

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810123962.0

[51] Int. Cl.

C07H 15/26 (2006.01)

C07H 15/18 (2006.01)

A61K 31/7024 (2006.01)

A61K 31/7042 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 12 月 2 日

[11] 公开号 CN 101591369A

[22] 申请日 2008.5.30

[21] 申请号 200810123962.0

[71] 申请人 徐云根

地址 211198 江苏省南京市江宁区龙眠大道
639 号

[72] 发明人 徐云根 姚硕蔚 张飞皇

[74] 专利代理机构 南京苏科专利代理有限责任公
司

代理人 孙立冰

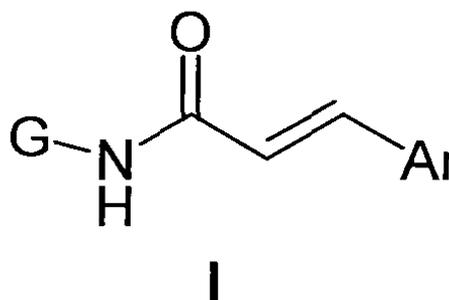
权利要求书 2 页 说明书 13 页

[54] 发明名称

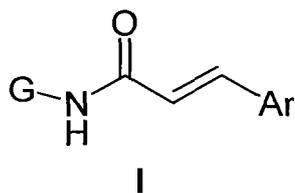
N-糖基-3-芳基丙烯酰胺衍生物、其制法
及其医药用途

[57] 摘要

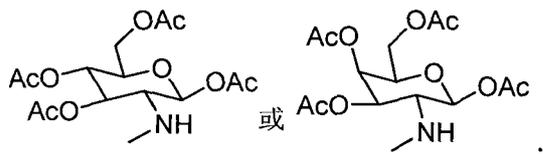
本发明涉及药物化学领域，具体涉及一类 N-(1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖(或半乳)糖基)-3-芳基丙烯酰胺衍生物(I)，其中 G 和 Ar 的定义同说明书，药理试验证明，本发明化合物具有抑制血管内皮细胞增殖的作用，可用于临床治疗肿瘤或慢性炎症。



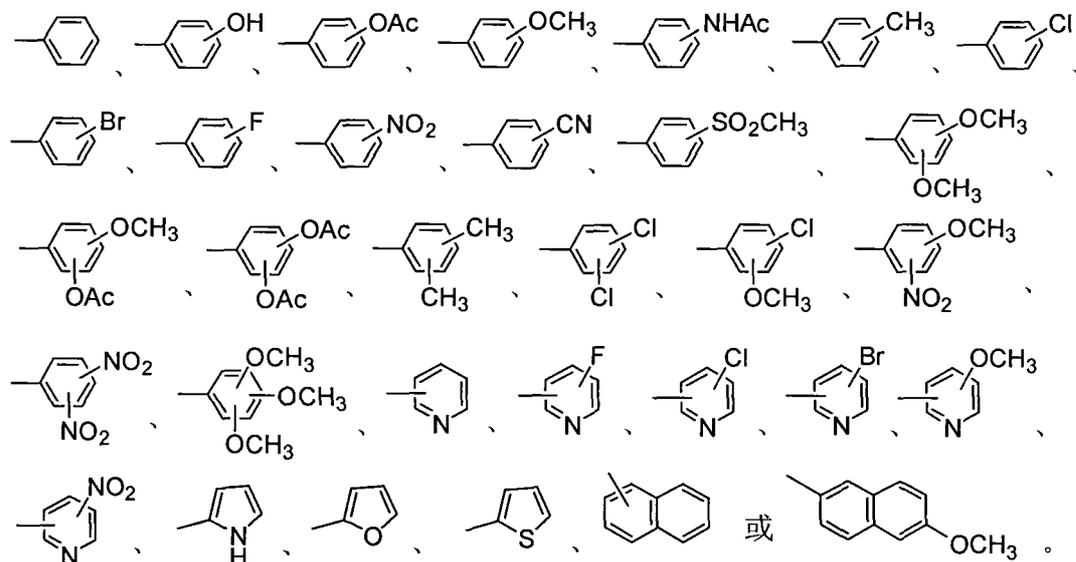
1、通式 (I) 的化合物或其水合物:



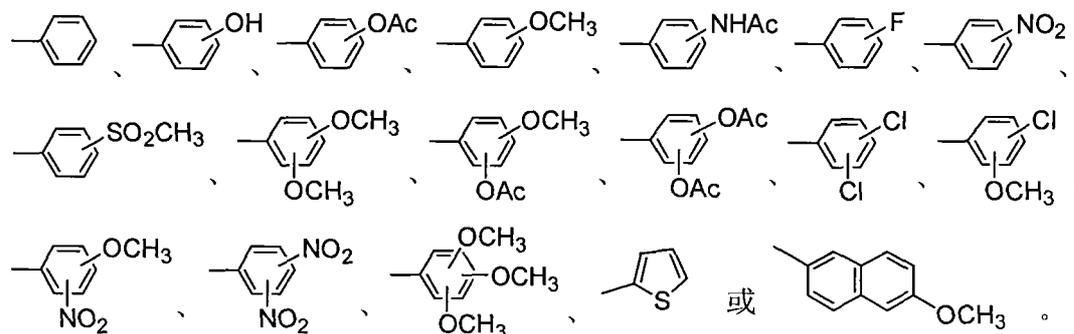
其中 G-NH-代表:



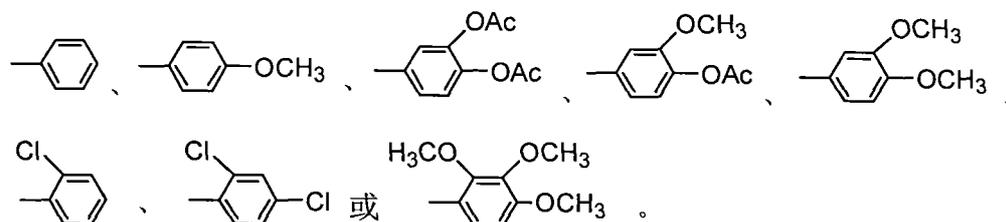
Ar 代表:



2、权利要求 1 的化合物或其水合物, 其中 Ar 代表:



3、权利要求 2 的化合物或其水合物, 其中 Ar 代表:



4、权利要求 1 至 3 中任一项的化合物或其水合物, 其中的水合物以结晶水的形式存在, 结晶

水的摩尔当量从 0.5 到 10。

- 5、一种药物组合物，其中含有权利要求 1 至 4 中任一项的的化合物或其水合物和药学上可接受的载体。
- 6、权利要求 1 至 4 中任一项的化合物或其水合物在制备治疗血管生成性疾病的药物中的用途。
- 7、权利要求 6 的用途，其中血管生成性疾病是肿瘤或慢性炎症。

N-糖基-3-芳基丙烯酰胺衍生物、其制法及其医药用途

技术领域

本发明涉及药物化学领域，具体涉及一类 N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖(或半乳糖基)-3-芳基丙烯酰胺衍生物、它们的制备方法、以及对血管内皮细胞增殖的抑制作用。

背景技术

肿瘤血管生成抑制剂 (tumor angiogenesis inhibitor, TAI) 能够破坏或抑制血管生成，有效阻止肿瘤的生长、转移和复发，与传统抗肿瘤药物比较显示出了巨大的优势。由于 TAI 是通过抑制内皮细胞的增生而达到抑制肿瘤生长的目的，而不能彻底消除肿瘤细胞，故一般用药周期较长。而目前在临床研究和应用的 TAI 有许多是活性蛋白或结构复杂的分子，药物的制备比较困难，病人的治疗花费大。因此开发疗效好、结构简单、易于制备、成本低、毒副作用小的 TAI 是目前该类药物的研究重点。

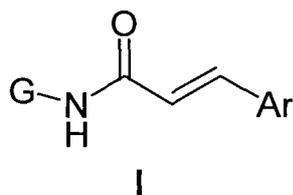
恶性肿瘤的侵袭和转移是导致病人死亡的主要原因。目前研究认为肿瘤细胞实现侵袭转移，必须首先穿越由细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和基底膜(basement membrane, BM)组成的屏障。这个屏障主要由两部分组成：一是结构蛋白；二是氨基聚糖(GAGs)。GAGs 的主要成分是硫酸乙酰肝素蛋白聚糖(heparan sulfate proteoglycan, HSPG)，而 HSPG 是由 1 个核心蛋白和数个与之共价连接的硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)侧链组成。乙酰肝素酶(heparanase, HPA)是一种内切糖苷酶，通过特异性水解硫酸乙酰肝素，在 ECM 和 BM 的降解中发挥重要作用，此外其还具有促血管生成的能力。

VEGF (vascular endothelial growth factor) 是促血管生成活性最强的生长因子，VEGF 在肿瘤血管生成中起重要作用。bFGF (basic fibroblast growth factor) 可通过上调内皮细胞表达和分泌胶原酶、尿激酶型纤溶酶原激活物(Urokinase-Plasminogen Activator, uPA)及其受体等，诱导内皮细胞的增殖和迁移。bFGF 与 VEGF 对促血管生成具协同效应，后者可使内皮细胞 bFGF 生成增多，VEGF 体外促血管生成的作用及诱导纤溶酶原激活物 (PA) 的能力也有赖于内皮细胞产生的 bFGF。临床研究表明，许多肿瘤组织中 bFGF 表达升高。

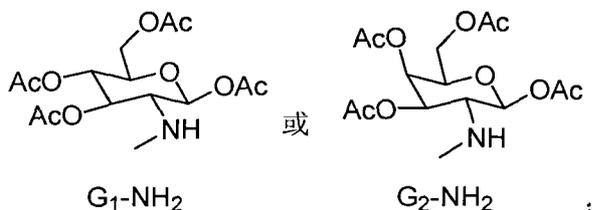
发明内容

本发明公开了一类通式 I 的化合物及其水合物，经药理实验显示，本发明的化合物对 bFGF 刺激的人脐静脉内皮细胞增殖具有较强的抑制作用。因此，本发明的式 I 化合物及其含结晶水的化合物可以用于治疗各种与血管生成相关的疾病，这些疾病包括各种癌症和慢性炎症，以及其它血管原性的疾病。

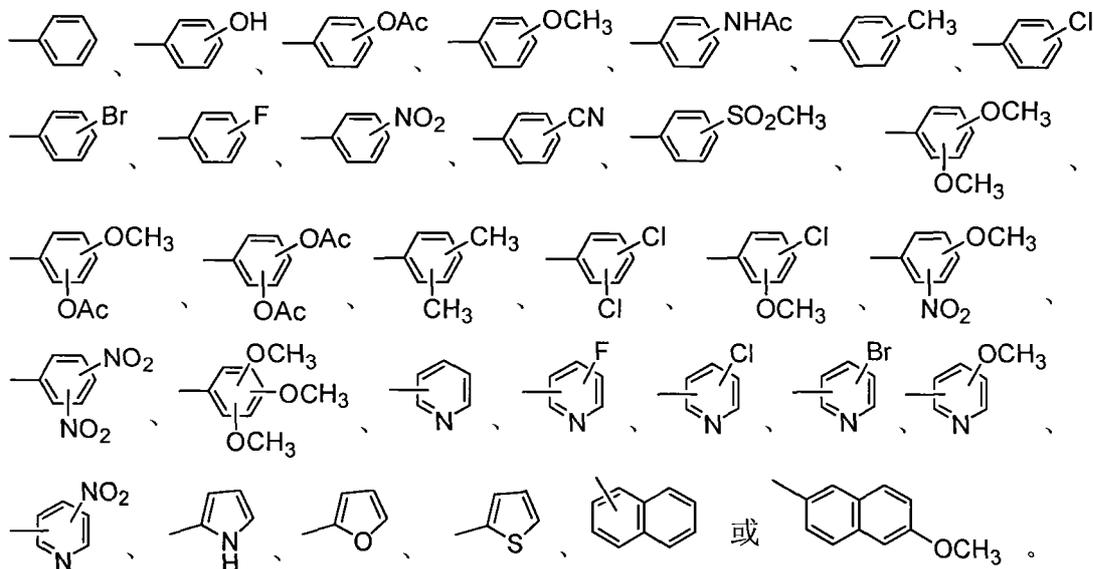
本发明的化合物通式 I 如下：



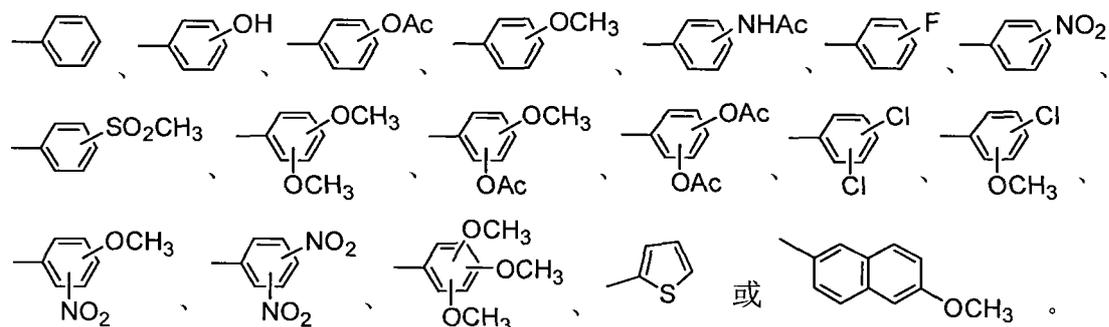
其中 G-NH-代表:



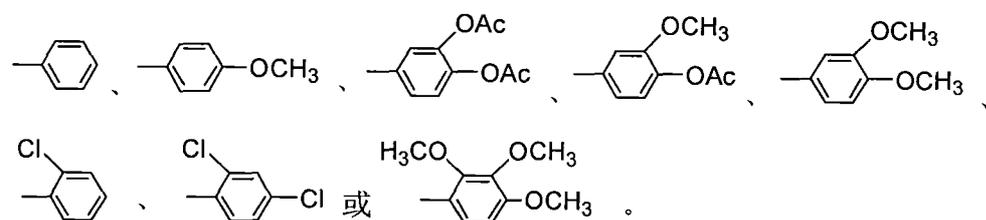
Ar 代表:



其中 Ar 优选代表:



Ar 进一步优选代表:



本发明化合物的水合物也具有与化合物同样的疗效, 其中的水合物以结晶水的形式存在,

结晶水的摩尔当量从 0.5 到 10。

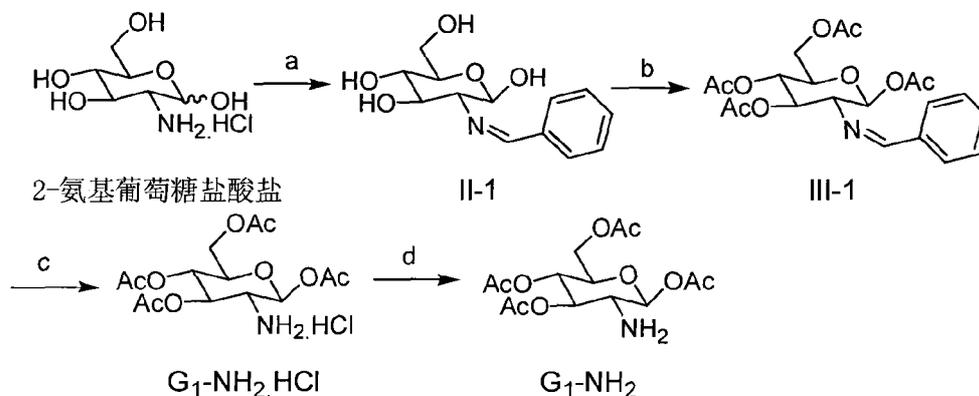
本发明部分化合物是：

- N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-苯基丙烯酰胺 (I-1)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(4-乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-2)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(4-甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-3)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(4-乙酰氨基苯基)-丙烯酰胺 (I-4)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(4-硝基苯基)-丙烯酰胺 (I-5)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(3-硝基苯基)-丙烯酰胺 (I-6)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(4-甲磺酰基苯基)-丙烯酰胺 (I-7)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(3,4-二乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-8)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(3-甲氧基-4-乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-9)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(3,4-二甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-10)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(3,4-二氯苯基)-丙烯酰胺 (I-11)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(2,3-二氯苯基)-丙烯酰胺 (I-12)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-13)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(2,3,4-三甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-14)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(吡啶-3-基)-丙烯酰胺(I-15)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(噻吩-2-基)-丙烯酰胺(I-16)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-苯基-丙烯酰胺 (I-17)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(4-乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-18)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(4-甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-19)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(4-乙酰氨基苯基)-丙烯酰胺 (I-20)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(3-硝基苯基)-丙烯酰胺 (I-21)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(4-甲磺酰基苯基)-丙烯酰胺 (I-22)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(3,4-二乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-23)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(3-甲氧基-4-乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-24)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(3,4-二甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-25)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(2,4-二氯苯基)-丙烯酰胺 (I-26)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(2-氯苯基)-丙烯酰胺 (I-27)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-28)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(2,3,4-三甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-29)
N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(吡啶-3-基)-丙烯酰胺(I-30)

本发明通式化合物 (I) 的制备方法如下:

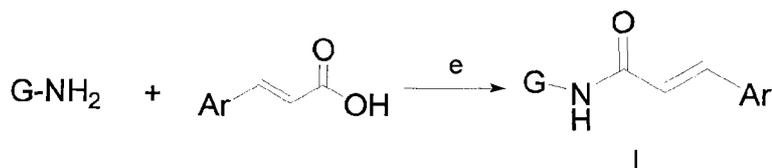
其中关键中间体 $G-NH_2$, 的制备方法如下, 其中 $G-NH_2$ 代表 G_1-NH_2 或 G_2-NH_2 :

1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧- β -D-吡喃氨基葡萄糖 (G_1-NH_2) 的合成路线如下:



1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧- β -D-吡喃氨基半乳糖 (G_2-NH_2) 的合成是以 2-氨基半乳糖盐酸盐为原料, 方法同 G_1-NH_2 .

目标化合物 I 的制备方法如下:



其中 a~c 代表反应条件:

a: 反应物为苯甲醛; 溶剂为氢氧化钠和水。

b: 反应物为醋酐; 溶剂为吡啶。

c: 反应物为 HCl; 溶剂为丙酮。

d: 反应物为醋酸钠; 溶剂为水。

e: 反应物为草酰氯, 或二氯亚砷, 或 EDCI/HOBt; 溶剂为二氯甲烷或 DMF。

下面是本发明部分化合物的药理试验及结果。

本发明部分化合物在常氧状态下对血管内皮细胞增殖抑制活性的测试方法如下:

材料:

细胞系: 人脐静脉内皮细胞 (HUVEC, 4000 个/孔)

培养基: 高糖 DMEM(HG-DMEM), 10%胎牛血清 (FBS)

稀释方法: 所有化合物先用 DMSO 配成 0.5mol/L 的母液, 给药前用新鲜培养基稀释使用。

操作流程:

平底 96 孔板接种 4000 个细胞/孔。孵育 24 小时(37°C, 5% CO₂)后加入不同浓度, 含有重组牛碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 的化合物 (终浓度 10 ng/ml)。孵育 48 hr 后, 每孔加

入 20 μ l MTT(5 mg/ml, PBS 溶解过滤, 4 $^{\circ}$ C 避光保存)。37 $^{\circ}$ C 孵育 4 hr。用多道移液器将 MTT 从 96 孔板中吸出(小心处理勿损伤细胞)。每孔加 100 μ l DMSO。室温振荡 15 分钟后, 使用 Thermo Multiskan 系统检测 570 nm 的吸收情况。

使用 GWBASIC 的 logit 计算方法, 评估化合物对血管内皮细胞增值的抑制作用。结果如下:

表 1. 本发明部分化合物抑制 HUVEC 增值的 IC₅₀ 值

本发明化合物	IC ₅₀ (μ mol/L)
I-1	258.0
I-9	42.4
I-19	1013.9
I-24	879.9
I-25	356.1
I-26	89.0
I-27	93.1
I-29	312.2

表 1 中化合物代号对应的化学结构同实施例。

药理测试结果表明, 本发明的化合物对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的增值有不同程度的抑制作用, 其中 I-9, I-26 和 I-27 的活性较强。

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

一般地, 本发明的 N-糖基-3-芳基丙烯酰胺衍生物用于治疗时, 人用剂量范围为 1mg~5000mg/天。也可根据剂型的不同和疾病严重程度, 使用剂量超出该范围。

具体实施方式

实施例 1

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-3-苯基丙烯酰胺半水合物(I-1)的制备

2-亚苄基-1,3,4,6-四羟基-2-脱氧- β -D-吡喃氨基葡萄糖(II-1)

0 $^{\circ}$ C 下将 1,3,4,6-四羟基-2-脱氧-D-吡喃氨基葡萄糖盐酸盐 10g(46mmol)加入到含有 NaOH 2.2g(55mmol)的 47mL 水溶液中, 搅拌下缓缓加入苯甲醛 5.4mL(53mmol), 很快析出白色固体, 继续搅拌 1h 后停止反应, 0 $^{\circ}$ C 下放置 12h, 过滤, 依次用水、乙醚(V): 乙醇(V)=4: 1 的混合溶剂洗涤, 干燥得白色固体混合物 10.42g, 不纯化直接投入下步反应。

2-亚苄基-1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧- β -D-吡喃氨基葡萄糖(III-1)

含中间体II-1的混合物10.4g加入到60mL吡啶中，冰水浴中搅拌下加入醋酸酐42mL (0.46mol)，升温至35°C-40°C，保温6h，30°C下减压蒸出部分溶剂，将剩余反应液倒入冰水中，有白色固体析出，搅拌1h，过滤，依次用水、石油醚洗涤，干燥得白色固体10.2g，产率60%。m.p. 153-154.5°C(文献值: m.p. 158-160°C [合成化学, 2003, 11: 379-380])

1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃氨基葡萄糖盐酸盐 (G₁-NH₂.HCl)

将中间体III-1 10.42g (23mmol) 加入到322mL丙酮中，室温搅拌下缓慢加入含浓HCl 0.95mL的11.5mL甲醇溶液，很快析出白色固体，反应1h后加入乙醚停止反应，冷却，0°C下保温1h，过滤，滤饼用乙醚洗涤，干燥得白色固体G₁-NH₂.HCl 5.27g，产率58%。M.p. 229°C (碳化) (文献值: m.p. 230°C, [US 4216208]).

1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃氨基葡萄糖 (G₁-NH₂)

将中间体G₁-NH₂.HCl 5.27g(mmol)溶解在28mL水中，加入乙酸钠2.25g，常温下搅拌1h，析出白色固体，氯仿萃取，萃取液减压蒸馏除去溶剂得白色固体，乙醚洗涤后干燥得白色固体4.23g，产率68%，m.p.129-131°C。(文献值: m.p. 127-129, [US 4216208]) .

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-苯基丙烯酰胺半水合物(I-1)

将肉桂酸 0.21g (1.44mmol) 和 1-羟基苯并三唑 (HOBT) 0.19g (1.44mmol) 悬浮于 10mL 干燥的 CH₂Cl₂ 中，然后将 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDCI) 0.28g (1.44mmol) 慢慢加入其中，溶液马上澄清，室温下反应 24h 后，将中间体 G₁-NH₂0.50g (1.44mmol) 慢慢加入反应液中，在 N₂ 保护下室温反应 24h。反应液分别用水 (20mL×1)，饱和 NaHCO₃ (20mL×2)，饱和 NaCl (20mL×1) 洗涤，无水 MgSO₄ 干燥。过滤，滤液浓缩后柱层析 (2: 1—1: 1, 石油醚/乙酸乙酯)，(2: 1, 石油醚/乙酸乙酯, R_f=0.14)，所得到的固体于真空干燥器中干燥 24h 得白色固体 0.42g，收率 61.15%，m.p. 200-201°C；

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ(ppm): 7.62(1H, d, J=15.6Hz, -CH=), 7.48(2H, m, aromatic), 7.36(3H, m, aromatic), 6.30(1H, d, J=15.6Hz, -CH=), 5.82(1H, d, J=9.6Hz, H-1), 5.76(1H, d, J=9Hz, NH), 5.21(2H, m, H-3,4), 4.50(1H, q, J=9.6Hz, H-2), 4.30(1H, dd, J=4.5Hz, J=12.3Hz, H-6a), 4.15(1H, dd, J=2.1Hz, J=12.6Hz, H-6b), 3.85(1H, ddd, J=1.8Hz, J=4.2Hz, J=9Hz, H-5), 2.108, 2.101, 2.056, 2.029(each 3H, each s, each CH₃);

IR(cm⁻¹): 3261(NH), 3085, 2969, 2888(CH), 1749(ester, C=O), 1660, 1639(amide, C=O), 1551, 1230, 1130, 1091, 1074, 1042, 745, 702

MS(ESI(+))70V, m/z): 477.6[M+H]⁺;

Anal. Calcd for C₂₃H₂₇NO₁₀·0.5H₂O: C, 56.79, H, 5.80, N, 2.88. Found, C, 56.98, H, 5.82, N, 2.78.

实施例 2

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-3-(3,4-二乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺(I-8)的制备

冰浴冷却下将咖啡酸 1.5g (8.33mmol) 加入到 1.15g (28.75mmol) NaOH 溶于 11ml 水所形成的溶液中, 待全溶后慢慢滴加 Ac_2O 2.27ml (20.82mmol), 滴加完后溶液变浑浊, 撤去冰浴常温下搅拌反应 1.5h。停止反应, 冰浴下用 10% H_2SO_4 溶液调 pH 至 2-3 左右, 继续搅拌 20min, 过滤, 滤饼用水充分洗涤数次, 于红外灯下烘干得灰白色固体 (全乙酰化咖啡酸) 2.01g, 收率 91.36%。

将全乙酰化咖啡酸 0.34g(1.3mmol)悬浮于 10mL 的干燥 CH_2Cl_2 中, 慢慢滴加草酰氯 0.70g (0.47mL, 5.5mmol), 溶液有澄清现象, 之后滴加一滴无水 DMF, 大量气泡产生, 溶液马上澄清, 然后于室温下搅拌反应 24h。减压下除去溶剂得到黄色固体, 无需纯化直接投入下一步反应。

将中间体 $\text{G}_1\text{-NH}_2$ 0.5g (1.3mmol) 悬浮于 7mL 的 CH_2Cl_2 中, 搅拌下加入碳酸钠 (0.30g, 2.8mmol) 溶于水 (7mL) 所形成的溶液, 有机层马上澄清。将制得的酰氯溶于 CH_2Cl_2 (4mL) 中, 然后慢慢滴入到以上的两相溶液中, 之后于室温下搅拌反应过夜。将反应液移入分液漏斗中, 分出有机层, 水层用 CH_2Cl_2 (10mL \times 1)萃取, 有机相合并后用饱和 NaHCO_3 溶液(10ml \times 2)洗涤, 无水 MgSO_4 干燥过夜。过滤, 滤液减压蒸去溶剂。剩余物柱层析 (1: 1, 石油醚/乙酸乙酯, $R_f=0.18$), 得淡黄色泡沫状固体 0.61g, 收率 79.1%, m.p. 211-212 $^\circ\text{C}$;

$[\alpha]_D^{25} = +43.86$ (c 0.14, CH_3OH);

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.55(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$, $-\text{CH}=\text{}$), 7.35(1H, d, $J=8.4\text{Hz}$, aromatic), 7.32(1H, s, aromatic), 7.20(1H, d, $J=8.4\text{Hz}$, aromatic), 6.21(1H, d, $J=15.3\text{Hz}$, $-\text{CH}=\text{}$), 5.74(1H, d, $J=8.7\text{Hz}$, NH), 5.66(1H, d, $J=9.6\text{Hz}$, H-1), 5.19(2H, m, H-3,4), 4.46(1H, m, H-2), 4.29(1H, dd, $J=4.5\text{Hz}$, $J=12.3\text{Hz}$, H-6a), 4.14(1H, m, H-6b), 3.83(1H, m, H-5), 2.310, 2.300(each 3H, each s, each CH_3), 2.107, 2.100, 2.049, 2.020(each 3H, each s, each CH_3);

$^{13}\text{C-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.28, 170.66, 169.55, 169.24(4C, ester $\text{C}=\text{O}$), 168.08, 167.99(2C, ester $\text{C}=\text{O}$), 165.31(1C, amide $\text{C}=\text{O}$), 143.31, 142.41, 140.59, 126.35, 123.89, 120.57(6C, aromatic C), 133.24, 122.49(2C, $\text{CH}=\text{CH}$), 92.75(1C, C-1), 73.06, 72.59, 67.78, 61.68(4C, C-2,3,4,5), 53.10(1C, C-6), 20.86, 20.71, 20.62, 20.56(4C, 4 \times CH_3);

IR(cm^{-1}): 3345(NH), 3042, 2967, 2880(CH), 1773, 1754(ester, $\text{C}=\text{O}$), 1666, 1635(amide, $\text{C}=\text{O}$), 1535, 1505, 1226, 1106, 1076, 1043, 835;

MS (EI, 70V, m/z) : 593 $[\text{M}]^+$;

Anal. Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{NO}_{14}$: C, 54.64, H, 5.26, N, 2.36. Found, C, 54.70, H, 5.19, N, 2.21.

实施例 3

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-3-(3-甲氧基-4-乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-9)的制备

将中间体 $\text{G}_1\text{-NH}_2$ 0.5g (1.3mmol) 悬浮于 20ml 的干燥 CH_2Cl_2 中, 冰浴下慢慢滴加干燥的三乙胺 3ml (22mmol), 溶液马上澄清, 然后分批加入 HOBt 0.175g (1.3mmol), 搅拌至溶

液澄清。撤去冰浴，于室温下加入乙酰化阿魏酸 0.31g (1.3mmol)，反应液呈桔黄色，之后再加入 EDCI 0.25g (1.3mmol)，加完后于室温下搅拌反应 24h。反应液依次用水 (20ml×2)，饱和 NaHCO₃ 溶液 (20ml×2)，饱和食盐水 (20ml×2) 洗涤，无水 Na₂SO₄ 干燥过夜。过滤，滤液减压蒸去溶剂。剩余物柱层析 (1:1，石油醚/乙酸乙酯，R_f=0.23)，得白色絮状固体 0.25g，收率 34.0%，m.p.192-194℃；

$[\alpha]_D^{25} = +42.56$ (c 0.125, CH₃OH)；

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ(ppm): 7.57(1H, d, J=15.3Hz, -CH=), 7.06(3H, m, aromatic), 6.23(1H, d, J=15.6Hz, -CH=), 5.75(1H, d, J=9Hz, NH), 5.67(1H, d, J=9.6Hz, H-1), 5.19(2H, m, H-3,4), 4.48(1H, m, H-2), 4.29(1H, dd, J=12.3Hz, J=4.5Hz, H-6a), 4.14(1H, dd, J=2.4Hz, J=9.9Hz, H-6b), 3.86(3H, s, OCH₃), 3.83(1H, m, H-5), 2.32(3H, s, CH₃), 2.110, 2.104, 2.054, 2.047(each 3H, each s, each CH₃);

IR(cm⁻¹): 3334(NH), 3071, 2965(CH), 1756(ester, C=O), 1662, 1630(amide, C=O), 1601, 1532, 1515, 1223, 1125, 1043, 846;

MS (EI, 70V, m/z) : 565.2[M]⁺;

Anal. Calcd for C₂₆H₃₁NO₁₃: C, 55.22, H, 5.53, N, 2.48. Found: C, 55.11, H, 5.45, N, 2.20.

实施例 4

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(4-甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-19)的制备

2-亚苄基-1,3,4,6-四羟基-2-脱氧-β-D-吡喃氨基半乳糖 (II-2)

0℃下将 1,3,4,6-四羟基-2-脱氧-D-吡喃氨基葡萄糖盐酸盐 10g(46mmol)加入到含有 NaOH 2.2g(55mmol)的 47mL 水溶液中，机械搅拌下缓缓加入苯甲醛 5.4mL(53mmol)，很快析出白色固体，继续搅拌 1h 后停止反应，0℃下放置 12h，过滤，依次用水、乙醚 (V) : 乙醇 (V) =4: 1 的混合溶剂洗涤，干燥得白色固体混合物 10g，未经纯化直接投下步反应。

2-亚苄基-1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃氨基半乳糖 (III-2)

将含有中间体 II-2 的混合物 10g 加入到 60mL 吡啶中，冰水浴中搅拌下加入醋酸酐 42mL (0.46mol)，升温至 35℃-40℃，保温 6h，30℃下减压蒸出部分溶剂，将剩余反应液倒入冰水中，有白色固体析出，搅拌 1h，过滤，依次用水、石油醚洗涤，干燥得白色固体 11.5g，未经纯化直接投下反应。

1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃氨基半乳糖盐酸盐 (G₂-NH₂.HCl)

将含有中间体 III-2 的混合物 4.4g 加入到 200mL 丙酮中，室温搅拌下缓慢加入含浓 HCl 4.4g 的 5mL 甲醇溶液，很快析出白色固体，反应 1h 后加入乙醚停止反应，冷却，0℃下保温 1h，过滤，滤饼用乙醚洗涤，干燥得白色固体 3.8g，产率 100%。mp 200-204℃ (炭化) (文献值: m.p. 204-206℃ [Eur. J. Org. Chem. 2006, 657-671])

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(4-甲氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-19)的制备

将化合物 $G_2-NH_2 \cdot HCl$ 0.5g (1.3mmol) 悬浮于 20ml 干燥 CH_2Cl_2 中, 冰浴下缓慢滴加干燥三乙胺 0.17ml (1.3mmol), 溶液澄清, 撤冰浴, 于室温下搅拌 1h 后, 分批加入 HOBt 0.21g (1.56mmol), 再加入 4-甲氧基肉桂酸 0.28g (1.56mmol), 再加入 EDCI 0.30g (1.56mmol), 室温下搅拌 36h。反应液依次用水 (20ml×2), 饱和 $NaHCO_3$ 溶液 (20ml×2), 饱和食盐水 (20ml×2) 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥过夜。过滤, 滤液减压蒸去溶剂。剩余物柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=1: 1), 得白色固体 0.32g, 收率 48.6%, m.p.181-183°C

$[\alpha]^{24}_D = +25.68$ (c 0.19, $CHCl_3$);

^1H-NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.57(1H, d, $J=15.6Hz$, $-CH=$), 7.44(2H, d, $J=8.7Hz$, aromatic), 6.89(2H, d, $J=8.7Hz$, aromatic), 6.18(1H, d, $J=15.3Hz$, $-CH=$), 5.78(1H, d, $J=8.7Hz$, NH), 5.57(1H, d, $J=9.6Hz$, H-1), 5.41(1H, d, $J=2.7Hz$, H-4), 5.17(1H, dd, $J=3.3Hz$, $J=11.4Hz$, H-3), 4.63(1H, dd, $J=9.3Hz$, $J=10.5Hz$, H-2), 4.23-4.04(3H, m, H-5,6a,6b), 3.83(3H, s, OCH_3), 2.19, 2.11, 2.05, 2.00(each 3H, each s, each CH_3);

$IR(cm^{-1})$: 3329(NH), 2941(CH), 1745 (ester, $C=O$), 1659(amide, $C=O$), 1630($C=C$), 1538, 1451, 1370, 1221, 1080, 1041;

$MS(ESI(-)70V, m/z)$: 506.0[M-H]⁻;

Anal. Calcd for $C_{24}H_{29}NO_{11}$: C, 56.80, H, 5.76, N, 2.76. Found: C, 56.95, H, 5.85, N, 2.75.

实施例 5

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(3,4-二乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺半水化合物(I-23)的制备

将化合物 $G_2-NH_2 \cdot HCl$ 0.5g (1.3mmol) 悬浮于 20ml 干燥 CH_2Cl_2 中, 冰浴下缓慢滴加干燥三乙胺 0.17ml (1.3mmol), 溶液澄清, 撤冰浴, 于室温下搅拌 1h 后, 分批加入 HOBt 0.21g (1.56mmol), 再加入乙酰化咖啡酸 0.41g (1.56mmol), 再加入 EDCI 0.30g (1.56mmol), 室温下搅拌 36h。反应液依次用水 (20ml×2), 饱和 $NaHCO_3$ 溶液 (20ml×2), 饱和食盐水 (20ml×2) 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥过夜。过滤, 滤液减压蒸去溶剂。剩余物柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=1:1), 得白色固体 0.34g, 收率 44.3%, m.p.115-119°C

$[\alpha]^{19.8}_D = +24.10$ (c 0.195, $CHCl_3$);

^1H-NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.58(1H, d, $J=15.6Hz$, $-CH=$), 7.37-7.19(3H, m, aromatic), 6.26(1H, d, $J=15.6Hz$, $-CH=$), 5.75(1H, d, $J=8.7Hz$, NH), 5.58(1H, d, $J=9.6Hz$, H-1), 5.41(1H, d, $J=3Hz$, H-4), 5.05(1H, dd, $J=3.3Hz$, $J=11.4Hz$, H-3), 4.63(1H, dd, $J=9.6Hz$, $J=10.5Hz$, H-2), 4.19-4.06(3H, m, H-5,6a,6b), 2.31(3H, s, $COCH_3$), 2.32(3H, s, $COCH_3$), 2.19, 2.11, 2.06,

2.00(each 3H, each s, each CH₃);

IR(cm⁻¹): 3385(NH), 2939(CH), 1751(ester, C=O), 1668(amide, C=O), 1632(C=C), 1544, 1506, 1429, 1219, 1074, 1041;

MS(ESI(+))70V, m/z) : 594.1[M+H]⁺;

Anal. Calcd for C₂₇H₃₁NO₁₄·0.5H₂O: C, 53.82, H, 5.35, N, 2.32. Found: C, 53.91, H, 5.26, N, 1.90.

实施例 6

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(3-甲氧基-4-乙酰氧基苯基)-丙烯酰胺 (I-24)的制备

将化合物 G₂-NH₂·HCl 0.5g (1.3mmol) 悬浮于 20ml 干燥 CH₂Cl₂ 中, 冰浴下缓慢滴加干燥三乙胺 0.17ml (1.3mmol), 溶液澄清, 撤冰浴, 于室温下搅拌 1h 后, 分批加入 HOBt 0.175g (1.3mmol), 再加入乙酰化阿魏酸 0.31g (1.3mmol), 再加入 EDCI 0.25g (1.3mmol), 室温下搅拌 36 小时。反应液依次用水 (20ml×2), 饱和 NaHCO₃ 溶液 (20ml×2), 饱和食盐水 (20ml×2) 洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥过夜。过滤, 滤液减压蒸去溶剂。剩余物柱层析柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=2: 1), 得白色固体 0.17g, 收率 23.3%, m.p.183-185°C

[α]²⁴_D = +20.63 (c 0.095, CHCl₃);

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ(ppm): 7.56(1H, d, J=15.6Hz, -CH=), 7.06(3H, m, aromatic), 6.24(1H, d, J=15.6Hz, -CH=), 5.77(1H, d, J=8.7Hz, NH), 5.56(1H, d, J=9.6Hz, H-1), 5.41(1H, d, J=3Hz, H-4), 5.15(1H, dd, J=3.3Hz, J=11.4Hz, H-3), 4.63(1H, dd, J=9.6Hz, J=10.5Hz, H-2), 4.17-4.06(3H, m, H-5,6a,6b), 3.86(3H, s, OCH₃), 2.32(3H, s, COCH₃), 2.19, 2.11, 2.06, 2.00(each 3H, each s, each CH₃);

IR(cm⁻¹): 3337(NH), 2950(CH), 1745(ester, C=O), 1663(amide, C=O), 1630(C=C), 1601, 1520, 1221, 1126, 1038, 860;

MS(ESI(+))70V, m/z) : 567.0[M+H]⁺;

MS(ESI(-))70V, m/z) : 564.0[M-H]⁻;

Anal. Calcd for C₂₆H₃₁NO₁₃: C, 55.22, H, 5.53, N, 2.48. Found: C, 55.32, H, 5.46, N, 2.47.

实施例 7

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(3,4-二甲氧基苯基)-丙烯酰胺(I-25)的制备

将化合物 G₂-NH₂·HCl 0.5g (1.3mmol) 悬浮于 20ml 干燥 CH₂Cl₂ 中, 冰浴下缓慢滴加干燥三乙胺 0.17ml (1.3mmol), 溶液澄清, 撤冰浴, 于室温下搅拌 1h 后, 分批加入 HOBt 0.21g (1.56mmol), 再加入 3, 4-二甲氧基肉桂酸 0.33g (1.56mmol), 再加入 EDCI 0.30g (1.56mmol),

室温下搅拌 36h。反应液依次用水 (20ml×2), 饱和 NaHCO₃ 溶液 (20ml×2), 饱和食盐水 (20ml×2) 洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥过夜。过滤, 滤液减压蒸去溶剂。剩余物柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=1: 1), 得白色固体 0.44g, 收率 62.8%, m.p.105-108℃

$[\alpha]^{24}_D = +23.2$ (c 0.075, CHCl₃);

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ(ppm): 7.54(1H, d, J=15.5Hz, -CH=), 7.07(1H, d, J=8.2Hz, aromatic), 7.01(1H, d, J=1.88Hz, aromatic), 6.85(1H, d, J=8.5Hz, aromatic), 6.17(1H, d, J=15.5Hz, -CH=), 5.76(1H, d, J=9Hz, H-1), 5.45(1H, d, J=9.5Hz, NH), 5.41(1H, d, J=2.5Hz, H-4), 5.15(1H, dd, J=3.3Hz, J=11.4Hz, H-3), 4.63(1H, dd, J=9.3Hz, J=10.5Hz, H-2), 4.22-4.06(3H, m, H-5,6a,6b), 3.94(3H, s, OCH₃), 3.91(3H, s, OCH₃), 2.19, 2.11, 2.05, 2.00(each 3H, each s, each CH₃);

IR(cm⁻¹): 3457(NH), 2939(CH), 1750 (ester, C=O), 1662(amide, C=O), 1626(C=C), 1516, 1423, 1370, 1264, 1220, 1074, 1040, 846, 810;

MS(ESI(+))70V, m/z): 538.1[M+H]⁺;

Anal. Calcd for C₂₅H₃₁NO₁₂: C, 55.86, H, 5.81, N, 2.61. Found: C, 55.81, H, 5.87, N, 2.44.

实施例 8

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(2,4-二氯苯基)-丙烯酰胺(I-26)的制备

将化合物 G₂-NH₂·HCl 0.5g (1.3mmol) 悬浮于 20ml 干燥 CH₂Cl₂ 中, 冰浴下缓慢滴加干燥三乙胺 0.17ml (1.3mmol), 溶液澄清, 撤冰浴, 于室温下搅拌 1h 后, 分批加入 HOBt 0.21g (1.56mmol), 再加入 2, 4-二氯肉桂酸 0.28g (1.56mmol), 再加入 EDCI 0.30g (1.56mmol), 室温下搅拌 36h。反应液依次用水 (20ml×2), 饱和 NaHCO₃ 溶液 (20ml×2), 饱和食盐水 (20ml×2) 洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥过夜。过滤, 滤液减压蒸去溶剂。剩余物柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=1: 1), 得白色固体 0.38g, 收率 53.5%, m.p.153-156℃

$[\alpha]^{24}_D = +16.22$ (c 0.185, CHCl₃);

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ(ppm): 7.90(1H, d, J=15.6Hz, -CH=), 7.49(1H, d, J=8.4Hz, aromatic), 7.43(1H, s, , aromatic), 7.24(1H, d, J=8.7Hz, aromatic), 6.32 (1H, d, J=15.6Hz, -CH=), 5.86(1H, d, J=9.3Hz, NH), 5.80(1H, d, J=8.7Hz, H-1), 5.41(1H, d, J=2.4Hz, H-4), 5.18(1H, dd, J=3.0Hz, J=11.1Hz, H-3), 4.61(1H, dd, J=9.3Hz, J=9.6Hz, H-2), 4.23-4.07(3H, m, H-5,6a,6b), 2.20, 2.12, 2.06, 2.00(each 3H, each s, each CH₃);

IR(cm⁻¹): 3342 (NH), 2940(CH), 1748 (ester, C=O), 1665(amide, C=O), 1629(C=C), 1532, 1471, 1373, 1223, 1081, 1044, 869;

MS(ESI(-))70V, m/z): 543.9[M-H]⁻;

Anal. Calcd for C₂₃H₂₅Cl₂NO₁₀: C, 50.56, H, 4.61, N, 2.56. Found: C, 50.40, H, 4.64, N, 2.15.

实施例 9

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(2-氯苯基)-丙烯酰胺(I-27)的制备

将化合物 G₂-NH₂·HCl 0.5g (1.3mmol) 悬浮于 20ml 干燥 CH₂Cl₂ 中, 冰浴下缓慢滴加干燥三乙胺 0.17ml (1.3mmol), 溶液澄清, 撤冰浴, 于室温下搅拌 1h 后, 分批加入 HOBt 0.21g (1.56mmol), 再加入 2-氯肉桂酸 0.29g (1.56mmol), 再加入 EDCI 0.30g (1.56mmol), 室温下搅拌 36h。反应液依次用水 (20ml×2), 饱和 NaHCO₃ 溶液 (20ml×2), 饱和食盐水 (20ml×2) 洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥过夜。过滤, 滤液减压蒸去溶剂。剩余物柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=1: 1), 得白色固体 0.38g, 收率 53.5%, m.p.100-102°C

$[\alpha]^{24}_D = +18.4$ (c 0.075, CHCl₃);

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ(ppm): 7.53(1H, d, J=15.6Hz, -CH=), 7.47(1H, s, aromatic), 7.35-7.27(3H, m, aromatic), 6.32(1H, d, J=15.6Hz, -CH=), 5.81(2H, d, J=8.8Hz, overlapping, NH, H-1), 5.42(1H, d, J=2.8Hz, H-4), 5.21(1H, dd, J=3.3Hz, J=11.3Hz, H-3), 4.60(1H, dd, J=9.3Hz, J=10.5Hz, H-2), 4.22-4.08(3H, m, H-5,6a,6b), 2.20, 2.11, 2.05, 2.00(each 3H, each s, each CH₃);

IR(cm⁻¹): 3375(NH), 2970(CH), 1751 (ester, C=O), 1666(amide, C=O), 1631(C=C), 1547, 1431, 1369, 1221, 1077, 1041, 788, 745;

MS(ESI(-)70V, m/z): 509.9[M-H];

Anal. Calcd for C₂₃H₂₆ClNO₁₀: C, 53.96, H, 5.12, N, 2.74. Found: C, 53.91, H, 5.42, N, 2.44.

实施例 10

N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-3-(2,3,4-三甲氧基苯基)-丙烯酰胺(I-29)的制备

将化合物 G₂-NH₂·HCl 0.5g (1.3mmol) 悬浮于 20ml 干燥 CH₂Cl₂ 中, 冰浴下缓慢滴加干燥三乙胺 0.17ml (1.3mmol), 溶液澄清, 撤冰浴, 于室温下搅拌 1h 后, 分批加入 HOBt 0.21g (1.56mmol), 再加入 2,3,4-三甲氧基肉桂酸 0.37g(1.56mmol), 再加入 EDCI 0.30g(1.56mmol), 室温下搅拌 36h。反应液依次用水 (20ml×2), 饱和 NaHCO₃ 溶液 (20ml×2), 饱和食盐水 (20ml×2) 洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥过夜。过滤, 滤液减压蒸去溶剂。剩余物柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=1: 1), 得白色固体 0.47g, 收率 63.5%, m.p.92-94°C

$[\alpha]^{24}_D = +21.3$ (c 0.28, CHCl₃);

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ(ppm): 7.75(1H, d, J=15.8Hz, -CH=), 7.20(1H, d, J=8.8Hz, aromatic), 6.67(1H, d, J=8.8Hz, aromatic), 6.32(1H, d, J=15.7Hz, -CH=), 5.76(1H, d, J=8.8Hz, NH), 5.51(1H, d, J=9.6Hz, H-1), 5.41(1H, d, J=2.5Hz, H-4), 5.15(1H, dd, J=3.3Hz, J=11.4Hz, H-3), 4.64(1H, dd, J=9.3Hz, J=10.5Hz, H-2), 4.20-4.07(3H, m, H-5,6a,6b), 3.90(3H, s, OCH₃), 3.89(3H, s, OCH₃),

3.86(3H, s, OCH₃), 2.19, 2.11, 2.05, 2.00(each 3H, each s, each CH₃);

IR(cm⁻¹): 3471(NH), 2942(CH), 1751 (ester, C=O), 1660(amide, C=O), 1624(C=C), 1548, 1437, 1370, 1220, 1096, 1041, 800;

MS(ESI(+))70V, m/z) : 568.2[M+H]⁺;

MS(ESI(-))70V, m/z) : 566.1[M-H]⁻;

Anal. Calcd for C₂₆H₃₃NO₁₃: C, 55.02, H,5.86, N, 2.47. Found: C, 54.71, H, 6.02, N, 2.24.

实施例 11

片剂

取实施例 9 中所得化合物 0.5g, 淀粉 2g, 糊精 1g 混合, 用适量 30%乙醇作湿润剂, 制粒, 压片。