



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105073717 B

(45)授权公告日 2018.05.22

(21)申请号 201380070786.8

(72)发明人 迈克尔·R·约翰逊

(22)申请日 2013.12.13

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 105073717 A

代理人 郑斌 彭鲲鹏

(43)申请公布日 2015.11.18

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

C07D 241/26(2006.01)

61/738,248 2012.12.17 US

A61K 31/4965(2006.01)

A61P 11/12(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2015.07.17

(56)对比文件

WO 2007146869 A1,2007.12.21,

(86)PCT国际申请的申请数据

CN 101534813 A,2009.09.16,

PCT/US2013/075108 2013.12.13

CN 101951913 A,2011.01.19,

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/099676 EN 2014.06.26

WO 03070182 A2,2003.08.28,

审查员 占跃晨

(73)专利权人 帕里昂科学公司

地址 美国北卡罗来纳州

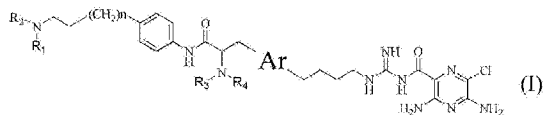
权利要求书12页 说明书119页 附图9页

(54)发明名称

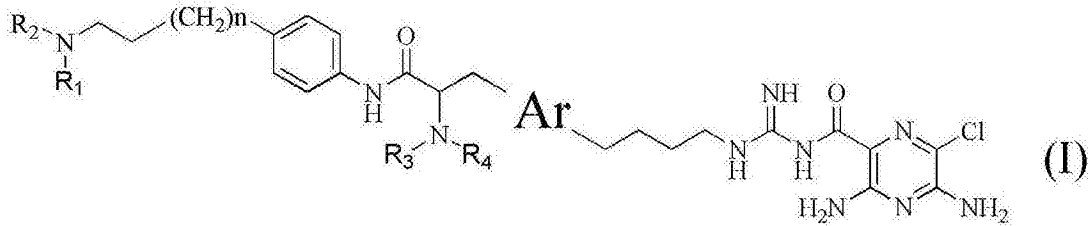
可用于治疗由黏膜水化不足造成的疾病的  
氯-吡嗪甲酰胺衍生物

(57)摘要

本发明提供了可用作钠通道阻断剂的式(I)  
化合物及其可药用盐,包含所述化合物及其可药  
用盐的组合物,所述化合物及其可药用盐的治疗  
方法和用途,以及用于制备所述化合物及其可药  
用盐的方法。

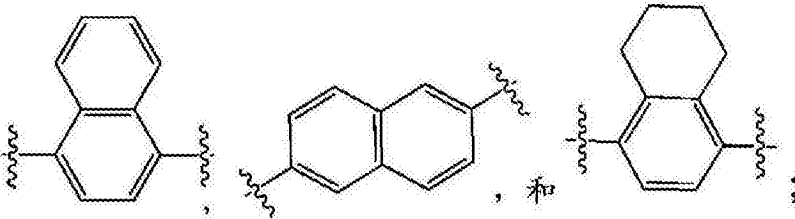


1. 下式的化合物或其可药用盐：



其中：

Ar选自：



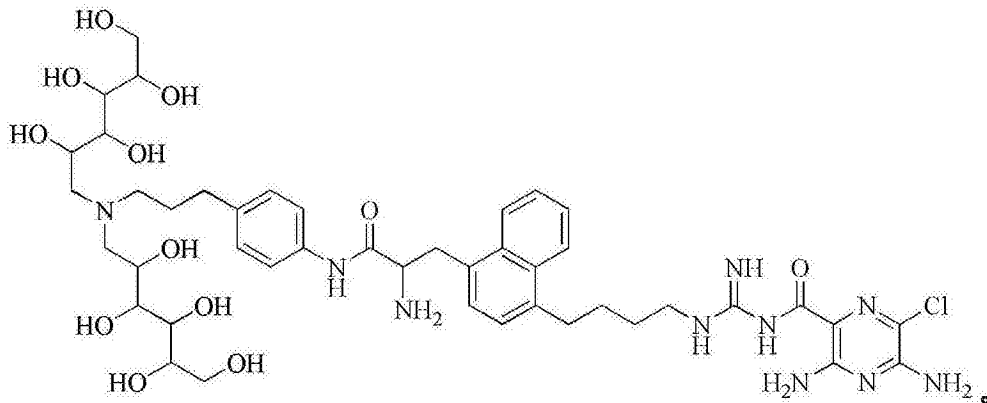
n是选自0、1、2、3、4、5和6的整数；

R<sup>1</sup>选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基和具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；

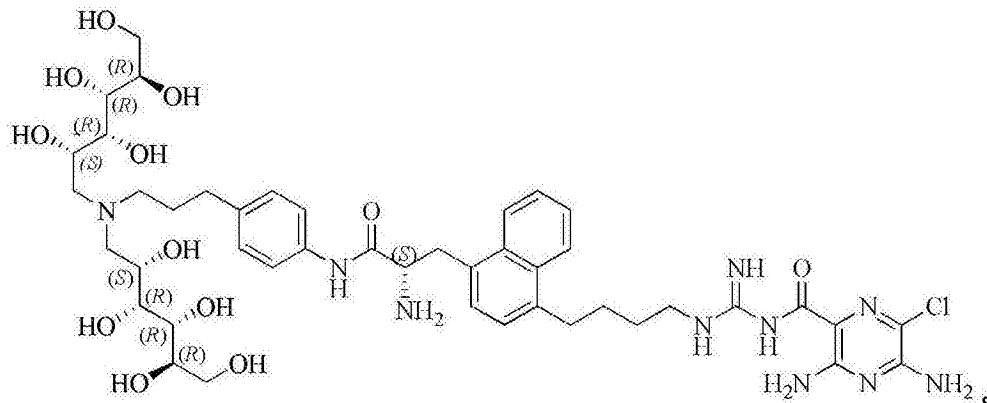
R<sup>2</sup>是氢或具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；并且

R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

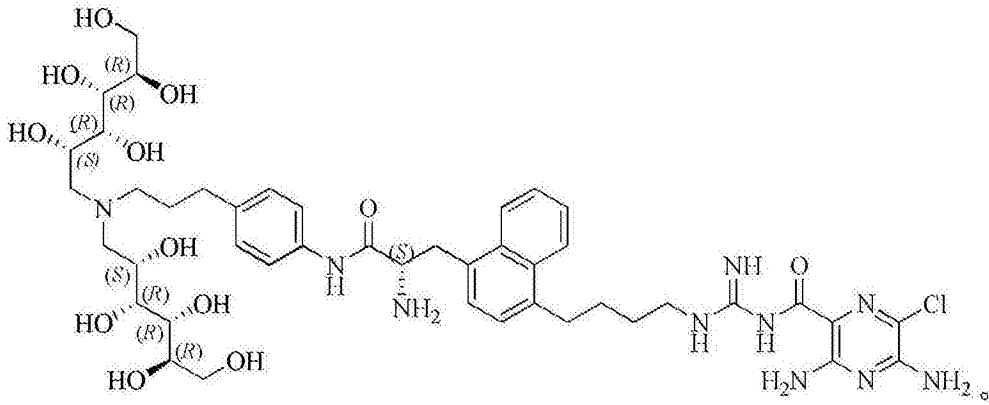
2. 具有下式的权利要求1所述的化合物或其可药用盐：



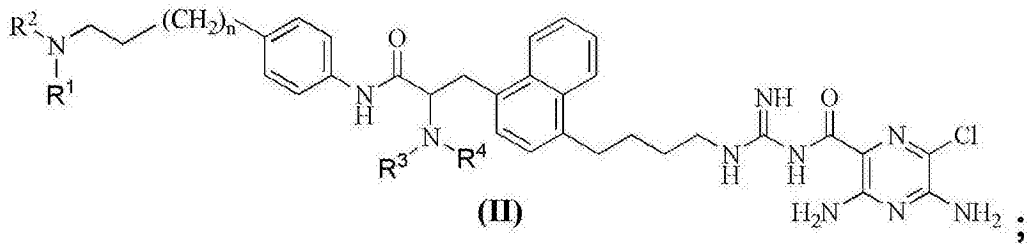
3. 具有下式的权利要求1所述的化合物或其可药用盐：



4. 具有下式的化合物：



5. 式 (II) 的权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐:



其中:

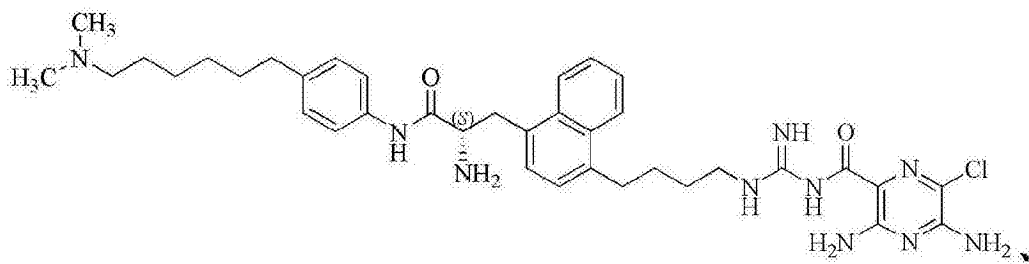
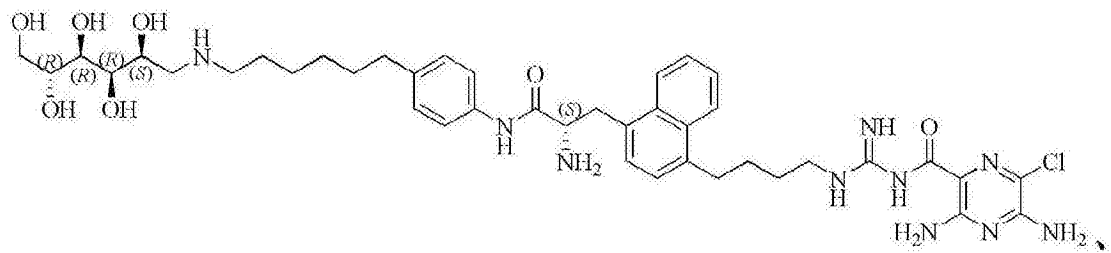
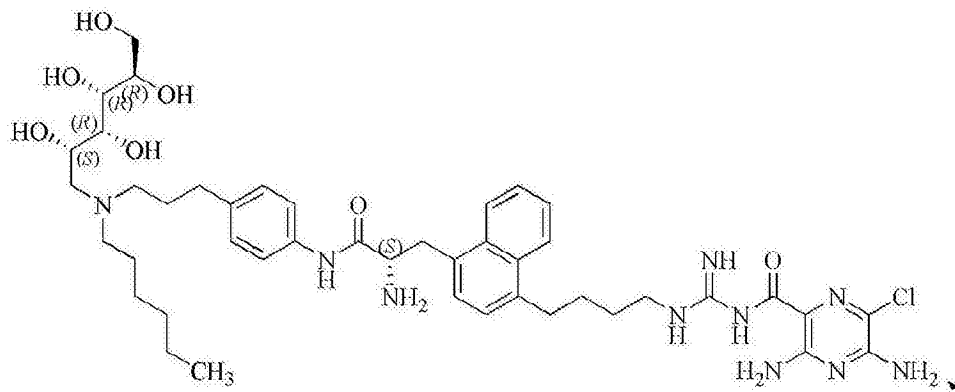
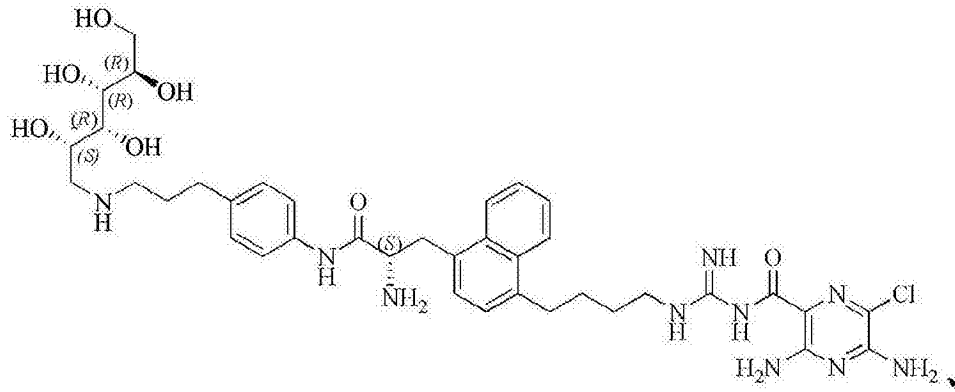
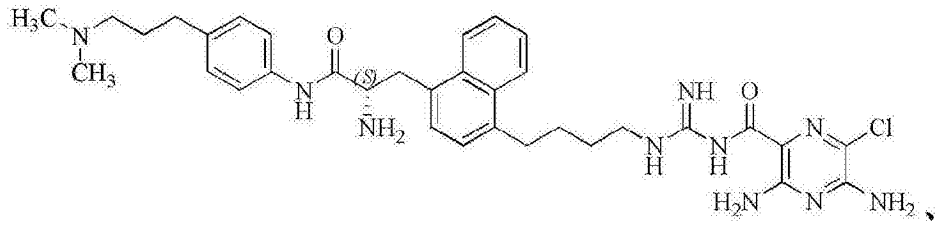
$n$  是选自 1、2、3、4、5 和 6 的整数;

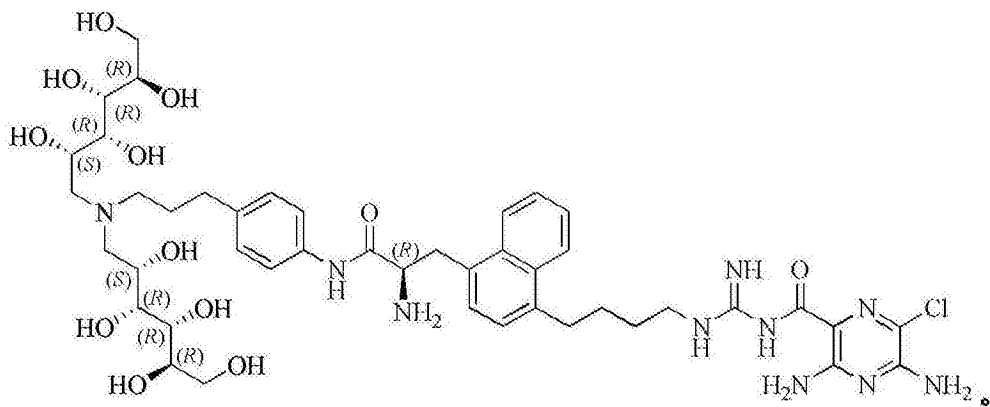
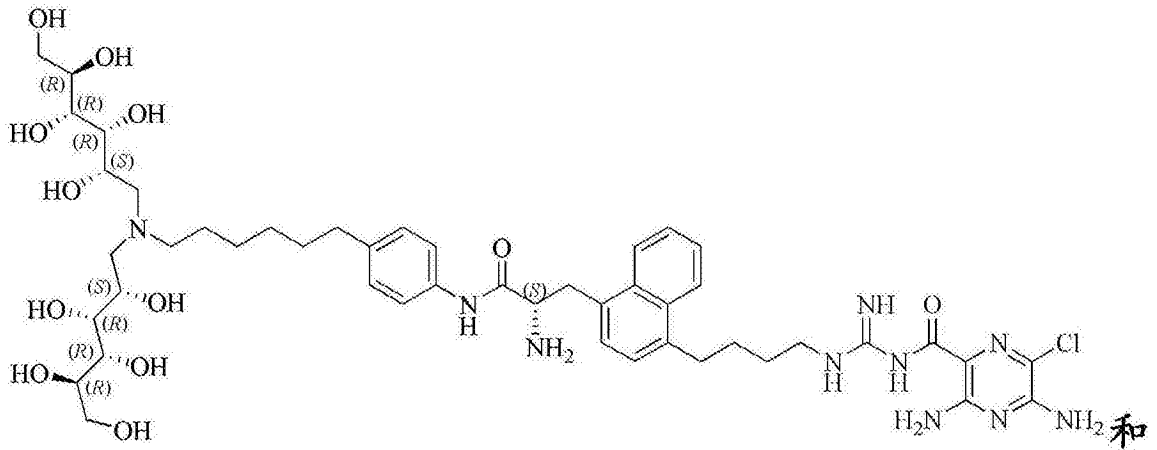
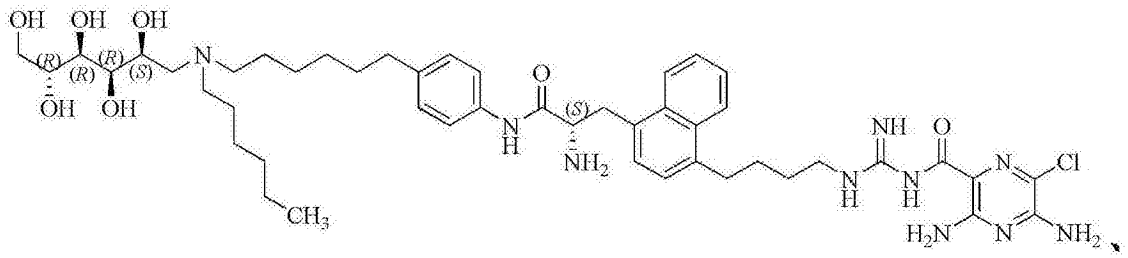
$R^1$  选自氢、 $C_1$ - $C_8$  烷基和具有 3 至 8 个碳原子的多羟基化烷基;

$R^2$  是氢或具有 3 至 8 个碳原子的多羟基化烷基; 并且

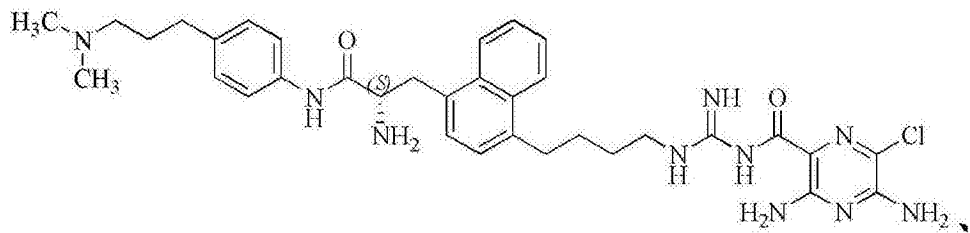
$R^3$  和  $R^4$  各自独立地为氢或  $C_1$ - $C_3$  烷基。

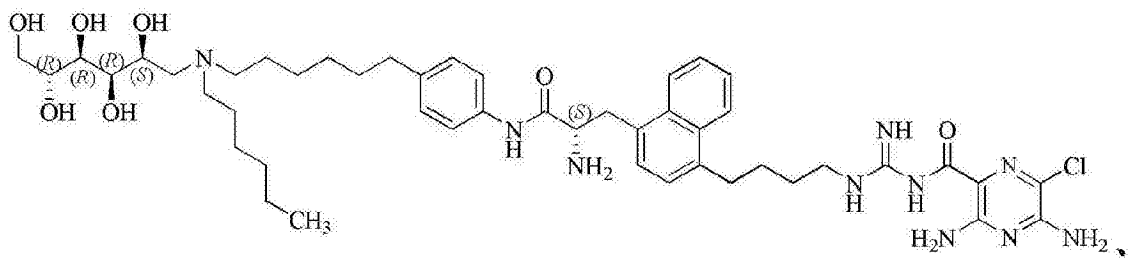
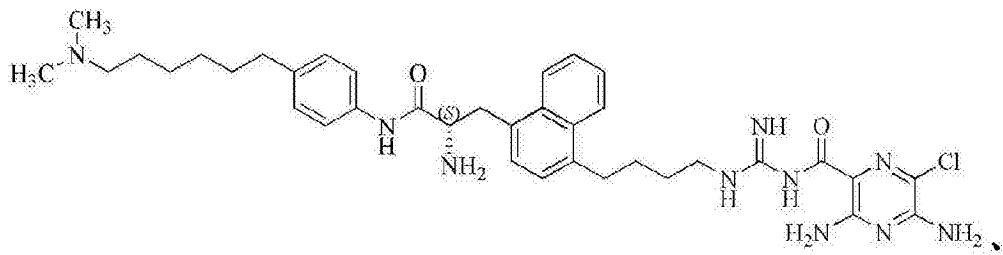
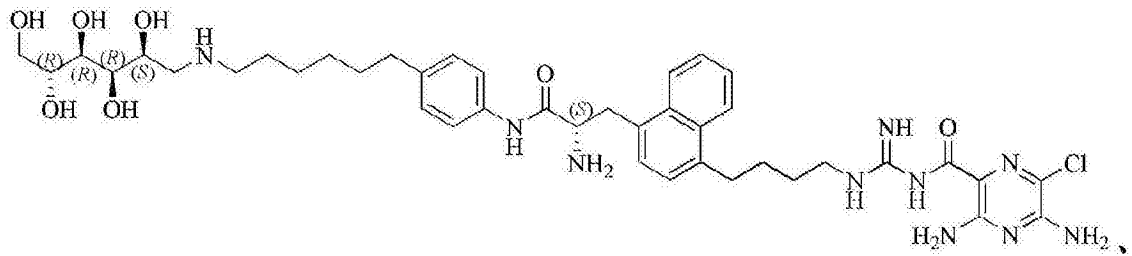
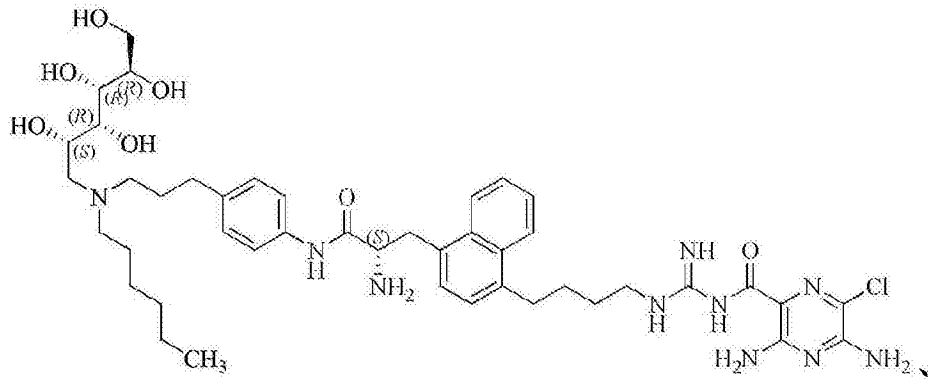
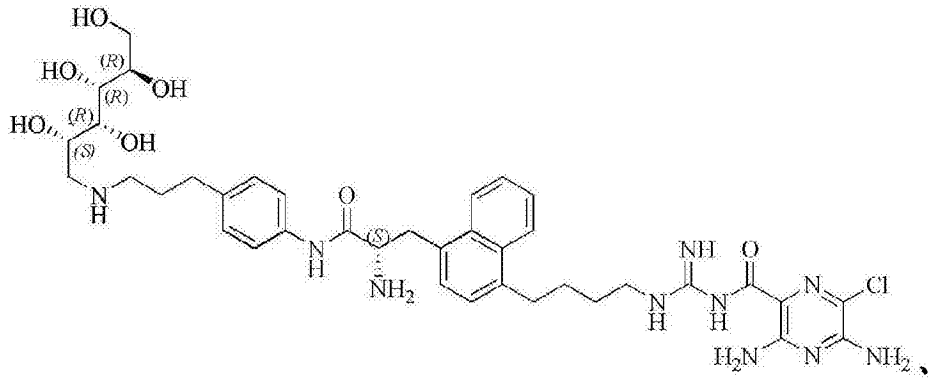
6. 权利要求 5 所述的化合物或其可药用盐, 所述化合物选自:

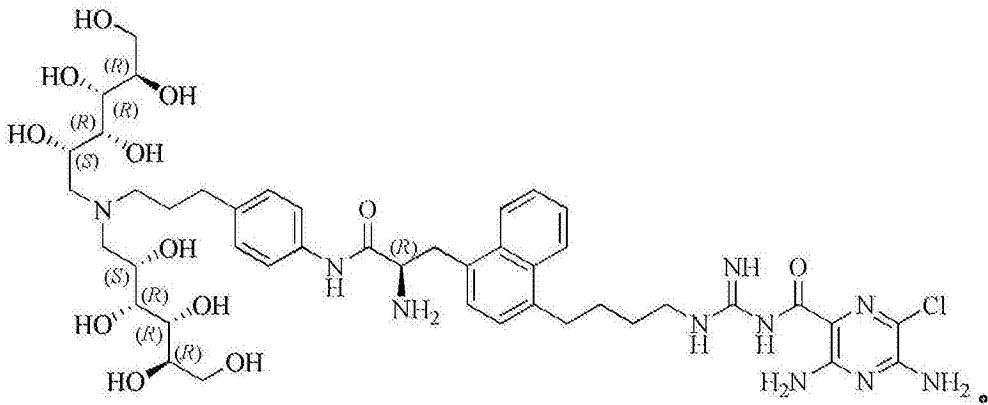
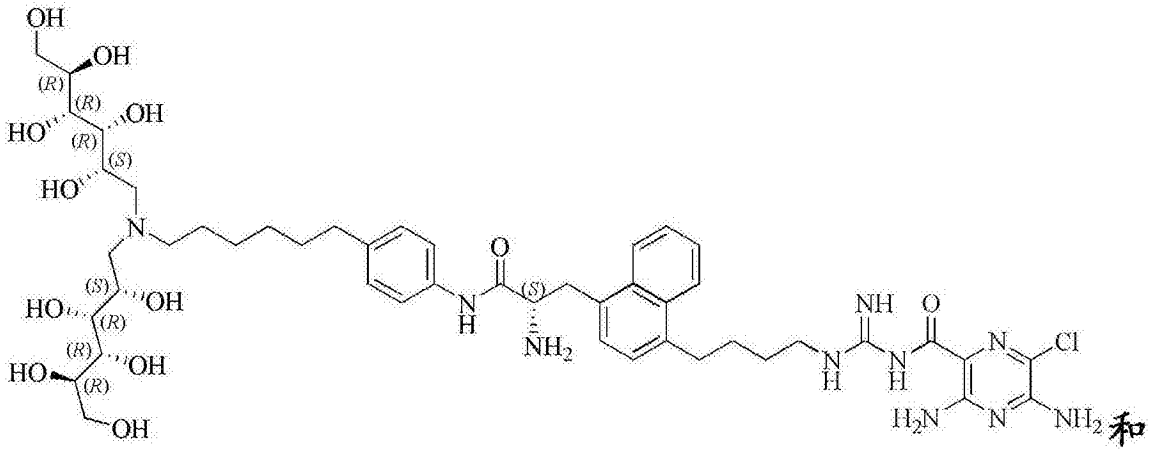




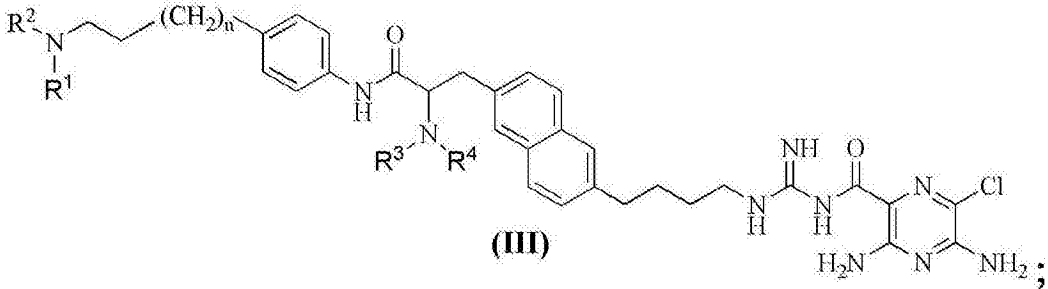
7. 选自以下的化合物：







8. 式 (III) 的权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐:



其中:

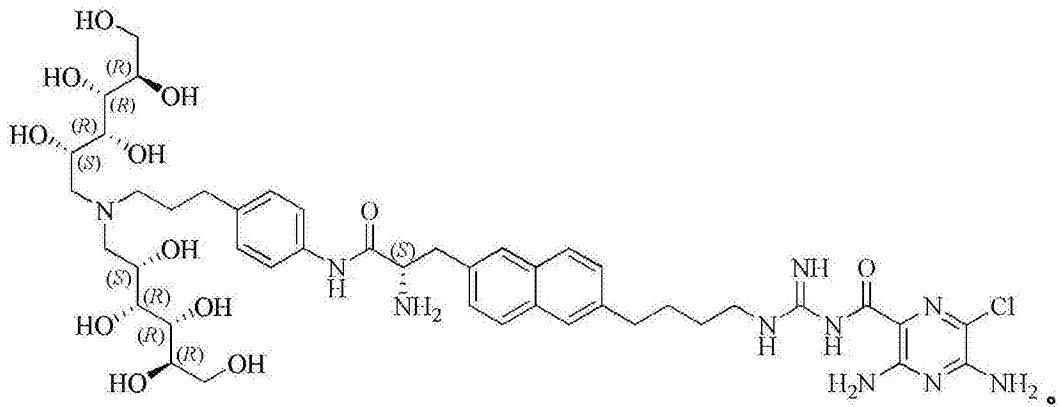
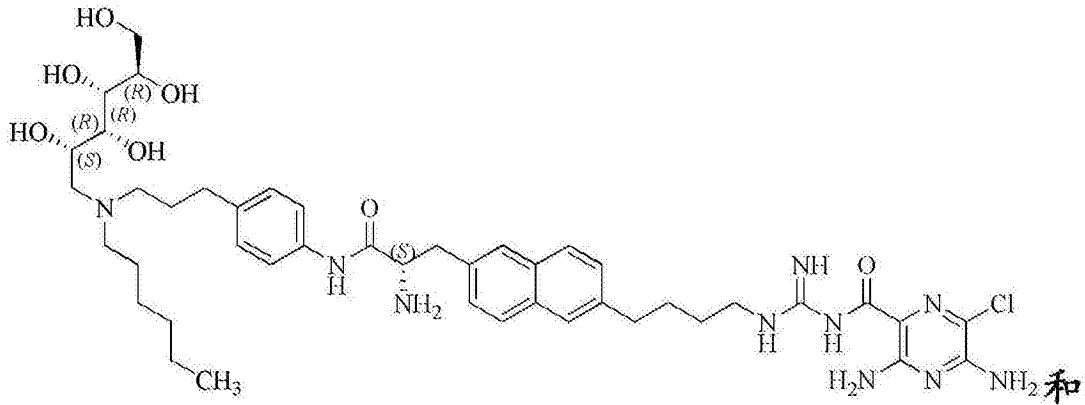
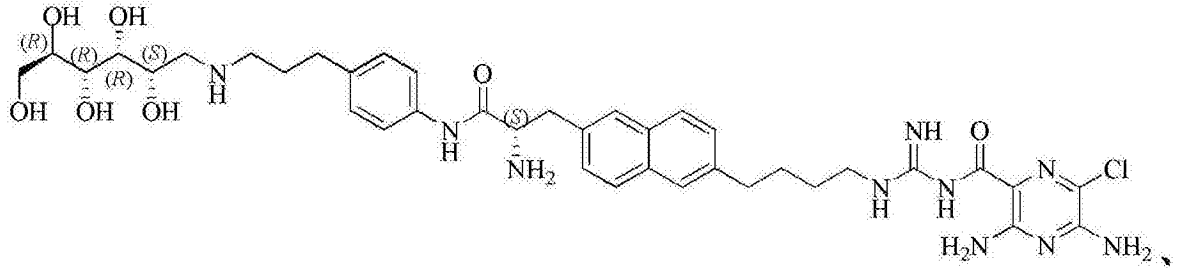
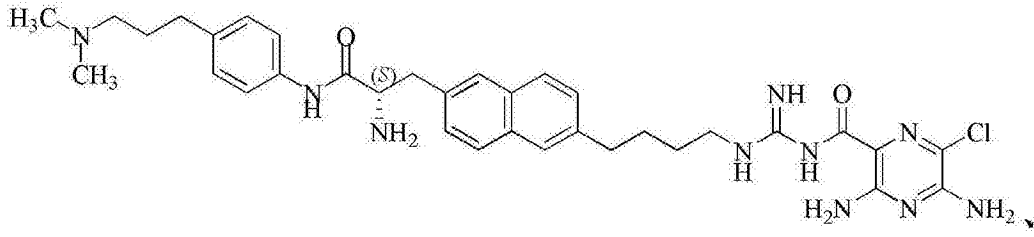
$n$  是选自 1、2、3、4、5 和 6 的整数;

$R^1$  选自氢、 $C_1$ - $C_8$  烷基和具有 3 至 8 个碳原子的多羟基化烷基;

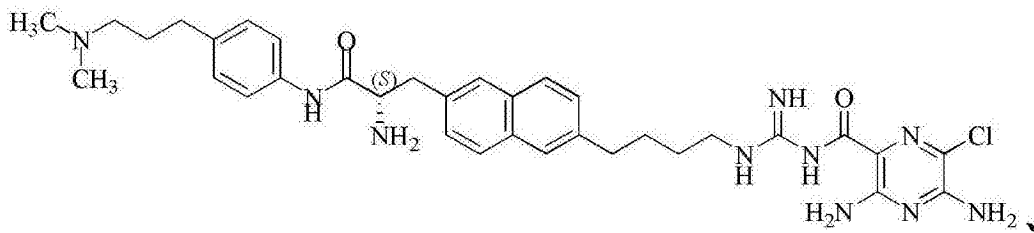
$R^2$  是氢或具有 3 至 8 个碳原子的多羟基化烷基; 并且

$R^3$  和  $R^4$  各自独立地为氢或  $C_1$ - $C_3$  烷基。

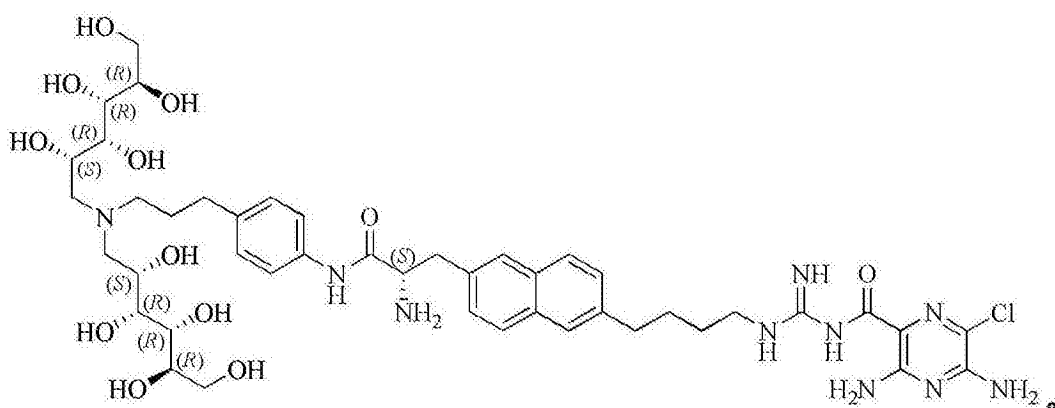
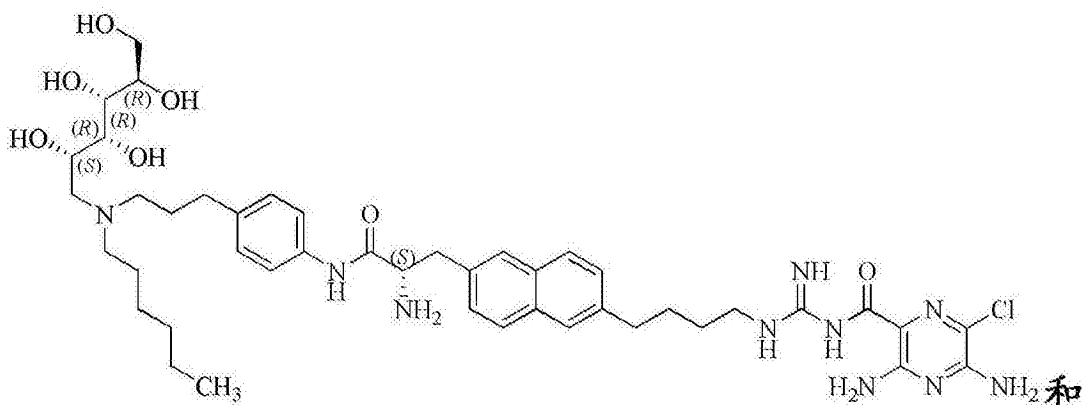
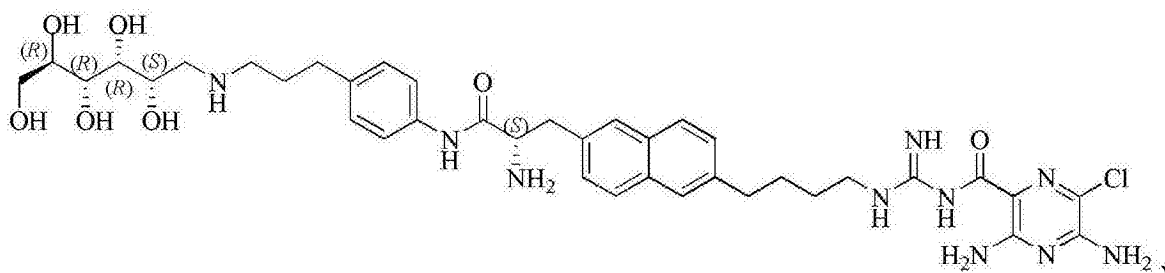
9. 权利要求 8 所述的化合物或其可药用盐, 所述化合物选自:



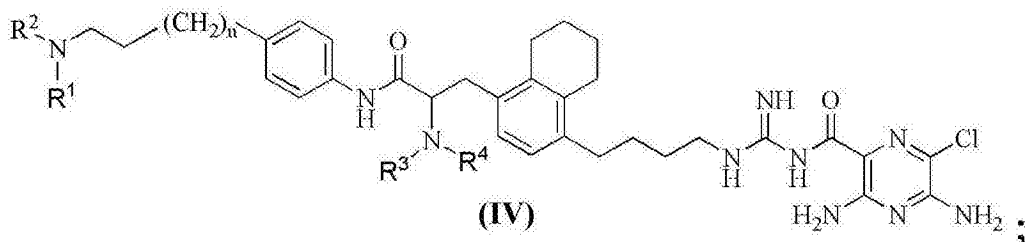
10. 选自以下的化合物：







11. 式 (IV) 的权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐:



其中:

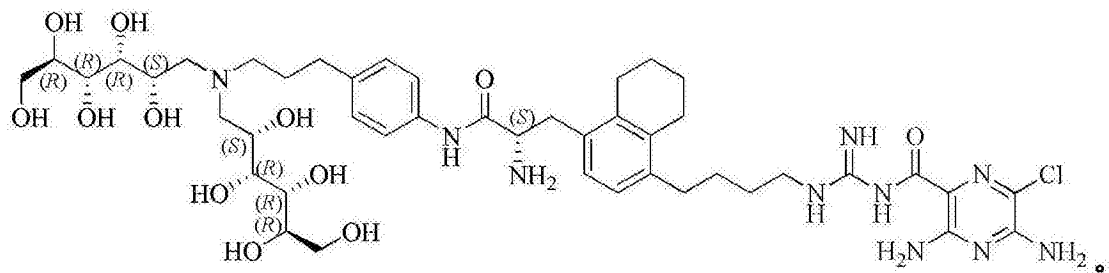
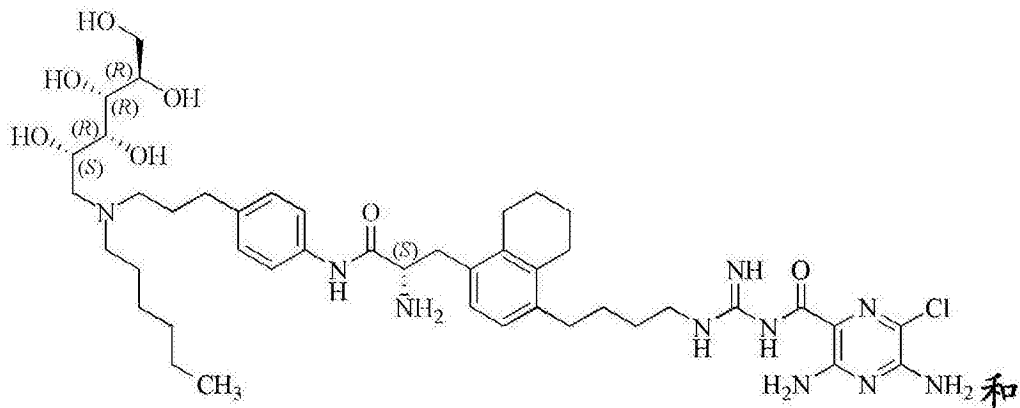
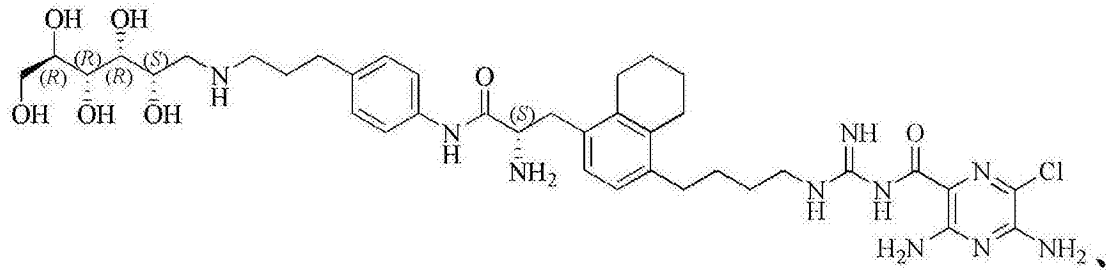
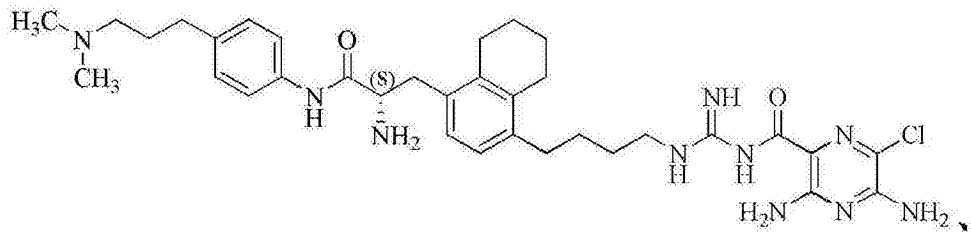
n 是选自 1、2、3、4、5 和 6 的整数;

R<sup>1</sup> 选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 烷基和具有 3 至 8 个碳原子的多羟基化烷基;

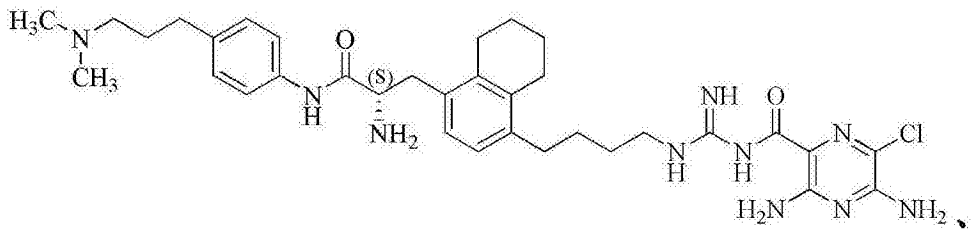
R<sup>2</sup> 是氢或具有 3 至 8 个碳原子的多羟基化烷基; 并且

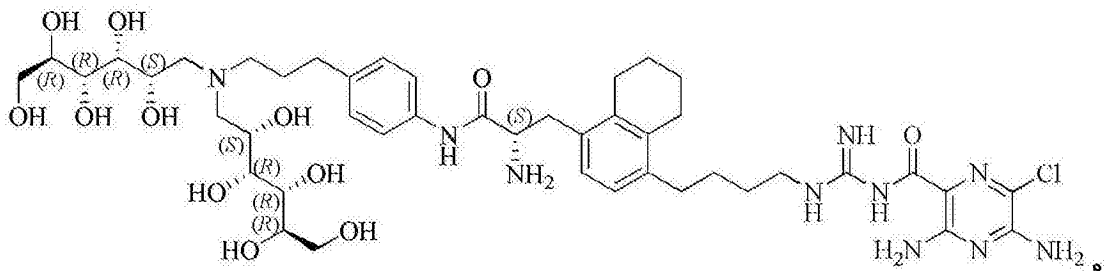
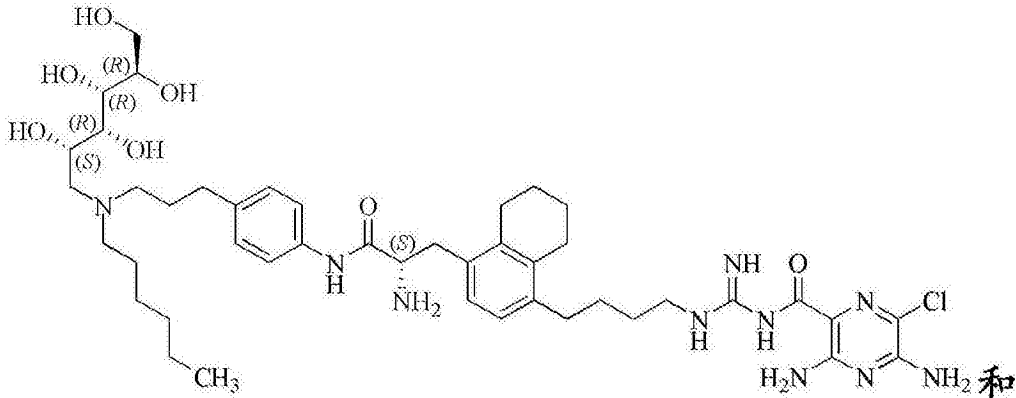
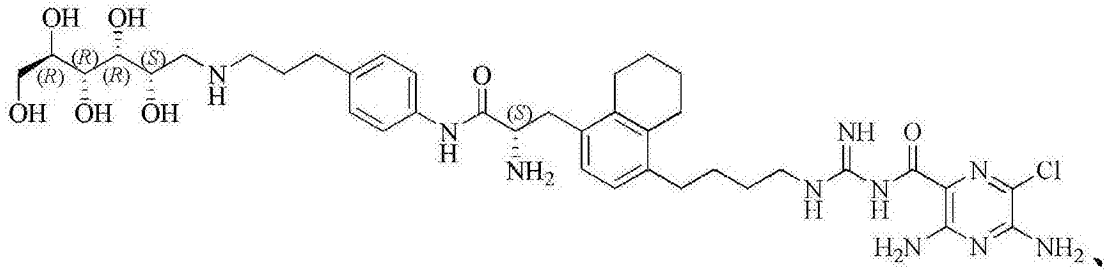
R<sup>3</sup> 和 R<sup>4</sup> 各自独立地为氢或 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 烷基。

12. 权利要求 11 所述的化合物或其可药用盐, 所述化合物选自:



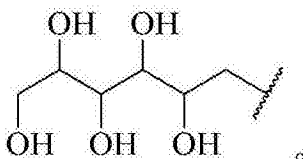
13. 选自以下的化合物：



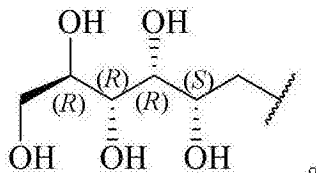


14. 权利要求1、5、8和11中任一权利要求所述的化合物或其可药用盐，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地为具有3至8个碳原子的多羟基化烷基。

15. 权利要求14所述的化合物或其可药用盐，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>具有下式：



16. 权利要求15所述的化合物或其可药用盐，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>具有下式：



17. 权利要求1、5、8和11中任一权利要求所述的化合物或其可药用盐，其中n为1。

18. 权利要求1、5、8和11中任一权利要求所述的化合物或其可药用盐，其中n为4。

19. 权利要求1、5、8和11中任一权利要求所述的化合物或其可药用盐，其中R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>为氢。

20. 权利要求1-3、5、6、8、9、11和12中任一权利要求所述的化合物，其中所述可药用盐

为盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、硝酸盐、氨基磺酸盐、磷酸盐、磷酸氢盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、富马酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、甲酸盐、葡糖酸盐、琥珀酸盐、丙酮酸盐、鞣酸盐、抗坏血酸盐、棕榈酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、邻苯二甲酸盐、藻酸盐、聚谷氨酸盐、草酸盐、草酰乙酸盐、糖二酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、萘磺酸盐、异硫代硫酸盐或羟基萘甲酸盐。

21. 药物组合物,其包含药用有效量的权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐,以及可药用载体或赋形剂。

22. 根据权利要求21所述的药物组合物,其中所述组合物适于吸入。

23. 根据权利要求21或22所述的药物组合物,其中所述组合物是用于通过雾化器雾化并施用的溶液。

24. 根据权利要求21或22所述的药物组合物,其中所述组合物适于通过计量吸入器施用。

25. 根据权利要求21或22所述的药物组合物,其中所述组合物是适于通过干粉吸入器施用的干粉。

26. 根据权利要求21或22所述的药物组合物,其还包含药用有效量的治疗活性剂,所述治疗活性剂选自:抗炎剂、抗胆碱能剂、 $\beta$ -激动剂、CFTR调节剂、P2Y<sub>2</sub>受体激动剂、过氧化物酶体增殖物激活受体激动剂、激酶抑制剂、抗感染剂和抗组胺剂。

27. 权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备用于阻断钠通道的药物的用途。

28. 权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备用于促进黏膜表面水化、改善黏膜纤毛清除或恢复黏膜防御的药物的用途。

29. 权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备用于治疗慢性阻塞性肺病(COPD)的药物的用途。

30. 权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备用于治疗囊性纤维化的药物的用途。

31. 权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备用于治疗原发性纤毛运动障碍的药物的用途。

32. 权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备用于治疗支气管扩张的药物的用途。

33. 根据权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备用于治疗与可逆或不可逆的气道阻塞相关的疾病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、支气管扩张、急性支气管炎、慢性支气管炎、病毒感染后的咳嗽、囊性纤维化、肺气肿、肺炎、全细支气管炎、移植相关细支气管炎或通气机相关气管支气管炎或者用于预防通气机相关肺炎的药物的用途。

34. 根据权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备用于治疗干口、皮肤干燥、阴道干燥、鼻窦炎、鼻脱水、干眼、舍格伦病、中耳炎、原发性纤毛运动障碍、远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘或慢性憩室炎或者用于促进眼或角膜水化的药物的用途。

35. 药物组合物,其包含药用有效量的根据权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐,以及渗压剂。

36. 根据权利要求35所述的药物组合物,其中所述渗压剂是高渗盐水。

37. 根据权利要求35所述的药物组合物,其中所述渗压剂是甘露醇。

38. 根据权利要求1至20中任一项所述的化合物或其可药用盐用于制备用于在有此需要的人中预防、减轻和/或治疗因含有放射性核素的吸入气溶胶引起的对呼吸道和/或其他身体器官之确定性健康影响的药物的用途。

## 可用于治疗由黏膜水化不足造成的疾病的氯-吡嗪甲酰胺衍生物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及可用作钠通道阻断剂的新化合物,其包括3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺和相关化合物及其可药用盐,包含所述化合物的组合物,所述化合物的治疗方法和用途以及用于制备所述化合物的方法。

### 背景技术

[0002] 在环境与身体之间交界面的黏膜表面进化出了多种“先天防御”,即保护机制。这些先天防御的主要形式是用液体清洁这些表面。通常来说,黏膜表面上液体层的量反映上皮液体分泌与上皮液体吸收之间的平衡,上皮液体分泌通常反映与水(和阳离子反离子(cation counter-ion))偶联的阴离子( $\text{Cl}^-$ 和/或 $\text{HCO}_3^-$ )分泌,上皮液体吸收通常反映与水(和反阴离子( $\text{Cl}^-$ 和/或 $\text{HCO}_3^-$ )偶联的 $\text{Na}^+$ 吸收。黏膜表面的许多疾病是由这些黏膜表面上保护性液体太少造成的,而后者由分泌(太少)与吸收(相对太多)之间失衡造成。表征这些黏膜功能障碍的缺陷的盐运输过程存在于黏膜表面的上皮层中。

[0003] 补充黏膜表面上的保护性液体层的一种方法是通过阻断 $\text{Na}^+$ 通道和液体吸收来使系统“再平衡”。介导 $\text{Na}^+$ 和液体吸收的限速步骤的上皮蛋白质是上皮 $\text{Na}^+$ 通道(“ENaC”)。ENaC位于上皮的顶面上,即黏膜表面-环境交界面。理想的是,为了抑制ENaC介导的 $\text{Na}^+$ 和液体吸收,必须将阿米洛利(amiloride)类ENaC阻断剂递送至黏膜表面,并且保持在该部位以实现最大治疗益处。

[0004] 已经报道ENaC阻断剂用于通过提高黏膜水化来改善的多种疾病。特别地,已经报道了ENaC阻断剂用于治疗呼吸疾病,例如慢性支气管炎(bronchitis,CB)、囊性纤维化(cystic fibrosis,CF)和COPD,所述疾病反映为机体不能正常地从肺部清除黏液,最终导致慢性气道感染。参见Evidence for airway surface dehydration as the initiating event in CF airway disease,R.C.Boucher,Journal of Internal Medicine,第261卷,第1期,2007年1月,第5-16页;和Cystic fibrosis:a disease of vulnerability to airway surface dehydration,R.C.Boucher,Trends in Molecular Medicine,第13卷,第6期,2007年6月,第231-240页。

[0005] 数据表明慢性支气管炎和囊性纤维化二者的初始问题都是无法清理气道表面的黏液。无法清理黏液反映了作为气道表面上的气道表面液体(airway surface liquid,ASL)的黏液量失衡。这种失衡造成ASL相对减少,这导致黏液浓缩、纤周液体(periciliary liquid,PCL)的润滑活性降低、黏液黏附于气道表面以及无法通过纤毛活动将黏液清除到口腔。黏液清除的降低导致黏附于气道表面的黏液的长期细菌定殖。细菌的长期滞留、在长期的基础上局部抗微生物物质无法杀死陷入黏液的细菌,以及随后对于这种类型的表面感染的慢性炎性应答显示为慢性支气管炎和囊性纤维化。

[0006] 对于特异性治疗通过提高黏膜水化来缓解的多种疾病(包括慢性支气管炎、COPD和囊性纤维化等)的产品,目前有巨大的未满足的医疗需要。目前对于慢性支气管炎、COPD和囊性纤维化的治疗集中于治疗这些疾病的症状和/或晚期影响。但是,这些治疗中没有一种有效地解决无法从肺部清除黏液的根本问题。

[0007] R.C.Boucher在U.S.6,264,975中描述了使用吡嗪酰胍(pyrazinoylguanidine)钠通道阻断剂使黏膜表面水化,以公知的利尿剂阿米洛利、苯扎米尔(benzamil)和非那米尔(phenamil)为代表。然而,考虑到可吸入肺的药物的重量有限;(2)迅速吸收,以及由此表现为在黏膜表面上的不期望的短的半衰期;以及(3)从ENaC自由解离,这些化合物相对弱效。需要在黏膜表面上具有较长半衰期的更有效药物。

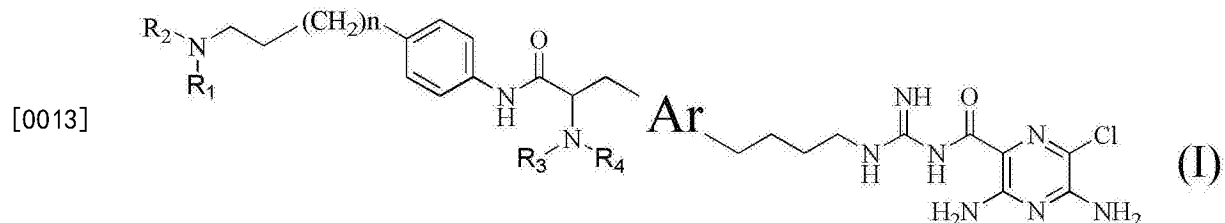
[0008] 在其他黏膜表面上的保护性表面液体太少是多种疾病的通常病理生理学。例如,在口干干燥症(口干)中,口腔缺少液体是因为腮腺、舌下腺和颌下腺无法分泌液体,而持续的Na<sup>+</sup>(ENaC)运输介导从口腔吸收液体。干性角膜结膜炎(keratoconjunctivitis sira)(干眼)由在结膜表面上连续Na<sup>+</sup>依赖的液体吸收的情况下泪腺无法分泌液体导致。在鼻窦炎中,具有黏蛋白分泌与相对ASL消耗之间的失衡。在近端的小肠中无法分泌Cl<sup>-</sup>(和液体)与在末端回肠中Na<sup>+</sup>(和液体)的吸收提高一起,导致远端肠梗阻综合征(distal intestinal obstruction syndrome,DIOS)。在老年患者中,在降结肠中过量的Na<sup>+</sup>(和体积)吸收产生便秘和憩室炎(diverticulitis)。

[0009] 公开的文献包括Parion Sciences Inc.针对吡嗪酰胍类似物作为钠通道阻滞剂的若干专利申请和授权专利。这些出版物的实例包括PCT公开No.WO2003/070182、WO2003/070184、WO2004/073629、WO2005/025496、WO2005/016879、WO2005/018644、WO2006/022935、WO2006/023573、WO2006/023617、WO2007/018640、WO2007/146869、WO2008/031028、WO2008/031048、以及美国专利No.6858614、6858615、6903105、7064129、7186833、7189719、7192958、7192959、7192960、7241766、7247636、7247637、7317013、7332496、7368447、7368450、7368451、7375102、7388013、7399766、7410968、7807834、7842697和7868010。

[0010] 依然需要在黏膜组织上具有增强的效力和有效性的新的钠通道阻断化合物。依然还需要提供治疗作用但是使接受者中高钾血症之发生或发展尽可能小或使其消除的新的钠通道阻断化合物。

[0011] 发明概述

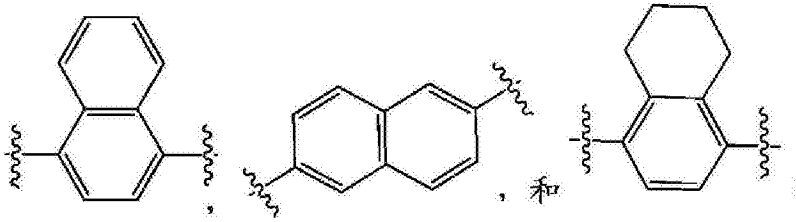
[0012] 本发明提供了式I的化合物或其可药用盐:



[0014] 其中:

[0015] Ar选自:

[0016]



[0017] n是选自0、1、2、3、4、5或6的整数；

[0018] R<sup>1</sup>选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基和具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；[0019] R<sup>2</sup>是氢或具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；[0020] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

[0021] 本发明还提供了式(I)化合物的溶剂合物和水合物,单独的立体异构体,包括光学异构体(对映体和非对映体)和几何异构体(顺式/反式异构),立体异构体的混合物及互变异构体,或其可药用盐,以及包含所述化合物或其可药用盐的药物组合物,其在治疗方法中的用途及其制备方法。

[0022] 本发明还提供了化合物3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺或其可药用盐,以及其光学异构体(对映体和非对映体)和几何异构体(顺式/反式异构),立体异构体的混合物及互变异构体,以及包含所述化合物或其可药用盐的药物组合物,其在治疗方法中的用途及其制备方法。

[0023] 附图简述

[0024] 通过参考结合以下附图的本文中的信息,可更容易地获得对本发明及其许多优点的更全面的理解:

[0025] 图1是在给药后4小时化合物33对绵羊MCC之作用的曲线图。

[0026] 图2是在给药后4小时化合物123对绵羊MCC之作用的曲线图。

[0027] 图3是在给药后4小时化合物48对绵羊MCC之作用的曲线图。

[0028] 图4是在给药后8小时化合物33对绵羊MCC之作用的曲线图。

[0029] 图5是在给药后8小时化合物152对绵羊MCC之作用的曲线图。

[0030] 图6是通过高渗盐水的给药后8小时化合物33对绵羊MCC之增强作用的曲线图。

[0031] 图7是在给药后4小时比较实施例I对绵羊MCC之作用的曲线图。

[0032] 图8是比较实施例1对绵羊血浆钾水平之作用的曲线图。

[0033] 图9是对给药后4小时的比较实施例1与化合物33对绵羊MCC之活性进行比较的曲线图。

[0034] 图10是对比较实施例1与化合物33对绵羊血浆K<sup>+</sup>水平之作用进行比较的曲线图。

[0035] 图11是对给药后4小时的比较实施例1与化合物123对绵羊MCC之活性进行比较的曲线图。

[0036] 图12是对比较实施例1与化合物123对绵羊血浆K<sup>+</sup>水平之作用进行比较的曲线图。

[0037] 图13是对给药后4小时比较实施例1与化合物48对绵羊MCC之活性进行比较的曲线图。

[0038] 图14是对比较实施例1与化合物48对绵羊血浆K<sup>+</sup>水平之作用进行比较的曲线图。

[0039] 发明详述



[0040] 如本文所使用的,以下术语为所指定的定义。

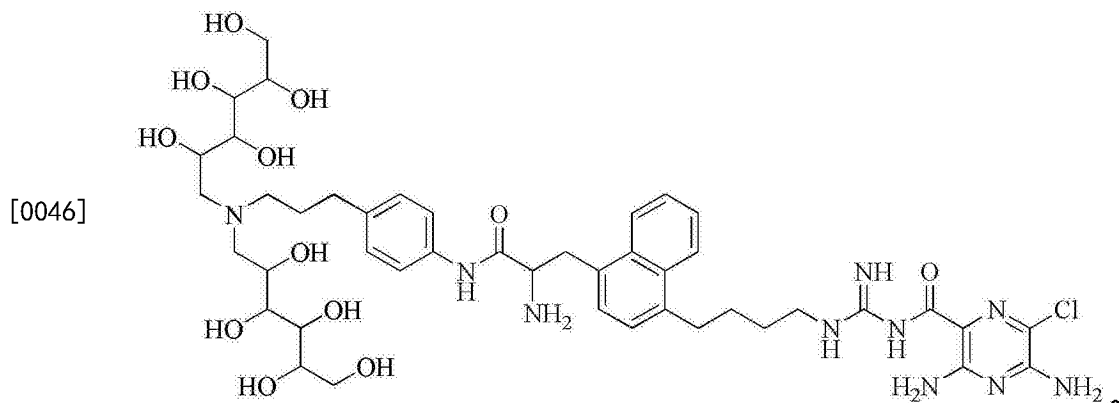
[0041] “本发明的化合物”意指式I化合物或其盐,特别是其可药用盐。

[0042] “式I化合物”意指具有本文指定为式I之结构式的化合物。式I化合物包括溶剂合物和水合物(即,式I化合物与溶剂的加合物)。在其中式I化合物包含一个或更多个手性中心的那些实施方案中,该用语旨在涵盖每个单独的立体异构体,包括光学异构体(对映体和非对映体)和几何异构体(顺式/反式异构)以及立体异构体的混合物。此外,式I化合物还包括所示式的互变异构体。

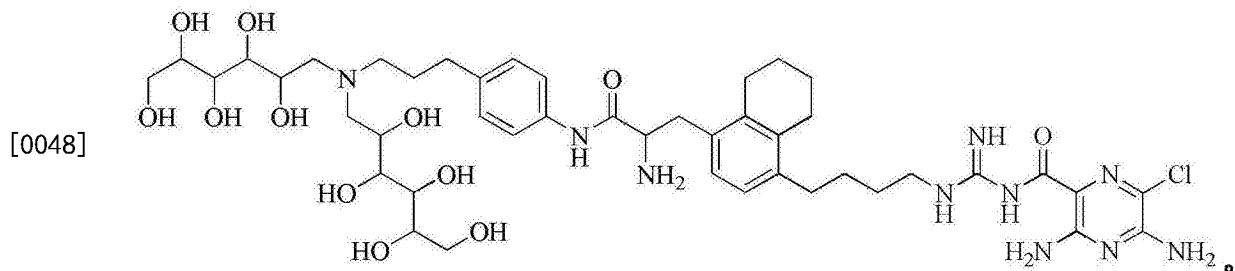
[0043] 在整个说明书和实施例中,使用标准IUPAC命名原则命名化合物,其中可能包括使用CambridgeSoft Corp./PerkinElmer所销售的ChemDraw Ultra 11.0软件程序对化合物进行命名。

[0044] 在一些化学结构表示中,未描绘出碳原子具有足够的连接变量以得到四价时,则假定需要提供四价的其余碳取代基为氢。类似地,在一些化学结构中,画出了键而未指出末端基团,根据本领域中的惯例,这样的键表示甲基(Me、-CH<sub>3</sub>)。

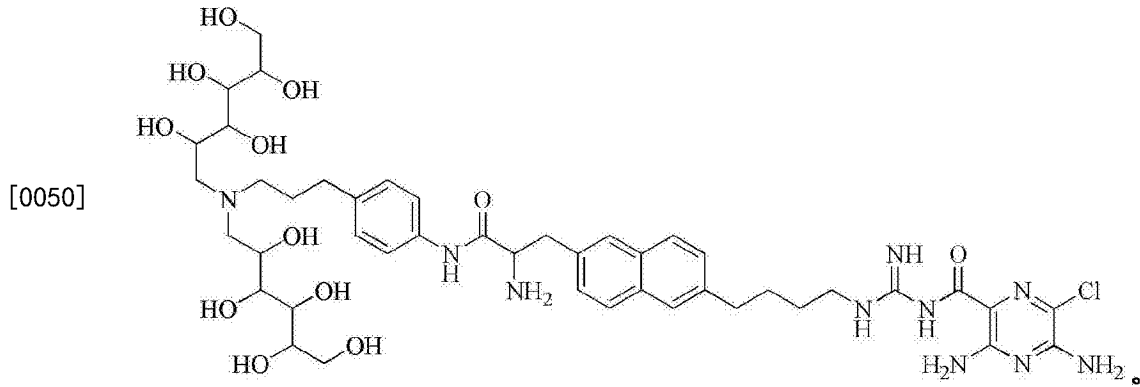
[0045] 在一个实施方案中,式(I)化合物是具有以下结构的3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-(2-氨基-3-(4-(3-(双(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺或其可药用盐:



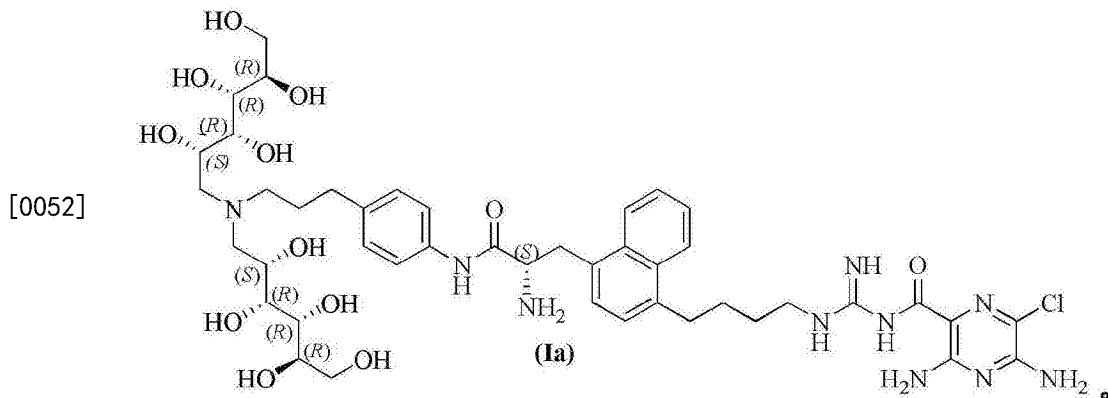
[0047] 在另一个实施方案中,式(I)化合物是具有以下结构的3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-(2-氨基-3-(4-(3-(双(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)-5,6,7,8-四氢萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺或其可药用盐:



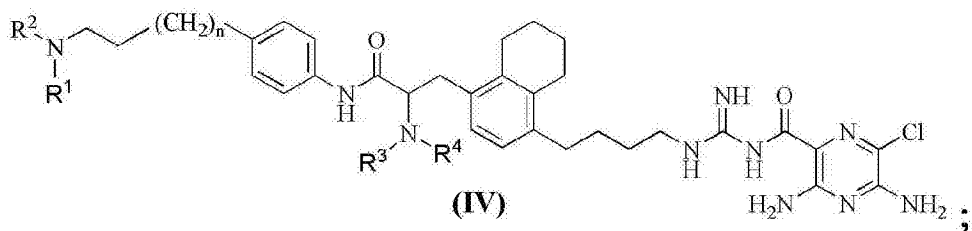
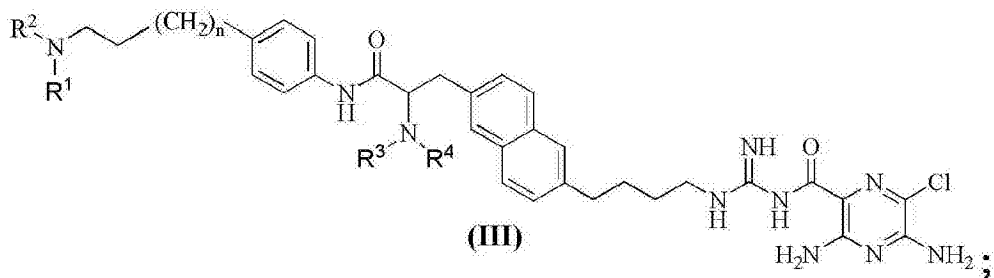
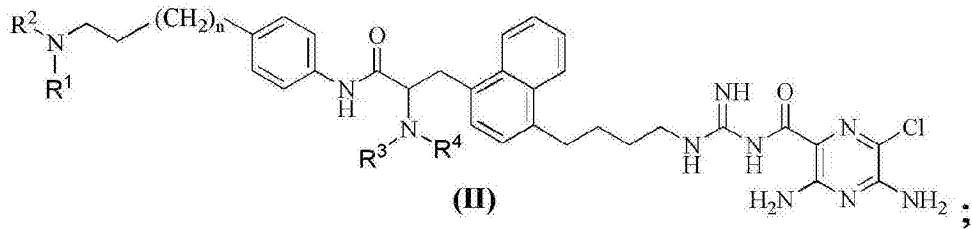
[0049] 在又一个实施方案中,式(I)化合物是具有以下结构的3,5-二氨基-N-(N-(4-(6-(2-氨基-3-(4-(3-(双(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-2-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺或其可药用盐:



[0051] 在另一个实施方案中,式(I)化合物是具有下式的3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺或其可药用盐:



[0053] 三个独立的实施方案分别包括式(II)、式(III)和式(IV)的化合物或其可药用盐:



- [0055] 其中：
- [0056] n是选自0、1、2、3、4、5或6的整数；
- [0057] R<sup>1</sup>选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基和具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；
- [0058] R<sup>2</sup>是氢或具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；
- [0059] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0060] 在由式(I)、(II)、(III)和(IV)独立地表示的每个化合物组或其可药用盐中，存在另外的实施方案，其中：
- [0061] n是选自1、2、3、4、5或6的整数；
- [0062] R<sup>1</sup>选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基和具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；
- [0063] R<sup>2</sup>是氢或具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；
- [0064] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0065] 在由式(I)、(II)、(III)和(IV)独立地表示的每个化合物组或其可药用盐中，存在另外的实施方案，其中：
- [0066] n是选自1、2、3、4、5或6的整数；
- [0067] R<sup>1</sup>选自氢和C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基；
- [0068] R<sup>2</sup>是氢或具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；
- [0069] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0070] 在由式(I)、(II)、(III)和(IV)独立地表示的每个化合物组或其可药用盐中，存在另一个实施方案，其中：
- [0071] n是选自1、2、3、4、5或6的整数；
- [0072] R<sup>1</sup>选自氢和C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基；
- [0073] R<sup>2</sup>是氢；
- [0074] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0075] 在由式(I)、(II)、(III)和(IV)独立地表示的每个化合物组或其可药用盐中，存在又一个实施方案，其中：
- [0076] n是选自1、2、3、4、5或6的整数；
- [0077] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地为具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；
- [0078] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0079] 在由式(I)、(II)、(III)和(IV)独立地表示的每个化合物组或其可药用盐中，存在另一个实施方案，其中：
- [0080] n是选自1、2、3、4、5或6的整数；
- [0081] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地为具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；
- [0082] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>为氢。
- [0083] 在由式(I)、(II)、(III)和(IV)独立地表示的每个化合物组或其可药用盐中，存在另一个实施方案，其中：
- [0084] n是选自1、2、3、4、5或6的整数；
- [0085] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地为具有3至8个碳原子的多羟基化烷基；
- [0086] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立地为C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。
- [0087] 在由式(I)、(II)、(III)和(IV)独立地表示的每个化合物组或其可药用盐中，存在

另外的实施方案,其中:

[0088] n是选自1、2、3、4、5或6的整数;

[0089] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地为具有3至8个碳原子的多羟基化烷基;

[0090] R<sup>3</sup>为氢;

[0091] R<sup>4</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

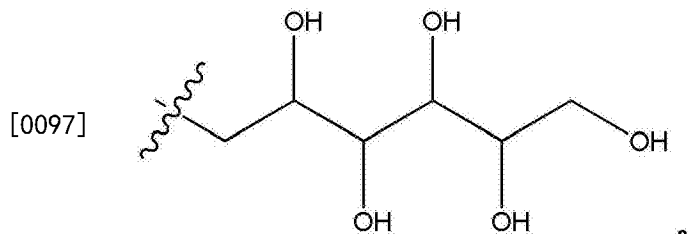
[0092] 本发明的多羟基化烷基是其中3至8个碳原子被两个或更多个羟基取代的烷基链的那些。多羟基化烷基的实例是丁烷-1,4-二醇、丁烷-1,2,2-三醇、丁烷-1,1,2,3-四醇、戊烷-1,2,3,4-四醇、己烷-1,2,3,4,5-戊醇、庚烷-1,2,3,4,5,6-己醇和辛烷-1,2,3,4,5,6,7-庚醇。

[0093] 在本文中所述的每个化合物组中的一个实施方案是其中所述多羟基化烷基具有式-CH<sub>2</sub>-(CHR<sup>5</sup>)<sub>n</sub>-H的那些化合物,其中n是选自2、3、4、5、6或7的整数并且在每种情况下R<sup>5</sup>独立地为H或OH,前提是至少两个R<sup>5</sup>基团是OH。

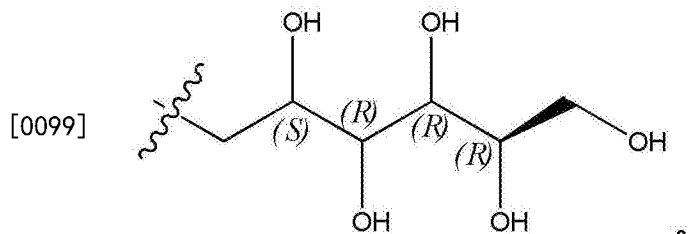
[0094] 在本文中所述的每个化合物组中的另一个实施方案是其中所述多羟基化烷基具有式-CH<sub>2</sub>-CHOH-(CHR<sup>6</sup>)<sub>m</sub>-H的那些化合物,其中m是选自1、2、3、4、5或6的整数并且在每种情况下R<sup>6</sup>独立地为H或OH,前提是至少一个R<sup>6</sup>基团是OH。

[0095] 在本文中所述的每个化合物组中的又一个实施方案包括其中所述多羟基化烷基具有式-CH<sub>2</sub>-(CHOH)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>OH的化合物,其中n是选自1、2、3、4、5或6的整数。在本文中所述各化合物组中的另一个实施方案包括其中n是选自2、3、4或5的整数的化合物。在每个组中的另一个实施方案包括其中n是选自3、4或5的整数的化合物。

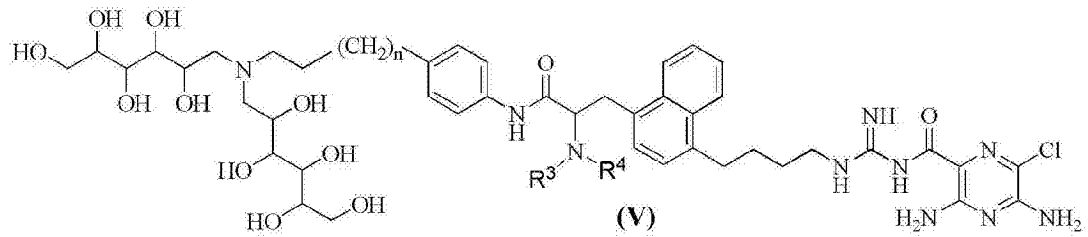
[0096] 在本文中所述的每个化合物组中的另一个实施方案中,由式-CH<sub>2</sub>-(CHOH)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>OH表示的链是2,3,4,5,6-五羟基己烷,具有下式:



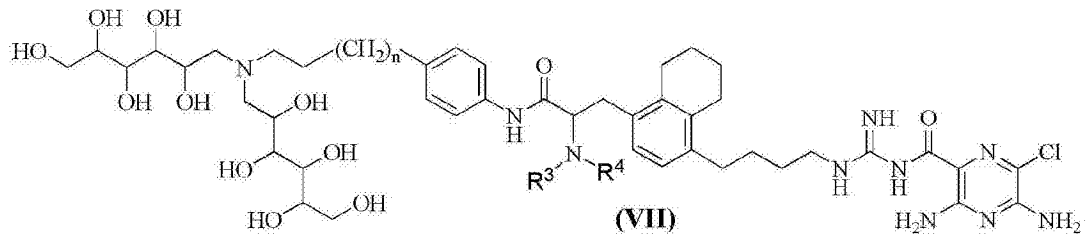
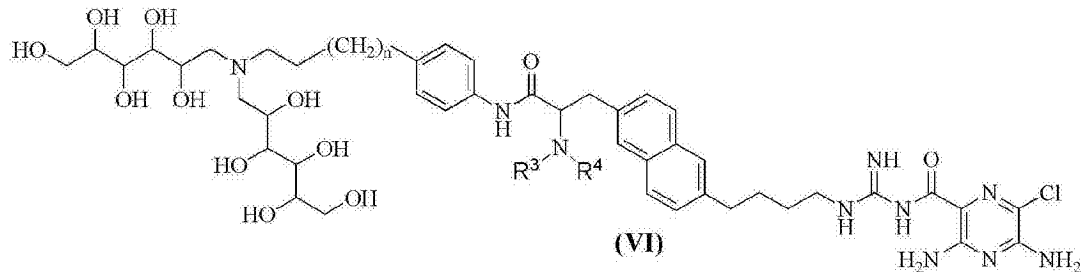
[0098] 在本文中所述的每个化合物组中的又一个实施方案中,由式-CH<sub>2</sub>-(CHOH)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>OH表示的链是下式的链:



[0100] 三个另外的独立的实施方案分别包括式(V)、式(VI)和式(VII)的化合物或其可药用盐:



[0101]



[0102] 其中：

[0103] n是选自1、2、3、4、5或6的整数；并且

[0104] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

[0105] 在由式 (V)、(VI) 和 (VII) 表示的每一个实施方案中，存在另外的实施方案或其可药用盐，其中n是选自1、2、3、4、5或6的整数；并且R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自为氢。在由式 (V)、(VI) 和 (VII) 表示的每一个实施方案中，存在另一个实施方案或其可药用盐，其中n是选自1、2、3、4、5或6的整数；并且R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自为C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

[0106] 在本文中所述的每一个实施方案中，存在另外的实施方案，其中n是选自1、2或3的整数。在本文中所述的每一个实施方案中，存在另外的实施方案，其中n是选自4、5或6的整数。在本文中所述的每一个实施方案中，存在六个另外的独立的实施方案，其中n分别是1、2、3、4、5和6的整数。

[0107] 本文的化合物，包括式 (I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI) 和 (VII) 的那些，可以是游离碱或盐特别是可药用盐的形式。可药用盐的综述参见Berge等，J. Pharma Sci. (1977) 66:1-19。

[0108] 由无机酸或有机酸形成的可药用盐包括例如：盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、硝酸盐、氨基磺酸盐、磷酸盐、磷酸氢盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、富马酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、甲酸盐、葡糖酸盐、琥珀酸盐、丙酮酸盐、鞣酸盐、抗坏血酸盐、棕榈酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、邻苯二甲酸盐、藻酸盐、聚谷氨酸盐、草酸盐、草酰乙酸盐、糖二酸盐、苯甲酸盐、烷基或芳基磺酸盐（例如，甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐或萘磺酸盐）和异硫代硫酸盐 (isothionate)；与氨基酸形成的复合物，所述氨基酸例如赖氨酸、精氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸

酸等。本发明的化合物还可以是由元素的阴离子例如氯离子、溴离子或碘离子所形成的盐的形式。

[0109] 为了治疗用途,式I化合物的活性成分的盐是可药用的,即,其是来源于可药用酸的盐。然而,也可见到不可药用酸的盐用于例如可药用化合物的制备或纯化中。例如,三氟乙酸可用于这样的应用。所有盐,无论是否来源于可药用酸,均在本发明的范围内。

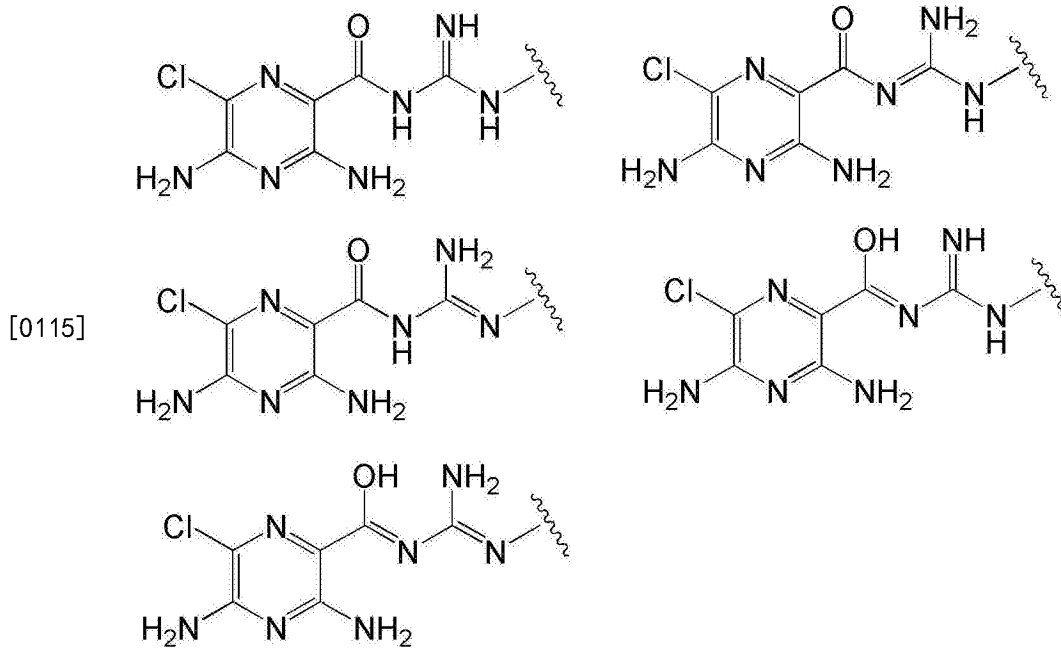
[0110] 术语“手性”是指具有与镜像体(mirror image partner)不重叠特性的分子,而术语“非手性”是指可与其镜像体重叠的分子。

[0111] 术语“立体异构体”是指具有相同化学组成但原子或基团在空间排列上不同的化合物。“非对映体”是指具有两个或更多个手性中心并且其分子不是彼此镜像的立体异构体。非对映体具有不同的物理性质,例如熔点、沸点、谱性质和反应性。可以在高分辨率分析操作(例如电泳法和色谱法)下分离非对映体的混合物。“对映体”是指与彼此的镜像不重叠的化合物的两种立体异构体。

[0112] 本文中使用的立体化学的定义和规则通常遵循S.P.Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 以及 Eliel, E. 和 Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York。

[0113] 许多有机化合物以光学活性形式存在,即,它们具有使平面偏振光的平面旋转的能力。在对光学活性化合物的描述中,使用前缀D和L或者R和S表示分子关于其手性中心的绝对构型。特定立体异构体还可以称作对映体,这样的异构体的混合物通常称作对映体混合物。对映体的50:50混合物被称为外消旋混合物或外消旋体,其可以在化学反应或过程中没有立体选择性或立体特异性时发生。术语“外消旋混合物”或“外消旋体”是指两种对映体物质的等摩尔混合物。

[0114] 术语“互变异构体”是指其中氢原子的迁移导致两种或更多种结构的立体异构体类型。式I化合物可以以不同的互变异构形式存在。本领域技术人员应承认,脘、酰胺、胍、脲、硫脲、杂环等可以以互变异构形式存在。作为举例而不是限制,式I化合物可以以如下所示的多种互变异构形式存在:



[0116] 式I的所有实施方案之脘、酰胺、胍、脲、硫脲、杂环等的所有互变异构形式均在本发明的范围内。互变异构体以平衡状态存在,因此本领域技术人员应理解,对所提供的式中单个互变异构体的描述等于是指所有可能的互变异构体。

[0117] 应注意的是,式I范围内的化合物的所有对映体、非对映体和外消旋体混合物、互变异构体、多晶型物、假多晶型物及其可药用盐均涵盖在本发明中。这些对映体和非对映体的所有混合物,包括对映体富集的混合物和非对映体富集的混合物,均在本发明的范围内。对映体富集的混合物是其中指定对映体与备选对映体的比率大于50:50之对映体的混合物。更特别地,对映体富集的混合物包含至少约75%的指定对映体,并且优选地至少约85%的指定对映体。在一个实施方案中,对映体富集的混合物基本上不含其他对映体。类似地,非对映体富集的混合物是其中指定非对映体的量大于每个备选非对映体的量之非对映体的混合物。更特别地,非对映体富集的混合物包含至少约75%的指定非对映体,并且优选地至少约85%的指定非对映体。在一个实施方案中,非对映体富集的混合物基本上不含所有其他非对映体。本领域技术人员将理解,术语“基本上不含”表示存在少于5%的其他非对映体,优选地少于1%,更优选地少于0.1%。在另一些实施方案中,不存在其他非对映体或者任何其他非对映体的存在量低于检测水平。可通过本领域已知的技术包括高效液相色谱法(HPLC)和手性盐的结晶来分离立体异构体。

[0118] 可通过使用例如用光学活性拆分剂形成非对映体的方法拆分外消旋混合物来获得单一立体异构体(例如基本上不含其立体异构体的对映体)(“Stereochemistry of Carbon Compounds,”(1962) by E.L.Eliel,McGraw Hill;Lochmuller,C.H.,(1975) J.Chromatogr.,113:(3) 283-302)。可以通过任何合适的方法使本发明手性化合物的外消旋混合物分开和分离,包括:(1)与手性化合物形成离子非对映体盐,并通过分级结晶或其他方法分离,(2)与手性衍生试剂形成非对映体化合物,分离非对映体并转化成纯的立体异构体,以及(3)在手性条件下直接分离基本纯的或富集的立体异构体。

[0119] 在一个实施方案中,本发明提供了包含作为主要异构体的3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基

氨基)-3-氧代丙基) 萘-1-基) 丁基) 甲脒基) -6-氯吡嗪-2-甲酰胺或其可药用盐的对映体富集的混合物或者组合物。

[0120] 另一些实施方案包括分别包含在每个其各自的混合物中作为主要异构体的式(I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)和(VII)的化合物或其可药用盐的对映体富集的混合物或者组合物。

[0121] 在另一个实施方案中,本发明提供了基本上不含其他异构体的3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺或其可药用盐的对映体富集的混合物或者组合物。

[0122] 4个其他的实施方案包括分别包含在每个其各自的混合物中基本上不含其他异构体的式(I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)和(VII)的化合物或其可药用盐之对映体富集的混合物或者组合物。

[0123] 本文还提供了本文中所述的每个化合物或者化合物组,包括式(I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)和(VII)的那些或其可用于盐,其用作药物。

[0124] 式I化合物及其可药用盐可作为不同的多晶型物或假多晶型物存在。如本文所使用的,结晶性多晶型物意指结晶化合物以不同晶体结构存在的能力。结晶性多晶型物可由结晶堆积(堆积多晶型)内的差异或相同分子不同构象异构体(conformer)之间的堆积差异(构象多晶型)造成。如本文中使用的,结晶性假多晶型物也包括化合物的水合物或溶剂合物以不同晶体结构存在的能力。本发明的假多晶型物可因为结晶堆积中的差异(堆积假多晶型)或同一分子不同构象异构体之间的堆积差异(构象假多晶型)而存在。本发明包括式I化合物及其可药用盐的所有多晶型物和假多晶型物。

[0125] 式I化合物及其可药用盐还可以作为无定形固体存在。如本文中使用的,无定形固体是在固体中没有长程有序(long-range order)的原子位置的固体。当晶体大小为2纳米或更小时,该定义同样适用。可使用包含溶剂的添加剂以产生本发明的无定形形式。包括本文中所述的所有药物组合物、治疗方法、组合产品及其用途的本发明包括式I化合物及其可药用盐的所有无定形形式。

[0126] 用途

[0127] 本发明化合物表现出作为钠通道阻断剂的活性。不限于任何特定的理论,认为本发明化合物可在体内通过阻断存在于黏膜表面中上皮钠通道从而降低黏膜表面对水的吸收来起作用。该作用增多了黏膜表面上保护性液体的体积并使系统重新平衡。

[0128] 因此,本发明的化合物可用作药物,特别是用于治疗适用于钠通道阻断剂的临床病症。这样的病症包括在有此需要的人中的肺部病症,例如与可逆或不可逆的气道阻塞相关的疾病、慢性阻塞性肺病(COPD)(包括COPD的急性加剧)、哮喘、支气管扩张(包括因囊性纤维化以外的病症引起的支气管扩张)、急性支气管炎、慢性支气管炎、病毒感染后的咳嗽(post-viral cough)、囊性纤维化、肺气肿、肺炎、全细支气管炎、移植相关细支气管炎(包括肺移植和骨髓移植相关的支气管炎)。本发明化合物还可用于在使用通气机的患者(ventilated patient)中治疗通气机相关气管支气管炎和/或预防通气机相关肺炎。本发明包括用于在有此需要的哺乳动物(优选有此需要的人)中治疗每一种本文中所述病症的方法,每一种方法包括向所述哺乳动物施用药用有效量的本发明化合物或其可药用盐。还



提供了 (a) 用于在有此需要的哺乳动物中减缓 COPD 恶化的方法; (b) 用于在有此需要的哺乳动物中减缓 CF 恶化的方法; (c) 在有此需要的哺乳动物中改善肺功能 (FEV1) 的方法; (d) 在患有 COPD 的哺乳动物中改善肺功能 (FEV1) 的方法; (e) 在患有 CF 的哺乳动物中改善肺功能 (FEV1) 的方法; (f) 在有此需要的哺乳动物中减缓气道感染的方法。

[0129] 还提供了在哺乳动物中刺激、增强或改善黏膜纤毛清除的方法, 所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用药用有效量的式 (I) 化合物或其可药用盐。黏膜纤毛清除应被理解为包括参与在气道中转移或清除黏液的自然黏膜纤毛作用, 包括支气管的自清除 (self-clearing) 机制。因此, 还提供了在有此需要的哺乳动物的气道中改善黏液清除的方法。

[0130] 此外, 钠通道阻断剂可适用于治疗通过提高除肺黏膜表面以外之黏膜表面的黏膜水化来改善的病症。这样的病症的实例包括干口 (口干燥症)、皮肤干燥、阴道干燥、鼻窦炎、鼻窦炎的鼻脱水 (包括因施用干燥氧所致鼻脱水)、干眼、舍格伦病 (Sjogren's disease)、中耳炎、原发性纤毛运动障碍 (primary ciliary dyskinesia)、远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘和慢性憩室炎。本发明化合物还可用于促进眼或角膜水化。

[0131] 本发明化合物还可用于从人获得痰样品的方法。所述方法可如下进行: 向患者的至少一个肺施用有效量的本发明的化合物, 然后诱导和收集来自该人的痰样品。

[0132] 因此, 在一个方面, 本发明提供了用于在哺乳动物 (例如人) 中治疗适用于钠通道阻断剂之病症的方法。

[0133] 在另一些实施方案中, 本发明提供的每一种本文中所述方法具有使所述方法的接受者中的高钾血症的尽可能小或被消除的额外益处。还提供了包括每一种本文中所述方法的一些实施方案, 在其中实现了治疗指数改善。

[0134] 如本文所使用的术语“治疗”是指逆转、缓解、抑制疾病或病症或者这些疾病或病症的一种或更多种症状的进展, 或者预防它们。

[0135] 本文描述的所有治疗性方法均通过向有治疗需要的对象 (通常是哺乳动物, 并且优选人) 施用有效量的本发明化合物、式 I 化合物或其可药用盐来进行。

[0136] 在一个实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗通过提高黏膜水化改善的病症的方法。在一个实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗与可逆的或不可逆的气道阻塞有关的疾病的方法。在一个特定的实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗慢性阻塞性肺病 (COPD) 的方法。在一个特定的实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中降低 COPD 的急性加剧的频率、严重程度性或持续时间或者用于治疗 COPD 的急性加剧的一种或更多种症状的方法。在一个实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗哮喘的方法。在一个实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗支气管扩张 (包括囊性纤维化以外的病症引起的支气管扩张) 的方法。在一个实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗支气管炎 (包括急性支气管炎和慢性支气管炎) 的方法。在一个实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗病毒感染后的咳嗽的方法。在一个实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗囊性纤维化的方法。在一个实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗肺气肿的方法。在一个实施方案中, 本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物 (特别是人) 中治疗肺炎

的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗全细支气管炎的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗移植相关细支气管炎(包括肺移植和骨髓移植相关细支气管炎)的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的使用通气机的人中治疗通气机相关支气管炎和/或预防通气机相关肺炎的方法。

[0137] 本发明提供了用于在有此需要的人中治疗选自以下的疾病或预防通气机相关肺炎的特定方法:可逆或不可逆的气道阻塞、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、支气管扩张(包括囊性纤维化以外的病症引起的支气管扩张)、急性支气管炎、慢性支气管炎、病毒感染后的咳嗽、囊性纤维化、肺气肿、肺炎、全细支气管炎、移植相关细支气管炎和通气机相关支气管炎,每一种方法包括向所述人施用有效量的式1(a)化合物或其可药用盐。在每一种治疗方法的另一些实施方案中,可药用盐形式是式(1a)化合物的盐酸盐或羟基萘甲酸盐。在每一种治疗方法中的另一些实施方案中,使用式(1a)化合物的游离碱。

[0138] 在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗干口(口干燥症)的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗皮肤干燥的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗阴道干燥的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗鼻窦炎、鼻窦炎或鼻脱水(包括因施用干燥氧所致鼻脱水)的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗干眼或舍格伦病或促进眼或角膜水化的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗中耳炎的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗原发性纤毛运动障碍的方法。在一个实施方案中,本发明提供了用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘或慢性憩室炎的方法。

[0139] 还提供了本发明的化合物,其用于药物治疗,特别是用于治疗哺乳动物(例如人)中的适于钠通道阻断剂的病症。本文中所述的所有治疗用途均通过向有治疗需要的对象施用有效量的本发明化合物来进行。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗肺部病症,例如与可逆或不可逆的气道阻塞相关的疾病。在一个特定的实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗慢性阻塞性肺病(COPD)。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中降低COPD之急性加剧的频率、严重性或持续时间或者用于治疗COPD之急性加剧的一种或更多种症状。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗哮喘。在一个实施方案中,提供了化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗支气管扩张(包括囊性纤维化以外的病症引起的支气管扩张)或支气管炎(包括急性支气管炎和慢性支气管炎)。在一个实施方案中,提供了化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗病毒感染后的咳嗽。在一个实施方案中,提供了化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗囊性纤维化。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗肺气肿。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗肺炎。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动

物(特别是人)中治疗全细支气管炎或移植相关细支气管炎(包括肺移植和骨髓移植相关细支气管炎)。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的使用通气机的人中治疗通气机相关气管支气管炎或预防通气机相关肺炎的方法。

[0140] 在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗通过提高黏膜表面的黏膜水化缓解的病症。在一个实施方案中,提供了化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗干口(口干燥症)。在一个实施方案中,提供了化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗皮肤干燥。在一个实施方案中,提供了化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗阴道干燥。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗鼻窦炎、鼻窦炎或鼻脱水(包括因施用干燥氧所致鼻脱水)的方法。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗干眼或舍格伦病或促进眼或角膜水化。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗中耳炎。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗原发性纤毛运动障碍。在一个实施方案中,提供了本发明化合物,其用于在有此需要的哺乳动物(特别是人)中治疗远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘或慢性憩室炎。

[0141] 本发明还提供了本发明化合物在制造用于在哺乳动物(例如人)中治疗适用于钠通道阻断剂之病症的药物的用途。在一个实施方案中,提供了本发明化合物在制备用于以下目的的药物的用途:治疗与可逆或不可逆的气道阻塞相关的疾病、慢性阻塞性肺病(COPD)、COPD的急性加剧、哮喘、支气管扩张(包括囊性纤维化以外的病症引起的支气管扩张)、支气管炎(包括急性支气管炎和慢性支气管炎)、病毒感染后的咳嗽、囊性纤维化、肺气肿、肺炎、全细支气管炎、移植相关细支气管炎(包括肺移植和骨髓移植相关细支气管炎)、通气机相关气管支气管炎,或者预防通气机相关肺炎。

[0142] 在一个具体实施方案中,提供了本发明化合物在制造用于以下的药物中的用途:治疗通过提高黏膜表面的黏膜水化缓解的病症,治疗口干(口干燥症)、皮肤干燥、阴道干燥、鼻窦炎、鼻窦炎、鼻脱水(包括因施用干燥氧所致鼻脱水),治疗干眼、舍格伦病,促进眼或角膜水化,治疗中耳炎、原发性纤毛运动障碍、远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘或慢性憩室炎。

[0143] 如本文所使用的术语“有效量”、“药用有效量”、“有效剂量”和“药学有效剂量”是指在被施用对象中足以引起例如研究人员或临床医师所寻找的细胞培养物、组织、系统或哺乳动物(包括人)的生物学或医学响应的本发明化合物的量。该术语在其范围内还包括有效地加强正常生理功能的量。在一个实施方案中,有效量是指当这样的组合物通过吸入施用,在被治疗对象的气道和肺的分泌物和组织或者血流中提供期望的药物水平以获得预期的生理响应或期望的生物学效应所需的量。例如,用于治疗适用于钠通道阻断剂之病症的本发明化合物的有效量足以在被施用对象中治疗特定病症。在一个实施方案中,有效量是足以在人中治疗COPD或囊性纤维化的本发明化合物的量。

[0144] 本发明化合物的精确有效量取决于多种因素,包括但不限于:被治疗对象的物种、年龄和体重、需要治疗的精确病症及其严重程度、被施用的具体化合物的生物利用度、效力和其他性质、制剂的性质、施用途径和递送装置,并且最终由主治医师或兽医确定。关于合适剂量的进一步指导可通过考虑其他钠通道阻断剂(例如阿米洛利)的常规给药来找到,而

且还要适当地考虑阿米洛利和本发明化合物之间效力的任何差异。

[0145] 用于治疗70kg人的对象的气道表面局部施用的药学有效剂量可以是约10ng至约10mg。在另一个实施方案中,药学有效剂量可以是约0.1 $\mu$ g至约1000 $\mu$ g。通常来说,向气道表面局部施用的日剂量将是足以在气道表面获得活性剂的溶解浓度为约 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 或 $10^{-7}$ 至约 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$ 或 $10^{-1}$ 摩尔/升,更优选约 $10^{-9}$ 至约 $10^{-4}$ 摩尔/升的量。用于患者的具体剂量的选择将由本领域一般技术的主治医师、临床医师或兽医根据多种因素(包括上述那些)来确定。在一个特定的实施方案中,用于治疗70kg人的本发明化合物的剂量将为约10纳克(ng)至约10mg。在另一个实施方案中,有效剂量将为约0.1 $\mu$ g至约1,000 $\mu$ g。在一个实施方案中,用于治疗70kg人的本发明化合物的剂量将为约0.5 $\mu$ g至约0.5mg。在又一个实施方案中,剂量将为约0.5 $\mu$ g至约60 $\mu$ g。在另一个实施方案中,药学有效剂量将为约1 $\mu$ g至约10 $\mu$ g。在另一个实施方案中,药学有效剂量将为约5 $\mu$ g至约50 $\mu$ g。另一个实施方案具有约10 $\mu$ g至约40 $\mu$ g的有效剂量。在两个另外的实施方案中,药学有效剂量将分别为约15 $\mu$ g至约50 $\mu$ g,约15 $\mu$ g至约30 $\mu$ g。应理解的是,在这些剂量范围的每一个中,包括在范围内所有提高的剂量。例如,0.5 $\mu$ g至50 $\mu$ g范围包括以下单独剂量:0.5 $\mu$ g、0.6 $\mu$ g、0.7 $\mu$ g、0.8 $\mu$ g、0.9 $\mu$ g、1.0 $\mu$ g、1.1 $\mu$ g、1.2 $\mu$ g、1.3 $\mu$ g、1.4 $\mu$ g、1.5 $\mu$ g、1.6 $\mu$ g、1.7 $\mu$ g、1.8 $\mu$ g、1.9 $\mu$ g、2.0 $\mu$ g、2.1 $\mu$ g、2.2 $\mu$ g、2.3 $\mu$ g、2.4 $\mu$ g、2.5 $\mu$ g、2.6 $\mu$ g、2.7 $\mu$ g、2.8 $\mu$ g、2.9 $\mu$ g、3.0 $\mu$ g、3.1 $\mu$ g、3.2 $\mu$ g、3.3 $\mu$ g、3.4 $\mu$ g、3.5 $\mu$ g、3.6 $\mu$ g、3.7 $\mu$ g、3.8 $\mu$ g、3.9 $\mu$ g、4.0 $\mu$ g、4.1 $\mu$ g、4.2 $\mu$ g、4.3 $\mu$ g、4.4 $\mu$ g、4.5 $\mu$ g、4.6 $\mu$ g、4.7 $\mu$ g、4.8 $\mu$ g、4.9 $\mu$ g、5.0 $\mu$ g、5.1 $\mu$ g、5.2 $\mu$ g、5.3 $\mu$ g、5.4 $\mu$ g、5.5 $\mu$ g、5.6 $\mu$ g、5.7 $\mu$ g、5.8 $\mu$ g、5.9 $\mu$ g、6.0 $\mu$ g、6.1 $\mu$ g、6.2 $\mu$ g、6.3 $\mu$ g、6.4 $\mu$ g、6.5 $\mu$ g、6.6 $\mu$ g、6.7 $\mu$ g、6.8 $\mu$ g、6.9 $\mu$ g、7.0 $\mu$ g、7.1 $\mu$ g、7.2 $\mu$ g、7.3 $\mu$ g、7.4 $\mu$ g、7.5 $\mu$ g、7.6 $\mu$ g、7.7 $\mu$ g、7.8 $\mu$ g、7.9 $\mu$ g、8.0 $\mu$ g、8.1 $\mu$ g、8.2 $\mu$ g、8.3 $\mu$ g、8.4 $\mu$ g、8.5 $\mu$ g、8.6 $\mu$ g、8.7 $\mu$ g、8.8 $\mu$ g、8.9 $\mu$ g、9.0 $\mu$ g、9.1 $\mu$ g、9.2 $\mu$ g、9.3 $\mu$ g、9.4 $\mu$ g、9.5 $\mu$ g、9.6 $\mu$ g、9.7 $\mu$ g、9.8 $\mu$ g、9.9 $\mu$ g、10.0 $\mu$ g、10.1 $\mu$ g、10.2 $\mu$ g、10.3 $\mu$ g、10.4 $\mu$ g、10.5 $\mu$ g、10.6 $\mu$ g、10.7 $\mu$ g、10.8 $\mu$ g、10.9 $\mu$ g、11.0 $\mu$ g、11.1 $\mu$ g、11.2 $\mu$ g、11.3 $\mu$ g、11.4 $\mu$ g、11.5 $\mu$ g、11.6 $\mu$ g、11.7 $\mu$ g、11.8 $\mu$ g、11.9 $\mu$ g、12.0 $\mu$ g、12.1 $\mu$ g、12.2 $\mu$ g、12.3 $\mu$ g、12.4 $\mu$ g、12.5 $\mu$ g、12.6 $\mu$ g、12.7 $\mu$ g、12.8 $\mu$ g、12.9 $\mu$ g、13.0 $\mu$ g、13.1 $\mu$ g、13.2 $\mu$ g、13.3 $\mu$ g、13.4 $\mu$ g、13.5 $\mu$ g、13.6 $\mu$ g、13.7 $\mu$ g、13.8 $\mu$ g、13.9 $\mu$ g、14.0 $\mu$ g、14.1 $\mu$ g、14.2 $\mu$ g、14.3 $\mu$ g、14.4 $\mu$ g、14.5 $\mu$ g、14.6 $\mu$ g、14.7 $\mu$ g、14.8 $\mu$ g、14.9 $\mu$ g、15.0 $\mu$ g、15.1 $\mu$ g、15.2 $\mu$ g、15.3 $\mu$ g、15.4 $\mu$ g、15.5 $\mu$ g、15.6 $\mu$ g、15.7 $\mu$ g、15.8 $\mu$ g、15.9 $\mu$ g、16.0 $\mu$ g、16.1 $\mu$ g、16.2 $\mu$ g、16.3 $\mu$ g、16.4 $\mu$ g、16.5 $\mu$ g、16.6 $\mu$ g、16.7 $\mu$ g、16.8 $\mu$ g、16.9 $\mu$ g、17.0 $\mu$ g、17.1 $\mu$ g、17.2 $\mu$ g、17.3 $\mu$ g、17.4 $\mu$ g、17.5 $\mu$ g、17.6 $\mu$ g、17.7 $\mu$ g、17.8 $\mu$ g、17.9 $\mu$ g、18.0 $\mu$ g、18.1 $\mu$ g、18.2 $\mu$ g、18.3 $\mu$ g、18.4 $\mu$ g、18.5 $\mu$ g、18.6 $\mu$ g、18.7 $\mu$ g、18.8 $\mu$ g、18.9 $\mu$ g、19.0 $\mu$ g、19.1 $\mu$ g、19.2 $\mu$ g、19.3 $\mu$ g、19.4 $\mu$ g、19.5 $\mu$ g、19.6 $\mu$ g、19.7 $\mu$ g、19.8 $\mu$ g、19.9 $\mu$ g、20.0 $\mu$ g、20.1 $\mu$ g、20.2 $\mu$ g、20.3 $\mu$ g、20.4 $\mu$ g、20.5 $\mu$ g、20.6 $\mu$ g、20.7 $\mu$ g、20.8 $\mu$ g、20.9 $\mu$ g、21.0 $\mu$ g、21.1 $\mu$ g、21.2 $\mu$ g、21.3 $\mu$ g、21.4 $\mu$ g、21.5 $\mu$ g、21.6 $\mu$ g、21.7 $\mu$ g、21.8 $\mu$ g、21.9 $\mu$ g、22.0 $\mu$ g、22.1 $\mu$ g、22.2 $\mu$ g、22.3 $\mu$ g、22.4 $\mu$ g、22.5 $\mu$ g、22.6 $\mu$ g、22.7 $\mu$ g、22.8 $\mu$ g、22.9 $\mu$ g、23.0 $\mu$ g、23.1 $\mu$ g、23.2 $\mu$ g、23.3 $\mu$ g、23.4 $\mu$ g、23.5 $\mu$ g、23.6 $\mu$ g、23.7 $\mu$ g、23.8 $\mu$ g、23.9 $\mu$ g、24.0 $\mu$ g、24.1 $\mu$ g、24.2 $\mu$ g、24.3 $\mu$ g、24.4 $\mu$ g、24.5 $\mu$ g、24.6 $\mu$ g、24.7 $\mu$ g、24.8 $\mu$ g、24.9 $\mu$ g、25.0 $\mu$ g、25.1 $\mu$ g、25.2 $\mu$ g、25.3 $\mu$ g、25.4 $\mu$ g、25.5 $\mu$ g、25.6 $\mu$ g、25.7 $\mu$ g、25.8 $\mu$ g、25.9 $\mu$ g、26.0 $\mu$ g、26.1 $\mu$ g、26.2 $\mu$ g、26.3 $\mu$ g、26.4 $\mu$ g、26.5 $\mu$ g、26.6 $\mu$ g、26.7 $\mu$ g、26.8 $\mu$ g、26.9 $\mu$ g、27.0 $\mu$ g、27.1 $\mu$ g、27.2 $\mu$ g、27.3 $\mu$ g、27.4 $\mu$ g、27.5 $\mu$ g、27.6 $\mu$ g、27.7 $\mu$ g、27.8 $\mu$ g、27.9 $\mu$ g、28.0 $\mu$ g、28.1 $\mu$ g、28.2 $\mu$ g、28.3 $\mu$ g、28.4 $\mu$ g、28.5 $\mu$ g、28.6 $\mu$ g、28.7 $\mu$ g、28.8 $\mu$ g、28.9 $\mu$ g、29.0 $\mu$ g、29.1 $\mu$ g、29.2 $\mu$ g、29.3 $\mu$ g、29.4 $\mu$ g、29.5 $\mu$ g、29.6 $\mu$ g、29.7 $\mu$ g、29.8 $\mu$ g、29.9

$\mu\text{g}$ 、30.0 $\mu\text{g}$ 、30.1 $\mu\text{g}$ 、30.2 $\mu\text{g}$ 、30.3 $\mu\text{g}$ 、30.4 $\mu\text{g}$ 、30.5 $\mu\text{g}$ 、30.6 $\mu\text{g}$ 、30.7 $\mu\text{g}$ 、30.8 $\mu\text{g}$ 、30.9 $\mu\text{g}$ 、31.0 $\mu\text{g}$ 、31.1 $\mu\text{g}$ 、31.2 $\mu\text{g}$ 、31.3 $\mu\text{g}$ 、31.4 $\mu\text{g}$ 、31.5 $\mu\text{g}$ 、31.6 $\mu\text{g}$ 、31.7 $\mu\text{g}$ 、31.8 $\mu\text{g}$ 、31.9 $\mu\text{g}$ 、32.0 $\mu\text{g}$ 、32.1 $\mu\text{g}$ 、32.2 $\mu\text{g}$ 、32.3 $\mu\text{g}$ 、32.4 $\mu\text{g}$ 、32.5 $\mu\text{g}$ 、32.6 $\mu\text{g}$ 、32.7 $\mu\text{g}$ 、32.8 $\mu\text{g}$ 、32.9 $\mu\text{g}$ 、33.0 $\mu\text{g}$ 、33.1 $\mu\text{g}$ 、33.2 $\mu\text{g}$ 、33.3 $\mu\text{g}$ 、33.4 $\mu\text{g}$ 、33.5 $\mu\text{g}$ 、33.6 $\mu\text{g}$ 、33.7 $\mu\text{g}$ 、33.8 $\mu\text{g}$ 、33.9 $\mu\text{g}$ 、34.0 $\mu\text{g}$ 、34.1 $\mu\text{g}$ 、34.2 $\mu\text{g}$ 、34.3 $\mu\text{g}$ 、34.4 $\mu\text{g}$ 、34.5 $\mu\text{g}$ 、34.6 $\mu\text{g}$ 、34.7 $\mu\text{g}$ 、34.8 $\mu\text{g}$ 、34.9 $\mu\text{g}$ 、35.0 $\mu\text{g}$ 、35.1 $\mu\text{g}$ 、35.2 $\mu\text{g}$ 、35.3 $\mu\text{g}$ 、35.4 $\mu\text{g}$ 、35.5 $\mu\text{g}$ 、35.6 $\mu\text{g}$ 、35.7 $\mu\text{g}$ 、35.8 $\mu\text{g}$ 、35.9 $\mu\text{g}$ 、36.0 $\mu\text{g}$ 、36.1 $\mu\text{g}$ 、36.2 $\mu\text{g}$ 、36.3 $\mu\text{g}$ 、36.4 $\mu\text{g}$ 、36.5 $\mu\text{g}$ 、36.6 $\mu\text{g}$ 、36.7 $\mu\text{g}$ 、36.8 $\mu\text{g}$ 、36.9 $\mu\text{g}$ 、37.0 $\mu\text{g}$ 、37.1 $\mu\text{g}$ 、37.2 $\mu\text{g}$ 、37.3 $\mu\text{g}$ 、37.4 $\mu\text{g}$ 、37.5 $\mu\text{g}$ 、37.6 $\mu\text{g}$ 、37.7 $\mu\text{g}$ 、37.8 $\mu\text{g}$ 、37.9 $\mu\text{g}$ 、38.0 $\mu\text{g}$ 、38.1 $\mu\text{g}$ 、38.2 $\mu\text{g}$ 、38.3 $\mu\text{g}$ 、38.4 $\mu\text{g}$ 、38.5 $\mu\text{g}$ 、38.6 $\mu\text{g}$ 、38.7 $\mu\text{g}$ 、38.8 $\mu\text{g}$ 、38.9 $\mu\text{g}$ 、39.0 $\mu\text{g}$ 、39.1 $\mu\text{g}$ 、39.2 $\mu\text{g}$ 、39.3 $\mu\text{g}$ 、39.4 $\mu\text{g}$ 、39.5 $\mu\text{g}$ 、39.6 $\mu\text{g}$ 、39.7 $\mu\text{g}$ 、39.8 $\mu\text{g}$ 、39.9 $\mu\text{g}$ 、40.0 $\mu\text{g}$ 、40.1 $\mu\text{g}$ 、40.2 $\mu\text{g}$ 、40.3 $\mu\text{g}$ 、40.4 $\mu\text{g}$ 、40.5 $\mu\text{g}$ 、40.6 $\mu\text{g}$ 、40.7 $\mu\text{g}$ 、40.8 $\mu\text{g}$ 、40.9 $\mu\text{g}$ 、41.0 $\mu\text{g}$ 、41.1 $\mu\text{g}$ 、41.2 $\mu\text{g}$ 、41.3 $\mu\text{g}$ 、41.4 $\mu\text{g}$ 、41.5 $\mu\text{g}$ 、41.6 $\mu\text{g}$ 、41.7 $\mu\text{g}$ 、41.8 $\mu\text{g}$ 、41.9 $\mu\text{g}$ 、42.0 $\mu\text{g}$ 、42.1 $\mu\text{g}$ 、42.2 $\mu\text{g}$ 、42.3 $\mu\text{g}$ 、42.4 $\mu\text{g}$ 、42.5 $\mu\text{g}$ 、42.6 $\mu\text{g}$ 、42.7 $\mu\text{g}$ 、42.8 $\mu\text{g}$ 、42.9 $\mu\text{g}$ 、43.0 $\mu\text{g}$ 、43.1 $\mu\text{g}$ 、43.2 $\mu\text{g}$ 、43.3 $\mu\text{g}$ 、43.4 $\mu\text{g}$ 、43.5 $\mu\text{g}$ 、43.6 $\mu\text{g}$ 、43.7 $\mu\text{g}$ 、43.8 $\mu\text{g}$ 、43.9 $\mu\text{g}$ 、44.0 $\mu\text{g}$ 、44.1 $\mu\text{g}$ 、44.2 $\mu\text{g}$ 、44.3 $\mu\text{g}$ 、44.4 $\mu\text{g}$ 、44.5 $\mu\text{g}$ 、44.6 $\mu\text{g}$ 、44.7 $\mu\text{g}$ 、44.8 $\mu\text{g}$ 、44.9 $\mu\text{g}$ 、45.0 $\mu\text{g}$ 、45.1 $\mu\text{g}$ 、45.2 $\mu\text{g}$ 、45.3 $\mu\text{g}$ 、45.4 $\mu\text{g}$ 、45.5 $\mu\text{g}$ 、45.6 $\mu\text{g}$ 、45.7 $\mu\text{g}$ 、45.8 $\mu\text{g}$ 、45.9 $\mu\text{g}$ 、46.0 $\mu\text{g}$ 、46.1 $\mu\text{g}$ 、46.2 $\mu\text{g}$ 、46.3 $\mu\text{g}$ 、46.4 $\mu\text{g}$ 、46.5 $\mu\text{g}$ 、46.6 $\mu\text{g}$ 、46.7 $\mu\text{g}$ 、46.8 $\mu\text{g}$ 、46.9 $\mu\text{g}$ 、47.0 $\mu\text{g}$ 、47.1 $\mu\text{g}$ 、47.2 $\mu\text{g}$ 、47.3 $\mu\text{g}$ 、47.4 $\mu\text{g}$ 、47.5 $\mu\text{g}$ 、47.6 $\mu\text{g}$ 、47.7 $\mu\text{g}$ 、47.8 $\mu\text{g}$ 、47.9 $\mu\text{g}$ 、48.0 $\mu\text{g}$ 、48.1 $\mu\text{g}$ 、48.2 $\mu\text{g}$ 、48.3 $\mu\text{g}$ 、48.4 $\mu\text{g}$ 、48.5 $\mu\text{g}$ 、48.6 $\mu\text{g}$ 、48.7 $\mu\text{g}$ 、48.8 $\mu\text{g}$ 、38.9 $\mu\text{g}$ 、49.0 $\mu\text{g}$ 、49.1 $\mu\text{g}$ 、49.2 $\mu\text{g}$ 、49.3 $\mu\text{g}$ 、49.4 $\mu\text{g}$ 、49.5 $\mu\text{g}$ 、49.6 $\mu\text{g}$ 、49.7 $\mu\text{g}$ 、49.8 $\mu\text{g}$ 、39.9 $\mu\text{g}$ 和50 $\mu\text{g}$ 。

[0146] 如果通过不同的途径施用化合物,则可通过使用常规剂量算法调整前述建议剂量。根据前文描述和本领域一般常识,本领域技术人员能够确定用于通过其他途径施用的合适的剂量。

[0147] 递送有效量的本发明化合物可能需要递送单一剂型或多个单位剂量,其可以同时或在指定周期(例如24小时)内的时间分开递送。本发明化合物(单独的或以包含本发明化合物之组合物的形式)的剂量可以每天施用1至10次。通常来说,本发明的化合物(单独的或为包含本发明化合物之组合物的形式)每天(24小时)将施用4、3、2或1次。

[0148] 本发明式(I)化合物还可用于治疗空气传播的感染。空气传播的感染的实例包括例如RSV。本发明式(I)化合物还可用于治疗炭疽感染。本发明涉及本发明式(I)化合物用于预防、暴露后预防、预防性或治疗性治疗由病原体引起的疾病或病症的用途。在一个优选实施方案中,本发明涉及式(I)化合物用于预防、暴露后预防、预防性或治疗性治疗由可用于生物恐怖主义的病原体引起的疾病或病症的用途。

[0149] 近年来,已经进行了多个研究项目和生物防御措施来解决有关在恐怖主义行为中使用生物剂的问题。这些措施旨在解决有关生物恐怖活动(bioterrorism)或者使用微生物或生物毒素杀人、传播恐惧和扰乱社会的问题。例如,国家变态反应和传染病研究所(National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIAID)已经进行了用于生物防御的战略规划(Strategic Plan for Biodefense Research),其列出了用于确立在生物恐怖活动和出现及再次出现传染病的广泛区域中的研究需要的计划。根据该计划,有意使美国平民群体暴露于炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)孢子揭示了国家对生物恐怖活动的整体准备中的缺口。另外,报道详述了这些袭击揭示出对于用于快速诊断的测试、用于预

防的疫苗和免疫治疗、用于治愈由生物恐怖活动之物质造成的疾病的药物和生物制剂有未满足的需求。

[0150] 多种研究工作的焦点大多针对具有同生物恐怖活动物质一样潜在危险之病原体的生物学,研究宿主对这些物质的响应,研发针对传染病的疫苗,评估目前可用的和处于研究中的针对这些物质的治疗剂,以及开发辨别威胁性物质的体征和症状的诊断。这些工作是值得称赞的,但考虑到已经鉴定为有潜力用于生物恐怖活动的大量病原体,这些努力还没有能够提供针对所有可能的生物恐怖活动威胁的令人满意的应对。另外,已经鉴定为具有同生物恐怖物质一样潜在危险的许多病原体并不能为工业上开发治疗或预防措施提供足够的经济上的动力。另外,即使对于可用于生物恐怖的每种病原体的预防措施(例如疫苗)都是可用的,但向一般人群施用所有这些疫苗的费用也是过高的。

[0151] 直到可得到应对每个生物恐怖活动威胁的方便有效的治疗为止,仍存在对可防止或降低病原体的感染风险的防止性、预防性或治疗性处理的强烈需求。

[0152] 本发明提供了这样的预防性治疗方法。在一个方面,提供了一种预防性治疗方法,其包括向需要预防性治疗空气传播的病原体之感染的个体施用有效量的式(I)化合物。空气传播的病原体的一个具体实例是炭疽。

[0153] 在另一个方面,提供了用于降低可在人中引起疾病的空气传播的病原体的感染风险的预防性处理方法,所述方法包括向可能处于空气传播的病原体的感染风险下但没有该疾病之症状的人的肺施用有效量的式(I)化合物,其中有效量的钠通道阻断剂和渗压剂足以降低人的感染风险。空气传播的病原体的一个具体实例是炭疽。

[0154] 在另一个方面,提供了一种用于治疗来自空气传播的病原体感染的暴露后预防性处理或治疗性处理方法,其包括向需要此抗空气传播的病原体感染处理的个体的肺施用有效量的式(I)化合物。可以通过本发明的暴露后预防性、援救性和治疗性处理方法防止病原体,其包括可以通过口、鼻或鼻气道进入身体从而进一步进入肺的任何病原体。通常来说,病原体可以是自然存在的或通过雾化的空气传播的病原体。病原体可以是自然存在的或可以是在雾化有意引入到环境中或通过其他方法将病原体引入到环境中。许多不能在空气中自然传播的病原体已经被或被雾化以用于生物恐怖活动。可使用本发明处理的病原体包括但不限于NIAID所列出的A类、B类和C类优先级的病原体。这些类别通常对应于疾病控制和预防中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)所编纂的列表。如由CDC建立的,A类病原体是易于在人与人之间散布或传播,造成高的死亡率,对公共卫生可能造成重大影响的那些。在优先级上接下来是B类病原体,并且其包括中等容易散布并造成中等发病率和低死亡率的那些。C类由因为其可获得性、容易生产和散布以及高发病率和死亡率的潜力使得将来可以被改造成用于大量传播的新出现的病原体组成。这些病原体的具体实例是炭疽和鼠疫。可以预防或降低来自其感染风险的其他病原体包括流感病毒、鼻病毒、腺病毒和呼吸道合胞病毒等。另一种可以被预防的病原体是冠状病毒,其被认为造成严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)。

[0155] 本发明还涉及式I的钠通道阻断剂或其可药用盐用于预防、减轻和/或治疗因暴露于放射性材料,特别是含有来自核攻击如放射性散播装置(radiological dispersal device, RDD)的爆炸或意外事故如核电站灾难的放射性核素的吸入气溶胶而对呼吸道造成的确定性健康影响(deterministic health effect)的用途。因此,本文中提供了用于在

有此需要的接受者(包括有此需要的人)中预防、减轻和/或治疗因含有放射性核素的可吸入气溶胶引起的呼吸道和/或其他身体器官的确定性健康影响的方法,所述方法包括向所述人施用有效量的式(I)化合物或其可药用盐。

[0156] 与将公众成员暴露于含有来自核攻击如放射性散播装置(RDD)的爆炸或意外事故如核电站灾难的放射性核素的可吸入气溶胶的结果管理计划(consequence management planning)相关的主要问题是怎样预防、减轻或治疗对呼吸道(主要是肺)造成的潜在的确定性健康影响。必须准备有药物、技术、程序和经培训的人员以管理和处理这样的内部高度污染的个体。

[0157] 进行了研究以确定预防、减轻或治疗由内部沉积的放射性核素对呼吸道和体内的多种器官造成的潜在损害的方法。迄今为止,大部分研究的注意力都集中于设计为通过促进其排泄或移除来减轻内部沉积的放射性核素造成的健康影响的策略。这些策略已经集中于能够到达血流并沉积在对给定放射性核素特异的远端系统位点的可溶化学形式。这样的方法在沉积的放射性核素为相对不溶的形式时行不通。研究表明,来自RDD的沉积的放射性核素的许多(如果不是大部分)物理形式将是相对不溶的形式。

[0158] 已知有效降低来自吸入的不溶的放射性气溶胶的肺辐射剂量的唯一方法是支气管肺泡灌洗或BAL。该技术由已经用于治疗具有肺泡蛋白沉积之患者的方法修改得到,其被证明是安全、可重复的方法,即使长时间执行也是如此。但是,方法中有一些变化,用于BAL的基础方法使对象麻醉,然后缓慢引入等渗盐水到单个肺叶中直到达到功能残气量。然后添加额外的体积并通过重力排出。

[0159] 在动物中使用BAL的研究结果表明,约40%的深肺含量可通过合理顺序的BAL除去。在一些研究中,动物之间回收的放射性核素的量具有相当大的差异。差异的原因目前还不知道。

[0160] 另外,基于在动物中的研究,认为BAL治疗使放射剂量显著降低,从而降低了因不溶的放射性核素的吸入对健康的影响。在该研究中,使成年狗吸入不溶性<sup>144</sup>Ce-FAP颗粒。给予两组狗已知造成放射性肺炎和肺纤维化的<sup>144</sup>Ce肺含量(约2MBq/kg体重),其中一组在暴露后2天至56天之间给予10次单侧灌洗的治疗,另一组不进行治疗。第三组暴露于与在治疗后BAL治疗组中的水平差不多的<sup>144</sup>Ce水平(约1MBq/kg),但是不对这些动物进行治疗。允许所有动物度过其寿命期限(其长达16年)。由于每个组中狗之间的初始肺<sup>144</sup>Ce含量不同,因此每组的给药率(dose rate)和累积剂量重叠。但是,从生存曲线上可以看出,BAL对降低肺炎/纤维化之风险的影响很明显。在肺含量为1.5MBq/kg至2.5MBq/kg的未治疗狗中,平均存活时间为370±65d。对于经治疗的狗,平均存活为1270±240d,这是统计学上显著的差异。接受0.6MBq/kg至1.4MBq<sup>144</sup>Ce肺含量的第三组,平均存活时间是1800±230,其与经治疗组之间在统计学上没有差异。对于延长存活同样重要的,高剂量未治疗组中的狗死于对肺部的确定性影响(肺炎/纤维化),而治经疗组的狗不是。代替的是,经治疗的狗与低剂量未治疗组一样,大部分具有肺肿瘤(血管肉瘤或癌)。因此,BAL处理导致的剂量降低看来对肺产生了可基于肺接受的放射剂量预测的生物学效应。

[0161] 基于这些结果,认为通过任何增强从肺清除颗粒的方法或方法的组合来进一步降低残余放射剂量可进一步降低对肺造成健康影响的可能性。但是,BAL方法具有很多缺点。BAL是高侵入性方法,其必须在专业医疗中心由受过训练的肺脏学家进行。因此,BAL方法是

昂贵的。考虑到BAL的缺点,其对于需要加速清除放射性颗粒的人来说不是可容易且即时可得的治疗选择,例如在核攻击事件中。在核攻击或核事故的情况下,对于已暴露或处于暴露风险下的人需要即时且相对容易施用的治疗。作为吸入性气雾剂施用的钠通道阻断剂已经表现出恢复气道表面的水化。这种气道表面的水化有助于从肺清除积累的黏液分泌物和相关颗粒物。因此,不受任何特定理论的限制,认为钠通道阻断剂可用于加速从气道通道清除放射性颗粒。

[0162] 如上讨论的,在放射攻击(例如,脏弹)后,对于肺的最大威胁由吸入和保留不溶的放射性颗粒造成。由于放射性颗粒的保留,造成对肺的累积暴露显著提高,最终导致肺纤维化/肺炎以及可能死亡。不溶性颗粒无法通过螯合剂系统地清除,因为这些颗粒不溶解。迄今为止,通过BAL物理地除去颗粒物是唯一显示出能够有效减轻放射诱发的肺病的治疗方案。如上文中讨论的,对于降低已经被吸入体内的放射性颗粒的效果,BAL不是现实的治疗方案。因此,希望提供有效帮助从气道通道清除放射性颗粒的治疗方案,并且其(不像BAL)对于施用者相对简单且可放大到大规模的放射暴露情况。另外,还希望治疗方案对许多人来说可容易地在相对短的时间内得到。

[0163] 在本发明的一个方面,用于预防、减轻和/或治疗由含有放射性核素的吸入气溶胶引起的对呼吸道和/或其他身体器官的确定性健康影响的方法包括向有需要的个体施用有效量的式(I)的钠通道阻断剂或其可药用盐。在这个方面的一个特征中,所述钠通道阻断剂与渗透剂一起施用。对于该特征进一步而言,渗透剂是高渗盐水(HS)。在另一个特征中,钠通道阻断剂和渗透剂与离子运输调节剂一起施用。对于该特征进一步而言,离子运输调节剂可选自 $\beta$ -激动剂、CFTR增效剂、嘌呤能受体激动剂(purinergic receptor agonist)、鲁比前列酮(lubiprostone)和蛋白酶抑制剂。在这个方面的另一个特征中,放射性核素选自钴-60、铯-137、铯-192、镭-226、磷-32、镅-89和镅-90、碘-125、铊-201、铅-210、钷-234、铀-238、钷-58、铈-51、镧和钷。在另一个特征中,放射性核素来自放射性处置装置。在另一个特征中,钠通道阻断剂或其可药用盐以个体吸入的可吸入颗粒之气雾剂混悬液施用。在另一个特征中,钠通道阻断剂或其可药用盐在暴露于放射性核素后施用。

[0164] 组合物

[0165] 虽然本发明化合物可单独施用,但是在一些实施方案中,其优选地以组合物并且特别是药物组合物(制剂)的形式呈现。因此,在另一个方面,本发明提供了组合物,特别是药物组合物(例如可吸入药物组合物),其包含作为活性成分的药物有效量的单独或组合的本发明化合物以及可药用赋形剂、稀释剂和载体。本文采用的术语“活性成分”是指药物组合物中的任何本发明化合物或者两种或更多种本发明化合物的组合。还提供了具体的实施方案,其中,药物组合物包含药物有效量的式(I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)和(VII)的化合物或其可药用盐,其单独存在或与可药用赋形剂、稀释剂或载体组合。

[0166] 在一些实施方案中,药物组合物包含在稀释剂中的药物有效量的单独或组合的式(I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)和(VII)的化合物或其可药用盐。在单独的实施方案中,药物组合物包含分别在高渗盐水、无菌水和高渗盐水中的药物有效量的式(I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)和(VII)的化合物或其可药用盐,其中盐水浓度可如本文中所述。在一个实施方案中,盐水浓度为0.17%w/v,而在另一个实施方案中,其为2.8%w/v。

[0167] 还提供了一种药盒,其包括:i)药物有效量的式(I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、



(VI) 和 (VII) 的化合物或其可药用盐; ii) 一种或更多种可药用赋形剂、载体或稀释剂; iii) 用于向有此需要的对象施用组 i) 的化合物和组 ii) 的赋形剂、载体或稀释剂的说明书; 以及 iv) 容器。有此需要的对象包括任何需要本文中所述的治疗方法的对象, 特别地包括有此需要的人对象。另外的实施方案还包括雾化装置, 其选自: 雾化器, 包括震动筛网雾化器和喷射雾化器; 干粉吸入器, 包括主动式和被动式干粉吸入器; 以及计量吸入器, 包括加压计量吸入器、干粉计量吸入器和软雾计量吸入器。

[0168] 在一个实施方案中, 药盒包括 i) 每个剂量约 10ng 至约 10mg 的式 (I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI) 和 (VII) 的化合物或其可药用盐; ii) 每个剂量约 1mL 至约 5mL 的稀释剂; iii) 用于向有此需要的对象施用组 i) 的化合物和组 ii) 的稀释剂的说明书; 以及 iv) 容器。在另一个实施方案中, 稀释剂为每个剂量约 1mL 至约 5mL 的本文中所述的盐水溶液。在另一个实施方案中, 稀释剂为每个剂量约 1mL 至约 5mL 的低渗盐水。在另一个实施方案中, 稀释剂为每个剂量约 1mL 至约 5mL 的高渗盐水。在又一个实施方案中, 稀释剂为每个剂量约 1mL 至约 5mL 的无菌水。

[0169] 还提供了一种药盒, 其包括 i) 包含溶解在可药用稀释剂中的药用有效量的式 (I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI) 和 (VII) 的化合物或其可药用盐的溶液; iii) 用于向有此需要的对象施用组 i) 的溶液的说明书; 以及 iii) 容器。

[0170] 还提供了一种药盒, 其包括 i) 包含约 10ng 至约 10mg 的式 (I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI) 和 (VII) 的化合物或其可药用盐的溶液; 溶解在可药用稀释剂中; iii) 用于向有此需要的对象施用组 i) 的溶液的说明书; 以及 iii) 容器。在另一个实施方案中, 稀释剂为每个剂量约 1mL 至约 5mL 的本文中所述的盐水溶液。

[0171] 另一个实施方案包括药盒, 其包括 i) 药用有效量的式 (I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI) 和 (VII) 的化合物或其可药用盐; 以适于吸入的干粉制剂 ii) 任选地, 一种或更多种适于吸入的可药用赋形剂或载体; iii) 用于向有此需要的对象施用组 i) 的化合物和组 ii) 的赋形剂和载体的说明书; 以及; iv) 容器。在另一个实施方案中, 药盒还包括适于向接受者递送干粉制剂的干粉吸入器。在另外的实施方案中, 干粉吸入器可以是单剂量吸入器或多剂量吸入器。

[0172] 本文中所述的每一种药盒的另一些实施方案包括以下的那些, 其中每个剂量的式 (I)、(Ia)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI) 和 (VII) 的化合物或其可药用盐的浓度为本文中所述的有效剂量范围之一, 包括 a) 约 0.1 $\mu$ g 至约 1,000 $\mu$ g; b) 约 0.5 $\mu$ g 至约 0.5mg; 以及 c) 约 0.5 $\mu$ g 至约 50 $\mu$ g。

[0173] 对于上文所述的每一种药盒, 存在另外的实施方案, 其中稀释剂是本文中所述浓度的高渗盐水。在另一个实施方案中, 对于每一种药盒, 稀释剂是本文中所述浓度的低渗盐水。在另一个实施方案中, 对于每一种药盒, 稀释剂是适于吸入的无菌水。

[0174] 可药用赋形剂、稀释剂或载体必须与制剂的其他成分相容和对其接受者无害方面是可接受的。一般地, 药物制剂中采用的可药用赋形剂、稀释剂或载体是“无毒的”, 意指其被认为是以制剂中的递送量消耗是安全的, 并且“惰性的”意指其不与活性成分具有可测量的反应或者不对活性成分的治疗作用产生不期望的影响。可药用赋形剂、稀释剂和载体是本领域常规的, 并且可根据期望的施用途径使用常规技术来选择。参见 Remington's, Pharmaceutical Sciences, Lippincott Williams & Wilkins; 第 21 版 (2005 年 5 月 1 日)。优选

地,可药用赋形剂、稀释剂或载体符合根据FDA的一般视为安全 (Generally Regarded As Safe,GRAS)。

[0175] 根据本发明的药物组合物包括适于经以下途径施用的那些:经口施用;肠胃外施用,包括皮下、皮内、肌内、静脉内和关节内;局部施用,包括局部施用到皮肤、眼、耳等;阴道或直肠施用;以及施用到呼吸道,包括鼻腔和窦、口腔和胸外气道以及肺,包括使用气雾剂,其可通过多种类型的干粉吸入器、加压计量吸入器、软雾吸入器、雾化器或吹入器递送。最适合的施用途径可能取决于数种因素,包括被治疗的患者和病症或疾病。

[0176] 制剂可以单位剂型形式或散装的形式(例如通过吸入器计量制剂的情况下)呈现,并且可通过制药领域任何公知的方法制备。通常来说,所述方法包括使活性成分与载体、稀释剂或赋形剂以及任选地一种或更多种辅助成分联合的步骤。一般地,通过如下制备所述制剂:使所述活性成分与一种或更多种液体载体、稀释剂或赋形剂或者细碎的固体载体、稀释剂或赋形剂或者其二者均匀且紧密缔合,然后必要的话,将产物成型为期望制剂。

[0177] 在一个优选的实施方案中,组合物是可吸入药物组合物,其适于吸入并递送到支气管内空间。通常来说,这样的组合物是气雾剂的形式,其包含用于使用雾化器、加压计量吸入器(MDI)、软雾吸入器或干粉吸入器(DPI)递送的颗粒。在本发明方法中使用的气雾剂制剂可以是适于通过雾化器、软雾吸入器或MDI施用的液体(例如,溶液)或者适于通过MDI或DPI施用的干粉。

[0178] 用于向呼吸道施用药物的气雾剂通常是多分散性的,即其由许多不同大小的颗粒组成。颗粒大小分布通常通过空气动力学质量中位径(Mass Median Aerodynamic Diameter,MMAD)和几何标准差(Geometric Standard Deviation,GSD)描述。对于递送到支气管内空间的最佳药物,MMAD为约 $1\mu\text{m}$ 至约 $10\mu\text{m}$ ,优选约 $1\mu\text{m}$ 至约 $5\mu\text{m}$ ,GSD小于3,特别优选小于约2。在向肺中吸入时,MMAD大于 $10\mu\text{m}$ 的气雾剂通常过大。GSD大于约3的气雾剂对于肺递送不是优选的,因为其将很大比例的药物递送到口腔中。为了在粉末制剂中获得这些颗粒大小,可使用常规技术例如微粉化或喷雾干燥来降低活性成分的颗粒大小。可用于产生可吸入颗粒的其他方法或技术的非限制性实例包括喷雾干燥、沉淀、超临界流体和冷冻干燥。可通过空气分级或筛分分离出期望的级分。在一个实施方案中,颗粒是晶体。对于流体制剂,通过选择特定型号的雾化器、软雾吸入器或MDI确定颗粒大小。

[0179] 使用本领域中公知的装置测定气雾剂颗粒大小分布。例如,多级Anderson阶式碰撞器(multi-stage Anderson cascade impactor)或其他合适方法,例如在美国药典第601章特别引用的表征为从计量吸入器和干粉吸入器发射气雾剂的那些装置。

[0180] 通过吸入向肺局部递送的干粉组合物可以不使用赋形剂或载体配制,并且仅包含具有适于吸入之颗粒大小的干粉形式的活性成分。干粉组合物还可包含活性成分和合适的粉末基质(载体/稀释剂/赋形剂物质)(例如,单糖、二糖或多糖)的混合物。对于干粉制剂,乳糖通常是优选的赋形剂。当使用固体赋形剂例如乳糖时,通常赋形剂的颗粒大小将比活性成分大得多以有助于制剂在吸入器中分散。

[0181] 干粉吸入器的非限制性实例包括储库型多剂量吸入器(reservoir multi-dose inhaler)、预计量的多剂量吸入器(pre-metered multi-dose inhaler)、基于胶囊的吸入器和单剂量可抛型吸入器。储库型吸入器在一个容器中包含很多个(例如,60个)剂量。在吸入前,患者启动吸入器,使得吸入器从储库计量出一个剂量的药物并准备将其用于吸入。储

库型DPI的实例包括但不限于AstraZeneca的 **Turbohaler®**和Vectura的 **ClickHaler®**。

[0182] 在预计量多剂量吸入器中,每个单个剂量被制造在单独的容器中,在吸入前启动吸入器使得一个新的药物剂量从其容器中释放并为吸入作准备。多剂量DPI吸入器的实例包括但不限于GSK的 **Diskus®**、Vectura的 **Gyrohaler®**和Valois的 **Prohaler®**。在吸入的过程中,患者的吸气流加速粉末从装置出来并进入口腔。对于胶囊吸入器,制剂在胶囊中并储存在吸入器外部。患者将胶囊放在吸入器中,启动吸入器(刺破胶囊),然后吸入。实例包括Rotohaler™(GlaxoSmithKline)、Spinhaler™(Novartis)、HandiHaler™(IB)、TurboSpin™(PH&T)。对于单剂量可抛型吸入器,患者启动吸入器以准备将其用于吸入,吸入然后丢掉吸入器和包装。实例包括Twincer™(U Groningen)、OneDose™(GFE)和Manta Inhaler™(Manta Devices)。

[0183] 通常来说,干粉吸入器利用粉末路径的湍流性质以使赋形剂-药物集合物分散,并使活性成分颗粒沉积在肺中。但是,某些干粉吸入器利用气旋分散室产生期望的可吸入大小的颗粒。在气旋分散室中,药物切向进入硬币形分散室中,使其空气路径(air path)和药物沿着外部环形壁运动。随着药物制剂沿着该环形壁运动,其四处反弹并使集合物被冲击力打散。空气路径螺旋朝向室的中心而垂直离开。具有足够小的空气动力学大小的颗粒可随着空气路径离开所述室。实际上,分散室如小的喷射式研磨机一样工作。取决于制剂的特性,可向制剂中添加大的乳糖颗粒以有助于分散(通过与API颗粒碰撞)。

[0184] 表现为使用硬币形气旋分散室运行的Twincer™单剂量可抛型吸入器被称为“空气分级机”。参见Rijksuniversiteit Groningen的美国公开专利申请No.2006/0237010。University of Groningen出版的论文阐明,使用该技术可将60mg剂量的纯微粉化黏菌素甲基磺酸盐(colistin sulfomethate)作为可吸入干粉有效地递送。

[0185] 在一些优选实施方案中,使用干粉吸入器将气雾剂制剂作为干粉递送,其中由吸入器射出的颗粒的MMAD为约1μm至约5μm,并且GSD为约小于2。

[0186] 用于递送根据本发明的化合物和组合物的合适的干粉吸入器和干粉分散装置的实例包括但不限于以下专利文献中公开的那些:US7520278、US7322354、US7246617、US7231920、US7219665、US7207330、US6880555、US5,522,385、US6845772、US6637431、US6329034、US5,458,135、US4,805,811和美国公开专利申请No.2006/0237010。

[0187] 在一个实施方案中,根据本发明的药物制剂是用于吸入的干粉,其被配制成用于通过 **Diskus®**-型装置递送。**Diskus®**装置包括从基片形成的长形带,所述长形带具有沿其长度隔开的多个凹处和密封地但是可剥离地封闭于其上的盖片以限定多个容器,每个容器中具有含预定量的活性成分的可吸入制剂,所述活性成分单独存在或与一种或更多种载体或赋形剂(例如,乳糖)和/或其他治疗活性剂混合。优选地,所述带足够柔韧以缠绕成卷。盖片和基片优选地具有彼此不封闭的引导末端部分并且至少一个引导末端部分被构造成连接于缠绕装置。另外,优选地,基底和盖片之间的气密封覆盖其整个宽度。为了制备用于吸入的剂量,可优选地在基片的轴向方向从基片的第一末端剥离盖片。

[0188] 在一个实施方案中,根据本发明的药物制剂是用于吸入的干粉,其被配制成使用单剂量的可抛型吸入器(特别是Twincer™吸入器)递送。Twincer™吸入器包含箔层压泡罩(foil laminate blister),其具有一个或更多个凹处和密封地但是可剥离地封闭于其上

的盖片,从而限定了多个容器。每个容器中具有含预定量的活性成分的可吸入制剂,所述活性成分独自存在或与一种或更多种载体或赋形剂(例如,乳糖)混合。盖片将优选地具有被构造成从吸入器的主体中突出的引导末端部分。患者将如下操作所述装置从而施用气雾剂制剂:1)除去包装在外部的外包装,2)拉出箔拉环以揭开泡罩中的药物以及3)吸入来自泡罩的药物。

[0189] 在另一个实施方案中,根据本发明的药物制剂是用于吸入的干粉,其中干粉被配制成如NexBio的PCT公开No.WO2009/015286或WO2007/114881所述的微颗粒。此种微颗粒通常如下形成:向含有在溶剂中的本发明化合物的溶液中添加反离子,向溶液添加抗溶剂(antisolvent);将溶液逐渐冷却至低于约25°C的温度,以形成包含有所述化合物之微颗粒的组合物。然后,可通过任何合适的手段从溶液中分离含所述化合物的微颗粒,例如沉淀、过滤或冻干。用于制备本发明化合物之微颗粒的合适的反离子、溶剂和抗溶剂描述在WO2009/015286中。

[0190] 在另一个实施方案中,使用计量吸入器将根据本发明之药物组合物作为干粉递送。计量吸入器和装置的非限制性实例包括以下专利文献中公开的那些:US5,261,538、US5,544,647、US5,622,163、US4,955,371、US3,565,070、US3,361306和US6,116,234和US7,108,159。在一个优选实施方案中,使用计量吸入器将本发明的药物组合物作为干粉递送,其中发射的颗粒的MMAD为约1 $\mu$ m至约5 $\mu$ m,并且GSD为小于约2。

[0191] 用于通过吸入递送到支气管内空间或肺的液体气雾剂制剂可例如配制成由加压包装递送的水溶液或混悬液或气雾剂,所述加压包装例如软雾吸入器、雾化器或使用合适的经液化之抛射剂的计量吸入器。这种适于吸入的气雾剂组合物可以是混悬液或溶液,其通常包含活性成分,以及可药用载体或稀释剂(例如,水(蒸馏水或无菌水)、盐水、高渗盐水或乙醇)和任选地一种或更多种其他治疗活性剂。

[0192] 用于通过加压计量吸入器递送的气雾剂组合物通常还包含可药用抛射剂。此类抛射剂的实例包括碳氟化物或含氢的氯氟烃或其混合物,特别是氢氟烷烃,例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷,尤其是1,1,1,2-四氟乙烷、1,1,1,2,3,3,3,-七氟正丙烷或其混合物。气雾剂组合物可不含赋形剂或可任选地包含本领域公知的另外的制剂赋形剂,例如表面活性剂,如油酸或卵磷脂,以及潜溶剂,例如乙醇。加压制剂通常保存在用阀(例如计量阀)密封的罐(例如,铝罐)中,并且被安装到具有口件(mouthpiece)的致动器(actuator)中。

[0193] 在另一个实施方案中,使用计量吸入器将根据本发明的药物组合物作为液体递送。计量吸入器和装置的非限制性实例包括以下专利文献中公开的那些:美国专利No.6,253,762、6,413,497、7,601,336、7,481,995、6,743,413和7,105,152。在一个优选实施方案中,使用计量吸入器将本发明的化合物作为干粉递送,其中经发射的颗粒的MMAD为约1 $\mu$ m至约5 $\mu$ m,并且GSD小于约2。

[0194] 在一个实施方案中,气雾剂制剂适合于通过喷射雾化器或超声雾化器(包括静态和振动多孔板雾化器)雾化。用于雾化的液体气雾剂制剂通过溶解或重构固体颗粒制剂来配制,或者与水性载剂一起配制并添加试剂如酸或碱、缓冲盐和等张调节剂。其可通过进程中技术如过滤或者终端处理如在高压釜中加热或伽马辐射来灭菌。其还可以未经灭菌的形式呈现。

[0195] 患者可能对雾化溶液的pH、渗量浓度和离子含量敏感。因此,应当将这些参数调节到与活性成分相容且患者耐受。活性成分的最优选溶液或混悬液含氯浓度 $>30\text{mM}$ ,处于pH 4.5至7.4,优选5.0至5.5,并且渗量浓度为约 $800\text{mOsm/kg}$ 至 $1600\text{mOsm/kg}$ 。可通过常用酸(例如,盐酸或硫酸)或碱(例如,氢氧化钠)滴定或者通过使用缓冲剂来控制pH。常用缓冲剂包括柠檬酸盐缓冲剂(例如柠檬酸/柠檬酸钠缓冲剂)、乙酸盐缓冲剂(例如乙酸/乙酸钠缓冲剂)和磷酸盐缓冲剂。缓冲液强度的可以是 $2\text{mM}$ 至 $50\text{mM}$ 。

[0196] 可使用的乙酸盐、磷酸盐和柠檬酸盐缓冲剂包括乙酸钠、三水乙酸钠、乙酸铵、乙酸钾、磷酸钠、磷酸氢二钠(sodium phosphate dibasic)、磷酸氢二钠(disodium hydrogen phosphate)、磷酸二氢钾、磷酸氢钾、磷酸钾、柠檬酸钠和柠檬酸钾。可使用的其他缓冲剂包括氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氨甲基丙醇、氨丁三醇、四羟基丙基乙二胺、柠檬酸、乙酸、羟基三羧酸或其盐(如其柠檬酸盐或柠檬酸钠盐)、乳酸和乳酸的盐(包括乳酸钠、乳酸钾、乳酸锂、乳酸钙、乳酸镁、乳酸钡、乳酸铝、乳酸锌、乳酸银、乳酸铜、乳酸铁、乳酸锰、乳酸铵)、单乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、二异丙醇胺及其组合等。

[0197] 这样的制剂可使用市售雾化器或其他可使制剂破碎为适于在呼吸道中沉积的颗粒或液滴的喷雾器来施用。可用于本发明组合物之气雾剂递送的雾化器的非限制性实例包括:气动喷射雾化器(pneumatic jet nebulizer)、排气或呼吸增强的喷射雾化器或超声雾化器(包括静态或震动多孔板雾化器)。市售雾化器包括 **Aeroneb®** Go雾化器(Aerogen)和eFlow雾化器(Pari Pharma)。

[0198] 喷射雾化器使用高速气流向上喷射通过水柱以产生液滴。不适合吸入的颗粒撞击在壁或空气动力学挡板上。排气或呼吸增强的雾化器与喷射雾化器以基本上相同的方式工作,除了吸入的空气通过主要的液滴产生区以在患者吸入时提高雾化器的输出率。

[0199] 在超声雾化器中,压电晶体的振动在药物储库中产生表面不稳定性,导致液滴形成。在多孔板雾化器中,声能所产生的压力场驱动液体通过网孔,在此处其通过瑞利破碎(Rayleigh breakup)打碎成液滴。声能可通过压电晶体驱动的振动臂或振动板或者振动的网眼本身施加。喷雾器的非限制性实例包括产生合适大小的液滴的任意单流或双流喷雾器或喷嘴。单流喷雾器通过驱动液体通过一个或更多个孔,在那里使喷射的液体破碎成液滴来工作。双流喷雾器通过驱动气体和液体二者通过一个或更多个孔或者使喷出的气体与喷出的另一种液体或气体碰撞来工作。

[0200] 使气雾剂制剂雾化的雾化器的选择对于活性成分的施用很重要。不同雾化器基于其设计和运行原理具有不同效率,并且对制剂的物理和化学性质敏感。例如,具有不同表面张力的两种制剂可能具有不同的颗粒大小分布。另外,制剂性质例如pH、渗量浓度和渗透离子含量可影响药物的耐受性,所以优选的一些实施方案符合这些性质的某些范围。

[0201] 在一个优选实施方案中,使用合适的雾化器将用于雾化的制剂作为气雾剂递送到支气管内空间,所述气雾剂的MMAD为约 $1\mu\text{m}$ 至约 $5\mu\text{m}$ ,GSD小于2。为了最佳效力并避免上呼吸道和全身性的副作用,气雾剂的MMAD不应大于约 $5\mu\text{m}$ ,并且GSD不应大于约2。如果气雾剂的MMAD大于约 $5\mu\text{m}$ 或GSD大于约2,很大百分比的剂量可沉积在上呼吸道中,降低了递送到下呼吸道中的期望部位的药物量。如果气雾剂的MMAD小于约 $1\mu\text{m}$ ,则很大比例的颗粒可能保持为悬浮在吸入的空气中,从而可能在呼气的时候被排出。

[0202] 本发明化合物还可以通过经支气管镜灌洗(transbronchoscopic lavage)施用。

[0203] 适于经口施用的制剂可以如下方式存在：作为离散单元，例如胶囊剂、扁囊剂(cachet)或片剂，其各自包含预定量的活性成分；作为粉末剂或颗粒剂；作为水性液体或非水性液体中的溶液剂或混悬剂；或者作为水包油液体乳剂或油包水液体乳剂。活性成分还可以小药囊(sachet)、药团(bolus)、药糖剂或糊剂提供。

[0204] 片剂可通过压缩或模塑制备，任选地具有一种或更多种辅助成分。压缩片剂可如下制备：将任选地与黏合剂、润滑剂、惰性稀释剂、表面活性剂或分散剂混合的自由流动形式(例如粉末或颗粒)的活性成分在合适的机器中压缩。模塑片剂可如下制备：将用惰性液体稀释剂湿润的粉末化之化合物的混合物在合适的机器中模塑。片剂可任选地包衣或刻划，并且可配制以便提供其中的活性成分的缓慢释放或控制释放。

[0205] 用于在口中(例如口含或舌下)局部施用的制剂包括：锭剂，其包含在矫味基质如蔗糖和阿拉伯胶或西黄蓍胶中的活性成分；和糖锭，其包含在基质如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶中的活性成分。

[0206] 用于肠胃外施用的制剂包括：水性和非水性无菌注射溶液，其可包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂以及使制剂与预期接受者的血液等张的溶质；水性和非水性无菌混悬剂，其可包含助悬剂和增稠剂。制剂可在单剂量或多剂量容器中存在，例如密封安瓿和小瓶，并且可储存在冻干(冷冻干燥)条件下，仅需在临使用前添加无菌液体载体，例如盐水或注射用水。临时注射溶液和混悬液可由之前所述种类的无菌粉剂、颗粒剂和片剂制备。

[0207] 口服流体如溶液剂、糖浆剂和酏剂可以按照剂量单位形式制备，以给出含有预定量之活性成分的给定量。糖浆剂可通过将活性成分溶解在合适的调味水溶液中来制备，而酏剂使用可药用醇载剂制备。可通过将活性成分分散到可药用载剂中来配制混悬剂。口服液体组合物中还可并入增溶剂和乳化剂，例如乙氧基化异硬脂醇和聚氧乙烯山梨醇醚、防腐剂，矫味添加剂如薄荷油或天然甜味剂或其他人工甜味剂等。

[0208] 也可使用脂质体递送系统如小单层囊泡、大单层囊泡和多层囊泡作为本发明化合物的递送手段。脂质体可由多种磷脂形成，例如胆固醇、硬脂胺和磷脂酰胆碱。

[0209] 用于局部施用的药物组合物可配制为软膏剂、乳膏剂、混悬剂、洗剂、粉末剂、溶液剂、糊剂、凝胶、喷雾剂、气雾剂或油剂。设计来用于治疗眼或其他外部组织(例如口腔和皮肤)的组合物可作为局部用软膏剂或乳膏剂施用。当配制成软膏剂时，可将活性成分与石蜡或可与水混溶的软膏基质一起使用。或者，可将活性成分与水包油乳膏基质或油包水基质一起配制成乳膏剂。

[0210] 设计成用于向眼或耳局部施用的其他组合物包括滴眼剂和滴耳剂，其中活性成分溶解或混悬在合适的载体如水性溶剂(包括盐水)中。

[0211] 设计成用于经鼻施用的组合物包括气雾剂、溶液剂、混悬剂、喷雾剂、烟雾剂(mist)和滴剂。用于经鼻施用的气雾剂制剂可以与用于吸入的气雾剂制剂非常相似的方式配制，条件是在用于经鼻施用的制剂中优选非可吸入大小的颗粒。通常来说，可使用约5微米大小的颗粒，直至可见大小滴剂。因此，对于经鼻施用，可使用10 $\mu$ m至500 $\mu$ m的颗粒大小范围以确保停留在鼻腔中。

[0212] 还可使用透皮贴剂，其被设计成保持与患者的表皮长时间接触并促进活性成分经此处吸收。

[0213] 用于经阴道或直肠施用的组合物包括软膏剂、乳膏剂、栓剂和灌肠剂，其全部可使

用常规技术配制。

[0214] 在另一个方面,本发明提供了在有此需要的人中促进黏膜表面水化或恢复黏膜防御的方法,其包括向所述人施用包含本发明化合物的药物组合物,其中所述化合物以有效量施用。在一个优选实施方案中,所述方法包括施用作为可吸入组合物的药物组合物,其包含以下量的本发明化合物,所述量足以使所述化合物在气道表面获得 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 或 $10^{-7}$ 至约 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$ 或 $10^{-1}$ 摩尔/升、更优选 $10^{-9}$ 至约 $10^{-4}$ 摩尔/升的溶解浓度。

[0215] 在另一个方面,本发明提供了用于在有此需要的人中治疗任一种以下疾病或预防通气机相关的肺炎的方法,其包括向所述人施用包含本发明化合物的药物组合物,其中所述化合物以有效量施用:可逆或不可逆的气道阻塞相关疾病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、支气管扩张(包括囊性纤维化以外的病症引起的支气管扩张)、急性支气管炎、慢性支气管炎、病毒感染后的咳嗽、囊性纤维化、肺气肿、肺炎、全细支气管炎、移植相关细支气管炎和通气机相关气管支气管炎。在一个优选实施方案中,所述方法包括施用作为可吸入组合物的药物组合物,其包含以下量的本发明化合物,所述量足以使所述化合物在气道表面获得 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 或 $10^{-7}$ 至约 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$ 或 $10^{-1}$ 摩尔/升、更优选 $10^{-9}$ 至约 $10^{-4}$ 摩尔/升的溶解浓度。

[0216] 在另一个方面,本发明提供了在有此需要的人中治疗任一种以下疾病的方法:干口(口干燥症)、皮肤干燥、阴道干燥、鼻窦炎、鼻炎或鼻脱水(包括因施用干燥氧所致鼻脱水)、干眼或舍格伦病,促进眼或角膜水化,治疗远端肠梗阻综合征,治疗中耳炎、原发性纤毛运动障碍、远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘和慢性憩室炎,所述方法包括向所述人施用包含本发明化合物的药物组合物,其中所述化合物以有效量施用。

[0217] 本发明化合物的优选的单位剂量制剂是包含有效量的活性成分或其适当级分的那些。

[0218] 应理解的是,除了上文特别提到的成分外,考虑到所讨论的制剂的种类,本发明制剂可包含本领域的其他常规试剂,例如,适合于经口施用的那些可包含矫味剂。

[0219] 根据被治疗的特定病症以及期望的施用途径,可以将本发明组合物按需要配制成立即释放、控制释放或持续释放的。例如,用于经口施用的控制释放制剂可以是治疗便秘所期望的,从而尽可能多地将活性剂递送到结肠。这样的制剂及其合适的赋形剂是制药领域公知的。由于化合物的游离碱通常比盐在水溶液中难溶,所以可使用包含式I化合物之游离碱的组合物来提供通过吸入递送到肺的活性剂的更持续地释放。以不能溶解在溶液中的颗粒形式存在于肺中的活性剂不能诱导生理响应,但是充当了逐渐溶解到溶液中的生物相容性药物的储库。在另一个实例中,制剂可使用本发明化合物的游离碱形式和盐形式二者,以提供用于溶解到例如鼻的黏液分泌物中的活性成分的立即释放和持续释放二者。

[0220] 组合

[0221] 本发明化合物可与其他治疗活性剂组合配制和/或使用。可与本发明化合物组合配制或使用的其他治疗活性剂包括但不限于渗透剂、抗炎剂、抗胆碱能剂、 $\beta$ -激动剂(包括选择性 $\beta_2$ -激动剂)、P2Y<sub>2</sub>受体激动剂、过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor,PPAR) $\delta$ 激动剂、其他上皮钠通道阻断剂(ENaC受体阻断剂)、囊性纤维化跨膜传导调节蛋白(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator,CFTR)调节剂、激酶抑制剂、抗感染剂、抗组胺剂、非抗生素抗炎大环内酯类、弹

性蛋白酶和蛋白酶抑制剂,以及黏液或黏蛋白改性剂,例如表面活性剂。此外,对于心血管适应症,本发明的化合物可以与 $\beta$ 阻断剂、ACE抑制剂、HMGCoA还原酶抑制剂、钙通道阻断剂和其他心血管剂组合使用。

[0222] 因此,在另一个方面,本发明提供了一种组合物,其包含有效量的本发明化合物和一种或更多种选自以下的其他治疗活性剂:渗透剂、抗炎剂、抗胆碱能剂、 $\beta$ -激动剂(包括选择性 $\beta_2$ -激动剂)、P2Y2受体激动剂、PPAR $\delta$ 激动剂、ENaC受体阻断剂、囊性纤维化跨膜传导调节蛋白(CFTR)调节剂、激酶抑制剂、抗感染剂、抗组胺剂、非抗生素抗炎大环内酯类、弹性蛋白酶和蛋白酶抑制剂,以及黏液或黏蛋白改性剂,例如表面活性剂。因此,在另一个方面,本发明提供了一种组合物,其包含有效量的本发明化合物和一种或更多种选自以下的其他治疗活性剂: $\beta$ 阻断剂、ACE抑制剂、HMGCoA还原酶抑制剂和钙通道阻断剂。本发明化合物与一种或更多种另外的治疗活性剂(特别是渗透剂)组合使用可降低使黏膜表面充分水化所需的本发明化合物的剂量,从而降低了全身性(例如在肾中)阻断钠通道的不希望的可能性的可能性。

[0223] 根据本发明的“渗透剂”是具有渗透活性的分子或化合物。“渗透活性”分子和化合物在气道或肺上皮表面上是不可透膜的(membrane-impermeable)(即,基本上不可吸收的)。本文中使用的术语“气道表面”和“肺表面”包括肺气道表面,例如支气管和细支气管、肺泡表面,以及鼻和窦表面。合适的渗透剂包括离子渗透剂(即,盐)和非离子渗透剂(即,糖、糖醇和有机渗透剂)。一般而言,用于与本发明的化合物组合的渗透剂(离子和非离子的二者)优选为不促进或实际上阻止或延缓细菌生长的渗透剂。适用于本发明的渗透剂可以是外消旋体的形式或对映体、非对映体、互变异构体、多晶型物和假多晶型物的形式。

[0224] 可用于本发明的离子渗透剂的实例包括可药用阴离子和可药用阳离子的任何盐。优选地,阴离子和阳离子中的任一种(或两种)对于它们所施用到气道表面具有渗透活性并且不会迅速地主动运输。这样的化合物包括但不限于FDA批准的市售的盐中包含的阴离子和阳离子,参见例如Remington:The Science and Practice of Pharmacy, Vol. II、第1457页(第19版,1995),并且如本领域已知的可以用于任何组合。

[0225] 可药用渗透活性阴离子的具体实例包括但不限于:乙酸根、苯磺酸根、苯甲酸根、碳酸氢根、酒石酸氢根、溴离子、依地酸钙离子(calcium edetate)、樟脑磺酸根(camphorsulfonate)、碳酸根、氯离子、柠檬酸根、二盐酸化物(dihydrochloride)、依地酸根、乙二磺酸根(1,2-乙二磺酸根)、依托酸根(月桂基硫酸根)、乙磺酸根(1,2-乙烷二磺酸根)、富马酸根、葡庚糖酸根(glucaptate)、葡萄糖酸根、谷氨酸根、甘苯肿酸根(glycollylarsanilate)(对羟乙酰氨基苯肿酸根(p-glycollamidophenylarsonate)、己基间苯二酚酸根(hexylresorcinate)、海巴明(N,N'-二(去氢松香基)乙二胺)、氢溴酸根、盐酸根、羟萘甲酸根、碘离子、羟乙基磺酸根、乳酸根、乳糖醛酸根、苹果酸根、马来酸根、扁桃酸根(mandelate)、甲磺酸根、甲基溴化物阴离子(methylbromide)、甲基硝酸根、甲基硫酸根、黏酸根、萘磺酸根、硝酸根、亚硝酸根(nitrite)、扑酸根(恩波酸根)、泛酸根、磷酸根或磷酸氢根、聚半乳糖醛酸根、水杨酸根、硬脂酸根、碱式乙酸根(subacetate)、琥珀酸根、硫酸根、鞣酸根、酒石酸根、茶氯酸根(teoclate)(8-氯茶碱酸根)、三乙基碘根(triethiodide)、碳酸氢根等。优选的阴离子包括氯离子、硫酸根、硝酸根、葡萄糖酸根、碘离子、碳酸氢根、溴离子和磷酸根。



[0226] 可药用渗透活性阳离子的具体实例包括但不限于：有机阳离子，例如苄星(N,N'-二苄基乙二胺)、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺(N-甲基D-葡糖胺)、普鲁卡因、D-赖氨酸、L-赖氨酸、D-精氨酸、L-精氨酸、三乙胺、N-甲基D-甘油等；以及金属阳离子，如铝离子、钙离子、锂离子、镁离子、钾离子、钠离子、锌离子、铁离子、铵离子等。优选的有机阳离子包括3-碳、4-碳、5-碳和6-碳有机阳离子。优选的阳离子包括钠离子、钾离子、胆碱离子、锂离子、葡甲胺离子、D-赖氨酸离子、铵离子、镁离子和钙离子。

[0227] 可以与本发明的化合物组合施用的离子渗透剂的具体实例包括但不限于：氯化钠(特别是高渗盐水)、氯化钾、氯化胆碱、碘化胆碱、氯化锂、氯化葡甲胺、L-赖氨酸氯化物、D-赖氨酸氯化物、氯化铵、硫酸钾、硝酸钾、葡萄糖酸钾、碘化钾、氯化铁、氯化亚铁、溴化钾以及任意两种或更多种前述物质的组合。在一个实施方案中，本发明提供了本发明化合物与两种不同渗透活性盐的组合。当使用不同盐时，不同盐中的阴离子或阳离子之一可以是相同的。高渗盐水是用于与本发明化合物组合使用的优选离子渗透剂。

[0228] 非离子渗透剂包括糖、糖醇和有机渗透剂。可用作本发明中的渗透剂的糖和糖醇包括但不限于3-碳糖(例如，甘油、二羟丙酮)、4-碳糖(例如，D和L形式的赤藓糖、苏阿糖和赤藓酮糖)、5-碳糖(例如，D和L形式的核糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖、阿洛酮糖、果糖、山梨糖和塔格糖)、以及6-碳糖(例如，D和L形式的麦芽糖(allose)、阿洛糖、葡萄糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖和塔罗糖以及D和L形式的阿洛糖-庚酮糖、阿洛糖-庚酮糖(hepulose)、葡萄糖-庚酮糖、甘露糖-庚酮糖、古洛糖-庚酮糖、艾杜糖-庚酮糖、半乳糖-庚酮糖、塔洛糖-庚酮糖)。可用于本发明的实践中的其他糖包括棉子糖、棉子糖系列寡糖和水苏糖。每种糖/糖醇的还原形式的D和L形式二者也适用于本发明。例如，当还原时，葡萄糖变成山梨醇，为本发明的范围内的渗透剂。因此，山梨醇和糖/糖醇的其他还原形式(例如，甘露醇、卫矛醇、阿拉伯糖醇)是适合在本发明中使用的渗透剂。甘露醇是用于与本发明化合物组合使用的优选非离子渗透剂。

[0229] “有机渗透剂”一般是用于指控制肾中的细胞内渗透量浓度(osmolality)的分子。参见例如J. S. Handler等, *Comp. Biochem. Physiol*, 117, 301-306 (1997); M. Burg, *Am. J. Physiol.* 268, F983-F996 (1995)。有机渗透剂包括但不限于三种主要类型的化合物：多元醇类(多羟基醇类)、甲胺类和氨基酸类。合适的多元醇有机渗透剂包括但不限于：肌醇(inositol)、肌肌醇(myo-inositol)和山梨醇。合适的甲胺有机渗透剂包括但不限于：胆碱、甜菜碱、肉碱(L-, D-和DL形式)、磷酸胆碱、溶血磷酸胆碱(lyso-phosphorylcholine)、甘油磷酰胆碱、肌酸和磷酸肌酸。合适的氨基酸有机渗透剂包括但不限于：D-形式和L-形式的甘氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸、脯氨酸和牛磺酸。适合用于本发明的另外的有机渗透剂包括trehalose和肌氨酸。哺乳动物有机渗透剂是优选的，人有机渗透剂是最优选的。但是，某些有机渗透剂是细菌、酵母和海洋动物来源的，并且这些化合物也可用于本发明。

[0230] 可将渗透剂前体与本发明化合物组合使用。本文中使用的术语“渗透剂前体”是指通过代谢步骤(分解代谢或合成代谢)转变成渗透剂的化合物。渗透剂前体的实例包括但不限于：葡萄糖、葡萄糖聚合物、甘油、胆碱、磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱和无机磷酸盐，其是多元醇类和甲胺类的前体。氨基酸渗透剂的前体包括被水解产生渗透剂氨基酸的蛋白质、肽和聚氨基酸，以及可以通过代谢步骤如转氨基作用转化成渗透剂氨基酸的代谢前体。例

如,氨基酸谷氨酰胺的前体是聚-L-谷氨酰胺,并且谷氨酸的前体是聚-L-谷氨酸。

[0231] 还可使用经化学修饰的渗压剂或渗压剂前体。这样的化学修饰包括将渗压剂(或前体)与另外的化学基团相连接,所述化学基团改变或增强渗压剂或渗压剂前体的作用(例如,抑制渗压剂分子的降解)。这样的化学修饰已应用于药物或前药中,并且是本领域中已知的(参见例如美国专利No.4,479,932和4,540,564;Shek,E.等,J.Med.Chem.19:113-117(1976);Bodor,N.等,J.Pharm.Sci.67:1045-1050(1978);Bodor,N.等,J.Med.Chem.26:313-318(1983);Bodor,N.等,J.Pharm.Sci.75:29-35(1986)。

[0232] 用于与本发明化合物组合的优选渗压剂包括氯化钠(特别是高渗盐水)和甘露醇。

[0233] 对于7%以及>7%的高渗盐水的制剂,包含碳酸根阴离子的制剂可能特别有用,尤其是对于具有囊性纤维化跨膜传导调节蛋白(CFTR)功能紊乱的呼吸疾病,例如CF或COPD。最近的发现结果表明,尽管在被cAMP和ATP激活的单个CFTR通道中 $\text{HCO}_3^-$ 电导率/ $\text{Cl}^-$ 电导率的相对比值为0.1至.2,但是在汗管中该比值根据刺激条件为实际上0至几乎1.0。即,组合cAMP+cGMP+ $\alpha$ -酮戊二酸可产生几乎等于 $\text{Cl}^-$ 电导率的CFTR  $\text{HCO}_3^-$ 电导率(Quiton等Physiology,第22卷,第3期、212-225、2007年6月)。另外,含碳酸氢根阴离子的7%以及>7%之高渗盐水的制剂可以是特别有用的,因为其更好地控制气道表面液体的pH。首先,已经示出在CF中发生气道酸化(Tate等2002),并且缺少CFTR-依赖性碳酸氢盐分泌可导致对与气道表面液体层的酸化相关的气道病症的响应能力受损(Coakle等2003)。其次,向肺表面添加无碳酸氢盐的HS溶液可进一步稀释碳酸氢盐浓度,并能够降低pH或对气道表面液体层内之气道酸化的响应能力。因此,向HS中添加碳酸氢盐阴离子可有助于保持或提高CF患者的气道表面液体层的pH。

[0234] 由于该证据,在通过本发明方法施用的包含碳酸氢根阴离子的7%或>7%高渗盐水的制剂将是特别有用的。含多达30mM至200mM浓度的碳酸氢根阴离子的制剂对7%或>7%HS溶液特别有用。

[0235] 应将高渗盐水理解为盐浓度大于生理盐水(normal saline,NS),即大于9g/L或0.9%w/v,低渗盐水的盐浓度低于生理盐水,例如,约1g/L或0.1%w/v至约8g/L或0.8%w/v。可用于本文的所述制剂和处理方法的高渗盐溶液的盐浓度可为约1%至约23.4%(w/v)。在一个实施方案中,高渗盐溶液的盐浓度为约60g/L(6%w/v)至约100g/L(10%w/v)。在另一个实施方案中,所述盐溶液的盐浓度为约70g/L(7%w/v)至约100g/L(10%w/v)。在另一些实施方案中,所述盐溶液的盐浓度为:a)约0.5g/L(0.05%w/v)至约70g/L(7%w/v);b)约1g/L(0.1%w/v)至约60g/L(6%w/v);c)约1g/L(0.1%w/v)至约50g/L(5%w/v);d)约1g/L(0.1%w/v)至约40g/L(4%w/v);e)约1g/L(0.1%w/v)至约30g/L(3%w/v);以及f)约1g/L(0.1%w/v)至约20g/L(2%w/v)。

[0236] 可用于本文的制剂和处理方法的具体浓度的盐溶液独立地包括具有以下盐浓度的那些:1g/L(0.1%w/v)、2g/L(0.2%w/v)、3g/L(0.3%w/v)、4g/L(0.4%w/v)、5g/L(0.5%w/v)、6g/L(0.6%w/v)、7g/L(0.7%w/v)、8g/L(0.8%w/v)、9g/L(0.9%w/v)、10g/L(1%w/v)、20g/L(2%w/v)、30g/L(3%w/v)、40g/L(4%w/v)、50g/L(5%w/v)、60g/L(6%w/v)、70g/L(7%w/v)、80g/L(8%w/v)、90g/L(9%w/v)、100g/L(10%w/v)、110g/L(11%w/v)、120g/L(12%w/v)、130g/L(13%w/v)、140g/L(14%w/v)、150g/L(15%w/v)、160g/L(16%w/v)、170g/L(17%w/v)、180g/L(18%w/v)、190g/L(19%w/v)、200g/L(20%w/v)、210g/L(21%w/v)

v)、220g/L (22%w/v) 和230g/L (23%w/v)。也可使用每种这些所列浓度/百分比之间的盐浓度,例如1.7g/L (0.17%w/v)、1.25g/L (1.25%w/v)、1.5g/L (1.5%w/v)、25g/L (2.5%w/v)、28g/L (2.8%w/v)、35g/L (3.5%w/v)、45g/L (4.5%w/v) 和75g/L (7.5%w/v) 的盐水。

[0237] 具体可使用浓度的低渗盐溶液包含约0.12g/L (0.012%w/v) 至约8.5g/L (0.85%w/v) 的那些。可使用在该范围中的任何浓度,例如以w/v为基础,0.05%、0.1%、0.15%、0.2%、0.225% (1/4NS)、0.25%、0.3% (1/3NS)、0.35%、0.4%、0.45% (1/2NS)、0.5%、0.55%、0.6% (2/3NS)、0.65%、0.675% (3/4NS)、0.7%、0.75%和0.8%。

[0238] 每个范围和具体浓度的盐水均可用于本文中所述制剂、处理方法、方案和药盒。

[0239] 旨在化学修饰的渗压剂或渗压剂前体也在本发明范围内。这样的化学修饰包括将渗压剂(或前体)与另外的化学基团相连接,所述化学基团改变或增强渗压剂或渗压剂前体的作用(例如,抑制渗压剂分子的降解)。这样的化学修饰已应用于药物或前药中,并且是本领域中已知的(参见例如美国专利No. 4,479,932和4,540,564;Shek, E.等, J. Med. Chem. 19: 113-117 (1976); Bodor, N.等, J. Pharm. Sci. 67: 1045-1050 (1978); Bodor, N.等, J. Med. Chem. 26: 313-318 (1983); Bodor, N.等, J. Pharm. Sci. 75: 29-35 (1986), 其各自通过引用并入本文。

[0240] 用于与本发明化合物组合使用的合适的抗炎剂包括皮质类固醇和非甾体抗炎剂(NSAID),特别是磷酸二酯酶(PDE)抑制剂。用于本发明的皮质类固醇的实例包括经口或吸入的皮质类固醇或其前药。具体实例包括但不限于环索奈德、去异丁酰基环索奈德(desisobutyryl-ciclesonide)、布地奈德、氟尼缩松、莫米松及其酯(例如,糠酸莫米松)、丙酸氟替卡松、糠酸氟替卡松、倍氯米松、甲基泼尼松龙、泼尼松龙、地塞米松、6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -二氟-17 $\alpha$ -[(2-呋喃基羰基)氧基]-11 $\beta$ -羟基-16 $\alpha$ -甲基-3-氧代-雄甾-1,4-二烯-17 $\beta$ -硫代羧酸S-氟代甲酯、6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -二氟-11 $\beta$ -羟基-16 $\alpha$ -甲基-3-氧代-17 $\alpha$ -丙酰氧基-雄甾-1,4-二烯-17 $\beta$ -硫代羧酸S-(2-氧代-四氢-呋喃-3S-基)酯、倍氯米松酯(例如,17-丙酸酯或17,21-二丙酸酯、氟甲基酯、曲安奈德、罗氟奈德或它们的任意组合或子集。用于与本发明化合物一起配制或使用的优选的皮质类固醇选自环索奈德、去异丁酰基环索奈德、布地奈德、莫米松、丙酸氟替卡松和糠酸氟替卡松或其任意组合或子集。

[0241] 用于在本发明中使用的NSAID包括但不限于色甘酸钠、奈多罗米钠、磷酸二酯酶(PDE)抑制剂(例如,茶碱、氨基非林、PDE4抑制剂、混合的PDE3/PDE4抑制剂或混合的PDE4/PDE7抑制剂)、白三烯拮抗剂、白三烯合成抑制剂(例如,5LO和FLAP抑制剂)、一氧化氮合酶(iNOS)抑制剂、蛋白酶抑制剂(例如,类胰蛋白酶抑制剂、中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂和金属蛋白酶抑制剂)、 $\beta$ 2-整合素拮抗剂和腺苷受体激动剂或拮抗剂(例如腺苷2a激动剂)、细胞因子拮抗剂(例如,趋化因子拮抗剂)或细胞因子合成抑制剂(例如,前列腺素D2 (CRTh2)受体拮抗剂)。适合于通过本发明方法施用的白三烯调节剂的实例包括孟鲁司特、齐留通和扎鲁司特。

[0242] PDE4抑制剂、混合的PDE3/PDE4抑制剂或混合的PDE4/PDE7抑制剂可以是已知抑制PDE4酶或被发现充当PDE4抑制剂的任何化合物,并且其为选择性PDE4抑制剂(即,化合物不明显地抑制PDE家族的其他成员)。用于与本发明化合物一起配制和使用的具体的PDE4抑制剂实例包括但不限于罗氟司特、普马芬群、阿罗茶碱、西洛司特、妥非司特、奥米司特、拖拉芬群、吡拉米司特、异丁司特、阿普米司特(apremilast)、2-[4-[6,7-二乙氧基-2,3-双(羟

甲基)-1-萘基]-2-吡啶基]-4-(3-吡啶基)-1(2H)-二氮杂萘酮联苯(T2585)、N-(3,5-二氯-4-吡啶基)-1-[(4-氟苯基)甲基]-5-羟基- $\alpha$ -氧代-1H-吡啶-3-乙酰胺(AWD-12-281)、4-[(2R)-2-[3-(环戊氧基)-4-甲氧基苯基]-2-苯基乙基]-吡啶(CDP-840)、2-[4-[[[2-(1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基氧基)-3-吡啶基]羰基]氨基]甲基]-3-氟苯氧基)-(2R)-丙酸(CP-671305)、N-(4,6-二甲基-2-咪啶基)-4-[4,5,6,7-四氢-2-(4-甲氧基-3-甲基苯基)-5-(4-甲基-1-哌嗪基)-1H-吡啶-1-基]-苯磺酰胺、(2E)-2-丁烯二酸盐(YM-393059)、9-[(2-氟苯基)甲基]-N-甲基-2-(三氟甲基)-9H-嘌呤-6-胺(NCS-613)、N-(2,5-二氯-3-吡啶基)-8-甲氧基-5-喹啉甲酰胺(D-4418)、N-[(3R)-9-氨基-3,4,6,7-四氢-4-氧代-1-苯基吡咯并[3,2,1-][1,4]苯并二氮杂萘-3-基]-3H-嘌呤-6-胺(PD-168787)、3-[[3-(环戊氧基)-4-甲氧基苯基]甲基]-N-乙基-8-(1-甲基乙基)-3H-嘌呤-6-胺盐酸盐(V-11294A)、N-(3,5-二氯-1-氧化-4-吡啶基)-8-甲氧基-2-(三氟甲基)-5-喹啉甲酰胺(Sch351591)、5-[3-(环戊氧基)-4-甲氧基苯基]-3-[(3-甲基苯基)甲基]-3S,5S)-2-哌啶酮(HT-0712)、5-(2-((1R,4R)-4-氨基-1-(3-(环戊基氧基)-4-甲氧基苯基)环己基)乙炔基)-咪啶-2-胺、顺式-[4-氰基-4-(3-环丙基甲氧基-4-二氟甲氧基苯基)环己-1-醇]和4-[6,7-二乙氧基-2,3-双(羟甲基)-1-萘基]-1-(2-甲氧基乙基)-2(1H)-吡啶酮(T-440)以及其任意组合或子集。

[0243] 白三烯拮抗剂和白三烯合成的抑制剂包括扎鲁司特、孟鲁司特钠、齐留通和普鲁司特。

[0244] 用于与本发明化合物组合配制或使用的抗胆碱能剂包括但不限于毒蕈碱受体拮抗剂,特别地包括泛拮抗剂和M<sub>3</sub>受体的拮抗剂。示例性化合物包括颠茄植物的生物碱,例如阿托品、东莨菪碱、后马托品、莨菪碱并且包括其多种形式的盐(例如,无水阿托品、硫酸阿托品、阿托品氧化物或阿托品HCl、甲基阿托品硝酸盐、后马托品氢溴酸盐、后马托品甲基溴化物、莨菪碱氢溴酸盐、莨菪碱硫酸盐、东莨菪碱氢溴酸盐、东莨菪碱甲基溴化物),或者它们的任意组合或子集。

[0245] 用于组合配制或使用的其他抗胆碱能剂包括:甲胺太林、溴丙胺太林、甲基溴辛托品(anisotropine methyl bromide)或Valpin 50、阿地溴铵(aclidinium bromide)、格隆溴铵(Robinul)、异丙碘胺、溴美喷酯、曲地氯铵(tridihexethyl chloride)、甲硫己环铵(hexocyclium methylsulfate)、环喷托酯HCl(cyclopentolate HCl)、托吡卡胺、苯海索CCl、哌仑西平、替仑西平和美索曲明(methoctramine),或者其任意组合或子集。

[0246] 用于与本发明化合物组合配制或使用的优选抗胆碱能剂包括异丙托铵(溴化物)、氧托品(oxitropium)(溴化物)和噻托铵(溴化物)或者其任意组合或子集。

[0247] 用于与本发明化合物组合配制或使用的 $\beta$ -激动剂的实例包括但不限于沙美特罗、R-沙美特罗及其昔萘酸盐、沙丁胺醇或R-沙丁胺醇(游离碱或硫酸盐)、左旋沙丁胺醇、沙丁胺醇、福莫特罗(富马酸盐)、非诺特罗、丙卡特罗、吡布特罗、奥西那林(metaprterenol)、特布他林及其盐,及其任意组合或子集。

[0248] 可与本发明化合物组合配制和使用的P2Y<sub>2</sub>受体激动剂可以按照有效刺激气道表面(特别是鼻气道表面)分泌氯化物和水的量使用。合适的P2Y<sub>2</sub>受体激动剂是本领域中已知的,在例如美国专利No.6,264,975的第9~10栏中,以及美国专利No.5,656,256和5,292,498中描述。

[0249] 可通过本发明方法施用的P2Y<sub>2</sub>激动剂包括P2Y<sub>2</sub>受体激动剂,例如ATP、UTP、UTP- $\gamma$ -S和二核苷酸P2Y<sub>2</sub>受体激动剂(例如地纽福索(denufosol)或地跨磷索(diquafosol))或其可药用盐。通常以有效刺激气道表面(特别是鼻气道表面)分泌氯化物和水量的量包含P2Y<sub>2</sub>受体激动剂。合适的P2Y<sub>2</sub>受体激动剂描述在(但不限于)美国专利No.6,264,975、美国专利No.5,656,256、美国专利No.5,292,498、美国专利No.6,348,589、美国专利No.6,818,629、美国专利No.6,977,246、美国专利No.7,223,744、美国专利No.7,531,525和美国专利申请2009/0306009中,其均通过引入并入本文。

[0250] 本文的组合疗法和制剂可包含腺苷2b(A2b)激动剂,还包含BAY60-6583、NECA(N-乙酰甲酰胺腺苷)、(S)-PHPNECA、LUF-5835和LUF-5845。可使用的A2b激动剂描述在以下文献中:Volpini等,Journal of Medicinal Chemistry 45(15):3271-9(2002);Volpini等,Current Pharmaceutical Design 8(26):2285-98(2002);Baraldi等,Journal of Medicinal Chemistry 47(6):Cacciari等,1434-47(2004);Mini Reviews in Medicinal Chemistry 5(12):1053-60(2005年12月);Baraldi等,Current Medicinal Chemistry 13(28):3467-82(2006);Beukers等,Medicinal Research Reviews 26(5):667-98(2006年9月);Elzein等,Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters 16(2):302-6(2006年1月);Carotti等,Journal of Medicinal Chemistry 49(1):282-99(2006年1月);Tabrizi等,Bioorganic&Medicinal Chemistry 16(5):2419-30(2008年3月);以及Stefanachi等,Bioorganic&Medicinal Chemistry 16(6):2852-69(2008年3月)。

[0251] 用于与本发明化合物一起配制和使用的其他ENaC受体阻断剂的实例包括但不限于阿米洛利及其衍生物,例如描述在以下文献中的那些化合物:美国专利No.6858615以及PCT公开No.WO2003/070182、WO2004/073629、WO2005/018644、WO2006/022935、WO2007/018640、和WO2007/146869,所有都属于Parion Sciences, Inc。

[0252] 小分子ENaC阻断剂能够直接阻止钠运输通过ENaC通道孔。可在本文的组合中施用的ENaC阻断剂包括但不限于阿米洛利、苯扎米尔、非那米尔和阿米洛利类似物,如以下文献举例的:美国专利No.6,858,614、美国专利No.6,858,615、美国专利No.6,903,105、美国专利No.6,995,160、美国专利No.7,026,325、美国专利No.7,030,117、美国专利No.7,064,129、美国专利No.7,186,833、美国专利No.7,189,719、美国专利No.7,192,958、美国专利No.7,192,959、美国专利No.7,241,766、美国专利No.7,247,636、美国专利No.7,247,637、美国专利No.7,317,013、美国专利No.7,332,496、美国专利No.7,345,044、美国专利No.7,368,447、美国专利No.7,368,450、美国专利No.7,368,451、美国专利No.7,375,107、美国专利No.7,399,766、美国专利No.7,410,968、美国专利No.7,820,678、美国专利No.7,842,697、美国专利No.7,868,010、美国专利No.7,875,619。

[0253] 详细描述了提高钠通过ENaC的运输的ENaC蛋白水解。蛋白酶抑制剂阻断内源性气道蛋白酶的活性,从而阻止ENaC切割和活化。切割ENaC的蛋白酶包括弗林蛋白酶(furin)、跨膜肽酶(meprin)、蛋白裂解酶(matriptase)、胰蛋白酶、通道相关蛋白酶(CAP)和中性粒细胞弹性蛋白酶。可在本文的组合中施用的可抑制这些蛋白酶之蛋白水解活性的蛋白酶抑制剂包括但不限于卡莫司他、前列腺蛋白酶(prostasin)、弗林蛋白酶、抑肽酶、亮抑肽酶和胰蛋白酶抑制剂。

[0254] 本文的组合可包含一种或更多种合适的核酸(或多核酸),包括但不限于反义寡核

苷酸、siRNA、miRNA、miRNA类似物、antagomir、核酶、适配体和诱饵寡核苷酸核酸。参见例如美国专利申请公开No. 20100316628。通常来说,此类核酸可以从17或19个核苷酸长多至23、25或27个核苷酸长或更长。实例包括但不限于以下文献中描述的那些:美国专利No. 7,517,865以及美国专利申请No. 20100215588、20100316628、20110008366和20110104255。通常来说,siRNA为17或19个核苷酸长多至23、25或27个核苷酸长或更长。

[0255] 可在本发明的组合中施用的CFTR活性调节化合物包括但不限于以下文献中描述的那些:US 2009/0246137 A1、US 2009/0253736 A1、US 2010/0227888 A1、专利号7,645,789、US 2009/0246820 A1、US 2009/0221597 A1、US 2010/0184739 A1、US 2010/0130547 A1、US 2010/0168094 A1和授权专利:7,553,855;US 7,772,259 B2、US 7,405,233 B2、US 2009/0203752、US 7,499,570。

[0256] 可用在本文中的组合和方法中的黏液或黏蛋白改性剂包括还原剂、表面活性剂和洗涤剂、祛痰剂和脱氧核糖核酸酶剂。

[0257] 通过形成共价(二硫)键和非共价键使黏蛋白组织成高分子量聚合物。使用还原剂破坏共价键是体外降低黏液之黏弹性的公知方法并且预期在体内使黏液黏性最小化并且改善清除。还原剂体外降低黏蛋白黏性是公知的,并且常用于帮助加工痰样品。还原剂的实例包括能够还原蛋白质二硫键的含硫化物分子或膦类化合物,包括但不限于N-乙酰基半胱氨酸、N-acetylcysteyn、羧甲司坦、谷胱甘肽、二硫苏糖醇、含硫氧还蛋白的蛋白质和三(2-羧乙基)膦。

[0258] N-乙酰基半胱氨酸(NAC)被批准用于与胸物理疗法结合来使黏性或增稠的气道黏液松动。评价经口或吸入的NAC在CF和COPD中的作用的临床研究已报道了黏液的流变性改善并且倾向于改善肺功能和降低肺部的急性加剧<sup>9</sup>。但是,多数临床数据表明在经口或通过吸入施用, NAC最多算是治疗气道黏液阻塞的稍微有效的治疗剂。最近Cochrane对使用NAC的现有临床文献的综述发现没有证据来支持NAC对于CF的效力。NAC的边缘临床益处反映在:

[0259] NAC是相对低效的还原剂,其在气道表面上仅为部分活性。在体外需要非常高浓度的NAC(200mM或3.26%)以完全还原Muc5B(主要的形成凝胶的气道黏蛋白)。另外,在气道表面的pH环境下(在CF和COPD气道中测量的范围为6.0至7.2),NAC仅部分地以其作为带负电荷的硫醇盐的反应状态存在。因此,在临床上,以非常高的浓度施用NAC。但是,预计目前的气雾剂装置在通常使用的相对短的时间域(7.5分钟至15分钟)内无法在远端的气道表面实现甚至20% Mucomyst溶液的治疗浓度。

[0260] 在非临床研究中,通过吸入施用的<sup>14</sup>C-标记的NAC表现为迅速从肺排出,半衰期为6至36分钟。

[0261] NAC按照高浓度高渗吸入溶液(20%或1.22摩尔/升)施用并且已经被报道引起支气管收缩和咳嗽。在许多情况下,推荐NAC与支气管扩张剂一起施用以提高对该药剂的耐受性。

[0262] 因此,还原剂如NAC不是很适于药团气雾剂施用。但是,预期通过肺气雾剂输注来递送还原剂将提高效率,同时允许降低吸入溶液中还原剂的浓度(预计改善耐受性)。

[0263] 表面活性剂和洗涤剂是铺展剂(spreading agent),表现为降低黏液黏弹性,提高黏液清除能力。表面活性剂的实例包括二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、PF、棕榈酸、棕榈酰-油

酰磷脂酰甘油、表面活性蛋白(例如,SP-A、SP-B或SP-C)或可以是动物来源的(例如,来自母牛或小牛肺灌洗物或提取自切碎的猪肺)或其组合。参见,例如美国专利No.7,897,577、5,876,970、5,614,216、5,100,806和4,312,860。表明活性剂产品的实例包括 **Exosurf**<sup>®</sup> Neonatal(棕榈胆磷(colfosceril palmitate))、**Pumactant**<sup>®</sup>(DPPC和蛋磷脂酰胆碱)、KL-4表面活性剂、**Venticute**<sup>®</sup>(lusulptide、rSP-C表面活性剂)、**Alveofact**<sup>®</sup>(bovactant)、**Curosuf**<sup>®</sup>(poractant alfa)、**Infasurf**<sup>®</sup>(calfactant)、**Newfacten**<sup>®</sup>(修饰的牛表面活性剂)、**Surface**<sup>®</sup>、Natsurf<sup>™</sup>(非离子醇乙氧基化物表面活性剂)以及 **Survanta**<sup>®</sup>(beractant)。洗涤剂的实例包括但不限于Tween-80和triton-X 100。

[0264] 可使用任何合适的祛痰药,包括但不限于愈创甘油醚(参见,例如美国专利No.7,345,051)。可使用任何合适的脱氧核糖核酸酶,包括但不限于Dornase Alpha。(参见,例如美国专利No.7,482,024)。

[0265] 激酶抑制剂的实例包括NFkB、P13K(磷脂酰肌醇3-激酶)、p38-MAP激酶和Rho激酶的抑制剂。

[0266] 用于与本发明化合物一起配制和使用的抗感染剂包括抗病毒剂和抗生素。合适的抗病毒剂的实例包括**Tamiflu**<sup>®</sup>(奥司他韦)和**Relenza**<sup>®</sup>(扎那米韦)。合适的抗生素的实例包括但不限于:氨基糖苷类(例如妥布霉素)或其任意组合或子集。可在本文中使用的另外抗感染剂包括氨基糖苷类、达帕托霉素、氟喹诺酮类、酮内酯类、碳青霉烯类、头孢菌素类、红霉素、利奈唑胺、青霉素类、阿奇霉素、克林霉素、噁唑烷酮类、四环素类和万古霉素。

[0267] 可用的碳青霉烯类抗生素的实例是亚胺培南、帕尼培南、美洛培南、比阿培南、MK-826(L-749,345)、DA-1131、ER-35786、来那培南、S-4661、CS-834(R-95867的前药)、KR-21056(KR-21012的前药)、L-084(LJC11036的前药)和CXA-101。

[0268] 用于与本发明化合物组合配制和使用的抗组胺剂(即,H1-受体拮抗剂)包括但不限于:乙醇胺类,例如苯海拉明HCl、马来酸卡比沙明、多西拉敏、富马酸氯马斯丁、苯海拉明HCl和茶苯海明;乙二胺类,例如马来酸吡拉明(美吡拉敏)、曲吡那敏HCl、枸橼酸曲吡那敏和安他唑啉;烷基胺类,例如非尼拉敏、氯苯那敏、溴苯那敏、右氯苯那敏、曲普利啶和阿伐斯汀;吡啶类,例如美沙吡林,哌嗪类,例如羟嗪HCl、扑酸羟嗪、赛克利嗪HCl、乳酸赛克利嗪、美克洛嗪HCl和西替利嗪HCl;哌啶类,例如阿司咪唑、左卡巴斯汀HCl、氯雷他定、脱碳乙氧基氯雷他定、特非那定和非索非那定HCl;三环和四环类,例如异丙嗪、chlorpromethazine、异丁嗪和阿扎他定;以及氮茛菪斯汀HCl,或者其任意组合或子集。

[0269] 适合用在本文的组合和方法中的其他类的治疗剂的实例包括:抗病毒剂例如利巴韦林,抗真菌剂例如两性霉素、伊曲康唑和伏立康唑,抗排斥药物,例如环孢菌素、他克莫司和西罗莫司,支气管扩张剂,包括但不限于抗胆碱能剂例如定喘乐(atrovent)、siRNA、基因治疗载体、适配体、内皮素受体拮抗剂、 $\alpha$ -1-抗胰蛋白酶和前列环素。

[0270] 在上述处理方法和用途中,本发明化合物可单独使用或与一种或更多种其他治疗活性剂组合。通常来说,任何在本发明化合物所治疗的疾病或病症中具有治疗作用的治疗活性剂都可用于与本发明化合物组合,只要所述特定治疗活性剂与使用本发明化合物的治

疗相容即可。适于与本发明化合物组合的典型治疗活性剂包括上述药剂。

[0271] 在一个优选实施方案中,本发明化合物与一种或更多种渗透剂组合使用,特别是高渗盐水或甘露醇。

[0272] 在另一个方面,本发明提供了上述治疗方法和用途,其包括施用有效量的本发明化合物和至少一种另外的治疗活性剂。本发明化合物和至少一种另外的治疗活性剂可以任意治疗上合适的组合伴随地或相继地组合使用。可伴随地施用本发明化合物和一种或更多种另外的治疗活性剂,这些组分存在于:1) 单一药物组合物中,例如上述组合物,或2) 分开的药物组合物中,其各自包含一种或更多种组分活性成分。可按照顺序方式分开施用组合的组分,其中首先施用本发明化合物,然后施用其他的治疗活性剂,反之亦然。

[0273] 在其中本发明化合物与一种或更多种渗透剂组合施用的一些实施方案中,优选伴随地施用每种组分,并且可以在单个组合物中或在分开的组合物中施用。在一个实施方案中,通过经支气管镜灌洗伴随地施用本发明化合物和一种或更多种渗透剂。在另一个实施方案中,通过吸入伴随地施用本发明化合物和一种或更多种渗透剂。

[0274] 当本发明化合物与另一种治疗活性剂组合使用时,每种化合物的剂量可与单独使用本发明化合物时不同。本领域的普通技术人员容易确定合适的剂量。选择本发明化合物、另外的治疗活性剂的合适的剂量和相对施用时间以实现期望的组合治疗作用,并且取决于主治医师、临床医师或兽医的专业知识和酌情处理。

[0275] 实验过程如下文详细描述,本发明还提供了用于制备本发明化合物的方法和可用在这些方法中的合成中间体。

[0276] 在合成方法和实验细节的描述中使用了某些缩写和首字母缩写。但是,其大部分是本领域技术人员理解的,下表包含了许多这些缩写和首字母缩写的列表。

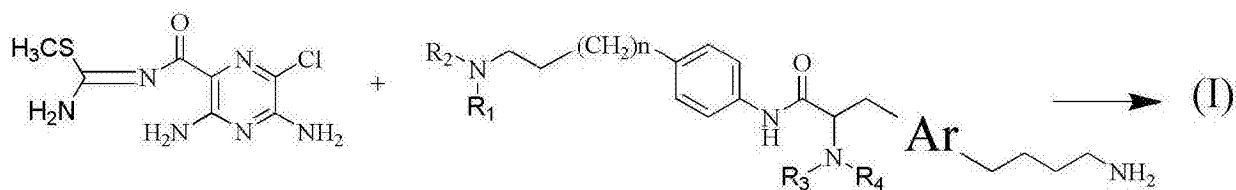
[0277]	缩写	含义
[0278]	AcOH	乙酸
[0279]	AIBN	偶氮二异丁腈
[0280]	DIAD	叠氮羧酸二异丙酯
[0281]	缩写	含义
[0282]	DIPEA	N,N-二异丙基乙胺
[0283]	DCE	二氯乙烷
[0284]	DCM	二氯甲烷
[0285]	DMF	二甲基甲酰胺
[0286]	Et	乙基
[0287]	EtOAc或EA	乙酸乙酯
[0288]	EtOH	乙醇
[0289]	ESI	电喷雾离子化
[0290]	HATU	2-(1H-7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐
[0291]	HPLC	高效液相色谱
[0292]	iPrOH	异丙醇
[0293]	i.t或IT	气管内



[0294]	Me	甲基
[0295]	MeOH	甲醇
[0296]	AcOH	乙酸
[0297]	m/z或m/e	质荷比
[0298]	MH <sup>+</sup>	质量加1
[0299]	MH <sup>-</sup>	质量减1
[0300]	MIC	最低抑制浓度
[0301]	MS或ms	质谱
[0302]	Rt或r. t.	室温
[0303]	R <sub>f</sub>	保留因子
[0304]	t-Bu	叔丁基
[0305]	THF	四氢呋喃
[0306]	TLC或tlc	薄层色谱
[0307]	缩写	含义
[0308]	δ	相对于四甲基硅烷的低磁场的百万分之份数
[0309]	Cbz	苄氧基羰基,即-(CO)O-苄基
[0310]	AUC	曲线或峰下面积
[0311]	MTBE	甲基叔丁基醚
[0312]	t <sub>R</sub>	保留时间
[0313]	GC-MS	气相色谱-质谱
[0314]	wt%	重量百分比
[0315]	h	小时
[0316]	min	分钟
[0317]	MHz	兆赫兹
[0318]	TFA	三氟乙酸
[0319]	UV	紫外线
[0320]	Boc	叔丁氧羰基
[0321]	DIAD	偶氮二羧酸二异丙酯
[0322]	AcOH	乙酸
[0323]	DIPEA	N,N-二异丙基乙胺或Hünig碱
[0324]	Ph <sub>3</sub> P	三苯基磷
[0325]	可使用本领域已知的技术合成式I化合物。以下方案1中举例说明了代表性合成程序。	

## [0326] 方案1

[0327]



[0328] 这些方法描述在例如E.J.Cragoe, "The Synthesis of Amiloride and Its Analogs" (第3章)的Amiloride and Its Analogs, 第25-36页。制备阿米洛利类似物的其他方法描述在例如美国专利No.3,318,813中,特别地参见'813专利中的方法A、B、C和D。可在本发明化合物的制备中使用的其他制备方法在PCT公开No.WO2003/07182、WO2005/108644、WO2005/022935、US 7,064,129、US 6,858,615、US 6,903,105、WO 2004/073629、WO 2007/146869和WO 2007/018640中进行描述,所有均属于Parion Sciences, Inc。

[0329] N'-3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯(methyl N'-3,5-diamino-6-chloropyrazine-2-carbonylcarbamimido thioate) (2)的制备可参见WO 2009/074575。

[0330] 通常来说,本发明的化合物可方便地通过使式(II)的化合物用式(III)的胺来处理来制备。更具体地,式2的化合物在适当溶剂如甲醇、乙醇或四氢呋喃中加热至高温例如70℃下用式3的胺和碱(如三乙胺(TEA)或二异丙基乙胺(DIPEA))来处理。进一步纯化,立体异构体的分辨率、盐形式的结晶和/或制备可使用常规技术来进行。

[0331] 在某些情况下,对于本领域的技术人员来说明显的是,合成中起始化合物或中间体化合物可具有提供作为替代的反应位点的其他官能团。可通过利用适当的保护基如胺或醇保护基来避免干扰这样的官能团,并且在适用时适当地使合成步骤优先化。合适的保护基对于本领域技术人员而言将是显而易见的。用于设置和移除这样的保护基的方法在本领域是公知的,并且这样的常规技术也可用于本发明的方法中。

[0332] 本文中提供的以下具体实施例仅用于举例说明的目的,而不限制本发明的范围,其是由权利要求限定的。

[0333] 材料和方法。所有试剂和溶剂购自Aldrich Chemical公司、Chem-Impex International Inc.和TCI chemical industry Co.Ltd.用Bruker AC 400 (<sup>1</sup>H NMR在400MHz下以及<sup>13</sup>C NMR在100MHz下)和Bruker AC 300 (<sup>1</sup>H NMR在300MHz下以及<sup>13</sup>C NMR在75MHz下)获得NMR谱。质子谱参照四甲基硅烷作为内标物,碳谱参照CDCl<sub>3</sub>、CD<sub>3</sub>OD或DMSO-d<sub>6</sub>(除非另有指明,否则购自Aldrich或Cambridge Isotope Laboratories)。用装有硅胶柱(Redi Sep.Rf, Teledyne Isco)或反相柱(高效C18 Gold柱)的Combiflash系统(Combiflash Rf, Teledyne Isco)进行快速色谱。用Shimadzu LCMS-2010EV质谱仪获得ESI质谱。用Shimadzu Prominence HPLC系统使用Waters XTerra MS C18 5μm 4.6×150mm分析柱在220nm(除非另有指明)检测,获得HPLC分析。流量为1.0mL/分钟,使用以下时间程序:

时间 (分钟)	百分比A (H <sub>2</sub> O, 具有0.05% TFA)	百分比B (CH <sub>3</sub> CN, 具有0.05% TFA)
2.50	90	10
20.00	10	90
30.00	10	90
32.50	90	10

[0335] 用Shimadzu Prominence UFLC系统使用Waters ACQUITY UPLC HSS T3 1.8μm

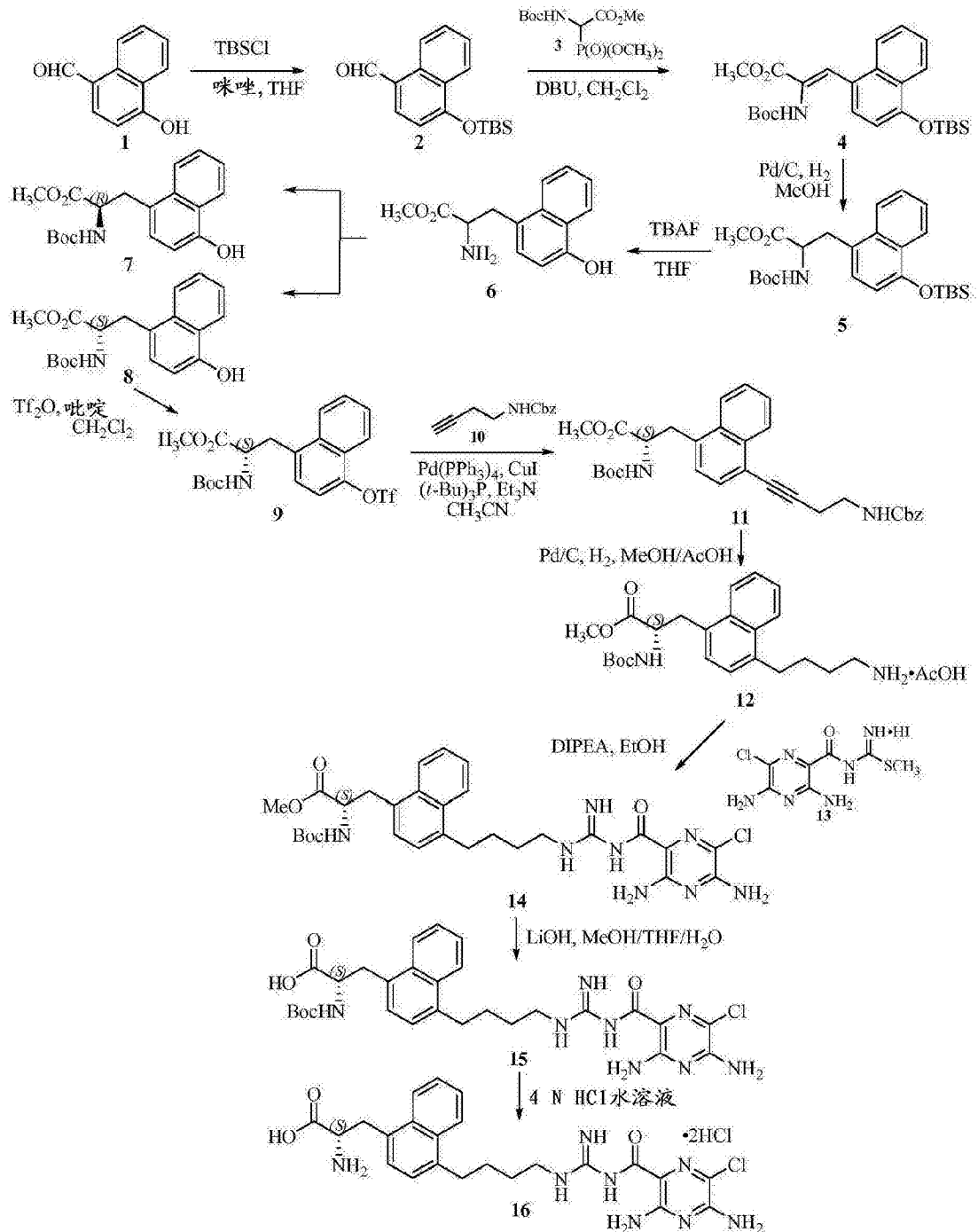
2.1×100mm分析柱在220nm(除非另有指明)检测,获得UPLC分析。流量为0.3mL/分钟,使用以下时间程序:

时间 (分钟)	百分比A (H <sub>2</sub> O,具有 0.05% NH <sub>4</sub> COOH 和 0.1% HCOOH)	百分比B (CH <sub>3</sub> CN/水 80:20%, 具有 0.05% NH <sub>4</sub> COOH 和 0.1% HCOOH)
1.00	90	10
4.00	30	70
5.00	30	70
5.50	90	10
6.50	90	10

[0336]

[0337] 1. (S)-2-氨基-3-(4-(4-(3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基)胍基)丁基)萘-1-基)丙酸的盐酸盐(16)的制备

[0338] 方案2



[0339]

[0340] 4-(叔丁基二甲基甲硅烷氧基)萘-1-甲醛 (2) 的制备;

[0341] 将4-羟基萘-1-甲醛 (1) (10.0g, 58.1mmol) 的无水THF (200mL) 溶液冷却至0℃, 并依次添加咪唑 (12.0g, 174mmol) 和叔丁基二甲基甲硅烷基氯化物 (*tert*-butyldimethylsilyl chloride, TBSCl) (13.1g, 87.1mmol)。在室温下搅拌16h之后, 过滤反应混合物并蒸发溶剂。将残余物吸收到EtOAc (500mL) 中, 用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液 (100mL)、水 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。在减压下除去溶剂并且残余物通过硅胶快速色谱 (2%EtOAc/己烷) 纯化, 得到作为浅黄色固体的2 (14.8g, 90%) :

[0342] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ10.22 (s, 1H) , 9.30 (d, J=8.10Hz, 1H) , 8.27 (d, J=8.1Hz, 1H) , 7.86 (d, J=7.8Hz, 1H) , 7.69 (ddd, J=8.4, 7.0, 1.3Hz, 1H) , 7.57 (ddd, J=8.4,

7.0, 1.3Hz, 1H), 6.95 (d, J=7.5Hz, 1H), 1.10 (s, 9H), 0.36 (s, 6H)

[0343] (Z)-2-(叔丁氧基羰基)氨基-3-[1-(叔丁基二甲基甲硅烷氧基)萘-4-基]丙烯酸甲酯(4)的制备;

[0344] 向(MeO)<sub>2</sub>P(O)CH(NHBoc)CO<sub>2</sub>Me、3 (23.0g, 52.7mmol)的干燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL)溶液中加入DBU (10.1mL, 67.3mmol), 并且将混合物在0℃下搅拌30分钟。通过注射器缓慢添加1 (14.8g, 51.74mmol)的干燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (60mL)溶液并且将反应混合物加热至室温保持16h。在减压下除去溶剂之后, 将残余物溶解在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500mL)中, 用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液 (2×150mL)和盐水 (200mL)快速洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂并且粗制产物通过硅胶 (20%EtOAc/己烷, 具有1%NEt<sub>3</sub>)快速色谱纯化, 得到作为黄色固体的4 (20.0g, 85%) :

[0345] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ8.23 (dd, J=8.6, 2.1Hz, 1H), 7.93 (dd, J=8.6, 2.1Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.57 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.53-7.47 (m, 2H), 6.85 (d, J=7.8Hz, 1H), 6.05 (brs, 1H), 3.88 (s, 3H), 1.30 (s, 9H), 1.09 (s, 9H), 0.30 (s, 6H) .

[0346] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-(4-(叔丁基二甲基甲硅烷氧基)萘-1-基)丙酸甲酯(5)的制备;

[0347] 将4 (17.2g, 37.6mmol)和10%Pd/C (3.40g)的EtOH (200mL)混悬液脱气并在室温下处于氢化条件 (1atm, 气球) 16h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液, 得到作为白色固体的5 (17.0g, 99%) :

[0348] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ8.23 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.99 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.57-7.44 (m, 2H), 7.10 (d, J=8.2Hz, 1H), 6.77 (d, J=8.2Hz, 1H), 5.07-4.94 (brs, 1H), 4.74-4.61 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.55-3.17 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.18 (s, 9H), 0.30 (s, 6H) .

[0349] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-(4-羟基萘-1-基)丙酸甲酯(6)的制备;

[0350] 在0℃下向5 (17.0g, 37.0mmol)的无水THF (200mL)溶液中加入氟化四丁基铵 (48.1mL, 48.1mmol)。将所得的溶液搅拌15分钟并用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液 (150mL)淬灭。在减压下除去溶剂之后, 将残余物溶解在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500mL)中, 用饱和水性水 (2×150mL)和盐水 (200mL)快速洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂并且粗制产物通过硅胶快速色谱 (25%EtOAc/己烷)纯化, 得到作为黄色固体的旋转异构体6 (14.0g, 94%) :

[0351] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ8.23 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.98 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.57-7.44 (m, 2H), 7.07 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.68 (d, J=7.6Hz, 1H), 6.55 (brs, 1H), 5.14-4.85 (brs, 1H), 4.77-4.51 (m, 1H), 3.78-3.31 (m, 5H), 1.40 (s, 6H), 1.10 (s, 3H) .

[0352] 化合物7和化合物8的制备;

[0353] 使用等度系统IPA/庚烷 (7.5%, 具有0.4%DEA), 将CHIRALPAK AD柱5cm I.D×50cm L, 颗粒20μ用于分离对映体。8.0g的外消旋化合物6通过该柱纯化, 得到作为白色固体的S-异构体8 (3.5g, 44%产率)和作为白色固体R-异构体7 (2.2g, 28%)。

[0354] (S)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-[4-(三氟甲基磺酰基氧基)萘-1-基]丙酸甲酯(9)的制备;

[0355] 在0℃下, 向化合物8 (1.22g, 3.53mmol)的吡啶 (20mL)溶液中加入三氟甲基磺酸酯 (0.9mL, 5.30mmol), 并且将反应混合物在室温下搅拌2h。浓缩之后, 反应混合物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL)与水 (50mL)之间分配。分离水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×50mL)萃取。合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩, 得到作为棕色油状物的化合物9 (1.51g, 89%) :

[0356]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.19–8.07 (m, 2H), 7.69–7.64 (m, 2H), 7.38 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 7.28 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 5.12–5.06 (brs, 1H), 4.78–4.67 (m, 1H), 3.68–3.46 (m, 5H), 1.39 (s, 8H), 1.25 (s, 1H).

[0357] (S)-3-{4-[4-(苄氧基羰基氨基)丁-1-炔基]萘-1-基}-2-(叔丁氧基羰基氨基)丙酸甲酯(11)的制备

[0358] 在室温下,向化合物9 (1.50g, 3.14mmol) 的无水 $\text{CH}_3\text{CN}$  (60mL) 溶液中加入TEA (1.27mL, 12.6mmol), 己烷中的10% (t-Bu) $_3\text{P}$  (1.27mL, 0.62mmol)、丁-3-炔基氨基甲酸苄酯 (10, 948mg, 4.71mmol) 和CuI (30mg, 0.16mmol)。将所得的混合物用氩气脱气10分钟并且一次性迅速加入Pd (PPh $_3$ ) $_4$  (363mg, 0.31mmol)。在用氩气脱气5分钟之后,将所得的混合物回流16h。真空下浓缩反应混合物并且残余物通过柱色谱(硅胶, 60:40乙酸乙酯/己烷)纯化,得到作为棕色油状物的化合物11 (1.30g, 78%):

[0359]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.33 (dd,  $J=7.5, 2.2\text{Hz}$ , 1H), 8.07 (dd,  $J=7.5, 2.2\text{Hz}$ , 1H), 7.58–7.51 (m, 2H), 7.52 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 7.35–7.29 (m, 5H), 7.19 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 5.16–5.12 (m, 1H), 5.13 (s, 2H), 5.07–4.99 (m, 1H), 4.74–4.65 (m, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.91–3.42 (m, 2H), 3.53 (d,  $J=6.2\text{Hz}$ , 2H), 2.79 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 1.39 (s, 8H), 1.25 (s, 1H).

[0360] (S)-3-(4-(4-氨基丁基)萘-1-基)-2-(叔丁氧基羰基氨基)丙酸甲酯的乙酸盐(12)的制备;

[0361] 将11 (1.00g, 1.88mmol) 和10%Pd/C (200mg) 在MeOH (20mL) 和AcOH (2mL) 混合物中的混悬液脱气并在室温下处于氢化条件(1atm) 16h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液,得到作为白色固体的胺盐12 (820mg, 95%):

[0362]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.17–8.05 (m, 2H), 7.62–7.48 (m, 2H), 7.27 (brs, 2H), 4.47 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 1H), 3.75–3.51 (m, 5H), 3.13 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 2.93 (t,  $J=7.66\text{Hz}$ , 2H), 1.93 (s, 3H), 1.88–1.65 (m, 4H), 1.34 (s, 7H), 1.01 (s, 2H).

[0363] (S)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-(4-{4-[3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基)胍基]丁基}萘-1-基)丙酸甲酯(14)的制备;

[0364] 在室温下,向胺盐12 (815mg, 1.77mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯(13, 1.1g, 2.83mmol) 的EtOH (6.0mL) 溶液加入DIPEA (2.50mL, 14.2mmol)。在密封管中70 $^\circ\text{C}$ 下将反应混合物加热2h,冷却至室温并在真空下浓缩。残余物通过柱色谱(硅胶, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$ )纯化,得到作为黄色固体的胍14 (870mg, 80%):

[0365]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.17–8.07 (m, 2H), 7.58–7.48 (m, 2H), 7.26 (q,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 4.56–3.68 (m, 1H), 3.75–3.68 (m, 1H), 3.64 (s, 2H), 3.58–3.43 (m, 2H), 3.13 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 2.98 (q,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 1.86–1.70 (m, 4H), 1.33 (s, 7H), 0.98 (s, 2H).

[0366] (S)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-(4-(4-(3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基)胍基)丁基)萘-1-基)丙酸(15);

[0367] 向甲酯14 (510mg, 0.83mmol) 在THF (3mL)、甲醇 (3mL) 和水 (1mL) 混合物中的溶液加入固体LiOH (120mg, 4.99mmol) 并将反应混合物在室温下搅拌2h。当反应混合物的TLC显示反应完成时,通过添加1N HCl (水溶液) 将反应混合物的pH恢复到9至10并除去有机溶剂。将水性部分的pH调整到5至6并且将所得的沉淀物用二氯甲烷来萃取。水性部分用DCM (2 $\times$  50mL) 萃取。合并有机层,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并浓缩,得到作为白色固体的化合物15 (375mg,

76%) :

[0368]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$ 8.22-8.02 (m, 2H) , 7.59-7.47 (m, 2H) , 7.34-7.22 (m, 2H) , 6.82 (brs, 2H) , 4.19-4.06 (m, 1H) , 3.59-3.46 (m, 1H) , 3.25-3.13 (m, 2H) , 3.09-2.94 (m, 1H) , 1.80-1.55 (m, 4H) , 1.28 (s, 7H) , 0.93 (s, 2H) .

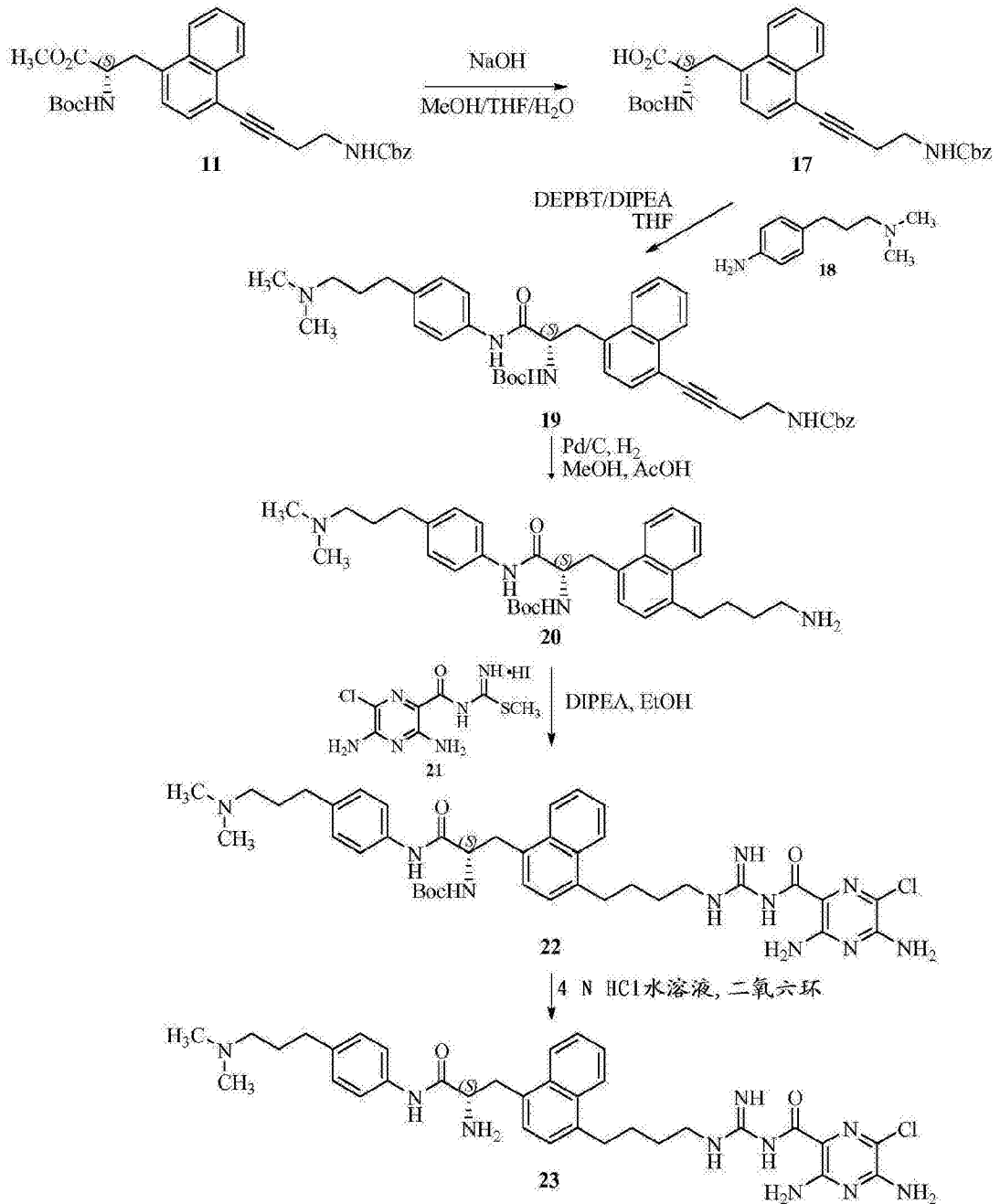
[0369] (S)-2-氨基-3-(4-(4-(3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基) 胍基) 丁基) 萘-1-基) 丙酸的HCl盐 (16) 的制备;

[0370] 将二氧六环中的4N HCl (8.0mL) 添加至15 (258mg, 0.43mmol) , 随后添加水 (4.0mL) 并将反应混合物在室温下搅拌3h。除去溶剂并将残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物 16 (250mg, 99%) :

[0371]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$ 10.54 (brs, 1H) , 9.33 (t,  $J=5.92\text{Hz}$ , 1H) , 9.03-8.80 (m, 2H) , 8.60 (brs, 3H) , 8.17 (ddd,  $J=10.1, 7.6, 4.5\text{Hz}$ , 2H) , 7.59 (ddd,  $J=9.2, 6.7, 4.5\text{Hz}$ , 2H) , 7.46-7.36 (m, 2H) , 7.34 (dd,  $J=9.9, 7.5\text{Hz}$ , 2H) , 4.13-4.02 (m, 1H) , 3.75-3.44 (m, 3H) , 3.43-3.33 (m, 2H) , 3.09 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H) , 1.81-1.62 (m, 4H) .

[0372] 2. (S)-3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-(2-氨基-3-(4-(3-(二甲基氨基) 丙基) 苯基氨基)-3-氧代丙基) 萘-1-基) 丁基) 甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (23) 的制备

[0373] 方案3



[0374]

[0375] (S)-3-{4-[4-(苄氧基羰基氨基)丁-1-炔基]萘-1-基}-2-(叔丁氧基羰基氨基)丙酸甲酯(17)的制备;

[0376] 向甲酯11 (1.71g, 3.22mmol) 在THF (21mL)、甲醇 (21mL) 和水 (7.0mL) 的混合物中的溶液中加入固体NaOH (1.29g, 32.3mmol) 并将反应混合物在室温下搅拌3h。当反应混合物的TLC显示反应完成时,通过添加1N HCl (水溶液) 将反应混合物的pH恢复到9至10并除去有机溶剂。将水性部分的pH调整到5至6并且将所得的沉淀物用二氯甲烷来萃取。水性部分用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×50mL) 萃取。合并有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,得到作为棕色固体的化合物17 (1.55g, 93%) :

[0377] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) : δ 8.32 (d, J=7.4Hz, 1H) , 8.13-8.05 (m, 1H) , 7.58-7.48 (m, 4H) , 7.38-7.29 (m, 5H) , 5.21-5.15 (m, 1H) , 5.12 (s, 2H) , 5.07-4.93 (m, 1H) , 4.70-4.54 (m, 1H) , 3.77-3.62 (m, 1H) , 3.57-3.35 (m, 2H) , 2.84-2.68 (m, 2H) , 1.37 (s, 9H) .



[0378] 化合物19的制备;

[0379] 向含化合物18 (100mg, 0.56mmol) 的THF (2.5mL) 中依次加入DEPBT (218mg, 0.72mmol)、17 (289mg, 0.56mmol) 和DIPEA (0.3mL, 1.68mmol) 并在室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂之后, 将残余物溶解在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 中, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (2×50mL) 和盐水 (50mL) 快速洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂并且将粗制产物通过硅胶快速色谱 (8% 甲醇/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 纯化, 得到作为黄色固体的酰胺19 (250mg, 66%) :

[0380] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ8.34 (dd, J=8.3, 1.4Hz, 1H), 8.21 (d, J=8.3Hz, 1H), 7.61-7.47 (m, 4H), 7.39-7.27 (m, 5H), 7.16 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.3Hz, 2H), 5.36-5.19 (m, 2H), 5.12 (s, 2H), 4.36-4.53 (m, 1H), 3.66-3.42 (m, 4H), 2.79 (t, J=6.6Hz, 2H), 2.57 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.40 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.32 (s, 6H), 1.86-1.75 (m, 2H), 1.39 (s, 9H) .

[0381] 化合物20的制备;

[0382] 将19 (210mg, 0.31mmol) 和10%Pd/C (150mg) 在MeOH (3.0mL) 和AcOH (0.3mL) 的混合物中的混悬液脱气并在室温下处于氢化条件 (1atm) 12h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液, 得到胺盐22, 其用三乙胺来中和并将粗制产物通过硅胶快速色谱 (CMA, 80:18:2) 纯化, 得到作为白色固体的游离胺20 (130mg, 77%) :

[0383] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ8.24 (dd, J=8.1, 2.1Hz, 1H), 8.08 (dd, J=8.2, 1.5Hz, 1H), 7.58-7.47 (m, 2H), 7.33-7.20 (m, 4H), 7.07-7.05 (m, 2H), 4.53 (t, J=7.2Hz, 1H), 3.66-3.55 (m, 2H), 3.09 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.82 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.57 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.35 (dd, J=10.5, 7.5Hz, 2H), 2.24 (s, 6H), 1.84-1.61 (m, 6H), 1.36 (s, 7H), 1.10 (s, 2H) .

[0384] 22的制备;

[0385] 在室温下, 向胺20 (122mg, 0.22mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (21, 139mg, 0.35mmol) 的EtOH (4.0mL) 溶液加入DIPEA (0.31mL, 1.76mmol) 。在密封管中于70℃下将反应混合物加热2h, 冷却至室温并在真空下浓缩。残余物通过柱色谱 (硅胶, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化, 得到作为黄色固体的胍22 (111mg, 66%) :

[0386] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ8.23 (dd, J=7.5, 2.4Hz, 1H), 8.10 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.57-7.48 (m, 2H), 7.29 (d, J=7.3Hz, 2H), 7.24 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.13-7.05 (m, 2H), 4.53 (t, J=8.0Hz, 1H), 3.60-3.37 (m, 2H), 3.23 (t, J=7.3Hz, 2H), 3.15-3.03 (m, 2H), 2.55 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.29 (dd, J=9.7, 7.6Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 1.86-1.64 (m, 6H), 1.36 (s, 7H), 1.12 (s, 2H) .

[0387] 化合物23 (S)-3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-(2-氨基-3-(4-(3-(二甲基氨基) 丙基) 苯基氨基)-3-氧代丙基) 萘-1-基) 丁基) 甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺的HCl盐的制备

[0388] 将二氧六环中的4N HCl (3.0mL) 添加至22 (100mg, 0.13mmol) , 随后添加水 (1.0mL) 并将反应混合物在室温下搅拌3h。除去溶剂并用1N NaOH (水溶液) 中和, 所得的固体用水洗涤并再次用1N HCl (水溶液) 处理, 除去水并将残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物22 (65mg, 65%) :

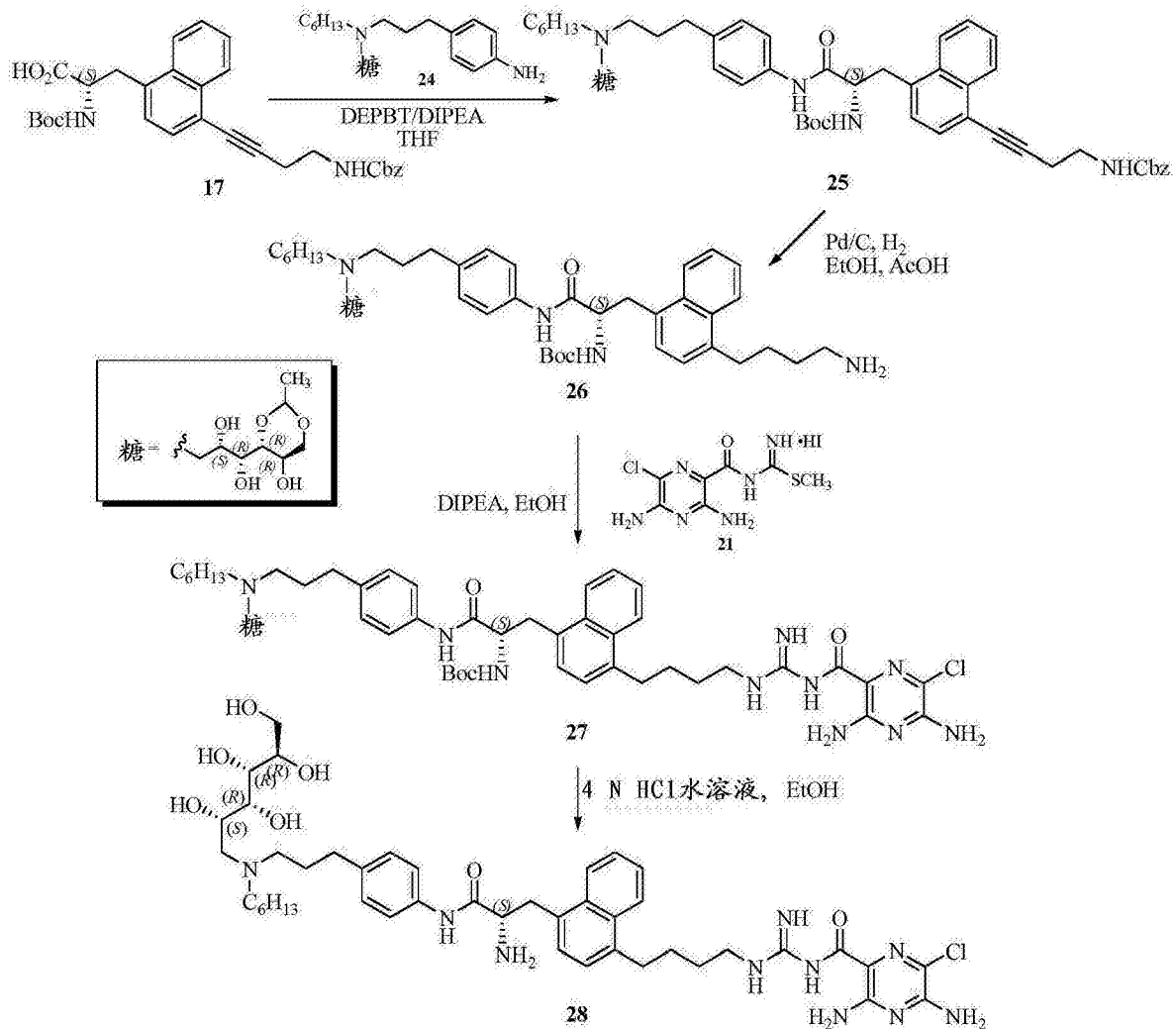
[0389] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 10.50 (s, 1H), 10.48 (s, 1H), 10.46-10.40 (m, 1H), 9.26 (t, J=4.9Hz, 1H), 9.01-8.74 (m, 2H), 8.61 (brs, 1H), 8.35 (dd, J=6.6, 3.4Hz, 1H), 8.13 (dd, J=6.5, 3.3Hz, 1H), 7.58 (ddd, J=9.9, 6.6, 3.6Hz, 2H), 7.42 (brs, 1H), 7.40 (d, J=

7.3Hz, 2H), 7.34 (d, J=7.3Hz, 1H), 7.28 (d, J=7.3Hz, 1H), 7.16 (d, J=8.6Hz, 2H), 4.29-4.20 (m, 1H), 3.64-3.49 (m, 2H), 3.12-3.03 (m, 2H), 3.02-2.94 (m, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.70 (s, 3H), 2.56 (t, J=8.1Hz, 2H), 1.97-1.88 (m, 2H), 1.79-1.61 (m, 4H).

[0390] 3, 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(28)的制备

[0391] 方案4

[0392]



[0393] 化合物25的制备;

[0394] 向含化合物24 (165mg, 0.38mmol) 的THF (10mL) 中依次加入DEPBT (148mg, 0.48mmol)、17 (200mg, 0.38mmol) 和DIPEA (0.2mL, 1.14mmol) 并在室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂之后,将残余物溶解在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 中,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (2×50mL) 和盐水 (50mL) 快速洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂并将粗制产物通过硅胶快速色谱 (8% 甲醇/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 纯化,得到作为黄色固体的酰胺25 (210mg, 60%) :

[0395] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 8.35 (d, J=8.2Hz, 1H), 8.21 (d, J=8.3Hz, 1H), 7.63-7.52 (m, 2H), 7.51 (d, J=7.3Hz, 1H), 7.44-7.39 (m, 1H), 7.37-7.27 (m, 6H), 7.16-7.02 (m, 3H), 5.24-5.16 (m, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.68 (ddd, J=11.3, 10.3, 5.1Hz, 1H), 4.56 (q, J=

7.2Hz, 1H), 4.19-4.09 (m, 1H), 3.90-3.76 (m, 5H), 3.74-3.68 (m, 1H), 3.63-3.46 (m, 5H), 3.45-3.24 (m, 3H), 2.80 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.70-2.35 (m, 8H), 1.81-1.67 (m, 2H), 1.63-1.53 (m, 1H), 1.35-1.20 (m, 6H), 1.21 (s, 9H), 1.31 (d, J=5.1Hz, 3H), 0.87 (t, J=6.2Hz, 3H).

[0396] 化合物26的制备;

[0397] 将25 (280mg, 0.30mmol) 和10%Pd/C (560mg) 在EtOH (9.0mL) 和AcOH (1.0mL) 中的混合物的混悬液脱气并在室温下处于氢化条件 (1atm) 4h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液, 得到胺盐22, 其用NaHCO<sub>3</sub>中和, 并将粗制产物通过硅胶快速色谱 (CMA, 80:18:2) 纯化, 得到作为黄色固体的游离胺26 (160mg, 67%):

[0398] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ8.29 (d, J=8.2Hz, 1H), 8.07 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.60 (t, J=6.9Hz, 1H), 7.55 (ddd, J=8.2, 6.9, 1.1Hz, 1H), 7.24 (d, J=7.1Hz, 1H), 7.18 (d, J=7.1Hz, 1H), 7.02-7.96 (m, 1H), 7.95-6.88 (m, 2H), 6.77-6.69 (m, 1H), 5.56-5.35 (m, 1H), 4.68 (q, J=5.1Hz, 1H), 4.61-4.53 (m, 1H), 4.12 (dd, J=10.8, 5.4Hz, 1H), 3.89-3.80 (m, 2H), 3.74 (t, J=3.3Hz, 2H), 3.46 (d, J=3.8Hz, 1H), 3.39 (t, J=10.7Hz, 2H), 3.18-3.09 (m, 1H), 3.02-2.92 (m, 1H), 2.68 (t, J=7.1Hz, 2H), 2.61-2.47 (m, 5H), 2.46-2.37 (m, 4H), 1.77-1.63 (m, 4H), 1.33 (d, J=5.1Hz, 3H), 1.31-1.20 (m, 8H), 1.21 (s, 9H), 0.88 (t, J=6.7Hz, 3H).

[0399] 化合物27的制备;

[0400] 室温下, 向胺26 (155mg, 0.20mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (21, 123mg, 0.31mmol) 的EtOH (8.0mL) 溶液中加入DIPEA (0.28mL, 1.56mmol)。在密封管中于70°C下将反应混合物加热2h, 冷却至室温并在真空下浓缩。残余物通过硅胶柱色谱 (80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化随后通过反相色谱 (Go1d C18) 纯化, 得到作为黄色固体的胍27 (100mg, 51%):

[0401] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ8.23 (dd, J=8.8, 2.5Hz, 1H), 8.10 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.56-7.49 (m, 2H), 7.29 (d, J=7.9Hz, 2H), 7.24 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.08 (d, J=7.9Hz, 2H), 4.67 (q, J=5.1Hz, 1H), 4.56-4.50 (m, 1H), 4.04 (dd, J=10.8, 5.4Hz, 1H), 3.92-3.86 (m, 1H), 3.82-3.74 (m, 2H), 3.51-3.46 (m, 1H), 3.25 (t, J=7.1Hz, 2H), 3.15-3.06 (m, 2H), 2.71 (dd, J=13.2, 5.2Hz, 1H), 2.60-2.45 (m, 6H), 1.87-1.63 (m, 6H), 1.48-1.40 (m, 6H), 1.33-1.26 (m, 6H), 1.23 (d, J=5.1Hz, 3H), 1.20 (s, 9H), 0.89 (t, J=6.7Hz, 3H).

[0402] 化合物28-3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺的HCl盐的制备

[0403] 将水中的4N HCl (3.0mL) 添加至27 (80mg, 0.08mmol) 的乙醇 (0.5mL) 中并在40°C下将反应混合物搅拌6h。除去溶剂, 添加额外的4N HCl并在40°C下将混合物加热另外4h。除去溶剂, 添加水并将残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物28 (78mg, 99%):

[0404] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ10.58 (brs, 1H), 10.56 (brs, 1H), 9.70-9.58 (m, 1H), 9.38-9.31 (m, 1H), 9.04-8.84 (m, 2H), 8.70 (brs, 1H), 8.43-8.34 (m, 1H), 8.16-8.08 (m, 1H), 7.62-7.52 (m, 2H), 7.46-7.37 (m, 4H), 7.34 (d, J=7.1Hz, 1H), 7.27 (d, J=7.1Hz, 1H), 7.17 (d, J=8.1Hz, 2H), 5.52-5.46 (m, 1H), 4.85-4.76 (m, 1H), 4.68-4.52 (m, 2H), 4.49-4.37 (m, 1H), 4.32-4.22 (m, 1H), 4.05-3.97 (m, 1H), 3.72-3.43 (m, 6H), 3.17-2.97 (m, 8H), 2.02-1.90

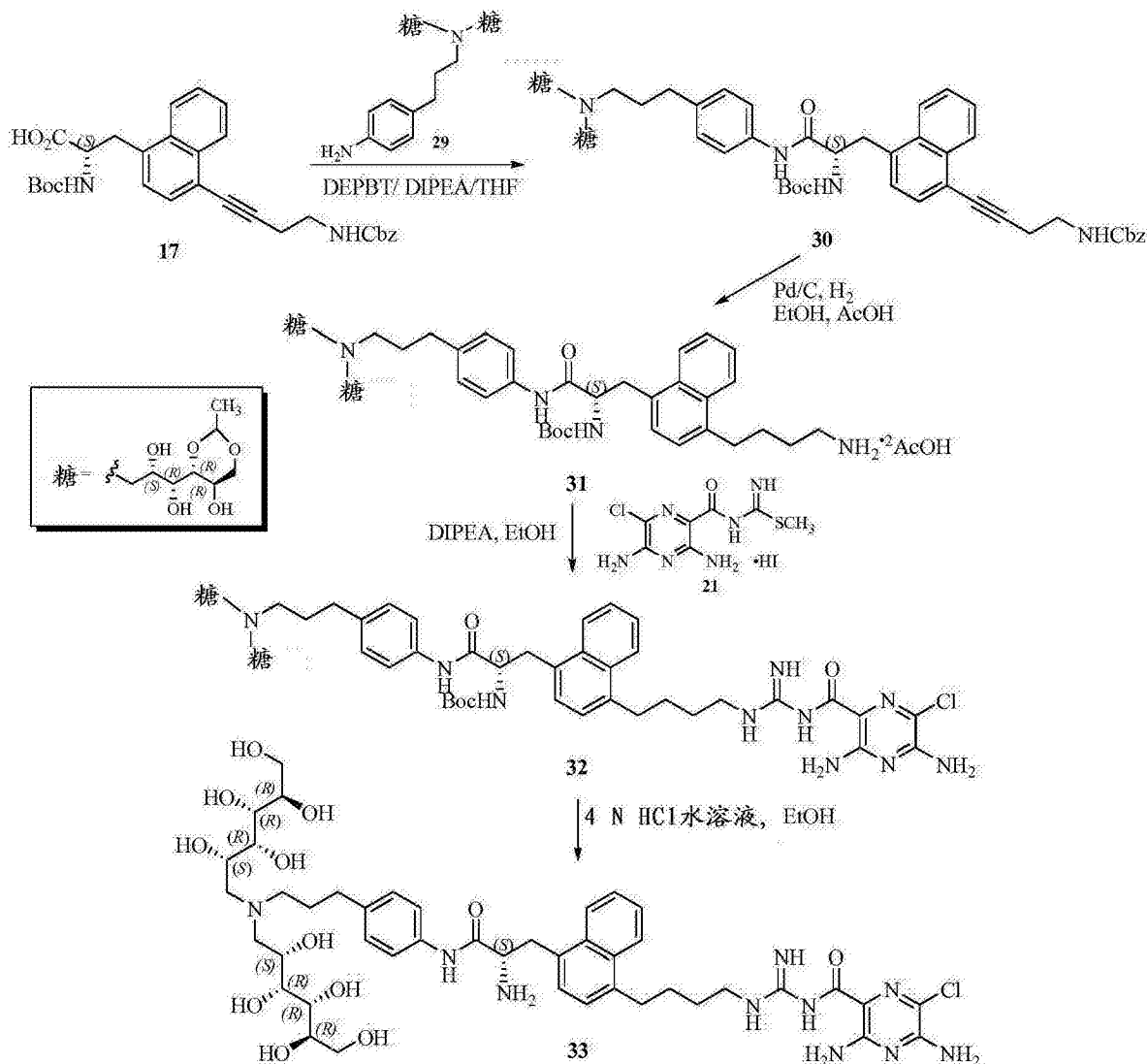
(m, 2H), 1.77-1.54 (m, 6H), 1.33-1.21 (m, 6H), 0.86 (t, J=6.6Hz, 3H).

[0405]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.23 (d, J=8.3Hz, 1H), 8.17 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.62-7.53 (m, 2H), 7.41-7.36 (m, 1H), 7.35-7.32 (m, 1H), 7.31-7.25 (m, 2H), 7.21-7.12 (m, 2H), 4.35-4.25 (m, 1H), 4.17-4.02 (m, 1H), 3.86-3.75 (m, 2H), 3.73-3.59 (m, 6H), 3.23-3.08 (m, 9H), 2.73-2.60 (m, 2H), 2.11-1.97 (m, 2H), 1.91-1.75 (m, 4H), 1.74-1.62 (m, 2H), 1.44-1.30 (m, 6H), 0.92 (t, J=6.6Hz, 3H)

[0406] 4, 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(33)的制备

[0407] 方案5

[0408]



[0409] 化合物30的制备:

[0410] 向含化合物29 (290mg, 0.54mmol) 的THF (8.0mL) 中依次加入DEPBT (210mg, 0.70mmol)、17 (311mg, 0.60mmol) 和DIPEA (0.28mL, 1.62mmol) 并在室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂之后,将残余物溶解在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100mL) 中,用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液 (2×50mL) 和盐水 (50mL) 快速洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥。蒸发溶剂并将粗制产物通过硅胶快速色谱 (8% 甲醇/

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 纯化,得到作为黄色固体的酰胺30 (400mg,72%) :

[0411] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 8.36-8.26 (m, 1H) , 8.20-8.09 (m, 1H) , 8.03-7.85 (m, 1H) , 7.61-7.46 (m, 1H) , 7.49 (d, J=7.2Hz, 2H) , 7.38-7.28 (m, 5H) , 7.18-6.96 (m, 4H) , 5.51-5.36 (m, 1H) , 5.32-5.21 (m, 1H) , 5.12 (s, 2H) , 4.67 (q, J=5.1Hz, 2H) , 4.66-4.53 (m, 1H) , 4.11 (dd, J=10.4, 5.2Hz, 2H) , 4.06-3.96 (m, 2H) , 3.93-3.86 (m, 2H) , 3.86-3.77 (m, 2H) , 3.68-3.56 (m, 2H) , 3.56-3.44 (m, 6H) , 3.39 (t, J=10.4Hz, 2H) , 3.05 (q, J=7.6Hz, 2H) , 2.96-2.88 (m, 2H) , 2.79 (t, J=6.1Hz, 2H) , 2.64-2.61 (m, 4H) , 1.93-1.72 (m, 4H) , 1.48-1.40 (m, 2H) , 1.35 (s, 9H) , 1.29 (d, J=5.1Hz, 6H) .

[0412] 化合物31的制备:

[0413] 将30 (400mg, 0.39mmol) 和10% Pd/C (210mg) 在EtOH (54mL) 和AcOH (6.0mL) 混合物中的混悬液脱气并在室温下处于氢化条件 (1atm) 4h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液,得到作为黄色固体的胺盐31 (333mg, 84%) :

[0414] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ 8.25 (dd, J=7.5, 2.5Hz, 1H) , 8.10 (d, J=7.3Hz, 1H) , 7.60-7.51 (m, 2H) , 7.36-7.32 (m, 1H) , 7.31 (d, J=7.2Hz, 2H) , 7.26 (d, J=7.8Hz, 1H) , 7.15 (d, J=7.8Hz, 2H) , 4.70 (q, J=4.9Hz, 2H) , 4.54 (d, J=7.3Hz, 1H) , 4.18-4.10 (m, 2H) , 4.06 (dd, J=10.6, 5.3Hz, 2H) , 3.87-3.82 (m, 2H) , 3.81-3.68 (m, 3H) , 3.53 (dd, J=9.5, 1.8Hz, 2H) , 3.39 (t, J=9.2Hz, 3H) , 3.35-3.30 (m, 2H) , 3.153.08 (m, 2H) , 2.92 (t, J=8.0Hz, 2H) , 2.09-2.00 (m, 4H) , 2.77-2.58 (m, 2H) , 1.95 (s, 6H) , 1.88-1.60 (m, 4H) , 1.36 (s, 9H) , 1.25 (d, J=4.9Hz, 6H) .

[0415] 32的制备:

[0416] 室温下,向31 (370mg, 0.36mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (21, 226mg, 0.58mmol) 的EtOH (12mL) 溶液中加入DIPEA (0.51mL, 2.88mmol) 。在密封管中于70℃下将反应混合物加热2h,冷却至室温并在真空下浓缩。残余物通过硅胶柱色谱 (80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化,得到作为黄色固体的胍32 (250mg, 63%) :

[0417] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ 8.23 (d, J=8.6Hz, 1H) , 8.13-8.03 (m, 1H) , 7.54-7.49 (m, 2H) , 7.30-7.20 (m, 4H) , 7.13-7.04 (m, 2H) , 4.67 (q, J=4.9Hz, 2H) , 4.54-4.49 (m, 1H) , 4.03 (dd, J=10.8, 5.4Hz, 2H) , 3.91-3.84 (m, 2H) , 3.82-3.72 (m, 5H) , 3.48-3.43 (m, 5H) , 3.41-3.34 (m, 2H) , 3.13-3.10 (m, 2H) , 2.68-2.50 (m, 8H) , 1.87-1.67 (m, 6H) , 1.36 (s, 9H) , 1.23 (d, J=4.9Hz, 6H) .

[0418] 33-3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺的HCl盐的制备

[0419] 将水中的4N HCl (6.0mL) 添加至乙醇 (2.0mL) 中的32 (200mg, 0.18mmol) 中并将反应混合物在40℃下搅拌8h。除去溶剂,添加额外的4N HCl并将该混合物在40℃下加热另外6h。除去溶剂,混合物通过反相色谱 (Go1d柱) 纯化,并且将残余物冻干,得到作为黄色固体的化合物33 (138mg, 59%) :

[0420] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) : δ 10.48 (brs, 1H) , 10.45-10.41 (m, 1H) , 9.25-9.19 (m, 1H) , 8.95-8.85 (m, 1H) , 8.81-8.69 (m, 1H) , 8.64-8.46 (m, 4H) , 8.36-8.29 (m, 1H) , 8.18-8.10 (m, 1H) , 7.62-7.55 (m, 2H) , 7.46-7.38 (m, 4H) , 7.34 (d, J=7.5Hz, 1H) , 7.28 (d, J=7.3Hz,

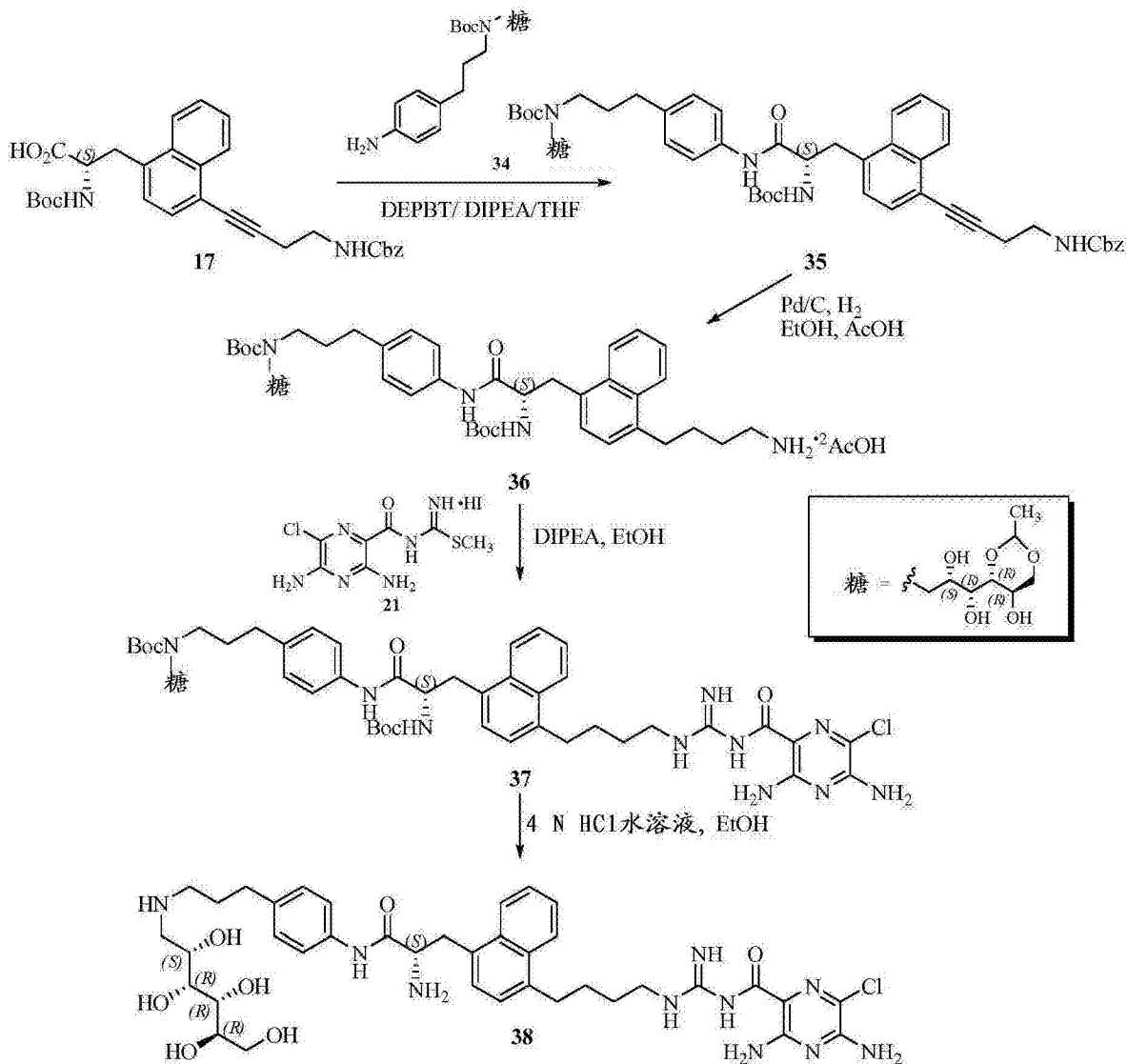
1H), 7.18 (d, J=8.7Hz, 2H), 5.48-5.39 (m, 2H), 4.87-4.75 (m, 2H), 4.68-4.33 (m, 4H), 4.28-4.17 (m, 1H), 4.05-3.93 (m, 2H), 3.72-3.65 (m, 2H), 3.62-3.53 (m, 4H), 3.52-3.35 (m, 8H), 3.27-3.13 (m, 6H), 3.3.10-3.00 (m, 2H), 2.62-2.48 (m, 4H), 2.03-1.90 (m, 2H), 1.78-1.61 (m, 4H).

[0421]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 8.24-8.20 (m, 1H), 8.18-8.15 (m, 1H), 7.57 (td, J=4.6, 1.5Hz, 2H), 7.38 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.33 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.28 (dd, J=8.4, 2.6Hz, 2H), 7.16 (dd, J=8.4, 2.0Hz, 2H), 4.28 (t, J=6.9Hz, 1H), 4.19-4.13 (m, 1H), 4.12-4.07 (m, 1H), 3.85-3.79 (m, 2H), 3.77 (dd, J=10.4, 5.2Hz, 2H), 3.73-3.60 (m, 6H), 3.49-3.45 (m, 2H), 3.42-3.34 (m, 6H), 3.26-3.23 (m, 1H), 3.19-3.13 (m, 2H), 3.14-3.11 (m, 1H), 2.74-2.59 (m, 2H), 2.14-2.00 (m, 2H), 1.90-1.72 (m, 4H).

[0422] 5, 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-氧代-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基氨基)丙基)苯基氨基)丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (38) 的制备

[0423] 方案6

[0424]



[0425] 化合物35的制备

[0426] 向含化合物34 (400mg, 0.91mmol) 的THF (15mL) 中依次加入DEPBT (389mg, 1.30mmol)、17 (516mg, 1.00mmol) 和DIPEA (0.52mL, 3.00mmol) 并在室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂之后,将残余物溶解在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 中,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (2×50mL) 和盐水 (50mL) 快速洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂并将粗制产物通过硅胶快速色谱 (8% 甲醇/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 纯化,得到作为黄色固体的酰胺35 (700mg, 83%) :

[0427] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 8.35 (dd, J=8.2, 1.5Hz, 1H) , 8.22 (d, J=8.1Hz, 1H) , 7.64-7.35 (m, 4H) , 7.38-7.26 (m, 5H) , 7.06 (d, J=7.8Hz, 2H) , 7.17-7.09 (m, 2H) , 5.21-5.13 (m, 2H) , 5.12 (s, 2H) , 4.69 (q, J=5.1Hz, 1H) , 4.55 (q, J=7.25Hz, 1H) , 4.15 (dd, J=11.4, 5, 6Hz, 1H) , 4.11-4.02 (m, 1H) , 4.07-3.92 (m, 1H) , 3.88-3.77 (m, 1H) , 3.73-3.67 (m, 1H) , 3.64-3.49 (m, 5H) , 3.41 (d, J=10.6Hz, 2H) , 3.37-3.30 (m, 2H) , 3.29-3.20 (m, 3H) , 2.80 (t, J=6.2Hz, 2H) , 2.52 (t, J=7.8Hz, 2H) , 1.90-1.76 (m, 3H) , 1.42 (s, 18H) , 1.32 (d, J=5.2Hz, 3H) .

[0428] 化合物36的制备;

[0429] 将35 (700mg, 0.74mmol) 和10%Pd/C (400mg) 在EtOH (90mL) 和AcOH (10mL) 混合物中的混悬液脱气并在室温下处于氢化条件 (1atm) 16h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液,得到作为黄色固体的胺盐36 (650mg, 95%) :

[0430] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 8.20 (d, J=8.4Hz, 1H) , 7.96 (d, J=7.3Hz, 1H) , 7.86-7.71 (m, 1H) , 7.70-7.63 (m, 1H) , 7.58-7.43 (m, 2H) , 7.36-7.26 (m, 2H) , 7.02-6.91 (m, 2H) , 4.70-4.63 (m, 1H) , 4.61-4.54 (m, 1H) , 4.20-4.05 (m, 2H) , 4.04-3.90 (m, 1H) , 3.89-3.68 (m, 3H) , 3.67-3.46 (m, 3H) , 3.45-3.27 (m, 5H) , 3.29-3.21 (m, 4H) , 3.11-2.91 (m, 4H) , 2.90-2.76 (m, 2H) , 2.48 (d, J=7.3Hz, 2H) , 2.08 (s, 6H) , 1.86-1.61 (m, 6H) , 1.41 (s, 15H) , 1.32 (d, J=5.1Hz, 3H) , 1.25 (s, 3H) .

[0431] 37的制备;

[0432] 在室温下,向36 (650mg, 0.70mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (21,436mg, 1.13mmol) 的EtOH (12mL) 溶液加入DIPEA (0.90mL, 5.60mmol) 。在密封管中70℃下将反应混合物加热2h,冷却至室温并在真空下浓缩。残余物通过硅胶柱色谱 (80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化,得到作为黄色固体的胍37 (444mg, 62%) :

[0433] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ 8.23 (dd, J=7.7, 2.2Hz, 1H) , 8.10 (d, J=8.1Hz, 1H) , 7.57-7.47 (m, 2H) , 7.33-7.21 (m, 4H) , 7.08 (d, J=8.1Hz, 2H) , 4.68 (q, J=5.0Hz, 1H) , 4.53 (t, J=7.2Hz, 1H) , 4.04 (dd, J=10.8, 5.4Hz, 1H) , 4.03-3.93 (m, 1H) , 3.25 (ddd, J=10.3, 9.2, 5.2Hz, H) , 3.71-3.65 (m, 1H) , 3.58-3.37 (m, 4H) , 3.27-3.20 (m, 4H) , 3.20-3.15 (m, 1H) , 3.14-3.05 (m, 2H) , 2.66 (q, J=7.5Hz, 1H) , 2.53 (t, J=7.2Hz, 2H) , 1.89-1.76 (m, 4H) , 1.76-1.64 (m, 2H) , 1.36 (s, 6H) , 1.42 (s, 9H) , 1.25 (d, J=5.0Hz, 3H) , 1.11 (s, 3H) .

[0434] 38的HCl盐的制备;

[0435] 将水中的4N HCl (6.0mL) 添加至乙醇 (3.0mL) 中的37 (240mg, 0.23mmol) 中并将反应混合物在40℃下搅拌8h。除去溶剂,添加额外的4N HCl并将混合物在40℃下加热另外8h。除去溶剂,混合物通过反相色谱 (Go1d柱) 纯化,并且将残余物冻干得到作为黄色固体的化合物38 (251mg, 64%) :

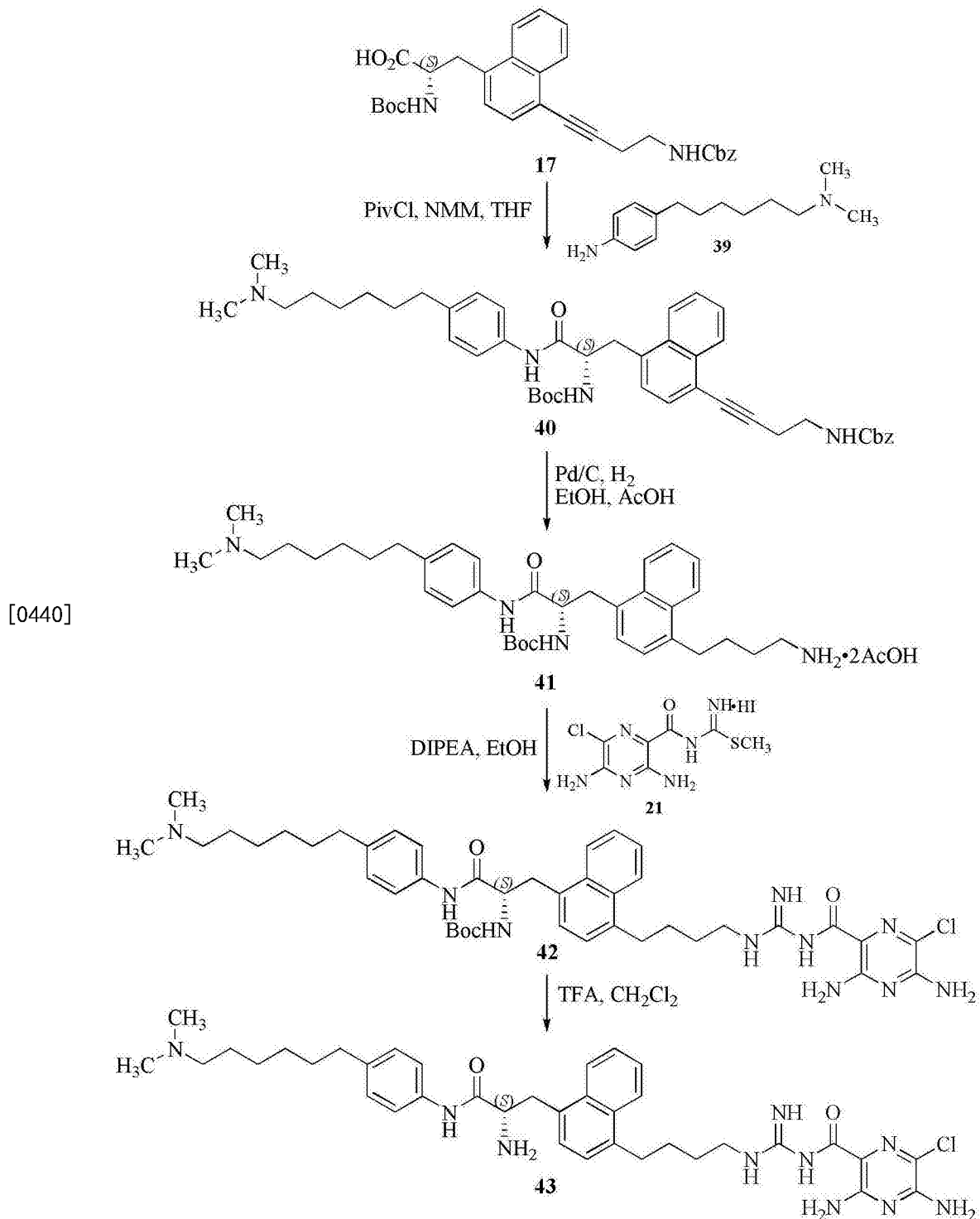
[0436]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$ 10.50 (brs, 1H), 9.28 (t,  $J=5.7\text{Hz}$ , 1H), 9.02-8.87 (m, 1H), 8.86-8.75 (m, 1H), 8.72-8.55 (m, 4H), 8.39-8.33 (m, 1H), 8.16-8.10 (m, 1H), 7.61-7.55 (m, 2H), 7.45-7.40 (m, 1H), 7.40 (d,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 7.34 (d,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 7.28 (d,  $J=7.4\text{Hz}$ , 1H), 7.14 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 5.38 (d,  $J=4.3\text{Hz}$ , 1H), 4.74 (d,  $J=4.9\text{Hz}$ , 1H), 4.64-4.51 (m, 2H), 4.49-4.35 (m, 1H), 4.30-4.20 (m, 2H), 3.94-3.86 (m, 1H), 3.70-3.64 (m, 1H), 3.63-3.52 (m, 3H), 3.51-3.34 (m, 6H), 3.15-2.98 (m, 3H), 2.98-2.81 (m, 3H), 2.58 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 1.96-1.85 (m, 2H), 1.79-1.61 (m, 4H).

[0437]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 8.26-8.20 (m, 1H), 8.19-8.14 (m, 1H), 7.60-7.53 (m, 2H), 7.38 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 7.33 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 7.28 (dd,  $J=8.4, 2.0\text{Hz}$ , 2H), 7.14 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 4.29 (t,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 4.07-4.00 (m, 1H), 3.83 (dd,  $J=9.8, 1.5\text{Hz}$ , 1H), 3.77 (dd,  $J=9.8, 2.6\text{Hz}$ , 1H), 3.73-3.64 (m, 5H), 3.37 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 3.21-3.11 (m, 4H), 3.06-2.96 (m, 2H), 2.66 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 2.03-1.94 (m, 2H), 1.90-1.75 (m, 4H).

[0438] 6. (S)-3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-(2-氨基-3-(4-(6-(二甲基氨基)己基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (43) 的制备

[0439] 方案7





[0441] 化合物40的制备；

[0442] 在冰浴中，将酸17 (880mg, 1.70mmol) 的THF (30mL) 溶液冷却至0℃。添加NMM (0.37mL, 3.40mmol)，随后添加PivCl (0.20mL, 1.70mmol)，并且将反应混合物在相同温度下搅拌2h。添加39 (375mg, 1.70mmol, 15mL THF) 并将反应混合物在相同温度下搅拌另外10分钟。反应混合物恢复至室温并搅拌16h。除去有机溶剂。向残余物中加入水并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×100mL) 萃取。合并有机层，经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥，过滤并浓缩。残余物通过柱色谱 (氯仿中的4% 甲醇) 纯化，得到作为浅黄色固体的酰胺40 (719mg, 59%)：[M+H]<sup>+</sup>720。

[0443] 化合物41的制备;

[0444] 将40 (719mg, 1.00mmol) 和10%Pd/C (300mg) 在EtOH (110mL) 和AcOH (20mL) 混合物中的混悬液脱气并在室温下处于氢化条件 (1atm) 16h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液, 得到作为黄色固体的胺盐41 (660mg, 93%):  $[M+H]^+$  589。

[0445] 化合物42的制备;

[0446] 室温下, 向胺41 (660mg, 0.93mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (21, 650mg, 1.67mmol) 的EtOH (10mL) 溶液中加入DIPEA (1.66mL, 9.3mmol)。在密封管中于70°C下将反应混合物加热2h, 冷却至室温并在真空下浓缩。残余物通过硅胶柱色谱 (80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化, 得到作为黄色固体的胍42 (370mg, 50%):  $[M+H]^+$  801

[0447] 化合物43 (S)-3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-(2-氨基-3-(4-(6-(二甲基氨基)己基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺的HCl盐的制备

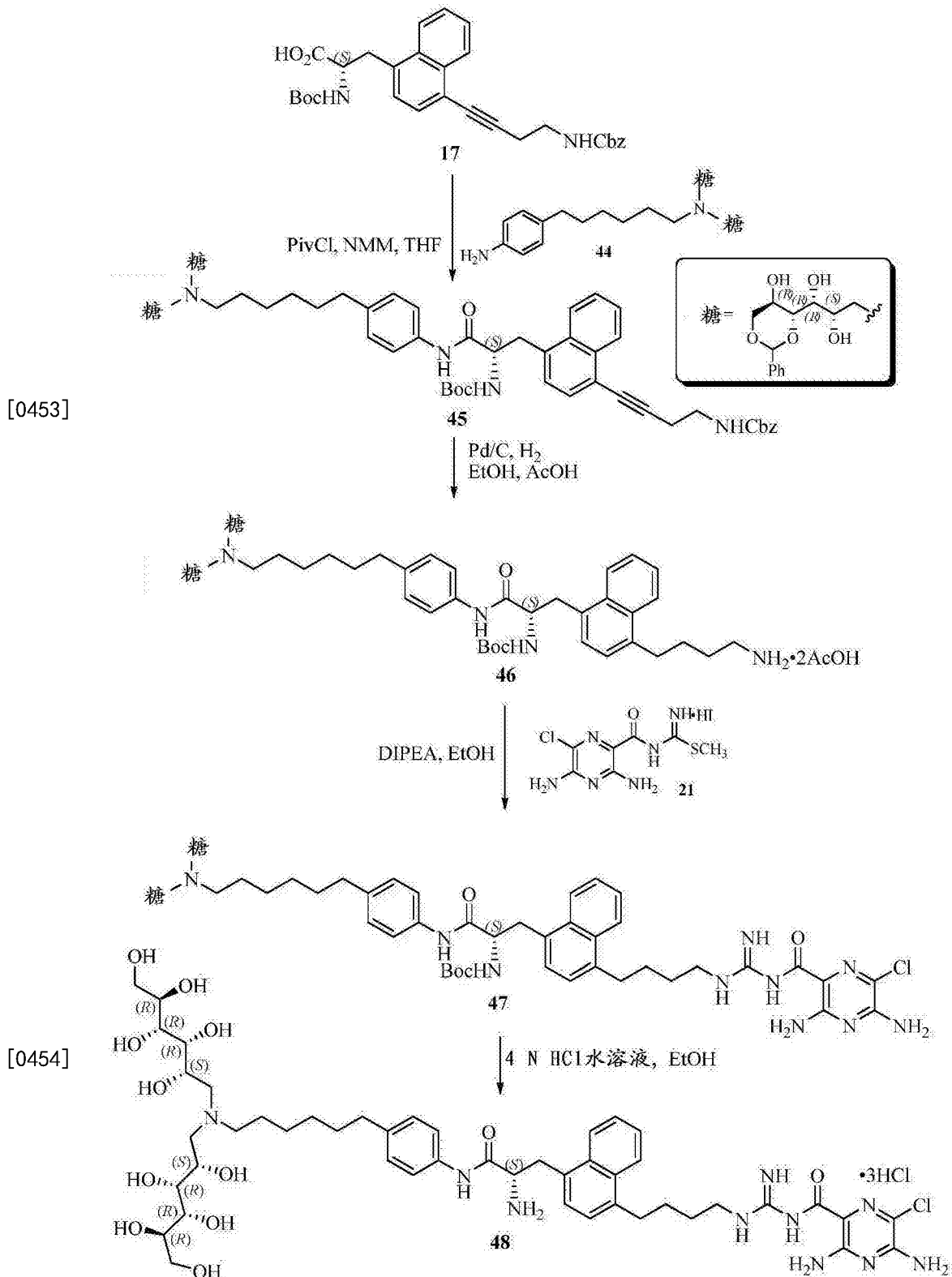
[0448] 将TFA (10mL) 添加至CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10mL) 中的42 (370mg, 0.46mmol) 中并将反应混合物在室温下搅拌2h。除去溶剂并添加1N HCl, 除去溶剂。混合物通过反相色谱 (Gold柱) 纯化并且将残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物43 (290mg, 92%):

[0449] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ10.39 (brs, 2H), 9.25 (brs, 1H), 9.02-8.87 (m, 1H), 8.86-8.73 (m, 2H), 8.71-8.44 (m, 2H), 8.35 (brs, 1H), 8.13 (dd, J=6.8, 3.8Hz, 1H), 7.58 (dd, J=6.5, 3.2Hz, 2H), 7.42 (brs, 2H), 7.35 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.33 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.27 (d, J=7.3Hz, 1H), 7.11 (d, J=8.4Hz, 2H), 4.26-4.18 (m, 1H), 3.65-3.48 (m, 2H), 3.39-3.32 (m, 3H), 3.06 (t, J=6.5Hz, 2H), 2.99-2.91 (m, 2H), 2.69 (s, 6H), 1.77-1.56 (m, 6H), 1.52 (t, J=8.2Hz, 2H), 1.34-1.21 (m, 4H)。

[0450] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ8.22-8.17 (m, 1H), 8.16-8.12 (m, 1H), 7.58-7.51 (m, 2H), 7.36 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.30 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.19 (d, J=8.04Hz, 2H), 7.05 (d, J=8.3Hz, 2H), 4.24 (t, J=8.2Hz, 1H), 3.70-3.58 (m, 2H), 3.33 (t, J=6.9Hz, 2H), 3.14 (t, J=7.4Hz, 2H), 3.09-3.03 (m, 2H), 2.84 (s, 6H), 2.53 (t, J=8.6Hz, 2H), 1.88-1.73 (m, 4H), 1.72-1.63 (m, 2H), 1.61-1.52 (m, 2H), 1.41-1.32 (m, 4H)。

[0451] 7. 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(6-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)己基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺的制备

[0452] 方案8



100mL) 洗涤。合并有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。残余物通过柱色谱(氯仿中的4%甲醇)纯化,得到作为浅黄色固体的酰胺45(2.00g,不纯的): [M+H]<sup>+</sup>1196。

[0457] 化合物46的制备;

[0458] 将45(2.00g,不纯的)和10%Pd/C(400mg)在EtOH(120mL)和AcOH(20mL)混合物中的混悬液脱气并在室温下处于氢化条件(1atm)16h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液,得到胺盐46,其用NaHCO<sub>3</sub>中和,并且将粗制产物通过硅胶快速色谱(CMA,80:18:2)纯化,得到作为黄色固体的游离胺46(500mg,经过两个步骤为27%): [M+H]<sup>+</sup>1067。

[0459] 化合物47的制备;

[0460] 室温下,向胺46(500mg,0.47mmol)和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯(21,330mg,0.84mmol)的EtOH(20mL)溶液加入DIPEA(0.84mL,94.70mmol)。在密封管中于70℃下将反应混合物加热2h,冷却至室温并在真空下浓缩。残余物通过硅胶柱色谱(80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH)纯化,得到作为黄色固体的胍47(325mg,55%): [M+H]<sup>+</sup>1278。

[0461] 化合物48 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(6-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)己基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺HCl盐的制备

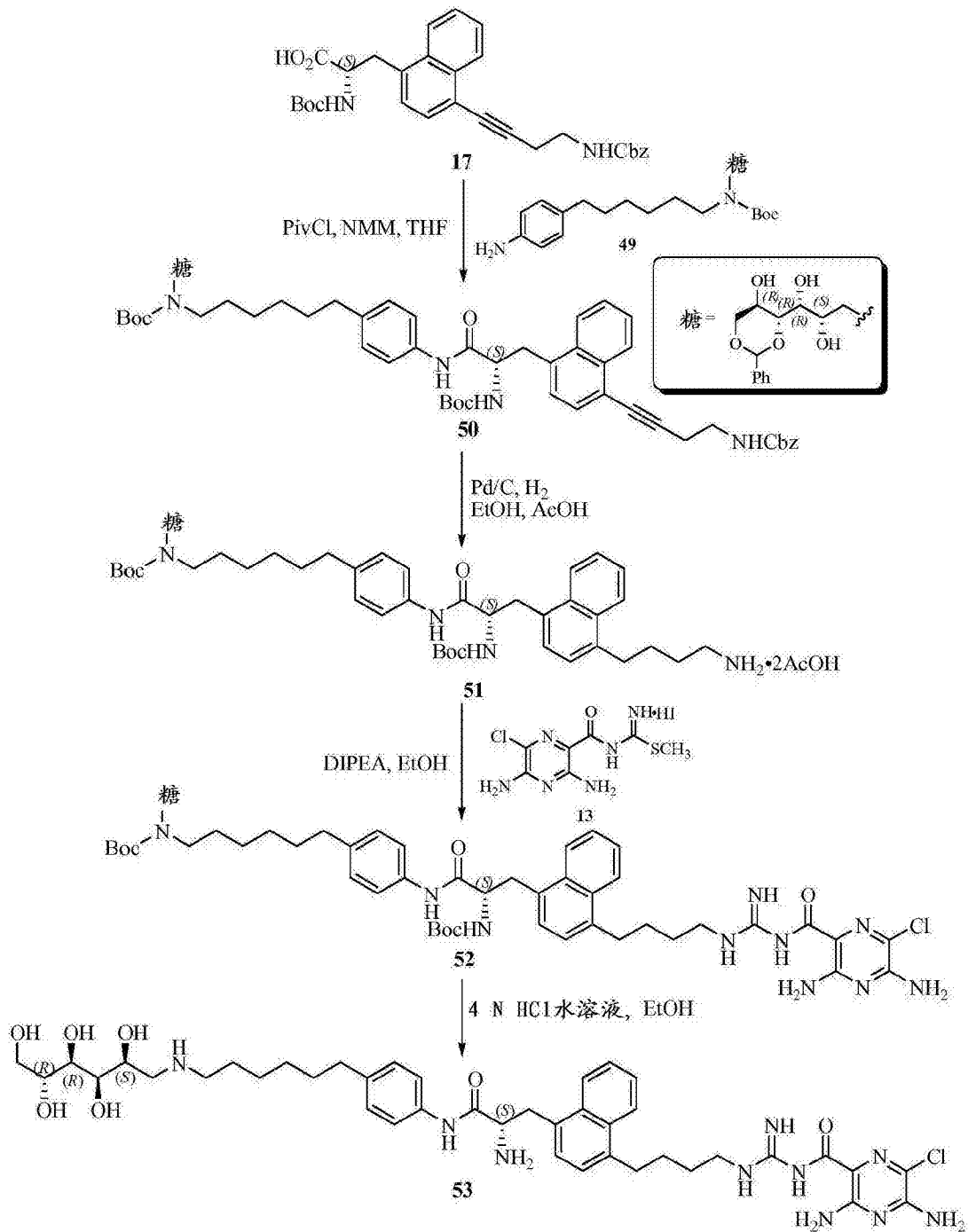
[0462] 将水中的4N HCl(20m)添加至EtOH(2.0mL)中的47(325mg,0.25mmol)中并将反应混合物在室温下搅拌2h。除去溶剂,混合物通过反相色谱(Gold柱)纯化,并且将残余物冻干,得到作为黄色固体的化合物48(165mg,60%):

[0463] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>): δ10.52(brs,1H),10.44(brs,1H),9.28(t,J=5.2Hz,1H),9.00-8.88(m,1H),8.87-8.75(m,1H),8.63(brs,2H),8.60-8.50(m,1H),8.39-8.33(m,1H),8.17-8.11(m,1H),7.58(dd,J=6.5,3.3Hz,2H),7.47-7.35(m,2H),7.36(d,J=8.7Hz,2H),7.33(d,J=6.8Hz,1H),7.27(d,J=3.6Hz,1H),7.11(d,J=8.8Hz,2H),3.72-3.66(m,3H),3.60(d,J=3.6Hz,1H),3.57(d,J=2.8Hz,1H),3.53-3.46(m,3H),3.45-3.38(m,3H),3.37-3.27(m,4H),3.26-3.12(m,4H),3.06(t,J=8.5Hz,2H),1.76-1.60(m,6H),1.58-1.47(m,2H),1.35-1.23(m,4H)。

[0464] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CD<sub>3</sub>OD): δ8.23-8.18(m,1H),8.17-8.12(m,1H),7.59-7.52(m,2H),7.36(d,J=7.8Hz,1H),7.31(d,J=7.2Hz,1H),7.18(d,J=8.2Hz,2H),7.04(d,J=8.2Hz,2H),4.25(t,J=7.8Hz,1H),4.18-4.10(m,2H),3.83-3.79(m,2H),3.77(d,J=3.1Hz,1H),3.74(d,J=3.5Hz,1H),3.71-3.60(m,8H),3.49-3.41(m,2H),3.40-3.33(m,4H),3.32-3.30(m,1H),3.25-3.19(m,1H),3.18-3.10(m,2H),2.52(t,J=7.4Hz,2H),1.88-1.69(m,6H),1.62-1.53(m,2H),1.44-1.30(m,4H)。

[0465] 8. 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-氧代-3-(4-(6-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基氨基)己基)苯基氨基)丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺的制备

[0466] 方案9



[0468] 化合物50的制备；

[0469] 在冰浴中，将酸17 (950mg, 1.84mmol) 的THF (30mL) 溶液冷却至0℃。添加NMM (0.40mL, 3.68mmol)，随后添加PivCl (0.23mL, 1.84mmol) 并将反应混合物在相同温度下搅拌2h。添加49 (800mg, 1.47mmol, 10mL THF) 并将反应混合物在相同温度下搅拌另外10分钟。反应混合物恢复至室温并搅拌16h。除去有机溶剂，向残余物加入水并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×100mL) 萃取。合并有机层，经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥，过滤并浓缩。残余物通过柱色谱(氯仿中的4%甲醇)纯化，得到浅黄色固体的酰胺50 (1.40g, 不纯的)：[M+H]<sup>+</sup>1043。

[0470] 化合物51的制备；

[0471] 将50 (1.40g, 不纯的) 和10%Pd/C (400m) 在EtOH (120mL) 和AcOH (20mL) 混合物中的

混悬液脱气并在室温下处于氢化条件(1atm) 16h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用 MeOH 洗涤塞子。在真空下浓缩滤液,得到直接用于下一个步骤的胍盐51 (1.20g,粗制):  $[M+H]^+913$ 。

[0472] 化合物52的制备;

[0473] 室温下,向胍51 (1.20g,0.47mmol,粗制) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (21,723mg,1.86mmol) 的 EtOH (20mL) 溶液加入 DIPEA (2.00mL,11.6mmol)。在密封管中于 70℃ 将反应混合物加热 2h,冷却至室温并在真空下浓缩。残余物通过硅胶柱色谱 (80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化,得到作为黄色固体的胍52 (500mg,24%经过三个步骤):  $[M+H]^+1125$ 。

[0474] 化合物53 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-氧代-3-(4-(6-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基氨基)己基)苯基氨基)丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺的 HCl 盐的制备

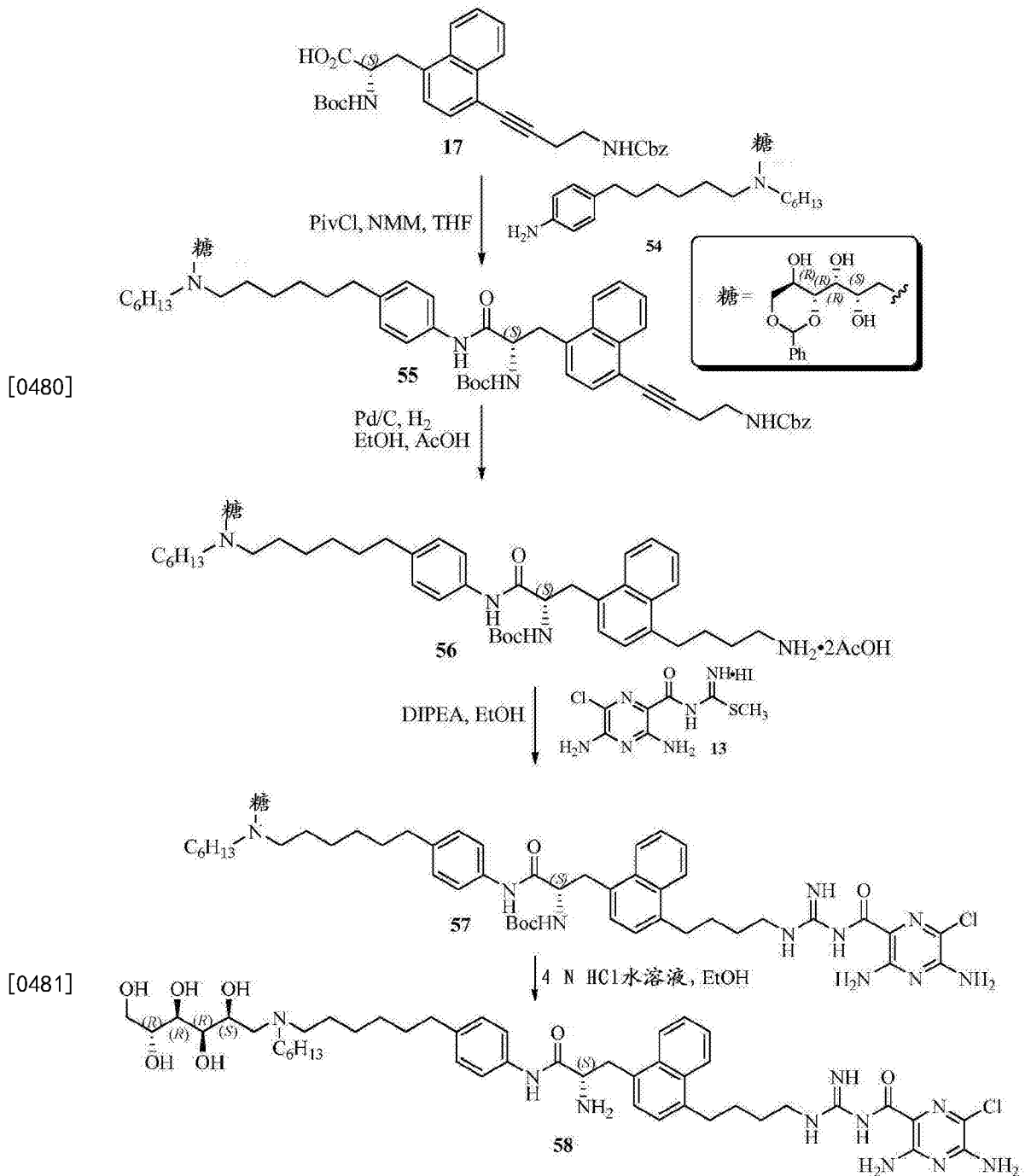
[0475] 将水中的 4N HCl (25mL) 添加至 52 (500mg,0.44mmol) 的 EtOH (5.0mL) 中并将反应混合物在室温下搅拌 2h。除去溶剂,混合物通过反相色谱 (Gold 柱) 纯化,并且将残余物冻干,得到作为黄色固体的化合物 53 (170mg,41%):

[0476] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 10.52 (brs, 1H), 10.45-10.41 (m, 1H), 9.31-9.24 (m, 1H), 9.02-8.89 (m, 1H), 8.88-8.76 (m, 1H), 8.70-8.58 (m, 3H), 8.57-8.46 (m, 2H), 8.40-8.31 (m, 1H), 8.17-8.10 (m, 1H), 7.62-7.54 (m, 2H), 7.42 (brs, 2H), 7.36 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.33 (d, J=6.7Hz, 1H), 7.27 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.11 (d, J=8.7Hz, 2H), 5.41-5.35 (m, 1H), 4.79-4.72 (m, 1H), 4.62-4.53 (m, 2H), 4.47-4.38 (m, 1H), 4.29-4.19 (m, 1H), 3.94-3.87 (m, 1H), 3.63-3.52 (m, 3H), 3.50-3.39 (m, 3H), 3.38-3.32 (m, 2H), 3.12-2.96 (m, 3H), 2.97-2.90 (m, 1H), 2.89-2.80 (m, 2H), 1.77-1.56 (m, 6H), 1.54-1.45 (m, 2H), 1.35-1.20 (m, 4H)。

[0477] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.24-8.20 (m, 1H), 8.19-8.14 (m, 1H), 7.60-7.53 (m, 2H), 7.38 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.33 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.24-7.18 (m, 2H), 7.07 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.31-4.22 (m, 1H), 4.08-4.01 (m, 1H), 3.84 (dd, J=4.8, 1.3Hz, 1H), 3.77 (dd, J=10.1, 2.5Hz, 1H), 3.71-3.62 (m, 5H), 3.36 (t, J=7.2Hz, 2H), 3.19-3.12 (m, 4H), 3.03-2.96 (m, 2H), 2.55 (t, J=7.7Hz, 2H), 1.90-1.74 (m, 4H), 1.73-1.64 (m, 2H), 1.63-1.53 (m, 2H), 1.45-1.31 (m, 4H)。

[0478] 9. 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(6-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)己基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺的制备

[0479] 方案10



中的混悬液脱气并在室温下处于氢化条件(1atm) 16h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液,得到作为黄色固体的胺盐56(780mg,99%): $[M+H]^+$  897。

[0486] 化合物57的制备;

[0487] 在室温下,向胺盐56(780mg,0.75mmol)和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯(21,466mg,1.20mmol)的EtOH(20mL)溶液中加入DIPEA(1.37mL,7.67mmol)。在密封管中于70℃将反应混合物加热2h,冷却至室温并在真空下浓缩。残余物通过硅胶柱色谱(80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH)纯化,得到作为黄色固体的胍57(455mg,55%): $[M+H]^+$ 1110。

[0488] 化合物58 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(6-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)己基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺HCl盐的制备

[0489] 将水中的4N HCl(25mL)添加至57(455mg,0.41mmol)的乙醇(10mL)中并将反应混合物在室温下搅拌2h。混合物通过反相色谱(Gold柱)纯化并且将残余物冻干,得到作为黄色固体的化合物58(230mg,55%):

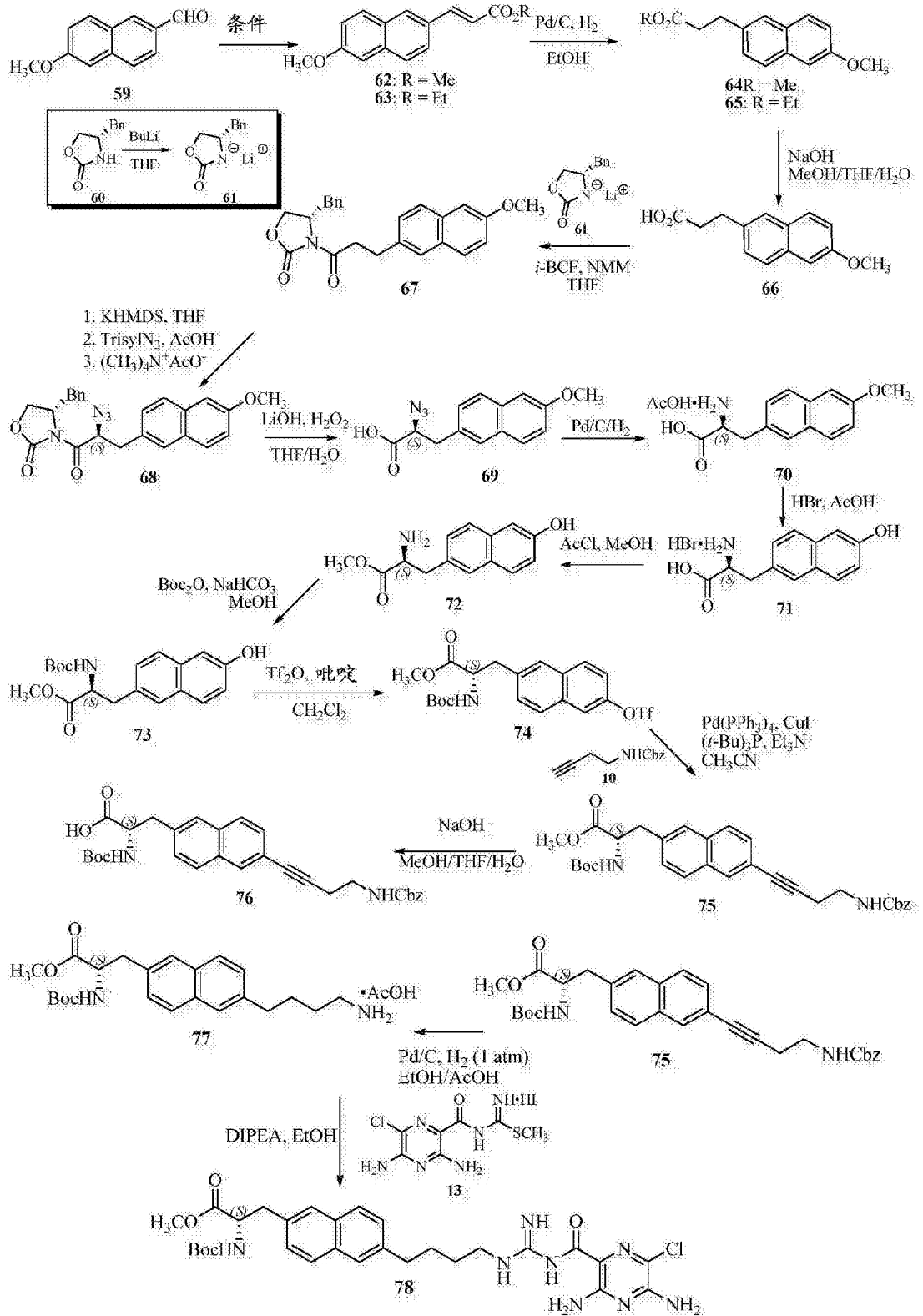
[0490] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>): $\delta$ 10.45(brs,1H),9.30(brs,1H),9.09-8.49(m,3H),8.41-8.32(m,1H),8.16-8.08(m,1H),7.62-7.52(m,2H),7.42(brs,2H),7.37(t,J=8.4Hz,2H),7.32(d,J=7.8Hz,1H),7.27(d,J=7.2Hz,1H),7.10(d,J=8.1Hz,2H),5.52-5.36(m,1H),4.87-4.70(m,1H),4.63-4.51(m,2H),4.47-4.38(m,1H),4.23(t,J=6.7Hz,1H),4.03-3.94(m,1H),3.71-3.66(m,1H),3.65-3.52(m,2H),3.50-3.34(m,5H),3.21(d,J=3.2Hz,1H),3.12(d,J=3.2Hz,1H),3.09-2.96(m,6H),1.77-1.58(m,8H),1.57-1.46(m,2H),1.35-1.21(m,10H),0.86(t,J=6.4Hz,3H)。

[0491] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 8.26-8.20(m,1H),8.19-8.12(m,1H),7.60-7.51(m,2H),7.38(d,J=7.2Hz,1H),7.32(d,J=7.4Hz,1H),7.21(d,J=8.3Hz,2H),7.06(d,J=8.5Hz,2H),4.26(t,J=7.4Hz,1H),4.16-4.09(m,1H),3.82(dd,J=5.0,1.5Hz,1H),3.78(dd,J=11.3,3.2Hz,1H),3.72-3.61(m,6H),3.35(t,J=6.7Hz,2H),3.24-3.11(m,7H),2.54(t,J=7.4Hz,2H),1.90-1.67(m,8H),1.64-1.54(m,2H),1.44-1.30(m,10H),0.92(t,J=6.7Hz,3H)。

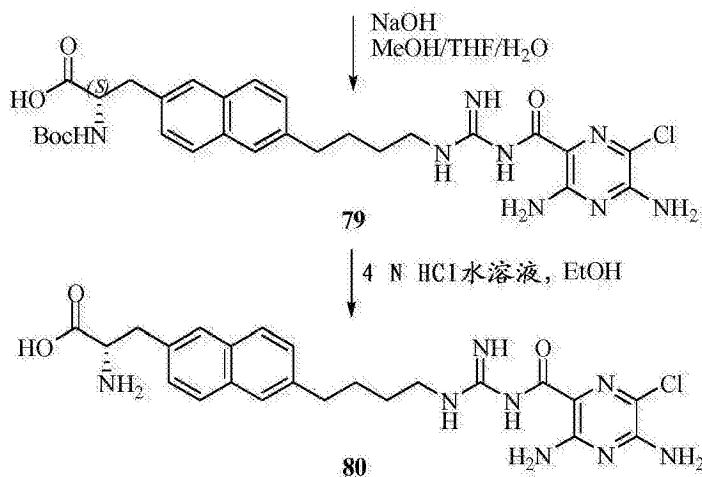
[0492] 10. (S)-2-氨基-3-(6-(4-(3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基)胍基)丁基)萘-2-基)丙酸(80)的制备

[0493] 方案11





[0494]



[0495]

[0496] 化合物62的制备；

[0497] 在氮气氛下，将适当的Wittig内盐(ylide)羰基甲氧基亚甲基三苯基膦烷( $\text{Ph}_3\text{PCHCO}_2\text{Me}$ , 43.0g, 129mmol)添加至醛59 (20.0g, 107mmol)的 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200mL)溶液中并将反应混合物在环境温度下搅拌16h。TLC监测反应的完成(16h)。在减压下除去 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ，并且使用10%乙酸乙酯-己烷的FCC得到相应的作为白色固体的反式- $\alpha, \beta$ -不饱和酯62 (24.0g, 92%)：

[0498]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.88-7.82 (m, 1H), 8.81 (d,  $J=15.8\text{Hz}$ , 1H), 7.73 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.70 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.61 (dd,  $J=8.8, 2.2\text{Hz}$ , 1H), 7.15 (dd,  $J=9.2, 2.2\text{Hz}$ , 1H), 7.11 (d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 1H), 6.49 (d,  $J=15.8\text{Hz}$ , 1H), 3.82 (s, 3H), 3.82 (s, 3H)。

[0499] 化合物62的制备(额外的路线)；

[0500] 向冷却至 $0^\circ\text{C}$ 的磷酰乙酸三甲酯(55.6mL, 381mmol)的250mL无水 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中添加DBU (48.8mL, 322mmol)并且将混合物搅拌15分钟。逐滴添加50mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中的醛59 (40.0g, 215mmol)。将反应混合物的温度恢复至室温并且将所得的反应混合物在室温下搅拌16h，并且用100mL的水淬灭。分配混合物并将水性层用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 150\text{mL}$ )萃取。组合的有机物用盐水、干燥的( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )洗涤，过滤，浓缩并且将残余物通过硅胶柱色谱(10:1己烷/乙酸乙酯)纯化，得到作为白色固体的期望的反式- $\alpha, \beta$ -不饱和酯62 (48.0g, 92%)。

[0501] 化合物64的制备；

[0502] 在室温下，将化合物62 (48.0g, 196mmol)和10%Pd/C (10g)的EtOAc/THF (600mL/75mL)混悬液处于氢化条件(1atm) 16h。反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。真空下浓缩滤液，得到作为白色固体的64 (46.5g, 96%)：

[0503]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.67 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 2H), 7.57-7.54 (m, 1H), 7.29 (dd,  $J=8.6, 1.8\text{Hz}$ , 1H), 7.12 (dd,  $J=8.8, 2.5\text{Hz}$ , 1H), 7.11-7.09 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.07 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 2.70 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H)。

[0504] 化合物66的制备；

[0505] 向甲酯64 (46.5g, 191mmol)的THF/MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (500mL/500mL/150mL)溶液中添加NaOH (45.6g, 114mmol)并且将反应混合物在室温下搅拌2h。除去溶剂并将pH值用1N HCl水溶液调整至1；沉淀出白色固体。过滤固体，用水洗涤并在真空下干燥，得到作为白色固体的酸66 (42.5g, 97%)：

[0506]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.14 (brs, 1H), 7.73 (dd,  $J=9.5, 2.3\text{Hz}$ , 2H), 7.64-7.61 (m, 1H), 7.35 (dd,  $J=8.5, 1.5\text{Hz}$ , 1H), 7.26 (d,  $J=2.8\text{Hz}$ , 1H), 7.129 (dd,  $J=9.1, 2.5\text{Hz}$ , 1H), 3.85 (s, 3H), 2.94 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 2.60 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H).

[0507] 化合物67的制备;

[0508] 在 $-78^\circ\text{C}$ 下,向化合物60 (39.3g, 222mmol) 的无水THF (500mL) 溶液中逐滴添加正丁基锂 (110mL, 环己烷中的2M溶液) 并且将反应混合物搅拌1h, 得到化合物61的溶液。向化合物66 (42.5g, 185mmol) 的无水THF (1000mL) 的另一份溶液中添加NMM (26.3mL, 240mmol) 并且在 $-78^\circ\text{C}$ 下逐滴添加PivCl (27.3mL, 222mmol)。将反应混合物在相同温度下搅拌1分钟, 并且然后在 $-78^\circ\text{C}$ 下缓慢添加化合物66的制备溶液。将反应混合物搅拌另外10分钟, 然后恢复至 $0^\circ\text{C}$ 并搅拌1h, 随后在室温下搅拌30分钟, 用饱和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 淬灭, 浓缩以除去THF, 并且在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1000mL) 与水 (1000mL) 之间分配。分离水层并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $2 \times 1000\text{mL}$ ) 萃取。合并的有机萃取物经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥并浓缩。残余物通过柱色谱 (硅胶,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) 纯化, 得到作为白色固体的化合物67 (45.0g, 63%):

[0509]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.68 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H), 7.64-7.61 (m, 1H), 7.31 (dd,  $J=8.5, 1.8\text{Hz}$ , 1H), 7.33-7.24 (m, 4H), 7.17-7.12 (m, 2H), 7.11-7.09 (m, 1H), 4.69-4.61 (m, 1H), 4.15 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 4.13 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.46-3.21 (m, 3H), 3.20-3.08 (m, 2H), 2.74 (dd,  $J=13.6, 9.4\text{Hz}$ , 1H).

[0510] 化合物68的制备;

[0511] 在 $-78^\circ\text{C}$ 下,向化合物67 (45.0g, 116mmol) 的无水THF (700mL) 溶液中逐滴添加KHMDS (34.6g, 174mmol)。在所得的混合物被搅拌30分钟之后, 添加三异丙基苯磺酰叠氮化物 (trisyl azide) (53.6g, 174mmol) 并将反应混合物搅拌5分钟。然后, 在相同温度下缓慢地添加乙酸 (69.6mL, 1158mmol), 随后添加四甲基乙酸铵 (30.9g, 232mmol)。将反应混合物加热至 $24^\circ\text{C}$ , 搅拌16h, 用饱和 $\text{NaHCO}_3$  (300mL) 淬灭, 浓缩以除去THF并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $2 \times 500\text{mL}$ ) 萃取。合并的有机萃取物经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥并浓缩。残余物通过柱色谱 (硅胶, 10:90 EtOAc/己烷, 随后是DCM) 纯化, 得到作为黄色固体的化合物68 (31.0g, 62%):

[0512]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.70 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 2H), 7.68-7.65 (m, 1H), 7.40 (dd,  $J=8.6, 1.8\text{Hz}$ , 1H), 7.36-7.23 (m, 3H), 7.20 (d,  $J=1.8\text{Hz}$ , 1H), 7.19-7.17 (m, 1H), 7.13 (dd,  $J=9.0, 2.6\text{Hz}$ , 1H), 7.10 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 5.36 (dd,  $J=9.0, 6.0\text{Hz}$ , 1H), 4.58-4.50 (m, 1H), 4.11 (dd,  $J=9.1, 2.6\text{Hz}$ , 1H), 3.90 (s, 3H), 3.91 (t,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 3.34 (dd,  $J=13.8, 6.5\text{Hz}$ , 1H), 3.30 (dd,  $J=13.0, 3.5\text{Hz}$ , 1H), 3.19 (dd,  $J=13.4, 8.6\text{Hz}$ , 1H), 2.81 (dd,  $J=13.4, 9.5\text{Hz}$ , 1H).

[0513] 化合物69的制备;

[0514] 在 $0^\circ\text{C}$ 下,向化合物68 (31.0g, 72.1mmol) 的THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (300mL/100mL) 溶液中逐滴添加 $\text{H}_2\text{O}_2$  (49mL, 433mmol), 随后添加LiOH (6.04g, 144mmol)。将反应混合物在相同温度下搅拌10分钟, 随后在室温下搅拌1hr, 然后用饱和 $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (200mL) 淬灭, 减压下浓缩以除去THF并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (500mL) 洗涤。水层用1N HCl水溶液酸化并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $2 \times 500\text{mL}$ ) 萃取。合并的有机萃取物经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 浓缩并用MTBE洗涤, 得到作为灰白色固体的化合物69 (15.0g, 82%):

[0515]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, MeOD- $d_3$ )  $\delta$  7.70 (t,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 7.66-7.63 (m, 1H), 7.35 (dd,  $J=8.6, 1.7\text{Hz}$ , 1H), 7.19 (d,  $J=2.8\text{Hz}$ , 1H), 7.10 (dd,  $J=9.1, 2.6\text{Hz}$ , 1H), 4.25 (dd,  $J=8.6,$

5.3Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.29 (dd, J=13.9, 5.1Hz, 1H), 3.10 (dd, J=14.3, 8.6Hz, 1H).

[0516] 化合物70的制备;

[0517] 在室温下,将化合物69 (15.0g, 55.1mmol) 和10%Pd/C (3.50g) 的AcOH/H<sub>2</sub>O (300mL/100mL) 混悬液处于氢化条件 (1atm) 3h。反应混合物通过硅藻土过滤并用AcOH/H<sub>2</sub>O洗涤,随后用MeOH洗涤。真空下浓缩滤液,得到作为黄色固体的乙酸盐70 (14.0g, 83%):

[0518] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, TFA) δ 8.38-8.18 (m, 3H), 7.78 (dd, J=11.4, 8.1Hz, 2H), 7.75-7.70 (m, 1H), 7.41 (dd, J=8.6, 1.6Hz, 1H), 7.29 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.18 (dd, J=8.8, 2.4Hz, 1H), 4.33-4.23 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.33 (dq, J=14.5, 5.9Hz, 2H), 1.92 (s, 3H).

[0519] 化合物71的制备;

[0520] 在室温下向化合物70 (14.0g, 45.9mmol) 的乙酸 (140mL) 溶液中逐滴添加氢溴酸 (140mL) 并将反应混合物回流3h。将反应混合物冷却至室温并浓缩。粗制棕色残余物71 (12.4g, 87%) 在没有任何纯化下直接用于下一个步骤:

[0521] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13.83 (brs, 1H), 9.71 (brs, 1H), 8.41 (brs, 1H), 8.25 (brs, 2H), 7.67 (dd, J=13.8, 8.7Hz, 2H), 7.64-7.61 (m, 1H), 7.29 (dd, J=8.6, 1.7Hz, 1H), 7.13-7.05 (m, 2H), 4.29-4.19 (m, 1H), 3.20 (t, J=5.5Hz, 2H).

[0522] 化合物72的制备;

[0523] 在0℃下,将乙酰氯 (38.4mL, 540mmol) 添加至无水甲醇 (400mL) 中,并且然后添加化合物71 (24.0g, 77.2mmol)。将反应混合物回流4h并浓缩。残余物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500mL) 与饱和NaHCO<sub>3</sub> (300mL) 之间分配。分离水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×300mL) 萃取。合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩,得到作为白色固体的化合物72 (16.6g, 88%):

[0524] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.62 (brs, 1H), 7.67 (d, J=9.4Hz, 1H), 7.58 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.22 (dd, J=8.2, 1.4Hz, 1H), 7.09-7.06 (m, 1H), 7.04 (dd, J=8.8, 2.6Hz, 1H), 3.67 (t, J=6.5Hz, 1H), 3.57 (s, 3H), 2.97 (dd, J=13.5, 6.1Hz, 1H), 2.86 (dd, J=13.2, 7.4Hz, 1H), 1.90 (brs, 2H).

[0525] 化合物73的制备;

[0526] 在0℃下,向化合物72 (16.6g, 67.8mmol) 的MeOH/H<sub>2</sub>O (360mL/120mL) 溶液添加NaHCO<sub>3</sub> (22.8g, 271mmol) 和Boc<sub>2</sub>O (17.7g, 81.3mmol)。将所得的混合物加热至室温并搅拌1h。反应混合物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200mL) 与水 (200mL) 之间分配。分离水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×400mL) 萃取。合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩。使用20%乙酸乙酯-己烷随后使用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>的FCC得到作为白色固体的化合物73 (17.0g, 73%):

[0527] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.60 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.51 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.49-7.43 (m, 1H), 7.15 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.09-6.99 (m, 2H), 6.31 (brs, 1H), 5.15-4.84 (m, 1H), 4.73-4.46 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.23 (dd, J=13.7, 5.3Hz, 1H), 3.14 (dd, J=13.7, 5.5Hz, 1H), 1.39 (s, 9H).

[0528] 化合物74的制备

[0529] 在0℃下,向化合物73 (7.0g, 20.3mmol) 的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300mL) 溶液添加吡啶 (16.5mL, 203mmol) 和三氟甲基磺酸酯 (5.11mL, 30.4mmol) 并在相同温度下搅拌1h,随后在室温下搅拌2h。浓缩之后,反应混合物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300mL) 与水 (200mL) 之间分配。分离水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×300mL) 萃取。合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩,得到作为棕色油状

物的化合物74 (8.80g, 91%) (由NMR确定存在吡啶)。通过使用LC-MS监测反应并且产物组成由LM-MS数据来确定:

[0530]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7.85 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 7.80 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.71 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 1H), 7.66-7.63 (m, 1H), 7.37 (ddd,  $J=10.0, 7.3, 2.0\text{Hz}$ , 2H), 5.12-5.03 (m, 1H), 4.73-4.61 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.32 (dd,  $J=13.3, 5.3\text{Hz}$ , 1H), 3.20 (dd,  $J=13.3, 6.2\text{Hz}$ , 1H), 1.38 (s, 9H).

[0531] 化合物75的制备:

[0532] 室温下, 将化合物74 (16.5g, 34.6mmol) 和丁-3-炔基氨基甲酸苄酯 (17, 10.4g, 51.9mmol) 的无水 $\text{CH}_3\text{CN}$  (450mL) 用氩气脱气10分钟, 然后在室温下添加TEA (19.3mL, 138mmol)、己烷中的10% (t-Bu) $_3\text{P}$  (13.9mL, 6.91mmol) 和CuI (0.33g, 1.72mmol)。将所得的混合物用氩气脱气10分钟并一次性迅速地添加Pd (PPh $_3$ ) $_4$  (3.99g, 3.45mmol)。在用氩气脱气5分钟之后, 将所得的混合物回流18h。在真空下浓缩反应混合物并且通过柱(硅胶, 75:25己烷/EA) 纯化残余物, 得到作为棕色固体的化合物75 (14.1g, 77%):

[0533]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.86 (brs, 1H), 7.68 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.53 (brs, 1H), 7.41 (dd,  $J=8.5, 1.6\text{Hz}$ , 1H), 7.38-7.28 (m, 5H), 7.27-7.22 (m, 1H), 5.26-5.17 (m, 1H), 5.13 (s, 2H), 5.06-4.99 (m, 1H), 4.70-4.59 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.46 (q,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 3.27 (dd,  $J=14.1, 5.9\text{Hz}$ , 1H), 3.16 (dd,  $J=13.2, 6.2\text{Hz}$ , 1H), 2.67 (t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 2H), 1.38 (s, 9H).

[0534] 化合物76的制备:

[0535] 向甲酯75 (12.1g, 22.8mmol) 的THF/MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (150mL/150mL/50mL) 溶液添加NaOH (4.56g, 114mmol) 并将反应混合物在室温下搅拌2h。将pH值用1N HCl水溶液调整至9并除去有机溶剂。将残余物的pH值调整到5至6, 并且混悬液在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (500mL) 与水 (200mL) 之间分配。分离水层并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 $\times$ 400mL) 萃取。合并的有机萃取物经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥并浓缩, 得到作为棕色固体的化合物76 (10.50g, 89%):

[0536]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.83 (s, 1H), 7.73-7.61 (m, 3H), 7.44-7.19 (m, 7H), 5.10 (s, 2H), 4.42-4.34 (m, 1H), 3.41-3.32 (m, 3H), 3.06 (dd,  $J=14.3, 9.3\text{Hz}$ , 1H), 2.64 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.31 (s, 7H), 1.21 (s, 2H).

[0537] 化合物77的制备; SG-SJL-B-27

[0538] 将75 (2.0g, 3.77mmol) 和10% Pd/C (500mg) 在EtOH (90mL) 和AcOH (10mL) 混合物中的混悬液脱气并且然后在室温下处于氢化条件 (1atm) 16h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。真空下浓缩滤液, 得到作为白色固体的胺盐77 (1.60mg, 93%):

[0539]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.73 (d,  $J=8.5$ , 1H), 7.72 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.62 (brs, 2H), 7.73 (ddd,  $J=10.0, 8.7, 2.7\text{Hz}$ , 2H), 4.44 (dd,  $J=8.8, 5.6\text{Hz}$ , 1H), 3.68 (s, 3H), 3.25 (dd,  $J=14.0, 6.6\text{Hz}$ , 1H), 3.04 (dd,  $J=13.5, 9.2\text{Hz}$ , 1H), 2.93 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 2.83 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 1.96 (s, 6H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.74-1.68 (m, 2H), 1.33 (s, 7H), 1.26 (s, 2H).

[0540] 化合物78的制备; SG-SJL-B-30

[0541] 在室温下, 向胺盐77 (1.60g, 3.47mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13, 2.16g, 5.56mmol) 的EtOH (40mL) 溶液中添加DIPEA (6.20mL, 34.70mmol)。在密封管中70 $^\circ\text{C}$ 下将反应混合物加热1h, 然后冷却至室温并在真空中浓缩。残余物通过柱色谱

(硅胶80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化,得到作为黄色固体的胍78 (1.24g, 59%) :

[0542] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ7.71 (dd, J=8.4, 2.8Hz, 2H) , 7.60 (brs, 2H) , 7.34 (dd, J=8.5, 1.9Hz, 1H) , 7.30 (dd, J=8.7, 1.7Hz, 1H) , 4.45 (dd, J=8.9, 5.7Hz, 1H) , 3.68 (s, 3H) , 3.28-3.26 (m, 1H) , 3.25 (t, J=2.4Hz, 1H) , 3.22 (d, J=5.9Hz, 1H) , 3.04 (dd, J=14.0, 9.2Hz, 1H) , 2.82 (t, J=7.2Hz, 2H) , 1.86-1.77 (m, 2H) , 1.73-1.63 (m, 2H) , 1.32 (s, 7H) , 1.23 (s, 2H) .

[0543] 化合物79的制备;SG-SJL-B-32

[0544] 向甲酯78 (1.24g, 2.00mmol) 在THF (25mL) 、甲醇 (25mL) 和水 (10mL) 混合物中的溶液添加固体NaOH (324mg, 8.00mmol) 并将反应混合物在室温下搅拌1h.反应混合物的TLC显示反应的完成,然后将反应混合物的pH通过添加1N HCl (水溶液) 恢复到pH 9至10并且除去有机溶剂.将水性部分的pH调整到pH 5至6并出现沉淀,用二氯甲烷萃取.水性部分用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×50mL) 萃取.合并有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩.真空下干燥黄色的固体化合物 (79, 1.10g, 92%) :

[0545] <sup>1</sup>H NMR ((400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.70 (t, J=9.4, 2H) , 7.61 (d, J=5.3Hz, 2H) , 7.33 (dd, J=8.4, 1.4Hz, 2H) , 4.38 (dd, J=8.4, 5.1Hz, 1H) , 3.05 (dd, J=14.1, 9.1Hz, 1H) , 2.84 (t, J=6.9Hz, 2H) , 3.35-3.34 (m, 3H) , 1.88-1.79 (m, 2H) , 1.76-1.67 (m, 2H) , 1.32 (s, 7H) , 1.21 (s, 2H) .

[0546] 化合物80-(S)-2-氨基-3-(6-(4-(3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基) 胍基) 丁基) 萘-2-基) 丙酸的盐酸盐的制备

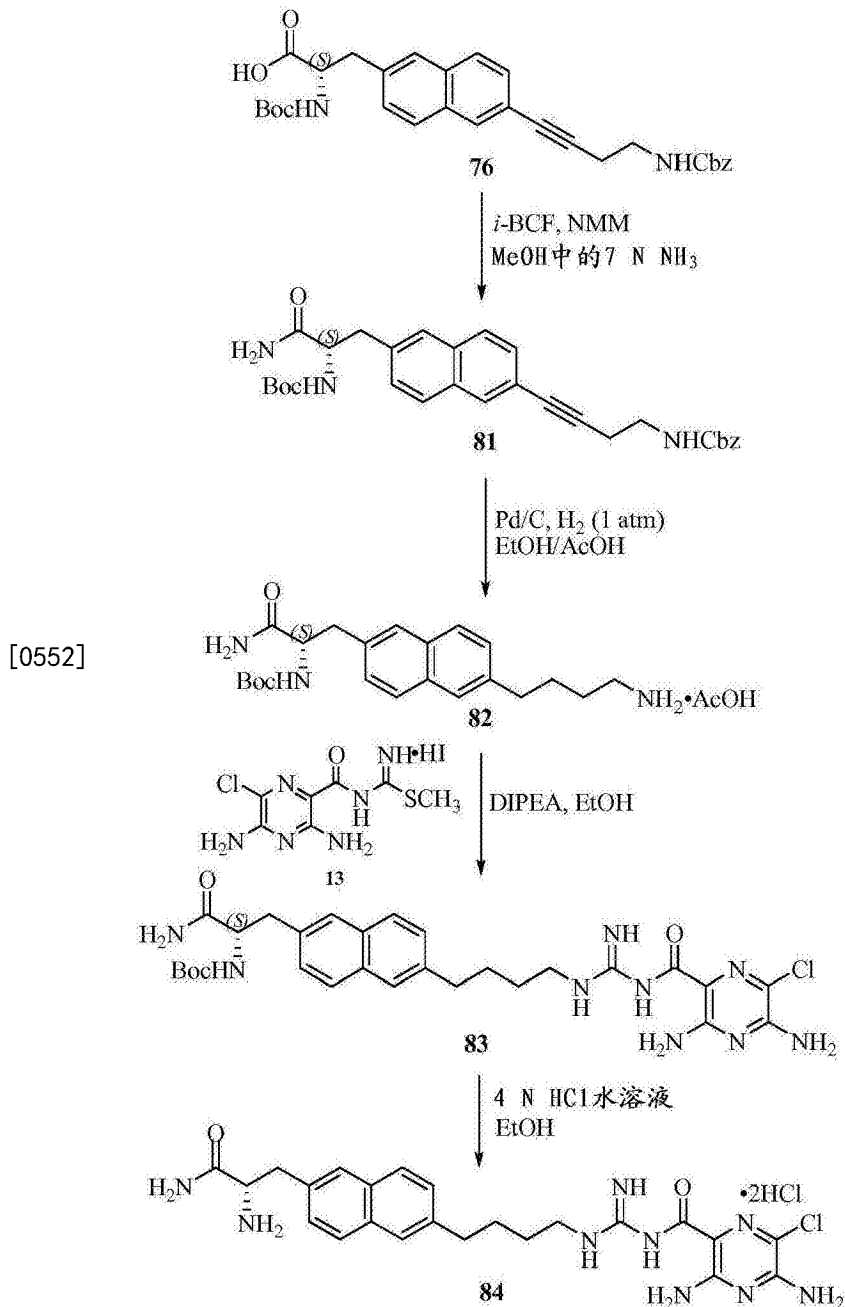
[0547] 将二氧六环中的4N HCl (25mL) 添加至EtOH (5.0mL) 中的79 (1.10g, 1.83mmol) 中并在室温下将反应混合物搅拌2h.除去溶剂,通过反相柱 (Go1d柱) 纯化并且将残余物冻干,得到作为黄色固体的化合物80 (700mg, 67%) :

[0548] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 10.48 (s, 1H) , 9.24 (brs, 1H) , 8.99-8.86 (m, 1H) , 8.84-8.70 (m, 1H) , 8.38 (brs, 3H) , 7.80 (t, J=9.2Hz, 2H) , 7.73 (s, 1H) , 7.69 (s, 1H) , 7.45-7.35 (m, 4H) , 4.25 (dd, J=11.4, 5.9Hz, 1H) , 3.34 (q, J=6.6Hz, 2H) , 3.27 (d, J=6.9Hz, 2H) , 2.79 (t, J=7.70Hz, 2H) , 1.79-1.67 (m, 2H) , 1.65-1.54 (m, 2H) .

[0549] <sup>1</sup>H NMR ((400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.82 (d, J=8.5Hz, 1H) , 7.78 (d, J=8.7Hz, 1H) , 7.73 (s, 1H) , 7.68 (s, 1H) , 7.40 (ddd, J=10.5, 8.6, 1.6Hz, 2H) , 4.33 (dd, J=7.7, 5.2Hz, 1H) , 3.46 (dd, J=14.9, 6.0Hz, 1H) , 3.37 (t, J=7.5Hz, 2H) , 3.33-3.29 (m, 1H) , 2.87 (t, J=7.7Hz, 2H) , 1.90-1.80 (m, 2H) , 1.79-1.71 (m, 2H) .

[0550] 11. (S)-3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(6-(2,3-二氨基-3-氧代丙基) 萘-2-基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺 (84) 的制备

[0551] 方案12



[0553] 化合物81的制备；

[0554] 在冰浴中，将酸76 (2.0g, 3.87mmol) 的THF (80mL) 溶液冷却至0℃，添加NMM (0.63mL, 5.03mmol)，随后逐滴添加*i*-BCF (0.63mL, 5.80mmol) 并将反应混合物在相同温度下搅拌2h。逐滴添加NH<sub>3</sub> (7.0N的甲醇, 5.52mL, 38.7mmol) 并将反应混合物在相同温度下搅拌另外2h。然后将反应混合物恢复至室温并搅拌16h。除去有机溶剂。向该残余物中添加水并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×100mL) 萃取。合并有机层，经Na<sub>2</sub>S<sub>4</sub>O干燥，过滤并浓缩。残余物通过柱色谱 (氯仿中的3%甲醇) 纯化，得到作为浅黄色固体的酰胺81 (1.75g, 88%)：

[0555] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.83 (s, 1H), 7.69 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.39 (dt, J=8.8, 1.9Hz, 2H), 7.35-7.21 (m, 5H), 5.09 (s, 2H), 4.40 (dd, J=9.6, 5.8Hz, 1H), 3.37 (t, J=6.9Hz, 2H), 3.27 (dd, J=13.8, 5.2Hz, 1H), 2.97 (dd, J=13.7, 9.4Hz, 1H), 2.63 (t, J=7.0Hz, 2H), 1.27 (s, 7H), 1.21 (s, 2H)。

[0556] 化合物82的制备;

[0557] 将81 (1.75mg, 3.39mmol) 和10%Pd/C (600mg) 在EtOH(110mL) 和AcOH(15mL) 混合物中的混悬液脱气并且然后在室温下处于氢化条件(1atm) 12h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空中浓缩滤液, 得到作为白色固体的胺盐82 (1.40g, 93%):

[0558]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.72 (dd,  $J=8.3, 5.6\text{Hz}$ , 2H), 7.66 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.38 (dd,  $J=8.6, 1.3\text{Hz}$ , 1H), 7.34 (dd,  $J=8.5, 1.5\text{Hz}$ , 1H), 4.38 (dd,  $J=9.0, 5.0\text{Hz}$ , 1H), 3.27 (dd,  $J=13.8, 5.0\text{Hz}$ , 1H), 2.93 (t,  $J=7.9\text{Hz}$ , 2H), 2.83 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 3.01-2.95 (m, 1H), 1.96 (s, 3H), 1.86-1.75 (m, 2H), 1.74-1.64 (m, 2H), 1.29 (s, 7H), 1.23 (s, 2H) .

[0559] 化合物83的制备;

[0560] 在室温下, 向胺盐82 (1.40g, 3.15mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13, 1.96g, 5.04mmol) 的EtOH(40mL) 溶液中添加DIPEA (5.64mL, 31.5mmol) 。在密封管中, 于70℃下将反应混合物加热2h, 然后冷却至室温并在真空中浓缩。残余物通过柱色谱(硅胶, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$ ) 纯化, 得到作为黄色固体的胍83 (1.15g, 61%):

[0561]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.70 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 2H), 7.64 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.34 (dt,  $J=8.9, 1.9\text{Hz}$ , 2H), 4.38 (dd,  $J=9.0, 5.5\text{Hz}$ , 1H), 3.28-3.20 (m, 3H), 2.96 (dd,  $J=9.6, 14.1\text{Hz}$ , 1H), 2.81 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 1.85-1.76 (m, 2H), 1.70-1.61 (m, 2H), 1.27 (s, 7H), 1.20 (s, 2H) .

[0562] 化合物(S)-3,5-二氨基-6-氯代-N-(N-(4-(6-(2,3-二氨基-3-氧代丙基) 萘-2-基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺 (84) 的HCl盐的制备

[0563] 将二氧六环中的4N HCl (25mL) 添加至EtOH (6.0mL) 中的83 (1.15g, 1.92mmol) 中并且将反应混合物在室温下搅拌2h。除去溶剂, 通过反相柱(Gold柱) 纯化并且将残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物84 (310mg, 28%):

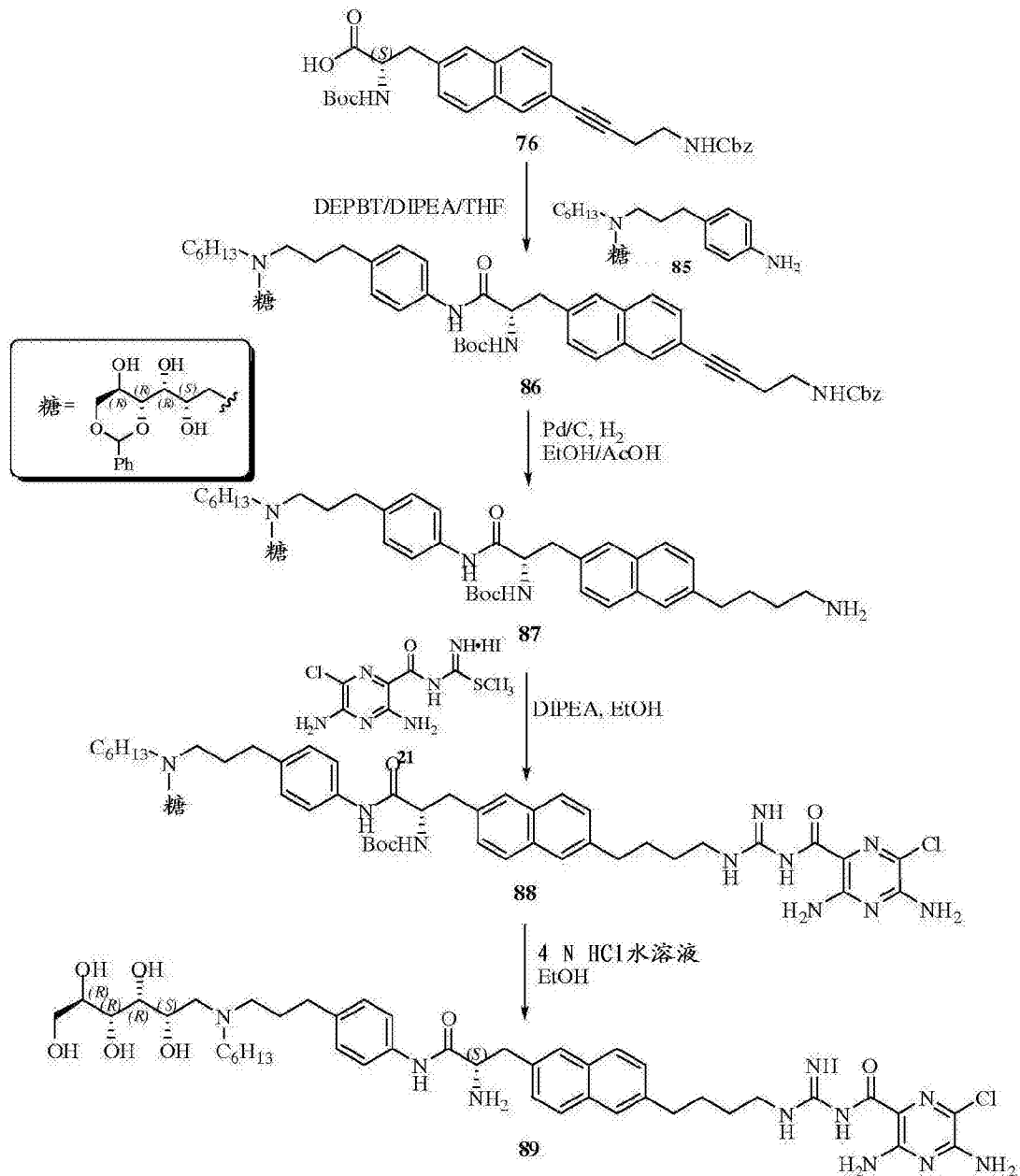
[0564]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 10.56 (s, 1H), 9.38 (t,  $J=5.5\text{Hz}$ , 1H), 9.06-8.83 (m, 2H), 8.31 (brs, 3H), 8.02 (s, 1H), 7.79 (t,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H), 7.73 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.46-7.36 (m, 4H), 4.06 (dd,  $J=11.5, 6.0\text{Hz}$ , 1H), 3.37 (q,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 3.27 (dd,  $J=6.6, 1.4\text{Hz}$ , 1H), 3.18 (dd,  $J=13.7, 6.9\text{Hz}$ , 1H), 2.79 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H), 1.79-1.69 (m, 2H), 1.64-1.54 (m, 2H) .

[0565]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.82 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 7.79 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.74 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.41 (td,  $J=8.1, 1.6\text{Hz}$ , 2H), 4.18 (dd,  $J=8.1, 6.3\text{Hz}$ , 1H), 3.42-3.34 (m, 3H), 3.21 (dd,  $J=14.1, 8.0\text{Hz}$ , 1H), 2.86 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 1.91-1.80 (m, 2H), 1.79-1.71 (m, 2H) .

[0566] 12. 3,5-二氨基-N-(N-(4-(6-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-2-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (89) 的制备

[0567] 方案13





[0568]

[0569] 化合物86的制备；

[0570] 向THF (50mL) 中的化合物85 (1.10g, 2.32mmol) 中依次添加DEPBT (766mg, 2.56mmol)、76 (1.00g, 1.97mmol) 和DIPEA (1.0mL, 5.91mmol) 并在室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂之后, 将残余物溶解在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 中, 用饱和水性水 (2×100mL) 和盐水 (50mL) 快速洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂并且粗制产物通过硅胶快速色谱 (5% 甲醇/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 纯化, 得到作为黄色固体产物的酰胺86 (1.19g, 57%) :

[0571] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 7.82 (d, J=5.8Hz, 2H), 7.73-7.61 (m, 4H), 7.51-7.43 (m, 2H), 7.39-7.19 (m, 10H), 7.05 (d, J=8.3Hz, 2H), 5.52 (s, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.51 (t, J=7.8Hz, 1H), 4.31-4.25 (m, 1H), 4.24 (dd, J=11.0, 5.4Hz, 1H), 4.01-3.91 (m, 2H), 3.88 (dd, J=5.5, 2.1Hz, 1H), 3.76 (dd, J=9.3, 2.1Hz, 1H), 3.61 (t, J=10.6Hz, 1H), 3.37 (t, J=6.9Hz, 2H), 3.12-3.00 (m, 1H), 2.74 (dd, J=13.2, 5.3Hz, 1H), 2.64 (t, J=7.1Hz, 2H), 2.57-2.37 (m, 7H), 1.74-1.64 (m, 2H), 1.31 (s, 9H), 1.29-1.16 (m, 8H), 0.86 (t, J=6.9Hz, 3H) .

[0572] 化合物87的制备;

[0573] 将86 (1.19g, 混合物) 和10%Pd/C (220mg) 在EtOH (110mL) 和AcOH (15mL) 混合物中的混悬液脱气并然后在室温下处于氢化条件 (1atm) 3h。反应混合物通过硅藻土塞子来过滤并用MeOH洗涤塞子。在真空下浓缩滤液, 得到胺盐87, 然后其用NaHCO<sub>3</sub>中和并且粗制产物通过硅胶快速色谱 (CMA, 80:18:2) 纯化, 得到作为黄色固体的游离胺87 (550mg, 58%, 经过两个步骤):

[0574] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.71 (t, J=8.4Hz, 2H), 7.62 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.49-7.45 (m, 3H), 7.40 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.36-7.28 (m, 5H), 7.09 (d, J=8.2Hz, 2H), 5.55 (s, 1H), 4.51 (dd, J=15.6, 8.4Hz, 1H), 4.25 (dd, J=10.6, 5.4Hz, 1H), 4.17-4.03 (m, 2H), 3.98-3.90 (m, 2H), 3.81-3.74 (m, 1H), 3.63 (t, J=10.4Hz, 1H), 3.27-3.20 (m, 1H), 3.09-2.98 (m, 5H), 2.93 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.83 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.61-2.54 (m, 2H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.74-1.65 (m, 2H), 1.57-1.47 (m, 2H), 1.39-1.19 (m, 7H), 1.33 (s, 9H), 0.88 (t, J=6.9Hz, 3H).

[0575] 88的制备;

[0576] 在室温下, 向胺87 (550mg, 0.65mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (21,400mg, 1.04mmol) 的EtOH (20mL) 溶液中添加DIPEA (1.15mL, 6.44mmol)。在密封管中于70°C下将反应混合物加热2h, 然后冷却至室温并在真空中浓缩。残余物通过硅胶柱色谱 (80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化, 随后通过反相柱 (Gold C18) 纯化, 得到作为黄色固体的胍88 (333mg, 48%):

[0577] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.69 (dd, J=8.6, 3.5Hz, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.48-7.44 (m, 2H), 7.35 (ddd, J=10.4, 8.6, 1.6Hz, 2H), 7.33-7.28 (m, 5H), 7.04 (d, J=8.3Hz, 2H), 5.52 (s, 1H), 4.52-4.55 (m, 1H), 4.24 (dd, J=10.6, 5.4Hz, 1H), 4.00-3.91 (m, 2H), 3.88 (dd, J=5.4, 2.0Hz, 1H), 3.75 (dd, J=9.6, 2.2Hz, 1H), 3.60 (t, J=10.6Hz, 2H), 3.28-3.23 (m, 3H), 3.06 (dd, J=13.5, 8.3Hz, 1H), 2.82 (t, J=7.0Hz, 2H), 2.77 (dd, J=13.9, 5.6Hz, 1H), 2.59-2.40 (m, 7H), 1.86-1.76 (m, 2H), 1.74-1.68 (m, 4H), 1.42-1.60 (m, 7H), 1.33 (s, 9H), 0.86 (t, J=7.1Hz, 3H).

[0578] 3,5-二氨基-N-(N-(4-(6-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-2-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺化合物的HCl盐 (89) 的制备;

[0579] 将水中的4N HCl (20mL) 添加至88 (333mg, 0.31mmol) 的乙醇 (10mL) 中并将反应混合物在室温下搅拌2h。通过反相柱 (Gold柱) 纯化并且将残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物89 (210mg, 68%):

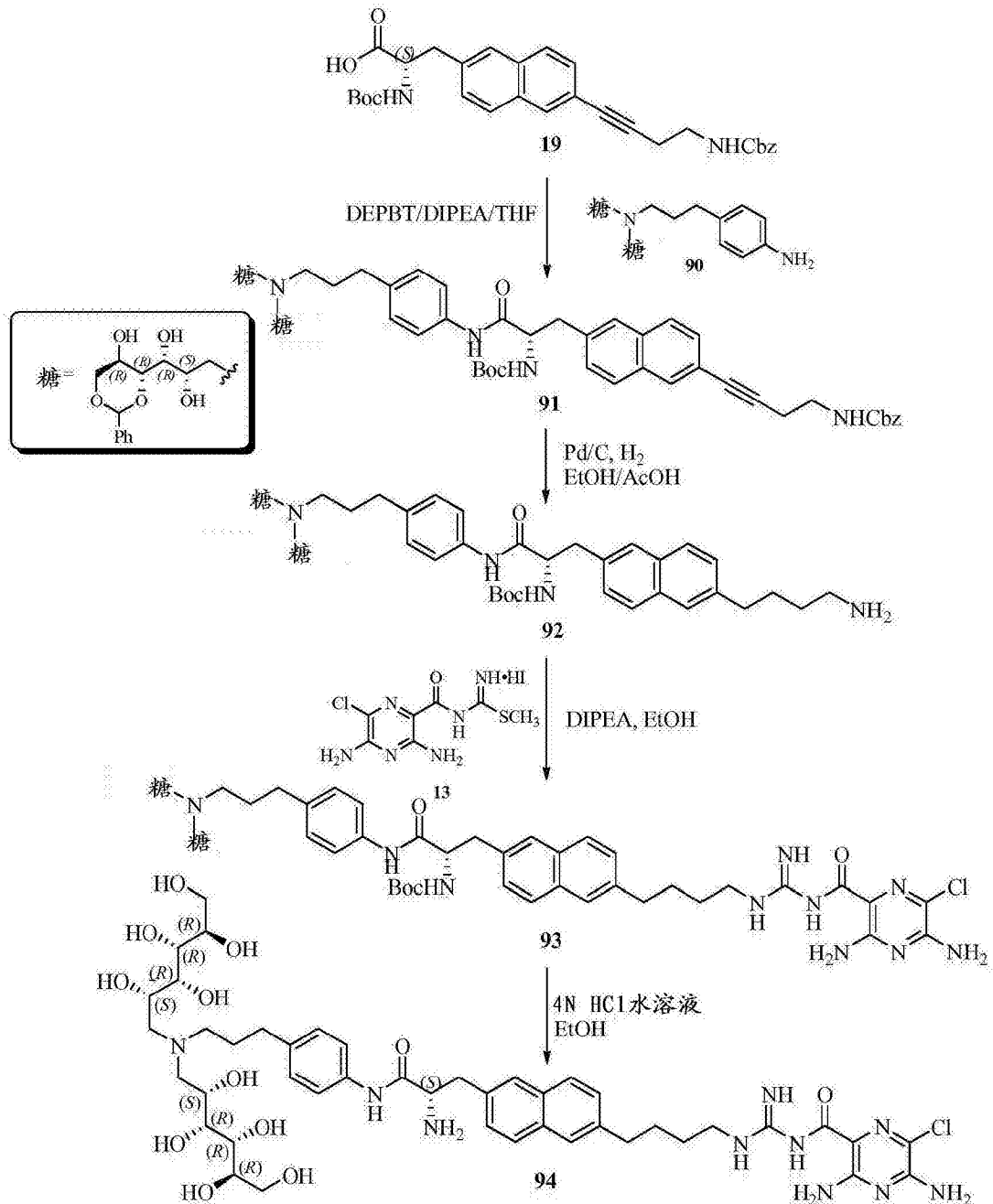
[0580] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 10.94 (brs, 1H), 9.29 (brs, 1H), 9.02-8.77 (m, 2H), 8.64-8.17 (m, 2H), 7.80-7.73 (m, 3H), 7.68 (s, 1H), 7.52 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.47 (dd, J=8.2, 1.0Hz, 1H), 7.44-7.36 (m, 3H), 7.19 (d, J=8.6Hz, 2H), 5.52-5.41 (m, 1H), 4.86-4.71 (m, 1H), 4.60 (d, J=5.4Hz, 1H), 4.59-4.53 (m, 1H), 4.42 (t, J=5.8Hz, 1H), 4.38 (t, J=7.0Hz, 1H), 4.03-3.95 (m, 1H), 3.71-3.66 (m, 1H), 3.62-3.55 (m, 1H), 3.53-3.34 (m, 5H), 3.27 (d, J=7.7Hz, 1H), 3.23 (d, J=7.4Hz, 1H), 3.16-2.99 (m, 5H), 2.78 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.58 (t, J=7.9Hz, 2H), 2.01-1.90 (m, 2H), 1.78-1.68 (m, 2H), 1.66-1.54 (m, 4H), 1.32-1.21 (m, 6H),

0.85 (t, J=6.6Hz, 3H) .

[0581]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.79 (d, J=8.5Hz, 1H) , 7.77-7.73 (m, 2H) , 7.67 (s, 1H) , 7.47-7.37 (m, 4H) , 7.21 (d, J=8.5Hz, 2H) , 4.30 (dd, J=7.7, 6.7Hz, 1H) , 4.12-4.05 (m, 1H) , 3.82-3.74 (m, 1H) , 3.71-3.61 (m, 2H) , 3.49 (dd, J=14.0, 6.6Hz, 1H) , 3.47 (t, J=6.9Hz, 2H) , 3.33-3.27 (m, 3H) , 3.26-3.13 (m, 4H) , 2.86 (t, J=7.6Hz, 2H) , 2.73-2.64 (m, 2H) , 2.10-2.00 (m, 2H) , 1.89-1.80 (m, 2H) , 1.79-1.72 (m, 2H) , 1.71-1.63 (m, 2H) , 1.40-1.30 (m, 6H) , 0.91 (t, J=6.6Hz, 3H) .

[0582] 13. 3,5-二氨基-N-(N-(4-(6-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-2-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(94)的制备

[0583] 方案14



[0585] 化合物91的制备

[0586] 向在THF (30mL) 中的化合物90 (484mg, 0.91mmol) 依次添加DEPBT (300mg, 1.00mmol)、19 (400g, 0.77mmol) 和DIPEA (0.40mL, 2.31mmol) 并在室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂后,将残余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 中,用饱和水溶液 (2×100mL) 和盐水 (50mL) 快速洗涤,并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂并通过在硅胶 (5% 甲醇/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 快速色谱纯化粗制品,得到作为黄色固体产物的酰胺91 (600mg, 76%, 不纯的)。通过LCMS证实产物的形成。

[0587] 化合物92的制备

[0588] 在室温下将91 (600mg, 0.59mmol) 和10%Pd/C (200mg) 在EtOH (90mL) 和AcOH (10mL) 的混合物中的混悬液脱气,然后置于氢化条件 (1atm) 下搅拌16h。将反应混合物通过硅藻土的塞子过滤且塞子用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩,得到胺盐92,然后用NaHCO<sub>3</sub>中和,通过硅胶快速色谱法 (CMA, 80:18:2) 纯化粗制品,得到作为黄色固体的游离胺36 (350mg, 66%, 不纯的):

[0589] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.71 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.61 (s, 2H), 7.43-7.37 (m, 2H), 7.34 (dd, J=8.3, 1.3Hz, 1H), 7.16 (d, J=8.2Hz, 2H), 4.69 (q, J=5.1Hz, 2H), 4.50 (t, J=7.1Hz, 1H), 4.13-4.06 (m, 2H), 4.05 (dd, J=11.0, 5.6Hz, 2H), 3.83 (dd, J=4.8, 2.1Hz, 2H), 3.81-3.73 (m, 2H), 3.51 (dd, J=9.5, 2.3Hz, 2H), 3.38 (t, J=10.8Hz, 2H), 3.13-3.03 (m, 6H), 2.93 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.82 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.74-2.57 (m, 2H), 2.04-1.95 (m, 2H), 1.84-1.75 (m, 3H), 1.74-1.63 (m, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.25 (d, J=5.1Hz, 6H) .

[0590] 化合物93的制备:

[0591] 在室温下向胺92 (350mg, 0.38mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13, 242mg, 0.62mmol) 的EtOH (10mL) 溶液中添加DIPEA (0.67mL, 3.80mmol) 。将反应混合物在密封管中于70℃下加热2h,然后冷却至室温并在真空中浓缩。随后通过硅胶柱色谱 (80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 经反相柱 (Go1d C18) 纯化残余物,得到作为黄色固体的胍93 (170mg, 经三步的产率20%):

[0592] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.71 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.43 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.26 (ddd, J=10.6, 8.6, 1.3Hz, 2H), 7.18 (d, J=8.2Hz, 2H), 4.70 (q, J=0.5Hz, 2H), 4.49 (t, J=7.8Hz, 1H), 4.22-4.09 (m, 2H), 4.06 (dd, J=10.4, 5.1Hz, 2H), 3.89-3.81 (m, 2H), 3.80-3.71 (m, 2H), 3.60-3.49 (m, 2H), 3.43-3.32 (m, 8H), 3.31-3.23 (m, 2H), 3.10-2.98 (m, 2H), 2.85 (t, J=6.9Hz, 2H), 2.77-2.61 (m, 2H), 2.12-2.02 (m, 2H), 1.89-1.79 (m, 2H), 1.78-1.68 (m, 2H), 1.31 (s, 9H), 1.25 (d, J=5.1Hz, 6H) .

[0593] 3,5-二氨基-N-(N-(4-(6-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-2-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (94) 的盐酸盐的制备

[0594] 将在水 (20mL) 中的4N HCl添加到乙醇 (5.0mL) 中的93 (170mg, 0.15mmol) 中并在40℃将反应混合物搅拌2h。除去溶剂,再次添加4NHCl并在40℃再加热2h。将这样的添加再重复2次。除去溶剂,通过反相柱 (Go1d柱) 纯化残余物并使残余物冻干,得到作为黄色固体的化合物94 (80mg, 50%):

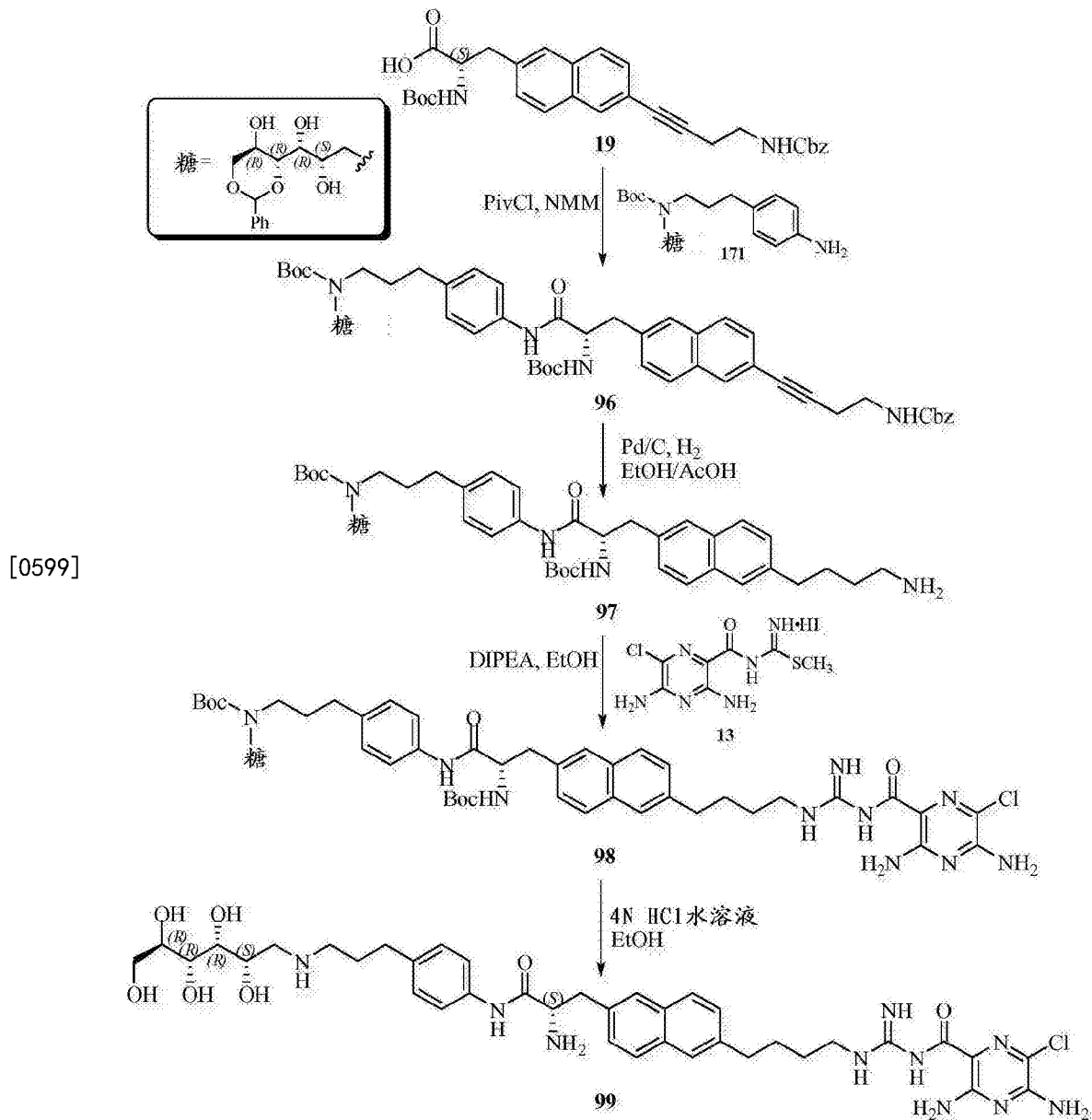
[0595] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 10.74 (brs, 1H), 9.28-9.19 (m, 1H), 9.03-8.60 (m, 2H), 8.58-8.04 (m, 1H), 7.81-7.73 (m, 3H), 7.68 (s, 1H), 7.50 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.48-7.34 (m,

4H), 7.19 (d, J=9.0Hz, 2H), 5.39-5.35 (m, 1H), 4.87-4.63 (m, 1H), 4.62-4.47 (m, 3H), 4.45-4.35 (m, 2H), 4.32-4.23 (m, 1H), 4.01-3.85 (m, 1H), 3.67 (d, J=4.6Hz, 1H), 3.62-3.55 (m, 2H), 3.53-3.38 (m, 5H), 3.37-3.29 (m, 2H), 3.24-3.09 (m, 2H), 2.78 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.62-2.53 (m, 2H), 2.01-1.86 (m, 2H), 1.79-1.68 (m, 2H), 1.64-1.55 (m, 2H).

[0596]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.78 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.75 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.42 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.39 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.21 (d, J=8.7Hz, 2H), 4.16 (t, J=7.0Hz, 1H), 4.13-4.05 (m, 2H), 3.81 (dd, J=4.7, 1.9Hz, 2H), 3.77 (dd, J=10.6, 3.0Hz, 2H), 3.72-3.61 (m, 6H), 3.44-3.30 (m, 10H), 2.86 (t, J=7.0Hz, 2H), 2.76-2.61 (m, 2H), 2.11-2.01 (m, 2H), 1.89-1.80 (m, 2H), 1.79-1.72 (m, 2H).

[0597] 14. 3,5-二氨基-N-(N-(4-(6-((S)-2-氨基-3-氧代-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基氨基)丙基)苯基氨基)丙基)萘-2-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(99)的制备

[0598] 方案15



[0600] 化合物96的制备

[0601] 在冰浴中将酸19 (1.17g, 2.27mmol) 的THF (60mL) 溶液冷却至0℃, 添加NMM (0.30mL, 2.95mmol), 随后添加PivCl (0.30mL, 2.49mmol) 并在相同温度下将反应混合物搅拌2h。添加34 (1.0g, 2.27mmol, 10mL THF) 苯胺171, 并在相同的温度下将反应混合物再搅拌10分钟。然后在室温将反应混合物搅拌16h。除去有机溶剂。向该残余物中添加水, 用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×100mL) 萃取。将有机层合并, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥、过滤并浓缩。通过柱色谱(氯仿中的4%甲醇) 纯化残余物, 得到作为浅黄色固体的酰胺96 (1.40g, 66%, 不纯的)。通过LCMS证实产物的形成。

[0602] 化合物97的制备

[0603] 在室温下将96 (1.40g, 1.50mmol) 和10%Pd/C (300mg) 在EtOH (120mL) 和AcOH (12mL) 中的混悬液进行脱气, 然后置于氢化条件(1atm) 下16h。将反应混合物通过硅藻土的塞子过滤且塞子用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩, 得到胺盐97, 然后用NaHCO<sub>3</sub>中和胺盐97, 通过硅胶快速色谱(CMA, 80:18:2) 纯化粗制品, 得到作为黄色固体的游离的胺97, (550mg, 经两步的产率30%) :

[0604] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.74-7.65 (m, 3H), 7.59 (s, 1H), 7.41-7.29 (m, 4H), 7.11 (d, J=8.4Hz, 2H), 4.69 (q, J=4.9Hz, 1H), 4.50 (t, J=7.9Hz, 1H), 4.04 (dd, J=10.4, 5.2Hz, 1H), 4.02-3.94 (m, 1H), 3.79-3.71 (m, 1H), 3.70-3.63 (m, 1H), 3.54-3.39 (m, 3H), 3.26- (dd, J=13.6, 6.8Hz, 1H), 3.07 (dd, J=13.1, 8.3Hz, 1H), 2.79 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.75-2.67 (m, 2H), 2.55 (t, J=7.3Hz, 2H), 1.91-1.80 (m, 2H), 1.79-1.69 (m, 2H), 1.62-1.52 (m, 2H), 1.50-1.37 (m, 12H), 1.33 (s, 9H), 1.25 (d, J=4.9Hz, 3H) .

[0605] 化合物98的制备:

[0606] 在室温下向胺97 (550mg, 0.68mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13,423mg, 0.62mmol) 的EtOH (20mL) 溶液中添加DIPEA (1.21mL, 6.80mmol) 。将反应混合物在密封管中于70℃下加热2h, 然后冷却至室温并在真空中浓缩。随后通过硅胶柱色谱(80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 经反相柱(Gold C18), 得到作为黄色固体的胍98 (500mg, 72%) :

[0607] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.73-7.64 (m, 3H), 7.61 (s, 1H), 7.40-7.30 (m, 4H), 7.11 (d, J=8.5Hz, 2H), 4.68 (d, J=4.9Hz, 1H), 4.49 (t, J=7.2Hz, 1H), 4.04 (dd, J=10.9, 5.5Hz, 1H), 4.02-3.93 (m, 1H), 3.78-3.70 (m, 1H), 3.69-3.64 (m, 1H), 3.54-3.38 (m, 4H), 3.30-3.20 (m, 2H), 3.15-3.01 (m, 1H), 2.83 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.54 (t, J=7.3Hz, 2H), 1.90-1.78 (m, 4H), 1.73-1.64 (m, 2H), 1.53-1.37 (m, 12H), 1.32 (s, 9H), 1.25 (d, J=4.9Hz, 3H) .

[0608] 3,5-二氨基-N-(N-(4-(6-((S)-2-氨基-3-氧代-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基氨基) 丙基) 苯基氨基) 丙基) 萘-2-基) 丁基) 甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(99) 的盐酸盐的制备

[0609] 将在水 (20mL) 中的4N HCl添加到乙醇 (5.0mL) 中的98 (500mg, 0.15mmol) 中并在40℃将反应混合物搅拌2h。除去溶剂, 再次添加4N HCl, 在40℃再加热2h。这样的添加重复两次以上。除去溶剂, 通过反相柱(Gold柱) 纯化残余物并使残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物99 (206mg, 50%) :

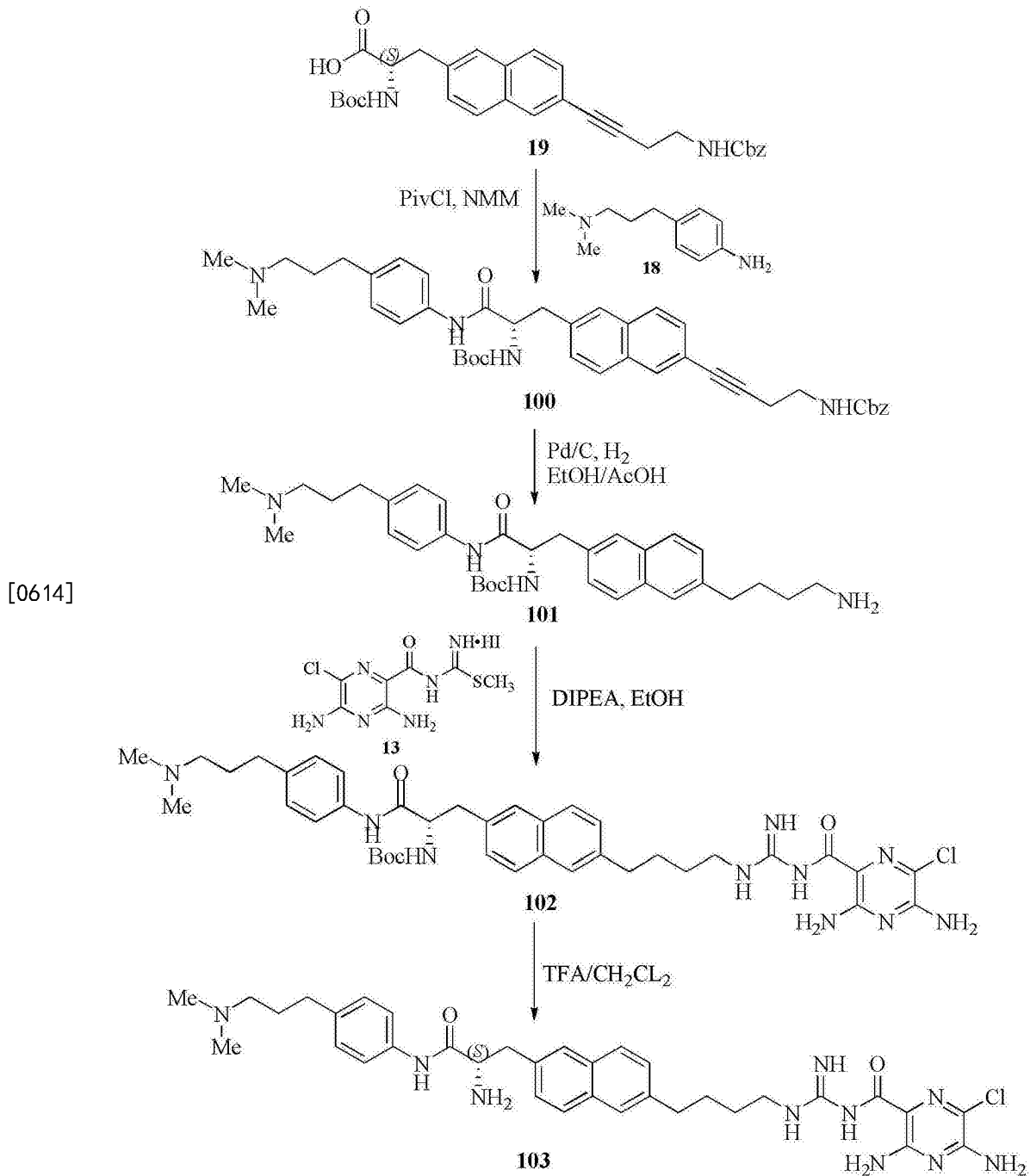
[0610] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 11.0 (brs, 1H), 9.34 (brs, 1H), 9.09-8.25 (m, 6H), 7.82-

7.73 (m, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.53 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.49 (d, J=9.2Hz, 1H), 7.41 (s, 2H), 7.39 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.17 (d, J=8.2Hz, 2H), 5.39 (d, J=3.7Hz, 1H), 4.80-4.70 (m, 1H), 4.62 (d, J=4.3Hz, 1H), 4.60-4.54 (m, 1H), 4.46-4.36 (m, 2H), 3.96-3.88 (m, 1H), 3.71-3.65 (m, 1H), 3.62-3.54 (m, 1H), 3.51-3.35 (m, 5H), 3.09 (d, J=13.3Hz, 1H), 2.94 (d, J=10.9Hz, 1H), 2.87 (t, J=9.1Hz, 2H), 2.78 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.60 (t, J=7.7Hz, 2H), 2.00-1.86 (m, 2H), 1.85-1.67 (m, 2H), 1.65-1.53 (m, 2H).

[0611]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.80 (d, J=9.5Hz, 1H), 7.78-7.73 (m, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.45-7.37 (m, 4H), 7.19 (d, J=7.1Hz, 2H), 4.31 (t, J=6.3Hz, 1H), 4.09-4.00 (m, 1H), 3.87-3.81 (m, 1H), 3.78 (d, J=11.4Hz, 1H), 3.73-3.61 (m, 3H), 3.46 (dd, J=13.6, 6.3Hz, 1H), 3.37 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.30-3.25 (m, 1H), 3.22-3.12 (m, 2H), 3.03 (t, J=7.9Hz, 2H), 2.86 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.69 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.07-1.95 (m, 2H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.80-1.69 (m, 2H).

[0612] 15. (S)-3,5-二氨基-N-(N-(4-(6-(2-氨基-3-(4-(3-(二甲基氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-2-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (103) 的制备

[0613] 方案16



[0615] 化合物100的制备

[0616] 在冰浴中将酸19 (1.75g, 3.39mmol) 的THF (70mL) 溶液冷却至0℃, 添加NMM (0.74mL, 6.78mmol), 随后添加PivCl (0.41mL, 3.39mmol), 在相同温度下将反应混合物搅拌2h。添加18 (825mg, 4.61mmol, 10mL THF), 并在相同的温度下将反应混合物再搅拌10分钟。然后将反应混合物置于室温并搅拌16h。除去有机溶剂。向该残余物中添加水, 并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 100mL) 萃取。将有机层合并, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥、过滤并浓缩。通过柱色谱 (在氯仿中的4% 甲醇) 纯化残余物, 得到作为浅黄色固体的酰胺100 (1.60g, 71%) :

[0617] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.87 (s, 1H), 7.71 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.67 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.65-7.62 (m, 2H), 7.42 (dd, J=8.4, 1.9Hz, 1H), 7.40-7.29 (m, 5H), 7.22 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.08 (d, J=8.4Hz, 2H), 5.21-5.10 (m, 2H), 5.13 (s, 2H), 4.51 (q, J=7.6Hz, 1H), 3.47



(q, J=6.5Hz, 2H), 3.29 (d, J=6.9Hz, 2H), 2.68 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.57 (t, J=7.9Hz, 2H), 2.26 (ddt, J=11.5, 9.3, 2.5Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 2.22-2.19 (m, 1H), 1.78-1.69 (m, 3H), 1.39 (s, 9H).

[0618] 化合物101的制备

[0619] 在室温下将100 (1.60g, 2.30mmol) 和10%Pd/C(400mg) 在EtOH(130mL) 和AcOH(20mL) 的混合物中的混悬液进行脱气, 然后置于氢化条件(1atm) 16h。将反应混合物通过硅藻土的塞子过滤且塞子用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩, 得到其为黄色固体的胺盐101 (1.60g, 99%):

[0620]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.71 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.42 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.39 (dd, J=8.5, 1.3Hz, 1H), 7.33 (dd, J=8.5, 1.3Hz, 1H), 7.16 (d, J=8.6Hz, 2H), 4.50 (t, J=7.6Hz, 1H), 3.28 (dd, J=14.0, 6.3Hz, 1H), 3.07 (dd, J=13.3, 8.7Hz, 1H), 3.05-2.98 (m, 2H), 2.93 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.82 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.78 (s, 6H), 2.65 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.06-1.96 (m, 2H), 1.93 (s, 6H), 1.86-1.75 (m, 2H), 1.74-1.64 (m, 2H), 1.33 (s, 9H).

[0621] 化合物102的制备;

[0622] 在室温下向胺101 (1.60g, 2.30mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯(21, 1.60g, 4.14mmol) 的EtOH(25mL) 溶液中添加DIPEA(4.1mL, 23.0mmol)。将反应混合物在密封管中于70℃下加热2h, 然后冷却至室温并在真空中浓缩。通过硅胶柱色谱(80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为黄色固体的胍102 (645mg, 37%和640mg, 37%不纯的):

[0623]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.70 (dd, J=9.0, 4.3Hz, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.39-7.31 (m, 4H), 7.11 (d, J=8.4Hz, 2H), 4.48 (t, J=7.6Hz, 1H), 3.30-3.22 (m, 3H), 3.06 (dd, J=13.8, 8.9Hz, 1H), 2.83 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.57 (t, J=7.9Hz, 2H), 2.32 (dd, J=10.5, 7.6Hz, 2H), 2.23 (s, 6H), 1.86-1.74 (m, 4H), 1.73-1.64 (m, 2H), 1.32 (s, 9H).

[0624] (S)-3,5-二氨基-N-(N-(4-(6-(2-氨基-3-(4-(3-(二甲基氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-2-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(103)的盐酸盐的制备

[0625] 将TFA(10mL) 添加到CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的47 (545mg, 0.71mmol) 中并在室温下将反应混合物搅拌1h。除去溶剂, 再添加1N HCl, 并且除去溶剂, 通过反相柱(Gold柱) 纯化残余物并使残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物48 (206mg, 50%):

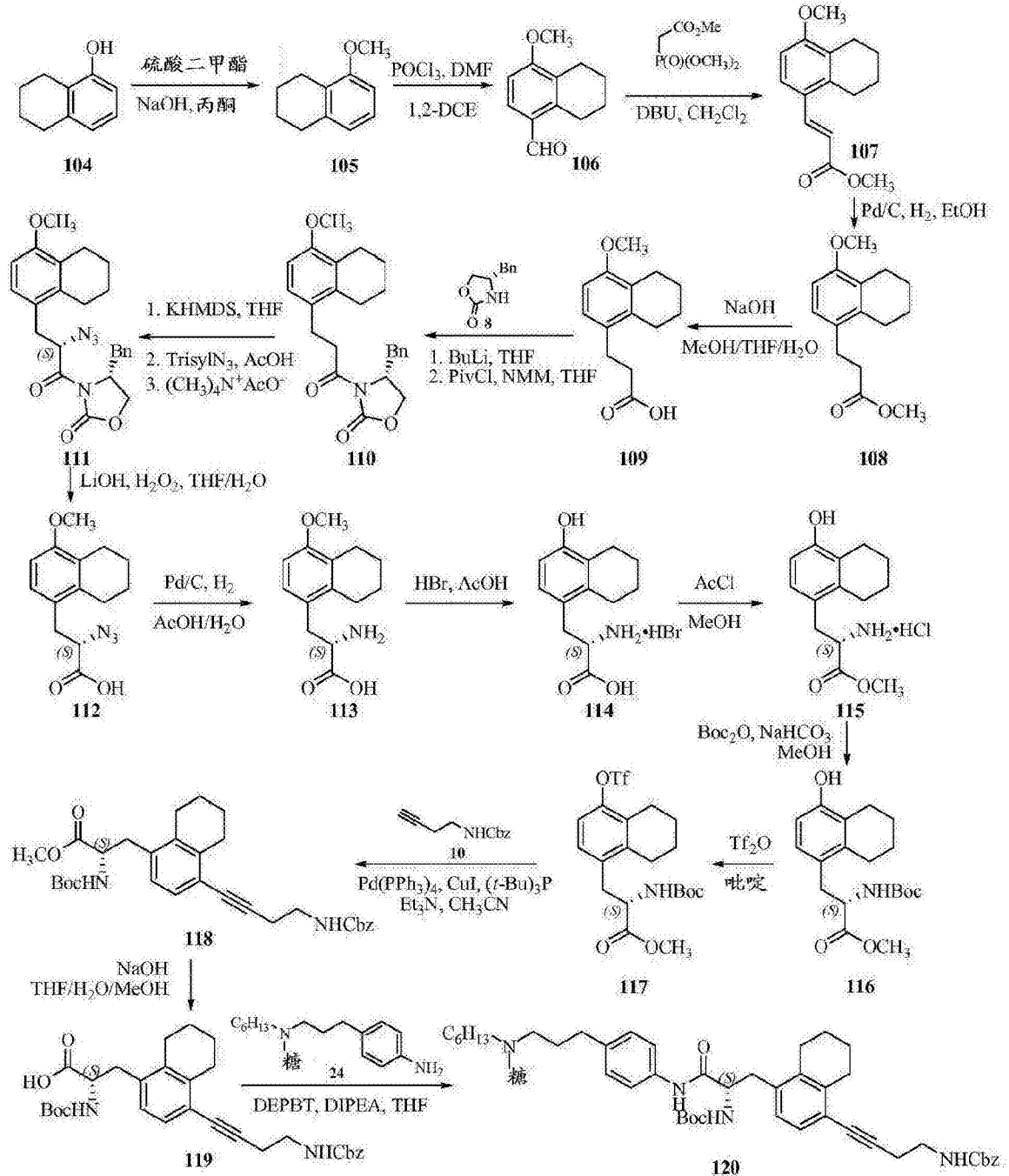
[0626]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 11.02 (brs, 1H), 10.81-10.58 (m, 1H), 10.53 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 9.04-8.72 (m, 2H), 8.50 (brs, 3H), 7.82-7.73 (m, 3H), 7.68 (s, 1H), 7.53 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.48 (d, J=9.2Hz, 1H), 7.45-7.35 (m, 3H), 7.18 (d, J=8.4Hz, 2H), 4.45-4.35 (m, 1H), 3.74-3.45 (m, 1H), 3.27 (dd, J=14.7, 8.3Hz, 1H), 3.03-2.93 (m, 2H), 2.78 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.70 (s, 6H), 2.58 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.02-1.88 (m, 2H), 1.79-1.66 (m, 2H), 1.64-1.54 (m, 2H).

[0627]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.80 (d, J=9.2Hz, 1H), 7.78-7.73 (m, 2H), 7.67 (s, 1H), 7.47-7.38 (m, 4H), 7.20 (d, J=8.9Hz, 2H), 4.33 (t, J=7.5Hz, 1H), 3.46 (dd, J=13.6, 6.6Hz, 1H), 3.37 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.36-3.26 (m, 3H), 2.87-2.83 (m, 2H), 2.87 (s, 6H), 2.68 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.07-1.97 (m, 2H), 1.89-1.80 (m, 2H), 1.80-1.71 (m, 2H).

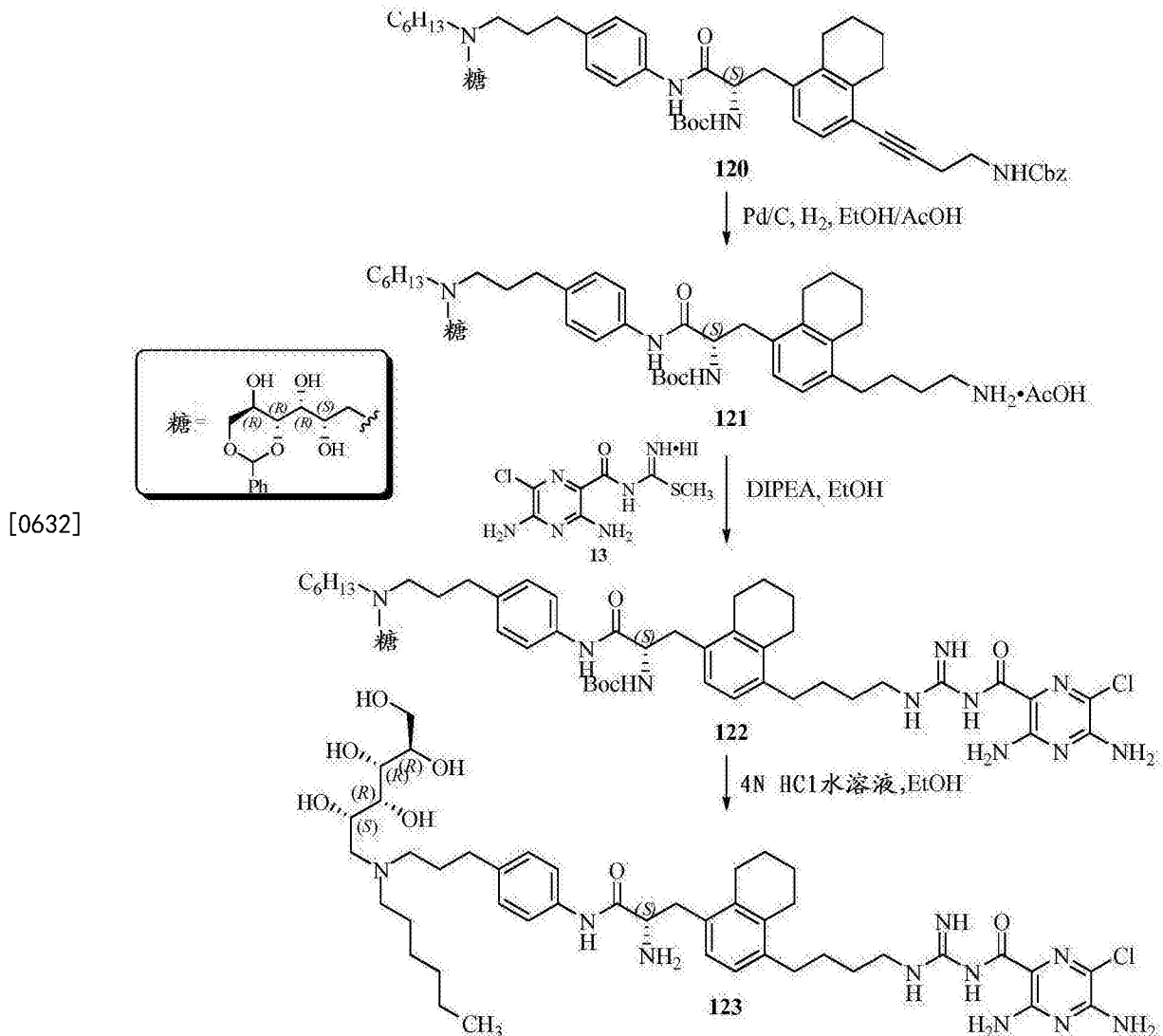
[0628] 16. 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(123)的制备

[0629] 方案17

[0630]



[0631] 方案17(续)



[0633] 化合物105的制备

[0634] 在0℃向104(100g,0.675mmol)的无水THF(800mL)溶液中逐滴添加NaOH(32.0mg,0.809mmol)和硫酸二甲酯(102g,0.809mmol)。在室温下将反应混合物搅拌2h。在减压下去除THF,并且使混合物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(1.0L)与水(1.0L)之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(2×1.0L)萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩。通过柱色谱(硅胶,100%CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)纯化残余物,得到作为黄色液体的化合物105(108.0g,90%):

[0635] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>):δ7.06(t,J=7.85Hz,1H),6.71(d,J=7.25,1H),6.64(t,J=7.7Hz,1H),3.80(s,3H),2.74(t,J=2.75Hz,2H),2.65(t,J=2.65Hz,2H),1.81-1.71(m,4H)。

[0636] 化合物106的制备

[0637] 在0℃,在氮气氛下向无水DMF(71.45mL,0.923mmol)的溶液中逐滴添加POCl<sub>3</sub>(57.40mL,0.616mmol)。在0℃将反应混合物搅拌30分钟。在0℃,在氮气氛下,将在无水1,2-二氯甲烷(500mL)中105(50.0mg,0.308mmol)的溶液添加到反应混合物中。在添加完成后,将反应混合物加热至80℃保持6h。将反应混合物用冷H<sub>2</sub>O淬灭,且使其在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(1.0L)与水(1.0L)之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(2×1.0L)萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干

燥并浓缩。通过柱色谱(硅胶,5%的EA/己烷)纯化残余物,得到作为黄色固体的化合物106(35.0g,61%):

[0638]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ): $\delta$ 10.10(s,1H),7.65(d,J=7.81,1H),6.78(d,J=7.47Hz,1H),3.89(s,3H),3.18(t,J=5.80Hz,2H),2.70(t,J=4.64Hz,2H),1.82-1.73(m,4H)。

[0639] 化合物107的制备

[0640] 向冷却至0℃的膦酰基乙酸三甲酯(55.0mL,0.378mmol)在100mL无水 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中的溶液中添加DBU(58.0g,0.380mmol)并将该混合物搅拌15分钟。逐滴添加醛106(16.0g,0.084mmol)的50mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 溶液。将反应混合物升温至室温,搅拌16h并且用100mL的水淬灭。使混合物分层,并且用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (3×150mL)萃取水层。将合并的有机物用盐水洗涤、干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )、过滤并浓缩,且通过硅胶柱色谱(10:1己烷/乙酸乙酯)纯化残余物,得到作为白色固体的顺式和反式 $\alpha$ - $\beta$ 不饱和酯107(15.0g,72%):

[0641]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ): $\delta$ 7.83(d,J=14.7Hz,1H),7.58(d,J=8.3Hz,1H),6.82(d,J=8.4Hz,1H),6.35(d,J=15.2Hz,1H),3.80(s,3H),3.70(s,3H),2.76(t,J=5.7Hz,2H),2.55(t,J=5.4Hz,2H),1.80-1.60(m,4H)。

[0642] 化合物108的制备

[0643] 在室温下将107(33.0g,0.134mmol)和10%Pd/C(15g,0.127)在EtOH(300mL)中的混悬液置于氢化条件(1atm)下3h。将反应混合物用硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空下浓缩,得到作为白色固体的108(28.0g,90%):

[0644]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 7.65(d,J=7.62,1H),6.78(d,J=7.96Hz,1H),4.06-4.11(m,1H),3.78(s,3H),2.86(t,J=7.79Hz,2H),2.69-2.64(m,4H),2.57-2.51(m,2H),1.79-1.74(m,4H)。

[0645] 化合物109的制备

[0646] 向甲酯108(28.0g,0.106mmol)的THF/MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$ (200mL/200mL/60mL)溶液中添加NaOH(25.0g,0.625mmol),并在室温下将反应混合物搅拌3h。除去溶剂并用1N HCl水溶液将pH调节至1;沉淀出白色固体并过滤,用水洗涤,并在真空下干燥,得到作为白色固体的酸109(25.5g,92%):

[0647]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 6.96(d,J=7.29,1H),6.63(d,J=6.86Hz,1H),3.78(s,3H),2.88(t,J=7.29Hz,2H),2.69-2.66(m,4H),2.63-2.59(m,2H),1.80-1.73(m,4H)。

[0648] 化合物110的制备

[0649] 在-78℃向60(13.70g,77.31mmol)的无水THF(200mL)溶液中逐滴添加正丁基锂(45.07mL,90.08mmol,在环己烷中的2M溶液),并将反应混合物搅拌1h,得到锂盐61的溶液。在-78℃向109(15.0g,64.37mmol)在无水THF(200mL)中的另一溶液中逐滴添加NMM(9.30mL,83.64mmol)和PivCl(10.30mL,83.64mmol)。将反应混合物搅拌30分钟,并升温至-20℃保持1h,在-78℃缓慢添加所制备的锂盐的溶液。将反应混合物再搅拌10分钟,置于0℃并搅拌1h,置于室温并搅拌30分钟,用饱和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 淬灭,浓缩以除去THF并在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (300mL)与水(100mL)之间分配。分离出水层并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (150mL)萃取。将合并的有机萃取物经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥并浓缩。通过柱色谱(硅胶, $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )纯化残余物,得到作为白色固体的化合物110(15.0g,60%)。

[0650] 化合物111的制备

[0651] 在 $-78^{\circ}\text{C}$ 向110 (15.0g, 38.14mmol) 在无水THF (250mL) 中的溶液中分批添加KHMDS (13.70g, 68.67mmol)。将所得混合物搅拌30分钟, 添加三异丙基苯磺酰叠氮化物 (19.0g, 61.40mmol) 并将反应混合物搅拌5分钟。在相同的温度下缓慢添加乙酸 (15.0mL, 228mmol) 和四甲基乙酸铵 (30.9g, 76.28mmol)。将反应混合物升温至 $24^{\circ}\text{C}$ , 搅拌16h, 用饱和 $\text{NaHCO}_3$  (100mL) 淬灭, 浓缩以除去THF, 并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (300mL) 萃取。将合并的有机萃取物经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥并浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 90:10己烷/EtOAc, 然后添加DCM) 纯化残余物, 得到作为黄色固体的化合物111 (8.80g, 54%),

[0652]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ 7.36-7.30 (m, 3H), 7.23 (m, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.01 (d,  $J=7.79\text{Hz}$ , 1H), 6.60 (d,  $J=7.59\text{Hz}$ , 2H), 5.35 (t,  $J=7.99$ , 2H), 4.89 (s, 1H), 4.58-4.51 (m, 1H), 4.13-4.10 (m, 3H), 3.93 (t,  $J=7.54$ , 1H), 3.77 (s, 3H), 3.33-3.27 (m, 3H), 2.71 (m, 2H), 2.63 (m, 2H), 1.78-1.75 (m, 5H), 1.58 (m, 2H)。

[0653] 化合物112的制备

[0654] 在 $0^{\circ}\text{C}$ 向111 (31.0mmol, 15.0g, 72.1mmol) 的THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (300mL/100mL) 溶液中添加 $\text{H}_2\text{O}_2$  (49mL, 433mmol), 随后分批添加 $\text{LiOH}$  (6.04g, 144mmol)。在 $0^{\circ}\text{C}$ 将反应混合物搅拌10分钟, 并在室温下搅拌1h, 用饱和 $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (200mL) 淬灭, 在减压下浓缩以除去THF, 并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (500mL) 洗涤。用1N HCl水溶液酸化水层并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $2 \times 500\text{mL}$ ) 萃取。将合并的有机萃取物经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥、浓缩并用MTBE洗涤, 得到作为灰白色固体的化合物112 (15.0g, 82%):

[0655]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 6.92 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 6.63 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 3.75 (s, 3H), 2.81 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H), 2.67 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 2H), 2.61 (t,  $J=5.7\text{Hz}$ , 2H), 2.49-2.47 (m, 2H), 1.84-1.70 (m, 6H)。

[0656] 化合物113的制备

[0657] 在室温下将112 (15.0g, 55.1mmol) 和10%Pd/C (3.50g) 在AcOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (300mL/100mL) 中的混悬液置于氢化条件 (1atm) 下3h。将反应混合物用硅藻土过滤并用AcOH/ $\text{H}_2\text{O}$ 洗涤, 随后用MeOH洗涤。将滤液在真空下浓缩, 得到作为黄色固体的乙酸盐113 (14.0g, 83%)。

[0658] 化合物114的制备

[0659] 在室温下向113 (11.0g, 44.1mmol) 的乙酸 (120mL) 溶液中逐滴添加氢溴酸 (120mL), 并将反应混合物回流3h。将反应混合物冷却至室温并浓缩。将粗制棕色的残余物114 (8.90g, 80%) 无需纯化直接用于接下来的步骤。

[0660]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ 6.80 (d,  $J=7.85$ , 1H), 6.57 (d,  $J=7.21\text{Hz}$ , 1H), 3.92-3.91 (m, 1H), 3.04-2.98 (m, 1H), 2.91-2.86 (m, 1H), 2.61 (m, 2H), 2.54-2.53 (m, 2H), 1.69-1.68 (m, 5H)。

[0661] 化合物115的制备

[0662] 在 $0^{\circ}\text{C}$ 向无水甲醇 (300mL) 中添加乙酰氯 (17.0mL, 243mmol), 并且添加114 (8.90g, 28.2mmol)。将反应混合物回流4h并浓缩。使残余物在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200mL) 与饱和 $\text{NaHCO}_3$  (100mL) 之间分配。分离出水层并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200mL) 萃取。将合并的有机萃取物经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥并浓缩, 得到作为白色固体的化合物115 (7.30g, 90%):

[0663]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ 6.81 (d,  $J=7.51$ , 1H), 6.59 (d,  $J=7.21\text{Hz}$ , 1H), 4.12-4.11 (m, 1H), 3.75 (s, 1H), 3.31-3.30 (m, 2H), 2.70-2.67 (m, 2H), 2.63 (t,  $J=6.16\text{Hz}$ , 2H)。

**[0664] 化合物116的制备**

**[0665]** 在0℃向115 (7.30g, 25.60mmol) 的MeOH/H<sub>2</sub>O (100mL/60mL) 溶液添加NaHCO<sub>3</sub> (12.0g, 145mmol) 和Boc<sub>2</sub>O (10.0g, 45.8mmol)。将所得混合物升温至室温并搅拌1h。使反应混合物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 与水 (50mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩。使用20% 乙酸乙酯/己烷随后使用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>的快速柱色谱得到作为白色固体的化合物116 (7.1g, 81%) :

**[0666]** <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ6.77 (d, J=7.36, 1H) , 6.55 (d, J=7.86Hz, 1H) , 4.96-4.94 (m, 1H) , 4.71 (s, 1H) , 4.96-4.94 (m, 1H) , 4.71 (s, 1H) , 4.50-4.48 (m, 1H) , 3.69 (s, 3H) , 3.07-3.01 (m, 1H) , 2.89-2.84 (m, 1H) , 2.86 (m, 2H) , 2.63 (m, 2H) , 1.80-1.78 (m, 4H) , 1.39 (s, 9H) .

**[0667] 化合物117的制备**

**[0668]** 在0℃向116 (7.0g, 20.05mmol) 的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (80mL) 溶液中添加吡啶 (100mL) 和三氟甲磺酸酯 (4.64mL, 24.0mmol) , 搅拌1h, 并在室温下搅拌2h。浓缩后, 使反应混合物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150mL) 与水 (70mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 并浓缩, 得到作为棕色油状物的化合物117 (8.00g, 83%) :

**[0669]** <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ8.81 (d, J=4.63Hz, 5H) , 8.56-8.51 (m, 2H) , 8.02-7.99 (m, 4H) , 7.11 (d, J=7.98Hz, 1H) , 7.03 (d, J=7.98, 1H) , 4.39-4.35 (m, 1H) , 3.68 (s, 3H) , 3.19-3.14 (dd, 1H) , 2.90-2.77 (m, 5H) , 1.86-1.81 (m, 4H) , 1.35 (s, 9H) , 1.32-1.28 (m, 4H) .

**[0670] 化合物118的制备**

**[0671]** 在室温下用氩气将在无水CH<sub>3</sub>CN (100mL) 中的化合物117 (8.0g, 16.6mmol) 和丁-3-炔基氨基甲酸苄酯 (10, 5.00g, 24.9mmol) 脱气10分钟, 并添加TEA (9.34mL, 66.50mmol) , 己烷中的10% (t-Bu)<sub>3</sub>P (7.0mL, 3.32mmol) 和CuI (0.16g, 0.84mmol) 。用氩气将所得混合物脱气10分钟, 一次性迅速添加Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (2.00g, 1.73mmol) 。用氩气脱气5分钟后, 将所得混合物回流16h。将反应混合物在真空下浓缩, 通过柱色谱 (硅胶, 75:25己烷/乙酸乙酯) 纯化残余物, 得到作为棕色固体的化合物118 (4.50g, 52%) :

**[0672]** <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ7.36-7.34 (m, 4H) , 7.33-7.29 (m, 2H) , 7.16 (d, J=7.63Hz, 1H) , 6.82 (d, J=7.02Hz, 1H) , 5.12-5.08 (m, 2H) , 4.95 (d, J=7.88Hz, 1H) , 4.52-4.51 (m, 1H) , 3.67 (s, 3H) , 3.48-3.34 (m, 2H) , 3.10-3.05 (dd, 1H) , 2.84-2.83 (m, 2H) , 2.68-2.65 (m, 4H) , 1.81-1.76 (m, 4H) , 1.39 (s, 9H) .

**[0673] 化合物119的制备**

**[0674]** 向甲酯118 (4.50g, 8.42mmol) 的THF/MeOH/H<sub>2</sub>O (30mL/30mL/10mL) 溶液中添加NaOH (3.60g, 90mmol) , 将反应混合物在室温下搅拌3h。用1N HCl水溶液将pH值调节至9并除去有机溶剂。将残余物的pH值调节至5-6, 并使混悬液在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 与水 (50mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩, 得到作为棕色固体的化合物119 (3.66g, 85%) ,

**[0675]** <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ7.28-7.24 (m, 5H) , 7.05-7.03 (d, J=7.67Hz, 1H) , 6.89-6.87 (d, J=7.55Hz, 1H) , 5.04 (brs, J=7.02Hz, 1H) , 5.12-5.08 (m, 2H) , 4.95 (d, J=7.88Hz, 1H) , 4.52-4.51 (m, 1H) , 3.67 (s, 3H) , 3.48-3.34 (m, 2H) , 4.27-4.26 (m, 1H) , 3.38-3.30 (m, 2H) , 3.15-3.10 (m, 1H) , 2.78-2.71 (m, 4H) , 2.59 (d, J=5.95, 2H) , 1.73-1.71 (m, 4H) , 1.31

(s, 9H) .

[0676] 化合物120的制备

[0677] 向THF (30mL) 中的化合物119 (800mg, 1.53mmol) 中依次添加DEPBT (845mg, 2.56mmol)、24 (700mg, 2.33mmol) 和DIPEA (1.0mL, 4.65mmol) 并在室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂后, 将残余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 中, 用饱和水溶液 (50mL) 和盐水 (50mL) 快速洗涤, 并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂, 并通过硅胶快速色谱 (6% 甲醇/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 纯化粗制品, 得到作为黄色固体的酰胺120 (1.0g) :

[0678] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ7.46-7.44 (m, 3H) , 7.36-7.30 (m, 7H) , 7.17 (d, J=7.2Hz, 2H) , 7.07 (d, J=7.5Hz, 1H) , 6.99-6.92 (m, 1H) , 5.49 (s, 1H) , 5.10 (s, 2H) , 4.35-4.31 (m, 1H) , 4.05-3.90 (m, 2H) , 3.80-3.82 (m, 1H) , 3.75-3.72 (m, 1H) , 3.62 (t, J=9.9Hz, 1H) , 3.43 (t, J=5.7Hz, 2H) , 3.18-3.16 (m, 1H) , 3.01-3.08 (m, 1H) , 2.83-2.82 (m, 2H) , 2.68-2.48 (m, 8H) , 1.86-1.78 (m, 3H) , 1.71-1.62 (m, 10H) , 1.44 (s, 9H) , 0.87 (t, J=6.3Hz, 3H) .

[0679] 化合物121的制备

[0680] 在室温下将120 (1.00g, 1.01mmol) 和10%Pd/C (600mg) 在EtOH (50mL) 和AcOH (2mL) 中的混悬液脱气并置于氢化条件 (1atm) 下12h。将反应混合物通过硅藻土的塞子过滤且塞子用MeOH洗涤。将滤液在真空下浓缩, 得到作为白色固体的胺盐121 (700mg, 80%)

[0681] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ7.49-7.41 (m, 2H) , 7.34-7.30 (m, 5H) , 7.12-6.78 (m, 5H) , 4.30-4.27 (m, 2H) , 4.19-4.18 (m, 1H) , 3.98-3.91 (m, 2H) , 3.78-3.58 (m, 2H) , 3.19-3.08 (m, 3H) , 3.02-2.89 (m, 6H) , 2.75-2.73 (m, 2H) , 2.65-2.62 (m, 3H) , 2.55-2.52 (m, 3H) , 1.98-1.92 (m, 2H) , 1.73-1.68 (m, 3H) , 1.60-1.52 (m, 7H) , 1.41 (s, 9H) , 1.29-1.20 (m, 7H) , 0.88-0.84 (m, 3H) , 0.87 (t, J=6.4Hz, 3H) .

[0682] 化合物122的制备

[0683] 在室温下向胺盐121 (700mg, 0.81mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13,680mg, 1.75mmol) 在EtOH (20mL) 中的溶液中添加DIPEA (1.60mL, 9.26mmol) 。将反应混合物在密封管中于70℃下加热2h, 冷却至室温并在真空下浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为黄色固体的胍122 (380g, 48%) :

[0684] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) : δ7.43-7.39 (m, 3H) , 7.33-7.31 (m, 3H) , 7.05 (d, J=6.69Hz, 2H) , 6.99-6.95 (m, 2H) , 6.86 (d, J=7.59Hz, 1H) , 5.47 (s, 1H) , 4.33-4.31 (m, 1H) , 4.14-4.10 (m, 1H) , 3.79-3.72 (m, 4H) , 3.68-3.65 (m, 2H) , 2.69-2.66 (m, 6H) , 2.56-2.53 (m, 3H) , 2.45-2.36 (m, 7H) , 1.70 (m, 4H) , 1.56 (m, 6H) , 1.32 (s, 9H) , 0.86 (t, J=7.0Hz, 3H) .

[0685] 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (化合物123) 的盐酸盐的制备:

[0686] 将二氧六环中的4N HCl (15mL) 添加到EtOH (5.0mL) 中的122 (350g, 0.35mmol) 中, 在室温下将反应混合物搅拌2h。除去溶剂, 通过反相色谱 (Gold柱) 纯化混合物并使残余物冻干, 得到110mg (45%) 为黄色固体的化合物123:

[0687] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) : δ10.16 (s, 1H) , 9.16 (brs, 1H) , 8.51-8.34 (brs, 2H) , 7.41 (t, J=8.1Hz, 4H) , 7.20 (d, J=8.6Hz, 2H) , 6.95-6.89 (q, 2H) , 5.42 (brs, 1H) , 4.42 (m, 1H) , 4.53 (d, J=5.3Hz, 2H) , 4.42 (m, 1H) , 4.01 (m, 1H) , 3.93 (m, 1H) , 3.60 (m, 1H) , 3.50-3.38

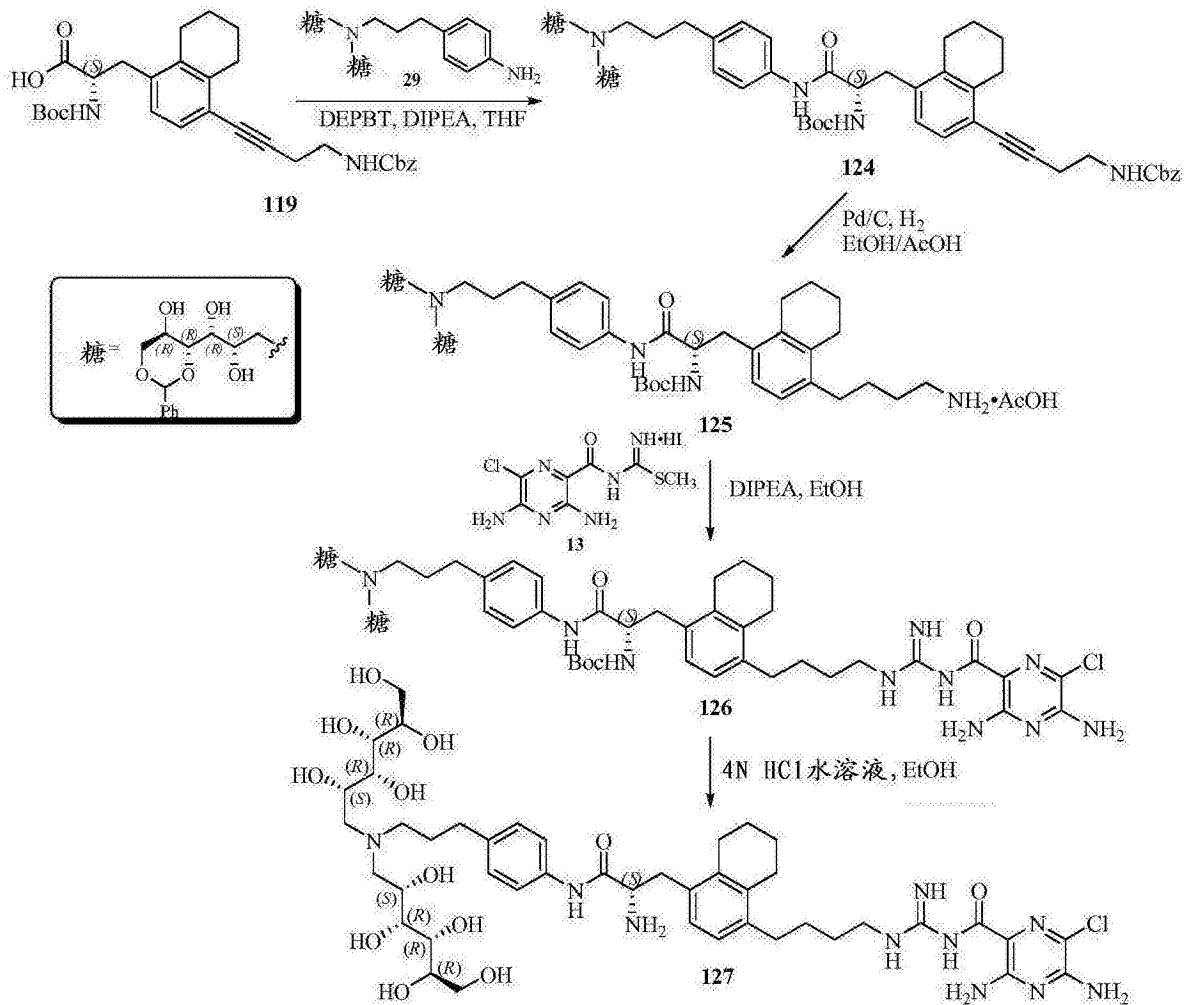
(m, 4H), 3.08–3.03 (m, 6H), 2.72 (brs, 2H), 2.66–2.65 (m, 2H), 2.57 (m, 2H), 1.91–1.90 (m, 2H), 1.72–1.69 (m, 4H), 1.61–1.54 (m, 6H), 1.26 (s, 6H), 0.86 (t, J=7.0Hz, 3H).

[0688]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  7.08 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.04–6.98 (q, 2H), 6.92 (d, J=8.3Hz, 2H), 4.06–4.02 (m, 2H), 3.78–3.69 (m, 3H), 3.62–3.54 (m, 2H), 3.25 (t, J=5.3Hz, 1H), 3.19–3.14 (m, 3H), 3.10–3.04 (m, 4H), 2.66–2.54 (m, 7H), 1.90–1.86 (m, 2H), 1.65–1.58 (m, 5H), 1.50–1.40 (m, 4H), 1.19–1.18 (m, 6H), 0.78 (t, J=6.62).

[0689] 17.3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(127)的制备

[0690] 方案18

[0691]



[0692] 化合物124的制备

[0693] 向在THF (30mL) 中的化合物119 (1.0g, 1.92mmol) 中依次添加DEPBT (845mg, 2.82mmol)、29 (1.25g, 1.91mmol) 和DIPEA (1.0mL, 5.73mmol) 并在室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂后,将残余物溶解于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 中,用饱和水溶液 (50mL) 和盐水 (50mL) 快速洗涤,并经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥。蒸发溶剂,并通过硅胶快速色谱 (5% 甲醇/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) 纯化粗制品,得到作为黄色固体的酰胺124 [900mg (混合物)]。



[0694] 化合物125的制备

[0695] 在室温下将124[900mg (混合物), 0.77mmol]和10%Pd/C (600mg) 在EtOH (50mL) 和AcOH (1.5mL) 混合物中的混悬液脱气, 并置于氢化条件 (1atm) 下12h。将反应混合物通过硅藻土的塞子过滤且塞子用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩, 得到作为无色油状物的粗制品125 (800mg)。

[0696] 化合物126的制备

[0697] 在室温下, 向粗制品125 (800mg) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13,400mg, 1.02mmol) 的EtOH (40mL) 溶液中添加DIPEA (1.10mL, 6.38mmol)。将反应混合物在密封管中于70℃下加热2小时, 冷却至室温, 并在真空中浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为黄色固体的胍126 (285mg, 经3步的产率12%) :

[0698] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) : δ7.44-7.42 (m, 4H), 7.30-7.28 (m, 6H), 7.22 (d, J=7.27Hz, 2H), 6.96 (d, J=7.11Hz, 2H), 6.91 (d, J=7.0Hz, 2H), 6.86 (d, J=7.61Hz, 2H), 5.47 (s, 2H), 4.33 (m, 1H), 4.23-4.19 (m, 2H), 3.97-3.91 (m, 4H), 3.84-3.82 (m, 2H), 3.71 (d, J=2.29Hz, 1H), 3.69 (d, J=2.2Hz, 1H), 3.58 (t, J=10.08Hz, 2H), 3.06-3.00 (m, 1H), 2.91-2.86 (m, 1H), 2.76 (m, 2H), 2.71-2.68 (m, 4H), 2.61-2.55 (m, 4H), 2.44-2.35 (m, 4H), 1.74-1.60 (m, 10H), 1.38 (s, 9H) .

[0699] 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (化合物127) 的盐酸盐的制备

[0700] 将二氧六环中的4N HCl (10mL) 添加到EtOH (3.0mL) 中的126 (1.15g, 0.23mmol) 中, 并在室温下将反应混合物搅拌2h。除去溶剂, 通过反相色谱 (Gold柱) 纯化混合物, 并使残余物冻干, 得到62mg (32%) 的化合物127。

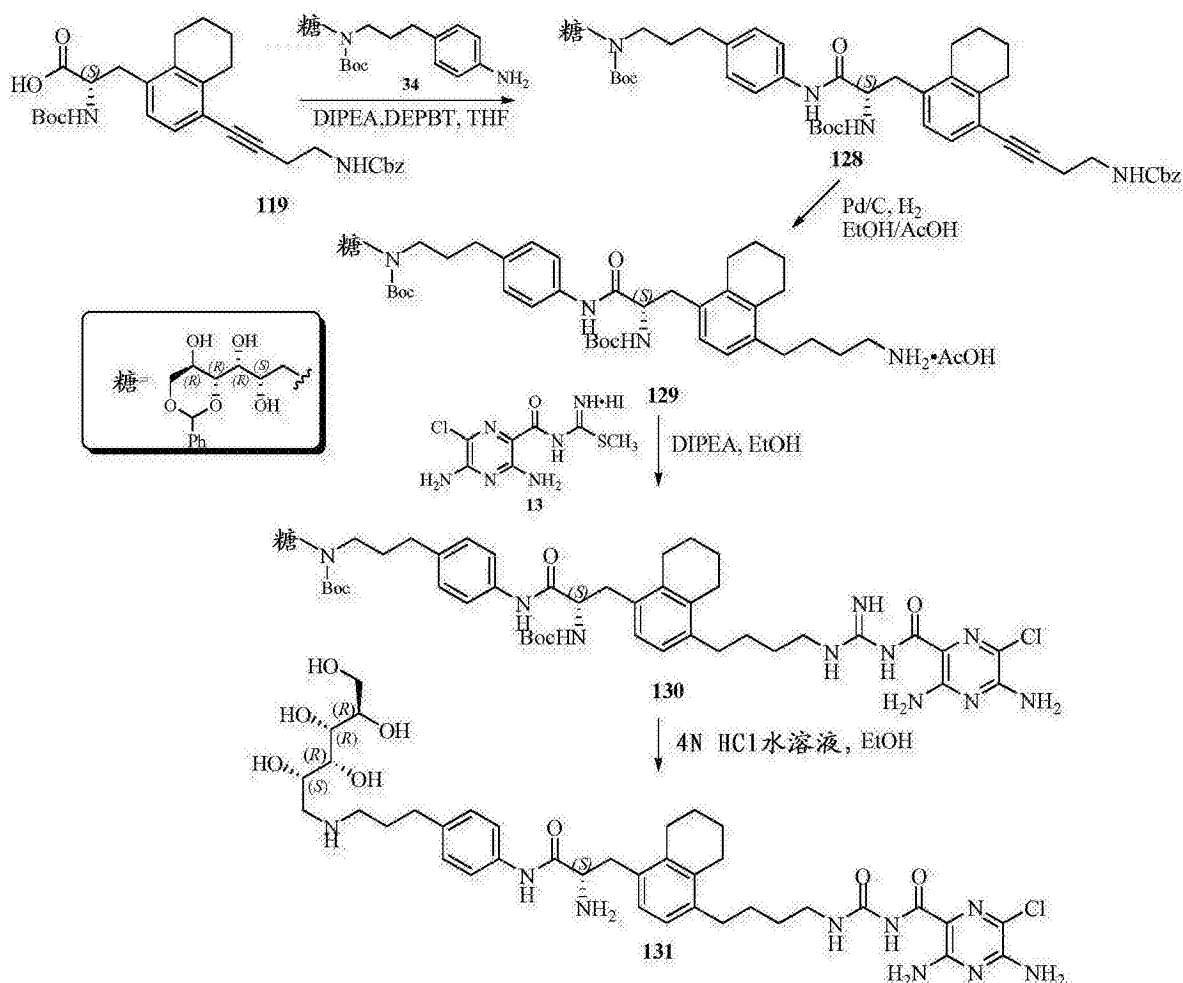
[0701] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) : δ10.39 (brs, 1H), 10.03 (brs, 1H), 8.91-8.82 (brs, 2H), 8.48 (brs, 2H), 7.42 (d, J=7.6Hz, 4H), 7.18 (d, J=7.6Hz, 2H), 6.96 (d, J=7.1, 1H), 6.89 (d, J=7.4, 1H), 5.44 (d, J=10.8, 2H), 4.81 (br, 2H), 4.59 (d, J=4.2, 2H), 4.55 (d, J=5.4Hz, 2H), 4.42 (t, J=4.4, 2H), 4.11 (br, 1H), 4.00 (brs, 2H), 3.69-3.65 (m, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.47 (m, 4H), 3.43-3.39 (m, 4H), 3.25-3.22 (m, 4H), 3.04 (d, J=6.3, 2H), 2.73 (m, 2H), 2.64 (m, 2H), 2.58-2.56 (m, 2H), 1.98 (m, 2H), 1.97 (m, 2H), 1.70-1.67 (m, 4H), 1.61-1.59 (m, 2H), 1.54-1.52 (m, 2H), 1.70-1.67 (m, 4H), 1.61-1.59 (m, 2H), 1.54-1.52 (m, 2H) .

[0702] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, D<sub>2</sub>O) : δ7.10 (d, J=8.30Hz, 2H), 7.02-6.90 (m, 2H), 6.91 (d, J=7.42Hz, 2H), 4.07-3.92 (m, 5H), 3.77-3.70 (m, 8H), 3.62-3.55 (m, 5H), 4.07-3.95 (m, 5H), 3.74-3.56 (m, 8H), 3.60-3.55 (m, 5H), 3.30 (d, J=8.2Hz, 5H), 3.20-3.16 (m, 7H), 2.60-2.51 (m, 10H), 1.97-1.95 (m, 3H), 1.61-1.59 (m, 7H), 1.49-1.45 (m, 2H) .

[0703] 18.3,5-二氨基-N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-氧代-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基氨基)丙基)苯基氨基)丙基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基)丁基氨基甲酰基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (131) 的制备

[0704] 方案19

[0705]



[0706] 化合物128的制备

[0707] 向在THF (30mL) 中的化合物119 (1.00g, 1.92mmol) 中依次添加DEPBT (862mg, 2.88mmol)、34 (1.50g, 2.98mmol) 和DIPEA (1.0mL, 5.76mmol) 并在室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂后,将残余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 中,用饱和水溶液 (30mL) 和盐水 (20mL) 快速洗涤,并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂并通过硅胶快速色谱 (6% 甲醇/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 纯化粗制品,得到作为黄色固体的酰胺128 (780mg, 42%) :

[0708] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ7.49 (m, 3H) , 7.31-7.29 (m, 10H) , 7.00-7.08 (m, 3H) , 6.94 (d, J=7.4Hz, 1H) , 5.54 (m, 1H) , 5.50-5.49 (m, 1H) , 5.08 (s, 2H) , 4.36 (m, 1H) , 4.26-4.22 (m, 2H) , 4.05 (m, 2H) , 3.95-3.91 (m, 1H) , 3.80 (m, 2H) , 3.64-3.59 (m, 1H) , 3.52-3.48 (m, 1H) , 3.14-3.06 (m, 1H) , 2.94-2.89 (m, 1H) , 2.79 (d, J=16.12Hz, 4H) , 2.63 (t, J=5.98Hz, 1H) , 2.51 (t, J=6.9Hz, 1H) , 1.82-1.75 (m, 7H) , 1.41 (s, 18H) .

[0709] 化合物129的制备

[0710] 在室温下将128 (780mg, 0.776mmol) 和10% Pd/C (300mg) 在EtOH (30mL) 和AcOH (1.0mL) 的混合物中的混悬液脱气,并置于氢化条件 (1atm) 下12h。将反应混合物通过硅藻土的塞子过滤且塞子用MeOH洗涤。将滤液在真空下浓缩,得到作为白色固体的胺盐129 (720mg, 85%)

[0711] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ7.49-7.46 (m, 2H) , 7.32-7.30 (m, 5H) , 7.08-7.06 (d, J=

7.2Hz, 1H), 6.88 (d, J=7.4Hz, 1H), 5.53 (s, 1H), 4.34-4.33 (m, 1H), 4.25-4.21 (m, 1H), 4.03-4.02 (m, 1H), 3.96-3.89 (m, 1H), 3.78-3.76 (m, 1H), 3.71-3.69 (m, 1H), 3.60 (t, J=9.9Hz, 1H), 3.48-3.46 (m, 1H), 3.09-3.04 (m, 1H), 2.89 (t, J=7.3Hz, 3H), 2.79 (m, 2H), 2.69 (m, 2H), 2.58 (t, J=6.5Hz, 2H), 2.51 (t, J=6.8Hz, 2H), 1.84-1.77 (m, 6H), 1.67-1.66 (m, 2H), 1.61-1.57 (m, 2H), 1.41 (s, 18H).

[0712] 化合物130的制备

[0713] 在室温下向胺盐129 (720mg, 0.77mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13, 456mg, 1.17mmol) 在EtOH (20mL) 中的溶液中添加DIPEA (1.12mL, 6.24mmol)。将反应混合物在密封管中于70℃下加热2h, 冷却至室温, 并在真空下浓缩。得到作为黄色固体的胍130 (380mg, 45%) :

[0714]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$ 7.48-7.46 (m, 2H), 7.30 (t, J=2.70Hz, 5H), 7.08-7.06 (d, J=7.6Hz, 2H), 6.93 (d, J=7.1Hz, 1H), 6.88 (d, J=7.3Hz, 1H), 5.53 (s, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.25-4.21 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.96-3.90 (m, 1H), 3.79 (m, 2H), 3.60 (t, J=10.0Hz, 1H), 3.50-3.46 (m, 1H), 3.25 (t, J=5.9Hz, 3H), 3.07-3.02 (m, 1H), 2.92-2.87 (m, 1H), 2.77 (m, 2H), 2.69-2.67 (m, 2H), 2.58 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.48 (t, J=6.8Hz, 2H), 1.82-1.74 (m, 6H), 1.67-1.64 (m, 5H), 1.40 (s, 18H).

[0715] 3,5-二氨基-N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-氧代-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基氨基)丙基)苯基氨基)丙基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基)丁基氨基甲酰基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (131) 的盐酸盐的制备:

[0716] 将二氧六环中的4N HCl (25mL) 添加到EtOH (5.0mL) 中的130 (350mg, 0.35mmol) 中, 并在室温下将反应混合物搅拌2h。除去溶剂, 通过反相色谱 (Gold柱) 纯化混合物, 使残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物131 (125mg, 48%) :

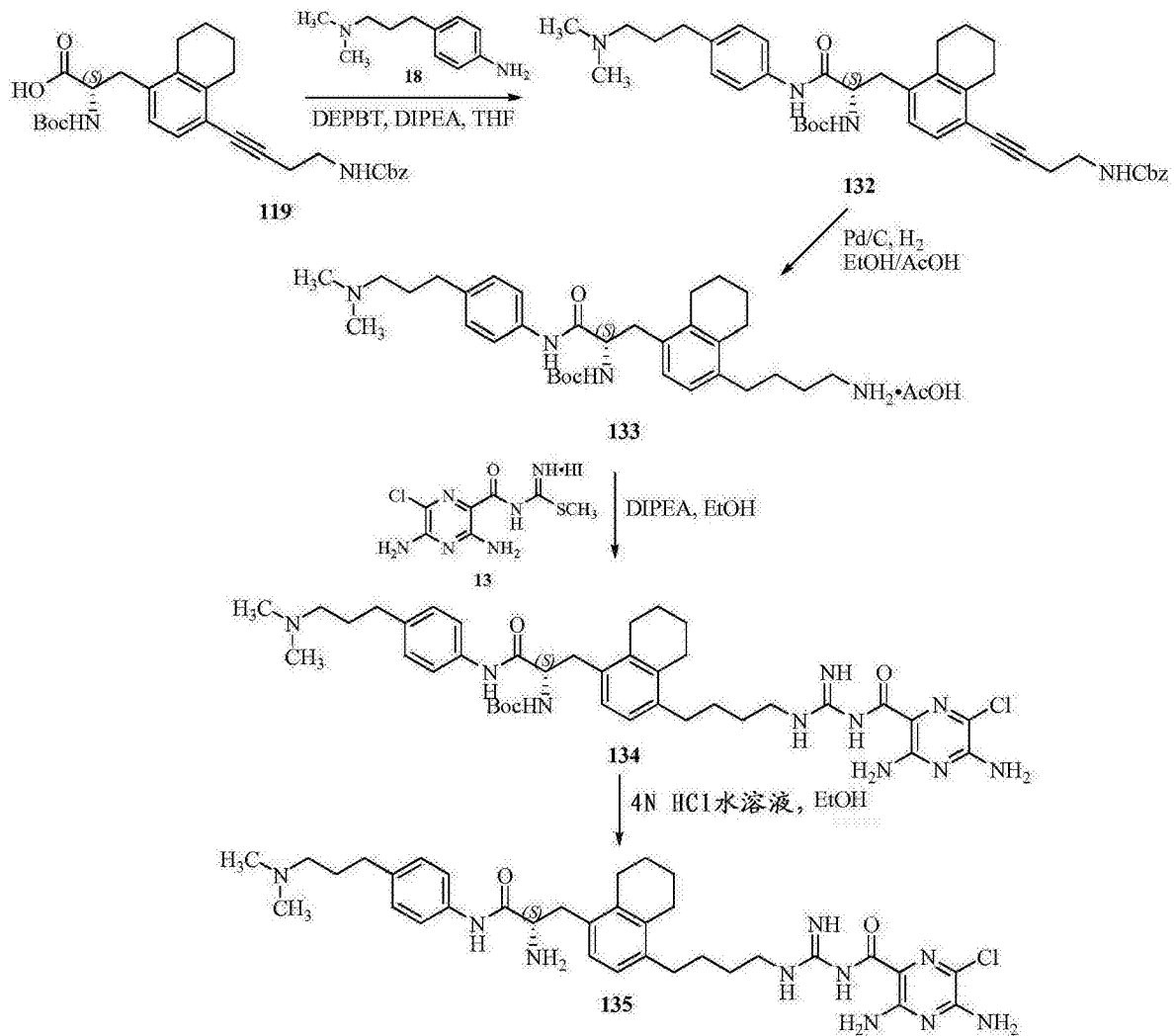
[0717]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$ 7.35 (d, J=7.6, 2H), 7.18 (d, J=7.3, 2H), 6.99-6.98 (m, 2H), 4.07-4.03 (m, 2H), 3.83 (d, J=1.30, 1H), 3.82 (d, J=1.40Hz, 1H), 3.78-3.75 (m, 1H), 3.68-3.66 (m, 3H), 3.36 (t, J=6.3, 2H), 3.18-3.15 (m, 4H), 3.04-3.00 (m, 2H), 2.76 (t, J=5.3Hz, 2H), 2.69-2.61 (m, 5H), 2.00-1.97 (m, 2H), 1.77-1.73 (m, 5H), 1.69-1.65 (m, 3H).

[0718]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) :  $\delta$ 10.46 (s, 1H), 9.31 (br, 1H), 8.55 (br, 4H), 7.45 (d, J=6.6, 4H), 7.20 (d, J=7.62Hz, 2H), 7.00 (d, J=6.6, 1H), 6.93 (d, J=6.6Hz, 1H), 5.43 (d, J=3.8Hz, 1H), 4.79 (d, J=5.38 1H), 4.64-4.63 (m, 2H), 4.46 (t, J=4.9Hz, 1H), 4.15 (t, J=4.6Hz, 1H), 3.96-3.94 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.64-3.61 (m, 1H), 3.51-3.45 (m, 3H), 2.96-2.92 (m, 3H), 2.78-2.77 (m, 2H), 2.68-2.65 (m, 2H), 2.62 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.95-1.94 (m, 2H), 1.76-1.15 (m, 8H).

[0719] 19. (S)-3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-(2-氨基-3-(4-(3-(二甲基氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (135) 的制备

[0720] 方案20

[0721]



[0722] 化合物132的制备

[0723] 向在THF (30mL) 中的化合物119 (700mg, 1.34mmol) 中依次添加DEPBT (600mg, 2.00mmol)、18 (360mg, 1.51mmol) 和DIPEA (0.80mL, 4.03mmol) 并室温下搅拌16h。在减压下除去溶剂后,将残余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 中,用饱和水溶液 (50mL) 和盐水 (50mL) 快速洗涤,并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。蒸发溶剂并通硅胶过快速色谱 (6% 甲醇/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 纯化粗制品,得到作为黄色固体产物的酰胺132 [800mg (混合物)]。

[0724] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.13 (d, J=7.54Hz, 1H), 8.03 (d, J=7.7Hz, 1H), 7.89–7.85 (m, 1H), 7.71 (t, J=7.52Hz, 1H), 7.64–7.59 (m, 2H), 7.44 (d, J=7.7Hz, 2H), 7.33–7.30 (m, 6H), 7.12–7.06 (m, 3H), 7.0 (d, J=7.6Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 2.70 (m, 4H), 2.63–2.61 (m, 5H), 2.45 (m, 5H), 1.83 (s, 6H), 1.69–1.65 (m, 3H), 1.33 (s, 9H)。

[0725] 化合物133的制备

[0726] 在室温下将132 [800mg (混合物), 1.01mmol] 和10% Pd/C (350mg) 在EtOH (30mL) 和 AcOH (1mL) 混合物中的混悬液脱气,并置于氢化条件 (1atm) 下12h。将反应混合物通过硅藻土的塞子过滤且塞子用MeOH洗涤。将滤液在真空下浓缩并通过柱色谱 (硅胶, 80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化,得到作为黄色固体的化合物233 (500mg, 经2步的产率67%):

[0727] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7.31 (d, J=7.54Hz, 2H), 7.12 (d, J=7.1Hz, 2H), 6.93

(d, J=7.2Hz, 1H), 6.88 (d, J=6.8Hz, 1H), 4.32 (m, 1H), 3.08-3.03 (m, 1H), 2.91-2.86 (m, 1H), 2.77-2.76 (m, 4H), 2.69 (m, 2H), 2.60-2.55 (m, 4H), 2.35-2.31 (m, 2H), 1.82 (s, 6H), 1.58-1.57 (m, 4H), 1.40 (s, 9H).

[0728] 化合物134的制备

[0729] 在室温下向胺盐133 (500mg, 0.90mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13, 530mg, 1.36mmol) 在EtOH (20mL) 中的溶液中添加DIPEA (1.30mL, 7.25mmol)。将反应混合物在密封管中于70℃下加热2h, 冷却至室温, 并在真空下浓缩。通过柱色谱纯化残余物, 得到作为黄色固体的胍134 (285mg, 42%) :

[0730]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$ 7.29 (d, J=7.5Hz, 2H), 7.10 (d, J=8.1Hz, 2H), 6.94-6.87 (m, 2H), 4.33 (m, 1H), 3.27-3.24 (m, 2H), 3.07-3.00 (m, 1H), 2.92-2.87 (m, 1H), 2.76 (m, 2H), 2.70 (m, 2H), 2.61-2.54 (m, 4H), 2.35-2.31 (m, 2H), 2.22 (s, 6H), 1.80-1.72 (m, 5H), 1.69-1.62 (m, 4H), 1.39 (s, 9H).

[0731] (S)-3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-(2-氨基-3-(4-(3-(二甲基氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(化合物135)的盐酸盐的制备;

[0732] 将二氧六环中的4N HCl (10mL) 添加到EtOH (5.0mL) 中的134 (380g, 0.35mmol) 中, 并在室温下将反应混合物搅拌2h。除去溶剂, 通过反相色谱 (C18 Gold柱) 纯化混合物, 使残余物冻干, 得到作为黄色固体的化合物135 (125mg, 49%) :

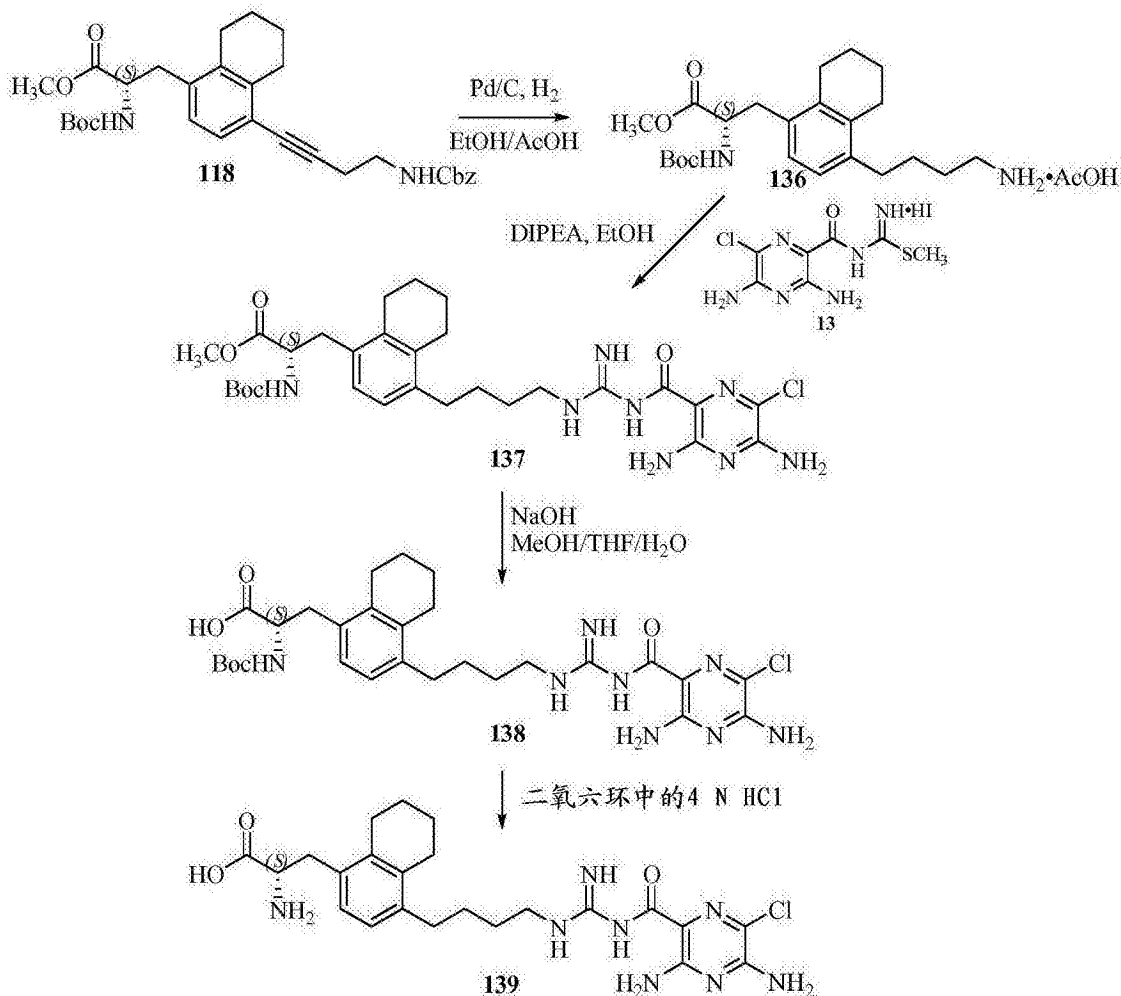
[0733]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$ 10.69 (brs, 1H), 10.54-10.50 (d, J=16.7Hz, 2H), 9.32 (t, J=4.8Hz, 1H), 8.96 (brs, 1H), 8.86 (brs, 1H), 8.58 (brs, 3H), 7.42 (d, J=8.0Hz, 4H), 7.18 (d, J=8.2Hz, 2H), 6.96 (d, J=7.3Hz, 1H), 6.88 (d, J=7.4Hz, 1H), 4.15 (t, J=4.4Hz, 1H), 3.36-3.32 (m, 2H), 3.09-3.06 (m, 2H), 3.00-2.95 (m, 2H), 2.74-2.73 (m, 1H), 2.22 (s, 6H), 2.64 (m, 2H), 2.57-2.56 (m, 2H), 1.94-1.90 (m, 2H), 1.70-1.67 (m, 3H), 1.62-1.58 (m, 2H), 1.54-1.52 (m, 2H).

[0734]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) :  $\delta$ 7.08 (d, J=7.7Hz, 2H), 7.00-6.97 (q, 2H), 6.91 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.12-4.08 (q, 1H), 3.25 (t, J=5.2Hz, 3H), 3.21-3.17 (m, 1H), 3.10 (t, J=9.8Hz, 1H), 3.0-2.96 (m, 2H), 2.77 (s, 6H), 2.60-2.58 (m, 5H), 2.50-2.50 (m, 4H), 1.91-1.87 (m, 2H), 1.60-1.58 (m, 6H), 1.45-1.43 (m, 2H).

[0735] 20. (S)-2-氨基-3-(4-(4-(3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基)胍基)丁基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基)丙酸 (139) 的制备

[0736] 方案21

[0737]



[0738] 化合物136的制备

[0739] 在室温下将118 (800mg, 1.49mmol) 和10% Pd/C (350mg) 在EtOH (50mL) 和AcOH (1.0mL) 的混合物中的混悬液脱气, 并置于氢化条件 (1atm) 下12h。将反应混合物通过硅藻土的塞子过滤且塞子用MeOH洗涤。将滤液在真空下浓缩并通过柱色谱 (硅胶, 80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化, 得到作为黄色固体的化合物136 (700mg, 93%) :

[0740] 化合物137的制备

[0741] 在室温下向胺盐136 (700mg, 1.50mmol) 和3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13, 880mg, 2.26mmol) 在EtOH (30mL) 中的溶液中添加DIPEA (2.15mL, 12.03mmol) 。将反应混合物在密封管中于70°C下加热2h, 冷却至室温, 并在真空下浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为黄色固体的胍137 (560mg, 60%) :

[0742] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ6.95-6.85 (m, 2H) , 4.32-4.28 (m, 1H) , 3.72-3.67 (m, 2H) , 3.34 (m, 3H) , 3.22-3.16 (m, 2H) , 3.08-3.03 (m, 1H) , 2.73 (m, 4H) , 2.62 (t, J=7.0Hz, 1H) , 1.81-1.78 (m, 4H) , 1.74-1.72 (m, 2H) , 1.68-1.60 (m, 2H) , 1.36 (s, 9H) , 1.34 (s, 5H) .

[0743] 化合物138的制备

[0744] 向甲酯137 (560mg, 0.907mmol) 的THF/MeOH/H<sub>2</sub>O溶液 (30mL/30mL/10mL) 中添加NaOH (3.60g, 7.25mmol) , 并在室温下将反应混合物搅拌3h。用1N HCl水溶液将pH值调节至9, 并除去有机溶剂。将残余物的pH值调节至5-6, 并使混悬液在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 与水 (50mL) 之

间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩,得到作为棕色固体的化合物138 (420mg, 78%) :

[0745] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) ; δ6.93 (d, J=6.7Hz, 1H) , 6.84 (d, J=7.35Hz, 1H) , 6.70 (s, 3H) , 3.93 (m, 1H) , 3.16 (m, 5H) , 2.98-2.94 (m, 1H) , 2.74-2.64 (m, 6H) , 1.70 (m, 5H) , 1.55 (m, 5H) , 1.31 (s, 9H) , 1.16-1.06 (m, 2H) .

[0746] (S)-2-氨基-3-(4-(4-(3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基) 胍基) 丁基)-5,6,7,8-四羟基萘-1-基) 丙酸的(化合物139)的HCl盐的制备;

[0747] 将二氧六环中的4N HCl (10mL) 添加到EtOH (5.0mL) 中的138 (420mg, 0.69mmol) 中,并在室温下将反应混合物搅拌2h。除去溶剂,通过反相色谱 (C18 Gold柱) 纯化混合物,使残余物冻干,得到作为黄色固体的化合物139 (200mg, 49%) :

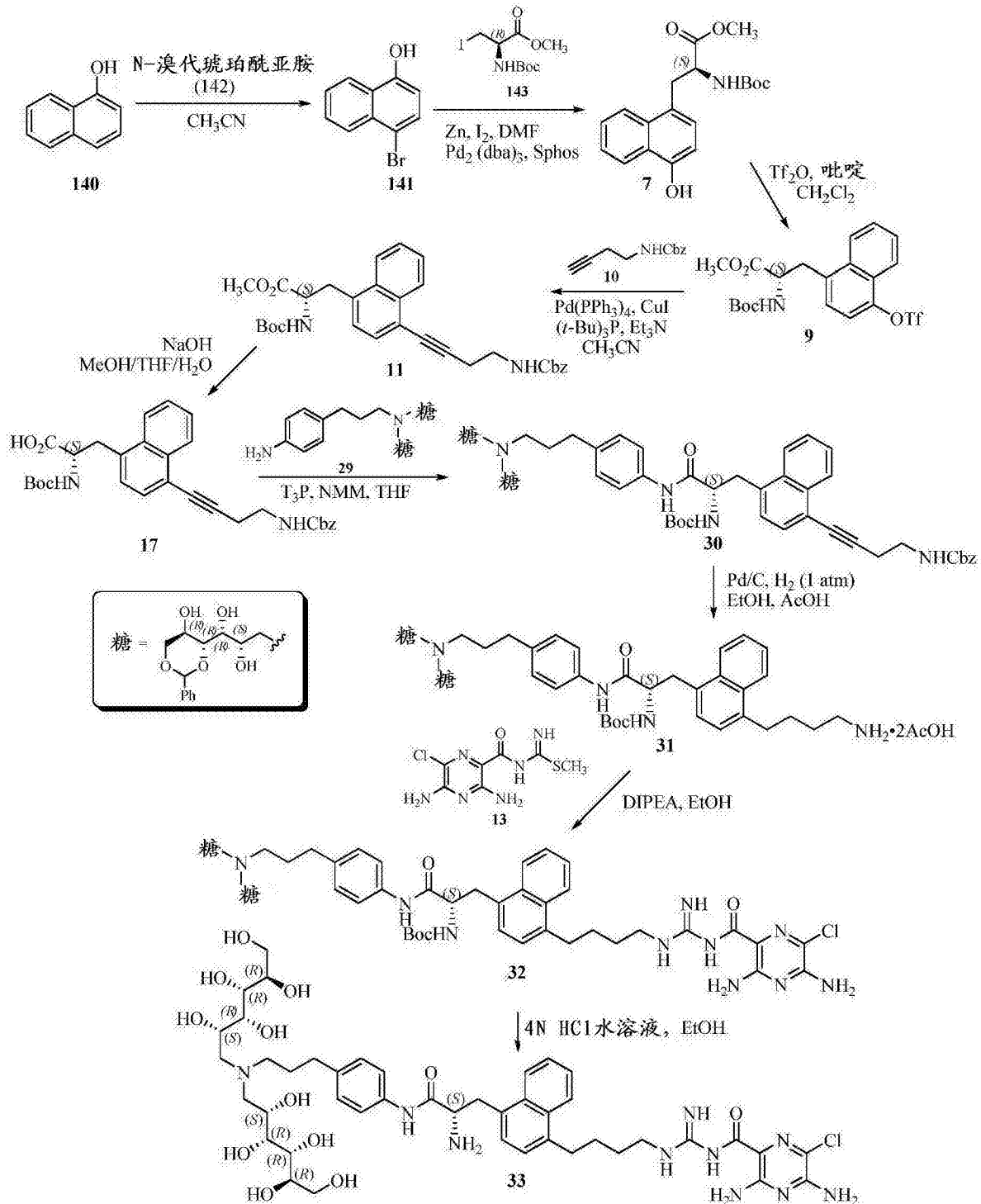
[0748] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) ; δ10.56 (brs, 1H) , 9.36 (t, J=4.7Hz, 1H) , 8.9-8.8 (brs, 2H) , 6.98-6.93 (m, 2H) , 3.95-3.92 (m, 2H) , 3.38-3.35 (m, 2H) , 3.04 (d, J=7.0Hz, 2H) , 2.67-2.66 (m, 4H) , 2.56-2.55 (m, 2H) , 1.72-1.70 (m, 4H) , 1.63-1.56 (m, 4H) .

[0749] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, D<sub>2</sub>O) ; δ7.43 (brs, 2H) , 6.94 (d, J=7.2Hz, 1H) , 6.87 (d, J=7.1Hz, 1H) , 3.41 (t, J=6.0Hz, 2H) , 3.28-3.26 (m, 4H) , 3.11 (d, 1H) , 3.08 (m, 1H) , 2.66-2.64 (m, 6H) , 1.67-1.57 (m, 8H) .

[0750] 21.3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(33)的手性合成

[0751] 方案22

[0752]



[0753] 化合物141的制备

[0754] 在30分钟的时间内向1-萘酚(140, 10.0g, 69.4mmol)的乙腈(70.0mL)溶液中添加几份NBS(142, 12.3g, 69.4mmol)。在室温下将所得混合物搅拌4h,在真空下浓缩,然后加水(200mL)和乙酸乙酯(200mL)。分离出水层并用乙酸乙酯(2×200mL)萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩。用柱色谱(硅胶,4:1己烷/EtOAc)纯化残余物,得到作为白色固体的期望化合物141(9.50g,61%):

[0755] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.49(s, 1H), 8.20(dd, J=8.3, 0.5Hz, 1H), 8.02(d, J=



8.3Hz, 1H), 7.66 (dd, J=8.4, 1.4Hz, 1H), 7.64 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.55 (ddd, J=8.2, 7.7, 1.1Hz, 1H), 6.83 (d, J=8.2Hz, 1H) .

#### [0756] 化合物7的制备

[0757] 将锌粉 (7.03g, 107.6mmol) 添加到经火焰干燥的氮气净化过的侧臂圆底烧瓶中。通过注射器添加无水DMF (50.0mL), 随后添加催化量的碘 (1.00g, 3.94mmol)。观察到得到的混合物经历从无色到黄色又恢复为无色的变化。一次性添加经保护的碘代丙氨酸143 (11.8g, 35.9mmol), 然后添加催化量的碘 (1.00g, 3.94mmol), 并在室温下搅拌30分钟;成功地插入锌伴随着温和地放热。使得有机锌试剂冷却至室温, 之后添加Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub> (821mg, 0.89mmol)、SPhos (736mg, 1.79mmol) 和芳基溴化物141 (8.00g, 35.9mmol), 并在氮气的正压下将该混合物在50℃加热保持16h。将反应混合物冷却至室温。添加饱和NH<sub>4</sub>Cl溶液 (300mL) 和EtOAc (300mL), 然后将混合物用硅藻土过滤并用EtOAc洗涤 (100mL)。分离出水层并用EtOAc (2×300mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 4:1己烷/EtOAc) 纯化粗制品, 得到作为黄色固体的期望的化合物7 (4.60g, 37%) :

[0758] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, 旋转异构体的混合物) δ8.23 (d, J=8.3Hz, 1H), 7.99 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.54 (t, J=8.04Hz, 1H), 7.48 (ddd, J=8.3, 6.9, 1.3Hz, 1H), 7.08 (d, J=7.8Hz, 1H), 6.70 (d, J=7.6Hz, 1H), 6.57 (br s, 0.2H), 6.45 (br s, 0.2H), 5.91 (br s, 0.65H), 5.05 (d, J=7.7Hz, 0.75H), 4.89 (br s, 0.25H), 4.68 (q, J=6.8Hz, 0.7H), 4.56 (br s, 0.2H), 3.73 (s, 0.7H), 3.62 (s, 2.3H), 3.49 (dd, J=14.0, 5.9Hz, 0.8H), 3.89 (dd, J=14.0, 7.2Hz, 0.7H), 3.05 (br s, 0.2H), 1.39 (s, 7.5H), 1.09 (s, 2.5H) .

#### [0759] 化合物9的制备

[0760] 在0℃向化合物7 (7.60g, 21.8mmol) 的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150mL) 溶液中添加吡啶 (18.0mL) 和Tf<sub>2</sub>O (9.19g, 32.6mmol)。在室温下将所得混合物搅拌2h, 在真空下浓缩并在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 与水 (50mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×50mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩, 得到作为棕色油状物的化合物9 (11.0g, 粗制品)。粗制品无需进一步纯化即直接用于接下来的步骤。

[0761] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, 旋转异构体的混合物) δ8.19-8.07 (m, 2H), 7.69-7.64 (m, 2H), 7.38 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.28 (d, J=7.9Hz, 1H), 5.12-5.06 (br s, 1H), 4.78-4.67 (m, 1H), 3.68-3.46 (m, 5H), 1.39 (s, 8H), 1.25 (s, 1H) .

#### [0762] 化合物11的制备

[0763] 在室温下将化合物9 (11.0g, 21.8mmol) 和丁-3-炔基氨基甲酸苄酯10 (6.56g, 32.6mmol) 在无水乙腈 (100mL) 中的溶液在氩气氛下脱气10分钟, 随后添加TEA (11.9mL, 87.0mmol)、己烷中的10% (t-Bu)<sub>3</sub>P (8.80mL, 4.35mmol) 和CuI (207mg, 1.08mmol)。将所得的混合物用氩气再脱气10分钟, 并一次性添加Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (2.51g, 2.17mmol)。用氩气脱气5分钟后, 将所得混合物回流16h。将反应混合物在真空中浓缩并用柱色谱 (硅胶, 2:3己烷/EtOAc) 纯化残余物, 得到作为棕色油状物的化合物11 (7.00g, 经两步的产率61%)。

[0764] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, 旋转异构体的混合物) δ8.33 (dd, J=8.9, 1.9Hz, 1H), 8.07 (dd, J=9.0, 1.7Hz, 1H), 7.59-7.49 (m, 3H), 7.39-7.27 (m, 5H), 7.19 (d, J=7.3Hz, 1H), 5.24-5.16 (m, 1H), 5.12 (s, 2H), 5.08-4.99 (m, 1H), 4.69 (q, J=6.7Hz, 1H), 3.59 (s, 3H),

3.57-3.40 (m, 4H), 2.79 (t, J=6.4Hz, 2H), 1.39 (s, 7.5H), 1.11 (s, 1.5H).

[0765] 化合物17的制备

[0766] 向甲基酯11 (7.00g, 13.2mmol) 在THF (200mL)、甲醇 (200mL) 和水 (75.0mL) 的溶液中添加固体NaOH (16.0g, 79.2mmol)。在室温下将所得混合物搅拌1h, 直到TLC显示反应完成。添加1N盐酸以将反应混合物的pH值调至10。浓缩后, 添加水 (100mL) 并将pH调节至5-6。将所得沉淀物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×250mL) 萃取。合并有机层, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥、过滤、浓缩并用MTBE研磨, 得到作为白色固体的化合物17 (5.00g, 75%) :

[0767] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD; 旋转异构体的混合物) δ8.33 (d, J=8.2Hz, 1H), 8.28-8.20 (m, 1H), 7.59-7.45 (m, 3H), 7.38-7.21 (m, 6H), 5.09 (s, 2H), 4.55-4.45 (m, 1H), 3.76-3.66 (m, 1H), 3.44 (t, J=6.7Hz, 2H), 3.28-3.20 (m, 1H), 2.76 (t, J=6.7Hz, 2H), 1.29 (s, 6H), 0.82 (s, 3H).

[0768] 化合物30的制备

[0769] 向化合物17 (4.60g, 8.91mmol) 的THF (160mL) 溶液中依次添加T<sub>3</sub>P (乙酸乙酯中50%, 10.7mL) 和NMM (4.89mL, 44.5mmol)。在室温下搅拌10分钟后, 添加胺29 (6.11g, 9.33mmol), 并在室温下将反应混合物搅拌16h。除去溶剂后, 将残余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 中, 用饱和NH<sub>4</sub>Cl、饱和NaHCO<sub>3</sub>和盐水快速洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩。将通过柱色谱 (硅胶, 9:1二氯甲烷/甲醇) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的酰胺30 (6.60g, 64%)

[0770] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.33 (dd, J=9.0, 1.7Hz, 1H), 8.17 (d, J=7.3Hz, 1H), 7.62-7.47 (m, 4H), 7.42 (dd, J=7.7, 4.1Hz, 4H), 7.37-7.28 (m, 11H), 7.09-6.95 (m, 4H), 5.46 (s, 2H), 5.33 (br s, 1H), 5.22 (t, J=5.8Hz, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.63-4.51 (m, 1H), 4.27 (dd, J=10.8, 5.4Hz, 2H), 4.02-3.84 (m, 6H), 3.71 (t, J=4.5Hz, 6H杂质), 3.57 (t, J=10.6Hz, 2H), 3.54-3.45 (m, 4H), 2.82-2.60 (m, 6H), 2.59-2.45 (m, 3H), 2.44-2.36 (m, 4H), 1.82-1.69 (m, 2H), 1.38 (s, 9H).

[0771] 化合物31的制备

[0772] 在室温下通过使用注射器用氩气冒泡将30 (7.26g, 6.20mmol) 和10%Pd/C (1.50g) 在EtOH/AcOH (240mL/40.0mL) 中的混悬液进行鼓泡脱气10分钟, 然后置于氢化条件 (1atm) 下16h。将反应混合物用硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩并用MTBE研磨, 得到作为棕色固体的胺盐31 (7.06g, 98%) :

[0773] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD, 旋转异构体的混合物) δ8.24 (dd, J=7.2, 2.0Hz, 1H), 8.09 (d, J=7.0Hz, 1H), 7.59-7.22 (m, 2H), 7.49-7.41 (m, 4H), 7.39-7.22 (m, 10H), 6.95 (d, J=8.5Hz, 2H), 5.51 (s, 2H), 4.55 (t, J=7.2Hz, 1H), 4.24 (dd, J=10.7, 5.4Hz, 2H), 4.19-4.10 (m, 2H), 3.99-3.88 (m, 4H), 3.83-3.73 (m, 8H, 杂质), 3.61 (t, J=10.5, Hz, 2H), 3.59-3.52 (m, 1H), 3.45-3.36 (m, 1H), 3.19-3.02 (m, 4H), 2.93-2.81 (m, 8H), 2.54-2.39 (m, 2H), 1.95 (s, 6H), 1.88-1.80 (m, 2H), 1.80-1.65 (m, 4H), 1.36 (s, 7H), 1.09 (s, 2H).

[0774] 化合物32的制备

[0775] 在室温下向31 (7.06g, 6.18mmol) 的EtOH (50.0mL) 溶液中添加DIPEA (8.80mL, 49.4mmol), 随后添加3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13, 3.84g, 9.88mmol)。将反应混合物在70℃加热2h, 冷却至室温, 并在真空下浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 将残留物纯化两次, 得到作为黄色固体的化合物32 (2.50g,

33%) :

[0776]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 旋转异构体的混合物)  $\delta$  8.22 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 8.08 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H), 7.56-7.47 (m, 4H), 7.43 (dd,  $J=7.4, 3.6\text{Hz}$ , 4H), 7.33-7.14 (m, 10H), 6.94 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 5.47 (s, 2H), 4.53 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 4.22 (dd,  $J=10.8, 5.4\text{Hz}$ , 2H), 3.99-3.89 (m, 4H), 3.84 (dd,  $J=5.5, 2.3\text{Hz}$ , 2H), 3.70 (dd,  $J=9.2, 2.2\text{Hz}$ , 2H), 3.59 (t,  $J=10.8\text{Hz}$ , 2H), 3.54-3.46 (m, 1H), 3.47-3.38 (m, 1H), 3.22 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 3.11-3.02 (m, 2H), 2.70 (dd,  $J=13.5, 4.6\text{Hz}$ , 2H), 2.61 (dd,  $J=13.6, 8.9$ , 2H), 2.57-2.47 (m, 2H), 2.46-2.34 (m, 2H), 1.84-1.73 (m, 2H), 1.72-1.61 (m, 4H), 1.36 (s, 7H), 1.12 (s, 2H) .

[0777] 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((S)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (33) 的HCl盐的制备

[0778] 向32 (2.50g, 2.02mmol) 在EtOH (30.0mL) 中的溶液中添加4N盐酸 (80.0mL) 。在室温下将所得混合物搅拌2h。除去溶剂, 通过反相柱进行纯化并冻干, 得到作为黄色吸湿性固体的化合物33 (1.82g, 85%) :

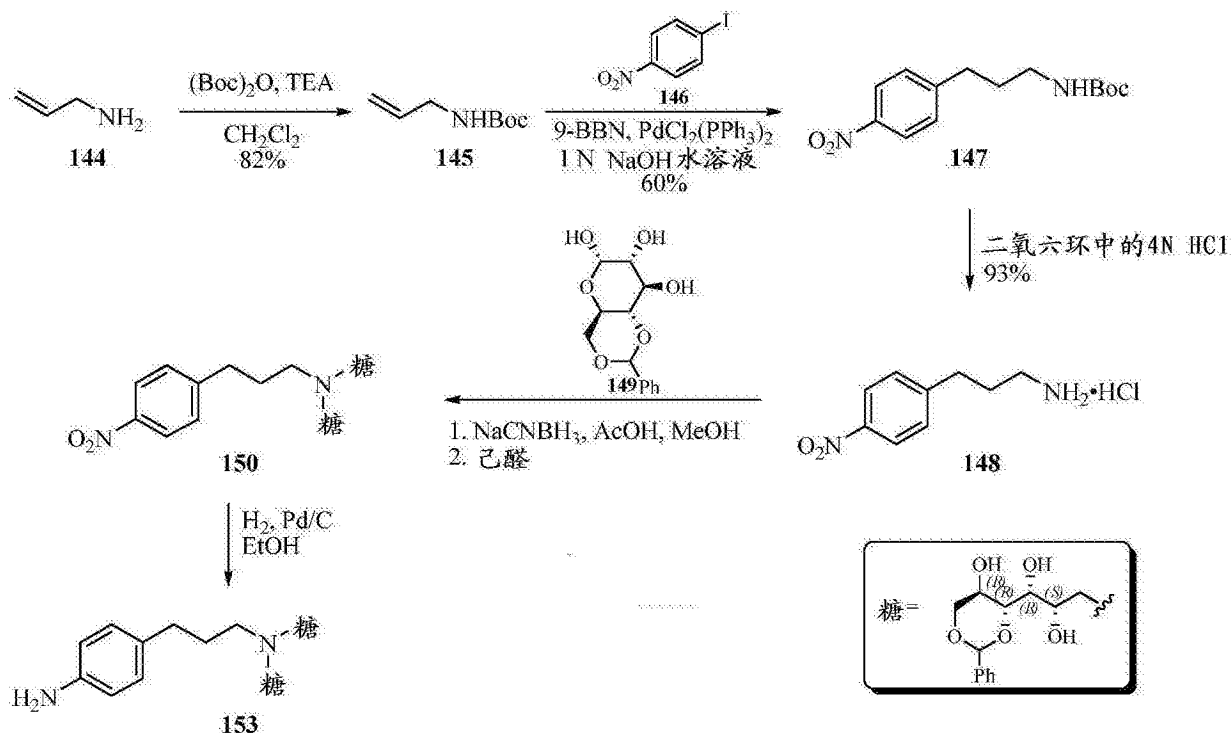
[0779]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.61 (s, 1H), 10.59 (s, 1H), 9.41 (t,  $J=5.2\text{Hz}$ , 1H), 9.01 (br s, 1H), 8.96 (br s, 1H), 8.81 (br s, 2H), 8.77 (br s, 2H), 8.44-8.37 (m, 1H), 8.16-8.10 (m, 1H), 7.61-7.52 (m, 2H), 7.41 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H), 7.35 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 7.27 (d,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 7.17 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 4.28 (q,  $J=7.4\text{Hz}$ , 1H), 4.09-3.99 (m, 2H), 3.75-3.65 (m, 3H), 3.58 (dd,  $J=11.0, 2.6\text{Hz}$ , 2H), 3.55-3.31 (m, 10H), 3.30-3.13 (m, 4H), 3.32-3.00 (m, 2H), 2.63-2.53 (m, 2H), 2.05-1.92 (m, 2H), 1.78-1.61 (m, 4H) .

[0780]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  9.25 (t,  $J=5.9\text{Hz}$ , 0.5H), 8.26-8.21 (m, 1H), 8.17-8.12 (m, 1H), 7.60-7.54 (m, 2H), 7.38 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 7.32 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 7.25 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H), 7.15 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H), 4.31 (t,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 4.21-4.14 (m, 1H), 4.13-4.08 (m, 1H), 3.85-3.80 (m, 2H), 3.79 (d,  $J=2.9\text{Hz}$ , 1H), 3.76 (d,  $J=3.2\text{Hz}$ , 1H), 3.73-3.62 (m, 8H), 3.51-3.34 (m, 8H), 3.15 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H), 2.73-2.57 (m, 2H), 2.15-1.98 (m, 2H), 1.91-1.73 (m, 4H) .

[0781] 22. (2R,2'R,3R,3'R,4R,4'R,5S,5'S)-6,6'-(3-(4-氨基苯基)丙基氮烷二基)二己烷-1,2,3-,4,5-五醇 (29) 的制备

[0782] 方案23

[0783]



[0784] 化合物145的制备

[0785] 在0℃向化合物144 (8.80g, 154.1mmol) 的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150mL) 溶液中添加TEA (32.2mL, 231.2mmol) 和Boc<sub>2</sub>O (40.4g, 185.3mmol)。在0℃将反应混合物继续搅拌0.5h, 使得其加热至室温并搅拌5h。然后使混合物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150mL) 与水 (150mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×150mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥、浓缩, 得到作为无色油状物的期望的化合物145 (22.0g, 91%)。

[0786] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.90–5.77 (m, 1H), 5.17 (dq, J=17.1, 1.7Hz, 1H), 5.10 (dq, J=10.4, 1.4Hz, 1H), 4.64 (brs, 1H), 3.74 (t, J=5.2Hz, 2H), 1.45 (s, 9H)。

[0787] 化合物147的制备

[0788] 在氩气下向化合物145 (14.0mmol, 89.12mmol) 的无水THF (150mL) 溶液中添加9-BBN (在THF中0.5M, 270mL, 133.8mmol)。在室温下将反应混合物搅拌2h, 室温下添加化合物146 (17.7g, 71.3mmol)、Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3.12g, 4.45mmol) 和1N NaOH水溶液 (150mL)。将所得混合物再搅拌1h。除去溶剂后; 使残余物在EtOAc (200mL) 与水 (200mL) 之间分配。分离出水层并用EtOAc (2×200mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。将通过柱色谱 (硅胶, 4:1己烷/EtOAc) 纯化粗制品, 得到作为棕色固体的化合物147 (8.00g, 43%):

[0789] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.14 (d, J=8.9Hz, 2H), 7.34 (d, J=8.9Hz, 2H), 4.56 (brs, 1H), 3.17 (q, J=6.2Hz, 2H), 2.75 (t, J=7.7Hz, 2H), 1.89–1.79 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)。

[0790] 化合物148的制备

[0791] 在室温下将化合物147 (8.00g, 28.6) 溶解于二氧六环中的4N HCl (50.0mL) 中, 并将溶液搅拌1h。将反应混合物在真空下浓缩并将残余物用MTBE研磨, 得到作为棕色固体的化合物148 (4.00g, 65%):

[0792]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.19 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 2H), 7.50 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 2H), 2.98 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 2.86 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 2.07-1.97 (m, 2H) .

[0793] 化合物150的制备

[0794] 向化合物148 (4.00g, 18.5mmol) 和三醇149 (24.8g, 92.5mmol) 的MeOH (150mL) 溶液中添加AcOH (11.1mL, 185mmol), 并在室温下将反应混合物搅拌10分钟。添加NaCNBH<sub>3</sub> (5.83g, 92.5mmol) 后, 在室温下将溶液继续搅拌24h。在4天内添加额外的化合物149 (4.0当量)、AcOH (4.0当量) 和NaCNBH<sub>3</sub> (4.0当量)。然后添加己醛 (2.0当量)、AcOH (2.0当量) 和NaCNBH<sub>3</sub> (2.0当量)。在室温下将该溶液再搅拌1h。除去溶剂后, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>中和残余物, 并使残余物在EtOAc (200mL) 与水 (200mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×300mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱 (9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的化合物150 (6.50g, 52%)。分离来自不纯的级分中额外的4.00g材料, 并通过反相柱进行纯化, 得到1.50g (12%) 的纯化合物150 (总量7.70g, 64%) :

[0795]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.03 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 2H), 7.50-7.41 (m, 4H), 7.35-7.23 (m, 8H), 5.48 (s, 2H), 4.22 (dd,  $J=10.6, 5.3\text{Hz}$ , 2H), 3.99-3.91 (m, 4H), 3.85 (dd,  $J=5.5, 2.4\text{Hz}$ , 2H), 3.70 (dd,  $J=9.5, 2.4\text{Hz}$ , 2H), 3.59 (t,  $J=10.6\text{Hz}$ , 2H), 2.73 (dd,  $J=13.6, 4.5\text{Hz}$ , 2H), 2.67-2.50 (m, 6H), 1.83-1.71 (m, 2H) .

[0796] (2R, 2'R, 3R, 3'R, 4R, 4'R, 5S, 5'S) -6, 6'-(3-(4-氨基苯基) 丙基氮烷二基) 二己烷-1, 2, 3, 4, 5-五醇 (化合物153) 的制备;

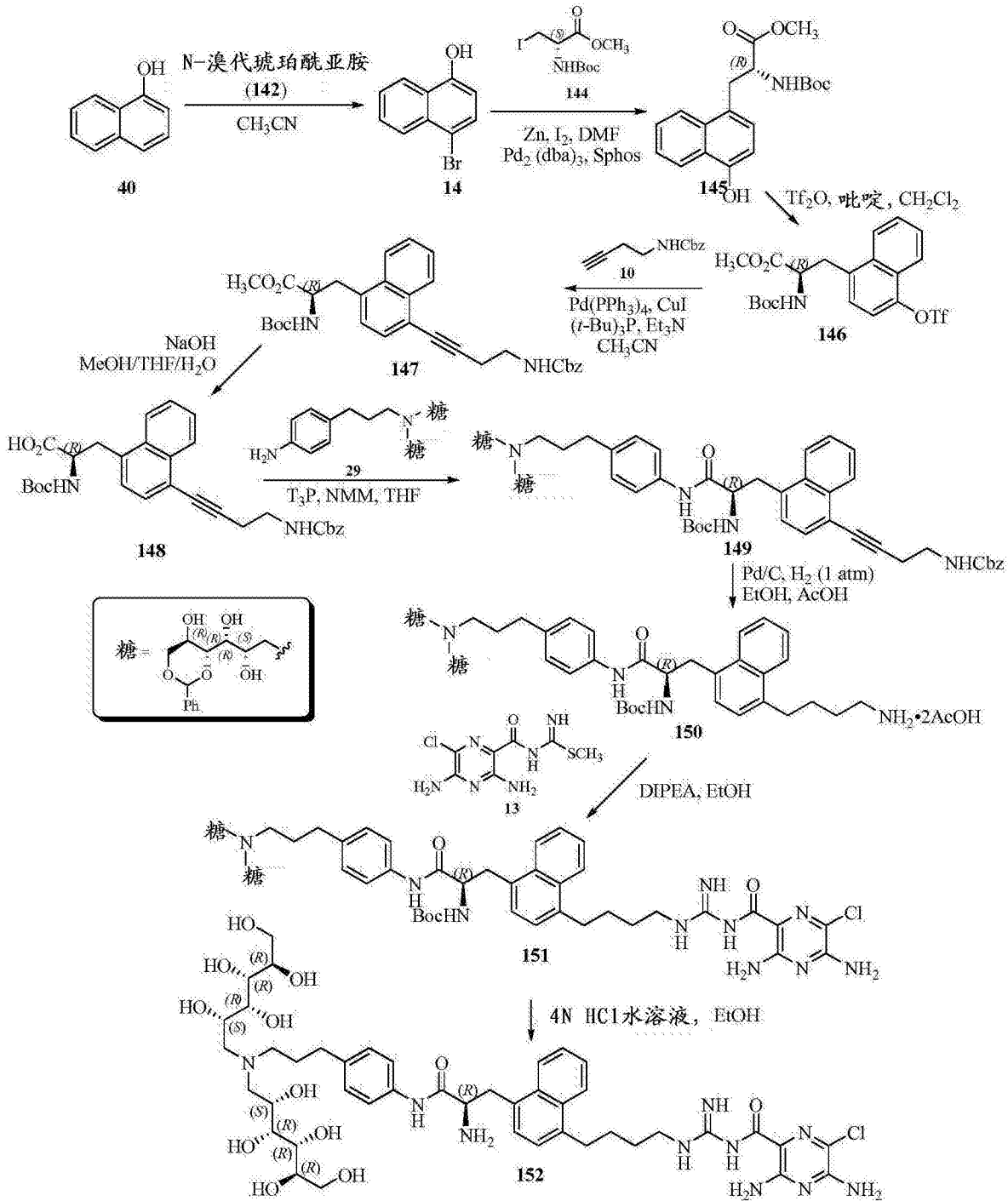
[0797] 在室温下通过使用注射器将化合物150 (6.50g, 9.50mmol) 和10%Pd/C (1.30g) 在乙醇 (150mL) 中的混悬液进行鼓泡脱气10分钟, 然后在氢气氛 (气球, 1atm) 下搅拌6h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩, 得到作为灰白色固体的153 (6.01g, 97%) :

[0798]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  7.49-7.42 (m, 4H), 7.35-7.26 (m, 6H), 6.82 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 6.60 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 5.48 (s, 2H), 4.22 (dd,  $J=10.8, 5.9\text{Hz}$ , 2H), 3.98-3.89 (m, 4H), 3.83 (dd,  $J=5.7, 2.3\text{Hz}$ , 2H), 3.69 (dd,  $J=13.2, 3.4\text{Hz}$ , 2H), 3.62-3.55 (m, 3H), 2.71 (dd,  $J=13.2, 3.4\text{Hz}$ , 2H), 2.65-2.48 (m, 3H), 2.45-2.29 (m, 2H), 1.74-1.63 (m, 2H) .

[0799] 23, 3, 5-二氨基-N-(N-(4-(4-(R)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S, 3R, 4R, 5R)-2, 3, 4, 5, 6-五羟基己基) 氨基) 丙基) 苯基氨基)-3-氧代丙基) 萘-1-基) 丁基) 甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (152) 的制备

[0800] 方案24

[0801]



[0802] 化合物14的制备

[0803] 在30分钟内向1-萘酚(1, 10.0g, 69.4mmol)的乙腈(70.0mL)溶液中添加几份NBS(142, 12.3g, 69.4mmol)。在室温下将所得混合物搅拌4h, 在真空下浓缩, 然后添加水(200mL)和乙酸乙酯(200mL)。分离出水层并用乙酸乙酯(2×200mL)萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩。通过结晶(庚烷/EtOAc)纯化残余物, 得到作为白色固体的期望的化合物14(6.0g, 39%)。

[0804] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ10.49(s, 1H), 8.20(dd, J=8.3, 0.5Hz, 1H), 8.02(d, J=8.3Hz, 1H), 7.66(dd, J=8.4, 1.4Hz, 1H), 7.64(d, J=8.1Hz, 1H), 7.55(ddd, J=8.2, 7.7,

1.1Hz, 1H), 6.83 (d, J=8.2Hz, 1H) .

[0805] 化合物145的制备

[0806] 将锌粉 (4.76g, 72.9mmol) 添加到经火焰干燥, 氮气净化过的侧臂圆底烧瓶中。通过注射器添加无水DMF (25.0mL) 中, 随后添加催化量的碘 (677mg, 2.67mmol) 。观察到得到的混合物经历从无色到黄色以及变回无色的变化。一次性添加经保护的碘代丙氨酸114 (8.00g, 24.3mmol) , 然后添加催化量的碘 (677mg, 2.67mmol) , 并在室温下搅拌30分钟; 成功地插入锌伴随着温和地放热。使得有机锌试剂冷却至室温, 之后添加Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (556mg, 0.60mmol) 、SPhos (498mg, 1.21mmol) 和芳基溴化物14 (5.40g, 24.3mmol) , 并在氮气的正压下, 将该混合物在加热至50℃保持16h。将反应混合物冷却至室温。添加饱和NH<sub>4</sub>Cl溶液 (300mL) 和EtOAc (300mL) , 然后将混合物通过硅藻土过滤并用EtOAc洗涤 (100mL) 。分离出水层并用EtOAc (2×300mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 4:1己烷/EtOAc) 纯化粗制品, 得到作为黄色固体的期望的化合物145 (3.10g, 37%) :

[0807] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, 旋转异构体的混合物) : δ8.23 (d, J=8.3Hz, 1H) , 7.99 (d, J=8.6Hz, 1H) , 7.54 (t, J=8.04Hz, 1H) , 7.48 (ddd, J=8.3, 6.9, 1.3Hz, 1H) , 7.08 (d, J=7.8Hz, 1H) , 6.70 (d, J=7.6Hz, 1H) , 5.98 (br s, 0.3H) , 5.59 (br s, 0.7H) , 5.03 (d, J=7.7Hz, 0.85H) , 4.84 (br s, 0.15H) , 4.68 (q, J=6.8Hz, 1H) , 3.76-3.68 (m, 1H) , 3.62 (s, 3H) , 3.54-3.33 (m, 2H) , 1.39 (s, 7H) , 1.09 (s, 2H) .

[0808] 化合物146的制备

[0809] 在0℃向化合物145 (3.07g, 8.90mmol) 的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (75.0mL) 溶液中添加吡啶 (7.25mL, 88.9mmol) 和Tf<sub>2</sub>O (2.24mL, 13.3mmol) 。在室温下将所得混合物搅拌2h, 在真空下浓缩且在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 与水 (50mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×50mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩, 得到作为棕色油状物的化合物146 (4.20g, 粗制品) 。粗制产物无需进一步纯化即直接用于接下来的步骤。

[0810] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, 旋转异构体的混合物) : δ8.19-8.07 (m, 2H) , 7.69-7.64 (m, 2H) , 7.38 (d, J=8.1Hz, 1H) , 7.28 (d, J=7.9Hz, 1H) , 5.12-5.06 (br s, 1H) , 4.78-4.67 (m, 1H) , 3.68-3.46 (m, 5H) , 1.39 (s, 8H) , 1.25 (s, 1H) .

[0811] 化合物147的制备

[0812] 在氩气氛下, 将化合物6 (4.20g, 8.80mmol, 粗制品) 和丁-3-炔基氨基甲酸苄酯7 (2.65g, 13.2mmol) 在无水乙腈 (50.0mL) 中的溶液脱气10分钟, 随后在室温下添加TEA (4.81mL, 35.2mmol) 、在己烷中的10% (t-Bu)<sub>3</sub>P (3.56mL, 1.76mmol) 和CuI (84mg, 0.44mmol) 。用氩气将所得混合物再脱气10分钟, 并一次性添加Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (1.01g, 0.88mmol) 。用氩气脱气5分钟后, 将所得混合物回流18h。将反应混合物在真空中浓缩并通过柱色谱 (硅胶, 2:3己烷/EtOAc) 纯化残余物, 得到作为棕色油状物的化合物147 (3.20g, 经两步的产率67%) 。

[0813] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, 旋转异构体的混合物) : δ8.33 (dd, J=8.9, 1.9Hz, 1H) , 8.07 (dd, J=9.0, 1.7Hz, 1H) , 7.59-7.49 (m, 3H) , 7.39-7.27 (m, 5H) , 7.19 (d, J=7.3Hz, 1H) , 5.24-5.16 (m, 1H) , 5.12 (s, 2H) , 5.08-4.99 (m, 1H) , 4.69 (q, J=6.7Hz, 1H) , 3.59 (s, 3H) , 3.57-3.40 (m, 4H) , 2.79 (t, J=6.4Hz, 2H) , 1.39 (s, 7.5H) , 1.11 (s, 1.5H) .

[0814] 化合物148的制备

[0815] 向甲酯147 (3.10g, 5.84mmol) 在THF (60mL)、甲醇 (60mL) 和水 (20.0mL) 的溶液中添加固体NaOH (1.40g, 35.09mmol)。在室温下将所得混合物搅拌2h直到TLC显示反应完成。添加1N盐酸将反应混合物的pH值调节至10。浓缩后, 添加水 (100mL) 并将pH调节至5-6。将所得沉淀物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×200mL) 萃取。合并有机层, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥、过滤, 浓缩并用MTBE研磨, 得到作为白色固体的化合物148 (3.00g, 99%)。

[0816] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD; 旋转异构体的混合物): δ8.33 (d, J=8.2Hz, 1H), 8.28-8.20 (m, 1H), 7.59-7.45 (m, 3H), 7.38-7.21 (m, 6H), 5.09 (s, 2H), 4.55-4.45 (m, 1H), 3.76-3.66 (m, 1H), 3.44 (t, J=6.7Hz, 2H), 3.28-3.20 (m, 1H), 2.76 (t, J=6.7Hz, 2H), 1.29 (s, 6H), 0.82 (s, 3H)。

[0817] 化合物149的制备

[0818] 向化合物148 (800mg, 1.55mmol) 的THF溶液 (30mL) 溶液中依次添加T<sub>3</sub>P (乙酸乙酯中50%, 1.86mL) 和NMM (0.85mL, 7.75mmol)。在室温下搅拌10分钟后, 添加胺29 (1.01g, 1.55mmol), 并在室温下将反应混合物搅拌1h。除去溶剂后, 将残余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 中, 用饱和NH<sub>4</sub>Cl、饱和NaHCO<sub>3</sub>和盐水快速洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩。用柱色谱 (硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的酰胺149 (1.20g, 67%)。

[0819] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ8.35 (d, J=8.0, 1.7Hz, 1H), 8.19 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.60-7.52 (m, 2H), 7.50 (d, J=7.3Hz, 2H), 7.45-7.39 (m, 5H), 7.37-7.28 (m, 11H), 7.08-6.96 (m, 3H), 5.47 (s, 2H), 5.33-5.17 (m, 2H), 5.12 (s, 2H), 4.59-4.48 (m, 1H), 4.29 (dd, J=10.8, 5.4Hz, 2H), 4.07-4.00 (m, 2H), 3.99-3.91 (m, 4H), 3.78-3.68 (m, 3H), 3.59 (t, J=10.6Hz, 2H), 3.55-3.46 (m, 4H), 2.95-2.82 (m, 2H), 2.81-2.69 (m, 4H), 2.68-2.57 (m, 1H), 2.56-2.44 (m, 3H), 2.43-2.38 (m, 1H), 1.85-1.69 (m, 2H), 1.38 (s, 9H)。

[0820] 化合物150的制备

[0821] 在室温下通过使用注射器用氩气将149 (1.15g, 1.00mmol) 和10%Pd/C (230mg) 在EtOH/AcOH (80.0mL/20.0mL) 中的混悬液进行鼓泡脱气10分钟, 然后置于氢化条件 (1atm) 下16h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩并用MTBE研磨, 得到作为棕色固体的胺盐150 (1.12g, 97%)。

[0822] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD; 旋转异构体的混合物): δ8.25 (dd, J=7.2, 2.0Hz, 1H), 8.09 (d, J=7.0Hz, 1H), 7.59-7.51 (m, 2H), 7.48-7.41 (m, 4H), 7.37-7.21 (m, 10H), 6.94 (d, J=8.5Hz, 2H), 5.52 (s, 2H), 4.54 (t, J=7.2Hz, 1H), 4.24 (dd, J=10.7, 5.4Hz, 2H), 4.16-4.08 (m, 2H), 3.97-3.88 (m, 4H), 3.75-3.70 (m, 2H), 3.62 (t, J=10.5, Hz, 2H), 3.60-3.51 (m, 1H), 3.28-3.15 (m, 2H), 3.14-2.95 (m, 4H), 2.89 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.73-2.67 (m, 1H), 2.54-2.39 (m, 2H), 1.95 (s, 6H), 1.88-1.64 (m, 8H), 1.36 (s, 7.5H), 1.09 (s, 1.5H)。

[0823] 化合物151的制备

[0824] 在室温下, 向150 (1.05g, 0.92mmol) 的EtOH (15.0mL) 溶液中添加DIPEA (1.30mL, 7.35mmol), 随后添加3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基甲脒基硫代酸甲酯 (13,573mg, 1.47mmol)。将反应混合物加热至70℃保持2h, 冷却至室温并在真空下浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH) 将残余物纯化两次, 得到作为黄色固体的化合物151 (410mg, 36%)。



[0825]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 旋转异构体的混合物) :  $\delta$ 8.22 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) , 8.09 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H) , 7.56-7.48 (m, 2H) , 7.47-7.40 (m, 4H) , 7.33-7.25 (m, 6H) , 7.22 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H) , 7.16 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H) , 6.94 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H) , 5.47 (s, 2H) , 4.53 (t,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H) , 4.22 (dd,  $J=10.8, 5.4\text{Hz}$ , 2H) , 3.99-3.89 (m, 4H) , 3.84 (dd,  $J=5.5, 2.1\text{Hz}$ , 2H) , 3.70 (dd,  $J=9.1, 2.0\text{Hz}$ , 2H) , 3.59 (t,  $J=10.8\text{Hz}$ , 2H) , 3.53-3.47 (m, 1H) , 3.46-3.39 (m, 1H) , 3.26-3.17 (m, 2H) , 3.12-3.04 (m, 2H) , 2.70 (dd,  $J=13.2, 4.0\text{Hz}$ , 2H) , 2.60 (dd,  $J=13.0, 8.2\text{Hz}$ , 2H) , 2.57-2.49 (m, 2H) , 2.47-2.33 (m, 2H) , 1.84-1.73 (m, 2H) , 1.72-1.61 (m, 4H) , 1.37 (s, 7H) , 1.12 (s, 2H) .

[0826] 3,5-二氨基-N-(N-(4-(4-((R)-2-氨基-3-(4-(3-(双((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)丙基)苯基氨基)-3-氧代丙基)萘-1-基)丁基)甲脒基)-6-氯吡嗪-2-甲酰胺 (152) 的合成

[0827] 向151 (480mg, 0.42mmol) 在EtOH (5.0mL) 的溶液中添加4N盐酸 (25.0mL) 。在室温下将所得混合物搅拌2h。除去溶剂, 通过反相柱纯化并冻干, 得到作为黄色吸湿性固体的化合物152 (300mg, 71%) 。

[0828]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) :  $\delta$ 10.57 (brs, 1H) , 10.55 (brss, 1H) , 9.35 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 1H) , 9.04-8.84 (m, 2H) , 8.81-8.66 (m, 4H) , 8.42-8.36 (m, 1H) , 8.16-8.10 (m, 1H) , 7.61-7.53 (m, 2H) , 7.41 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H) , 7.35 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H) , 7.28 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H) , 7.17 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 2H) , 4.32-4.23 (m, 1H) , 4.08-3.97 (m, 2H) , 3.75-3.30 (m, 13H) , 3.29-3.15 (m, 4H) , 3.14-2.97 (m, 2H) , 2.64-2.53 (m, 2H) , 2.05-1.92 (m, 2H) , 1.79-1.60 (m, 4H) .

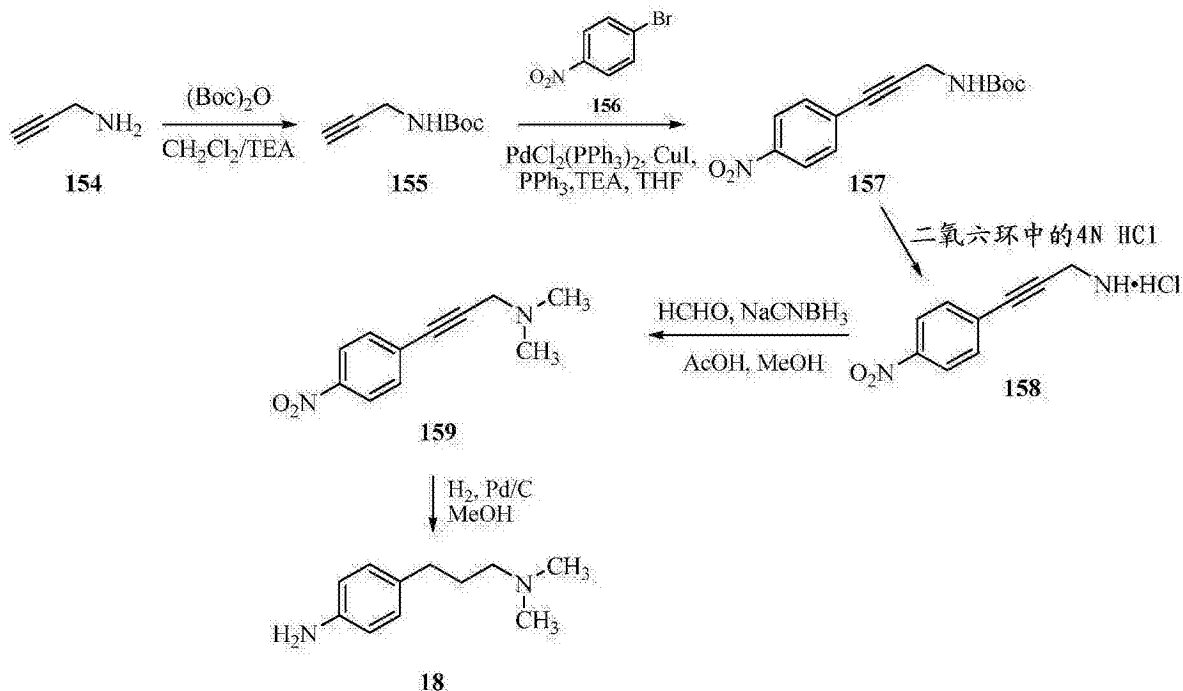
[0829]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$ 8.25-8.21 (m, 1H) , 8.18-8.13 (m, 1H) , 7.59-7.53 (m, 2H) , 7.38 (d,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H) , 7.32 (d,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H) , 7.26 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 2H) , 7.15 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H) , 4.30 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H) , 4.20-4.14 (m, 1H) , 4.13-4.08 (m, 1H) , 3.84-3.80 (m, 2H) , 3.79-3.75 (m, 2H) , 3.72-3.61 (m, 8H) , 3.51-3.34 (m, 8H) , 3.15 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H) , 2.74-2.58 (m, 2H) , 2.13-1.98 (m, 2H) , 1.91-1.73 (m, 4H) .

[0830] HRMS:  $\text{C}_{44}\text{H}_{64}\text{ClN}_{10}\text{O}_{12}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  计算值: 959.4418, 实际值: 959.4394。

[0831] 24. 中间体18的制备

[0832] 方案25

[0833]



[0834] 化合物155的制备

[0835] 在0℃向化合物154 (500mg, 9.00mmol) 的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 溶液中添加TEA (1.63mL, 11.7mmol) 和Boc<sub>2</sub>O (2.16g, 9.90mmol)。在0℃将反应混合物继续搅拌0.5h, 使得其升温至室温并搅拌3h。然后使混合物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 与水 (50mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×50mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥、浓缩, 通过柱色谱 (硅胶, 2:3 己烷/EtOAc) 纯化残余物, 得到作为无色油状物的期望的化合物155 (1.20g, 86%)。

[0836] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ4.70 (br s, 1H), 3.91 (dd, J=5.3, 2.2Hz, 2H), 2.21 (t, J=2.7Hz, 1H), 1.45 (s, 9H)。

[0837] 化合物157的制备:

[0838] 在氩气氛下, 将化合物155 (1.00g, 6.45mmol) 和156 (1.30g, 6.45mmol) 在无水THF (15mL) 中的溶液脱气10分钟, 随后在室温下添加TEA (3.53mL, 25.8mmol)、PPh<sub>3</sub> (424mg, 1.61mmol) 和CuI (246mg, 1.29mmol)。用氩气将所得混合物再脱气10分钟, 并一次性添加Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (7.45g, 6.45mmol)。用氩气脱气5分钟后, 将所得混合物回流16h。将反应混合物在真空中浓缩并通过柱色谱 (硅胶, 2:3 己烷/EtOAc) 纯化残余物, 得到作为棕色油状物的化合物157 (750mg, 42%)。

[0839] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ8.17 (d, J=9.2Hz, 2H), 7.55 (d, J=9.2Hz, 2H), 4.79 (brs, 1H), 4.18 (d, J=6.0Hz, 2H), 1.47 (s, 9H)。

[0840] 化合物158的制备

[0841] 在室温下将化合物157 (2.00g, 7.24) 溶解于二氧六环中的4N HCl (20.0mL) 中, 并将溶液搅拌2h。将反应混合物在真空下浓缩并用MTBE研磨残余物, 得到作为棕色固体的化合物158 (1.25g, 82%)。

[0842] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ8.26 (d, J=9.2Hz, 2H), 7.72 (d, J=9.2Hz, 2H), 4.09 (s, 2H)。

[0843] 化合物159的制备

[0844] 向化合物158 (100mg, 0.47mmol) 和甲醛水溶液 (30%, 1.40mL, 1.41mmol) 在MeOH (3.0mL) 中的溶液中添加AcOH (0.09mL, 1.41mmol), 在室温下将反应混合物搅拌30分钟。添加NaCNBH<sub>3</sub> (88mg, 1.41mmol) 后, 在室温下将溶液继续搅拌16h。添加额外的甲醛水溶液 (30%, 0.92mL, 0.94mmol)、AcOH (0.09mL, 1.41mmol) 和NaCNBH<sub>3</sub> (88mg, 1.41mmol), 并再搅拌16h。除去溶剂后, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>中和残余物并使残余物在EtOAc (30mL) 与水 (30mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×40mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空中浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为灰白色油状物的化合物159 (50g, 52%)。

[0845] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ8.17 (d, J=9.0Hz, 2H), 7.57 (d, J=9.0Hz, 2H), 3.50 (s, 2H), 2.37 (s, 6H)。

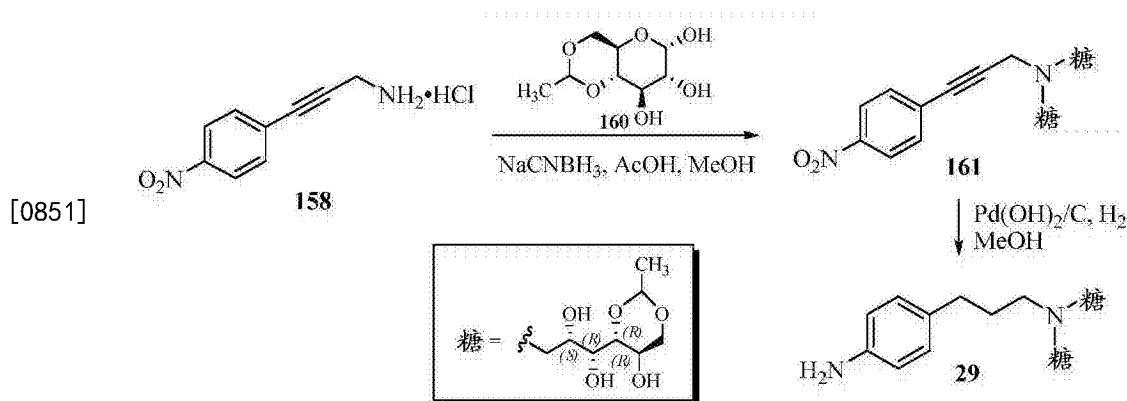
[0846] 化合物18的制备

[0847] 在室温下用氩气将化合物159 (100mg, 0.49mmol) 和10% Pd/C (40mg) 在MeOH (3.0mL) 中的混悬液脱气10分钟, 然后在氢气氛 (气球, 1atm) 下搅拌3h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/己烷研磨, 得到作为白色结晶的18 (48mg, 55%) :

[0848] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ6.96 (d, J=8.3Hz, 2H), 6.60 (d, J=8.3Hz, 2H), 3.47 (br s, 2H), 2.53 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.26 (dd, J=8.7, 7.2Hz, 2H), 2.22 (s, 6H), 1.77-1.67 (m, 2H)。

[0849] 中间体29的制备

[0850] 方案26



[0852] 化合物161的制备;

[0853] 向化合物158 (4.00g, 18.9mmol) 和三醇160 (11.7g, 56.6mmol) 在MeOH (50mL) 中的溶液中添加AcOH (3.40mL, 56.6mmol), 在室温下将反应混合物搅拌30分钟。添加NaCNBH<sub>3</sub> (3.55g, 56.6mmol) 后, 在室温下将溶液继续搅拌16h。添加额外的化合物160 (11.7g, 56.6mmol)、AcOH (3.40mL, 56.6mmol) 和NaCNBH<sub>3</sub> (3.55g, 56.6mmol), 在室温下将该溶液继续搅拌16h。除去溶剂后, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>中和残余物, 将残余物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10mL) 与水 (10mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×10mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空中浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的化合物29 (700mg, 7.0%)。

[0854]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  8.21 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 2H) , 7.66 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 2H) , 4.68 (q,  $J=5.1\text{Hz}$ , 2H) , 4.04 (dd,  $J=10.8, 5.4\text{Hz}$ , 2H) , 3.99-3.93 (m, 2H) , 3.86-3.74 (m, 6H) , 3.54 (dd,  $J=9.8, 2.3\text{Hz}$ , 2H) , 3.36 (t,  $J=10.7\text{Hz}$ , 2H) , 2.87 (dd,  $J=13.3, 4.9\text{Hz}$ , 2H) , 2.74 (dd,  $J=13.3, 7.8\text{Hz}$ , 2H) , 1.25 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ , 6H) .

[0855] 化合物29的制备

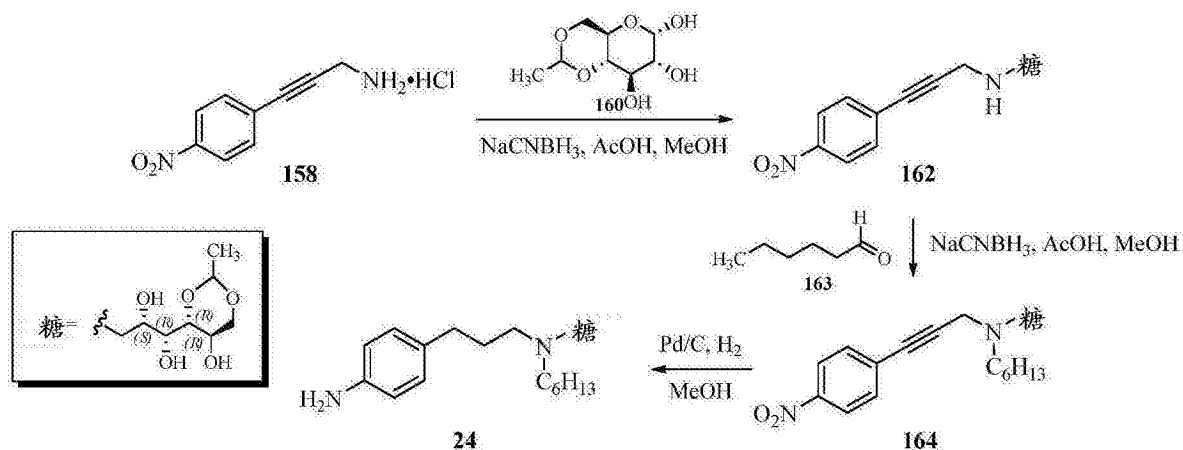
[0856] 在室温下使用注射器用氩气将化合物161 (500mg, 0.90mmol) 和10%的Pd(OH)<sub>2</sub>/C (215mg) 在EtOH (230mL) 中的混悬液进行鼓泡脱气10分钟, 然后在氢气氛下 (气球, 1atm) 搅拌2h. 将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤. 将滤液在真空中浓缩和通过柱色谱 (硅胶, 9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH, 80:18:2 $\text{CHCl}_3$ /MeOH/ $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的化合物29 (264mg, 55%) .

[0857]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  6.97 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H) , 6.67 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H) , 4.71 (q,  $J=5.1\text{Hz}$ , 2H) , 4.06 (dd,  $J=10.6, 5.3\text{Hz}$ , 2H) , 4.13-4.05 (m, 2H) , 3.81 (dd,  $J=5.0, 2.3\text{Hz}$ , 2H) , 3.80-3.72 (m, 2H) , 3.51 (dd,  $J=9.6, 2.4\text{Hz}$ , 2H) , 3.33-3.23 (m, 2H) , 3.38 (t,  $J=10.7\text{Hz}$ , 2H) , 2.83-2.54 (m, 6H) , 1.85-1.69 (m, 2H) , 1.26 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ , 6H) .

[0858] 中间体24的制备

[0859] 方案27

[0860]



[0861] 化合物162的制备

[0862] 向化合物158 (200mg, 0.94mmol) 和三醇160 (194mg, 0.94mmol) 在MeOH (2.0mL) 的溶液中添加AcOH (0.17mL, 2.82mmol) , 在室温下将反应混合物搅拌30分钟. 添加NaCNBH<sub>3</sub> (148mg, 2.35mmol) 后, 在室温下将溶液继续搅拌16h. 添加额外的化合物160 (0.2当量) 、AcOH (3.0当量) 和NaCNBH<sub>3</sub> (1.0当量) , 在室温下将该溶液继续搅拌16h. 除去溶剂后, 用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 中和残余物, 使残余物在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 与水 (10mL) 之间分配. 分离出水层并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 $\times$ 10mL) 萃取. 将合并的有机萃取物经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥并在真空中浓缩. 通过柱色谱 (硅胶, 9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH, 80:18:2 $\text{CHCl}_3$ /MeOH/ $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的化合物162 (95mg, 28%) .

[0863]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  8.24 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 2H) , 7.69 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 2H) , 4.70 (q,  $J=5.1\text{Hz}$ , 1H) , 4.09-4.02 (m, 2H) , 4.00 (d,  $J=2.1\text{Hz}$ , 2H) , 3.83 (dd,  $J=5.1, 2.3\text{Hz}$ , 1H) , 3.81-3.71 (m, 1H) , 3.53 (dd,  $J=9.3, 2.3\text{Hz}$ , 1H) , 3.38 (t,  $J=11.0\text{Hz}$ , 1H) , 3.21-3.07 (m,

2H), 1.25 (d, J=5.1Hz, 3H) .

[0864] 化合物164的制备

[0865] 向化合物162 (95mg, 0.26mmol) 和己醛163 (52mg, 0.51mmol) 的溶液中添加AcOH (0.05mL, 0.78mmol) 和NaCNBH<sub>3</sub> (41mg, 0.65mmol) 。在室温下将溶液搅拌16h。除去溶剂后,用饱和NaHCO<sub>3</sub>中和残余物并使残余物在EtOAc (10mL) 与水 (10mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×10mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱(硅胶9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物,得到作为灰白色固体的化合物164 (70mg, 59%) 。

[0866] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ8.18 (d, J=8.9Hz, 2H) , 7.56 (d, J=8.9Hz, 2H) , 4.70 (q, J=5.0Hz, 1H) , 4.15 (dd, J=10.4, 5.2Hz, 1H) , 4.01-3.89 (m, 2H) , 3.83 (dd, J=3.8, 2.7Hz, 1H) , 3.77 (brs, 1H) , 3.70 (brs, 1H) , 3.64 (t, J=6.2Hz, 1H) , 3.56 (dd, J=9.2, 4.0Hz, 1H) , 3.41 (t, J=10.8Hz, 1H) , 2.87 (dd, J=13.2, 4.3Hz, 1H) , 2.78-2.68 (m, 2H) , 2.63-2.55 (m, 1H) , 1.75-1.43 (m, 4H) , 1.34 (d, J=5.0Hz, 3H) , 1.32-1.25 (m, 6H) , 0.89 (t, J=6.6Hz, 3H) .

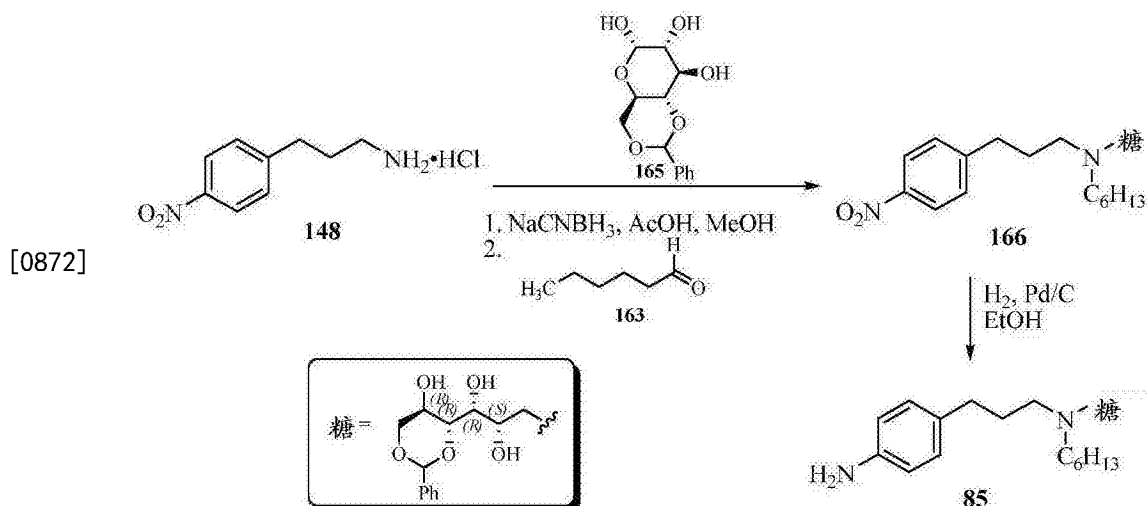
[0867] 化合物24的制备

[0868] 在室温下用氩气将化合物164 (1.70g, 3.77mmol) 和10%Pd/C (200mg) 在MeOH (40mL) 中混悬液脱气10分钟,然后在氢气氛(气球, 1atm) 下搅拌2h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩并通过柱色谱(硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物,得到作为灰白色固体的化合物24 (1.20g, 76%) 。

[0869] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ6.96 (d, J=8.9Hz, 2H) , 6.62 (d, J=8.9Hz, 2H) , 4.68 (q, J=5.0Hz, 1H) , 4.14 (dd, J=11.0, 5.5Hz, 1H) , 3.92-3.81 (m, 2H) , 3.72 (dd, J=3.8, 2.4Hz, 1H) , 3.50 (dd, J=9.1, 4.0Hz, 1H) , 3.40 (t, J=10.5Hz, 1H) , 2.76-2.38 (m, 10H) , 1.81-1.64 (m, 3H) , 1.48-1.36 (m, 2H) , 1.33 (d, J=5.0Hz, 3H) , 1.30-1.20 (m, 6H) , 0.88 (t, J=6.6Hz, 3H) .

[0870] 中间体85的制备

[0871] 方案28



[0873] 化合物166的制备

[0874] 向化合物148 (4.60g, 21.3mmol) 和三醇165 (17.1g, 63.9mmol) 在MeOH (100mL) 中的溶液中添加AcOH (12.1mL, 63.9mmol) ,在室温下将反应混合物搅拌10分钟。添加NaCNBH<sub>3</sub>

(4.00g, 63.9mmol) 后, 在室温下将溶液继续搅拌6h。然后添加己醛163 (5.10mL, 42.6mmol) 和NaCNBH<sub>3</sub> (2.60g, 42.6mmol)。在室温下将该溶液再搅拌2h。除去溶剂后, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>中和残余物, 并使残余物在EtOAc (200mL) 与水 (200mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×300mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的化合物166 (6.90g, 64%)。

[0875] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ8.12 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.51-7.43 (m, 2H), 7.38 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.37-7.27 (m, 3H), 5.55 (s, 1H), 4.24 (dd, J=11.5, 5.5Hz, 1H), 4.18-4.01 (m, 1H), 4.00-3.94 (m, 1H), 3.93-3.89 (m, 1H), 3.77 (dd, J=9.3, 1.8Hz, 1H), 3.61 (t, J=10.7Hz, 1H), 3.13-2.77 (m, 6H), 2.71 (t, J=7.5Hz, 2H), 1.99-1.85 (m, 2H), 1.55-1.42 (m, 2H), 1.38-1.18 (m, 6H), 0.87 (t, J=7.0Hz, 3H)。

[0876] 化合物85的制备

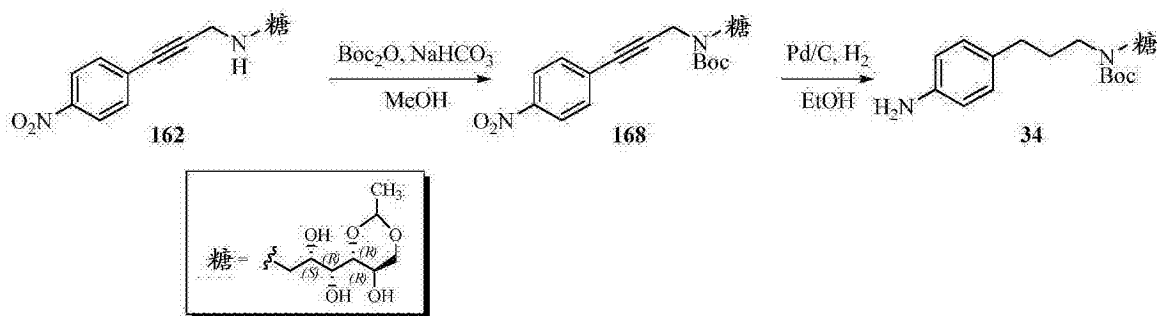
[0877] 通过使用注射器用氩气将化合物166 (800mg, 1.55mmol) 和10%Pd/C (300mg) 在EtOH (40mL) 中的混悬液进行鼓泡脱气10分钟, 然后在氢气氛 (气球, 1atm) 下于室温下搅拌2h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩, 得到作为灰白色固体的85 (700mg, 93%)。

[0878] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ7.52-7.42 (m, 2H), 7.38-7.25 (m, 3H), 6.88 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.63 (d, J=8.4Hz, 2H), 5.53 (s, 1H), 4.24 (dd, J=10.8, 5.5Hz, 1H), 4.05-3.84 (m, 3H), 3.76 (dd, J=9.6, 1.8Hz, 1H), 3.61 (t, J=10.8Hz, 1H), 2.93 (dd, J=13.6, 5.0Hz, 1H), 2.79 (dd, J=13.4, 9.0Hz, 1H), 2.73-2.60 (m, 4H), 2.42 (t, J=8.0Hz, 2H), 1.88-1.68 (m, 2H), 1.48-1.36 (m, 2H), 1.33-1.14 (m, 6H), 0.87 (t, J=7.0Hz, 3H)。

[0879] 中间体34的制备

[0880] 方案29

[0881]



[0882] 化合物168的制备

[0883] 在0℃向162 (534mg, 1.45mmol) 的MeOH (30mL) 溶液中添加饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (5.0mL) 并搅拌10分钟。然后添加 (Boc)<sub>2</sub>O (350mg, 1.60mmol) 并在相同的温度下将反应混合物搅拌3h, 置于室温, 并再搅拌30分钟。将混合物浓缩, 使残余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 中, 并用水 (100mL) 和盐水 (50mL) 洗涤该溶液。将有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥、过滤、浓缩并通过柱色谱 (硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 8:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体化合物168 (435mg, 64%)。

[0884] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ8.18 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.56 (d, J=8.7Hz, 2H), 4.72 (q, J

=5.1Hz, 1H), 4.41-4.35 (m, 2H), 4.16 (dd, J=10.8, 5.5Hz, 1H), 4.15-4.04 (m, 1H), 3.93-3.83 (m, 1H), 3.81-3.76 (m, 1H), 3.66-3.53 (m, 4H), 3.40 (t, J=11.0Hz, 1H), 3.25-3.12 (m, 1H), 3.08-2.96 (m, 1H), 1.49 (s, 9H), 1.32 (d, J=5.1Hz, 3H).

[0885] 化合物34的制备

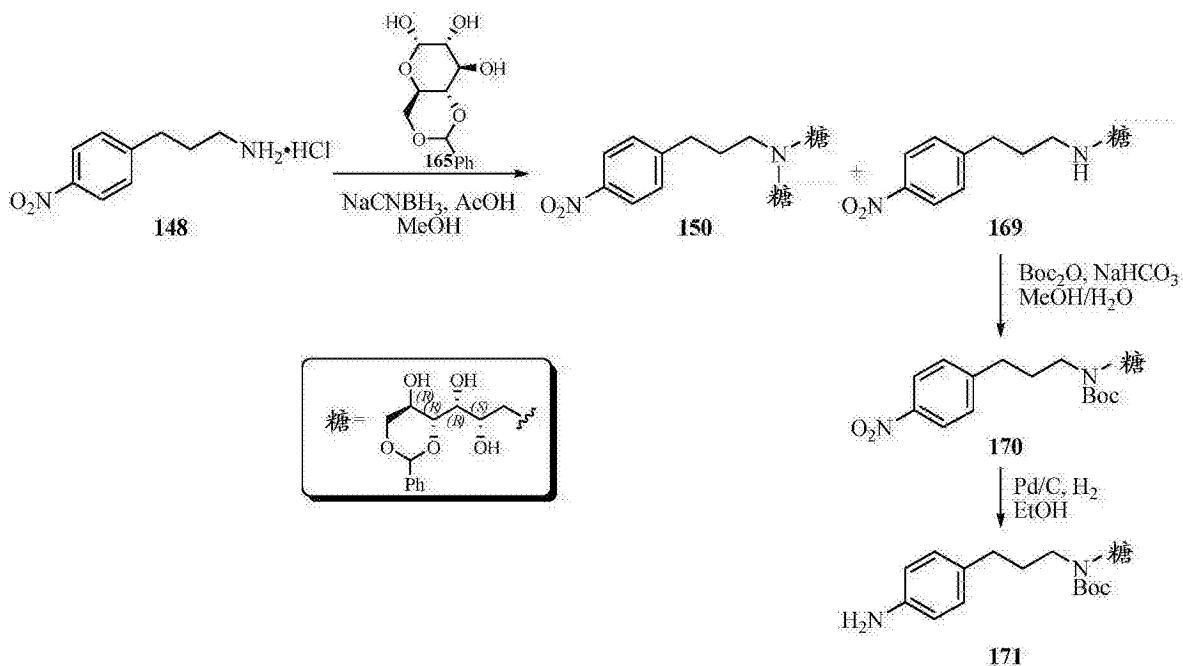
[0886] 用注射器用氩气将化合物168 (80mg, 0.21mmol) 和10%Pd/C (40mg) 在EtOH (10mL) 中混悬液进行鼓泡脱气10分钟, 然后在氢气氛 (气球, 1atm) 下于室温下搅拌2h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩, 得到作为灰白色固体的34 (82mg, 89%)。

[0887]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6.96 (d, J=8.1Hz, 2H), 6.62 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.69 (q, J=5.1Hz, 1H), 4.15 (dd, J=10.8, 5.5Hz, 1H), 4.13-4.09 (m, 1H), 4.01-3.93 (m, 1H), 3.89-3.78 (m, 1H), 3.75-3.68 (m, 1H), 3.62-3.43 (m, 4H), 3.40 (t, J=11.3Hz, 1H), 3.35 (dd, J=13.5, 4.0Hz, 1H), 3.26 (t, J=7.9Hz, 1H), 3.23-3.13 (m, 1H), 2.48 (t, J=7.8Hz, 2H), 1.86-1.76 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.33 (d, J=5.1Hz, 3H).

[0888] 中间体171的制备

[0889] 方案30

[0890]



[0891] 向化合物148 (6.40g, 29.6mmol) 和三醇165 (11.9g, 44.5mmol) 在MeOH (300mL) 中的溶液中添加AcOH (5.32mL, 88.8mmol), 在室温下将反应混合物搅拌30分钟。添加NaCNBH<sub>3</sub> (3.73g, 59.2mmol) 后, 在室温下将溶液继续搅拌16h。添加额外的化合物165 (11.9g, 44.5mmol)、AcOH (5.32mL, 88.8mmol) 和NaCNBH<sub>3</sub> (3.73g, 59.2mmol), 在室温下将该溶液继续搅拌14h。添加额外的化合物165 (7.93g, 29.6mmol)、AcOH (3.55mL, 59.2mmol) 和NaCNBH<sub>3</sub> (2.80g, 44.4mmol)。在室温下将该溶液继续搅拌10h。除去溶剂后, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>中和残余物, 使残余物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 与水 (100mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×100mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空中浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH) 进行挑战性纯化, 得到化合物150和169 (20g, 混合物)。该

混合物直接用于接下来的步骤。

[0892] 化合物170的制备

[0893] 在0℃向150和169 (20.0g, 混合物) 在MeOH (120mL) 和水 (40mL) 中的溶液中添加饱和NaHCO<sub>3</sub> (9.99g, 118.4mmol) 并搅拌10分钟。添加(Boc)<sub>2</sub>O (9.69g, 44.4mmol) 并在相同温度下将反应混合物搅拌10分钟, 置于室温, 再搅拌2h。将混合物浓缩, 将残余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 中, 并用水 (100mL) 和盐水 (50mL) 洗涤该溶液。将有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥、过滤、浓缩并通过柱色谱(硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 8:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的化合物150 (1.50g) 和170 (4.50g)。ESI-MS m/z 529 [C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>+H]<sup>+</sup>。

[0894] 化合物171的制备

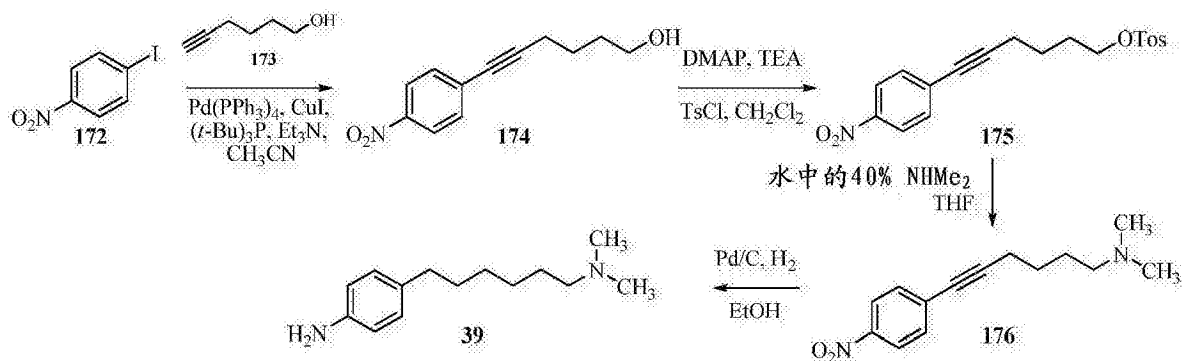
[0895] 用氩气将化合物170 (4.20g, 7.92mmol) 和10%Pd/C (500mg) 在EtOH (100mL) 和AcOH (10mL) 中的混悬液脱气10分钟, 然后在氢气氛下于室温下搅拌(气球, 1atm) 16h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩, 用Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>中和并通过柱色谱(硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 8:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的化合物172 (2.70g, 68%)。

[0896] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ7.52-7.44 (m, 2H), 7.36-7.29 (m, 3H), 6.89 (d, J=8.3Hz, 2H), 6.64 (d, J=8.3Hz, 2H), 5.54 (s, 1H), 4.23 (dd, J=11.9, 5.9Hz, 1H), 4.10-3.97 (m, 1H), 3.97-3.89 (m, 1H), 3.81-3.75 (m, 1H), 3.74-3.69 (m, 1H), 3.60 (t, J=10.9Hz, 1H), 3.48 (dd, J=14.1, 4.6Hz, 1H), 3.28-3.22 (m, 3H), 2.41 (t, J=7.5Hz, 2H), 1.83-1.71 (m, 2H), 1.41 (s, 9H)。

[0897] 中间体39的制备

[0898] 方案31

[0899]



[0900] 在氩气氛下, 将化合物17 (30.0g, 纯121mmol) 和173 (14.2g, 145mmol) 在无水乙腈 (300mL) 中的溶液脱气10分钟, 随后在室温下添加TEA (67mL, 484mmol)、在己烷中的10% (t-Bu)<sub>3</sub>P (49.0mL, 24.2mmol) 和CuI (1.15g, 6.05mmol)。用氩气将所得混合物再脱气10分钟, 并一次性添加Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (14.0g, 12.1mmol)。用氩气脱气5分钟后, 将所得混合物加热至50℃维持16h。将反应混合物在真空中浓缩并通过柱色谱(硅胶, 2:3己烷/EtOAc) 纯化残余物, 得到作为棕色油状物的化合物174 (15.0g, 58%)。

[0901] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.14 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.50 (d, J=8.8Hz, 2H), 3.71 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.50 (t, J=6.8Hz, 2H), 1.80-1.70 (m, 4H), 1.70-1.65 (m, 1H)。

[0902] 化合物175的制备



[0903] 在0℃在氩气下,向化合物174 (15.0g,67.9mmol) 的无水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 溶液中添加Et<sub>3</sub>N (28.0mL,203.7mmol) 和DMAP (4.12g,33.9mmol)。在相同温度下,将反应混合物搅拌5分钟后,在0℃添加TsCl (32.5g,170mmol)。在室温下将所得混合物再搅拌4h。除去溶剂后;使残余物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (250mL) 与水 (150mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×250mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱(硅胶,己烷/EtOAc) 纯化残余物,得到作为棕色油状物的化合物175 (15.0g,60%)。

[0904] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>): δ8.15 (d, J=88Hz, 2H), 7.79 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.50 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.34 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.10 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.44 (t, J=7.0Hz, 2H), 2.44 (s, 3H), 1.90-1.79 (m, 2H), 1.75-1.61 (m, 2H)。

[0905] 化合物176的制备;

[0906] 向化合物175 (5.00g,12.9mmol,粗制品) 在THF (10mL) 的溶液中添加含NHMe<sub>2</sub> (30%,50.0mL) 的水,然后在密封管中于室温下搅拌3h。除去溶剂后;使残余物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 与水 (100mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×100mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。将粗制品通过柱色谱(硅胶) 纯化,得到作为黄色黏性固体的化合物176 (400mg,13%)。

[0907] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>): δ8.15 (d, J=7.3Hz, 2H), 7.51 (d, J=7.3Hz, 2H), 2.48 (t, J=6.6Hz, 2H), 2.30 (t, J=5.7Hz, 2H), 2.23 (s, 6H), 1.70-1.61 (m, 4H)。

[0908] 化合物39的制备

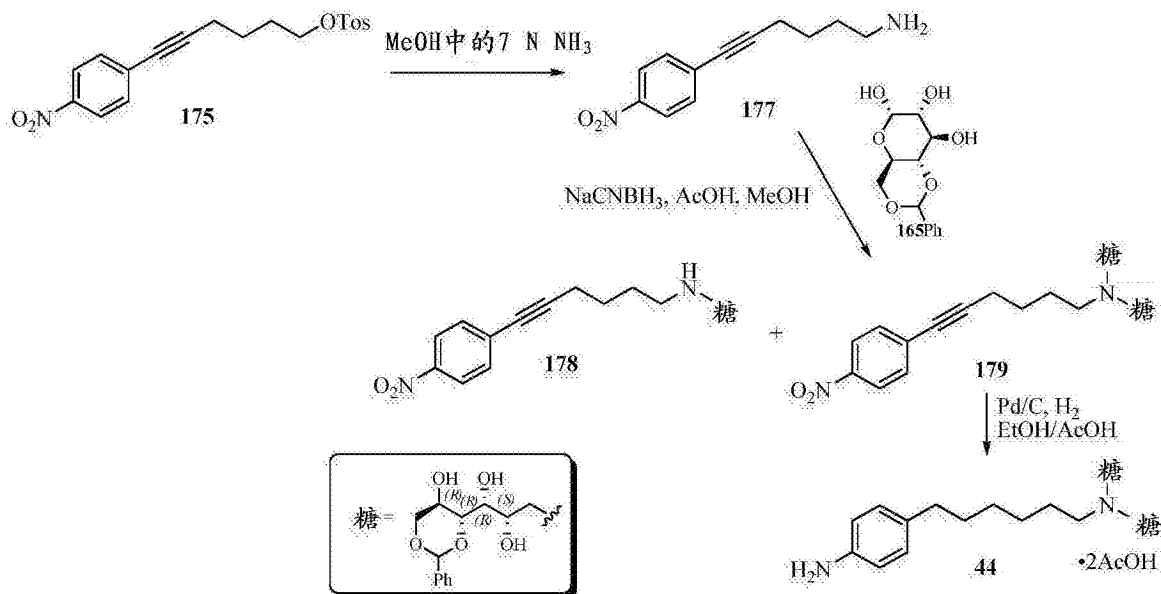
[0909] 用注射器用氩气将化合物176 (400mg,1.62mmol) 和10%Pd/C (50mg) 在EtOH (50mL) 中的混悬液进行鼓泡脱气10分钟,然后在氢气氛(气球,1atm) 下于室温下搅拌16h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩,得到作为棕色黏性固体的39 (300mg,84%)。

[0910] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CD<sub>3</sub>OD): δ6.91 (d, J=7.5Hz, 2H), 6.65 (d, J=7.5Hz, 2H), 2.47 (t, J=7.0Hz, 2H), 2.30 (dd, J=8.4,6.5Hz, 2H), 2.23 (s, 6H), 1.60-1.52 (m, 2H), 1.51-1.41 (m, 2H), 1.38-1.27 (m, 4H)。

[0911] 31中间体44的制备

[0912] 方案32

[0913]



[0914] 化合物177的制备

[0915] 在30℃于密封管中将化合物175 (6.00g, 16.0mmol) 在含7N NH<sub>3</sub>的甲醇(150mL)中的溶液加热5h。温度升至40℃并搅拌16h, 然后再次升温至60℃并搅拌4h。除去溶剂后;使残余物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 与水(100mL)之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×100mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱(硅胶, 9:1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) 纯化粗制品, 得到作为黄色油状物的化合物177 (1.48g, 43%)。

[0916] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ8.16 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.39 (d, J=8.4Hz, 2H), 3.61 (t, J=5.6Hz, 2H), 2.08-2.05 (m, 2H), 1.65-1.53 (m, 4H)。

[0917] 化合物178和179的制备

[0918] 向化合物177 (1.38g, 6.33mmol) 和三醇165 (2.03g, 7.59mmol) 在MeOH (10mL) 中的溶液中添加AcOH (0.6mL, 9.49mmol), 并在室温下将反应混合物搅拌30分钟。添加NaCNBH<sub>3</sub> (800mg, 12.7mmol) 后, 在室温下将溶液继续搅拌16h。添加额外的化合物165 (2.55g, 9.49mmol)、AcOH (0.80mL, 12.7mmol) 和NaCNBH<sub>3</sub> (1.19g, 18.9mmol), 在室温下将该溶液继续搅拌16h。添加额外的化合物165 (2.55g, 9.49mmol)、AcOH (0.80mL, 12.7mmol) 和添加NaCNBH<sub>3</sub> (1.19g, 18.9mmol), 在室温下继续搅拌16h。除去溶剂后, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>中和残余物, 使残余物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10mL) 与水(10mL)之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×10mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱(硅胶, 9:1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为灰白色固体的化合物179 (2.28g, 51%)。

[0919] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ8.14 (d, J=9.0Hz, 2H), 7.54 (d, J=9.0Hz, 2H), 7.47-7.44 (m, 4H), 7.34-7.30 (m, 6H), 5.48 (s, 2H), 4.24-4.19 (m, 2H), 3.99-3.94 (m, 4H), 3.86-3.84 (m, 2H), 3.73-3.69 (m, 2H), 3.57 (t, J=10.8Hz, 4H), 3.35-3.25 (m, 4H), 2.33 (d, J=6.9Hz, 2H), 1.61-1.51 (m, 4H)。

[0920] 也分离出178/179 (900mg) 的混合物, 并直接用于接下来的步骤(SG-GHC-G-106)。

[0921] 化合物44的制备

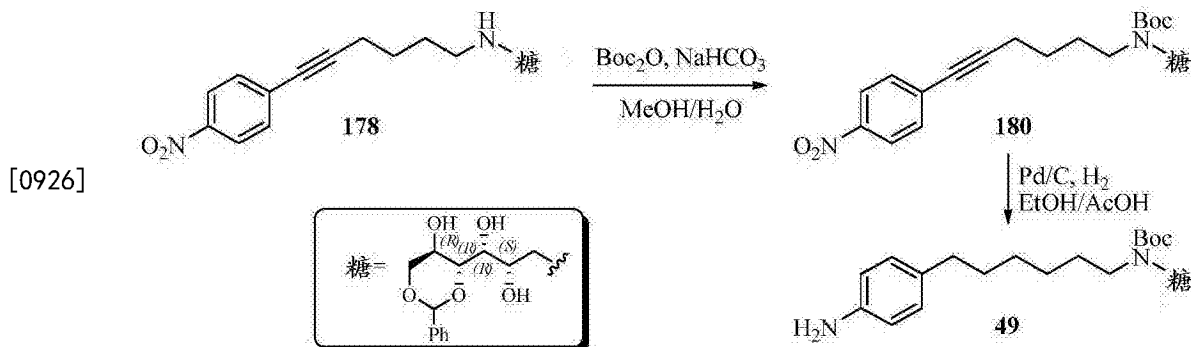
[0922] 用氩气将化合物179 (2.26g, 3.11mmol) 和10%Pd/C (100mg) 在EtOH (50mL) 和AcOH

(10mL)的混合物中的混悬液脱气10分钟,然后在氢气氛(气球,1atm)下于室温下搅拌16h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩,得到作为棕色固体的44(1.90g,80%)。

[0923]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.46-7.44 (m, 4H), 7.33-7.31 (m, 6H), 6.89 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 6.65 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 5.51 (s, 2H), 4.264.14 (m, 2H), 3.93-3.90 (m, 2H), 3.76-3.73 (m, 4H), 3.63-3.58 (m, 4H), 3.35-3.25 (m, 2H), 3.10-3.00 (m, 2H), 2.41 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 1.47-1.45 (m, 4H), 1.16-1.12 (m, 4H)。

[0924] 中间体49的制备

[0925] 方案33



[0927] 化合物180的制备

[0928] 在0℃向178(900mg,混合物,约2.0mmol)在MeOH(20mL)和水(10mL)的混合物中的溶液中添加 $\text{NaHCO}_3$ (672mg,4.0mmol),并搅拌10分钟。添加 $(\text{Boc})_2\text{O}$ (524mg,2.40mmol),并在相同的温度下将反应混合物搅拌1h,置于室温并再搅拌4h。将混合物浓缩,将残余物溶解于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100mL)中,并将该溶液用水(100mL)和盐水(50mL)洗涤。将有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥、过滤,浓缩并通过柱色谱(硅胶,9:1  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ,8:2  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ )纯化残余物,得到作为灰白色固体的化合物180(780mg,64%)。

[0929]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 8.16 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 2H), 7.55 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 2H), 7.50-7.47 (m, 2H), 7.34-7.30 (m, 3H), 5.53 (s, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 4.10 (br s, 1H), 3.94-3.91 (m, 1H), 3.80-3.48 (m, 4H), 3.35-3.25 (m, 3H), 2.46 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 2H), 1.70-1.49 (m, 4H), 1.43 (s, 9H)。

[0930] 化合物49的制备

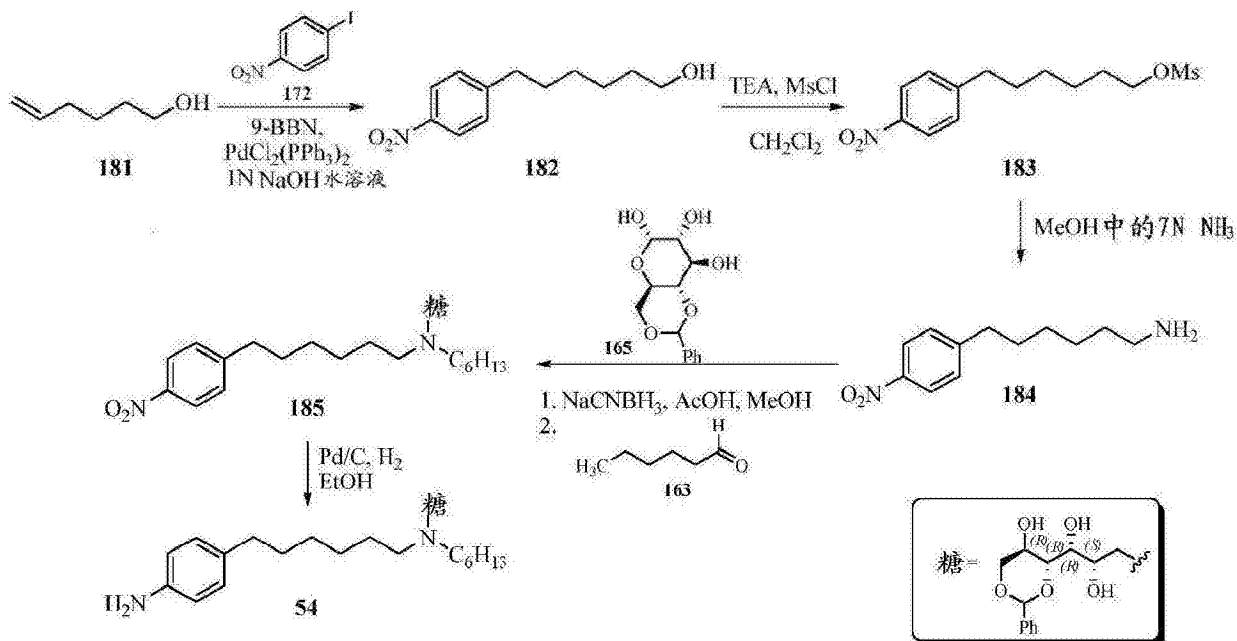
[0931] 通过使用注射器用氩气将化合物180(780mg,1.36mmol)和10%Pd/C(50mg)在EtOH(10mL)和AcOH(2.0mL)中的混合物中的混悬液进行鼓泡脱气10分钟,然后在氢气氛(气球,1atm)下于在室温搅拌4h。用 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 中和反应混合物,通过通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩,得到作为白色固体的49(625g,84%)。

[0932]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.50-7.46 (m, 2H), 7.32-7.30 (m, 3H), 6.90 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 6.66 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 5.53 (s, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 4.04 (br s, 1H), 3.94-3.89 (m, 1H), 3.77-3.43 (m, 4H), 3.35-3.25 (m, 3H), 2.45 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 1.52-1.47 (m, 4H), 1.42 (s, 9H), 1.27-1.24 (m, 4H)。

[0933] 中间体54的制备

[0934] 方案34

[0935]



[0936] 化合物182的制备

[0937] 在氩气下,向化合物181 (1.60g, 16.00mmol) 的无水THF (40mL) 溶液中添加9-BBN (THF中0.5M, 80mL, 40.0mmol)。在室温下将反应混合物搅拌2h后,在室温下添加化合物172 (3.17g, 12.8mmol)、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (561mg, 0.80mmol) 和1N NaOH水溶液 (24mL)。将所得混合物再搅拌1h。除去溶剂后;残余物在EtOAc (100mL) 与水 (100mL) 之间分配。分离出水层并用EtOAc (2×100mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱(硅胶, 4:1己烷/EtOAc)纯化粗制品,得到作为棕色固体的化合物182 (1.20g, 34%)。

[0938] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.13 (d, J=9.0Hz, 2H), 7.31 (d, J=9.0Hz, 2H), 3.64 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.71 (t, J=7.8Hz, 2H), 1.73-1.46 (m, 4H), 1.43-1.31 (m, 4H)。

[0939] 化合物183的制备

[0940] 在0℃在氩气下,向化合物182 (1.20g, 5.38mmol) 的无水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20mL) 溶液中添加Et<sub>3</sub>N (7.32mL, 53.8mmol)。在相同温度下将反应混合物搅拌5分钟后,在0℃添加甲磺酰氯 (0.62mL, 8.07mmol)。在室温下将所得混合物搅拌2h。除去溶剂后;使残余物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 与水 (50mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×50mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。粗制品183 (3.00g, 粗制品) 直接用于接下来的步骤。

[0941] 化合物184的制备

[0942] 在60℃于密封管中将化合物183 (3.00g, 5.38mmol, 粗制品) 在含7N NH<sub>3</sub>的甲醇 (30.0mL) 中的溶液加热2h。除去溶剂后;使残余物在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100mL) 与水 (100mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×100mL) 萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱(硅胶)纯化粗制品,得到作为黄色油状物的化合物184 (390mg, 经两步的产率33%)。

[0943] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.14 (d, J=9.0Hz, 2H), 7.42 (d, J=9.0Hz, 2H), 2.75 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.67 (t, J=7.3Hz, 2H), 1.72-1.63 (m, 2H), 1.53-1.46 (m, 2H), 1.42-1.35 (m,

4H)。

[0944] 化合物185的制备

[0945] 向化合物184 (620mg, 2.79mmol) 和三醇165 (938mg, 3.49mmol) 在MeOH (30mL) 中的溶液中添加AcOH (1.16mL, 27.8mmol), 在室温下将反应混合物搅拌10分钟。添加NaCNBH<sub>3</sub> (526mg, 8.37mmol) 后, 在室温下将溶液继续搅拌16h。在16h内, 添加额外的化合物165 (0.3当量)、AcOH (10当量) 和NaCNBH<sub>3</sub> (1.0当量)。然后添加己醛163 (0.96mL, 8.37mmol)、AcOH (1.00mL) 和NaCNBH<sub>3</sub> (526mg, 8.37mmol)。在室温下将该溶液再搅拌2h。除去溶剂后, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>中和残余物并使残余物在EtOAc (100mL) 与水 (100mL) 之间分配。分离出水层并用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×100mL) 萃取。将合并的有机萃取物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并在真空下浓缩。通过柱色谱 (硅胶, 9:1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2 CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH) 纯化残余物, 得到作为灰白色油状物的化合物185 (950g, 61%)。

[0946] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ8.02 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.48-7.42 (m, 3H), 7.37-7.34 (m, 2H), 7.31 (d, J=8.7Hz, 2H), 5.54 (s, 1H), 4.46-4.40 (m, 1H), 4.30 (dd, J=11.6, 6.6Hz, 1H), 4.03 (t, J=4.0Hz, 1H), 3.97 (dd, J=10.5, 5.4Hz, 1H), 3.88 (dd, J=9.4, 4.0Hz, 1H), 3.65 (t, J=10.4Hz, 1H), 3.11-3.00 (m, 4H), 2.69 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.00 (s, 1H), 1.70-1.55 (m, 6H), 1.37-1.30 (m, 4H), 1.29-1.20 (m, 8H), 0.87 (t, J=7.1Hz, 3H)。

[0947] 化合物54的制备

[0948] 用氩气将化合物185 (950g, 1.70mmol) 和10%Pd/C (300mg) 在EtOH (100mL) 中的混悬液脱气10分钟, 然后在氢气氛 (气球, 1atm) 于室温下搅拌3h。将反应混合物通过硅藻土过滤并用MeOH洗涤。将滤液在真空中浓缩, 得到作为黄色油状物的54 (790mg, 88%)。

[0949] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ7.51-7.44 (m, 2H), 7.35-7.29 (m, 3H), 6.90 (d, J=8.5Hz, 2H), 6.65 (d, J=8.5Hz, 2H), 5.54 (s, 1H), 4.24 (dd, J=10.8, 5.4Hz, 1H), 4.08-4.02 (m, 1H), 4.00-3.92 (m, 1H), 3.91 (dd, J=5.6, 1.8Hz, 1H), 3.78 (dd, J=9.6, 1.8Hz, 1H), 3.61 (t, J=10.9Hz, 1H), 3.01 (dd, J=13.7, 5.4Hz, 1H), 2.91 (dd, J=12.1, 8.1Hz, 1H), 2.82-2.71 (m, 4H), 2.45 (t, J=7.5Hz, 2H), 1.59-1.42 (m, 6H), 1.37-1.13 (m, 10H), 0.89 (t, J=7.1Hz, 3H)。

[0950] 一些测定可用于表征本发明的化合物。代表性的测定在下文中讨论。

[0951] 钠通道阻断活性和可逆性的体外测量

[0952] 一种用于评估本发明化合物的作用机制和/或效力的测定包括使用在尤斯灌流室 (Ussing Chamber) 上安装的气道上皮单层在短路电流 (I<sub>sc</sub>) 下测量气道上皮钠电流来测定腔内药物抑制。将获自新鲜切除的人、狗、绵羊或啮齿动物气道的细胞接种到多孔的0.4微米Snapwell™ Inserts (CoStar) 上, 在激素限定的培养基中在空气-液体界面 (air-liquid interface, ALI) 条件下培养, 在浸入尤斯灌流室中的Krebs Bicarbonate Ringer (KBR) 时测定钠运输活性 (I<sub>sc</sub>)。以半对数 (half-log) 剂量添加方案向腔内浴 (luminal bath) 中添加所有受试化合物 (1×10<sup>-11</sup>M至3×10<sup>-5</sup>M), 并且记录I<sub>sc</sub> (抑制) 的累积变化。以1×10<sup>-2</sup>M浓度作为储液在二甲基亚砷中制备所有药物并储存在-20℃下。通常平行地进行8份制备物; 每进行两份制备物引入阿米洛利和/或苯扎米尔作为阳性对照。在施用最大浓度 (5×10<sup>-5</sup>M) 之后, 用新鲜的无药物KBR溶液交换腔内浴三次, 并且在每次洗涤约5分钟的持续时间之后测量所得I<sub>sc</sub>。可逆性定义为在第三次清洗后钠电流返回基线值的百分比。通过计算机接口收集来自电压钳的所有数据并离线分析。

[0953] 通过Prism 3.0程序考虑和分析所有化合物的剂量-效应关系。计算IC<sub>50</sub>值、最大有效浓度和可逆性并与作为阳性对照的阿米洛利和苯扎米尔进行比较。从犬气道新鲜切除的细胞中的代表性化合物相对于阿米洛利的钠通道阻断活性的效力示于表1中。

[0954] 表1. 在犬支气管上皮细胞中通过化合物 (Ia) 抑制短路电流 (IC<sub>50</sub>nM)

化合物编号	钠通道阻断效力 IC <sub>50</sub> nM
阿米洛利	773
23	20.7
38	25.4
28	7.4
33	21.8
16	79.6
103	17.9
99	7.6
94	21.2
80	19.4
135	5.2
131	6.0
123	2.3
127	8.6
139	73.7
43	50.1
53	15.5
58	10.6
48	47

[0955]

[0956] 测定2.在绵羊中黏液纤毛清除 (Mucociliary Clearance, MCC) 研究

[0957] 在MCC中最经常用来进行测量的动物模型是绵羊模型。可使用由Sabater等, Journal of Applied Physiology, 1999, 第2191至2196页 (其通过引用并入本文) 描述的体内模型测量化合物对增强黏膜纤毛清除 (MCC) 的作用。

[0958] 在这些研究中,控制成年绵羊并经鼻插入气管插管。对绵羊施用10-15分钟的雾化受试样品。然后,在受试样品之后指定时间的四小时或八小时施用放射性标记的<sup>99m</sup>Tc-硫胶体 (TSC, 3.1mg/mL; 含约20mCi)。通过气管插管施用放射性标记的气雾剂约5分钟。然后将绵羊的插管拔除,并在1小时的观察期内,每5分钟测量一次肺中的总放射性计数。肺中放射性的清除率代表了动物中的MCC速率。

[0959] 该系统的优点在于,它近似地模拟了人的肺环境。该模型还允许在测试期间通过血浆和尿液取样同时收集PK/PD信息。还有几种技术中可在MCC的测量中测量气道表面的药物浓度。这些技术包括收集呼出气冷凝物或通过支气管镜检由滤纸法获得ASL。

[0960] 上述的绵羊模型用于评估气雾剂递送的受试试剂对MCC的体内作用 (效力/耐久性)。处理包括测试了由4mL的受试试剂或与HS组合的受试试剂。为了确定是否已将HS与化合物II-d MCC组合,要在施用化合物受试试剂之后立即施用HS。使用雨滴喷雾器 (Raindrop nebulizer) 以每分钟八升的流量雾化受试溶液,并连接到由电磁阀和压缩空气源 (20psi) 组成的一个剂量测定系统上。在使用雨滴喷雾器进行气雾剂施用之后,药物在绵羊肺中的沉积剂量估计为剂量的8%至15%。用雨滴喷雾器,在药物处理后的4或8小时,施用放射性TSC约3分钟以评价其效力/耐久性。用 $\gamma$ 照相机在右肺的中心区域每间隔5分钟测量一次放射性计数,进行一小时。利用三种分析方法,1) 使用线性回归拟合的在前30分钟内清除的初始速率 (斜率), 2) 在一小时时间内清除%曲线下面积,以及3) 在一小时内得到的最大清除率。

[0961] 测试了在给药后4小时,化合物33在0.24nmol/kg (3 $\mu$ M) 对绵羊MCC的作用,并与载剂 (4mL无菌H<sub>2</sub>O) 进行了比较 (图1)。作用的分析示于表A。与载剂对照相比,化合物33增强了MCC。

[0962] 表A. 在化合物33或载剂给药后4小时绵羊中的MCC

[0963]

化合物 33 剂量	初始斜率 (4.0-4.5h)	AUC (% CI - h)	最大清除率
<b>0.24 nmol/kg (3<math>\mu</math>M)</b>	37.5* (4)	17.4* (4)	30.0* (4)
载剂 (H <sub>2</sub> O) 4 mL	17.2 $\pm$ 6.8 (8)	7.3 $\pm$ 1.5 (8)	12.2 $\pm$ 2.9 (8)

[0964] 表B和表C连同图2和图3一起表明了与载剂相比,本发明的其他化合物类似地增强了MCC (参见例如化合物123和48)

[0965] 表B. 在化合物123或载剂给药后4小时绵羊的MCC

[0966]

化合物 123 剂量	初始斜率 (4.0-4.5h)	AUC (% CI - h)	最大清除率
0.24 nmol/kg (3 $\mu$ M)	29.2* (2)	14.4* (2)	22.8* (2)
载剂 (H <sub>2</sub> O) 4 mL	17.2 $\pm$ 6.8 (8)	7.3 $\pm$ 1.5 (8)	12.2 $\pm$ 2.9 (8)

[0967] 表C. 在化合物48或载剂给药后4小时绵羊的MCC

[0968]

化合物 48 剂量	初始斜率 (4.0-4.5h)	AUC (% CI - h)	最大清除率
0.24 nmol/kg (3 $\mu$ M)	29.8* (2)	15.4* (2)	26.7* (2)
载剂(H <sub>2</sub> O) 4 mL	17.2 $\pm$ 6.8 (8)	7.3 $\pm$ 1.5 (8)	12.2 $\pm$ 2.9 (8)

[0969] 为了确定本发明的化合物是否已增强作用的持续时间,在给药后8h对其进行了测试。表D和表E连同图4和图5清楚地显示化合物33和152与载剂相比,增强了对MCC作用的持续时间。

[0970] 表D. 在化合物33或载剂给药后4小时绵羊的MCC

[0971]

化合物 33 剂量	初始斜率 (8.0-8.5h)	AUC (% CI - h)	最大清除率
0.24 nmol/kg (3 $\mu$ M)	25.8* (4)	11.7* (4)	21.4* (4)
载剂 (H <sub>2</sub> O) 4 mL	17.2 $\pm$ 6.8 (8)	7.3 $\pm$ 1.5 (8)	12.2 $\pm$ 2.9 (8)

[0972] 表E. 在化合物152或载剂给药后4小时绵羊的MCC

[0973]

化合物 152 剂量	初始斜率 (8.0-8.5h)	AUC (% CI - h)	最大清除率
0.24 nmol/kg (3 $\mu$ M)	37.5* (4)	17.4* (4)	30.0* (4)
载剂 (H <sub>2</sub> O) 4 mL	17.2 $\pm$ 6.8 (8)	7.3 $\pm$ 1.5 (8)	12.2 $\pm$ 2.9 (8)



[0974] 为了确定HS是否提高了化合物33的MCC效应,评估了在0.24nmol/kg化合物33和MCC组合给药后8小时立即给予7%的HS(图6)。在图6中示出了HS提高了化合物33对MCC的效果。

[0975] 测定3.通过人气道上皮清除和代谢气道表面药液(ASL)

[0976] 评估了在人支气管上皮(HBE)细胞中化合物33从顶端表面的消失和气道上皮的代谢(表3)。在这些实验中,将25 $\mu$ L的25 $\mu$ M ENaC阻断剂的溶液添加到在气/液界面生长的HBE细胞的顶端表面,并且通过UPLC测量了2h内顶端和基底侧室中的药物浓度。

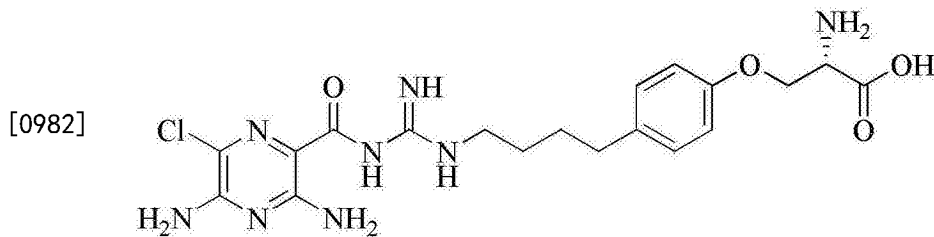
[0977] 表G. 化合物33的顶端消失和代谢

化合物	在顶部侧初始药物质量%(母体和代谢物, 2h)	作为代谢物的顶部质量%(2h)	在基底侧的初始顶部质量%(2h)	在基底侧的代谢物%(2h)
33	44.8 $\pm$ 18%	4%	1.1 $\pm$ 0.45%	32%

[0979] 数值表示为平均值 $\pm$ SD

[0980] 比较实施例

[0981] 与已知的钠通道阻断剂例如阿米洛利和如下文比较实施例1中所述的第三代化合物相比,本发明式(I)的化合物更强大和/或从黏膜表面,(特别是气道表面)更不迅速地吸收。因此,如表G所示的数据所证明的,与这些已知的化合物相比,式(I)化合物在黏膜表面有更长的半衰期。评估了在HBE中化合物33从顶端表面的消失和气道上皮的代谢,并与对比实施例1进行了比较(表H)。在这些实验中,将25 $\mu$ L的25 $\mu$ M ENaC阻断剂的溶液添加到在气/液界面培养的HBE细胞的顶端表面,并且通过UPLC测量了2h内顶端和基底侧室中的药物浓度。在本发明的化合物在顶端表面孵育2h后(37 $^{\circ}$ C),在顶端侧化合物33大部分未被代谢。与此相反,大多数比较实施例1从顶侧,83%代谢为较低活性的羧酸、(S)-2-氨基-3-(4-(4-(3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基)胍基)丁基)苯氧基)丙酸,结构如下。



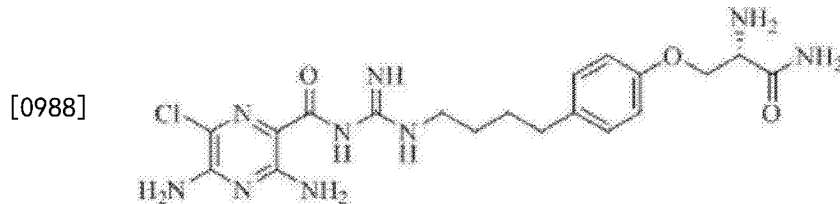
[0983] 表H. 在HBE中化合物33与比较实施例1的顶端消失和代谢

化合物	在顶部侧初始药物质量% (母体和代谢物, 2h)	作为代谢物的顶部质量% (2h)	在基底侧的初始顶部质量% (2h)	在基底侧的代谢物% (2h)
[0984] 33	44.8±18%	4%	1.1±0.45%	32%
比较实施例1	41.6±7.6%	83.0±3.5%	8.3±0.2	94.7±1.0%
1	(8%母体)		(1%母体)	

[0985] 数值表示为平均值±SD

[0986] 对比实施例1在W0 2003/070182(美国专利号6,858,615;7,186,833;7,189,719;7,192,960;和7332496)中保护、描述或公开了该结构作为具有有用药用性的钠通道阻断剂并且可通过在其中描述的以及本领域公知的方法来制备。

[0987] 比较实施例1



[0989] (S)-3,5-二氨基-6-氯-N-(N-4-4-(2,3-二氨基-3-氧代丙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪)-2-甲酰胺

[0990] 可以在US 2005/0080093的第15页上并作为W0 2008/031048第90页上的化合物2以及作为W0 2008/031028第42-43页的化合物2看到比较实施例1的化合物。为了在在治疗囊性纤维化和C.O.P.D中具有有益的活性,化合物必须在基于多次给药而不提高血浆钾(其最终导致高钾血症,一种严重且危险的病症)的剂量下,具有导致增强黏膜纤毛清除(MCC)的性质。因此,必须避免这类化合物,已知如果他们由肾显著排泄,则会提高血浆钾。为了评估这种可能性,具有体内的MCC活性是有益的并且在可用剂量下,不会引起血浆钾的升高。一种评估模型是下面描述的绵羊MCC模型。

[0991] 如从表1和图7中可以看出,使用三种不同的测量方法(斜率,AUC和最大清除率)得到的在绵羊MCC模型中比较实施例1的ED<sub>50</sub>为约240nmol/kg(3mM)。在这个剂量下(这将是临床活性剂量),比较实施例1导致血浆钾的升高(图8),这在重复给药时将导致高钾血症。因此,比较实施例I不可供人类使用,而化合物(Ia)产生安全且有效的MCC且在该模型中效益风险比大于1000。

[0992] 表I. 给药后4小时在绵羊中载剂、比较实施例1或化合物33的MCC

[0993]

剂量	初始斜率  (4.0-4.5h)	AUC (% CI x h)	最大清除率
比较实施例 1	32.2 ± 7.3* (6)	14.1 ± 2.2* (6)	22.9 ± 2.1* (6)

[0994]

240 nmol/kg (3mM)			
比较实施例 1	14.5 ± 1.3 (3)	6.9 ± 1.0 (3)	14.6 ± 0.9 (3)
24 nmol/kg (300 μM)			
化合物 33	37.5* (4)	17.4* (4)	30.0* (4)
0.240 nmol/kg (30 μM)			
载剂 H <sub>2</sub> O (4 mL)	17.2 ± 6.8 (8)	7.3 ± 1.5 (8)	12.2 ± 2.9 (8)

[0995] 图I绘制了如以上在MCC模型中所述的化合物33和比较实施例1在一段时间的黏液清除百分比的图。化合物33在比看到的比较实施例1低1000倍的剂量时提供了甚至更高的黏液清除百分比。因此,化合物33在临床无血浆钾升高的相关剂量范围内提供了最大作用。

[0996] 图10示出了在MCC的研究中,在接受比较实施例1的绵羊血浆中,在有效剂量时可看出血浆钾水平的显著提高。在绵羊的MCC中,化合物33与比较实施例1相比更有效1000倍,且剂量高达24nmol/kg (ED<sub>50</sub>剂量的1000倍)时也没有升高血浆K。而比较实施例1在约3mM的ED<sub>50</sub>剂量时就升高了血浆K(图7和8)。这再次表明化合物33具有独特的且出人意料的效力和安全性优势,如表J中所示,与比较实施例1相比,具有1000倍更高的肾脏安全性。

[0997] 表J. 治疗比(效益/风险)

[0998]

	MCC最高的次最大剂量	不升高绵羊中血浆钾的最高剂量	治疗比
比较实施例1	240nmol/kg (3mM)	24nmol/kg (300μM)	0.1
33	<0.24nmol/kg (3μM)	24nmol/kg (300μM)	>100
比值	>1,000	1	>1,000

[0999] 本发明的其他化合物具有类似的安全性和效力,超过如示于图11、12、13和14中示例的已知化合物。

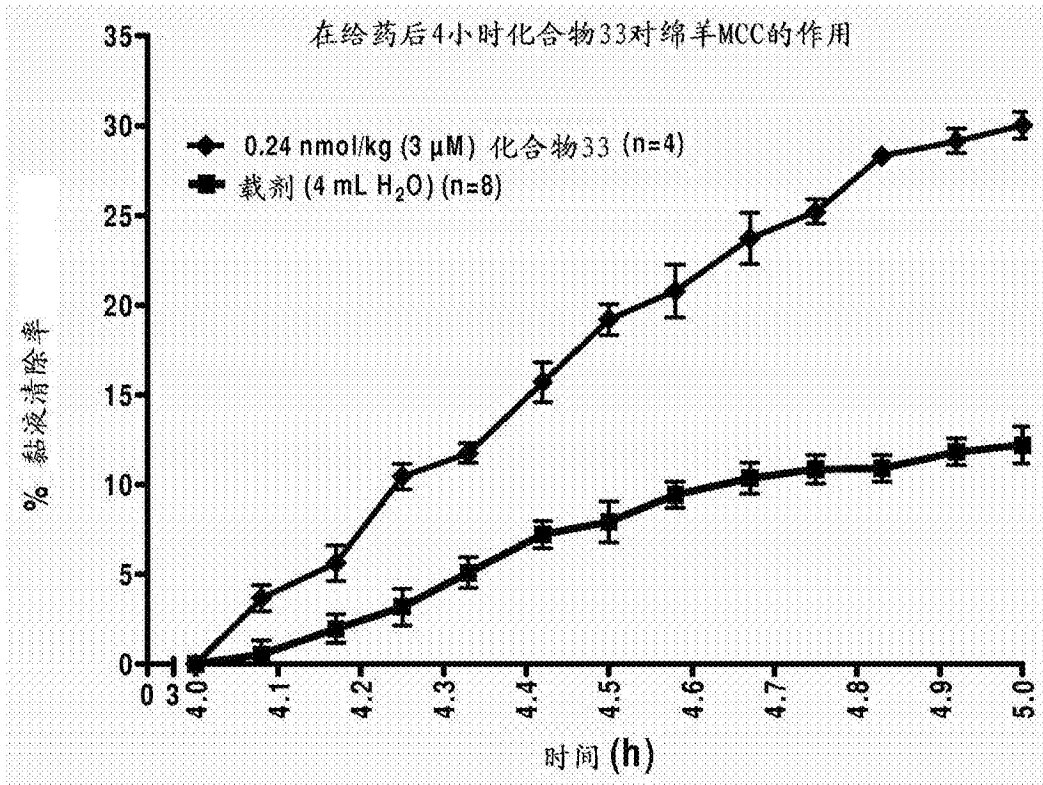


图1

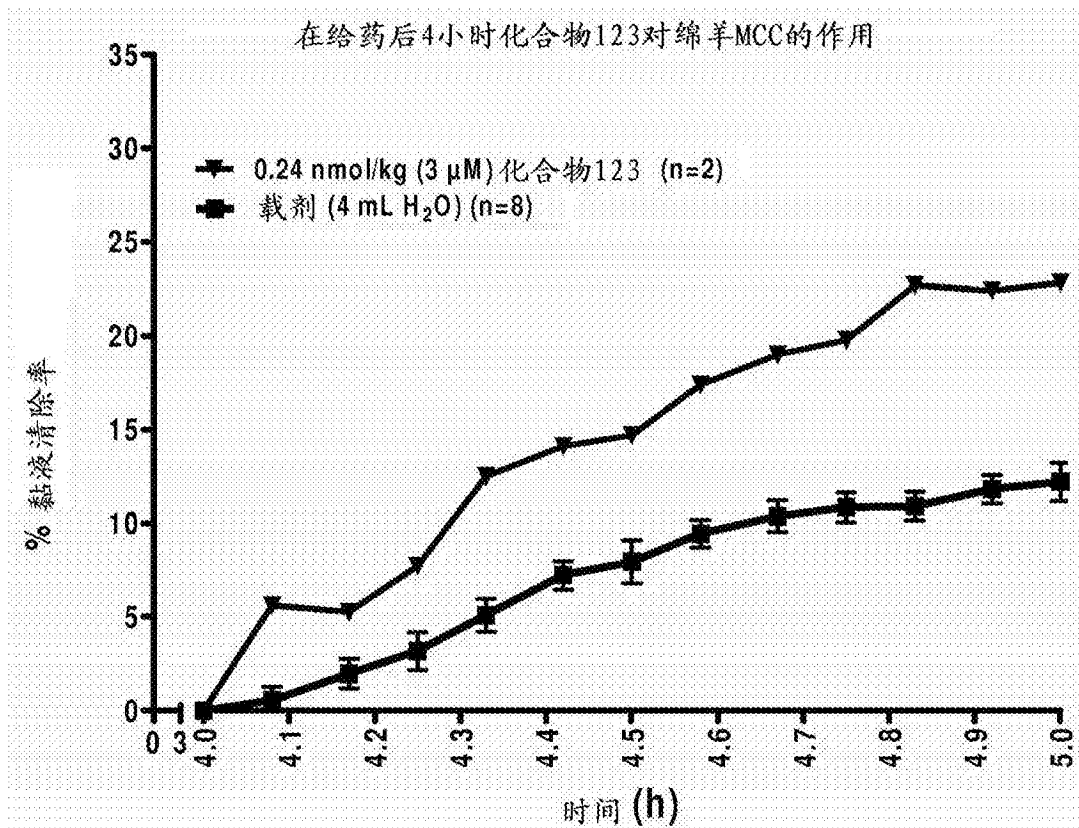


图2

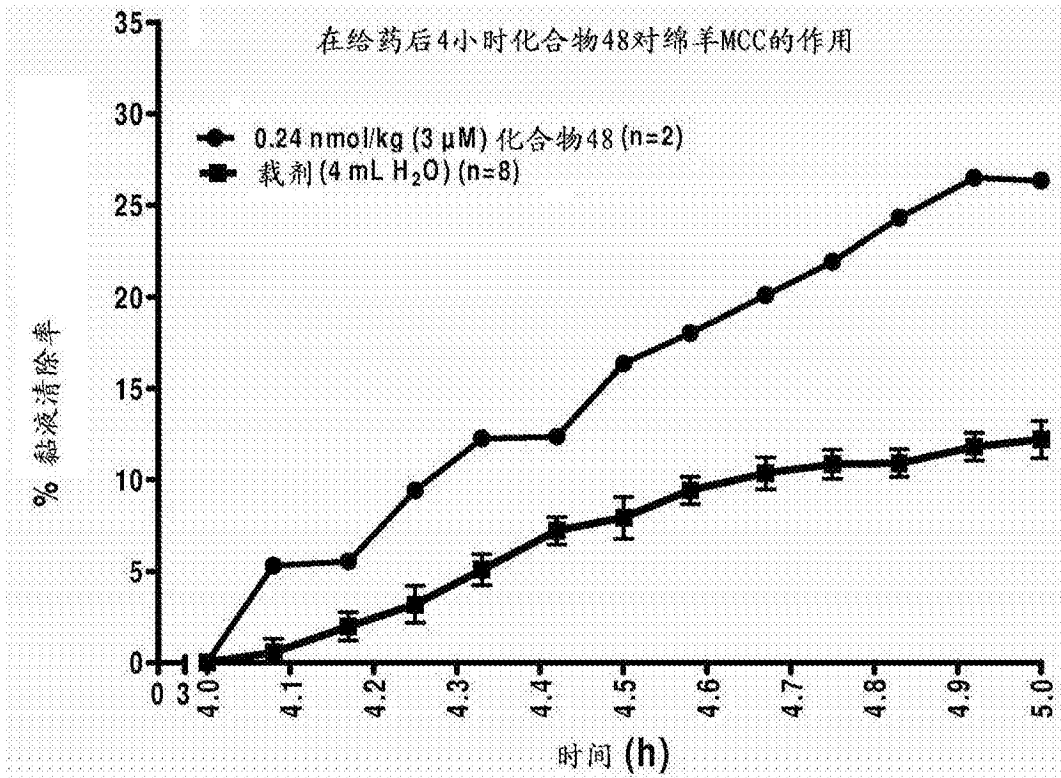


图3

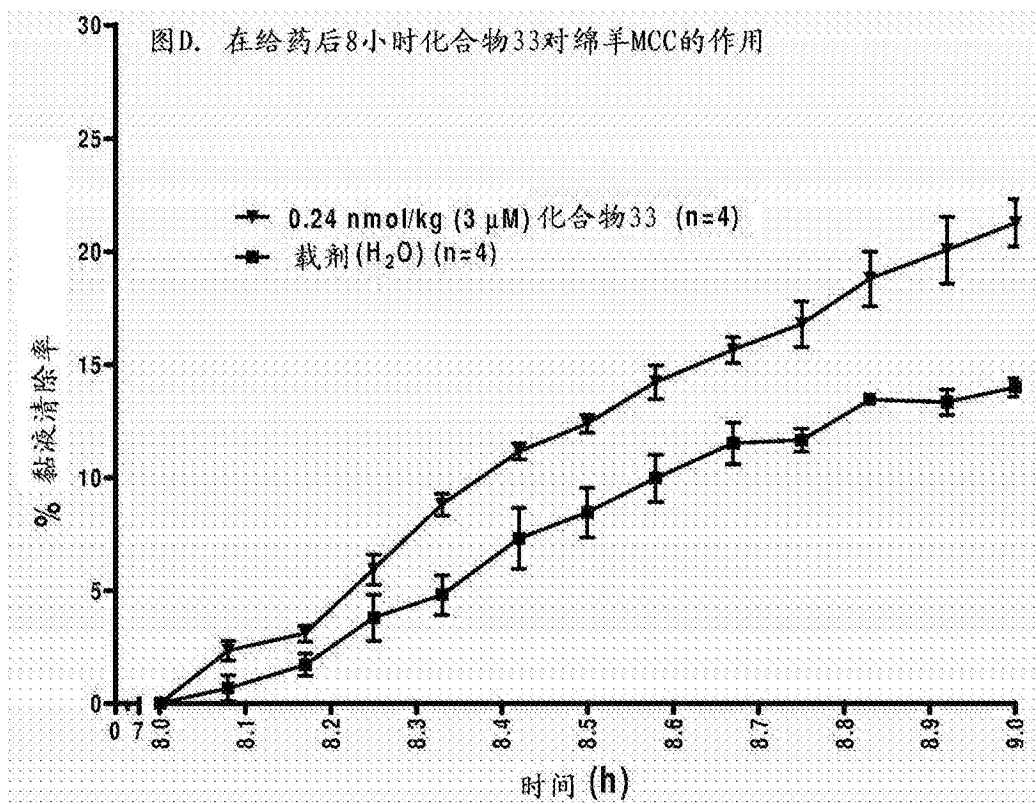


图4

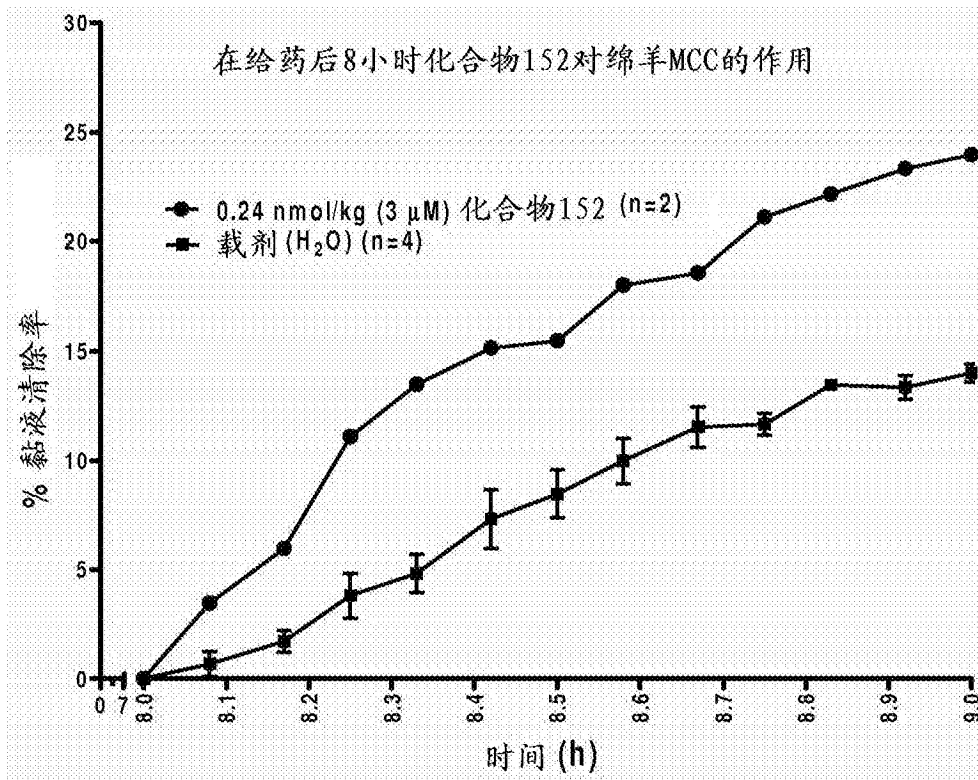


图5

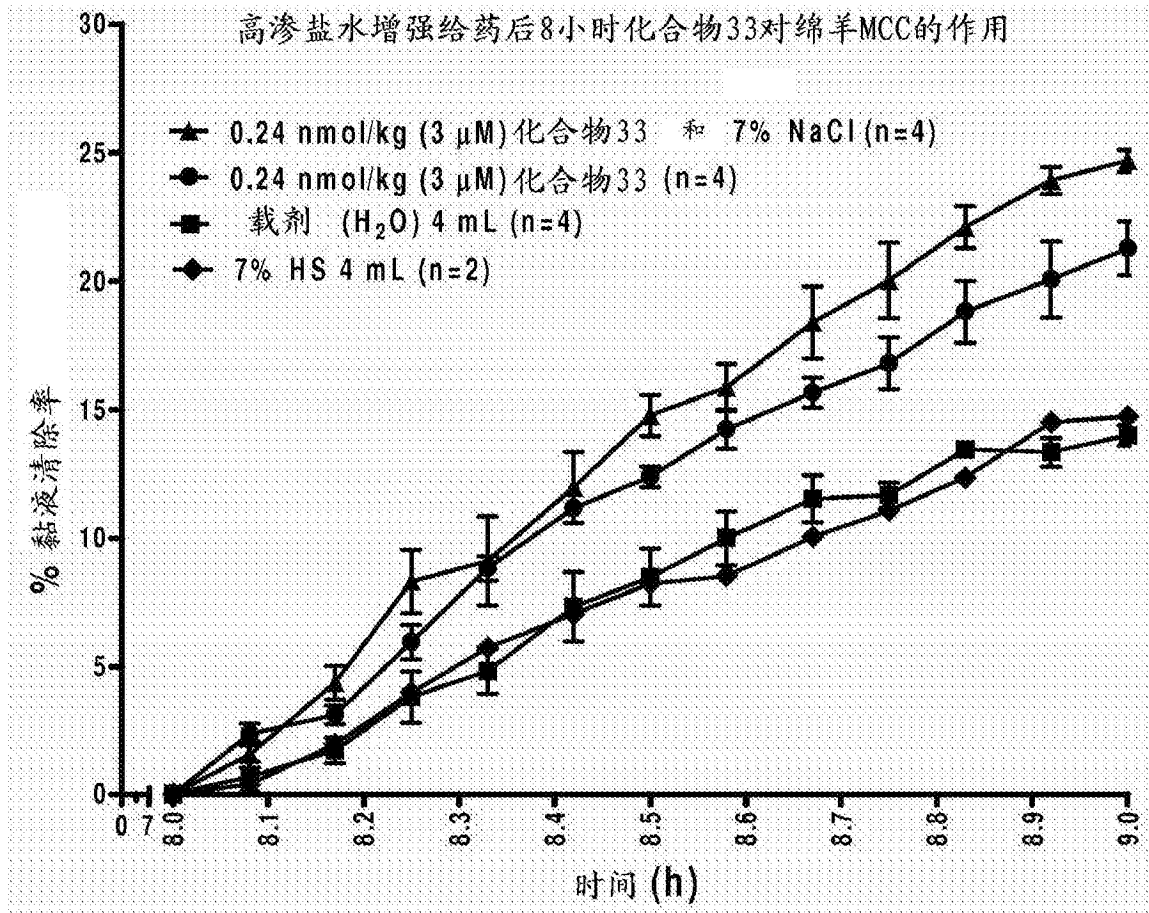


图6



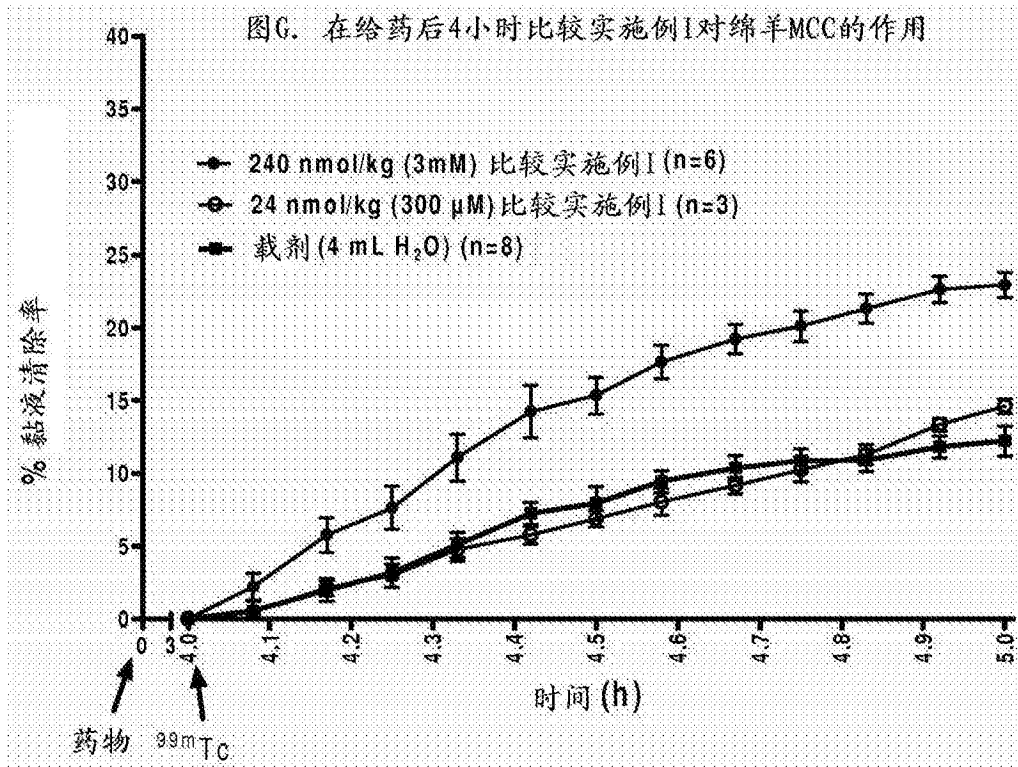


图7

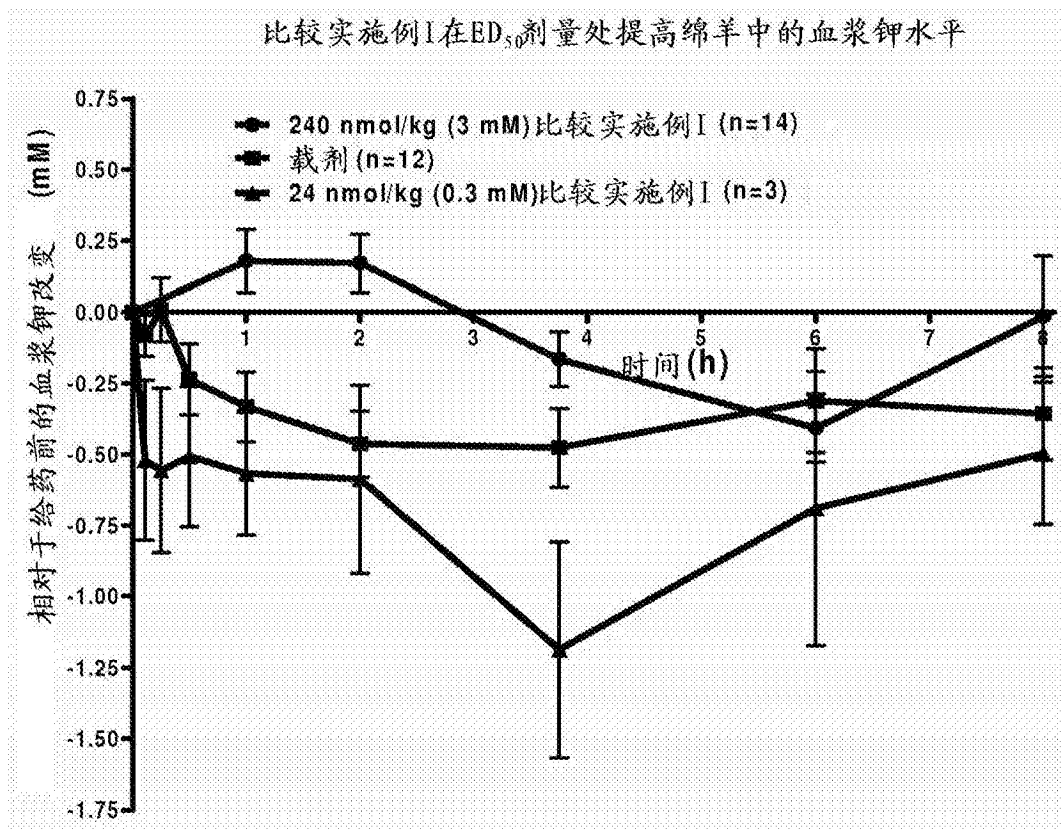


图8

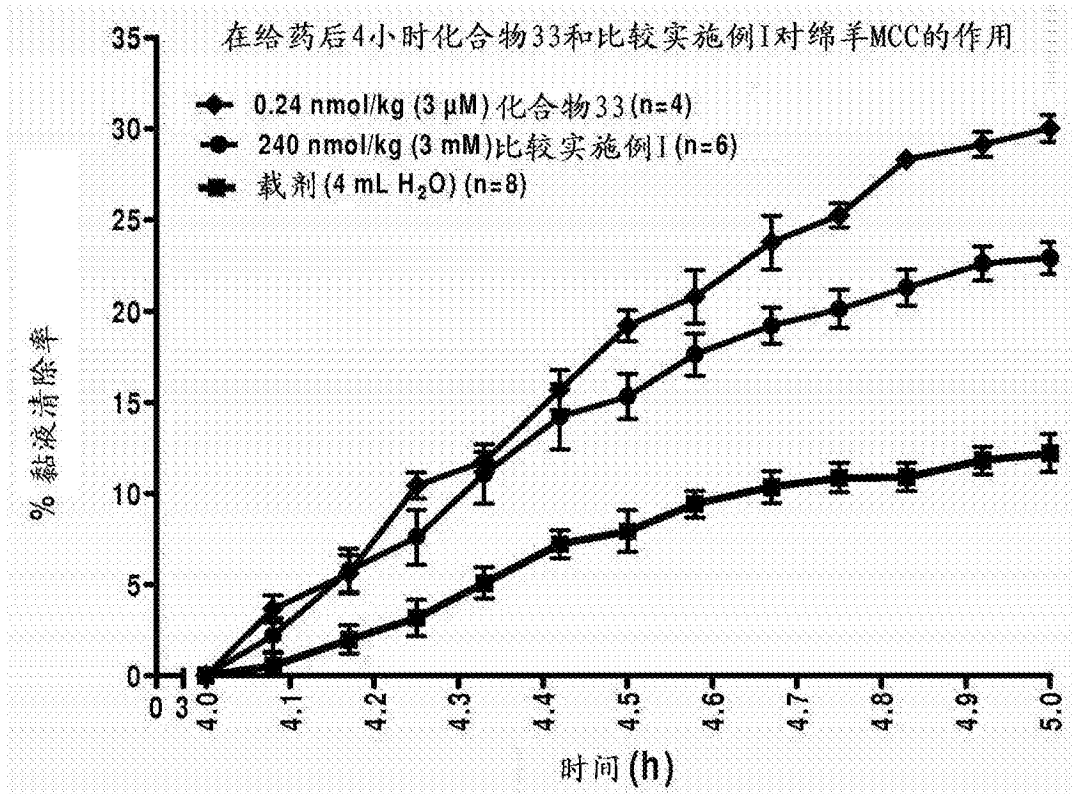


图9

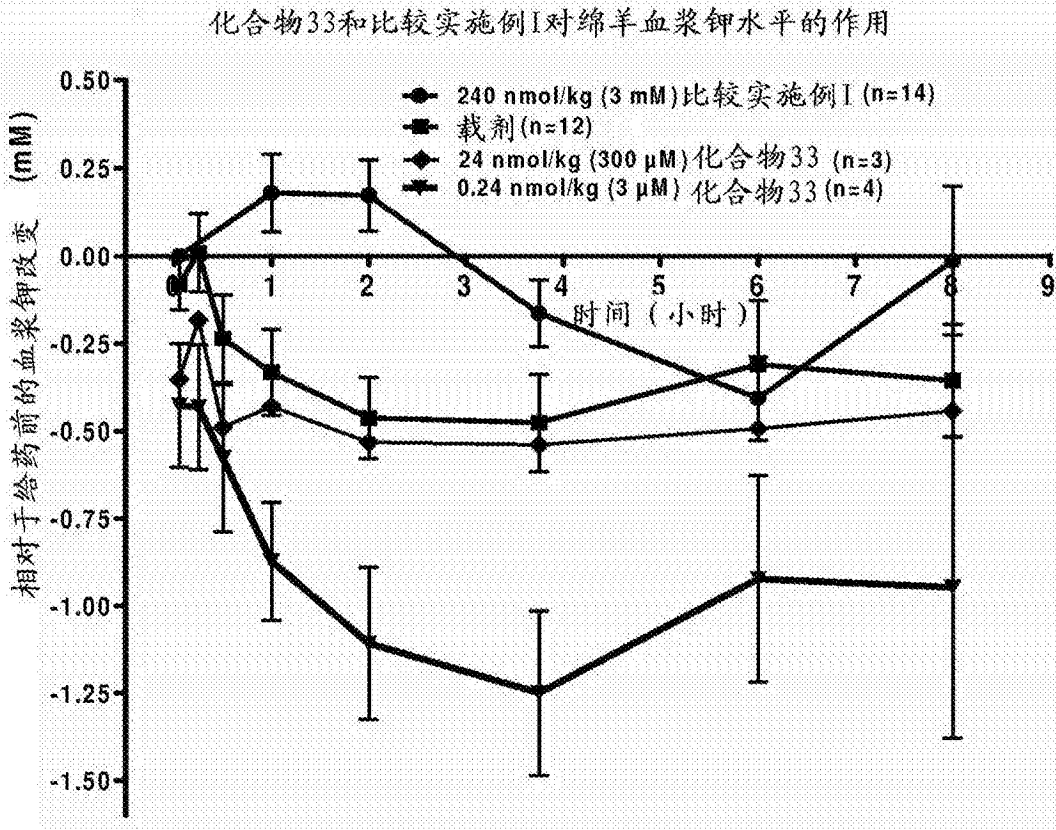


图10

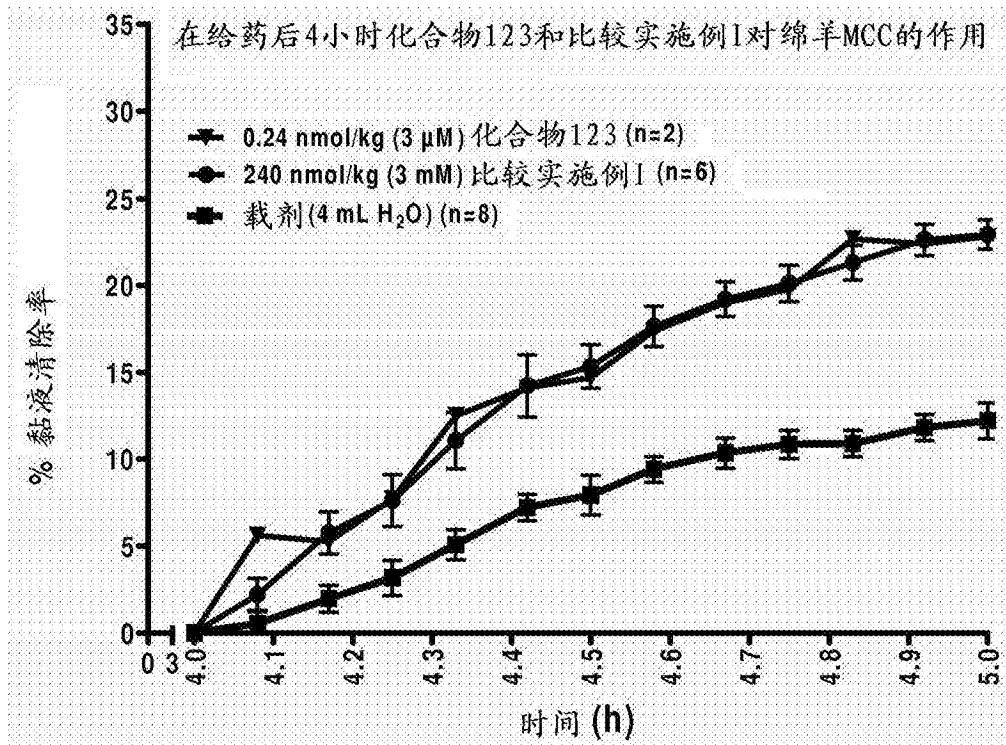


图11

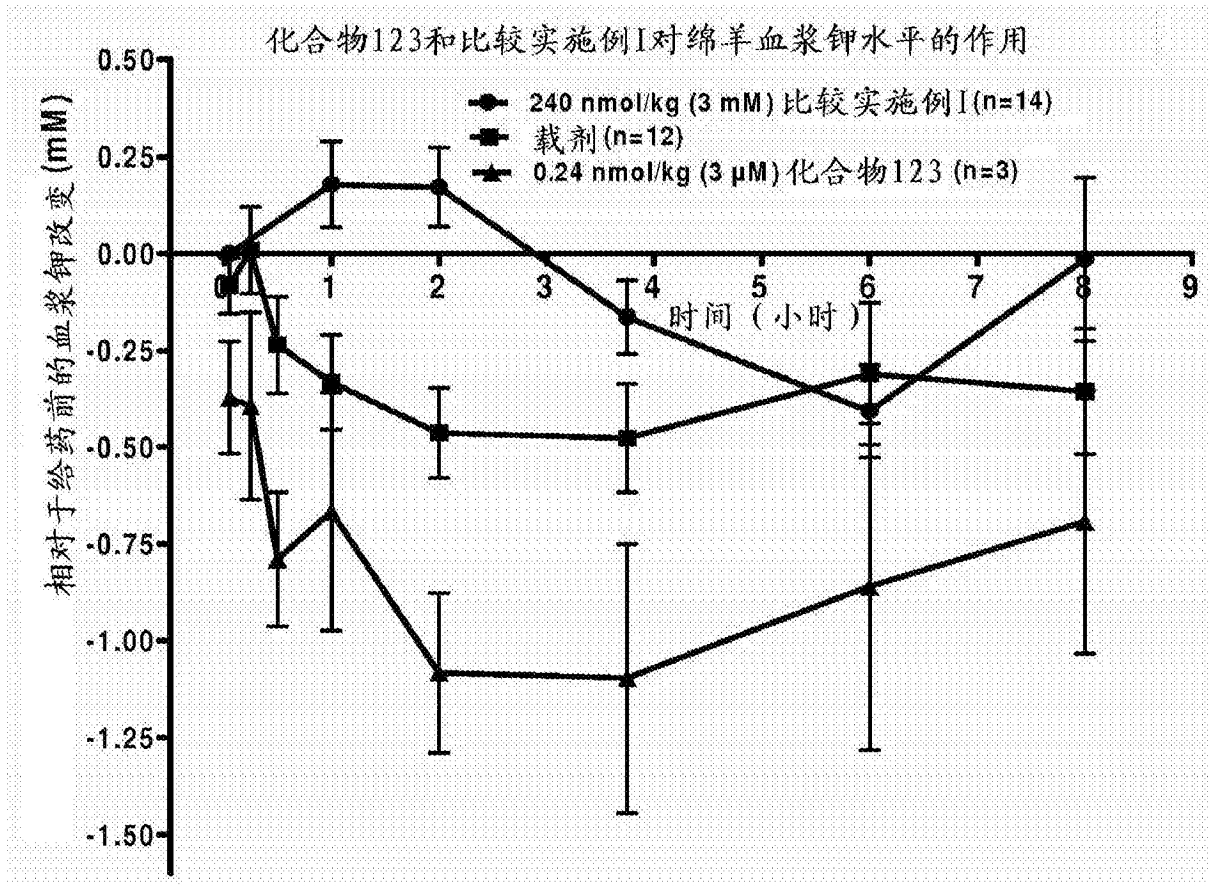


图12

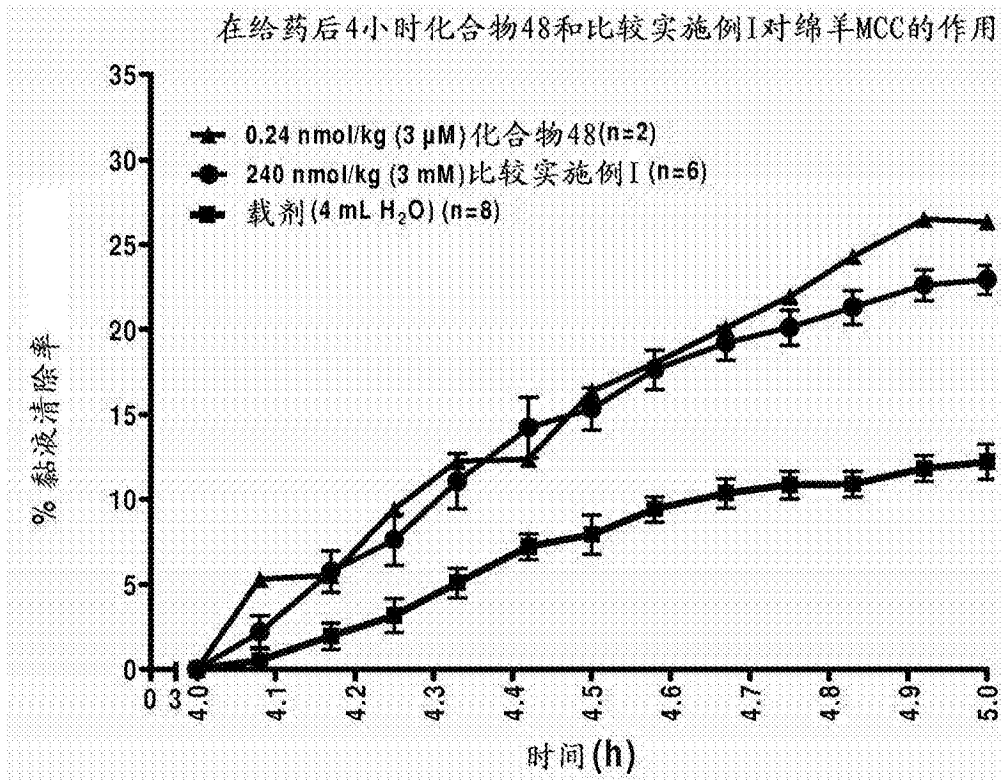


图13

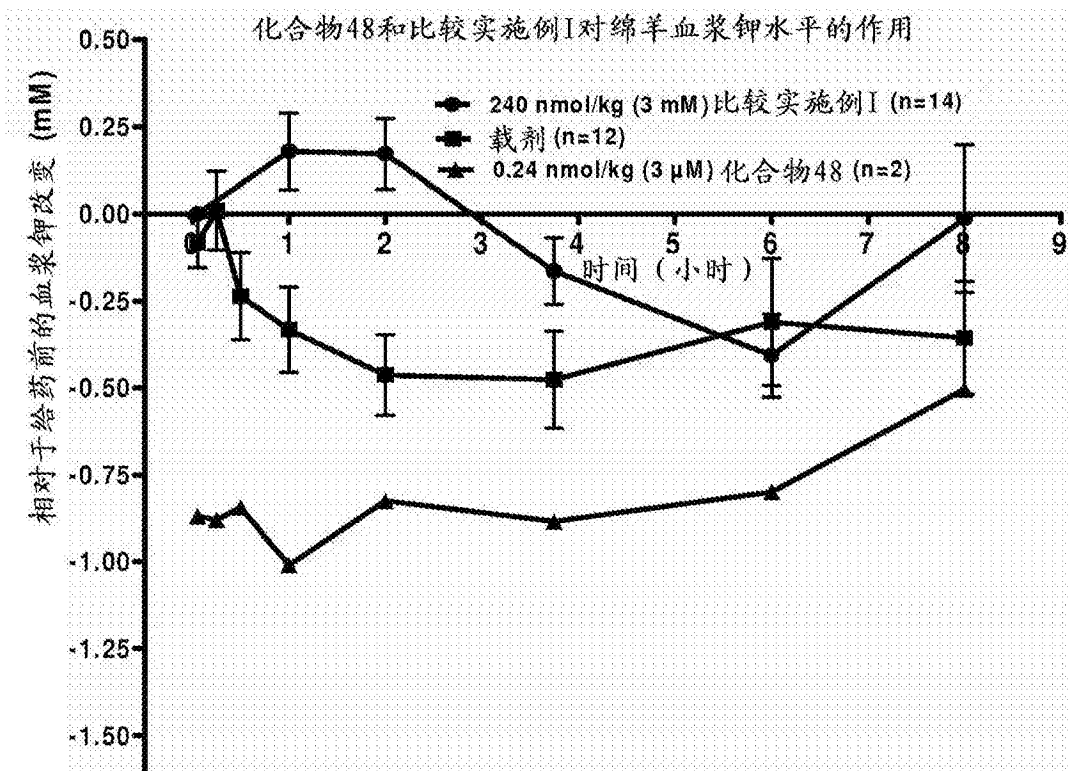


图14