

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/35

A61K 31/70 A61K 31/445

C07D309/10 C07D405/14

C07H 15/00 A61P 37/00



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 96196352.2

[45] 授权公告日 2004 年 5 月 12 日

「11」 授权公告号 CN 1149082C

[22] 申请日 1996.6.26 [21] 申请号 96196352.2

[30] 优先权

[32] 1995. 6.29 [33] US [31] 60/000,533

[32] 1995. 6.29 [33] US [31] 60/002,784

[86] 国际申请 PCT/US1996/011032 1996.6.26

[87] 国际公布 W097/001335 英 1997.1.16

〔85〕 进入国家阶段日期 1998.2.18

[71] 专利权人 得克萨斯生物技术公司

地址 美国得克萨斯州

[72] 发明人 T·P·科根 B·杜普雷

I · L · 斯科特 H · 比伊

K · L · 惠勒 K · M · 凯勒

J · M · 卡斯伊尔

审查员 闻 雷

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

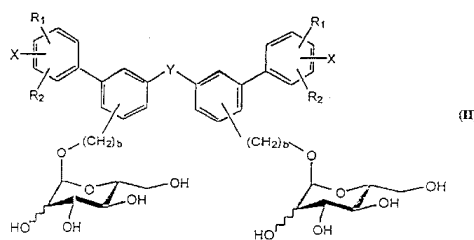
代理人 吴玉和 杨九昌

权利要求书 3 页 说明书 39 页

[54] 发明名称 二价和三价小分子选择蛋白抑制剂

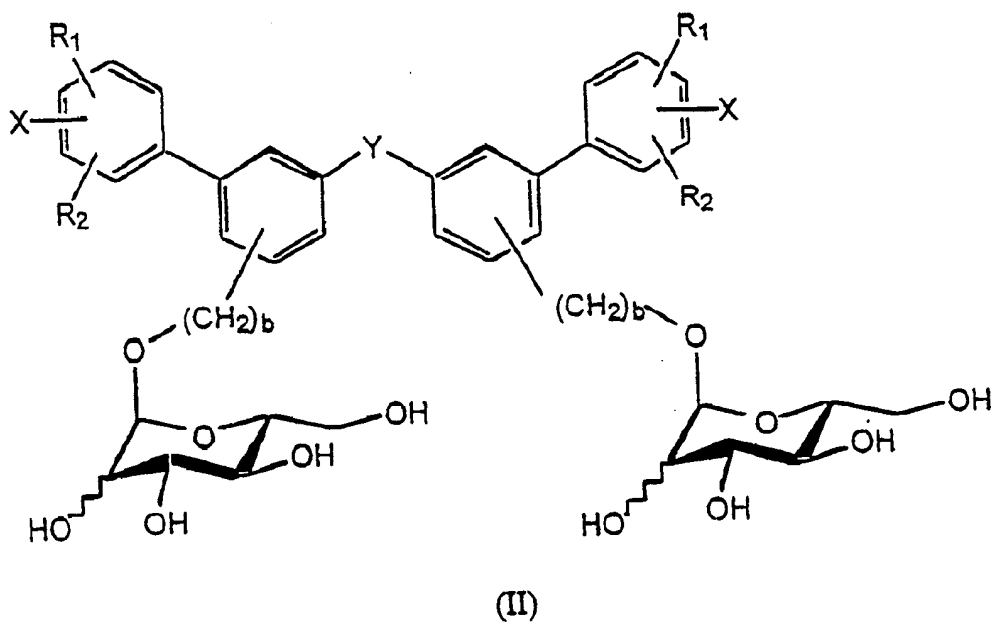
[57] 摘要

本发明提供具有结构式(II)的化合物, 和其药
学上可接受盐, 酯, 酰胺和前药。



ISSN 1008-4274

1. 下式化合物和其药学上可接受盐, 酯, 酰胺和前药:



5 其中 X 选自:

$-(CH_2)_nCO_2H$, $-O(CH_2)_mCO_2H$;

对于二价结构, Y 是 $-(CH_2)_f$,

$-CO(CH_2)_fCO-$, $-(CH_2)_fO(CH_2)_f$,

$-(CH_2)_gS(O)_b(CH_2)_fS(O)_b(CH_2)_g$,

10 $-(CH_2)_fV(CH_2)_f$,

$-(CH_2)_fCOVCO(CH_2)_f$,

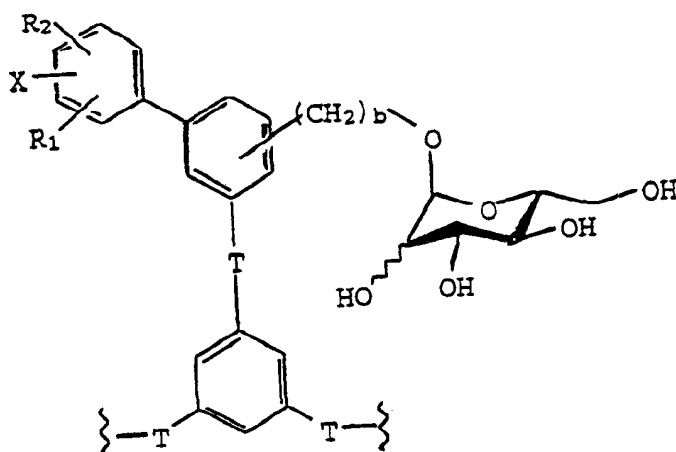
$-(CH_2)_fCONH(CH_2)_fNHCO(CH_2)_f$, $-(CH_2)_fCOW(CH_2)_fWCO(CH_2)_f$,

或

$-CH_2(CH_2)_fW(CH_2)_fCH_2-$, 其中 V 是 $-N-[(CH_2)_q]_2N-$, q 独立地是

15 2-4, W 是芳基或杂芳基;

对于三价结构, Y 是



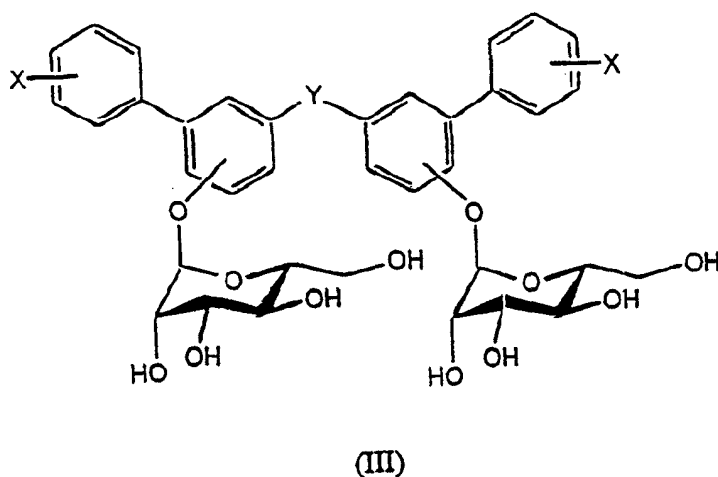
T 选自 $-(CH_2)_f-$ 和 $-CO(CH_2)_gS(O)_b(CH_2)_f-$, 其中羰基连接于联苯单元;
 R_1 和 R_2 为氢;

5 f 是 1-16, g 是 0-6, n 是 0-6, m 是 1-6, p 是 0-6, b 是 0-2.

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 Y 是 $-(CH_2)_f-$ 或 $-CH_2(CH_2)_fW(CH_2)_fCH_2-$.

3. 权利要求 1 的化合物, 其中 X 是 $3-CH_2CO_2H$, 且 Y 是 $-(CH_2)_f-$ 或 $-CH_2(CH_2)_fW(CH_2)_fCH_2-$.

10 4. 下式化合物和其药学上可接受盐, 酯, 酰胺和前药:



其中 X 是 $-COOH$, $-(CH_2)_nCOOH$ 或 $-O(CH_2)_nCOOH$ 且 Y 是

$-(\text{CH}_2)_n-$, $-(\text{CH}_2)_n\text{W}(\text{CH}_2)_n-$, $-(\text{CH}_2)_n\text{WOW}(\text{CH}_2)_n-$,
 $-(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{CH}_2)_n-$, $-\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$, 或
 $-(\text{CH}_2)_n\text{COW}(\text{CH}_2)_n\text{WCO}(\text{CH}_2)_n-$, 其中 W 是芳基或杂芳基, n 是 0-6.

5. 选自下组的化合物:

- 5 1,7-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]庚烷,
 1,6-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]己烷,
 1,5-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]戊烷,
 1,4-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]丁烷,
 N,N'-双-[4-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]丁-1-酰]-
- 10 4,4'-三亚甲基二哌啶,
 S,S'-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧)-3-苯基丙-1-基]-
 1,3-二硫代丙烷,
 1,7-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]-1,7-二氧代庚
 烷,
- 15 1,6-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]-1,6-二氧代己
 烷,
 1,5-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]-1,5-二氧代戊
 烷,
 1,4-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]-1,4-二氧代丁
 20 烷,
 1,3,5-三-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧基) 苯基甲基] 苯和
 1,3,5-三-[4-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(α -D-吡喃甘露糖基氧基) 苯基]-4-氧代-2-
 硫代丁基] 苯。

6. 1,6-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]己
 25 烷。

7. 一种含有权利要求 1 的化合物和药学可接受载体的药物组合物。

8. 权利要求 1 的化合物在制备抑制 E-选择蛋白、P-选择蛋白或 L-选
 择蛋白与 sLe^x 或 sLe^a 结合的药物方面的用途。

9. 按照权利要求 8 的用途, 其中所述化合物是 1,6-双-[3-(3-羧基甲基
 30 苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]己烷。

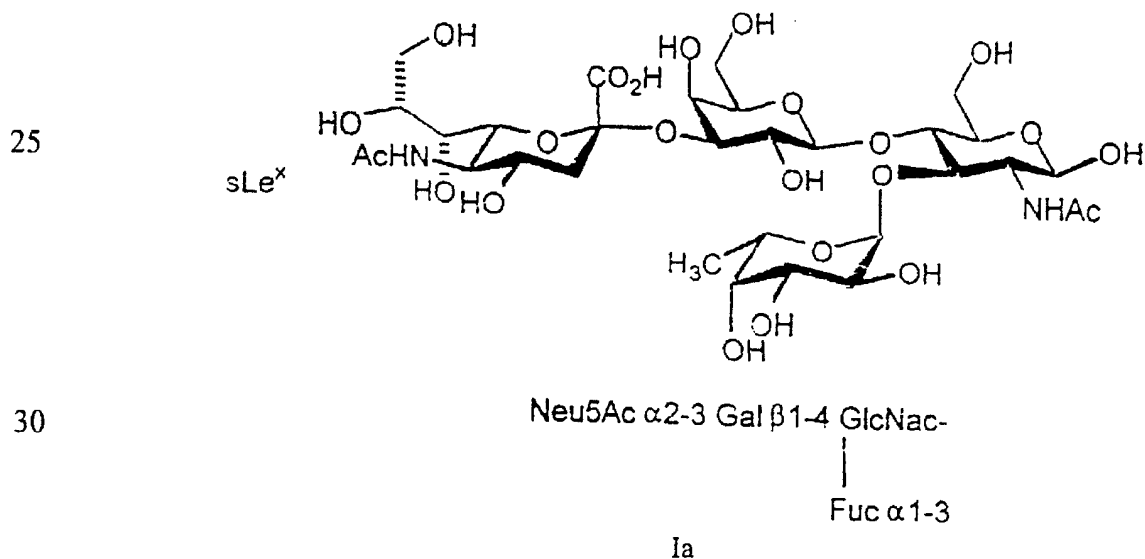
二价和三价小分子选择蛋白抑制剂

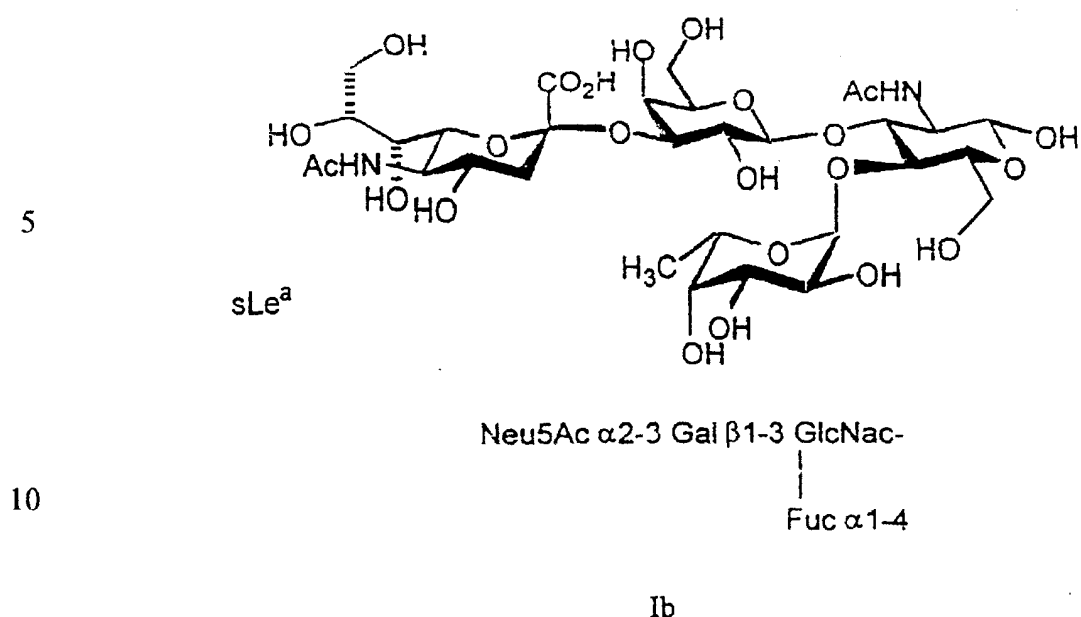
技术领域

- 5 本发明涉及抑制 E - 选择蛋白, P - 选择蛋白, 或 L - 选择蛋白与唾液基 - 路易斯^x (sialyl-Lewis^x) 和唾液基 - 路易斯^a (sialyl-Lewis^a) 结合的化合物, 涉及应用所述化合物抑制 E - 选择蛋白, P - 选择蛋白, 或 L - 选择蛋白与唾液基 - 路易斯^x 或唾液基 - 路易斯^a 结合的方法, 本发明也涉及含有抑制 E, P, 或 L - 选择蛋白与唾液基 - 路易斯^x 或唾液基 - 路易斯^a 结合的化合物的药物活性组合物。

发明背景

- E - 选择蛋白, 对于内皮白细胞粘着因子 - 1 也称为 ELAM - 1, 对于凝集素细胞粘着分子也称为 LECAM - 2, 是在内皮细胞表面发现的一种糖蛋白, 所述内皮细胞排列在毛细血管内壁。E - 选择蛋白识别一些白细胞表面上存在的碳水化合物唾液基 - 路易斯^x (sLe^x) 并与其结合。E - 选择蛋白帮助白细胞识别并粘附于毛细血管周围的组织被感染或损伤的部位的毛细血管壁。E - 选择蛋白实际上是已知的三种选择蛋白中的一种。另外两种是 L - 选择蛋白和 P - 选择蛋白。P - 选择蛋白在发炎内皮和血小板上被表达, 结构非常类似于 E - 选择蛋白, 并且也可以识别唾液基 - 路易斯^x。L - 选择蛋白在白血细胞上被表达, 结构也非常类似于 P - 和 E - 选择蛋白。唾液基 - 路易斯^x 和唾液基 - 路易斯^a (sLe^a) 的结构在下面的结构式 I_a 和 I_b 中给出





15 当组织已经被微生物侵染或者被侵害后，白血细胞，也称白细胞，在炎症应答中起重要作用。炎症应答的一个最重要的方面包括细胞粘着的发生。一般情况下，白血细胞通过血流而循环，但是，当组织感染或损伤时，白血细胞一定能识别受侵染或损伤的组织，并能与受损伤的组织附近的毛细血管壁结合，并通过毛细血管扩散到受侵染的组织中。E-选择蛋白帮助两种特定类型的白血细胞识别受损伤部位，并与毛细血管壁结合，从而使白血细胞能扩散到受损伤的组织中。

有三种主要类型白血细胞：粒细胞，单核细胞和淋巴细胞。在这些类型中，E-选择蛋白识别以糖蛋白或糖脂存在于单核细胞和中性白细胞表面之上的 sLe^x。中性白细胞是粒细胞亚类，其吞噬并破坏微生物，特别是细菌。单核细胞在通过毛细血管壁离开血液后，成熟为巨噬细胞，其吞噬并消化侵染的微生物，外来体和衰老细胞。

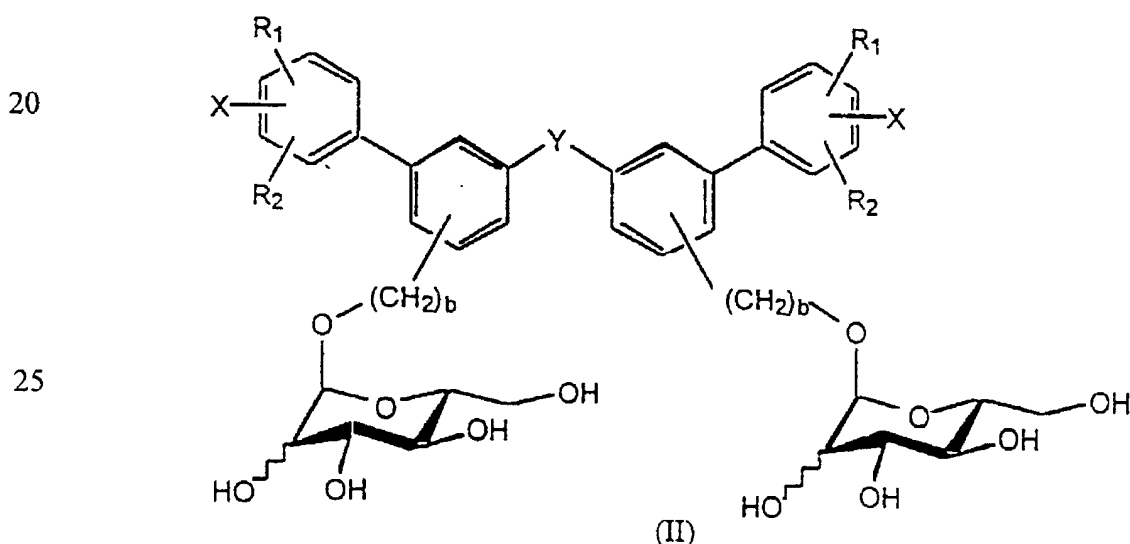
当毛细血管周围的组织被侵染或被损伤时,单核细胞和中性白细胞能通过与在毛细血管中内皮细胞表面产生的 E - 选择蛋白结合而识别损伤组织部位。一般情况下,当与毛细血管紧邻的组织被损伤时, E - 选择蛋白和 P - 选择蛋白的产生增加。P - 选择蛋白基本上存在于贮存粒中,当内皮被激活后, P - 选择蛋白从其中快速固定到细胞表面。与此相反, E - 选择蛋白需要从头合成 RNA 和蛋白,在激活后大约 4 - 6 小时达到最大表达,大约 24 - 48 小时后降低到基础水平。白血细胞

识别受损伤部位，因为存在于白血细胞表面的 sLe^X 部分结合 E - 选择蛋白和 P - 选择蛋白。该结合减慢了白血细胞随血液循环的速度，因为其在整联蛋白介导的接触和迁移之前介入了白细胞沿着激活内皮的进展，并帮助把白血细胞定位在受伤或侵染的部位。

- 5 在白血细胞迁移到受损伤部位帮助抵御感染和破坏外来物质的同时，过量白血细胞的蓄积会引起大范围组织损伤。因此，能阻断这一过程的化合物可以很好地作为治疗剂。因此，开发出能防止白血细胞与 E - 选择蛋白和 P - 选择蛋白结合的抑制剂将是有益的。例如，能通过抑制选择蛋白结合 sLe^X 而治疗的一些疾病包括但不限于 ARDS，节段性回肠炎，脓毒性休克，创伤性休克，多器官衰竭，自身免疫疾病，哮喘，
- 10 肠炎，牛皮癣，类风湿性关节炎，心脏病继发的再灌注（reperfusion）损伤，中风和器官移植。 sLe^a ，一种紧密相关的 sLe^X 的区域化学异构体，除了在一些白血细胞上被发现外，在各种癌细胞包括肺癌细胞和结肠癌细胞上也有所发现。有人建议涉及 sLe^a 的细胞粘着可能在某些癌症
- 15 转移中涉及。

发明概述

本发明提供具有下面式 II 结构式的化合物：



30 其中 X 选自：

-CN, $-(CH_2)_nCO_2H$, $-(CH_2)_nCONHOH$, $-O(CH_2)_mCO_2H$,
 $-O(CH_2)_mCONHOH$, $-(CH_2)_nCONHNH_2$, $-(CH_2)_nCOZ$, $-(CH_2)_nZ$,

-CH(CO₂H)(CH₂)_mCO₂H, -(CH₂)_nO(CH₂)_mCO₂H, -CONH(CH₂)_mCO₂H,
 -CH(OZ)(CO₂H), -CH(Z)(CO₂H), -(CH₂)_nSO₃H, -(CH₂)_nPO₃D₁D₂,
 -NH(CH₂)_mCO₂H, -CONH(CHR₃)CO₂H, (1 - H - 四唑基 - 5 - 烷基),
 和-OH;

5 对于二价结构, Y 是 -(CH₂)_f-,

-CO(CH₂)_fCO-, -(CH₂)_fO(CH₂)_f-, -CO(CH₂)_fO(CH₂)_fCO-,
 -(CH₂)_gS(O)_b(CH₂)_fS(O)_b(CH₂)_g-,
 -CO(CH₂)_gS(O)_b(CH₂)_fS(O)_b(CH₂)_gCO-, -(CH₂)_fV(CH₂)_f-,
 -(CH₂)_fCOVCO(CH₂)_f-, -CO(CH₂)_fCOVCO(CH₂)_fCO-,
 -CO(CH₂)_fV(CH₂)_fCO-, -CONH(CH₂)_fNHCO-, -CO(CH₂)_fW(CH₂)_fCO-,

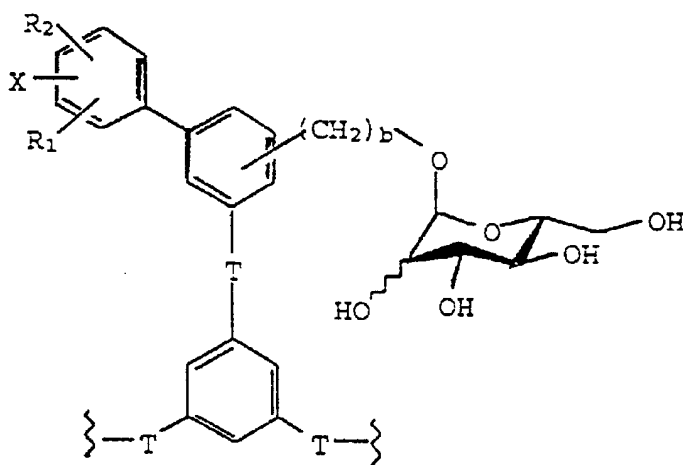
10 -(CH₂)_fWSW(CH₂)_f-,

-(CH₂)_fCONH(CH₂)_fNHCO(CH₂)_f-, -(CH₂)_fCOW(CH₂)_fWCO(CH₂)_f-, 或

-CH₂(CH₂)_fW(CH₂)_fCH₂-, 其中 V 是 -N-[(CH₂)_q]N-, q 独立地是 2 至 4, 且 W 是芳基或杂芳基;

对于三价结构, Y 是

15



20

25

T 选自 -(CH₂)_f -, -CO(CH₂)_f -, -(CH₂)_gS(O)_b(CH₂)_f -, 和
 -CO(CH₂)_gS(O)_b(CH₂)_f -, 其中羰基连接于联苯单元;

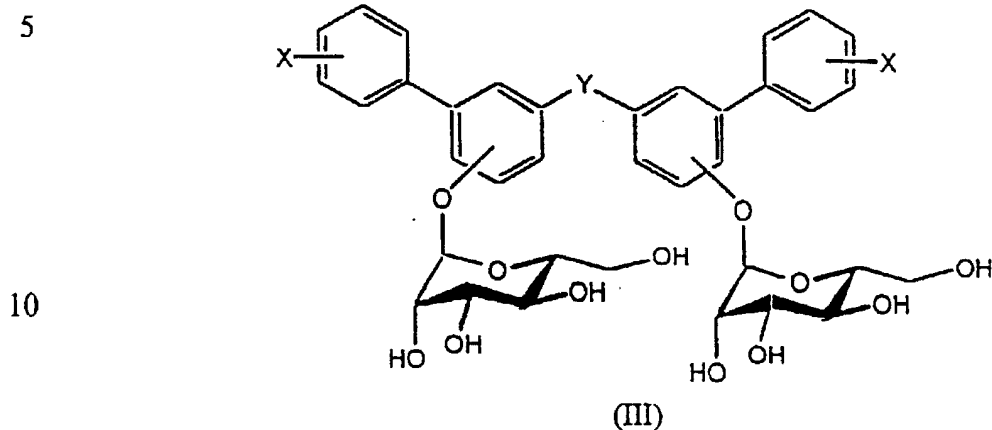
R₁ 和 R₂ 独立地选自氢, 烷基, 卤素, -OZ, -NO₂, -(CH₂)_nCO₂H, -NH₂,
 和-NHZ;

30 R₃ 选自氢, 烷基, 芳烷基, 羟基烷基, 氨基烷基, 烷基羧酸和烷基
 甲酰胺 (alkylcarboxamide);

f 是 1 - 16, g 是 0 - 6, n 是 0 - 6, m 是 1 - 6, p 是 0 - 6,

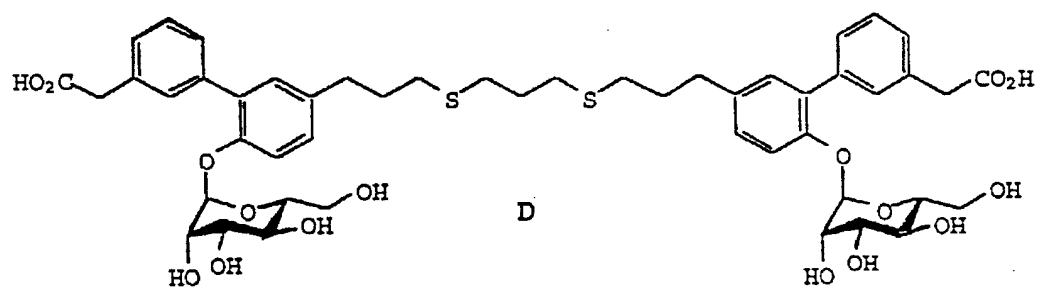
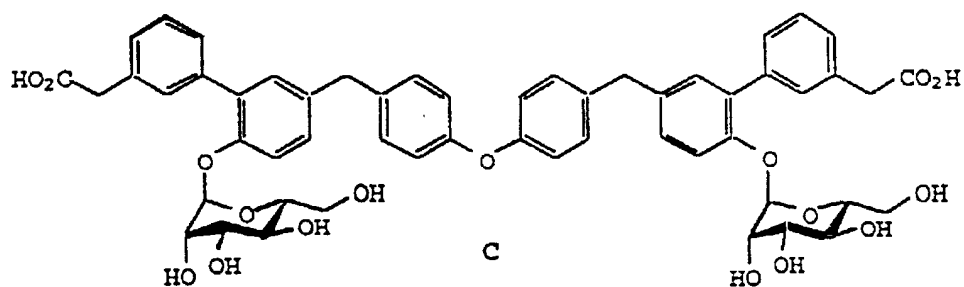
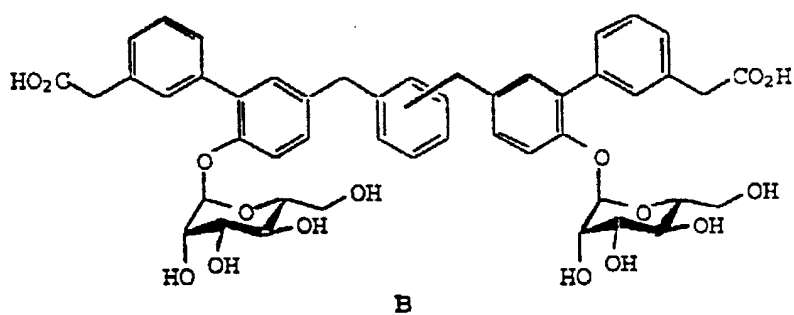
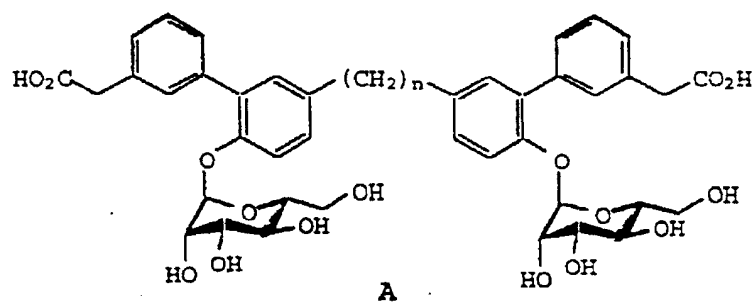
b 是 0 - 2, Z 是烷基, 芳基或芳烷基, D_1 和 D_2 独立地是氢或烷基, 和其药学上可接受的盐, 酯, 酰胺和前药。

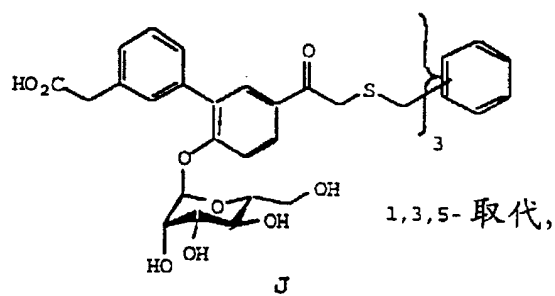
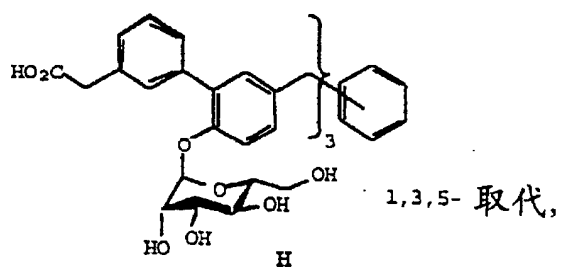
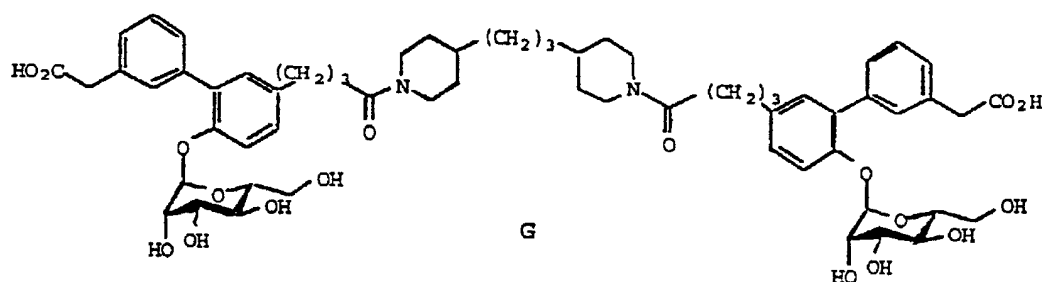
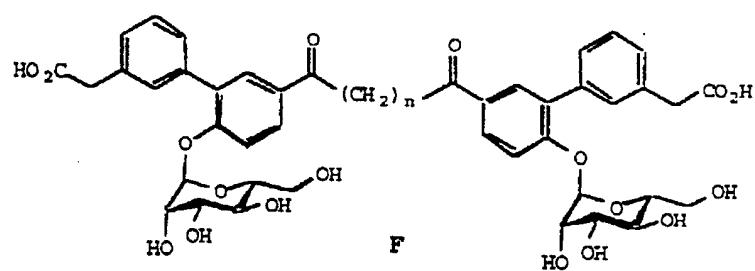
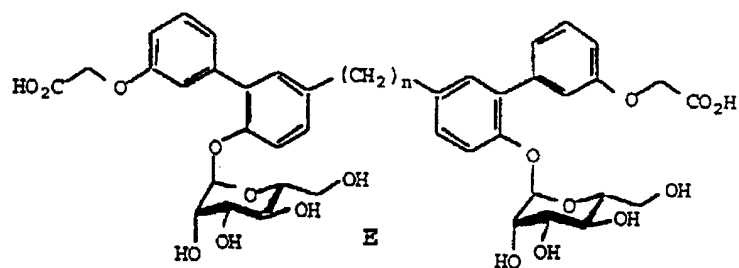
更具体地, 本发明提供式 III 化合物:



15 其中 X 是 $-\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 或 $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 且 Y 是
 $-(\text{CH}_2)_n-$, $-(\text{CH}_2)_n\text{W}(\text{CH}_2)_n-$, $-(\text{CH}_2)_n\text{WOW}(\text{CH}_2)_n-$,
 $-(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{CH}_2)_n-$, $-\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$, 或
 $-(\text{CH}_2)_n\text{COW}(\text{CH}_2)_n\text{WCO}(\text{CH}_2)_n-$, 其中 W 和 n 如上定义。

特别优选的化合物包括





本发明还提供含有一种式 II 或式 III 化合物和药学上可接受载体的药物组合物。

- 5 本发明进一步提供抑制 E - 选择蛋白, P - 选择蛋白, 或 L - 选择蛋白与唾液基 - 路易斯^X或唾液基 - 路易斯^a结合的方法, 包括给患者施用有效量具有式 II 或式 III 结构的一种化合物这一步骤, 以抑制 E - 选择蛋白, P - 选择蛋白, 或 L - 选择蛋白与唾液基 - 路易斯^X或唾液基 - 路易斯^a结合, 和施用含有一种式 II 或式 III 化合物和药学上可接受载体的药物活性组合物。

- 10 本发明化合物也可以用于治疗疾病的方法中, 所述疾病例如 ARDS, 节段性回肠炎, 脓毒性休克, 创伤性休克, 多器官衰竭, 自身免疫疾病, 哮喘, 肠炎, 牛皮癣, 类风湿性关节炎, 心脏病继发性再灌注损伤, 中风和器官移植和癌症, 该方法包括给需要这种治疗的动物治疗有效量的具有式 II 或式 III 的一种化合物以减轻疾病症状。

15 优选实施方案的详细说明

现已发现具有式 II 的化合物能抑制 E -, P -, 或 L - 选择蛋白与 sLe^X或 sLe^a 结合。

- 20 这里所使用的术语“烷基”是指一价直链或支链 1 - 12 碳原子链基团, 包括但不限于甲基, 乙基, 正丙基, 异丙基, 正丁基, 仲丁基, 异丁基, 叔丁基等。

术语“低级烷基”指 1 - 6 碳原子的任何烷基。

术语“卤素”指选自氟, 氯, 溴, 碘的任何原子。

- 25 术语“烷氧基”指通过氧原子与分子连接的烷基, 包括但不限于甲氧基, 乙氧基, 异丙氧基, 正丁氧基, 仲丁氧基, 异丁氧基, 叔丁氧基等。

术语“烷基氨基”指具有-NH-(烷基)或-N-(烷基)₂结构的基团, 包括, 例如甲基氨基, 乙基氨基, 异丙基氨基等。

- 30 术语“芳基”指碳环芳香基团, 包括但不限于苯基, 1 - 或 2 - 萘基, 茚基, (1, 2) - 二氢萘基, 茛基, 2, 3 - 二氢茛基, 噻吩基, 苯并噻吩基, 噻吩并吡啶基, 等。

术语“芳烷基”(也称作芳基烷基)指与烷基相连的芳基, 包括但不限于苄基, 1 - 和 2 - 萘基甲基, 卤代苄基, 烷氧基苄基, 羟基苄基,

氨基苄基, 硝基苄基, 胍基苄基, 苄基甲基, 苄基甲基苄基, 1-苯基乙基, 2-苯基乙基, 1-萘基乙基等。

术语“羟基烷基”指烷基上有羟基。

术语“氨基烷基”指与烷基相连的结构 - $\text{NR}_\text{X}\text{R}_\text{Y}$ 。基团 R_X 和 R_Y 独立地是例如氢, 烷基和芳基。

术语“烷基羧酸”指与烷基相连的羧基基团 (- COOH)。

术语“烷基甲酰胺”指与烷基相连的结构 - $\text{CONR}_\text{X}\text{R}_\text{Y}$ 。其中基团 R_X 和 R_Y 的定义如上述氨基烷基中所述。

这里使用的术语“药学上可接受盐, 酯, 酰胺和前药”指在所述药
10 学鉴定范围内, 适用于与患者组织接触而没有异常毒性, 刺激, 过敏反应等的本发明化合物的羧酸盐, 氨基酸加成盐, 酯, 酰胺和前药, 用合理的有利/风险毒性比和对于所要进行的应用有效的量匹配, 可能的话以本发明化合物两性离子形式使用。术语“盐”指相对来说无毒性的本发明化合物的无机和有机酸加成盐。这些盐可以通过在化合物最终分离
15 和纯化过程中就地制备, 或者分别使游离形式的纯化的化合物与合适的无机或有机酸或碱反应, 从而形成离析的盐。有代表性的盐包括氢溴酸盐, 盐酸盐, 硫酸盐, 硫酸氢盐, 硝酸盐, 乙酸盐, 草酸盐, 戊酸盐, 油酸盐, 棕榈酸盐, 硬脂酸盐, 月桂酸盐, 硼酸盐, 苯甲酸盐, 乳酸盐, 磷酸盐, 甲苯磺酸盐, 柠檬酸盐, 马来酸盐, 富马酸盐, 琥珀酸盐, 酒
20 石酸盐, 茶酸盐, 甲磺酸盐, 葡萄糖基庚酸盐, 乳糖酸盐, 月桂基磺酸盐, 等。这些盐中可以含有碱金属和碱土金属阳离子, 例如钠, 锂, 钾, 钙, 镁等, 以及非毒性铵离子, 季铵离子和胺阳离子, 包括但不限于铵, 四甲铵, 四乙铵, 甲胺, 二甲胺, 三甲胺, 和三乙胺, 乙胺等 (参见例如 S.M.Berge 等“药用盐” (*Pharmaceutical Salts*), 《药物科学杂志》
25 (*J.Pharm.Sci.*), 66: 1 - 19 (1977), 这里引入作为参考)。

本发明化合物药学上可接受的非毒性酯的例子包括 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ 烷基酯, 其中烷基是直链或支链烷基。可接受酯也包括 $\text{C}_5 - \text{C}_7$ 环烷酯以及芳基烷基酯, 例如但不限于苯甲酯。优选 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基酯。本发明化合物的酯可以根据常规方法制备。

30 本发明化合物药学上可接受的非毒性酰胺的例子包括从氨, 其中烷基是直链或支链烷基的 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ 烷基伯胺和 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ 二烷基仲胺衍生的酰胺。在仲胺的情况下, 胺也可以是含有一个氮原子的 5 或 6 元杂环形

式。优选从氨衍生的酰胺， $C_1 - C_3$ 烷基伯酰胺和 $C_1 - C_2$ 二烷基仲酰胺。本发明化合物的酰胺可以根据常规方法制备。

术语“前药”是指例如通过在血液中水解而体内快速转化得到上式母体化合物的化合物。在 T.Higuchi 和 V.Stella, “作为新的给药系统的前药” (Pro-drugs as Novel Delivery Systems), Vol.14, A.C.S.Symposium 系列, 和在“药物设计中的生物可逆载体” (Bioreversible Carriers in Drug Design), Edward B.Roche 编著, 美国 Pharmaceutical Association and Pergamon 出版, 1987, 在这些文献中有全面的讨论, 这里引入作为参考。

10 本发明也提供含有本发明活性化合物的药物活性组合物。也涉及含有一种本发明化合物和其他抑制 E - 选择蛋白或 P - 选择蛋白与 sLe^x 或 sLe^a 结合或者与 E - 选择蛋白或 P - 选择蛋白竞争结合 sLe^x 或 sLe^a 的化合物, 包括 sLe^x 和 sLe^a 自身的药物活性组合物。

15 本发明药物活性组合物含有一种生理载体和一种式 II 或式 III 化合物。

本发明药物组合物可以包含一种或几种上述结构 II 或 III 的化合物, 其与一种或几种非毒性的生理可接受载体, 助剂或赋形剂, 这里统称为载体, 一起配制, 形成肠胃外注射剂, 固体或液体形式的口服制剂, 用于直肠或局部给药的制剂等。

20 对人或动物给予药物组合物可以通过口服, 直肠, 肠胃外(静脉内, 肌肉, 或皮下), 脑池内, 阴道内, 腹膜内, 局部(粉剂, 软膏或滴液), 或作为口腔含化剂或通过吸入给药(喷雾, 或作为鼻喷雾剂)。

适于肠胃外注射的组合物包括生理可接受无菌水溶液或非水溶液, 分散液, 混悬剂或乳剂和配制成无菌可注射液或分散液的无菌粉剂。合适的含水和非水载体, 稀释剂, 溶剂, 或赋形剂的例子包括水, 乙醇, 多醇(丙二醇, 聚乙二醇, 甘油等), 其合适的混合物, 植物油(例如橄榄油或 canola 油)和可注射有机酯例如油酸乙酯。例如通过使用涂层例如卵磷脂, 在分散液的情况下通过保持必需的粒度和通过使用表面活性剂而可以保持适当的流动性。

30 这些组合物也可以含有助剂例如防腐剂, 湿润剂, 乳化剂, 和分散剂。通过加入各种杀细菌剂和杀真菌剂而保证防止微生物的作用, 杀细菌剂和杀真菌剂例如对羟基苯甲酸酯类, 氯代丁醇, 苯酚, 山梨酸等。

也可以含有等张剂例如糖，氯化钠等。通过使用延缓吸收剂例如一硬酯酸铝和明胶而使可注射药物形式延时吸收。

- 如果希望，和为了更有效分布，化合物可以掺合到缓释或定时释放或定向运送系统中，例如聚合物基质，脂质体，和微球体。其可以是灭菌的，例如通过截细菌滤纸过滤，或者仅在使用前通过加入到无菌水形式的无菌剂或某些其他无菌可注射基质而消毒。

- 口服固体剂量形式包括胶囊，片剂，丸剂，粉剂和颗粒剂。在这样的固体剂量形式中，活性化合物或一种前药酯与至少一种惰性常规赋形剂（或载体）例如柠檬酸钠或磷酸二钙或（a）填充剂或补充剂例如淀粉，乳糖，蔗糖，葡萄糖，甘露糖醇和硅酸，（b）粘合剂，例如羧甲基纤维素，藻酸盐，明胶，聚乙烯吡咯烷酮，蔗糖和金合欢，（c）保湿剂，例如甘油，（d）崩解剂，例如琼脂-琼脂，碳酸钙，马铃薯或木薯淀粉，藻酸，一些复合硅酸盐和碳酸钠，（e）溶液缓释剂，例如石蜡，（f）促吸收剂，例如季铵化合物，（g）湿润剂，例如十六烷醇和一硬酯酸甘油酯，（h）吸附剂，例如高岭土和膨润土，和（i）润滑剂，例如滑石，硬酯酸钙，硬酯酸镁，固体聚乙二醇，月桂基硫酸钠或其混合物混合。在胶囊，片剂和丸剂的情况下，这些剂量形式也可以含有缓冲剂。

- 类似类型的固体组合物也可以作为装入使用赋形剂例如乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇等材料的软胶囊和硬胶囊中的填充物来使用。

- 固体剂量形式例如片剂，锭剂，胶囊，丸剂和颗粒剂可以带包衣和包壳制备，例如肠包衣和其他本领域已知的材料。其中可以含有遮光剂，并且也可以是这样的组合物，其以缓释方式在肠道的某一部分释放活性化合物。可以使用的包被材料例如是聚合物和蜡。

如果合适，活性化合物也可以是含有一种或几种上述赋形剂的微胶囊形式。

- 口服液体剂量形式包括药学上可接受乳剂，溶液，混悬剂，糖浆和酏剂。除活性化合物外，液体剂量形式可以含有本领域常用的惰性稀释剂例如水或其他溶剂，增溶剂和乳化剂，例如乙醇，异丙醇，碳酸乙酯，乙酸乙酯，苯甲醇，苯甲酸苯甲酯，丙二醇，1，3-丁二醇，二甲基甲酰胺，油，特别是棉籽油，花生油，玉米胚油，橄榄油，cannola油，

蓖麻油和芝麻油，甘油，四氢糠醇，聚乙二醇和脱水山梨糖醇脂肪酸酯，或这些物质的混合物，等等。

除惰性稀释剂外，组合物还可以含有助剂，例如湿润剂，乳化剂和悬浮剂，甜味剂，调味剂和香味剂。

- 5 混悬剂中除活性化合物外也可以含有悬浮剂，例如乙氧化的异硬脂醇，聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨糖醇酯，微晶纤维素，偏铝酸，膨润土，琼脂-琼脂和西黄蓍胶或这些物质的混合物等。

- 用于直肠给药的组合物优选栓剂，其通过将本发明化合物与合适的无刺激性赋形剂或载体混合而制备，所述赋形剂或载体是例如可可脂，
10 聚乙二醇或栓剂用蜡，其在常温下为固体但是在体温下是液体，因此在直肠或阴道腔内融化而释放活性化合物。

本发明化合物局部给药的剂量形式包括软膏，粉末剂，喷雾剂和吸入剂。

- 活性成分在无菌条件下与一种生理上可接受载体和任何必需的防腐剂，缓冲剂或可能需要的抛射剂混合。眼科制剂，眼用软膏，混悬剂，
15 粉剂和溶液也属于本发明范围。

- 本发明化合物也可以以脂质体的形式给药。正如本领域所公知的，脂质体一般从磷脂或其他类脂物质衍生。脂质体通过分散在含水基质的单室或多室水合的液体晶体形成。可以使用任何能生成脂质体的无毒性的，生理上可接受的且可代谢的类脂。脂质体形式的本发明组合物除含有本发明选择蛋白结合抑制剂外，含有稳定剂，防腐剂，赋形剂等。优选的类脂是天然的和合成的磷脂和磷脂酰胆碱（卵磷脂）。生成脂质体的方法是本领域公知的。
20

- 本发明组合物中活性成分的实际剂量水平可以变化，使活性成分的量能有效获得对于特定组合物和给药方法的所期望的治疗效果。因此，
25 可选择的剂量水平取决于所期望的治疗效果，给药途径，所期望的治疗期限和其他因素。

- 对于宿主以单剂或多剂给药的本发明化合物的总的日剂量可以在每千克体重大约 0.3mg-大约 50mg 的范围内。剂量单位组合物可以含有
30 亚多剂，以使总剂量达到日剂量。但是应该理解，不管是对人还是其他动物，对于任何具体患者的具体剂量水平取决于多种因素，包括体重，一般健康状况，性别，饮食，给药时间和途径，吸收和排泄的频率，结

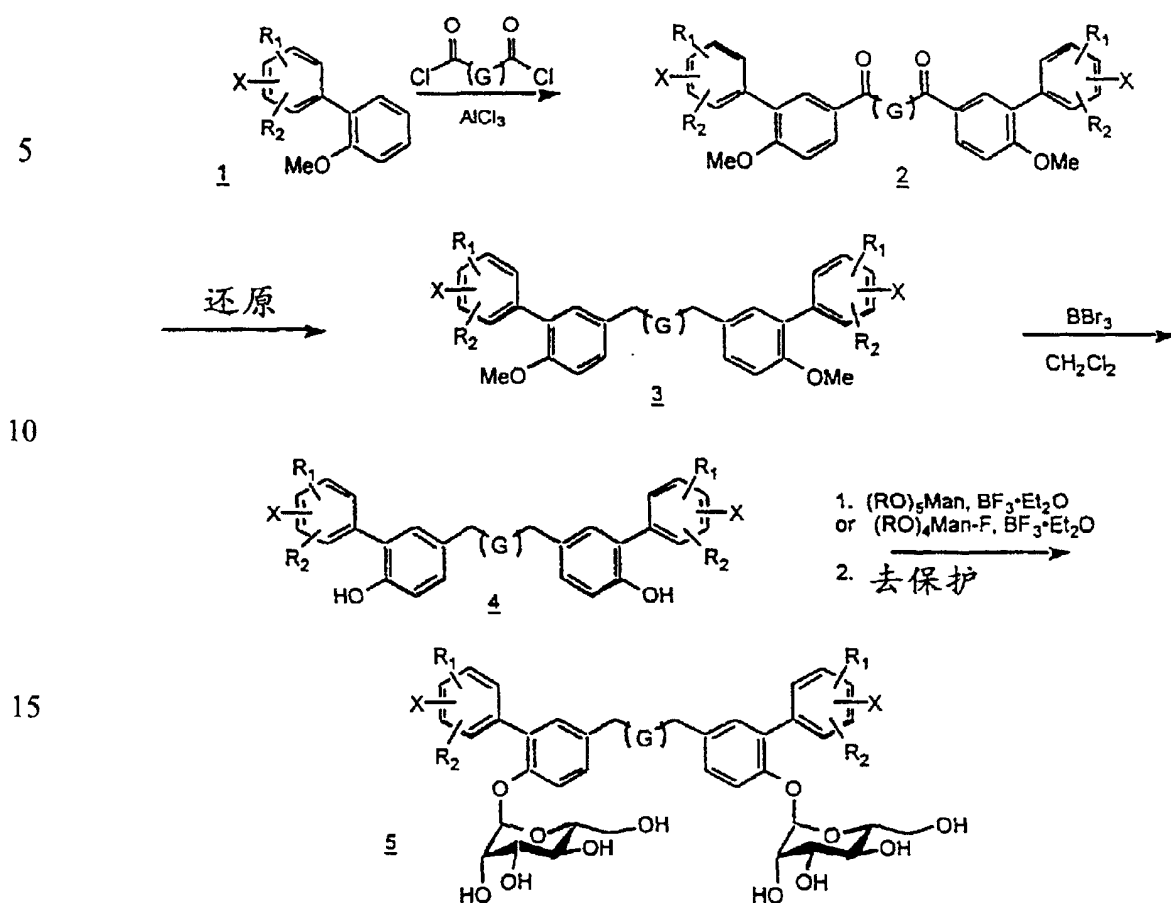
合使用其他药物的情况，和要治疗的具体疾病的严重程度。

特别是，本发明化合物可以用来治疗与各种炎症和细胞-细胞识别和粘着相关的疾病。例如本发明化合物可以给予患者来治疗脓毒性休克，慢性炎症例如牛皮癣和类风湿性关节炎，和心脏病后继发的再灌注组织损伤，中风和器官移植，创伤性休克，多器官衰竭，自身免疫疾病，哮喘和肠炎。在每种情况下，对于需要这种治疗的患者单独或作为药物活性组合物的一部分给予有效量的本发明化合物。也可以理解可以结合使用这些化合物给予需要这种治疗的患者。也可以给予本发明化合物来治疗与细胞-细胞粘着相关的其他疾病。因为本发明化合物抑制E-选择蛋白或P-选择蛋白与sLe^x或sLe^a结合，通过抑制这种结合相互作用而可以有效地治疗与这种相互作用相关的任何疾病。

除了在一些白血细胞上发现外也在不同癌细胞上发现了sLe^a，包括肺癌细胞和结肠癌细胞。已经有人提出涉及sLe^a的细胞粘着可能在一些癌症转移中涉及，sLe^a结合的抑制剂可能在某些癌症的治疗中是有用的。

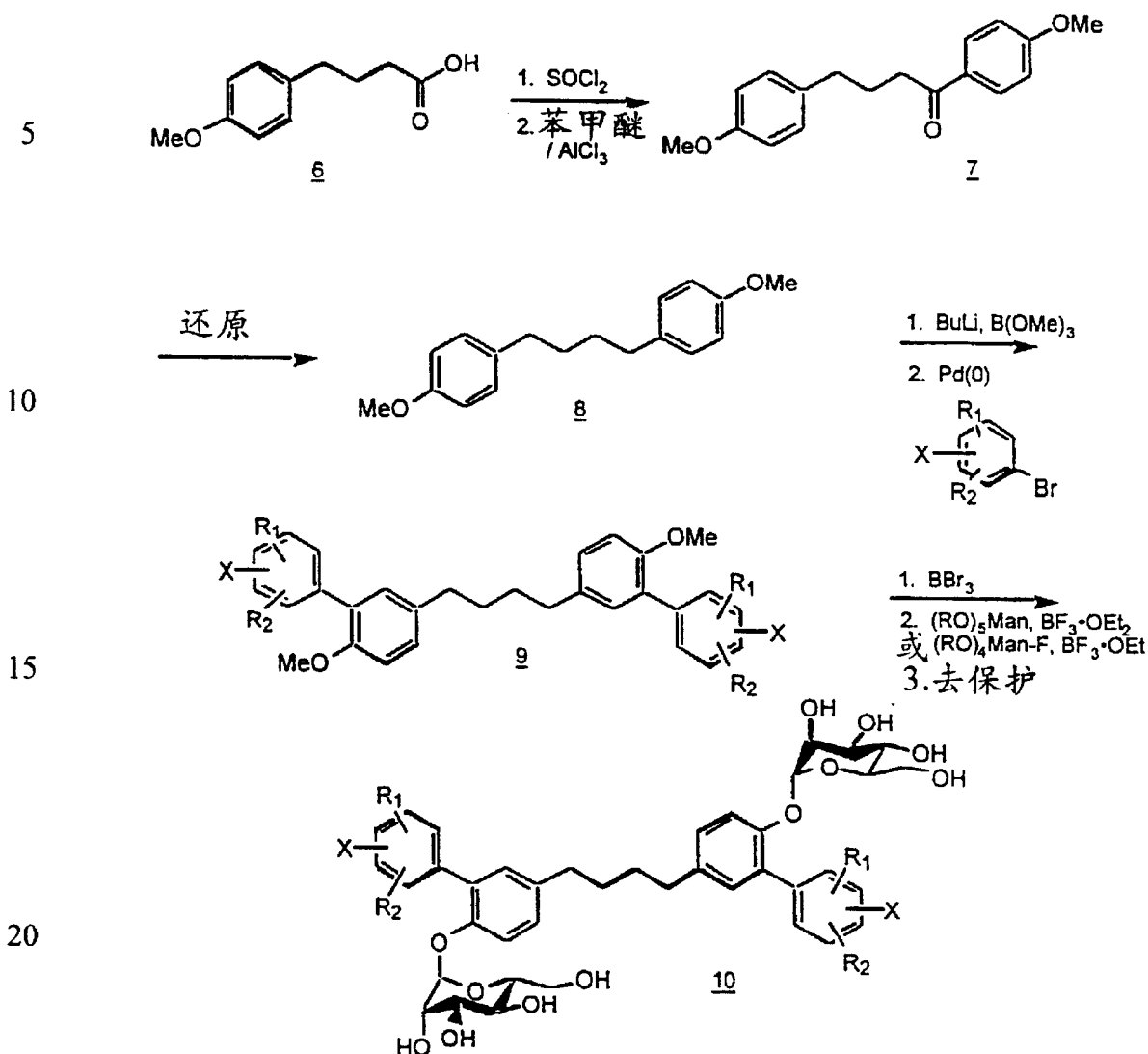
很多本发明化合物可以根据下面的通述合成路线而合成。

合成路线 1



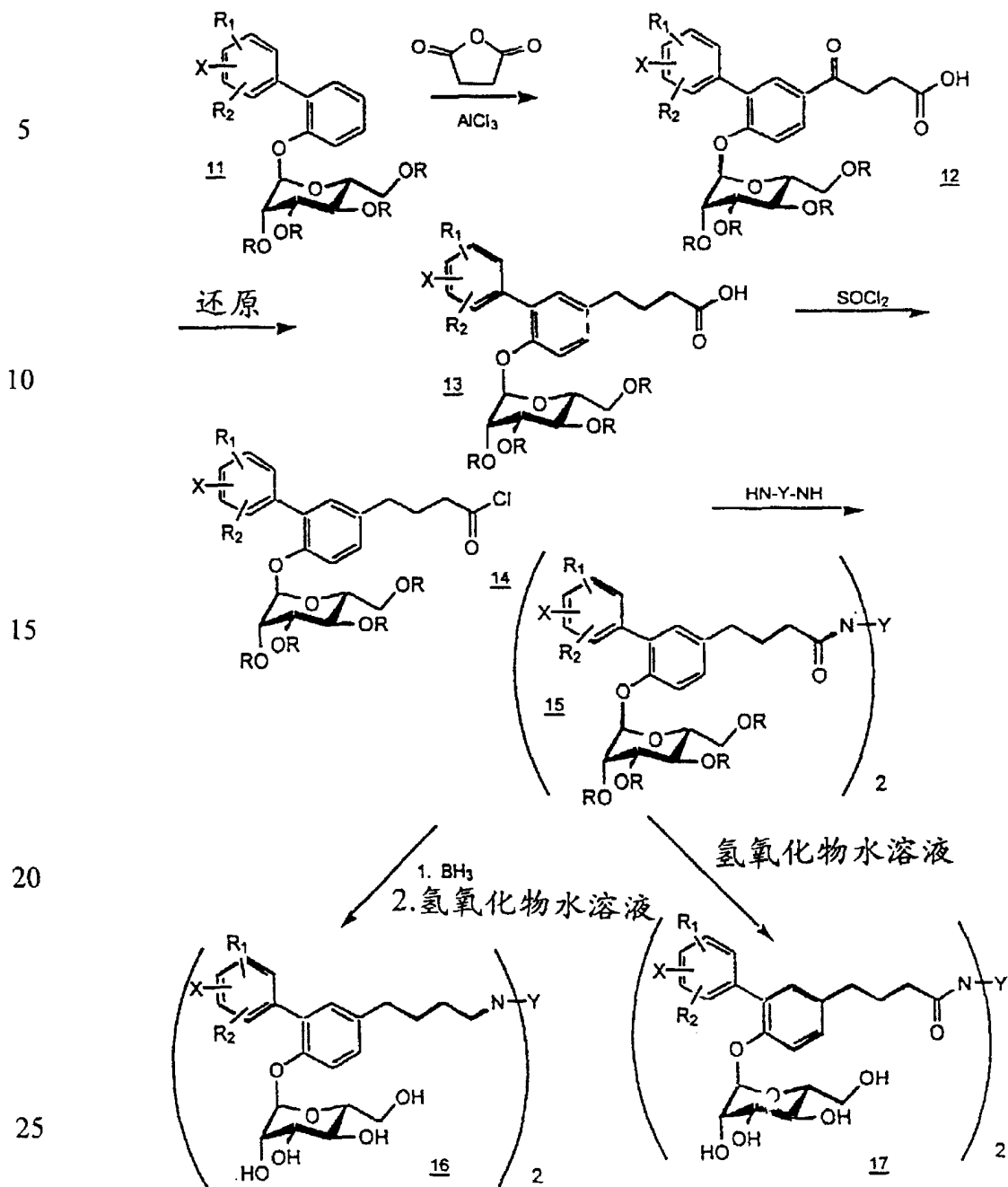
在该合成路线中，一种取代的联苯化合物（1，美国专利 No. 5444050）与二元酰氯反应得到二芳基二酮 2。优选的实施例包括 5 - 16 个碳原子的直链或支链二元酰氯和芳基和芳基烷基二元酰氯。这些化合物可以通过众多本领域已知的方法中的一种进行还原，即催化氢化，Wolff-Kishner 还原，金属氢化物例如三甲基甲硅烷，或克来门逊还原。所得化合物（3）通过在卤化溶剂中优选在 0 °C 至室温下与三溴化硼作用而转化成酚 4。在三氟化硼乙醚化物存在下使用被保护甘露糖单元进行糖基化作用，接着进行碱性水解，得到所需化合物 5。

合成路线 2



在某些情况下希望在两个环之间生成连接基团，其随后在与具有羧酸的环接触之前被甘露糖单元取代。例如，在该合成路线中，用亚硫酸氯将一种化合物例如 4-(4-甲氧基苯基)丁酸转化成酰氯，接着与苯甲酰进行弗瑞得-克来福特反应，得到酮 7。通过本领域技术人员公知的多种方法中的一种将酮还原得到化合物 8。在甲氧基邻位进行锂化作用，接着通过向硼酸的转化作用和钯催化二芳基偶联得到 9。进行醚的去甲基化作用，接着进行糖基化作用和去保护，得到目标化合物 10。

合成路线 3

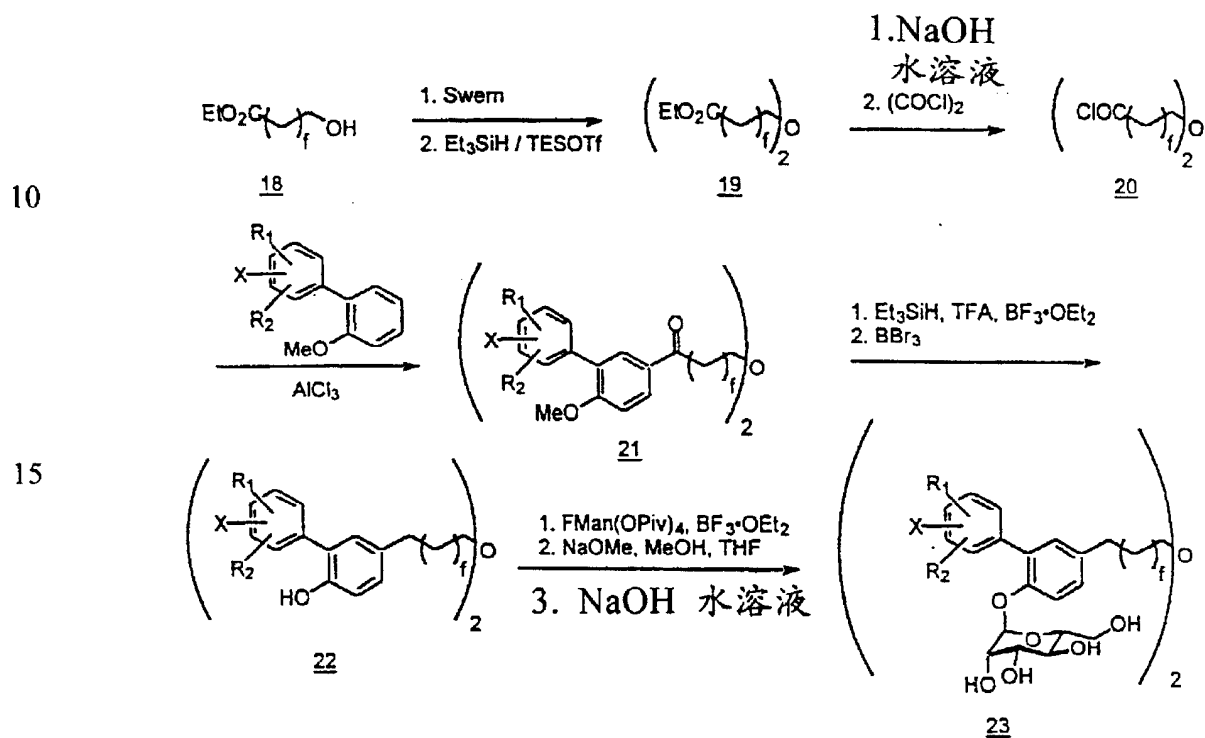


另一种情况,在其中糖基部分已经存在的一种化合物例如化合物 11 (美国专利 No.5444050) 上进行弗瑞得-克来福特反应是有好处的。

30 例如,化合物 11 可以在例如氯化铝路易斯酸的存在下用琥珀酸酐处理得到酮基酸 12。通过本领域技术人员公知的多种方法中的一种将酮还原得到酸 13, 将其在卤化溶剂中在低温下用亚硫酰氯或用其他合适的

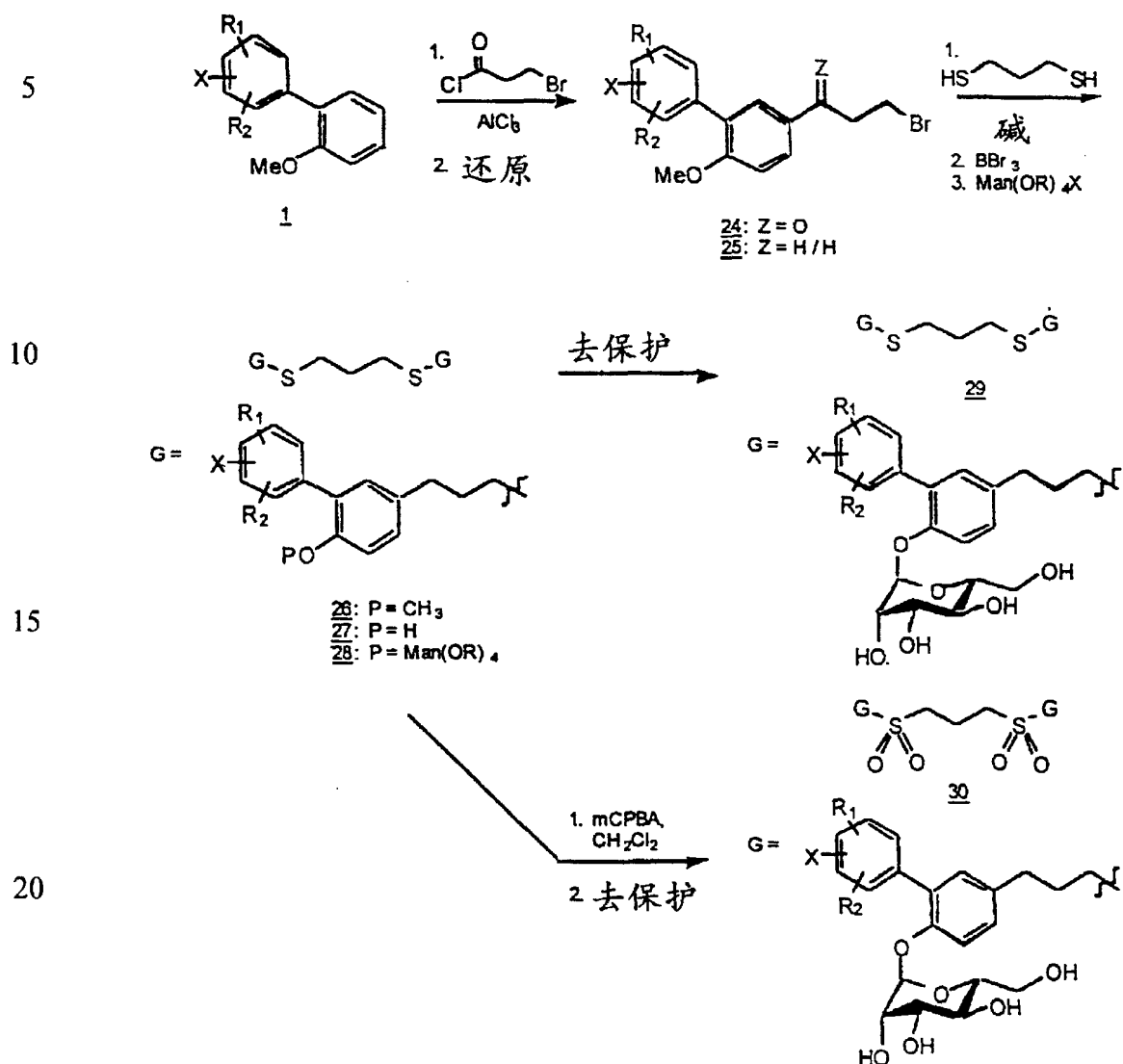
方法转化成酰氯 14。使该酰氯与多种伯胺或仲胺中的一种反应，特别是二胺象乙二胺，哌嗪，加碳哌嗪（homopiperazine），4,4'-三亚甲基二哌啶，或其他烷基二胺，得到多元化合物例如化合物 15。用硼烷或其他合适的试剂在氧化溶剂中在低温下还原酰胺，接着水解保护基团，得到所需化合物 16。而且，可以直接水解酰胺 15 得到酰胺 17。

合成路线 4



根据合成路线 4 可以制备含有醚键的化合物。将羟基酯（18）氧化成醛，接着自缩合得到醚（19），其被转化成酰氯（20）。弗瑞得-克来福特偶联，还原，去甲基化作用，糖基化和去保护，得到醚（23）。

合成路线 5



25

30

在一些情况下, 根据合成路线 5 所示的反应顺序可希望制备其它化合物。因此, 化合物 1 可以与其它卤化的酰氯例如 3 - 溴代丙酰氯进行弗瑞得-克来福特反应得到化合物 24。通过本领域技术人员公知的多种方法中的一种将苯甲酮还原得到卤化物 25。化合物 25 与 1,3 - 丙二硫醇或其他合适的二硫化物在合适的碱存在下反应得到化合物 26。通过众多方法中的一种, 特别是用三溴化硼, 在卤化溶剂中在低温下进行去甲基化作用, 得到 酚 27。该酚化合物与醚合三氟化硼保护的吡喃

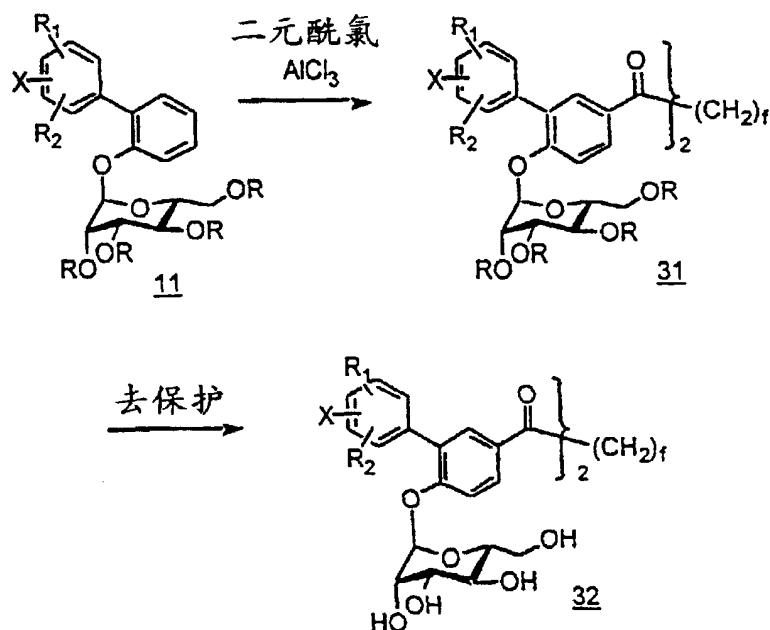
甘露糖酐在卤化溶剂中反应，并用碱的水溶液去除保护基团，得到化合物 29。或者，糖苷 28 可以与合适的氧化剂例如间-氯代过氧苯甲酸在合适的溶剂中反应得到砜。用碱的水溶液处理得到终产物化合物 30。

合成路线 6

5

10

15

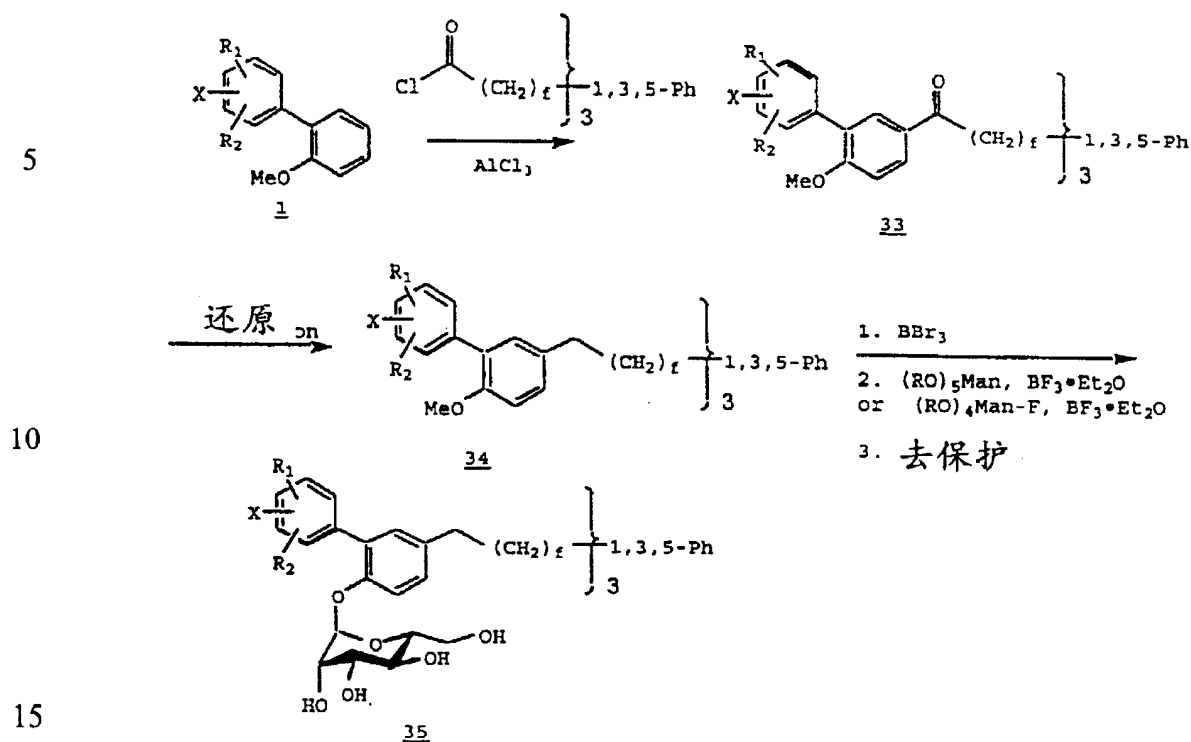


在另外的情况下，中间体 11 与二元酰氯在卤化溶剂中在存在氯化铝或其他合适的路易斯酸下进行弗瑞得-克来福特反应得到化合物 31。用氢氧化物或甲醇化物水溶液并接着用氢氧化物水溶液将甘露糖部分去保护得到终产物 32。

25

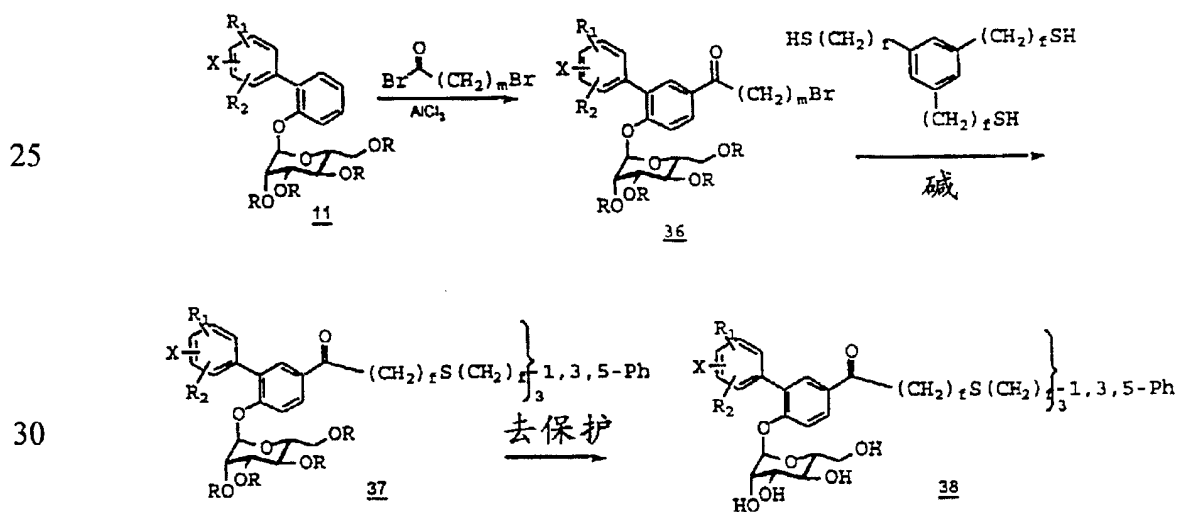
30

合成路线 7



在该合成路线中, 取代的联苯化合物 (1, 美国专利 No. 5444050) 与三元酰氯反应得到苯甲酮 33。这些酮通过本领域技术人员公知的多种方法中和合成路线 1 中所列的一种来还原。所得的化合物 (34) 去甲基化, 糖基化, 并去保护, 得到所需化合物 35。

合成路线 8



以相似的方式，化合物 11 可以与溴代烷基酰溴进行弗瑞得-克来福特反应得到化合物 36。溴代酮化合物与 1, 3, 5 - 取代的苯三硫醇在一种碱的存在下反应得到化合物 37。将保护基团水解得到所需化合物 (38)。

5 本发明通过下面的代表性实施例进行详细说明：

实施例 1

1,6-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧基)苯基]己烷

步骤 1：己二酰氯 (2.0g, 10.9mmol) 溶解于 1,2-二氯乙烷 (55ml) 并在冰浴中冷却。加入氯化铝 (5.8g, 43.5mmol) 后加入 3-(2-甲氧基苯基)苯基乙酸甲酯 (5.75g, 22.4mmol) [T. P. Kogan, B. Dupre, I. L. Scott, K. M. Keller, H. Dao 和 P. Beck, 美国专利 5, 444, 050 和 T. P. Kogan, B. Dupre, K. M. Keller, I. L. Scott, H. Bui R.V. Market, P.J. Beck, J.A. Voytus, B.M. Revelle 和 D. Scott, 药物化学杂志 (J. Med. Chem), 1995, 38, 4976-4984], 将混合物在室温下搅拌 30 分钟后与冰水 (30ml) 混合。分离
10 有机相，用二氯甲烷 (3 $\times$ 5ml) 萃取水相。合并有机物，硫酸镁干燥后减压浓缩。残余物通过闪式色谱纯化 (SiO₂, 用己烷至 3: 1 己烷/乙酸乙酯梯度洗脱) 得到产物 2 (2.23g, 33%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.96 (dd, J = 6.6, 1.9Hz, 2H), 7.92 (d, J = 1.9Hz, 2H), 7.42 (m, 2H), 7.34 (t, J = 6 Hz, 2H), 7.18 - 7.28 (m, 4H), 7.00 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 3.87 (s, 6H), 3.69 (s,
15 6H), 3.68 (s, 4H), 3.01 (m, 4H), 1.84 (m, 4H) ppm. IR (NaCl): 1741, 1677 cm⁻¹.

步骤 2：

A 部分：来自步骤 1 的产物 (2.23g, 3.6mmol) 溶解于乙腈并用氢氧化锂溶液 (0.8g, 18mmol 氢氧化锂一水合物溶解于 8ml 水)。该混合物在室温下搅拌过夜后用 2N HCl 酸化至 pH4。用乙酸乙酯萃取。合并萃
25 取液，硫酸镁干燥后减压浓缩。IR (NaCl): 1711, 1677 cm⁻¹。

B 部分：来自 A 部分的酮基酸 (1.86g, 3.1mmol) 溶解于 15ml 二甲亚砜，并与胍 (1.0ml, 31mmol) 混合。该混合物在氮气下在 80 °C 加热 2.5 小时后冷却。加入叔丁醇钾 (3.5g, 31mmol)，混合物又在 80 °C 加热过夜。然后，该混合物与 30ml 水混合后用 2N HCl 酸化。用乙酸
30 乙酯萃取。合并萃取液，硫酸镁干燥后减压浓缩得到化合物 3 (1.6g, 91%)。IR (NaCl): 1713 cm⁻¹。

步骤3:

A 部分: 来自步骤2, B 部分的二元酸 (1.6g, 2.8mmol) 在氮气下溶解于 14ml 二氯甲烷, 在干冰/2-丙醇浴中骤冷。缓慢加入三溴化硼 (1.4ml, 14mmol); 混合物在室温下搅拌 2 小时后与 25ml 冰水混合。

- 5 分离有机物, 用 20ml 饱和的碳酸氢钠溶液, 20ml 水, 20ml 饱和的氯化钠溶液洗涤后用硫酸镁干燥并减压浓缩得到 2.38g 粗产物。

B 部分: 来自 A 部分的残余物与 50ml 甲醇混合并加入 5 滴硫酸。混合物加热回流过夜后减压浓缩。残余物溶解于 50ml 二氯甲烷并用碳酸钠处理后通过硅胶板过滤。减压浓缩滤液, 残余物用闪式色谱纯化

- 10 (SiO₂, 用己烷至 3: 1 己烷/乙酸乙酯梯度洗脱) 得到 1,6-双-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-羟基苯基]己烷 (0.9g, 38%)。¹NMR (400 MHz, CDCl₃): 6.80 - 7.50(m, 14H), 3.70 (s, 6H), 3.68 (s, 4H), 2.55 (dd, J = 5.5, 5.5 Hz, 4H), 1.59 (m, 4H), 1.36 (m, 4H)ppm。IR (NaCl): 3430, 1731cm⁻¹。

- 15 步骤 4: 1,6-双-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-羟基苯基]己烷 (0.9g, 1.6mmol) 溶解于 8ml 1,2-二氯乙烷。一次加入 α-D-甘露糖五乙酸 (1.9g, 4.8mmol) 后缓慢加入醚合三氯化硼 (2.5ml, 19.2mmol)。混合物在室温下在氮气中搅拌过夜后与 15ml 水混合。分离有机相, 用二氯甲烷 (3 × 2ml) 萃取水相。与原有机部分一起合并有机物, 硫酸镁干燥后减压浓缩。残余物通过闪式色谱纯化 (SiO₂, 用己烷至 3: 1 己烷/乙酸乙酯梯度洗脱) 得到产物 1,6-双-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-(四-O-乙酰基-α-D-吡喃甘露糖基)氧苯基]己烷 (1.5g, 77%)。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.31 - 7.37 (m, 6H), 7.19 - 7.24 (m, 4H), 7.09 - 7.13 (m, 4H), 5.25 (d, J = 0.6Hz, 2H), 3.57 - 3.66 (m, 6H), 3.3 - 3.50 (m, 10H), 2.54 (m, 4H), 1.58 (m, 4H), 1.34 (m, 4H)ppm。IR (NaCl): 1752cm⁻¹。
- 25

- 步骤 5: 来自步骤 4 的糖苷 (1.5g, 1.2mmol) 溶解于 6ml 乙腈, 用 10ml 氢氧化锂一水合物 (1.0g, 24mmol) 水溶液处理。混合物在室温下搅拌过夜后用浓盐酸酸化至 pH2。减压浓缩混合物, 残余物用 HPLC 纯化 (反相, 5 - 50 % 乙腈水溶液梯度洗脱, 254nm 监测), 得到 1,6-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2-α-D-吡喃甘露糖基氧)苯基]己烷, (5), (0.35g, 33%), 为白色固体, mp 115-117 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆):
- 30

7.31-7.37 (m, 6H), 7.19-7.24 (m, 4H), 7.09-7.13 (m, 4H), 5.25 (d, $J = 0.6$ Hz, 2H), 3.57-3.66 (m, 6H), 3.3-3.50 (m, 10H), 2.54 (m, 4H), 1.58 (m, 4H), 1.34 (m, 4H) ppm. IR (KBr): 3420, 1711 cm^{-1} .

实施例 2

- 5 1,6-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]己烷, 二钠盐 (另一种方法)

步骤 1: 己二酰氯 (16.8ml, 112mmol) 和 3-(2-甲氧基苯基)苯基乙酸甲酯 (60.9g, 225mmol) 溶解于 300ml 二氯甲烷并冷却到 0 $^{\circ}\text{C}$ 。加入氯化铝 (67.7g, 507mmol), 在 0 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 5 分钟后用冰终止反应。产物用 1L 乙酸乙酯萃取, 用 500ml 水, 50ml 饱和的碳酸氢钠和 50ml 饱和的氯化钠洗涤。溶液用硫酸钠干燥, 通过硫酸镁板过滤, 浓缩后, 自乙醚/乙酸乙酯重结晶得到化合物 2 (64.7g, 89%)。

步骤 2: 双酮化合物 2 (15g, 23.1mmol) 溶解于热的乙酸乙酯: 乙醇 (4: 1, 100ml)。冷却得到的溶液, 加入 1ml 三氟乙酸和 0.75g Pearlman 催化剂。混合物在氢气 (50psi) 下震荡 18 小时, 通过 C 矿板过滤。溶液用饱和的碳酸氢钠, 水和饱和的盐水洗涤, 硫酸钠干燥, 通过硫酸镁过滤, 浓缩。从产物中蒸发甲苯, 去除乙酸乙酯, 残余物在高真空下干燥, 定量得到 1, 6 - 双 - [3 - (3 - 乙酯基甲基苯基) - 4 - 甲氧基苯基]己烷。

步骤 3: 双甲醚 (25.6g, 41mmol) 溶解于 165ml 二氯甲烷并冷却到 0 $^{\circ}\text{C}$ 。缓慢加入 33ml 二氯甲烷中的三溴化硼, 然后去除冷却浴, 反应物在室温下搅拌 20 分钟。反应混合物在冰浴中冷却, 氮气入口用氯化钙干燥的试管代替并滴加 35ml 乙醇。将混合物倒入冰中用乙酸乙酯萃取。分离有机物, 用水和盐水洗涤, 硫酸镁干燥, 减压浓缩得到 1, 6 - 双 - [3 - (3 - 乙酯基甲基苯基) - 4 - 羟基苯基]己烷 (24.2g, 100%)。

步骤 4: 向冰冷冷却的 427ml 二氯甲烷中双苯酚 (25.37g, 42.7mmol) 和四 - Q - 新戊酰 - α - D-吡喃甘露糖基氟 (66.4g, 128mmol) [I. L. Scott 和 T. P. Kogan, 申请日为 1996 年 5 月 20 日的美国专利申请, 发明题目是“高产率立体特异性甘露糖基化作用”]的溶液中滴加 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (47.3ml, 384mmol), 将冰冷冷却混合物搅拌 1 小时。混合物用乙酸乙酯稀释并用水 (2 $\times$), 氢氧化钠 (2M), 水和饱和的氯化钠洗涤,

硫酸镁干燥并减压浓缩。残余物通过色谱纯化 (SiO_2 , 用 30: 1 - 6: 1 己烷/乙酸乙酯梯度洗脱) 得到 1,6 - 双 - [3 - (3 - 乙酯基甲基苯基) - 4 - (四 - O - 新戊酰基 - α - D - 吡喃甘露糖基氧) 苯基] 己烷 (59.8g, 89%)。

5 步骤 5:

A 部分: 向 24ml 双糖苷的 THF 溶液中加入 24.4ml 甲醇, 接着加入新鲜制备的冰冷却的甲醇钠(自 0.5g, 22mmol 钠制备)的甲醇 (24.4ml) 溶液, 混合物在室温下搅拌过夜。过滤收集沉淀并用小体积 THF/甲醇 (2: 1, 2 $\times$) 之后用丙酮洗涤。通过与丙酮一起搅拌后过滤而进一步纯化 6.3g 固体烷氧化钠。

B 部分: 沉淀物在室温下在 27ml 水中搅拌 30 分钟。然后边搅拌边用 2M 少量氢氧化钠将 pH 调至 14 并保持在 pH14。4 小时后通过反相 HPLC 监测去保护完全。溶液用预先冲洗过的离子交换树脂 (Dowex 50, 氢型) 并通过 C 矿过滤。然后冻干溶液得到 1,6 - 双 - [3 - (3 - 羧基甲基苯基) - 4 - (2 - α - D - 吡喃甘露糖基氧) 苯基] 己烷, 二钠盐, 是略有吸湿性的白色粉末, (6.0g, 90%), mp 243-245 $^{\circ}\text{C}$; ^1H

NMR (400 MHz, D_2O) 7.64 (s, 2H), 7.58 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.49 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.19 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.12 (s, 2H), 7.07 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 5.66 (s, 2H), 4.27 (s, 2H), 4.00-4.20 (m, 4H), 4.04 (dd, $J=12.1$ 和 3.3 Hz, 2H), 3.80-3.92 (m, 6H), 3.72 (d, $J=9.2$ Hz, 2H), 2.52 (m, 4H), 1.60 (br, 4H), 1.39 (br, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) 180.9, 151.5, 138.4, 137.5, 137.4, 132.5, 130.9, 129.1, 129.0, 128.9, 127.3, 117.2, 100.2, 74.2, 70.9, 66.6, 60.9, 45.5, 32.3, 31.6, 29.5; 实测值 57.54% C, 5.98% H, 5.12 Na: 计算值 $\text{C}_{46}\text{H}_{52}\text{O}_{16}\text{Na}_2\text{O}_3\text{H}_2\text{O}$: 57.50% C, 6.08% H, 4.78 Na

25

实施例 3

1,4-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]丁烷

步骤 1: 用 20ml 亚硫酸氯处理 4 - (4 - 甲氧基苯基)丁酸 (2.0g, 10.3 mmol), 反应物在室温下搅拌 3 小时, 在 65 $^{\circ}\text{C}$ 加热过夜后减压浓缩得到 4-(4-甲氧基苯基)丁酰氯 2.3g。为黄色油状物, 其不用进一步纯化即可使用。IR(NaCl): 1795, 1510, 1244 cm^{-1} 。

粗产物酰氯 (2.07g, 9.7mmol) 和苯甲醚 (1.26g, 11.6mmol) 溶解于 32ml 1,2-二氯乙烷并在冰浴中冷却。向混合物中分次加入氯化铝

(3.9g, 29.1mmol), 搅拌 5 分钟后与 50ml 冰水混合。产物用二氯甲烷 (3 × 10ml) 萃取, 合并萃取液, 用 100ml 饱和的氯化钠洗涤, 用硫酸镁干燥, 减压浓缩后, 残余物快速通过硅胶, 用 10: 1 己烷/乙酸乙酯洗脱后浓缩得到化合物 1,4 - 双 - (4 - 甲氧基苯基) 丁 - 1 - 酮
5 (2.49g, 82 %)。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

7.90 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.91 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 2.90 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 2.65 (t, $J=7.7$ Hz, 2H), 2.02 (m, 2H) ppm. IR (NaCl): 1674, 1602, 1244 cm^{-1} .

10 步骤 2: 将该酮化合物 (2.49g, 8.8mmol) 溶解于 30ml 二氯甲烷, 用三氟乙酸 (2.7ml, 35.2mmol), 三乙基甲硅烷 (2.8ml, 17.6mmol) 处理
后用三氟化硼乙醚化物 (4.4ml, 35.2mmol) 处理。混合物在室温下搅拌 2
小时后在冰浴中冷却并与 50ml 水混合。混合物用二氯甲烷 (3 × 5ml)
15 萃取, 合并有机部分, 用 100ml 饱和的氯化钠洗涤, 用硫酸镁干燥, 减压
浓缩后, 残余物快速通过硅胶, 用 10: 1 己烷/乙酸乙酯洗脱后浓缩
得到化合物 1,4-双-(4-甲氧基苯基)丁烷 (2.0g, 85%) 为澄清油状物。
 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.07 (d, $J=8.4$ Hz, 4H), 6.81 (d, $J=8.4$ Hz, 4H), 3.78 (s, 6H), 2.56 (m, 4H), 1.61 (m, 4H) ppm. IR (NaCl): 1605, 1248 cm^{-1} .

20 步骤 3: 1,4-双-(4-甲氧基苯基)丁烷 (1.78g, 6.6mmol) 和 TMEDA
(4.0ml, 26.5mmol) 与 30ml 无水乙醚混合并在冰浴中冷却, 加入正丁
基锂 (10.5ml 2.5M 溶液, 26.5mmol), 混合物升至室温并搅拌 1 小时。
反应混合物冷却到 0 $^{\circ}\text{C}$, 并用硼酸三甲酯 (3.0ml, 26.5mmol) 处理。
混合物在室温下搅拌过夜, 用 2N HCl 终止 (至 pH2) 并搅拌 1 小时。
25 分离有机相, 水相用乙酸乙酯 (3 × 5ml) 萃取。萃取液与原有机相合
并, 硫酸镁干燥, 减压浓缩得到硼酸化合物 3.0g, 其不用进一步纯化
即可使用。IR(NaCl): 1603, 1490, 1416, 1328, 1234 cm^{-1} 。

粗产物硼酸和 3 - 溴代苯基乙酸甲酯 (3.8g, 16.8mmol) 与二甲氧
基乙烷 (30ml) 混合并用氮气脱气。混合物用磷酸钾 (10.7g,
30 50.5mmol) 和双 (三苯基磷) 钯 (II) 氯化物 (100mg, 0.17mmol) 处
理。混合物再次脱气后加热回流 2 小时。冷却至室温, 与 100ml 水混合。
混合物用二氯甲烷萃取 (3 × 10ml)。合并有机物, 用 50ml 水, 50ml

饱和的氯化钠洗涤，硫酸镁干燥并减压浓缩，残余物通过闪式色谱纯化（ SiO_2 ，用 8: 1 己烷/乙酸乙酯至 4: 1 己烷/乙酸乙酯洗脱）得到 1, 4 - 双 - [3 - (3 - 甲酯基甲基苯基) - (4 - 甲氧基) 苯基] 丁烷 (1.14g, 24 %)，为澄清油状物。 ^1H NMR (400 MHz,

5 CDCl_3): 7.41-7.44 (m, 4H), 7.34 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.21-7.60 (m, 2H), 7.08-7.13 (m, 4H), 6.87 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 3.77 (s, 6H), 3.68 (s, 6H), 3.66 (s, 4H), 2.61 (m, 4H), 1.67 (m, 4H) ppm. IR (NaCl): 1737, 1606, 1239 cm^{-1} .

步骤 4: 1,4-双-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-(4-甲氧基)苯基]丁烷
10 (0.9g, 1.6mmol) 溶解于 3.0ml 二氯甲烷并在干冰浴中冷却。用三溴化硼 (1.2ml, 12.8ml) 处理，混合物在 -78°C 搅拌 3 小时后在 -10°C 冷却器中过夜。用 10ml 冰水终止反应并用二氯甲烷萃取 ($3 \times 5\text{ml}$)。合并有机物，用 25ml 水，25ml 饱和的氯化钠洗涤，硫酸镁干燥并减压浓缩，残余物通过闪式色谱纯化 (SiO_2 ，用 5: 1 己烷/乙酸乙酯洗脱)
15 得到 1,4-双-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-羟基苯基]丁烷 (0.4g, 47 %)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 7.42 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.35-7.38 (m, 4H), 7.27-7.32 (m, 2H), 7.02-7.05 (m, 4H), 6.87 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 5.12 (s, 2H), 3.70 (s, 6H), 3.68 (s, 4H), 2.59 (m, 4H), 1.65 (m, 4H) ppm. IR (NaCl): 3439, 1732, 1606, 1263 cm^{-1} .

步骤 5: 1,4-双-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-羟基苯基]丁烷 (0.4g, 0.74mmol) 和 α -D-甘露糖五乙酸酯 (0.72, 1.85mmol) 溶解于 4.0ml 二氯乙烷。并用三氟化硼乙醚化物 (1.1ml, 8.9mmol) 处理。混合物在室温下搅拌过夜后与 10ml 水混合终止。用二氯甲烷萃取 ($3 \times 4\text{ml}$)，合并有机相，用 15ml 水，20ml 饱和的氯化钠洗涤，硫酸镁干燥后减压
25 浓缩。残余物通过闪式色谱纯化 (SiO_2 ，2: 1 己烷/乙酸乙酯洗脱) 得到 1, 4-双-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-(2, 3, 4, 6-四 - O - 乙酰基- α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]丁烷 (0.88g, 99 %) 为泡沫状物。 ^1H NMR (400

30 MHz, CDCl_3): 7.38-7.44 (m, 6H), 7.25-7.29 (m, 2H), 7.17 (br s, 2H), 7.07-7.11 (m, 4H), 5.40 (s, 2H), 5.20-5.30 (m, 6H), 4.15 (dd, $J = 12.3, 4.8$ Hz, 2H), 3.93 (dd, $J = 12.4, 2.2$ Hz, 2H), 3.76-3.82 (m, 2H), 3.72 (s, 4H), 3.68 (s, 6H), 2.63 (m, 4H), 2.13 (s, 6H), 2.01 (s, 6H), 2.00 (s, 6H), 1.97 (s, 6H), 1.67 (m, 4H) ppm. IR (NaCl): 1748, 1219 cm^{-1} .

步骤6: 将该过乙酸酯 (0.87g, 0.73mmol) 溶解于 3ml 乙腈, 用 氢氧化锂水合物 (0.46g, 11mmol 溶解于 2ml 水中) 溶液处理。混合物在 室温下搅拌过夜, 减压去除溶剂后用浓盐酸将残余物酸化至 pH2。混合物的一部分用反相 HPLC 纯化 (C18, 20 - 80 % 水/乙腈梯度洗脱, 5 45 分钟, 254nm 监测), 得到 1,4 - 双 - [3 - (3 - 羧基甲基苯基) - 4 - (α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]丁烷 230mg。为白色固体。m.p.; 195-197°C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 7.31-7.39 (m, 6H), 7.20-7.25 (m, 4H), 7.10-7.15 (m, 4H), 5.25 (s, 2H), 4.88 (br d, J = 4.0 Hz, 2H), 4.76 (br s, 2H), 4.60 (br s, 2H), 4.45 (br t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.55-3.68 (m, 5H), 3.62 (s, 4H), 10 3.40-3.50 (m, 7H), 2.60 (m, 4H), 1.62 (m, 4H) ppm. IR (KBr): 3333, 3229, 1729, 1224 cm^{-1} ; 实测值: 61.30% C, 6.15% H; 计算值: $\text{C}_{44}\text{H}_{50}\text{O}_{16} \cdot 0.4 \text{ TFA}$: 61.32% C, 5.79% H.

实施例 4

N,N'-双 - [4 - [3-(3-羧基甲基苯基)-4-(α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]丁-1- 15 酰]-4,4'-三亚甲基二哌啶

步骤 1: 琥珀酸酐 (2.0g, 19.9mmol) 和氯化铝 (17.7g, 132mmol) 与 45ml 1,2-二氯乙烷混合并在冰浴中冷却。混合物用 10ml 二氯乙烷中 3-(2-(2,3,4,6-四-O-新戊酰- α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基)苯基乙酸乙酯 (10.0g, 13.2mmol) 的溶液处理, 将混合物搅拌过夜的同时使浴温逐渐 20 升至室温。反应物与 100ml 冰水混合并搅拌 15 分钟。分离有机物, 水相用二氯甲烷萃取 (3 $\times$ 5ml)。合并有机物, 硫酸镁干燥后减压浓缩, 得到化合物 12 (13.5g), 其不用进一步纯化即可使用。IR(NaCl): 1738, 1685, 1228 cm^{-1} 。

步骤 2: 酸化合物 (12) (13.5g, 19.7mmol) 溶解于 65ml 二氯 25 甲烷, 用三氟化硼乙醚化物 (15.3ml, 122mmol) 处理后用三氟乙酸 (9.4ml, 122mmol) 处理。然后混合物用三乙基甲硅烷 (9.4ml, 59.1mmol) 处理并在室温下搅拌过夜。反应物与 200ml 水混合并分离有机物。水相用二氯甲烷 (3 $\times$ 10ml) 萃取, 萃取液与原有机部分合并, 用硫酸镁干燥, 减压浓缩后, 得到化合物 4 - (3 - (3 - 乙酯基 30 甲基苯基) - 4 - (2, 3, 4, 6 - 四 - O - 新戊酰 - α - D - 吡喃甘露糖基氧)苯基)丁酸 (13) (1.49g, 97%)。为澄清油状物。IR(NaCl): 1737, 1132 cm^{-1} 。

步骤3: 酸化合物 13 (16.0g, 23.8mmol) 与 50ml 亚硫酸氯混合, 混合物在室温下搅拌 36 小时, 然后减压浓缩得到酰氯 14 (16.3g, 99%)。其不用进一步纯化即可使用。IR(NaCl): 2974, 1797, 1740, 1135 cm^{-1} 。

5 步骤4: 在 0℃下向 5ml 二氯甲烷中酰氯 14 (2.8g, 3.26mmol) 的溶液中加入 5ml 二氯甲烷中 4, 4'-三亚甲基二哌啶 (0.4g, 1.9mmol)。加入三乙胺 (0.61ml, 4.4mmol) 和 4-二甲基氨基吡啶 (35mg, 10mol%), 混合物在室温下搅拌 1 小时后与 20ml 水混合。有机物用 20ml 饱和的氯化钠洗涤, 硫酸镁干燥并减压浓缩。残余物通过闪式色谱纯化 (SiO₂, 2: 1 乙酸乙酯: 己烷洗脱) 得到双酰胺 15 (1.1g, 18%)。
10 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.40 - 7.45 (m, 4H), 6.98-7.30 (m, 10 H), 5.25-5.42 (m, 6H), 4.09-4.19 (m, 4H), 3.50-3.96 (m, 8H), 2.62-2.69 (m, 4H), 2.28-2.36 (m, 4H), 1.90-2.02 (m, 4H), 1.60-1.74 (m, 6H), 1.35-1.50 (m, 2H), 1.24 (s, 18H), 1.15 (s, 18H), 1.11 (s, 36H), 1.08-1.28 (m, 26H)。IR (NaCl): 1739 cm^{-1} 。

15 步骤5: 二酰胺 15 (1.0g, 0.54mmol) 溶解于 3ml THF 中并用氢氧化钠水溶液 (0.40g, 10mmol, 溶解于 3ml 水) 处理。混合物在室温下搅拌过夜。减压去除 THF, 残余物用浓盐酸酸化至 pH2, 反相 HPLC 纯化得到 N,N'-双-[4-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(- α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]丁-1-酰]-4, 4'-三亚甲基二哌啶(17)(30mg, 5%), 为白色固体。m.p.: 119-121°C。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 7.32-7.40 (m, 6H), 7.20-7.27 (m, 4H), 7.10-7.14 (m, 4H), 5.26 (br s, 2H), 4.36 (br d, J = 11 Hz, 2H), 4.05 (br s, 8H), 3.77 (br d, J = 11 Hz, 2H), 3.50-3.70 (m, 8H), 3.40-3.52 (m, 5H), 3.31-3.40 (m, 2H), 2.92 (br t, J = 14 Hz, 2H), 2.55-2.62 (m, 4H), 2.42-2.53 (m, 3H), 2.27-2.34 (m, 4H), 1.73-1.82 (m, 4H), 1.57-1.67 (m, 4H), 1.36-1.47 (m, 2H), 1.22-1.33 (m, 2H), 1.11-1.20 (m, 4H), 0.80-1.02 (m, 4H)。IR (KBr): 3415,

1713, 1609 cm^{-1} 。MS (FAB): 1150 (M^+ +Na)。元素分析: 计算值 C₆₁H₇₈N₂O₁₈ · 1.4 TFA: 59.54 % C, 6.22% H, 2.18% N。实测值: 59.65% C, 6.56% H, 2.23% N。

30

实施例 5

二-6-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]己基醚

步骤1: 在 -78℃下向 10ml 无水二氯甲烷中加入草酰氯 (1.65ml,

2M 二氯甲烷溶液, 3.30mmol)。在几分钟内滴加二甲亚砜 (0.56ml, 7.26mmol), 并将所得溶液搅拌 10 分钟。滴加 6-羟基己酸乙酯 (0.50ml, 3.07mmol), 30 分钟后滴加三乙胺 (2.10ml, 15.1mmol)。移去冷却浴, 15 分钟后加入 10ml 水。将混合物搅拌 10 分钟。分离各层, 水层
5 用二氯甲烷萃取。合并有机层, 硫酸镁干燥后真空去除溶剂。硅胶色谱 (2: 1 己烷: 乙酸乙酯) 得到纯产物 (0.44g, 91%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 9.75 (1 H), 4.10 (2H), 2.45 (2H), 2.30 (2H), 1.65 (4H), 1.24 (3H)。

步骤 2: 0 °C 下将三乙基甲硅烷 (0.89ml, 5.57mmol) 和三乙基甲
10 硅烷基三氟甲磺酸酯 (63ml, 0.28mmol) 溶解于 6ml 无水二氯甲烷并加入 3ml 二氯甲烷中 5-乙酯基戊醛 (0.44g, 2.78mmol) 的溶液。移去冷却浴, 将混合物在室温下搅拌 80 分钟。真空去除溶剂。残余物通过硅胶色谱纯化 (6: 1 己烷: 乙酸乙酯) 得到产物 (0.31g, 74%)。
15 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 4.10 (4H), 3.37 (4H), 2.28 (4H), 1.60 (8H), 1.36 (4H), 1.24 (6H)。

步骤 3: 二-5-乙酯基戊基醚 (0.16g, 0.53mmol) 溶解于 1ml 甲醇并加入 1N 氢氧化钠溶液 (1.05ml, 1.05mmol)。所得溶液在室温下搅拌 3 小时。减压去除甲醇, 将残余溶液酸化 (浓盐酸) 并用两部分乙醚萃取。合并萃取液, 硫酸镁干燥, 减压浓缩。残余物从乙腈中再次
20 浓缩两次得到白色固体产物 (0.16g, 定量。)¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 3.40 (4H), 2.36 (4H), 1.60 (8H), 1.42 (4H)。

步骤 4: 二-5-羧基戊基醚 (0.15g, 0.53mmol) 和 DMF (1 滴) 溶解于 2.5ml 二氯甲烷并将所得溶液冷却到 0 °C。缓慢加入草酰氯溶液 (0.59ml, 2M 二氯甲烷溶液, 1.18mmol)。反应物在 0 °C 搅拌 5 分钟
25 后去除冷却浴并在室温下持续搅拌 20 分钟。将溶液冷却到 0 °C 并加入 1ml 二氯甲烷中 3-(2-甲氧基苯基) 苯基乙酸乙酯 (0.29g, 1.07mmol) 的溶液。以 1 分钟间隔分三次加入氯化铝 (0.17g, 0.17g, 0.08g, 共 3.15mmol)。将溶液搅拌 5 分钟后倒入冰中, 用两部分乙酸乙酯萃取。合并有机相并用水, 饱和的碳酸氢钠, 饱和的氯化钠溶液洗
30 涤。硫酸镁干燥所得溶液并减压浓缩。硅胶色谱 (梯度 4:1 - 1:1 己烷: 乙酸乙酯), 得到黄色油状物产物 (0.34g, 85%)。¹H

NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.91 (4H), 7.41 (6H), 7.28 (2H), 6.99 (2H), 4.14 (4H), 3.86 (6H), 3.66 (4H), 3.40 (4H), 2.94 (4H), 2.16 (4H), 1.75 (4H), 1.59 (4H), 1.43 (4H), 1.26 (6H).

步骤5: 二-6-[3-(3-乙酯基甲基苯基)-4-甲氧基苯基]-6-氧代己基醚 (0.34g, 0.45mmol) 溶解于无水二氯甲烷 (2.5ml) 并将所得溶液冷却到 0 °C。加入三氟乙酸 (0.23ml, 3.0mmol) 后加入三乙基甲硅烷 (0.29ml, 1.8mmol) 和三氟化硼乙醚化物 (0.33ml, 2.7mmol)。去除冷却浴并在室温下搅拌反应物 1 小时。加入二氯甲烷, 所得混合物用饱和的碳酸氢钠溶液和水萃取, 有机层用硫酸镁干燥, 减压浓缩, 硅胶色谱(6:1 己烷: 乙酸乙酯)得到澄清油状物产物(0.23g, 71%)。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.42 (4H), 7.35 (2H), 7.25 (2H), 7.09 (4H), 6.87 (2H), 4.16 (4H), 3.77 (6H), 3.65 (4H), 3.37 (4H), 2.57 (4H), 1.57 (10H), 1.35 (8H), 1.25 (6H).

步骤6: 二-6-[3-(3-乙酯基甲基苯基)-4-甲氧基苯基]己基醚 (0.23g, 0.32mmol) 溶解于无水二氯甲烷 (1.6ml) 并将所得溶液冷却到 0 °C。滴加三溴化硼溶液 (1M 二氯甲烷溶液, 1.40ml, 1.40mmol), 移去冷却浴。20 分钟后将溶液再次冷却到 0 °C 并滴加 1ml 无水乙醇。然后将反应混合物倒入冰中用乙酸乙酯萃取。有机层用饱和的氯化钠溶液洗涤, 硫酸镁干燥后减压浓缩, 硅胶色谱 (2:1 - 1:1 己烷: 乙酸乙酯) 得到产物 (0.11g, 50 %)。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.42 (8H), 7.04 (4H), 6.88 (2H), 5.14 (2H), 4.16 (4H), 3.67 (4H), 3.38 (4H), 2.57 (4H), 1.85 (4H), 1.62 (6H), 1.40 (6H), 1.27 (6H).

步骤7: 2, 3, 4, 6-四-O-新戊酰基- α -D-吡喃甘露糖基氟 (0.52g, 1.00mmol) 和二-6-[3-(3-乙酯基甲基苯基)-4-羟基苯基]己基醚 (0.23g, 0.33mmol) 溶解于无水二氯甲烷 (2ml) 并将所得溶液冷却到 0 °C。缓慢加入三氟化硼乙醚化物 (0.38ml, 3.10mmol) 并将反应混合物搅拌 90 分钟。反应混合物用乙酸乙酯稀释并用两部分水洗涤后用 1N 氢氧化钠, 水和饱和的氯化钠溶液洗涤。所得溶液用硫酸镁干燥后减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化 (15:1 己烷: 乙酸乙酯) 得到产物 (0.45g, 82 %)。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.45 (7H), 7.15 (7H), 5.32 (8H), 4.14 (4H), 3.86 (4H), 3.72 (4H), 3.54 (2H), 3.40 (4H), 2.59 (4H), 1.85 (4H), 1.62 (4H), 1.46 (4H), 1.36

(4H), 1.26 (24H), 1.15 (18H), 1.10 (36H).

步骤 8: 二-6-[3-(3-乙酯基甲基苯基)-4-(2,3,4,6-四-O-新戊酰基- α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]己基醚 (0.45g, 0.27mmol) 溶解于 0.9ml 无水四氢呋喃和 1.8ml 甲醇。加入甲醇钠 (49mg, 0.84mmol), 反应混合物在室温下搅拌过夜。加入另一部分的甲醇钠 (50mg, 0.93mmol), 4 小时后接着加入第 3 部分甲醇钠 (112mg, 2.07mmol)。继续搅拌反应物 4 小时后过滤混合物, 收集的固体用 2:1 四氢呋喃和甲醇的混合物洗涤。然后将固体溶解于 1ml 水, 加入 1M 氢氧化钠溶液直到 pH 为 14。将溶液搅拌 4 小时后用预洗过的 Dowex 50 离子交换树脂 (H^+ 型) 中和。滤掉树脂并将滤液冻干。然后用 P_2O_5 真空干燥产物得到二-6-[3-(3-乙酯基甲基苯基)-4-(α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]己基醚 (0.21g, 78%)。 1H NMR (400 MHz, CD_3CN/D_2O): 7.46 (2H), 7.34 (2H), 7.16 (10H), 5.31 (2H), 3.79 (2H), 3.66 (2H), 3.57 (4H), 3.42 (5H), 3.28 (2H), 2.56 (4H), 1.80 (4H), 1.60 (4H), 1.36 (6H).

实施例 6

S,S-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(α -D-吡喃甘露糖基氧)-3-苯基丙-1-基]-1,3-二硫代丙烷

步骤 1:

A 部分: 3-(2-甲氧基苯基)苯基乙酸乙酯 (5.04g, 18.66mmol) 和 3-溴代丙酰氯 (1.88ml, 18.66mmol) 与 30ml 二氯乙烷混合。混合物在冰水浴中冷却并用氯化铝 (7.6g, 57mmol) 处理, 15 分钟后反应物与 100ml 冰水混合, 分离有机物, 含水部分用二氯甲烷萃取 ($3 \times 5ml$), 合并有机物, 硫酸镁干燥, 减压浓缩。该残余物不用进一步纯化即可用于下一步反应。

B 部分: 来自 A 部分的产物 (8.5g, 19mmol) 溶解于 40ml 二氯甲烷并在冰水浴中冷却。加入三氟乙酸 (5.9ml, 76mmol), 三乙基甲硅烷 (6.1ml, 38mmol), 后加入乙醚合三氟化硼 (9.4ml, 76mmol), 移去冷却浴。混合物在室温下搅拌过夜后在冰浴中冷却并用 100ml 冷水终止, 分离有机物, 含水部分用二氯甲烷萃取 ($3 \times 10ml$), 合并有机物, 用 50ml 饱和的 NaCl 溶液洗涤, 硫酸镁干燥,

减压浓缩, 得到 3-(2-甲氧基苯基-5-(3-溴代丙基))苯基乙酸乙酯

(6.53 g, 90%) $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.41-7.45 (m, 2H), 7.36 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 7.25-7.28 (m, 1H), 7.12-7.16 (m, 2H), 6.90 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.15 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.67 (s, 2H), 3.41 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.75 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.15 (m, 2H), 1.26 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), IR (NaCl): 1736 cm^{-1} .

步骤 2: 4.5ml 1,3-丙二硫醇 (0.109g, 0.94mmol) 的 THF 溶液在氮气下脱气, 并在冰水浴中冷却。加入氯化钠 (86.5mg, 2.1mmol), 混合物在室温下搅拌 2 小时。加入来自步骤 1 的溴化物 (0.83g, 2.12mmol) 的 1.0ml THF 溶液, 混合物回流搅拌过夜。反应物分配在水和乙酸乙酯 (20ml 1:1 混合物) 中, 分离有机物, 用 20ml 饱和的氯化钠溶液洗涤, 硫酸镁干燥, 减压浓缩, 残余物通过闪式色谱纯化 (SiO_2 , 梯度洗脱, 己烷-3:1 己烷/乙酸乙酯) 得到 S,S-双-[3-(3-乙酯基甲基苯基)-4-(甲氧基)-3-苯基丙-1-基]-1,3-二硫代丙烷

(166.2 mg, 24%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.39-7.45 (m, 4H), 7.32-7.38 (m, 2H), 7.21-7.28 (m, 2H), 7.08-7.15 (m, 4H), 6.85-6.92 (m, 2H), 4.14 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 3.77 (s, 6H), 3.65 (s, 4H), 2.80-2.95 (m, 2H), 2.77 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.68 (t, $J = 8.0$ Hz, 4H), 2.60 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.52 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.04-2.16 (m, 2H), 1.81-1.93 (m, 4H), 1.25 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H). IR (NaCl): 1731 cm^{-1} .

步骤 3: 在干冰/丙酮浴中冷却来自步骤 2 的双硫醚 (70.7mg, 0.1mmol) 的 2ml 二氯甲烷溶液并用三溴化硼 (0.8ml, 1M 二氯甲烷溶液, 0.8mmol) 处理, 混合物在 -10°C 静置过夜。反应物与 10ml 水混合并用二氯甲烷萃取混合物 ($3 \times 2\text{ml}$)。合并有机物, 硫酸镁干燥, 减压浓缩得到 S,S-双-[3-(3-乙酯基甲基苯基)-4-(羟基)-3-苯基丙-1-基]-1,3-二硫代丙烷 (68mg, 100%)。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.43 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.34-7.39 (m, 4H), 7.30 (br d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.03-7.08 (m, 4H), 6.87 (br d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.96-5.30 (br s, 2H), 4.15 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 3.66 (s, 4H), 2.66 (t, $J = 7.3$ Hz, 4H), 2.60 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.52 (t, $J = 7.0$ Hz, 4H), 1.80-1.92 (m, 6H), 1.26 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H), 1.21-1.27 (m, 2H). IR (NaCl): $3420, 1726\text{ cm}^{-1}$.

步骤 4: 酚化合物 (0.47g, 0.68mmol) 和 α -D-甘露糖五乙酸酯 (0.8g, 2.0mmol) 与 8ml 二氯乙烷混合。用乙醚合三氯化硼 (1.0ml,

8.0mmol) 处理。混合物在室温下搅拌过夜后用 10ml 水终止。分离有机相, 用二氯甲烷 (3 × 2ml) 萃取水相。合并有机物, 硫酸镁干燥后减压浓缩。残余物通过闪式色谱纯化 (SiO₂, 梯度洗脱, 3:1 己烷/乙酸乙酯 - 1:1 己烷/乙酸乙酯) 得到 S, S - 双 - [3 - (3 - 乙酯基甲基苯基) - 4 - (2, 3, 4, 6 - 四 - O - 乙酰基 - α - D - 吡喃甘露糖基氧) - 3 - 苯基丙 - 1 - 基] - 1, 3 - 二硫代丙烷 (0.331g, 36%), IR(NaCl): 1752cm⁻¹。

步骤 5: 过乙酸酯 (0.64g, 0.47mmol) 溶解于 5ml 乙腈, 用氢氧化钠 (5.0ml, 2N 溶液, 10mmol) 水溶液处理后在室温下搅拌过夜。混合物用浓盐酸酸化至 pH2。减压去除挥发物, 含水残余物部分用反相色谱纯化得到 S, S - 双 - [3 - (3 - 羧基甲基苯基) - 4 - (α-D-吡喃甘露糖基氧) - 3 - 苯基丙 - 1 - 基] - 1, 3 - 二硫代丙烷, 为白色固体。m.p.: 96-100 °C。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 7.31-7.39 (m, 6H), 7.20-7.27 (m, 4H), 7.11-7.15 (m, 4H), 5.26 (s, 2H), 3.30-3.75 (m, 28H), 2.64 (t, J = 7.7 Hz, 4H), 2.57 (t, J = 7.0 Hz, 4H), 2.45-2.52 (m, 4H), 1.75-1.84 (m, 4H), 1.66-1.74 (m, 2H)。 IR (KBr): 3430, 1711 cm⁻¹。

实施例 7

1,6-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(α-D-吡喃甘露糖基氧基)苯基] -1,6-双-氧代己烷

步骤 1: 3-(2-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-α-D-吡喃甘露糖基氧)苯基)苯基乙酸乙酯 (0.56g, 0.96mmol) 和己二酰氯 (0.068ml, 0.47mmol) 溶解于二氯乙烷 (5ml) 并在冰水浴中冷却。用氯化铝 (2.56g, 19.2mmol) 处理。1.5 小时后, 反应物与冰水 (25ml) 混合并搅拌 15 分钟。分离有机相, 用二氯甲烷 (3 × 2ml) 萃取水相。合并有机物, 硫酸镁干燥后减压浓缩。残余物通过闪式色谱纯化 (SiO₂, 1:1 己烷/乙酸乙酯) 得到 1,6-双-[3-(3-乙酯基甲基苯基) - 4 - (2, 3, 4, 6 - 四 - O - 乙酰基 - α - D - 吡喃甘露糖基氧) 苯基] - 1, 6 - 双 - 氧代己烷 (0.43 g, 35%)。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.00 (d, J = 2.2 Hz, 2H), 7.93 (dd, J = 8.6, 2.2 Hz, 2H), 7.42-7.48 (m, 6H), 7.31-7.35 (m, 2H), 7.25-7.29 (m, 2H), 5.60 (d, J = 0.2 Hz, 2H), 5.31-5.34 (m, 2H), 5.28 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 5.23-5.28 (m, 2H), 4.21 (dd, J = 12.3, 5.1 Hz, 2H), 4.15 (q, J = 7.4 Hz, 4H), 3.98 (dd,

$J=12.4, 2.2$ Hz, 2H), 3.79-3.85 (m, 2H), 3.73 (s, 4H), 3.00-3.06 (m, 4H), 2.17 (s, 6H), 2.03 (s, 6H), 2.01 (s, 6H), 1.98 (s, 6H), 1.81-1.85 (m, 4H), 1.26 (t, $J=7.5$ Hz, 6H). IR (NaCl): 1747, 1680 cm^{-1} .

步骤 2: 过乙酸酯 (0.43g, 0.33mmol) 溶解于 4ml 乙腈, 溶液与
 5 2N 氢氧化钠溶液 (1.8ml, 3.6mmol) 一起搅拌。室温下反应 18 小时后用 Dowex 50W 酸性离子交换树脂中和反应混合物, 减压去除挥发物。残余物的一部分通过反相 HPLC 纯化, 得到 1,6-双-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(α -D-吡喃甘露糖基氧基)苯基]-1,6-双-氧代己烷, 为白色固体, m.p.: 127-129 $^{\circ}\text{C}$ 。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 7.98 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.90 (s,
 10 2H), 7.35-7.48 (m, 8H), 7.27 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 5.53 (s, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.66 (s, 4H), 3.60 (d, $J=11.4$ Hz, 2H), 3.42-3.51 (m, 6H), 3.28-3.35 (m, 2H), 3.07-3.15 (m, 4H), 1.67-1.73 (m, 4H). IR (KBr): 3430, 1716, 1672 cm^{-1} .

元素分析: 计算值 $\text{C}_{46}\text{H}_{50}\text{O}_{18} \cdot 0.6 \text{ TFA}$: 59.10 % C, 5.32 % H。实测
 15 值: 58.92 % C, 5.68 % H。

实施例 8

1,3,5-三-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧基)苯基甲基]苯

步骤 1: 1, 3, 5-苯三羧基三氯化物 (1.0g, 3.8mmol) 溶解于 1, 2-二
 20 氯乙烷 (20ml)。加入氯化铝 (2.6g, 18.8mmol) 后加入 3-(2-甲氧基苯基)苯基乙酸甲酯 (4.8g, 18.8mmol), 将混合物在 65 $^{\circ}\text{C}$ 下加热过夜。在冰浴中冷却后, 缓慢加入 20ml 冰水。分离有机相, 用二氯甲烷 (3 $\times$ 5ml) 萃取水相。合并有机物, 硫酸镁干燥后减压浓缩。残余物通过闪式色谱纯化 (SiO_2 , 用己烷至 1:1 己烷/乙酸乙酯梯度洗脱) 得到三酮
 25 化合物 33 ($f=1$), (1.05g, 30%) ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 8.38 (d, $J=1.5$ Hz, 3H), 7.93 (m, 3H), 7.80-7.83 (m, 3H), 7.45 (m, 6H), 7.38 (t, $J=7.3$ Hz, 3H), 7.21-7.29 (m, 3H), 6.95 (dd, $J=8.76, 1.44$ Hz, 3H), 3.88 (s, 9H), 3.67 (s, 6H), 3.66 (s, 9H) ppm. IR (NaCl): 1734, 1654 cm^{-1} .

30 步骤 2: 三酮化合物 33 (3.13g, 3.4mmol) 溶解于 16ml 二氯甲烷, 在冰浴中冷却, 用三乙基甲硅烷 (3.8ml, 23.7mmol), 三氟乙酸 (2.6ml, 33.8mmol), 和乙醚合三氯化硼 (4.3ml, 33.8mmol) 处理。混合物在室

温下搅拌 1 小时后与 25ml 水混合。分离有机物，含水部分用二氯甲烷 (3 × 5ml) 萃取，合并有机部分，用硫酸镁干燥，减压浓缩后，残余物快速通过硅胶，用 3:1 己烷/乙酸乙酯洗脱后浓缩得到化合物 1,3,5-三-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-(2-甲氧基)苯基甲基]苯

5 (0.88 g, 28%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.38-7.43 (m, 6H), 7.33 (t, *J* = 7.68 Hz, 3H), 7.23 (s, 3H), 7.14 (d, *J* = 2.2 Hz, 3H), 7.08 (dd, *J* = 8.08, 1.84 Hz, 3H), 6.90 (s, 3H), 6.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 3H), 3.89 (s, 6H), 3.76 (s, 9H), 3.68 (s, 9H), 3.66 (s, 6H) ppm. IR (NaCl): 1738 cm⁻¹.

10 步骤 3:

A 部分: 1,3,5-三-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-(2-甲氧基)苯基甲基]苯 (0.88g, 1.0mmol) 溶解于 5ml 二氯甲烷，在干冰/丙酮浴中骤冷。缓慢加入三溴化硼 (0.7ml, 7.0mmol); 混合物在 0 °C 下搅拌 2 小时后与 10ml 冰水混合。分离有机物，含水部分用二氯甲烷 (3 × 5ml) 萃取，

15 合并有机部分，用硫酸镁干燥，减压浓缩后得到 0.82g 粗产物。

B 部分: 来自 A 部分的残余物与 20ml 甲醇混合并加入 1ml 硫酸。混合物加热回流过夜后减压浓缩。残余物与 20ml 二氯甲烷和 10ml 饱和的碳酸氢钠溶液混合，分离有机相，硫酸镁干燥并减压浓缩，残余物快速通过硅胶，用 1:1 己烷/乙酸乙酯洗脱，浓缩得到 1,3,5-三-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-(2-羟基)苯基甲基]苯 (0.63g,

20 75%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.20-7.50 (m, 12H), 7.0 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.98 (s, 2H), 6.95 (dd, *J* = 8.08, 2.2 Hz, 2H), 6.83 (s, 3H), 6.77 (d, *J* = 8.44, 3H), 3.85 (s, 6H), 3.69 (s, 9H), 3.66 (s, 6H) ppm. IR (NaCl): 3429, 1737 cm⁻¹.

25 步骤 4: 三酚化合物 (0.62g, 0.7mmol) 溶解于 4ml 1,2-二氯乙烷。加入 α-D-甘露糖五乙酸酯 (1.4g, 3.7mmol) 后缓慢加入乙醚合三氯化硼 (1.6ml, 13.3mmol)。混合物在室温下搅拌过夜后与 10ml 水混合。分离有机相，用二氯甲烷 (3 × 2ml) 萃取水相。合并有机物，硫酸镁干燥后减压浓缩。残余物通过闪式色谱纯化

30 (SiO₂, 用己烷至 2:1/乙酸乙酯: 己烷梯度洗脱) 得到产物 1,3,5-三-[3-(3-甲酯基甲基苯基)-4-(2-(2,3,4,6-四-O-乙酰基)-α-D-吡喃甘露糖基氧)苯基甲基]苯 (0.9g, 67%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 6.98-7.50 (m, 21H), 6.86 (s, 3H), 5.26 (m, 3H), 3.90-3.93 (m, 6H), 3.89 (s, 6H), 3.71 (s, 6H), 3.66 (s, 9H), 1.94-2.13 (m, 36H) ppm. IR (NaCl): 1745 cm^{-1} .

- 5 步骤5: 过乙酸酯 (0.88g, 0.48mmol) 溶解于 2ml 乙腈, 用 2ml 氢氧化锂一水合物 (0.4g, 9.6mmol) 水溶液处理。混合物在室温下搅拌过夜后用浓盐酸酸化至 pH2。减压浓缩混合物, 残余物用 HPLC 纯化 (C-18 反相, 20-80% 乙腈水溶液梯度洗脱, 254nm 监测), 得到 1,3,5-三-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(2- α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]苯 (0.35g, 57%), 为白色固体 m. p.:

155-158°C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 7.27-7.34 (m, 9H), 7.17-7.22 (m, 9H), 7.08-7.10 (dd, $J = 8.44, 1.70\text{ Hz}$; 3H), 7.01 (s, 3H), 5.24 (s, 3H), 3.85 (s, 6H), 3.33-3.64 (m, 24H) ppm. IR (KBr): $3431, 1710\text{ cm}^{-1}$.

- 15 元素分析: 计算值 $\text{C}_{69}\text{H}_{72}\text{O}_{24} \cdot 1.0\text{ TFA}$: 60.94 % C, 5.26 % H。实测值: 60.85 % C, 5.23 % H。

实施例 9

1,3,5-三-[4-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基]-4-氧代-2-硫代丁基]苯

- 20 步骤1: 3-(2-(2,3,4,6-四-O-乙酰基- α -D-吡喃甘露糖基氧)苯基)苯基乙酸乙酯 (0.32g, 0.547mmol) 和溴代乙酰溴 (0.06ml, 0.689mmol) 溶解于二氯乙烷 (3ml) 并在干冰/丙酮浴中冷却。混合物用氯化铝 (1.45g, 10.9mmol) 处理, 并用冰水浴代替原冷却浴。15 分钟后, 反应物与冰水 (25ml) 混合并搅拌 15 分钟。分离有机相, 用二氯甲烷 (3 $\times$ 2ml) 萃取水相。合并有机物, 硫酸镁干燥后
- 25 减压浓缩。得到 0.387g 产物, 其不用进一步纯化即可使用。

- ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 8.03 (d, $J = 2.5\text{ Hz}$, 1H), 7.95 (dd, $J = 8.8, 2.5\text{ Hz}$, 1H), 7.41-7.47 (m, 3H), 7.35 (m, 1H), 7.31 (d, $J = 8.8\text{ Hz}$, 1H), 5.62 (d, $J = 1.8\text{ Hz}$, 1H), 5.21-5.34 (m, 3H), 4.42 (s, 2H), 4.10-4.25 (m, 5H), 3.99 (dd, $J = 12.1, 2.2\text{ Hz}$, 1H), 3.80-3.85 (m, 1H), 3.74 (s, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.26 (t, $J = 8.0\text{ Hz}$, 3H). IR (NaCl): $1746, 1220\text{ cm}^{-1}$.
- 30

步骤2: 1ml 1,3,5-三-(巯基甲基)苯 (102mg, 0.47mmol) 的 THF 溶液用氰化钠 (59.8mg, 1.49mmol) 处理, 混合物在室温下搅拌 30 分钟。加入来自步骤1的 α -溴代酮 (1.02g, 1.44mmol) 的 2.0ml THF 溶液, 混合物在室温下搅拌过夜。反应物与 10ml 水混合, 用乙酸乙酯 (3 × 5ml) 萃取, 合并有机物, 硫酸镁干燥, 减压浓缩, 残余物通过闪式色谱纯化 (SiO₂, 梯度洗脱, 3:1 己烷/乙酸乙酯 - 1:1 己烷/乙酸乙酯) 得到 1,3,5-三-[4-[3-(3-乙酯基甲基苯基)-4-(2,3,4,6-四-O-乙酰基- α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]-4-氧代-2-硫代丁基]苯 (0.59g, 60%)。¹NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.98 (d, J = 2.5 Hz, 3H), 7.89 (dd, J = 8.8, 2.5 Hz, 3H), 7.40-7.46 (m, 6H), 7.25-7.35 (m, 12H), 5.61 (s, 3H), 5.22-5.33 (m, 9H), 4.10-4.25 (m, 10H), 3.97 (dd, J = 12.1, 2.2 Hz, 3H), 3.78-3.84 (m, 3H), 3.72 (s, 6H), 3.69 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 2.16 (s, 9H), 2.02 (s, 9H), 2.01 (s, 9H), 1.97 (s, 9H), 1.25 (t, J = 8.0 Hz, 9H); IR (NaCl): 1747, 1219 cm⁻¹.

步骤3: 来自步骤2的过乙酸三酯 (0.59g, 0.28mmol) 溶解于 3ml THF, 用现制备的甲醇钠溶液 (93mg, 4.04mmol 溶解于 3ml 甲醇) 处理。混合物在室温下搅拌过夜。通过真空过滤收集形成的沉淀, 用 2:1 THF/甲醇洗涤几次, 真空干燥得到 0.38g 白色固体。将该固体溶解于 12ml 水, 加入 2N 氢氧化钠使 pH 为 14, 混合物在室温下搅拌 4 小时后用 Dowex 50W 酸性离子交换树脂酸化反应混合物, 过滤, 减压去除挥发物。含水残余物的一部分通过反相色谱纯化, 得到 1,3,5-三-[4-[3-(3-羧基甲基苯基)-4-(α -D-吡喃甘露糖基氧) 苯基]-4-氧代-2-硫代丁基]苯, 为白色固体, m.p.:

140-143°C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 7.95 (dd, J = 8.8, 2.5 Hz, 3H), 7.89 (d, J = 2.2 Hz, 3H), 7.32-7.45 (m, 12H), 7.26 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 7.16-7.20 (m, 3H), 5.54 (s, 3H), 5.05 (br s, 3H), 4.85 (br s, 3H), 4.70 (br s, 3H), 4.50 (br s, 3H), 3.88-3.92 (m, 6H), 3.58-3.73 (m, 18H), 3.40-3.49 (m, 6H), 3.30-3.40 (m, 6H plus H₂O). IR (KBr): 3429, 1708, 1669 cm⁻¹.

元素分析: 计算值 C₇₅H₇₈O₂₇S₃ · 1.8 TFA: 55.12 % C, 4.79 % H。实测值: 55.14 % C, 5.20 % H。

30

实施例 10

结合测定

对化合物测定其抑制 E - 选择蛋白, P - 选择蛋白, 和/或 L - 选

择蛋白与唾液基-路易斯^X结合的能力。

E-选择蛋白结合测定包括评价表达唾液基-路易斯^X和路易斯^X的 HL 60 细胞与纯化的 E-选择蛋白, P-选择蛋白, 或 L-选择蛋白重组蛋白结合的能力(细胞-蛋白测试)。应用使用纯化的糖脂和纯化的 L-选择蛋白重组蛋白的类似结合测定(糖脂-蛋白质)来评价 L-选择蛋白结合。

细胞-蛋白质测试

E-选择蛋白, P-选择蛋白, 和 L-选择蛋白以重组可溶形式表达为含有氨基末端凝集素, EGF, 和类似补体调节重复单元(CR) 1 和 2 的融合蛋白质, 其中所述类补体调节重复单元 1 和 2 与小鼠 IgG_{2A} cDNA 的绞链区和恒定重链区 1 和 2 融合。所有选择蛋白融合盒(cassettes)通过 PCR 由自 R & D Systems (Minneapolis, MN) 购得的 E-选择蛋白 cDNA, 和自从人血浆提取的总 RNA 克隆的 PCR 的 P-选择蛋白和 L-选择蛋白 cDNA 产生。从自杂交瘤细胞系 402C10 提取的 RNA 产生的 PCR 扩增的 cDNA 克隆小鼠 IgG cDNA。所有融合盒应用 BakPAK 方法和从 Clontech 购得的 SF21 细胞自杆状病毒载体表达。

通过免疫沉淀方法使用 Dynal™ 羊抗鼠 IgG 包被的磁性小球从杆状病毒感染的培养基上清液中纯化出重组融合蛋白。模拟小球从未感染的 SF21 培养上清液中产生。免疫沉淀后, 与模拟培养上清液一起培养的小球不结合表达作为阴性对照的唾液基-路易斯^X的 HL 60 细胞。从 E-, L-, 或 P-选择蛋白培养上清液中培养的小球结合 HL 60 细胞。

用含有 10 % 胎牛血清(FCS)的 RPMI 1640 中的钙黄绿素 AMC-3099 (分子探针)对 HL60 细胞(10^7 个细胞)进行荧光标记。磁性小球(7 μ l, 4×10^6 小球/ml)在双份柔软 96 孔微量滴定平板的孔中培养, 用 7 μ l 不同浓度的化合物和 7 μ l 钙黄绿素标记的 HL60 细胞。平板在室温下培养 10 分钟。然后将平板置于磁性分离器上再培养 2 分钟。当测试平板还在分离器上时, 去除未结合的 HL60 细胞, 并且用磷酸盐缓冲盐水(PBS)将各孔清洗两次以去除任何残留的未结合的细胞。用显微镜检查仍与小球结合的 HL60 细胞, 然后通过加入 50ml 1 % NP 40 的 PBS 溶液溶细胞。用 Millipore Cytofluor 2350 荧光器定量荧光测定结合作用。测定出剂量应答曲线和抑制 50 % 的细胞结合时的化合物

的浓度 (IC_{50}) 。

下面表中列出的化合物是这里特别优选的那些化合物。

这些测试结果在下面的表中列出：

体外选择蛋白测试数据表

5

化合物	n= 或 m/p subst	E-选择蛋白 IC_{50} (mM) 或抑制 % (mM)	P-选择蛋白 IC_{50} (mM) 或抑制 % (mM)	L-选择蛋白 IC_{50} (mM) 或抑制 % (mM)
A-4	4	5.0	2.5	2.0
A-5	5	0.4	0.3	0.3
A-6	6	0.5	0.07	0.56
A-7	7	0.5	0.4	0.75
A-9	9	1.0	1.0	1.0
B-m	m	0/1	0.22	3.0
B-p	p	2.0	2.0	3.0
C		2.5	0.7	0/2
D		29/2	0.5	5.0
E	6	3.27	0.54	1.4
F	4	1.0	1.0	3.0
G		1.5	1.0	0/3
H		0.7	0.2	0.5
J		4.0	0/3	2.0