



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103421057 A

(43) 申请公布日 2013. 12. 04

(21) 申请号 201310353598. 8

C07H 5/06 (2006. 01)

(22) 申请日 2013. 08. 14

C07H 1/00 (2006. 01)

(71) 申请人 合肥医工医药有限公司

A61K 31/7028 (2006. 01)

地址 230088 安徽省合肥市高新区创业中心
F8 楼

A61K 31/7024 (2006. 01)

申请人 中国药科大学

A61K 31/7008 (2006. 01)

A61K 31/70 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

(72) 发明人 徐云根 屠哲玮 何广卫 唐琰

A61P 29/00 (2006. 01)

何书英 孙菁 司崇静 刘坤

A61P 9/00 (2006. 01)

(74) 专利代理机构 南京苏科专利代理有限责任
公司 32102

代理人 孙立冰

(51) Int. Cl.

C07H 15/18 (2006. 01)

C07H 13/06 (2006. 01)

C07H 7/02 (2006. 01)

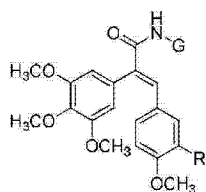
权利要求书2页 说明书16页

(54) 发明名称

康普瑞汀氨基糖缀合物、其制法及其医药用途

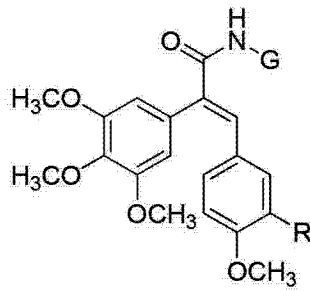
(57) 摘要

本发明涉及药物化学领域,具体涉及一类康普瑞汀(Combretastatin A-4, CA-4)与氨基糖的缀合物、它们的制备方法、以及对肿瘤血管的抑制作用。本发明的化合物具有良好的水溶性。药理实验显示,本发明的化合物对人脐静脉内皮细胞增殖具有较强的抑制作用,同时,对人及小鼠肿瘤细胞也有较好的抑制作用。因此,本发明的式 I 化合物及其含结晶水的化合物可以用于治疗各种与血管生成相关的疾病,这些疾病包括各种癌症和慢性炎症,以及其它血管原性的疾病。



I

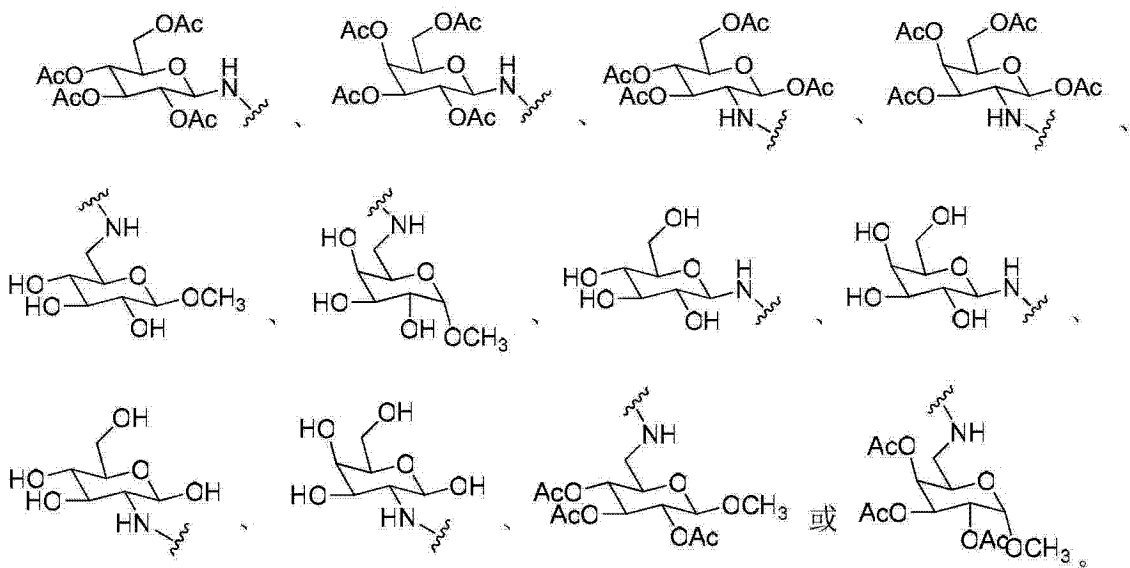
1. 通式(I)的化合物或其水合物：



I

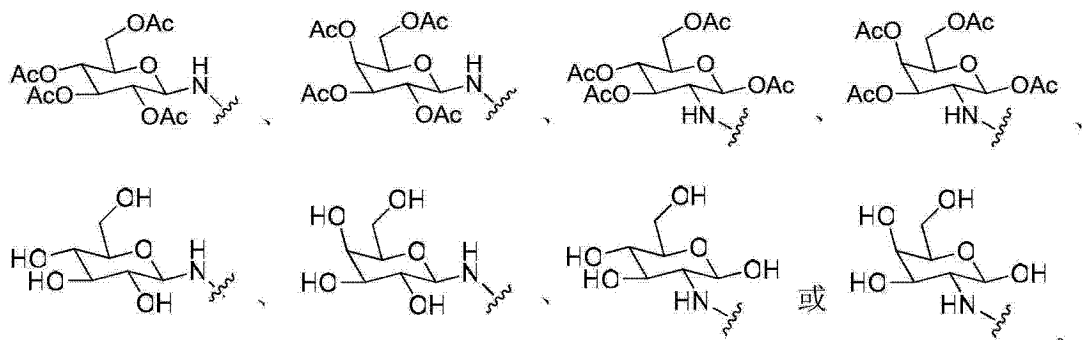
其中 R 代表 :H、卤素、羟基、 $C_1 \sim C_6$ 的烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 的烷基、羟甲基、硝基、氨基、甲酰胺基、乙酰氨基或氨基甲基；

G-NH- 代表：



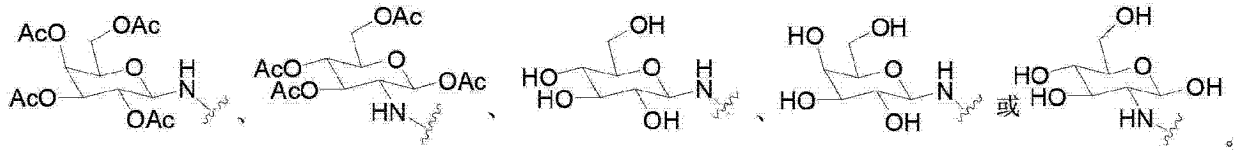
2. 权利要求 I 的化合物或其水合物，其中 R 代表 :H、卤素、羟基、甲基、羟甲基、硝基或氨基；

G-NH- 代表：



3. 权利要求 2 的化合物或其水合物，其中 R 代表 :H、羟基或氨基；

G-NH- 代表：



4. 权利要求 1 至 3 中任一项的化合物或其水合物, 其中的水合物以结晶水的形式存在, 结晶水的摩尔当量从 0.5 到 10。

5. 一种药物组合物, 其中含有权利要求 1 至 4 中任一项的化合物或其水合物和药学上可接受的载体。

6. 权利要求 1 至 4 中任一项的化合物或其水合物在制备治疗血管生成性疾病的药物中的用途。

7. 权利要求 6 的用途, 其中血管生成性疾病是肿瘤或慢性炎症。

康普瑞汀氨基糖缀合物、其制法及其医药用途

技术领域

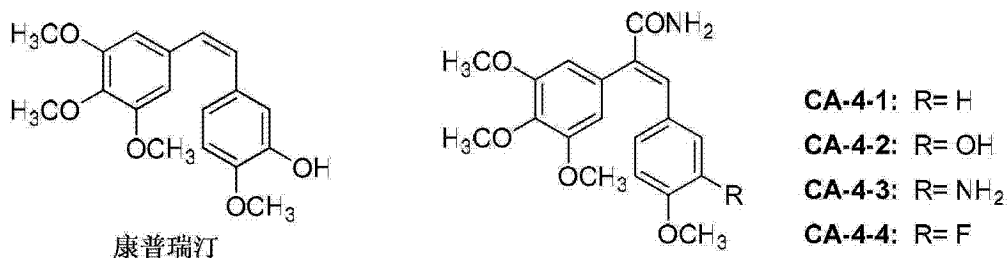
[0001] 本发明涉及药物化学领域,具体涉及一类康普瑞汀(Combretastatin A-4, CA-4)与氨基糖的缀合物、它们的制备方法、以及对肿瘤血管的抑制作用。

背景技术

[0002] 肿瘤血管阻断剂(Vascular Disrupting Agents, VDA)能够选择性破坏已形成的肿瘤血管网的内皮细胞和周细胞,进而快速切断肿瘤血供,诱发肿瘤细胞发生缺血坏死,能有效阻止肿瘤的生长和转移。因此,VDA与传统抗肿瘤药物相比有巨大的优势,但目前在临床研究的VDA存在心血管及神经系统毒性。因此开发疗效好、毒副作用小的VDA是目前该类药物的研究重点。

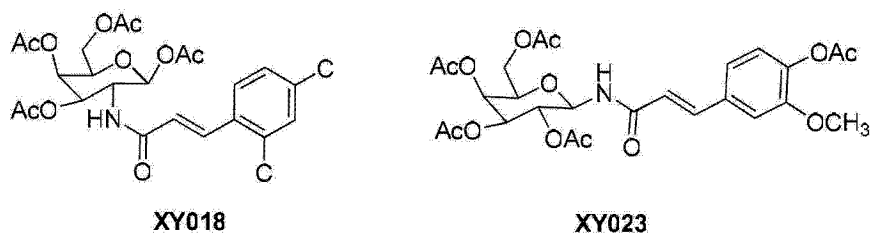
[0003] 康普瑞汀是从南非的 Combretum Caffnom 树皮中分离出来的小分子 VDA,其能结合血管内皮细胞微管蛋白 β 亚基的秋水仙碱结合位点,导致微管蛋白的聚合,进而改变其内皮细胞的骨架结构与形态,增强其血管渗透性、扰乱血流,从而引起肿瘤血管内皮细胞凋亡,导致次级肿瘤细胞死亡。尽管康普瑞汀具有潜在的生物活性,但其低水溶性和低生物利用度限制了进一步的应用。因此,人们对 CA-4 的结构进行改造,以期获得具有更好水溶性、化学稳定性和生物利用度的活性先导物。研究发现,在康普瑞汀的双键上引入一个胺甲基后得到的化合物(如 CA-4-1 ~ CA-4-4)的细胞毒作用弱于康普瑞汀,但对微管蛋白聚合的抑制活性强于康普瑞汀。

[0004]



[0005] 氨基糖类化合物具有良好的分子识别性和生物相容性等优点,某些 N-酰基氨基糖衍生物具有一定的肿瘤血管生成抑制活性。专利 CN101591364 和 CN101591369 公开了一系列 N-糖基苯丙烯酰胺衍生物,如化合物 XY018 和 XY023 对 bFGF (basic fibroblast growth factor,碱性成纤维细胞生长因子)刺激的人脐静脉内皮细胞的增殖具有良好的抑制作用。

[0006]

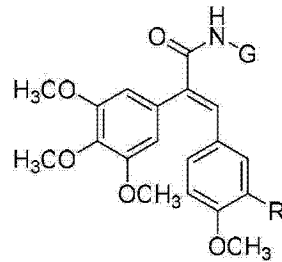


发明内容

[0007] 本发明公开了一类通式 I 的化合物及其水合物。本发明的化合物具有良好的水溶性。药理实验显示,本发明的化合物对人脐静脉内皮细胞增殖具有较强的抑制作用,同时,部分化合物对人及小鼠肿瘤细胞也有较好的抑制作用。因此,本发明的式 I 化合物及其含结晶水的化合物可以用于治疗各种与血管生成相关的疾病,这些疾病包括各种癌症和慢性炎症,以及其它血管原性的疾病。

[0008] 本发明的化合物通式 I 如下:

[0009]



I

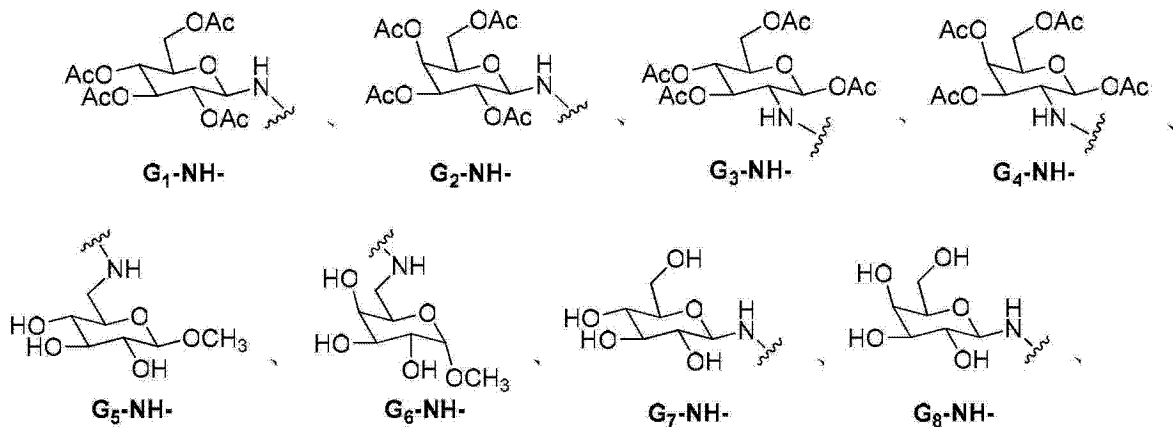
[0010] 其中 R 代表 :H、卤素、羟基、 $C_1 \sim C_6$ 的烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 的烷基、羟甲基、硝基、氨基、甲酰胺基、乙酰氨基或氨甲基。

[0011] R 优选代表 :H、卤素、羟基、甲基、羟甲基、硝基或氨基。

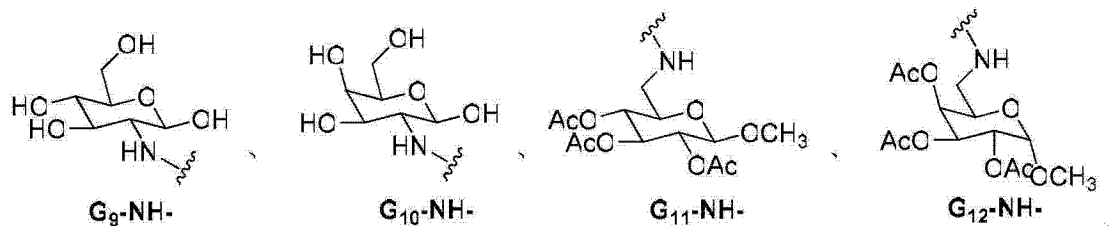
[0012] R 进一步优选代表 :H、羟基或氨基。

[0013] 其中 G - NH- 代表以下任一结构:

[0014]

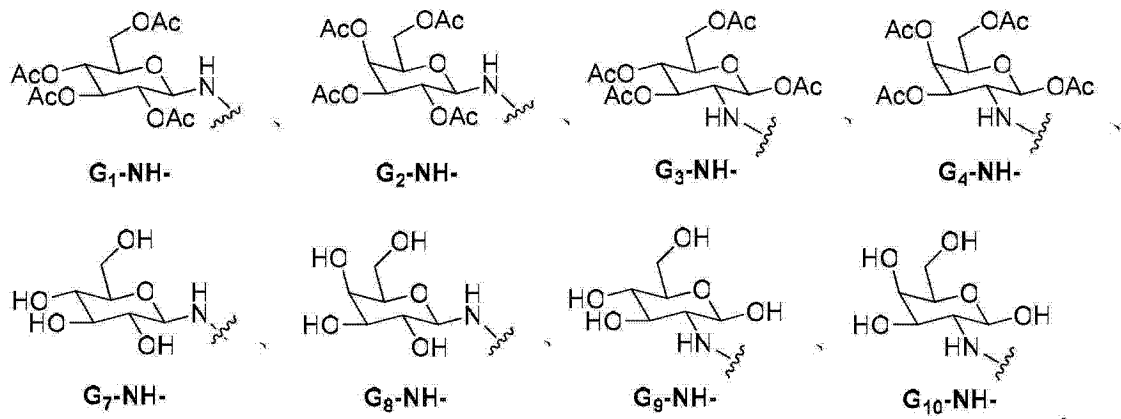


[0015]



[0016] 其中 G - NH- 更优选代表以下任一结构:

[0017]



[0018] 本发明化合物的水合物也具有与化合物同样的疗效,其中的水合物以结晶水的形式存在,结晶水的摩尔当量从 0.5 到 10。

[0019] 本发明部分化合物是:

[0020] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-1)

[0021] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-2)

[0022] N-(1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-3)

[0023] N-(1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-4)

[0024] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-5)

[0025] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-6)

[0026] N-(1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-7)

[0027] N-(1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-8)

[0028] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-9)

[0029] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-10)

[0030] N-(1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-11)

[0031] N-(1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-12)

[0032] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氟-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-13)

[0033] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖

- 基)-(E)-3-(3'-氟-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-14)
- [0034] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氟-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-15)
- [0035] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氟-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-16)
- [0036] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-17)
- [0037] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-18)
- [0038] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-19)
- [0039] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-20)
- [0040] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-21)
- [0041] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-22)
- [0042] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-23)
- [0043] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-24)
- [0044] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氨基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-25)
- [0045] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氨基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-26)
- [0046] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氨基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-27)
- [0047] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氨基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-28)
- [0048] N-(1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-29)
- [0049] N-(1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-30)
- [0050] N-(2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-31)
- [0051] N-(2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-32)
- [0052] N-(1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-33)

[0053] N-(1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-34)

[0054] N-(2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-35)

[0055] N-(2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-36)

[0056] N-(1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-37)

[0057] N-(1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-38)

[0058] N-(2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-39)

[0059] N-(2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-40)

[0060] N-(1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氟-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-41)

[0061] N-(1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氟-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-42)

[0062] N-(2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氟-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-43)

[0063] N-(2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氟-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-44)

[0064] N-(1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-45)

[0065] N-(1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-46)

[0066] N-(2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-47)

[0067] N-(2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-48)

[0068] N-(1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-49)

[0069] N-(1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-50)

[0070] N-(2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-51)

[0071] N-(2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-52)

[0072] N-(1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氨基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酸胺(I-53)

基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-53)

[0073] N-(1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氨基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-54)

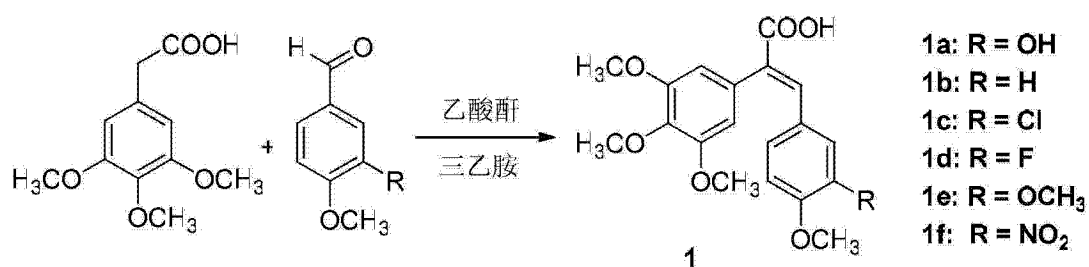
[0074] N-(2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氨基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-55)

[0075] N-(2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氨基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-56)

[0076] 本发明通式化合物(I)的制备方法如下:

[0077] 其中关键中间体 1 的制备方法如下:

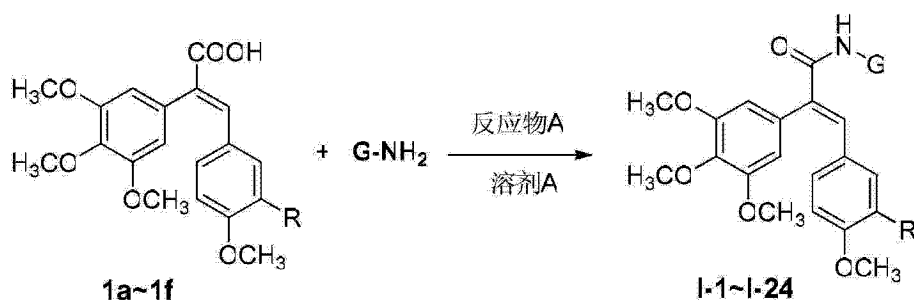
[0078]



[0079] 目标化合物(I)的制备方法如下:

[0080] (1) 当 G-NH₂=G₁-NH₂ ~ G₄-NH₂、G₁₁-NH₂ 或 G₁₂-NH₂, R=H、卤素、羟基、C₁ ~ C₆ 的烷氧基、C₁ ~ C₆ 的烷基、羟甲基或硝基时,合成路线如下:

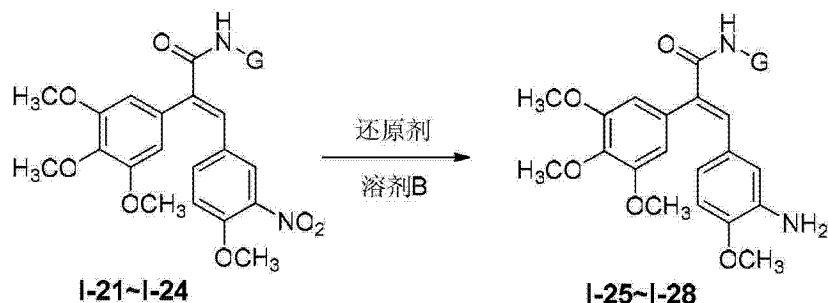
[0081]



[0082] 反应物 A 为草酰氯、二氯亚砷或三乙胺 /EDCI/HOBt;溶剂 A 为 DMF。

[0083] 其中当 R=NH₂ 时,合成路线如下:

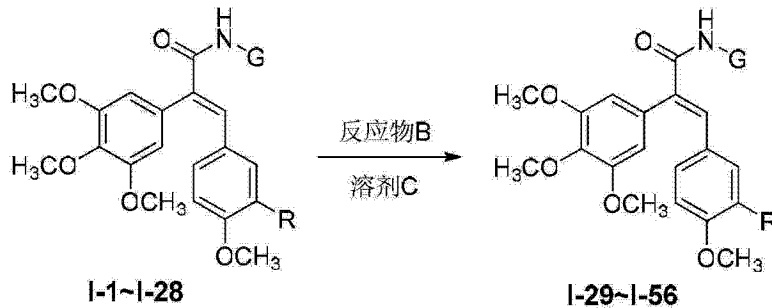
[0084]



[0085] 还原剂为 Fe/HCl 或 SnCl₂;溶剂 B 为含水乙醇或含水甲醇。

[0086] (2) 当 G-NH₂=G₅-NH₂ ~ G₁₀-NH₂ 时,合成路线如下:

[0087]



[0088] 反应物 B 为甲醇钠、乙醇钠或氨气；溶剂 C 为甲醇或乙醇。

[0089] 以下是本发明部分化合物的药理试验及结果。

[0090] 本发明部分化合物在常氧状态下对血管内皮细胞增殖抑制活性的测试方法如下：

[0091] 材料：人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 细胞株。

[0092] 溶液配制：

[0093] (1) PBS 溶液

[0094] NaCl 8.00g, KCl 0.20g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.49g, KH_2PO_4 0.20g, 加三蒸水溶解后, 定容至 1000ml, 高压灭菌后 4℃ 保存备用。

[0095] (2) 0.25% 胰蛋白酶溶液

[0096] 称取胰蛋白酶 0.25g, 加入 PBS 溶液, 磁力搅拌至完全溶解, 定容至 100ml, 过滤除菌后 -20℃ 保存备用。

[0097] (3) 噻唑兰 (MTT) 溶液

[0098] 称取 MTT 50mg, 加入 PBS 使其终体积为 10ml, 磁力搅拌至完全溶解后, 过滤除菌, 4℃ 避光保存, 两周内使用有效。

[0099] 稀释方法：用二甲亚砜 (DMSO) 将所有被测化合物配制为浓度 10^{-2}M 的母液, 临用前用细胞培养液配成所需浓度。

[0100] 操作流程：

[0101] 使用噻唑兰 (MTT) 法进行测定, 主要步骤如下：

[0102] (1) 取处于指数生长期状态良好的人静脉内皮细胞 (HUVEC) 一瓶, 加入 0.25% 胰蛋白酶消化液, 消化 1~2min, 倒置显微镜下可见胞质回缩、细胞变圆、细胞间隙清晰时, 立即翻转培养瓶, 加入少许含 10% 新生牛血清的 DMEM 培养液终止消化, 缓缓吹下瓶壁细胞, 制成细胞悬液。

[0103] (2) 取细胞悬液接种于 96 孔板上, $100 \mu\text{l}$ /孔, 每孔约 5000 个细胞, 置恒温 CO2 培养箱中培养 24 小时。

[0104] (3) 将细胞对照组 (含 10% 胎牛血清的 DMEM)、加药组 (含 10% 胎牛血清的 DMEM 和最终浓度分别为 10^{-5}mol/L 、 $10^{-6}\mu\text{mol/L}$ 、 $10^{-7}\mu\text{mol/L}$ 的待检测药物), $100 \mu\text{l}$ /孔, 培养 24 小时。

[0105] (4) 每孔加入 5mg/ml 的 MTT 溶液 $20 \mu\text{l}$, 37℃ 孵育 4h。

[0106] (5) 吸去上清液, 加入 DMSO, $150 \mu\text{l}$ /孔, 平板床上振摇 5 分钟。

[0107] (6) 用酶联免疫检测仪在波长为 570nm 处测定每孔的吸光值。

[0108] 表 1. 本发明部分化合物抑制人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 增殖的 IC_{50} (mol/L)

[0109]

被测化合物	IC ₅₀ (mol/L)		被测化合物	IC ₅₀ (mol/L)	
	HUVEC			HUVEC	
I-1	2.06×10 ⁻⁷		I-18	5.92×10 ⁻⁷	
I-2	3.54×10 ⁻⁶		I-21	3.23×10 ⁻⁵	
I-3	1.82×10 ⁻⁷		I-22	2.57×10 ⁻⁵	
I-5	6.87×10 ⁻⁶		I-25	3.58×10 ⁻⁷	
I-6	2.42×10 ⁻⁷		I-29	2.86×10 ⁻⁷	
I-9	3.98×10 ⁻⁷		I-30	2.57×10 ⁻⁷	
I-10	1.82×10 ⁻⁶		I-31	1.76×10 ⁻⁷	
I-11	8.36×10 ⁻⁷		I-34	3.35×10 ⁻⁷	
I-17	4.12×10 ⁻⁷		CA-4	4.64×10 ⁻⁷	

[0110] 表 1 中化合物代号对应的化学结构同实施例。

[0111] 药理测试结果表明,本发明的部分化合物,如 I-1、I-3、I-6、I-9、I-25、I-29、I-30、I-31 和 I-34 对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的增殖有明显的抑制作用,并且优于 CA-4。

[0112] 本发明还提供了一种治疗与血管生成相关的疾病的药物组合物,其中含有治疗有效量的通式 I 化合物和药学上可接受的载体。所述药物组合物可以是普通片剂或胶囊、缓释片剂或胶囊、控释片剂或胶囊、口服液、注射剂等制剂学上常规的制剂形式。

[0113] 一般地,本发明的 CA-4 衍生物用于治疗时,人用剂量范围为 1mg ~ 5000mg/天。也可根据剂型的不同和疾病严重程度,使用剂量超出该范围。

具体实施方式

[0114] 实施例 1

[0115] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺(I-1)的制备

[0116] (E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基)苯基-2-(3'',4'',5''-三-甲氧基)苯基-丙烯酸(1a)

[0117] 在 500ml 三颈瓶中加入 3,4,5-三甲氧基苯乙酸(50g, 0.22mol)、3-羟基-4-甲氧基苯甲醛(34g, 0.22mol)、62.5ml 三乙胺和 150ml 乙酸酐,搅拌升温至 140℃,反应 4h,停止加热,滴加浓盐酸 200ml,室温下过夜。有土黄色固体析出,停止反应,过滤,固体用 100ml 乙醇重结晶,得黄色针状物 47.5g,产率为 61%, m. p. 184 ~ 186℃ (文献值:184 ~ 186℃ [Bioorg. Med. Chem., 2005, 13(11):3853-3864])

[0118] ¹HNMR(300MHz, DMSO), δ (ppm): 12.42 (1H, s, COOH), 8.95 (1H, s, OH), 7.57 (1H, s, =CH), 6.81 (1H, d, J=8.7Hz, 5'-ArH), 6.61 (1H, dd, J=2.1Hz, J=8.4Hz, 6'-ArH), 6.54 (1H, d, J=2.1Hz, 2'-ArH), 6.44 (2H, s, 2'' & 6''-ArH), 3.73 (3H, s, OCH₃), 3.72 (3H, s, OCH₃), 3.69 (6H, s, 2×OCH₃). N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺(I-1)

[0119] 将 G_1-NH_2 (0.4g, 1.15mmol) 溶于 DMF (6ml), 先后分批加入 1a (0.41g, 1.15mmol), EDCI (0.22g, 1.15mmol), HOBt (0.16g, 1.15mmol), 室温搅拌 24h。停止反应, 用乙酸乙酯 (3×20ml) 提取, 有机层依次用水 (2×50ml) 饱和食盐水 (2×50ml) 洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 减压旋除溶剂得黄色泡沫状固体 0.9g, 硅胶柱层析 (石油醚 / 乙酸乙酯 =2/1), 得微黄色固体 0.3g, 收率 38.2%, m. p. 92-95°C ;

[0120] ^1H-NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.72 (1H, s, -CH=), 6.70 ~ 6.62 (3H, m, 5'-ArH, 6'-ArH&2'-ArH), 6.41 (2H, s, 2''&6''-ArH), 6.29 (1H, d, J=9Hz, NH), 5.42 (1H, brs, -ArOH), 5.37 ~ 5.27 (2H, m, H-1, H-2), 5.05 (1H, t, J=9.6Hz, H-3), 4.83 (1H, t, J=9.6Hz, H-4), 4.33 (1H, dd, J=4.2Hz, J=12.3Hz, H-6a), 4.13 ~ 4.05 (2H, m, H-6b&H-5), 3.96 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.85 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.84 (6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 2.08, 2.02, 1.98, 1.97 (each 3H, each s, 4×OAc) ;

[0121] IR (cm^{-1}) : 3404 (OH), 2944 (CH), 1751 (ester, C=O), 1670 (amide, C=O), 1581, 1511, 1234 (OCH₃), 1127 (OAc), 1038 (OCH₃)

[0122] MS (ESI (+) 70eV, m/z) : 690.2 [M+H]⁺; MS (ESI (-) 70V, m/z) : 724.4 [M+Cl]⁻;

[0123] HR-MS (1:TOF MS ES (+) 5.96e4) : Calc. Mass : 712.2217, C₃₃H₃₉NO₁₅Na. Found Mass : 712.2223.

[0124] 实施例 2

[0125] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧- β -D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-2) 的制备

[0126] 将 G_2-NH_2 (0.4g, 1.15mmol), 1a (0.41g, 1.15mmol) 经同 I-1 操作得微黄色固体 0.32g, 收率 40.8%, m. p. 118-120°C ;

[0127] ^1H-NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.73 (1H, s, -CH=), 6.66 ~ 6.61 (3H, m, 5'-ArH, 6'-ArH&2'-ArH), 6.42 (2H, s, 2''&6''-ArH), 6.29 (1H, d, J=9.6Hz, NH), 5.43 (1H, brs, -ArOH), 5.42 (1H, s, H-4), 5.34 (1H, t, J=9.3Hz, H-1), 5.12 ~ 5.11 (1H, m, H-2), 5.01 ~ 4.98 (1H, m, H-3), 4.13 ~ 4.09 (3H, m, H-5, H-6a and H-6b), 3.97 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.85 (9H, s, 4''-ArOCH₃, 3''&5''-ArOCH₃), 2.14, 2.04, 1.99, 1.98 (each 3H, each s, 4×OAc) ;

[0128] IR (cm^{-1}) : 3407 (OH), 2941 (CH), 1750 (ester, C=O), 1677 (amide, C=O), 1581, 1509, 1229 (OCH₃), 1126 (OAc), 1082 (OCH₃), 1051

[0129] MS (ESI (+) 70eV, m/z) : 690.2 [M+H]⁺; MS (ESI (-) 70V, m/z) : 688.0 [M-H]⁻;

[0130] HR-MS (1:TOF MS ES (+) 5.85e3) : Calc. Mass : 712.2217, C₃₃H₃₉NO₁₅Na. Found Mass : 712.2221.

[0131] 实施例 3

[0132] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-3) 的制备

[0133] 将 $G_3-NH_2 \cdot HCl$ (1.15g, 3mmol) 溶于 DMF (12ml), 滴加三乙胺 (0.42ml, 3mmol)。先后分批加入 1a (1.08g, 3mmol), EDCI (0.58g, 3mmol), HOBt (0.41g, 3mmol), 室温搅拌 24h。反应液加入二氯甲烷 (80ml), 水洗 (2×100ml), 饱和食盐水洗 (3×100ml), 无水硫酸镁干燥, 抽滤, 减压蒸除溶剂, 得黄色糖浆状粗品 2g, 硅胶柱层析 (石油醚 / 乙酸乙酯 =1/1), 得白色固体 0.39g, 收率 18.9%, m. p. 78-80°C ;

[0134] ^1H-NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.70 (1H, s, -CH=), 6.68 ~

6.65 (1H, m, 5'-ArH), 6.60 ~ 6.58 (2H, m, 6'-ArH&2'-ArH), 6.33 (2H, s, 2''&6''-ArH), 5.66 (1H, d, J=8.7Hz, NH), 5.51 (1H, d, J=9.6Hz, H-1), 5.17 ~ 5.02 (2H, m, H-3, H-4), 4.44 ~ 4.35 (1H, m, H-2), 4.26 (1H, dd, J=4.6Hz, J=12.5Hz, H-6a), 4.16 (1H, brs, -ArOH), 4.13 ~ 4.09 (1H, m, H-6b), 3.96 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.85 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.83 (6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 3.77 ~ 3.74 (1H, m, H-5), 2.10, 2.09, 2.01, 2.00 (each 3H, each s, 4×OAc);

[0135] IR (cm⁻¹): 3400 (OH), 2941 (CH), 1753 (ester, C=O), 1665 (amide, C=O), 1581, 1512, 1234 (OCH₃), 1127 (OAc), 1038 (OCH₃)

[0136] MS (ESI (-) 70V, m/z): 688.0 [M-H]⁻;

[0137] HR-MS (1: TOF MS ES (-) 6.50e3): Calc. Mass: 688.2241, C₃₃H₃₈NO₁₅. Found Mass: 688.2245.

[0138] 实施例 4

[0139] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-5) 的制备

[0140] (E)-3-(4'-甲氧基)苯基-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基)苯基-丙烯酸 (1b)

[0141] 在 500ml 三颈瓶中加入 3, 4, 5-三甲氧基苯乙酸 (10g, 44.2mmol)、4-甲氧基苯甲醛 (5.4ml, 44.2mmol)、10ml 三乙胺和 100ml 乙酸酐, 搅拌升温至 140℃, 反应 20h, 停止加热, 滴加浓盐酸 60ml, 室温下过夜。有土黄色固体析出, 停止反应过滤出固体, 用约 100ml 乙醇重结晶, 得黄色针状物 4.4g, 产率为 28.9%, m. p. 209 ~ 211℃ (文献值: 212℃ [Bioorg. Med. Chem., 2005, 13(11): 3853 ~ 3864.])

[0142] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-5)

[0143] G₁-NH₂ (0.9g, 2.6mmol), 1b (0.9g, 2.6mmol) 经同 I-1 操作得淡黄色固体 0.8g, 收率 45.4%, m. p. 83-85℃;

[0144] ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.78 (1H, s, -CH=), 7.00 (2H, d, J=8.8Hz, 2'-ArH, 6'-ArH), 6.71 (2H, d, J=8.8Hz, 3'-ArH, 5'-ArH), 6.41 (2H, s, 2''&6''-ArH), 6.29 (1H, d, J=9Hz, NH), 5.38 ~ 5.27 (2H, m, H-1, H-2), 5.05 (1H, t, J=9.7Hz, H-3), 4.84 (1H, t, J=9.5Hz, H-4), 4.34 (1H, dd, J=4.1Hz, J=12.5Hz, H-6a), 4.10 ~ 4.06 (1H, m, H-6b), 3.96 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.87 (1H, m, H-5), 3.84 (6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 3.77 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 2.08, 2.02 (each 3H, each s, 2×OAc), 1.98, (6H, s, 2×OAc);

[0145] IR (cm⁻¹): 2941 (CH), 1751 (ester, C=O), 1676 (amide, C=O), 1603, 1513, 1384, 1236 (OCH₃), 1127 (OAc), 1037 (OCH₃)

[0146] MS (ESI (+) 70eV, m/z): 674.3 [M+H]⁺;

[0147] HR-MS (1: TOF MS ES (+) 7.22e3): Calc. Mass: 696.2268, C₃₃H₃₉NO₁₄Na. Found Mass: 696.2272.

[0148] 实施例 5

[0149] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-6) 的制备

[0150] G₂-NH₂ (0.9g, 2.6mmol), 1b (0.9g, 2.6mmol) 经同 I-1 操作得淡黄色固体 0.6g, 收率 34.1%, m. p. 76-78℃;

[0151] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.78 (1H, s, $-\text{CH}=\text{}$), 7.00 (2H, d, $J=8.8\text{Hz}$, $2'-\text{ArH}$, $6'-\text{ArH}$), 6.71 (2H, d, $J=8.9\text{Hz}$, $3'-\text{ArH}$, $5'-\text{ArH}$), 6.43 (2H, s, $2''\&6''-\text{ArH}$), 6.29 (1H, d, $J=9.3\text{Hz}$, NH), 5.43 (1H, d, $J=3.4\text{Hz}$, H-4), 5.35 (1H, t, $J=9.3\text{Hz}$, H-1), 5.14 (1H, dd, $J=3.5\text{Hz}$, $J=10.3\text{Hz}$, H-3), 4.98 (1H, t, $J=9.5\text{Hz}$, H-2), 4.13 ~ 4.07 (3H, m, H-5, H-6a&H-6b), 3.98 (3H, s, $4''-\text{ArOCH}_3$), 3.85 (6H, s, $3''\&5''-\text{ArOCH}_3$), 3.77 (3H, s, $4'-\text{ArOCH}_3$), 2.14, 2.04, 1.99, 1.96 (each 3H, each s, $4\times\text{OAc}$);

[0152] IR(cm^{-1}): 2936 (CH), 1750 (ester, $\text{C}=\text{O}$), 1679 (amide, $\text{C}=\text{O}$), 1603, 1513, 1371, 1231 (OCH_3), 1177, 1127 (OAc), 1052 (OCH_3), 910

[0153] MS(ESI(+)) 70eV, m/z): 674.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

[0154] HR-MS (1:TOF MS ES(+)) 7.64e3): Calc. Mass: 696.2268, $\text{C}_{33}\text{H}_{39}\text{NO}_{14}\text{Na}$. Found Mass: 696.2273.

[0155] 实施例 6

[0156] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-9) 的制备

[0157] (E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基)苯基-2-(3'',4'',5''-三甲氧基)苯基-丙烯酸 (1c)

[0158] 在 250ml 三颈瓶中加入 3,4,5-三甲氧基苯乙酸 (13.3g, 58.8mmol)、3-氯-4-甲氧基苯甲醛 (5g, 29.3mmol)、13.3ml 三乙胺和 26.6ml 乙酸酐, 搅拌升温至 140°C , 反应 18h, 停止加热, 滴加浓盐酸 40ml, 室温下过夜。有土黄色固体析出, 停止反应, 过滤, 固体用约 100ml 乙醇重结晶, 得黄色针状物 7.0g, 产率为 63.1%, m. p. $208 \sim 210^\circ\text{C}$ 。

[0159] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 7.64 (1H, s, $=\text{CH}$), 7.11 ~ 7.09 (2H, m, $6'\&2'-\text{ArH}$), 7.04 (1H, d, $J=9.3\text{Hz}$, $5'-\text{ArH}$), 6.47 (2H, s, $2''\&6''-\text{ArH}$), 3.82 (3H, s, $4'-\text{ArOCH}_3$), 3.71 (3H, s, $4''-\text{ArOCH}_3$), 3.69 (6H, s, $3''\&5''-\text{ArOCH}_3$).

[0160] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-9)

[0161] G_1-NH_2 (0.9g, 2.6mmol), 1c (0.98g, 2.6mmol) 经同 I-1 操作得淡黄色固体 0.7g, 收率 38.2%, m. p. $69-72^\circ\text{C}$;

[0162] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.69 (1H, s, $-\text{CH}=\text{}$), 7.05 (1H, d, $J=2.15\text{Hz}$, $2'-\text{ArH}$), 6.91 (1H, dd, $J=2.15\text{Hz}$, $J=8.7\text{Hz}$, $6'-\text{ArH}$), 6.72 (1H, d, $J=8.7\text{Hz}$, $5'-\text{ArH}$), 6.40 (2H, s, $2''\&6''-\text{ArH}$), 6.32 (1H, d, $J=9.2\text{Hz}$, NH), 5.36 ~ 5.28 (2H, m, H-1, H-2), 5.04 (1H, t, $J=9.6\text{Hz}$, H-3), 4.83 (1H, t, $J=9.6\text{Hz}$, H-4), 4.32 (1H, dd, $J=4.3\text{Hz}$, $J=12.5\text{Hz}$, H-6a), 4.14 ~ 4.09 (2H, m, H-6b&H-5), 3.96 (3H, s, $4'-\text{ArOCH}_3$), 3.85 (3H, s, $4''-\text{ArOCH}_3$), 3.84 (6H, s, $3''\&5''-\text{ArOCH}_3$), 2.07, 2.04, 2.02, 1.98 (each 3H, each s, $4\times\text{OAc}$);

[0163] IR(cm^{-1}): 2943 (CH), 1752 (ester, $\text{C}=\text{O}$), 1678 (amide, $\text{C}=\text{O}$), 1596, 1505, 1372, 1236 (OCH_3), 1127 (OAc), 1064 (ArCl), 1038 (OCH_3);

[0164] MS(ESI(+)) 70eV, m/z): 708.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; MS(ESI(-)) 70V, m/z): 742.6 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$;

[0165] HR-MS (1:TOF MS ES(+)) 7.99e3): Calc. Mass: 730.1879, $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{NO}_{14}\text{NaCl}$. Found Mass: 730.1884.

[0166] 实施例 7

[0167] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-10) 的制备

[0168] 将 G₂-NH₂ (0.9g, 2.6mmol), 1c (0.98g, 2.6mmol) 经同 I-1 操作得白色固体 0.6g, 收率 32.8%, m. p. 93-95°C ;

[0169] ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.70 (1H, s, -CH=), 7.03 (1H, d, J=2.15Hz, 2'-ArH), 6.93 (1H, dd, J=2.15Hz, J=8.75Hz, 6'-ArH), 6.73 (1H, d, J=8.7Hz, 5'-ArH), 6.42 (2H, s, 2''&6''-ArH), 6.33 (1H, d, J=9.25Hz, NH), 5.43 (1H, d, J=3.5Hz, H-4), 5.35 (1H, t, J=9.3Hz, H-1), 5.14 (1H, dd, J=3.5Hz, J=10.3Hz, H-3), 4.98 (1H, t, J=9.55Hz, H-2), 4.14 ~ 4.09 (3H, m, H-5, H-6a&H-6b), 3.97 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.86 (9H, s, 4''-ArOCH₃, 3''&5''-ArOCH₃), 2.14, 2.04, 2.00, 1.96 (each 3H, each s, 4×OAc) ;

[0170] IR (cm⁻¹) : 2941 (CH), 1748 (ester, C=O), 1682 (amide, C=O), 1596, 1505, 1371, 1234 (OCH₃), 1127 (OAc), 1082 (ArCl), 1063 (OCH₃)

[0171] MS (ESI (+) 70eV, m/z) : 708.2 [M+H]⁺; MS (ESI (-) 70V, m/z) : 742.6 [M+Cl]⁻;

[0172] HR-MS (1:TOF MS ES(+)) 3.10e4 : Calc. Mass: 730.1879, C₃₃H₃₈N₁₄NaCl. Found Mass: 730.1883.

[0173] 实施例 8

[0174] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氯-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-11) 的制备

[0175] G₃-NH₂.HCl (1.15g, 3mmol), 1c (1.2g, 3mmol) 经同 I-3 操作得白色固体 0.6g, 收率 26.7%, m. p. 119-121°C ;

[0176] ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.67 (1H, s, -CH=), 7.005 (1H, d, J=2.2Hz, 2'-ArH), 6.89 (1H, dd, J=2.2Hz, J=8.7Hz, 6'-ArH), 6.72 (1H, d, J=8.7Hz, 5'-ArH), 6.33 (2H, s, 2''&6''-ArH), 5.67 (1H, d, J=8.6Hz, NH), 5.57 (1H, d, J=9.6Hz, H-1), 5.14 (1H, t, J=9.4Hz, H-3), 5.06 (1H, dd, J=9.3Hz, J=10.35Hz, H-4), 4.38 (1H, t, J=9.4Hz, H-2), 4.26 (1H, dd, J=4.7Hz, J=12.45Hz, H-6a), 4.13 ~ 4.10 (1H, m, H-6b), 3.96 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.85 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.84 (6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 3.78 ~ 3.75 (1H, m, H-5), 2.11, 2.09, 2.01, 2.00 (each 3H, each s, 4×OAc) ;

[0177] IR (cm⁻¹) : 2939 (CH), 1751 (ester, C=O), 1673 (amide, C=O), 1597, 1504, 1368, 1233 (OCH₃), 1128 (OAc), 1077 (ArCl), 1041 (OCH₃)

[0178] MS (ESI (-) 70V, m/z) : 742.6 [M+Cl]⁻;

[0179] HR-MS (1:TOF MS ES(+)) 1.61e4 : Calc. Mass: 730.1879, C₃₃H₃₈N₁₄NaCl. Found Mass: 730.1884.

[0180] 实施例 9

[0181] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-17) 的制备

[0182] (E)-3-(3',4'-二甲氧基)苯基-2-(3'',4'',5''-三甲氧基)苯基-丙烯酸 (1e)

[0183] 在 250ml 三颈瓶中加入 3,4,5-三甲氧基苯乙酸 (5g, 22.1mmol)、3,4-二甲氧基苯甲醛 (3.7g, 22.1mmol)、5ml 三乙胺和 50ml 乙酸酐, 搅拌升温至 140℃, 反应 20h, 停止加热, 滴加浓盐酸 30ml, 室温下过夜。有土黄色固体析出, 停止反应, 过滤, 固体用约 80ml 乙醇重结晶, 得黄色针状物纯品 3g, 产率为 36.3%, m. p. 205-208℃。

[0184] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12.45 (1H, brs, COOH), 7.67 (1H, s, =CH), 6.88 (2H, s, 2' & 6'-ArH), 6.54 (1H, s, 5'-ArH), 6.49 (2H, s, 2'' & 6''-ArH), 3.73 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.71 (6H, s, 3'' & 5''-ArOCH₃), 3.68 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.36 (3H, s, 3'-ArOCH₃)。

[0185] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-17)

[0186] G₁-NH₂ (0.9g, 2.6mmol), 1e (0.97g, 2.6mmol) 经同 I-1 操作得淡黄色固体 0.5g, 收率 27.4%, m. p. 82-84℃ ;

[0187] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.77 (1H, s, -CH=), 6.85 (1H, dd, J=1.8Hz, J=8.4Hz, 6'-ArH), 6.74 (1H, d, J=8.4Hz, 5'-ArH), 6.46 (3H, s, 2', 2'' & 6''-ArH), 6.32 (1H, d, J=9.2Hz, NH), 5.39 ~ 5.31 (2H, m, J=9.5Hz, H-1, H-2), 5.05 (1H, t, J=9.7Hz, H-3), 4.84 (1H, t, J=9.5Hz, H-4), 4.34 (1H, dd, J=4.1Hz, J=12.6Hz, H-6a), 4.11 ~ 4.06 (1H, m, H-6b), 3.92 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.89 ~ 3.88 (1H, m, H-5), 3.85 (6H, s, 3'' & 5''-ArOCH₃), 3.81 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.49 (3H, s, 3'-ArOCH₃), 2.08, 2.02 (each 3H, each s, 2×OAc), 1.98 (6H, s, 2×OAc) ;

[0188] IR (cm⁻¹): 2941 (CH), 1753 (ester, C=O), 1676 (amide, C=O), 1581, 1514, 1383, 1232 (OCH₃), 1127 (OAc), 1038 (OCH₃)

[0189] MS (ESI (+) 70eV, m/z): 704.3 [M+H]⁺;

[0190] HR-MS (1:TOF MS ES (+) 7.89e3): Calc. Mass: 726.2374, C₃₄H₄₁NO₁₅Na. Found Mass: 726.2378.

[0191] 实施例 10

[0192] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧- β -D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3',4'-二甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-18) 的制备

[0193] G₂-NH₂ (0.9g, 2.6mmol), 1e (0.97g, 2.6mmol) 经同 I-1 操作得淡黄色固体 0.6g, 收率 32.9%, m. p. 72-74℃ ;

[0194] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.75 (1H, s, -CH=), 6.83 (1H, dd, J=1.85Hz, J=8.45Hz, 6'-ArH), 6.73 (1H, d, J=8.45Hz, 5'-ArH), 6.46 (2H, s, 2'' & 6''-ArH), 6.45 (1H, d, J=2Hz, 2'-ArH), 6.31 (1H, d, J=9.3Hz, NH), 5.42 (1H, d, J=3.4Hz, H-4), 5.34 (1H, t, J=9.3Hz, H-1), 5.13 (1H, dd, J=3.5Hz, J=10.3Hz, H-3), 4.97 (1H, t, J=9.8Hz, H-2), 4.11 ~ 4.08 (3H, m, H-6a, H-6b and H-5), 3.91 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.83 (6H, s, 3'' & 5''-ArOCH₃), 3.82 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.47 (3H, s, 3'-ArOCH₃), 2.12, 2.02, 1.98, 1.95 (each 3H, each s, 4×OAc) ;

[0195] IR (cm⁻¹): 2938 (CH), 1750 (ester, C=O), 1677 (amide, C=O), 1580, 1514, 1371, 1235 (OCH₃), 1127 (OAc), 1052 (OCH₃)

[0196] MS (ESI (+) 70eV, m/z): 704.2 [M+H]⁺;

[0197] HR-MS (1:TOF MS ES (+) 4.64e4): Calc. Mass: 726.2374, C₃₄H₄₁NO₁₅Na. Found Mass: 726.2380.

[0198] 实施例 11

[0199] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-21) 的制备

[0200] (E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基)苯基-2-(3'',4'',5''-三-甲氧基)苯基-丙烯酸 (1f)

[0201] 在 100ml 三颈瓶中加入 3,4,5-三甲氧基苯乙酸 (2.4g, 10.6mmol)、3-硝基-4-甲氧基苯甲醛 (1.92g, 10.6mmol)、2.4ml 三乙胺和 24ml 乙酸酐, 搅拌升温至 140℃, 反应 12h, 停止加热, 滴加浓盐酸 14.4ml, 室温下过夜。有土黄色固体析出, 停止反应, 过滤, 固体用约 150ml 乙醇重结晶, 得黄色针状物纯品 1.86g, 产率为 45.0%, m. p. 225-227℃ (文献值: 223℃ [Bioorg. Med. Chem., 2005, 13(11):3853 ~ 3864.])

[0202] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-21)

[0203] G₁-NH₂ (0.9g, 2.6mmol), 1f (1.0g, 2.6mmol) 经同 I-1 操作得鹅黄色固体 0.75g, 收率 40.6%, m. p. 80-82℃;

[0204] ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.73 (1H, s, -CH=), 7.53 (1H, d, J=2.1Hz, 2'-ArH), 7.20 (1H, dd, J=2.1Hz, J=8.85Hz, 6'-ArH), 6.90 (1H, d, J=8.82Hz, 5'-ArH), 6.40 (2H, s, 2''&6''-ArH), 5.35 (1H, d, J=9.3Hz, NH), 5.29 (1H, d, J=9.5Hz, H-1), 5.08 ~ 5.02 (1H, m, H-3), 4.83 (1H, t, J=9.5Hz, H-2), 4.35 ~ 4.30 (1H, m, H-4), 4.09 (1H, dd, J=4.6Hz, J=12.6Hz, H-6a), 3.98 ~ 3.96 (1H, m, H-6b), 3.98 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.93 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.88 (1H, s, H-5), 3.85 (6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 2.08, 2.02 (each 3H, each s, 2×OAc) 1.98, (6H, s, 2×OAc);

[0205] IR (cm⁻¹): 2943 (CH), 1752 (ester, C=O), 1678 (amide, C=O), 1615, 1533 (NO₂), 1236 (OCH₃), 1127 (OAc), 1039 (OCH₃)

[0206] MS (ESI (+) 70eV, m/z): 719.3 [M+H]⁺; MS (ESI (-) 70V, m/z): 717.2 [M-H]⁻;

[0207] HR-MS (1:TOF MS ES (+) 2.98e4): Calc. Mass: 741.2119, C₃₃H₃₈N₂O₁₆Na. Found Mass: 741.2124.

[0208] 实施例 12

[0209] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-硝基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-22) 的制备

[0210] G₂-NH₂ (0.9g, 2.6mmol), 1f (1.0g, 2.6mmol) 经同 I-1 操作得鹅黄色固体 0.8g, 收率 43.3%, m. p. 100-102℃;

[0211] ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.75 (1H, s, -CH=), 7.51 (1H, d, J=2.1Hz, 2'-ArH), 7.23 (1H, dd, J=2.1Hz, J=8.9Hz, 6'-ArH), 6.91 (1H, d, J=8.9Hz, 5'-ArH), 6.42 (2H, s, 2''&6''-ArH), 6.39 (1H, d, J=9.4Hz, NH), 5.44 (1H, d, J=3.3Hz, H-4), 5.34 (1H, t, J=9.2, H-1), 5.14 (1H, dd, J=3.4Hz, J=10.3Hz, H-3), 4.98 (1H, t, J=9.8Hz, H-2), 4.13 ~ 4.09 (3H, m, H-5, H-6a&H-6b), 3.97 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.93 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.86 (6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 2.17, 2.04, 2.00, 1.93 (each 3H, each s, 4×OAc);

[0212] IR (cm⁻¹): 2941 (CH), 1750 (ester, C=O), 1680 (amide, C=O), 1615, 1533 (NO₂), 1371, 1231 (OCH₃), 1127 (OAc), 1085 (OCH₃)

[0213] MS (ESI (+) 70eV, m/z): 719.3 [M+H]⁺; MS (ESI (-) 70V, m/z): 717.4 [M-H]⁻;

[0214] HR-MS (1:TOF MS ES (+) 1.98e4): Calc. Mass: 741.2119, C₃₃H₃₈N₂O₁₆Na. Found

Mass:741. 2123.

[0215] 实施例 13

[0216] N-(2, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-氨基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-25) 的制备

[0217] 将 I-21 (0.6g, 0.83mmol) 溶于 20ml 乙醇, NH₄Cl (0.32g, 5.98mmol) 溶于 6ml 水, 合并两者, 加入还原 Fe 粉 (0.24g, 4.3mmol), 升温回流 3.5h, 停止反应, 用硅藻土滤除 Fe 粉, 同时用乙醇洗涤滤渣, 旋干滤液, 分别加乙酸乙酯 30ml, 水 20ml, 分出有机层, 并依次用水 (2×20ml) 洗, 饱和 NaHCO₃ (1×30ml) 洗, 饱和 NaCl (2×30ml) 洗, 无水硫酸镁干燥 4h, 过滤, 旋干, 得棕黄色粘稠状粗品 0.6g, 硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇=200/1), 得黄色固体 0.45g, 收率 78.3%, m. p. 90-92°C ;

[0218] ¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 7.61 (1H, d, J=9.3Hz, NH), 7.29 (1H, s, -CH=), 6.83~6.74 (1H, m, 6'-ArH), 6.63 (1H, d, J=8.5Hz, 5'-ArH), 6.46 (1H, s, 2'-ArH), 6.41 (2H, s, 2''&6''-ArH), 5.47 (1H, t, J=9.3Hz, H-1), 5.36 (1H, t, J=9.45Hz, H-2), 5.00 (1H, t, J=9.4Hz, H-3), 4.87 (1H, t, J=9.65Hz, H-4), 4.63 (2H, s, NH₂), 4.17~4.15 (1H, m, H-6a), 4.09~4.04 (2H, m, H-6b&H-5), 3.74 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.71 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.70 (6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 1.99, 1.98, 1.95, 1.93 (each 3H, each s, 4×OAc);

[0219] IR (cm⁻¹): 3407 (NH₂), 2941 (CH), 1753 (ester, C=O), 1677 (amide, C=O), 1582, 1514, 1236 (OCH₃), 1126 (OAc), 1037 (OCH₃)

[0220] MS (ESI (+) 70eV, m/z): 689.3 [M+H]⁺;

[0221] HR-MS (1:TOF MS ES (+) 2.31e4): Calc. Mass: 689.2558, C₃₃H₄₁N₂O₁₄. Found Mass: 689.2563.

[0222] 实施例 14

[0223] N-(1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'', 4'', 5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺 (I-29) 的制备

[0224] I-1 (0.4g, 0.58mmol) 溶于 5ml 甲醇钠/甲醇溶液, 室温搅拌 4h, 停止反应, 调节 pH 值到 6, 将溶液旋干, 粗品用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇=10/1), 得微黄色纯品 0.20g, 产率为 66.1%, m. p. 125~127°C ;

[0225] ¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 8.87 (1H, s, -ArOH), 7.62 (1H, d, J=9.0Hz, NH), 7.30 (1H, s, -CH=), 6.79 (1H, d, J=8.5Hz, 5'-ArH), 6.55 (1H, dd, J=2.0Hz, J=8.4Hz, 6'-ArH), 6.52 (1H, d, J=2.1Hz, 2'-ArH), 6.47 (2H, s, 2''&6''-ArH), 4.96~4.81 (3H, m, OH-2, 3&4), 4.45~4.43 (1H, m, OH-6), 3.80~3.75 (2H, m, H-1 and H-2), 3.73 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.72 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.68 (6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 3.44~3.40 (1H, m, H-3), 3.21~3.12 (3H, m, H-5, H-6a and H-6b), 3.07~3.03 (1H, m, H-4);

[0226] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆+D₂O) δ (ppm): 7.31 (1H, s, -CH=), 6.81 (1H, d, J=8.6Hz, 5'-ArH), 6.58 (1H, dd, J=1.9Hz, J=8.6Hz, 6'-ArH), 6.51 (1H, d, J=1.9Hz, 2'-ArH), 6.47 (2H, s, 2''&6''-ArH), 4.83 (1H, d, J=8.7Hz, NH), 3.80~3.78 (2H, m, H-1 and H-2), 3.75 (3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.74 (3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.69 (6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 3.46~3.41 (1H, m, H-3), 3.24~3.19 (3H, m, H-5, H-6a and H-6b), 3.10~3.08 (1H, m, H-4);

[0227] IR (cm⁻¹): 3411 (OH), 2937 (CH), 1654 (amide, C=O), 1583, 1510, 1240 (OCH₃), 1125, 1

079(OCH₃), 1026

[0228] MS(ESI(+))70eV, m/z):522.1[M+H]⁺;MS(ESI(-))70V, m/z):556.3[M+Cl]⁻;

[0229] HR-MS(1:TOF MS ES(+))5.126e4):Calc. Mass:544.1795, C₂₅H₃₁NO₁₁Na. Found Mass:544.1799.

[0230] 实施例 15

[0231] N-(1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺(I-30)的制备

[0232] 取 I-2(0.4g, 0.58mmol), 经同 I-29 操作得微黄色固体 0.22g, 收率 72.7%, m. p. 126-128°C; ¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):8.87(1H, s, -ArOH), 7.42(1H, d, J=9.1Hz, NH), 7.33(1H, s, -CH=), 6.79(1H, d, J=8.5Hz, 5'-ArH), 6.55(1H, dd, J=2.0Hz, J=8.5Hz, 6'-ArH), 6.51(1H, d, J=2.0Hz, 2'-ArH), 6.49(2H, s, 2''&6''-ArH), 4.83~4.78(2H, m, OH-2, 3), 4.72~4.69(1H, m, OH-4), 4.55~4.53(1H, m, OH-6), 4.27(1H, d, J=5Hz, H-1), 3.79(1H, s, H-4), 3.73(3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.72(3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.69(6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 3.67~3.66(2H, m, H-2, H-3), 3.43~3.40(2H, m, H-6a and H-6b), 3.36~3.35(1H, m, H-5);

[0233] ¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆+D₂O) δ (ppm):7.34(1H, s, -CH=), 6.81(1H, d, J=8.6Hz, 5'-ArH), 6.59(1H, dd, J=2.0Hz, J=8.6Hz, 6'-ArH), 6.51(1H, d, J=2.0Hz, 2'-ArH), 6.49(2H, s, 2''&6''-ArH), 4.81(1H, d, J=8.4Hz, NH), 3.80(1H, s, H-4), 3.78(1H, m, H-1), 3.74(3H, s, 4'-ArOCH₃), 3.73(3H, s, 4''-ArOCH₃), 3.69(6H, s, 3''&5''-ArOCH₃), 3.67(1H, s, H-2), 3.48~3.46(1H, m, H-3), 3.45~3.42(2H, m, H-6a and H-6b), 3.40~3.39(1H, m, H-5);

[0234] IR(cm⁻¹):3416(OH), 1651(amide, C=O), 1583, 1512, 1411, 1240(OCH₃), 1125, 1084(OCH₃), 1024MS(ESI(+))70eV, m/z):522.1[M+H]⁺;MS(ESI(-))70V, m/z):556.3[M+Cl]⁻;

[0235] HR-MS(1:TOF MS ES(+))2.46e4):Calc. Mass:544.1795, C₂₅H₃₁NO₁₁Na. Found Mass:544.1800.

[0236] 实施例 16

[0237] N-(2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-(E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺(I-31)的制备

[0238] 取 I-3(0.4g, 0.58mmol), 经同 I-29 操作得类白色固体 0.16g, 收率 52.9%, m. p. 122-124°C。

[0239] 实施例 17

[0240] N-(1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-(E)-3-(4'-甲氧基苯基)-2-(3'',4'',5''-三甲氧基苯基)丙烯酰胺(I-34)的制备

[0241] 取 I-6(0.39g, 0.58mmol), 经同 I-29 操作得微黄色固体 0.18g, 收率 61.5%, m. p. 109-112°C。

[0242] 实施例 18

[0243] 片剂

[0244] 取实施例 1 中所得化合物 0.5g, 淀粉 2g, 糊精 1g 混合, 用适量 30% 乙醇作湿润剂, 制粒, 压片。