基于天然产物 Aphadilactone C 结构关键片段的二酰基甘油酰基转移酶 1 抑制剂的设计与合成

李 丹^a 尹建朋^b 李静雅^b 南发俊^{*,b}^(a) 华东师范大学化学与分子工程学院 上海 200062^(b) 中国科学院上海药物研究所 国家新药筛选中心 上海 201203

摘要 二酰基甘油酰基转移酶(DGAT)作为甘油三酯合成的唯一限速酶,成为治疗肥胖以及其他代谢综合征的重要靶标. 利用从具有 DGAT1 抑制活性的天然产物 aphadilactone C 分子中重要内酯环与进入临床研究的 2-((1*R*,4*R*)-4-(4-(4-氨基-5-氧亚基-7,8-二氢嘧啶[5,4-*f*][1,4] 氧氮杂草-6(5*H*)-基)苯基)环己基)乙酸(PF-04620110), 2-((1*R*,4*R*)-4-(4-(6-氨基-3,5-二甲基对二氮杂苯-2-基)苯基)环己基)乙酸(AZD-7687)分子中杂环单元的重新组合,设计合成了化合物 5~8,以此来验证 aphadilactone C 中内酯环单元是否与已知 DGAT1 抑制剂中的环己基乙酸部分相等同. 最终的活性测试结果显示,化合物 5~8 并不具有 DGAT1 的抑制作用. 天然产物 aphadilactone C 的 DGAT 抑制机制值得深入研究.

关键词 aphadilactone C; DGAT1; 选择性抑制剂; PF-04620110; AZD-7687

Design and Synthesis of Diacylglycerol Acyltransferase 1 Inhibitors Based on Aphadilactone C

Li, Dan^a Yin, Jianpeng^b Li, Jingya^b Nan, Fajun^{*,b}^(a) College of Chemistry and Molecular Engineering, East China Normal University, Shanghai 200062^(b) The National Center for Drug Screening, State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203

Abstract Diacylglycerol acyltransferase (DGAT), the only limited enzyme in the synthesis of triacylglycerol (TAG), is regarded as an important therapeutic target for human obesity and other metabolic syndromes. Compounds 5~8 were designed and synthesized, in which the lactone group of aphadilactone C was introduced into the PF-04620110 and AZD-7687, which have entered into the clinical research, to verify whether the lactone in aphadilactone C played the same role as carboxylic group in PF-04620110 and AZD-7687. The final vitro assay showed that compounds 5~8 have not the inhibition activity to DGAT1. This might suggest that inhibition mechanism of aphadilactone C was not the same as PF-04620110 and AZD-7687.

Keywords aphadilactone C; DGAT1; selective inhibitor; PF-04620110; AZD-7687

甘油三酯(TG)是人体内含量最多的脂类,亦是体内能量的主要来源,大部分组织均可以利用甘油三酯的分解产物供给能量. 人体合成甘油三酯的途径主要有磷脂酸途径和甘油一酯途径. (1)甘油一酯(MG)途径:以 MG 为起始物,与脂酰辅酶 A (FA CoA)在单酰基甘油脂酰转移酶(MGAT)作用下酯化生成甘油二酯(DG),DG 再与 FA CoA 在二酰基甘油酰基转移酶 (DGAT)作用下酯化生成 TG. (2)磷脂酸(3-GP)途径:3-磷酸甘油在脂酰转移酶(GPAT)作用下,与两分子 FA CoA 反应生成 3-GP,

3-GP 在磷脂酸磷酸酶(PAP)作用下,水解释放出无机磷酸而转变为 DG,在二酰基甘油酰基转移酶(DGAT)作用下酯化生成 TG^[1]. DGAT 是 TG 合成最后一步的催化酶,也是 TG 合成的唯一限速酶. 它主要结合在内质网膜上,是微粒体酶,由酰基化的辅酶 A 和二酰基甘油以共价键的形式结合起来,可以被 DG 特异性激活^[2]. 人体中 DGAT 有 DGAT1 和 DGAT2 两种类型,两者有 54% 的同源性,但是分属于不同的基因家族. DGAT1 属于酰基辅酶 A 胆固醇酰基转移酶家族,而 DGAT2 则属于

* E-mail: fjan@siml.ac.cn

Received November 18, 2015; revised January 12, 2016; published online February 18, 2016.

Project supported by the Shanghai Key Laboratory of Psychotic Disorders (No. 13DZ226050014K-10).

上海市重性精神病重点实验室开放课题(No. 13DZ226050014K-10)资助项目.

DGAT2 超家族^[3].

研究表明,抑制 DGAT1 的活性可以降低 TG 的合成,改善机体对胰岛素和瘦素敏感性,增加葡萄糖摄取率和能量消耗,抵抗高脂饮食导致的肥胖等,可作为治疗肥胖和其他代谢综合征的靶标^[4];而 DGAT2 抑制剂并不适用于肥胖或代谢疾病的药物治疗^[5].

DGAT1 作为治疗肥胖和糖尿病的新型靶点,目前还没有上市的药物,国内外各大医药公司及科研机构寻找 DGAT1 选择性抑制剂的活动如火如荼地展开着.例如,辉瑞公司开发的化合物 PF-04620110 对人 DGAT1 具有较高的选择性抑制.目前该化合物已完成 I 期临床的实验^[6];阿斯利康公司的 AZD-7687 也在 2011 年 4 月完成了多剂量递增的 I 期临床研究;诺华公司的 LCQ-908 已启动 II 期临床研究.

aphadilactone C (4)是由中国科学院上海药物研究所岳建民研究员^[7]在 2013 年从楝科植物大叶山楝中分离而来.它是目前已发现的天然来源结构新颖的 DGAT1 抑制剂,IC₅₀ 值为(0.46±0.09) μmol·L⁻¹.而且它对 DGAT1 选择性相对于 DGAT2 也是高达 217 倍.鉴于 aphadilactone C 良好的活性和选择性,引起了我们对这个分子的兴趣.我们课题组^[8]首次完成了 aphadilactone C 天然产物的全合成,在此基础上,展开了对其构效关系的进一步探索.

对目前的已进入临床研究阶段的 DGAT1 抑制剂 PF-04620110(辉瑞公司)、AZD-7687(阿斯利康公司)以及 LCQ-908(诺华公司)分析可以发现,这三个化合物都是含有一个相同的、必须的药效团——苯基环己基乙酸基团,而另一端一般都是一个含有氨基的芳香杂环结构.进一步的文献调研发现,绝大多数的 DGAT1 抑制剂都

是在一端含有芳香杂环结构;而另一端的乙酸基团也是必须的^[9],将羧基转换成中性的电子等排体,或者将与羧基相连的 linker 做一些调整,但其活性仍然是一定程度上保持.这就说明了在小分子对 DGAT1 活性的抑制过程中,除了芳香杂环结构在与蛋白结合中起到非常重要的作用,乙酸或其替代基团在对 DGAT1 抑制过程中也起到了非常重要的作用.

目前绝大多数 DGAT1 抑制剂中的乙酸基团可能发挥如下三种作用:羧基与 DGAT1 特定的氢键供体氨基酸残基相互接近时,能够作为一个氢键的受体,与其形成氢键作用^[10];末端的羧基基团也有可能模拟了 DGAT1 的脂肪酸底物^[11],与油酸-辅酶 A 结合位点竞争性地结合(Scheme 1).这一生化机制已经被辉瑞公司的研究小组以 T863 作为小分子抑制剂在小鼠体内实验深入地研究过,它除了能使小鼠的体重降低大约 6.7%之外,还能够明显地降低小鼠体内甘油三酯以及胆固醇的含量^[9a];最后,羧基还可以起到增加溶解度、改善其药代动力学、增强活性以及解决一些由 PXR 诱导和 CYP 抑制引起的一些潜在的脱靶效应等^[9a].

对 aphadilactone C 所表现出来的良好抑制活性进行分析,我们认为,尽管 aphadilactone C 与目前常见的 DGAT1 抑制剂有显著不同的结构骨架,但其与 DGAT1 的作用形式与已知的 DGAT1 抑制剂可能有一定的相似性.天然产物 aphadilactone C 中存在的内酯环部分可能作为一个氢键的受体或者模拟了 DGAT1 的脂肪酸底物,而呋喃酮部分与 PF-04620110, AZD-7687, LCQ-908 等分子的芳香杂环部分起相类似的作用,含双键的长链则替代 linker 苯基环己基部分,内酯环可能作为一个氢键的受体,或者作为羧基的一个前药基团,当受到水解酶

图 1 已进入临床研究的 DGAT1 抑制剂和天然产物 aphadilactone C
 Figure 1 DGAT1 inhibitors in clinical study and natural compound aphadilactone C

图式 1 DGAT1 小分子抑制剂与辅酶 A 竞争性结合示意图
Scheme 1 Schematic of inhibitors binding competitively at the oleoyl-CoA binding site

水解之后成为羧基发挥药效。基于这一个猜测, 首先我们选取了已知 DGAT1 抑制剂 AZD7687 及 PF-04620110, 保留其芳香杂环部分不变, 而将其苯基环己基乙酸部分换成天然产物 aphadilactone C 中的内酯环, 并以不同 linker 连接两部分, 初步设计了 4 个化合物作为目标。

首先是以天然产物 aphadilactone C 的脂肪链结构作为 linker, 以内酯作为一个氢键的受体, 我们设计并合成了化合物 5。在此基础上, 又考虑是否为内酯环受水解酶作用开环成羧基的可能性, 根据其开环后 linker 所需长度, 我们将其开环之前的链长缩短, 设计合成了化合物 6。除此之外, 我们还选择了辉瑞公司 PF-04620110

的芳香杂环部分作为亲水端, 并且在其与内酯环中间引入直线性更好的炔基作为 linker, 我们设计了化合物 7; 考虑到 aphadilactones A~D 四个化合物中, 仅仅只有 aphadilactone C 具有良好的 DGAT1 的抑制活性, 提示了我们对化合物的特定的立体构型的考虑, 因此我们又设计出了化合物 8 (Scheme 2)。

1 结果与讨论

1.1 合成部分

化合物 5 的合成是由两个主要的中间体 15, 16 经亲核取代以及后续的酸性条件脱异丙基、氧化生成。首先是对中间体 15 的合成。以乙酰乙酸乙酯作为起始原料, 在冰醋酸中经亚硝酸钠作用, 很容易转化成中间体 10。中间体 10 在氯化氢的乙醇溶液中, 经 Pd/C 催化氢化, 以很高的收率得到 α -氨基- β -酮基丁酸乙酯盐酸盐 (11)。化合物 11 与 Boc 保护的丙氨酸反应, 生成酰胺 12。酰胺 12 经过三氟乙酸脱去 Boc 保护基, 紧接着分子内的酰胺键的生成, 顺利得到内酰胺 13。内酰胺 13 在微波反应的条件下, 经三氯氧磷作用进行氯取代, 得到氯代吡嗪 14。化合物 14 在氨水中, 经过氨基的取代, 最终得到氯代吡嗪甲酰胺 15。重要中间体 16 的合成参照文献[8] aphadilactone C (4) 全合成中的步骤。化合物 16 经氢化钠的作用生成氧负离子, 然后氧负离子对氯代吡嗪酰胺上的氯原子亲核取代, 得到化合物 17。化合物 17 首先在弱酸对甲苯磺酸吡啶盐 (PPTS) 的作用下脱去异丙基得到半缩醛, 半缩醛不经纯化, 直接采用 MnO_2 氧化, 就可以得到最终产物 5 (Scheme 3)。

图式 2 化合物 5~8 设计思路
Scheme 2 Designing of compounds 5~8

Reagents and conditions: (a) NaNO_2 , $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$; (b) H_2 , Pd/C , HCl in EtOH , 98% (2 steps); (c) 2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propanoic acid, EDCI , DMAP , pyridine , DCM , 70%; (d) TFA , DCE , reflux, 4 h, 30%; (e) POCl_3 , CH_3CN , microwave, 120°C , 10 min, 75%; (f) NH_4OH , MeOH , 76%; (g) **16**, NaH , 50°C , 12 h, 75%; (h) i) PPTS , $\text{actone}/\text{H}_2\text{O}$ ($V:V=3:1$), 6 h; ii) MnO_2 , DCM , 86% (2 steps); iii) $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})$, DMF , 100°C , 47%

图式 3 化合物 5 和 6 的合成
Scheme 3 Synthesis of compounds 5 and 6

化合物 6 的合成, 首先是经过中间体 15 与 18 经钯催化偶联, 然后在酸性条件脱异丙基以及之后的 MnO_2 氧化得到(此步骤同化合物 5 的合成步骤), 中间体 18 的合成参考文献[8] aphadilactone C (**4**)合成中的步骤 (Scheme 3)。

化合物 7 的合成, 首先是由中间体 25 与烯基碘 26 经过偶联, 然后脱异丙基、氧化(此步骤同 5 的合成)、氨基取代得到。烯基碘 25 的合成首先从工业原料嘧啶醛 20 开始, 在偶氮二异丁腈(AIBN)的催化下, 与磺酰氯反应, 得到嘧啶酰氯 21。嘧啶酰氯再与炔丙基胺衍生物 22 反应, 得到酰胺 23。酰胺 23 经过氯化氢的甲醇溶液作用, 脱去硅醚保护基, 再经过分子内的亲核取代, 生成七元环的内酰胺中间体 25。烯基碘化物 26 的合成参考文献 aphadilactone C (**4**)全合成中的步骤 9^[8] (Scheme 4)。

另外一种构型的化合物 8, 则是经过中间体 25 与 26' 偶联得到。化合物 26' 的合成步骤与 26 类似, 只是由化合物 29 和 30 发生的不对称杂 Diels-Alder 反应的催化剂 S1 构型与 aphadilactone C 全合成中不对称杂 Diels-Alder 反应用到的催化剂构型相反。但此处所得到的化合物 31 的 *ee* 值也明显下降, 仅有大约 60%。由化合物 31 到化合物 26' 的合成过程参考文献[8] aphadilactone C 的全合成步骤 (Scheme 5)。

1.2 化合物 5~8 的 DGAT1 抑制活性测试

我们分离正常 Sprague Dawley 大鼠的肝脏微粒体,

Reagents and conditions: (a) SO_2Cl_2 , AIBN, CCl_4 , 80°C , 5 h, 98%; (b) NET_3 , THF , 3 h, 99%; (c) HCl/MeOH , 0.5 h, 93%; (d) NET_3 , CH_3CN , reflux, 6 h, 76%; (e) **26** or **26'**, CuBr , NET_3 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, DMF , 8 h, 81%; (f) i) PPTS , $\text{actone}/\text{H}_2\text{O}$ ($V:V=3:1$), 6 h; ii) MnO_2 , DCM , 68%; (g) $\text{dioxane}/\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$, 24 h, 81%

图式 4 化合物 7 和 8 的合成
Scheme 4 Synthesis of compounds 7 and 8

Reagents and conditions: (a) cat. **S1**, 4 Å sieves, r.t., 16 h, 81%, 60% ee. (b) *i*-PrOH, *p*-TsOH, r.t., 3 h, 84%; (c) CuCN, HSn(*n*-Bu)₃, BuLi, MeOH, -78 ~ -40 °C, then -15 °C, 16 h, 77%; (d) NIS, -17 °C, 20 min

图式 5 化合物 **26'** 的合成

Scheme 5 Synthesis of compound **26'**

并利用同位素法对上述合成的化合物进行体外分子活性测试. 各化合物对肝脏 DGAT 的抑制活性如表 1. 在化合物浓度均为 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, AZD-7867 和 aphadilactone C 都表现出较好的 DGAT 抑制活性, 其抑制率分别为 89.32% 和 89.23%, 而改造后的化合物 **5~8** 对 DGAT1 的抑制率均小于 10%. 故而我们所设计的 4 个化合物并不具有 DGAT 的抑制活性.

表 1 化合物 **5~8** 对大鼠肝脏 DGAT 的抑制率

Table 1 DGAT inhibitive rate of compounds **5~8**

编号	抑制率/%
AZD-7867	89.32 ± 2.06
Aphadilactone C	89.23 ± 3.35
5	4.72 ± 10.49
6	0 ± 8.22
7	3.49 ± 2.44
8	6.14 ± 4.78

2 结论

PF-04620110 (**1**), AZD-7687 (**2**) 等这些已经进入临床试验的 DGAT1 抑制剂, 都具有着相似度非常高的结构骨架——芳香杂环结构和苯基环己基乙酸. 而抑制活性和选择性都较好的天然产物 aphadilactone C 跟已知抑制剂却有着明显不同的结构骨架. 因此, 我们基于已知抑制剂 PF-04620110, AZD-7687 和天然产物 aphadilactone C, 将二者的优势结构相结合, 采用

aphadilactone C 中的内酯环结构代替已知抑制剂中的苯基环己基乙酸部分, 合成了化合物 **5**, 并根据链长不同进一步设计合成了化合物 **6**. 除此之外我们还考察了内酯环的立体化学因素, 分别合成了化合物 **7** 和 **8**. 通过 DGAT1 的抑制实验发现, 我们设计的化合物 **5~8** 都几乎失去对 DGAT1 的抑制作用. 因此我们推测, 天然产物 aphadilactone C 对 DGAT1 的抑制作用与已知抑制剂有可能是不相同的作用模式. 此外, 由于我们合成的化合物数目有限, 也有可能在链长、立体化学等方面仍存在差异, 进而影响其对 DGAT1 的抑制活性. 本工作的尝试也表明了 aphadilactone C 作为新型 DGAT1 抑制剂需要进行深入的构效关系研究.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

核磁共振 (¹H NMR) 和碳谱 (¹³C NMR) 采用 Bruker BioSpin AG (Ultrashield Plus AV-300, 400, 500) 型核磁共振仪测定, CDCl₃ 为溶剂, TMS 为内标; 质谱 (ESI-MS) 采用 Agilent G6120 单四级杆质谱仪测定; 高分辨质谱 (HRMS) 采用 Q-ToF micro 四级杆飞行时间串联质谱仪测定; 匀浆器、高速离心机 (HITACHI)、超高速离心机 (HITACHI)、Perkin Elmer 1450-023 液闪计数器 (Perkin Elmer)、涡旋器; *sn*-二油酸甘油酯 (*sn*-1,2-dioleoylglycerol) (sigma), 牛白蛋白 (不含游离脂肪酸) [BSA (FFA free)], 其它试剂均采用市售化学纯或者分析纯.

3.2 实验方法

3.2.1 3,5-二甲基-6-氧亚基-1,6-二氢吡嗪-2-甲酸乙酯 (**13**) 的合成

参考文献 [9b, 12] 方法, 将乙酰乙酸乙酯 (3.9 g, 30 mmol) 溶于 30 mL 冰醋酸, 冰水浴下, 缓慢加入亚硝酸钠的水溶液 17 mL (75 mmol), 滴加过程中保持温度低于 5 °C, 当棕色气体挥发完毕后, 将反应液在 0 °C 下反应 2 h, 再升至室温反应 1 h, 原料反应完全. 向反应混合物中加水稀释, 乙酸乙酯萃取, 有机相依次经过水洗、饱和碳酸氢钠水溶液洗、饱和食盐水洗. 无水硫酸钠干燥之后, 减压浓缩. 得到无色油状粗产物 **10**, 不经纯化直接用于下一步反应. ESI-MS *m/z*: 182 (M+Na)⁺.

将化合物 **10** (30 mmol) 直接溶于 90 mL EtOH 中, 换 Ar, 加入 Pd/C (10%, 0.33 equiv.), 换 H₂ 氛围, 然后向反应液中加入 HCl 的 EtOH 溶液 30 mL (3 mol·L⁻¹, 3 equiv.), 置室温反应 24 h, 原料反应完全. 反应液直接通过硅藻土过滤. 滤液经减压浓缩, 得到浅白色粉末 **11** (5.3 g, 98%, 两步). ESI-MS *m/z*: 146 (M+H)⁺.

将化合物 **11** (29 mmol) 溶于 80 mL 二氯甲烷 (DCM) 中, 再加入 Boc-Ala-NH₂ (34.8 mmol), 1-乙基-(3-二甲基

氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDCI, 34.8 mmol), 4-二甲氨基吡啶(DMAP, 34.8 mmol), 吡啶(58 mmol), 室温反应过夜. 加入冰水稀释, 乙酸乙酯萃取, 柱层析分离提纯, 收浅黄色液体 **12** (6.5 g, 70%). ESI-MS m/z : 339 ($M+Na$)⁺.

将化合物 **12** (4.0 g, 12.7 mmol), 溶于干燥的 1,2-二氯乙烷中, 搅拌下缓慢加入三氟乙酸(10 equiv., 127 mmol), 回流 4 h 原料反应完全. 直接减压浓缩除去溶剂, 粗产物经柱层析纯化, 得到黄色粉末 **13** (750 mg, 30%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.42 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 4.43 (q, $J=7.2$ Hz, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 14.14, 20.83, 20.91, 62.88, 120.51, 136.33, 154.30, 161.59, 163.67; ESI-MS m/z : 197 ($M+H$)⁺.

3.2.2 3,5-二甲基-6-氯吡嗪-2-甲酸乙酯(**14**)的合成

参考文献[9b]方法, 将化合物 **13** (700 mg, 3.6 mmol)溶于 12 mL 新鲜处理好的乙腈中(悬浮液), 换 Ar, 搅拌下逐滴加入三氯氧磷(830 μ L, 9 mmol), 置微波反应器中 120 $^{\circ}$ C 反应 10 min, 冷置室温后, 直接短硅胶柱过滤一遍, 然后再柱层析纯化, DCM 洗脱, 得浅黄色液体 **14** (580 mg, 75%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.41 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 2.67 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 4.44 (q, $J=7.2$ Hz, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 14.18, 22.27, 22.36, 62.19, 139.52, 145.09, 152.50, 154.92, 164.37; ESI-MS m/z : 215 ($M+H$)⁺.

3.2.3 3,5-二甲基-6-氯吡嗪-2-甲酰胺(**15**)的合成

参考文献[9b]方法, 将化合物 **14** (530 mg, 2.5 mmol)溶于 10 mL 甲醇中, 加入 4 mL 氨水. 50 $^{\circ}$ C 反应过夜, 直接将反应液减压浓缩, 得浅黄色粉末. 经柱层析纯化得到浅黄色固体 **15** (350 mg, 76%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 2.68 (s, 3H), 2.92 (s, 3H), 5.64 (br s, 1H), 7.55 (br s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 22.27, 22.71, 138.79, 143.72, 153.06, 154.99, 165.90; ESI-MS m/z : 208 ($M+Na$)⁺.

3.2.4 6-(((*E*)-7-((2*S*,6*S*)-6-异丙氧基-4-甲基-3,6-二氢吡喃-2-基)-6-甲基-庚-6-烯-1-基)氧基)-3,5-二甲基吡嗪-2-甲酰胺(**17**)的合成

称取化合物 **16** (60 mg, 0.21 mmol)溶于 5 mL 四氢呋喃中, 换 Ar, 室温搅拌下加入 NaH (50 mg, 10 equiv.), 5 min 后将化合物 **15** (0.32 mmol, 68 mg)的四氢呋喃溶液加入其中. 50 $^{\circ}$ C 反应 12 h, 原料反应完全. 加水淬灭反应, 乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗一遍, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩. 经过柱层析分离提纯, 得无色油状化合物 **17** (68 mg, 75%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.15 (d, $J=6.0$ Hz, 3H), 1.21 (d, $J=6.0$ Hz, 3H), 1.43~1.52

(m, 4H), 1.69 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 1.73~1.86 (m, 3H), 1.95~2.47 (m, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.83 (s, 3H), 3.96~4.01 (m, 1H), 4.28 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 4.60~4.72 (m, 1H), 5.07 (s, 1H), 5.21 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.89 (br s, 1H), 7.51 (br s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 16.54, 19.30, 21.86, 21.96, 22.79, 23.78, 25.68, 27.21, 28.58, 35.69, 39.27, 63.42, 66.34, 68.92, 93.28, 120.07, 124.85, 134.62, 137.18, 139.63, 145.64, 147.38, 154.78, 167.70; HRMS calcd for C₂₄H₃₇N₃NaO₄ [$M+Na$]⁺ 454.2682, found 454.2670.

3.2.5 (*S,E*)-3,5-二甲基-6-((6-甲基-7-(4-甲基-6-氧亚基-3,6-二氢吡喃-2-基)庚-6-烯-1-基)氧基)吡嗪-2-甲酰胺(**5**)的合成

将化合物 **17** (40 mg, 0.093 mmol)溶于丙酮/水($V:V=3:1$) (4 mL)的混合溶液中, 室温下加入 PPTS (28 mg, 0.11 mmol), 3 h 后反应完全, 加水稀释, 乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗一次. 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到粗产物半缩醛直接溶于 10 mL 干燥 DCM 中, 室温下加入 MnO₂ (81 mg, 0.93 mmol), 5 h 后原料反应完全. 反应液直接过滤, 滤液减压浓缩, 柱层析纯化, 得到无色油状化合物 **5** (31 mg, 86%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.44~1.51 (m, 4H), 1.71 (d, $J=1.2$ Hz, 3H), 1.82 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.98 (s, 3H), 2.07 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.16~2.23 (m, 1H), 2.32~2.43 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.83 (s, 3H), 4.29 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 5.07~5.14 (m, 1H), 5.32 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 5.74 (br s, 1H), 5.81 (s, 1H), 7.51 (br s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 16.67, 19.32, 21.97, 22.95, 25.61, 27.09, 28.59, 35.09, 39.16, 66.28, 74.14, 116.61, 121.99, 134.67, 142.45, 145.68, 147.36, 154.77, 157.00, 165.29, 167.63; HRMS calcd for C₂₁H₃₀N₃O₄ [$M+H$]⁺ 388.2236, found 388.2212.

3.2.6 6-(((*E*)-1-((2*S*,6*S*)-6-异丙氧基-4-甲基-3,6-二氢吡喃-2-基)丙-1-烯-2-基)-3,5-二甲基吡嗪-2-甲酰胺(**19**)的合成

将化合物 **15** (150 mg, 0.31 mmol)和 **18** (57 mg, 0.31 mmol)溶于 3 mL 四氢呋喃中, 换 Ar 氛围, 再加入催化剂 Pd(PPh₃)₄ (36 mg, 0.1 equiv.), 110 $^{\circ}$ C 反应过夜. 冷却至室温, 乙酸乙酯萃取, 水洗两次, 饱和食盐水洗一次, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩. 柱层析纯化, 得无色油状化合物 **19** (50 mg, 47%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.20 (d, $J=6.0$ Hz, 3H), 1.28 (d, $J=6.0$ Hz, 3H), 1.77 (s, 3H), 1.94 (dd, $J=15, 3.6$ Hz, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.12~2.16 (m, 1H), 2.64 (s, 3H), 2.93 (s, 3H), 4.02~4.07 (m, 1H), 4.89~4.94 (m, 1H), 5.13 (s, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.67 (dd, $J=1.5, 8.4$ Hz, 1H), 7.73 (br s, 1H); ¹³C NMR (75

MHz, CDCl_3) δ : 16.79, 2.06, 22.83, 22.94, 23.18, 23.88, 34.97, 63.77, 69.49, 93.43, 120.32, 133.25, 135.20, 136.76, 137.99, 151.34, 152.20, 152.90, 167.29; HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{NaO}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 368.1950, found 368.1941.

3.2.7 (S,E)-3,5-二甲基-6-(1-(4-甲基-6-氧亚基-3,6-二氢吡喃-2-基)丙-1-烯-2-基)吡嗪-2-甲酰胺(**6**)的合成

具体反应步骤参照化合物 **17**→**5** 的合成, 得到最终产物油状化合物 **6** (8 mg, 81%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 2.03 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.33~2.57 (m, 2H), 2.62 (s, 3H), 2.92 (s, 3H), 5.30~5.38 (m, 1H), 5.70 (br s, 1H), 5.74 (dd, $J=1.2, 8.1$ Hz, 1H), 5.88 (s, 1H), 7.68 (br s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 17.03, 22.77, 23.03, 23.23, 34.52, 73.65, 116.81, 129.51, 138.13, 138.29, 150.48, 152.79, 152.85, 156.67, 164.52, 167.06; HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{NaO}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 324.1324, found 324.1319.

3.2.8 4,6-二氯嘧啶-5-甲酰氯(**21**)的合成

将化合物 **20** (1.0 g, 6.0 mmol) 和 AIBN (60 mg) 溶于 10 mL CCl_4 中, 换 Ar 氛围, 搅拌下滴加 SO_2Cl_2 (1.0 mL), 将反应液置 80 °C 下回流 5 h, 原料反应完全. 直接减压浓缩, 得到油状液体酰氯不经纯化, 直接用于下一步反应.

3.2.9 N-(2-((叔丁基二甲基硅基)氧基)乙基)丙-2-炔-1-胺(**22**)的合成

参考文献[13]方法, 将 2-羟基乙基炔丙基胺(495 mg, 5 mmol)溶于 DCM 中, 加入咪唑(439 mg, 6.5 mmol), 5 min 后加入叔丁基二甲基氯硅烷(TBSCl, 982 mg, 6.5 mmol), 室温反应 5 h, 原料反应完全, 加水稀释, DCM 萃取. 减压浓缩, 柱层析纯化, 得无色液体化合物 **22** (1.02 g, 96%). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.05 (s, 6H), 0.88 (s, 9H), 2.20 (t, $J=3.0$ Hz, 1H), 2.78 (t, $J=2.4$ Hz, 2H), 3.44 (d, $J=3.0$ Hz, 2H), 3.73 (t, $J=2.4$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 82.15, 71.22, 62.32, 50.53, 38.17, 25.89 (3C), 18.27, -5.36 (2C); EI-MS m/z : 214 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

3.2.10 N-(2-((叔丁基二甲基硅基)氧基)乙基)-4,6-二氯-N-(丙-2-炔-1-基)嘧啶-5-甲酰胺(**23**)的合成

将化合物 **22** (300 mg, 0.90 mmol) 溶于 5 mL 无水四氢呋喃中, Ar 氛围下加入三乙胺(137 μL , 0.99 mmol), 室温搅拌下将酰氯 **21** (200 mg, 0.95 mmol) 的四氢呋喃溶液 2 mL 逐滴加入. 室温反应 3 h, 原料反应完全, 减压浓缩, 直接柱层析纯化, 得油状化合物 **23** (450 mg, 99%), 一对非对映异构体(轴手性), 二者比例约 1 : 0.8. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.03 (s, 4.8H), 0.08 (s, 6H), 0.86 (s, 7.2H), 0.90 (s, 9H), 2.30~2.31 (m, 1.8H), 3.39 (t,

$J=3.0$ Hz, 1.6H), 3.76 (t, $J=3.0$ Hz, 1.6H), 3.83 (t, $J=3.0$ Hz, 2H), 3.94 (t, $J=3.0$ Hz, 2H), 4.12 (d, $J=1.2$ Hz, 2H), 4.54 (d, $J=1.2$ Hz, 1.6H), 8.82 (s, 0.8H), 8.82 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : -5.53, -5.52, 18.07, 18.21, 25.80, 34.93, 39.93, 47.64, 49.71, 61.35, 61.58, 72.67, 73.96, 129.26, 129.34, 157.91, 157.95, 158.68, 161.90, 162.10; HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{NaO}_2\text{Si}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 410.0834, found 410.0829.

3.2.11 4-氯-6-(丙-2-炔-1-基)-7,8-二氢嘧啶[5,4-*f*]-[1,4]氧氮杂萘-5(6*H*)-酮(**25**)的合成

将化合物 **23** (400 mg, 0.80 mmol) 溶于 5 mL 甲醇中, 室温下将 HCl/MeOH (0.5 mL/5 mL) 加入其中, 室温反应 0.5 h, 原料反应完全. 加水稀释, 乙酸乙酯萃取, 碳酸氢钠溶液洗涤有机相, 饱和食盐水洗一次, 无水硫酸钠干燥, 柱层析纯化, 得油状化合物 **24** (290 mg, 93%), 一对非对映异构体(轴手性), 二者比例约 1 : 1.2. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 2.35~2.37 (m, 2.2H), 3.44 (t, $J=2.4$ Hz, 2H), 3.81 (t, $J=2.4$ Hz, 2H), 3.88 (t, $J=2.4$ Hz, 2.4H), 3.98 (t, $J=2.4$ Hz, 2.4H), 4.07 (d, $J=1.2$ Hz, 2.4H), 4.49 (d, $J=1.2$ Hz, 2 H), 8.82 (s, 1H), 8.84 (s, 1.2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 34.62, 39.65, 48.40, 50.23, 59.65, 60.99, 72.90, 74.54, 76.43, 77.37, 129.01, 129.05, 157.93, 158.14, 158.64, 158.76, 162.46, 162.89; HRMS calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{N}_3\text{NaO}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 295.9970, found 295.9963.

将化合物 **24** (300 mg, 1.1 mmol) 溶于 15 mL 乙腈中, 加入 1 mL 三乙胺, 置于 80 °C 下回流过夜, 冷制室温, 减压浓缩, 直接柱层析纯化, 得油状化合物 **25** (200 mg, 76%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 2.38 (t, $J=2.4$ Hz, 1H), 3.81 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 4.50 (d, $J=2.4$ Hz, 2H), 4.75 (t, $J=4.5$ Hz, 2H), 8.71 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 35.76, 44.48, 73.93, 74.28, 76.96, 116.46, 159.28, 162.17, 162.52, 165.66; HRMS calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{Cl}-\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 238.0383, found 238.0372.

3.2.12 (R,E)-4-氯-6-(4-甲基-5-(4-甲基-6-氧亚基-3,6-二氢吡喃-2-基)戊-4-烯-2-炔-1-基)-7,8-二氢嘧啶[5,4-*f*]-[1,4]氧氮杂萘-5(6*H*)-酮(**28**)的合成

将化合物 **25** (150 mg, 0.63 mmol), 化合物 **26** (305 mg, 0.95 mmol), CuBr (20 mg), NEt_3 (0.4 mL), 溶于 20 mL DMF 中. 充分换 Ar 气氛围, 然后再加入催化剂 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (50 mg), 室温反应过夜, 原料反应完全, 加水稀释, 乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 柱层析, 得油状化合物 **27** (220 mg, 81%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.16 (d, $J=3.0$ Hz, 3H), 1.21 (d, $J=3.0$ Hz, 3H), 1.74 (s, 3H), 1.80 (d, $J=18$ Hz, 1H),

1.87 (s, 3H), 2.04 (d, $J=18$ Hz, 1H), 3.80 (t, $J=3.0$ Hz, 2H), 3.96~4.00 (m, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.70~4.73 (m, 1H), 4.74 (t, $J=3.0$ Hz, 2H), 5.07 (s, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.86 (d, $J=3.0$ Hz, 1H), 8.71 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 17.64, 21.92, 22.79, 23.82, 34.72, 36.47, 44.36, 63.21, 69.33, 74.40, 80.14, 87.65, 93.22, 116.57, 119.83, 120.19, 136.65, 138.06, 159.23, 162.10, 162.50, 165.66; HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 454.1510, found 454.1501. 得到的粗产物也可不经纯化直接用于下一步反应。

将以上粗产物 **27** 直接溶于丙酮/水(15 mL/5 mL)的混合溶液中, 加入 PPTS (173 mg), 室温反应 3 h 后, 原料反应完全, 乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗一次, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩。将浓缩物直接溶于 20 mL 无水 DCM 中, 加入新制 MnO_2 室温反应 5 h, 硅藻土过滤, 柱层析纯化, 得油状化合物 **28** (166 mg, 0.43 mmol, 68%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.89 (s, 3H), 2.0 (s, 3H), 2.23~2.46 (m, 2H), 3.80 (t, $J=4.5$ Hz, 2H), 4.61 (s, 2H), 4.74 (t, $J=4.5$ Hz, 2H), 5.10~5.18 (m, 1H), 5.84 (s, 1H), 5.93 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.71 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 17.86, 23.02, 34.22, 36.45, 44.54, 73.04, 74.32, 81.78, 86.62, 116.53, 116.73, 122.68, 134.04, 156.57, 159.28, 162.16, 162.49, 164.25, 165.66; HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 410.0884, found 410.0877。

3.2.13 (*R,E*)-4-氨基-6-(4-甲基-5-(4-甲基-6-氧亚基-3,6-二氢吡喃-2-基)戊-4-烯-2-炔-1-基)-7,8-二氢嘧啶[5,4-*f*][1,4]氧氮杂萘-5(6*H*)-酮(**7**)的合成

将化合物 **28** (80 mg, 0.21 mmol)溶于二氧六环与 $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ 的混合溶液中(15 mL/2 mL), 室温反应 24 h, 原料反应完全, 减压浓缩, 直接柱层析纯化, 得浅黄色粉末化合物 **7** (63 mg, 81%)。 m.p. 95~99 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.87 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 2.22~2.41 (m, 2H), 3.76 (t, $J=4.2$ Hz, 2H), 4.53 (s, 2H), 4.62 (t, $J=4.2$ Hz, 2H), 5.10~5.16 (m, 1H), 5.83 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.91 (dd, $J=1.2, 8.4$ Hz, 1H), 8.24 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 17.90, 22.99, 34.22, 37.55, 46.32, 72.44, 73.07, 77.02, 82.29, 86.01, 95.36, 116.71, 122.81, 133.74, 156.56, 159.53, 164.29, 166.11, 166.24; HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 369.1563, found 369.1559。

3.2.14 (*S,E*)-4-氯-6-(4-甲基-5-(4-甲基-6-氧亚基-3,6-二氢吡喃-2-基)戊-4-烯-2-炔-1-基)-7,8-二氢嘧啶[5,4-*f*][1,4]氧氮杂萘-5(6*H*)-酮(**28'**)的合成

将化合物 **25** (150 mg, 0.63 mmol), **26'** (305 mg, 0.95 mmol), CuBr (20 mg), NEt_3 (0.4 mL), 溶于 20 mL DMF

中。充分换 Ar 气氛, 然后再加入催化剂 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (50 mg), 室温反应过夜, 原料反应完全, 加水稀释, 乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。柱层析, 收无色油状化合物 **27'** (210 mg, 77%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.16 (d, $J=3.0$ Hz, 3H), 1.21 (d, $J=3.0$ Hz, 3H), 1.74 (s, 3H), 1.80 (d, $J=18$ Hz, 1H), 1.87 (s, 3H), 2.04 (d, $J=18$ Hz, 1H), 3.80 (t, $J=3.0$ Hz, 2H), 3.96~4.00 (m, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.71~4.73 (m, 1H), 4.74 (t, $J=3.0$ Hz, 2H), 5.07 (s, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.86 (d, $J=3.0$ Hz, 1H), 8.71 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 17.64, 21.92, 22.79, 23.82, 34.72, 36.47, 44.36, 63.21, 69.33, 74.40, 80.14, 87.65, 93.22, 116.57, 119.83, 120.19, 136.65, 138.06, 159.23, 162.10, 162.50, 165.66; HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 454.1510, found 454.1500。得到的粗产物也可不经纯化直接用于下一步反应。

将以上粗产物直接溶于丙酮/水(15 mL/5 mL)的混合溶液中, 加入 PPTS (173 mg), 室温反应 3 h 后, 原料反应完全, 乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗一次, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩。将浓缩物直接溶于 20 mL 无水 DCM 中, 加入新制 MnO_2 室温反应 5 h, 硅藻土过滤, 柱层析纯化, 收无色油状化合物 **28'** (166 mg, 68%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.89 (s, 3H), 2.0 (s, 3H), 2.23~2.46 (m, 2H), 3.80 (t, $J=4.5$ Hz, 2H), 4.61 (s, 2H), 4.74 (t, $J=4.5$ Hz, 2H), 5.10~5.18 (m, 1H), 5.84 (s, 1H), 5.93 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.71 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 17.86, 23.02, 34.22, 36.45, 44.54, 73.04, 74.32, 81.78, 86.62, 116.53, 116.73, 122.68, 134.04, 156.57, 159.28, 162.16, 162.49, 164.25, 165.66; HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 410.0884, found 410.0877。

3.2.15 (*S,E*)-4-氨基-6-(4-甲基-5-(4-甲基-6-氧亚基-3,6-二氢吡喃-2-基)戊-4-烯-2-炔-1-基)-7,8-二氢嘧啶[5,4-*f*][1,4]氧氮杂萘-5(6*H*)-酮(**8**)的合成

将化合物 **28'** (80 mg, 0.21 mmol)溶于二氧六环与 $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ (15 mL/2 mL)的混合溶液中, 室温反应 24 h, 原料反应完全, 减压浓缩, 直接柱层析纯化, 得浅黄色粉末 **8** (63 mg, 81%)。 m.p. 97~100 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.87 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 2.22~2.41 (m, 2H), 3.76 (t, $J=4.2$ Hz, 2H), 4.53 (s, 2H), 4.62 (t, $J=4.2$ Hz, 2H), 5.10~5.16 (m, 1H), 5.83 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.91 (dd, $J=1.2, 8.4$ Hz, 1H), 8.24 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 17.90, 22.9, 34.22, 37.55, 46.32, 72.44, 73.07, 77.02, 82.29, 86.01, 95.36, 116.71, 122.81, 133.74, 156.56, 159.53, 164.29, 166.11, 166.24; HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 369.1563, found 369.1556。

3.3 体外抑制 DGAT1 活性实验方法

提取大鼠肝脏微粒体^[14,15]: 将成年 SD 大鼠(约 250 g)颈椎脱臼处死, 迅速打开腹腔, 剪开下腔静脉待血流尽后摘下肝脏, 称湿重, 剪碎, 加入(即 1 g 肝脏至 4 mL 缓冲液)湿重的预冷缓冲液 1 (0.25 mol·L⁻¹ 蔗糖, 10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, pH 7.4, 1.0 mmol·L⁻¹ 乙二醇四乙酸二钠), 用匀浆器将肝脏匀成均匀的悬浊液, 将悬浊液 12000 r/min, 4 °C 离心 2 次, 每次 30 min, 取上清。将上清用超高速离心机 105000 g, 4 °C, 1 h 离心, 取沉淀, 用缓冲液 2 (0.25 mol·L⁻¹ 蔗糖, 10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, pH 7.4)重悬, -80 °C 保存备用。

活性测试^[15]: 200 μL 反应体系中含 200 μmol·L⁻¹ sn-1,2-二油酸甘油酯, 30 μmol·L⁻¹ [¹⁴C] 油酸辅酶 A, 8 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 200 μg BSA (FFA free), 10 μg 肝脏微粒体蛋白和 175 mmol·L⁻¹ Tris-HCl buffer, pH 8.0, 与化合物(溶于 DMSO 中)一起于 96 孔透明尖底板 25 °C 反应 30 min; 之后每孔加 50 μL Stop buffer(异丙醇/正庚烷/水, V:V:V=80:20:2)停止反应, 将全部液体转移到 2 mL EP 管中; 每管加入 1.45 mL 终止反应液, 并加 400 μL 水彻底涡旋, 12000 r/min 离心 10 min; 取上层液体 200 μL, 烘干; 加 1.7 mL 闪烁液, 读 ¹⁴C 信号值。

辅助材料(Supporting Information) 所有化合物的 ¹H NMR 以及 ¹³C NMR 原始谱图, 所有新化合物的 HR-MS 原始谱图, 已知化合物的 LR-MS 原始谱图。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Mu, H.; Høy, C. E. *Prog. Lipid Res.* **2004**, *43*, 105.
- [2] Cases, S.; Stone, S. J.; Zhou, P.; Yen, E.; Tow, B.; Lardizabal, K. D.; Voelker, T.; Farese, R. V. Jr. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 38870.
- [3] Lardizabal, K. D.; Mai, J. T.; Wagner, N. W.; Wyrick, A.; Voelker, T.; Hawkins, D. J. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 38862.
- [4] (a) Smith, S. J.; Cases, S.; Jensen, D. R.; Chen, H. C.; Sande, E.;

- Tow, B.; Sanan, D. A.; Raber, J.; Eckel, R. H.; Farese, R. V. Jr. *Nat. Genet.* **2000**, *25*, 87.
- (b) Chen, H. C.; Smith, S. J.; Ladha, Z.; Jensen, D. R.; Ferreira, L. D.; Pulawa, L. K.; McGuire, J. G.; Pitas, R. E.; Eckel, R. H.; Farese, R. V. Jr. *J. Clin. Invest.* **2002**, *109*, 1049.
- (c) Chen, H. C.; Jensen, D. R.; Myers, H. M.; Eckel, R. H.; Farese, R. V. Jr. *J. Clin. Invest.* **2003**, *111*, 1715.
- (d) Chen, H. C.; Ladha, Z.; Smith, S. J.; Farese, R. V. Jr. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2003**, *284*, 213.
- [5] (a) Stone, S. J.; Myers, H. M.; Watkins, S. M.; Brown, B. E.; Feingold, K. R.; Elias, P. M.; Farese, R. V. Jr. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 11767.
- (b) Chen, H. C.; Farese, R. V. Jr. *Arterioscler., Thromb., Vasc. Biol.* **2005**, *25*, 482.
- [6] Dow, R. L.; Andrews, M. P.; Li, J. C.; Gibbs, E. M.; Guzman-Perez, A.; LaPerle, J. L.; Li, Q.; Mather, D.; Munchhof, M. J.; Niosi, M.; Patel, L.; Perreault, C.; Tapley, S.; Zavadosk, W. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 5081.
- [7] Liu, J.; He, X. F.; Wang, G. H.; Merino, E. F.; Yang, S. P.; Zhu, R. X.; Gan, L. S.; Zhang, H.; Cassera, M. B.; Wang, H. Y.; Kingston, D. G. I.; Yue, J. M. *J. Org. Chem.* **2013**, *79*, 599.
- [8] Yin, J. P.; Gu, M.; Li, Y.; Nan, F. J. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 6294.
- [9] (a) Devita, R. J.; Pinto, S. J. *Med. Chem.* **2013**, *56*, 9820.
- (b) Barlind, J. G.; Bauer, U. A.; Birch, A. M.; Birtles, S.; Buckett, L. K.; Butlin, R. J.; Davies, R. D. M.; Eriksson, J. W.; Hammond, C. D.; Hovland, R.; Johannesson, P.; Johansson, M. J.; Kemmitt, P. D.; Lindmark, B. T.; Gutierrez, P. M.; Noeske, T. A.; Nordin, A.; O'Donnell, C. J.; Petersson, A. U.; Redzic, A.; Turnbull, A. V.; Vinblad, J. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 10610.
- [10] Dow, R. L.; Andrews, M.; Aspnes, G. E.; Balan, G.; Gibbs, E. M.; Perez, A. G.; Karki, K.; LaPerle, J. L.; Li, J. C.; Litchfield, J.; Munchhof, M. J.; Perreault, C.; Patel, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 6122.
- [11] Zhou, G.; Ting, P. C.; Wishart, G.; Zorn, N.; Aslanian, R. G.; Lin, M.; Smith, M.; Walker, S. S.; Cook, J.; Heek, M. V.; Lachowicz, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 1790.
- [12] Mordant, C.; Dunkelmann, P.; Ratovelomanana-Vidal, V.; Genet, J.-P. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *14*, 3017.
- [13] Efthymiou, T. C.; Huynh, V.; Oentoro, J.; Peel, B.; Desaulniers, J. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1722.
- [14] Wu, W. N.; Mckown, L. A. *Optimization in Drug Discovery*, Vol. 11, Eds.: Yan, Z.-Y.; Caldwell, G. W., Humana Press Inc., Totowa, **2004**, p. 163.
- [15] Coleman, R. A. *Methods Enzymol.* **1992**, *209*, 98.

(Zhao, C.)