ ，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

R^{b1} 、 R^{b2} 、 R^{b3} 、 R^{b4} 、 R^{b5} 、 R^{b6} 各自独立选自下组基团：氢、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)-O- R^{c1} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{c2} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)-O- R^{c3} ，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代；

R^{c1} 、 R^{c2} 、 R^{c3} 各自独立选自下组基团：氢、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基；

或者， R_1 和 R_2 各自独立选自下组基团：

羟基，

C1-C6 烷基，

-O- R^{a1} ，其中， R^{a1} 选自：任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代的 C1-C6 烷基，C3-C7 环烷基，C2-C6 烯基，-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)-O- R^{b4} ，其中 R^{b4} 选自 C1-C6 烷基， n 为 1；

- $NR^{a2}R^{a3}$ ，其中， R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自：

氢，

C1-C6 烷基，其中 C1-C6 烷基任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代；

-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b3} ， R^{b3} 为 C1-C6 烷基，其进一步被 C6-C10 芳基取代；

-(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)- R^{b1} ， R^{b1} 为羟基， n 或 1；

-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-NR^{b5}R^{b6}, n 为 1, R^{b5}、R^{b6} 各自独立为氢, 或 3-15 元杂环基, 所述杂环进一步被一个或多个 C1-C6 烷基取代;

-(C1-C6 烷基)_n-(CO)-O-R^{b2}, 烷基被一个或多个 C6-C10 芳基取代, n 为 1, R^{b2} 为 C1-C6 烷基或-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-O-R^c, R^c 为 C1-C6 烷基;

R₃ 与 R₄ 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基、-(CO)-(L)_n-R^{d2}、-(CO)O-(L)_n-R^{d3}, 所述烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环的基团取代;

L 各自独立选自下组基团: 不存在、O、NR^{d5}、C1-C6 烷基;

R^{d5}、R^{d2}、R^{d3} 各自独立选自下组基团: 氢、氨基、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个 R^f 取代;

R^f 各自独立选自氨基、卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、卤代 C6-C10 芳基、C3-C7 环烷基、3-15 元杂环基;

或者, R₃ 与 R₄ 各自独立地选自: 氢,

羟基,

C1-C6 烷基,

-(CO)-(L)_n-R^{d2}: 其中, (L)_n 与 R^{d2} 的组合选项分别选自以下组合:

1) L 为不存在, R^{d2} 为 C1-C6 烷基, 进一步被一个或多个 R^f 取代, R^f 为氨基;

2) L 为不存在, R^{d2} 为 H;

3) L 为不存在, R^{d2} 为 C1-C6 烷基;

4) L 为不存在, R^{d2} 为 C1-C6 烷基, 进一步被一个或多个 R^f 取代, R^f 选自 C1-C6 烷基、氨基;

5) L 为不存在, R^{d2} 为 3-15 元杂环基;

6) L 为 NR^{d5}, R^{d5} 为 C1-C6 烷基, n 为 1, R^{d2} 为 H;

-(CO)O-(L)_n-R^{d3}: 其中, (L)_n 与 R^{d3} 的组合选项选自: L 为不存在, R^{d3} 为 C1-C6 烷基, 其任选地进一步被一个或多个 R^f 取代, R^f 选自 C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、多环芳香烃基 (例如, 茚基);

2) 当 x 为 1 或者 2 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中

对于 A, 其中:

R₁ 和 R₂ 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、-O-、-O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3};

R₃ 和 R₄ 各自独立选自下组基团: 氢、氖、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环的基团取代;

R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氖、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

R₅ 选自下组基团: 氢、氖、C1-C6 烷基、卤素、氨基; 或者 R₅ 选自氢、氨基; 再或者 R₅ 选自氢;

Y 为 C;

y 选自 0、1、2、3; 或者 y 为 0 或 1;

对于 A', 其中:

R_1' 和 R_2' 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、-O-、-O- R^{a1} 、- $NR^{a2}R^{a3}$;

R_3' 和 R_4' 各自独立选自下组基团: 氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环的基团取代;

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

R_5' 选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基; 或者 R_5 选自氢、氨基; 再或者 R_5 选自氢;

Y' 为 C;

y' 选自 0、1、2、3; 或者 y 为 0 或 1。

3、权利要求 1 或 2 的用途, 其中,

1) 当 x 为 0 时, A' 不存在; 对于 A , 其中:

R_1 选自:

C1-C6 烷基,

-O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b3} , 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

- $NR^{a2}R^{a3}$, 其中, R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自: 氢、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)- R^{b1} 、-(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b3} , 所述烷基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

R^{b1} 、 R^{b3} 各自独立选自下组基团: 氢、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基, 所述烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代;

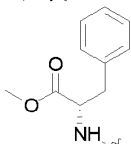
或者, R_1 选自: 羟基,

C1-C6 烷基,

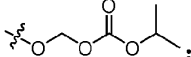
-O- R^a , 其中, R^a 选自: 任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代的 C1-C6 烷基, C3-C7 环烷基, C2-C6 烯基, -(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)-O- R^{b4} , 其中 R^{b4} 选自 C1-C6 烷基, n 为 1;

- $NR^{a2}R^{a3}$, 其中, R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自: 氢; C1-C6 烷基, 其任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代; -(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b3} , R^{b3} 为 C1-C6 烷基, 其进一步被 C6-C10 芳基取代; -(C1-C6 烷基) $_n$ -(CO)- R^{b1} , R^{b1} 为羟基, n 为 1;

再或者, R_1 选自: 羟基、甲氧基、-OCH₂CH=CH₂、乙氧基、-OC(CH₃)₃、-



OCH₂C₆H₅、-OC₆H₁₁、Trt-NH-、CH₃-NH-、HOCOCH₂NH-、-OCH(CH₃)₂、-

$-\text{CH}_3$ 、; 其中, Trt 表示三苯甲基;

R_2 选自:

C1-C6 烷基,

$-\text{O}-R^{a1}$, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C6-C10 芳基、 $-(\text{C1-C6 烷基})_n-\text{O}-(\text{CO})-\text{O}-R^{b4}$, 所述烷基、烯基、芳基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、 $-(\text{C1-C6 烷基})-(\text{C6-C10 芳基})$ 的基团取代;

$-\text{NR}^{a2}R^{a3}$, 其中, R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自: 氢、C1-C6 烷基、 $-(\text{C1-C6 烷基})_n-(\text{CO})-R^{b1}$ 、 $-(\text{C1-C6 烷基})_n-(\text{CO})-\text{O}-R^{b2}$ 、 $-(\text{C1-C6 烷基})_n-(\text{CO})-\text{NR}^{b5}R^{b6}$ 、3-15 元杂环基, 所述烷基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基的基团取代;

R^{b1} 、 R^{b2} 、 R^{b4} 、 R^{b5} 、 R^{b6} 各自独立选自下组基团: 氢、羟基、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、 $-(\text{C1-C6 烷基})_n-\text{O}-(\text{CO})-\text{O}-R^{c3}$, 所述环烷基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、羧基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基的基团取代;

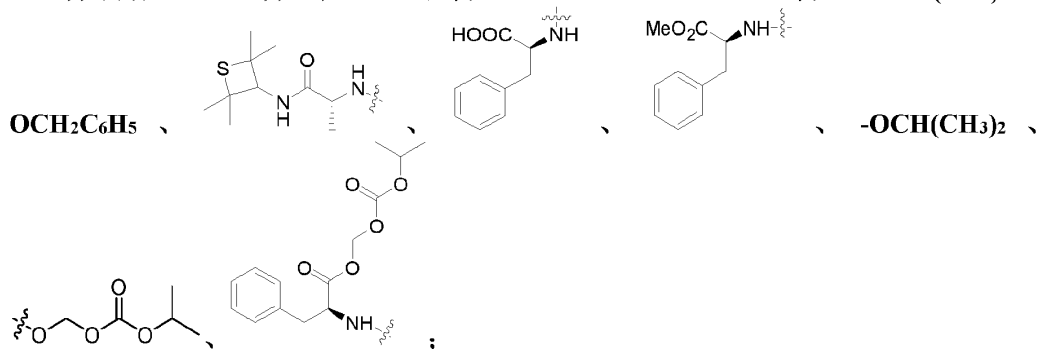
R^{c3} 各自独立选自下组基团: 氢、羟基、氨基、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基;

或者, R_2 选自: 羟基,

$-\text{O}-R^{a1}$: 其中, R^{a1} 选自: 任选地进一步被一个或多个 C6-C10 芳基取代的 C1-C6 烷基, C2-C6 烯基, $-(\text{C1-C6 烷基})_n-\text{O}-(\text{CO})-\text{O}-R^{b4}$, 其中 R^{b4} 选自 C1-C6 烷基, n 为 1;

$-\text{NR}^{a2}R^{a3}$: R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自: 氢; $-(\text{C1-C6 烷基})_n-(\text{CO})-\text{NR}^{b5}R^{b6}$, n 为 1, R^{b5} 、 R^{b6} 各自独立为氢, 或 3-15 元杂环基, 所述杂环进一步被一个或多个 C1-C6 烷基取代; $-(\text{C1-C6 烷基})_n-(\text{CO})-R^{b1}$, n 为 1, R^{b1} 为羟基; $-(\text{C1-C6 烷基})_n-(\text{CO})-\text{O}-R^{b2}$, 所述烷基被一个或多个 C6-C10 芳基取代, n 为 1, R^{b2} 为 C1-C6 烷基或 $-(\text{C1-C6 烷基})_n-\text{O}-(\text{CO})-\text{O}-R^{c3}$, R^{c3} 为 C1-C6 烷基;

再或者, R_2 选自: 羟基、甲氧基、 $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ 、乙氧基、 $-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ 、-



R_3 与 R_4 各自独立地选自: 氢、羟基、Boc、Cbz、 $-\text{CH}_3$ 、Fmoc、 $-\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ 、-

COCH_2NH_2 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{COCH}_3$ 、、 $-\text{COCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{COCH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{COCH}(\text{CH}_2)_2$ 、 $-\text{COOCH}_3$ 、 $-\text{CON}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{COCH}(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)$; 其中, Boc 表示叔丁氧羰基, Cbz 表示苄氧羰基, Fmoc 表示芴甲氧羰基;

2) 当 x 为 1 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中

一个单元 A 的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A' 的 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、

R₄'中的任意一个相连;

各 L₁独立地选自下组的单元连接基团组成: 不存在、O、S、羰基、烷基(或者 C1-C6 烷基)、烯基(或者 C2-C6 烯基)、炔基(或者 C2-C6 炔基)、-O-烯基-O-(或者-O-C2-C6 烯基-O-)-、-O-炔基-O-(或者-O-C2-C6 炔基-O-)-、环烷基(或者 C3-C7 环烷基)、杂烷基(或者 3-7 元杂烷基; 例如, -O-烷基-O-(或者-O-C1-C6 烷基-O-)), 其中烷基、环烷基、杂烷基任选地被一个或多个独立选自 Z 的基团取代;

Z 各自独立选自下组基团: 卤素、氨基、烷基(或者 C1-C6 烷基)、烯基(或者 C2-C6 烯基)、炔基(或者 C2-C6 炔基)、卤代烷基(或者卤代 C1-C6 烷基)、环烷基(或者 C3-C7 环烷基)、芳基(或者 C6-C12 芳基)、杂环;

或者 L₁选自: 不存在、-CR'R'', 其中 R'和 R''各自独立地为 H、C1-C6 烷基(或者 C1-C3 烷基);

再或者 L₁选自: 不存在、-CH₂-、-CH(CH₃)-、-C-(CH₃)₂;

对于 A, 其中:

R₁选自: -O-, C1-C6 烷基, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1}选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R₁选自: -O-, 羟基, -O-R^a: R^a为 C1-C6 烷基;

再或者, R₁选自: -O-、羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

Y 为 C;

y 为 0;

R₂选自: -O-, C1-C6 烷基, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1}选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R₂选自: 羟基, -O-, -O-R^a: R^a为 C1-C6 烷基;

再或者, R₂选自: 羟基、-O-、甲氧基;

R₃与 R₄各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;

或者, R₃和 R₄各自独立地为氢;

R₅选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基; 或者 R₅选自氢、氨基; 再或者 R₅选自氢;

对于 A', 其中:

R₁'选自: -O-, C1-C6 烷基, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1}选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R₁'选自: -O-, 羟基, -O-R^a: R^a为 C1-C6 烷基;

再或者, R₁'选自: -O-、羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

Y'为 C;

y'为 0;

R₂'选自: -O-, C1-C6 烷基, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1}选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R₂'选自: 羟基, -O-, -O-R^a: R^a为 C1-C6 烷基;

再或者, R_2' 选自: 羟基、-O-、甲氧基;
 R_3' 与 R_4' 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;
 或者, R_3' 和 R_4' 各自独立地为氢;
 R_5' 选自下组基团: 氢、氖、C1-C6 烷基、卤素、氨基;
 或者 R_5' 选自氢、氨基;
 再或者 R_5' 选自氢;

3) 当 x 为 2 时, A 与 A' 相同或者不同, 其中

一个单元 A 的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A' 的 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 中的任意一个相连;

各 L_1 独立地选自下组的单元连接基团组成: 不存在、O、S、羰基、烷基 (或者 C1-C6 烷基)、烯基 (或者 C2-C6 烯基)、炔基 (或者 C2-C6 炔基)、-O-烯基-O- (或者 -O-C2-C6 烯基-O-)、-O-炔基-O- (或者 -O-C2-C6 炔基-O-)、环烷基 (或者 C3-C7 环烷基)、杂烷基 (或者 3-7 元杂烷基; 例如, -O-烷基-O- (或者 -O-C1-C6 烷基-O-)), 其中烷基、环烷基、杂烷基任选地被一个或多个独立选自 Z 的基团取代;

Z 各自独立选自下组基团: 卤素、氨基、烷基 (或者 C1-C6 烷基)、烯基 (或者 C2-C6 烯基)、炔基 (或者 C2-C6 炔基)、卤代烷基 (或者卤代 C1-C6 烷基)、环烷基 (或者 C3-C7 环烷基)、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环;

或者 L_1 选自: 不存在、-CR'R'', 其中 R' 和 R'' 各自独立地为 H、C1-C6 烷基 (或者 C1-C3 烷基);

再或者 L_1 选自: 不存在、-CH₂-、-CH(CH₃)-、-C(CH₃)₂;

进而再或者, L_1 选自: -CH₂-;

对于 A, 其中:

R_1 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R_1 选自: -O-, 羟基, -O-R^a; R^a 为 C1-C6 烷基;

再或者, R_1 选自: -O-、羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

再进一步或者, R_1 选自: 甲氧基;

Y 为 C;

y 为 0;

R_2 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R_2 选自: 羟基, -O-, -O-R^a; R^a 为 C1-C6 烷基;

再或者, R_2 选自: 羟基、-O-、甲氧基;

再进一步或者, R_2 选自: -O-;

R_3 与 R_4 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;

或者, R_3 和 R_4 各自独立地为氢;

R_5 选自下组基团: 氢、氖、C1-C6 烷基、卤素、氨基; 或者 R_5 选自氢、氨基; 再或者 R_5 选自氢;

对于 A', 其中:

R_1' 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯

基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

或者， R_1 选自：-O-，羟基，-O- R^a ； R^a 为 C1-C6 烷基；

再或者， R_1' 选自：-O-、羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂；

再进一步或者， R_1' 选自：甲氧基；

Y' 为 C；

y' 为 0；

R_2' 选自：-O-，C1-C6 烷基，-O- R^{a1} ，其中， R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

或者， R_2' 选自：羟基，-O-，-O- R^a ； R^a 为 C1-C6 烷基；

再或者， R_2' 选自：羟基、-O-、甲氧基；

再进一步或者， R_2' 选自：-O-；

R_3' 与 R_4' 各自独立地选自：氢、羟基、C1-C6 烷基；

或者， R_3' 和 R_4' 各自独立地为氢；

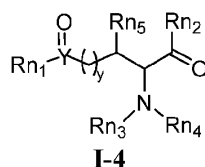
R_5' 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；

或者 R_5' 选自氢、氨基；

再或者 R_5' 选自氢。

4、下式 I-4 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物在制备药物或试剂中的用途，所述药物用于以下的至少一种：

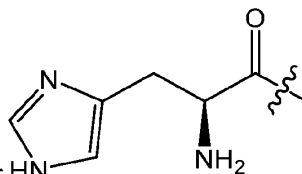
- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、或炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达；

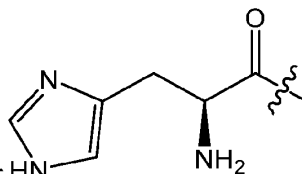


其中：

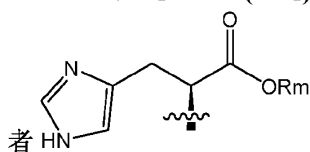
R_{n1} 和 R_{n2} 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-O- R^{a4} 、-O-L2-O- R^{a4} 、-NR^{a5}R^{a6}；

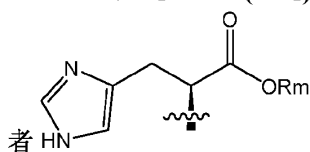
各 R^{a4} 独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C3-C7 环烷基 C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基、-(O=)C-CH₂-CH(NH₂)-COOR_m、-(O=)C-CH(NH₂)-CH₂-COOR_m、Ph-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、NH₂-CH₂-C(=O)-、CH₃-CH(NH₂)-C(=O)-、R_mOOC-(CH₂)₂-CH(NH₂)-C(=O)-、-C(=O)-(CH₂)₂-CH(NH₂)-COOR_m、R_mOOC-CH(NH₂)-CH₂-S-S-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、H₂N-CO-(CH₂)₂-CH(NH₂)-C(=O)-、



$\ast\text{N}=\text{CH}-\text{NH}-\text{CH}=\ast\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ (或者 )、 $\text{HO}-\text{p}-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{CH}_3-\text{S}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{HN}=\text{C}(\text{NH}_2)-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ ；其中，Ph 表示苯基， $\text{HO}-\text{p}-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 表示对羟基苯甲基氨基甲基羰基；

$\text{R}^{\text{a}5}$ 和 $\text{R}^{\text{a}6}$ 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基氨基酰基 C1-C6 烷基、Ph- $\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COORm})-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{COORm}$ 、 $-\text{CH}(\text{COORm})-\text{CH}_2-\text{COORm}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COORm}$ 、 $\text{RmOOC}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{COORm})-$ 、 $-\text{CH}(\text{COORm})-\text{CH}_2-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COORm}$ 、 $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{COORm})-$ 、 $\ast\text{N}=\text{CH}-\text{NH}-\text{CH}=\ast\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COORm})-$ (或



者 )、 $\text{HO}-\text{p}-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COORm})-$ 、 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COORm})-$ 、 $\text{CH}_3-\text{S}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{COORm})-$ 、 $\text{HN}=\text{C}(\text{NH}_2)-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}(\text{COORm})-$ 、 $(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COORm})-$ ；

各 Rm 独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基-O-L3-；

L2 和 L3 各自独立的选自下组基团：C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、3-7 元杂烷基，L2 和 L3 各自任意的被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基的基团取代；

Rn_3 和 Rn_4 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、 $\text{H}(\text{C}=\text{O})-$ 、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、氨基酰基、C1-C6 烷基酰基、C1-C6 烷氧酰基、C1-C6 烷氨基酰基，氨基 C1-C6 烷酰基、3-15 元杂环基酰基、C3-C7 环烷基酰基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷氧基酰基；

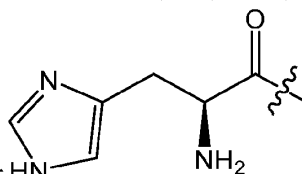
Y 为 C 或 S；

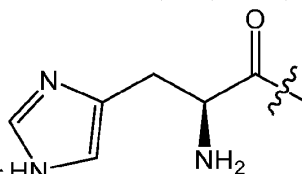
y 为 0、1、2 或 3；

或者

Rn_1 和 Rn_2 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、 $-\text{O}-\text{R}^{\text{a}4}$ 、 $-\text{O}-\text{L}_2-\text{O}-\text{R}^{\text{a}4}$ 、 $-\text{NR}^{\text{a}5}\text{R}^{\text{a}6}$ ；

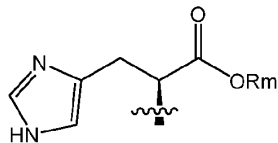
各 $\text{R}^{\text{a}4}$ 独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C3-C7 环烷基 C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基、 $-(\text{O})\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COORm}$ 、 $\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{CH}_3-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{RmOOC}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{RmOOC}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、



$\ast\text{N}=\text{CH}-\text{NH}-\text{CH}=\ast\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ (或者 )、 $\text{HO}-\text{p}-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{CH}_3-\text{S}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $\text{HN}=\text{C}(\text{NH}_2)-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-$ ；

$\text{R}^{\text{a}5}$ 和 $\text{R}^{\text{a}6}$ 各自独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、

C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基氨酰基 C1-C6 烷基、Ph-CH₂-CH(COORm)-、-CH₂-COORm、-CH(COORm)-CH₂-COORm、-CH(CH₃)-COORm、RmOOC-(CH₂)₂-CH(COORm)-、-CH(COORm)-CH₂-S-S-CH₂-CH(NH₂)-COORm、H₂N-CO-(CH₂)₂-CH(COORm)-、*N=CH-NH-CH=*C--CH₂-CH(COORm)- (或者



)、HO-p-Ph-CH₂-CH(COORm)-、HO-CH₂-CH(COORm)-、CH₃-S-(CH₂)₂-CH(COORm)-、HN=C(NH₂)-NH-(CH₂)₃-CH(COORm)-、(CH₃)₂CH-CH₂-CH(COORm)-;

各 Rm 独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基-O-L3-;

L2 和 L3 各自独立的选自下组基团：C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、3-7 元杂烷基，L2 和 L3 各自任意的被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基的基团取代;

Rn₃ 和 Rn₄ 各自独立选自下组基团：氢、羟基、H(C=O)-, C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、氨基酰基、C1-C6 烷基酰基、C1-C6 烷氧酰基、C1-C6 烷氨基酰基，氨基 C1-C6 烷酰基、3-15 元杂环基酰基、C3-C7 环烷基酰基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷氧基酰基;

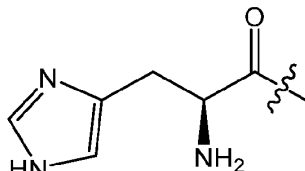
Y 为 C;

y 为 0、1 或 2;

再或者

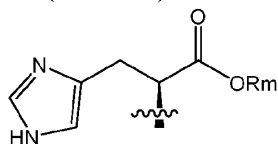
Rn₁ 和 Rn₂ 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-O-R^{a4}、-O-L2-O-R^{a4}、-NR^{a5}R^{a6};

各 R^{a4} 独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基 C1-C6 烷基、-(O)=C-CH₂-CH(NH₂)-COORm、Ph-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、NH₂-CH₂-C(=O)-、CH₃-CH(NH₂)-C(=O)-、RmOOC-(CH₂)₂-CH(NH₂)-C(=O)-、RmOOC-CH(NH₂)-CH₂-S-S-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、H₂N-CO-(CH₂)₂-CH(NH₂)-C(=O)-、*N=CH-NH-CH=*C-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-



(或者 HN-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-)、HO-p-Ph-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、HO-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-、CH₃-S-(CH₂)₂-CH(NH₂)-C(=O)-、HN=C(NH₂)-NH-(CH₂)₃-CH(NH₂)-C(=O)-、(CH₃)₂CH-CH₂-CH(NH₂)-C(=O)-;

R^{a5} 和 R^{a6} 各自独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、3-15 元杂环基氨酰基 C1-C6 烷基、Ph-CH₂-CH(COORm)-、-CH₂-COORm、-CH(COORm)-CH₂-COORm、-CH(CH₃)-COORm、RmOOC-(CH₂)₂-CH(COORm)-、-CH(COORm)-CH₂-S-S-CH₂-CH(NH₂)-COORm、H₂N-CO-(CH₂)₂-CH(COORm)-、*N=CH-NH-CH=*C--CH₂-CH(COORm)- (或者



)、HO-p-Ph-CH₂-CH(COORm)-、HO-CH₂-CH(COORm)-、CH₃-S-(CH₂)₂-CH(COORm)-、HN=C(NH₂)-NH-(CH₂)₃-CH(COORm)-、(CH₃)₂CH-CH₂-CH(COORm)-;

各 R_m 独立选自下组基团：氢、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧酰基-O-L3-；

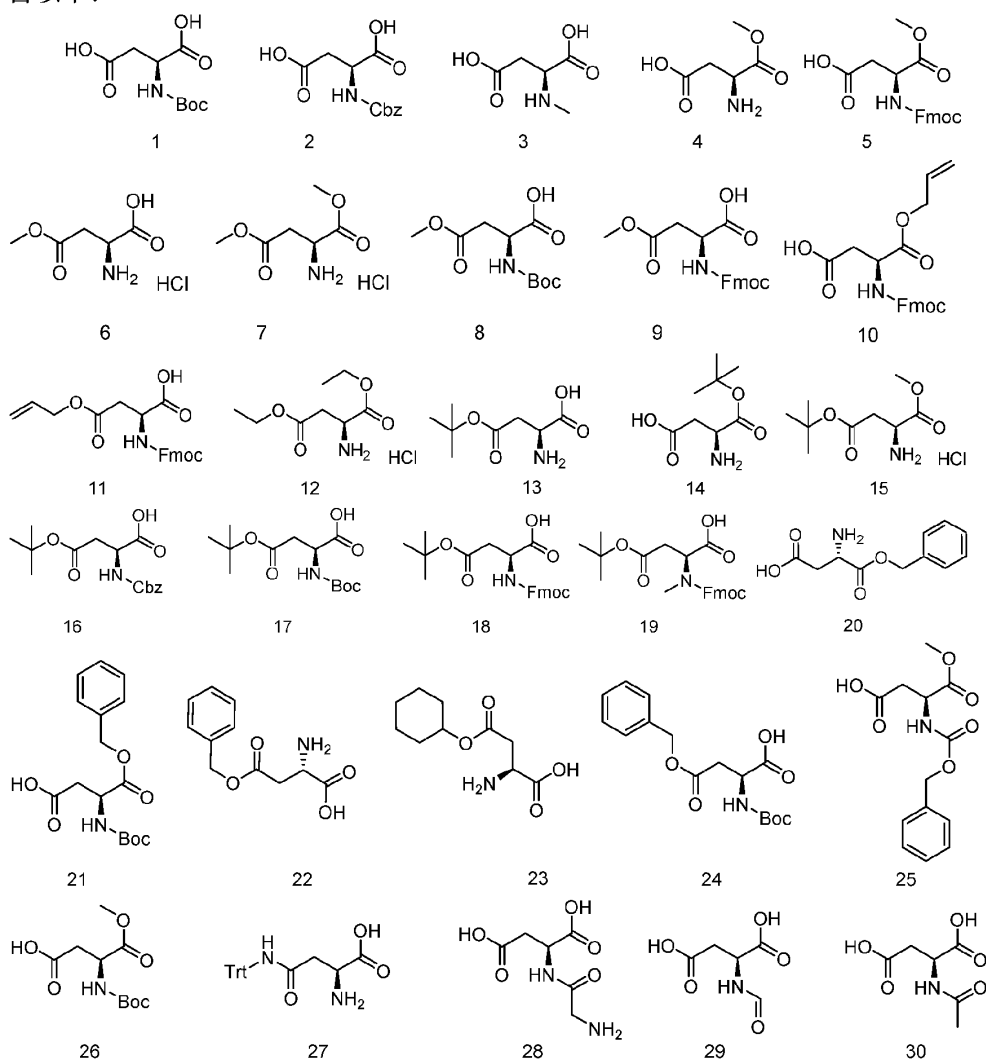
L2 和 L3 各自独立的选自下组基团：C1-C6 烷基，L2 和 L3 各自任意的被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基的基团取代；

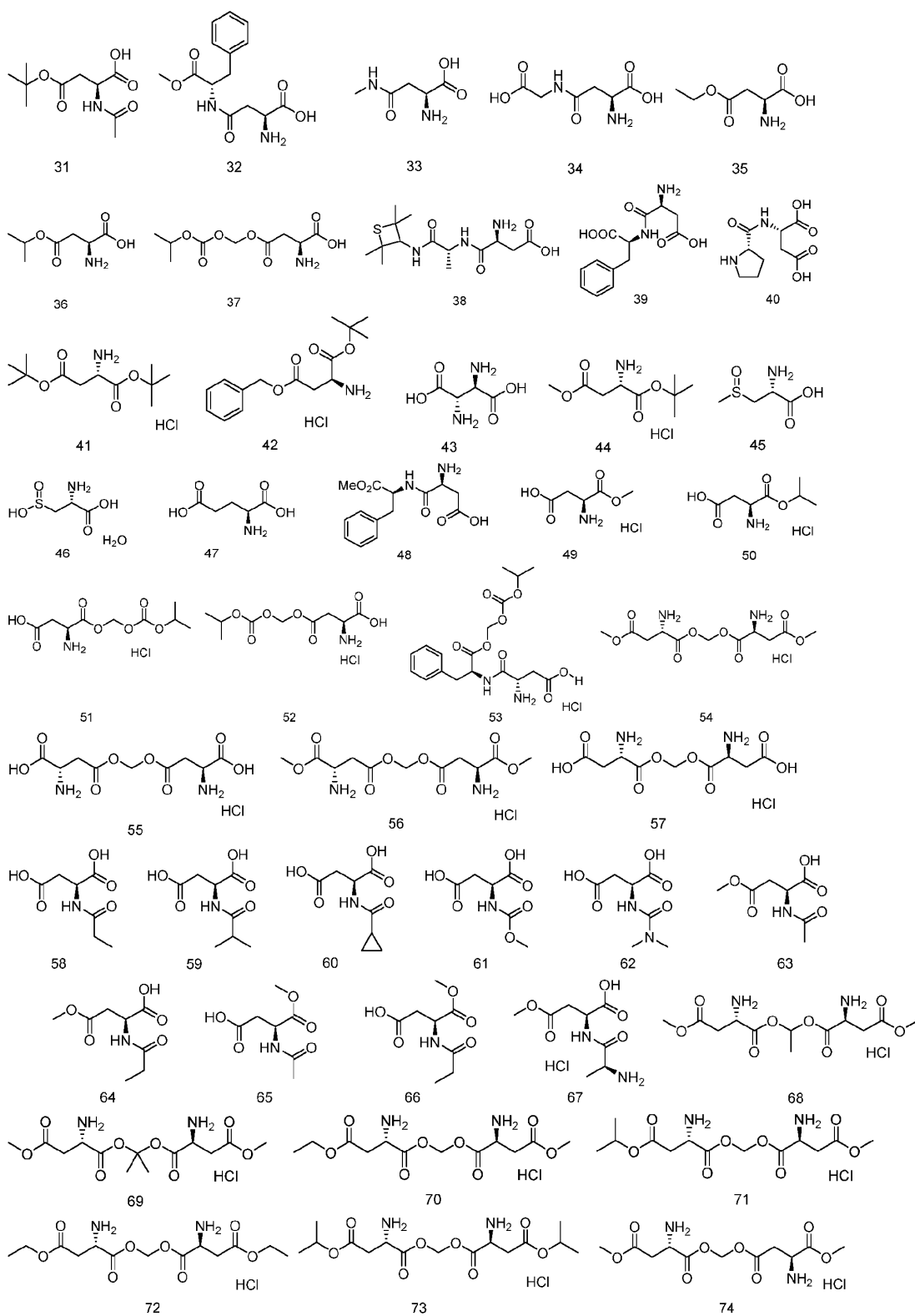
R_{n3} 和 R_{n4} 各自独立选自下组基团：氢、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、氨基酰基、C1-C6 烷基酰基、C1-C6 烷氧酰基、C1-C6 烷氨基酰基、氨基 C1-C6 烷酰基、3-15 元杂环基酰基、C3-C7 环烷基酰基、C6-C10 芳基 C1-C6 烷氧基酰基；

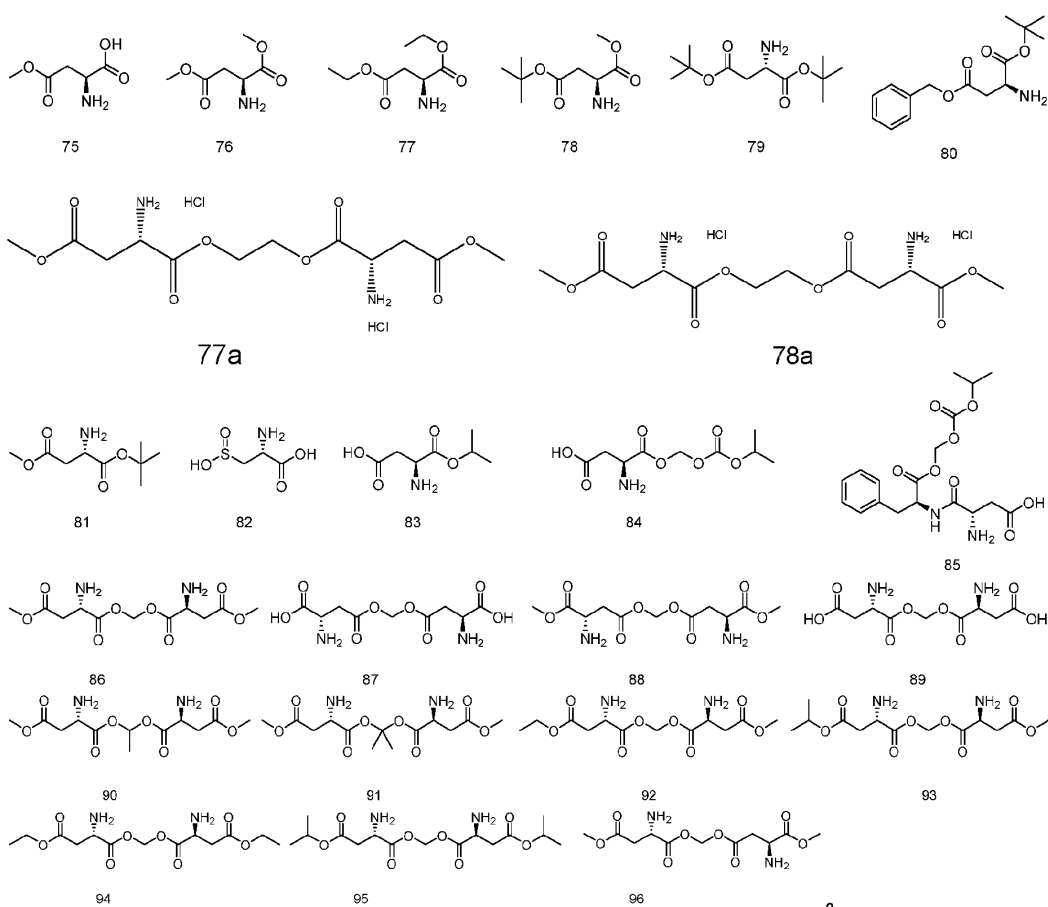
Y 为 C；

y 为 0、1 或 2。

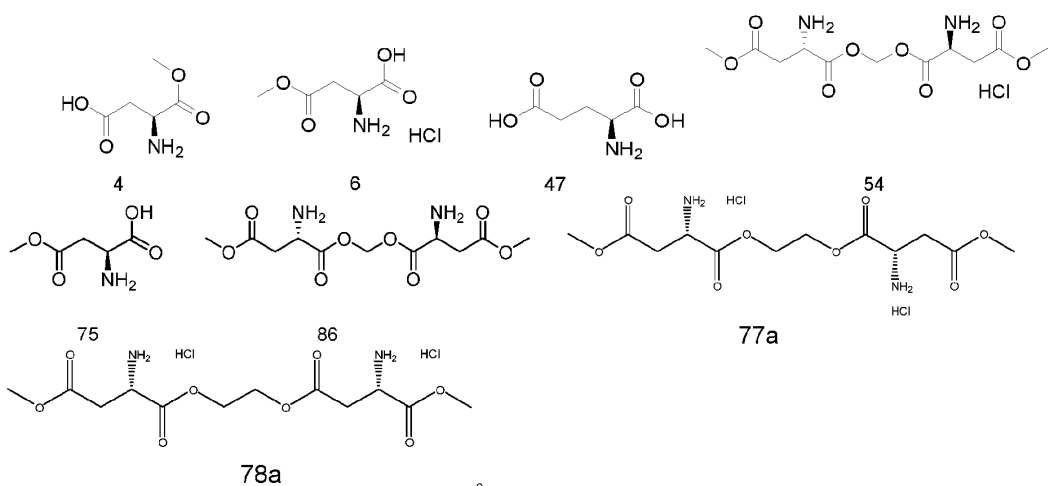
5、权利要求 1-4 任一用途，其中，式 I 或 I-1、I-2、I-3、I-4 所示的化合物选自以下：







6、权利要求 1-5 任一项目的用途，其中，式 I 或 I-1、I-2、I-3、I-4 所示的化合物选自以下：



7、一种含有 2-10 个或者 2-3 个氨基酸的肽，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任

意组合或混合物在制备药物或试剂中的用途，

所述药物或试剂用于以下的至少一种：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性、或炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达；

在所述肽中，至少一个氨基酸为天冬氨酸，当天冬氨酸具有游离羧基时，所述游离羧基任意的与 C1-C6 烷基-OH 成酯；

任选的，所述氨基酸为天冬氨酸，苯丙氨酸、甘氨酸，丙氨酸、谷氨酸、胱氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、酪氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、精氨酸或亮氨酸；

或者，位于肽一侧的游离氨基酸为天冬氨酸，且任选地，该游离天冬氨酸的游离羧基任意的与 C1-C6 烷基-OH 成酯；

任选的，其余氨基酸为天冬氨酸，苯丙氨酸、甘氨酸，丙氨酸、谷氨酸、胱氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、酪氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、精氨酸或亮氨酸。

8、权利要求 1-7 任一项的用途，其中，所述肝纤维化包括但不限于：慢性病毒性肝类疾病引起导致的肝纤维化、酗酒或长期饮酒引起导致的肝纤维化、肥胖等非酒精性因素引起导致的肝纤维化、反复感染血吸虫引起导致的门脉性肝纤维化、慢性胆汁淤积引起导致的胆汁性肝纤维化、肝豆状核变性和血色素沉积引起导致的代谢性肝纤维化、各种有毒物质引起导致的中毒性肝纤维化、喜好低蛋白饮食和偏爱肥肉煎炸食品导致的营养不良性肝纤维化、慢性充血性心衰导致的心源性肝纤维化。

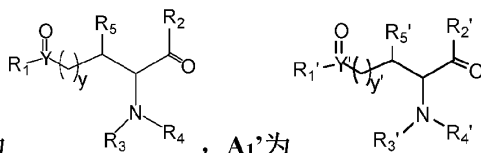
9、药物组合物在制备药物中的用途，所述药物组合物包含权利要求 1-6 任一项所限定的化合物，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，或者权利要求 7 所限定的肽，或其药学上可接受的盐、酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物，所述药物用于以下的至少一种：

- 1) 治疗、改善、或预防肝脏疾病（如 NAFLD、NASH、肝纤维化）；
- 2) 减轻哺乳动物肝纤维化、肝脏脂肪变性或炎症；
- 3) 抑制星状细胞的激活；
- 4) 调节 NS3TP1 的表达。

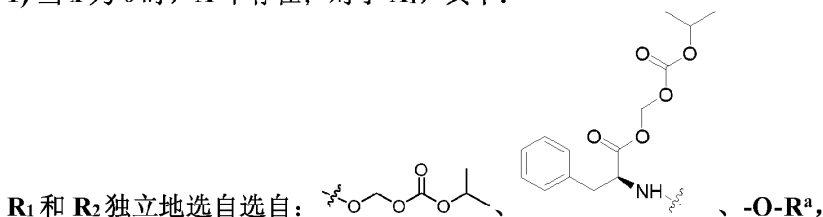
10、权利要求 9 的用途，其中，所述肝纤维化包括但不限于：慢性病毒性肝类疾病引起导致的肝纤维化、酗酒或长期饮酒引起导致的肝纤维化、肥胖等非酒精性因素引起导致的肝纤维化、反复感染血吸虫引起导致的门脉性肝纤维化、慢性胆汁淤积引起导致的胆汁性肝纤维化、肝豆状核变性和血色素沉积引起导致的代谢性肝纤维化、各种有毒物质引起导致的中毒性肝纤维化、喜好低蛋白饮食和偏爱肥肉煎炸食品导致的营养不良性肝纤维化、慢性充血性心衰导致的心源性肝纤维化。

11、权利要求 9 的用途，其中，所述药物组合物还包含另外的活性成分：其他用于改善肝功能作用的氨基酸（包括但不限于丙氨酸、谷氨酸、胱氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、酪氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、精氨酸、亮氨酸）、胆固醇吸收抑制剂（如依替米贝）、HSC 活化增殖抑制剂（如吡非尼酮、氟非尼酮、Pegbelfermin）PCSK9 抑制剂、PPAR 激动剂（如吉非罗齐、非诺贝特、氯贝特、苯扎贝特、培马贝特、Elafibranor）、ACE 抑制剂、CCR2/5 抑制剂、TLR4 抑制剂、LOXL2 抑制剂、TIMP-1 抑制剂、FXR 激动剂、AT1R 阻滞剂、NOX 抑制剂、钙离子通道阻断剂、ARBs、利尿剂、肾素、GLP

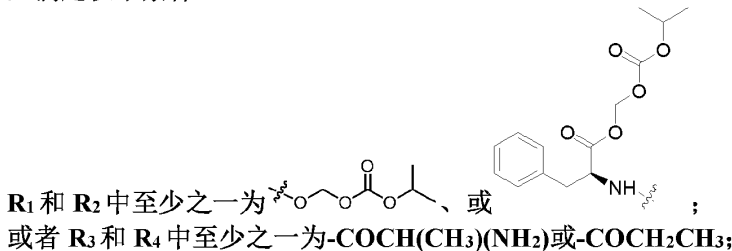
式 II

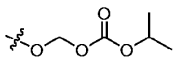


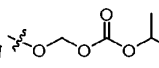
1) 当 x 为 0 时, A' 不存在; 对于 A_1 , 其中:

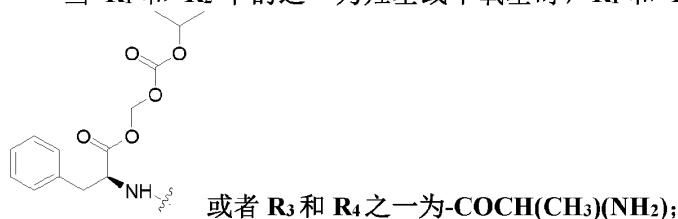


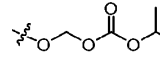
且满足以下条件:

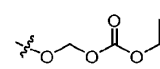


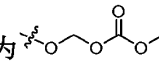
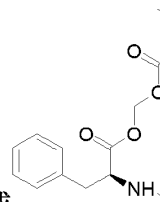
或者, R_1 和 R_2 独立地选自选自: 、羟基、甲氧基,
 R_3 和 R_4 独立地选自: 氢、 $-\text{COCH}_2\text{CH}_3$ 和 $-\text{COCH}(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)$,
 且满足以下条件:

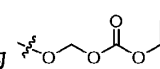
当 R_1 和 R_2 中的之一为羟基或甲氧基时, R_1 和 R_2 中的另一为  或



再或者, R_1 选自: 、羟基、甲氧基,

R_2 选自: 、羟基、
 R_3 和 R_4 独立地选自: 氢、 $-\text{COCH}_2\text{CH}_3$ 和 $-\text{COCH}(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)$,
 且满足以下条件:

当 R_1 为羟基或甲氧基时, R_2 为  或  或者 R_3 和 R_4 之一为 $-\text{COCH}(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)$;

当 R_2 为羟基或甲氧基时, R_1 为  或者 R_3 和 R_4 之一为 $-\text{COCH}(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)$;

2) 当 x 为 1 时, A_1 与 A_1' 相同或者不同, 其中

一个单元 A_1 的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A_1' 的 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 中的任意一个相连;

各 L_1 独立地选自下组的单元连接基团组成: 不存在、O、S、羰基、烷基 (或者 C1-C6 烷基)、烯基 (或者 C2-C6 烯基)、炔基 (或者 C2-C6 炔基)、-O-烷基-O- (或者 -O-C1-C6 烷基-O-)、-O-烯基-O- (或者 -O-C2-C6 烯基-O-)、-O-炔基-O- (或者 -O-C2-C6 炔基-O-)、环烷基 (或者 C3-C7 环烷基)、杂烷基 (或者 3-7 元杂烷基), 其中烷基、环烷

基、杂烷基任选地被一个或多个独立选自 Z 的基团取代；

Z 各自独立选自下组基团：卤素、氨基、烷基（或者 C1-C6 烷基）、烯基（或者 C2-C6 烯基）、炔基（或者 C2-C6 炔基）、卤代烷基（或者卤代 C1-C6 烷基）、环烷基（或者 C3-C7 环烷基）、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环；

或者 L₁ 选自：不存在、-CR'R''，其中 R' 和 R'' 各自独立地为 H、C1-C6 烷基（或者 C1-C3 烷基）；

再或者 L₁ 选自：不存在、-CH₂-、-CH(CH₃)-、-C-(CH₃)₂；

对于 A₁，其中：

R₁ 和 R₂ 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-O-、-O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3}；

R₃ 和 R₄ 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环的基团取代；

R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

或者，R₁ 选自：-O-，C1-C6 烷基，-O-R^{a1}，其中，R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b1}，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

再或者，R₁ 选自：-O-，羟基，-O-R^a；R^a 为 C1-C6 烷基；

进而再或者，R₁ 选自：-O-，羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂；

或者，R₂ 选自：-O-，C1-C6 烷基，-O-R^{a1}，其中，R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b1}，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

再或者，R₂ 选自：羟基，-O-，-O-R^a；R^a 为 C1-C6 烷基；

进而再或者，R₂ 选自：羟基、-O-、甲氧基，

R₃ 与 R₄ 各自独立地选自：氢、羟基、C1-C6 烷基；

或者，R₃ 和 R₄ 各自独立地为氢；

R₅ 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；

或者 R₅ 选自氢、氨基；

再或者 R₅ 选自氢；

Y 为 C；

y 选自 0、1、2、3；或者 y 为 0 或 1；再或者 y 为 0；

对于 A_1' , 其中:

R_1' 和 R_2' 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、-O-、-O- R^{a1} 、-NR $^{a2}R^{a3}$;

R_3' 和 R_4' 各自独立选自下组基团: 氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环的基团取代;

R^{a1} 、 R^{a2} 、 R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R_1' 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b1} , 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

再或者, R_1' 选自: -O-, 羟基, -O- R^a ; R^a 为 C1-C6 烷基;

进而再或者, R_1' 选自: -O-、羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

或者, R_2' 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O- R^{a1} , 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基) $_n$ -O-(CO)- R^{b1} , 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

再或者, R_2' 选自: 羟基, -O-, -O- R^a ; R^a 为 C1-C6 烷基;

进而再或者, R_2' 选自: 羟基、-O-、甲氧基;

R_3' 与 R_4' 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;

或者, R_3' 和 R_4' 各自独立地为氢;

R_5' 选自下组基团: 氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基;

或者 R_5' 选自氢、氨基;

再或者 R_5' 选自氢;

Y' 为 C;

y' 选自 0、1、2、3; 或者 y 为 0 或 1; 再或者 y' 为 0;

3) 当 x 为 2 时, A_1 与 A_1' 相同或者不同, 其中

一个单元 A_1 的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任意一个通过 L_1 与相邻单元 A_1' 的 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 中的任意一个相连;

各 L_1 独立地选自下组的单元连接基团组成: 不存在、O、S、羰基、烷基 (或者 C1-C6 烷基)、烯基 (或者 C2-C6 烯基)、炔基 (或者 C2-C6 炔基)、-O-烷基-O- (或者 -O-C1-C6 烷基-O-)、-O-烯基-O- (或者 -O-C2-C6 烯基-O-)、-O-炔基-O- (或者 -O-C2-C6 炔基-O-)、环烷基 (或者 C3-C7 环烷基)、杂烷基 (或者 3-7 元杂烷基), 其中烷基、环烷

基、杂烷基任选地被一个或多个独立选自 Z 的基团取代；

Z 各自独立选自下组基团：卤素、氨基、烷基（或者 C1-C6 烷基）、烯基（或者 C2-C6 烯基）、炔基（或者 C2-C6 炔基）、卤代烷基（或者卤代 C1-C6 烷基）、环烷基（或者 C3-C7 环烷基）、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环；

或者 L₁ 选自：不存在、-CR'R''，其中 R' 和 R'' 各自独立地为 H、C1-C6 烷基（或者 C1-C3 烷基）；

再或者 L₁ 选自：不存在、-CH₂-、-CH(CH₃)-、-C-(CH₃)₂；

进而再或者，L₁ 选自：-CH₂-；

对于 A₁，其中：

R₁ 和 R₂ 各自独立选自下组基团：C1-C6 烷基、-O-、-O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3}；

R₃ 和 R₄ 各自独立选自下组基团：氢、氘、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基（或者 C6-C12 芳基）、杂环的基团取代；

R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

或者，R₁ 选自：-O-，C1-C6 烷基，-O-R^{a1}，其中，R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b1}，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

再或者，R₁ 选自：-O-，羟基，-O-R^a；R^a 为 C1-C6 烷基；

进而再或者，R₁ 选自：-O-，羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂；

再进一步或者，R₁ 选自：甲氧基；

或者，R₂ 选自：-O-，C1-C6 烷基，-O-R^{a1}，其中，R^{a1} 选自：氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基，-(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b1}，所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代；

再或者，R₂ 选自：羟基，-O-，-O-R^a；R^a 为 C1-C6 烷基；

进而再或者，R₂ 选自：羟基、-O-、甲氧基，

再进一步或者，R₂ 选自：-O-；

R₃ 与 R₄ 各自独立地选自：氢、羟基、C1-C6 烷基；

或者，R₃ 和 R₄ 各自独立地为氢；

R₅ 选自下组基团：氢、氘、C1-C6 烷基、卤素、氨基；

或者 R₅ 选自氢、氨基；

再或者 R₅ 选自氢；

Y 为 C;

y 选自 0、1、2、3; 或者 y 为 0 或 1; 再或者 y 为 0;

对于 A₁' , 其中:

R₁' 和 R₂' 各自独立选自下组基团: C1-C6 烷基、-O-、-O-R^{a1}、-NR^{a2}R^{a3};

R₃' 和 R₄' 各自独立选自下组基团: 氢、氖、羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、芳基 (或者 C6-C12 芳基)、杂环基的基团取代;

R^{a1}、R^{a2}、R^{a3} 各自独立选自下组基团: 氢、氖、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

或者, R₁' 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b1}, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

再或者, R₁' 选自: -O-, 羟基, -O-R^a; R^a 为 C1-C6 烷基;

进而再或者, R₁' 选自: -O-、羟基、甲氧基、乙氧基、-OCH(CH₃)₂;

再进一步或者, R₁' 选自: 甲氧基;

或者, R₂' 选自: -O-, C1-C6 烷基, -O-R^{a1}, 其中, R^{a1} 选自: 氢、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C3-C7 环烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基, -(C1-C6 烷基)_n-O-(CO)-R^{b1}, 所述烷基、烯基、环烷基、芳基、杂环基任选地被一个或多个独立选自卤素、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基、3-15 元杂环基、-(C1-C6 烷基)-(C6-C10 芳基)、-(C1-C6 烷基)-(3-15 元杂环基)的基团取代;

再或者, R₂' 选自: 羟基, -O-, -O-R^a; R^a 为 C1-C6 烷基;

进而再或者, R₂' 选自: 羟基、-O-、甲氧基;

再进一步或者, R₂' 选自: -O-;

R₃' 与 R₄' 各自独立地选自: 氢、羟基、C1-C6 烷基;

或者, R₃' 和 R₄' 各自独立地为氢;

R₅' 选自下组基团: 氢、氖、C1-C6 烷基、卤素、氨基;

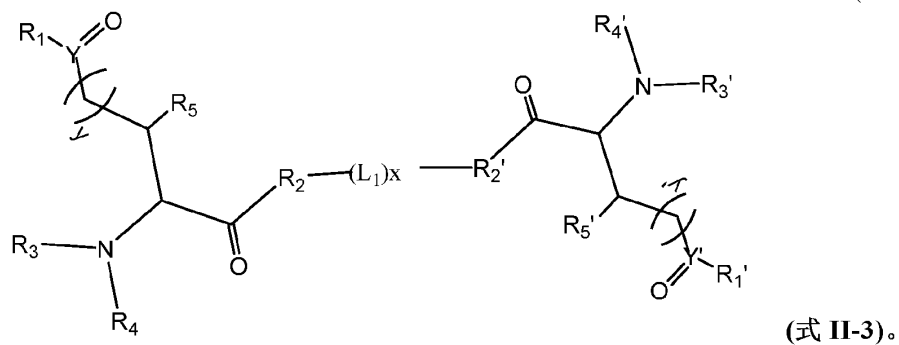
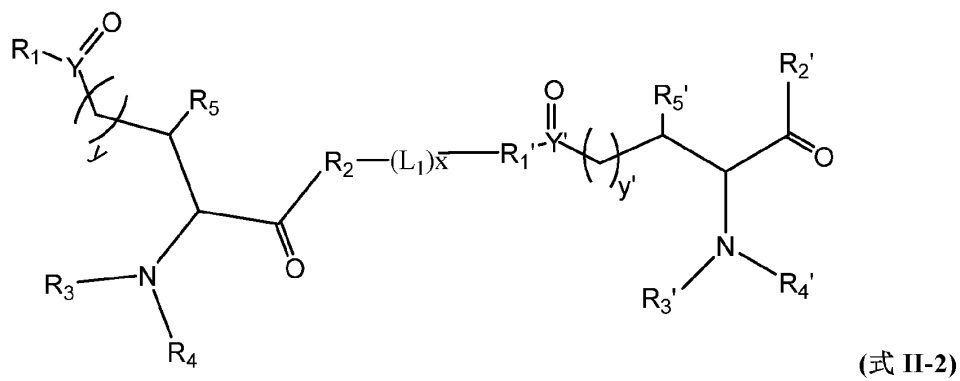
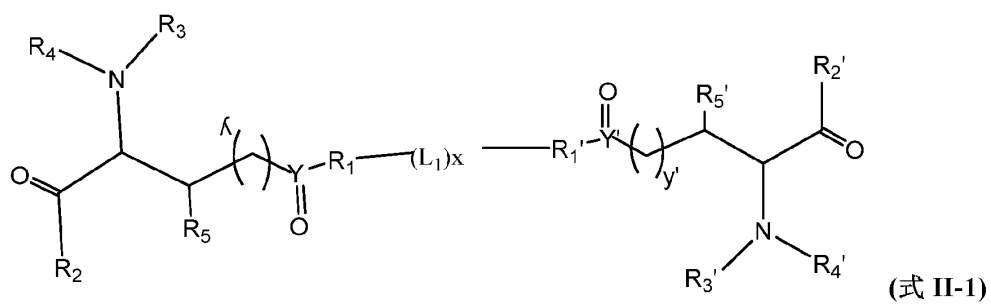
或者 R₅' 选自氢、氨基;

再或者 R₅' 选自氢;

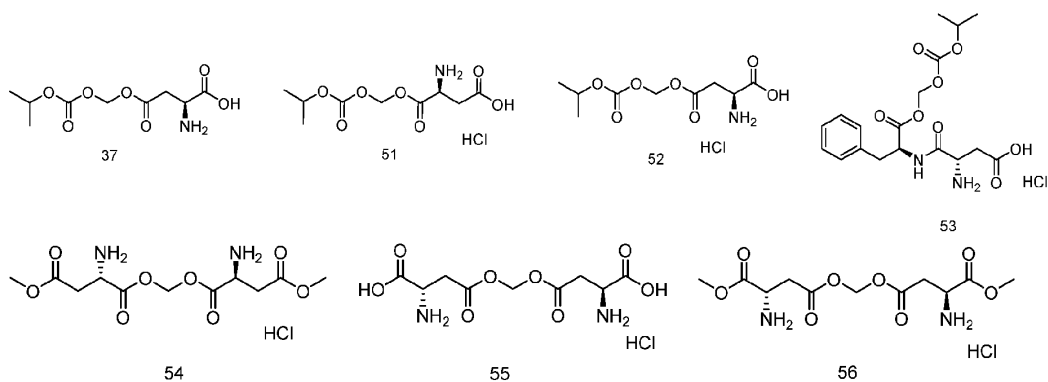
Y' 为 C;

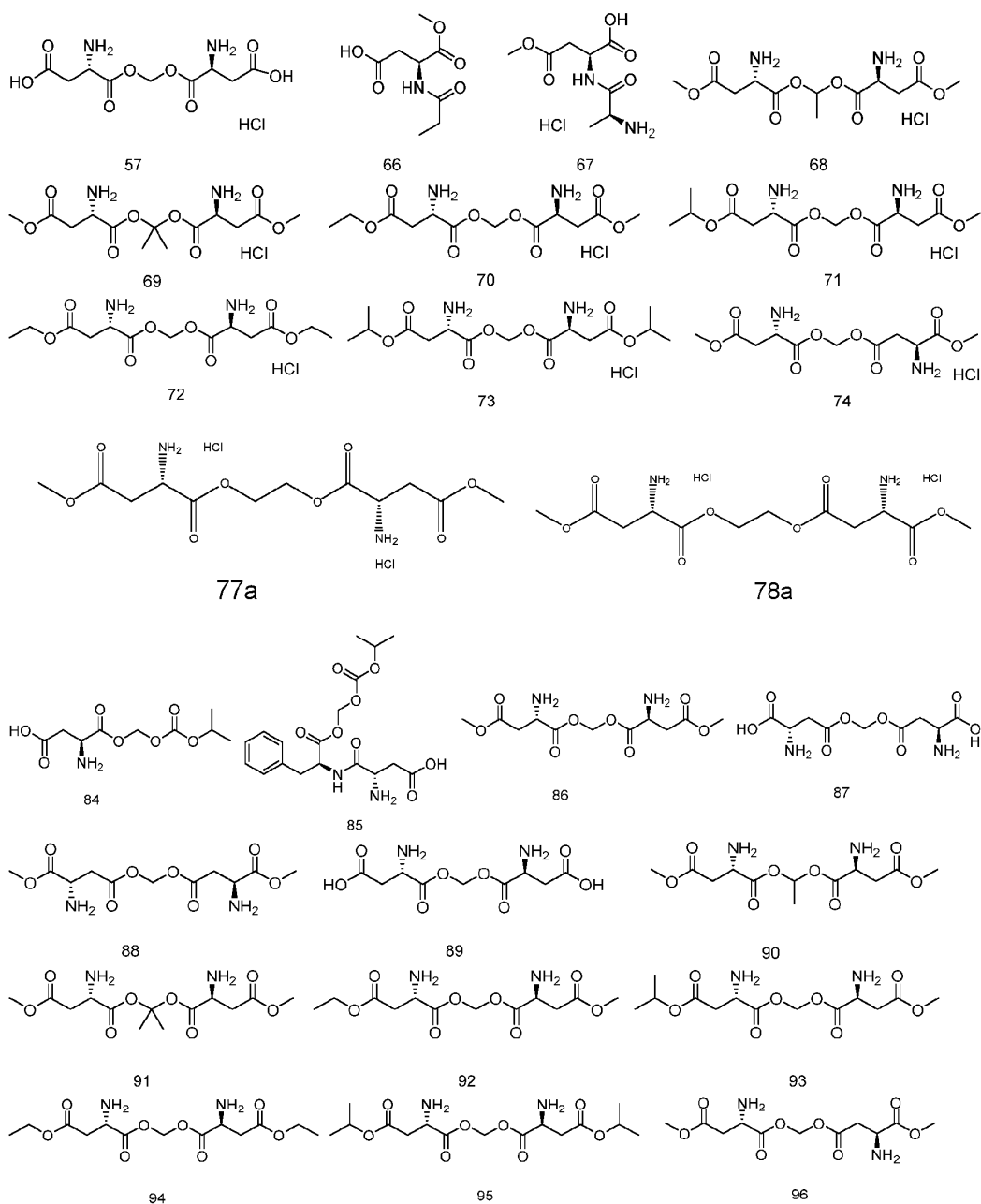
y' 选自 0、1、2、3; 或者 y' 为 0 或 1; 再或者 y' 为 0;

或者式 II 为:



13、权利要求 12 的化合物，其中，式 II 或 II-1、II-2、II-3 所示的化合物选自以下：





14、药物组合物，其包含权利要求 12-13 任一项所述的式 II 所示的化合物，其药学上可接受的盐或酯、前药、立体异构体、水合物、溶剂合物、同位素化合物、晶型、它们的代谢物形式、或它们的任意组合或混合物；

任选地，所述药物组合物还包含药学上可接受的载体或辅料；

任选地，所述药物组合物还包含另外的活性成分：其他用于改善肝功能作用的氨基酸（包括但不限于丙氨酸、谷氨酸、胱氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、酪氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、精氨酸、亮氨酸）、胆固醇吸收抑制剂（如依替米贝）、HSC 活化增殖抑制剂（如吡非尼酮、氟非尼酮、Pegbelfermin）PCSK9 抑制剂、PPAR 激动剂（如吉非

罗齐、非诺贝特、氯贝特、苯扎贝特、培马贝特、Elafibranor)、ACE 抑制剂、CCR2/5 抑制剂、TLR4 抑制剂、LOXL2 抑制剂、TIMP-1 抑制剂、FXR 激动剂、AT1R 阻滞剂、NOX 抑制剂、钙离子通道阻断剂、ARBs、利尿剂、肾素、GLP-1 或其合成变体、胰岛素或其合成变体、二甲双胍、磺酰脲化合物、噻唑烷二酮(TZD)、SGLT2 抑制剂、DPP-IV 抑制剂、HMGCoA 还原酶的抑制剂、前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9 型(PCSK9)的抑制剂、吉卡宾(CI-1027)、ACC 抑制剂、ApoC-III 抑制剂、ACL-抑制剂(如贝派地酸)、处方鱼油、CETP 抑制剂、熊去氧胆酸、奥贝胆酸、多烯磷脂酰胆碱、糖皮质激素、水飞蓟素、甘草酸类制剂(如异甘草酸镁注射液和甘草酸二铵肠溶胶囊)以及它们的组合;

任选地,所述药物组合物为固体制剂、注射剂、外用制剂、喷剂、液体制剂或复方制剂。