(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 102532120 A
(43)申请公布日 2012.07.04

(21)申请号 201110335806.2

(22)申请日 2003.08.22

(30)优先权数据
60/405,823 2002.08.23 US
60/408,589 2002.09.06 US
60/423,129 2002.11.01 US
60/456,159 2003.03.20 US
10/402,004 2003.03.28 US
10/435,408 2003.05.09 US
60/496,741 2003.08.21 US

(62)分案原申请数据
03822561.1 2003.08.22

(71)申请人 索隆-基特林癌症研究协会
地址 美国纽约州

(72)发明人 赛缪尔·J·达尼谢夫斯凯
亚力克西·里夫金 吉村文彦
安娜·以斯贴·加瓦尔达·奥尔特加
朝永新 舒定朝 董华金

(74)专利代理机构 北京康信知识产权代理有限责任公司 11240
代理人 张英 吴胜周

(51)Int.Cl.
C07D 417/06(2006.01)
C07D 413/06(2006.01)
C07D 413/04(2006.01)
C07D 417/04(2006.01)
A61K 31/427(2006.01)
A61K 31/428(2006.01)
A61K 31/422(2006.01)
A61K 31/423(2006.01)
A61P 25/00(2006.01)

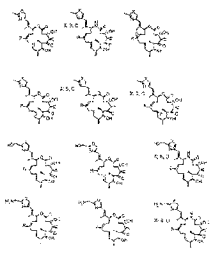
权利要求书 1 页 说明书 84 页 附图 82 页

(54)发明名称

埃坡霉素(EPOTHILONE),合成埃坡霉素的中间体,其类似物及其用途

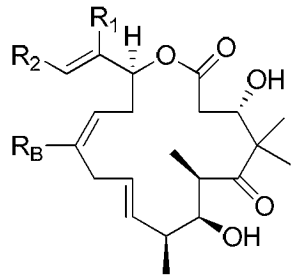
(57)摘要

本申请的发明名称为“埃坡霉素(EPOTHILONE),合成埃坡霉素的中间体,其类似物及其用途”。本发明提供式(I)化合物:如本文中一般所述及此类及次类形式所述。本发明另外提供包含式(I)化合物的医药组合物,并提供治疗癌症的方法,该些方法包括投予一式(I)化合物。9,10-去氢-12,13-去氧EpoB的类似物:R:甲基,CF_3,其他烷基取代基。



CN 102532120 A

1. 一种具有下式的化合物，或其医药上可接受的盐：



其中：

R_1 是氢或 C_{1-6} 烷基；

R_2 是经 C_{1-6} 烷基取代的 5 元杂芳基部分；以及

R_B 是 $-CF_3$、$-CHF_2$、CH_2F 或 C_{1-6} 烷基。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中 R_1 是 C_{1-6} 烷基。

3. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中 R_1 是甲基。

4. 根据权利要求 3 所述的化合物，其中 R_B 是 $-CF_3$。

5. 根据权利要求 3 所述的化合物，其中 R_B 是甲基。

6. 根据权利要求 3-5 中任一项所述的化合物，其中 R_2 选自吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、噻吩基和呋喃基。

7. 根据权利要求 6 所述的化合物，其中 R_2 经甲基取代。

8. 一种药物组合物，包括权利要求 1 所述的化合物以及医药上可接受的赋形剂。

埃坡霉素 (EPOTHILONE)，合成埃坡霉素的中间体，其类似物及其用途

[0001] 本申请是申请日为 2003 年 8 月 22 日、申请号为 03822561.1、名称为“埃坡霉素 (EPOTHILONE)，合成埃坡霉素的中间体，其类似物或其用途”的发明申请的分案申请。

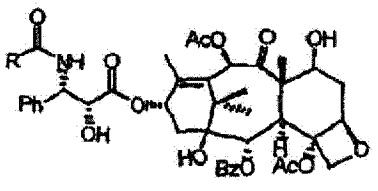
技术领域

[0002] 本发明提供式 (I) 的化合物：如本文中一般所述及以类及次类形式所述。本发明另外提供包含式 (I) 化合物的医药组合物，并提供治疗癌症的方法，该些方法包括投与一式 (I) 化合物。

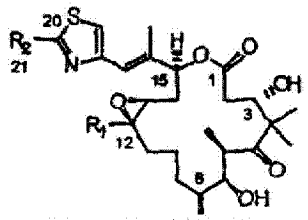
背景技术

[0003] 埃坡霉素 (Epothilone)A 及 B(2a 及 2b，方案 1) 是天然存在的细胞毒性大环内酯，其可自一纤维素降解分枝杆菌 (mycobacerium) 即堆囊菌 (Sorangium cellulosum) 分离 (Höfle等人，Angew.Chem.，Int.Ed.Engl.(1996,35,1567) 及 J.Antibiot.(1996,49,560)；其皆以引用的方式并入本文中)。尽管埃坡霉素 A 与 B 的结构极为不同，但其均具有与紫杉醇 (Taxol®)相同的作用机理，该作用机理涉及通过聚合微管蛋白及稳定微管装配来抑制肿瘤细胞的生长 (Bollag 等人，Cancer Res.(1995,55,2325)，以引用的方式并入本文)。尽管毫无疑问 Taxol®作为第一线化学治疗剂具有临床价值，但其远非一理想药物。其极低的水溶性使其需依赖于诸如氢化蓖麻油 (Cremophore) 等调配物媒剂，这些调配物媒剂不仅自身会带来风险且会造成管理问题 (Essayan 等人，J.Allergy Clin.Immunol.1996,97,42；其以引用的方式并入本文中)。而且，Taxol®易于因多重抗药性 (MDR) 而失活 (Giannakakou 等人，J.Biol.Chem.(1997,272,17118)；其以引用的方式并入本文中)。然而，亦已证实，埃坡霉素 A 及 B 可保持显著的抗 MDR 肿瘤细胞效能 (Kowalski 等人，Mol.Biol.Cell(1995,6,2137)；其以引用的方式并入本文中)。此外，与紫杉醇相比，埃坡霉素增加的水溶性有利于调配。尽管天然存在的化合物埃坡霉素 B(2b，方案 1 中的 EpoB) 是天然产物埃坡霉素家族的重要成员，但不幸的是，其具有窄治疗指数，至少在异种移植老鼠中如此，此令人极为烦忧 (Su 等人，Angew.Chem.Int.Ed.Engl.1997,36,1093；Harris 等人，J.Org.Chem.(1999,64,8434)；每一皆以引用的方式并入本文)。

[0004]



1a R=ph,紫杉醇(Taxol)
1b R=t-Bu,多西他赛（Taxotere）

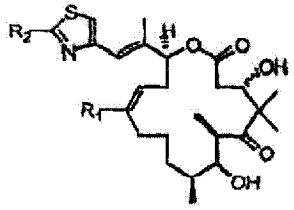


2a R_1=H,R_2=CH_3,埃坡霉素 A（EpoA）
2b R_1=CH_3,R_2=CH_3,埃坡霉素 B（EpoB）
2c R_1=H,R_2=CH_2OH,埃坡霉素 E（EpoE）
2d R_1=CH_3,R_2=CH_2OH,埃坡霉素 F（EpoF）

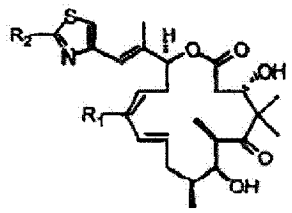
[0005] 方案 1 :紫杉烷 (Taxoid) 及埃坡霉素

[0006] 因 EpoB 治疗指数有限,此使得人们对其他埃坡霉素类似物 (尤其是 12,13- 去氧埃坡霉素) 的提供经改良治疗曲线的能力进行研究 (参见,美国专利第 6,242,469 号、第 6,284,781 号、第 6,300,355 号、第 6,369,234 号、第 6,204,388 号、第 6,316,630 号 ;每一皆以引用的方式并入本文中)。在各种小鼠模型上所实施的活体内试验证实 12,13- 去氧埃坡霉素 B(3b,方案 2 中的 dEpoB) 在小鼠异种移植物中具有抗各种敏感性及抗性人类肿瘤的治疗潜能 (Chou 等人,Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1998,95,9642 及 15798 ;其以引用的方式并入本文)。最近,该等去氧埃坡霉素优于其他抗癌剂的治疗优势已通过全面对比 [illegible] 实 (Chou 等人,Proc. Natl Acad Sci. U. S. A. (2001,98,8113) ;其以引用的方式并入本文)。由于 dEpoB 非同寻常的活体内性质,其已通过在狗中进行的毒物学评价,且现作为抗癌药用于人体试验。

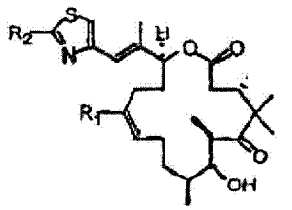
[0007]



3a R_1=H,R_2=CH_3,去氧埃坡霉素 A (dEpoA)
3b R_1=CH_3,R_2=CH_2,去氧埃坡霉素 B (dEpoB)
3c R_1=H,R_2=CH_2OH,去氧埃坡霉素 E (dEpoE)
3d R_1=CH_3,R_2=CH_2OH,去氧埃坡霉素 F (dEpoF)
3e R_1=H,R_2=NH_2,去甲基氨基-(dEpoA)
3f R_1=CH_3,R_2=NH_2,去甲基氨基-dEpoB (dadEpoB)
3g R_1=CH_3,R_2= CH_2,26-氟-dEpoB-(dadEpoB)
3h R_1=CF_3,R_2= CH_2,26 三氟-dEpoB-(dadEpoB)



4a R_1=H,R_2=CH_3,去氢-dEpoA (dEpoA)
4b R_1=CH_3,R_2=CH_3,去氢-dEpoB (dEpoB)
4c R_1 = H, R_2 = CH_2OH, 去氢-dEpoE (dEpoE)
4d R_1 = CH_3, R_2 = CH_2OH,去氢-dEpoF(dEpoF)
4e R_1 = H, R_2 = NH_2,去甲基氨基-ddEpoA
4f R_1 = CH_3, R_2 = NH_2, 去甲基氨基-ddEpoB
4g R_1 = CH_2F, R_2 = CH_2,26-氟-ddEpoB
4h R_1 = CF_3, R_2 = CH_2,26-三氟-ddEpoB



5a R_1=H,R_2=CH_3,异-dEpoA
5b R_1 = CH_3, R_2 = CH_3,异-dEpoB
5c R_1 = H, R_2 = CH_2OH, 异-dEpoE
5d R_1 = CH_3, R_2 = CH_2OH, 异-dEpoF (ddEpoF)
5e R_1 = H, R_2 = NH_2, 去甲基氨基-异-dEpoA
5f R_1 = CH_3, R_2 = NH_2,去甲基氨基-异-dEpoB

[0008] 方案 2 :各种去氧埃坡霉素类似物

[0009] 鉴于 12,13- 去氧埃坡霉素有希望的治疗效用,人们期望研究其他类似物及用于合成现有埃坡霉素、去氧埃坡霉素及其类似物以及其新颖类似物的其他合成方法。更特定而言,假定人们对该类化合物的治疗效用有兴趣,人们亦期望开发出能够提供大量上述或本文所述任何埃坡霉素或去氧埃坡霉素用于临床试验及用于大规模制备的方法。

附图说明

[0010] 图 1 是一关于埃坡霉素抗 CCRF-CEM、CCRF-CEM/VBL 及 CCRF-CEM/ 紫杉醇细胞生长的 IC50 值的表。72 小时细胞生长培养后通过 XTT 四唑鎓分析测量细胞生长抑制作用,如先前所阐述 (Scudiero 等人,Cancer Res. 46 :4827-4833,1988 ;以引用的方式并入本文)。通过使用计算机程序 (Chou 等人,Adv. Enzyme Regul. (22 :27-55,1984) ;Chou 等人,CalcuSyn for Windows(Biosoft, Cambridge, UK),1997) ;每一皆以引用的方式并入本文) 在每一药物的六或七个浓度处自剂量 - 效力关系确定 IC50 值,如先前所阐述 (Chou 等人,Proc. Natl. Acad. Sci. USA(95 :15798-15802,1998) ;以引用的方式并入本文)。

[0011] 图 2 是反 -9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB 的 ^1H NMR 谱。

[0012] 图 3 是反 -9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB 的 ^{13}C NMR 谱。

[0013] 图 4 显示利用 LACDAC- 闭环烯烃置换反应合成 11-R 和 14-R 埃坡霉素的示 意图,并绘示经由 9,10- 去氢埃坡霉素的合成方法可利用的某些取代。

[0014] 图 5 展示各种包括某些 9,10- 去氢化合物（例如，图 5A 中的化合物 7 及图 5B 中的化合物 88 及 99）在内的埃坡霉素化合物及衍生物体外抗人类白血病细胞的相对细胞毒性数据。

[0015] 图 6 绘示用于制备 9,10- 去氢埃坡霉素类似物的替代合成方法。图 6A 绘示一 Macro-Stille 法、sp^3-sp^3 偶合法及 β-Suzuki 法。图 6B 绘示 Julia 烯烃合成法、Wadsworth-Emmons 法及 Macro-Reformatosky 法。图 6C 绘示一 McMurry 偶合法及一内酰胺类似物合成法。

[0016] 图 7 展示 9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB 的各种类似物。

[0017] 图 8 展示 9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB 及 EpoB 对具有人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠的治疗效果（静脉内输注，Q2Dx3）。

[0018] 图 9 展示埃坡霉素类似物在鼠血浆中的稳定性。Epo 1 为 12,13- 去氧 EpoB，Epo 2 为 26-F_3-12,13- 去氧 EpoB，Epo 3 为 (E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB 且 Epo4 是 26-F_3-(E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB。

[0019] 图 10 绘示埃坡霉素类似物对具有 HCT-116 异种移植物的裸鼠的治疗效果（静脉内输注，Q2Dx7，n ＝ 3）。箭头表示投与药物。Epo 3 为 (E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB。

[0020] 图 11 显示与紫杉醇与长春碱相比，各种埃坡霉素类似物体外抗肿瘤细胞生长的效能及治疗指数。

[0021] 图 12 所示数据表概述 dEpoB、紫杉醇及 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 抗裸鼠中 MX-1 异种移植物的效果。

[0022] 图 13 展示 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 及 9,10- 去氢 -EpoB 对具有 MX-1 异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的治疗效果 (6 小时静脉内输注，分别为 Q2Dx6 及 Q2Dx9)。

[0023] 图 14 展示具有人类乳腺癌肿瘤 MX-1 异种移植物的裸鼠用 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 及 9,10- 去氢 -EpoB 治疗后的体重变化 (6 小时输注，分别为 Q2Dx6 及 Q2Dx9)。

[0024] 图 15 显示 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 及 9,10- 去氢 EpoB 对具有 MX-1 异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的治疗效果 (6 小时静脉内输注，分别为 Q2Dx6 及 Q2Dx9)。

[0025] 图 16 显示具有人类乳腺癌肿瘤 MX-1 异种移植物的裸鼠用 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 及 9,10- 去氢 -EpoB 治疗后体重变化 (6 小时静脉内输注，分别为 Q2Dx6 及 Q2Dx9)。

[0026] 图 17 显示 9,10- 去氢 -dEpoB 对具有 HCT-116 异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的治疗效果（静脉内输注，Q2Dx7)。

[0027] 图 18 显示 9,10- 去氢 -dEpoB 对具有人类结肠癌 HCT-116 异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的效果（静脉内输注，Q3Dx5)。

[0028] 图 19 显示 9,10- 去氢 -dEpoB 对具有 A549/ 紫杉醇异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的效果 (6 小时静脉内输注，Q3Dx7)。

[0029] 图 20 显示具有 A549/ 紫杉醇异种移植物的裸鼠用 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 及 9,10- 去氢 -dEpoB 治疗后体重的变化 (6 小时静脉内输注，Q3Dx7)。

[0030] 图 21 显示 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 及 9,10- 去氢 -dEpoB 对具有 A549/ 紫杉醇异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的效果（静脉内输注，Q2Dx7)。

[0031] 图 22 显示具有 A549/ 紫杉醇异种移植物的裸鼠用 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB

及 9,10- 去氢 -dEpoB 治疗后体重的变化 (6 小时静脉内输注,Q2Dx7)。

[0032] 图 23 显示 9,10- 去氢 -EpoB 对具有人类结肠癌 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的效果 (6 小时静脉内输注)。

[0033] 图 24 显示具有人类结肠癌 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -EpoB 治疗后体重的变化 (6 小时静脉内输注)。

[0034] 图 25 显示在 37℃下在存在各种埃坡霉素类似物时自微管蛋白形成微管的情况。

[0035] 图 26 显示在 4℃下在存在各种埃坡霉素类似物时自微管蛋白形成微管的情 况。

[0036] 图 27 显示 9,10- 去氢 -dEpoB 及 dEpoB 对具有 HCT-116 异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的效果 (静脉内输注,Q2Dx6)。

[0037] 图 28 显示具有 HCT-116 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -dEpoB 及 dEpoB 治疗后体重的变化 (静脉内输注,Q2Dx6)。

[0038] 图 29 显示 9,10- 去氢 -dEpoB 对具有人类结肠癌 HCT-116 异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的效果 (静脉内输注,Q3Dx4)。

[0039] 图 30 显示具有人类结肠癌 HCT-116 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -dEpoB 治疗后体重的变化 (5mg/kg,静脉内输注,X3Dx4)。

[0040] 图 31 是一关于埃坡霉素类似物抗 CCRF-CEM 细胞生长的 IC_{50} 值的表。

[0041] 图 32 显示埃坡霉素类似物体外代谢稳定性。

[0042] 图 33 所示表详述各种埃坡霉素类似物对小鼠中人类肿瘤异种移植物的治疗效果 (6 小时静脉内输注)。

[0043] 图 34 显示 9,10- 去氢 -EpoB 对具有人类结肠癌 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的效果 (6 小时静脉内输注,Q2Dx7)。

[0044] 图 35 显示具有人类结肠癌 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -EpoB 及唑 -EpoD 治疗后体重的变化 (6 小时输注,Q2Dx7)。

[0045] 图 36 显示 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 及 9,10- 去氢 -dEpoB 对具有 A549/ 紫杉醇异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的效果 (6 小时静脉内输注,Q2Dx4)。

[0046] 图 37 显示 9,10- 去氢 -dEpoB 对具有 A549/ 紫杉醇异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的效果 (6 小时静脉内输注,Q3Dx3)。

[0047] 图 38 显示埃坡霉素类似物在 20％小鼠血浆 /PBS 中的稳定性。

[0048] 图 39 显示埃坡霉素类似物在 10％人肝脏 S9/PBS 中的稳定性。

[0049] 图 40 显示 EpoD 在 10％人肝脏 S9/PBS 中的稳定色谱图。

[0050] 图 41 的表阐述在 37℃下在无 GTP 存在下各种埃坡霉素类似物对体外微管聚合的效果 (A) 及各种埃坡霉素类似物对人类肺细胞株 A549 的细胞毒性 (B)。

[0051] 图 42 显示在 35℃及 4℃下埃坡霉素对微管形成的稳定作用。

[0052] 图 43 展示 9,10- 去氢 -dEpoB 对具有 T 人类乳腺癌 (MX-1) 异种移植物的裸鼠的治疗效果 (6 小时输注,Q2Dx5)。

[0053] 图 44 展示具有人类乳腺癌 (MX-1) 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -dEpoB 治疗后体重的变化 (6 小时输注,Q2Dx8)。

[0054] 图 45 展示具有 HCT-116 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -dEpoB 治疗后体重的变化 (静脉内输注,Q2Dx7)。

[0055] 图 46 展示 9,10- 去氢 -dEpoF、dEpoB 及紫杉醇对具有人类乳腺癌 (MX-1) 肿瘤异种移植物的裸鼠中肿瘤大小的治疗效果 (6 小时静脉内输注,Q2Dx6)。

[0056] 图 47 显示具有人类乳腺癌 (MX-1) 肿瘤异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -dEpoF、dEpoB 及紫杉醇治疗后体重的变化 (6 小时输注,Q2Dx6)。

[0057] 图 48 展示 9,10- 去氢 -dEpoF 及 dEpoB 对具有人类结肠癌 HCT-116 异种移植物的裸鼠的治疗效果 (6 小时输注,Q2Dx8)。

[0058] 图 49 显示具有 HCT-116 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -dEpoF 及 dEpoB 治疗后体重的变化 (6 小时输注,Q2Dx8)。

[0059] 图 50 显示 9,10- 去氢 -dEpoF 及 dEpoB 在具有紫杉醇 - 人类肺癌 (A549/ 紫杉醇) 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (6 小时输注,Q2Dx5)。

[0060] 图 51 显示具有紫杉醇 - 人类肺癌 (A549/ 紫杉醇) 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -dEpoF 及 dEpoB 治疗后体重的变化 (6 小时输注,Q2Dx5)。

[0061] 图 52 所示表比较各种埃坡霉素类似物的体外肿瘤生长抑制作用及相对治疗指数。

[0062] 图 53 显示 9,10- 去氢 -dEpoB 在具有 MX-1 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (Q3Dx9,6 小时静脉内输注)。

[0063] 图 54 显示具有 MX-1 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -dEpoB 治疗后体重的变化 (Q3Dx9,6 小时静脉内输注)。

[0064] 图 55 显示 9,10- 去氢 - 埃坡霉素 B 在具有 MX-1 异种移植物的裸鼠中的治疗 效果 (Q3Dx9,6 小时输注)。

[0065] 图 56 显示具有 MX-1 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 - 埃坡霉素 B 治疗后体重的变化 (Q3Dx9,6 小时静脉内输注)。

[0066] 图 57 显示在具有 MX-1 异种移植物的裸鼠中低剂量 26- 三氟 - 去氢 -dEpoB 的治疗效果 (6 小时静脉内输注,Q2Dx12)。

[0067] 图 58 展示具有 MX-1 异种移植物的裸鼠用低剂量 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 治疗后体重的变化 (6 小时静脉内输注,Q2Dx12)。

[0068] 图 59 显示埃坡霉素类似物抗裸鼠中人类肿瘤异种移植物的化学治疗效果。将肿瘤组织 (40-50mg) 在 0 天时皮下植入。当肿瘤尺寸达到约 100mm^3 或以上时开始治疗,如图所示。箭头所示的所有治疗皆经由尾部静脉用微型导管及可编程泵 6 小时静脉内输注实施,如先前文献所述 (Su、D.-S. 等人, Angew. Chem. Int. Ed(1997,36,2093) ;Chou, T. C. 等人, Proc. Natl, Acad. Sci. USA. 1998,95,15798 ;每一皆以引用的方式并入本文中)。每一剂量组由四或更多只小鼠组成。假定 1mm^3 肿瘤等于 1mg 肿瘤组织,体重是指总体重减去肿瘤体重。A. 与表 1 的剂量 (20mg/Kg 及 30mg/Kg) 相比,用低剂量 25- 三氟 -(E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB(10mg/Kg) 治疗的乳腺癌 MX-1 异种移植物。B. 用 25- 三氟 -(E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB(25mg/Kg) 及 dEpoB(30mg/Kg) 治疗 MX-1 大异种移植物 (50mm^3)。C. 用 25- 三氟 -(E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB(25mg/Kg) 及 dEpoB(30mg/Kg) 治疗的缓慢生长的 A549 肺癌异种移植物。D. 用 25- 三氟 -(E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB(20mg/Kg) 及 (E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB(4mg/Kg) 治疗的 A549/ 紫杉醇 (体外 44- 倍抗紫杉醇 (paclitaxel)) 异种移植物。对于 deH-dEpoB 治疗,由于在 28 天体重明显快速降低,故

跳过该天的治疗。

[0069] 图 60 绘示 C-21 修饰 9,10-(E)- 去氢 - 埃坡霉素的合成。图 60A 显示 26- 三氟 -21- 甲基氨基 -9,10-(E)- 去氢 -12,13- 去氧埃坡霉素 B 的合成。图 60B 是用于制备作为合成 26- 三氟 -21- 二甲基氨基 -9,10-(E)- 去氢 -12,13- 去氧埃坡霉素 B 中间体 的 26- 三氟 -21- 氨基 -9,10-(E)- 去氢 -12,13- 去氧埃坡霉素 B 的合成示意图。

[0070] 图 61 所示表列出 C-21 修饰埃坡霉素抗肿瘤细胞株 CCRF-CEM 及其抗药性亚株的 IC_{50} 值。

[0071] 图 62 显示 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopB 及紫杉醇在具有人类 T- 细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (6 小时静脉内输注,Q2Dx8)。

[0072] 图 63 显示具有人类 T- 细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM 异种移植物的裸鼠用 25- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopB 及紫杉醇治疗后体重的变化 (6 小时静脉内输注,Q2Dx8)。

[0073] 图 64 显示 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopB 及紫杉醇在具有人类 T- 细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM/ 紫杉醇异种移植物 (抗紫杉醇) 的裸鼠中的治疗效果 (6 小时静脉内输注,Q2Dx7、x5)。

[0074] 图 65 显示具有人类 T- 细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM/ 紫杉醇异种移植物 (抗紫杉醇) 的裸鼠用 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopB 及紫杉醇治疗后体重的变化 (6 小时静脉内输注,Q2Dx7、x5)。

[0075] 图 66 显示 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopB 及紫杉醇在具有人类结肠癌 HCT-116 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (Q2Dx4、x2,6 小时静脉内输注)。

[0076] 图 67 显示具有人类结肠癌 HCT-116 异种移植物的裸鼠用 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopB 及紫杉醇治疗后体重的变化 (Q2Dx4、x2,6 小时静脉内输注)。

[0077] 图 68 显示 9,10- 去氢 -dEopB 在具有 MX-1 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (6 小时静脉内输注)。

[0078] 图 69 显示具有人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -EopB 治疗后体重的变化 (6 小时静脉内输注)。

[0079] 图 70 显示 9,10- 去氢 -EopB 在具有人类 T- 细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM/ 紫杉醇异种移植物 (抗紫杉醇) 的裸鼠中的治疗效果 (6 小时静脉内输注,Q3Dx5、x2)。

[0080] 图 71 显示具有人类 T- 细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM/ 紫杉醇异种移植物 (抗 紫杉醇) 的裸鼠用 9,10- 去氢 -EopB 治疗后体重的变化 (6 小时静脉内输注,Q3Dx5、x2)。

[0081] 图 72 显示 26- 三氟 -dEopB 及 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopF 在具有乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (Q2Dx11,静脉内输注)。

[0082] 图 73 显示具有乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠用 26- 三氟 -dEopB 及 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopF 治疗后体重的变化 (Q2Dx11,静脉内输注)。

[0083] 图 74 显示 9,10- 去氢 -dEopB 在具有乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (Q3Dx9,6 小时静脉内输注)。

[0084] 图 75 显示具有乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠用 9,10- 去氢 -dEopB 治疗后体重的变化 (Q3Dx9,6 小时静脉内输注)。

[0085] 图 76 显示 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopF 在具有乳肺癌 (MX-1) 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (6 小时静脉内输注及静脉内注射)。

[0086] 图 77 显示具有 MX-1 异种移植物的裸鼠用 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEopF 治疗后体重的变化 (6 小时静脉内输注及静脉内注射)。

[0087] 图 78 显示了 9,10-de-H-EpoB 在具有 MX-1 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (6 小时静脉内注射,n = 4)。

[0088] 定义

[0089] 下文亦更详细的阐述了本发明的某些化合物及特定官能团的定义。对于本发明而言,化学元素根据元素周期表 (CAS 版,化学及物理手册 (Handbook of Chemistry and Physics) 第 75 版,内封面) 确定,且特定官能团通常如本文所述来定义。此外,有机化学的一般原则及特定官能部分及反应性皆阐述于“有机化学 (Organic Chemistry)”(Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito :1999,其整体内容以引用的方式并入本文中)。而且,所属领域的技术人员应了解,本文所阐述的该些合成方法可使用各种保护基团。本文所用术语“保护基团”意指暂时封阻一特定官能部分 (例如,O、S 或 N),以便一反应可选择性地在多官能化合物的另一反应位置处实施。在较佳实施例中,一保护基团以高效率选择性地反应,生成一对预计反应稳定的被保护基质 ;该保护基团必须可 高效率地由不攻击其他官能团且易于获得 (较佳无毒) 的试剂选择性去除 ;该保护基团形成一易于分离的衍生物 (更佳不产生新的手性中心 (stereogenic center)) ;且该保护基团具有最少的附加官能度以避免其他反应位置。如本文所详述,可使用氧、硫、氮及碳保护基团。本文详细阐述了实例性保护基团,然而,应了解,本发明并非意欲限于这些保护基团 ;相反,多种其他等效保护基团使用上述标准可容易地识别出并用于本发明方法中。此外,多种保护基团阐述于“有机合成中的保护基团”(“Protective Groups in Organic Synthesis”第 3 版, Greene, T.W. 及 Wuts, P.G. 编辑, John Wiley & Sons, New York :1999,其整体内容以引用的方式并入本文中) 中。

[0090] 应了解,本文所述化合物可用任何数量的取代基或官能部分取代。一般而言,术语“取代”(无论其前是否有术语“视情况”) 及本发明化学式中所包含的取代基指用一规定取代基取代给定结构中的氢基。当给定结构中的一个以上位置被选自一规定群组的一个以上取代基取代时,每一位置处的取代基可相同或不同。本文所用术语“取代”意欲包括有机化合物的所有容许的取代基。广义上,该些容许的取代基包括有机化合物的非环状及环状、具支链及不具支链、碳环及杂环、芳族及非芳族取代基。对于本发明而言,诸如氮等杂原子可具有满足杂原子化合价要求的氢取代基及 / 或本文所述的任何容许的有机化合物取代基。而且,本发明并不意欲以任何方式受限于有机化合物的容许取代基。本发明所预期取代基及变量的组合较佳为那些可导致形成用于治疗 (例如) 增生型疾病 (包括但不限于癌症) 的稳定化合物的组合。本文所用术语“稳定”较佳以下化合物,该些化合物具有足以容许制造的稳定性并可在足够长的待检测时期内及对本文所述目的而言有用的足够长的时期内保持化合物完整性。

[0091] 本文所用术语“脂肪族”包括饱和及不饱和、直链 (即,不具支链)、支链、环状或多环脂肪族碳氢化合物,其可视情况用一或多个官能团取代。所属领域的技术人员应了解,“脂肪族”在本文中意欲包括 (但不限于) 烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基及环炔基部分。因此,本发明所用术语“烷基”包括直链、支链及环状烷基。一类似惯例可用于其他诸如“烯基”、“炔基”及类似基团等通称。而且,本文所用术语“烷基”、“烯基”、“炔基”及类似基团涵

盖经取代及未经取代基团二者。在某些实施例中，本文所用术语“低碳烷基”用于指那些具有 1 至 6 个碳原子的烷基（环状、非环状、经取代、未经取代、具支链或不具支链）。

[0092] 在某些实施例中，本发明所用烷基、烯基、炔基包含 1 至 20 个脂肪族碳原子。在某些其他实施例中，本发明所用烷基、烯基、炔基包含 1 至 10 个脂肪族碳原子。在另外实施例中，本发明所用烷基、烯基、炔基包含 1 至 8 个脂肪族碳原子。在另外实施例中，本发明所用烷基、烯基、炔基包含 1 至 6 个脂肪族碳原子。在另一些实施例中，本发明所用烷基、烯基、炔基包含 1 至 4 个脂肪族碳原子。因此，例示性脂肪族基团包括（但不限于）（例如）甲基、乙基、正 - 丙基、异丙基、环丙基、$-CH_2-$ 环丙基、烯丙基、正 - 丁基、第二 - 丁基、异丁基、第三 - 丁基、环丁基、$-CH_2-$ 环丁基、正 - 戊基、第二 - 戊基、异戊基、第三 - 戊基、环戊基、$-CH_2-$ 环戊基、正 - 己基、第二 - 己基、环己基、$-CH_2-$ 环己基部分及类似物，其又可具有一或多个取代基。烯基包括（但不限于）（例如）乙烯基、丙烯基、丁烯基、1- 甲基 -2- 丁烯 -1- 基及类似物。代表性炔基包括（但不限于）乙炔基、2- 丙炔基（炔丙基）、1- 丙炔基及类似物。

[0093] 本文所用术语“烷氧基”或“烷硫基”指通过一氧原子或通过一硫原子键结至一母体分子部分的上文所定义烷基。在某些实施例中，该烷基包含 1 至 20 个脂肪族碳原子。在某些其他实施例中该烷基包含 1 至 10 个脂肪族碳原子。在另外一些实施例中，本发明所用烷基、烯基、炔基包含 1 至 8 个脂肪族碳原子。在再一些实施例中，该烷基包含 1 至 6 个脂肪族碳原子。在另外的实施例中，该烷基包含 1 至 4 个脂肪族碳原子。烷氧基的实例包括（但不限于）甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正 - 丁氧基、第三 - 丁氧基、新戊氧基及正 - 己氧基。烷硫基的实例包括（但不限于）甲硫基、乙硫基、丙硫基、异丙硫基、正 - 丁硫基及类似基团。

[0094] 术语“烷基氨基”系指具有 -NHR’ 结构的基团，其中 R’ 是本文所定义的烷基。在某些实施例中，该烷基包含 1 至 20 个脂肪族碳原子。在某些其他实施例中该烷基包含 1 至 10 个脂肪族碳原子。在另外一些实施例中，本发明所用烷基、烯基、炔基包含 1 至 8 个脂肪族碳原子。在另外实施例中，该烷基包含 1 至 6 个脂肪族碳原子。在再一些实施例中，该烷基包含 1 至 4 个脂肪族碳原子。烷基氨基的实例包括（但不限于）甲氨基、乙氨基、异 - 丙氨基及类似基团。

[0095] 本发明化合物上述脂肪族（或其他）部分的取代基的某些实例包括（但不限于）：脂肪族基团；杂脂肪族基团；芳基；杂芳基；芳基烷基；杂芳基烷基；烷氧基；芳氧基；杂烷氧基；杂芳氧基；烷硫基；芳硫基；杂烷硫基；杂芳硫基；F；Cl；Br；I；$-OH$；$-NO_2$；$-CN$；$-CF_3$；$-CH_2CF_3$；$-CHCl_2$；$-CH_2OH$；$-CH_2CH_2OH$；$-CH_2NH_2$；$-CH_2SO_2CH_3$；$-C(O)R_x$；$-CO_2(R_x)$；$-CON(R_x)_2$；$-OC(O)R_x$；$-OCO_2R_x$；$-OCON(R_x)_2$；$-N(R_x)_2$；$-S(O)_2R_x$；$-NR_x(CO)R_x$，其中所出现的 Rx 独立地包括（但不限于）脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基，其中上文及此处所阐述的任一脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基烷基或杂芳基烷基取代基皆可经取代或未经取代、具支链或不具支链、环状或非环状，且其中上文及此处所阐述的任一芳基及杂芳基取代基皆可经取代或未经取代。通常可用取代基的其他实例由本文所述实例中所示的特定实施例阐述。

[0096] 一般而言，本文所用术语“芳基”及“杂芳基”指较佳具有 3 至 14 个碳原子的稳定单 - 或多环、杂环、多环及多杂环不饱和部分，每一部分皆可经取代或未经取代。取代基包

括（但不限于）上述任一取代基，即，所述用于脂肪族部分或用于本文所述其他部分导致形成稳定化合物的取代基。在本发明的某些实施例中，“芳基”是指具有一或两个芳族环的单或二环碳环体系，其包括（但不限于）苯基、萘基、四氢萘基、二氢茚基、茚基及类似基团。在本发明某些实施例中，本文所用术语“杂芳基”系指具有 5 至 10 个环原子的环状芳基，其中一个环原子选自 S、O 及 N；零、一或两个环原子是独立选自 S、O 及 N 的另外杂原子；且其余环原子为碳，该基团通过任一环原子结合至分子的其余部分， 例如，吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、噻吩基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基及类似基团。

[0097] 应了解，芳基及杂芳基（包括二环芳基）可未经取代或经取代，其中取代包括独立地用任一或多个括（但不限于）下列的以下部分替换其上的一、二或三个氢原子：脂肪族基团；杂脂肪族基团；芳基；杂芳基；芳基烷基；杂芳基烷基；烷氧基；芳氧基；杂烷氧基；杂芳氧基；烷硫基；芳硫基；杂烷硫基；杂芳硫基；F；Cl；Br；I；-OH；$-NO_2$；-CN；$-CF_3$；$-CH_2CF_3$；$-CHCl_2$；$-CH_2OH$；$-CH_2CH_2OH$；$-CH_2NH_2$；$-CH_2SO_2CH_3$；$-C(O)R_x$；$-CO_2(R_x)$；$-CON(R_x)_2$；$-OC(O)R_x$；$-OCO_2R_x$；$-OCON(R_x)_2$；$-N(R_x)_2$；$-S(O)_2R_x$；$-NR_x(CO)R_x$，其中所出现的 Rx 皆独立地包括（但不限于）脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基，其中上文及此处所阐述的任一脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基烷基或杂芳基烷基取代基可经取代或未经取代、具支链或不具支链、环状或非环状，且其中上文及此处所阐述的任一芳基及杂芳基取代基皆可经取代或未经取代。通常可用取代基的其他实例由本文所述实例中所示的特定实施例阐述。

[0098] 本文所用术语“环烷基”特定地指具有三至七个（较佳三至十个）碳原子的基团。适宜环烷基包括（但不限于）环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基及类似基团，如同在其他脂肪族、杂脂肪族或杂环部分的情况，其可视情况经取代基取代，该些取代基包括（但不限于）：脂肪族基团；杂脂肪族基团；芳基；杂芳基；芳基烷基；杂芳基烷基；烷氧基；芳氧基；杂烷氧基；杂芳氧基；烷硫基；芳硫基；杂烷硫基；杂芳硫基；F；Cl；Br；I；-OH；$-NO_2$；-CN；$-CF_3$；$-CH_2CF_3$；$-CHCl_2$；$-CH_2OH$；$-CH_2CH_2OH$；$-CH_2NH_2$；$-CH_2SO_2CH_3$；$-C(O)R_x$；$-CO_2(R_x)$；$-CON(R_x)_2$；$-OC(O)R_x$；$-OCO_2R_x$；$-OCON(R_x)_2$；$-N(R_x)_2$；$-S(O)_2R_x$；$-NR_x(CO)R_x$，其中所出现的 Rx 独立包括（但不限于）脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基，其中上文及此处所阐述的任一 脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基烷基或杂芳基烷基取代基可经取代或未经取代、具支链或不具支链、环状或非环状，且其中上文及此处所阐述的任一芳基及杂芳基取代基可经取代或未经取代。通常可用取代基的其他实例由本文所述实例中所示的特定实施例阐述。

[0099] 本文所用术语“杂脂肪族”指含有一或多个（例如）代替碳原子的氧、硫、氮、磷或硅原子的脂肪族部分。杂脂肪族部分可具支链、不具支链、环状或非环状且包括饱和或不饱和杂环，例如，吗啉基、吡咯烷基等。在某些实施例中，杂脂肪族部分可通过用包括（但不限于）下列的部分独立替换其上的一或多个氢原子来取代：脂肪族基团；杂脂肪族基团；芳基；杂芳基；芳基烷基；杂芳基烷基；烷氧基；芳氧基；杂烷氧基；杂芳氧基；烷硫基；芳硫基；杂烷硫基；杂芳硫基；F；Cl；Br；I；-OH；$-NO_2$；-CN；$-CF_3$；$-CH_2CF_3$；$-CHCl_2$；$-CH_2OH$；$-CH_2CH_2OH$；$-CH_2NH_2$；$-CH_2SO_2CH_3$；$-C(O)R_x$；$-CO_2(R_x)$；$-CON(R_x)_2$；$-OC(O)R_x$；$-OCO_2R_x$；$-OCON(R_x)_2$；$-N(R_x)_2$；$-S(O)_2R_x$；$-NR_x(CO)R_x$，其中所出现的 Rx 独立包括（但不限于）脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基，其中上文及此处所阐述的任一脂肪族基团、杂脂肪

族基团、芳基烷基或杂芳基烷基取代基可经取代或未经取代、具支链或不具支链、环状或非环状，且其中上文及此处所阐述的任一芳基及杂芳基取代基可经取代或未经取代。通常可用取代基的其他实例由本文所述实例中所示的特定实施例阐述。

[0100] 本文所用术语“卤代”及“卤素”指一选自氟、氯、溴及碘的原子。

[0101] 术语“卤代烷基”指上文所定义的具有 1、2 或 3 个键结至其的卤素原子的烷基且可由诸如氯甲基、溴乙基、三氟甲基及类似基团等基团例示。

[0102] 本文所用术语“杂环烷基”或“杂环”指一非芳族 5-、6- 或 7- 元环或一多环基团，其包括（但不限于）二或三环基团，该基团包含具有 1 至 3 个独立选自氧、硫及氮的杂原子的稠合六元环，其中 (i) 每一 5 元环皆具有 0 至 1 个双键且每一 6 元环皆具有 0 至 2 个双键，(ii) 氮及硫杂原子可视情况经氧化，(iii) 氮杂原子可视情况经季铵化，及 (iv) 任一上述杂环皆可稠合至一苯环。代表性 杂环包括（但不限于）吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基及四氢呋喃基。在某些实施例中，使用一“经取代杂环烷基或杂环”且如本文所用指一其上 1、2 或 3 个氢原子被以下基团（但不限于这些基团）独立替换来取代的如上所定义杂环烷基或杂环基团：脂肪族基团；杂脂肪族基团；芳基；杂芳基；芳基烷基；杂芳基烷基；烷氧基；芳氧基；杂烷氧基；杂芳氧基；烷硫基；芳硫基；杂烷硫基；杂芳硫基；F；Cl；Br；I；-OH；$-NO_2$；-CN；$-CF_3$；$-CH_2CF_3$；$-CHCl_2$；$-CH_2OH$；$-CH_2CH_2OH$；$-CH_2NH_2$；$-CH_2SO_2CH_3$；$-C(O)R_x$；$-CO_2(R_x)$；$-CON(R_x)_2$；$-OC(O)R_x$；$-OCO_2R_x$；$-OCON(R_x)_2$；$-N(R_x)_2$；$-S(O)_2R_x$；$-NR_x(CO)R_x$，其中每一存在的 R_x 独立包括（但不限于）脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基，其中上文及此处所阐述的任一脂肪族、杂脂肪族、芳基烷基或杂芳基烷基取代基可经取代或未经取代、具支链或不具支链、环状或非环状，且其中上文及此处所阐述的任一芳基及杂芳基取代基可经取代或未经取代。通常可用取代基的其他实例由本文所述实例中所示的特定实施例阐述。

[0103] “标记”：本文所用术语“标记”意欲指一化合物连接有至少一个使得能够检测该化合物的元素、同位素或化学物。一般而言，标记物分为三类：a) 同位素标记物，其可为放射性或重同位素，其包括（但不限于）^{2}H、^{3}H、^{32}P、^{35}S、^{67}Ga、^{99m}Tc(Tc-99m)、^{111}In、^{123}I、^{125}I、^{169}Yb 及 ^{186}Re；b) 免疫标记物，其可为抗体或抗原；及 c) 有色或荧光染料。应了解，该些标记物可在任一不干扰正被检测化合物的生物活性或特性的位置处纳入该化合物中。在本发明的某些实施例中，光亲和性标记用于直接解释生物系统中的分子间相互作用（例如，用以探测微管蛋白二聚体中埃坡霉素结合位置）。可使用各种已知发光团，多数是依赖于重氮化合物、叠氮化物或重氮甲烷光转化为氮烯或碳烯（参见，Bayley，H.，Photogenerated Reagents in Biochemistry and Molecular Biology(1983)，Elsevier，Amsterdam.，其整体内容以引用的方式并入本文中）。在本发明的某些 实施例中，所用光亲和性标记物为经一或多个卤素部分取代的邻、间及对 - 叠氮苯甲酰基，其包括（但不限于）4- 叠氮基 -2,3,5,6- 四氟苯甲酸。

[0104] “聚合物”：本文所用术语“聚合物”指一包含由相同或不同重复单元（单体）构成的开放、闭合、线性、具支链或经交联的链的化合物。应了解，在某些实施例中，术语聚合物指生物聚合物，如本文所用其意欲指在自然界中发现的聚合材料或基于自然界中发现的聚合材料的聚合材料，其包括（但不限于）核酸、肽及其类似物。在某些其他实施例中，术语

聚合物指合成聚合物，例如可生物降解聚合物或其他聚合材料。应了解，固态聚合载体亦涵盖于本发明聚合物的范围中。本发明化合物可键结至聚合载体，且因此可在固相上实施某些合成修饰。本文所用术语“固态载体”意欲包括（但不限于）小球、碟状物、毛细管、中空纤维、探针、定位针、实心纤维、纤维素珠、微孔－玻璃珠、硅胶、视情况与二乙烯基苯交联的聚苯乙烯珠、经接枝共聚的珠、聚丙烯酰胺珠、乳胶珠、视情况与 N-N′－二－丙烯酰乙二胺交联的二甲基丙烯酰胺珠及涂覆有一疏水性聚合物的玻璃粒。所属领域的技术人员应了解，具体固态载体的选择受限于该载体与所用反应化学物质的相容性。一实例性固态载体为 Tentagel 氨基树脂，其为 1) 与二乙烯基苯交联的聚苯乙烯珠与 2)PEG（聚乙二醇）的复合物。由于 Tentagel 可提供用于珠上或珠外分析的通用载体，且其在甲苯至水的溶剂中亦具有极佳的溶胀性，故其为一特别有用的载体。

具体实施方式

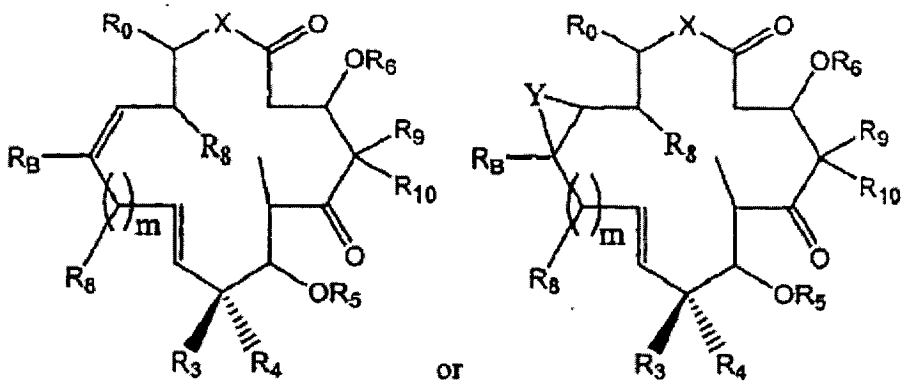
[0105] 由于认识到需要开发新颖及有效癌症疗法，本发明提供能够获得具有宽广生物及药理活性范围的大环的新颖合成方法，以及具有该活性的新颖化合物、新颖治疗组合物及使用该些化合物及组合物的方法。

[0106] 在某些实施例中，本发明化合物可用于治疗癌症。本发明的某些化合物对癌细胞株展示细胞毒性或生长抑制作用，显示出聚合微管蛋白及稳定微管装配的能力，及／或在癌细胞异种移植物模型中导致肿瘤收缩或消失。在某些实施例 中，该些化合物的副作用降低或最小化，这些副作用其包括对重要器官的毒性、恶心、呕吐、腹泻、脱发、体重减轻、体重增加、肝脏毒性、皮肤病等等。由于该些化合物的水溶性增加、毒性降低、治疗范围扩大、疗效增加等，其亦更易于调配。

[0107] 本发明化合物概述

[0108] 本发明化合物包括如以下进一步定义的具通式 (0) 及 (0’) 的化合物及其医药上可接受的衍生物：

[0109]



(0) (0’)

[0110] 其中 R_0 为一经取代或未经取代的芳基、杂芳基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基、杂芳基烷基、杂芳基烯基或杂芳基炔基部分；在某些实施例中，R_0 为一芳基烷基、芳基烯基、杂芳基烷基或杂芳基烯基部分；在其他实施例中，R_0 为一杂芳基烯基部分；在某些实施例中，R_0 为一杂芳基烷基部分；在某些实施例中，R_0 为一 5- 至 7 元芳基或杂芳基部分；在另外实施例中，R_0 为一 8 至 12 元的二环芳基或杂芳基部分；在其他实施例中，R_0 为一其中一苯环稠

合至一杂芳基或芳基部分的二环部分；在另外的实施例中，R_0 为一其中一苯环稠合至一噻唑、噁唑或咪唑部分的二环部分；在其他实施例中，R_0 为一经取代或未经取代的苯基部分；

[0111] R_3 及 R_4 独立为氢；或经取代或未经取代、线性或具支链、环状或非环状脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基部分（视情况经一或多个羟基取代）、经保护的羟基、烷氧基、羧基、甲醛 (carboxaldehyde)、线性或具支链烷基或环状缩醛、氟、氨基、经保护的氨基、经一或两个烷基或芳基部分取代的氨基、N- 肼基或 N- 烷氧基亚氨基；在某些实施例中，R_3 及 R_4 独立为氢、氟或低碳烷基；在某些实施例中，R_3 及 R_4 独立为氢或甲基；在其他实施例中，R_3 为甲基且 R_4 为氢；

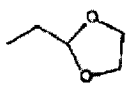
[0112] R_5 及 R_6 独立为氢或一保护基团；在某些实施例中，R_5 及 R_6 二者为氢；

[0113] X 为 O、S、$C(R_7)_2$ 或 NR_7，其中所出现的 R_7 独立为氢或低碳烷基；在某些实施例中，X 为 O；在某些实施例中，X 为 NH；

[0114] Y 为 O、S、NH、$C(R_7)_2$、CH_2、$N(R_7)$ 或 NH，其中所出现的 R_7 独立为氢或低碳烷基；在某些实施例中，Y 为 O；在某些实施例中，Y 为 NH；在另外的实施例中，Y 为 CH_2；

[0115] 每一 R_8 独立为氢；卤素、羟基、烷氧基、氨基、二烷基氨基、烷基氨基、氟代基、氰基或经取代或未经取代、线性或具支链、环状或非环状脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基或杂芳基烷基、杂芳基烯基、杂芳基炔基部分（视情况经一或多个羟基取代）、经保护的羟基、烷氧基、羧基、甲醛、线性或具支链烷基或环状缩醛、氟、氨基、经保护的氨基、经一或两个烷基或芳基部分取代的氨基、N- 肼基或 N- 烷氧基亚氨基；在某些实施例中，R_8 为氢；在某些实施例中，R_8 为羟基；在其他实施例中，R_8 为氟；在另外的其他实施例中，R_8 为低碳烷基，例如甲基；在其他实施例中，R_8 为 $-CF_3$、$-CF_2H$ 或 $-CFH_2$；在某些实施例中，R_8 为全氟代或氟代烷基；在另外的实施例中，R_8 为卤代或全卤代烷基；

[0116] R_9 及 R_{10} 独立为氢；或经取代或未经取代、线性或具支链、环状或非环状脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基、杂芳基烷基、杂芳基烯基或杂芳基炔基部分（视情况经一或多个羟基取代）、经保护的羟基、烷氧基、羧基、甲醛、线性或具支链烷基或环状缩醛、氟、氨基、经保护的氨基、经一或两个烷基或芳基部分取代的氨基、N- 肼基或 N- 烷氧基亚氨基；在某些实施例中，R_9 及 R_{10} 中之一为甲基；在某些实施例中，R_9 及 R_{10} 为甲基；在另外的其他实施例中，R_9 及 R_{10} 中之一为甲基，且另一个为氢；在某些实施例中，R_9 及 R_{10} 为氢；

[0117] 所出现 R_B 独立为氢；卤素；$-OR_{B'}$；$-SR_{B'}$；$-N(R_{B'})_2$；$-C(O)$ 或 $_{B'}-$；$-C(O)R_{B'}$；$-CONHR_{B'}$；$-O(C=O)R_{B'}-$；$-O(C=O)OR_{B'}$；$-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$；N_3；$N_2R_{B'}$；环状缩醛；或环状或非环状、线性或具支链脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基或杂芳基，视情况经一或多个氢取代；卤素；$-OR_{B'}-$；$-SR_{B'}-$；$-N(R_{B'})2$；$-C(O)OR_{B'}-$；$-C(O)R_{B'}-$；$-CONHR_{B'}$；$-O(C=O)R_{B'}-$；$-O(C=O)OR_{B'}-$；$-NR_{B'}(C=O)R_B-$；N_3；$N_2R_{B'}$；环状缩醛；或环状或非环状、线性或具支链经取代或未经取代脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基或杂芳基部分；或为一埃坡霉素、去氧埃坡霉素或其类似物；或为一聚合物；碳水化合物；光亲和性标记物；或为放射性标记物；在某些实施例中，R_B 为氢、  、甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、环丙基、环丁基、环戊基或环己基，每一未经取代或视情况经一或多个卤素、-OH、- 或 $_{B'}-$、NH_2 或 $N(R_{B'})_2$ 或其任一组合取代，其中所出现的 $R_{B'}$ 独立为氢、烷基、芳基或一保护基团，在某些实施例中，R_B 为氢、甲基或

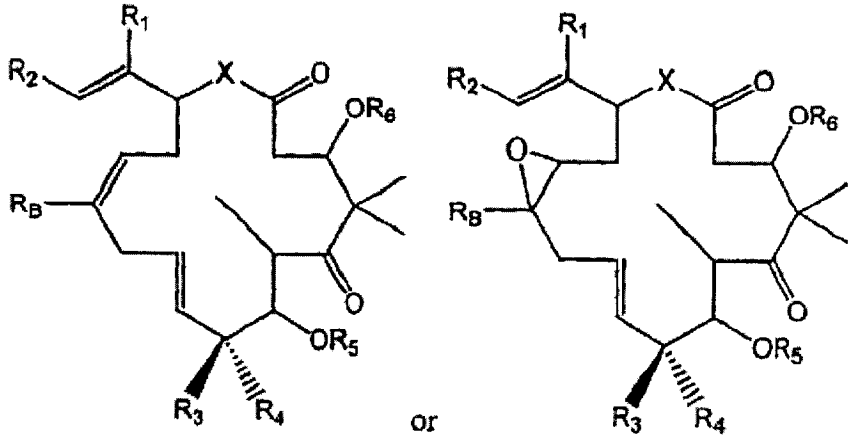
乙基，在其他的实施例中，R_B 为甲基，在某些实施例中，为 $-CY_3$、$-CHY_2$、$-CH_2Y$，其中 Y 为 F、Br、Cl、I、$OR_{B'}$、$NHR_{B'}$、$N(R_{B'})_2$ 或 $SR_{B'}$；在另外的其他实施例中，R_B 为 $-CF_3$、$-CH_2F$ 或 CHF_2；在某些实施例中，R_B 为全氟代或氟代烷基；在其他实施例中，R_B 为卤代或全卤代烷基；

[0118] 所出现的 $R_{B'}$ 独立为氢；一保护基团；线性或具支链、经取代或未经取代、环状或非环状脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基、杂芳基烷基、杂芳基烯基或杂芳基炔基部分；

[0119] m 为 1、2、3 或 4，在某些实施例中，m 为 1 或 2，在其他实施例中，m 为 1。

[0120] 本发明化合物包括下文进一步定义的通式 (I) 或 (I') 的化合物及其医药上可接受的衍生物：

[0121]



(I) (I'')

[0122] 其中 R_1 为氢或低碳烷基；在某些实施例中，R_1 为甲基；在某些实施例中，R_1 为 $-CF_3$、$-CF_2H$ 或 CH_2F；在其他实施例中，R_1 为全氟代或氟代烷基；在另外的其他实施例中，R_1 为卤代或全卤代烷基；

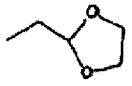
[0123] R_2 为一经取代或未经取代的芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基部分；在某些实施例中，R_2 为经取代或未经取代的噁唑；在其他实施例中，R_2 为经取代或未经取代的噻唑；

[0124] R_3 及 R_4 每一独立为氢；或经取代或未经取代、线性或具支链、环状或非环状脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基部分（视情况经一或多个羟基取代）、经保护的羟基、烷氧基、羧基、甲醛、线性或具支链烷基或环状缩醛、氟、氨基、经保护的氨基、经一或两个烷基或芳基部分取代的氨基、N- 肟基或 N- 烷氧基亚氨基；在某些实施例中，R_3 及 R_4 每一独立为氢、氟或低碳烷基；在其他实施例中，R_3 及 R_4 每一独立为氢或甲基；在另外的其他实施例中，R_3 为甲基且 R_4 为氢；

[0125] R_5 及 R_6 每一独立为氢或保护基团；在某些实施例中，R_5 及 R_6 二者为氢；

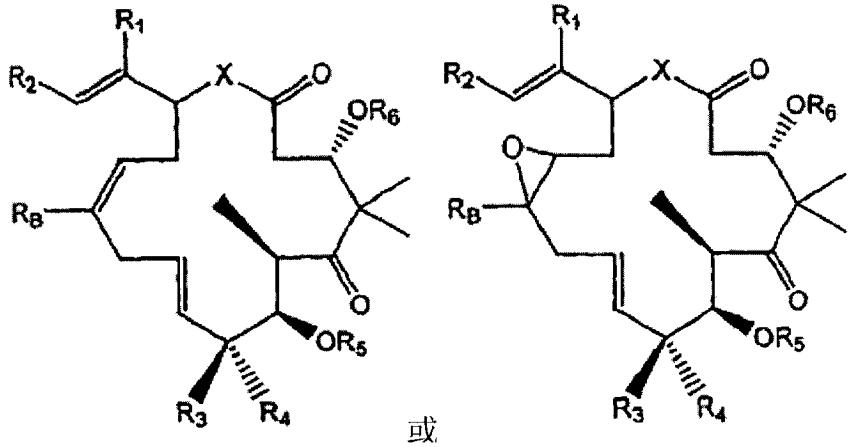
[0126] X 为 O、S、$C(R_7)_2$ 或 NR_7，其中所出现的 R_7 独立为氢或低碳烷基；在某些实施例中，X 为 O；在其他实施例中，X 为 NH；

[0127] 所出现的 R_B 独立为氢；卤素；$-OR_{B'}$；$-SR_{B'}$；$-N(R_{B'})_2$；$-C(O)OR_{B'}$；$-C(O)R_{B'}$；$-CONHR_{B'}$；$-O(C=O)R_{B'}$；$-O(C=O)OR_{B'}$；$-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$；N_3；$N_2R_{B'}$；环状缩醛；或环状或非环状、线性或具支链脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基或杂芳 基，视情况经一或多个氢取代；卤素；$-OR_{B'}$；$-SR_{B'}$；$-N(R_{B'})_2$；$-C(O)OR_{B'}$；$-C(O)R_{B'}$；$-CONHR_{B'}$；$-O(C=O)R_{B'}$；$-O(C=O)OR_{B'}$；$-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$；N_3；$N_2R_{B'}$；环状缩醛；或环状或非环状、线性或具支链经取代或未经取

代的脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基或杂芳基部分；或为一埃坡霉素、去氧埃坡霉素或其类似物；或为一聚合物；碳水化合物；光亲和性标记物；或放射性标记物；在某些实施例中，R_B 为氢、  、甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、环丙基、环丁基、环戊基或环己基，每一未经取代或视情况经一或多个卤素、-OH、$-OR_{B'}$ 或 $-N(R_{B'})_2$ 或其任一组合取代，其中所出现的 $R_{B'}$ 独立为氢、烷基、芳基或保护基团，在其他实施例中，R_B 为氢、甲基或乙基，在另外的其他实施例中，R_B 为甲基，在另外的其他实施例中，R_B 为 $-CF_3$、$-CH_2F$ 或 CHF_2。

[0128] 在某些实施例中，本发明化合物包括所示的具有所定义立体化学结构的通式（II）或（II'）化合物：

[0129]



[0130] 其中 X、R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_B 及 X 皆如上文所定义之。

[0131] 在某些实施例中，X 为 O。在其他实施例中，X 为 NH。在其他实施例中，X 为 CH_2。

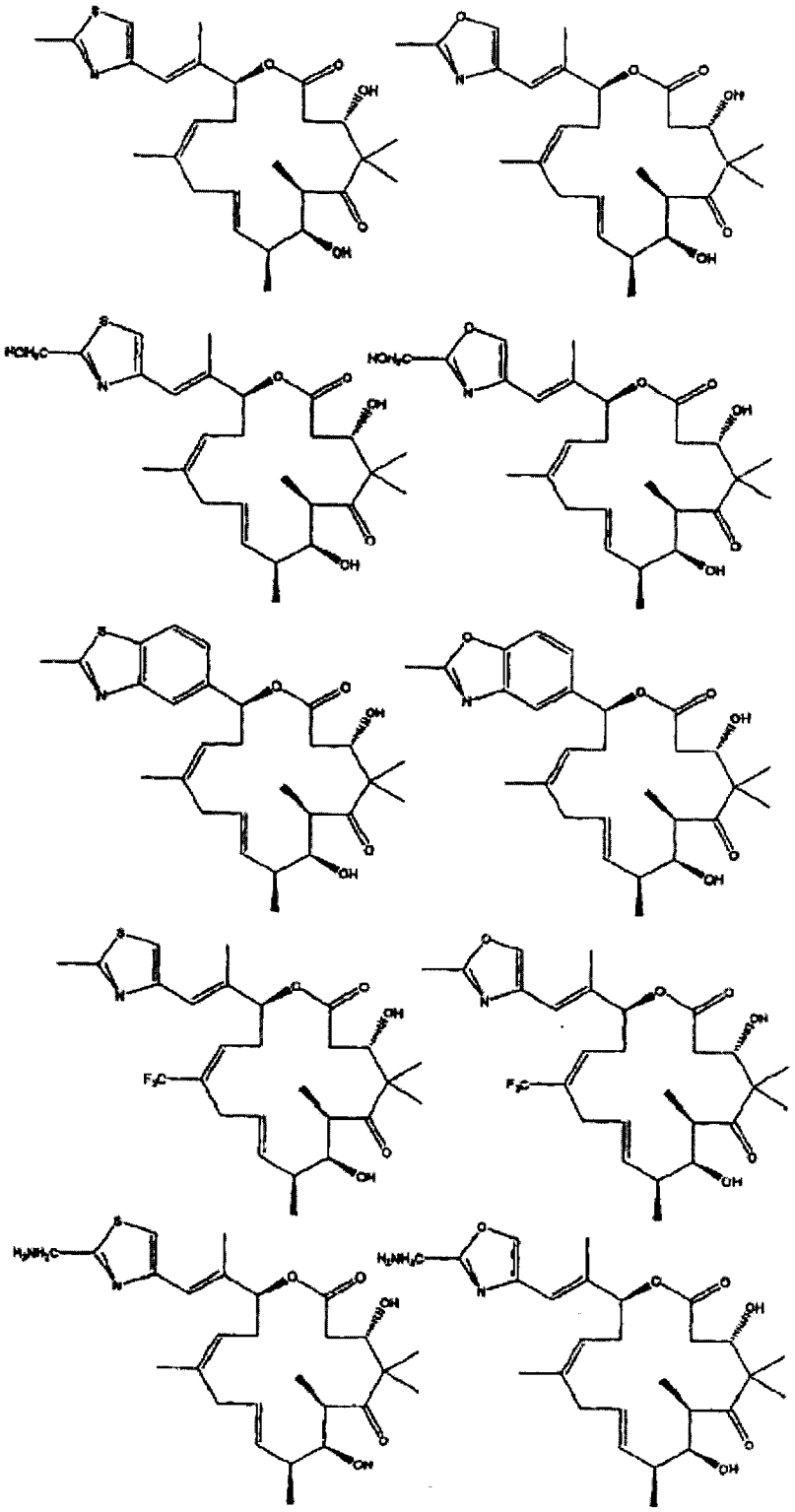
[0132] 在某些实施例中，R_2 为经取代或未经取代的噻唑。在某些实施例中，R_2 为 2- 甲基 - 噻唑 -4- 基。在其他实施例中，R_2 为 2- 羟甲基 - 噻唑 -4- 基。在另外的其他实施例中，R_2 为 2- 氨甲基 - 噻唑 -4- 基。在其他实施例中，R_2 为 2- 硫甲基 - 噻唑 -4- 基。

[0133] 在某些实施例中，R_2 为经取代或未经取代的噁唑。在某些实施例中，R_2 为 2- 甲基 - 噁唑 -4- 基。在其他实施例中，R_2 为 2- 羟甲基 - 噁唑 -4- 基。在另外的其他实施例中，R_2 为 2- 氨甲基 - 噁唑 -4- 基。在其他实施例中，R_2 为 2- 硫甲基 - 噁唑 -4- 基。

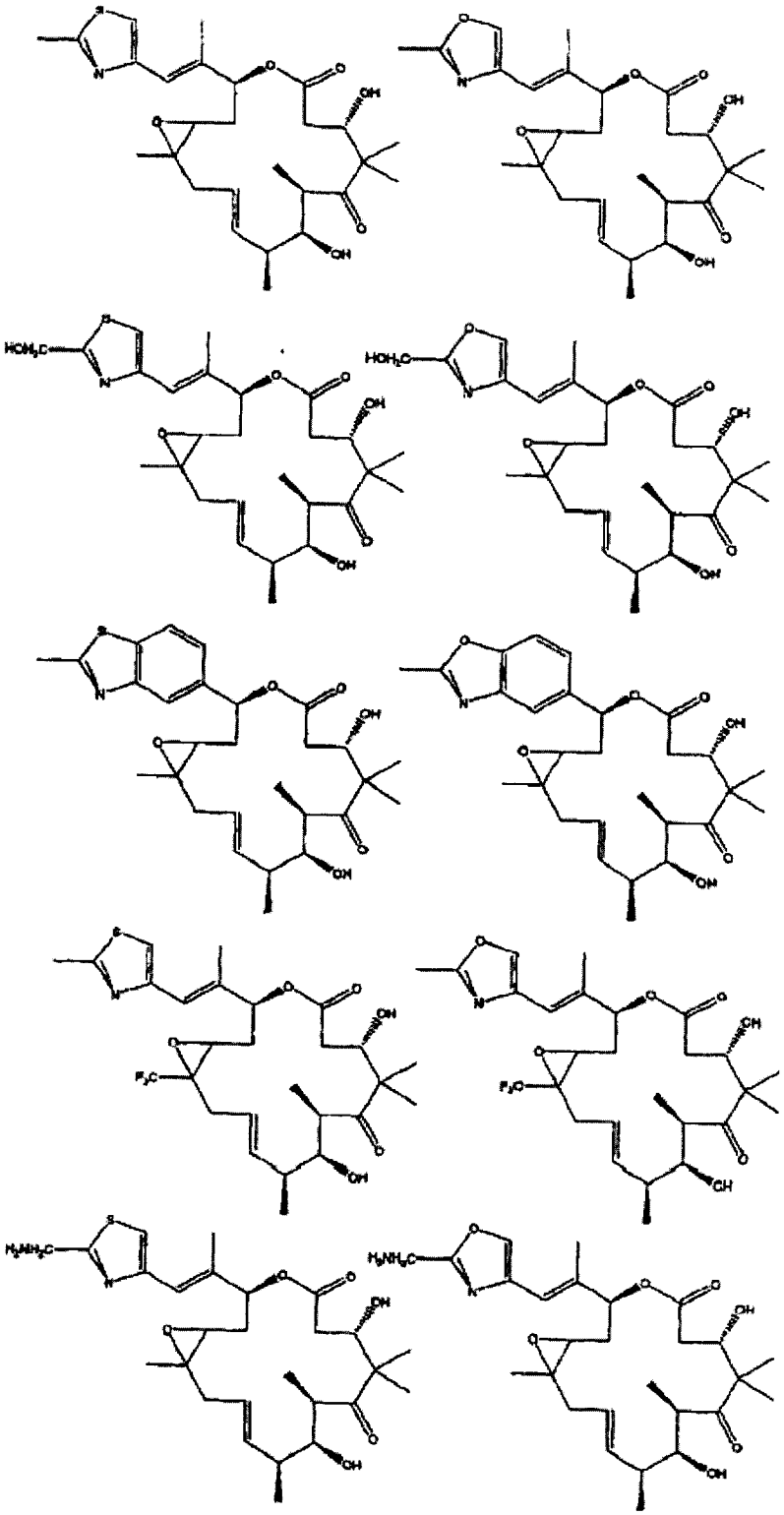
[0134] 在某些实施例中，R_B 为氢、甲基、乙基、$-CF_3$、$-CH_2F$、$-CF_2H$。在某些实施例中，R_B 为甲基。在另外的其他实施例中，R_B 为 $-CF_3$。在某些实施例中，R_B 为氢。在其他实施例中，R_B 为乙基。

[0135] 某些较佳化合物包括（例如）：

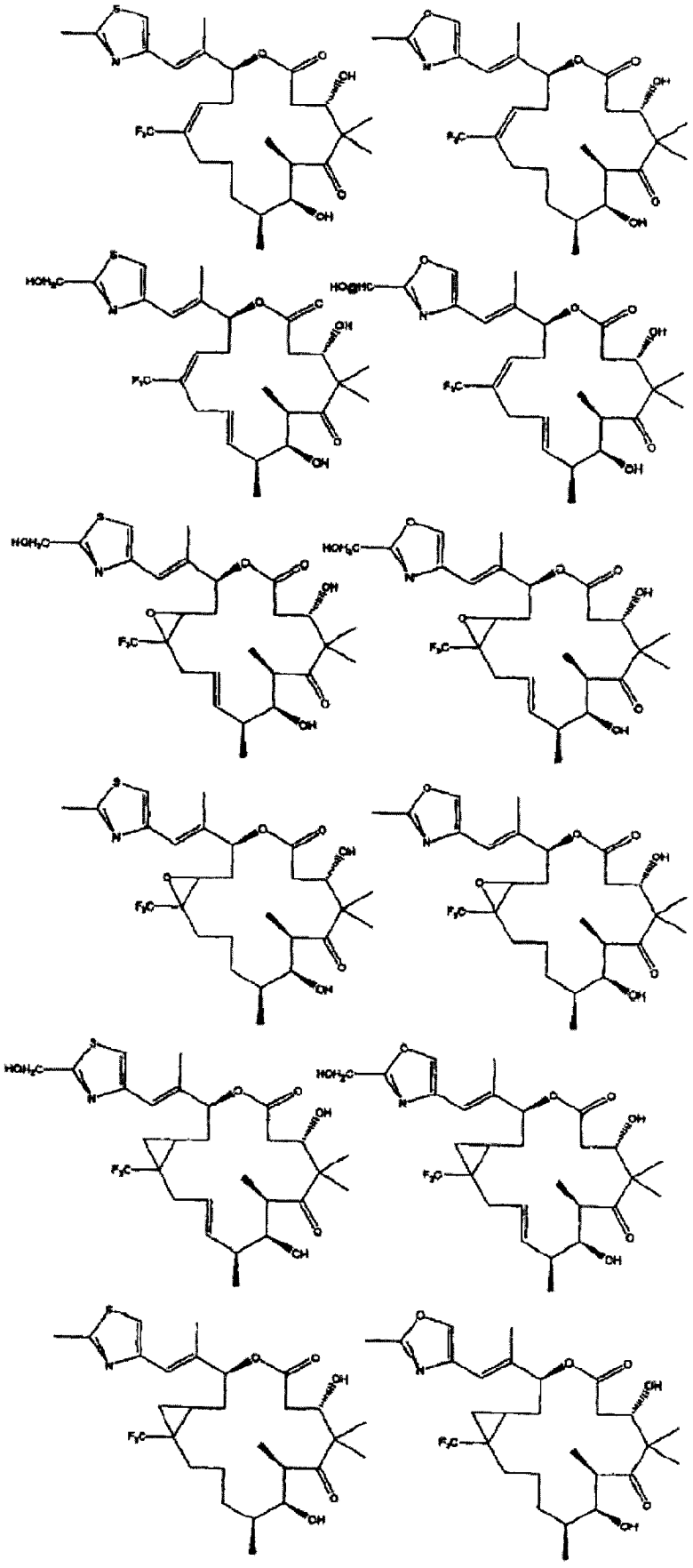
[0136]



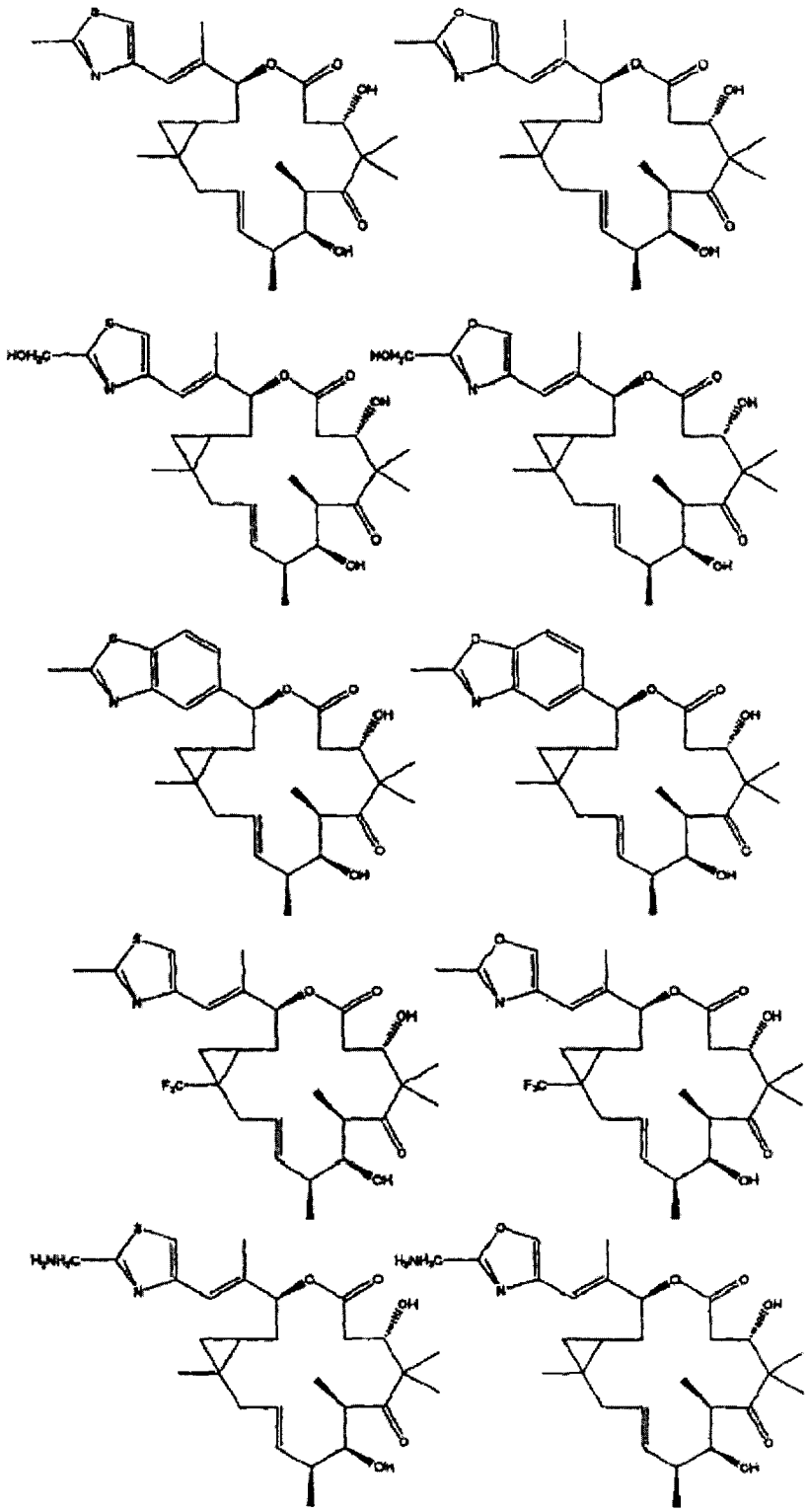
[0137]



[0138]



[0139]



[0140] 本发明化合物包括那些上文具体陈述及此处所阐述的化合物，且部分地由本文其他地方所揭示的各类、亚属及物种来加以图解说明。

[0141] 所属领域的技术人员应了解，本发明的化合物中可存在不对称中心。因此，本发明化合物及其医药组合物可呈单一对映异构体、非对映体或几何异构体形 式，或可呈立体异构体混合物形式。在某些实施例中，本发明化合物可为对映异构纯化合物。在某些其他实施例中，提供立体异构体或非对映体的混合物。

[0142] 应了解，上述化合物的某些类及次类可存在各种同分异构形式。本发明涵盖呈实

质上不含其他异构体的单一异构体形式及或者呈各种异构体的混合物形式（例如，立体异构体的外消旋混合物）的化合物。此外，除非特别说明，否则本发明涵盖 (Z) 及 (E) 两种双键异构体。因此，通常以 (O)、(O')、(I)、(I')、(II) 及 (II') 结构绘示的本发明化合物涵盖彼等其中双键为 (Z) 或 (E) 的结构。在某些较佳实施例中，C12-C13 位置处的双键为顺式或 Z 构型。在某些实施例中，C9-C10 位置处的双键为反式或 E 构型。在另外的其他实施例中，C12-C13 位置处的双键为顺式或 Z 构型，且 C9-C10 位置处的双键为反式或 E 构型。本发明亦涵盖上文所述特定化合物的互变异构体。

[0143] 此外，本发明提供本发明化合物的医药上可接受衍生物，及使用这些化合物、其医药组合物或两者中的任一种与一或多种附加治疗剂的组合治疗一患者的方法。本文所用习语“医药上可接受衍生物”表示该化合物的任一医药上可接受盐、酯或该酯的盐，或任一投与一患者时能够提供（直接或间接）本文另外所述化合物或其代谢物或残余物的其他加合物或衍生物。因此，医药上可接受衍生物尤其包括前药。前药是一化合物的衍生物，其通常具有显著降低的药理活性，其包含一易于在体内去除从而产生作为药理活性物质的母体分子的附加部分。一前药的实例是在体内解离产生一相关化合物的酯。各种化合物的前药及用于衍生该些母体化合物以产生该些前药的材料及方法已为人熟知且适用于本发明。下文将更详细的阐述某些实例性医药组合物及医药上可接受衍生物。

[0144] 尤其令人感兴趣的本发明化合物是具以下性质的化合物：

[0145] • 对维持在体外的癌细胞株或在使用一科学上可接受癌细胞异种移植物模型的动物研究中展现细胞毒性或生长抑制作用；

[0146] • 展示一聚合微管蛋白及稳定微管装配的能力；

[0147] • 对重要器官具有最低水平的毒性；

[0148] • 在科学上可接受的癌细胞异种移植物模型中导致肿瘤消失；

[0149] • 在科学上可接受的癌细胞异种移植物模型中导致肿瘤收缩；

[0150] • 在科学上可接受的癌细胞异种移植物模型中导致肿瘤消失且停止治疗后使肿瘤的复发延迟 / 或不再复发；

[0151] • 在科学上可接受的癌细胞异种移植物模型中展示暂时且可逆的体重减轻并显示治疗作用；

[0152] • 展示优于埃坡霉素 A、B、C 或 D 或紫杉醇的增强的水溶性，或另外或者展示足够高溶解性以致使用比例降低的 chremophor 即可在一水性介质中调配；及 / 或

[0153] • 展示优于埃坡霉素 B、埃坡霉素 D 或紫杉醇的治疗曲线（例如，最佳安全及治疗效果）。

[0154] 上文所述各种埃坡霉素类似物已如本文所例示制备、表征及测试。人们发现 9，10- 去氢 - 埃坡霉素类似物可用于治疗癌症，且尤其是已制备该些化合物并发现其具有上述一或多种期望的特性。

[0155] 合成方法

[0156] 先前已阐述某些埃坡霉素、去氧埃坡霉素及其类似物的合成（参见，美国专利第 6,242,469 号、第 6,284,781 号、第 6,300,355 号、第 6,204,388 号、第 6,316,630 号及第 6,369,234 号；美国专利申请案第 09/797,027 号、第 09/796,959 号及第 10/236,135 号；及 PCT 公开案 WO 99/01124、WO 99/43653 及 WO 01/64650，其整体内容以引用的方式并入本文

中）。由于认识到人们需要经改良或其他合成方法以大规模且高效地产生埃坡霉素、去氧埃坡霉素及其类似物，因而本发明提供一用于合成埃坡霉素、去氧埃坡霉素及其类似物的有效且模式化途径。尽管本文的实例中阐述某些实例性化合物的合成，但应了解，该方法通常适用于产生上述本文所述每一类及次类化合物的类似物及结合物。

[0157] 特别是，本发明的 9,10- 去氢埃坡霉素化合物可使用用于合成埃坡霉素的合成方法以各种方式来制备。在某些实施例中，该些化合物使用一汇集合成途径 制备。举例而言，埃坡霉素可通过制备两个或三个可结合在一起获得预期化合物的中间体来合成。在一实施例中，该些中间体之一是一包含 1 至 9 个碳的酰基部分，且另一中间体包含 10 至 15 个碳，且亦可包含噻唑侧链。埃坡霉素的该等两个大体相等部分可首先利用 C-1 与脱氧 C-15 之间的酯化反应结合在一起。然后，该大环可利用碳 - 碳偶合反应（例如铃木 (Suzuki) 偶合）或闭环置换反应来闭环。在一实施例中，该最终闭环步骤利用闭环置换反应形成 9,10- 双键并关闭该大环来完成。闭环置换反应可使用一有机金属催化剂（例如下文示意图 8 中所示 Grubbs 催化剂）来完成。在某些实施例中，将该 9,10- 双键还原或氧化，或将 9,10- 双键进一步官能化以制备其他埃坡霉素衍生物。

[0158] 在其他实施例中，最终的闭环步骤利用闭环置换反应形成 12,13- 双键并闭合该大环来实施。在某些实施例中，将 12,13- 双键还原或氧化。在其他实施例中，可用大环醛醇缩合反应或大环内酯化反应形成该大环。

[0159] 附图及实例中提供本发明化合物的某些实例性合成方法。所属领域的技术人员应了解，可利用本文所述的合成程序制备各种类似物及衍生物。举例而言，人们可利用 16 元环上的不同保护基团或不同取代基完成诸多合成步骤。

[0160] 医药组合物

[0161] 本发明亦提供一包括上文及此处所阐述化合物中至少之一或其医药上可接受的衍生物的医药制剂，其中该些化合物能抑制癌细胞的生长或杀死癌细胞，且在某些相关实施例中能抑制多抗药性癌细胞的生长或杀死多抗药性癌细胞。在某些实施例中，该医药制剂亦包含增溶剂或乳化剂，例如氢化蓖麻油 (polyoxyl35 蓖麻油）或 Solutol（聚乙二醇 660 12- 羟基硬脂酸酯）。

[0162] 如上所述，本发明提供具有抗肿瘤及抗增生活性的新颖化合物，且因此本发明化合物可用于治疗癌症。因此，本发明另一方面提供医药组合物，其中该些组合物包括本文所述该些化合物中任一种，且视情况包括一医药上可接受的载剂。在某些实施例中，该些组合物视情况进一步包括一或多种附加治疗剂。在某些其他实施例中，该附加治疗剂可为一抗癌剂，如下文更详细讨论。

[0163] 亦应了解，本发明的某些化合物可呈游离治疗用形式或视需要呈其医药上可接受的衍生物形式。根据本发明，一医药上可接受之衍生物包括（但不限于）医药上可接受的盐、酯、此等酯的盐、或任一投与有其需要的患者时能够直接或间接提供一本文所述化合物或其代谢物或残余物的其他加合物或衍生物，例如一前药。

[0164] 本文所用术语“医药上可接受之盐”指那些在合理的医学判断范围内适于接触人类及低级动物的组织而不会产生过度毒性、刺激、过敏反应及类似反应且具有合理效益 / 风险比的盐。此项技术中已熟知各种医药上可接受的盐。举例而言，S.M.Berge 等人在 J.Pharmaceutical Sciences(66 :1-19(1977)，其以引用的方式并入本文）中详细阐述医

药上可接受的盐。该些盐可在本发明化合物的最后分离及纯化期间就地制备，或通过游离碱官能团与适宜有机酸反应来分离。医药上可接受的无毒酸加成盐的实例为与无机酸（例如，盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸及高氯酸）或与有机酸（例如，醋酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸）或通过使用该项技术中所用其他方法（例如离子交换）形成的氨基盐。其他医药上可接受的盐包括己二酸盐、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、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、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 - 乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2- 萘磺酸盐、烟碱酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、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、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对 - 甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐及类似的盐。代表性碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁盐及类似物。其他医药上可接受的盐包括（如适用）使用诸如卤化物、氢氧化物、羧酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、低碳烷基磺酸盐及芳基磺酸盐等平衡离子形成的无毒 铵、季铵及胺阳离子。

[0165] 此外，本文所用术语“医药上可接受的酯”是指在体内水解的酯且包括那些在人体内易于分解获得母体化合物或其盐的酯。适宜的酯基包括（例如）那些衍生自医药上可接受的脂肪族羧酸的酯基，尤其是衍生自链烷酸、链烯酸、环烷酸及烯二酸，其中每一烷基或烯基部分较佳不超过 6 个碳原子。特定酯的实例包括甲酸酯、醋酸酯、丙酸酯、丁酸酯、丙烯酸酯及丁二酸乙酯。

[0166] 而且，本文所用术语“医药上可接受的前药”指本发明化合物的那些在合理的医学判断范围内适合用于接触人类及低等动物的组织而不具有过度毒性、刺激、过敏反应等、效益 / 风险比合理且对其预期用途有效的前药及本发明化合物可能的两性离子形式。术语“前药”指可（例如）通过在血液中水解在体内迅速转化产生上式母体化合物的化合物。全面的讨论提供于 T. Higuchi 及 V. Stella 的 Pro-drugs as Novel Delivery Systems(A. C. S. Symposium Series 的第 14 卷）及 Edward B. Roche 编辑的 Bioreversible Carriers in Drug Design(American Pharmaceutical Association and Pergamon Press,1987) 中，二者皆以引用的方式并入本文中。

[0167] 如上所述，本发明的医药组合物另外包含一医药上可接受的载剂，本文所用医药上可接受的载剂包括适于所期望特定剂型的任一及所有溶剂、稀释剂、或其他液体媒剂、分散或悬浮助剂、表面活性剂、等渗剂、增稠或乳化剂、防腐剂、固体粘结剂、润滑剂及类似物。Remington′ s Pharmaceutical Sciences(第 15 版，E. W. Martin, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1975) 揭示各种用于调配医药组合物的载剂及用于制备其的熟知技术。任一常用载剂介质的使用皆涵盖于本发明范畴内，除非（例如）该常用载剂介质因产生任何不期望的生物效应或以有害方式与该医药组合物的任一其他组分互相作用而与本发明抗癌化合物不相容。可用作医药上可接受载剂的材料的某些实例包括（但不限于）碳水化合物，例如，乳糖、葡萄糖及蔗糖；淀粉，例如，玉米淀粉及马铃薯淀粉；纤维素及其衍生物，例如，羧甲基纤维素钠、乙基纤维素及醋酸纤维素；粉末状 黄蓍胶；麦芽；明胶；滑石粉；氢化蓖麻油；Solutol；赋形剂，例如，可可油及栓剂蜡；油，例如，花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、

橄榄油、玉米油及大豆油；二醇，例如，丙二醇；酯，例如，油酸乙酯及月桂酸乙酯；琼脂；缓冲剂，例如，氢氧化镁及氢氧化铝；海藻酸；无致热原的水；等渗盐水；林格（Ringer）溶液；根据配方设计师的判断，该组合物中亦可含有乙醇及磷酸盐缓冲液及其他无毒相容润滑剂（例如，月桂基硫酸钠及硬脂酸镁）及着色剂、释放剂、涂布剂、甜味剂、矫味剂及加香剂、防腐剂及抗氧化剂。

[0168] 化合物及医药组合物的用途

[0169] 本发明进一步提供用于抑制肿瘤生长及/或肿瘤转移的方法。在某些相关实施例中，本发明提供一种通过抑制肿瘤多抗药性癌细胞的肿瘤生长及/或肿瘤转移治疗癌症的方法。该方法涉及将一治疗有效量的该化合物或其医药上可接受的衍生物投与一有其需要的患者（包括但不限于人类或动物）。在某些实施例中，尤其是关于治疗包括多抗药性癌细胞的癌症的实施例中，该治疗有效剂量为足以杀死多抗药性癌细胞或抑制其生长的量。在某些实施例中，本发明化合物可用于治疗实体肿瘤。

[0170] 本发明化合物及医药组合物可用于治疗或预防包括增生性疾病（例如，癌症）、自身免疫性疾病（例如，类风湿性关节炎）及传染病（例如，细菌、真菌等）在内的任何疾病或状况。该些化合物及医药组合物可投予动物，较佳哺乳动物（例如，驯养家畜、猫、狗、小鼠、大鼠），且更佳为人类。可使用任一投与方法将医药组合物的化合物投递给动物。在某些实施例中，该化合物或医药组合物可以非经肠方式投与。

[0171] 另一方面，根据本发明的治疗方法，通过用本发明化合物或组合物接触肿瘤细胞可杀死肿瘤细胞或抑制其生长，如本文所阐述。因此，本发明又一方面提供一种治疗癌症的方法，该方法包括以达成期望结果所需量及时间将一治疗有效量的本发明化合物或包含一本发明化合物的医药组合物投予有其需要的患者。在本发明的某些实施例中，本发明化合物或医药组合物的“治疗有效量”是指可有效杀死肿瘤细胞或抑制其生长的量。根据本发明的方法，该些化合物及组合物可使用能有效杀死肿瘤细胞或抑制其生长的任一量及任一投与途径来投与。因此，本文所用表达法“有效杀死肿瘤细胞或抑制其生长的量”是指足以杀死肿瘤细胞或抑制其生长的药剂量。视受治疗者物种、年龄及全身状况、感染严重程度、具体抗癌剂、其投与模式及等而受治疗者与受治疗者之间所需确切量将有所不同。本发明的抗癌化合物较佳调配成易于投与且剂量一致的单位剂型形式。本文所用表达法“单位剂型”是指适用于欲治疗患者的抗癌剂的物理离散单位。然而，应了解，本发明化合物及组合物的总日用量应由主治医生在合理的医学判断范围内决定。任一具体患者或有机体的特定治疗有效剂量水平应根据各种因素而定，包括所治疗疾病及疾病严重程度；所用特定化合物的活性；所用特定组合物；患者的年龄、体重、一般健康状况、性别及饮食；所用特定化合物的投与时间、投与途径及排泄速度；治疗持续时间；与所用特定化合物组合或同时使用的药物；及医疗技术中熟知的类似因素。

[0172] 此外，以期望剂量与一适宜医药上可接受的载剂调配后，根据所治疗传染病的严重程度，本发明的医药组合物可以下列方式投与人类及其他动物：经口、经直肠、非经肠、脑池内、阴道内、腹膜腔内、外敷（以粉剂、软膏或滴剂形式）、经口腔（以经口或鼻喷雾形式）或类似投与方式。在本发明的某些实施例中，本文所述的本发明化合物可通过与水溶性螯合剂或水溶性聚合物（例如，聚乙二醇、聚（1-谷氨酸）或聚（1-天冬氨酸））结合来调配，如美国专利第5,977,163号中所阐述，其整体内容以引用的方式并入本文中。在某些实施

例中，本发明化合物可以每天足以递送下列的剂量水平以经口或非经肠方式一天一次或多次投与以获得期望治疗效果：约 0.001mg/Kg 至约 100mg/Kg 受治疗者体重，自约 0.01mg/kg 至约 50mg/kg，较佳自约 0.1mg/kg 至约 40mg/kg，较佳自约 0.5mg/kg 至约 30mg/kg，自约 0.01mg/kg 至约 10mg/kg，自约 0.1mg/kg 至约 10mg/kg，且更佳自约 1mg/kg 至约 25mg/kg。所期望剂量可以每隔一天、每隔两天、每周、每两周、每三周或每四周递送一次来递送。在某些实施例中，所期望剂量可用 多次投与（例如，两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或十次投与）来递送。

[0173] 用于口服投与的液体剂型包括（但不限于）医药上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、浆液及酏剂。除该些活性化合物之外，该些液体剂型可包含该项技术中常用的惰性稀释剂例如水或其他溶剂、增溶剂及乳化剂例如，乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、醋酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3- 丁二醇、二甲基甲酰胺、油（特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油及芝麻油）、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇及山梨糖醇酐脂肪酸酯及其混合物。除惰性稀释剂之外，该口服组合物亦可包括佐剂，例如，润湿剂、乳化及悬浮剂、甜味剂、矫味剂及加香剂。

[0174] 可根据熟知技术用适宜分散或润湿剂及悬浮剂来调配可注射制剂，例如，无菌可注射水性或油性悬浮液。该无菌可注射制剂亦可为于无毒的医药上可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液、悬浮液或乳液，例如溶于 1,3- 丁二醇中的溶液。该些可使用的可接受媒剂及溶剂尤其为水、林格溶液、U.S.P. 及等渗氯化钠溶液。此外，通常使用无菌固定油作为溶剂或悬浮媒介。为此，可使用包括合成甘油单酯或甘油二酯在内的任一温和固定油。此外，在可注射制剂中可使用诸如油酸等脂肪酸。

[0175] 该些可注射调配物可（例如）通过经由细菌截留过滤器过滤或通过纳入杀菌剂来灭菌，该些杀菌剂呈可在使用前溶于或分散于无菌水或其他无菌可注射媒介中的无菌固体组合物形式。

[0176] 为了延长药物的作用，通常自皮下或肌肉注射来减缓药物的吸收较为理想。此可通过使用水溶性差的晶体或无定形材料的液态悬浮液来达成。于是，药物的吸收速度取决于其溶解速度，而其溶解速度又取决于晶体大小及晶形。或者，可通过将该药物溶解或悬浮于一油媒剂中来达成非经肠投与药物的延时吸收。可通过在生物可降解聚合物（例如，聚交酯 - 聚乙醇酸交酯）中形成药物的微囊基质来制备可注射储积形式。根据药物与聚合物的比例及所用特定聚合物的性 质，可控制药物释放的速度。其他生物可降解聚合物的实例包括聚（原酸酯）及聚酐类。亦可通过将药物截留于与身体组织相容的脂质体或微乳液中来制备储积可注射调配物。

[0177] 用于直肠或阴道投与的组合物较佳为栓剂，其可通过将本发明化合物与适宜无刺激性赋形剂或载剂（例如可可油、聚乙二醇或栓剂蜡）进行混合来制备，该些赋形剂或载剂在室温下为固体但在体温下为液体，因而其可在直肠或阴道腔内融化并释放该活性化合物。

[0178] 用于口服投与的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、粉末及颗粒。在该些固体剂型中，活性化合物与至少一惰性且医药上可接受的赋形剂或载剂（例如，柠檬酸钠或磷酸氢钙）及 / 或以下混合：a) 填充剂或扩充剂，例如，淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇及硅酸，b) 粘合剂，例如，羧甲基酸纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖及阿拉伯胶，c) 保湿剂，

例如甘油，d) 崩解剂，例如，琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐及碳酸钠，e) 溶液阻滞剂，例如，石蜡，f) 吸收促进剂，例如，季铵化合物，g) 润湿剂，例如，鲸蜡醇及甘油单硬脂酸酯，h) 吸收剂，例如，高岭土及膨润土及 i) 润滑剂，例如，滑石粉、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠，及其混合物。在为胶囊、片剂及丸剂的情况下，该剂型亦可包括缓冲剂。

[0179] 在使用诸如乳糖 (lactose 或 milk sugar) 及高分子量聚乙二醇等赋形剂的软及硬质填充明胶胶囊中，亦可使用类似类型的固体成份作为填充剂。固体剂型的片剂、糖衣丸、胶囊、丸剂及颗粒可用包膜及包壳制备，例如肠溶包膜及医药调配技术中熟知的其他包膜。其可视情况包括遮光剂且亦可为视情况以一延迟方式仅（或优先）在肠道的某一部分释放活性成份的组合物。可使用的包埋成份的实例包括聚合物质及蜡。在使用诸如乳糖 (lactose 或 milk sugar) 及高分子量聚乙二醇等赋形剂的软及硬质填充明胶胶囊中亦可使用类似类型的固体成份作为填充剂。

[0180] 该些活性化合物亦可为含有一或多种上述赋形剂的微囊形式。固体剂型的 片剂、糖衣丸、胶囊、丸剂及颗粒可用包膜及包壳制备，例如肠溶包膜、释放控制包膜及医药调配技术中熟知的其他包膜。在该些固体剂型中，活性化合物可与至少一诸如蔗糖、乳糖或淀粉的惰性稀释剂混合。除惰性稀释剂之外，在正常情况下该些剂型亦可包含除惰性稀释剂以外的额外物质，例如，片剂润滑剂及其他片剂助剂（例如，硬脂酸镁及微晶纤维素）。在为胶囊、片剂及丸剂的情况下，该些剂型亦可包含缓冲剂。其可视情况包含遮光剂且亦可为视情况以一延迟方式仅（或优先）在肠道的某一部分释放该些活性成份释放的组合物。可利用的包埋成份的实例包括聚合物质及蜡。

[0181] 用于外敷或经皮投与本发明化合物的剂型包括软膏、膏剂、乳霜、乳液、凝胶、粉末、溶液、喷雾剂、吸入剂或贴片。该活性组份可在无菌条件下与一医药上可接受载剂及任一所需防腐剂及所需缓冲剂混合。眼用调配物、滴耳剂及滴眼剂亦涵盖于本发明范畴内。此外，本发明涵盖使用皮肤贴片，其具有以控制方式将一化合物递送至身体的附加优点。该些剂型可通过将化合物溶解或分散于适宜媒介中来制备。亦可使用吸收促进剂来增加该化合物穿过皮肤的通量。速率可通过提供一速率控制膜或通过将该化合物分散于一聚合物基质或凝胶中来控制。

[0182] 如上所述，本发明化合物可用作抗癌剂，且因此可通过使肿瘤细胞死亡或抑制肿瘤细胞的生长用于治疗癌症。一般而言，本发明抗癌剂可用于治疗癌症及其他增生性疾病，包括（但不限于）乳腺癌、脑癌、皮肤癌、子宫颈癌、结肠及直肠癌、白血病、肺癌、黑素瘤、多发性骨髓瘤、非霍杰金氏淋巴瘤 (non-Hodgkin's lymphoma)、卵巢癌、胰癌、前列腺癌及胃癌，仅列举少数例子。在某些实施例中，本发明抗癌剂可有效抵抗白血病细胞及黑素瘤细胞，且因此可用于白血病（例如，骨髓性、淋巴细胞、前髓细胞、骨髓细胞及淋巴母细胞白血病，无论为急性或为慢性形式）及恶性黑素瘤的治疗。在另外的实施例中，本发明抗癌剂可有效抗实体肿瘤并亦可杀死多抗药性细胞 (MDR 细胞）及 / 或抑制其生长。在某些实施例中，本发明抗癌剂可有效抵抗对其他熟知抗肿 瘤药产生抗性或发现对其他熟知抗肿瘤药在临床上不响应的癌症。在其他实施例中，本发明抗癌剂可有效抵抗对其他熟知抗肿瘤微管稳定剂（例如，紫杉醇）具有抗性的癌症。

[0183] 亦应了解，本发明化合物及医药组合物可用于组合治疗，换言之，该些化合物及医

药组合物可与一或多种其他期望的疗法或医疗程序同时、先于其或在其之后实施。在一组合疗法中采用的特定疗法组合（疗法或程序）应考虑预期疗法及/或程序的相容性及欲达成的期望治疗效果。亦应了解，所用疗法对于同一疾病可达成期望效果（例如，本发明化合物可与另一抗癌剂同时投与），或其可达成不同的效果（例如，控制任何副作用）。

[0184] 举例而言，可与本发明抗癌剂组合使用的其他疗法及抗癌剂包括外科手术、放射疗法（仅举几个实例，γ-放射疗法、中子束放射疗法、电子束放射疗法、质子疗法、近距放射疗法及全身放射性同位素疗法）、内分泌疗法、生物反应调节剂（干扰素、介白素及肿瘤坏死因子(TNF)，仅举几个例子）、高温疗法及冷冻疗法、消弱任何副作用的试剂（例如，止吐药）及其他批准的化疗药物，包括（但不限于）烷基化药物（氮芥、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、美法仑(Melphalan)、异环磷酰胺）、抗代谢药物（甲氨蝶呤(Methotrexate)）、嘌呤拮抗剂及嘧啶拮抗剂(6-巯基嘌呤、5-氟尿嘧啶、阿糖胞苷、二氟胞嘧啶）、纺锤体毒素（长春碱(Vinblastine)、长春新碱(Vincristine)、长春瑞宾(Vinorelbine)、紫杉醇、多西他赛）、鬼臼毒素(podophyllotoxin)（表鬼臼毒素(Etoposide)、伊立替康(Irinotecan)、拓扑替康(Topotecan)）、抗生素（阿霉素(Doxorubicin)、博莱霉素(Bleomycin)、）丝裂霉素(Mitomycin)）、亚硝基脲（亚硝基脲氮芥(Carmustine)、罗氮芥(Lomustine)）、无机离子（顺铂、卡铂）、酶（天冬酰胺酶）及激素（他莫昔芬(Tamoxifen)、亮丙瑞林(Leuprolide)、氟利坦(Flutamide)及甲地孕酮(Megestrol)），仅举几个例子。关于最新疗法的更全面讨论参见http://www.nci.nih.gov/、http://www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm上的FDA认可的肿瘤药物列表及The Merck Manual（第17版，1999年），其整体内容皆以引用的方式并入本文中。

[0185] 本发明另一方面提供一药物封包或套组，其包括一或多个填充有本发明医药组合物的一或多种成份的容器，且在某些实施例中包括用作一组合疗法的额外经批准治疗剂。视情况，该（些）容器可附带有一监管药物制造、使用及销售的政府机构所规定形式的公告，该公告反映出政府机构已批准该药物的制造、使用及销售用于人类。

[0186] 等效物

[0187] 下文的代表性实例意欲帮助阐述本发明，而不欲且不应解释为限制本发明范畴。实际上，除那些所示及本文所阐述实施例外，所属领域的技术人员自本文献的全部内容（包括下文实例及本文所引用的科学参考文献及专利文献）可容易地看出本发明的各种修改形式及其若干其他实施例。应进一步了解，所引用参考文献的内容皆以引用的方式并入本文中以有助于阐述此项技术的状况。以下实例包含适合实践本发明各种实施例及其等效内容的重要的额外信息、范例及指导原则。

[0188] 实例

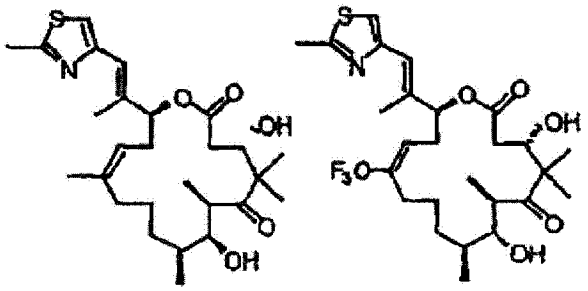
[0189] 实例1：合成9,10-去氢-12,13-去氧埃坡霉素

[0190] 该实施例阐述反-9,10-去氢-12,13-去氧埃坡霉素B、26-三氟-反-9,10-去氢-12,13-去氧埃坡霉素B、26-三氟-12,13-去氧埃坡霉素B及12,13-去氧埃坡霉素B的合成及该些化合物的生物检验。

[0191] 在已知经氟取代的其他药物的药物动力学及化疗指数增加的情况下，制备并测试埃坡霉素的氟化衍生物(Ojima, I. ;Inoue, T. ;Chakravarty, S. ;J. Fluorine Chem. 1999, 97 ;Newman, R. A. ;Yang, J. ;Finlay, M. R. V. ;Cabral, F., Vourloumis, D. ;Stephens, L. C ;

Troncoso, P. ;Wu, X. ;Logothetis, C. J. ;Nicolaou, K. C ;Navone, N. M. Cancer Chemother. Pharmacol. 2001, 48, 319-326 ;每一皆以引用的方式并入本文中)。

[0192]

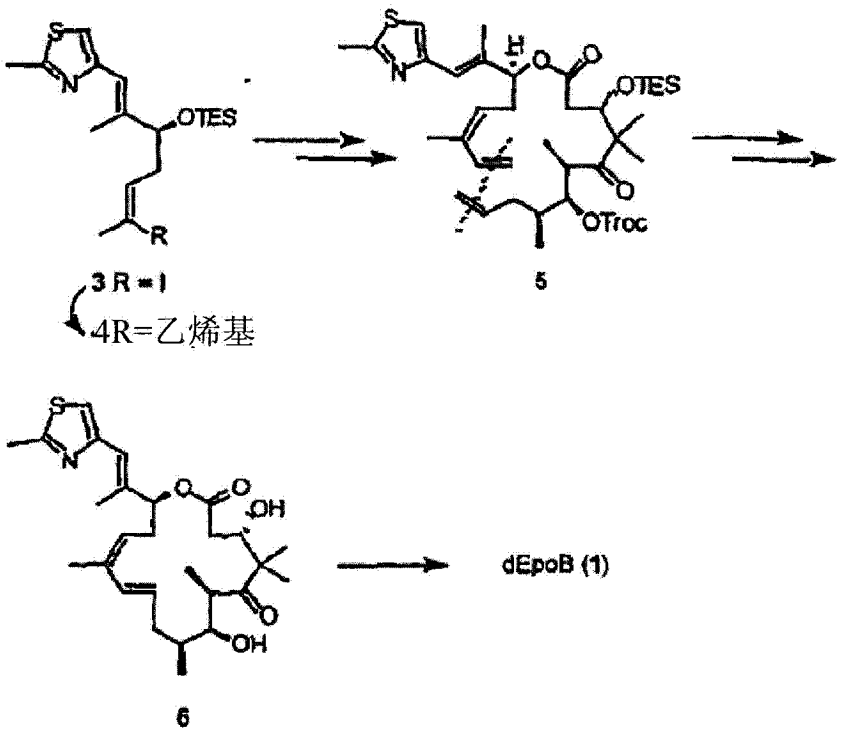


1 [16]dEpoB 2 26-F_3-[16]dEpoB

[0193] 为获得化合物 2,我们设法利用我们实验室最近报导的高度汇集方法通过先合成埃坡霉素 490(6,去氢去氧 EpoB) 来合成 dEpoB(1,方案 3)(Biswas, K. ;Lin, H. ; Njardarson, J. T ;Chappell, M. D. , Chou, T. C. , Guan, Y. ;Tong, W. P. , He, L. ;Horwitz, S. B. , Danishefsky, S. J. J. Am. Chem. Soc 2002, 124(33) ;9825-9832 ;Rivkin, A. ;Njardarson, J. T. ;Biswas, K ;Chou, T. C. ;Danishefsky, S. J. J. Org. Chem. 2002, 67, 7737-7740 ;每一皆以引用的方式并入本文中)。在此合成中,通过乙烯基碘化物前体 3 与三-正丁基乙烯基锡烷的 Stille 立体定向偶合将一侧接乙烯基引入化合物 4。闭环置换后去保护,获得化合物 6,然后化合物 6 可通过区域选择性二酰亚胺还原转变为 dEpoB(I)。

[0194] 方案 3. 埃坡霉素 490 的合成

[0195]



3 R = I

4R=乙烯基

5

6

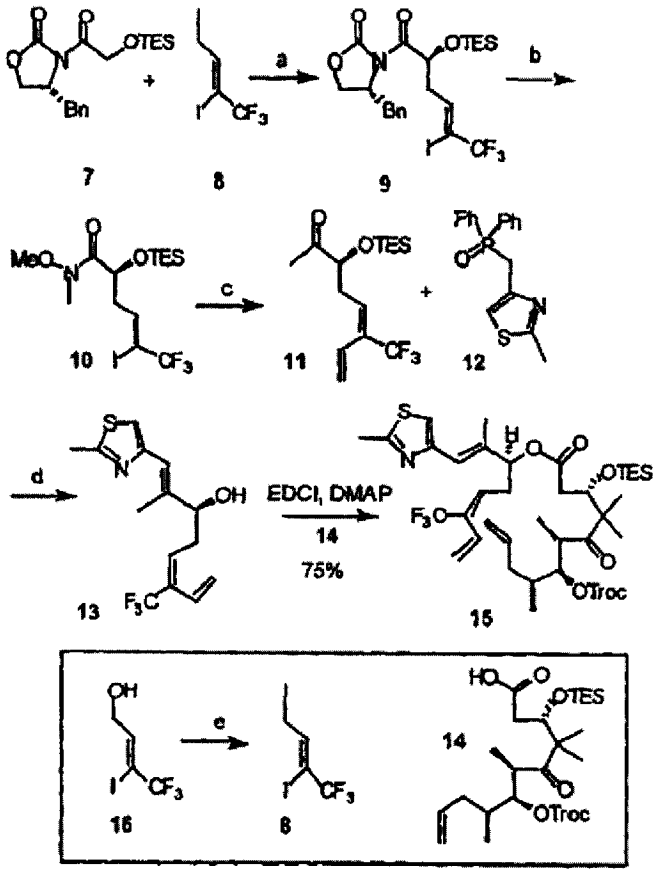
dEpoB (1)

[0196] 首先关注 15 的合成(方案 4)。先前报导的烯醇化锂 7(Chappell, M. D. ; Stachel, S. J. ;Lee, C. B. ;Danishefsky, S. J. Org. Lett. (2000, 2(11), 1633-1636) ;以引用的方式并入)与碘化物 8(用在二氯甲烷中的 TMSI 自已知醇 16 合成)的烷基化反应生成 9,其产率为 78%且具有高非镜像立体选择性(> 25 : 1de)。化合物 9 通过三个步骤变成所示的 10。

人们曾试图将甲基溴化镁加成至 10 的 Weinreb 酰胺键上，但未能成功。该反应之所以失败是由于存在亚碘烷基键。然而，可通过改变该两个 C-C 键形成步骤的顺序来达到我们的目标。因此，可在 10 与乙烯基三丁基锡在 Stille 条件下反应后，添加甲基格氏试剂 (Grignard reagent)，获得所期望的酮 11。在酮 11 与氧化膦 12 缩合后，随后将三乙基甲硅烷醚去保护，获得高产率的片段 13。所获得的 13 与 C1-C10 酸片段进行酯化反应 (Biswas, K. ;Lin, H. ; Njardarson, J. T. ;Chappell, M. D. , Chou, T. C. , Guan, Y ;Tong, W. P. , He, L. ;Horwitz, S. B. , Danishefsky, S. J. J. Am. Chem. Soc. 2002, 124(33) ;9825-9832 ;Rivkin, A. ;Njardarson, J. T. ;Biswas, K ;Chou, T. C. ;Danishefsky, S. J. J. Org. Chem. 2002, 67, 7737-7740 ;以引用的方式并入本文中)，获得期望的 15，产率为 75%（方案 4)。

[0197] 方案 4. RCM 前体 15 的合成

[0198]

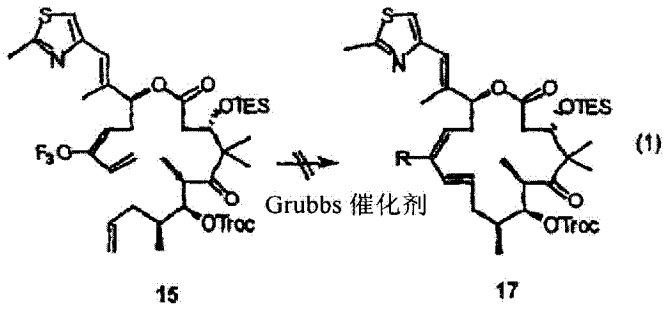


(a) LHMDS, –78 °C, 78%; (b) i) HOAc:THF:H_2O (3:1:1); ii) CH_3ONHCH_3, AlMe$_3$; iii) TESCl, 咪唑, DMF, 79% 总产率 (c) 乙烯基三丁基锡, Pd(dba)$_2$, DMF, 80 °C, 3h 43%; ii) MeMgBr, 0 °C, 94%; (d) i) *n*-BuLi, THF, –78 °C, 30 min., ii) 12, –78 °C to rt, 81%; iii) HOAc:THF:H_2O (3:1:1), 94%; (e) TMSI, CH_2Cl_2, 0 °C, 92%

[0199] 遗憾的是，当试图在二氯甲烷中用第二代 Grubbs 催化剂 (Reviews ;Grubbs, R. H. ;Miller, S. J. ;Fu, G. C. Acc. Chem. Res. 1995, 28, 446 ;Trnka, T. M ;Grubbs, R. H. Acc. Chem. Res. 2001, 34, 18 ;Alkene Metathesis in Organic Chemistry(编 辑 ;Fürstner, A. ;Springer, Berlin, 1998) ;F ürstner, A. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2000, 39, 3012 ; Schrock, R. R. Top. Organomet. Chem. (1998, 1, 1) ;每一皆以引用的方式并入本文中）实施 15 的闭环置换反应时，主要导致起始材料发生明显的二聚反应（方程式 1)。由于已知 RCM

极适合 5 → 6 的相关环境，因此我们自然地将 15 情况下的失败归因于 C_{12} 上三氟甲基的存在。

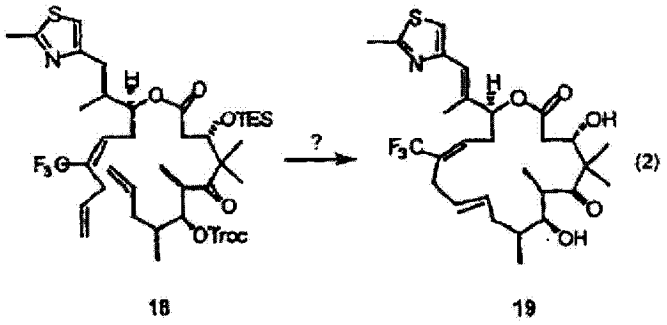
[0200]



（1）

[0201] 人们预测，所存在 26- 三氟取代基对期望反应的不利影响可通过在 RCM 反应中心与三氟甲基之间添加一个碳间隔基来缓解。因此，我们通过 18 的闭环置换合成 19（方程式 2），此会在将该三氟甲基置于一含有一船型 (1,4)- 二烯的 17 元环环境中。

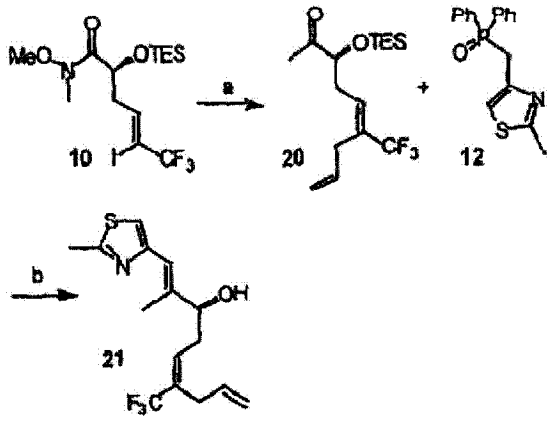
[0202]



[0203] 关于 19 的合成程序从制备化合物 21 开始，21 对应于我们所提出 RCM 底物的 O- 烷基部分（方案 5）。从 10 的烯丙基化开始，这次是在所示的游离基反应条件下实施 (Keck, G.E. ;Yates, J.B. J.Am.Chem.Soc.1982,104,5829 ;review :Curran, D.P.Synthesis,1988, 第 1 部分，第 417-439 页 ;第 2 部分，第 489 页 ;每一皆以引用的方式并入本文中）。在该转化后，使烷基化产物与甲基溴化镁反应，由此获得所需的酮 20。使该化合物与氧化膦 12 缩合，随后将三乙基甲硅烷醚去保护，以高产率获得 21。

[0204] 方案 5. 醇片段 21 的合成

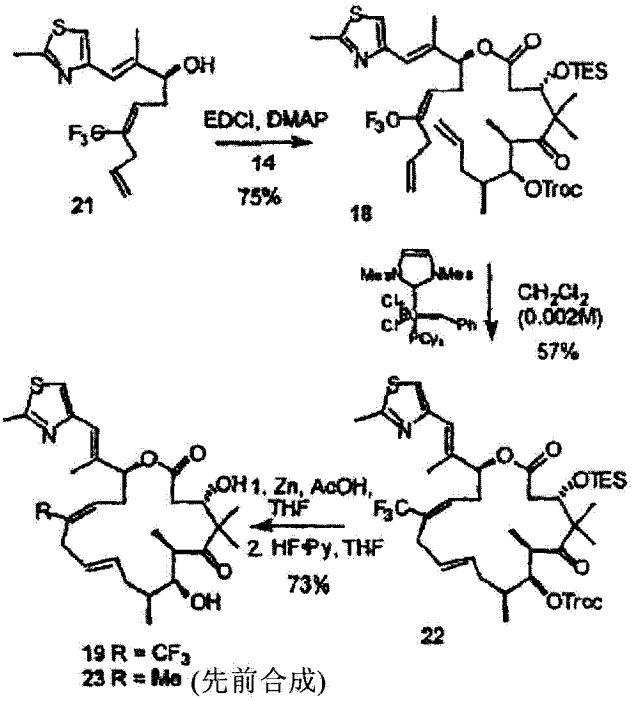
[0205]



[0206] 21 与 C1-C10 酸片段 14 发生酯化反应，获得产率为 75％的所提出 RCM 前体 18（方案 6）。令人高兴的是，在该情况下，可使用第二代 Grubbs 催化剂在二氯甲烷中完成 18 的闭环置换反应。如同 5 → 6 的转换，该反应只提供反式异构体 22，产率为 57％。最后，用锌及醋酸以还原方式断开三氯乙氧羰基保护基团，随后将 TES 醚用 HF- 吡啶去保护，获得在 C_{12} 上含有一个三氟甲基官能团的期望化合物 19，尽管是在 17 元环系列的环境中。

[0207] 方案 6. 27-F_3-ddEpoB(19) 的合成

[0208]



[0209] 评价所合成 19 的细胞毒性活性。如下表 1-1 所示，先前所报导 [17]ddEpoB(23) 与 27-F_3-[17]ddEpoB(19) 的直接比较表明，该新颖的全氟化化合物具有同样高的细胞毒性效能。

[0210] 表 1-1. 对肿瘤细胞株 [a] 的体外细胞毒性 (IC_{50})

[0211]

化合物	CCRF-CEM ($IC_{50}(\mu M)^{\alpha}$)	CCRF-CEM/VBL ($IC_{50}(\mu M)^{\alpha}$)
27-F_3-[17]ddEpoB(**19**)	0.068	0.191
[I7]ddEpoB(**23**)	0.040	0.126
[16]ddEpoB(**6**)	0.020	0.068

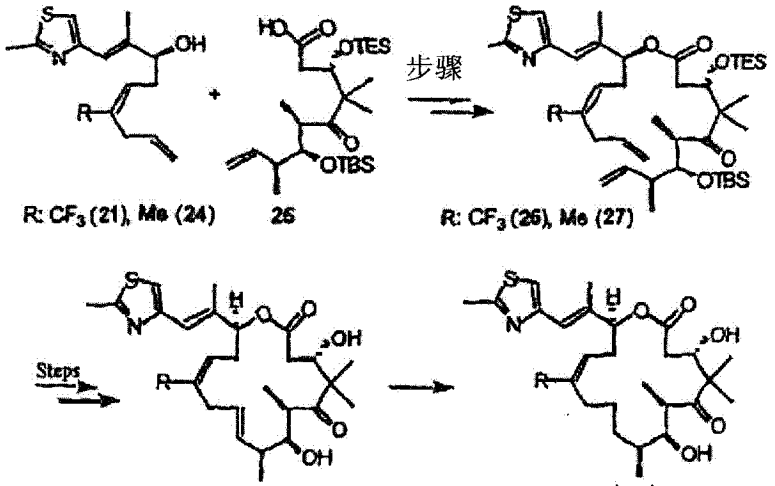
[0212] 72 小时抑制后实施 XTT 分析。CCRF-CEM 是人类 T- 细胞急性淋巴性白血病细胞株。CCRF-CEM/$_{VBL100}$、CCRF-CEM/$_{VM1}$ 及 CCRF-CEM/$_{Taxol}$ 细胞株皆超表达 P- 糖蛋白并对 MDR 相关的抗癌剂展示一多重抗药性表现型 (Ojima, I. ;Inoue, T. ;Chakravarty, S. ;J. Fluorine Chem. 1999, 97 ;Newman, R. A. ;Yang, J. ;Finlay, M. R. V. ;Cabral, F., Vourloumis, D. ; Stephens, L. C ;Troncoso, P. ;Wu, X. ;Logothetis, C. J. ;Nicolaou, K. C. ;Navone, N. M. cancer Chemother Pharmacol. 2001, 48, 319-326 ;每一皆以引用的方式并入本文中)。

[0213] 尽管三氟甲基等比容取代 (isosteric substitution) 对总的细胞毒性活性几乎没有影响，但在小鼠血浆中的代谢性降解研究初步数据表明 :19 明显比母体 23 更稳定。将埃坡霉素 19 及 23 暴露于裸鼠及人血浆中，23 在 30 分钟内降解，而埃坡霉素 19 则大部分保持完整。由于药物动力学问题可能在使用任何埃坡霉素作为药物的实际应用中皆是关键所在，因此认为该发现相当鼓舞人心。

[0214] 可通过与 27-F_3-[17]ddEpoB(19) 的合成中所用方法有关的高度汇集方法完成 26-F_3-dEpoB(2) 的合成。因此，具类似组成的片段可作为关键的结构单元 (方案 7)。预计酰基部分 25 可作为聚丙酸酯结构域且烷基部分 21 或 24 可如先前在开始处所述来制备。两个片段 21(24) 与 25 的结合可通过酯化反应开始并通过随后的闭环置换反应结束。最后，断开保护基团可提供所期望的类似物 28 及 29。以化学选择性方式还原 28 及 29 的 9,10- 烯烃将提供 dEpoB(1) 及所期望的 26-F_3-12,13- 去氧 EpoB(2)。

[0215] 方案 7

[0216]



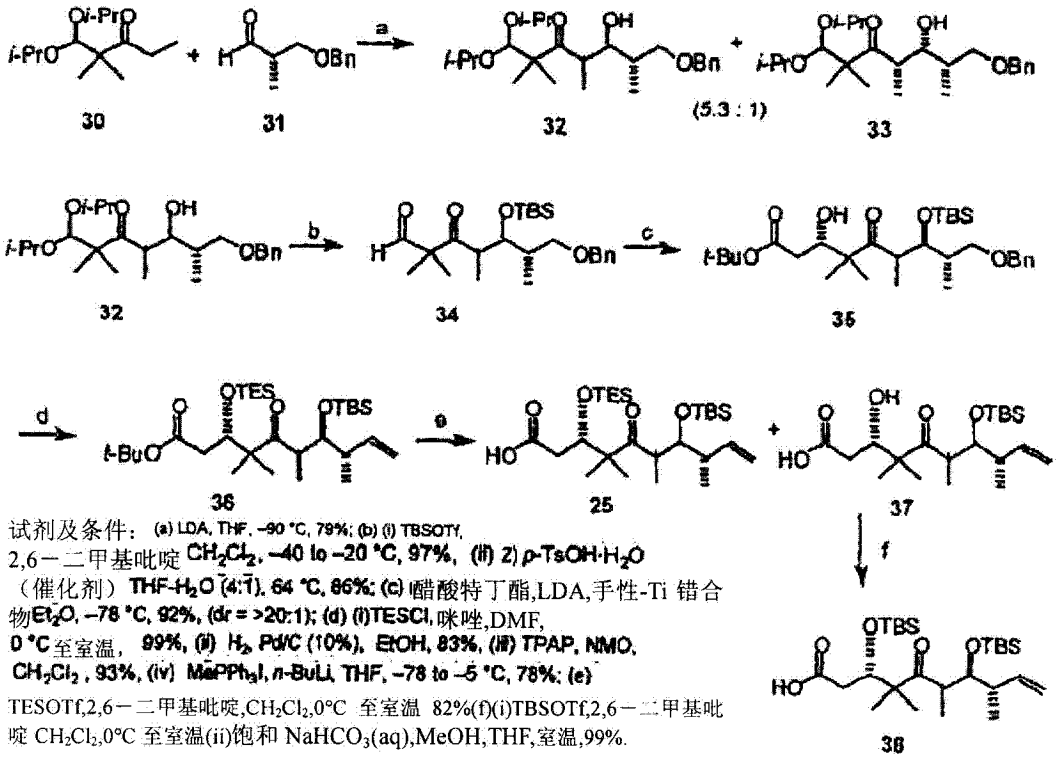
反-9,10-去氢-12,13-去氧 EpoB(**28**) 26-F_3-反-9,10-去氢-12,13-去氧 EpoB (**29**)

12,13- 去氧 EpoB (**1**)
26-F_3-12,13-去氧 EpoB (**2**)

[0217] 1 与 2 的合成从制备酰基部分 25 开始。将先前报导的酮 30 与易于获得的醛 31 进行醛醇缩合反应。当用 31 将“锂化”30 去质子化并反应时，平稳的缩合反应获得 5.3 ： 1 的醛醇产物 32 与 33 的混合物。大部分非对映异构体 32 可容易地通过快速层析法分离并作为 TBS 甲硅烷醚保护起来。二异丙基缩醛基团在酸催化下水解，获得酮醛 34，为第二个醛醇缩合反应创造条件。用新的醛 34 作为偶合配偶体实施上述“钛化”特丁酯方法后，以高非镜像立体体选择性 (dr ＞ 20 ： 1) 及产率 (86％) 获得所期望的醛醇产物 35。用 TES 甲硅烷基保护 35 的 C3 醇后，实施二苄醚的去保护。氧化产物伯羟基，获得相应的醛，然后将所得醛通过魏悌希反应 (Wittig reaction) 转化成端部烯烃，以高产率获得 36。最后，用 TEOSTf 水解 36 的特丁基酯，获得酰基部分 25(82％) 及副产物 37(14％)，副产物 37 可以高产率转化为酰基部分 38。38 的光谱及色谱性质与先前在 Dr. Sinha 的实验室 (Scripps) 中自其他程序所获得材料的相同。

[0218] 方案 8.

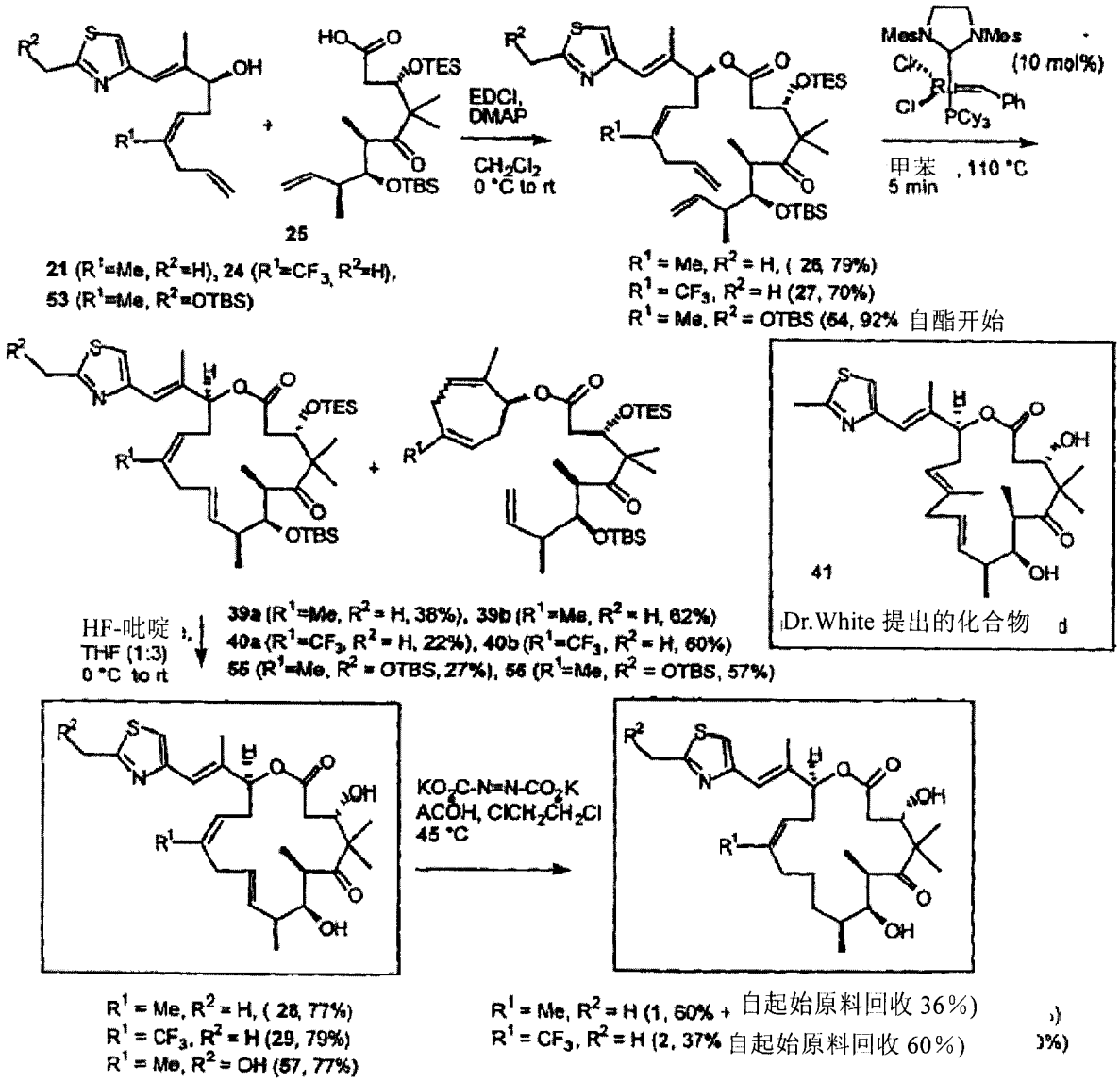
[0219]



[0220] 烯丙基醇 21 及 24 与 C1-C9 酸片段 25 发生酯化反应，分别获得相应的 RCM 环化前体 26 及 27(方案 9)。

[0221] 方案 9.

[0222]



[0223] 然后，用第二代 Grubbs 催化剂在甲苯中对 26、27 及 54 实施闭环置换反应，如同早期研究，仅生成反式异构体 39a、40a 和 55 及相应的副产物 39b、40b 与 56。最后，用 HF- 吡啶将甲硅烷基醚去保护，获得所期望的化合物 28、29 及 57。28 的光谱及色谱性质与先前在 Dr. James D. White 的实验室 (Oregon State University) 中自埃坡霉素程序所获得材料的并不相同。Dr. James D. White 认为其已合成了 28，然而却因疏忽而合成 12,13E 异构体 41，此可解释为什么他观察到的生物活性较差。因此，我们首先合成 28 并检验该化合物的抗肿瘤活性。

[0224] 已就各种细胞类型对评价全合成性 28、29 及 2 进行评价以确定其抗肿瘤效能。如表 1-2 中所示，三种化合物皆展示抗各种敏感性及抗性肿瘤细胞株的高细胞毒性活性。28 与先前所报导 dEpoB(1) 的直接比较表明，该新化合物具有几 乎三倍的效能。

[0225] 表 1-2. 对肿瘤细胞株 [a] 的体外细胞毒性 (IC_{50})

[0226]

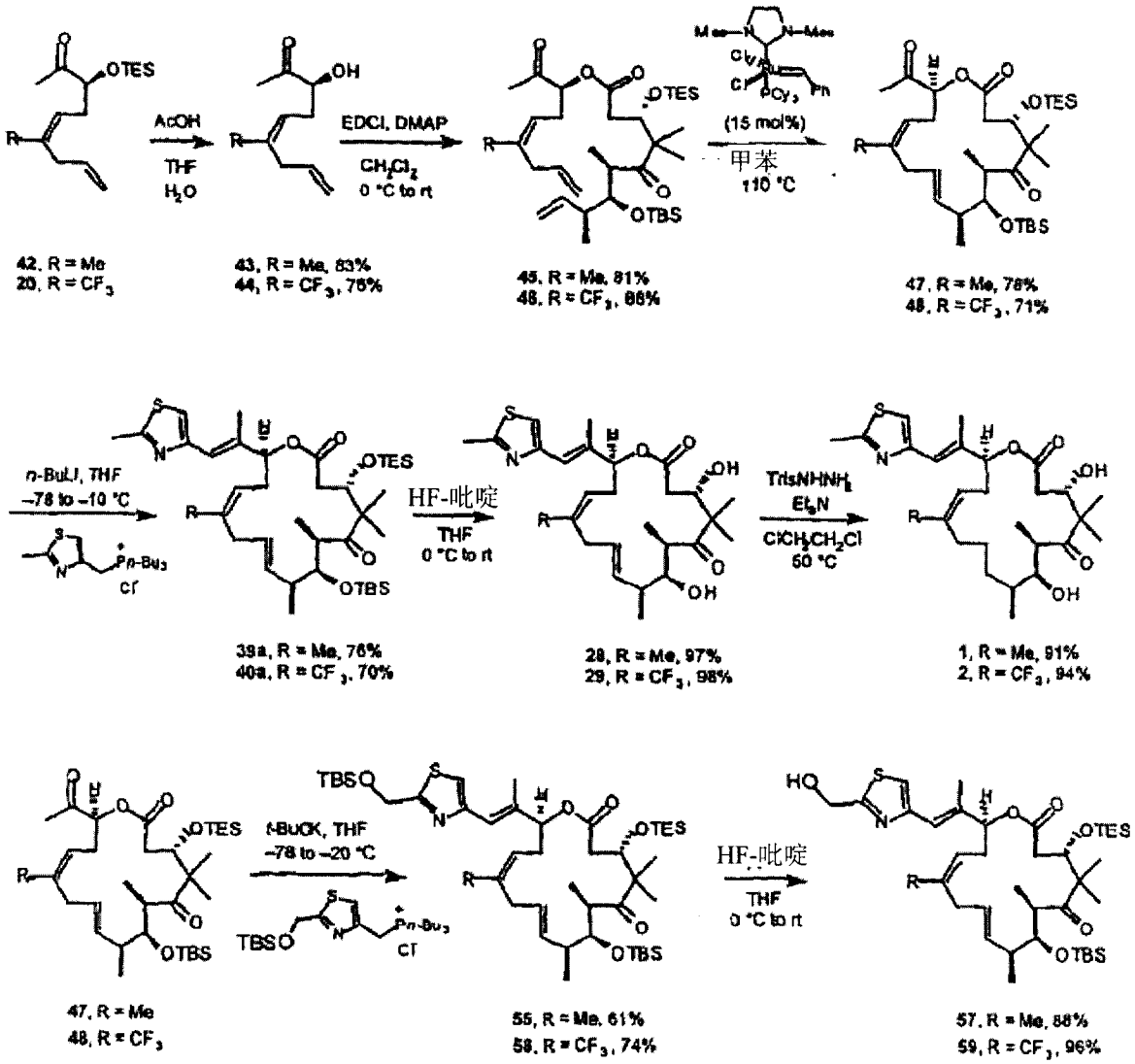
肿瘤细胞株	$IC_{50}(\mu M)^{\alpha}$			
	28	29	dEpoB（1）	57
CCRF-CEM	0.0014	0.0035	0.0036	0.00051
CCRF-CEM/VBL_{100}	0.0065	0.0210	0.014	0.0106
CCRF-CEM/紫杉醇	0.0017	0.0057	0.0057	0.00073

[0227] 72 小时抑制后实施 α XTT 分析。CCRF-CEM 是人类 T- 细胞急性淋巴性白血病细胞株。CCRF-CEM/$_{VBL100}$、CCRF-CEM/$_{VM1}$ 及 CCRF-CEM/$_{Taxol}$ 细胞株皆超表达 P- 糖蛋白并对 MDR 相关抗癌剂展示一多重抗药性表现型 (Pri é,G. ;Thibonnet,J. ;Abarbri,M. ;Duch ênе,A. ; Parrain,J.Synlett(1998,839) ;以引用的方式并入本文中）。

[0228] 为提高合成 28、29 及 2 的总产率，我们决定在不存在经噻唑取代烯烃的情况下实施 RCM 反应，如此以避免形成不希望的副产物 39b 及 40b。对先前所报导 42 及 20 的甲硅烷醚实施去保护，获得羟基酮 43 及 44。产物羟基酮 43 及 44 与 C_1-C_9 酸部分 25 进行酯化反应，分别获得相应的 RCM 环化前体 45 及 46（方案 10）。然后，用第二代 Grubbs 催化剂在甲苯中实施 45 及 46 的闭环置换反应，此如同先前研究只以高产率生成反式异构体 47 及 48。插入噻唑部分，获得高产率的 39a、40a 及 55。用 HF- 吡啶将两种甲硅烷醚去保护，获得 28 及 29。最后，选择性还原 C9-C10 烯烃获得相应的埃坡霉素 1 及 2。28 的结构通过其以高产率转化为 1 严格地证明。相对于先前实践途径，1 的全合成上已相当简化。因此，相对于依靠于其合成需要手性助剂参与的 (S)-2- 甲基 -4- 戊烯醛，使用自手性源获得且易于利用的 31 无疑是一大改进。

[0229] 方案 10

[0230]



[0231] 对于所掌握的其结构已严格证明的化合物 28，我们惊奇地发现，其光谱性质与先前报导推测为相同实体的化合物的性质并不相同。然而，回顾过去很清楚先前并没有制备出 28，实际上，此处所报导的 (E)-9,10- 去氢埃坡霉素的整个家族是一类新颖的化合物。

[0232] 在细胞培养环境中对合成性类似物 (2、28 及 29) 的试验揭示，其对各种敏感性及 MDR 肿瘤细胞株的抑制效果比我们的临床项 dEpoB(1) 要强 (表 1-3)。注意到，Epo3(28) 是首个相对于 dEpoB(1) 具有实质上经改良细胞毒性的 12,13- 去氧埃坡霉素化合物。

[0233] 表 1-3. 对肿瘤细胞株 [a] 的体外细胞毒性 (IC_{50})

[0234]

化合物	CCRF-CEM(C) (μM)	C/VBL_{100} (μM)	C/紫杉醇

[0235]

			(μM)
Epo1(1,dEpoB)	0.0036	0.016	0.0046
Epo2(2)	0.0041	0.0080	0.018
Epo3(28)	0.0009	0.0042	0.0012
Epo4(29)	0.0035	0.0210	0.0057

[0236] 72 小时抑制后实施 XTT 分析。CCRF-CEM 是人类 T- 细胞急性淋巴性白血病细胞株。CCRF-CEM/VBL_{100} 细胞株对长春碱有抗性且 CCRF-CEM/ 紫杉醇对紫杉醇有抗性。

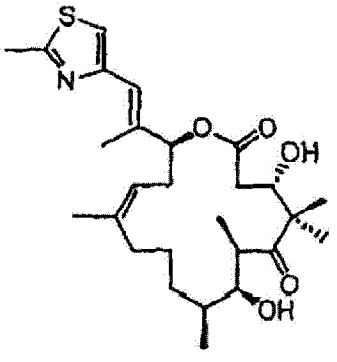
[0237] 埃坡霉素 2、28 及 29(Epo 2-4) 所展现对多种抗药性肿瘤的明显细胞生长抑制作用促进对这些新 (E)-9,10- 同类物的血浆稳定性的确定。举例而言,就内酯打开而言,最近所阐述的 (E)-10,11- 去氢 -dEpoB(1,在 C-12 处具有 CH_3 基团) 展示极差的血浆稳定性。该血浆不稳定性抑制对 (E)-10,11- 去氢 -dEpoB 的发展。相反,与 dEpoB(1) 相比,当 2、28 及 29(Epo 2-4) 暴露于鼠血浆时,观察到药物降解程度降低至 1/7。从药物可利用观点来看,相对于 dEpoB 该稳定性构成了一实质性改进 (参见图 9)。

[0238] 细胞毒性与血浆稳定性数据的组合促使我们合成大量 28(Epo 3) 以确定其在具有人类肿瘤异种移植物的裸鼠中的体内效能。埃坡霉素 28(Epo 3) 相对于 dEpoB 在抑制移植肿瘤的生长方面具有明显改进的效能 (参见图 10)。该经改进的效能及血浆稳定性极大地降低了 28(Epo 3) 在异种移植物环境下的药物剂量 (一个数量级)。

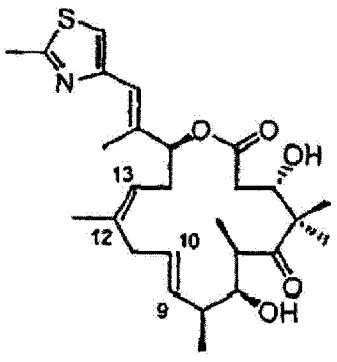
[0239] 我们在早期的研究中发现,埃坡霉素 B(12,13- 环氧化物) 相比其 12,13- 去氧类似物 (dEpoB) 具有更显著的细胞毒性。无论如何,从治疗指数的观点来看,该去氧化合物更合意。最近,我们报导了用立体选择性闭环置换方法全合成 (E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧埃坡霉素 B(28)。结果显示,在普通 Z-12,13- 烯烃 (参见化合物 1) 中使 E-9,10 不饱和可大大增强体外效能。更确切的说,此可转移至在异种移植小鼠中的体内环境。而且,化合物 28 相对于 dEpoB(1) 具有较多的医药优点。此使得在异种移植试验中 28 的剂量水平相对于 1 可降低一个数 量级。

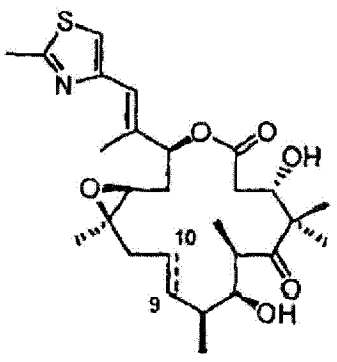
[0240] 因此,我们想知道在埃坡霉素 B(51, EpoB) 中纳入 C9-C10 烯烃是否会在相同方面改变其生物性质。

[0241]



dEpoB (1)





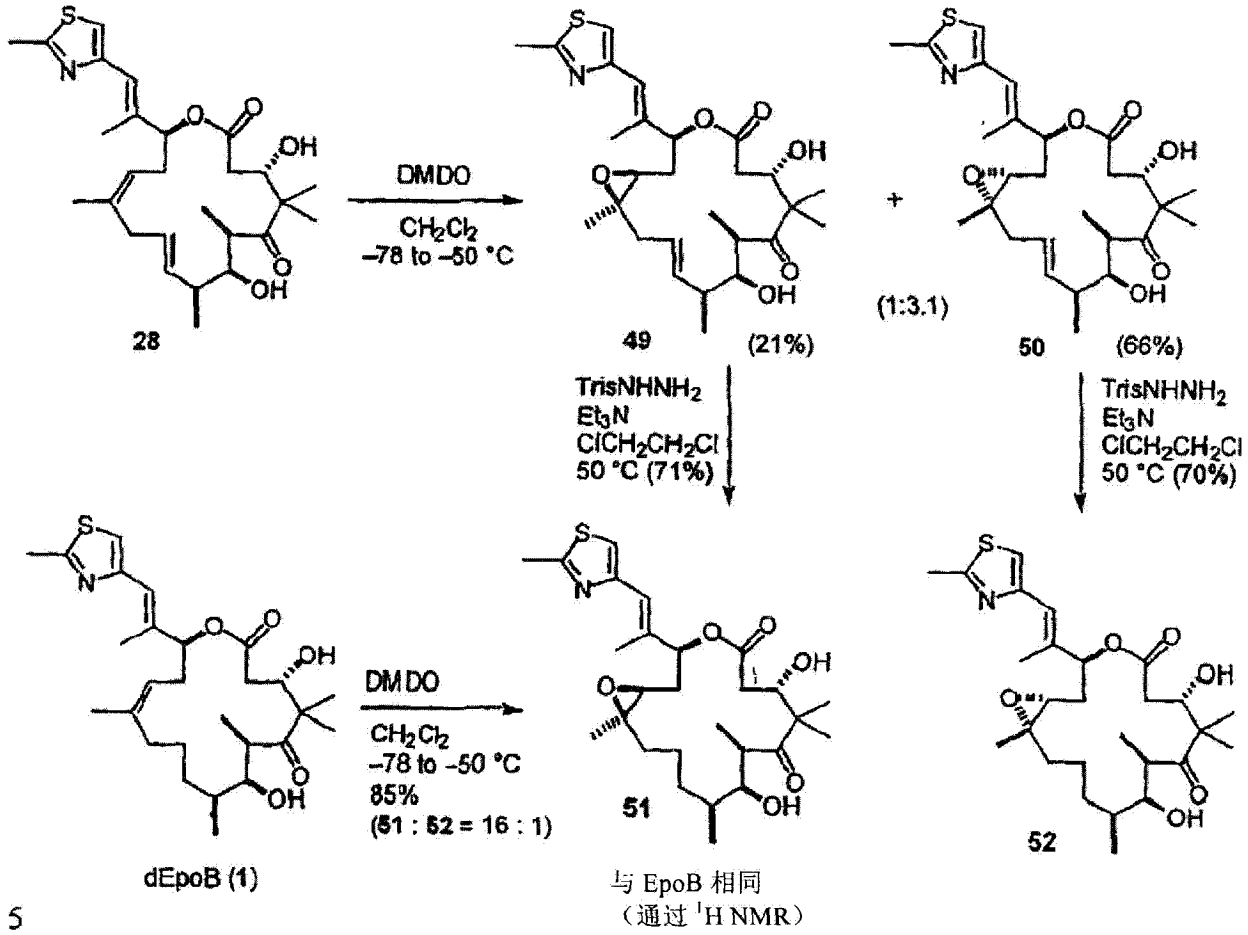
EpoB (51)

[0242] (E)-9,10- 去氢 -dEpoB(28) (E)-9,10- 去氢 EpoB(49)

[0243] 用 2,2'-二甲基双环氧乙烷 (DMDO) 以高化学选择性在较多取代的 C12-C13 烯烃处环氧化 28,获得产率为 87%的比例为 1 ： 2.6 的 (E)-9,10- 去氢埃坡霉素 B(49) 及其非对映异构体 (50)。通过 C9-C10 双键的选择性二酰亚胺还原来确定该环氧化物的立体化学结构。该些产物的光谱性质试验揭示,次要产物 (49) 为 dEpoB。在 28 中优先进行 α-环氧化与 dEpoB 的高立体选择性环氧化形成鲜明对比,后者在 β 面发生,生成 EpoB(Meng, D. ;Bertinato, P. ;Balog, A. ;Su, D.-S. ;Kamenecka, T. ;Sorensen, E. J. ;Danishefsky, S. J. J. Am. Chem. Soc. 1997,119,10073 ;以引用的方式并入本文中)。

[0244] 方案 11

[0245]



5

[0246] 评价 (E)-9,10- 去氢埃坡霉素 B(51) 抗各种类型细胞的活性以确定其抗肿瘤效能。如表 1-4 所示, (E)-9,10- 去氢埃坡霉素 B(49) 展示抗各种敏感性及抗性肿瘤细胞株的高细胞毒性活性。49 与 EpoB(51) 的直接比较表明,该新颖的类似物具有几乎 3 倍于 EpoB(51) 的效能,此使得其成为迄今为止所报导的最有效的埃坡霉素之一。令人感兴趣的是, α-环氧化物系列 (50、52) 展示比 EpoB(51) 低得多的活性。下表展示化合物 49 的体内研究发现。

[0247] 表 1-4. 对肿瘤细胞株 [a] 的体外细胞毒性 (IC_{50})

[0248]

化合物	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/紫杉醇
1（dEpoB）	0.0036	0.016	0.0046
28	0.0009	0.0042	0.0012
51（EpoB）	0.00062	0.0037	0.0011
49	0.00023	0.00032	0.00042
50	0.0134	0.0959	0.0802
52	0.083	0.4519	0.1507

[0249] 72 小时抑制后实施 XTT 分析。CCRF-CEM 是人类 T- 细胞急性淋巴性白血病细胞株。所有 CCRF-CEM/VBL 及 CCRF-CEM/ 紫杉醇细胞株皆超表达 P- 糖蛋白并对 MDR- 相关抗癌剂展示一多重抗药性表现型。

[0250] 图 78 显示了 9,10-de-H-EpoB 在具有 MX-1 异种移植物的裸鼠中的治疗效果 (6 小时静脉内输注，n = 4)

[0251] 总之，上文阐述了 28(Epo 3) 的有效立体选择性全合成，并在实施位置选择性二酰亚胺还原后合成 dEpoB(1) 自身。于是，本文所述方法可直接用于制备相应三氟类似物 2 及 29(Epo 4)。此外，28 的环氧化可生成 49 及 50，后者在经位置选择性二酰亚胺还原后生成埃坡霉素 B(51) 及 52。上文所报导的数据表明出现了一种适合于经进一步的中间性评价后可能前进至人类临床环境评价的最有希望的新颖抗癌药物家族。此外，该新合成方法包括 dEpoB 及埃坡霉素 B 的全合成中的显著实用性改进。

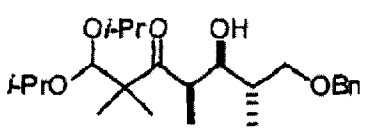
[0252] 实验

[0253] 一般方法：除非另有说明，否则使用自商业供应商购得的试剂而不进一步 纯化。下述溶剂自一溶剂干燥系统（通过一预填充氧化铝柱）获得且使用时未经进一步干燥：四氢呋喃、二氯甲烷、乙醚、苯及甲苯。所有对空气及水敏感的反应皆在预净化氩气的正压下在烘干的玻璃器件中进行。NMR(^{1}H 及 ^{13}C) 谱图如一个一个单独所注明在 Broker AMX-400MHz 或 Bruker Advance DRX-500MHz 上记录，参照 $CDCl_3$(^{1}H 为 7.27ppm 且 ^{13}C 为 77.0ppm)。在 Perkin-Elmer FT-IR 型 1600 光谱仪上获得红外光谱图 (IR)。于 22±2℃下在 JASCO 型 DIP-370 数字旋光仪上获得旋光度。在 E.Merck 硅胶 60F254 板上实施分析性薄层层析。通过将该些板浸渍于钼酸铈铵或对茴香醛溶液中并加热来显现不具有 UV 活性的化合物。在 Davisil®（等级 1740,60A 型，170-400 网目）硅胶上用规定溶剂实施硅胶层析。

[0254] 简称及缩写

[0255] TES，三乙基甲硅烷基；TBS，二甲基特丁基甲硅烷基；EDCI，1- 乙基 -3-(3- 二甲氨基丙基）碳化二亚胺；HF-PY，氟化氢于吡啶中；DMAP，4-N，N- 二甲氨基吡啶；DCM，二氯甲烷；DMF，N，N- 二甲基甲酰胺；THF，四氢呋喃。

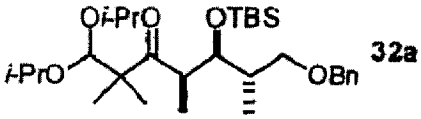
[0256]



32

[0257] 化合物 32：在 -78℃下向新制备的 LDA(11.6mmol) 溶于 THF(25mmol) 的溶液中滴加酮 30(2.4g,10.4mmol) 溶于 THF(6.8mL) 中的溶液。在 -40℃下搅拌 0.5 小时后，将混合物冷却至 -90℃。滴加醛 31(1.38g,7.72mmol) 溶于 THF(6.8mL) 中的溶液。在 -90℃下搅拌 35 分钟后，用饱和 NH_4Cl(15mL) 水溶液使反应停止并用 EtOAc(50mL×3) 萃取。合并的有机萃取物用 Na_2SO_4 干燥并浓缩。通过快速柱层析 (SiO_2，己烷 /EtOAc = 15 ： 1 至 12 ： 1) 纯化，获得 32(2.09g,66％) 及异构体 33(0.39g,12％)，二者皆为黄色油状物。32：$[\alpha]_D^{25}$13.1(c 1.22, $CHCl_3$)；IR(薄 膜)v3494、2972、2932、1708、1454、1380、1329，1120、1038、998、734cm^{-1}；^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.98(3H, d, J = 6.9Hz)，1.06(3H, d, J = 6.9Hz)，1.10(3H, d, J = 6.1Hz)，1.14(3H, d, J = 6.9Hz)，1.15(3H, s)，1.17(3H, d, J = 6.2Hz)，1.18(3H, s)，1.20(3H, d, J = 6.2Hz)，1.81-1.92(1H, m)，3.33(1H, qd, J = 7.0，2.2.Hz)，3.51(1H, dd, J = 8.9,6.3Hz)，3.64(1H, d, J = 1.8Hz)，3.66-3.71(2H, m)，3.78-3.86(2H, m)，4.51(1H, d, J = 12.0Hz)，4.54(1H, d, J = 12.0Hz)，4.58(1H, s)，7.25-7.35(5H, m)；^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 10.0、14.3、20.5、21.3、21.9、22.5、23.5、23.6、36.4、42.1、54.1、69.8、71.2、72.8、73.3、73.4、103.8、127.6、127.7(2C)、128.5(2C)、138.9、221.6；$C_{24}H_{40}O_5Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]431.3，实验值 431.4。

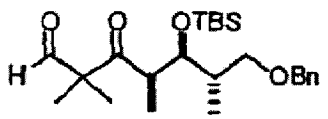
[0258]



32a

[0259] 化合物 32a(未图示)：向醇 32(1.01g,2.47mmol) 及 2,6- 二甲基吡啶 (691μL, 5.93mmol) 的冷 (-40℃) 溶液中添加 TBSOTf(681μL,3.00mmol)，并将混合物经 3.5 小时加热至 -20℃。用饱和 $NaHCO_3$(10mL) 水溶液使反应停止。用己烷 (50mL×3) 萃取后，将合并的有机萃取物用 Na_2SO_4 干燥并浓缩。通过快速柱层析 (SiO_2，己烷 /EtOAc = 50 ： 1) 纯化，获得无色油状物 32a(1.25g,2.39mmol,97％)；$[\alpha]_D^{25}$-19.7(c 0.58, $CHCl_3$)；IR(薄 膜)v2966、2931、1696、1455、1378、1320、1255、1091、1044、991、873、838、773cm^{-1}；^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.08(6H, s)，0.89(9H, s)，0.99(3H, d, J = 7.0Hz)，1.04(3H, d, J = 7.0Hz)，1.07(3H, d, J = 7.0Hz)，1.07(3H, s)，1.14(3H, d, J = 6.1Hz)，1.17(3H, s)，1.17(3H, d, J = 6.0Hz)，1.20(3H, d, J = 6.2Hz)，1.76-1.85(1H, m)，3.21(1H, dd, J = 9.2、7.3Hz)，3.32(1H, 五重峰, J = 7.4Hz)，3.62(1H, dd, J = 9.2、5.7Hz)，3.78-3.85(2H, m)，3.87(1H, dd, J = 7.7、2.0Hz)，4.46(1H, d, J = 12.1Hz)，4.50(1H, d, J = 12.1Hz)，4.73(1H, s)，7.24-7.37(5H, m)；^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.6、-3.3、15.6、16.8、18.7、18.8、21.8、22.1、22.5、23.5、23.7、26.4(3C)、39.0、46.2、54.0、69.7、70.9、72.1、73.4、76.7、103.1、127.6、127.8(2C)、128.5(2C)、139.0、218.9；$C_{30}H_{54}O_5SiNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]545.4，实验值 545.4。

[0260]

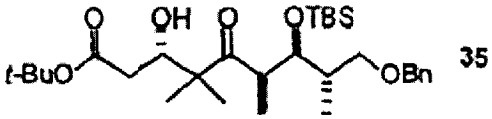


34

[0261] 化合物 34：将 32a(3.03g,5.79mmol) 与对 -TsOH·H_2O(286mg) 在水性 THF(64mL, THF/H_2O = 4 ： 1) 中的混合物在回流下加热 6.5 小时。将反应混合物冷却至室温并倾倒至

饱和 $NaHCO_3$(25mL) 水溶液中。用 EtOAc(100mL+50mL×2) 萃取后,将合并的有机层用盐水洗涤、用 Na_2SO_4 干燥并浓缩。通过快速柱层析 (SiO_2,己烷 /EtOAc = 50 : 1 至 30 : 1) 纯化,获得无色油状物 34(2.37g,5.64mmol,98%) ;$[\alpha]_D^{25}$-25.8(c 0.515,$CHCl_3$) ;IR(薄膜) v2955、2931、1731、1696、1455、1360、1255、1091、1026、873、826、767cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.06(3H, s),0.07(3H, s),0.90(9H, s),0.95(3H, d, J = 7.1Hz),1.03(3H, d, J = 7.0Hz),1.28(3H, s),1.33(3H, s),1.73-1.82(1H, m),3.16(1H, dd, J = 9.2、6.1Hz),3.28(1H,五重峰,J = 7.3Hz),3.55(1H,dd,J = 9.2,6.7Hz),3.91(1H,dd,J = 7.8、2.1Hz),4.46(2H, s),7.27-7.36(5H, m),9.58(1H, s) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.6、-3.5、15.7、16.3、18.6、19.8、20.1、26.3(3C)、39.1、47.0、61.1、71.9、73.4、75.8、127.7、128.0(2C)、128.5(2C)、138.6、201.3、213.3 ;$C_{24}H_{40}O_4SiNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]443.3,实验值 443.2。

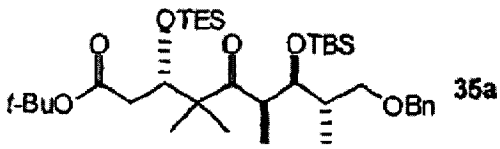
[0262]



35

[0263] 化合物 35 :于 -78℃下向新制备的 LDA(18mL 于 Et_2O 的 0.5M 溶液,9.0mmol) 溶于 Et_2O(20mL) 中的溶液添加醋酸特丁酯 (1.16mL,8.61mmol)。搅拌 50 分钟后,通过注射泵经 65 分钟滴加 $CpTiCl(OR)_2$(100mL 于 Et_2O 中的 0.1M 溶液,10.0mmol)。搅拌 20 分钟,将反应混合物加热至 -30℃,搅拌 50 分钟并重新冷却至 -78℃。经 10 分钟滴加 34(2.42g,5.75mmol) 溶于 Et_2O(9mL) 中的溶液,并在 -78℃下搅拌所得混合物。搅拌 2 小时后,用 THF(5M H_2O, 37mL) 水溶液使反应停止并于室温下搅拌 2 小时。添加水 (40mL) 后,将混合物再搅拌 1 小时。通过 Celite(Et_2O 清洗) 滤除所形成的沉淀物,并用水 (40mL) 洗涤滤液。水层用 Et_2O(100mL×2) 萃取,将合并后的有机层用盐水 (40mL) 洗涤、Na_2SO_4 干燥并浓缩。通过快速柱层析 (SiO_2,己烷 /EtOAc = 10 : 1) 纯化,获得浅黄色油状物 35(2.65g,4.94mmol,86%) ;$[\alpha]_D^{25}$-20.3(c 1.0, $CHCl_3$) ;IR(薄 膜)v3523、2957、2930、2856、1732、1700、1472、1368、1252、1152、1091、1042、986、834、774cm^{-1} ; ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.07(3H, s),0.07(3H, s),0.90(9H, s),0.99(3H, d, J = 7.0Hz),1.07(3H, d, J = 7.0Hz),1.10(3H, s),1.14(3H, s),1.47(9H,s),1.77-1.83(1H,m),2.26(1H,dd,J = 16.0,10.0Hz),2.34(1H,dd,J = 15.9, 2.7Hz),3.23(1H, dd, J = 9.2、7.1Hz),3.35(1H, d, J = 2.7Hz, -OH),3.36(1H,五重峰, J = 7.0Hz),3.61(1H, dd, J = 9.2、5.9Hz),3.88(1H, dd, J = 7.6、2.0Hz),4.17(1H, dt, J = 10.0,2.7Hz),4.48(2H, s),7.27-7.36(5H, m) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.5、-3.4、16.3、16.7、18.7、20.1、21.6、26.4(3C)、28.3(3C)、38.0、39.1、45.8、51.8、72.2、72.9、73.5、76.7、81.4、127.7、128.0(2C)、128.5(2C)、138.8、172.7、219.6 ;$C_{30}H_{52}O_6SiNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]559.3,实验值 559.4。

[0264]

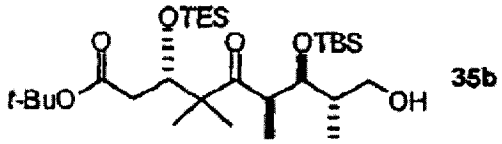


35a

[0265] 化合物 35a(未图示) :于 0 ℃下向醇 35(10.2g,8.9mmol) 与咪唑 (2.70g,

39.7mmol) 在 DMF(25mL) 中的混合物添加 TESCl(3.3mL,19.8mmol),并于室温下将混合物搅拌 2 小时。然后用饱和 $NaHCO_3$(50mL) 水溶液使反应停止。用己烷 (500mL+120mL×2) 萃取后,合并的有机萃取物依次用水 (30mL×2) 及盐水 (30mL) 洗涤、Na_2SO_4 干燥并浓缩。通过快速柱层析 (SiO_2,己烷 /EtOAc = 40 : 1) 纯化,获得无色油状物 35a(12.1g,18.5mmol,98%) :$[\alpha]_D^{25}$-38.0(c 0.46,$CHCl_3$) ;IR(薄膜)v2955、2877、1733、1697、1456、1367、1298、1251、1155、1099、988、835、742cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.05(6H, s),0.57-0.68(6H, m),0.89(9H,s),0.95(9H,t,J = 7.9Hz),0.99(3H,d,J = 7.0Hz),1.02(3H,d,J = 6.8Hz),1.04(3H,s),1.18(3H,s),1.45(9H,s),1.70-1.79(1H,m),2.16(1H,dd,J = 17.0、7.0Hz),2.40(1H, dd, J = 17.0、3.1Hz),3.22(1H, dd, J = 9.1、7.5Hz),3.31(1H, 五重峰, J = 6.9Hz),3.61(1H,dd,J = 9.1、5.4Hz),3.83(1H,dd,J = 7.3、2.3Hz),4.30(1H,dd,J = 6.9、3.1Hz),4.48(2H, s),7.27-7.36(5H, m) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.5、-3.4、5.3(3C)、7.3(3C)、15.3、16.9、18.7、20.1、23.4、26.4(3C)、28.3(3C)、39.1、41.1、46.2、53.4、72.2、73.4、74.3、76.7、80.6、127.6、127.9(2C)、128.5(2C)、138.9、171.5、218.4 ;$C_{36}H_{66}O_6Si_2Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]673.4,实验值 673.5。

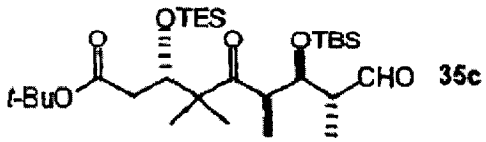
[0266]



35b

[0267] 化合物 35b(未图示) :向 35a(4.37g,6.72mmol) 溶于 THF(67mL) 中的搅动溶液中添加 Pd/C(自 Acros 购得,10% wt,437mg) 并在 H_2 气氛下搅拌该混合物。搅拌 2.2 小时后,用 Celite 垫过滤该混合物,用 THF(120mL) 洗涤 Celite 垫。浓缩滤液并通过快速柱层析 (SiO_2,己烷 /EtOAc = 30 : 1 至 10 : 1) 纯化,获得无色油状物 35b(3.53g,6.28mmol,94%) :$[\alpha]_D^{25}$-16.1(c 0.62,$CHCl_3$) ;IR(薄膜)v3543、2956、1732、1696、1472、1368、1299、1252、1155、1100、988、837、775、742cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$) δ 0.10(3H,s),0.12(3H,s),0.60-0.68(6H,m),0.93(9H,s),0.96(9H,t,J = 8.0Hz),0.99(3H,d,J = 7.1Hz),1.10(3H,d, J = 6.9Hz),1.14(3H, s),1.20(3H, s),1.45(9H, s),1.46-1.55(1H, m),2.21(1H, dd, J = 17.2、7.1Hz),2.39(1H, dd, J = 17.2、2.8Hz),2.54(1H, t, J = 5.8Hz, -OH),3.30(1H, 五重峰, J = 6.9Hz),3.58(1H, dt, J = 11.5、5.5Hz),3.66(1H, dt, J = 11.3,5.4Hz),3.92(1H, dd, J = 8.0,2.1Hz),4.32(1H, dd, J = 7.1、2.9Hz) ; ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.6、-3.5、5.3(3C)、7.2(3C)、16.0、16.1、18.6、20.0、23.4、26.4(3C)、28.3(3C)、40.0、40.9、46.9、53.7、64.8、73.3、78.1、80.9、171.7、218.5 ;$C_{29}H_{60}O_6Si_2Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]583.4,实验值 583.5。

[0268]

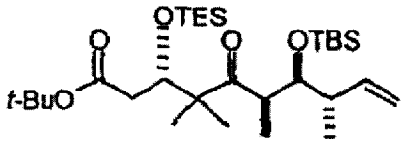


35c

[0269] 化合物 35c(未图示) :向醇 35b(3.53g,6.28mmol) 与粉末状 MS4A(新活化的,2.50g) 在 CH_2Cl_2(32mL) 的搅拌混合物中添加 NMO(1.17g,10.0mmol),随后添加 TPAP(132mg,0.377mmol)。于室温下搅拌 35 分钟后。通过硅胶柱 (己烷 /Et_2O = 8 : 1) 过滤混合物,

获得无色油状物 35c(3.34g,5.98mmol,95%);$[\alpha]_D^{25}$-69.6(c 0.25, $CHCl_3$);IR(薄膜)v2955、2878、1732、1696、1472、1368、1253、1155、1097、989、837cm^{-1};^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.09(3H, s),0.10(3H, s),0.59-0.68(6H, m),0.89(9H, s),0.95(9H, t, J = 8.0Hz),1.08(3H, s),1.11(3H, d, J = 6.9Hz),1.14(3H, d, J = 7.1Hz),1.24(3H, s),1.45(9H, s),2.19(1H, dd, J = 17.0,6.7Hz),2.33(1H, qt, J = 7.1、2.2Hz),2.41(1H, dd, J = 17.0、3.3Hz),3.28(1H,五重峰,J = 7.5Hz),4.07(1H,dd,J = 7.9、2.2Hz),4.32(1H,dd,J = 6.7、3.2Hz),9.74(1H, d, J = 2.0Hz);^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.8、-3.5、5.3(3C)、7.2(3C)、12.6、15.6、18.5、20.5、23.3、26.2(3C)、28.3(3C)、41.1、46.9、51.1、53.5、74.0、76.5、80.7、171.1、204.3、218.0;$C_{29}H_{58}O_6Si_2Na$的LRMS(ESI)计算值[M+Na^4]581.3,实验值581.3。

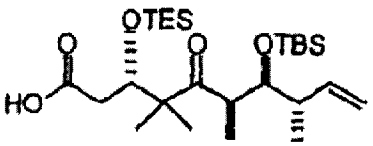
[0270]



36

[0271] 化合物 36:于 0℃下用 t-BuOK(6.57mL 于 THF 中的 1.0M 溶液,6.57mmol)处理 THF(40.0mL)中的 $MePPh_3I$(2.56g,7.18mmol)。于 0℃搅拌 20 分钟后,将所得悬浮液冷却至 -78℃,并添加醛 35c(3.34g,5.98mmol)溶于 THF(14mL)中的溶液。于 -78℃下搅拌 15 分钟后,将混合物于 0℃下搅拌 15 分钟并于室温下搅拌 15 分钟。用饱和 NH_4Cl(20mL)水溶液使反应停止并用 Et_2O(120mL+50mL×2)萃取。合并后的有机萃取物用盐水(20mL)洗涤、Na_2SO_4 干燥并浓缩。通过快速柱层析(SiO_2 约 80g,己烷 /Et_2O = 40 : 1)纯化残余物,获得无色油状物 36(125.3mg,0.225mmol,78%);$[\alpha]_D^{25}$-33.6(c 0.250, $CHCl_3$);IR(薄膜)v2956、2878、1733、1696、1472、1367、1299、1253、1156、1100、988、837、774cm^{-1}; ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.08(3H, s),0.08(3H, s),0.60-0.68(6H, m),0.93(9H, s),0.96(9H, t, J = 8.0Hz),1.04(6H, d, J = 7.0Hz),1.09(3H, s),1.20(3H, s),1.45(9H, s),2.08-2.15(1H, m),2.29(1H, dd, J = 17.0、7.0Hz),2.41(1H, dd, J = 17.0、3.1Hz),3.08(1H, 五重峰, J = 7.0Hz),3.84(1H, dd, J = 7.0、2.1Hz),4.32(1H, dd, J = 7.0、3.1Hz),5.02(1H, dd, J = 17.9,1.0Hz),5.06(1H, dd, J = 10.5、1.0Hz),5.93(1H, ddd, J = 17.9、10.5、7.7Hz);^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.6、-3.3、5.4(3C)、7.2(3C)、15.2、18.7、19.0、20.2、23.6、26.4(3C)、28.3(3C)、41.1、43.8、46.4、53.5、73.9、76.6、80.6、115.5、140.2、171.5、218.5;$C_{30}H_{60}O_5Si_2Na$ 的 LRMS(ESI)计算值[M+Na^+]579.4,实验值 579.4。

[0272]



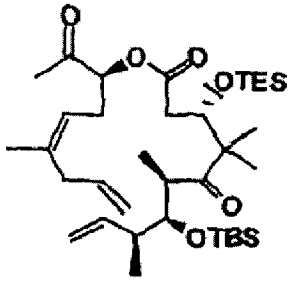
25

[0273] 化合物 25:于 0℃下向特丁基酯 36(4.87g,8.74mmol)与 2,6- 二甲基吡啶(新蒸馏的,4.1mL,35.0mmol)溶于 CH_2Cl_2(58mL)中的溶液中添加 TESOTf(4.0mL,17.5mmol)。于 0℃下搅拌 25 分钟后,将混合物于室温下搅拌 3.2 小时。将混合物用 Et_2O(600mL)稀释,依次用 5% $KHSO_4$(60mL×2)水溶液及盐水(60mL)洗涤、Na_2SO_4 干燥并浓缩。将残余物在高真空下干燥 1.5 小时,获得粗产物酸 25(6.30g,含有 TESOH 杂质)。将粗产物(6.30g)溶于水性 THF(87.5mL, THF/H_2O = 6 : 1)中并用饱和 $NaHCO_3$(12.5mL)水溶液处理。于室温下搅

拌 20 分钟后，所得悬浮液用 Et_2O(500mL) 稀释并用 5% $KHSO_4$(55mL) 水溶液酸化。分层后，水层用 Et_2O(100mL×2) 萃取，且合并的有机层用盐水 (50mL×2) 洗涤、Na_2SO_4 干燥并浓缩。将残余物在高真空下干燥过夜，获得无色油状粗产物酸 (5.60g，含有 TESOH 杂质)，其可不经进一步纯化用于下一反应。通过快速柱层析 (在硅胶上，用己烷 /EtOAc = 4/1 洗脱) 纯化以进行定性。

[0274] $[\alpha]_D^{25}$-30.7(c 0.985, $CHCl_3$) ;IR(薄膜)v2956、2936、2879、1712、1472、 1417、1303、1253、1107、1046、1003、988、872、837、775、741cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.08(3H, s), 0.09(3H, s), 0.59-0.67(6H, m), 0.93(9H, s), 0.96(9H, t, J = 8.1Hz), 1.05(3H, d, J = 7.0Hz), 1.05(3H, d, J = 7.0Hz), 1.20(3H, s), 1.21(3H, s), 2.06-2.13(1H, m), 2.34(1H, dd, J = 16.4、7.4Hz), 2.50(1H, dd, J = 16.4、3.0Hz), 3.06(1H, 五重峰, J = 7.3Hz), 3.87(1H, dd, J = 7.5、1.8Hz), 4.40(1H, dd, J = 7.3、2.9Hz), 5.01(1H, dd, J = 18.0、0.9Hz), 5.07(1H, dd, J = 10.4、1.2Hz), 5.93(1H, ddd, J = 18.0、10.4、7.8Hz) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.6、-3.3、5.3(3C)、7.1(3C)、15.6、18.7、19.1、19.2、24.1、26.4(3C)、39.8、43.6、46.4、53.5、73.7、76.6、115.6、140.0、177.9、218.7 ;$C_{26}H_{52}O_5Si_2Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^1]523.3，实验值 522.9。

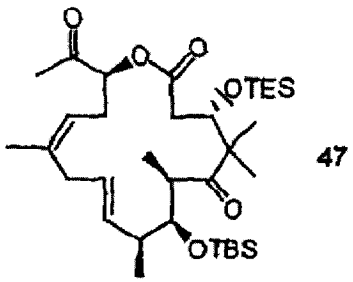
[0275]



45

[0276] 化合物 45 :将 3-O-TES-6-O-TBS 保护的酸 25 通过与苯共沸蒸馏干燥。将新干燥的醇 43(200mg, 1.19rnmol) 溶于 DCM(10mL) 中并冷却至 0℃，此时添加固体 DMAP(167mg, 1.37mmol) 及固体 EDCI(261mg, 1.37mmol)。将反应混合物于 0℃搅拌 15 分钟后，滴加酸 25(425mg, 0.85mmol) 溶于 DCM(2mL) 中的溶液。去除冷浴并继续搅拌 2 小时。用 DCM(10mL) 稀释粗反应混合物，并用 10% EtOAC/ 己烷作为洗脱液通过硅胶层析纯化该混合物，获得澄清的油状酯 45(380mg, 81% 产率，两步，自 36 开始) :$[\alpha]_D$-15.1(c 1.2, $CDCl_3$) ; IR(纯)2955、2932、2877、1743、1732、1694、1474、1461、1417、1380、1360、1295、1252、1169、1094、1043、988.3、912.9、871.4、836.5、774.8、741.6cm^{-1} ;^1H NMR(500MHz, $CDCl_3$)0.08(3H, s), 0.08(3H, s), 0.60-0.68(6H, m), 0.93(9H, s), 0.95(9H, t, J = 8.0Hz), 1.04(3H, d, J = 6.9Hz), 1.05(3H, d, J = 6.9Hz), 1.10(3H, s), 1.25(3H, s), 1.69(3H, s), 2.08-2.15(2H, m), 2.16(3H, s), 2.38(1H, dd, J = 17.0、7.0Hz), 2.48(2H, t, J = 6.5Hz), 2.57(1H, dd, J = 17.0、2.7Hz), 2.71-2.76(2H, m), 3.07(1H, 五重峰, J = 7.0Hz), 3.83(1H, d, J = 7.2Hz), 4.36(1H, dd, J = 7.0、2.7Hz), 4.97-5.07(4H, m), 5.19(1H, t, J = 7.0), 5.73(1H, td, J = 15.4、5.9Hz), 5.92(1H, dd, J = 15.7、8.0Hz) ;^{13}C NMR(500MHz, $CDCl_3$) δ 218.4、205.4、172.1、140.1、137.4、135.4、119.1、115.8、115.6、78.7、76.5、73.9、53.3、46.3、43.7、39.6、36.6、29.2、26.7、26.4、23.8、23.7、19.9、18.9、18.7、15.4、7.06、5.30、-3.29、-3.62 ; $C_{36}H_{66}O_6Si_2Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]673.4，实验值 673.5。

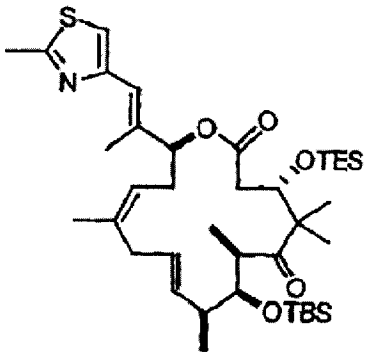
[0277]



47

[0278] 化合物 47 :于回流下向化合物 45(20mg,0.031mmol) 溶于干燥甲苯 (60mL) 的溶液中添加一份三环己基膦 [1,3- 双 (2,4,6- 三甲基苯基)-4,5- 二氢咪唑 -2- 基亚基][亚苄基] 二氯化钌 (IV)(5.2mg,0.0061mmol) 溶于干燥甲苯 (2mL) 的溶液,并将混合物加热 10 分钟。立即在冰浴中将反应混合物冷却,放置于二氧化硅上,用梯度为 4-10%的 EtOAc/ 戊烷作为洗脱液用硅胶层析纯化,获得油状化合物 47(15mg,产率 78%) :[α]-28.6(c 1.2, $CHCl_3$) ;IR(纯)2955、2933、2878、1745、1731、1695、1471、1462、1380、1361、1251、1159、1104、1080、1019、985.0、876.1、835.5、774.7、743.1、670.1cm^{-1} ;^1H NMR(500MHz, $CDCl_3$)0.07(3H, s),0.10(3H, s),0.59-0.68(6H, m),0.91(9H, t, J = 8.0Hz),0.93(9H, s), 1.04(3H, d, J = 7.0Hz),1.10(3H, s),1.11(3H, d, J = 7.0Hz),1.17(3H, s),1.71(3H, s), 2.21(3H, s),2.27-2.32(1H),2.38(1H, dd, J = 14.6、6.8Hz),2.51-2.61(2H, m),2.57(1H, dd, J = 15.5、3.3Hz),2.93-3.1(3H, m),3.94(1H,4J = 8.5Hz),4.28(1H, dd, J = 8.6、3.0Hz),5.04(1H, dd, J = 8.7、2.4),5.16(1H, t, J = 7.5),5.73(1H, ^{t}dd, J = 12.8、9.94、6.9Hz),5.92 (1H, ddd, J = 18.0、10.3、7.8Hz) ;^{13}C NMR(125MHz, $CDCl_3$) δ 215.9、204.8、171.3、140.0、132.7、129.2、118.6、79.1、78.2、75.4、54.0、48.2、41.7、40.3、35.0、29.2、26.6、26.5、23.5、22.8、20.6、18.8、17.5、14.3、7.19、5.53、-3.36 ;$C_{34}H_{62}O_6Si_2$ 的 LRMS(ESI) 计算值 645.4,实验值 645.4(M+Na^+)。

[0279]

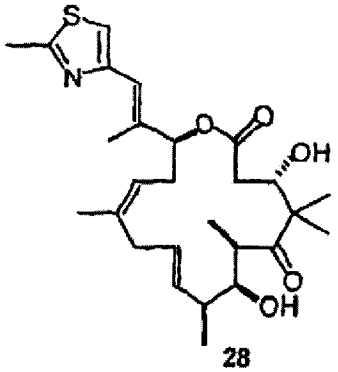


39a

[0280] 化合物 39a :于 0℃下向魏悌希试剂 (19.1mg,54.7μmol) 的 THF(0.4mL) 溶液中添加 KHMDS(109μL 溶于甲苯中的 0.5M 溶液,54.7μmol)。将混合物于 0℃搅拌 0.5 小时,然后冷却至 -78℃。向该混合物滴加酮 47(5.7mg,9.12μmol) 的 THF(0.3mL) 溶液,并将所得混合物经 1.5 小时加热至 -20℃。用饱和 NH4Cl(2mL) 水溶液使反应停止,并用 EtOAc(7mL×3) 萃取。合并的有机层用 Na_2SO_4 干燥并浓缩。通过快速柱层析 (SiO_2,己烷 /Et_2O = 10 : 1) 纯化残余物,获得 5.6mg 不能分离的 E/Z 烯烃混合物 (E1Z = 9 : 1)。通过制备型 TLC(己烷 /Et_2O = 4 : 1) 纯化该混合物,获得无色油状纯 39a(5.0mg,6.96μmol,76%) ;[α]$_D^{25}$-41.5(c 0.715,$CHCl_3$) ;IR(薄膜)v2955、2884、1737、1690、1467、1378、1249、1179、1102、

1014、979、879、826、773cm^{-1} ;^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$) δ 0.08(3H,s),0.12(3H,s),0.57(6H,q,J = 7.8Hz),0.89(9H, t, J = 8.0Hz),0.93(9H, s),1.04(3H, s),1.06(3H, d, J = 7.1Hz),1.12(3H,s),1.17(3H,d,J = 7.1Hz),1.68(3H,s),2.15(3H,d,J = 0.8Hz),2.14-2.27(2H,m),2.45(1H, dd, J = 14.0、4.8Hz),2.50(1H, dd, J = 14.9、3.2Hz),2.64-2.74(2H, m),2.72(3H, s),3.02(1H,五重峰, J = 7.0Hz),3.10(1H, dd, J = 14.4、7.3Hz),3.96(1H, d, J = 8.7Hz),4.43(1H,dd,J = 8.3、2.9Hz),5.22(1H,dd,J = 9.8、5.7Hz),5.33-5.42(2H,m),5.69(1H,dd, 0.12(3H,s),0.57(6H,q,J = 7.8Hz),0.89(9H,t,J = 8.0Hz),0.93(9H,s),1.04(3H, s),1.06(3H, d, J = 7.1Hz),1.12(3H, s),1.17(3H, d, J = 7.1Hz),1.68(3H, s),2.15(3H, d, J = 0.8Hz),2.14-2.27(2H, m),2.45(1H, dd, J = 14.0、4.8Hz),2.50(1H, dd, J = 14.9、3.2Hz),2.64-2.74(2H,m),2.72(3H,s),3.02(1H,五重峰,J = 7.0Hz),3.10(1H,dd,J = 14.4、7.3Hz),3.96(1H,d,J = 8.7Hz),4.43(1H,dd,J = 8.3、2.9Hz),5.22(1H,dd,J = 9.8、5.7Hz),5.33-5.42(2H,m),5.69(1H,dd,J = 15.8、8.2Hz),6.57(1H,s),6.96(1H,s) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.3、-3.2、5.6(3C)、7.1(3C)、15.0、17.2、18.8、19.4、21.4、21.7、23.8、24.3、26.5(3C)、33.2、35.6、41.3、41.8、48.2、54.0、74.4、77.4、79.3、116.4、120.5、121.0、129.3、132.1、137.8、138.0、152.7、164.8、170.7、216.8 ;$C_{39}H_{68}NO_5SSi_2$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H $^{+}$]718.4,实验值 718.3。

[0281]

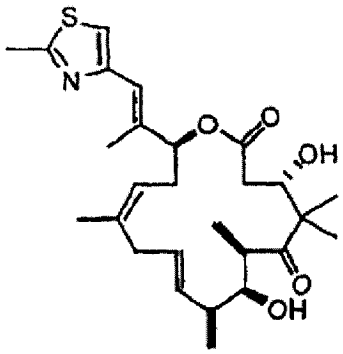


28

[0282] 化合物 28 :于 0℃下向 39a(298.8mg,0.416mmol) 的 THF(6.5mL) 溶液中添加 HF- 吡啶 (3.2mL),并于室温下将混合物搅拌 3 小时。于 0℃下滴加 TMSOMe(30mL) 使反应停止并于室温下将该混合物搅拌 3 小时。于高真空下浓缩并干燥后,残余物通过快速柱层析 (SiO_2,己烷 /EtOAc = 1 : 1) 纯化,获得白色固体 28(196.6mg,0.402mmol,97%) ;

[0283] $[\alpha]_D^{25}$-96.6(c 0.235, $CHCl_3$) ;IR(薄 膜)v3502、2970、2927、1733、1685、1506、1456、1375、1251、1152、1040、977cm^{-1} ;^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.06(3H, s),1.11(3H, d, J = 7.0Hz),1.22(3H,d,J = 6.8Hz),1.28(3H,s),1.72(3H,s),2.10(3H,s),2.31-2.40(2H,m),2.43(1H,dd,J = 16.0、 J = 15.8、8.2Hz),6.57(1H,s),6.96(1H,s) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.3、-3.2、5.6(3C)、7.1(3C)、15.0、17.2、18.8、19.4、21.4、21.7、23.8、24.3、26.5(3C)、33.2、35.6、41.3、41.8、48.2、54.0、74.4、77.4、79.3、116.4、120.5、121.0、129.3、132.1、137.8、138.0、152.7、164.8、170.7、216.8 ;$C_{39}H_{68}NO_5SSi_2$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H^{+}]718.4,实验值 718.3。

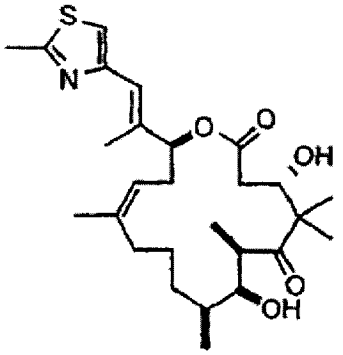
[0284]



28

[0285] 化合物 28(Epo 3)：于 0℃下向 39a(298.8mg,0.416mmol) 的 THF(6.5mL) 溶液中添加 HF·吡啶 (3.2mL)，并将该混合物于室温下搅拌 3 小时。于 0℃下滴加 TMSOMe(30mL) 使反应停止。在高真空下浓缩并干燥后，通过快速柱层析 (SiO_2，己烷 /EtOAc = 1 ： 1) 纯化残余物，获得白色固体状 28(196.6mg,0.402mmol,97％)；$[\alpha]_D^{25}$-96.6(c 0.235,$CHCl_3$)；IR(薄 膜)v3502、2970、2927、1733、1685、1506、1456、1375、1251、1152、1040、977cm^{-1}；^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.06(3H, s)，1.11(3H, d, J = 7.0Hz)，1.22(3H, d, J = 6.8Hz)，1.28(3H, s)，1.72(3H, s)，2.10(3H, s)，2.31-2.40(2H, m)，2.43(1H, dd, J = 16.0、3.7Hz)，2.49(1H, dd, J = 16.0、9.2Hz)，2.55-2.68(2H, m)，2.71(3H, s)，2.98(1H, dd, J = 14.4、6.4Hz)，3.16(1H, 五重峰，J = 6.2Hz)，3.76(1H, dd, J = 5.9、3.2Hz)，4.30(1H, dd, J = 9.2、3.7Hz)，5.18(1H, brt, J = 7.3Hz)，5.32(1H, dd, J = 8.4、2.5Hz)，5.63(1H, dd, J = 15.7、6.4Hz)，5.60(1H, ddd, J = 15.7、6.9、5.1Hz)，6.60(1H, s)，6.98(1H, s)；^{13}CNMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 15.1、16.0、17.7、19.2、19.5、22.5、23.6、32.0、35.0、39.6、40.3、44.8、53.3、71.8、75.6、78.3、116.1、119.6、120.5、129.9、131.3、137.5、138.2、152.2、165.0、170.7、218.8；$C_{27}H_{40}NO_5S$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H^+]490.3，实验值 490.2。

[0286]

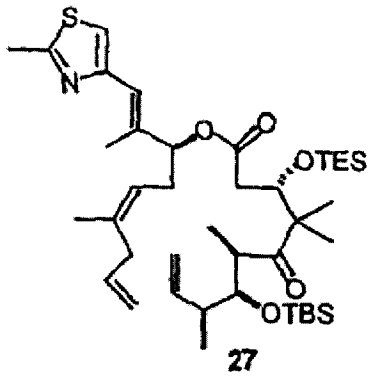


1

[0287] dEpoB(1, Epo 1)：于 50 ℃ 下 向 28(1.2mg,2.5μmol) 及 $TrisNHNH_2$(29.3mg,98μmol) 的 $ClCH_2CH_2Cl$(0.7mL) 溶液中添加 Et_3N(13.7μL,98μmol)。由 HPTLC(己烷 / EtOAc/CH_2Cl_2 = 1/1/2) 监视该反应。搅拌 7 小时后，将该混合物冷却至室温，用 EtOAc 稀释并通过硅胶垫过滤，硅胶垫用 EtOAc 洗涤。浓缩后，用制备型 TLC(己烷 /EtOAc/CH_2Cl_2 = 1/1/2) 纯化残余物，获得白色固体 1(1.1mg,2.2μmol,91％)。

[0288] 1 的光谱数据与所报导 dEpoB 的数据相同。

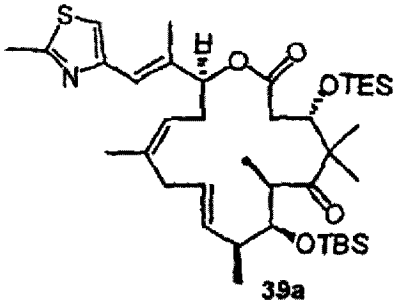
[0289]



27

[0290] 化合物 27 :在反应前将酸 25 及醇 24 与无水苯 (5mL×2) 共沸并在高真空下干燥。于 0℃下向醇 24(639mg,2.63mmol) 的 CH_2Cl_2(13mL) 溶液中添加 EDCI(576mg,3.09mmol) 及 DMAP(366mg,3.09mmol)。于 0℃下经 16 分钟向该混合物中滴加酸 25(1.11g,1.88mmol) 的 CH_2Cl_2(5mL+2mL 洗涤)。于 0℃下搅拌 1.5 小时后,将混合物于室温下搅拌 3.5 小时。浓缩后,残余物通过快速柱层析 (SiO_2,己烷 /EtOAc = 30 : 1 至 20 : 1) 纯化,获得无色油状 27(1.20g,1.61mmol,86%,自特丁基酯开始) ;$[\alpha]_D^{24}$-25.1(c 1.30, $CHCl_3$) ;IR (薄膜)v2955、2925、2872、1732、1696、1461、1378、1290、1243、1173、1091、985、873、773cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.06(3H, s),0.06(3H, s),0.58-0.66(6H, m),0.92(9H, s),0.95(9H, t, J = 8.0Hz),1.02(3H,d, J = 6.5Hz),1.03(3H,d, J = 6.5Hz),1.07(3H,s),1.21(3H,s),1.67(3H,s),2.07(3H,s),2.05-2.12(1H,m),2.30(1H,dd, J = 16.9、7.5Hz),2.39(1H,dt, J = 14.8、6.7Hz),2.49(1H,dd, J = 17.0、3.0Hz),2.50(1H,dt, J = 14.8、6.7Hz),2.70(3H, s),2.74-2.30(2H, m),3.07(1H, dd, J = 7.0Hz),3.83(1H, dd, J = 7.1、2.0Hz),4.35(1H, dd, J = 7.4、2.8Hz),4.98-5.07(4H,m),5.16(1H,brt, J = 7.0Hz),5.23(1H,t, J = 6.9Hz),5.74(1H, ddt, J = 16.7、10.2、6.5Hz),5.91(1H, ddd, J = 17.8、10.5、7.8Hz),6.50(1H, s),6.95(1H,s) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.7、-3.3、5.3(3C)、7.2(3C)、14.8、15.2、18.7、18.9、19.4、20.3、23.6、23.7、26.4(3C)、31.7、36.7、40.1、43.8、46.4、53.3、74.2、76.5、79.6、115.5、115.6、116.5、120.5、121.3、135.8、136.1、137.4、140.2、152.9、164.7、171.5、218.4 ;$C_{41}H_{71}NO_5SSi_2$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]768.5,实验值 768.5。

[0291]

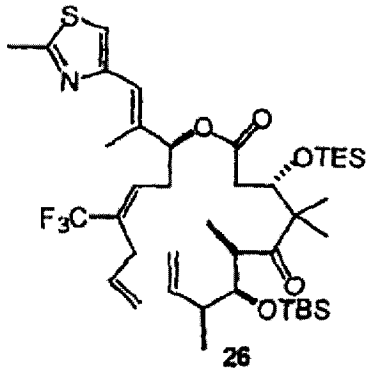


39a

[0292] 化合物 39a :将 27(26.9mg,36.1μmol) 的甲苯 (70mL) 溶液加热至回流并用 Grubbs 催化剂 (3.1mg,3.61μmol) 的甲苯 (2mL) 溶液处理。将混合物搅拌 25 分钟,冷却至 0℃并通过硅胶垫过滤,硅胶垫用己烷 /EtOAc = 2/1 洗涤。将合并的滤液过滤、浓缩并通过快速柱层析 (SiO_2,己烷 /Et20 = 40 : 1 至 5 : 1) 纯化,获得无色油状 39a(9.9mg,13.8μmol,38 %) ;$[\alpha]_D^{25}$-41.5(c 0.715, $CHCl_3$) ;IR(薄 膜)v2955、2884、1737、1690、1467、1378、1249、1179、1102、1014、979、879、826、773cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz,

$CDCl_3$) δ 0.08(3H,s), 3.7Hz),2.49(1H,dd,J = 16.0、9.2Hz),2.55-2.68(2H,m),2.71(3H,s),2.98(1H, dd, J = 14.4、6.4Hz),3.16(1H,五重峰, J = 6.2Hz),3.76(1H, dd, J = 5.9、3.2Hz),4.30(1H, dd, J = 9.2、3.7Hz),5.18(1H, brt, J = 7.3Hz),5.32(1H, dd, J = 8.4、2.5Hz),5.63(1H, dd, J = 15.7、6.4Hz),5.60(1H, ddd, J = 15.7、6.9、5.1Hz),6.60(1H,s),6.98(1H, s) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 15.1、16.0、17.7、19.2、19.5、22.5、23.6、32.0、35.0、39.6、40.3、44.8、53.3、71.8、75.6、78.3、116.1、119.6、120.5、129.9、131.3、137.5、138.2、152.2、165.0、170.7、218.8 ;$C_{27}H_{40}NO_5S$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H$^+$]490.3,实验值 490.2。

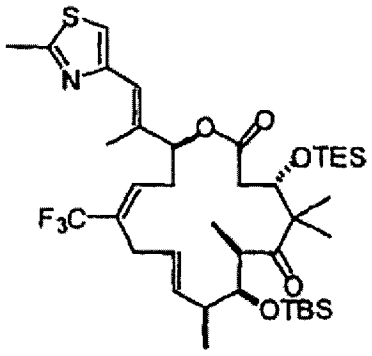
[0293]



26

[0294] 化合物 26 :在反应前将酸 25 及醇 21 与无水甲苯 (5mL×2) 共沸并于高真空下干燥。于 0℃下向醇 21(240mg,0.756mmol) 的 CH_2Cl_2(5mL) 溶液添加 EDCI(192.7mg,1.01mmol) 及 DMAP(122.8mg,1.01mmol)。于 0℃下经 15 分钟向该混合物中滴加酸 25(314.6mg,0.628mmol) 的 CH_2Cl_2(2mL+1mL 洗涤) 溶液。于 0℃下搅拌 2 小时后,再将混合物于室温下搅拌 2 小时。浓缩后,残余物通过快速柱层析 (SiO_2,己烷 /EtOAc = 20.1 至 15 : 1) 纯化,获得无色油状 26(340.1mg,0.425mmol,以酸计为 68%) ;[α]$_D^{24}$-27.5(c 0.28, $CHCl_3$) ;IR(薄 膜)v2956、2878、1740、1692、1472、1378、1317、1253、1174、1118、988、915、872、837、775cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.06(6H,s),0.57-0.65(6H,m),0.92(9H,s),0.94(9H,t,J = 7.9Hz),1.02(3H, d, J = 6.9Hz),1.03(3H, d, J = 6.8Hz),1.07(3H, s),1.22(3H, s),2.07-2.10(1H, m),2.09(3H, s),2.31(1H, dd, J = 16.9、7.3Hz),2.51(1H, dd, J = 16.8、3.0Hz),2.49-2.65(2H, m),2.71(3H, s),2.96-2.99(2H, m),3.06(1H,五重峰, J = 7.1Hz),3.83(1H, dd, J = 7.3、2.1Hz),4.35(1H, dd, J = 7.2、3.0Hz),4.98-5.12(4H,m),5.30(1H,t,J = 6.7Hz),5.76(1H,ddt,J = 16.7、10.2、6.2Hz),5.92(1H,ddd,J = 17.8、9.9、7.8Hz),6.19(1H, t, J = 7.0Hz),6.51(1H, s),6.97(1H, s) ;$C_{41}H_{68}F_3NO_5SSi_2Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na$^+$]822.4,实验值 822.4。

[0295]

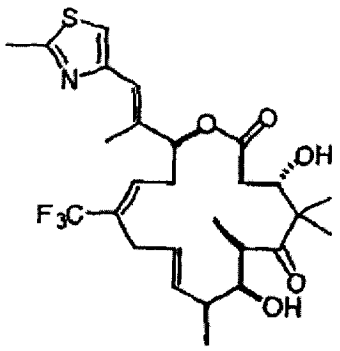


40a

[0296] 化合物 40a(通过 26 的 RCM):将 26(57.6mg,72.0μmol)的甲苯(142mL)溶液加热至回流并用 Grubbs 催化剂(6.1mg,7.20μmol)的甲苯(2mL)溶液处理。将混合物搅拌 28 分钟,冷却至 0℃并用硅胶垫过滤,硅胶垫用己烷 /EtOAc = 2/1(300mL)冲洗。将合并的滤液浓缩并通过快速柱层析(SiO_2,己烷 /Et20 = 40 : 1 至 15 : 2)纯化,获得无色油状 40a(12.0mg,15.5μmol,22%);

[0297] IR(薄膜)v2955、2884、1743、1690、1472、1320、1173、1114、1038、1008、873、832、773cm^{-1};^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.09(3H, s),0.12(3H, s),0.55(6H, q, J = 7.7Hz),0.88(9H, t, J = 8.0Hz),0.96(9H, s),1.01(3H, s),1.06(3H, d, J = 7.1Hz),1.12(3H, s),1.20(3H, d, J = 7.1Hz),2.07-2.17(1H, m),2.19(3H, s),2.38(1H, dd, J = 14.3、3.5Hz),2.39-2.49(1H, m),2.50(1H, dd, J = 14.3、7.3Hz),2.73(3H, s),2.77-2.91(2H, m),2.96-3.09(2H,m),3.98(1H,dd,J = 8.9Hz),4.54(1H,dd,J = 7.3、3.4Hz),5.28-5.38(1H, m),5.63(1H, dd, J = 9.6、2.3Hz),5.77(1H, dd, J = 15.9、8.5Hz),6.21-6.28(1H, m),6.60(1H,s),6.99(1H,s);$C_{39}H_{65}F_3NO_5SSi_2$ 的 LRMS(ESI)计算值 [M+H^+]772.4,实验值 772.4。

[0298]



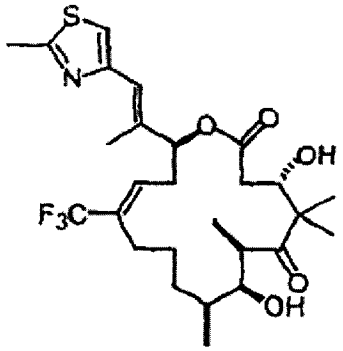
29

[0299] 化合物 29:于 0℃下缓慢向 40a(1.78g,2.31mmol)的 THF(25mL)溶液中添加 HF- 吡啶(12.5mL),并于室温下将该混合物搅拌 4 小时。通过于 0℃下经 10 分钟滴加 TMSOMe(80mL)使反应停止。于室温下将混合物剧烈搅拌 2.5 小时。于高真空下浓缩并干燥 2 小时后,残余物通过快速柱层析(SiO_2 约 50g,己烷 /EtOAc = 1 : 1)纯化,获得无色粉末 29(1.20g,2.21mmol,96%);

[0300] $[\alpha]_D^{25}$-54.6(c 0.28, $CHCl_3$);IR(薄膜)v3478、2974、2929、1736、1689、1449、1381、1318、1247、1169、1113、1039、983、867、736cm^{-1};^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.05(3H, s),1.12(3H, d, J = 7.0Hz),1.23(3H, d, J = 6.8Hz),1.37(3H, s),2.04(1H, brd, J = 3.8Hz,-OH),2.12(3H,s),2.25-2.33(1H,m),2.38(1H,dd,J = 15.3、3.0Hz),2.48(1H,dd,J

= 15.4、9.8Hz)，2.54-2.61(1H,m)，2.66-2.76(1H,m)，2.71(3H,s)，2.96(1H,dd,J = 16.5、4.5Hz)，3.02(1H,dd,J = 16.3,6.5Hz)，3.11(1H,五重峰,J = 6.7Hz)，3.19(1H,brs,= OH)，3.74(1H, brs)，4.35(1H, brd, J = 9.5Hz)，5.42(1H, dd, J = 6.2、4.1Hz)，5.60(1H, ddd, J = 15.8、5.6、4.5Hz)，5.66(1H, dd, J = 15.8、5.8Hz)，6.24(1H, t, J = 7.2Hz)，6.64(1H, s)，7.00(1H, s)；^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 15.1、16.1、17.7、18.5、19.3、22.5、28.8、31.1、39.6、39.7、45.0、53.7、71.4、75.3、76.8、116.7、120.2、124.3[q, ^1J(C, F) = 273.4Hz]、127.9、130.2[q, ^3J(C, F) = 6.0Hz]、130.6[q, ^2J(C, F) = 28.4Hz]、132.5、136.7、152.0、165.4、170.2、218.4；$C_{27}H_{37}F_3NO_5S$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [$M+H^+$]544.2，实验值 544.1。

[0301]

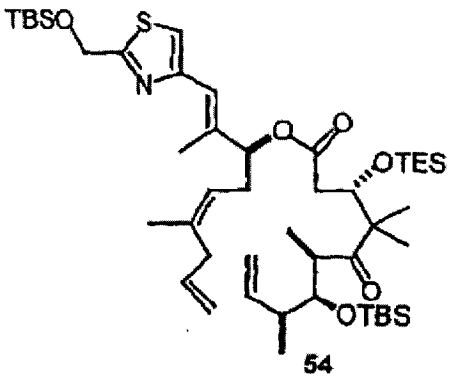


2

[0302] 化合物 2：于 50℃下向 29(1.22mg,2.24μmol) 及 $TrisNHNH_2$(26.7mg,89.6μmol) 的 $ClCH_2CH_2Cl$(1mL) 的溶液中添加 Et_3N(12.5μL,89.6μmol)。通过 HPTLC(己烷 /EtOAc/CH_2Cl_2 = 1/1/2) 监视反应。搅拌 6.5 小时后，再次将 $TrisNHNH_2$(26.7mg,89.6μmol) 及 Et_3N(12.5μL,89.6μmol) 添加至该混合物。搅拌 14 小时后，将混合物冷却至室温，用 EtOAc 稀释并通过硅胶垫过滤，硅胶垫用 EtOAc 冲洗。浓缩后，残余物用制备型 TLC(己烷 /EtOAc/CH_2Cl_2 = 1/1/2) 纯化，获得白色固体 2(1.16mg,2.13μmol,94%)；

[0303] ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.03(3H, d, J = 7.0Hz)，1.08(3H, s)，1.19(3H, d, J = 6.8Hz)，1.25-1.35(2H, m)，1.37(3H, s)，1.42-1.55(2H, m)，1.65-1.82(2H, m)，2.10(3H, d, J = 0.8Hz)，2.21-2.47(2H, m)，2.27(1H, dd, J = 14.2、2.6Hz)，2.48(1H, dd, J = 14.3、10.8Hz)，2.70(3H, s)，2.70-2.28(1H, m)，3.02(1H, d, J = 2.0Hz, -OH)，3.19(1H, qd, J = 6.9、2.2Hz)，3.65(1H, d, J = 6.2Hz, -OH)，3.69-3.72(1H, m)，4.34(1H, ddd, J = 10.8、6.2、2.6Hz)，5.28(1H, dd, J = 10.2、2.2Hz)，6.12(1H, dd, J = 10.2、5.2Hz)，6.61(1H, s)，6.98(1H, s)；$C_{27}H_{39}F_3NO_5S$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [$M+H^+$]546.3，实验值 546.2。

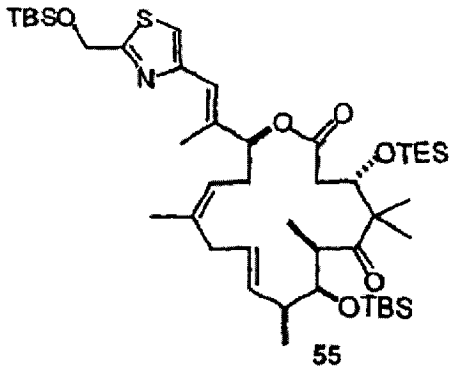
[0304]



54

[0305] 化合物 54：在反应前将酸 25 及醇 53 与无水甲苯 (3mLx2) 共沸并于高真空下干燥。于 0℃下向醇 53(68.0mg,0.173mmol) 的 CH_2Cl_2(1.3mL) 溶液中添加 EDCI(37.8mg,0.197mmol) 及 DMAP(24.1mg,0.197mmol)。于 0℃下经 5 分钟向该混合物滴加酸 25(72.6mg,0.123mmol) 的 CH_2Cl_2(0.7mL) 溶液。于 0℃下搅拌 1 小时后，将混合物于室温下搅拌 2 小时。浓缩后，残余物通过快速柱层析 (SiO_2，己烷 /EtOAc = 30 ：1) 纯化，获得无色油状 54(99.5mg,0.114mmol，自特丁基酯开始 92％)；$[\alpha]_D^{25}$-23.4(c 0.56, $CHCl_3$)；IR(薄 膜)v2955、2931、2880、1735、1696、1506、1472、1386、1362、1294、1254、1174、1104、988、878、776、742cm^{-1}；^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.06(3H, s),0.06(3H, s),0.14(6H, s),0.63(6H, q, J = 8.0Hz),0.92(9H, s),0.94(9H, t, J = 8.0Hz),0.97(9H, s),1.02(3H, d, J = 6.6Hz),1.05(3H, d, J = 6.5Hz),1.07(3H, s),1.21(3H, s),1.67(3H, s),2.06(3H, d, J = 0.8Hz),2.05-2.14(1H, m),2.30(1H, dd, J = 16.9、7.5Hz),2.33-2.53(2H, m),2.50(1H,dd,J = 16.9、2.7Hz),2.76-2.80(2H,m),3.07(1H,五重峰,J = 7.0Hz),3.83(1H, dd, J = 7.0、2.2Hz),4.35(1H, dd, J = 7.4、2.8Hz),4.97(2H, s),4.97-5.07(4H, m),5.16(1H, t, J = 7.2Hz),5.24(1H, t, J = 6.9Hz),5.74(1H, ddt, J = 16.6、10.0、6.5Hz),5.91(1H, ddd, J = 17.6、9.9、7.7Hz),6.50(1H, s),7.06(1H, s)；^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -5.2(2C)、-3.7、-3.3、5.3(3C)、7.2(3C)、14.7、15.2、18.5、18.7、18.9、20.3、23.6、23.7、26.0(3C)、26.4(3C)、31.7、36.7、40.1、43.8、46.4、53.3、63.4、74.2、76.5、79.6、115.5、115.6、116.6、120.5、121.3、135.8、136.1、137.4、140.1、153.0、171.5、172.2、218.4；$C_{47}H_{86}NO_6SSi_3$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H$^+$]876.6，实验值 876.5。

[0306]

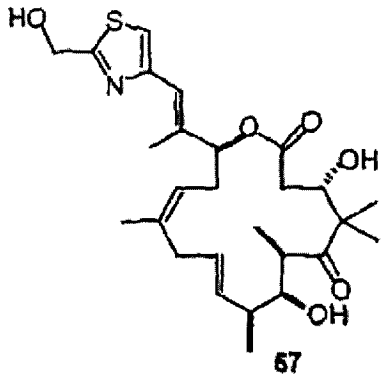


55

[0307] 化合物 55：将 54(69.7mg,79.5μmol) 的甲苯 (158mL) 溶液加热至回流并用 Grubbs 催化剂 (6.7mg,7.95μmol) 的甲苯 (2mL) 溶液处理。将混合物搅拌 11 分钟，冷却至 0℃并用硅胶垫过滤，硅胶垫用已烷 /EtOAc = 3/1(280mL) 冲洗。将合并的滤液浓缩并通过快速柱层析 (SiO_2，己烷 /Et_2O = 20 ：1 至 15 ：1) 纯化，获得无色油状 55(18.4mg,21.7μmol,27 ％)；$[\alpha]_D^{24}$-40.4(c 0.26, $CHCl_3$)；IR(薄 膜)v2955、2930、2879、1740、1694、1472、1387、1362、1253、1200、1107、1007、838、776、742cm^{-1}；^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.08(3H,s),0.12(3H,s),0.15(6H,s),0.57(6H,q,J = 7.9Hz),0.88(9H,t,J = 8.0Hz),0.95(9H, s),0.97(9H, s),1.04(3H, s),1.06(3H, d, J = 7.1Hz),1.12(3H, s),1.17(3H, d, J = 7.0Hz),1.69(3H, s),2.06-2.30(2H, m),2.14(3H, s),2.45(1H, dd, J = 15.6、3.6Hz),2.50(1H, dd, J = 14.9、3.1Hz),2.63-2.75(2H, m),2.97-3.06(1H, m),3.10(1H, dd, J = 14.6、7.7Hz),3.97(1H,d,J = 8.5Hz),4.44(1H,dd,J = 8.4、2.9Hz),4.97(2H,s),5.22(1H,

dd, J = 8.7、5.2Hz), 5.33-5.44(2H, m), 5.70(1H, dd, J = 15.6、8.1Hz), 6.57(1H, s), 7.07(1H, s) ; $C_{45}H_{82}NO_6SSi_3$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H$^+$]848.5, 实验值 848.5。

[0308]

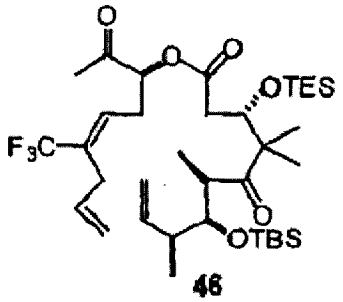


67

[0309] 化合物 57 : 于 0℃下向 55(61.8mg, 72.8μmol) 的 THF(2mL) 溶液中添加 HF- 吡啶 (1mL), 并于室温下将混合物搅拌 3.2 小时。通过于 0℃下滴加 TMSOMe(15mL) 使反应停止。将混合物于室温下搅拌 2 小时。于高真空下浓缩并干燥后, 残余物通过快速柱层析 (SiO_2, 己烷 /EtOAc = 1 : 3) 纯化, 获得白色固体 57(32.4mg, 64.1μmol, 88%) ;

[0310] $[\alpha]_D^{25}$-108.4(c 0.285, $CHCl_3$) ; IR(薄 膜)v3422、2968、2919、2729、1689、1449、1377、1252、1152、1064、978cm^{-1} ; ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.05(3H, s), 1.12(3H, d, J = 6.9Hz), 1.22(3H, d, J = 6.8Hz), 1.32(3H, s), 1.72(3H, s), 2.08(3H, s), 2.31-2.40(3H, m), 2.43(1H, dd, J = 15.5、3.5Hz), 2.49(1H, dd, J = 15.5、9.5Hz), 2.55-2.67(2H, m), 2.95(1H, dd, J = 14.6、6.3Hz), 3.13(1H, 五重峰, J = 6.6Hz), 3.34(1H, brs, -OH), 3.75(1H, dd, J = 6.6、2.4Hz), 4.06(1H, brs, -OH), 4.33(1H, dd, J = 9.4、3.0Hz), 4.92(2H, s), 5.18(1H, t, J = 6.9Hz), 5.33(1H, dd, J = 8.0、2.5Hz), 5.52(1H, dd, J = 15.8、6.4Hz), 5.59(1H, ddd, J = 15.8、6.6、5.0Hz), 6.63(1H, s), 7.13(1H, s) ; ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 15.3、16.3、17.8、19.2、22.8、23.7、31.9、35.1、39.7、40.2、45.0、53.4、61.8、71.7、75.8、78.1、116.7、119.0、120.5、130.0、131.2、137.6、138.9、152.5、170.0、170.7、218.7 ; $C_{27}H_{39}NO_6SNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na$^+$]528.2, 实验值 528.0。

[0311]

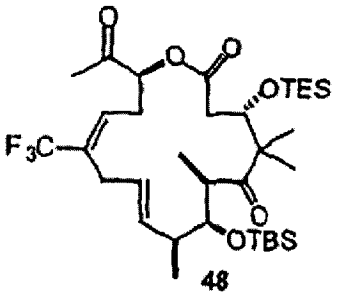


46

[0312] 化合物 46 : 在反应前将粗制酸 25(4.65g, 7.27mmol) 及醇 44(2.18g, 9.84mmol) 与无水苯共沸并于高真空下干燥。于 0℃下向醇 44(2.18g, 9.84mmol) 的 CH_2Cl_2(65mL) 溶液中添加 EDCI(2.09g, 10.9mmol) 及 DMAP(1.33g, 10.9mmol)。于 0℃下经 20 分钟向该混合物中滴加粗制酸 25(4.65g, 7.27mmol) 的 CH_2Cl_2(20mL+5mL 冲洗) 溶液。于 0℃下搅拌 40 分钟后, 再于室温下将混合物 搅拌 4 小时。浓缩后, 残余物通过快速柱层析 (SiO_2 约 160g, 己烷 /EtOAc = 20 : 1) 纯化, 获得无色油状 46(4.85g, 6.87mmol, 自特丁酯开始 94%) ;

[0313] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.08(3H, s),0.08(3H, s),0.60(6H, q, J = 7.5Hz),0.93(9H, s),0.94(9H, t, J = 8.0Hz),1.04(3H, d, J = 7.0Hz),1.04(3H, d, J = 7.0Hz),1.11(3H, s),1.23(3H, s),2.05-2.14(1H, m),2.17(3H, s),2.40(1H, dd, J = 16.9、7.0Hz),2.59(1H, dd, J = 17.0、3.6Hz),2.56-2.64(2H, m),2.90-3.01(2H, m),3.06(1H,五重峰, J = 7.0Hz),3.85(1H, dd, J = 7.3、2.0Hz),4.38(1H, d, J = 7.0、3.4Hz),4.97-5.14(5H, m),5.75(1H, ddt, J = 16.0、9.9、6.2Hz),5.92(1H, ddd, J = 17.8、10.5、7.8Hz),6.21(1H, td, J = 7.2、1.5Hz) ;$C_{36}H_{63}F_3O_6Si_2Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]727.4,实验值 727.3。

[0314]

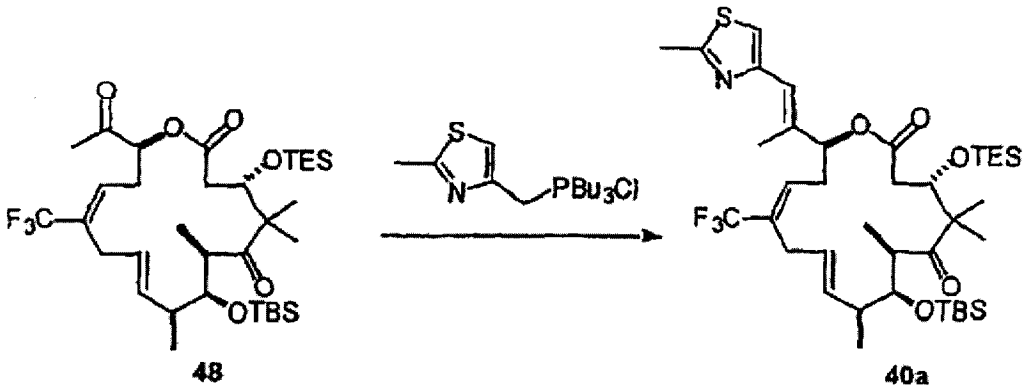


48

[0315] 化合物 48 :将 46(510.0mg,0.723mmol) 的甲苯 (500mL) 溶液加热至回流并用 Grubbs 催化剂 (92.1mg,0.109mmol) 的甲苯 (10mL) 溶液处理。在回流下将混合物搅拌 17 分钟并立即冷却至 0℃,在用硅胶垫过滤之前保持在 0℃。以同样方式同时处理第二批二烯 (510.0mg,0.723mmol)。用硅胶垫 (100g) 过滤合并的反应混合物,硅胶垫用己烷 /EtOAc = 3/1(1.4L) 冲洗。将合并的滤液浓缩并通过快速柱层析 (SiO_2 约 65g,己烷 /Et_2O = 10 : 1 至 5 : 1) 纯化,获得无色油状 48(742.4mg,1.10mmol,76%) ;

[0316] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.08(3H),0.10(3H, s),0.60(6H, q, J = 7.8Hz),0.93(9H, s),0.94(9H, t, J = 7.8Hz),1.03(3H, d, J = 7.1Hz),1.08(3H, s),1.13(3H, d, J = 7.0Hz),1.17(3H, s),2.26(3H, s),2.25-2.34(1H, m),2.64(1H, dd, J = 15.5、5.0Hz),2.68-2.75(2H,m),2.76(1H,dd,J = 15.6,6.4Hz),2.85(1H,dd,J = 15.6,5.7Hz),2.97(1H, dq, J = 8.3、6.9Hz),3.04(1H, dd, J = 15.6、6.3Hz),3.92(1H, dd, J = 8.3、1.2Hz),4.36(1H,t,J = 5.3Hz),5.30-5.39(2H,m),5.58(1H,dd,J = 15.5、8.0Hz),6.13(1H,bit,J = 7.2Hz) ;^{13}C NMR(100MHz,$CDCl_3$) δ -3.6、-3.6、5.4(3C)、7.0(3C)、17.5、18.5、19.0、21.6、23.5、26.3(3C)、26.5、28.6、29.1、41.0、42.3、47.3、54.1、74.2、76.8、77.7、124.0[^{1}J(C, F) = 273.7Hz],126.0、128.7[^{3}J(C, F) = 5.9Hz]、132.2[^{2}J(C, F) = 28.1Hz]、133.8、170.5、204.1、216.1 ;$C_{34}H_{59}F_3O_6Si_2Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]699.4,实验值 699.4。

[0317]

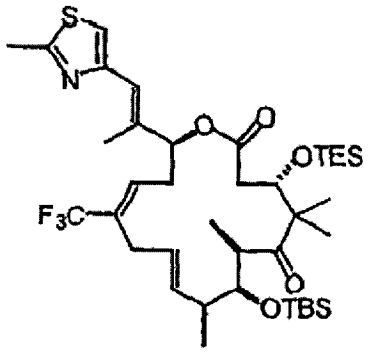


48 40a

[0318] 化合物 40a(通过酮 48 的魏悌希反应):

[0319] 将酮 48 与苯共沸,然后于高真空下干燥 0.5 小时。于 0℃下经 5 分钟向魏悌希盐 (907mg,2.59mmol) 的 THF(19mL) 溶液中滴加 t-BuOK(2.4mL 于 THF 的 1.0M 溶液,2.43mmol)。将混合物于 0℃下搅拌 0.5 小时,然后冷却至 -78℃。经 10 分钟向该混合物中滴加酮 48(1.10g,1.62mmol) 的 THF(13mL) 溶液,并经 2 小时将混合物加热至 -20℃。用饱和 NH_4Cl(15mL) 水溶液使反应停止并用 EtOAc(50mLx3) 萃取。合并的有机层用盐水 (20mL) 洗涤、Na_2SO_4 干燥并浓缩。残余物通过快速层析 (SiO_2,已烷 /Et_2O = 20 : 1 至 10 : 1) 纯化,获得所期望的 16(E)- 异构体 40a(940mg,1.22mmol,75%) 及不希望的 16(Z)- 异构体 40b(140.9mg,0.182mmol,11%),二者皆为无色油状物;

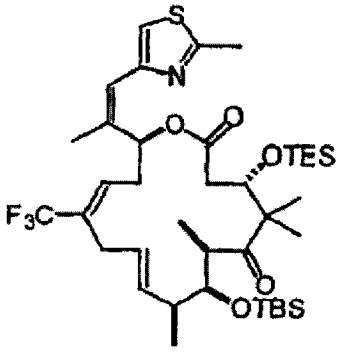
[0320]



40a

[0321] $[\alpha]_D^{26}$-17.1(c 0.14,$CHCl_3$);^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$) δ 0.09(3H,s),0.12(3H,s),0.55(6H,q,J = 7.7Hz),0.88(9H,t,J = 8.0Hz),0.96(9H,s),1.01(3H,s),1.06(3H,d,J = 7.1Hz),1.12(3H,s),1.20(3H,d,J = 7.1Hz),2.07-2.17(1H,m),2.19(3H,s),2.38(1H,dd,J = 14.3、3.5Hz),2.39-2.49(1H,m),2.50(1H,dd,J = 14.3、7.3Hz),2.73(3H,s),2.77-2.91(2H,m),2.96-3.09(2H,m),3.98(1H,dd,J = 8.9Hz),4.54(1H,dd,J = 7.3、3.4Hz),5.28-5.38(1H,m),5.63(1H,dd,J = 9.6、2.3Hz),5.77(1H,dd,J = 15.9、8.5Hz),6.21-6.28(1H,m),6.60(1H,s),6.99(1H,s);^{13}C NMR(100MHz,$CDCl_3$) δ -3.4、-3.3、5.5(3C)、7.0(3C)、14.6、17.1、18.7、19.4、19.9、21.3、24.8、26.4(3C)、29.6、32.8、42.0、42.1、48.2、54.1、73.4、76.9、77.8、117.0、121.6、124.3[^1J(C,F) = 273.5Hz]、127.2、130.6[^2J(C,F) = 28.2Hz]、130.8[^3J(C,F) = 6.1Hz]、133.2、136.5、152.3、165.0、170.1、217.1;$C_{39}H_{65}F_3NO_5SSi_2$ 的 HRMS(ESI) 计算值 [M+H^+]772.4074,实验值 772.4102。

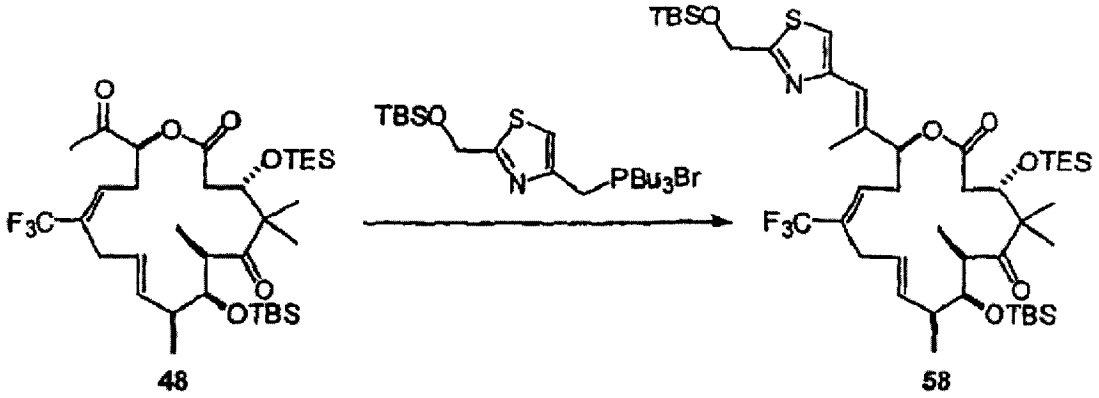
[0322]



40b

[0323] $[\alpha]_D^{25}$ 62.7(c 0.33, $CHCl_3$) ;1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.09(3H, s),0.13(3H, s),0.49(6H, q, J = 7.8Hz),0.85(9H, t, J = 7.8Hz),0.97(9H, s),0.99(3H, s), 1.06(3H, d, J = 7.1Hz),1.11(3H, s),1.20(3H, d, J = 7.1Hz),2.00(3H, s),2.03-2.13(1H, m), 2.35(1H,dd,J = 14.3、3.0Hz),2.46(1H,dd,J = 14.3、7.8Hz),2.41-2.50(1H,m),2.73(3H, s),2.71-2.90(2H, m),2.98-3.12(2H, m),3.99(1H, d, J = 9.2Hz),4.56(1H, dd, J = 7.7、2.8Hz),5.33(1H, ddd, J = 15.6、8.9、4.1Hz),5.82(1H, dd, J = 15.6、8.4Hz),6.29(1H, s),6.33-6.40(1H, m),6.94(1H, m),7.09(1H, brd, J = 8.4Hz) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -3.2、-3.2、5.5(3C)、7.0(3C)、17.2、18.7、19.3、19.6、20.0、22.3、24.9、26.4(3C)、29.7、32.9、41.9、42.0、48.6、54.0、72.2、73.3、77.0、116.7、120.7、124.5[^1J(C, F) = 273.3Hz]、127.9、129.7[^2J(C, F) = 28.0Hz]、131.9[^3J(C, F) = 6.1Hz]、132.9、136.6、152.1、165.4、170.2、217.4 ;$C_{39}H_{65}F_3NO_5SSi_2$ 的 HRMS(ESI) 计算值 [M+H$^+$]772.4,实验值 772.4。

[0324]

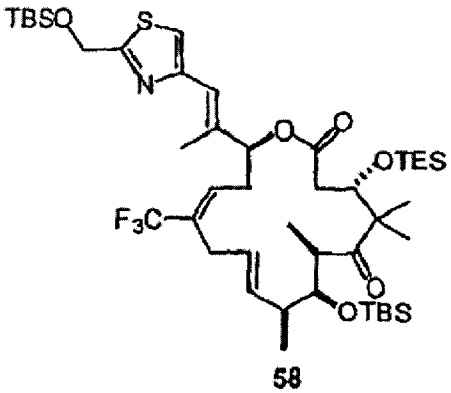


48 58

[0325] 化合物 58(通过酮 48 的魏悌希反应):

[0326] 将酮 48 与苯 (5mL×2) 共沸,然后于高真空下干燥 0.5 小时。于 0℃下经 5 分钟向魏悌希盐 (1.19g,2.27mmol) 的 THF(18mL) 溶液中滴加 t-BuOK(2.2mL 溶于 THF 的 1.0M 溶液,2.20mmol)。将混合物于 0℃下搅拌 20 分钟,然后冷却至 -78℃。经 10 分钟向该混合物中滴加酮 (1.06g,1.51mmol) 的 THF(10mL+2mL 冲洗) 溶液,并经 2 小时将混合物加热至 -20℃。用饱和 NH_4Cl(15mL) 水溶液使反应停止并用 EtOAc(50mLx3) 萃取。合并的有机层用盐水 (20mL) 洗涤、Na_2SO_4 干燥并浓缩。残余物通过快速柱层析 (SiO_2 约 65g,己烷 /Et_2O = 30 : 1 至 20 : 1) 纯化,获得所期望的 16(E)- 异构体 58(1.01g,1.11mmol,74%) 及不希望的 16(Z)- 异构体 58a(154.5mg,0.182mmol,11%),二者皆为无色油状物;

[0327]



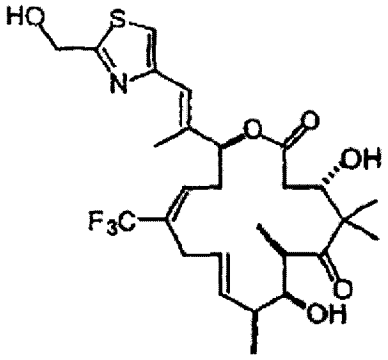
58

[0328] ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.09(3H, s),0.12(3H, s),0.15(6H, s),0.55(6H, q,

J = 7.8Hz),0.87(9H, t, J = 8.0Hz),0.96(9H, s),0.97(9H, s),1.01(3H, s),1.06(3H, d, J = 7.1Hz),1.12(3H, s),1.20(3H, d, J = 7.1Hz),2.07-2.16(1H, m),2.18(3H, d, J = 1.0Hz),2.38(1H, dd, J = 14.4、3.3Hz),2.34-2.46(1H, m),2.49(1H, dd, J = 14.4、7.4Hz),2.78-2.90(2H, m),2.97-3.09(2H, m),3.98(1H, d, J = 8.9Hz),4.54(1H, dd, J = 7.3、3.3Hz),4.97(2H, s),5.33(1H, ddd, J = 15.8、8.6、4.9Hz),5.63(1H, dd, J = 9.6、2.4Hz),5.78(1H, dd, J = 15.8、8.2Hz),6.22-6.27(1H, m),6.60(1H, s),7.09(1H, s) ; ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ -5.3(2C)、-3.4、-3.3、5.5(3C)、7.0(3C)、14.6、17.1、18.4、18.7、19.8、21.3、24.8、25.9(3C)、26.4(3C)、29.6、32.9、42.0、42.1、48.2、54.1、63.4、73.4、76.9、77.8、117.2、121.7、124.3[q, ^1J(C, F) = 273.6Hz]、127.2、130.7[q, ^2J(C, F) = 27.5Hz]、130.8[q, ^2J(C, F) = 6.2Hz]、133.2、136.4、152.6、170.1、172.4、217.1 ; $C_{45}H_{78}F_3NO_6SSi_3Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]924.5,实验值 924.5。

[0329] ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.07(3H, s),0.13(3H, s),0.16(6H, s),0.48(6H, q, J = 7.8Hz),0.84(9H, t, J = 7.9Hz),0.97(18H, s),0.98(3H, s),1.06(3H, d, J = 7.1Hz),1.11(3H, s),1.20(3H, d, J = 7.2Hz),2.00(3H, s),2.03-2.11(1H, m),2.33(1H, dd, J = 14.1、2.8Hz),2.43(1H, dd, J = 14.0、7.8Hz),2.40-2.48(1H, m),2.76-2.89(2H, m),2.97-3.10(2H, m),3.99(1H, d, J = 93Hz),4.57(1H, dd, J = 7.8、2.6Hz),4.95(1H, d, J = 14.6Hz),5.00(1H, d, J = 14.6Hz),5.33(1H, ddd, J = 15.6、9.1、3.8Hz),5.82(1H, dd, J = 15.6、8.3Hz),6.30(1H, s),6.32-6.38(1H, m),7.04(1H, s),7.11(1H, dd, J = 11.0,2.3Hz) ; $C_{45}H_{78}F_3NO_6SNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]924.5,实验值 924.5。

[0330]



59

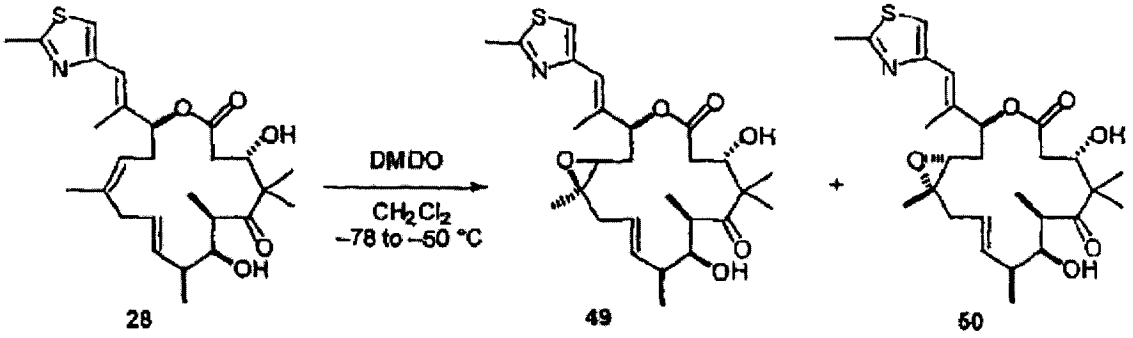
[0331] 化合物 59 :

[0332] 于 0℃下向 58(1.04g,2.25mmol) 的 THF(22mL) 溶液中缓慢添加 HF •吡啶 (11mL),并于室温下将混合物搅拌 4.3 小时。于 0℃下经 10 分钟滴加 TMSOMe(75mL) 使反应停止。于室温下将该混合物剧烈搅拌 4.2 小时。于高真空下浓缩干燥 1 小时后,残余物通过快速柱层析 (SiO_2 约 25g,己烷 /EtOAc = 3 : 4 至 1 : 2) 纯化,获得无色固体 59(615.7mg,1.00mmol,96%) ;

[0333] $[\alpha]_D^{25}$-57.7(c 1.20, $CHCl_3$) ; ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.04(3H, s),1.12(3H, d, J = 6.9Hz),1.25(3H, d, J = 6.8Hz),1.36(3H, s),1.90(1H, d, J = 6.6Hz, OH),2.08(3H, s),2.23-2.32(1H, m),2.34(1H, dd, J = 15.7、2.4Hz),2.49(1H, dd, J = 15.7、10.1Hz),2.59-2.69(2H, m),2.95-3.01(2H, m),3.04(1H, 五重峰, J = 6.8Hz),3.72(1H, td, J = 7.0、

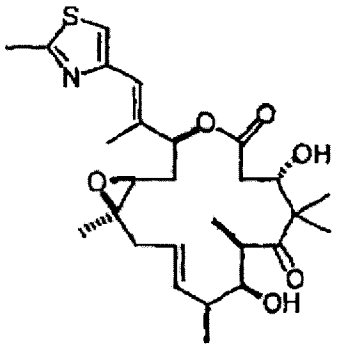
3.0Hz),3.78(1H, d, J = 5.7Hz, OH),4.38(1H, ddd, J = 10.1、5.7、2.4Hz),4.90(2H, d, J = 6.1Hz),5.10(1H, t, J = 6.1Hz, OH),5.44(1H, t,7 = 4.7Hz),5.60(1H, dd, J = 15.9、4.4Hz),5.66(1H,dd,J = 15.9、5.0Hz),6.28(1H,t,J = 6.7Hz),6.73(1H,s),7.16(1H,s) ; $C_{27}H_{37}F_3NO_6SNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H$^+$]560.2,实验值 560.1。

[0334]



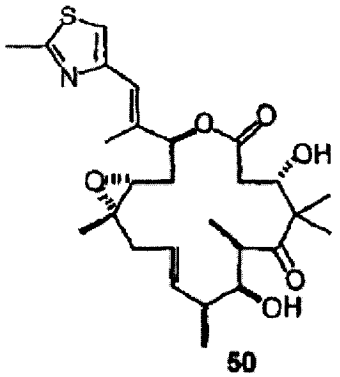
[0335] 化合物 49 及 50 :将 28(12.2mg,24.9μmol) 的 CH_2Cl_2(1.25mL) 溶液冷却至 -78℃,并用 DMDO(-78℃,0.06M 溶于丙酮中,914μL,54.8μmol) 的冷溶液处理。将混合物加热至 -50℃并于 -50℃下搅拌 2.7 小时。通过在 -50℃下添加二甲硫醚 (117μL) 使过量 DMDO 停止反应,并在该温度下将混合物搅拌 0.5 小时。在真空中去除溶剂。通过制备型薄层层析 (己烷 /EtOAc = 1/2) 纯化,获得 β - 环氧化物 49(3.0mg,5.93μmol,24%) 及 α - 环氧化物 50(7.9mg,15.6μmol,63%),二者皆为无色固体。

[0336]



[0337] 化 合 物 49 :^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.03(3H, s),1.11(3H, d, J = 7.0Hz), 1.14(3H, d, J = 6.9Hz),1.34(3H, s),1.36(3H, s),2.00(1H, ddd, J = 15.1、7.3、4.0Hz), 2.14(1H,dt,J = 15.1、5.2Hz),2.14(3H,s),2.21(1H,dd,J = 14.6、8.0Hz),2.33(1H,dd,J = 14.7、4.8Hz),2.47(1H,dd,J = 13.8、3.3Hz),2.59(1H,dd,J = 13.8、9.4Hz),2.73(3H, s),2.77(1H, brs, OH),2.93(1H, dd, J = 7.3、4.8Hz),3.34(1H, qd, J = 6.9、3.7Hz), 3.75-3.82(1H, m),4.12-4.24(2H, m, 包 括 OH),5.54(1H, ddd, J = 15.7、7.4、5.0Hz), 5.54-5.60(1H, m),5.64(1H, dd, J = 15.7、5.6Hz),6.94(1H, s),7.01(1H, s) ;$C_{27}H_{40}NO_6S$ 的 LRMS(ESI) 计 算值 [M+H$^+$]506.3,实验值 506.3。

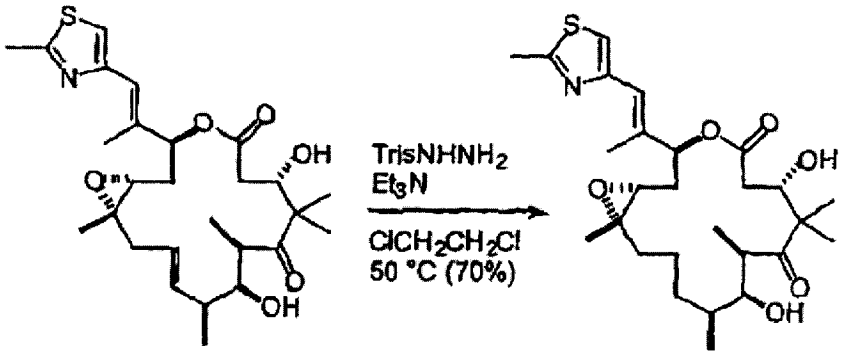
[0338]



50

[0339] 化 合 物 50 :^{1}H HMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.00(3H, s),1.04(3H, d, J = 6.9Hz),1.12(3H,d,J = 7.0Hz),1.35(3H,s),1.35(3H,s),1.87(1H,dt,J = 15.0、9.2Hz),2.03(1H,dd, J = 13.9、9.2Hz),2.13(3H, s),2.13-2.19(1H, m),2.36(1H, dd, J = 13.9、3.4Hz),2.39(1H, dd, J = 12.2、2.1Hz),2.42-2.51(1H, m),2.49(1H, dd, J = 12.4、10.9Hz),2.69(1H,d,J = 2.7Hz),2.72(3H,s),3.06(1H,dd,J = 9.7、3.1Hz),3.54(1H,qd,J = 7.0、2.0Hz),3.76-3.80(1H, m),4.07-4.14(1H, m),4.31(1H, d, J = 4.1Hz),5.52(1H, dd, J = 15.5、8.7Hz),5.60(1H, ddd, J = 15.1、9.4、3.4Hz),5.71(1H, d, J = 8.4Hz),6.63(1H, s),6.99(1H, s) ;$C_{27}H_{39}NO_6SNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]528.2,实验值 528.2。

[0340]

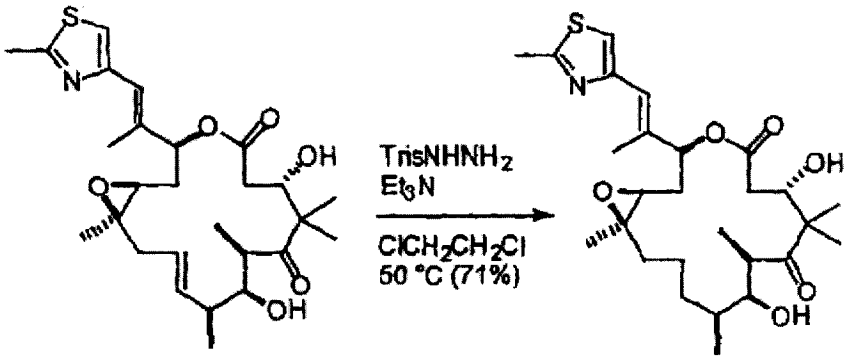


50 52

[0341] 化合物52 :于50℃下向50(1.7mg,3.4μmol) 及 $TrisNHNH_2$(40.1mg,0.134mmol) 溶于 $ClCH_2CH_2Cl$(0.8mL) 的溶液中添加 Et_3N(18.7μL,0.134mmol)。通过 HPTLC(己烷 /EtOAc = 1/2) 监测该反应。搅拌 4 小时后,将混合物冷却至室温,用 EtOAc 稀释并通过硅胶垫过滤,硅胶垫用 EtOAc 冲洗。浓缩后,残余物通过 制备型 TLC(己烷 /EtOAc = 1/2) 纯化,获得白色固体 52(1.2mg,2.4μmol,70%)。

[0342] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.95(3H, d, J = 7.1Hz),1.04(3H, s),1.11(3H, d, J = 7.0Hz),1.28(3H,s),1.37(3H,s),1.35-1.44(1H,m),1.45-1.59(4H,m),1.71-1.82(2H,m),1.86(1H,dt,J = 15.3、9.5Hz),2.10(1H,dd,J = 15.3、3.6Hz),2.13(3H,s),2.40(1H,dd,J = 12.5、2.5Hz),2.49(1H,dd,J = 12.5、11.0Hz),2.74(3H,s),2.80(1H,brs,OH),3.07(1H,dd, J = 10.3、3.3Hz),3.34(1H, qd, J = 7.0、1.0Hz),3.89(1H, brs, OH),4.03-4.09(1H,m),4.12-4.17(1H, m),5.69(1H, d, J = 9.1Hz),6.63(1H, s),7.00(1H, s) ;$C_{27}H_{41}NO_6SNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]530.3,实验值 530.2。

[0343]



49 51 EpoB

[0344] 化合物 51：于 50℃下向 49(0.7mg,1.38μmol) 及 $TrisNHNH_2$(20.6mg,69μmol) 于 $ClCH_2CH_2Cl$(0.4mL) 的溶液中添加 Et_3N(9.6μL,69μmol)。由 HPTLC(己烷 /EtOAc = 1/2) 监测该反应。搅拌 6 小时后，将混合物冷却至室温，用 EtOAc 稀释并通过硅胶垫过滤，硅胶垫用 EtOAc 冲洗。浓缩后，残余物通过制备型 TLC(己烷 /EtOAc = 1/2) 纯化，获得白色固体 51(0.5mg,0.985μmol,71%)。51 的光谱数据与所报导的 EpoB 的数据相同。

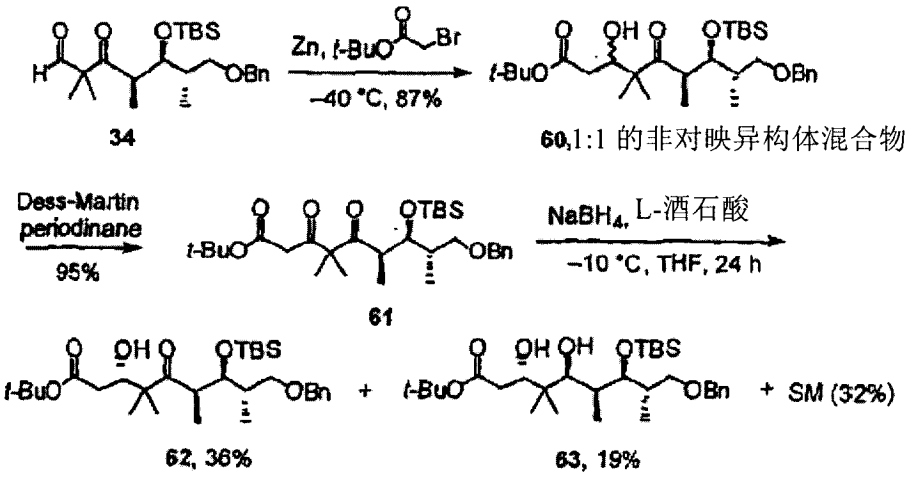
[0345] 实例 2：用于合成埃坡霉素中间体的替代合成方法

[0346] 以下实例提供制备在埃坡霉素类似物的合成中的各种中间体的方法。

[0347] 9,10- 去氢埃坡霉素合成的优化

[0348] 实例 1：

[0349]



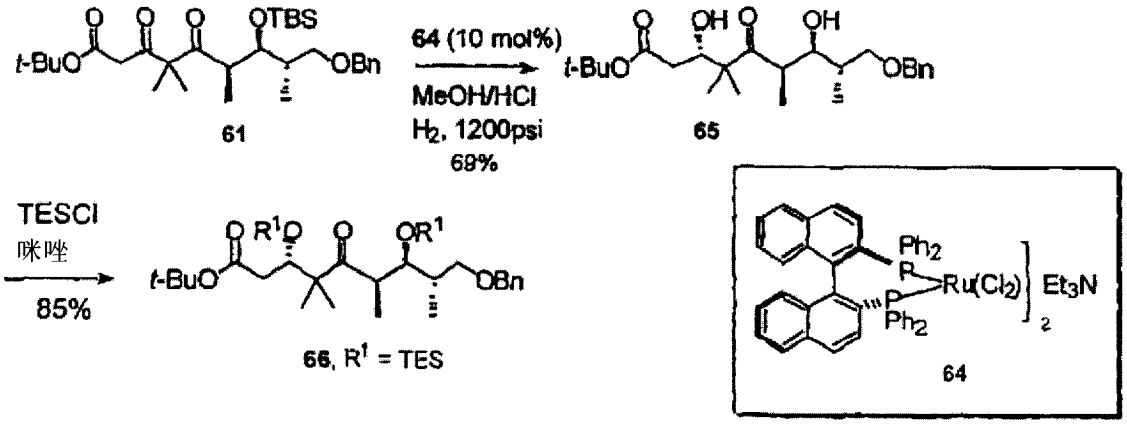
34 60,1:1 的非对映异构体混合物

61

62, 36% 63, 19%

[0350] 实例 2：Noyori 还原

[0351]



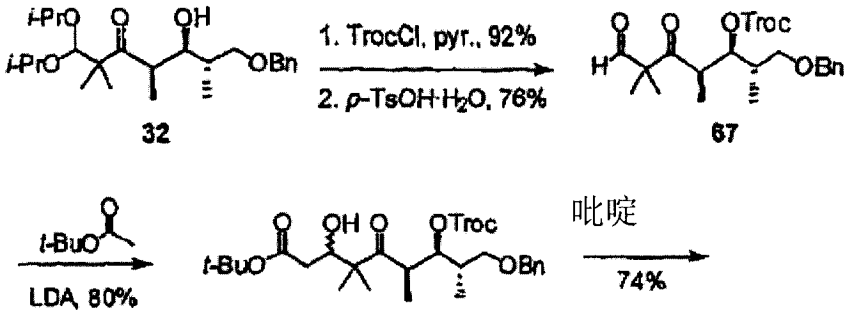
61 65

66, R^1 = TES

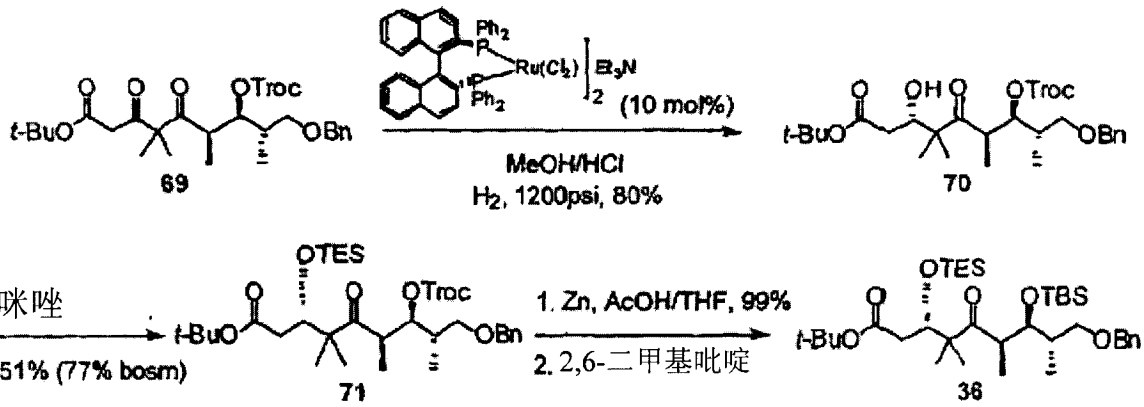
64

[0352] 实例 3 :Noyori 还原

[0353]

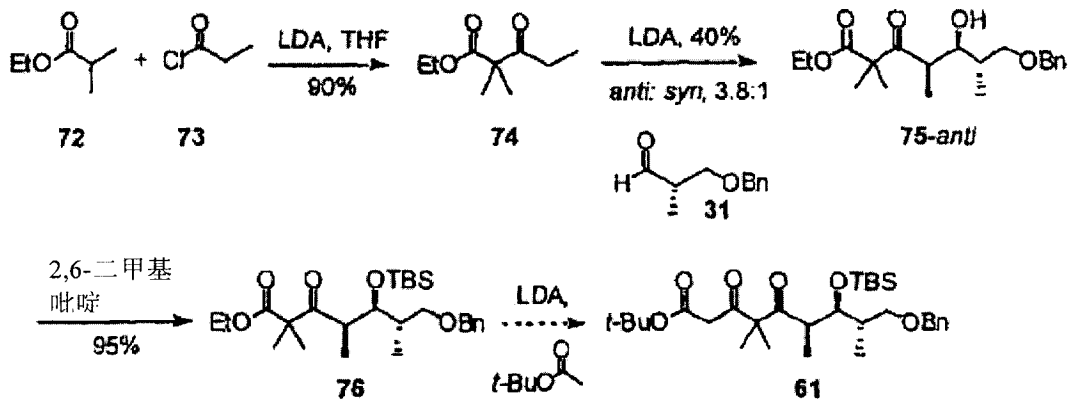


68, 1:1 的非对映异构体混合物



[0354] 实例 4 :关键二酮的替代合成

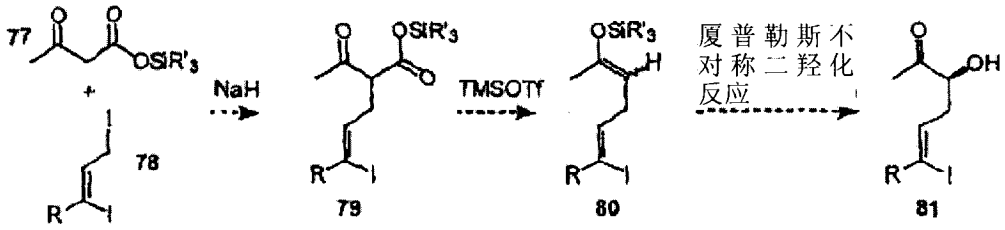
[0355]



[0356] 实例 5 :

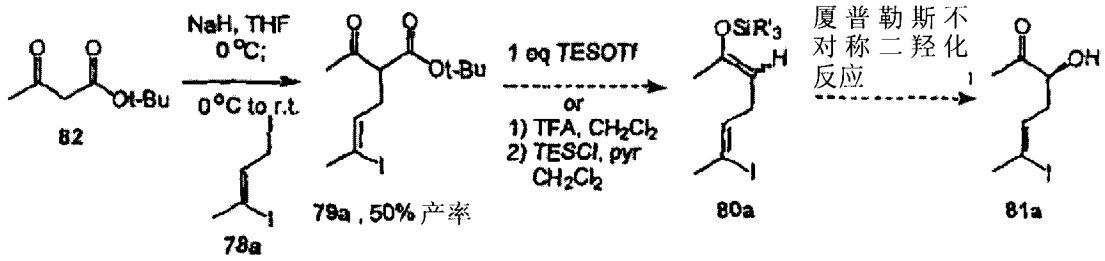
[0357] 方法 1. 甲硅烷基迁移 - 脱羧反应

[0358]



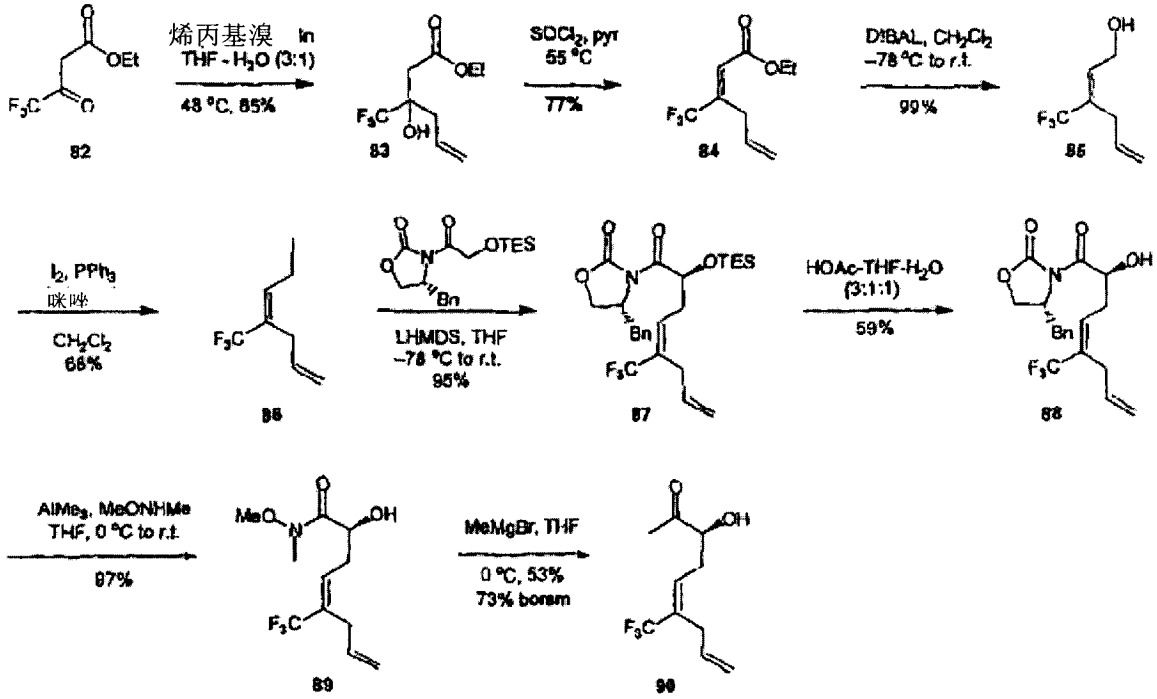
[0359] 方法 2. 脱羧 - 纳入甲硅烷基

[0360]



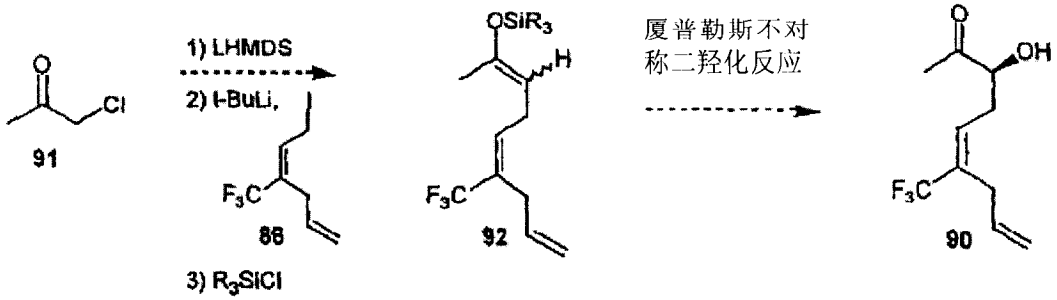
[0361] 实例 6 :Evans 辅助方法合成 2- 羟基酮

[0362]



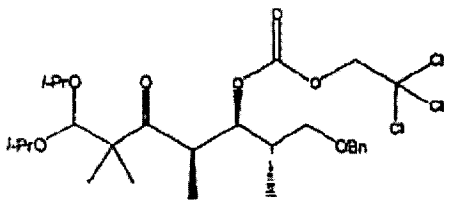
[0363] 实例 7 :Kowalsky-Sharpless 方法合成 2- 羟基酮

[0364]



[0365] 试验

[0366]

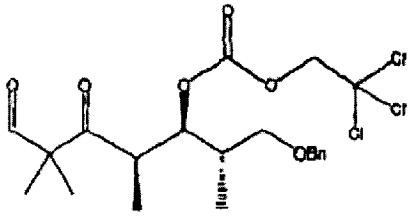


32a

[0367] 碳酸 1-(2- 苄氧基 -1- 甲基乙基)-5,5- 二异丙氧基 -2,4,4- 三甲基 -3- 氧代戊基酯 2,2,2- 三氯乙酯 (32a)

[0368] 于 0℃下向 7- 苄氧基 -5- 羟基 -1,1- 二异丙氧基 -2,2,4,6- 四甲基 - 庚 -3- 酮 32(1.0g,2.4mmol) 与吡啶 (0.8mL,7.3mmol) 溶于 CH_2Cl_2(10.0mL) 的溶液中添加氯甲酸 2,2,2- 三氯乙酯 (668.0μL,4.9mmol),然后将混合物加热至室温。1 小时后,用盐水使反应混合物停止反应,然后用 CH_2Cl_2 萃取。合并的有机层用 $MgSO_4$ 干燥并于减压下浓缩。粗产物通过快速层析 (梯度 :己烷至己烷 /EtOAc 93 ∶ 7) 纯化,获得澄清油状物 32a(1.285g,92%) :^{1}HNMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.03-1.09(m,12H),1.15(d, J = 1.8Hz,3H),1.17(d, J = 1.9Hz,3H),1.19-1.21(m,6H),1.97-2.11(m,1H),3.2(dd,J = 6.2 及 9.0Hz,1H),3.54(dd,J = 4.8 及 9.1Hz,1H),3.57-3.60(m,1H),3.82(qd,J = 3.6 及 5.9Hz,2H),4.47(s,2H),4.57(s,1H),4.72(d,J = 11.9Hz,1H),4.81(d,J = 11.9Hz,1H),5.08(t,J = 6.0Hz,1H),7.29-7.35(m,5H) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 11.9、15.0、18.8、21.4、21.7、22.3、23.2、23.4、35.7、42.5、53.4、53.9、69.4、70.9、71.4、73.3、81.3、94.7、103.4、127.5、127.6、128.2、138.2、154.0、215.6 ;IR(薄 膜, NaCl, cm^{-1}) 2966、1760、1698、1247 ;$C_{27}H_{41}O_7Cl_3Na$ 的 LRMS(ESI) 计 算 值 [M+Na^+]605.2,实验值 605.2 ;[α]$^{23}_D$ = -20.4(c = 1.0, $CHCl_3$。

[0369]

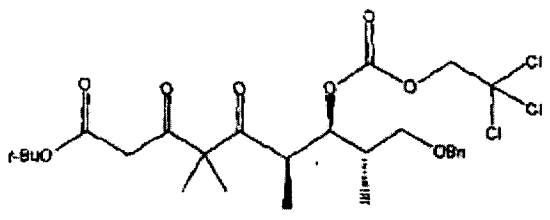


67

[0370] 碳酸 1-(2- 苄氧基 -1- 甲基乙基)-2,4,4- 三甲基 -3,5- 二氧代戊基酯 2,2,2- 三氯乙酯 (67)

[0371] 向 32a(1.28g,2.25mmol) 于 4 ∶ 1 的 THF/H_2O(25mL) 溶液中添加 p-TsOH(111.0mg,0.6mmol)。于 70℃下加热 5 小时后,将反应混合物倾倒至冷 (0℃) 饱和 $NaHCO_3$ 水溶液 (12mL) 中,然后用 EtOAc 萃取。合并的有机层用盐水洗涤、$MgSO_4$ 干燥并于减压下浓缩。粗产物通过快速层析 (梯度 :己烷至己烷 /BtOAc84 ∶ 16) 纯化,获得清澈油状物 67(793.2mg,76%) :^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) □ 0.90(d,J = 5.8Hz,3H),1.0(d,J = 6.9Hz,3H),1.24(s,6H),1.97-2.04(m,1H),3.24(dd, J = 4.8 及 9.2Hz,1H),3.34(m,1H),3.42(dd, J = 5.8 及 9.2Hz,1H),4.35(d, J = 11.9Hz,1H),4.39(d, J = 11.9Hz,1H),4.64(d, J = 11.9Hz,1H),4.69(d, J = 11.9Hz,1H),4.96(t, J = 6.0Hz,1H),7.19-7.28(m,5H),9.49(s,1H) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$)-12.0、14.8、19.5、19.6、35.4、43.3、60.9、71.1、73.3、80.37、94.5、127.7、127.8、128.3、137.9、154.1、201.0、210.1 ;IR(薄 膜, NaCl, cm^{-1}) 2973、2880、1758、1701、1453、1380、1248 ;$C_{21}H_{27}O_6Cl_3Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]503,0,实验值 503.0 ;[α]$^{23}_D$ = -18.5(c = 0.8, $CHCl_3$)。

[0372]



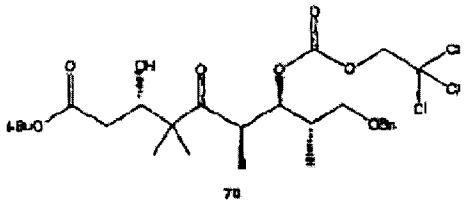
69

[0373] 9-苄氧基-4,4,6,8-四甲基-3,5-二氧代-7-(2,2,2-三氯乙氧基甲酰氧基)-壬酸特丁基酯(69)

[0374] 于-78℃下向LDA(1.17mmol,0.3M于Et_2O中)的溶液中添加醋酸特丁基酯(1.0mmol,135.0μL)。30分钟后,经15分钟缓慢添加67(464.0mg,1mmol)于Et_2O(2mL)的溶液。搅拌1小时后,用饱和NH_4Cl水溶液使反应停止,然后用EtOAc萃取。合并的有机层用盐水洗涤、$MgSO_4$干燥并于减压下浓缩。粗产物通过快速层析(梯度:己烷至己烷/EtOAc 86∶14)纯化,获得清澈油状68(1∶1的差向异构体混合物,461.4mg,80%):^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ0.87(d,J=5.3Hz,3H),0.89(d,J=5.5Hz,3H),1.02-1.10(m,18H),1.38(s,18H),1.97-2.2(m,2H),2.27-2.31(m,2H),3.22-3.27(m,3H),3.39-3.48(m,5H),4.03-4.06(m,1H),4.11-4.14(m,1H),4.38-4.45(m,4H),4.58-4.73(m,4H),4.97(t,J=5.8Hz,1H),5.02(t,J=5.8Hz,1H),7.18-7.27(m,10H);^{13}C NMR(100MHz,$CDCl_3$)δ11.9、12.7、14.9、15.2、18.7、19.3、21.4、21.6、28.0、35.6、37.4、41.7、42.0、51.8、51.9、71.3、71.3、72.5、73.0、73.3、73.3、80.6、81.2、81.3、94.6、127.5、127.7、127.8、128.3、138.0、138.1、154.0、154.1、172.3、172.4、216.0、216.3;IR(薄膜,NaCl,cm^{-1})3509、2975、1759、1707、1368、1248、1152;$C_{27}H_{39}O_8Cl_3Na$的LRMS(ESI)计算值[M+Na^+]619.1,实验值619.2。

[0375] 向68(350.0mg,0.6mmol)于CH_2Cl_2(10mL)的0℃溶液中添加Dess-Martin periodinane(398.0mg,0.9mmol)。于室温下将混合物搅拌1小时,然后倾倒至充分搅拌的1∶1的饱和$Na_2S_2O_2$/饱和$NaHCO_3$的混合物中。30分钟后分层,水层用Et_2O萃取三次,合并的有机萃取物用饱和$NaHCO_3$、盐水洗涤、$MgSO_4$干燥并于真空下浓缩。粗产物通过快速层析(梯度:己烷至己烷/EtOAc 91∶9)纯化,获得澄清油状物69(258.4mg,74%):^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ0.80(d,J=6.9Hz,3H),0.87(d,J=6.9Hz,3H),1.13(s,3H),1.19(s,3H),1.23(s,9H),2.04-2.12(m,1H),3.09-3.28(m,5H),4.23(s,2H),4.48(d,J=11.9Hz,1H),4.55(d,J=11.9Hz,1H),4.79(dd,J=4.6及7.3Hz,1H),7.04-7.13(m,5H);^{13}C NMR(100MHz,$CDCl_3$)δ11.7、14.6、20.7、21.5、27.9、35.5、42.2、43.4、63.3、71.3、73.3、79.9、81.5、90.5、94.5、127.6、127.7、128.2、138.0、154.0、166.2、202.9、210.0;IR(薄膜,NaCl,cm^{-1})2977、1758、1697、1368、1248、1154;$C_{27}H_{37}O_8Cl_3Na$的LRMS(ESI)计算值[M+Na^+]617.1,实验值617.1;$[\alpha]^{23}_D$=-49.1(c=0.9,$CHCl_3$)。

[0376]



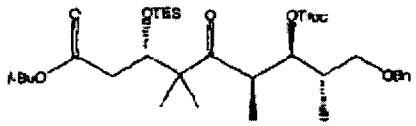
70

[0377] 9-苄氧基-3-羟基-4,4,6,8-四甲基-5-氧代-7-(2,2,2-三氯乙氧基甲酰氧基)-壬酸特丁基酯(70)

[0378] 向一弹形高压容器(bomb liner)加入(R)-RuBINAP催化剂(16.8mg,10.0μmol),于其中添加HCl(555μL,0.2N于MeOH中),然后将混合物超声波处理15秒。然后添加69(59.4mg,0.1mmol)于MeOH(555μL)中的溶液,然后将该混合物转移至一Parr装置。该容器用H_2吹扫5分钟,然后加压至1200psi。17小时后,反应物恢复至大气压并倾倒至饱和$NaHCO_3$水溶液中。水层用EtOAc萃取三次。合并的有机萃取物用$MgSO_4$干燥并于

减压下浓缩。粗产物通过快速层析（梯度：己烷至己烷/EtOAc 88 ： 12）纯化，获得清澈油状物 70（通过 ^{1}H NMR 分析判断 dr ＞ 20 ： 1）(47.6mg,80％）：^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.06(d, J ＝ 6.9Hz,3H),1.11(d, J ＝ 6.8Hz,3H),1.14(s,3H),1.18(s,3H),1.47(s,9H),2.05-2.12(m,1H),2.35-2.40(m,1H),3.31-3.37(m,2H),3.51-3.54(m,2H),4.11-4.14(m,1H),4.46(s,2H),4.72(d, J ＝ 11.9Hz,1H),4.80(d, J ＝ 11.9Hz,1H),5.05(dd, J ＝ 5.0 及 6.7Hz,1H),727-7.35(m,5H)；^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 12.0、15.0、19.3、21.7、28.0、35.6、37.5、41.7、51.8、71.3、73.0、73.3、80.6、81.3、94.7、127.5、127.7、128.3、138.2、154.1、172.4、216；IR（薄膜，NaCl，cm^{-1}）3849、2974、2879、1758、1701、1454、1368、1248、1152、926、734；$C_{27}H_{39}O_8Cl_3Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]619.1，实验值 619.2；[α]$^{23}_D$ ＝ -13.0(c ＝ 0.4, $CHCl_3$)。

[0379]

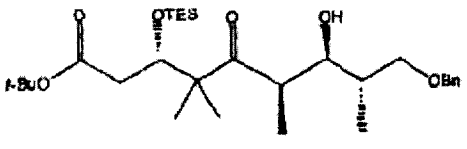


71

[0380] 9- 苄氧基 -4,4,6,8- 四甲基 -5- 氧代 -7-(2,2,2- 三氯乙氧基甲酰氧基)-3-(三乙基硅烷氧基)- 壬酸特丁基酯 (71)

[0381] 于 0℃下向 70(37.6mg,6.3μmol) 与咪唑 (9.4mg,13.8pmol) 于 DMF(0.4mL) 的溶液中添加 TESCl(11.6μL,69.3μmol)。3 小时后，混合物用饱和 $NaHCO_3$ 水溶液稀释。水层用己烷萃取三次。合并的有机萃取物用盐水洗涤、$MgSO_4$ 干燥并于减压下浓缩。粗产物通过快速层析（梯度：己烷至己烷/EtOAc 93 ： 7）纯化，根据洗脱顺序获得 71(22.9mg,51％），并回收清澈油状物 70(12.9mg,34％）。7： ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 0.66(q, J ＝ 7.9Hz, 6H),0.96(t, J ＝ 7.9Hz,9H),1.01(s,3H),1.05(d, J ＝ 5.2Hz,3H),1.07(d, J ＝ 5.3Hz,3H),1.35(s,3H),1.44(s,9H),2.05-2.11(m,2H),2.50(dd, J ＝ 3.5 及 17.2Hz,1H),3.35(dd, J ＝ 5.9 及 9.0Hz,1H),3.49(dd, J ＝ 4.0 及 9.0Hz,1H),3.53(dd, J ＝ 3.8 及 6.7Hz,1H),4.18(dd, J ＝ 3.5 及 6.5Hz,1H),4.45(s,2H),4.65(d, J ＝ 11.9Hz,1H),4.79(d, J ＝ 11.9Hz,1H),4.97(dd, J ＝ 3.7 及 8.1Hz,1H),7.29-7.52(m,5H)；^{13}C NMR(125MHz, $CDCl_3$) δ 5.3、7.3、10.9、14.9、21.3、22.6、28.4、35.9、41.1、42.7、53.7、71.9、73.7、75.7、80.1、80.9、95.1、127.9、128.0、128.7、138.6、154.3、171.7、215.7；IR（薄膜，NaCl，cm^{-1}）2956、2876、1732、1694、1456、1366、1257、1154、1098、988、835、774、741；$C_{33}H_{53}O_8SiCl_3Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]733.2，实验值 733.3。[α]$^{23}_D$ ＝ -16.1(c ＝ 0.1, $CHCl_3$)。

[0382]



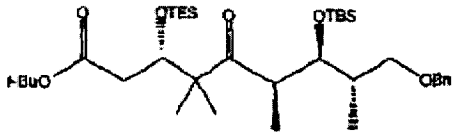
71a

[0383] 9- 苄氧基 -3-(二乙基甲基硅烷氧基)-7- 羟基 -4,4,6,8- 四甲基 -5- 氧代 - 壬酸特丁基酯 (71a)

[0384] 向 71(22.9mg,3.2μmol) 于 1 ： 1 的 THF/AcOH(1.4mL) 的溶液中添加 Zn(5.0mg,7.8μmol，纳米级）。将混合物超声波处理 15 分钟。再次添加 Zn(5.0mg,7.8μmol，纳米

级），随后再超声波处理 15 分钟。悬浮液用硅藻土垫过滤，硅藻土垫用 EtOAc 洗涤数次。滤液用饱和 $NaHCO_3$、盐水洗涤、$MgSO_4$ 干燥并于真空下浓缩。粗残余物通过一短硅胶塞用 4 ： 1 的己烷 /EtOAc 洗脱，获得 17.1mg(99％产率）无色油状 71a：^1H NMR(400MHz，$CDCl_3$) δ (m,6H)，0.96(t，J ＝ 7.9Hz， 9H)，0.97(d，J ＝ 6.8Hz,3H)，1.05(d，J ＝ 6.8Hz,3H)，1.11(s,3H)，1.26(s,3H)，1.44(s,9H)，1.84-1.90(m,1H)，2.21(dd,J＝6.7 及 17.0Hz,1H)，2.36(dd,J＝6.7 及 17.0Hz,1H)，3.24-3.29(m,1H)，3.44-3.52(m,2H)，3.67(dd,J＝3.9 及 8.9Hz,1H)，4.36(dd,J＝3.5 及 6.5Hz,1H)，4.50(d,J＝12.0Hz,1H)，4.54(d,J＝12.0Hz,1H)，7.32-7.36(m,5H)；^{13}C NMR(100MHz，$CDCl_3$) δ 5.0、6.9、9.7、13.9、20.2、21.8、28.0、36.3、40.8、41.5、53.7、72.5、72.9、73.2、73.6、80.7、127.4、127.5、128.2、138.6、171.0、221.4；IR（薄膜，NaCl，cm^{-1}）3502、2959、2875、1731、1683、1456、1366、1154、1098、996、739；$C_{30}H_{52}O_6SiCl_3Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]559.3，实验值 559.3；[α]$^{23}_D$ ＝ -41.0(c ＝ 0.4，$CHCl_3$)。

[0385]

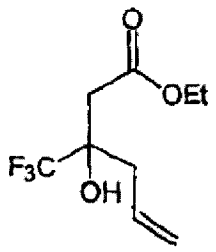


36

[0386] 9- 苄氧基 -7-（特 - 丁基二甲基硅烷氧基）-3-（二乙基甲基硅烷氧基）-4,4,6,8- 四甲基 -5- 氧代 - 壬酸特丁基酯 (36)

[0387] 于 -78℃下向 71a(4.1mg,7.6μmol) 与 2,6- 二甲基吡啶 (10.0μL,43.5mmol) 于 CH_2Cl_2(0.2mL) 的溶液中添加 TBSOTf(10.0μL,85.8mmol)。2 小时后，再次添加 2,6- 二甲基吡啶 (10.0μL,43.5mmol) 及 TBSOTf(10.0μL,85.8mmol)。6 小时后，混合物用饱和 $NaHCO_3$ 水溶液稀释。水层用 EtOAc 萃取三次。合并的有机萃取物用盐水洗涤、$MgSO_4$ 干燥并于减压下浓缩。粗产物通过快速层析（梯度：己烷至己烷 /EtOAc 91 ： 9）纯化，获得清澈油状物 36(5.4mg,82％）。光谱数据与所报导的值一致。

[0388]

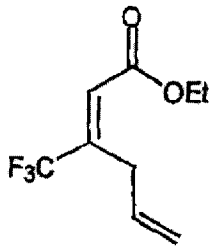


83

[0389] 醇 83. 于室温下向 4,4,4- 三氟乙酰醋酸乙酯 (24.0mL,0.164mol) 于 THF- 水 (3 ： 1 ＝ V ： V,320mL) 的溶液中添加烯丙基溴 (20.0mL,1.4 当量）及铟（粉末，-100 网目，25g,1.3 当量），并将所得混合物于 48℃下搅拌 15 小时。将反应混合物冷却至室温，用 2N HCl(400mL) 水溶液使反应停止并用 CH_2Cl_2(400mL,2×200mL) 萃取。将合并的有机物干燥 ($MgSO_4$)、过滤并于真空中浓缩。快速层析（己烷 - ＞己烷 - 乙醚为 10 ： 1- ＞ 8 ： 1- ＞ 6 ： 1- ＞ 4 ： 1) 获得清澈油状醇 83(31.64g,85％产率）：IR（薄膜）3426(br m)，2986(m)，1713(s)，1377(m)，1345(m)，1301(m)，1232(m)，1173(s)，1095(m)，1023(m)，927(m)cm^{-1}；

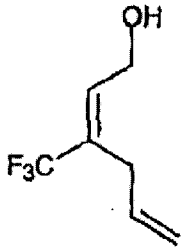
^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 5.82(m,1H),5.15(m,3H),4.17(m,2H),2.59(m,1H),2.58(d, J = 3.4Hz,2H),2.29(dd,J = 14.2、8.6Hz,1H),1.24(t,J = 7.2Hz,3H) ;^{13}C NMR(100MHz,$CDCl_3$) δ 172.08、130.89、125.65(q, J = 280Hz)、120.27、73,79(q, J = 28Hz)、61.55、38.97、35.65、13.82 ;高分辨率质谱 m/z 227.0895[$(M+H)^+$;$C_9H_{14}O_3F_3$ 的计算值 :227.0895]。

[0390]



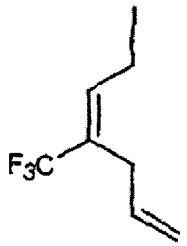
[0391] 酯 84. 将醇 83(16.71g,0.07386mol) 与吡啶 (15.0mL,2.5 当量) 的混合物冷却至 -10℃,并经 11 分钟用亚硫酰氯 (11.3mL,2.1 当量) 缓慢处理。将所得混合物加热至 55℃并搅拌 12 小时。将反应混合物冷却至 -5℃,用水 (200mL) 使反应停止并用 CH_2Cl_2(2×200mL,2×150mL) 萃取。合并的有机物用饱和 $NaHCO_3$(2×200mL) 及盐水 (200mL) 洗涤、干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中浓缩。快速层析 (戊烷 : 乙醚为 15 : 1) 获得黄色油状酯 84(11.90g,77% 产率) :IR(薄膜)2986(w),1731(s),1308(s),1265(w),1227(m),1197(s),1133(s),1025(m),920(w),896(w)cm^{-1} ; ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 6.36(s,1H),5.79(ddt, J = 16.9、10.2、6.6Hz,1H),5.15(dd, J = 17.1、1.5Hz,1H),5.08(dd, J = 10.0、1.4Hz,1H),4.22(q,J = 7.I Hz,2H),3.44(d,J = 6.5Hz,2H),1.29(t,7 = 7.1Hz,3H) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 164.22、143.37(q,J = 29Hz)、132.71、12321(q,J = 274Hz)、122.60(q,J = 6Hz)、117.32、60.85、30.54、13.85 ; 高分辨率质谱 m/z 209.0788[$(M+H)^+$;$C_9H_{12}O_2F_3$ 的计算值 : 209.0789]。

[0392]



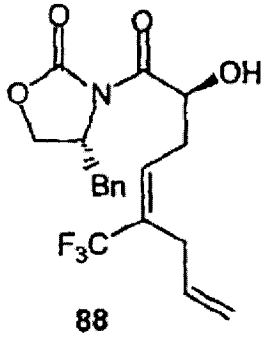
[0393] 醇 85. 向酯 84(7.12g,0.0342mol) 于 CH_2Cl_2(120mL) 的冷 (-75℃) 溶液中添加 DIBAL-H(75mL,2.2 当量) 于 CH_2Cl_2(1.0M) 的溶液,并将所得混合物经 3 小时加热至室温。将反应混合物冷却至 0℃,用饱和 NH_4Cl(12mL) 使反应停止并于室温下搅拌 20 分钟。反应混合物用乙醚 (200mL) 稀释、干燥 ($MgSO_4$) 并于真空中浓缩。快速层析 (戊烷 : 乙醚为 3 : 1- > 1 : 1) 获得清澈油状醇 85(5.68g,99%) :IR(薄膜)3331(br s),2929(m),1642(m),1445(m),1417(w),1348(s),1316(s),1217(s),1175(s),1119(s),1045(m),985(s),921(m),831(w)cm^{-1} ;^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 6.33(td, J = 6.1、1.6Hz,1H),5.75(ddt, J = 17.2、10.0、6.2Hz,1H),5.07(m,2H),4.29(ddd, J = 6.3、4.3、2.1Hz,2H),2.95(d,J = 6.2Hz,2H) ; ^{13}C NMR(100MHz,$CDCl_3$) δ 134.45(q,J = 6Hz),133.38,127.97(q, J = 29Hz),123.76(q, J = 271Hz),116.25,57.87,29.79。

[0394]



[0395] 碘化物 86. 醇 85(5.97g,0.0358mol) 于 CH_2Cl_2(50mL) 的冷 (0 ℃) 溶液用 PPh_3(11.17g,1.2 当量)、咪唑 (3.55g,1.5 当量) 及 I_2(9.10g,1.1 当量) 处理,并将所得混合物于 0℃下搅拌 10 分钟。反应混合物用饱和 $Na_2S_2O_3$- 饱和 $NaHCO_3$(1 ： 1 ＝ V ： V,200mL) 来停止反应并用戊烷 (3×200mL) 萃取。合并的有机物用饱和 $Na_2S_2O_3$- 饱和 $NaHCO_3$(1 ： 1 ＝ V ： V,200mL) 及盐水 (100mL) 洗涤、干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中浓缩。快速层析 (戊烷) 获得浅红色油状碘化物 86(6.69g,68％) :(IRI 薄膜)3083(w),2982(w),1636(w),1558(w),1456(w),1367(w),1317(s),1216(m),1181(s),1151(s),1120(s),989(m),921(m),896(m) cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 6.45(td, J ＝ 8.9、1.5Hz,1H),5.79(ddt, J ＝ 16.8、10.3、6.2Hz,1H),5.12(m,2H),3.85(ddd, J ＝ 8.9、2.9、1.4Hz,2H),3.00(dt,7 ＝ 6.1、1.4Hz,2H) ; ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 132.42,131.64(q, J ＝ 6Hz),129.63(q, J ＝ 29Hz),123.64(q, J ＝ 272Hz),117.00,29.32, -4.27 ;低分辨率质谱 m/z298.7[$(M+Na)^+$;$C_7H_8F_3INa$ 的计算值 :299.0]。

[0396]

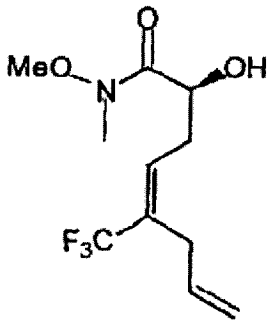


88

[0397] α - 羟基噁唑烷酮 88. 经 51 分钟向 TES 保护的 4- 苄基 -3- 羟基乙酰基 - 噁唑烷 -2- 酮 7(16.28g,1.92 当量) 于 THF(160mL) 的冷 (-78℃) 溶液中滴加 LHMDS(42.0mL,1.73 当量) 于 THF(1.0M) 中的溶液,并将所得混合物于 -78℃下搅拌 35 分钟。反应混合物用碘化物 86(6.69g,24.2mmol) 的 THF(10mL) 溶液处理并将所得混合物缓慢加热至室温过夜。反应混合物用饱和 $NaHCO_3$(200mL) 来停止反应并用 EtOAc(3×200mL) 萃取。合并的有机物用饱和 NH_4Cl(150mL)、盐水 (150mL) 洗涤,干燥 ($MgSO_4$),并在真空中浓缩。快速层析 (己烷 -EtOAc 为 6 ： 1- ＞ 3 ： 1) 获得一烷基化产物的混合物 (13.6g),其不经进一步纯化即可用于下一反应。将该些烷基化产物于 HOAc- 水 -THF(3 ： 1 ： 1 ＝ V ： V ： V,200mL) 中的溶液于室温下搅拌 4 小时。将反应混合物在真空中浓缩以去除 HOAc,用饱和 $NaHCO_3$(400mL) 使反应停止并用 EtOAc(3×200mL) 萃取。将合并的有机物干燥 ($MgSO_4$) 并在真空中浓缩。快速层析 (己烷 ： EtOAc 为 3 ： 1- ＞ 2 ： 1) 获得清澈油状 α - 羟基噁唑烷酮 88(7.55g,两步的产率 81％) :$[\alpha]_D^{25}$-48.2(c 1.08, $CHCl_3$) ;IR(薄膜)3486(br s),3030(m),2983(s),2925(m),1790(s),1682(s),1481(m),1393(m),1360(m),1217(m),1171(m),1113(m),992(m),919(m),847(w) cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.32(m,3H),7.17(m,2H),6.33(td, J

= 7.2、1.5Hz,1H),5.77(ddt,J = 16.6、10.1、6.2Hz,1H),5.08(m,3H),4.74(ddt,J = 4.8、3.7、4.4Hz,1H),4.33(dd, J = 8.6、8.6Hz,1H),4.26(dd, J = 9.2、3.4Hz,1H),3.42(br d, J = 6.4Hz,1H),3.24(dd, J = 13.5、3.4Hz,1H),2.99(m,2H),2.79(dd, J = 13.5、9.4Hz,1H),2.70(m,1H),2.50(m,1H) ;^{13}C NMR(125MHz, $CDCl_3$) δ 173.93、153.05、134.43、133.64、129.98(q,J = 6Hz)、129.82(q,J = 28Hz)、129.29、120.01、127.58、124.00(q,J = 272Hz)、116.34、69.60、67.31、54.95、37.78、32.29、29.84 ;高分辨率质谱 m/z384.1421[(M+H)$^+$;$C_{19}H_{21}NO_4F_3$ 的计算值 :384.1423]。

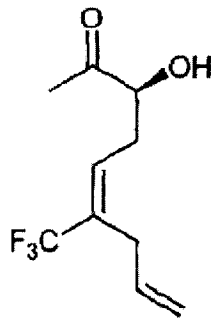
[0398]



89

[0399] α - 羟基酰胺 89. 下向 (MeO)NHMe • HCl(10.1g,5.25 当量) 于 THF(100mL) 中的 0℃溶液中滴加 $AlMe_3$(50mL,5.1 当量) 的甲苯 (2.0M) 溶液来处理,并于室温下将所得清澈溶液搅拌 34 分钟,然后添加至 α - 羟基噁唑烷酮 88(7.55g,19.7mmol) 于 THF(70mL) 中的冷 (0℃) 溶液中。将所得混合物加热至室温并搅拌 12 小时。将反应混合物冷却至 0℃,通过缓慢添加 1N 酒石酸 (100mL) 水溶液来使反应停止,于室温下搅拌 25 分钟,并用 EtOAc(3×200mL) 萃取。将合并的有机物干燥 ($MgSO_4$),并在真空中浓缩。快速层析 (己烷 : EtOAc 为 2 : 1- > 1 : 1) 获得清澈油状 α - 羟基酰胺 89(5.12g,97% 产率) :[α]$_D^{25}$-57.2(c 1.03, $CHCl_3$) ;IR(薄 膜)3432(br s),3084(w),2980(m),2943(m),1652(s),1464(m),1373(m),1318(m),1214(m),1171(m),1112(m),991(m),919(m),818(w) cm^{-1} ;^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 6.32(td, J = 7.3、1.5Hz,1H),5.74(ddt, J = 16.9、10.3、6.1Hz,1H), 5.05(m,2H),4.43(dd, J = 7.6、3.5Hz,1H),3.70(s,3H),3.35(br s,1H),3.24(s,3H),2.94(d, J = 6.1Hz,2H),2.59(m,1H),2.36(m,1H) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 173.43,133.68,13059(q, J = 6Hz),129.25(q, J = 28Hz),124.05(q, J = 271Hz),116.17,67.57,61.44,32.56,32.38,29.75 ;高分辨率质谱 m/z268.1161[(M+H) $^+$;$C_{11}H_{17}NO_3F_3$ 的计算值 :268.1161]。

[0400]

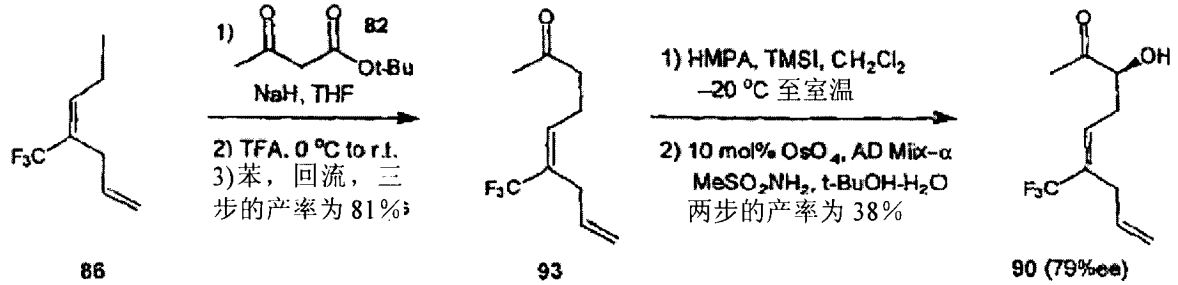


90

[0401] α-羟基酮 90. 向 α-羟基酰胺 89(4.87g,18.2mmol) 于 THF(150mL) 的冷 (0℃) 溶液中添加 MeMgBr(75mL,12 当量) 的乙醚 (3.0M) 溶液。5 分钟后,将反应混合物用饱和 NH_4Cl(250mL) 停止反应,并用 EtOAc(5×200mL) 萃取。将合并的有机物干燥 ($MgSO_4$),并在真空中浓缩。快速层析 (己烷 : EtOAc 为 4 : 1-> 2 : 1-> 1 : 2) 获得清澈油状 α-羟基酮 90(2.16g,53%产率,以所回收的起始材料计为 73%) 及起始材料 α-羟基酰胺 89(1.30g,27%产率) :$[\alpha]_D^{25}$+58.5(c 1.30, $CHCl_3$) ;IR(薄膜)3460(br s),3085(w),2984(m),2926(m),1716(s),1679(m),1641(m),1417(m),1361(m),1319(s),1247(m),1216(s),1172(s),1113(s),1020(m),994(m),968(w),919(m) cm^{-1} ;^1H NMR(500MHz, $CDCl_3$) δ 6.21(t,J = 7.0Hz,1H),5.75(ddt,J = 16.7、10.4、6.2Hz,1H),5.07(m,2H),4.26(dt,J = 7.1,4.5Hz,1H),3.51(d,J = 4.7Hz,1H),2.96(d,J = 6.1Hz,2H),2.66(m,1H),2.42(m,1H),2.19(s,3H) ;^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 208.53、133.43、129.80(q, J = 28Hz)、129.76(q, J = 6Hz)、123.85(q, J = 271Hz)、116.32、75.36、31.22、29.81、25.11 ;高分辨率质谱 m/z223.0945[$(M+H)^+$;$C_{10}H_{14}NO_2F_3$ 的计算值 :223.0946]。

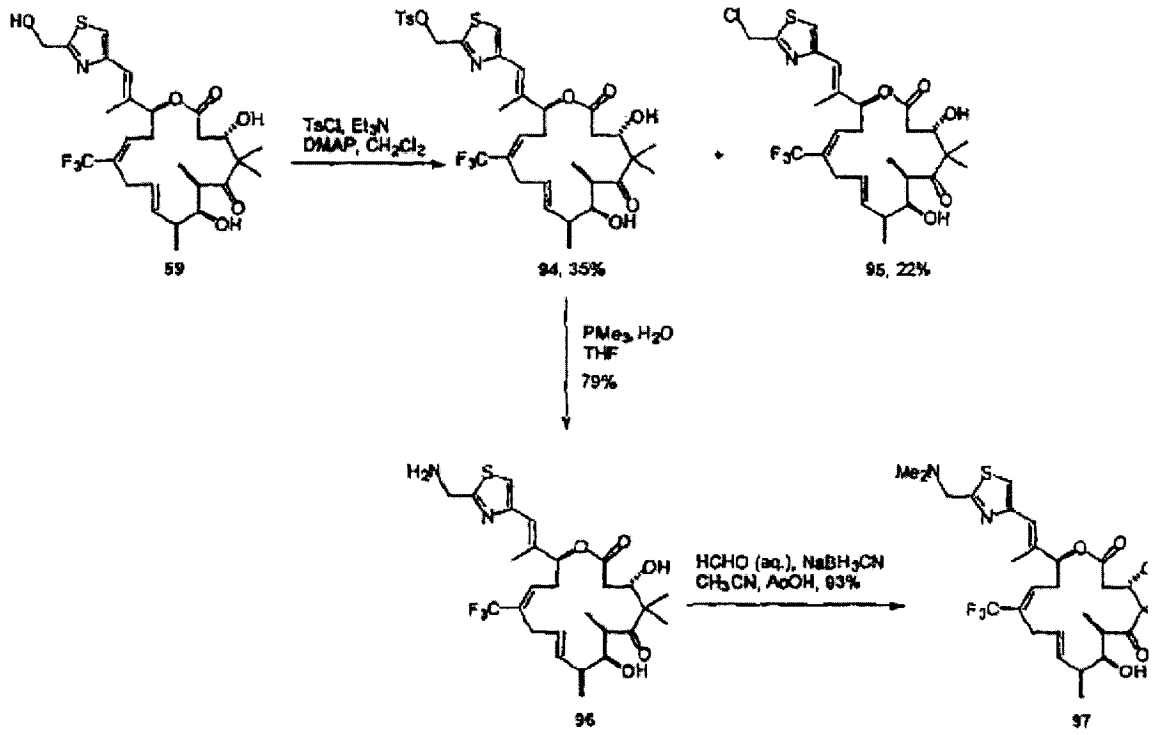
[0402] 实例 8 :催化不对称氧化方法

[0403]

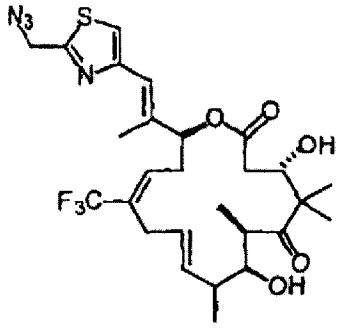


[0404] 实例 9 :合成 21- 氨基 -26- 三氟 -(E)-9,10- 去氢 -dEpoB

[0405]



59 94, 35% 95, 22% 96 97

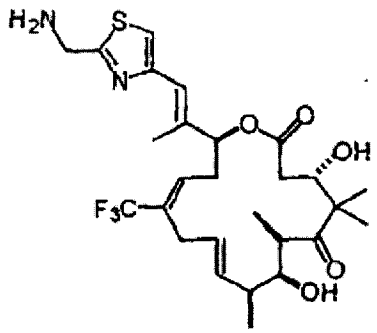


98

[0406] 化合物 98：

[0407] 于 0 ℃ 下 向 59(50.4mg,90.1μmol) 于 THF(1mL) 的 溶 液 中 添 加 $(PhO)_2PON_3$(27.2μL,126μmol)。于 0℃下搅拌 5 分钟后，添加 DBU(16.2μL,108μmol)。于 0℃下搅拌 2 小时后，将混合物于室温下搅拌 20.5 小时。反应混 合物用 EtOAc 稀释并添加水 (2mL) 来停止反应。分层后，水层用 EtOAc 萃取 (三次)，并将合并的有机层用 Na_2SO_4 干燥。浓缩后，残余物在高真空下干燥 10 分钟以去除 DBU。通过快速柱层析 (SiO_2，己烷 /EtOAc = 3 ： 2) 纯化，获得无色固体叠氮化物 98(45.6mg,78.0μmol,87％)；^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$) δ 1.05(3H,s)，1.12(3H,d,J = 7.0Hz)，1.23(3H,d,J = 6.8Hz)，1.33(3H,s)，2.01(1H,d,J = 5.5Hz,OH)，2.17(3H,s)，2.25-2.35(1H,m)，2.41(1H,dd,J = 15.5、3.2Hz)，2.49(1H,dd,J = 15.5、9.5Hz)，2.54-2.60(1H,m)，2.66(1H,d,J = 6.0Hz)，2.65-2.76(1H,m)，2.96(1H,dd,J = 16.0、4.2Hz)，3.03(1H,dd,J = 16.1、6.7Hz)，3.11(1H,五重峰,J = 6.8Hz)，3.71-3.76(1H,m)，4.31(1H,ddd,J = 9.2、5.9、3.2Hz)，4.65(2H,s)，5.43(1H,dd,J = 6.0、4.3Hz)，5.58(1H,ddd,J = 15.8、6.4、4.6Hz)，5.66(1H,dd,J = 15.8、6.1Hz)，6.23(1H,t,J = 7.3Hz)，6.63(1H,3)，7.18(1H,s)；$C_{27}H_{35}F_3N_4O_5SNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^+]607.2，实验值 607.2。

[0408]



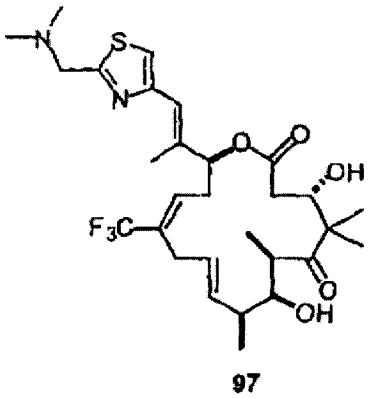
96

[0409] 化合物 96：

[0410] 向叠氮化物 98(21.0mg,35.9μmol) 的 THF(0.6mL) 溶液中添加 PMe_3(1.0M 于 THF 中,43.1μL,43.1μmol)。于室温下搅拌 2 分钟后,添加水 (0.1mL) 并将混合物于室温下搅拌 3 小时。添加 PMe_3(1.0M 于 THF 中,7.2μL,7.2μmol) 并将混合物于室温下搅拌 1.5 小时。向该混合物中添加 28％的 NH_4OH(水溶液)(54.5μL)。搅拌 1 小时后,混合物直接通过制备型 TLC(CH_2Cl_2/MeOH = 100 ： 7.5) 纯化,获得无色固体状胺 96(15.9mg,28.5μmol,79％)；

[0411] ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.05(3H, s),1.12(3H, d, J = 7.0Hz),1.23(3H, d, J = 6.8Hz),1.34(3H, s),2.12(3H, d, J = 0.7Hz),2.24-2.35(1H, m),2.39(1H, dd, J = 15.4、3.0Hz),2.49(1H, dd, J = 15.4、9.8Hz),2.54-2.63(1H, m),2.66-2.76(1H, m),2.97(1H, dd, J = 16.2、4.2Hz),3.03(1H, dd, J = 16.3、6.5Hz),3.10(1H, 五重峰, J = 6.8Hz),3.74(1H, dd, J = 6.7、3.5Hz),4.18(2H, s),4.34(1H, dd, J = 9.8、2.9Hz),5.43(1H, dd, J = 6.0、4.3Hz),5.55-5.64(1H, m),5.67(1H, dd, J = 15.9,5.8Hz),6.24(1H, brt, J = 7.3Hz),6.66(1H, s),7.10(1H, s)；$C_{27}H_{38}F_3N_2O_5S$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H$^+$]559.2,实验值 559.2。

[0412]



97

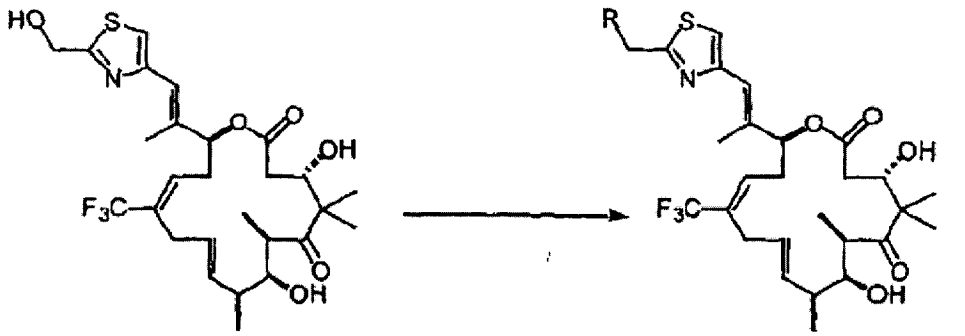
[0413] 化合物 97：

[0414] 向胺 96(15.9mg,28.5μmol) 的 CH_3CN(0.78mL) 溶液中添加 37％的 HCHO(水溶液)(31.4μL,0.143mmol),随后添加 $NaBH_3CN$(1.0M 于 THF 中,85.5μL,85.5μmol),并将混合物于室温下搅拌 20 分钟。添加 AcOH(1 滴),并将混合物于室温下搅拌 40 分钟。混合物直接通过制备型 TLC(CH_2Cl_2/MeOH = 100 ： 8) 纯化,获得无色固体状产物 97(15.6mg,26.6μmol,93％)；

[0415] ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.05(3H, s),1.12(3H, d, J = 6.9Hz),1.23(3H, d, J

= 6.8Hz), 1.33(3H, s), 2.17(3H, s), 2.24-2.35(1H, m), 2.43(1H, dd, J = 15.7、3,6Hz), 2.49(1H, dd, J = 15.6、9.1Hz), 2.55-2.64(2H, m, 包括 OH), 2.68-2.77(1H, m), 2.80(3H, s), 2.81(3H, s), 2.92-3.06(2H, m), 3.10(1H, 五 重 峰, J = 6.8Hz), 3.69-3.76(1H, m), 4.25-4.34(1H, m), 4.33(2H, s), 5.42(1H, t, J = 5.5Hz), 5.57(1H, dt, J = 15.8,6.3Hz), 5.66(1H, dd, J = 15.7、6.4Hz), 6.22(1H, brt, J = 7.2Hz), 6.64(1H, s), 7.30(1H, s) ; $C_{29}H_{42}F_3N_2O_5S$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H$^+$]580.2, 实 验值 580.2。

[0416]

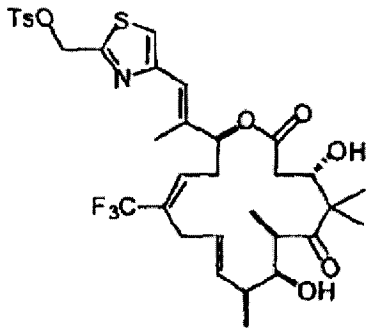


59 R = OTs (94) or Cl (95)

[0417] 化合物 94 及 95 :

[0418] 于 0℃下向 59(18.9mg, 33.8mol) 与 Et_3N(18.8μL, 0.135mmol) 于 CH_2Cl_2(1mL) 的溶液中添加 TsCl(12.9mg, 67.5μmol) 及 DMAP(2.1mg, 16.9μmol)。于室温下搅拌 1.5 小时后, 混合物用 EtOAc 稀释并用硅胶垫过滤 (EtOAc 冲洗)。浓缩后, 残余物通过制备型 TLC(己烷 /EtOAc = 1 : 1) 纯化, 获得甲苯磺酸酯 94(8.5mg, 11.9μmol, 35%) 及氯化物 95(4.3mg, 7.44μmol, 22%) ; 二者皆为无色固体 ;

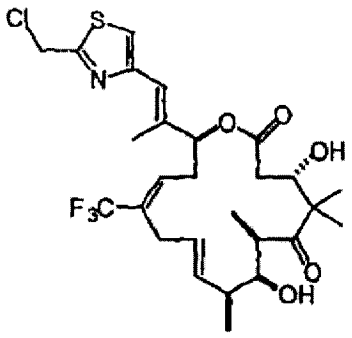
[0419]



94

[0420] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.06(3H, s), 1.12(3H, d, J = 7.0Hz), 1.23(3H, d, J = 6.1Hz), 1.33(3H, s), 1.99(1H, d, J = 5.5Hz), 2.10(3H, s), 2.25-2.34(1H, m), 2.41(1H, dd, J = 15.5、3.3Hz), 2.47(3H, s), 2.48(1H, dd, J = 15.7、9.4Hz), 2.51-2.63(1H, m), 2.63(1H, d, J = 6.1Hz, OH), 2.64-2.75(1H, m), 2.91-3.05(2H, m), 3.10(1H, 五重峰, J = 6.8Hz), 3.70-3.75(1H, m), 4.30(1H, ddd, J = 9.3、6.1、3.2Hz), 5.32(2H, s), 5.41(1H, dd, J = 5.8、4.5Hz), 5.57(1H, ddd, J = 15.8、6.4、4.6Hz), 5.65(1H, dd, J = 15.8、6.0Hz), 6.21(1H, t, J = 7.1Hz), 6.59(1H, s), 7.18(1H, s), 7.37(2H, d, J = 8.1Hz), 7.84(2H, d, J = 8.3Hz) ; $C_{34}H_{43}F_3NO_8S_2Na$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na$^+$]736.2, 实验值 736.3。

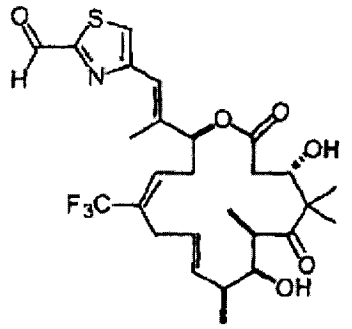
[0421]



95

[0422] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.06(3H, s),1.12(3H, d, J = 6.9Hz),1.23(3H, d, J = 6.7Hz),1.34(3H, s),2.00(1H, d, J = 5.6Hz, OH),2.15(3H, s),225-2.35(1H, m),2.41(1H, dd, J = 15.5、3.2Hz),2.49(1H, dd, J = 15.5、9.4Hz),2.53-2.62(1H, m),2.69(1H, d, J = 6.1Hz, OH),2.66-2.76(1H, m),2.92-3.05(2H, m),3.11(1H, 五 重 峰, J = 6.4Hz),3.70-3.76(1H,m),4.32(1H,ddd,J = 9.2、5.9、3.1Hz),4.85(2H,s),5.43(1H,dd,J = 6.0、4.4Hz),5.59(1H,ddd,J = 15.9、6.4、4.5Hz),5,66(1H,dd,J = 15.9、6.1Hz),6.23(1H,t,J = 6.8Hz),6.63(1H, s),7.20(1H, s) ;$C_{27}H_{35}ClF_3NO_5SNa$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+Na^4]600.2,实验值 600.2。

[0423]



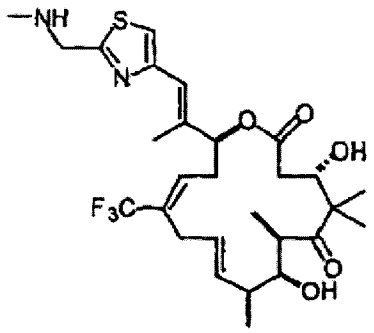
99

[0424] 化合物 99 :

[0425] 向 59(6.9mg,12.3μmol) 于 CH_2Cl_2(0.4mL) 的溶液中添加经活化的 MnO_2(自 Acros 购得,26.8mg,0.308mmol)。于室温下剧烈搅拌 4 小时后,混合物用硅藻土垫过滤,硅藻土垫用 EtOAc 冲洗。浓缩后,残余物通过制备型 TLC(己烷 /EtOAc = 1 : 1) 纯化,获得无色固体醛 99(2.7mg,4.84μmol,39%) ;

[0426] ^{1}H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1,06(3H, s),1.13(3H, d, J = 7.2Hz),1.24(3H, d, J = 6.9Hz),1.35(3H, s),1.96(1H, d, J = 5.6Hz, OH),2.22(3H, d, J = 0.7Hz),2.25-2.35(1H, m),2.44(1H, dd, J = 15.4、3.5Hz),2.46(1H, d, J = 5.9Hz, OH),2.51(1H, dd, J = 15.7、9.3Hz),2.57-28(1H, m),2.68-2.79(1H, m),2.96-3.03(2H, m),3.10(1H, 五 重 峰, J = 6.8Hz),3.71-3.76(1H, m),4.31(1H, ddd, J = 9.4、6.3、3.5Hz),5.45(1H, t, J = 5.0Hz),5.53-5.63(1H, m),5.67(1H, dd, J = 15.7、6.2Hz),6.24(1H, t, J = 6.6Hz),6.72(1H, s),7.57(1H, d, J = 0.9Hz),10.01(1H, d, J = 1.2Hz)。

[0427]



100

[0428] 化合物 100：

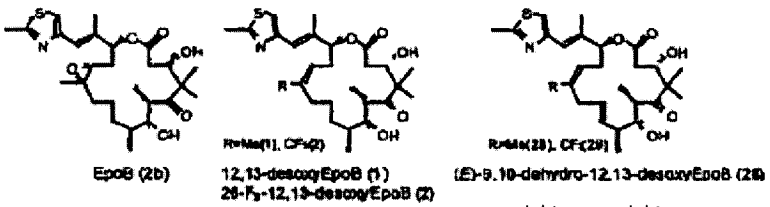
[0429] 于 0℃下向醛 99(4.6mg,8.25μmol) 于 CH_3CN(0.5mL) 的溶液中添加 $MeNH_2$(2.0M 于 THF 中,41.3μL,41.3μmol)。于 0℃下搅拌 15 分钟后,添加 $NaBH_3CN$(1.0M 于 THF 中,25μL,25μmol)。于 0℃下搅拌 0.5 小时后,添加 AcOH(3 滴)。于 0℃下搅拌 2 小时后,添加 28% 的 NH_4OH(水溶液)(40μL),并将混合物于室温下搅拌 10 分钟。将混合物直接通过制备型 TLC(CH_2Cl_2/MeOH = 100 : 9) 纯化两次,获得无色固体 100(2.4mg,4.19μmol,51%)；

[0430] ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 1.05(3H, s),1.12(3H, d, J = 7.0Hz),1.23(3H, d, J = 6.8Hz),1.34(3H, s),2.13(3H, s),2.25-2.34(1H, m),2.39(1H, dd, J = 15.3、3.0Hz),2.49(1H, dd, J = 15.3、9.7Hz),2.56(3H, s),2.54-2.64(1H, m),2.66-2.75(1H, m),2.89(1H, d, J = 5.1Hz),2.94-3.05(2H, m),3.11(1H,五重峰, J = 6.8Hz),3.74(1H, dd, J = 6.6、3.5Hz),4.08(2H, s),4.34(1H, dd, J = 9.6、2.9Hz),5.43(1H, dd, J = 6.2、4.1Hz),5.56-5.63(1H, m),5.66(1H, dd, J = 15.9、5.7Hz),6.24(1H, t, J = 7.3Hz),6.66(1H, s),7.11(1H, s)；$C_{28}H_{40}F_3N_2O_5S$ 的 LRMS(ESI) 计算值 $[M+H^+]$573.3,实验值 573.3。

[0431] 实例 10：将异种移植肿瘤消除至一不复发状态的埃坡霉素类似物

[0432] 通过化学合成、分子模型及光谱分析的组合,我们发现,在抗药性 MX-1 肿瘤的异种移植物试验中,E-9,10- 双键(参见下文化合物 28) 的引入可使药物效能提高至约 10 倍(A. Rivkin 等人, J. Am. Chem. Soc. 2003,125,2899；以引用的方式并入本文中)。根据针对 MX-1 肿瘤类型的体外与体内试验的相关性,可明显看出：28 本质上比 2b 更具有细胞毒性。然而,另一影响因素在于,9,10- 去氢系列中的内酯部分在小鼠及人血浆中明显比 9,10- 去氢同类物的稳定。该等两种互补效应的总和使得 28 能够以 3mg/Kg(与 1 的 30mg/Kg 相比)在各种异种移植物中达成对肿瘤的完全抑制。

[0433]



12,13- 去氧 EpoB (1)
26-F_3-12,13-去氧 EpoB (2)
E)-9,10-去氢-12,13-去氧 EpoB(28)
26-F_3-(E)-9,10- 去氢 -12,13- 去氧 EpoB (29)

[0434] 暂停治疗时,动物的某些部分中重新出现可触摸的肿瘤。因此,至少在目前,全合成 28 还没有完全达到高度有利的有效治疗指数及消除肿瘤至一不复发状态的严格标准。

[0435] 该些发现使人们将注意力集中于用三个氟原子取代 28 的 26- 甲基的三个氢上。在

该位置纳入该些氟原子使 12,13- 双键对氧化作用的稳定性提高 (Smart, B. E. J. Fluorine Chem. (2001,109,3) ;以引用的方式并入本文中)。先前试验已通过在 C12-C13 双键区域布置极性基团来消弱部分细胞毒性 (A. Rivkin 等人, J. Am. Chem. Soc. (2003,125,2899) ;以引用的方式并入本文中)。在本揭示内容中,我们通过 9,10- 去氢 -26- 三氟埃坡霉素的全化学合成报导了该发现,尤其 集中于母体结构 29 的独特生物性能上。

[0436] 我们仔细研究了 dEpoB(30mg/Kg)、紫杉醇 (20mg/Kg) 及 F_3-deH-dEpoB(29,20 及 30mg/Kg) 在肿瘤消除及复发方面抗人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的治疗效能,且该些结果显示在表 10-1 中。每一剂量组由四只或以上的裸鼠组成。体重是指总体重减去肿瘤重量。所有三种化合物皆使肿瘤消失。暂停治疗后第 10 天,5/10(dEpoB)、2/7(紫杉醇) 及 0/4(化合物 29) 的小鼠复发。暂停用 29 以 20mg/Kg 剂量治疗后的延长观察显示,肿瘤长时间消失,直至第 27 天 4 只小鼠中有 2 只小鼠的肿瘤复发。非常明显,用 29 以 30mg/Kg 的剂量治疗可使肿瘤完全消失且停止治疗后两个月以上不会出现任何复发。

[0437] 表 10-1. dEpoB、紫杉醇与 F3-deH-dEpoB 抗裸鼠中 MX-1 异种移植物的治疗效能 [a]

[0438]

药物	剂量 (mg/Kg)	体重变化 (%)		Q2D × 66 小时静脉内输注后未出现肿瘤	投与后第 10 天重新出现肿瘤
		停止投与后第 4 天	停止投与后第 8 天		
dEpoB(1)	30	-25.3±2.1	-9.1±4.1	10/10	5/10
紫杉醇	20	-23.9±2.1	-8.7±0.7	7/7	2/7
F_3-deH-dEpoB(29)	20	-22.4±0.6	-7.3±0.7	4/4	0/4[b]
	30	-27.1±2.7	-17.4±5.5	4/4	0/4[b]

[0439] [a] 在第 0 天皮下植入人类乳腺癌 MX-1 异种移植组织 50mg。第 8 天开始 Q2D×6 小时静脉内输注的治疗并在第 18 天停止。

[0440] [b] 停止治疗后在第 27 天观察到 2/4 的小鼠中到重新出现可触摸的肿瘤。停止治疗后第 28 天至第 64 天期间没有再出现肿瘤。

[0441] [c] 试验结束时停止治疗后在 64 天期间没有再次出现肿瘤。

[0442] 将药剂 29 的剂量降低至 10mg/Kg(Q2D) 亦可使 MX-1 肿瘤消失,但需要 9 次服药才能达到该结果 (图 57、58 及 59A)。作为一附加要求,需将化疗延迟至肿瘤大小达到 0.5g(约体重的 2.3%) 为止。用 25mg/Kg(Q2D×7) 剂量的 29 治疗,使 4/4 小鼠的肿瘤消失。相反对于 dEpoB,需要 30mg/Kg(Q2D×8) 剂量才能使 3/4 小鼠的肿瘤消失。然而,不象 29 的情

况，用 dEpoB 治疗后出现的表面消失随时间流逝而复发。（图 59B）。

[0443] 药剂 29 完全抑制人类乳腺癌 MX-1 异种移植物生长、使肿瘤缩小并使其在长达 64 天的时间内消失的事实给人以深刻印象。而且，用 29(20mg/kg 或 30mg/kg Q2D×6，6 小时静脉内输注，表 1，上文）治愈后，停止治疗后 12 至 18 天内异种移植物的体重恢复至预处理的对照水平。该发现表明没有损伤重要器官。在 10mg/Kg Q2D×12 的低治疗剂量（图 59B）下，最大体重下降仅为 12％，同时在最后三次给药期间体重增加 6％。停止治疗后仅三天体重即恢复至预处理的对照水平。上表 1 显示该些动物在体重损失高达 27％时仍可存活。在本文中所达成的治疗安全系数对于一有疗效的癌症治疗剂而言相当宽。

[0444] 亦评价了 29 抗人类肺癌异种移植物 (A549) 及紫杉醇抗人类肺癌 A549/ 紫杉醇异种移植物的治疗效能（图 59C 及 59D）。用 29(25mg/kg，Q2D×6，两次，间隔八天）治疗缓慢生长的肺癌异种移植物 A549，此使得 99.5％的肿瘤受到抑制，再给药两次后 4 个肿瘤最后完全根除（图 59C）。令人感兴趣的是，小鼠体重减少了 35％而没有任何致死现象，且停止治疗后使体重迅速恢复至接近预处理的对照水平（图 59C）。相反，用 dEpoB(30mg/Kg，Q2D×6) 进行的平行研究可抑制 97.6％的肿瘤，但不能根除肿瘤。在 29(20mg/Kg 剂量）抗 A549/ 紫杉醇异种移植物的附加试验（图 59D）中，肿瘤生长完全受到抑制且肿瘤最终比预处理对照组减少 24.4％。在该研究中，体重最多减轻 24％，然而，停止药物治疗后体重恢复至预处理对照组的 90％。在 (E)-9，10- 去氢 -dEpoB(28，每组 4mg/Kg) 的对比研究中，41.6％的肿瘤生长受到抑制。

[0445] 表 10-2 中提供了用于分析赋予化合物 29 显著治疗指数的因素的相应数据及 与密切相关的同类物有关的比较数据。可注意到，自 EpoB(2b) 至 dEpoB(1) 固有的细胞毒性降低了一个完整的数量级。对于 9，10- 去氢 -dEpoB(28) 而言，该降低约恢复 60％。对于 29，该固有细胞毒性部分丧失，其至少在细胞中为基准化合物 dEpoB 细胞毒性的约 1.8 倍。

[0446] 我们注意到，在该些 12，13- 去氢埃坡霉素中，目前 29 在小鼠血浆中展示最佳的稳定性且在人肝脏 S9 血浆中亦是最稳定的。亦注意到，在 12，13- 去氢异构体的 2- 位置，其含有的 26- 三氟结构使亲脂性降低并使水溶性稍微增加（下表 10-2）。目前看来 29 的巨大优点在于在血清稳定性及生物利用度方面的改进。

[0447] 表 10-2. dEpoB 衍生物的性质

[0448]

化合物	细胞毒性功效 IC_{50}(nM)[a]	未死亡时的最大体重下降%	稳定性半衰期		在水中的溶解度(μg/mL)	亲脂性辛醇/水分配常数(POW)	Q2D 6小时静脉内注射的治疗给药方案(mg/Kg)	MTD时的相对治疗指数[b]
			小鼠血浆(min)	人肝脏S9部分(hr)				
EpoB(2b)	0.53±0.2	15	57	15.8	ND	ND	0.6-0.8	+++
dEpoB(1)	5.6±2.8	32	46±7	1.0±0.1	9.4	4.4	25-30	++++
deH-dEpoB(28)	0.90±0.40	29	84±6	4.9±0.7	27	3.3	3-4	++++
F_3-dEpoB(2)	9.3±5.2	22	66±7	1.6±0.4	8	4.1	15-20	++
F_3-deH-dEpoB (29)	3.2±0.3	33	212±88	10.5±2.3	20	3.3	10-30	+++++

[0449]

[0450] [a] IC_{50} 值是对于 CCRF-CEM 白血病细胞的 IC_{50} 值。该些值是两次试验的范围。所有值皆自七个浓度点获得；ND ＝未测定。

[0451] [b] MTD(最大容许剂量)时的相对治疗指数(TI)分类：

[0452] + 25 至 50%的肿瘤生长受到抑制。

[0453] ++ 50 至 100%的肿瘤生长受到抑制。

[0454] +++ 肿瘤缩小但未出现肿瘤消失。

[0455] ++++ 在某些或所有裸鼠中肿瘤消失，停止治疗后一周内某些

[0456] 小鼠体重缓慢恢复及/或旧病复发。

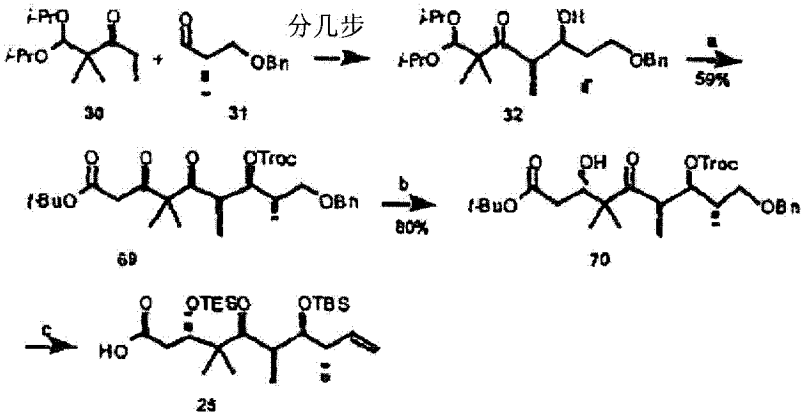
[0457] +++++ 所有的裸鼠中肿瘤消失，体重迅速恢复及/或没有复发。

[0458] Chou, T. C. 等人 (Proc. Natl. Acad Sci. USA. 1998, 95, 15798 及 2001, 98, 8113) 研究了埃坡霉素抗裸鼠中人类异种移植物(例如，MX-1)的治疗试验。

[0459] 通过总合成初次发现了 1-2 及 28-29 的所有药剂。先前文献已阐述 1 的实际合成 (Rivkin 等人, J. Am. Chem. Soc. (2003, 125, 2899) ;White 等人, J. Am. Chem. Soc. (2001, 123, 5407) ;Yoshimura 等 人, Angew. Chem. (2003, 42, 2518) ;Rivkin 等 人, J. Org. Chem. 2002, 124, 7737 ;每一皆以引用的方式并入本文中)。亦已阐述获得 28 及 29 的第一代发现级途径。选择性还原 29 的 9, 10- 双键获得 2。对于目前最有希望的化合物 29, 上述异种移植物研究获得的显著结果清楚表明, 需对化合物 29 在更高级动物中进行更详细的毒理学及药物动力学研究, 并由此适当地进一步用于人体临床试验。该些前景将合成挑战的性质完全自制备试探样品变成制备多克数量的该些新颖埃坡霉素药剂。对在发明背景中最初设想并表明的先前途径的主要修改已达成。特别是, 我们的新方案在碳 3 及 26 的立体选择性设计方面实现重大简化。醇 32 如先前所述 (Rivkin 等人, J. Am. Chem. Soc. (2003, 125, 2899) ;以引用的方式并入本文中) 来制备。应注意, 在该新颖合成中, 立体中心 6、7 及 8 皆衍生自易于获得的酮 30 及醛 31。在醇保护及缩醛水解后, 将相应的醛与醋酸特丁基酯缩合, 获得一醇醛样产物。由于该缩合反应在立体异构方面不受控制, 需要并已达成一补救措施。氧化 C3 差向异构体的该 1 ： 1 的混合物, 获得酮 69。在所示条件下实施一非常成功的 Noyori 还原 (Noyori 等人, J. Am. Chem. Soc. (1987, 109, 5856) ;以引用的方式并入本文中) 之后, 获得醇 70。然后, 如所示以几个附加简单步骤完成酸 25 的制备。

[0460] 方案 12. 合成酰基部分 25

[0461]

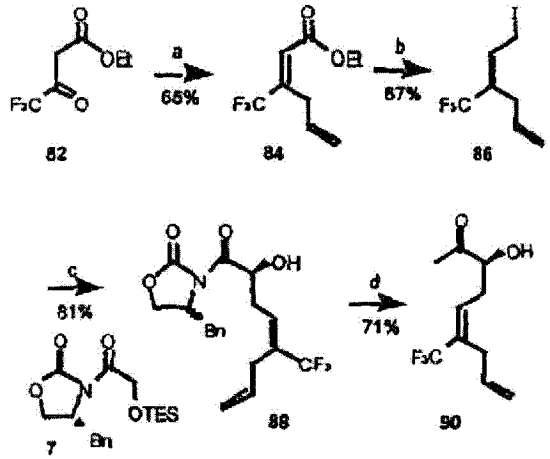


[0462] 试剂及条件 :(a)(i)TrocCl, 吡啶, 92% ;(ii)p-TsOH·H_2O, 76% ;(m)LDA, 醋酸特丁基酯, THF, 80% ;(iv)Dess-Martin periodinane, 74% ;(b)Noyori 催化剂 (10mol%), MeOH/HCl, H_2, 1200psi, 80% 。(c)(i)TESCl, 咪唑, 77% ;(ii)Zn, AcOH, THF, 99% ;(iii)TBSOTf, 2, 6- 二甲基吡啶, 82% ;其余步骤参见 Rivkin 等人 J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 2899。

[0463] 亦已研究出一种新的简单且易于缩放的合成 90 的方法 (方案 13)。该合成以市售三氟酮酯 82 与溴化烯丙基锢的反应开始。合成中的关键步骤是所得叔醇的位置特异性及立体选择性脱氢以生成产物 84(两步的总产率为 65%)。该反应的立体控制源自“偶极效应”, 其中强吸电子 CF_3 与 CO_2Et 基团相对于形成的双键最佳以反式存在。自 84 以两步获得所需碘化物 86。先前所报导的烯醇化锂 7 与碘化物 86 于 THF 中烷基化, 获得 88, 其产率为 81% 且具有高非镜像立体选择性 (＞ 25 ： 1de)。仲醇去保护后, 自化合物 88 以三步获得所示 90。

[0464] 方案 13. 合成烷基部分 17

[0465]

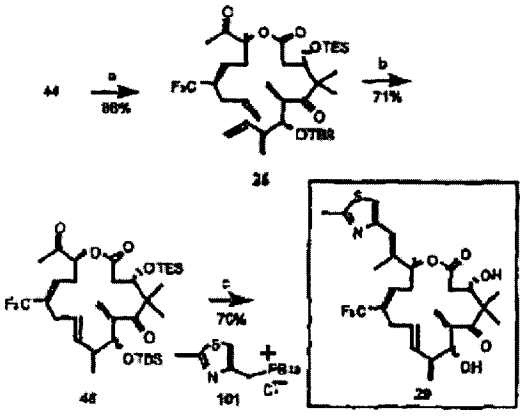


[0466] 试剂及条件：(a)(i) 烯丙基溴，In，THF- 水 (3 ： 1)48℃，85％；$SOCl_2$，吡啶 55℃，77％；(b)(i)DIBAL-H，CH_2Cl_2，-78℃至室温，99％；(ii)I_2，PPh_3，咪唑，CH_2Cl_2，74％；(c)(i) LHMDS，THF，-78℃至室温；(ii)HOAc-THF-H_2O(3 ： 1 ： 1)，两步产率 81％；(d)(i)$AlMe_3$，MeONHMe，THF，0℃至室温，97％；(ii)MeMgBr，THF，0℃，53％ (73％ borsm)

[0467] 在手头上有了通过易处理化学反应获得的 25 及 90 的情况下，根据先前在发现阶段开发出药物配制报告 (A.Rivkin 等人，J.Am.Chem.Soc.2003，125，2899；以引用的方式并入本文中）即知晓了制备 29 的途径。关键的 25 的闭环置换反应是在甲苯中用第二代 Grubbs 催化剂来实施 (Grubbs，R.H. ；Miller，S.J. ；Fu，G.C.Acc.Chem.Res.1995，28，446；Trnka，T.M. ；Grubbs，R.H.Acc.Chem.Res.2001，34，18；Alkene Metathesis in Organic Chemistry 编辑：Fürstner，A. ；Springer，Berlin，(1998))；Fürstner，A.Angew.Chem.Int.Ed.Engl.2000，39，3012；Schrock，R.R.Top.Organomet.Chem.1998，1，1；其每一皆以引用的方式并入本文中）。该反应仅获得反式异构体 48，产率为 71％。通过方案 14 中所示方法插入噻唑部分后，用 HF- 吡啶去除两个甲硅烷保护基团，由此获得 29，然后将 29 通过 9，10- 烯烃的还原以高产率转化为 2。已通过在研究院规模的实验室环境中的总合成制得克数量级的结构新颖的埃坡霉素。

[0468] 方案 14. 合成 26-CF_3-(E)-9，10- 去氢 -dEpoB(29) 的最后步骤

[0469]



[0470] 试剂及条件：(a)EDCI，DMAP，CH_2Cl_2，25，0℃至室温，86％，自特丁基酯开始；(b) Grubb 催化剂，甲苯，110℃，20 分钟，71％；(c)(i)KHMDS，101，THF，-78℃至 -20℃，70％；(ii) HF- 吡啶，THF，98％。

[0471] 实验

[0472] 一般方法：除非另有说明，否则使用自商业供应商购得的试剂而不进一步纯化。自一溶剂干燥系统（通过一预填充氧化铝柱）获得二氯甲烷且使用时未经进一步干燥。所有对空气及水敏感的反应皆在预净化氩气的正压下在烘干的玻璃器件中进行。NMR（^{1}H 及 ^{13}C）谱图如一个一个单独所注明在 Broker AMX-400MHz 或 Bruker Advance DRX-500MHz 上记录，参照 $CDCl_3$（^{1}H 为 7.27ppm 且 ^{13}C 为 77.0ppm）或 CD_2Cl_2（^{1}H 为 5.32ppm 且 ^{13}C 为 53.5ppm）。在 Perkin-Elmer FT-IR 型 1600 光谱仪上获得红外光谱图（IR）。在 JASCO 型 DIP-370 数字旋光仪上获得旋光度。在 E.Merck 硅胶 60F254 板上实施分析性薄层层析。通过将该些板浸渍于钼酸铈铵或对茴香醛溶液中并加热来显现不具有 UV 活性的化合物。在 Whatman® (LK6F 硅胶 60A) TLC 板上用规定溶剂实施制备型薄层层析。

[0473] 化学药品所有埃坡霉素皆内部合成（C.R.Harris，S.J.Danishefsky，J.Org.Chem.1999，64，8434；D.-S.Su 等 人，Angew.Chem.Int.Ed.Engl.1997，36，2093；Smart，B.E.J.Fluorine Chem.2001，109，3；F.Yoshimura 等 人，Angew.Chem.2003，42，2518；Rivkin 等人，J.Org.Chem.（2002，124，7737）每一皆以引用的方式并入本文中）。紫杉醇（Taxol®）及硫酸长春碱（VBL）皆自 Sigma 购得。将所有该些化合物溶于二甲亚砜中用于体外分析（VBL 溶于盐水中）。对于体内研究，将所有埃坡霉素及紫杉醇皆溶于氢化蓖麻油/乙醇（1 ： 1）媒剂中，然后用盐水稀释，使用特定设计的微型导管通过尾部静脉进行 6 小时静脉内输注（T.-C.Chou 等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA.2001，98，8113-8118；T.-C.Chou 等人，Proc.Natl Acad Sci.U.S.A.1998，95，15798-15802；每一皆以引用的方式并入本文中）。

[0474] 肿瘤及细胞株．自 University of Illinois（Chicago）的 Dr.William Beck 获得 CCRF-CEM 人类淋巴性白血病细胞。人类乳腺癌（MX-1）及人类肺癌细胞（A549）皆自 American Type Culture Collection（ATCC，Rockville，MD）获得。用上述方法形成紫杉醇－抗性 A549/ 紫杉醇细胞（44- 倍抗性）（T.-C.Chou 等人，Proc.Natl Acad Sci.USA.2001，98，8113-8118；以引用的方式并入本文中）。

[0475] 实验动物．自 NCI（Frederick，MD）获得具有 nu/nu 基因的无胸腺裸鼠并用于所有人类肿瘤异种移植物。使用 6 周龄或以上且体重 20 至 22g 或以上的雄性裸鼠。使用自制输注微型导管及贮容管（containment tube）进行 6 小时的尾部静脉内输注来投与药物（T.-C.Chou 等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA.2001，98，8113-8118；以引用的方式并入本文中）。使用多道可编程 Harvard PHD2000 注射泵进行静脉内输注。每一溶于氢化蓖麻油/乙醇（1 ： 1）中药物的典型 6 小时输注体积为 100ml 于 2.0ml 盐水中。通过用卡尺测量长 × 宽 × 高（或宽）估计肿瘤体积。对于试验过程期间有肿瘤的裸鼠而言，体重是指总重量减去肿瘤的重量。所有动物研究皆根据美国卫生署动物照料及使用守则（National Institute of Health Guide for the Care and Use of Animals）中的指导原则及由斯隆－凯特林纪念癌症中心（the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center）的实验动物管理及使用委员会批准的协议来实施。

[0476] 细胞毒性分析在准备体外细胞毒性分析时，以 2 至 5×10^{4} 细胞/毫升的初始密度培养细胞。将该些细胞在 RPMI 媒介 1640（GIBCO/BRL）中于 37℃下在 5％ CO_2- 湿润气氛下保持，RPMI 媒介 1640 包含青霉素（100 单位/mL）、链霉素（100μg/mL，GIBCO/BRL）

及 5％热灭活 FBS。对于以单层生长的实体肿瘤细胞（例如 A549）而言，在 96 孔微量滴定板中通过磺酰罗丹明 B(sulforhodamine B) 方法测定药物的细胞毒性 (P.Skehan 等人，J.Natl Cancer.Inst.1990,82,1107-1112；以引用的方式并入本文中）。对于在悬浮液中生长的细胞（例如，CCRF-CEM 及其亚系），在 96 孔微量滴定板中用 2,3- 双 -(2- 甲氧基 4- 硝基 -5- 磺苯基)-5- 苯胺基甲酰)-2H- 四唑鎓氢氧化物 (XTT) 微量培养方法测定细胞毒性 (D.A.Scudiero 等人，Cancer Res.(1988,48,4827-4833)；以引用的方式并入本文中），用同样的方法测定两次。对于两种方法，皆用微孔板阅读器 (Power Wave XS，Bio-Tek，Winooski，VT) 测量每一孔的吸光度。通过计算机程序利用中位数 - 效果曲线自每一药物 6 至 7 个浓度点分析剂量 - 效果关系数据 (T.-C.Chou,M.Hayball.CalcuSyn for Windows,Multiple-drug dose effect analyzer and manual.Biosoft,Cambridge Place,Cambridge,UK(1997)；以引用的方式并入本文中），用同样的方法测定两次。

[0477] 埃坡霉素在小鼠及人肝脏 S9 部分中的稳定性．利用一全自动 HPLC 系统进行稳定性研究，全自动 HPLC 系统由 Prospekt-2(Spark Holland，Netherlands) 样品制备系统及一 Agilent 1100HPLC 系统组成。简言之，Prospekt 2 选取一 C8 萃取管并用乙腈和水洗涤。Agilent 自动取样器设定在 37℃，其采集 20μl 的样品，将其装于该管中，用水洗涤，然后 Prospekt-2 将流动相流通过该萃取管引导至分析柱上（带有保护柱的 Reliance Stable Bond C8,4×80mm(MacMod，Chadds Ford，PA)）且监测 250nm 处的洗脱液。流动相由 53 或 65％乙腈 /0.1％甲酸组成，流速为 0.4ml/min，因此所研究化合物的保留时间约为 6 分钟。样品制备涉及将等体积的血浆添加至 PBS 中使总体积为 300-400μl，过滤并添加 0.5-2μl 的底物 (20mM)，以在 HPLC 分析中在 250nm 处达成约 30-50mAU。对于所收集的人类肝脏微粒体 S9 部分 (Xeno Tech,Lenex,KS)，将 20μl(400μg) 的 S9 部分与 280μl 的 PBS 混合，然后如上所述继续进行研究。取样周期由自动取样器控制，并收集峰面积数据以比较母体化合物消失的速率。

[0478] 辛醇 - 水分配常数 (POW) 的测定．使用 HPLC 方法估计辛醇 - 水的分配常数。使用一带有 eclipse XDB C18 柱 (4.6×250mm) 的 Agilent1100HPLC 系统，其中流动相为 60％乙腈 /40％的 25mM 磷酸钾缓冲液 (pH 7.4)，其流率为 0.8ml/min，在 250nm 处监测洗脱液。所用标准液为已知 POW 分别为 1.1、1.7、3.2、4.2 及 4.8 的苄醇、苯乙酮、二苯甲酮、萘、二苯醚及二苄醚。使用重铬酸钠估计时间零点，时间零点为 2.5 分钟，且该些标准液的保留时间分别为 3.9、5.4、10.6、14.18.7 及 19.8 分钟。通过公式 $k = (t_{rt}-t_o)/t_o$ 计算 k 值。log k 对 logPOW 线性回归，获得 $r^2 = 0.966$ 的直线。使用该曲线图估计埃坡霉素类似物的 POW 值。

[0479] 29(26- 三氟 -(E)-9,10- 去氢 -dEpoB) 的光谱数据：

[0480] $[\alpha]_D^{25}$-54.6(c 0.28，$CHCl_3$)；IR(薄 膜)v3478,2974,2929,1736,1689,1449,1381,1318,1247,1169,1113,1039,983,867,736cm^{-1}；^1H NMR(400MHz，$CDCl_3$) δ 1.05(3H,s),1.12(3H,d,J = 7.0Hz),1.23(3H,d,J = 6.8Hz),1.37(3H,s),2.04(1H,brd,J = 3.8Hz,-OH),2.12(3H,s),2.25-2.33(1H,m),2.38(1H,dd,J = 15.3 及 3.0Hz),2.48(1H,dd,J = 15.4 及 9.8Hz),2.54-2.61(1H,m),2.66-2.76(1H,m),2.71(3H,s),2.96(1H,dd,J = 16.5 及 4.5Hz),3.02(1H,dd,J = 16.3 及 6.5Hz),3.11(1H,五重峰，J = 6.7Hz),3.19(1H,brs,= OH),3.74(1H,brs),4.35(1H,brd,J = 9.5Hz),5.42(1H,dd,J = 6.2 及 4.1Hz),

5.60(1H,ddd,J = 15.8、5.6 及 4.5Hz),5.66(1H,dd,J = 15.8 及 5.8Hz),6.24(1H,t,J = 7.2Hz),6.64(1H,s),7.00(1H,s);^{13}C NMR(100MHz,$CDCl_3$) δ 15.1,16.1,17.7,18.5,19.3,22.5,28.8,31.1,39.6,39.7,45.0,53.7,71.4,75.3,76.8,116.7,1202,124.3[q,^{1}J(C,F) = 273.4Hz],127.9,130.2[q,^{3}J(C,F) = 6.0Hz],130.6[q,^{2}J(C,F) = 28.4Hz],132.5,136.7,152.0,165.4,170.2,218.4;$C_{27}H_{37}F_3NO_5S$ 的 LRMS(ESI) 计算值 [M+H$^+$]544.2,试验值 544.1。

[0481] 实例 11:体外研究

[0482] 典型的试验涉及以 2 至 5×10^4 细胞 /ml 的初始密度培养细胞(例如,CCRF-CEM)。该些细胞在 RPMI 媒介 1640(GIBCO/BRL) 中于 37℃下在 5% CO_2- 湿润气氛下保持,RPMI 媒介 1640 包含青霉素 (100 单位 /mL)、链霉素 (100μg/mL,GIBCO/BRL) 及 5%热灭活胎牛血清。对于在悬浮液中生长的细胞(例如,CCRF-CEM 及其亚系),在 96 孔微量滴定板中用 2,3- 双 -(2- 甲氧基 4- 硝基 -5- 磺苯基)-5- 苯胺基甲酰)-2H- 四唑鎓氢氧化物 (XTT) 微量培养四唑鎓法测定细胞毒性,用同样的方法测定两次。对于两种方法,皆用微孔板阅读器 (Power Wave XS,Bio-Tek,Winooski,VT) 测量每一孔的吸光度。每一试验需要测试药物的 6 或 7 个浓度点。利用中位数 - 效果曲线分析剂量 - 效果关系数据。

[0483] CCRF-CEM 人类 T 细胞、急性淋巴性白血病细胞、其抗替尼泊甙 (teniposide) 亚系 (CCRF-CEM/VM_1) 及抗长春碱亚系 (CCRF-CEM/VBL_{100}) 皆自 W.T.Beck(University of Illinois,Chicago,II) 获得。

[0484] 在一典型试验中,如上所概述,本发明的某些化合物(例如,9,10- 去氢 -EpoD) 在 CCRF-CEM 细胞株中及抗紫杉醇的 CCRF-CEM 细胞株中展示活性。该些化合物中的某些对 CCRF-CEM 细胞株展示在 0.0015 至约 0.120 范围内的 IC_{50}。某些其他化合物展示 0.0015 至约 10.5 的 IC_{50}。该些化合物中的某些亦对 CCRF-CEM/ 紫杉醇抗性细胞株展示在 0.011 至约 0.80 范围内的 IC_{50},且某些其他化合物展示 0.011 至约 13.0μM 范围内的 IC_{50}。在某些实施例中,26F-EpoD 对 CCRF-CEM 细胞株展示在 0.0015μM 范围内的活性且对 CCRF-CEM/ 紫杉醇抗性细胞株细胞株展示在 0.011μM 范围内的活性(图 11)。

[0485] 实例 12:体内研究

[0486] 通常用具有 nu/nu 基因的无胸腺裸鼠用于肿瘤异种移植。远系杂交瑞士小鼠自 Charles River Laboratories 获得。大多数试验使用 8 周龄或以上且体重 22g 或以上的雄性小鼠。通过尾部静脉 6 小时静脉内输注来投与药物。每一个小鼠皆限制在一个带孔的 Falcon 聚丙烯管限制器中投与药物。通过用卡尺测量长 × 宽 × 高(或宽)估计肿瘤体积。使用多道可编程 Harvard PHD2000 注射泵 (Harvard Apparatus) 进行静脉内输注。所有动物研究皆根据美国卫生署“动物照料及使用守则”中的指导原则及由斯隆 - 凯特林纪念癌症中心的实验动物管理及使用委 员会批准的协议来实施。为符合该委员会关于具有肿瘤的动物的人道治疗政策,当肿瘤达到小鼠总体重的≥ 10%时使其安乐死。

[0487] 如图 8 中所示,在具有人类乳腺癌 MX-1 的裸鼠中测试 9,10- 去氢 -EpoB。一般而言,9,10- 去氢 -EpoB 可如下配制:将 9,10- 去氢 -EpoB 溶于乙醇中并添加浓度为 20mg/ml 的氢化蓖麻油 (1 : 1)。该溶液用盐水稀释用于静脉内输注。经稀释的溶液用于在 1 小时内静脉内输注。然后,经 15 天后用 10mg/Kg、20mg/Kg 及 30mg/Kg 的剂量测量肿瘤大小及体重。亦可用 0.4mg/Kg Q3D×2、0.5mg/KgQ3D×2 及 0.6mg/Kg Q3D×5 的给药方案来测量肿

瘤大小及体重（参见图 33、34、55 及 56）。使用每三天投与一次的给药方案以降低毒性。其他关于 9,10- 去氢 -EpoB 的疗效研究展示于图 70 和 71(CCRF-CEM/ 紫杉醇 Q3D×5) 及图 23 和 24(HCT-116,Q2D×7) 中。

[0488] 化合物 9,10- 去氢 -12,13- 去氧埃坡霉素 B（异 -490 埃坡霉素）的效力是 dEpoB 的三倍。已证实,9,10- 去氢 -12,13- 去氧埃坡霉素 D 以 10mg/Kg 或 20mg/Kg 两至三次输注（每种皆每隔一天投与一次）后,可抑制肿瘤生长。采用 30mg/kg 剂量的 9,10- 去氢 -12,13- 去氧埃坡霉素 B 以两次 6 小时静脉内输注（每隔一天一次）的方式在小鼠中获得更佳结果。以 5mg/kg,Q3D×9,6 小时静脉内输注投与 9,10- 去氢 -dEpoB,亦使具有 MX-1 异种移植物的裸鼠中的肿瘤消失,没有小鼠死亡且体重仅适度减轻（图 74 与 75）。这似乎已通过每隔两天投与埃坡霉素类似物以降低毒性来达成（参见图 53 与 54）。总之,与其他埃坡霉素相比,9,10- 去氢 -12,13- 去氧埃坡霉素 B 的毒性降低、更有效地抑制肿瘤生长且具有更佳的血清稳定性。其他治疗研究展示于图 17 及 18(HCT-116,Q2D×5 及 Q3D×5) 中 ;图 19 及 20(A549/ 紫杉醇,Q3D×7) 中 ;及图 21 和 22(A549/ 紫杉醇,Q2D×7) 中。

[0489] 当将 9,10- 去氢 -Epo B 以 0.4 至 0.6mg/kg 的剂量以每三天一次的频率投与 9 至 11 次 (6 小时静脉内输注）时,导致在具有经移植人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的小鼠中的肿瘤收缩及消失（图 68 及 69）。以每隔一天的频率投与 8 次后可抑制肿瘤生长但不缩小肿瘤。当以每隔一天的频率投与 9 次 9,10- 去氢 -Epo B 时, 经移植的肿瘤自第二天至第 8 天持续适度缩小,同时体重极缓慢地自对照组的 76％恢复至 82％。第十天,1/4 的肿瘤消失。当将 9,10- 去氢 -EpoB 以 0.6mg/kg 的剂量 (Q2W×6,6 小时输注）投与具有 HCT-116 异种移植物的裸鼠时,第六次给药后四只小鼠在三天内死于中毒。将 9,10- 去氢 -EpoB 以 0.6mg/kg(Q3D×5、×2) 的给药方案给药使抗 CCRF-CEM/ 紫杉醇的肿瘤停止生长（图 70 及 71）。

[0490] 如图中所示,在移植有人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠模型中,将 26- 三氟 -9,10- 去氢 -12,13- 去氧 - 埃坡霉素 B(F_3-deH-dEpoB) 以 20mg/kg 及 30mg/kg(Q2D×6,6 小时输注）给药时具有疗效。数据亦表明 :30mg/kg Q2D×6 是近似的最大容许剂量。以 20mg/kg,Q2D×6,6 小时输注 26- 三氟 -9,10- 去氢 -12,13- 去氧 - 埃坡霉素 B 使四只具有人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠的肿瘤皆缩小并消失。停止治疗后第 20 天没有再次出现肿瘤。停止治疗后第 27 天,2/4 的小鼠再次出现肿瘤。停止治疗后第 28-64 天期间再没有出现更多肿瘤。相比而言,dEpoB 以 30mg/kg 在相同的小鼠模型中可使 7 只小鼠的肿瘤皆消失 ;然而,停止治疗后第 8 天 2/5 的小鼠中再次出现肿瘤。以 20mg/kg,Q2D×6,6 小时静脉内输注投与 26- 三氟 -9,10- 去氢 -12,13- 去氧 - 埃坡霉素 B 使小鼠体重暂时下降高达 26％。此体重下降并不会导致死亡,此表明没有对重要器官产生严重中毒。最后治疗后的两天,体重开始恢复。治疗后第 16 天,体重恢复至预处理对照组的 109％,此表明毒性（若有）已完全消除。相比而言,以 30mg/kg 投与 dEpoB 导致体重下降 31％,但没有致死。

[0491] 当以 30mg/kg,Q2D×6,6 小时静脉内输注投与 26- 三氟 -9,10- 去氢 -12,13- 去氧 - 埃坡霉素 B 时,比以 20mg/kg 的剂量投与早 2 至 3 天出现肿瘤消失。在该较高剂量下体重下降 27％且持续 4 天而没有导致死亡,此证明对重要器官没有剧烈毒性。以 30mg/kg 最后治疗后四天,体重开始恢复。治疗后第 16 天时,体重恢复至预处理对照组的 98％,再次证明毒性的可逆性。用 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 以 20mg/kg 及 30mg/kg 治疗导致所有

肿瘤消失，且以 30mg/kg 剂量治疗，62 天后没有出现复发。以 10mg/kg 的剂量给药 9 次并追加给药三次后亦可 实现肿瘤消失（图 57）。以 10mg/kg 投与 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 仅观察到较少的体重损失（图 58）。继续治疗没有看到进一步的体重损失。

[0492] 图 59 概括了 26-F_3-9,10-deH-dEpo B（及其他埃坡霉素）抗 MX-1 异种移植物的效果，A. 低剂量；B. 抗大肿瘤；C. 抗 A549 肺癌异种移植物；及 D. 抗紫杉醇抗性肺癌 A549/ 紫杉醇异种移植物。

[0493] 图 61 列出了 C-21 经修饰的埃坡霉素抗 CCRF-CEM、CCRF-CEM/VBL 及 CCRF-CEM/ 紫杉醇的体外效能。

[0494] 图 62 展示了 26-F_3-9,10-deH-dEpoB(15mg/kg 及 30mg/kg) 和紫杉醇 (20mg/kg)(Q2D×8,6 小时静脉内输注）抗人类 T- 细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM 异种移植物的治疗效果。在所用三组治疗中观察到类似的体重下降（图 63）。

[0495] 用 26-F_3-9,10-deH-dEpo B 以 15mg/kg 治疗 CCRF-CEM/ 紫杉醇异种移植物（抗紫杉醇）可达成 1/3 肿瘤消失，且 30mg/kg 达成 3/4 肿瘤消失。用 20mg/kg 紫杉醇进行相同的治疗仅部分抑制肿瘤生长且未达成肿瘤缩小（图 64）。在该试验期间体重的变化显示于图 65 中。

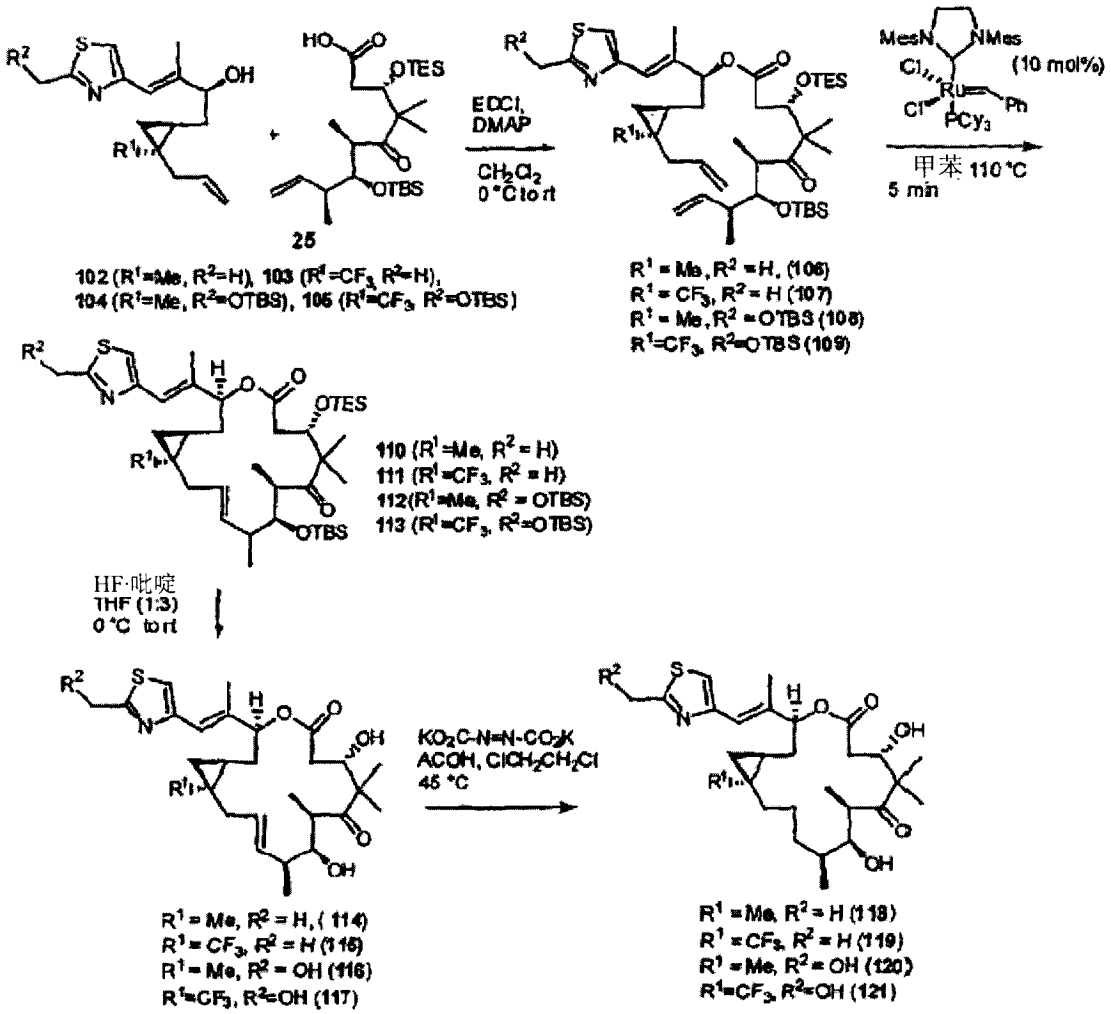
[0496] 用 26-F_3-9,10-deH-dEpo B(20mg/kg) 治疗人类结肠癌 HCT-116 异种移植物可达成与紫杉醇 (20mg/kg) 类似的效果。然而，30mg/kg 的 F_3-deH-dEpo B 可获得更佳的治疗效果，5 次给药后 2/4 肿瘤消失（图 66）。该试验期间体重的变化示于图 67 中。

[0497] 不同剂量 (5 至 30mg/kg) 的 F_3-9,10- 去氢 -dEpoF(6 小时静脉内输注及静脉内注射）抗 MX-1 异种移植物的治疗效果展示于图 76 和 77 中。

[0498] 结论．对 dEpoB 进行 9,10- 去氢修饰、26- 三氟代修饰或同时进行两种修饰可导致体外细胞毒性增加至原来的 1.5 至 5 倍且在体外小鼠血浆中的半衰期增加至原来的 2 至 5 倍。通过使用裸鼠中的人类实体肿瘤异种移植物模型且以最大容许剂量通过尾部静脉使用 Q2D×5 ～ 9,6 小时静脉内输注技术来评价 9,10- 去氢 - 埃坡霉素的抗肿瘤效能及毒性。对达成完全的肿瘤生长抑制、肿瘤缩小及消失的能力进一步研究，以确定停止治疗后的复发率及治愈率。尽管已知在体外最 有效的埃坡霉素 9,10- 去氢 -EpoB 极为有效，但其在体内展示一窄的治疗安全系数。4mg/kg 的 9,10- 去氢 -dEpoB、0.4mg/kg 的 9,10- 去氢 -EpoB 及 3mg/kg 的 21- 羟基 -9,10- 去氢 -dEpoB 皆能长时间强烈抑制肿瘤生长并达成某些肿瘤的缩小，且某些达成肿瘤的消失。在所有受试小鼠中，30mg/kg 的 dEpoB、20mg/kg 的 26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 及 20mg/kg 的紫杉醇皆显示出对肿瘤生长的强抑制作用并实现了肿瘤缩小及消失（人类乳腺癌 MX-1 异种移植物）。与 dEpoB 或紫杉醇相比，26- 三氟 -9,10- 去氢 -dEpoB 达成长期治愈而不出现肿瘤复发，且显示体重同样迅速地恢复至预处理对照水平。

[0499] 实例 13：合成环丙基 - 埃坡霉素类似物

[0500]



102 (R^1=Me, R^2=H), 103 (R^1=CF_3, R^2=H),
104 (R^1=Me, R^2=OTBS), 105 (R^1=CF_3, R^2=OTBS)

25

R^1 = Me, R^2 = H, (106)
R^1 = CF_3, R^2 = H (107)
R^1 = Me, R^2 = OTBS (108)
R^1=CF_3, R^2=OTBS (109)

110 (R^1=Me, R^2 = H)
111 (R^1=CF_3, R^2 = H)
112(R^1=Me, R^2 = OTBS)
113 (R^1=CF_3, R^2=OTBS)

R^1 = Me, R^2 = H, (114)
R^1 = CF_3, R^2 = H (115)
R^1 = Me, R^2 = OH (116)
R^1=CF_3, R^2=OH (117)

R^1 = Me, R^2 = H (118)
R^1 = CF_3, R^2 = H (119)
R^1 = Me, R^2 = OH (120)
R^1=CF_3, R^2=OH (121)

新颖埃坡霉素抗 CCRF-CEM 细胞生长的 IC_{50} 值

化合物	IC_{50} (μM) for		
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol
dEpoB (EpoD)	0.0036±0.0002	0.016±0.003 (4.4x)	0.0046±0.0002 (1.3x)
dEpoF	0.0015±0.0001	0.0456 (30.4x)	0.0035 (2.3x)
EpoB	0.00062±0.00013	0.0037±0.0011 (5.9x)	0.0011±0.0001 (1.8x)
10,11-二去氢-dEpoB (Epo-490)	0.0160	0.078 (4.8)	0.032 (2x)
26-甲基-dEpoB	0.040	0.123 (3.1x)	0.077 (1.9x)
4-des-me-EpoB	0.00081	0.0078 (9.6x)	0.017 (21x)
11-OH顺EpoD	0.0029	0.077 (26.6x)	0.0091 (3.1x)
11-α-F-dEpoB	0.0285	0.147 (5.2x)	0.0550 (1.9x)
11-β-F-dEpoB	0.0980	0.230 (2.3x)	0.138 (1.4x)
19-噁唑 EpoD	0.0054	0.045 (8.3x)	0.0017 (1.2x)
19-oxazole EpoB	0.00034	0.0057 (16.8x)	0.0057 (1.6x)
19-oxazole-Epo490	0.0077	0.0227 (2.9x)	0.0130 (1.7x)
9,10-deH-[16]dEpoB, (Iso-490)	0.0009±0.0004	0.0042±0.0022 (4.7x)	0.0012±0.0006 (1.3x)
Iso-490-dEpoF	0.00051±0.00009	0.0106 (20.8)	0.00073 (1.4x)
Iso-490-EpoB	0.00023±0.00002	0.00032 (1.4x)	0.00042 (1.8x)
12,13-epi-Iso-490-EpoB	0.0134±0.0032	0.0959 (7.1x)	0.0802 (5.6x)
12,13-epi-EpoB	0.0830±0.0001	0.4519 (5.4x)	0.1507 (1.8x)
Iso-490-dEpo-Me酮	5.02	----	----
26-F_3-9,10-deH-[16]dEpoB	0.0035	0.0210 (5.7x)	0.0057 (1.6x)
26-F_3-dEpoB	0.0041	0.080 (19.5x)	0.018 (4.4x)
Taxol	0.0016±0.0005	2.30 (1438x)	0.058±0.001 (36x)
长春碱	0.00045	0.418±0.076 (929x)	0.026±0.008 (58x)

图 1

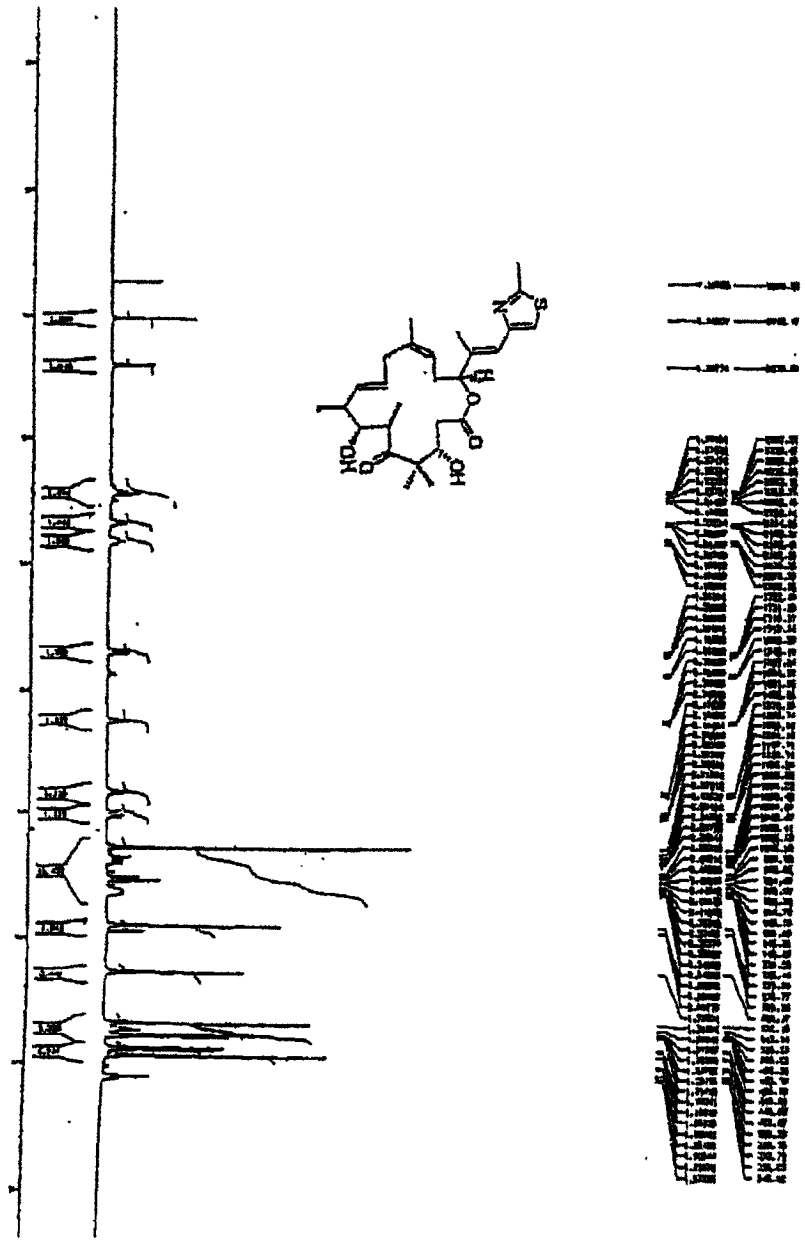


图 2

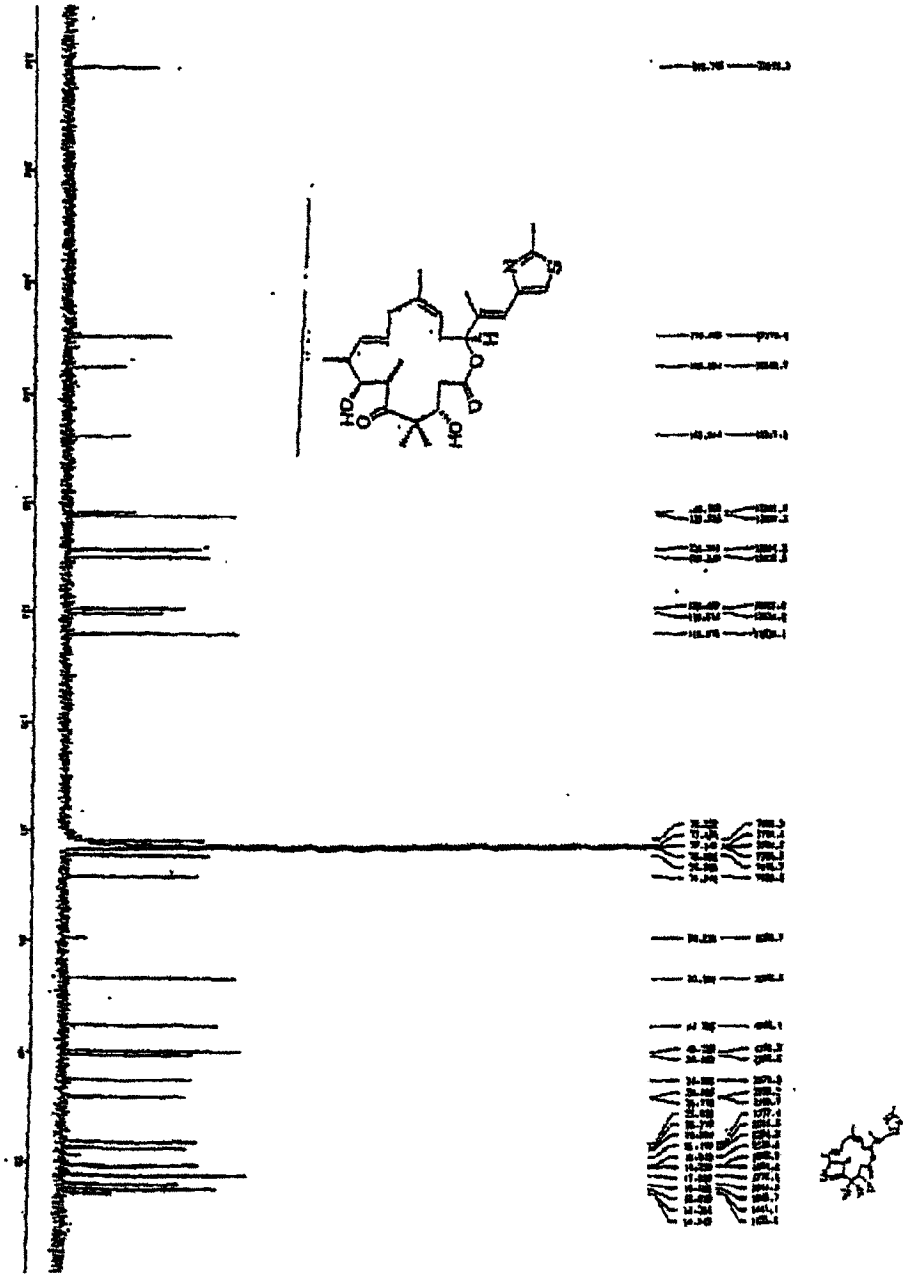


图 3

用 LACDAC-闭环烯烃置换方法合成 14-R 埃坡霉素

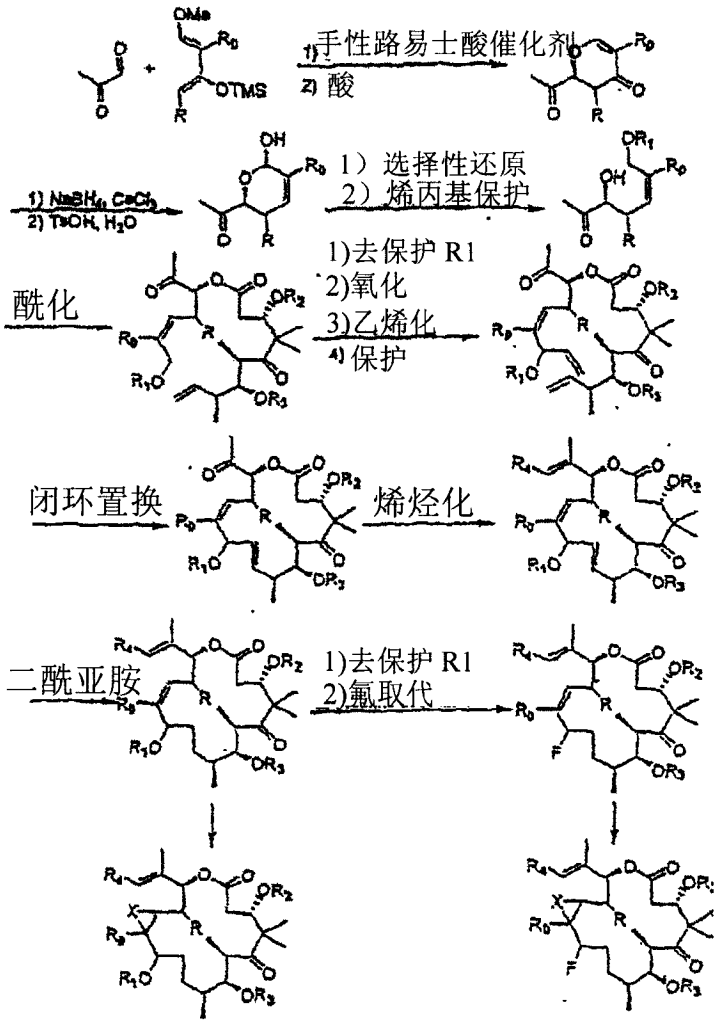


图 4

埃坡霉素体外抗人类白血病细胞的相对细胞毒性

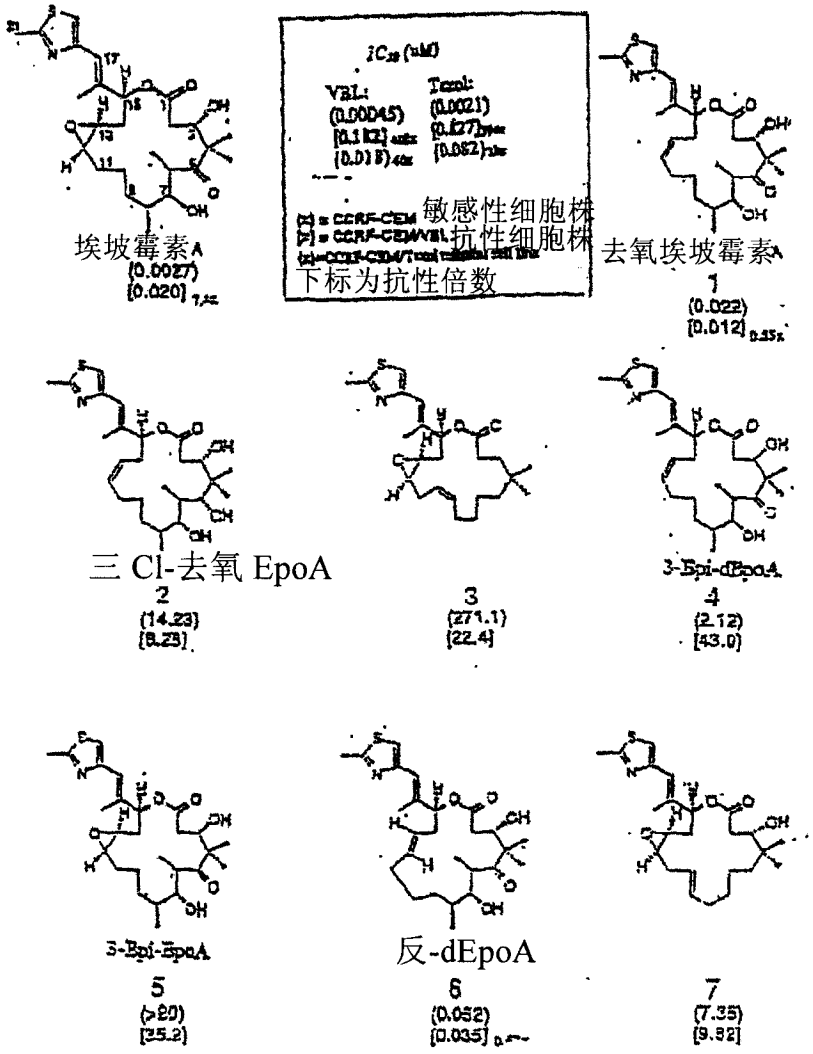
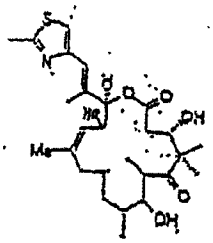
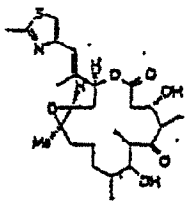


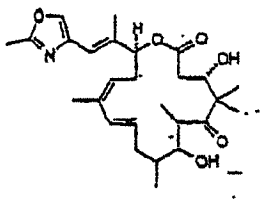
图 5A



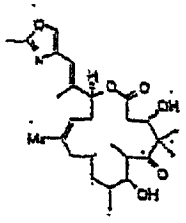
14-hy羟基-EpoD
82
(0.011)
[0.258] 23.5x
{0.029} 2.6x



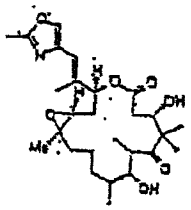
4-去甲基-EpoB
83
(0.00081)
[0.0078] 9.6x
{0.0017} 2.1x



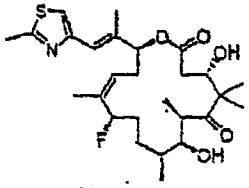
19-oxo埃坡霉素 490
84
0.0077
[0.0227] 3.1x
{0.0130} 1.8x



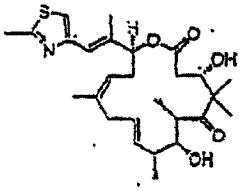
19-噁唑-EpoD
85
(0.0054)
[0.045] 8.3x
{0.0087} 1.6x



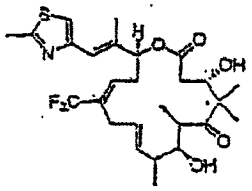
19-噁唑 -EpoB
86
(0.00034)
[0.0057] 16.8
{0.0005} 1.5x



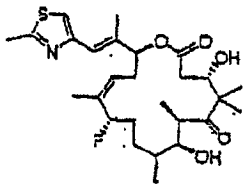
11-α-F-dEpoB
87
(0.0285)
[0.147] 5.2x
{0.0550} 1.9x



9,10-去氢 -[16]dEpoB
88
(0.0014)
[0.0065] 4.6x
{0.0017} 1.2x



16-tri-F-9,10- 去氢 -[16]dEpoB
89
(0.0035)
[0.0201] 5.7x
{0.0057} 1.6x

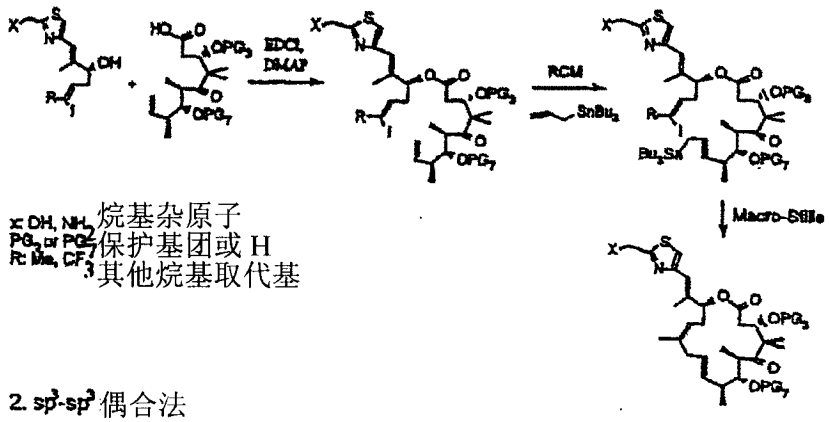


11-β-F-dEpoB
90
(0.0980)
[0.230] 2.3x
(0.138) 1.4x

图 5B

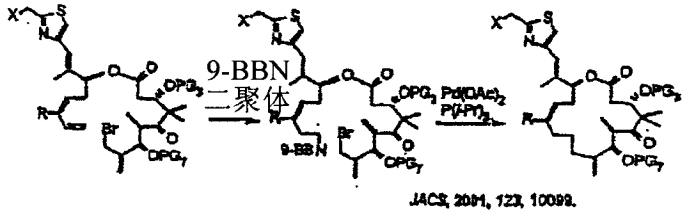
合成 9,10-去氢-12,13-去氧 EpoB 的替代方法：

1. Macro-Stille 法



X：OH, NH2 烷基杂原子
PG1 or PG2 保护基团或 H
R：Me, CF3 其他烷基取代基

2. sp^3-sp^3 偶合法



3. ß- Suzuki 偶合

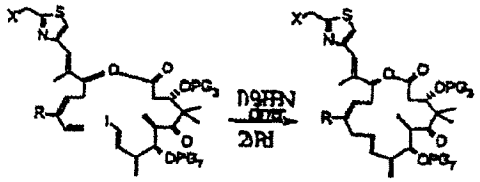
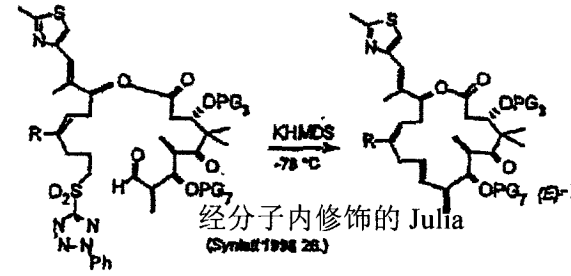
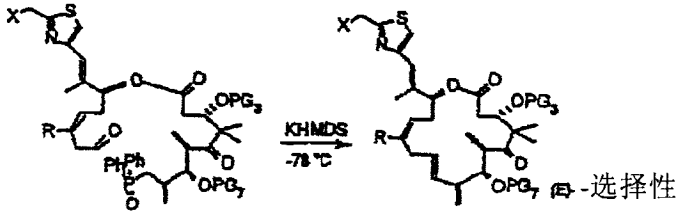


图 6A

4. Julia 烯烃合成法



5. Wadsworth-Emmons 法



6. Macro-Reformatosky 法

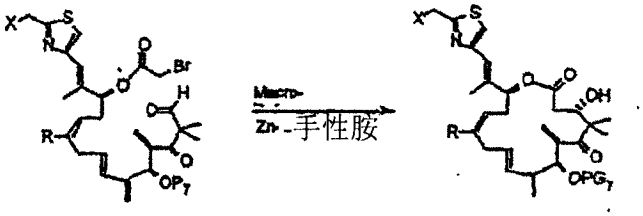
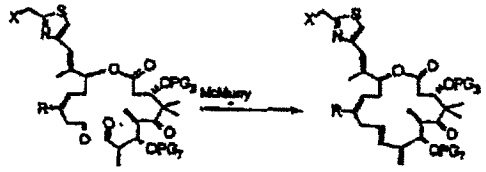


图 6B

7. McMurry偶合法



8. 内酰胺类似物合成

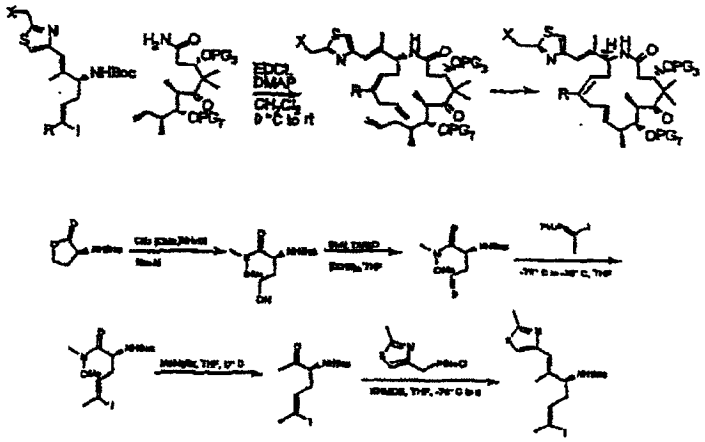


图 6C

9,10-去氢-12,13-去氧 EpoB 的类似物：

R：甲基，CF_3，其他烷基取代基

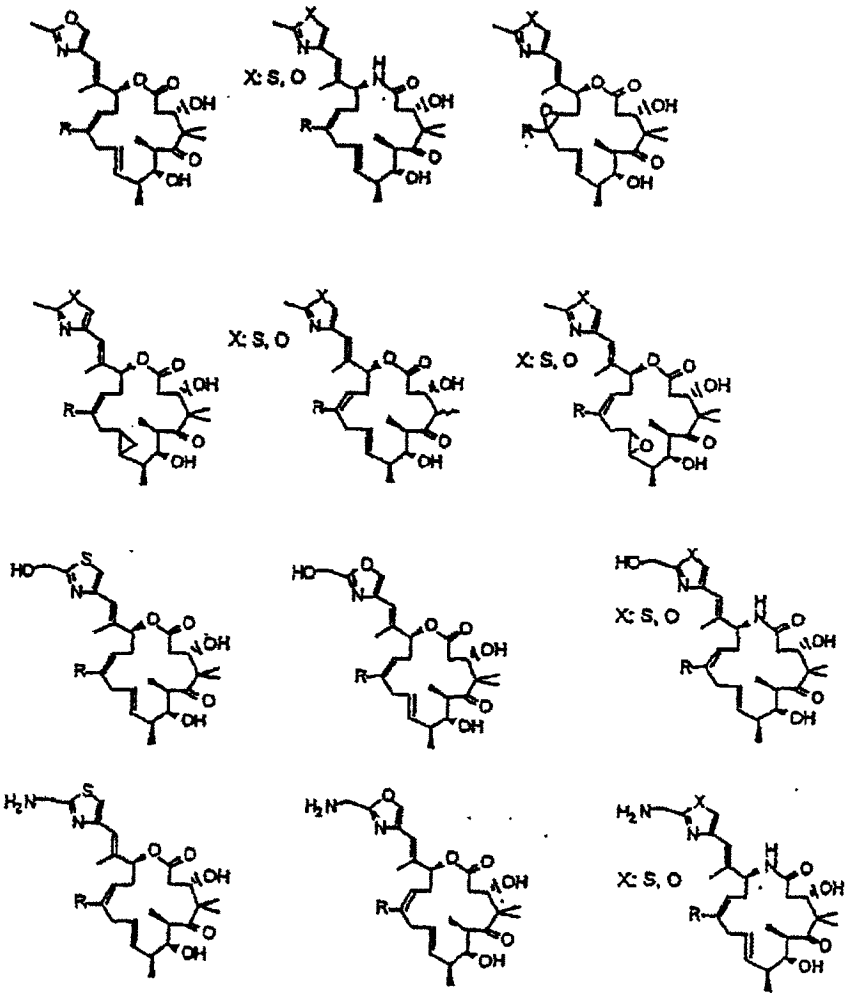


图 7

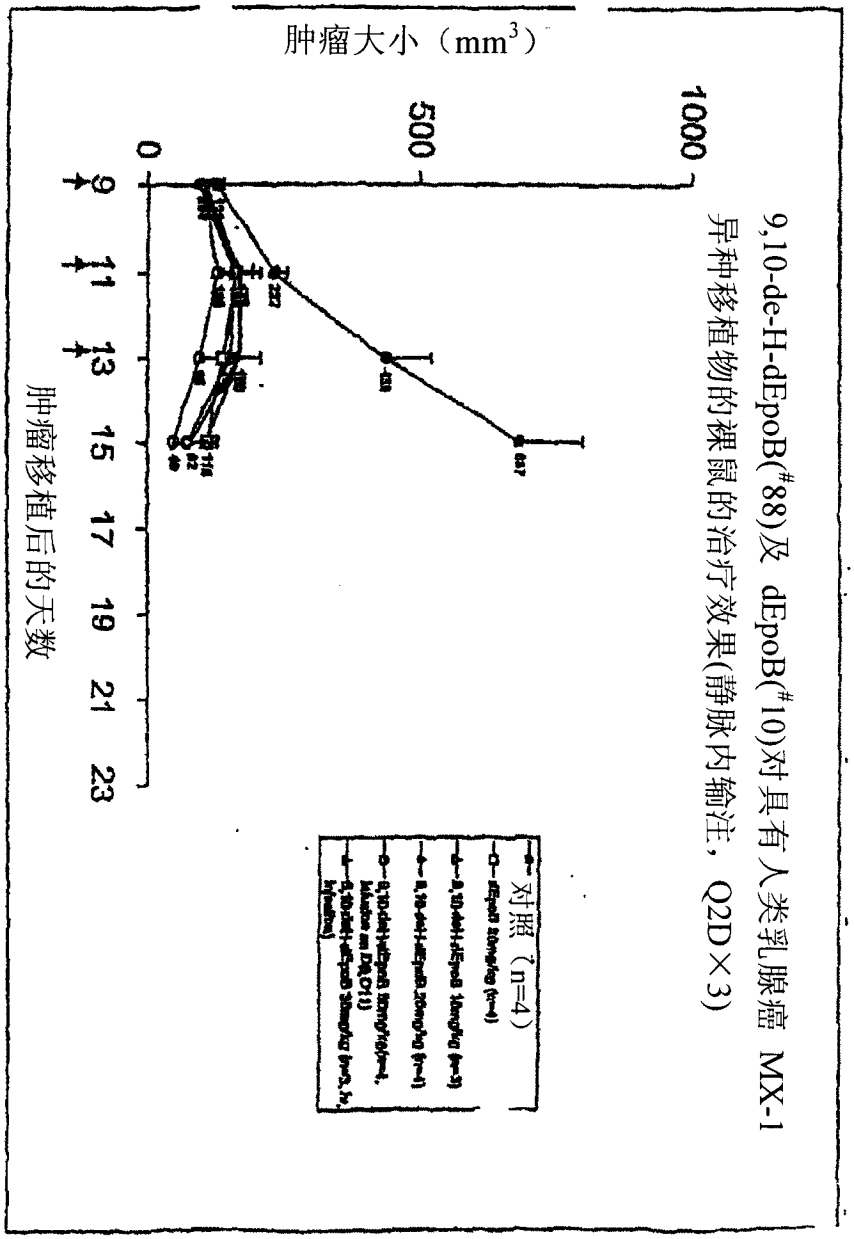

9,10-de-H-dEpoB(#88)及 dEpoB(#10)对具有人类乳腺癌 MX-1
异种移植物的裸鼠的治疗效果(静脉内输注，Q2D×3)
肿瘤大小（mm3）
1000
500
0
9
11
13
15
17
19
21
23
肿瘤移植后的天数
对照（n=4）

图 8

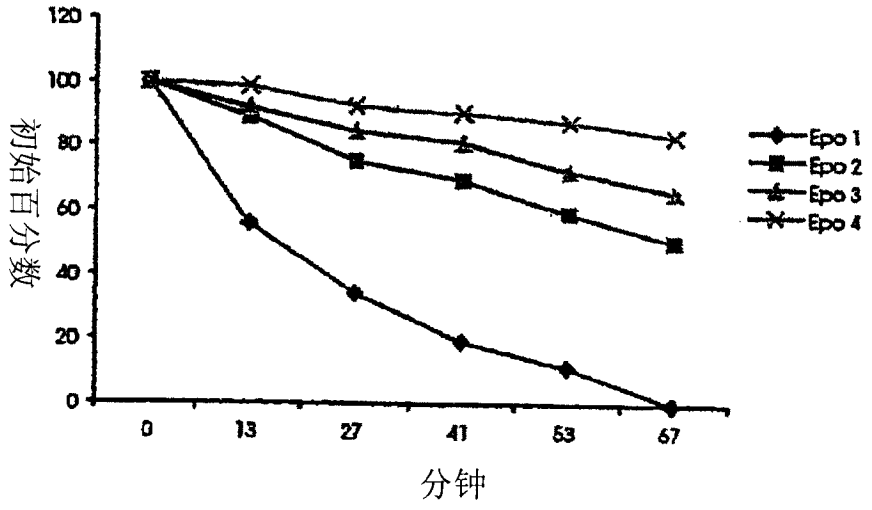


图 9

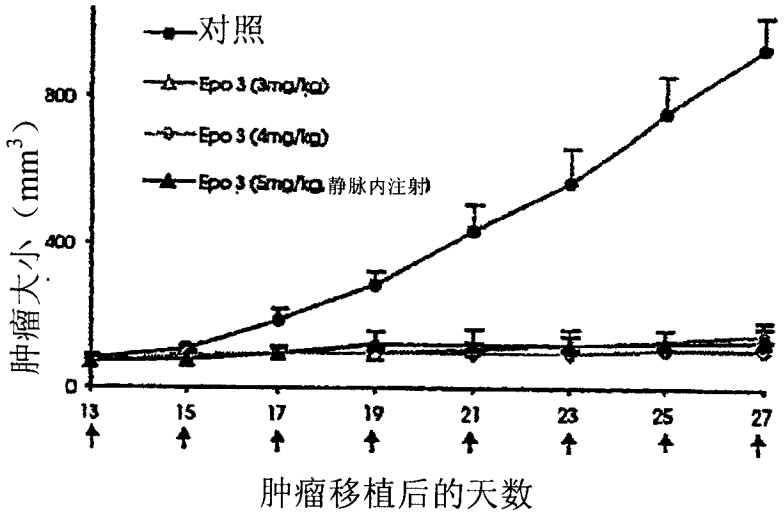

对照
Epo 3 (3mg/kg)
Epo 3 (4mg/kg)
Epo 3 (5mg/kg, 静脉内注射)
肿瘤大小（mm3）
800
400
0
13
15
17
19
21
23
25
27
肿瘤移植后的天数

图 10

埃坡霉素在体内抗肿瘤细胞生长的效能[a]及相对治疗指数[b]

化合物	IC_{50} (μM) for 人类 T-细胞淋巴性白血病亚系 CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol	人类肺癌 A549	人类结肠癌 HCT-116	在 MTD 时抗小鼠异种移植物的相对治疗指数[d]
dEpoB	0.0056 ±0.0028	0.016 ±0.003 [2.9x][c]	0.0085 ±0.0055 [1.5x]	0.0039 ±0.0004	0.0068 ±0.0032	++++
dEpoF	0.0015 ±0.0001	0.055 ±0.09 [36x]	0.0066 ±0.0031 [4.4x]	0.012 ±0.004	0.0034 ±0.0006	++++
EpoB	0.00053 ±0.00017	0.0032 ±0.0012 [6.03x]	0.0011 ±0.00008 [2.1x]	0.0008 ±0.0005	0.00038 ±0.00001	+++
15-Aza-EpoB	0.0024 ±0.0003	2.08 [1423x] ±0.92 [867x]	0.103 ±0.068 [43x]	0.0040 ±0.0035	0.0014 ±0.00009	++
7,8-deH-dEpoB	0.0009 ±0.0004	0.0042 ±0.0022 [4.7x]	0.0012 ±0.0006 [1.3x]	0.00089 ±0.00064	0.00094 ±0.00055	++++
7,8-deH-dEpoF	0.00051 ±0.00009	0.021 ±0.010 [41x]	0.0017 ±0.0010 [3.3x]	0.00091 ±0.00006	0.00056 ±0.00006	+++
7,8-deH-EpoB	0.00023 ±0.00002	0.00096 ±0.00064 [4.2x]	0.00041 ±0.00001 [1.8x]	0.00026 ±0.00004	0.00014 0.00001	++++
26-F_3-deH-dEpoB	0.0032 ±0.0003	0.023 ±0.002 [7.2x]	0.0047 ±0.0010 [1.5x]	0.0037 ±0.0024	0.0056 ±0.0010	+++++
26-F_3-dEpoB	0.0093 ±0.0052	0.085 ±0.005 [9.1x]	0.018 ±0.001 [1.9x]	0.015 ±0.004	0.012 ±0.001	ND[e]
紫杉醇	0.0018 ±0.0005	3.22 ±0.92 [1789x]	0.079 ±0.029 [43.9x]	0.0029 ±0.0003	0.0026 ±0.0009	++++
长春碱	0.00054 ±0.00009	0.389 ±0.074 [720x]	0.0196 ±0.0111 [36.3x]	0.0099 ±0.0018	0.0087 ±0.0007	++++

图 11

表 2 dEpoB、紫杉醇及 F_3-deH-dEpoB 在剂量、体重损失和恢复及肿瘤消失及复发方面抗裸鼠中 MX-1 异种移植物的治疗效果

药剂	剂量 (mg/kg)	体重变化（%）		Q2D×6 6 小时静脉内输注后未出现肿瘤	停止治疗后第 10 天肿瘤复发
		停止给药后第 4 天	停止给药后第 8 天		
dEpoB	30	-25.3 ± 2.1	-9.1 ± 4.1	10/10	5/10
紫杉醇	20	-23.9 ± 3.7	-8.7 ± 0.7	7/7	3/7
F_3-deH-dEpoB	20	-22.4 ± 0.6	-7.3 ± 0.7	4/4	0/4[b]
	30	-27.1 ± 2.7	-17.4 ± 5.5	4/4	0/4[c]

图 12

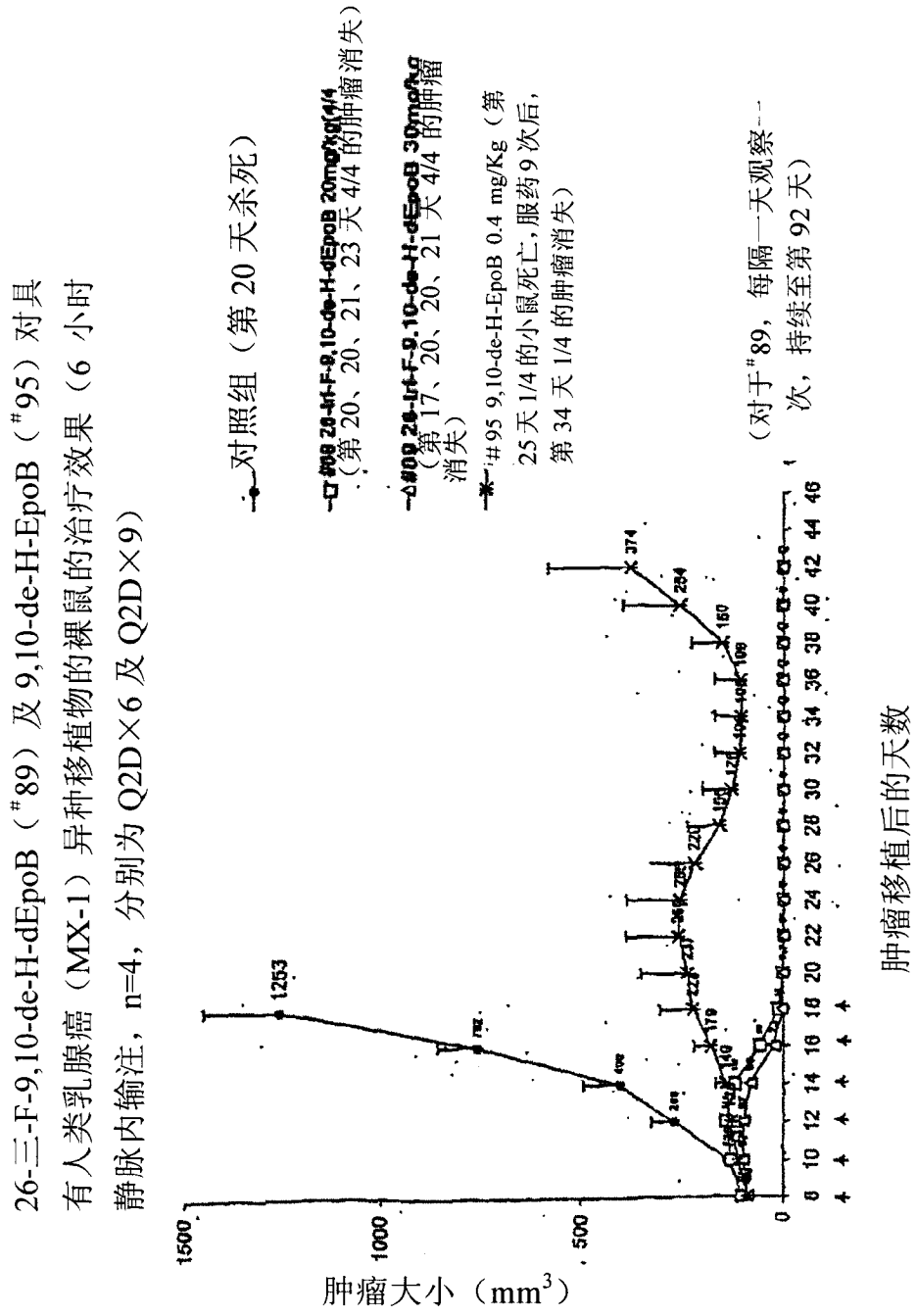

26-三-F-9,10-de-H-dEpoB（#89）及 9,10-de-H-EpoB（#95）对具有人类乳腺癌（MX-1）异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，n=4，分别为 Q2D×6 及 Q2D×9）
对照组（第 20 天杀死）
（第 20、20、21、23 天 4/4 的肿瘤消失）
（第 17、20、20、21 天 4/4 的肿瘤消失）
#95 9,10-de-H-EpoB 0.4 mg/Kg（第 25 天 1/4 的小鼠死亡，服药 9 次后，第 34 天 1/4 的肿瘤消失）
（对于#89，每隔一天观察一次，持续至第 92 天）
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数

图 13

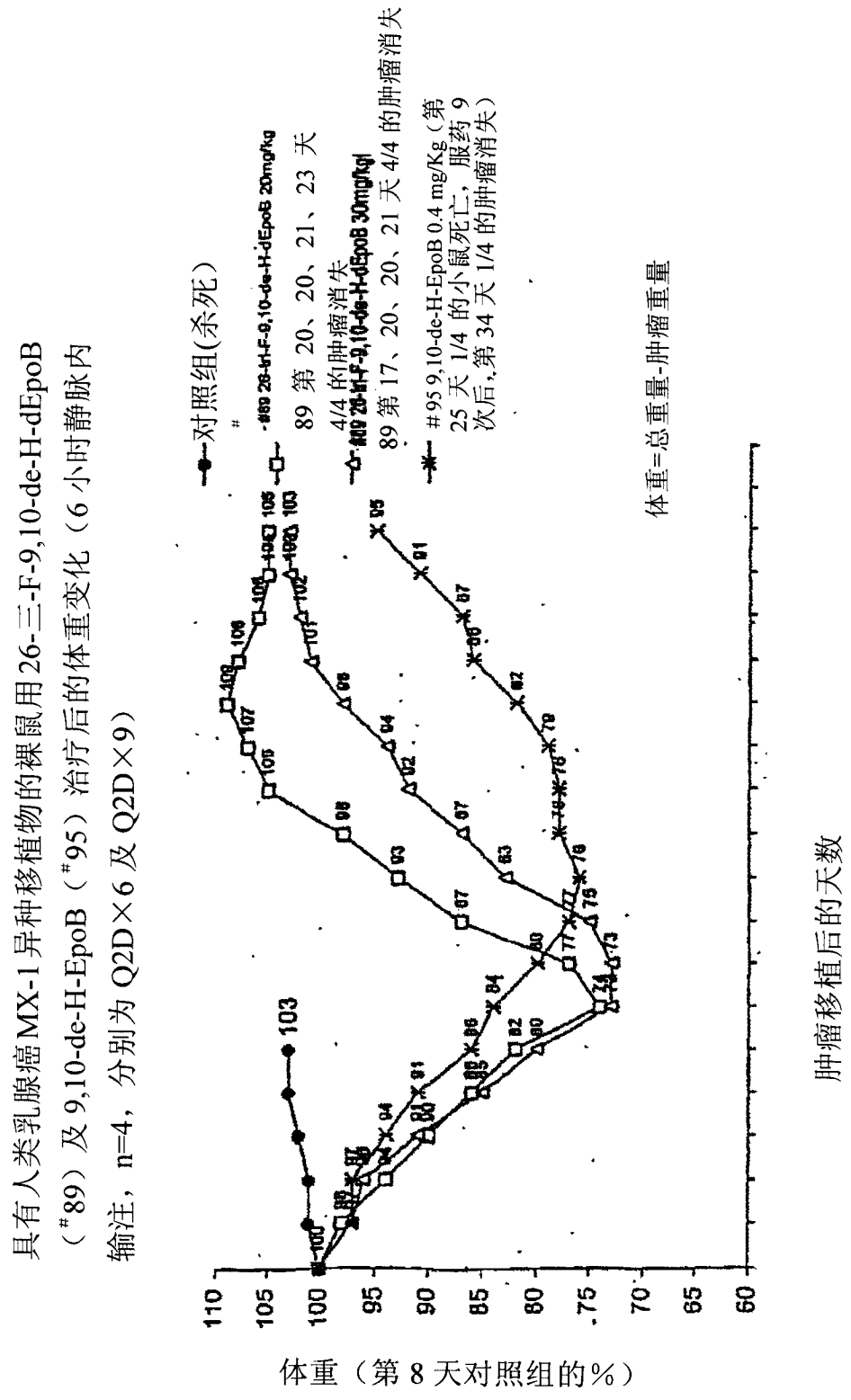

具有人类乳腺癌MX-1异种移植物的裸鼠用26-三-F-9,10-de-H-dEpoB
（#89）及9,10-de-H-EpoB（#95）治疗后的体重变化（6小时静脉内
输注，n=4，分别为Q2D×6及Q2D×9）
对照组(杀死)
89 第 20、20、21、23 天
4/4 的肿瘤消失
89 第 17、20、20、21 天 4/4 的肿瘤消失
#95 9,10-de-H-EpoB 0.4 mg/Kg（第
25 天 1/4 的小鼠死亡，服药 9
次后，第 34 天 1/4 的肿瘤消失）
体重=总重量-肿瘤重量
体重（第8天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 14

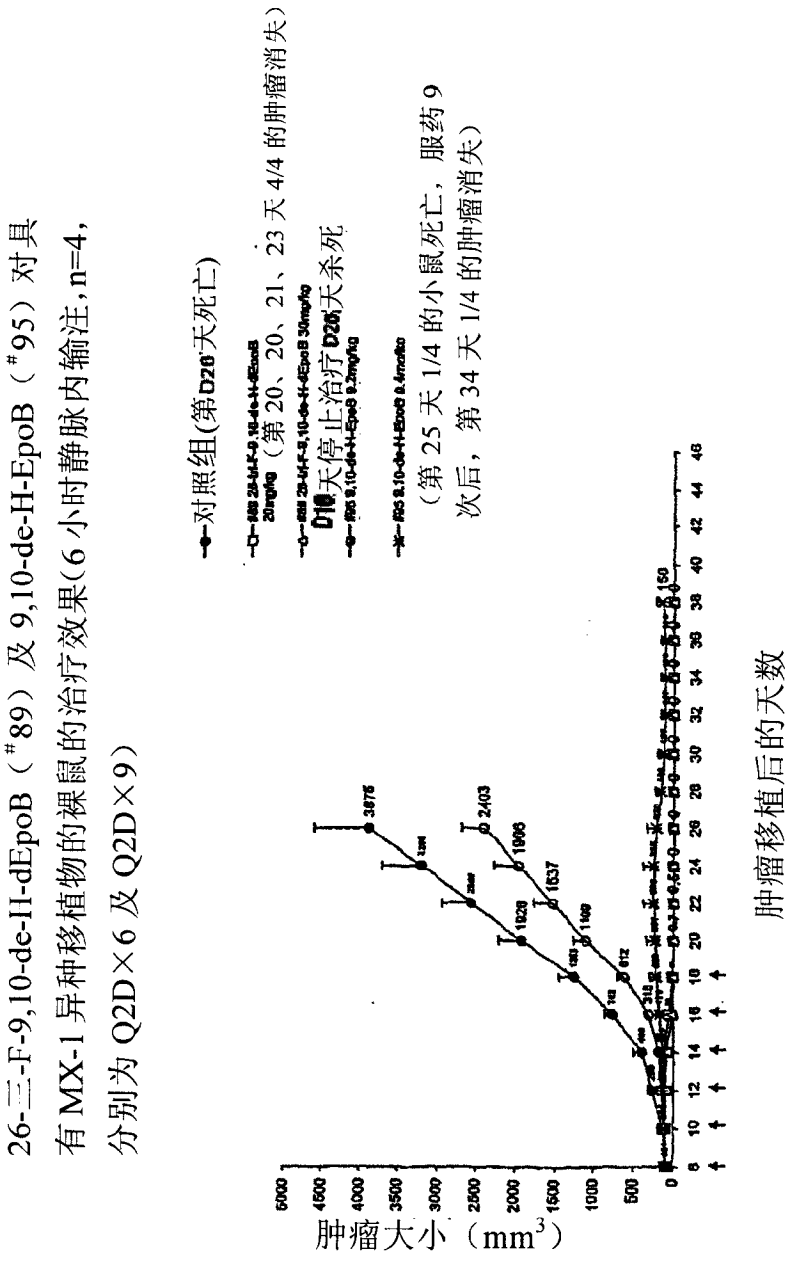

26-三-F-9,10-de-II-dEpoB（#89）及 9,10-de-H-EpoB（#95）对具有 MX-1 异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，n=4，分别为 Q2D×6 及 Q2D×9）
对照组(第D26天死亡)
20mg/kg（第 20、20、21、23 天 4/4 的肿瘤消失）
D16天停止治疗D26天杀死
（第 25 天 1/4 的小鼠死亡，服药 9 次后，第 34 天 1/4 的肿瘤消失）
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数

图 15

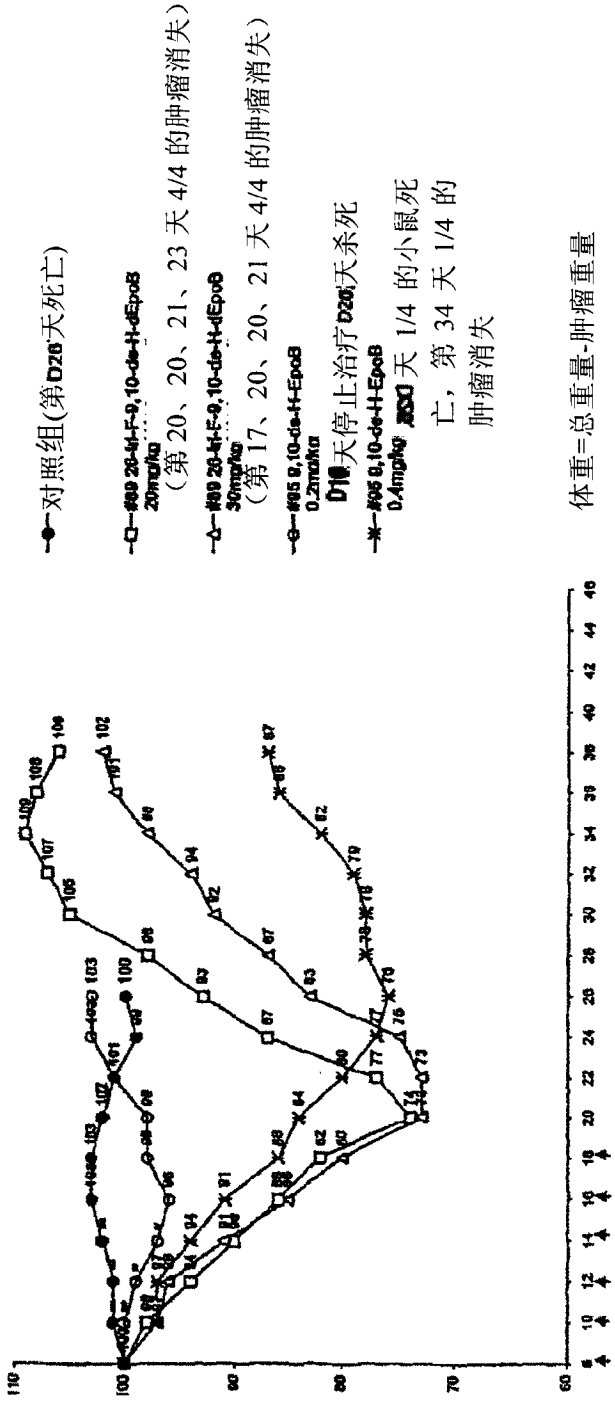

具有人类乳腺癌肿瘤 MX-1 异种移植物的裸鼠用 26-三-F-9,10-de-H-dEpoB（#89）及 9,10-de-H-EpoB（#95）治疗后的体重变化（6 小时静脉内输注，n=4，分别为 Q2D×6 及 Q2D×9）
对照组(第D26天死亡)
（第 20、20、21、23 天 4/4 的肿瘤消失）
（第 17、20、20、21 天 4/4 的肿瘤消失）
D10天停止治疗D26天杀死
天 1/4 的小鼠死亡，第 34 天 1/4 的肿瘤消失
体重=总重量-肿瘤重量
体重（第 8 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 16

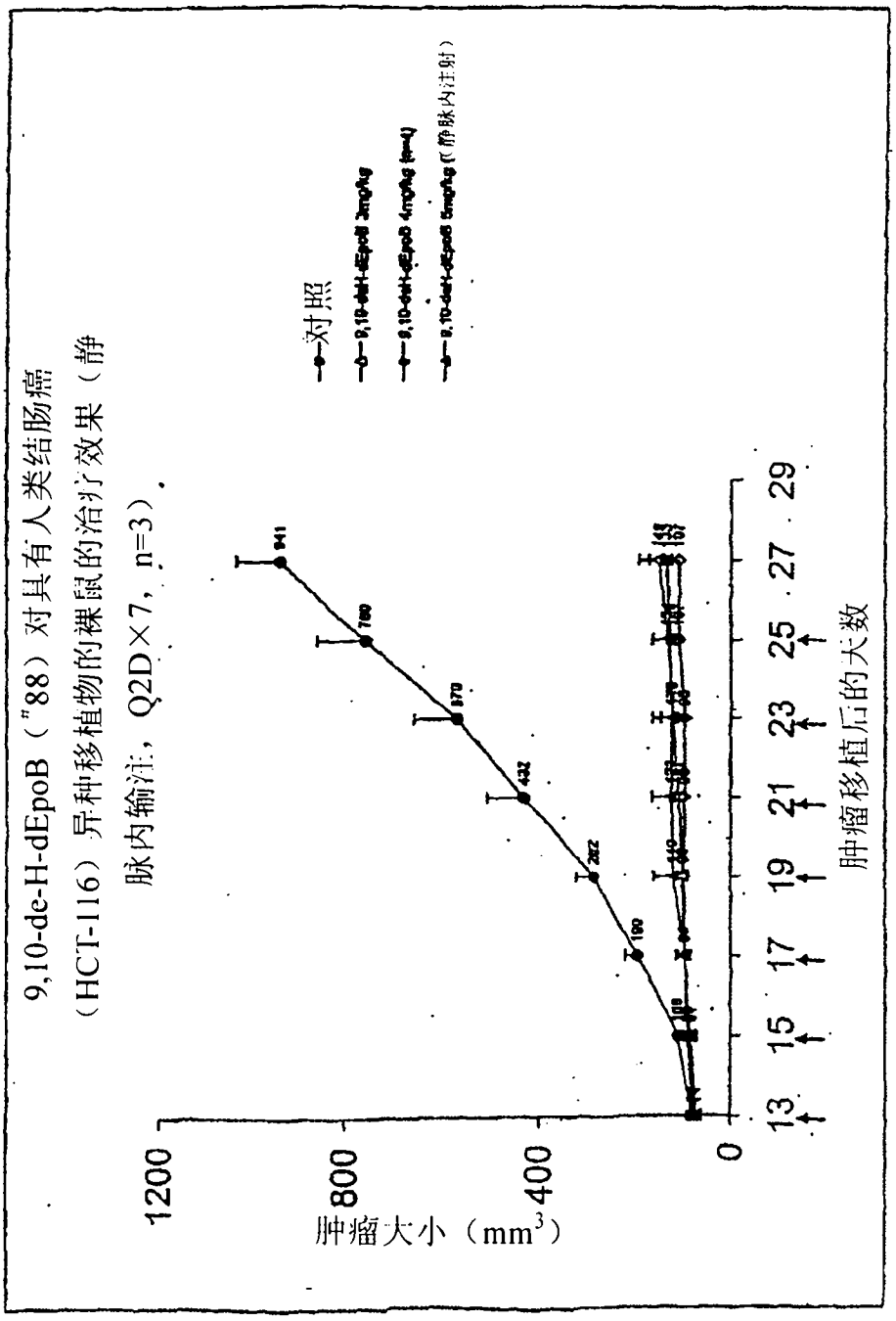

9,10-de-H-dEpoB（"88）对具有人类结肠癌
（HCT-116）异种移植物的裸鼠的治疗效果（静
脉内输注，Q2D×7，n=3）。
对照
肿瘤大小（mm3）
1200
800
400
0
13
15
17
19
21
23
25
27
29
肿瘤移植后的天数

图 17

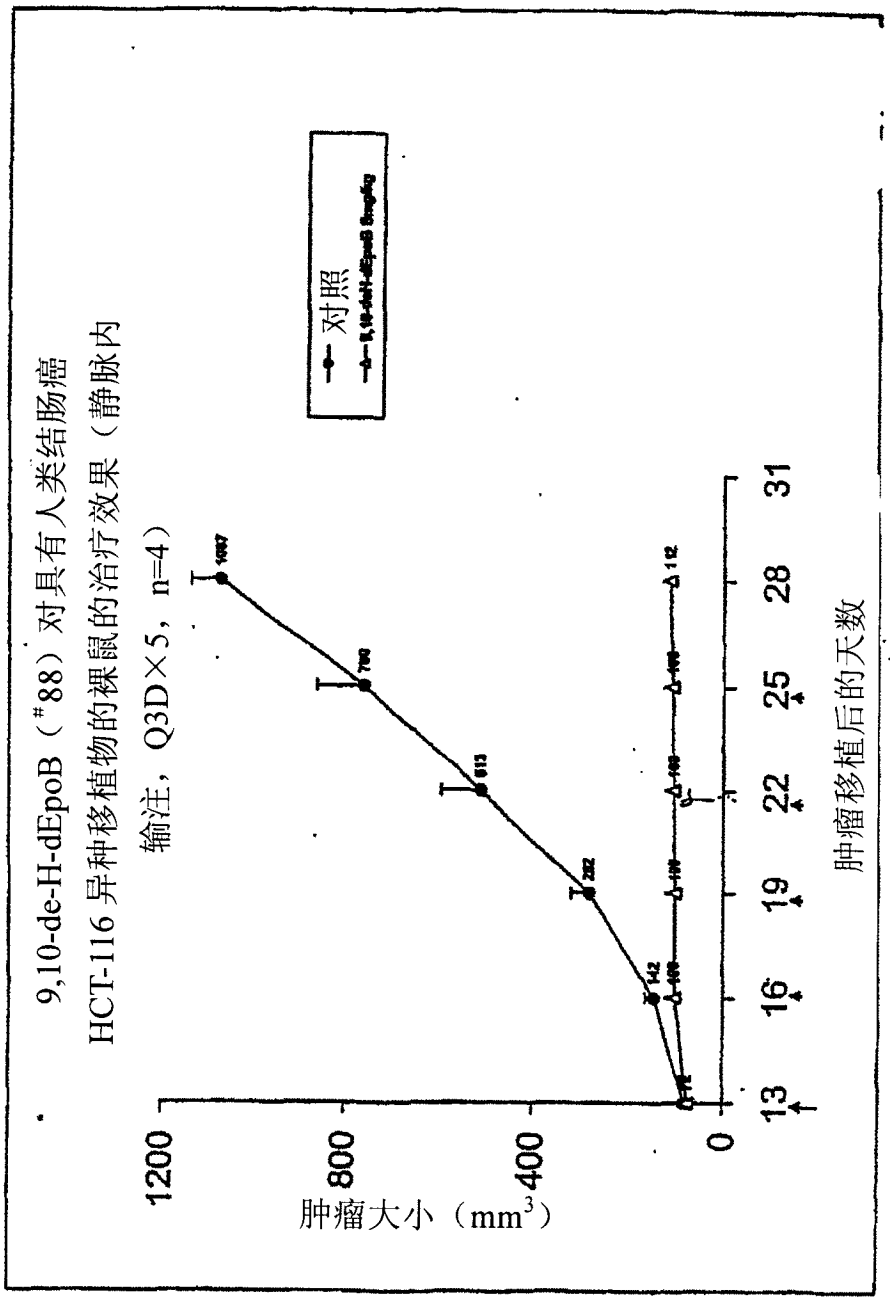

9,10-de-H-dEpoB（#88）对具有人类结肠癌
HCT-116 异种移植物的裸鼠的治疗效果（静脉内
输注，Q3D×5，n=4）
对照
肿瘤大小（mm3）
1200
800
400
0
13
16
19
22
25
28
31
肿瘤移植后的天数

图 18

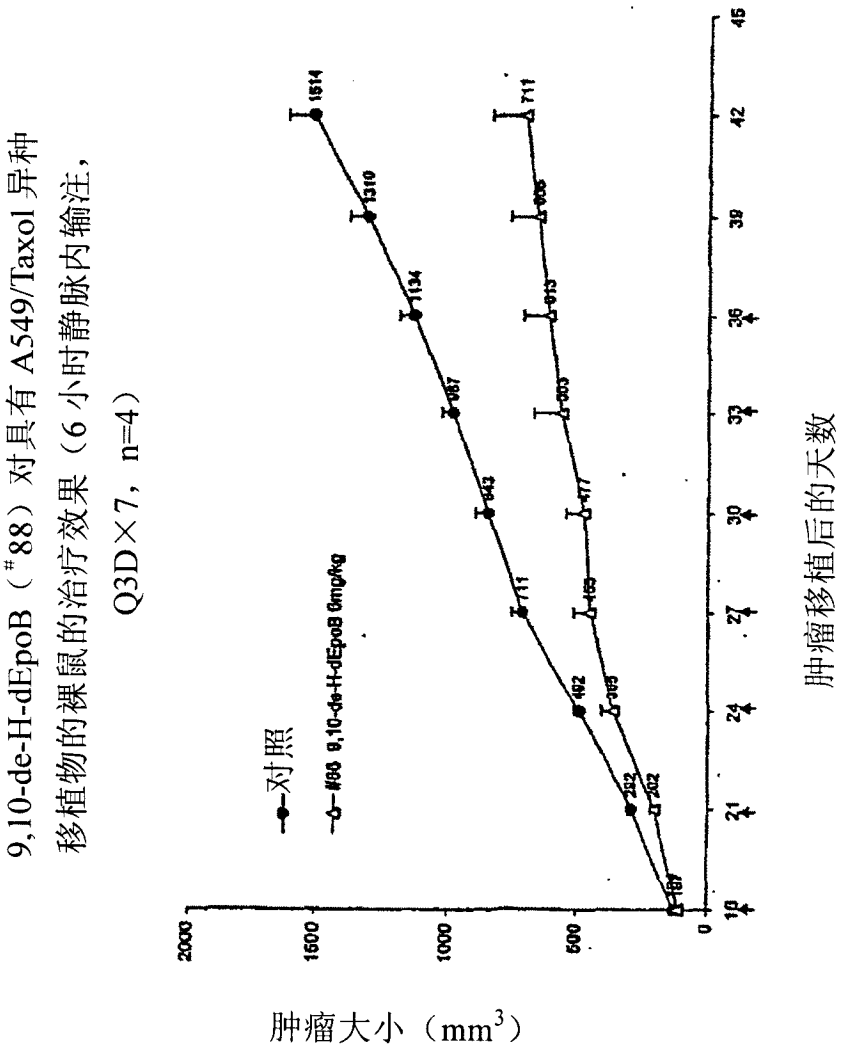

9,10-de-H-dEpoB（#88）对具有 A549/Taxol 异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，Q3D×7，n=4）
对照
#88 9,10-de-H-dEpoB 6mg/kg
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数

图 19

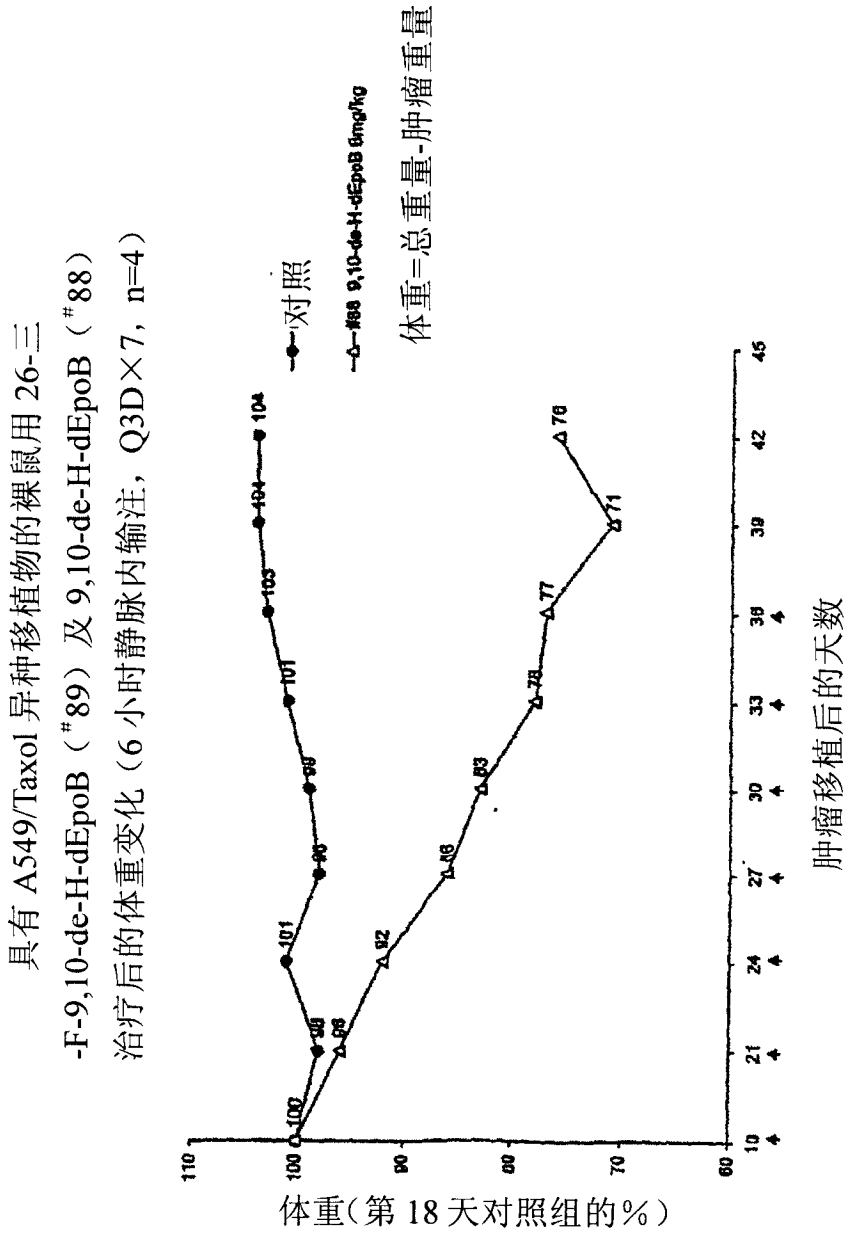

具有 A549/Taxol 异种移植物的裸鼠用 26-三
-F-9,10-de-H-dEpoB（#89）及 9,10-de-H-dEpoB（#88）
治疗后的体重变化（6 小时静脉内输注，Q3D×7，n=4）
对照
#88 9,10-de-H-dEpoB 6mg/kg
体重=总重量-肿瘤重量
体重（第 18 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 20

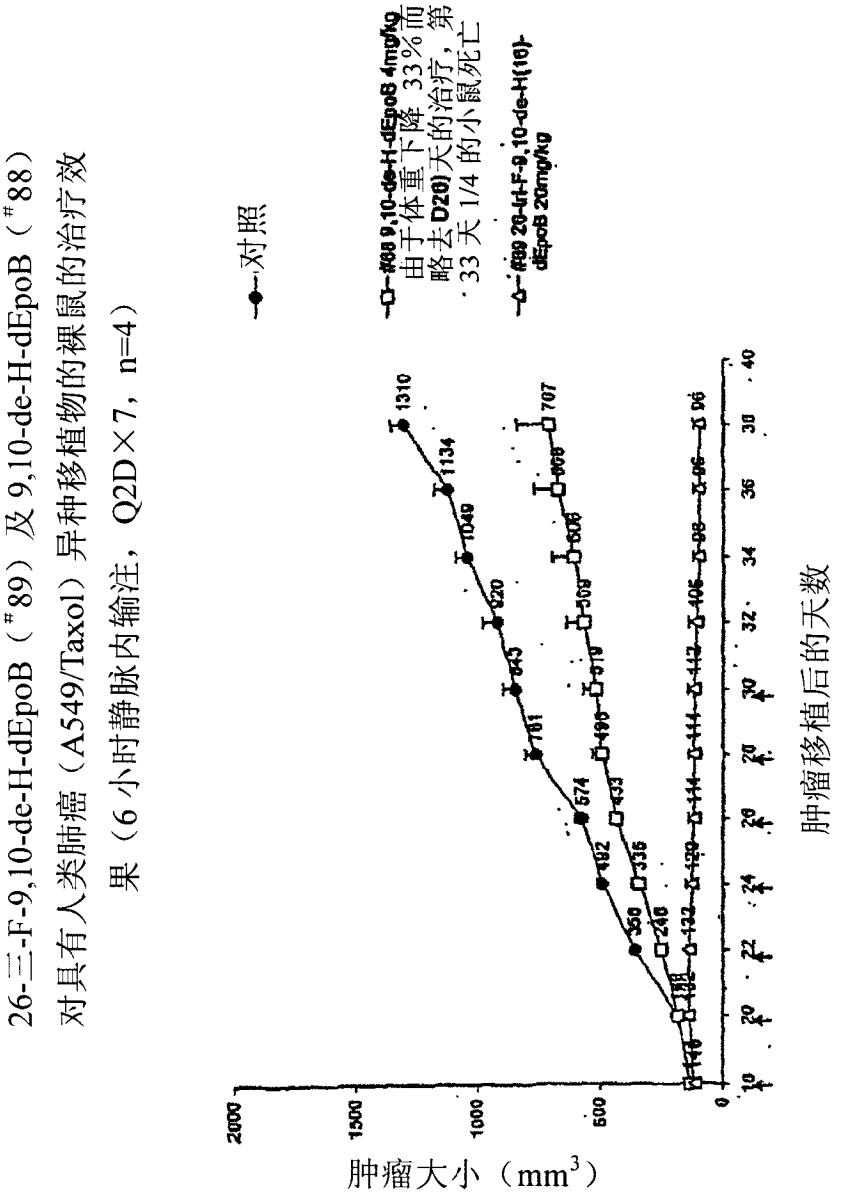

26-三-F-9,10-de-H-dEpoB（#89）及 9,10-de-H-dEpoB（#88）
对具有人类肺癌（A549/Taxol）异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，Q2D×7，n=4）
对照
由于体重下降 33％而略去 D20 天的治疗，第 33 天 1/4 的小鼠死亡
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数

图 21

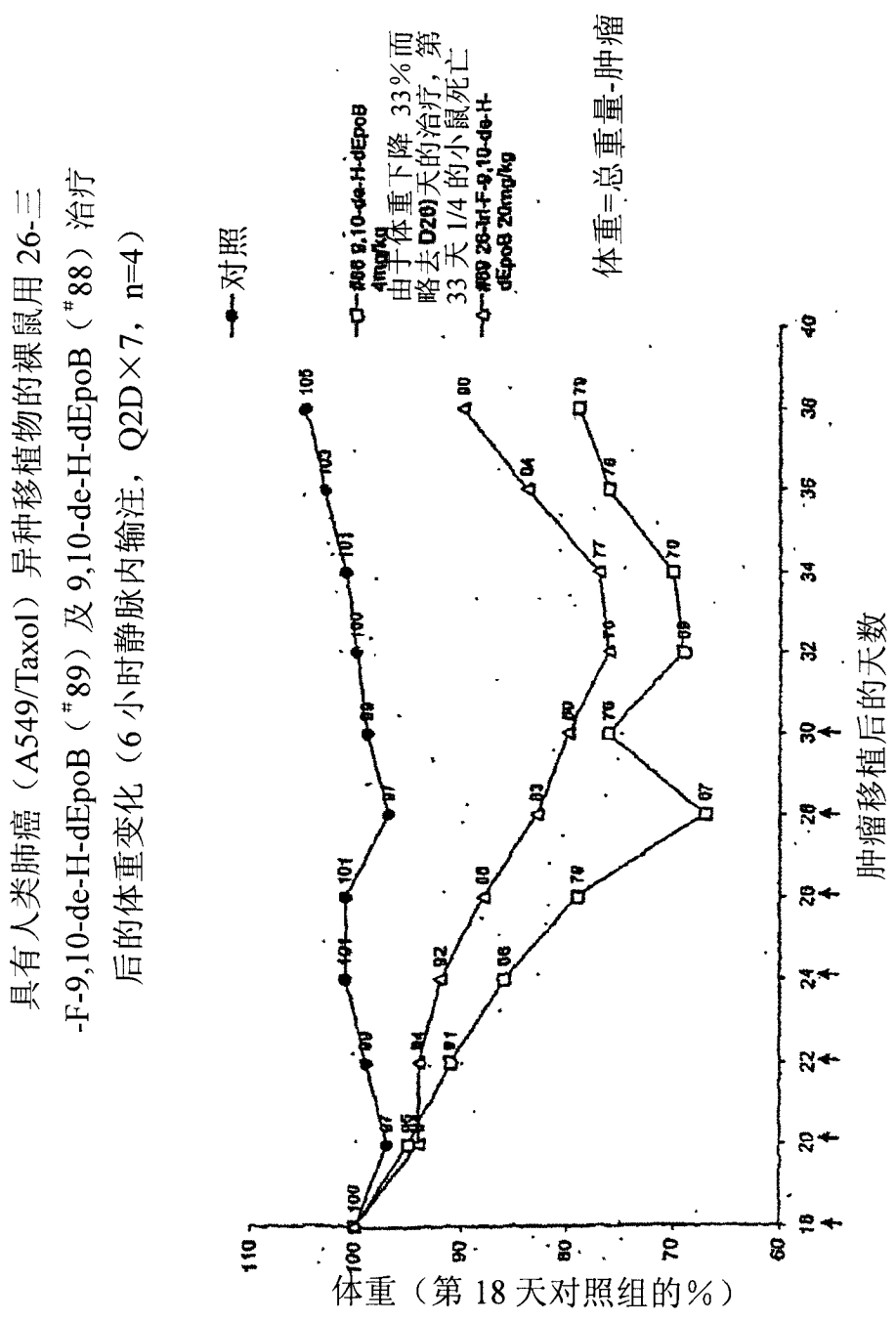

具有人类肺癌（A549/Taxol）异种移植物的裸鼠用 26-三
-F-9,10-de-H-dEpoB（#89）及 9,10-de-H-dEpoB（#88）治疗
后的体重变化（6 小时静脉内输注，Q2D×7，n=4）
对照
#88 9,10-de-H-dEpoB 4mg/kg
#89 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB 20mg/kg
由于体重下降 33％而略去 D26)天的治疗，第 33 天 1/4 的小鼠死亡
体重=总重量-肿瘤
体重（第 18 天对照组的％）
肿瘤移植后的天数

图 22

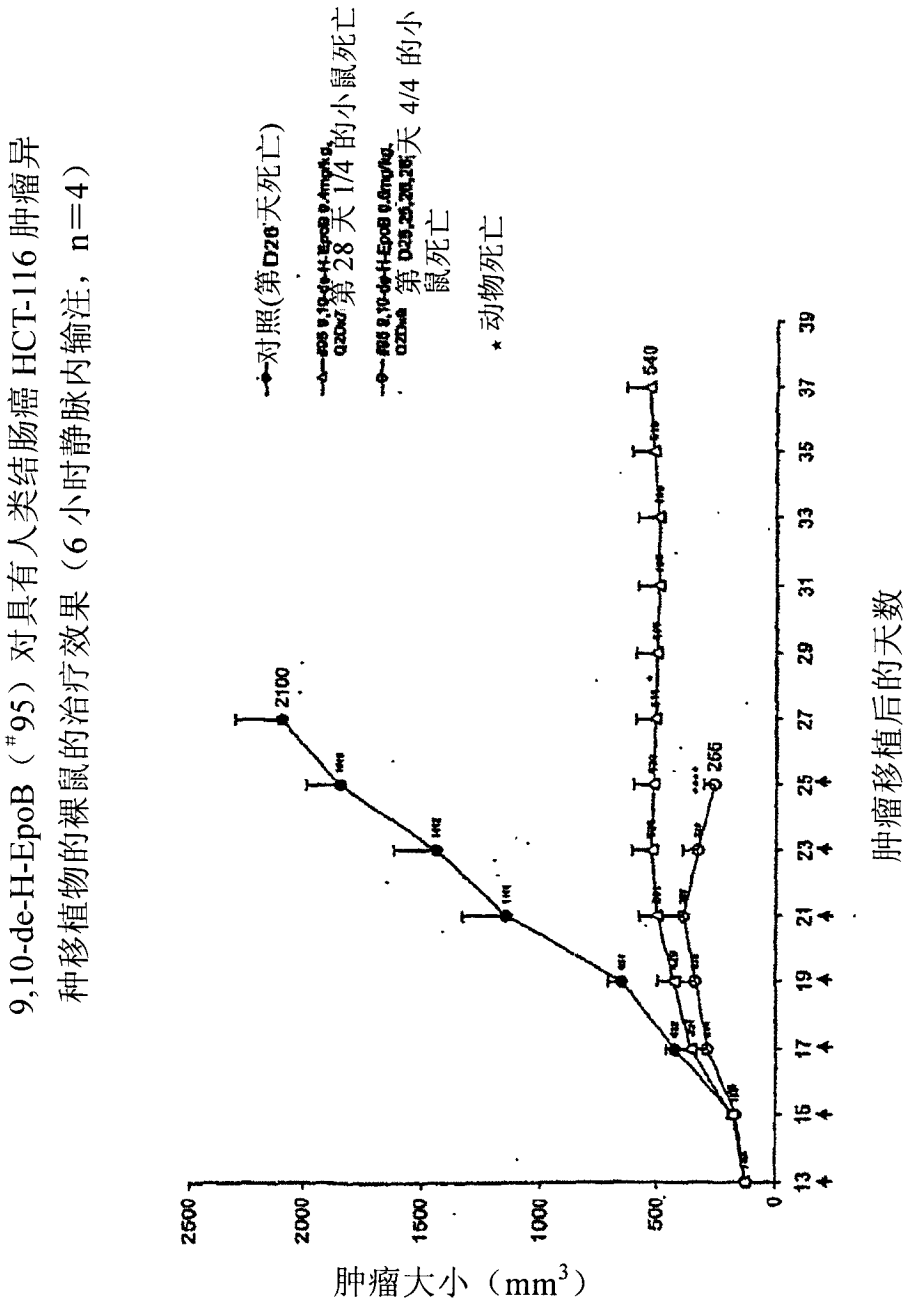

9,10-de-H-EpoB（#95）对具有人类结肠癌 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，n=4）
对照(第D26天死亡)
第 28 天 1/4 的小鼠死亡
第 4/4 的小鼠死亡
天
动物死亡
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数
2500
2000
1500
1000
500
0
2100
540
255
13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39
4 4 4 4 4 4 4

图 23

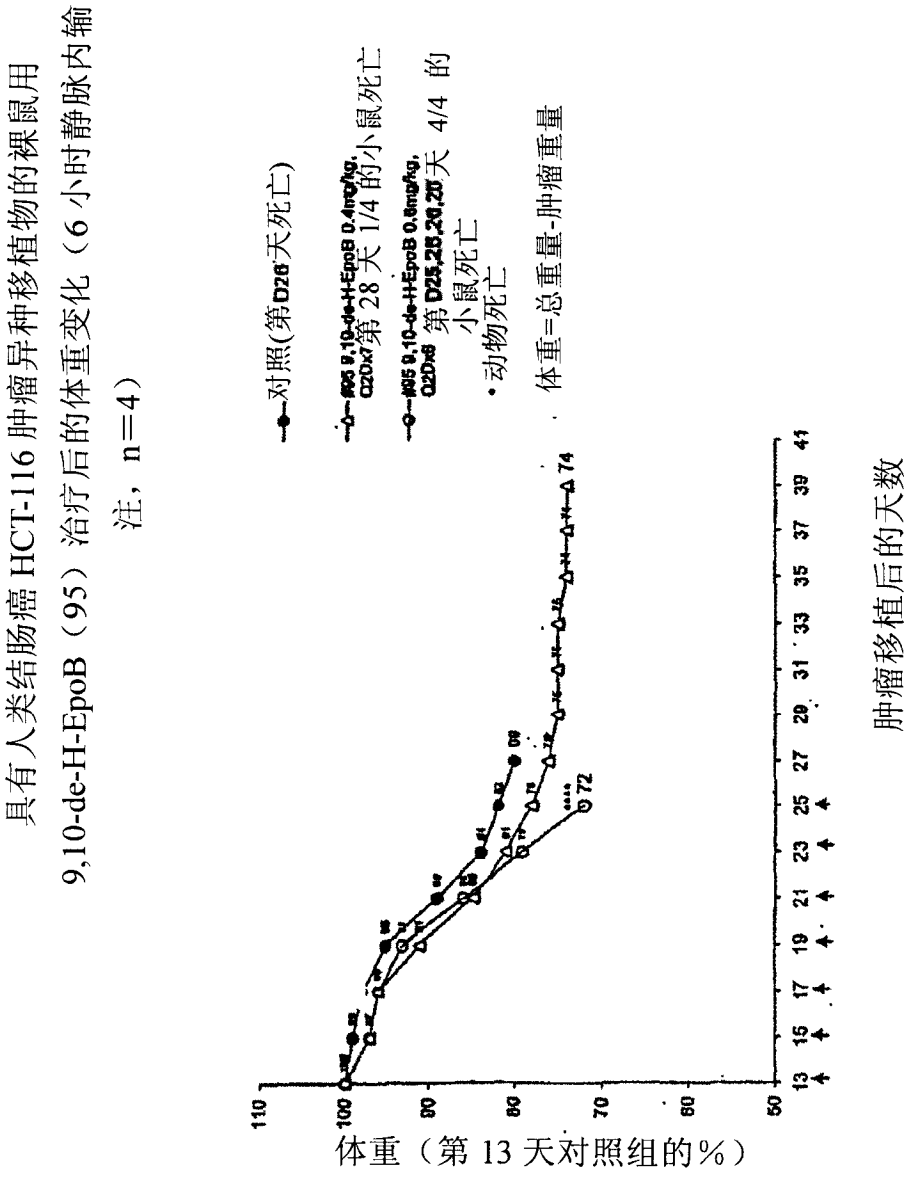

具有人类结肠癌 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠用
9,10-de-H-EpoB（95）治疗后的体重变化（6 小时静脉内输
注，n=4）
对照(第D26天死亡)
第 28 天 1/4 的小鼠死亡
第 4/4 的
小鼠死亡
•动物死亡
体重=总重量-肿瘤重量
体重（第 13 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 24

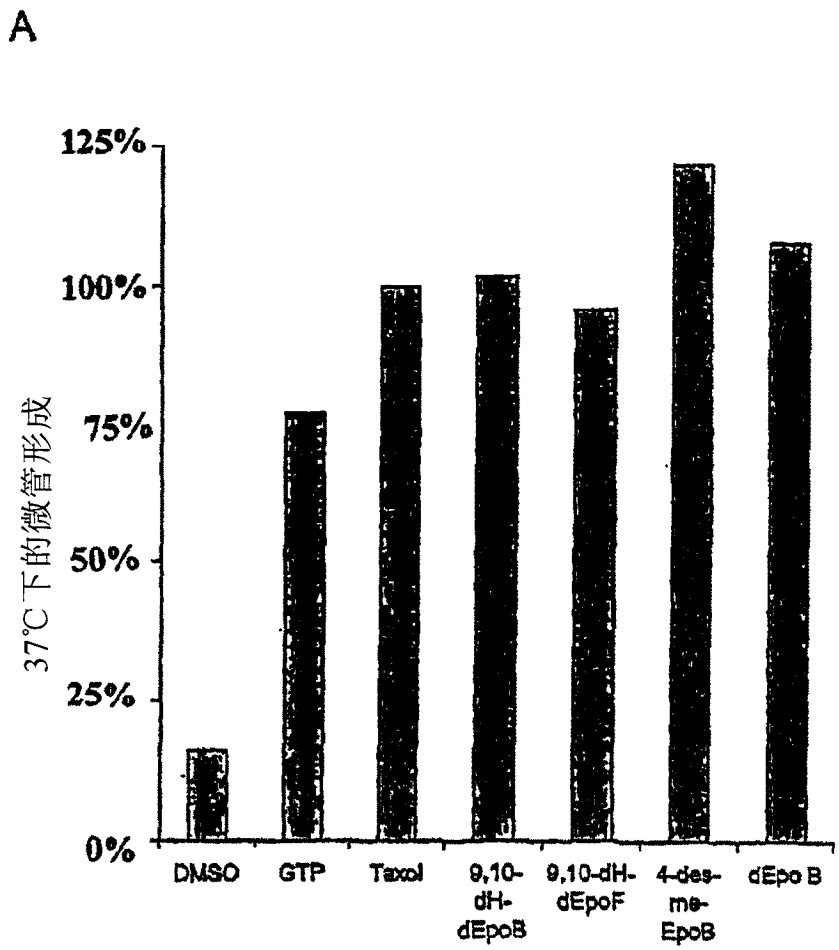

A
125%
100%
75%
50%
25%
0%
37℃下的微管形成
DMSO
GTP
Taxol
9,10-dH-dEpoB
9,10-dH-dEpoF
4-des-me-EpoB
dEpo B

图 25

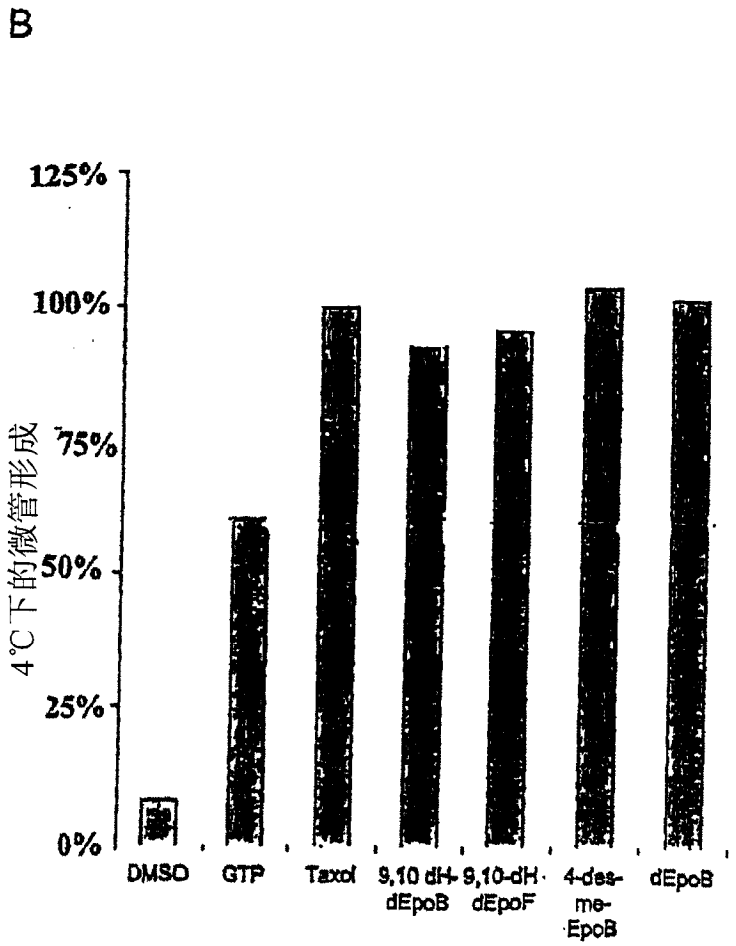

B
125%
100%
75%
50%
25%
0%
4℃下的微管形成
DMSO
GTP
Taxol
9,10 dH-dEpoB
9,10-dH-dEpoF
4-des-me-EpoB
dEpoB

图 26

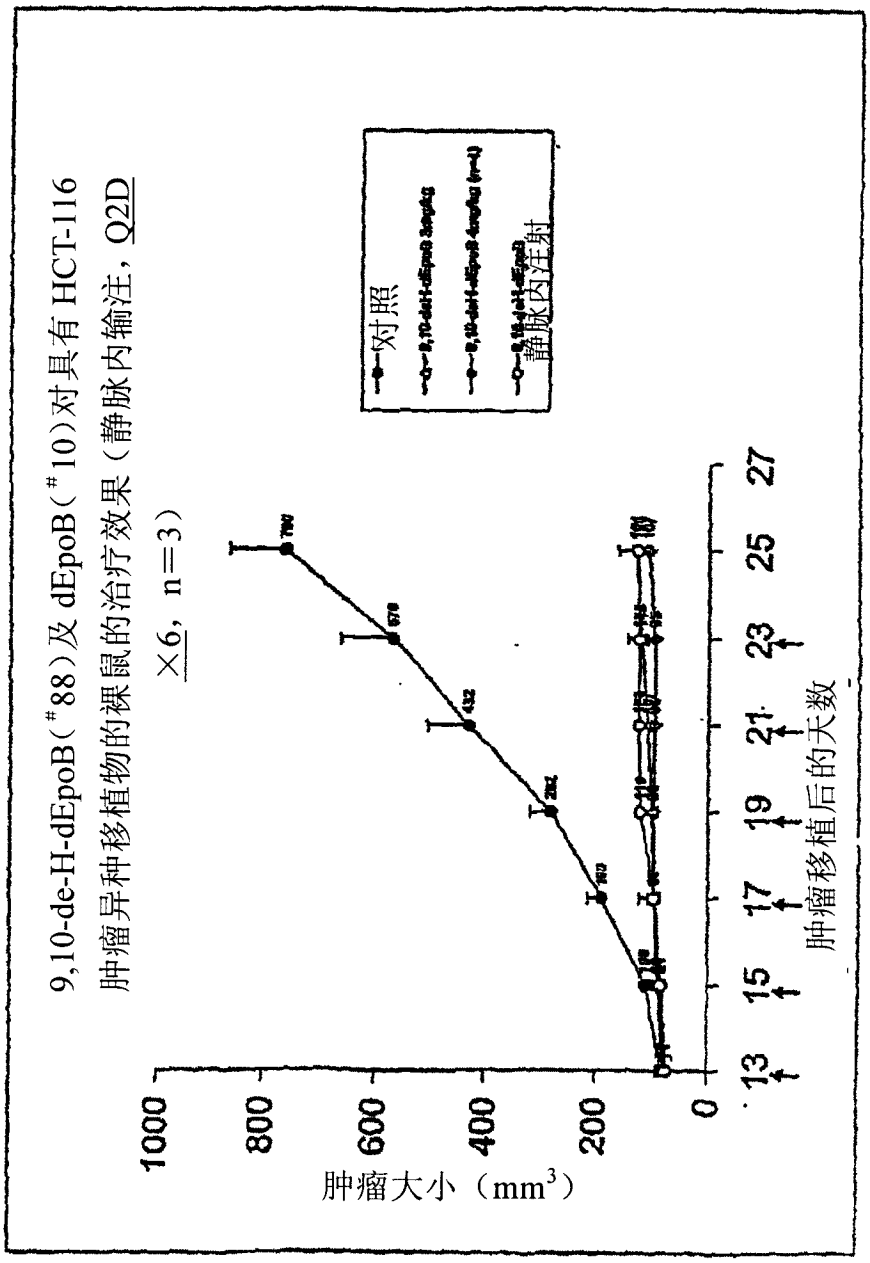

9,10-de-H-dEpoB(#88)及 dEpoB(#10)对具有 HCT-116
肿瘤异种移植物的裸鼠的治疗效果（静脉内输注，Q2D
×6，n=3）
对照
静脉内注射
肿瘤大小（mm3）
1000
800
600
400
200
0
13
15
17
19
21
23
25
27
肿瘤移植后的天数

图 27

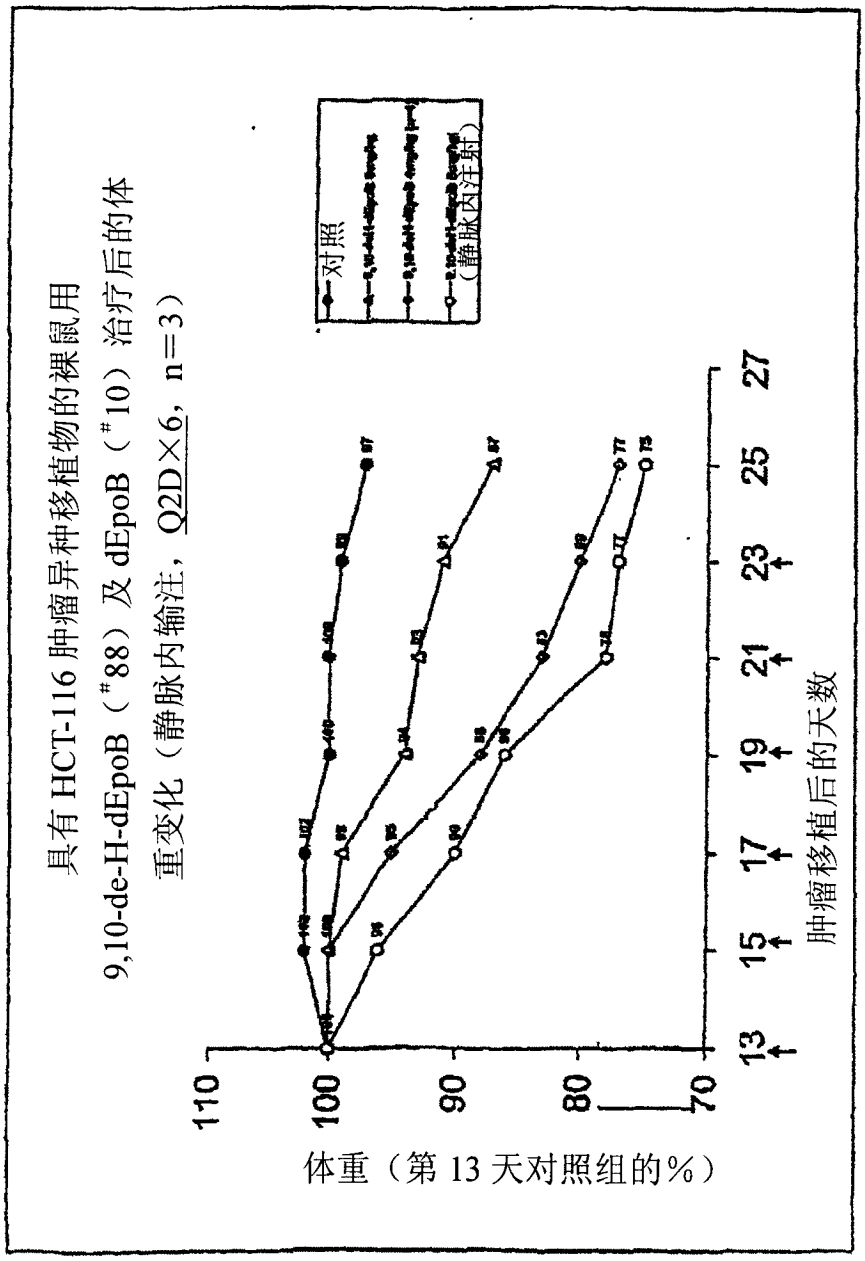

具有 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠用
9,10-de-H-dEpoB（#88）及 dEpoB（#10）治疗后的体
重变化（静脉内输注，Q2D×6，n=3）
对照
（静脉内注射）
体重（第 13 天对照组的%）
110
100
90
80
70
13
15
17
19
21
23
25
27
肿瘤移植后的天数

图 28

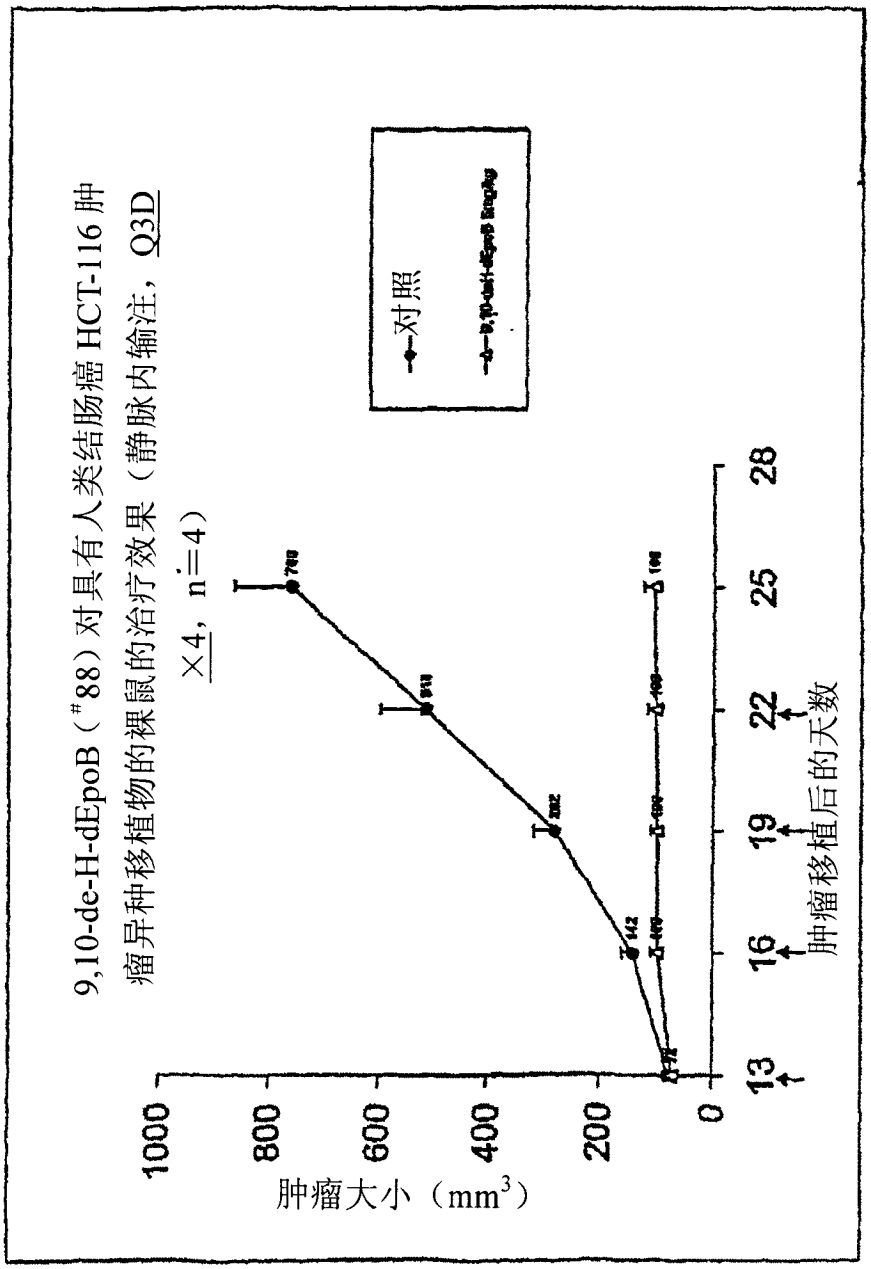

9,10-de-H-dEpoB（#88）对具有人类结肠癌 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠的治疗效果（静脉内输注，Q3D ×4，n=4）
对照
肿瘤大小（mm3）
1000
800
600
400
200
0
13
16
19
22
25
28
肿瘤移植后的天数

图 29

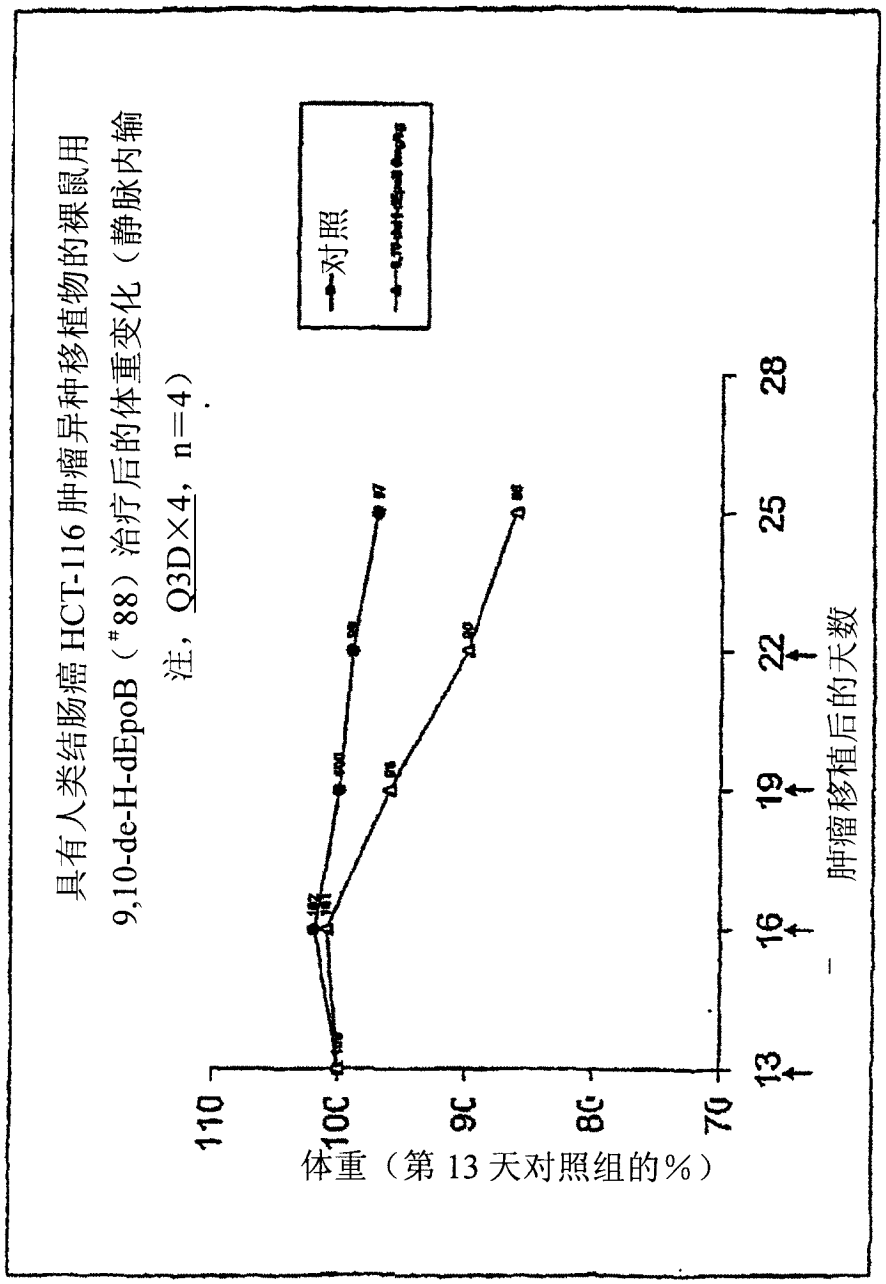

具有人类结肠癌 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠用
9,10-de-H-dEpoB（#88）治疗后的体重变化（静脉内输
注，Q3D×4，n=4）
对照
体重（第 13 天对照组的%）
110
100
90
80
70
13
16
19
22
25
28
肿瘤移植后的天数

图 30

新埃坡霉素抗 CCRF-CEM 细胞生长的 IC_{50} 值

化合物	IC_{50} (μM)		
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol
dEpoB (EpoD)	0.0036±0.0002	0.016±0.003 [4.4x]	0.0046±0.0002 [1.3x]
dEpoF	0.0015±0.0001	0.0456 [30.4x]	0.0035 [2.3x]
EpoB	0.00062±0.00013	0.0037±0.0011 [5.9x]	0.0011±0.0001 [1.8x]
26-甲基-dEpoB	0.040	0.123 [3.1x]	0.077 [1.9x]
11-α-F-dEpoB	0.0285	0.147 [5.2x]	0.0550 [1.9x]
11-β-F-dEpoB	0.0980	0.230 [2.3x]	0.138 [1.4x]
19-噁唑-10,11-去氢-dEpoB	0.0077	0.0227 [2.9x]	0.0130 [1.7x]
9,10-deH-[16]dEpoB	0.0009±0.0004	0.0042±0.0022 [4.7x]	0.0012±0.0006 [1.3x]
9,10-deH-[16]dEpoF	0.00051±0.00009	0.0106 [20.7]	0.00073 [1.4x]
9,10-deH-[16]EpoB	0.00023±0.00002	0.00032 [1.4x]	0.00042 [1.8x]
12,13-epi-9,10-deH-EpoB	0.0134±0.0032	0.0959 [7.1x]	0.0802 [5.6x]
12,13-epi-EpoB	0.0830±0.0001	0.4519 [5.4x]	0.1507 [1.8x]
9,10-deH-dEpo-Me-酮	5.02	——	——
26-F$_3$-9,10-deH-[16]dEpoB	0.0035	0.0210 [5.7x]	0.0057 [1.6x]
26-F$_3$-dEpoB	0.0041	0.080 [19.5x]	0.018 [4.4x]
Taxol	0.0016±0.0005	2.30 [1438x]	0.058±0.001 [36x]
长春碱	0.00045	0.418±0.076 [929x]	0.026±0.008 [58x]

图 31

埃坡霉素的代谢稳定性 (进行中的试验)

化合物	体外 t1/2 in			
	小鼠血浆	狗血浆	人类血浆	人肝脏prep
dEpoB(EpoD)	31 min	>8 hr	>8 hr	60 min
F3-deH-dEpoB	150 min	---	---	180 min
F3-dEpoB(MDR)	68 min	---	---	105 min
26-methyl-dEpoB	50 min	>8 hr	---	---
9,10-deH-dEpoB	90 min	---	---	150 min

图 32

埃坡霉素化合物对小鼠中人类肿瘤异种移植物治疗效果（6 小时静脉内输注）

化合物	剂量及给药方案	异种移植物模型	治疗效果 肿瘤体积减少%	治疗效果 肿瘤消失的比例	毒性 体重变化%	毒性 小鼠死亡的比例
dEpoB (#10)	30mg/kg, Q2Dx5 d10-18	MX-1	99.4% (d26)	4/5 (d26)	(对照 -0.3%) +3.9% (d26)	0/5 (d26)
Epo-490 (#12)	40 mg/kg, Q2Dx5 50 mg/kg, Q2Dx5 d10-18	MX-1	11.9% (d26) 30.5% (d20)	0/3 (d26) 0/4 (d26)	-8.9% (d26) -4.0% (d26)	0/3 (d26) 0/4 (d26)
14-OH-dEpoB (#82)	40 mg/kg, Q2Dx5 d8-16	MX-1	65.8% (d24)	0/4 (d24)	(对照 +1.6%, d24) +7.9% (d24)	0/4 (d24)
dEpoB (#10)	30 mg/kg, Q2Dx5x2 d8-16 然后d20-22	MX-1	99.9% (d24) 100% (d28)	2/4 (d24) 4/4 (d28)	-14.6% (d24) -0.3% (d28)	0/4 (d28)
4-Des-me-EpoB (#83)	1.5 mg/kg, Q2Dx3,x6,x3 d8-16,d21-31,d35-39	MX-1	67% (d17) >97.5% (d45)	0/4 (d17) 1/4 (d45)	(对照 -3%, d17) -13% (d45)	1/4 (d19)
	3 mg/kg, Q2Dx3 d11-15	MX-1	77% (d17)	0/4 (d17)	-28% (d17)	4/4 (d17)
19-oxa-EpoB (#86)	1.5 mg/kg, Q2Dx3,x4 d15-19,d27-33	HCT-116	72.7% (d27)	0/3 (d39)	(对照 -11%, d27)[a] -18% (d17) -30% (d33)	3/3 (d24,34,34)
	3 mg/kg, Q2Dx3x2 d15-19		79.3% (d27)	0/4 (d39)	-29% (d27)	4/4 (d20,21,21,22)
	5 mg/kg, Q2Dx3 d15-19		65.4% (d19)	0/3 (d19)	-27% (d19)	3/3 (d19,20,20)
19-oxa-EpoD (#85)	30 mg/kg, Q2Dx3 d15-19	HCT-116	71.9% (d27)	0/4 (d39)	-16% (d27)[a] -28% (d35)	0/4 (d39)
	40 mg/kg, Q2Dx3 d15-19		75.1% (d27)	0/3 (d39)	-20% (d27) -30% (d35)	0/3 (d39)
Epo[17]-490 (#70)	50 mg/kg, Q2Dx3 然后 80 mg/kg, Q2Dx1 然后 100 mg/kg, Q2Dx1 d10-14,d16,d18	MX-1	11.3% (d22)	0/3 (d22)	(对照 +2%, d22) +2.1% (d22)	0/3 (d22)
Epo[18]-490 (#76)	80 mg/kg, Q2Dx5 d10-18	MX-1	13.2% (d24)	0/3 (d24)	(对照 +4.7%, d24) -4.4% (d24)	0/3 (d24)
27-F_1-EpoD(17) (#78)	60 mg/kg, Q2Dx3 然后 80 mg/kg, Q2Dx2 d10-14,d16-18	MX-1	4.8% (d20)	0/4 (d20)	(对照 -6.6%, d20) -7.4% (d20)	0/4 (d20)
26-Me-EpoD (#25)	50 mg/kg, Q2Dx5,x1 d12-20,d24	MX-1	65.7% (d26)	0/2 (d26)	(对照 +3.8%, d26) +1.7% (d26)	0/2 (d28)
14-Me-EpoD (#81)	30 mg/kg, Q2Dx5,x1 d12-20,d24	MX-1	48.9% (d26)	0/3 (d28)	-1.2% (d26)	0/3 (d28)
17-噁唑-Epo-490 (#84)	30 mg/kg, Q2Dx7 d22-34	HCT-116	43.2% (d44)	0/3 (d44)	(对照 -14%, d44)[a] -18% (d44)	0/3 (d44)
	40 mg/kg, Q2Dx7 d22-34		70.3% (d44)	0/3 (d44)	-18% (d44)	0/3 (d44)

图 33

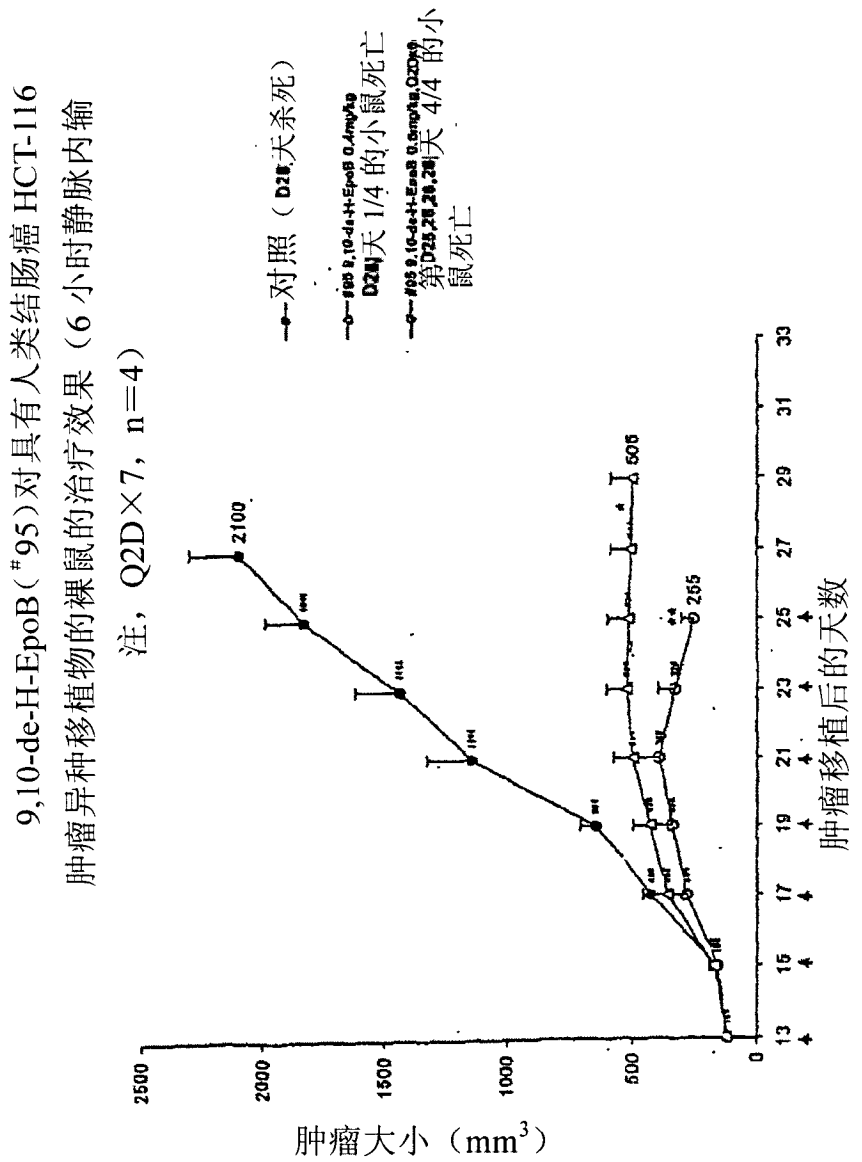

9,10-de-H-EpoB（#95）对具有人类结肠癌 HCT-116
肿瘤异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输
注，Q2D×7，n=4）
对照（D28天杀死）
D28天 1/4 的小鼠死亡
第D25,28,28,28天 4/4 的小鼠死亡
2100
505
255
肿瘤大小（mm³）
肿瘤移植后的天数
0
500
1000
1500
2000
2500
13
15
17
19
21
23
25
27
29
31
33

图 34

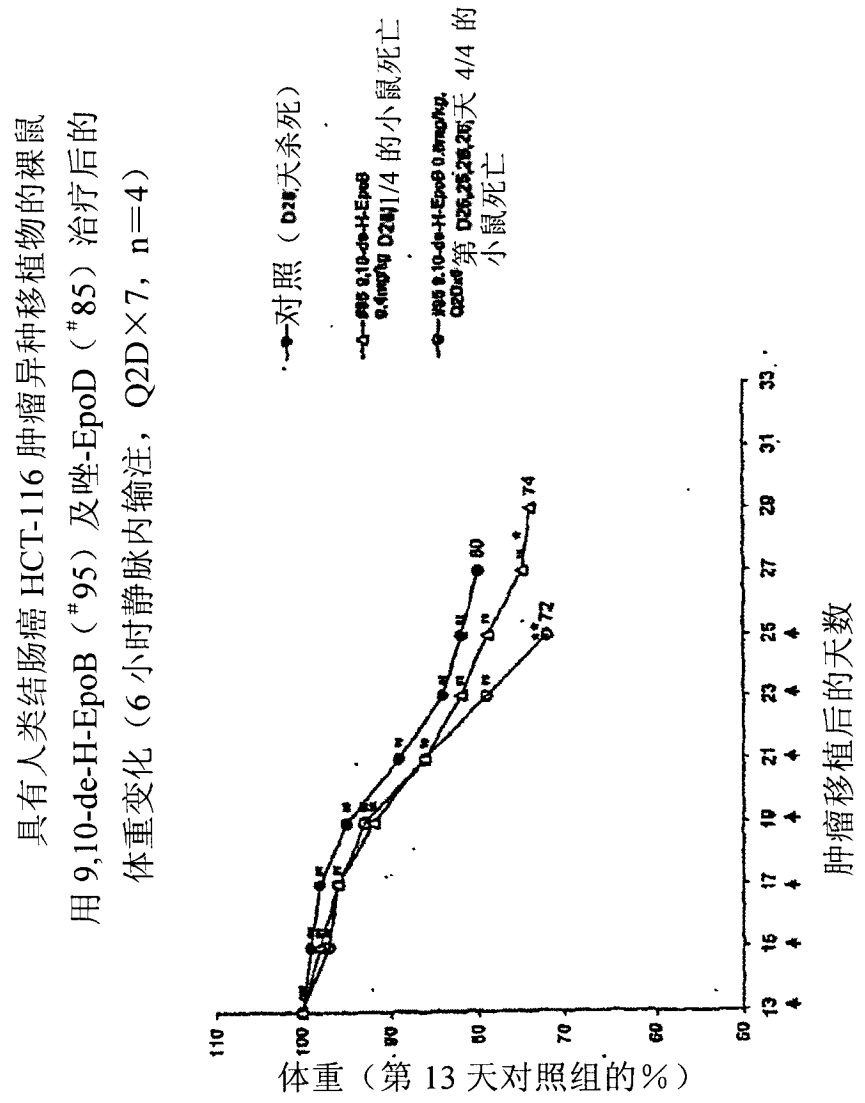

具有人类结肠癌 HCT-116 肿瘤异种移植物的裸鼠
用 9,10-de-H-EpoB（#95）及唑-EpoD（#85）治疗后的
体重变化（6 小时静脉内输注，Q2D×7，n=4）
对照（D28天杀死）
1/4 的小鼠死亡
第 4/4 的
小鼠死亡
体重（第 13 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 35

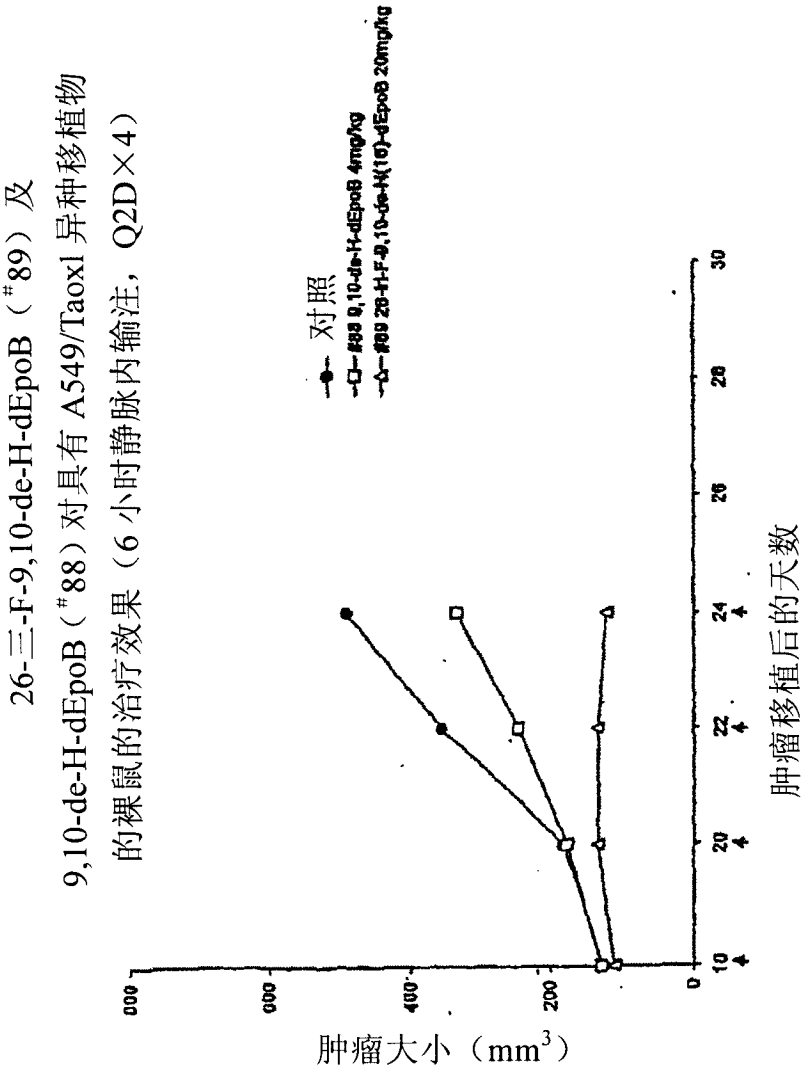

26-三-F-9,10-de-H-dEpoB（#89）及
9,10-de-H-dEpoB（#88）对具有 A549/Taoxl 异种移植物
的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，Q2D×4）
对照
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数

图 36

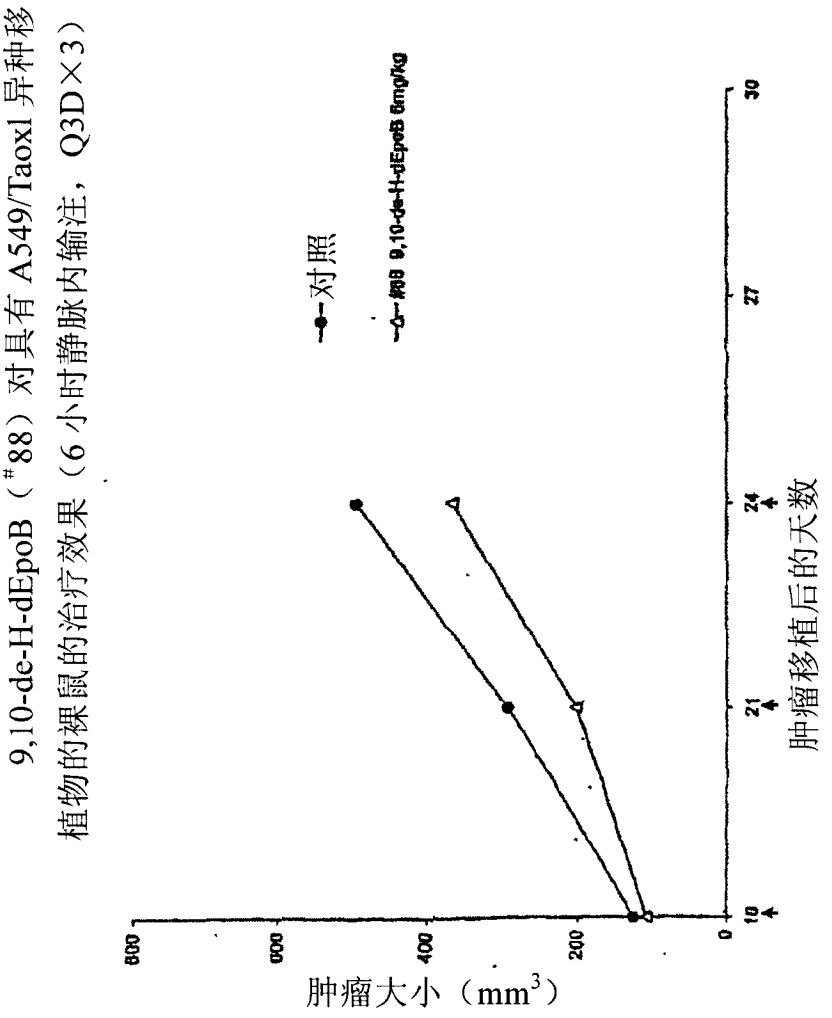

9,10-de-H-dEpoB（#88）对具有 A549/Taoxl 异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，Q3D×3）
对照
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数
800
600
400
200
0
10
21
24
27
30

图 37

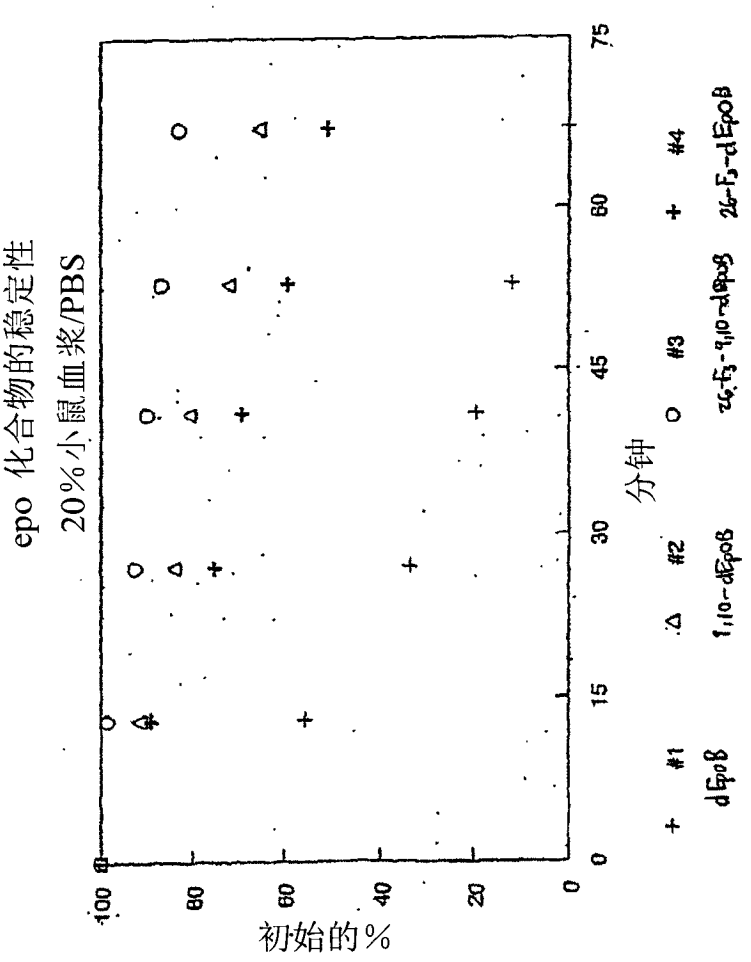

epo 化合物的稳定性
20%小鼠血浆/PBS
初始的%
100
80
60
40
20
0
0
15
30
45
60
75
分钟
+ #1 dEpoB
Δ #2 1,10-dEpoB
O #3 2,4-F2-1,10-dEpoB
+ #4 2,4-F2-dEpoB

图 38

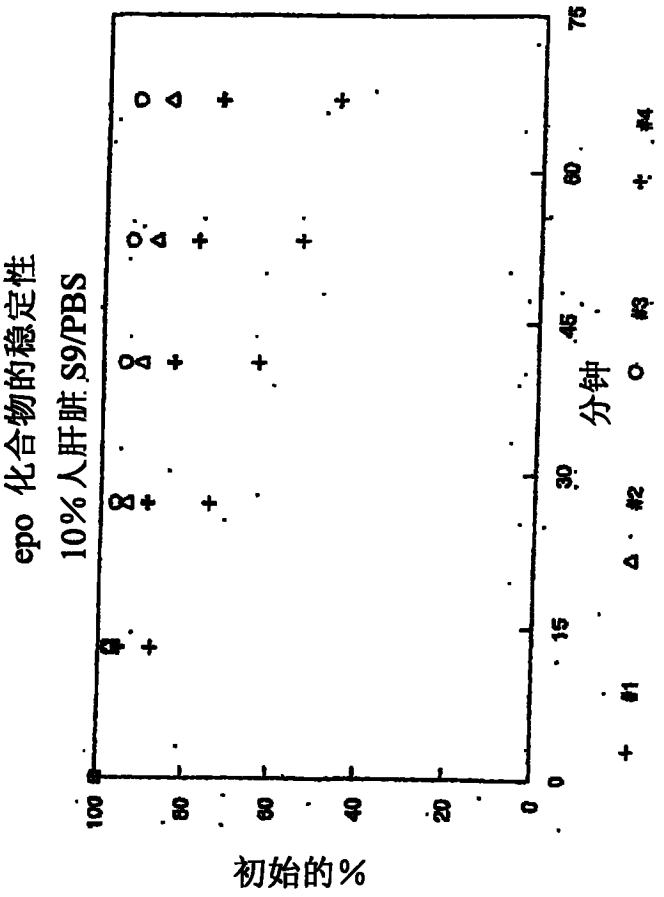

epo 化合物的稳定性
10%人肝脏 S9/PBS
初始的%
分钟
#1
#2
#3
#4
0
15
30
45
60
75
100
80
60
40
20
0

图 39

EpoD 稳定性色谱图
10％人肝脏 S9/PBS

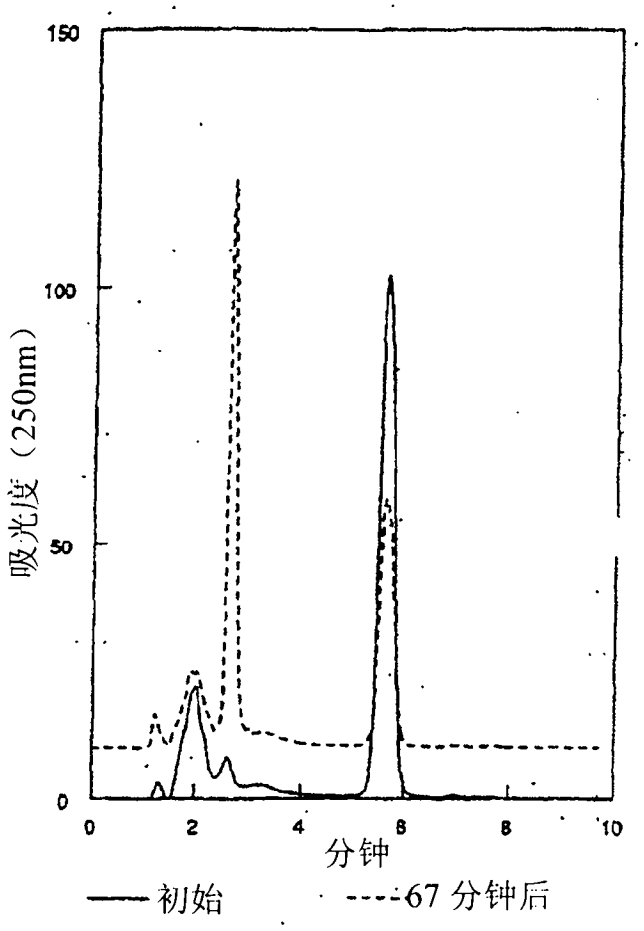


图 40

A. 体外微管装配

	MT装配 (37°C, %)
对照	0
EpoB	100
dEpoB	117
9,10-去氢 -[16]dEpoB	108
26-tri-F-9,10-去氢 -[16]dEpoB	106
26-tri-F-[16]dEpoB	84
21-羟基 -9,10-去氢 -[16]dEpoB	88

B. 细胞毒性分析

	A549 (IC50, nM)	A549/EpoB40 (IC50, nM)
EpoB	1.94	55.44
dEpoB	11.6	>500
9,10-去氢 -[16]dEpoB	1.88	122.78
26-tri-F-9,10-去氢 -[16]dEpoB	5.98	431.50
26-tri-F-[16]dEpoB	44.2	>500
21-羟基 -9,10-去氢 -[16]dEpoB	3.59	244.02

图 41

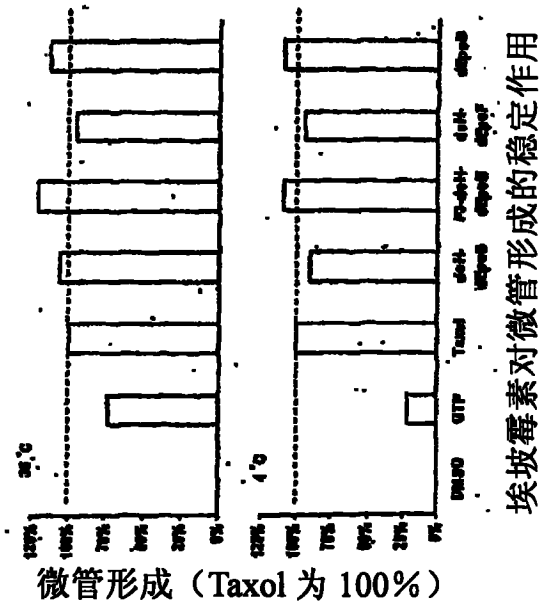


图 42

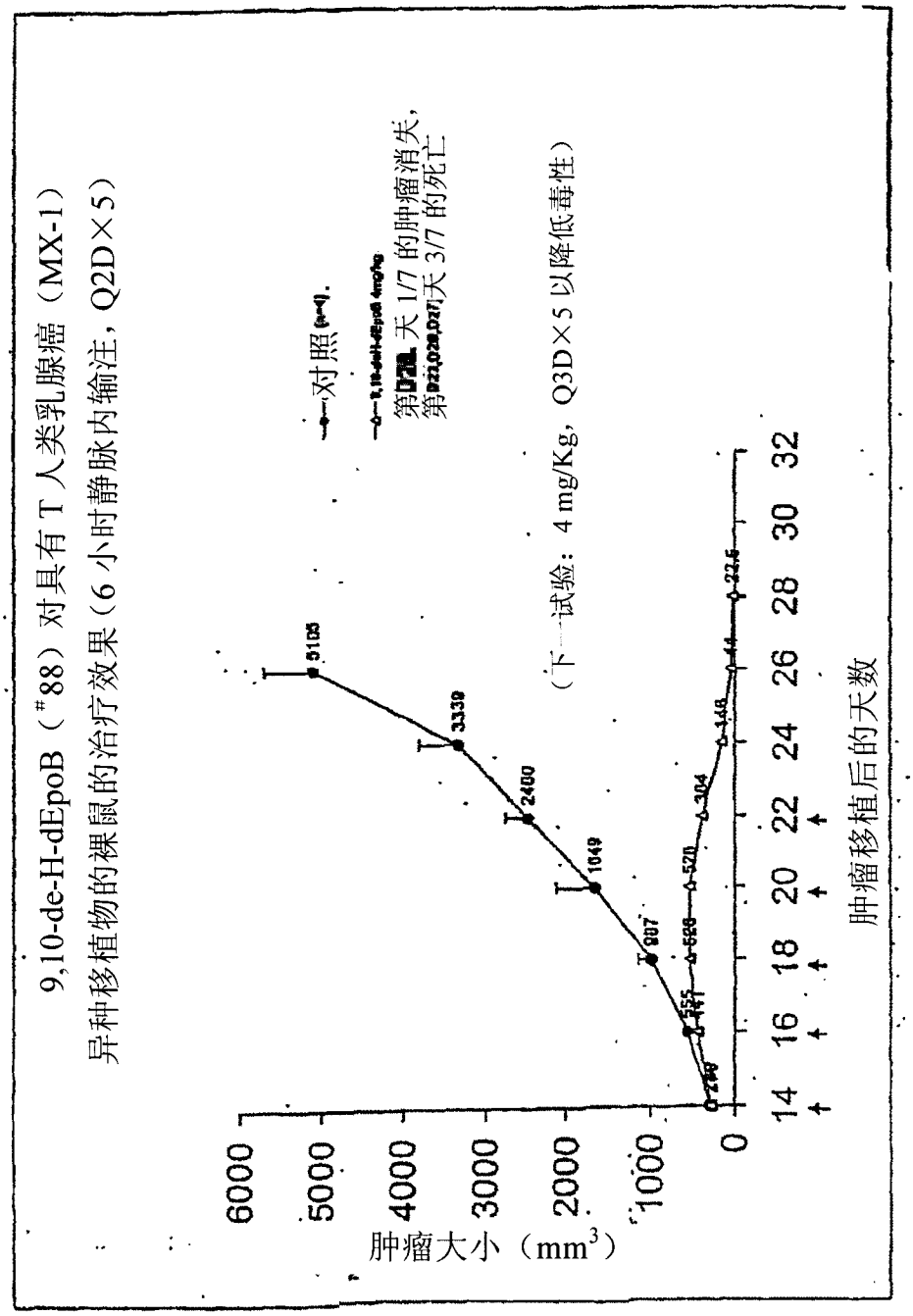

9,10-de-H-dEpoB（#88）对具有 T 人类乳腺癌（MX-1）
异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，Q2D×5）
对照
第 天 1/7 的肿瘤消失，
第 天 3/7 的死亡
（下一试验：4 mg/Kg，Q3D×5 以降低毒性）
肿瘤大小（mm³）
肿瘤移植后的天数
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
14
16
18
20
22
24
26
28
30
32
5105
3339
2400
1049
907
555
520
304
148
44
22.5

图 43

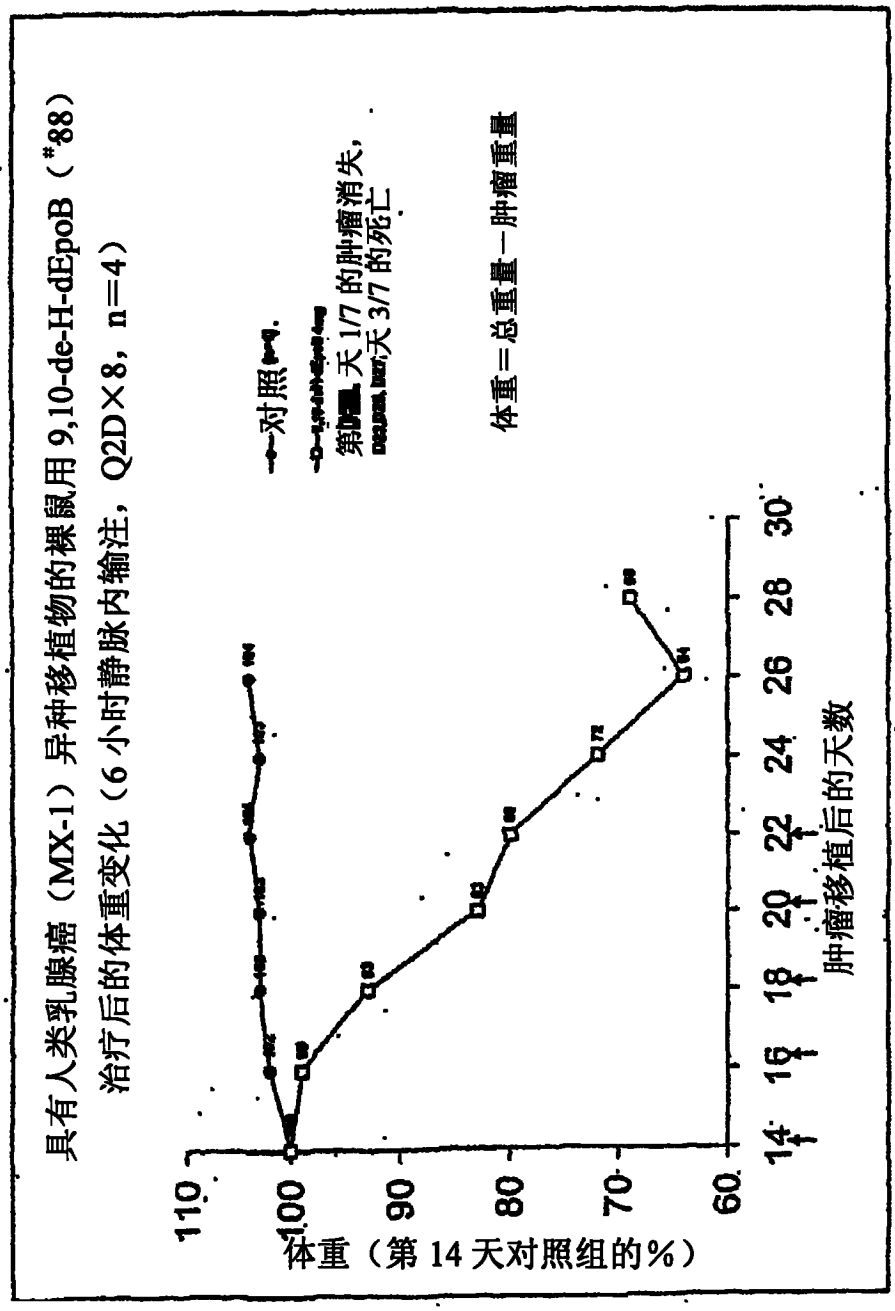

具有人类乳腺癌（MX-1）异种移植物的裸鼠用 9,10-de-H-dEpoB（*88）
治疗后的体重变化（6 小时静脉内输注，Q2D×8，n=4）
对照
第[illegible]天 1/7 的肿瘤消失，
[illegible]天 3/7 的死亡
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第 14 天对照组的%）
110
100
90
80
70
60
14
16
18
20
22
24
26
28
30
肿瘤移植后的天数

图 44

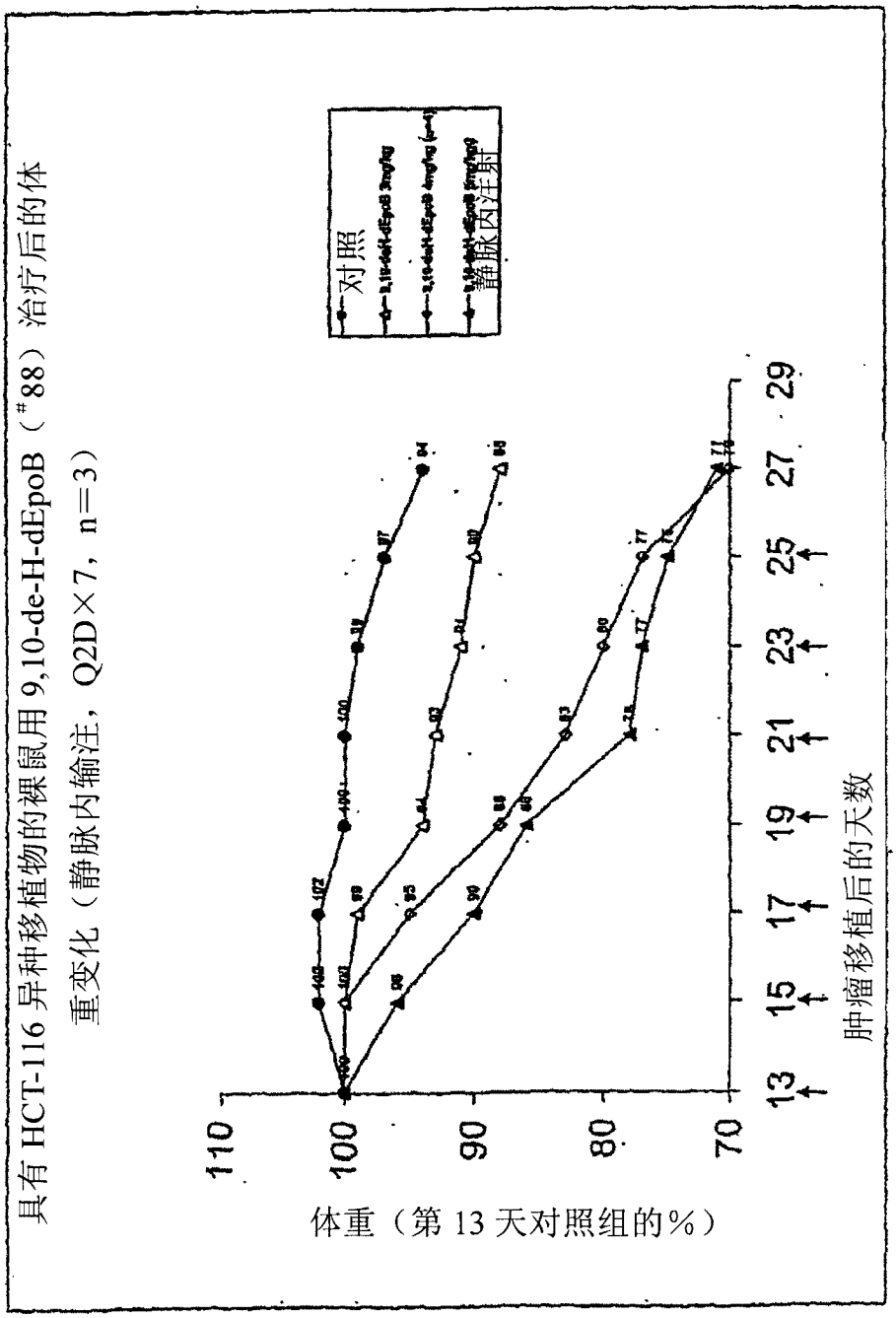

具有 HCT-116 异种移植物的裸鼠用 9,10-de-H-dEpoB（#88）治疗后的体
重变化（静脉内输注，Q2D×7，n=3）
对照
静脉内注射
体重（第 13 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数
110
100
90
80
70
13
15
17
19
21
23
25
27
29

图 45

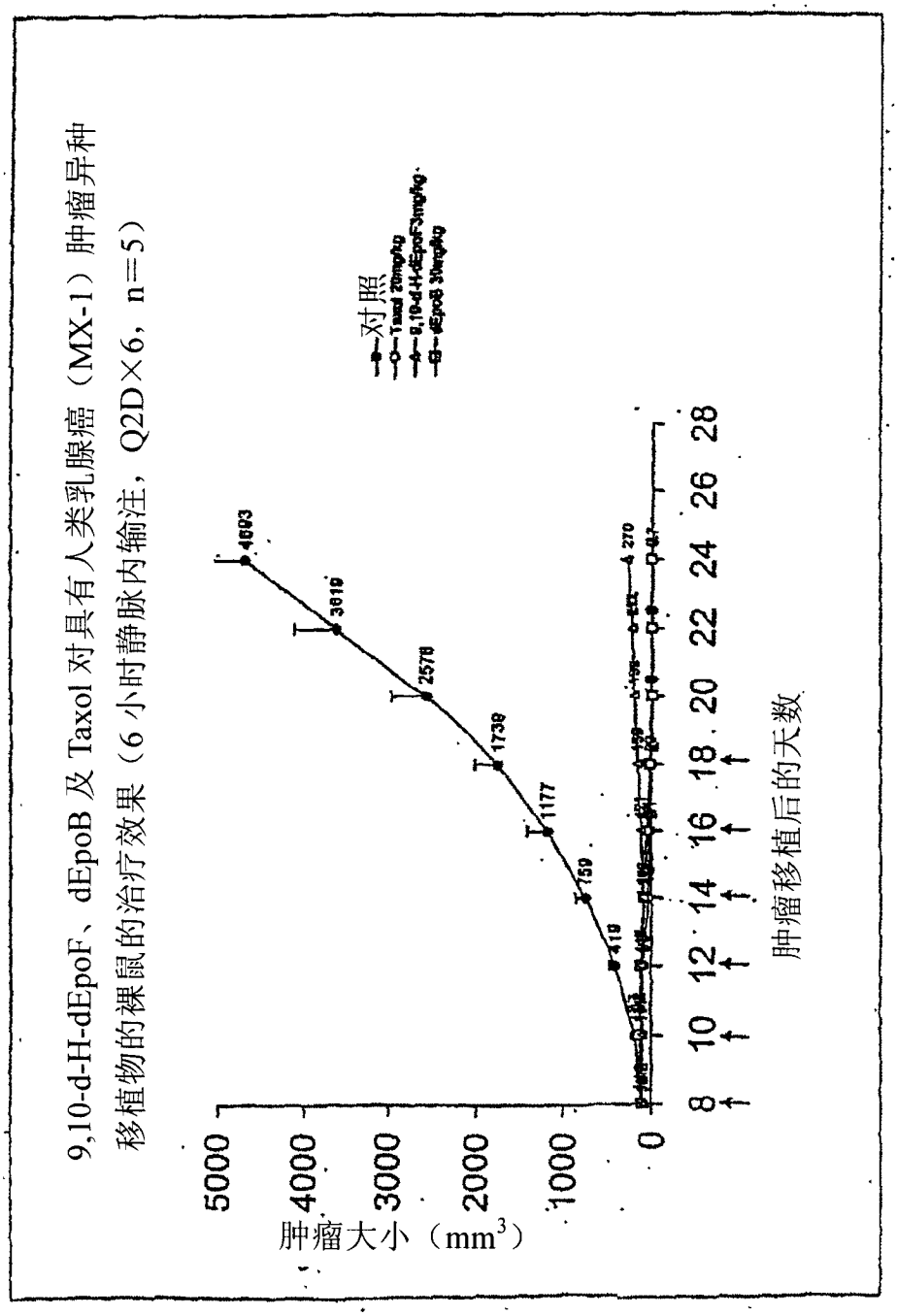

9,10-d-H-dEpoF、dEpoB 及 Taxol 对具有人类乳腺癌（MX-1）肿瘤异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，Q2D×6，n=5）
对照
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数
5000
4000
3000
2000
1000
0
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
4693
3819
2578
1739
1177
759
419
270

图 46

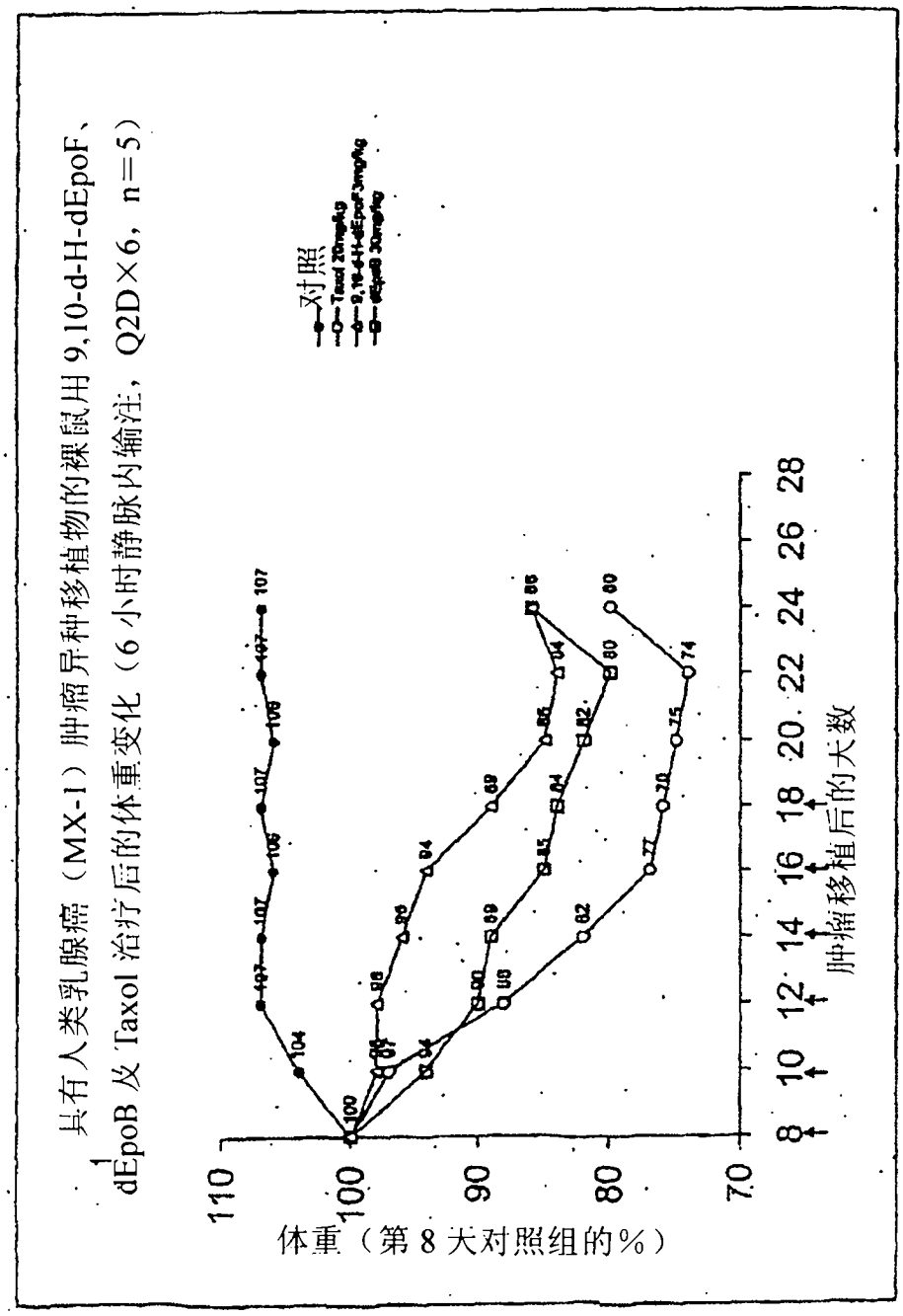

具有人类乳腺癌（MX-1）肿瘤异种移植物的裸鼠用 9,10-d-H-dEpoF、dEpoB 及 Taxol 治疗后的体重变化（6 小时静脉内输注，Q2D×6，n=5）
对照
体重（第 8 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 47

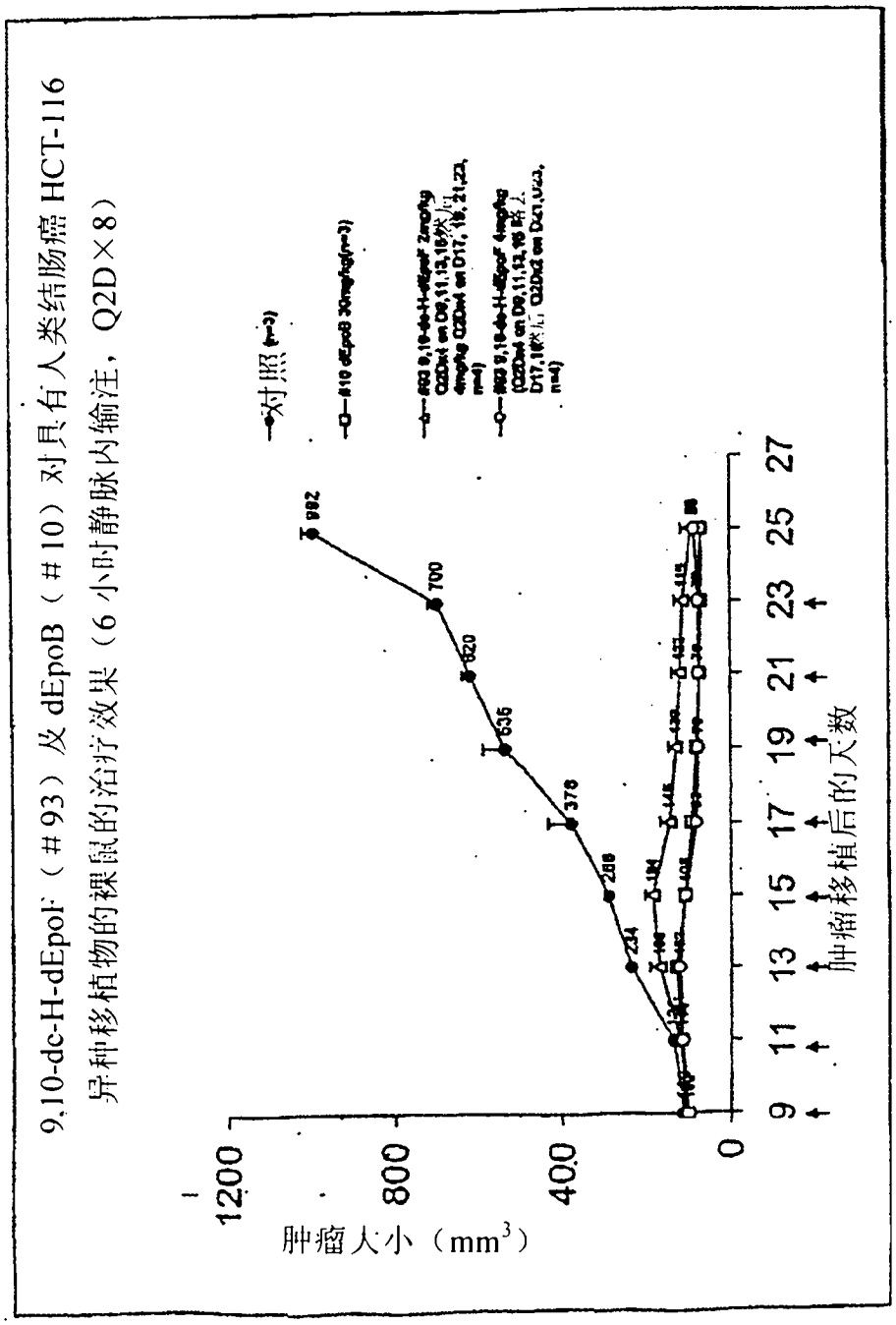

9,10-dc-H-dEpoB（#93）及 dEpoB（#10）对具有人类结肠癌 HCT-116
异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，Q2D×8）
对照 (n=3)
#10 dEpoB 30mg/kg(n=3)
肿瘤大小（mm3）
1200
800
400
0
982
700
620
636
378
288
234
9 11 13 15 17 19 21 23 25 27
肿瘤移植后的天数

图 48

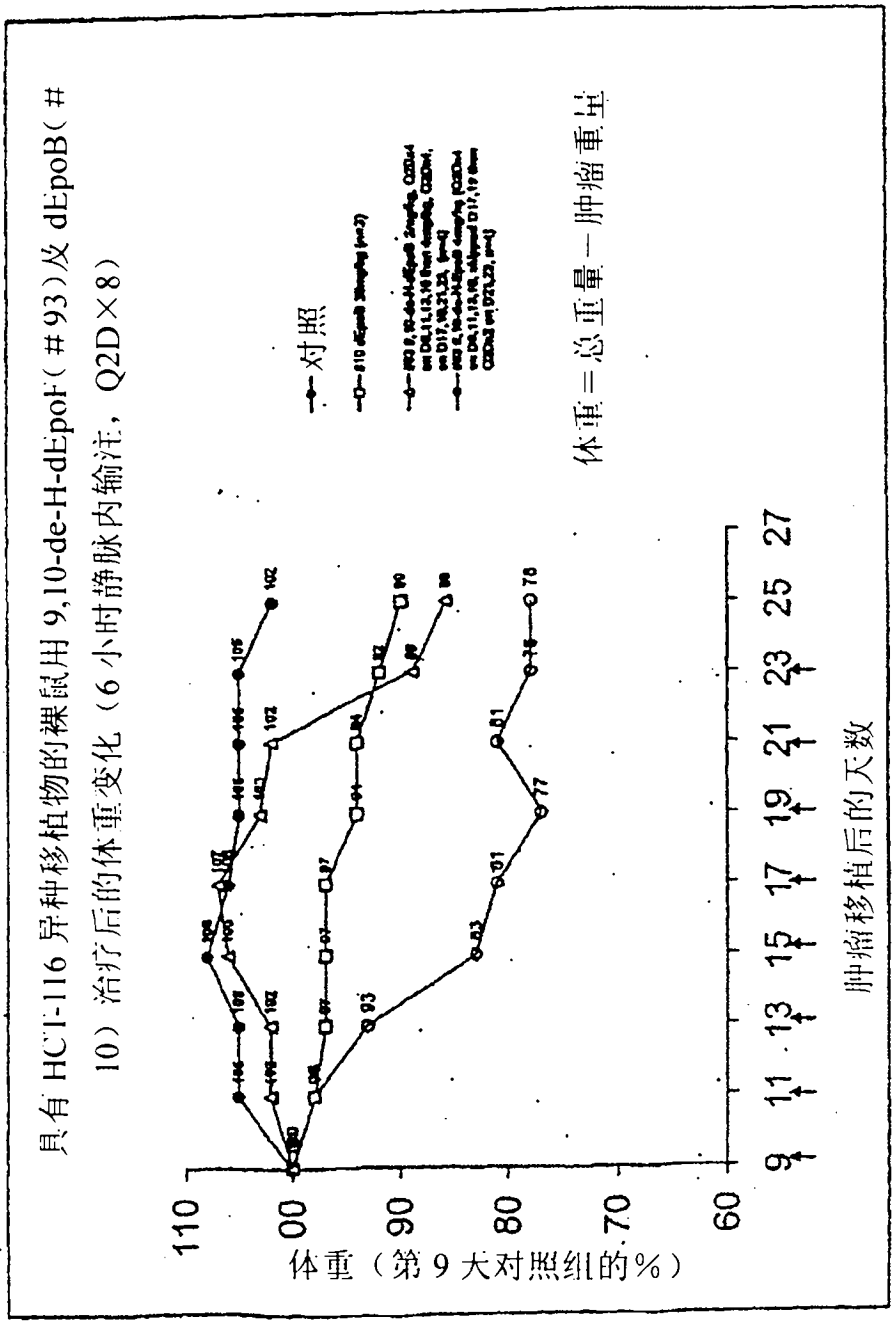

具有 HCT-116 异种移植物的裸鼠用 9,10-de-H-dEpoF（＃93）及 dEpoB（＃10）治疗后的体重变化（6 小时静脉内输注，Q2D×8）
对照
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第 9 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数
110
100
90
80
70
60
9
11
13
15
17
19
21
23
25
27

图 49

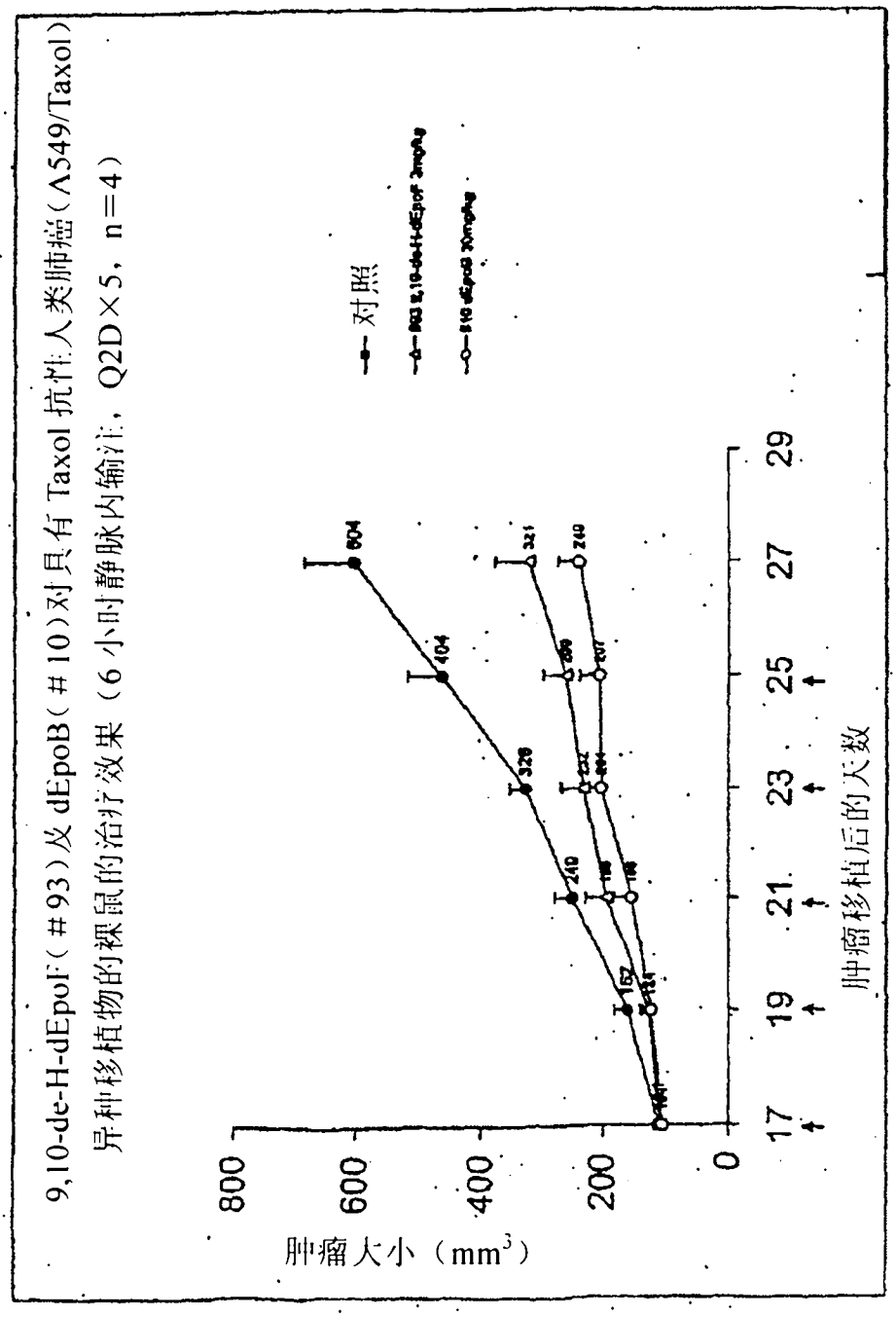

9,10-de-H-dEpoF(#93)及 dEpoB(#10)对具有 Taxol 抗性人类肺癌(A549/Taxol)
异种移植物的裸鼠的治疗效果（6小时静脉内输注，Q2D×5，n=4）
对照
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数
800
600
400
200
0
17
19
21
23
25
27
29
804
404
328
240
321
240
167

图 50

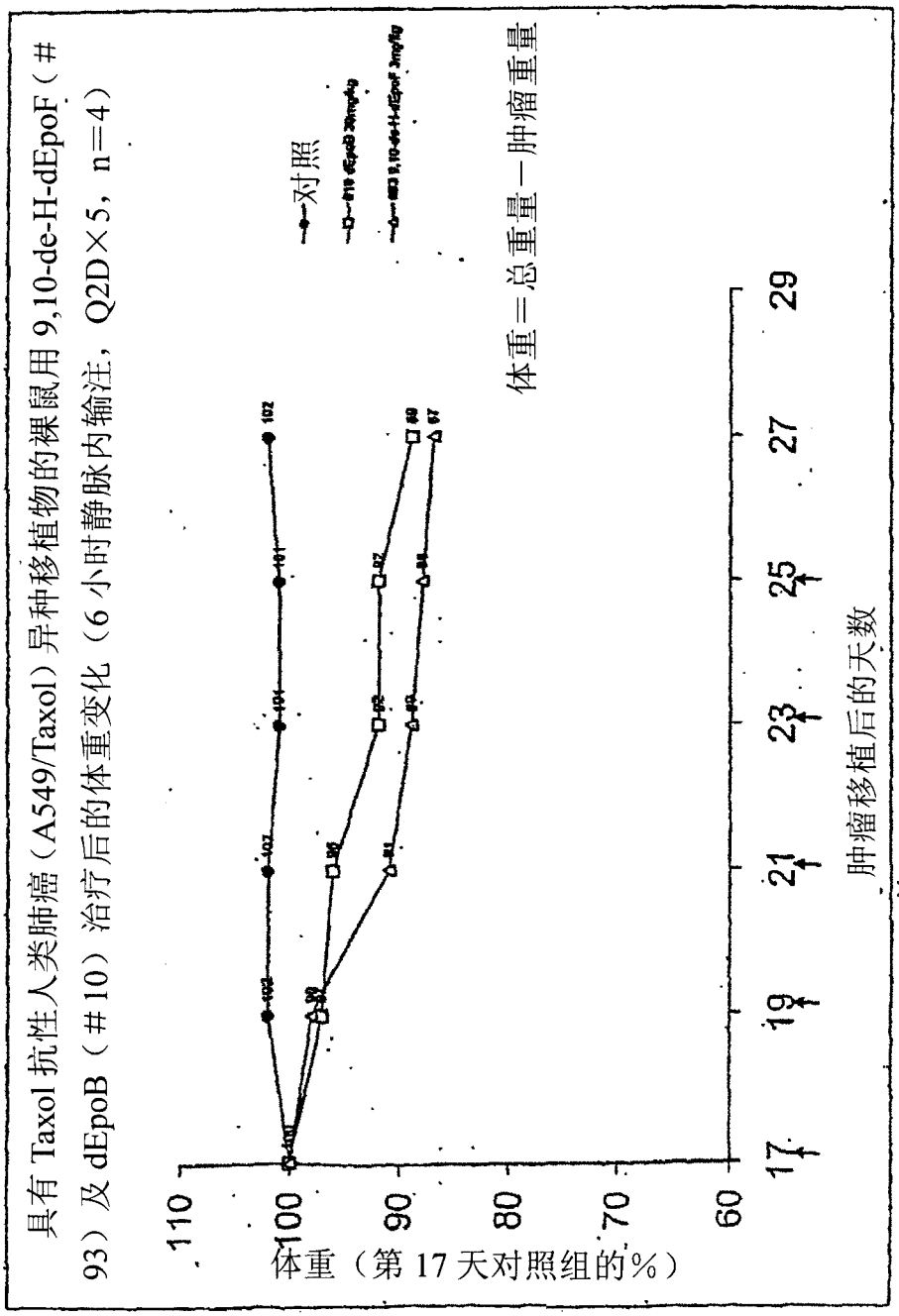

具有 Taxol 抗性人类肺癌（A549/Taxol）异种移植物的裸鼠用 9,10-de-H-dEpoF（#93）及 dEpoB（#10）治疗后的体重变化（6 小时静脉内输注，Q2D×5，n=4）
对照
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第 17 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数
110
100
90
80
70
60
17
19
21
23
25
27
29

图 51

表 1：埃坡霉素体外抗肿瘤生长的效能及相对治疗指数

化合物	IC_{50} (μM) 人类 T-细胞淋巴性白血病亚系 CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol	人类肺癌 A549	人类结肠癌 HCT-116	在 MTD 时抗小鼠异种移植物的相对治疗指数[d]
dEpoB	0.0056 ±0.0028	0.016 ±0.003 [2.8n]	0.0085 ±0.0055 [1.5n]	0.0039 ±0.0004	0.0063 ±0.0032	++++
dEpoF	0.0015 ±0.0001	0.055 ±0.09 [36n]	0.0066 ±0.0031 [4.4n]	0.012 ±0.004	0.0034 ±0.0006	++++
EpoB	0.00043 ±0.00017	0.0032 ±0.0012 [7.4n]	0.0011 ±0.00008 [2.6n]	0.0008 ±0.0005	0.00038 ±0.00001	+++
Aza-EpoB	0.0024 ±0.0003	2.04 [850n] ±0.92 [380n]	0.103 ±0.068 [43n]	0.0040 ±0.0035	0.0014 ±0.00089	++
deH-dEpoB	0.0009 ±0.0004	0.0043 ±0.0021 [4.7n]	0.0012 ±0.0006 [1.3n]	0.00089 ±0.00064	0.00094 ±0.00055	+++
deH-dEpoF	0.00051 ±0.00069	0.021 ±0.010 [41n]	0.0017 ±0.0010 [3.3n]	0.00091 ±0.00006	0.00056 ±0.00006	++
deH-EpoB	0.00023 ±0.00002	0.00696 ±0.00064 [30n]	0.00041 ±0.00001 [1.8n]	0.00026 ±0.00004	0.00014 0.00001	++++
F_2-deH-dEpoB	0.0032 ±0.0003	0.025 ±0.002 [7.8n]	0.0047 ±0.0010 [1.5n]	0.0037 ±0.0024	0.0056 ±0.0010	+++++
F_2-deH-dEpoF	0.00089	0.038 [43n]	0.0058 [6.5n]			
F_2-dEpoB	0.0003 ±0.0052	0.085 ±0.005 [283n]	0.018 ±0.001 [60n]	0.015 ±0.004	0.012 ±0.001	ND[e]
紫杉醇	0.0018 ±0.0005	3.22 ±0.92 [1789n]	0.079 ±0.029 [43.9n]	0.0029 ±0.0003	0.0026 ±0.0009	++++
长春碱	0.00054 ±0.00009	0.389 ±0.074 [720n]	0.0196 ±0.0111 [36.3n]	0.0099 ±0.0018	0.0087 ±0.0007	++++

图 52

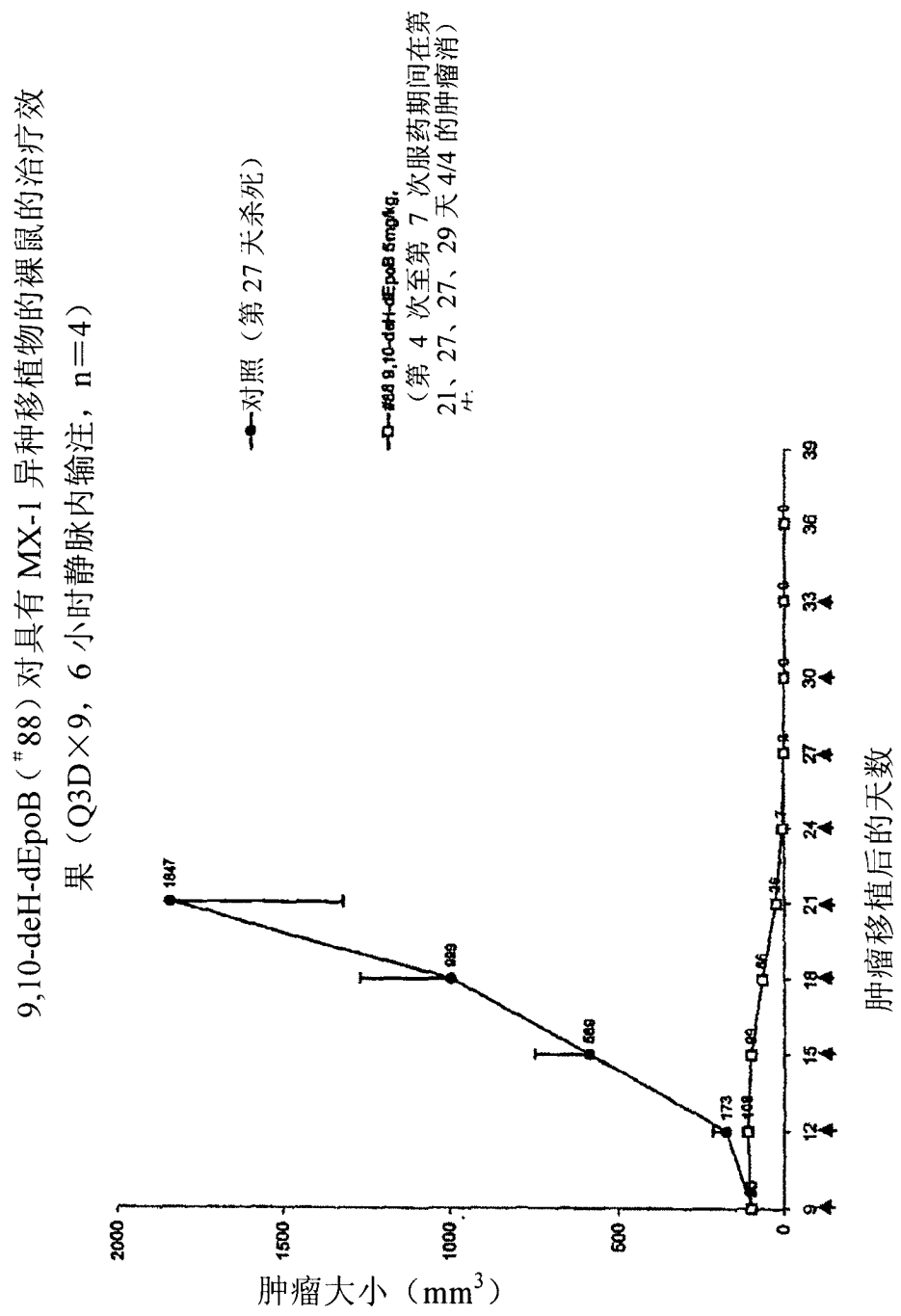

9,10-deH-dEpoB（#88）对具有 MX-1 异种移植物的裸鼠的治疗效果（Q3D×9，6 小时静脉内输注，n=4）
对照（第 27 天杀死）
#88 9,10-deH-dEpoB 5mg/kg，（第 4 次至第 7 次服药期间在第 21、27、27、29 天 4/4 的肿瘤消）
肿瘤大小（mm³）
肿瘤移植后的天数
2000
1500
1000
500
0
9
12
15
18
21
24
27
30
33
36
39
1847
999
589
173

图 53

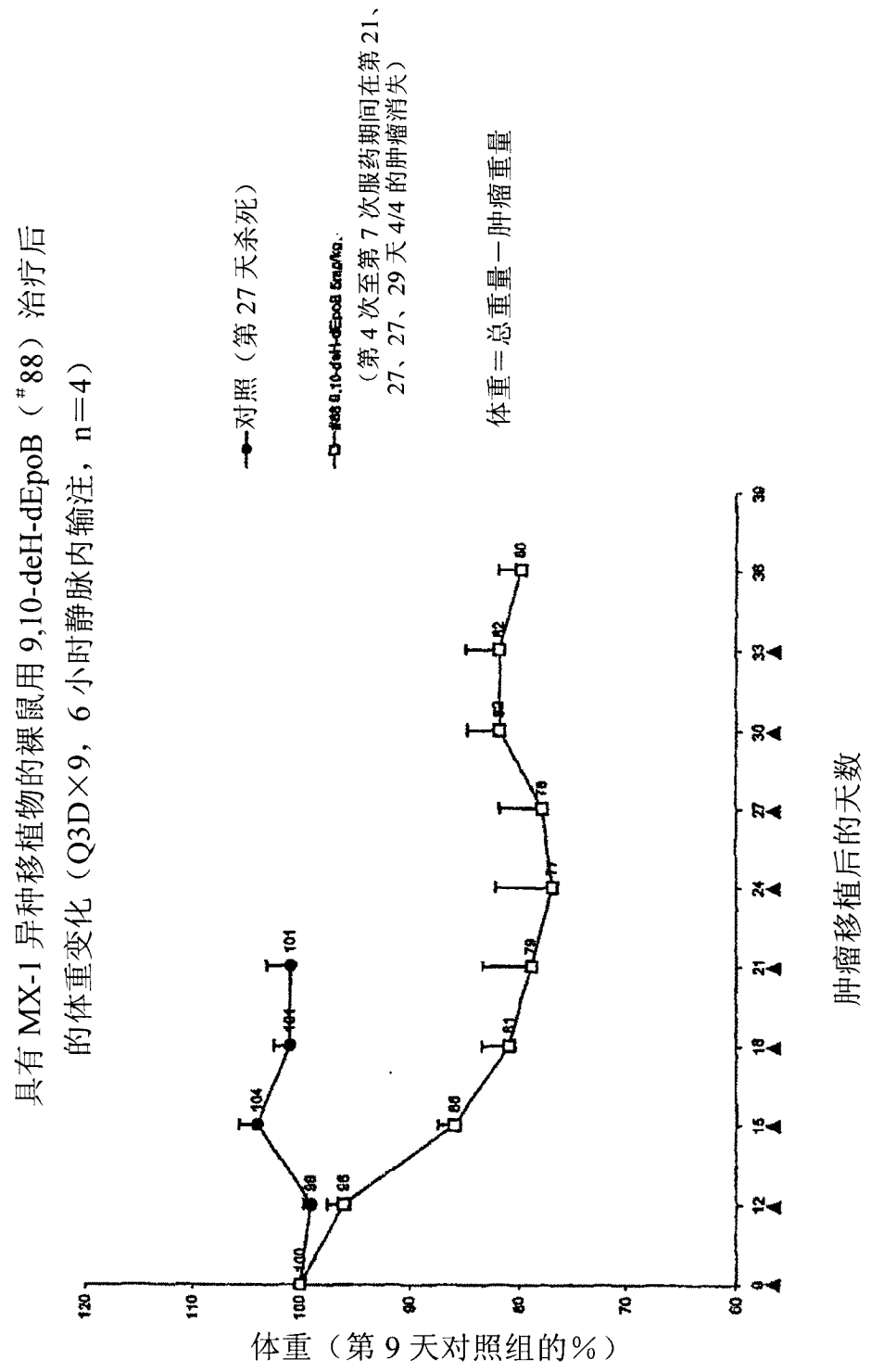

具有 MX-1 异种移植物的裸鼠用 9,10-deH-dEpoB（#88）治疗后
的体重变化（Q3D×9，6 小时静脉内输注，n=4）
对照（第 27 天杀死）
（第 4 次至第 7 次服药期间在第 21、
27、27、29 天 4/4 的肿瘤消失）
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第 9 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 54

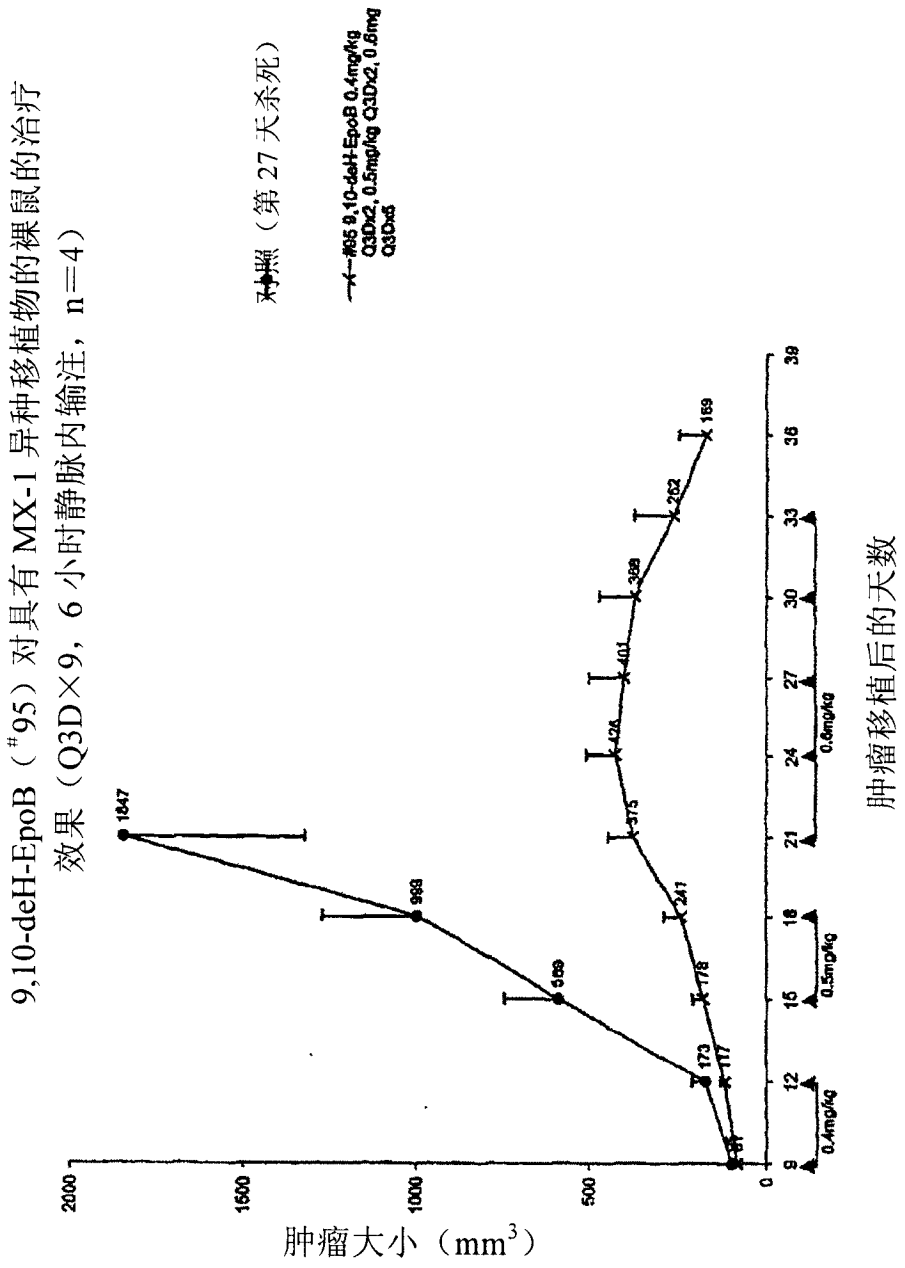

9,10-deH-EpoB（#95）对具有 MX-1 异种移植物的裸鼠的治疗
效果（Q3D×9，6 小时静脉内输注，n=4）
对照（第 27 天杀死）
#95 9,10-deH-EpoB 0.4mg/kg Q3Dx2, 0.5mg/kg Q3Dx2, 0.6mg Q3Dx5
肿瘤大小（mm³）
肿瘤移植后的天数
0.4mg/kg
0.5mg/kg
0.6mg/kg

图 55

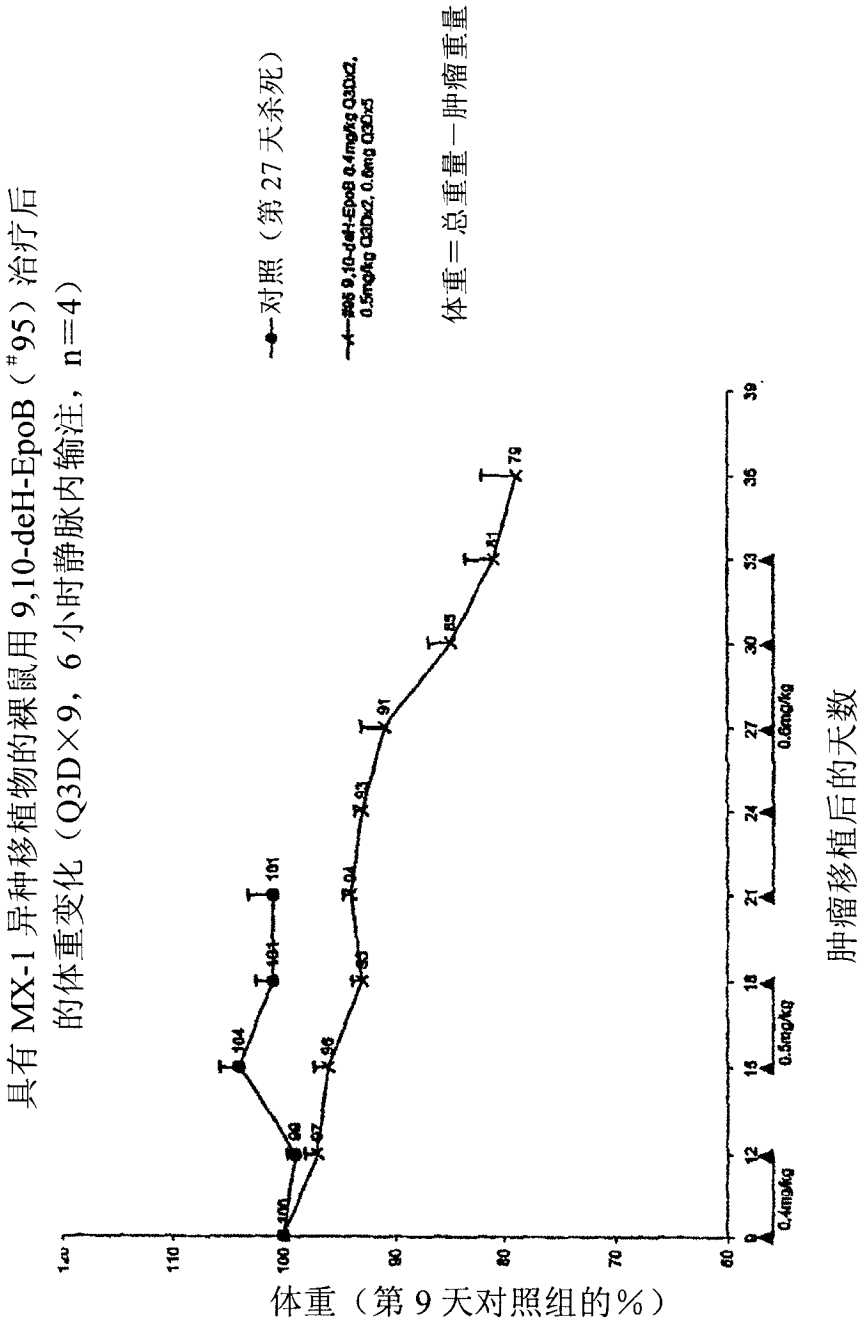

具有 MX-1 异种移植物的裸鼠用 9,10-deH-EpoB（#95）治疗后
的体重变化（Q3D×9，6 小时静脉内输注，n=4）
对照（第 27 天杀死）
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第 9 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数
0.4mg/kg
0.5mg/kg
0.6mg/kg

图 56

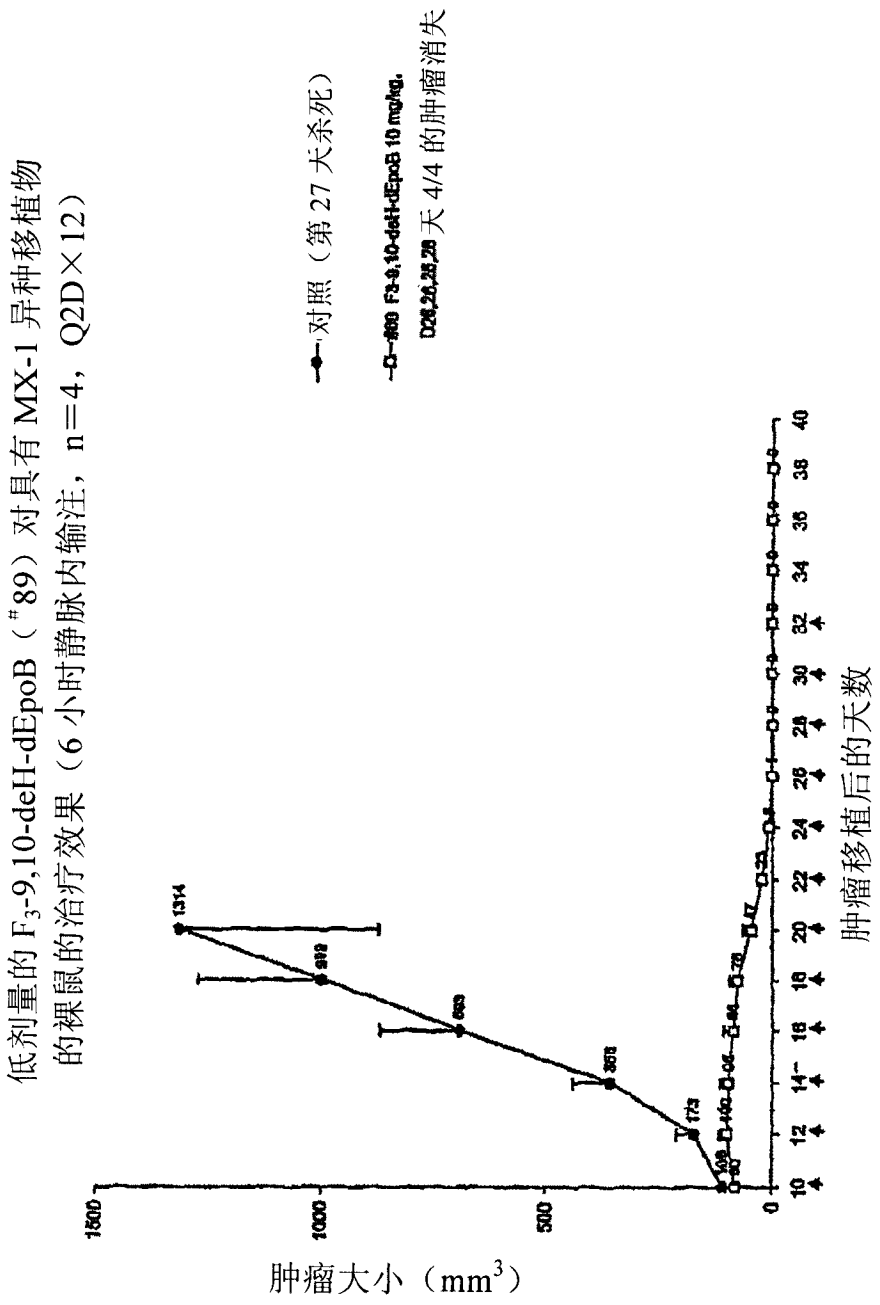

低剂量的 F3-9,10-deH-dEpoB（#89）对具有 MX-1 异种移植物
的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，n=4，Q2D×12）
对照（第 27 天杀死）
F3-9,10-deH-dEpoB 10 mg/kg.
D26,26,26,28 天 4/4 的肿瘤消失
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数
1500
1000
500
0
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
32
34
36
38
40
1314
999
683
355
173

图 57

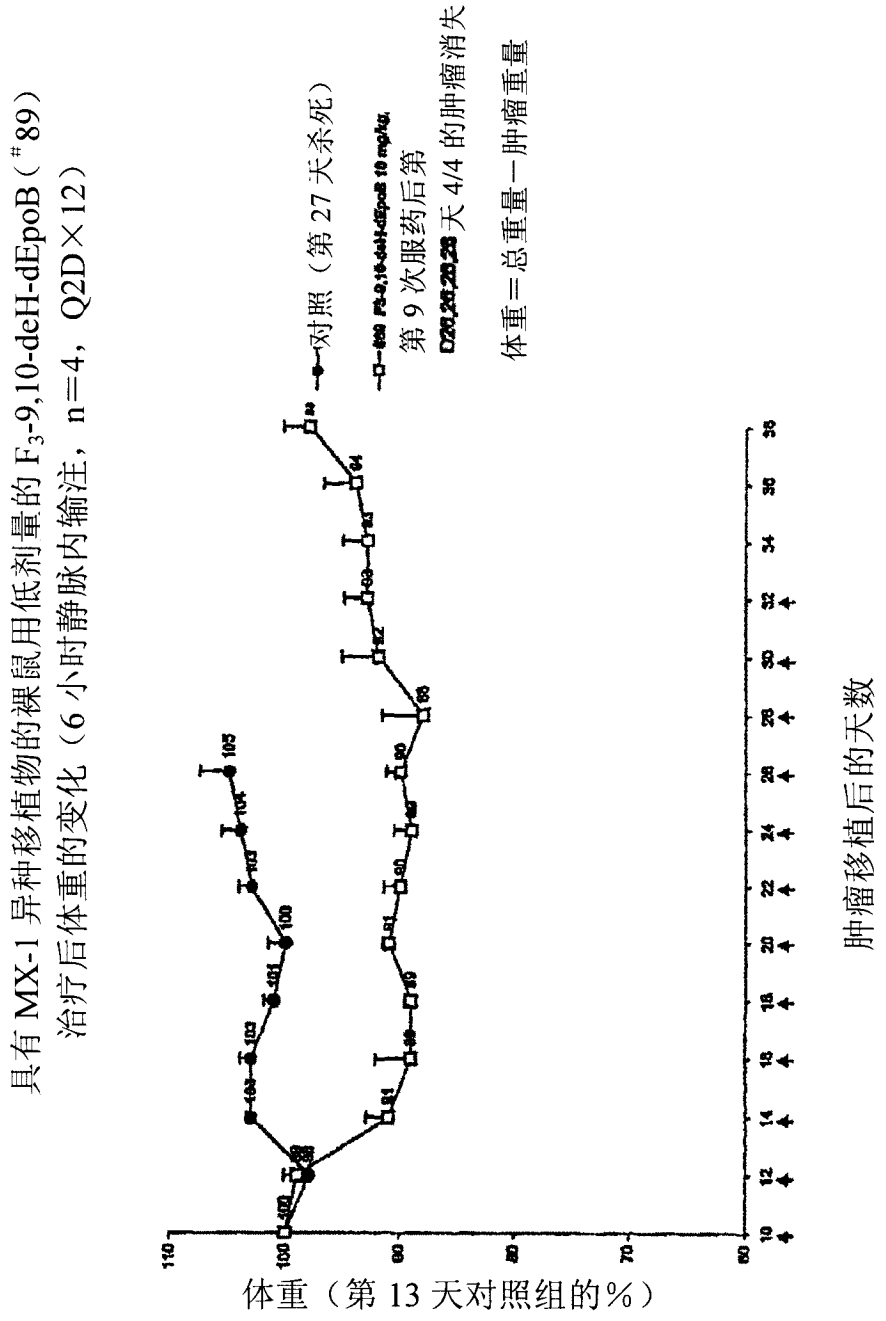

具有 MX-1 异种移植物的裸鼠用低剂量的 F3-9,10-deH-dEpoB（#89）
治疗后体重的变化（6 小时静脉内输注，n=4，Q2D×12）
对照（第 27 天杀死）
第 9 次服药后第
天 4/4 的肿瘤消失
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第 13 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 58

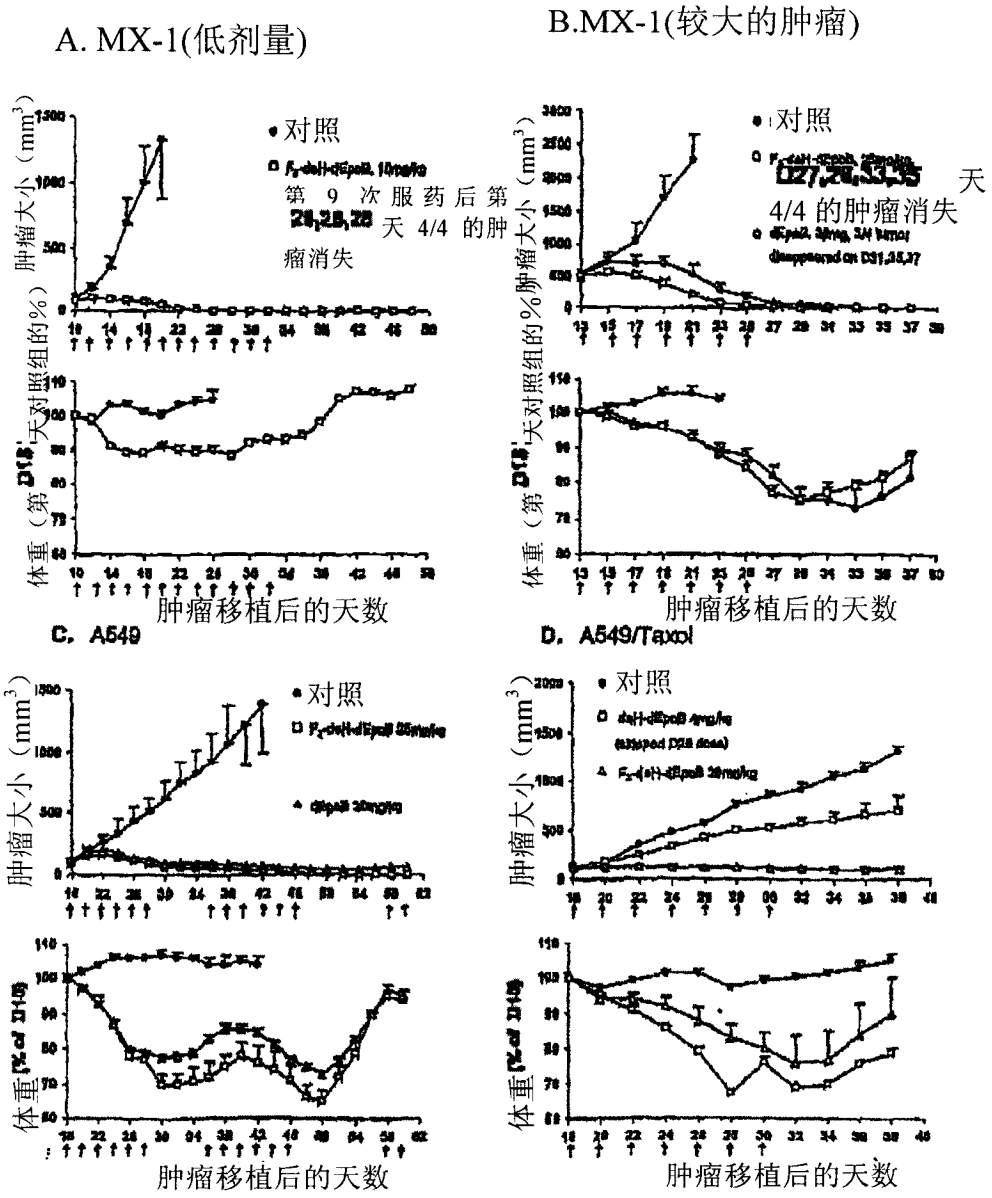

A. MX-1(低剂量)
B.MX-1(较大的肿瘤)
对照
第 9 次服药后第 28,28,28 天 4/4 的肿瘤消失
D27,28,33,35 天 4/4 的肿瘤消失
肿瘤大小（mm3）
体重（第D1'天对照组的%）
肿瘤移植后的天数
C. A549
D. A549/Taxol

图 59

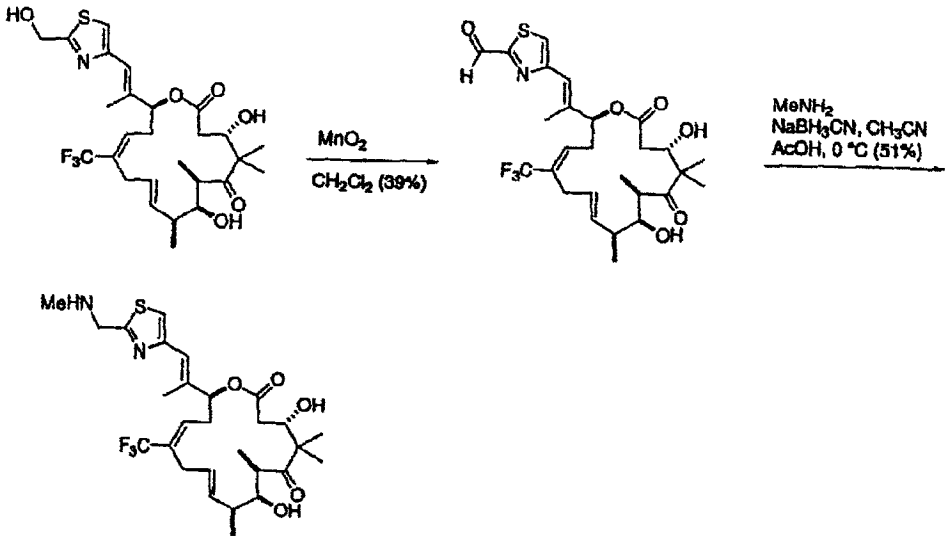

HO
S
N
O
O
OH
F3C
O
OH
MnO2
CH2Cl2 (39%)
O
H
MeNH2
NaBH3CN, CH3CN
AcOH, 0 °C (51%)
MeHN

图 60A

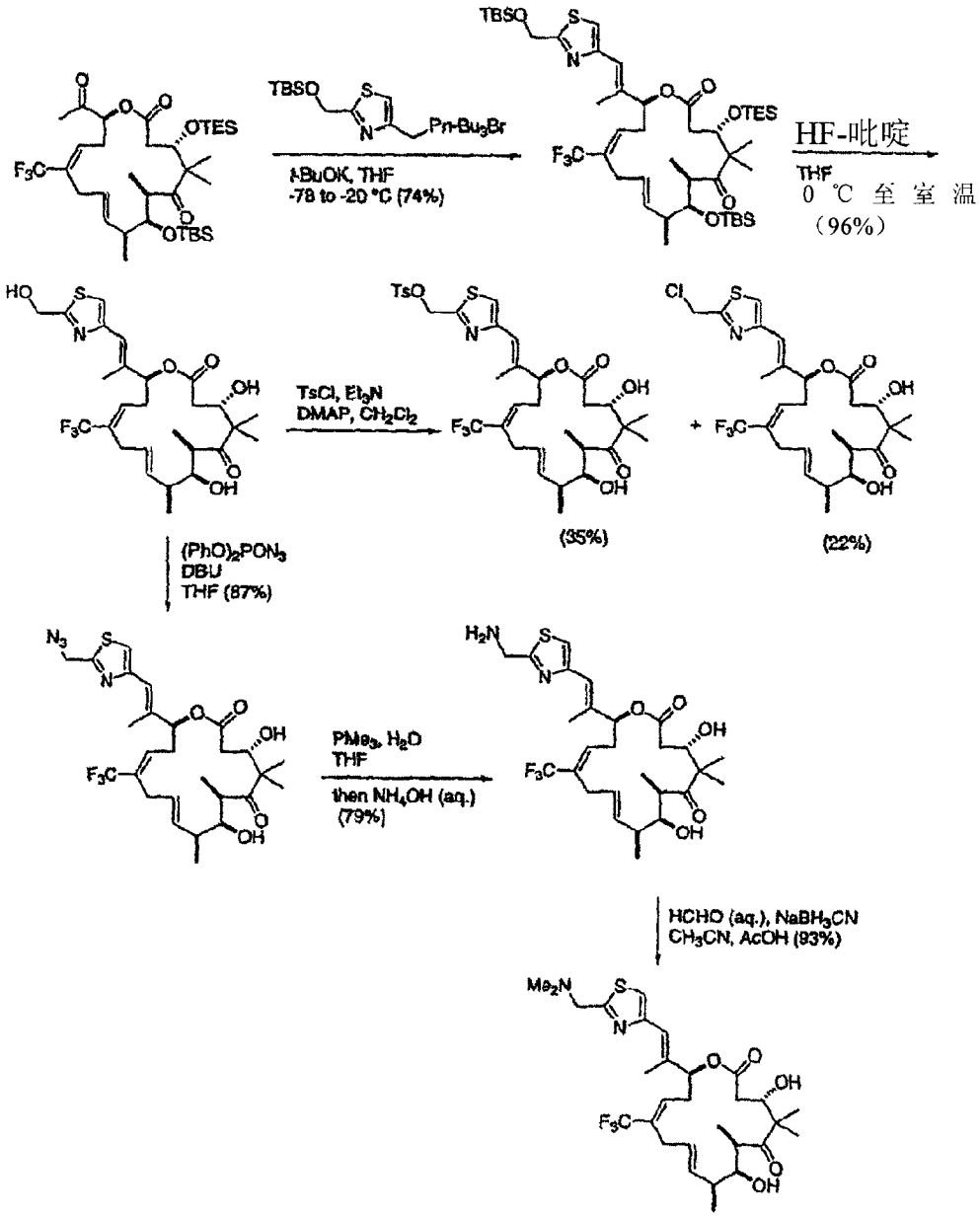

TBSO
S
N
OTES
F3C
OTBS
TBSO
S
N
Pn-Bu3Br
t-BuOK, THF
-78 to -20 °C (74%)
TBSO
S
N
OTES
F3C
OTBS
HF-吡啶
THF
0 ℃ 至 室 温
（96%）
HO
S
N
OH
F3C
OH
TsCl, Et3N
DMAP, CH2Cl2
TsO
S
N
OH
F3C
OH
(35%)
Cl
S
N
OH
+ F3C
OH
(22%)
(PhO)2PON3
DBU
THF (87%)
N3
S
N
OH
F3C
OH
PMe3, H2O
THF
then NH4OH (aq.)
(79%)
H2N
S
N
OH
F3C
OH
HCHO (aq.), NaBH3CN
CH3CN, AcOH (93%)
Me2N
S
N
OH
F3C
OH

图 60B

C-21 修饰埃坡霉素的体外效能

化合物	IC_{50} (μM)		
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol
dEpoB	0.0056 ±0.0028	0.016 ±0.003 [2.9x]	0.0085 ±0.0055 [1.5x]
21-OH-dEpoB (dEpoF)	0.0015 ±0.0001	0.055 ±0.09 [36x]	0.0066 ±0.0031 [4.4x]
21-OH-9,10-deH-dEpoB	0.00051 ±0.00009	0.021 ±0.010 [41x]	0.0017 ±0.0010 [3.3x]
21-OH-9,10-deH-26-F_3-dEpoB	0.0013 ±0.0003	0.060 ±0.020 [46x]	0.0065 [5.0x] ±0.0007 [5x]
21-NH_2-F_3-deH-dEpoB	0.0025 ±0.0002	0.163 [65.2x]	0.039 [15.6x]
21-$(CH_3)_2$-N-F_3-deH-dEpoB	0.018	1.70 [94.4x]	0.501 [27.8x]
21-CH_3NH-F_3-deH-dEpoB	0.020	3.06 [153x]	0.582 [29.1x]
21-Cl-F_3-deH-dEpoB	0.0057 ±0.0006	0.049 [8.6x]	0.017 [3.0x]

图 61

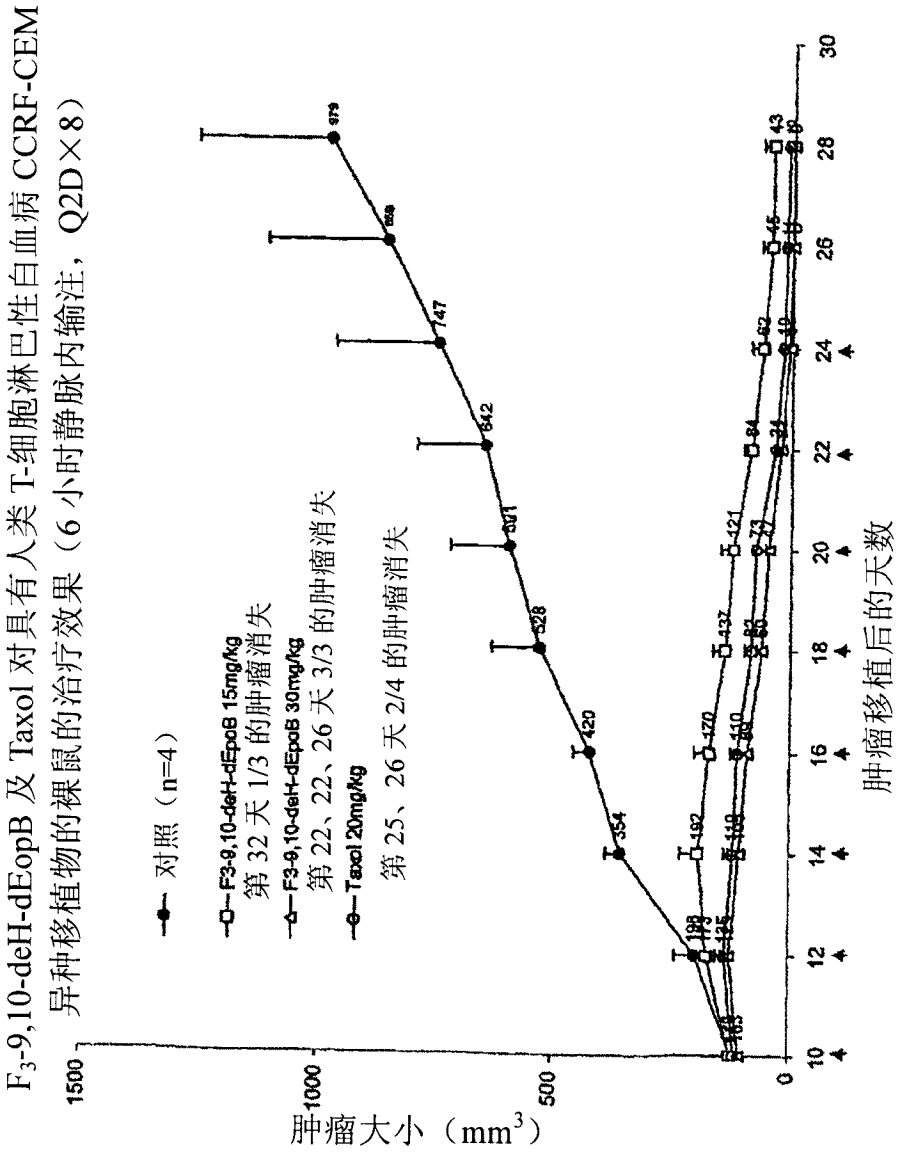

F3-9,10-deH-dEopB 及 Taxol 对具有人类 T-细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM
异种移植物的裸鼠的治疗效果（6 小时静脉内输注，Q2D×8）
对照（n=4）
F3-9,10-deH-dEpoB 15mg/kg
第 32 天 1/3 的肿瘤消失
F3-9,10-deH-dEpoB 30mg/kg
第 22、22、26 天 3/3 的肿瘤消失
Taxol 20mg/kg
第 25、26 天 2/4 的肿瘤消失
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数
1500
1000
500
0
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30

图 62

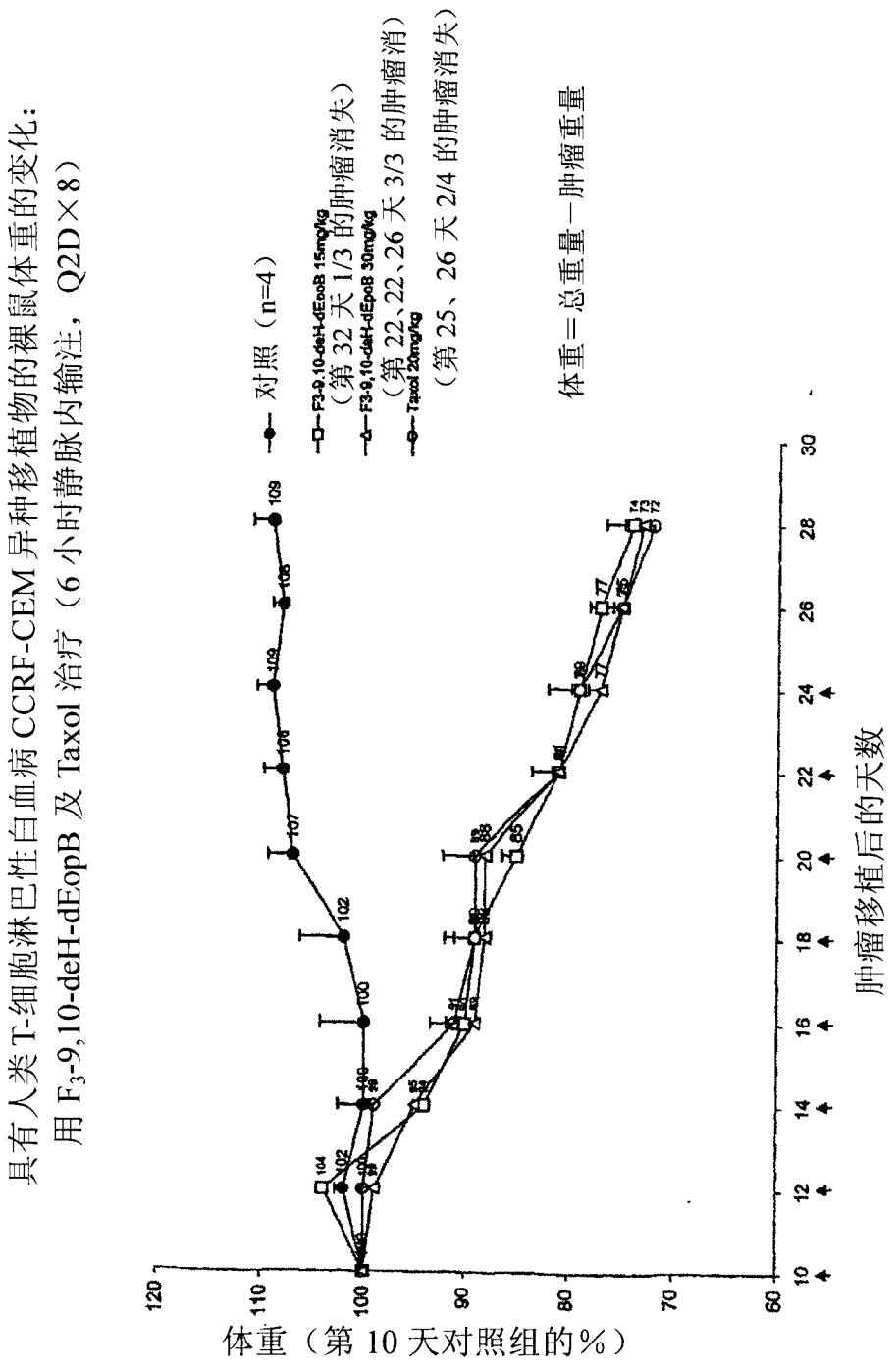

具有人类T-细胞淋巴性白血病CCRF-CEM异种移植物的裸鼠体重的变化：
用 F_3-9,10-deH-dEopB 及 Taxol 治疗（6小时静脉内输注，Q2D×8）
对照（n=4）
F3-9,10-deH-dEopB 15mg/kg
（第32天1/3的肿瘤消失）
F3-9,10-deH-dEopB 30mg/kg
（第22、22、26天3/3的肿瘤消）
Taxol 20mg/kg
（第25、26天2/4的肿瘤消失）
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第10天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 63

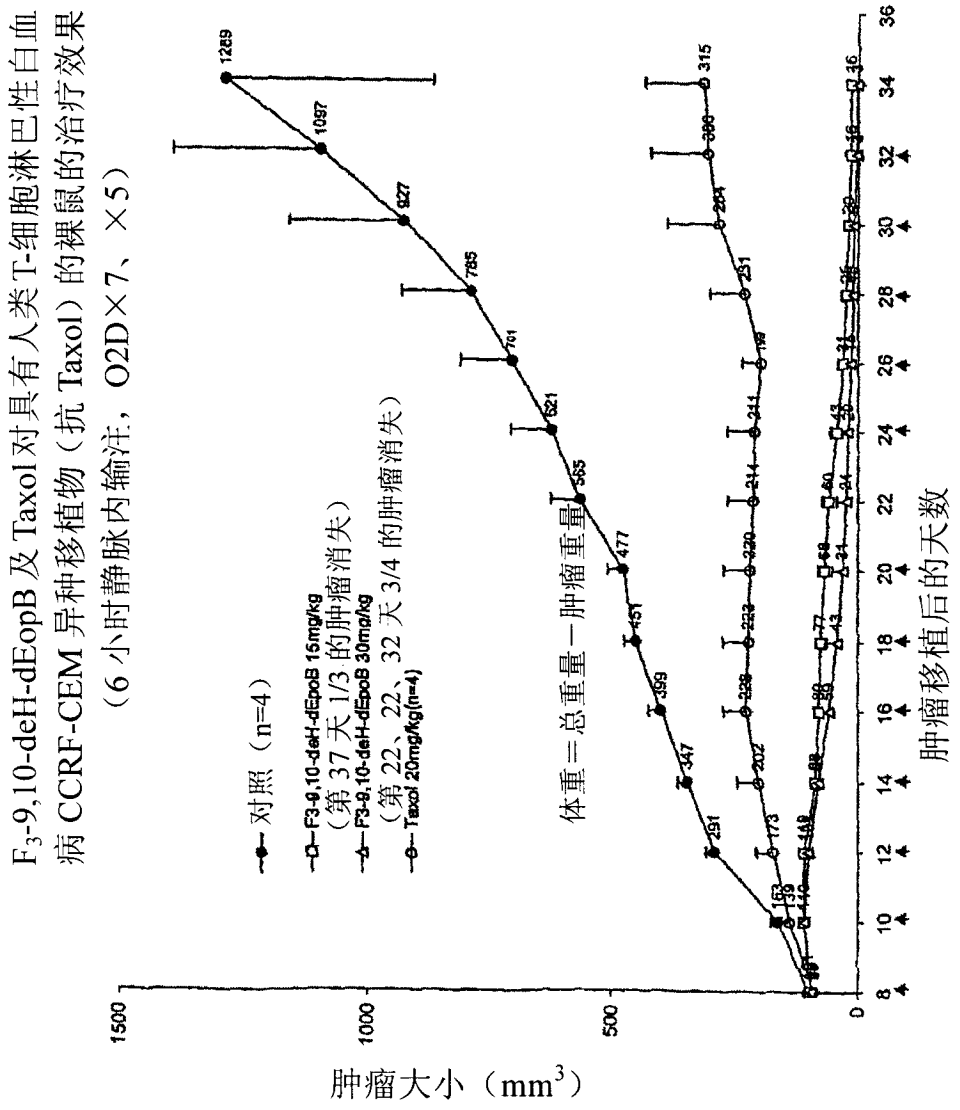

F_3-9,10-deH-dEopB 及 Taxol 对具有人类 T-细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM 异种移植物（抗 Taxol）的裸鼠的治疗效果
（6 小时静脉内输注，O2D×7、×5）
对照（n=4）
F3-9,10-deH-dEopB 15mg/kg
（第 37 天 1/3 的肿瘤消失）
F3-9,10-deH-dEopB 30mg/kg
（第 22、22、32 天 3/4 的肿瘤消失）
Taxol 20mg/kg(n=4)
体重＝总重量－肿瘤重量
肿瘤大小（mm^3）
肿瘤移植后的天数

图 64

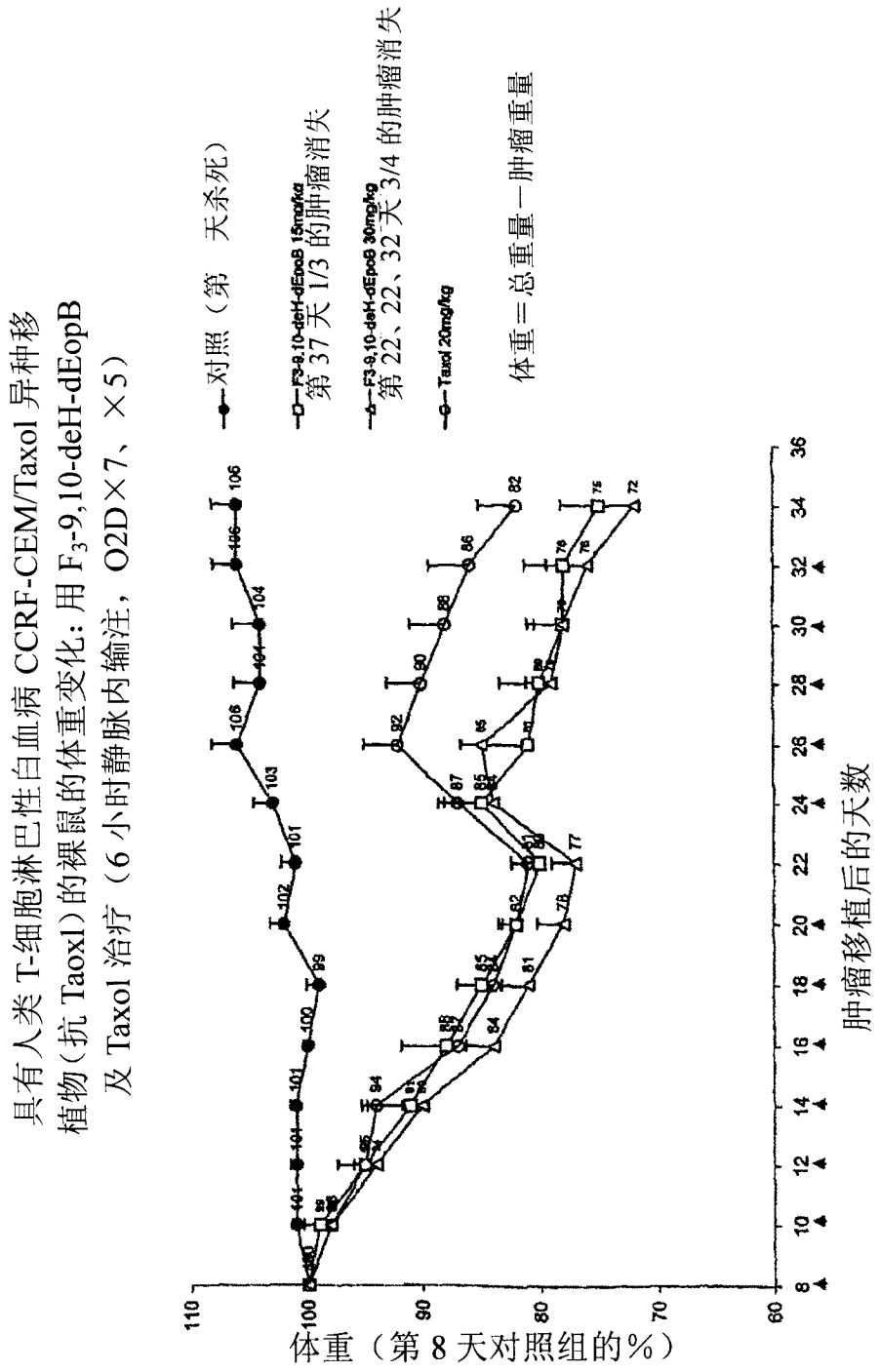

具有人类 T-细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM/Taxol 异种移植物（抗 Taoxl）的裸鼠的体重变化：用 F3-9,10-deH-dEopB 及 Taxol 治疗（6 小时静脉内输注，O2D×7、×5）
对照（第 天杀死）
第 37 天 1/3 的肿瘤消失
第 22、22、32 天 3/4 的肿瘤消失
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第 8 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 65

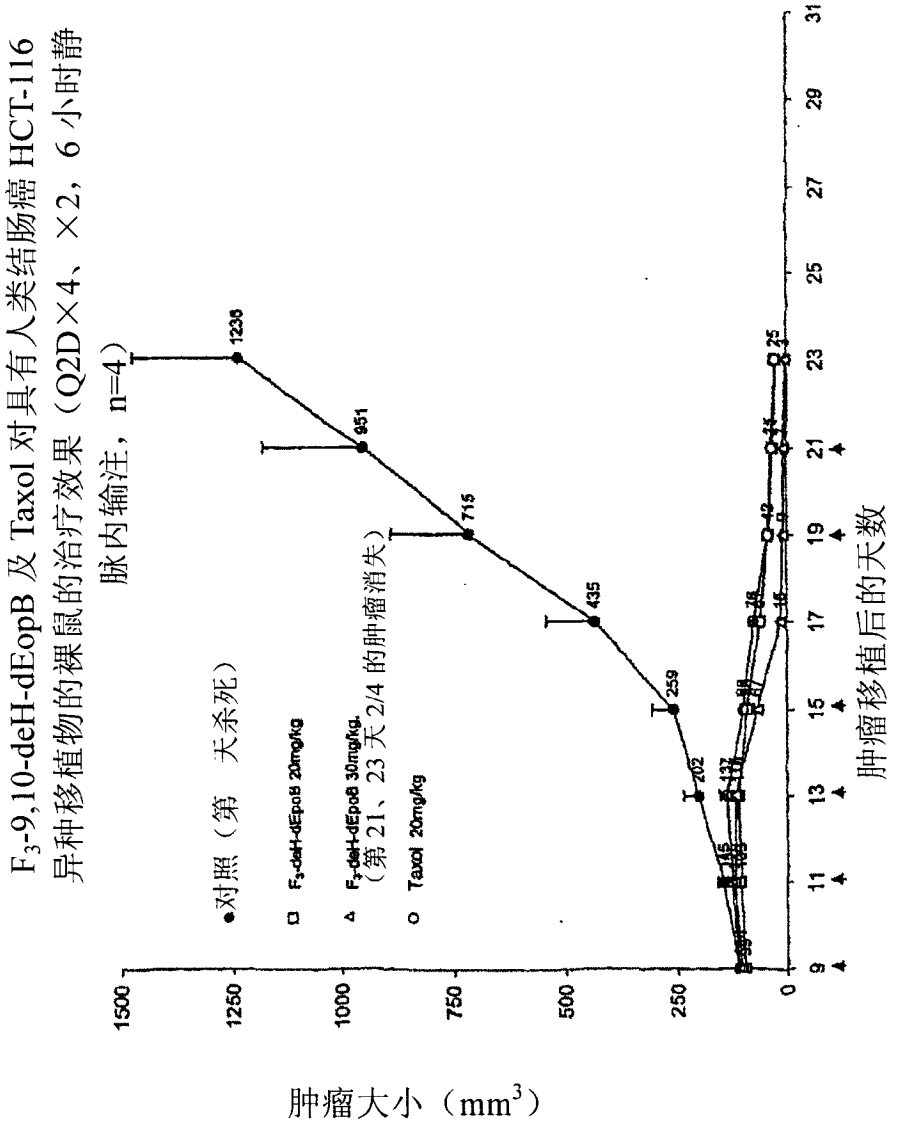

F3-9,10-deH-dEopB 及 Taxol 对具有人类结肠癌 HCT-116 异种移植物的裸鼠的治疗效果（Q2D×4、×2，6 小时静脉内输注，n=4）
对照（第 天杀死）
F3-deH-dEpoB 20mg/kg
F3-deH-dEpoB 30mg/kg
（第 21、23 天 2/4 的肿瘤消失）
Taxol 20mg/kg
1236
851
715
435
259
202
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数

图 66

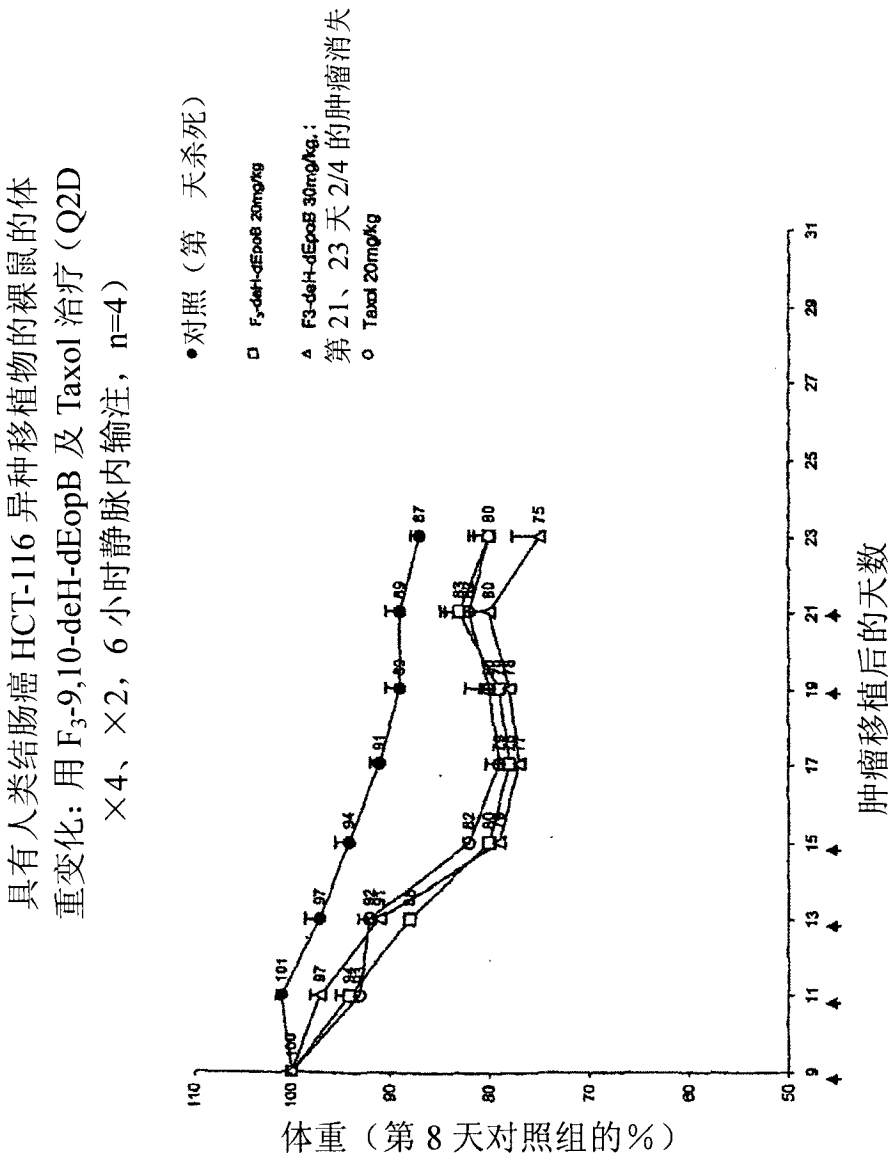

具有人类结肠癌 HCT-116 异种移植物的裸鼠的体重变化：用 F3-9,10-deH-dEopB 及 Taxol 治疗（Q2D ×4、×2，6 小时静脉内输注，n=4）
●对照（第 天杀死）
□ F3-deH-dEpoB 20mg/kg
▲ F3-deH-dEpoB 30mg/kg；第 21、23 天 2/4 的肿瘤消失
○ Taxol 20mg/kg
体重（第 8 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 67

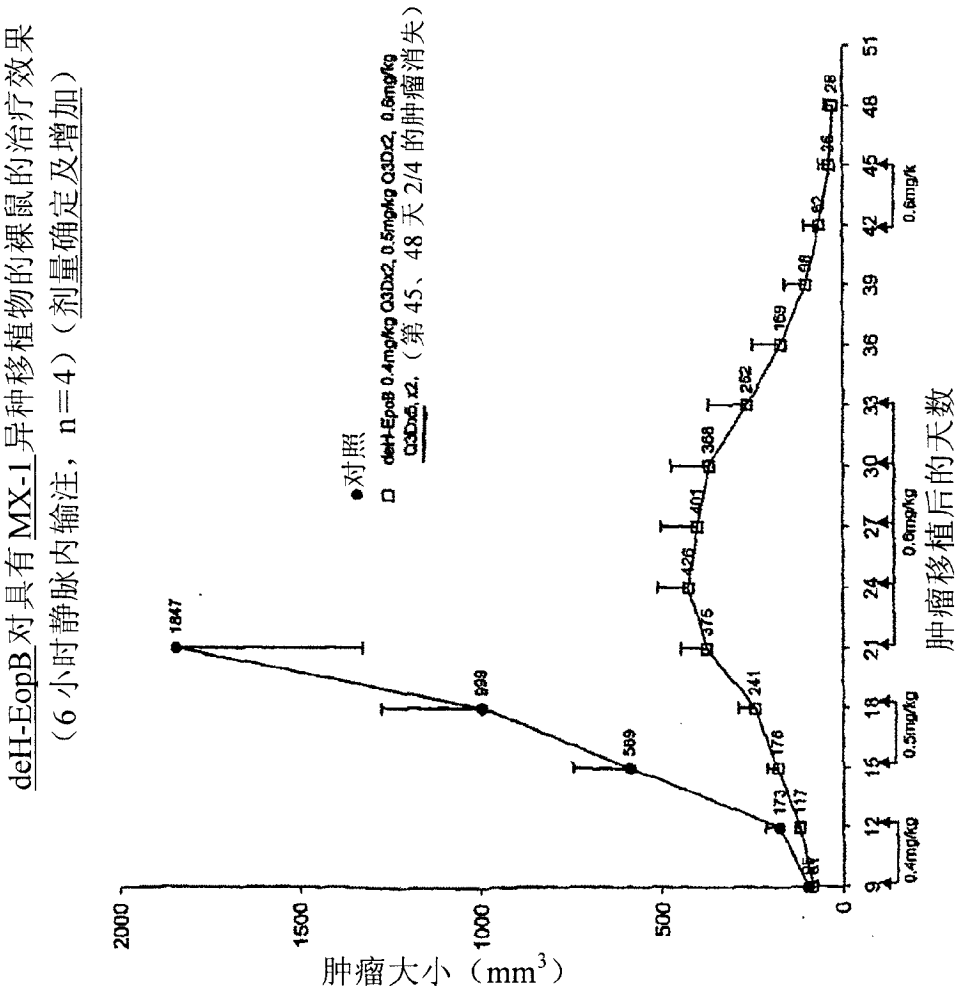

deH-EopB 对具有 MX-1 异种移植物的裸鼠的治疗效果
（6 小时静脉内输注，n＝4）（剂量确定及增加）
●对照
□ deH-EpoB 0.4mg/kg Q3Dx2, 0.5mg/kg Q3Dx2, 0.6mg/kg Q3Dx5, x2.（第 45、48 天 2/4 的肿瘤消失）
肿瘤大小（mm³）
肿瘤移植后的天数
0.4mg/kg
0.5mg/kg
0.6mg/kg
0.6mg/k

图 68

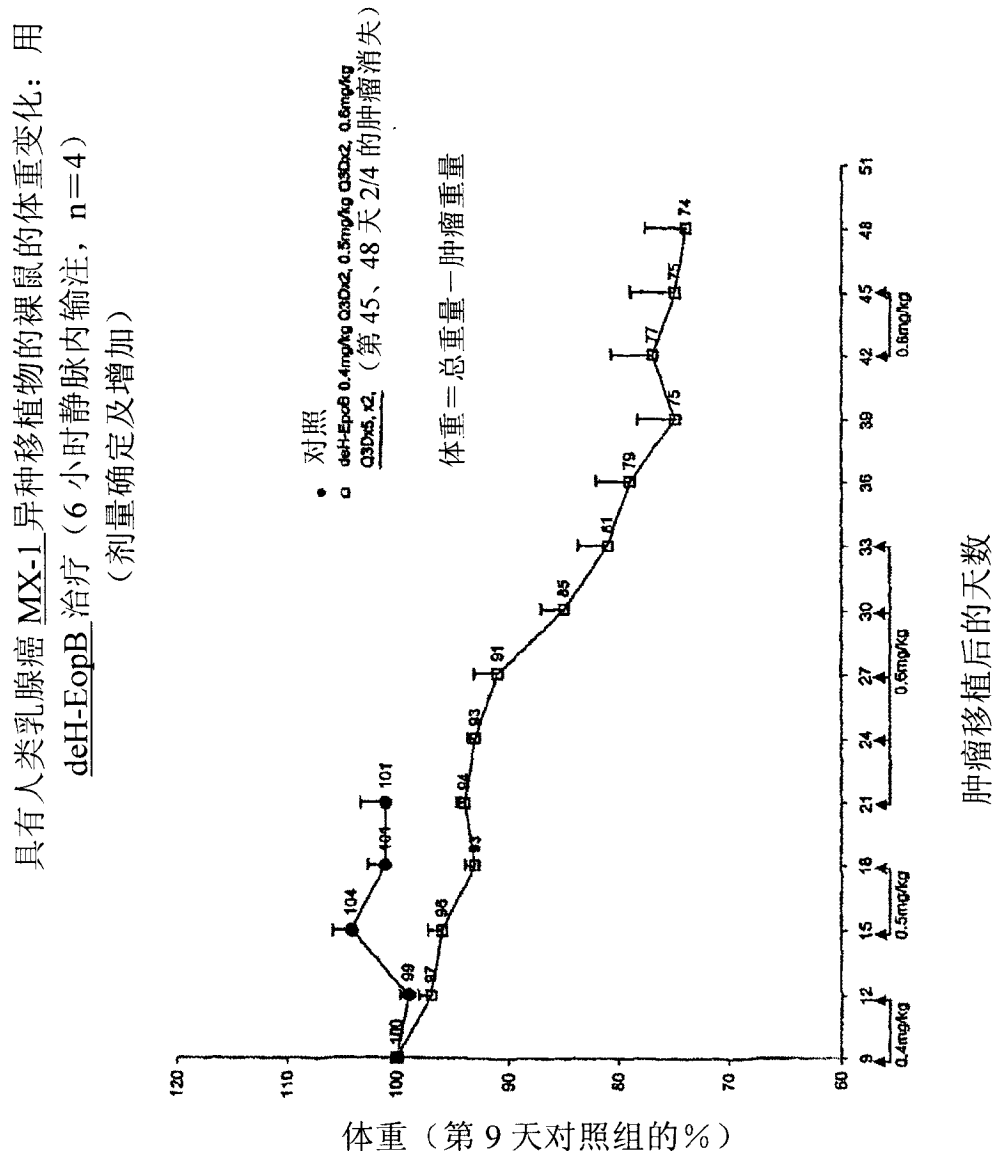

具有人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠的体重变化：用 deH-EopB 治疗（6 小时静脉内输注，n＝4）
（剂量确定及增加）
对照
deH-EopB 0.4mg/kg Q3Dx2, 0.5mg/kg Q3Dx2, 0.5mg/kg Q3Dx5, x2（第 45、48 天 2/4 的肿瘤消失）
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第 9 天对照组的％）
肿瘤移植后的天数
0.4mg/kg
0.5mg/kg
0.5mg/kg
0.5mg/kg

图 69

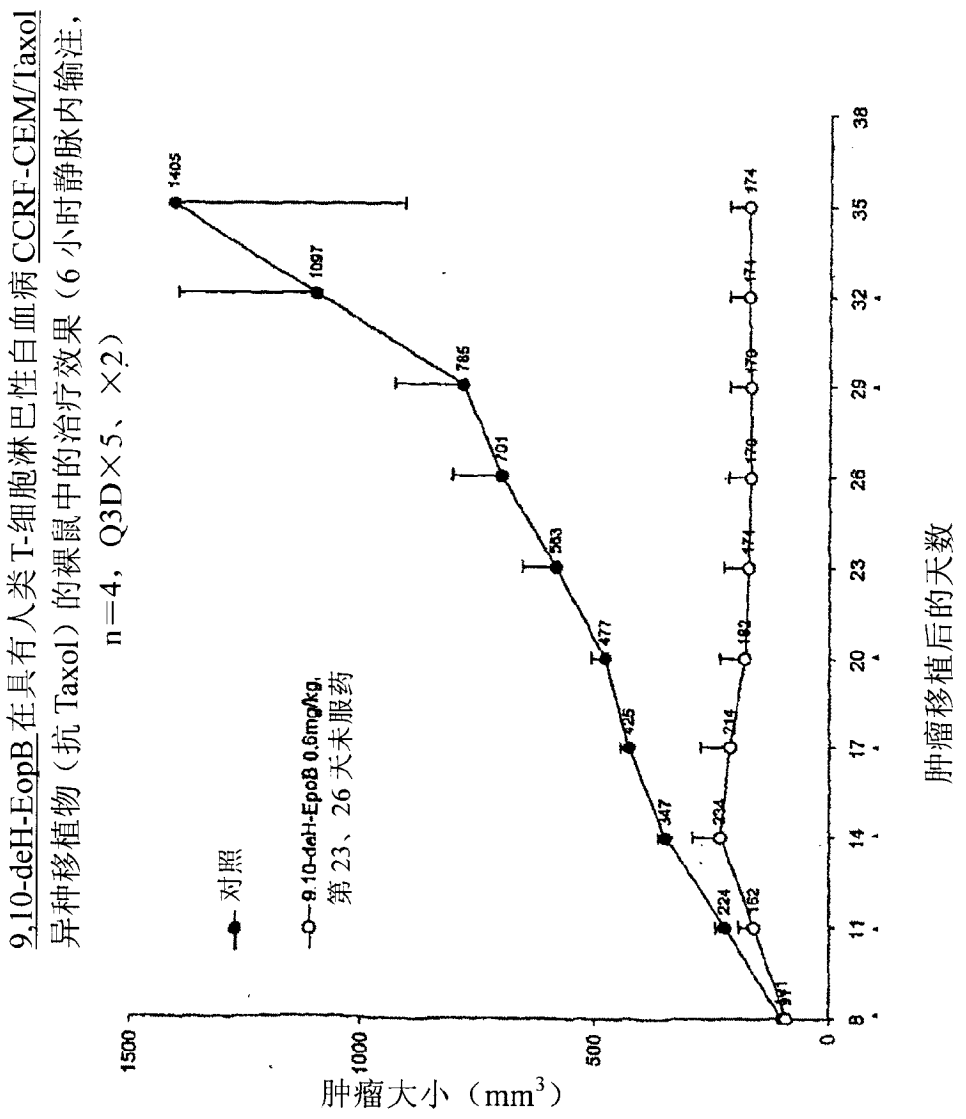

9,10-deH-EopB 在具有人类 T-细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM/Taxol 异种移植物（抗 Taxol）的裸鼠中的治疗效果（6 小时静脉内输注，n=4，Q3D×5、×2）
对照
9,10-deH-EpoB 0.6mg/kg，第 23、26 天未服药
肿瘤大小（mm³）
肿瘤移植后的天数
1500
1000
500
0
8
11
14
17
20
23
26
29
32
35
38
1405
1097
785
701
563
477
425
347
224
174

图 70

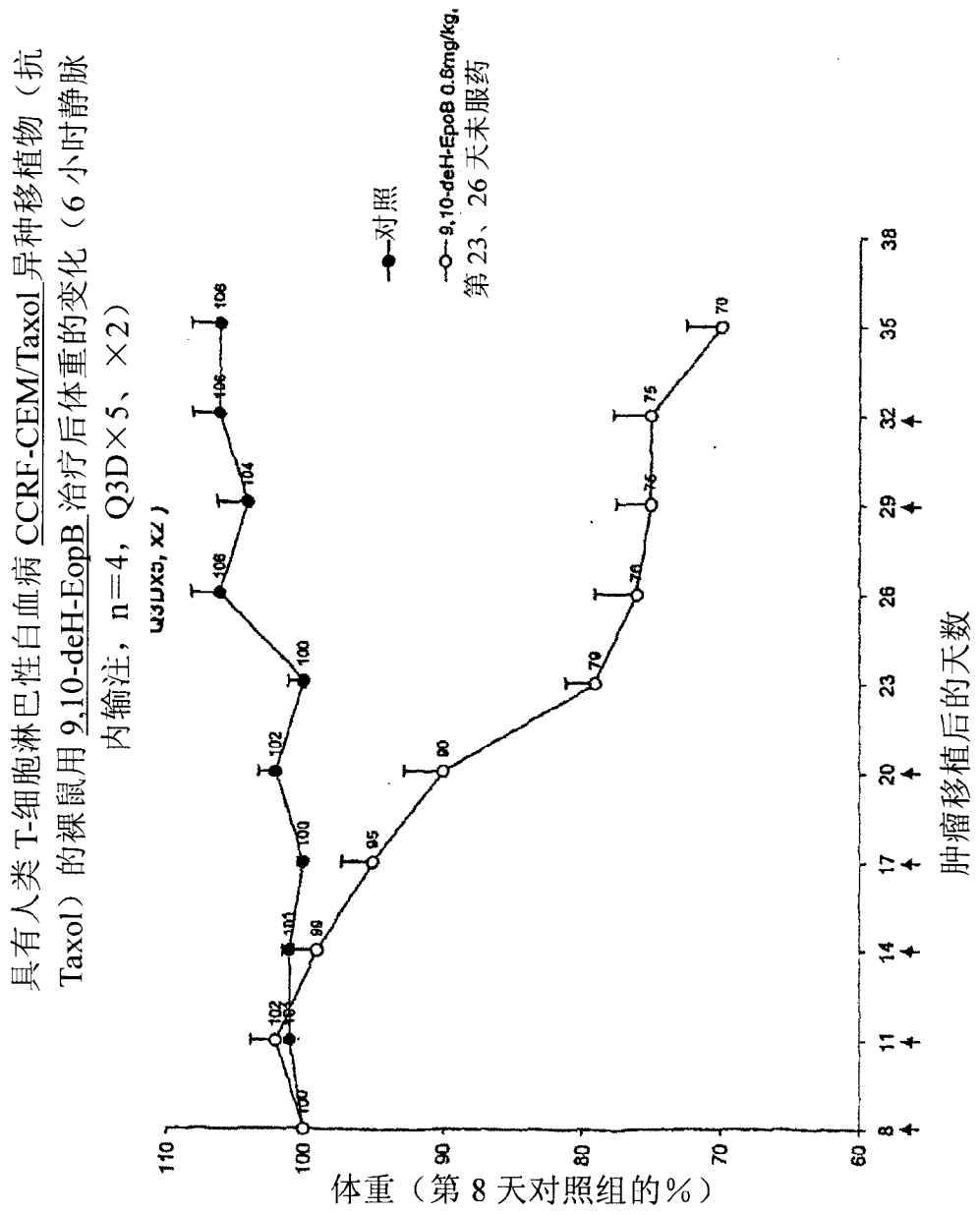

具有人类 T-细胞淋巴性白血病 CCRF-CEM/Taxol 异种移植物（抗 Taxol）的裸鼠用 9,10-deH-EopB 治疗后体重的变化（6 小时静脉内输注，n=4，Q3D×5、×2）
对照
9,10-deH-EpoB 0.6mg/kg,
第 23、26 天未服药
体重（第 8 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 71

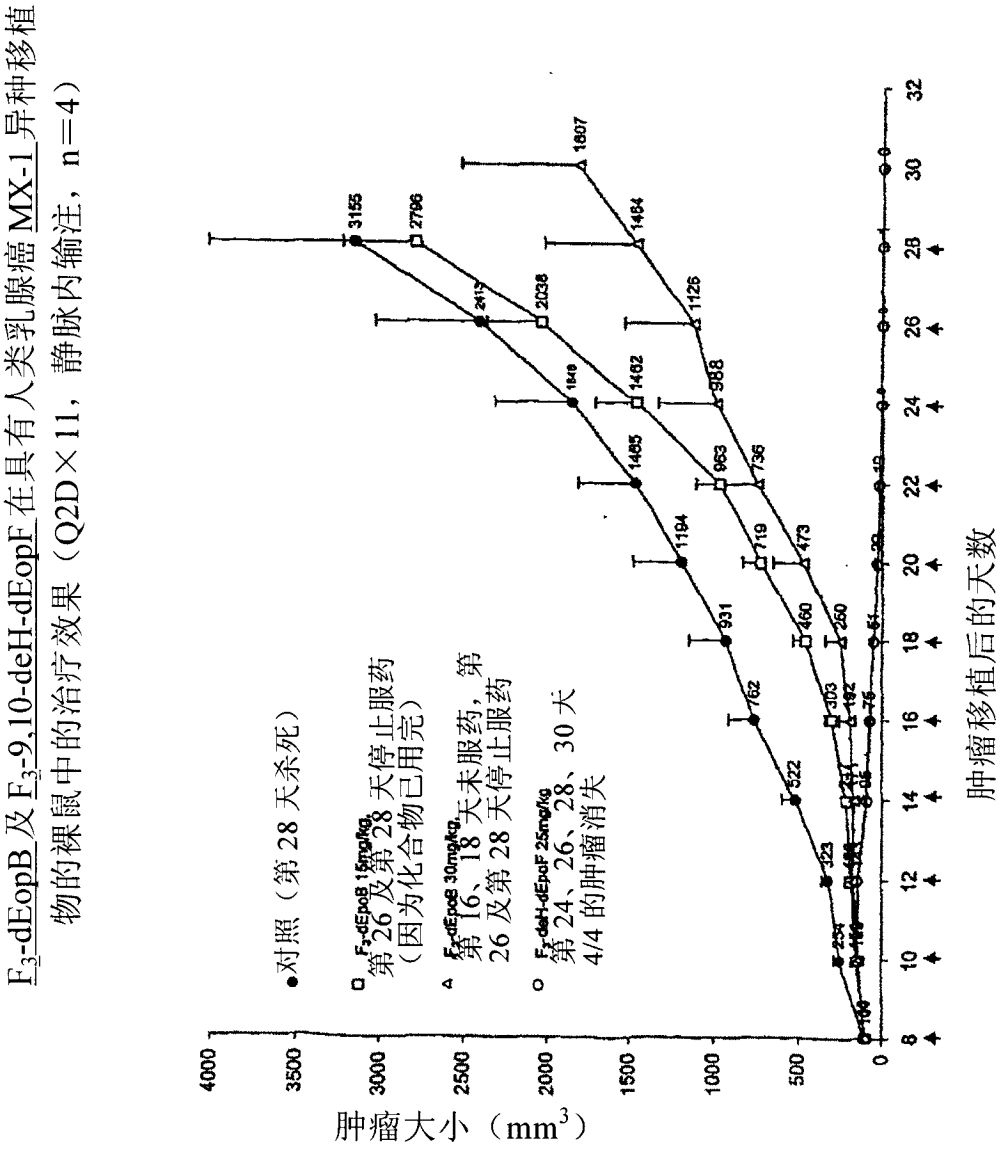

F_3-dEopB 及 F_3-9,10-deH-dEopF 在具有人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠中的治疗效果（Q2D×11，静脉内输注，n=4）
●对照（第 28 天杀死）
□ F_3-dEopB 15mg/kg
第 26 及第 28 天停止服药
（因为化合物已用完）
△ F_3-dEopB 30mg/kg
第 16、18 天未服药，第
26 及第 28 天停止服药
○ F_3-deH-dEopF 25mg/kg
第 24、26、28、30 天
4/4 的肿瘤消失
肿瘤大小（mm^3）
肿瘤移植后的天数

图 72

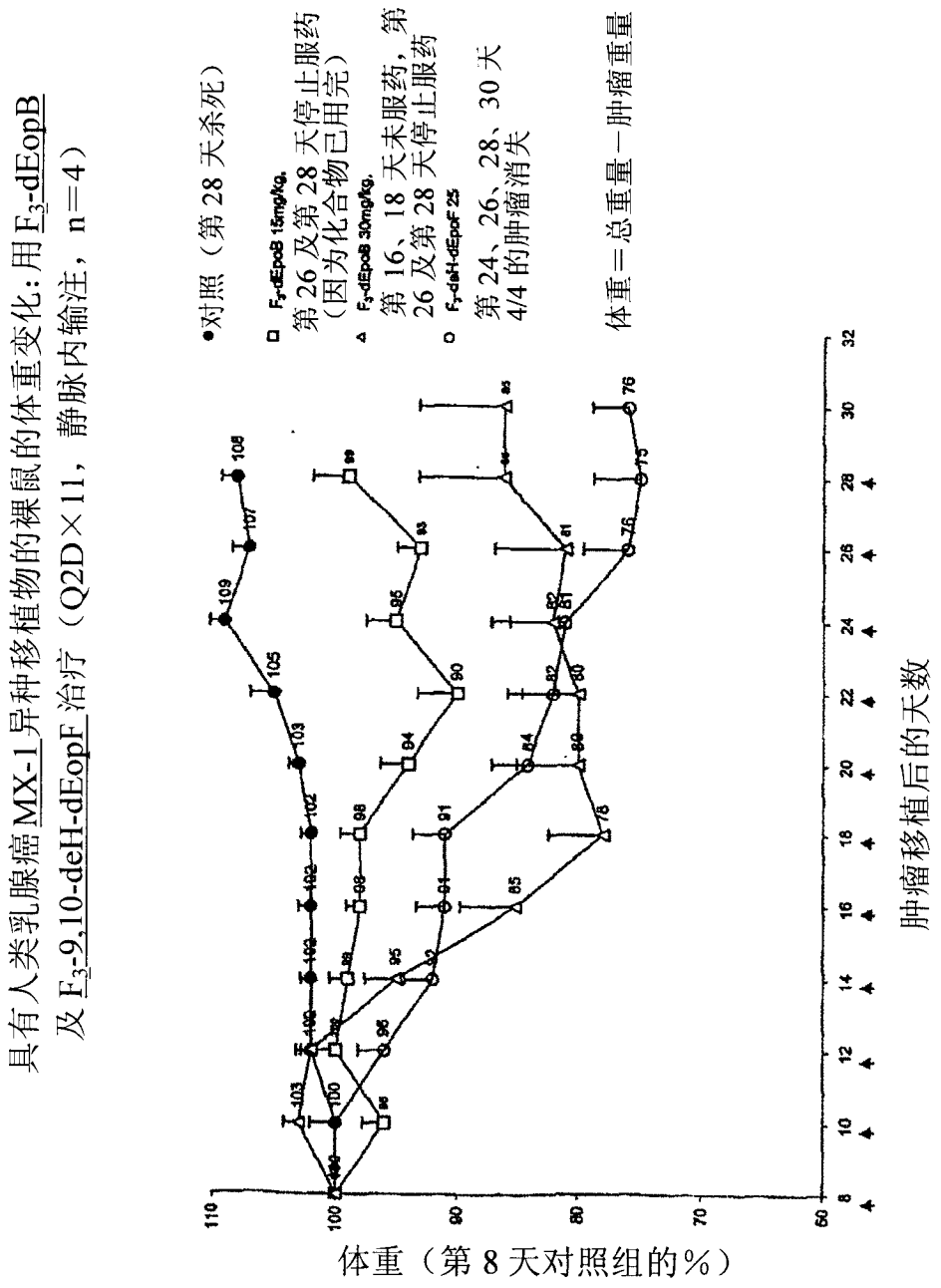

具有人类乳腺癌MX-1异种移植物的裸鼠的体重变化：用F3-dEopB及F3-9,10-deH-dEopF治疗（Q2D×11，静脉内输注，n=4）
●对照（第28天杀死）
□ F3-dEopB 15mg/kg，第26及第28天停止服药（因为化合物已用完）
△ F3-dEopB 30mg/kg，第16、18天未服药，第26及第28天停止服药
○ F3-deH-dEopF 25，第24、26、28、30天4/4的肿瘤消失
体重＝总重量－肿瘤重量
体重（第8天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 73

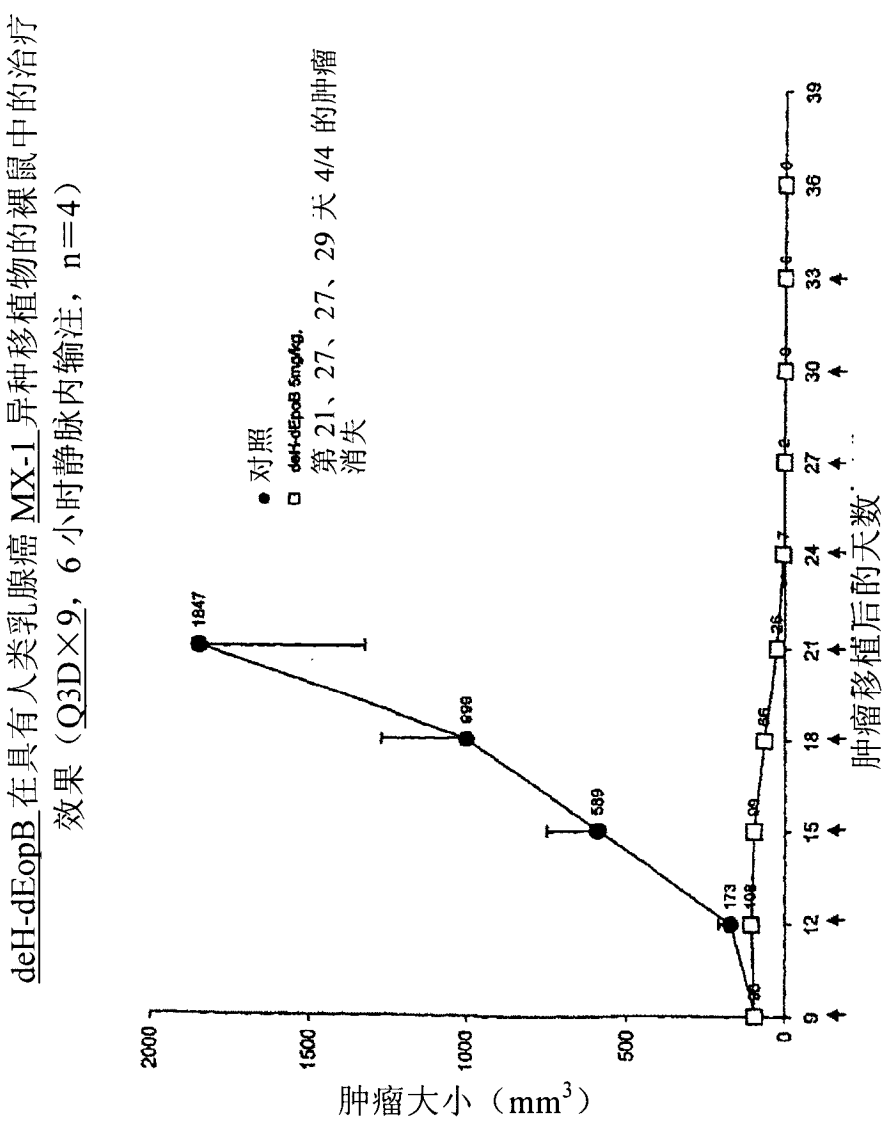

deH-dEopB 在具有人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠中的治疗效果（Q3D×9，6 小时静脉内输注，n=4）
对照
deH-dEpoB 5mg/kg.
第 21、27、27、29 天 4/4 的肿瘤消失
肿瘤大小（mm³）
肿瘤移植后的天数
2000
1500
1000
500
0
9
12
15
18
21
24
27
30
33
36
39
1847
999
589
173
108
99
66
26
7
2
0
0
0
0

图 74

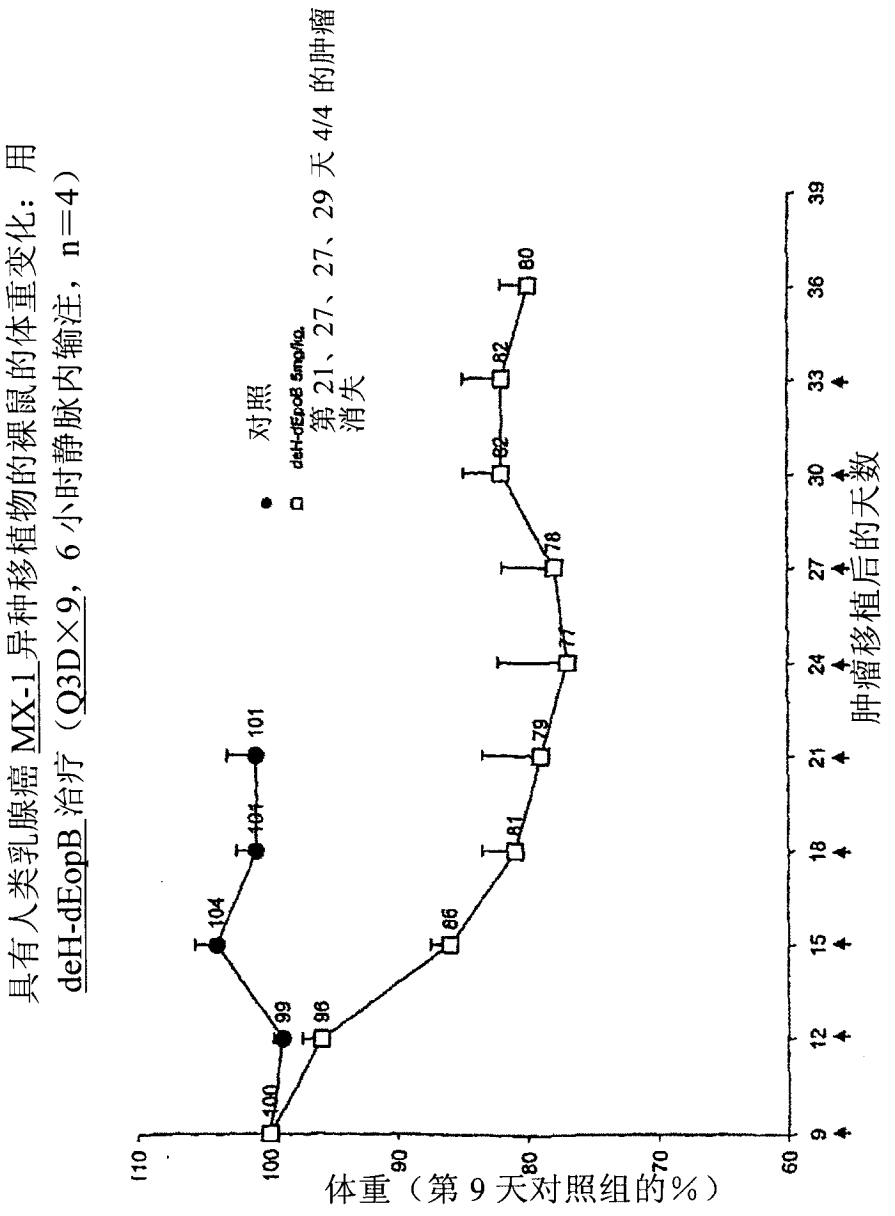

具有人类乳腺癌 MX-1 异种移植物的裸鼠的体重变化：用 deH-dEopB 治疗（Q3D×9，6 小时静脉内输注，n=4）
对照
deH-dEopB 5mg/kg
第 21、27、27、29 天 4/4 的肿瘤消失
体重（第 9 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数
110
100
90
80
70
60
9
12
15
18
21
24
27
30
33
36
39
100
99
104
101
96
86
81
79
77
78
82
82
80

图 75

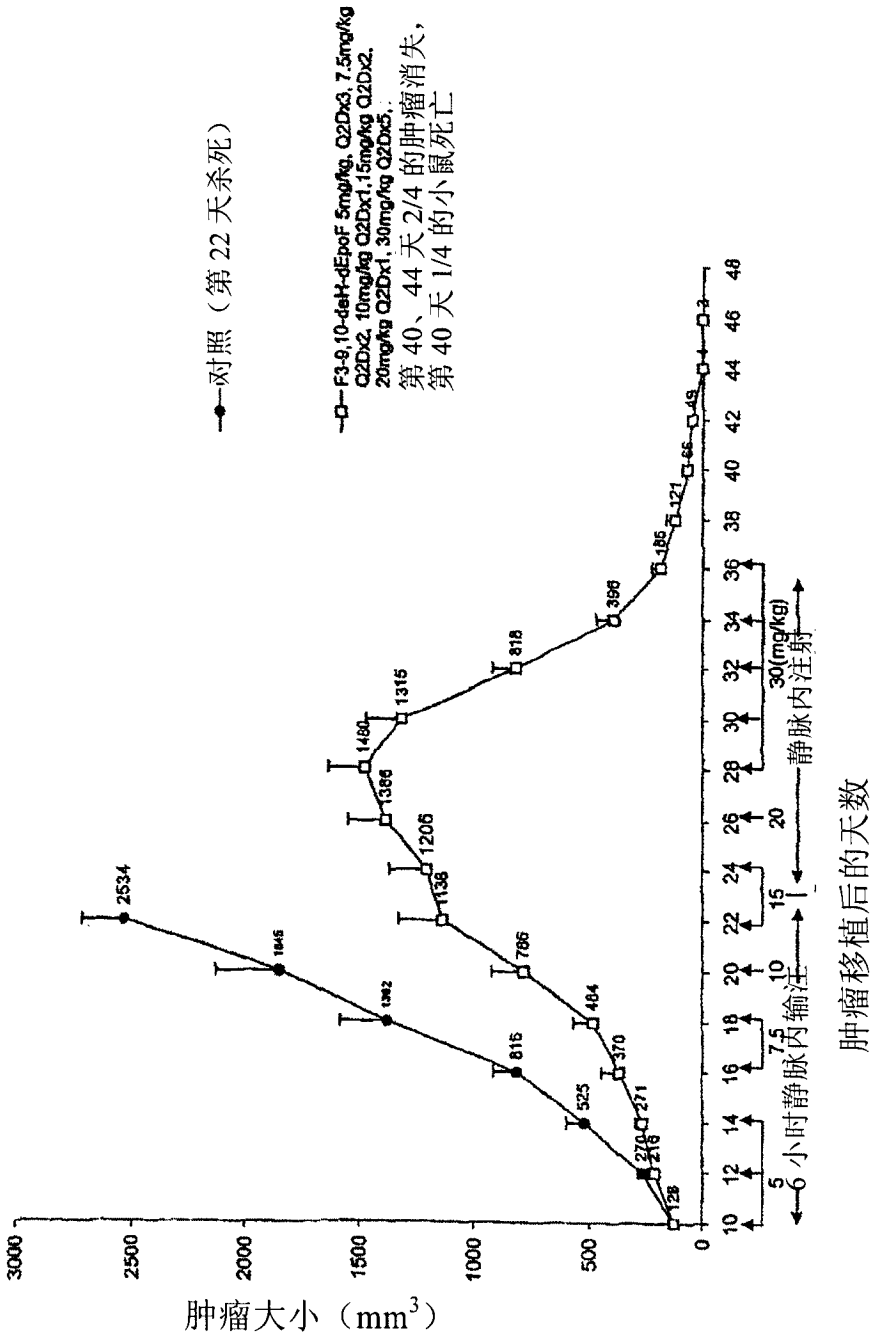

F3-9,10-deH-dEpoF（＃99）在具有人类肺癌（MX-1）异种移植物的裸鼠中的治疗效果（6小时静脉内输注及静脉内注射，n＝4）（剂量确定及增加）
对照（第22天杀死）
F3-9,10-deH-dEpoF 5mg/kg, Q2Dx3, 7.5mg/kg Q2Dx2, 10mg/kg Q2Dx1,15mg/kg Q2Dx2, 20mg/kg Q2Dx1, 30mg/kg Q2Dx5,.
第40、44天2/4的肿瘤消失，
第40天1/4的小鼠死亡
肿瘤大小（mm3）
肿瘤移植后的天数
6小时静脉内输注
静脉内注射
30(mg/kg)

图 76

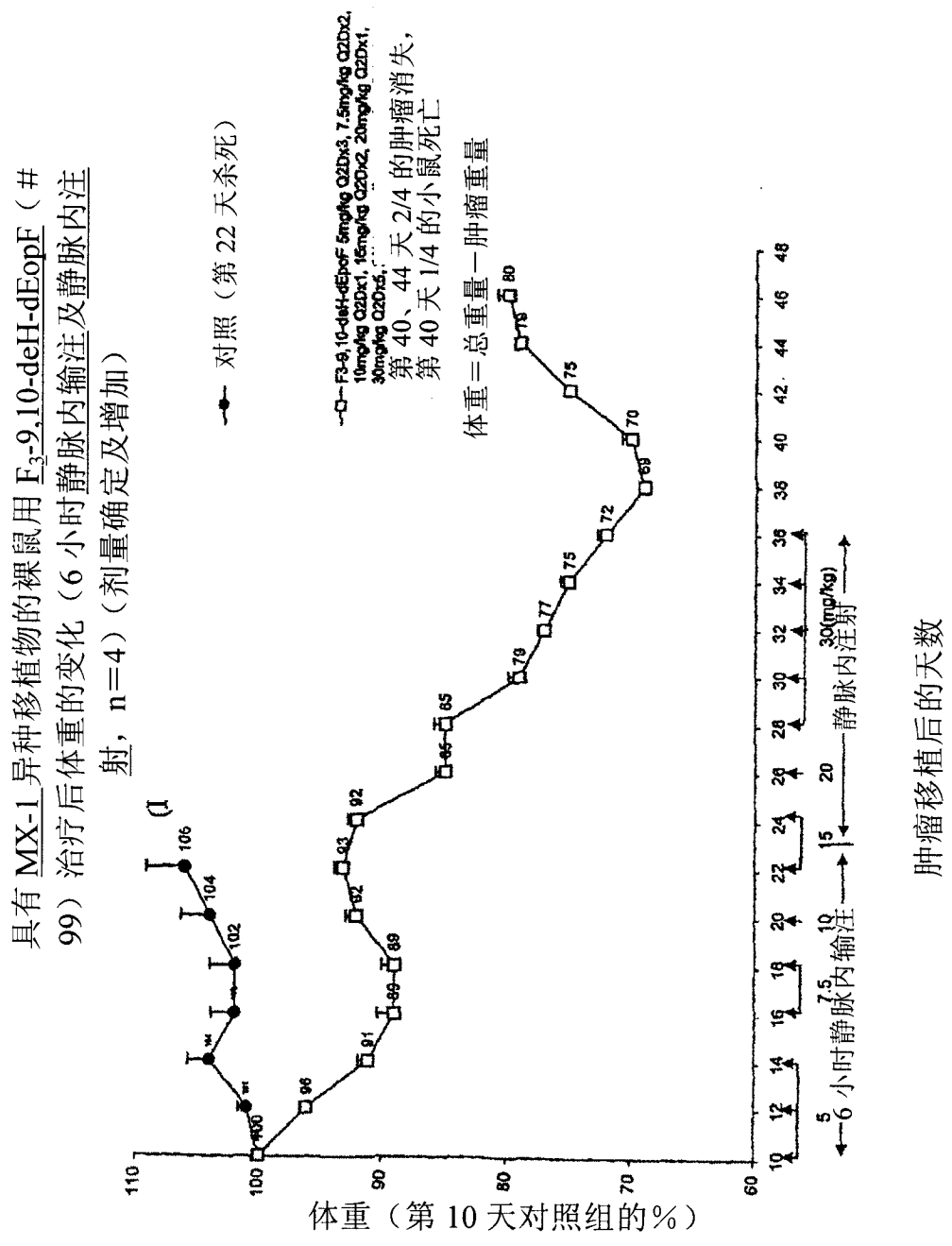

具有 MX-1 异种移植物的裸鼠用 F3-9,10-deH-dEopF（#99）治疗后体重的变化（6 小时静脉内输注及静脉内注射，n=4）（剂量确定及增加）
对照（第 22 天杀死）
F3-9,10-deH-dEboF 5mg/kg Q2Dx3, 7.5mg/kg Q2Dx2, 10mg/kg Q2Dx1, 15mg/kg Q2Dx2, 20mg/kg Q2Dx1, 30mg/kg Q2Dx5.
第 40、44 天 2/4 的肿瘤消失，第 40 天 1/4 的小鼠死亡
体重＝总重量－肿瘤重量
6 小时静脉内输注
静脉内注射
体重（第 10 天对照组的%）
肿瘤移植后的天数

图 77

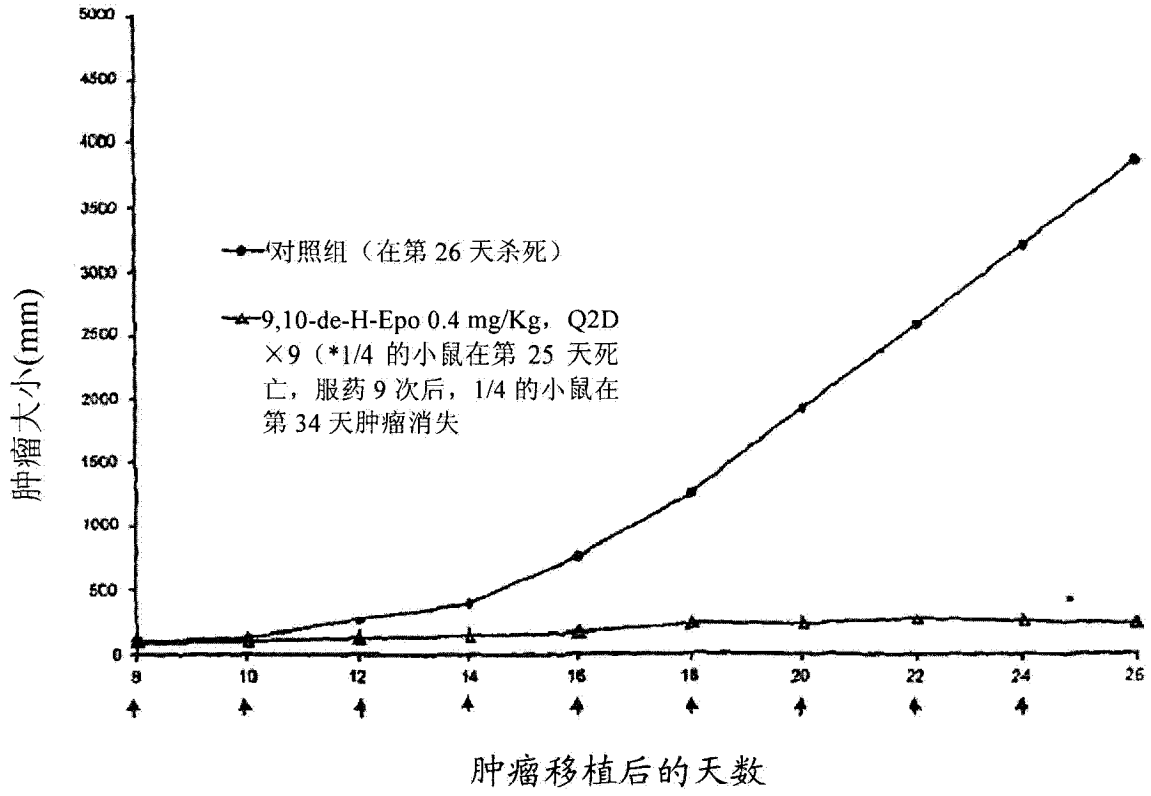

5000
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
肿瘤大小(mm)
对照组（在第 26 天杀死）
9,10-de-H-Epo 0.4 mg/Kg，Q2D ×9（*1/4 的小鼠在第 25 天死亡，服药 9 次后，1/4 的小鼠在第 34 天肿瘤消失
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
肿瘤移植后的天数

图 78