



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114478474 A

(43) 申请公布日 2022.05.13

(21) 申请号 202210056304.4

C07D 407/12 (2006.01)

(22) 申请日 2022.01.18

A61P 31/04 (2006.01)

(71) 申请人 中国科学院宁波材料技术与工程研究所

地址 315201 浙江省宁波市镇海区庄市大道519号

申请人 宁波慈溪生物医学工程研究所

(72) 发明人 周扬 梁寅秋 王昕雨 常皓云  
胡素佩

(74) 专利代理机构 北京元周律知识产权代理有限公司 11540

专利代理师 孙小万

(51) Int. Cl.

C07D 321/10 (2006.01)

C07D 405/12 (2006.01)

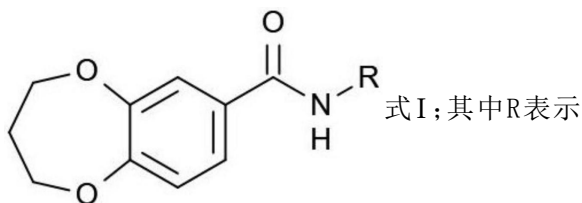
权利要求书4页 说明书21页 附图1页

(54) 发明名称

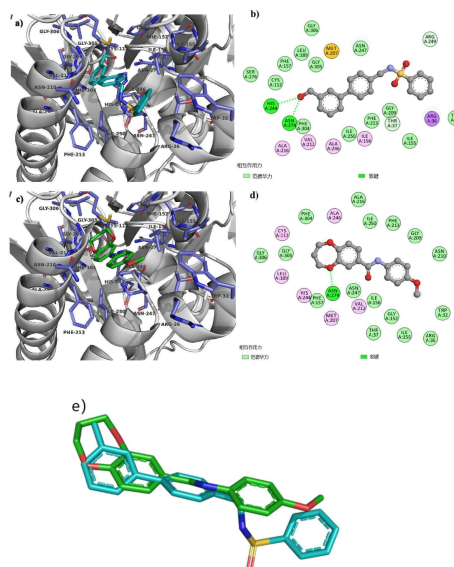
一种酰胺类化合物及其制备方法

(57) 摘要

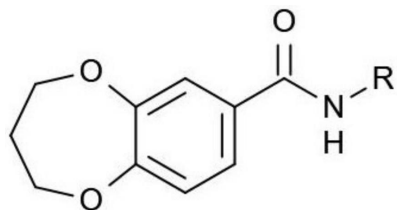
一种酰胺类化合物及其制备方法,所述酰胺类化合物具有式I所述的结构式:



$C_1 \sim C_{16}$ 烷基、 $C_6 \sim C_{15}$ 芳香基、 $C_4 \sim C_7$ 杂环中的一种。其与FabH有较大的结合能,可作为FabH抑制剂抑制细菌的生长,并具有较好的抗菌活性、低毒性和低溶血性等优点。



1. 一种酰胺类化合物, 其特征在于, 所述酰胺类化合物具有式I所述的结构式:



式I;

其中R表示 $C_1 \sim C_{16}$ 烷基、 $C_6 \sim C_{15}$ 芳香基、 $C_4 \sim C_7$ 杂环中的一种。

2. 根据权利要求1所述的酰胺类化合物, 其特征在于, 其中R表示 $C_6 \sim C_{16}$ 烷基;

优选地, 所述 $C_6 \sim C_{15}$ 芳香基选自芳香环上至少一个H被 $R_1$ 取代所形成的基团;

其中,  $R_1$ 选自氢、烃基、取代烃基、非烃基;

优选地, 所述烃基选自 $C_1 \sim C_8$ 的烃基;

优选地, 所述取代烃基为卤素取代的 $C_1 \sim C_3$ 的烷基;

优选地, 所述非烃基选自卤素、苯氧基、苯基、双氮杂环中的一种或多种;

优选地, 所述非烃基选自醚基或含有醚基的官能团;

其中, 所述醚基选自 $C_1 \sim C_4$ 的醚基;

其中, 所述含有醚基的官能团的碳原子数为 $C_1 \sim C_6$ 。

3. 根据权利要求2所述的酰胺类化合物, 其特征在于, 所述非烃基选自酰胺基或含有酰胺基的官能团;

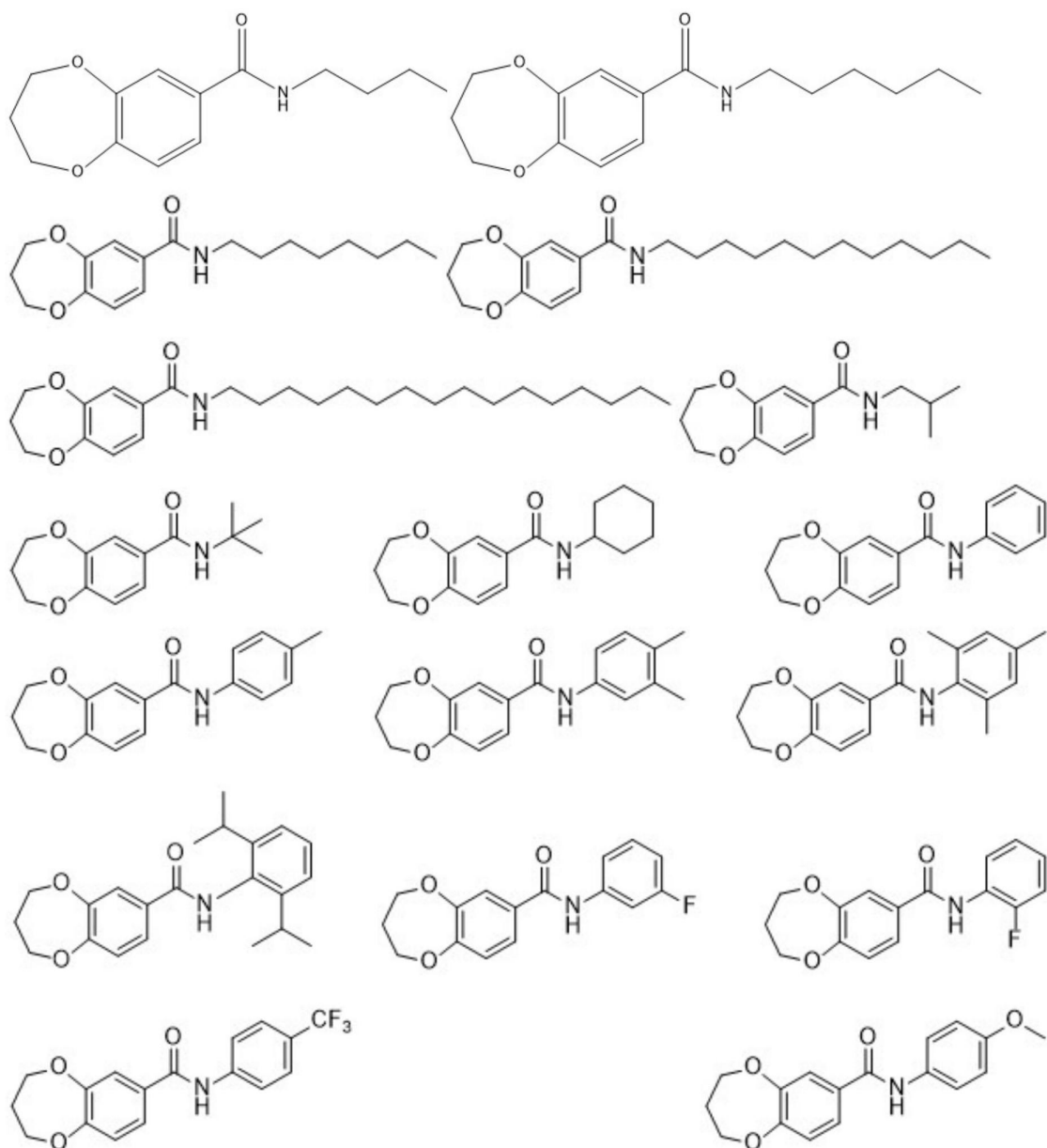
其中, 所述含有酰胺基的官能团为 $C_1 \sim C_6$ 的烷氧基;

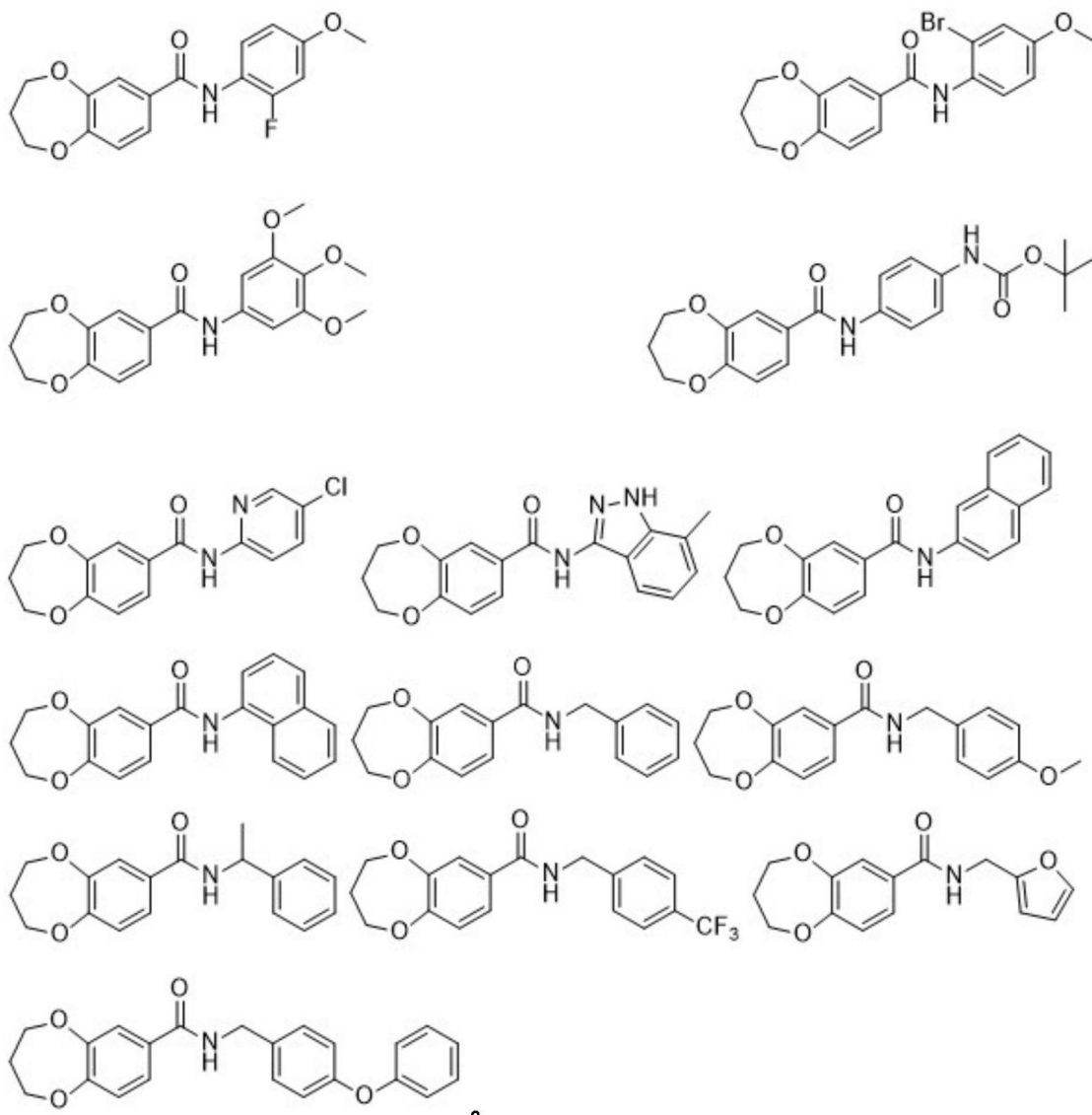
优选地, 所述 $C_4 \sim C_7$ 杂环选自 $C_4 \sim C_7$ 氮杂环、 $C_4 \sim C_7$ 氧杂环、 $C_4 \sim C_7$ 硫杂环中的一种;

其中, 所述 $C_4 \sim C_7$ 杂环选自环上至少一个H被 $R_2$ 取代所形成的基团;

其中,  $R_2$ 选自卤素、 $C_1 \sim C_6$ 烷基中的一种或多种。

4. 根据权利要求1所述的酰胺类化合物, 其特征在于, 式I所示的化合物的结构式选自以下化合物:





5. 权利要求1~4任一项所述的酰胺类化合物的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(S1) 将含苯甲醛并二恶烷、高锰酸钾、水的混合物,反应I后得到苯甲酸并二恶烷;

(S2) 将含苯甲酸并二恶烷、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐、1-羟基苯并三唑、二氯甲烷的混合物,反应II后加入伯胺,反应III得到酰胺类化合物;

所述伯胺结构式为 $R-NH_2$ 。

6. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,高锰酸钾与苯甲醛并二恶烷的摩尔比为1.2:1~2:1;

优选地,高锰酸钾与苯甲醛并二恶烷的摩尔比为1.3:1~1.5:1。

7. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,

反应I中:

反应温度:50℃~80℃;

反应时间:8h~24h。

8. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,所述伯胺选自脂肪胺、取代苯胺、苄胺、氮杂环伯胺中的一种;

优选地,苯甲酸并二恶烷、伯胺、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐、1-羟

基苯并三唑的摩尔比为1:1~2:1~2:1~2;

优选地,苯甲酸并二恶烷、伯胺、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐、1-羟基苯并三唑的摩尔比为1:1.2~1.5:1.2~1.5:1.2~1.5。

9. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,

反应Ⅱ中:

反应温度:60°C~80°C;

反应时间:5h~10h;

优选地,

反应Ⅲ中:

反应温度:25°C~50°C;

反应时间:6h~24h。

10. 权利要求1~4任一项所述的酰胺类化合物和/或权利要求5~9任一项所述制备方法制备的酰胺类化合物在制备FaBH抑制剂中的应用。

## 一种酰胺类化合物及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本申请涉及一种酰胺类化合物及其制备方法,属于化学合成领域。

### 背景技术

[0002] 抗菌药物(抗生素和合成抗菌药物)是人类战胜各类严重细菌感染性疾病的有力武器,但微生物会对长期使用的抗生素逐渐产生抗药性,已成全球卫生、食品安全和发展的重大威胁之一。WHO最新发布的“全球抗微生物药物耐药性监测系统”(GLASS)显示,在22个国家50万疑似细菌感染者中广泛存在抗生素耐药情况。全球范围抗生素耐药率的不断升高,使得越来越多的感染(比如肺炎、结核病、败血症、淋病和食源性疾病)变得难以治疗,甚至无药可治。因此,临床治疗迫切需要研制具有新颖抗菌机制的药物来对抗现有耐药模式。

[0003] 脂肪酸合成(Fatty Acid Biosynthesis, FAS)是细胞生物膜等的重要组成部分,是一切生命的基石,在生物体内是必须的。通过调节脂肪酸合成途径中一些关键酶和蛋白的活性来实现抗菌效果,是开发新型抗菌药物的有效途径。而 $\beta$ -酮脂酰-ACP合成酶( $\beta$ -ketoacyl synthase, KAS)是反应的起始步骤,在脂肪酸合成起到关键的调节作用,并且它的底物具有专一性,一般底物为酰基辅酶a。FabH在革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的基因序列和三维结构上显示出高度保守性,而在人类中找不到任何同源蛋白质。使得抑制FabH酶活性的小分子抑制剂有望成为对细菌具选择性且对人体无毒的广谱抗菌药。

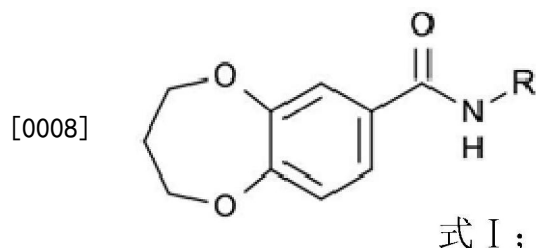
[0004] 酰基氮原子相连的化合物称为酰胺,是一类含氮的羧酸衍生物。酰胺化合物在生活和生产中具有重要的价值,它的应用十分广泛,在医药、农药、工业、有机合成以至香料、染料、塑料、轻纺等行业都有广泛的应用。在农用化学品中,酰胺衍生物具有抗菌、杀虫、除草、抗病毒等广泛的生物活性,在医学领域,酰胺衍生物具有抑菌、杀菌、抗肿瘤、抗病毒的生物活性,其抗菌活性好,抗菌谱广,且不易产生耐药性,有很好的应用价值。

### 发明内容

[0005] 为解决微生物会对长期使用的抗生素逐渐产生抗药性的问题,本发明提供了一种酰胺类化合物及其制备方法。利用计算机辅助药物设计方法设计出该化合物,并通过了分子对接方法检测出其与FabH有较大的结合能,可作为FabH抑制剂,并具有较好的抗菌活性、低毒性、低溶血性等优点。

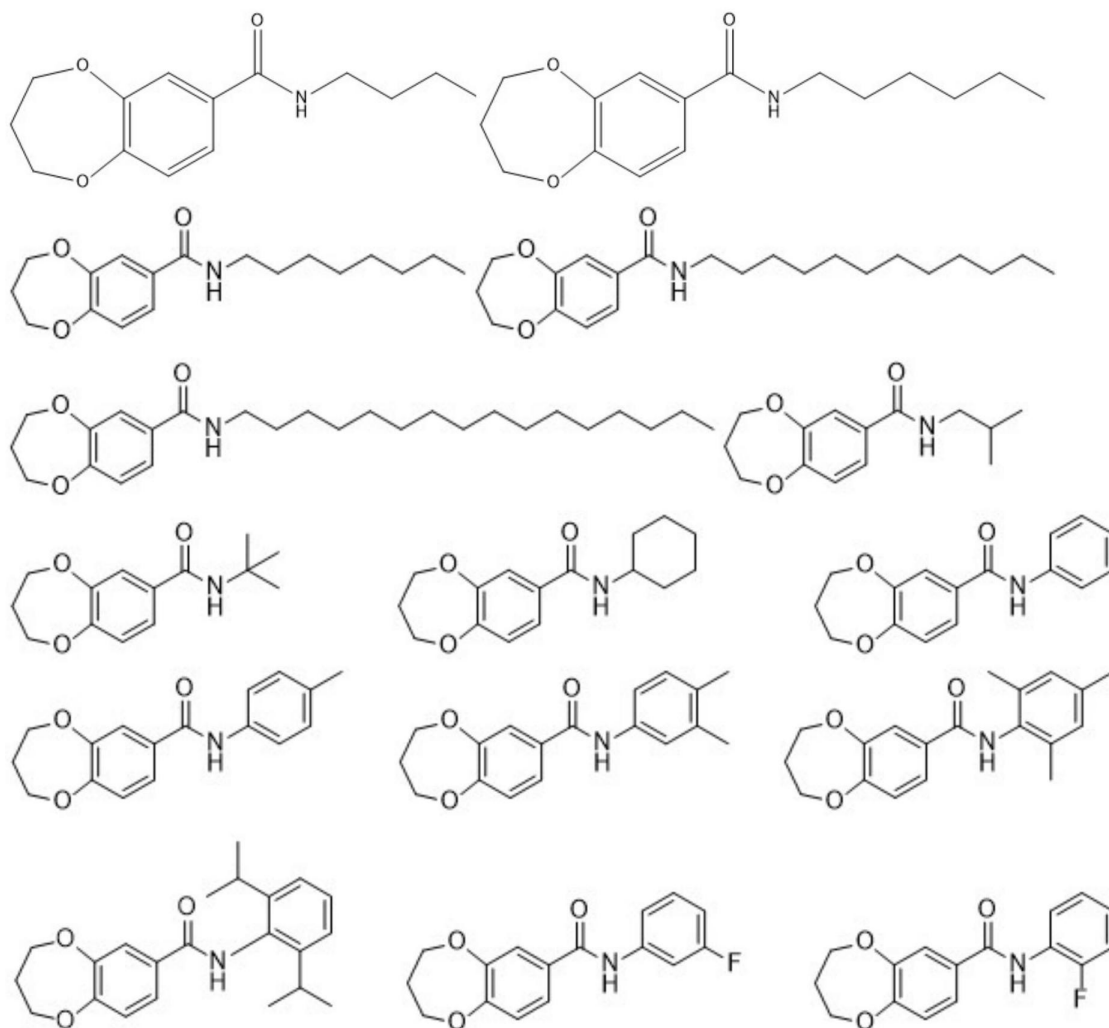
[0006] 根据本申请的一个方面,提供一种酰胺类化合物。

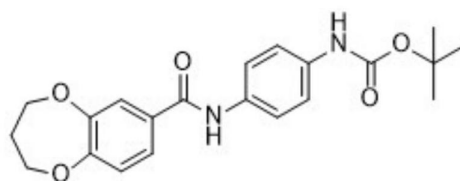
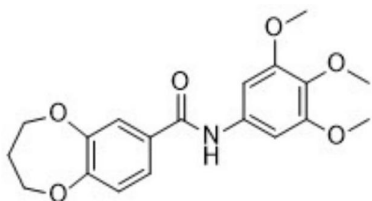
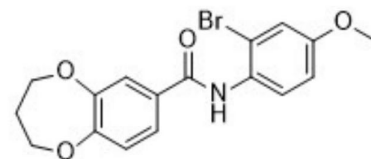
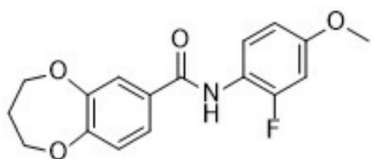
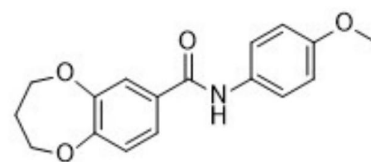
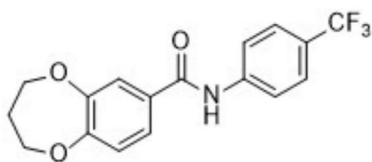
[0007] 一种酰胺类化合物,所述酰胺类化合物具有式I所述的结构式:



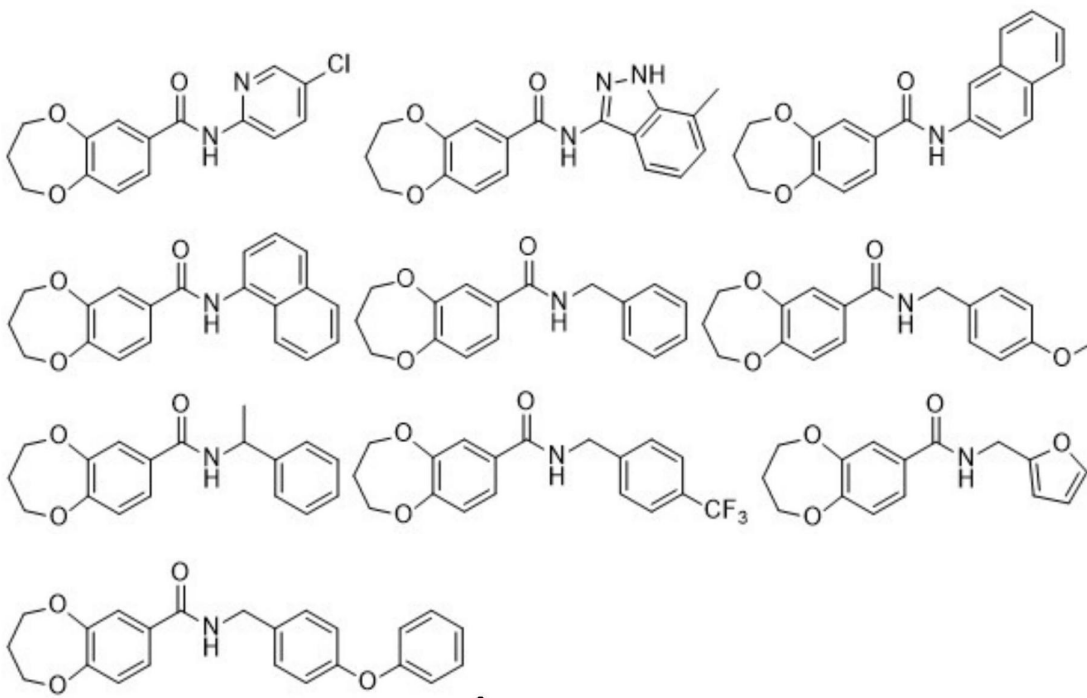
[0009] 其中R表示 $C_1 \sim C_{16}$ 烷基、 $C_6 \sim C_{15}$ 芳香基、 $C_4 \sim C_7$ 杂环中的一种。

- [0010] 可选地,其中R表示 $C_6\sim C_{16}$ 烷基。
- [0011] 可选地,所述 $C_6\sim C_{15}$ 芳香基选自芳香环上至少一个H被 $R_1$ 取代所形成的基团;
- [0012] 其中, $R_1$ 选自氢、烃基、取代烃基、非烃基;
- [0013] 优选地,所述烃基选自 $C_1\sim C_8$ 的烃基;
- [0014] 优选地,所述取代烃基为卤素取代的 $C_1\sim C_3$ 的烷基;
- [0015] 优选地,所述非烃基选自卤素、苯氧基、苯基、双氮杂环中的一种或多种。
- [0016] 可选地,所述非烃基选自醚基或含有醚基的官能团;
- [0017] 其中,所述醚基选自 $C_1\sim C_4$ 的醚基;
- [0018] 其中,所述含有醚基的官能团的碳原子数为 $C_1\sim C_6$ 。
- [0019] 可选地,所述非烃基选自酰胺基或含有酰胺基的官能团;
- [0020] 其中,所述含有酰胺基的官能团为 $C_1\sim C_6$ 的烷氧基。
- [0021] 可选地,所述 $C_4\sim C_7$ 杂环选自 $C_4\sim C_7$ 氮杂环、 $C_4\sim C_7$ 氧杂环、 $C_4\sim C_7$ 硫杂环中的一种;
- [0022] 其中,所述 $C_4\sim C_7$ 杂环选自环上至少一个H被 $R_2$ 取代所形成的基团;
- [0023] 其中, $R_2$ 选自卤素、 $C_1\sim C_6$ 烷基中的一种或多种。
- [0024] 可选地,式I所示的化合物的结构式选自以下化合物:
- [0025] 根据权利要求1所述的酰胺类化合物,其特征在于,式I所示的化合物的结构式选自以下化合物:





[0027]



[0028] 根据本申请的第二方面,提供一种酰胺类化合物的制备方法。

[0029] 上述权利要求任一项所述的酰胺类化合物的制备方法,包括以下步骤:

[0030] (S1) 将含苯甲醛并二恶烷、高锰酸钾、水的混合物,反应I后得到苯甲酸并二恶烷;

[0031] (S2) 将含苯甲酸并二恶烷、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐、1-羟基苯并三唑、二氯甲烷的混合物,反应II后加入伯胺,反应III得到酰胺类化合物;

[0032] 所述伯胺结构式为 $R-NH_2$ 。

[0033] 可选地,高锰酸钾与苯甲醛并二恶烷的摩尔比为1.2:1~2:1。

[0034] 优选地,高锰酸钾与苯甲醛并二恶烷的摩尔比为1.3:1~1.5:1。

[0035] 可选地,

[0036] 反应I中:

[0037] 反应温度:50℃~80℃;



- [0038] 反应时间:8h~24h。
- [0039] 可选地,所述伯胺选自脂肪胺、取代苯胺、苄胺、氮杂环伯胺中的一种。
- [0040] 可选地,所述脂肪胺选自正丁胺、正辛胺、环己胺中的至少一种。
- [0041] 可选地,所述取代苯胺选自苯胺、对甲苯胺、3-氟苯胺中的至少一种。
- [0042] 可选地,所述苄胺选自苄胺、4-甲氧基苄胺、4-(三氟甲基)苄胺中的至少一种。
- [0043] 可选地,所述氮杂环伯胺选自2-氨基-5-氯吡啶、3-氨基-7-甲基-1H-吡唑中的至少一种。
- [0044] 可选地,苯甲酸并二恶烷、伯胺、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐、1-羟基苯并三唑的摩尔比为1:1~2:1~2:1~2。
- [0045] 优选地,苯甲酸并二恶烷、伯胺、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐、1-羟基苯并三唑的摩尔比为1:1.2~1.5:1.2~1.5:1.2~1.5。
- [0046] 可选地,
- [0047] 反应II中:
- [0048] 反应温度:60℃~80℃;
- [0049] 反应时间:5h~10h。
- [0050] 可选地,
- [0051] 反应III中:
- [0052] 反应温度:25℃~50℃;
- [0053] 反应时间:6h~24h。
- [0054] 作为一种具体的实施方式,酰胺类化合物的制备方法包括:
- [0055] 在25ml干燥圆底烧瓶中加入苯甲酸并二恶烷(194mg,1.0mmol),HOBT(1.1当量),EDC.HCl(1.1当量)溶解于4ml二氯甲烷中,室温搅拌15分钟后加入正丁胺(80.3mg,1.1mmol),继续搅拌8小时。反应停止后硅藻土过滤,再加水萃取和二氯甲烷进行萃取三次。有机层以Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,干燥后的有机层抽干溶剂,并采用柱层析纯化得到相应产物。
- [0056] 根据本申请的第三方面,提供一种酰胺类化合物的应用。
- [0057] 上述的化合物和/或上述的制备方法制备的酰胺类化合物在制备FaBH抑制剂中的应用。
- [0058] 本申请中,EDC.HCl是指1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐;HoBt是指1-羟基苯并三唑。
- [0059] 在本申请中,C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>、C<sub>4</sub>~C<sub>7</sub>等均是指基团中所包含的碳原子数。
- [0060] 在本申请中,术语“烃基”是指由烃类化合物分子上失去任意一个氢原子所形成的基团;所述烃类化合物包括烷烃化合物、烯烃化合物、炔烃化合物和芳烃化合物,例如甲苯失去苯环上甲基对位的氢原子所形成的对甲苯基,或甲苯失去甲基上任意一个氢原子所形成的苄基等。
- [0061] 在本申请中,术语“烷基”是指由烷烃化合物分子上失去任意一个氢原子所形成的基团。
- [0062] 在本申请中,术语“芳香基”是指由芳香族化合物分子上失去芳环上的一个氢原子所形成的基团;例如甲苯失去苯环上甲基对位的氢原子所形成的对甲苯基。
- [0063] 在本申请中,术语“卤素”是指氟、氯、溴、碘中的至少一种。

[0064] 在本申请中,术语“非烃类取代基”是指含有除H和C以外的其他元素(例如卤素、S、O、P、N等)的化合物失去任意一个氢原子所形成的基团,例如烷氧基、卤素、醚基、酰胺基、苯氧基、苯基、双氮杂环等。

[0065] 在本申请中,术语“杂环”是指由分子中含有杂环结构的有机化合物上失去任意一个氢原子所形成的基团,构成环的原子除碳原子外,还至少含有一个杂原子,包括氮原子、硫原子、氧原子。

[0066] 本申请能产生的有益效果包括:

[0067] 本申请所提供的一种酰胺类化合物,其与FabH有较大的结合能,可作为FabH抑制剂抑制细菌的生长,并具有较好的抗菌活性、低毒性和低溶血性等优点。

## 附图说明

[0068] 图1为实施例19与大肠杆菌FabH酶进行分子对接模拟图,其中,a和b分别为蛋白晶体中抑制剂(联苯磺胺)与FabH蛋白(PDB:5bnm)的3D和2D作用模式图,图c和d分别为化合物19与FabH的3D和2D对接作用模式图,e为2个抑制剂在蛋白口袋中的比较。

## 具体实施方式

[0069] 下面结合实施例详述本申请,但本申请并不局限于这些实施例。

[0070] 如无特别说明,本申请的实施例中的原料和催化剂均通过商业途径购买。其中:

[0071] 苯甲醛并二恶烷来自于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

[0072] EDC.HCl来自于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

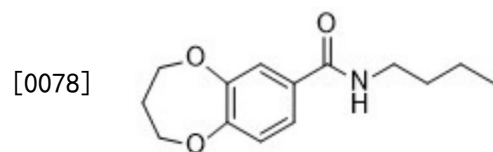
[0073] HOBT来自于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

[0074] 各类伯胺均来自于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

[0075] 核磁测试的仪器为Bruker DPX 400,测试条件为室温。

[0076] 质谱测试的仪器为Mariner System 5304质谱仪。

[0077] 实施例1

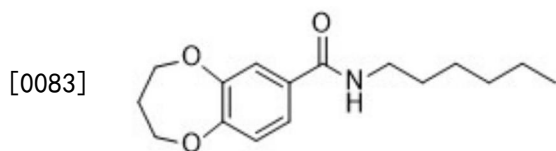


[0079] N-丁基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0080] 将苯甲醛并二恶烷(1.085g,6.1mmol)溶解于25ml水中,室温条件下将高锰酸钾的水溶液(1.384g,8.4mmol in 30mL)缓慢滴加到其中,滴加完成后反应升温至70℃,继续搅拌5小时,降为室温后加入浓度为10%KOH水溶液来淬灭反应,析出固体过滤并用水反复清洗。将收集到的固体以12M HCl的盐酸酸化,固体过滤后烘干,得到纯的苯甲酸并二恶烷。

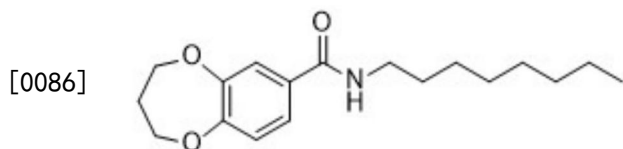
[0081] 在25ml干燥圆底烧瓶中加入苯甲酸并二恶烷(194mg,1.0mmol),HOBT(1.1当量),EDC.HCl(1.1当量)溶解于4ml二氯甲烷中,室温搅拌15分钟后加入正丁胺(80.3mg,1.1mmol),继续搅拌8小时。反应停止后硅藻土过滤,再加水萃取和二氯甲烷进行萃取三次。有机层以Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,干燥后的有机层抽干溶剂,并采用柱层析纯化得到相应产物。

[0082] 实施例2



[0084] N-己基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:将正丁胺换成正己胺,其他实验步骤同实施例1。

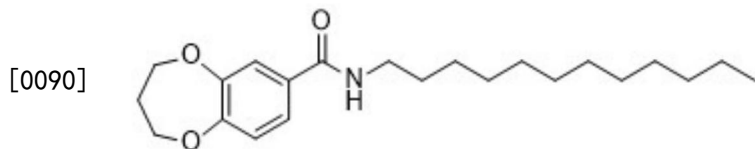
[0085] 实施例3



[0087] N-辛基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0088] 将正丁胺换成正辛胺,其他实验步骤同实施例1。

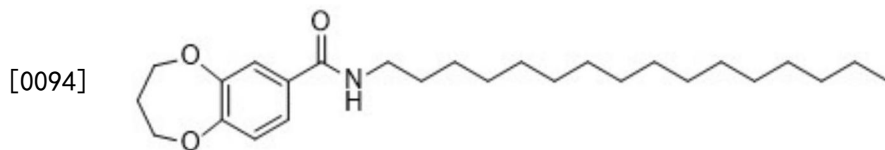
[0089] 实施例4



[0091] N-十二烷基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0092] 将正丁胺换成十二烷基伯胺,其他实验步骤同实施例1。

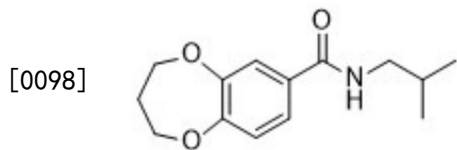
[0093] 实施例5



[0095] N-十六烷基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0096] 将正丁胺换成十六胺,其他实验步骤同实施例1。

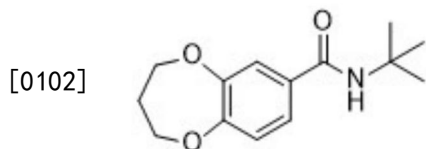
[0097] 实施例6



[0099] N-异丁基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0100] 将正丁胺换成异丁胺,其他实验步骤同实施例1。

[0101] 实施例7

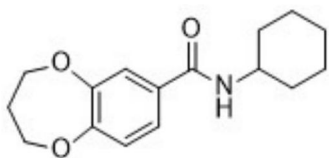


[0103] N-(叔丁基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0104] 将正丁胺换成叔丁胺,其他实验步骤同实施例1。

[0105] 实施例8

[0106]

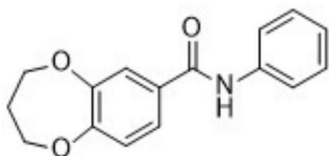


[0107] N-环己基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0108] 将正丁胺换成环己胺,其他实验步骤同实施例1。

[0109] 实施例9

[0110]

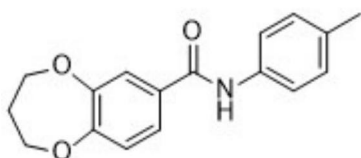


[0111] N-苯基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0112] 将正丁胺换成苯胺,其他实验步骤同实施例1。

[0113] 实施例10

[0114]

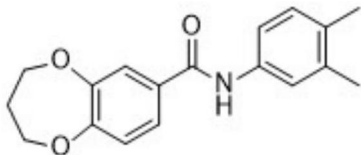


[0115] N-(对甲苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0116] 将正丁胺换成对甲苯胺,其他实验步骤同实施例1。

[0117] 实施例11

[0118]

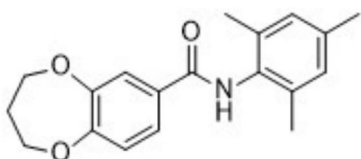


[0119] N-(3,4-二甲基苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0120] 将正丁胺换成3,4-二甲基苯胺,其他实验步骤同实施例1。

[0121] 实施例12

[0122]

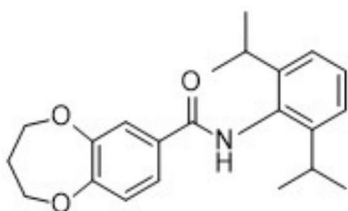


[0123] N-亚甲基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0124] 将正丁胺换成均三甲苯胺,其他实验步骤同实施例1。

[0125] 实施例13

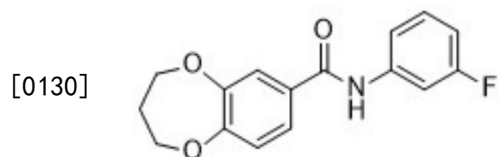
[0126]



[0127] N-(2,6-二异丙基苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0128] 将正丁胺换成2,6-二异丙基苯胺,其他实验步骤同实施例1。

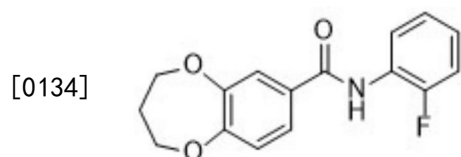
[0129] 实施例14



[0131] N-(3-氟苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0132] 将正丁胺换成3-氟苯胺,其他实验步骤同实施例1。

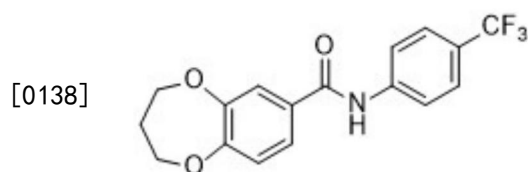
[0133] 实施例15



[0135] N-(2-氟苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0136] 将正丁胺换成2-氟苯胺,其他实验步骤同实施例1。

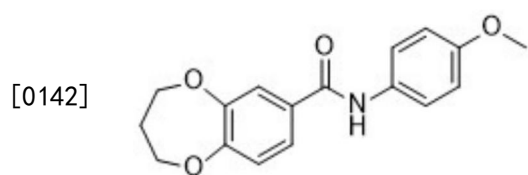
[0137] 实施例16



[0139] N-(4-(三氟甲基)苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0140] 将正丁胺换成对三氟甲基苯胺,其他实验步骤同实施例1。

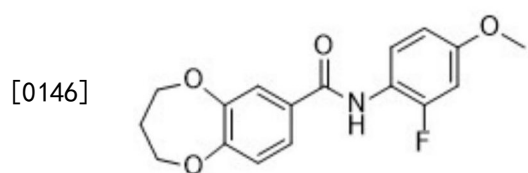
[0141] 实施例17



[0143] N-(4-甲氧基苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0144] 将正丁胺换成对氨基苯甲醚,其他实验步骤同实施例1。

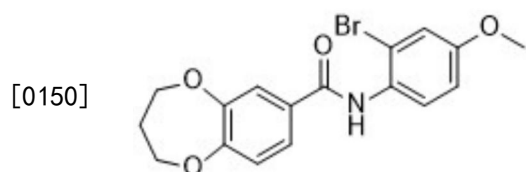
[0145] 实施例18



[0147] N-(2-氟-4-甲氧基苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0148] 将正丁胺换成4-甲氧基-2-氟苯胺,其他实验步骤同实施例1。

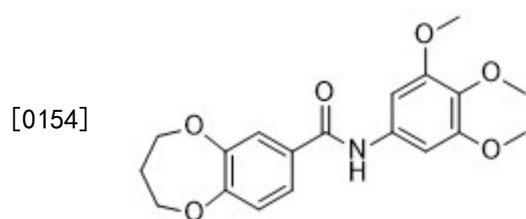
[0149] 实施例19



[0151] N-(2-溴-4-甲氧基苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0152] 将正丁胺换成2-溴-4-甲氧基苯胺,其他实验步骤同实施例1。

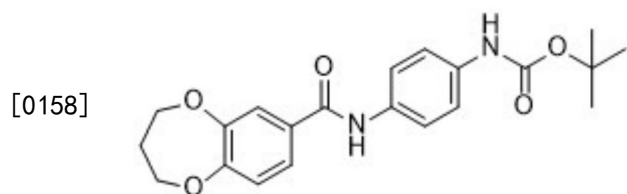
[0153] 实施例20



[0155] N-(3,4,5-三甲氧基苯基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0156] 将正丁胺换成3,4,5-三甲氧基苯胺,其他实验步骤同实施例1。

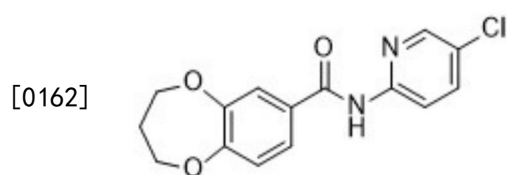
[0157] 实施例21



[0159] 叔丁基(4-(3,4二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰氨基)苯基)氨基甲酸酯的制备如下:

[0160] 将正丁胺换成叔丁基-4-氨基苯基氨基甲酸酯,其他实验步骤同实施例1。

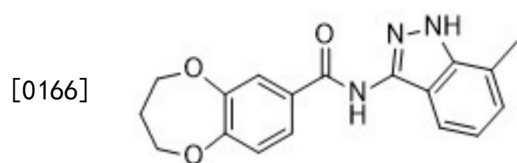
[0161] 实施例22



[0163] N-(5-氯吡啶-2-yl)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0164] 将正丁胺换成2-氨基-5-氯吡啶,其他实验步骤同实施例1。

[0165] 实施例23

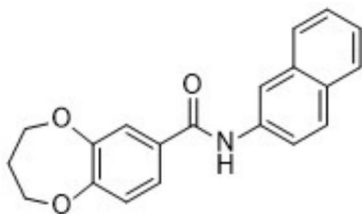


[0167] N-(7-甲基-1H-吡唑-3-yl)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0168] 将正丁胺换成3-氨基-7-甲基-1H-吡唑,其他实验步骤同实施例1。

[0169] 实施例24

[0170]

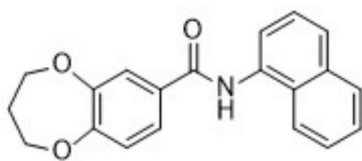


[0171] N-(萘-2-yl)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0172] 将正丁胺换成2-萘胺,其他实验步骤同实施例1。

[0173] 实施例25

[0174]

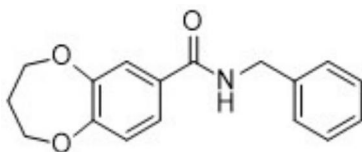


[0175] N-(萘-1-yl)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0176] 将正丁胺换成1-萘胺,其他实验步骤同实施例1。

[0177] 实施例26

[0178]

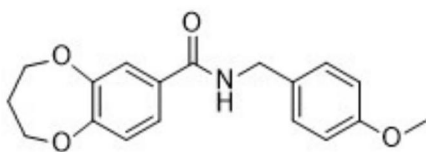


[0179] N-苄基-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0180] 将正丁胺换成苄胺,其他实验步骤同实施例1。

[0181] 实施例27

[0182]

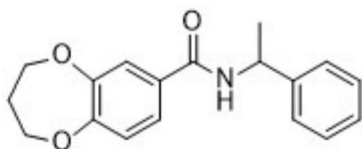


[0183] N-(4-甲氧基苄基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0184] 将正丁胺换成4-甲氧基苄胺,其他实验步骤同实施例1。

[0185] 实施例28

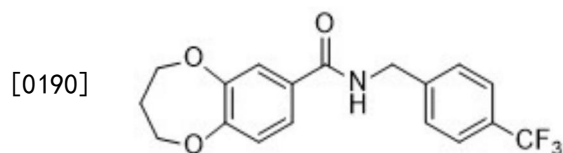
[0186]



[0187] N-(1-苯乙基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0188] 将正丁胺换成(±)-A-甲基苯甲胺,其他实验步骤同实施例1。

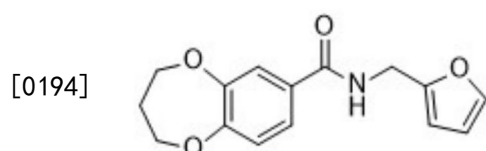
[0189] 实施例29



[0191] N-(4-(三氟甲基)苄基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0192] 将正丁胺换成4-(三氟甲基)苄胺,其他实验步骤同实施例1。

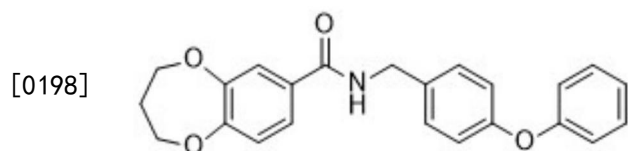
[0193] 实施例30



[0195] N-(呋喃-2-基甲基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0196] 将正丁胺换成2-呋喃甲胺,其他实验步骤同实施例1。

[0197] 实施例31



[0199] N-(4-苯氧基苄基)-3,4-二氢-2H-苯并[1,4]二氧杂环庚烷-7-甲酰胺的制备如下:

[0200] 将正丁胺换成4-苯氧基苄胺,其他实验步骤同实施例1。

[0201] 分析例1各化合物的结构表征

[0202] 实施例1:白色固体。产率:89%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.29 (t, J=5.7Hz, 1H), 7.55-7.38 (m, 2H), 6.99 (d, J=8.2Hz, 1H), 4.16 (dt, J=7.9, 5.5Hz, 4H), 3.21 (td, J=7.0, 5.5Hz, 2H), 2.12 (p, J=5.6Hz, 2H), 1.47 (ddd, J=12.5, 8.4, 6.6Hz, 2H), 1.39-1.21 (m, 2H), 0.88 (t, J=7.3Hz, 3H). <sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 165.44, 153.69, 150.76, 130.24, 123.01, 121.57, 121.09, 70.89, 70.84, 39.28, 31.70, 31.62, 20.10, 14.18. MS (ESI): m/z 250.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0203] 实施例2:无色油。产率:80%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.29 (t, J=5.7Hz, 1H), 7.53-7.35 (m, 2H), 6.99 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.16 (dt, J=7.8, 5.5Hz, 4H), 3.20 (td, J=7.1, 5.7Hz, 2H), 2.12 (p, J=5.6Hz, 2H), 1.48 (t, J=7.1Hz, 2H), 1.27 (tt, J=8.6, 5.4Hz, 7H), 0.92-0.76 (m, 3H). <sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 165.41, 153.68, 150.76, 130.24, 123.00, 121.57, 121.08, 70.89, 70.84, 31.62, 31.49, 29.54, 26.62, 22.53, 14.39. MS (ESI): m/z 278.3 [M+H]<sup>+</sup>。

[0204] 实施例3:淡黄色固体。产率:90%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.29 (s, 1H), 7.53-7.33 (m, 2H), 6.99 (d, J=8.2Hz, 1H), 4.16 (dt, J=7.9, 5.5Hz, 4H), 3.19 (q, J=6.6Hz, 2H), 2.19-2.03 (m, 2H), 1.48 (t, J=7.0Hz, 2H), 1.35-1.13 (m, 10H), 0.94-0.77 (m, 3H). <sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 165.41, 153.69, 150.76, 130.24, 123.00, 121.58, 121.08, 70.90,



70.85, 31.72, 31.62, 29.55, 29.21, 29.13, 26.94, 22.56, 14.43. MS (ESI) : m/z 306.1 [M+H]<sup>+</sup>.  
[0205] 实施例4: 白色固体。产率: 78%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.30 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.50-7.37 (m, 2H), 6.99 (d, J=8.2Hz, 1H), 4.17 (dt, J=8.2, 5.5Hz, 4H), 3.20 (q, J=6.6Hz, 2H), 2.13 (t, J=5.6Hz, 2H), 1.48 (t, J=6.9Hz, 2H), 1.24 (d, J=6.0Hz, 18H), 0.91-0.73 (m, 3H). <sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 165.41, 153.68, 150.76, 130.24, 123.00, 121.57, 121.08, 70.89, 70.84, 31.77, 31.62, 29.54, 29.52, 29.49, 29.47, 29.23, 29.18, 26.92, 22.57, 14.43. MS (ESI) : m/z 362.4 [M+H]<sup>+</sup>.

[0206] 实施例5: 白色固体。产率: 83%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.30 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.52-7.37 (m, 2H), 6.99 (d, J=8.2Hz, 1H), 4.16 (dt, J=8.1, 5.5Hz, 4H), 3.19 (q, J=6.6Hz, 2H), 2.13 (t, J=5.5Hz, 2H), 1.48 (t, J=7.0Hz, 2H), 1.23 (s, 24H), 0.85 (t, J=6.6Hz, 3H). <sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 165.40, 153.68, 150.76, 130.24, 122.99, 121.57, 121.08, 70.89, 70.84, 31.76, 31.62, 29.54, 29.50, 29.48, 29.45, 29.23, 29.17, 26.92, 22.57, 14.43. MS (ESI) : m/z 418.6 [M+H]<sup>+</sup>.

[0207] 实施例6: 白色固体。产率: 91%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.32 (t, J=5.8Hz, 1H), 7.52-7.38 (m, 2H), 6.99 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.17 (dt, J=7.5, 5.4Hz, 4H), 3.03 (dd, J=7.0, 5.8Hz, 2H), 2.21-2.03 (m, 2H), 1.81 (dt, J=13.5, 6.8Hz, 1H), 0.86 (d, J=6.7Hz, 6H). <sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 165.60, 153.70, 150.77, 130.28, 123.06, 121.58, 121.12, 70.90, 70.85, 47.15, 31.62, 28.54, 20.67. MS (ESI) : m/z 250.3 [M+H]<sup>+</sup>.

[0208] 实施例7: 黄色固体。产率: 89%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.61 (s, 1H), 7.45 (d, J=2.2Hz, 1H), 7.41 (dd, J=8.3, 2.3Hz, 1H), 6.96 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.15 (dt, J=7.2, 5.5Hz, 4H), 2.18-2.05 (m, 2H), 1.35 (s, 9H). <sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 165.56, 153.55, 150.62, 131.34, 123.25, 121.36, 121.34, 70.91, 70.89, 51.16, 31.68, 29.07. MS (ESI) : m/z 250.2 [M+H]<sup>+</sup>.

[0209] 实施例8: 白色固体。产率: 85%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.07 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.51-7.41 (m, 2H), 6.99 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.16 (dt, J=7.7, 5.5Hz, 4H), 3.72 (tq, J=11.0, 6.7, 5.3Hz, 1H), 2.12 (p, J=5.6Hz, 2H), 1.75 (ddq, J=26.0, 8.8, 4.6Hz, 4H), 1.66-1.52 (m, 1H), 1.38-1.20 (m, 4H), 1.20-1.03 (m, 1H). <sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 164.64, 153.68, 150.72, 130.37, 123.21, 121.50, 121.22, 70.92, 70.88, 48.74, 32.89, 31.66, 25.74, 25.44. MS (ESI) : m/z 276.4 [M+H]<sup>+</sup>.

[0210] 实施例9: 棕色固体。产率: 93%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.09 (s, 1H), 7.82-7.70 (m, 2H), 7.68-7.53 (m, 2H), 7.38-7.27 (m, 2H), 7.08 (t, J=7.3Hz, 2H), 4.21 (dt, J=7.6, 5.5Hz, 4H), 2.15 (p, J=5.6Hz, 2H). <sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 164.77, 154.19, 150.78, 139.65, 130.22, 129.01, 123.99, 123.67, 121.77, 121.60, 120.79, 70.95, 70.89, 31.52. MS (ESI) : m/z 270.3 [M+H]<sup>+</sup>.

[0211] 实施例10: 淡黄色固体。产率: 75%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.01 (s, 1H), 7.68-7.59 (m, 3H), 7.57 (dd, J=8.3, 2.2Hz, 1H), 7.13 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.10-7.01 (m, 1H), 4.21 (dt, J=8.2, 5.4Hz, 4H), 2.27 (s, 3H), 2.15 (p, J=5.5Hz, 2H). <sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 164.55, 154.09, 150.76, 137.11, 132.91, 130.29, 129.38, 123.58, 121.72, 121.53, 120.80, 70.93, 70.87, 31.52, 20.94. MS (ESI) : m/z 284.1 [M+H]<sup>+</sup>.

[0212] 实施例11:淡紫色固体。产率:71%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.94 (s, 1H), 7.61 (d, J=2.2Hz, 1H), 7.57 (dd, J=8.4, 2.3Hz, 1H), 7.45 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.32 (dd, J=8.7, 2.4Hz, 1H), 7.06 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.91 (d, J=8.8Hz, 1H), 4.21 (dt, J=7.5, 5.5Hz, 4H), 3.74 (d, J=5.3Hz, 6H), 2.15 (p, J=5.6Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ164.31, 154.07, 150.78, 148.86, 145.51, 133.21, 130.30, 123.52, 121.75, 121.43, 112.67, 112.33, 105.90, 70.96, 70.89, 56.19, 55.84, 31.54. MS (ESI): m/z 278.5 [M+H]<sup>+</sup>。

[0213] 实施例12:<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.53 (s, 1H), 7.62 (d, J=2.2Hz, 1H), 7.59 (dd, J=8.3, 2.3Hz, 1H), 7.06 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.91 (s, 2H), 4.21 (dt, J=7.7, 5.5Hz, 4H), 2.25 (s, 3H), 2.16 (q, J=5.5Hz, 2H), 2.11 (s, 6H)。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ164.38, 154.07, 150.86, 135.98, 135.75, 133.20, 129.82, 128.72, 123.40, 121.76, 121.45, 70.90, 70.86, 31.54, 21.00, 18.44。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ166.96, 155.27, 151.61, 150.78, 140.07, 129.34, 126.18, 125.29, 123.13, 121.91, 121.20, 70.85, 70.80, 31.31. MS (ESI): m/z 312.4 [M+H]<sup>+</sup>。

[0214] 实施例13:<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.59 (s, 1H), 7.68-7.50 (m, 2H), 7.38-7.24 (m, 1H), 7.18 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.07 (d, J=8.2Hz, 1H), 4.22 (q, J=5.9Hz, 4H), 3.04 (p, J=6.9Hz, 2H), 2.17 (q, J=5.6Hz, 2H), 1.12 (dd, J=25.2, 6.9Hz, 12H)。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ164.34, 152.96, 149.72, 145.46, 132.12, 128.55, 126.87, 122.24, 122.17, 120.66, 120.24, 69.73, 69.69, 30.35, 27.44, 22.86, 22.56. MS (ESI): m/z 354.5 [M+H]<sup>+</sup>。

[0215] 实施例14:淡黄色固体。产率:68%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.26 (s, 1H), 7.74 (dt, J=11.9, 2.3Hz, 1H), 7.67-7.49 (m, 3H), 7.37 (td, J=8.2, 6.8Hz, 1H), 7.08 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.91 (td, J=8.4, 2.6Hz, 1H), 4.22 (dt, J=8.4, 5.5Hz, 4H), 2.16 (p, J=5.6Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ165.03, 163.29, 161.69, 154.39, 150.78, 141.45, 130.63, 129.80, 123.76, 121.74, 116.38, 116.36, 110.41, 107.35, 70.96, 70.89, 31.46. MS (ESI): m/z 288.3 [M+H]<sup>+</sup>。

[0216] 实施例15:白色固体。产率:74%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.98 (s, 1H), 7.65-7.51 (m, 3H), 7.31-7.17 (m, 3H), 7.07 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.21 (dt, J=11.1, 5.5Hz, 4H), 2.15 (p, J=5.6Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ164.70, 157.53, 155.08, 154.39, 150.81, 129.23, 127.69, 127.31, 126.21, 124.67, 123.73, 121.79, 116.23, 70.94, 70.88, 31.46. MS (ESI): m/z 288.3 [M+H]<sup>+</sup>。

[0217] 实施例16:淡黄色固体。产率:81%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.42 (s, 1H), 8.00 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.70 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.65 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.60 (dd, J=8.4, 2.3Hz, 1H), 7.09 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.22 (dt, J=9.0, 5.6Hz, 4H), 2.16 (p, J=5.6Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ165.24, 154.50, 150.78, 143.33, 129.65, 126.34, 126.30, 126.27, 123.88, 121.85, 121.76, 120.50, 70.96, 70.88, 31.44. MS (ESI): m/z 338.5 [M+H]<sup>+</sup>。

[0218] 实施例17:灰色固体。产率:81%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.97 (s, 1H), 7.68-7.62 (m, 2H), 7.60 (d, J=2.2Hz, 1H), 7.56 (dd, J=8.3, 2.3Hz, 1H), 7.06 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.98-6.80 (m, 2H), 4.20 (dt, J=7.5, 5.5Hz, 4H), 3.73 (s, 3H)。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ164.33, 155.92, 154.03, 150.76, 132.70, 130.31, 123.51, 122.37, 121.71, 121.46, 114.14, 70.94, 70.87, 55.63, 31.53. MS (ESI): m/z 300.1 [M+H]<sup>+</sup>。

[0219] 实施例18:黄色固体。产率:87%。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 9.82 (s, 1H), 7.64-7.51 (m, 2H), 7.36 (t,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 7.06 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 6.92 (dd,  $J=12.3, 2.8\text{Hz}$ , 1H), 6.79 (ddd,  $J=8.8, 2.8, 1.0\text{Hz}$ , 1H), 4.21 (dt,  $J=10.8, 5.5\text{Hz}$ , 4H), 3.33 (s, 3H), 2.15 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 163.68, 157.49, 154.99, 153.20, 149.74, 128.23, 127.84, 122.54, 120.71, 117.62, 109.17, 101.39, 101.15, 69.86, 69.81, 55.10, 30.42. MS (ESI):  $m/z$  318.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0220] 实施例19:棕色固体。产率:83%。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 9.82 (s, 1H), 7.65-7.55 (m, 2H), 7.36 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.27 (d,  $J=2.8\text{Hz}$ , 1H), 7.06 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 6.99 (dd,  $J=8.8, 2.8\text{Hz}$ , 1H), 4.21 (dt,  $J=9.3, 5.5\text{Hz}$ , 4H), 3.79 (s, 3H), 2.20-2.09 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$ 164.28, 157.89, 153.68, 150.25, 129.83, 129.29, 128.92, 122.98, 121.66, 121.21, 121.04, 117.18, 113.83, 70.35, 70.30, 55.62, 30.92. MS (ESI):  $m/z$  379.6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0221] 实施例20:灰色固体。产率:69%。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 9.97 (s, 1H), 7.62 (d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 1H), 7.57 (dd,  $J=8.3, 2.3\text{Hz}$ , 1H), 7.23 (s, 2H), 7.07 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 4.21 (dt,  $J=7.7, 5.5\text{Hz}$ , 4H), 3.76 (s, 6H), 3.63 (s, 3H), 2.16 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 164.51, 154.20, 153.02, 150.78, 135.81, 134.05, 130.12, 123.58, 121.79, 121.44, 98.39, 70.96, 70.88, 60.58, 56.18, 31.51. MS (ESI):  $m/z$  360.4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0222] 实施例21:白色固体。产率:86%。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 10.00 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 7.69-7.51 (m, 4H), 7.39 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H), 7.06 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 4.21 (dt,  $J=7.9, 5.5\text{Hz}$ , 4H), 2.15 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H), 1.47 (s, 9H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 164.37, 154.08, 153.27, 150.77, 135.74, 134.05, 130.27, 123.55, 121.73, 121.50, 121.33, 79.33, 70.95, 70.88, 31.54, 28.63. MS (ESI):  $m/z$  385.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0223] 实施例22:棕色固体。产率:89%。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 10.84 (s, 1H), 8.42 (d,  $J=2.6\text{Hz}$ , 1H), 8.19 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 7.94 (dd,  $J=9.0, 2.7\text{Hz}$ , 1H), 7.65 (dq,  $J=4.1, 2.3\text{Hz}$ , 2H), 7.08-6.99 (m, 1H), 4.21 (dt,  $J=13.8, 5.6\text{Hz}$ , 4H), 2.15 (p,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 165.39, 154.64, 151.39, 150.74, 146.71, 138.22, 129.08, 125.89, 124.03, 122.21, 121.67, 116.28, 70.88, 70.83, 31.40. MS (ESI):  $m/z$  305.6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0224] 实施例23:淡黄色固体。产率:81%。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 12.83 (s, 1H), 10.59 (s, 1H), 7.78-7.61 (m, 2H), 7.47 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 7.09 (dd,  $J=17.5, 7.5\text{Hz}$ , 2H), 6.96 (dd,  $J=8.2, 6.9\text{Hz}$ , 1H), 4.22 (dt,  $J=11.3, 5.6\text{Hz}$ , 4H), 2.49 (s, 3H), 2.16 (p,  $J=5.5\text{Hz}$ , 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 164.92, 154.34, 150.82, 141.60, 140.89, 129.18, 126.40, 123.80, 121.95, 121.73, 120.36, 120.28, 119.50, 117.39, 70.90, 70.85, 31.48, 16.87. MS (ESI):  $m/z$  324.4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0225] 实施例24:橙色固体。产率:87%。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 10.30 (s, 1H), 8.44 (d,  $J=1.9\text{Hz}$ , 1H), 7.95-7.75 (m, 4H), 7.73-7.59 (m, 2H), 7.45 (dddd,  $J=25.8, 8.0, 6.8, 1.3\text{Hz}$ , 2H), 7.10 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 4.23 (q,  $J=6.0\text{Hz}$ , 4H), 2.17 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 164.99, 154.26, 150.80, 137.28, 133.78, 130.38, 130.13, 128.54, 127.88, 127.83, 126.81, 125.18, 123.71, 121.81, 121.65, 121.40, 116.91, 70.96, 70.89, 31.49. MS (ESI):  $m/z$  320.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0226] 实施例25:紫色固体。产率:72%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.30 (s, 1H), 8.02-7.90 (m, 2H), 7.86 (dd, J=7.1, 2.3Hz, 1H), 7.80-7.66 (m, 2H), 7.61-7.47 (m, 4H), 7.11 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.23 (dt, J=8.5, 5.5Hz, 4H), 2.17 (p, J=5.6Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ165.49, 154.30, 150.88, 134.35, 134.21, 129.79, 129.73, 128.50, 126.69, 126.50, 126.39, 125.99, 124.41, 123.82, 123.75, 121.82, 70.97, 70.92, 31.54。MS (ESI): m/z 320.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0227] 实施例26:<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.92 (t, J=6.0Hz, 1H), 7.62-7.42 (m, 2H), 7.38-7.26 (m, 4H), 7.26-7.18 (m, 1H), 7.02 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.44 (d, J=6.0Hz, 2H), 4.18 (dt, J=9.3, 5.6Hz, 4H), 2.13 (p, J=5.6Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ165.58, 153.91, 150.82, 140.21, 129.82, 128.70, 127.62, 127.14, 123.14, 121.68, 121.24, 70.90, 70.85, 43.03, 31.57。MS (ESI): m/z 284.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0228] 实施例27:白色固体。产率:76%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.85 (t, J=5.9Hz, 1H), 7.57-7.43 (m, 2H), 7.26-7.17 (m, 2H), 7.00 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.93-6.83 (m, 2H), 4.36 (d, J=5.9Hz, 2H), 4.17 (dt, J=9.3, 5.5Hz, 4H), 3.72 (s, 3H), 2.12 (p, J=5.5Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ165.44, 158.60, 153.86, 150.80, 132.18, 129.91, 129.00, 123.11, 121.65, 121.21, 114.11, 70.90, 70.85, 55.51, 42.48, 31.58。MS (ESI): m/z 314.4 [M+H]<sup>+</sup>。

[0229] 实施例28:白色固体。产率:92%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.67 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.55 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.50 (dd, J=8.3, 2.2Hz, 1H), 7.40-7.34 (m, 2H), 7.31 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.26-7.17 (m, 1H), 7.01 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.21-5.04 (m, 1H), 4.17 (dt, J=7.5, 5.5Hz, 4H), 2.12 (dq, J=11.9, 6.3, 5.9Hz, 2H), 1.45 (d, J=7.1Hz, 3H)。<sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ164.84, 153.86, 150.76, 145.47, 129.99, 128.65, 126.99, 126.49, 123.35, 121.59, 121.31, 70.93, 70.88, 48.87, 31.62, 22.69。MS (ESI): m/z 298.1 [M+H]<sup>+</sup>。

[0230] 实施例29:白色固体。产率:72%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.02 (t, J=6.0Hz, 1H), 7.69 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.57-7.45 (m, 4H), 7.02 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.52 (d, J=5.9Hz, 2H), 4.18 (dt, J=9.7, 5.5Hz, 4H), 2.13 (p, J=5.6Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ165.74, 154.03, 150.84, 145.12, 129.53, 128.28, 125.66, 125.63, 123.17, 121.74, 121.25, 70.91, 70.85, 42.76, 31.54。MS (ESI): m/z 352.3 [M+H]<sup>+</sup>。

[0231] 实施例30:黄色固体。产率:88%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.84 (t, J=5.7Hz, 1H), 7.56 (dd, J=1.9, 0.9Hz, 1H), 7.52-7.44 (m, 2H), 7.00 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.38 (dd, J=3.2, 1.8Hz, 1H), 6.24 (dd, J=3.2, 0.9Hz, 1H), 4.42 (d, J=5.7Hz, 2H), 4.17 (dt, J=9.9, 5.5Hz, 4H), 2.12 (dq, J=10.9, 5.4Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (151MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ165.45, 153.95, 152.95, 150.79, 142.40, 129.59, 123.19, 121.66, 121.31, 110.91, 107.21, 70.89, 70.84, 36.49, 31.55。MS (ESI): m/z 274.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0232] 实施例31:淡黄色固体。产率:85%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.92 (t, J=6.0Hz, 1H), 7.59-7.44 (m, 2H), 7.40-7.34 (m, 2H), 7.34-7.27 (m, 2H), 7.11 (t, J=7.4Hz, 1H), 6.99 (dd, J=16.9, 8.4Hz, 5H), 4.42 (d, J=5.9Hz, 2H), 4.17 (dt, J=9.2, 5.5Hz, 4H), 2.13 (p, J=5.5Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ165.55, 157.41, 155.71, 153.90, 150.80, 135.43, 130.44, 129.78, 129.41, 123.66, 123.13, 121.66, 121.23, 119.17, 118.71, 70.89, 70.84, 42.49, 31.55。MS (ESI): m/z 276.5 [M+H]<sup>+</sup>。

[0233] 分析例2细菌抑制实验

[0234] 菌种所需的培养基为Mueller-Hinton培养基 (MH介质:酪蛋白水解物17.5克,可溶性淀粉1.5克,1000毫升牛肉膏)。测试化合物的最小抑制浓度 (MIC) 值通过MTT (3-(4,5-二甲基吡啶-2-基)-2,5-二苯基溴化物) 的比色法来定。将化合物溶解在二甲亚砜 (DMSO) 配成浓度为100 $\mu$ g/ml的存储溶液,并将存储溶液按照梯度的量加入指定体积的无菌液体MH培养基中。特定体积的含有培养基的化合物溶液加入到微量滴定板上。制备细菌数约为10<sup>5</sup>cfu/ml的悬浮液,将其滴加到微量滴定板上,和连续稀释的化合物一起进行,37℃温育24h。通过显微镜观察每个微量滴定板测得其MIC值后,每个孔中加入MTT浓度为2mg/ml的磷酸盐缓冲液 (PBS;50ml,0.01M,pH值7.4,2.9gNa<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>•12H<sub>2</sub>O,0.2g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,8.0g NaCl,0.2g KCl,1000ml蒸馏水)。室温放置4-5小时,移走每个孔中的反应液,并加入还含有5%HC1 (最终浓度为1M) 100ml异丙醇来提取染料。室温下孵化12小时后,将酶标仪设定在550nm处测其光密度 (OD)。

[0235] 测试结果如下表:

[0236]

| 化合物 | 脂水分<br>配系数<br>( Alog<br>P ) | 最低抑菌浓度[μg/mL] |        |        |         |
|-----|-----------------------------|---------------|--------|--------|---------|
|     |                             | 革兰氏阴性菌        |        | 革兰氏阳性菌 |         |
|     |                             | 大肠杆菌          | 荧光假单胞菌 | 枯草芽孢杆菌 | 金黄色葡萄球菌 |
|     |                             |               |        |        |         |
| 3   | 2.215                       | >100          | >100   | >100   | 50      |
| 4   | 3.127                       | >100          | 50     | 50     | >100    |
| 5   | 4.039                       | 12.5          | 6.25   | 50     | 12.5    |
| 6   | 5.864                       | 25            | 12.5   | 12.5   | 6.25    |
| 7   | 7.689                       | 3.13          | 6.25   | 12.5   | 6.25    |
| 8   | 2.078                       | 12.5          | 12.5   | 50     | >100    |
| 9   | 1.817                       | >100          | >100   | >100   | 50      |
| 10  | 2.744                       | 50            | 50     | >100   | >100    |
| 11  | 2.462                       | 12.5          | 6.25   | 50     | 25      |
| 12  | 2.949                       | 6.25          | 6.25   | 12.5   | 12.5    |
| 13  | 3.435                       | 6.25          | 12.5   | 6.25   | 25      |
| 14  | 3.921                       | 25            | 25     | 50     | >100    |
| 15  | 4.851                       | 25            | 50     | >100   | 50      |
| 16  | 2.668                       | 6.25          | 3.13   | 6.25   | 3.13    |
| 17  | 2.668                       | 6.25          | 6.25   | 50     | 12.5    |
| 18  | 3.405                       | 1.56          | 3.13   | 6.25   | 3.13    |
| 19  | 2.446                       | 1.56          | 1.56   | 3.13   | 3.13    |

|        |           |        |      |      |      |      |
|--------|-----------|--------|------|------|------|------|
|        | <b>20</b> | 2.652  | 3.13 | 1.56 | 3.13 | 6.25 |
|        | <b>21</b> | 3.194  | 6.25 | 25   | 6.25 | 25   |
|        | <b>22</b> | 2.413  | 6.25 | 6.25 | 3.13 | 3.13 |
|        | <b>23</b> | 3.157  | 50   | 12.5 | 12.5 | 6.25 |
|        | <b>24</b> | 2.515  | 6.25 | 6.25 | 3.13 | 6.25 |
|        | <b>25</b> | 3.131  | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 12.5 |
|        | <b>26</b> | 3.371  | 50   | >100 | >100 | >100 |
| [0237] | <b>27</b> | 3.371  | >100 | 25   | 50   | 25   |
|        | <b>28</b> | 2.469  | 50   | 25   | 50   | 25   |
|        | <b>29</b> | 2.453  | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 3.13 |
|        | <b>30</b> | 2.847  | 50   | 25   | 50   | 25   |
|        | <b>31</b> | 3.412  | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 6.25 |
|        | <b>32</b> | 1.651  | 25   | 50   | >100 | 50   |
|        | <b>33</b> | 4.03   | 12.5 | 50   | 50   | 25   |
|        | 卡拉霉素 B    | -7.144 | 3.13 | 3.13 | 1.56 | 1.56 |

[0238] 从表1中可看出,大多数化合物对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都具有一定的抗菌能力。通过引入不同的胺类化合物,评估其抗菌活性。以卡拉霉素B为参考,比较各种不同的酰胺化合物对两种革兰氏阴性菌(大肠杆菌和荧光假单胞菌)和两种革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌)的抑制情况酰胺的氨基为脂肪链取代时,碳链越长的化合物抗菌效果更好。对于含有苯环的酰胺衍生物,苯环的取代基对活性有重要影响。含有甲氧基、氟、三氟甲基取代基的衍生物抗菌活性明显优于甲基和2,6-异丙基取代的苯胺衍生物。甚至含有甲氧基和氟取代的苄胺衍生物,其抗菌活性也明显优于苄胺和康胺衍生物。化合物21是个特例,可能原因是其含有溴基,对活性不利。含有氮杂环的取代的酰胺衍生物,其活性也明显优于短链脂肪类。含有萘环的衍生物由于其结构过大,抗菌活性不如苯环类的。

[0239] 分析例3大肠杆菌FabH抑制实验

[0240] 原生的大肠杆菌FabH蛋白通过pE30载体在大肠杆菌DH10B细胞上过表达,并在4℃条件下通过3个色谱步骤(Q-Sepharose, MonoQ, and hydroxyapatite)将其同质化。硒基取代的蛋白质,在大肠杆菌BL21 (DE3) 细胞中表达,并以类似的方式纯化。将得到的含有FabH

的细胞中加入含有5mM咪唑和0.5M NaCl的200mM Tris(三羟甲基氨基甲烷),通过超声裂解细胞,并离心(20000rpm,40min,4℃)。得到的上清液滴加到Ni-NTA琼脂柱上,洗涤,并用超过其柱体积20倍的5-500mM咪唑溶液进行梯度洗脱。洗脱蛋白透过含有1mM二硫苏糖醇(DTT)和100mM NaCl的20mM Tris(pH 7.6),将纯的FabH蛋白浓缩,存储在含有100mM NaCl,1mM DTT和20%甘油的20mM Tris(pH 7.6)溶液中,-80℃保存用于后面的酶法测定。

[0241] 在终浓度为20μL的反应中,加入含有0.5mM DTT,0.25mM MgCl<sub>2</sub>,和2.5μM hol-ACP(活性酰基载体蛋白)的20mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>溶液,再加入1nMFabH,最后加入H<sub>2</sub>O定容到15μL。温育1分钟后,2μL含有25μM乙酰-CoA,0.5mM NADA和0.5mM NADPH的混合溶液加入FabH反应液中,反应25分钟。加入20μL冰冷的50%TCA终止反应,并在冰上孵育5分钟后,离心分离沉淀蛋白。用冰冷的10%TCA洗涤沉淀,并将所得沉淀再次悬浮于0.5M NaOH(5μL)中。掺入最终产物的3H信号可通过液体闪烁读出来。当确定IC<sub>50</sub>值时,加入的抑制剂来自于浓缩的DMSO存储液中,但是必须得确保DMSO的终浓度不超过2%。

[0242] 进一步考察这几个化合物对大肠杆菌FabH抑制活性,结果如表2所示:

|        |     |          |       |     |      |
|--------|-----|----------|-------|-----|------|
| [0243] | 化合物 | 大肠杆菌FabH | 分子极性表 | 溶血率 | 细胞毒性 |
|--------|-----|----------|-------|-----|------|



|                  | IC50 [ $\mu$ M] | 面积<br>(PSA) [ $\text{\AA}^2$ ] | (Hemolysis<br>LC)<br>[mg/mL] | IC50 [ $\mu$ M]  |
|------------------|-----------------|--------------------------------|------------------------------|------------------|
| <b>7</b>         | 9.4 $\pm$ 0.19  | 47.971                         | >10                          | 135.8 $\pm$ 12.3 |
| <b>12</b>        | 20.3 $\pm$ 0.11 | 47.971                         | >10                          | 127.4 $\pm$ 8.8  |
| <b>13</b>        | 32.6 $\pm$ 0.37 | 47.971                         | >10                          | 113.9 $\pm$ 13.5 |
| <b>16</b>        | 8.5 $\pm$ 0.18  | 47.971                         | >10                          | 158.1 $\pm$ 14.7 |
| <b>17</b>        | 7.7 $\pm$ 0.23  | 47.971                         | >10                          | 178.3 $\pm$ 16.2 |
| <b>18</b>        | 6.8 $\pm$ 0.21  | 47.971                         | >10                          | 193.8 $\pm$ 11.9 |
| [0244] <b>19</b> | 2.4 $\pm$ 0.16  | 56.901                         | >10                          | 182.7 $\pm$ 5.3  |
| <b>20</b>        | 3.8 $\pm$ 0.23  | 56.901                         | >10                          | 198.2 $\pm$ 12.8 |
| <b>21</b>        | 27.1 $\pm$ 0.32 | 56.901                         | >10                          | 106.1 $\pm$ 9.7  |
| <b>22</b>        | 8.6 $\pm$ 0.12  | 74.761                         | >10                          | 145.7 $\pm$ 14.4 |
| <b>23</b>        | 39.4 $\pm$ 0.27 | 87.012                         | >10                          | 162.1 $\pm$ 7.2  |
| <b>24</b>        | 12.9 $\pm$ 0.15 | 59.232                         | >10                          | 130.4 $\pm$ 11.3 |
| <b>25</b>        | 16.6 $\pm$ 0.17 | 74.287                         | >10                          | 122.8 $\pm$ 10.6 |
| <b>29</b>        | 7.2 $\pm$ 0.24  | 56.901                         | >10                          | 182.7 $\pm$ 10.6 |
| <b>31</b>        | 10.9 $\pm$ 0.18 | 47.971                         | >10                          | 210.3 $\pm$ 19.7 |

[0245] 所有的被检测的化合物都表现出对大肠杆菌FabH的抑制活性,其中带甲基和氟取代基衍生物活性较高,其中带甲氧基的活性最佳,带甲氧基取代的与结合口袋处的氨基酸存在着构象互补性和显著的非键相互作用,对结合构象的稳定有重要作用。因此,带甲氧基的分子对FabH蛋白的亲和力较高。其中化合物19活性最高,对FabH抑制剂活性达到IC50为2.4 $\mu$ M。不仅抗菌活性,生物安全性也是抗菌先导物的重要指标。因此,还使用MTT分析测试了以上选择的化合物对小鼠胚胎成纤维细胞系(NIH-3T3)的溶血活性和细胞毒活性。如表2所示:

[0246] 这些化合物显示出低溶血活性。此外,细胞毒性数据表明具有抑制活性的化合物

是低毒的。

[0247] 分析例3模型分析

[0248] 为了进一步明确靶向蛋白和小分子之间相互作用的结合方式,我们根据大肠杆菌 FabH (PDB:5BNM) 的连接模型,选择了活性最好的化合物19与大肠杆菌FabH酶进行分子对接模拟。如图1所示,b为5bnm蛋白数据库中蛋白晶体中联苯骨架类抑制剂与FabH蛋白 (PDB: 5bnm) 的2D作用模式图(真实的)。HIS244和ASN274与抑制剂的OH形成了2个氢键,另外有大量的疏水氨基酸(颜色是绿色的,比如PHE304, ILE250, GLY209, GLY305, PHE157等)形成疏水口袋,增强抑制剂与蛋白的结合能力;图c和d是化合物19与FabH对接作用模式(3D和2D图)。计算结果显示化合物19和FabH酶的对接分数为-7.827Kcal/mol,这个分数较低,足以说明它与蛋白的亲合力较强。同时化合物19的环氧烷氧与FabH酶的氨基残基Asn 274形成氢键,对此先导化合物19的抗菌活性提升有重要意义。图e是2个抑制剂在蛋白口袋中的比较,绿色的是化合物19,青色的是原始的抑制剂分子,可以从图中看出,两个分子基本上能够叠合的很好,说明该抑制剂对接预测的构象基本合理。两分子的左边部分(即疏水部分)基本上能够很好的叠合,构象上差别较大的区域主要位于右边部分,因此,通过右边部分的改造具有优化出更强活性分子的潜力。我们最终得出结论化合物19是大肠杆菌FabH抑制剂,可作为潜在的抗生素。

[0249] 以上所述,仅是本申请的几个实施例,并非对本申请做任何形式的限制,虽然本申请以较佳实施例揭示如上,然而并非用以限制本申请,任何熟悉本专业的技术人员,在不脱离本申请技术方案的范围,利用上述揭示的技术内容做出些许的变动或修饰均等同于等效实施案例,均属于技术方案范围内。

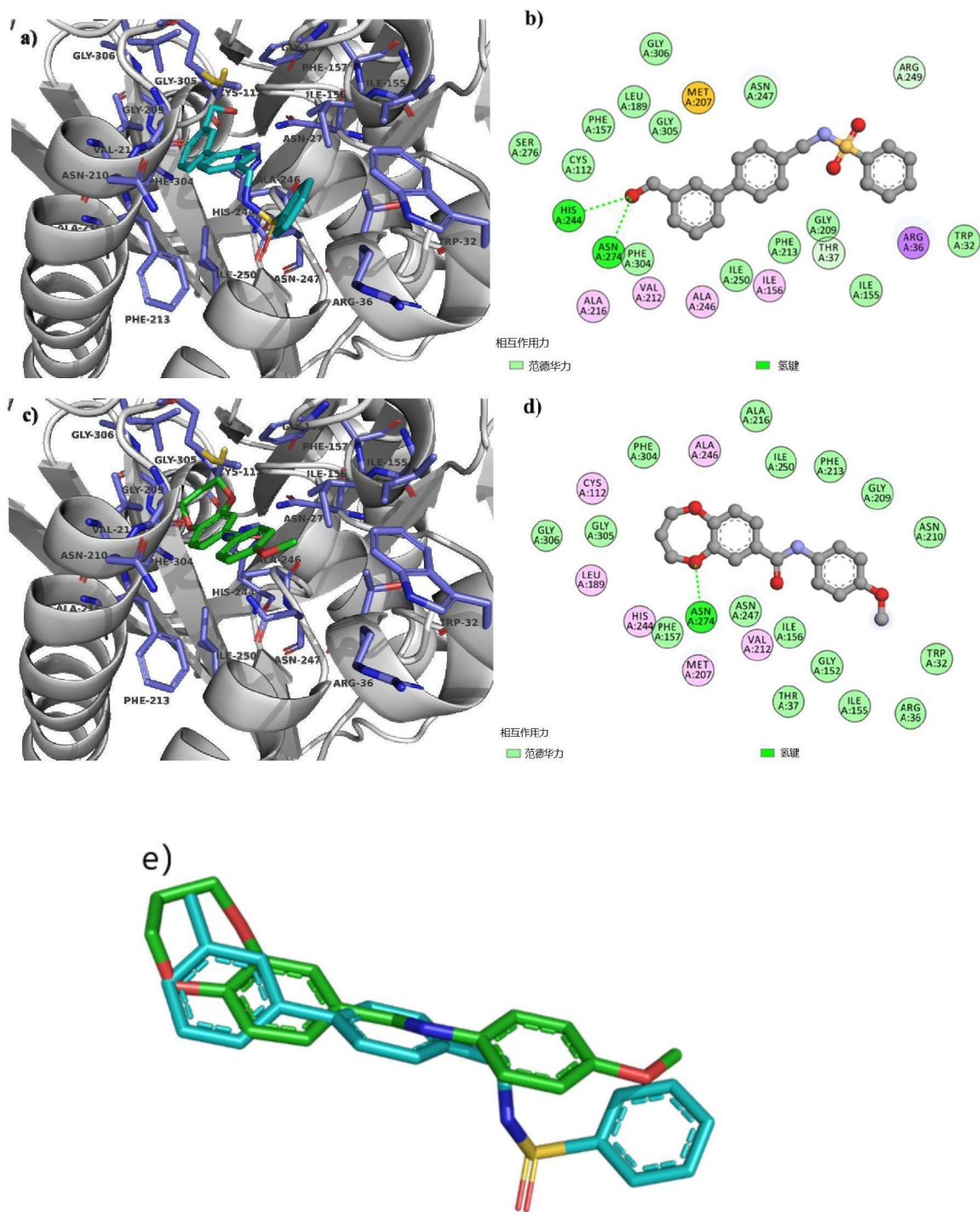


图1