



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103764608 B

(45) 授权公告日 2016.02.03

(21) 申请号 201280035083.7

(22) 申请日 2012.07.20

(30) 优先权数据

61/510,628 2011.07.22 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014.01.15

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IE2012/000037 2012.07.20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/014659 EN 2013.01.31

(73) 专利权人 贝南蒂乌斯有限公司

地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 H·谢里登 N·弗兰基什

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 过晓东

(51) Int. Cl.

C07C 65/19(2006.01)

A61K 31/192(2006.01)

A61P 1/00(2006.01)

(56) 对比文件

US 2002/0128256 A1, 2002.09.12, 全文.

Neil Frankish et al.6-(Methylamino)

hexane-1,2,3,4,5-pentanol 4-(((1S,

2S)-1-Hydroxy-2,3-dihydro-1H,1'

H-[2,2-biinden]-2-yl)methyl)benzoate

(PH46A):A Novel Small Molecule With

Efficacy In Murine Models Of Colitis.

《Journal of Medicinal Chemistry》.2012,第55

卷(第11期),第5497-5505页.

Neil Frankish et al.6-(Methylamino)

hexane-1,2,3,4,5-pentanol 4-(((1S,

2S)-1-Hydroxy-2,3-dihydro-1H,1'

H-[2,2-biinden]-2-yl)methyl)benzoate

(PH46A):A Novel Small Molecule With

Efficacy In Murine Models Of Colitis.

《Journal of Medicinal Chemistry》.2012,第55

卷(第11期),第5497-5505页.

审查员 吴志威

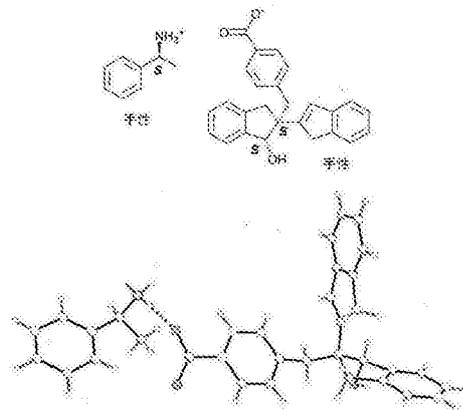
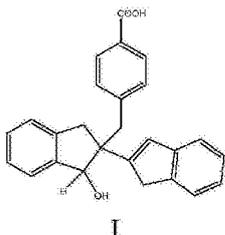
权利要求书1页 说明书29页 附图15页

(54) 发明名称

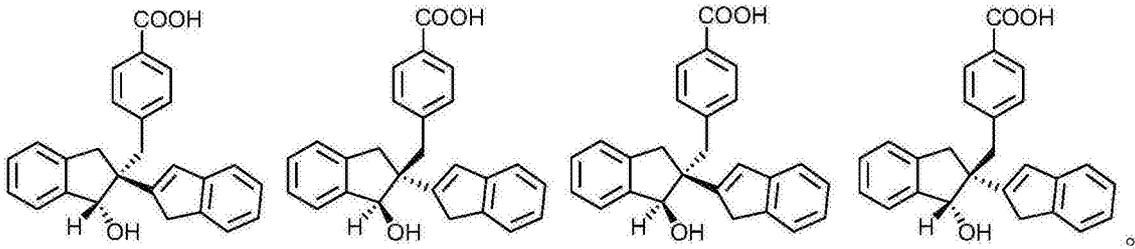
用于治疗炎性肠病的茛苳生物

(57) 摘要

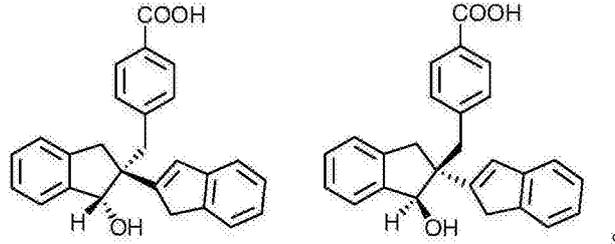
本发明描述结构式 I 的化合物。本发明还提供式 I 的化合物的药理学可接受的异构体和盐。所述化合物可用于治疗炎性肠病。



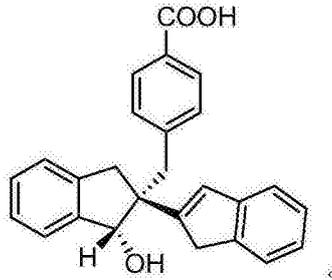
1. 下式的化合物及其药学可接受的盐



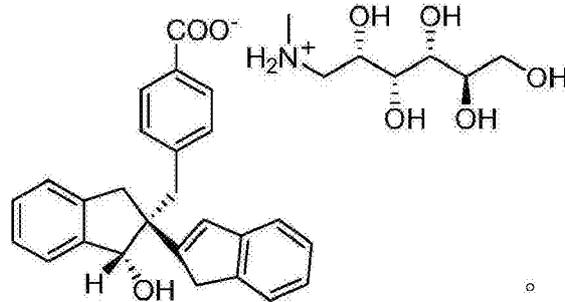
2. 下式的化合物及其药学可接受的盐



3. 下式的化合物及其药学可接受的盐



4. 下式的化合物的 N-甲基-(D)-葡萄糖胺盐：



5. 一种药物组合物,其包含有效量的权利要求 1-4 中任一项的化合物以及药学可接受的载体。

6. 权利要求 1-4 中任一项的化合物在制备用于预防或治疗炎性肠病的药物中的用途。

7. 权利要求 1-4 中任一项的化合物在制备用于预防或治疗溃疡性结肠炎的药物中的用途。

8. 权利要求 1-4 中任一项的化合物在制备用于预防或治疗克隆病的药物中的用途。

用于治疗炎性肠病的茚衍生物

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗炎性肠病的新化合物。

背景技术

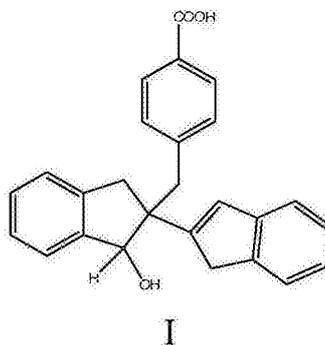
[0002] 炎性肠病 (IBD) 由两种特发性炎性疾病组成, 溃疡性结肠炎 (UC) 和克隆病 (CD)。UC 与 CD 之间最大的区别在于发炎的肠组织的范围。CD 中的炎症是不连续分节的, 已知为区域性肠炎, 而 UC 则是浅表性炎症, 其邻近且连续地从直肠延伸。目前, IBD 的确切原因尚不了解。这种疾病看起来与对促炎性和免疫调节分子的不平衡引起的肠上皮感染的扩大粘膜免疫应答相关。IBD 的遗传模式提示病理发病机理的复杂遗传组分, 其可以由几种组合的遗传突变组成。目前还没有 IBD 的特异性诊断测试, 但是关于发病机理的了解有所进步, 我们的测试方法也是如此。IBD 的治疗由诱导和维持缓解组成。IBD 患者可以通过使用 5-氨基水杨酸来维持缓解。然而, 虽然在 UC 中使用氨基水杨酸提供相当的益处, 但是在轻度至中度疾病的诱导缓解以及预防复发中, 这些药物维持 CD 中的缓解的用处尚持有疑问, 并且不再推荐。活性疾病治疗的主要使用皮质甾类, 其通常使用有限的时间以使得 UC 和 CD 患者回到缓解, 虽然设计为有限的全身吸收的局部给药的布地奈德对于维持缓解不再有益处。诸如免疫抑制药物硫唑嘌呤和巯嘌呤以及甲氨蝶呤和环孢素的替代选择的效力是有限的并且会诱导严重的副作用。抗 TNF α 抗体如英利昔单抗和阿达木单抗可以用于对标准免疫抑制疗法无应答的患者。但是, 许多患者对于抗 TNF α 疗法没有应答, 这是由于他们特定的表型或产生自身抗体。

发明内容

[0003] 本发明提供用于治疗包括克隆病和溃疡性结肠炎在内的炎性肠病的化合物。

[0004] 特别地, 本发明提供结构式 I 的化合物:

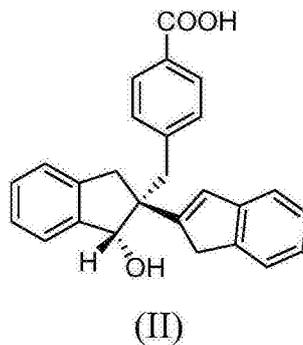
[0005]



[0006] 本发明还提供式 (I) 的化合物的药理学可接受异构体和盐 - 化合物 1。

[0007] 特别地, 本发明提供结构式 II 所示的相对立体化学的化合物:

[0008]



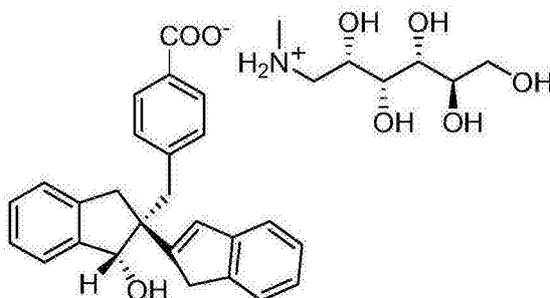
[0009] 本发明还提供式 (II) 的化合物的药理学可接受盐 - 化合物 2。

[0010] 活性对映体已经通过它们的物理和化学性质并且通过普通和手性 HPLC 保留数据进行分光光度表征。

[0011] 据发现特定的对映体形式对于治疗 IBD 特别有效。

[0012] 本发明还提供式 III 的化合物的 N-甲基-(D)-葡糖胺盐：

[0013]



(III, 化合物 6)

[0014] 本发明的化合物可以多于一种形式结晶。这种特征称为多晶型现象,因此这样的多晶型(“多晶型物”)在本发明的范围内。多晶型现象通常可以由于温度、压力或这两者的改变而发生。多晶型现象还可以源自结晶方法的变化。多晶型可以通过本领域已知的各种物理特征如 X 射线衍射图样、溶解性和熔点相区别。

[0015] 本文所述的某些化合物能够以立体异构体存在。本发明的范围包括立体异构体的混合物以及纯化或富集的混合物。本发明的范围还包括本发明的化合物的单独的异构体以及它们的任何整体或部分平衡的混合物。本发明的某些化合物包含一个或多个手性中心。因此,本发明包括本发明的化合物的外消旋物、纯化的对映体和对映体富集的混合物。本发明的化合物包括外消旋和手性茛菪满二聚体。

[0016] 术语药学可接受的盐所涵盖的盐指本发明的化合物无毒的盐。本发明的化合物的盐可以包括酸加成盐。

[0017] 本发明包括本发明的任何化合物的溶剂化物。术语溶剂化物指由溶质(在本发明中为本发明的化合物或者其盐或生理学功能性衍生物)与溶剂以可变化学计量比形成的复合物。用于本发明目的的此类溶剂应当不干扰溶质的生物学活性。合适溶剂的非限制性实例包括但不限于水、甲醇、乙醇和乙酸。优选地,所用的溶剂为药学可接受的溶剂。合适的药学可接受的溶剂的非限制性实例包括水、乙醇和乙酸。最优选地,所用的溶剂为水。

[0018] 本发明包括本发明的任何化合物的前药。术语前药指本发明化合物的任何药学可

接受的衍生物,其在向哺乳动物给药时能够(直接或间接)提供本发明的化合物或其活性代谢物。这样的衍生物如酯和酰胺是本领域技术人员已知的。

[0019] 本发明还提供药物组合物,其包含任何上述的化合物。

[0020] 活性化合物可以存在于合适剂量的用于人的药物中以实现期望的效果。例如,最终剂量可以为0.1-10mg/kg。

[0021] 可以散装(bulk)活性化学品的形式给药本发明的化合物。但是优选以药物制剂或组合物的形式给药所述化合物。这样的制剂可以包含一种或多种药学可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

[0022] 本发明的化合物可以若干不同方式给药。所述化合物可以口服给药。用于口服给药的优选药物制剂包括片剂、胶囊、囊片、溶液、混悬剂或糖浆。

[0023] 药物制剂可以提供为改进释放的形式,例如延时释放胶囊剂或片剂。

[0024] 药物可以口服、肠胃外、鼻内、透皮给药或通过吸入给药。

[0025] 药物制剂可以适合于通过任何合适的途径给药,例如通过口服(包括含服或舌下)、直肠、鼻、局部(包括含服、舌下或透皮)、阴道或肠胃外(包括皮下、肌肉内、静脉内或皮内)途径。这样的制剂可以通过使活性成分与载体或赋形剂缔合来制备。

[0026] 适合于口服给药的药物制剂可以呈现为离散单元,如胶囊或片剂;粉末或颗粒;溶液或混悬剂,各自具有水性或非水性液体;可食用泡沫或条(whip);或者水包油液体乳液或油包水液体乳液。对于片剂或胶囊形式的口服给药,活性药物组分可以与口服的无毒药物可接受的惰性载体如乙醇、甘油、水等组合。粉末可以通过将化合物粉碎成合适的细微尺寸并与合适的药物载体如可食用碳水化合物如淀粉或甘露醇混合来制备。也可以包含调味剂、防腐剂、分散剂和着色剂等。

[0027] 可以通过制备粉末、液体或悬浮液混合物并包裹在明胶或其他合适的壳物质内来制备胶囊。可以将润滑剂如胶体硅、滑石、硬脂酸镁、硬脂酸钙或固体聚乙二醇加入混合物。还可以加入崩解剂或增溶剂如碳酸钙或碳酸钠以在消化胶囊时提高药物的可用性。还可以将其他物质如粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂掺入混合物。合适的粘合剂的实例包括淀粉、明胶、天然糖、玉米甜味剂、天然和合成树胶、黄芪胶、或者藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇等。这些剂型的合适的润滑剂包括例如油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。合适的崩解剂非限制性地包括淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶等。

[0028] 可以通过制备粉末混合物,制粒混合物,加入润滑剂和崩解剂并压制为片剂来制备片剂。可以通过将适当粉碎的化合物与上述稀释剂或碱混合来制备粉末混合物。任选存在的成分包括粘合剂如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶或聚乙烯吡咯烷酮,溶液阻滞剂如石蜡,吸收促进剂如季盐,和/或吸收剂如膨润土、白陶土等。粉末混合物可以用粘合剂如糖浆、淀粉糊或者纤维素或聚合物材料的溶液湿法制粒,并且通过筛进行压制。

[0029] 本发明的化合物还可以与自由流动的惰性载体组合并直接压缩为片剂而不进行其他步骤如制粒。可以提供由合适材料如虫胶、糖或聚合材料的密封包衣以及抛光包衣如蜡组成的透明或不透明的保护包衣。若合适,将着色剂加入这些包衣以区分不同单元剂量。

[0030] 口服液体如溶液、糖浆和酞剂可以制备为剂量单位形式,从而给定的量包含预定量的化合物。糖浆可以例如通过将化合物溶于适当调味的水溶液来制备,而酞剂通过使用无毒的醇媒介物来制备。混悬剂可以通过将化合物分散于无毒的媒介物中来配制。还可以

加入增溶剂和乳化剂如乙氧基化异硬脂醇和聚氧乙烯山梨醇醚,防腐剂;调味剂如薄荷油、或天然甜味剂、糖精、或其他人工甜味剂;等。

[0031] 在适当时,用于口服给药的剂量单位制剂可以微胶囊化。还可以制备制剂以延长或持续释放,例如通过将颗粒物质包衣或包埋在合适的聚合物、蜡等中。

[0032] 本文所述的化合物及其盐、溶剂化物和生理功能衍生物还可以以脂质体递送系统的形式给药,例如小单层囊泡、大单层囊泡和多层囊泡。脂质体可以由各种磷脂形成,例如胆固醇、硬脂胺或磷脂酰胆碱。本发明的化合物及其盐、溶剂化物和生理功能衍生物还可以通过使用单克隆抗体作为单独载体来递送,所述化合物分子偶联至所述单克隆抗体。

[0033] 化合物还可以与作为可靶向的药物载体的可溶性聚合物偶联。这类聚合物可以包括例如聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。化合物还可以偶联至生物可降解的聚合物,实现药物的控释。这类聚合物包括聚乳酸、聚氰基丙烯酸酯和水凝胶的嵌段共聚物。

[0034] 适合透皮给药的药物制剂可以作为分散贴剂呈递以保持与患者的皮肤/表皮紧密接触延长的时间。例如,活性成分可以通过离子导入从贴剂递送。

[0035] 适合局部给药的药物制剂可以配制为软膏剂、乳膏剂、混悬剂、洗剂、散剂、溶液剂、糊剂、凝胶剂、喷雾剂、气雾剂或油。对于外部组织的治疗,制剂可以作为局部软膏剂或乳膏剂施用。

[0036] 对于口中的局部给药,制剂可以包括锭剂(lozenge)、锭剂(pastille)和漱口水。

[0037] 对于鼻给药,可以使用具有例如20-500微米粒径的粉末。粉末可以通过靠近鼻子的粉末容器快速吸入通过鼻道来给药。作为鼻喷雾剂或滴鼻剂用于给药的合适制剂(其中载体为液体)包括活性成分的水性或油性溶液。

[0038] 适合通过吸入给药的药物制剂包括精细颗粒粉尘或雾,其可以通过计量剂量加压气溶胶、喷雾器或吹入器等制备。

[0039] 对于直肠给药,制剂可以作为栓剂或灌肠剂呈递。

[0040] 对于阴道给药,制剂可以为阴道栓剂、卫生棉条、乳膏剂、凝胶剂、喷雾剂等形式。

[0041] 对于肠胃外给药,制剂可以为水性和非水性无菌注射溶液剂,其可以包含各种添加剂如抗氧化剂、缓冲剂、制菌剂和使得制剂与预期的受者血液等渗的溶质;以及水性和非水性无菌混悬剂,其可以包括悬浮剂和增稠剂。制剂可以存在于单位剂量或多剂量容器中,例如密封安瓿和小瓶,并且可以储存在冷冻干燥(冻干)条件下,仅需在使用之前即时添加无菌液体载体,例如注射用水。临时注射溶液或悬浮液可以制备自无菌粉末、颗粒等。

[0042] 本发明的化合物及其盐、溶剂化物和生理功能衍生物可以单独使用,或者与其他治疗剂联用。本发明的化合物和其他药学活性物质可以一起或单独给药。如果单独给药,给药可以同时或者以任何次序顺序进行。选择本发明的化合物和其他药学活性物质的量以及给药的相对时间以实现期望的联合治疗效果。本发明的化合物及其盐、溶剂化物或生理功能衍生物与其他治疗剂的联合给药可以通过在包含两种化合物的单一药物组合物中或者在各自包含化合物之一的单独的药物组合物中同时给药来联合。在某些情况下,药物的组合可以以顺序方式分别给药,其中一种物质首先给药,而第二物质第二或周围的其他方式给药。这样的给药可以在相似的时间表或较长的时间进行。

附图说明

[0043] 从以下仅通过实例方式给出的说明会更清楚地理解本发明,其中:

[0044] 图 1 为 X-射线晶体结构,示出对映体化合物 4(R)-(+) - 甲基苄基胺盐(化合物 9)的绝对立体化学;

[0045] 图 2 为 X-射线晶体结构,示出对映体化合物 2(S)-(-) - 甲基苄基胺盐(化合物 8)的绝对立体化学;

[0046] 图 2A 是来自晶体结构的化合物 8 分子的视图,示出采用的编号方案。据显示非氢原子的各向异性原子位移椭球在 50% 概率水平。用任意小半径表示氢原子。仅示出主要的无序组分;

[0047] 图 3 为 30mg/kg 的化合物 2、3、4 和 5 在 5%DSS 结肠炎中于 7 天中 对疾病活动指数 (DAI) 的影响图;

[0048] 图 4 为 30mg/kg 的化合物 2、3、4 和 5 在 5%DSS 结肠炎中于 7 天中对疾病活动指数 (DAI) 的影响的条形图;

[0049] 图 5 为 10mg/kg 的化合物 5、7、2 和 6 在 5%DSS 结肠炎中于 7 天中对疾病活动指数 (DAI) 的影响图;

[0050] 图 6 为 10mg/kg 的化合物 5、7、2 和 6 在 5%DSS 结肠炎中于 7 天中对疾病活动指数 (DAI) 的影响的条形图。星号表示与媒介物对照组显著 ($P < 0.05$) 差异 (单向 ANOVA)。

[0051] 图 7 为示出化合物 6 在 5%DSS 处理的小鼠中对体重减轻的影响图。数据是来自 6-7 只小鼠 / 组的平均值 \pm SEM;

[0052] 图 8 为示出化合物 6 在 5%DSS 处理的小鼠中对 DAI 的影响图。数据是来自 6-7 只小鼠 / 组的平均值 \pm SEM;

[0053] 图 9 为示出第 7 天化合物 6 在 5%DSS 处理的小鼠中对 DAI 的影响的条形图。数据为平均值 \pm SEM。星号表示与媒介物对照组显著 ($P < 0.05$) 差异 (单向 ANOVA);

[0054] 图 10 为示出第 7 天化合物 6 在 5%DSS 处理的小鼠中对结肠长度的影响的条形图。星号表示与媒介物对照组显著 ($P < 0.05$) 差异 (单向 ANOVA);

[0055] 图 11 示出来自小鼠末端结肠的代表性的苏木精和伊红染色的切片。示出较高的放大倍数 (X10);

[0056] 图 12 为示出化合物 6 对来 DSS 处理的小鼠的结肠的组织学评分的影响的条形图。数据是来自 5-6 只小鼠的平均值 \pm SEM。星号表示与媒介物对照组显著 ($P < 0.05$) 差异 (单向 ANOVA)。注意,最大评分 10;

[0057] 图 13 为条形图,其示出未处理的或者媒介物、泼尼松龙和化合物 6 处理的暴露于 5%DSS 的小鼠的结肠中的髓过氧化物酶 (MPO) 活性。数据是 5-6 只小鼠的平均值 \pm SEM。星号表示与媒介物对照组显著 ($P < 0.05$) 差异 (单向 ANOVA);

[0058] 图 14(A)-(C) 为示出化合物 6 在用 DSS 处理的小鼠中对细胞因子 (IL1 β 、TNF α 和 IL6) 水平的影响的条形图。数据是 5-6 只小鼠的平均值 \pm SEM。星号表示与媒介物对照组显著 ($P < 0.05$) 差异 (单向 ANOVA);

[0059] 图 15 为示出用媒介物或化合物 6 处理的 IL10^{-/-} 小鼠的体重减轻的图。按照周一 / 周三 / 周五 (MWF) 剂量给药时间表向小鼠口服给药化合物 6 (300mg/kg/周) 或媒介物。小鼠在实验开始时为 ~ 4 周龄,并且将其处理 9 周。将小鼠每周称重,并且数据呈现为 9-12 只小鼠 / 组的平均值 \pm SEM。监测小鼠的明显疾病、直肠脱垂,并且将垂死的动物人道地杀

死；

[0060] 图 16 为散点图,其示出来自第 9 周存活的动物(在化合物 6 或媒介物处理的组中分别为 11 和 9 只小鼠)的单独小鼠的血清淀粉样蛋白 A(SAA) 水平。学生 t- 测试用来测试组之间的统计学差异；

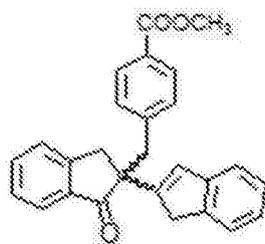
[0061] 图 17 为用媒介物或化合物 6 处理 9 周的 IL10^{-/-} 小鼠的末端结肠的代表性苏木精和伊红染色的切片；以及

[0062] 图 18 为散点图,其示出用媒介物或化合物 6 处理的 IL10^{-/-} 小鼠的末端结肠的组织学评分。散点图示出第 9 周存活的动物(在化合物 6 或媒介物处理的组中分别为 11 和 9 只小鼠)的单独小鼠的组织学评分。学生 t- 测试用来测试组之间的统计学差异。

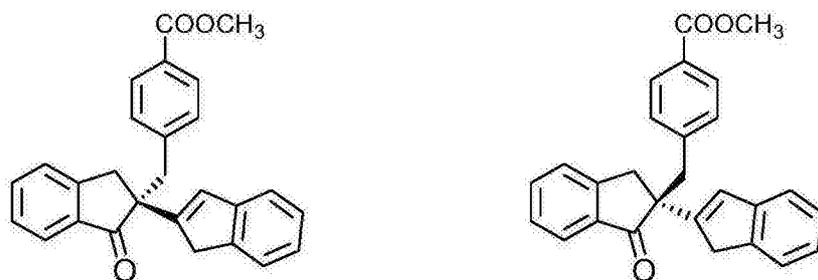
具体实施方式

[0063] 化合物 1 表示由酮化合物 A 的还原和去甲基化所获得的一对非对映体,所述化合物 A 具有 C-2 处的手性中心,并且结果是一对对映体。

[0064]



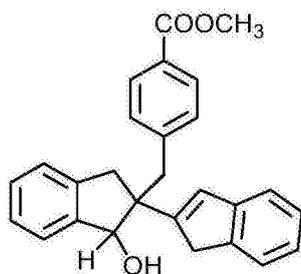
化合物 A



化合物 A 的对映体

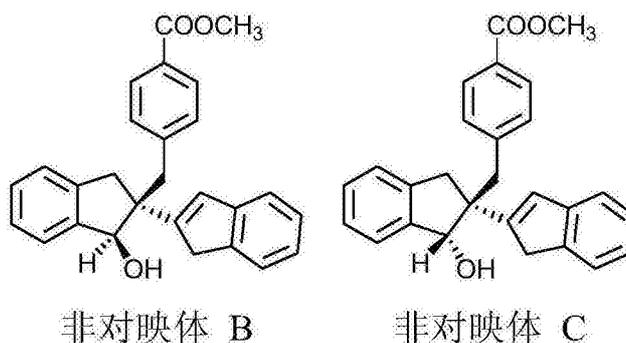
[0065] 用 LiAlH₄还原这种化合物获得下式的化合物

[0066]



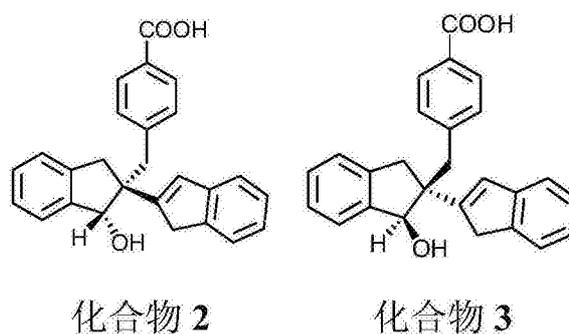
[0067] 这种化合物包含两种非对映体：

[0068]



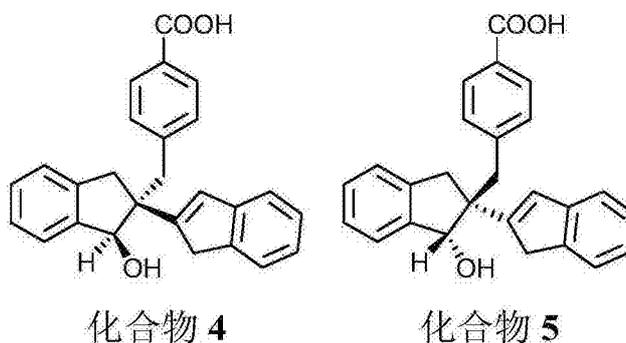
[0069] 非对映体 B 的水解产生化合物 2 和 3

[0070]



[0071] 非对映体 C 的水解产生化合物 4 和 5

[0072]



[0073] 非对映体可以化学或色谱拆分为它们的组成对映体。

[0074] 化合物 4 的绝对立体化学已通过化合物 4(R)-(+) - 甲基苄基胺盐 (化合物 9) 的单晶 X-射线建立 (图 1)。

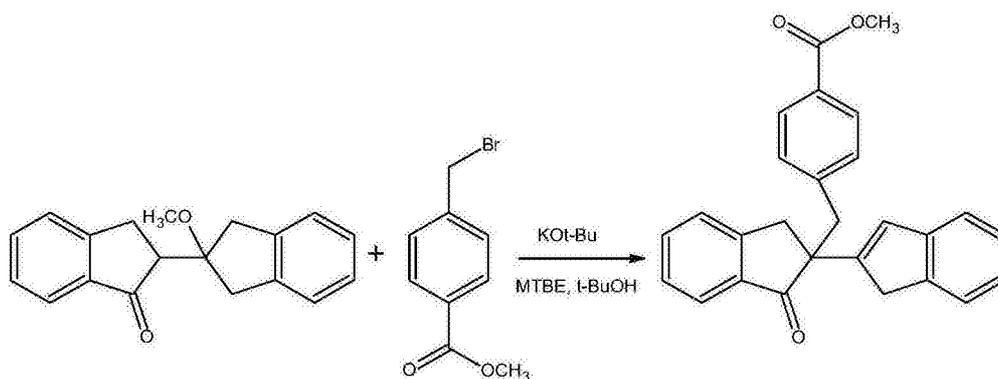
[0075] 通过化合物 2(S)-(-) - 甲基苄基胺盐 (化合物 8) 的单晶 X-射线证实化合物 2 的绝对立体化学 (图 2 和 2A)。

[0076] 一般反应方法

[0077] 如下文示例的对映体混合物的偶联的一般合成过程描述于 W09720806A, 其内容整体援引加入本文。

[0078] 酸衍生物化合物 A 的一般制备

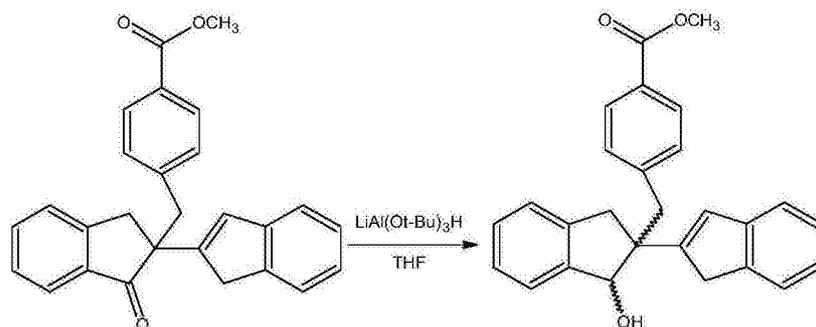
[0079]



[0080] 在氮气下向搅拌的偶联产物 (4mmol, 1.00g) 在叔丁醇 (5mL) 和二乙醚 (30mL) 中的溶液中加入 (4-溴甲基) 苯甲酸甲酯 (6mmol, 1.41g)。向其中缓慢地滴加叔丁醇钾在叔丁醇 (30mL) 和二乙醚 (5mL) 中的溶液。随着每滴, 混合物变为黄色, 然后恢复到原来的灰色。将混合物再搅拌 3 小时, 直至 TLC(80:20, 己烷: 乙酸乙酯) 显示没有起始原料。通过加入饱和 NH_4Cl 来终止反应。分离层, 并且将水层用二乙醚萃取 (2x120mL)。将合并的有机层用水、盐水洗涤, 在 MgSO_4 上干燥并蒸发。在去除大部分溶剂时固体产物从粗产物沉淀。将其滤去并用冷二乙醚洗涤以获得 0.98g (62%) 膏状固体。

[0081] 苯甲酸甲酯化合物的还原

[0082]



[0083] 向搅拌的苯甲酸甲酯化合物 (1.27mmol, 0.50g) 在 THF (15mL) 中的溶液中缓慢地分批加入三叔丁氧基氢化铝锂 (1.9mmol, 0.48g)。通过 TLC(80:20, 己烷: 乙酸乙酯) 监测反应, 并且 3h 后已消耗所有起始原料。

[0084] 通过倒在冰上来终止反应, 并且通过将水性混合物与乙酸乙酯搅拌 10-15min, 然后倒入分液漏斗, 然后将其分离来将粗产物萃取入乙酸乙酯中。将合并的有机层用水、盐水洗涤, 在 MgSO_4 上干燥并蒸发以给出 0.34g (68%) 膏状黄褐色固体。产物分离为约 2:1 比例的两种非对映体的混合物。

[0085] 两种非对映体的混合物的分析结果

[0086] 纯度 (HPLC): 94.9% (作为 2:1 比例的非对映体)

[0087] δ_{H} (300MHz, CDCl_3): 2.77-3.60 (6H, m, $3 \times \text{CH}_2$), 3.85 (3H, s, CH_3), [5.02 (1H, s, CH-OH)] 5.18 (1H, s, CH-OH), [6.23 (1H, s, CH=C)] 6.43 (1H, s, CH=C), 6.90-6.98 (2H, m, Ar-H), 7.11-7.21 (1H, m, Ar-H), 7.22-7.31 (5H, m, Ar-H), 7.36-7.42 (2H, m, Ar-H), 7.78-7.84 (2H, m, Ar-H).

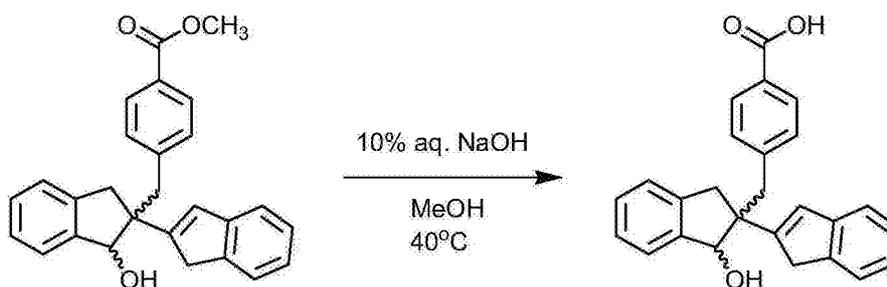
[0088] 在可能时, 最小非对映体的值在括号中给出。

[0089] δ_{C} (75.5MHz, CDCl_3): 38.3 (CH_2), 38.4 (CH_2), 38.6 (CH_2), 39.9 (CH_2), 40.3 (CH_2), 43.

4($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 51.9($\text{C}\text{O}\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 52.0($\text{C}\text{O}\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 55.9(季 $\underline{\text{C}}$), 56.3(季 $\underline{\text{C}}$), 82.0($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$), 82.8($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$), 120.5(叔 $\underline{\text{C}}$), 120.7(叔 $\underline{\text{C}}$), 123.5(叔 $\underline{\text{C}}$), 123.6(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.0(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.2(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.5(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.6(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.8(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.9(叔 $\underline{\text{C}}$), 125.1(叔 $\underline{\text{C}}$), 125.2(叔 $\underline{\text{C}}$), 126.1(叔 $\underline{\text{C}}$), 126.4(叔 $\underline{\text{C}}$), 127.0(季 $\underline{\text{C}}$), 127.1(季 $\underline{\text{C}}$), 128.0(叔 $\underline{\text{C}}$), 128.2(叔 $\underline{\text{C}}$), 128.5(叔 $\underline{\text{C}}$), 128.8(叔 $\underline{\text{C}}$), 129.0(叔 $\underline{\text{C}}$), 129.2(叔 $\underline{\text{C}}$), 129.5(叔 $\underline{\text{C}}$), 2x130.0(2x叔 $\underline{\text{C}}$), 2x130.2(2x叔 $\underline{\text{C}}$), 130.7(叔 $\underline{\text{C}}$), 140.4(季 $\underline{\text{C}}$), 141.5(季 $\underline{\text{C}}$), 142.8(季 $\underline{\text{C}}$), 143.2(季 $\underline{\text{C}}$), 143.5(季 $\underline{\text{C}}$), 143.6(季 $\underline{\text{C}}$), 143.7(季 $\underline{\text{C}}$), 144.2(季 $\underline{\text{C}}$), 144.3(季 $\underline{\text{C}}$), 144.5(季 $\underline{\text{C}}$), 150.4(季 $\underline{\text{C}}$), 152.6(季 $\underline{\text{C}}$), 167.0($\underline{\text{C}}=\text{O}$), 167.2($\underline{\text{C}}=\text{O}$).

[0090] 苯甲酸甲酯部分的水解

[0091]



[0092] 将酯置于圆底烧瓶中,然后向其中加入 10% 的 NaOH 水溶液 (1mL) 然后加入足量的甲醇以形成溶液 (6mL)。将溶液在 40°C 下加热并通过 TLC(80:20, 己烷:乙酸乙酯) 监测。约 4h 后,未观察到进一步的酯。

[0093] 将混合物冷却并加入饱和 NH_4Cl (pH12 的溶液)。加入稀 HCl 以酸化 pH(pH2)。将产物从混浊溶液萃取入乙酸乙酯 (3x10mL) 中。将合并的萃取物在 MgSO_4 上干燥并真空蒸发以获得 0.15g (定量) 膏状固体。产物分离为约 2:1 比例的两种非对映体的混合物。

[0094] 两种非对映体的混合物的分析结果

[0095] 纯度 (HPLC) :95.2%(作为 2:1 比例的非对映体)

[0096] δ_{H} (400MHz, CDCl_3): 2.81-3.59 (6H, m, 3x $\underline{\text{C}}\text{H}_2$), [5.05 (1H, s, $\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$)], 5.23 (1H, s, $\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$), 6.46 (1H, s, $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$), [6.66 (1H, s, $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$)], 6.95-7.03 (2H, m, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.12-7.17 (1H, m, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.21-7.29 (5H, m, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.37-7.43 (2H, m, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.85-7.91 (2H, m, Ar- $\underline{\text{H}}$).

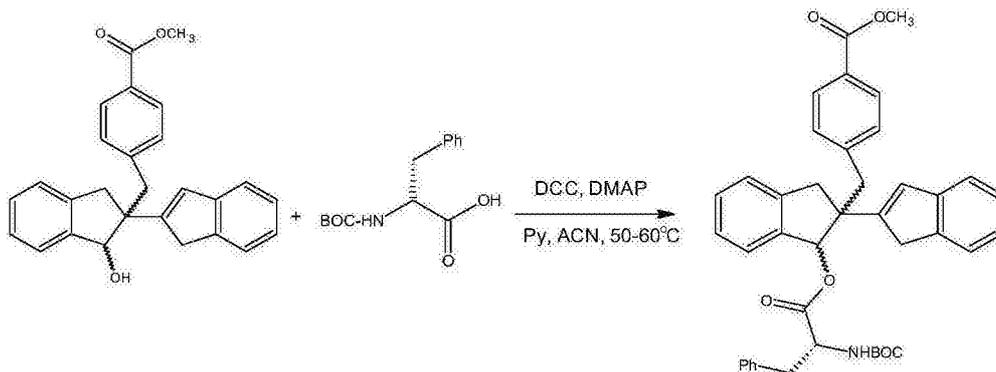
[0097] 在可能时,最小非对映体的值在括号中给出。

[0098] δ_{C} (100MHz, CDCl_3): 37.9($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 38.1($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 38.2($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 39.5($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 39.9($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 43.1($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 55.5(季 $\underline{\text{C}}$), 55.9(季 $\underline{\text{C}}$), 81.6($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$), 82.4($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$), 120.2(叔 $\underline{\text{C}}$), 120.3(叔 $\underline{\text{C}}$), 123.1(叔 $\underline{\text{C}}$), 123.2(叔 $\underline{\text{C}}$), 123.5(叔 $\underline{\text{C}}$), 123.9(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.1(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.4(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.5(叔 $\underline{\text{C}}$), 124.7(叔 $\underline{\text{C}}$), 125.9(叔 $\underline{\text{C}}$), 126.0(叔 $\underline{\text{C}}$), 126.5(叔 $\underline{\text{C}}$), 2x126.7(季 $\underline{\text{C}}$ &叔 $\underline{\text{C}}$), 126.9(季 $\underline{\text{C}}$), 128.1(叔 $\underline{\text{C}}$), 128.2(叔 $\underline{\text{C}}$), 128.4(叔 $\underline{\text{C}}$), 2x129.2(2x叔 $\underline{\text{C}}$), 2x129.4(2x叔 $\underline{\text{C}}$), 2x129.8(2x叔 $\underline{\text{C}}$), 2x129.9(2x叔 $\underline{\text{C}}$), 130.4(叔 $\underline{\text{C}}$), 140.0(季 $\underline{\text{C}}$), 141.0(季 $\underline{\text{C}}$), 142.3(季 $\underline{\text{C}}$), 142.7(季 $\underline{\text{C}}$), 143.0(季 $\underline{\text{C}}$), 143.2(季 $\underline{\text{C}}$), 143.8(季 $\underline{\text{C}}$), 144.0(季 $\underline{\text{C}}$), 144.1(季 $\underline{\text{C}}$), 144.7(季 $\underline{\text{C}}$), 150.0(季 $\underline{\text{C}}$), 152.0(季 $\underline{\text{C}}$), 170.8($\underline{\text{C}}=\text{O}$), 171.1($\underline{\text{C}}=\text{O}$).

[0099] 对映体的化学分离

[0100] 苯甲酸甲酯非对映体的 N-BOC D-苯丙氨酸衍生物的制备和/或随后的非对映体 α 1 和 α 2 (或者 β 1 和 β 2) 的分离

[0101]



[0102] 注意：方法适用于两种非对映体，但是给出的实例用于第一非对映体。

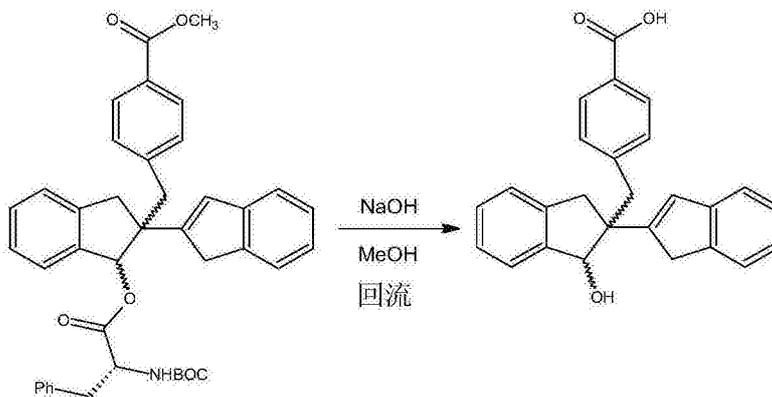
[0103] 将非对映体 A (2.5 mmol, 1.0 g) 和 N-BOC D-苯丙氨酸 (3.1 mmol, 0.8 g) 置于装有冷凝器的圆底烧瓶中，并且在氮气下悬浮于 CH₃CN (25 mL) 中。向该悬浮液中加入吡啶 (3.1 mmol, 0.3 mL)，然后加入 DCC (3.1 mmol, 0.7 g) 和 DMAP (10% mol, 0.25 mmol, 0.05 g) 在 CH₃CN (2 mL) 中的溶液。将混合物在 50°C 下搅拌 20 h，然后使其达到室温。

[0104] 将白色固体滤出并在真空中去除溶剂。加入乙酸乙酯，并且将获得的溶液用 10% H₂SO₄、饱和 NaHCO₃ 洗涤，在 MgSO₄ 上干燥并蒸发以获得 2.1 g 黄色油 (HPLC 83% 纯，收率：定量)。

[0105] 利用己烷 / MTBE 90:10 通过快速色谱 (90 g 二氧化硅 / g 产物) 分离非对映体 α1 和 α2。从 4.17 g 混合物获得 1.3 g 的 α2 衍生物 (以及 1.71 g 的 α1 衍生物和 0.3 g 两者的混合物)。

[0106] 苯甲酸甲酯化合物 (α1、α2、β1 或 β2) 的 N-BOC D-苯丙氨酸衍生物的水解

[0107]

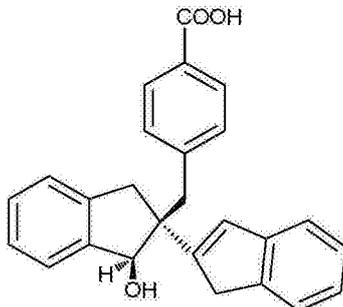


[0108] 将非对映体 α2 (2.3 mmol, 1.45 g) 溶于甲醇 (25 mL)，加入 NaOH (11.5 mmol, 0.45 g)，将混合物在回流温度下搅拌并通过 TLC 监测。20 h 后，消耗掉起始原料。

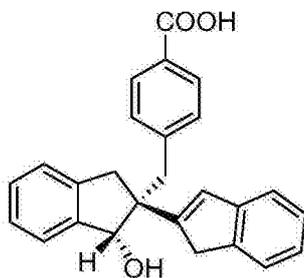
[0109] 将反应冷却至室温并通过加入饱和 NH₄Cl 来终止。在真空中去除甲醇，并且用浓 HCl 将水溶液酸化至 pH 1。用乙酸乙酯萃取产物，在 MgSO₄ 上干燥并蒸发以给出 1.6 g 黄色胶状物，将其通过短二氧化硅柱用己烷 : MTBE 80:20 作为洗脱剂进行纯化。获得 0.44 g 酸衍生物化合物 5 (50% 收率)，通过 HPLC 其为 97.2% 纯。

[0110] 注意：还利用甲醇中的 10% NaOH 水溶液在 40-50°C 下进行可选的水解。这个过程花费几乎 5 天完成。

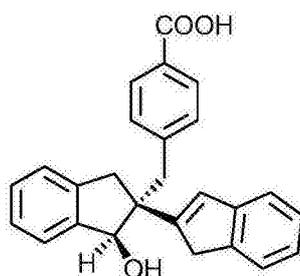
- [0111] 对映体 α 1、 α 2、 β 1、 β 2的分析结果
 [0112] 来自非对映体 B 的对映体 - 化合物 3
 [0113]



- [0114] 描述 :膏状无定形固体
 [0115] 熔点 :195-196℃
 [0116] $[\alpha]_D^{25}$:+98.51 (1.07%, MeOH)
 [0117] 纯度 :99.0%
 [0118] δ_H (400MHz, $CDCl_3$): 2.87 (1H, d, J=13.28Hz, CH_2), 3.00-3.09 (2H, m, CH_2), 3.29 (1H, d, J=13.36Hz, CH_2), 3.43-3.61 (2H, m, CH_2), 5.27 (1H, s, $CH-OH$), 6.49 (1H, s, $CH=C$), 7.00 (2H, d, J=7.88Hz, Ar-H), 7.16-7.32 (6H, m, Ar-H), 7.44 (2H, d, J=7.24Hz, Ar-H), 7.90 (2H, d, J=7.92Hz, Ar-H).
 [0119] 来自非对映体 B 的对映体 β 2- 化合物 2
 [0120]



- [0121] 描述 :膏状无定形固体
 [0122] 熔点 :184-185℃
 [0123] $[\alpha]_D^{25}$: -114.44 (0.18%, MeOH)
 [0124] 纯度 :99.8%
 [0125] δ_H (400MHz, $CDCl_3$): 2.87 (1H, d, J=13.32Hz, CH_2), 3.00-3.09 (2H, m, CH_2), 3.29 (1H, d, J=13.28Hz, CH_2), 3.46 (1H, d, J=22.64Hz, CH_2), 3.58 (1H, d, J=22.56Hz, CH_2), 5.27 (1H, s, $CH-OH$), 6.49 (1H, s, $CH=C$), 7.00 (2H, d, J=8.04Hz, Ar-H), 7.15-7.34 (6H, m, Ar-H), 7.44 (2H, d, J=7.20Hz, Ar-H), 7.90 (2H, d, J=8.04Hz, Ar-H).
 [0126] 来自非对映体 C 的对映体 α 1- 化合物 4
 [0127]



[0128] 描述 : 膏状固体

[0129] 熔点 : 136–140 °C

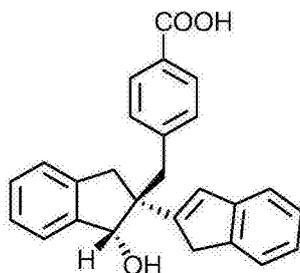
[0130] $[\alpha]_D$: -39.3 (0.66%, MeOH)

[0131] 纯度 : 94.0%

[0132] δ_H (400MHz, $CDCl_3$): 2.90–3.59 (6H, m, 3x CH_2), 5.08 (1H, s, $CH-OH$), 6.70 (1H, s, $CH=C$), 7.05 (2H, d, $J=8.08$ Hz, Ar-H), 7.19 (1H, t, $J=7.34$ Hz, Ar-H), 7.26–7.47 (7H, 2x m, Ar-H), 7.93 (2H, d, $J=8.08$ Hz, Ar-H).

[0133] 来自非对映体 C 的对映体 α 2- 化合物 5

[0134]



[0135] 描述 : 膏状无定形固体

[0136] 熔点 : 195–196 °C

[0137] $[\alpha]_D$: +32.1 (1.18%, MeOH)

[0138] 纯度 : 97.2%

[0139] δ_H (400MHz, $CDCl_3$): 2.94–3.59 (6H, m, 3x CH_2), 5.08 (1H, s, $CH-OH$), 6.70 (1H, s, $CH=C$), 7.05 (2H, d, $J=8.12$ Hz, Ar-H), 7.19 (1H, t, $J=7.34$ Hz, Ar-H), 7.26–7.47 (7H, 2x m, Ar-H), 7.93 (2H, d, $J=8.12$ Hz, Ar-H).

[0140] HPLC方法

[0141] 建立非手性和手性 HPLC 方法用于对映体化合物 2、3、4、5 的定性和定量分离。

[0142] 对映体的 HPLC拆分

[0143]

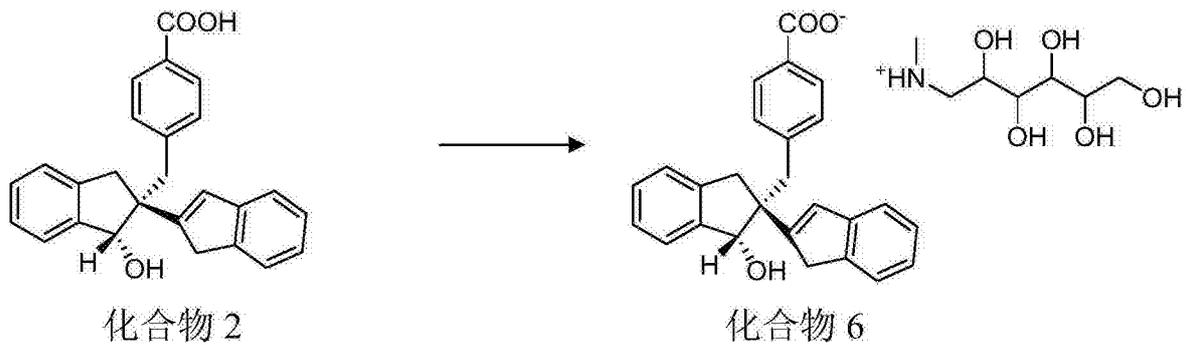
反相方法	
柱	Hypersil BDS C18, 5 μ , 250 x 4.6 mm Phenomenex Luna C18, 5 μ , 250 x 4.6 mm, N:32
波长	210 nm
流速	1 mL/min (对于酮和酯) 0.6 mL/min (对于酸和盐)
流动相	70:30 CH ₃ CN : 0.1%乙酸水溶液
样品	1 mg/mL, 制备于流动相中 (或者 CH ₃ CN:dIW=50:50 对于酸/盐)
保留时间	化合物 1 - 20 min
	非对映体 C (化合物 4/5) 9 min
	非对映体 B (化合物 2/3) 10 min
手性方法	
柱	ChiralPack IC, 5 μ , 250 x 4.6 mm
波长	210 nm
温度	25°C
流速	0.35 mL/min
流动相	正庚烷/IPA/HOAc (或 TFA)=90/10/0.1
样品	1 mg/mL, 制备于流动相中 (或正庚烷/IPA/MeOH = 81/9/10 对于盐)
保留时间	化合物 A 54 min 和 >60 min
	化合物 4 - 30 min
	化合物 5 - 37 min
	化合物 3 - 18 min
	化合物 2 - 19 min

[0144] 盐形成

[0145] 通过在适当的碱的存在下将化合物 2、3、4 和 5 的游离酸溶于水性或水性有机溶剂并通过蒸发溶剂分离盐来制备盐。

[0146] 化合物 6 : 化合物 2 的 N-甲基-(D)-葡糖胺盐 (NMDG)

[0147]



[0148] 化合物 6 生理化学特性：

[0149] 外观：灰白色固体

[0150] 分子量：577 (游离酸：382)

[0151] 分子式： $C_{33}H_{39}O_8N$ (游离酸： $C_{26}H_{22}O_3$)

[0152] 熔点：165-167°C

[0153] 化合物 6： $[\alpha]_D$ ：-76.5 (样品浓度：水中 200mg/10ml)

[0154] 质量 (Da)：ES+ 仅 [NMDG+Na] 可见

[0155] 元素分析：计算：C(68.61), H(6.80), N(2.42), O(22.16)。发现：C(68.44), H(6.80), N(2.50), O(21.98)

[0156] δ_H (400MHz, DMSO)：2.48 (3H, 表观 s, NCH_3), 2.65 (1H, d, $J=13.56$ Hz, HCH), 2.84-3.02 (4H, m), 3.16 (1H, d, $J=13.60$ Hz, HCH), 3.40-3.70 (7H, m), 3.85-3.92 (1H, m), 5.06 (1H, s, $H-OH$), 5.93 (1H, 宽 s, $CH-OH$), 6.41 (1H, s, $CH=C$), 6.80 (2H, d, $J=7.92$ Hz, $Ar-H$), 7.06-7.41 (8H, m, $Ar-H$), 7.64 (2H, d, $J=7.80$ Hz, $Ar-H$)。

[0157] δ_C (100MHz, DMSO)：33.8 (CH_3), 37.9 (CH_2), 38.2 (CH_2), 39.5 (CH_2), 51.6 (CH_2-N), 55.8 (季 C), 63.5 (CH_2-O), 69.0 ($CH-O$), 70.3 ($CH-O$), 70.6 ($CH-O$), 71.3 ($CH-O$), 81.1 ($CH-OH$), 120.1 (叔 C), 123.4 (叔 C), 123.7 (叔 C), 124.3 (叔 C), 124.4 (叔 C), 126.1 (叔 C), 126.3 (叔 C), 127.0 (叔 C), 127.5 (叔 C), 2x128.5 (2x 叔 C), 2x129.1 (2x 叔 C), 140.4 (季 C), 141.1 (季 C), 142.9 (季 C), 144.5 (季 C), 145.2 (季 C), 154.3 (季 C), 170.4 (C=O)。

[0158] X-射线研究

[0159] 通过其 (S)-(-)-甲基苄基胺盐 (化合物 8) 的单晶 X-射线分析建立化合物 2 的绝对立体化学。结果在附录 2 中给出。结果与图 2 所示的立体化学一致。通过将醇 (化合物 2-5) 转化为它们的烯酮并通过它们旋光性的相关性建立化合物 4 和 5 的绝对立体化学。

[0160] 炎症肠病 (IBD)

[0161] 炎症肠病 (IBD) 由两种特发性炎症性疾病组成, 溃疡性结肠炎 (UC) 和克隆病 (CD)。UC 与 CD 之间最大的区别在于发炎的肠组织的范围。CD 中的炎症是不连续分节的, 已知为区域性肠炎, 而 UC 则是浅表性炎症, 其邻近且连续地从直肠延伸。目前, IBD 的确切原因尚不了解。这种疾病看起来与对促炎性和免疫调节分子的不平衡引起的肠上皮感染的扩大粘膜免疫应答相关。IBD 的遗传模式提示病理发病机理的复杂遗传组分, 其可以由几种组合的遗传突变组成。目前还没有 IBD 的特异性诊断测试, 但是关于发病机理的了解有所进步, 测试方法也是如此。IBD 的治疗由诱导和维持缓解组成。IBD 患者可以通过使用 5-氨基水杨酸来维持缓解。然而, 虽然在 UC 中使用氨基水杨酸提供相当的益处, 但是在轻度至中度疾病的诱导缓解以及预防复发中, 这些药物维持 CD 中的缓解的用处尚持有疑问, 并且不再推

荐。活性疾病治疗的主要使用皮质甾类,其通常使用有限的时间以使得 UC 和 CD 患者回到缓解,虽然设计为有限的全身吸收的局部给药的布地奈德对于维持缓解不再有益处。诸如免疫抑制药物硫唑嘌呤和巯嘌呤以及甲氨蝶呤和环孢素的替代选择的效力是有限的并且会诱导严重的副作用。抗 TNF α 抗体如英利昔单抗和阿达木单抗可以用于对标准免疫抑制疗法无应答的患者。但是,许多患者对于抗 TNF α 疗法没有应答,这是由于他们特定的表型或产生自身抗体。

[0162] 急性小鼠 DSS结肠炎模型

[0163] 葡聚糖硫酸钠 (DSS) 结肠炎模型为实验小鼠模型,其表现出在人 UC 中观察到的许多症状,例如腹泻、血便、粘膜溃疡、结肠缩短、体重减轻以及某些结肠细胞因子的改变。该研究广泛用作研究 UC 的发病机理的模型,并且还用作筛选治疗 UC 的新的治疗发明的模型。

[0164] 在这些研究中,使用急性结肠炎模型,在 BALB/c 小鼠的饮用水中给药 5%DSS。这种剂量方案诱导严重的急性结肠炎,在第 7-8 天,小鼠具有明显的直肠出血和显著的体重减轻;除非事先处死,在第 10-12 天所有小鼠均已死亡。

[0165] 小鼠

[0166] 6-8 周龄的无特定病原体的 BALB/c 小鼠获得自商业供应商 (Harlan UK)。向小鼠喂食辐照饮食并在正压下关在单独的通风笼 (Tecniplast UK) 中。

[0167] DSS处理

[0168] 将 DSS (5%) 溶于饮用水中。在第 0-7 天以 10mg/kg 或 30mg/kg 的剂量口服给药化合物,并且在第 8 天或第 9 天宰杀小鼠,这取决于疾病的严重程度。每天检查小鼠的发病率,并且记录每只小鼠的体重。根据解剖、结肠长度和组织学确定结肠炎的诱导。回收结肠并储存在 -20°C 下用于免疫性分析。将所有化合物和实验组随机按字母顺序标记。在整个实验中,所有数据记录以盲方式进行。盒 / 组上的编码直至分析数据之后才破解,即标记 A、B、C 等的盒鉴定为未处理的、DSS 处理的或 DSS+ 化合物处理的。

[0169] 为了定量结肠炎的程度,基于体重减轻、便血和粪便一致性确定疾病活动指数 (DAI)。对每个参数给出评分,评分的总和用作 DAI。对于每个处理组, $n=8$ 。

[0170]

DAI 的描述			
评分	体重减轻%	粪便一致性	便血
0	无	正常	无
1	1-3		
2	3-6	便溏 ¹	在粪便中可见
3	6-9		
4	>9	腹泻 ²	严重出血 ³

[0171] 定义:

[0172] ¹便溏 - 粪便未形成,但是在操作时变成糊。

[0173] ²腹泻 - 没有粪便形成,肛门周围皮毛染色。

[0174] ³严重出血 - 肛门周围的皮毛上有新鲜血液,粪便中过多血液。

[0175] 化合物的给药

[0176] 用于口服管饲法 (0.1mL/os(p. o.)/10g 体重) 的所有化合物制备为 0.5% 羧甲基纤维素 /2%Tween80 中的悬浮液, 剂量为 3-30mg/Kg。最初将作为游离酸的化合物溶于无水乙醇并以 14+1 用 0.5% 羧甲基纤维素 /2%Tween80 稀释; 这导致悬浮液中的细微沉淀, 而 N- 甲基-(D)- 葡糖胺盐在单独的媒介物中可溶。

[0177] 单独的对映体化合物 2、3、4 和 5 在 5%DSS 小鼠结肠炎中的效果

[0178] 每天向在饮用水中给予 5%DSS 的 BALB/c 以 30mg/kg p. o. 给药化合物 2、3、4 和 5, 其为 0.5% 羧甲基纤维素 /2%Tween80 中的悬浮液, 进行 7 天。DAI 测量这个模型中疾病的程度。化合物 4 在这个变量上没有活性, 在任何时间点 DAI 均没有任何显著 ($P>0.05$) 差异 (图 3)。在第 7 天, 化合物 2 和化合物 5 显著 ($P<0.05$) 减少 DAI 可观的幅度, 从媒介物对照的 9.0 ± 0.53 减少至化合物 5 的 3.2 ± 0.73 和化合物 2 的 2.5 ± 0.71 , 这两者之间没有显著差异 (图 4)。相比之下, 化合物 3 减少 DAI 至仅 5.3 ± 0.6 。这显著地 ($P>0.05$) 比化合物 2 或化合物 5 的效果差。此外, 虽然在第 7 天化合物 3 处理的小鼠的 DAI 统计上 ($P<0.05$) 低于媒介物对照 (图 4), 但是在第 6 天化合物 3 和媒介物之间没有统计上 ($P>0.05$) 的差异 (图 3)。总而言之, 在 4 种对映体, 化合物 2、3、4 和 5 中, 化合物 2 和 5 在 30mg/kg 下在这个模型中具有高度活性。化合物 3 具有最小活性, 其显著 ($P<0.05$) 低于化合物 2 和化合物 5。化合物 4 在这个 5%DSS 小鼠结肠炎模型中几乎没有活性。

[0179] 化合物 2 和 5 的盐的选择

[0180] 作为对映体化合物 2 和化合物 5 的有限水溶解性的结果, 我们尝试合成化合物 5 的 5 种盐。合成钠盐、钾盐、钙盐、 α - 甲基苄基胺盐和 N- 甲基-(D)- 葡糖胺盐。钠盐和钙盐未成功。名为钾盐、 α - 甲基苄基胺盐和 N- 甲基-(D)- 葡糖胺盐的化合物 5 的 3 种盐用于溶解度和分配系数 ($\log P$) 研究。

[0181] 确定 4 种化合物的溶解度:

[0182]

化合物	Milli-RO 水 $\mu\text{g/mL}$	pH 4.0 缓冲液 $\mu\text{g/mL}$	pH 7.0 缓冲液 $\mu\text{g/mL}$	pH 9.0 缓冲液 $\mu\text{g/mL}$
化合物 5	1.38	0.33	320.1	369.6
化合物 5 钾盐	217.0	0.15	54.71	340.3
化合物 5 甲基-苄基胺盐	413.9	0.20	227.4	311.0
化合物 5 N-甲基-D-葡糖胺盐	>60,000 *	0.14	>60,000*	>3,000*

[0183] * 估计值

[0184] 令人惊讶的是, 确定在这组类似的化合物中化合物 5 N- 甲基-(D)- 葡糖胺盐 (化合物 7) 是最可溶的化合物, 达到可观的幅度, 在 Milli-RO 水中溶解度为 $>60,000 \mu\text{g/mL}$, 在 pH4 缓冲液中为 $0.14 \mu\text{g/mL}$, 在 pH7.0 中为 $>60,000 \mu\text{g/mL}$, 并且在 pH9.0 缓冲液中为 $>3,000 \mu\text{g/mL}$ 。用化合物 2 N- 甲基-(D)- 葡糖胺 (化合物 6) 获得几乎相同的值, 在 Milli-RO 水中溶解度为 $>60,000 \mu\text{g/mL}$, 在 pH4 缓冲液中为 $0.5 \mu\text{g/mL}$, 在 pH7.0 中为 $>60,000 \mu\text{g/mL}$, 并且在 pH9.0 和缓冲液中为 $>3,000 \mu\text{g/mL}$ 。

[0185] 利用 HPLC 方法 (反相 C18 HPLC 柱) 在中性、酸性和碱性 pH 下研究化合物 5 和相

关的类似化合物的分配系数。

[0186] 确定 4 种化合物的分配系数：

[0187]

化合物	中性 Log10 POW	碱性 Log10 POW	酸性 Log10 POW
化合物 5	3.7	3.7	3.9
化合物 5 钾盐	3.7	3.7	3.9
化合物 5 甲基-苄基胺盐	3.6	3.6	3.9
化合物 5 N-甲基-D-葡糖胺盐	3.5	3.5	3.8

[0188] 发现化合物 5 的每种盐的分配系数相似。认为这种情况是因为当盐在溶液中时，化合物分解为母体化合物 5 和相关的盐离子。因此测量的分配系数来自母体离子而不是盐分子。

[0189] 在中性、碱性和酸性条件下成功地确定了化合物 2 N-甲基-D-葡糖胺盐（化合物 6）的分配系数 (Log10 POW)，分别为 3.5、4.3 和 2.6。

[0190] 选择 N-甲基-(D)-葡糖胺作为化合物 2 和化合物 5 的盐候选物。

[0191] 10mg/kg 的对映体化合物 2 和化合物 5 以及它们的 N-甲基-(D)-葡糖胺盐（化合物 6 和 7）在 5%DSS 小鼠结肠炎中的效果

[0192] 考虑到化合物 2 和 5 在 30mg/kg 下于 5%DSS 模型中表现出相当大的活性，我们重新检测它们的活性，连同它们的 N-甲基-(D)-葡糖胺盐，以 10mg/kg 的较低剂量，作为 0.5% 羧甲基纤维素 / 2% Tween80 中的悬浮液或溶液每天给药持续 7 天。在补偿它们增加的分子量的盐的剂量中未进行调整。在 10mg/kg 下，当与媒介物对照比较时，化合物 5 和 7 在 5%DSS 小鼠结肠炎模型中均对 DAI 没有显著 ($P > 0.05$) 影响（见图 5）。相比之下，在第 7 天，N-甲基-(D)-葡糖胺盐化合物 2 和化合物 6 在 10mg/kg 下显著 ($P < 0.05$) 并有效地将 DAI 从 9.3 ± 0.51 （媒介物）分别减少至 2.1 ± 0.7 和 3.3 ± 0.52 （图 6）。

[0193] 总之，化合物 2（及其 N-甲基-(D)-葡糖胺盐，化合物 6）在四种对映体中最有效的，并且是唯一在 10mg/kg 的较低剂量水平下保持活性的对映体。

[0194] 对 5%DSS 小鼠结肠炎一定范围剂量的化合物 6 的效果以及与泼尼松龙的比较

[0195] 化合物 6 被选为最看好的对映体。测试不同剂量水平下化合物 6 在结肠炎的 5%DSS 小鼠模型中的活性以确定是否有剂量 / 反应关系，并且与有效的口服类固醇泼尼松龙进行比较，泼尼松龙常用于使患有 IBD 的急性发作的患者返回缓解。

[0196] 向小鼠给药剂量水平 3、10 和 30mg/Kg 的化合物 6（相当于 6.6-20mg/Kg 的化合物 2）。一组 DSS 处理的小鼠还用泼尼松龙，5mg/Kg 处理。泼尼松龙是临床上用于治疗人 IBD 的皮质甾类，并且这个研究中使用的量是泼尼松龙用于这个模型的最佳剂量。用饮用水中的 5%DSS 处理 BALB/c 小鼠 3 天后，结肠炎的迹象明显。这表现为体重减轻（图 7）和疾病 DAI 的增加（图 8）。但是，每天口服给药 7 天之后，3 个剂量（3、10 和 30mg/Kg）的化合物 6 在小鼠中未引起明显反应。化合物 6 在所检查疾病的多个参数中减轻急性 DSS 处理后结肠炎的严重程度。化合物 6 在 DSS 模型中缓解疾病的能力是剂量依赖性的。30mg/Kg 的化合

物 6 在 DSS 模型中是治疗性的,相对于 5mg/Kg 的泼尼松龙具有相当或更好的效力。

[0197] 这些症状的严重程度是逐步发展的;在第 7 天, DSS 处理的小鼠已损失多达 15% 的体重,并且所有小鼠已灌注直肠出血。解剖当天的 DAI 值显示,用 3-30mg/kg 化合物 6 处理的小鼠在每个剂量水平下具有显著 ($P < 0.05$ - $P < 0.01$) 低于媒介物对照的 DAI。泼尼松龙 (5mg/kg) 也显著 ($P < 0.01$; ANOVA; Dunnett 多比较测试) 减少 DAI 评分 (图 9)。

[0198] 在第 7 天解剖时,与来自未用 DSS 处理的小鼠的结肠相比,在所有 DSS 处理组中结肠长度均有显著缩短 ($P < 0.05$ - $P < 0.01$; ANOVA; Dunnett 多比较测试) (图 10)。当与媒介物对照相比时,最低剂量的 3mg/kg 的化合物 6 在抑制结肠缩短中没有显著效果,而 10 和 30mg/kg 组以及泼尼松龙组具有显著效果。30mg/kg 的化合物 6 的显著优于泼尼松龙 ($P < 0.05$; ANOVA; Dunnett 多比较测试) (图 10)。

[0199] DSS 处理之后,远端结肠的组织切片表现出广泛的隐窝损伤和细胞浸润 (图 11)。

[0200] 利用任意评分系统定量结肠损伤的程度。相对于媒介物组,10 和 30mg/Kg 的化合物 6 在结肠病理中引起剂量依赖性和高度统计学显著的减少 ($P < 0.01$; Kruksal-Wallis ANOVA; Dunnett 多比较测试)。相比之下,相对于媒介物处理的小鼠,泼尼松龙 (5mg/Kg) 处理组的组织学评分没有显著改善 (图 12)。

[0201] 与显示小鼠结肠中的炎症的组织学结果一致,在仅给药媒介物的 DSS 处理的小鼠中结肠髓过氧化物酶 (MPO) 活性显著 ($P < 0.001$; Kruksal-Wallis ANOVA; Dunnett 多比较测试) 升高。代表炎症嗜中性粒细胞浸润入肠壁的水平结肠髓过氧化物酶活性 (MPO) 通过 DSS 处理增加几乎 8 倍,但是被 30mg/kg 的化合物 6 和泼尼松龙显著 ($P < 0.05$) 减少,在第 7 天分别为 63% 和 54%。

[0202] 结肠细胞因子水平的定量显示 DSS 处理诱导 IL1 β (图 14(a))、TNF α (图 14(b)) 和 IL6 (图 14(c)) 分别升高至 0.744 ± 0.076 ng/mg、 1.478 ± 0.378 ng/mg 和 1.057 ± 0.1784 ng/mg。在每种情况下,化合物 6 引起这些细胞因子水平的显著 ($P < 0.05$, 30mg/kg) 和剂量依赖性降低。泼尼松龙 (5mg/kg) 也减少 ($p < 0.05$) 细胞因子水平的这些升高;对于每种细胞因子,在第 7 天,5mg/kg 泼尼松龙和 30mg/kg 的较高剂量水平的化合物 6 之间没有显著差异。

[0203] 总的来说,每天口服给药 7 天之后,3 个剂量 (3、10 和 30mg/Kg) 的化合物 6 在小鼠中未引起明显反应。通过所检查疾病的多个参数,化合物 6 减轻急性 5%DSS 处理之后的结肠炎的严重程度,并且减轻疾病的能力是剂量依赖性的。此外,30mg/Kg 的化合物 6 在 DSS 模型中是治疗性的,相对于泼尼松龙 (5mg/Kg) 具有相当或更好的效力。

[0204] 慢性 IL10^{-/-}模型

[0205] 在 IL10^{-/-} 基因中具有缺失的小鼠自发地发展慢性结肠炎,发病的年龄和疾病的严重程度取决于小鼠品系的背景和动物居住的条件。居住在这个研究中使用的条件下的 IL10^{-/-} 小鼠结肠炎的发病也是品系依赖性的,相对于 C57BL/6 品系动物,在 BALB/c 品系小鼠中,在死亡率方面,具有较早的发病和更大的严重程度。在这个实验中,动物在 9 周中根据 MWF 方案接受口服处理。最初,两组小鼠逐渐增重 (图 15)。媒介物处理的小鼠从处理的第 5 周停止增重,而化合物 6 处理的小鼠保持增重直至第 8 周。在第 9 周,动物体重显著减轻,在每组中在第 60 天将一只垂死的动物人道地杀死。随着其他小鼠体重减轻并发展疾病的临床症状,在第 9 周 (第 63 天) 将两组选择性宰杀并分析。虽然通过 Kaplan-Meier 分

析,相对于化合物 6 处理的小鼠 (9.2%),媒介物处理组 (25%) 有较大的死亡率,但是在 9 周中 IL10^{-/-} 小鼠的存活率没有统计学差异。

[0206] 从小鼠回收血清,并且分析血清淀粉样蛋白 A(SAA) 作为结肠炎严重程度的标记。相对于媒介物处理的 IL10^{-/-} 小鼠,在化合物 6 处理的小鼠中有显著 ($P < 0.05$; 学生 t- 测试) 降低的 SAA 水平 (图 16)。

[0207] 用媒介物或化合物 6 处理的 IL10^{-/-} 小鼠的结肠组织切片如图 17 所示。

[0208] 将用媒介物或化合物 6 处理的 IL10^{-/-} 小鼠的结肠组织切片评分。相对于用媒介物处理的小鼠,在接受化合物的 IL10^{-/-} 小鼠中结肠病理的程度显著减少 ($P < 0.05$; 学生 t- 测试) (图 18)。

[0209] 总的来说,相对于媒介物处理的小鼠,在 9 周中利用 MWF 方案在 IL10^{-/-} BALB/c 品系小鼠中用化合物 6 (300mg/kg/周) 口服处理延迟体重减轻并减少结肠炎死亡数。在这个慢性结肠炎的模型中,化合物 6 显著减少关于结肠炎症的血清标记的疾病指数和炎症的程度及对结肠的损伤。鉴于化合物 6 在大鼠中的血浆半衰期 ($t_{1/2}$) 为 3 小时,这特别值得关注。通过标准 MWF 剂量给药时间表,实验期间小鼠不会暴露于化合物 6 大量时间。

[0210] 本发明并不限于上文所述的实施方案,其细节可以变化。

[0211] 附录 1

[0212] 使用的缩写列表

[0213]

aq	水性
b.p.	沸点
CDCl_3	氯仿-d
$\text{CH}(\text{OCH}_3)_3$	三甲基甲硅烷基原甲酸酯
CO_2	二氧化碳
DCM	二氯甲烷
dIW	蒸馏离子水
DMSO	二甲基亚砷
Et_2O	醚
EtOH	乙醇
H_2O	水
HCl	盐酸
IR	红外
IPA	异丙醇
KCl	氯化钾
M	摩尔
min	分钟
μl	微升
mM	毫摩尔
m.p.	熔点
N_2	氮气
NaBH_4	硼氢化钠
NaOH	氢氧化钠
Na_2SO_4	硫酸钠
NMR	核磁共振

[0214]

O ₂	氧气
RT	室温
^t BuOH	叔丁醇
^t BuOK	叔丁醇钾
S.E.M.	平均值的标准误差
THF	四氢呋喃
TLC	薄层色谱法
μl	微升
Triflic Acid	三氟甲磺酸
TMS Triflate	三甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯
v/v	体积/体积
w/v	重量/体积
λ _{em}	发射波长
λ _{exc}	激发波长

[0215] 附录 2

[0216] X-射线研究

[0217] 利用 SuperNova, Dual, Cu at zero, Atlas 衍射仪和表 1 所列的参数对化合物 2(S)-(-)-甲基苄基胺盐 (化合物 8) 进行单晶 X-射线衍射分析。

[0218] 表 1. 化合物 8, 化合物 2 的 (S)-(-)-甲基苄基胺盐的数据收集和结构精修

[0219]

衍射仪	SuperNova, Dual, Cu at zero, Atlas
辐射源	SuperNova (Cu) X-ray Source, Cu K
数据收集方法	Omega 扫描
数据收集的 θ 范围	3.74-76.22°
指数范围	-13 ≤ h ≤ 13, -11 ≤ k ≤ 12, -14 ≤ l ≤ 14
收集的反射	12753
独立反射	5263 [R(int) = 0.0196]
独立反射的覆盖	99.4 %
检查反射中的变化	N/A

[0220]

吸收校正	等同物的半经验
最大和最小传输	1.00000 和 0.90238
结构解析技术	直接
结构解析程序	Bruker SHELXTL
细化技术	F^2 的全矩阵最小二乘
细化程序	Bruker SHELXTL
最小化函数	$w(F_o^2 - F_c^2)^2$
数据/约束/参数	5263 / 1 / 363
F^2 的拟合优度	1.007
Δ/σ_{\max}	0.001
最终 R 指数	
5161 数据; $I > 2\sigma(I)$	R1 = 0.0321, wR2 = 0.0857
所有数据	R1 = 0.0327, wR2 = 0.0865
加权方式	$w=1 / [\sigma^2 (F_o^2) + (0.0600P)^2 + 0.2200P]$ 其中 $P=(F_o^2+2F_c^2)/3$
绝对结构参数	0.04(14)
消光系数	0.0035(5)
最大差异峰和洞	0.214 和 -0.154 eÅ ⁻³

[0221] 细化总结：

[0222]

有序的非 H 原子, XYZ	自由细化
有序的非 H 原子, U	各向异性
H 原子(碳上), XYZ	骑在连接的原子上的理想化位置
H 原子(碳上), U	键合的原子适当多个 U(eq)
H 原子(杂原子上), XYZ	自由细化
H 原子(杂原子上), U	各向同性
无序的原子, OCC	用约束至总体的两部分模型细化
无序的原子, XYZ	自由细化
无序的原子 U	自由细化

[0223] • 单晶 X-射线数据表明化合物 6 的结构为单斜晶系, 空间群 $P2_1$, 在不对称单元中具有化合物的 6 一个分子 (表 2)。

[0224] 表 2. 化合物 8 的样品和晶体数据

[0225]

结晶溶剂	二乙醚、MeOH、THF
结晶方法	缓慢蒸发
经验式	$C_{34}H_{33}N_1O_3$
式分子量	503.61
温度	100(1) K
波长	1.54178 Å
晶体大小	0.50 x 0.50 x 0.50 mm
晶体习性	无色块状
晶体系统	单斜晶系
空间群	$P2_1$
晶胞大小	$a = 11.0344(2) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 10.1727(2) \text{ \AA}$ $\beta = 93.682(2)^\circ$ $c = 11.8532(2) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$
体积	1327.77(4) Å ³
Z	2
密度(计算的)	1.260 Mg/m ³
吸收系数	0.627 mm ⁻¹
F(000)	536

[0226] • 绝对立体化学确定为对于化合物 2 在 C9 和 C10 处的 S, S, 对于甲基苄基胺阳离子在 C33 处的 S。考虑确定为 0.04(14) 的 Flack 参数和盐以前的立体化学的现有知识进行分配。

[0227] • 还利用 Bijvoet 对差异上的贝叶斯统计确定绝对立体化学, 这导致手性中心 C9、C10 和 C33 处的立体化学分别是 S, S 和 S 的可能性为 1.000 并且 R, R 和 R 为 0.000。这支持来自 Flack 参数测量的 S, S 和 S 分别分配给 C9、C10 和 C33。

[0228] • 来自单晶 X-射线结构的计算的 X-射线粉末衍射图样与图 2(或下文)所示的立体化学一致。

[0229] 表 3. 化合物 8 的原子坐标和等同各向同性的原子位移参数(Å²)。U(eq) 定义为正交化的 U_{ij} 张量的痕迹的三分之一。

[0230]

	x/a	y/b	z/c	U(eq)
O1	0.02763(10)	0.17316(11)	1.16556(8)	0.0228(2)
O2	0.07430(9)	-0.03465(10)	1.12294(7)	0.0194(2)
O3	0.10561(8)	0.01057(10)	1.90142(8)	0.0184(2)
C1	0.08315(12)	-0.12167(14)	1.47373(12)	0.0198(3)
C2	0.07248(13)	-0.09752(14)	1.35802(12)	0.0192(3)
C3	0.08014(11)	0.02912(13)	1.31666(11)	0.0158(3)
C4	0.05975(11)	0.05851(14)	1.19195(11)	0.0164(3)
C5	0.10196(12)	0.13219(14)	1.39262(11)	0.0184(3)
C6	0.11261(13)	0.10790(14)	1.50817(11)	0.0197(3)
C7	0.10101(11)	-0.01884(14)	1.55106(10)	0.0164(3)
C8	0.09988(12)	-0.04205(14)	1.67717(10)	0.0177(3)
C9	0.22568(11)	-0.05199(14)	1.74191(10)	0.0160(3)
C10	0.20981(12)	-0.06390(14)	1.87231(10)	0.0173(3)
C11	0.32285(12)	-0.00001(14)	1.92450(11)	0.0183(3)
C12	0.36695(13)	-0.00323(15)	2.03747(11)	0.0217(3)
C13	0.46523(13)	0.07703(16)	2.07062(12)	0.0263(3)
C14	0.51796(13)	0.15733(16)	1.99312(13)	0.0271(3)
C15	0.47368(13)	0.16061(15)	1.87974(13)	0.0237(3)
C16	0.37476(12)	0.08173(14)	1.84684(11)	0.0188(3)
C17	0.30303(12)	0.07486(14)	1.73362(11)	0.0189(3)
C18	0.29536(12)	-0.17122(14)	1.70380(10)	0.0170(3)
C19	0.24493(13)	-0.29849(15)	1.68674(11)	0.0224(3)
C20	0.34284(13)	-0.38466(15)	1.64945(10)	0.0202(3)
C21	0.34340(15)	-0.51740(16)	1.62093(12)	0.0279(3)
C22	0.45250(18)	-0.57426(17)	1.59308(13)	0.0363(8)
C23	0.55837(16)	-0.50075(18)	1.59165(13)	0.0317(4)
C24	0.55735(14)	-0.36697(17)	1.61785(12)	0.0269(3)
C25	0.44911(13)	-0.31016(15)	1.64729(11)	0.0212(3)
C26	0.42215(14)	-0.17370(16)	1.68241(12)	0.0238(3)
C18A	0.29536(12)	-0.17122(14)	1.70380(10)	0.0170(3)
C19A	0.24493(13)	-0.29849(15)	1.68674(11)	0.0224(3)
C20A	0.34284(13)	-0.38466(15)	1.64945(10)	0.0202(3)
C21A	0.34340(15)	-0.51740(16)	1.62093(12)	0.0279(3)
C22A	0.45250(18)	-0.57426(17)	1.59308(13)	0.0279(3)
C23A	0.55837(16)	-0.50075(18)	1.59165(13)	0.0317(4)
C24A	0.55735(14)	-0.36697(17)	1.61785(12)	0.0269(3)
C25A	0.44911(13)	-0.31016(15)	1.64729(11)	0.0212(3)
C26A	0.42215(14)	-0.17370(16)	1.68241(12)	0.0238(3)
N1	-0.09024(11)	-0.21952(13)	1.02800(10)	0.0194(2)
C27	-0.18541(12)	0.06679(15)	0.92258(12)	0.0220(3)
C28	-0.19466(13)	0.15069(16)	0.82981(13)	0.0256(3)
C29	-0.23606(14)	0.10317(17)	0.72421(13)	0.0273(3)
C30	-0.26855(15)	-0.02757(18)	0.71195(13)	0.0301(3)
C31	-0.26063(14)	-0.11089(16)	0.80481(13)	0.0255(3)
C32	-0.21928(12)	-0.06417(15)	0.91135(11)	0.0200(3)
C33	-0.21444(12)	-0.15827(15)	1.01084(12)	0.0205(3)
C34	-0.24587(14)	-0.09613(16)	1.12172(13)	0.0256(3)

[0231] 表 4. 化合物 8 的选择的键长度, (Å)

[0232]

O1-C4	1.2528(18)	O2-C4	1.2688(17)
O3-C10	1.4373(16)	O3-H3A	0.88(2)
C1-C2	1.3909(19)	C1-C7	1.3964(19)
C2-C3	1.383(2)	C3-C5	1.3929(19)
C3-C4	1.5108(17)	C5-C6	1.3893(18)
C6-C7	1.395(2)	C7-C8	1.5141(16)
C8-C9	1.5457(17)	C9-C18	1.5203(19)
C9-C17	1.5537(19)	C9-C10	1.5713(16)
C10-C11	1.5040(18)	C11-C16	1.391(2)
C11-C12	1.3953(17)	C12-C13	1.394(2)
C13-C14	1.385(2)	C14-C15	1.401(2)
C15-C16	1.390(2)	C16-C17	1.5152(18)
C18-C19	1.418(2)	C18-C26	1.4380(19)
C19-C20	1.481(2)	C20-C21	1.392(2)
C20-C25	1.398(2)	C21-C22	1.394(2)
C22-C23	1.388(3)	C23-C24	1.396(2)
C24-C25	1.391(2)	C25-C26	1.485(2)
N1-C33	1.5073(18)	N1-H1B	0.91(2)
N1-H1C	0.93(2)	N1-H1D	0.90(2)
C27-C32	1.388(2)	C27-C28	1.390(2)
C28-C29	1.391(2)	C29-C30	1.383(3)
C30-C31	1.387(2)	C31-C32	1.398(2)
C32-C33	1.5172(19)	C33-C34	1.518(2)

[0233] 表 5. 化合物 8 的选择的键角, (°)

[0234]

C10-O3-H3A	107.0(15)	C2-C1-C7	120.96(13)
C3-C2-C1	120.72(13)	C2-C3-C5	118.95(12)
C2-C3-C4	121.50(12)	C5-C3-C4	119.48(12)
O1-C4-O2	125.44(12)	O1-C4-C3	116.78(12)
O2-C4-C3	117.77(12)	C6-C5-C3	120.23(13)
C5-C6-C7	121.32(13)	C6-C7-C1	117.75(12)
C6-C7-C8	120.71(12)	C1-C7-C8	121.43(13)
C7-C8-C9	115.87(10)	C18-C9-C8	111.09(11)
C18-C9-C17	110.70(11)	C8-C9-C17	113.19(11)
C18-C9-C10	108.74(10)	C8-C9-C10	109.89(10)
C17-C9-C10	102.86(10)	O3-C10-C11	109.18(11)
O3-C10-C9	109.69(10)	C11-C10-C9	103.26(10)
C16-C11-C12	121.07(13)	C16-C11-C10	110.61(11)
C12-C11-C10	127.84(13)	C13-C12-C11	118.29(14)
C14-C13-C12	120.72(13)	C13-C14-C15	120.99(14)
C16-C15-C14	118.34(14)	C15-C16-C11	120.58(13)
C15-C16-C17	129.14(13)	C11-C16-C17	110.16(12)
C16-C17-C9	103.90(11)	C19-C18-C26	109.64(13)
C19-C18-C9	124.70(12)	C26-C18-C9	125.65(13)
C18-C19-C20	107.21(12)	C21-C20-C25	120.31(14)
C21-C20-C19	131.41(14)	C25-C20-C19	108.27(13)
C20-C21-C22	118.51(15)	C23-C22-C21	121.31(15)
C22-C23-C24	120.24(15)	C25-C24-C23	118.68(15)
C24-C25-C20	120.94(14)	C24-C25-C26	130.48(14)
C20-C25-C26	108.57(13)	C18-C26-C25	106.29(13)
C33-N1-H1B	108.3(13)	C33-N1-H1C	112.0(13)
H1B-N1-H1C	107.4(18)	C33-N1-H1D	111.6(13)
H1B-N1-H1D	112.5(18)	H1C-N1-H1D	105.0(17)
C32-C27-C28	120.51(14)	C27-C28-C29	120.09(15)
C30-C29-C28	119.78(14)	C29-C30-C31	120.16(14)
C30-C31-C32	120.61(15)	C27-C32-C31	118.89(14)
C27-C32-C33	122.36(13)	C31-C32-C33	118.74(13)
N1-C33-C32	110.61(11)	N1-C33-C34	108.16(11)
C32-C33-C34	114.30(12)		

[0235] 表 6. 化合物 8 的选择的转角

[0236]

C7-C1-C2-C3	0.4(2)	C1-C2-C3-C5	1.7(2)
C1-C2-C3-C4	-175.50(12)	C2-C3-C4-O1	156.41(13)
C5-C3-C4-O1	-20.75(18)	C2-C3-C4-O2	-22.38(18)
C5-C3-C4-O2	160.46(12)	C2-C3-C5-C6	-1.7(2)
C4-C3-C5-C6	175.57(12)	C3-C5-C6-C7	-0.5(2)
C5-C6-C7-C1	2.5(2)	C5-C6-C7-C8	-173.65(12)
C2-C1-C7-C6	-2.52(19)	C2-C1-C7-C8	173.64(12)
C6-C7-C8-C9	-83.92(16)	C1-C7-C8-C9	100.03(15)
C7-C8-C9-C18	-64.43(16)	C7-C8-C9-C17	60.83(15)
C7-C8-C9-C10	175.19(12)	C18-C9-C10-O3	-155.49(11)
C8-C9-C10-O3	-33.70(15)	C17-C9-C10-O3	87.10(12)
C18-C9-C10-C11	88.23(13)	C8-C9-C10-C11	-149.99(11)
C17-C9-C10-C11	-29.19(13)	O3-C10-C11-C16	-96.36(13)
C9-C10-C11-C16	20.29(15)	O3-C10-C11-C12	75.67(18)
C9-C10-C11-C12	-167.68(14)	C16-C11-C12-C13	-0.5(2)
C10-C11-C12-C13	-171.75(13)	C11-C12-C13-C14	-0.3(2)
C12-C13-C14-C15	0.3(2)	C13-C14-C15-C16	0.4(2)
C14-C15-C16-C11	-1.2(2)	C14-C15-C16-C17	174.32(14)
C12-C11-C16-C15	1.2(2)	C10-C11-C16-C15	173.88(13)
C12-C11-C16-C17	-175.05(12)	C10-C11-C16-C17	-2.40(16)
C15-C16-C17-C9	167.34(14)	C11-C16-C17-C9	-16.79(15)
C18-C9-C17-C16	-88.09(12)	C8-C9-C17-C16	146.44(11)
C10-C9-C17-C16	27.92(13)	C8-C9-C18-C19	-44.46(16)
C17-C9-C18-C19	-171.10(11)	C10-C9-C18-C19	76.60(15)
C8-C9-C18-C26	137.25(13)	C17-C9-C18-C26	10.60(17)
C10-C9-C18-C26	-101.70(15)	C26-C18-C19-C20	-1.81(14)
C9-C18-C19-C20	179.67(11)	C18-C19-C20-C21	-179.77(14)
C18-C19-C20-C25	1.34(15)	C25-C20-C21-C22	1.5(2)
C19-C20-C21-C22	-177.24(14)	C20-C21-C22-C23	-1.1(2)
C21-C22-C23-C24	-0.3(2)	C23-C23-C24-C25	1.2(2)
C23-C24-C25-C20	-0.7(2)	C23-C24-C25-C26	177.73(14)
C21-C20-C25-C24	-0.6(2)	C19-C20-C25-C24	178.39(12)
C21-C20-C25-C26	-179.41(12)	C19-C20-C25-C26	-0.38(15)
C19-C18-C26-C25	1.57(15)	C9-C18-C26-C25	-179.92(11)
C24-C25-C26-C18	-179.32(14)	C20-C25-C26-C18	-0.71(15)
C32-C27-C28-C29	-1.2(2)	C27-C28-C29-C30	0.3(2)
C28-C29-C30-C31	0.4(2)	C29-C30-C31-C32	-0.3(2)
C28-C27-C32-C31	1.2(2)	C28-C27-C32-C33	-178.07(13)
C30-C31-C32-C27	-0.5(2)	C30-C31-C32-C33	178.85(14)
C27-C32-C33-N1	-86.99(16)	C31-C32-C33-N1	93.72(15)
C27-C32-C33-C34	35.36(18)	C31-C32-C33-C34	-143.93(14)

[0237] 表 7. 化合物 8 的各向异性的原子位移参数, (\AA^2). 各向异性的原子位移因子指数采用以下形式: $-2 \pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2hka^* b^* U_{12}$

[0238]

	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
O1	0.0325(5)	0.0206(5)	0.0153(4)	0.0025(4)	0.0015(4)	0.0044(4)
O2	0.0255(5)	0.0206(5)	0.0123(4)	-0.0017(4)	0.0024(3)	-0.0014(4)
O3	0.0205(4)	0.0232(5)	0.0116(4)	-0.0002(4)	0.0027(3)	0.0016(4)
C1	0.0257(7)	0.0179(7)	0.0159(6)	0.0017(5)	0.0018(5)	-0.0028(5)
C2	0.0267(7)	0.0171(7)	0.0139(6)	-0.0035(5)	0.0024(5)	-0.0019(5)
C3	0.0160(6)	0.0187(7)	0.0128(6)	-0.0004(5)	0.0017(4)	0.0011(5)
C4	0.0166(5)	0.0193(7)	0.0134(6)	0.0000(5)	0.0014(4)	-0.0018(5)
C5	0.0234(6)	0.0155(7)	0.0159(6)	-0.0001(5)	-0.0011(5)	0.0020(5)
C6	0.0251(6)	0.0175(7)	0.0158(6)	-0.0030(5)	-0.0024(5)	0.0028(5)
C7	0.0150(5)	0.0213(7)	0.0129(6)	0.0000(5)	0.0009(4)	0.0028(5)
C8	0.0188(6)	0.0217(7)	0.0124(6)	-0.0007(5)	0.0000(4)	0.0018(5)
C9	0.0186(6)	0.0177(7)	0.0117(5)	0.0004(5)	0.0007(4)	-0.0002(5)
C10	0.0206(6)	0.0190(7)	0.0121(6)	0.0000(5)	0.0005(4)	0.0022(5)
C11	0.0201(6)	0.0185(7)	0.0163(6)	-0.0030(5)	0.0004(5)	0.0033(5)
C12	0.0234(6)	0.0249(8)	0.0166(6)	-0.0018(5)	-0.0015(5)	0.0056(5)
C13	0.0237(7)	0.0322(9)	0.0216(7)	-0.0074(6)	-0.0074(5)	0.0074(6)
C14	0.0196(7)	0.0284(8)	0.0324(8)	-0.0099(6)	-0.0049(6)	0.0015(6)
C15	0.0199(6)	0.0229(7)	0.0282(7)	-0.0035(6)	0.0008(5)	0.0012(6)
C16	0.0186(6)	0.0198(7)	0.0178(6)	-0.0023(5)	0.0007(5)	0.0028(5)
C17	0.0213(6)	0.0203(7)	0.0151(6)	0.0004(5)	0.0018(5)	-0.0008(5)
C18	0.0200(6)	0.0206(7)	0.0101(5)	0.0011(5)	-0.0009(4)	0.0004(5)
C19	0.0245(7)	0.0249(8)	0.0176(6)	-0.0024(5)	0.0008(5)	0.0029(5)
C20	0.0256(7)	0.0227(7)	0.0124(6)	0.0001(5)	0.0015(5)	0.0027(5)
C21	0.0392(8)	0.0237(8)	0.0215(6)	-0.0032(6)	0.0059(6)	-0.0017(7)
C22	0.063(2)	0.0236(16)	0.0226(13)	-0.0024(11)	0.0090(13)	0.0165(15)
C23	0.0359(8)	0.0356(9)	0.0240(7)	-0.0034(6)	0.0049(6)	0.0140(7)
C24	0.0253(7)	0.0331(9)	0.0225(7)	-0.0050(6)	0.0034(5)	0.0047(6)
C25	0.0253(7)	0.0253(8)	0.0129(5)	0.0003(5)	0.0016(5)	0.0035(5)
C26	0.0277(7)	0.0248(8)	0.0197(6)	-0.0005(6)	0.0069(5)	0.0012(6)
C18A	0.0200(6)	0.0206(7)	0.0101(5)	0.0011(5)	-0.0009(4)	0.0004(5)
C19A	0.0245(7)	0.0249(8)	0.0176(6)	-0.0024(5)	0.0008(5)	0.0029(5)
C20A	0.0256(7)	0.0227(7)	0.0124(6)	0.0001(5)	0.0015(5)	0.0027(5)
C21A	0.0392(8)	0.0237(8)	0.0215(6)	-0.0032(6)	0.0059(6)	-0.0017(7)
C22A	0.0392(8)	0.0237(8)	0.0215(6)	-0.0032(6)	0.0059(6)	-0.0017(7)
C23A	0.0359(8)	0.0356(9)	0.0240(7)	-0.0034(6)	0.0049(6)	0.0140(7)
C24A	0.0253(7)	0.0331(9)	0.0225(7)	-0.0050(6)	0.0034(5)	0.0047(6)
C25A	0.0253(7)	0.0253(8)	0.0129(5)	0.0003(5)	0.0016(5)	0.0035(5)
C26A	0.0277(7)	0.0248(8)	0.0197(6)	-0.0005(6)	0.0069(5)	0.0012(6)
N1	0.0248(6)	0.0191(6)	0.0143(5)	-0.0013(5)	0.0005(4)	-0.0007(5)
C27	0.0216(6)	0.0233(7)	0.0213(7)	-0.0001(5)	0.0017(5)	-0.0030(5)
C28	0.0250(7)	0.0228(8)	0.0293(7)	0.0035(6)	0.0038(6)	-0.0021(6)
C29	0.0265(7)	0.0298(9)	0.0254(7)	0.0087(6)	-0.0001(5)	-0.0017(6)
C30	0.0326(8)	0.0357(9)	0.0214(7)	0.0019(6)	-0.0041(6)	-0.0050(7)
C31	0.0286(7)	0.0238(8)	0.0234(7)	0.0001(6)	-0.0034(6)	-0.0053(6)
C32	0.0169(6)	0.0233(7)	0.0198(6)	0.0024(5)	0.0007(5)	-0.0024(5)
C33	0.0196(6)	0.0205(7)	0.0212(6)	0.0023(5)	0.0001(5)	-0.0031(5)
C34	0.0280(7)	0.0264(8)	0.0232(7)	0.0029(6)	0.0065(6)	0.0024(6)

[0239] 附录 3

[0240] 化合物 1 4-((-1-羟基-2,3-二氢-1H,1'-H-2,2'-联茚-2-基)甲基)苯甲酸

- [0241] 化合物 2 4-(((1S, 2S)-1-羟基-2,3-二氢-1H, 1'-H-2, 2'-联茛-2-基)甲基)苯甲酸
- [0242] 化合物 3 4-(((1R, 2R)-1-羟基-2,3-二氢-1H, 1'-H-2, 2'-联茛-2-基)甲基)苯甲酸
- [0243] 化合物 4 4-(((1R, 2S)-1-羟基-2,3-二氢-1H, 1'-H-2, 2'-联茛-2-基)甲基)苯甲酸
- [0244] 化合物 5 4-(((1S, 2R)-1-羟基-2,3-二氢-1H, 1'-H-2, 2'-联茛-2-基)甲基)苯甲酸
- [0245] 化合物 6 6-(甲基氨基)己烷-1, 2, 3, 4, 5-戊醇 4-(((1S, 2S)-1-羟基-2, 3-二氢-1H, 1'-H-2, 2'-联茛-2-基)甲基)苯甲酸盐
- [0246] 化合物 7 6-(甲基氨基)己烷-1, 2, 3, 4, 5-戊醇 4-(((1S, 2R)-1-羟基-2, 3-二氢-1H, 1'-H-2, 2'-联茛-2-基)甲基)苯甲酸盐
- [0247] 化合物 8 (S)-1-苯基乙基铵 4-(((1S, 2S)-1-羟基-2, 3-二氢-1H, -1'-H-2, 2'-联茛-2-基)甲基)苯甲酸盐
- [0248] 化合物 9 (R)-1-苯基乙基铵 4-(((1R, 2S)-1-羟基-2, 3-二氢-1H, 1'-H-2, 2'-联茛-2-基)甲基)苯甲酸盐

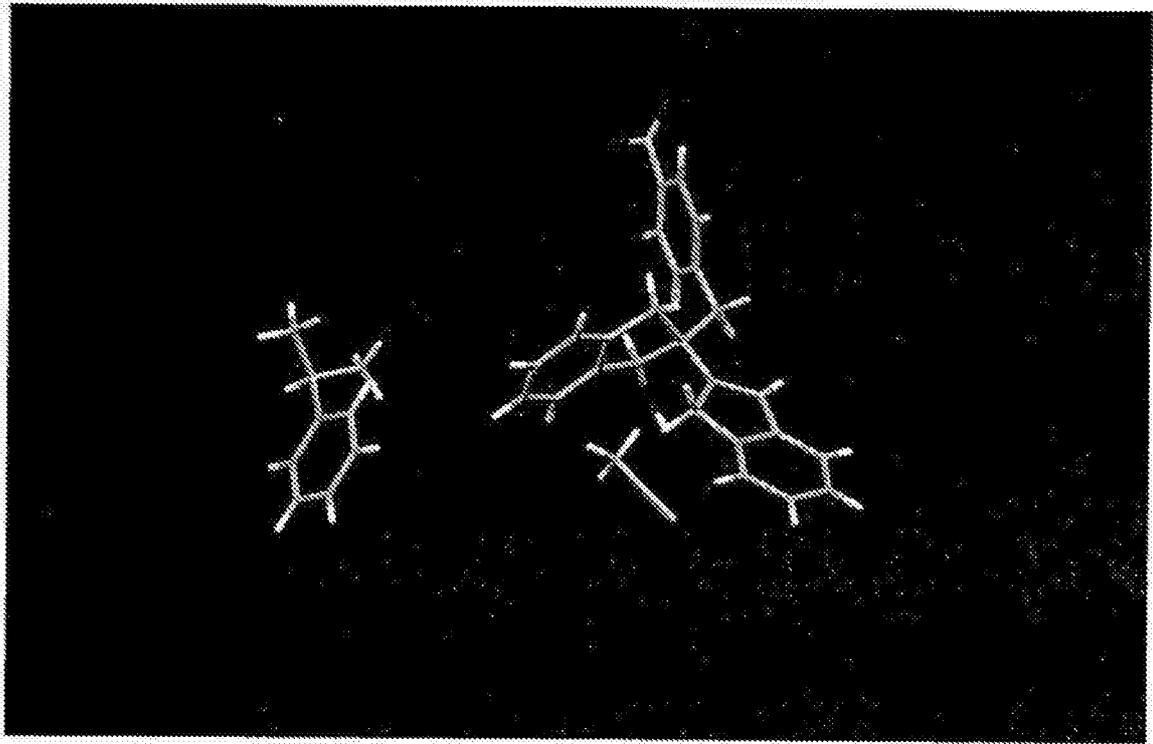
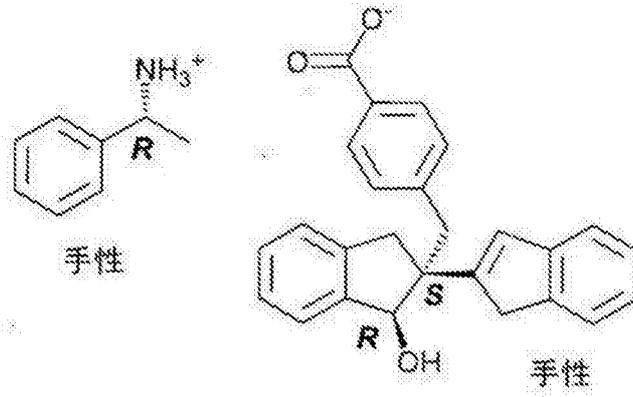


图 1

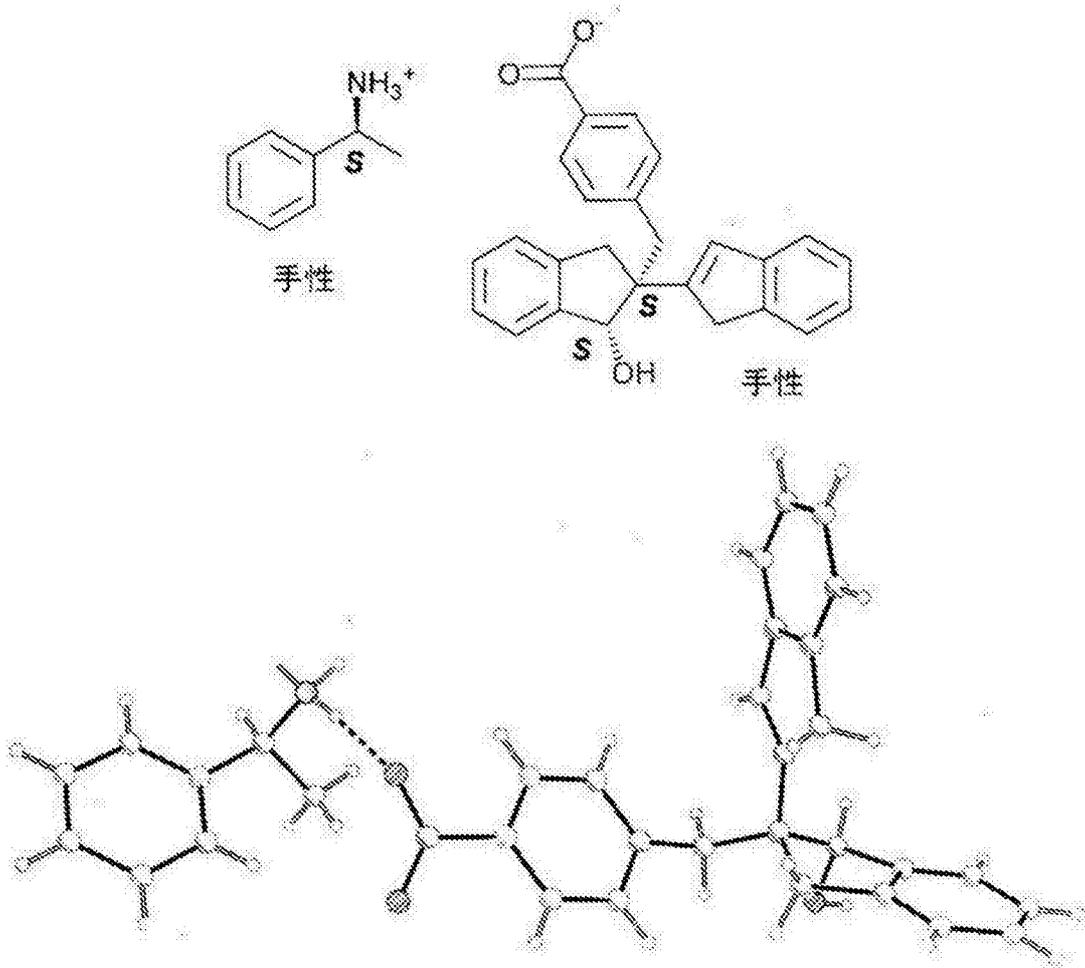


图 2

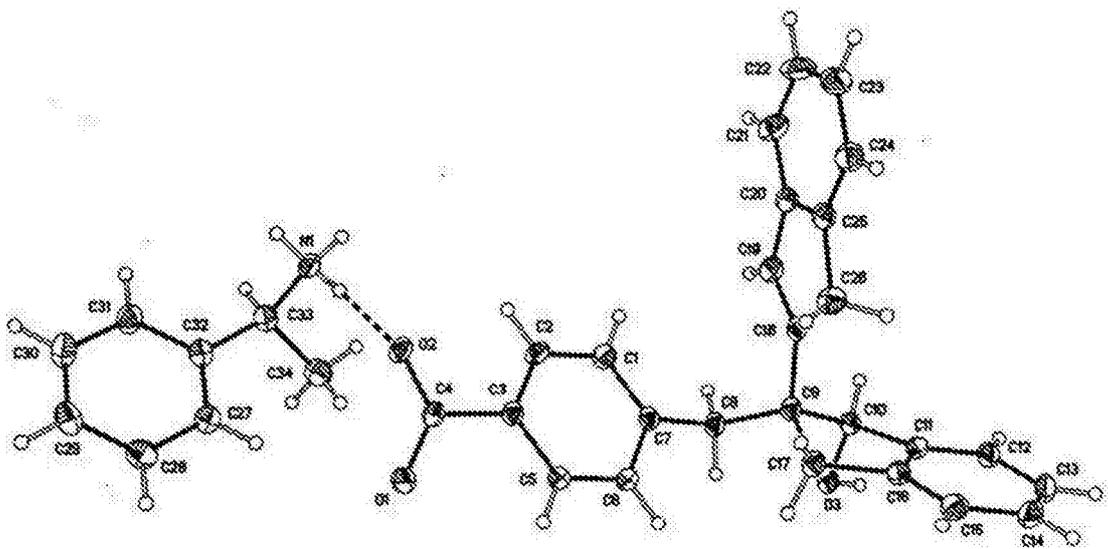


图 2A

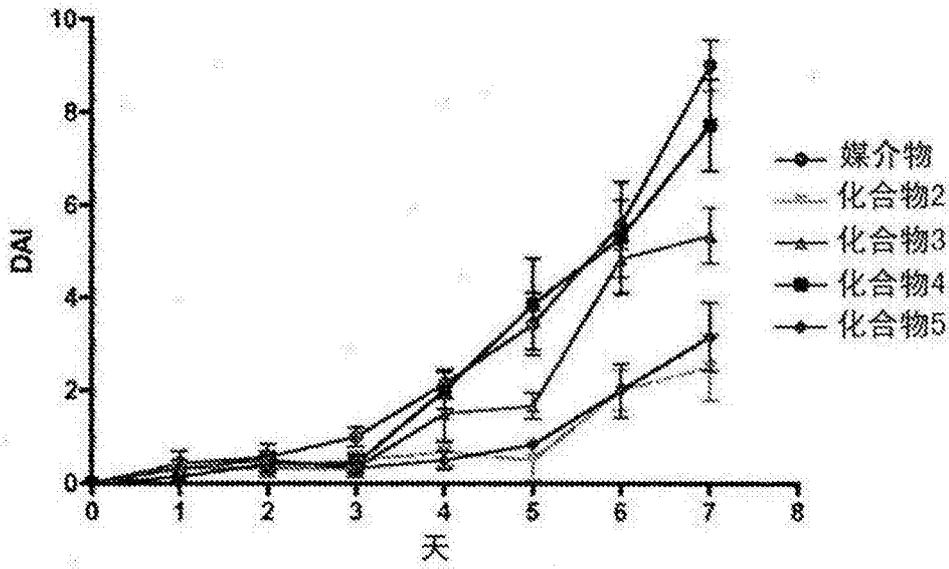


图 3

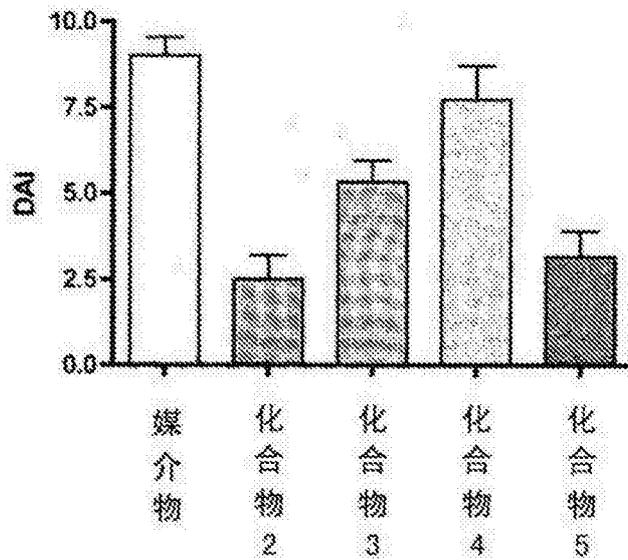


图 4

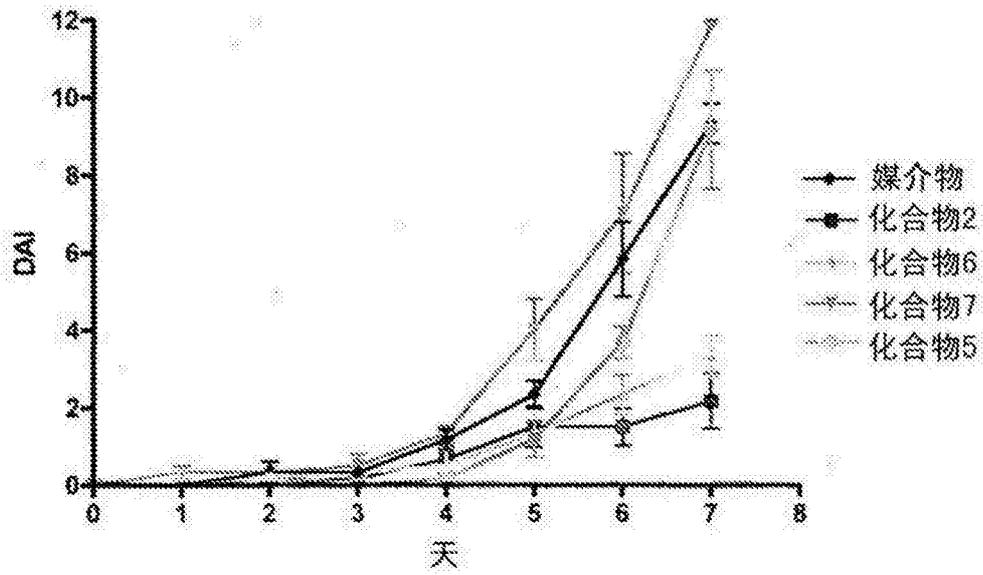


图 5

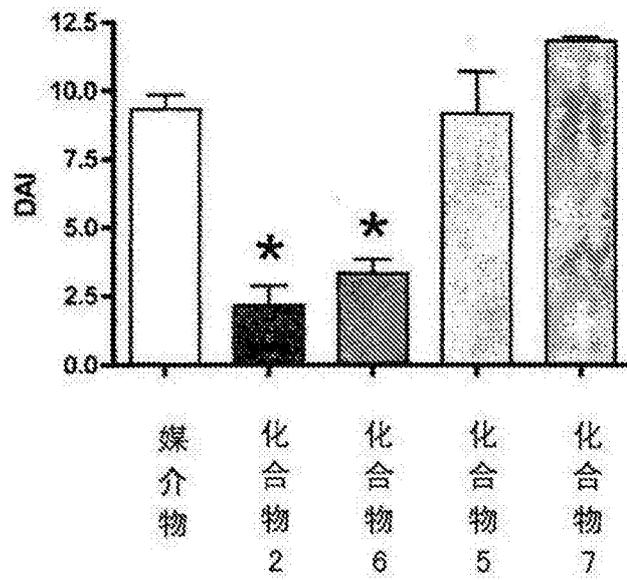


图 6

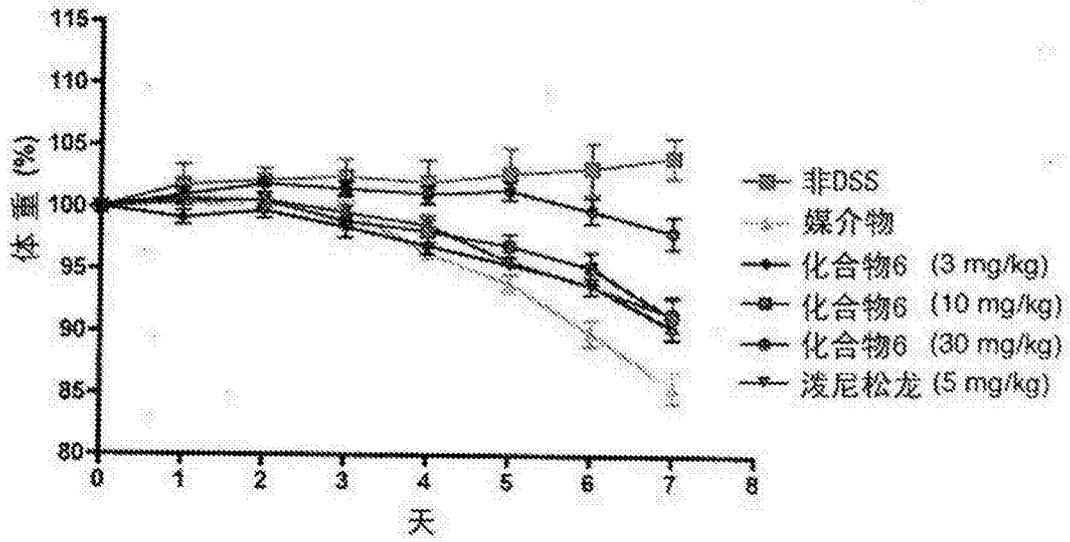


图 7

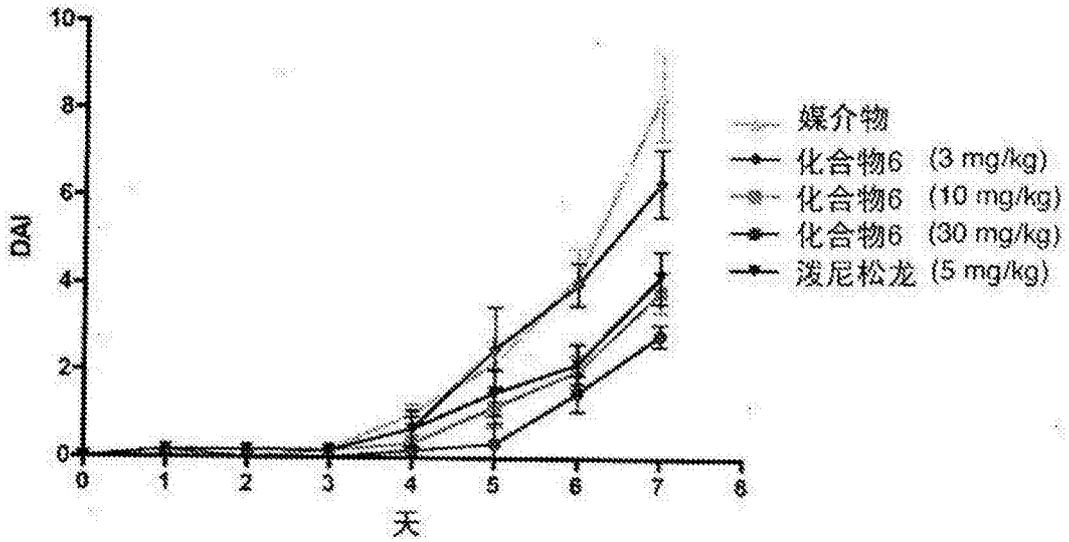


图 8

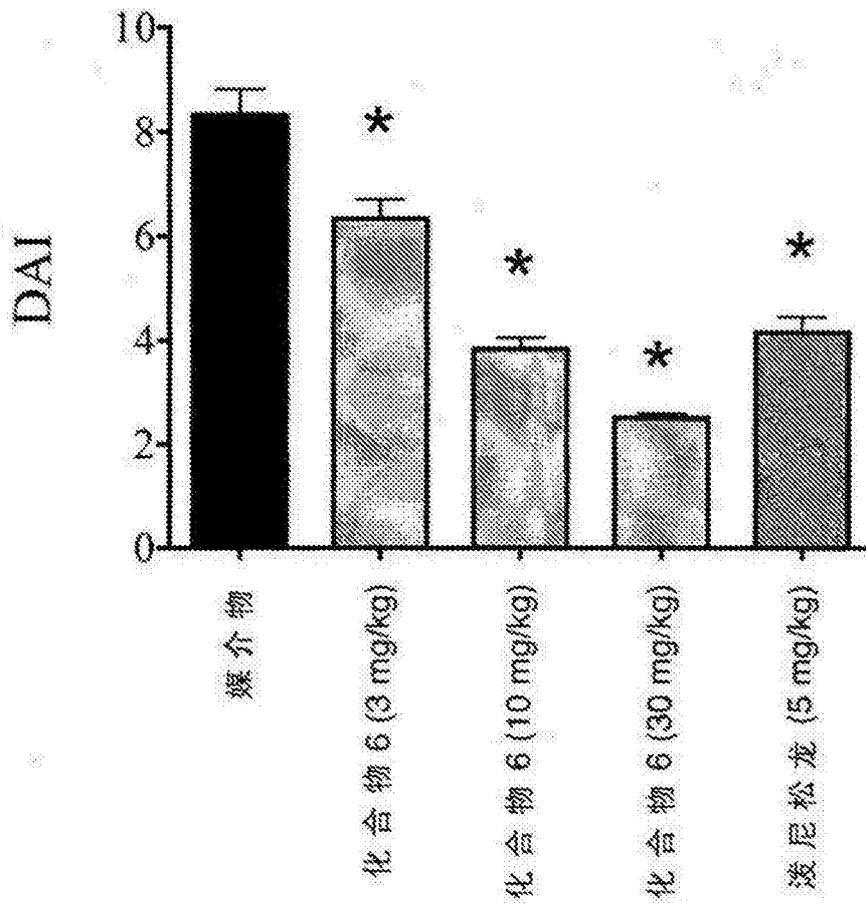


图 9

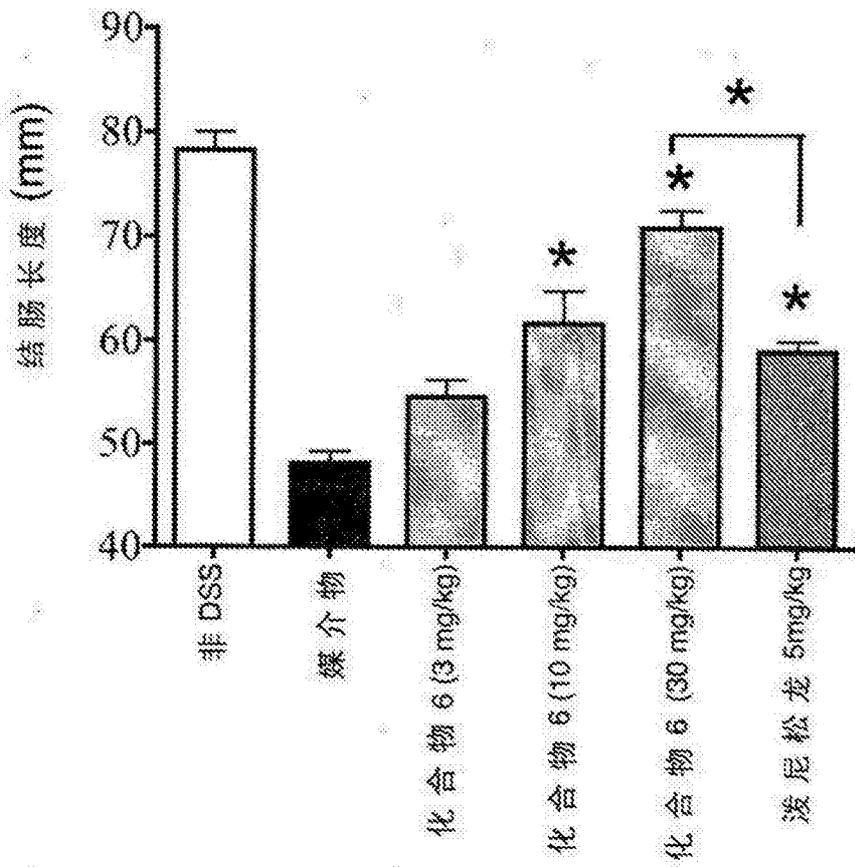


图 10

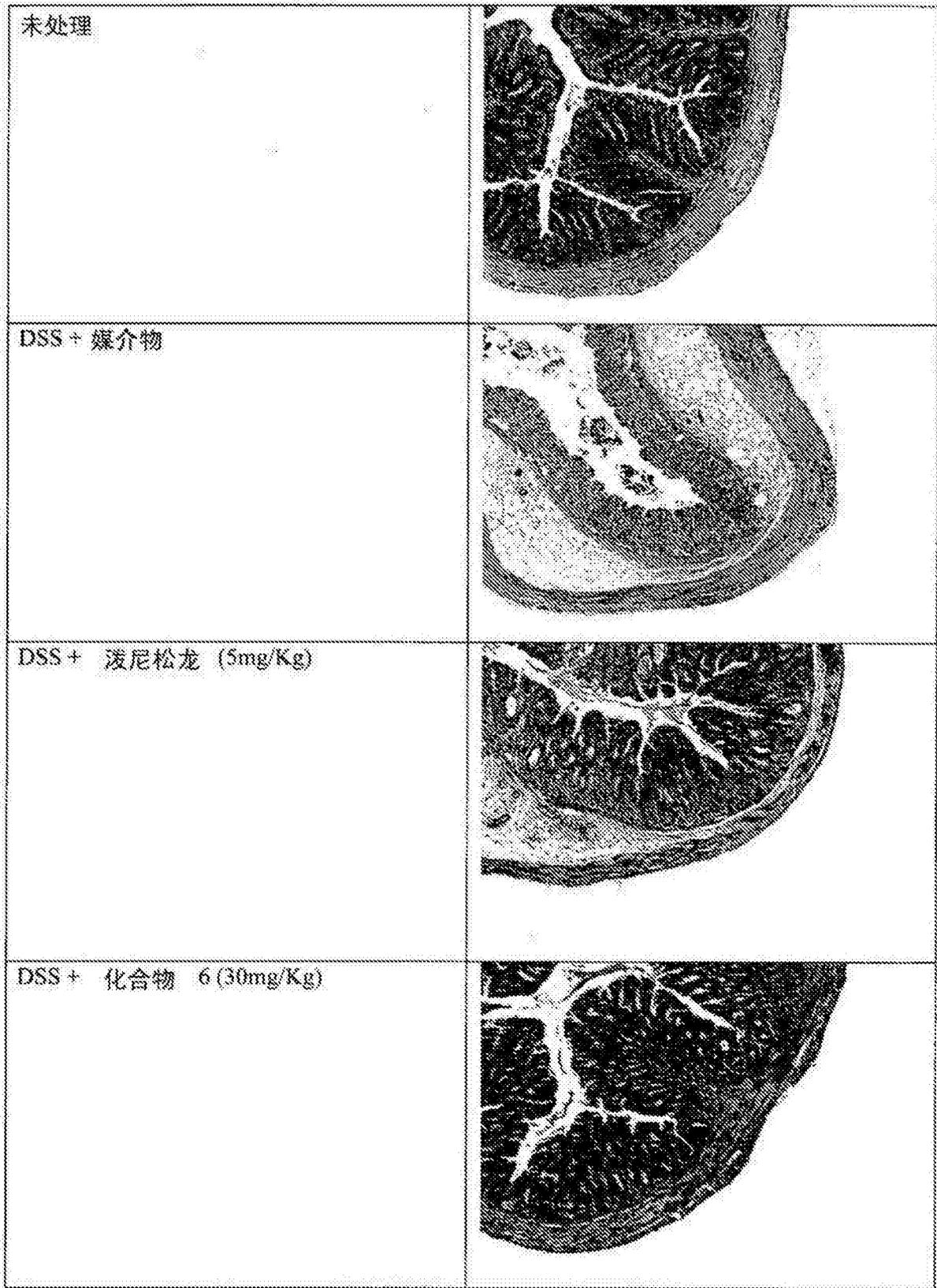


图 11

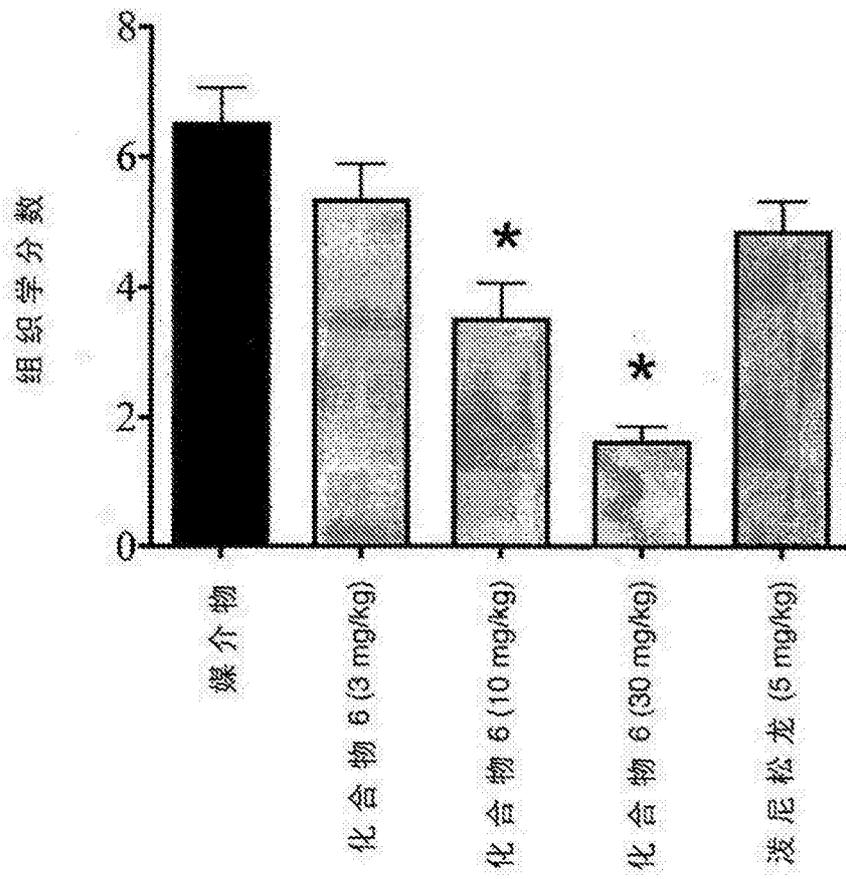


图 12

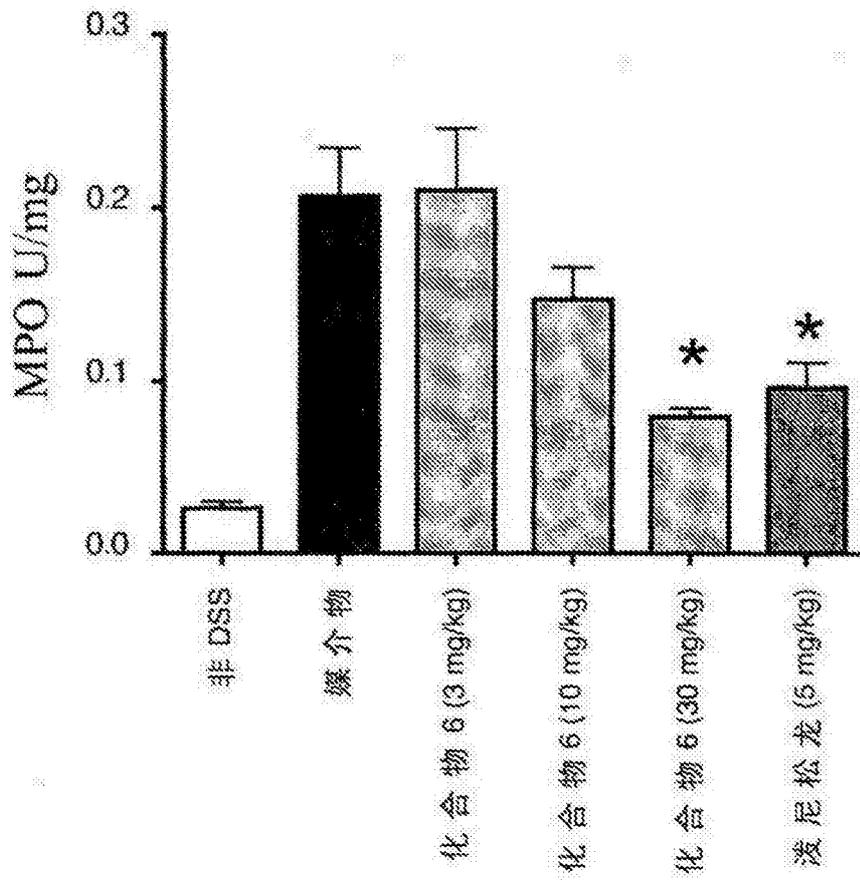


图 13

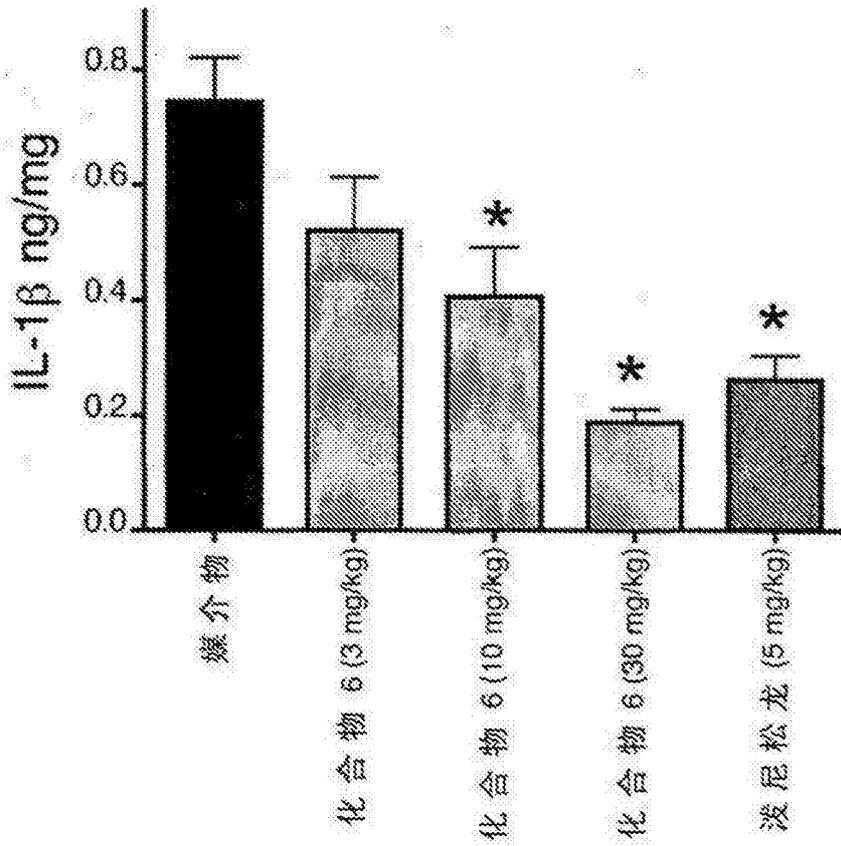


图 14(a)

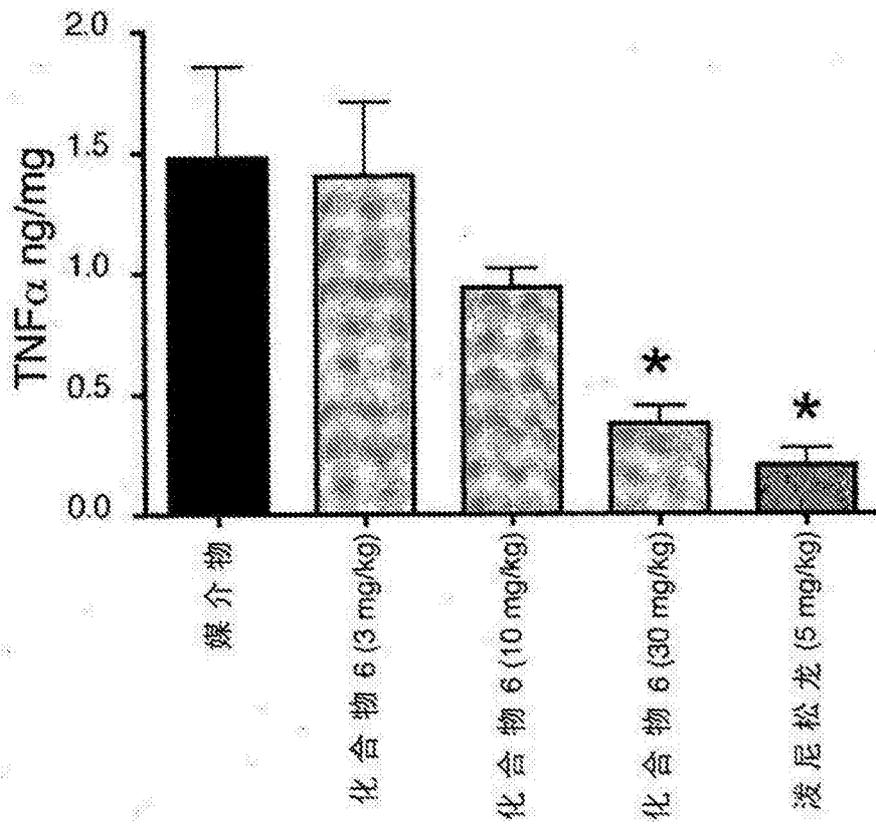


图 14(b)

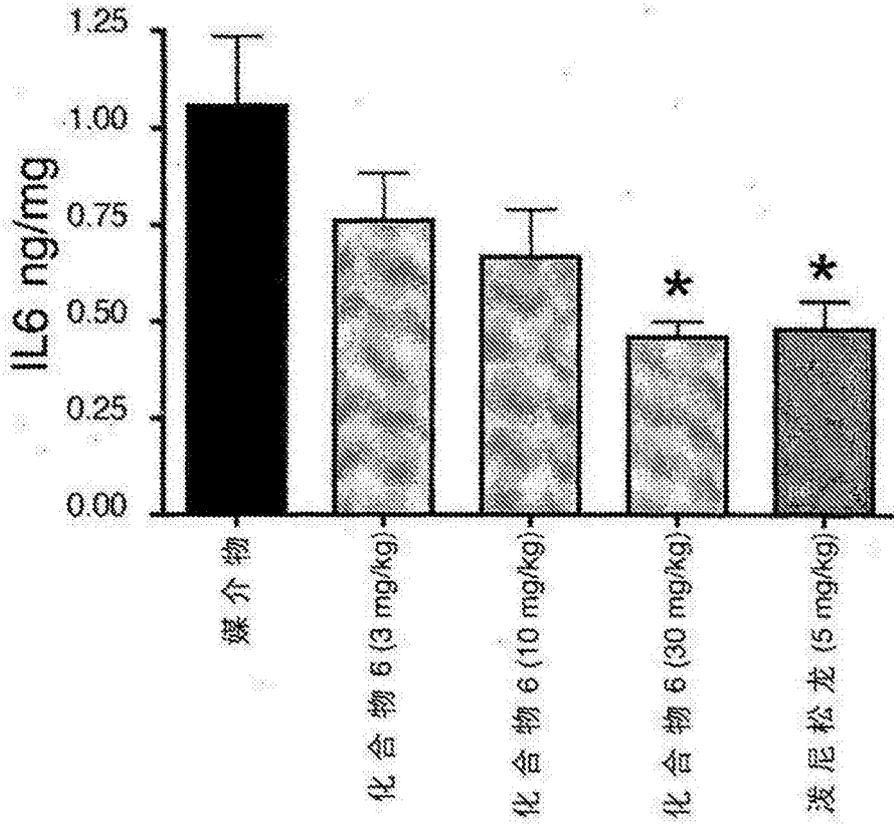


图 14(c)

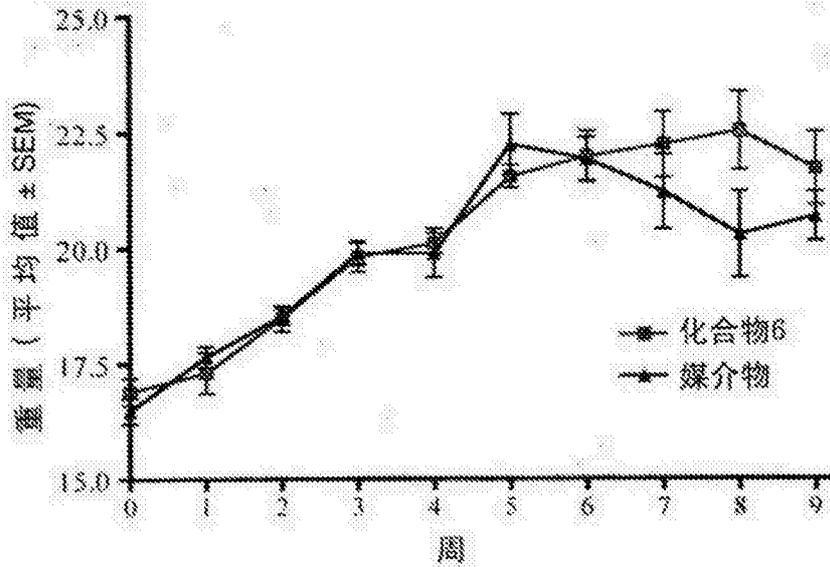


图 15

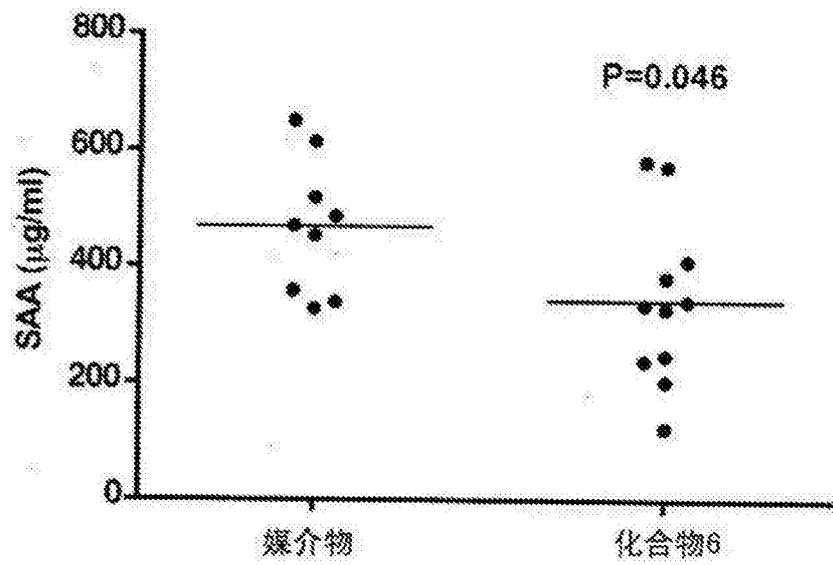


图 16

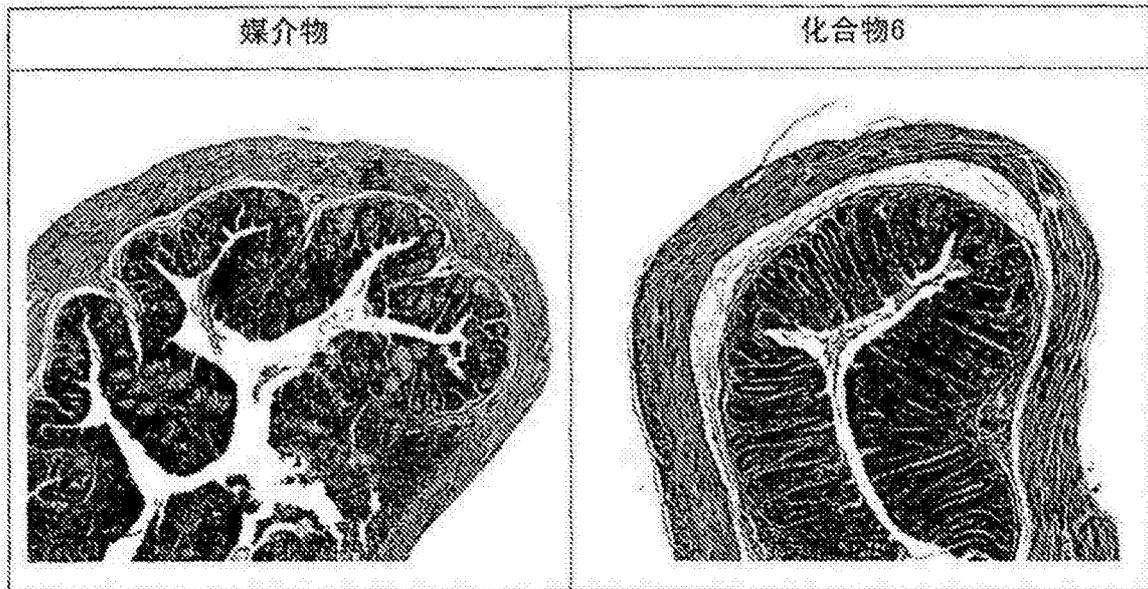


图 17

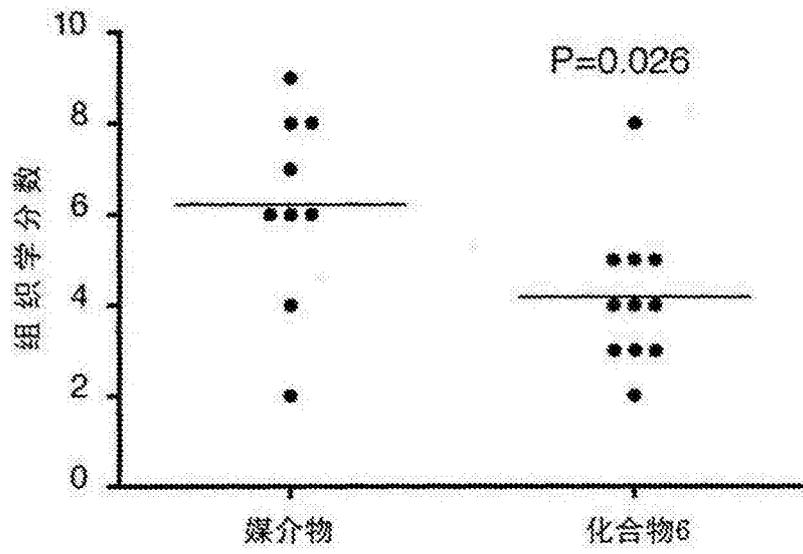


图 18