

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07H 13/06

C07H 15/04 A61K 31/7028

A61K 39/39 A61P 37/02



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00816859.8

[43] 公开日 2003 年 4 月 9 日

[11] 公开号 CN 1409720A

[22] 申请日 2000.11.13 [21] 申请号 00816859.8

[30] 优先权

[32] 1999.11.12 [33] US [31] 09/439,839

[86] 国际申请 PCT/US00/31340 2000.11.13

[87] 国际公布 WO01/34617 英 2001.5.17

[85] 进入国家阶段日期 2002.6.7

[71] 申请人 科里克萨有限公司

地址 美国华盛顿州

[72] 发明人 D·A·约翰逊 C·G·索厄尔

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 杜京英

权利要求书 6 页 说明书 136 页

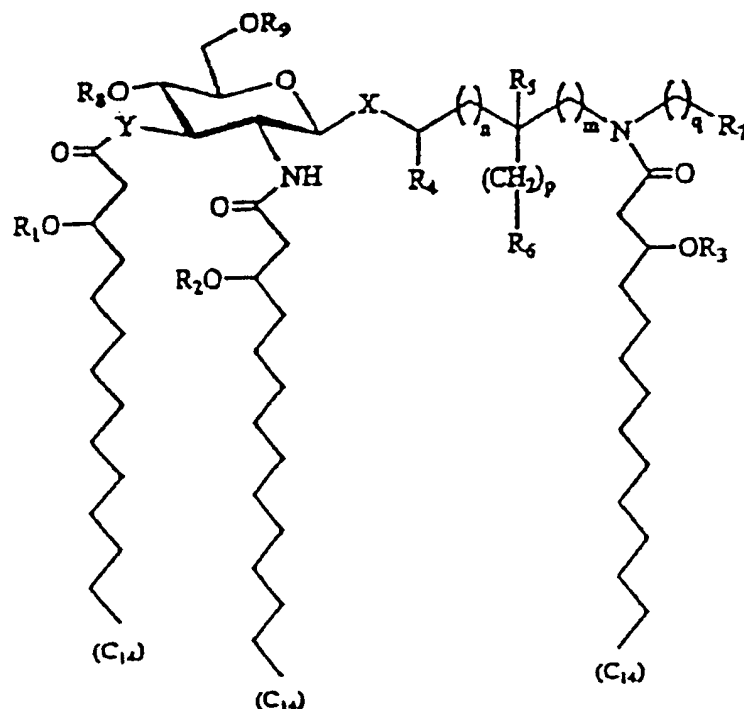
[54] 发明名称 氨基烷基氨基葡萄糖苷磷酸酯化合物
及其作为佐剂和免疫效应物的用途

[57] 摘要

本发明描述并要求保护属于佐剂和免疫效应物的氨基烷基氨基葡萄糖苷磷酸酯 (AGP) 化合物。这些化合物在含有氨基烷基 (糖苷配基) 基团的糖苷键上带有 2-脱氧-2-氨基葡萄糖。化合物在氨基葡萄糖苷环上的 4 或 6 位碳上被磷酸化且包括 3 个 3-烷酰氧基烷酰基残基。这些化合物可使免疫动物体内的抗体产生增加并刺激细胞因子产生和激活巨噬细胞。本发明还公开了这些化合物作为佐剂和免疫效应物的使用方法。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种具有下列结构的免疫效应物化合物：



其中 X 选自由直立或平伏位上的 O 和 S 组成的组；Y 选自由 O 和 NH 组成的组；n、m、p 和 q 是 0-6 的整数；R₁、R₂ 和 R₃ 相同或不同且是带有 1-约 20 个碳原子的正构脂肪酰基残基且其中 R₁、R₂ 和 R₃ 之一可选是氢；R₄ 和 R₅ 相同或不同且选自 H 和甲基组成的组；R₆ 和 R₇ 相同或不同且选自 H、羟基、烷氧基、膦酰基、膦酰氧基、磺基、磺基氧基、氨基、巯基、氰基、硝基、甲酰基和羧基及其酯类和酰胺类组成的组；且 R₈ 和 R₉ 相同或不同且选自膦酰基和 H 组成的组，且 R₈ 和 R₉ 中至少一个是膦酰基。

2. 权利要求 1 所述的化合物，其中 R₆ 是羧基。

3. 权利要求 2 所述的化合物，其中 X 是 O；Y 是 O；n、m、p 和 q 是 0；R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 10 个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄、R₅ 和 R₇ 是 H；R₈ 是膦酰基；R₉ 是 H；R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化

学中心连接；且 R₅ 与具有 S 构型的立体化学中心连接。

4. 权利要求 2 所述的化合物，其中 X 是 O；Y 是 O；n、m、p 和 q 为 0；R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 12 个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄、R₅ 和 R₇ 是 H；R₈ 是膦酰基；R₉ 是 H；R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接；而 R₅ 与具有 S 构型的立体化学中心连接。

5. 权利要求 2 所述的化合物，其中 X 是 O；Y 是 O；n、m、p 和 q 为 0；R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 10 个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄、R₅ 和 R₇ 是 H；R₈ 是膦酰基；R₉ 是 H；R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接；而 R₅ 与具有 R 构型的立体化学中心连接。

6. 权利要求 2 所述的化合物，其中 X 是 O；Y 是 O；n、m、p 和 q 为 0；R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 8 个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄、R₅ 和 R₇ 是 H；R₈ 是膦酰基；R₉ 是 H；R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接；而 R₅ 与具有 S 构型的立体化学中心连接。

7. 权利要求 1 所述的化合物，其中 R₆ 是 H。

8. 权利要求 7 所述的化合物，其中 X 是 O；Y 是 O；n 是 2；m、p 和 q 为 0；R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 14 个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄、R₅ 和 R₇ 是 H；R₈ 是膦酰基；R₉ 是 H；R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接。

9. 权利要求 7 所述的化合物，其中 X 是 O；Y 是 O；n 是 1；m 和 p 为 0；q 为 1；R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 10 个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄ 和 R₅ 是 H；R₇ 是羧基；R₈ 是膦酰基；R₉ 是 H；且 R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接。

10. 权利要求 7 所述的化合物, 其中 X 是 O ; Y 是 O ; m、n、p 和 q 为 0; R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 14 个碳原子的正构脂肪酰基残基; R₄、R₅ 和 R₇ 是 H ; R₈ 是膦酰基; R₉ 是 H ; 且 R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接。

11. 权利要求 7 所述的化合物, 其中 X 是 O ; Y 是 O ; m、n、p 和 q 为 0; R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 10 个碳原子的正构脂肪酰基残基; R₄、R₅ 和 R₇ 是 H ; R₈ 是膦酰基; R₉ 是 H ; 且 R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接。

12. 权利要求 7 所述的化合物, 其中 X 是 O ; Y 是 O ; m、p 和 q 为 0; n 是 1 ; R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 14 个碳原子的正构脂肪酰基残基; R₄、R₅ 和 R₇ 是 H ; R₈ 是膦酰基; R₉ 是 H ; 且 R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接。

13. 权利要求 1 所述的化合物, 其中 R₆ 是羟基。

14. 权利要求 13 所述的化合物, 其中 X 是 O ; Y 是 O ; m、n 和 q 为 0; p 是 1 ; R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 12 个碳原子的正构脂肪酰基残基; R₄ 和 R₅ 是 H; R₇ 是 H ; R₈ 是膦酰基; 且 R₉ 是 H ; R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接; 而 R₅ 与具有 S 构型的立体化学中心连接。

15. 权利要求 13 所述的化合物, 其中 X 是 O ; Y 是 O ; m 和 q 为 0; n 和 p 为 1 ; R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 10 个碳原子的正构脂肪酰基残基; R₄、R₅ 和 R₇ 是 H ; R₈ 是膦酰基; R₉ 是 H ; R₁、R₂ 和 R₃ 各自与具有 R 构型的立体化学中心连接; 而 R₅ 与具有 S 构型的立体化学中心连接。

16. 权利要求 13 所述的化合物, 其中 X 是 O ; Y 是 O ; m、n 和 q 为 0; p 是 2; R₁、R₂ 和 R₃ 是带有 10 个碳原子的正构脂肪酰基残基; R₄、

R₅和R₇是H；R₈是膦酰基；R₉是H；R₁、R₂和R₃各自与具有R构型的立体化学中心连接；而R₅与具有S构型的立体化学中心连接。

17. 权利要求 13 所述的化合物，其中X是O；Y是O；m、n和q为0；p是1；R₁、R₂和R₃是带有14个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄、R₅和R₇是H；R₈是膦酰基；R₉是H；R₁、R₂和R₃各自与具有R构型的立体化学中心连接；而R₅与具有R构型的立体化学中心连接。

18. 权利要求 13 所述的化合物，其中X是O；Y是O；m、n和q为0；p是1；R₁、R₂和R₃是带有14个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄、R₅和R₇是H；R₈是膦酰基；R₉是H；R₁、R₂和R₃各自与具有R构型的立体化学中心连接；而R₅与具有S构型的立体化学中心连接。

19. 权利要求 13 所述的化合物，其中X是O；Y是O；m、n和q为0；p是1；R₁、R₂和R₃是带有11个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄、R₅和R₇是H；R₈是膦酰基；R₉是H；R₁、R₂和R₃各自与具有R构型的立体化学中心连接；而R₅与具有S构型的立体化学中心连接。

20. 权利要求 13 所述的化合物，其中X是O；Y是O；m、n和q为0；p是1；R₁、R₂和R₃是带有10个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄、R₅和R₇是H；R₈是膦酰基；R₉是H；R₁、R₂和R₃各自与具有R构型的立体化学中心连接；而R₅与具有S构型的立体化学中心连接。

21. 权利要求 1 所述的化合物，其中X是O；Y是O；m、n、p和q为0；R₁、R₂和R₃是带有10个碳原子的正构脂肪酰基残基；R₄和R₅是H；R₆是氨基羰基；R₇是H；R₈是膦酰基；且R₉是H；R₁、R₂和R₃各自与具有R构型的立体化学中心连接；而R₅与具有S构型的立体化学中心连接。

22. 权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_1 是氢。

23. 权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_2 是氢。

24. 权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_3 是氢。

25. 一种用于提高哺乳动物免疫反应的方法, 该方法包括对所述的哺乳动物给予有效量的权利要求 1 的化合物的步骤。

26. 一种包括权利要求 1 的化合物、抗原和合适的载体的疫苗组合物。

27. 一种包括权利要求 1 的化合物和药物上可接受的载体的药物组合物。

28. 权利要求 27 所述的组合物, 其中所述的药物上可接受的载体是一种含水组合物, 它包括水和一种或多种表面活性剂, 该表面活性剂选自糖脱氧胆酸盐、脱氧胆酸盐、鞘磷脂、鞘氨醇、磷脂酰胆碱、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、L- α -磷脂酰乙醇胺和 1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-胆碱磷酸或其混合物组成的组。

29. 权利要求 28 所述的组合物, 其中所述的一种或多种表面活性剂是 1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-胆碱磷酸。

30. 权利要求 28 所述的组合物, 其中所述化合物与表面活性剂的摩尔比约为 10:1 - 约 1:25。

31. 权利要求 28 所述的组合物, 其中所述化合物与表面活性剂的摩尔比约为 4:1 - 约 1:9。

32. 权利要求 27 所述的组合物，其中所述的载体是稳定的乳剂，它包括可代谢的油、一种或多种表面活性剂、抗氧化剂和使该乳剂等渗的成分。

33. 权利要求 32 所述的组合物，其中所述的稳定的乳剂包括 1-10% v/v 角鲨烯、0.9% w/v PLURONIC-F68 嵌段共聚物、1.9% w/v 卵磷脂酰胆碱、1.75% v/v 甘油和 0.05% w/v α 生育酚。

34. 权利要求 27 所述的组合物，其中所述的载体是包括氢氧化铝、氢氧化钙、磷酸钙或酪氨酸吸附物的混悬液。

35. 权利要求 27 所述的组合物，其中所述的载体是包括三乙胺或三乙醇胺的水溶液或含水的胶束分散体。

36. 权利要求 27 所述的组合物，其中所述的载体包括微球体或微粒且权利要求 1 所述的化合物位于该微球体或微粒基质内或被吸附在其上。

氨基烷基氨基葡萄糖苷磷酸酯化合物 及其作为佐剂和免疫效应物的用途

技术领域

本发明一般涉及具有作为佐剂和免疫效应物的活性的氨基烷基氨基葡萄糖苷磷酸酯 (AGP) 化合物和与之相关的方法和组合物。

发明背景

体液免疫和细胞介导的免疫是哺乳动物免疫反应的两个主要分支。体液免疫包括生成针对外源抗原的抗体。抗体由 B-淋巴细胞产生。细胞介导的免疫包括激活在对带有外源抗原的感染细胞起作用或刺激其它细胞而对感染细胞起作用的 T-淋巴细胞。哺乳动物免疫系统的两个分支在抵抗疾病方面是重要的。体液免疫是防御细菌病原体的主要防线。就病毒性疾病的情况而言, 看起来诱导细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTLs) 对保护性免疫而言是关键。有效的疫苗可刺激免疫系统的两个分支而预防疾病。

疫苗将来自产生疾病的病原体的外源抗原传递给宿主, 使得宿主可以增加保护性免疫反应。通常的疫苗抗原是导致疾病的微生物的灭活或减毒形式。在这些灭活或减毒疫苗中非必需的成分和抗原的存在对纯化包括使用化学和重组技术开发的充分明确的合成抗原在内的疫苗成分具有相当令人鼓舞的成就。然而, 纯化和简化微生物疫苗已经伴随导致功效的丧失。尽管低分子量合成抗原可以避免潜在的有害污染物, 但是它们自身并不是免疫原性的。这些观察结果使得研究人员有可能给疫苗组合物添加佐剂以便强化纯化疫苗成分的活性。

目前在美国允许用于人体的唯一佐剂是明矾, 它是一组铝盐 (例如氢氧化铝、磷酸铝), 其中配制了疫苗抗原。类似于明矾这样的微粒载体用于通过巨噬细胞促进吸收、加工和呈递可溶性抗原。然而明矾并非

没有副作用且仅促进体液(抗体)免疫。

有效的佐剂可以强化预防接种动物体内的体液和细胞免疫反应。此外,佐剂必须提高宿主的天然免疫反应而不会使该宿主的系统恶化。不含体外物质的稳定且易于制备的充分明确的合成佐剂会提供这些特性。然而,已经制备并测试了佐剂性的化合物(Shimizu 等 1985, Bulusu 等 1992, Ikeda 等 1993, Shimizu 等 1994, Shimizu 等 1995, Miyajima 等 1996)通常显示出毒性特性、不稳定和/或基本上不具有免疫刺激作用。

发现和开发有效的佐剂对改善现存疫苗的功效和安全性来说是必不可少的。佐剂使得合成肽类和碳水化合物抗原具有足够的免疫原性以便确保合成疫苗成功进入。存在对具有有效免疫调节作用的新型化合物的需求。

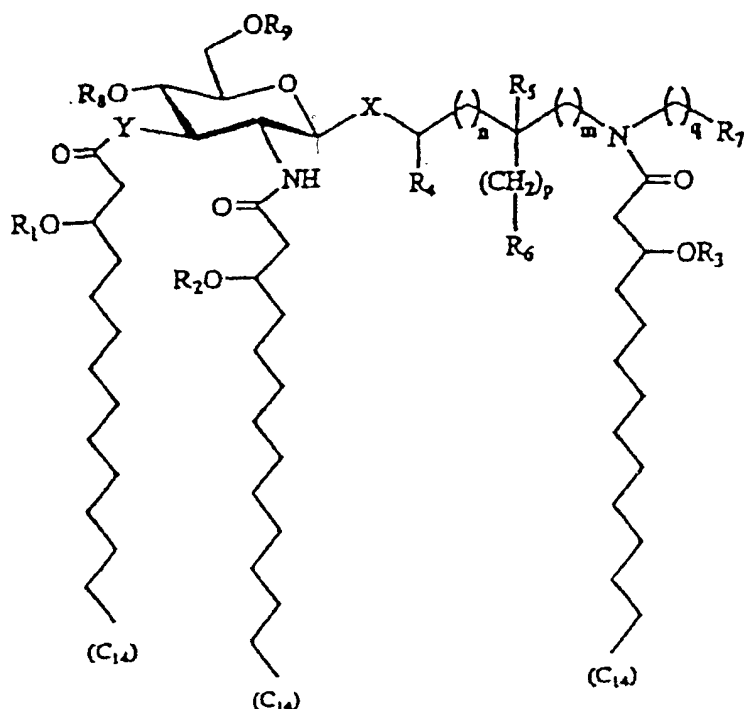
发明概括

本发明主题的化合物是属于佐剂和免疫效应物的氨基烷基氨基葡萄糖苷磷酸酯化合物(AGPs)。氨基烷基(糖苷配基)以糖苷键的方式与 2-脱氧-2-氨基- α -D-吡喃葡萄糖(氨基葡萄糖苷)连接而形成所要求保护的分子的基础结构。这些化合物在氨基葡萄糖苷环的 4 位或 6 位碳上被磷酸化。此外,这些化合物带有 3 个 3-烷酰氧基烷酰基残基。

本发明主题的化合物是可增加免疫动物体内抗体产生、刺激细胞因子产生和激活巨噬细胞的免疫效应物分子。根据本发明的主题,本文公开了这些化合物作为佐剂和免疫效应物的使用方法。

发明详述

本发明主题的化合物是属于氨基烷基氨基葡萄糖苷磷酸酯(AGPs)的佐剂和免疫效应物分子。这些化合物包括以糖苷键与氨基烷基(糖苷配基)连接的 2-脱氧-2-氨基- α -D-吡喃葡萄糖(氨基葡萄糖苷)。化合物在氨基葡萄糖苷环的 4 位或 6 位碳上被磷酸化且带有 3 个 3-烷酰氧基烷酰基残基。本发明主题的化合物一般由下列通式 I 所描述:



其中 X 代表直立或平伏 (equatorial) 位上的氧和硫原子；Y 代表氧原子或 NH 基；“n”、“m”、“p”和“q”是 0-6 的整数； R_1 、 R_2 和 R_3 代表带有 1-20 个碳原子的正构脂肪酰基残基且其中 R_1 、 R_2 和 R_3 之一可选是氢； R_4 和 R_5 是 H 和甲基； R_6 和 R_7 是氢、羟基、烷氧基、膦酰基、膦酰氧基、磺基、磺基氧基、氨基、巯基、氰基、硝基、甲酰基或羧基及其酯类和酰胺类； R_8 和 R_9 是膦酰基或氢。与正构脂肪酰基残基连接的 3' 立体化学 (stereogenic) 中心的构型是 R 或 S 型，而优选 R 型。与 R_4 或 R_5 连接的碳原子的立体化学可以是 R 或 S 型。包括对映体和非对映体的所有立体异构体及其混合物均属于本发明主题的范围。

本发明主题的化合物中的杂原子 X 可以是氧或硫。在一个优选的实施方案中，X 是氧且一般位于平伏位上。尽管该分子的稳定性可能受到 X 上取代的影响，但是预计具有这些取代的分子的免疫调节活性没有改变。

杂原子 X 与糖苷配基氮原子之间的碳原子数由变量“n”和“m”来决定。变量“n”和“m”可以是 0-6 的整数。在一个优选的实施方案中，杂

原子 X 与糖苷配基氮原子之间碳原子的总数约为 2 - 约 6 且最优选约为 2 - 约 4。

本发明主题的化合物是被磷酸化的氨基烷基氨基葡萄糖苷化合物。化合物可以在氨基葡萄糖苷环 4 或 6 位 (R_8 或 R_9) 上被磷酸化且如果至少在这些位置之一上被磷酸化则是最有效的。在一个优选的实施方案中, R_8 是磷酰基且 R_9 是氢。

在一个实施方案中, 本发明主题的化合物六酰化, 即它们总计含有 6 个脂肪酸残基。氨基烷基氨基葡萄糖苷部分在氨基葡萄糖苷单元的 2-氨基和 3-羟基上和糖苷配基单元的氨基上被 3-羟基烷酰基残基酰化。在通式 I 中, 有 3 个位置被 3-羟基十四酰基部分酰化。3-羟基十四酰基残基又被正构脂肪酸 (R_1 - R_3) 取代, 从而总计形成了 3 个 3-正-烷酰氧基十四酰基残基或 6 个脂肪酸基。

在另一个实施方案中, 本发明主题的化合物被五酰化, 即它们总计含有 5 个脂肪酸残基。更具体地说, 通式 I 的 3-羟基十四酰基残基在 R_1 、 R_2 和 R_3 3 个位置中的两个上被正构脂肪酸取代, 而 R_1 、 R_2 和 R_3 的第 3 个位置是氢。换句话说, $-OR_1$ 、 $-OR_2$ 或 $-OR_3$ 中至少一个是羟基。

正构脂肪酸 R_1 - R_3 的链长可以是 1 - 约 20 个碳且一般约为 7 - 约 16 个碳。优选 R_1 - R_3 约为 9 - 约 14 个碳。这些正构脂肪酸的链长可以相同或不同。尽管仅描述了正构脂肪酸, 但是预计在本发明主题化合物 R_1 - R_3 上取代的不饱和脂肪酸 (即具有双键或三键的脂肪酸部分) 可以产生生物活性分子。此外, 预计在 3-羟基烷酰基残基链长上的轻度修饰不会显著影响生物活性。

本发明主题的化合物是可促进免疫动物体内抗体生成、刺激细胞因子产生并刺激包括细胞毒性 T-淋巴细胞反应在内的细胞介导的免疫反应的佐剂和免疫效应物。在用于引起个体免疫反应的方法中, 可以用药物上可接受的注射或摄取用载体配制本发明主题的化合物。本文所用的“药物上可接受的载体”指的是不会干扰活性组分免疫调节活性且对所给予的患者而言是无毒性的介质。药物上可接受的载体包括水包油型或油包水型乳剂、含水组合物、脂质体、微珠和微粒体。例如, 所述的载

体可以是微球体或微粒,在该球体或颗粒基质内含有本发明的化合物或在该球体或颗粒表面上吸附有本发明的化合物。所述的载体还可以是含有三乙胺、三乙醇胺或使制品呈碱性的其它试剂的水溶液或胶束分散体或含有氢氧化铝、氢氧化钙、磷酸钙或酪氨酸吸附物的混悬液。

可以经非肠道即腹膜内、皮下或肌内给药的方式给予本发明主题的化合物制品包括下列优选的载体。皮下用的优选载体的实例包括磷酸缓冲盐水(PBS)溶液和0.01-0.1%三乙醇胺的USP注射用水溶液。合适的肌内注射用载体包括10% USP乙醇、40%丙二醇和诸如5%葡萄糖这样的平衡量可接受的等渗溶液。

静脉内用的优选载体的实例包括10% USP乙醇、40% USP丙二醇和平衡量USP注射用水。另一种可接受的载体包括10% USP乙醇和USP注射用水;另一种可接受的载体是0.01-0.1%三乙醇胺的USP注射用水的溶液。提供这样的药物上可接受的非肠道用溶剂,使得溶液或分散体可以通过5微米滤器过滤而不会除去活性组分。

通过粘膜表面给药的载体的实例取决于特定的途径。当口服给药时,使用药用级甘露糖醇、淀粉、乳糖、硬脂酸镁、糖精钠(sodium saccharide)、纤维素、碳酸镁等,其中优选甘露糖醇。当经鼻内给药时,可以使用聚乙二醇或二醇类、蔗糖、和/或甲基纤维素和诸如苯扎氯铵、EDTA这样的防腐剂,其中优选聚乙二醇;而当通过吸入给药时,合适的载体是聚乙二醇或二醇类、甲基纤维素、分散剂和防腐剂,其中优选聚乙二醇。

以“有效量”对个体给予本发明主题的化合物以提高所述个体的免疫反应。本文所用的“有效量”是表现出超过载体或阴性对照的反应的用量。对患者给予的本发明主题的化合物的精确剂量取决于所用的特定AGP、给药途径、药物组合物和患者。例如,当经皮下给药以提高抗体反应时,以对典型的70 kg成人患者给药为基准,所用的AGP的量为1-约250微克、优选约25-约50微克。

在疫苗组合物中,将本发明主题的AGPs与抗原一起对包括人在内的温血动物给药。为引起所需反应而给予的抗原的用量可以由本领域技

术人员方便地确定且根据所给予的抗原类型、给药途径和免疫方案的不同而改变。例如，在间隔 21 天对小鼠经皮下给予 0.2 μ g 破伤风类毒素和要求保护的化合物的两次免疫接种引起了对该抗原的体液免疫反应。

通过使 N-酰氧基酰化或 N-被护氨基链烷醇或氨基烷硫醇(糖苷配基单元)与合适的被护和/或 3-O-酰氧基酰化的氨基葡萄糖苷单元偶联来合成本发明主题的化合物。在一种用于制备本发明主题的化合物的优选方法中(反应流程 1)，在有汞或银盐存在的情况下使 N-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基(Troc))-保护的糖基卤化物 1 ($Z = F, Cl, Br$) 与 N-[(R)-3-n-烷酰氧基十四酰基]氨基链烷醇或硫醇 2 (具有合适被护形式的 R_5 和 R_6) 通过 Koenigs-Knorr 型反应偶联而生成苷中间体 3。优选氨基葡萄糖苷单元 1 带有异头氯原子($Z = Cl$)且偶联催化剂是三氯甲磺酸银。还可以在诸如醚合三氟化硼这样的路易斯酸存在的情况下通过使糖苷配基单元 2 与 N-Troc-保护的乙酸糖酯($Z = OAc$)或相关的活化衍生物偶联来制备中间体 3。所谓的“活化的”指的是带有与氨基葡萄糖苷单元端基异构中心连接的适宜可取代的离去基团“Z”。氨基葡萄糖苷单元 1 在 3-位上带有(R)-3-n-烷酰氧基十四酰基残基，而合适的保护基位于 6-羟基和 4-磷酸酯基上。磷酸酯基的典型保护基包括但不限于苯基、苄基和邻-二甲苯基。所述的磷酸酯基优选被两个苯基保护。6-位可以被通常用于糖化学的保护基团暂时保护，诸如甲硅烷基、苄基或苄氧基甲基醚类或另一方面是碳酸烷基酯。优选 6-羟基被保护为 1, 1-二甲基-2, 2, 2-三氯乙基碳酸酯(TCBOC)。

用锌除去 Koenigs-Knorr 偶联产物 3 中基于三氯乙基的保护基并在有合适偶合试剂存在的情况下用(R)-3-n-烷酰氧基十四酸 4 选择性地使氨基葡萄糖苷的氮酰化而生成六酰化衍生物 5。然后通过在有钨或铂催化剂存在的情况下催化氢化或通过其它适宜方式使 5 中剩余的保护基裂解而生成通式(I)的化合物。

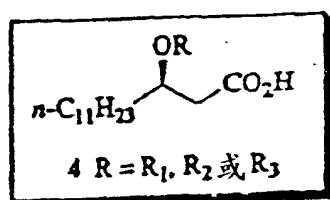
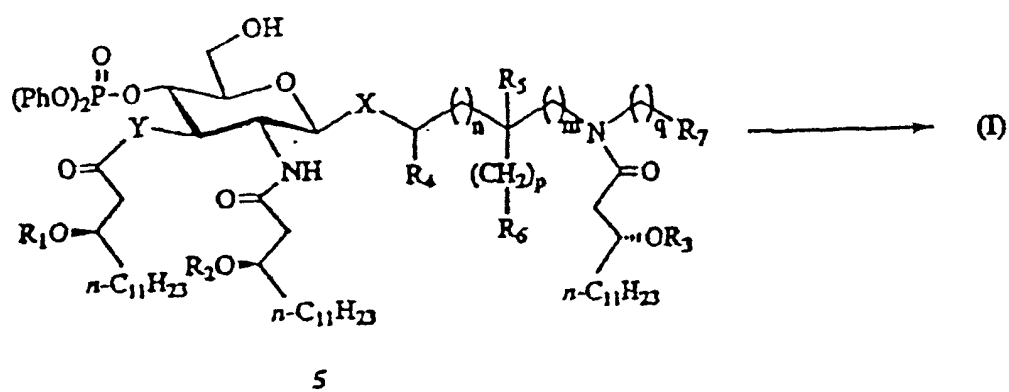
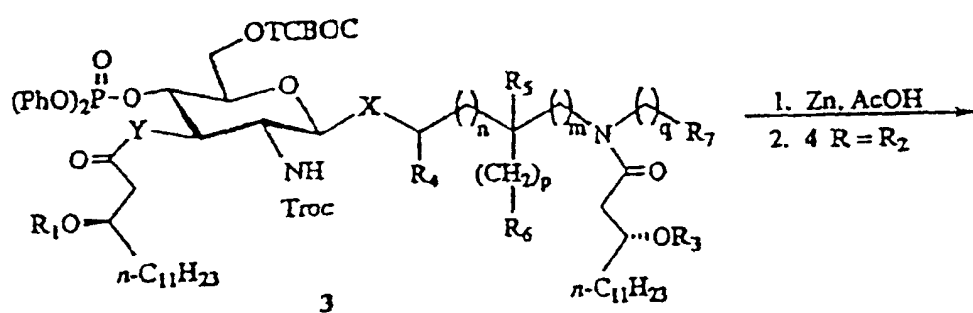
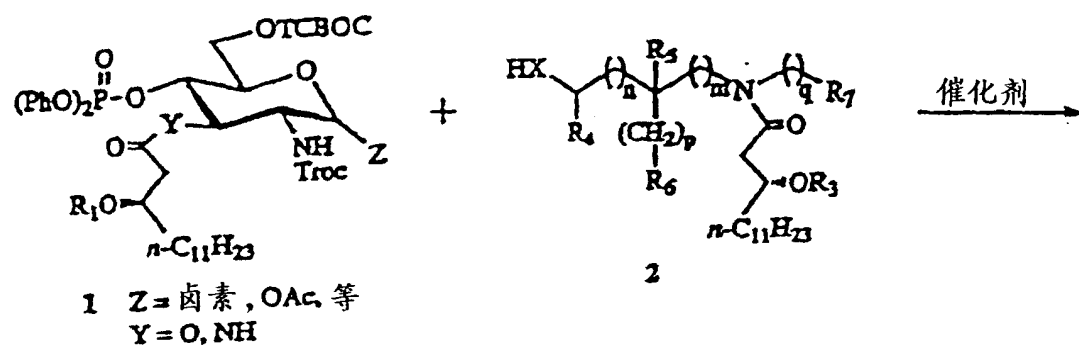
用于合成糖基供体 1 的合适原料是 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-氨基-2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基- β -D-吡喃葡萄糖苷，可以使用公开的方法由商购的 D-氨基葡萄糖苷盐酸盐来制备它。可以通过本领域公知的方法或

本文所述的其改变方法将 2-(三甲基甲硅烷基)乙基苷原料转化成糖基供体 1。可以通过用适宜的(R)-3-n-烷酰氧基十四酸 4 使商购的原料 N-酰氧基酰化或使可以通过化学文献中公知方法获得的原料 N-乙酰基酰化来制备糖苷配基单元 2。另一方面, 2 中的 N-酰氧基酰基残基可以被适宜的胺保护基取代, 所述的胺保护基在诸如下面第二个优选实施方案中所述的偶联反应之后被除去。

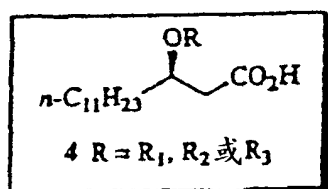
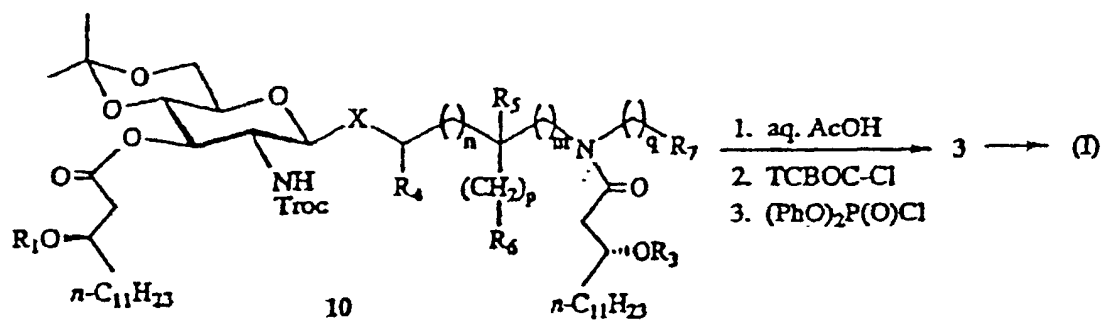
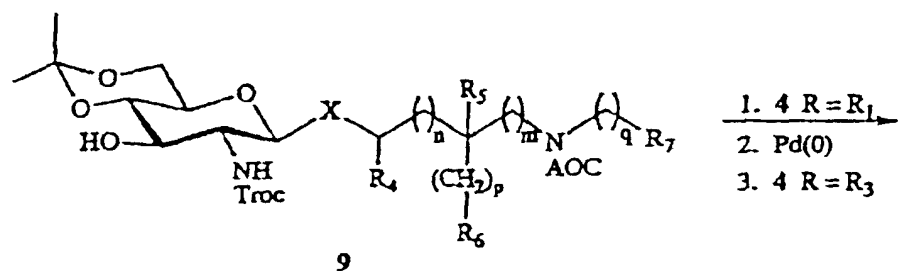
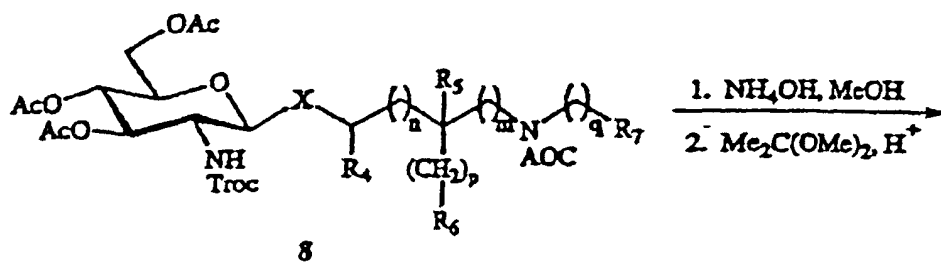
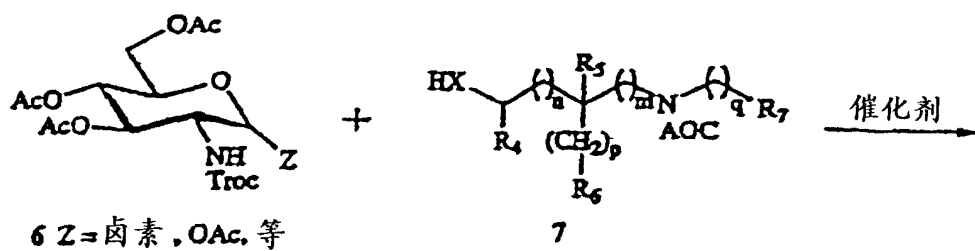
在用于制备本发明主题的化合物的第二种优选方法中(反应流程 2), 在使用适合于对存在的氨基和羟基进行化学区分的 N-和 O-保护基进行糖基化(偶联)反应后将(R)-3-n-烷酰氧基十四酰基和磷酸酯基引入氨基葡萄糖苷和糖苷配基单元中。优选在适宜催化剂存在的情况下使 N-Troc-保护的糖基供体 6 与 N-烯丙氧基羰基(AOC)保护的氨基链烷醇或硫醇 7 偶联而生成氨基烷基 β -苷 8。最优选所述的糖基供体 6 带有异头乙酰氧基(Z=OAc)且偶联催化剂是醚合三氟化硼。其它用于糖苷配基氨基的 N-保护基包括但不限于对本领域技术人员而言显然是常用的氨基甲酸酯类, 诸如叔丁基(t-BOC)、苄基(Cbz)、2, 2, 2-三氯乙基(Troc)和 9-苄基甲基(Fmoc)。

在本领域中公知的标准条件下使偶联产物 8 和 4, 6-丙酮化物形成中的乙酸酯基进行碱诱导的裂解而生成中间体 9。用(R)-3-n-烷酰氧基十四酸 4 使 9 进行 3-O-酰化, 随后以钨(O)为介体除去糖苷配基 N-AOC 基并用(R)-3-n-烷酰氧基十四酸进行酰化而得到中间体 10。为制备糖基供体 1 对 4-和 6-位进行本文所述的丙酮化物水解和官能化而生成中间体 3(Y=O), 然后如反应流程 1 中所述进行处理而得到通式(I)的化合物。

通过下列仅用于解释目的的非限制性实施例和试验例来进一步描述本发明。重要的是应注意将(R)-3-n-烷酰氧基十四酰基和磷酸酯基引入氨基葡萄糖苷和糖苷配基单元中不一定必须按照反应流程 1 和 2 或如下述实施例中所述的顺序进行。



反应流程 1



反应流程 2

实施例 1-43 描述了本发明主题的 AGP 化合物的制备方法。试验例 1-13 描述了为测定这些化合物的免疫原性而进行的试验。表 1 列举了这些实施例中各化合物的化学组成和实验参考号。

表1

实施例	参考号	R ₁ -R ₃	n	p	R ₆	q	R ₇
1	-	-	-	-	-	-	-
2	B1*	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	0	1	OH	0	H
3	B2**	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	0	1	OH	0	H
4	B3	n-C ₁₁ H ₂₃ CO	0	1	OH	0	H
5	B4	n-C ₁₀ H ₂₁ CO	0	1	OH	0	H
6	B5	n-C ₉ H ₁₉ CO	0	1	OH	0	H
7	B6***	n-C ₉ H ₁₉ CO	0	1	OH	0	H
8	B7	n-C ₈ H ₁₇ CO	0	1	OH	0	H
9	B8	n-C ₆ H ₁₃ CO	0	1	OH	0	H
10	B9	n-C ₉ H ₁₉ CO	1	1	OH	0	H
11	B10	n-C ₉ H ₁₉ CO	0	2	OH	0	H
12	B11	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	0	0	CO ₂ H	0	H ¹
13	B12	n-C ₁₁ H ₂₃ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
14	B13	n-C ₁₀ H ₂₁ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
15	B14**	n-C ₉ H ₁₉ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
16	B15*	n-C ₉ H ₁₉ CO	0	0	CO ₂ H	0	H

实施例	参考号	R ₁ -R ₃	n	p	R ₆	q	R ₇
17	B16	n-C ₈ H ₁₇ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
18	B17	n-C ₇ H ₁₅ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
19	B18	n-C ₆ H ₁₃ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
20	B19	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	0	0	H	0	H
21	B20	n-C ₉ H ₁₉ CO	0	0	H	0	H
22	B21	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	1	0	H	0	H
23	B22	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	2	0	H	0	H
24	B23	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	4	0	H	0	H
25	B24	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	0	0	CONH ₂	0	H
26	B25	n-C ₉ H ₁₉ CO	0	0	CONH ₂	0	H
27	B26	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	0	0	CO ₂ Me	0	H
28	B27	n-C ₁₃ H ₂₇ CO	0	0	H	1	CO ₂ H
29	B28	n-C ₉ H ₁₉ CO	1	0	H	1	CO ₂ H
30	B29	n-C ₃ H ₁₁ CO	0	0	CONH ₂	0	H
31	B30	R ₁ =R ₃ =n-C ₉ H ₁₉ CO R ₂ =n-C ₃ H ₁₁ CO	0	0	CONH ₂	0	H'
32	B31	n-C ₃ H ₁₁ CO	0	0	H	0	H
33	B32	R ₁ =n-C ₁₃ H ₂₇ CO R ₂ =n-C ₁₇ H ₃₅ CO R ₃ =n-C ₁₅ H ₃₁ CO	0	0	H	0	H

实施例	参考号	R ₁ -R ₃	n	p	R ₆	q	R ₇
34	B34	n-C ₃ H ₁₁ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
35	B35	R ₁ =n-C ₃ H ₁₁ CO R ₂ =R ₃ =n-C ₉ H ₁₉ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
36	B36	R ₁ =R ₃ =n-C ₉ H ₁₉ CO R ₂ =n-C ₃ H ₁₁ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
37	B37	R ₁ =R ₂ =n-C ₉ H ₁₉ CO R ₃ =n-C ₃ H ₁₁ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
38	B38	R ₁ =n-C ₉ H ₁₁ CO R ₂ =R ₃ =n-C ₃ H ₁₁ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
39	B39	R ₁ =R ₃ =n-C ₃ H ₁₁ CO R ₂ =n-C ₉ H ₁₉ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
40	B40	R ₁ =R ₂ =n-C ₃ H ₁₁ CO R ₃ =n-C ₉ H ₁₉ CO	0	0	CO ₂ H	0	H
41	B41	R ₁ =R ₃ =n-C ₉ H ₁₉ CO R ₂ =n-C ₃ H ₁₁ CO	0	1	OH	0	H
42	B42	n-C ₉ H ₁₁ CO	0	2	CO ₂ H	0	H
43	B43	R ₁ =n-C ₁₃ H ₂₇ CO R ₂ =n-C ₁₁ H ₂₃ CO R ₃ =H	0	0	CO ₂ H	0	H ¹

就全部所示的实施例而言: X=Y=O; R₄=R₅=H; m=0; R₈=膦酰基; R₉=H
*与 R₅ 连接的碳原子的立体化学是 S.
**与 R₅ 连接的碳原子的立体化学是 R.
***R₈ 是 H 和 R₉ 是膦酰基。

(3) 在室温下用肉豆蔻酰氯(3.1 mL, 11.4 mmol)处理上述(2)中制备的化合物(4.6g, 10.4 mmol)溶于含有 4-二甲氨基吡啶(0.12g, 1.0 mmol)和吡啶(5 mL, 62 mmol)的 CH_2Cl_2 (50 mL)所得到的溶液。在室温下搅拌 5 小时后, 加入 MeOH (0.5 mL)并浓缩该反应混合物。使残余物在 Et_2O (150 mL)与冷的 10% HCl 水溶液(50 mL)之间分配并分离各层。干燥醚层(Na_2SO_4)并浓缩且在硅胶柱的短衬垫上用 5% EtOAc-己烷纯化获得的残余物。将二酯溶于 AcOH(42 mL)并在 60℃ 下用 3 个等份的锌粉($\sim 6\text{g}$, 90 mmol)处理 1 小时。在 60℃ 下再经过 1 小时后, 将冷却的反应混合物进行超声处理(5 分钟)、通过 Celite[®]过滤并浓缩。通过使用 10% EtOAc-己烷的硅胶快速硅胶色谱法纯化残余物而得到 4.17g(82%)的(R)-3-十四酰氧基十四酸、为一种无色固体:

mp 28-29°C;

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (~t, 6 H), 1.15-1.40 (m, 38 H), 1.50-1.70 (m, 4 H), 2.28 (t, 2 H, $J = 7.4$ Hz), 2.56 (dd, 1 H, $J = 15.9, 5.8$ Hz), 2.63 (dd, 1 H, $J = 15.9, 7.1$ Hz), 5.21 (m, 1 H).

(4) 按照与实施例 1-(3)中所述相同的方式, 在有吡啶(0.57 mL, 7.0 mmol)存在的情况下于 CH_2Cl_2 (60 mL)中用月桂酰氯(1.45 mL, 6.5 mmol)酰化实施例 1-(2)中制备的化合物(2.5g, 5.68 mmol)且然后在 AcOH (40 mL)中用锌(9.3g, 142 mmol)使之脱保护而得到(R)-3-十二酰氧基十四酸、为一种无色油状物:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.90 (t, 6 H, $J = 6.5$ Hz), 1.0 - 1.75 (m, 46 H), 2.30 (m, 2 H), 2.62 (m, 2 H), 5.22 (m, 1 H).

(5) 用十一酸(1.16g, 6.25 mmol)和 EDC MeI (2.08g, 7.0 mmol)在 CH_2Cl_2 (60 mL)中处理实施例 1-(2)中制备的化合物溶液(2.5g, 5.68 mmol)且然后如实施例 1-(3)中所述在 AcOH (40 mL)中用锌(9.3g, 142 mmol)使之脱保护而得到(R)-3-十一酰氧基十四酸、为一种无色油状物:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.89 (t, 6 H, $J = 6.7$ Hz), 1.0 - 1.75 (m, 44 H), 2.29 (m, 2 H), 2.61 (m, 2 H), 5.22 (m, 1 H).

(6) 按照与实施例 1-(3)中所述相同的方式, 在有吡啶(1.2 mL,

实施例 1

(R)-3-N-烷酰氧基十四酸(4)的制备

(1) 通过喷射氦气(15分钟)使 3-氧代十四酸甲酯(19 g, 0.074 mol)溶于 MeOH (100 mL) 所得到的溶液脱气。加入 [(R)-Ru (Binap) Cl]₂·NEt₃ 催化剂(0.187g, 0.111 mmol)和 2 N HCl 水溶液(0.5 mL)并在 60 psig 和 40-50℃ 下使所得的混合物氢化 18 小时。将该反应体系用己烷(250 mL)稀释、通过硅胶短柱过滤并浓缩。将粗产物溶于四氢呋喃(THF ; 200 mL)、用 2.4 N LiOH 水溶液 (83 mL, 0.2 mol) 处理并在室温下剧烈搅拌 4 小时。使所得的淤浆在乙醚(200 mL)和 1 N HCl 水溶液 (200 mL) 之间分配并分离各层。将水层用乙醚(100 mL)提取并干燥合并的醚提取物 (Na₂SO₄) 且浓缩。将粗的羧酸溶于热乙腈(250 mL), 用二环己胺 (DCHA ; 17 mL, 0.085 mol) 处理并在 60℃ 下搅拌 1 小时。收集冷却时结晶的产物并使之从乙腈(650 mL) 中重结晶而得到 28.6 g (91%) 的 (R)-3-羟基十四酸二环己基铵、为一种无色固体:

mp 94-95°C; ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (~t, 3 H, *J* ~ 6.5 Hz), 1.05-1.58 (m, 24 H), 1.65 (m, 2 H), 1.80 (m, 4 H), 2.01 (br d, 4 H) 2.18 (dd, 1 H, *J* = 15.7, 9.4 Hz), 2.36 (dd, 1 H, *J* = 15.7, 2.6 Hz), 2.94 (m, 2 H), 3.84 (m, 1 H)

(2) 向上述(1)中制备的化合物(50 g, 0.117 mol)和 2,4'-二溴乙酰苯(39g, 0.14 mol)溶于 EtOAc (2.3 L) 所得到的混合物中加入三乙胺(19.6 mL, 0.14 mol)并在室温下将所得的溶液搅拌 18 小时。收集形成的大量沉淀并用温 EtOAc (3x400 mL) 研制。用 1M HCl 水溶液、饱和 NaCl 水溶液洗涤合并的研制物和滤液并干燥(Na₂SO₄)。在减压条件下除去挥发性物质并使获得的粗产物从 EtOAc-己烷中结晶而得到 47.2g (91%) 的 (R)-3-羟基十四酸对溴苯甲酰甲酯、为一种无色固体:

mp 109-109.5°C; ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (~t, 3 H, *J* ~ 6.5 Hz) 1.15-1.70 (m, 20 H), 2.56 (dd, 1 H, *J* = 15.1, 9.1 Hz), 2.69 (dd, 1 H, *J* = 15.1, 2.9 Hz), 3.27 (br s, 1 H), 4.12 (m, 1 H), 5.31 (d, 1 H, *J* = 16.5 Hz), 5.42 (d, 1 H, *J* = 16.5 Hz), 7.65 (d, 2 H, *J* = 8.5 Hz), 7.78 (d, 2 H, *J* = 8.5 Hz).

15.0 mmol)存在的情况下在 CH_2Cl_2 (100 mL) 中用癸酰基氯 (2.3 mL, 11 mmol) 酰化实施例 1-(2) 中制备的化合物 (4.4g, 10 mmol) 且然后在 AcOH (60 mL) 中用锌 (16.4g, 250 mmol) 使之脱保护而得到 (R)-3-癸酰氧基十四酸、为一种无色油状物:

$^1\text{H NMR (CDCl}_3)$ δ 0.89 (t, 6 H, $J = 6.8$ Hz), 1.0 - 1.75 (m, 34 H), 2.29 (t, 2 H, $J = 7.4$ Hz), 2.61 (t, 2 H, $J = 4.2$ Hz), 5.22 (m, 1 H).

(7) 按照与实施例 1-(3) 中所述相同的方式, 在有吡啶 (0.57 mL, 7.0 mmol) 存在的情况下在 CH_2Cl_2 (60 mL) 中用壬酰基氯 (1.13 mL, 6.25 mmol) 酰化实施例 1-(2) 中制备的化合物 (2.5 g, 5.68 mmol) 且然后在 AcOH (40 mL) 中用锌 (9.3g, 142 mmol) 使之脱保护而得到 (R)-3-壬酰氧基十四酸、为一种无色油状物:

$^1\text{H NMR (CDCl}_3)$ δ 0.89 (t, 6 H, $J = 6.9$ Hz), 1.0 - 1.75 (m, 32 H), 2.29 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.61 (m, 2 H), 5.22 (m, 1 H).

(8) 按照与实施例 1-(3) 中所述相同的方式, 在有吡啶 (0.57 mL, 7.0 mmol) 存在的情况下在 CH_2Cl_2 (60 mL) 中用辛酰基氯 (1.07 mL, 6.25 mmol) 酰化实施例 1-(2) 中制备的化合物 (2.5g, 5.68 mmol) 且然后在 AcOH (40 mL) 中用锌 (9.3g, 142 mmol) 使之脱保护而得到 (R)-3-辛酰氧基十四酸、为一种无色油状物:

$^1\text{H NMR (CDCl}_3)$ δ 0.92 (t, 6 H, $J = 6.9$ Hz), 1.0 - 1.75 (m, 30 H), 2.32 (t, 2 H, $J = 7.4$ Hz), 2.63 (t, 2 H, $J = 4.4$ Hz), 5.23 (m, 1 H).

(9) 按照与实施例 1-(3) 中所述相同的方式, 在有吡啶 (0.57 mL, 7.0 mmol) 存在的情况下在 CH_2Cl_2 (60 mL) 中用庚酰基氯 (0.97 mL, 6.25 mmol) 酰化实施例 1-(2) 中制备的化合物 (2.5 g, 5.68 mmol) 且然后在 AcOH (40 mL) 中用锌 (9.3g, 142 mmol) 使之脱保护而得到 (R)-3-庚酰氧基十四酸、为一种无色油状物:

$^1\text{H NMR (CDCl}_3)$ δ 0.89 (t, 6 H, $J = 6.8$ Hz), 1.0 - 1.75 (m, 28 H), 2.29 (t, 2 H, $J = 7.4$ Hz), 2.61 (d, 2 H, $J = 5.8$ Hz), 5.22 (m, 1 H).

实施例 2 (B1)

3-羟基-(S)-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基-2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I)),

$R_1=R_2=R_3=N-C_{13}H_{27}CO$, $X=Y=O$, $N=M=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=OH$, $P=1$,
 $R_8=PO_3H_2$).

(1) 向 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-氨基-2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基-β-D-吡喃葡萄糖苷(6.46 g, 20.2 mmol)溶于 $CHCl_3$ (300 mL) 所得到的溶液中加入 1N $NaHCO_3$ 水溶液(300 mL)和氯甲酸 2, 2, 2-三氯乙基酯(8.5g, 40 mmol)。在室温下将所得混合物剧烈搅拌 3 小时。将有机层分离、干燥(Na_2SO_4)并浓缩至得到一种无色糖浆状物。进行硅胶快速色谱法(梯度洗脱, 30→40% EtOAc-己烷)而得到 9.6g (96%) 的 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色固体:

mp 69-70°C;

1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.0 (s, 9 H), 0.94 (m, 2 H), 1.44 和 1.52 (2s, 6 H), 2.94 (br s, 1 H), 3.23-3.37 (m, 2 H), 3.48-3.62 (m, 2 H), 3.79 (t, 1 H, $J = \sim 10.5$ Hz), 3.88-4.08 (m, 3 H), 4.65 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 4.74 (m, 2 H), 5.39 (d, 1 H, $J = 7.4$ Hz).

(2) 用 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺甲碘化物(EDC-MeI; 4.94 g, 16.7 mmol)处理上述(1)中制备的化合物(7.5g, 15.2 mmol)、(R)-3-十四酰氧基十四酸(7.58 g, 16.7 mmol)和 4-吡咯烷甲基吡啶(0.25g, 1.7 mmol)溶于 CH_2Cl_2 (95 mL)所得到的溶液并在室温下搅拌 16 小时。将该反应混合物通过 Celite®短衬垫过滤、浓缩并在 60°C 下和 90%AcOH 水溶液(100 mL)中将所得的残余物加热 1 小时。浓缩该混合物并通过与甲苯(2x150 mL)共沸而除去残余的 AcOH 和水。通过硅胶快速色谱法纯化粗二醇(梯度洗脱, 30→40% EtOAc-己烷)而得到 11.8g (83%) 的 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四

酰基]-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.0 (s, 9 H), 0.9 (m, 8 H), 1.1-1.7 (m, 42 H), 2.30 (t, 2 H, $J=7.4$ Hz), 2.52 (m, 2 H), 3.36-3.72 (m, 4 H), 3.78-4.03 (m, 3 H), 4.57 (d, 1 H, $J=8.3$ Hz), 4.65 (d, 1 H, $J=11$ Hz), 4.77 (d, 1 H, $J=11$ Hz), 5.0-5.15 (m, 2 H), 5.20 (d, 1 H, $J=7.4$ Hz).

(3) 在 0°C 下和 15 分钟内用氯甲酸 2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙基酯 (3.17g, 13.2 mmol) 溶于 CH_2Cl_2 (25 mL) 所得到的溶液滴加处理上述 (2) 中制备的化合物 (10.9g, 12 mmol) 和吡啶 (2 mL, 25 mmol) 溶于 CH_2Cl_2 (125 mL) 所得到的溶液。在 3.5 小时内将该反应混合物缓慢温至环境温度。依次加入 4-吡咯烷子基吡啶 (0.89 g, 6.0 mmol)、N, N-二异丙基乙胺 (10.5 mL, 60 mmol) 和氯磷酸二苯酯 (3.7 mL, 18 mmol) 并将所得的混合物在室温下搅拌 5 小时。将该反应混合物用 CH_2Cl_2 (500 mL) 稀释、用冷 7.5% HCl 水溶液 (2x250 mL)、水 (250 mL)、饱和 NaHCO_3 水溶液 (250 mL) 洗涤、干燥 (Na_2SO_4) 且然后浓缩。通过硅胶快速色谱法纯化获得的残余物, 用 12.5% EtOAc-己烷洗脱而得到 15.1g (95%) 的 2-(三甲基甲硅烷基) 乙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种粘性油状物:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.0 (s, 9 H), 0.8-1.0 (m, 8 H), 1.1-1.65 (m, 42 H), 1.83 和 1.90 (2s, 6 H), 2.15-2.45 (m, 4 H), 3.34 (q, 1 H, $J=\sim 8$ Hz), 3.37 (m, 1 H), 3.81 (m, 1 H), 3.95 (m, 1 H), 4.27 (dd, 1 H, $J=12, 5$ Hz), 4.34 (d, 1 H, $J=12$ Hz), 4.58 (d, 1 H, $J=12$ Hz), 4.66 (q, 1 H, $J=\sim 9$ Hz), 4.86 (d, 1 H, $J=12$ Hz), 5.03 (d, 1 H, $J=7.9$ Hz), 5.21 (m, 1 H), 5.54-5.70 (m, 2 H), 7.2-7.8 (m, 10 H).

(4) 在 0°C 下, 用三氟乙酸 (TFA ; 6 mL) 滴加处理上述 (3) 中制备的化合物 (1.87g, 1.41 mmol) 溶于 CH_2Cl_2 (3 mL) 所得到的溶液且然后在 0°C 下搅拌 4 小时。将该反应混合物浓缩并通过与甲苯 (2x5 mL) 共沸而除去残余的 TFA。在 0°C 下和 15 分钟内用草酰溴 (2.0 M 的 CH_2Cl_2 溶液 ; 2.1

mL, 4.2 mmol) 逐滴处理内半缩醛 (lactol) 和二甲基甲酰胺溶于 CH_2Cl_2 (14 mL) 所得到的溶液并在 0°C 下将所得的混悬液搅拌 24 小时。使该反应混合物在冷饱和 NaHCO_3 水溶液 (25 mL) 与乙醚 (50 mL) 之间分配并分离各层。将醚层用饱和 NaCl 水溶液洗涤、干燥 (Na_2SO_4) 并浓缩, 得到 1.85g (~100%) 的 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基溴、为一种无色玻璃状物。

(5) 用 $\text{EDC} \cdot \text{MeI}$ (0.78g, 2.79 mmol) 处理 (R)-2-氨基-3-苄氧基-1-丙醇 (0.46g, 2.33 mmol) 和 (R)-3-十四酰氧基十四酸 (1.29g, 2.83 mmol) 溶于 CH_2Cl_2 (20 mL) 所得到的溶液并在室温下搅拌 16 小时。将该反应混合物通过 Celite® 短衬垫过滤并浓缩。使用 45% EtOAc-己烷进行硅胶快速色谱法而得到 1.1g (69%) 的 3-苄氧基-(R)-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙醇、为一种无色固体:

mp $42-44.5^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ δ 0.88 (t, 6 H, $J = \sim 6.5$ Hz), 1.0-1.7 (m, 42 H), 2.50 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.46 (m, 2 H), 3.56 (br s, 1 H), 3.5-3.75 (m, 3 H), 3.78 (dd, 1 H, $J = 11, 4$ Hz), 4.08 (m, 1 H), 4.51 (s, 2 H), 5.17 (m, 1 H), 6.36 (d, 1 H, $J = 7.8$ Hz), 7.2-7.4 (m, 5 H).

(6) 向上述 (4) 中制备的化合物 (1.00g, 0.776 mmol) 和上述 (5) 中制备的化合物 (0.35g, 0.57 mmol) 溶于二氯乙烷 (4.5 mL) 所得到的溶液中加入粉状的 4 Å 分子筛 (1.25 g) 和硫酸钙 (2.7 g, 20 mmol)。在室温下搅拌 10 分钟后, 将该混合物用氯化汞 (1.0g, 4.0 mmol) 处理且然后在避光条件下加热至回流 12 小时。将该反应混合物用 CH_2Cl_2 (25 mL) 稀释并通过 Celite® 衬垫过滤。将滤液用 1 N KI 水溶液 (25 mL) 洗涤、干燥 (Na_2SO_4) 并浓缩。使用 EtOAc-己烷-MeOH (80:20:0 $\rightarrow$ 70:30:1, 梯度洗脱) 对残余物进行硅胶层析而得到 0.66g (63%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-磷酰-3-O-[(R)-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体: $^1\text{H NMR}$ δ 0.88 (t, 12 H, $J = \sim 6.5$ Hz), 1.0-1.65 (m, 84 H), 1.79

和 1.86 (2s, 6 H), 2.1-2.5 (m, 8 H), 3.35-3.55 (m, 3 H), 3.65-3.8 (m, 3 H), 4.1-4.75 (m, 9 H), 5.05-5.3 (m, 2 H), 5.3-5.5 (m, 2 H), 6.04 (d, 1 H, $J=8.4$ Hz), 7.05-7.45 (m, 15 H).

(7) 在 55℃ 下和 1 小时内用锌粉 (1.1 g, 16 mmol) 分 3 等份处理上述 (6) 中制备的化合物 (0.60 g, 0.328 mmol) 溶于 AcOH (9 mL) 所得到的搅拌溶液。将冷却的反应混合物进行超声处理、通过一层 Celite® 过滤并浓缩。使所得的残余物在 CH₂Cl₂ (60 mL) 与冷的 1 N HCl 水溶液 (35 mL) 之间分配并分离各层。将有机层用 5% NaHCO₃ 水溶液洗涤、干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩。在室温下将获得的残余物和 (R)-3-十四酰氧基十四酸 (0.18 g, 0.39 mmol) 溶于 CH₂Cl₂ (3.5 mL) 所得到的混合物与 4Å 分子筛 (0.1 g) 一起搅拌 30 分钟且然后用 2-乙氧基-1-乙氧基羰基-1,2-二氢喹啉 (EEDQ; 0.12 g, 0.49 mmol) 处理。在室温下将所得的混合物搅拌 6 小时、通过 Celite® 过滤且然后浓缩。进行硅胶层析 (梯度洗脱, 0.5→1% MeOH-CHCl₃) 得到 0.31 g (50%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氧基]-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (t, 18 H, $J= \sim 6.5$ Hz), 1.0-1.8 (m, 126 H), 2.1-2.5 (m, 12 H), 3.35-3.75 (m, 6 H), 3.80 (m, 2 H), 4.23 (m, 1 H), 4.46 (d, 1 H, $J=12$ Hz), 4.51 (d, 1 H, $J=12$ Hz), 4.65 (q, 1 H, $J= \sim 9.5$ Hz), 4.82 (d, 1 H, $J=8.1$ Hz), 5.05-5.25 (m, 3 H), 5.47 (t, 1 H, $J= \sim 9.5$ Hz), 6.16 (d, 1 H, $J=8.1$ Hz), 6.31 (d, 1 H, $J=8.4$ Hz), 7.1-7.4 (m, 15 H).

(8) 在室温和大气压下以及有 5% 钨/碳 (50 mg) 存在的情况下, 使上述 (7) 中制备的化合物 (0.26 g, 0.138 mmol) 溶于 THF (25 mL) 所得到的溶液氢化 16 小时。在通过过滤除去催化剂后, 加入 AcOH (3 mL) 和氧化钨 (0.14 g) 并在室温和 75 psig 下继续氢化 24 小时。将所得的乳白色反应混合物用 2:1 CHCl₃-MeOH (20 mL) 稀释并简短进行超声处理而得到一种澄清溶液。收集催化剂、用 2:1 CHCl₃-MeOH (2x5 mL) 洗涤并将合并的滤液和洗涤物浓缩。通过在 35℃ 下超声处理 5 分钟而将残余物溶

于1%三乙胺水溶液并将所得的溶液冻干。使用氯仿-甲醇-水-三乙胺(94:6:0.5:0.5→88:12:1.0:1.0, 梯度洗脱)进行的硅胶快速色谱法得到0.20g(84%)的产物、为一种无色粉末。将部分层析产物(0.166 g)溶于冷的2:1 CHCl₃-MeOH(33 mL)并用冷的0.1 N HCl水溶液(14 mL)洗涤。将下部的有机层过滤并浓缩且将获得的游离酸从1%三乙胺水溶液(不含致热原, 15 mL)中冻干而得到0.160g的3-羟基-(S)-2-[(R)-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-磷酸基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种无色固体:mp 178-180℃(分解); IR(膜)

3293, 3103, 2959, 2924, 2855, 1732, 1654, 1640, 1553, 1467, 1377, 1259, 1175, 1106, 1086, 1050, 803, 720 cm⁻¹; HMR(CDCl₃-CD₃OD) δ 0.88(t, 18 H, J= ~7 Hz), 1.0-1.7(m, 135 H), 2.15-2.75(m, 12 H), 3.02(q, 6 H, J=7 Hz), 3.35-4.1(m, 7 H), 4.22(q, 1 H, J= ~9.5 Hz), 4.77(d, 1 H, J=8 Hz), 5.05-5.35(m, 4 H), 6.58(d, 1 H, J= 6 Hz), 6.73(d, 1 H, J= 7.5 Hz, NH); ¹³C NMR(CDCl₃) δ 173.5, 173.2, 170.7, 170.5, 170.0, 100.7, 75.9, 72.7, 71.2, 71.0, 70.8, 70.6, 67.9, 61.7, 60.5, 55.0, 50.4, 45.6, 41.4, 39.5, 34.5, 34.4, 32.0, 31.8, 30.3, 29.8, 29.4, 29.3, 25.3, 25.1, 22.7, 14.2, 8.6.

对 C₁₉H₁₉₂N₃O₁₈P · 5H₂O 的计算分析值 :C, 64.84;H, 11.10 ; N, 2.29 ; P, 1.69。测定值:C, 64.69;H, 11.24;N, 1.93;P, 1.44。

实施例 3 (B2)

3-羟基-(R)-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-磷酸基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备
(化合物(I), R₁=R₂=R₃=N-C₁₃H₂₇CO, X=Y=O, N=M=Q=O, R₄=R₅=R₇=R₉=H, R₆=OH, P=1, R₈=PO₃H₂)

(1) 用吡啶(0.4 mL, 5 mmol)、4-二甲氨基吡啶(催化)和氯甲酸 2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙基酯(0.307g, 1.23 mmol)依次处理实施例 2-(5)中制备的化合物(0.63g, 1.02 mmol)溶于 CH₂Cl₂(7 mL)所得到的溶液并在室温下搅拌 16 小时。将该反应混合物用 CH₂Cl₂(25 mL)稀释、

用饱和 NaHCO_3 水溶液 (25 mL) 洗涤并干燥 (Na_2SO_4)。在真空中除去挥发性物质而得到残余物, 将其溶于 THF-AcOH (10 mL, 9:1) 并在室温和大气压以及有 5% 钨/碳 (150 mg) 存在的情况下氢化 24 小时。在通过过滤除去催化剂并浓缩滤液后, 通过使用 35% EtOAc-己烷的硅胶快速色谱法纯化残余物而得到 0.536g (72%) 的 3-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基氧基)-(S)-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙醇、为一种非晶固体:

^1H NMR

(CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J = \sim 6.5$ Hz), 1.1-1.7 (m, 42 H), 1.94 (s, 6 H), 2.30 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.47 (d, 2 H, $J = 6$ Hz), 3.50 (br s, 1 H), 3.72 (m, 2 H), 4.15-4.35 (m, 3 H), 5.15 (m, 1 H), 6.18 (d, 1 H, $J = 7.2$ Hz).

(2) 按照与实施例 2-(6) 中所述相同的方式在有氯化汞 (0.43g, 1.7 mmol) 存在的情况下偶联上述 (1) 中制备的化合物 (0.310g, 0.426 mmol) 和实施例 2-(4) 中制备的化合物 (0.961g, 0.745 mmol) 而得到 0.644g (78%) 的 3-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基氧基)-(S)-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-膦酰基-3-O-[(R)-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J = \sim 6.5$ Hz), 1.0-1.7 (m, 84 H), 1.81 和 1.89 (2s, 6 H), 1.93 (s, 6 H), 2.15-2.55 (m, 8 H), 3.45-3.7 (m, 2 H), 3.80 (br d, 1 H, $J = 9$ Hz), 3.9-4.45 (m, 6 H), 4.6-4.8 (m, 3 H), 4.87 (d, 1 H, $J = 8.1$ Hz), 5.0-5.25 (m, 2 H), 5.48 (t, 1 H, $J = \sim 9.5$ Hz), 6.1-6.3 (m, 2 H).

(3) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式用锌 (1.5g, 23 mmol) 使上述 (2) 中制备的化合物 (0.602 g, 0.310 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (0.115g, 0.467 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十四酰氧基十四酸 (0.17g, 0.37 mmol) 使之酰化而得到 0.365g (66%) 的 3-羟基-(R)-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

¹H NMR

(CDCl₃) δ 0.88 (t, 18 H, *J* = ~6.5 Hz), 1.0-1.7 (m, 126 H), 2.15-2.55 (m, 12 H), 3.18 (br s, 1 H), 3.45-3.8 (m, 8 H), 3.85-4.05 (m, 2 H), 4.69 (q, 1 H, *J* = ~9.5 Hz), 5.05-5.25 (m, 3 H), 5.42 (t, 1 H, *J* = ~9.5 Hz), 6.42 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 6.59 (d, 1 H, *J* = 7.2 Hz), 7.1-7.4 (m, 10 H).

(4) 按照与实施例 2- (8) 中所述相同的方式, 在有氧化铂 (175 mg) 存在的情况下使上述 (3) 中制备的化合物 (0.355g, 0.196 mmol) 氢化而得到 0.265g (77%) 的 3-羟基-(R)-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-0-膦酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-0-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种无色固体: mp 159-160℃; IR (膜)

3291, 2956, 2922, 2853, 1738, 1732, 1716, 1650, 1643, 1556, 1468, 1171, 1109, 1083, 1051 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃-CD₃OD) δ 0.88 (t, 18 H, *J* = ~6.5 Hz), 1.0-1.7 (m, 135 H), 2.15-2.75 (m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, *J* = 7 Hz), 3.25-3.45 (m, 2 H), 3.5-4.05 (m, 12 H), 4.19 (q, 1 H, *J* = ~9.5 Hz), 4.48 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 5.04-5.26 (m, 4 H), 7.18 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 7.27 (d, 1 H, *J* = 8.7 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 173.5, 173.4, 170.7, 170.6, 170.1, 101.0, 76.0, 72.6, 71.4, 71.0, 70.8, 70.6, 68.7, 61.8, 60.5, 55.3, 50.5, 45.6, 41.5, 41.4, 39.5, 34.6, 34.4, 34.3, 32.0, 29.8, 29.4, 25.4, 25.1, 22.7, 14.1, 8.6.

对 C₉₉H₁₉₂N₃O₁₈P H₂O 的计算分析值: C, 67.50; H, 11.10; N, 2.39; P, 1.76.。测定值: C, 67.40; H, 11.22; N, 2.34; P, 2.11.

实施例 4 (B3)

3-羟基-(S)-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-0-膦酰基-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]-3-0-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备
(化合物 (I), R₁=R₂=R₃=N-C₁₁H₂₃CO, X=Y=O, N=M=Q=O, R₄=R₅=R₇=R₉=H, R₆=OH, P=1, R₈=PO₃H₂)

(1) 用饱和 NaHCO₃ 水溶液 (250 mL) 和氯甲酸 2,2,2-三氯乙基酯 (14.05 mL, 102 mmol) 处理 D-氨基葡萄糖苷盐酸盐 (20g, 92.8 mmol) 溶于

H₂O (250 mL) 所得到的溶液并剧烈搅拌 18 小时。在多孔漏斗上收集形成的白色固体并在真空中干燥 24 小时。将该固体溶于吡啶 (100 mL) 所得到的溶液冷却至 0℃ 并通过经漏斗添加乙酐 (100 mL) 来处理。在室温下将该溶液搅拌 18 小时、倾入 1 L 的 H₂O 并用 CHCl₃ (3x500 mL) 提取。在真空中除去溶剂而得到 45g (定量) 的 N-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-脱氧-α-D-吡喃葡萄糖苷, 其可不经进一步纯化使用:

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.06 (s, 6 H), 2.12 (s, 3 H), 2.22 (s, 3 H), 4.03 (m, 1 H), 4.07 (d, 1 H, *J* = 12.4 Hz), 4.22 (dt, 1 H, *J* = 9.9, 3.6 Hz), 4.30 (dd, 1 H, *J* = 12.4, 4.0 Hz), 4.64 (d, 1 H, *J* = 9.6 Hz), 5.28 (dt, 1 H, *J* = 10.2, 9.9 Hz), 6.25 (d, 1 H, *J* = 3.6 Hz).

(2) 将 (R)-2-氨基-3-苄氧基-1-丙醇 (5 g, 27.6 mmol) 溶于 CH₂Cl₂ (250 mL) 所得到的溶液用氯甲酸烯丙酯 (3.2 mL, 30 mmol) 和饱和 NaHCO₃ 水溶液 (250 mL) 处理 18 小时。分离有机层并在真空中浓缩。通过使用 30% EtOAc/己烷洗脱的层析法进行纯化而得到 6.9g (94%) 的 (R)-2-(烯丙氧基羰基氨基)-3-苄氧基-1-丙醇、为一种非晶固体:

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.56 (br s, 1 H), 3.69 (m, 3 H), 3.88 (m, 2 H), 4.54 (s, 2 H), 4.58 (d, 2 H, *J* = 5.6 Hz), 5.23 (dd, 1 H, *J* = 10.4, 1.1 Hz), 5.33 (dd, 1 H, *J* = 17.1, 1.1 Hz), 5.42 (m, 1 H), 5.93 (m, 1 H), 7.35 (m, 5 H).

(3) 在室温下将上述 (1) 和 (2) 中制备的化合物 (分别为 8.9 g、17 mmol 和 3.6 g、10 mmol) 溶于 CH₂Cl₂ 所得到的溶液用醚合三氟化硼 (4.3 mL, 34 mmol) 处理 16 小时。用饱和 NaHCO₃ 水溶液 (100 mL) 处理该反应混合物并用 EtOAc (3x100 mL) 提取。干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩合并的 EtOAc 提取物。使用 20 % EtOAc/己烷对获得的残余物进行层析而得到 6.03 g (83%) 的 3-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羰基氨基)丙基 2-脱氧-3, 4, 6-三-O-乙酰基-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.02 (s, 3 H), 2.03 (s, 3 H), 2.08 (s, 3 H), 3.45 (m, 1 H), 3.54 (m, 1 H), 3.64 (m, 1 H), 3.76 (d, 1 H, *J* = 7.2 Hz), 3.91 (m, 2 H), 4.12 (d, 1 H, *J* =

12.2 Hz), 4.26 (dd, 1 H, $J = 12.4, 4.7$ Hz), 4.37 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 4.43 (d, 1 H, $J = 12.1$ Hz), 4.55 (m, 2 H), 4.68 (m, 2 H), 4.87 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 5.07 (m, 2 H), 5.21 (d, 1 H, $J = 9.7$ Hz), 5.29 (d, 1 H, $J = 17.3$ Hz), 5.91 (m, 1 H), 7.36 (m, 5 H).

(4) 在室温下将上述(3)中制备的化合物(6.0 g, 8.3 mmol)溶于甲醇(83 mL)所得到的溶液用氢氧化铵(8.3 mL)处理2小时。在真空中除去溶剂并用2,2-二甲氧基丙烷(50 mL)置换且加入樟脑磺酸(100 mg)。将该反应体系搅拌18小时、用固体 NaHCO_3 (1g)中和、过滤并在真空中浓缩。通过使用50% EtOAc/己烷的层析进行纯化而得到4.58g(86%)的3-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羰基氨基)丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷:
 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.46 (s, 3 H), 1.53 (s, 3 H), 2.94 (m, 1 H), 3.25 (m, 1 H), 3.55 (m, 4 H), 3.83 (m, 3 H), 3.93 (m, 3 H), 4.52 (m, 5 H), 4.68 (d, 1 H, $J = 12.1$ Hz), 4.77 (d, 1 H, $J = 12.1$ Hz), 5.07 (m, 1 H), 5.26 (m, 2 H), 5.92 (m, 1 H), 7.37 (m, 5 H).

(5) 在有 EDC MeI (560 mg, 1.87 mmol) 和 4-吡咯烷酮基吡啶(50 mg) 存在的情况下用(R)-3-十二酰氧基十四酸(730 mg, 1.71 mmol)处理上述(4)中制备的化合物(1.0 g, 1.56 mmol)溶于 CH_2Cl_2 (20 mL)所得到的溶液。在室温下将该反应体系搅拌18小时并通过使用20% EtOAc/己烷作为洗脱剂的6 x 8 cm 硅胶塞过滤而得到1.33g (82%)的3-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羰基氨基)丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J = 6.8$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 38 H), 1.37 (s, 3 H), 1.46 (s, 3 H), 2.28 (t, 2 H, $J = 7.4$ Hz), 2.49 (dd, 1 H, $J = 15.1, 6.0$ Hz), 2.61 (dd, 1 H, $J = 15.1, 6.6$ Hz), 3.25 - 4.0 (m, 9 H), 4.38 (m, 2 H), 4.54 (m, 2 H), 4.65 (m, 2 H), 4.97 (m, 2 H), 5.25 (m, 5 H), 5.88 (m, 1 H), 7.34 (m, 5 H).

(6) 向上述(5)中制备的化合物(1.31g, 1.25 mmol)溶于THF (20 mL)所得到的溶液中加入丙二酸二甲酯(1.0 mL, 0.88 mmol)并在氩气流中将该溶液脱气30分钟。加入四(三苯膦)钯(0) (200 mg)并在室温下将该

反应体系搅拌 2 小时且然后在真空中浓缩。将所得的残余物进行硅胶层析, 使用 5-10% EtOAc/CHCl₃ 洗脱。在有 EEDQ (370 mg, 1.5 mmol) 的 CH₂Cl₂ (15 mL) 溶液存在的情况下用 (R)-3-十二酰氧基十四酸 (560 mg, 1.38 mmol) 使获得的游离胺酰化。在室温下搅拌 18 小时后, 在真空中除去溶剂并使所得的油状物进行硅胶层析, 使用 20 % EtOAc/己烷洗脱, 从而得到 1.02g (63%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (t, 12 H, J = 6.9 Hz), 1.1 - 1.7 (m, 78 H), 1.38 (s, 3 H), 1.46 (s, 3 H), 2.26 (m, 4 H), 2.49 (dd, 1 H, J = 15.1, 6.0 Hz), 2.61 (dd, 1 H, J = 15.1, 6.6 Hz), 3.25 - 4.0 (m, 9 H), 5.01 (m, 2 H), 6.02 (d, 1 H, J = 8.4 Hz), 7.34 (m, 5 H).

(7) 在 60℃ 下, 用 90 % AcOH 水溶液 (20 mL) 将上述 (6) 中制备的化合物 (1.0 g, 0.78 mmol) 处理 1 小时。将该溶液在真空中浓缩并通过与甲苯共沸 (10 mL) 而除去残余的 AcOH 和 H₂O。将残余物溶于 CH₂Cl₂、冷却至 0℃ 并用吡啶 (0.076 mL, 0.94 mmol) 和氯甲酸 2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙基酯 (205 mg, 0.86 mmol) 溶于 CH₂Cl₂ (5 mL) 所得到的溶液处理。然后将该反应混合物温热并在室温下搅拌 18 小时。将所得的淡黄色溶液用氯磷酸二苯酯 (0.24 mL, 1.17 mmol)、三乙胺 (0.22 mL, 1.56 mmol) 和催化剂 4-吡咯烷子基吡啶 (50 mg) 处理且然后在室温下再搅拌 24 小时。将该反应混合物用 Et₂O (100 mL) 稀释并用 10 % HCl 水溶液 (50 mL) 洗涤。分离有机层、用 Na₂SO₄ 干燥并在真空中浓缩。使用 10% EtOAc/己烷进行硅胶层析而得到 1.13 g (85 %) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.87 (t, 12 H, J = 6.9 Hz), 1.1 - 1.6 (m, 78 H), 1.78 (s, 3 H), 1.86 (s, 3 H), 2.01 (m, 1 H), 2.18 (m, 3 H), 2.40 (m, 2 H), 2.67 (m, 1 H), 2.88 (d, 1 H, J

= 6.6 Hz), 2.97 (d, 1 H, $J = 6.9$ Hz), 3.41 (m, 2 H), 3.72 (m, 1 H), 3.82 (m, 1 H), 4.24 (m, 1 H), 4.42 (d, 1 H, $J = 11.8$ Hz), 4.64 (m, 3 H), 5.16 (m, 1 H), 5.39 (m, 2 H), 5.75 (d, 1 H, $J = 4.3$ Hz), 6.05 (d, 1 H, $J = 8.4$ Hz), 7.23 (m, 15 H).

(8) 按照于实施例 2-(7) 相同的方式用锌 (2.1 g, 32 mmol) 使上述 (7) 中制备的化合物 (1.1 g, 0.65 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (230 mg, 0.94 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十二酰氧基十四酸 (330 mg, 0.78 mmol) 使之酰化而得到 399 mg (37%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-0-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]-3-0-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体。

(9) 按照于实施例 2-(8) 相同的方式在有氢氧化钡 (150 mg)/碳的 EtOH (10 mL) 溶液和氧化铂 (300 mg) 的 EtOH/AcOH (10:1) 溶液存在的情况下使上述 (8) 中制备的化合物 (399 mg, 0.24 mmol) 氢化而得到 65 mg (16%) 的 3-羟基-(S)-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-0-磷酰基-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]-3-0-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 181-184°C (分解): IR (膜)

3306, 2956, 2922, 2852, 1732, 1644, 1549, 1467, 1377, 1164, 1106, 1051, 721 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.7$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 123 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.1$ Hz), 3.3 - 4.0 (m, 13 H), 4.23 (m, 1 H), 4.44 (d, 1 H, $J = 7.7$ Hz), 5.0 - 5.3 (m, 4 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.9, 173.5, 173.3, 170.8, 170.5, 170.1, 101.0, 75.5, 73.0, 71.1, 70.9, 70.6, 67.9, 61.6, 60.7, 54.4, 50.4, 45.8, 41.6, 41.4, 39.6, 34.6, 31.9, 29.7, 29.4, 29.3, 25.4, 25.1, 22.7, 14.2, 8.6.

对 $\text{C}_{93}\text{H}_{180}\text{N}_3\text{O}_{18}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 66.59 ; H, 10.94 ; N, 2.50 ; P, 1.85。测定值: C, 66.79; H, 10.65; N, 2.36; P, 1.70。

实施例 5 (B4)

3-羟基-(S)-2-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-0-磷酰基-2-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]-3-0-[(R)-3-十一酰氧基十

四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I), $R_1=R_2=R_3=N-C_{10}H_{21}CO$, $X=Y=O$, $N=M=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=OH$, $P=1$, $R_8=PO_3H_2$)

(1)按照与实施例 4-(5)中所述相同的方式在有 EDC · MeI (560 mg, 1.87 mmol) 和 4-吡咯烷子基吡啶(50 mg) 的 CH_2Cl_2 (20 mL) 溶液存在的情况下用(R)-3-十一酰氧基十四酸(705 mg, 1.71 mmol) 酰化实施例 4-(4) 中制备的化合物(1.0g, 1.56 mmol) 而得到 1.23g(77%) 的 3-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羰基氨基)丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

1H NMR

($CDCl_3$) δ 0.88 (t, 6 H, = 6.9 Hz), 1.1 - 1.6 (m, 36 H), 1.37 (s, 3 H), 1.46 (s, 3 H), 2.28 (m, 2 H), 2.52 (dd, 1 H, $J=15.1, 6.0$ Hz), 2.61 (dd, 1 H, = 15.5, 6.8 Hz), 3.25 (m, 1 H), 3.35 - 4.0 (m, 9 H), 4.31 (m, 2 H), 4.54 (m, 2 H), 4.64 (m, 2 H), 5.02 (m, 2 H), 5.18 (m, 2 H), 5.25 (m, 1 H), 5.86 (m, 1 H), 7.34 (m, 5 H).

(2)按照于实施例 4- (6)中所述相同的方式, 在有丙二酸二甲酯(1.0 mL, 0.88 mmol) 和四(三苯膦)钯(0) (200 mg) 存在的情况下在 THF (20 mL) 中使上述(1)中制备的化合物(1.21g, 1.17 mmol) 脱保护且然后在有 EEDQ (370 mg, 1.5 mmol) 存在的情况下用(R)-3-十一酰氧基十四酸(540 mg, 1.30 mmol) 使之酰化而得到 921 mg(61%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.88 (t, 12 H, $J=$

6.6 Hz), 1.1 - 1.7 (m, 72 H), 1.38 (s, 3 H), 1.46 (s, 3 H), 2.26 (m, 3 H), 2.38 (m, 5 H), 2.49 (dd, 1 H, $J=15.2, 6.0$ Hz), 2.61 (dd, 1 H, $J=15.0, 6.5$ Hz), 3.25 - 4.0 (m, 9 H), 4.30 (m, 2 H), 4.59 (m, 3 H), 6.03 (d, 1 H, $J=8.2$ Hz), 7.34 (m, 5 H).

(3)按照与实施例 4- (7)中所述相同的方式, 在 90% AcOH 水溶液(20 mL) 中使上述(2)中制备的化合物(910g, 0.71 mmol) 脱保护且然后用吡啶(0.071 mL, 0.88 mmol) 和氯甲酸 2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙基酯

(195 mg, 0.80 mmol) 的 CH_2Cl_2 溶液处理, 随后用氯磷酸二苯酯 (0.23 mL, 1.10 mmol)、三乙胺 (0.20 mL, 1.46 mmol) 和催化剂 4-吡咯烷子基吡啶 (50 mg) 处理而得到 1.10g (89%) 的 3-苄氧基-(S)-2[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.87 (t, 12 H, $J = 6.7$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 72 H), 1.78 (s, 3 H), 1.86 (s, 3 H), 2.01 (m, 1 H), 2.18 (m, 3 H), 2.40 (m, 2 H), 2.67 (m, 1 H), 2.88 (d, 1 H, $J = 6.7$ Hz), 2.97 (d, 1 H, $J = 6.9$ Hz), 3.41 (m, 2 H), 3.72 (m, 1 H), 3.82 (m, 1 H), 4.24 (m, 1 H), 4.42 (d, 1 H, $J = 11.8$ Hz), 4.64 (m, 3 H), 5.16 (m, 1 H), 5.39 (m, 2 H), 5.75 (d, 1 H, $J = 4.6$ Hz), 6.05 (d, 1 H, $J = 8.4$ Hz), 7.22 (m, 15 H).

(4) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (2.0 g, 30 mmol) 使上述 (3) 中制备的化合物 (1.0 g, 0.59 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (210 mg, 0.85 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十一酰氧基十四酸 (292 mg, 0.71 mmol) 使之酰化而得到 388 mg (40%) 的 3-苄氧基-(S)-2[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体。

(5) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡 (150 mg)/碳的 EtOH (10 mL) 溶液和氧化铂 (300 mg) 的 EtOH/AcOH (10:1) 溶液存在的情况下, 使上述 (4) 中制备的化合物 (388 mg, 0.24 mmol) 氢化而得到 65 mg (17%) 的 3-羟基-(S)-2-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 183-184°C; IR (膜)

3306, 2956, 2922, 2852, 1732, 1644, 1550, 1467, 1377, 1164, 1106, 1052, 721 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.8$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 117 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.07 (q, 6 H, $J = 7.1$ Hz), 3.3 - 3.9 (m, 13 H), 4.23 (m, 1 H), 4.45 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 5.0 - 5.3 (m, 4 H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 173.8, 173.5, 173.3, 170.8, 170.5,

170.1, 101.0, 75.5, 73.1, 71.5, 71.3, 70.9, 70.6, 67.8, 61.6, 60.7, 54.4, 50.5, 45.8, 41.5, 41.4, 39.5, 34.6, 34.4, 32.0, 31.2, 29.8, 29.7, 29.4, 28.6, 26.1, 25.4, 25.1, 22.7, 14.1, 8.6.

对 $C_{90}H_{174}N_3O_{18}P \cdot H_2O$ 的计算分析值: C, 66.10; H, 10.85; N, 2.57; P, 1.89。测定值: C, 66.34; H, 10.69; N, 2.32; P, 1.99。

实施例 6 (B5)

3-羟基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I)), $R_1=R_2=R_3=N-C_9H_{19}CO$,
 $X=Y=O$, $N=M=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=OH$, $P=1$ $R_8=PO_3H_2$)

(1) 按照与实施例 4-(5) 中所述相同的方式, 在有 EDC MeI (1.12 g, 3.74 mmol) 和 4-吡咯烷子基吡啶 (100 mg) 的 CH_2Cl_2 (40 mL) 溶液存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (1.36 g, 3.42 mmol) 使实施例 4-(4) 中制备的化合物 (2.0 g, 3.12 mmol) 酰化而得到 2.49g (79%) 的 3-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羰基氨基)丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体: 1H NMR

($CDCl_3$) δ 0.88 (t, 6 H, $J=6.7$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 34 H), 1.36 (s, 3 H), 1.46 (s, 3 H), 2.27 (t, 2 H, $J=6.9$ Hz), 2.48 (dd, 1 H, $J=15.1, 6.0$ Hz), 2.60 (dd, 1 H, $J=15.1, 6.7$ Hz), 3.25 (m, 1 H), 3.35 - 4.0 (m, 9 H), 4.23 (m, 1 H), 4.42 (m, 1 H), 4.52 (m, 4 H), 4.95 (m, 2 H), 5.17 (m, 3 H), 5.88 (m, 1 H), 7.36 (m, 5 H).

(2) 按照与实施例 4-(6) 中所述相同的方式, 在有丙二酸二甲酯 (2.0 mL, 1.75 mmol) 和四(三苯膦)钨(0) (400 mg) 存在的情况下在 THF (40 mL) 中使上述 (1) 中制备的化合物 (2.47g, 2.42 mmol) 脱保护且然后在有 EEDQ (740 mg, 3 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (1.06g, 2.66 mmol) 使之酰化而得到 1.86g (60%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.87 (t, 12 H, $J = 6.7$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 68 H), 1.37 (s, 3 H), 1.46 (s, 3 H), 2.32 (m, 4 H), 2.50 (dd, 1 H, $J = 15.1, 6.0$ Hz), 2.62 (dd, 1 H, $J = 15.1, 6.8$ Hz), 3.29 (m, 2 H), 3.44 (m, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.74 (m, 3 H), 3.93 (m, 1 H), 4.18 (m, 1 H), 4.34 (m, 1 H), 4.57 (d, 1 H, $J = 11.8$ Hz), 4.65 (m, 2 H), 5.01 (m, 2 H), 6.04 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 7.36 (m, 5 H).

(3) 按照与实施例 4-(7) 中所述相同的方式在 90 % AcOH 水溶液 (40 mL) 中使上述 (2) 中制备的化合物 (900 mg, 0.72 mmol) 脱保护且然后用吡啶 (0.071 mL, 0.88 mmol) 和氯甲酸 2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙基酯 (195 mg, 0.80 mmol) 的 CH_2Cl_2 溶液处理, 随后用氯甲酸二苯酯 (0.23 mL, 1.10 mmol)、三乙胺 (0.20 mL, 1.46 mmol) 和催化剂 4-吡咯烷基吡啶 (50 mg) 处理而得到 1.05g (86%) 的 3-苄氧基-(S)-2[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.87 (t, 12 H, $J = 6.3$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 68 H), 1.78 (s, 3 H), 1.86 (s, 3 H), 2.01 (m, 1 H), 2.18 (m, 3 H), 2.40 (m, 2 H), 2.67 (m, 1 H), 2.88 (d, 1 H, $J = 6.5$ Hz), 2.97 (d, 1 H, $J = 6.9$ Hz), 3.41 (m, 2 H), 3.72 (m, 1 H), 3.82 (m, 1 H), 4.24 (m, 1 H), 4.42 (d, 1 H, $J = 11.8$ Hz), 4.64 (m, 3 H), 5.16 (m, 1 H), 5.39 (m, 2 H), 5.75 (d, 1 H, $J = 4.3$ Hz), 6.05 (d, 1 H, $J = 8.4$ Hz), 7.22 (m, 15 H).

(4) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (2.0 g, 30 mmol) 使上述 (3) 中制备的化合物 (1.0 g, 0.60 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (210 mg, 0.86 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (285 mg, 0.72 mmol) 使之酰化而得到 332 mg (34%) 的 3-苄氧基-(S)-2[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体。

(5) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡 (150 mg)/碳的 EtOH (10 mL) 溶液和氧化铂 (300 mg) 的 EtOH/AcOH (10:1) 溶液存在的情况下使上述 (4) 中制备的化合物 (332 mg, 0.20 mmol) 氢化而得

3 H), 2.01 (m, 1 H), 2.18 (m, 3 H), 2.40 (m, 2 H), 2.67 (m, 1 H), 2.89 (d, 1 H, $J = 6.5$ Hz), 2.97 (d, 1 H, $J = 6.9$ Hz), 3.41 (m, 2 H), 3.75 (m, 1 H), 3.82 (m, 1 H), 4.24 (m, 1 H), 4.42 (d, 1 H, $J = 11.8$ Hz), 4.65 (m, 3 H), 5.16 (m, 1 H), 5.39 (m, 2 H), 5.75 (d, 1 H, $J = 4.3$ Hz), 6.05 (d, 1 H, $J = 8.4$ Hz), 7.22 (m, 15 H).

(2) 按照与实施例 2- (7) 中所述相同的方式, 用锌 (722 mg, 11 mmol) 使上述 (1) 中制备的化合物 (620g, 0.44 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (170 mg, 0.58 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (190 mg, 0.48 mmol) 使之酰化而得到 254 mg (36%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-6-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体。

(3) 按照与实施例 2- (8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡 (150 mg)/碳的 EtOH (10 mL) 溶液和氧化铂 (300 mg) 的 EtOH/AcOH (10:1) 溶液存在的情况下使上述 (2) 中制备的化合物 (254 mg, 0.16 mmol) 氢化而得到 34 mg (13%) 的 3-羟基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-6-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 169-171 °C; IR (膜)

3306, 2922, 2853, 1732, 1644, 1548, 1467, 1377, 1316, 1165, 1106, 1053, 856, 722 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.7$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 111 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.05 (m, 6 H), 3.3 - 3.95 (m, 12 H), 4.11 (m, 1 H), 4.34 (m, 1 H), 4.89 (m, 1 H), 5.0 - 5.3 (m, 4 H). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.8, 173.4, 171.1, 170.5, 101.3, 75.3, 74.9, 71.2, 71.0, 70.6, 68.8, 67.3, 65.1, 61.4, 53.4, 50.7, 45.9, 41.5, 41.3, 39.6, 34.6, 32.0, 29.8, 29.6, 29.4, 25.3, 25.1, 22.7, 14.1, 8.7.

对 $\text{C}_{87}\text{H}_{168}\text{N}_3\text{O}_{18}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 65.58; H, 10.75; N, 2.64; P, 1.94. 测定值: C, 65.60; H, 10.34; N, 2.36; P, 2.01.

实施例 8 (B7)

3-羟基-(S)-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-磷酰

到 173 mg (55%) 的 3-羟基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-磷酸基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色粉末:mp 179-181°C; IR(膜)

3295, 2956, 2923, 2853, 1732, 1650, 1555, 1467, 1377, 1320, 1169, 1134, 1104, 1051, 979, 801, 721 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 111 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.07 (q, 6 H, $J = 6.5$ Hz), 3.3 - 4.3 (m, 14 H), 4.45 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 5.0 - 5.3 (m, 4 H), 7.39 (m, 1 H), 7.53 (d, 1 H, $J = 9.1$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.7, 173.4, 173.2, 170.7, 170.5, 170.1, 101.0, 75.4, 73.1, 71.6, 71.1, 70.8, 70.5, 67.8, 61.4, 60.8, 54.3, 50.4, 45.8, 41.3, 39.5, 34.5, 31.9, 29.8, 29.7, 29.4, 25.4, 25.1, 22.7, 14.1, 8.6.

对 $\text{C}_{87}\text{H}_{168}\text{N}_3\text{O}_{18}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 65.58; H, 10.75; N, 2.64; P, 1.94. 测定值: C, 65.49; H, 10.75; N, 2.64; P, 1.97.

实施例 7 (B6)

3-羟基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-6-O-磷酸基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_8=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{OH}$, $\text{P}=1$ $\text{R}_9=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1) 按照与实施例 4- (7) 中所述相同的方式, 在 90% AcOH 水溶液 (20 mL) 中使在实施例 6-(2) 中制备的化合物 (900 mg, 0.72 mmol) 脱保护。将残余物溶于 CH_2Cl_2 (20 mL)、冷却至 0°C 并用三乙胺 (0.14 mL, 1.0 mmol) 和氯磷酸二苯酯 (0.17 mL, 0.8 mmol) 处理。将该混合物再搅拌 6 小时且然后用 50 mL 的 10% HCl 处理。将产物用 EtOAc (3x50 mL) 提取并用 Na_2SO_4 干燥。使用 50% EtOAc/己烷进行硅胶层析而得到 636 mg (63%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-6-O-二苯基磷酸基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.87 (t, 12 H, $J = 6.0$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 68 H), 1.79 (s, 3 H), 1.86 (s,

基-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I)), $R_1=R_2=R_3=N-C_8H_{17}CO$,
 $X=Y=O$, $N=M=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=OH$, $P=1$ $R_8=PO_3H_2$)

(1)按照与实施例 4-(5)中所述相同的方式,在有 EDC·MeI (560 mg, 1.87 mmol) 和 4-吡咯烷子基吡啶(50 mg)的 CH_2Cl_2 (20 mL) 溶液存在的情况下用(R)-3-壬酰氧基十四酸(660 mg, 1.71 mmol)使实施例 4-(4)中制备的化合物(1.0g, 1.56 mmol)酰化而得到 1.31g(83%)的 3-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羧基氨基)丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羧基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体: 1H NMR

($CDCl_3$) δ 0.87 (t, 6 H, $J=6.8$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 32 H), 1.37 (s, 3 H), 1.46 (s, 3 H), 2.27 (t, 2 H, $J=7.4$ Hz), 2.50 (dd, 1 H, $J=15.1, 6.0$ Hz), 2.63 (dd, 1 H, $J=15.1, 6.8$ Hz), 3.26 (m, 1 H), 3.35 - 4.0 (m, 9 H), 4.32 (d, 1 H, $J=7.8$ Hz), 4.41 (d, 1 H, $J=12.0$ Hz), 4.51 (m, 4 H), 4.95 (m, 2 H), 5.18 (m, 2 H), 5.29 (d, 1 H, $J=17.2$ Hz), 5.88 (m, 1 H), 7.36 (m, 5 H).

(2)按照与实施例 4-(6)中所述相同的方式,在有丙二酸二甲酯(1.0 mL, 0.88 mmol)和四(三苯膦)钯(0) (200 mg)存在的情况下,在 THF (20 mL) 中使上述(1)中制备的化合物(1.29g, 1.28 mmol)脱保护且然后在有 EEDQ (370 mg, 1.5 mmol)存在的情况下用(R)-3-壬酰氧基十四酸(540 mg, 1.41 mmol)使之酰化而得到 1.02g(65%)的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羧基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.87 (t, 12 H, $J=6.1$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 64 H), 1.37 (s, 3 H), 1.46 (s, 3 H), 2.28 (m, 4 H), 2.50 (dd, 1 H, $J=15.5, 6.0$ Hz), 2.62 (dd, 1 H, $J=14.8, 6.3$ Hz), 3.27 (m, 2 H), 3.44 (m, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.74 (m, 3 H), 3.93 (m, 1 H), 4.18 (m, 1 H), 4.34 (m, 2 H), 4.57 (d, 1 H, $J=11.8$ Hz), 4.65 (m, 2 H), 4.97 (t, 1 H, $J=9.6$ Hz), 5.06 (d, 1 H, $J=8.6$ Hz), 5.15 (m, 2 H), 6.05 (d, 1 H, $J=8.2$ Hz), 7.35 (m, 5 H).

(3)按照与实施例 4-(7)中所述相同的方式, 在 90 % AcOH 水溶液 (20 mL) 中使上述 (2) 中制备的化合物 (1.0 g, 0.81 mmol) 脱保护、用吡啶 (0.080 mL, 0.98 mmol) 和氯甲酸 2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙基酯 (215 mg, 0.89 mmol) 的 CH_2Cl_2 溶液处理, 随后用氯磷酸二苯酯 (0.25 mL, 1.22 mmol)、三乙胺 (0.21 mL, 1.52 mmol) 和催化剂 4-吡咯烷基吡啶 (50 mg) 处理而得到 1.17g (87%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.87 (t, 12 H, $J = 6.1$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 64 H), 1.78 (s, 3 H), 1.86 (s, 3 H), 2.01 (m, 1 H), 2.18 (m, 3 H), 2.40 (m, 2 H), 2.67 (m, 1 H), 2.88 (d, 1 H, $J = 6.5$ Hz), 2.97 (d, 1 H, $J = 6.9$ Hz), 3.41 (m, 2 H), 3.72 (m, 1 H), 3.82 (m, 1 H), 4.24 (m, 1 H), 4.42 (d, 1 H, $J = 11.8$ Hz), 4.64 (m, 3 H), 5.16 (m, 1 H), 5.39 (m, 2 H), 5.75 (d, 1 H, $J = 4.3$ Hz), 6.05 (d, 1 H, $J = 8.4$ Hz), 7.22 (m, 15 H).

(4)按照与实施例 2-(7)中所述相同的方式用锌 (2.2 g, 33 mmol) 使上述 (3) 中制备的化合物 (1.1g, 0.66 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (235 mg, 0.95 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-壬酰氧基十四酸 (305 mg, 0.79 mmol) 使之酰化而得到 373 mg (35%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体。

(5)按照与实施例 2-(8)中所述相同的方式, 在有氢氧化钡 (150 mg)/碳的 EtOH (10 mL) 溶液和氧化铂 (300 mg) 的 EtOH/AcOH (10:1) 溶液存在的情况下使上述 (4) 中制备的化合物 (373 mg, 0.23 mmol) 氢化而得到 43 mg (12%) 的 3-羟基-(S)-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 176-179 $^{\circ}\text{C}$; IR (膜)

3298, 2956, 2923, 2853, 1733, 1646, 1551, 1467, 1337, 1316, 1254, 1166, 1106, 1053,

722 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.87 (t, 18 H, $J = 6.7$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 105 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.03 (q, 6 H, $J = 7.0$ Hz), 3.3 - 4.3 (m, 14 H), 4.43 (d, 1 H, $J = 7.1$ Hz), 5.0 - 5.3 (m, 4 H), 7.12 (d, 1 H, $J = 7.7$ Hz), 7.17 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.9, 173.5, 173.3, 170.8, 170.5, 170.1, 100.9, 75.5, 73.1, 71.4, 71.1, 70.9, 70.6, 67.8, 61.6, 60.7, 54.3, 50.5, 45.8, 41.6, 41.4, 39.5, 34.6, 34.4, 32.0, 31.9, 29.8, 29.4, 29.3, 25.4, 25.1, 22.7, 14.1, 8.6.

对 $\text{C}_{88}\text{H}_{164}\text{N}_3\text{O}_{18}\text{P}$ 的计算分析值: C, 65.81; H, 10.65; N, 2.74; P, 2.02.
测定值: C, 66.14; H, 10.46; N, 2.58; P, 1.84.

实施例 9 (B8)

3-羟基-(S)-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I)), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_6\text{H}_{13}\text{CO}$,
 $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{OH}$, $\text{P}=1$ $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1)按照与实施例 4- (5)中所述相同的方式,在有 EDC · MeI (560 mg, 1.87 mmol)和 4-吡咯烷子基吡啶(50 mg)的 CH_2Cl_2 (20 mL) 溶液存在的情况下用(R)-3-庚酰氧基十四酸(610 mg, 1.71 mmol)使实施例 4-(4)中制备的化合物(1.0g, 1.56 mmol)酰化而得到 1.24g (82%)的 3-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羰基氨基)丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

^1H NMR

(CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J = 6.0$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 28 H), 1.38 (s, 3 H), 1.47 (s, 3 H), 2.29 (t, 2 H, $J = 7.4$ Hz), 2.51 (dd, 1 H, $J = 15.1, 6.0$ Hz), 2.63 (dd, 1 H, $J = 15.1, 6.8$ Hz), 3.26 (m, 1 H), 3.35 - 4.0 (m, 9 H), 4.32 (d, 1 H, $J = 7.3$ Hz), 4.41 (d, 1 H, $J = 12.0$ Hz), 4.51 (m, 4 H), 4.95 (m, 2 H), 5.18 (m, 2 H), 5.29 (d, 1 H, $J = 17.3$ Hz), 5.88 (m, 1 H), 7.36 (m, 5 H).

(2)按照与实施例 4- (6)中所述相同的方式,在有丙二酸二甲酯(1.0 mL, 0.88 mmol)和四(三苯膦)钯(0) (200 mg)存在的情况下在

THF (20 mL) 中使上述 (1) 中制备的化合物 (1.22g, 1.25 mmol) 脱保护且然后在有 EEDQ (370 mg, 1.5 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-庚酰氧基十四酸 (490 mg, 1.38 mmol) 使之酰化而得到 925 mg (62%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.87 (t, 12 H, J = 6.7 Hz), 1.1 - 1.7 (m, 56 H), 1.37 (s, 3 H), 1.46 (s, 3 H), 2.32 (m, 4 H), 2.50 (dd, 1 H, J = 15.1, 6.0 Hz), 2.62 (dd, 1 H, J = 15.1, 6.8 Hz), 3.29 (m, 2 H), 3.44 (m, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.74 (m, 3 H), 3.93 (m, 1 H), 4.18 (m, 1 H), 4.34 (m, 1 H), 4.57 (d, 1 H, J = 11.8 Hz), 4.65 (m, 2 H), 5.01 (m, 2 H), 6.04 (d, 1 H, J = 8.3 Hz), 7.36 (m, 5 H).

(3) 按照与实施例 4- (7) 中所述相同的方式, 在 90 % AcOH 水溶液 (20 mL) 中使上述 (2) 中制备的化合物 (920 mg, 0.76 mmol) 脱保护且然后用吡啶 (0.075 mL, 0.92 mmol) 和氯甲酸 2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙基酯 (200 mg, 0.84 mmol) 的 CH_2Cl_2 溶液处理, 随后用氯磷酸二苯酯 (0.24 mL, 1.14 mmol)、三乙胺 (0.21 mL, 1.52 mmol) 和催化剂 4-吡咯烷子基吡啶 (50 mg) 处理而得到 1.03g (83 %) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.87 (t, 12 H, J = 6.3 Hz), 1.1 - 1.6 (m, 56 H), 1.78 (s, 3 H), 1.86 (s, 3 H), 2.01 (m, 1 H), 2.18 (m, 3 H), 2.40 (m, 2 H), 2.67 (m, 1 H), 2.88 (d, 1 H, J = 6.5 Hz), 2.97 (d, 1 H, J = 6.9 Hz), 3.41 (m, 2 H), 3.72 (m, 1 H), 3.82 (m, 1 H), 4.24 (m, 1 H), 4.42 (d, 1 H, J = 11.8 Hz), 4.64 (m, 3 H), 5.16 (m, 1 H), 5.39 (m, 2 H), 5.75 (d, 1 H, J = 4.3 Hz), 6.05 (d, 1 H, J = 8.4 Hz), 7.22 (m, 15 H).

(4) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (2.0g, 31 mmol) 使上述 (3) 中制备的化合物 (1.0 g, 0.61 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (220 mg, 0.88 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-庚酰氧基十四酸 (260 mg, 0.73 mmol) 使之酰化而得到 203 mg (21%) 的 3-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-庚酰氧基

十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体。

(5) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡(100 mg)/碳的 EtOH(10 mL)溶液和氧化铂 (200 mg) 的 EtOH/AcOH(10:1)溶液存在的情况下使上述(4)中制备的化合物(203 mg, 0.13 mmol)氢化而得到 39 mg (21 %) 的 3-羟基-(S)-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 171-172 °C; IR (膜)

3305, 2955, 2924, 2853, 1734, 1644, 1553, 1466, 1377, 1170, 1102, 1052, 722 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (m, 18 H), 1.1 - 1.7 (m, 93 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.1$ Hz), 3.3 - 4.0 (m, 13 H), 4.23 (q, 1 H, $J = 9.3$ Hz), 4.43 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 5.0 - 5.3 (m, 4 H), 7.30 (d, 1 H, $J = 8.5$ Hz), 7.43 (d, 1 H, $J = 8.5$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.8, 173.5, 173.2, 170.8, 170.5, 170.2, 101.0, 77.2, 75.5, 73.1, 71.6, 71.1, 70.9, 70.6, 67.8, 61.6, 60.8, 54.4, 50.5, 45.8, 41.6, 41.4, 39.5, 34.6, 34.4, 32.0, 31.6, 29.8, 29.6, 29.4, 28.9, 25.4, 25.1, 22.7, 22.6, 14.1, 8.6.

对 $\text{C}_{78}\text{H}_{150}\text{N}_3\text{O}_{18}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 63.86; H, 10.44; N, 2.86; P, 2.11。测定值: C, 63.47; H, 10.20; N, 2.59; P, 2.02。

实施例 10 (B9)

4-羟基-(S)-3-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]丁基 2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{P}=1$, $\text{M}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{OH}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1) 按照与实施例 4-(3) 中所述相同的方式, 在有醚合三氟化硼(3.0 mL, 23.6 mmol)存在的情况下使实施例 4-(1) 中制备的化合物(3.1 g, 5.9 mmol) 与 (R)-3-(烯丙氧基羧基氨基)-4-苄氧基-1-丁醇(1.1g, 3.94 mmol) 偶联而得到 1.96g (67%) 的 4-苄氧基-(S)-3-(烯丙氧

基羰基氨基)丁基-2-脱氧-3,4,6-三-O-乙酰基-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体。按照与实施例4-(4)中所述相同的方式,在甲醇(25 mL)中用氢氧化铵(5 mL)使上述制备的化合物(1.8 g, 2.43 mmol)脱去乙酰基且然后用2,2-二甲氧基丙烷(25 mL)和樟脑磺酸(100 mg)处理而得到1.34 g (84%) of 4-苄氧基-(S)-3-(烯丙氧基羰基氨基)-丁基-2-脱氧-4,6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷。

(2)按照与实施例4-(5)中所述相同的方式,在有EDC·MeI(550 mg, 1.85 mmol)和4-吡咯烷酮基吡啶(50 mg)的存在下于CH₂Cl₂(15 mL)中用(R)-3-癸酰氧基十四酸(670 mg, 1.68 mmol)使上述(1)中制备的化合物(1.0 g, 1.53 mmol)酰化而得到1.03 g (65%)的4-苄氧基-(S)-3-(烯丙氧基羰基氨基)丁基-2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

¹H NMR

(CDCl₃) δ 0.88 (t, 6 H, J = 6.9 Hz), 1.1 - 1.6 (m, 34 H), 1.37 (s, 3 H), 1.47 (s, 3 H), 1.85 (m, 2 H), 2.28 (t, 2 H, J = 7.6 Hz), 2.50 (dd, 1 H, J = 15.1, 6.0 Hz), 2.63 (dd, 1 H, J = 15.1, 6.7 Hz), 3.30 (m, 1 H), 3.49 (m, 4 H), 3.68 (t, 1 H, J = 9.4 Hz), 3.77 (t, 1 H, J = 10.4 Hz), 3.92 (m, 3 H), 4.54 (m, 5 H), 4.69 (m, 2 H), 5.1 - 5.4 (m, 4 H), 5.91 (m, 1 H), 7.33 (m, 5 H).

(3)按照与实施例4-(6)中所述相同的方式,在有丙二酸二甲酯(1.0 mL, 0.88 mmol)和四(三苯膦)钯(0)(200 mg)存在的情况下在THF(20 mL)中使上述(2)中制备的化合物(1.0 g, 0.97 mmol)脱保护且然后在有EEDQ(317 mg, 1.28 mmol)存在的情况下用(R)-3-癸酰氧基十四酸(425 mg, 1.07 mmol)使之酰化而得到660 mg (51%)的4-苄氧基-(S)-3-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基-2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (t, 12 H, J =

6.6 Hz), 1.1 - 1.7 (m, 68 H), 1.37 (s, 3 H), 1.47 (s, 3 H), 2.26 (q, 2 H, J = 7.1 Hz), 2.41

(m, 2 H), 2.62 (dd, 1 H, $J = 14.9, 6.4$ Hz), 3.29 (m, 1 H), 3.48 (m, 3 H), 3.71 (m, 2 H), 3.92 (m, 2 H), 4.18 (m, 1 H), 4.49 (m, 2 H), 4.68 (q, 2 H, $J = 11.5$ Hz), 5.15 (m, 2 H), 5.55 (d, 1 H, $J = 8.8$ Hz), 6.17 (d, 1 H, $J = 7.2$ Hz), 7.32 (m, 5 H).

(4) 按照与实施例 4-(7) 中所述相同的方式, 在 90% AcOH 水溶液 (20 mL) 中使上述 (3) 中制备的化合物 (640 mg, 0.48 mmol) 脱保护且然后用吡啶 (0.047 mL, 0.58 mmol) 和氯甲酸 2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙基酯 (127 mg, 0.53 mmol) 的 CH_2Cl_2 溶液处理, 随后用氯磷酸二苯酯 (0.15 mL, 0.72 mmol)、三乙胺 (0.13 mL, 0.96 mmol) 和催化剂 4-吡咯烷基吡啶 (50 mg) 处理而得到 389 mg (47%) 的 4-苄氧基-(S)-3-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J = 6.6$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 68 H), 1.79 (s, 3 H), 1.86 (s, 3 H), 2.22 (m, 4 H), 2.40 (m, 4 H), 3.49 (m, 4 H), 3.78 (m, 1 H), 3.93 (m, 1 H), 4.1 - 4.5 (m, 5 H), 4.9 - 4.6 (m, 4 H), 5.13 (m, 2 H), 5.51 (t, 1 H, $J = 8.9$ Hz), 5.84 (d, 1 H, $J = 6.9$ Hz), 6.09 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 7.26 (m, 15 H).

(5) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (752 mg, 11.5 mmol) 使上述 (4) 中制备的化合物 (375g, 0.23 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (70 mg, 0.28 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (101 mg, 0.25 mmol) 使之酰化而得到 270 mg (67%) 的 4-苄氧基-(S)-3-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体。

(6) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡 (150 mg)/碳于 EtOH (10 mL) 中和氧化铂 (300 mg) 于 EtOH/AcOH (10:1) 中的情况下使上述 (5) 中制备的化合物 (270 mg, 0.15 mmol) 氢化而得到 93 mg (39%) 的 4-羟基-(S)-3-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 179-181

℃ (分解); IR (膜)

3287, 2956, 2923, 2853, 1734, 1654, 1552, 1466, 1378, 1246, 1164, 1106, 1085, 1052, 721 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 111 H), 2.2 - 2.7 (m, 14 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 6.9$ Hz), 3.2 - 4.0 (m, 13 H), 4.21 (m, 1 H), 4.50 (d, 1 H, $J = 7.7$ Hz), 5.0 - 5.3 (m, 4 H), 7.11 (m, 2 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.8, 173.5, 173.3, 170.9, 170.5, 170.1, 101.1, 77.2, 75.5, 72.8, 71.3, 71.0, 70.6, 66.4, 64.0, 60.7, 54.8, 50.2, 45.8, 41.6, 39.5, 34.6, 34.5, 34.4, 32.0, 30.6, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 25.4, 25.1, 22.7, 14.2, 8.6.

对 $\text{C}_{88}\text{H}_{170}\text{N}_3\text{O}_{18}\text{P}$ 的计算分析值: C, 66.65; H, 10.78; N, 2.64; P, 1.95. 测定值: C, 66.65; H, 10.68; N, 2.50; P, 1.94.

实施例 11 (B10)

4-羟基-(S)-3-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]丁基 2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{OH}$, $p=2$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1) 按照与实施例 4-(3) 中所述相同的方式, 在有醚合三氟化硼(4.9 mL, 38.0 mmol) 存在的情况下使实施例 4-(1) 中制备的化合物(5.1 g, 9.7 mmol) 与 (R)-3-(烯丙氧基羰基氨基)-4-苄氧基-1-丁醇(1.8 g, 6.45 mmol) 偶联而得到 2.92g(61%) 的 4-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羰基氨基)丙基 2-脱氧-3, 4, 6-三-O-乙酰基-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体。按照与实施例 4-(4) 中所述相同的方式(100 mg) 在甲醇(35 mL) 中用氢氧化铵(7 mL) 使上述制备的化合物(2.6g, 3.51 mmol) 脱去乙酰基且然后用 2, 2-二甲氧基丙烷(35 mL) 和樟脑磺酸(100 mg) 处理而得到 1.9g(72%) 的 4-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羰基氨基)丁基 2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷。

(2) 按照与实施例 4-(5) 中所述相同的方式, 在有 EDC · MeI (550 mg, 1.85 mmol) 和 4-吡咯烷酮基吡啶(50 mg) 的存在下于 CH_2Cl_2 (15 mL)

中用(R)-3-癸酰氧基十四酸(670 mg, 1.68 mmol)使上述(1)中制备的化合物(1.0g, 1.53 mmol)酰化而得到 1.28g(81%)的 4-苄氧基-(S)-2-(烯丙氧基羰基氨基)丁基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体：

$^1\text{H NMR}$

(CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 34 H), 1.37 (s, 3 H), 1.47 (s, 3 H), 1.82 (m, 2 H), 2.28 (t, 2 H, $J = 7.7$ Hz), 2.50 (dd, 1 H, $J = 15.3, 6.0$ Hz), 2.63 (dd, 1 H, $J = 15.2, 6.7$ Hz), 3.16 (m, 1 H), 3.56 (m, 3 H), 3.65 (t, 1 H, $J = 9.6$ Hz), 3.75 (t, 1 H, $J = 10.4$ Hz), 3.88 (m, 4 H), 4.32 (d, 1 H, $J = 8.5$ Hz), 4.46 (s, 2 H), 4.54 (m, 2 H), 4.67 (m, 2 H), 4.90 (m, 1 H), 5.26 (m, 3 H), 5.89 (m, 1 H), 7.33 (m, 5 H).

(3) 按照与实施例 4-(6)中所述相同的方式, 在有丙二酸二甲酯(1.0 mL, 0.88 mmol)和四(三苯膦)钯(0)(200 mg)存在的情况下在 THF(20 mL)中使上述(2)中制备的化合物(1.25g, 1.21 mmol)脱保护且然后在有 EEDQ(362 mg, 1.46 mmol)在的情况下用(R)-3-癸酰氧基十四酸(530 mg, 1.33 mmol)使之酰化而得到 1.16g(72%)的 4-苄氧基-(S)-3-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J =$

6.4 Hz), 1.1 - 1.7 (m, 68 H), 1.37 (s, 3 H), 1.45 (s, 3 H), 2.26 (q, 2 H, $J = 7.4$ Hz), 2.34 (m, 1 H), 2.50 (dd, 1 H, $J = 15.1, 6.0$ Hz), 2.62 (dd, 1 H, $J = 15.4, 6.3$ Hz), 3.12 (m, 1 H), 3.5 - 3.95 (m, 7 H), 4.14 (m, 1 H), 4.29 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 4.67 (m, 2 H), 4.86 (t, 1 H, $J = 9.6$ Hz), 5.15 (m, 2 H), 6.16 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 7.35 (m, 5 H).

(4) 按照与实施例 4-(7)中所述相同的方式, 在 90 % AcOH 水溶液(20 mL)中使上述(3)中制备的化合物(1.1g, 0.83 mmol)脱保护且然后用吡啶(0.080 mL, 1.0 mmol)和氯甲酸 2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙基酯(220 mg, 0.91 mmol)的 CH_2Cl_2 溶液处理, 随后用氯磷酸二苯酯(0.15 mL, 0.72 mmol)、三乙胺(0.26 mL, 1.25 mmol)和催化剂 4-吡咯烷子基

吡啶(50 mg)处理而得到 802 mg (56%) 的 4-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.87 (t, 12 H, $J = 6.8$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 68 H), 1.79 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.23 (m, 4 H), 2.37 (m, 4 H), 3.57 (m, 4 H), 3.83 (m, 1 H), 4.29 (m, 3 H), 4.44 (m, 2 H), 4.69 (m, 4 H), 5.14 (m, 4 H), 5.62 (d, 1 H, $J = 7.6$ Hz), 6.15 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 7.25 (m, 15 H).

(5) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌(1.42g, 21.7 mmol) 使上述(4)中制备的化合物(750 mg, 0.43 mmol) 脱保护并在有 EEDQ(130 mg, 0.53 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸(190 mg, 0.48 mmol) 使之酰化而得到 483 mg (64%) 的 4-苄氧基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色非晶固体。

(6) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡(150 mg)/碳的 EtOH (10 mL) 溶液和氧化铂(300 mg) 的 EtOH/AcOH(10:1) 溶液存在的情况下使上述(5)中制备的化合物(483 mg, 0.27 mmol) 氢化而得到 238 mg (55%) 的 4-羟基-(S)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 181-183 $^{\circ}\text{C}$ (分解); IR(膜)

3294, 2956, 2923, 2853, 1732, 1650, 1556, 1466, 1377, 1320, 1246, 1172, 1108, 1082, 1058, 859, 721 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 111 H), 2.2 - 2.7 (m, 14 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.1$ Hz), 3.2 - 4.0 (m, 13 H), 4.21 (m, 1 H), 4.46 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 5.0 - 5.3 (m, 4 H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 173.9, 173.4, 173.2, 171.2, 170.7, 101.0, 77.2, 75.4, 73.1, 71.4, 71.3, 71.1, 70.9, 70.6, 60.7, 58.4, 54.7, 46.3, 45.9, 41.6, 41.1, 39.7, 34.8, 34.6, 34.4, 31.9, 29.8, 29.6, 29.5, 29.3, 25.4, 25.3, 25.1, 22.7, 14.1, 8.6.

对 $C_{88}H_{170}N_3O_{18}P$ 的计算分析值：C, 66.51；H, 10.78；N, 2.64；P, 1.95。测定值：C, 66.81；H, 10.68；N, 2.53；P, 1.79。

实施例 12 (B 11)

N-(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-

十四酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸

三乙铵盐的制备(化合物(I), $R_1=R_2=R_3=N-C_{13}H_{27}CO$, $X=Y=O$,

$N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CO_2H$, $R_8=PO_3H_2$).

(1) 按照与实施例 2-(5) 中所述相同的方式, 在有 EDC·MeI (0.353g, 1.19 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十四酰氧基十四酸 (0.541g, 1.19 mmol) 使 L-丝氨酸苄酯 (0.212 g, 1.08 mmol) 酰化而得到 0.642g (94%) 的 N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-L-丝氨酸苄酯、为一种蜡状的固体:

mp 56-61°C; 1H

NMR ($CDCl_3$) δ 0.88 (t, 6 H, $J \sim 7$ Hz), 1.1-1.7 (m, 42 H), 2.29 (t, 2 H, $J=7.5$ Hz), 2.50 (m, 2 H), 3.87 (br t, 1 H), 3.95 (m, 2 H), 4.65 (m, 1 H), 5.1-5.25 (m, 3 H), 6.69 (d, 1 H, $J=7$ Hz), 7.34 (br s, 5 H).

(2) 按照与实施例 2-(6) 中所述相同的方式, 在有氯化汞 (0.3g, 1.2 mmol) 存在的情况下使上述 (1) 中制备的化合物 (0.19g, 0.30 mmol) 与实施例 2-(4) 中制备的化合物 (0.635g, 0.478 mmol) 偶联而得到 0.425g (77%) 的 N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯、为一种非晶固体。

(3) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (0.72g, 11 mmol) 使上述 (2) 中制备的化合物 (0.405g, 0.22 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (0.082g, 0.33 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十四酰氧基十四酸 (0.12g, 0.26 mmol) 使之酰化而得到 0.277g (66%) 的 N-[(R)-3-十四酰氧

基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯、为一种非晶固体： $^1\text{H NMR (CDCl}_3\text{)} \delta$ 0.88

(t, 18 H, $J = \sim 6.5$ Hz) 1.0-1.75 (m, 126 H), 2.15-2.45 (m, 10 H), 2.53 (dd, 1 H, $J = 14.7$, 6.0 Hz), 2.67 (dd, 1 H, $J = 14$, 6.0 Hz), 3.25 (br t, 1 H, $J = 7$ Hz), 3.35-3.75 (m, 4 H), 3.88 (dd, 1 H, $J = 11.1$ Hz), 4.23 dd, 1 H, $J = 11.1$, 3 Hz), 4.6-4.75 (m, 2 H), 5.03 (d, 1 H, $J = 8.1$ Hz), 5.05-5.25 (m, 4 H), 5.48 (t, 1 H, $J = \sim 10$ Hz), 6.40 (d, 1 H, $J = 7.5$ Hz), 7.01 (d, 1 H, $J = 8.1$ Hz), 7.1-7.4 (m, 15 H).

(4) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有 5% 钨/碳 (50 mg) 和氧化铂 (120 mg) 存在的情况下使上述 (3) 中制备的化合物 (0.253g, 0.133 mmol) 氢化而得到 0.155g (62%) 的 N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐、为一种无色固体: mp 180°C (分解); IR (膜)

3322, 2956, 2924, 2852, 1736, 1732, 1681, 1673, 1667, 1660, 1651, 1467, 1456, 1247, 1174, 1110, 1081 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR (CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD)} \delta$ 0.88 (t, 18 H, $J = \sim 7$ Hz), 1.0-1.7 (m, 135 H), 2.2-2.75 (m, 12 H), 3.05 (q, 6 H, $J = 7$ Hz), 3.30 (br s, 13 H), 3.7-3.9 (m, 3 H), 3.96 (d, 1 H, $J = 12$ Hz), 4.05-4.3 (m, 2 H), 4.34 (m, 1 H), 4.53 (d, 1 H, $J = 7.8$ Hz), 5.05-5.3 (m, 4 H), 7.25-7.35 (m, 2 H); $^{13}\text{C NMR (CDCl}_3\text{)} \delta$ 173.4, 173.2, 171.0, 170.3, 170.2, 169.9, 169.8, 100.8, 75.1, 73.4, 71.1, 70.7, 70.4, 70.3, 60.2, 54.3, 45.6, 41.2, 41.1, 39.2, 34.6, 34.4, 34.2, 32.0, 29.8, 29.5, 25.4, 25.2, 22.7, 14.2, 8.6.

对 $\text{C}_{99}\text{H}_{190}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P} \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 64.35; H, 10.91; N, 2.27; P, 1.68。测定值: C, 64.16; H, 10.92; N, 2.37; P, 1.91.

实施例 13 (B12)

N-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸

三乙铵盐的制备(化合物(I), $R_1=R_2=R_3=N-C_{11}H_{23}CO$, $X=Y=O$, $N=M=P=Q=O$,
 $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CO_2H$, $R_8=PO_3H_2$).

(1)按照与实施例 2-5)中所述相同的方式,在有 EDC·MeI (745 mg, 2.5 mmol) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用(R)-3-十二酰氧基十四酸(935 mg, 2.2 mmol)使 L-丝氨酸苄酯(390 mg, 2.0 mmol)酰化而得到 1.08g (90%) 的 N-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-L-丝氨酸苄酯:

mp 53-54 °C. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.88 (t, 6 H, $J=6.5$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 46 H), 2.30 (t, 2 H, $J=7.7$ Hz), 2.50 (d, 2 H, 5.6 Hz), 2.62 (t, 1 H, $J=6.2$ Hz), 3.97 (m, 2 H), 4.65 (m, 1 H), 5.19 (m, 3 H), 6.63 (d, 1 H, $J=6.8$ Hz), 7.35 (br s, 5 H).

(2)按照与实施例 2- (2)中所述相同的方式,在有 EDC·MeI (720 mg, 2.4 mmol)和 4-吡咯烷子基吡啶(100 mg) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用(R)-3-十二酰氧基十四酸(946 mg, 2.22 mmol)使实施例 2-(1)中制备的化合物(1.0g, 2.02 mmol)酰化且然后在 AcOH 水溶液(25 mL)中脱保护而得到 1.30g (81%) 的 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

1H NMR

($CDCl_3$) δ 0.00 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.25 (m, 28 H), 1.59 (m, 4 H), 2.30 (t, 2 H, $J=7.5$ Hz), 2.52 (m, 2 H), 3.42 (m, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.66 (m, 1 H), 3.83 (dd, 1 H, $J=11.8, 4.6$ Hz), 3.94 (m, 2 H), 4.57 (d, 1 H, $J=8.2$ Hz), 4.71 (m, 2 H), 5.07 (m, 2 H), 5.27 (d, 1 H, $J=8.8$ Hz).

(3)按照与实施例 2-(3)中所述相同的方式,用氯甲酸 2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙基酯(398 mg, 1.66 mmol)和吡啶(0.15 mL, 1.83 mmol)于 CH_2Cl_2 (25 mL)中处理上述(2)中制备的化合物(1.30g, 1.51 mmol),随后用三乙胺(0.42 mL, 3.02 mmol)、氯磷酸二苄酯(0.47 mL, 2.27 mmol)和 4-吡咯烷子基吡啶(100 mg)处理而得到 1.39g (71%) 的 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4-O-二苄基磷酰基-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

¹H

NMR (CDCl₃) δ 0.0 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.1 - 1.7 (m, 46 H), 1.77 (s, 3 H), 1.85 (s, 3 H), 2.23 (m, 6 H), 3.34 (m, 1 H), 3.59 (m, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 3.96 (m, 1 H), 4.32 (m, 2 H), 4.63 (m, 2 H), 4.83 (d, 1 H, *J* = 11.9 Hz), 5.02 (d, 1 H, *J* = 8.2 Hz), 5.20 (m, 1 H), 5.65 (m, 2 H), 7.29 (m, 10 H).

(4) 在 0℃ 下, 用 TFA (5 mL) 处理上述 (3) 中制备的化合物 (1.30 g, 1.0 mmol) 的 CH₂Cl₂ (15 mL) 溶液且然后将该体系温至室温 18 小时。在真空中除去溶剂并通过与甲苯共沸而除去剩余的 TFA。在 0℃ 下, 用由 DMF (0.39 mL, 5.0 mmol) 和草酰氯 (0.22 mL, 2.5 mmol) 于 CH₂Cl₂ (20 mL) 中制备的 Vilsmeier 试剂处理内半缩醛 (lactol)。将该反应体系缓慢温至室温下过夜并使之在 50 mL 饱和 NaHCO₃ 水溶液和乙醚 (50 mL) 之间分配。分离各层并用 Na₂SO₄ 干燥有机相且在真空中浓缩。通过使用 10% EtOAc/己烷的硅胶快速色谱法进行纯化而得到 1.09 g (90%) 的 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-α-D-吡喃葡萄糖基氯化物、为一种白色泡沫体:

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (t, 6 H, *J* = 6.8 Hz), 1.2 - 1.70 (m, 46 H), 1.78 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.18 (t, 2 H, *J* = 7.7 Hz), 2.43 (m, 2 H), 4.30 (m, 4 H), 4.72 (m, 3 H), 5.09 (m, 1 H), 5.50 (t, 1 H, *J* = 9.5 Hz), 5.79 (d, 1 H, *J* = 8.0 Hz), 6.27 (d, 1 H, *J* = 3.6 Hz), 7.19 (m, 10 H).

(5) 向 (1) 和 (4) 中制备的化合物 (分别为 540 mg、0.90 mmol 和 1.0 g、0.82 mmol) 溶于 1, 2-二氯乙烷 (20 mL) 所得到的溶液中加入粉状 4Å 分子筛 (300 mg) 并将该混悬液搅拌 30 分钟。一次加入 AgOTf (1.16 g, 4.5 mmol), 30 分钟后将淤浆通过硅胶过滤并用 30% EtOAc/己烷洗脱而得到 1.10g (75%) 的 N-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基)-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯:

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (t, 12 H, *J* = 6.5 Hz), 1.1 - 1.65 (m, 92 H), 1.77 (s, 3 H), 1.85 (s, 3 H), 2.1 - 2.5 (m, 8 H), 3.67 (m, 2 H), 4.30

(m, 3 H), 4.72 (m, 5 H), 5.18 (m, 4 H), 5.46 (m, 1 H), 6.07 (m, 1 H), 6.62 (d, 1 H, $J = 7.9$ Hz), 7.05 - 7.45 (m, 15 H).

(6) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌(1.83 g, 28 mmol)使上述(5)中制备的化合物(1.0g, 0.56 mmol)脱保护并在有 EEDQ(185 mg, 0.74 mmol)存在的情况下用(R)-3-十二酰氧基十四酸(285 mg, 0.67 mmol)使之酰化而得到 420 mg (44%) 的 N-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯、为一种非晶固体。

(7) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡/碳于 EtOH(10 mL)中和氧化铂(400 mg)于 EtOH /AcOH (10:1)中的情况下使上述(6)中制备的化合物(420mg, 0.24mmol)氢化而得到 240 mg (60%) 的 N-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 181-182°C; IR(膜)

3289, 2956, 2920, 2851, 1731, 1656, 1557, 1467, 1378, 1182, 1108, 1080, 1052, 852, 721 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.7$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 123 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.2$ Hz), 3.35 (m, 1 H), 3.70 (m, 6 H), 3.88 (m, 2 H), 4.20 (m, 1 H), 4.56 (d, 1 H, $J = 8.1$ Hz), 4.59 (br s, 1 H), 5.16 (m, 4 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 176.9, 173.3, 173.2, 172.7, 169.6, 169.1, 101.5, 74.8, 71.2, 70.9, 69.2, 60.5, 53.1, 51.4, 46.1, 41.5, 41.0, 39.2, 34.3, 34.2, 34.0, 32.0, 29.8, 29.7, 29.4, 29.2, 25.6, 25.3, 25.2, 25.1, 22.7, 14.1, 8.7.

对 $\text{C}_{93}\text{H}_{178}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 66.04; H, 10.73; N, 2.48; P, 1.83. 测定值: C, 66.04; H, 10.73; N, 2.48; P, 1.86.

实施例 14 (B 13)

N-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-

膦酰基-2-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]-3-0-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物(I), $R_1=R_2=R_3=N-C_{10}H_{21}CO$, $X=Y=O$, $N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CO_2H$, $R_8=PO_3H_2$)

(1)按照与实施例2-(5)中所述相同的方式,在有EDC-MeI(745 mg, 2.5 mmol)存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用(R)-3-十一酰氧基十四酸(905 mg, 2.2 mmol)使L-丝氨酸苄酯(390 mg, 2.0 mmol)酰化而得到1.08 g(92%)的N-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-L-丝氨酸苄酯:

mp 53-54 °C; 1H NMR($CDCl_3$) δ 0.88 (t, 6 H, $J=6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 44 H), 2.30 (t, 2 H, $J=7.7$ Hz), 2.49 (d, 2 H, $J=5.8$ Hz), 3.99 (m, 2 H), 4.65 (m, 1 H), 5.19 (m, 3 H), 6.58 (d, 1 H, $J=6.9$ Hz), 7.35 (br s, 5 H).

(2)按照与实施例2-(2)中所述相同的方式,在有EDC-MeI(720 mg, 2.4 mmol)和4-吡咯烷子基吡啶(100 mg)存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用(R)-3-十一酰氧基十四酸(915 mg, 2.22 mmol)使实施例2-(1)中制备的化合物(1.0g, 2.02 mmol)酰化而得到1.41g(82%)的2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-3-0-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

1H NMR
($CDCl_3$) δ 0.00 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.25 (m, 32 H), 1.60 (m, 4 H), 2.31 (t, 2 H, $J=7.5$ Hz), 2.52 (m, 2 H), 3.42 (m, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.66 (m, 1 H), 3.83 (dd, 1 H, $J=11.8, 4.6$ Hz), 3.94 (m, 2 H), 4.57 (d, 1 H, $J=8.2$ Hz), 4.71 (m, 2 H), 5.07 (m, 2 H), 5.27 (d, 1 H, $J=8.7$ Hz).

(3)按照与实施例2-(3)中所述相同的方式,用2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙基氯甲酸酯(403 mg, 1.68 mmol)和吡啶(0.15 mL, 1.85 mmol)在 CH_2Cl_2 (25 mL)中处理上述(2)中制备的化合物(1.30, 1.53 mmol),随后用三乙胺(0.43 mL, 3.06 mmol)、氯磷酸二苄酯(0.48 mL, 2.30 mmol)和4-吡咯烷子基吡啶(100 mg)处理而得到1.37 g(70%)的2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4-0-二苄基膦酰基-3-0-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-6-0-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2(2,2,2-三氯乙

氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体：¹H

NMR (CDCl₃) δ 0.0 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.1 - 1.7 (m, 44 H), 1.80 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.23 (m, 6 H), 3.58 (m, 3 H), 4.32 (m, 1 H), 4.71 (m, 2 H), 4.83 (d, 1 H, J = 12.1 Hz), 5.01 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 5.20 (m, 1 H), 5.62 (m, 2 H), 7.25 (m, 10 H).

(4) 按照与实施例 13-(4) 中所述相同的方式, 用 TFA (5 mL) 使上述 (4) 中制备的化合物 (1.28 g, 1.0 mmol) 脱保护且然后用由 DMF (0.39 mL, 5.0 mmol) 和草酰氯 (0.22 mL, 2.5 mmol) 于 CH₂Cl₂ (20 mL) 中制备的 Vilsmeier 试剂处理而得到 1.12g (93%) 的 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基氯化物、为一种白色泡沫体:

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (t, 6 H, J = 6.7 Hz), 1.1 - 1.55 (m, 44 H), 1.78 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.18 (m, 2 H), 2.43 (m, 2 H), 4.34 (m, 4 H), 4.72 (m, 3 H), 5.09 (m, 1 H), 5.50 (t, 1 H, J = 9.6 Hz), 5.80 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 6.26 (d, 1 H, J = 3.4 Hz), 7.26 (m, 10 H).

(5) 按照与实施例 13-(5) 中所述相同的方式, 在有 AgOTf (1.16g, 4.5 mmol) 存在的情况下使 (1) 和 (4) 中制备的化合物 (分别为 530 mg, 0.90 mmol 和 1.0 g, 0.83 mmol) 偶联而得到 1.11g (76%) 的 N-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基)- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯:

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (m, 12 H), 1.0 - 1.65 (m, 88 H), 1.77 (s, 3 H), 1.85 (s, 3 H), 2.1 - 2.5 (m, 8 H), 3.37 (m, 1 H), 3.64 (m, 1 H), 3.85 (m, 1 H), 4.30 (m, 3 H), 4.78 (m, 5 H), 5.18 (m, 4 H), 5.46 (m, 1 H), 6.07 (m, 1 H), 6.62 (d, 1 H, J = 7.7 Hz), 7.05 - 7.45 (m, 15 H).

(6) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (2.0g, 30.5 mmol) 使上述 (5) 中制备的化合物 (1.0g, 0.57 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (185

mg, 0.75 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十一酰氧基十四酸 (280 mg, 0.68 mmol) 使之酰化而得到 470 mg (50%) 的 N-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯、为一种非晶固体。

(7) 按照与实施例 2- (8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡/碳于 EtOH (10 mL) 中和氧化铂 (400 mg) 于 EtOH/AcOH (10:1) 中的情况下使上述 (6) 中制备的化合物 (470 mg, 0.27 mmol) 氢化而得到 130 mg (30%) 的 N-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十一酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 181-183°C; IR (膜)

3294, 2923, 2853, 1734, 1655, 1466, 1377, 1163, 1080, 721 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.8$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 117 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.1$ Hz), 3.4 - 3.2 (m, 5 H), 3.6 - 3.9 (m, 4 H), 4.20 (d, 1 H, 9.8 Hz), 4.54 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 4.62 (br. s, 1 H), 5.17 (m, 4 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.5, 173.3, 172.8, 172.2, 169.6, 169.1, 101.5, 77.2, 74.8, 70.9, 69.2, 60.5, 58.5, 53.1, 51.5, 46.1, 41.5, 41.1, 39.2, 34.6, 34.4, 34.1, 32.0, 29.8, 29.7, 29.4, 29.2, 25.6, 25.2, 25.1, 22.7, 18.5, 14.2, 8.7.

对 $\text{C}_{90}\text{H}_{172}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P}$ 的计算分析值: C, 66.26; H, 10.63; N, 2.58; P, 1.90。测定值: C, 66.56; H, 10.57; N, 2.47; P, 1.91。

实施例 15 (B 14)

N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-D-丝氨酸三乙铵盐的制备 (化合物 (I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CO}_2\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1) 按照与实施例 2- (5) 中所述相同的方式, 在有 EDC-MeI (745 mg, 2.5 mmol) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (875 mg,

2.2 mmol)使D-丝氨酸苄酯(390 mg, 2.2 mmol)酰化而得到1.05g (91%)的N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-D-丝氨酸苄酯:

mp

51-52 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (m, 6 H), 1.1 - 1.7 (m, 34 H), 2.30 (t, 2 H, $J = 7.7$ Hz), 2.50 (m, 2 H), 3.68 (s, 1 H), 3.93 (d, 2 H, $J = 3.1$ Hz), 4.62 (m, 1 H), 5.22 (m, 3 H), 6.63 (d, 1 H, $J = 6.9$ Hz), 7.35 (br s, 5 H).

(2)按照与实施例2-(2)中所述相同的方式,在有EDC-MeI(720 mg, 2.4 mmol)和4-吡咯烷子基吡啶(100 mg)存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用(R)-3-癸酰氧基十四酸(884mg, 2.22 mmol)使实施例2-(1)中制备的化合物(1.0 g, 2.02 mmol)酰化且然后在AcOH水溶液(25mL)中脱保护而得到1.30 g(77%)的2-(三甲基甲硅烷基)乙基2-脱氧-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.00 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.25 (m, 30 H), 1.59 (m, 4 H), 2.30 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.52 (m, 2 H), 3.42 (m, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.66 (m, 1 H), 3.83 (dd, 1 H, $J = 11.8, 4.6$ Hz), 3.94 (m, 2 H), 4.57 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 4.71 (m, 2 H), 5.07 (m, 2 H), 5.27 (d, 1 H, $J = 8.8$ Hz).

(3)按照与实施例2-(3)中所述相同的方式,用氯甲酸2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙基酯(396mg, 1.65 mmol)和吡啶(0.15 mL, 1.81mmol)于 CH_2Cl_2 (25 mL)中处理上述(2)中制备的化合物(1.25, 1.50 mmol),随后用三乙胺(0.42mL, 3.00 mmol)、氯磷酸二苯酯(0.47 mL, 2.25 mmol)和4-吡咯烷子基吡啶(100 mg)处理而得到1.31g(69%)的2-(三甲基甲硅烷基)乙基2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.0 (s, 9 H), 0.89 (m, 8 H), 1.1 - 1.7 (m, 34 H), 1.82 (s, 3 H), 1.90 (s, 3 H), 2.30 (m, 4 H), 3.40 (q, 1 H, $J = 9.6$ Hz), 3.65 (m, 1 H), 3.89 (m, 1 H), 4.32 (m, 2 H), 4.63 (m, 2 H), 4.82 (d, 1 H, $J = 12.1$ Hz), 5.01 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 5.63 (m, 2 H), 7.29 (m, 10 H).

(4)按照与实施例 13-(4)中所述相同的方式, 用 TFA(5 mL)使上述(4)中制备的化合物(1.27 g, 1.0 mmol)脱保护且然后用由 DMF (0.39 mL, 5.0 mmol)和草酰氯(0.22 mL, 2.5 mmol)的制备的 Vilsmeier 试剂处理而得到 1.06 g (89 %)的 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基氯化物、为一种白色泡沫体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J=6.6$ Hz), 1.1 - 1.55 (m, 34 H), 1.78 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.18 (t, 2 H, $J=7.7$ Hz), 2.43 (m, 2 H), 4.32 (m, 4 H), 4.71 (m, 3 H), 4.83 (m, 3 H), 5.09 (m, 1 H), 5.50 (t, 1 H, $J=9.5$ Hz), 5.77 (d, 1 H, $J=8.0$ Hz), 6.26 (d, 1 H, $J=3.4$ Hz), 7.20 (m, 10 H).

(5)按照与实施例 13-(5)中所述相同的方式, 在有 AgOTf (1.16 g, 4.5 mmol)存在的情况下使(1)和(4)中制备的化合物(分别为 520 mg, 0.90 mmol 和 1.0 g, 0.84 mmol)偶联而得到 1.13g (78%)的 N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基)- β -D-吡喃葡萄糖基]-D-丝氨酸苄酯:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J=6.6$ Hz), 1.1 - 1.65 (m, 68 H), 1.82 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.2 - 2.6 (m, 8 H), 3.40 (m, 1 H), 3.64 (m, 1 H), 4.01 (m, 2 H), 4.27 (m, 2 H), 4.44 (d, 1 H, $J=7.1$ Hz), 4.60 (m, 2 H), 4.77 (m, 2 H), 5.19 (m, 6 H), 6.61 (d, 1 H, $J=8.3$ Hz), 7.05 - 7.45 (m, 15 H).

(6)按照与实施例 2-(7)中所述相同的方式, 用锌(1.9 g, 29mmol)使上述(5)中制备的化合物(1.0 g, 0.58 mmol)脱保护并在有 EEDQ (190 mg, 0.77 mmol)存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸(280 mg, 0.70mmol)使之酰化而得到 420 mg (44%)的 N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-D-丝氨酸苄

52-53 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.87 (t, 6 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 34 H), 2.29 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.49 (d, 2 H, $J = 5.8$ Hz), 3.67 (s, 1 H), 3.97 (m, 2 H), 4.63 (m, 1 H), 5.19 (m, 3 H), 6.61 (d, 1 H, $J = 7.1$ Hz), 7.35 (br s, 5 H).

(2) 按照与实施例 13-(5) 中所述相同的方式, 在有 AgOTf (1.16 g, 4.5 mmol) 存在的情况下使上述 (1) 中制备的化合物 (500 mg, 0.87 mmol) 和实施例 15-(4) 中制备的化合物 (1.08 g, 0.90 mmol) 偶联而得到 1.35 g (89%) 的 N -[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- O -[2-脱氧-4- O -二苯基磷酰基-3- O -[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6- O -(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基)- β -D-吡喃葡萄糖基]- L -丝氨酸苄酯:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J = 6.6$ Hz), 1.0 - 1.65 (m, 68 H), 1.77 (s, 3 H), 1.85 (s, 3 H), 2.1 - 2.5 (m, 8 H), 3.38 (q, 1 H, $J = 9.1$ Hz), 3.65 (m, 1 H), 3.84 (m, 1 H), 4.27 (m, 3 H), 4.70 (m, 5 H), 4.84 (m, 4 H), 5.14 (m, 3 H), 5.46 (t, 1 H, $J = 9.7$ Hz), 6.07 (m, 1 H), 6.62 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 7.05 - 7.45 (m, 15 H).

(3) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (1.13 g, 17.2 mmol) 使上述 (2) 中制备的化合物 (600 mg, 0.34 mmol) 脱保护并在有 EEDQ (124 mg, 0.50 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (150 mg, 0.38 mmol) 使之酰化而得到 362 mg (60%) 的 N -[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- O -[2-脱氧-4- O -二苯基磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3- O -[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]- L -丝氨酸苄酯、为一种非晶固体。

(4) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有钨/碳 (100 mg) 和氧化铂 (200 mg) 于 $\text{EtOH} / \text{AcOH}$ (10 : 1) 中的情况下使上述 (3) 中制备的化合物 (300 mg, 0.17 mmol) 氢化而得到 120 mg (44 %) 的 N -[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- O -[2-脱氧-4- O -磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3- O -[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]- D -丝氨酸三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 175-176 °C; IR (膜)

酯、为一种非晶固体。

(7)按照与实施例 2-(8)中所述相同的方式,在有氢氧化钡/碳于 EtOH (10 mL)中和氧化铂(400 mg)于 EtOH /AcOH (10:1)中的情况下使上述(6)中制备的化合物(420 mg, 0.25 mmol)氢化而得到 118mg (30%)的 N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-D-丝氨酸三乙铵盐、为一种白色粉末:mp 179-181℃;IR(膜)

3283, 3100, 2921, 2852, 1732, 1660, 1651, 1564, 1556, 1464, 1417, 1378, 1322, 1181, 1061, 856, 722 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃ - CD₃OD) δ 0.88 (t, 18 H, J = 6.8 Hz), 1.1 - 1.7 (m, 111 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.06 (m, 6 H), 3.33 (m, 5 H), 3.78 (m, 2 H), 3.95 (m, 2 H), 4.22 (m, 1 H), 4.45 (d, 1 H, J = 7.5 Hz), 4.68 (br. s, 1 H), 5.13 (m, 3 H), 5.26 (m, 1 H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 173.7, 173.5, 173.1, 171.1, 169.9, 100.3, 75.1, 73.9, 71.9, 71.1, 70.9, 70.2, 60.9, 53.9, 52.7, 46.0, 41.3, 40.8, 39.4, 34.6, 34.4, 31.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.4, 25.6, 25.4, 25.2, 25.1, 22.7, 14.1, 8.6.

对 C₈₇H₁₆₆N₃O₁₉P 的计算分析值: C, 65.75 ; H, 10.53 ; N, 2.64 ; P, 1.95。测定值: C, 65.32 ; H, 10.28 ; N, 2.53 ; P, 1.89。

实施例 16(B 15)

N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物 (I), R₁=R₂=R₃=N-C₉H₁₉CO, X=Y=O, N=M=P=Q=O, R₄=R₅=R₇=R₉=H, R₆=CO₂H, R₈=PO₃H₂)

(1)按照与实施例 2-(5)中所述相同的方式,在有 EDC · MeI (357 mg, 1.2 mmol) 存在的情况下于 CH₂Cl₂ 中用 (R)-3-癸酰氧基十四酸(478 mg, 1.2 mmol)使 L-丝氨酸苄酯(250 mg, 1.08 mmol)酰化而得到 0.52g (84%) 的 N-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-L-丝氨酸苄酯: mp

3304, 2956, 2923, 2853, 1733, 1654, 1541, 1466, 1377, 1164, 1107, 1080, 845, 721 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (t, 18 H, $J=6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 111 H), 2.2 - 2.75 (m, 12 H), 3.07 (q, 6 H, $J=7.2$ Hz), 3.37 (m, 1 H), 3.5 - 3.95 (m, 8 H), 4.21 (q, 1 H, 11.0 Hz), 4.54 (d, 1 H, $J=8.9$ Hz), 4.61 (br s, 1 H), 5.17 (m, 4 H), 7.10 (d, 1 H, $J=9.0$ Hz), 7.43 (d, 1 H, $J=7.9$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 176.3, 173.4, 173.2, 172.8, 172.0, 169.6, 169.2, 101.4, 74.7, 70.9, 69.3, 60.4, 53.2, 51.6, 46.1, 41.4, 41.0, 39.1, 34.5, 34.3, 34.2, 34.1, 31.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 25.5, 25.1, 25.0, 22.7, 14.1, 8.6.

对 $\text{C}_{87}\text{H}_{166}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值 : C, 65.01 ; H, 10.54 ; N, 2.61 ; P, 1.93. 测定值: C, 64.92 ; H, 10.38 ; N, 2.58 ; P, 2.06.

实施例 17 (B 16)

N-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O

磷酰基-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_8\text{H}_{17}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CO}_2\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1)按照与实施例 2-(5)中所述相同的方式,在有 EDC · MeI (845 mg, 2.5 mmol) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用 (R)-3-壬酰氧基十四酸 (780 mg, 2.2 mmol) 使 L-丝氨酸苄酯 (390 mg, 2.0 mmol) 酰化而得到 1.0g (89%) 的 N-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-L-丝氨酸苄酯: mp

52-53 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J=6.6$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 32 H), 2.30 (t, 2 H, $J=7.7$ Hz), 2.51 (d, 2 H, $J=5.8$ Hz), 2.62 (t, 1 H, $J=6.0$ Hz), 3.98 (m, 2 H), 4.65 (m, 1 H), 5.19 (m, 3 H), 6.58 (d, 1 H, $J=6.8$ Hz), 7.35 (br s, 5 H).

(2)按照与实施例 2-(2)中所述相同的方式,在有 EDC · MeI (720 mg, 2.4 mmol) 和 4-吡咯烷子基吡啶 (100 mg) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用 (R)-3-壬酰氧基十四酸 (852mg, 2.22 mmol) 使实施例 2-(1)中制备的化合物 (1.0 g, 2.02 mmol) 酰化且然后在 AcOH 水溶液 (25mL) 中脱保护而得到 1.31g (79%) 的 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一

种非晶固体：

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.00 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.25 (m, 28 H), 1.59 (m, 4 H), 2.30 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.52 (m, 2 H), 3.42 (m, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.66 (m, 1 H), 3.83 (dd, 1 H, $J = 11.8, 4.6$ Hz), 3.94 (m, 2 H), 4.57 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 4.71 (m, 2 H), 5.07 (m, 2 H), 5.27 (d, 1 H, $J = 8.8$ Hz).

(3) 按照与实施例 2-(3) 中所述相同的方式，用氯甲酸 2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙基酯 (400mg, 1.67 mmol) 和吡啶 (0.15 mL, 1.84mmol) 于 CH_2Cl_2 (25 mL) 中处理上述 (2) 中制备的化合物 (1.25, 1.52 mmol)，随后用三乙胺 (0.42mL, 3.04 mmol)、氯磷酸二苯酯 (0.47 mL, 2.28 mmol) 和 4-吡咯烷基吡啶 (100 mg) 处理而得到 1.30 g (67%) 的 2-(三甲基甲硅烷基) 乙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体：

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.0 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.1 - 1.7 (m, 32 H), 1.82 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.22 (m, 6 H), 3.33 (m, 1 H), 3.53 (m, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 3.96 (m, 1 H), 4.31 (m, 2 H), 4.55 (m, 2 H), 4.83 (d, 1 H, $J = 12.0$ Hz), 5.01 (d, 1 H, $J = 7.9$ Hz), 5.62 (m, 1 H), 7.28 (m, 10 H).

(4) 按照与实施例 13-(4) 中所述相同的方式，用 TFA (5 mL) 使上述 (4) 中制备的化合物 (1.267 g, 1.0 mmol) 脱保护且然后用由 DMF (0.39 mL, 5.0 mmol) 和草酰氯 (0.22 mL, 2.5 mmol) 制备的 Vilsmeier 试剂处理而得到 1.07g (91%) 的 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基氯化物、为一种白色泡沫体：

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J = 6.9$ Hz), 1.25 - 1.55 (m, 32 H), 1.78 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.18 (t, 2 H, $J = 7.7$ Hz), 2.43 (m, 2 H), 4.34 (m, 4 H), 4.70 (m, 3 H), 4.83 (m, 3 H), 5.09 (m, 1 H), 5.51 (t, 1 H, $J = 10.2$ Hz), 5.78 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 6.25 (d, 1 H, $J = 3.6$ Hz), 7.19 (m, 10 H).

(5)按照与实施例 13-(5)中所述相同的方式,在有 AgOTf (1.16 g, 4.5 mmol)存在的情况下使上述(1)和(4)中制备的化合物(分别为 505 mg、0.90 mmol 和 1.0 g、0.85 mmol)偶联而得到 1.03g (71%)的 N-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基)-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯:

¹H NMR

(CDCl₃) δ 0.88 (t, 12 H, J = 6.9 Hz), 1.0 - 1.65 (m, 64 H), 1.78 (s, 3 H), 1.82 (s, 3 H), 2.1 - 2.5 (m, 8 H), 3.38 (m, 1 H), 3.64 (m, 1 H), 3.83 (m, 1 H), 4.25 (m, 3 H), 4.73 (m, 5 H), 5.18 (m, 5 H), 6.07 (m, 1 H), 6.60 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 7.05 - 7.45 (m, 15 H).

(6)按照与实施例 2-(7)中所述相同的方式,用锌(1.93 g, 29.5mmol)使上述(5)中制备的化合物(1.0 g, 0.59 mmol)脱保护并在有 EEDQ (195 mg, 0.78 mmol)存在的情况下用(R)-3-壬酰氧基十四酸(273 mg, 0.71mmol)使之酰化而得到 405 mg (42 %)的 N-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯、为一种非晶固体。

(7)按照与实施例 2-(8)中所述相同的方式,在有氢氧化钡/碳于 EtOH (10 mL)中和氧化铂(400 mg)于 EtOH /AcOH (10:1)中的情况下使上述(6)中制备的化合物(405 mg, 0.25 mmol)氢化而得到 185mg (48%)的 N-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-壬酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐、为一种白色粉末:mp 177-179℃;IR (膜)

3306, 2955, 2923, 2853, 1732, 1660, 1538, 1467, 1378, 1252, 1165, 1106, 1080, 960, 844, 722 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃ - CD₃OD) δ 0.88 (t, 18 H, J = 6.8 Hz), 1.1 - 1.7 (m, 105 H), 2.2 - 2.75 (m, 12 H), 3.07 (q, 6 H, J = 7.1 Hz), 3.2 - 3.5 (m, 5 H), 3.85 (m, 4 H), 4.23 (d, 1 H, 10.2 Hz), 4.51 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 4.64 (br. s, 1 H), 5.18 (m, 4 H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 173.3, 172.8, 172.2, 169.6, 169.1, 101.5, 74.8, 70.9, 70.8, 69.3, 60.5, 53.2, 51.5, 46.1, 41.5, 41.0, 39.2, 34.5, 34.3, 34.1, 32.0, 31.9, 29.8, 29.6, 29.4, 29.3, 25.6, 25.2, 25.1, 22.7, 14.1, 8.7.

对 $C_{84}H_{160}N_3O_{19}P$ 的计算分析值: C, 65.21 ; H, 10.42 ; N, 2.72 ; P, 2.00。测定值: C, 65.48 ; H, 10.32 ; N, 2.62 ; P, 2.12。

实施例 18(B 17)

N-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O

磷酰基-2-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3
壬酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物 (I), $R_1=R_2=R_3=N-C_7H_{15}CO$, $X=Y=O$, $N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CO_2H$,
 $R_8=PO_3H_2$)

(1)按照与实施例 2- (5)中所述相同的方式, 在有 EDC · MeI (745 mg, 2.5 mmol) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用 (R)-3-辛酰氧基十四酸(815 mg, 2.2 mmol)使 L-丝氨酸苄酯(390 mg, 2.0 mmol) 酰化而得到 1.02g (93%) 的 N-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-L-丝氨酸苄酯: mp

50-51 °C; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.88 (t, 6 H, $J = 6.8$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 30 H), 2.30 (t, 2 H, $J = 7.7$ Hz), 2.51 (d, 2 H, $J = 5.8$ Hz), 2.60 (t, 1 H, $J = 6.0$ Hz), 3.97 (m, 2 H), 4.65 (m, 1 H), 5.22 (m, 3 H), 6.61 (d, 1 H, $J = 6.9$ Hz), 7.35 (br s, 5 H).

(2)按照与实施例 2- (2)中所述相同的方式, 在有 EDC · MeI (720 mg, 2.4 mmol) 和 4-吡咯烷子基吡啶(100 mg) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用 (R)-3-辛酰氧基十四酸(821mg, 2.22 mmol)使实施例 2-(1)中制备的化合物(1.0 g, 2.02 mmol) 酰化且然后在 90% AcOH 水溶液(25mL) 中脱保护而得到 1.35g (83%) 的 2-(三甲基甲硅烷基) 乙基 2-脱氧-3-O-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.00 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.25 (m, 26 H), 1.60 (m, 4 H), 2.30 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.53 (m, 2 H), 3.42 (m, 1 H), 3.53 (m, 1 H), 3.66 (m, 1 H), 3.83 (dd, 1 H, $J = 11.8, 4.4$ Hz), 3.94 (m, 2 H), 4.56 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 4.64 (d, 1 H, $J = 11.8$ Hz), 4.77 (d, 1 H, $J = 11.8$ Hz), 5.08 (m, 2 H), 5.30 (br. s, 1 H).

(3)按照与实施例 2-(3)中所述相同的方式, 用氯甲酸 2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙基酯(425mg, 1.77mmol)和吡啶(0.16 mL, 1.95mmol)于 CH_2Cl_2 (25 mL)中处理上述(2)中制备的化合物(1.30, 1.61mmol), 随后用三乙胺(0.45mL, 3.22mmol)、氯磷酸二苯酯(0.50mL, 2.42 mmol)和 4-吡咯烷子基吡啶(100 mg)处理而得到 1.42g (71%)的 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体: $^1\text{H NMR}$

(CDCl_3) δ 0.0 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.1 - 1.7 (m, 30 H), 1.82 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.23 (m, 6 H), 3.37 (m, 1 H), 3.65 (m, 1 H), 3.83 (m, 1 H), 3.96 (m, 1 H), 4.55 (m, 2 H), 4.83 (d, 1 H, $J = 11.8$ Hz), 5.01 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 5.20 (m, 1 H), 7.29 (m, 10 H).

(4)按照与实施例 13-(4)中所述相同的方式, 用 TFA (5 mL)使上述(3)中制备的化合物(1.24 g, 1.0 mmol)脱保护且然后用由 DMF (0.39 mL, 5.0 mmol)和草酰氯(0.22 mL, 2.5 mmol)制备的 Vilsmeier 试剂处理而得到 1.0g (87%)的 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基氯化物、为一种白色泡沫体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J = 6.7$ Hz), 1.25 - 1.55 (m, 30 H), 1.78 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.18 (t, 2 H, $J = 7.7$ Hz), 2.43 (m, 2 H), 4.29 (m, 4 H), 4.72 (m, 3 H), 5.09 (m, 1 H), 5.51 (t, 1 H, $J = 9.9$ Hz), 5.79 (d, 1 H, $J = 7.9$ Hz), 6.25 (d, 1 H, $J = 3.5$ Hz), 7.29 (m, 10 H).

(5)按照与实施例 13-(5)中所述相同的方式, 在有 AgOTf (1.16 g, 4.5 mmol)存在的情况下使上述(1)和(4)中制备的化合物(分别为 490mg、0.90 mmol 和 1.0 g、0.86 mmol)偶联而得到 0.99g (69%)的 N-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基)- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯:

实施例 19(B 18)

N-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物(I), $R_1=R_2=R_3=N-C_6H_{13}CO$, $X=Y=O$, $N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CO_2H$, $R_8=PO_3H_2$)

(1)按照与实施例 2-(5)中所述相同的方式,在有 EDC·MeI (745 mg, 2.5 mmol) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用 (R)-3-庚酰氧基十四酸(780 mg, 2.2 mmol)使 L-丝氨酸苄酯(390 mg, 2.0 mmol) 酰化而得到 0.97g (91%) 的 N-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-L-丝氨酸苄酯:

mp

46-48 °C; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.88 (t, 6 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 28 H), 2.30 (t, 2 H, $J = 7.7$ Hz), 2.50 (d, 2 H, $J = 5.8$ Hz), 2.62 (t, 1 H, $J = 6.0$ Hz), 3.97 (m, 2 H), 4.65 (m, 1 H), 5.19 (m, 3 H), 6.61 (d, 1 H, $J = 6.9$ Hz), 7.35 (br s, 5 H).

(2)按照与实施例 2-(2)中所述相同的方式,在有 EDC·MeI (720 mg, 2.4 mmol) 和 4-吡咯烷子基吡啶(100 mg) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用 (R)-3-庚酰氧基十四酸(790mg, 2.22 mmol)使实施例 2-(1)中制备的化合物(1.0 g, 2.02 mmol) 酰化且然后在 90% AcOH 水溶液(25mL) 中脱保护而得到 1.30g (81%) 的 2-(三甲基甲硅烷基) 乙基 2-脱氧-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.00 (s, 9 H), 0.88 (m, 8

H), 1.25 (m, 24 H), 1.59 (m, 4 H), 2.30 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.52 (m, 2 H), 3.42 (m, 1 H), 3.55 (m, 1 H), 3.66 (m, 1 H), 3.83 (dd, 1 H, $J = 11.5, 4.2$ Hz), 3.94 (m, 2 H), 4.57 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 4.64 (d, 1 H, $J = 12.1$ Hz), 4.76 (d, 1 H, $J = 11.9$ Hz), 5.09 (m, 2 H), 5.31 (d, 1 H, $J = 8.7$ Hz).

(3)按照与实施例 2-(3)中所述相同的方式, 用氯甲酸 2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙基酯(417mg, 1.74mmol) 和吡啶(0.15 mL, 1.91mmol) 在

¹H NMR

(CDCl₃) δ 0.88 (t, 12 H, *J* = 6.9 Hz), 1.0 - 1.65 (m, 60 H), 1.77 (s, 3 H), 1.85 (s, 3 H), 2.1 - 2.5 (m, 8 H), 3.37 (m, 1 H), 3.65 (m, 1 H), 3.83 (m, 1 H), 4.27 (m, 3 H), 4.72 (m, 5 H), 5.18 (m, 4 H), 5.46 (t, 1 H, *J* = 9.8 Hz), 6.06 (m, 1 H), 6.60 (d, 1 H, *J* = 8.0 Hz), 7.05 - 7.45 (m, 15 H).

(6) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌(1.86g, 28.5mmol)使上述(5)中制备的化合物(0.95 g, 0.57 mmol)脱保护并在有 EEDQ (185 mg, 0.75 mmol)存在的情况下用(R)-3-辛酰氧基十四酸(252 mg, 0.68mmol)使之酰化而得到 433mg (47%)的 N-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯、为一种非晶固体。

(7) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡/碳(250mg)于 EtOH(10 mL)中和氧化铂(400 mg)于 EtOH /AcOH(10:1)中的情况下使上述(6)中制备的化合物(433 mg, 0.27 mmol)氢化而得到 196mg (48%)的 N-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-辛酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 177-178℃; IR(膜)

3296, 2956, 2923, 2853, 1732, 1645, 1546, 1466, 1378, 1315, 1170, 1082, 1056, 961, 846, 722 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃ - CD₃OD) δ 0.88 (t, 18 H, *J* = 6.6 Hz), 1.1 - 1.7 (m, 99 H), 2.2 - 2.75 (m, 12 H), 3.08 (q, 6 H, *J* = 7.1 Hz), 3.39 (d, 1 H, *J* = 8.8 Hz), 3.6 - 4.0 (m, 8 H), 4.22 (q, 1 H, 10.3 Hz), 4.53 (d, 1 H, *J* = 8.2 Hz), 4.63 (m, 1 H), 5.18 (m, 4 H), 7.04 (d, 1 H, *J* = 8.8 Hz), 7.42 (d, 1 H, *J* = 8.0 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 176.8, 173.3, 173.2, 172.7, 172.2, 169.6, 169.1, 101.5, 74.8, 70.9, 70.8, 69.3, 60.5, 53.2, 51.5, 46.2, 41.5, 41.1, 39.2, 34.5, 34.3, 34.1, 34.0, 32.0, 31.8, 29.8, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 25.6, 25.3, 25.2, 25.0, 22.7, 14.1, 8.7.

对 C₈₁H₁₅₄N₃O₁₉P · H₂O 的计算分析值: C, 63.87; H, 10.32; N, 2.76; P, 2.03。测定值: C, 63.96; H, 10.29; N, 2.69; P, 1.67。

CH₂Cl₂ (25 mL) 中处理上述 (2) 中制备的化合物 (1.25, 1.58 mmol), 随后用三乙胺 (0.44 mL, 3.16 mmol)、氯磷酸二苯酯 (0.49 mL, 2.37 mmol) 和 4-吡咯烷子基吡啶 (100 mg) 处理而得到 1.34 g (69%) 的 2-(三甲基甲硅烷基) 乙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体：¹H

NMR (CDCl₃) δ 0.0 (s, 9 H), 0.88 (m, 8 H), 1.1 - 1.7 (m, 28 H), 1.82 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.35 (m, 4 H), 3.37 (m, 1 H), 3.61 (m, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 4.32 (m, 2 H), 4.63 (m, 2 H), 4.83 (d, 1 H, *J* = 12.0 Hz), 5.01 (d, 1 H, *J* = 8.2 Hz), 5.62 (m, 2 H), 7.29 (m, 10 H).

(4) 按照与实施例 13-(4) 中所述相同的方式, 用 TFA (5 mL) 使上述 (3) 中制备的化合物 (1.23 g, 1.0 mmol) 脱保护且然后用由 DMF (0.39 mL, 5.0 mmol) 和草酰氯 (0.22 mL, 2.5 mmol) 制备的 Vilsmeier 试剂处理而得到 1.0 g (87%) 的 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-α-D-吡喃葡萄糖基氯化物、为一种白色泡沫体:

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (t, 6 H, *J* = 6.9 Hz), 1.25 - 1.55 (m, 28 H), 1.78 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.18 (t, 2 H, *J* = 7.6 Hz), 2.43 (m, 2 H), 4.26 (m, 4 H), 4.73 (m, 3 H), 5.09 (m, 1 H), 5.51 (t, 1 H, *J* = 10.2 Hz), 5.77 (d, 1 H, *J* = 8.0 Hz), 6.25 (d, 1 H, *J* = 3.3 Hz), 7.19 (m, 10 H).

(5) 按照与实施例 13-(5) 中所述相同的方式, 在有 AgOTf (1.16 g, 4.5 mmol) 存在的情况下使上述 (1) 和 (4) 中制备的化合物 (分别为 480 mg、0.90 mmol 和 0.98 g、0.86 mmol) 偶联而得到 1.06 g (75%) 的 N-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基)-β-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯:¹H

NMR (CDCl₃) δ 0.88 (m, 12 H), 1.0 - 1.65 (m, 56 H), 1.77 (s, 3 H), 1.85 (s, 3 H), 2.1 - 2.5 (m, 8 H), 3.38 (m, 1 H), 3.64 (m, 1 H), 3.83 (m, 1 H), 4.25 (m, 3 H), 4.78 (m, 5 H),

5.16 (m, 4 H), 5.46 (t, 1 H, $J = 9.9$ Hz), 6.06 (m, 1 H), 6.60 (d, 1 H, $J = 7.7$ Hz), 7.05 - 7.45 (m, 15 H).

(6) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌(2.0g, 30.5mmol)使上述(5)中制备的化合物(1.0 g, 0.61 mmol)脱保护并在有 EEDQ (200mg, 0.80mmol) 存在的情况下用(R)-3-庚酰氧基十四酸(260 mg, 0.73mmol)使之酰化而得到 440mg (45%) 的 N-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯、为一种非晶固体。

(7) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡/碳(250mg)于 EtOH (10 mL) 中和氧化铂(400 mg)于 EtOH/AcOH(10:1) 中的情况下使上述(6)中制备的化合物(440mg, 0.28 mmol)氢化而得到 208mg (51%) 的 N-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-庚酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐、为一种白色粉末: mp 176-177°C; IR (膜)

3307, 2956, 2924, 2854, 1732, 1650, 1545, 1466, 1378, 1316, 1170, 1080, 956, 841, 722 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (m, 18 H), 1.1 - 1.7 (m, 93 H), 2.2 - 2.75 (m, 12 H), 3.08 (q, 6 H, $J = 7.2$ Hz), 3.40 (d, 1 H, $J = 10.2$ Hz), 3.6 - 4.0 (m, 7 H), 4.24 (m, 2 H), 4.52 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 4.63 (m, 1 H), 5.19 (m, 4 H), 7.04 (d, 1 H, $J = 8.6$ Hz), 7.40 (d, 1 H, $J = 8.4$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 177.1, 173.2, 173.1, 172.7, 172.3, 169.5, 168.9, 101.5, 75.0 74.8, 71.2, 70.9, 69.1, 60.5, 53.1, 51.4, 46.1, 41.5, 41.0, 39.2, 34.5, 34.3, 34.1, 34.0, 31.9, 31.6, 31.5, 29.8, 29.6, 29.4, 29.0, 28.9, 28.8, 25.6, 25.3, 25.1, 25.0, 22.7, 22.6, 14.1, 8.7.

对 $\text{C}_{78}\text{H}_{148}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P}$ 的计算分析值: C, 64.04 ; H, 10.20 ; N, 2.87 ; P, 2.12。测定值: C, 63.77 ; H, 10.11 ; N, 2.85 ; P, 2.02。

实施例 20 (B19)

2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]乙基 2-脱氧-4-O-膦酰基
-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3
十四酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物
(I), $R_1=R_2=R_3=N-C_{13}H_{27}CO$, $X=Y=O$, $N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_6=R_7=R_9=H$, $R_8=PO_3H_2$)

(1) 将 2-氨基-1-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙烷(330 mg, 1.1 mmol) 和 (R)-3-十四酰氧基十四酸(500 mg, 1.1 mmol) 溶于 CH_2Cl_2 (10 mL) 并用粉状 4 Å 分子筛(500 mg) 处理。1 小时后加入 EEDQ (297 mg, 1.2 mmol) 并将该反应体系搅拌 18 小时、通过 Celite® 过滤并在真空中浓缩。使用 15% EtOAc/己烷将残余物进行硅胶层析而得到 675 mg (92%) 的无色固体。通过在室温下搅拌 2 小时用 TBAF (1 M 的 THF 溶液, 1 mL, 1 mmol) 在 THF (5 mL) 中使一部分该物质(500 mg, 0.68 mmol) 脱保护。将该反应混合物用 Et_2O (50 mL) 稀释并用盐水(2x50 mL) 洗涤。将该盐水重新用 Et_2O (2x50 mL) 提取并将合并的有机提取物用 Na_2SO_4 干燥并在真空中浓缩而得到 338 mg (62 %) 的 2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]乙醇、为一种灰白色固体。

(2) 按照与实施例 2-(6) 中所述相同的方式, 在有氰化汞(770 mg, 3.05 mmol) 存在的情况下使上述(1) 中制备的化合物(338 mg, 0.68 mmol) 和实施例 2-(4) 中制备的化合物(786 mg, 0.61 mmol) 偶联而得到 245 mg (24%) 的 2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]乙基 2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体 :

1H

NMR ($CDCl_3$) δ 0.88 (t, 12 H, $J=6.9$ Hz), 1.1 - 1.8 (m, 84 H), 1.81 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.15 - 2.55 (m, 8 H), 3.25 (m, 1 H), 3.47 (m, 2 H), 3.67 (m, 1 H), 3.83 (m, 2 H), 4.28 (dd, 1 H, $J=12.2, 4.9$ Hz), 4.36 (d, 1 H, $J=11.0$ Hz), 4.68 (m, 2 H), 4.78 (d, 1 H, $J=11.6$ Hz), 4.94 (d, 1 H, $J=11.6$ Hz), 5.16 (m, 2 H), 5.53 (t, 1 H, $J=10.0$ Hz), 6.06 (d, 1 H, $J=4.9$ Hz), 6.19 (m, 1 H), 7.25 (m, 10 H).

(3) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌(980 mg, 15 mmol)

使上述(2)中制备的化合物(500 mg, 0.29 mmol)脱保护并在有 EEDQ(110 mg, 0.44 mmol)存在的情况下用(R)-3-十四酰氧基十四酸(155 mg, 0.34 mmol)使之酰化而得到 315 mg (62%)的 2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]乙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体。

(4)按照与实施例 2- (8)中所述相同的方式, 在有氧化铂(100 mg)存在的情况下使上述(3)中制备的化合物(200mg, 0.113 mmol)氢化而得到 142mg(76%)的 2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]乙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色固体:mp 175-176 °C; IR(膜)

3285, 3098, 2955, 2919, 2851, 1731, 1659, 1642, 1556, 1468, 1379, 1250, 1228, 1174, 1110, 1083, 1046, 962, 857 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.0$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 135 H), 2.2 - 2.7 (m, 15 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.1$ Hz), 3.2 - 4.1 (m, 8 H), 4.21 (q, 1 H, $J = 9.9$ Hz), 4.51 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 5.05 - 5.25 (m, 4 H), 7.33 (d, 1 H, $J = 8.5$ Hz), 7.50 (br t, 1 H, $J = 4.8$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.7, 173.3, 170.6, 170.3, 169.9, 100.9, 75.8, 73.0, 71.3, 71.1, 70.9, 70.6, 68.3, 60.6, 55.1, 45.7, 41.6, 41.2, 39.5, 34.6, 34.5, 34.4, 32.0, 29.8, 29.4, 29.3, 25.4, 25.1, 22.7, 14.2, 8.6.

对 $\text{C}_{98}\text{H}_{190}\text{N}_3\text{O}_{17}\text{P} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 67.28 ; H, 11.18 ; N, 2.40 ; P, 1.77。测定值: C, 67.01 ; H, 11.18 ; N, 2.15 ; P, 2.01.

实施例 21 (B20)

2- [(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]乙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1)按照与实施例 20- (1)中所述相同的方式, 在有 EDC · MeI (594

mg, 2.0 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (600 mg, 1.5 mmol) 使 2-氨基-1-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基) 乙烷 (450 mg, 1.5 mmol) 酰化且然后用 TBAF (1.0 M 的 THF 溶液, 2.5 mL, 2.5 mmol) 在 THF (10 mL) 中使之脱保护而得到 488mg (81%) 的 2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基] 乙醇、为一种灰白色固体。

(2) 按照与实施例 13-(5) 中所述相同的方式在有 AgOTf (560 mg, 2.2 mmol) 存在的情况下使上述 (1) 中制备的化合物 (385 g, 0.87 mmol) 和实施例 15-(4) 中制备的化合物 (1.05 g, 0.87 mmol) 偶联而得到 1.04g (74%) 的 2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基] 乙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.6 (m, 68 H), 1.78 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.18 (t, 2 H, $J = 7.7$ Hz), 2.44 (m, 2 H), 4.34 (m, 5 H), 4.72 (m, 2 H), 4.83 (q, 1 H, $J = 9.3$ Hz), 5.09 (m, 1 H), 5.51 (t, 1 H, $J = 10.2$ Hz), 5.79 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 6.26 (d, 1 H, $J = 3.4$ Hz), 7.31 (m, 10 H).

(3) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (1.42 g, 21.7 mmol) 使上述 (2) 中制备的化合物 (700 mg, 0.44 mmol) 脱保护且然后在有 EEDQ (148 mg, 0.6 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (190 mg, 0.48 mmol) 使之酰化而得到 432 mg (62%) 的 2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基] 乙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体。

(4) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氧化铂 (200 mg) 存在的情况下使上述 (3) 中制备的化合物 (400 mg, 0.25 mmol) 氢化而得到 200 mg (52%) 的 2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基] 乙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色固体: mp 165-166 $^{\circ}\text{C}$; IR (膜)

3289, 3094, 2956, 2922, 2853, 1732, 1658, 1644, 1556, 1467, 1379, 1247, 1164, 1107, 1081, 1048 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 111 H), 2.2 - 2.7 (m, 15 H), 3.05 (q, 6 H, $J = 7.1$ Hz), 3.2 - 3.85 (m, 9 H), 4.52 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 5.05 - 5.25 (m, 4 H), 7.21 (d, 1 H, $J = 8.5$ Hz), 7.42 (br t, 1 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.8, 173.3, 170.7, 170.3, 170.0, 100.9, 75.6, 73.0, 71.3, 70.9, 70.6, 68.3, 60.7, 55.0, 45.8, 41.6, 41.2, 39.5, 34.5, 34.4, 34.1, 31.9, 29.8, 29.6, 29.5, 29.4, 25.4, 25.1, 22.7, 14.2, 8.6.

对 $\text{C}_{86}\text{H}_{166}\text{N}_3\text{O}_{17}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值 : C, 66.08 ; H, 10.83 ; N, 2.69 ; P, 1.98。测定值: C, 65.80 ; H, 10.63 ; N, 2.63 ; P, 2.04。

实施例 22 (B21)

3- [(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-
0-膦酰基-3-0-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2- [(R)-3-
十四酰氧基十四酰基氨基)]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物
(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=1$, $\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$,
 $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1)按照与实施例 20-(1)中所述相同的方式,在有 EDC · MeI (595 mg, 2.0 mmol)存在的情况下用(R)-3-十四酰氧基十四酸(680 mg, 1.5 mmol)使 3-氨基-1-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙烷(470 mg, 1.5 mmol)酰化且然后用 TBAF(1.0 M 的 THF 溶液, 2.0 mL, 2.0 mmol)在 THF (10 mL)中使之脱保护而得到 698mg (91%)的 3-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙醇、为一种灰白色固体。

(2)按照与实施例 13-(4)中所述相同的方式,用 TFA (10mL)使实施例 2-(3)中制备的化合物(7.9 g, 5.88 mmol)脱保护且然后用由 DMF (1.8mL, 23.5mmol)和草酰氯(1.03mL, 11.76 mmol)制备的 Vilsmeier 试剂处理而得到 6.32g (85 %)的 2-脱氧-4-0-二苯基膦酰基-3-0-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-0-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基氯化物、为一种白色泡沫体:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J = 6.8$ Hz), 1.2 - 1.55 (m, 42 H), 1.78 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.18 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.43 (m, 2 H), 4.31 (m, 4 H), 4.68 (d, 1 H, $J = 11.9$ Hz),

4.74 (d, 1 H, $J = 11.9$ Hz), 4.83 (q, 1 H, $J = 9.3$ Hz), 5.09 (m, 1 H), 5.51 (t, 1 H, $J = 9.7$ Hz), 5.78 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 6.26 (d, 1 H, $J = 3.4$ Hz), 7.31 (m, 10 H).

(3) 按照与实施例 13-(5) 中所述相同的方式, 在有 AgOTf (642 mg, 2.5 mmol) 存在的情况下使上述 (1) 中制备的化合物 (613 mg, 1.2 mmol) 和上述 (2) 中制备的化合物 (1.5g, 1.2 mmol) 偶联而得到 1.43g (68%) 的 3-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.8 (m, 86 H), 1.82 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.20 (t, 2 H, $J = 7.6$ Hz), 2.29 (t, 2 H, $J = 7.7$ Hz), 2.44 (m, 4 H), 3.21 (m, 1 H), 3.42 (m, 1 H), 3.54 (m, 2 H), 3.80 (m, 1 H), 3.94 (m, 1 H), 4.28 (dd, 1 H, $J = 12.3, 5.2$ Hz), 4.38 (d, 1 H, $J = 10.8$ Hz), 4.70 (m, 3 H), 4.81 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 5.14 (m, 2 H), 5.47 (t, 1 H, $J = 9.6$ Hz), 6.13 (d, 1 H, $J = 7.6$ Hz), 6.22 (br. s, 1 H), 7.25 (m, 10 H).

(4) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (1.32g, 20.1mmol) 使上述 (3) 中制备的化合物 (700 mg, 0.40 mmol) 脱保护且然后在有 EEDQ (125 mg, 0.5 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十四酰氧基十四酸 (200 mg, 0.44 mmol) 使之酰化而得到 435 mg (60%) 的 3-[(R)-3-十四氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体。

(5) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氧化铂 (200 mg) 存在的情况下使上述 (4) 中制备的化合物 (400 mg, 0.22 mmol) 氢化而得到 170 mg (45%) 的 3-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色固体:

mp 171-172°C; IR (膜)

3288, 3094, 2955, 2919, 2850, 1731, 1658, 1344, 1556, 1468, 1378, 1320, 1251, 1226, 1172, 1106, 1083, 1044 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.0$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 135 H), 2.2 - 2.7 (m, 15 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.1$ Hz), 3.2 - 4.1 (m, 8 H), 4.21 (q, 1 H, $J = 9.9$ Hz), 4.51 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 5.05 - 5.25 (m, 4 H), 7.23 (t, 1 H, $J = 5.3$ Hz), 7.33 (d, 1 H, $J = 8.6$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.5, 173.4, 170.6, 170.2, 169.9, 100.6, 75.8, 71.5, 70.9, 70.5, 66.8, 60.4, 55.3, 45.6, 41.4, 39.4, 36.3, 34.6, 34.5, 34.2, 31.9, 29.7, 29.4, 29.3, 29.1, 25.4, 25.1, 22.7, 14.1, 8.5.

对 $\text{C}_{99}\text{H}_{192}\text{N}_3\text{O}_{17}\text{P} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值 : C, 67.42 ; H, 11.20 ; N, 2.38 ; P, 1.76。测定值: C, 66.97 ; H, 11.01 ; N, 2.38 ; P, 1.95。

实施例 23 (B22)

4- [(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-
0-膦酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3
十四酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物
(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=2$, $\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$,
 $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1)按照与实施例 20- (1)中所述相同的方式, 在有 EDC $\cdot$ MeI (595 mg, 2.0 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十四酰氧基十四酸(695mg, 1.53 mmol)使 4-氨基-1-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)丁烷(500 mg, 1.53mmol)酰化且然后用 TBAF (1.0 M 的 THF 溶液, 2.5 mL, 2.5 mmol)在 THF (15 mL) 中使之脱保护而得到 651mg(81%)的 4-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-1-丁醇、为一种灰白色固体。

(2)按照与实施例 13-(5)中所述相同的方式在有 AgOTf(1.16g, 4.5mmol)存在的情况下使上述(1)中制备的化合物(650mg, 1.25 mmol)和实施例 22-(2)中制备的化合物(1.6g, 1.25 mmol)偶联而得到 1.65 g (75%)的 4-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、

为一种非晶固体:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.8 (m, 88 H), 1.82 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.15 - 2.55 (m, 8 H), 3.24 (m, 2 H), 3.50 (m, 2 H), 3.83 (m, 2 H), 4.27 (dd, 1 H, $J = 12.1, 3.8$ Hz), 4.32 (d, 1 H, $J = 11.5$ Hz), 4.66 (m, 2 H), 4.78 (d, 1 H, $J = 12.1$ Hz), 4.89 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 5.15 (m, 2 H), 5.54 (t, 1 H, $J = 9.7$ Hz), 5.95 (m, 2 H), 7.25 (m, 10 H).

(3) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (1.30g, 19.8mmol) 使上述 (2) 中制备的化合物 (700 mg, 0.39 mmol) 脱保护且然后在有 EEDQ (125 mg, 0.5 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十四酰氧基十四酸 (195 mg, 0.43 mmol) 使之酰化而得到 421mg (60%) 的 4-[(R)-3-十四氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]) β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体。

(4) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氧化铂 (200 mg) 存在的情况下使上述 (3) 中制备的化合物 (400 mg, 0.22 mmol) 氢化而得到 212mg (55%) 的 4-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]丁基 2-脱氧-4-O-膦酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]) β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色固体: mp 171-172 $^{\circ}\text{C}$; IR (膜)

3298, 2955, 2920, 2851, 1732, 1645, 1550, 1467, 1378, 1181, 1107, 1083, 1044, 721 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 135 H), 2.2 - 2.7 (m, 19 H), 3.05 (q, 6 H, $J = 7.1$ Hz), 3.18 (m, 2 H), 3.3 - 3.5 (m, 6 H), 3.78 (m, 3 H), 3.97 (d, 1 H, $J = 12.5$ Hz), 4.23 (q, 1 H, $J = 10.0$ Hz), 4.50 (d, 1 H, $J = 8.5$ Hz), 5.13 (m, 4 H), 7.12 (d, 1 H, $J = 9.1$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.9, 173.4, 173.3, 170.8, 169.9, 169.8, 101.0, 75.6, 73.2, 71.4, 71.1, 70.6, 68.9, 60.7, 54.8, 45.9, 41.5, 39.6, 38.9, 34.6, 34.3, 32.0, 29.8, 29.5, 29.0, 28.9, 26.3, 25.4, 25.1, 22.7, 14.2, 8.7.

对 $\text{C}_{100}\text{H}_{194}\text{N}_3\text{O}_{17}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 68.26; H, 11.23; N, 2.39; P, 1.76。测定值: C, 68.21; H, 11.03; N, 2.26; P, 1.73。

实施例 24(B23)

4- [(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]己基 2-脱氧-4-
O-膦酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3
十四酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物
(I), $R_1=R_2=R_3=N-C_{13}H_{27}CO$, $X=Y=O$, $N=4$, $M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_6=R_7=R_9=H$,
 $R_8=PO_3H_2$)

(1)按照与实施例 20-(1)中所述相同的方式,在有 EDC · MeI (1.35g, 4.56 mmol)存在的情况下用(R)-3-十四酰氧基十四酸(2.07g, 4.56 mmol)使 6-氨基-1-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)己烷(1.48mg, 4.15mmol)酰化且然后用 TBAF(1.0 M 的 THF 溶液, 1.53mL, 1.53 mmol)在 THF(46 mL)中使之脱保护而得到 700mg(30%)的 6-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-1-己醇、为一种灰白色固体。

(2)按照与实施例 13-(5)中所述相同的方式,在有 AgOTf(1.28g, 5.0 mmol)存在的情况下使上述(1)中制备的化合物(689mg, 1.20 mmol)和实施例 22-(2)中制备的化合物(1.25g, 1.00 mmol)偶联而得到 1.59 g (94%)的 4-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]己基 2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

¹H

NMR (CDCl₃) δ 0.88 (t, 12 H, $J=6.6$ Hz), 1.1 - 1.8 (m, 92 H), 1.82 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.22 (t, 2 H, $J=7.6$ Hz), 2.29 (t, 2 H, $J=7.4$ Hz), 2.45 (m, 4 H), 3.22 (m, 1 H), 3.46 (m, 2 H), 3.83 (m, 2 H), 3.94 (m, 1 H), 4.31 (m, 2 H), 4.64 (m, 2 H), 4.83 (d, 1 H, $J=12.1$ Hz), 4.97 (d, 1 H, $J=7.8$ Hz), 5.17 (m, 2 H), 5.59 (t, 1 H, $J=8.8$ Hz), 5.75 (m, 1 H), 5.84 (d, 1 H, $J=7.6$ Hz), 7.25 (m, 10 H).

(3)按照与实施例 2-(7)中所述相同的方式,用 锌(2.88g, 44.1mmol)使上述(2)中制备的化合物(1.57g, 0.88 mmol)脱保护且然后在有 EEDQ(327 mg, 1.32mmol)存在的情况下用(R)-3-十四酰氧基十四酸(481 mg, 1.06 mmol)使之酰化而得到 1.57g(97%)的 4-[(R)-3-十四氧

搅拌 30 分钟。然后加入 EEDQ(0.437g, 1.77 mmol)并在室温下将该混合物搅拌 16 小时。收集沉淀的产物并用 CH_2Cl_2 (2x25 mL)洗涤而得到 0.455g(71%)的 N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-L-丝氨酸酰胺、为一种无色粉末:

mp

126-130°C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 6H, $J=\sim 7$ Hz), 1.15-1.7 (m, 42 H), 2.31 (t, 2 H, $J=7.5$ Hz), 2.51 (d, 2 H, $J=6.3$ Hz), 3.56 (br s, 1 H), 3.65 (dd, 1 H, $J=11.2, 5.5$ Hz), 3.86 (dd, 1 H, $J=11.2, 4.5$ Hz), 4.21 (s, 2 H), 4.40 (m, 1 H), 5.22 (m, 1 H).

(2) 按照与实施例 2-(6) 中所述相同的方式, 在有氰化汞(0.43 g, 1.7 mmol)存在的情况下使上述(1)中制备的化合物(0.23g, 0.246 mmol)和实施例 2-(4)中制备的化合物(0.961g, 0.745 mmol)偶联而得到 0.527g (71%)的 N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸酰胺、为一种非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J=\sim 7$ H), 1.0-1.7 (m, 84 H), 1.80 和 1.89 (2s, 6 H), 2.21 (t, 2 H, $J=7.5$ Hz), 2.30 (t, 2 H, $J=7.5$ Hz), 2.37 (m, 2 H), 2.47 (m, 2 H), 3.54 (m, 1 H), 3.68 (dd, 1 H, $J=8, J=11$ Hz), 3.86 (br d, 1 H, $J=11$ Hz), 4.16 (dd, 1 H, $J=11, 4$ Hz), 4.24 (dd, 1 H, $J=12, 4.3$ Hz), 4.40 (d, 1 H, $J=12$ Hz), 4.6-4.8 (m, 4 H), 5.00 (d, 1 H, $J=8$ Hz), 5.1-5.25 (m, 2 H), 5.4-5.55 (m, 2 H), 5.84 (br s, 1 H), 6.61 (br s, 2 H), 7.1-7.35 (m, 10 H).

(3) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌(0.83g, 13mmol)使上述(2)中制备的化合物(0.44g, 0.254 mmol)脱保护且然后在有 EEDQ(0.095g, 0.38mmol)存在的情况下用(R)-3-十四酰氧基十四酸(0.14g, 0.31 mmol)使之酰化而得到 0.271g(59%)的 N-[(R)-3-十四氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸酰胺、为一种非晶固体:

基十四酰基氨基]己基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基])-\$\beta\$-D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体。

(4)按照与实施例2-(8)中所述相同的方式在有氧化铂(157mg)存在的情况下使上述(3)中制备的化合物(1.57g, 0.85 mmol)氢化而得到130mg (10%)的4-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]己基 2-脱氧-4-O-磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基])-\$\beta\$-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种白色固体:mp 150-152 °C; IR (膜)

3284, 3099, 2954, 2920, 2851, 1731, 1657, 1637, 1557, 1467, 1418, 1378, 1320, 1249, 1179, 1108, 1083, 1044, 856, 721 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃ - CD₃OD) \$\delta\$ 0.89 (t, 18 H, J = 6.6 Hz), 1.1 - 1.7 (m, 135 H), 2.2 - 2.7 (m, 23 H), 3.05 (q, 6 H, J = 7.1 Hz), 3.18 (m, 2 H), 3.39 (d, 1 H, J = 8.2 Hz), 3.49 (q, 1 H, J = 7.5 Hz), 3.82 (m, 2 H), 3.99 (d, 1 H, J = 11.9 Hz), 4.25 (q, 1 H, J = 8.9 Hz), 4.59 (m, 2 H), 5.18 (m, 4 H); ¹³C NMR (CDCl₃) \$\delta\$ 173.7, 173.3, 170.6, 169.7, 169.4, 100.6, 75.5, 73.1, 71.3, 70.9, 70.6, 69.2, 60.6, 55.2, 45.8, 41.7, 41.4, 39.5, 39.4, 34.6, 34.3, 34.2, 34.1, 31.9, 29.7, 29.4, 29.2, 26.5, 25.5, 25.3, 25.1, 22.7, 14.1, 8.6.

对 C₁₀₂H₁₉₈N₃O₁₇P · H₂O 的计算分析值 : C, 68.53 ; H, 11.28 ; N, 2.33 ; P, 1.73。测定值: C, 68.63 ; H, 11.12 ; N, 2.26 ; P, 1.66。

实施例 25 (B24)

N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-O-磷酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-\$\beta\$-D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸酰胺 (SERINAMIDE) 三乙铵盐的制备(化合物(I), R₁=R₂=R₃=N-C₁₃H₂₇CO, X=Y=O, N=M=P=Q=O, R₄=R₅=R₇=R₉=H, R₆=CONH₂, R₈=PO₃H₂)

(1)用三乙胺(0.18 mL, 1.3 mmol)处理 L-丝氨酸酰胺 (serinamide) 盐酸盐(0.157g, 1.18 mmol)和(R)-3-十四酰氧基十四酸(0.61g, 1.34 mmol)溶于CH₂Cl₂(6 mL)所得到的混悬液并将所得溶液与 4Å 分子筛一起

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 18 H, $J=6.5$ Hz), 1.0-1.7 (m, 126 H), 2.03 (br s, 1 H), 2.15-2.55 (m, 12 H), 3.5-4.05 (m, 5 H), 4.14 (dd, 1 H, $J=10, 3.5$ Hz), 4.5-4.65 (m, 2 H), 4.68 (d, 1 H, $J=8.1$ Hz), 5.05-5.25 (m, 3 H), 5.31 (t, 1 H, $J=\sim 10$ Hz), 5.58 (br s, 1 H), 6.31 (d, 1 H, $J=8$ Hz), 6.85-6.95 (m, 2 H), 7.1-7.4 (m, 10 H).

(4)按照与实施例 2-(8)中所述相同的方式, 在有氧化铂(0.125 g)存在的情况下使上述(3)中制备的化合物(0.25 g, 0.14 mmol)氢化而得到 0.195(80%)的 N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐、为一种无色固体:mp 190-191 $^{\circ}\text{C}$; (分解); IR(膜)

3418, 3293, 2921, 2850, 1732, 1717, 1651, 1636, 1557, 1540, 1458, 1165, 1033 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3\text{—CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (t, 18 H, $J=\sim 7$ Hz), 1.0-1.7 (m, 135 H), 2.2-2.7 (m, 12 H), 3.05 (q, 6 H, $J=7.2$ Hz), 3.2-3.45 (m), 3.5-4.15 (m, 5 H), 4.21 (q, 1 H, $J=\sim 10$ Hz), 4.53 (d, 1 H, $J=8.1$ Hz), 4.58 (m, 1 H), 5.0-5.3 (m, 4 H), 7.25 (d, 1 H, $J=8.4$ Hz), 7.40 (d, 1 H, $J=7.2$ Hz); $^{13}\text{C NMR}$ ($\text{CDCl}_3\text{—CD}_3\text{OD}$) δ 173.7, 173.5, 172.5, 170.7, 170.5, 170.4, 101.4, 75.5, 73.4, 71.1, 70.9, 70.2, 68.6, 60.0, 53.9, 52.2, 45.6, 41.2, 41.0, 38.9, 34.4, 34.2, 31.8, 29.6, 29.5, 29.3, 29.1, 25.2, 24.9, 22.6, 14.0, 8.3.

对 $\text{C}_{99}\text{H}_{191}\text{N}_4\text{O}_{18}\text{P} \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值 : C, 66.00 ; H, 10.97 ; N, 3.11 ; P, 1.72. 测定值: C, 66.04 ; H, 10.99 ; N, 3.03 ; P, 1.95.

实施例 26 (B25)

N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CONH}_2$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1)按照与实施例 25-(1)中所述相同的方式, 在有 EEDQ (371 mg, 1.5 mmol)存在的情况下在 CH_2Cl_2 中 (R)-3-癸酰氧基十四酸(478 mg, 1.2

mmol)使 L-丝氨酸胺盐酸盐(169 mg, 1.2 mmol)酰化而得到 428mg (74%) 的 N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-L-丝氨酸胺、为一种白色固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H), 1.1 - 1.7 (m, 34 H), 2.33 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.54 (d, 2 H, $J = 6.6$ Hz), 3.35 (s, 2 H), 3.72 (dd, 1 H, $J = 11.0$, 5.2 Hz), 3.84 (dd, 1 H, $J = 11.3$, 5.0 Hz), 4.20 (t, 1 H, $J = 5.1$ Hz), 5.26 (t, 1 H, $J = 6.4$ Hz).

(2) 按照与实施例 13- (5) 中所述相同的方式, 在有 AgOTf (560mg, 2.2 mmol) 存在的情况下使上述 (1) 中制备的化合物 (410mg, 0.85mmol) 和实施例 15- (4) 中制备的化合物 (1.05g, 0.87 mmol) 偶联而得到 780g (56%) 的 N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸胺、为一种非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H), 1.1 - 1.6 (m, 68 H), 1.80 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 2.30 (m, 8 H), 3.53 (m, 1 H), 3.68 (m, 1 H), 3.85 (br. d, 1 H, $J = 9.4$ Hz), 4.15 (dd, 1 H, $J = 10.8$, 3.7 Hz), 4.24 (dd, 1 H, $J = 12.3$, 4.6 Hz), 4.40 (d, 1 H, $J = 10.8$), 4.65 (m, 4 H), 5.00 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 5.18 (m, 2 H), 5.46 (m, 2 H), 5.83 (m, 1 H), 6.60 (m, 2 H), 7.30 (m, 10 H).

(3) 按照与实施例 2- (7) 中所述相同的方式, 用锌 (1.19g, 18.2mmol) 使上述 (2) 中制备的化合物 (600mg, 0.36mmol) 脱保护且然后在有 EEDQ (124mg, 0.50mmol) 存在的情况下用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (160mg, 0.4 mmol) 使之酰化而得到 371mg (62%) 的 N-[(R)-3-癸氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸胺、为一种非晶固体。

(4) 按照与实施例 2- (8) 中所述相同的方式, 在有氧化铂 (200mg) 存在的情况下使上述 (3) 中制备的化合物 (330mg, 0.20 mmol) 氢化而得到 120mg (44%) 的 N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸胺、为一种非晶固体。

基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐、为一种白色粉末:mp 187-189℃;IR (膜)

3419, 3286, 3220, 3098, 2955, 2922, 2852, 1732, 1680, 1662, 1644, 1559, 1467, 1247, 1167, 1107, 1080, 1051, 965, 913 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.89 (t, 18 H, $J=7.0$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 111 H), 2.2 - 2.7 (m, 12 H), 3.07 (q, 6 H, $J=7.1$ Hz), 3.68 (m, 1 H), 3.87 (m, 1 H), 4.09 (dd, 1 H, $J=10.8, 3.6$ Hz), 4.22 (m, 1 H), 4.53 (d, 1 H, $J=8.2$ Hz), 4.58 (m, 1 H), 5.13 (m, 3 H), 5.28 (m, 1 H), 7.53 (d, 1 H, $J=9.0$ Hz), 7.56 (d, 1 H, $J=7.7$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.5, 173.2, 170.2, 169.8, 102.3, 75.7, 73.5, 71.3, 70.7, 70.1, 68.8, 60.8, 53.9, 51.7, 45.8, 41.5, 41.1, 39.1, 34.6, 34.5, 34.2, 32.0, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 25.7, 25.4, 25.1, 22.7, 14.1, 8.6.

对 $\text{C}_{87}\text{H}_{167}\text{N}_4\text{O}_{18}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值 : C, 65.05 ; H, 10.60 ; N, 3.49 ; P, 1.93。测定值: C, 65.06 ; H, 10.40 ; N, 3.31 ; P, 2.00。

实施例 27 (B26)

N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-1-丝氨酸甲酯三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CO}_2\text{ME}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1)在室温和大气压以及有 5%钨/碳(50 mg)存在的情况下,使实施例 12-(2)中制备的化合物(0.290g, 0.157 mmol)溶于 THF(20 mL)所得到的溶液氢化 3 小时。通过过滤除去催化剂并浓缩滤液。将在 0℃下残余物溶于 CHCl_3 (5 mL)所得到的溶液用重氮甲烷(0.5 mmol)溶于乙醚(5 mL)所得到的溶液处理且然后在 0℃下搅拌 30 分钟。加入 AcOH (0.5 mL)并将所得无色溶液用乙醚(50 mL)处理、用饱和 NaHCO_3 水溶液(25 mL)洗涤、干燥(Na_2SO_4)并浓缩。进行硅胶快速色谱法纯化(梯度洗脱, 20→25% EtOAc-己烷)得到 0.199g(72%)的 N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-1-丝氨酸甲酯三乙铵盐。

基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基甲氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸甲酯、为一种非晶固体：

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J = \sim 6.5$ Hz), 1.1-1.75 (m, 84 H), 1.81 和 1.89 (2s, 6 H), 2.36 (t, 2 H, $J = 7.5$ Hz), 2.25-2.6 (m, 6 H), 3.48 (q, 1 H, $J = \sim 8$ Hz), 3.7-3.9 (m, 5 H), 4.2-4.4 (m, 3 H), 4.6-4.85 (m, 4 H), 4.88 (d, 1 H, $J = 7.8$ Hz), 5.03-5.22 (m, 2 H), 5.49 (t, 1 H, $J = \sim 9.5$ Hz), 6.21 (br s, 1 H), 6.59 (d, 1 H, $J = 7.8$ Hz), 7.1-7.4 (m, 10 H).

(2) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌(0.36 g, 5.5 mmol) 使上述(1)中制备的化合物(0.195g, 0.111 mmol) 脱保护且然后在有 EEDQ(0.041g, 0.17 mmol) 存在的情况下用(R)-3-十四酰氧基十四酸(0.060 g, 0.13 mmol) 使之酰化而得到 0.138g (69%) 的 N-[(R)-3-十四氧基十四酰基]-O-[(R)-4-O-二苯基磷酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸甲酯、为一种非晶固体：

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 18 H, $J = \sim 6.5$ Hz), 1.0-1.75 (m, 126 H), 2.15-2.45 (m, 10 H), 2.52 (dd, 1 H, $J = 14.7$, 6 Hz), 2.66 (dd, 1 H, $J = 14.7$, 6 Hz), 3.35 (br s, 1 H), 3.4-3.8 (m, 7 H), 3.88 (dd, 1 H, $J = 11$ Hz), 4.18 (dd, 1 H, $J = 11$ Hz), 4.6-4.75 (m, 2 H), 5.03 (d, 1 H, $J = 7.8$ Hz), 5.1-5.25 (m, 3 H), 5.50 (t, 1 H, $J = \sim 9.5$ Hz), 6.50 (d, 1 H, $J = 7.2$ Hz), 6.97 (d, 1 H, $J = 7.8$ Hz), 7.1-7.4 (m, 10 H).

(3) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氧化铂(50 mg) 存在的情况下使上述(2)制备的化合物(0.100 g, 0.055 mmol) 氢化而得到 0.055g (57%) 的 N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸甲酯三乙铵盐、为一种无色固体: mp 142-143 $^{\circ}\text{C}$; IR(膜)

3289, 2955, 2921, 2852, 1733, 1718, 1699, 1652, 1558, 1540, 1521, 1506, 1469, 1457, 1375, 1360, 1259 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (t, 18 H, $J=\sim 6.5$ Hz), 1.0-1.7 (m, 135 H), 2.2-2.7 (m, 12 H), 3.05 (q, 6 H, $J=7.5$ Hz), 3.31 (d, 1 H, $J=9.3$ Hz), 3.37 (s, 1 H), 3.55-3.9 (m, 10 H), 3.97 (d, 1 H, $J=12$ Hz), 4.1-4.25 (m, 2 H), 4.55-4.65 (m, 2 H), 5.05-5.25 (m, 3 H), 7.23 (d, 1 H, $J=8.1$ Hz), 7.47 (d, 1 H, $J=7.2$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.6, 173.4, 170.5, 170.4, 170.1, 100.7, 75.9, 72.8, 71.2, 70.8, 70.6, 68.5, 60.3, 55.3, 52.7, 52.4, 47.7, 41.5, 40.9, 39.7, 34.6, 34.5, 34.3, 32.0, 29.8, 29.4, 25.4, 25.1, 22.7, 14.2, 8.5.

对 $\text{C}_{100}\text{H}_{192}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 67.11 ; H, 10.93 ; N, 2.35 ; P, 1.73。测定值: C, 66.91 ; H, 10.93 ; N, 2.31 ; P, 2.11。

实施例 28 (B27)

N-(羧甲基)-N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-氨基乙基 2-脱氧-4-O-膦酰基 (PHOPHONO) -2 [(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- β -d-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物 (I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_7=\text{CO}_2\text{H}$, $\text{Q}=1$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1) 按照与实施例 2-(5) 中所述相同的方式, 在有 EDC · MeI (0.466g, 1.57 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十四酰氧基十四酸 (0.714g, 1.57 mmol) 使 N-(2-羟乙基) 甘氨酸叔丁酯 (0.25g, 1.43 mmol) 酰化而得到 0.46g (51%) 的 N-(2-羟乙基)-N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基] 甘氨酸叔丁酯、为一种非晶固体:

^1H NMR

(CDCl_3) δ 0.88 (t, 6 H, $J=\sim 6.5$ Hz), 1.15-1.7 (m, 51 H), 2.26 (t, 2 H, $J=7.5$ Hz), 2.60 (dd, 1 H, $J=6.5, 15$ Hz), 2.86 (dd, 1 H, $J=6.7, 15$ Hz), 3.40-4.15 (m, 7 H), 5.25 (m, 1 H).

(2) 按照与 13-(5) 中所述相同的方式, 在有 AgOTf (0.688 g, 2.68 mmol) 存在的情况下使上述 (1) 中制备的化合物 (0.21g, 0.334 mmol) 与实施例 22-(2) 中制备的化合物 (0.458g, 0.368 mmol) 偶联而得到 0.39 g (64%) 的 N-(叔丁氧基羰基甲基)-N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-氨基

基乙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 12 H, $J \approx 6.5$ Hz), 1.0-1.95 (m, 99 H), 2.1-2.6 (m, 7 H), 2.84 (dd, 1 H, $J = 5, 15$ Hz), 3.2-4.15 (m, 8 H), 4.15-4.45 (m, 2 H), 4.55-4.9 (m, 3 H), 5.00 (d, 1 H, $J = 8$ Hz), 5.13 (m, 2 H), 5.4-5.65 (m, 1 H), 6.16 (d, 1 H, $J = 7$ Hz), 7.05-7.4 (m, 10 H).

(3) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌 (0.36g, 5.54 mmol) 使上述 (2) 中制备的化合物 (0.339g, 0.185 mmol) 脱保护且然后在有 EEDQ (0.068g, 0.276 mmol) 存在的情况下用 (R)-3-十四酰氧基十四酸 (0.100g, 0.221 mmol) 使之酰化而得到 0.25g (71%) 的 N-(叔丁氧基羰基甲基)-N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-氨基乙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷、为一种无色固体。

(4) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氧化铂 (125 mg) 存在的情况下于 9 : 1 THF-AcOH (15 mL) 中使上述 (3) 中制备的化合物 (0.25g, 0.131 mmol) 氢化。将粗氢解产物溶于 CH_2Cl_2 (1 mL)、冷却至 0 $^\circ\text{C}$ 并用 TFA (0.5 mL) 滴加处理。在 0 $^\circ\text{C}$ 下搅拌 2 小时后, 浓缩该反应混合物并通过与搅拌共沸而除去残余的 TFA。将所得的残余物 (0.23 g) 溶于 1% 三乙胺水溶液 (12 mL) 并冻干。使用氯仿-甲醇-水-三乙胺 (91 : 8 : 0.5 : 0.5 $\rightarrow$ 85 : 15 : 0.5 : 0.5, 梯度洗脱) 进行硅胶快速色谱纯化并通过实施例 2-(8) 中所述的酸提取而进一步纯化且从 1% 三乙胺水溶液 (6 mL) 中冻干而得到 99 mg (43%) 的 N-(羧甲基)-N-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-2-氨基乙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种无色固体: mp 162-163 $^\circ\text{C}$ (分解); IR (膜)

3286, 2922, 2852, 1732, 1651, 1556, 1455, 1434, 1378, 1260, 1088, 801 cm^{-1} ;
 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (t, 18 H, $J \approx 6.5$ Hz), 1.0-1.75 (m, 135 H), 2.2-3.0 (m, 14 H), 3.04 (q, 6 H, $J = 7.2$ Hz), 3.25-3.8 (m, 5 H), 3.85-4.3 (m, 5 H), 4.55 (d, 1 H, $J = 7.5$ Hz), 4.68 (d, 1 H, $J = 8.1$ Hz), 5.05-5.35 (m, 4 H).

对 $C_{100}H_{192}N_3O_{19}P \cdot 3 H_2O$ 的计算分析值: C, 65.79 ; H, 10.60 ; N, 2.30 ; P, 1.70。测定值: C, 65.82 ; H, 10.44 ; N, 2.40 ; P, 1.79。

实施例 29 (B28)

N-(羧甲基)-N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-3-氨基丙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基])-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- β -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物 (I),

$R_1=R_2=R_3=N-C_9H_{19}CO$, $X=Y=O$, $N=1$, $M=P=0$, $R_4=R_5=R_6=R_9=H$, $R_7=CO_2H$, $Q=1$,
 $R_8=PO_3H_2$)

(1)按照与实施例 2-(5)中所述相同的方式,在有 EDC-MeI (900mg, 3.0mmol) 存在的情况下于 CH_2Cl_2 中用 (R)-3-癸酰氧基十四酸 (1.0 g, 2.5 mmol) 使 N-(3-羟丙基)甘氨酸叔丁酯 (450mg, 2.0mmol) 酰化而得到 0.76g (63%) 的 N-(3-羟丙基)-N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]甘氨酸苄酯、为一种无色油状物:

1H NMR ($CDCl_3$) (1

: 1 旋转异构体混合物) δ 0.88 (t, 6 H, $J = 6.6$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 35 H), 1.78 (m, 1 H), 2.26 (q, 2 H, $J = 7.6$ Hz), 2.37 和 2.54 (2 dd, 1 H, $J = 14.9, 6.9$ Hz), 2.60 和 2.89 (2 dd, 1 H, $J = 14.8, 6.0$ Hz), 3.51 (m, 4 H), 3.70 (m, 1 H), 3.95 - 4.25 (m, 2 H), 5.1 - 5.25 (m, 3 H), 7.35 (m, 5 H).

(2)按照与 13-(5)中所述相同的方式,在有 AgOTf (1.07g, 4.15 mmol) 存在的情况下使上述(1)中制备的化合物 (500mg, 0.83 mmol) 与实施例 15-(4)中制备的化合物 (1.0g, 0.83mmol) 偶联而得到 1.27g (72%) 的 N-(苄氧基羰基甲基)-N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-3-氨基丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- β -D-吡喃葡萄糖苷苄酯:

1H NMR

($CDCl_3$) (2 : 1 旋转异构体混合物) δ 0.88 (t, 12 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 69 H), 1.80 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 2.1 - 2.6 (m, 11 H), 2.81 (dd, 1 H, $J = 14.8, 6.2$ Hz), 3.37

实施例 30 (B29)

N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-
 磷酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四
 酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸酰胺

三乙铵盐 (化合物 (I), $R_1=R_2=R_3=N-C_5H_{11}CO$, $X=Y=O$,

$N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CONH_2$, $R_8=PO_3H_2$)

按照与实施例 26 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲
 硅烷基)乙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基 (isopropylidene)-2-(2,2,2
 三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、L-丝氨酸酰胺盐酸盐和 (R)-3-
 己酰氧基十四酸来制备 N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-
 磷酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四
 酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸酰胺三乙铵盐: mp 184-185 $^{\circ}C$; IR(膜)

3416, 3284, 3210,

3096, 2954, 2923, 2853, 1735, 1721, 1680, 1664, 1646, 1560, 1466, 1246, 1169, 1080,
 1038 cm^{-1} ; 1H NMR ($CDCl_3$ - CD_3OD) δ 0.90 (m, 18 H), 1.1 - 1.7 (mH), 2.23 - 2.47 (m,
 6 H), 2.48 - 2.7 (m, 6H), 3.06 (q, 6 H, $J=6$ Hz), 3.26 - 3.34 (mH), 3.66 (m, 1 H), 3.77
 (d, 1 H, $J=9.5$ Hz), 3.82 - 3.96 (m, 2 H), 4.12 (dd, 1 H, $J=2, 8$ Hz), 4.21 (q, 1 H, $J=$
 8 Hz), 4.56 (d, 1 H, $J=7$ Hz), 4.61 (m, 1 H), 5.05 - 5.18 (m, 3 H), 5.24 (m, 1 H), 7.26
 (d, 1 H, $J=6.5$ Hz), 7.40 (d, 1 H, $J=5.7$ Hz).

对 $C_{75}H_{143}N_4O_{18}P \cdot H_2O$ 的计算分析值: C, 62.65 ; H, 10.16 ; N, 3.
 90 ; P, 2.15. 测定值: C, 62.60 ; H, 9.97 ; N, 3.72 ; P, 2.25.

实施例 31 (B30)

N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-
 磷酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十
 四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸酰胺

三乙铵盐的制备 (化合物 (I), $R_1=R_3=N-C_9H_{19}CO$, $R_2=N-C_5H_{11}CO$, $X=Y=O$,

$N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CONH_2$, $R_8=PO_3H_2$)

(m, 1 H), 3.52 (m, 2 H), 3.76 (m, 1 H), 3.87 (m, 1 H), 4.05 (m, 2 H), 4.28 (m, 3 H), 4.62 (m, 3 H), 4.77 (m, 1 H), 4.93 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 5.15 (m, 4 H), 5.46 和 5.61 (2 t, 1 H, $J = 9.5$ Hz), 5.95 和 6.05 (2 d, 1 H, $J = 7.5$ Hz), 7.1 - 7.4 (m, 15 H).

(3) 按照与实施例 2-(7) 中所述相同的方式, 用锌(2.31 g, 3.53 mmol)使上述(2)中制备的化合物(1.25g, 0.71 mmol)脱保护且然后在有 EEDQ(264mg, 1.07 mmol)存在的情况下用(R)-3-癸酰氧基十四酸(353mg, 0.89mmol)使之酰化而得到 670mg(54%)的 N-苄氧基羰基甲基-N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-3-氨基丙基 2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基)]-β-D-吡喃葡萄糖苷、为一种非晶固体。

(4) 按照与实施例 2-(8) 中所述相同的方式, 在有氢氧化钡/碳(270mg)和氧化铂(125 mg)于 EtOH/AcOH(10:1)中的情况下使上述(3)中制备的化合物(670mg, 0.38mmol)氢化而得到 240mg(39%)的 N-羧甲基-N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-3-氨基丙基 2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基)]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-β-D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐、为一种无色粉末: mp 156-157 °C; IR(膜)

3284, 2929, 2853, 2729, 1732, 1655, 1628, 1551, 1466, 1378, 1314, 1164, 1108, 1047, 955, 844, 722 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.9$ Hz), 1.1 - 1.7 (m, 111 H), 2.27 (q, 6 H, $J = 6.2$ Hz), 2.35 - 2.80 (m, 9 H), 3.05 (q, 6 H, $J = 7.2$ Hz), 3.25 - 3.60 (m, 4 H), 3.75 - 4.10 (m, 4 H), 4.23 (m, 2 H), 4.47 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 4.61 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 5.05 - 5.25 (m, 4 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.4, 173.0, 171.1, 170.6, 170.3, 169.6, 100.5, 74.5, 73.9, 71.4, 71.2, 70.7, 70.2, 67.0, 65.8, 60.7, 54.6, 54.3, 51.4, 49.2, 46.0, 45.4, 42.1, 41.2, 39.4, 38.0, 37.7, 34.5, 34.3, 34.2, 31.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.2, 28.1, 25.4, 25.3, 25.1, 22.7, 14.1, 11.1, 8.6.

对 $\text{C}_{89}\text{H}_{170}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 65.37; H, 10.60; N, 2.57; P, 1.89. 测定值: C, 65.35; H, 10.42; N, 2.43; P, 2.05.

按照与实施例 26 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、L-丝氨酸酰胺盐酸盐和(R)-3-己酰氧基十四酸和(R)-3-癸酰氧基十四酸来制备 N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O

膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸酰胺

三乙铵盐: mp 200-201°C (分解); IR(膜)

3420,

3286, 2956, 2923, 2853, 1733, 1680, 1663, 1645, 1556, 1466, 1418, 1378, 1248, 1168, 1106, 1081, 1051 859, 722 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 6.9$ Hz), 1.0 - 1.7 (m, 103 H), 2.15-2.71 (m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7$ Hz), 3.68 (m, 1 H), 3.87 (m, 1 H), 4.09 (dd, 1 H, $J = 10.8, 3.6$ Hz), 3.35 - 4.0 (mH), 4.15 - 4.3 (m, 2 H), 4.57 - 4.7 (m, 2 H), 5.05 - 5.3 (m, 4 H), 7.42 (m, 1 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.5, 173.1, 170.2, 169.8, 102.2, 75.8, 73.7, 71.3, 70.7, 70.2, 69.0, 60.7, 53.9, 51.7, 45.8, 41.3, 41.1, 39.1, 34.6, 34.5, 34.2, 32.0, 29.7, 32.0, 31.4, 29.8, 29.6, 29.5, 29.4, 25.6, 25.4, 25.1, 24.7, 22.7, 22.4, 13.9, 8.6.

对 $\text{C}_{83}\text{H}_{159}\text{N}_4\text{O}_{18}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 64.31 ; H, 10.47 ; N, 3.61.
测定值: C, 64.31 ; H, 10.27 ; N, 3.41.

实施例 32 (B31)

2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]乙基 2-脱氧-4-O-膦酰基-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]- α -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CO}$,

$\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

按照与实施例 21 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、2-氨基-1-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙烷和(R)-3-己酰氧基十四酸来制备 2-[(R)-3-己酰氧基十四

酰基氨基]乙基 2-脱氧-4-O-膦酰基-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]- α -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐:mp 161-162 $^{\circ}$ C; IR(膜)

3288, 3096, 2956, 2924, 2854, 1732, 1657, 1645, 1557, 1466, 1378, 1316, 1245, 1173, 1080, 1041 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.89 (m, 18 H), 1.15 - 1.67 (m, 87 H), 2.23 - 2.70 (m, 15 H), 3.06 (q, 6 H, $J=7.4$ Hz), 3.2 - 3.85 (m, 9 H), 4.52 (d, 1 H, $J=8.0$ Hz), 5.05 - 5.27 (m, 4 H), 7.24 (d, 1 H, $J=8.5$ Hz), 7.43 (br t, 1 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.7, 173.3, 173.3, 170.6, 170.2, 169.9, 100.9, 75.6, 73.0, 71.3, 70.9, 70.6, 68.3, 60.7, 55.0, 45.8, 41.6, 41.2, 39.5, 34.5, 34.4, 34.4, 31.9, 31.3, 29.7, 29.4, 25.4, 24.7, 22.7, 22.4, 14.1, 8.6.

对 $\text{C}_{74}\text{H}_{142}\text{N}_3\text{O}_{17}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 63.72; H, 10.40; N, 3.01; P, 2.2。测定值: C, 63.72; H, 10.21; N, 2.96; P, 2.46。

实施例 33 (B32)

2-[(R)-3-十六酰氧基十四酰基氨基]乙基 2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-十八酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物 (I), $\text{R}_1=\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{CO}$, $\text{R}_2=\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{CO}$, $\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_6=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

按照与实施例 21 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、2-氨基-1-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙烷以及(R)-3-十四酰氧基十四酸、(R)-3-十八酰氧基十四酸和(R)-3-十六酰氧基十四酸来制备 2-[(R)-3-十六酰氧基十四酰基氨基]乙基 2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-十八酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐:mp 180-181 $^{\circ}$ C; IR(膜)

3284, 3097, 2920, 2851, 1731, 1657, 1699, 1683, 1653, 1558, 1541, 1521, 1506, 1467, 1435, 1418, 1376, 1258, 1173, 1033 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.8 - 1.75 (mH), 2.2 - 2.7 (mH),

3.08 (q, 6 H, $J = 7.2$ Hz), 3.2 - 3.5 (m, 5 H), 3.55 - 4.05 (mH), 4.24 (q, 1 H, $J = 7$ Hz), 4.53 (d, 1 H, $J = 8$ Hz), 5.05 - 5.3 (m, 4 H), 7.32 (d, 1 H, $J = 9$ Hz), 7.49 (br t, 1 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173.8, 173.4, 173.3, 170.6, 170.3, 169.9, 100.9, 75.7, 73.0, 71.3, 70.9, 70.6, 68.3, 60.7, 55.0, 45.8, 41.3, 39.5, 34.6, 34.4, 32.0, 29.8, 29.4, 25.4, 25.1, 22.7, 14.2, 8.6.

对 $\text{C}_{104}\text{H}_{202}\text{N}_3\text{O}_{17}\text{P} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 66.81 ; H, 11.32 ; N, 2.25。测定值: C, 66.52 ; H, 10.80 ; N, 2.19.。

实施例 34 (B33)

N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基] -O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2- [(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基] -3-O - [(R)-3 -己酰氧基十四酰基] - α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物 (I), $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{N}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CO}_2\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

按照与实施例 16 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基 (isopropylidene) -2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、L-丝氨酸苄酯和 (R)-3-己酰氧基十四酸来制备 N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基] -O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基] -3-O-[(R)-3 -己酰氧基十四酰基] - α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐: mp 159-160 $^{\circ}\text{C}$; IR(膜)

3317, 2954, 2924, 2854, 1734, 1654, 1540, 1466, 1377, 1316, 1245, 1173, 1082, 846, 722 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.88 (m, 18 H), 1.15 - 1.7 (mH), 2.2 - 2.75 (m, 12 H), 3.08 (q, 6 H, $J = 7.2$ Hz), 3.40 (d, 1 H, $J = 9.9$ Hz), 3.55 - 3.95 (mH), 4.15 - 4.3 (m, 1 H), 4.51 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 4.63 (br. s, 1 H), 5.1 - 5.3 (m, 4 H), 7.01 (d, 1 H, $J = 9.1$ Hz), 7.37 (d, 1 H, $J = 8.8$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 177.0, 173.2, 173.2, 172.7, 172.3, 169.6, 169.0, 101.5, 75.0, 71.2, 70.9, 70.8, 69.1, 60.5, 53.1, 51.4, 46.1, 41.4, 41.0, 39.1, 34.5, 34.2, 34.1, 34.0, 31.9, 31.4, 31.3, 29.8, 29.6, 29.4, 25.6, 25.3, 25.1, 24.7, 24.7, 22.7, 22.5, 22.4, 14.1, 14.0, 8.7.

对 $C_{75}H_{142}N_3O_{19}P \cdot 2H_2O$ 的计算分析值: C, 61.83 ; H, 10.10 ; N, 2.88 ; P, 2.13。测定值: C, 62.07 ; H, 10.01 ; N, 2.94 ; P, 2.40。

实施例 35 (B35)

N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物 (I), $R_1 = N-C_5H_{11}CO$, $R_2 = R_3 = N-C_9H_{19}CO$, $X=Y=O$, $N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CO_2H$, $R_8=PO_3H_2$)

按照与实施例 16 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、L-丝氨酸苄酯以及(R)-3-己酰氧基十四酸和(R)-3-癸酰氧基十四酸来制备 N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐: mp 158-159°C ; IR(膜)

3304, 2956,

2923, 2853, 1732, 1658, 1547, 1466, 1378, 1317, 1246, 1174, 1082, 960, 846, 722 cm^{-1} ;
 1H NMR ($CDCl_3$ - CD_3OD) δ 0.88 (m, 18 H), 1.15 - 1.7 (mH), 2.2 - 2.75 (m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.2$ Hz), 3.3 - 3.63 (mH), 3.66 - 3.98 (m, 4H), 4.1 - 4.3 (m, 2 H), 4.54 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 4.6 (m, 1 H), 5.05 - 5.27 (m, 4 H), 7.15 (d, 1 H, $J = 8.7$ Hz), 7.46 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 173.6, 173.3, 172.8, 172.1, 169.6, 169.2, 101.5, 74.8, 70.9, 70.8, 69.3, 60.5, 53.2, 51.5, 46.1, 41.9, 41.5, 41.0, 39.2, 34.5, 34.3, 34.1, 31.9, 31.4, 29.8, 29.6, 29.4, 25.6, 25.3, 25.1, 25.1, 25.0, 24.8, 22.7, 22.5, 14.1, 11.1, 8.7.

对 $C_{83}H_{158}N_3O_{19}P \cdot H_2O$ 的计算分析值 : C, 64.27 ; H, 10.40 ; N, 2.71 ; P, 2.00。测定值: C, 64.14 ; H, 10.33 ; N, 2.70 ; P, 2.05。

实施例 36 (B36)

N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物(I)), $R_1=R_3=N-C_9H_{19}CO$, $R_2=N-C_5H_{11}CO$, $X=Y=O$, $N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CO_2H$, $R_8=PO_3H_2$)

按照与实施例 16 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、L-丝氨酸苄酯以及(R)-3-己酰氧基十四酸和(R)-3-癸酰氧基十四酸来制备N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐:mp 157-158°C(分解); IR(膜)

3306, 2955,

2924, 2853, 1734, 1657, 1545, 1466, 1378, 1245, 1170, 1081, 954, 842, 722 cm^{-1} ; 1H NMR ($CDCl_3$ - CD_3OD) δ 0.88 (m, 18 H), 1.15 - 1.7 (mH), 2.2 - 2.75 (m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, $J=7.2$ Hz), 3.36 (d, 1 H, $J=9.8$ Hz), 3.43 - 3.63 (mH), 3.68 - 3.95 (m, 4H), 4.13 - 4.27 (m, 2 H), 4.54 (d, 1 H, $J=8.3$ Hz), 4.6 (m, 1 H), 5.08 - 5.27 (m, 4 H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 176.9, 173.4, 173.2, 172.8, 172.2, 169.5, 169.1, 101.4, 74.8, 71.1, 70.9, 70.8, 69.3, 53.2, 51.6, 46.1, 41.8, 41.4, 41.0, 39.2, 34.5, 34.4, 34.3, 34.1, 34.0, 32.0, 31.4, 29.8, 29.6, 29.4, 29.3, 25.6, 25.3, 25.2, 25.1, 24.8, 22.7, 22.4, 14.1, 14.0, 8.7.

对 $C_{83}H_{158}N_3O_{19}P \cdot H_2O$ 的计算分析值: C, 64.27 ; H, 10.40 ; N, 2.71 ; P, 2.00。测定值: C, 64.09 ; H, 10.31 ; N, 2.70 ; P, 2.06。

实施例 37 (B37)

N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物(I)), $R_1=R_2=N-C_9H_{19}CO$, $R_3=N-C_5H_{11}CO$, $X=Y=O$, $N=M=P=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=CO_2H$, $R_8=PO_3H_2$)

按照与实施例 16 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基 (isopropylidene) -2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、L-丝氨酸苄酯以及 (R)-3-己酰氧基十四酸和 (R)-3-癸酰氧基十四酸来制备 N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐: mp 156-157°C (分解); IR(膜)

3306, 2956,

2923, 2852, 1732, 1659, 1545, 1466, 1378, 1246, 1173, 1081, 958, 847, 722 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (m, 18 H), 1.0 - 1.7 (mH), 2.2 - 2.75 (m, 12 H), 2.9 - 3.3 (mH), 3.06 (q, 与前面的多重峰重叠, $J = 7.2$ Hz), 3.36 (d, 1 H, $J = 9.6$ Hz), 3.43 - 3.63 (mH), 3.63 - 3.95 (m, 4H), 4.21 (m, 2 H), 4.53 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 4.6 (br s, 1 H), 5.06 - 5.28 (m, 4 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 176.6, 173.6, 173.3, 172.8, 172.1, 169.6, 169.2, 101.5, 74.8, 70.9, 70.9, 69.4, 60.5, 53.2, 51.5, 46.1, 41.9, 41.5, 41.1, 39.2, 34.6, 34.5, 34.4, 34.1, 31.9, 31.3, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 25.6, 25.3, 25.2, 24.7, 22.7, 22.4, 14.1, 14.0, 11.1, 8.7.

对 $\text{C}_{83}\text{H}_{158}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 64.27 ; H, 10.40 ; N, 2.71。
测定值: C, 64.29 ; H, 10.30 ; N, 2.61。

实施例 38 (B38)

N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{N}-\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CO}$, $\text{R}_2=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CO}_2\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

按照与实施例 16 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基 (isopropylidene) -2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、L-丝氨酸苄酯以及 (R)-3-己酰氧基十四酸和 (R)-3-癸酰氧基十四酸来制备 N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-

-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐: mp 152-153°C (分解); IR(膜)

3307, 2956,

2924, 2853, 1734, 1658, 1544, 1466, 1378, 1316, 1245, 1173, 1081, 955, 843, 722 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (m, 18 H), 1.15 - 1.7 (mH), 2.2 - 2.75 (m, 12 H),

3.06 (q, 6 H, $J = 7.2$ Hz), 3.28 - 3.55 (mH), 3.67 - 3.97 (m, 4H), 4.13 - 4.27 (m, 2 H),

4.55 (d, 2 H, $J = 7.2$ Hz), 4.60 (m, 1 H), 5.08 - 5.28 (m, 4 H), 7.11 (d, 1 H, $J = 8.7$ Hz),

7.42 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 176.9, 173.5, 173.2, 172.8, 172.2, 169.5,

169.1, 101.4, 74.8, 71.1, 70.9, 70.8, 69.3, 60.5, 53.2, 51.5, 46.1, 41.8, 41.4, 41.1, 39.2,

34.5, 34.3, 34.2, 34.1, 34.0, 31.9, 31.7, 31.4, 31.3, 29.8, 29.6, 29.4, 29.3, 25.6, 25.3,

25.2, 24.7, 22.7, 22.4, 14.1, 14.0, 11.1, 8.7.

对 $\text{C}_{79}\text{H}_{150}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P}$ 的计算分析值: C, 64.24 ; H, 10.24 ; N, 2.85。
测定值: C, 64.06 ; H, 10.35 ; N, 2.88。

实施例 39 (B39)

N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物 (I), $\text{R}_1=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CO}$, $\text{R}_2=\text{N}-\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CO}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CO}_2\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

按照与实施例 16 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4,6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、L-丝氨酸苄酯以及(R)-3-己酰氧基十四酸和(R)-3-癸酰氧基十四酸来制备 N-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐: mp 151-152°C (分解); IR(膜)

3308, 2956,

2924, 2854, 1732, 1660, 1544, 1466, 1378, 1317, 1246, 1173, 1081, 957, 843, 722 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (m, 18 H), 1.0 - 1.7 (mH), 2.18 - 2.72 (m, 12 H),

3.06 (q, 6 H, $J = 7.4$ Hz), 3.23 - 3.51 (mH), 3.66 - 3.98 (m, 4H), 4.12 - 4.28 (m, 2 H), 4.55 (d, 1 H, $J = 7.4$ Hz), 4.60 (m, 1 H), 5.05 - 5.28 (m, 4 H), 7.10 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz), 7.43 (d, 1 H, $J = 8.5$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 176.9, 173.6, 173.2, 172.7, 172.2, 169.5, 169.0, 101.5, 75.0, 74.8, 71.2, 70.9, 70.8, 69.2, 60.5, 53.1, 51.5, 46.1, 41.8, 41.5, 41.1, 39.1, 34.6, 34.5, 34.2, 34.0, 32.0, 31.4, 31.3, 29.8, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 25.6, 25.3, 25.1, 24.8, 24.7, 22.7, 22.5, 22.4, 14.1, 14.0, 11.1, 8.7.

对 $\text{C}_{79}\text{H}_{150}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值: C, 63.47 ; H, 10.25 ; N, 2.81.
测定值: C, 63.63 ; H, 10.35 ; N, 2.84.

实施例 40 (B40)

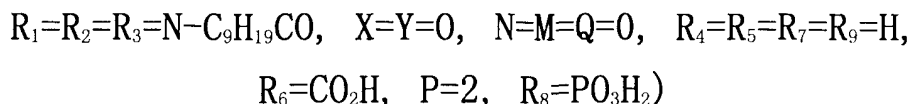
N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{R}_3=\text{N}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CO}$, $\text{R}_2=\text{N}-\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CO}$,
 $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CO}_2\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

按照与实施例 16 和相关步骤中所述相同的方式, 由 2-(三甲基甲硅烷基)乙基 2-脱氧-4, 6-O-异亚丙基(isopropylidene)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖苷、L-丝氨酸苄酯以及(R)-3-己酰氧基十四酸和(R)-3-癸酰氧基十四酸来制备N-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-己酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐: mp 158-159°C; IR(膜)

3308, 2956,

2924, 2854, 1734, 1659, 1545, 1466, 1378, 1316, 1245, 1173, 1081, 956, 844, 722 cm^{-1} ;
 ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.8 - 1.0 (m, 18 H), 1.15 - 1.73 (mH), 2.18 - 2.72 (m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.4$ Hz), 3.35 (d, 1 H, $J = 10$ Hz), 3.47 - 3.67 (mH), 3.68 - 3.97 (m, 4H), 4.1 - 4.3 (m, 2 H), 4.54 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 4.61 (m, 1 H), 5.07 - 5.28 (m, 4 H);
 ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 176.9, 173.5, 173.2, 172.8, 172.2, 169.6, 169.1, 101.5, 75.0, 74.8, 71.2, 70.9, 70.8, 69.2, 60.5, 53.2, 51.4, 46.1, 41.9, 41.5, 41.0, 39.2, 34.5, 34.2, 34.0,

5-[2-脱氧-4-0-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-0-
[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基氧基]-(S)-4-[(R)-3-癸
酰氧基十四酰基氨基]戊酸三乙铵盐的制备(化合物 (I),



(1)按照与实施例 13-(5)中所述相同的方式,在有 AgOTf (1.22 g, 4.77 mmol)存在的情况下使(S)-4-(叔丁氧基羰基氨基)-5-羟基戊酸苄酯 (0.338 g, 0.954 mmol)和实施例 15-(4)中制备的化合物 (1.15g, 0.954 mmol)偶联而得到 0.70g (50%)的(S)-4-(叔丁氧基羰基氨基)-5-[2-脱氧-4-0-二苯基磷酰基-3-0-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-0-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基氧基]戊酸苄酯:

1H NMR (CDCl₃)

δ 0.88 (m, 6 H), 1.0 - 2.05 (m, 55 H), 2.12 - 2.5 (m, 6 H), 3.28 - 3.90 (m, 5 H), 4.26 (dd, 1 H, $J = 4.5, 11.5$ Hz), 4.38 (d, 1 H, $J = 11.5$ Hz), 4.57 - 4.98 (m, 5 H), 5.11 (s, 2 H), 5.18 (m, 1 H), 5.49 (t, 1 H, $J = 9$ Hz), 5.78 (d, 1 H, $J = 7.7$ Hz), 7.04 - 7.45 (m, 15 H).

(2)将上述(1)中制备的化合物(0.67 g, 0.45 mmol)溶于 CH₂Cl₂ (5 mL)所得到的溶液冷却至 0℃、用 TFA(70 μ L)滴加处理并在室温下搅拌 3 小时。将该反应混合物用 CH₂Cl₂(15 mL)稀释、用饱和 NaHCO₃水溶液洗涤并干燥(Na₂SO₄)。加入(R)-3-癸酰氧基十四酸(0.20 g, 0.50 mmol)和 EDC·MeI(0.15g, 0.5 mmol)并将所得混合物在室温下搅拌 16 小时。将该反应混合物通过 Celite[®]衬垫过滤并浓缩。将获得的粗产物通过硅胶快速色谱法纯化(梯度洗脱, 15 $\rightarrow$ 30% EtOAc-己烷)而得到 0.36 g (45%)的(S)-4-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-5-[2-脱氧-4-0-二苯基磷酰基-3-0-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]-6-0-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基氧基]戊酸苄酯:

1H NMR (CDCl₃)

δ 0.89 (m, 12 H), 1.0 - 1.978 (mH), 2.12 - 2.5 (m, 10 H), 3.45 - 3.65 (m, 2 H), 3.79 (dd, 2 H, $J = 3.8, 10$ Hz), 4.06 (m, 1 H), 4.27 (dd, 1 H, $J = 4.9, 12$ Hz), 4.35 (d, 1 H, $J = 12$

31.9, 31.4, 29.8, 29.6, 29.4, 29.2, 25.6, 25.3, 25.1, 25.0, 24.8, 24.7, 22.7, 22.5, 22.4, 14.1, 14.0, 11.1, 8.7.

对 $C_{79}H_{150}N_3O_{19}P \cdot H_2O$ 的计算分析值: C, 63.47 ; H, 10.25 ; N, 2.81 ; P, 2.07。测定值: C, 63.43 ; H, 10.22 ; N, 2.83 ; P, 2.13。

实施例 41 (B41)

3-羟基-(R)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐的制备(化合物(1), $R_1=R_3=N-C_9H_{19}CO$, $R_2=N-C_5H_{11}CO$, $X=Y=O$, $N=M=Q=O$, $R_4=R_5=R_7=R_9=H$, $R_6=OH$, $P=1$, $R_8=PO_3H_2$)

按照与实施例 16 和相关步骤中所述相同的方式, 由 N-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)-1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-脱氧- α -D-吡喃葡萄糖苷、(S)-2-氨基-3-苄氧基-1-丙醇以及 (R)-3-己酰氧基十四酸和 (R)-3-癸酰氧基十四酸来制备 3-羟基-(R)-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]丙基 2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-己酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖苷三乙铵盐: mp 151-153°C; IR(膜) 3287, 2956, 2923, 2853, 1732, 1643, 1552, 1466, 1378, 1318, 1147, 1176, 1108, 1082, 1052, 856, 722 cm^{-1} ; 1H NMR ($CDCl_3$ - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J=6.9$ Hz), 1.0 - 1.72 (mH), 2.17 - 2.71 (m, 12 H), 2.9 - 3.3 (mH), 3.08 (q, 与前面的多重峰重叠, $J=7.2$ Hz), 3.31 (d, 1 H, $J=9.6$ Hz), 3.5 - 4.02 (m, 8 H), 4.20 (d, 1 H, $J=9.5$ Hz), 4.60 (d, 1 H, $J=8.0$ Hz), 5.05 - 5.25 (m, 4 H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 173.7, 173.5, 173.4, 170.6, 170.1, 101.1, 75.5, 73.0, 71.6, 71.3, 70.8, 70.5, 68.2, 61.4, 60.7, 54.8, 50.5, 45.8, 41.4, 39.4, 34.6, 34.5, 34.2, 31.9, 31.4, 29.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 25.4, 25.1, 22.7, 22.4, 14.1, 14.0, 8.6.

对 $C_{83}H_{160}N_3O_{18}P \cdot H_2O$ 的计算分析值: C, 64.84 ; H, 10.62 ; N, 2.55。测定值: C, 65.01 ; H, 10.50 ; N, 2.55。

实施例 42 (B42)

Hz), 4.6 - 4.8 (m, 3 H), 4.83 (d, 1 H, $J = 8.3$ Hz), 5.10 (s, 2 H), 5.17 (m, 2 H), 5.48 (t, 1 H, $J = 10$ Hz), 5.79 (d, 1 H, $J = 7.7$ Hz), 6.05, (d, 1 H, $J = 8.8$ Hz), 7.07 - 7.42 (m, 15 H).

(3) 按照与由实施例 15-(5) 中制备的化合物制备化合物 B14 所述相同的方式, 由上述 (2) 中制备的化合物制备 5-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-癸酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基氧基]-(S)-4- [(R)-3-癸酰氧基十四酰基氨基]戊酸三乙铵盐: mp 184-188°C; IR(膜)

3284, 2955, 2919, 2848, 1730, 1654, 1548, 1459, 1374, 1259, 1165, 1081, 1032, 800 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (t, 18 H, $J = 7$ Hz), 1.0 - 2.0 (mH), 2.18 - 2.75 (m, 12 H), 3.08 (q, 6 H, $J = 7.4$ Hz), 3.33 - 4.42 (mH), 4.44 (d, 1 H, $J = 8.5$ Hz), 5.02 - 5.31 (m, 4 H), 7.54 (d, 1 H, $J = 8$ Hz),), 7.61 (d, 1 H, $J = 7$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 176.8, 173.6, 173.3, 170.8, 170.2, 101.1, 75.1, 73.7, 71.7, 71.1, 70.8, 70.1, 60.8, 54.1, 48.8, 45.9, 41.4, 41.2, 39.4, 34.5, 34.4, 34.1, 31.9, 31.3, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 26.9, 25.5, 25.3, 25.1, 22.7, 14.1, 8.6.

对 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 计算的负 FAB-MS 为 1514.0889; 测定值 1514.0816.

实施例 43 (B43)

N-[(R)-3-羟基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-磷酰基-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐的制备(化合物(I), $\text{R}_1=\text{N}-\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{CO}$, $\text{R}_2=\text{N}-\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{CO}$, $\text{R}_3=\text{H}$, $\text{X}=\text{Y}=\text{O}$, $\text{N}=\text{M}=\text{P}=\text{Q}=\text{O}$, $\text{R}_4=\text{R}_5=\text{R}_7=\text{R}_9=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{CO}_2\text{H}$, $\text{R}_8=\text{PO}_3\text{H}_2$)

(1) 按照与实施例 13-(5) 中所述相同的方式, 在有 AgOTf (0.828g, 3.22 mmol) 存在的情况下使 N-烯丙氧基羰基-L-丝氨酸苄酯 (0.225g, 0.806 mmol) 和实施例 22-(2) 中制备的化合物 (1.104g, 0.886 mmol) 偶联而得到 1.01g (83%) 的 N-烯丙氧基羰基-O-[2-脱氧-4-O-二苯基磷酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2,2,2-三氯-1,1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2,2,2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-

丝氨酸苄酯:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (m, 6 H), 1.0 - 1.7 (m, 42 H), 1.78 (s, 3 H), 1.86 (s, 3 H), 2.12 - 2.48 (m, 4 H), 3.26 (m, 1 H), 3.66 (m, 1 H), 3.80 (dd, 1 H, $J = 3, 10$ Hz), 4.19 - 4.38 (m, 4 H), 4.48 - 4.85 (m, 6 H), 4.98 (d, 1 H, $J = 7.7$ Hz), 5.08 - 5.38 (m, 5 H), 5.49 (m, 1 H), 5.60 - 5.75 (m, 2 H), 5.82 - 6.0 (m, 1 H), 7.06 - 7.42 (m, 15 H).

(2) 在氩气环境中将上述(1)中制备的化合物(1.01 g, 0.68 mmol)和丙二酸二乙酯(1.50g, 9.48 mmol)溶于 THF 所得到的溶液脱气(1 小时)、用四(三苯膦)钯(0) (0.10g, 0.09 mmol)处理并在室温下搅拌过夜。将该反应混合物用 2% MeOH- CHCl_3 通过硅胶垫过滤并浓缩滤液。将获得的粗胺溶于 CH_2Cl_2 (20 mL)所得到的溶液用(R)-3-羟基十四酸(0.18g, 0.75 mmol)和 EDC·MeI (0.66g, 1.02 mmol)处理、在室温下搅拌过夜且然后浓缩。将获得的粗产物通过硅胶快速色谱法纯化(梯度洗脱, 30→40% EtOAc-己烷)而得到 0.506g (46%) 的 N-[(R)-3-羟基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-二苯基膦酰基-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]-6-O-(2, 2, 2-三氯-1, 1-二甲基乙氧基羰基)-2-(2, 2, 2-三氯乙氧基羰基氨基)- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸苄酯:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.88 (m, 9 H), 1.0 - 1.7 (m, 62 H), 1.79 (s, 3 H), 1.87 (s, 3 H), 2.19 (t, 2 H, $J = 7$ Hz), 2.3 - 2.5 (m, 4 H), 3.1 (br s, 1 H), 3.55 (q, 1 H, $J = 9$ Hz), 4.0 - 4.43 (m, 5 H), 4.56 - 4.85 (m, 4 H), 5.13 - 5.32 (m, 4 H), 6.59 (d, 1 H, $J = 7.4$ Hz), 6.83 (br s, 1 H), 7.17 - 7.41 (m, 15 H).

(3) 按照与由实施例 13-(5)中制备的化合物制备化合物 B12 所述相同的方式, 由上述(2)中制备的化合物制备 N-[(R)-3-羟基十四酰基]-O-[2-脱氧-4-O-膦酰基-2-[(R)-3-十二酰氧基十四酰基氨基]-3-O-[(R)-3-十四酰氧基十四酰基]- α -D-吡喃葡萄糖基]-L-丝氨酸三乙铵盐: mp 170-173 $^{\circ}\text{C}$ (分解); IR(膜)

3313, 2955, 2923, 2853, 1734, 1662, 1655, 1558, 1541, 1467, 1458, 1376, 1248, 1166, 1108, 1078, 1049, 953, 942, 842 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 - CD_3OD) δ 0.88 (m, 18 H), 1.15 - 1.7 (mH), 2.2 - 2.75(m, 12 H), 3.06 (q, 6 H, $J = 7.2$ Hz), 3.3 - 3.63 (mH), 3.66 - 3.98 (m, 4H), 4.1 - 4.3 (m, 2 H), 4.54 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz), 4.6 (m, 1 H), 5.05 - 5.27 (m,

4 H), 7.15 (d, 1 H, $J = 8.7$ Hz), 7.46 (d, 1 H, $J = 8.2$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 177.0, 173.3, 172.8, 172.3, 171.9, 169.2, 101.2, 74.9, 74.8, 74.3, 70.8, 70.6, 69.3, 68.4, 59.9, 53.1, 51.5, 42.5, 41.5, 39.2, 37.1, 34.6, 34.4, 34.3, 34.1, 32.0, 29.8, 29.4, 25.6, 25.2, 22.7, 22.5, 14.5, 8.7.

对 $\text{C}_{83}\text{H}_{160}\text{N}_3\text{O}_{18}\text{P} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的计算分析值 : C, 64.10 ; H, 10.63 ; N, 2.70 ; P, 1.99。测定值: C, 64.28 ; H, 10.42 ; N, 2.70 ; P, 1.84。

试验例 1

对抗-破伤风类毒素抗体产生的刺激

本发明主题的 AGPs 可促进针对鼠模型中纯化破伤风类毒素的抗体的产生。将 10 mg 的各 AGP 样品加入到 1 ml 含有角鲨烯油 + 12%卵磷脂的油-卵磷脂混合物中。将该混合物在 56℃ 的水浴中加热并超声处理而获得澄清溶液。将五十 (50) μl 的各溶液通过在 2 ml 含有 1.0 μg 破伤风类毒素抗原/ml 的无菌、预温热的 0.1% Tween 80 盐水中涡旋而乳化。在对小鼠给药前对制剂再次进行涡旋。通过将制成 0.1 ml 的合适制剂经皮下注入各小鼠的腹侧来处理雌性 C57BL/6xDBA/2 F 小鼠 (8 只/组)。小鼠破伤风类毒素和 AGP 化合物最终的剂量分别为 0.2 μg 和 50 μg 。对照组小鼠接受破伤风类毒素的载体溶液 (油-Tween 盐水)。将全部小鼠在第 0 天时进行处理, 随后在第 21 天时进行第二次免疫接种。第二次免疫接种后 14 天对小鼠取血并通过离心分离血清。

通过使用破伤风类毒素包被的微量滴定板的酶免疫测定 (EIA) 分析对来自各小鼠的血清进行抗破伤风类毒素抗体评价。估计 IgM、总 Ig 以及 IgG₁、IgG_{2a} 和 IgG_{2b} 同型的抗破伤风抗体滴度。将最初按 1:200 稀释的血清的 11 份稀释液中的每份血清样品稀释 2 倍。结果如表 2-4 中所示。

表 2

经处理的小鼠的抗破伤风类毒素抗体滴度

物质	总 IgG		IgG ₁		IgG _{2a}		IgG _{2b}		IgM	
	T/C*	滴度	T/C	滴度	T/C	滴度	T/C	滴度	T/C	滴度
B11	3.6	23,200	1.86	400,000	2.06	10,450	0.93	26,800	4.75	7,600
B2	3.84	24,800	2.16	464,000	4.28	21,700	1.57	45,200	4.50	7,200
B1	3.97	25,600	3.42	736,000	3.78	19,200	2.45	70,400	2.38	3,800
B25	8.93	57,600	2.68	576,000	1.67	8,500	3.28	94,400	2.0	3,200
B21	4.71	30,400	2.23	480,000	5.83	29,600	6.07	174,400	5.50	8,800
B15	18.85	121,600	4.17	896,000	6.80	34,500	2.79	80,256	4.0	6,400
载体		6,450		215,000		5,075		28,750		1,600

*T/C 比=实验测试滴度÷载体对照滴度

表 3

经处理的小鼠的抗破伤风类毒素抗体滴度

物质	T/C*	IgM	T/C	IgG _{2a}	T/C	IgG _{2b}
B12	3.1	4800	139.4	2370	149	9840
B16	1.6	2560	66.8	1135	104	6880
B13	3.9	6080	220	3740	>208	>13,760
B11	3.3	5120	347	5900	127.3	8400
载体	-	1760	-	25	-	98

*T/C 比=实验测试滴度/载体对照滴度

表 4

经处理的小鼠的抗破伤风类毒素抗体滴度

物质	总 Ig		IgM		IgG ₁		IgG _{2a}		IgG _{2b}	
	T/C	滴度	T/C	滴度	T/C	滴度	T/C	滴度	T/C	滴度
B26	10.5	2,490	1.1	600	16.9	25,200	29.3	440	42.6	2,260
B15	144.5	34,400	2.7	1,520	118.3	176,000	259.3	3,890	603.8	32,000
B22	60.0	19,050	0.8	440	18.4	27,400	345.8	5,187	59.6	3,160
B28	228.6	54,500	3.7	2,080	92.5	137,600	664.7	9,970	519.2	27,520
载体		238		560		1,488		15		53

*T/C 比=实验测试滴度÷载体对照滴度

本发明主题的化合物在与破伤风类毒素共同给药时显示出剂量反应。给 BFD1 (C57B1/6 X DBA/2) 雌性小鼠 (8 只/组) 免疫接种 0.2 ml 含有 AGP + 0.2 μ g 破伤风类毒素的乳剂。在初次免疫接种后 21 天给予第二次免疫接种。在第二次注射后 21 天对各小鼠取血。结果如表 5 和 6 中所示。

表 5
免疫接种破伤风类毒素的小鼠的 AGPs 剂量反应

物质	总 Ig		IgM		IgG ₁		IgG _{2a}		IgG _{2b}	
	T/C 比 *	滴度	T/C 比	滴度	T/C 比	滴度	T/C 比	滴度	T/C 比	滴度
B15 50 µg	3.3	7,000	13.4	37,600	4.1	26,300	150.0	11,225	3.2	2500
B15 25 µg	5.8	12,400	2.1	6,000	4.5	28,800	52.0	3900	7.0	5400
B15 10 µg	5.3	11,450	1.4	4,000	5.5	35,100	33.8	2538	9.9	7650
B27 50 µg	3.2	6,800	4.0	11,200	1.6	10,400	12.0	900	11.6	9,000
载体		2150		2800		6350		75		775

* T/C 比=实验测试滴度/载体对照滴度

表 6
免疫接种破伤风类毒素的小鼠的 AGPs 剂量反应

物质	IgM		总 Ig		IgG ₁		IgG _{2a}		IgG _{2b}	
	T/C*	滴度	T/C	滴度	T/C	滴度	T/C	滴度	T/C	滴度
B12 50 µg	5.43	869	368.55	47,543	141.22	259,429		nd	499.35	12,983
B12 25 µg	3.14	503	403.98	52,114	145.21	266,743	16.86	354	196.92	5,120
B12 10 µg	3.71	594	248.06	32,000	81.12	149,029	6.81	143	181.12	4,709
B12 5 µg	3.43	549	489.92	63,200	84.11	154,514	34.14	717	352.54	9,166
B12 1 µg	1.71	274	326.02	42,057	90.08	165,486	73.71	1,548	175.81	4,571
B15 50 µg	3.14	503	233.88	30,171	90.08	165,486	50.05	1,051	235.62	6,126
B15 25 µg	2.29	366	181.91	23,467	106.14	194,971	10.43	219	158.23	4,114
B15 10 µg	2.86	457	170.10	21,943	39.07	71,771	2.57	54	84.38 _l	2,194
B15 5 µg	1.71	274	248.06	32,000	103.15	189,486	3.00	63	210.88	5,483
B15 1 µg	1.57	251	166.56	21,486	72.04	132,343	7.62	160	114.27	2,971
载体		160		129		1837		21		26

*T/C=实验测试滴度÷载体对照滴度
nd—未进行实验测试

试验例 2

对抗卵清蛋白抗体产生的刺激

给 BDF1 雌性小鼠 (8 只/组) 免疫接种 0.2 ml 含有 50 μ g AGPs + 50 μ g 卵清蛋白的乳剂。在初次免疫接种后 21 天给予第二次免疫接种。在第二次注射后 14 天对各小鼠取血。将显示出总 IgG 和 IgM 的免疫接种小鼠的抗体滴度以及包括 IgG、IgG_{2a} 和 IgG_{2b} 在内的 IgG 亚型的滴度列在表 7 中。

表 7

免疫接种卵清蛋白的 BDF1 小鼠体内的佐剂活性

物质	总 Ig		IgM	
	T/C*	滴度	T/C	滴度
B11	0.7	150	1.3	250
B2	2.5	563	0.9	175
B1	0.5	119	0.8	150
B25	1.9	438	0.8	150
B21	0.5	113	1.3	250
B15	4.1	925	2.3	438
B27	0.6	138	1.6	300
载体		225		188

* T/C 比 = 实验测试滴度 ÷ 载体对照滴度

表 7 续

物质	IgG1		IgG2a		IgG2b	
	T/C*	<u>滴度</u>	T/C	<u>滴度</u>	- T/C	<u>滴度</u>
B11	1.6	2650	1.7	550	1.6	375
B2	5.0	8300	2.5	825	2.3	550
B1	0.5	763	0.2	56	0.8	188
B25	5.2	8500	0.5	163	5.0	1188
B21	0.6	1000	0.1	25	0.8	200
B15	0.6	950	0.3	113	16.7	3963
B27	0.8	1275	0.1	38	0.5	113
载体		1650	-	325	-	238

* T/C 比=实验测试滴度 ÷载体对照滴度

本发明主题的 AGP 化合物在与抗原卵清蛋白一起对温血动物给药时刺激了针对该抗原的抗体的产生。

试验例 3

对传染性流感的保护性免疫反应的产生

接种了福尔马林灭活的流感疫苗和本发明主题的 AGP 化合物的小鼠对流感攻击的保护性免疫反应提高并产生了针对该抗原的抗体。给动物接种该抗原和 AGP 化合物的不同载体的溶液。通过鼻内 (IN) 给予约 10 LD₅₀ 的传染性流感 A/HK/68 对小鼠进行攻击来测定保护程度。在攻击后 21 天评价死亡率。在攻击剂量下存活的小鼠数量是对疫苗功效的直接评价。就提供的实验而言, 该数据与产生抗体的量没有必然的联系。

1) 用含有 1 个血凝单位 (HAU) 的福尔马林灭活的流感 A/HK/68 (FI-Flu) 和 50 μ g 不含载体对照疫苗的 AGP 的 0.2% 三乙醇胺 (TEoA) / 水溶液配制疫苗, 其中所述的载体对照疫苗不含 AGP。仅给 ICR 小鼠 (10 只/组) 接种一次疫苗。通过在接近腹股沟淋巴结的 2 个不同部位上皮下 (SQ) 注射 0.1 ml/部位的总计 0.2 ml 的疫苗/小鼠来给予疫苗。在接种疫苗后 14 天从眼眶丛中对小鼠 (仅 5 只小鼠/组) 取血。收集血清并在 -20 $^{\circ}$ C 下冻干至用于酶联免疫吸附测定 (ELISA)。在接种疫苗后 30 天通过鼻内 (IN) 给予约 10 LD₅₀ 的传染性流感 A/HK/68 对全部小鼠进行攻击。在攻击后 21 天评价死亡率。获自接种 TEoA 制品的抗流感抗体滴度和相应的接种该制品小鼠的存活率如表 8 中所示。

表 8

经处理小鼠的抗流感抗体滴度和存活率

物质	滴度 ⁻¹ 总 IgG	存活百分率
未免疫	<100	0
载体	<100	0
B9	6400	44
B10	1600	40
B7	200	33
B3	1600	33
B14	6400	44
B15	6400	50

2) 用含有 1 个血凝单位 (HAU) 的福尔马林灭活的流感 A/HK/68 (FI-Flu) 和 25 μ g 不含盐水和不含 AGP 的载体对照疫苗的 AGP 的 2% 角鲨烯溶液配制疫苗。仅给 BALB/c 小鼠 (10 只/组) 接种一次疫苗。通过在接近腹股沟淋巴结的 2 个不同部位上皮下 (SQ) 注射 0.1 ml/部位的总计 0.2 ml 的疫苗/小鼠来给予疫苗。在接种疫苗后 14 天从眼眶丛中对小鼠 (仅 5 只小鼠/组) 取血。收集血清并在 -20℃ 下冻干至用于酶联免疫吸附测定 (ELISA)。在接种疫苗后 35 天通过鼻内 (IN) 给予约 10 LD₅₀ 的传染性流感 A/HK/68 对全部小鼠进行攻击。在攻击后 21 天评价死亡率。获自接种角鲨烯制品的抗流感抗体滴度和相应的接种该制品动物的存活率如表 9 中所示。

表 9

经处理小鼠的抗流感抗体滴度和存活率

物质	滴度 ⁻¹				存活百分率
	总 IgG	IgG1	IgG2a	IgG2b	
未免疫	<100	<100	<100	<100	0
盐水	800	100	800	100	62.5
载体	1600	1600	1600	1600	100
B25	3200	1600	6400	1600	100
B15	1600	3200	3200	400	100
B9	1600	1600	3200	800	87.5
B10	400	400	400	400	62.5
B3	3200	3200	6400	800	87.5
B6	800	800	400	1600	75
B14	3200	6400	3200	6400	87.5
B28	800	400	400	100	50

3) 在初次、然后是二次接种后将接种疫苗的小鼠的抗体滴度和存活率进行比较。用含有 1 个血凝单位 (HAU) 的福尔马林灭活的流感 A/HK/68 (FI-Flu)、25 μ g AGP、但不包括不含 AGP 的载体对照疫苗的 0.2% TEoA/水溶液配制疫苗。通过在接近腹股沟淋巴结的 2 个不同部位上皮下 (SQ) 注射 0.1 ml/部位的总计 0.2 ml 的疫苗/小鼠来对 ICR 小鼠 (20 只/组) 给予疫苗。在初次接种疫苗后 35 天将各组分 2 个亚组。此时对各亚组之一进行攻击, 剩余的亚组接受第二次接种。在接种疫苗 (初次和二次) 后 14 天从眼眶丛中对小鼠 (仅 5 只小鼠/组) 取血。收集血清并在 -20℃ 下冻干至用于 ELISA。在初次或二次接种疫苗后 35 天通过鼻内 (IN) 分别给予约 10 LD₅₀ 或 40 LD₅₀ 的传染性流感 A/HK/68 对小鼠进行攻击。在攻击后 21 天评价死亡率。初次接种和二次接种后小鼠的抗流感抗体滴度和存活率如表 10 中所示。第二次接种的小鼠的抗体滴度和存活率较高。

表 10

经处理小鼠的抗体滴度和存活率

物质	IgG 滴度 ⁻¹		存活百分率	
	初次接种后	二次接种后	初次接种后	二次接种后
未免疫	200	100	0	0
载体	800	102,400	20	40
B9	6400	12,800	80	50
B10	1600	25,600	60	90
B7	3200	>102,400	60	60
B4	800	25,600	50	70
B3	3200	102,400	70	60
B5	1600	>102,400	60	90
B6	1600	102,400	80	70
B14	800	51,200	33	70

试验例 4

脂肪酸链长对佐剂性的作用

测试脂肪酸链长 R_1 - R_3 对活性的作用。用含有 1 个血凝单位(HAU)的福尔马林灭活的流感 A/HK/68 以及 25 μ g AGP、但不包括不含 AGP 的载体对照疫苗的 0.2% TEoA/水溶液配制疫苗。仅给 ICR 小鼠 (10 只/组)接种一次疫苗。通过在接近腹股沟淋巴结的 2 个不同部位上皮下(SQ)注射 0.1 ml/部位的总计 0.2 ml 的疫苗/小鼠来给予疫苗。在接种疫苗后 14 天从眼眶丛中对小鼠(仅 5 只小鼠/组)取血。收集血清并在-20℃下冻干至用于 ELISA。在接种疫苗后 35 天通过鼻内给予约 10 LD₅₀ 的传染性流感 A/HK/68 对全部小鼠进行攻击。在攻击后 21 天评价死亡率。看起来脂肪酸链的长度可适度地影响生物活性。结果如表 11 和 12 中所示。

表 12
经处理小鼠的抗体滴度和存活率

物质	链长	滴度 ⁻¹				存活百分率
		总 IgG	IgG1	IgG2a	IgG2b	
未免疫	---	100	100	50	800	0
载体	---	100	200	50	100	30
B8	7	6400	3200	400	1600	80
B7	9	3200	3200	100	1600	70
B5	10	800	200	50	400	44
B4	11	3200	400	100	1600	60
B3	12	1600	1600	50	800	0
B1	14	12,800	6400	1600	15600	40

表 11
经处理小鼠的抗体滴度和存活率

物质	链长	滴度 ⁻¹				存活百分率
		总 IgG	IgG1	IgG2a	IgG2b	
未免疫	---	200	100	100	800	0
载体	---	200	100	100	200	11
B18	7	800	800	800	400	20
B17	8	6400	3200	3200	1600	40
B16	9	800	1600	100	800	40
B15	10	3200	200	3200	6400	70
B14	10	800	1600	100	400	30
B13	11	1600	800	400	800	50
B12	12	200	200	100	200	0
B11	14	1600	200	1600	400	30

试验例 5

杂原子 X 与糖苷配基氮原子之间的碳链长度的变化对佐剂性的作用

X 与糖苷配基氮原子之间的碳链长度通过单原子逐步延伸。研究使这两种组成之间的链延长对佐剂性的作用。用含有 1 个血凝单位 (HAU) 的福尔马林灭活的流感 A/HK/68 (FI-Flu) 以及 25 μ g AGP、但不包括不含 AGP 的载体对照疫苗的 0.2% TEoA/水溶液配制疫苗。仅给 ICR 小鼠 (10 只/组) 接种一次疫苗。通过在接近腹股沟淋巴结的 2 个不同部位上皮下 (SQ) 注射 0.1 ml/部位的总计 0.2 ml 的疫苗/小鼠来给予疫苗。在接种疫苗后 14 天从眼眶丛中对小鼠 (仅 5 只小鼠/组) 取血。收集血清并在 -20 $^{\circ}$ C 下冻干至用于 ELISA。在接种疫苗后 35 天通过鼻内给予约 10 LD₅₀ 的传染性流感 A/HK/68 对全部小鼠进行攻击。在攻击后 21 天评价死亡率。看起来佐剂活性随着杂原子 X 与糖苷配基氮原子之间的碳链长度增加而降低。然而, 取决于与该碳链连接的残基的不同, 所述分子的生物和代谢稳定性可能受到影响。结果如表 13 中所示。

表 13
经处理小鼠的抗体滴度和存活率

物质	碳链	滴度 ⁻¹				存活百分率
		总 IgG	IgG1	IgG2a	IgG2b	
未免疫	---	<50	<50	<50	<50	0
载体	---	200	200	50	200	25
B19	2	12,800	100	800	6400	50
B21	3	6400	800	100	1600	40
B22	4	3200	100	3200	200	40

试验例 6

通过 AGP 化合物进行的细胞因子诱导

本发明主题的 AGP 化合物诱导人全血离体培养试验中的细胞因子。将 AGP 化合物溶于 10%EtOH-水中并稀释成不同浓度。将 50 μ l 的各稀释液加入到 450 μ l 的人全血中。将对照组用培养基(RPMI)处理。在 37 $^{\circ}$ C 下通过在旋转器上恒定混合而将该反应混合物保温 4 小时。将无菌 PBS (1.5 ml)加入到该反应混合物中、将细胞离心并取出上清液用于细胞因子测试。使用来自 R & D Systems 的免疫测定 ELISA 试剂盒测定各上清液中 TNF- α 和 IL-1 β 的浓度。来自这些研究的结果如表 14-19 中所示。

表 14

离体实验中对细胞因子分泌的刺激

物质	剂量 (μ g)	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)
B26	20	498.90	33.25
	10	254.94	25.34
	5	75.62	9.89
	1	38.85	3.90
B2	20	1338.42	155.07
	10	817.67	114.41
	5	235.32	34.72
	1	105.52	14.53
RPMI	-	2	0

表 15

离体实验中对细胞因子分泌的刺激

物质	剂量 (ng/ml)	TNF- α (pg/ml)	-	IL-1 β (pg/ml)
B16	10,000	291		55
	5000	277		53
	1000	155		39
B13	10,000	775		THTC*
	5000	716		187
	1000	740		177
B9	10,000	449		96
	5000	247		84
	1000	145		53
B10	10,000	207		43
	5000	127		61
	1000	73		17
B7	10,000	83		16
	5000	57		14
	1000	26		6
RPMI	-	2		0
*THTC- 过高而无法统计				

表 16

离体实验中对细胞因子分泌的刺激

物质	剂量 (ng/ml)	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)
B4	10,000	432	213
	5000	205	164
	1000	94	70
B3	10,000	567	269
	5000	390	342
	1000	189	204
B5	10,000	169	79
	5000	143	162
	1000	43	36
B6	10,000	94	52
	5000	59	29
	1000	30	13
B14	10,000	249	91
	5000	120	71
	1000	56	46
RPMI	-	2	0

表 17

离体实验中对细胞因子分泌的刺激

物质	剂量 (ng/ml)	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)
B11	10,000	181	62.3
	5000	139	61.7
	1000	115	54.5
	500	125	55.8
	100	127	59.8
B13	10,000	583	282
	5000	592	390
	1000	478	327
	500	411	352
	100	302	261
B15	10,000	320	153
	5000	280	126
	1000	209	94.4
	500	183	104
	100	133	51.6
B16	10,000	121	41.0
	5000	114	34.0
	1000	72	19.5
	500	55	17.1
B14	10,000	114	24.6
	5000	87	19.0
	1000	51	10.0
	500	49	19.9
RPMI	-	2	0

表 18

离体实验中对细胞因子分泌的刺激

物质	剂量 (ng/ml)	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)
B2	10,000	100	22.2
	5000	75	14.0
	1000	38	9.0
	500	28	8.3
	100	6.1	3.5
B1	10,000	20	10.0
	5000	11	5.5
	1000	2.8	4.0
	500	1.1	0
	100	0	0
B7	10,000	61	14.7
	5000	44	8.3
	1000	30	4.3
	500	27	3.8
	100	10	5.1
B4	10,000	232	66.9
	5000	173	66.5
	1000	130	32.0
	500	116	19.3
	100	89	65.2
B3	10,000	433	151.9
	5000	316	200.4
	1000	229	75.1
	500	212	67.9
	100	130	35.9
B5	10,000	142	24.1
	5000	99	23.0
	1000	96	10.5
	500	59	16.9
	100	33	5.4
RPMI	-	2	0

表 19

离体实验中对细胞因子分泌的刺激

物质	剂量 (ng/ml)	TNF- α (pg/ml)	—	IL-1 β (pg/ml)
B17	10,000	2.8		0
	5000	2.2		0
	1000	2.6		0.2
B8	10,000	2.8		0
	5000	0.7		0.5
	1000	1.5		0.1
B22	10,000	287		17
	5000	11		1.9
	1000	2.2		0.1
B28	10,000	198		13
	5000	197		13
	1000	139		8
B12	10,000	1017		135
	5000	957		153
	1000	863		175
RPMI	-	3.9		0

试验例 7

细胞毒性 T-淋巴细胞反应的刺激

通过细胞毒性试验检测给予本发明主题的 AGP 化合物和蛋白质抗原后对细胞毒性 T-淋巴细胞反应的诱导作用。对各组 C57BL/6 小鼠经皮下(腹股沟区)初次免疫接种 25 μ g 配制成 AGP 制剂的卵清蛋白(OVA)。注射体积为 200 μ l。21 天后将每个实验组中的 3 只小鼠处死并取出脾且收集为单细胞混悬液并计数。

将来自实验组的脾细胞(75X10⁶ 个细胞/3-4 ml 培养基)置于 25 cm² T-烧瓶中。接下来向该烧瓶中加入 1.0 ml、5X10⁶/ml 经照射的(20,000 拉德) E. G7(OVA)细胞。使体积达到 10 ml。通过将所述 T-烧瓶竖直地置于 37℃ 和 5% CO₂ 的培养箱中而将培养物维持 4 天。在第 4 天时从烧瓶中回收存活的细胞、用新鲜培养基洗涤 1X、重新悬浮于 5.0 ml 中并计数。

将回收的效应细胞调整至 5X10⁶ 个活细胞/ml 并以一式三份的形式将 100 μ l 体积连续稀释入 96 孔圆底平板(Corning 25850)的各孔中、使用 100 μ l /孔培养基作为稀释剂。接下来以 1X10⁵ 个细胞/ml 将 100 μ l 体积的 ⁵¹Cr-标记的(参见下文)靶物[E. G7(OVA)-卵清蛋白基因转染的 EL-4 细胞系]加入到各孔中。自发释放(SR)的孔中含有 100 μ l 的靶物和 100 μ l 的培养基。释放最多(MR)的孔中含有 100 μ l 的靶物和 100 μ l 的洗涤剂(2% Tween 20)。效应物/靶物(E/T)比为 50:1、25:1、12.5 :1。以 400 Xg 离心平板并在 37℃ 和 5% CO₂ 下保温 4 小时。在保温后使用 Skatron Supernatant Collection System 收集孔中的上清液。

$$\text{特异性裂解百分比} = 100 \times \left[\frac{(\text{实验释放} - \text{SR})}{(\text{MR} - \text{SR})} \right]$$

如下用 ⁵¹Cr(铬酸钠)标记靶细胞 E. G7 (OVA)。在 15 ml 锥形管内的 1.0 ml 总体积中混合了 5 X 10⁶ 个靶细胞和 250 μ Ci ⁵¹Cr。在 37℃ 下的水浴中将细胞混悬液保温 90 分钟,同时每隔 15 分钟缓慢搅拌一次。在保温后通过离心和用 15 ml 体积的培养基洗涤来洗涤标记的细胞。在

第三次离心后将细胞重新悬浮于 10 ml 新鲜培养基中并使之在室温下放置 30 分钟且然后离心。最终将细胞以 1×10^5 个细胞/ml 重新悬浮于培养基中。

按照上述步骤免疫接种本发明主题 AGPs 的小鼠对 OVA 抗原表现出如表 20 中所示的细胞毒性 T-淋巴细胞反应。

表 20

经处理的细胞的细胞毒性 T-淋巴细胞反应

物质	% 细胞毒性		
	E:T		
	50:1	25:1	12.5:1
B11	14	8	5
B12	13	7	4
B13	28	15	10
B15	58	49	30
B16	42	29	20
B17	39	26	15
B18	36	20	15
B14	45	36	25
B28	28	15	9
B27	17	9	5

物质	% 细胞毒性		
	E:T		
	50:1	25:1	12.5:1
B1	34	24	15
B3	65	54	42
B4	72	66	60
B5	28	18	11
B7	57	44	29
B8	36	20	15
B10	65	56	38
B9	65	55	36
B6	54	41	37
B2	21	12	6
B25	65	55	43
B26	14	8	4
B22	58	42	31
B21	38	26	15
B19	59	42	33
B20	36	25	13
B29	16	9	5
B31	19	11	7
B35	9	5	2
B36	13	7	4
B37	12	8	6
B38	38	25	16
B39	33	21	13
B40	20	12	8
B43	19	12	6
载体对照	<10		

试验例 8

针对破伤风类毒素的血清和粘膜抗体滴度的产生

本发明主题的 AGPs 在通过鼻内给药时引起了对纯化破伤风类毒素的血清和粘膜免疫反应。对各组 BALB/c 小鼠经鼻内初次免疫接种(1°)10 μ g 破伤风类毒素(TT) + 20 μ g 配制成 20 μ l 体积的含水制剂(AF)的 AGP。14 天后给予第二次免疫接种(2°)且在 14 天后给予与第一次和第二次相同组成的第三次免疫接种(3°)。在第 21 天(2°后第 7 天)和第 28 天(3°后第 10 天)以及第 48 天(3°后第 20 天)对小鼠取血。在 2°后第 7 天和 3°后第 7 天取阴道洗涤物/粪便提取物样品。通过标准 ELISA 方法对血清和洗涤样品测试抗-TT 抗体。这些试验结果如下面的表 21 和 22 中所示。

所述的含水制剂包括本发明主题的 AGPs 和一种或多种表面活性剂。用于含水组合物的表面活性剂包括糖脱氧胆酸盐、脱氧胆酸盐、鞘磷脂、鞘氨醇、磷脂酰胆碱、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、L- α -磷脂酰乙醇胺和 1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-胆碱磷酸或其混合物。用于本实施例的含水制剂包括表面活性剂 1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-胆碱磷酸(DPPC)且如下制备：简单地说，用乙醇制备 4 mg/ml 的 DPPC 溶液。将该乙醇溶液的等分部分加入到干燥的 AGPs 中并缓慢涡旋至使 AGP 湿润。通过缓慢向小瓶中吹入过滤的氮气流而除去乙醇。加入注射用水并在 60℃ 下将混悬液超声处理 10 分钟至澄清。所得的含水制剂含有约 118 μ g/ml DPPC、具有约 70nm 的颗粒并将其进行无菌过滤。

表 21

经处理小鼠的抗破伤风类毒素抗体滴度

物质	抗破伤风类毒素滴度 ⁻¹							
	阴道洗涤物				粪便提取物			
	IgG		IgA		IgG		IgA	
	2°	3°	2°	3°	2°	3°	2°	3°
B25	800	6400	6400	6400	50	200	3200	6400
B15	400	800	6400	6400	50	100	6400	12,800
B19	200	400	1600	3200	25	25	3200	6400
B4	1600	400	1600	6400	25	50	3200	12,800
B5	3200	800	3200	3200	50	100	3200	6400
B3	1600	1600	6400	6400	50	100	3200	6400
B22	400	800	800	3200	25	50	1600	6400
PBS	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25
正常血清	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25

表 22

经处理动物的血清抗破伤风类毒素抗体滴度

	抗破伤风类毒素滴度 ⁻¹								
	血清收集物								
	IgG ₁			IgG _{2a}			IgA		
	d21	d38	d48	d21	d38	d48	d21	d38	d48
B25	1M*	8M	8M	512K	4M	4M	12.8K	102.4K	102.4K
B15	2M	8M	8M	512K	1M	2M	12.8K	51.2K	25.6K
B19	2M	4M	4M	64K#	256K	128K	6.4K	25.6K	12.8K
B4	1M	8M	8M	1M	2M	2M	25.6K	102.4K	102.4K
B5	2M	8M	8M	512K	2M	2M	25.6K	102.4K	102.4K
B3	512K	4M	8M	512K	2M	2M	12.8K	51.2K	51.2K
B22	1M	2M	4M	64K	256K	256K	6.4K	25.6K	25.6K

	抗破伤风类毒素滴度 ⁻¹								
	血清收集物								
	IgG ₁			IgG _{2a}			IgA		
	d21	d38	d48	d21	d38	d48	d21	d38	d48
PBS	1,000	16K	16K	1,000	1,000	1,000	200	200	200
C	200	200	200	100	100	100	200	200	200

*M=10⁶, #K=10³, C=正常血清

鼻内给予用 AGP-AF 配制的 TT 诱发了针对该抗原的抗原特异性免疫反应 (表 22) 和粘膜免疫反应 (表 21)。

试验例 9

通过鼻内给药刺激对乙型肝炎表面抗原的免疫反应

经鼻内给予了乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 与本发明主题的化合物的小鼠产生了针对该抗原的血清 IgG 和 IgA 滴度。在阴道洗涤物中检测到了分泌的 IgA 且通过细胞毒性试验检测了对细胞毒性 T-淋巴细胞反应的诱导作用。

对各组 BALB/c 小鼠经鼻内初次免疫接种 (1°) 2.5 μg HBsAg + 10 μg AGP-AF 的 20 μl 体积溶液。AGP-AF 如试验例 8 中所述制备。21 天后对小鼠经鼻内第二次免疫接种 (2°) 7.5 μg HBsAg + 10 μg AGP-AF 的 20 μl 体积溶液。在第二次免疫接种后 28 天给予与第二次免疫接种相同组成的第三次免疫接种 (3°)。在第二次免疫接种后 16 天 (2° 后第 16 天) 和第三次免疫接种后 8 天 (3° 后第 8 天) 进行试验以便检测细胞毒性 T-淋巴细胞活性。在第二次免疫接种后 22 天 (2° 后第 22 天) 和第三次免疫接种后 21 天 (3° 后第 21 天) 评价血清和粘膜抗体滴度。通过标准 ELISA 方法进行抗体测定。如试验例 7 中所述进行细胞毒性测定。来自本实验的结果如表 23-26 中所示。

表 23

经处理的细胞的细胞毒性 T-淋巴细胞反应

物质	% 细胞毒性(2° 后第 16 天)			
	E/T			
	50:1	25:1	12.5:1	6.25:1
B25	36	20	13	9
B15	13	5	4	4
B19	26	20	11	9
B4	28	17	9	7
B3	43	26	17	11
B5	43	30	20	11
B22	33	21	15	8
载体	3	2	0	0
正常细胞	3	3	0	0

表 24

经处理的细胞的细胞毒性 T-淋巴细胞反应

物质	% 细胞毒性(3° 后第 8 天)			
	E/T			
	50:1	25:1	12.5:1	6.25:1
B25	30	19	13	8
B15	56	42	25	16
B19	71	54	33	24
B4	23	15	9	5
B3	54	45	32	20
B5	44	30	19	12

物质	抗 HBsAg 滴度 ^{-1*}		
	IgG ₁	IgG _{2a}	IgA
B4	1000K	2000K	25,600
B3	1000K	1000K	25,600
B5	500K	1000K	12,800
B22	500K	500K	12,800
载体	<2K	<2K	<200

* 3° 后第 21 天, # K=10³

对各组 BALB/c 小鼠经鼻内免疫接种 2.5μg HBsAg + 10μg AGP-AF 并在 21 天后经鼻内加强接种 7.5μg HBsAg + 10μg AGP-AF。在加强接种后 10 天收集阴道样品并检测抗-HBsAg 抗体。本试验的结果如表 27 中所示。

表 27

物质	阴道洗涤物 抗 HBsAg 滴度 ⁻¹	
	IgG	IgA
B25	100	800
B15	50	3200
B19	<50	400
B4	1600	6400
B3	800	1600
B5	1600	1600
B22	100	800
载体	<50	<50

鼻内给予 HBsAg 与本发明主题的化合物刺激了针对该抗原的体液和细胞免疫反应。鼻内免疫接种用 AGP-AF 配制的抗原诱发了细胞毒性

物质	% 细胞毒性(3°后第 8 天)			
	E/T			
	50:1	25:1	12.5:1	6.25:1
B22	22	13	7	5
载体	5	2	1	1
正常细胞	7	5	3	5

表 25

经处理小鼠的抗肝炎抗体滴度

物质	抗 HBsAg 滴度 ^{-1*}		
	IgG ₁	IgG _{2a}	IgA
B25	256K#	500K	3,200
B15	256K	500K	6,400
B19	500K	64K	1,600
B4	500K	1000K	6,400
B3	1000K	500K	6,400
B5	256K	500K	3,200
B22	256K	64K	1,600
载体	<2K	<2K	<200

* 2°后第 22 天, # K=10³

表 26

经处理小鼠的抗肝炎抗体滴度

物质	抗 HBsAg 滴度 ^{-1*}		
	IgG ₁	IgG _{2a}	IgA
B25	1000K#	1000K	25,600
B15	2000K	2000K	25,600
B19	2000K	500K	12,800

T-淋巴细胞反应(表 23-24)和抗原特异性体液(表 25 和 26)和粘膜(表 27)免疫反应。

试验例 10

对流感的保护性免疫反应的产生

经鼻内免疫接种含有血凝素抗原和本发明主题的 AGPs 的 FLUSHIELD 流感疫苗的小鼠产生了可在阴道洗涤物中回收的 IgG 和 IgA。另外防止了免疫接种小鼠随后受到流感的攻击。

以 21 天间隔经鼻内对 ICR 小鼠免疫接种 3 次含有 0.3 μ g 血凝素抗原(HA)+10 μ g AGP-AF 或重组大肠杆菌热不稳定肠毒素(LT)的 FLUSHIELD 流感疫苗(Wyeth-Lederle)。如试验例 8 中所述制备 AGP-AF。以 1 μ g/ml 将 LT 溶于盐水。在第二次和第三次免疫接种后 14 天收集阴道洗涤物。在第三次免疫接种后 14 天收集血清样品。在最后的免疫接种后 35 天用 10 LD₅₀ (致死剂量 50)的传染性流感 A/HK/68 攻击小鼠并监测死亡率。表 28 和 29 给出了通过用于检测阴道洗涤物和血清中抗流感抗体滴度的标准 ELISA 方法进行试验的结果。

表 28

阴道洗涤物样品					
物质	IgA		IgG		预防百分比
	第二次	第三次	第二次	第三次	
未免疫	<20	<20	<20	<20	22
载体	80	160	160	160	50
B25	1280	1280	640	2560	100
B19	320	5120	1280	1280	70
B3	1280	2560	1280	1280	100
B22	640	2560	320	640	75
LT	2560	2560	2560	640	100

表 30

经处理的细胞的细胞毒性 T-淋巴细胞反应

物质	天	% 细胞毒性 E:T			
		50:1	25:1	12.5:1	6.25:1
B25	1° 后第 17 天	27	12	9	5
B19		74	48	34	24
B3		28	15	9	5
B22		42	24	17	7
载体-SE		32	16	9	6
	2° 后第 16 天				
B25		49	28	20	13
B19		73	62	42	31
B3		81	47	32	22
B22		78	69	58	39
载体-SE		38	23	14	8

对 HBsAg 的抗体滴度的结果如表 31 中所示。在用 HBsAg 或在 HBsAg S-抗原区残基 110-137 中发现的 B-细胞表位的 28 个氨基酸肽(p72)包被的 ELISA 平板上滴定来自 2° 后第 28 天所取血的血清。

表 31

经处理小鼠的抗 HBsAg 滴度

物质	抗 HBsAg 滴度 ⁻¹			
	HBsAg		p72-肽	
	IgG ₁	IgG _{2a}	IgG ₁	IgG _{2a}
B25	2048 K*	2048 K	128 K	64 K
B19	1024 K	1024 K	64 K	128 K
B3	512 K	1024 K	16 K	128 K
B22	1024 K	1024 K	128 K	128 K
载体-SE	1024 K	64 K	64 K	4 K

表 29

物质	血清滴度				预防百分比
	总 IgG	IgG ₁	IgG _{2a}	IgG _{2b}	
未免疫	<400	<400	<400	<400	22
载体	102,400	256,000	12,800	102,400	50
B25	≥819,200	102,400	819,200	≥819,200	100
B19	819,200	51,200	102,400	819,200	70
B3	≥819,200	51,200	819,200	≥819,200	100
B22	819,200	51,200	102,400	819,200	75
LT	≥819,200	≥819,200	≥819,200	≥819,200	100

这些数据证明当经鼻内给予 AGPs 的 AF 溶液时, 它可起粘膜佐剂的作用, 从而导致在粘膜部位产生 IgA。还诱使对通过粘膜入侵的上呼吸道病原体的预防作用增加。

试验例 11

由稳定的乳剂制剂产生免疫反应

本发明主题的 AGP 化合物在以稳定乳剂(SE)的形式给药时刺激了体液和细胞毒性 T-淋巴细胞反应。以 25μg 的剂量水平测试 AGPs 以便辅助乙型肝炎表面抗原(HBsAg)诱发 CTL 和抗体反应。在第 0 天和第 21 天时经皮下给 BALB/c 小鼠免疫接种 2.0 μg HBsAg + 25μg 的 AGP/SE。如试验例 7 中所述进行 CTL 测定。将 AGPs 配制成稳定的乳剂(SE)并将该组合物命名为 AGP-SE。含有 10% v/v 角鲨烯、0.091% w/v PLURONIC-F68 嵌段共聚物、1.909% w/v 卵磷脂酰胆碱、1.8% v/v 甘油、0.05% w/v α生育酚、10% 磷酸铵缓冲液和 78.2% v/v 注射用水的稳定乳剂的制备方法对本领域技术人员而言应是显而易见的。将该乳剂匀化至颗粒大小≥0.2μm。表 30 表明本发明主题的 AGPs 诱发了对 HBsAg 的细胞毒性 T-淋巴细胞反应。

AGP-SE 处理的小鼠表现出对乙型肝炎表面抗原的体液 (表 31) 和细胞毒性 T-淋巴细胞 (表 30) 反应。有意义的是 AGP-SE 处理的小鼠在血清中显示出通过两种抗原检测的强烈的 IgG_{2a} 特异性抗体滴度, 而载体-SE 仅诱发了一种适当的 IgG_{2a} 反应。

试验例 12

对血清抗体滴度的刺激

如试验例 3 中所述评价 AGP 化合物 B31 提高对流感病毒疫苗的血清抗体滴度的能力。简单地说, 对 ICR 小鼠 (10 只/组) 给予含有 1 HAU 福尔马林灭活流感 A/HK/68 + 或 - 25 μ g 用 0.2% TEoA/水溶液配制的 RC-523。此外, 用致死剂量的传染性流感病毒攻击小鼠以便评价预防保护作用。将本实验的结果列在表 32 中。

表 32

物质	抗流感血清滴度				预防作用
	IgG	IgG1	IgG2a	IgG2b	
未免疫	200	50	50	100	0
载体	200	200	50	200	25
B31	3200	1600	400	1600	70

试验例 13

诱导型氧化氮合成活性

对本发明相应 AGP 化合物的筛选包括对与巨噬细胞活化相关的诱导型氧化氮合成酶或 iNOS 活性 (NOS ED₅₀) 的评价, 且由此可以将其作为免疫刺激的量度来观察。就本试验而言, 收集小鼠腹膜流出物细胞并分离粘着的细胞群。使粘着的细胞与不同浓度的可溶性 AGP 化合物接触并测定产生的诱导和分泌的亚硝酸盐。NOS ED₅₀ 值代表刺激半数亚硝酸盐释放最高量所需的 AGP 浓度且相当于刺激巨噬细胞所需的浓度。

还评价了 AGP 化合物诱发家兔体内发热反应的倾向。用 10% (v/v) 乙醇/水溶液将各化合物配制成 100 mg/ml, 然后用 D₅W 将它们稀释成所需的浓度。以 3 ml/kg 体重将该物质注入家兔。记录家兔体核温度的升

高值。将诱导 3 只家兔累计升高大于或等于 1.5 度的化合物看作是致热性的。

将这些实验的结果列在表 33 中。

表 33

#	NOS ED ₅₀ (ng/ml)			致热性		
				总升高℃, 3 只家兔		
				2.5 ug/kg	10 ug/kg	MPD ug/kg
	实验 1	实验 2	实验 3			
B1	150			0	0.1	
B2	9			0.9	3.6	2.5-5
B3	4			0	4.2	
B4	5			0.1	3.4	
B5	5		3	0.1	4.1	
B6		1.8		2.1	---	
B7	21			0	4	
B8	≥3000			3.6	---	
B9	16			0	3.1	
B10	4			0	5.8	
B11	3			4.2	--	0.3-0.6
B12			0.9	2.5	---	
B13	0.1			3	---	
B14	0.25			2.1	---	
B15	0.06			4.2	3.1	<0.06
B16	0.46			1.8	---	
B17			32.5	2.1	3.4	
B18	≥3000			4.3	---	
B19	100			0	0.3	
B20	0.5		1.5	0.3	4.6	
B21	8			0.5	2	
B22			51	1.7	---	
B23		159		0.3	0.3	
B24	20		17	0.9	2.4	2.5-5
B25	0.3		0.5	0.6	4.2	
B26	0.67			0.2	1.7	5
B27		1.65		1.8	3.9	
B28			0.3	4.2	---	
B29	≥10,000			0.2	0.7	

#	NOS ED ₅₀ (ng/ml)			致热性		
				总升高℃, 3只家兔		
				2.5 ug/kg	10 ug/kg	MPD ug/kg
	实验1	实验2	实验3		--	
B30				4.3	---	
B31	≥10,000			0.5	1.6	
B32						
B34	≥10,000			3.5	2.8	
B35			86	3.2	---	
B36			1.8	3.4	---	
B37			1.1	2.2	--	
B38			≥3000	3.6	--	
B39			≥3000	3.2	--	
B40			≥3000	3.8	---	
B41				6.3	---	
B42				5.2	---	
B43			380	3.8	---	

可以理解的是上述实施例仅用于解释本发明。可以对所用的组合物和/或方法做一定程度的修改且仍然可以实现本发明的目的。认为这类修改属于本发明要求保护的范畴。

参考文献

Bulusu, M. A. R. C., Waldstätten, P., Hildebrandt, J., Schütze, E. 和 G. Schulz (1992): “脂 A 的环状类似物: 合成和生物活性” (Cyclic Analogues of Lipid A : Synthesis and Biological Activities) - 《药物化学杂志》 (J. Med. Chem.) 35 : 3463-3469.

Ikeda, K., Asahara, T. 和 K. Achiwa (1993): “脂 A 具生物活性的 N-酰化的含 L-丝氨酸的 D-氨基葡萄糖苷-4-磷酸酯衍生物的合成” (Synthesis of Biologically Active N-acylated L-serine-Containing Glucosaminide-4-Phosphate Derivatives of Lipid A) - 《化学药物简报》 (Chem. Pharm. Bull.) 41 (10) : 1879-1881.

Miyajima, K., Ikeda, K. 和 K. Achiwa (1996): “脂 A 和相关化合物 XXXI. 脂 A 具生物活性的 N-酰化的含 L-丝氨酸的 D-氨基葡萄糖苷 4-磷酸酯衍生物的合成” (Lipid A and Related Compounds XXXI. Synthesis of Biologically Active N-Acylated L-Serine-Containing D-Glucosaminide 4-Phosphate Derivatives of Lipid A) - 《化学药物简报》 (Chem. Pharm. Bull.) 44 (12) : 2268-2273.

Shimizu, T., Akiyama, S., Masuzawa, T., Yanagihara, Y., Nakamoto, S., Takahashi, T., Ikeda, K. 和 K. Achiwa (1985): “化学合成的脂 A 的单糖类似物在小鼠体内的抗肿瘤活性和生物作用” (Antitumor Activity and Biological Effects of Chemically Synthesized Monosaccharide Analogues of Lipid A in Mice) - 《化学药物简报》 (Chem. Pharm. Bull.) 33(10) : 4621-4624.

Shimizu, T., Sugiyama, K., Iwamoto, Y., Yanagihara, Y., Asahara,

T., Ikeda, K. 和 K. Achiwa (1994): “化学合成的 N-酰化的丝氨酸连接的脂 A 类似物在小鼠体内的生物活性” (Biological Activities of Chemically Synthesized N-acylated Serine-linked Lipid A Analog in Mice) - 《国际免疫药理学杂志》 (Int. J. Immunopharmac.), 16 (8) : 659-665.

Shimizu, T., Iida, K., Iwamoto, Y., Yanagihara, Y., Ryoyama, K., Asahara, T., Ikeda, K. 和 K. Achiwa (1995) : “合成的脂 A 类似物连接的 N-酰化的丝氨酸的生物活性和抗肿瘤作用” (Biological Activities and Antitumor Effects of Synthetic Lipid A Analogs Linked N-Acylated Serine) - 《国际免疫药理学杂志》 (Int. J. Immunopharmac.) 17 (5) : 425-431.