



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102112484 B

(45) 授权公告日 2015. 03. 04

(21) 申请号 200980116830. 8

A61K 31/704(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 04. 08

A61P 37/04(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/043, 197 2008. 04. 08 US

(56) 对比文件

WO 0009075 A2, 2000. 02. 24, 说明书实施例 1-6.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2010. 11. 10

WO 2004092329 A2, 2004. 10. 28, 说明书实施例 1-9.

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/039954 2009. 04. 08

Yong-Jae Kim, et al.. Synthetic Studies of Complex Immunostimulants from Quillaja saponaria: Synthesis of the Potent Clinical Immunoadjuvant QS-21Aapi. 《J Am Chem Soc. 》. 2006, 第 128 卷 (第 36 期), 第 11906 - 11915 页.

(87) PCT国际申请的公布数据

W02009/126737 EN 2009. 10. 15

(73) 专利权人 索隆 - 基特林癌症研究协会

地址 美国纽约州

审查员 崔永涛

(72) 发明人 戴维·金 米歇尔·亚当斯 邓凯

尼古拉斯·佩尔 安妮·汪

菲利普·利文斯顿

戈文德·拉古帕蒂

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限公司

责任人 11287

代理人 章蕾

(51) Int. Cl.

C07H 15/24(2006. 01)

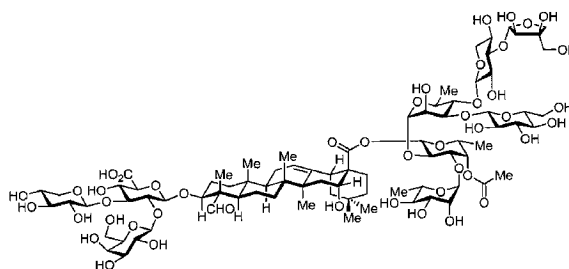
权利要求书1页 说明书107页 附图14页

(54) 发明名称

三萜皂苷、其合成方法和用途

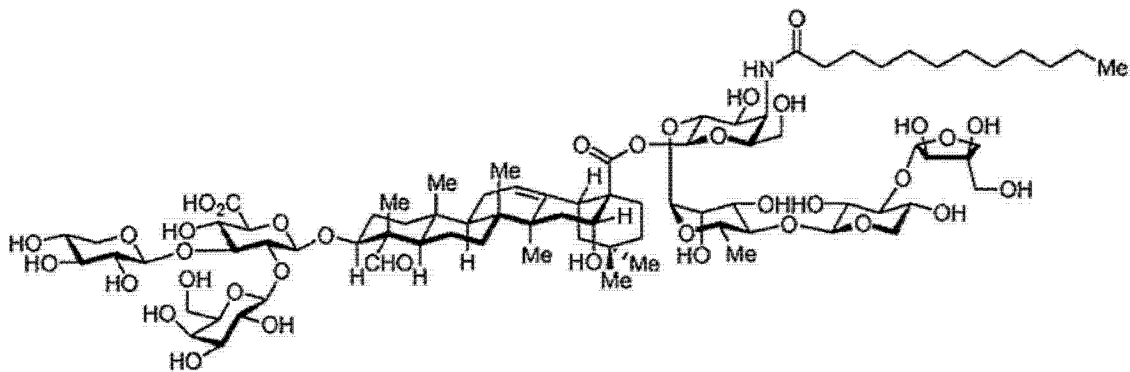
(57) 摘要

本发明涉及三萜糖苷皂苷衍生的佐剂、其合成、其中间物和其用途。QS-7 是一种有效的免疫佐剂,其毒性明显小于相关皂苷 QS-21, QS-21 是目前在抗癌和抗病毒疫苗中受到青睐的佐剂。冗长的分离和纯化方案已阻碍 QS-7 的临床发展。提供一种新颖的半合成方法,其中使用水解的次皂苷元混合物合成 QS-7、QS-21 和相关类似物,这种方法极大地帮助获得 QS-7 和 QS-21 类似物,从而用于临床前和临床评估。

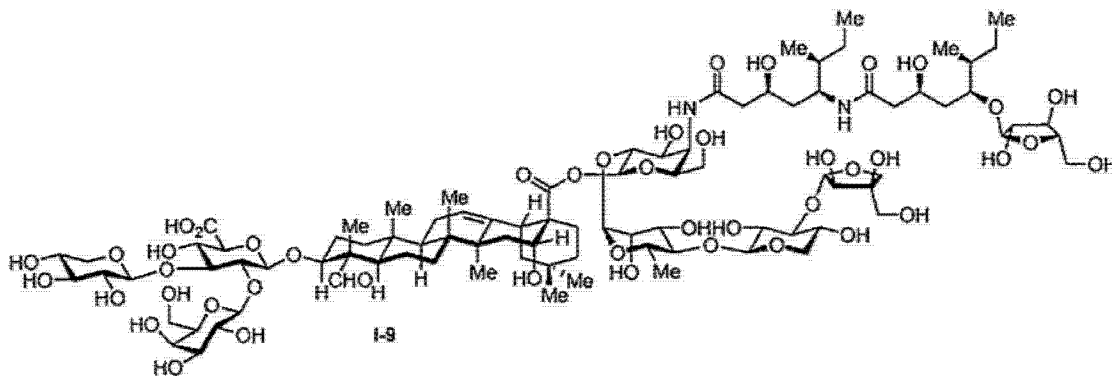


1. 一种化合物,其是选自以下:

化合物 I-8

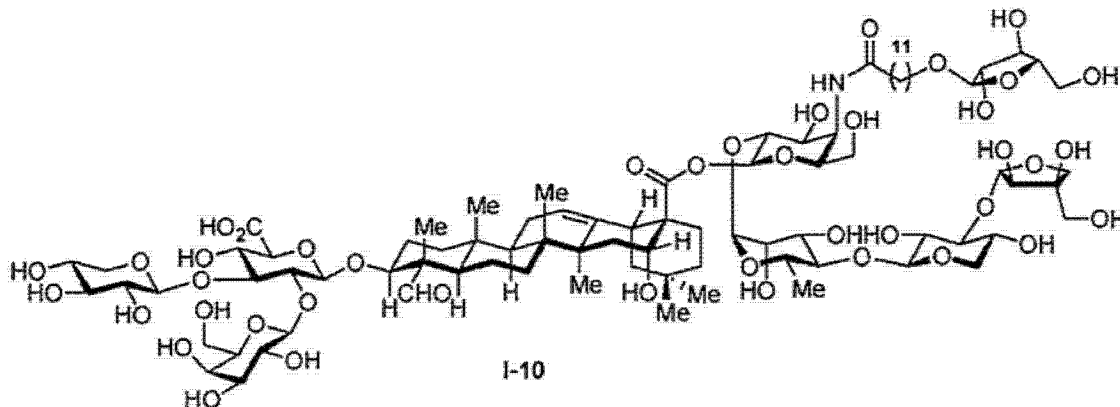


化合物 I-9



和

化合物 I-10



2. 一种医药组合物,其包含根据权利要求1所述的化合物和医药学上可接受的赋形剂。

3. 根据权利要求2所述的医药组合物,其另外包含免疫有效量的抗原。

4. 一种试剂盒,其包含根据权利要求2或3所述的医药组合物和投药说明书。

5. 根据权利要求4所述的试剂盒,其另外包含处方信息。

6. 根据权利要求4所述的试剂盒,其另外包含投药器件。

7. 根据权利要求4所述的试剂盒,其中所述试剂盒包含多个剂量的医药组合物。

三萜皂苷、其合成方法和用途

[0001] 相关申请案的交叉引用

[0002] 本申请案依据 35 U. S. C. § 119(e) 主张 2008 年 4 月 8 日申请的美国临时申请案 U. S. S. N. 61/043, 197 的优先权, 所述临时申请案的内容以引用的方式并入本文中。

[0003] 政府支持

[0004] 本发明是在美国政府支持下根据美国国立卫生研究院 (the National Institutes of Health) 所授予的批准号 GM58833 来进行。美国政府对本发明具有某些权利。

技术领域

[0005] 本发明涉及三萜糖苷皂苷衍生的佐剂、其合成和其中间物。本发明也提供包含本发明化合物的医药组合物和使用所述化合物或组合物治疗传染性疾病和癌症的方法。

背景技术

[0006] 皂苷是作为类固醇和三萜的次级代谢产物产生的糖苷化合物。其广泛地分布在植物物种和一些海洋无脊椎动物中。皂苷的化学结构赋予广泛的药理学和生物活性, 包括一些有效力且效力大的免疫活性。来自南美皂皮树 (*Quillaja saponaria* Molina tree) 的树皮的半纯化皂苷提取物 (皂树皂苷 (*Quillajasaponin*)) 显示值得注意的免疫佐剂活性。因为发现皂树皂苷是至少一百种在结构上相关的皂苷糖苷的混合物, 所以如果不加限制, 其分开和分离常常是困难的。

[0007] 这些提取物中最具活性的部分被命名为 QS-21, 已发现其包括两种主要的异构三萜糖苷皂苷的混合物, 各皂苷皆并有皂树酸三萜核心, 每一侧都侧接复杂的寡糖和立体化学上丰富的糖基化脂肪酰基链。在许多最近的和正在进行的疫苗临床试验 (黑色素瘤、乳腺癌、小细胞肺癌、前列腺癌、HIV-1、疟疾) 中, QS-21 的效力和其有利的毒性概况已使其成为一种有望用于免疫反应增强和减低剂量的新佐剂。然而, QS-21 的耐受剂量不超过 100 μ g, 如果超过 100 μ g 将会出现显著的局部和全身性副作用。

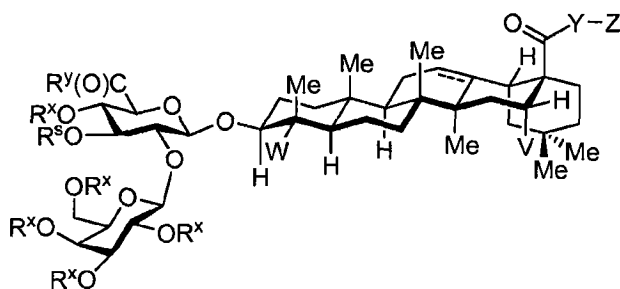
[0008] 从皂树皂苷提取物获得纯物质的困难会阻碍获得其它有效力的皂树皂苷。此外, 许多皂树皂苷的结构身份仍然只是推测而已。具有有效的佐剂活性和低毒性的新皂树皂苷和相关类似物的发现向化学合成和医药领域提出挑战。

发明内容

[0009] 本发明涵盖如下认识: QS-21 作为佐剂的临床使用会因在较高剂量下的毒性而受限, 并且相关皂树皂苷 QS-7 难以以纯形式分离。另外, 合成获得 QS-21、QS-7 和其它三萜糖苷皂苷受到其结构复杂性阻碍。本发明提供作为 QS-21 和 QS-7 的类似物的化合物。

[0010] 一方面, 本发明提供式 I 化合物:

[0011]



I

[0012] 或其医药学上可接受的盐,其中:

[0013] --- 为单键或双键;

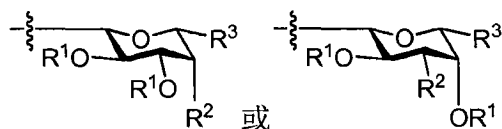
[0014] W 为 Me、 $-\text{CHO}$ 、 $\text{R}^x\text{O}-\text{CH}(\text{OR}^x)-\text{OR}^x$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}^x$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^y$;

[0015] V 为氢或 $-\text{OR}^x$;

[0016] Y 为 CH_2 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}-$ 或 $-\text{NH}-$;

[0017] Z 为氢;选自由酰基、脂族基、杂脂族基、芳基、芳基烷基、杂环基和杂芳基组成的群组的任选取代的环状或非环状部分;或具有以下结构的碳水化合物结构域:

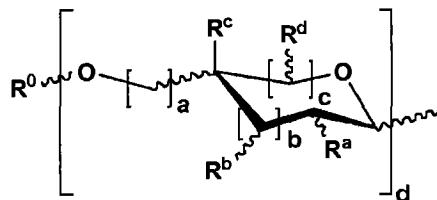
[0018]



[0019] 其中:

[0020] R^1 每次出现时都为 R^x 或具有以下结构的碳水化合物结构域:

[0021]



[0022] 其中:

[0023] a、b 和 c 每次出现时都独立地为 0、1 或 2;

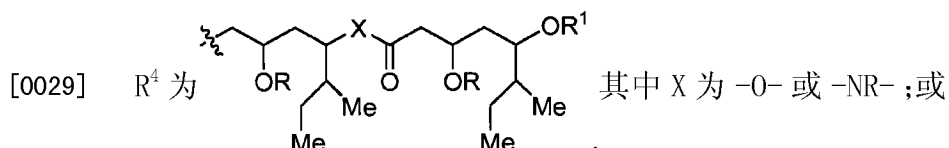
[0024] d 为 1-5 的整数,其中每个 d 框入的结构可为相同或不同的;其限制条件为 d 框入的结构表示呋喃糖或吡喃糖部分,且 b 与 c 的和为 1 或 2;

[0025] R^0 为氢;选自由以下组成的群组的氧保护基:烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯、氨基甲酸酯和碳酸酯;或选自由以下组成的群组的任选取代的部分:酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基;

[0026] R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都独立地为氢、卤素、 OH 、 OR 、 OR^x 、 NR_2 、 NHCOR 、或选自以下的任选取代的基团:酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基;

[0027] R^2 为氢、卤素、OH、OR、OC(O) R^4 、OC(O)OR 4 、OC(O)NHR 4 、OC(O)NRR 4 、OC(O)SR 4 、NHC(O) R^4 、NRC(O) R^4 、NHC(O)OR 4 、NHC(O)NHR 4 、NHC(O)NRR 4 、N(R^4) $_2$ 、NHR 4 、NRR 4 、N $_3$ 、或选自以下的任选取代的基团： C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10元芳基、芳基烷基、具有1-4个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的5-10元杂芳基、具有1-2个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的4-7元杂环基；

[0028] R^3 为氢、卤素、CH $_2$ OR 1 、或选自自由以下组成的群组的任选取代的基团：酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10元芳基、芳基烷基、具有1-4个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的5-10元杂芳基、具有1-2个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的4-7元杂环基；



[0030] T-R z , 其中：

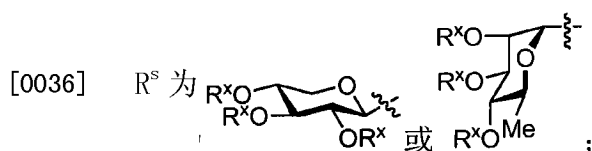
[0031] T 为共价键或二价 C_{1-26} 饱和或不饱和的直链或支链脂族链或杂脂族链；且

[0032] R^z 为氢、卤素、-OR、-OR x 、-OR 1 、-SR、-NR $_2$ 、-NC(O)OR、或选自以下的任选取代的基团：酰基、芳基烷基、杂芳基烷基、 C_{1-6} 脂族基、6-10元芳基、具有1-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5-10元杂芳基、具有1-2个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的4-7元杂环基；或

[0033] 同一氮原子上的两个 R^4 连同氮一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的4-7元杂环；

[0034] R^x 每次出现时都独立地为氢或选自自由以下组成的群组的氧保护基：烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯、氨基甲酸酯和碳酸酯；

[0035] R^y 为 -OH、-OR、或选自自由酯、酰胺和酰肼组成的群组的羧基保护基；



[0037] $R^{x'}$ 每次出现时都独立地为选自以下的任选取代的基团：6-10元芳基、 C_{1-6} 脂族基、或具有1-2个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C_{1-6} 杂脂族基；或

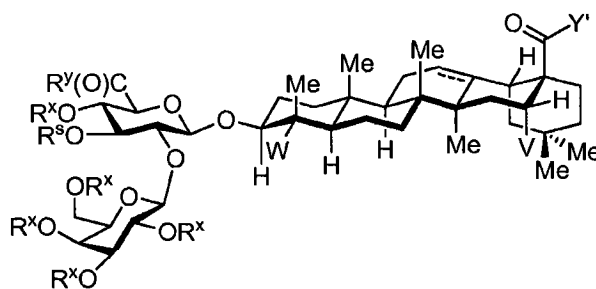
[0038] 两个 $R^{x'}$ 一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的5-7元杂环；

[0039] R 每次出现时都独立地为氢、选自以下的任选取代的基团：酰基、芳基烷基、6-10元芳基、 C_{1-6} 脂族基、或具有1-2个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C_{1-6} 杂脂族基；或

[0040] 同一氮原子上的两个 R 连同氮一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的4-7元杂环。

[0041] 根据另一方面，本发明提供式 IV 化合物：

[0042]



IV

[0043] 其中：

[0044] --- 为单键或双键；

[0045] Y' 为氢、卤素、烷基、芳基、OR、OR^y、OH、NR₂、NR₃⁺、NHR、NH₂、SR 或 NROR；

[0046] W 为 Me、-CHO、 $\begin{array}{c} R^xO \\ | \\ \text{---} \\ | \\ OR^x \end{array}$ 、 $\text{---CH}_2\text{OR}^x$ 或 ---C(O)R^y ；

[0047] V 为氢或 -OR^x；

[0048] R^y 为 -OH 或选自自由酯、酰胺和酰肼组成的群组的羧基保护基；

[0049] R^s 为 $\begin{array}{c} R^xO \\ | \\ \text{---} \\ | \\ OR^x \end{array}$ 或 $\begin{array}{c} R^xO \\ | \\ \text{---} \\ | \\ R^xOMe \end{array}$ ；

[0050] R^{x'} 每次出现时都独立地为选自以下的任选取代的基团：6-10 元芳基、C₁₋₆ 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C₁₋₆ 杂脂族基；或

[0051] 两个 R^{x'} 一起形成具有 1-2 个独立地选自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-7 元杂环；

[0052] R 每次出现时都独立地为氢、选自以下的任选取代的基团：酰基、芳基烷基、6-10 元芳基、C₁₋₁₂ 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C₁₋₁₂ 杂脂族基；且

[0053] R^x 每次出现时都独立地为氢、或氧保护基。

[0054] 根据另一方面，本发明化合物已显示出适用作佐剂。因此，在某些实施例中，提供包含一种或一种以上细菌、病毒、原虫或肿瘤相关抗原和一种或一种以上本发明化合物的疫苗。在某些实施例中，一种或一种以上抗原与医药学上可接受的赋形剂非共价结合。在一些实施例中，一种或一种以上抗原与医药学上可接受的赋形剂共价结合。

[0055] 另一方面，本发明提供一种增强对抗原的免疫反应的方法，其包含向个体投与有效增强所述个体对所述抗原的免疫反应的量的所提供疫苗。

[0056] 另一方面，本发明提供对个体接种疫苗的方法，其包含向所述个体投与所提供疫苗。在一些实施例中，个体是人类。在一些实施例中，疫苗经口投与。在其它实施例中，疫苗经肌肉内投与。在其它实施例中，疫苗经皮下投与。在某些实施例中，所投的佐剂化合物的量为 10-1000 μg。在某些实施例中，所投的佐剂化合物的量为 500-1000 μg。在某些实施例中，所投的佐剂化合物的量为 100-500 μg。在某些实施例中，所投的佐剂化合物的量为 50-250 μg。在某些实施例中，所投的佐剂化合物的量为 50-500 μg。在某些实施例中，所投的佐剂化合物的量为 250-500 μg。对个体接种的抗原可为癌症、细菌、病毒、原虫或自体抗原。

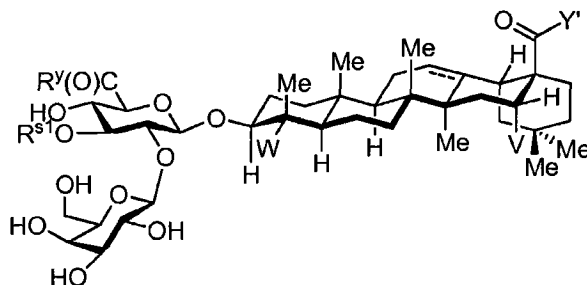
[0057] 另一方面,本发明提供包含本发明化合物和医药学上可接受的赋形剂的医药组合物。在某些实施例中,医药组合物为包含抗原和本发明佐剂的疫苗。

[0058] 另一方面,本发明提供包含本发明化合物的医药组合物的试剂盒。在一些实施例中,试剂盒包含处方信息。在一些实施例中,这些试剂盒包括本发明佐剂化合物与另一免疫治疗剂(例如)的组合。这些药剂可分别或一起包装。试剂盒任选地包括指示药物治疗的说明书。在某些实施例中,试剂盒包括多个剂量的各药剂。试剂盒可包括足以治疗个体一周、两周、三周、四周或多个月的量的各组份。在某些实施例中,试剂盒包括一个周期的免疫疗法。在某些实施例中,试剂盒包括足以使个体长期对抗原免疫的量的医药组合物。

[0059] 另一方面,本发明提供一种使用保护基分离次皂苷元的方法,所述方法包含将保护基放在次皂苷元的混合物上,接着通过合适的方法分开所述混合物,从而分离一种或一种以上次皂苷元化合物。在一些实施例中,所述方法包含以下步骤:

[0060] (a) 提供式 IV-a 次皂苷元的混合物:

[0061]



IV-a

[0062] 其中:

[0063] --- 为单键或双键;

[0064] Y' 为氢、卤素、烷基、芳基、OR、OR^y、OH、NR₂、NR₃⁺、NHR、NH₂、SR 或 NROR;

[0065] W 为 Me、-CHO、 $\text{R}^x\text{O}-\text{OR}^x$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}^x$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^y$;

[0066] V 为氢或 -OR^x;

[0067] R^y 为 -OH 或选自自由酯、酰胺和酰肼组成的群组的羧基保护基;

[0068] R^{s1} 为 或 ;

[0069] R^{x'} 每次出现时都独立地为选自以下的任选取代的基团: 6-10 元芳基、C₁₋₆ 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C₁₋₆ 杂脂族基; 或

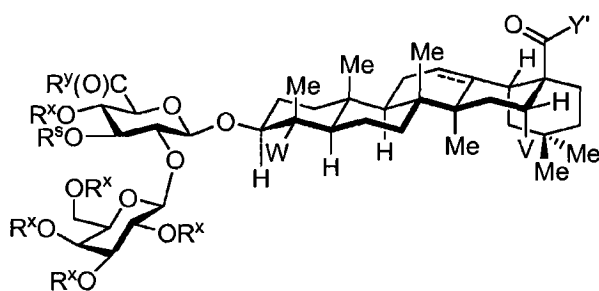
[0070] 两个 R^{x'} 一起形成具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-7 元杂环;

[0071] R 每次出现时都独立地为氢、选自以下的任选取代的基团: 酰基、芳基烷基、6-10 元芳基、C₁₋₁₂ 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C₁₋₁₂ 杂脂族基;

[0072] R^x 每次出现时都独立地为氢或选自自由以下组成的群组的氧保护基: 烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯和碳酸酯;

[0073] (b) 在合适条件下处理所述式 IV-a 化合物, 形成式 IV 次皂苷元的混合物:

[0074]



IV

[0075] 其中 $\equiv$ 、 R^y 、 Y' 、 V 和 W 各自如关于式 IV-a 化合物所定义, R^s 如关于式 I 化合物所定义, 且 R^x 每次出现时都独立地为氢或选自由以下组成的群组的氧保护基: 烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯和碳酸酯;

[0076] 和

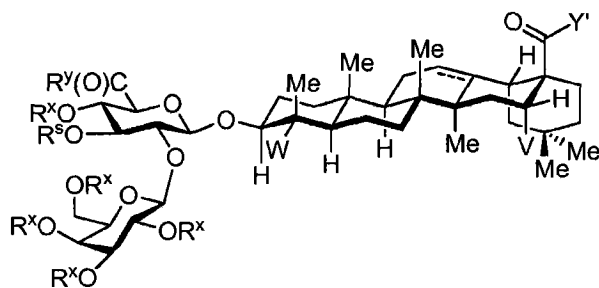
[0077] (c) 通过合适的物理方式获得所述化合物 IV。

[0078] 在一些实施例中, 步骤 (a) 中的次皂苷元的混合物富集一种或一种以上式 IV-a 化合物。在一些实施例中, 步骤 (b) 中的次皂苷元的混合物富集一种或一种以上式 IV 化合物。

[0079] 本发明提供合成 QS-7、QS-21 和相关类似物的新颖的半合成方法, 所述方法包含使三萜化合物与含糖的化合物偶合, 形成式 I 化合物。在一些实施例中, 所述方法包含以下步骤:

[0080] (a) 提供式 IV 化合物:

[0081]



IV

[0082] 其中:

[0083] $\equiv$ 为单键或双键;

[0084] Y' 为氢、卤素、烷基、芳基、 OR 、 OR^y 、 OH 、 NR_2 、 NR_3^+ 、 NHR 、 NH_2 、 SR 或 $NROR$;

[0085] W 为 Me 、 $-CHO$ 、 $\begin{matrix} R^xO \\ | \\ -CH-OR^x \end{matrix}$ 、 $-CH_2OR^x$ 或 $-C(O)R^y$;

[0086] V 为氢或 $-OR^x$;

[0087] R^y 为 $-OH$ 或选自由酯、酰胺和酰肼组成的群组的羧基保护基;

[0088] R^s 为 $\begin{matrix} R^xO \\ | \\ -CH-OR^x \end{matrix}$ 或 $\begin{matrix} R^xO \\ | \\ -CH-OR^x \end{matrix}$;

[0089] $R^{x'}$ 每次出现时都独立地为选自以下的任选取代的基团: 6-10 元芳基、 C_{1-6} 脂族

基、或具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C_{1-6} 杂脂族基；或

[0090] 两个 $R^{x'}$ 一起形成具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-7 元杂环；

[0091] R 每次出现时都独立地为氢、选自以下的任选取代的基团：酰基、芳基烷基、6-10 元芳基、 C_{1-12} 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C_{1-12} 杂脂族基；

[0092] R^x 每次出现时都独立地为氢或选自以下组成的群组的氧保护基：烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯和碳酸酯；

[0093] (b) 在合适条件下用式 V 化合物处理所述式 IV 化合物：

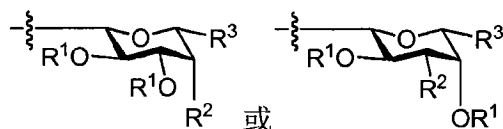
[0094] $LG-Z$

[0095] V

[0096] 其中：

[0097] Z 为氢；选自自由酰基、脂族基、杂脂族基、芳基、芳基烷基和杂芳基组成的群组的任选取代的环状或非环状部分；或具有以下结构的碳水化合物结构域：

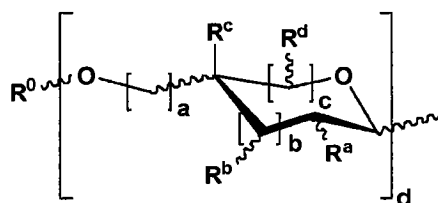
[0098]



[0099] 其中：

[0100] R^1 每次出现时都为 R^x 或具有以下结构的碳水化合物结构域：

[0101]



[0102] 其中：

[0103] a 、 b 和 c 每次出现时都独立地为 0、1 或 2；

[0104] d 为 1-5 的整数，其中每个 d 框入的结构可为相同或不同的；其限制条件为 d 框入的结构表示呋喃糖或吡喃糖部分，且 b 与 c 的和为 1 或 2；

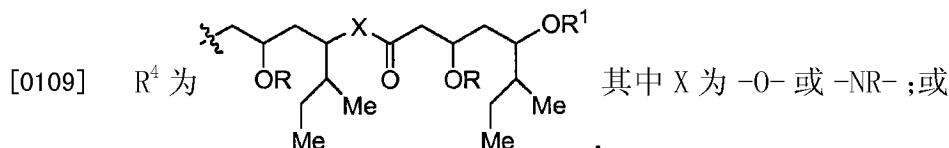
[0105] R^0 为氢、选自自由以下组成的群组的氧保护基：烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯、氨基甲酸酯和碳酸酯；或选自自由以下组成的群组的任选取代的部分：酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；

[0106] R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都独立地为氢、卤素、OH、OR、 OR^x 、 NR_2 、 $NHCOR$ 、或选自以下的任选取代的基团：酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；

[0107] R^2 为氢、卤素、OH、OR、 $OC(O)R^4$ 、 $OC(O)OR^4$ 、 $OC(O)NHR^4$ 、 $OC(O)NRR^4$ 、 $OC(O)SR^4$ 、 $NHC(O)R^4$ 、 $NRC(O)R^4$ 、 $NHC(O)OR^4$ 、 $NHC(O)NHR^4$ 、 $NHC(O)NRR^4$ 、 $N(R^4)_2$ 、 NHR^4 、 NRR^4 、 N_3 、或选自以下的任选取

取代的基团： C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；

[0108] R^3 为氢、卤素、 CH_2OR^1 、或选自以下组成的群组的任选取代的基团：酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；



[0110] $T-R^z$, 其中：

[0111] T 为共价键或二价 C_{1-26} 饱和或不饱和的直链或支链脂族链或杂脂族链；且

[0112] R^z 为氢、卤素、-OR、-OR^x、-OR¹、-SR、-NR₂、-NC(O)OR、或选自以下的任选取代的基团：酰基、芳基烷基、杂芳基烷基、 C_{1-6} 脂族基、6-10 元芳基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；或

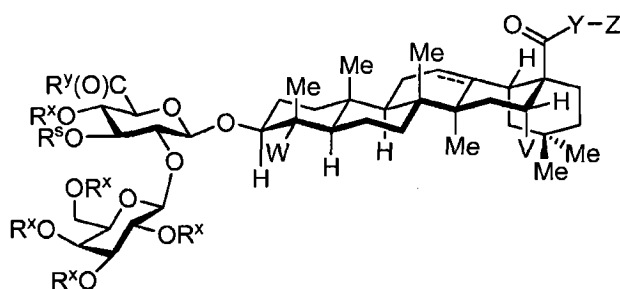
[0113] 同一氮原子上的两个 R^4 连同氮一起形成具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环；

[0114] R^x 每次出现时都如关于式 IV 化合物所定义；且

[0115] LG 为选自以下组成的群组的合适离去基：卤素、酰亚胺酯基、烷氧基、磺酰氧基、任选取代的烷基磺酰基、任选取代的烯基磺酰基、任选取代的芳基磺酰基和重氮部分；

[0116] 得到式 I 化合物：

[0117]



I

[0118] 其中 $\equiv$ 、 R^x 、 R^y 、Z、V 和 W 各自如关于式 IV 或 V 化合物所定义，且 Y 为 CH_2 、-O-、-NR- 或 -NH-。

[0119] 定义

[0120] 除非另外指示，否则如本文所用的以下定义应适用。

[0121] 如本文所用的术语“脂族基”意指完全饱和或含有一个或一个以上不饱和单元的经取代或未经取代的直链（即无支链）或支链烃链、或完全饱和或含有一个或一个以上不饱和单元但不为芳族的单环烃或二环烃（本文中也称为“碳环”、“环脂族基”或“环烷基”），其具有单个连接点与分子的其余部分相连接。除非另外说明，否则脂族基含有 1-12 个脂族碳原子。在一些实施例中，脂族基含有 1-6 个脂族碳原子。在一些实施例中，脂族基含有 1-5

个脂族碳原子。在其它实施例中，脂族基含有 1-4 个脂族碳原子。在其它实施例中，脂族基含有 1-3 个脂族碳原子，且在其它实施例中，脂族基含有 1-2 个脂族碳原子。在一些实施例中，“环脂族基”（或“碳环”或“环烷基”）是指完全饱和或含有一个或一个以上不饱和单元但不为芳族的单环 C_3 - C_6 烃，其具有单个连接点与分子的其余部分相连接。合适的脂族基包括（但不限于）经取代或未经取代的直链或支链烷基、烯基、炔基和其杂合基，例如（环烷基）烷基、（环烯基）烷基或（环烷基）烯基。

[0122] 术语“低级烷基”是指 C_{1-4} 直链或支链烷基。例示性低级烷基为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基和叔丁基。

[0123] 术语“低级卤烷基”是指经一个或一个以上卤素原子取代的 C_{1-4} 直链或支链烷基。

[0124] 术语“杂原子”意指氧、硫、氮、磷或硅中的一者或一者以上（包括氮、硫、磷或硅的任何氧化形式；任何碱性氮的季铵化形式或；杂环的可取代氮，例如 N（如 3,4-二氢-2H-吡咯基中）、NH（如吡咯烷基中）或 NR^+ （如 N 上经取代的吡咯烷基中））。

[0125] 如本文所用的术语“不饱和”意指具有一个或一个以上不饱和单元的部分。

[0126] 如本文所用的术语“二价 C_{1-12} （或 C_{1-26} 、 C_{1-16} 、 C_{1-8} ）或饱和或不饱和的直链或支链烃链”是指如本文中所定义为直链或支链的二价亚烷基、亚烯基和亚炔基链。

[0127] 术语“亚烷基”是指二价烷基。“亚烷基链”是聚亚甲基，即 $-(CH_2)_n-$ ，其中 n 为正整数，优选为 1 至 6、1 至 4、1 至 3、1 至 2、或 2 至 3。经取代的亚烷基链是一个或一个以上亚甲基氢原子经取代基置换的聚亚甲基。合适的取代基包括下文关于经取代的脂族基所描述的取代基。

[0128] 术语“亚烯基”是指二价烯基。经取代的亚烯基链是含有至少一个双键并且一个或一个以上氢原子经取代基置换的聚亚甲基。合适的取代基包括下文关于经取代的脂族基所描述的取代基。

[0129] 术语“亚炔基”是指二价炔基。经取代的亚炔基链是含有至少一个双键并且一个或一个以上氢原子经取代基置换的聚亚甲基。合适的取代基包括下文关于经取代的脂族基所描述的取代基。

[0130] 单独使用或作为较大部分的一部分使用的术语“酰基”是指通过从羧酸去除羟基而形成的基团。

[0131] 术语“卤素”意指 F、Cl、Br 或 I。

[0132] 术语“芳烷基”与“芳基烷基”可互换使用，且是指氢原子经芳基置换的烷基。这些基团包括（但不限于）苯甲基、肉桂基和二氢肉桂基。

[0133] 单独使用或如“芳烷基”、“芳烷氧基”或“芳氧基烷基”中作为较大部分的一部分使用的术语“芳基”是指总共具有 5 至 14 个环成员的单环或双环系统，其中所述系统中的至少一个环是芳族的且其中系统中的每个环都含有 3 至 7 个环成员。术语“芳基”与术语“芳基环”可互换使用。

[0134] 在本发明的某些实施例中，“芳基”是指包括（但不限于）苯基、联苯、萘基、蒽基等的芳环系统，其可能具有一个或一个以上取代基。如本文中所用，术语“芳基”的范围内也包括芳环与一个或一个以上非芳环稠合而成的基团，例如茚满基、邻苯二甲酰亚胺基、萘二甲酰亚胺基（naphthimidyl）、菲啶基或四氢萘基等。

[0135] 单独使用或作为例如“杂芳烷基”或“杂芳烷氧基”等较大部分的一部分使用的术

语“杂芳基”和“杂芳”是指如下基团,其具有 5 至 10 个环原子,优选 5、6 或 9 个环原子;环系(cyclic array)中共享 6、10 或 14 个 π 电子;并且除碳原子外,还具有 1 至 5 个杂原子。术语“杂原子”是指氮、氧或硫,并包括氮或硫的任何氧化形式和碱性氮的任何季铵化形式。杂芳基包括(但不限于)噻吩基、呋喃基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、吡啶基、嘌呤基、嘧啶基、萘啶基和蝶啶基。如本文所用的术语“杂芳基”和“杂芳”也包括杂芳环与一个或一个以上芳基环、环脂族环或杂环稠合而成的基团,其中连接基团或连接点在杂芳环上。非限制性实例包括吡啶基、异吡啶基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、二苯并呋喃基、吡唑基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、4H-喹唑啉基、呋唑基、吡啶基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁嗪基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基和吡啶并[2,3-b]-1,4-噁嗪-3(4H)-酮。杂芳基可为单环或双环的。术语“杂芳基”与术语“杂芳基环”或“杂芳族基”可互换使用,任一术语都包括任选取代的环。术语“杂芳烷基”和“杂芳基烷基”是指烷基经杂芳基部分取代,其中烷基和杂芳基部分独立地任选经取代。

[0136] 如本文所用的术语“杂脂族基”意指一个或两个碳原子独立地经氧、硫、氮或磷中一者或一者以上置换的脂族基。杂脂族基可为经取代或未经取代、支链或无支链、环状或非环状的,且包括“杂环”、“杂环基”或“杂环脂族基”。

[0137] 如本文所用的术语“杂环”和“杂环基”可互换使用,并且是指饱和或部分不饱和,且除碳原子外还具有一个或一个以上、优选 1 至 4 个如上文所定义的杂原子的稳定 5 至 7 元单环或 7-10 元双环杂环部分。当关于杂环的环原子使用时,术语“氮”包括经取代的氮。举例来说,在具有 0-3 个选自氧、硫或氮的杂原子的饱和或部分不饱和环中,氮可以是 N(如 3,4-二氢-2H-吡咯基中)、NH(如吡咯烷基中)或⁺NR(如 N 上经取代的吡咯烷基中)。

[0138] 杂环可在任何杂原子或碳原子上连接于其侧基,从而形成稳定结构,并且任何环原子都可以任选经取代。这些饱和或部分不饱和杂环基的实例包括(但不限于)四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、哌啶基、吡咯啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、噁唑烷基、哌嗪基、二氧杂环己烷基、二氧戊环基、二氮杂卓基、氧氮杂卓基、硫氮杂卓基、吗啉基和奎宁环基。术语“杂环”、“杂环基”和“杂环部分”在本文中可互换使用,并且也包括杂环与一个或一个以上芳基环、杂芳基环或环脂族环稠合而成的基团,例如吡啶基、3H-吡啶基、色满基、菲啶基或四氢喹啉基,其中连接基团或连接点在杂环上。杂环基可为单环或双环的。术语“杂环基烷基”是指烷基经杂环基取代,其中烷基和杂环基部分独立地任选经取代。

[0139] 如本文所用的术语“部分不饱和”是指包括至少一个双键或三键的环部分。术语“部分不饱和”意欲涵盖具有多个不饱和位点的环,但不欲包括如本文中所定义的芳基或杂芳基部分。

[0140] 另一方面,本发明提供“医药学上可接受的”组合物,所述组合物包含治疗有效量的一种或一种以上本文所述的化合物连同一种或一种以上医药学上可接受的载剂(添加剂)和/或稀释剂一起调配。如所详述,本发明医药组合物可经特别调配,从而以固体或液体形式投与,所述形式包括适于以下的形式:经口投药,例如浸液(水性或非水性溶液或悬浮液)、片剂(例如旨在用于经颊、舌下和全身性吸收的片剂)、大丸剂、散剂、颗粒、施用于舌头的糊剂;不经肠投药,例如以例如无菌溶液或悬浮液或持续释放调配物的形式通过皮

下、肌肉内、静脉内或硬膜外注射投药；局部施用，例如以乳膏、软膏、或控制释放贴片或喷雾剂形式施用于皮肤、肺或口腔；阴道内或直肠内投药，例如以子宫托、乳膏或发泡体形式投药；舌下投药；眼部投药；经皮投药；或经鼻、经肺和其它黏膜表面投药。

[0141] 短语“医药学上可接受的”在本文中用以指在可靠医学判断的范围内，适于与人类和动物的组织接触使用而没有过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症，并且与合理的效益/风险比相称的化合物、物质、组合物和/或剂型。

[0142] 如本文所用的短语“医药学上可接受的载剂”意指例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂或溶剂囊封材料等医药学上可接受的物质、组合物或媒剂，其参与携带或输送本发明化合物从一个器官或身体一部分到另一器官或身体另一部分。每种载剂在与调配物的其它成份相容的意义上必须为“可接受的”，并且对患者无害。可以用作医药学上可接受的载剂的物质的一些实例包括：糖，例如乳糖、葡萄糖和蔗糖；淀粉，例如玉米淀粉和马铃薯淀粉；纤维素和其衍生物，例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素；粉末状黄芪胶；麦芽；明胶；滑石；赋形剂，例如可可脂和栓剂蜡；油类，例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；二醇，例如丙二醇；多元醇，例如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇；酯，例如油酸乙酯和月桂酸乙酯；琼脂；缓冲剂，例如氢氧化镁和氢氧化铝；海藻酸；无热原水；等渗生理盐水；林格氏溶液 (Ringer's solution)；乙醇；pH 缓冲溶液；聚酯、聚碳酸酯和/或聚酸酐；和其它用于医药调配物中的无毒且相容的物质。

[0143] 如本文所用的术语“医药学上可接受的盐”是指在可靠医学判断的范围内，适于与人类和低等动物的组织接触使用而没有不当毒性、刺激、过敏反应等，并且与合理的效益/风险比相称的盐。医药学上可接受的盐为所属领域中所熟知。举例来说，伯格 (S. M. Berge) 等人在以引用的方式并入本文中的药物科学杂志 (J. Pharmaceutical Sciences), 1977, 66, 1-19 中详细描述医药学上可接受的盐。本发明化合物的医药学上可接受的盐包括衍生自合适的无机酸和有机酸以及无机碱和有机碱的盐。医药学上可接受的无毒的酸加成盐的实例是氨基与例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸等无机酸形成的盐，或者与例如乙酸、乙二酸、顺丁烯二酸、酒石酸、柠檬酸、丁二酸或丙二酸等有机酸形成的盐，或使用所属领域中所使用的其它方法（例如离子交换）形成的盐。其它医药学上可接受的盐包括己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙烷磺酸盐、甲酸盐、反丁烯二酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙烷磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸盐、甲烷磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、乙二酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、特戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、丁二酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等。

[0144] 在其它状况下，本发明化合物可以含有一个或一个以上酸性官能团，因此能够与医药学上可接受的碱形成医药学上可接受的盐。在这些情况下，术语“医药学上可接受的盐”是指本发明化合物的相对无毒的无机碱加成盐和有机碱加成盐。这些盐也可以在媒剂投与或剂型制造过程中当场制备，或者个别地通过使呈游离酸形式的经纯化化合物与合适的碱（例如医药学上可接受的金属阳离子的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐）、氨、或医药学上可接受的有机伯胺、仲胺、叔胺或季胺反应来制备。衍生自适当碱的盐包括碱金属、碱土

金属、铵和 $N^+(C_{1-4}\text{烷基})_4$ 盐。代表性的碱金属盐或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等。适当时,其它医药学上可接受的盐包括无毒的铵、季铵和使用例如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低级烷基磺酸根和芳基磺酸根等平衡离子所形成的胺阳离子。适用于形成碱加成盐的代表性的有机胺包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等(参见例如伯格等人,上文)。

[0145] 除非另外说明,否则本文中所描绘的结构也意欲包括此结构的所有异构(例如对映异构、非对映异构和几何(或构象))形式;例如针对每一个立构中心的 R 和 S 构型、Z 和 E 双键异构体以及 Z 和 E 构象异构体。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体、非对映异构体和几何(或构象)混合物在本发明的范围内。除非另外说明,否则本发明化合物的所有互变异构形式都在本发明的范围内。

[0146] 所提供的化合物可以包含一个或一个以上糖部分。除非另外说明,否则 D- 构型与 L- 构型和其混合物都在本发明的范围内。除非另外说明,否则 α - 键联和 β - 键联的实施例和其混合物都涵盖于本发明中。

[0147] 举例来说,如果需要本发明化合物的特定对映异构体,那么可以通过不对称合成、手性色谱法或者通过用手性助剂衍生化来制备所述对映异构体,其中所得非对映异构混合物分开且辅助基团裂解,得到纯的所需对映异构体。或者,在分子含有例如氨基等碱性官能团或例如羧基等酸性官能团的情况下,与适当的光学活性酸或碱形成非对映异构盐,接着通过所属领域中熟知的分步结晶或色谱法解析由此形成的非对映异构体,随后回收纯的对映异构体。

[0148] 另外,除非另外说明,否则本文所描绘的结构也意欲包括不同之处仅在于存在一个或一个以上同位素富集原子的化合物。举例来说,具有本发明结构且包括以氘或氚置换氢或以 ^{13}C - 或 ^{14}C - 富集碳置换碳的化合物在本发明的范围内。所述化合物适用作例如分析工具、生物分析中的探针或本发明的治疗剂。

[0149] 所属领域的技术人员应了解,如本文所述的合成方法利用多种保护基。如本文所用的术语“保护基”意指遮蔽或阻断例如 O、S 或 N 等特定官能部分,必要时允许反应在多官能化合物中的另一反应位点处选择性地反应。在优选实施例中,保护基以优良产率选择性地反应,得到对所计划的反应稳定的经保护的基质;优选地,保护基可通过易获得、优选无毒且不袭击其它官能团的试剂选择性地去除;保护基形成可分离的衍生物(更优选地,不产生新的立体对称(stereogenic)中心);且保护基优选具有最少的其它官能团以避免其它反应位点。如本文所详述,可利用氧、硫、氮和碳的保护基。以非限制性实例加以说明,羟基保护基包括甲基、甲氧基甲基(MOM)、甲基硫甲基(MTM)、叔丁基硫甲基、(苯基二甲基硅烷基)甲氧基甲基(SMOM)、苯甲氧基甲基(BOM)、对甲氧基苯甲氧基甲基(PMBM)、(4-甲氧基苯氧基)甲基(p-AOM)、愈创木酚甲基(GUM)、叔丁氧基甲基、4-戊烯氧基甲基(POM)、硅烷氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、双(2-氯乙氧基)甲基、2-(三甲基硅烷基)乙氧基甲基(SEMOR)、四氢吡喃基(THP)、3-溴四氢吡喃基、四氢硫代吡喃基、1-甲氧基环己基、4-甲氧基四氢吡喃基(MTHP)、4-甲氧基四氢硫代吡喃基、4-甲氧基四氢硫代吡喃基 S,S-二氧化物、1-[(2-氯-4-甲基)苯基]-4-甲氧基哌啶-4-基(CTMP)、1,4-二氧杂环己烷-2-基、四氢呋喃基、四氢硫代呋喃基、2,3,3a,4,5,6,7,7a-八氢-7,8,8-三甲基-4,7-甲桥苯并呋喃-2-基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、1-甲基-1-甲

氧基乙基、1-甲基-1-苯甲氧基乙基、1-甲基-1-苯甲氧基-2-氟乙基、2,2,2-三氯乙基、2-三甲基硅烷基乙基、2-(苯基氧硒基)乙基、叔丁基、烯丙基、对氯苯基、对甲氧基苯基、2,4-二硝基苯基、苯甲基、对甲氧基苯甲基、3,4-二甲氧基苯甲基、邻硝基苯甲基、对硝基苯甲基、对卤基苯甲基、2,6-二氯苯甲基、对氰基苯甲基、对苯基苯甲基、2-吡啶甲基、4-吡啶甲基、3-甲基-2-吡啶甲基 N-氧离子基、二苯基甲基、p,p'-二硝基二苯甲基、5-二苯并环庚基、三苯基甲基、 α -萘基二苯基甲基、对甲氧基苯基二苯基甲基、二(对甲氧基苯基)苯基甲基、三(对甲氧基苯基)甲基、4-(4'-溴苯甲酰甲氧基苯基)二苯基甲基、4,4',4''-三(4,5-二氯苯二甲酰亚氨基苯基)甲基、4,4',4''-三(乙酰基丙酰氧基苯基)甲基、4,4',4''-三(苯甲酰氧基苯基)甲基、3-(咪唑-1-基)双(4',4''-二甲氧基苯基)甲基、1,1-双(4-甲氧基苯基)-1'-萘基甲基、9-蒎基、9-(9-苯基)氧杂蒎基、9-(9-苯基-10-氧代基)蒎基、1,3-苯并二硫杂环戊烷-2-基、苯并异噻唑基 S,S-二氧离子基、三甲基硅烷基(TMS)、三乙基硅烷基(TES)、三异丙基硅烷基(TIPS)、二甲基异丙基硅烷基(IPDMS)、二乙基异丙基硅烷基(DEIPS)、二甲基硅烷基(dimethylhexylsilyl)、叔丁基二甲基硅烷基(TBDMS)、叔丁基二苯基硅烷基(TBDPS)、三苯甲基硅烷基、三对二甲苯基硅烷基、三苯基硅烷基、二苯基甲基硅烷基(DPMS)、叔丁基甲氧基苯基硅烷基(TBMPs)、甲酸酯、苯甲酰基甲酸酯、乙酸酯、氯乙酸酯、二氯乙酸酯、三氯乙酸酯、三氟乙酸酯、甲氧基乙酸酯、三苯基甲氧基乙酸酯、苯氧基乙酸酯、对氯苯氧基乙酸酯、3-苯基丙酸酯、4-氧代戊酸酯(乙酰丙酸酯)、4,4-(亚乙基二硫基)戊酸酯(乙酰丙酰基二硫基缩醛)、特戊酸酯(pivaloate)、金刚酸酯(adamantoate)、巴豆酸酯、4-甲氧基巴豆酸酯、苯甲酸酯、对苯基苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯(均三甲基苯甲酸酯(mesitoate))、碳酸烷基甲酯、碳酸 9-苄基甲酯(Fmoc)、碳酸烷基乙酯、碳酸烷基 2,2,2-三氯乙酯(Troc)、碳酸 2-(三甲基硅烷基)乙酯(TMSEC)、碳酸 2-(苯基磺酰基)乙酯(Psec)、碳酸 2-(三苯基磷鎓基)乙酯(Peoc)、碳酸烷基异丁酯、碳酸烷基乙烯酯、碳酸烷基烯丙酯、碳酸烷基对硝基苯酯、碳酸烷基苯甲酯、碳酸烷基对甲氧基苯甲酯、碳酸烷基 3,4-二甲氧基苯甲酯、碳酸烷基邻硝基苯甲酯、碳酸烷基对硝基苯甲酯、硫代碳酸烷基 S-苯甲酯、碳酸 4-乙氧基-1-萘酯、二硫代碳酸甲酯、2-碘苯甲酸酯、4-叠氮基丁酸酯、4-硝基-4-甲基戊酸酯、邻(二溴甲基)苯甲酸酯、2-甲酰基苯磺酸酯、2-(甲基硫基甲氧基)乙基、4-(甲基硫基甲氧基)丁酸酯、2-(甲基硫基甲氧基甲基)苯甲酸酯、2,6-二氯-4-甲基苯氧基乙酸酯、2,6-二氯-4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯氧基乙酸酯、2,4-双(1,1-二甲基丙基)苯氧基乙酸酯、氯二苯基乙酸酯、异丁酸酯、单丁二酸酯、(E)-2-甲基-2-丁烯酸酯、邻(甲氧基羰基)苯甲酸酯、 α -萘甲酸酯、硝酸酯、烷基 N,N,N',N'-四甲基磷酰二胺、烷基 N-苯基氨基甲酸酯、硼酸酯、二甲基硫磷基、2,4-二硝基苯基次磺酸烷基酯、硫酸酯、甲磺酸酯(甲磺酸酯)、苯甲基磺酸酯和甲苯磺酸酯(Ts)。关于保护 1,2-或 1,3-二醇,保护基包括亚甲基缩醛、亚乙基缩醛、1-叔丁基亚乙基缩酮、1-苯基亚乙基缩酮、(4-甲氧基苯基)亚乙基缩醛、2,2,2-三氯亚乙基缩醛、丙酮化物、亚环戊基缩酮、亚环己基缩酮、亚环庚基缩酮、苯亚甲基缩醛、对甲氧基苯亚甲基缩醛、2,4-二甲氧基苯亚甲基缩酮、3,4-二甲氧基苯亚甲基缩醛、2-硝基苯亚甲基缩醛、甲氧基亚甲基缩醛、乙氧基亚甲基缩醛、二甲氧基亚甲基原酸酯、1-甲氧基亚乙基原酸酯、1-乙氧基次乙基原酸酯、1,2-二甲氧基亚乙基原酸酯、 α -甲氧基苯亚甲基原酸酯、1-(N,N-二甲基氨基)亚乙基衍生物、 α -(N,N'-二甲基氨基)苯亚甲基衍生物、

2-氧亚环戊基原酸酯、二叔丁基亚硅烷基 (DTBS)、1,3-(1,1,3,3-四异丙基二亚硅氧烷基) 衍生物 (TIPDS)、四叔丁氧基二硅氧烷-1,3-二亚基衍生物 (TBDS)、环状碳酸酯、环状硼酸酯、硼酸乙酯和硼酸苯酯。氨基保护基包括氨基甲酸甲酯、氨基甲酸乙酯、氨基甲酸 9-苄基甲酯 (Fmoc)、氨基甲酸 9-(2-磺基) 苄基甲酯、氨基甲酸 9-(2,7-二溴) 苄基甲酯、氨基甲酸 2,7-二叔丁基-[9-(10,10-二氧代基-10,10,10,10-四氢噻吨)] 甲酯 (DBD-Tmoc)、氨基甲酸 4-甲氧基苯甲酰甲酯 (Phenoc)、氨基甲酸 2,2,2-三氯乙酯 (Troc)、氨基甲酸 2-三甲基硅烷基乙酯 (Teoc)、氨基甲酸 2-苯基乙酯 (hZ)、氨基甲酸 1-(1-金刚烷基)-1-甲基乙酯 (Adpoc)、氨基甲酸 1,1-二甲基-2-卤基乙酯、氨基甲酸 1,1-二甲基-2,2-二溴乙酯 (DB-t-BOC)、氨基甲酸 1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙酯 (TCBOC)、氨基甲酸 1-甲基-1-(4-联苯基) 乙酯 (Bpoc)、氨基甲酸 1-(3,5-二叔丁基苯基)-1-甲基乙酯 (t-Bumeoc)、氨基甲酸 2-(2'-和 4'-吡啶基) 乙酯 (Pyoc)、氨基甲酸 2-(N,N-二环己基甲酰胺基) 乙酯、氨基甲酸叔丁酯 (BOC)、氨基甲酸 1-金刚烷酯 (Adoc)、氨基甲酸乙烯酯 (Voc)、氨基甲酸烯丙酯 (Alloc)、氨基甲酸 1-异丙基烯丙酯 (Ipaoc)、氨基甲酸肉桂酯 (Coc)、氨基甲酸 4-硝基肉桂酯 (Noc)、氨基甲酸 8-喹啉酯、氨基甲酸 N-羟基哌啶酯、氨基甲酸烷基二硫酯、氨基甲酸苄甲酯 (Cbz)、氨基甲酸对甲氧基苯甲酯 (Moz)、氨基甲酸对硝基苯甲酯、氨基甲酸对溴苯甲酯、氨基甲酸对氯苯甲酯、氨基甲酸 2,4-二氯苯甲酯、氨基甲酸 4-甲基亚磺酰基苯甲酯 (MsZ)、氨基甲酸 9-苄基甲酯、氨基甲酸二苯基甲酯、氨基甲酸 2-甲基硫基乙酯、氨基甲酸 2-甲基磺酰基乙酯、氨基甲酸 2-(对甲苯磺酰基) 乙酯、氨基甲酸 [2-(1,3-二噻烷基)] 甲酯 (Dmoc)、氨基甲酸 4-甲基硫基苯酯 (Mtpc)、氨基甲酸 2,4-二甲基硫基苯酯 (Bmpc)、氨基甲酸 2-磷鎓基乙酯 (Peoc)、氨基甲酸 2-三苯基磷鎓基异丙酯 (Ppoc)、氨基甲酸 1,1-二甲基-2-氰基乙酯、氨基甲酸间氯-对酰氧基苯甲酯、氨基甲酸对(二羟基氧硼基) 苯甲酯、氨基甲酸 5-苯并异噁唑基甲酯、氨基甲酸 2-(三氟甲基)-6-色酮基甲酯 (Tcroc)、氨基甲酸间硝基苯酯、氨基甲酸 3,5-二甲氧基苯甲酯、氨基甲酸邻硝基苯甲酯、氨基甲酸 3,4-二甲氧基-6-硝基苯甲酯、氨基甲酸苯基(邻硝基苯基) 甲酯、吩噻嗪基-(10)-羰基衍生物、N'-对甲苯磺酰基氨基羰基衍生物、N'-苯基氨基硫基羰基衍生物、氨基甲酸叔戊酯、硫代氨基甲酸 S-苯甲酯、氨基甲酸对氰基苯甲酯、氨基甲酸环丁酯、氨基甲酸环己酯、氨基甲酸环戊酯、氨基甲酸环丙基甲酯、氨基甲酸对癸氧基苯甲酯、氨基甲酸 2,2-二甲氧基羰基乙烯酯、氨基甲酸邻(N,N-二甲基甲酰胺基) 苯甲酯、氨基甲酸 1,1-二甲基-3-(N,N-二甲基甲酰胺基) 丙酯、氨基甲酸 1,1-二甲基丙炔酯、氨基甲酸二(2-吡啶基) 甲酯、氨基甲酸 2-呋喃基甲酯、氨基甲酸 2-碘乙酯、氨基甲酸异冰片酯、氨基甲酸异丁酯、氨基甲酸异烟碱酯、氨基甲酸对(p'-甲氧基苯偶氮基) 苯甲酯、氨基甲酸 1-甲基环丁酯、氨基甲酸 1-甲基环己酯、氨基甲酸 1-甲基-1-环丙基甲酯、氨基甲酸 1-甲基-1-(3,5-二甲氧基苯基) 乙酯、氨基甲酸 1-甲基-1-(对苯偶氮基苯基) 乙酯、氨基甲酸 1-甲基-1-苯基乙酯、氨基甲酸 1-甲基-1-(4-吡啶基) 乙酯、氨基甲酸苯酯、氨基甲酸对(苯偶氮基) 苯甲酯、氨基甲酸 2,4,6-三叔丁基苯酯、氨基甲酸 4-(三甲基铵) 苯甲酯、氨基甲酸 2,4,6-三甲基苯甲酯、甲酰胺、乙酰胺、氯乙酰胺、三氯乙酰胺、三氟乙酰胺、苯基乙酰胺、3-苯基丙酰胺、吡啶酰胺、3-吡啶基甲酰胺、N-苯甲酰基苯基丙氨酰基衍生物、苯甲酰胺、对苯基苯甲酰胺、邻硝基苯基乙酰胺、邻硝基苯氧基乙酰胺、乙酰基乙酰胺、(N'-二硫基苯甲氧基羰基氨基) 乙酰胺、3-(对羟基苯基) 丙酰胺、3-(邻硝基苯基) 丙酰胺、2-甲基-2-(邻硝基苯氧基) 丙酰胺、

2- 甲基 -2-(邻苯偶氮基苯氧基) 丙酰胺、4- 氯丁酰胺、3- 甲基 -3- 硝基丁酰胺、邻硝基肉桂酰胺、N- 乙酰基甲硫氨酸衍生物、邻硝基苯甲酰胺、邻 (苯甲酰氧基甲基) 苯甲酰胺、4, 5- 二苯基 -3- 噁唑啉 -2- 酮、N- 邻苯二甲酰亚胺、N- 二硫杂丁二酰亚胺 (Dts)、N-2, 3- 二苯基顺丁烯二酰亚胺、N-2, 5- 二甲基吡咯、N-1, 1, 4, 4- 四甲基二硅烷基氮杂环戊烷加合物 (STABASE)、5- 取代的 1, 3- 二甲基 -1, 3, 5- 三氮环己 -2- 酮、5- 取代的 1, 3- 二苯甲基 -1, 3, 5- 三氮环己 -2- 酮、1- 取代的 3, 5- 二硝基 -4- 吡啶酮、N- 甲胺、N- 烯丙胺、N-[2-(三甲基硅烷基) 乙氧基] 甲胺 (SEM)、N-3- 乙酰氧基丙胺、N-(1- 异丙基 -4- 硝基 -2- 氧代基 -3- 吡咯啉 -3- 基) 胺、季铵盐、N- 苯甲胺、N- 二 (4- 甲氧基苯基) 甲胺、N-5- 二苯并环庚胺、N- 三苯基甲胺 (Tr)、N-[(4- 甲氧基苯基) 二苯基甲基] 胺 (MMTr)、N-9- 苯基苄基胺 (PhF)、N-2, 7- 二氯 -9- 苄基亚甲胺、N- 二茂铁基甲基氨基 (Fcm)、N-2- 吡啶甲基氨基 N' - 氧化物、N-1, 1- 二甲基硫基亚甲胺、N- 苯亚甲胺、N- 对甲氧基苯亚甲胺、N- 二苯基亚甲胺、N-[(2- 吡啶基) 均三甲苯基] 亚甲胺、N-(N' , N' - 二甲基氨基亚甲基) 胺、N, N' - 亚异丙基二胺、N- 对硝基苯亚甲胺、N- 亚水杨基胺、N-5- 氯亚水杨基胺、N-(5- 氯 -2- 羟基苯基) 苯基亚甲胺、N- 亚环己基胺、N-(5, 5- 二甲基 -3- 氧代基 -1- 环己烯基) 胺、N- 硼烷衍生物、N- 二苯基次硼酸衍生物、N-[苯基 (五羰基铬或钨) 羰基] 胺、N- 酮螯合物、N- 锌螯合物、N- 硝基胺、N- 亚硝基胺、胺 N- 氧化物、二苯基膦酰胺 (Dpp)、二甲基硫基膦酰胺 (Mpt)、二苯基硫基膦酰胺 (Ppt)、氨基磷酸二烷酯、氨基磷酸二苯甲酯、氨基磷酸二苯酯、苯亚磺酰胺、邻硝基苯亚磺酰胺 (Nps)、2, 4- 二硝基苯亚磺酰胺、五氯苯亚磺酰胺、2- 硝基 -4- 甲氧基苯亚磺酰胺、三苯基甲基亚磺酰胺、3- 硝基吡啶亚磺酰胺 (Npys)、对甲苯磺酰胺 (Ts)、苯磺酰胺、2, 3, 6, - 三甲基 -4- 甲氧基苯磺酰胺 (Mtr)、2, 4, 6- 三甲氧基苯磺酰胺 (Mtb)、2, 6- 二甲基 -4- 甲氧基苯磺酰胺 (Pme)、2, 3, 5, 6- 四甲基 -4- 甲氧基苯磺酰胺 (Mte)、4- 甲氧基苯磺酰胺 (Mbs)、2, 4, 6- 三甲基苯磺酰胺 (Mts)、2, 6- 二甲氧基 -4- 甲基苯磺酰胺 ((i)Mds)、2, 2, 5, 7, 8- 五甲基色满 -6- 磺酰胺 (Pmc)、甲烷磺酰胺 (Ms)、 β - 三甲基硅烷基乙烷磺酰胺 (SES)、9- 蒎磺酰胺、4-(4' , 8' - 二甲氧基萘基甲基) 苯磺酰胺 (DNMBS)、苯甲基磺酰胺、三氟甲基磺酰胺和苯甲酰甲基磺酰胺。例示性的保护基详述于本文中, 然而, 应了解, 本发明不欲限于这些保护基; 更确切地说, 多种其它的等效保护基可易于使用以上准则来鉴别且用于本发明的方法中。另外, 格林 (Greene) 和维兹 (Wuts) (上文) 也描述多种保护基。

[0150] 如本文所述,本发明化合物可含有“任选取代”的部分。一般来说,术语“取代”之前无论是否存在术语“任选”,都是指指定部分的一个或一个以上氢经合适取代基置换。除非另外指示,否则“任选取代”的基团可在此基团的每个可取代位置上都具有合适的取代基,并且当任何给定结构中的一个以上位置可经一个以上选自规定群组的取代基取代时,每个位置上的取代基可为相同或不同的。本发明所预想的取代基组合优选是会形成稳定或化学上可行的化合物的取代基组合。如本文所用的术语“稳定”是指化合物在经受允许其产生、检测和在某些实施例中允许其回收、纯化以及用于达成一个或一个以上本文中所揭示的目的的条件时实质上不发生改变。

[0151] “任选取代”的基团的可取代碳原子上的合适单价取代基独立地为卤素； $-(CH_2)_{0-4}R^o$ ； $-(CH_2)_{0-4}OR^o$ ； $-O(CH_2)_{0-4}R^o$ ； $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^o$ ； $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^o)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}SR^o$ ； $-(CH_2)_{0-4}Ph$ ，其可经 R^o 取代； $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ ，其可经 R^o 取代； $-CH=CHPh$ ，其可经 R^o 取代； $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$ -吡啶基，其可经 R^o 取代； $-NO_2$ ； $-CN$ ； $-N_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R^o)_2$ ； $-(CH_2)$

)₀₋₄N(R⁰)C(O)R⁰; -N(R⁰)C(S)R⁰; -(CH₂)₀₋₄N(R⁰)C(O)NR₂⁰; -N(R⁰)C(S)NR₂⁰; -(CH₂)₀₋₄N(R⁰)C(O)OR⁰; -N(R⁰)N(R⁰)C(O)R⁰; -N(R⁰)N(R⁰)C(O)NR₂⁰; -N(R⁰)N(R⁰)C(O)OR⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)R⁰; -C(S)R⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)OR⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)SR⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)OSiR₃⁰; -(CH₂)₀₋₄OC(O)R⁰; -OC(O)(CH₂)₀₋₄SR⁰; -SC(S)SR⁰; -(CH₂)₀₋₄SC(O)R⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)NR₂⁰; -C(S)NR₂⁰; -C(S)SR⁰; -SC(S)SR⁰; -(CH₂)₀₋₄OC(O)NR₂⁰; -C(O)N(OR⁰)R⁰; -C(O)C(O)R⁰; -C(O)CH₂C(O)R⁰; -C(NOR⁰)R⁰; -(CH₂)₀₋₄SSR⁰; -(CH₂)₀₋₄S(O)₂R⁰; -(CH₂)₀₋₄S(O)₂OR⁰; -(CH₂)₀₋₄OS(O)₂R⁰; -S(O)₂NR₂⁰; -(CH₂)₀₋₄S(O)R⁰; -N(R⁰)S(O)₂NR₂⁰; -N(R⁰)S(O)₂R⁰; -N(OR⁰)R⁰; -C(NH)NR₂⁰; -P(O)₂R⁰; -P(O)R₂⁰; -OP(O)R₂⁰; -OP(O)(OR⁰)₂; SiR₃⁰; -(C₁₋₄ 直链或支链亚烷基)O-N(R⁰)₂; 或 -(C₁₋₄ 直链或支链亚烷基)C(O)O-N(R⁰)₂, 其中各 R⁰ 可如下文所定义经取代并独立地为氢、C₁₋₆ 脂族基、-CH₂Ph、-O(CH₂)₀₋₁Ph、-CH₂-(5-6 元杂芳基环) 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元饱和、部分不饱和或芳基环, 或不管以上定义, 两个独立存在的 R⁰ 连同其插入原子一起形成具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 3-12 元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环, 此环可如下文所定义经取代。

[0152] R⁰ (或由两个独立存在的 R⁰ 连同其插入原子一起形成的环) 上的合适单价取代基独立地为卤素、-(CH₂)₀₋₂R[•]、-(卤基 R[•])、-(CH₂)₀₋₂OH、-(CH₂)₀₋₂OR[•]、-(CH₂)₀₋₂CH(OR[•])₂; -O(卤基 R[•])、-CN、-N₃、-(CH₂)₀₋₂C(O)R[•]、-(CH₂)₀₋₂C(O)OH、-(CH₂)₀₋₂C(O)OR[•]、-(CH₂)₀₋₂SR[•]、-(CH₂)₀₋₂SH、-(CH₂)₀₋₂NH₂、-(CH₂)₀₋₂NHR[•]、-(CH₂)₀₋₂NR₂[•]、-NO₂、-SiR₃[•]、-OSiR₃[•]、-C(O)SR[•]、-(C₁₋₄ 直链或支链亚烷基)C(O)OR[•] 或 -SSR[•], 其中各 R[•] 未经取代或在前面有“卤基”的情况下仅经一个或一个以上卤素取代, 并独立地选自 C₁₋₄ 脂族基、-CH₂Ph、-O(CH₂)₀₋₁Ph 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元饱和、部分不饱和或芳基环。R⁰ 的饱和碳原子上的合适二价取代基包括 = O 和 = S。

[0153] “任选取代”的基团的饱和碳原子上的合适二价取代基包括以下: = O、= S、= NNR₂^{*}、= NNHC(O)R^{*}、= NNHC(O)OR^{*}、= NNHS(O)₂R^{*}、= NR^{*}、= NOR^{*}、-O(C(R₂^{*}))₂₋₃O- 或 -S(C(R₂^{*}))₂₋₃S-, 其中每一个独立存在的 R^{*} 都是选自氢、可如下文所定义经取代的 C₁₋₆ 脂族基或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未经取代的 5-6 元饱和、部分不饱和或芳基环。与“任选取代”的基团的邻位可取代碳结合的合适二价取代基包括: -O(CR₂^{*})₂₋₃O-, 其中每一个独立存在的 R^{*} 都是选自氢、可如下文所定义经取代的 C₁₋₆ 脂族基或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未经取代的 5-6 元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0154] R^{*} 的脂族基上的合适取代基包括卤素、-R[•]、-(卤基 R[•])、-OH、-OR[•]、-O(卤基 R[•])、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR[•]、-NH₂、-NHR[•]、-NR₂[•] 或 -NO₂, 其中各 R[•] 未经取代或在前面有“卤基”的情况下仅经一个或一个以上卤素取代, 并独立地为 C₁₋₄ 脂族基、-CH₂Ph、-O(CH₂)₀₋₁Ph 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0155] “任选取代”的基团的可取代氮上的合适取代基包括 -R[†]、-NR₂[†]、-C(O)R[†]、-C(O)OR[†]、-C(O)C(O)R[†]、-C(O)CH₂C(O)R[†]、-S(O)₂R[†]、-S(O)₂NR₂[†]、-C(S)NR₂[†]、-C(NH)NR₂[†] 或 -N(R[†])S(O)₂R[†], 其中 R[†] 各自独立地为氢、可如下文所定义经取代的 C₁₋₆ 脂族基、未经取代的 -OPh 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未经取代的 5-6 元饱和、部分不饱和或芳基环, 或不管以上定义, 两个独立存在的 R[†] 连同其插入原子一起形成具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未经取代的 3-12 元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环。R[†] 的脂族基上的合适取代基独立地为卤素、-R[•]、-(卤基 R[•])、-OH、-OR[•]、-O(卤基

R[•]）、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR[•]、-NH₂、-NHR[•]、-NR₂[•]或-NO₂，其中各 R[•]未经取代或在前面有“卤基”的情况下仅经一个或一个以上卤素取代，并独立地为 C₁₋₄ 脂族基、-CH₂Ph、-O(CH₂)₀₋₁Ph 或具有 0-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-6 元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0156] 如本文所用的短语“不经肠投药”意指除肠内和局部投药外，通常通过注射实现的投药模式，且包括（但不限于）静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内和胸骨内注射和输液。

[0157] 如本文所用的短语“全身性投药”和“周围投药”意指化合物、药物或其它物质不是直接投与中枢神经系统，而是进入患者的系统，因此进行代谢和其它类似过程，例如皮下投与。

[0158] 如本文所用的术语“富集”是指混合物中一种或一种以上物质的比例增加。在一些实施例中，混合物根据使混合物中一种或一种以上所需物质的比例增加的方法进行“富集”。在一些实施例中，所需物质超过混合物的 10%。在一些实施例中，所需物质超过混合物的 25%。在一些实施例中，所需物质超过混合物的 40%。在一些实施例中，所需物质超过混合物的 60%。在一些实施例中，所需物质超过混合物的 75%。在一些实施例中，所需物质超过混合物的 85%。在一些实施例中，所需物质超过混合物的 90%。在一些实施例中，所需物质超过混合物的 95%。这些比例可通过许多方式来测量，例如呈摩尔比率、体积比或重量比形式。

[0159] 术语“纯”是指实质上不含相关非目标结构化合物或化学前驱体（当化学合成时）的化合物。此性质可量度或表示为“纯度”。在一些实施例中，目标化合物具有小于约 30%、20%、10%、5%、2%、1%、0.5% 和 0.1% 的非目标结构或化学前驱体。在某些实施例中，纯的本发明化合物只为一种次皂苷元化合物（即将目标次皂苷元与其它次皂苷元分开）。

[0160] 术语“碳水化合物”是指糖或糖的聚合物。术语“糖”、“多糖”、“碳水化合物”和“寡糖”可互换使用。大部分碳水化合物为具有许多羟基，通常分子的每个碳原子上都有一个羟基的醛或酮。碳水化合物一般具有分子式 C_nH_{2n}O_n。碳水化合物可以为单糖、二糖、三糖、寡糖或多糖。大部分碱性碳水化合物为单糖，例如葡萄糖、蔗糖、半乳糖、甘露糖、核糖、阿拉伯糖、木糖和果糖。二糖为两个接合的单糖。例示性的二糖包括蔗糖、麦芽糖、纤维二糖和乳糖。通常，寡糖包括 3 个至 6 个单糖单元（例如棉子糖、水苏糖），且多糖包括 6 个或 6 个以上单糖单元。例示性的多糖包括淀粉、肝糖和纤维素。碳水化合物可含有经改性的糖单元，例如去除羟基的 2' - 脱氧核糖、羟基经氟置换的 2' - 氟核糖、或葡萄糖的含氮形式 N-乙酰葡糖胺（例如 2' - 氟核糖、脱氧核糖和己糖）。碳水化合物可以多种不同形式存在，例如构象体、环状形式、非环状形式、立体异构体、互变异构体、异头物和异构体。

附图说明

[0161] 图 1a 描绘 QS-7-Api 的化学结构。

[0162] 图 1b 描绘 QS-21-Api 和 QS-21-Xyl 的化学结构。百分比对应于 QS-21 的分离提取物中每种异构体的天然丰度。

[0163] 图 2a-c 展示接种 GD3-KLH 结合物 (10 μg) 以及佐剂 NQS-21、SQS-21-Mix、SQS-21-Api 或 SQS-21-Xyl (各 20 μg 剂量) 后，抗 GD3 和抗 KLH 抗体的效价。每个值都表示五只小鼠的中值（在第 3 次接种和第 4 次接种后第 7 天测试血清）。NQS-21 = 天然来源

的 QS-21 ;SQS-21-Mix =合成的 QS-21。

[0164] 图 3 展示接种 20 μ g 剂量的各种 SQS- 佐剂时,针对细胞系 SK-Mel-28 的细胞表面反应性的比较。

[0165] 图 4 描绘相较于无佐剂或天然 NQS-21(20 μ g),注射 GD3-KLH(10 μ g)加 SQS-21-Mix、SQS-21-Api 或 SQS-21-Xyl(各 20 μ g)的 C57BL/6J 雌性小鼠中的毒性研究。

[0166] 图 5 展示关于采用 GD3-KLH 抗原的合成 SQS- 类似物的佐剂活性的结果。抗体效价为五只小鼠为一组的群组的中值,其中佐剂剂量为 10 μ g。SQS-7 =合成的 QS-7-Api。SQS-0101 =化合物 I-9 ;SQS-0102 =化合物 I-10 ;SQS-0103 =化合物 I-8。

[0167] 图 6-14 展示本文所述的化合物的 ^1H -NMR 谱。

[0168] 图 15a-b 为天然与半合成 QS-7-Api 的 1 : 1 混合物的高效液相色谱描绘图。

具体实施方式

[0169] 抗癌和抗微生物疫苗的临床成功关键地取决于有效力且毒性减弱的新颖佐剂的鉴别和获得。在此上下文中,已证实来自皂皮树(QS)的树皮提取物的特定部分为免疫疗法中的极强佐剂。包含复杂三萜糖苷皂苷的异构形式(索迪希克(Soltysik, S.) ;吴(Wu, J. Y.) ;瑞奇亚(Recchia, J.) ;维勒(Wheeler, D. A.) ;纽曼(Newman, M. J.) ;考芙琳(Coughlin, R. T.) ;肯席尔(Kensil, C. R.),疫苗(Vaccine),1995,13,1403-1410 ;肯席尔(Kensil, C. R.),医疗药物传送系统评论(Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.),1996,13,1-55)的 QS-21 部分(肯席尔(Kensil, C. R.) ;帕特尔(Patel, U.) ;莱尼克(Lennick, M.) ;马尔恰尼(Marciani, D.),免疫学杂志(J. Immunol.),1991,146,431-437)为一些抗肿瘤(黑色素瘤、乳房肿瘤、小细胞肺癌、前列腺肿瘤)(利文斯顿(Livingston, P. O.) ;拉古帕斯(Ragupathi, G.),人类疫苗(Hum. Vaccines),2006,2,137-143)和传染性疾病(HIV、疟疾)的疫苗疗法(佐佐木(Sasaki, S.) ;澄乃(Sumino, K.) ;滨岛(Hamajima, K.) ;福岛(Fukushima, J.) ;石井(Ishii, N.) ;川本(Kawamoto, S.) ;毛利(Mohri, H.) ;肯席尔(Kensil, C. R.) ;奥田(Okuda, K.),病毒学杂志(J. Virol.),1998,72,4931-4939 ;埃文斯(Evans, T. G.) 等人,疫苗,2001,19,2080-2091 ;卡萨拉(Kashala, O.) 等人,疫苗,2002,20,2263-2277 ;卡卡波索(Carcaboso, A. M.) ;埃尔南德斯(Hernandez, R. M.) ;伊加图亚(Igartua, M.) ;罗萨斯(Rosas, J. E.) ;帕塔罗佑(Patarroyo, M. E.) ;裴拉兹(Pedraz, J. L.),疫苗,2004,22,1423-1432)中目前最有希望的免疫增效剂(金(Kim, S. K.) ;拉古帕斯(Ragupathi, G.) ;穆塞利(Musselli, C.) ;蔡(Choi, S. J.) ;帕克(Park, Y. S.) ;利文斯顿(Livingston, P. O.),疫苗,2000,18,597-603)。然而,癌症患者中 QS-21 的耐受剂量通常不超过 100 μ g,如果超过 100 μ g 将出现显著的局部红斑和全身性疑似流感症状。另一方面,发现另一种 QS 提取物部分 QS-7 不仅具有显著的独立佐剂活性(肯席尔(Kensil),1991 ;肯席尔(Kensil),1998,上文),而且在与 QS-21 共投与时,诱导显著的协同免疫反应加强(肯席尔(Kensil, C. A.),美国专利第 6,231,859 号),从而允许投与较少的 QS-21。重要的是, QS-7 不同于 QS-21,其小鼠中显示可忽略的毒性。本发明提供一种有效合成 QS-7 和 QS-21 的类似物的半合成方法,从而显著减少获得这一有效佐剂类别所需的合成步骤数目。

[0170] 化合物

[0171] 本发明化合物包括上文所概述的化合物,且按本文中所揭示的类别、子类和种

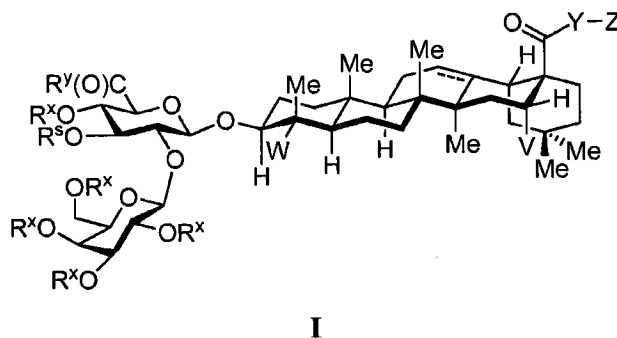
类进一步加以说明。在一些实施例中,所提供的化合物为天然存在的三萜糖苷皂苷的类似物和其中间物。为达成本发明的目的,化学元素是根据元素周期表 (the Periodic Table of the Elements), 化学文摘社版本 (CAS version), 化学与物理手册 (Handbook of Chemistry and Physics), 第 75 版来鉴别。另外,有机化学的一般原理描述于有机化学 (Organic Chemistry), 托马斯·索瑞尔 (Thomas Sorrell), 大学自然科学图书公司 (University Science Books), 索萨利托 (Sausalito):1999 和马奇高等有机化学 (March' s Advanced Organic Chemistry), 第 5 版,编辑:史密斯 (Smith, M. B.) 和马奇 (March, J.), 约翰威立父子出版公司 (John Wiley & Sons), 纽约 (New York):2001 中,这些书籍的全部内容都以引用的方式并入本文中。

[0172] 例示性化合物的描述

[0173] 在一些实施例中,所提供的化合物为皂树皂苷的类似物。在一些实施例中,所提供的化合物为次皂苷元。在某些实施例中,所提供的化合物为 QS-7 和 QS-21 的类似物,并且具有有效的佐剂活性。

[0174] 在某些实施例中,本发明提供式 I 化合物:

[0175]



[0176] 或其医药学上可接受的盐,其中:

[0177] --- 为单键或双键;

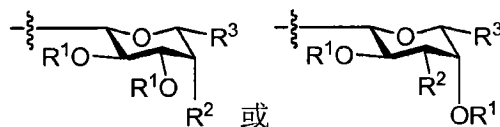
[0178] W 为 Me、 $-\text{CHO}$ 、 $\text{R}^x\text{O}-\text{OR}^x$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}^x$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^y$;

[0179] V 为氢或 $-\text{OR}^x$;

[0180] Y 为 CH_2 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}-$ 或 $-\text{NH}-$;

[0181] Z 为氢;选自由酰基、脂族基、杂脂族基、芳基、芳基烷基和杂芳基组成的群组的任选取代的环状或非环状部分;或具有以下结构的碳水化合物结构域:

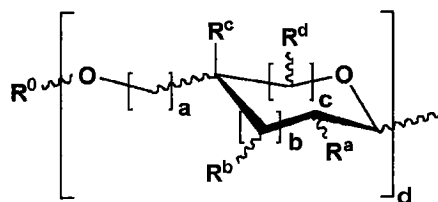
[0182]



[0183] 其中:

[0184] R^1 每次出现时都为 R^x 或具有以下结构的碳水化合物结构域:

[0185]



[0186] 其中：

[0187] a、b 和 c 每次出现时都独立地为 0、1 或 2；

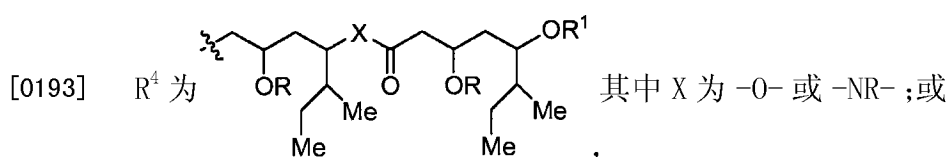
[0188] d 为 1-5 的整数，其中每个 d 框入的结构可为相同或不同的；其限制条件为 d 框入的结构表示呋喃糖或吡喃糖部分，且 b 与 c 的和为 1 或 2；

[0189] R^0 为氢、选自由以下组成的群组的氧保护基：烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯、氨基甲酸酯和碳酸酯；或选自由以下组成的群组的任选取代的部分：酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；

[0190] R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都独立地为氢、卤素、OH、OR、 OR^x 、 NR_2 、NHCOR、或选自以下的任选取代的基团：酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；

[0191] R^2 为氢、卤素、OH、OR、 OR^1 、 $OC(O)R^4$ 、 $OC(O)OR^4$ 、 $OC(O)NHR^4$ 、 $OC(O)NRR^4$ 、 $OC(O)SR^4$ 、 $NHC(O)R^4$ 、 $NRC(O)R^4$ 、 $NHC(O)OR^4$ 、 $NHC(O)NHR^4$ 、 $NHC(O)NRR^4$ 、 $N(R^4)_2$ 、 NHR^4 、 NRR^4 、 N_3 、或选自以下的任选取代的基团： C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；

[0192] R^3 为氢、卤素、 CH_2OR^1 、或选自由以下组成的群组的任选取代的基团：酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；



[0194] T- R^z ，其中：

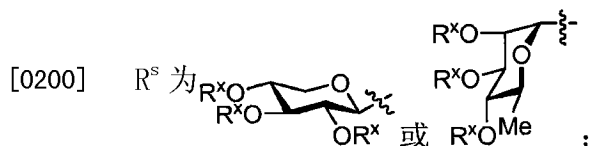
[0195] T 为共价键或二价 C_{1-26} 饱和或不饱和的直链或支链脂族链或杂脂族链；且

[0196] R^z 为氢、卤素、-OR、 $-OR^x$ 、 $-OR^1$ 、-SR、 $-NR_2$ 、 $-NC(O)OR$ 、或选自以下的任选取代的基团：酰基、芳基烷基、杂芳基烷基、 C_{1-6} 脂族基、6-10 元芳基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；或

[0197] 同一氮原子上的两个 R^4 连同氮一起形成具有 1-2 个独立地选自自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环；

[0198] R^x 每次出现时都独立地为氢或选自由以下组成的群组的氧保护基：烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯、氨基甲酸酯和碳酸酯；

[0199] R^y 为 $-OH$ 或选自酯、酰胺和酰肼组成的群组的羧基保护基；

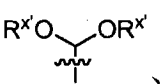


[0201] $R^{x'}$ 每次出现时都独立地为选自以下的任选取代的基团：6-10 元芳基、 C_{1-6} 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C_{1-6} 杂脂族基；或

[0202] 两个 $R^{x'}$ 一起形成具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-7 元杂环；

[0203] R 每次出现时都独立地为氢、选自以下的任选取代的基团：酰基、芳基烷基、6-10 元芳基、 C_{1-12} 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C_{1-12} 杂脂族基；或

[0204] 同一氮原子上的两个 R 连同氮一起形成具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环。

[0205] 如上文所定义， W 为 Me 、 $-CHO$ 、、 $-CH_2OR^x$ 或 $-C(O)OR^y$ 。在某些实施例中， W 为甲基。在其它实施例中， W 为 $-CHO$ 。在某些实施例中， W 为 $-CH_2OR^x$ 。在其它实施例中， W 为 $-C(O)OR^y$ 。在一些实施例中， W 为 $-CH_2OH$ 。在其它实施例中， W 为 $-CH_2OBn$ 。在其它实施例中， W 为 $-CH_2OSiEt_3$ 。在某些实施例中， W 为 $-C(O)OH$ 。在其它实施例中， W 为 $-C(O)OBn$ 。

[0206] 在某些实施例中， V 为 $-OR^x$ 。在一些实施例中， V 为 $-OH$ 。在一些实施例中， V 为氢。

[0207] 如上文所定义， $==$ 表示单键或双键。应了解，式 I 化合物可经受将双键还原成单键的氢化条件（如下）。

[0208] 如上文所定义， Y 为 CH_2 、 $-O-$ 、 $-NR-$ 或 $-NH-$ 。在某些实施例中， Y 为 CH_2 。在某些实施例中， Y 为 $-O-$ 。在其它实施例中， Y 为 $-NR-$ 。在一些实施例中， Y 为 $-NH-$ 。

[0209] 在某些实施例中， Z 为氢；选自酰基、脂族基、杂脂族基、芳基、芳基烷基、杂环基和杂芳基组成的群组的任选取代的环状或非环状部分。

[0210] 在一些实施例中， Z 包含碳水化合物。在一些实施例中， Z 不为氢。在其它实施例中， Z 为酰基。

[0211] 在一些实施例中， Z 包含将碳水化合物与 Y 分开的键联基团。在一些实施例中，键联基团为任选取代的直链或支链 C_{1-12} 脂族基或杂脂族基。在一些实施例中，键联基团为 $-(CH_2)_k-$ ，其中 k 为包括 1 与包括 10 之间的整数。

[0212] 在一些实施例中， Z 为任选取代的脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-30} 脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-20} 脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-16} 脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-12} 脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-10} 脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-6} 脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{2-12} 脂族基。

[0213] 在一些实施例中， Z 为任选取代的杂脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-30} 杂脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-20} 杂脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-16} 杂脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-12} 杂脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-10} 杂脂族基。在一些实施例中， Z 为任选取代的 C_{1-6} 杂脂族基。在一些实

施例中, Z 为任选取代的 C_{2-12} 杂脂族基。

[0214] 在某些实施例中, Z 为具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的任选取代的杂芳基。在某些实施例中, Z 为任选取代的 5-12 元杂芳基。在某些实施例中, Z 为任选取代的 5-10 元杂芳基。在某些实施例中, Z 为任选取代的 6-8 元杂芳基。

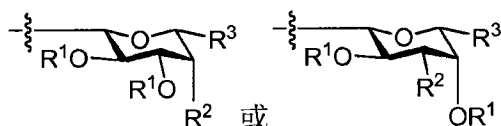
[0215] 在某些实施例中, Z 为任选取代的芳基。在某些实施例中, Z 为任选取代的 6-12 元芳基。在某些实施例中, Z 为任选取代的 6-10 元芳基。在某些实施例中, Z 为任选取代的 6-8 元芳基。

[0216] 在一些实施例中, Z 为任选取代的杂环基。在某些实施例中, Z 为具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的任选取代的 4-7 元杂环基。

[0217] 在一些实施例中, Z 为任选取代的芳基烷基。在一些实施例中, Z 为任选取代的 C_{7-12} 芳基烷基。在一些实施例中, Z 为任选取代的 C_{7-10} 芳基烷基。在一些实施例中, Z 为任选取代的 C_{7-8} 芳基烷基。

[0218] 在一些实施例中, Z 为单糖。在一些实施例中, Z 为寡糖。在某些实施例中, Z 为具有以下结构的碳水化合物结构域:

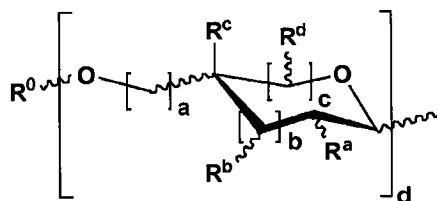
[0219]



[0220] 其中 R^1 、 R^2 和 R^3 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0221] 在某些实施例中, Z 具有以下结构:

[0222]



[0223] 其中 R^0 、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、a、b、c 和 d 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0224] 如上文所述, Z 部分通过 Y 键联于三萜核心。在一些实施例中, Z 为单糖且为 D-岩藻糖基。在某些实施例中, Z 为单糖且为 L-岩藻糖基。在某些实施例中, Z 为单糖且不为岩藻糖基。在某些实施例中, Z 为单糖且不为 β -D-岩藻糖基。

[0225] 在一些实施例中, Z 为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域为岩藻糖基。在某些实施例中, Z 为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域不为 D-岩藻糖基。在某些实施例中, Z 为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域不为 β -D-岩藻糖基。在某些实施例中, Z 为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域不为 α -D-岩藻糖基。在某些实施例中, Z 为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域不为岩藻糖基。

[0226] 在一些实施例中, Z 为任选取代的单糖且为 D-岩藻糖基。在某些实施例中, Z 为任选取代的单糖且为 L-岩藻糖基。在某些实施例中, Z 为任选取代的单糖且不为 β -D-岩藻糖基。在某些实施例中, 当 Z 的碳水化合物结构域直接连接于 Y 时, 直接连接于 Y 的碳水化合物结构域不为岩藻糖基。在某些实施例中, 当 Y-Z 为 -OH、-OMe 或 -O 烯丙基时, 至少 7

个 R^x 基团为硅烷基醚。在一些实施例中, Z 和 R^x 不都同时为氢或甲基。在一些实施例中, $Y-Z$ 不为 $-OMe$ 。在一些实施例中, $Y-Z$ 不为 $-OH$ 。在一些实施例中, $Y-Z$ 不为 $-O$ 烯丙基。在一些实施例中, 如果所有的 R^x 基团同时为氢或如果至少 4 个 R^x 基团同时为甲基, 那么 $Y-Z$ 不为 $-OH$ 或 $-OMe$ 。

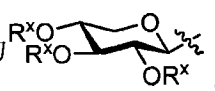
[0227] 在一些实施例中, R^y 不为亲脂性基团。在一些实施例中, 当 Z 的碳水化合物部分未经酰化且所有的 R^x 同时为氢时, 三萜的 3- O - 葡萄糖醛酸残基直接或间接地非共价连接于具有亲脂性结构域的化合物, 其中亲脂性结构域通过 3- O - 葡萄糖醛酸残基上所存在的羧酸碳原子进行连接。

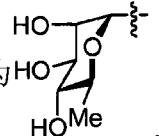
[0228] 在某些实施例中, R^y 每次出现时都独立地为 $-OH$ 。在某些实施例中, R^y 每次出现时都独立地为 $-OR$ 。在某些实施例中, R^y 每次出现时都独立地为羧基保护基。合适的羧基保护基为所属领域中所熟知, 且包括有机合成中的保护基 (Protecting Groups in Organic Synthesis), 格林 (T. W. Greene) 和维兹 (P. G. M. Wuts), 第 3 版, 约翰威立父子出版公司, 1999 (其全部内容以引用的方式并入本文中) 中详细描述羧基保护基。

[0229] 在一些实施例中, R^y 在与其所连接的羰基一起时每次出现时都独立地包含酯。在一些实施例中, R^y 在与其所连接的羰基一起时每次出现时都独立地包含酰胺。在一些实施例中, R^y 在与其所连接的羰基一起时每次出现时都独立地包含酰肼。

[0230] 在一些实施例中, R^y 每次出现时都独立地为 $-OBn$ 。在其它实施例中, R^y 每次出现时都独立地为 $-OEt$ 。

[0231] 在某些实施例中, R^x 每次出现时都独立地为氢。在某些实施例中, R^x 每次出现时都独立地为合适的羟基保护基。合适的羟基保护基为所属领域中所熟知且包括本文中和格林 (如上) 所述的羟基保护基。在一些实施例中, 不超过 4 个 R^x 基团同时为甲基。

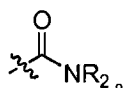
[0232] 在一些实施例中, R^s 为 。在一些实施例中, R^s 为 。

[0233] 在一些实施例中, R^{s1} 为 。在一些实施例中, R^{s1} 为 。

[0234] 在一些实施例中, R^x 在与其所连接的氧原子一起时每次出现时都独立地包含甲醚、乙醚、苄醚、硅烷基醚、酯、缩醛、缩酮或碳酸酯。在一些实施例中, R^x 包含甲醚。在一些实施例中, R^x 包含乙醚。在一些实施例中, R^x 包含苄醚。在一些实施例中, R^x 包含硅烷基醚。在一些实施例中, R^x 包含酯。在一些实施例中, R^x 包含缩醛。在一些实施例中, R^x 包含缩酮。在一些实施例中, R^x 包含碳酸酯。

[0235] 在某些实施例中, R^x 为甲基。在某些实施例中, R^x 为乙基。在某些实施例中, R^x 为苯甲基。在某些实施例中, R^x 为 SiR_3 。在某些实施例中, R^x 为 $SiMe_3$ 。在某些实施例中, R^x 为 TBS。

[0236] 在某些实施例中, R^x 为 。在某些实施例中, R^x 为 。在某些实施例中, R^x 为



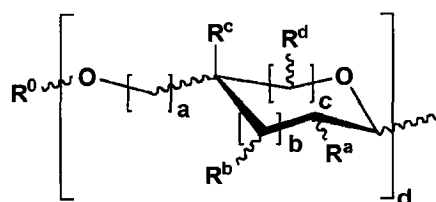
[0237] 在一些实施例中,连接于糖环上的相邻碳原子的两个 $-OR^x$ 一起形成具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-7 元杂环。在一些实施例中,连接于糖环上的相邻碳原子的两个 $-OR^x$ 一起形成环状缩醛保护基。在一些实施例中,连接于糖环上的相邻碳原子的两个 $-OR^x$ 一起形成环状缩酮保护基。

[0238] 在某些实施例中, $R^{x'}$ 各自独立地为氢。在某些实施例中, $R^{x'}$ 各自独立地为任选取代的 6-10 元芳基。在某些实施例中, $R^{x'}$ 各自独立地为任选取代的 C_{1-6} 脂族基。在某些实施例中, $R^{x'}$ 各自独立地为具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的任选取代的 C_{1-6} 杂脂族基。在一些实施例中,两个 $R^{x'}$ 一起形成具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-7 元杂环。

[0239] 在一些实施例中,所有的 R^x 都为氢。

[0240] 在某些实施例中, R^1 为具有以下结构的碳水化合物结构域:

[0241]



[0242] 其中 R^0 、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 a 、 b 、 c 和 d 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0243] 在一些实施例中, a 为 0。在一些实施例中, a 为 1。

[0244] 在一些实施例中, b 为 0。在一些实施例中, b 为 1。在一些实施例中, b 为 2。

[0245] 在一些实施例中, c 为 0。在一些实施例中, c 为 1。在一些实施例中, c 为 2。

[0246] 在某些实施例中, b 与 c 的和为 1。在某些实施例中, b 与 c 的和为 2。

[0247] 在某些实施例中, d 为 1-7 的整数。在一些实施例中, d 为 1-5 的整数。在一些实施例中, d 为 1-4 的整数。在一些实施例中, d 为 1-2 的整数。

[0248] 在某些实施例中,每个 d 框入的结构都相同。在某些实施例中,每个 d 框入的结构都不同。在某些实施例中,两个或两个以上 d 框入的结构为相同的。

[0249] 在一些实施例中,一个或一个以上 d 框入的结构为呋喃糖部分。在一些实施例中,一个或一个以上 d 框入的结构为吡喃糖部分。

[0250] 在一些实施例中, R^0 为氢。在一些实施例中, R^0 为选自以下组成的群组的氧保护基:烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯、氨基甲酸酯和碳酸酯。在其它实施例中, R^0 为选自自由酰基和 C_{1-10} 脂族基组成的群组的任选取代的部分。

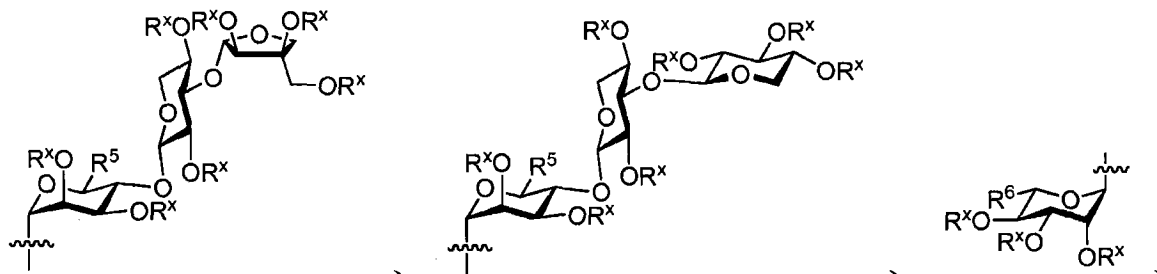
[0251] 在一些实施例中, R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都为氢。在一些实施例中, R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都为 $-OH$ 。在一些实施例中, R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都独立地为 $-OR$ 。在一些实施例中, R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都独立地为 $-OR^x$ 。在一些实施例中, R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都独立地为任选取代的 C_{1-10} 脂族基。在一些实施例中, R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都独立地为任选取代的 C_{1-6} 杂脂族基。

[0252] 在一些实施例中, R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 每次出现时都为 $-CH_2OH$ 。在一些实施例中, R^a 、 R^b 、

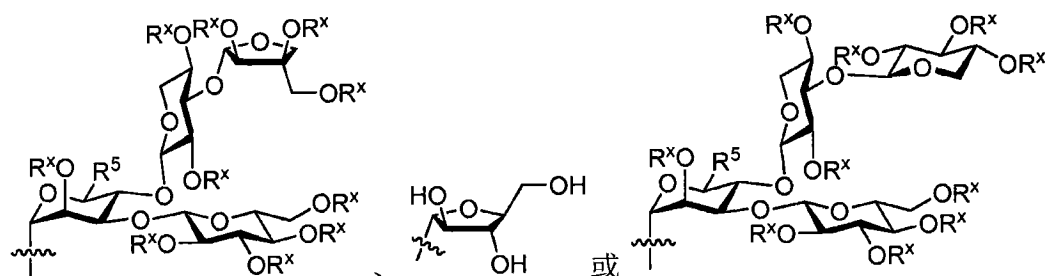
R^c 和 R^d 每次出现时都为甲基。

[0253] 如上文所概述,在某些实施例中, R^1 为碳水化合物结构域。在一些实施例中, R^1 为单糖。在一些实施例中, R^1 为寡糖。在某些实施例中, R^1 每次出现时都独立地选自以下组成的群组:

[0254]



[0255]



[0256] 在某些实施例中, R^2 为氢。在某些实施例中, R^2 为卤素。在某些实施例中, R^2 为 $-OH$ 。在某些实施例中, R^2 为 OR 。在某些实施例中, R^2 为 $-OC(O)R^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-OC(O)OR^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-OC(O)NHR^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-OC(O)NRR^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-OC(O)SR^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)R^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-NRC(O)R^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)OR^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)NHR^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)NRR^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-N(R^4)_2$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-NHR^4$ 。在某些实施例中, R^2 为 $-NRR^4$ 。在一些实施例中, R^2 为 N_3 。

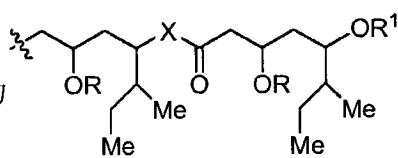
[0257] 在一些实施例中, R^2 为选自 C_{1-30} 脂族基的任选取代的基团。在一些实施例中, R^2 为选自 C_{1-20} 脂族基的任选取代的基团。在一些实施例中, R^2 为选自 C_{1-10} 脂族基的任选取代的基团。

[0258] 在一些实施例中, R^2 为选自 C_{1-30} 杂脂族基的任选取代的基团。在一些实施例中, R^2 为选自 C_{1-20} 杂脂族基的任选取代的基团。在一些实施例中, R^2 为选自 C_{1-10} 杂脂族基的任选取代的基团。在一些实施例中, R^2 为选自 C_{1-6} 杂脂族基的任选取代的基团。

[0259] 在一些实施例中, R^3 为氢。在一些实施例中, R^3 为卤素。在一些实施例中, R^3 为 $-OH$ 。在一些实施例中, R^3 为 $-OR$ 。在一些实施例中, R^3 为 $-OR^x$ 。在一些实施例中, R^3 为任选取代的 C_{1-10} 脂族基。在一些实施例中, R^3 为任选取代的 C_{1-6} 杂脂族基。在一些实施例中, R^3 不为氢。在一些实施例中, R^3 不为 $-OH$ 。

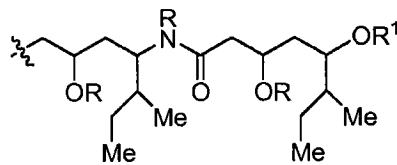
[0260] 在一些实施例中, R^3 为 $-CH_2OR$ 。在一些实施例中, R^3 为 $-CH_2OH$ 。在一些实施例中, R^3 为甲基。在一些实施例中, R^3 不为甲基。在一些实施例中, R^3 为 CH_2OR^1 。

[0261] 在一些实施例中, R^4 为

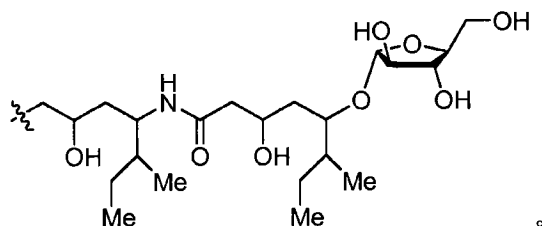


[0262] 在一些实施例中, X 为 $-O-$ 。在一些实施例中, X 为 $-NR-$ 。在

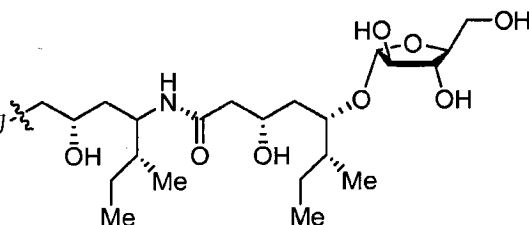
一些实施例中, R^4 为



在一些实施例中, R^4 为



[0263] 在一些实施例中, R^4 为



[0264] 在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)R^4$; 且 R^4 为 $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---}C(=O)O^-$ 其中 p 为包括 0 至包括 12 的

整数。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)R^4$; 且 R^4 为 $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---}C(=O)OH$ 其中 p 为包括 0 至包括 12 的

整数。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)R^4$; 且 R^4 为 $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---}N^+(Me)_2$ 其中 p 为包括 0 至包括 12 的

整数。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)R^4$; 且 R^4 为 $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---}N(Me)_2$ 其中 p 为包括 0 至包括 12 的

整数。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)R^4$; 且 R^4 为 $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---}C_6H_4OH$ 其中 p 为包括 0 至包括

12 的整数。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)R^4$; 且 R^4 为 $\text{---}[\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}Me]_p\text{---}$ 其中 p 为包括 1 至包括

12 的整数。在某些实施例中, R^2 为 $-NHC(O)R^4$; 且 R^4 为 $\text{---}O\text{---}$ (cyclohexyl) $\text{---}CH_2\text{---}CH_2\text{---}C(Me)_2$ 。

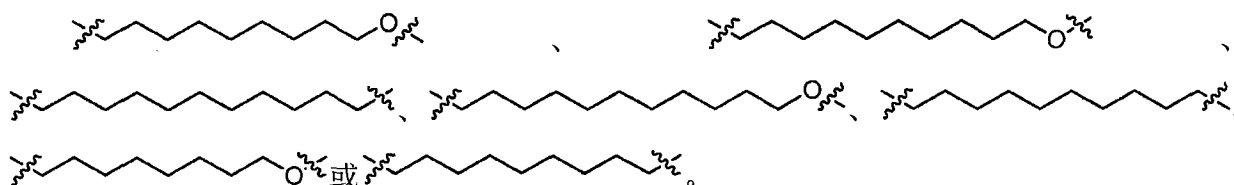
[0265] 在某些实施例中, 同一氮原子上的两个 R^4 连同氮一起形成具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环。

[0266] 如上文所述, 在某些实施例中, R^4 为 $T-R^2$ 。在一些实施例中, T 为共价键

或二价 C_{1-26} 饱和或不饱和的直链或支链烃链, 其中 T 的一个或两个亚甲基单元任选且独立地经 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-N(R)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-N(R)SO_2-$ 或 $-SO_2N(R)-$ 置换。在某些实施例中, T 为共价键或二价 C_{1-16} 饱和或不饱和的直链或支链脂族链或杂脂族链。在某些实施例中, T 为共价键或二价 C_{1-12} 饱和或不饱和的直链或支链脂族链或杂脂族链。在某些实施例中, T 为共价键或二价 C_{1-8} 饱和或不饱和的直链或支链脂族链或杂脂族链。

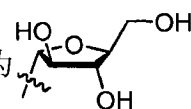
[0267] 在某些实施例中, $-T-$ 是选自由以下组成的群组:

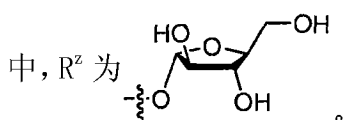
[0268]

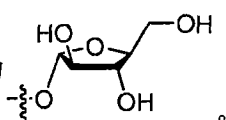


[0269] 在一些实施例中, R^z 为氢。在一些实施例中, R^z 为卤素。在某些实施例中, R^z 为 $-NC(O)OR$ 。在一些实施例中, R^z 为 $-OR$ 。在一些实施例中, R^z 为 $-OR^x$ 。在一些实施例中, R^z 为 $-OR^1$ 。在一些实施例中, R^z 为 $-NR_2$ 。在某些实施例中, R^z 为任选取代的酰基。在某些实施例中, R^z 为任选取代的芳基烷基。在某些实施例中, R^z 为任选取代的杂芳基烷基。在某些实施例中, R^z 为任选取代的 C_{1-6} 脂族基。在某些实施例中, R^z 为任选取代的 6-10 元芳基。在某些实施例中, R^z 为具有 14 个独立地选自氮、氧或硫的群组的杂原子的任选取代的 5-10 元杂芳基。在某些实施例中, R^z 为具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的任选取代的 4-7 元杂环基。

[0270] 在某些实施例中, R^z 为单糖。在某些实施例中, R^z 为寡糖。

[0271] 在某些实施例中, R^z 为甲基。在某些实施例中, R^z 为  在某些实施例中



中, R^z 为 。

[0272] 在一些实施例中, R 每次出现时都独立地为氢。在一些实施例中, R 每次出现时都独立地为任选取代的酰基。在一些实施例中, R 每次出现时都独立地为任选取代的芳基烷基。在一些实施例中, R 每次出现时都独立地为任选取代的 C_{7-12} 芳基烷基。在一些实施例中, R 每次出现时都独立地为任选取代的 6-10 元芳基。在一些实施例中, R 每次出现时都独立地为任选取代的 C_{1-12} 脂族基。在一些实施例中, R 每次出现时都独立地为任选取代的 C_{1-6} 脂族基。在一些实施例中, R 每次出现时都独立地为具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的任选取代的 C_{1-6} 杂脂族基。在一些实施例中, 同一氮原子上的两个 R 连同氮一起形成具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环。

[0273] 在某些实施例中, R^5 和 R^6 独立地为氢、选自由以下组成的群组的任选取代的基团: 酰基、 C_{1-10} 脂族基、 C_{1-6} 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基。在某些实施例中, R^5 和 R^6 独立地为氢。在一些实施例中, R^5 和

R^6 独立地为 $-OH$ 。在一些实施例中, R^5 和 R^6 独立地为 $-OR$ 。在一些实施例中, R^5 和 R^6 独立地为 $-OR^x$ 。在一些实施例中, R^5 和 R^6 独立地为任选取代的 C_{1-10} 脂族基。在一些实施例中, R^5 和 R^6 独立地为任选取代的 C_{1-6} 杂脂族基。

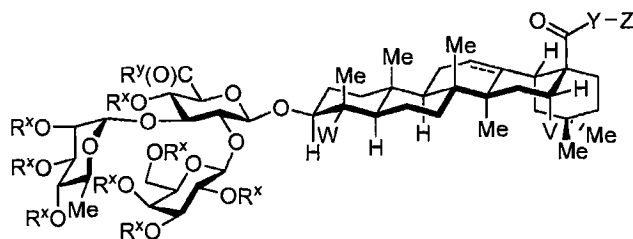
[0274] 在一些实施例中, R^5 和 R^6 独立地为 $-CH_2OR$ 。在一些实施例中, R^5 和 R^6 独立地为 CH_2OH 。在一些实施例中, R^5 和 R^6 独立地为甲基。

[0275] 在一些实施例中, R^3 、 R^5 和 R^6 各自独立地为任选取代的 C_{1-10} 脂族基。在一些实施例中, R^3 、 R^5 和 R^6 各自独立地为甲基。在一些实施例中, R^3 、 R^5 和 R^6 各自独立地为 $-CH_2OR$ 。在一些实施例中, R^3 、 R^5 和 R^6 中的一者或一者以上为 $-CH_2OH$ 。在一些实施例中, R^3 、 R^5 和 R^6 各自为 $-CH_2OH$ 。

[0276] 如下文更详细描述, 式 I 化合物的合成中所用的一些物质可为来源于呈皂苷混合物形式的天然来源的市售提取物。这些提取物可含有糖部分连接于三萜的 C3 位, 这些糖部分不同于式 I 中所描绘的糖部分。可根据本发明使用的皂苷和次皂苷元的实例包括来源于甘草酸、常春藤皂苷 (Hederasaponin)C、 β -七叶皂苷 (β -Aescin)、向日葵皂苷 (Helianthoside)2、人参皂苷 (Ginsenoside)Rd 和皂苷集 (Saponinum album) 等的皂苷和次皂苷元。三萜核心的 C3 位的所有天然来源的糖基化变体都涵盖于本发明中。

[0277] 在一些实施例中, 式 I 的 R^s 为木糖部分, 从而得到式 VII-a 化合物:

[0278]

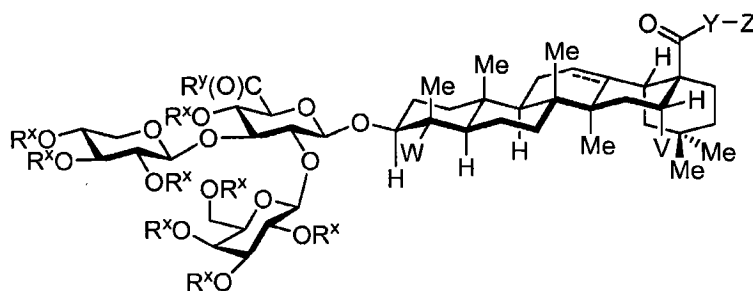


VII-a

[0279] 其中 R^x 、 R^y 、W、V、Y 和 Z 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0280] 在一些实施例中, 式 I 的 R^s 为鼠李糖部分, 从而得到式 VII-b 化合物:

[0281]

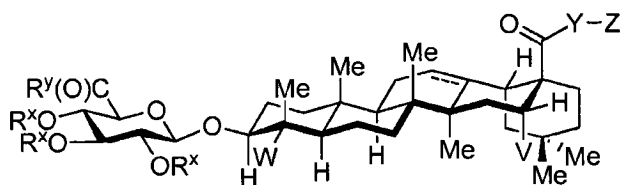


VII-b

[0282] 其中 R^x 、 R^y 、W、V、Y 和 Z 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0283] 在一些实施例中, 式 I 的三萜核心在 C3 位上具有单糖。在一些实施例中, 经单糖取代的化合物具有式 VIII:

[0284]



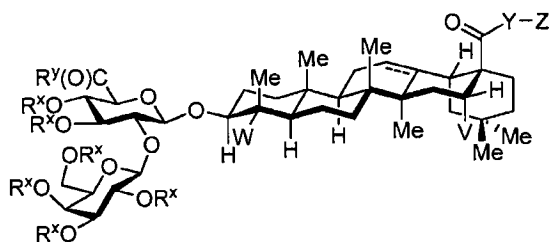
VIII

[0285] 其中 R^x 、 R^y 、W、V、Y 和 Z 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0286] 在一些实施例中,式 I 的三萜核心在 C3 位上具有寡糖。在一些实施例中,寡糖含有鼠李糖残基。

[0287] 在某些实施例中,式 I 的三萜核心在 C3 位上具有二糖。在一些实施例中,二糖为半乳糖-葡萄糖醛酸。在一些实施例中,经二糖取代的化合物具有式 IX:

[0288]

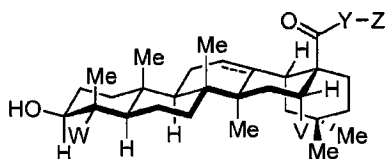


IX

[0289] 其中 R^x 、 R^y 、W、V、Y 和 Z 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0290] 在一些实施例中,式 I 的三萜核心在 C3 位上不具有糖基,得到式 X 化合物:

[0291]



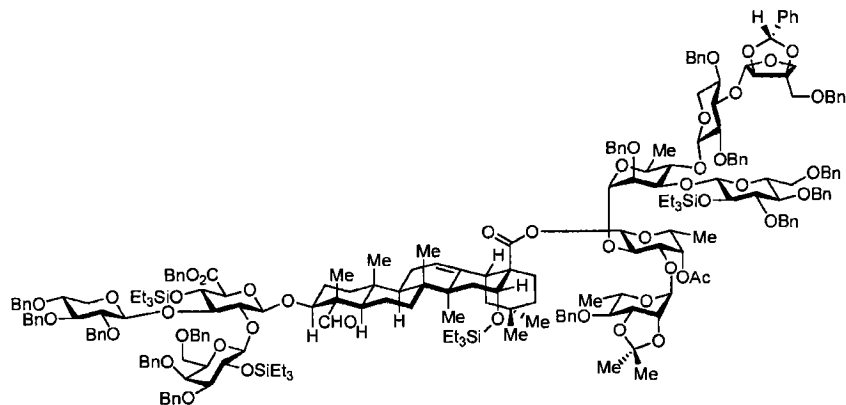
X

[0292] 其中 W、V、Y 和 Z 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0293] 例示性的式 I 化合物阐述于下表 1 中。

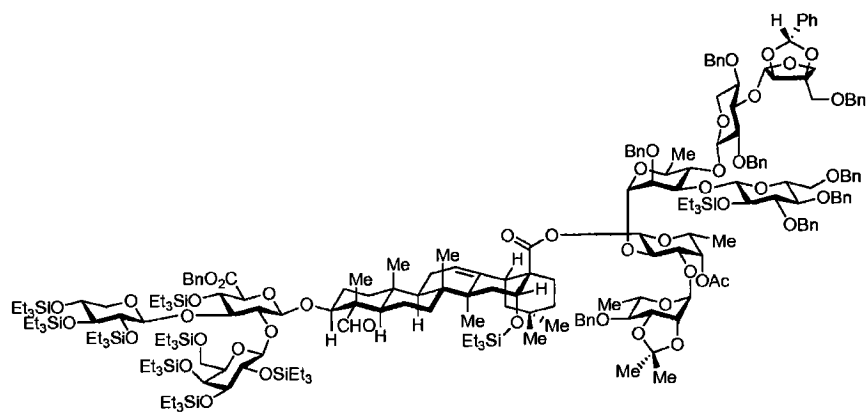
[0294] 表 1. 例示性的式 I 化合物

[0295]

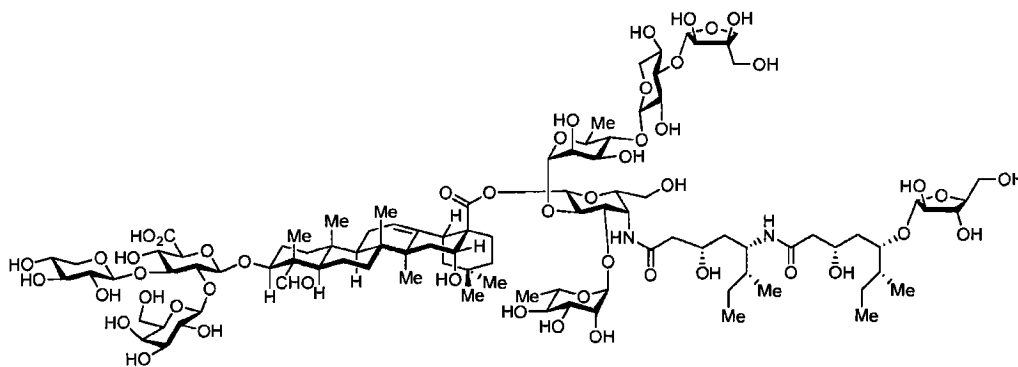


I-1

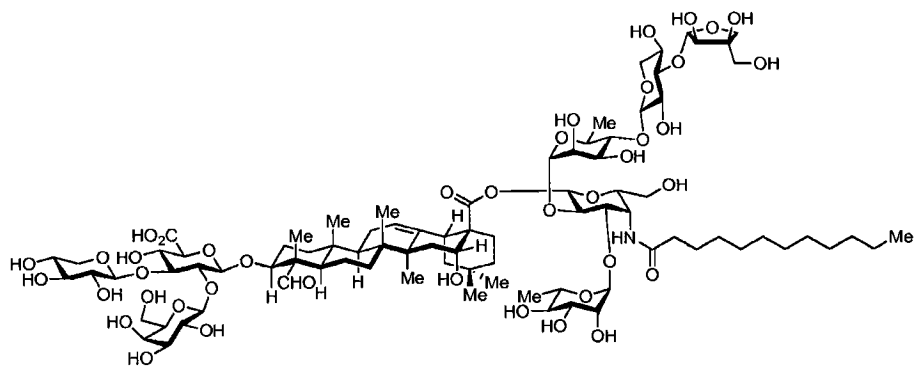
[0296]



I-2

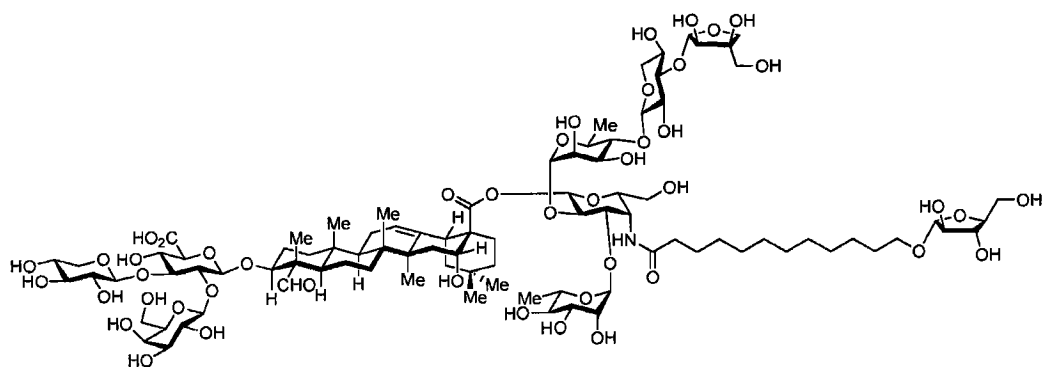


I-3

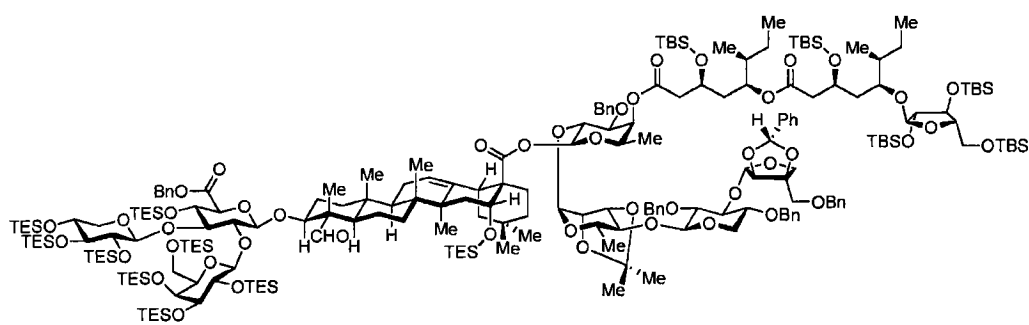


I-4

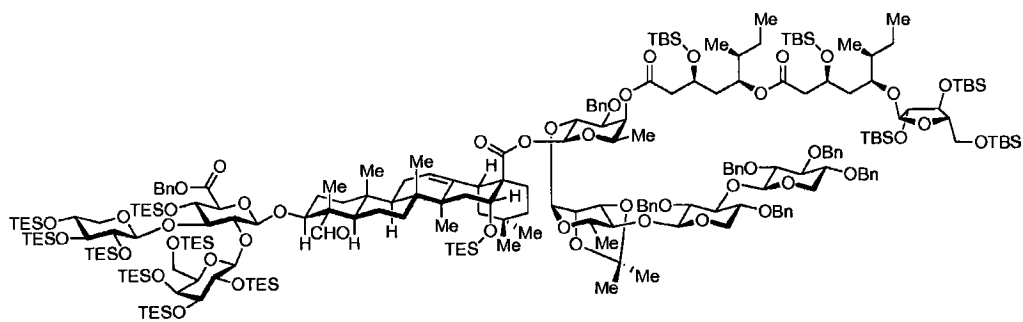
[0297]



I-5

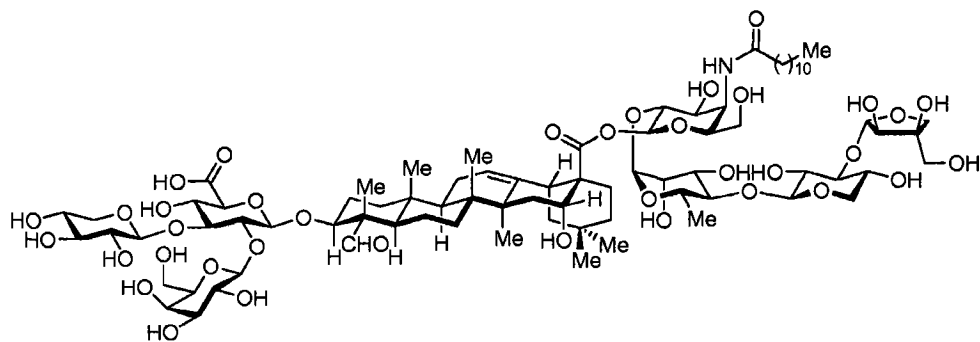


I-6

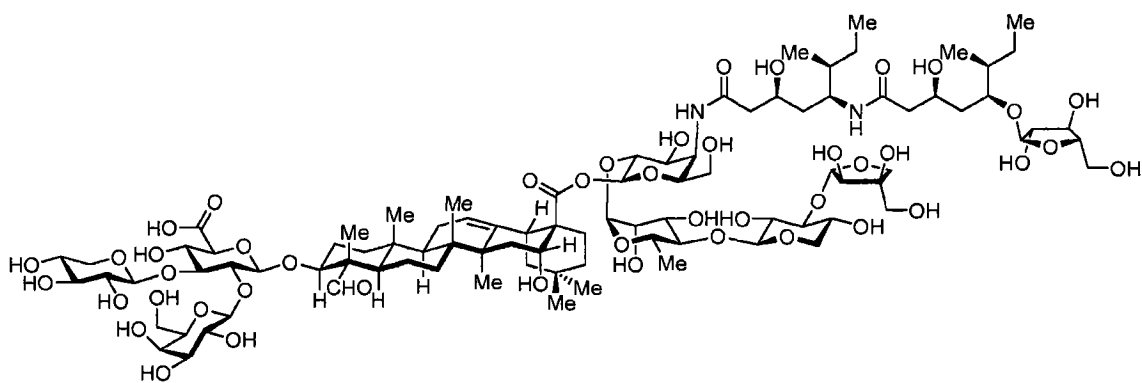


I-7

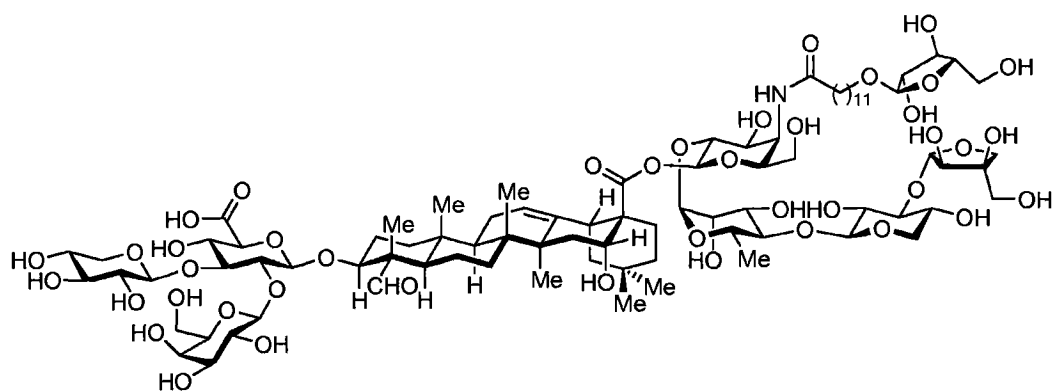
[0298]



I-8

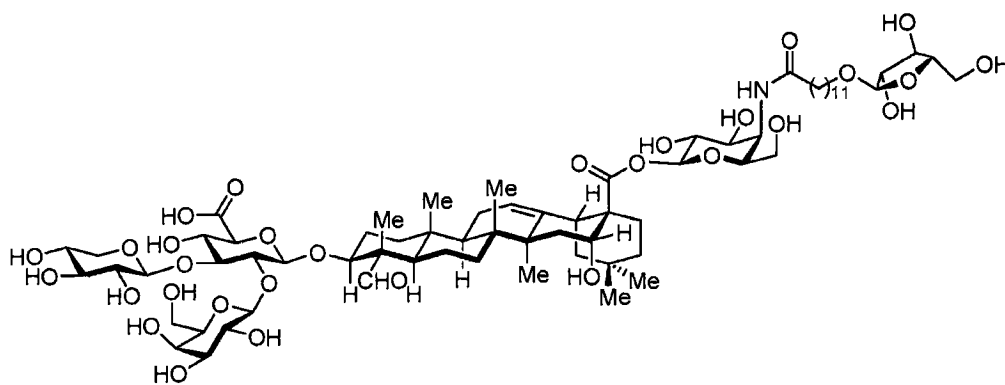
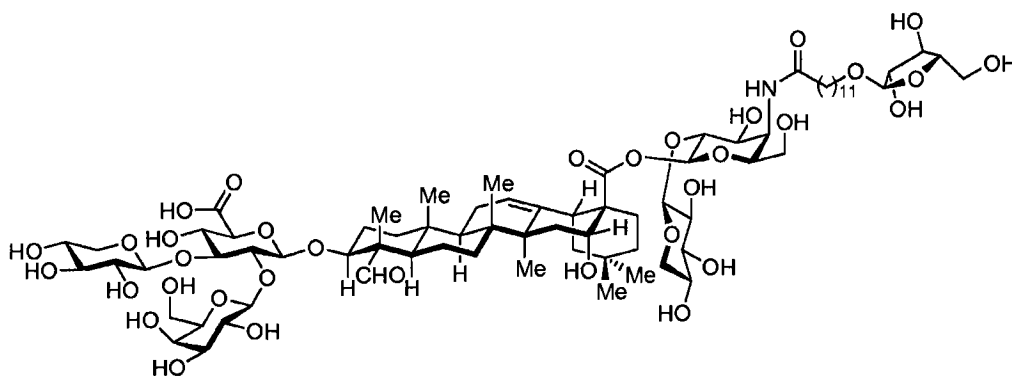
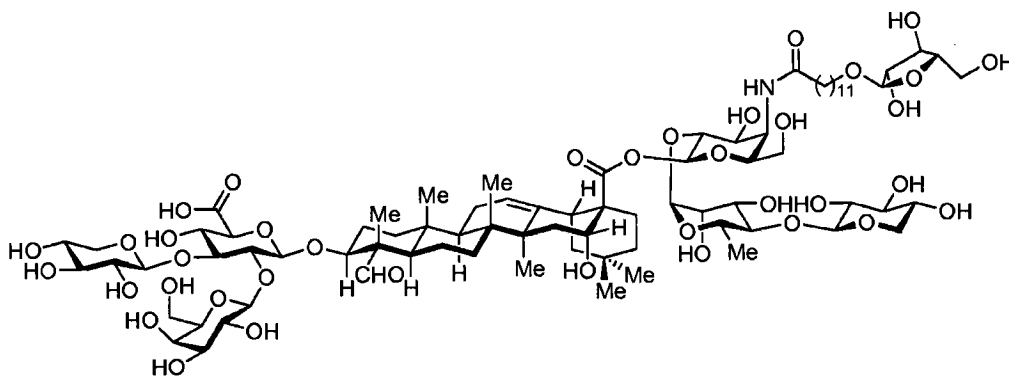


I-9

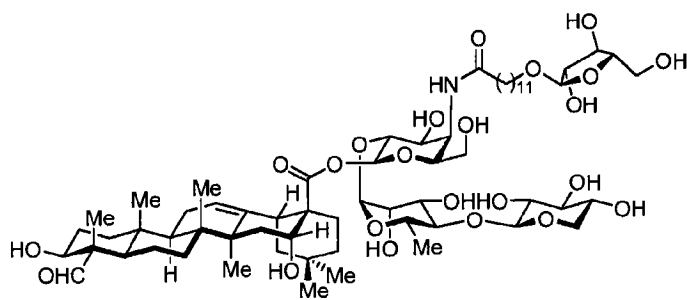


I-10

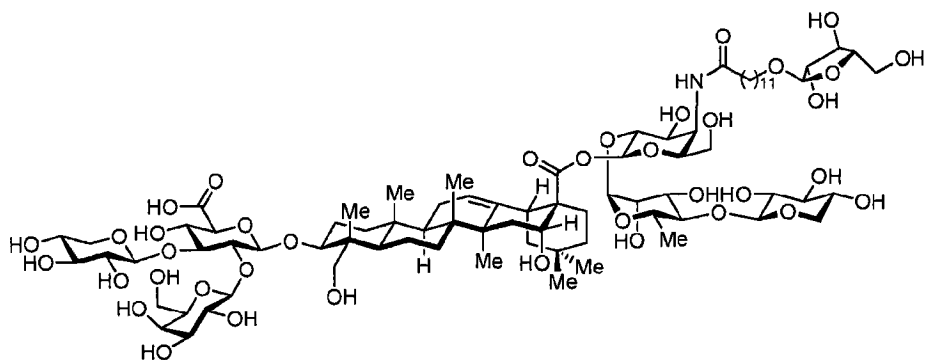
[0299]

**I-11****I-12****I-13**

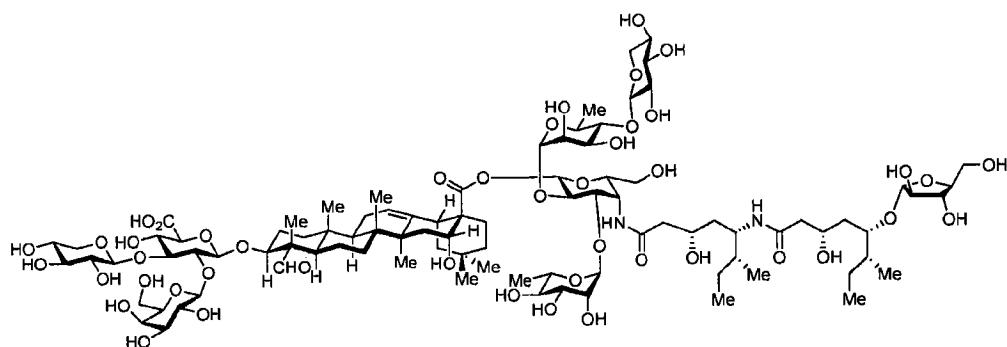
[0300]



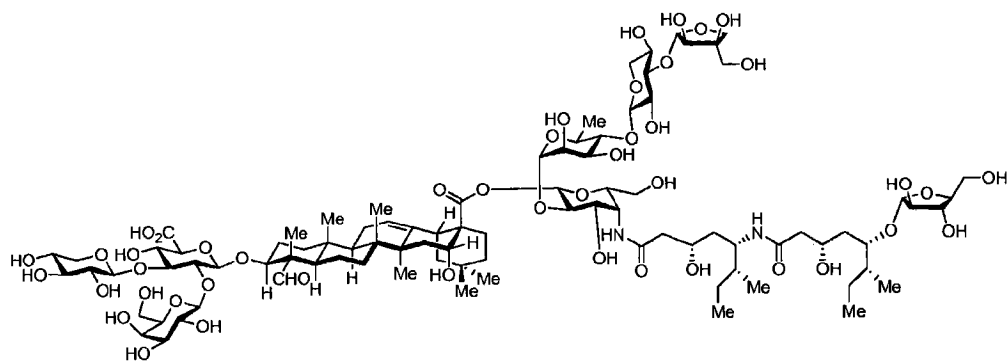
I-14



I-15

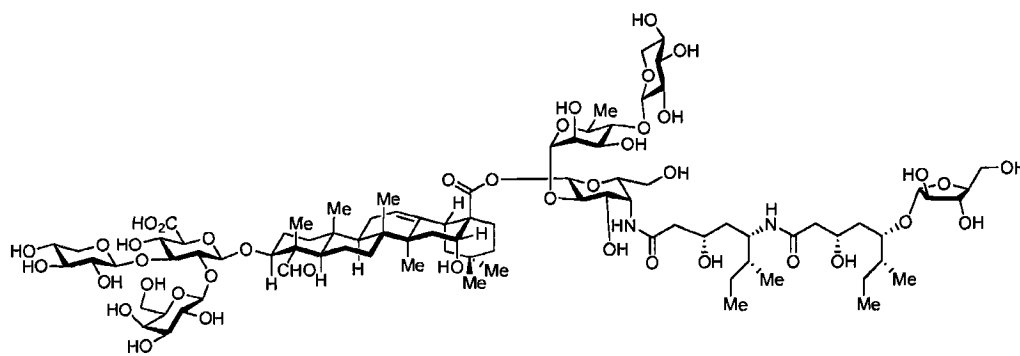


I-16

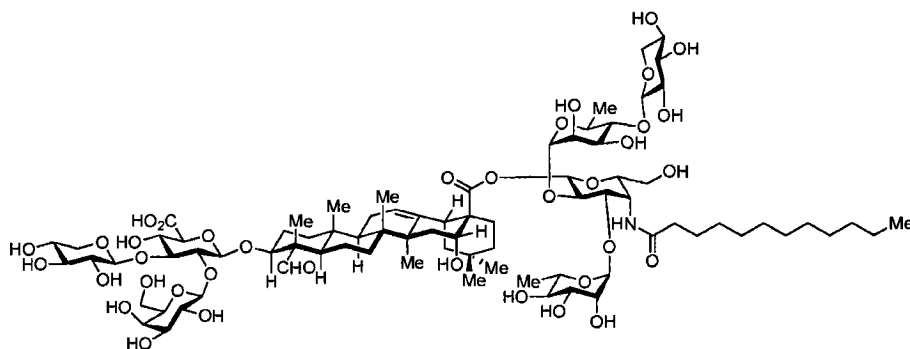


I-17

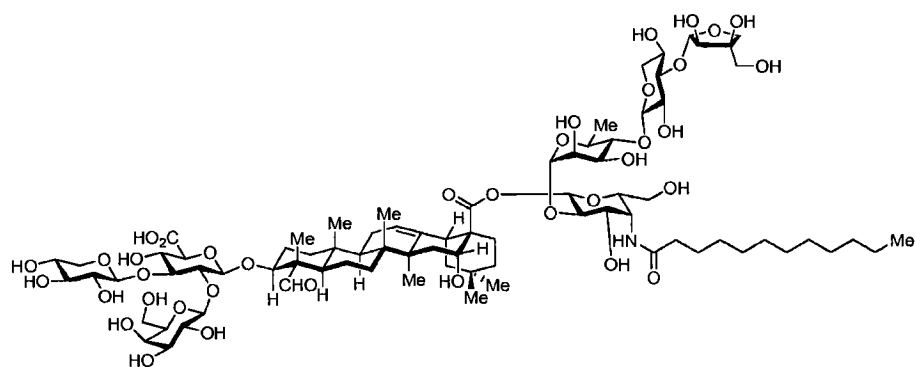
[0301]



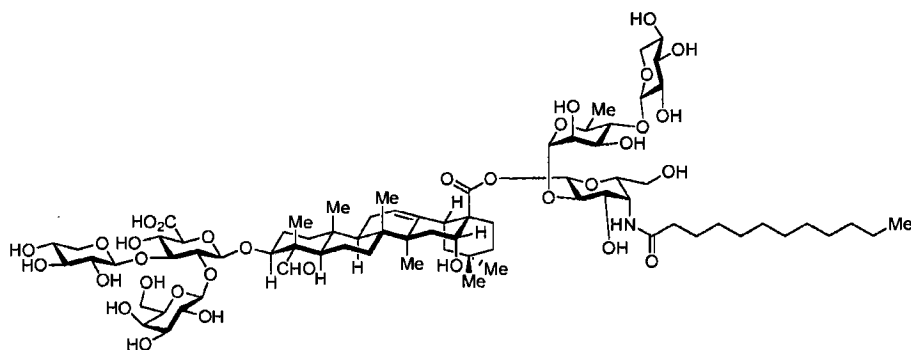
I-18



I-19

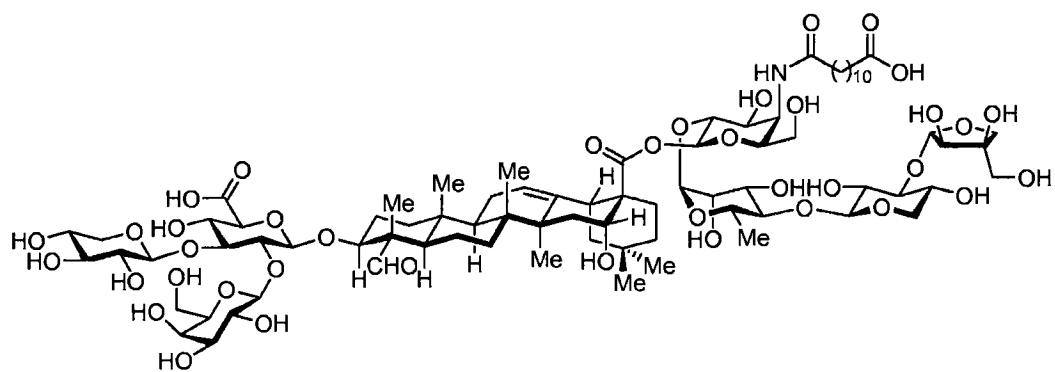


I-20

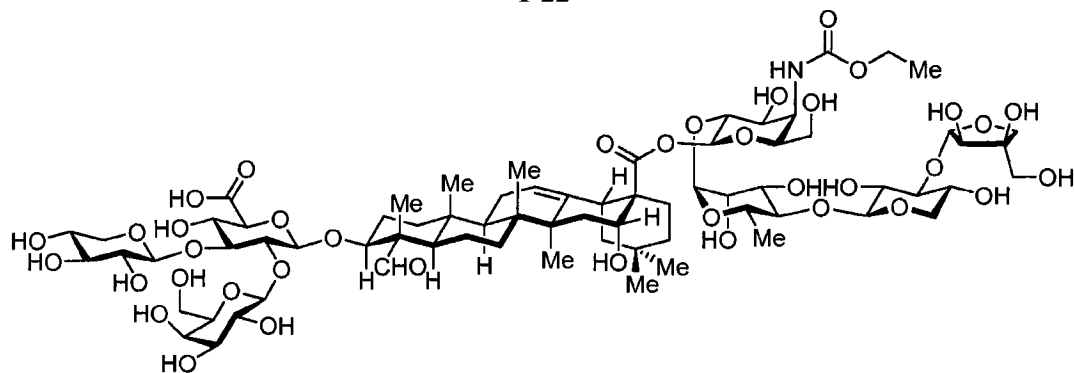


I-21

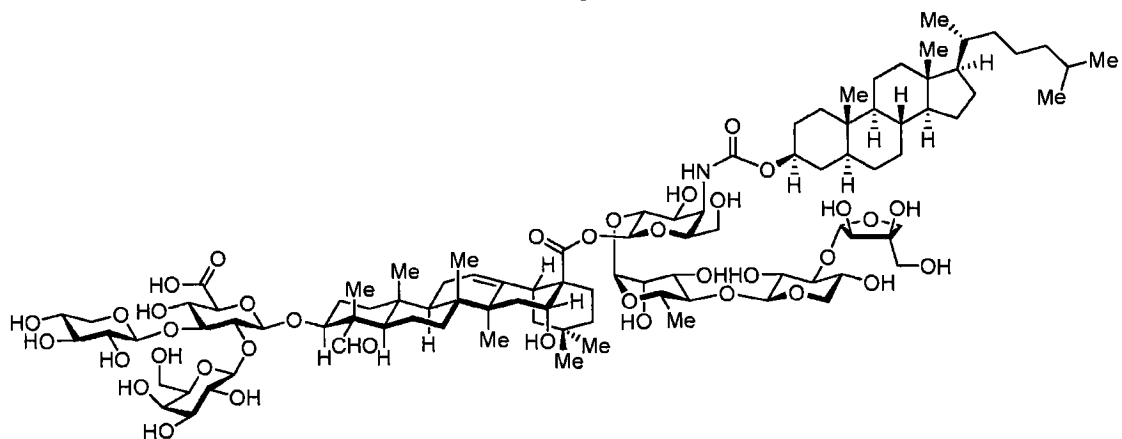
[0302]



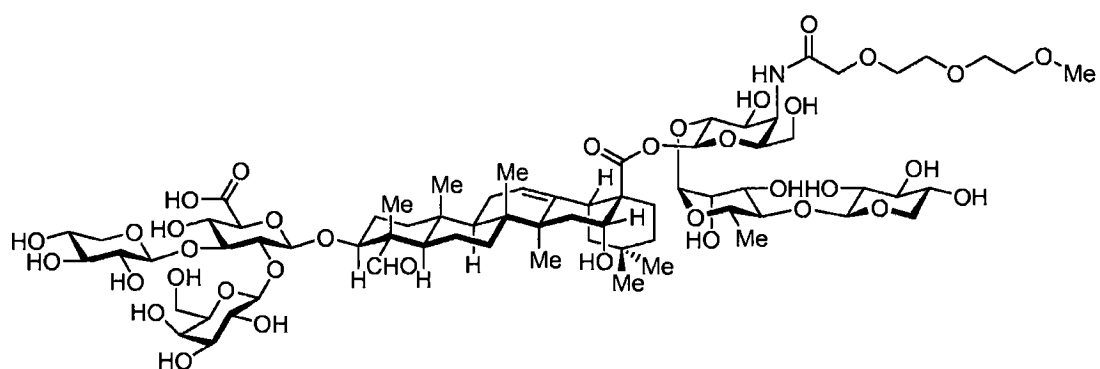
I-22



I-23

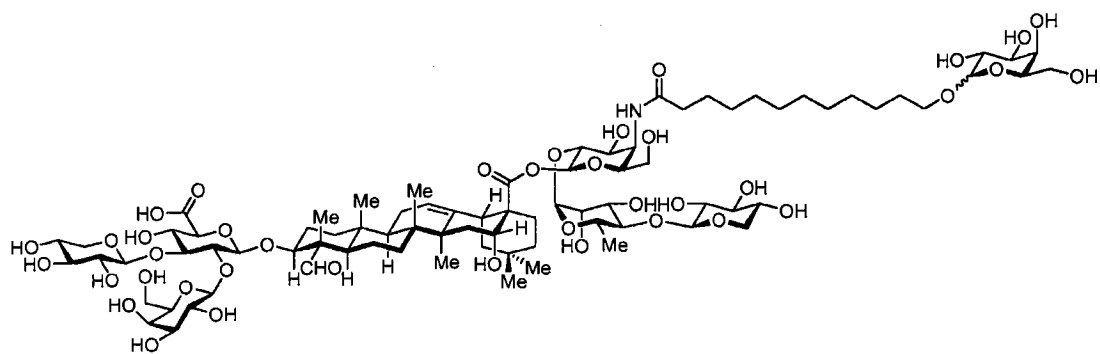
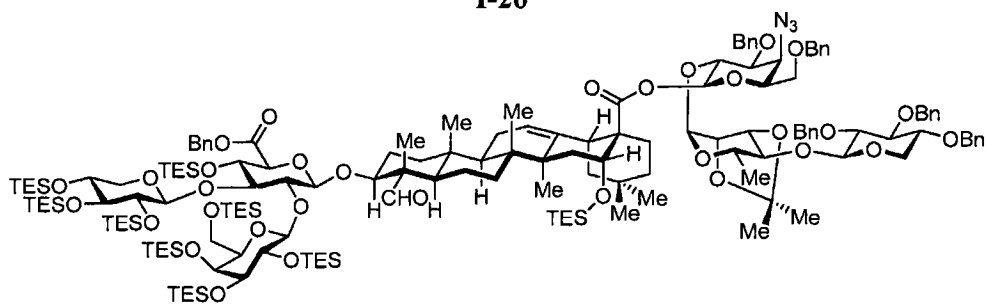
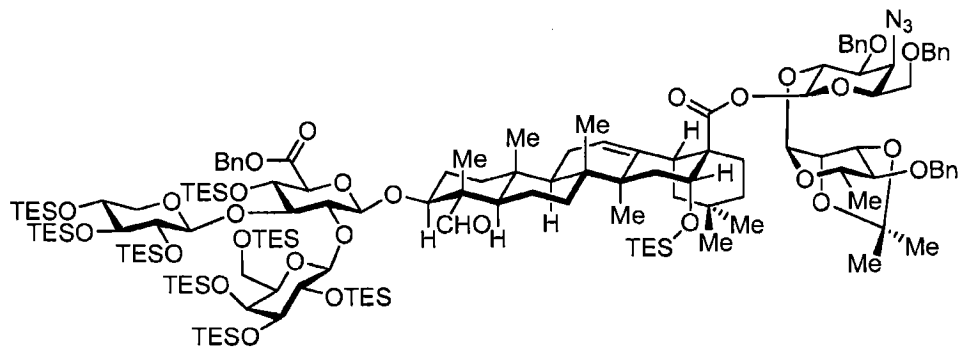
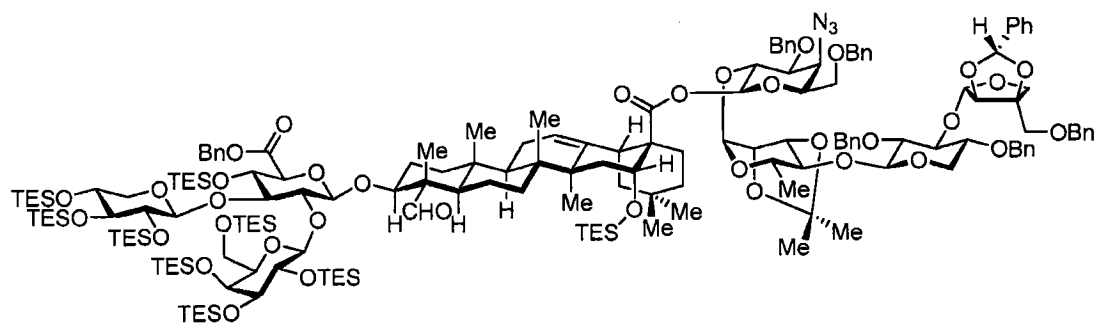


I-24



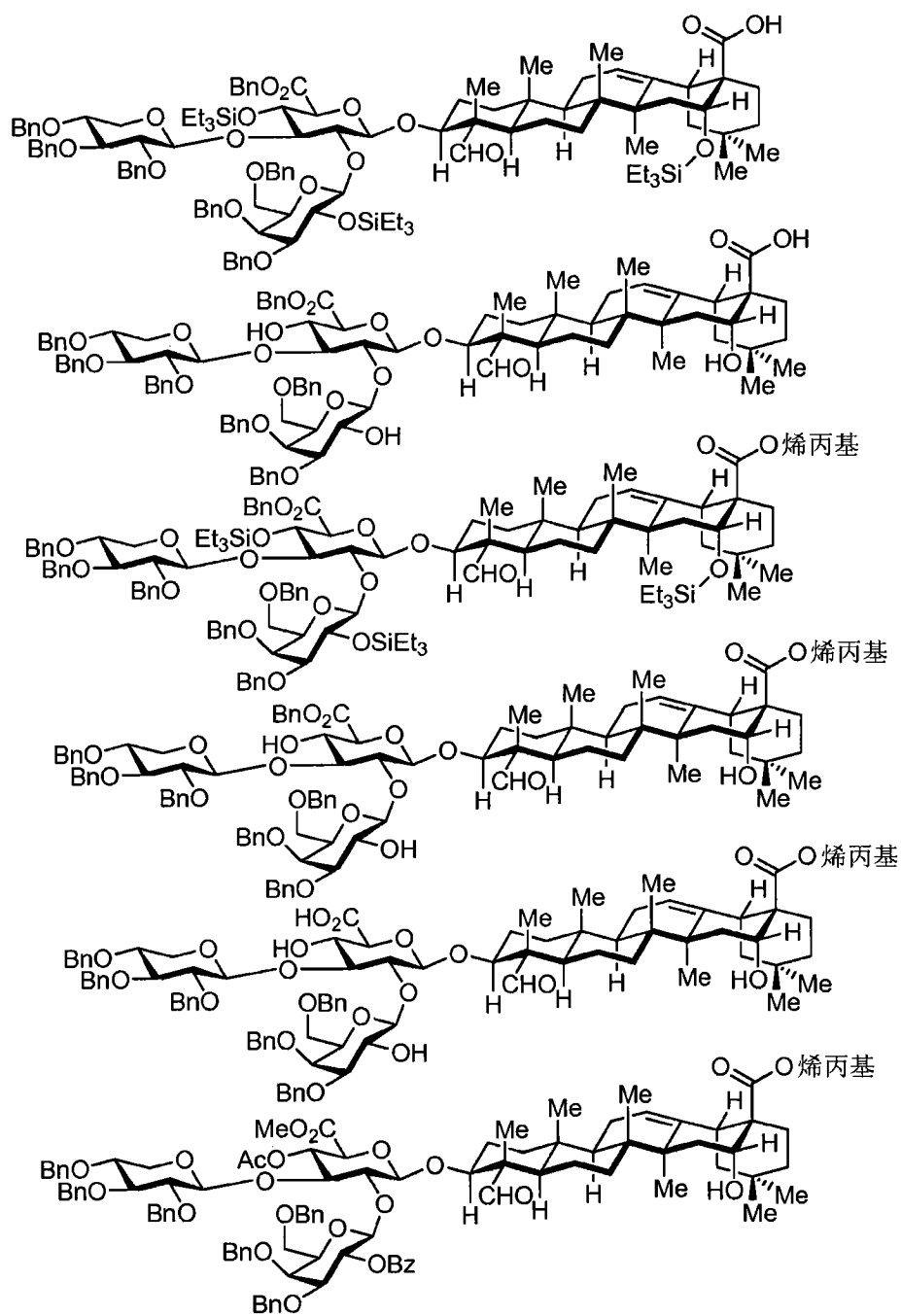
I-25

[0303]

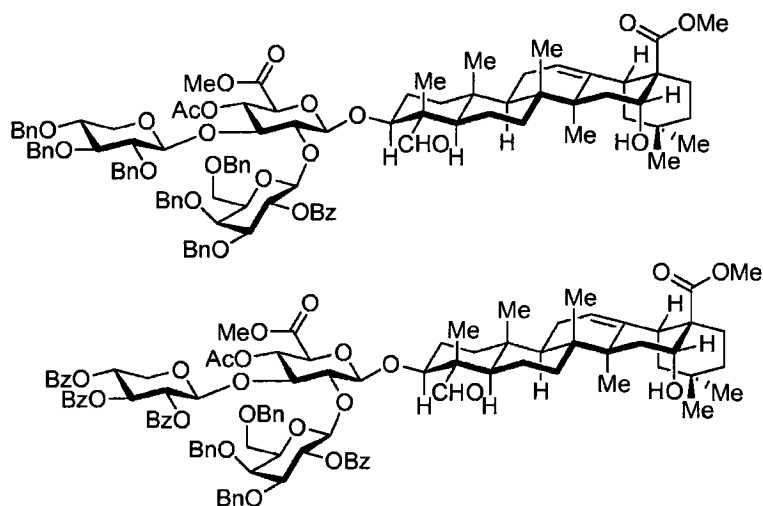
**I-26****I-27****I-28****I-29**

[0304] 在某些实施例中,式 I 化合物不选自以下:

[0305]



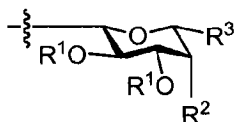
[0306]



[0307] 应了解,本发明的目标并不是要求现有技术中所揭示的作为对天然存在的次皂苷元或皂苷进行的分离或降解研究的结果的化合物。

[0308] 如上文关于式 I 化合物所述,在一些实施例中,Y 为 -O-;Z 为具有以下结构的碳水化合物结构域:

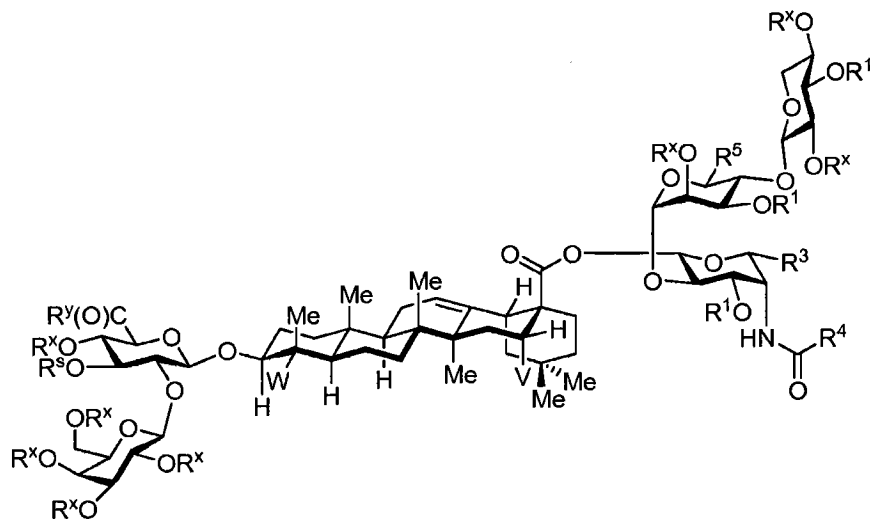
[0309]



[0310] 其中 R^1 每次出现时都为 R^x 或包含呋喃糖或吡喃糖部分的碳水化合物结构域;且 R^2 为 $-NHC(O)R^4$ 。

[0311] 因此,根据一个方面,所提供的化合物具有式 II:

[0312]

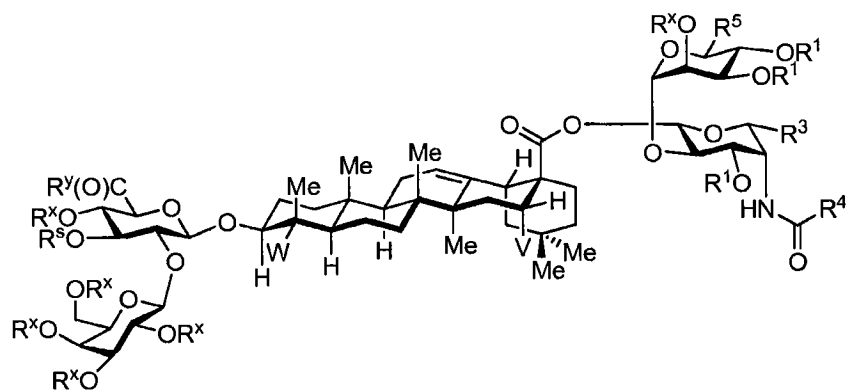


II

[0313] 其中 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^x 、 R^y 、V 和 W 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0314] 在一些实施例中,所提供的化合物具有式 II-a:

[0315]

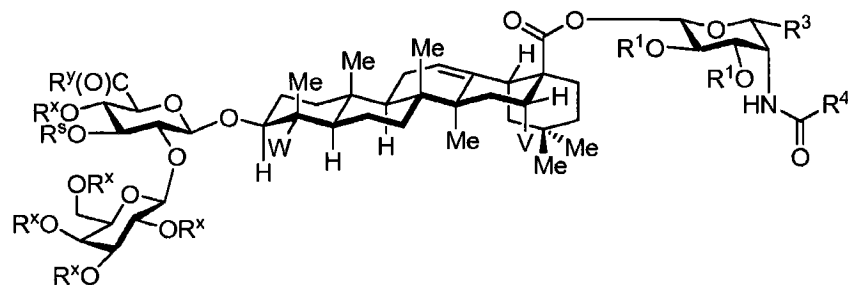


II-a

[0316] 其中 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^x 、 R^s 、 R^y 、V 和 W 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0317] 在一些实施例中,所提供的化合物具有式 II-b:

[0318]

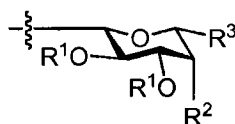


II-b

[0319] 其中 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^x 、 R^s 、 R^y 、V 和 W 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0320] 如上文关于式 I 化合物所述,在一些实施例中,Y 为 -O-;且 Z 为具有以下结构的碳水化合物结构域:

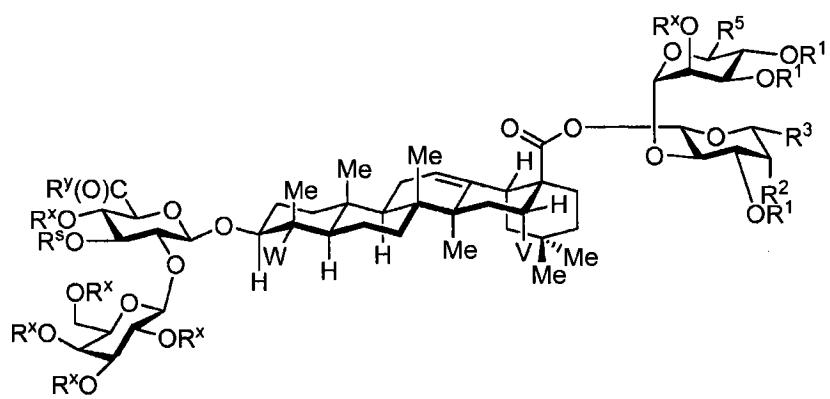
[0321]



[0322] 其中 R^1 每次出现时都为 R^x 或包含呋喃糖或吡喃糖部分的碳水化合物结构域。

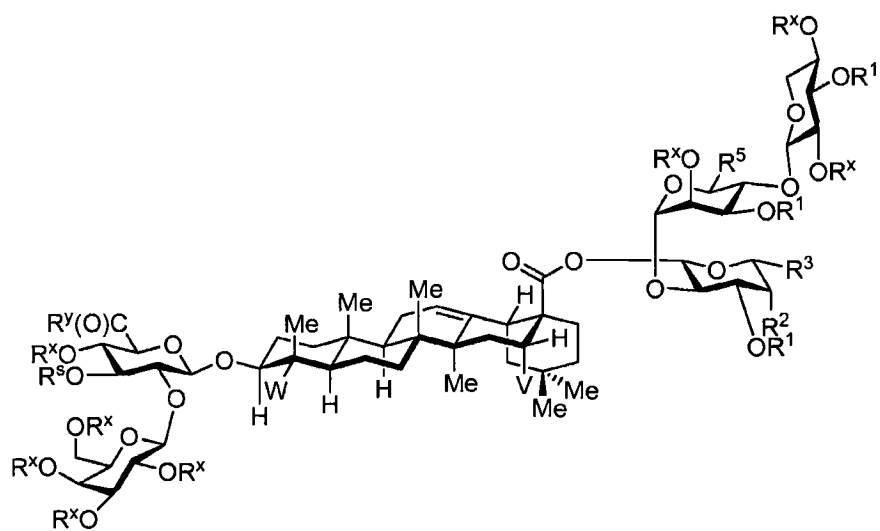
[0323] 因此,根据一个方面,所提供的化合物具有式 III、III-a、III-b、III-c、III-d、III-e、III-f 或 III-g:

[0324]

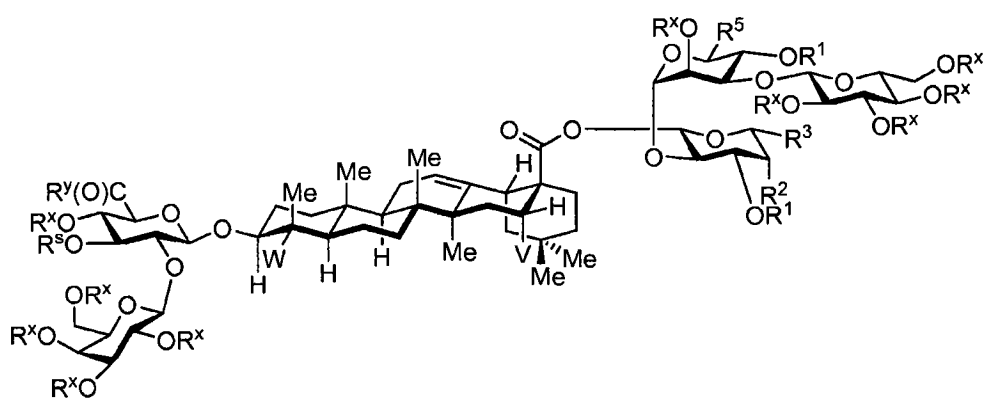


III

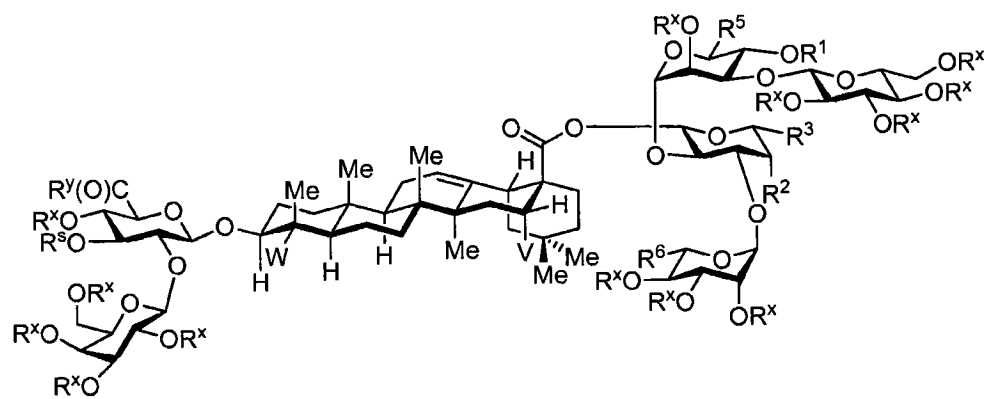
[0325]



III-a

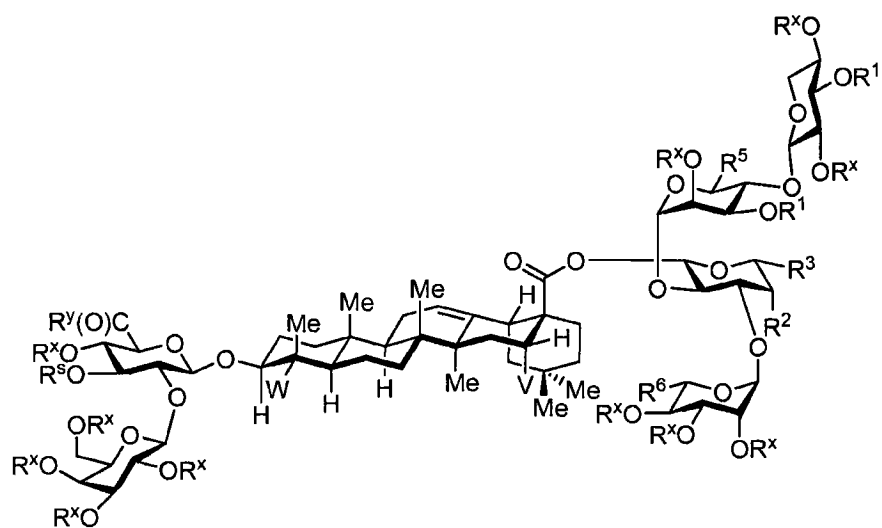


III-b

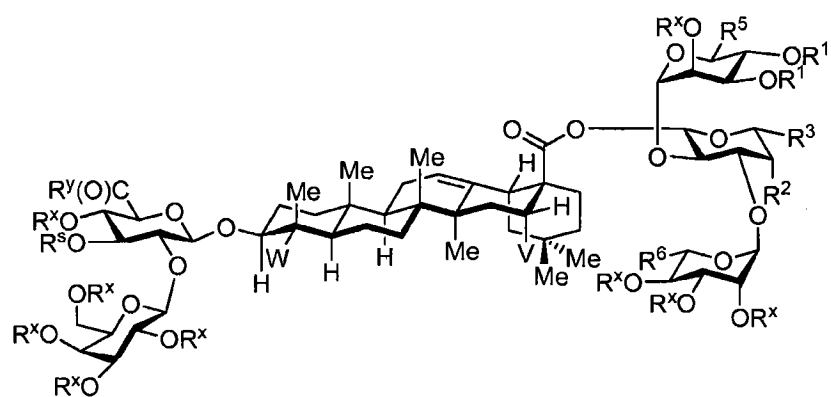


III-c

[0326]



III-d



III-e

[0327]



[0329] 如上文关于式 I 化合物所述,在某些实施例中, R^x 每次出现时都独立地为合适的羟基保护基;Y 为 CH_2 、-O-、-NR- 或 -NH-;Z 为氢;选自酰基、脂族基、杂脂族基、芳基、芳基烷基和杂芳基组成的群组的任选取代的环状或非环状部分。因此,根据另一方面,所提供的化合物具有式 IV:

[0330]



[0331] 其中：

[0332] --- 为单键或双键；

[0333] Y' 为氢、卤素、烷基、芳基、 OR 、 OR^y 、 OH 、 NR_2 、 NR_3^+ 、 NHR 、 NH_2 、 SR 或 $NROR$ ；

[0334] W 为 Me 、 $-CHO$ 、 $\begin{array}{c} R^xO \\ | \\ \text{---} \\ | \\ OR^x \end{array}$ 、 $-CH_2OR^x$ 或 $-C(O)R^y$ ；

[0335] V 为氢或 $-OR^x$ ；

[0336] R^y 为 $-OH$ 或选自由酯、酰胺和酰肼组成的群组的羧基保护基；

[0337] R^s 为 $\begin{array}{c} R^xO \\ | \\ \text{---} \\ | \\ R^xO \end{array}$ 或 $\begin{array}{c} R^xO \\ | \\ \text{---} \\ | \\ OR^x \end{array}$ ；

[0338] $R^{x'}$ 每次出现时都独立地为选自以下的任选取代的基团：6-10 元芳基、 C_{1-6} 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C_{1-6} 杂脂族基；或

[0339] 两个 $R^{x'}$ 一起形成具有 1-2 个独立地选自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-7 元杂环；

[0340] R 每次出现时都独立地为氢、选自以下的任选取代的基团：酰基、芳基烷基、6-10 元芳基、 C_{1-12} 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C_{1-12} 杂脂族基；

[0341] R^x 每次出现时都独立地为氢、或氧保护基。

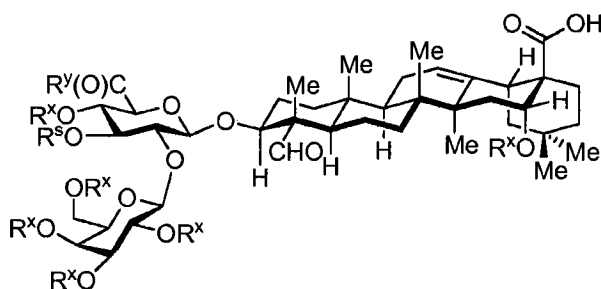
[0342] 在一些实施例中， R^x 至少一次出现时为氧保护基。在一些实施例中， R^x 至少两次出现时为氧保护基。在一些实施例中， R^x 至少三次出现时为氧保护基。在一些实施例中， R^x 至少四次出现时为氧保护基。在一些实施例中，所有的 R^x 都为氧保护基。在一些实施例中， R^x 每次出现时都独立地为氧保护基。在某些实施例中，所有的 R^x 氧保护基都相同。在一些实施例中，至少一个 R^x 氧保护基不同于其它 R^x 氧保护基。

[0343] 在一些实施例中， Y' 不为 $-OMe$ 。在一些实施例中， Y' 不为 $-OH$ 。在一些实施例中， Y' 不为 $-O$ 烯丙基。在一些实施例中，如果所有的 R^x 基团同时为氢或如果至少 4 个 R^x 基团同时为甲基，那么 Y' 不为 $-OH$ 或 $-OMe$ 。

[0344] 在某些实施例中，至少一个 R^x 基团不为氢。在某些实施例中，至少一个 R^x 基团不为甲基。在某些实施例中，至少一个 R^x 基团不为氢或甲基。在某些实施例中， R^x 基团都不为氢。在某些实施例中， R^x 基团都不为甲基。在某些实施例中， R^x 基团都不为氢或甲基。

[0345] 在某些实施例中，所提供的化合物具有式 IV-b：

[0346]

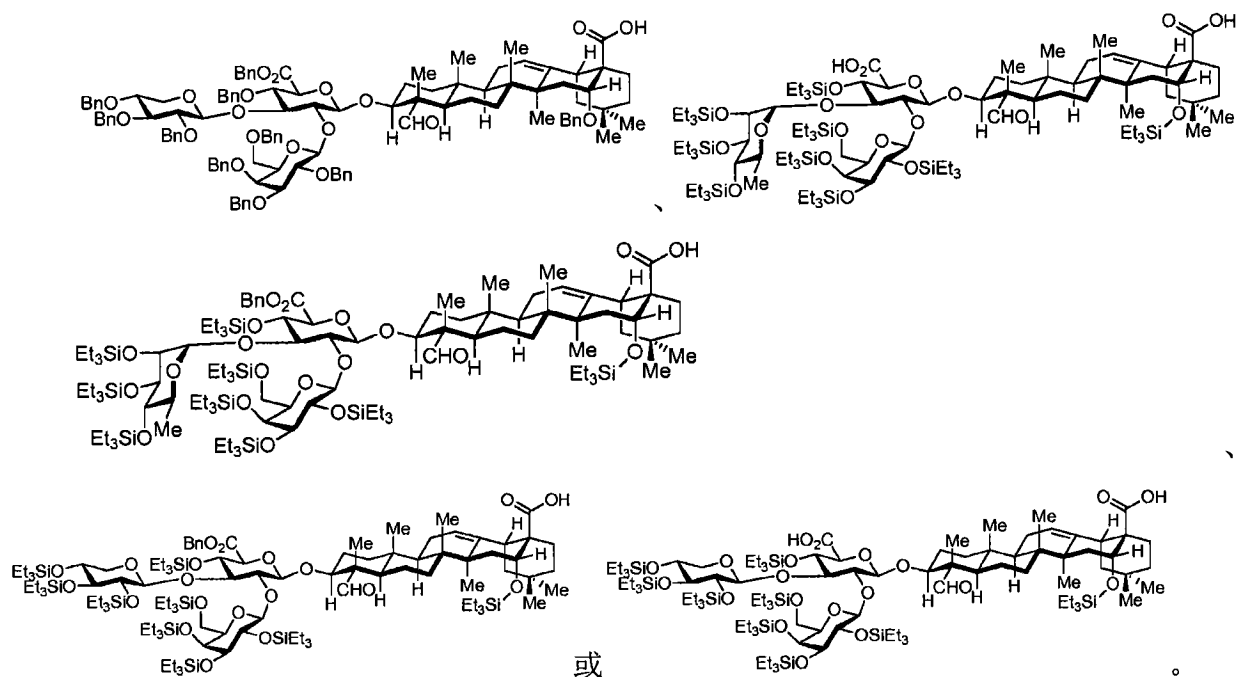


IV-b

[0347] 例示性的式 IV 化合物阐述于下表 1a 中。

[0348] 表 1a. 例示性的式 IV 化合物

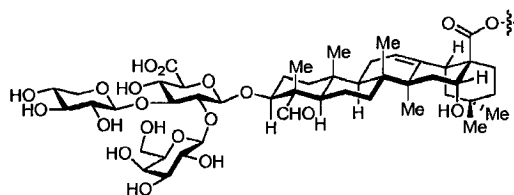
[0349]



[0350] 化合物的合成

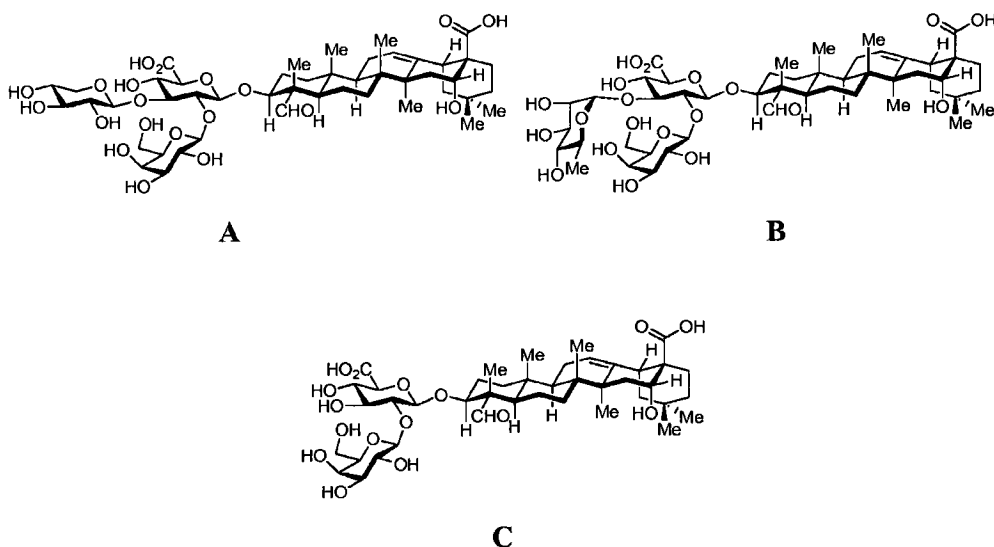
[0351] Quil-A(精确化学和科学公司(Accurate Chemical and Scientific Corporation), 纽约州(NY)韦斯特伯里(Westbury))为一种市售半纯化皂皮树提取物, 其包含至少 50 种不同的皂苷物质的混合物(范赛腾(van Setten, D.C); 范德韦肯(Vandewerken, G.); 佐梅尔(Zomer, G.); 凯斯滕(Kersten, G.F.A.), 质谱快报(Rapid Commun. Mass Spectrom.), 1995, 9, 660-666)。多种所述皂苷物质包括如在例如 QS-21 和 QS-7 等免疫活性的皂树皂苷中发现的三萜-三糖子结构。

[0352]



[0353] 已证实(郭(Guo, S.); 肯尼(Kenne, L.); 朗格(Lundgren, L.N.); 隆伯格(Rönberg, B.); 桑奎斯特(Sundquist, B.G.), 植物化学(Phytochemistry), 1998, 48, 175-180), 皂苷混合物进行碱水解, 会得到富集三种次皂苷元 A、B 和 C 的混合物:

[0354]



[0355] 然而,此半纯的次皂苷元水解混合物的进一步使用受到如下事实阻碍:次皂苷元 A 和 B 无法通过硅胶色谱法来分离,这两者的不同之处仅在于 α -L-Rha 和 β -D-Xyl 残基。

[0356] 其它工作已描述高纯或半纯的次皂苷元和皂苷的分离 (W000/09075、美国专利第 6, 231, 859 号、第 5, 977, 081 号、第 6, 080, 725 号、第 6, 262, 029 号 ; 希古切 (Higuchi) 等人, 植物化学, 1987, 26, 229-235 ; 布朗 (Brown, F.), 哈海因 (Haahein, LR) (编), 生物学标准化的发展 (Dev Biol Stand.), 第 92 卷 ; 布朗 (Brown, F.) 和哈海因 (Haahein, LR.), 卡尔格 (Karger), 巴塞尔 (Basel) : 1998, 第 41-47 页 ; 肯席尔 (Kensil), 1991, 上文 ; 范赛腾, 上文)。然而, 这些程序在成本和劳动力方面效率并不高, 常常需要进行数轮的硅胶和 / 或 HPLC 纯化来分离所需产物。此外, 各批次的市售 QS 样品存在变化, 以致一些批次不含具有含鼠李糖的支链三糖的皂苷。先前描述的分离或降解研究都无法有效地获得纯的次皂苷元或皂苷元。举例来说, 美国专利第 6, 231, 859 号描述在依次进行一次硅胶色谱法和另外三轮或四轮 HPLC 后, 分离出 98% 纯的 QS-21。QS-21 的最后产量为从 20g 皂皮树提取物获得 59mg (参见实例 1 和 2)。分离 QS-7 的类似程序从 20g 皂皮树提取物得到 7mg 经纯化的 QS-7 (最终纯度未报导) (参见实例 1 和 4)。这些产量和纯度对于大规模生产医药等级的佐剂来说是不够的。

[0357] 在本发明的一个方面中,申请者意外地发现一种可使衍生的次皂苷元 A 和 B 通过硅胶色谱法轻易分离的策略。一方面,次皂苷元 A 和 B 上的羟基经如本文所述的合适保护基衍生化,得到可通过硅胶色谱法分离的衍生物。在一些实施例中,所有羟基都用同一种保护基衍生化。在其它实施例中,不同的羟基具有不同的保护基。在某些实施例中,羟基经保护的次皂苷元 A 和 B 衍生物在其一个或两个羧酸基上也具有保护基。

[0358] 在某些实施例中,次皂苷元 A 和 B 进行聚(硅烷化),其中所有羟基都转化成硅烷基醚,得到聚(硅烷化)二酸次皂苷元 A 与 B 的混合物,这两者可易于通过硅胶色谱法分离。在一些实施例中,使用聚(硅烷化),得到次皂苷元 A 和 B 的九(三烷基硅烷基)醚。在一些实施例中,使用聚(硅烷化),得到次皂苷元 A 和 B 的九(三乙基硅烷基)醚。在一些实施例中,使用聚(硅烷化),得到次皂苷元 A 和 B 的九(三甲基硅烷基)醚。

[0359] 在其它实施例中,次皂苷元 A 和 B 上的羟基衍生为聚(苯甲基)醚,得到次皂苷元 A 与 B 的聚(苯甲基)二酸的混合物,这两者可易于通过硅胶色谱法分离。在一些实施例

中,使用聚(苯甲基)醚化,得到次皂苷元 A 和 B 的九(苯甲基)醚。

[0360] 一般技术人员应了解,可使用许多合适的保护基,且也可任选地保护一个或两个羧酸基。在某些实施例中,在次皂苷元 A 和 B 的羟基衍生化之前,选择性地保护葡糖醛酸基。在一些实施例中,在次皂苷元 A 和 B 的羟基衍生化之后,选择性地保护葡糖醛酸基。

[0361] 各批次的市售皂皮树提取物存在变化,此可能导致产生含有除 A、B 和 C 以外的次皂苷元的水解皂苷混合物。在某些实施例中,水解皂苷混合物进行所述的保护基策略,得到次皂苷元 A 与 B 的富集混合物。在一些实施例中,皂苷混合物含有一种或一种以上其它次皂苷元,例如次皂苷元 C。在某些实施例中,首轮色谱法用以使皂苷混合物富集次皂苷元 A 和 B。

[0362] 其它次皂苷元可进行碱水解以及上文和本文中所述的保护基策略。可用本发明保护基衍生化的皂苷的实例包括甘草酸、常春藤皂苷 C、 β -七叶皂苷、向日葵皂苷 2、人参皂苷 Rd 和皂苷集等。

[0363] 在一些实施例中,次皂苷元的混合物含有鼠李糖残基。在一些实施例中,次皂苷元的混合物不含鼠李糖残基。在一些实施例中,次皂苷元的混合物来源于丝石竹皂苷(Gypsoside)A。

[0364] 在某些实施例中,次皂苷元的混合物含有二糖。在一些实施例中,二糖为半乳糖-葡糖醛酸。

[0365] 如本文所述,具有本发明保护基的次皂苷元可通过合适的物理方式彼此分开和分离。术语“通过合适的物理方式分开”是指分开次皂苷元或皂苷的混合物的方法。这些方法为所属领域中所熟知且尤其包括优先结晶、色谱法和湿磨。所属领域的技术人员认识到,这些方法可使主要成份与次要成份分开和分离。

[0366] 在一些实施例中,合适的保护基使所提供的化合物结晶。在某些实施例中,使用优先结晶来分开所提供的化合物。

[0367] 应了解,旨在分开次皂苷元 A 和 B 的衍生物的色谱法步骤可以根据所属领域中已知的方法进行。在某些实施例中,对所有羟基都具有合适保护基的次皂苷元 A 和 B 的衍生物进行色谱法。在一些实施例中,对次皂苷元 A 和 B 的聚(苯甲基)二酸进行色谱法。在一些实施例中,对次皂苷元 A 和 B 的聚(硅烷基)醚二酸进行色谱法。在一些实施例中,对一个或两个羧酸基具有保护基的次皂苷元 A 和 B 的聚(苯甲基)醚进行色谱法。在一些实施例中,对一个或两个羧酸基具有保护基的次皂苷元 A 和 B 的聚(硅烷基)醚进行色谱法。

[0368] 在某些实施例中,色谱法为重力硅胶色谱法。在某些实施例中,色谱法为快速硅胶色谱法。在某些实施例中,色谱法为重力氧化铝凝胶色谱法。在某些实施例中,色谱法为快速氧化铝凝胶色谱法。在某些实施例中,色谱法为高压液相色谱法(HPLC)。

[0369] 在一些实施例中,通过合适的物理方式分开可得到纯度>70%的次皂苷元化合物。在一些实施例中,通过合适的物理方式分开可得到纯度>80%的次皂苷元化合物。在一些实施例中,通过合适的物理方式分开可得到纯度>90%的次皂苷元化合物。在一些实施例中,通过合适的物理方式分开可得到纯度>95%的次皂苷元化合物。在一些实施例中,通过合适的物理方式分开可得到纯度>98%的次皂苷元化合物。在一些实施例中,通过合适的物理方式分开可得到纯度>99%的次皂苷元化合物。在一些实施例中,通过合适的物理方式分开可得到纯度>99.5%的次皂苷元化合物。在一些实施例中,通过合适的物理方

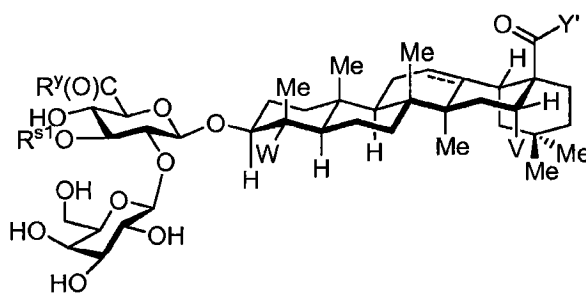
式分开可得到纯度 > 99.9% 的次皂苷元化合物。

[0370] 在某些实施例中,所提供的式 I 化合物的纯度 > 80%。在一些实施例中,所提供的式 I 化合物的纯度 > 90%。在一些实施例中,所提供的式 I 化合物的纯度 > 95%。在一些实施例中,所提供的式 I 化合物的纯度 > 98%。在一些实施例中,所提供的式 I 化合物的纯度 > 99%。在一些实施例中,所提供的式 I 化合物的纯度 > 99.5%。在一些实施例中,所提供的式 I 化合物的纯度 > 99.9%。

[0371] 因此,根据另一方面,本发明提供一种使用保护基来分离次皂苷元的方法,所述方法包含以下步骤:

[0372] (a) 提供式 IV-a 次皂苷元的混合物:

[0373]



IV-a

[0374] 其中:

[0375] $\equiv$ 为单键或双键;

[0376] Y' 为氢、卤素、烷基、芳基、OR、OR^y、OH、NR₂、NR₃⁺、NHR、NH₂、SR 或 NROR;

[0377] W 为 Me、-CHO、 $\begin{matrix} R^xO \\ | \\ \text{---} \end{matrix}$ 、 $\begin{matrix} OR^x \\ | \\ \text{---} \end{matrix}$ 、-CH₂OR^x 或 -C(O)R^y;

[0378] V 为氢或 -OR^x;

[0379] R^y 为 -OH 或选自由酯、酰胺和酰肼组成的群组的羧基保护基;

[0380] R^{s1} 为 或 ;

[0381] R^{x'} 每次出现时都独立地为选自以下的任选取代的基团: 6-10 元芳基、C₁₋₆ 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C₁₋₆ 杂脂族基; 或

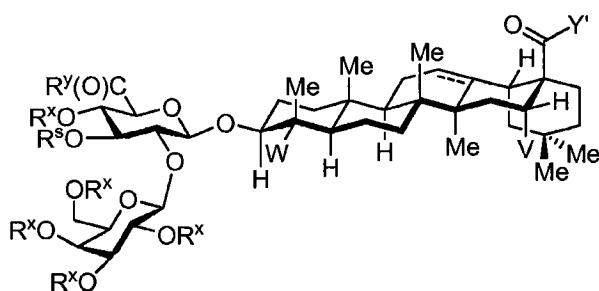
[0382] 两个 R^{x'} 一起形成具有 1-2 个独立地选自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 5-7 元杂环;

[0383] R 每次出现时都独立地为氢、选自以下的任选取代的基团: 酰基、芳基烷基、6-10 元芳基、C₁₋₆ 脂族基、或具有 1-2 个独立地选自由氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 C₁₋₆ 杂脂族基;

[0384] R^x 每次出现时都独立地为氢或选自由以下组成的群组的氧保护基: 烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯和碳酸酯;

[0385] (b) 在合适条件下处理所述式 IV-a 化合物, 形成式 IV 次皂苷元的混合物:

[0386]



IV

[0387] 其中 $\equiv$ 、 R^y 、 Y' 、V和W各自如关于式IV-a化合物所定义, R^s 如关于式I化合物所定义,且 R^x 每次出现时都独立地为氢或选自由以下组成的群组的氧保护基:烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯和碳酸酯;

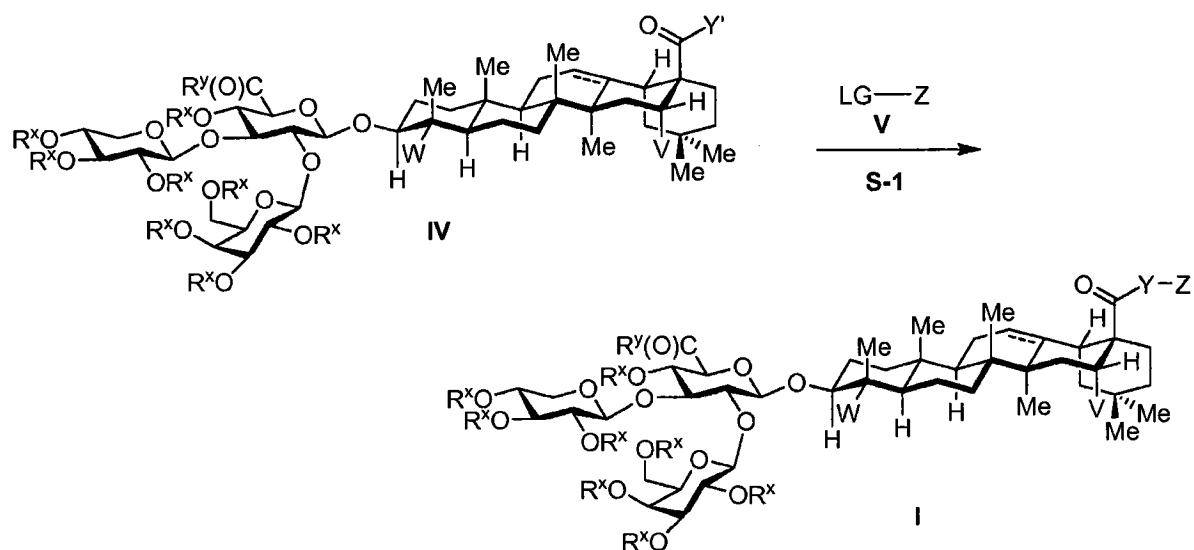
[0388] 和

[0389] (c) 通过合适的物理方式获得所述化合物IV。

[0390] 如上文所述,本发明提供制备式I化合物的方法。在一些实施例中,所提供的化合物的 R^x 和 R^y 基团为合适的保护基。不希望受任何特定的理论束缚,相信所提供的式IV化合物上存在所述保护基有助于式IV化合物与式V化合物反应形成式I化合物。如以下方案1中所描绘,式IV化合物可在合适条件下与式V化合物反应,得到式I化合物。

[0391] 方案1

[0392]

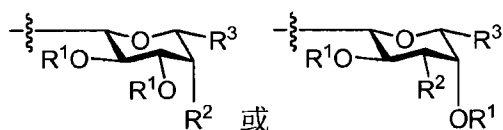


[0393] 其中 $\equiv$ 、 R^x 、 R^y 、V和W各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义;

[0394] Y' 为氢、卤素、烷基、芳基、OR、 OR^y 、OH、 NR_2 、 NR_3^+ 、NHR、 NH_2 、SR或NROR;

[0395] Z为氢;选自由酰基、脂族基、杂脂族基、芳基、芳基烷基和杂芳基组成的群组的任选取代的环状或非环状部分;或具有以下结构的碳水化合物结构域:

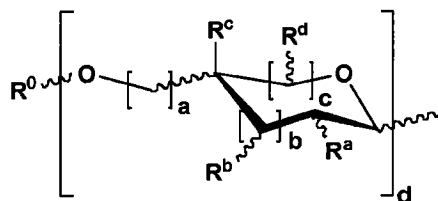
[0396]



[0397] 其中:

[0398] R^1 每次出现时都为 R^x 或具有以下结构的碳水化合物结构域:

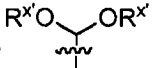
[0399]



[0400] 其中：

[0401] a、b 和 c 每次出现时都独立地为 0、1 或 2；

[0402] d 为 1-5 的整数，其中每个 d 框入的结构可为相同或不同的；其限制条件为 d 框入的结构表示呋喃糖或吡喃糖部分，且 b 与 c 的和为 1 或 2；

[0403] R⁰ 为氢、选自由以下组成的群组的氧保护基：烷基醚、苄醚、硅烷基醚、缩醛、缩酮、酯、氨基甲酸酯和碳酸酯；或选自由以下组成的群组的任选取代的部分：酰基、C₁₋₁₀ 脂族基、C₁₋₆ 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基；[0404] R^a、R^b、R^c 和 R^d 每次出现时都独立地为氢、卤素、OH、OR、OR^x、NR₂、NHCOR、或选自以下的任选取代的基团：酰基、C₁₋₁₀ 脂族基、C₁₋₆ 杂脂族基、6-10 元芳基、芳基烷基、具有 1-4 个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的 5-10 元杂芳基、具有 1-2 个独立地选自氮、氧和硫组成的群组的杂原子的 4-7 元杂环基。[0405] 所属领域的技术人员应了解，所提供的化合物可经受还原条件（即 LiAlH₄、NaBH₄、AlH₃、NaBH₃(OAc)、Zn(BH₄)₂·Et₃SiH 和马奇 (March) (上文) 中所述的其它还原条件)，从而将醛部分转化成醇或甲基。所提供的化合物也可经受氧化条件（即 MnO₄⁻、铬酸、溴、Oxone®、氧化银和马奇 (上文) 中所述的其它氧化条件)，从而将醛部分转化成羧基。这些羟基或羧基可经如上文和本文中定义的合适保护基保护。[0406] 因此，在某些实施例中，W 为 Me、-CHO、、-CH₂OR^x 或 -C(O)OR^y。在某些实施例中，W 为甲基。在其它实施例中，W 为 -CHO。在某些实施例中，W 为 -CH₂OR^x。在其它实施例中，W 为 -C(O)OR^y。在一些实施例中，W 为 -CH₂OH。在其它实施例中，W 为 -CH₂OBn。在其它实施例中，W 为 -CH₂OSiEt₃。在某些实施例中，W 为 -C(O)OH。在其它实施例中，W 为 -C(O)OBn。[0407] 在某些实施例中，V 为 -OR^x。在一些实施例中，V 为 -OH。在一些实施例中，V 为氢。[0408] 如上文所定义， 表示单键或双键。应了解，式 IV 化合物可经受氢化条件（即雷尼镍 (Raney-Ni)、Pd/C、NaBH₄、还原镍、亚当斯催化剂 (Adams' catalyst)、氧化锌、威尔金森催化剂 (Wilkinson's catalyst) 和马奇 (上文) 中所述的其它氢化条件)，从而将双键还原成单键。

[0409] 应了解，C28 羧基可转化成其它羰基官能团。在一些实施例中，羧基还原成醛。在其它实施例中，羧基转化成威因雷伯酰胺 (Weinreb amide)。在其它实施例中，羧基转化成酰胺。在其它实施例中，羧基转化成酯。

[0410] 如上文所定义，Y 为 CH₂、-O-、-NR- 或 -NH-。在某些实施例中，Y 为 CH₂。在某些实施例中，Y 为 -O-。在其它实施例中，Y 为 -NR-。在一些实施例中，Y 为 -NH-。

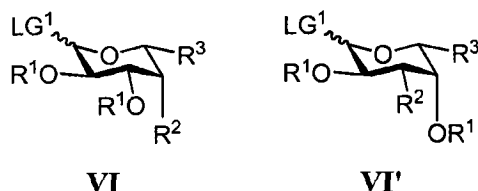
[0411] 本发明涵盖如下认识：明智地选择所提供的式 IV 化合物上的保护基允许连接于

C28 的 $-C(O)Y'$ 基团衍生化。在某些实施例中, $-C(O)Y'$ 为酮。在其它实施例中, $-C(O)Y'$ 为酰胺。在一些实施例中, $-C(O)Y'$ 为酯。

[0412] 式 V 的 LG 基团为合适的离去基。所属领域的技术人员应了解, 多种合适的离去基 LG 可用于促进步骤 S-1 中所述的反应, 且所有这些合适的离去基都涵盖于本发明中。合适的离去基为易于经引入的所需化学部分置换的化学基团。合适的离去基为所属领域中所熟知, 例如参见马奇 (上文)。这些离去基包括 (但不限于) 卤素、烷氧基、磺酰氧基、任选取代的烷基磺酰基、任选取代的烯基磺酰基、任选取代的芳基磺酰基和重氮部分。一些合适的离去基的实例包括氯、碘、溴、氟、甲烷磺酰基 (甲磺酰基)、甲苯磺酰基、三氟甲磺酸酯基、硝基-苯基磺酰基 (硝基苯磺酰基) 和溴-苯基磺酰基 (溴苯磺酰基)。其它离去基描述于本文中。

[0413] 在某些实施例中, 式 V 化合物为可充当糖基化供体的单糖或寡糖。因此, 根据本发明的另一方面, 所提供的化合物具有式 VI 或 VI' :

[0414]

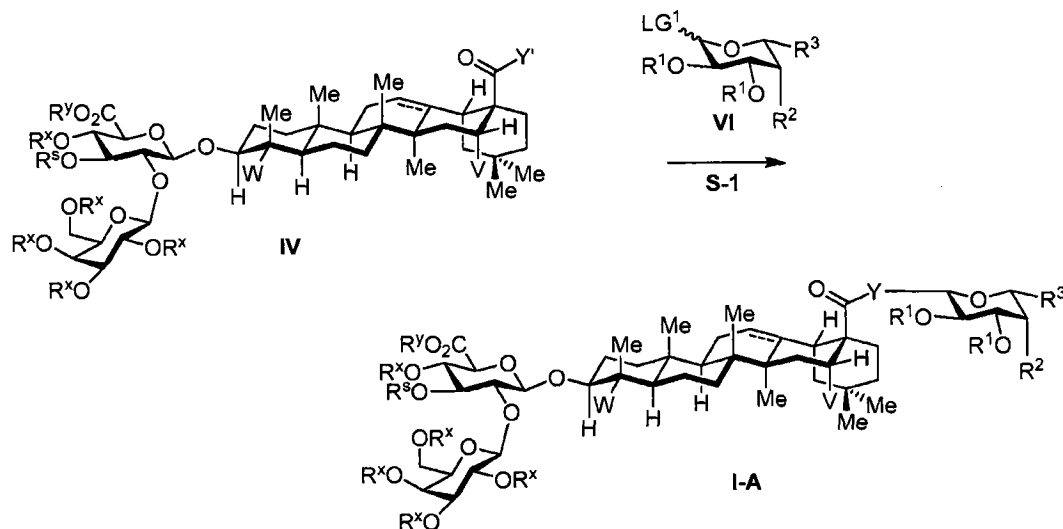


[0415] 其中 R^1 、 R^2 和 R^3 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义; 且 LG^1 为合适的离去基。

[0416] 如方案 2 中所描绘, 式 IV 化合物可在合适条件下与式 VI 化合物反应, 得到式 I-A 化合物。

[0417] 方案 2

[0418]



[0419] 其中 $\equiv$ 、 R^x 、 R^y 、 R^s 、V、W、 Y' 、Y、 R^1 、 R^2 、 R^3 和 LG^1 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0420] 式 VI 和 VI' 化合物的 LG^1 基团为如本文所定义和描述的糖苷供体离去基。所属领域的技术人员应了解, 多种合适的离去基 LG^1 可用于促进所述的反应, 且所有这些合适的离去基都涵盖于本发明中。

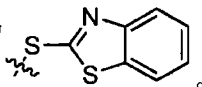
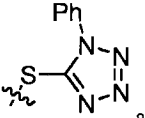
[0421] 在一些实施例中, LG^1 为单价的。在其它实施例中, LG^1 为二价的。在某些实施例中, 式 V 的 LG 基团为卤素、硫基烷基、硫基芳基、硫基杂芳基、硫氰基、O- 酰基、原酸酯、O- 碳酸酯基、S- 碳酸酯基、三氯酰亚胺酯基、4- 戊烯基、磷酸酯基、O- 磺酰基、O- 硅烷基、羟基、双吡丙啉或芳基硒基。

[0422] 如上文所述, 在某些实施例中, LG^1 基团为卤素。在一些实施例中, LG^1 为 Br。在一些实施例中, LG^1 为 Cl。在一些实施例中, LG^1 为 F。

[0423] 在一些实施例中, LG^1 为硫基烷基。在一些实施例中, LG^1 为 -SEt。在一些实施例中, LG^1 为 -SMe。

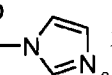
[0424] 在一些实施例中, LG^1 为硫基芳基。在一些实施例中, LG^1 为 -SPh。

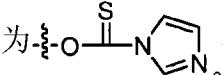
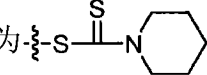
[0425] 在一些实施例中, LG^1 为硫基杂芳基。在一些实施例中, LG^1 为硫代吡啶基 (-SPy)。

在一些实施例中, LG^1 为 。在一些实施例中, LG^1 为 。

[0426] 在一些实施例中, LG^1 为 O- 酰基。在一些实施例中, LG^1 为 -OAc。在一些实施例中, LG^1 为 -OC(O)CH₂Br。在一些实施例中, LG^1 为 -OBz。在一些实施例中, LG^1 为 -OC(O)C₆H₄-p-NO₂。在一些实施例中, LG^1 为 -OC(O)Py。

[0427] 在一些实施例中, LG^1 基团可连同 Z 的另一部分一起形成环状部分。在某些实施例中, LG^1 连同 Z 的另一部分一起形成原酸酯或其衍生物。在某些实施例中, LG^1 基团包含叔丁基原酸酯。在一些实施例中, LG^1 基团包含 1- 氰基亚乙基。在一些实施例中, LG^1 基团包含 (对甲基苯基) 硫基亚乙基。在一些实施例中, LG^1 基团包含乙基硫基亚乙基。在一些实施例中, LG^1 基团包含 [N-(1- 苯基亚乙基) 氨基] 氧基 -2,2- 二甲基亚丙基。在一些实施例中, LG^1 基团包含环状硫代碳酸酯基。在一些实施例中, LG^1 基团包含双吡丙啉。

[0428] 在一些实施例中, LG^1 为 O- 碳酸酯基。在一些实施例中, LG^1 为 O- 黄原酸酯基。在一些实施例中, LG^1 为 -OC(S)SMe。在一些实施例中, LG^1 为 。在一些实施例中, LG^1

为 。在一些实施例中, LG^1 为 -SC(S)-OEt。在一些实施例中, LG^1 为 。

[0429] 在某些实施例中, LG^1 为三氯酰亚胺酯基。在一些实施例中, LG^1 为 -OC(NH)CCl₃。

[0430] 在某些实施例中, LG^1 为 4- 戊烯基。在一些实施例中, LG^1 为 -O(CH₂)₃CHCH₂。

[0431] 在某些实施例中, LG^1 包含磷酸酯基。在一些实施例中, LG^1 包含二苯基磷酸酯基。在一些实施例中, LG^1 包含二苯基磷酰亚胺酯基。在一些实施例中, LG^1 包含氨基磷酸酯基。在一些实施例中, LG^1 包含硫代磷二酰胺酰亚胺酯基 (phosphorodiamidimidothioate)。在一些实施例中, LG^1 包含二甲基硫代磷酸酯基。

[0432] 在某些实施例中, LG^1 为 O- 磺酰基。在一些实施例中, LG^1 为 -OTs。在一些实施例中, LG^1 为 -OMs。在一些实施例中, LG^1 为 -OTf。

[0433] 在一些实施例中, LG^1 为 O- 硅烷基。在一些实施例中, LG^1 为 -OTMS。在一些实施例中, LG^1 为 -OSiEt₃。在一些实施例中, LG^1 为 -OTBS。

[0434] 在某些实施例中, LG^1 为羟基。

[0435] 在某些实施例中, LG^1 为 α 键联的式 VI 化合物。在某些实施例中, LG^1 为 β 键联

的式 VI 化合物。

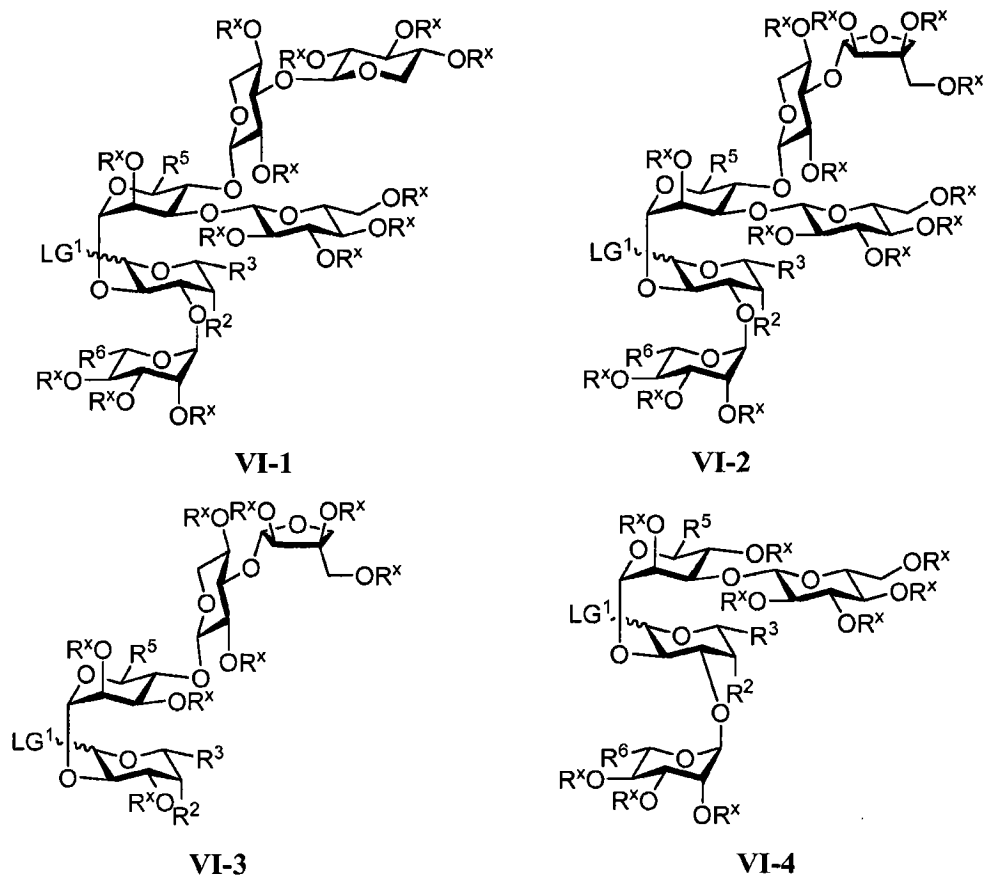
[0436] 在某些实施例中, LG^1 为正烯基。

[0437] 丰岛 (Toshima, K.) 和 龙田 (Tatsuta, K.), 化学评论 (Chem. Rev.), 1993, 93, 1503-1531 描述用于进行糖基化反应的一般方法和试剂, 此参考文献的全部内容以引用的方式并入本文中。

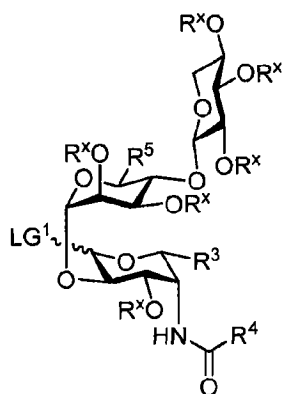
[0438] 在某些实施例中, 如关于步骤 S-1 所述, 通过使式 VI 或 VI' 的寡糖与式 IV 化合物结合, 得到式 I 化合物。在一些实施例中, 在步骤 S-1 之前, 整个寡糖制备为式 VI 化合物。在其它实施例中, 在步骤 S-1 中, 式 VI 单糖与式 IV 化合物结合, 且所得三萜-糖结合物进行进一步糖基化反应, 得到式 I 化合物。在一些实施例中, 采用允许选择性糖基化反应发生在最终三萜寡糖式 I 化合物的组装中的保护基策略。

[0439] 因此, 另一方面, 本发明提供式 VI-1、VI-2、VI-3、VI-4、VI-5、VI-6、VI-7、VI-8、VI-9、VI-10 和 VI-11 的化合物:

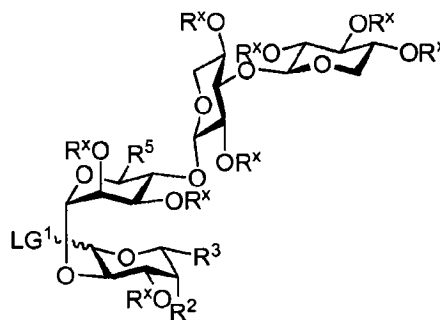
[0440]



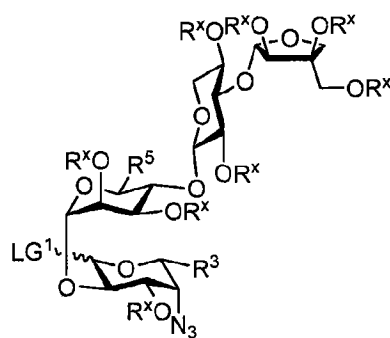
[0441]



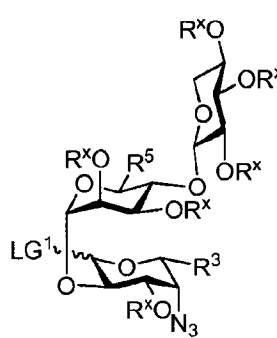
VI-5



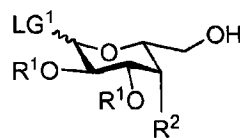
VI-6



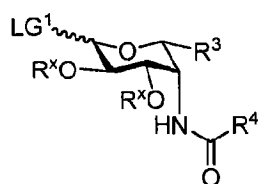
VI-7



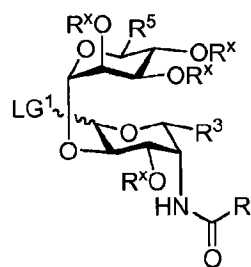
VI-8



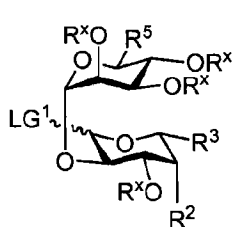
VI-9



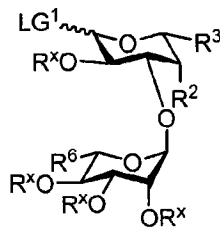
VI-10



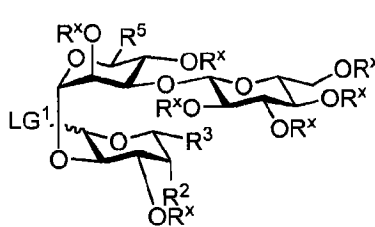
VI-11



VI-12



VI-13



VI-14

[0442] 其中 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^x 和 LG^1 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0443] 在某些实施例中,式 VI 化合物为单糖和 D-岩藻糖基。在一些实施例中,式 VI 化

合物为单糖和 L- 岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为单糖且不为岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为单糖且不为 D- 岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为单糖且不为 β -D- 岩藻糖基。

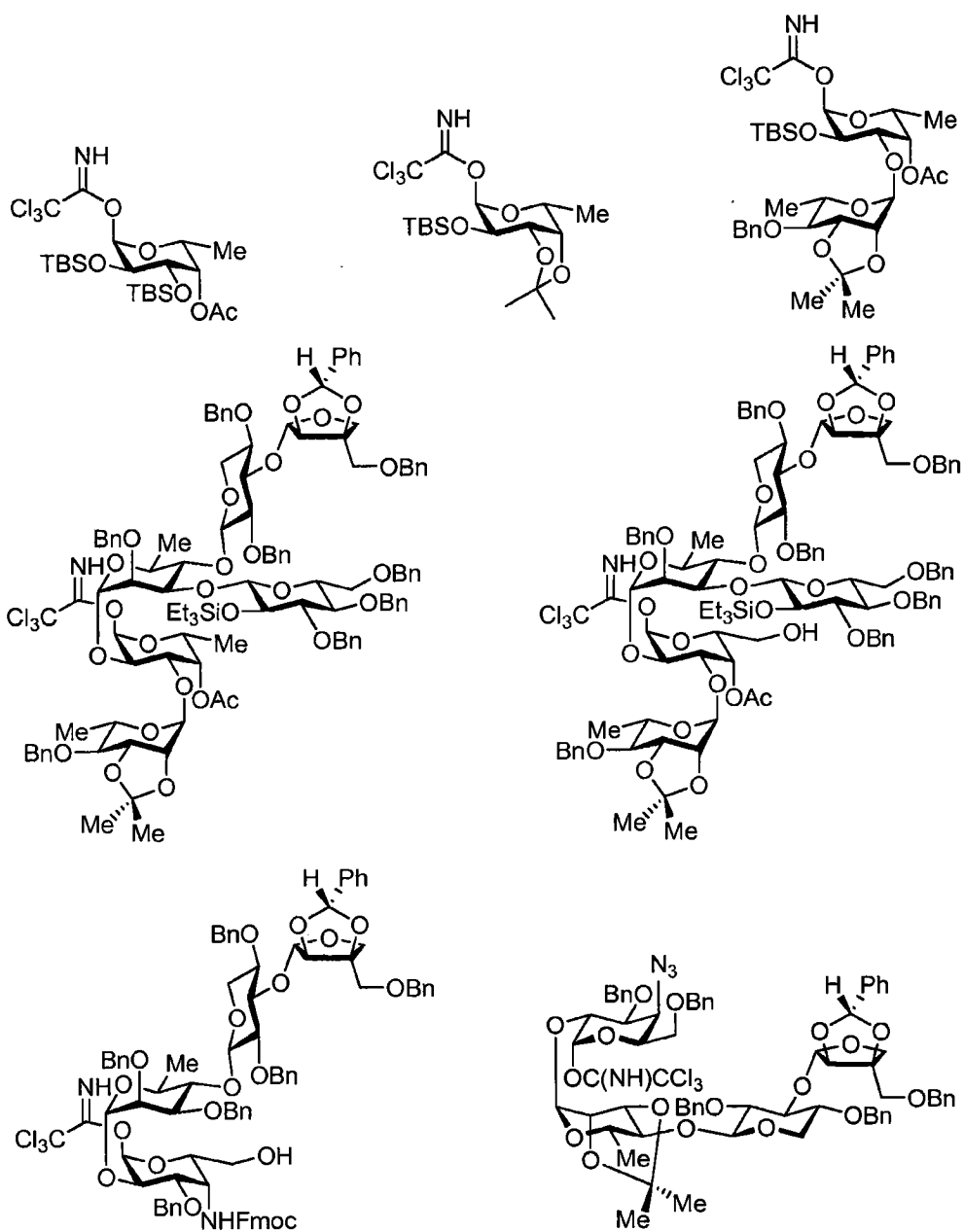
[0444] 在一些实施例中, 式 VI 化合物为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域为岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域不为 D- 岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域不为 β -D- 岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域不为 α -D- 岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为寡糖, 且直接连接于 Y 的碳水化合物结构域不为岩藻糖基。

[0445] 在一些实施例中, 式 VI 化合物为任选取代的单糖和 D- 岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为任选取代的单糖和 L- 岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为任选取代的单糖且不为岩藻糖基。在一些实施例中, 式 VI 化合物为任选取代的单糖且不为 β -D- 岩藻糖基。

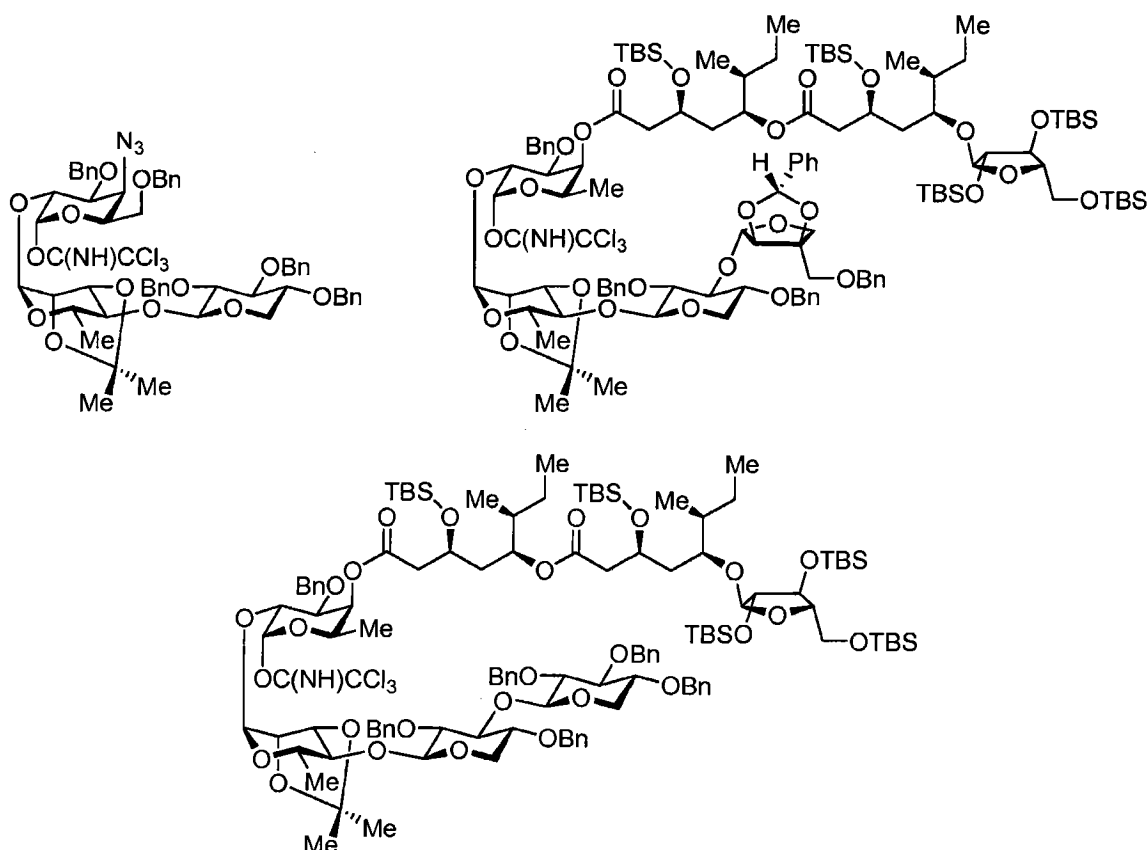
[0446] 例示性的式 VI 化合物阐述于表 2 中。

[0447] 表 2. 例示性的式 VI 化合物

[0448]



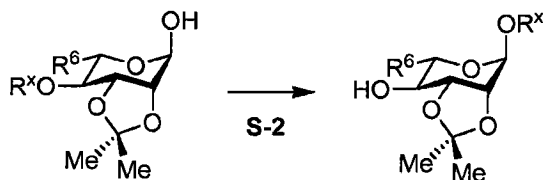
[0449]



[0450] 在某些实施例中,本发明化合物一般根据以下阐述的方案 3 进行制备:

[0451] 方案 3

[0452]

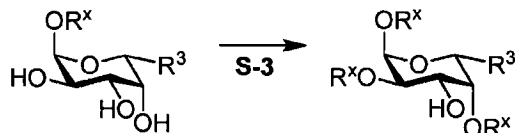


[0453] 其中 R⁶ 和 R^x 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0454] 在一些实施例中,本发明化合物一般根据以下阐述的方案 4 进行制备:

[0455] 方案 4

[0456]

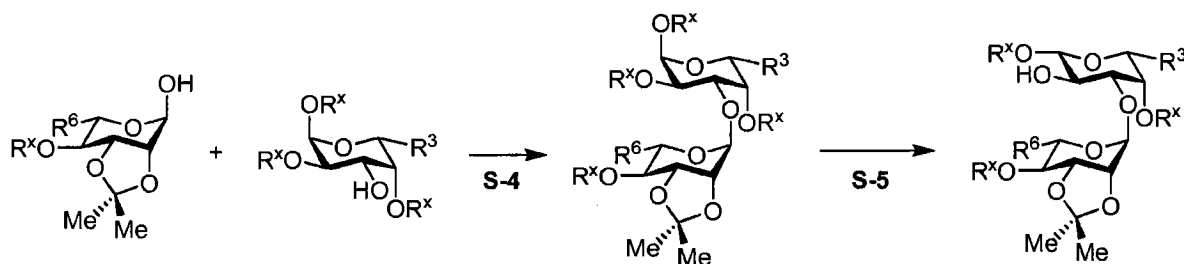


[0457] 其中 R³ 和 R^x 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0458] 在一些实施例中,本发明化合物一般根据以下阐述的方案 5 进行制备:

[0459] 方案 5

[0460]

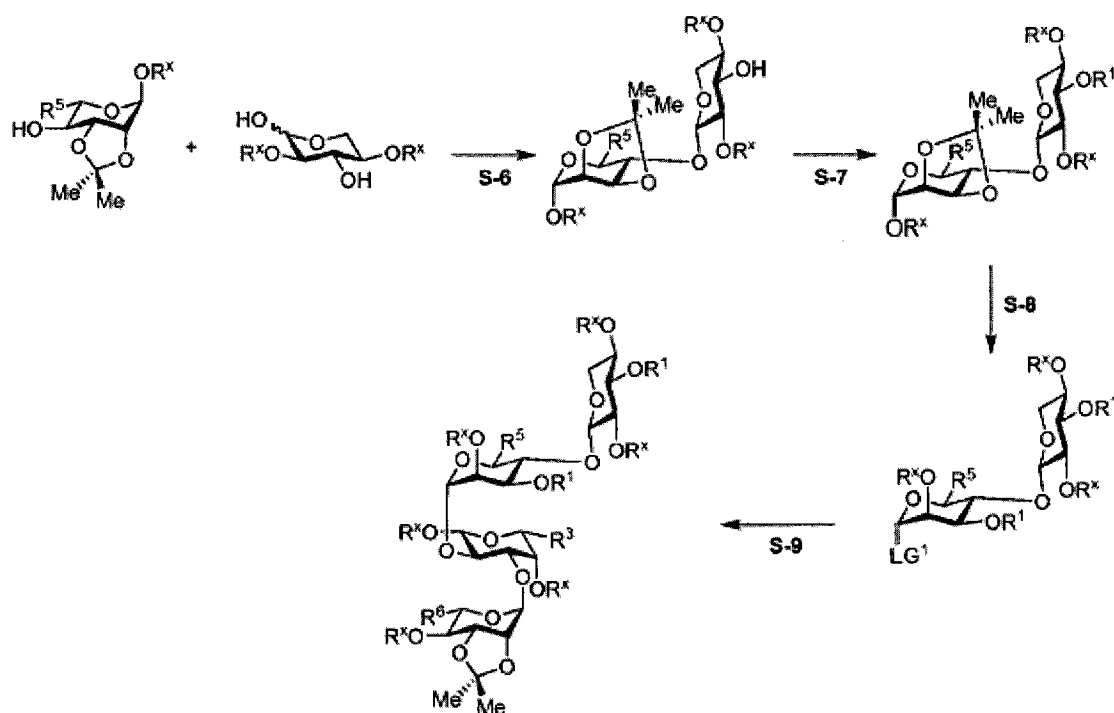


[0461] 其中 R³、R⁶ 和 R^x 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0462] 在一些实施例中,本发明化合物一般根据以下阐述的方案 6 进行制备:

[0463] 方案 6

[0464]



[0465] 其中 R¹、R³、R⁵、R⁶、LG¹ 和 R^x 各自如上文和本文中的类别和子类中所述来定义。

[0466] 在方案 3-6 中描绘的各合成步骤中,一般技术人员将认识到可使用多种合适的保护基。正交保护基策略为所属领域中所熟知且可用以选择性地保护糖羟基和脱除糖羟基的保护基。应了解,也可采用如上文所述的多种合适的离去基 LG¹,从而进行糖基化步骤 S-9。

[0467] 在某些实施例中,步骤 S-1 包含添加亲核试剂至式 IV 化合物中。在一些实施例中,式 IV 化合物与亲核试剂之间的反应是使用合适的酯化条件来进行。如本文所用的术语“合适的酯化条件”是指在氧亲核试剂与酯或羧酸之间发生经催化或未经催化的酯化或酯交换。在一些实施例中,所述条件包含添加一种或一种以上碱。在一些实施例中,碱为胺。在一些实施例中,可使用例如 DMAP 或 EDC 等其它酯化促进剂。

[0468] 在一些实施例中,式 IV 化合物与亲核试剂之间的反应是使用合适的肽键形成条件来进行。合适的肽偶合条件为所属领域中所熟知且包括韩 (Han) 等人,四面体 (Tetrahedron), 60, 2447-67 (2004) (其全部内容以引用的方式并入本文中) 中详细描述肽偶合条件。在某些实施例中,肽偶合条件包括添加 HOBt、DMAP、BOP、HBTU、HATU、BOMI、DCC、EDC、IBCF 或其组合。

[0469] 在一些实施例中,亲核试剂是基于碳,例如烷基金属物质。在一些实施例中,亲核

试剂为格氏试剂 (Grignard reagent)。在一些实施例中,亲核试剂为有机锂。在一些实施例中,亲核试剂为有机硼烷。在一些实施例中,亲核试剂为有机锡。在一些实施例中,亲核试剂为烯醇。

[0470] 用途

[0471] 式 I、II、III 或 IV 的化合物可用作佐剂或用以增强毒素的细胞吸收。本发明化合物可尤其适用于治疗或预防活体内赘生物或其它增生性疾病。然而,上述本发明化合物也可以用于达成活体外研究或临床目的。

[0472] 佐剂

[0473] 大部分蛋白质和糖蛋白抗原在单独投与时免疫原性都不足或缺乏。如果要对这些抗原起强烈的适应性免疫反应,常常需要使用佐剂。免疫佐剂为向个体投与时增强对抗原的免疫反应或增强来自免疫系统的细胞的某些活性的物质。佐剂也可以允许使用较低剂量的抗原来实现个体中有用的免疫反应。

[0474] 常见的佐剂包括明矾、弗氏佐剂 (Freund's adjuvant) (具有死分枝杆菌 (mycobacteria) 的水包油乳液)、具有 MDP 的弗氏佐剂 (具有分枝杆菌成份胞壁酰二肽 (muramyl dipeptide, MDP) 的水包油乳液)、明矾加百日咳博德特氏菌 (*Bordetella pertussis*) (具有杀死的百日咳博德特氏菌的氢氧化铝凝胶)。认为这些佐剂是通过延迟抗原的释放和增强巨噬细胞的吸收来起作用的。例如 Quil-A (皂树皂苷提取物) 等免疫刺激复合物 (ISCOM) 是由胆固醇、脂质、免疫原和皂苷形成且通常直径为约 40nm 的开口笼样复合物。ISCOM 递送抗原至胞液,并且已经在多种实验动物模型中证实其促进抗体反应并诱导 T 辅助细胞以及细胞毒性 T 淋巴细胞反应。

[0475] 多个研究已经提出与基于皂苷的佐剂有关的潜在毒性的问题。测试 Quil-A 主要组份的分级分离实验展示,在 CD-1 小鼠中皮内测试的剂量下 QS-21 具有低毒性且 QS-7 不显示致死性。QS-7 在高达 200 μ g/mL 皂苷的水平下未展示溶血活性 (肯席尔 (Kensil) 等人,1991,上文)。

[0476] 在人类中, QS-21 显示局部与全身性毒性。健康患者的最大剂量通常 $\leq 50 \mu$ g, 且癌症患者的最大剂量通常 $\leq 100 \mu$ g。如上文所提及,发现 QS-7 不但具有显著的独立佐剂活性,而且也诱导值得注意的协同免疫反应加强。遗憾的是,已证实难以分离出临床上有用量的 QS-7。

[0477] 本发明涵盖如下认识:合成获得 QS-7 和相关皂树皂苷且进行结构修改可以得到具有高佐剂效力和低毒性的化合物。

[0478] 增强的毒素吸收

[0479] 已展示,皂苷显示细胞膜透化性质,且已经研究其治疗潜能。在一些状况下,皂苷在单独使用时实际上不起作用,但是在与另一药物组合使用时,其显著地扩大另一药物的作用。此类组合作用的一个实例为与人参皂苷和顺式-二氨二氯铂 (II) (中田 (Nakata, H.) 等人,日本癌研究杂志 (Jpn J Cancer Res.), 1998, 89, 733-40) 组合。因此,皂苷在与抗肿瘤药物的组合疗法中具有治疗癌症的潜在效用。已描述来自锥花丝石竹 (*Gypsophila paniculata* L.) 的皂苷集甚至在非透化浓度下也增强细胞培养中嵌合毒素的细胞毒性。

[0480] 在某些实施例中,所提供的化合物可用以增强其它细胞毒性剂的吸收。

[0481] 疫苗

[0482] 本发明组合物可用作诱导个体对抗原主动免疫的疫苗。可经历本发明组合物的有益作用的任何动物都在可治疗的个体范围内。在一些实施例中,个体为哺乳动物。在一些实施例中,个体为人类。

[0483] 本发明疫苗可用以通过被动或主动免疫来赋予对传染或癌症的抗性。当本发明疫苗用以通过主动免疫来赋予抗性时,向动物投与本发明疫苗,以引起保护性免疫反应,从而预防或减弱增生性或传染性疾。当本发明疫苗用以通过被动免疫来赋予对传染的抗性时,向宿主动物(例如人类、狗或小鼠)提供疫苗,且回收此疫苗所引起的抗血清并直接提供给疑患传染性疾或暴露于致病生物体的接受者。

[0484] 因此,本发明涉及且提供一种预防或减弱由生物体或肿瘤细胞引起的增生性疾的方法,所述生物体或肿瘤细胞具有为回应于本发明疫苗中所包括的免疫原性多肽而产生的抗血清所识别且结合的抗原。如本文所用,如果疫苗投与动物会导致疾的症状或病状完全或部分减弱(即抑制)或动物对此疾完全或部分免疫,那么认为此疫苗预防或减弱此疾。

[0485] 投与疫苗(或其引起的抗血清)可用于达成“预防”或“治疗”目的。当预防性提供时,疫苗是在增生性疾的任何症状出现之前提供。预防性投与疫苗可用以预防或减弱随后此疾的任何表现形式。当治疗性提供时,疫苗是在检测到指示动物可能感染病原体或患有某种癌症的症状时或之后提供。治疗性投与疫苗可用以减弱任何实际的疾表现形式。因此,疫苗可以在疾增生发作之前(以便预防或减弱所预期的传染或癌症)或实际增生开始之后提供。

[0486] 因此,一方面,本发明提供包含一种或一种以上细菌、病毒、原虫或肿瘤相关抗原与一种或一种以上本发明化合物组合的疫苗。在一些实施例中,疫苗包含单一细菌、病毒、原虫或肿瘤相关抗原与一种本发明化合物组合。在一些实施例中,疫苗包含两种或两种以上细菌、病毒、原虫或肿瘤相关抗原与单一本发明化合物组合。在一些实施例中,疫苗包含两种或两种以上细菌、病毒、原虫或肿瘤相关抗原与两种或两种以上本发明化合物组合。在一些实施例中,疫苗包含单一细菌、病毒、原虫或肿瘤相关抗原与两种或两种以上本发明化合物组合。

[0487] 在一些实施例中,所提供疫苗的一种或一种以上抗原为细菌抗原。在某些实施例中,细菌抗原为与选自以下组成的群组的细菌相关的抗原:幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)、肺炎衣原体(*Chlamydia pneumoniae*)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*)、解脲支原体(*Ureaplasma urealyticum*)、肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus* spp.)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、链球菌属(*Streptococcus* spp.)、化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、草绿色链球菌(*Streptococcus viridans*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、脑膜炎双球菌(*Neisseria meningitidis*)、淋病双球菌(*Neisseria gonorrhoeae*)、炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)、沙门氏菌属(*Salmonella* spp.)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)、霍乱弧菌(*Vibrio cholera*)、北里氏杆菌(*Pasteurella pestis*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、弯曲菌属(*Campylobacter* spp.)、空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)、梭菌属(*Clostridium* spp.)、艰难梭菌(*Clostridium difficile*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium* spp.)、结核分枝杆

菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、密螺旋体属 (*Treponema* spp.)、疏螺旋体属 (*Borrelia* spp.)、伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)、细螺旋体属 (*Leptospira* spp.)、杜克雷氏杆菌 (*Hemophilus ducreyi*)、白喉杆菌 (*Corynebacterium diphtheria*)、百日咳博德特氏菌、副百日咳博德特氏菌 (*Bordetella parapertussis*)、支气管炎博德特氏菌 (*Bordetella bronchiseptica*)、流感嗜血杆菌 (*hemophilus influenza*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、志贺菌属 (*Shigella* spp.)、埃立克体属 (*Ehrlichia* spp.)、立克次体属 (*Rickettsia* spp.) 和其组合。

[0488] 在某些实施例中,所提供疫苗的一种或一种以上抗原为病毒相关抗原。在某些实施例中,病毒相关抗原为与选自以下组成的群组的病毒相关的抗原:流感病毒、副流感病毒、腮腺炎病毒、腺病毒、呼吸道合胞病毒、埃-巴二氏病毒 (Epstein-Barr virus)、鼻病毒、脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒 (coxsackievirus)、埃可病毒 (echo virus)、麻疹病毒、风疹病毒、水痘-带状疱疹病毒、疱疹病毒、单纯疱疹病毒、细小病毒、细胞巨化病毒、肝炎病毒、人类乳头瘤病毒、 α 病毒、黄病毒、布尼亚病毒 (bunyavirus)、狂犬病病毒、沙粒病毒、线状病毒、HIV 1、HIV 2、HTLV-1、HTLV-II、FeLV、牛 LV、FeIV、犬瘟热病毒、犬传染性肝炎病毒、猫杯状病毒、猫鼻气管炎病毒、TGE 病毒、口蹄疫病毒和其组合。

[0489] 在某些实施例中,所提供疫苗的一种或一种以上抗原为肿瘤相关抗原。在一些实施例中,肿瘤相关抗原为选自以下组成的群组的抗原:杀死的肿瘤细胞和其溶解产物、MAGE-1、MAGE-3 和其肽片段;人绒毛膜促性腺激素和其肽片段;癌胚抗原和其肽片段、甲胎蛋白和其肽片段;胰胎瘤抗原和其肽片段;MUC-1 和其肽片段、CA 125、CA 15-3、CA 19-9、CA 549、CA 195 和其肽片段;前列腺特异性抗原和其肽片段;前列腺特异性膜抗原和其肽片段;鳞状细胞癌抗原和其肽片段;卵巢癌抗原和其肽片段;胰腺癌相关抗原和其肽片段;Her1/neu 和其肽片段;gp-100 和其肽片段;突变 K-ras 蛋白质和其肽片段;突变 p53 和其肽片段;截短的表皮生长因子受体、嵌合蛋白 p210^{BCR-ABL}、KH-1、N3、GM1、GM2、GD2、GD3、Gb3、Globo-H、STn、Tn、Lewis^x、Lewis^y、TF 和其混合物。

[0490] 在某些实施例中,抗原共价结合于式 I、II、III 或 IV 化合物。在一些实施例中,抗原非共价结合于式 I、II、III 或 IV 化合物。

[0491] 所属领域的技术人员应了解,疫苗可任选地包括医药学上可接受的赋形剂或载剂。因此,根据另一方面,所提供疫苗包含一种或一种以上抗原任选地结合于医药学上可接受的赋形剂或载剂。在一些实施例中,所述一种或一种以上抗原共价结合于医药学上可接受的赋形剂。在其它实施例中,所述一种或一种以上抗原与医药学上可接受的赋形剂非共价结合。

[0492] 如上文所述,佐剂可用以增强对抗原的免疫反应。根据本发明,所提供疫苗在向个体投与时可用以引起免疫反应。在某些实施例中,可通过向个体投与有效增强所述个体对抗原的免疫反应的量的所提供疫苗来增强对所述抗原的免疫反应。

[0493] 如上文所述,所提供的化合物可作为佐剂与肿瘤相关抗原组合用于癌症疫苗中。在某些实施例中,所述疫苗可用于治疗或预防赘生物。在某些实施例中,赘生物为良性赘生物。在其它实施例中,赘生物为恶性赘生物。可使用本发明化合物与抗原治疗任何癌症。

[0494] 在某些实施例中,恶性病为恶性血液病。恶性血液病为侵袭血液、骨髓和/或淋巴结的癌症类型。可使用式 I、II、III 或 IV 化合物治疗的恶性血液病的实例包括(但不限

于) 急性淋巴母细胞白血病 (ALL)、急性骨髓性白血病 (AML)、慢性骨髓性白血病 (CML)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、毛细胞白血病、霍奇金淋巴瘤 (Hodgkin' s lymphoma)、非霍奇金淋巴瘤、皮肤 T 细胞淋巴瘤 (CTCL)、周围 T 细胞淋巴瘤 (PTCL)、套细胞淋巴瘤、B 细胞淋巴瘤、急性淋巴母细胞 T 细胞白血病 (T-ALL)、急性早幼粒细胞白血病和多发性骨髓瘤。

[0495] 除恶性血液病外的其它癌症也可以使用式 I、II、III 或 IV 化合物进行治疗。在某些实施例中,癌症为实体肿瘤。可使用式 I、II、III 或 IV 化合物治疗的例示性癌症包括结肠癌、肺癌、骨癌、胰腺癌、胃癌、食道癌、皮肤癌、脑癌、肝癌、卵巢癌、子宫颈癌、子宫癌、睾丸癌、前列腺癌、膀胱癌、肾癌、神经内分泌癌、乳癌、胃癌、眼癌、胆囊癌、喉癌、口腔癌、阴茎癌、腺瘤、直肠癌、小肠癌、肉瘤、癌瘤、黑色素瘤、尿道癌、阴道癌等。

[0496] 在某些实施例中,本发明化合物和医药组合物可用于组合疗法中,即化合物和医药组合物可与一种或一种以上其它所需治疗剂或医学程序同时、在其之前或在其之后投与。欲用于组合方案中的疗法(治疗剂或程序)的特定组合应考虑到所需治疗剂和/或程序与待实现的所需治疗作用的相容性。也应了解,所采用的疗法可对同一病症实现所需作用(举例来说,本发明化合物可与另一抗增生剂同时投与),或其可实现不同的作用(例如控制任何不良作用)。

[0497] 举例来说,可与本发明抗癌剂组合使用的其它疗法或抗癌剂包括外科手术、放射疗法(γ -辐射、中子束放射疗法、电子束放射疗法、质子疗法、近距离放射疗法和全身性放射性同位素等)、内分泌疗法、生物反应调节剂(干扰素、白介素和肿瘤坏死因子(TNF)等)、高温和冷冻疗法、减弱任何不良作用的药剂(例如止呕剂)和其它所批准的化学治疗药物,这些化学治疗药物包括(但不限于)烷基化药物(氮芥(mechlorethamine)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、环磷酰胺(Cyclophosphamide)、美法仑(Melphalan)、异环磷酰胺(Ifosfamide))、抗代谢物(甲氨蝶呤(Methotrexate))、嘌呤拮抗剂和嘧啶拮抗剂(6-巯基嘌呤(6-Mercaptopurine)、5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil)、阿糖胞苷(Cytarabine)、吉西他滨(Gemcitabine))、纺锤体毒剂(长春碱(Vinblastine)、长春新碱(Vincristine)、长春瑞宾(Vinorelbine)、太平洋紫杉醇(Paclitaxel))、足叶草毒素(podophyllotoxin)(依托泊苷(Etoposide)、伊立替康(Irinotecan)、拓扑替康(Topotecan))、抗生素(多柔比星(Doxorubicin)、博来霉素(Bleomycin)、丝裂霉素(Mitomycin))、亚硝基脲(nitrosourea)(卡莫司汀(Carmustine)、洛莫司汀(Lomustine))、无机离子(顺铂(Cisplatin)、卡铂(Carboplatin))、酶(天冬酰胺酶)和激素(他莫昔芬(Tamoxifen)、亮丙瑞林(Leuprolide)、氟他胺(Flutamide)和甲地孕酮(Megestrol))等。另外,本发明也涵盖使用某些目前处于临床试验中且最终可经 FDA 批准的细胞毒性剂或抗癌剂(包括(但不限于)埃坡霉素(epothilone)和其类似物以及格尔德霉素(geldanamycin)和其类似物)。关于最新癌症疗法的更全面讨论,参见 www.nci.nih.gov、在 www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm 上由 FDA 批准的肿瘤学药物的清单、和默克手册(The Merck Manual),第 17 版,1999(其全部内容以引用的方式并入本文中)。

[0498] 另一方面,本发明提供一种治疗个体的传染性疾病的方法,其包含向所述个体投与治疗有效量的式 I、II、III 或 IV 化合物。在一些实施例中,传染为细菌传染。在一些实施例中,传染为病毒传染。在一些实施例中,传染为原虫传染。在一些实施例中,个体为人类。

[0499] 调配物

[0500] 本发明化合物可与医药学上可接受的赋形剂组合,从而形成医药组合物。在某些实施例中,医药组合物包括医药学上可接受的量的本发明化合物。可与载剂物质组合制成单一剂型的活性成份的量将视所治疗的主体和特定投药模式而变化。可与载剂物质组合制成单一剂型的活性成份的量一般为化合物产生治疗作用的量。一般来说,此量在约1%至约99%活性成份,优选为约5%至约70%,最优选为约10%至约30%的范围内。

[0501] 组合物中也可以存在湿润剂、乳化剂和润滑剂(例如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁)以及着色剂、释放剂(release agent)、涂布剂、甜味剂、调味剂和芳香剂、防腐剂 and 抗氧化剂。

[0502] 医药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:水溶性抗氧化剂,例如抗坏血酸、半胱氨酸盐酸盐、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等;油溶性抗氧化剂,例如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等;和金属螯合剂,例如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸等。

[0503] 本发明调配物包括适于经口、经鼻、局部(包括经颊和舌下)、直肠、阴道和/或不经肠投药的调配物。调配物宜以单位剂型呈现,且可通过药剂学领域中熟知的任何方法来制备。在某些实施例中,本发明调配物包含选自环糊精、脂质体、胶束形成剂(例如胆汁酸)和聚合物载剂(例如聚酯和聚酸酐)组成的群组的赋形剂;和本发明化合物。在某些实施例中,以上所提及的调配物使口服本发明化合物具有生物可用性。

[0504] 制备这些调配物或组合物的方法包括使本发明化合物与载剂和任选一种或一种以上辅助成份结合的步骤。一般说来,通过使本发明化合物与液体载剂或细粉状固体载剂或两者均匀且紧密地结合,接着必要时使产物成形来制备调配物。

[0505] 适于经口投与的本发明调配物可呈胶囊、扁囊、丸剂、片剂、口含锭(使用调味基质,通常是蔗糖和阿拉伯胶或黄芪胶)、散剂、颗粒的形式,或呈于水性或非水性液体中的溶液或悬浮液形式,或呈水包油或油包水液体乳液的形式,或呈酏剂或糖浆的形式,或呈锭剂的形式(使用惰性基质,例如明胶和甘油,或蔗糖和阿拉伯胶)和/或呈漱口剂形式等,各剂型都含有预定量的本发明化合物作为活性成份。本发明化合物也可以大丸剂、药糖剂或糊剂形式投与。

[0506] 在经口投与的本发明固体剂型(胶囊、片剂、丸剂、糖衣丸、散剂、颗粒等)中,活性成份与一种或一种以上医药学上可接受的载剂混合,所述载剂例如柠檬酸钠或磷酸二钙,和/或以下任何物质:填充剂或增量剂,例如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和/或硅酸;粘合剂,例如羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯胶;保湿剂,例如甘油;崩解剂,例如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;溶液阻滞剂,例如石蜡;吸收促进剂,例如季铵化合物;湿润剂,例如十六醇、单硬脂酸甘油酯和非离子型表面活性剂;吸收剂,例如高岭土和膨润土;润滑剂,例如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠和其混合物;和着色剂。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,医药组合物也可以包含缓冲剂。类似类型的固体组合物也可以在使用例如乳糖以及高分子量聚乙二醇等赋形剂的软壳和硬壳明胶胶囊中用作填充剂。

[0507] 片剂可通过任选与一种或一种以上辅助成份一起压缩或模制来制造。压缩片剂可使用粘合剂(例如明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如

羟基乙酸淀粉钠或交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂来制备。模制片剂可在使粉末状化合物的混合物经惰性液体稀释剂湿润的合适机器中制成。

[0508] 本发明医药组合物的片剂和其它固体剂型(例如糖衣丸、胶囊、丸剂和颗粒)可任选选刻痕,或用例如肠溶衣和医药调配领域中熟知的其它包衣等包衣和外壳来制备。其也可以通过使用例如不同比例的羟丙基甲基纤维素提供所需释放曲线、其它聚合物基质、脂质体和/或微球体来进行调配,以便提供其中活性成份的缓慢或受控释放。其可经调配用于快速释放,例如经冷冻干燥。其可例如通过经细菌截留过滤器过滤或者通过并入杀菌剂来杀菌,呈无菌固体组合物形式,所述组合物可以在即将使用前溶解于无菌水或一些其它无菌可注射的介质中。这些组合物也可以任选含有乳浊剂,并且可以具有仅或优先在胃肠道的某一部分任选以延迟方式释放活性成份的组成。可使用的包埋组合物的实例包括聚合物和蜡。适当时,使用一种或一种以上如上所述的赋形剂,活性成份还可以呈微囊封的形式。

[0509] 供经口投与本发明化合物的液体剂型包括医药学上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酏剂。除活性成份外,所述液体剂型还可含有所属领域中通常使用的惰性稀释剂,例如水或其它溶剂、增溶剂和乳化剂,例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苜醇、苯甲酸苜酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油类(尤其是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇、和山梨糖醇酐脂肪酸酯和其混合物。

[0510] 除惰性稀释剂外,经口组合物还可以包括例如湿润剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂、着色剂、芳香剂和防腐剂等佐剂。

[0511] 除活性化合物外,悬浮液还可含有悬浮剂,例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨糖醇和山梨糖醇酐酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄芪胶和其混合物。

[0512] 经直肠或阴道投与的本发明医药组合物调配物可以栓剂形式提供,所述栓剂可以通过将一种或一种以上本发明化合物与一种或一种以上合适的无刺激性赋形剂或载剂(包含例如可可脂、聚乙二醇、栓剂蜡或水杨酸酯)混合来制备,在周围温度下是固体,但在体温下是液体,因此在直肠或阴道腔中融化并释放活性化合物。

[0513] 适于阴道投与的本发明调配物也包括含有所属领域中已知的适当载剂的子宫托、棉塞、乳膏、凝胶、糊剂、发泡体或喷雾调配物。

[0514] 供本发明化合物局部或经皮投与的剂型包括散剂、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、溶液、贴片和吸入剂。活性化合物可在无菌条件下与医药学上可接受的载剂和可能需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。

[0515] 软膏、糊剂、乳膏和凝胶除本发明活性化合物外还可含有赋形剂,例如动物和植物脂肪、油类、蜡、石蜡、淀粉、黄芪胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、聚硅氧、膨润土、硅酸、滑石和氧化锌或其混合物。

[0516] 散剂和喷雾剂除本发明化合物外还可含有赋形剂,例如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末或这些物质的混合物。喷雾剂另外可含有通常的推进剂,例如氯氟烃和未经取代的挥发性烃(例如丁烷和丙烷)。

[0517] 经皮贴片的附加优势在于控制本发明化合物传递至体内。将化合物溶解或分散于适当介质中可制成这些剂型。还可以使用吸收增强剂来增加化合物穿过皮肤的通量。提供速率控制膜或将化合物分散在聚合物基质或凝胶中可控制此通量的速度。

[0518] 眼用调配物、眼用软膏、散剂、溶液等也涵盖于本发明的范围内。

[0519] 适于不经肠投药的本发明医药组合物包含一种或一种以上本发明化合物与一种或一种以上医药学上可接受的无菌等渗水性或非水性溶液、分散液、悬浮液或乳液、或可在即将使用前用无菌可注射溶液或分散液复原的无菌散剂组合，所述可注射溶液或分散液可含有糖、醇、抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、使调配物与预定接受者的血液等渗的溶质、或悬浮剂或增稠剂。

[0520] 可用于本发明医药组合物中的合适水性和非水性载剂的实例包括水、乙醇、多元醇（例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等）和其合适混合物、植物油（例如橄榄油）和可注射有机酯（例如油酸乙酯）。例如，通过使用例如卵磷脂等涂布物质，在分散液的状况下通过维持所需粒径，以及通过使用表面活性剂，可维持适当流动性。

[0521] 这些组合物也可以含有例如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂等佐剂。可通过包括各种抗细菌剂和抗真菌剂（例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸等）来确保预防微生物对本发明化合物的作用。组合物中也可能需要包括等渗剂，例如糖、氯化钠等。另外，可通过包括例如单硬脂酸铝和明胶等延迟吸收剂来延长可注射医药形式的吸收。

[0522] 在一些状况下，为延长药物作用，需要减慢从皮下或肌肉内注射吸收药物。这可以通过使用水溶性差的结晶或非晶形物质的液体悬浮液来实现。药物的吸收速率接着取决于它的溶解速率，而溶解速率又可能取决于晶体大小和结晶形态。或者，通过将药物溶解或悬浮于油性媒剂中来延迟不经肠投与的药物形式的吸收。

[0523] 可注射的储槽形式是通过在例如聚丙交酯-聚乙交酯等生物可降解的聚合物中形成本发明化合物的微胶囊基质而制得。视药物与聚合物的比率和所用的特定聚合物的性质而定，可控制药物的释放速率。其它生物可降解的聚合物的实例包括聚（原酸酯）和聚（酸酐）。储槽式可注射调配物也通过将药物裹入与身体组织可相容的脂质体或微乳液中来制备。

[0524] 在某些实施例中，化合物或医药制剂是经口投与。在其它实施例中，化合物或医药制剂是经静脉内投与。替代的投药途径包括舌下、肌肉内和经皮投与。

[0525] 当本发明化合物作为医药剂投与人类和动物时，其可自身或以含有例如 0.1% 至 99.5%（更优选为 0.5% 至 90%）活性成份与医药学上可接受的载剂组合的医药组合物的形式给与。

[0526] 本发明制剂可经口、不经肠、局部或经直肠给与。当然，其会以适于各投药途径的形式给与。举例来说，其以片剂或胶囊形式投与，通过注射、输注或吸入以注射液、吸入剂、洗眼剂、软膏、栓剂等形式投与；通过洗剂或软膏局部投与；和通过栓剂经直肠投与。优选为经口投与。

[0527] 这些化合物可通过任何合适的投药途径投与人类和其它动物，从而用于疗法中，所述投药途径包括以例如喷雾剂形式经口、经鼻投与，以散剂、软膏或滴剂形式经直肠、阴道内、不经肠、脑池内和局部投与，包括经颊和舌下投与。

[0528] 无论所选投药途径如何，可以合适的水合形式使用的本发明化合物、和 / 或本发明医药组合物都通过所属领域的技术人员所知的常规方法调配成医药学上可接受的剂型。

[0529] 本发明医药组合物中活性成份的实际剂量水平可变化，以便获得对于特定患者、组合物和投药模式，活性成份有效实现所需治疗反应而不对患者产生毒性的量。

[0530] 所选剂量水平取决于多种因素,包括所用的特定本发明化合物或其酯、盐或酰胺的活性、投药途径、投药时间、所用的特定化合物的排泄率或代谢率、治疗持续时间、与所用的特定化合物组合使用的其它药物、化合物和 / 或物质、所治疗患者的年龄、性别、体重、病状、一般健康状况和先前病史、和医学领域中熟知的类似因素。

[0531] 掌握所属领域中的一般技能的医师或兽医可易于确定和规定所需医药组合物的有效量。举例来说,医师或兽医可使医药组合物中所用的本发明化合物开始的剂量水平低于实现所需治疗作用所需的剂量,接着逐渐增加剂量,直到实现所需作用。

[0532] 在一些实施例中,长期向个体提供本发明化合物或医药组合物。慢性治疗包括长时间的任何形式的重复投药,例如 1 个月或 1 个月以上、1 个月与 1 年之间、1 年或 1 年以上或更长时间的重复投药。在许多实施例中,慢性治疗包含在个体的生命期间重复投与本发明化合物或医药组合物。优选的慢性治疗包含定期投药,例如一天 1 次或 1 次以上、一周 1 次或 1 次以上或 1 个月 1 次或 1 次以上。一般说来,例如本发明化合物的日剂量等合适剂量为作为化合物有效产生治疗作用的最低剂量的量。此类有效剂量一般取决于上述因素。一般说来,在用于所指示的作用时,本发明化合物用于患者的剂量在每天每公斤体重约 0.0001mg 至约 100mg 的范围内。日剂量优选在每公斤体重 0.001mg 至 50mg 化合物的范围内,且甚至更优选在每公斤体重 0.01mg 至 10mg 化合物的范围内。然而,也可使用更低或更高的剂量。在一些实施例中,投与个体的剂量可随个体因年龄、疾病进展、体重或其它因素而变化的生理情况进行修改。

[0533] 在一些实施例中,所提供的佐剂化合物以医药组合物或疫苗形式投与。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 1-2000 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 1-1000 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 1-500 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 1-250 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 100-1000 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 100-500 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 100-200 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 250-500 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 10-1000 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 500-1000 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 50-250 μ g。在某些实施例中,所投的佐剂化合物的量为 50-500 μ g。

[0534] 必要时,活性化合物的有效日剂量可任选地以单位剂型,以在一天中以适当时间间隔分别投与的两个、三个、四个、五个、六个或六个以上子剂量形式投与。

[0535] 虽然本发明化合物有可能单独投与,但在某些实施例中,所述化合物是以如上所述的医药调配物(组合物)形式投与。

[0536] 从其它医药剂类推,本发明化合物可经调配,从而以用于人类或兽医学的任何适宜方式投与。

[0537] 本发明提供包含本发明化合物的医药组合物的试剂盒。在某些实施例中,这些试剂盒包括式 I、II、III 或 IV 化合物与抗原的组合。这些药剂可分别或一起包装。试剂盒任选地包括指示药物治疗的说明书。在某些实施例中,试剂盒包括多个剂量的各药剂。试剂盒可包括足以治疗个体一周、两周、三周、四周或多个月的量的各组份。试剂盒可包括一个完整周期的免疫疗法。在一些实施例中,试剂盒包括包含一种或一种以上细菌、病毒、原虫或肿瘤相关抗原和一种或一种以上所提供的化合物的疫苗。

[0538] 上文和本文中所引用的所有参考文献的全部内容都是以引用的方式并入本文中。

[0539] 认为以上书面说明足以使所属领域的技术人员能够实施本发明。本发明不限于所提供的实例的范围,因为这些实例仅意欲说明本发明的一个方面,且其它功能上相等的实施例也在本发明的范围内。所属领域的技术人员自上文描述,将显而易见除本文所示和所述外对本发明进行的各种修改,且这些修改在随附权利要求书的范围内。本发明的优势和目标未必涵盖于本发明的每个实施例中。

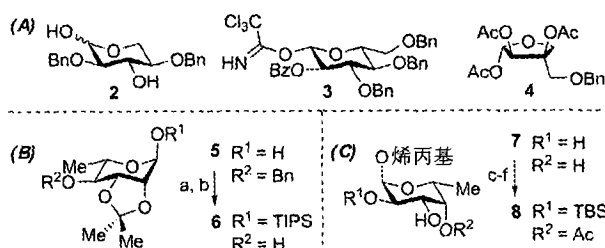
[0540] 实例

[0541] 实例 1

[0542] 合成 QS-7-Api (图 1) 内的己糖片段需要初始制备经选择性保护的单糖 2-4、6 和 8 (方案 7)。虽然通过先前报导的程序和其修改 (金 (Kim, Y. J.); 王 (Wang, P.); 纳瓦罗-维拉罗伯斯 (Navarro-Villalobos, M.); 罗德 (Rohde, B. D.); 戴瑞巴里 (Derryberry, J.); 哥因 (Gin, D. Y.), 美国化学会志 (J. Am. Chem. Soc.), 2006, 128, 11906-11915; 阮 (Nguyen, H. M.); 陈 (Chen, Y. N.); 杜纶 (Duron, S. G.); 哥因 (Gin, D. Y.), 美国化学会志, 2001, 123, 8766-8772), 以多步顺序获得木糖、葡萄糖和芹菜糖衍生的单糖 2-4 (方案 7A), 但新颖的糖 6 和 8 分别是来自吡喃鼠李糖 5 和吡喃岩藻糖苷 7 制得。用 TIPSOTf 对经选择性保护的吡喃鼠李糖 5 (方案 7B) 进行硅烷化, 得到 α -TIPS 糖苷 (96%), 随后进行 C4-O-脱苄基, 得到吡喃鼠李糖苷 6 (98%)。合成 QS-7 内的岩藻糖基残基是以通过暂时存在的亚锡烷基缩醛用 PMBC1 对烯丙基吡喃岩藻糖苷 7 (方案 7C) 进行选择性 C3-O-烷基化 (56%) 开始。此考虑到相继发生平伏键 C2-OH 的选择性硅烷化 (97%) 和直立键 C4-OH 的乙酰化 (>99%)。最后, 用 DDQ 对 PMB 醚进行氧化去除, 得到经选择性保护的吡喃岩藻糖苷 8 (86%)。

[0543] 流程 7^a

[0544]



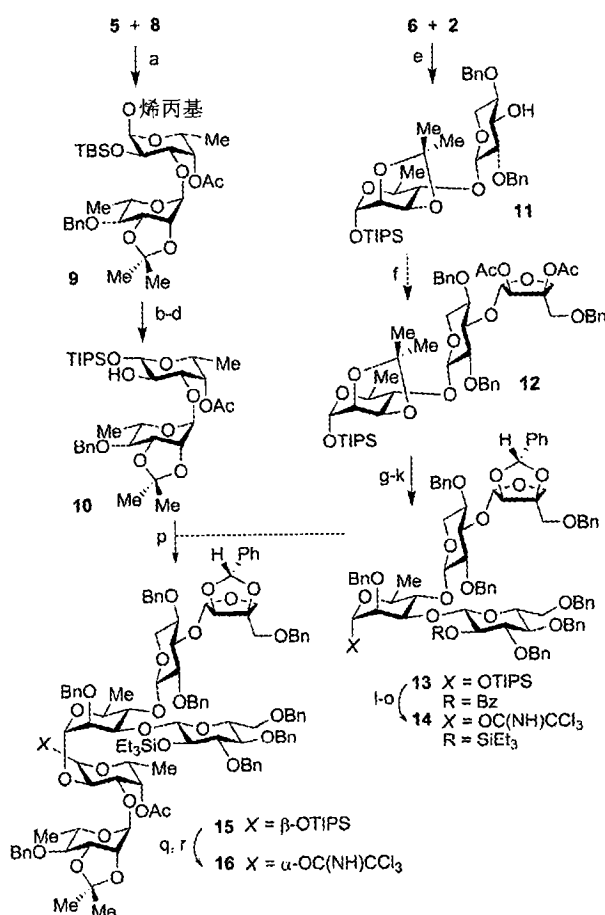
[0545] ^a 试剂和条件: (a) TIPSOTf、2,6-二甲基吡啶、 CH_2Cl_2 、 $0 \rightarrow 23^\circ\text{C}$, 96%; (b) H_2 、Pd-C、MeOH、 23°C , 98%; (c) $n\text{-Bu}_2\text{SnO}$ 、PhMe、回流; CsF; PMBC1、DMF、 23°C , 56%; (d) TBSC1、咪唑、DMAP、 CH_2Cl_2 、 23°C , 97%; (e) Ac_2O 、 Et_3N 、DMAP、 CH_2Cl_2 、 23°C , >99%; (f) DDQ、MeOH、 H_2O 、 $0 \rightarrow 23^\circ\text{C}$, 86%。

[0546] 支链己糖的会聚组装 (方案 8) 包含吡喃岩藻糖苷 8 与吡喃鼠李糖 5 进行的脱水糖基化 ($\text{Ph}_2\text{SO} \cdot \text{Tf}_2\text{O}$) (加西亚 (Garcia, B. A.); 哥因 (Gin, D. Y. J.), 美国化学会志, 2000, 122, 4269-4279) (84%)。所得 α -二糖 9 接着进行一系列保护基交换, 包括 TBS 去除 (95%)、新颖 $\text{Et}_2\text{Zn}/\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 介导的异头脱烯丙基化 (68%) (钱德拉塞卡 (Chandrasekhar, S.); 雷迪 (Reddy, C. R.); 饶 (Rao, R. J.), 四面体, 2001, 57, 3435-3438) 和选择性异头硅烷化 (75%), 得到二糖 10 作为合适的糖基受体。二糖 10 的糖基供体偶合搭配物是如下制备: 使吡喃鼠李糖苷 6 与吡喃木糖 2 进行化学和立体选择性的脱水糖基化, 得到 β -二糖 11 (75%), β -二糖 11 与芹菜糖衍生的供体 4 直接进行经修改的黑尔费里希糖基化

(helferich glycosylation) (劳什 (Roush, W. R.); 班尼特 (Bennett, C. E.), 美国化学会志, 1999, 121, 3541-3542), 得到三糖 12 (86%)。12 中的乙酸酯接着换成苯亚甲基缩醛保护基 (94%), 接着鼠李糖衍生的亚异丙基缩酮进行选择性地酸水解, 得到相应邻二醇 (71%)。接着可用 BnBr 对所得直立键鼠李糖 C2-OH 进行选择性地烷基化 (84%), 从而使 C3-OH 与葡萄糖基酰亚胺酯 3 进行施密特糖基化 (Schmidt glycosylation) (施密特 (Schmidt, R. R.); 金兹 (Kinzy, W.), 碳水化合物化学与生物化学进展 (Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.), 1994, 50, 21-123), 得到四糖 13 (86%)。苯甲酸酯换成 TES 醚 (91%, 2 步骤) 且异头 TIPS 基团转化成其 α -三氯乙酰亚胺酯对应物 14 (92%, 2 步骤), 得到适用于二糖 10 糖基化的供体。这是通过用 TMSOTf 处理这两种组份, 得到己糖 15 (62%), 接着己糖 15 的岩藻糖基-TIPS-缩醛转化成 α -三氯乙酰亚胺酯 16 (84%, 2 步骤) 来实现的。

[0547] 方案 8^a

[0548]



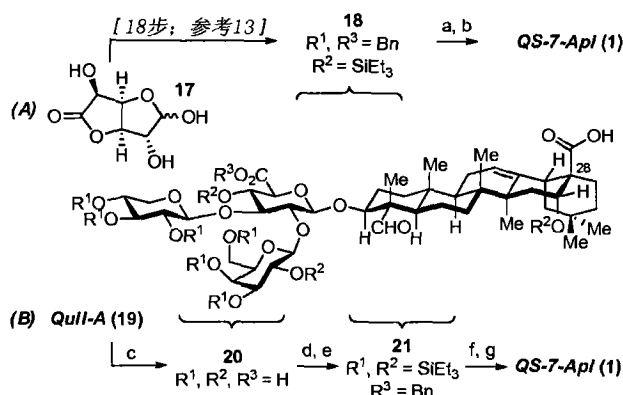
[0549] ^a 试剂和条件: (a) Ph₂SO, Tf₂O, TBP, CH₂Cl₂, -78 $\rightarrow$ 23 $^{\circ}$ C, 84%; (b) TBAF, THF, 0 $\rightarrow$ 23 $^{\circ}$ C, 95%; (c) Et₂Zn, Pd(PPh₃)₄, Et₂O, 23 $^{\circ}$ C, 68%; (d) TIPSCl, 咪唑, DMAP, DMF, 23 $^{\circ}$ C, 75%; (e) Ph₂SO, Tf₂O, TBP, CH₂Cl₂, -78 $\rightarrow$ 23 $^{\circ}$ C, 75%; (f) 4, TBSOTf, CH₂Cl₂, 0 $^{\circ}$ C, 86%; (g) K₂CO₃, H₂O, MeOH, 23 $^{\circ}$ C; (h) PhCH(OMe)₂, p-TsOH, 23 $^{\circ}$ C, 94% (2 步骤); (i) p-TsOH, H₂O, MeOH, 23 $^{\circ}$ C, 71%; (j) BnBr, Bu₄NBr, NaOH, H₂O, CH₂Cl₂, 23 $^{\circ}$ C, 84%; (k) 3, TMSOTf, Et₂O, -45 $^{\circ}$ C, 86%; (l) DIBAL-H, CH₂Cl₂, -78 $^{\circ}$ C, 92%; (m) TESOTf, 2, 6-二甲基吡啶, CH₂Cl₂, 0 $\rightarrow$ 23 $^{\circ}$ C, 99%; (n) TBAF, THF, 0 $^{\circ}$ C, > 99%; (o) CCl₃CN, DBU, CH₂Cl₂, 0 $^{\circ}$ C, 92%; (p) TMSOTf, 4 Å ms, CH₂Cl₂, -15 $^{\circ}$ C, 62%; (q) TBAF, THF, 0 $^{\circ}$ C; (r) CCl₃CN, DBU, CH₂Cl₂, 0 $\rightarrow$ 23 $^{\circ}$ C, 84% (2 步骤)。

[0550] 完整 QS-7-Api 骨架的后期构造包含精心保护的三萜-三糖结合物 18 (方案 9A), 结合物 18 是预先在合成 QS-21 的过程中由葡萄糖醛酸内酯 17 制得 (金 (Kim) 等人, 上文)。此 C28 羧酸糖基受体 18 充分响应与三氯乙酰亚胺酯糖基供体 16 进行糖基化 ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$), 得到完全保护的 QS-7-Api (71%), 在小心管理的条件 ($\text{TFA}; \text{H}_2$, Pd-C) 下完全保护的 QS-7-Api 整体脱除保护基。发现所得产物 (71%) 与天然来源的 QS-7-Api (1) 一致 (对市售 Quil-A (\$90/\text{g}\$) 进行彻底的 RP-HPLC 纯化, 得到微量天然 QS-7-Api (纯度约 70%, NMR))。

[0551] 从所有寡糖片段的重新构造合成 1 (方案 9A), 证实 QS-7-Api 的结构, 且比从天然来源分离要显著更可靠地获得均匀的 1 样品。尽管如此, 仍可进一步加强 1 的合成。Quil-A (19, 方案 9B) 为一种市售的半纯化皂皮树提取物, 且含有可变量的 50 种以上不同的皂苷 (范赛腾 (Vansetten), 上文), 许多所述皂苷都并有 QS-7 (和 QS-21) 内的三萜-三糖子结构。此单链苷 (monodesmoside) 皂苷 20 (方案 9B) 可通过 Quil-A 混合物直接进行碱水解 (希古切 (Higuchi) 等人, 上文), 从而以半纯形式加以分离。随后用过量 TESOTf 对 20 进行聚 (硅烷化), 得到相应的九 (三乙基硅烷基醚) (从 1.15g 19 得到 257mg), 其葡萄糖醛酸官能团可选择性地衍生成苯甲酯 21 (CbzCl, 68%)。仅通过 3 步方案从 Quil-A (19) 获得的此三萜-三糖结合物是与己糖 16 进行 C28 羧酸酯糖基化的过程中的有效供体 (80%), 在整体脱除保护基后得到 QS-7-Api (1) (77%)。1 的最初合成发展至此半合成变体, 从而显著更容易地得到复杂的 QS-皂苷佐剂 (和可能存在的非天然类似物), 为抗肿瘤和抗病毒疫苗发展中新颖佐剂的发现创造了迄今未曾开启的机会。

[0552] 方案 9^a

[0553]



[0554] ^a 试剂和条件: (a) 16、 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, 4 Å ms, CH_2Cl_2 , $-78 \rightarrow 23^\circ\text{C}$, 71%; (b) TFA、 H_2O , CH_2Cl_2 , 0°C ; H_2 , Pd-C, EtOH, THF, 23°C , 71%; (c) KOH, EtOH, H_2O , 80°C ; (d) TESOTf, Py, 40°C ; (e) CbzCl, Py, TBP, CH_2Cl_2 , 23°C , 68%; (f) 16、 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, 4 Å ms, CH_2Cl_2 , $-78 \rightarrow 23^\circ\text{C}$, 80%; (g) H_2 , Pd-C, EtOH, THF, 23°C ; TFA, H_2O , 0°C , 77%。

[0555] 实验程序

[0556] 一般程序

[0557] 除非另作说明, 否则反应是在处于正压力氩气下的直火干燥的密封管或装有玻璃塞的经过改良的舒伦克 (Schlenk) (克耶达 (Kjeldahl) 形状) 烧瓶中进行。对空气和水分敏感的液体和溶液通过针筒进行转移。适当的碳水化合物和亚砷试剂通过与甲苯共沸去除水而干燥。分子筛在 350°C 下活化并在即将使用前压碎, 接着在真空下直火干燥。有机溶液通过在低于 30°C 下旋转蒸发进行浓缩。采用 230-400 目硅胶进行快速柱色谱法。使用用充

满荧光指示剂 (254nm) 的 230-400 目硅胶预涂布至 0.25mm 厚的玻璃板, 进行薄层色谱法。

[0558] 材料

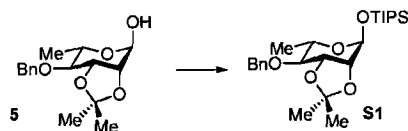
[0559] 冻干 QS 皂苷 Quil-A (批号 L77-244) 是从布伦塔格生物公司 (Brenntag Biosector) (丹麦 (Denmark) 腓特烈松 (Frederikssund)), 通过精确化学和科学公司 (纽约州韦斯特伯里) 经销而获得。二氯甲烷、四氢呋喃、乙醚、己烷、甲苯和苯是通过经过氩气氛围下的两个中性氧化铝填充柱进行纯化。甲醇在 760 托 (Torr) 下与镁一起蒸馏。三氟甲烷磺酸酐在 760 托下与五氧化二磷一起蒸馏。三氟化硼乙醚 (boron trifluoride diethyl etherate) 和吡啶在 760 托下与氢化钙一起蒸馏。二甲基甲酰胺经 4 Å 分子筛干燥。除非另外指示, 否则所有其它的化学物质都从商业供应商获得且未经进一步纯化即使用。

[0560] 测试设备

[0561] 红外 (IR) 光谱是使用 Perkin Elmer Spectrum BX 分光光度计或 Bruker Tensor 27 获得。数据以吸收频率 (cm^{-1}) 形式提供。质子和碳 13 核磁共振 (^1H NMR 和 ^{13}C NMR) 谱是在 Varian 400、Varian 500、Varian Inova 500 或 Bruker Avance III 仪器上进行记录; 化学位移以从四甲基硅烷向低磁场位移的百万分率 (尺度为 δ) 形式表示且参考 NMR 溶剂中剩余的氘 (CHCl_3 ; 对于 ^1H NMR, δ 7.26; 对于 ^{13}C NMR, δ 77.16)。数据如下提供: 化学位移、峰裂数 (multiplicity) (s = 单峰, bs = 宽单峰, d = 二重峰, bd = 宽二重峰, t = 三重峰, q = 四重峰, m = 多重峰和 / 或多个共振)、耦合常数 (赫兹, Hz)、整合、分配。RP-HPLC 纯化和分析是在装备有 Waters 2996 光电二极管阵列检测器的 Waters 2545 二元梯度 HPLC 系统上进行, 且吸光度是在 214nm 的波长下进行监测。

[0562] 制备己糖

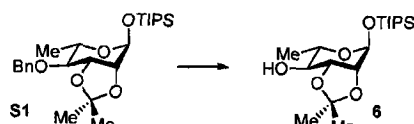
[0563]



[0564] O-三异丙基 4-O-苯甲基-2,3-二-O-亚异丙基- α -L-吡喃鼠李糖苷 (S1)。在 0°C 下向吡喃鼠李糖苷 5 (阮 (Nguyen, H. M.); 普尔 (Poole, J. L.); 哥因 (Gin, D. Y.), 应用化学国际版 (Angew. Chem. Int. Ed.), 2001, 40, 414-417) (6.00g, 20.4mmol, 1.00 当量) 于二氯甲烷 (100mL) 中的溶液中加入 2,6-二甲基吡啶 (8.30mL, 71.4mmol, 3.50 当量) 和三氟甲烷磺酸三异丙基硅烷酯 (9.30mL, 34.7mmol, 1.70 当量)。在此温度下搅拌反应物 1 小时, 接着在 23°C 下搅拌 3 小时。加入饱和 NaHCO_3 水溶液 (150mL), 并用二氯甲烷 ($3 \times 150\text{mL}$) 萃取水层。用饱和 NaCl 水溶液 (150mL) 洗涤合并的有机相, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤并浓缩。进行硅胶色谱法 (20 : 1 己烷 / 乙酸乙酯), 得到呈无色液体状的 α -异头物 S1 (8.8g, 20mmol, 产率 96%)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz) δ 7.39-7.33 (m, 4H, 芳族), 7.30-7.26 (m, 1H, 芳族), 5.38 (s, 1H, H-1), 4.93 (d, $J = 10.2\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.65 (d, $J = 10.2\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.32 (dd, $J = 7.0, 5.6\text{Hz}$, 1H, H-3), 4.13 (d, $J = 5.6\text{Hz}$, 1H, H-2), 3.95 (qd, $J = 9.9, 6.2\text{Hz}$, 1H, H-5), 3.25 (dd, $J = 9.9, 7.0\text{Hz}$, 1H, H-4), 1.53 (s, 3H, Me), 1.40 (s, 3H, Me), 1.29 (d, $J = 6.3\text{Hz}$, 3H, Me), 1.18-1.08 (m, 21H, Si-i- Pr_3); ^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 138.51, 128.41, 128.17, 127.76, 109.31, 91.80, 81.56, 78.80, 78.15, 73.25, 64.54, 28.23, 26.66, 17.89, 17.81, 12.04; FTIR (净膜) 3032, 2941, 2896, 2868, 1463, 1382, 1370, 1243, 1220, 1081, 1058, 1020,

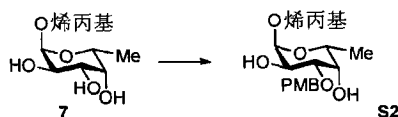
995, 883 cm^{-1} 。

[0565]



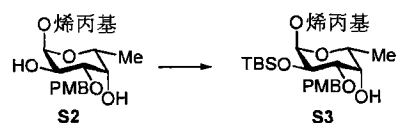
[0566] 0-三异丙基 2,3-二-0-亚异丙基- α -L-吡喃鼠李糖苷 (6)。向 S1 (5.90g, 13.1mmol, 1.00 当量) 于甲醇 (100mL) 中的溶液中加入湿的 10% (干基) 钯 / 碳 Degussa 类型 E101NE/W (1.4g, 0.65mmol, 0.050 当量)。在氢气压力 (110psi) 下用力搅拌反应混合物 7.5 小时, 接着通过硅藻土 545 插塞过滤, 用二氯甲烷清洗插塞。浓缩滤液和清洗液, 且对残余物进行硅胶色谱法 (3 : 1 己烷 / 乙酸乙酯), 得到呈无色油状的 6 (4.6g, 1.3mmol, 产率 98%)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz) δ 5.34 (s, 1H, H-1), 4.16-4.10 (m, 2H, H-2 和 H-3), 3.91 (qd, $J = 8.8, 6.3\text{Hz}$, 1H, H-5), 3.42 (ddd, $J = 11.6, 6.8, 4.8\text{Hz}$, 1H, H-4), 2.33 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H, -OH), 1.53 (s, 3H, Me), 1.37 (s, 3H, Me), 1.28 (d, $J = 6.3\text{Hz}$, 3H, Me), 1.18-1.05 (m, 21H, Si-i-Pr₃); ^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 109.5, 91.9, 78.2, 77.6, 74.4, 66.0, 28.0, 26.2, 17.8, 17.68, 17.66, 11.9; FTIR (净膜) 3463 (br), 2942, 2868, 1464, 1383, 1244, 1220, 1051, 1015, 883, 852, 807 cm^{-1} 。

[0567]



[0568] 烯丙基 3-0-甲氧基苯甲基- α -D-吡喃岩藻糖苷 (S2)。在迪恩-斯达克装置 (Dean-Stark apparatus) 中, 使含烯丙基岩藻糖苷 7 (111mg, 0.543mmol, 1.00 当量) 和氧化二丁基锡 (125mg, 0.502mmol 当量) 的甲苯 (10mL) 回流 5 小时。反应混合物冷却至 23 $^{\circ}\text{C}$ 后, 加入 CsF (152mg, 1.0mmol), 并蒸发溶剂。加入二甲基甲酰胺 (3.0mL) 和对甲氧基苄基氯 (0.136mL, 1.0mmol, 2.0 当量), 并在 23 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应混合物 48 小时。蒸发溶剂, 且将残余物溶解于二氯甲烷中并过滤。浓缩滤液和清洗液, 且进行硅胶色谱法 (1 : 1 己烷 / 乙酸乙酯), 得到呈无色油状的 S2 (98mg, 0.30mmol, 56%)。 ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 7.32-7.29 (m, 2H), 6.90-6.88 (m, 2H), 5.92 (m, 1H), 5.30 (dq, $J = 17.2, 1.6\text{Hz}$, 1H), 5.21 (dq, $J = 10.4, 1.2\text{Hz}$, 1H), 4.93 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 1H), 4.68 (d, $J = 11.6\text{Hz}$, 1H, PhCH_2 -), 4.64 (d, $J = 11.6\text{Hz}$, 1H, PhCH_2 -), 4.20 (ddt, $J = 12.8, 5.4, 1.4\text{Hz}$, 1H), 4.05 (ddt, $J = 12.8, 6.2, 1.3\text{Hz}$, 1H), 4.00-3.89 (m, 2H), 3.81 (s, 3H, OMe), 3.80 (m, 1H), 3.64 (dd, $J = 9.7, 3.2\text{Hz}$, 1H), 2.40 (s, 1H), 2.11 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 1.30 (d, $J = 6.6\text{Hz}$, 3H); ^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 159.5, 133.8, 130.0, 129.5, 117.7, 114.0, 97.7, 78.5, 71.8, 69.5, 68.5, 68.3, 65.7, 55.3, 16.2。FTIR (净膜) 3462 (br), 3077, 2979, 2907, 2838, 1612, 1514, 1249, 1088, 1037, 821 cm^{-1} 。

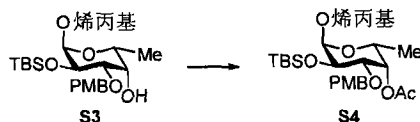
[0569]



[0570] 0-烯丙基 2-0-叔丁基二甲基硅烷基-3-0-甲氧基苯甲基- α -D-吡喃岩藻糖苷 (S3)。将吡喃岩藻糖苷 S2 (205mg, 0.632mmol, 1.00 当量)、叔丁基二甲基氯硅烷 (190mg,

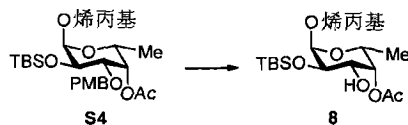
1.26mmol, 1.99 当量)、咪唑(129mg, 1.89mmol, 3.00 当量)和 4-(二甲基氨基)-吡啶(6.2mg, 0.051mmol, 0.080 当量)溶于二氯甲烷(8.0mL)中并在 23℃下搅拌 27 小时。通过硅胶色谱法(7 : 3 己烷 / 乙酸乙酯)直接纯化反应混合物,得到 S3(270mg, 0.62mmol, 产率 97%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.32-7.26(m, 2H), 6.92-6.85(m, 2H), 5.94(m, 1H), 5.34(dq, J = 17.4, 1.4Hz, 1H), 5.22(dq, J = 10.3, 1.3Hz, 1H), 4.79(d, J = 3.8Hz, 1H), 4.69(d, J = 11.3Hz, 1H, PhCH₂-), 4.56(d, J = 11.3Hz, 1H, PhCH₂-), 4.19(ddt, J = 13.0, 5.4, 1.3Hz, 1H), 4.05(ddt, J = 13.2, 6.5, 1.2Hz, 1H), 3.99(m, 1H), 3.95(q, J = 6.5Hz, 1H), 3.82(s, 3H, OMe), 3.76-3.70(m, 2H), 2.50(s, 1H), 1.28(d, J = 6.6Hz, 3H), 0.93(s, 9H), 0.10(s, 3H), 0.09(s, 3H); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃) δ 159.31, 134.16, 130.43, 129.42, 117.73, 113.83, 98.34, 78.27, 72.28, 70.11, 69.29, 68.48, 65.31, 55.21, 25.86, 18.19, 16.17, -4.43, -4.69; FTIR(净膜) 3507(br), 2953, 2930, 2899, 2857, 1613, 1514, 1250, 1106, 1040, 875, 837, 778cm⁻¹。

[0571]



[0572] 0-烯丙基 4-O-乙酰基-2-O-叔丁基二甲基硅烷基-3-O-甲氧基苯甲基-α-D-吡喃岩藻糖苷(S4)。向含吡喃岩藻糖苷 S3(264mg, 0.602mmol, 1.00 当量)和 4-(二甲基氨基)-吡啶(7.3mg, 0.060mmol, 0.10 当量)的二氯甲烷(10mL)中加入三乙胺(0.25mL, 1.8mmol, 3.0 当量)和乙酸酐(0.17mL, 0.80mmol, 3.0 当量)。在 23℃下搅拌反应混合物 22.5 小时,接着浓缩并通过硅胶色谱法(17 : 3 己烷 / 乙酸乙酯)进行纯化,得到呈无色油状的 S4(288mg, 0.599mmol, 产率 > 99%)。¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ 7.24-7.21(m, 2H), 6.85-6.82(m, 2H), 5.92(m, 1H), 5.36(dd, J = 3.2, 1.0Hz, 1H), 5.32(dq, J = 17.2, 1.6Hz, 1H), 5.21(dq, J = 10.4, 1.2Hz, 1H), 4.81(d, J = 3.8Hz, 1H), 4.60(d, J = 10.6Hz, 1H, PhCH₂-), 4.40(d, J = 10.6Hz, 1H, PhCH₂-), 4.18(ddt, J = 13.1, 5.2, 1.2Hz, 1H), 4.12-4.02(m, 2H), 3.97(dd, J = 9.9, 3.8Hz, 1H), 3.78(s, 3H), 3.77(m, 1H), 2.14(s, 3H), 1.14(d, J = 6.5Hz, 3H), 0.89(s, 9H), 0.04(s, 3H), 0.03(s, 3H); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃) δ 170.84, 159.06, 134.07, 130.50, 129.58, 118.00, 113.56, 98.48, 76.12, 71.61, 71.08, 69.56, 68.74, 64.85, 55.24, 25.91, 20.96, 18.30, 16.25, -4.35, -4.90; FTIR(净膜) 2983, 2954, 2930, 2902, 2857, 1742, 1614, 1515, 1249, 1104, 1055, 1040, 1019, 837, 779, 735cm⁻¹; HRMS(ESI)m/z : C₂₅H₄₀O₇Si (M+Na⁺) 的计算值为 503.2441, 实验值为 503.2437。

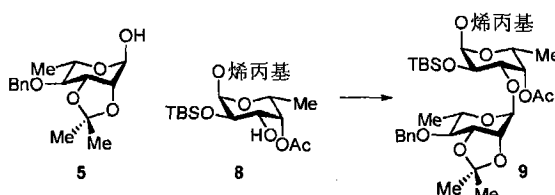
[0573]



[0574] 0-烯丙基 4-O-乙酰基-2-O-叔丁基二甲基硅烷基-α-D-吡喃岩藻糖苷(8)。在 0℃下向含吡喃岩藻糖苷 S4(100mg, 0.208mmol, 1.00 当量)的二氯甲烷(4mL)和 H₂O(0.4mL)中加入 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(71mg, 0.31mmol, 1.5 当量)。在 0℃下搅拌 10 分钟并在 23℃下搅拌 2.5 小时后,通过硅藻土 435 过滤反应混合物,浓缩并通过硅胶色谱法(4 : 1 己烷 / 乙酸乙酯)进行纯化,得到呈无色油状的 8(65mg, 0.18mmol, 产率 86%)。

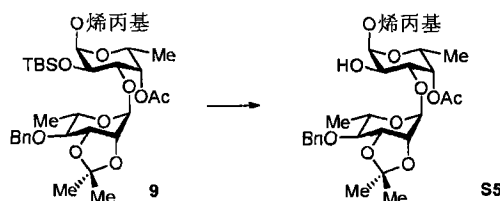
^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 5.90 (m, 1H), 5.32 (dq, $J = 17.1, 1.6\text{Hz}$, 1H), 5.25 (dd, $J = 3.5, 1.1\text{Hz}$, 1H), 5.20 (dq, $J = 10.4, 1.3\text{Hz}$, 1H), 4.81 (d, $J = 3.7\text{Hz}$, 1H), 4.18 (ddt, $J = 13.1, 5.3, 1.5\text{Hz}$, 1H), 4.09 (qd, $J = 6.7, 1.0\text{Hz}$, 1H), 4.06 (dt, $J = 10.0, 3.2\text{Hz}$, 1H), 4.00 (qt, $J = 6.3, 1.2\text{Hz}$, 1H), 3.89 (dd, $J = 10.0, 3.7\text{Hz}$, 1H), 2.16 (s, 3H), 2.05 (d, $J = 3.0\text{Hz}$, 1H), 1.13 (d, $J = 6.6\text{Hz}$, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.11 (s, 3H), 0.10 (s, 3H); ^{13}C NMR (100.6MHz, CDCl_3) δ 171.12, 133.87, 117.79, 98.26, 73.27, 70.66, 68.80, 68.77, 65.03, 25.80, 20.86, 18.22, 16.11, -4.51, -4.59; FTIR (净膜) 3503, 2927, 1737, 1372, 1242, 1170, 1136, 1087, 1038, 939, 878, 839, 778 cm^{-1} ; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_6\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 的计算值为 383.1866, 实验值为 383.1864。

[0575]



[0576] 0-烯丙基 4-O-乙酰基-[4-O-苯甲基-2,3-二-O-亚异丙基- α -L-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 3)]-2-O-叔丁基二甲基硅烷基- α -D-吡喃岩藻糖苷 (9)。在 -78°C 下将三氟甲烷磺酸酐 (0.39mL, 2.3mmol, 2.8 当量) 加入吡喃鼠李糖 5 (245mg, 0.832mmol, 1.00 当量)、苯基亚砷 (982mg, 4.85mmol, 5.83 当量) 和 2,4,6-三叔丁基吡啶 (1.21g, 4.89mmol, 5.88 当量) 于二氯甲烷 (25mL) 中的溶液中。在 -78°C 下搅拌反应物 30 分钟并在 -45°C 下搅拌 1.5 小时后, 通过套管加入吡喃岩藻糖苷 8 (150mg, 0.416mmol, 0.500 当量) 于二氯甲烷 (5.0mL) 中的溶液。在 -45°C 下搅拌反应混合物 1 小时, 在 0°C 下搅拌 1 小时并在 23°C 下搅拌 14 小时。将三乙胺 (0.1mL) 加入反应混合物中, 浓缩并通过硅胶色谱法 (17 : 3 己烷 / 乙酸乙酯) 进行纯化, 得到呈无色油状的 9 (222mg, 0.349mmol, 产率 84%)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 7.38-7.22 (m, 5H), 5.90 (m, 1H), 5.23-5.16 (m, 3H), 4.88 (d, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.70 (d, $J = 3.6\text{Hz}$, 1H), 4.63 (d, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.21-4.05 (m, 5H), 4.02-3.94 (m, 2H), 3.72 (dd, $J = 10.0, 6.5\text{Hz}$, 1H), 3.15 (dd, $J = 9.6, 6.0\text{Hz}$, 1H), 2.20 (s, 3H, Me), 1.46 (s, 3H, Me), 1.32 (s, 3H, Me), 1.26 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 3H), 1.09 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.09 (s, 3H), 0.08 (s, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 170.6, 138.8, 134.1, 128.6, 128.4, 128.3, 128.2, 117.9, 108.9, 99.7, 98.7, 81.0, 78.7, 76.3, 75.1, 73.9, 73.1, 70.2, 68.9, 65.38, 65.35, 28.2, 26.4, 26.0, 21.1, 18.2, 17.8, 16.3, -4.2, -4.6; FTIR (净膜) 3066, 3033, 2985, 2934, 2857, 2905, 1747, 1455, 1382, 1373, 1236, 1138, 1096, 1057, 1012, 937, 864, 777, 736, 698 cm^{-1} ; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_{10}\text{Si}$ ($\text{M}+\text{NH}_4^+$) 的计算值为 654.3674, 实验值为 654.3672。

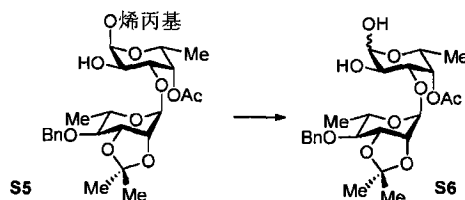
[0577]



[0578] 0-烯丙基 4-O-乙酰基-[4-O-苯甲基-2,3-二-O-亚异丙基- α -L-吡喃鼠李糖

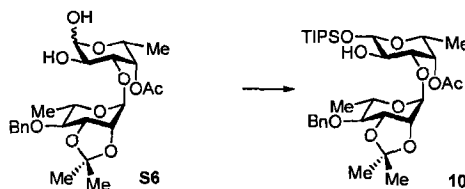
糖-(1→3)]-α-D-吡喃岩藻糖苷(S5)。在0℃下向二糖9(190mg,0.298mmol,1.00当量)于四氢呋喃(10mL)中的溶液中加入四丁基氟化铵溶液(1.0M于四氢呋喃中,0.33mL,0.33mmol,1.1当量)。15分钟后,反应混合物升温至23℃并在此温度下搅拌4小时。加入硅胶(1g),去除溶剂,并通过硅胶色谱法(3:2己烷/乙酸乙酯)来纯化反应物质,得到S5(148mg,0.283mmol,产率95%)。¹H NMR(CDCl₃,500MHz) δ 7.37-7.24(m,5H),5.91(m,1H),5.30(m,1H),5.28(s,1H),5.23(m,1H),5.17(dd,J=3.5,1.0Hz,1H),4.94(d,J=3.5Hz,1H),4.86(d,J=11.5Hz,1H,PhCH₂-),4.64(d,J=11.5Hz,1H,PhCH₂-),4.24-4.16(m,3H),4.08-4.01(m,2H),3.99-3.88(m,2H),3.72(m,1H),3.18(dd,J=9.5,6.5Hz,1H),2.13(s,3H),2.01(d,J=10.0Hz,1H),1.47(s,3H),1.35(s,3H),1.26(d,J=6.5Hz,3H),1.11(d,J=6.5Hz,3H);¹³C NMR(125MHz,CDCl₃) δ 170.6,138.7,133.7,128.4,128.2,127.8,118.4,109.2,99.5,98.1,80.9,76.3,75.5,73.3,73.1,69.4,69.0,65.8,65.5,28.2,26.6,21.0,17.9,16.4;FTIR(净膜)3470(br),3032,2985,2936,1744,1454,1381,1237,1168,1092,933,863,816,737,698cm⁻¹;HRMS(ESI)m/z:C₂₇H₃₈O₁₀(M+Na⁺)的计算值为545.2363,实验值为545.2355。

[0579]



[0580] 4-O-乙酰基-[4-O-苯甲基-2,3-二-O-亚异丙基-α-L-吡喃鼠李糖-(1→3)]-D-岩藻吡喃糖(S6)。向含二糖S5(80mg,0.15mmol,1.0当量)和Pd(PPh₃)₄(18mg,0.015mmol,0.10当量)的乙醚(9.0mL)中加入Et₂Zn溶液(1.0M于己烷中,1.53mL,1.53mmol,10.0当量)。在23℃下搅拌反应混合物10小时,接着加入另一部分Pd(PPh₃)₄(18mg,0.015mmol,0.10当量)。11小时后,用乙酸乙酯稀释反应物,接着加入饱和NaCl水溶液。通过乙酸乙酯(2×50mL)萃取水相。合并的有机相经干燥(MgSO₄),过滤,浓缩,且通过硅胶色谱法(1:4己烷/乙酸乙酯)来纯化残余物,得到呈异头物混合物形式的半缩醛S6(50mg,0.10mmol,产率68%)。特征峰:¹H NMR(500MHz,CDCl₃) δ 7.37-7.25(m,5H),4.87(d,J=11.3Hz,1H,PhCH₂-),4.64(d,J=11.3Hz,1H,PhCH₂-),1.47(s,3H),1.36(s,3H)。半缩醛混合物立即用于随后硅烷化反应中。

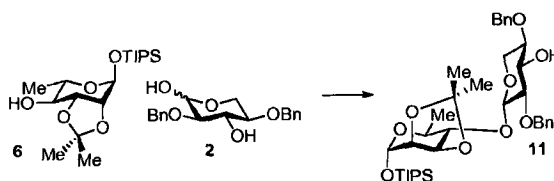
[0581]



[0582] 0-三异丙基硅烷基4-O-乙酰基-[4-O-苯甲基-2,3-二-O-亚异丙基-α-L-吡喃鼠李糖-(1→3)]-β-D-吡喃岩藻糖苷(10)。用三异丙基氯硅烷(150μl,0.70mmol,5.9当量)处理半缩醛S6(57mg,0.12mmol,1.0当量)、咪唑(64mg,0.94mmol,8.0当量)和4-(二甲基氨基)-吡啶(3mg,0.02mmol,0.2当量)于二甲基甲酰胺(0.5mL)中的溶液。在23℃下搅拌反应物4小时,接着直接通过硅胶色谱法(4:1己烷/乙酸乙酯)进行纯化,

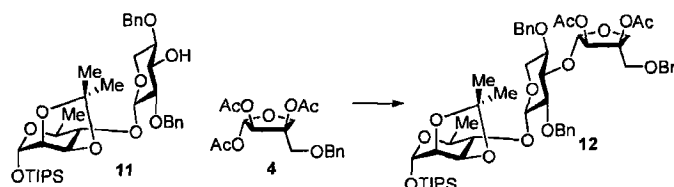
得到呈白色粉末状的 10 (56mg, 0.088mmol, 75%)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 500MHz) δ 7.38–7.25(m, 5H), 5.32(s, 1H), 5.12(dd, $J = 3.0, 1.3\text{Hz}$, 1H), 4.85(d, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.64(d, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.55(d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 4.18(m, 2H), 3.82–3.64(m, 4H), 3.18(m, 1H), 2.18(d, $J = 2.0\text{Hz}$, 1H), 2.12(s, 3H), 1.48(s, 3H), 1.36(s, 3H), 1.26(d, $J = 6.5\text{Hz}$, 3H), 1.14(d, $J = 6.5\text{Hz}$, 3H), 1.10–1.02(m, 21H, Si-*i*-Pr₃) ; ^{13}C NMR(125MHz, CDCl_3) δ 170.8, 138.7, 128.4, 128.2, 127.8, 109.2, 99.2, 97.9, 80.9, 78.6, 76.7, 76.4, 74.2, 73.1, 72.7, 70.0, 65.5, 28.2, 26.6, 21.0, 18.05, 18.00, 17.9, 16.5, 12.5 ; FTIR(净膜) 3496(br), 3089, 3064, 3032, 2938, 2866, 1744, 1455, 1381, 1237, 1076, 737 cm^{-1} ; HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{O}_9\text{Si}(\text{M}+\text{Na}^+)$ 的计算值为 645.3435, 实验值为 645.3421。

[0583]



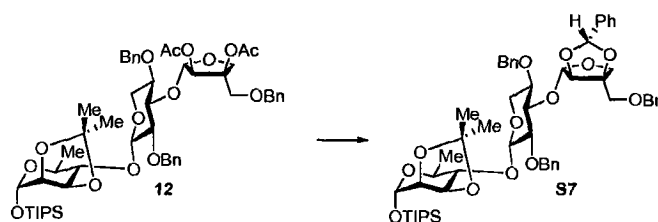
[0584] 0-三异丙基硅烷基 [2,4-二-O-苯甲基- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 4)]-2,3-二-O-亚异丙基- α -L-吡喃鼠李糖苷(11)。在 -78°C 下向吡喃木糖 2(140mg, 0.424mmol, 1.00 当量)、苯基亚砷(500mg, 2.47mmol, 5.83 当量)和 2,4,6-三叔丁基吡啶(604mg, 2.44mmol, 5.78 当量)于二氯甲烷(16mL)中的溶液中加入三氟甲烷磺酸酐(0.20mL, 1.19mmol, 2.80 当量)。15 分钟后,通过套管加入吡喃鼠李糖苷 6(305mg, 0.846mmol, 2.00 当量)于二氯甲烷(5mL)中的溶液。在 -78°C 下搅拌反应混合物 15 分钟,在 -45°C 下搅拌 30 分钟,在 0°C 下搅拌 30 分钟,在 23°C 下搅拌 10 小时,在 35°C 下搅拌 5 小时,且最后在 23°C 下再搅拌 9 小时。用二氯甲烷(100mL)稀释反应混合物且用饱和 NaHCO_3 水溶液(2 $\times$ 100mL)和饱和 NaCl 水溶液(2 $\times$ 100mL)洗涤。用二氯甲烷(150mL)萃取水性洗涤液,且合并的有机相经干燥(MgSO_4),过滤并浓缩,得到米色非晶形固体。进行硅胶色谱法(7 : 3 己烷 / 乙酸乙酯),得到呈白色非晶形固体状的 11(215mg, 产率 75%)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 500MHz) δ 7.40–7.27(m, 10H), 5.37(s, 1H), 4.94(d, $J = 11.5\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.92(d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 4.75(d, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.66(d, $J = 11.5\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.64(d, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.22(dd, $J = 7.0, 5.0\text{Hz}$, 1H), 4.06(dd, $J = 5.0, 0.5\text{Hz}$, 1H), 3.96(dd, $J = 11.5, 5.5\text{Hz}$, 1H), 3.87(m, 1H), 3.72(t, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 3.64(dd, $J = 10.0, 7.5\text{Hz}$, 1H), 3.53(m, 1H), 3.24(d, $J = 10.0\text{Hz}$, 1H), 3.21(t, $J = 9.5\text{Hz}$, 2H), 3.18(d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 1.51(s, 3H), 1.36(s, 3H), 1.26(d, $J = 6.0\text{Hz}$, 3H), 1.18–1.05(m, 21H, Si-*i*-Pr₃) ; ^{13}C NMR(125MHz, CDCl_3) δ 170.8, 138.7, 128.4, 128.2, 127.8, 109.2, 99.2, 97.9, 80.9, 78.6, 76.7, 76.4, 74.2, 73.1, 72.7, 70.0, 65.5, 28.2, 26.6, 21.0, 18.05, 18.00, 17.9, 16.5, 12.5 ; FTIR(净膜) 3483(br), 3031, 2942, 2867, 1497, 1455, 1383, 1242, 1221, 1085, 1018, 883, 809, 735, 697 cm^{-1} ; HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{O}_9\text{Si}(\text{M}+\text{Na}^+)$ 的计算值为 695.3591, 实验值为 695.3594。

[0585]



[0586] 0-三异丙基硅烷基 {[2,3-二-0-乙酰基-5-0-苯甲基-β-D-呋喃芹菜糖基-(1→3)]-2,4-二-0-苯甲基-β-D-吡喃木糖基-(1→4)}-2,3-二-0-亚异丙基-α-L-吡喃鼠李糖苷(12)。在0℃下向1,2,3-三-0-乙酰基-5-0-苯甲基-β-D-呋喃芹菜糖苷(4)(466mg,1.27mmol,1.89当量)和11(452mg,0.672mmol,1.00当量)于二氯甲烷(19mL)中的溶液中加入三氟甲烷磺酸叔丁基二甲基硅烷酯(7.7μl,0.034mmol,0.050当量)。25分钟后,加入三乙胺(0.1mL)。浓缩反应混合物,并通过硅胶色谱法(4:1至3:2己烷/乙酸乙酯)来纯化残余物,得到呈无色油状的12(567mg,0.579mmol,产率86%)。R_f=0.58(2:1己烷/乙酸乙酯);¹H NMR(CDCl₃,500MHz) δ 7.37-7.23(m,15H),5.47(s,1H),5.45(s,1H),5.36(s,1H),4.89(d,J=1.5Hz,1H),4.86(d,J=2.0Hz,1H),4.63(d,J=11.0Hz,1H),4.56(d,J=12.0Hz,1H,PhCH₂-),4.50(d,J=11.5Hz,1H,PhCH₂-),4.42(d,J=12.0Hz,1H,PhCH₂-),4.39(d,J=11.5Hz,1H,PhCH₂-),4.21(d,J=10.5Hz,1H,PhCH₂-),4.18(dd,J=7.0,5.5Hz,1H),4.10(d,J=10.5Hz,1H,PhCH₂-),4.07(d,J=10.5Hz,1H),4.03(d,J=5.5Hz,1H),3.90-3.82(m,3H),3.76(t,J=9.0Hz,1H),3.62(dd,J=10.0,7.5Hz,1H),3.30(m,1H),3.24(dd,J=9.5,8.0Hz,1H),3.14(dd,J=12.0,10.0Hz,1H),2.04(s,3H),1.97(s,3H),1.49(s,3H),1.34(s,3H),1.26(d,J=6.5Hz,3H),1.20-1.04(m,21H,Si-i-Pr₃);¹³C NMR(125MHz,CDCl₃) δ 170.3,169.4,138.7,138.3,138.1,128.7,128.6,128.4,128.2,128.09,128.04,127.99,109.6,106.7,101.8,91.8,85.9,82.1,78.9,78.4,78.3,78.1,77.5,76.91,76.85,74.5,73.6,73.5,73.2,69.7,64.3,64.0,28.1,26.8,21.6,20.8,18.03,17.97,17.94,12.2;FTIR(净膜)2943,2868,1747,1455,1370,1247,1084,883,809cm⁻¹;HRMS(ESI)m/z:C₅₃H₇₄O₁₅Si(M+Na⁺)的计算值为1001.4695,实验值为1001.4730。

[0587]

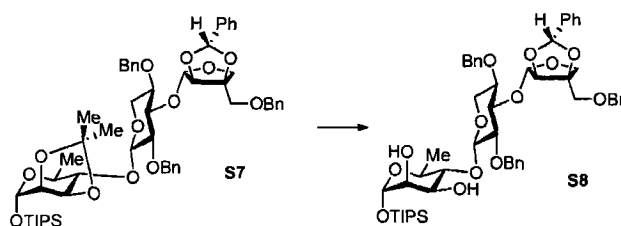


[0588] 0-三异丙基硅烷基 {[5-0-苯甲基-2,3-二-0-苯亚甲基-β-D-呋喃芹菜糖基-(1→3)]-2,4-二-0-苯甲基-β-D-吡喃木糖基-(1→4)}-2,3-二-0-亚异丙基-α-L-吡喃鼠李糖苷(S7)。将碳酸钾(221mg,1.60mmol,6.99当量)加入三糖12(224mg,0.229mmol,1.00当量)于甲醇(10mL)和水(1mL)中的溶液中。在23℃下搅拌反应物1小时。用饱和NH₄Cl水溶液(100mL)稀释反应物,并用二氯甲烷(3×100mL)萃取。合并的有机相经干燥(Na₂SO₄)并真空浓缩。

[0589] 用α,α-二甲氧基甲苯(25mL)和对甲苯磺酸一水合物(22mg,0.11mmol,0.51当量)处理残余物,并在23℃下搅拌2小时。接着用二氯甲烷(150mL)稀释反应混合物,并

用饱和 NaHCO_3 水溶液 (100mL) 和水 (100mL) 洗涤。有机相经干燥 (Na_2SO_4), 过滤并在加热下真空浓缩, 去除过量的 α , α -二甲氧基甲苯。通过硅胶色谱法 (82 : 18 己烷 / 乙酸乙酯) 来纯化残余物, 得到三糖 S7 (211mg, 0.215mmol, 两步产率 94%)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 7.53–7.23 (m, 20H), 5.98 (s, 1H), 5.74 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.90 (d, J = 7.6Hz, 1H), 4.84 (d, J = 11.0Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.69 (d, J = 11.0Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.60 (d, J = 1.4Hz, 2H), 4.53 (d, J = 11.6Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.52 (s, 1H), 4.46 (d, J = 11.7Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.19 (dd, J = 5.4, 1.7Hz, 1H), 4.04 (dd, J = 5.6, 0.7Hz, 1H), 3.90–3.79 (m, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.61 (dd, J = 7.3, 2.7Hz, 1H), 3.27 (dd, J = 7.8, 1.4Hz, 1H), 3.16 (dd, J = 10.1, 1.4Hz, 1H), 1.48 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.25 (d, J = 6.5Hz, 3H), 1.20–1.02 (m, 21H, Si-*i*-Pr₃); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 138.34, 138.28, 138.20, 137.0, 129.9, 128.9, 128.7, 128.6, 128.54, 128.52, 128.04, 127.96, 127.90, 127.7, 127.4, 109.6, 107.5, 106.6, 101.8, 91.9, 87.3, 81.7, 78.4, 78.3, 78.1, 77.8, 76.8, 74.5, 73.8, 73.5, 73.2, 71.3, 64.3, 64.0, 28.1, 26.8, 18.04, 18.01, 17.95, 12.2; FTIR (净膜) 3090, 3066, 3033, 2943, 2895, 2867, 1497, 1455, 1383, 1370, 1241, 1221, 1086, 1055, 1019, 993, 883, 856, 808, 752, 735, 697 cm^{-1} ; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{56}\text{H}_{74}\text{O}_{13}\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 的计算值为 1005.4796, 实验值为 1005.4838。

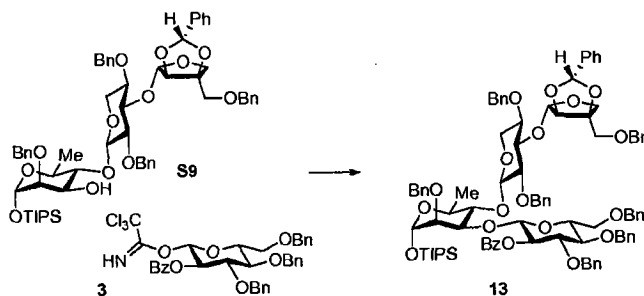
[0590]



[0591] 0-三异丙基硅烷基 { [5-0-苯甲基-2,3-二-0-苯亚甲基- β -D-呋喃芹菜糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-0-苯甲基- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 4)] }- α -L-吡喃鼠李糖苷 (S8)。向三糖 S7 (133mg, 0.135mmol, 1.00 当量) 于甲醇 (2.0mL) 与水 (6 滴) 的混合物中的溶液中加入对甲苯磺酸一水合物 (13mg, 0.068mmol, 0.51 当量)。在 23 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应物 5 天, 接着直接通过硅胶色谱法 (1 : 4 至 1 : 1 己烷 / 乙酸乙酯) 进行纯化, 得到 S8 (90mg, 0.095mmol, 产率 71%) 和起始物质 S7 (10mg, 0.010mmol, 回收 7.5%)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz) δ 7.52–7.50 (m, 2H), 7.40–7.33 (m, 9H), 7.32–7.24 (m, 9H), 5.99 (s, 1H), 5.70 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.83 (d, J = 10.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.78 (d, J = 10.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.61 (d, 1H, J = 2.0Hz), 4.63 (d, J = 12.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.59 (d, J = 12.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.56–4.54 (m, 2H), 4.54 (d, J = 11.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.46 (d, J = 11.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 3.99 (s, 2H), 3.90–3.78 (m, 5H), 3.67 (m, 2H), 3.46 (t, J = 9.0Hz, 1H), 3.40–3.33 (m, 2H), 3.14 (dd, J = 11.5, 10.5Hz, 1H), 2.26 (d, J = 3.0Hz, 1H), 1.27 (d, J = 6.5Hz, 3H), 1.16–1.04 (m, 21H, Si-*i*-Pr₃); ^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 138.2, 138.1, 137.0, 136.9, 129.9, 128.95, 128.86, 128.7, 128.62, 128.55, 128.2, 128.1, 128.0, 127.7, 127.4, 107.6, 106.7, 104.7, 93.9, 91.8, 87.3, 83.5, 82.8, 78.6, 76.6, 76.1, 73.8, 73.5, 73.4, 72.9, 71.6, 71.0, 66.1, 64.4, 17.97, 17.89, 17.7, 12.1; FTIR (净膜) 3468 (br), 3066, 3033, 2943, 2867, 1455, 1386, 1093, 1053, 986, 882, 861, 734, 696 cm^{-1} ; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{53}\text{H}_{70}\text{O}_{13}\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 的计算值为 965.4483, 实验值为 965.4470。

Chemical reaction scheme showing the conversion of S8 to S9. S8 is a complex molecule with a central sugar core, multiple benzyl (BnO) and benzylidene (Ph) protecting groups, and an OTIPS group. S9 is the product, where the protecting groups have been modified, notably the removal of a benzylidene group and the addition of a methyl group (Me) to the sugar core.

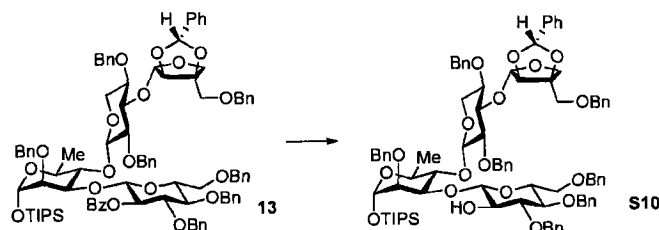
[0594]



81

到 13 (115mg, 0.0733mmol, 产率 86%)。 ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 8.18 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 2H), 7.64–7.14 (m, 43H), 6.06 (s, 1H), 5.91 (s, 1H), 5.34 (dd, $J = 9.5, 8.0\text{Hz}$, 1H), 4.98–4.92 (m, 3H), 4.86–4.81 (m, 2H), 4.79 (s, 1H), 4.77 (d, $J = 11.0\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.75 (d, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.70–4.58 (m, 6H), 4.47 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 4.42 (d, $J = 11.5\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.37 (d, $J = 11.5\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.32 (d, $J = 11.5\text{Hz}$, 1H), 4.20 (dd, $J = 9.0, 3.0\text{Hz}$, 1H), 4.15 (d, $J = 10.5\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 4.13 (d, $J = 10.5\text{Hz}$, 1H, PhCH_2-), 3.88–3.70 (m, 7H), 3.66 (dd, $J = 11.5, 2.5\text{Hz}$, 1H), 3.59–3.53 (m, 2H), 3.44 (d, $J = 10.0\text{Hz}$, 1H), 3.29–3.23 (m, 1H), 3.20 (dd, $J = 9.0, 8.0\text{Hz}$, 1H), 2.32 (m, 1H), 2.05 (t, $J = 11.0\text{Hz}$, 1H), 1.28 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 3H), 1.10–0.90 (m, 21H, Si-i-Pr₃); ^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 165.4, 139.2, 139.1, 138.71, 138.66, 138.64, 138.2, 138.1, 136.9, 133.5, 130.2, 130.1, 129.9, 129.4, 128.94, 128.85, 128.7, 128.60, 128.59, 128.57, 128.55, 128.45, 128.42, 128.1, 128.0, 127.95, 127.93, 127.8, 127.7, 127.6, 127.54, 127.50, 127.4, 107.4, 106.6, 102.7, 100.9, 94.0, 91.9, 87.4, 83.3, 81.8, 79.0, 78.3, 78.0, 77.5, 76.7, 75.3, 74.9, 74.67, 74.64, 74.5, 73.89, 73.87, 73.84, 73.57, 72.8, 71.4, 70.0, 67.3, 63.0, 18.10, 18.04, 18.02, 12.1; FTIR (净膜) 3030, 2938, 2862, 1734, 1452, 1264 cm^{-1} ; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{94}\text{H}_{108}\text{O}_{19}\text{Si}$ ($M+\text{Na}^+$) 的计算值为 1569.7332, 实验值为 1569.7397。

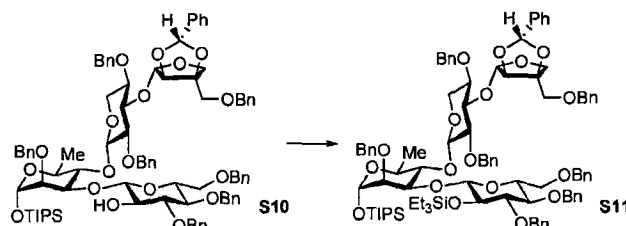
[0596]



[0597] 0-三异丙基硅烷基 2-0-苯甲基-[3,4,6-三-0-苯甲基- β -D-呋喃果糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-[[5-0-苯甲基-2,3-二-0-苯亚甲基- β -D-呋喃芹菜糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-0-苯甲基- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 4)]- α -L-吡喃鼠李糖苷 (S10)。在 -78°C 下向四糖 13 (110mg, 0.0701mmol, 1.00 当量) 于二氯甲烷 (15mL) 中的溶液中加入二异丁基氢化铝溶液 (1.0M 于己烷中, 0.14mL, 0.14mmol, 2.0 当量)。0.5 小时后, 再加入二异丁基氢化铝溶液 (1.0M 于己烷中, 0.20mL, 0.20mmol, 2.9 当量), 且 0.5 小时后, 在 -78°C 下用甲醇淬灭反应。浓缩反应混合物, 并通过硅胶色谱法 (4 : 1 己烷 / 乙酸乙酯) 来纯化残余物, 得到 S10 (95mg, 0.065mmol, 产率 92%)。 ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 7.50–7.42 (m, 2H), 7.46–7.14 (m, 38H), 6.02 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 5.06 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 4.97–4.92 (m, 2H), 4.88–4.80 (m, 4H), 4.72 (d, $J = 11.0\text{Hz}$, 1H), 4.68–4.60 (m, 4H), 4.59–4.48 (m, 4H), 4.38 (d, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H), 4.06–3.82 (m, 9H), 3.70 (s, 4H), 3.62 (dd, $J = 11.0, 4.0\text{Hz}$, 1H), 3.54–3.40 (m, 4H), 3.36–3.26 (m, 2H), 3.22 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 2.76 (m, 2H), 1.34 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 3H), 1.10–0.90 (m, 21H, Si-i-Pr₃); ^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 139.3, 139.0, 138.48, 138.45, 138.2, 137.4, 136.8, 129.8, 129.4, 129.1, 128.9, 128.71, 128.66, 128.59, 128.56, 128.48, 128.44, 128.37, 128.05, 127.99, 127.7, 127.59, 127.57, 127.4, 107.8, 106.8, 105.0, 103.1, 93.7, 91.9, 87.5, 85.1, 83.1, 82.8, 79.5, 78.2, 77.4, 77.2, 77.1, 76.1, 75.9, 75.1, 74.7, 74.5, 73.9, 73.7, 73.6, 73.2, 71.3, 69.3, 67.2, 64.2, 18.2, 18.00, 17.97, 12.1;

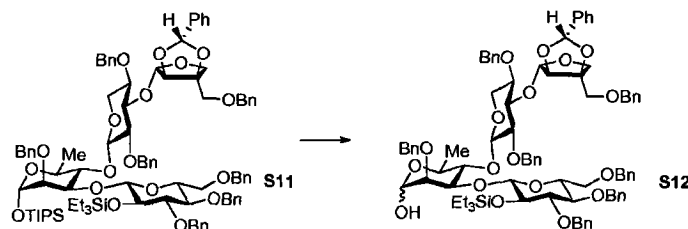
FTIR(净膜) 3436(br), 3059, 3032, 2930, 2863, 1497, 1455, 1362, 1094, 883 cm^{-1} ; HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{87}\text{H}_{104}\text{O}_{18}\text{Si}$ ($\text{M}+\text{NH}_4^+$) 的计算值为 1482.7336, 实验值为 1482.7333。

[0598]



[0599] 0-三异丙基硅烷基-2-0-苯甲基-[3,4,6-三-0-苯甲基-2-0-三异丙基硅烷基- β -D-呋喃果糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-[5-0-苯甲基-2,3-二-0-苯亚甲基- β -D-呋喃芹菜糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-0-苯甲基- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 4)]- α -L-吡喃鼠李糖苷(S11)。在 0 $^{\circ}\text{C}$ 下向四糖 S10(90mg, 0.061mmol, 1.0 当量) 于二氯甲烷(10mL) 的溶液中加入 2,6-二甲基吡啶(0.21mL, 1.8mmol, 26 当量) 和三氟甲烷磺酸三乙基硅烷酯(0.21mL, 0.92mmol, 15 当量)。在此温度下搅拌反应混合物 30 分钟并在 23 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 8 小时。浓缩反应混合物, 并通过硅胶色谱法(23 : 2 己烷 / 乙酸乙酯) 来纯化残余物, 得到 S11(96mg, 0.061mmol, 产率 99%)。 ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 7.50-7.44(m, 2H), 7.38-7.02(m, 38H), 5.96(s, 1H), 5.89(s, 1H), 5.03(d, J = 8.0Hz, 1H), 4.95(d, J = 11.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.89-4.82(m, 3H), 4.80(d, J = 12.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.75(d, J = 11.1Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.71(d, J = 11.2Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.64(d, J = 7.5Hz, 1H), 4.63-4.48(m, 7H), 4.46(d, J = 11.3Hz, PhCH_2 -, 1H), 4.39(d, J = 12.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.20(dd, 2H, 1H, J = 9.0, 3.5Hz), 4.01(t, J = 9.5Hz, 1H), 3.98-3.78(m, 5H), 3.65-3.54(m, 4H), 3.50-3.38(m, 3H), 3.36-3.24(m, 3H), 3.22(dd, J = 9.5, 8.0Hz, 1H), 2.11(d, J = 9.5Hz, 1H), 1.31(d, J = 6.0Hz, 3H), 1.06-0.89(m, 29H), 0.72(m, 6H), 0.56(m, 1H); ^{13}C NMR(125MHz, CDCl_3) δ 139.4, 139.3, 139.0, 138.8, 138.3, 138.2, 137.0, 129.8, 128.9, 128.7, 128.6, 128.50, 128.45, 128.43, 128.4, 128.3, 128.2, 127.93, 127.90, 127.8, 127.74, 127.70, 127.66, 127.6, 127.5, 127.3, 127.2, 107.5, 106.7, 102.7, 102.1, 93.7, 91.9, 87.4, 85.0, 82.9, 79.3, 78.2, 77.5, 77.35, 77.32, 76.1, 75.7, 75.2, 74.6, 74.5, 74.0, 73.80, 73.78, 73.4, 73.0, 71.3, 69.0, 66.9, 64.1, 18.1, 18.0, 12.1, 7.5, 6.9, 6.1, 5.8; FTIR(净膜) 3065, 3032, 2943, 2871, 1497, 1455, 1364, 1178, 1148, 1094, 1028, 884, 735, 697 cm^{-1} ; HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{93}\text{H}_{118}\text{O}_{18}\text{Si}_2$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 的计算值为 1601.7754, 实验值为 1601.7816。

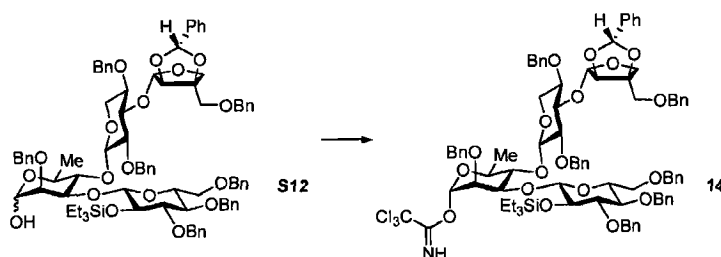
[0600]



[0601] 2-0-苯甲基-[3,4,6-三-0-苯甲基-2-0-三异丙基硅烷基- β -D-呋喃果糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-[5-0-苯甲基-2,3-二-0-苯亚甲基- β -D-呋喃芹菜糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-0-苯甲基- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 4)]-L-吡喃鼠李糖(S12)。在 0 $^{\circ}\text{C}$ 下向四

糖 S11 (96mg, 0.061mmol, 1.0 当量) 于四氢呋喃 (6mL) 中的溶液中加入四丁基氟化铵溶液 (1.0M 于四氢呋喃中, 63 μ l, 0.063mmol, 1.0 当量)。3 分钟后, 硅胶 (120mg) 加入反应混合物中, 浓缩并通过硅胶色谱法 (11 : 9 己烷 / 乙酸乙酯) 进行纯化, 得到半缩醛 S12 (88mg, 产率定量)。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.49–7.45 (m, 2H), 7.36–7.09 (m, 38H), 5.94 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 5.01 (dd, J = 3.0, 2.8Hz, 1H), 4.98–4.90 (m, 2H), 4.88–4.76 (m, 3H), 4.76–4.70 (m, 2H), 4.68–4.60 (m, 2H), 4.60–4.53 (m, 2H), 4.53–4.44 (m, 6H), 4.22 (dd, J = 8.5, 3.5Hz, 1H), 4.00–3.76 (m, 7H), 3.74 (dd, J = 3.0, 2.0Hz, 1H), 3.64–3.56 (m, 2H), 3.54–3.20 (m, 9H), 2.68 (m, 1H), 2.37 (d, J = 3.5Hz, 1H), 1.32 (d, J = 6.5Hz, 3H), 0.98 (m, 9H), 0.68–0.52 (m, 6H); ¹³C NMR (125MHz, CDCl₃) δ 139.3, 138.9, 138.8, 138.7, 138.1, 137.4, 137.0, 128.8, 128.6, 128.54, 128.50, 128.45, 128.43, 128.40, 128.37, 128.3, 128.2, 127.9, 127.8, 127.71, 127.68, 127.64, 127.60, 127.57, 127.54, 127.4, 127.35, 127.30, 127.2, 107.4, 106.6, 102.0, 91.80, 91.78, 87.3, 82.4, 78.7, 78.4, 76.5, 75.9, 75.6, 74.9, 74.8, 74.6, 73.7, 73.5, 73.4, 72.9, 71.3, 69.1, 67.4, 18.2, 18.1, 17.9, 13.1, 12.5, 7.4, 5.7, 5.6; FTIR (净膜) 3401 (br), 3032, 2938, 2874, 1454, 1364, 1095, 1066, 734, 696cm⁻¹; HRMS (ESI) m/z : C₈₄H₉₈O₁₈Si (M+Na⁺) 的计算值为 1445.6420, 实验值为 1445.6449。

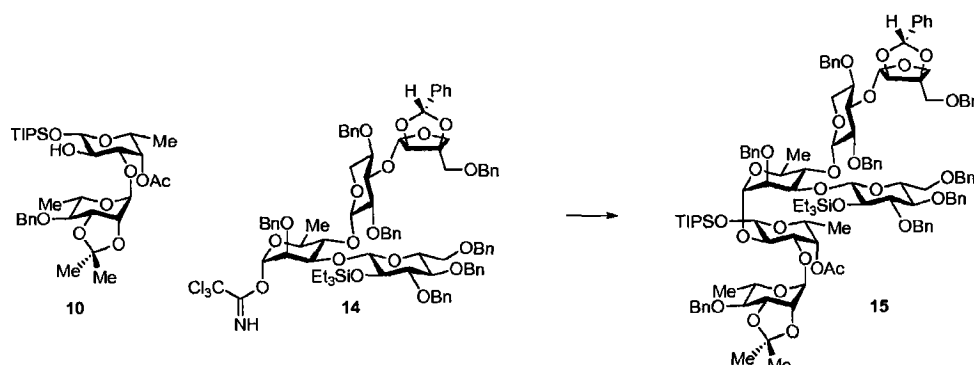
[0602]



[0603] 0-三氯亚氨代乙酰基 2-O-苯甲基-[3,4,6-三-O-苯甲基-2-O-三异丙基硅烷基- β -D-呋喃果糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-[5-O-苯甲基-2,3-二-O-苯亚甲基- β -D-呋喃芹菜糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-O-苯甲基- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 4)]- α -L-吡喃鼠李糖苷 (14)。在 0℃ 下向半缩醛 S12 (64mg, 0.045mmol, 1.0 当量) 于二氯甲烷 (10mL) 中的溶液中加入三氯乙腈 (0.9mL, 0.9mmol, 200 当量) 和 1,8-二氮二环 [5.4.0] 十一-7-烯 (62 μ l, 0.045mmol, 10 当量)。在 0℃ 下 3 小时后, 加入三乙胺 (100 μ l)。浓缩反应混合物, 并通过硅胶色谱法 (7 : 3 己烷 / 乙酸乙酯) 来纯化残余物, 得到 14 (65mg, 产率 92%)。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.52 (s, 1H), 7.53–7.49 (m, 2H), 7.41–7.09 (m, 38H), 6.17 (d, J = 2.0Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.90 (s, 1H), 5.04 (d, J = 7.8Hz, 1H), 4.97 (d, J = 11.8Hz, 1H, PhCH₂-), 4.89 (d, J = 11.8Hz, 1H, PhCH₂-), 4.85 (d, J = 12.2Hz, 1H, PhCH₂-), 4.84 (d, J = 11.1Hz, 1H, PhCH₂-), 4.78 (d, J = 11.1Hz, 1H, PhCH₂-), 4.74 (d, J = 11.3Hz, 1H, PhCH₂-), 4.71 (d, J = 11.3Hz, 1H, PhCH₂-), 4.65–4.45 (m, 9H), 4.39 (d, J = 12.4Hz, 1H, PhCH₂-), 4.05–3.87 (m, 6H), 3.67 (d, J = 10.5Hz, 1H, PhCH₂-), 3.64 (d, J = 10.5Hz, 1H, PhCH₂-), 3.57 (t, J = 9.4Hz, 1H), 3.50–3.40 (m, 3H), 3.40–3.22 (m, 4H), 2.20 (d, J = 9.3Hz, 1H), 1.41 (d, J = 6.2Hz, 3H), 1.00–0.92 (m, 9H), 0.80–0.68 (m, 6H); ¹³C NMR (125MHz, CDCl₃) δ 160.1, 139.1, 138.9, 138.5, 138.35, 138.30, 138.0, 137.9, 136.8, 129.6, 128.7, 128.4, 128.3, 128.24, 128.23, 128.13, 128.09, 128.0, 127.8, 127.75, 127.71, 127.50, 127.48, 127.46, 127.34, 127.32, 127.29, 127.2, 127.1, 127.0, 107.3, 106.4, 102.4, 101.7, 96.4,

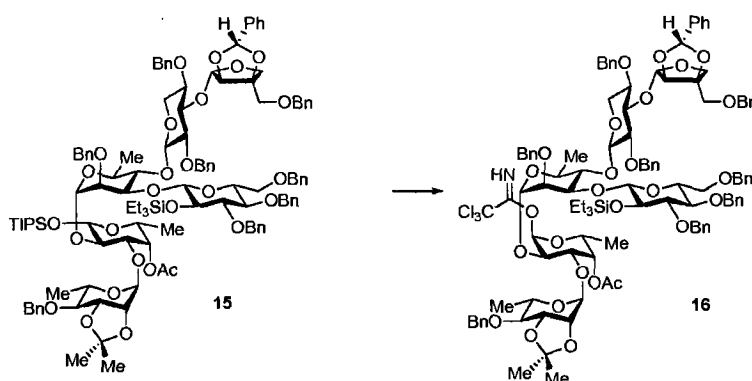
91.7, 91.4, 87.2, 84.8, 82.6, 78.0, 77.0, 76.9, 76.5, 76.1, 75.6, 75.4, 75.0, 74.31, 74.26, 73.6, 73.49, 73.46, 73.2, 72.8, 71.1, 70.1, 68.5, 18.0, 7.2, 5.5; FTIR(净膜) 3335, 3063, 3030, 2935, 2876, 1673, 1454, 1363, 1176, 1149, 1095, 1063, 1028, 796, 734, 697 cm^{-1} 。

[0604]



[0605] 0-三异丙基硅烷基(2-0-苯甲基-[3,4,6-三-0-苯甲基-2-0-三异丙基硅烷基- β -D-呋喃果糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-[5-0-苯甲基-2,3-二-0-苯亚甲基- β -D-呋喃芹菜糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-0-苯甲基- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 4)]- α -L-吡喃鼠李糖苷-[1 $\rightarrow$ 2])-4-0-乙酰基-[4-0-苯甲基-2,3-二-0-亚异丙基- α -L-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-吡喃岩藻糖苷(15)。将二氯甲烷(1.5mL)加入二糖10(18mg, 0.028mmol, 2.8当量)、酰亚胺酯14(16mg, 0.010mmol, 1.0当量)和4 Å分子筛(40mg)中,并在23℃下搅拌所得混合物30分钟,接着冷却至-15℃。加入三氟甲烷磺酸三甲基硅烷酯(0.145 μ l, 0.000799mmol, 0.0783当量)于二氯甲烷(20 μ l)中的溶液。40分钟后,加入三乙胺(60 μ l),且过滤反应混合物,浓缩并通过硅胶色谱法(97 : 3 苯 / 乙酸乙酯)进行纯化,得到15(13mg, 产率62%)。 ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 7.46-7.42(m, 2H), 7.37-7.07(m, 43H), 5.90(s, 1H), 5.72(s, 1H), 5.26(d, J = 2.0Hz, 1H), 5.09(s, 1H), 4.92-4.76(m, 5H), 4.71(d, J = 11.5Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.65(d, J = 12.0Hz, 1H, PhCH_2 -), 4.62-4.36(m, 11H), 4.18(m, 1H), 4.08(m, 2H), 3.96-3.82(m, 5H), 3.73(m, 1H), 3.67(dd, J = 10.0, 6.5Hz, 1H), 3.64-3.48(m, 5H), 3.42-3.34(m, 2H), 3.34-3.26(m, 3H), 3.24-3.16(m, 2H), 3.12(dd, J = 9.5, 7.0Hz, 1H), 2.11(s, 3H), 1.34-1.24(m, 9H), 1.18-1.02(m, 21H), 0.84-0.74(m, 9H), 0.64-0.54(m, 6H); ^{13}C NMR(125MHz, CDCl_3) δ 171.0, 139.2, 138.7, 138.2, 136.9, 129.8, 129.4, 128.8, 128.65, 128.55, 128.43, 128.38, 128.2, 128.04, 128.00, 127.84, 127.78, 127.75, 127.66, 127.61, 127.4, 127.3, 127.1, 109.3, 107.3, 106.4, 97.0, 91.7, 87.2, 80.4, 79.0, 78.7, 78.5, 77.1, 76.8, 76.4, 75.56, 75.4, 74.6, 74.0, 73.7, 73.4, 73.0, 72.8, 71.3, 65.7, 63.9, 41.6, 29.9, 28.0, 26.2, 21.1, 18.8, 18.4, 18.3, 17.8, 16.5, 12.87, 7.3, 5.5; FTIR(净膜) 2930, 2868, 1744, 1068 cm^{-1} ; LRMS(MALDI) m/z : $\text{C}_{117}\text{H}_{150}\text{O}_{27}\text{Si}_2$ ($M+\text{Na}$) 的计算值为 2065.98, 实验值为 2066.60。

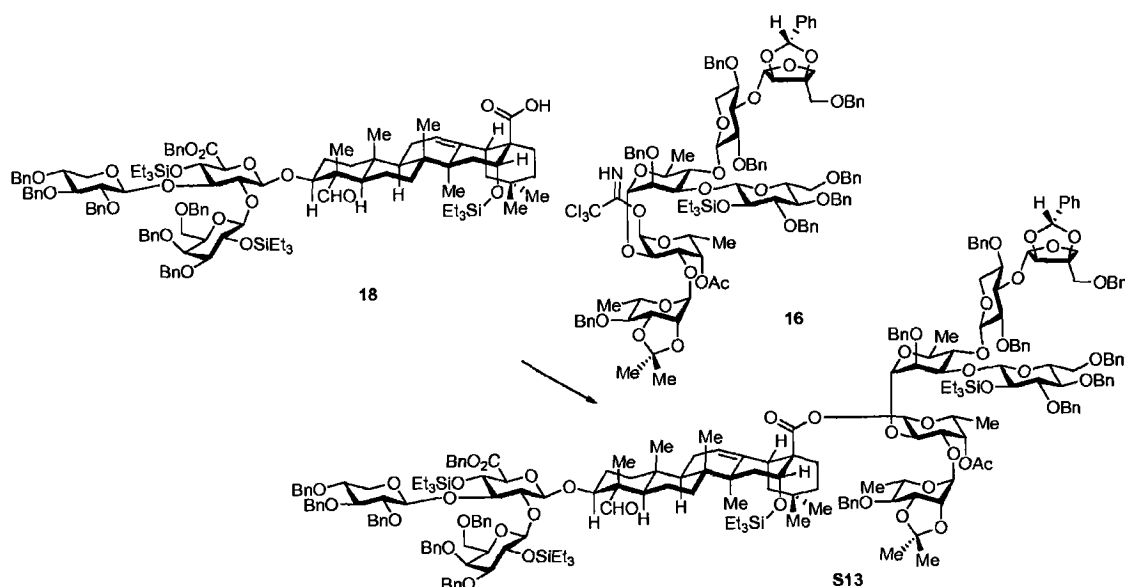
[0606]



[0607] 0-三氯亚氨代乙酰基(2-O-苯甲基-[3,4,6-三-O-苯甲基-2-O-三异丙基硅烷基-β-D-呋喃果糖基-(1→3)]-[5-O-苯甲基-2,3-二-O-苯亚甲基-β-D-呋喃芹菜糖基-(1→3)]-2,4-二-O-苯甲基-β-D-吡喃木糖基-(1→4)]-α-L-吡喃鼠李糖苷-[1→2])-4-O-乙酰基-[4-O-苯甲基-2,3-二-O-亚异丙基-α-L-吡喃鼠李糖-(1→3)]-α-D-吡喃岩藻糖苷 17。在 0℃ 下向 15 (10.0mg, 0.00489mmol, 1.00 当量) 于四氢呋喃 (1.50mL) 中的溶液中加入四丁基氟化铵溶液 (0.0245M 于四氢呋喃中, 0.20mL, 0.0049mmol, 1.0 当量)。50 分钟后, 在 0℃ 下真空去除溶剂, 得到浅黄色油状物, 立即进行进一步反应。R_f = 0.42 (9 : 1 苯 / 乙酸乙酯)。通过与甲苯 (3×1mL) 共沸来去除水, 使半缩醛干燥, 接着溶于二氯甲烷 (4.0mL) 中并冷却至 0℃。加入三氯乙腈 (74 μL, 0.74mmol, 150 当量) 和 1,8-二氮二环 [5.4.0] 十一-7-烯 (2.7 μL, 0.020mmol, 4.0 当量), 且在 0℃ 下搅拌溶液 13.5 小时并在 23℃ 下搅拌 2 小时。接着浓缩溶液并通过硅胶色谱法 (99 : 1 至 9 : 1 苯 / 乙酸乙酯) 进行纯化, 得到 16 (8.3mg, 0.0041mmol, 产率 84%)。R_f = 0.53 (9 : 1 苯 / 乙酸乙酯); ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.54 (s, 1H, C = NH), 7.49-6.95 (m, 45H), 6.41 (d, J = 3.5Hz, 1H), 5.90 (s, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.28-5.20 (m, 2H), 5.04 (d, J = 11.9Hz, 1H), 4.92 (d, J = 11.9Hz, 1H), 4.87-4.64 (m, 3H), 4.84 (d, J = 11.7Hz, 1H), 4.83 (d, J = 11.7Hz, 1H), 4.68 (d, J = 10.9Hz, 1H), 4.64-4.39 (m, 11H), 4.32 (s, 1H), 4.28-4.19 (m, 3H), 4.19-4.08 (m, 3H), 3.91-3.78 (m, 4H), 3.78-3.61 (m, 3H), 3.57-3.33 (m, 6H), 3.30 (m, 1H), 3.23-3.09 (m, 3H), 2.16 (s, 3H, -C(O)CH₃), 1.34 (s, 3H), 1.32-1.23 (m, 10H), 1.14 (d, J = 6.5Hz, 3H), 1.12 (s, 3H), 0.85 (t, J = 7.8Hz, 9H), 0.66-0.56 (m, 6H); FTIR (净膜) 2932, 2875, 1746, 1673, 1497, 1454, 1367, 1229, 1098, 1072, 990, 735, 698cm⁻¹; LRMS (MALDI) m/z : C₁₁₀H₁₃₀Cl₃N₂O₂₇Na (M+Na) 的计算值为 2055.64, 实验值为 2055.73。

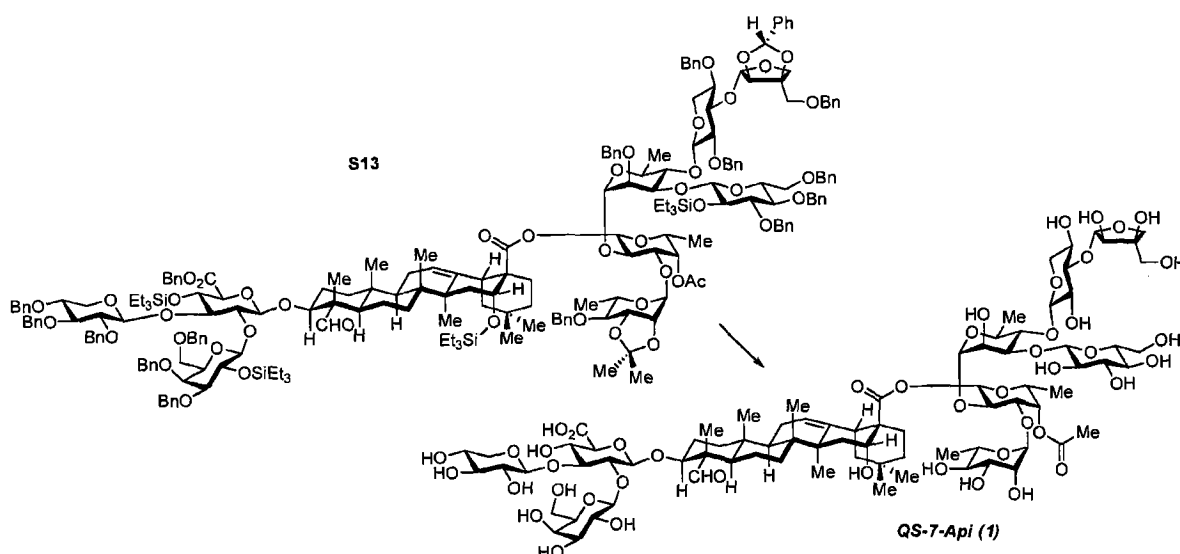
[0608] 合成的 QS-7-API 的最后组装

[0609]



[0610] 完全保护的合成 QS-7-Api(S13)。在 -78°C 下将三氟化硼乙醚 ($0.40\ \mu\text{L}$, 0.0032mmol , 1.0 当量) 于二氯甲烷 ($20\ \mu\text{L}$) 中的溶液注入酰亚胺酯 16 (6.4mg , 0.0031mmol , 1.0 当量)、18 (9.1mg , 0.0047mmol , 1.5 当量) 和 $4\ \text{\AA}$ 分子筛 (20mg) 于二氯甲烷 (2.0mL) 中的溶液中。反应温度缓慢升温至 23°C , 并在 16.5 小时后加入三乙胺 ($20\ \mu\text{L}$)。浓缩反应物, 并通过硅胶色谱法 ($4:1$ 己烷/乙酸乙酯) 进行纯化, 得到 S13 (8.5mg , 0.0022mmol , 产率 71%) 和起始物质 18 (3.0mg , 0.0016mmol , 回收 33%)。 $R_f = 0.67$ ($7:3$ 苯/乙酸乙酯); 来自以下的特征共振: ^1H NMR (500MHz , CDCl_3) δ 9.41 (s, 1H, $-\text{CHO}$), 5.94 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 5.30 (d, $J = 7.3\text{Hz}$, 1H), 5.23 (m, 1H), 5.23 (d, $J = 12.4\text{Hz}$, 1H), 5.13 (d, $J = 12.4\text{Hz}$, 1H), 5.08 (s, 1H), 5.01 (m, 1H), 4.31 (t, $J = 6.6\text{Hz}$, 1H), 4.22 (m, 1H), 4.17 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 4.12 (q, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.83 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 2.50 (m, 1H), 2.09 (s, 3H, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 1.39 (s, 3H, Me), 1.30 (s, 3H, Me), 1.12 (s, 3H, Me); 参见以下质子 NMR; MS (MALDI) m/z : $\text{C}_{222}\text{H}_{284}\text{O}_{46}\text{Si}_4\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) 的计算值为 $3821 (\pm 2)$, 实验值为 $3820 (\pm 2)$ 。

[0611]



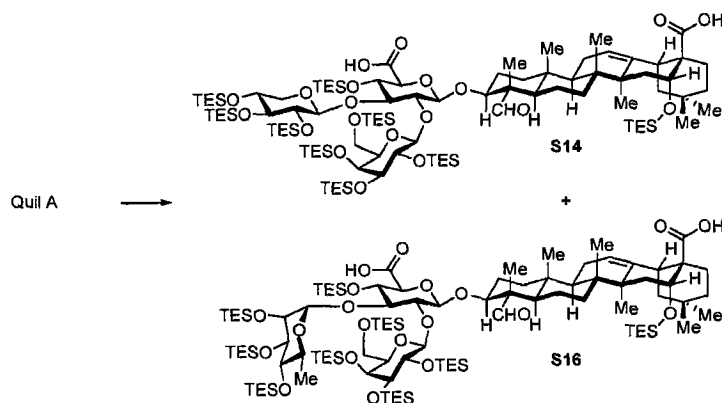
[0612] 合成的 QS-7-Api(1)。完全保护的 QS-7-Api S13 (1.3mg , 0.00034mmol , 1.0 当量) 于二氯甲烷 (0.20mL) 中的两种溶液各自转移至 10mL 圆底烧瓶中, 并冷却至 0°C 。预

先冷却 (0°C) 的三氟乙酸溶液 (1.0mL , $4:1\text{TFA/水}$) 加入各烧瓶中。用力搅拌 60 分钟后,在 0°C 下真空浓缩反应混合物 140 分钟,得到白色固体残余物。向两个烧瓶中加入四氢呋喃 (1.0mL)、乙醇 (2.0mL) 和湿的 10% (干基) 钯/碳 Degussa 类型 E101NE/W (2.0mg , 0.00094mmol , 2.8 当量)。在氢气压力 (50psi) 下搅拌两组 44 小时,接着合并悬浮液并通过 $0.45\mu\text{m}$ 聚偏二氟乙烯滤盘过滤,接着用甲醇 (5mL) 洗涤。浓缩滤液和清洗液,并通过 RP-HPLC 进行纯化,RP-HPLC 在 XBridge Prep BEH300 C18 柱 ($5\mu\text{m}$, $10\times 250\text{mm}$) 上进行,使用经 30 分钟水 (0.05% TFA) 中 $32\%\rightarrow 37\%$ 乙腈 (0.05% TFA) 的线性梯度,流速为 5mL/min 。收集含有主要峰 ($t_{\text{R}} = 14.85\text{min}$) 的部分并冻干,得到呈白色固体状的合成 QS-7-Api (1) (0.9mg , 0.0005mmol , 产率 70%)。 ^1H NMR (500MHz , $7:3\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$) δ 9.36 (s, 1H, $-\text{CHO}$), 5.39 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 5.34 (m, 1H, $\text{R}_2\text{C} = \text{CHR}$), 5.22 (d, $J = 3.1\text{Hz}$, 1H), 5.12 (d, $J = 2.9\text{Hz}$, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.67 (d, $J = 7.7\text{Hz}$, 1H), 4.63 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 1H), 4.55 (d, $J = 7.7\text{Hz}$, 1H), 4.50 (d, $J = 7.7\text{Hz}$, 1H), 4.33 (m, 1H), 4.05 (d, $J = 10.1\text{Hz}$, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.99–3.94 (m, 2H), 3.92–3.57 (m, 22H), 3.55–3.45 (m, 7H), 4.33 (m, 1H), 3.42–3.15 (m, 12H), 2.86 (dd, $J = 14.5, 3.6\text{Hz}$, 1H), 2.14 (s, 3H, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 1.89–1.30 (m, 14H), 1.28 (s, 3H, Me), 1.22 (d, $J = 6.2\text{Hz}$, 3H, Me), 1.15 (d, $J = 6.1\text{Hz}$, 3H, Me), 1.08 (s, 3H, Me), 1.05 (m, 1H), 1.02 (m, 1H), 0.99 (d, $J = 6.3\text{Hz}$, 3H, Me), 0.93 (s, 3H, Me), 0.89 (s, 3H, Me), 0.84 (s, 3H, Me), 0.71 (s, 3H, Me)。

[0613] 天然 QS-7-Api (1)。通过 RP-HPLC 分级分离 Brenntag Quil-A (205mg , 批号 L77-244), RP-HPLC 在 XBridge Prep C180BD 柱 ($5\mu\text{m}$, $19\times 150\text{mm}$) 上进行,使用经 30 分钟水 (0.05% TFA) 中 $30\%\rightarrow 40\%$ 乙腈 (0.05% TFA) 的线性梯度,流速为 5mL/min 。收集粗天然 QS-7-Api (1) ($t_{\text{R}} = 15.25\text{min}$) 并在 XBridge Prep BEH300C18 柱 ($5\mu\text{m}$, $10\times 250\text{mm}$) 上进一步纯化,使用经 30 分钟水 (0.05% TFA) 中 $32\%\rightarrow 37\%$ 乙腈 (0.05% TFA) 的线性梯度,流速为 5mL/min 。收集含有 QS-7-Api (1) ($t_{\text{R}} = 14.85\text{min}$) 的部分并冻干,得到呈白色固体状的天然 QS-7-Api (1) (2.0mg) (通过 ^1H NMR, 纯度为约 70%)。

[0614] 制备半合成的三萜-三糖

[0615]



[0616] $\text{O}-(16\text{-O}-\text{三乙基硅烷基}-\text{皂树酸})4\text{-O}-\text{三乙基硅烷基}-[(2,3,4\text{-三-O}-\text{三乙基硅烷基}-\beta\text{-D-吡喃木糖基})-(1\rightarrow 3)]-[(2,3,4,6\text{-四-O}-\text{三乙基硅烷基}-\beta\text{-D-吡喃半乳糖基})-(1\rightarrow 2)]-\beta\text{-D-葡萄糖醛酸苷}(\text{S14})$ 和 $\text{O}-(16\text{-O}-\text{三乙基硅烷基}-\text{皂树酸})4\text{-O}-\text{三乙基硅烷基}-[(2,3,4\text{-三-O}-\text{三乙基硅烷基}-\alpha\text{-L-吡喃鼠李糖基})-(1\rightarrow 3)]-[(2,3,4,6\text{-四-O}-\text{三乙基硅烷基}-\beta\text{-D-吡喃半乳糖基})-(1\rightarrow 2)]-\beta\text{-D-葡萄糖醛酸苷}(\text{S16})$ 。在

80℃下加热 Brenntag Quil A(1.15g,批号 L77-244)与氢氧化钾(0.97g)于乙醇(25mL)和水(25mL)中的混合物7.25小时,接着冷却至0℃并用1N NaOH水溶液中和。将反应混合物浓缩至一半体积,并通过硅胶色谱法(15 : 9 : 2 : 1 氯仿 / 甲醇 / 水 / 乙酸)进行纯化。通过TLC分离主要产物点,浓缩,并通过与甲苯(2×20mL)共沸来去除溶剂且从水(4×30mL)中冻干而进行干燥,得到呈淡棕褐色泡沫状的次皂苷元混合物(0.576g)。R_f = 0.44(15 : 9 : 2 : 1 氯仿 / 甲醇 / 水 / 乙酸);来自以下的特征共振:¹H NMR:(500MHz, CD₃OD) δ 9.44(s, 1H, -CH₂O), 5.33(m, 1H, R₂C = CH₂R), 4.80(d, J = 7.4Hz, 1H), 4.63(d, J = 7.7Hz, 1H), 4.43(s, 1H), 4.37(d, J = 6.9Hz, 1H);¹H NMR(500MHz, 7 : 3D₂O : CD₃CN) δ 9.36(s, 1H, -CH₂O), 5.29(m, 1H, R₂C = CH₂R), 4.68(d, J = 7.7Hz, 1H), 4.59(d, J = 8.2Hz, 1H)。

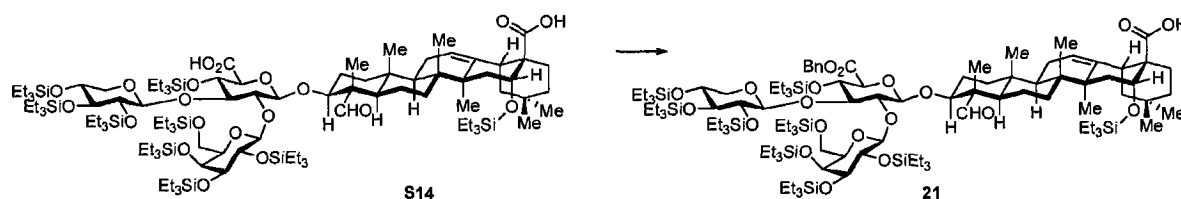
[0617] 将吡啶(8mL)加入次皂苷元(0.560g)中,并浓缩悬浮液。再加入吡啶(8.6mL),接着加入三氟甲烷磺酸三乙基硅烷酯(1.98mL, 8.76mmol)。另外的三氟甲烷磺酸三乙基硅烷酯在66小时(0.33mL, 1.5mmol)、89小时(66 μ L, 0.29mmol)和112小时(0.13mL, 0.54mmol)后加入反应物中。5天后,浓缩反应混合物并通过硅胶插塞(4 : 1至7 : 3 己烷 / 乙酸乙酯),得到淡黄色油状物,接着溶于甲醇(10mL)和四氢呋喃(10mL)中。搅拌溶液3.5天,接着浓缩并通过硅胶色谱法(4 : 1至7 : 3 己烷 / 乙酸乙酯)进行纯化,得到呈白色固体状的二酸S14(0.257g)和二酸S16(0.095g)。

[0618] S14R_f = 0.39(4 : 1 苯 / 乙酸乙酯);¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9.63(s, 1H, -CH₂O), 5.33(m, 1H, R₂C = CH₂R), 4.54(m, 1H), 4.50(d, J = 7.3Hz, 1H), 4.44(d, J = 5.9Hz, 1H), 4.39(d, J = 7.4Hz, 1H), 3.95-3.87(m, 4H), 3.83-3.78(m, 2H), 3.74(t, J = 9.0Hz, 1H), 3.65-3.58(m, 3H), 3.48(m, 1H), 3.43-3.31(m, 3H), 3.25(t, J = 7.9Hz, 1H), 3.12(t, J = 10.8Hz, 1H), 2.95(dd, J = 13.9, 3.7Hz, 1H), 2.20(t, J = 13.3Hz, 1H), 1.91-1.04(m, 23H), 1.34(s, 3H, Me), 1.23(s, 3H, Me), 1.04-0.91(m, 86H), 0.89(s, 3H, Me), 0.80-0.54(m, 56H);¹³C NMR(125.77MHz, CDCl₃) δ 212.12, 183.57, 174.57, 143.28, 122.32, 103.27, 101.72, 101.27, 86.07, 78.98, 78.88, 76.68, 76.45, 76.04, 75.99, 75.28, 74.99, 65.56, 60.44, 54.06, 49.52, 49.02, 46.47, 46.33, 41.56, 40.36, 39.76, 38.02, 36.29, 35.31, 34.85, 32.78, 32.43, 31.66, 30.61, 26.67, 25.14, 24.42, 23.42, 20.41, 17.05, 15.93, 12.15, 7.66, 7.55, 7.36, 7.25, 7.07, 6.98, 6.91, 6.04, 5.81, 5.59, 5.50, 5.42, 5.40, 5.15, 4.58; FTIR(净膜) 2953, 2912, 2877, 1722, 1460, 1414, 1378, 1239, 1163, 1103, 1007, 973, 825, 801, 738cm⁻¹; LRMS(ESI)m/z : C₁₀₁H₁₉₈O₂₀Si₉Na(M+Na⁺)的计算值为2006.2,实验值为2006.5。

[0619] S16R_f = 0.74(4 : 1 苯 / 乙酸乙酯);来自以下的特征共振:¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9.39(s, 1H), 5.33(s, 1H), 5.02(d, J = 2.2, 1H), 4.60(s, 1H), 4.51(s, 1H), 4.46(m, 1H), 4.25(d, J = 7.3, 1H), 4.15(d, J = 6.7, 1H), 3.92(s, 1H), 3.83(d, J = 5.6, 1H), 3.77(s, 1H), 3.55(m, 1H), 3.37(d, J = 8.7, 1H), 3.28(m, 1H), 2.93(dd, J = 14.0, 3.7, 1H), 2.20(m, 1H), 1.36(s, 3H), 1.17(d, J = 6.2, 3H), 1.14(s, 3H), 0.89(s, 3H);¹³C NMR(126MHz, CDCl₃) δ 143.35, 122.24, 102.81, 99.43, 97.18, 82.71, 77.86, 76.28, 75.83, 74.84, 74.05, 73.68, 73.09, 71.62, 70.85, 70.49, 60.71, 54.47, 48.98, 48.43, 46.53, 41.54, 40.85, 39.83, 38.06, 36.82, 36.10, 35.31, 34.81, 32.83, 32.32, 31.34, 30.66, 26.64, 24.45, 23.60, 20.50, 18.42, 16.92, 16.12, 10.88, 7.42, 7.38, 7.30, 7.23, 7.20, 7.17, 7.11, 7.04, 6.95,

5.62, 5.57, 5.47, 5.45, 5.40, 5.23, 5.15, 5.11, 4.62; FTIR(净膜) 2953, 2913, 2876, 1724, 1459, 1414, 1379, 1240, 1108, 1006, 974, 909, 885, 856, 821, 779, 738 cm^{-1} ; LRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{102}\text{H}_{200}\text{O}_{20}\text{Si}_9\text{Na}(\text{M}+\text{Na}^+)$ 的计算值为 2020.3, 实验值为 2020.3。

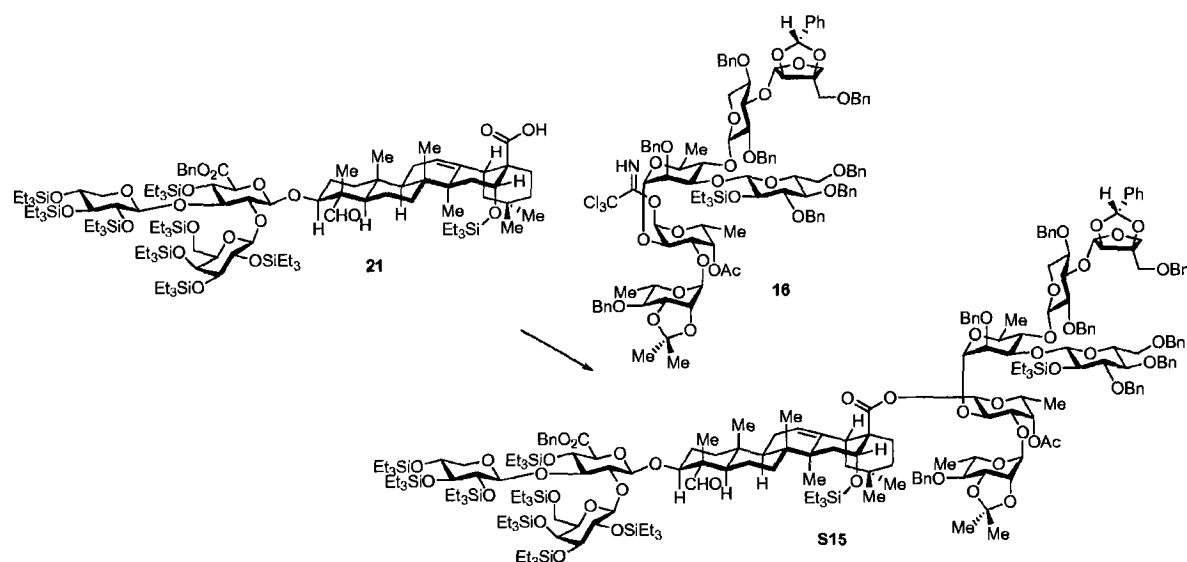
[0620]



[0621] 0-(16-O-三乙基硅烷基-皂树酸)4-O-三乙基硅烷基-[(2,3,4-三-O-三乙基硅烷基- β -D-吡喃木糖基)-(1 $\rightarrow$ 3)]-[(2,3,4,6-四-O-三乙基硅烷基- β -D-吡喃半乳糖基)-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-葡萄糖醛酸苄甲酯(21)。向 S14(81.3mg, 0.0409mmol, 1.00 当量)、三叔丁基吡啶(102mg, 0.412mmol, 10.1 当量)和吡啶(30 μL , 0.37mmol, 9.1 当量)于二氯甲烷(0.68mL)中的溶液中加入氯甲酸苄酯(15 μL , 0.11mmol, 2.6 当量)。6 小时后, 额外的氯甲酸苄酯(3.0 μL , 0.021mmol, 0.51 当量)加入反应物中。搅拌 20 小时后, 浓缩反应物并通过硅胶色谱法(1:0 至 24:1 苯/乙酸乙酯)进行纯化, 得到呈白色固体状的 21(58.0mg, 0.00279mmol, 产率 68%)。 R_f = 0.69(9:1 苯/乙酸乙酯); (500MHz, CDCl_3) δ 9.70(s, 1H, $-\text{CHO}$), 7.40-7.27(m, 5H, 芳族), 5.34(m, 1H, $\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$), 5.28(d, J = 12.5Hz, 1H, PhCH_2-), 5.09(d, J = 12.3Hz, 1H, PhCH_2-), 4.55(d, J = 7.6Hz, 1H), 4.53(m, 1H), 4.42(d, J = 7.3Hz, 1H), 4.12(d, J = 7.6Hz, 1H), 3.97-3.71(m, 8H), 3.64-3.53(m, 3H), 3.48(m, 1H), 3.39(dd, J = 9.3, 2.5Hz, 1H), 3.37-3.31(m, 2H), 3.25(t, J = 8.0Hz, 1H), 3.12(t, J = 10.9Hz, 1H), 2.94(dd, J = 14.0, 3.7Hz, 1H), 2.21(t, J = 13.7Hz, 1H), 1.93-1.04(m, 20H), 1.35(s, 3H, Me), 1.30(s, 3H, Me), 1.04-0.84(m, 90H), 0.84-0.53(m, 56H), 参见以下质子 NMR; ^{13}C NMR(125.77MHz, CDCl_3) δ 212.59, 182.49, 168.53, 143.44, 135.45, 128.62, 128.43, 128.29, 122.31, 103.63, 101.55, 101.01, 86.22, 79.02, 78.90, 76.61, 76.25, 76.02, 75.27, 75.12, 72.79, 72.67, 71.59, 71.22, 66.98, 65.51, 60.47, 54.05, 49.58, 48.90, 46.52, 46.31, 41.61, 40.35, 39.76, 38.07, 36.28, 35.31, 34.78, 32.81, 32.49, 31.68, 30.63, 26.68, 25.47, 24.45, 23.43, 20.40, 16.97, 15.86, 12.29, 7.69, 7.59, 7.38, 7.27, 7.12, 6.99, 6.92, 6.07, 5.81, 5.61, 5.53, 5.51, 5.43, 5.40, 5.16, 4.58; FTIR(净膜) 2954, 2914, 2877, 1754, 1723, 1705, 1459, 1414, 1379, 1240, 1170, 1103, 1073, 1007, 972, 825, 801, 739 cm^{-1} ; LRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{108}\text{H}_{204}\text{O}_{20}\text{Si}_9\text{Na}(\text{M}+\text{Na}^+)$ 的计算值为 2096.3, 实验值为 2096.7。

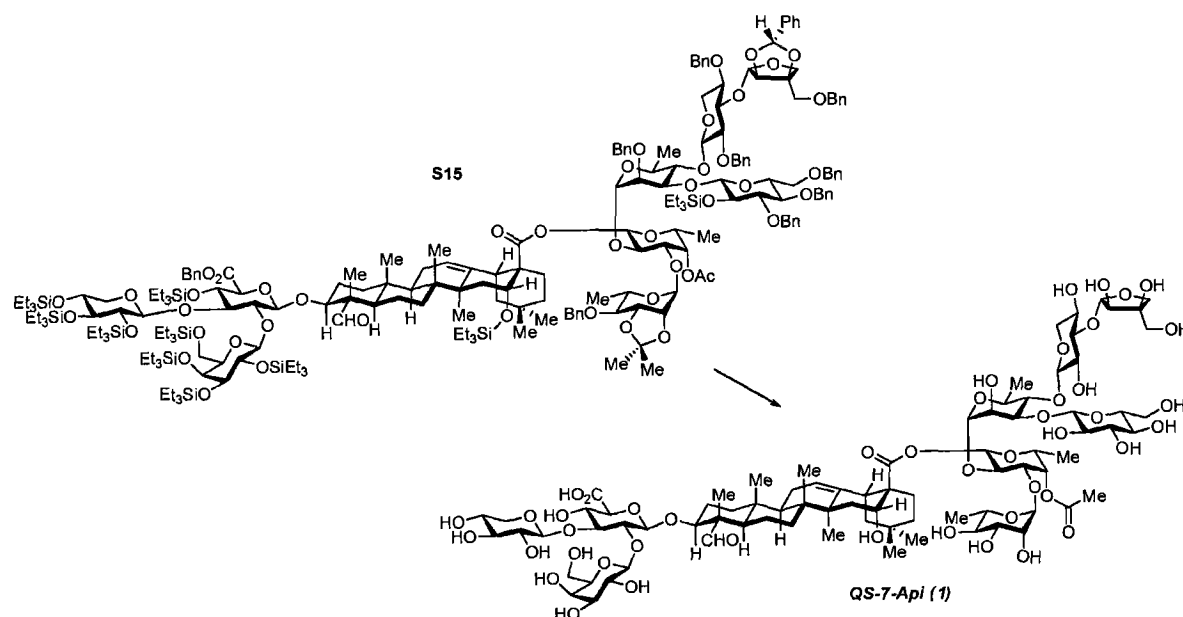
[0622] 半合成的 QS-7-API 的最后组装

[0623]



[0624] 完全保护的半合成的 QS-7-Api (S15)。在 -78°C 下将三氟化硼乙醚 ($0.50\ \mu\text{L}$, 0.0040mmol , 1.0 当量) 于二氯甲烷 ($20\ \mu\text{L}$) 中的溶液加入酰亚胺酯 16 (8.3mg , 0.0041mmol , 0.98 当量) 和 21 (12.7mg , 0.00612mmol , 1.50 当量) 以及 $4\ \text{\AA}$ 分子筛 (86mg) 于二氯甲烷 (0.50mL) 中的溶液中。反应温度缓慢升温至 23°C , 并在 14.5 小时后加入三乙胺 ($2.8\ \mu\text{L}$)。浓缩反应物并通过硅胶色谱法 (二氧化硅预先用含 0.1% 三乙胺的苯、接着 $99:1$ 至 $24:1$ 苯/乙酸乙酯处理) 进行纯化, 得到 S15 (8.5mg , 0.0033mmol , 产率 80%)。 $R_f = 0.52$ ($19:1$ 苯/乙酸乙酯); 来自以下的特征共振: $^1\text{H NMR}$ (500MHz , CDCl_3) δ 9.69 (s, 1H , $-\text{CHO}$), 7.49 – 7.04 (m, 50H , 芳族), 5.94 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 5.31 (d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 5.29 – 5.23 (m, 2H), 5.12 – 5.06 (m, 2H), 5.01 (s, 1H), 4.93 (d, $J = 11.9\text{Hz}$, 1H), 4.91 – 4.44 (m, 19H), 4.42 (d, $J = 7.3\text{Hz}$, 1H), 4.37 (d, $J = 4.7\text{Hz}$, 1H), 4.35 (d, $J = 3.9\text{Hz}$, 1H), 4.23 (dd, $J = 2.5, 8.7\text{Hz}$, 1H), 4.19 (d, $J = 7.3\text{Hz}$, 1H), 4.10 – 4.07 (m, 2H), 3.98 – 3.43 (m, 2H), 3.43 – 3.29 (m, 7H), 3.29 – 3.08 (m, 6H), 2.97 (dd, $J = 13.8, 3.5\text{Hz}$, 1H), 2.83 (bs, 1H), 2.73 (bs, 1H), 2.10 (s, 3H , $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 1.54 (s, 3H , Me), 1.40 (s, 3H , Me), 1.30 (s, 3H , Me), 1.12 (s, 3H , Me); 参见以下质子 NMR; $^{13}\text{C NMR}$ (125.77MHz , CDCl_3) δ 212.57 , 176.57 , 170.56 , 168.54 , 142.90 , 139.36 , 139.17 , 138.90 , 138.61 , 138.14 , 138.02 , 136.90 , 135.46 , 128.82 , 128.61 , 128.54 , 128.43 , 128.36 , 128.32 , 128.27 , 128.21 , 128.07 , 127.91 , 127.80 , 127.69 , 127.62 , 127.56 , 127.43 , 127.39 , 127.24 , 127.04 , 109.06 , 107.31 , 106.46 , 103.64 , 101.91 , 101.75 , 101.56 , 101.00 , 99.70 , 99.54 , 93.81 , 91.69 , 87.28 , 86.19 , 84.99 , 82.50 , 80.58 , 79.16 , 79.02 , 78.90 , 78.51 , 76.61 , 76.35 , 76.24 , 76.00 , 75.72 , 75.44 , 75.28 , 74.82 , 74.67 , 74.41 , 73.69 , 73.34 , 73.07 , 72.96 , 72.86 , 72.79 , 72.66 , 72.52 , 71.57 , 71.23 , 70.26 , 68.92 , 68.48 , 66.96 , 65.61 , 63.99 , 60.45 , 54.05 , 49.58 , 48.92 , 46.67 , 46.26 , 41.56 , 40.14 , 38.19 , 36.20 , 34.50 , 33.07 , 32.68 , 30.79 , 29.85 , 28.23 , 26.68 , 26.50 , 25.51 , 24.74 , 23.61 , 22.85 , 20.95 , 20.44 , 18.53 , 17.83 , 17.68 , 16.67 , 16.06 , 14.27 , 12.36 , 7.76 , 7.60 , 7.39 , 7.30 , 7.27 , 7.11 , 6.99 , 6.92 , 6.07 , 5.80 , 5.60 , 5.52 , 5.43 , 5.40 , 5.17 , 4.58 ; FTIR (净膜) 2953 , 2935 , 2914 , 2877 , 1747 , 1456 , 1377 , 1239 , 1239 , 1172 , 1100 , 1008 , 824 , 735 , 697cm^{-1} 。

[0625]



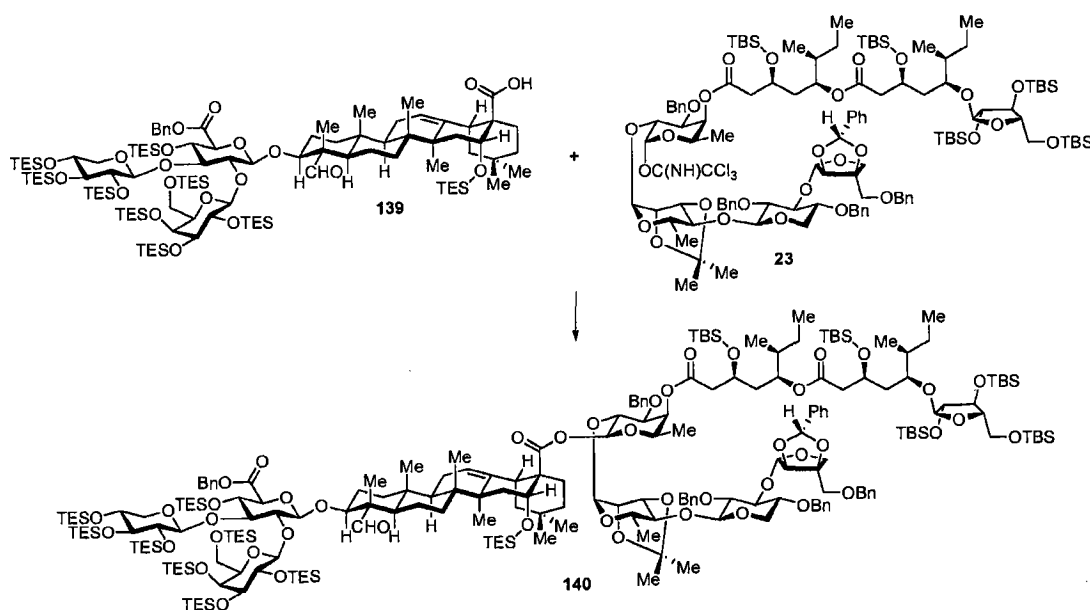
[0626] 合成的 QS-7-Api(1)。向 10mL 圆底烧瓶中完全保护的半合成 QS-7-Api S15(1.1mg, 0.00028mmol, 1.0 当量) 于四氢呋喃 (1.0mL) 和乙醇 (1.0mL) 中的溶液中馈入湿的 10% (干基) 钼 / 碳 Degussa 类型 E101NE/W(2.2mg, 0.00094mmol, 3.7 当量)。在氢气压力 (50psi) 下搅拌反应悬浮液 15 小时, 接着通过 0.45 μ m 聚偏二氟乙烯滤盘过滤。用甲醇 (4mL) 洗涤过滤器, 并在 25mL 圆底烧瓶中浓缩滤液和清洗液, 得到透明的残余物。反应烧瓶冷却至 0℃ 并向其中馈入预先冷却 (0℃) 的三氟乙酸溶液 (1.0mL, 1 : 1TFA/水)。搅拌 95 分钟后, 在 0℃ 下真空浓缩反应混合物。通过 RP-HPLC 来纯化所得白色固体残余物, RP-HPLC 在 XBridge Prep BEH300 C18 柱 (5 μ m, 10×250mm) 上进行, 使用经 30 分钟水 (0.05% TFA) 中 32%→37% 乙腈 (0.05% TFA) 的线性梯度, 流速为 5mL/min。收集含有主要峰 (t_R = 14.85min) 的部分并冻干。对 S15(3.3mg, 0.00084mmol) 总共进行三次脱除保护基操作, 得到呈白色固体状的半合成的 QS-7-Api (1) (1.2mg, 0.00064mmol, 产率 77%)。¹H NMR(500MHz, 7 : 3 D₂O : CD₃CN) δ 9.36(s, 1H, -CH=O), 5.39(d, J = 8.0Hz, 1H), 5.34(m, 1H, R₂C = CH_R), 5.22(d, J = 3.1Hz, 1H), 5.12(d, J = 2.9Hz, 1H), 5.03(s, 1H), 4.86(s, 1H), 4.67(d, J = 7.7Hz, 1H), 4.63(d, J = 7.8Hz, 1H), 4.55(d, J = 7.7Hz, 1H), 4.50(d, J = 7.7Hz, 1H), 4.33(m, 1H), 4.05(d, J = 10.1Hz, 1H), 4.02(m, 1H), 3.99-3.94(m, 2H), 3.92-3.57(m, 22H), 3.55-3.45(m, 7H), 4.33(m, 1H), 3.42-3.15(m, 12H), 2.86(dd, J = 14.5, 3.6Hz, 1H), 2.14(s, 3H, -C(O)CH₃), 1.89-1.30(m, 14H), 1.28(s, 3H, Me), 1.22(d, J = 6.2Hz, 3H, Me), 1.15(d, J = 6.1Hz, 3H, Me), 1.08(s, 3H, Me), 1.05(m, 1H), 1.02(m, 1H), 0.99(d, J = 6.3Hz, 3H, Me), 0.93(s, 3H, Me), 0.89(s, 3H, Me), 0.84(s, 3H, Me), 0.71(s, 3H, Me)。

[0627] 实例 2

[0628] 此实例证实上文关于实例 1 所述的某些方法可应用于化学结构不同的基质。

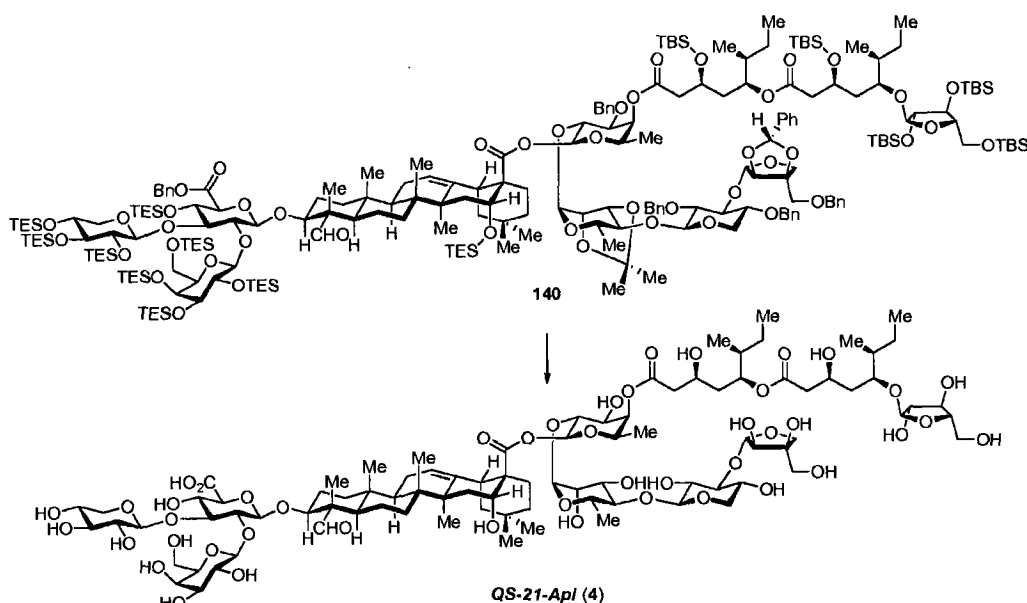
[0629] 半合成的 QS-21-API 的最后组装

[0630]



[0631] 完全保护的 QS-21-Api (140)。在 -78°C 下将三氟化硼乙醚 ($0.49\ \mu\text{L}$, 0.0039mmol , 0.50 当量) 于二氯甲烷 ($10\ \mu\text{L}$) 中的溶液加入酰亚胺酯 23 (17.6mg , 0.00780mmol , 1.00 当量) 和羧酸 139 (24.3mg , 0.0117mmol , 1.50 当量) 以及 $4\ \text{\AA}$ 分子筛 (50mg) 于二氯甲烷 (0.260mL) 中的溶液中。反应温度缓慢升温至 23°C , 并在 16 小时后加入三乙胺 ($20\ \mu\text{L}$)。浓缩反应物并通过硅胶色谱法 (二氧化硅预先用含 0.2% 三乙胺的苯、接着 $99:1$ 至 $47:3$ 苯/乙酸乙酯处理) 进行纯化, 得到呈透明膜状的 140 (13.8mg , 0.0033mmol , 产率 42%)。 $R_f = 0.42$ ($19:1$ 苯/乙酸乙酯); 来自以下的特征共振: ^1H NMR (500MHz , CDCl_3) δ 9.68 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.71 (s, 1H), 5.28 (d, $J = 12.4$, 1H), 5.09 (d, $J = 12.4$, 1H), 4.19 (d, $J = 7.2$, 2H), 2.92 (dd, $J = 13.6, 3.7$, 1H), 2.23 (t, $J = 13.5$, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.26 (s, 3H), 1.22 (s, 3H); ^{13}C NMR (126MHz , CDCl_3) δ 171.03, 170.73, 168.51, 138.25, 138.12, 137.41, 136.92, 135.43, 129.75, 128.65, 128.62, 128.57, 128.54, 128.43, 128.40, 128.29, 128.26, 127.97, 127.93, 127.85, 127.81, 127.62, 127.32, 107.37, 106.52, 91.72, 87.23, 85.97, 84.24, 81.34, 79.22, 79.03, 78.38, 76.62, 76.20, 75.97, 75.28, 74.13, 73.72, 73.41, 73.10, 72.75, 71.92, 71.59, 71.20, 67.00, 63.87, 63.27, 60.43, 54.11, 49.01, 43.58, 41.68, 40.86, 40.04, 39.56, 36.98, 36.30, 32.96, 30.66, 29.88, 27.56, 26.55, 26.12, 26.06, 25.94, 25.90, 25.09, 24.59, 24.23, 18.53, 18.10, 18.04, 18.02, 17.87, 17.74, 17.28, 16.45, 14.66, 14.59, 12.35, 12.12, 7.70, 7.60, 7.53, 7.39, 7.32, 7.30, 7.27, 7.12, 7.04, 6.99, 6.93, 6.07, 5.80, 5.61, 5.53, 5.49, 5.42, 5.40, 5.18, 5.05, 4.58, -4.09 , -4.29 , -4.36 , -4.38 , -4.45 , -4.57 , -4.77 , -5.07 , -5.17 ; FTIR (净膜) $2954, 2935, 2877, 1735, 1458, 1380, 1250, 1163, 1096, 1005, 836, 777, 737, 698\text{cm}^{-1}$; LRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{221}\text{H}_{382}\text{O}_{46}\text{Si}_{14}\text{Na}_2$ ($M+2\text{Na}^{++}$) 的计算值为 2105.2, 实验值为 2106.2。

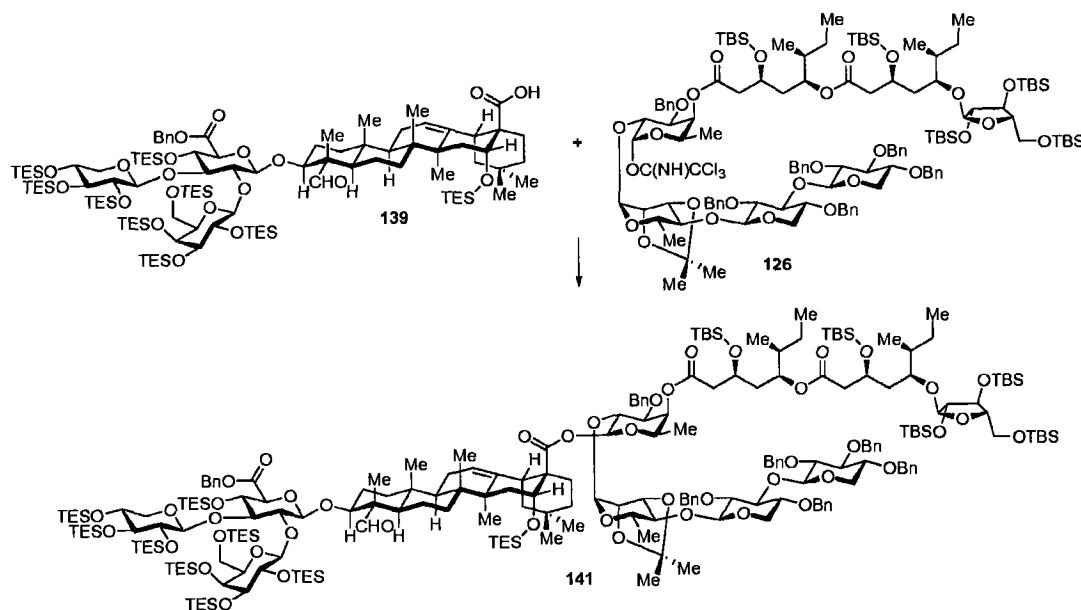
[0632]



[0633] QS-21-Api(4)。向三个 10mL 圆底烧瓶中完全保护的二代 QS-2-Api 140 ($3 \times 2.0\text{mg}$, 0.0014mmol , 1.0 当量) 于四氢呋喃 ($3 \times 1.0\text{mL}$) 和乙醇 ($3 \times 1.0\text{mL}$) 中的三种溶液中馈入湿的 10% (干基) 钼/碳 Degussa 类型 E101NE/W ($3 \times 3.8\text{mg}$, 0.0054mmol , 3.7 当量)。在氢气压力 (50psi) 下搅拌反应悬浮液 23 小时, 接着通过三个 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 聚偏二氟乙烯滤盘过滤。用甲醇洗涤过滤器, 并在三个 25mL 圆底烧瓶中浓缩滤液和清洗液, 得到呈透明残余物状的部分保护的产物。

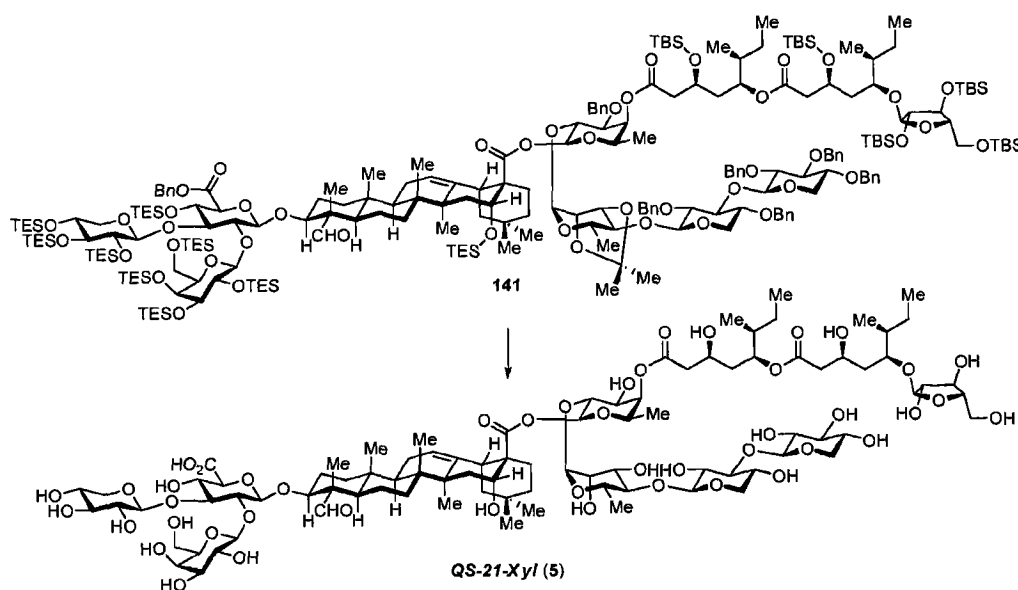
[0634] 反应烧瓶冷却至 0°C 并向其中馈入预先冷却 (0°C) 的三氟乙酸溶液 ($3 \times 1.0\text{mL}$, 3 : 1TFA/水)。搅拌 75 分钟后, 在 0°C 下真空浓缩反应混合物。通过 RP-HPLC 来纯化所得白色固体残余物, RP-HPLC 在 XBridge Prep BEH300C18 柱 ($5\text{ }\mu\text{m}$, $10 \times 250\text{mm}$) 上进行, 使用经 30 分钟水 (0.05% TFA) 中 35% $\rightarrow$ 45% 乙腈 (0.05% TFA) 的线性梯度, 流速为 5mL/min 。收集含有主要峰 ($t_{\text{R}} = 27.6\text{min}$) 的部分并冻干, 得到呈白色固体状的合成 QS-21-Api(4) (1.4mg , 0.00070mmol , 产率 49%)。LRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{92}\text{H}_{147}\text{O}_{46}(\text{M}-\text{H}^+)$ 的计算值为 1987.92, 实验值为 1988.33。发现 QS-21-Api(4) 的 ^1H NMR 谱与先前报导的特性描述一致。

[0635]



[0636] 完全保护的 QS-21-Xyl (141)。在 -78°C 下将三氟化硼乙醚 ($0.33\ \mu\text{L}$, 0.0026mmol , 0.50 当量) 于二氯甲烷 ($10\ \mu\text{L}$) 中的溶液加入酰亚胺酯 126 (12.4mg , 0.00529mmol , 1.00 当量) 和羧酸 139 (15.8mg , 0.00761mmol , 1.44 当量) 以及 $4\ \text{\AA}$ 分子筛 (62mg) 于二氯甲烷 (0.176mL) 中的溶液中。反应温度缓慢升温至 23°C , 并在 21 小时后加入三乙胺 ($20\ \mu\text{L}$)。浓缩反应物并通过硅胶色谱法 (二氧化硅预先用含 0.5% 三乙胺的苯、接着 $99:1$ 至 $97:3:3$ 苯/乙酸乙酯处理) 进行纯化, 得到呈透明膜状的 141 (14.2mg , 0.0026mmol , 产率 49%), 纯度为约 77% 。 $R_f = 0.49$ ($19:1$ 苯/乙酸乙酯); 来自以下的特征共振: ^1H NMR (500MHz , CDCl_3) δ $9.68(\text{s}, 1\text{H})$, $5.28(\text{d}, J = 12.4, 1\text{H})$, $5.20(\text{d}, J = 1.6, 1\text{H})$, $5.09(\text{d}, J = 12.3, 1\text{H})$, $4.97(\text{m}, 1\text{H})$, $4.94(\text{d}, J = 11.5, 1\text{H})$, $4.92(\text{d}, J = 7.8, 1\text{H})$, $4.47(\text{d}, J = 10.1, 1\text{H})$, $4.42(\text{d}, J = 12, 1\text{H})$, $4.37(\text{d}, J = 10.7, 1\text{H})$, $4.18(\text{d}, J = 7.1, 2\text{H})$, $3.13(\text{t}, J = 10.8, 1\text{H})$, $3.04(\text{t}, J = 10.9, 1\text{H})$, $2.92(\text{dd}, J = 14.6, 3.9, 1\text{H})$, $2.22(\text{t}, J = 13.8, 1\text{H})$, $1.43(\text{s}, 3\text{H})$, $1.34(\text{s}, 3\text{H})$, $1.28(\text{s}, 3\text{H})$, $1.26(\text{s}, 3\text{H})$, $1.22(\text{s}, 3\text{H})$; ^{13}C NMR (126MHz , CDCl_3) δ 175.39 , 171.03 , 170.72 , 168.51 , 143.57 , 138.90 , 138.87 , 138.67 , 138.47 , 138.38 , 137.42 , 135.43 , 128.62 , 128.60 , 128.51 , 128.48 , 128.44 , 128.42 , 128.34 , 128.29 , 128.15 , 128.12 , 128.11 , 127.97 , 127.78 , 127.73 , 127.60 , 109.74 , 107.38 , 103.71 , 103.28 , 102.41 , 101.56 , 100.99 , 93.65 , 86.02 , 84.20 , 84.00 , 82.82 , 82.79 , 79.87 , 79.20 , 79.03 , 78.92 , 78.52 , 78.35 , 76.66 , 76.20 , 76.00 , 75.79 , 75.73 , 75.26 , 75.15 , 74.58 , 74.45 , 73.48 , 73.26 , 72.81 , 72.66 , 71.58 , 71.25 , 67.14 , 66.96 , 66.32 , 65.54 , 64.03 , 63.81 , 63.28 , 60.40 , 54.10 , 49.60 , 48.99 , 46.35 , 43.65 , 42.79 , 41.69 , 40.91 , 40.02 , 39.52 , 38.67 , 37.00 , 36.29 , 32.90 , 32.71 , 30.65 , 29.89 , 27.58 , 26.61 , 26.12 , 26.06 , 25.94 , 25.90 , 25.72 , 25.03 , 24.52 , 24.23 , 18.55 , 18.10 , 18.07 , 18.04 , 18.02 , 17.62 , 17.25 , 16.40 , 16.05 , 14.65 , 14.60 , 12.35 , 12.23 , 12.08 , 7.70 , 7.60 , 7.39 , 7.32 , 7.29 , 7.27 , 7.12 , 6.99 , 6.93 , 6.07 , 5.81 , 5.61 , 5.53 , 5.48 , 5.42 , 5.18 , 5.03 , 4.58 , -4.08 , -4.11 , -4.30 , -4.36 , -4.38 , -4.44 , -4.57 , -4.74 , -5.07 , -5.17 ; FTIR (净膜) 2955 , 2877 , 1735 , 1458 , 1380 , 1250 , 1165 , 1091 , 1006 , 837 , 777 , 735 , 698cm^{-1} ; LRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{228}\text{H}_{390}\text{O}_{46}\text{Si}_{14}\text{Na}_2(\text{M}+2\text{Na}^{++})$ 的计算值为 2151.2 , 实验值为 2151.6 。

[0637]



[0638] QS-21-Xyl(5)。向三个10mL圆底烧瓶中完全保护的第二代QS-2-Xyl141($3 \times 2.0\text{mg}$, 0.0014mmol , 1.0当量)于四氢呋喃($3 \times 1.0\text{mL}$)和乙醇($3 \times 1.0\text{mL}$)中的三种溶液中馈入湿的10%(干基)钯/碳Degussa类型E101NE/W($3 \times 3.8\text{mg}$, 0.0054mmol , 3.7当量)。在氢气压力(50psi)下搅拌反应悬浮液23小时,接着通过三个 $0.45\mu\text{m}$ 聚偏二氟乙烯滤盘过滤。用甲醇洗涤过滤器,并在三个25mL圆底烧瓶中浓缩滤液和清洗液,得到呈透明残余物形式的部分保护的产物。

[0639] 反应烧瓶冷却至 0°C ,且向其中馈入预先冷却(0°C)的三氟乙酸溶液($3 \times 1.0\text{mL}$, 3:1TFA/水)。搅拌75分钟后,在 0°C 下真空浓缩反应混合物。通过RP-HPLC来纯化所得白色固体残余物,RP-HPLC在XBridge Prep BEH300 C18柱($5\mu\text{m}$, $10 \times 250\text{mm}$)上进行,使用经30分钟水(0.05%TFA)中35% $\rightarrow$ 45%乙腈(0.05%TFA)的线性梯度,流速为 $5\text{mL}/\text{min}$ 。收集含有主要峰($t_{\text{R}} = 27.7\text{min}$)的部分并冻干,得到呈白色固体状的合成QS-21-Xyl(5)(1.4mg , 0.00070mmol , 产率50%)。LRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{92}\text{H}_{147}\text{O}_{46}(\text{M}-\text{H}^+)$ 的计算值为1987.92,实验值为1987.94。发现QS-21-Xyl(5)的 ^1H NMR谱与先前报导的特性描述一致。

[0640] 实例3

[0641]

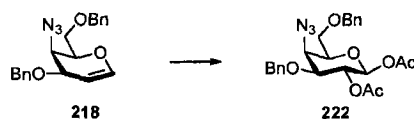


[0642] 3,6-二-O-苯甲基-4-叠氨基-4-脱氧基-D-半乳糖(218)。在 0°C 下将氢氧化钠(0.115g , 2.89mmol , 0.357当量)加入烯糖221(2.930g , 8.063mmol , 1.000当量)于甲醇(40mL)中的溶液中,并在 23°C 下搅拌反应物。14小时后,反应物浓缩成粘性棕褐色固体,并通过与甲苯(7mL)共蒸发来去除微量溶剂。

[0643] 将二甲基甲酰胺(40mL)加入残余物中,且所得褐色悬浮液冷却至 0°C 。将氢化钠(60%于油中的分散液, 0.977g , 24.4mmol , 3.03当量)加入反应物中,接着加入苄基溴(4.80mL , 40.3mmol , 5.01当量)。3小时后,在 23°C 下搅拌橙色悬浮液16小时。用甲醇(20mL)淬灭反应,用二氯甲烷(100mL)稀释,并用水(100mL)洗涤。用二氯甲烷(80mL)

萃取水层,并用水(100mL)洗涤合并的有机层,经硫酸镁干燥,并通过硅胶色谱法(9 : 1 至 4 : 1 己烷 / 乙酸乙酯)进行纯化,得到呈黄色油状的 218(2.199g,6.258mmol,产率 78%)。 $R_f = 0.61$ (3 : 1 己烷 / 乙酸乙酯); $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.41–7.26(m,10H), 6.37(dd, $J = 6.3, 1.9, 1\text{H}$), 4.83(dt, $J = 6.4, 1.8, 1\text{H}$), 4.70(d, $J = 12.0, 1\text{H}$), 4.63(d, $J = 11.9, 1\text{H}$), 4.61(d, $J = 11.8, 1\text{H}$), 4.55(d, $J = 11.8, 1\text{H}$), 4.41(m,1H), 4.08(t, $J = 6.6, 1\text{H}$), 3.97(m,1H), 3.70(dd, $J = 6.6, 1.7, 2\text{H}$); $^{13}\text{C NMR}$ (126MHz, CDCl_3) δ 144.69, 137.76, 137.69, 128.68, 128.67, 128.14, 128.09, 128.04, 127.76, 101.00, 74.66, 73.84, 71.57, 70.92, 68.84, 55.39; FTIR(净膜) 3031.5, 2868.5, 2109.9, 1650.9, 1496.5, 1454.2, 1333.0, 1277.3, 1230.7, 1097.1, 1052.8, 1028.2, 735.9, 697.6, 668.1 cm^{-1} ; HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 的计算值为 374.1481, 实验值为 374.1479。

[0644]



[0645] 0-乙酰基 2-0-乙酰基 -4-叠氮基 -4-脱氧基 -3,6-二-0-苯甲基 - β -D-吡喃半乳糖苷(222)。在 -50°C 下的冷浴中将三氟化硼乙醚(74.0 μL , 0.636mmol, 0.219 当量)加入烯糖 218(1.020g, 2.904mmol, 1.000 当量)和二乙酸碘苯(1.119g, 3.474mmol, 1.196 当量)于二氯甲烷(36mL)中的溶液中。25 分钟后,黄色溶液转移至 -25°C 下的冷浴中,并再搅拌 30 分钟。加入三乙胺(2.0mL),并用二氯甲烷(20mL)稀释所得悬浮液,且用饱和碳酸氢钠水溶液(30mL)洗涤。用二氯甲烷(30mL)萃取水层,并用硫酸镁干燥合并的有机层,且通过硅胶色谱法(4 : 1 至 3 : 1 己烷 / 乙酸乙酯)进行纯化,得到呈黄色固体状的 222(1.163g, 2.477mmol, 产率 85%)。 $R_f = 0.25$ (3 : 1 己烷 / 乙酸乙酯); $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.41–7.28(m,10H), 5.51(d, $J = 8.3, 1\text{H}$), 5.30(dd, $J = 9.8, 8.4, 1\text{H}$), 4.74(d, $J = 12.2, 1\text{H}$), 4.56(d, $J = 12.3, 1\text{H}$), 4.54(s, 2H), 4.08(dd, $J = 3.6, 1.1, 1\text{H}$), 3.74(td, $J = 6.7, 1.3, 1\text{H}$), 3.69(dd, $J = 9.8, 3.6, 1\text{H}$), 3.63(d, $J = 6.8, 2\text{H}$), 2.06(s, 3H), 2.00(s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (126MHz, CDCl_3) δ 169.50, 169.38, 137.51, 137.25, 128.73, 128.69, 128.32, 128.23, 128.20, 127.92, 92.47, 78.73, 73.86, 72.60, 72.23, 69.78, 67.82, 59.10, 20.96, 20.88; FTIR(净膜) 2920.8, 2107.7, 1755.9, 1454.8, 1368.4, 1232.5, 1214.6, 1059.1, 739.3, 698.4 cm^{-1} ; HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 的计算值为 492.1747, 实验值为 492.1755。

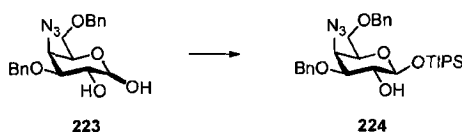
[0646]



[0647] 4-叠氮基 -4-脱氧基 -3,6-二-0-苯甲基 -D-吡喃半乳糖(223)。将碳酸钾(0.600g, 4.34mmol, 3.99 当量)加入二乙酸酯 222(0.511g, 1.09mmol, 1.00 当量)于甲醇(50mL)和水(5mL)中的溶液中。1.5 小时后,黄色溶液从未溶解的碳酸钾中倾析并浓缩至约 4mL,接着用二氯甲烷(50mL)稀释并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤。用二氯甲烷($2 \times 10\text{mL}$)萃取水层,并用硫酸镁干燥合并的有机层,且通过硅胶色谱法(乙酸乙酯)进行纯化,得到呈黄色油状的 223(0.353g, 0.917mmol, 产率 84%)(1 : 1 α : β)。 $R_f = 0.17$,

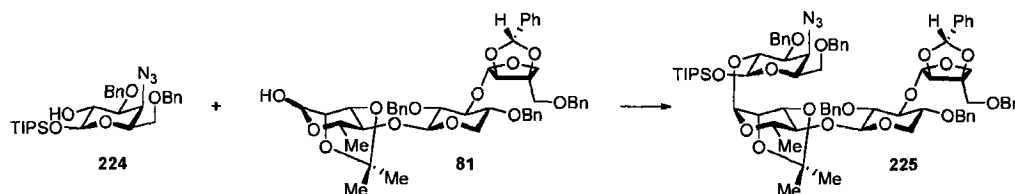
014(1 : 1 己烷 / 乙酸乙酯) ; ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 7.43-7.27(m, 20H), 5.28(d, $J = 3.8, 1\text{H}$), 4.78(d, $J = 11.5, 1\text{H}$), 4.78(d, $J = 11.5, 1\text{H}$), 4.67(d, $J = 11.5, 1\text{H}$), 4.68(d, $J = 11.5, 1\text{H}$), 4.58(d, $J = 11.9, 1\text{H}$), 4.56(d, $J = 11.9, 1\text{H}$), 4.52(d, $J = 11.9, 1\text{H}$), 4.51(d, $J = 11.9, 1\text{H}$), 4.51(d, $J = 7.7, 1\text{H}$), 4.21(td, $J = 6.5, 1.1, 1\text{H}$), 4.02(dd, $J = 3.4, 1.3, 1\text{H}$), 3.99(dd, $J = 9.9, 3.8, 2\text{H}$), 3.85(dd, $J = 9.7, 3.5, 1\text{H}$), 3.73(dd, $J = 9.5, 7.7, 1\text{H}$), 3.69-3.51(m, 6H) ; ^{13}C NMR(126MHz, CDCl_3) δ 137.62, 137.50, 137.48, 128.67, 128.59, 128.16, 128.13, 128.10, 128.09, 128.07, 128.02, 128.00, 97.08, 92.50, 80.85, 78.06, 73.64, 73.61, 72.63, 72.51, 72.14, 71.82, 69.25, 68.76, 68.68, 67.38, 60.27, 59.49 ; FTIR(净膜) 3401.3, 3032.4, 2921.6, 2105.6, 1454.4, 1367.2, 1279.3, 1095.8, 1028.3, 738.1, 698.0 cm^{-1} ; HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 的计算值为 408.1535, 实验值为 408.1535。

[0648]



[0649] 0-三异丙基硅烷基 4-叠氮基-4-脱氧基-3,6-二-O-苯甲基- β -D-吡喃半乳糖苷 (224)。将三异丙基氯硅烷 (0.63mL, 3.0mmol, 1.2 当量) 加入半缩醛 223 (0.959g, 2.49mmol, 1.00 当量)、咪唑 (0.409g, 6.01mmol, 2.41 当量) 和 4-二甲基氨基吡啶 (29mg, 0.24mmol, 0.096 当量) 于二甲基甲酰胺 (2.5mL) 中的溶液中。19 小时后, 浓缩黄色溶液, 并通过硅胶色谱法 (19 : 1 至 9 : 1 己烷 / 乙酸乙酯) 来纯化残余物, 得到呈无色油状的 224 (0.800g, 1.48mmol, 产率 59%)。 $R_f = 0.49$ (4 : 1 己烷 / 乙酸乙酯) ; ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 7.43-7.24(m, 10H), 4.78(d, $J = 11.8, 1\text{H}$), 4.75(d, $J = 11.8, 1\text{H}$), 4.55(d, $J = 11.6, 1\text{H}$), 4.52(d, $J = 12.0, 1\text{H}$), 4.51(d, $J = 7.3, 1\text{H}$), 3.98(d, $J = 3.6, 1\text{H}$), 3.72(ddd, $J = 9.5, 7.3, 2.1, 1\text{H}$), 3.69-3.58(m, 3H), 3.56(dd, $J = 9.6, 3.7, 1\text{H}$), 2.26(d, $J = 2.2, 1\text{H}$), 1.19-0.99(m, 21H) ; ^{13}C NMR(126MHz, CDCl_3) δ 137.86, 137.84, 128.70, 128.63, 128.08, 128.05, 127.97, 127.93, 98.09, 80.69, 73.81, 73.78, 72.80, 72.01, 68.83, 59.83, 17.96, 17.90, 12.33 ; FTIR(净膜) 3463.8, 2943.4, 2866.2, 2108.6, 1455.3, 1366.1, 1280.0, 1185.4, 1099.0, 1028.7, 1014.6, 997.6, 883.5, 805.4, 736.3, 695.5, 669.0 cm^{-1} ; HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_5\text{SiNa}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 的计算值为 564.2870, 实验值为 564.2870。

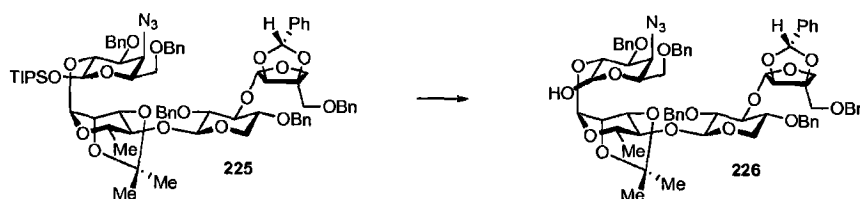
[0650]



[0651] 叠氮基四糖 225。在 -78°C 下将三氟甲烷磺酸酐 (70 μL , 0.42mmol, 2.0 当量) 加入三糖 81 (0.168mg, 0.203mmol, 1.00 当量)、苯基亚砷 (173mg, 0.855mmol, 4.20 当量) 和 2,4,6-三叔丁基吡啶 (262mg, 1.06mmol, 5.21 当量) 于二氯甲烷 (20mL) 中的溶液中。在 -78°C 下的冷浴中搅拌反应物 8 分钟, 接着转移至 -55°C 与 -50°C 之间的溶液中, 维持 70 分钟。在 -78°C 下通过套管加入吡喃糖苷 224 (137mg, 0.253mmol, 1.24 当量) 于二氯甲烷 (3.0mL)

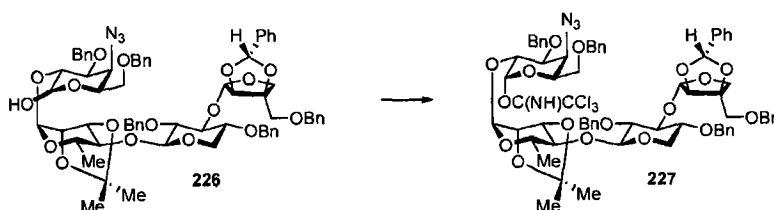
中的溶液,且反应物经 4 小时从 -50°C 缓慢升温至 0°C ,接着在 23°C 下搅拌 45 分钟。将三乙胺 (1.0mL) 加入反应混合物中,浓缩并通过硅胶色谱法 (49 : 1 至 9 : 1 苯 / 乙酸乙酯) 进行纯化,得到呈透明膜状的四糖 225 (185mg, 0.137mmol, 产率 67%)。 $R_f = 0.59$ (9 : 1 苯 / 乙酸乙酯); $^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.53–7.18 (m, 30H), 5.95 (s, 1H), 5.67 (s, 2H), 4.89 (d, $J = 7.6$, 1H), 4.86 (d, $J = 11.1$, 1H), 4.72 (d, $J = 11.6$, 1H), 4.63–4.47 (m, 8H), 4.44 (d, $J = 11.8$, 1H), 4.41 (s, 1H), 4.13 (dd, $J = 7.5, 5.7$, 1H); 4.04 (d, $J = 5.6$, 1H), 4.01 (dd, $J = 3.4, 0.8$, 1H), 3.97–3.83 (m, 3H), 3.93 (s, 2H), 3.79 (t, $J = 9.0$, 1H), 3.69–3.53 (m, 7H), 3.36 (td, $J = 9.6, 5.3$, 1H), 3.24 (dd, $J = 9.1, 7.6$, 1H), 3.14 (dd, $J = 11.6, 10.0$, 1H), 1.48 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.23 (d, $J = 6.2$, 3H), 1.10–0.95 (m, 21H); $^{13}\text{CNMR}$ (126MHz, CDCl_3) δ 138.22, 138.12, 137.76, 137.01, 136.95, 129.72, 128.89, 128.79, 128.74, 128.63, 128.56, 128.52, 128.41, 128.38, 128.32, 128.32, 128.09, 128.01, 127.92, 127.83, 127.75, 127.59, 127.32, 109.15, 107.30, 106.46, 102.56, 97.27, 97.13, 91.65, 87.15, 82.33, 81.20, 78.43, 78.28, 78.49, 76.74, 76.26, 74.06, 73.99, 73.81, 73.66, 73.33, 72.97, 71.74, 71.67, 71.15, 68.68, 64.51, 63.78, 58.89, 27.95, 26.60, 18.07, 17.99, 17.93, 12.43; FTIR (净膜) 2927.8, 2866.8, 2108.8, 1455.1, 1367.0, 1184.5, 1092.1, 990.3, 735.7, 697.8 cm^{-1} ; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{76}\text{H}_{95}\text{N}_3\text{O}_{17}\text{SiNa}$ ($M+\text{Na}^+$) 的计算值为 1372.6328, 实验值为 1382.6343。

[0652]



[0653] 叠氨基四糖半缩醛 226。在 0°C 下将四丁基氟化铵溶液 (1.0M 于四氢呋喃中, $14\mu\text{L}$, 0.014mmol, 1.0 当量) 加入三异丙基硅烷基缩醛 225 (18.5mg, 0.0137mmol, 1.00 当量) 于四氢呋喃 (1.8mL) 中的溶液中。17 分钟后,加入甲醇 (1.0mL),并在 0°C 下真空去除溶剂,得到浅黄色油状物,通过硅胶色谱法 (19 : 1 至 9 : 1 苯 / 乙酸乙酯) 进行纯化,得到 226 (15.2mg, 0.0127mmol, 产率 93%)。 $R_f = 0.61$ (4 : 1 苯 / 乙酸乙酯); 来自以下的特征共振: $^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.54–7.20 (m, 30H), 5.96 (s, 1H), 5.69 (s, 1H), 4.87 (dd, $J = 12.2, 7.5$, 1H), 4.83 (d, $J = 11.4$, 1H), 4.72 (d, $J = 11.7$, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.16 (m, 1H); FTIR (净膜) 3426.0, 2933.1, 2107.1, 1454.6, 1370.7, 1220.2, 1092.6, 1027.0, 992.4, 735.5, 698.3 cm^{-1} ; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{67}\text{H}_{75}\text{N}_3\text{O}_{17}\text{Na}$ ($M+\text{Na}^+$) 的计算值为 1216.4994, 实验值为 1216.4939。

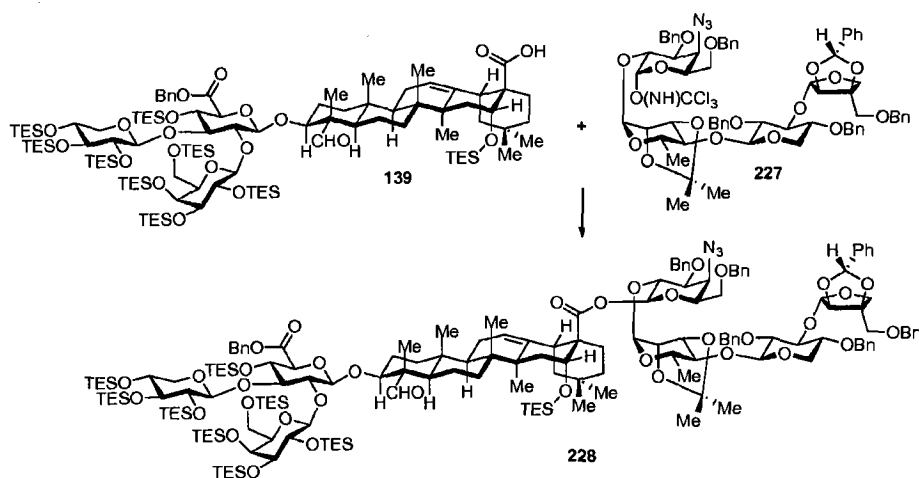
[0654]



[0655] 叠氨基四糖三氯乙酰亚胺酯 227。在 0°C 下将三氯乙腈 ($191\mu\text{L}$, 1.91mmol, 150

当量)和1,8-二氮二环[5.4.0]十一-7-烯(7.6 μ L, 0.051mmol, 4.0当量)加入半缩醛226溶液(15.2mg, 0.0127mmol, 1.00当量)中。在0℃下14小时和23℃下45分钟后,浓缩溶液并通过硅胶色谱法(19:1至4:1苯/乙酸乙酯)进行纯化,得到呈透明膜状的227(16.2mg, 0.0121mmol, 产率95%)。R_f = 0.50(9:1苯/乙酸乙酯);来自以下的特征峰:¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ 8.52(s, 1H), 7.59–7.14(m, 30H), 5.95(s, 1H), 5.67(s, 1H), 5.23(s, 1H), 4.88(d, J = 7.5, 1H), 4.79(d, J = 10.8, 1H), 4.77(d, J = 11.2, 1H), 4.67(d, J = 11.7, 1H), 4.20(dd, J = 10.0, 3.5, 1H), 3.83(dd, J = 11.5, 5.5, 2H), 3.78(t, J = 9.0, 1H), 3.33(m, 1H), 3.21(dd, J = 8.9, 7.8, 1H), 3.13(dd, J = 11.7, 9.9, 1H), 1.21(d, J = 6.0, 3H); ¹³CNMR(126MHz, CDCl₃) δ 161.14, 138.18, 138.09, 138.01, 137.63, 137.48, 136.89, 129.76, 128.70, 128.64, 128.56, 128.52, 128.46, 128.39, 128.21, 128.14, 128.11, 128.09, 127.95, 127.92, 127.84, 127.60, 127.31, 110.02, 109.41, 107.24, 106.55, 106.48, 101.83, 99.71, 95.88, 95.45, 91.73, 91.67, 91.19, 87.17, 80.69, 78.23, 77.26, 76.67, 76.60, 76.02, 74.68, 73.83, 73.81, 73.69, 73.36, 73.04, 72.68, 71.13, 69.97, 68.26, 64.96, 63.77, 60.35, 27.88, 26.55, 17.84, 17.60, 12.42; FTIR(净膜) 3031.0, 2932.9, 2110.8, 1671.8, 1454.8, 1368.6, 1280.7, 1242.2, 1220.8, 1095.6, 1020.2, 991.5, 912.4, 860.5, 795.0, 735.0, 698.1, 677.1 cm⁻¹; HRMS(ESI), m/z: C₆₉H₇₅C₁₃N₄O₁₇Na (M+Na⁺) 的计算值为1359.4091, 实验值为1359.4127。

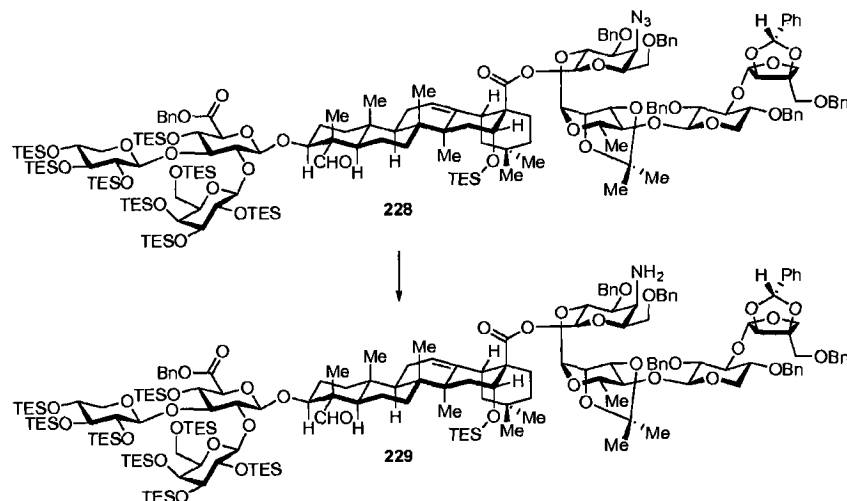
[0656]



[0657] 叠氮基皂苷228。在-78℃下将三氟化硼乙醚(2.0 μ L, 0.016mmol, 0.51当量)加入酰亚胺酯227(41.7mg, 0.0311mmol, 1.00当量)和羧酸139(88.6mg, 0.0427mmol, 1.37当量)以及4 Å分子筛(147mg)于二氯甲烷(1.04mL)中的溶液中。3分钟后,反应烧瓶转移至-43℃冷浴(11:10乙醇:水/CO₂)中,且反应温度缓慢升温至23℃。14.5小时后添加三乙胺(0.20mL),并浓缩反应物且通过硅胶色谱法(二氧化硅预先用苯中0.2%三乙胺、接着49:1至9:1苯/乙酸乙酯处理)进行纯化,得到呈白色固体状的228(83.5mg, 0.0257mmol, 产率82%)。R_f = 0.58(9:1苯/乙酸乙酯);来自以下的特征共振:¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9.68(s, 1H), 5.95(s, 1H), 5.70(s, 1H), 5.17(d, J = 2.4, 1H), 5.08(d, J = 12.4, 1H), 4.83(d, J = 11.2, 1H), 4.79(d, J = 7.6, 1H), 4.71(d, J = 11.1, 1H), 4.61(d, J = 11.1, 1H), 4.18(d, J = 7.3, 1H), 4.11(dd, J = 6.4, 2.7, 1H), 3.24(m, 2H), 3.13(m, 2H), 2.88(dd, J = 14.1, 3.7, 1H), 2.20(t, J = 13.5, 1H), 1.40(s, 3H), 1.32(s, 3H), 1.29(s, 3H),

1. 22 (s, 3H), 1. 15 (d, J = 6. 2, 3H), 0. 85 (s, 3H); ^{13}C NMR (126MHz, CDCl_3) δ 212. 45, 175. 31, 168. 49, 143. 39, 138. 22, 138. 13, 138. 09, 137. 64, 137. 11, 136. 89, 135. 42, 129. 73, 128. 70, 128. 63, 128. 60, 128. 57, 128. 55, 128. 53, 128. 43, 128. 40, 128. 38, 128. 27, 128. 12, 128. 04, 127. 98, 127. 96, 127. 91, 127. 83, 127. 78, 127. 60, 127. 30, 121. 97, 109. 70, 107. 32, 106. 50, 103. 64, 102. 30, 101. 56, 100. 99, 97. 96, 93. 89, 91. 70, 87. 20, 86. 20, 81. 33, 80. 93, 78. 97, 78. 88, 78. 77, 78. 28, 76. 77, 76. 58, 75. 99, 75. 25, 74. 12, 73. 73, 73. 70, 73. 37, 73. 08, 72. 77, 72. 68, 72. 02, 71. 57, 71. 20, 71. 15, 67. 67, 67. 60, 66. 96, 65. 49, 63. 81, 60. 42, 59. 03, 54. 06, 49. 52, 49. 04, 46. 75, 46. 29, 41. 60, 40. 83, 39. 91, 38. 12, 36. 23, 35. 32, 34. 89, 32. 87, 32. 60, 30. 88, 30. 57, 29. 87, 27. 53, 26. 50, 25. 78, 25. 48, 24. 44, 23. 44, 20. 37, 17. 73, 17. 29, 15. 97, 12. 30, 7. 68, 7. 58, 7. 47, 7. 37, 7. 31, 7. 27, 7. 25, 7. 10, 6. 97, 6. 91, 6. 05, 5. 79, 5. 59, 5. 51, 5. 48, 5. 41, 5. 38, 5. 14, 5. 03, 4. 57; FTIR (净膜) 2952. 9, 2912. 2, 2876. 4, 2106. 7, 1752. 4, 1497. 1, 1456. 5, 1379. 5, 1240. 2, 1165. 7, 1098. 7, 1006. 1, 913. 3, 863. 1, 824. 5, 736. 4, 697. 5 cm^{-1} ; LRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{176}\text{H}_{279}\text{N}_3\text{O}_{35}\text{Si}_9\text{Na}_2$ ($\text{M}+2\text{Na}^{++}$) 的计算值为 1646. 39, 实验值为 1648. 64。

[0658]



[0659] 氨基皂苷 229。在 40℃ 下加热二苯基二硒醚 (45. 8mg, 0. 147mmol, 1. 00 当量) 和 50% 于水中的次磷酸 (0. 16mL, 1. 6mmol, 11 当量) 于四氢呋喃 (2. 0mL) 中的黄色溶液 40 分钟, 直到变成无色。接着不再加热溶液, 用苯 (2. 0mL) 和去离子水 (2. 0mL) 稀释。通过针筒去除所得两相悬浮液的下层相 (2. 4mL), 并用硫酸钠干燥剩余的有机层。

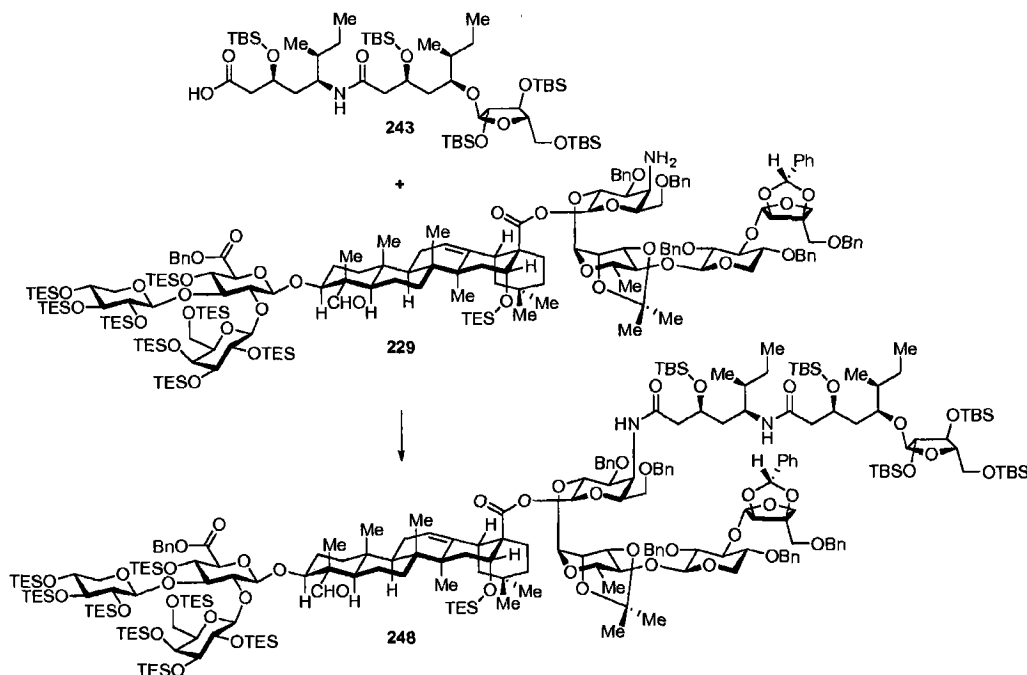
[0660] 将刚刚制备的此苯硒醇溶液 (1. 7mL, 约 0. 14mmol, 30 当量) 加入叠氨基皂苷 228 (15. 0mg, 0. 00461mmol, 1. 00 当量) 于三乙胺 (mL) 中的溶液中并在 30℃ 下加热 15 小时。

[0661] 通过在 40℃ 下加热含二苯基二硒醚 (53. 7mg, 0. 172mmol, 1. 00 当量) 和 50% 于水中的次磷酸 (0. 19mL, 1. 8mmol, 11 当量) 的四氢呋喃 (2. 0mL) 30 分钟, 直到变成无色, 来制备第二个苯硒醇溶液。接着不再加热苯硒醇溶液, 用苯 (2. 0mL) 和去离子水 (2. 0mL) 稀释。通过针筒来去除所得两相悬浮液的下层相 (2. 4mL), 并用硫酸钠干燥剩余的有机层。

[0662] 将第二个苯硒醇溶液 (1. 5mL, 约 0. 14mmol, 30 当量) 加入含有叠氨基皂苷 228 的反应烧瓶中, 在 40℃ 下加热 8 小时。再加入苯硒醇溶液 (0. 6mL, 约 0. 06mmol, 12 当量), 并在 40℃ 下再搅拌反应物 2 小时。浓缩反应混合物, 并通过硅胶色谱法 (苯至 3 : 2 苯 / 乙酸乙酯) 进行纯化, 得到呈白色固体膜状的 228 (13. 6mg, 0. 00422mmol, 产率 91%)。R_f

= 0.24(9 : 1 苯 / 乙酸乙酯) ;来自以下的特征共振 : ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 9.69(s, 1H), 5.96(s, 1H), 5.71(s, 1H), 5.37(d, $J = 7.8$, 1H), 5.31(m, 1H), 5.28(d, $J = 12.4$, 1H), 5.19(d, $J = 1.7$, 1H), 5.09(d, $J = 12.4$, 1H), 4.83(d, $J = 11.1$, 1H), 4.82(d, $J = 7.5$, 1H), 4.64(t, $J = 10.9$, 2H), 4.59(d, $J = 1.8$, 2H), 4.18(d, $J = 7.3$, 1H), 3.25(t, $J = 8.4$, 2H), 3.14(m, 2H), 2.89(dd, $J = 14.5, 4.0$, 1H), 1.42(s, 3H), 1.33(s, 3H), 1.29(s, 3H), 1.24(s, 3H), 1.16(d, $J = 6.2$, 3H) ;FTIR(净膜) 2952.7, 2912.3, 2876.2, 1753.9, 1453.9, 1097.9, 1006.5, 862.44, 824.6, 737.1, 697.1, 668.4 cm^{-1} 。

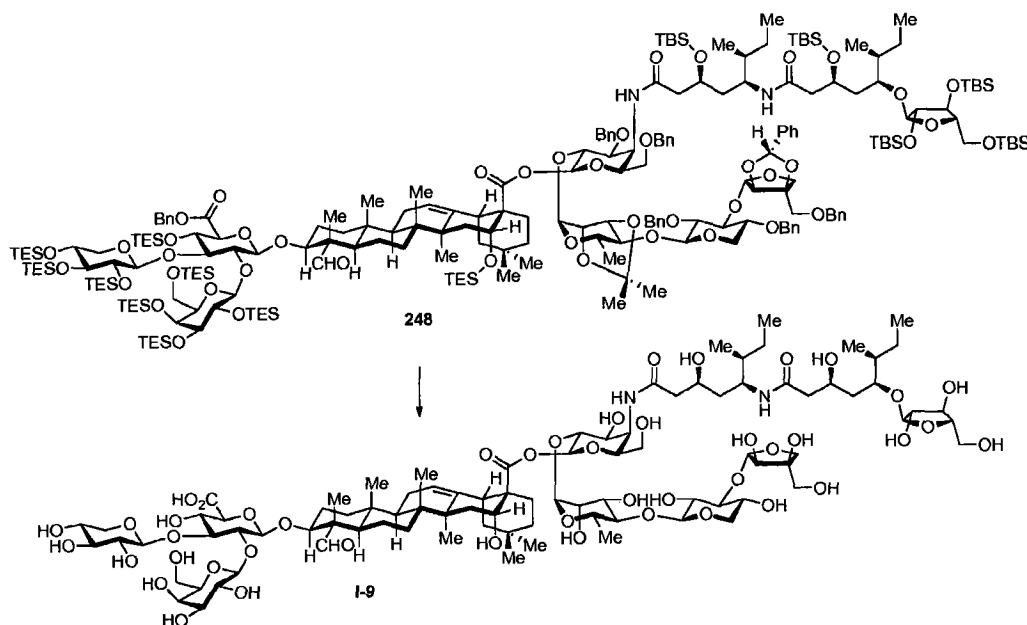
[0663]



[0664] 完全保护的化合物 I-9(248)。在 0°C 下将氯甲酸乙酯 ($0.45\ \mu\text{L}$, 0.0047mmol , 1.2 当量) 于四氢呋喃 ($10\ \mu\text{L}$) 中的溶液加入羧酸 243 (5.0mg , 0.0047mmol , 1.2 当量) 和三乙胺 ($0.82\ \mu\text{L}$, 0.0059mmol , 1.5 当量) 于四氢呋喃 (1.0mL) 中的溶液中。2.5 小时后, 加入氨基皂苷 229 (12.7mg , 0.00394mmol , 1.00 当量) 于四氢呋喃 (3.0mL) 中的溶液。反应物经 12 小时缓慢升温至 10°C , 并在 10°C 下再搅拌 2 小时。浓缩反应物, 并通过硅胶色谱法 (4 : 1 己烷 / 乙酸乙酯) 进行纯化, 得到呈透明膜状的 248 (15.6mg , 0.00365mmol , 产率 93%)。 $R_f = 0.30$ (4 : 1 己烷 / 乙酸乙酯) ;来自以下的特征共振 : ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 9.69(s, 1H), 6.31(d, $J = 9.0$, 1H), 6.25(d, $J = 9.9$, 1H), 5.96(s, 1H), 5.72(s, 1H), 5.37(d, $J = 7.3$, 1H), 5.34(m, 1H), 5.28(d, $J = 12.4$, 1H), 5.18(s, 1H), 5.09(m, 1H), 4.85(d, $J = 11.1$, 1H), 4.82(d, $J = 10.6$, 1H), 4.78(d, $J = 7.6$, 1H), 4.37(d, $J = 10.4$, 1H), 4.23(m, 1H), 4.18(d, $J = 7.2$, 1H), 3.25(m, 2H), 3.13(td, $J = 11.2, 3.8$, 2H), 2.90(dd, $J = 14.3, 2.8$, 1H), 2.22(t, $J = 13.3$, 1H), 1.44(s, 3H), 1.34(s, 3H), 1.29(s, 3H), 1.20(s, 3H), 1.11(d, $J = 6.1$, 3H) ; ^{13}C NMR(126MHz, CDCl_3) δ 170.74, 170.67, 168.50, 138.25, 138.12, 138.10, 138.01, 137.76, 136.91, 135.44, 129.75, 128.65, 128.62, 128.57, 128.54, 128.48, 128.46, 128.43, 128.40, 128.29, 127.97, 127.92, 127.84, 127.66, 127.62, 127.31, 109.73, 107.38, 107.02, 106.52, 91.72, 87.22, 86.49, 86.21, 84.14, 81.41, 79.17, 76.02, 74.21, 73.72, 73.54, 73.39, 73.12, 71.22, 71.17, 67.74, 66.98, 63.90, 63.85, 63.41, 54.07, 50.12,

48.85, 41.61, 39.88, 38.68, 36.80, 36.26, 32.85, 30.57, 29.85, 27.52, 26.57, 25.67, 25.38, 24.40, 18.56, 18.21, 18.13, 18.06, 18.02, 17.69, 17.14, 15.98, 15.04, 14.35, 12.30, 12.07, 7.70, 7.60, 7.39, 7.33, 7.31, 7.27, 7.11, 6.99, 6.93, 6.07, 5.81, 5.60, 5.53, 5.49, 5.42, 5.40, 5.04, 4.59, -3.85, -3.99, -4.37, -4.42, -4.45, -4.57, -4.68, -5.10, -5.17; FTIR(净膜) 2954.1, 2933.4, 2877.0, 2858.3, 1752.3, 1675.5, 1458.6, 1379.5, 1251.0, 1099.8, 836.6, 777.8, 737.0, 697.0, 668.5 cm^{-1} ; LRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{228}\text{H}_{390}\text{N}_2\text{O}_{45}\text{Si}_{14}\text{Na}_2$ ($\text{M}+2\text{Na}^{++}$) 的计算值为 2157.24, 实验值为 2157.27。

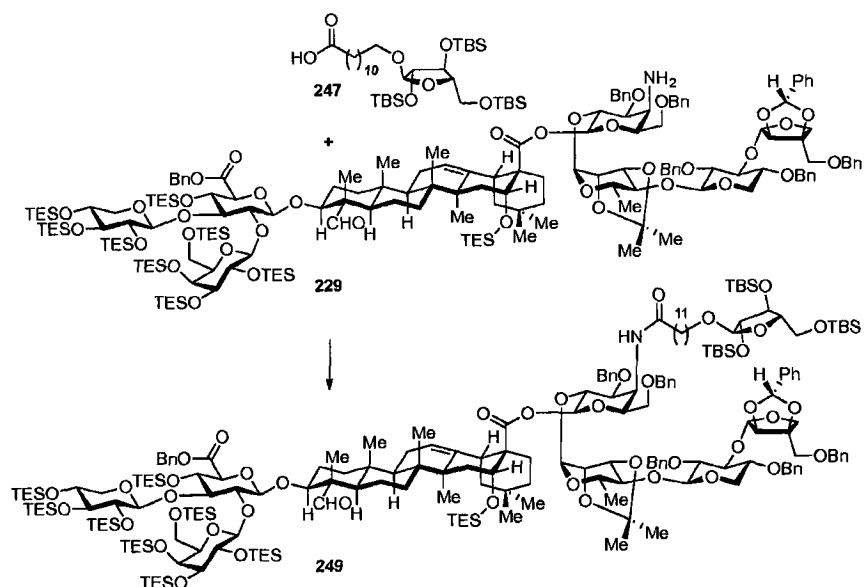
[0665]



[0666] 化合物 1-9。向三个 10mL 圆底烧瓶中完全保护的 I-9248 ($3 \times 2.0\text{mg}$, 0.0014mmol , 1.0 当量) 于四氢呋喃 ($3 \times 1.0\text{mL}$) 和乙醇 ($3 \times 1.0\text{mL}$) 中的三种溶液中馈入湿的 10% (干基) 钯/碳 Degussa 类型 E101NE/W ($3 \times 3.8\text{mg}$, 0.0054mmol , 3.8 当量)。在氢气压力 (50psi) 下搅拌三种平行反应物 24 小时, 接着各自通过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 聚偏二氟乙烯滤盘过滤悬浮液, 用甲醇 (5mL) 洗涤, 并浓缩于 25mL 圆底烧瓶中。

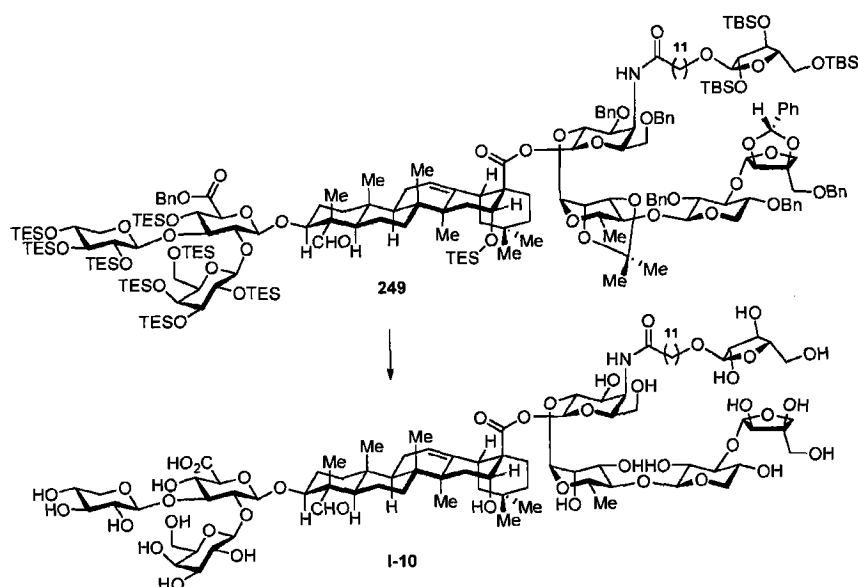
[0667] 预先冷却 (0°C) 的三氟乙酸溶液 (1.0mL , 3 : 1TFA/水) 加入各烧瓶中。用力搅拌 75 分钟后, 在 0°C 下真空浓缩三种平行反应物 1 小时, 得到白色固体残余物。通过 RP-HPLC 来纯化此粗产物, RP-HPLC 在 XBridge Prep BEH300C18 柱 ($5\text{ }\mu\text{m}$, $10 \times 250\text{mm}$) 上进行, 使用经 30 分钟水 (0.05% TFA) 中 30% $\rightarrow$ 50% 乙腈 (0.05% TFA) 的线性梯度, 流速为 5mL/min 。收集含有主要峰 ($t_r = 12.15\text{min}$) 的部分并冻干, 得到呈白色固体状的化合物 I-9 (2.4mg , 产率 85%)。来自以下的特征共振: ^1H NMR (500MHz , 7 : $3\text{D}_2\text{O}$: CD_3CN) δ 9.36 (s, 1H), 5.34 (m, 1H), 5.31 (d, $J = 7.9$, 1H), 5.19 (d, $J = 3.1$, 1H), 5.17 (d, $J = 1.5$, 1H), 4.98 (d, $J = 2.1$, 1H), 4.67 (d, $J = 7.8$, 1H), 4.56 (d, $J = 7.8$, 1H), 4.51 (d, $J = 7.7$, 1H), 4.28 (d, $J = 4.6$, 1H), 4.06 (d, $J = 10.1$, 1H), 2.87 (dd, $J = 14.6, 3.3$, 1H), 2.43 (d, $J = 6.6$, 1H), 2.39 (dd, $J = 7.5, 13.8$, 1H), 2.33 (dd, $J = 14.0, 5.3$, 1H), 1.29 (s, 3H), 1.24 (d, $J = 6.0$, 3H), 1.08 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.68 (s, 3H); LRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{92}\text{H}_{149}\text{N}_2\text{O}_{45}$ ($\text{M}-\text{H}^+$) 的计算值为 2001.94, 实验值为 2002.12。

[0668]



[0669] 完全保护的化合物 I-10 (249)。在 0℃ 下将氯甲酸乙酯 (0.30 μ L, 0.0031mmol, 2.0 当量) 于四氢呋喃 (10 μ L) 中的溶液加入羧酸 247 (2.1mg, 0.0030mmol, 2.0 当量) 和三乙胺 (0.45 μ L, 0.0033mmol, 2.1 当量) 于四氢呋喃 (1.0mL) 中的溶液中。1.5 小时后, 加入氨基皂苷 229 (5.0mg, 0.0016mmol, 1.0 当量) 于四氢呋喃 (3.0mL) 中的溶液。反应物经 14 小时缓慢升温至 12℃, 浓缩, 并通过硅胶色谱法 (苯至 47 : 3 苯 / 乙酸乙酯) 进行纯化, 得到呈透明膜状的 249 (5.4mg, 产率 89%)。R_f = 0.64 (9 : 1 苯 / 乙酸乙酯); 来自以下的特征共振: ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 9.69 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.71 (s, 1H), 5.62 (m, 1H), 5.39 (d, J = 6.6, 1H), 5.28 (d, J = 12.4, 1H), 5.19 (s, 1H), 5.09 (d, J = 12.4, 1H), 4.85 (d, J = 11.2, 1H), 4.82 (d, J = 7.6, 1H), 4.79 (d, J = 10.6, 1H), 4.75 (d, J = 1.6, 1H), 4.64 (d, J = 11.2, 1H), 4.59 (d, J = 1.7, 2H), 4.18 (d, J = 7.3, 1H), 3.25 (m, 2H), 3.14 (dd, J = 19.6, 10.2, 2H), 2.88 (dd, J = 14.1, 3.5, 1H), 2.21 (t, J = 13.4, 1H), 2.14 (t, J = 7.4, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.12 (d, J = 6.1, 3H); ¹³CNMR (126MHz, CDCl₃) δ 138.24, 138.11, 137.64, 136.91, 135.44, 129.77, 128.64, 128.62, 128.57, 128.55, 128.51, 128.49, 128.45, 128.41, 128.29, 127.98, 127.93, 127.85, 127.62, 127.32, 109.64, 108.54, 107.38, 106.53, 91.72, 87.23, 84.34, 84.25, 81.46, 79.00, 78.89, 78.74, 78.67, 78.24, 74.25, 73.73, 73.65, 73.40, 73.11, 71.84, 71.57, 71.20, 67.87, 66.99, 63.87, 63.11, 54.03, 46.21, 41.71, 39.94, 37.06, 36.23, 32.86, 32.08, 30.60, 29.93, 29.88, 29.86, 29.81, 29.72, 29.67, 29.59, 29.46, 27.62, 26.53, 26.39, 26.08, 25.96, 25.90, 24.47, 22.86, 20.40, 18.53, 18.04, 18.00, 17.72, 17.32, 16.04, 14.27, 12.33, 7.70, 7.60, 7.39, 7.32, 7.29, 7.27, 7.12, 6.99, 6.93, 6.08, 5.81, 5.61, 5.53, 5.50, 5.42, 5.40, 5.08, 4.58, 1.19, -4.18, -4.38, -4.54, -4.64, -5.03, -5.16; FTIR (净膜) 2952.9, 2929.0, 2876.6, 2856.9, 1750.9, 1734.2, 1457.5, 1241.6, 1219.9, 1099.2, 1006.0, 836.7, 737.2, 697.5cm⁻¹; LRMS (ESI) m/z : C₂₁₀H₃₅₁NO₄₂Si₁₂Na₂ (M+2Na⁺) 的计算值为 1970.62, 实验值为 1971.83。

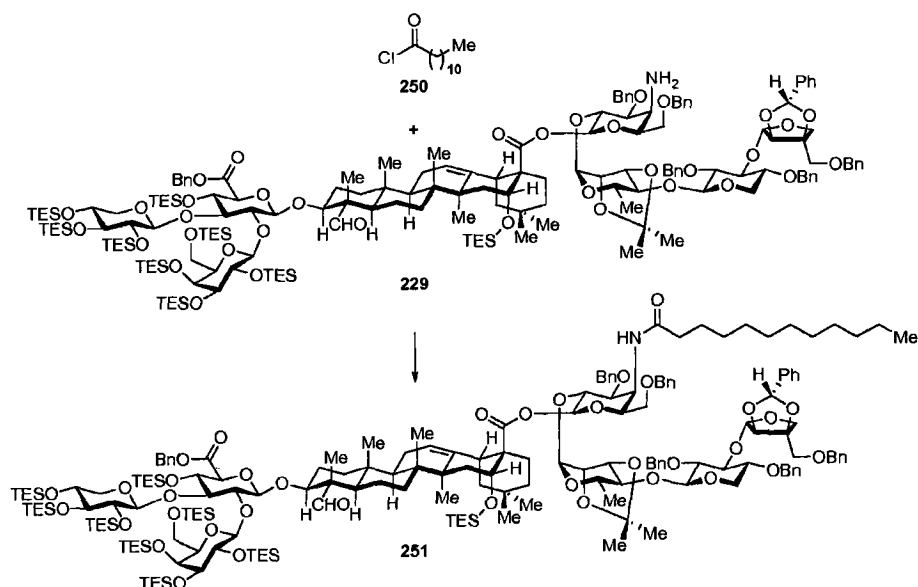
[0670]



[0671] 化合物 I-10。将完全保护的 I-10 (249) (5.4mg, 0.0014mmol, 1.0 当量) 同等地分到三个 10mL 圆底烧瓶中, 并溶于四氢呋喃 ($3 \times 1.0\text{mL}$) 和乙醇 ($3 \times 1.0\text{mL}$) 中。向三种平行反应物中馈入湿的 10% (干基) 钯/碳 Degussa 类型 E101NE/W ($3 \times 3.2\text{mg}$, 0.0045mmol, 3.3 当量) 并在氢气压力 (50psi) 下搅拌 24.5 小时。合并三个悬浮液并通过两个 $0.45\mu\text{m}$ 聚偏二氟乙烯滤盘过滤, 用甲醇 (5mL) 洗涤并浓缩于两个 25mL 圆底烧瓶中。

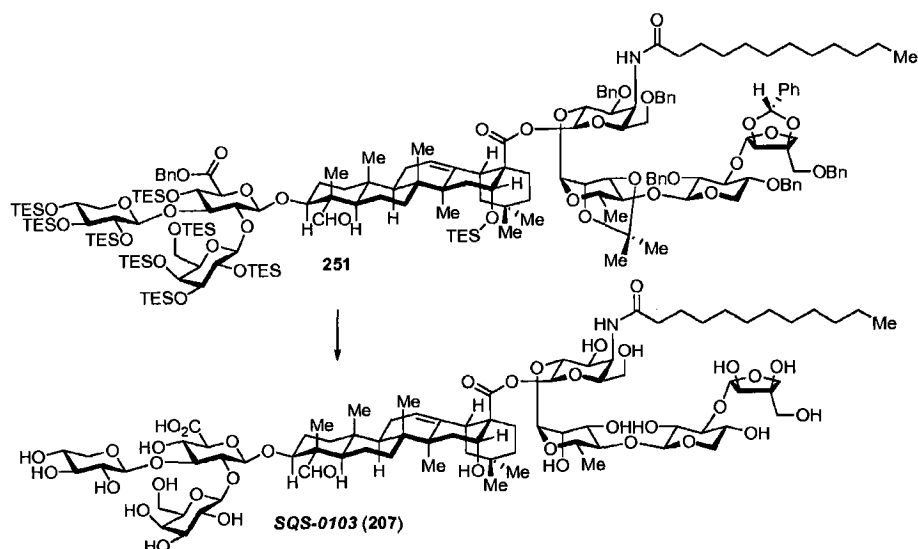
[0672] 预先冷却 (0°C) 的三氟乙酸溶液 (1.0mL , 3 : 1TFA/ 水) 加入两个烧瓶中。用力搅拌 60 分钟后, 在 0°C 下真空浓缩两种平行反应物 2 小时, 得到白色固体残余物。通过 RP-HPLC 来纯化此粗产物, RP-HPLC 在 XBridge Prep BEH300C18 柱 ($5\mu\text{m}$, $10 \times 250\text{mm}$) 上进行, 使用经 17 分钟水 (0.05% TFA) 中 30% $\rightarrow$ 40% 乙腈 (0.05% TFA) 的线性梯度, 流速为 $5\text{mL}/\text{min}$ 。收集含有主要峰 ($t_{\text{R}} = 15.5\text{min}$) 的部分并冻干, 得到呈非晶形白色固体状的化合物 I-10 (2.0mg, 产率 78%)。来自以下的特征共振: ^1H NMR (500MHz, 7 : $3\text{D}_2\text{O}$: CD_3CN) δ 9.36 (s, 4H), 5.34 (m, 1H), 5.32 (d, $J = 7.9$, 1H), 5.19 (d, $J = 3.1$, 1H), 5.17 (d, $J = 1.4$, 1H), 4.87 (d, $J = 1.8$, 1H), 4.67 (d, $J = 7.7$, 1H), 4.56 (d, $J = 7.8$, 1H), 4.52 (d, $J = 7.9$, 1H), 4.24 (d, $J = 4.2$, 1H), 4.06 (d, $J = 10.1$, 1H), 3.96 (d, $J = 3.1$, 1H), 2.89 (dd, $J = 14.3$, 3.5, 1H), 1.08 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.92 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.68 (s, 3H); LRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{86}\text{H}_{138}\text{NO}_{42}(\text{M}-\text{H}^+)$ 的计算值为 1856.87, 实验值为 1857.03。

[0673]



[0674] 完全保护的化合物 I-8(251)。将月桂酰氯 (6.6 μ L, 0.029mmol, 12 当量) 加入胺 229(7.7mg, 0.0024mmol, 1.0 当量) 和三叔丁基吡啶 (52.5mg, 0.212mmol, 89 当量) 于二氯甲烷 (10mL) 中的溶液中。16 小时后, 浓缩反应物并通过硅胶色谱法 (苯至 4 : 1 苯 / 乙酸乙酯) 进行纯化, 得到呈透明膜状的 251(8.0mg, 0.0023mmol, 产率 98%)。R_f = 0.58 (9 : 1 苯 / 乙酸乙酯); 来自以下的特征共振: ¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9.70(s, 1H), 5.96(s, 1H), 5.71(s, 1H), 5.62(m, 1H), 5.38(d, J = 6.9, 1H), 5.30(m, 1H), 5.28(d, J = 12.4, 1H), 5.20(d, J = 1.6, 1H), 5.09(d, J = 12.4, 1H), 4.64(d, J = 11.2, 1H), 4.59(d, J = 1.8, 2H), 4.18(d, J = 7.3, 1H), 3.25(m, 2H), 3.14(m, 2H), 2.88(dd, J = 13.5, 3.0, 1H), 2.21(t, J = 13.8, 1H), 2.15(t, J = 7.1, 1H), 1.44(s, 3H), 1.12(d, J = 6.1, 3H); ¹³C NMR(126MHz, CDCl₃) δ 138.25, 128.64, 128.61, 128.57, 128.55, 128.52, 128.48, 128.45, 128.41, 128.29, 127.98, 127.92, 127.85, 127.83, 127.62, 127.32, 112.24, 91.72, 74.25, 73.73, 73.64, 73.10, 63.86, 54.03, 46.16, 39.96, 36.22, 32.85, 32.08, 32.05, 31.02, 30.60, 30.43, 29.84, 29.76, 29.74, 29.61, 29.59, 29.53, 29.47, 29.39, 29.22, 27.61, 25.93, 25.51, 24.46, 22.84, 19.68, 17.73, 14.28, 7.69, 7.60, 7.39, 7.31, 7.27, 7.11, 6.99, 6.92, 6.07, 5.80, 5.60, 5.53, 5.49, 5.42, 5.39, 5.08, 4.58; FTIR(净膜) 2952.9, 2934.8, 2876.3, 1749.9, 1698.43, 1457.2, 1375.7, 1239.9, 1098.5, 1006.4, 697.5, 669.4cm⁻¹; LRMS(ESI)m/z : C₁₈₇H₃₀₁NO₃₇Si₉Na₂(M+2Na⁺⁺) 的计算值为 1725.47, 实验值为 1723.82。

[0675]



[0676] 化合物 I-8。向 10mL 圆底烧瓶中完全保护的 I-8 (251) ($3 \times 1.25\text{mg}$, 0.0011mmol , 1.0 当量) 于四氢呋喃 ($3 \times 1.0\text{mL}$) 和乙醇 ($3 \times 1.0\text{mL}$) 中的三种平行溶液中馈入湿的 10% (干基) 钯 / 碳 Degussa 类型 E101NE/W ($3 \times 2.3\text{mg}$, 0.0054mmol , 2.9 当量)。在氢气压力 (50psi) 下搅拌三种平行反应物 26 小时, 接着合并悬浮液并通过两个 $0.45\mu\text{m}$ 聚偏二氟乙烯滤盘过滤, 用甲醇 (5mL) 洗涤, 并浓缩于两个 25mL 圆底烧瓶中。

[0677] 预先冷却 (0°C) 的三氟乙酸溶液 (1.0mL , 1 : 1TFA/ 水) 加入两种平行反应物中。用力搅拌 35 分钟后, 在 0°C 下真空浓缩反应物, 得到白色固体残余物。通过 RP-HPLC 来纯化此粗产物, RP-HPLC 在 XBridge Prep BEH300C18 柱 ($5\mu\text{m}$, $10 \times 250\text{mm}$) 上进行, 使用经 30 分钟水 (0.05% TFA) 中 50% $\rightarrow$ 65% 乙腈 (0.05% TFA) 的线性梯度, 流速为 $5\text{mL}/\text{min}$ 。产物溶离为宽峰 ($t_{\text{R}} = 12.78\text{min}$), 且收集此部分并冻干, 得到呈非晶形固体状的化合物 I-8 (1.3mg , 0.00076mmol , 产率 69%)。来自以下的特征共振: ^1H NMR (500MHz , 1 : $1\text{D}_2\text{O}$: CD_3CN) δ 9.36 (s, 3H), 5.31 (m, 1H), 5.28 (d, $J = 7.7$, 1H), 5.19 (s, 1H), 5.17 (d, $J = 3.1$, 1H), 4.66 (d, $J = 7.8$, 1H), 4.53 (d, $J = 7.8$, 1H), 4.48 (d, $J = 7.9$, 1H), 4.40 (d, $J = 7.7$, 1H), 4.05 (d, $J = 10.1$, 2H), 3.95 (d, $J = 3.1$, 1H), 2.87 (m, 2H), 1.08 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.67 (s, 3H); LRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{81}\text{H}_{130}\text{NO}_{37}(\text{M}-\text{H}^+)$ 的计算值为 1708.83, 实验值为 1709.37。

[0678] 实例 4

[0679] 用 GD3-KLH 结合物疫苗临床前评估合成的 QS-21

[0680] 这一实例证实某些本发明化合物在活体内的免疫原性。使用类似方案, 在小鼠 (C57BL/6J, 雌性, 六周大) 中评估合成佐剂 SQS-21-Api 和 SQS-21-Xyl 的免疫增强性质。虽然我们先前进行的合成化学工作已清楚地证实 SQS-21-Api (金 (Kim, Y.-J.); 王 (Wang, P.); 纳瓦罗-维拉罗伯斯 (Navarro-Villalobos, M.); 罗德 (Rohde, B. D.); 戴瑞巴里 (Derryberry, J.); 哥因 (Gin, D. Y.), 美国化学会志, 2006, 128, 11906-11915) 和 SQS-21-Xyl (邓 (Deng, K.); 亚当斯 (Adams, M. M.); 达马尼 (Damani, P.); 利文斯顿 (Livingston, P. O.); 拉古帕斯 (Ragupathi, G.); 哥因 (Gin, D. Y.), 应用化学国际版, 2008, 47, 6395-6398) 的化学结构与 NQS-21 内主要成份 (王 (Wang, P.); 金 (Kim, Y.-J.); 纳瓦罗-维拉罗伯斯 (Navarro-Villalobos, M.); 罗德 (Rohde, B. D.); 哥因 (Gin, D. Y.), 美国

化学会志, 2005, 127, 3256-3257; 雅克布森 (Jacobsen, N. E.); 费尔布拉德 (Fairbrother, W. J.); 肯席尔 (Kensil, C. R.); 利姆 (Lim, A.); 维勒 (Wheeler, D. A.); 鲍威尔 (Powell, M. F.), 碳水化合物 (Carbohydr. Res.), 1996, 280, 1-14) 的结构一致, 但是已知天然来源的 NQS-21 内的组成变化不均一, 故进行此实验来评估合成皂苷以证实其生物活性 (注意: NQS-21 = 天然来源的 QS-21; SQS-21-Mix = 合成的 QS-21; SQS-21-Api = 合成的 QS-21-Api; SQS-21-Xyl = 合成的 QS-21-Xyl; SQS-7 = 合成的 QS-7)。NQS-21 以芹菜糖与木糖异构形式的 65 : 35 混合物形式分离, 然而, 将这些成份与来自树皮的微量天然皂苷杂质分开是非常困难的。因此, 需要探究是否存在可用作免疫活性成份的任何天然来源的微量皂苷杂质。

[0681] 用黑色素瘤抗原 GD3 神经节苷脂与 KLH 的结合物 (GD3-KLH) 使五只小鼠为一组的群组免疫, 剂量为每次接种 $10 \mu\text{g}$ 抗原。作为阴性对照组, 小鼠仅接种 GD3-KLH 抗原。作为阳性对照组, 用天然来源的 NQS-21 (通过将皂苷混合物从皂皮树中分级分离而获得) 进行接种, 剂量为 $20 \mu\text{g}$, 此剂量是已知在小鼠中诱发可测量的抗体反应以及可接受的毒性作用的量。对同一剂量 ($20 \mu\text{g}$) 下合成 SQS-21 佐剂进行的佐剂活性评估包括 SQS-21-Api 与 SQS-21-Xyl 的重组混合物 (65 : 35 混合物, SQS-21-Mix), 以模拟在 NQS-21 内发现的典型异构比率。在 $20 \mu\text{g}$ 剂量下对分开的皂苷异构体 SQS-21-Api 和 SQS-21-Xyl 中每一者进行类似评估。每周使用指定佐剂的规定剂量, 使小鼠免疫, 历时三周, 且在第三次接种后放血 10 天。通过 ELISA 测试针对 GD3 和 KLH 的抗体的存在且通过 FACS 测试针对表现 GD3 抗原的肿瘤细胞系 SK-MEL-28 的抗体的存在, 由此评估免疫增强。

[0682] 抗体反应 (ELISA)

[0683] 使用 GD3 神经节苷脂或 KLH 蛋白质作为标靶, 用 ELISA 分析测定佐剂存在或不存在的条件下接种 GD3-KLH 结合物后的抗体反应。接种 3 周后, 比较相同剂量 ($10 \mu\text{g}$ 和 $20 \mu\text{g}$) 的不同佐剂 SQS-21、SQS-21-Api 和 SQS-21-Xyl, 这些佐剂都同等有效地诱发针对 GD3 的 IgM 抗体反应, 其中各状况下的抗体效价都显著高于仅使用 GD3-KLH 的群组。第三次接种后, 未检测到针对 GD3 的 IgG 抗体; 然而, 在第四次免疫后, 大部分小鼠中都诱发 IgM 和 IgG 抗体效价。此外, 各群组之间没有显著的差异。在所有群组中, 针对 KLH 的 IgG 抗体反应也都显著增加, 其中没有一个群组显示比其它群组显著更高或更低的效价。所有群组都至少是仅仅使用 GD3-KLH 的群组的 20 倍。 $20 \mu\text{g}$ QS- 佐剂剂量下抗体效价的图示 (图 2) 清楚地说明, SQS-21 佐剂具有比得上 NQS-21 的佐剂活性。

[0684] 由流式细胞术 (FACS) 测试细胞表面反应性

[0685] 也通过 FACS 测试针对表现 GD3 抗原的肿瘤细胞系 SK-MEL-28 的抗体的存在, 由此评估免疫增强。在第 4 次接种后第 7 天抽出血清, 使用 SK-MEL-28 (GD3 阳性) 细胞系, 通过流式细胞术来测试这些血清的细胞表面反应性。图示 $20 \mu\text{g}$ QS- 佐剂剂量下的中值 FACS 结果, 直接进行比较 (图 3)。在免疫之前预先从小鼠获得的血清展示少于 10% 的阳性细胞, 且来自接种所有三种合成佐剂的小鼠的血清展示与 SK-MEL-28 的显著阳性反应性。这些数据加强了合成 SQS-21 的佐剂活性比得上 NQS-21 的说法。

[0686] 毒性

[0687] 监测每次注射后第 0 小时、第 24 小时、第 48 小时和第 72 小时的体重损失, 作为毒性的量度。图 4 中显示五只小鼠为一组的群组的中值体重损失, 这些小鼠接受三种不同剂

量的 SQS-21-Mix、SQS-21-Api 或 SQS-21-Xyl。作为阴性对照组,仅采用 GD3-KLH(无佐剂)的接种在每次注射后都未造成明显的体重损失。作为阳性对照组,NQS-21(20 μ g)的存在在每次注射后都引起显著且预期的体重损失。4 周持续时间内此类型的体重损失非常类似于接种 SQS-21 合成佐剂(混合物和分开的异构体)的其它小鼠群组,再次显示 SQS-21 的生物概况比得上 NQS-21。

[0688] 实例 5

[0689] 用 GD3-KLH 结合物疫苗临床前评估所选的式 II 化合物。

[0690] 合成工作已经制得式 II 化合物,包括化合物 I-8、I-9 和 I-10。在这些化合物中,天然 QS 化合物的水解不稳定性酰基链内存在结构变化,采取明显更稳定的酰胺键联的结构以及简单得多的直链烷基链变体的形式。

[0691] 对五只小鼠为一组的群组接种(3 次,1 周时间间隔,在第 7 周增强)GD3-KLH 抗原(10 μ g)以及相关佐剂(10 μ g)。作为阴性对照组,一组仅接种抗原,缺乏佐剂。作为阳性对照组,两组接种天然 NQS-21 或者合成的 SQS-21-Mix,这两种物质都在此分析中被确定为有效的免疫佐剂(参见图 2)。平行评估三种式 II 化合物以及我们近来合成的 QS-7-Api 佐剂,进行比较(图 5)。

[0692] 通过 ELISA 来测量血液样品中的 GD3 抗体(图 5A)。这些初步数据显示,这些合成的化合物在免疫增强能力方面的活性至少与 NQS-21 相同。通过针对蛋白质抗原 KLH 的显著较高的 Ab 效价($0.8-1.6 \times 10^6$,图 5B),加强这些活性。目前正在对这些新颖的佐剂进行详细的毒性评价。

[0693] 此处所收集的重要的初步数据(图 5)建立如下观念:(1) 水解稳定的式 II 化合物是活性免疫增强剂;和(2) 本发明提供新颖且有效的佐剂化合物,其效力可媲美并超越天然 NQS-21。

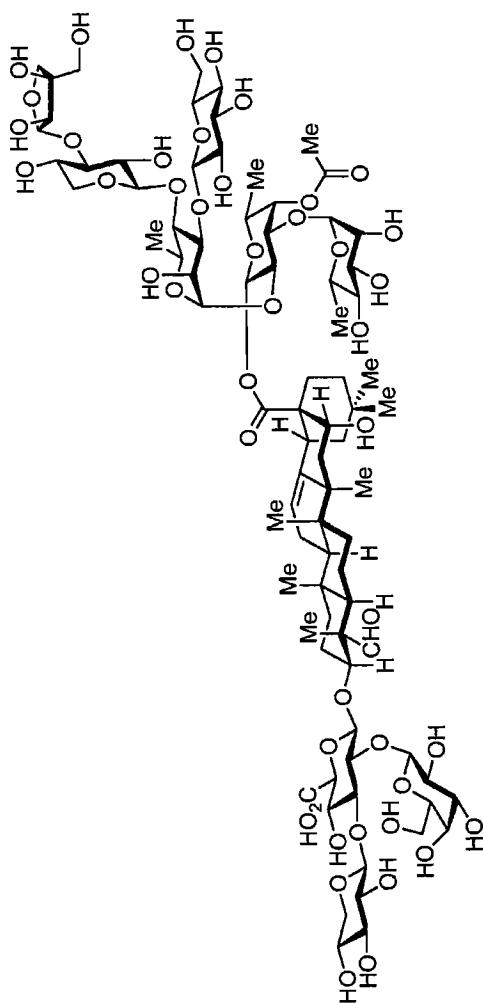


图 1A

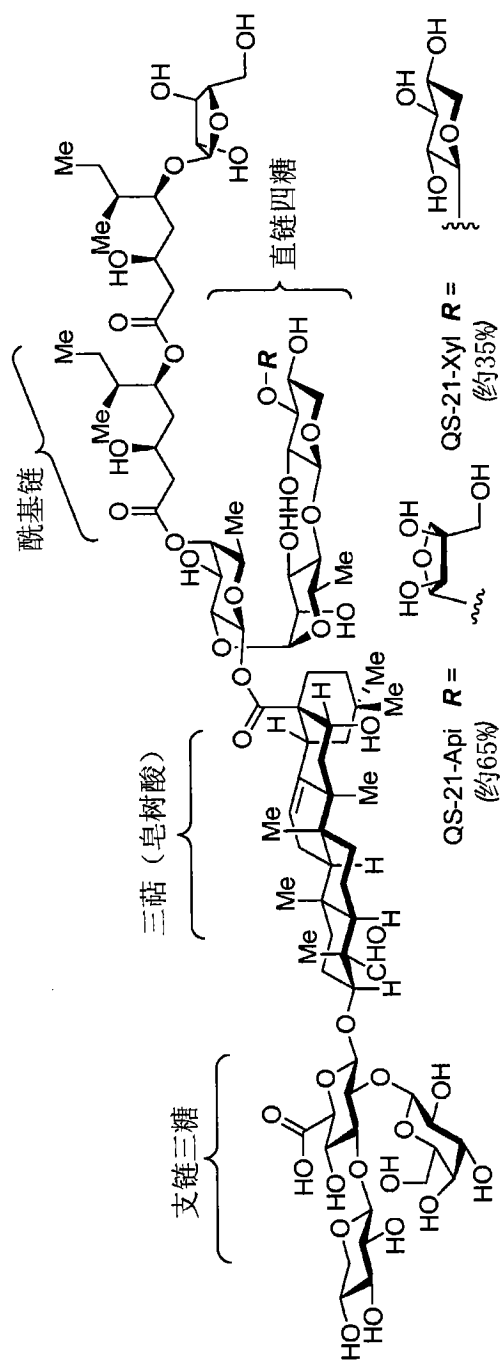
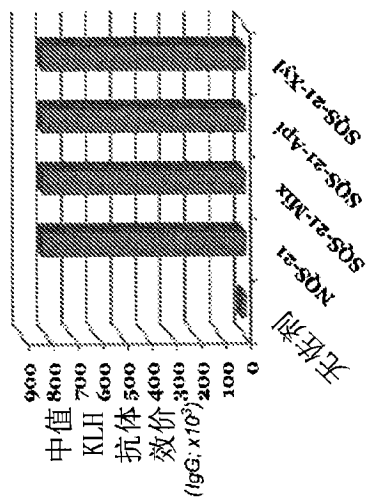
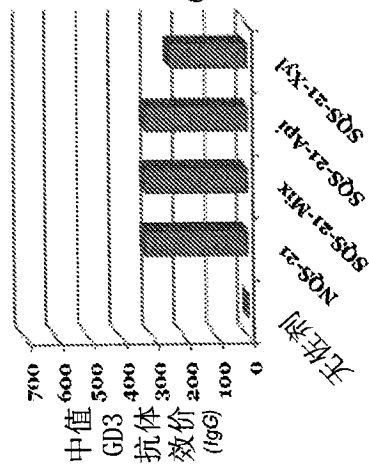


图 1B

(C) IgG-KLH 抗体效价



(B) IgG-GD3 抗体效价



(A) IgM-GD3 抗体效价

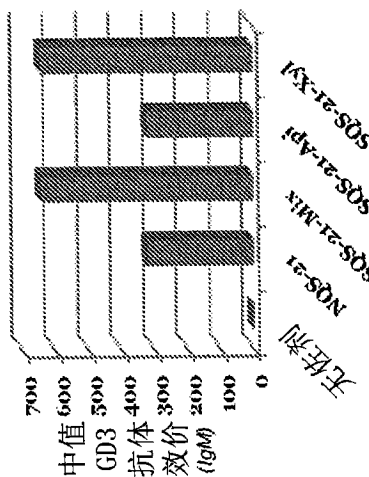


图 2

细胞表面反应性 (FACS)

■ % Pos IgM ■ MFI

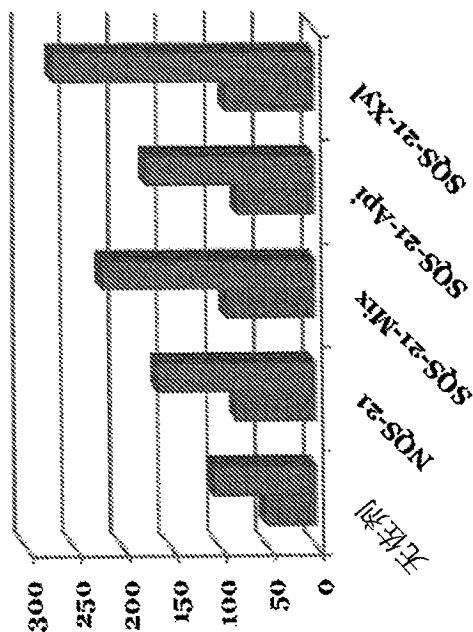


图 3

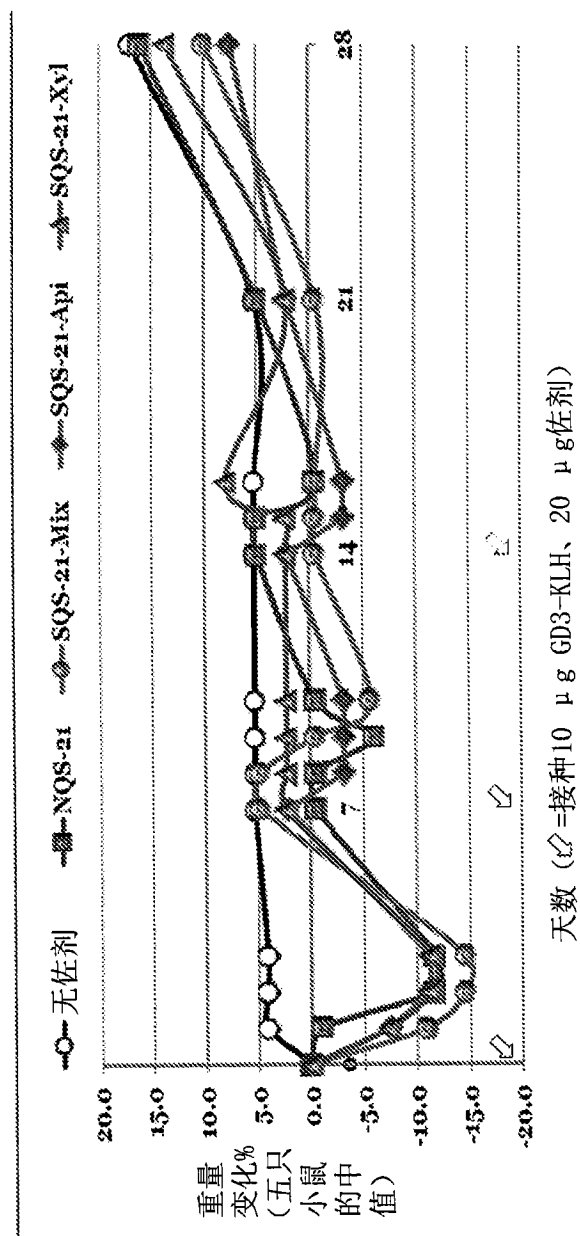


图 4

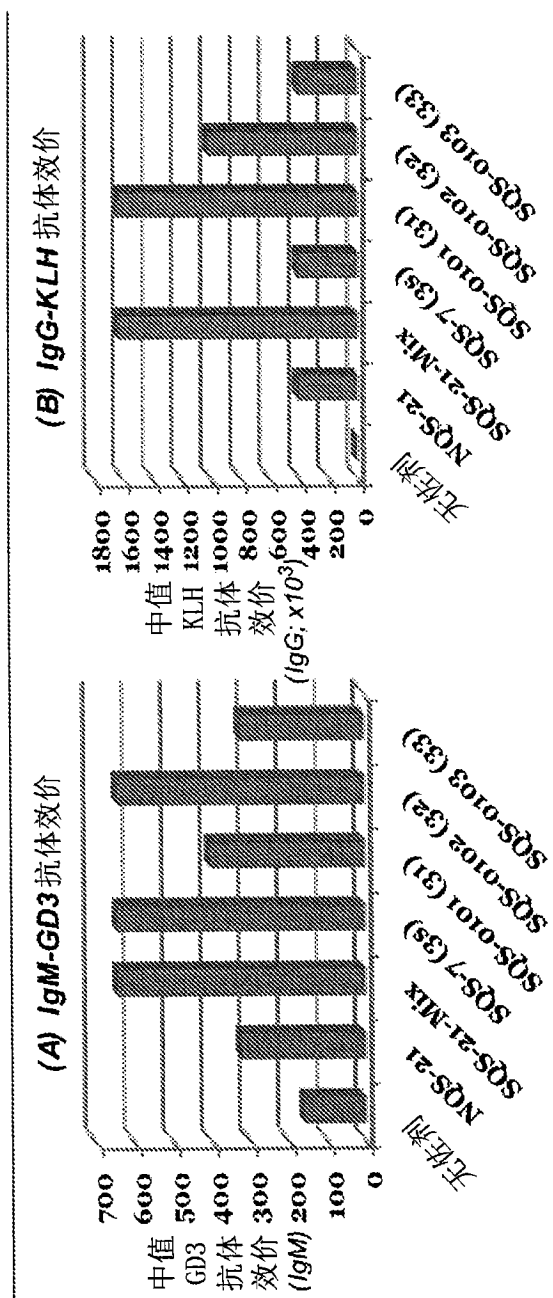


图 5

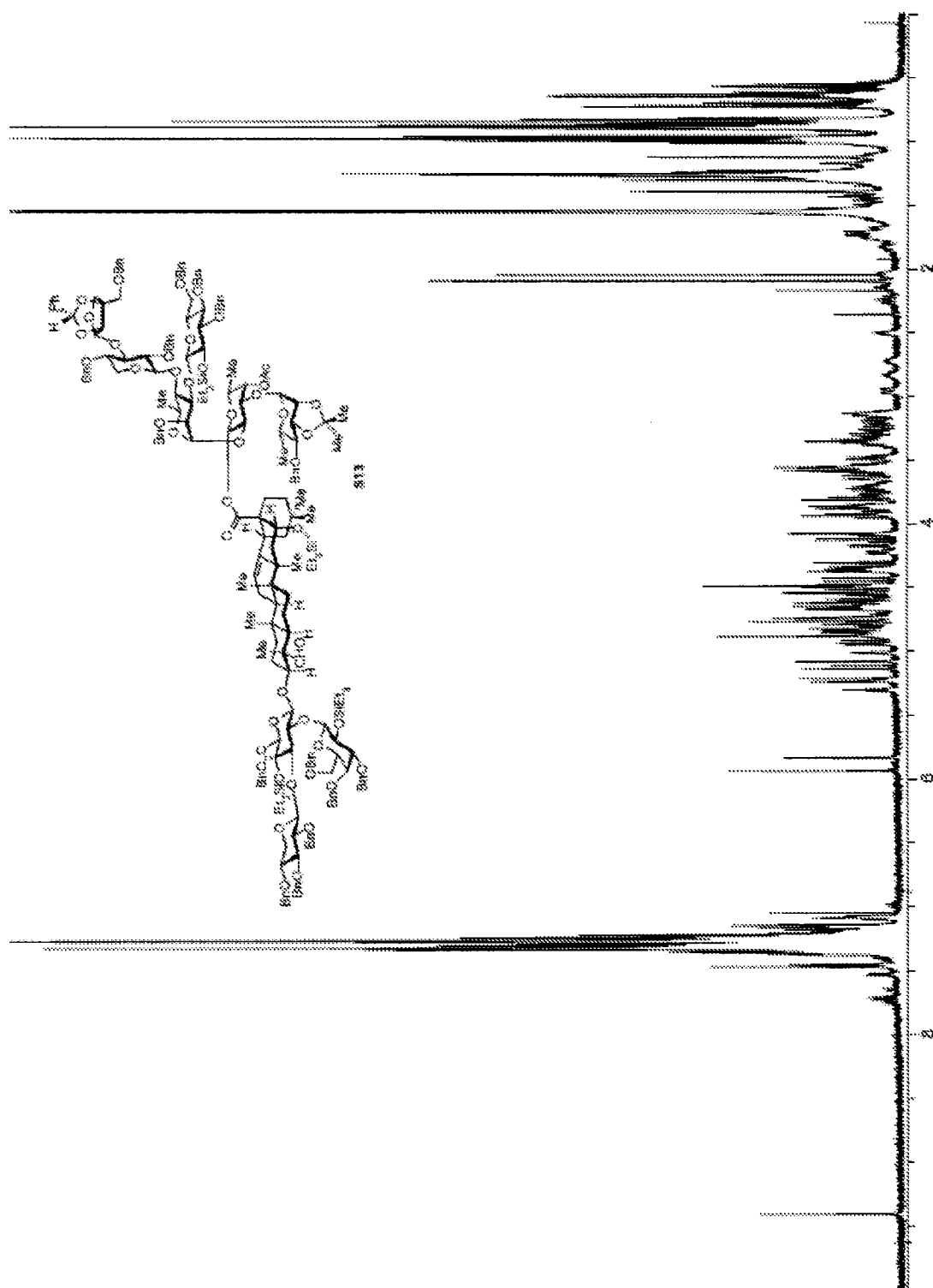


图 6

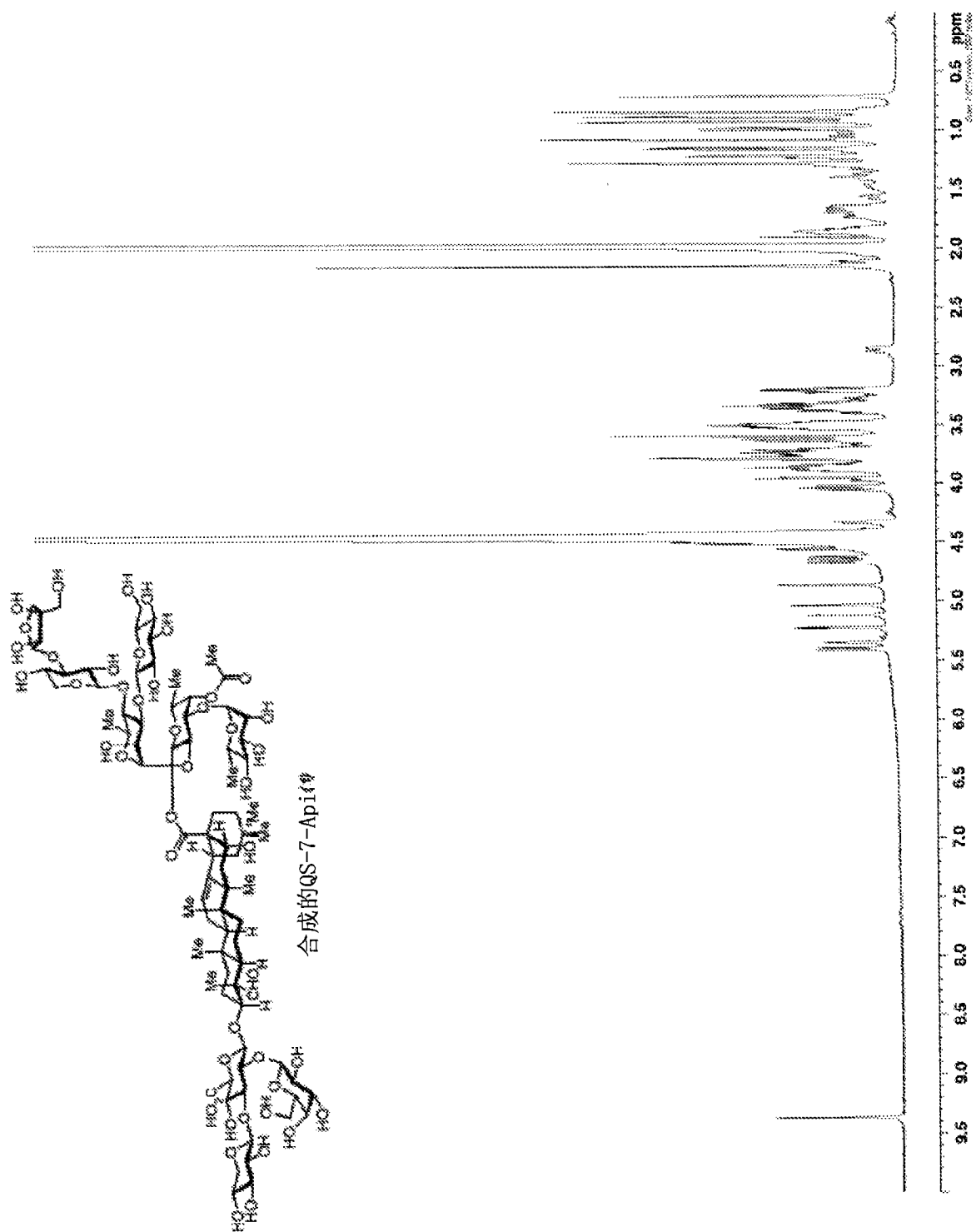


图 7

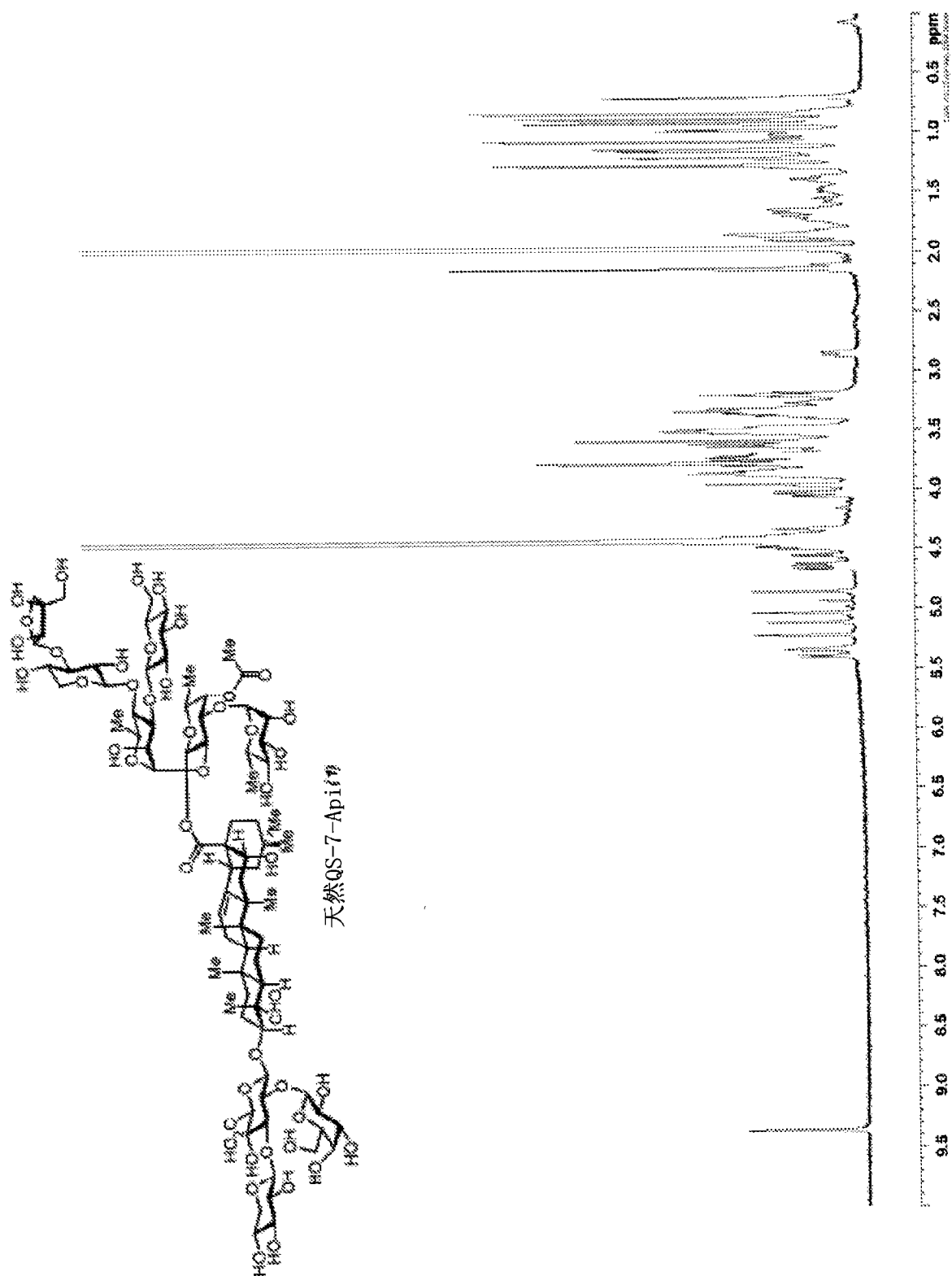


图 8

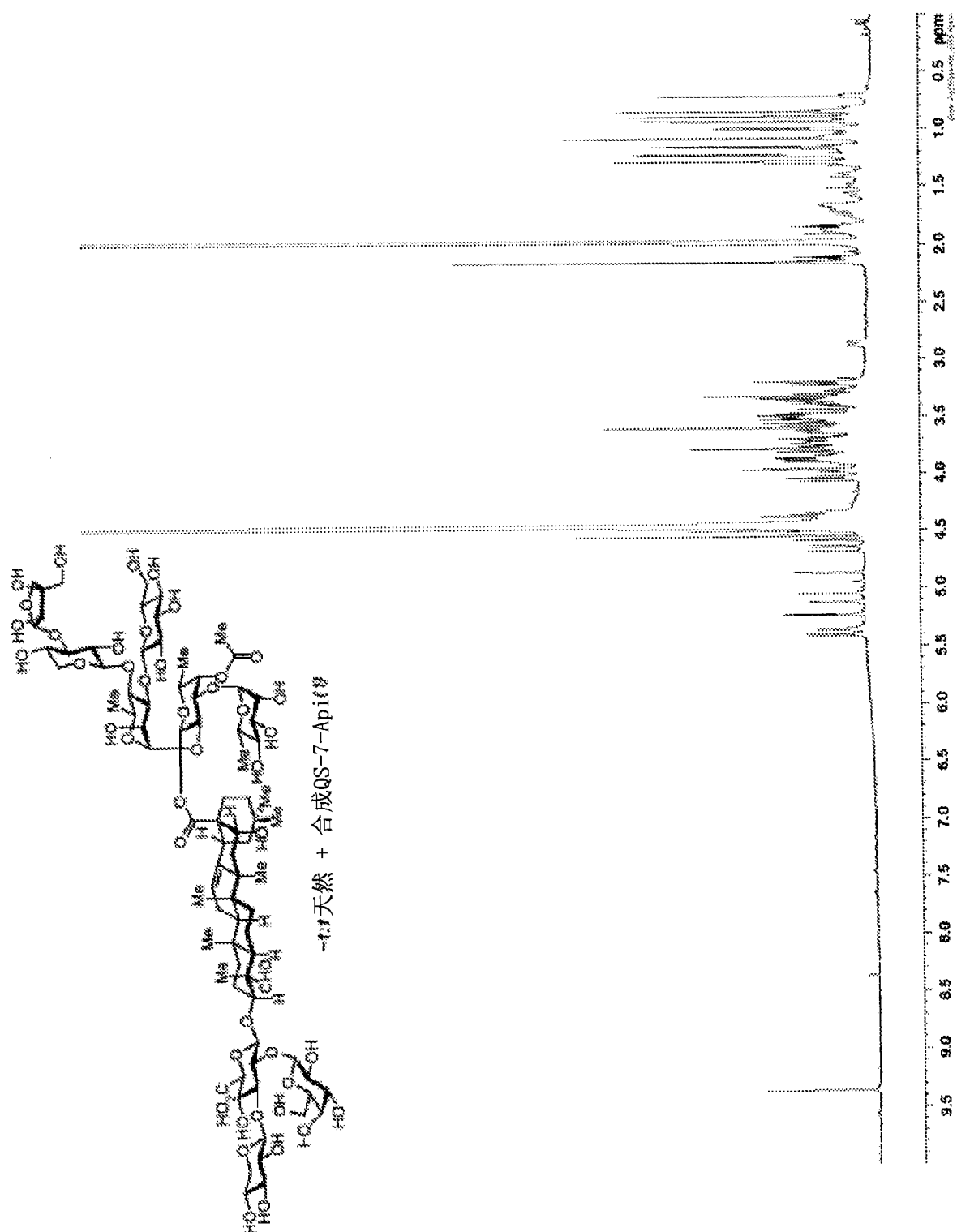


图 9

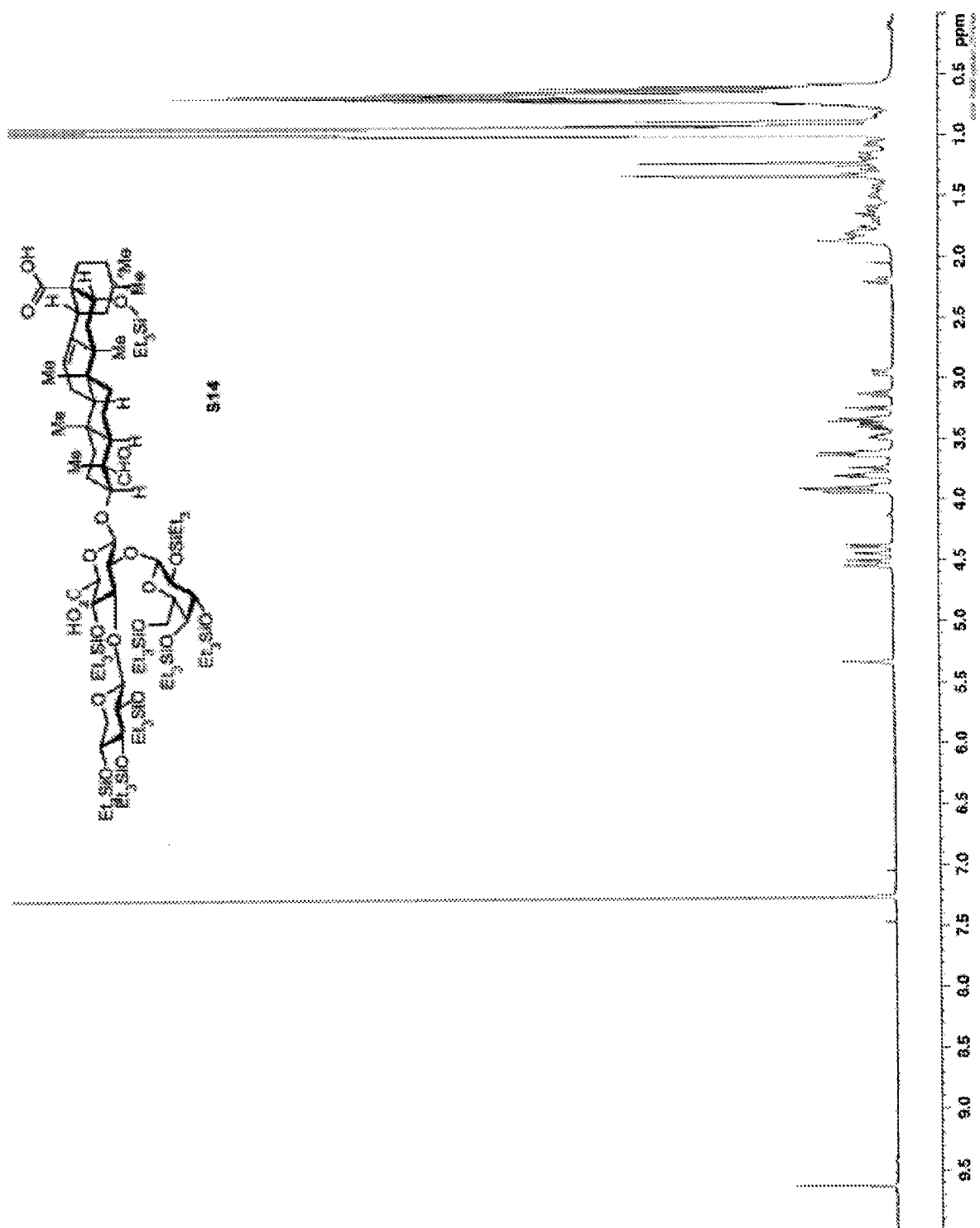


图 10

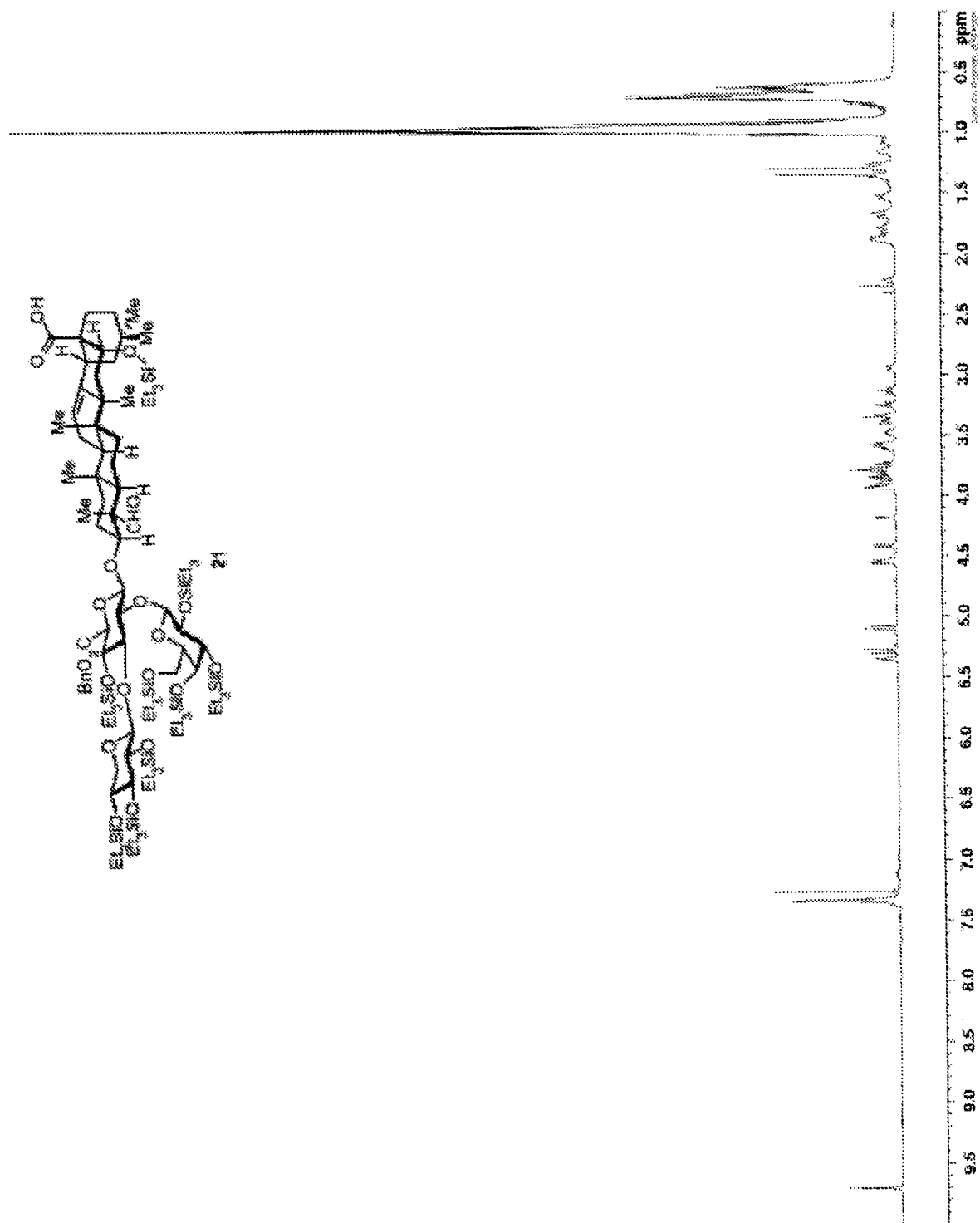


图 11

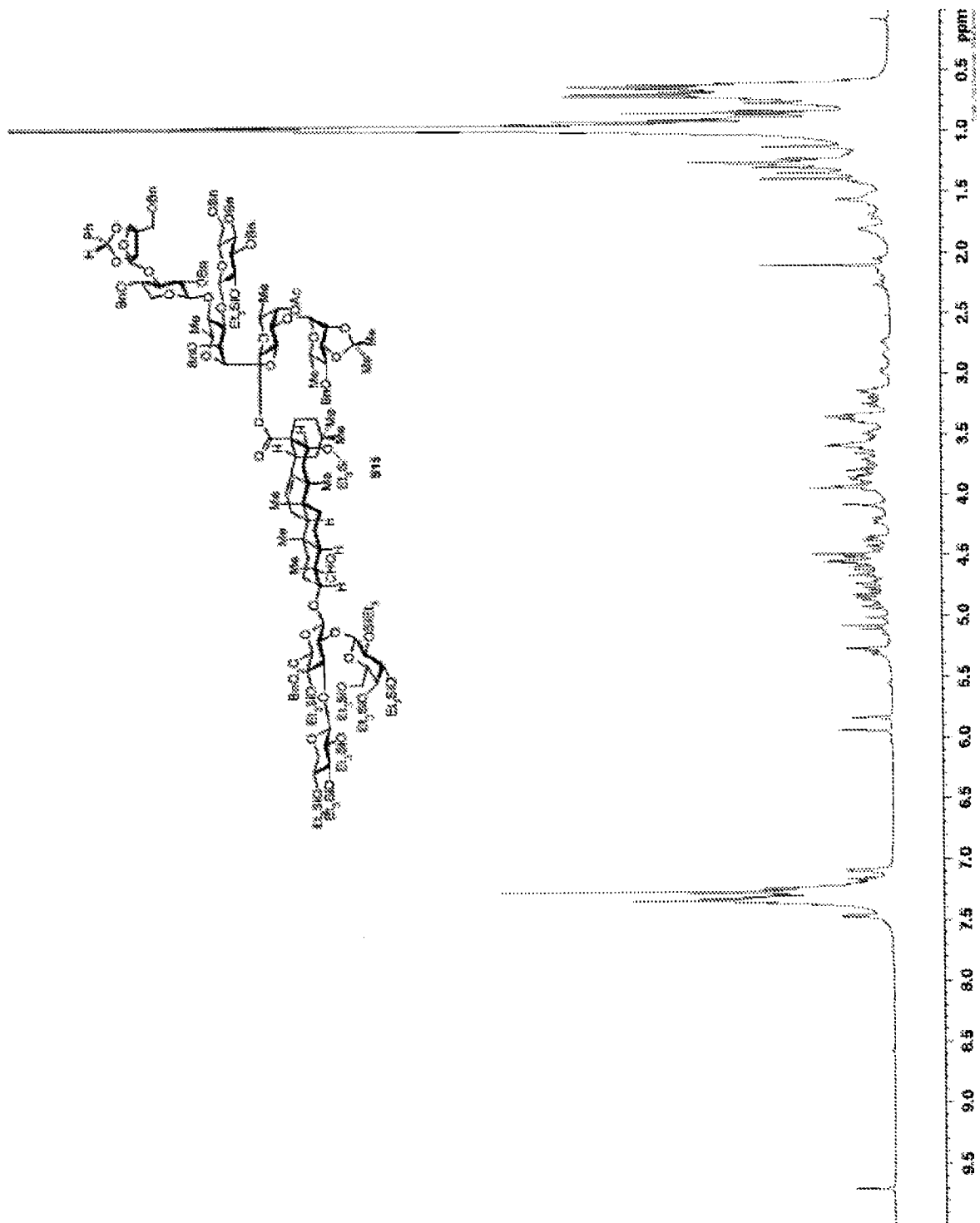


图 12

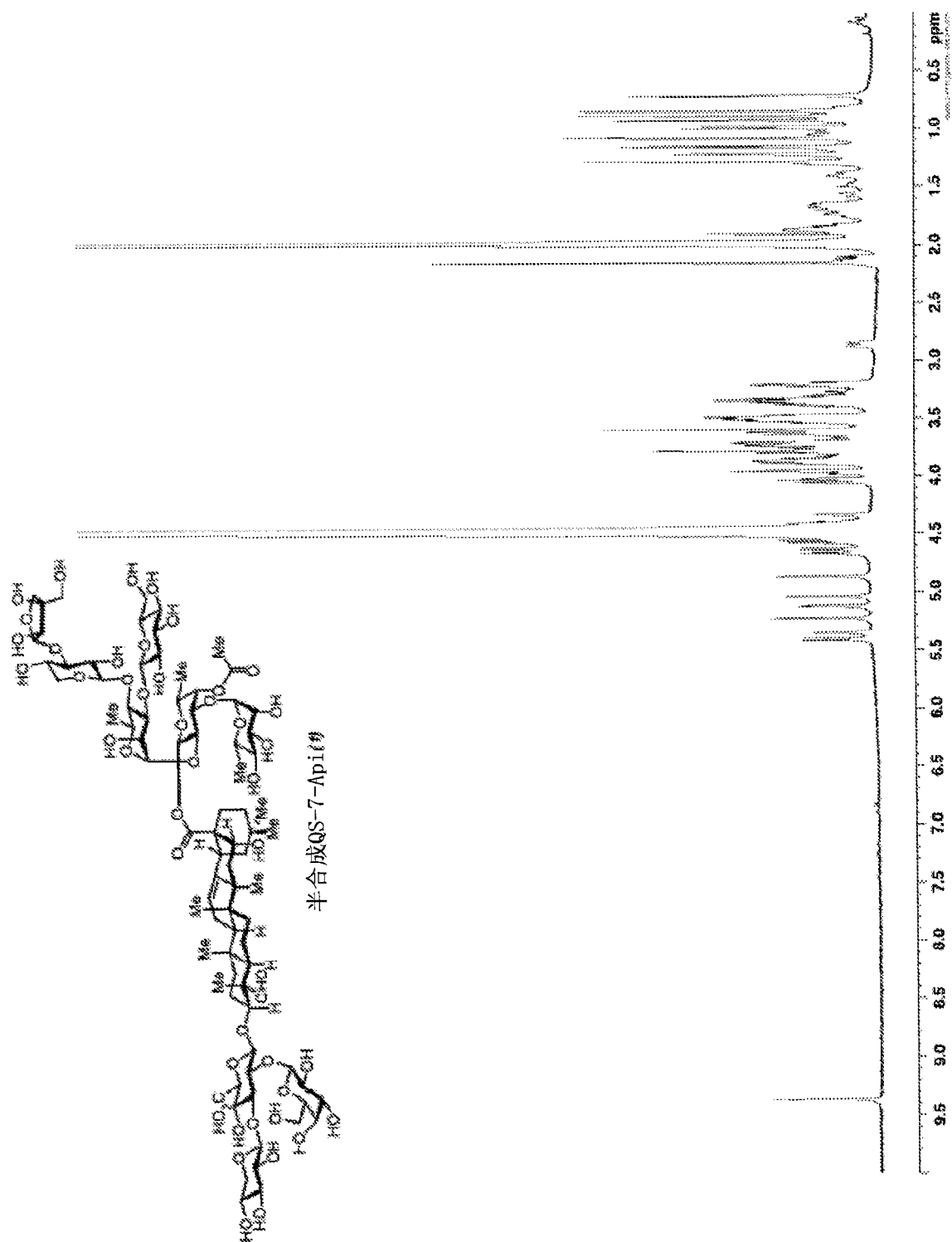


图 13

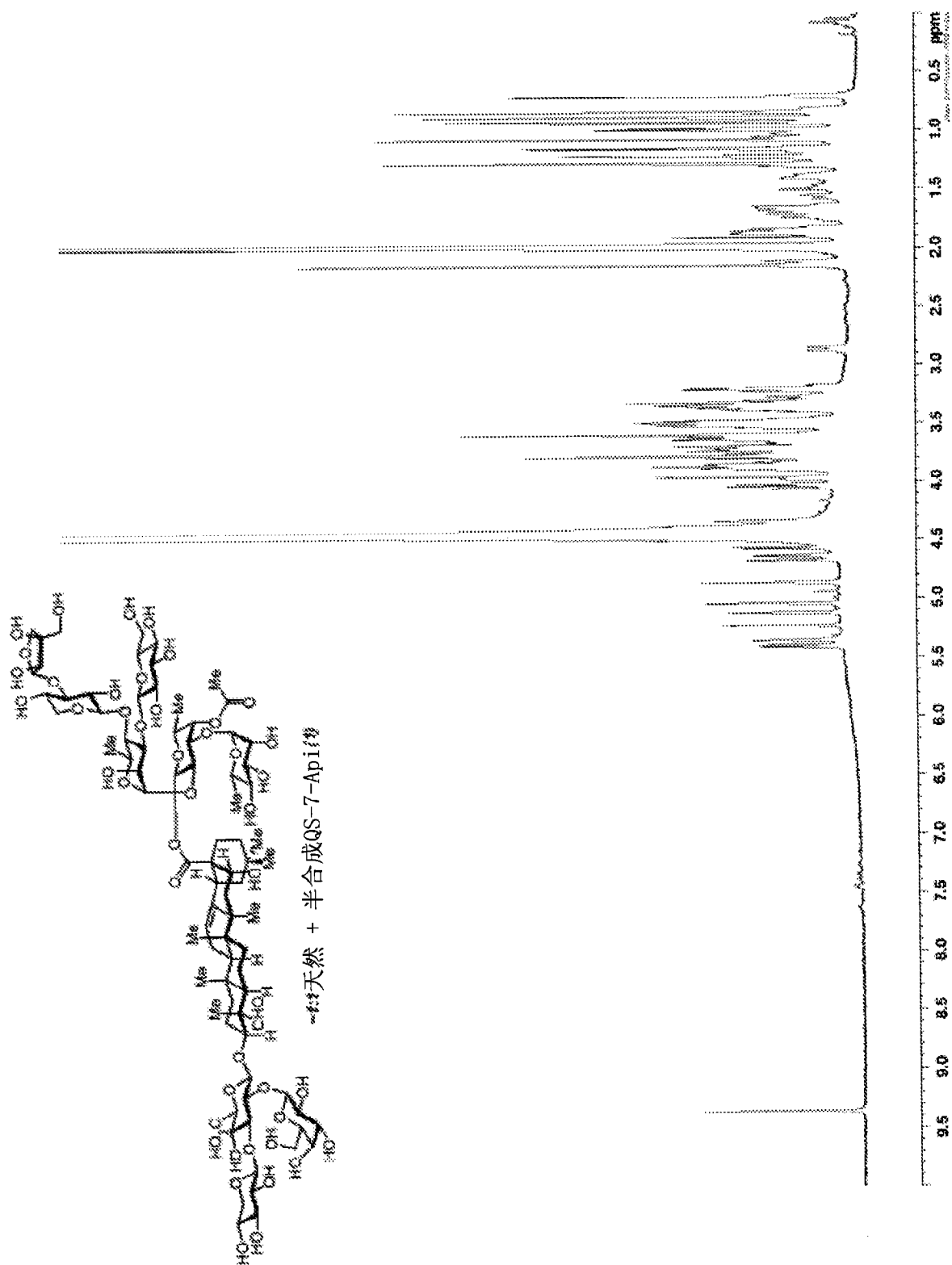


图 14

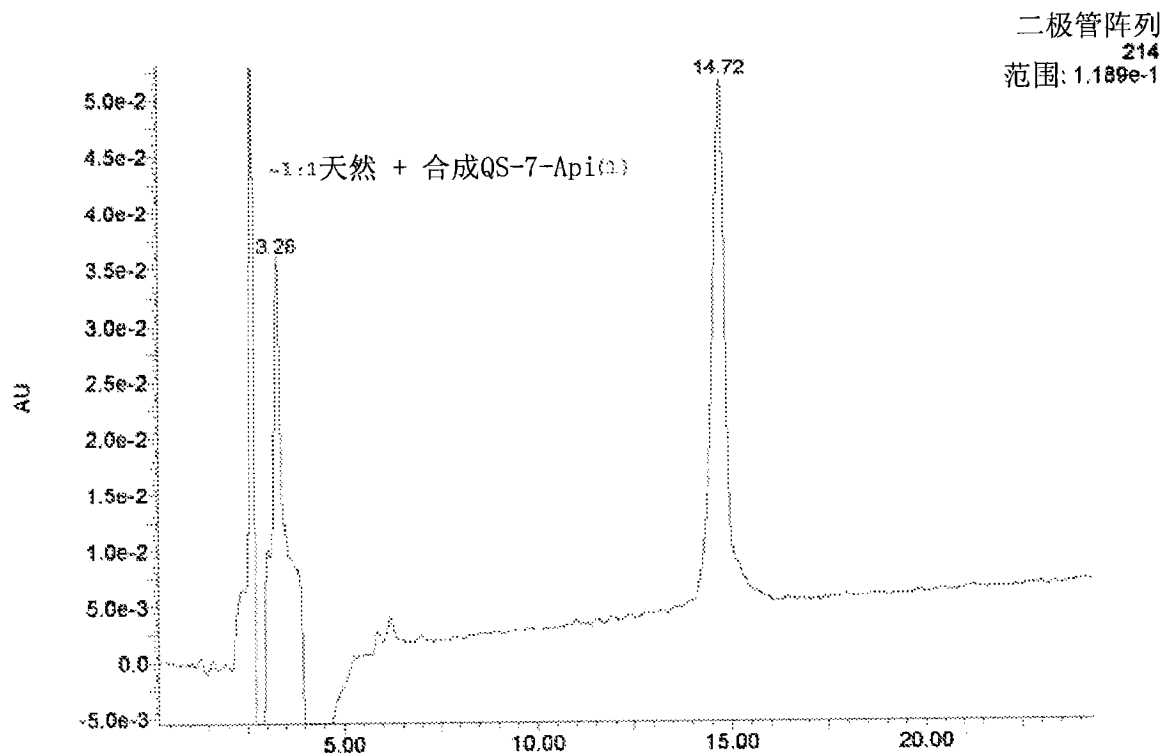


图 15A

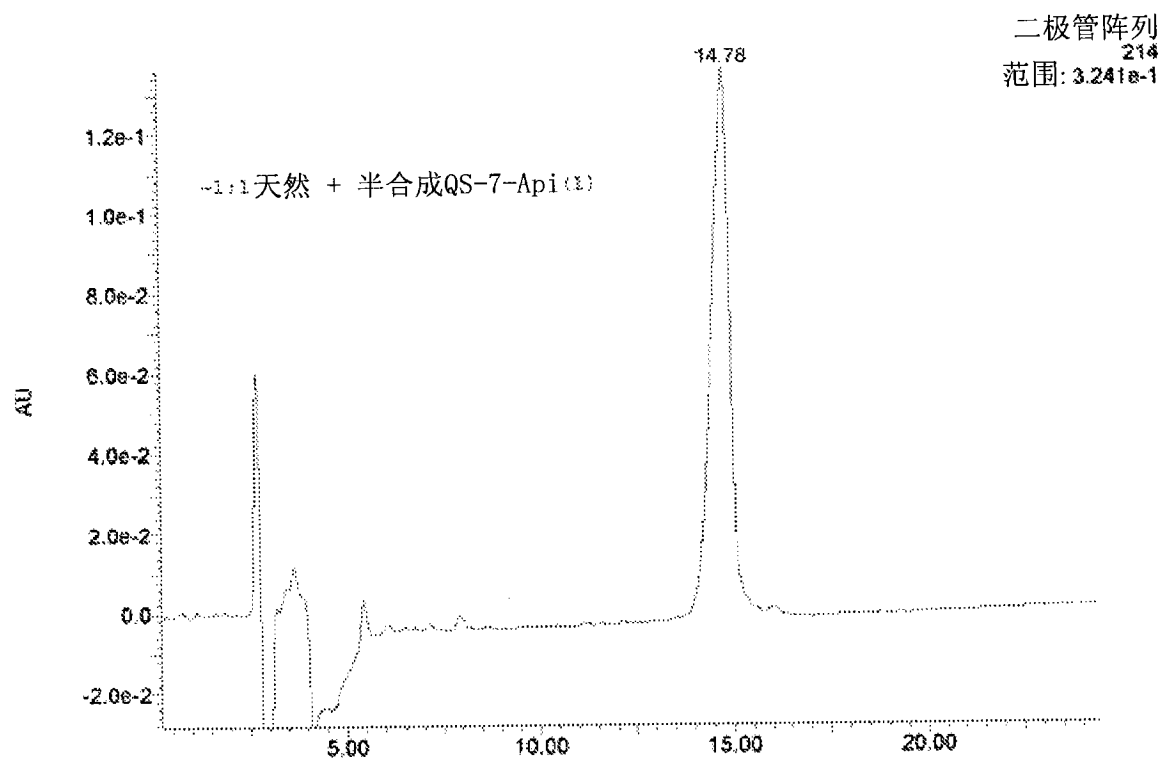


图 15B