

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C08B 37/00

A61K 31/715 A61P 31/18



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03150251.2

[43] 公开日 2005 年 1 月 26 日

[11] 公开号 CN 1569902A

[22] 申请日 2003.7.23 [21] 申请号 03150251.2

[71] 申请人 中国科学院生态环境研究中心

地址 100085 北京市海淀区双清路 18 号

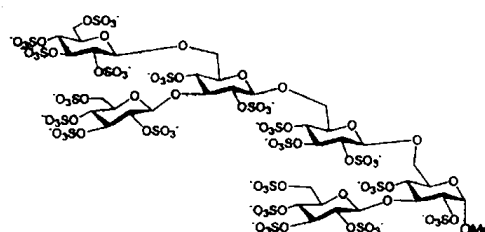
[72] 发明人 杜宇国 华玉夏 魏国华 顾国锋

权利要求书 1 页 说明书 4 页

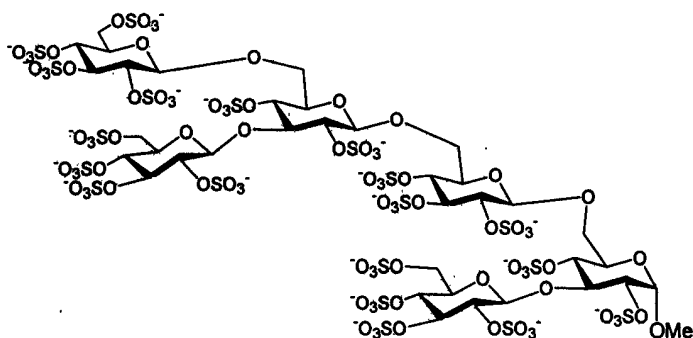
[54] 发明名称 一种活性寡糖衍生物及其制备方法

[57] 摘要

本发明涉及一种具有潜在药用价值的活性寡糖衍生物及其制备方法。已显示出的活性包括抗艾滋病病毒、抗凝血、抗肿瘤等活性。本发明公开该化合物的结构及其制备方法。该化合物是一种硫酸化寡糖类化合物，具有上图所示的结构。



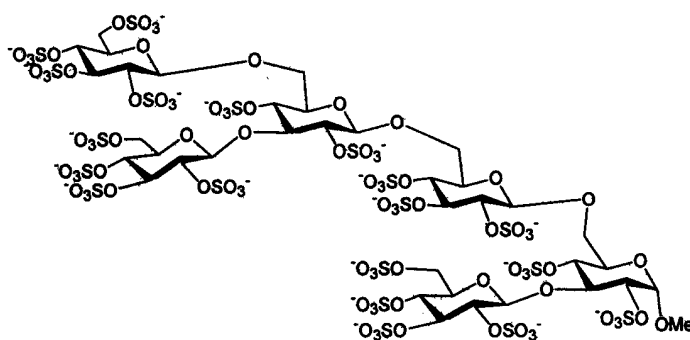
1. 一种如图所示的具有潜在药用价值的化合物。



2. 一种制备上述化合物的方法。其特征在于：三糖供体制成 1 位硫苷的衍生物 2，三糖受体制成 1 位甲基苷，6' 位硅烷化的衍生物 3。
3. 一种制备上述化合物的方法。其特征在于：由 2 和 3 在催化剂存在下，制成六糖甲基苷 4，4 用碱处理得游离寡糖 5，5 与三氧化硫-吡啶反应得硫酸化的目标六糖苷 1。
4. 权力要求 3 中的催化剂为氮碘代琥珀酰亚胺、氮溴代琥珀酰亚胺与三甲基硅基三氟甲磺酸酯或三氟化硼乙醚混合物。溶剂为无水二氯甲烷、乙腈等。反应温度为-42 到零度。
5. 权力要求 1 的化合物在医药中的应用。如作为抗艾滋病病毒的药物组分或药物组合物。
6. 权力要求 1 的化合物在医药中的应用。如作为抗凝血的药物组分或药物组合物。
7. 权力要求 1 的化合物在医药中的应用。如作为抗肿瘤的药物组分或药物组合物。

一种活性寡糖衍生物及其制备方法

硫酸酯化的多糖具有为人所知的抗爱滋病毒活性，其中硫酸酯化的 β -D-(1 $\rightarrow$ 4)-木吡喃聚糖[*Antiviral Res.*, 1998, 916, 335-343; *Antiviral Chem. Chemother.*, 1990, 11, 41-46; *J. Viral.*, 1991, 65, 1543-1550]和硫酸酯化的 β -D-(1 $\rightarrow$ 3)-吡喃葡萄糖寡糖[*Macromolecules*, 1990, 23, 3717-3722]都具有较强的体外抗爱滋病毒活性，目前已进入一期临床试验；硫酸酯化的 α -L-岩藻吡喃聚糖具有很好的抗凝血和抗肿瘤活性[*Biochem. Pharm.*, 2003, 65, 173-179]；硫酸酯化的 β -D-(1 $\rightarrow$ 3)-半乳吡喃聚糖具有抗凝血活性[*Carbohydr. Res.*, 2002, 337, 2231-2238]。基于我们以前在抗肿瘤寡糖合成的经验(中国专利申请号:001078356)，我们设计了硫酸化葡萄糖吡喃寡糖为目标化合物，通过分子表面巨大的负电荷密度实现其生物活性。所以我们的目标化合物为：甲基 2,3,4,6-四-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[2,3,4,6-四-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-2,3,4-三-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[2,3,4,6-四-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-硫酸酯- α -D-葡萄糖吡喃糖苷(如下图)。我们采用“3+3”的合成策略，以1位硫苷衍生物三糖为供体[见文献：*Org. Lett.*, 2000, 2, 3793-3800]，1位甲基苷，6'位硅烷化的三糖衍生物为受体，制备了硫酸化六糖目标化合物。



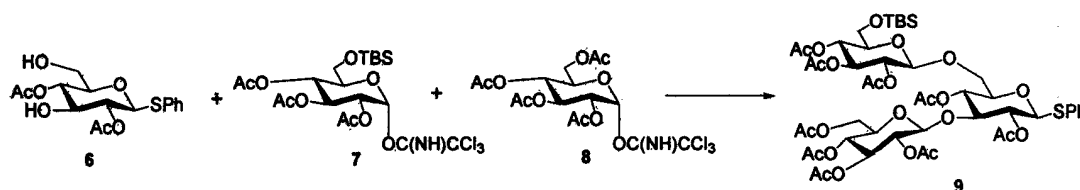
本发明的目的是提供一种新设计的非天然产物分子，提出了一种可行的合成

方法来制备目标分子，其核心是使用适当修饰过的三糖硫苷为构筑模块，使之成为可重复使用的糖基供体。

下面结合实施例对本发明进行详细地说明。

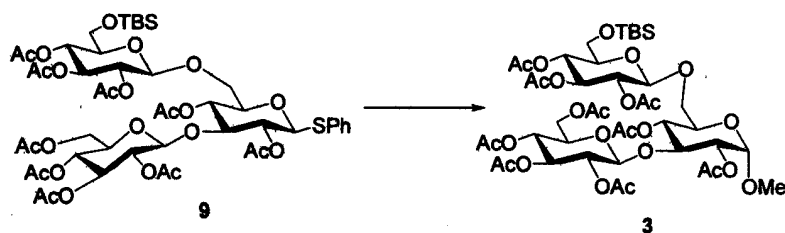
一般方法：结构检定所需的 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 和 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ COSY 谱用 Bruker ARX400 在 CDCl_3 中测得。化学位移以 Me_4Si 为内标，以 ppm 为单位表示。质谱用 MALTI-TOF-MS，用 CCA 做基质。薄层色谱 (TLC) 由 HF_{254} 硅胶板上用 30% (v/v) 的硫酸甲醇溶液活紫外检测器检测。柱色谱采用 100-200 目的硅胶，以乙酸乙酯-石油醚为淋洗液。

苯基 2,3,4-三-氧-乙酰基-6-氧-二甲基叔丁基硅基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[2,3,4,6-四-氧-乙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-氧-乙酰基-1-硫- β -D-葡萄糖吡喃糖苷(9)



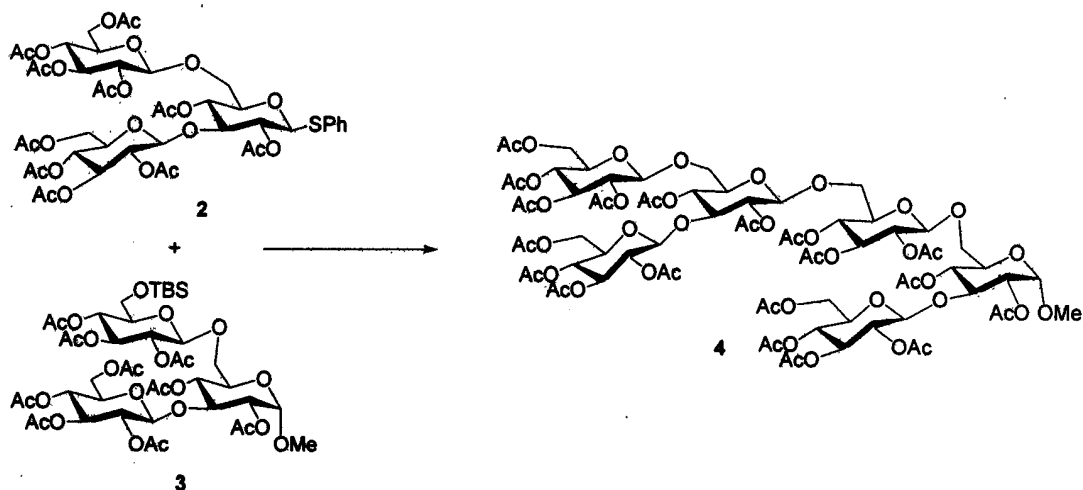
将化合物 6 (2 g, 我们以前的工作: *Org. Lett.*, **2000**, 2, 3793-3800) 和 1 个当量的 7 (按文献 *Tetrahedron*, **1993**, 49, 7301-7316 和 *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 12196-12197) 溶于 10 mL 无水二氯甲烷中, -42°C 下加入三甲基硅基三氟甲磺酸酯 (0.1 当量), 反应 2 小时后, 将 8 (*Org. Lett.*, **2000**, 2, 3793-3800) 滴加入该体系。升温至零度, 补加 0.1 当量的催化剂, 继续反应 1 小时, 原料消失后, 减压浓缩, 硅胶柱纯化, 乙酸乙酯:石油醚(1:1)洗脱, 得到泡状物 9 (71%)。

甲基 2,3,4-三-氧-乙酰基-6-氧-二甲基叔丁基硅基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[2,3,4,6-四-氧-乙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-氧-乙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖苷(3)



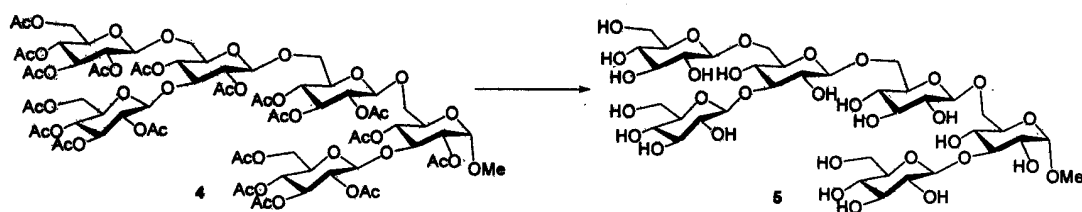
将化合物 9 (5 g) 溶于无水甲醇中(20 mL)。零度下加入氮-碘代琥珀酰亚胺 (1.5 当量) 和三甲基硅基三氟甲磺酸酯 (0.1 当量), 反应 2 小时后, 三乙胺中和, 减压蒸干溶剂, 得到 α, β 混合的、以 α 为主的油状物 3。

甲基 2,3,4,6-四-氧-乙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[2,3,4,6-四-氧-乙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-氧-乙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-2,3,4-三-氧-乙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[2,3,4,6-四-氧-乙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-氧-乙酰基- α -D-葡萄糖吡喃糖苷(4)



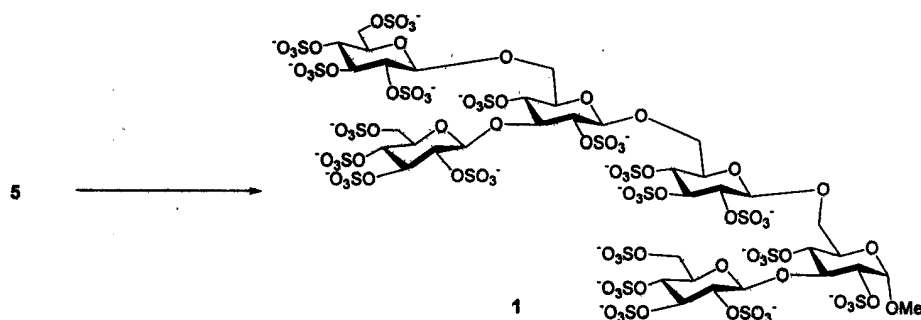
化合物 3 (5 g) 溶于少量二氯甲烷(10 mL)中, 加入 1 个当量的三氟乙酸, 室温下反应 14 小时。将化合物 2 (5 g) 和氮碘代琥珀酰亚胺 (3 个当量) 溶于另一反应器的二氯甲烷(10 mL)中, 于零度下, 将含化合物 3 的溶液滴加至于内, 4 小时后用三乙胺中和, 减压蒸干溶剂, 硅胶柱分离纯化, 乙酸乙酯:石油醚 (3:2) 洗脱, 得到泡状物 4 (63%): $[\alpha]_D^{25} +26^\circ$ (c 1, CHCl_3); 部分核磁 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): 1.935, 1.941, 1.942, 1.958, 1.966, 1.972, 1.980, 1.980, 1.991, 1.991, 2.003, 2.009, 2.009, 2.027, 2.047, 2.056, 2.056, 2.134, 2.148 (19 s, 19 x 3 H, 19 CH_3CO), 3.349 (s, 3 H, OCH_3), 4.295 (d, 1 H, J 8.0 Hz, H-1), 4.488 (d, 1 H, J 8.0 Hz, H-1), 4.511 (d, 1 H, J 8.0 Hz, H-1), 4.576 (d, 1 H, J 8.0 Hz, H-1), 4.612 (d, 1 H, J 8.0 Hz, H-1), 4.780 (d, 1 H, J 3.5 Hz, H-1 1)。

甲基 β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-葡萄糖吡喃糖基- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]- α -D-葡萄糖吡喃糖苷(5)



将化合物 4 (3.7 g) 溶于甲醇中 (150 ml), 加入 0.5 N NaOMe (15 mL) 至 pH 10, 继续反应 24 小时, 树脂中和, 蒸干溶剂后得到泡沫状固体物 5 (95%): ^{13}C NMR (CDCl_3): 55.05, 60.46 (3 C), 67.57, 67.70, 68.37, 68.61, 69.18, 69.33 (2 C), 69.38, 70.20, 70.47, 72.56, 72.85 (2 C), 73.22 (3 C), 74.39, 74.63, 75.30 (3 C), 75.41, 75.67, 75.73, 75.77, 81.99, 84.04, 98.99, 102.46, 102.59 (3 C), 102.71。

甲基 2,3,4,6-四-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[2,3,4,6-四-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-2,3,4-三-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 6)-[2,3,4,6-四-硫酸酯- β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-2,4-二-硫酸酯- α -D-葡萄糖吡喃糖苷(1)



将化合物 5 溶于吡啶中, 加入三氧化硫-吡啶复合物(六糖的 10 个当量), 55°C 下搅拌 2 天, 蒸干溶剂, 加入 3N NaOH 溶液搅拌 20 分钟, 用二氯甲烷洗去吡啶, 水相用 LH20 过柱分离, 冷冻干燥得到目标化合物 1。 ^{13}C NMR (CDCl_3): 14.17, 22.76, 25.74, 29.10, 29.16, 29.41, 31.83, 59.53, 60.07 (3 C), 60.18 (2 C), 60.85 (2 C), 62.31, 62.67 (2 C), 62.70, 69.41, 71.18, 73.40, 74.97, 75.57, 75.80, 75.86, 76.03, 78.36, 78.45, 78.52, 78.70, 78.81, 78.90, 81.30, 81.45, 81.54, 81.61, 81.86, 99.08, 100.77, 100.85, 100.89, 100.96, 101.47。