

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

C07D473/06

A61K 31/52 C07D473/22



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 98803941.9

[45] 授权公告日 2004 年 3 月 3 日

[11] 授权公告号 CN 1140527C

[22] 申请日 1998.2.12 [21] 申请号 98803941.9

[30] 优先权

[32] 1997. 2. 14 [33] GB [31] 9703044.9

[86] 国际申请 PCT/EP98/00784 1998. 2. 12

[87] 国际公布 WO98/35966 英 1998. 8. 20

[85] 进入国家阶段日期 1999. 10. 8

[71] 专利权人 葛兰素集团有限公司

地址 英国米德尔塞克斯

[72] 发明人 S·M·达鲁格 G·沃伯格

D·A·利文斯顿

审查员 刘姝晶

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

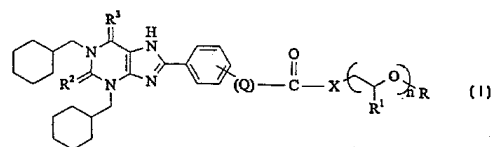
代理人 周慧敏

权利要求书 4 页 说明书 43 页

[54] 发明名称 苯基黄嘌呤酯和酰胺衍生物

[57] 摘要

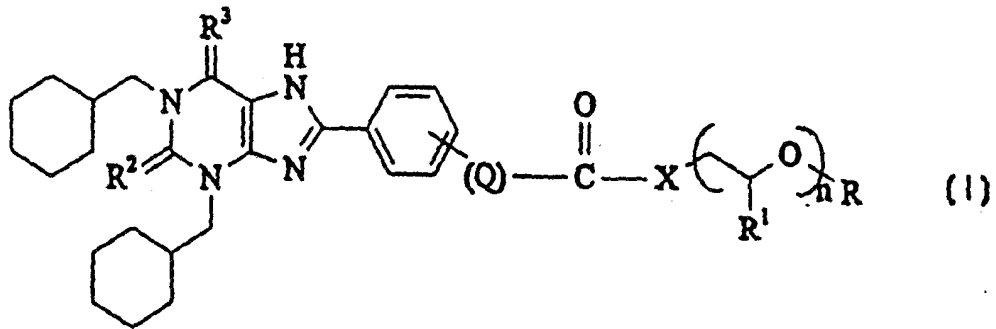
式(I)化合物或其溶剂化物, 其中: X 为 -O- 或 -NH-; Q 为  $(-CH_2-)_p$ 、 $(-CH=CH-)_p$ 、 $(-C\equiv C-)_p$ , 其中 p 是 0-4 的整数; R<sup>1</sup> 为氢或甲基; R<sup>2</sup> 和 R<sup>3</sup> 独立表示 O 或 S; n 是 1-50 的整数; 及 R 为氢或甲基。 这一系列的选择的苯基黄嘌呤衍生物的复杂的酯和酰胺在极低的浓度即可抑制人的脐静脉内皮细胞(HUVEC)单细胞层上的粘附分子的表达, 因而适于治疗炎症疾病和免疫紊乱。



ISSN 1008-4274

## 1. 式(I)化合物或其溶剂化物:

5



10

其中:

X 为 -O- 或 -NH-;

Q 为  $(-\text{CH}_2-)_p$ 、 $(-\text{CH}=\text{CH}-)_p$ 、 $(-\text{C}\equiv\text{C}-)_p$ , 其中 p 是 0-4 的整数;15  $\text{R}^1$  为氢或甲基; $\text{R}^2$  和  $\text{R}^3$  独立表示 O 或 S,

n 是 1-50 的整数; 及

R 为氢或甲基。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 X 为 -O- 或 -NH- 和  $\text{R}^1$  为 H。

20 3. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 n 为 8-20 的整数。

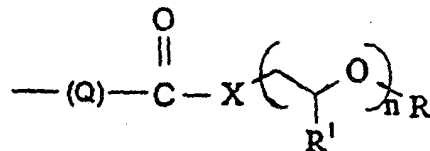
4. 权利要求 3 的化合物, 其中 n 为 8-15 的整数。

5. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其中  $\text{R}^3$  表示 O 和  $\text{R}^2$  表示 O 或 S。6. 权利要求 5 的化合物, 其中  $\text{R}^2$  和  $\text{R}^3$  均表示 O。

7. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 p 表示 0 或 1。

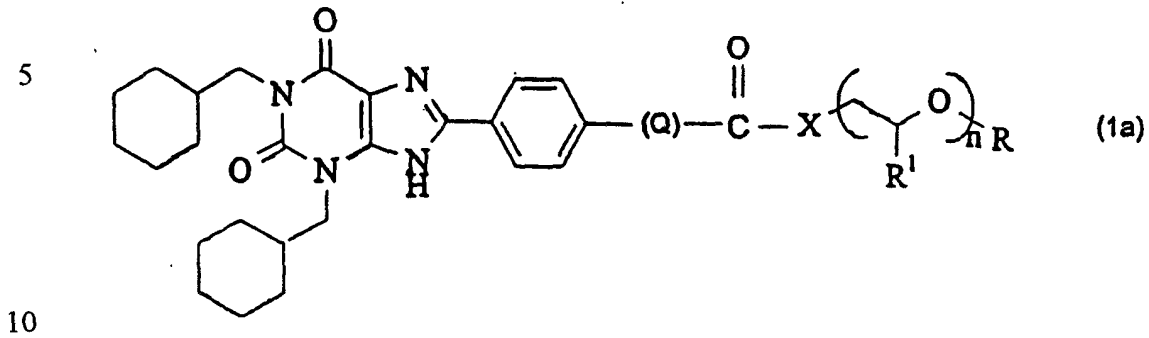
25 8. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 Q 为  $(-\text{CH}=\text{CH}-)_p$ 。

9. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其中



取代基在对位与苯环连接。

10. 权利要求 1 的化合物或其溶剂化物，其具有下式(1a):



其中:

X 为-O-或-NH-;

Q 为 $(-\text{CH}_2-)_p$ 、 $(-\text{CH}=\text{CH}-)_p$ 、 $(-\text{C}\equiv\text{C}-)_p$ , 其中

p 是 1-4 的整数;

15  $\text{R}^1$  为氢或甲基;

n 是 1-50 的整数; 及

R 为氢或甲基。

11. 权利要求 1 的化合物, 该化合物为:

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂

20 酸十聚乙二醇甲醚酯; 及

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂

酸九聚乙二醇甲醚酯;

(E)-3-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂

酸九聚乙二醇甲醚酯;

25 (E)-4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂

酸九聚乙二醇甲醚酰胺;

(E)-4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲

酸九聚乙二醇甲醚酯。

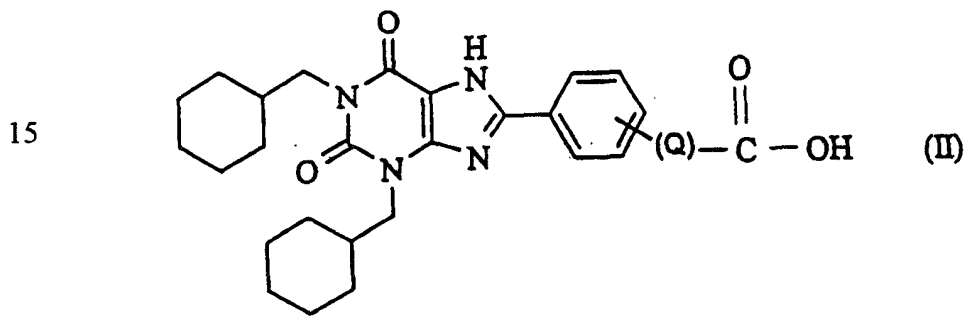
12. 含有权利要求 1-11 中任一项的化合物或其药学上可接受的  
30 溶剂化物和药学上可接受的稀释剂或载体的药用组合物。

13. 权利要求 1-11 中任一项的化合物或其药学上可接受的溶剂化物在用于治疗炎性疾病和免疫紊乱的药物生产中的用途。

14. 权利要求 13 的用途, 其中所述炎性疾病或免疫紊乱与白细胞浸润到炎症组织有关。

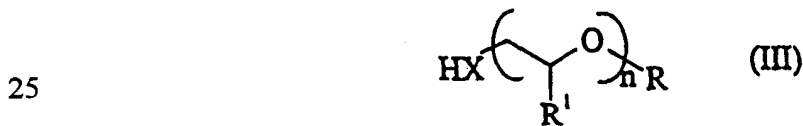
5 15. 权利要求 14 的用途, 其中所述炎性疾病或免疫紊乱选自哮喘、成人呼吸窘迫综合征、支气管炎、囊性纤维化、类风湿性关节炎、类风湿性脊椎炎、骨关节炎、痛风性关节炎、眼色素层炎、结膜炎、炎性肠道疾病、Crohn's 病、溃疡性结肠炎、远端直肠炎、牛皮癣、湿疹、皮炎和冠状梗塞性损害。

10 16. 权利要求 1-11 中任一项的化合物或其溶剂化物的制备方法, 其包括使式(II)化合物



20

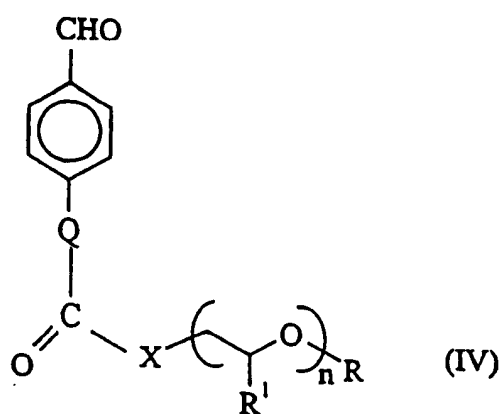
或其活性衍生物与式(III)化合物反应,



其中 Q、X、R<sup>1</sup>、R 和 n 如权利要求 1 所定义。

17. 权利要求 1 的化合物的制备方法, 在权利要求 1 的化合物中  
30 R<sup>2</sup> 和 R<sup>3</sup> 是 O, 所述方法包括使式(IV)化合物或其乙缩醛衍生物

5



- 10 其中 Q、X、R<sup>1</sup>、n 和 R 如权利要求 1 所定义,与 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶缩合。

## 苯基黄嘌呤酯和酰胺衍生物

5 本发明涉及苯基黄嘌呤衍生物的复杂的酯和酰胺，它们的制备方法，含有它们的药用制剂，它们在医药中的用途，尤其是治疗和预防脓毒性休克、炎性疾病以及免疫紊乱中的用途。

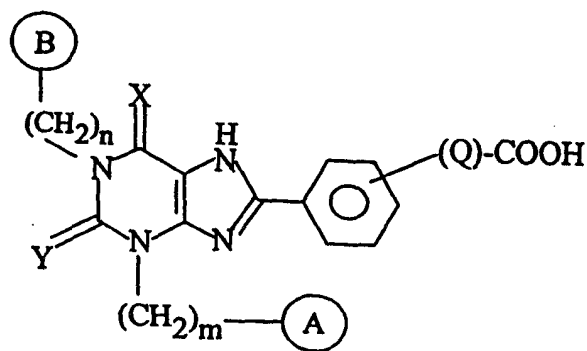
脓毒性休克是由一序列涉及疾病反应的许多不同的路径和递质的复杂事件诱导的(见例如，The Lancet, Vol. 338 (1991), p732-739, 及  
10 Annals Of Internal Medicine Vol. 115 (1991), p457-469)，包括特别是花生四烯酸代谢产物和血小板聚集。

循环中的白细胞对血管内皮的粘附是炎症反应发病机理的至关重要的事件。炎性和免疫递质可通过激活、上行调节或诱导细胞表面的各种粘附分子增加白细胞或内皮细胞的粘附性而刺激粘附过程。

15 目前可以使用的抗炎药效果有限，且往往伴有副作用。试验性地用于抗粘附疗法的单克隆抗体对于治疗慢性疾病在理论上仍有缺点。因此，发现和开发特异性阻断或抑制白细胞和血管内皮的粘附作用的小分子是治疗介入的一个诱人的领域。

PCT 申请号 GB 9501808 描述了下式的化合物：

20



其盐、溶剂化物和药学上可接受的酯和酰胺；及它们在治疗脓毒性休

克、过敏及炎性疾病中的用途，

其中 m 和 n 独立为 0 - 10 的整数；

X 和 Y 独立为氧或硫；

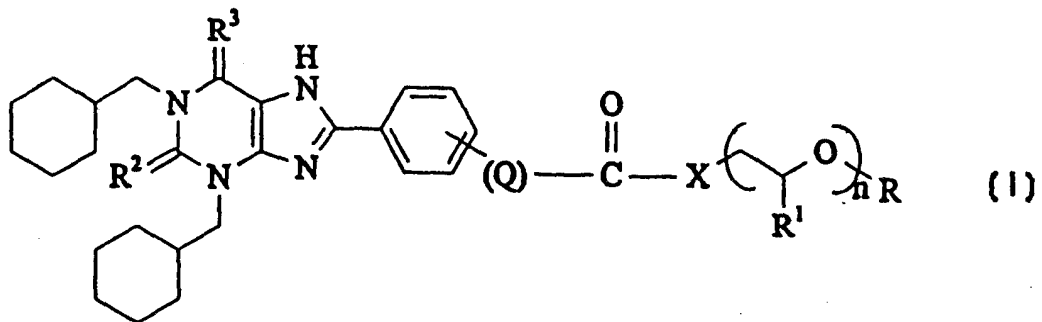
(-Q-) 为  $(-\text{CH}_2-)_p$  或  $(-\text{CH}=\text{CH}-)_p$ ，其中 p 为 1 - 4 的整数；及

- 5 A 和 B 独立为甲基、支链  $\text{C}_{3-6}$  烷基、 $\text{C}_{3-8}$  环烷基或  $\text{C}_{3-8}$  环烯基。已发现上述化合物抑制 5-脂氧合酶、环氧合酶、及 lyso-PAF: 乙酰辅酶 A 乙酰基转移酶中的一种或多种酶。

目前，我们已惊奇地发现了一系列选择的苯基黄嘌呤的复杂的酯和酰胺衍生物，它们在极低的浓度即可抑制人的脐静脉内皮细胞

- 10 (HUVEC) 单细胞层上的粘附分子的表达，因而适于治疗炎性疾病和免疫紊乱。

根据本发明提供式(I)化合物或其溶剂化物：



其中：

- 15 X 为 -O- 或 -NH-；
- Q 为  $(-\text{CH}_2-)_p$ 、 $(-\text{CH}=\text{CH}-)_p$ 、 $(-\text{C}\equiv\text{C}-)_p$ ，其中 p 是 0 - 4 的整数；
- $\text{R}^1$  为氢或甲基；
- $\text{R}^2$  和  $\text{R}^3$  独立表示 O 或 S，
- n 是 1 - 50 的整数；及
- 20 R 为氢或甲基。

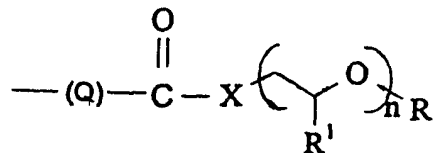
根据另一方面，本发明提供如上定义的式(I)化合物，其中 X 为 -O- 或 -NH- 和  $\text{R}^1$  为 H；在这些化合物中，优选其中 n 为 8 - 20 的整数的化合物，最优选其中 n 为 8 - 15 的整数的化合物。

便利地  $R^3$  表示 O 和  $R^2$  表示 O 或 S, 但最优选  $R^3$  和  $R^2$  均表示 O。

根据本发明的另一方面, P 优选表示 0 或 1。

根据本发明的另一方面, 提供如上定义的式(I)化合物, 其中 Q 为  $(-CH=CH-)_p$ 。

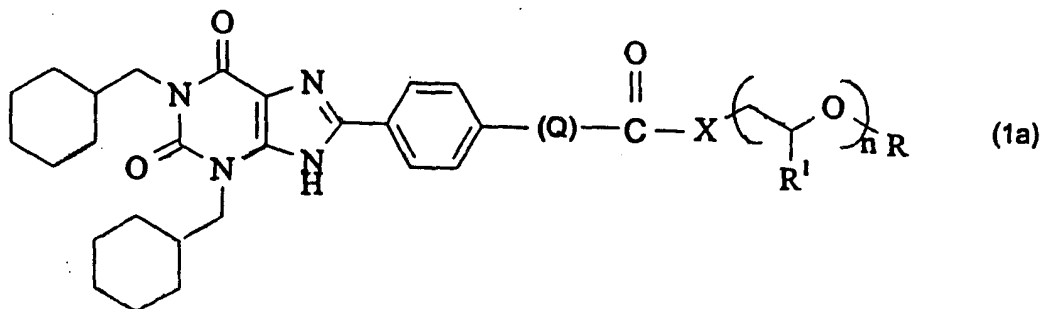
5 优选



取代基在对位与苯环连接。

本发明还包括式(I)化合物的任何比例的混合物, 例如其中 n 在相同的样品中变化。

10 特别的一个亚组化合物为式 1a 化合物或其溶剂化物



其中:

X 为 -O- 或 -NH-;

Q 为  $(-CH_2-)_p$  或  $(-CH=CH-)_p$ , 其中

15 p 是 1 - 4 的整数;

$R^1$  为氢或甲基;

n 是 1 - 50 的整数; 及

R 为氢或甲基。

本发明特别优选的化合物包括

20 (E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸十聚乙二醇甲醚酯;

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂

酸九聚乙二醇甲醚酯；

(E)-3-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸九聚乙二醇甲醚酯；

(E)-4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸九聚乙二醇甲醚酰胺及

(E)-4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯；

或其溶剂化物。

本发明化合物能够以几何和旋光异构体存在。所有这些异构体，单独的及为混合物的，均包括在本发明范围内。Q含有双键时，优选E-几何异构体形式的化合物。

如上所述，式(I)化合物及其溶剂化物具有如下文生物学测定所证实的治疗和预防炎性疾病和免疫紊乱的用途，在这些测定中，本发明的代表性的化合物已显示出其活性。

炎性疾病或免疫紊乱的实例为肺、关节、眼睛、肠道、皮肤和心脏的疾病；尤其是与白细胞浸润到炎症组织有关的疾病。肺部的疾病包括哮喘、成人呼吸窘迫综合征、支气管炎和囊性纤维化(这些疾病还可另外涉及或者仅涉及肠或其它组织)。关节的疾病包括类风湿性关节炎、类风湿性脊椎炎、骨关节炎、痛风性关节炎和其它关节炎疾病。炎性眼病包括眼色素层炎(包括虹膜炎)和结膜炎。炎性肠道疾病包括Crohn's病、溃疡性结肠炎和远端直肠炎。皮肤疾病包括与细胞增生有关的疾病，例如牛皮癣、湿疹和皮炎(无论是否过敏性起因)。心脏疾病包括冠状梗塞性损害。其它炎性疾病和免疫紊乱包括慢性炎症的组织坏死、内毒素性休克、平滑肌增生紊乱(例如血管成形术后的再狭窄)和移植手术后的组织排斥反应。

因此，本发明提供治疗或预防哺乳动物(例如人)的炎性疾病或免疫紊乱的方法，其包括给予治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的溶剂化物。本发明还提供治疗或预防哺乳动物(例如人)的脓毒性

休克的方法，其包括给予治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的溶剂化物。

或者，还提供用于医学治疗的式(I)化合物或其药学上可接受的溶剂化物；特别是用于治疗或预防哺乳动物(例如人)的炎性疾病或免疫紊乱。本发明还提供用于治疗或预防脓毒性休克的式(I)化合物或其药学上可接受的溶剂化物。

式(I)化合物或其药学上可接受的溶剂化物达到所需生物学效应的量取决于多种因素如使用的目的、给药方式和接受治疗者。治疗脓毒性休克的常用日剂量例如，可预计在 0.005mg/kg-100mg/kg 范围内，优选在 0.5-100mg/kg，最优选在 0.5-20mg/kg 范围内。该剂量可以作为单一的单位剂量给予，或作为几个分开的单位剂量给予，或者静脉输注给予。静脉给药的剂量预计在 0.0025mg/kg-200mg/kg 范围内，通常作为静脉输注给药。可采用类似的剂量治疗其它疾病。对于用气溶胶经肺部吸入给药的化合物的量应足以在接受者气管表面液体中达到约 2-1000 $\mu$ mol 的浓度。

因此，在本发明的另一方面，提供了药用组合物，其包含作为活性成分的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，并与至少一种药用载体或赋形剂混合。这些药用组合物可以用于治疗和预防诸如脓毒性休克、炎性疾病以及免疫紊乱的疾病。所述载体对接受者而言，必须是药学上可接受的，并且必须与组合物中的其它成分相容，即对这些成分无有害影响。载体可以是固体或液体，优选配制成单位剂量制剂，例如含有 0.05-95%(重量)活性成分的片剂。如果需要，其它生理学的活性成分也可以加入本发明的组合物中。

可能的制剂包括适于口服、舌下、颊下、胃肠外(如皮下、肌肉或静脉)、直肠、局部包括透皮、鼻内和吸入给药。对于具体的患者而言，最适的给药方式将取决于所治疾病的性质和严重程度以及活性化合物的性质，但是只要可能，静脉给药是治疗例如脓毒性休克的优选方式。然而，对于治疗诸如哮喘之类的疾病，口服或吸入将是优选的给药途

径。

适合于口服给药的制剂可以作为分开的单位提供，例如片剂、胶囊、扁囊剂、锭剂，每一单位含有预定量的活性化合物；如粉末或颗粒剂；在含水或非水液体中的溶液或悬浮液；或如水包油或油包水的乳剂。

适于舌下或颊下给药的制剂包括含有活性成分和常用的矫味基质如糖和阿拉伯胶或黄耆胶的锭剂以及在惰性基质如明胶和甘油或阿拉伯糖中含有活性成分的软锭剂。

适于胃肠外给药的制剂通常包括含有预定浓度活性化合物的无菌水溶液；优选与拟给予的接受者血液等渗的溶液。尽管这样的溶液优选经静脉给予，它们也可以通过皮下或肌肉注射给予。

适于直肠给药的制剂优选作为单剂量栓剂提供，其包括在一种或多种固体载体形成的栓剂基质如可可脂中的活性成分。

适于局部或鼻内使用的制剂包括软膏剂、霜剂、洗剂、贴剂、凝胶、喷雾剂、气溶胶和油剂。用于此类制剂的适合的载体包括凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、乙醇及其组合物。存在于此类制剂中的活性成分的浓度通常为 0.1-15%w/w。

本发明的制剂可以通过任何合适的方法制备，通常是将活性成分与液体或细分散的固体载体或两者按所需的比例均匀和紧密地混合，然后，如果需要，将所得的混合物使成形为所需的形状。

例如，通过将由粉末或颗粒状的活性成分和一种或多种任选的成分如粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、或表面活性分散剂组成的紧密的混合物压片可以制备片剂。

水溶液一般通过将活性成分溶于已加入环糊精的盐水中而制备。

经吸入给药的合适的制剂包括微细颗粒尘或雾，这些尘或雾可以通过各种类型的计量的增压气溶胶、喷雾器或吸入器产生。

对于经口腔的肺部给药，粉末或小滴的粒度通常在 0.5-10 $\mu$ m 范围

内，优选 1-5 $\mu\text{m}$ ，以确保能释放至支气管树内。对于鼻内给药，优选粒度范围在 10-500 $\mu\text{m}$ ，以确保滞留在鼻腔内。

5 计量吸入器为增压的气溶胶分配器，通常含有在液化抛射剂中的活性成分的悬浮液或溶液制剂。使用时，这些装置通过连接于释放器的阀将制剂按计量体积(通常为 10-150 $\mu\text{l}$ )释放，产生含有活性成分的微细颗粒雾。适当的抛射剂包括某些氯代氟烃化合物，例如，二氯二氟甲烷、三氯氟代甲烷、二氯四氟乙烷及其混合物。所述制剂可以另外含有一种或多种共溶剂，例如，乙醇表面活性剂如油酸或脱水山梨醇三油酸酯、抗氧化剂和合适的矫味剂。

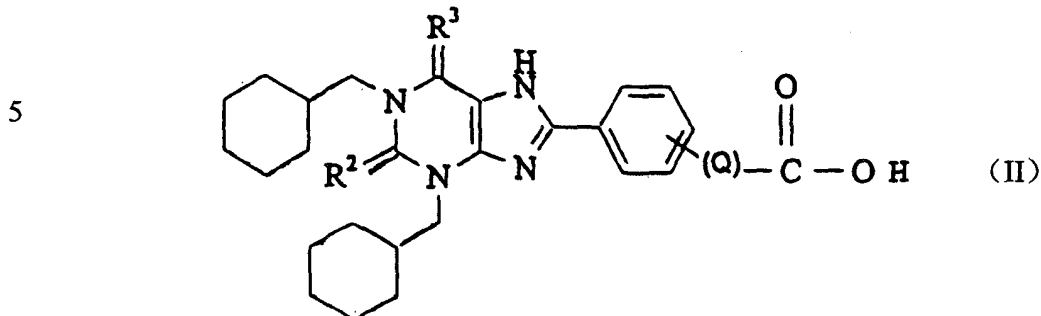
10 喷雾器为从商业获得的装置，它可使压缩气体(通常为空气或氧气)加速通过一狭窄的文丘里(venturi)出口，或经超声搅拌将活性成分的溶液或悬浮液转化为治疗性的气溶胶雾。用于喷雾器的合适的制剂由在液体载体中的活性成分组成，并占该制剂的 40 % w/w，优选少于 20 % w/w。所述载体一般为水或稀的醇水溶液，优选通过加入如氯化钠制成与体液等渗的溶液。如果制剂未制成无菌的，则任选的添加剂包括防腐剂如羟基-苯甲酸甲酯、抗氧化剂、矫味剂、挥发油、缓冲剂和表面活性剂。

20 吸入给药的合适的制剂包括细粉碎的粉末，该粉末可通过吸入器或经鼻吸入到鼻腔给药。在吸入器中，将所述粉末装入通常由明胶或塑料制成的胶囊或药筒中，所述胶囊或药筒可以裂开或原位打开，粉末可经吸入时通过该装置的气流抽吸或经手动泵传递。用于吸入器中的粉末可仅由活性成分组成，或由活性成分、合适的粉末稀释剂如乳糖和任选的表面活性剂的混合粉末组成。所述活性成分通常为制剂的 0.1-100w/w。

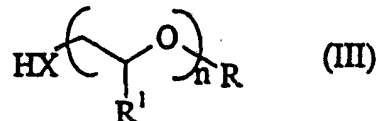
25 因此，根据本发明的另一方面，提供了式(I)化合物或其药学上可接受的溶剂化物在制备治疗和预防炎性疾病以及免疫紊乱的药物制备中的用途。

根据有机化学的任何适当的方法，可以制备根据本发明的化合

物。因此,根据本发明的又一方面,提供了制备式(I)化合物或其溶剂化物的方法,该方法包括使式(II)化合物



10 或其活性衍生物与式(III)化合物反应,



其中 Q、X、R<sup>1</sup>、R、R<sup>2</sup>和 R<sup>3</sup>及 n 如上定义,

15 并任选使如此形成的式(I)化合物转化为不同的式(I)化合物或转化为相应的溶剂化物。

当 X 为氧时,经标准方法,例如使用酸催化剂并任选使用惰性溶剂如甲苯、苯或二甲苯可以进行酯化。适合的酸催化剂包括无机酸如硫酸、盐酸和磷酸,有机酸例如甲磺酸或甲苯磺酸。酯化反应通常在升高的温度下,例如 50 - 150°C 时进行,优选除去蒸馏形成的水。

20

当 X 为氧或 -NH- 时,该反应可以通过首先制备式(II)化合物的活性衍生物而进行。适当的活性衍生物包括活化的酯或酰卤并可以在与式(III)化合物反应之前分离,或原位制备。式(II)化合物的特别有用的活化酯为酰基咪唑,它可通过式(II)化合物与 N,N<sup>1</sup>-羰基二咪唑的反应而很容易制备。

25

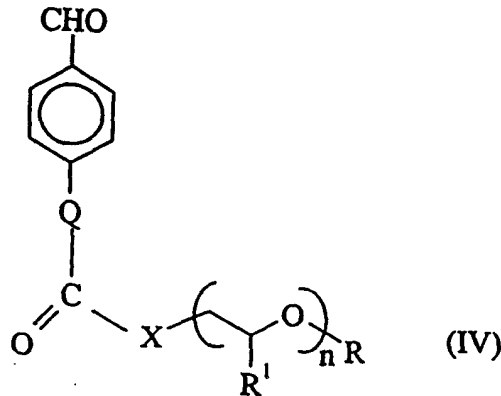
在惰性溶剂中,最好在非亲核碱如叔-丁醇钾、氢化钠,或非亲核有机碱如 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯存在下,可将式(II)化合物的活性衍生物转化为式(I)化合物。

式(II)化合物可如 PCT 申请号 GB 9501808 所述制备。

30 式(III)化合物可从商业获得或通过文献的方法制备。例如, R.A.

Bartsch 等, J. Org. Chem. 1989, 54:857-860 和 J.M. Harris, Macromol. J. Sci. Rev. Polymer Phys. Chem. 1985, C25 (3): 325-373 和 S. Zalopsky, Bioconjugate Chem. 1995,6: 150-165 .

或者, 通过使式(IV)化合物或其乙缩醛衍生物



5

其中 Q、X、R<sup>1</sup>、n 和 R 如上定义, 与 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶(可如实施例所述制备)缩合可以制备式(I)化合物。该缩合适合如 PCT 申请号 GB 9501808 所述在极性溶剂中, 在非极限温度(non-extreme temperature)下进行。

10

通过使式(III)化合物与适当的羧酸偶可以制备式(IV)化合物。PCT 申请号 GB 9501808 描述了进行这种偶合及制备羧酸的方法。

通过本领域技术人员已知的标准方法可使式(I)化合物转化为其溶剂化物。

下列实施例仅仅是通过说明来描述本发明。

15

对比实施例

实施例 1

(E)-4-[1,3 双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸

20

(a) 1,3-双(环己基甲基)脲

冷却(-10 °C)下, 剧烈搅拌环己烷甲胺(Aldrich, 68.66 g)和 5 N 氢氧化钠(Fisher, 200 ml)的混合物, 同时快速加入光气(30.0 g)的甲苯(600

ml)溶液。搅拌 20 分钟后, 过滤生成的混合物, 用水(约 1500 ml)洗涤沉淀的固体并于 67 Pa (0.5 Torr)干燥得到为白色粉末的 1,3-双(环己基甲基)脲(72.72 g, 95 %), m.p. 150-152 °C ;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 5.74 (br t, J = 5.8 Hz, 2, 2 NH), 2.81 (t, J = 6.3 Hz, 4, 2 NCH<sub>2</sub>), 1.62, 1.25, 和 0.85 (全部为 m, 22, 2 环己基)。

$\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}$  的分析计算值: C, 71.38; H, 11.38; N, 11.10 。实测值: C, 71.22; H, 11.17; N, 11.15 。

#### (b) 6-氨基-1,3-双(环己基甲基)尿嘧啶

将氰基乙酸(Aldrich, 21.0 g)溶于乙酸酐(260 ml)中。将该溶液加入 1,3-双(环己基甲基)脲(得自步骤(a), 54.5 g)中, 于 80 °C、氮气下, 维持该溶液 2 小时。真空除去挥发物, 通过蒸发数份 10 % 水-乙醇(3 × 400 ml)干燥残留的油。于 80 °C 将残留的固体溶于乙醇(600 ml)-水(300 ml)中并通过加入 10 % 碳酸钠水溶液调节 pH 至 10。用水(75 ml)稀释热的溶液并冷却至室温。滤除形成的无色结晶, 用水(3 × 500 ml)洗涤, 于 67 Pa (0.5 Torr)干燥得到 6-氨基-1,3-双(环己基甲基)尿嘧啶(64.98 g, 94%), m.p. 138-141 °C ;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 6.73 (br s, 2, NH<sub>2</sub>), 4.63 (s, 1, H-5), 3.67 (d, J = 7.3 Hz, 2, NCH<sub>2</sub>), 3.57 (d, J = 7.3 Hz, 2, NCH<sub>2</sub>), 1.55 和 1.09 (两者均为 m, 22, 2 环己基)。

$\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  的分析计算值: C, 64.07; H, 9.26; N, 12.45 。实测值: C, 63.98; H, 9.27; N, 12.48 。

#### (c) 6-氨基-1,3-双(环己基甲基)-5-亚硝基尿嘧啶

回流下, 将 6-氨基-1,3-双(环己基甲基)尿嘧啶(得自步骤(b), 25.0 g)溶于冰醋酸(440 ml)、水(440 ml)和乙醇(440 ml)。向该溶液加入亚硝酸钠(5.65 g)。搅拌生成的混合物并缓慢冷却至室温。滤除薰衣草沉淀物, 用 1:1 水-乙醇洗涤, 干燥得到为淡紫色结晶的 6-氨基-1,3-双(环己基甲基)-5-亚硝基尿嘧啶(23.46 g, 86%), m.p. 240-243 °C 分解伴有起泡;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 13.23 (br s, 1, =NOH), 9.00 (br s, 1, =NH), 3.73 (br t, J = 6.86, 4, 2 NCH<sub>2</sub>), 2.0-1.6 和 1.7-1.1 (两者均为 m, 22, 2 环

己基)。

$C_{18}H_{28}N_4O_3$ 的分析计算值：C, 62.05; H, 8.10; N, 16.08。实测值：C, 62.13; H, 8.12; N, 16.03。

5 (d) (E)-4-[1,3 双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸

通过 J. Perutmattam (Syn. Commun. 1989, 19: 3367-3370)的方法由 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶制备标题化合物。在 344.7 kPa (50 psi)氢气下, 通过将在甲醇(250 ml)-水(25 ml)中的 6-氨基 1,3-双(环己基甲基)-5-亚硝基尿嘧啶(得自步骤(c), 5.00 g)与 10 % 钨炭(0.50g)的混合物在 Parr 振荡器中振荡 2 小时制备新鲜的 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶。滤除(Celite™)催化剂, 将无色滤液浓缩至 25 ml。将 4-甲酰基肉桂酸(Aldrich, 2.53 g, 14.35 mmol)加入上述 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶的溶液中, 浓缩生成的黄色混合物, 经蒸发数份无水乙醇干燥残留的黄色固体。于 60 °C(油浴), 将生成的黄色粉末(席夫碱中间体)与碘(4.0 g)在二甲氧基乙烷(115 ml)中搅拌 20 小时。将饱和的硫代硫酸钠水溶液加入温热的反应混合物中直至碘完全褪色。滤出淡黄色沉淀物, 用水洗涤, 于 67 Pa (0.5 Torr)干燥得到为淡黄色粉末的(E)-4-[1,3 双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸(6.73 g, 91%), m.p. >300 °C。通过将其溶于 1 N 氢氧化钠水溶液中, 进一步纯化该样品, 通过 Celite™ 过滤生成的混浊的溶液, 用盐酸酸化澄清的滤液。过滤生成的沉淀并用水洗涤, 得到为淡黄色粉末的标题化合物, m.p. >300 °C;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 13.80 和 12.40 (两者均为 br m, 各为 1,  $\text{CO}_2\text{H}$  和  $\text{NH}$ ), 8.12 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.84 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.64 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1, CH=), 6.64 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1, CH=), 3.93 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.79 (d,  $J = 6.8$  Hz, 2,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.0-1.4 和 1.3-0.85 (两者均为 br m, 全部为 2, 2 环己基)。

$C_{28}H_{34}N_4O_4$ 的分析计算值：C, 68.55; H, 6.99; N, 11.42。实测值：C,

68.45; H, 6.98; N, 11.48。

### 合成实施例

#### 实施例 2

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)  
5 肉桂酸三聚乙二醇甲醚酯

于 125 °C、氮气流下，通过蒸发数份二甲苯(3 × 50 ml)干燥三聚  
乙二醇单甲醚(Aldrich, 80.0 g)。然后将(E)-4-[1,3 双(环己基甲基)-  
1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸(得自实施例 1 步骤(d),  
4.00 g)加入乙二醇中，通过蒸发二甲苯(40 ml)进一步干燥该混合物。  
10 将硫酸(0.41 g)加入反应混合物中，然后加热至 190 °C。按每份 50 ml  
加入二甲苯以代替蒸发除去的二甲苯。2 小时后，用另外的硫酸(0.2 g)  
处理该反应混合物。在这段时间内，继续替换二甲苯，于 140 °C 另外  
的 3 小时后，使反应混合物冷却至室温，引起大量固体从棕色溶液中  
沉淀出来。用氯仿(200 ml)稀释该混合物，用水(4 × 50 ml)洗涤。干燥  
15 (硫酸钠)并浓缩有机层获得黄色固体，将其经硅胶层析。用 1 - 4 %  
的在乙酸乙酯中的甲醇洗脱标题化合物，并通过加入己烷使其从乙酸  
乙酯中重结晶，得到为白色粉末的标题化合物(3.2 g, 62%)， m.p. 189-  
192 °C； <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.16 (d, J = 8.0 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.88  
(d, J = 8.3 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.70 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 6.77 (d, J  
20 = 16.1 Hz, 1, CH=), 4.28 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.92 (d, J = 6.8 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N),  
3.78 (d, J = 6.8 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.68 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.6-3.5 (m, 6, 3 CH<sub>2</sub>O),  
3.40 (2, CH<sub>2</sub>O), 3.23 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部  
为 2, 2 环己基)。

C<sub>35</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 的分析计算值： C, 66.02; H, 7.60; N, 8.80。实测值： C,  
25 65.91; H, 7.58; N, 8.76。

#### 实施例 3

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)  
肉桂酸聚乙二醇(n = 7.2)甲醚酯

于 133 Pa (1 Torr)下, 将(E)-4-[1,3 双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸(得自实施例 1 步骤(d), 0.50 g)在含有硫酸(51 mg)的聚(聚乙二醇)单甲醚(Aldrich, 平均分子量 350, 21 g, 用前通过蒸发甲苯干燥)中的淤浆搅拌 15 分钟。然后于 190 °C(油浴)、  
5 133 Pa (1 Torr)下, 将上述黄色反应混合物搅拌 3 小时。在此期间, 固体溶解, 留下棕色溶液。冷却至室温后, 将深色溶液倾入水(100 ml)中。搅拌该含水混合物 1.75 小时, 然后用二氯乙烷(3 × 30 ml)萃取。然后干燥(硫酸钠)合并的萃取物, 浓缩至蜡样固体。将其经 C-18 反相硅胶(EM Separations LiChroprep RP-18)层析。用 10 % 水-甲醇至纯甲  
10 醇的梯度液洗柱; 在纯甲醇中洗脱的粗产物为黄色蜡样固体, 将其在水(25 ml)中制成淤浆。然后减压蒸发水, 提供为黄色蜡样固体的标题化合物(620mg, 61%), m.p. 147-154 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.15 (d, J = 8.1 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.88 (d, J = 8.2 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.70 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 6.77 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 4.28 (m, 2,  
15 CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.91 (d, J = 7.0 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.78 (d, J = 7.1 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.68 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.6-3.38 (m, 约 25, 约 12.5 CH<sub>2</sub>O), 3.22 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 2, 2 环己基)。

C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>7.2</sub>•0.6 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 62.56; H, 8.00; N, 6.69。实测值: C, 62.62; H, 8.01; N, 6.69。

#### 20 实施例 4

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸四聚乙二醇甲醚酯

使用 Chromatotron (Harrison Research)经反复层析使(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇  
25 (n = 7.2)甲醚酯(得自实施例 3, 2.0 g)分离成其成分。将乙酸乙酯中的等份的所述酯的混合物(250-350 mg)施加于用己烷预平衡的 1mm 厚硅胶板上。然后, 用 5-20%乙酸乙酯的己烷溶液梯度洗脱该硅胶板。分离含有分散的低聚物的部分, 将从各硅胶板收集的相同的部分混合并

浓缩。合并所有的混合的部分并经再层析。按这种方法得到为白色粉末的(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸四聚乙二醇甲醚酯(43 mg), m.p. 171-174 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.18 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.91 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.72 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 6.80 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 4.30 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.94 (d, J = 7.1 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.80 (d, J = 7.1 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.71 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.58-3.42 (m, 12, 6 CH<sub>2</sub>O), 3.24 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 2, 2 环己基)。

C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>4</sub>•0.6 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 64.25; H, 7.75; N, 8.10。实测值: C, 64.11; H, 7.56; N, 8.07。

#### 实施例 5

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸五聚乙二醇甲醚酯

如实施例 4 所述将(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇(n = 7.2)甲醚酯(得自实施例 3, 2.0 g)层析分离成其成分, 提供为黄色蜡样固体的标题化合物(92 mg), m.p. 166-167 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.18 (d, J = 8.2 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.91 (d, J = 8.2 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.72 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 6.79 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 4.30 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.94 (d, J = 7.0 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.80 (d, J = 7.0 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.70 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.6-3.40 (m, 16, 8 CH<sub>2</sub>O), 3.24 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 2, 2 环己基)。

C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>5</sub>•0.15 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 64.38; H, 7.80; N, 7.70。实测值: C, 64.44; H, 7.90; N, 7.57。

#### 实施例 6

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸六聚乙二醇甲醚酯

如实施例 4 所述将(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二

氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇( $n = 7.2$ )甲醚酯(得自实施例 3, 2.0 g)层析分离成其成分, 提供为黄色蜡样固体的标题化合物(170 mg),  
m.p. 160-162 °C ;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.18 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.91 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.74 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1, CH=),  
5 6.79 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1, CH=), 4.30 (m, 2,  $\text{CO}_2\text{CH}_2$ ), 3.93 (d,  $J = 6.8$  Hz, 2,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.80 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.70 (m, 2,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.6-3.40 (m, 20, 10  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.24 (s, 3,  $\text{CH}_3$ ), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 2, 2 环己基)。

$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4 (\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_6 \cdot 0.20 \text{H}_2\text{O}$  的分析计算值: C, 63.74; H, 7.88;  
10 N, 7.25。实测值: C, 63.69; H, 7.92; N, 7.34。

#### 实施例 7

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸七聚乙二醇甲醚酯

如实施例 4 所述将(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二  
15 氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇( $n = 7.2$ )甲醚酯(得自实施例 3, 2.0 g)层析分离成其成分, 提供为黄色蜡样固体的标题化合物(105 mg),  
m.p. 154-156 °C ;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.18 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.91 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.73 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1, CH=),  
6.79 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1, CH=), 4.30 (m, 2,  $\text{CO}_2\text{CH}_2$ ), 3.94 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.80 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.70 (m, 2,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.60-3.40 (m,  
20 24, 12  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.24 (s, 3,  $\text{CH}_3$ ), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 2, 2 环己基)。

$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4 (\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_7 \cdot 0.25 \text{H}_2\text{O}$  的分析计算值: C, 63.18; H, 7.95;  
N, 6.85。实测值: C, 63.15; H, 7.97; N, 6.93。

#### 25 实施例 8

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸八聚乙二醇甲醚酯

如实施例 4 所述将(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二

氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇( $n = 7.2$ )甲醚酯(得自实施例 3, 2.0 g)层析分离成其成分, 提供为黄色蜡样固体的标题化合物(120 mg),  
m.p. 150-151 °C;  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.18 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2, 2 苯基  
CH), 7.91 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.73 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1, CH=),  
5 6.79 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1, CH=), 4.30 (m, 2,  $\text{CO}_2\text{CH}_2$ ), 3.94 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2,  
CH $_2$ N), 3.80 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2, CH $_2$ N), 3.70 (m, 2, CH $_2$ O), 3.60-3.40 (m,  
28, 14 CH $_2$ O), 3.24 (s, 3, CH $_3$ ), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为  
22, 2 环己基)。

$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 0.25 \text{H}_2\text{O}$  的分析计算值: C, 62.73; H, 8.01;  
10 N, 6.50。实测值: C, 62.65; H, 8.10; N, 6.56。

#### 实施例 9

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)  
肉桂酸十聚乙二醇甲醚酯

#### (a) 十聚乙二醇单甲酯

15 用 1.25 小时将叔-丁醇钾(Aldrich, 95%, 239.24 g)分次加入三聚乙  
二醇单甲酯(Aldrich, 300 ml, 1.9 mol)和 1,2-双(2-氯代乙氧基)乙烷  
(Aldrich, 500 g)的溶液中。加入时, 使反应温度维持在 16-20 °C(冰浴)。  
移去冷浴后, 使反应温度达到 30 °C, 然后, 冷却至室温。于室温下搅  
拌反应混合物 2 小时, 接着于 110 °C 搅拌 18 小时, 然后除去挥发物(2.5  
20 kPa (19 Torr), 110-125 °C)。再用甲苯(1.7 L)稀释粘性残留物, 经 Celite<sup>TM</sup>  
过滤。罐温不得超过 165 °C, 蒸馏除去甲苯, 然后通过蒸馏淡棕色残  
留物, 分离甲基六聚乙二醇氯化物(80 pa (0.6 Torr), 155-190 °C, 95.78 g,  
16%)。

25 于 18 °C(冰/丙酮浴), 用 25 分钟将叔-丁醇钾(Aldrich, 95%, 39.0 g)  
加入四聚乙二醇(Aldrich, 412.7 g)和得自上面的甲基六聚乙二醇氯化  
物(95.8 g)中。然后于 120 °C, 将上述反应混合物搅拌过夜。通过加入  
盐酸(12 N, 11.7 ml)将 pH 调至 7, 除去挥发物(64 Pa (0.48 Torr), 高达  
185 °C)。用甲苯(250 ml)稀释残留的黑色油状物, 用氯化钙(38.1 g)处

理。搅拌 18 小时后，通过 Celite™ 过滤该混合物并浓缩至黑色油状物 (102 g)，将其经分步蒸馏提供为琥珀色油状的十聚乙二醇单甲酯(64.4 g, 45%)。

5 通过硅胶层析获得分析的样品，用在氯仿中的 4 % 甲醇洗脱，提供无色油状物；<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 4.58 (t, J = 5.5 Hz, 1, OH), 3.58-3.38 (m, 40, 20 OCH<sub>2</sub>), 3.24 (s, 3, OCH<sub>3</sub>)。

C<sub>21</sub>H<sub>44</sub>O<sub>11</sub> 的分析计算值：C, 53.37; H, 9.38。实测值：C, 53.09; H, 9.47。

#### (b) (E)-4-(二甲氧基甲基)肉桂酸甲酯

10 将 4-甲酰基肉桂酸二甲基乙醛(Cleeland, Jr., 等, 美国专利 3969373) (20.00 g)和无水碳酸钾(12.44 g)在无水的 N,N-二甲基甲酰胺 (189 ml)中搅拌 5 分钟。加入甲基碘(12.8 g)，在温和加热(于 40 °C 油浴)的同时，剧烈搅拌生成的混合物 18 小时。真空蒸发挥发物，使残留物在己烷(400 ml)和水(100ml)中分配。干燥(硫酸镁)己烷层并蒸发得到为淡黄色油状的(E)-4-(二甲氧基甲基)肉桂酸甲酯(18.98 g, 89%)，<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)与结构一致。

15 C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub> 的分析计算值：C, 66.09; H, 6.83。实测值：C, 65.96; H, 6.86。

#### (c) 4-甲酰基肉桂酸十聚乙二醇甲醚酯

20 于 110 °C、高真空下，将 4-(二甲氧基甲基)肉桂酸甲酯(得自步骤 (b), 4.96 g)、十聚乙二醇单甲醚(得自步骤(a), 14.87 g)和异丙醇钛(IV) (Aldrich, 1.05 ml)搅拌 18 小时。然后将生成的黑色油状物冷却至 35 °C，用盐酸(1 N, 24.5 ml)处理，用甲苯(3 × 100 ml)萃取。浓缩合并的萃取物成黑色油状物，将其经硅胶层析。用在氯仿中的 10 % 甲醇洗脱标题化合物，为黄色油状物(4.60 g, 34%)；<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 10.54 (s, 1, CHO), 7.98 (m, 4, 4 苯基 CH), 7.76 (d, J = 16 Hz, 1, CH=), 6.88 (d, J = 16 Hz, 1, CH=), 4.31 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.70 (m, 2, OCH<sub>2</sub>), 3.51 (m, 36, 18 OCH<sub>2</sub>), 3.25 (s, 3, OCH<sub>3</sub>)。

$C_{31}H_{50}O_{13} \cdot 0.65 H_2O$  的分析计算值: C, 537.96; H, 8.05。实测值: C, 57.95; H, 7.95。

(d) (E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧化-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸十聚乙二醇甲醚酯

5 通过 J. Perutmattam (Syn. Commun. 1989, 19: 3367-3370)的方法由 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶制备标题化合物。按实施例 1 步骤(d)的方法,将 6-氨基-1,3-双(环己基甲基)-5-亚硝基尿嘧啶(得自实施例 1 步骤(c), 2.00 g)转化为 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶,然后再使其与在乙醇(50 ml)中的 4-甲酰基肉桂酸十聚乙二醇单甲醚酯  
10 (得自步骤(c), 3.62 g)结合。浓缩生成的黄色混合物,经蒸发数份无水乙醇干燥残留的黄色半-固体。于 50 °C(油浴),将生成的黄色半-固体(席夫碱中间体)与碘(1.60 g, 6.31 mmol)在二甲氧基乙烷(60 ml)中搅拌 18 小时。将充分饱和的硫代硫酸钠水溶液加入温热的反应混合物中以使碘完全褪色。浓缩含水混合物至 20 ml 体积,用水(50 ml)稀释,用氯仿(4 × 50 ml)萃取。然后干燥(硫酸镁)合并的有机层并浓缩得到油状  
15 固体,将其经硅胶层析。用在氯仿中的 6 % 甲醇洗脱为黄色油状物的标题化合物(3.6 g),将其在氯仿(150 ml)和水(50 ml)之间分配。浓缩有机层,提供加入己烷从二氯甲烷中沉淀生成的油,通过为黄色粉末的标题化合物,将其用己烷洗涤后,于 56 °C 真空干燥(2.57 g, 47%), m.p.  
20 143-145 °C;  $^1H$ -NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.16 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.88 (d, J = 8.5 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.70 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 6.78 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 4.29 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.92 (d, J = 7.1 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.78 (d, J = 7.1 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.69 (t, J = 4.6 Hz, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.60-3.35 (m, 36, 18 CH<sub>2</sub>O), 3.23 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 22, 2 环己基)。

$C_{49}H_{76}N_4O_{14}$  的分析计算值: C, 62.28; H, 8.10; N, 5.93。实测值: C, 62.14; H, 8.06; N, 6.02。

实施例 10

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)  
肉桂酸九聚乙二醇甲醚酯

(a) 九聚乙二醇单甲醚

于 100 °C(油浴)、氮气下, 将六聚乙二醇(Aldrich, 100 g)和苄基溴  
5 (Aldrich, 12 g)在氢氧化钠水溶液(50% (w/w), 80 ml)中的混合物搅拌 2  
小时。然后将反应混合物冷却至室温,用水稀释至总体积 500 ml, 用乙  
醚(200 ml)萃取以除去二苄基化产物。将氯化钠(100 g)加入水层, 再用  
乙醚(6 × 100 ml)萃取。合并醚萃取物, 干燥(硫酸钠), 并浓缩得到为  
油状物的六聚乙二醇一苄基醚(25 g, 20%基于乙二醇), <sup>1</sup>H-NMR  
10 (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.30 (m, 5, 5 苄基 CH), 4.53 (s, 2, 苄基 CH<sub>2</sub>), 3.69-3.54 (m, 22,  
11 OCH<sub>2</sub>), 3.06 (br s, 3, OH 和 CH<sub>2</sub>O)。

于 0 °C(冰浴), 将甲苯磺酰氯(Aldrich, 38 g)和三聚乙二醇单甲醚  
(Aldrich, 16.4 g)的无水吡啶(150ml)溶液搅拌 4 小时, 接着室温下搅拌  
18 小时。将溶液倾入冰水(500 ml)中并用乙醚(3 × 300 ml)萃取。合并  
15 醚萃取物, 用盐酸(3 N)和水洗涤, 干燥(硫酸钠), 并浓缩提供无色油  
状的三聚乙二醇甲基对甲苯磺酰基醚(20.0 g, 62%基于乙二醇), <sup>1</sup>H-  
NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.75 (d, J = 8.0 Hz, 2, 2 苄基 CH), 7.30 (d, J = 8.1 Hz,  
2, 2 苄基 CH), 4.11 (t, J = 4.8 Hz, 2, CH<sub>2</sub>OS), 3.65-3.41 (m, 10, 5  
CH<sub>2</sub>O), 3.32 (s, 3, CH<sub>3</sub>O)和 2.40 (s, 3, 苄基的(benzylic) CH<sub>3</sub>)。

20 将得自上面的六聚乙二醇一苄基醚(22.3 g)的无水 THF (100 ml)的  
溶液加入 50 % NaH (3.5 g)的无水 THF (100 ml)溶液中。于室温下搅拌  
该悬浮液 30 分钟, 然后滴加得自上面的三聚乙二醇甲基对甲苯磺酰基  
醚(22.0 g)的 THF (100 ml)悬浮液。在氮气下回流该混合物过夜, 冷却  
至室温, 用水(500 ml)淬灭, 用乙醚(3 × 300 ml)萃取。合并醚萃取物,  
25 干燥(硫酸钠), 并真空浓缩得到为油状物的九聚乙二醇苄基甲醚(27 g,  
88%), <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.31 (m, 5, 5 苄基 CH), 4.54 (s, 2, 苄基 CH<sub>2</sub>),  
3.62-3.52 (m, 36, 18 CH<sub>2</sub>O), 3.35 (s, 3, CH<sub>3</sub>)。

在 Parr 装置中, 于 344.7 kPa (50 psi)氢气下, 将得自上面的九聚乙

二醇苄基甲醚(38 g)的甲醇(200 ml)的溶液与 10%的钨炭(Aldrich, 1.0 g)振摇过夜。滤除(Celite™)催化剂, 真空浓缩滤液, 提供为油状的九聚乙二醇单甲醚(23 g, 74%), <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.67-3.47 (m, 36, 18 OCH<sub>2</sub>), 3.32 (s, 3, CH<sub>3</sub>)。

5 C<sub>19</sub>H<sub>40</sub>O<sub>10</sub> 的分析计算值: C, 53.26; H, 9.41。实测值: C, 53.25; H, 9.41。

(b) (E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧化-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸九聚乙二醇单甲醚酯

10 将 4-甲酰基肉桂酸(Aldrich, 22.0 g)、九聚乙二醇单甲醚(得自步骤(a), 60.0 g)和甲苯磺酸(Aldrich, 10 g)的无水二甲苯(600 ml)的混合物回流 4 小时(油浴)直至在迪安-斯达克榻分水器收集到约 2.0 ml (110 mmol)水。然后浓缩反应混合物至约 100 ml, 冷却至室温, 并过硅胶柱。用氯仿:丙酮(60:40)洗脱 4-甲酰基肉桂酸九聚乙二醇甲醚酯, 为油状物(72 g, 97%), <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 10.01 (s, 1, CHO), 7.89 (d, J = 8.1 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.71 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 7.66 (d, J = 8.0 Hz, 2, 2 苯基 CH), 6.57 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 4.37 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.77 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.67-3.52 (m, 32, 16 CH<sub>2</sub>O), 3.35 (s, 3, CH<sub>3</sub>)。

15 通过 J. Perutmattam (Syn. Commun. 1989, 19: 3367-3370)的方法由 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶制备标题化合物。按实施例 9 步骤(d)的方法, 将 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶(得自实施例 1 步骤(d), 10.4 g)与得自上面的 4-甲酰基肉桂酸九聚乙二醇单甲醚(18.0 g)缩合, 提供为淡黄色固体的标题化合物(20.0 g, 74%), m.p. 143-145 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.28 (d, J = 8.3 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.74 (d, J = 16.2 Hz, 1, CH=), 7.67 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH), 6.55 (d, J = 15.9 Hz, 1, CH=), 4.40 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.08 (d, J = 6.9 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 4.00 (d, J = 7.3 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.80 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.72-3.52 (m, 32, 16 CH<sub>2</sub>O), 3.35 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.05-1.03 (m, 22, 2 环己基)。

25 C<sub>47</sub>H<sub>72</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub> 的分析计算值: C, 62.65; H, 8.05; N, 6.32。实测值: C,

62.40; H, 7.92; N, 6.42。

### 实施例 11

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇(n = 11.7)甲醚酯

5 于 133 Pa (1 Torr)下, 将(E)-4-(1,3 双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸(得自实施例 1 步骤(d), 5.50 g)在含有硫酸(0.57 g)的聚(聚乙二醇)单甲醚(Aldrich, 平均分子量 550, 365 g, 用前通过蒸发甲苯干燥)中的淤浆搅拌 15 分钟。然后于 190 °C(油浴)和 133 Pa (1 Torr)下, 将上述黄色反应混合物搅拌 3 小时。在此期间, 固  
10 体溶解, 留下棕色溶液。冷却至室温后, 将深色溶液倾入水(150 ml)中。搅拌该含水混合物 1.5 小时, 然后用二氯乙烷(3 × 120 ml)萃取。然后用水(150 ml)洗涤合并的有机萃取物, 通过加入浓氢氧化铵将水层的 pH 值调至 6.5。干燥(硫酸钠)后, 浓缩萃取物并将生成的油状物经  
15 C-18 反相硅胶(EM Separations LiChroprep RP-18)层析。用 30 % 水-甲醇至纯甲醇的梯度液洗柱; 在纯甲醇中洗脱粗产物。将橙色蜡样固体进一步经硅胶层析。用 1-5% 甲醇洗脱标题化合物, 为黄色蜡样固体, 然后将其溶于氯仿中并通过加入己烷沉淀, 提供为淡黄色蜡样固体的标题化合物(6.34 g, 56%), m.p. 140-143 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ:  
20 8.15 (d, J = 8.5 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.88 (d, J = 8.5 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.70 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 6.77 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 4.28 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.92 (d, J = 7.0 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.78 (d, J = 17.2 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.70 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.6-3.35 (m, 约 42, 约 10.5 CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.23 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 22, 2 环己基)。

C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>11.6</sub>•0.4 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 61.30; H, 8.20; N, 5.48。实测值: C, 61.24; H, 8.26; N, 5.54。

### 实施例 12

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸六聚乙二醇酯

## (a) 4-甲酰基肉桂酸六聚乙二醇酯

于室温下,将(E)-4-(二甲氧基甲基)肉桂酸甲酯(得自实施例 9 步骤  
(b), 16.1 g, 68.1 mmol)和异丙醇钛(Aldrich, 6.34 g)在过量的粗品六  
聚乙二醇一(四氢吡喃基)醚(J.W. Cornforth, E. D. Morgan, K. T. Potts, R.  
5 J. W. Rees, Tetrahedron 1973, 29: 1659-1667, 52.76 g)中搅拌 3 天。然后  
于 120 °C, 267 Pa (2 Torr)真空下搅拌该溶液 4 小时。使该溶液冷却至  
32 °C, 加入盐酸(1 N, 80 ml, 80 mmol)。于 32-40 °C 搅拌生成的水溶液  
1.5 小时, 然后用水(10 ml)稀释。再搅拌该溶液 30 分钟, 然后加入另  
10 外 10 ml 水。2.5 小时后, 使该溶液冷却至室温并用甲苯(3 × 100 ml)  
萃取。合并甲苯萃取物, 干燥(硫酸钠)并浓缩成油状物(33.81 g), 经硅  
胶层析。用在乙酸乙酯中的 10 % 甲醇洗脱标题化合物, 经蒸发乙醇干  
燥, 得到为黄色蜡样固体的标题化合物(8.80 g, 29%); <sup>1</sup>H-NMR  
(DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.06 (s, 1, CHO), 7.98 (m, 4, 4 苯基 CH), 7.77 (d, J = 16.0  
Hz, 1, CH=), 6.88 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 4.60 (m, 1, OH), 4.31 (m, 2,  
15 CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.71 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.51 (m, 20, 10 CH<sub>2</sub>O)。

C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>9</sub>•0.35 H<sub>2</sub>O•0.25 C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O 的分析计算值: C, 58.97; H,  
7.52。实测值: C, 58.43; H, 7.40。

## (b) (E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸六聚乙二醇酯

20 通过 J. Perutmattam (Syn. Commun. 1989, 19: 3367-3370)的方法由  
1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶制备标题化合物。按实施例 9 步  
骤(d)的方法, 将 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶(得自实施例 1  
步骤(d), 7.68 g)与得自上面的 4-甲酰基肉桂酸六聚乙二醇酯(得自步骤  
(a), 10.52 g)缩合, 提供为淡黄色固体的标题化合物(8.0 g, 45%), m.p.  
25 165-168 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.17 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH),  
7.90 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.78 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 6.80  
(d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 4.60 (m, 1, OH), 4.30 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.93 (d, J  
= 6.9 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.80 (d, J = 7.2 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.71 (m, 2, CH<sub>2</sub>O),

3.65-3.40 (m, 20, 10 CH<sub>2</sub>O), 2.1-1.5 和 1.6-0.9 (两者均为 br m, 全部为 2,2 环己基)。

C<sub>40</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>•0.9 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 62.30; H, 7.82; N, 7.27。  
实测值: C, 62.33; H, 7.80; N, 7.26。

5 实施例 13

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇(n = 23.9)甲醚酯

(a) (E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(4-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮

10 于氮气下, 将(E)-4-[1,3 双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸(得自实施例 1 步骤(d), 2.97 g)在无水 N,N-二甲基甲酰胺(50 ml)中稍稍加热至几近回流。然后将 N,N'-羰基二咪唑(Lancaster Synthesis, 1.17 g)加入淡黄色的淤浆中, 随着气体的发生, 该淤浆变稀并转为橙色。数分钟后, 该淤浆变成亮黄色并增稠形成为黄色的固体。搅拌该混合物 18 小时, 用二氯甲烷(30 ml)稀释并过滤。用二氯甲烷(30 ml)洗涤亮黄色滤管, 部分风干。于 13 Pa (0.1 Torr)和 40 °C 下干燥湿的固体, 提供(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(4-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮, 为黄色粉末(3.25 g, 96%), m.p. 310 °C(分解); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.74 (s, 1, 咪唑 CH), 8.20 (d, J = 8.9 Hz, 2, 2 苯基 CH), 8.06 (d, J = 7.7 Hz, 2, 2 苯基 CH), 8.03 (d, J = 14.8 Hz, 1, CH=), 7.93 (s, 1, 咪唑 CH), 7.72 (d, J = 15.7 Hz, 1, CH), 7.14 (s, 1, 咪唑 CH), 3.92 (d, J = 7.0 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.77 (d, J = 7.4 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 2.00-1.50 和 1.25-0.90 (两者均为 br m, 全部为 2,2 环己基)。

25 C<sub>31</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>•0.35 C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO 的分析计算值: C, 67.98; H, 6.84; N, 15.71。实测值: C, 67.93; H, 6.67; N, 15.92。

(b) (E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇(n = 23.9)甲醚酯

于氮气下，将(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(4-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮(得自步骤(a), 2.25 g)在无水N,N-二甲基甲酰胺(50 ml)中的淤浆加热至 60 °C(油浴)。将聚(乙二醇)单甲酯(Shearwater 聚合物, 分子量 1100, 4.80 g, 用前通过蒸发甲苯干燥)加入亮黄色淤浆中, 接着加入 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(Aldrich, 658 ml)。碱的加入产生深红色的反应混合物并引起酰基咪唑的完全溶解。于 60 °C 搅拌红色混合物 2.5 天, 在此期间所有固体溶解。然后通过加入硫酸使淡红色的溶液调至 pH 值为 5。于 32 Pa (0.24 Torr) 和 47 °C 下从生成的淡黄色溶液中除去挥发物, 提供黄色油状物(11.37 g), 将其经 C-18 反相硅胶(EM Separations LiChroprep RP-18)层析。用 40 % 水-甲醇至纯甲醇的梯度液洗柱; 在纯甲醇中洗脱粗产物得到黄色固体(10.25 g), 将其进一步经硅胶层析。用在二氯甲烷中的 4-10% 甲醇洗脱标题化合物, 为浅黄色玻璃状物体(5.73 g, 92%), 将其用己烷研磨, 提供黄色蜡样固体, m.p. 97-98 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.18 (d, J = 8.2 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.91 (d, J = 8.6 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.72 (d, J = 15.8 Hz, 1, CH=), 6.79 (d, J = 15.9 Hz, 1, CH=), 4.30 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.94 (d, J = 7.0 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.80 (d, J = 7.8 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.70 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.57-3.41 (m, 约 88, 约 44 CH<sub>2</sub>O), 3.25 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 22, 2 环己基)。

$C_{29}H_{36}N_4O_4 (C_2H_4O)_{23.4} \cdot 0.30 H_2O$  的分析计算值: C, 59.02; H, 8.53; N, 3.58。实测值: C, 59.05; H, 8.57; N, 3.62。

#### 实施例 14

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇(n = 41.5)甲醚酯

按照实施例 13 的方法, 使(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(4-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮(得自实施例 13 步骤(a), 2.16 g)与聚(乙二醇)单甲醚(Aldrich, 平均分子量 2000, 9.60 g) 偶合, 提供为黄色粉末的标题化合物(6.80 g, 76%), m.p. 56-64 °C;

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.18 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.91 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.72 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1, CH=), 6.80 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1, CH=), 4.30 (m, 2,  $\text{CO}_2\text{CH}_2$ ), 3.70-4.00 (m, 6, 2  $\text{CH}_2\text{N}$ , 和  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.70-3.40 (m, 约 160, 约 80  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.25 (s, 3,  $\text{CH}_3$ ), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 22, 2 环己基)。

$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4$  ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ) $_{41.5}$  的分析计算值: C, 57.67; H, 8.73; N, 2.40。实测值: C, 57.51; H, 8.51; N, 2.31。

#### 实施例 15

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇( $n = 15$ )甲醚酯

按照实施例 13 的方法, 使(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(4-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮(得自实施例 13 步骤(a), 2.16 g, 3.84 mmol)与聚(乙二醇)单甲醚(Aldrich, 平均分子量 750, 3.30 g, 4.40 mmol)偶合, 提供为黄色蜡样固体的标题化合物(3.30 g, 74%), m.p. 124-125  $^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 8.18 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.91 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.72 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1, CH=), 6.80 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1, CH=), 4.31 (m, 2,  $\text{CO}_2\text{CH}_2$ ), 3.94 (m, 2,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.80 (m, 2,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.70 (m, 2,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.6-3.4 (m, 约 58, 约 29  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.25 (s, 3,  $\text{CH}_3$ ), 1.8-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 22, 2 环己基)。

$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4$  ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ) $_{15} \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$  的分析计算值: C, 57.67; H, 8.73; N, 2.40。实测值: C, 57.51; H, 8.51; N, 2.31。

#### 实施例 16

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇( $n = 32.2$ )酯

在氮气下, 将(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(4-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮(得自实施例 13 步骤(a), 1.69 g)加入溶化的聚(乙二醇) (Aldrich, 平均分子量 1500, 90.0 g, 60.0

mmol, 用前通过蒸发甲苯干燥)中。用无水 N,N-二甲基甲酰胺 (40 ml) 稀释黄色的淤浆, 并加热至 60 °C (油浴)。然后加入 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯 (Aldrich, 494 ml), 产生深红色的反应混合物, 并引起酰基咪唑的完全溶解。于 60 °C 搅拌该混合物 16.5 小时, 在此期间所有固体溶解。然后通过加入硫酸使橙色的溶液调至 pH 值为 5。于 93 Pa (0.7 Torr) 和 50 °C 下从生成的黄色溶液中除去挥发物, 残留的黄色油状物经 C-18 反相硅胶 (EM Separations LiChroprep RP-18) 层析。用 40 % 水-甲醇至纯甲醇的梯度液洗柱; 在纯甲醇中洗脱粗产物得到黄色膜状物 (8.50 g), 将其进一步经硅胶层析。用在二氯甲烷中的 6-15% 甲醇洗脱标题化合物, 为浅黄色玻璃状物体 (5.83 g), 将其用己烷研磨, 提供黄色蜡样固体 (4.773 g, 83%), m.p. 83-84 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 13.92 (s, 1 NH), 8.14 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.87 (d, J = 8.5 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.68 (d, J = 15.7 Hz, 1, CH=), 6.76 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 4.56 (t, J = 5.5 Hz, 1, OH), 4.26 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.90 (d, J = 7.3 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.76 (d, J = 6.9 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.66 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.6-3.2 (m, 约 120, 约 60 CH<sub>2</sub>O), 2.0-1.5 和 1.3-0.8 (两者均为 br m, 全部为 2, 2 环己基)。

C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>32.2</sub>•0.20 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 58.02; H, 8.60; N, 2.93。实测值: C, 58.01; H, 8.59; N, 2.92。

#### 实施例 17

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇(n = 18.9)酯

按照实施例 16 的方法, 使(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(4-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮(得自实施例 13 步骤(a), 1.69 g)与聚(乙二醇)(Aldrich, 平均分子量 1000, 60.0 g)偶合, 提供为黄色蜡样固体的标题化合物(2.747 g, 85%), m.p. <40 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 13.88 (s, 1, NH), 8.11 (d, J = 8.0 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.83 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.66 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 6.73 (d, J = 16.1 Hz, 1, CH=), 4.55 (t, J = 5.5 Hz, OH), 4.26 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.87

(d, J = 6.9 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.74 (d, J = 7.0 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.66 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.6-3.3 (m, 约 88, 约 40 CH<sub>2</sub>O, 重叠的 H<sub>2</sub>O), 2.1-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 2, 2 环己基)。

C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>18.9</sub>•1.2 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 58.77; H, 8.39; N, 4.17。实测值: C, 58.77; H, 8.28; N, 4.10。

#### 实施例 18

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸聚乙二醇(n = 13)酯

按照实施例 16 的方法, 使(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(4-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮(得自实施例 13 步骤(a), 5.553 g)与聚(乙二醇)(Dow, 平均分子量 600, 121.0 g)偶合, 提供为黄色蜡样固体的标题化合物(6.94 g, 64%), m.p. 142-143 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.18 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.90 (d, J = 8.4 Hz, 2, 2 苯基 CH), 7.72 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 6.79 (d, J = 16.0 Hz, 1, CH=), 4.58 (t, J = 5.3 Hz, OH), 4.30 (m, 2, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.94 (d, J = 7.2 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.80 (d, J = 7.0 Hz, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.70 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.61-3.42 (m, 约 48, 约 24 CH<sub>2</sub>O), 2.0-1.5 和 1.3-0.9 (两者均为 br m, 全部为 2, 2 环己基)。

C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>13</sub>•1 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 59.98; H, 8.20; N, 5.18。实测值: C, 59.96; H, 8.18; N, 5.13。

#### 实施例 19

3-{4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯基}丙酸九聚乙二醇单甲醚酯

在 2.0k Pa 氢气(0.02 Bar)中, 在活性炭上的 10% 钨(Aldrich, 40 mg)存在下, 将(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸九聚乙二醇单甲醚酯(得自实施例 10 步骤(b), 200 mg)的异丙醇(50 ml)溶液在 Buchi Pressflow 氢气发生器中搅拌 23 小时。滤除(Celite™)催化剂, 真空蒸发挥发物。从油状残留物中蒸发氯仿(5 × 10

ml), 干燥(0.2 mm Hg, 50 °C)后提供黄色蜡样固体的标题化合物(165 mg, 83%), m.p. 85-86 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)与结构一致。

C<sub>47</sub>H<sub>74</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>13</sub> 的分析计算值: C, 62.51; H, 8.26; N, 6.21。实测值: C, 62.39; H, 8.27; N, 6.27。

5 实施例 20

3-[4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯基]丙酸九聚乙二醇甲醚酯

(a) 3-[4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯基]-2,3-二溴代丙酸乙酯

10 将 0.64 g (4.0 mmol) 溴的 10ml 氯仿溶液加入 1.90 g (3.66 mmol) (E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸乙酯的 25ml 氯仿的搅拌溶液中。于室温下搅拌该混合物, 然后蒸发溶剂得到为白色固体的标题化合物(2.5 g, 100%), <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.31 (d, J = 8.4 Hz, 苯基 CH, 2H), 7.56 (d, J = 8.4 Hz, 苯基 CH, 2H), 5.40 (d, J = 11.7 Hz, CHBr, 1H), 4.83 (d, J = 11.7 Hz, CHBr, 1H), 4.38 (q, J = 7.3 Hz, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, 2H), 4.08 (d, J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>N, 2H), 4.03 (d, J = 7.3 Hz, CH<sub>2</sub>N, 2H), 2.04 (m, c-己基 CH, 1H), 1.89 (m, c-己基 CH, 1H), 1.5-1.8 (m, c-己基 CH<sub>2</sub>, 10 H), 1.39 (t, J = 7.3 Hz, CH<sub>3</sub>-端, 3H), 1.0-1.3 (m, c-己基 CH<sub>2</sub>, 10 H)。

20 (b) 3-[4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯基]丙酸

于室温下, 将 2.8 g (4.1 mmol) 的 3-[4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯基]-2,3-二溴代丙酸乙酯(该样品的一部分)加入在叔-丁醇(Aldrich)中的 56 ml 1M 叔-丁醇钾中。于室温下搅拌该混合物 2.5 小时, 然后加入 0.10 ml 水。再搅拌该溶液 1 小时, 然后加入在 250 ml 水中的 1 g 炭。再搅拌该混合物 30 分钟, 然后过滤。用浓盐酸(pH=1)酸化滤液, 再搅拌生成的悬浮液 15 分钟, 过滤, 接着用水(3 × 50 ml)洗涤。减压干燥该固体得到 1.63 g (81%) 标题化合物;

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.15 (d,  $J = 8.0$  Hz, 苯基 CH, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.0$  Hz, 苯基 CH, 2H), 3.87 (d,  $J = 6.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ , 2H), 3.74 (d,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ , 2H), 1.88 (br s, c-己基 CH, 1H), 1.4-1.8 (m, c-己基 CH,  $\text{CH}_2$ , 11 H), 0.8-1.2 (m, c-己基  $\text{CH}_2$ , 10 H); MS (ES): 487 (M-1), 443 (M-1-  
5  $\text{CO}_2$ )。

(c) 3-[4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯基]丙酸九聚乙二醇甲醚酯

将 324 mg (2.0 mmol) 1,1'-羰基二咪唑的 10 ml 乙腈溶液加入 650 mg (1.33 mmol) 3-[4-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-  
10 嘌呤-8-基]苯基]丙酸的 40 ml 无水四氢呋喃的搅拌溶液中。搅拌该混合物 4 小时, 然后加入 40 ml 乙腈, 再搅拌该悬浮液 30 分钟并过滤。用  $2 \times 10$  ml 乙腈洗涤该固体并减压干燥过夜, 然后与 10 ml 无水二甲基甲酰胺混合。将九聚乙二醇单甲醚(857 mg)加入该悬浮液中, 在氮气下搅拌该悬浮液。滴加二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(300  $\mu\text{l}$ ), 于室温下  
15 搅拌该红色的溶液 1 小时, 再于  $40^\circ\text{C}$  搅拌 1 小时。使该溶液冷却至  $20^\circ\text{C}$ , 加入 100 ml 二氯甲烷, 用 1 M 硫酸氢钾将 pH 调至 5。分离各相,  $2 \times 20$  ml 二氯甲烷洗涤水相。用硫酸镁干燥合并的有机相, 然后过滤。减压浓缩滤液, 残留物经硅胶层析纯化, 用乙酸乙酯/乙醇(9:1)作为洗脱剂, 得到 105 mg (9%) 标题化合物;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.27 (d,  $J = 8.3$  Hz, 苯基 CH, 2H), 7.71 (d,  $J = 8.3$  Hz, 苯基 CH, 2H), 4.41 (t,  $J = 4.6$  Hz,  $\text{CO}_2\text{CH}_2$ , 2H), 4.06 (d,  $J = 7.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ , 2H), 3.97 (d,  $J = 7.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ , 2H), 3.78 (t,  $J = 4.8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ , 2H), 3.6-3.7 (m, 15  $\text{CH}_2$ , 30H), 3.52 (m,  $\text{CH}_2\text{O}$ , 2H), 3.34 (s,  $\text{OCH}_3$ , 3H), 2.04 (m, c-己基 CH, 1H), 1.85 (m, c-己基 CH, 1 H), 1.6-1.8 (m, c-己基 CH,  $\text{CH}_2$ , 10 H); 1.0-1.2  
20 (m, c-己基  $\text{CH}_2$ , 10 H), MS ( $\text{FAB}^+$ ): 899 (M+1), 921 (M+Na)。

#### 实施例 21

(E)-3-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸九聚乙二醇甲醚酯

(a) (E)-3-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸

如实施例 1 部分(d), 使 6-氨基 1,3-双(环己基甲基)-5-亚硝基尿嘧啶(得自实施例 1 步骤(c), 2.79 g, 8.00 mmol)还原为 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶, 并与 3-甲酰基肉桂酸(T. Higa, A. J. Krubsack, J. Org. Chem. 1975, 40: 3037-3045, 1.424 g)缩合, 得到(E)-3-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸, 为灰白色固体(1.947 g, 49%), m.p. >350 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)与结构一致。

C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>•0.10 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 68.30; H, 7.00; N, 11.38。实测值: C, 68.33; H, 6.93; N, 11.34。

(b) (E)-3-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸九聚乙二醇甲醚酯

于氮气下, 将(E)-3-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸(得自步骤(a), 0.50 g)在无水 N,N-二甲基甲酰胺(10 ml)中的淤浆加热至几近回流。然后将 N,N'-羰基二咪唑(Aldrich, 0.202 g, 1.22 mmol)加入上述淡黄色的淤浆中, 随着气体的发生, 该淤浆变稀并转为橙色。数分钟后, 该淤浆变成亮黄色并增稠形成为黄色的固体。搅拌该混合物 18 小时, 用二氯甲烷(30 ml)稀释并过滤。用二氯甲烷(30 ml)洗涤该亮黄色固体, 于 40 °C 下干燥, 提供(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(3-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮, 为黄色粉末(0.403 g)。向该化合物(0.40 g, 0.74 mmol)和九聚乙二醇单甲醚(实施例 10 部分(a), 0.350 g)在 N,N-二甲基甲酰胺(10 ml)中的混合物中加入 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(Aldrich, 0.112 g)。于 55 °C 搅拌生成的溶液 20 小时。使该溶液冷却至室温, 通过加入 1 N 盐酸将 pH 调至 7。加入氯仿(50 ml), 用水(2 × 20 ml)洗涤该溶液。用盐水洗涤合并的有机层, 干燥(硫酸镁)并减压浓缩。残留的蜡样固体经硅胶层析, 用 10 % 甲醇/氯仿洗脱, 得到(E)-3-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸九聚乙二醇甲醚酯,

为白色蜡样固体(0.421 g, 63%);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 8.53 (s, 1, 芳基 CH), 8.13 (d,  $J = 7.7$ , 1, 芳基 CH), 和 7.80 (d,  $J = 8.5$ , 1, 芳基 CH), 7.71 (d,  $J = 16$ , 1, CH=), 7.58 (m, 1, 芳基 CH), 6.78 (d,  $J = 15.9$ , 1, CH=), 4.28 (m, 2,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.91 (d,  $J = 7.2$ , 2,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.77 (d,  $J = 7.2$ ,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.68 (m, 2,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.70-3.40 (m, 32, 16  $\text{CH}_2$ ), 3.21 (s, 3,  $\text{CH}_3$ ), 2.1-1.6 和 1.4-1.0 (m, 22, 环己基,  $\text{CH}_2$  和 CH)。

$\text{C}_{47}\text{H}_{72}\text{N}_4\text{O}_{13}$  的分析计算值: C, 62.65; H, 8.05; N, 6.22。实测值: C, 62.57; H, 7.83; N, 6.50

#### 实施例 22

10 (E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸九聚乙二醇甲醚酰胺

(a) 2,5,8,11,14,17,20, 23, 26-九氧代-二十八烷基-28-胺

于  $15\text{ }^\circ\text{C}$ , 将氢氧化钠(8.6 g, 344 mmol 为 95 %)加入六聚乙二醇 (Aldrich, 100 g)的无水四氢呋喃(1000 ml)溶液中。搅拌生成的混合物 1 小时, 同时温热至室温。用 1 小时滴加苄基溴(Aldrich, 59.9 g), 于室温下搅拌生成的混合物 16 小时。用水(200 ml)稀释冷却的混合物, 用乙醚( $3 \times 350\text{ ml}$ )萃取。用水( $2 \times 100\text{ ml}$ )洗涤合并的乙醚萃取物。合并的水层用氯化钠饱和并用二氯甲烷( $4 \times 400\text{ ml}$ )萃取。用饱和氯化钠溶液(200 ml)洗涤合并的二氯甲烷层并干燥(硫酸镁)。减压除去挥发物, 留下六聚乙二醇一苄基醚(80.5 g, 64%);  $^1\text{H-NMR}$  与实施例 10 部分(a)所述的  $^1\text{H-NMR}$  相同。将六聚乙二醇一苄基醚(80.0 g)的无水 THF (750 ml)的溶液加入氢氧化钠(95%, 5.4 g)的四氢呋喃的悬浮液中。于室温下搅拌生成的混合物 30 分钟, 然后滴加三聚乙二醇甲基对甲苯磺酰基醚(如实施例 1 部分(a)所述制备, 68.4 g)的 THF (100 ml)溶液。在氮气下回流该混合物过夜。加入另外的氢氧化钠(2.5 g)并继续回流 24 小时。冷却(冰浴)该混合物, 用水(2 L)淬灭, 用乙醚( $2 \times 200\text{ ml}$ )萃取。用二氯甲烷( $2 \times 250\text{ ml}$ )洗涤水层。干燥(硫酸镁)合并的有机层并浓缩至棕色油状物, 将其通过用二氯甲烷洗涤过的硅胶垫过滤。蒸发二氯甲烷留下为

油状物的九聚乙二醇苄基甲醚(63.1 g, 57%),  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.23 (m, 5, 5 苄基 CH), 4.38 (s, 2, 苄基  $\text{CH}_2$ ), 3.50-3.30 (m, 36, 18  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.13 (s, 3,  $\text{CH}_3$ )。

5 在 Parr 装置中, 于 344.7 kPa (50 psi) 氢气下, 将九聚乙二醇苄基甲醚(10 g, 19.3 mmol) 的乙醇(200 ml) 的溶液与在活性炭上的 10% 的钨 (Aldrich, 1.0 g) 振荡 3 小时。滤除(Celite<sup>TM</sup>) 催化剂, 真空浓缩滤液, 通过蒸发甲苯干燥, 提供为油状的九聚乙二醇单甲醚(8.17 g, 99%),  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 4.56 (t, 1 OH), 3.60-3.35 (m, 36, 18  $\text{OCH}_2$ ), 3.22 (s, 3,  $\text{CH}_3$ )。

10 于 0 °C (冰浴), 将甲苯磺酰氯(1.35 g) 加入九聚乙二醇单甲醚(2.0 g, 4.7 mmol) 的吡啶(15 ml) 溶液中。于室温下搅拌过夜后, 使该混合物冷却至 0 °C, 通过加入 12 N 盐酸调节 pH 至 2。加入水(200 ml), 用二氯甲烷(3 × 50 ml) 洗涤。用盐水洗涤合并的有机层, 干燥(硫酸镁) 并浓缩提供为无色油状物的九聚乙二醇甲基对甲苯磺酰基醚(2.7 g),  
15  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.85 和 7.55 (2d, 4,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 4.18 (m, 2,  $\text{CH}_2\text{OT}_{\text{os}}$ ), 3.7-3.45 (m, 34, 17  $\text{CH}_2$ ), 3.2 (s, 3,  $\text{OCH}_3$ ), 2.40 (s, 3,  $\text{CH}_3$ )。

将叠氮化钠(Aldrich, 0.35 g) 和氢化钠(Aldrich, 20 mg) 加入九聚乙二醇甲基对甲苯磺酰基醚(2.6 g, 4.42 mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺(10 ml) 的溶液中。使该溶液回流 18 小时, 冷却至室温, 用氯仿(50 ml) 稀  
20 释。用水(2 × 10 ml) 洗涤该溶液, 干燥(硫酸镁) 有机层并浓缩至无色油状物(2.25 g), 使该油状物溶于乙醇(100 ml), 在 103.4 kPa (15 psi) 氢气下, 在 Buchi 氢气发生器中与 10% 的钨炭(Aldrich, 200 mg) 一起搅拌 48 小时。通过过滤(Celite<sup>TM</sup>) 除去催化剂, 蒸发溶剂, 留下为无色油状的 2,5,8,11,14,17,20, 23, 26-九氧代-二十八烷基-28-胺(1.59 g, 77%),  
25  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 3.60-3.40 (m, 36, 18  $\text{CH}_2$  和  $\text{NH}_2$ ), 3.20 (s,  $\text{CH}_3$ ); MS (CI) 428 (100%, M+1)。

(b) (E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸九聚乙二醇甲醚酰胺

向 E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(4-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮(实施例 13 部分(a), 0.5 g, 0.92 mmol)和 2,5,8,11,14,17,20, 23, 26-九氧代-二十八烷基-28-胺(本实施例部分(a), 0.43 g, 1.0 mmol)在 N,N-二甲基甲酰胺(10 ml)中的混合物中加入 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(Aldrich, 0.168 g)。于 55 °C 搅拌生成的溶液 18 小时。加入另外的胺(0.43 g), 再加热 20 小时。使生成的溶液冷却至室温, 通过加入 1 N 盐酸将 pH 调至 7.0。加入水(25 ml), 用乙酸乙酯(50 ml)洗涤该溶液。用盐水洗涤有机层, 干燥(硫酸镁)并减压浓缩。经硅胶层析, 用 10 % 甲醇/氯仿洗脱标题化合物。蒸发溶剂留下黄色固体的标题化合物(64 mg, 8%); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.24 (t, 1, NH), 8.15 (d, J = 8.4, 2, 2 芳基 CH), 7.69 (d, J = 8.3, 2, 2 芳基 CH), 7.47 (d, J = 15.5, 1, CH=), 6.75 (d, J = 15.8, 1, CH=), 3.92 (d, J = 7.1, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.78 (d, J = 7.2, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.6-3.3 (m, 36, 18 CH<sub>2</sub>), 3.23 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.0-1.5 和 1.25-0.95 (两者均为 m, 22, 环己基 CH<sub>2</sub> 和 CH)。

C<sub>47</sub>H<sub>73</sub>N<sub>5</sub>O<sub>12</sub>•0.85 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 61.67; H, 8.22; N, 7.65。实测值: C, 61.66; H, 8.07; N, 7.67。

### 实施例 23

(E)-3-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯

(a) (E)-3-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸

通过 J. Perutmattam (Syn. Commun. 1989, 19: 3367-3370)的方法, 如实施例 1 部分(d)经还原 1,6-氨基 1,3-双(环己基甲基)-5-亚硝基尿嘧啶(2.00 g)制备 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶, 接着立即与 3-甲酰基苯甲酸(Aldrich, 1.424 g)缩合, 得到为灰白色固体的标题化合物(2.27 g, 85%), m.p. >250 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)与结构一致。

C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>的分析计算值: C, 67.22; H, 6.94; N, 12.06。实测值: C, 67.10; H, 6.97; N, 12.04。

(b) (E)-3-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯

于氮气下, 将(E)-3-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸(得自本实施例部分(a), 0.500 g)在无水 N,N-二甲  
5 基甲酰胺(10 ml)中的淤浆加热至几近回流。然后将 N,N'-羰基二咪唑  
(Aldrich, 0.213 g)加入上述淡黄色的淤浆中, 随着气体的发生, 该淤浆  
变稀并转为橙色。数分钟后, 该淤浆变成亮黄色并有黄色固体沉淀。  
搅拌该混合物 18 小时, 用二氯甲烷(30 ml)稀释并过滤。用二氯甲烷(30  
10 ml)洗涤该固体, 于 40 °C 下干燥, 提供(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(3-  
(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮, 为黄  
色粉末(0.46 g)。将该固体(0.45 g)、九聚乙二醇单甲醚(得自实施例 10  
部分(a), 0.393 g)和无水碳酸钾(0.242 g)在乙腈(10 ml)中的混合物回流  
搅拌 20 小时。加入氯仿(50 ml), 用 1 N 盐酸(20 ml)洗涤该溶液。用盐  
15 水洗涤有机层, 干燥(硫酸镁)并经硅胶层析。用 10 % 甲醇-氯仿洗脱,  
蒸发溶剂得到(E)-3-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-  
嘌呤-8-基]苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯, 为白色蜡样固体(0.262 g, 38%);  
<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.79 (s)和 8.43 (d, J = 7.9), 8.11 (d, J = 8.0), 7.57  
(m, 各为 1, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4.50 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.99 (d, J = 7.1, 2, CH<sub>2</sub>N), 3.83  
(m, 4, CH<sub>2</sub>N 和 CH<sub>2</sub>O), 3.70-3.40 (m, 32, 16 CH<sub>2</sub>), 3.28 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.1-  
20 1.6 和 1.4-1.0 (两者均为 m, 22, 环己基 CH<sub>2</sub> 和 CH)。

C<sub>45</sub>H<sub>70</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub>•0.52 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 61.05; H, 8.10; N, 6.33。  
实测值: C, 61.05; H, 8.09; N, 6.25。

#### 实施例 24

(E)-4-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]  
25 苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯

(a) (E)-4-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸

通过 J. Perutmattam (Syn. Commun. 1989, 19: 3367-3370)的方法,

如实施例 1 部分(d)经还原 1,6-氨基 1,3-双(环己基甲基)-5-亚硝基尿嘧啶(1.00 g)制备 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶,接着立即与 4-甲酰基苯甲酸(Aldrich, 1.424 g)缩合,得到为灰白色固体的标题化合物(720 mg, 54%), m.p. >300 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)与结构一致。

5           C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>的分析计算值: C, 67.23; H, 6.94; N, 12.06。实测值: C, 67.29; H, 6.98; N, 12.04。

(b) (E)-4-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯

于氮气下,将(E)-4-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸(得自本实施例部分(a), 0.50 g)在无水 N,N-二甲基甲酰胺(10 ml)中的淤浆加热至几近回流。然后将 N,N'-羰基二咪唑(Aldrich, 0.211 g)加入淡黄色的淤浆中,随着气体的发生,该淤浆变稀并转为橙色。数分钟后,该淤浆变成亮黄色并增稠而形成黄色固体沉淀。搅拌该混合物 18 小时,用二氯甲烷(30 ml)稀释并过滤。用二氯甲  
10  二氯甲烷(30 ml)洗涤该亮黄色固体,于 40 °C 下干燥,提供(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(3-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮,为黄色粉末(0.32 g)。将该样品(0.32 g)、九聚乙二醇单甲醚(得自实施例 10 部分(a), 0.277 g)和无水碳酸钾(0.170 g)在乙腈(10 ml)中的混合物回流 20 小时。加入氯仿(50 ml),用 1 N 盐酸(20 ml)洗涤该溶液。  
15  用盐水洗涤有机层,干燥(硫酸镁),用 10 % 甲醇-氯仿从硅胶柱上洗脱。蒸发溶剂留下黄色蜡样固体,使其从乙酸乙酯-己烷中再沉淀。过滤黄色蜡样固体并干燥为(E)-4-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯,为白色蜡样固体  
20  (0.355 g, 65%); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.24 (d, J = 8.4, 2, 2 CH), 8.06 (d, I = 8.6, 2, 2 CH), 4.40 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.90 (d, J = 7.3, 2, CH<sub>2</sub>N) 3.75 (m, 4, CH<sub>2</sub>N 和 CH<sub>2</sub>O), 3.70-3.40 (m, 32, 16 CH<sub>2</sub>), 3.19 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.1-1.6 和 1.4-1.0 (m, 22, 环己基 CH<sub>2</sub> 和 CH)。

C<sub>45</sub>H<sub>70</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub>的分析计算值: C, 61.77; H, 8.06; N, 6.40。实测值: C,

61.55; H, 7.99; N, 6.52。

#### 实施例 25

(E)-2-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯

5 (a) (E)-2-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸

通过 J. Perutmattam (Syn. Commun. 1989, 19: 3367-3370)的方法, 如实施例 1 部分(d)经还原 1,6-氨基 1,3-双(环己基甲基)-5-亚硝基尿嘧啶(2.00 g)制备 1,3-双(环己基甲基)-5,6-二氨基尿嘧啶, 接着立即与 2-甲酰基苯甲酸(Aldrich, 1.424 g)缩合, 得到为灰白色固体的标题化合物(1.22 g, 46%), m.p. 271-274 °C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)与结构一致。

10 C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>的分析计算值: C, 67.22; H, 6.94; N, 12.06。实测值: C, 67.25; H, 6.99; N, 12.11。

15 (b) (E)-2-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯

通过实施例 24 部分(b)的方法, 使(E)-2-[(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸(得自本实施例部分(a), 0.100 g)转化为(E)-2-[1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]苯甲酸九聚乙二醇甲醚酯, 为琥珀色油状物(0.082 g, 43%); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7.80-7.50 (m, 4, 4 芳族的 CH), 4.20 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.80-3.60 (m, 4, 2CH<sub>2</sub>N), 3.50-3.20 (m, 34, 17 CH<sub>2</sub>), 3.20 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 1.9-1.4 和 1.2-0.8 (m, 22, 环己基)。

20 C<sub>45</sub>H<sub>70</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub>•0.85 EtOAc•0.64 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 60.50; H, 8.18; N, 5.83。实测值: C, 60.50; H, 8.19; N, 5.83。

25 实施例 26

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-6-氧代-2-硫代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸九聚乙二醇甲醚酯

通过实施例 24 部分(b)的方法, 使(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-

1,2,3,6-四氢-6-氧代--2-硫代-9H-嘌呤-8-基)肉桂酸(WO96/04280, 500 mg, 0.99 mmol)与九聚乙二醇甲醚酯化, 分离为黄色蜡样固体的标题化合物(0.145g, 20%), <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.17 (d, J = 8.4, 2, 2 芳基 CH), 7.90 (d, J = 8.4, 2, 2 芳基 CH), 7.69 (d, J = 15.9, 1, CH=), 6.77 (d, J = 16.1, 1, CH=), 4.53 (d, J = 7.0, 2, CH<sub>2</sub>N), 4.40 (d, J = 7.0, 2, CH<sub>2</sub>N), 4.25 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.70 (m, 2, CH<sub>2</sub>O), 3.6-3.3 (m, 32, 16 CH<sub>2</sub>), 3.23 (s, 3, CH<sub>3</sub>), 2.4-2.0(2m, 2, 环己基的 2CH)和 1.80-1.60 和 1.20-1.0 (两者均为 m, 20, 环己基 CH<sub>2</sub>)。

C<sub>47</sub>H<sub>73</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>S•0.89 H<sub>2</sub>O 的分析计算值: C, 60.49; H, 7.97; N, 6.00; S, 3.44。实测值: C, 60.49; H, 7.70; N, 6.31; S, 3.55。

#### 实施例 27

(E)-4-(1,3-双(环己基甲基)-1,2,3,6-四氢-2,6-二氧代-9H-嘌呤-8-基]肉桂酸九聚乙二醇甲醚酯

将九聚乙二醇单甲醚(得自实施例 10 步骤(a), 57.8 g, 135 mmol)加入(E)-1,3-双(环己基甲基)-8-(3-(2-(1H-咪唑-1-基羰基)乙烯基)苯基)-9H-嘌呤-2,6(1H, 3H)-二酮(60.75 g, 0.112 mol)和碳酸钾(31.0 g, 0.225 mol)在乙腈(650 ml)中的混合物中。将该混合物回流 18 小时, 冷却至室温, 用氯仿(1200 ml)稀释。用 1 N 盐酸(800 ml)、水(500 ml)和盐水(2 × 200 ml)洗涤氯仿溶液并干燥(硫酸镁)。蒸发氯仿留下为黄色蜡样固体的粗品标题化合物。将该固体经硅胶层析两次, 第一次用 10% 甲醇-氯仿及第二次用 10% 甲醇-乙酸乙酯作为洗脱剂, 得到为黄色蜡样固体的标题化合物。自氯仿-己烷中再次沉淀并真空干燥得到为黄色蜡样固体的标题化合物(64.5 g, 65%)。<sup>1</sup>H-NMR 与实施例 10 部分(b)中所述样品相同。

C<sub>47</sub>H<sub>72</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub> 的分析计算值: C, 62.65; H, 8.05; N, 6.22。实测值: C, 62.33; H, 7.94; N, 6.25。

#### 药用制剂实施例

在下面的实施例中，“活性成分”可以为任何式(I)化合物或其药  
学上可接受的盐或其溶剂化物，优选实施例 2 - 26 的化合物。

(1) 片剂制剂

(i) 口服

	mg/片		
	A	B	C
活性成分	25	25	25
Avicel™	13	-	7
乳糖	78	47	-
淀粉(玉米)	-	9	-
淀粉(预胶化的, NF15)	-	-	32
淀粉甘醇酸钠	5	-	-
Povidone™	3	3	-
硬脂酸镁	1	1	1
	125	85	65

5

(ii) 舌下含片

	mg/片	
	D	E
活性成分	25	25
Avicel™	10	-
乳糖	-	36
甘露醇	51	57
蔗糖	-	3
阿拉伯胶	-	3
Povidone™	3	-
硬脂酸镁	1	1
	90	125

通过将前面六种成分与 Povidone™ 混合制成湿粒，接着加入硬脂

酸镁并压片制备制剂 A 至 E。

(iii) 颊含片

	mg/片
活性成分	25
羟丙基甲基纤维素(HPMC)	25
Polycarbophil™	39
硬脂酸镁	1
	90

通过对混合的成分直接压片可以制备该制剂。

5

(2) 胶囊制剂

(i) 粉末

	mg/胶囊	
	F	G
活性成分	25	25
Avicel™	45	-
乳糖	153	-
淀粉(1500 NF)	-	117
淀粉甘醇酸钠	-	6
硬脂酸镁	2	2
	225	150

通过混合活性成分并将所得混合物填充到两节的硬明胶胶囊中可以制备制剂 F 和 G。

10

(ii) 液体填充

	mg/ 胶囊	
	H	I
活性成分	25	25

大粒凝胶 4000 BP	200	-
卵磷脂	-	100
花生油	-	100
	225	225

通过使 Macrogol™ 4000 BP 融化，将活性成分分散于熔化物中并填充到两节的硬明胶胶囊中可以制备制剂 H。通过使活性成分分散于卵磷脂和花生油中并分散填充到软塑明胶胶囊中可以制备制剂 I。

5 (iii) 控释

	mg/片
活性成分	25
Avicel™	123
乳糖	62
柠檬酸三乙酯	3
乙基纤维素	12
	225

通过将前面 4 种成分混合并挤压，再使压出物团成球状并干燥，可以制备该制剂。干燥的微粒可用乙基纤维素作为控释膜包衣并填充到两节的硬明胶胶囊中。

(3) 静脉注射制剂

10 (i)

	%(重量)
活性成分	2%
氢氧化钠	q.s.至 pH 7
注射用水	至 100%

将活性成分溶于柠檬酸盐缓冲液中，加入足量的盐酸使该溶液的 pH 调至 7。使生成的溶液达到一定的体积并通过微孔过滤器过滤到无菌玻璃小瓶中并密封及全密封。

实施例 G：供吸入的粉末胶囊

活性成分(0.5-7.0 $\mu$ m 粉末) 1.0 mg

乳糖(30-90 $\mu$ m 粉末) 49.0 mg

将粉末混合制均匀并填充到适当大小的硬明胶胶囊(每胶囊 50 mg)中。

5

实施例 H：吸入气溶胶

活性成分(0.5-7.0 $\mu$ m 粉末) 50.0 mg

脱水山梨醇三油酸酯 100.00 mg

糖精钠(0.5-7.0 $\mu$ m 粉末) 5.0 mg

甲醇 2.0 mg

三氯氟代甲烷 4.2 g

二氯氟代甲烷 至 10.0 ml

将脱水山梨醇三油酸酯和甲醇溶于三氯-氟代甲烷中。使糖精钠和活性成分分散于该混合物中，然后移入合适的气溶胶罐中，通过阀系统注入二氯氟代甲烷。该制剂每 100  $\mu$ l 剂量提供 0.5 mg 活性成分。

10

生物学活性

1) 角叉藻聚糖胸膜炎测定

通过 Vinegar, R 等(Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1981, 168, 24-32)的方法，采用雄性 Lewis 大鼠(150 $\pm$ 20 g)，测定本发明化合物的抗炎活性。按 0.075 mg/鼠剂量给予角叉藻聚糖。注射角叉藻聚糖后 4 小时收集胸膜炎渗出液。通过对阴性(溶媒)对照组胸膜水肿和炎症细胞(中性白细胞)的抑制来测定急性抗炎活性。

15

2) 乙酸结肠炎测定

采用 Fretland, D.等(1990, 255-576)的方法，采用雄性 Lewis 大鼠(275 $\pm$ 25 g)，在乙酸结肠炎大鼠模型中测定本发明化合物的抗炎活性。

20

- 口服或直肠给予化合物 24、16 和 4 小时后，40 秒钟后，在轻度麻醉下，在结肠近端 6 cm 处滴注 3 % 乙酸溶液。立即用 5 cc 盐水洗涤该结肠。24 小时后处死大鼠，切除近端结肠 6cm 并对水肿称重。通过检测自上述大鼠中刮下的结肠粘膜的 MPO 水平测定中性白细胞性炎症。通过与阴性对照组(溶媒)比较对水肿形成和粘膜 MPO 水平的抑制来测定抗炎活性。

### 结果

			角叉藻聚糖 胸膜炎(4hr)		乙酸结肠炎 (24hr)	
化合物	PEG	n (或均数)	局部 ED <sub>50</sub> (mg/鼠)		活性剂量(mg/kg)(途径)	
			细胞	水肿	MPO	组织重量
地塞米松			0.02	0.015	0.03(ic)	0.17(ic)
实施例 9	CH <sub>3</sub>	10	0.02	0.2	5.0(ic)	5.0(ic)
实施例 10	CH <sub>3</sub>	9	0.5	0.5	50(po)	50(po)
实施例 15	CH <sub>3</sub>	15 或 16	0.4	0.2	50(po)	无活性 (50,po)
实施例 14	CH <sub>3</sub>	41.5	无活性 0.5	0.5	NT	NT
实施例 18	OH	13	0.1	0.1	NT	NT
实施例 17	OH	18.9	0.1	0.1	NT	NT
实施例 16	OH	32.2	0.2	0.2	NT	NT

NT = 未检测

10 ic = 结肠内给药

po = 口服给药

在两种测定中，所述母体酸(如对比实施例 1 的化合物)均为无活性的

15 3) 体内脓毒性休克模型：C Parvum/LPS 休克

对雄性 CD-1 小鼠(25-30 g) (Charles River: Raleigh, NC) 静脉注射 (i.v.) 100 µg 灭活的 C Parvum (Coparvax; Burroughs Wellcome, RTP,

NC)。10天后，在镇痛剂布托啡诺(butorphenol) (150 µg/鼠)存在下，用 20 µg 大肠杆菌 026:B6 脂多糖(LPS; Difco Labs, Detroit, MI)对小鼠静脉注射。

5 将试验化合物溶于二甲亚砜并稀释到 0.5%甲基纤维素中，然后在 LPS 给予前 2 小时口服给予或与 LPS 同时给予。

结果

化合物(口服剂量)	存活/总数	%存活率
对照	0/8	0
实施例 9(75 mg/kg)	4/8	50
参照实施例 1(75 mg/kg)	2/8	25