

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102219811 A

(43) 申请公布日 2011. 10. 19

(21) 申请号 201110093276. 5

(22) 申请日 2011. 04. 14

(71) 申请人 中国药科大学

地址 210009 江苏省南京市童家巷 24 号

申请人 合肥医工医药有限公司

(72) 发明人 徐云根 吴梦茜 屠哲玮 司崇静
何书英 何广卫 孙丽 卞金磊
戴宇驰

(74) 专利代理机构 南京苏科专利代理有限责任
公司 32102

代理人 孙立冰

(51) Int. Cl.

C07H 15/12(2006. 01)

C07H 1/00(2006. 01)

A61K 31/7028(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

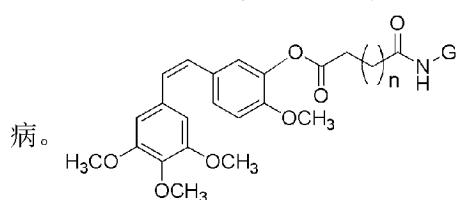
权利要求书 2 页 说明书 10 页

(54) 发明名称

CA-4 衍生物、其制法及其医药用途

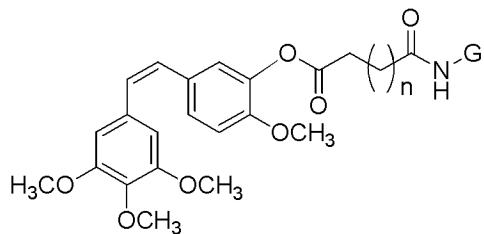
(57) 摘要

本发明涉及药物化学领域，具体涉及一类 CA-4 衍生物 (I)、它们的制备方法、以及对肿瘤血管抑制作用。药理实验证明，本发明化合物可以用于治疗各种与血管生成相关的疾病，这些疾病包括各种癌症和慢性炎症，以及其他血管原性的疾

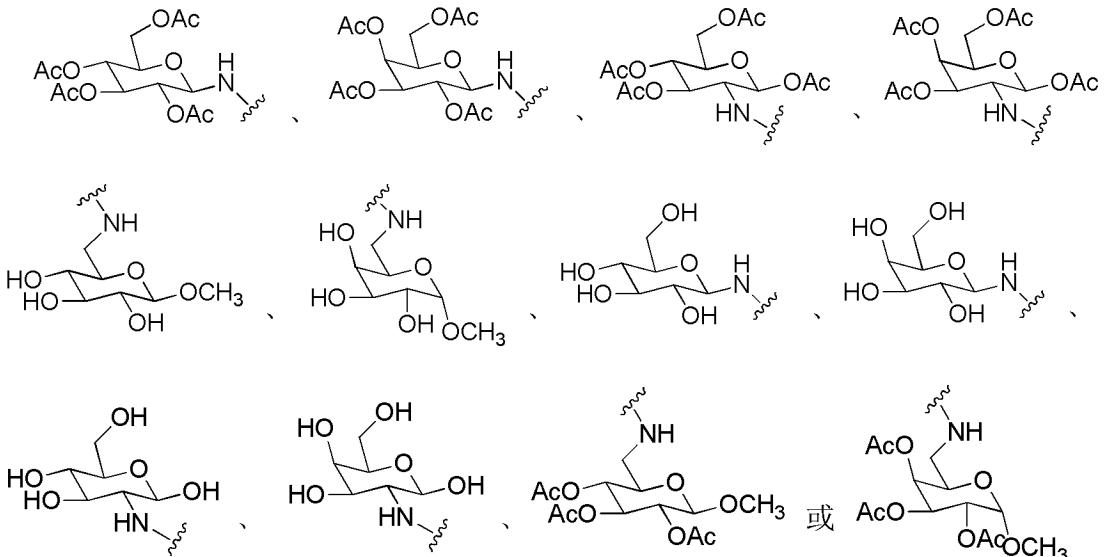


I

1. 通式 (I) 的化合物或其水合物：

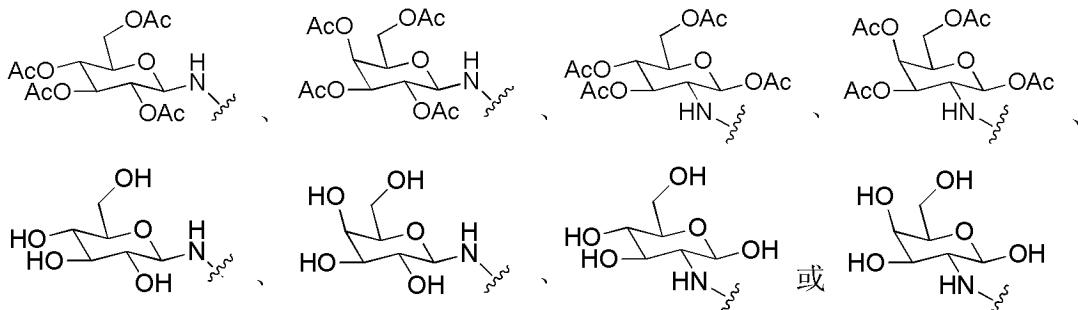


其中 G-NH- 代表：



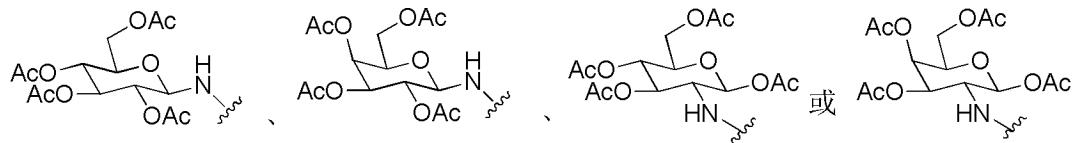
n 代表 0、1、2 或 3。

2. 权利要求 1 的化合物或其水合物, 其中 G-NH- 代表：



n 代表 1 或 2。

3. 权利要求 2 的化合物或其水合物, 其中 G-NH- 代表：



n 代表 1。

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

5. 一种药物组合物, 其中含有权利要求 1 至 3 中任一项的化合物或其水合物和药学上

可接受的载体。

6. 权利要求1至3中任一项的化合物或其水合物在制备治疗血管生成性疾病的药物中的用途。

7. 权利要求6的用途,其中血管生成性疾病是肿瘤或慢性炎症。

CA-4 衍生物、其制法及其医药用途

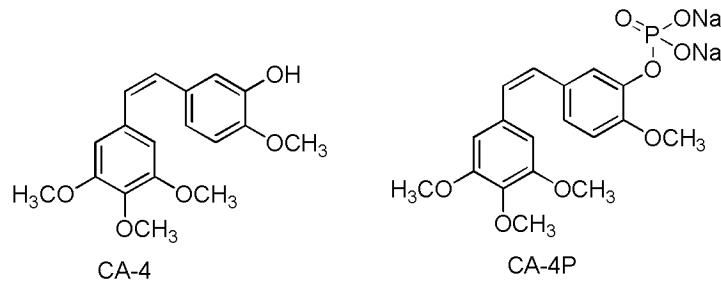
技术领域

[0001] 本发明涉及药物化学领域,具体涉及一类 Combretastatin A-4 衍生物、它们的制备方法、以及对肿瘤血管抑制作用。

背景技术

[0002] Combretastatin A-4(简称 CA-4)是 Combretastatins 类化合物中抗肿瘤活性最好的物质之一,它是从南非树木 Combretum Caffnorn 中分离出来的,能利用肿瘤组织与正常组织内皮细胞的生理差异,选择性地抑制肿瘤微管蛋白活性,改变其内皮细胞的骨架结构与形态,增强其血管渗透性、扰乱血流,从而引起肿瘤血管内皮细胞凋亡,导致次级肿瘤细胞死亡。然而 CA-4 的水溶性非常差,限制了其临床应用。而其水溶性前药 CA-4 磷酸二钠盐 (CA-4P) 已进入 III 期临床阶段。

[0003]



[0004] 根据作用机制,目前临床使用的抗肿瘤药物主要有以下四类:①直接作用于 DNA 的药物;②干扰 DNA 合成的药物;③抗有丝分裂的药物;④基于肿瘤信号传导通路的药物。前两种药物的作用强,但缺乏选择性,毒副作用大。抗有丝分裂药物作用于微管蛋白,微管蛋白抑制剂(如:长春碱和紫杉醇类)作为抗肿瘤药物在临幊上取得了良好的疗效,但也存在抗瘤谱窄、毒性较大、较易产生耐药性等缺点。但某些微管蛋白抑制剂在使用间隙或停药后,原本受到抑制的正常细胞在药物代谢或清除后可恢复细胞周期,而在某些肿瘤细胞由于突变损害过早地灭活纺锤体检查点而使肿瘤细胞停止分裂,从而显示出一定的选择性。基于肿瘤信号传导机制(靶向)的抗肿瘤药物具有毒性低、副作用少等优点。但由于存在血管生成援救反应以及癌症基因突变的易发性和复杂性,导致目前已有的基于肿瘤信号传导通路的单靶点或多靶点 TAI 易产生耐药性,从而影响它们的临幊使用效果。因此,开发基于不同作用机制的多靶点血管生成抑制剂,有可能获得高效、低毒、低耐药性的新型抗肿瘤药物。

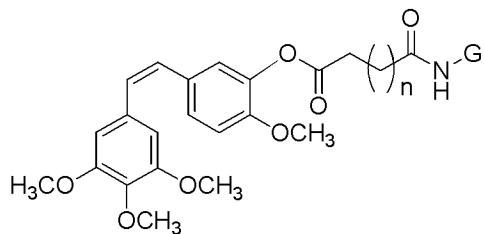
发明内容

[0005] 本发明公开了一类通式 I 的化合物及其水合物,其结构特征是 CA-4 分子中的羟基通过丁二酸(或丙二酸、戊二酸或己二酸)连接臂与氨基糖分子中的氨基偶联,得到多靶点血管生成抑制剂。药理实验显示,本发明的化合物对人脐静脉内皮细胞增殖具有较强的抑制作用。因此,本发明的式 I 化合物及其含结晶水的化合物可以用于治疗各种与血管生成

相关的疾病，这些疾病包括各种癌症和慢性炎症，以及其它血管原性的疾病。

[0006] 本发明的化合物通式 I 如下：

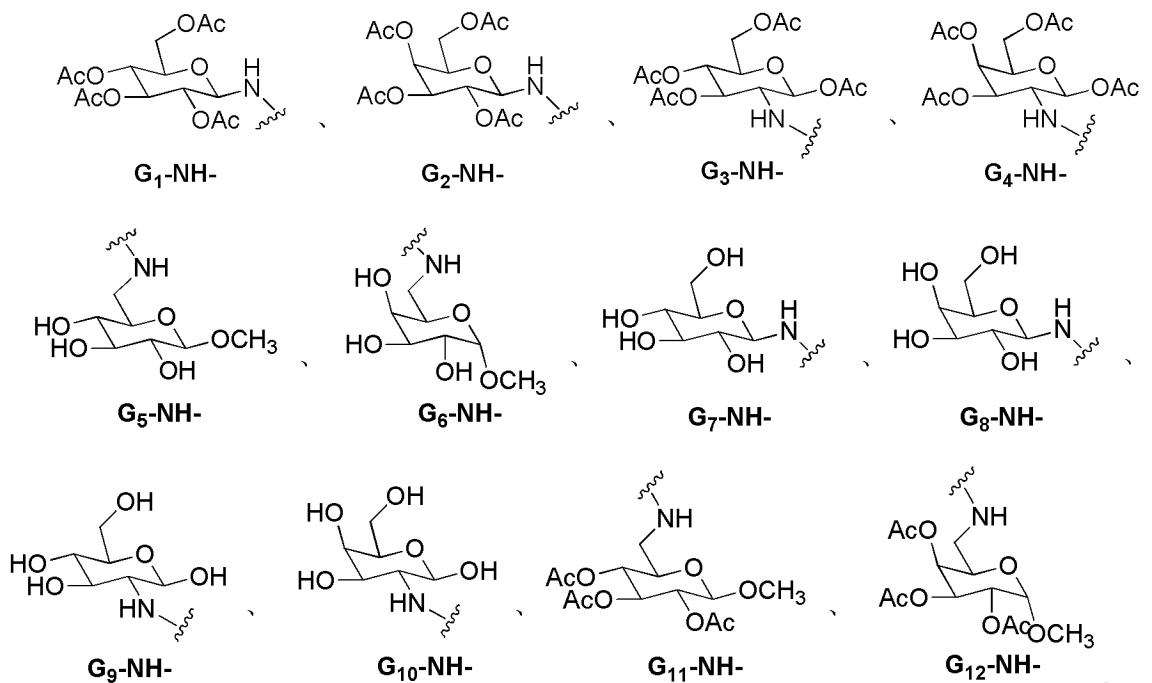
[0007]



I

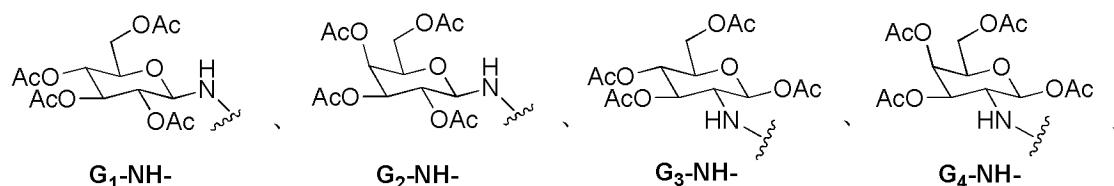
[0008] 其中 G-NH- 代表以下任一结构：

[0009]

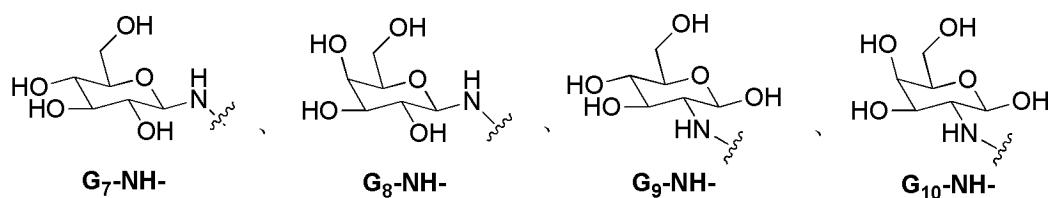


[0010] 其中 G-NH- 优选代表以下任一结构：

[0011]

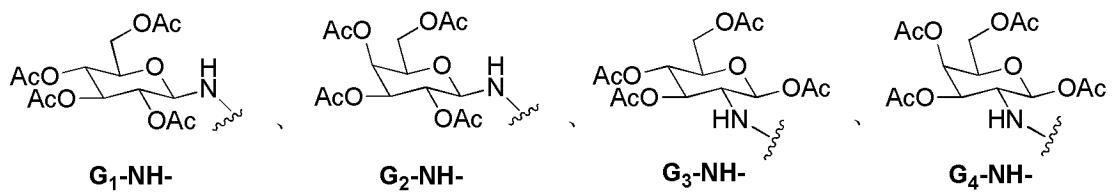


[0012]



[0013] G-NH- 进一步优选代表以下任一结构：

[0014]



[0015] 其中 n 代表 :0、1、2 或 3。

[0016] n 优选代表 :1 或 2。

[0017] n 进一步优选代表 :1。

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

[0019] 本发明部分化合物是 :

[0020] N-(2,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -1- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-3-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-3- 氧代丙酰胺 (I-1)

[0021] N-(2,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -1- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-2)

[0022] N-(2,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -1- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-5-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-5- 氧代戊酰胺 (I-3)

[0023] N-(2,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -1- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-3-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-3- 氧代丙酰胺 (I-4)

[0024] N-(2,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -1- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-5)

[0025] N-(2,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -1- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-5-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-5- 氧代戊酰胺 (I-6)

[0026] N-(1,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -2- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-7)

[0027] N-(1,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -2- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-5-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-5- 氧代戊酰胺 (I-8)

[0028] N-(1,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -2- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-6-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-6- 氧代己酰胺 (I-9)

[0029] N-(1,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -2- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-10)

[0030] N-(1,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -2- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-5-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-5- 氧代戊酰胺 (I-11)

[0031] N-(1,3,4,6- 四 -0- 乙酰基 -2- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-6-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-6- 氧代己酰胺 (I-12)

[0032] N-(6- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-13)

[0033] N-(6- 脱氧 - α -D- 吡喃半乳糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基) 苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-14)

[0034] N-(1- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基 -5' -(3",4",5"- 三甲氧

基苯乙烯基)苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-15)

[0035] N-(1- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-5-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-5- 氧代戊酰胺 (I-16)

[0036] N-(1- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-6-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-6- 氧代己酰胺 (I-17)

[0037] N-(1- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-18)

[0038] N-(1- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-5-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-5- 氧代戊酰胺 (I-19)

[0039] N-(2- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-20)

[0040] N-(2- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-5-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-5- 氧代戊酰胺 (I-21)

[0041] N-(2- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-22)

[0042] N-(2- 脱氧 - β -D- 吡喃半乳糖基)-5-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-5- 氧代戊酰胺 (I-23)

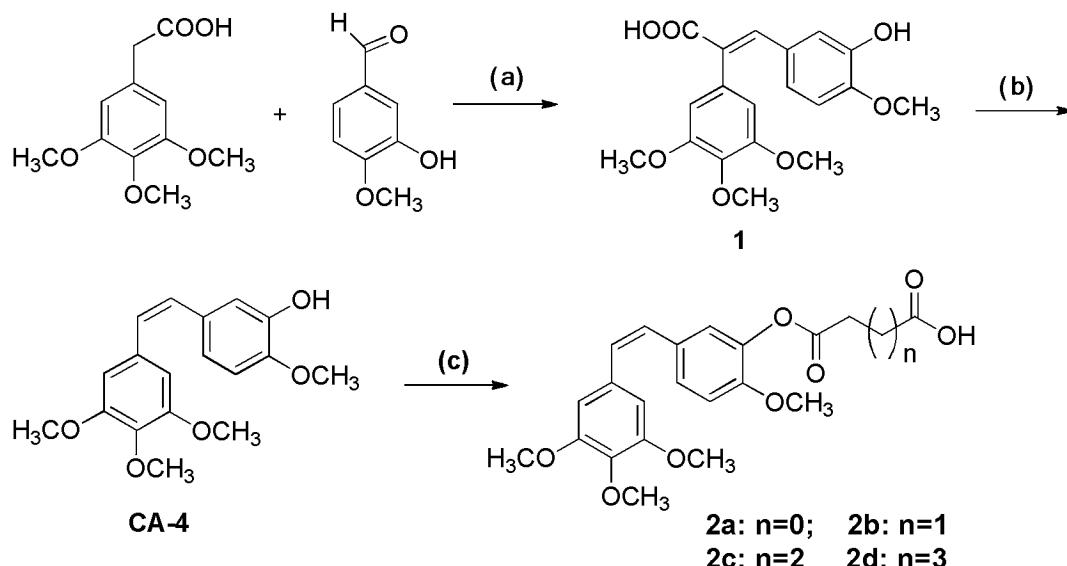
[0043] N-(1,2,3,4- 四 -0- 乙酰基-6- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-24)

[0044] N-(1,2,3,4- 四 -0- 乙酰基-6- 脱氧 - α -D- 吡喃半乳糖基)-4-((Z)2' - 甲氧基-5' -(3",4",5"- 三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4- 氧代丁酰胺 (I-25)

[0045] 本发明通式化合物 (I) 的制备方法如下：

[0046] 其中关键中间体 2 的制备方法如下：

[0047]



[0048] (a) 溶剂为乙酸酐；催化剂为三乙胺。

[0049] (b) 溶剂为喹啉；催化剂为铜粉。

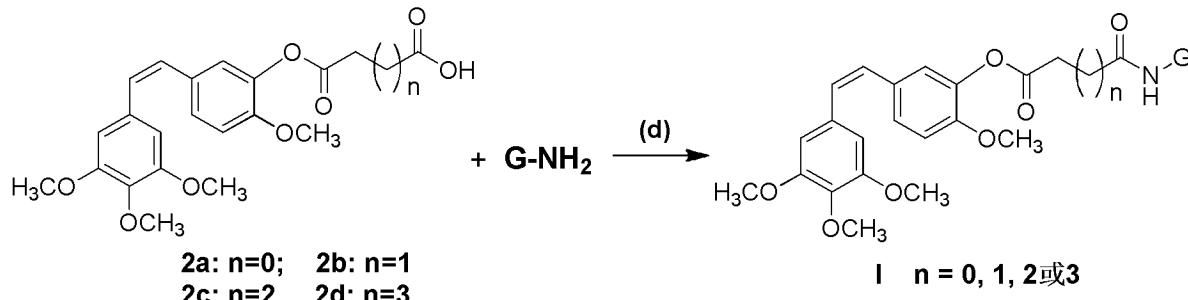
[0050] (c) 反应物为丙二酸酐、丁二酸酐、戊二酸酐或己二酸酐；溶剂为丙酮、乙腈或四

氢呋喃；催化剂为三乙胺、碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钾、碳酸氢钠、氢氧化钾、氢氧化钠、氢化钠或氨基钠。

[0051] 目标化合物 I 的制备方法如下：

[0052] (1) 当 $G-NH_2 = G_1-NH_2 \sim G_6-NH_2$ 时，合成路线如下：

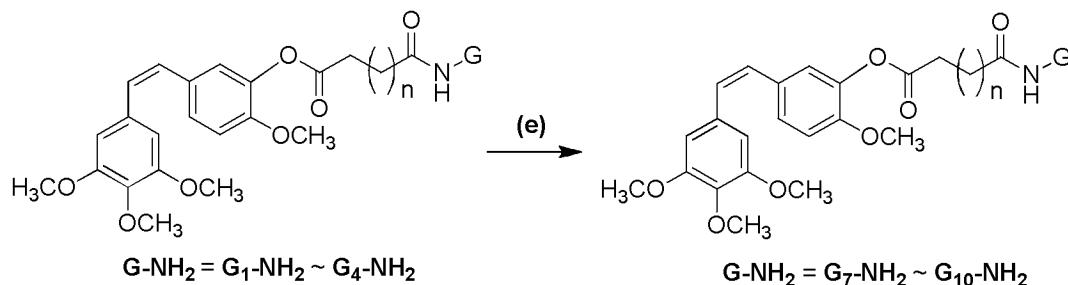
[0053]



[0054] (d) 反应物为草酰氯，或二氯亚砜，或三乙胺和 EDCI/HOBt；溶剂为 DMF。

[0055] (2) 当 $G-NH_2 = G_7-NH_2 \sim G_{10}-NH_2$ 时，合成路线如下：

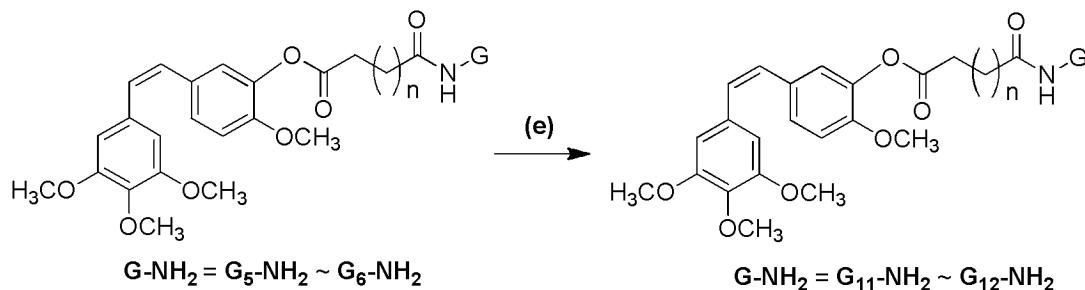
[0056]



[0057] (e) 反应物为甲醇钠或乙醇钠；溶剂为甲醇或乙醇。

[0058] (3) 当 $G-NH_2 = G_{11}-NH_2 \sim G_{12}-NH_2$ 时，合成路线如下：

[0059]



[0060] (f) 反应物为醋酐，三乙胺和 4-DMAP；溶剂为吡啶或三乙胺。

[0061] 以下是本发明部分化合物的药理试验及结果。

[0062] 本发明部分化合物在常氧状态下对血管内皮细胞增殖抑制活性的测试方法如下：

[0063] 材料：人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 细胞株。

[0064] 检测原理：

[0065] 活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性 MTT 还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲瓒 (Formazan) 并沉积在细胞中，而死细胞无此功能。二甲基亚砜 (DMSO) 能溶解细胞中的甲瓒，用酶联免疫检测仪在 570nm 波长处测定其光吸收值，可间接反映活细胞数量。吸光

值越小说明被测化合物对人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 抑制作用越强,活性越好。

[0066] 溶液配制 :

[0067] (1) PBS 溶液

[0068] NaCl 8.00g, KCl 0.20g, $\text{Na}_2\text{HPo}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 3.49g, KH_2PO_4 0.20g, 加三蒸水溶解后, 定容至 1000ml, 高压灭菌后 4℃保存备用。

[0069] (2) 0.25% 胰蛋白酶溶液

[0070] 称取胰蛋白酶 0.25g, 加入 PBS 溶液液, 磁力搅拌器上搅拌使其完全溶解, 定容至 100ml, 过滤除菌后 -20℃保存备用。

[0071] (3) 噻唑兰 (MTT) 溶液

[0072] 称取 MTT 50mg, 加入 PBS 使其终体积为 10ml, 磁力搅拌器上搅拌使其完全溶解后, 过滤除菌, 4℃避光保存, 两周内使用有效。

[0073] 稀释方法 : 使用前用二甲亚砜 (DMSO) 将所有被测化合物粉末均配制为 10^{-2}M 的浓度的母液, 临用前用细胞培养液配成所需浓度。

[0074] 操作流程 :

[0075] 使用噻唑兰 (MTT) 法进行测定, 主要步骤如下 :

[0076] (1) 取处于指数生长期状态良好的人静脉内皮细胞 (HUVEC) 一瓶, 加入 0.25% 胰蛋白酶消化液, 消化 1 ~ 2min, 倒置显微镜下可见胞质回缩、细胞变圆、细胞间隙清晰时, 立即翻转培养瓶, 加入少许含 10% 新生牛血清的 DMEM 培养液终止消化, 缓缓吹下瓶壁的细胞, 制成细胞悬液。

[0077] (2) 取细胞悬液接种于 96 孔板上, $100 \mu\text{l}/\text{孔}$, 每孔约 5000 个细胞, 置恒温 CO₂ 培养箱中培养 24 小时。

[0078] (3) 将细胞对照组 (含 10% 胎牛血清的 DMEM)、加药组 (含 10% 胎牛血清的 DMEM 和最终浓度分别为 10^{-5}mol/L 、 $10^{-6}\mu\text{mol/L}$ 、 $10^{-7}\mu\text{mol/L}$ 的待检测药物), $100 \mu\text{l}/\text{孔}$, 培养 24 小时。

[0079] (4) 每孔加入 5mg/ml 的 MTT 溶液 $20 \mu\text{l}$, 37℃孵育 4h。

[0080] (5) 吸去上清液, 加入 DMSO, $150 \mu\text{l}/\text{孔}$, 平板床上振摇 5 分钟。

[0081] (6) 用酶联免疫检测仪在波长为 570nm 处测定每孔的吸光值。

[0082] 表 1. 本发明部分化合物抑制人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 增殖的 $\text{IC}_{50}(\text{mol/L})$

[0083]

被测化合物	$\text{IC}_{50}(\text{mol/L})$	被测化合物	$\text{IC}_{50}(\text{mol/L})$
CA-4	3.43×10^{-6}	I-10	2.20×10^{-6}
I-2	4.68×10^{-7}	I-13	1.26×10^{-7}
I-5	1.12×10^{-6}	I-14	8.23×10^{-7}
I-7	3.37×10^{-7}		

[0084] 表 1 中化合物代号对应的化学结构同实施例。

[0085] 药理测试结果表明, 本发明的部分化合物, 如 I-2、I-5、I-7、I-10、I-13 和 I-14 对

人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 的增殖有明显的抑制作用，并且药效优于 CA-4。

[0086] 本发明还提供了一种治疗与血管生成相关的疾病的药物组合物，其中含有治疗有效量的通式 I 化合物和药学上可接受的载体。所述药物组合物可以是普通片剂或胶囊、缓释片剂或胶囊、控释片剂或胶囊、口服液、注射剂等制剂学上常规的制剂形式。

[0087] 一般地，本发明的 CA-4 衍生物用于治疗时，人用剂量范围为 1mg ~ 5000mg/ 天。也可根据剂型的不同和疾病严重程度，使用剂量超出该范围。

具体实施方式

[0088] 实施例 1

[0089] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2'-甲氧基-5'-(3",4",5"-三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4-氧代丁酰胺 (I-2) 的制备

[0090] (E)-3-(3'-羟基-4'-甲氧基)苯基-2-(3",4",5"-三-甲氧基)苯基-丙烯酸 (1)

[0091] 在 500ml 三颈瓶中加入 3,4,5-三甲氧基苯乙酸 (50g, 0.22mol)、3-羟基-4-甲氧基苯甲醛 (34g, 0.22mol)、62.5ml 三乙胺和 150ml 乙酸酐，搅拌升温至 140℃，反应 4h，停止加热，冷却至 10℃，缓慢滴加浓盐酸 200ml，室温下过夜。有土黄色固体析出，停止反应过滤出固体，用约 100ml 乙醇重结晶，得黄色针状物纯品 47.5g，产率为 61%，m.p. 184 ~ 186℃ (文献值：184 ~ 186℃ [Bioorg. Med. Chem., 2005, 13 (11) :3853-3864])

[0092] ¹H NMR (300MHz, DMSO), δ (ppm) : 12.42 (1H, s, COOH), 8.95 (1H, s, OH), 7.57 (1H, s, = CH), 6.81 (1H, d, J = 8.7Hz, 5' -ArH), 6.61 (1H, dd, J = 2.1Hz, J = 8.4Hz, 6' -ArH), 6.54 (1H, d, J = 2.1Hz, 2' -ArH), 6.44 (2H, s, 2" & 6" -ArH), 3.73 (3H, s, OCH₃), 3.72 (3H, s, OCH₃), 3.69 (6H, s, 2×OCH₃).

[0093] (Z)-3",4',4",5"-四甲氧基-3'-羟基二苯乙烯 (CA-4)

[0094] 在装有温度计、回流冷凝管、干燥管的 500mL 三颈瓶中加入 1 (7.2g, 20mmol)，铜粉 6.6g (0.103mol)，喹啉 72ml，反应加热至 200℃，搅拌 3h。反应完毕后加入乙醚适量，用硅藻土滤除铜粉。用 300ml 5MHC1 把吡啶洗掉，用乙醚 150ml 萃取，将分出的水层用乙醚洗 (3×150ml)，合并有机层。有机层分别用 500ml 水洗一次，饱和 Na₂CO₃ (2×300ml) 洗两次，饱和 NaCl (2×300ml) 洗两次，无水 Na₂SO₄ 干燥过夜。滤去硫酸钠，减压旋掉 2/3 体积的乙醚，有微黄色固体析出，滤出固体并用适量乙醚洗涤，回收母液，再除去部分溶剂，将析出的固体滤出，共得产物 5.0g，产率 79%，m.p. 116 ~ 117℃ (文献值：116℃ [J. Org. Chem., 2001, 66 (24) :8135-8138])

[0095] ¹H NMR (300Hz, CDCl₃) : δ 6.92 (1H, d, J = 2.1Hz, 2' -ArH), 6.82 (1H, dd, J = 8.4Hz, 2.1Hz, 6' -ArH), 6.74 (1H, d, J = 8.1Hz, 5' -ArH), 6.53 (2H, s, 2" & 6" -ArH), 6.47 (1H, d, J = 12.6Hz, 1a-H), 6.41 (1H, d, J = 12.6, 1a' -H), 5.68 (1H, s, OH), 3.87 (3H, s, 4' -ArOCH₃), 3.84 (3H, s, 4" -ArOCH₃), 3.70 (6H, s, 3" & 5" -ArOCH₃).

[0096] (Z)-4(2'-甲氧基-5'-(3",4",5"-三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4-氧代丁酸 (2b)

[0097] 冰浴下将三乙胺 1.8ml (12.8mmol) 缓慢滴入 8ml 丙酮中，再加入 CA-4 (1g, 3.2mmol) 和丁二酸酐 (1.2g, 12mmol)，使反应温度保持在 15℃，搅拌，反应 24h，停止反

应,旋去丙酮,加适量乙酸乙酯,用1.0mol/L HCl(13ml)洗有机层,并用20ml水洗一遍,饱和NaCl(2×20ml)洗,无水MgSO₄干燥2h,过滤,旋干溶剂,用乙醚溶解粗品,滤除不溶物,旋去溶剂,将析出的固体过滤,用少量乙醚洗涤,得类白色固体粉末0.8g,产率60.0%,m.p.107~110℃。

[0098] ¹H NMR(300Hz, CDCl₃) : δ 7.11(1H, dd, J = 8.4Hz, 1.8Hz, 4' -ArH), 6.97(1H, d, J = 1.2Hz, 6' -ArH), 6.84(1H, d, J = 8.4Hz, 3' -ArH), 6.46(2H, s, 2" & 6" -ArH), 6.42(2H, s, 1a & 1a' -H), 3.91(3H, s, 2' -ArOCH₃), 3.85(3H, s, 4" -ArOCH₃), 3.71(6H, s, 3" & 5" -ArOCH₃), 2.85(2H, t, J = 6.0Hz COCH₂CH₂COOH), 2.76(2H, t, J = 6.0Hz COCH₂CH₂COOH).

[0099] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2'-甲氧基-5'-(3",4",5"-三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4-氧代丁酰胺(I-2)

[0100] 将G₁-NH₂, HCl(0.77g, 2mmol)溶于DMF(7ml),缓慢滴加干燥的三乙胺(0.28ml, 2mmol),然后依次分批加入2b(0.83g, 2mmol), EDCI(0.38g, 2mmol), HOBT(0.27g, 2mmol),室温搅拌24h。反应液加入二氯甲烷(70ml),饱和食盐水洗(3×70ml),干燥,抽滤,减压蒸除溶剂,硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=3/2),得微黄色固体0.86g,收率57.7%,m.p.83~85℃;

[0101] ¹H-NMR(300MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.11(1H, dd, J = 8.4Hz, J = 1.8Hz, 4' -ArH), 7.00(1H, d, J = 1.8Hz, 6' -ArH), 6.82(1H, d, J = 8.7Hz, 3' -ArH), 6.49(2H, s, 2" & 6" -ArH), 6.45(2H, s, 1aH&1a' H), 6.34(1H, d, J = 9Hz, NH), 5.33~5.33(2H, m, H-1, H-3), 5.06(1H, t, J = 9.9Hz, H-2), 4.92(1H, t, J = 9.6Hz, H-4), 4.30(1H, dd, J = 4.2Hz, J = 12.6Hz, H-6a), 4.08(1H, dd, J = 1.2Hz, J = 12.3Hz, H-6b), 3.92~3.90(1H, m, H-5), 3.87(3H, s, 2' -OCH₃), 3.84(3H, s, 4" -OCH₃), 3.70(6H, s, 3" & 5" -OCH₃), 2.95~2.76(2H, m, NHCH₂CH₂COOH), 2.57~2.52(2H, m, CONHCH₂CH₂COOH), 2.17, 2.07, 2.05, 2.03(each 3H, each s, 4×OAc);

[0102] IR(cm⁻¹) : 3357(NH), 2944(CH), 2360, 2336, 1754(ester, C=O), 1680(amide, C=O), 1509, 1232(OCH₃), 1129(OAc), 1039(OCH₃)

[0103] MS(ESI(+)) 70eV, m/z : 763.4[M+NH₄]⁺;

[0104] MS(ESI(-)) 70V, m/z : 780.5[M+Cl]⁻

[0105] 实施例 2

[0106] N-(2,3,4,6-四-O-乙酰基-1-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-4-((Z)2'-甲氧基-5'-(3",4",5"-三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4-氧代丁酰胺(I-5)的制备

[0107] 将G₂-NH₂(0.8g, 2.3mmol)溶于DMF(12ml)。然后依次分批加入2b(0.92g, 2.3mmol), EDCI(0.44g, 2.3mmol), HOBT(0.31g, 2.3mmol),室温搅拌24h。反应液加入二氯甲烷(80ml),水洗(2×100ml),饱和食盐水洗(3×100ml),干燥,抽滤,减压蒸除溶剂,硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=3/2),得微黄色固体1.08g,收率63.0%,m.p.85~87℃;

[0108] ¹H-NMR(300MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.12(1H, dd, J = 8.4Hz, J = 1.8Hz, 4' -ArH), 7.01(1H, d, J = 1.8Hz, 6' -ArH), 6.83(1H, d, J = 8.7Hz, 3' -ArH), 6.50(2H, s, 2" & 6" -ArH), 6.45(2H, s, 1aH&1a' H), 6.38(1H, d, J = 8.7Hz, NH), 5.44(1H, s, H-4), 5.30~5.13(3H, m, H-1, H-2 and H-3), 4.11~4.03(3H, m, H-5, H-6a and H-6b), 3.84(3H, s, 2' -OCH₃), 3.80(3H, s, 4" -OCH₃), 3.70(6H, s, 3" & 5" -OCH₃), 2.99~2.84(2H, m, NHCH₂CH₂COOH), 2.58~2.54(2H, m, CONHCH₂CH₂COOH), 2.07, 2.04, 1.99, 1.98(each 3H, each s, 4×OAc);

[0109] IR (cm^{-1}) : 3369 (NH), 2944 (CH), 1751 (ester, C = O), 1699 (amide, C = O), 1508, 1229 (OCH₃), 1129 (OAc), 1054 (OCH₃)

[0110] MS (ESI (+) 70eV, m/z) : 763.4 [M+NH₄]⁺ ;

[0111] MS (ESI (-) 70V, m/z) : 780.6 [M+Cl]⁻

[0112] 实施例 3

[0113] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2'-甲氧基-5'-(3",4",5"-三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4-氧代丁酰胺 (I-7) 的制备

[0114] 将 G₃-NH₂·HCl (0.77g, 2mmol) 溶于 DMF (10ml)。缓慢滴加干燥的三乙胺 (0.28ml, 2mmol)。然后先后分批加入 2b (0.83g, 2mmol), EDCI (0.38g, 2mmol), HOBr (0.27g, 2mmol), 室温搅拌 24h。反应液加入二氯甲烷 (80ml), 水洗 (2×100ml), 饱和食盐水洗 (3×100ml), 干燥, 抽滤, 减压蒸除溶剂, 硅胶柱层析 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 2/1), 得白色固体 0.82g, 收率 55.0%, m.p. 78–79°C ;

[0115] ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.12 (1H, dd, J = 8.4Hz, J = 1.8Hz, 4' -ArH), 6.98 (1H, d, J = 1.8Hz, 6' -ArH), 6.82 (1H, d, J = 8.4Hz, 3' -ArH), 6.49 (2H, s, 2" & 6" -ArH), 6.45 (2H, s, 1aH & 1a' H), 5.73 ~ 5.68 (2H, m, NH, H-1), 5.18 ~ 5.12 (2H, m, H-3, H-4), 4.29 ~ 4.24 (2H, m, H-2 and H-6a), 4.13 ~ 4.09 (2H, m, H-6b and H-5), 3.84 (3H, s, 2' -OCH₃), 3.79 (3H, s, 4" -OCH₃), 3.70 (6H, s, 3" & 5" -OCH₃), 2.89 ~ 2.85 (2H, m, NHCH₂CH₂COOH), 2.49 ~ 2.42 (2H, m, CONHCH₂CH₂COOH), 2.15, 2.09, 2.03, 1.97 (each 3H, each s, 4×OAc) ;

[0116] IR (cm^{-1}) : 3375 (NH), 2944 (CH), 1756 (ester, C = O), 1676 (amide, C = O), 1510, 1225 (OCH₃), 1129 (OAc), 1075 (OCH₃), 1038

[0117] MS (ESI (+) 70eV, m/z) : 763.4 [M+NH₄]⁺ ;

[0118] MS (ESI (-) 70V, m/z) : 780.7 [M+Cl]⁻ ;

[0119] 实施例 4

[0120] N-(1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖基)-4-((Z)2'-甲氧基-5'-(3",4",5"-三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4-氧代丁酰胺 (I-10) 的制备

[0121] 将 G₄-NH₂·HCl (0.77g, 2mmol) 溶于 DMF (10ml)。缓慢滴加干燥的三乙胺 (0.28ml, 2mmol)。然后先后分批加入 2b (0.83g, 2mmol), EDCI (0.38g, 2mmol), HOBr (0.27g, 2mmol), 室温搅拌 24h。反应液加入二氯甲烷 (80ml), 水洗 (2×100ml), 饱和食盐水洗 (3×100ml), 干燥, 抽滤, 减压蒸除溶剂, 硅胶柱层析 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 2/1), 得微黄色固体 0.65g, 收率 43.6%, m.p. 66–68°C ;

[0122] ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.12 (1H, dd, J = 8.4Hz, J = 1.8Hz, 4' -ArH), 6.98 (1H, d, J = 1.8Hz, 6' -ArH), 6.82 (1H, d, J = 8.7Hz, 3' -ArH), 6.49 (2H, s, 2" & 6" -ArH), 6.45 (2H, s, 1aH & 1a' H), 5.80 (1H, d, J = 9.3Hz, NH), 5.73 (1H, d, J = 8.7Hz, H-1), 5.14 (1H, s, H-4), 5.12 (1H, dd, J = 8.7Hz, J = 2.7Hz, H-3), 4.46 ~ 4.36 (1H, m, H-2), 4.20 ~ 4.08 (3H, m, H-5, H-6a and H-6b), 3.84 (3H, s, 2' -OCH₃), 3.79 (3H, s, 4" -OCH₃), 3.70 (6H, s, 3" & 5" -OCH₃), 2.87 (2H, t, J = 6.3Hz, NHCH₂CH₂COOH), 2.46 (2H, t, J = 6.3Hz, CONHCH₂CH₂COOH), 2.16 (3H, s, OAc), 2.09 (6H, s, 2×OAc), 1.93 (3H, s, OAc) ;

[0123] IR (cm^{-1}) : 3363 (NH), 2944 (CH), 1751 (ester, C = O), 1685 (amide, C = O), 1510, 1224 (OCH₃), 1128 (OAc), 1075 (OCH₃), 1042 ;

[0124] MS (ESI (+) 70eV, m/z) : 763.3 [M+NH₄]⁺;

[0125] MS (ESI (-) 70V, m/z) : 780.6 [M+C1]⁻;

[0126] 实施例 5

[0127] N-(6-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-4-((Z)2'-甲氧基-5'-(3",4",5"-三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4-氧代丁酰胺 (I-13)

[0128] 将 G₅-NH₂(0.5g, 2.6mmol) 溶于 DMF(10ml)。然后依次分批加入 2b(1.08g, 2.6mmol), EDCI(0.50g, 2.6mmol), HOBr(0.35g, 2.6mmol), 室温搅拌 24h。反应液于 80℃ 下减压蒸除溶剂, 剩余物硅胶柱层析 (二氯甲烷 / 甲醇 = 20/1), 得白色固体 0.55g, 收率 35.9%, m.p. 153 ~ 156℃。

[0129] 实施例 6

[0130] N-(6-脱氧- α -D-吡喃半乳糖基)-4-((Z)2'-甲氧基-5'-(3",4",5"-三甲氧基苯乙烯基)苯氧基)-4-氧代丁酰胺 (I-14)

[0131] 将 G₆-NH₂(0.5g, 2.6mmol) 溶于 DMF(10ml)。然后依次分批加入 2b(1.08g, 2.6mmol), EDCI(0.50g, 2.6mmol), HOBr(0.35g, 2.6mmol), 室温搅拌 24h。反应液于 80℃ 下减压蒸除溶剂, 剩余物硅胶柱层析 (二氯甲烷 / 甲醇 = 20/1), 得淡黄色固体 0.4g, 收率 26%, m.p. 136 ~ 139℃。

[0132] 实施例 7

[0133] 片剂

[0134] 取实施例 7 中所得化合物 0.5g, 淀粉 2g, 糊精 1g 混合, 用适量 30% 乙醇作湿润剂, 制粒, 压片。