



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103328460 B

(45) 授权公告日 2015. 03. 25

(21) 申请号 201180062006. 6

(22) 申请日 2011. 12. 22

(30) 优先权数据

103064937 2010. 12. 22 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 06. 21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2011/073822 2011. 12. 22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/085221 EN 2012. 06. 28

(73) 专利权人 TF 化学公司

地址 法国瓦德贺伊

(72) 发明人 G·德利库尔-戈德弗鲁瓦 H·菲永

T·马丁

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314

代理人 程伟

(51) Int. Cl.

C07D 309/10(2006. 01)

C07K 9/00(2006. 01)

A61K 38/14(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1671723 A, 2005. 09. 21, 全文.

WO 2007/125203 A1, 2007. 11. 08, 全文.

CN 101090910 A, 2007. 12. 19, 全文.

审查员 张英姝

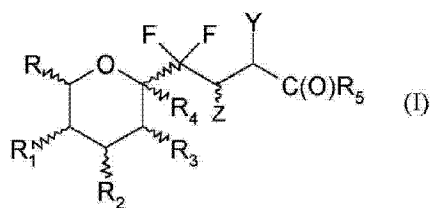
权利要求书9页 说明书48页 附图13页

(54) 发明名称

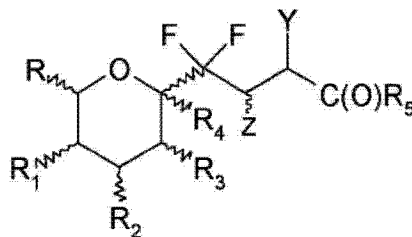
糖基-CF₂-丝氨酸和糖基-CF₂-苏氨酸的衍生物

(57) 摘要

本发明涉及式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体、立体异构体或任意比例的立体异构体的混合物,特别是对映异构体的混合物,和特别是外消旋体混合物,以及其制备方法,其在肽合成中的用途,所述肽和所述肽的用途。



1. 式 (I) 的化合物：



(I)

或其药学上可接受的盐、互变异构体、立体异构体或任意比例的立体异构体的混合物，其中：

-Y 代表 CN、NO₂、或 NR₆R₇ 基团，

-Z 代表 H 或 CH₃，

-R 代表 CH₂OR₈ 基团，

-R₁ 和 R₂ 彼此独立地代表 OR₁₅ 基团，

-R₃ 代表 OR₂₂、NR₂₉R₃₀、NR₃₁C(O)R₃₂、NR₃₃C(O)OR₃₄ 基团，

-R₄ 代表氢或 OR₄₁ 基团，和

-R₅ 代表 OR₄₉ 基团，

其中：

• R₆ 代表：

- 氢原子，

-(C₁-C₆) 烷基、芳基、芳基-(C₁-C₆) 烷基、或 (C₁-C₆)-烷基-芳基基团，

-C(O)R₅₂ 基团，或

-C(O)OR₅₃ 基团，

• R₇ 代表：

- 氢原子，

-(C₁-C₆) 烷基、芳基、芳基-(C₁-C₆) 烷基、或 (C₁-C₆)-烷基-芳基基团，

-C(O)R₅₂ 基团，

-C(O)OR₅₃ 基团，或

-N- 保护基团，

• R₈、R₁₅、R₂₂ 和 R₄₁ 彼此独立地代表氢原子；O- 保护基团；或 (C₁-C₆) 烷基、芳基、芳基-(C₁-C₆) 烷基、或 (C₁-C₆) 烷基-芳基基团，

• R₃₂、R₃₄、R₅₂ 和 R₅₃ 彼此独立地代表 (C₁-C₆) 烷基、芳基、芳基-(C₁-C₆) 烷基、或 (C₁-C₆)-烷基-芳基基团，

• R₂₉ 至 R₃₁ 和 R₃₃ 彼此独立地代表氢原子或 (C₁-C₆) 烷基、芳基、芳基-(C₁-C₆) 烷基、或 (C₁-C₆)-烷基-芳基基团，

• R₄₉ 代表：

- 氢原子，

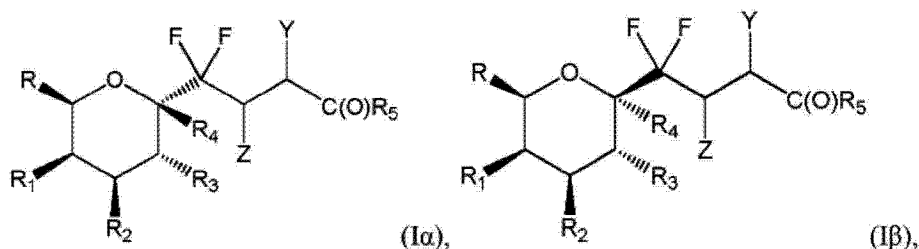
-(C₁-C₆) 烷基、芳基、芳基-(C₁-C₆) 烷基、或 (C₁-C₆)-烷基-芳基基团，或

-O- 保护基团。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述立体异构体的混合物是对映异构体的混合物。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物, 其特征在于所述立体异构体的混合物是外消旋体混合物。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于其对应于式 (I α) 或 (I β) 的化合物:



其中 R、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、Z 和 Y 如权利要求 1 所定义。

5. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于 R₃ 代表 OR₂₂ 或 NR₃₁C(O)R₃₂ 基团。

6. 根据权利要求 5 所述的化合物, 其特征在于 R₈、R₁₅ 和 R₂₂ 代表氢原子或 O- 保护基团, R₃₁ 代表氢原子和 R₃₂ 代表 (C₁-C₆) 烷基基团。

7. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于 R₄₁ 代表氢原子或 O- 保护基团。

8. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于 Y 代表 NR₆R₇ 基团。

9. 根据权利要求 8 所述的化合物, 其特征在于 R₆ 代表氢原子或 (C₁-C₆) 烷基基团和 R₇ 代表:

- 氢原子,
- (C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基-(C₁-C₆) 烷基基团,
- C(O)R₅₂ 基团,
- C(O)OR₅₃ 基团, 或
- N- 保护基团。

10. 根据权利要求 9 所述的化合物, 其特征在于 R₅₂ 代表 (C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基-(C₁-C₆) 烷基基团。

11. 根据权利要求 9 所述的化合物, 其特征在于 R₅₃ 代表 (C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基-(C₁-C₆) 烷基基团。

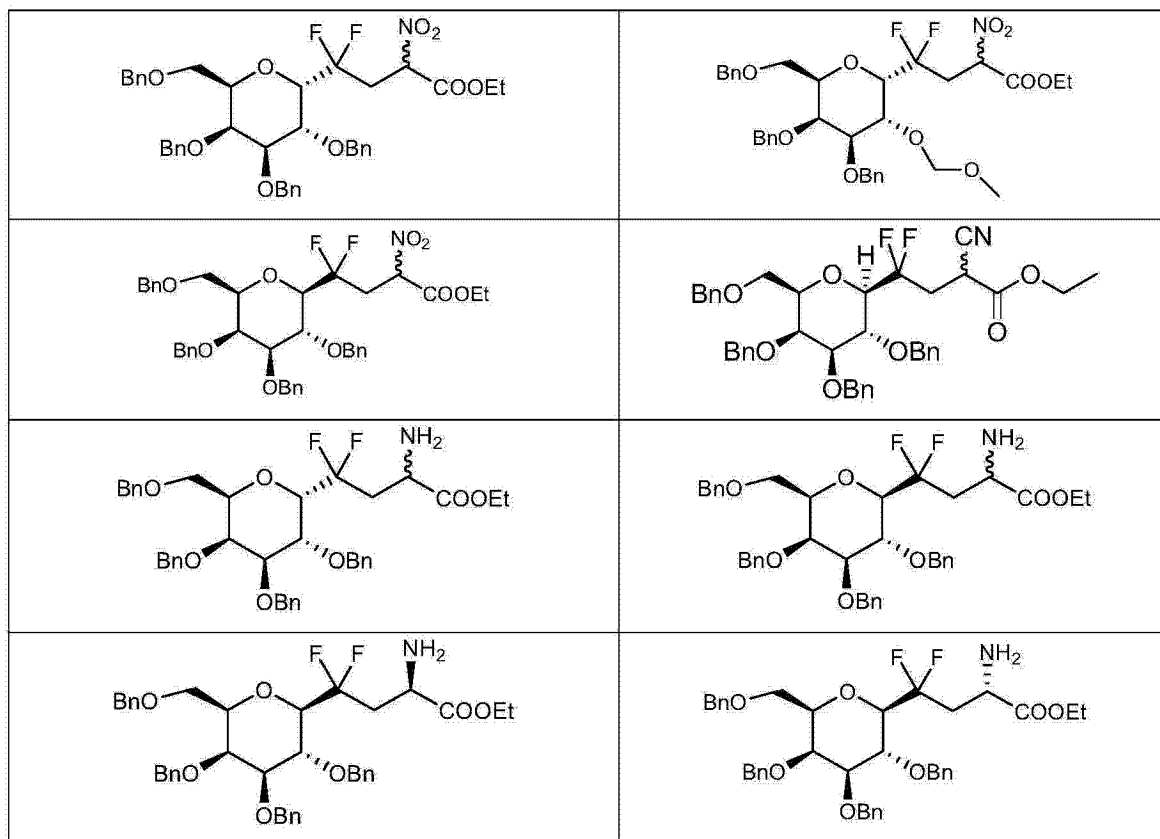
12. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于 R₄₉ 代表氢原子、(C₁-C₆) 烷基基团或 O- 保护基团。

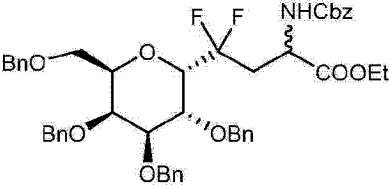
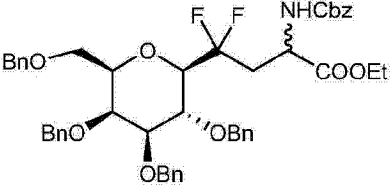
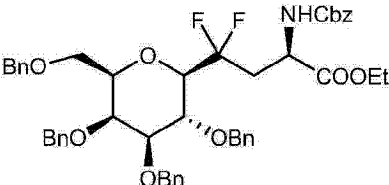
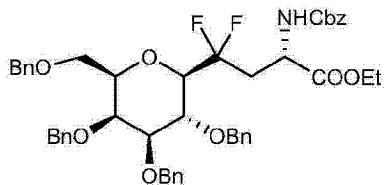
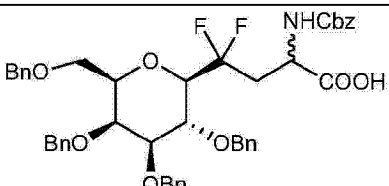
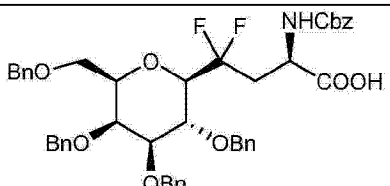
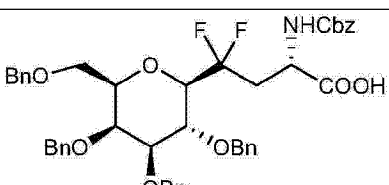
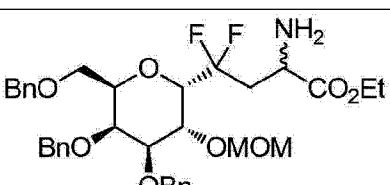
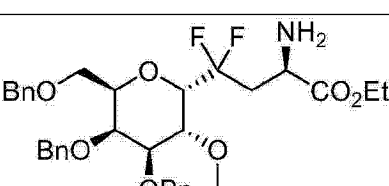
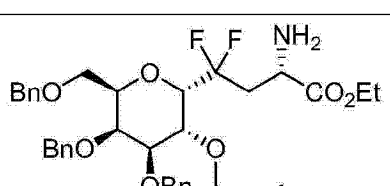
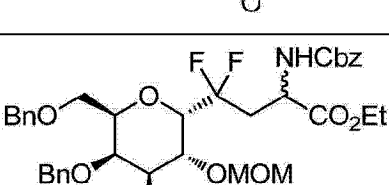
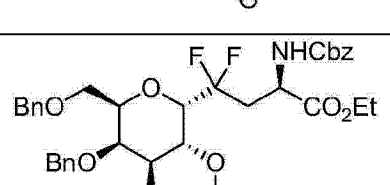
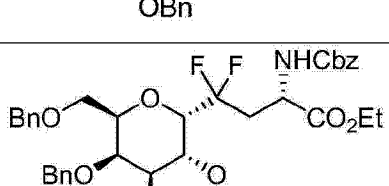
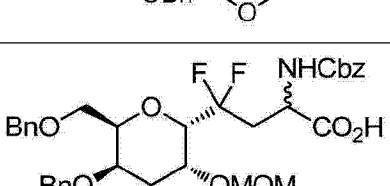
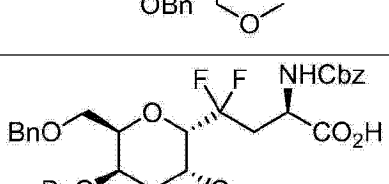
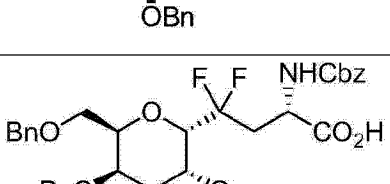
13. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于 Y 代表 NR₆R₇ 基团, 并且 R₅ 代表 OR₄₉ 基团, 其中:

- R₆ 和 R₇ 各自代表氢原子并且 R₄₉ 代表 O- 保护基团, 或
- R₄₉ 和 R₆ 各自代表氢原子并且 R₇ 代表 N- 保护基团。

14. 根据权利要求 13 所述的化合物, 其特征在于 O- 保护基团是 (C₁-C₆) 烷基基团。

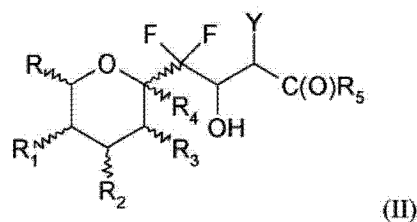
15. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于其选自下列化合物:



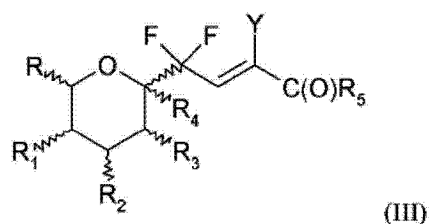
	
	
	
	
	
	
	
	

16. 一种制备根据权利要求1所述的式(I)的化合物的方法,所述式(I)的化合物中Z = H,其包含以下连续的步骤:

a) 式 (II) 的化合物的脱水 :



其中 R、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅ 和 Y 如权利要求 1 所定义，
以得到式 (III) 的化合物 :

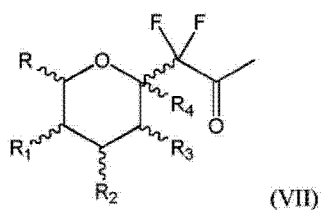


其中 R、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅ 和 Y 如权利要求 1 所定义，和

b) 在先前步骤中获得的式 (III) 的化合物的氢化，以得到其中 Z = H 的式 (I) 的化合物。

17. 一种制备根据权利要求 1 所述的式 (I) 的化合物的方法，所述式 (I) 的化合物中 Z = CH₃，其包含以下连续的步骤 :

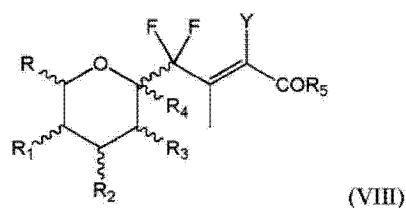
i) 式 (VII) 的化合物与式 (V) 的化合物的反应，以得到式 (VIII) 的化合物 :



其中 R、R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 如权利要求 1 所定义，

Y-CH₂-COR₅ (V)

其中 R₅ 如权利要求 1 所定义并且 Y = NO₂ 或 CN，



其中 R、R₁、R₂、R₃、R₄ 和 R₅ 如权利要求 1 所定义并且 Y = NO₂ 或 CN，

ii) 任选地，在先前步骤 i) 中获得的式 (VIII) 的化合物的还原，以得到其中 Z = CH₃ 并且 Y = NO₂ 或 CN 的式 (I) 的化合物，

iii) 任选地，在先前步骤 ii) 中获得的式 (I) 的化合物的 NO₂ 官能团的还原，以得到其中 Z = CH₃ 并且 Y = NH₂ 的式 (I) 的化合物，和

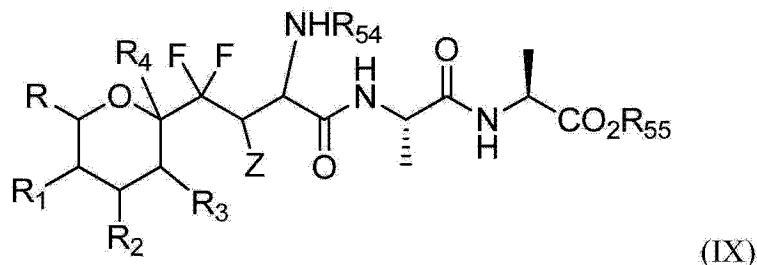
iv) 任选地，在先前步骤 iii) 中获得的式 (I) 的化合物的氨基官能团的取代，以得到其中 Z = CH₃ 并且 Y = NR₆R₇，但条件是至少 R₆ 或 R₇ 不是氢原子的式 (I) 的化合物。

18. 根据权利要求 1 所述的式 (I) 的化合物代替氨基酸在肽合成中的用途, 所述式 (I) 的化合物中 $Y = NH_2$ 和 / 或 $R_5 = OH$ 。

19. 根据权利要求 13 所述的式 (I) 的化合物代替氨基酸在肽合成中的用途。

20. 根据权利要求 18 或 19 所述的用途, 其特征在于所述氨基酸是丝氨酸或苏氨酸。

21. 一种下式 (IX) 的肽或其盐酸盐:



其中:

-R = CH_2OH ,

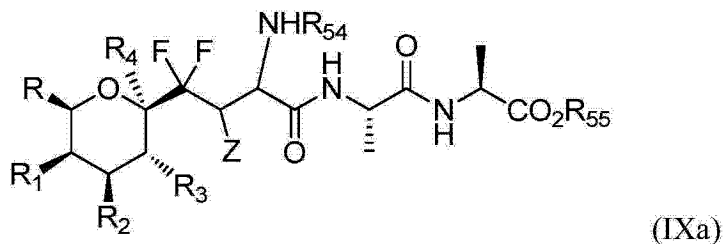
- $R_1 = R_2 = R_3 = OH$,

- $R_4 = H$ 或 OH ,

- $R_{54} = R_{55} = H$, 和

-Z 如权利要求 1 所定义。

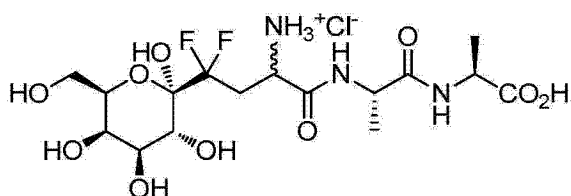
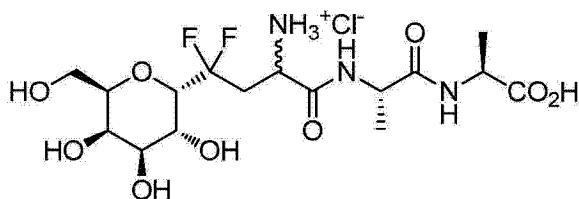
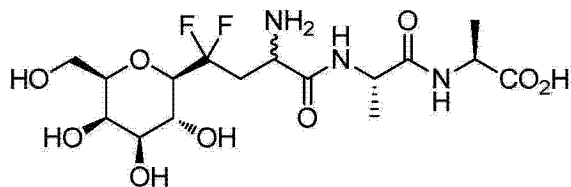
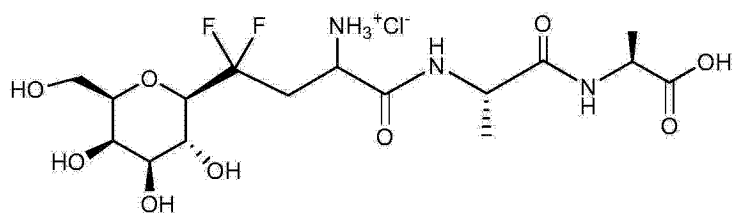
22. 根据权利要求 21 所述的肽或其盐酸盐, 其特征在于, 其对应于式 (IXa) 的化合物:



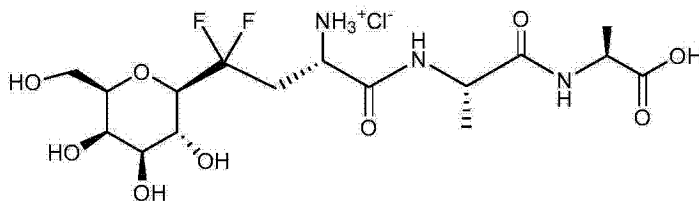
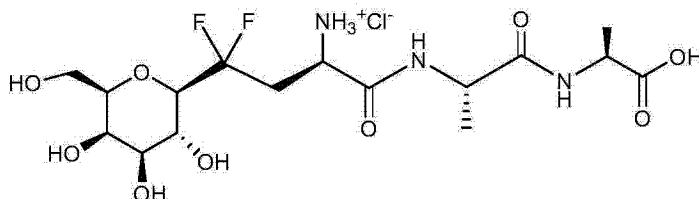
其中 R、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{54} 、 R_{55} 和 Z 如权利要求 21 所定义。

23. 根据权利要求 21 或 22 所述的肽或其盐酸盐, 其特征在于 $Z = H$ 。

24. 根据权利要求 21 所述的肽或其盐酸盐, 其选自下列化合物:



25. 根据权利要求 21 所述的肽或其盐酸盐,其选自下列化合物:



26. 一种化妆品组合物,其包含至少一种根据权利要求 21 所述的肽和药学上可接受的载体。

27. 根据权利要求 26 所述的化妆品组合物,其特征在于所述药学上可接受的载体是半抗原、蛋白质、化学骨架或载体基质。

28. 根据权利要求 21 所述的肽在保存生物材料中的用途。

29. 根据权利要求 28 所述的用途,其在低于 37℃ 的温度下保存生物材料。

30. 根据权利要求 29 所述的用途,其在低于 0℃ 的温度下保存生物材料。

31. 根据权利要求 28 至 30 任一项所述的用途,其特征在于所述生物材料选自细胞、组织和器官。

32. 根据权利要求 21 所述的肽用于皮肤抗老化应用的化妆品用途。

糖基 -CF₂- 丝氨酸和糖基 -CF₂- 苏氨酸的衍生物

技术领域

[0001] 本发明涉及糖苷 -CF₂- 丝氨酸或糖苷 -CF₂- 苏氨酸衍生物,其作为糖苷 -O- 丝氨酸或糖苷 -O- 苏氨酸模拟物,以及其制备方法,其在肽合成中的用途,所述肽和所述肽的用途。

背景技术

[0002] 糖基化是在 50% 以上的所有蛋白质中存在的一种共翻译修饰(co-translational modification)或翻译后修饰(post-translational modification)。氨基酸(如丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、羟赖氨酸或羟脯氨酸)的羟基官能团上的 O- 糖基化是最常见的修饰。

[0003] 在许多生化过程中(如受精、胚胎形成、神经发育、免疫应答、炎症反应、细胞间识别和细胞生长的调控)涉及到糖蛋白(其存在于细胞膜中)。在癌变过程中,在存在于细胞表面上的糖的结构中观察到重要的变化。此外,宿主细胞的糖通常被不同的病原体使用以允许其进入细胞。

[0004] 出于所有这些原因,糖蛋白对于众多疗法如抗炎、抗细菌、抗病毒,特别是抗癌疗法是重要的关键性信使。

[0005] 癌症代表死亡率的首要原因。在全球的角度来看,预计在未来的 30 年中癌症的数量将翻倍。因此,新型抗癌化合物的发现是主要的努力方向。

[0006] 实际上,数种治疗方法被用于治疗癌症如外科手术、化学疗法、放射疗法或免疫疗法。然而,3 种首要的可能性或者是非常侵害性的或者导致副作用,如对于化疗有脱发、恶心、腹泻和红细胞减少。

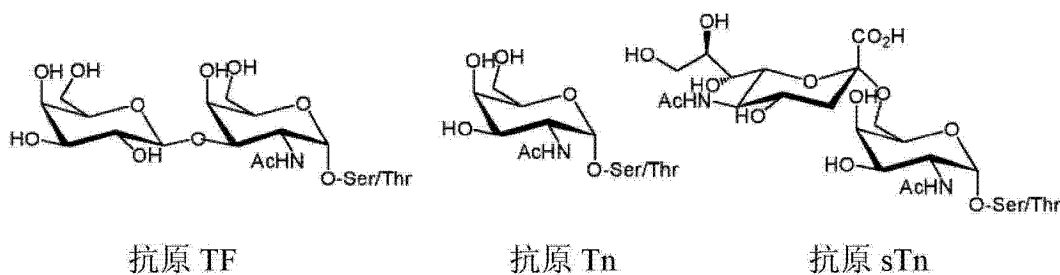
[0007] 因此,人们研究新方法以改善针对癌症的治疗,尤其是通过“被动”或“主动”免疫疗法。最后一种看起来非常有前途并且在于刺激针对特异性肿瘤抗原的免疫应答。

[0008] 事实上,已经在肿瘤细胞的表面上观察到粘蛋白表达的修饰。这些糖蛋白在肿瘤上皮细胞的表面上过度表达。

[0009] 此外,与健康细胞相反,由于异常的糖基化,癌细胞在其表面上具有更短的肽单位,这允许糖类型的特异性肿瘤抗原的识别。

[0010] 糖苷表位的实例如下所示:

[0011]



[0012] 这些抗原的共同合成子是 Gal-O-Ser/Thr 部分。该部分目前正被广泛研究用于开发合成抗癌疫苗。

[0013] 这种结构的缺点在于其中的 O-糖基键容易被酶体系如水解酶裂解。

[0014] 这促使许多研究小组设计天然的糖缀合物的模拟物,以改善它们在生物介质中的稳定性。在这个领域中,关于 C-糖苷类的研究是最多的,其中 O-糖基键的氧原子被对循环酶较不敏感的亚甲基基团替代。然而,即使稳定性得到改善,CH₂基团也不是优良的氧模拟物,并且接近该化合物也不是那么简单的。

[0015] 因此,本发明的发明人开发了糖基 -CF₂- 丝氨酸或糖基 -CF₂- 苏氨酸衍生物的合成,这也构成一种合成上的挑战。广泛的合成方法学的发展对于成功地合成目标化合物是必要的。

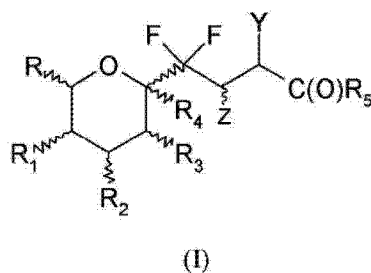
[0016] 事实上,由于电子原因,二氟亚甲基部分(-CF₂-)是一种更好的氧原子模拟物。CF₂基团具有与氧原子非常接近的电负性,两个氟原子发挥氧原子的两个电子对的作用。此外,C-F键更稳定,从而改善了最终分子的稳定性。因此,CF₂基团是比CH₂基团更好的氧原子模拟物。

[0017] 将这种糖基 -CF₂- 丝氨酸或糖基 -CF₂- 苏氨酸衍生物引入多肽或蛋白质部分稳定了所得的糖肽或糖蛋白,特别是对抗糖苷酶、蛋白酶以及酸性或碱性条件。

发明内容

[0018] 因此,本发明涉及式(I)的化合物:

[0019]



[0020] 或其药学上可接受的盐、互变异构体、立体异构体或任意比例的立体异构体的混合物,特别是对映异构体的混合物,和特别是外消旋体混合物,

[0021] 其中:

[0022] -Y 代表 CN、NO₂、NR₆R₇ 或 CH₂NR₆R₇ 基团,

[0023] -Z 代表 H 或 CH₃,

[0024] -R 代表氢或氟原子或者 CH₃、CH₂F、CH₂OSiR^{a1}R^{b1}R^{c1}、CH₂OR₈、CH₂OC(O)R₉、CH₂OCO₂R₁₀、CH₂OC(O)NR₁₁R₁₂、CH₂OP(O)(OR₁₃)₂ 或 CH₂OSO₃R₁₄ 基团,

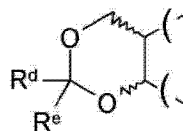
[0025] -R₁ 和 R₂ 彼此独立地代表氟原子或 OSiR^{a2}R^{b2}R^{c2}、OR₁₅、OC(O)R₁₆、OCO₂R₁₇、OC(O)NR₁₈R₁₉、OP(O)(OR₂₀)₂ 或 OSO₃R₂₁ 基团,

[0026] -R₃ 代表氟原子或 OSiR^{a3}R^{b3}R^{c3}、OR₂₂、OC(O)R₂₃、OCO₂R₂₄、OCONR₂₅R₂₆、OP(O)(OR₂₇)₂、OSO₃R₂₈、N₃、邻苯二甲酰亚胺基、NR₂₉R₃₀、NR₃₁C(O)R₃₂、NR₃₃C(O)OR₃₄、N(C(O)R₃₅)C(O)R₃₆、N(C(O)R₃₇)C(O)OR₃₈ 和 N(C(O)OR₃₉)C(O)OR₄₀ 基团,

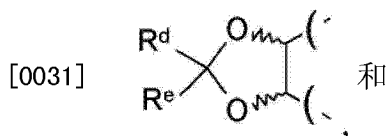
[0027] -R₄ 代表氢或卤素原子或 OSiR^{a4}R^{b4}R^{c4}、OR₄₁、OC(O)R₄₂、OCO₂R₄₃、OCONR₄₄R₄₅、OP(O)(OR₄₆)₂ 或 OSO₃R₄₇ 基团,

[0028] 或者 R 和 R₁, 与携带它们的碳原子一起, 形成具有下式的环状缩醛:

[0029]



[0030] 和 / 或 (R_1 和 R_2)、(R_2 和 R_3) 和 / 或 (R_3 和 R_4), 与携带它们的碳原子一起, 形成具有下式的环状缩醛:



[0032] $-R_5$ 代表氢或卤素原子或 R_{48} 、 OR_{49} 或 $NR_{50}R_{51}$ 基团,

[0033] 其中:

[0034] • R_6 代表:

[0035] - 氢原子,

[0036] - (C_1-C_6) 烷基、(C_2-C_6) 烯基、(C_2-C_6) 炔基、(C_3-C_7) 环烷基、5- 至 7- 元杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基 - (C_1-C_6) 烷基、杂芳基 - (C_1-C_6) 烷基、(C_1-C_6) 烷基 - 芳基或 (C_1-C_6) - 烷基 - 杂芳基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO; 优选 (C_1-C_6) 烷基、(C_2-C_6) 烯基、(C_2-C_6) 炔基、(C_3-C_7) 环烷基、5- 至 7- 元杂环烷基、芳基 - (C_1-C_6) 烷基、杂芳基 - (C_1-C_6) 烷基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO,

[0037] $-C(O)R_{52}$ 基团, 或

[0038] $-C(O)OR_{53}$ 基团,

[0039] • R_7 代表:

[0040] - 氢原子,

[0041] - (C_1-C_6) 烷基、(C_2-C_6) 烯基、(C_2-C_6) 炔基、(C_3-C_7) 环烷基、5- 至 7- 元杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基 - (C_1-C_6) 烷基、杂芳基 - (C_1-C_6) 烷基、(C_1-C_6) 烷基 - 芳基或 (C_1-C_6) - 烷基 - 杂芳基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO; 优选 (C_1-C_6) 烷基、(C_2-C_6) 烯基、(C_2-C_6) 炔基、(C_3-C_7) 环烷基、5- 至 7- 元杂环烷基、芳基 - (C_1-C_6) 烷基、杂芳基 - (C_1-C_6) 烷基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO,

[0042] $-C(O)R_{52}$ 基团,

[0043] $-C(O)OR_{53}$ 基团, 或

[0044] -N- 保护基团,

[0045] • R_8 、 R_{15} 、 R_{22} 和 R_{41} 彼此独立地代表氢原子、O- 保护基团或 (C_1-C_6) 烷基、(C_2-C_6) 烯基、(C_2-C_6) 炔基、(C_3-C_7) 环烷基、5- 至 7- 元杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基 - (C_1-C_6) 烷基、杂芳基 - (C_1-C_6) 烷基、(C_1-C_6) 烷基 - 芳基、(C_1-C_6) - 烷基 - 杂芳基、糖或多糖基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO; 并且特别是氢原子、(C_1-C_6) 烷基、芳基、芳基 - (C_1-C_6) 烷基、糖或多糖基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO,

[0046] • R_9 、 R_{10} 、 R_{16} 、 R_{17} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{32} 、 R_{34} 至 R_{40} 、 R_{42} 、 R_{43} 、 R_{48} 、 R_{52} 和 R_{53} 彼此独立地代表 (C_1-C_6)

烷基、(C₂-C₆) 烯基、(C₂-C₆) 炔基、(C₃-C₇) 环烷基、5- 至 7- 元杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基 - (C₁-C₆) 烷基、杂芳基 - (C₁-C₆) 烷基、(C₁-C₆) - 烷基 - 芳基或 (C₁-C₆) - 烷基 - 杂芳基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO ; 并且特别是 (C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆) 烷基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO ;

[0047] • R₁₁、R₁₂、R₁₈、R₁₉、R₂₅、R₂₆、R₂₉ 至 R₃₁、R₃₃、R₄₄、R₄₅、R₅₀ 和 R₅₁ 彼此独立地代表氢原子或 (C₁-C₆) 烷基、(C₂-C₆) 烯基、(C₂-C₆) 炔基、芳基、杂芳基、芳基 - (C₁-C₆) 烷基、杂芳基 - (C₁-C₆) 烷基、(C₁-C₆) - 烷基 - 芳基或 (C₁-C₆) - 烷基 - 杂芳基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO ; 有利地是氢原子或 (C₁-C₆) 烷基、(C₂-C₆) 烯基、(C₂-C₆) 炔基、芳基 - (C₁-C₆) 烷基、杂芳基 - (C₁-C₆) 烷基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO ; 并且特别是氢原子或 (C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆) 烷基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO,

[0048] • R₁₃、R₁₄、R₂₀、R₂₁、R₂₇、R₂₈、R₄₆ 和 R₄₇ 彼此独立地代表氢原子或 (C₁-C₆) 烷基基团,

[0049] • R₄₉ 代表 :

[0050] - 氢原子,

[0051] - (C₁-C₆) 烷基、(C₂-C₆) 烯基、(C₂-C₆) 炔基、(C₃-C₇) 环烷基、5- 至 7- 元杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基 - (C₁-C₆) 烷基、杂芳基 - (C₁-C₆) 烷基、(C₁-C₆) - 烷基 - 芳基或 (C₁-C₆) - 烷基 - 杂芳基基团, 该基团可能由一种或多种基团取代, 所述基团选自卤素原子、OH、COOH 和 CHO, 或

[0052] -O- 保护基团,

[0053] • R^{a1} 至 R^{a4}、R^{b1} 至 R^{b4} 和 R^{c1} 至 R^{c4} 彼此独立地代表 (C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆) 烷基基团, 和

[0054] • R^d 和 R^e 彼此独立地代表氢原子或 (C₁-C₆) 烷基基团。

[0055] 为了本发明的目的, 术语“药学上可接受的”是指对药物组合物的制备是有用的, 并且对于药物用途通常是安全 and 无毒的。

[0056] 在本发明的框架中, 术语“药学上可接受的盐”是指化合物的盐, 其是如上所定义的药学上可接受的, 并且其具有对应化合物的药理活性。这种盐包括 :

[0057] (1) 水合物和溶剂化物,

[0058] (2) 与无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸和磷酸等形成的酸式加成盐 ; 或者与有机酸如乙酸、苯磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟萘酸、2- 羟基乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、粘康酸、2- 萘磺酸、丙酸、琥珀酸、二苯甲酰基 -L- 酒石酸、酒石酸、对甲苯磺酸、三甲基乙酸和三氟乙酸等形成的酸加成盐, 和

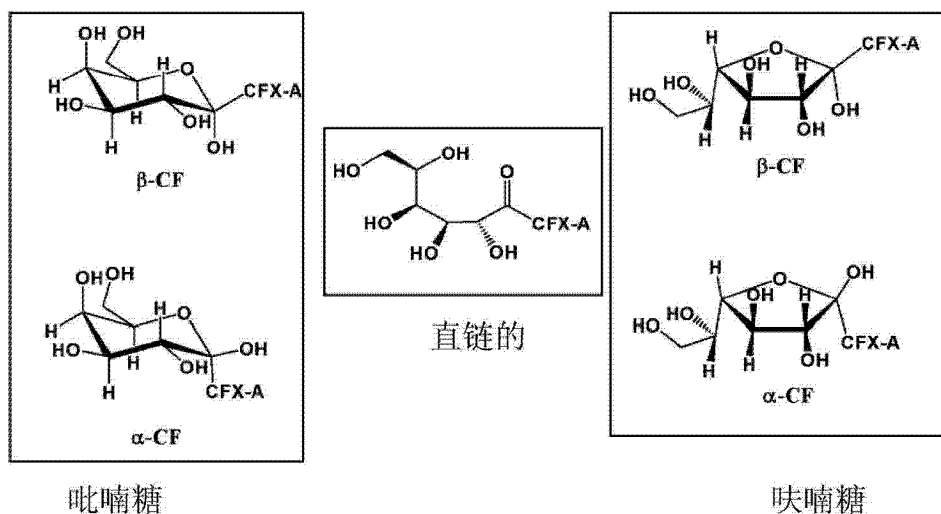
[0059] (3) 当化合物中存在的酸质子或者被金属离子如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子取代, 或者与有机碱或无机碱配位时形成的盐。可接受的有机碱包含二乙醇胺、乙醇胺、N- 甲基葡萄糖胺、三乙醇胺、氨丁三醇等。可接受的无机碱包含氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化钾、碳酸钠和氢氧化钠。

[0060] 为了本发明的目的, “互变异构体”指化合物(I) 的糖可以假定的各种互变异构体形式, 即吡喃糖(6 元环)、呋喃糖(5 元环) 或直链的(开环形式) 形式。

[0061] 然而,只有当原子团 R_4 代表 OH 基团, R_1 也不得不代表 OH 基团以使本发明的化合物可以是呋喃糖形式时,本发明的化合物才可以假定各种互变异构体形式。

[0062] 因此,例如,在半乳糖系列中,本发明的化合物可能以下列各种形式出现:

[0063]



[0064] 在封闭的吡喃糖和呋喃糖形式中,异头碳可以出现在两种不同的构型中。

[0065] 本发明的化合物可以假定不同的互变异构体形式,所述互变异构体形式可以以平衡状态存在于溶液中,其中任选地相对于其它互变异构体形式为主要互变异构体形式,或者在某些情况下,本发明的化合物可以假定只有一种互变异构体形式,如只有呋喃糖形式。

[0066] 在最后一情况下,其中糖假定只有一种互变异构体形式,当 $R_4=OH$ 被转化时(特别是通过 OH 基团的取代或者转换为氢原子或卤素原子),有可能限制该互变异构体形式中糖的构型。

[0067] 在本发明的意义范围之内,“立体异构体”指非对映异构体或对映异构体。因此,这些是光学异构体。彼此不互为镜像的立体异构体因此被称为“非对映异构体”,而非重叠镜像的立体异构体被称为“对映异构体”。

[0068] 特别地,本发明化合物的糖部分可以属于 D 或 L 系列,并且优选属于 D 系列。

[0069] 键合至四个不相同的取代基的碳原子被称为“手性中心”。

[0070] 两种对映异构体的等摩尔混合物被称为外消旋体混合物。

[0071] 在本发明中使用的术语“卤素”是指氟、溴、氯或碘原子。有利地,其为氟原子。

[0072] 在本发明中使用的术语“(C₁-C₆)-烷基”是指包含 1 至 6 个碳原子的饱和的,直链或支链的烃链,特别是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基基团。

[0073] 在本发明中使用的术语“(C₂-C₆)-烯基”是指包含至少一个双键并且包含 2 至 6 个碳原子的直链或支链的烃链,例如,如乙烯基(乙烯基)或丙烯基基团。

[0074] 在本发明中使用的术语“(C₂-C₆)-炔基”是指包含至少一个三键并且包含 2 至 6 个碳原子的直链或支链的烃链,例如,如乙炔基或丙炔基基团。

[0075] 在本发明中使用的术语“(C₃-C₇)-环烷基”是指包含 3 至 7 个(有利地是 5 至 7 个)碳原子的饱和的烃环,特别是环己基、环戊基或环庚基基团。

[0076] 在本发明中使用的术语“杂环烷基”是指具有 5 至 7 元并且含有一个或多个(有利

地是一个或两个)杂原子(例如,如硫、氮或氧原子)的饱和的烃环,例如,如四氢呋喃基、哌啶基、吡咯烷基、四氢吡喃基、1,3-二氧杂环戊烷基基团。

[0077] 在本发明中使用的术语“芳基”是指优选包含 5 至 10 个碳原子并且包括一个或多个稠合环的芳香族基团,例如,如苯基或萘基基团。有利地,其为苯基。

[0078] 在本发明中使用的术语“杂芳基”是指如上所定义的任意芳基基团,其中一个或多个碳原子被一个或多个(有利地是 1 至 4 个,甚至更有利地是 1 至 2 个)杂原子(例如,如硫、氮或氧原子)替换。杂芳基基团的实例为呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡啶基、嘧啶基、吡唑基、咪唑基、四唑基或吡唑基基团。

[0079] 在本发明中使用的术语“芳基-(C₁-C₆)-烷基”是指如上所定义的任意芳基基团,其借助于如上所定义的(C₁-C₆)-烷基基团被键合至分子。特别地,这种基团可以是苄基基团。

[0080] 在本发明中使用的术语“杂芳基-(C₁-C₆)-烷基”是指如上所定义的杂芳基基团,其借助于如上所定义的(C₁-C₆)-烷基基团被键合至分子。

[0081] 在本发明中使用的术语“(C₁-C₆)-烷基-芳基”是指如上所定义的(C₁-C₆)-烷基基团,其借助于如上所定义的芳基基团被键合至分子。特别地,这种基团可以是甲苯基基团。

[0082] 在本发明中使用的术语“(C₁-C₆)-烷基-杂芳基”是指如上所定义的(C₁-C₆)-烷基基团,其借助于如上所定义的杂芳基基团被键合至分子。

[0083] 在本发明中使用的术语“N-保护基团”是指在合成过程中旨在保护氨基基团避免不合意的反应的那些基团。Greene, “Protective Groups In Organic Synthesis”, (John Wiley&Sons, New York(1981)) 中披露了常用的 N-保护基团。N-保护基团包含氨基甲酸酯类、酰胺类、N-烷基衍生物、氨基缩醛衍生物、N-苄基衍生物、亚胺衍生物、烯胺衍生物和 N-杂原子衍生物。特别地, N-保护基团包括甲酰基、乙酰基、苯甲酰基、新戊酰基、苯磺酰基、苄基(Bn)、叔丁氧羰基(Boc)、苄氧羰基(Cbz)、三氯乙氧羰基(TROC)、烯丙氧羰基(Alloc)、苄氧羰基(FMOC)等。特别地,其为叔丁氧羰基、苄氧羰基或苄氧羰基基团。

[0084] 在本发明中使用的术语“O-保护基团”是指在合成过程中旨在保护羟基基团避免不合意的反应的取代基,如 Greene, “Protective Groups In Organic Synthesis”, (John Wiley&Sons, New York(1981)) 中披露的那些 O-保护基团。O-保护基团包含(C₁-C₆)烷基基团类,如甲基、乙基、叔丁基;取代的甲基醚类,例如,甲氧基甲基(MOM)、苄氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基、2-(三甲基硅烷基)乙氧基甲基、苄基和三苯甲基;四氢吡喃醚类;取代的乙基醚类,例如,2,2,2-三氯乙基;和硅烷基醚类,例如,三甲基硅烷基、叔丁基二甲基硅烷基(TBS)和叔丁基二苯基硅烷基。特别地,其为苄基或甲氧基甲基基团。

[0085] 在本发明中使用的术语“糖”是指 D 或 L 形式的赤藓糖、苏阿糖、核糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖、阿洛糖、阿卓糖、葡萄糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖、塔罗糖、赤藓酮糖、核酮糖、木酮糖、阿洛酮糖、果糖、山梨糖或塔格糖。

[0086] 在本发明中使用的术语“糖基团”是指如上所定义的糖,其借助于在其异头(anomeric)中心上存在的氧原子被键合至分子

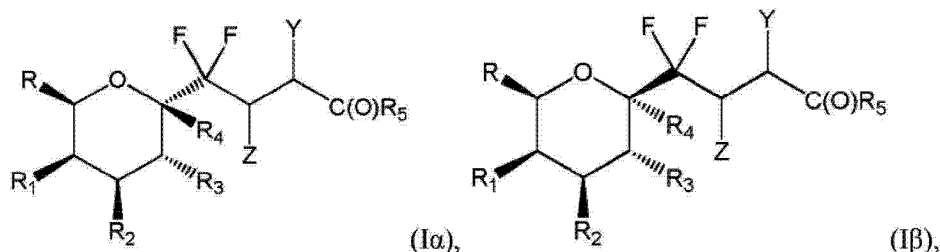
[0087] 在本发明中使用的术语“多糖”是指包含至少 2 个,优选 2 至 10 个如上所定义的糖的,借助于在一个糖的异头位置上的 OH 官能团和不在另一个糖的异头位置上的 OH 官能

团之间形成的氧桥键合在一起的链。

[0088] 在本发明中使用的术语“多糖基团”是指如上所定义的多糖，其借助于在末端糖的异头中心上存在的氧原子被键合至分子。

[0089] 有利地，本发明的化合物基于下式(I α)和(I β)：

[0090]



[0091] 其中 R、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、Z 和 Y 如上所定义。

[0092] R 可以代表 CH₂OSiR^{a1}R^{b1}R^{c1}、CH₂OR₈、CH₂OC(O)R₉、CH₂OCO₂R₁₀、CH₂OC(O)NR₁₁R₁₂、CH₂OP(O)(OR₁₃)₂ 或 CH₂OSO₃R₁₄ 基团，有利地是 CH₂OSiR^{a1}R^{b1}R^{c1}、CH₂OR₈ 或 CH₂OC(O)R₉ 基团，更有利地是 CH₂OR₈ 或 CH₂OC(O)R₉ 基团，甚至更有利地是 CH₂OR₈ 基团。

[0093] 特别地，R 可以代表 CH₂OR₈ 基团，其中 R₈ 代表氢原子、O- 保护基团或 (C₁-C₆)- 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆)- 烷基基团；或者 CH₂OC(O)R₉ 基团，其中 R₉ 代表 (C₁-C₆)- 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆)- 烷基基团。

[0094] 更特别地，R 可以代表 CH₂OR₈ 基团，其中 R₈ 代表氢原子或 O- 保护基团。例如，R 可以代表 CH₂OH 或 CH₂OBn 基团。

[0095] R₁ 和 R₂ 可以彼此独立地代表 OSiR^{a2}R^{b2}R^{c2}、OR₁₅、OC(O)R₁₆、OCO₂R₁₇ 或 OC(O)NR₁₈R₁₉ 基团，有利地是 OSiR^{a2}R^{b2}R^{c2}、OR₁₅ 或 OC(O)R₁₆ 基团，更有利地是 OR₁₅ 或 OC(O)R₁₆ 基团，甚至更有利地是 OR₁₅ 基团。

[0096] 特别地，R₁ 和 R₂ 可以彼此独立地代表 OR₁₅ 基团，其中 R₁₅ 代表氢原子、O- 保护基团或 (C₁-C₆)- 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆)- 烷基基团；或者 OC(O)R₁₆ 基团，其中 R₁₆ 代表 (C₁-C₆)- 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆)- 烷基基团。

[0097] 更特别地，R₁ 和 R₂ 可以彼此独立地代表 OR₁₅ 基团，其中 R₁₅ 代表氢原子或 O- 保护基团。例如，R₁ 和 R₂ 可以代表的 OH 或 OBn 基团。

[0098] 优选地，R₁ 和 R₂ 是相同的，并且特别地代表 OH 或 OBn 基团。

[0099] 特别地，R 代表 CH₂OR₈ 基团并且 R₁ 和 R₂ 彼此独立地代表 OR₁₅ 基团，R₈ 和 R₁₅ 有利地代表氢原子或 O- 保护基团。R₈ 和两个 R₁₅ 可以是相同的，如 H 或 O- 保护基团。

[0100] 根据另一个特别的实施方案，R=CH₂OH 和 R₁=R₂=OH 或者 R=CH₂OBn 和 R₁=R₂=OBn。

[0101] 根据第一个实施方案，R₃ 代表 OSiR^{a3}R^{b3}R^{c3}、OR₂₂、OC(O)R₂₃、OCO₂R₂₄、OCONR₂₅R₂₆、NR₂₉R₃₀、NR₃₁C(O)R₃₂、NR₃₃C(O)OR₃₄、N(C(O)R₃₅)C(O)R₃₆、N(C(O)R₃₇)C(O)OR₃₈ 或 N(C(O)OR₃₉)C(O)OR₄₀ 基团，有利地是 OSiR^{a3}R^{b3}R^{c3}、OR₂₂、OC(O)R₂₃、NR₂₉R₃₀、NR₃₁C(O)R₃₂ 或 NR₃₃C(O)OR₃₄ 基团，更有利地是 OR₂₂、OC(O)R₂₃ 或 NR₃₁C(O)R₃₂ 基团，甚至更有利地是 OR₂₂ 或 NR₃₁C(O)R₃₂ 基团。

[0102] 特别地，R₃ 可以代表 OR₂₂ 基团，其中 R₂₂ 代表氢原子、O- 保护基团或 (C₁-C₆)- 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆)- 烷基基团；OC(O)R₂₃ 基团，其中 R₂₃ 代表 (C₁-C₆)- 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆)- 烷基基团；或者 NR₃₁C(O)R₃₂ 基团，其中 R₃₁ 代表氢原子或 (C₁-C₆)- 烷基、芳

基或芳基 - (C₁-C₆)-烷基基团和 R₃₂ 代表 (C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆) 烷基基团。

[0103] 更特别地, R₃ 可以代表 OR₂₂ 基团, 其中 R₂₂ 代表氢原子或 O- 保护基团; 或者 NR₃₁C(O) R₃₂ 基团, 其中 R₃₁ 代表氢原子和 R₃₂ 代表 (C₁-C₆) 烷基。例如, R₃ 可以代表 OH、OBn、OMOM 或 NHAc 基团。

[0104] 根据第二个实施方案, R₃ 可以代表 OSiR^{a3}R^{b3}R^{c3}、OR₂₂、OC(O) R₂₃、OC(O) R₂₄ 或 OCONR₂₅R₂₆ 基团, 有利地是 OSiR^{a3}R^{b3}R^{c3}、OR₂₂ 或 OC(O) R₂₃ 基团, 更有利地是 OR₂₂ 或 OC(O) R₂₃ 基团, 甚至更有利地是 OR₂₂ 基团。

[0105] 特别地, R₃ 可以代表 OR₂₂ 基团, 其中 R₂₂ 代表氢原子、O- 保护基团或 (C₁-C₆)-烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆)-烷基基团; 或者 OC(O) R₂₃ 基团, 其中 R₂₃ 代表 (C₁-C₆)-烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆)-烷基基团。

[0106] 更特别地, R₃ 可以代表 OR₂₂ 基团, 其中 R₂₂ 代表氢原子或 O- 保护基团。例如, R₃ 可以代表 OH、OBn 或 OMOM 基团。

[0107] 根据一个特别的实施方案, R₁、R₂ 和 R₃ 是相同的。

[0108] 根据另一个特别的实施方案, R 代表 CH₂OR₈ 基团; R₁ 和 R₂ 彼此独立地代表 OR₁₅ 基团; 并且 R₃ 代表 OR₂₂ 基团, R₈、R₁₅ 和 R₂₂ 有利地代表氢原子或 O- 保护基团。R₈ 和两个 R₁₅ 可以是相同的, 如 H 或 O- 保护基团。R₈、两个 R₁₅ 和 R₂₂ 也可以是相同的, 如 H 或 O- 保护基团。

[0109] 根据另一个特别的实施方案, R=CH₂OH, R₁=R₂=OH 或者 R₁=R₂=R₃=OH。

[0110] 有利地, R₄ 可以代表氢原子或卤素原子或 OR₄₁ 基团, 并且特别是氢原子或 OR₄₁ 基团。

[0111] 甚至更有利地, R₄ 可以代表氢原子或卤素原子或者 OH、O- 保护基团、-O- (C₁-C₆)-烷基、-O- 芳基或 -O- (C₁-C₆)-烷基 - 芳基基团, 并且特别是氢原子或者 OH、O- 保护基团、-O- (C₁-C₆)-烷基、-O- 芳基或 -O- (C₁-C₆)-烷基 - 芳基基团。

[0112] R₄ 也可以代表氢原子或卤素原子或者 OH、-O- (C₁-C₆)-烷基、-O- 芳基和 -O- (C₁-C₆)-烷基 - 芳基基团, 并且特别是氢原子或者 OH、-O- (C₁-C₆)-烷基、-O- 芳基或 -O- (C₁-C₆)-烷基 - 芳基基团。

[0113] 特别地, R₄ 可以代表氢原子或卤素(如 Br、Cl、F) 原子或者 OH 或 O- 保护基团, 并且有利地是氢原子或 OH 或 O- 保护基团, 如 H、OH 或 OBn。

[0114] R₄ 也可以代表氢原子或卤素(如 Br、Cl、F) 原子或者 OH 基团, 如 H 或 OH。

[0115] 根据一个特别的实施方案, R₄ 代表氢原子。

[0116] 根据第一个实施方案, Y 代表 NO₂ 或 NR₆R₇ 基团, 并且特别是 NR₆R₇ 基团, 其中 R₆ 和 R₇ 如前所定义, 特别是其中 R₆ 代表氢原子或 (C₁-C₆) 烷基基团并且 R₇ 代表:

[0117] - 氢原子,

[0118] -(C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆) 烷基基团; 特别是 (C₁-C₆) 烷基或芳基 - (C₁-C₆) 烷基基团,

[0119] -C(O)R₅₂ 基团, 其中 R₅₂ 如上所定义并且特别地代表 (C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆) 烷基基团,

[0120] -C(O)OR₅₃ 基团, 其中 R₅₃ 如上所定义并且特别地代表 (C₁-C₆) 烷基、芳基或芳基 - (C₁-C₆) 烷基基团, 或

[0121] -N- 保护基团,

[0122] 根据第二个实施方案, Y 代表 CN 或 $\text{CH}_2\text{NR}_6\text{R}_7$ 基团, 并且特别是 $\text{CH}_2\text{NR}_6\text{R}_7$ 基团, 其中 R_6 和 R_7 如前所定义, 特别是其中 R_6 代表氢原子或 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基基团并且 R_7 代表:

[0123] - 氢原子,

[0124] $-(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基、芳基或芳基 $-(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基基团; 特别是 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基或芳基 $-(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基基团,

[0125] $-\text{C}(\text{O})\text{R}_{52}$ 基团, 其中 R_{52} 如上所定义并且特别地代表 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基、芳基或芳基 $-(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基基团,

[0126] $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{53}$ 基团, 其中 R_{53} 如上所定义并且特别地代表 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基、芳基或芳基 $-(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基基团, 或

[0127] -N- 保护基团,

[0128] 有利地, R_5 代表 OR_{49} 基团, 其中 R_{49} 如前所定义, 并且有利地代表氢原子、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基基团或 O- 保护基团。

[0129] 根据一个特别的实施方案(式(I-1)的化合物), Y 代表 NR_6R_7 或 $\text{CH}_2\text{NR}_6\text{R}_7$ 基团, 并且特别是 NR_6R_7 基团, 并且 R_5 代表 OR_{49} 基团, 其中:

[0130] $-\text{R}_6$ 和 R_7 各自代表氢原子并且 R_{49} 代表 O- 保护基团如 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基基团, 或

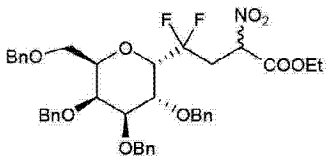
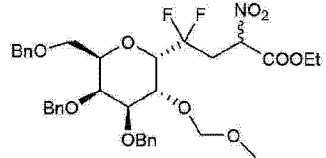
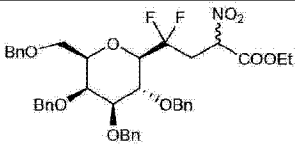
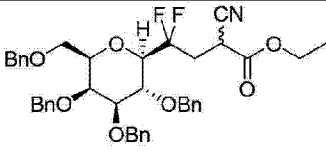
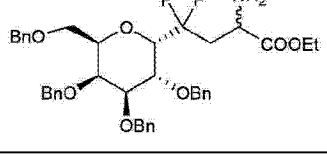
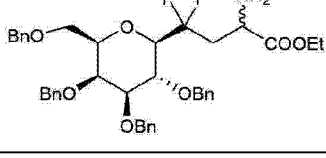
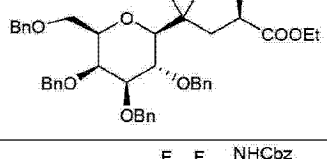
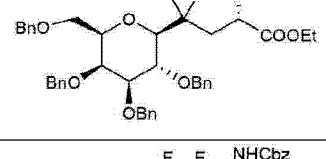
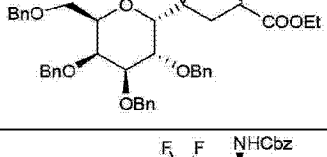
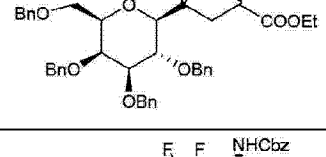
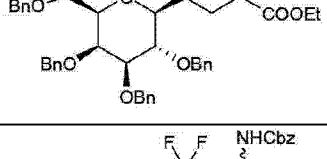
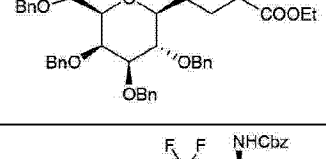
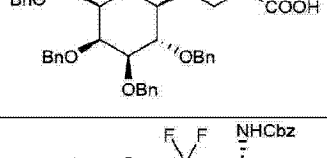
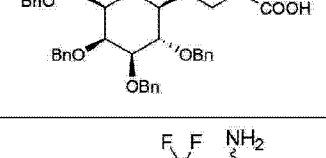
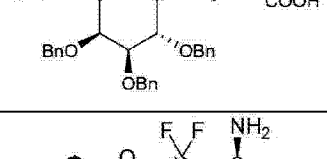
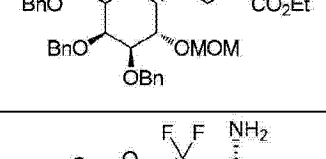
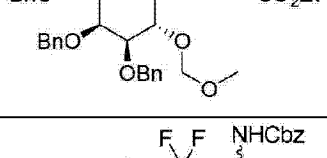
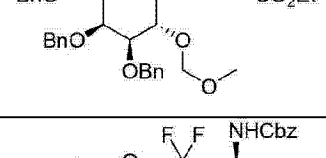
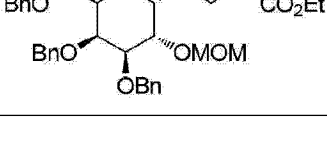
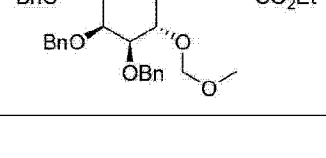
[0131] $-\text{R}_{49}$ 和 R_6 各自代表氢原子并且 R_7 代表 N- 保护基团如 Boc、Cbz 或 FMOC 基团。

[0132] 在这种情况下, R 优选代表 CH_2OR_8 基团, 其中 R_8 代表 O- 保护基团; R_1 和 R_2 优选彼此独立地代表 OR_{15} 基团, 其中 R_{15} 代表 O- 保护基团; 并且 R_3 优选代表 OR_{22} 基团, 其中 R_{22} 代表 O- 保护基团或者 $\text{NR}_{31}\text{C}(\text{O})\text{R}_{32}$ 基团, 其中 R_{31} 代表氢原子和 R_{32} 代表 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基, 并且特别地 R_3 代表 OR_{22} 基团。

[0133] R_4 可以代表氢原子或 OR_{41} 基团, 其中 R_{41} 代表 O- 保护基团, 并且特别地 R_4 可以代表氢原子。

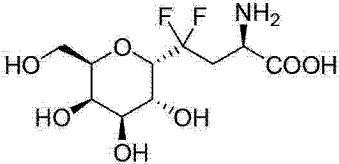
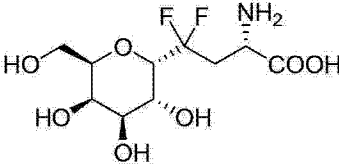
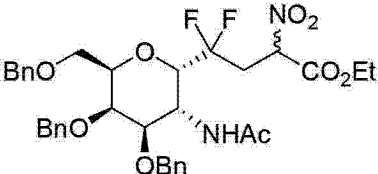
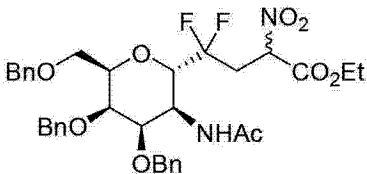
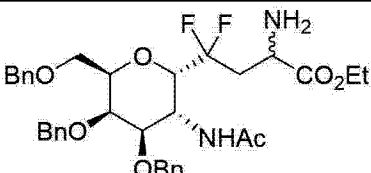
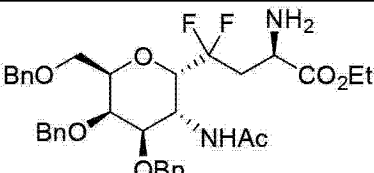
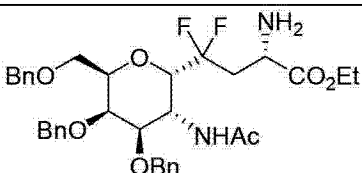
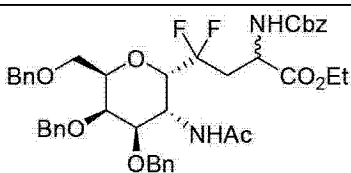
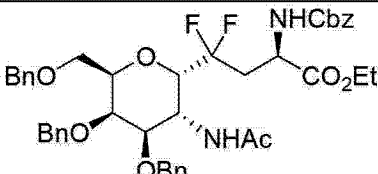
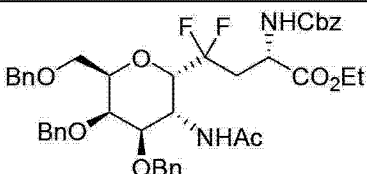
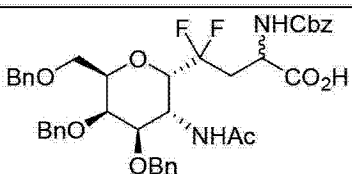
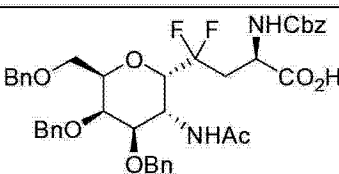
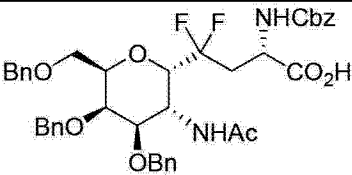
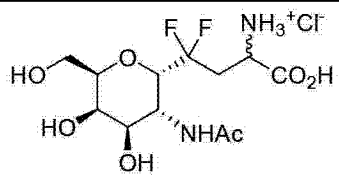
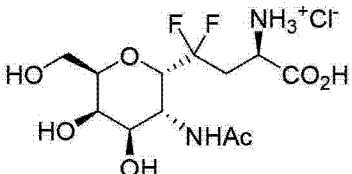
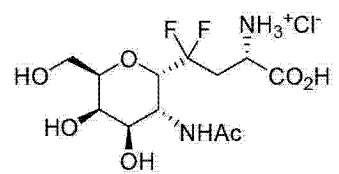
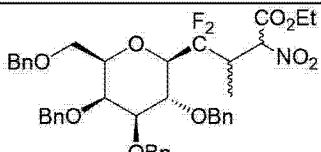
[0134] 根据本发明的特别的实施方案, 式(I) 的化合物可以选自:

[0135]

[0136]

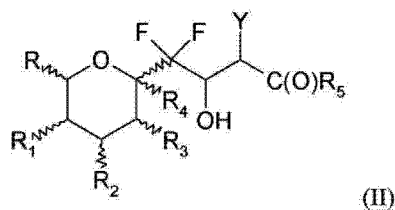
[0137]

[0138] 本发明还涉及一种用于制备如上所定义的其中 Z=H 的式(I) 的化合物的方法, 其包括以下连续的步骤:

[0139] i) 式(II)的化合物的脱水:

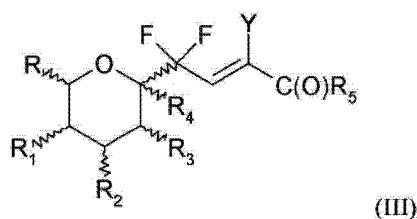
[0140]



[0141] 其中 R、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅ 和 Y 如上所定义,

[0142] 以得到式(III)的化合物:

[0143]



[0144] 其中 R、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅ 和 Y 如上所定义, 和

[0145] ii) 在先前步骤中获得的式(III)的化合物的氢化, 以得到其中 Z=H 的式(I)的化合物。

[0146] 步骤 a):

[0147] 通过将羟基官能团转化为离去基团可以进行该步骤, 所述离去基团如卤素原子、硫酸酯(-OS(O)₂O-A₁), 磺酸酯(-OS(O)O-A₁) 或羧酸酯(-OC(O)-A₁), 其中 A₁ 代表(C₁-C₆) 烷基、芳基、(C₁-C₆) 烷基-芳基或芳基-(C₁-C₆) 烷基基团, 所述基团任选地由一个或多个氟原子取代。例如, 这种离去基团可以是甲磺酸酯(-OSO₂Me)、甲苯磺酸酯(-OSO₂-PhMe)、三氟甲磺酸酯(-OSO₂CF₃) 或乙酸酯(-OC(O)CH₃)。

[0148] 然后, 所述离去基团在碱如三乙胺的存在下被消除。

[0149] 例如, 该步骤可以在甲磺酰氯(MsCl) 和碱如三乙胺的存在下进行。

[0150] 通过与Burgess 反应试剂或者 Martin 过硫酸盐反应, 也可以直接从羟基官能团进行该消除步骤, 即无需首先将其转化为离去基团。

[0151] 步骤 b):

[0152] 通过本领域技术人员熟知的氢化方法(特别是在氢化物供体如硼氢化物, 特别是 NaBH₄ 的存在下) 或者通过在 Bu₃SnH 的存在下的自由基反应可以进行该步骤。

[0153] 通过本领域技术人员熟知的方法, 如通过萃取、溶剂蒸发或者通过沉淀或结晶(随后过滤), 可以从反应介质中分离出由此获得的化合物。

[0154] 如果必要, 通过本领域技术人员熟知的方法, 如通过重结晶、硅胶柱色谱法或高效液相色谱法(HPLC), 也可以纯化得到的化合物。

[0155] 根据本发明的第一个实施方案, 采用式(IIa1) 的化合物(其为 Y=NO₂ 的式(II) 的化合物) 可以进行该方法。然后, 获得的式(Ia1) 的化合物(即, 其中 Z=H 和 Y=NO₂ 的式(I) 的化合物) 可以被氢化, 以得到式(Ib1) 的化合物(即, 其中 Z=H 和 Y=NH₂ 的式(I) 的化合物)。然后, 通过式(Ib1) 的化合物的氨基基团的取代获得式(Ic1) 的化合物(即, 其中 Z=H 和 Y=NR₆R₇, 至少 R₆ 或 R₇ 不是氢原子的式(I) 的化合物)。

[0156] 根据本发明的第二个实施方案,采用式(IIa2)的化合物(其中 $Y=CN$ 的式(II)的化合物)可以进行该方法。然后,获得的式(Ia2)的化合物(即其中 $Z=H$ 和 $Y=CN$ 的式(I)的化合物)可以被氢化,以得到式(Ib2)的化合物(即其中 $Z=H$ 和 $Y=CH_2NH_2$ 的式(I)的化合物)。然而,也可以从式(IIIa2)的化合物(对应于其中 $Z=H$ 和 $Y=CN$ 的式(III)的化合物)直接一步获得式(Ib2)的化合物。然后,通过式(Ib2)的化合物的氨基基团的取代获得式(Ic2)的化合物(即其中 $Z=H$ 和 $Y=CH_2NR_6R_7$, 至少 R_6 或 R_7 不是氢原子的式(I)的化合物)。

[0157] 因此,根据一个特别的实施方案,该方法包含以下连续的步骤:

[0158] a1) 式(IIa)的化合物(对应于其中 $Y=NO_2$ 或 CN 的式(II)的化合物)的脱水,以得到式(IIIa)的化合物(对应于其中 $Y=NO_2$ 或 CN 的式(III)的化合物),

[0159] b1) 在先前步骤中获得的式(IIIa)的化合物的还原,以得到式(Ia)的化合物(对应于其中 $Z=H$ 和且 $Y=NO_2$ 或 CN 的式(I)的化合物),或式(Ib)的化合物(对应于其中 $Z=H$ 和 $Y=NH_2$ 或 CH_2NH_2 的式(I)的化合物),

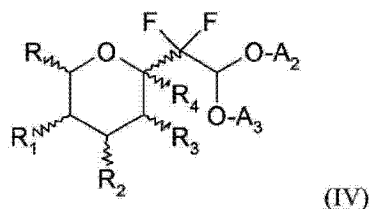
[0160] c1) 任选地,在先前步骤中获得的式(Ia)的化合物的 NO_2 或 CN 官能团的还原,以得到如步骤 b1) 中所定义的式(Ib)的化合物,和

[0161] d1) 任选地,在先前步骤中获得的式(Ib)的化合物的氨基官能团的取代,以得到式(Ic)的化合物(对应于其中分别为 $Z=H$ 和 $Y=NR_6R_7$ 或 $CH_2NR_6R_7$, 其中至少 R_6 或 R_7 不是氢原子的式(I)的化合物)。

[0162] 步骤 a1): 参见步骤 a)。

[0163] 应当注意的是,在碱如 $HNEt_2$ 的存在下,式(IIa)的化合物可以通过式(IV)的化合物与式(V)的化合物的反应而获得:

[0164]



[0165] 其中 R 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如上所定义并且 A_2 和 A_3 彼此独立地代表氢原子或 (C_1-C_6) 烷基或芳基- (C_1-C_6) -烷基基团,

[0166] $Y=CH_2-COR_5$ (V)

[0167] 其中 R_5 如前所定义并且 $Y=NO_2$ 或 CN 。

[0168] 该反应在 Henry 条件下进行。

[0169] 通过本领域技术人员熟知的方法可以获得式(IV)的化合物(例如参见实验 部分)。

[0170] 优选地, R_5 代表 R_{48} 或 OR_{49} 基团, 其中 R_{48} 和 R_{49} 如上所定义, 但条件是 R_{49} 不是氢原子。

[0171] 步骤 b1): 参见步骤 b)。

[0172] 步骤 c1):

[0173] 通过本领域技术人员熟知的方法可以进行该步骤。

[0174] 特别地, 在氢气气氛下, 在氢化催化剂的存在下, 在大气压或更高的压力下可以进

行该步骤。所述催化剂可以基于钯、镍或铂,如钯碳(Pd/C),兰尼镍或PtO₂。所述反应可以在酸或碱的存在下可以进行以活化催化剂。

[0175] 同样在硼氢化物(如硼氢化钠)和镍、钴、钯、锡、铜或镧系元素的盐(例如NiCl₂、TiCl₄或CoCl₂)的存在下可以进行硝基官能团的还原。

[0176] 另一种方法在于硝基官能团与氢气的氢化,所述氢气通过酸(如HCl、AcOH, Me₃SiCl、CF₃COOH或HCO₂H)在选自锌、锡和铁的金属上的作用而原位形成。

[0177] 所述硝基官能团也可以被还原为肟(=N-OH),所述肟然后被还原为氨基基团。该方法是本领域技术人员熟知的。

[0178] 在与或不与Et₃N/PhSH或TMSPHSH/Et₃N相联合的金属盐如锡盐(例如SnCl₂或Sn(Ph)₂)的存在下,可以获得硝基官能团至肟基基团的还原。在DMSO中的质子源如CH₃COOH或H₂O的存在下,也可以使用NaNO₂还原硝基官能团。这些反应可以在介于65至100℃之间的温度下进行。

[0179] 然后在氢气气氛下,在氢化催化剂的存在下,在大气压或更高的压力下,所述肟可以被还原成氨基官能团。所述催化剂可以基于钯、镍、铂、钨、铑或铱,如钯碳(Pd/C)、Pd(OH)₂、石墨钯、兰尼镍、PtO₂、RuCl₃或IrCl₃。所述反应可以在酸或碱的存在下可以进行以活化所述催化剂。

[0180] 在由铝和HgCl₂制备的铝汞齐的存在下,也可以进行该还原。所述肟也可以利用通过酸在金属上的作用而原位形成的氢气还原。也可以使用氢化物,如NaBH₄或LiAlH₄。

[0181] 所有这些方法都是本领域技术人员熟知的。然而,也可以使用本领域技术人员已知的其他方法。

[0182] 步骤d1):

[0183] 通过本领域技术人员熟知的方法可以进行氨基官能团的取代。

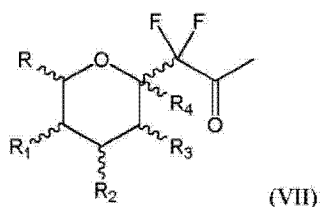
[0184] 通过本领域技术人员熟知的方法,如通过萃取、溶剂蒸发或者通过沉淀或结晶(随后过滤),可以从反应介质中分离出由此获得的化合物。

[0185] 如果必要,通过本领域技术人员熟知的方法,如通过重结晶、硅胶柱色谱法或高效液相色谱法(HPLC),也可以纯化所述化合物。

[0186] 本发明还涉及一种用于制备其中Z=CH₃的如上所定义的式(I)的化合物的方法,其包含以下连续的步骤:

[0187] i) 式(VII)的化合物与式(V)的化合物的反应,以得到式(VIII)的化合物:

[0188]

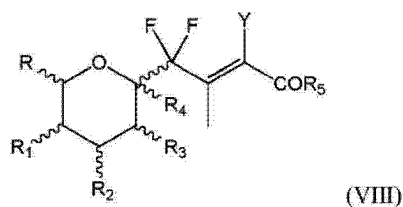


[0189] 其中R、R₁、R₂、R₃和R₄如上所定义,

[0190] Y-CH₂-COR₅ (V)

[0191] 其中R₅如前所定义并且Y=NO₂或CN,

[0192]



[0193] ii) 其中 R、R₁、R₂、R₃、R₄ 和 R₅ 如上所定义并且 Y=NO₂ 或 CN, 任选地, 在先前步骤 i) 中获得的式 (VIII) 的化合物的还原得到其中 Z=CH₃ 和 Y=NO₂ 或 CN 的式 (I) 的化合物,

[0194] iii) 任选地, 在先前步骤 ii) 中获得的式 (I) 的化合物的 NO₂ 或 CN 官能团的还原得到其中 Z=CH₃ 和 Y=NH₂ 或 CH₂NH₂ 的式 (I) 的化合物, 和

[0195] iv) 任选地, 在先前步骤 iii) 中获得的式 (I) 的化合物的氨基官能团的取代得到其中 Z=CH₃ 和 Y=NR₆R₇ 或 CH₂NR₆R₇, 其中至少 R₆ 或 R₇ 不是氢原子的式 (I) 的化合物。

[0196] 步骤 i) :

[0197] 在路易斯酸如 TiCl₄ 和碱如 N- 甲基吗啉 (NMM) 的存在下, 可以进行该反应。四氢呋喃、二氯甲烷或其混合物可以被用作溶剂。

[0198] 如下面实验部分中所描述可以制备式 (VII) 的化合物。

[0199] 步骤 ii) : 参见步骤 b1)。

[0200] 步骤 iii) : 参见步骤 c1)。

[0201] 步骤 iv) : 参见步骤 d1)。

[0202] 通过本领域技术人员熟知的方法, 如通过萃取、溶剂蒸发或者通过沉淀或结晶 (随后过滤), 可以从反应介质中分离出由此获得的化合物。

[0203] 如果必要, 通过本领域技术人员熟知的方法, 如通过重结晶、硅胶柱色谱法或高效液相色谱法 (HPLC), 也可以纯化所述化合物。

[0204] 如果由式 (II) 或 (VII) 的化合物 (其中 R₅ 代表 OR₄₉ 基团, 其中 R₄₉ 如上所定义, 但条件是 R₄₉ 不是氢原子) 进行如上所述的两种方法制备其中分别为 Z=H 或 CH₃ 的式 (I) 的化合物, 那么通过在本领域技术人员熟知的条件下 OR₄₉ 基团的还原或脱保护可以获得最终的其中 R₅=H 或 OH 的式 (I) 的化合物。

[0205] 因此, 在本领域技术人员熟知的条件下, OH 可以被卤代, 以得到其中 R₅ 代表卤素原子的式 (I) 的化合物。

[0206] 通过本领域技术人员熟知的方法, 特别是通过肽偶联, 可以从其中 R₅=OH 的式 (I) 的化合物得到其中 R₅ 代表 NR₅₀R₅₁ 基团的式 (I) 的化合物。

[0207] 此外, 应当注意的是, 通过进行烯化和氢化的级联反应, 如 Eur. J. org. Chem. 2008, 975 中所描述, 可以由式 (IV) 的化合物和式 Y-CH₂-COR₅ 的化合物直接一步获得其中 Z=H 的式 (I) 的化合物。

[0208] 在式 (I) 的化合物的合成中, R 优选代表 CH₂OR₈ 基团, 其中 R₈ 代表 O- 保护基团; R₁ 和 R₂ 优选彼此独立地代表 OR₁₅ 基团, 其中 R₁₅ 代表 O- 保护基团; 并且 R₃ 优选代表 OR₂₂ 基团, 其中 R₂₂ 代表 O- 保护基团; 或者 NR₃₁C(O)R₃₂ 基团, 其中 R₃₁ 代表氢原子和 R₃₂ 代表 (C₁-C₆) 烷基, 并且特别地 R₃ 代表 OR₂₂ 基团。R₄ 可以代表氢原子或 OR₄₁ 基团, 其中 R₄₁ 代表 O- 保护基团, 并且特别地 R₄ 代表氢原子。

[0209] 本发明还涉及其中 Y=NH₂ 或 CH₂NH₂ (特别是 NH₂) 和 / 或 R₅=OH 的式 (I) 的化合物,

特别是式(I-1)的化合物,即其中Y代表 NR_6R_7 或 $\text{CH}_2\text{NR}_6\text{R}_7$ 基团(特别是 NR_6R_7 基团),和 R_5 代表 OR_{49} 基团的式(I)的化合物,其中:

[0210] $-\text{R}_6$ 和 R_7 各自代表氢原子并且 R_{49} 代表O-保护基团如 (C_1-C_6) 烷基基团,或

[0211] $-\text{R}_{49}$ 和 R_6 各自代表氢原子并且 R_7 代表N-保护基团如Boc或Cbz基团,代替氨基酸如丝氨酸或苏氨酸在肽合成中的用途。

[0212] 在本发明中使用的术语“氨基酸”是指天然的D或L型的 α -氨基酸(例如,丙氨酸(Ala)、精氨酸(Arg)、天冬酰胺(Asn)、天冬氨酸(Asp)、半胱氨酸(Cys)、谷氨酰胺(Gln)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、赖氨酸(Lys)、甲硫氨酸(Met)、苯丙氨酸(Phe)、脯氨酸(Pro)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和缬氨酸(Val)),以及非天然的氨基酸(例如 β -丙氨酸、烯丙基甘氨酸、叔亮氨酸、3-氨基己二酸、2-氨基苯甲酸、3-氨基苯甲酸、4-氨基苯甲酸、2-氨基丁酸、4-氨基-1-羧甲基哌啶、1-氨基-1-环丁烷羧酸、4-氨基环己烷乙酸、1-氨基-1-环己烷羧酸、(1R, 2R)-2-氨基环己烷羧酸、(1R, 2S)-2-氨基环己烷羧酸、(1S, 2R)-2-氨基环己烷羧酸、(1S, 2S)-2-氨基环己烷羧酸、3-氨基环己烷羧酸、4-氨基环己烷羧酸、(1R, 2R)-2-氨基环戊烷羧酸、(1R, 2S)-2-氨基环戊烷羧酸、1-氨基-1-环戊烷羧酸、1-氨基-1-环丙烷羧酸、4-(2-氨基乙氧基)苯甲酸、3-氨基甲基苯甲酸、4-氨基甲基苯甲酸、2-氨基丁酸、4-氨基丁酸、6-氨基己酸、1-氨基茚满-1-羧酸、4-氨基甲基苯乙酸、4-氨基苯乙酸、3-氨基-2-萘甲酸、4-氨基苯丁酸、4-氨基-5-(3-吡啶基)-戊酸、(4R, 5S)-4-氨基-5-甲基庚酸、(R)-4-氨基-5-甲基己酸、(R)-4-氨基-6-甲硫基己酸、(S)-4-氨基戊酸、(R)-4-氨基-5-苯基戊酸、4-氨基苯丙酸、(R)-4-氨基庚二酸、(4R, 5R)-4-氨基-5-羟基己酸、(R)-4-氨基-5-羟基戊酸、(R)-4-氨基-5-(对羟基苯基)-戊酸、8-氨基辛酸、(2S, 4R)-4-氨基-吡咯烷-2-羧酸、(2S, 4S)-4-氨基-吡咯烷-2-羧酸、氮杂环丁烷-2-羧酸、(2S, 4R)-4-苄基-吡咯烷-2-羧酸、(S)-4, 8-二氨基辛酸、叔丁基甘氨酸、 γ -羧基谷氨酸、 β -环己基丙氨酸、瓜氨酸、2, 3-二氨基丙酸、马尿酸、高环己基丙氨酸、焦谷氨酸(moleucine)、高苯丙氨酸、4-羟基脯氨酸、吡啶啉-2-羧酸、异哌啶酸、 α -甲基-丙氨酸、3-哌啶酸(nicopetic acid)、正亮氨酸、正缬氨酸、八氢吡啶-2-羧酸、鸟氨酸、青霉胺、苯基甘氨酸、4-苄基-吡咯烷-2-羧酸、哌啶酸、烯丙基甘氨酸、3-吡啶基丙氨酸、4-吡啶基丙氨酸、1-吡咯烷-3-羧酸、肌氨酸、抑胃酶氨酸、四氢异喹啉-1-羧酸、1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-羧酸、或氨甲环酸)。优选地,其为天然的或非天然的 α -氨基酸并且优选为天然的 α -氨基酸。

[0213] 在本发明中使用的术语“肽”是指包含至少2个,特别是2至30个如上所定义的氨基酸(并且优选天然的 α -氨基酸)的,借助于肽键(即酰胺官能团)键合在一起的链。特别地,所述肽可以是特别地具有2至20个氨基酸的寡肽。

[0214] 通过本领域技术人员熟知的经典方法,特别是使用保护/脱保护和肽偶联的步骤,进行所述肽的合成。

[0215] 特别地,所述肽可以是包含2至20个氨基酸的寡肽。

[0216] 本发明还涉及一种式(VI)的肽,其中至少一个氨基酸(如丝氨酸或苏氨酸)被式(I)的化合物替换,其中 $\text{Y}=\text{NHR}_7$ 或 CH_2NHR_7 ,特别是 NHR_7 ,和/或 $\text{R}_5=\text{OH}$,并且特别是其中 $\text{Y}=\text{NH}_2$ 或 CH_2NH_2 ,特别是 NH_2 ,和 $\text{R}_5=\text{OH}$,所述Y和/或 R_5 基团借助于肽键(即酰胺键)被连接至所述

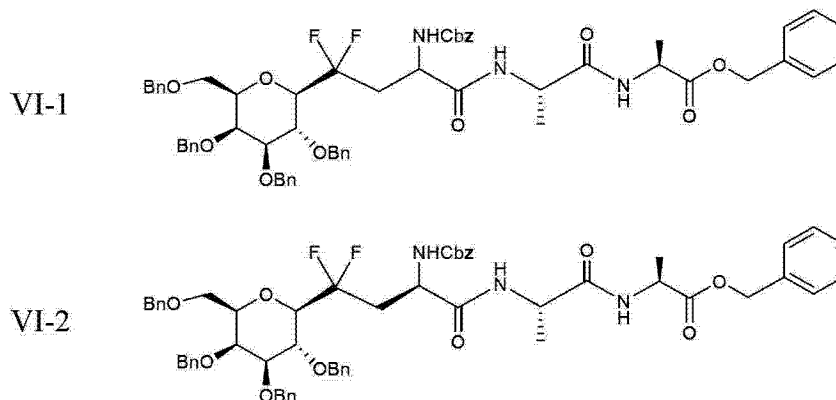
肽的氨基酸。

[0217] 这意味着 Y 的 NHR_7 或 CH_2NHR_7 部分的氢通过一根键被替换为衍生自氨基酸的酸官能团的 $\text{C}(=\text{O})$ 部分, 和 / 或 R_5 的 OH 部分通过一根键被替换为衍生自另一个氨基酸的氨基官能团的氮。

[0218] 此外, 式(I) 的化合物的基团 R 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如前所定义。

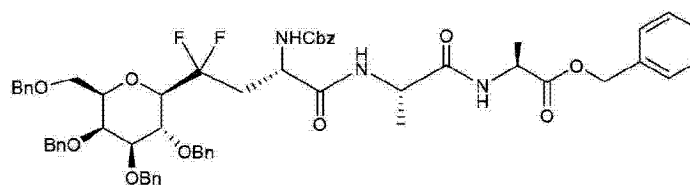
[0219] 特别地, 所述肽可以是包含 2 至 20 个氨基酸的寡肽。特别地, 其可以选自下面的寡肽:

[0220]

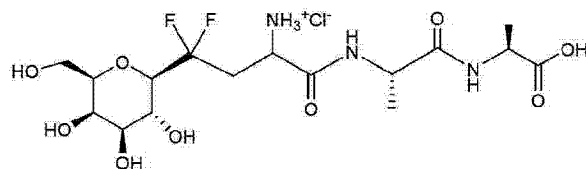


[0221]

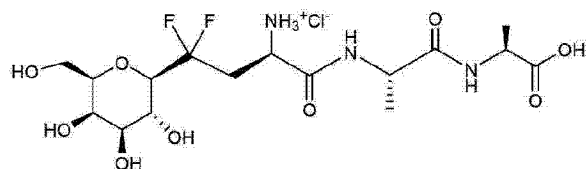
VI-3



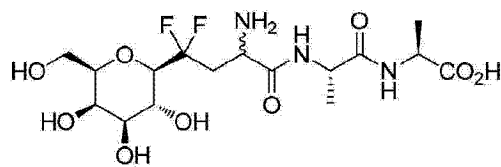
VI-4



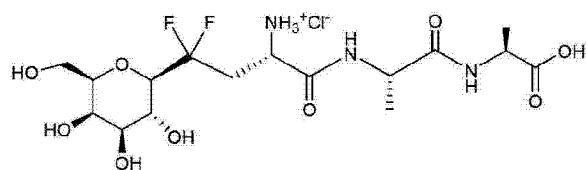
VI-5



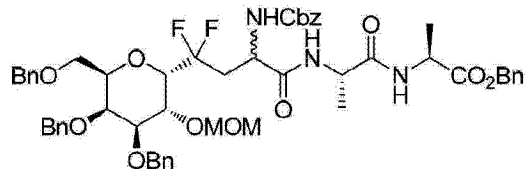
VI-6



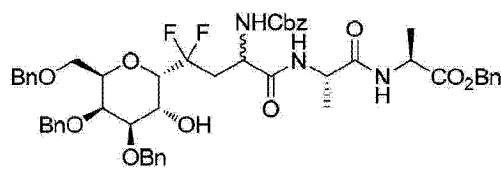
VI-7



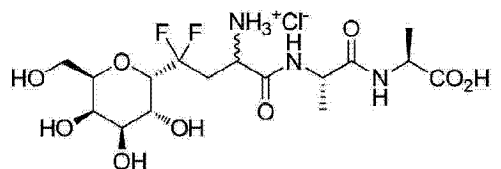
VI-8



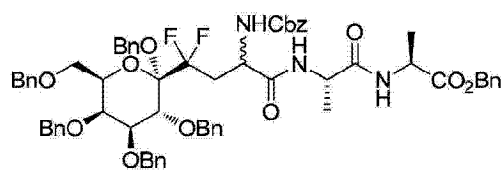
VI-9



VI-10

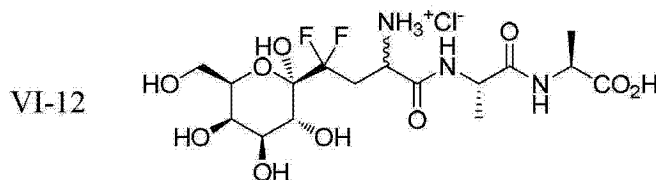


VI-11



, 和

[0222]



[0223] 本发明还涉及如前所定义的肽(VI),其用作药物,特别是用于治疗或预防病毒性、细菌性或炎症性疾病。

[0224] 本发明还涉及肽(VI)在制备药物,特别是旨在用于治疗或预防病毒性、细菌性或炎症性疾病的药物中的用途。

[0225] 更具体地,本发明还涉及一种用于治疗或预防病毒性、细菌性或炎症性疾病的方法,其包含为需要其的人施用足量的肽(VI)。

[0226] 本发明还涉及一种用于美容治疗的方法,其包含为需要其的人施用足量的肽(VI)。

[0227] 本发明还涉及如前所定义的肽(VI),其作为癌症疫苗使用。

[0228] 本发明还涉及肽(VI)在制备药物,特别是旨在作为癌症疫苗使用的药物中的用途。

[0229] 更具体地,本发明还涉及一种用于预防癌症的方法,其包含为需要其的人施用足量的肽(VI)。

[0230] 事实上,整合于肽(VI)中的式(I)的化合物代表抗原 Tn 的模拟物。

[0231] 在这种情况下,有利地,R=CH₂OH和R₁=R₂=OH。有利地,R₄也可以代表氢原子。特别地,R₃将是OH或NHAc基团,优选NHAc基团。

[0232] 有利地,整合于肽(VI)中的式(I)的化合物的Y基团是未键合于肽(VI)的另一个氨基酸上的NH₂基团。

[0233] 特别地,所提及的癌症可以是乳腺癌、肺癌、前列腺癌或结肠癌。

[0234] 因此,本发明还涉及根据本发明的式(I)的化合物作为抗原 Tn 的模拟物的用途。

[0235] 在这种情况下,有利地, $R=CH_2OH$ 和 $R_1=R_2=OH$ 。有利地, R_4 也可以代表氢原子。特别地, R_3 是 OH 或 $NHAc$ 基团,优选 $NHAc$ 基团。有利地, Y 代表 NH_2 基团。

[0236] 本发明还涉及药物或化妆品组合物,其包含至少一种肽(VI)和药学上可接受的载体。所述药学上可接受的载体可以是半抗原、蛋白质、化学骨架或载体基质。

[0237] 本发明的药物组合物可以旨在口服、舌下、皮下、肌肉内、静脉内、经皮、局部或直肠施用。活性成分可以与常规的药物载体混合以用于施用的单位形式被施用于动物或人类。合适的用于施用的单位形式包含用于口服施用的形式,如片剂、明胶胶囊剂、粉剂、颗粒剂和口服溶液剂或悬浮剂,用于舌下和颊部施用的形式,用于皮下、肌肉内、静脉内、鼻内或眼内施用的形式和用于直肠施用的形式。

[0238] 本发明的化妆品组合物可以旨在口服、舌下、皮肤、外用、经皮或局部施用。活性成分可以与常规的药物载体混合，以用于施用的单位形式被施用于动物或人类。合适的用于施用的单位形式包含用于口服施用的形式，如片剂、明胶胶囊剂、粉剂、颗粒剂和口服溶液剂或悬浮剂，用于舌下和颊部施用的形式，用于外用、皮肤、经皮或局部施用的形式。

[0239] 当固体组合物被制备成片剂形式时,主要的活性成分与药用载体如明胶、淀粉、乳糖、硬脂酸镁、滑石、阿拉伯胶等混合。所述片剂可以用蔗糖或者其它合适的材料包衣,或者

其可以在这样一种方式下被处理,使得其具有延长的或延迟的活性并且其连续地释放预定量的活性成分。

[0240] 通过将活性成分与稀释剂混合并且将获得的混合物灌注到软质或硬质明胶胶囊中获得明胶胶囊制剂。

[0241] 糖浆剂或酏剂形式的制剂可以含有活性成分以及甜味剂、防腐剂,或者还含有增味剂或合适的着色剂。

[0242] 水分散性粉剂或颗粒剂可以含有活性成分,所述活性成分与分散剂或润湿剂,或者悬浮剂混合,并且与矫味剂或甜味剂混合。

[0243] 对于直肠施用而言,使用栓剂,其采用在直肠温度下熔化的粘合剂来制备,所述粘合剂例如可可脂或聚乙二醇。

[0244] 对于肠胃外、鼻内或眼内施用而言,使用水悬浮剂、等渗生理盐水溶液剂或无菌注射用溶液剂,其含有药理学上可兼容的分散剂和 / 或润湿剂。

[0245] 活性成分也可以被配制成微囊的形式,任选地具有一种或多种载体添加剂。

[0246] 药物或化妆品组合物中的本发明的化合物可以从 0.01mg/ 天至 1000mg/ 天的剂量范围被使用,一天仅施用一个剂量或者在一天之内施用数个剂量,例如一天两次。有利地,每日施用剂量介于 5mg 和 500mg 之间,并且更有利地,介于 10mg 和 200mg 之间。然而,可能有必要使用超出这些范围的剂量,这可能被本领域技术人员所注意到。

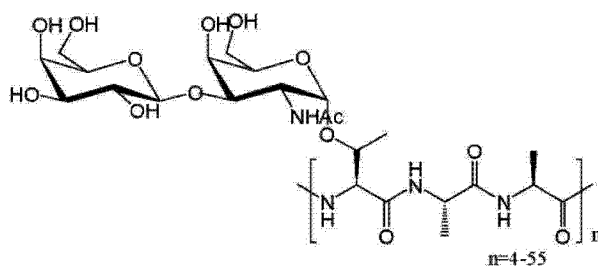
[0247] 本发明还涉及肽(VI)在保存生物材料,如细胞、组织和器官中的用途,特别是在低于 37°C 的温度下,如低于 0°C 的温度,特别是用于冷冻保存生物材料(人体器官或组织(例如用于移植)或细胞)和用于保存食物。

[0248] 本发明还涉及肽(VI)的化妆品用途,特别是其在抗老化应用产品中的化妆品用途。

[0249] 事实上,对存在于极地地区的冰水中的鱼类的研究表明,其耐受低于 0°C 的温度的原因在于其血液和机体中存在保护其避免受冻的特殊蛋白质(Chem. Rev. 1996, 16, 2)。

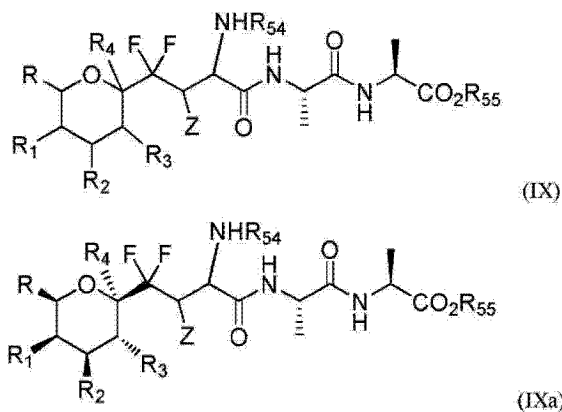
[0250] 这些蛋白质被称为抗冻糖蛋白(AFGP),其含有由糖基化肽组成的重复部分,所述糖基化肽含有 3 个氨基酸(苏氨酸-丙氨酸或脯氨酸-丙氨酸)并且可以具有下列结构:

[0251]



[0252] 在这种情况下,所述肽将有利地对下式(IX),特别是(IXa)作出响应:

[0253]



[0254] 其中R、R₁、R₂、R₃、R₄和Z如上所定义(包括优选的实施方案),R₅₄代表氢原子或N-保护基团如Cbz并且R₅₅代表氢原子或O-保护基团如Bn。

[0255] 有利地,R=CH₂OH,R₁=R₂=R₃=OH和R₄=H或OH。有利地,R₅₄和R₅₅各自代表氢原子。Z也可以是氢原子。

[0256] 特别地,其为选自实施例VI-1至VI-12的肽。

[0257] 以下描述本发明的这种化合物制剂的实例及其生物学活性结果,其仅出于说明性目的而并非用于限制本发明。

附图说明

[0258] 图1a至6b代表下列化合物的质谱(ESI+):

[0259] - 图1a:不含β-半乳糖苷酶的化合物Ad1,

[0260] - 图1b:含有β-半乳糖苷酶的化合物Ad1,

[0261] - 图2a:不含β-半乳糖苷酶的化合物Ad2,

[0262] - 图2b:含有β-半乳糖苷酶的化合物Ad2,

[0263] - 图3a:不含α-半乳糖苷酶的化合物Cd1,

[0264] - 图3b:含有α-半乳糖苷酶的化合物Cd1,

[0265] - 图4a:不含α-半乳糖苷酶的化合物Cd2,

[0266] - 图4b:含有α-半乳糖苷酶的化合物Cd2,

[0267] - 图5a:不含α-半乳糖苷酶的化合物Dd1,

[0268] - 图5b:含有α-半乳糖苷酶的化合物Dd1,

[0269] - 图6a:不含α-半乳糖苷酶的化合物Dd2,和

[0270] - 图6b:含有α-半乳糖苷酶的化合物Dd2。

[0271] 图7代表去血清后7天内成纤维细胞存活能力百分比的演变。

具体实施方式

[0272] 实施例

[0273] I- 根据本发明的化合物的制备

[0274] 用于进行本申请中描述的所有化合物的分析的设备的特征如下所示:

[0275] 在BRUKER DPX300和DPX600光谱仪上记录¹⁹F NMR光谱。所使用的内标物是一氟三氯甲烷(CFC1₃)。化学位移以百万分之一(ppm)表示并且耦合常数(J)以赫兹(Hz)表示。

[0276] 使用下列缩写：

[0277] s 代表单峰, bs 代表宽单峰, d 代表双峰, t 代表三重峰, qdt 代表四重峰, m 代表多重峰或馒头峰(massive), dd 代表双二重峰等。

[0278] 在 Micromass TOF-SPEC E20kV, α -氟基类型, 用于 MALDI 离子化和 JEOL AX500, 3kV, Canon FAB JEOL, Xe, 4kV, 10 μ A 限制电流, Gly-NBA50 :50 用于 FAB 离子化的分光光度计上获得质谱。

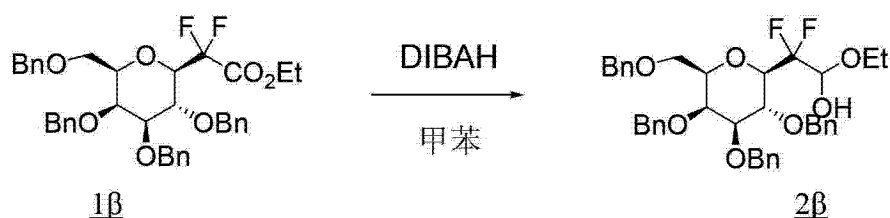
[0279] 在 Kieselgel60 硅胶(230-400 目, Merck) 上, 在轻微压力下进行经由柱色谱法的分离。

[0280] 通过薄层色谱法(Kieselgel60F-254-0.25-mm 板) 进行反应的监测。给定的担体上化合物的迁移距离与洗脱剂的迁移距离的比例被称为阻滞因子。

[0281] 通过将符号 α 指定为 α 衍生物并将 β 指定为 β 衍生物, 并且当有必要时, 通过将字母 G 指定为半乳糖衍生物并将字母 T 指定为塔罗糖衍生物, 已经对化合物进行编号。

[0282] 化合物 2 β 的合成

[0283]



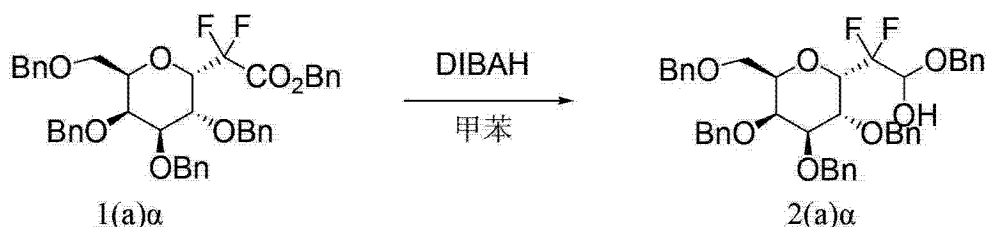
[0284] 向化合物 1 β (1.03g; 1.60mmol; 1 当量) (根据 Synlett2005, 17, 2627-2630 和 Org. Lett. 2002, 4, 757-759 - 也可参见 W02004/014928, W02007/125203 和 W02007/125194 合成) 在无水甲苯(40mL) 中的冰冷(-78℃) 溶液中加入氢化二异丁基铝溶液(甲苯中 1.2M; 2.00mL; 2.40mmol; 1.5 当量), 并将得到的混合物在此温度下搅拌 1 小时。然后用乙醇(10mL) 淬灭反应并将溶液经过 10 分钟升温至 -20℃。然后加入罗谢尔盐溶液(20%, 45mL) 并将溶液剧烈搅拌 1 小时。用乙酸乙酯萃取反应介质。用盐水洗涤合并的有机萃取液, 用硫酸镁干燥, 过滤并在真空中蒸发, 以得到化合物 2 β (1.03g; 黄色油状物)。

[0285] 2 β : $\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{F}_2\text{O}_7$ M=648.73g. mol⁻¹

[0286] 质谱 (ESI⁺): 666.51 (M+H₂O); 671.43 (M+Na)

[0287] 化合物 2(a) α 的合成

[0288]



[0289] 向化合物 1(a) α (0.112g, 0.157mmol, 1 当量) (根据 Org. Lett. 2007, 9, 2477-2480 合成, 在还原步骤的回流 DCM 中使用 Al(OiPr)₃/iPrOH) 在无水甲苯(4.1mL) 中的冰冷(-78℃) 溶液中加入氢化二异丁基铝的溶液(甲苯中 1.2M; 0.211mL; 0.253mmol; 1.6 当量), 并将得到的混合物在此温度下搅拌 1 小时。将反应介质经过 10 分钟升温至 -20℃, 然后用

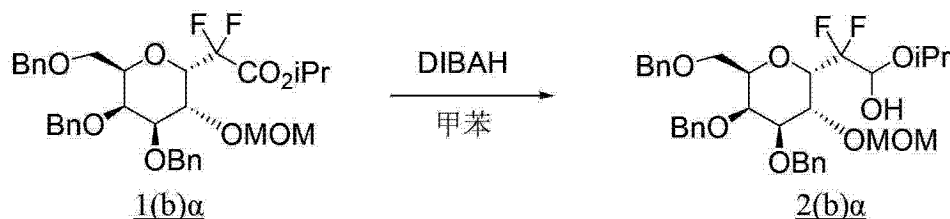
乙醇(5mL)淬灭。然后加入罗谢尔盐溶液(20%, 10mL)并将溶液剧烈搅拌 1 小时。用乙酸乙酯萃取反应介质。用盐水洗涤合并的有机萃取液,用硫酸镁干燥,过滤并在真空中蒸发,以得到化合物 2(a) α (0.100g),其未经进一步纯化即用于下一步。

[0290] 2(a) α: $C_{43}H_{44}F_2O_7$ $M=710.80g \cdot mol^{-1}$

[0291] 质谱 (ESI^+): $728.20=[M+H_2O]^+$; $733.33=[M+Na]^+$

[0292] 化合物 2(b) α 的合成

[0293]



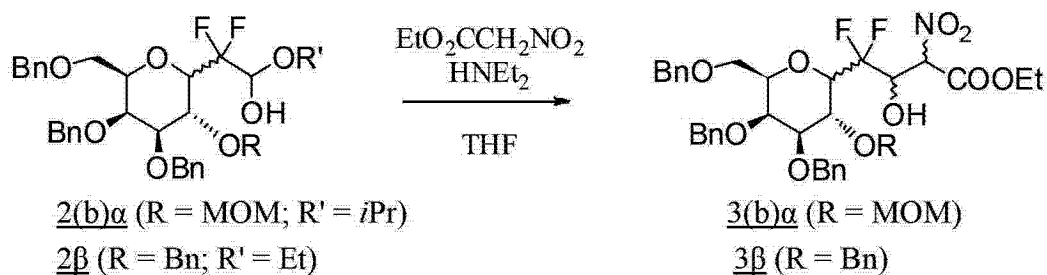
[0294] 向化合物 1(b) α (0.248g, 0.404mmol, 1 当量)(根据 Org. Lett. 2007, 9, 2477-2480 合成,在还原步骤的回流 DCM 中使用 $Al(OiPr)_3/iPrOH$ 在无水甲苯(9mL)中的冰冷($-78^{\circ}C$)溶液中加入氢化二异丁基铝的溶液(甲苯中 1M;0.600mL;0.605mmol;1.5 当量),并将得到的混合物在此温度下搅拌 1 小时。将反应介质经过 10 分钟升温至 $-20^{\circ}C$,然后用乙醇(2mL)淬灭。然后加入罗谢尔盐溶液(20%, 10mL)并将溶液剧烈搅拌 1 小时。用乙酸乙酯萃取反应介质。用盐水洗涤合并的有机萃取液,用硫酸镁干燥,过滤并在真空中蒸发,以得到化合物 2(b) α (0.244g),其未经进一步纯化即用于下一步。

[0295] 2(b) α: $C_{34}H_{42}F_2O_8$ $M=616.69g \cdot mol^{-1}$

[0296] 质谱 (ESI^+): $639.20[M+Na]^+$; $1255.07[2M+Na]^+$

[0297] 化合物 3(b) α 和 3β 的合成

[0298]



[0299] 化合物 3β: 于 $0^{\circ}C$, 将二乙胺($246 \mu L$; $2.39mmol$; 1.5 当量)加入到化合物 2β (1.03g) 和硝基乙酸乙酯($264 \mu L$; $2.39mmol$; 1.5 当量)在 THF (5mL) 中的溶液中。将混合物搅拌 3 小时,然后于 $0^{\circ}C$,加入乙酸乙酯(5mL)和盐酸(0.5N, 5mL)。分离有机层并用乙酸乙酯萃取水层。用硫酸镁干燥合并的有机萃取液,过滤并蒸发,以制得化合物 3β (1.19g; 黄色油状物)。化合物 3β 未经进一步纯化即用于下一步。

[0300] 3β: $C_{40}H_{43}F_2NO_{10}$ $M=735.77g \cdot mol^{-1}$

[0301] 质谱 (ESI^+): $753.00(M+H_2O)$; $758.13(M+Na)$

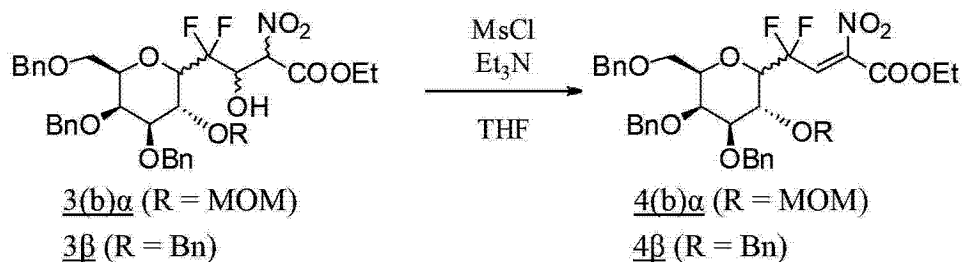
[0302] 化合物 3(b) α: 按照对于化合物 3β 的相同步骤,从化合物 2(b) α (244mg) 制备该化合物(145mg)。

[0303] 3(b) α: $C_{35}H_{41}F_2NO_{11}$ $M=689.70g \cdot mol^{-1}$

[0304] 质谱 (ESI⁺): 707. 33 (M+H₂O)

[0305] 化合物 4(b) α 和 4 β 的合成

[0306]



[0307] 化合物 4 β: 向化合物 3 β (1. 19g) 在 THF (30mL) 中的冷 (0℃) 溶液中加入甲磺酰氯 (377 μL; 4. 87mmol) 和三乙胺 (684 μL; 4. 87mmol)。搅拌 4 小时后, 加入水 (20mL) 并用乙醚萃取混合物。将合并的有机相干燥 (MgSO₄), 过滤并蒸发。通过色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 100/0 至 80/20) 纯化残留物, 以得到作为非对映异构体的混合物 (如通过 ¹⁹F NMR 所测定的 50/50 的比例) 的化合物 4 β (0. 50g; 0. 70mmol, 黄色油状物)。

[0308] 4 β: C₄₀H₄₁F₂NO₉M=717. 75g. mol⁻¹

[0309] 质谱 (ESI⁺): 735. 33 (M+H₂O); 740. 33 (M+Na)

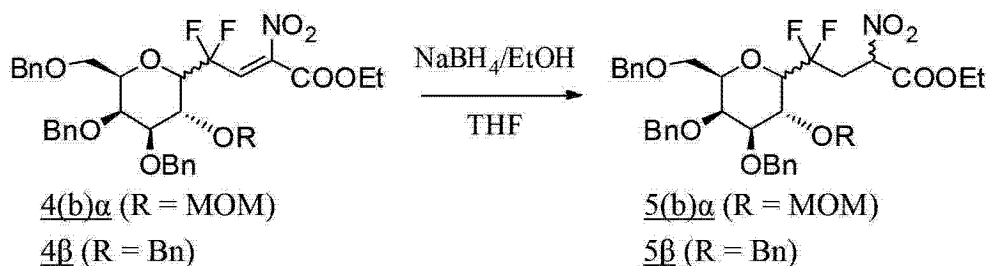
[0310] 化合物 4(b) α: 按照对于化合物 4 β 的相同步骤, 从化合物 3(b) α (64mg) 制备该化合物 (55mg)。

[0311] 4(b) α: C₃₅H₃₉F₂NO₁₀M=671. 68g. mol⁻¹

[0312] 质谱 (ESI⁺): 689. 13 (M+H₂O)

[0313] 化合物 5(b) α 和 5 β 的合成

[0314]



[0315] 化合物 5 β: 向化合物 4 β (3. 90g; 5. 43mmol) 在 THF (150mL) 和乙醇 (150mL) 中的冷 (0℃) 溶液中加入 NaBH₄ (410mg; 10. 84mmol; 2 当量)。用 HCl2N 淬灭反应混合物并用乙醚萃取。用硫酸镁干燥合并的有机萃取液, 过滤并蒸发。然后通过色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 95/5 至 60/40) 纯化残留物, 以 64% 的产率得到作为非对映异构体的混合物的化合物 5 β (2. 49g; 3. 46mmol; 黄色油状物)。两种非对映异构体以如通过 ¹⁹F NMR 所测定的 50/50 的比例存在。

[0316] 5 β: C₄₀H₄₃F₂NO₉M=719. 77g. mol⁻¹

[0317] 质谱 (ESI⁺): 737. 13 (M+H₂O); 742. 20 (M+Na)

[0318] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (与 H 耦合的): -101. 9/-103. 7 (4m, 2F); -107. 1/-108. 7 (4m, 2F).

[0319] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (不与 H 耦合的): -102. 5 (d, J=258Hz, 1F); -103. 2 (d, J=2

58Hz, 1F); -107.7 (d, J=258Hz, 1F); -108.2 (d, J=258Hz, 1F).

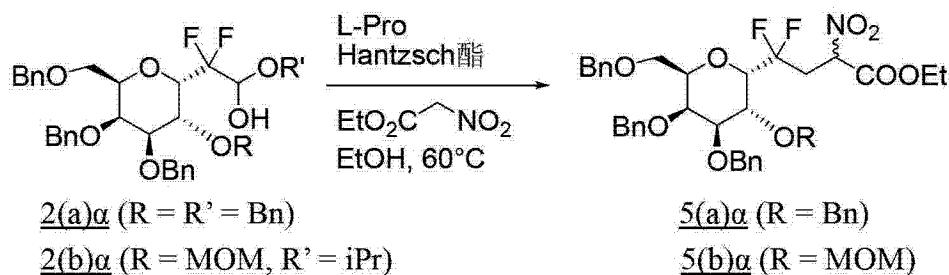
[0320] 化合物 5(b) α: 按照对于化合物 5 β 的相同步骤, 由化合物 4(b) α (53mg) 制备该化合物 (25mg; 0.04mmol; 黄色油状物)。

[0321] 5(b) α: $C_{35}H_{41}F_2NO_{10}$, M=673.70g·mol⁻¹

[0322] 质谱 (ESI⁺): 691.13 (M+H₂O)

[0323] 化合物 5(a) α 和 5(b) α 的合成

[0324]



[0325] 化合物 5(a) α: 向化合物 2(a) α (0.100g, 0.142mmol, 1 当量)、L-脯氨酸(L-Pro) (0.5 当量) 和 Hantzsch 酯 (1.3 当量) 在乙醇 (1ml) 中的混合物中加入硝基乙酸乙酯 (1.5 当量)。将反应混合物于 60°C 搅拌过夜。加入乙醚 (15ml) 并用水 (3×10ml) 洗涤有机相, 用硫酸镁干燥, 过滤并蒸发。然后通过色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 97/3 至 40/60) 纯化残留物, 以得到化合物 5(a) α (68.4mg, n=0.095mmol, 产率 67%)。

[0326] 5(a) α: $C_{40}H_{43}F_2NO_9$, M=719.77g/mol

[0327] NMR¹⁹F (CDCl₃) 282, 5MHz (与 H 耦合): -96.7/-98.5 (2F; 3m); -107.5/-108.7 (2F; 2m)

[0328] NMR¹⁹F (CDCl₃) 282.5MHz (不与 H 耦合): -97.2 (1F; d; J=260Hz); -97.9 (1F; d; J=260Hz); -108.1 (1F; d; J=257Hz); -108.2 (1F; d; J=257Hz);

[0329] 质谱 (ESI⁺): 742.20=[M+Na]⁺

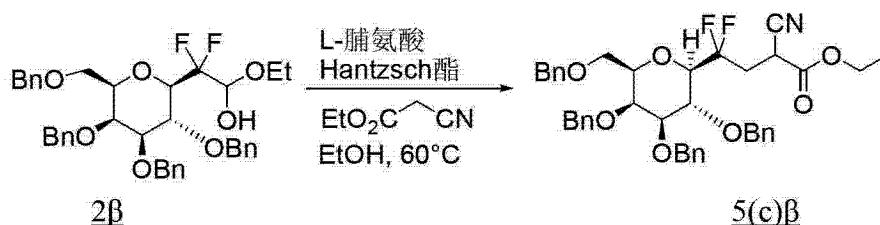
[0330] 化合物 5(b) α: 按照对于化合物 5(a) α 的相同步骤, 由化合物 2(b) α (6.96g, 11.29mmol) 制备该化合物 (3.55g, 5.27mmol, 产率 47%)。

[0331] 5(b) α: $C_{35}H_{41}F_2NO_{10}$, M=673.70g·mol⁻¹

[0332] 质谱 (ESI⁺): 691.13 (M+H₂O)

[0333] 化合物 5(c) β 的合成

[0334]



[0335] 化合物 5(c) β: 按照对于化合物 5(a) α 的相同步骤, 由化合物 2 β (213mg) 和氰基乙酸乙酯 (52 μL, 0.49mmol) 制备该化合物 (产率 =43%)。

[0336] 5(c) α: $C_{41}H_{43}F_2NO_7$, M=699.78g·mol⁻¹

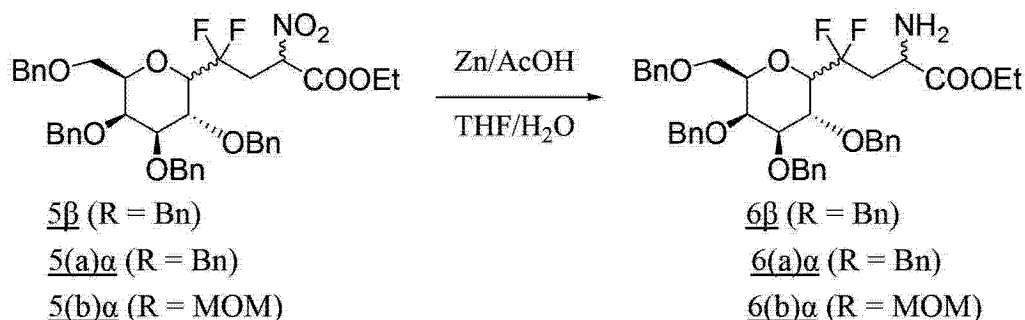
[0337] 质谱 (ESI⁺): 700.29 [M+H]⁺; 722.27 [M+Na]⁺.

[0338] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与H耦合): -103.3 (d, $J=256\text{Hz}$, 1F, CF_2); -103.6 (d, $J=256\text{Hz}$, 1F, CF_2); -107.1 (d, $J=256\text{Hz}$, 1F, CF_2); -108.1 (d, $J=256\text{Hz}$, 1F, CF_2).

[0339] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与H耦合): -102.8/-104.1 (4m, 2F, CF_2); -106.6/-108.5 (3m, 2F, CF_2).

[0340] 化合物 6 β (6 β d1+6 β d2)、6(a) α 和 6(b) α (6(b) α d1+6(b) α d2)的合成

[0341]



[0342] 化合物 6 β : 向化合物 5 β (1.53g; 2.13mmol) 在 THF (7mL)、水 (10mL) 和乙酸 (10mL) 中的溶液中加入锌粉 (2.9g; 44mmol; 20 当量)。将所得混合物于室温搅拌 12 小时。将反应混合物通过硅藻土过滤并浓缩。加入 NH_4OH 溶液调节水层的 pH 至 pH8, 然后用乙酸乙酯萃取得到的水层。将合并的有机相干燥 (MgSO_4), 过滤并浓缩。通过硅胶色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 90/10 至 20/80) 纯化粗混合物, 以得到化合物 6 β (6 β d1/6 β d2 (50/50)) (0.91g; 1.32mmol, 黄色油状物), 产率 62%。分别获得每一个非对映异构体 (6 β d1 和 6 β d2)。

[0343] 6 β d1+6 β d2: $\text{C}_{40}\text{H}_{45}\text{F}_2\text{NO}_7$ $M=689.78_{\text{g}} \cdot \text{mol}^{-1}$

[0344] 质谱 (ESI^+): 690.53 ($\text{M}+\text{H}$)

[0345] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与H耦合):

[0346] 6 β d1: -103.2/-104.2 (2m, 1F); -104.2/-105.2 (2m, 1F).

[0347] 6 β d2: -102.6/-103.7 (2m, 1F); -105.0/-106.0 (2m, 1F).

[0348] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与H耦合):

[0349] 6 β d1: -103.8 (d, $J=256\text{Hz}$, 1F); -104.7 (d, $J=256\text{Hz}$, 1F).

[0350] 6 β d2: -103.1 (d, $J=255\text{Hz}$, 1F); -105.5 (d, $J=255\text{Hz}$, 1F).

[0351] 化合物 6(a) α : 按照对于化合物 6 β 的相同步骤, 从化合物 5(a) α (100mg, 0.139mmol, 1 当量) 制备该化合物 ($m=44.9\text{mg}$, $n=0.065\text{mmol}$, 产率=47%)。

[0352] 6(a) α : $\text{C}_{40}\text{H}_{45}\text{F}_2\text{NO}_7$ $M=689.78\text{g/mol}$

[0353] 质谱 (ESI^+): 690.33 = $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0354] 化合物 6(b) α : 按照对于化合物 6 β 的相同步骤, 从化合物 5(b) α (3.55g, 5.27mmol, 1 当量) 获得作为以 50/50 的比例存在的非对映异构体的混合物的该化合物。每一个非对映异构体被分离为 6(b) α d1 ($m=1.03\text{g}$, $n=1.60\text{mmol}$, 产率=30%) 和 6(b) α d2 ($m=1.06\text{g}$, $n=1.60\text{mmol}$, 产率=31%)。

[0355] 6(b) α d1/6(b) α d2: $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{F}_2\text{NO}_8$ $M=643.71\text{g/mol}$

[0356] 6(b) α d1

[0357] 质谱 (ESI^+): 644.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 666.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

[0358] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合): -101.1 (1F; d; $J=258\text{Hz}$); -106.2 (1F; d; $J=258\text{Hz}$)

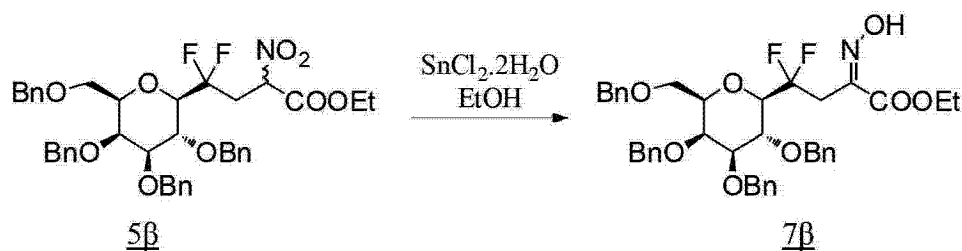
[0359] 6(b) α d2

[0360] 质谱 (ESI^+): 644.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0361] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合): -99.4 (1F; d; $J=256\text{Hz}$); -106.1 (1F; d; $J=56\text{Hz}$)

[0362] 化合物 7 β 的合成

[0363]



[0364] 向化合物 5 β (54mg; 0.075mmol) 在乙醇中的溶液中加入 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (170mg; 0.75mmol; 10 当量)。然后将混合物搅拌 24 小时并浓缩。然后将残留物稀释于乙酸乙酯中并加入 KOH 溶液 (2M)。用一部分乙酸乙酯进一步萃取水层并用盐水和水洗涤合并的有机相, 用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。通过色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 90/10 至 40/60) 纯化粗残留物, 以 56% 的产率得到化合物 7 β 。

[0365] 7 β : $\text{C}_{40}\text{H}_{43}\text{F}_2\text{NO}_8$ $M=703.77\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

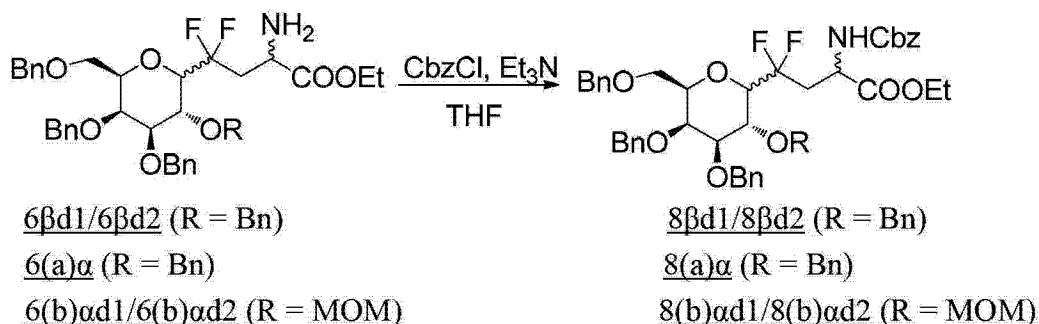
[0366] 质谱 (ESI^+): 721.47 ($\text{M}+\text{H}_2\text{O}$); 726.46 ($\text{M}+\text{Na}$)

[0367] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与 H 耦合): -100.0/-101.0 (2m, 1F); -103.8/-104.6 (2m, 1F).

[0368] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合): -100.5 (d, $J=253\text{Hz}$, 1F); -104.2 (d, $J=253\text{Hz}$, 1F).

[0369] 化合物 8 β (8 β d1+8 β d2)、8(a) α 和 8(b) α (8(b) α d1/8(b) α d2) 的合成

[0370]



[0371] 化合物 8 β : 向化合物 6 β d1 (810mg; 1.18mmol) 在 THF (15mL) 中的冷 (0°C) 溶液中加入氯甲酸苄酯 (420 μL ; 2.95mmol; 2.5 当量) 和三乙胺 (247 μL ; 1.77mmol; 1.5 当量)。将所得混合物搅拌 12 小时, 然后用乙酸乙酯萃取, 用饱和 NaHCO_3 水溶液洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并蒸发。通过色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 90/10 至 40/60) 纯化粗残留物, 以 81% 的产率得到淡黄色固体的化合物 8 β d1 (792mg; 0.96mmol)。

[0372] 按照相同的步骤, 除了从化合物 6 β d2 (718mg; 1.04mmol) 起始, 制备黄色油状物

的化合物 8β d2 (773mg; 0.94mmol)。

[0373] 8β d1+8β d2: $C_{48}H_{51}F_2NO_9M=823.92g.mol^{-1}$

[0374] 质谱 (ESI⁺): 824.27 (M+H); 841.47 (M+H₂O); 846.47 (M+Na)

[0375] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (与 H 耦合):

[0376] 8β d1: -102.0/-103.0 (2m, 1F); -103.5/-104.6 (2m, 1F).

[0377] 8β d2: -101.0/-102.1 (2m, 1F); -104.0/-105.1 (2m, 1F).

[0378] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (不与 H 耦合):

[0379] 8β d1: -102.5 (d, J=257Hz, 1F); -104.1 (d, J=257Hz, 1F).

[0380] 8β d2: -101.5 (d, J=258Hz, 1F); -104.6 (d, J=258Hz, 1F).

[0381] 化合物 8(a) α: 按照对于化合物 8β 的相同步骤, 从化合物 6(a) α (44mg, 0.064mmol, 1 当量) 制备该化合物 (m=27mg, n=0.033mmol, 产率=52%)。

[0382] 8(a) α: $C_{48}H_{51}F_2NO_9M=823.92g.mol^{-1}$

[0383] 质谱 (ESI⁺): 846.3 (M+Na); 862.3 (M+K)

[0384] 化合物 8(b) α: 按照对于化合物 8β 的相同步骤, 从化合物 6(b) α d1 (700mg, 1.09mmol, 1 当量) 制备化合物 8(b) α d1 (m=847mg, n=1.09mmol, 产率=100%)。

[0385] 按照对于化合物 8β 的相同步骤, 从化合物 6(b) α d2 (700mg, 1.09mmol, 1 当量) 制备化合物 8(b) α d2 (m=847mg, n=1.09mmol, 产率=100%)。

[0386] 8(b) α d1/8(b) α d2: $C_{43}H_{49}F_2NO_{10}M=777.85g.mol^{-1}$

[0387] 8(b) α d1

[0388] 质谱 (ESI⁺): 778.4 [M+H]⁺; 795.4 [M+H₂O]⁺

[0389] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (与 H 耦合): -100.5/-101.8 (1F; 2m); -104.9/-106.2 (1F; 2m)

[0390] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (不与 H 耦合): -101.1 (1F; d; J=258Hz); -105.6 (1F; d; J=258Hz)

[0391] 8(b) α d2

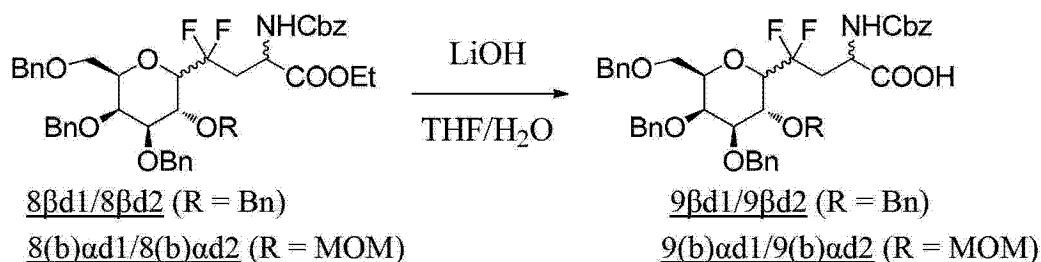
[0392] 质谱 (ESI⁺): 778.3 [M+H]⁺, 795.4 [M+H₂O]⁺

[0393] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (与 H 耦合): -98.0/-99.2 (1F; 2m); -106.2/-107.6 (1F; 2m)

[0394] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (不与 H 耦合): -98.5 (1F; d; J=259Hz); -106.9 (1F; d; J=259Hz)

[0395] 化合物 9β (9β d1+9β d2) 和 9(b) α (9(b) α d1/9(b) α d2) 的合成

[0396]



[0397] 化合物 9β: 向化合物 8β d1 (800mg; 0.97mmol) 在 THF (30mL) 和水 (1.7mL) 中的

溶液中加入 LiOH(70mg; 2.91mmol)。将溶液搅拌 12 小时,然后用 1N HCl 水溶液淬灭。然后用二氯甲烷萃取反应混合物,用硫酸镁干燥,过滤并蒸发,以 89% 的产率得到化合物 9 β d1 (680mg; 0.86mmol, 黄色油状物)。

[0398] 按照对于化合物 9 β d1 的相同步骤,从化合物 8 β d2 (750mg; 0.91mmol) 以 97% 的产率制备化合物 9 β d2 (703mg; 0.88mmol)。

[0399] 9 β d1/9 β d2: $C_{46}H_{47}F_2NO_9$ M=795.86 g. mol⁻¹

[0400] 质谱 (ESI⁺): 796.04 (M+H)⁺; 818.39 (M+Na)⁺

[0401] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (与 H 耦合):

[0402] 9 β d1: -98.3/-99.3 (2m, 1F); -100.4/-101.4 (2m, 1F).

[0403] 9 β d2: -100.0/-101.3 (2m, 1F); -103.4/-104.7 (2m, 1F).

[0404] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (不与 H 耦合):

[0405] 9 β d1: -98.8 (d, J=262Hz, 1F); -100.9 (d, J=262Hz, 1F).

[0406] 9 β d2: -100.8 (d, J=259Hz, 1F); -104.0 (d, J=259Hz, 1F).

[0407] 化合物 9(b) α : 按照对于化合物 9 β d1 的相同步骤,从化合物 8(b) α d1 (847mg, 1.09mmol, 1 当量) 制备化合物 9(b) α d1 (m=818mg, n=1.09mmol, 产率=100%)。

[0408] 按照对于化合物 9 β d1 的相同步骤,从化合物 8(b) α d2 (847mg, 1.09mmol, 1 当量) 制备化合物 9(b) α d2 (m=818mg, n=1.09mmol, 产率=100%)。

[0409] 9(b) α d1/9(b) α d2: $C_{41}H_{45}F_2NO_{10}$ M=749.79 g. mol⁻¹

[0410] 9(b) α d1

[0411] 质谱 (ESI⁺): 750.3 [M+H]⁺, 767.3 [M+H₂O]⁺

[0412] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (与 H 耦合): -99.9/-101.1 (1F; 2m); -103.6/-105.0 (1F; 2m)

[0413] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (不与 H 耦合): -100.4 (1F; d; J=258Hz); -104.2 (1F; d; J=258Hz)

[0414] 9(b) α d2

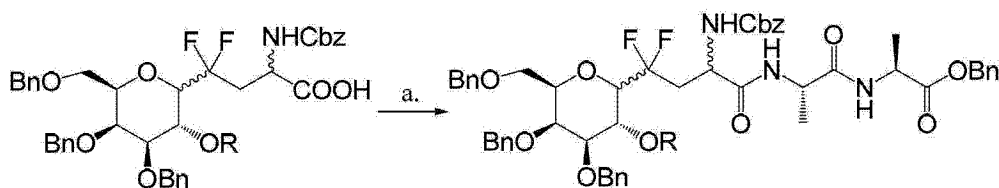
[0415] 质谱 (ESI⁺): 750.3 [M+H]⁺, 767.3 [M+H₂O]⁺

[0416] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (与 H 耦合): -96.5/-97.7 (1F; 2m); -105.6/-107.0 (1F; 2m)

[0417] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (不与 H 耦合): -97.1 (1F; d; J=261Hz); -106.3 (1F; d; J=261Hz)

[0418] 化合物 10 β (10 β d1+10 β d2) 和 10(b) α (10(b) α d1/10(b) α d2) 的合成

[0419]



a. $CF_3CO_2^- + 3HN-Ala-Ala-OBn$; PyBOP/NMM; DMF

9 β d1/9 β d2 (R = Bn)

10 β d1/10 β d2 (R = Bn)

9(b) α d1/9(b) α d2 (R = MOM)

10(b) α d1/10(b) α d2 (R = MOM)

[0420] 化合物 10 β : 向化合物 9 β d1 (672mg; 0.85mmol) 在 DMF (9mL) 中的溶液中加入 $\text{CF}_3\text{COO}^-\text{H}_3\text{NAlaAlaOBn}$ (340mg; 1.10mmol)、PyBOP (953mg; 1.83mmol) 和 N-甲基吗啉 (284 μL; 2.58mmol)。将反应混合物搅拌 48 小时。然后加入盐水并用乙酸乙酯萃取反应混合物。用枸橼酸水溶液 (10%)、水和 NaHCO_3 水溶液 (5%) 洗涤合并的有机相。然后用硫酸镁干燥有机层, 过滤并蒸发。通过色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 90/10 至 40/60) 纯化粗残留物, 以 72% 的产率得到作为淡黄色油状物的化合物 10 β d1 (630mg; 0.61mmol)。

[0421] 按照对于化合物 10 β d1 的相同步骤, 从化合物 9 β d2 (686mg; 0.86mmol) 以 67% 的产率制备白色固体的化合物 10 β d2 (594mg; 0.58mmol)。

[0422] 10 β d1/10 β d2: $\text{C}_{59}\text{H}_{63}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_{11}$ $M=1028.14\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0423] 质谱 (ESI^+): 1028.19 ($\text{M}+\text{H}$); 1050.44 ($\text{M}+\text{Na}$)

[0424] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与 H 耦合):

[0425] 10 β d1: -101.4/-102.3 (2m, 1F); -102.4/-103.5 (2m, 1F).

[0426] 10 β d2: -98.5/-99.5 (2m, 1F); -102.9/-104.0 (2m, 1F).

[0427] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合):

[0428] 10 β d1: -102.0 (d, $J=258\text{Hz}$, 1F); -103.0 (d, $J=258\text{Hz}$, 1F).

[0429] 9 β d2: -99.0 (d, $J=258\text{Hz}$, 1F); -103.4 (d, $J=258\text{Hz}$, 1F).

[0430] 化合物 10(b) α: 按照对于化合物 10 β d1 的相同步骤, 由化合物 9(b) α d1 (818mg, 1.09mmol, 1 当量) 制备化合物 10(b) α d1 ($m=910\text{mg}$, $n=0.93\text{mmol}$, 产率=85%)。

[0431] 按照对于化合物 10 β d1 的相同步骤, 从化合物 9(b) α d2 (818mg, 1.09mmol, 1 当量) 制备化合物 10(b) α d2 ($m=845\text{mg}$, $n=0.86\text{mmol}$, 产率=79%)。

[0432] 10(b) α d1/10(b) α d2: $\text{C}_{54}\text{H}_{61}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_{12}$ $M=982.07\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0433] 10(b) α d1

[0434] 质谱 (ESI^+): 982.4 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 999.5 [$\text{M}+\text{H}_2\text{O}$] $^+$

[0435] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与 H 耦合): -97.9/-99.2 (1F; 2m); -103.4/-104.6 (1F; 2m)

[0436] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合): -98.6 (1F; d; $J=261\text{Hz}$); -104.0 (1F; d; $J=261\text{Hz}$)

[0437] 10(b) α d2

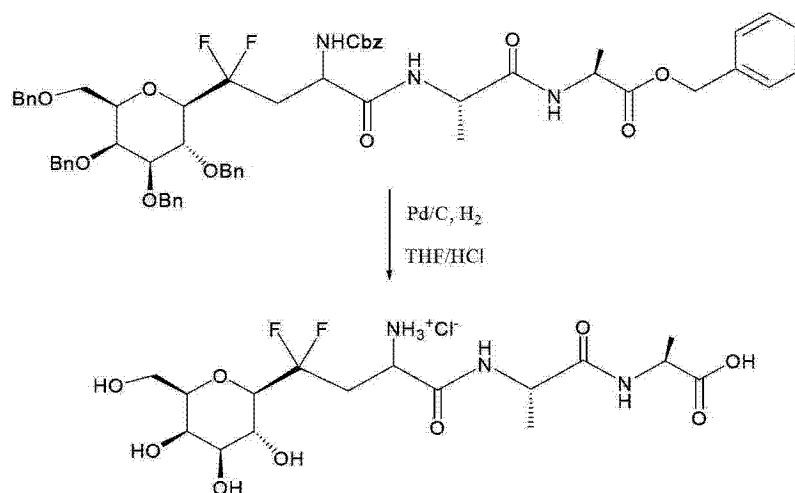
[0438] 质谱 (ESI^+): 982.4 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 999.5 [$\text{M}+\text{H}_2\text{O}$] $^+$, 1004.4 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$

[0439] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与 H 耦合): -97.5/-98.8 (1F; 2m); -104.4/-105.6 (1F; 2m)

[0440] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合): -98.1 (1F; d; $J=260\text{Hz}$); -105.0 (1F; d; $J=260\text{Hz}$)

[0441] 化合物 11 β (11 β d1/11 β d2) 的合成

[0442]



[0443] 在 10%Pd/C 的存在下,将溶解于 THF (12mL)和 HCl1N (1.4mL)的混合物中的化合物 10 β d1 (395mg;0.38mmol)置于氢气气氛下。将混合物搅拌 48 小时,然后微孔过滤并蒸发,以定量地得到白色固体的化合物 11 β d1 (182mg, 0.38mmol, 产率 100%)。

[0444] 按照对于化合物 11 β d1 的相同步骤,从化合物 10 β d2 (399mg;0.39mmol)定量地制备白色固体的化合物 11 β d2 (187mg, 0.39mmol, 产率 100%)。

[0445] 11 β d1/11 β d2:C₁₆H₂₈ClF₂N₃O₉M=479.86g.mol⁻¹

[0446] 质谱 (ESI⁻):442.1 (M-HCl)

[0447] NMR¹⁹F (D₂O, 282.5MHz) (与 H 耦合):

[0448] 11 β d1: -102.2/-103.3 (m, 1F); -108.4/-109.5 (m, 1F).

[0449] 11 β d2: -102.8/-103.7 (m, 1F); -107.4/-108.4 (m, 1F).

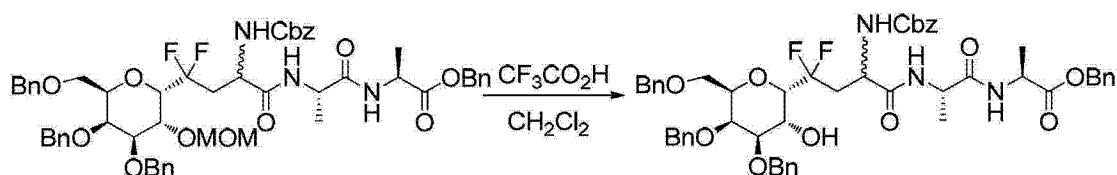
[0450] NMR¹⁹F (D₂O, 282.5MHz) (不与 H 耦合):

[0451] 11 β d1: -102.7 (d, J=258Hz, 1F); -108.9 (d, J=258Hz, 1F)

[0452] 11 β d2: -103.3 (d, J=257Hz, 1F); -107.9 (d, J=257Hz, 1F).

[0453] 化合物 12(b) α (12(b) α d1/12(b) α d2) 的合成

[0454]



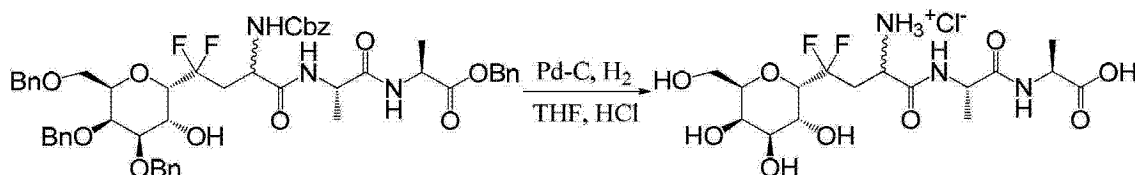
[0455] 化合物 12(b) α: 在惰性气氛下,将三氟乙酸 (3.4mL, 45.6mmol) 滴加到化合物 10(b) α d1 (675mg, 0.687mmol, 1 当量) 在二氯甲烷 (3.4mL) 中的溶液中。将反应混合物搅拌 3 小时,然后将其倒入饱和的 NaHCO₃ 水溶液中。用二氯甲烷将获得的溶液萃取两次并用硫酸钠干燥合并的有机层,过滤并浓缩。通过闪式柱色谱法 (环己烷/AcOEt65/35 至 25/75) 纯化粗残留物,以得到白色固体的化合物 12(b) α d1 (m=385mg, n=0.41mmol, 产率=60%)。

[0456] 按照对于化合物 12(b) α d1 的相同步骤,从化合物 10(b) α d2 (642mg, 0.654mmol, 1 当量) 制备化合物 12(b) α d2 (m=368mg, n=0.39mmol, 产率=60%)。

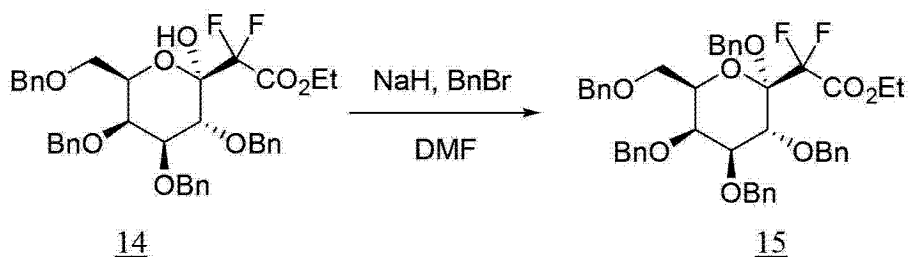
[0457] 12(b) α d1/12(b) α d2:C₅₂H₅₇F₂N₃O₁₁M=938.02g.mol⁻¹

[0458] 12(b) α d1

- [0459] 质谱 (ESI⁺): 938. 4 [M+H]⁺, 955. 4 [M+H₂O]⁺, 960. 4 [M+Na]⁺
- [0460] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (与 H 耦合): -97. 3/-98. 6 (1F; 2m); -101. 6/-102. 7 (1F; 2m)
- [0461] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (不与 H 耦合): -97. 9 (1F; d; J=262Hz); -102. 1 (1F; d; J=262Hz)
- [0462] 12(b) α d2
- [0463] Mass (ESI⁺): 938. 4 [M+H]⁺, 955. 4 [M+H₂O]⁺, 960. 4 [M+Na]⁺
- [0464] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (与 H 耦合): 97. 3/-98. 5 (1F; 2m); -103. 6/-104. 7 (1F; 2m)
- [0465] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (不与 H 耦合): -97. 9 (1F; d; J=259Hz); -104. 1 (1F; d; J=259Hz)
- [0466] 化合物 13(b) α (13(b) α d1/13(b) α d2) 的合成
- [0467]



- [0468] 化合物 13(b) α: 在 10%Pd/C (112mg, 0. 25 当量) 的存在下, 将溶解于 THF (13. 2mL) 和 HCl1N (1. 5mL) 的混合物中的化合物 12(b) α d1 (395mg, 0. 42mmol, 1 当量) 置于氢气气氛下。将混合物搅拌 24 小时, 然后微孔过滤并蒸发, 以得到化合物 13(b) α d1 (m=197mg, n=0. 41mmol, 产率 =97%)。
- [0469] 按照对于化合物 13(b) α d1 的相同步骤, 由化合物 12(b) α d2 (338mg, 0. 36mmol, 1 当量) 制备化合物 13(b) α d2 (m=172mg, n=0. 36mmol, 产率 =100%)。
- [0470] 13(b) α d1/13(b) α d2: C₁₆H₂₈ClF₂N₃O₉M=479. 86g. mol⁻¹
- [0471] 13(b) α d1
- [0472] 质谱 (ESI⁺): 444. 2 [M-HCl+H]⁺, 466. 2 [M-HCl+Na]⁺, 482. 1 [M-HCl+K]⁺
- [0473] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (与 H 耦合): -97. 2/-98. 4 (1F; 2m); -101. 8/-103. 0 (1F; 2m)
- [0474] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (不与 H 耦合): -97. 8 (1F; d; J=256Hz); -102. 4 (1F; d; J=256Hz)
- [0475] 13(b) α d2
- [0476] 质谱 (ESI⁺): 444. 2 [M-HCl+H]⁺, 466. 2 [M-HCl+Na]⁺, 482. 1 [M-HCl+K]⁺
- [0477] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (与 H 耦合): -97. 7/-98. 8 (1F; 2m); -100. 5/-101. 8 (1F; 2m)
- [0478] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282. 5MHz) (不与 H 耦合): -98. 2 (1F; d; J=257Hz); -101. 0 (1F; d; J=257Hz)
- [0479] 化合物 15 的合成
- [0480]



[0481] 化合物 15：将由 Synlett2005, 17, 2627-2630 - 也可参见 W02004/014928、W02007/125203 和 W02007/125194 中描述的方法获得的化合物 14 (3g, 4.50mmol, 1 当量) 溶解于无水 DMF (45mL) 中。将溶液冷却至 0℃ 并分份地加入氢化钠 (129mg, 5.40mmol, 1.2 当量)。45 分钟后, 于 0℃ 搅拌, 滴加溴苄 (1.1mL, 9mmol, 2 当量)。将反应混合物升温至室温并搅拌 5 小时 30 分钟。加入饱和的氯化铵水溶液并用乙酸乙酯将混合物萃取三次。用水, 然后用盐水洗涤合并的有机层, 然后干燥并蒸发。通过色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 98/2 至 75/25) 纯化, 以得到化合物 15 ($m=2.61\text{g}$, $n=3.47\text{mmol}$, 产率 = 77%)。

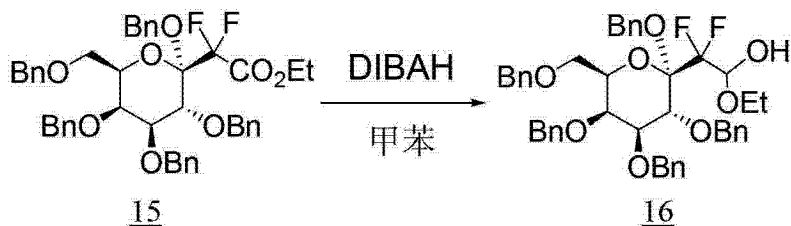
[0482] 15: $\text{C}_{45}\text{H}_{46}\text{F}_2\text{O}_8$ $M=752.84\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0483] 质谱 (ESI⁺): 775.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 791.3 $[\text{M}+\text{K}]^+$

[0484] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与 H 耦合): -111.4 (1F; d; $J=265\text{Hz}$); -116.1 (1F; d; $J=26\text{Hz}$); -112.0 (1F; d; $J=263\text{Hz}$); -115.3 (1F; dd; $J=265\text{Hz}$; $J=3\text{Hz}$)

[0485] 化合物 16 的合成

[0486]



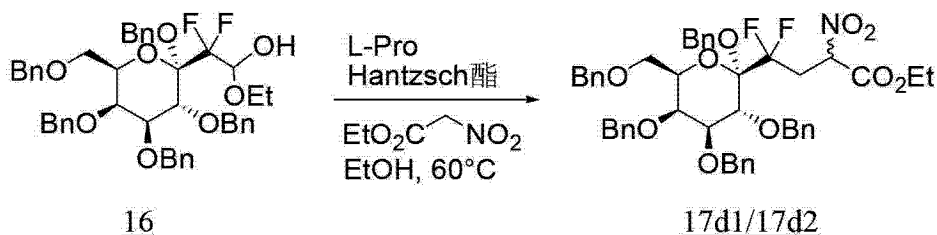
[0487] 向化合物 15 (1.34g, 1.78mmol, 1 当量) 在无水甲苯 (18mL) 中的冰冷 (-78℃) 溶液中加入氢化二异丁基铝的溶液 (甲苯中 1.2M; 2.15mL; 2.58mmol; 1.45 当量), 并将得到的混合物在此温度下搅拌 5 小时。用甲醇 (4mL) 淬灭反应并将溶液经过 10 分钟升温至 -20℃。然后加入罗谢尔盐溶液 (20%) 并将溶液剧烈搅拌 1 小时。用乙酸乙酯萃取反应介质。用盐水洗涤合并的有机萃取液, 用硫酸镁干燥, 过滤并在真空中蒸发, 以得到化合物 16 ($m=1.3\text{g}$, 黄色油状物)。化合物 16 未经进一步纯化即用于下一步。

[0488] 16: $\text{C}_{45}\text{H}_{46}\text{F}_2\text{O}_8$ $M=754.85\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0489] 质谱 (ESI⁺): 777.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 793.3 $[\text{M}+\text{K}]^+$

[0490] 化合物 17d1/17d2 的合成

[0491]



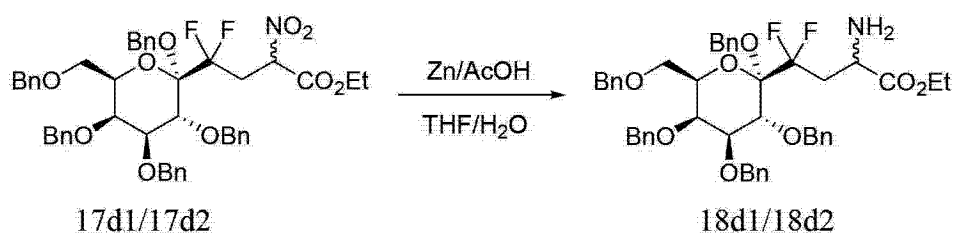
[0492] 化合物 17: 向化合物 16 (1.56g, 2.07mmol, 1 当量)、L-脯氨酸(L-Pro) (119mg, 1.04mmol, 0.5 当量) 和 Hantzsch 酯(70mg, 2.69mmol, 1.3 当量) 在乙醇(20ml) 中的混合物中加入硝基乙酸乙酯(0.3mL, 3.11mmol, 1.5 当量)。将反应混合物于 60℃ 搅拌 20 小时。加入乙醚并用水洗涤有机相三次, 用硫酸钠干燥, 过滤并蒸发。然后通过色谱法(环己烷 / 乙酸乙酯 80/20) 纯化残留物, 以得到作为非对映异构体混合物的化合物 17 (17d1/17d260/40) (m=1.3g, 1.57mmol, 产率 =75%, 黄色固体)。

[0493] 17d1/17d2: $C_{47}H_{49}F_2NO_{10}$ M=825.89g. mol⁻¹

[0494] 质谱 (ESI⁺): 843.4 [M+H₂O]⁺, 848.3 [M+Na]⁺, 864.3 [M+K]⁺

[0495] 化合物 18d1/18d2 的合成

[0496]



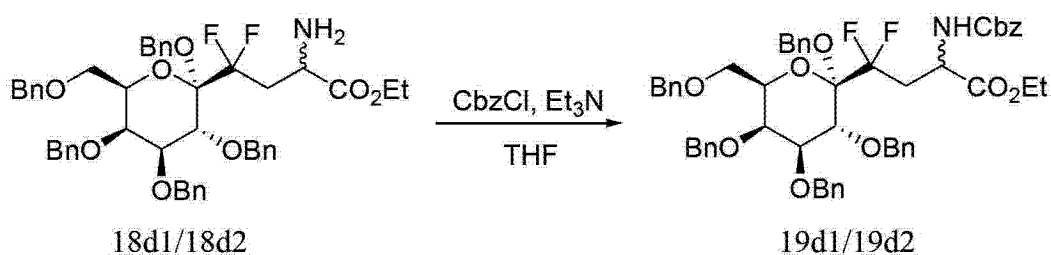
[0497] 化合物 18: 向化合物 17d1/17d2 (17d1/17d260/40) (1.23g, 1.55mmol, 1 当量) 在 THF (4.9mL)、水 (7.3mL) 和乙酸 (7.3mL) 中的溶液中加入 Zn 粉 (2.1g; 32.5 mmol; 21 当量)。将所得混合物于室温搅拌 5 小时。将反应混合物通过硅藻土过滤并浓缩。加入 NaHCO₃ 溶液以调节水层的 pH 至 pH8, 然后用乙酸乙酯萃取得到的水层。将合并的有机相干燥 (MgSO₄), 过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(环己烷 / 乙酸乙酯 80/20) 纯化粗混合物, 以得到化合物 18 (18d1/18d260/40) (m=780mg, n=0.98mmol, 产率 =63%)。

[0498] 18d1/18d2: $C_{47}H_{51}F_2NO_8$ M=795.91g. mol⁻¹

[0499] 质谱 (ESI⁺): 796.4 [M+H]⁺, 818.4 [M+Na]⁺, 834.4 [M+K]⁺

[0500] 化合物 19d1/19d2 的合成

[0501]



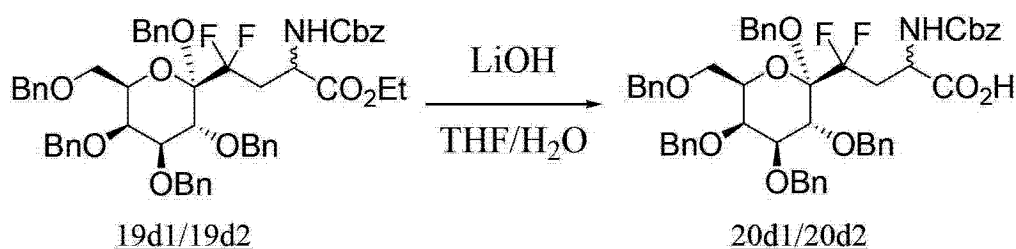
[0502] 化合物 19: 向化合物 18 (18d1/18d260/40) (658mg, 0.827mmol, 1 当量) 在 THF (8mL) 中的冷(0℃) 溶液中加入氯甲酸苄酯(300 μL; 2.07mmol; 2.5 当量) 和三乙胺 (290 μL; 2.07mmol; 2.5 当量)。将所得混合物搅拌 24 小时, 然后用乙酸乙酯萃取, 用饱和 NaHCO₃ 水溶液洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并蒸发。通过色谱法(环己烷 / 乙酸乙酯 2/98 至 80/20) 纯化粗残留物, 以得到化合物 19 (19d1/19d260/40) (m=592mg, n=0.637mmol, 产率 =77%)。

[0503] 19d1/19d2: $C_{55}H_{57}F_2NO_{10}$ M=930.04g. mol⁻¹

[0504] 质谱 (ESI⁺): 947.44 [M+NH₄]⁺, 953 [M+Na]⁺, 968.37 [M+K]⁺

[0505] 化合物 20d1/20d2 的合成

[0506]



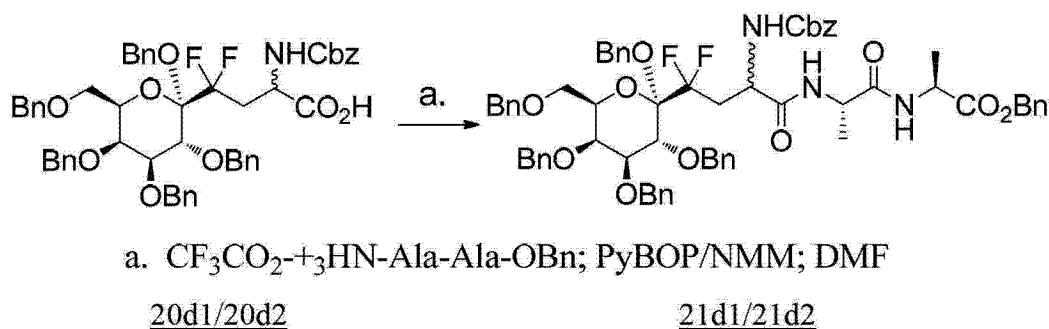
[0507] 化合物 20 : 向化合物 19 (19d1/19d260/40) (575mg, 0.618mmol, 1 当量) 在 THF (6mL) 中的溶液中加入 LiOH2N 溶液 (0.93mL; 1.85mmol, 3 当量)。将溶液搅拌 12 小时, 然后用 1N HCl 水溶液淬灭。然后用乙酸乙酯萃取反应混合物, 用硫酸钠干燥, 过滤并蒸发, 以得到白色固体的化合物 20 (20d1/20d255/45) ($m=526\text{mg}$, $n=0.583\text{mmol}$, 产率 =94%)。

[0508] 20d1/20d2: $\text{C}_{53}\text{H}_{53}\text{F}_2\text{NO}_{10}$, $M=901.99\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0509] 质谱 (ESI⁺): 919.4 [M+H₂O]⁺, 924.4 [M+Na]⁺, 940.3 [M+K]⁺

[0510] 化合物 21d1/21d2 的合成

[0511]



[0512] 化合物 21 : 向化合物 20 (20d1/20d255/45) (432mg, 0.477mmol, 1 当量) 在 DMF (4.6mL) 中的溶液中加入 $\text{CF}_3\text{COO}^- \text{H}_3\text{NAlaAlaOBn}$ (223mg; 0.612mmol, 1.3 当量)、PyBOP (510mg; 1mmol, 2.1 当量) 和 N-甲基吗啉 (160 μL ; 1.43mmol, 3 当量)。将反应混合物搅拌 18 小时。然后加入盐水并用乙酸乙酯萃取反应混合物。用枸橼酸水溶液 (10%)、水和 NaHCO_3 水溶液 (5%) 洗涤合并的有机相。然后用硫酸钠干燥有机层, 过滤并蒸发。通过色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 4/96 至 60/40) 纯化粗残留物, 以得到无色油状物的化合物 21 (21d1/21d255/45) ($m=453\text{mg}$, $n=0.4\text{mmol}$, 产率 =84%)。

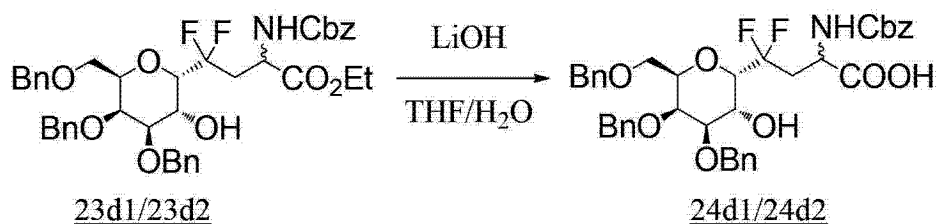
[0513] 21d1/21d2: $\text{C}_{66}\text{H}_{69}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_{12}$, $M=1134.26\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0514] 质谱 (ESI⁺): 1134.5 [M+H]⁺, 1151.5 [M+H₂O]⁺, 1156.5 [M+Na]⁺, 1172.5 [M+K]⁺

[0515] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合): -102.9 (1F; d; J=259Hz); -103.2 (1F; d; J=259Hz), -104.6 (1F; d; J=259Hz); -104.8 (1F; d; J=259Hz)

[0516] 化合物 22d1/22d2 的合成

[0517]



[0536] 按照对于化合物 9(b) α d1 的相同步骤,从化合物 23d1 (m=80mg, n=0.11mmol) 制备化合物 24d1 (77mg, 0.11mmol, 产率 100%)。

[0537] 按照对于化合物 9(b) α d1 的相同步骤,从化合物 23d1 (m=80mg, n=0.11mmol) 制备化合物 24d2 (77mg, 0.11mmol, 产率 100%)。

[0538] 24d1/24d2: $\text{C}_{39}\text{H}_{41}\text{F}_2\text{NO}_9$ $M=705.74\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0539] 24d1

[0540] 质谱 (ESI^+): 706.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 723.3 $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]^+$, 728.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

[0541] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与 H 耦合 d): -100.8/-101.9 (1F; 2m); -102.2/-103.4 (1F; 2m)

[0542] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合): -101.3 (1F; d; J=262Hz); -102.9 (1F; d; J=262Hz)

[0543] 24d2

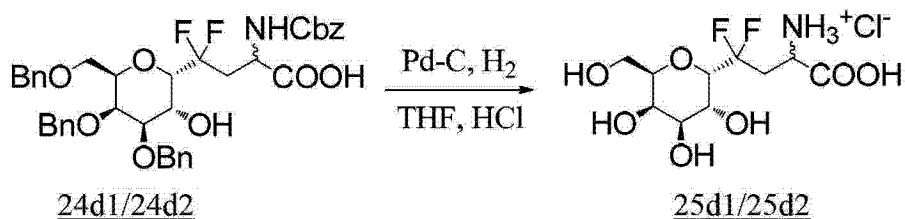
[0544] 质谱 (ESI^+): 706.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 723.3 $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]^+$, 728.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

[0545] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与 H 耦合): -98.2/-99.3 (1F; 2m); -104.4/-105.7 (1F; 2m)

[0546] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合): -98.7 (1F; d; J=260Hz); -105.0 (1F; d; J=260Hz)

[0547] 化合物 25d1/25d2 的合成

[0548]



[0549] 按照对于化合物 13(b) α 的相同步骤,从化合物 24d1 (m=74mg, n=0.11mmol) 制备化合物 25d1 (35mg, 0.11mmol, 产率 100%)。

[0550] 按照对于化合物 13(b) α 的相同步骤,从化合物 24d1 (m=72mg, n=0.10mmol) 制备化合物 25d2 (32mg, 0.09mmol, 产率 93%)。

[0551] 25d1/25d2: $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{ClF}_2\text{NO}_7$ $M=337.70\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0552] 25d1

[0553] 质谱 (ESI^+): 302.1 $[\text{M}-\text{HCl}+\text{H}]^+$

[0554] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (与 H 耦合): -97.2/-98.3 (1F; 2m); -101.9/-103.0 (1F; 2m)

[0555] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz) (不与 H 耦合): -97.7 (1F; d; J=256Hz); -102.4 (1F; d; J=256Hz)

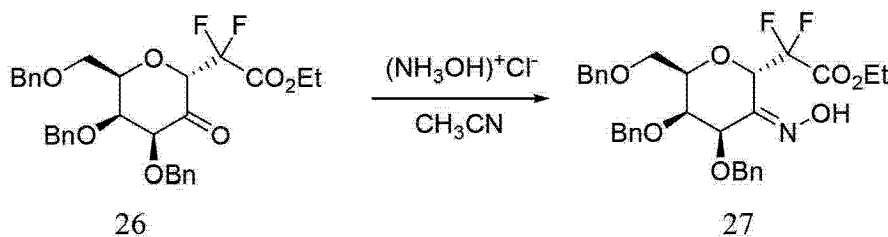
56Hz)

[0556] 25d2

[0557] 质谱 (ESI⁺): 302.1 [M-HCl+H]⁺[0558] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (不与 H 耦合): -97.9 (1F; d; J=257Hz); -100.9 (1F; d; J=257Hz)

[0559] 化合物 27 的合成

[0560]

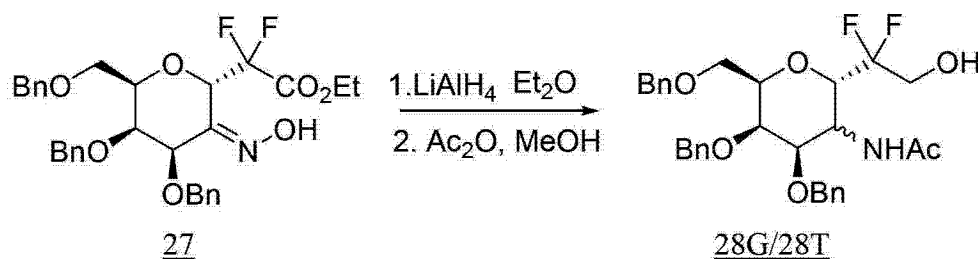


[0561] 化合物 26: 将由 Org. Lett. 2007, 9, 2477-2480 中描述的方法获得的化合物 26 (24.2g, 43.6mmol, 1 当量) 溶解于乙腈 (58mL) 中, 并向获得的溶液中加入盐酸羟胺 (5.46g, 78.5mmol, 1.8 当量) 和乙酸钠 (7.15g, 87.2mmol, 2 当量) 在水 (58mL) 中的溶液。将反应混合物于室温搅拌过夜, 然后蒸发并通过色谱法 (环己烷 / 乙酸乙酯 100/0 至 70/30) 纯化, 以得到黄色油状物的化合物 27 (m=11.59g, n=20.3mmol, 产率=47%)。

[0562] 27: C₃₁H₃₃F₂N₂O₇M=569.59g.mol⁻¹[0563] 质谱 (ESI⁺): 570.2 [M+H]⁺[0564] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (与 H 耦合): -109.5 (1F; dd; J=255Hz; J=9Hz); -113.1 (1F; dd; J=255Hz; J=23Hz)[0565] NMR¹⁹F (CDCl₃, 282.5MHz) (不与 H 耦合): -109.5 (1F; d; J=255Hz); -113.1 (1F; d; J=255Hz)

[0566] 化合物 28G/28T 的合成

[0567]



[0568] 在惰性气氛下, 将化合物 27 (5.5g, 9.66mmol, 1 当量) 在二乙醚 (250mL) 中的溶液滴加到氢化铝锂 (3.67g, 96.6mmol, 10 当量) 在二乙醚 (150mL) 中的混悬液中。将所述混悬液于室温搅拌 10 分钟, 然后回流过夜, 然后冷却至 0℃。小心滴加罗谢尔盐水溶液。然后将混合物升温至室温并通过硅藻土垫过滤。用二乙醚洗涤该垫。分离各层并用二乙醚萃取水层。用水洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥并蒸发。将获得的黄色粗残留物溶解于甲醇 (700mL) 中并加入乙酸酐 (10.8mL, 115mmol, 12 当量)。将反应混合物于室温搅拌 1.5 小时, 然后蒸发, 以得到两种非对映异构体的混合物 (28T/28G 70/30)。通过粗残留物 28T (m=1.65g, n=2.97mmol, 产率=31%) 和 28G (m=516mg, n=0.93mmol, yield=10%) 的色谱法 (环

己烷 / 乙酸乙酯 60/40 至 35/65) 分离每一个非对映异构体。

[0569] 28T/28G: $C_{31}H_{35}F_2NO_6$ $M=555.61 g \cdot mol^{-1}$

[0570] 28T

[0571] 质谱 (ESI^+): $562.3 [M+Li]^+$

[0572] $NMR^{19}F (CDCl_3, 282.5 MHz)$ (与 H 耦合): $-109.5/-110.7 (1F; 2m)$; $-112.9/-114.6 (1F, 2m)$

[0573] $NMR^{19}F (CDCl_3, 282.5 MHz)$ (不与 H 耦合): $-110.1 (1F; d; J=261 Hz)$; $-113.7 (1F; d; J=261 Hz)$

[0574] 28G

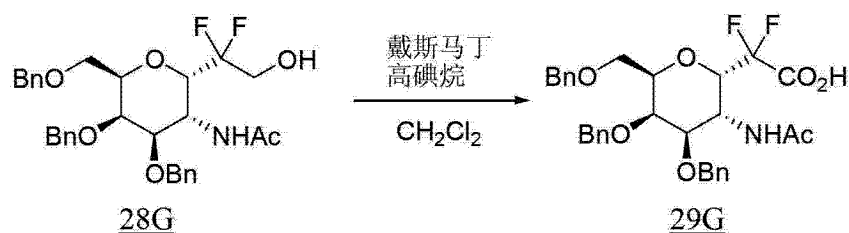
[0575] 质谱 (ESI^+): $562.3 [M+Li]^+$ $578.2 [M+Na]^+$

[0576] $NMR^{19}F (CDCl_3, 282.5 MHz)$ (与 H 耦合): $-112.2/-113.7 (1F; 2m)$; $-120.3/-121.7 (1F; 2m)$

[0577] $NMR^{19}F (CDCl_3, 282.5 MHz)$ (不与 H 耦合): $-112.8 (1F; d; J=269 Hz)$; $-120.8 (1F; d; J=269 Hz)$

[0578] 化合物 29G 的合成

[0579]



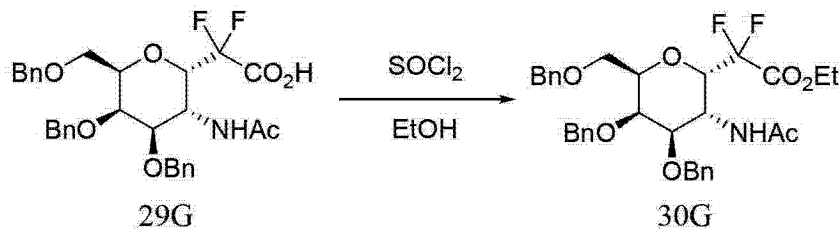
[0580] 在惰性气氛下,将化合物 28G (200mg, 0.36mmol, 1 当量)溶解于二氯甲烷(1mL)中并加入戴斯马丁高碘烷(458mg, 1.08mmol, 3 当量)。将反应混合物于室温搅拌过夜。加入二氯甲烷和水并分离各层。用二氯甲烷萃取水层并用硫酸钠干燥合并的有机层。蒸发并通过色谱法(二氯甲烷 / 甲醇 90/10 至 85/15)纯化,以得到化合物 29G ($m=45mg$, $n=0.079mmol$, 产率=22%)

[0581] 29G: $C_{31}H_{33}F_2NO_7$ $M=569.59 g \cdot mol^{-1}$

[0582] 质谱 (ESI^+): $570.2 [M+H]^+$, $592.2 [M+Na]^+$, $608.1 [M+K]^+$

[0583] 化合物 30G 的合成

[0584]



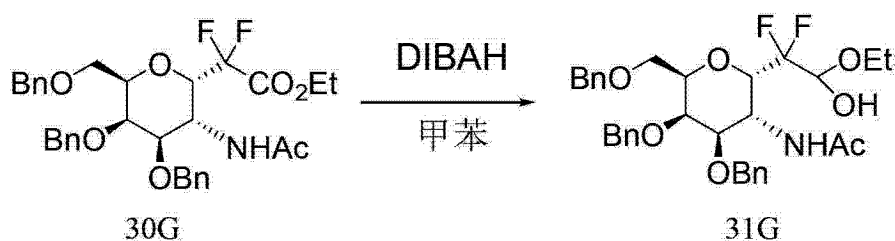
[0585] 将亚硫酸酐(21 μL , 0.278mmol, 3.6 当量)加入到化合物 29G (44mg, 0.077mmol, 1 当量)在乙醇(510 μL)中的溶液中。将反应混合物回流 1 小时,然后冷却并将其缓慢地加入到碳酸氢钠的饱和水溶液中。用二乙醚萃取该溶液两次并用硫酸钠干燥合并的有机层。蒸发并通过色谱法纯化,以得到化合物 30G ($m=6mg$, $n=0.01mmol$, 产率=13%)

[0586] 30G: $C_{33}H_{37}F_2NO_7$, $M=597.65g \cdot mol^{-1}$

[0587] 质谱 (ESI⁺): 598.3 [M+H]⁺, 620.2 [M+Na]⁺, 636.2 [M+K]⁺

[0588] 化合物 31G 的合成

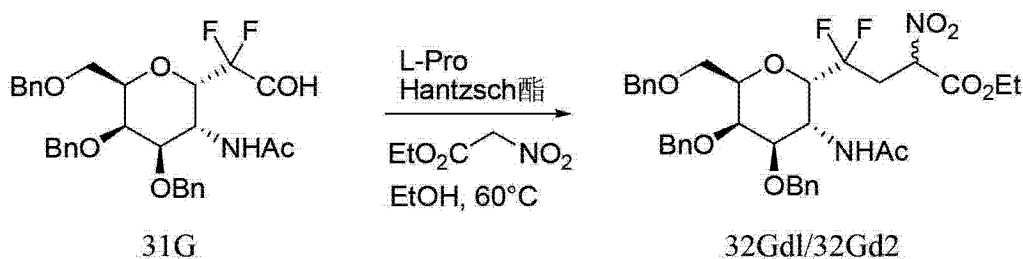
[0589]



[0590] 按照对于化合物 16 的相同步骤,从化合物 30G (790mg, 1.32mmol, 1 当量) 制备化合物 31G (m=702mg, n=1.17mmol, 产率=89%)。含有化合物 31G 的粗混合物未经进一步纯化且未经表征即用于下一步。

[0591] 化合物 32Gd1/32Gd2 的合成

[0592]



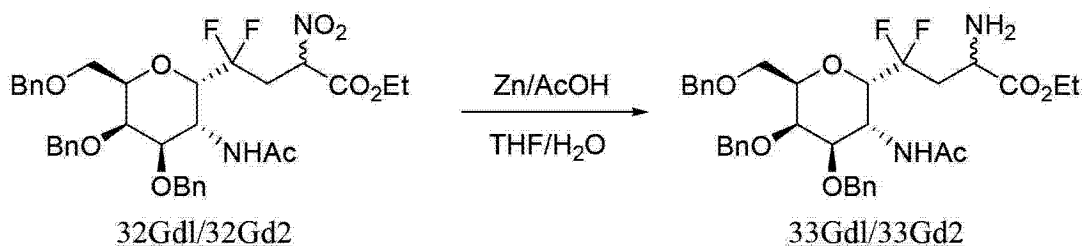
[0593] 按照对于化合物 17 的相同步骤,从化合物 31G (702mg, 1.17mmol, 1 当量) 制备化合物 32Gd1/32Gd2 (m=365mg, n=0.54mmol, 产率=47%)。

[0594] 32Gd1/32Gd2: $C_{35}H_{40}F_2N_2O_9$, $M=670.70g \cdot mol^{-1}$

[0595] 质谱 (ESI⁺): 693.3 [M+Na]⁺, 709.3 [M+K]⁺

[0596] 化合物 33Gd1/33Gd2 的合成

[0597]



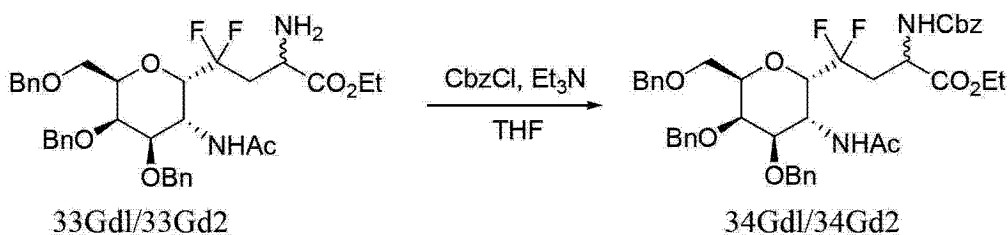
[0598] 按照对于化合物 18 的相同步骤,从化合物 32Gd1/32Gd2 (362mg, 0.54mmol, 1 当量) 制备化合物 33Gd1/33Gd2 (m=332mg, n=0.52mmol, 产率=96%)。在该阶段,通过在色谱法上的纯化可以分离两种非对映异构体。

[0599] 33Gd1/33Gd2: $C_{35}H_{42}F_2N_2O_7$, $M=640.71g \cdot mol^{-1}$

[0600] 质谱 (ESI⁺): 641.4 [M+H]⁺, 663.4 [M+Na]⁺, 679.4 [M+K]⁺

[0601] 化合物 34Gd1/34Gd2 的合成

[0602]



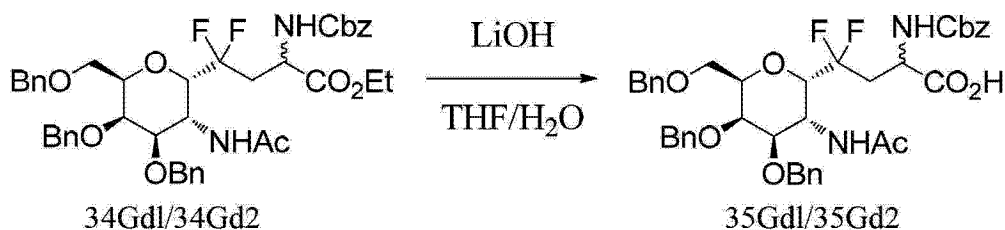
[0603] 按照对于化合物 19 的相同步骤,从化合物 33Gd1/33Gd2(150mg, 0.23mmol, 1 当量) 制备化合物 34Gd1/34Gd2 (m=51mg, n=0.066mmol, 产率 =28%)。

[0604] 34Gd1/34Gd2: $C_{43}H_{48}F_2N_2O_9M=774.85g \cdot mol^{-1}$

[0605] 质谱 (ESI⁺): 775.3 [M+H]⁺, 792.3 [M+H₂O]⁺, 797.3 [M+Na]⁺, 813.3 [M+K]⁺

[0606] 化合物 35Gd1/35Gd2 的合成

[0607]



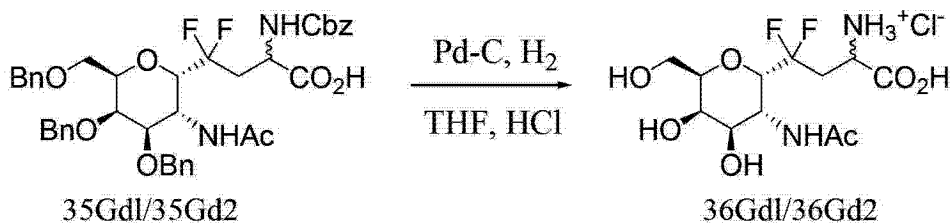
[0608] 按照对于化合物 20 的相同步骤,从化合物 34Gd1/34Gd2(50mg, 0.65mmol, 1 当量) 制备化合物 35Gd1/35Gd2 (m=48mg, n=0.065mmol, 产率 =100%)。

[0609] 35Gd1/35Gd2: $C_{41}H_{44}F_2N_2O_9M=746.79g \cdot mol^{-1}$

[0610] 质谱 (ESI⁺): 747.3 [M+H]⁺, 764.3 [M+H₂O]⁺, 769.3 [M+Na]⁺, 785.3 [M+K]⁺

[0611] 化合物 36Gd1/36Gd2 的合成

[0612]



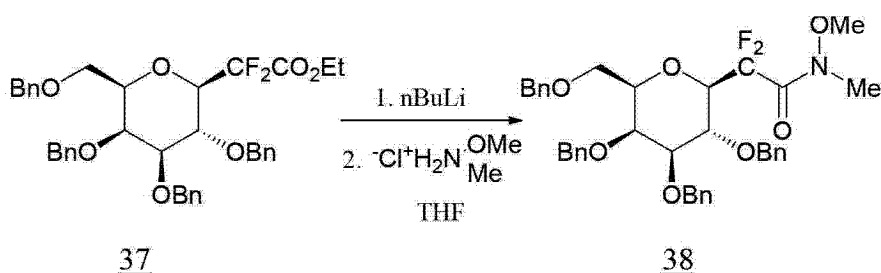
[0613] 按照对于化合物 13(b) α 的相同步骤,从化合物 35Gd1/35Gd2(48mg, 0.065mmol, 1 当量) 制备化合物 36Gd1/36Gd2 (m=24mg, n=0.065mmol, 产率 =100%)。

[0614] 36Gd1/36Gd2: $C_{12}H_{21}ClF_2N_2O_7M=378.75g \cdot mol^{-1}$

[0615] 质谱 (ESI⁺): 343.2 [M-HCl+H]⁺, 360.2 [M+NH₄]⁺, 365.2 [M+Na]⁺

[0616] 化合物 38 的合成

[0617]



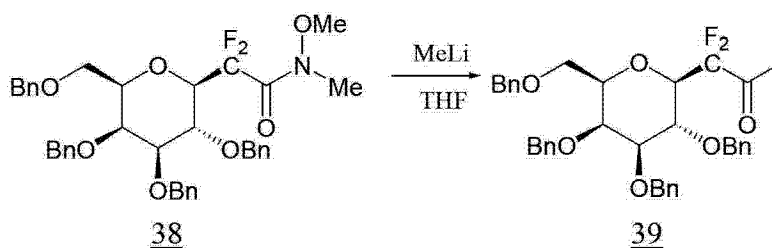
[0618] 在惰性气氛下,于 -78°C ,向圆底烧瓶中,将 BuLi (1.5M, 1.6mL, 5.7 当量) 小心地加入到 Weinreb 胺(122mg;1.25mmol;3 当量)在无水 THF (2.5mL) 中的溶液中。将混合物在搅拌下放置 20 分钟,使介质升至室温。然后于 -78°C 加入 THF (0.5mL) 中的化合物 37 (271mg;0.420mmol;1 当量)。然后允许介质升至室温,并搅拌 30 分钟。用 HCl1N 水解混合物至获得 pH7,用 Et_2O 萃取三次,用硫酸镁干燥,过滤,然后蒸发。含有化合物 38 的粗混合物未经进一步纯化即用于下一步。

[0619] 38: $\text{C}_{38}\text{H}_{41}\text{F}_2\text{NO}_7$ $M=661.73\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0620] 质谱 (ESI^+): 684.4 ($\text{M}+\text{Na}$).

[0621] 化合物 39 的合成

[0622]



[0623] 在惰性气氛下,于 -78°C ,向圆底烧瓶中,将 MeLi (Et_2O 中的 1.6M 溶液, 0.9mL, 4 当量) 加入到粗化合物 38 (226mg) 在 THF (5mL) 中的溶液中。将混合物搅拌 30 分钟。然后,加入 NH_4Cl 的饱和水溶液并用 Et_2O 萃取所述混合物。用 硫酸镁干燥合并的有机层,过滤并蒸发。然后通过色谱法(环己烷/ 乙酸乙酯 93/7 至 40/60)纯化残留物,以得到化合物 39 (120mg, 0.20mmol)。

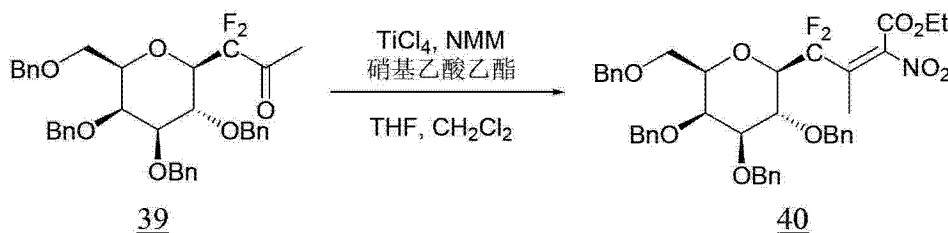
[0624] 39: $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{F}_2\text{O}_6$ $M=616.69\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0625] 质谱 (ESI^+): 634.3 [$\text{M}+\text{H}_2\text{O}$] $^+$, 639.3 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, 655.2 [$\text{M}+\text{K}$] $^+$.

[0626] NMR^{19}F (CDCl_3 , 282.5MHz): -115.5 (1F, dd, $J=257\text{Hz}$, $J=11\text{Hz}$); -119.6 (1F, ddd, $J=257\text{Hz}$, $J=11\text{Hz}$, $J=3\text{Hz}$).

[0627] 化合物 40 的合成

[0628]



[0629] 在惰性气氛下,于 0°C ,将硝基乙酸乙酯(0.036mL, 0.32mmol) 和化合物 39 (100mg, 0.16mmol) 在 CH_2Cl_2 (1.5mL) 中的溶液加入到 TiCl_4 (CH_2Cl_2 中的 1M 溶液, 0.3mL, 0.3mmol) 在无水 THF (2mL) 中的搅拌溶液中。将混合物于 0°C 搅拌 15 分钟并加入 N- 甲基吗啉(NMM) (0.071mL, 0.65mmol) 在 THF (1mL) 中的溶液。然后将反应混合物搅拌额外的 15 分钟,。于 0°C , 允许经过 15 小时升温至室温并于 60°C 加热 15 小时。然后加入 H_2O 并用 Et_2O 萃取混合物。用硫酸镁干燥合并的有机层,过滤并蒸发。

[0630] 40: $\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{F}_2\text{NO}_9$ $M=731.78\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

[0631] 质谱 (ESI⁺): 732. 28 [M+H]⁺; 749. 33 [M+H₂O]⁺.

[0632] II- 伪糖苷键的稳定性

[0633] 在用于如下所述的稳定性试验之前, 使用下面方法中和了所有的化合物 11 β d1、11 β d2、12(b) α d1、12(b) α d2、25d1 和 25d2。

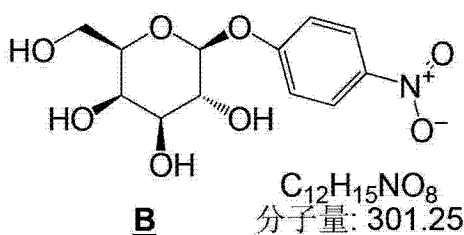
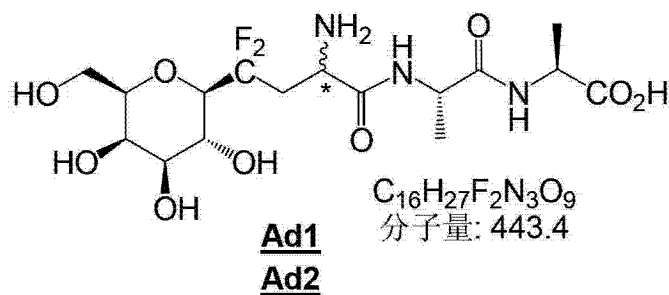
[0634] 将化合物 11 β d1 (196mg, 0. 41mmol) 溶解于甲醇 (3mL) 中。加入离子交换树脂 (Amberlite IRA-67 弱碱性, 预先用水, 然后用甲醇洗涤) 并将由此获得的混悬液搅拌 30 分钟。将混合物过滤并用甲醇 (10mL) 洗涤树脂。蒸发, 在水 (25ml) 中溶解, 并冷冻干燥, 以得到白色固体的化合物 Ad1 (120mg, 0. 27mmol, 产率 66%)。

[0635] 使用前述方法, 化合物 11 β d2 导致化合物 Ad2, 化合物 12(b) α d1 导致化合物 Dd1, 化合物 12(b) α d2 导致化合物 Dd2, 化合物 25d1 导致化合物 Ed1 并且化合物 25d2 导致化合物 Ed2。

[0636] • β-Gal-CF₂-Ser 伪-糖苷键的稳定性

[0637] 根据本发明的化合物 Ad1 和 Ad2 进行了酶学稳定性试验, 并且使用化合物 B 作为参照化合物来控制 β-半乳糖苷酶的效力。用 β-半乳糖苷酶处理这两种化合物。在用 β-半乳糖苷酶孵育之后, 通过质谱 (MS) 分析评估了化合物 Ad1 和 Ad2 的稳定性。样品被进样并通过电喷雾 (ES) (以正模式和负模式) 被离子化。该方法已经根据 Maljaars 等人, J Comb. Chem. 2006, 8, 812-819 而作了修改。

[0638]



[0639] 在 β-半乳糖苷酶 (4. 5U, 32 μ L 的在乙酸铵缓冲液中的 1mg. mL⁻¹ 溶液, (48275sigma, 140U/mg)) 存在和不存在下, 将 1. 5mL 乙酸铵缓冲液 (10mM, pH7) 中的待测化合物 Ad1 (12 μ mol, 5. 3mg) 于 37℃ 保持 24 小时。通过 3-kDa- 截止 (cutoff) 离心过滤器 (Millipore) 过滤 300 μ L 的样品, 并用 H₂O (2x300 μ L) 洗涤过滤器。将获得的溶液稀释于水 / 甲醇 1:1 中 (3 μ L 稀释于 1mL 中)。

[0640] 按照相同的方法, 在 β-半乳糖苷酶存在和不存在下, 已处理待测化合物 Ad2 (12 μ mol, 5. 3mg)。

[0641] 在 β-半乳糖苷酶的存在下的这些化合物 Ad1 和 Ad2 的样品被传送至质谱并与在

β -半乳糖苷酶不存在下的化合物 Ad1 和 Ad2 的质谱相比较。对于化合物 Ad1(图 1a 和 1b) 和 Ad2 (图 2a 和 2b) 二者而言,光谱表明未发生水解并且这两种化合物仍保持完整。

[0642] 还通过 F-NMR 对两个样品进行分析,以确认待测化合物 Ad1 和 Ad2 未被 β -半乳糖苷酶裂解。

[0643] 平行地,在 β -半乳糖苷酶(4.5U, 32 μ L 的在乙酸铵缓冲液中的 1mg. mL⁻¹ 溶液(48275sigma, 140U/mg)) 存在和不存在下,将 1.5mL 乙酸铵缓冲液(10mM, pH7) 中的对硝基苯基- β -半乳糖苷(化合物 B, 12 μ mol, 3.6mg) 于 37°C 保持 24 小时。

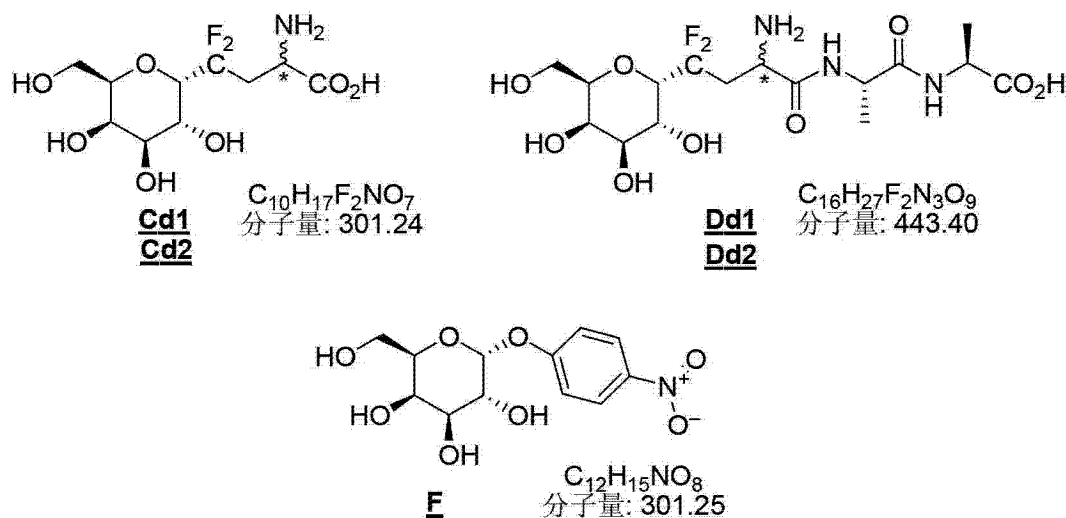
[0644] 在 β -半乳糖苷酶存在的方法中,观察到黄色着色,这突出强调了化合物 B 的分解。

[0645] 在 420nm 处测定两个样品的光密度(OD),以证实 β -半乳糖苷酶起了作用并且化合物 B 发生了降解(含有 β -半乳糖苷酶的 OD₄₂₀=1.5786/ 不含 β -半乳糖苷酶的 OD₄₂₀=0.0465)。

[0646] • α -Gal-CF₂-Ser 伪-糖苷键的稳定性

[0647] 根据本发明的化合物 Cd1、Cd2、Dd1 和 Dd2 进行了酶学稳定性试验,并且使用化合物 F 作为参照化合物来控制 α -半乳糖苷酶的效力。用 α -半乳糖苷酶处理所有的化合物。在用 α -半乳糖苷酶孵育之后,通过 MS 分析评估了化合物 Cd1、Cd2、Dd1 和 Dd2 的稳定性。该方法已根据 Maljaars 等人. J Comb. Chem. 2006, 8, 812-819 而作了修改。

[0648]



[0649] 在 α -半乳糖苷酶(2.25U, 41 μ L 的在硫酸铵中的 3.7mg. mL⁻¹ 混悬液(G8507sigma, 14.7U/mg)) 存在和不存在下,将 0.75mL 乙酸铵缓冲液(10mM, pH7) 中的待测化合物 Cd1(6 μ mol, 1.8mg) 于 37°C 保持 24 小时。通过 3-kDa-截止离心过滤器(Millipore) 过滤 300 μ L 的样品,并用 H₂O (2x300 μ L) 洗涤过滤器。将获得的溶液稀释于水 / 甲醇 1:1 中(3 μ L 稀释于 1mL 中)。

[0650] 按照相同的方法,在 α -半乳糖苷酶存在和不存在下,处理待测化合物 Cd2 (12 μ mol, 5.3mg)。

[0651] 在 α -半乳糖苷酶存在下的化合物 Cd1 和 Cd2 的样品通过质谱分析并将其光谱与在 α -半乳糖苷酶不存在下的化合物 Cd1 和 Cd2 的质谱相比较。对于化合物 Cd1(图 3a 和 3b) 和 Cd2 (图 4a 和 4b) 二者而言,光谱突出强调了未发生水解并且这两种化合物仍保持

完整。

[0652] 还通过 F-NMR 对两种样品进行分析,以确认待测化合物 Cd1 和 Cd2 未被 α -半乳糖苷酶裂解。

[0653] 相同的方法应用于化合物 Dd1 ($6\ \mu\text{mol}$, 2.6mg) 和 Dd2 ($6\ \mu\text{mol}$, 2.6mg)。

[0654] 在 α -半乳糖苷酶存在下的化合物 Dd1 和 Dd2 的样品被传送至质谱并与在 α -半乳糖苷酶不存在下的化合物 Dd1 和 Dd2 的质谱相比较。对于化合物 Dd1 (图 5a 和 5b) 和 Dd2 (图 6a 和 6b) 二者而言,光谱突出强调了未发生水解并且这两种化合物仍保持完整。

[0655] 还通过 F-NMR 对两种样品进行分析,以确认待测化合物 Dd1 和 Dd2 未被 α -半乳糖苷酶裂解。

[0656] 平行地,在 α -半乳糖苷酶 2.25U, $41\ \mu\text{L}$ 的在硫酸铵中的 $3.7\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 混悬液 ((G8507sigma) 14.7U/mg) 存在和不存在下,将 0.75mL 乙酸铵缓冲液 (10mM, pH7) 中的对硝基苯基- α -半乳糖苷(化合物 F, $6\ \mu\text{mol}$, 1.8mg) 于 37°C 保持 24 小时。在 420nm 处测定两个样品的光密度(OD),以证实 α -半乳糖苷酶起了作用并且化合物 F 发生了降解(含有 α -半乳糖苷酶的 $\text{OD}_{420}=1.6303$ / 不含 α -半乳糖苷酶的 $\text{OD}_{420}=0.0124$)。

[0657] 总之,在这些实验中,我们显示了 $:\text{CF}_2$ 键是稳定的并且在半乳糖苷酶的存在下不会经历水解。与此相反,在半乳糖苷酶的存在下, O-糖苷键已表明经历了水解(见上文),并如文献中所描述(见下文)。事实上, O-糖苷氨基酸如 O-糖苷丝氨酸和苏氨酸可以被糖苷酶裂解(参见 Maljaars 等人 . J Comb. Chem. 2006, 8, 812-819 和 Allen 等人 . Biochem. J. 1978, 171, 665-674)。

[0658] III-糖肽 13(b) α d1 和 13(b) α d2 对饥饿条件下新生儿皮肤成纤维细胞的保存效果

[0659] 材料和方法

[0660] 传代培养

[0661] • 人类新生儿皮肤成纤维细胞(细胞系 :CCD-27SK, ATCC 编号 CRL-1475) 与补充有最终 10% 的胎牛血清、最终 1% 的抗生素(青霉素 / 链霉素)和最终 0.1% 的两性霉素 B 的 DMEM 介质一起生长。

[0662] • 在 37°C 和 10% CO_2 培养箱中,成纤维细胞在 75cm^2 的培养瓶中生长至 80% 融合。每两天用 37°C 预热的新鲜介质更换介质。

[0663] 饥饿介质

[0664] • 该介质由不含胎牛血清的 45% 传代介质组成,其混合有含 EDTA 的 55% 磷酸盐缓冲生理盐水 1X (0.45mM 的终浓度)。这被称为无血清或饥饿介质。

[0665] 产品制备

[0666] 将化合物 13(b) α d1 和 13(b) α d2 ($M=479.9\text{g/mol}$) 稀释于饥饿介质中至最终 5mg/ml 并通过添加 1N NaOH 调节 pH 至 7.4。

[0667] 整个实验过程

[0668] 96 孔板上的试验

[0669] • 将成纤维细胞浓缩至 2×10^5 个细胞 /ml, 并且将 $100\ \mu\text{L}$ 的细胞悬液加入到 96 孔板上的各孔中并在 37°C 和 10% CO_2 培养箱中孵育 4 小时。

[0670] • 细胞粘附后,更换介质,并将板孵育 (37°C -10% CO_2) 以进行如下分析 :

[0671] o 对于每个采样时间 1 块板 :第 0、3、4、5、6 和 7 天

[0672] o 对于添加有 120 μ l 的培养基、饥饿介质、13(b) α d1 溶液 (5mg/ml) 和 13(b) α d2 溶液 (5mg/ml) 的每个条件 (一式三份计数) 3 个孔

[0673] 活力试验

[0674] 通过台盼蓝拒染 (Trypan blue exclusion) 技术评估细胞活力, 所述台盼蓝拒染技术基于如下原则 :活细胞具有完整的细胞膜, 其可以拒绝台盼蓝染色。因此, 在显微镜下观察, 只有死细胞才是蓝色的。

[0675] 对于采样, 将 110 μ l 的台盼蓝 (SIGMA T8154) 加入到匹配孔的 110 μ l 胰蛋白酶化细胞混悬液中用于计数。

[0676] 将 200 μ l 的台盼蓝 / 细胞混合物滴至血细胞计数器。通过使用纽鲍尔计数板进行细胞计数。在大方形 (1mm²) 的 9 个区域上对未染色的 (有活力的) 和染色的 (无活力的) 细胞分别计数并相加以获得每个样品的细胞总数目。使用三次计数的平均值来计算活力百分比 :

[0677] [有活力细胞的数目 / 细胞总数目] * 100

[0678] 将饥饿条件下来自于培养基的细胞活力百分比与加药后数天 (第 0、3、4、5、6、7 天) 的对照培养基的细胞活力百分比相比较。

[0679] 结果

[0680] 结果被绘制在图 7 的直方图中, 其代表在营养物同时被剥夺的 7 天的期间内成纤维细胞活力的体外演变。

[0681] 直至孵育的第 7 天, 13(b) α d1 和 13(b) α d2 处理的细胞的活力保持在 95% 左右, 而营养物剥夺对照组的细胞活力由第 4 天之后的 94% 分别下降至第 5、6 和 7 天之后的 89%、38% 和 8%。

[0682] 因此, 化合物 13(b) α d1 和 13(b) α d2 显示出对皮肤成纤维细胞的保存作用, 因为在对于生长而言不利的条件下, 细胞已被保持在一个健康的状态下。

[0683] 缩略语

[0684] Ala 丙氨酸

[0685] Bn 苄基

[0686] Cbz 苄氧羰基

[0687] de 非对映异构体过量

[0688] DIBALH 氢化二异丁基铝

[0689] DMF 二甲基甲酰胺

[0690] DMSO 二甲亚砜

[0691] eq. 当量

[0692] Et 乙基

[0693] g 克

[0694] Hz 赫兹

[0695] mg 毫克

[0696] MHz 兆赫兹

[0697] Min 分钟

[0698]	mL	毫升
[0699]	mmol	毫摩尔
[0700]	μmol	微摩尔
[0701]	MOM	甲氧甲基
[0702]	Ms	甲磺酰基
[0703]	NMM	N- 甲基吗啉
[0704]	nmol	纳摩尔
[0705]	NMR	核磁共振
[0706]	PyBOP	(1H- 苯并三唑 -1- 基氧基) 三吡咯烷基磷六氟磷酸盐
[0707]	Rf	阻滞因子
[0708]	THF	四氢呋喃
[0709]	TLC	薄层色谱法
[0710]	TMS	三甲基硅烷基

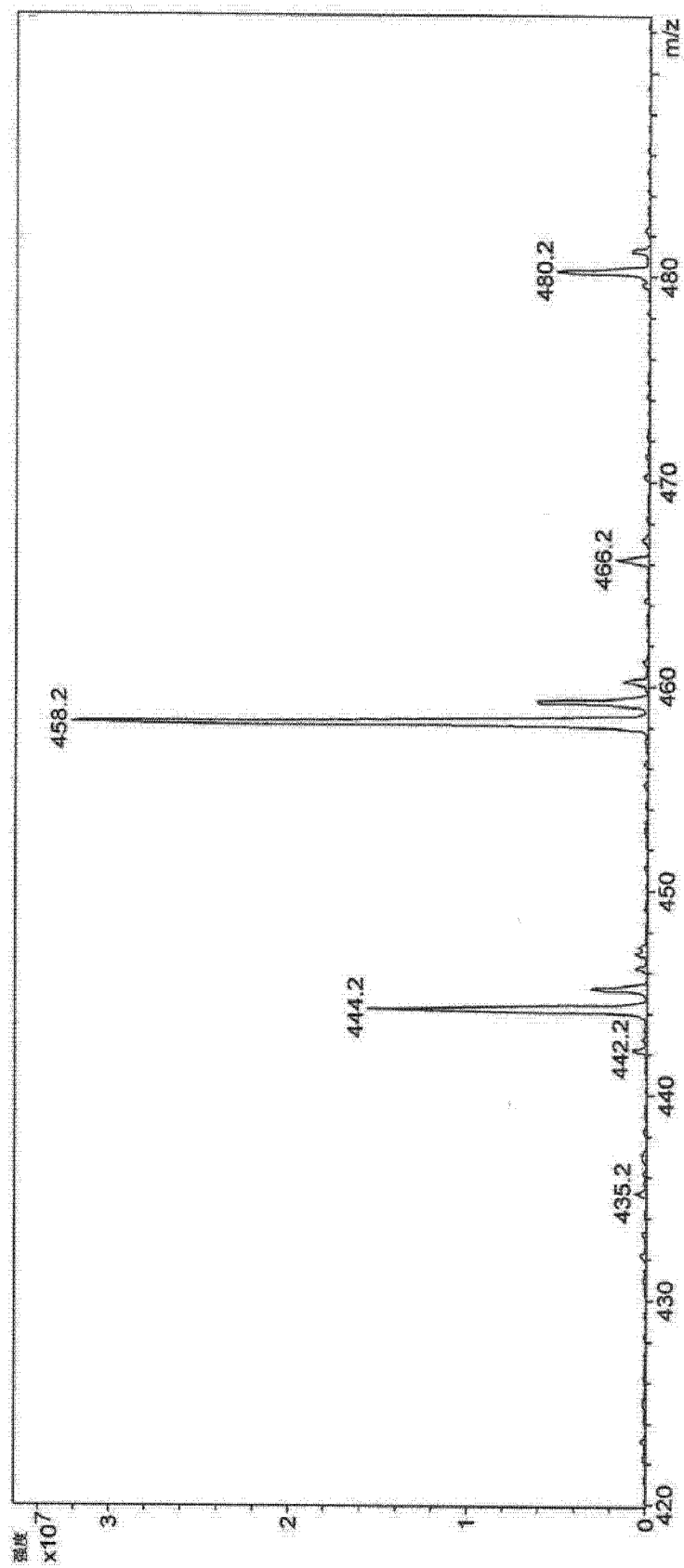


图 1a

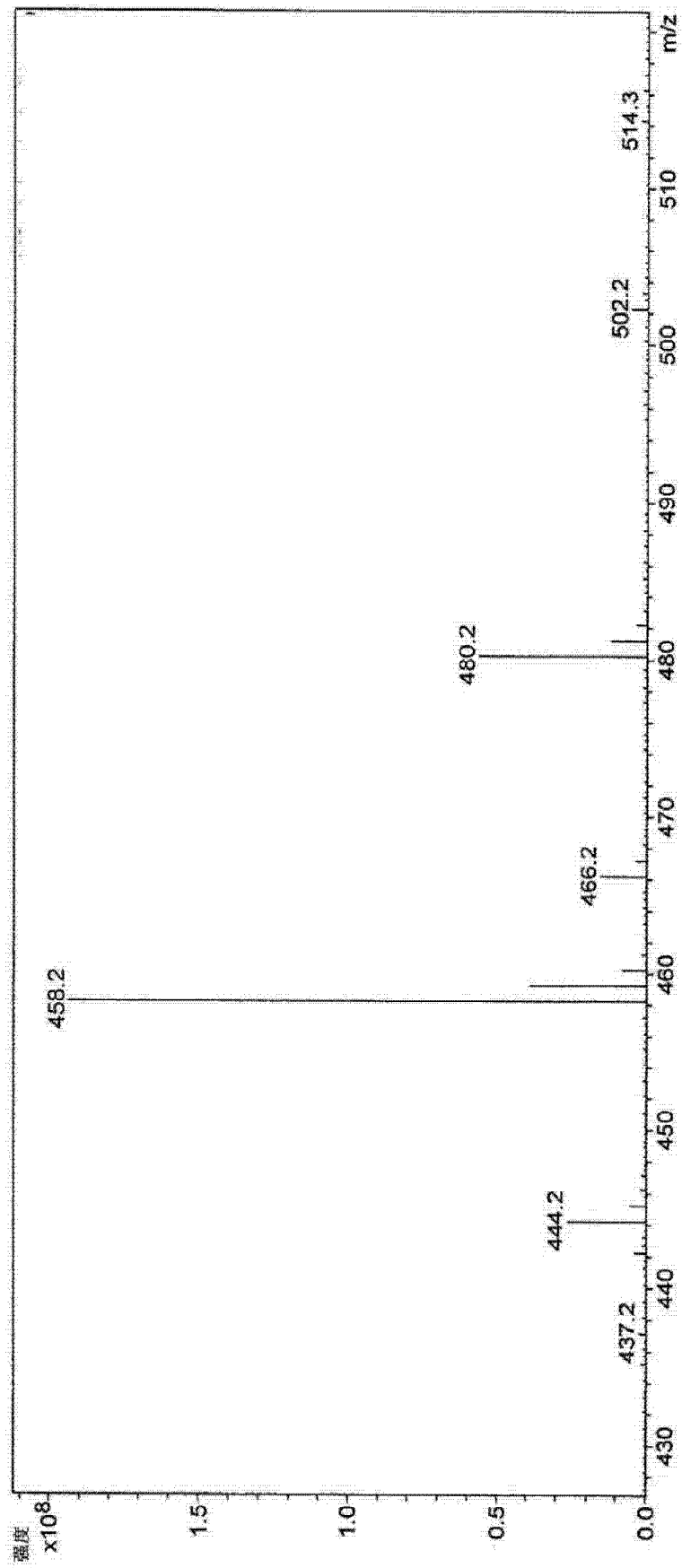


图 1b

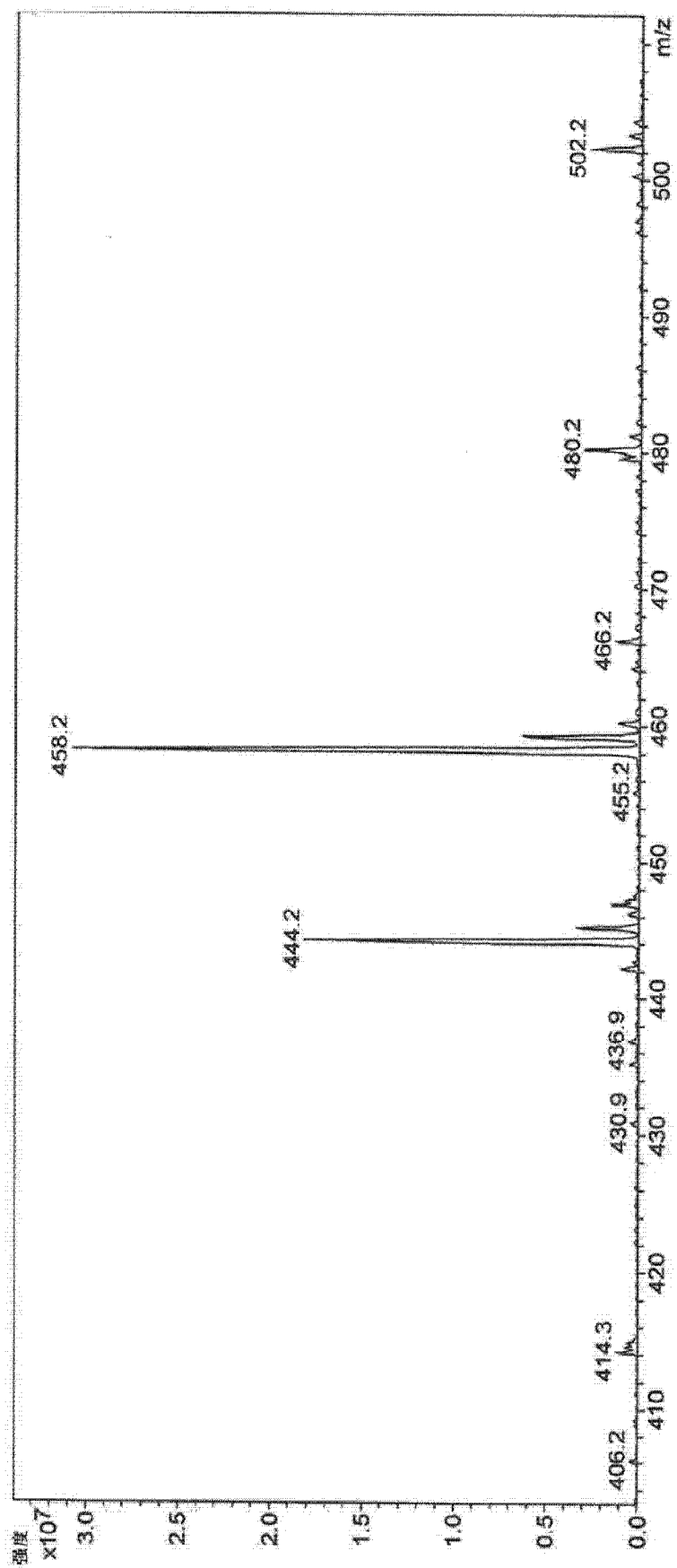


图 2a

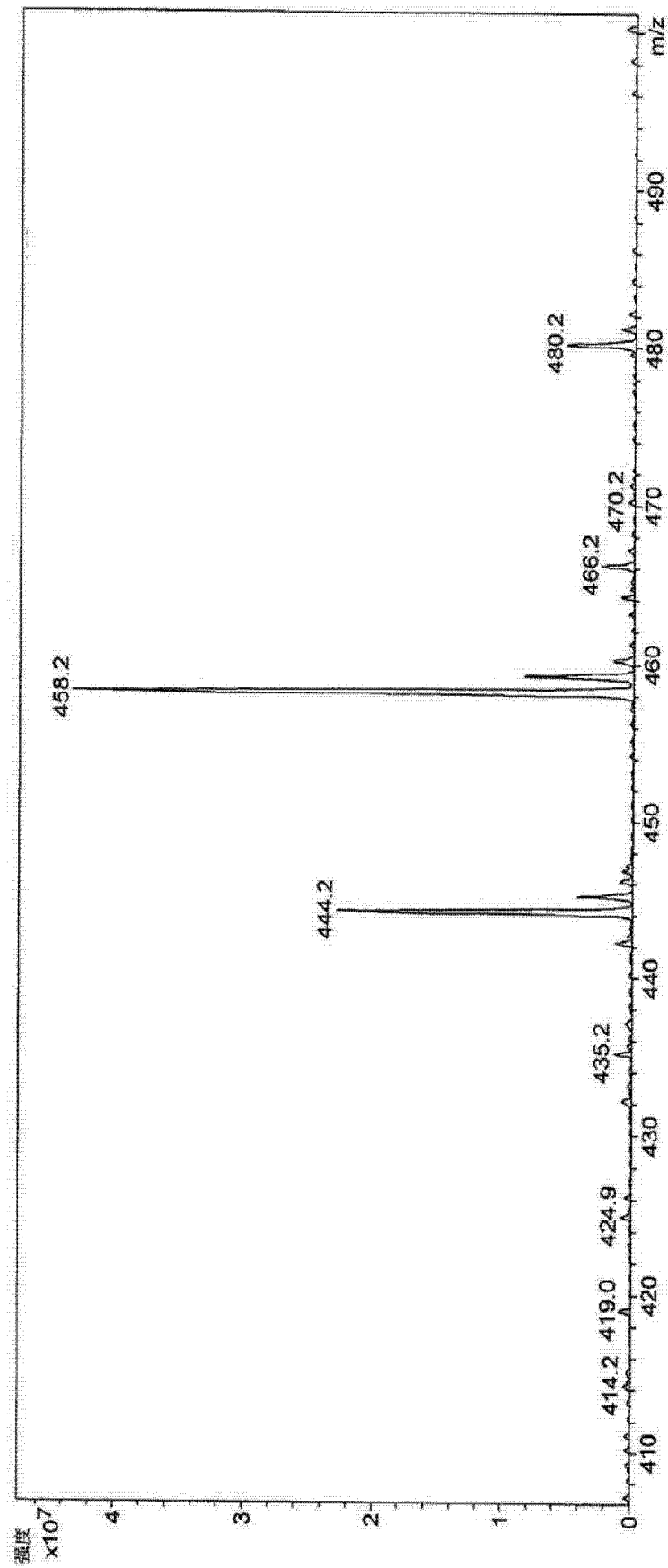


图 2b

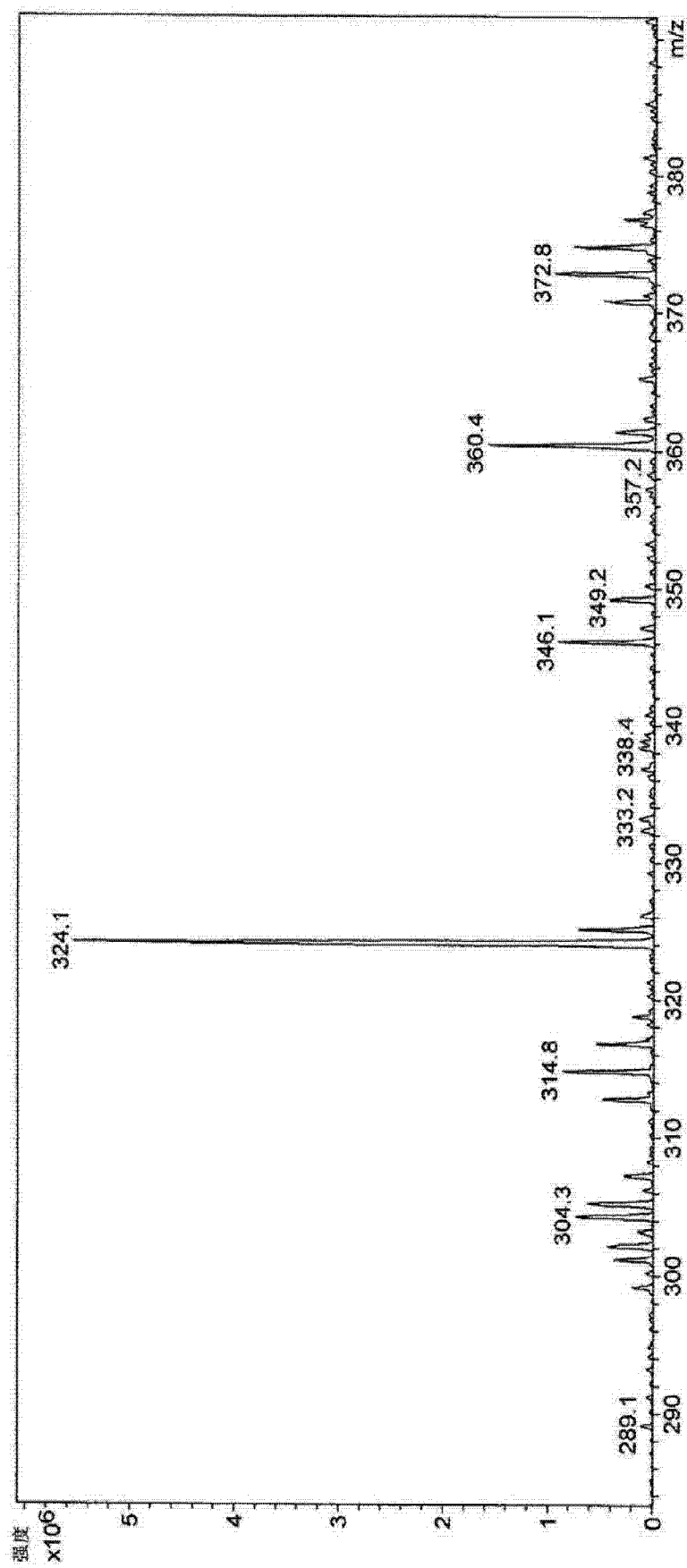


图 3a

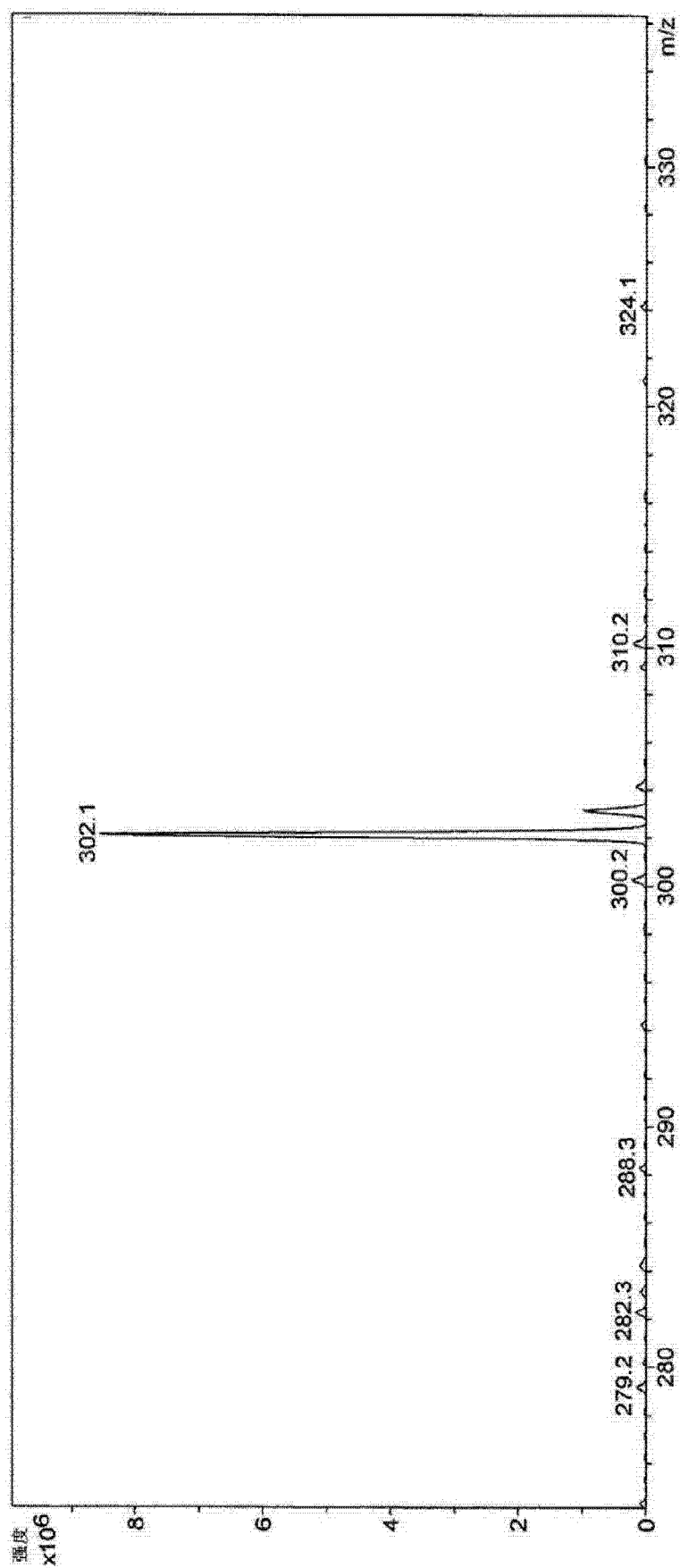


图 3b

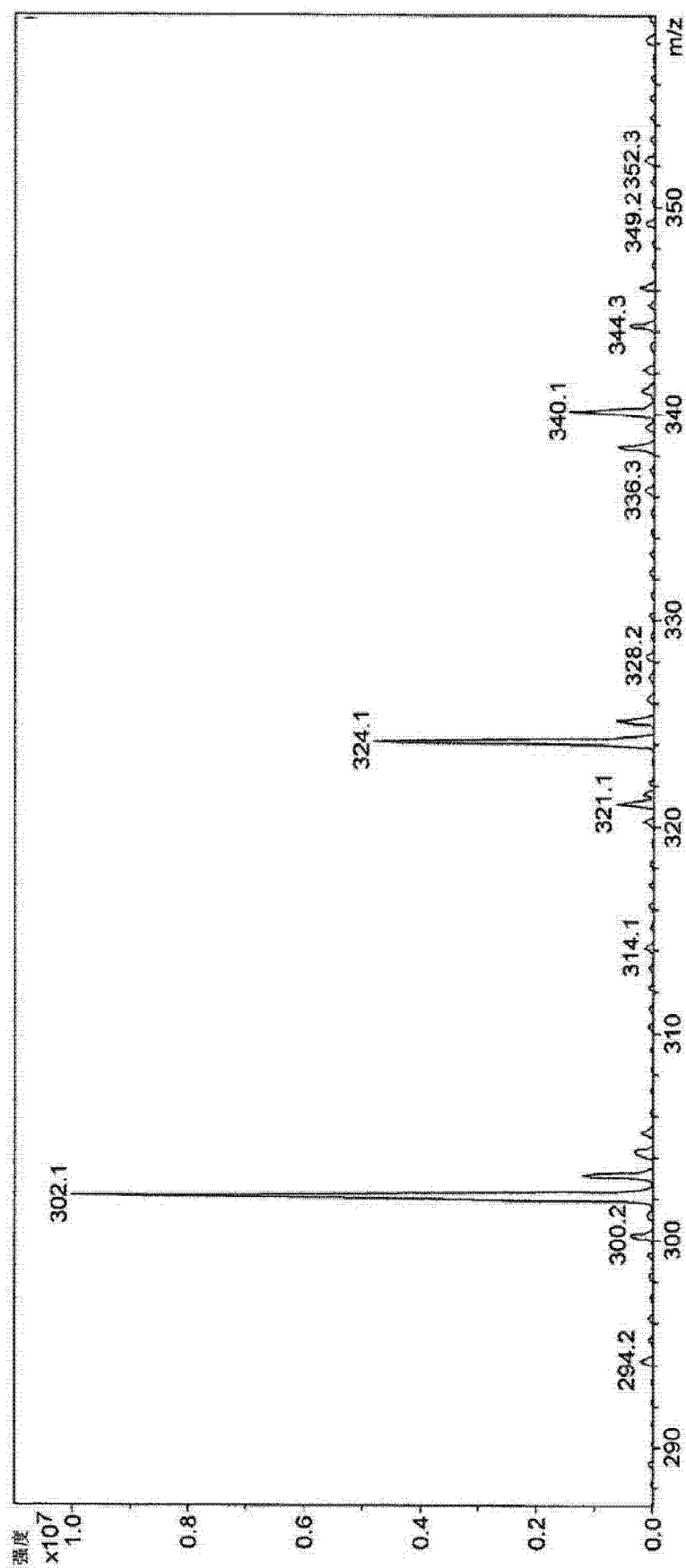


图 4a

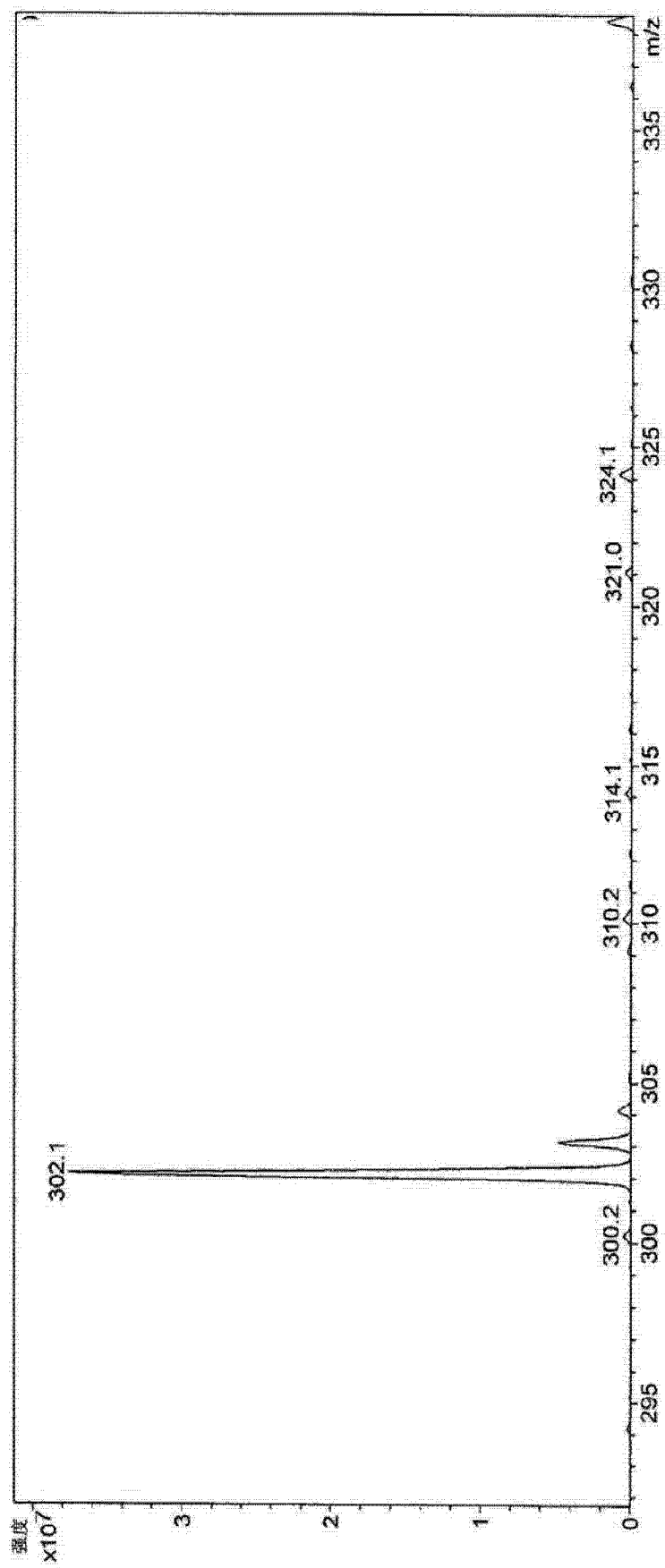


图 4b

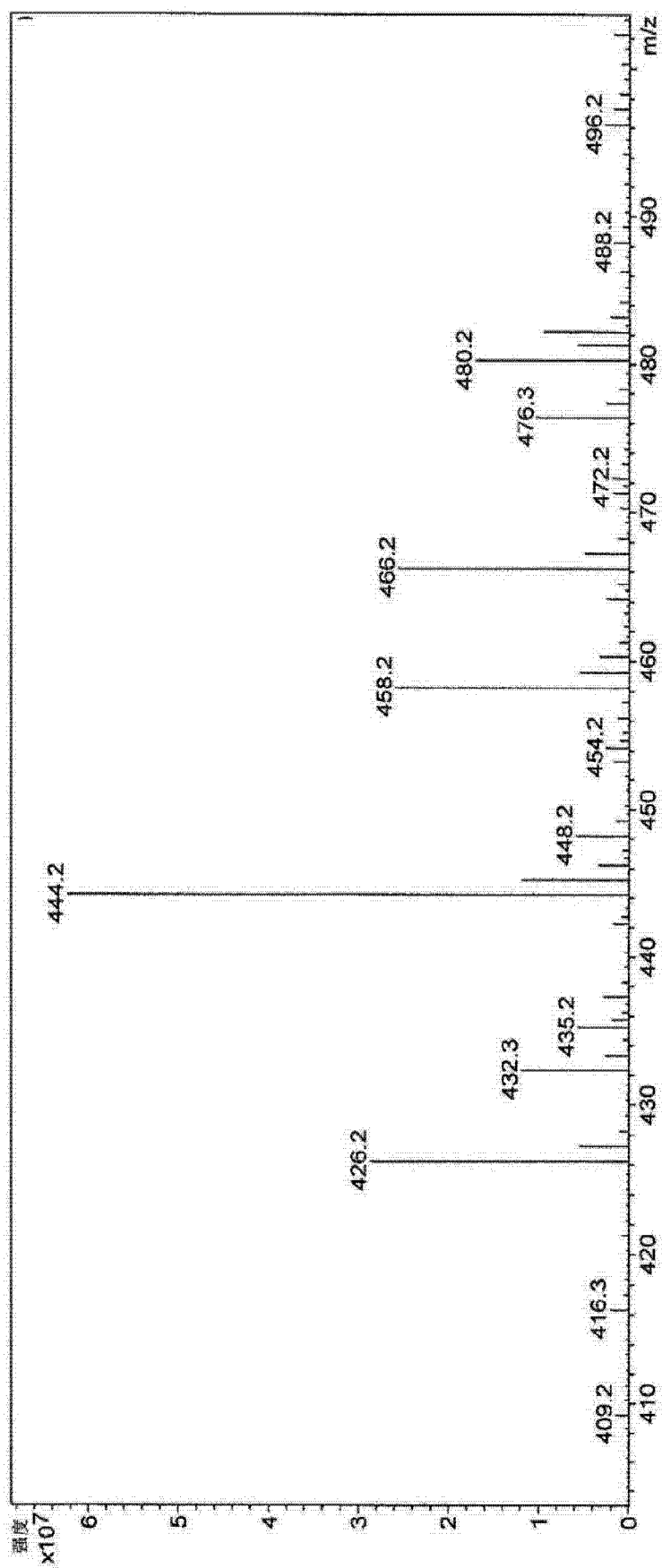


图 5a

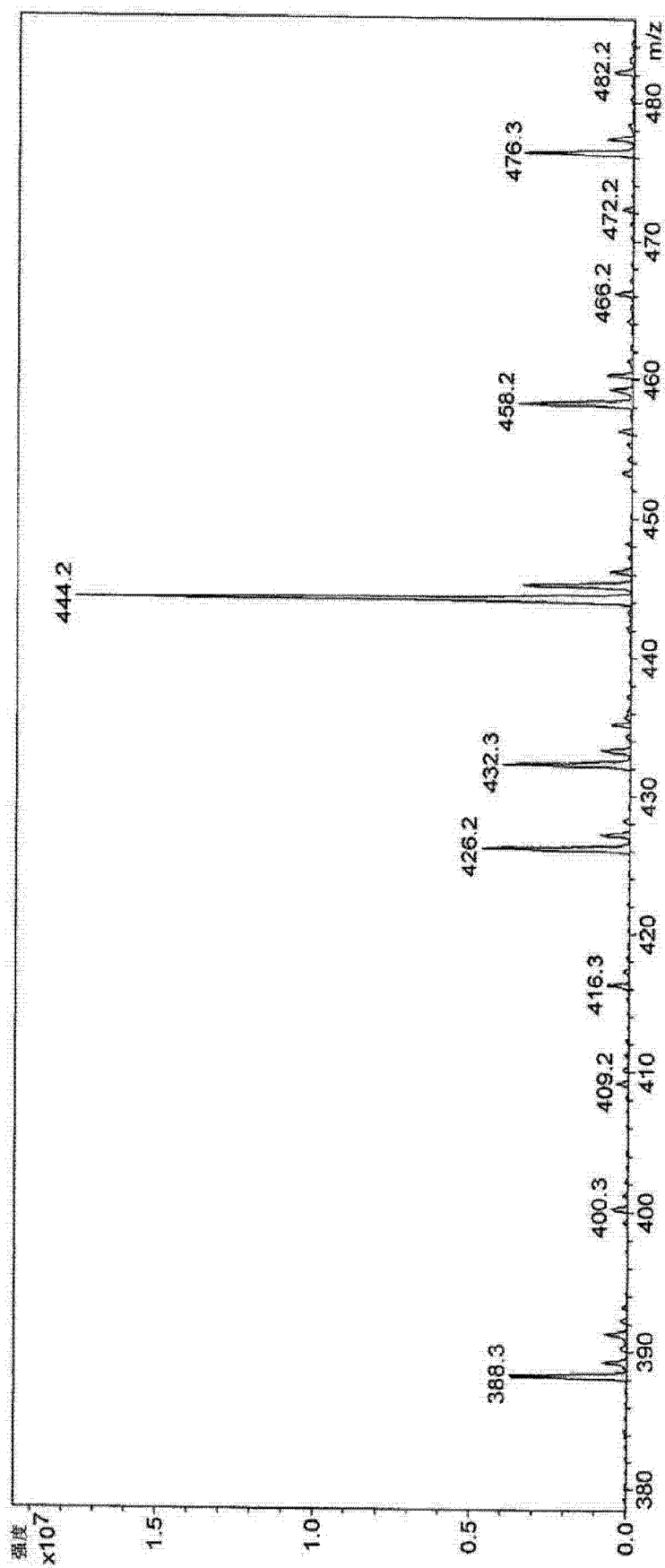


图 5b

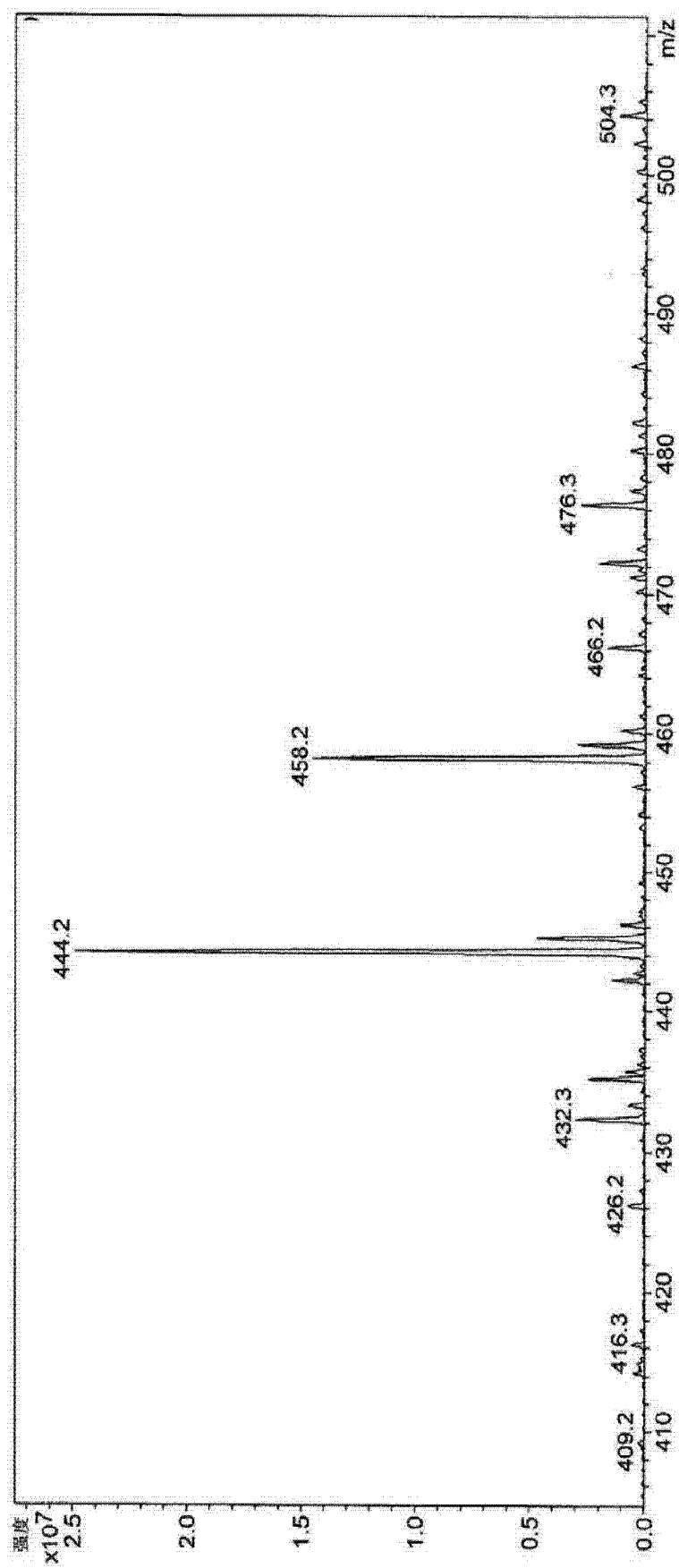


图 6a

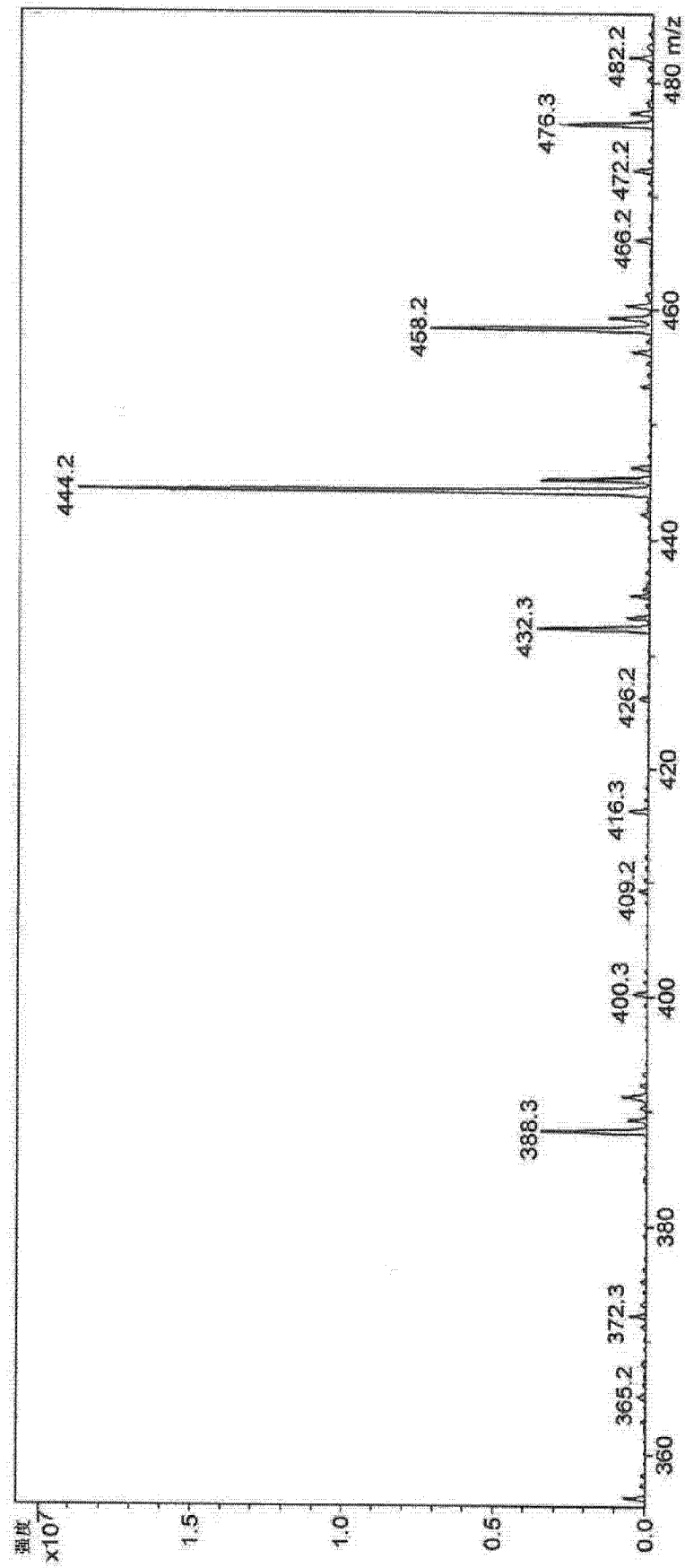


图 6b

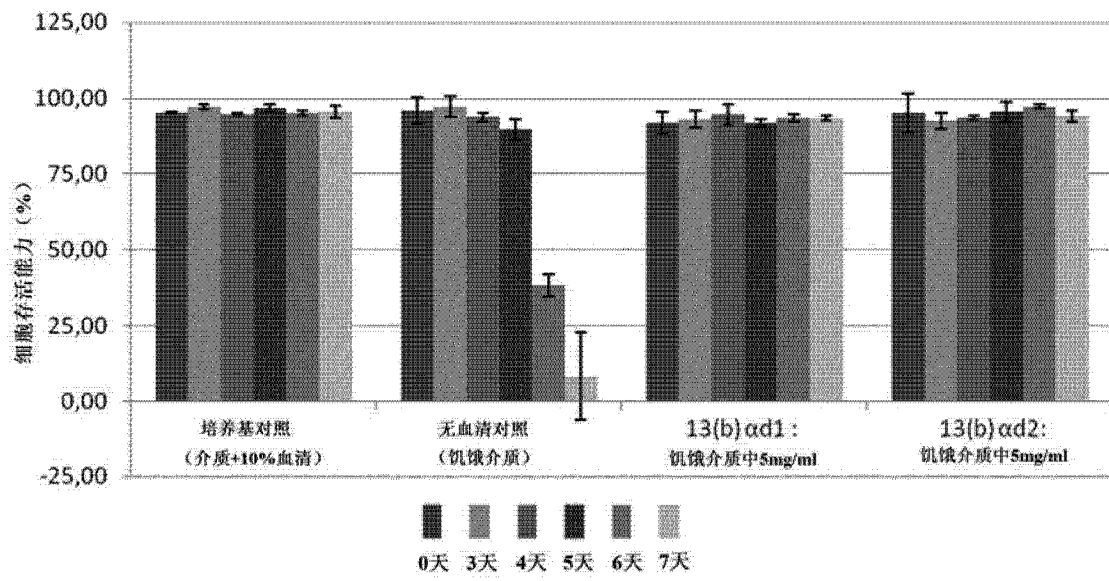


图 7