



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I537245 B

(45) 公告日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 11 日

(21) 申請案號：101126408

(22) 申請日：中華民國 101 (2012) 年 07 月 20 日

(51) Int. Cl. : *C07C63/06 (2006.01)* *C07C69/78 (2006.01)*
 C07C229/08 (2006.01) *C07C235/42 (2006.01)*
 A61K31/166 (2006.01) *A61K31/192 (2006.01)*
 A61K31/221 (2006.01) *A61K31/235 (2006.01)*
 A61P1/00 (2006.01) *A61P29/00 (2006.01)*
 A61P37/00 (2006.01)

(30) 優先權：2011/07/22 美國 61/510,675
 2012/05/24 美國 61/651,155

(71) 申請人：維南提亞有限公司 (愛爾蘭) VENANTIUS LIMITED (IE)
 愛爾蘭

(72) 發明人：法藍基 尼爾 FRANKISH, NEIL (GB)；雪瑞登 海倫 SHERIDAN, HELEN (IE)

(74) 代理人：陳長文

(56) 參考文獻：

US 6,300,376B1

Sheridan, H. et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2009, 19:5927-5930

審查人員：蔡雨靜

申請專利範圍項數：3 項 圖式數：22 共 161 頁

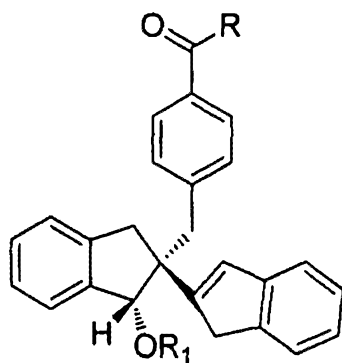
(54) 名稱

用於治療自體免疫發炎疾病之化合物

COMPOUNDS FOR USE IN THE TREATMENT OF AUTOIMMUNE INFLAMMATORY DISEASE

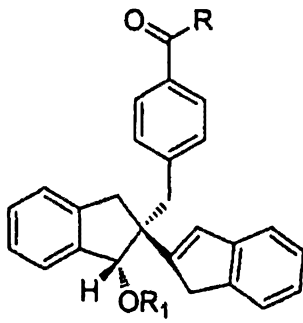
(57) 摘要

本發明揭示特別用於自體免疫發炎疾病及尤其治療發炎性腸病之化合物，其具有下式：



其中 R 係選自以下相同或不同之一者或多者：氫、羥基、視情況經取代之烷基、視情況經取代之芳基、烷氧基、芳氧基、硫醇，及視情況經取代之胺基，及其中 R₁ 係選自以下相同或不同之一者或多者：氫、乙醯基、視情況經取代之烷基、視情況經取代之芳基，及選自白胺酸、纈胺酸、異白胺酸及甘胺酸之胺基酸。

Compounds particularly for use in an autoimmune inflammatory disease and especially the treatment of inflammatory bowel disease have the formula:



wherein R is selected from one or more of the same or different of hydrogen, hydroxyl, optionally substituted alkyl, optionally substituted aryl, alkoxy, aryloxy, thiol, and optionally substituted amino, and wherein R₁ is selected from one or more of the same or different of hydrogen, acetyl, optionally substituted alkyl, optionally substituted aryl, and an amino acid selected from leucine, valine, isoleucine, and glycine.

指定代表圖：

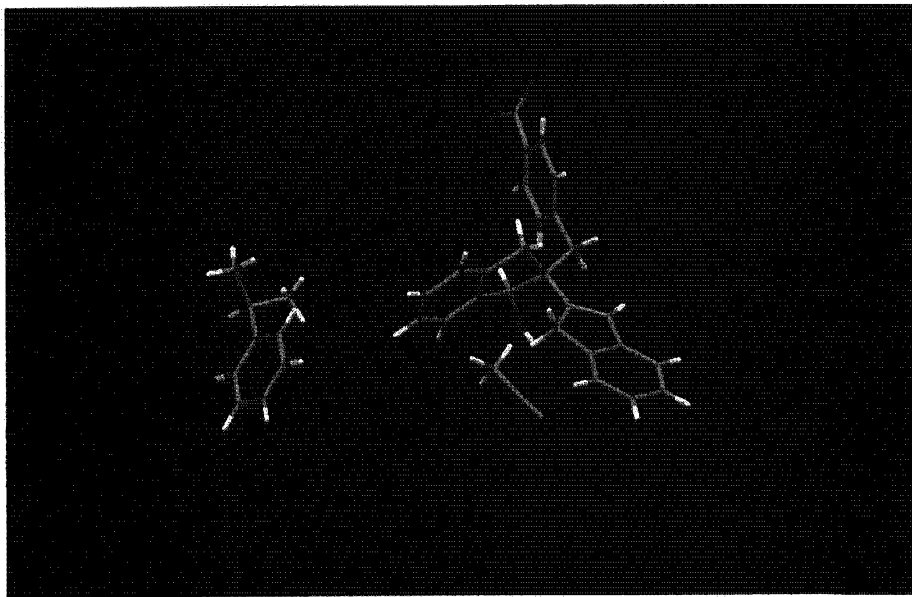
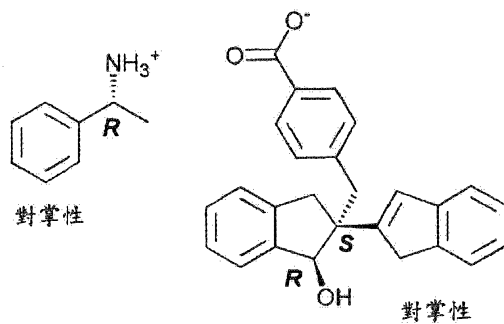
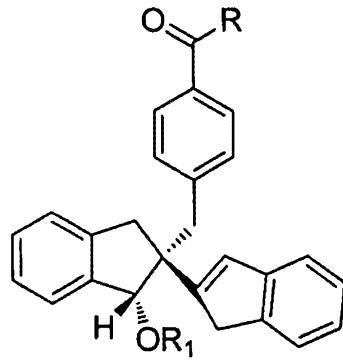


圖 1

特徵化學式：

I537245

TW I537245 B



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於特別用於自體免疫發炎疾病及尤其治療發炎性腸病之化合物。

【先前技術】

細胞激素可藉由各種細胞群體產生，且已證實可加強或限制對病原菌之免疫反應，並影響自體免疫反應。已將細胞激素之一家族(其使用常見受體 γ 鏈(cc)(一種介白素(IL)-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15及IL-21之受體組分))一般地定義為生長及存活因子。

IL-2生產可藉由促進CD4+ Th1、CD4+ Th2及CD8+ CTL效應細胞之增殖及產生而誘導免疫反應。諸多治療自體免疫疾病及器官移植排斥所用之免疫抑制藥物(諸如皮質類固醇)及免疫抑制藥物(環孢素、他克莫司(tacrolimus))藉由抑制抗原活化T細胞之IL-2之生產而起作用。其他的藥物(西羅莫司(sirolimus))阻斷IL-2R信號傳導，從而防止抗原選擇性T細胞之單株擴增及發揮作用[參考：Opposing functions of IL-2 and IL-7 in the regulation of immune responses Shoshana D. Katzman, Katrina K. Hoyer, Hans Doms, Iris K. Gratz, Michael D. Rosenblum, Jonathan S. Paw, Sara H. Isakson, Abul K. Abbas. Cytokine 56 (2011) 116-121]。

相反，IL-2可藉由促進自然(胸腺)調節性T-細胞(Tregs)之存活及功能，促進誘導(周邊)Tregs之產生，並抑制

CD4+ Th17效應細胞之產生而抑制免疫反應[參考：IL-2 and autoimmune disease. Anneliese Schimpl, A., Berberich, I, Kneitz, B., Krämer, S., Santner-Nanan, B., Wagner, S., Wolf, M., Hünig, T. Cytokine & Growth Factor Reviews 13 (2002) 369-378]。介白素-2/IL-2R缺陷隨時間之推移將導致多器官發炎及多種特異性自體抗體之形成。取決於遺傳背景，死亡將在幾週至幾個月內發生，多數死於自體免疫溶血性貧血或發炎性腸病(IBD)[參考：Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I. Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. Cell 1993; 75:253-61]。

已顯示，IL-2信號傳導在免疫反應之起始及調節方面很重要。在該等雙重及對立作用中，IL-2起平衡免疫反應之作用，既促進免疫細胞活化又推動後續減低。其增強或抑制受IL-2介導之訊號之潛在臨床應用係很顯著的，且包括癌症、自體免疫發炎疾病、器官移植及HIV。

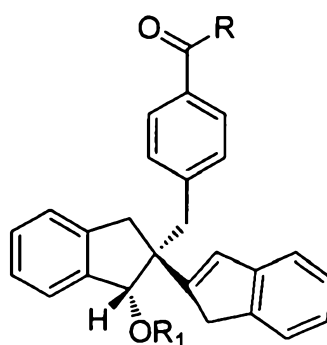
發炎性腸病(IBD)係一種自體免疫發炎疾病，包括兩種先天性的發炎性疾病：潰瘍性結腸炎(UC)及克隆氏病(Crohn's disease)(CD)。UC與CD間最大的區別在於發炎腸組織之範圍。在CD中炎症係不連續分段的，稱為局部性腸炎，而UC為淺表性炎症，自直腸近端地及連續地延伸。目前，IBD之確切病因不為人所知。該疾病似乎與黏膜對腸上皮細胞感染之過度免疫反應有關，因為促炎分子與免疫調節分子並不平衡。IBD之遺傳模式顯示，病理之複雜遺傳性組分可包括若干組合基因突變。隨著對病理機

制的理解增進，當前仍無IBD之專一性診斷測試，對應測試方法亦一樣。IBD之治療包括誘導及保持緩解。IBD患者可藉由使用5-胺基水楊酸酯而保持緩解。但是，雖然在UC中使用胺基水楊酸酯提供顯著益處，既誘導輕度至中度疾病之緩解，又防止復發，但該等藥物維持CD之緩解之有效性並不可靠，且不再建議使用。治療活動性疾病主要依靠皮質類固醇，常用於使UC及CD患者在有限時間內重回緩解，雖然設計用於局部投與之布地奈德(budesonide)之全身性吸收受限制，但在保持緩解方面並無益處。替代物，諸如免疫抑制藥物硫唑嘌呤及巯基嘌呤，與甲胺喋呤及環孢素之功效有限，且會引發嚴重副作用。抗-TNF α 抗體，諸如英利昔單抗(unfliximab)及阿達姆單抗(adalimumab)，可用於彼等對標準免疫抑制療法不反應之患者。但是，由於其特定表現型或產生自體抗體，故諸多患者對抗-TNF α 療法不反應。

【發明內容】

按照本發明，提供用於治療自體免疫發炎疾病及特定包括克隆氏病及潰瘍性結腸炎之發炎性腸病之化合物。

在本發明之一態樣中，提供一種具有相對立體化學及下式之化合物：



其中R係選自以下相同或不同之一者或多者

氫，

羥基，

視情況經取代之烷基，

視情況經取代之芳基，

烷氧基，

芳氧基，

硫醇，及

視情況經取代之胺基，

及其中R₁係選自以下相同或不同之一者或多者

氫，

乙醯基，

視情況經取代之烷基，

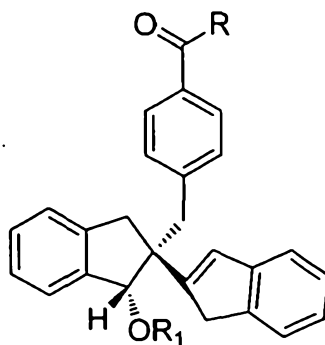
視情況經取代之芳基，及

一種選自白胺酸、纈胺酸、異白胺酸及甘胺酸之胺基酸，

在所有情況中，本文化合物包括其醫藥上可接受之鹽、

酯、醯胺、溶劑化物及前藥。

本發明亦提供一種具有絕對立體化學及下式之化合物：



其中R係選自以下相同或不同之一者或多者

氫，

羥基，

視情況經取代之烷基，

視情況經取代之芳基，

烷氧基，

芳氧基，

硫醇，及

視情況經取代之胺基，

及其中R₁係選自以下相同或不同之一者或多者

氫，

乙醯基，

視情況經取代之烷基，

視情況經取代之芳基，及

一種選自白胺酸、纈胺酸、異白胺酸及甘胺酸之胺基酸。

在一實施例中，烷基於直鏈或分支鏈中包含1至10個碳原子，且可為飽和或不飽和，或含有3至8個碳原子之環烷基基團，其可為飽和或不飽和的。

在一些實施例中，烷基經以下相同或不同之一者或多者取代：烷基、烷氧基、烷胺基、醯胺基、胺基、芳基、芳烷基、芳氧基、羧基、鹵基、羥基、腈、硝基或側氧基基團。

在一實施例中，芳基經以下相同或不同之一者或多者取代：烷基、烷氧基、烷胺基、醯胺基、胺基、酰、芳基、

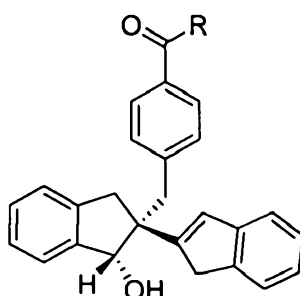
芳烷基、芳氧基、羧基、鹵基、羥基、腓、硝基或側氧基基團。

在一實施例中，胺基經以下相同或不同之一者或多者取代：烷基、羥烷基、芳基及經取代之芳基。在一些情況中，胺基係由經OH、NH₂及COOH之一者或多者取代之芳基取代。

在一實施例中，R為OH。

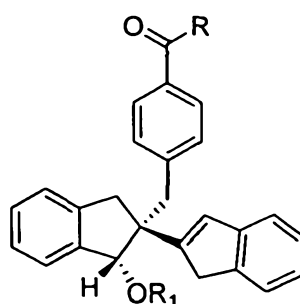
在一實施例中，R₁為H。

本發明亦提供具有如下式絕對立體化學及下式之化合物



其中R係選自：OH、OCH₃、OCH₂CH₃、OCH₂CH₂CH₃、NH₂、NHCH₂CH₂OH、NHCH₃、N(CH₃)₂、NH(4-OH-3-苯甲酸)。

亦提供具有絕對立體化學及下式之化合物



其中R¹為H或白胺酸，而R係選自：OH、OCH₃、

OCH_2CH_3 、 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 NH_2 、 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 NHCH_3 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{NH}(4\text{-OH-3-苯甲酸})$ 。

在一些態樣中，R可選自以下相同或不同之一者或多者：H、羥基、烷氧基、烷羰基、芳氧基、酰、經取代之酰、胺基、經取代之胺基、醯胺、烷胺基、硝基、亞硝酸鹽、腈、單及聚苯甲酸芳基基團、經取代之芳基基團、硫醇、硫代脲基(thioureyl)、苯硫醇基團、磺酸基團、亞砷基團、砷基、含1至10個碳原子之烷基或含3至8個碳原子之環烷基基團(其可為飽和或不飽和)，及經取代之烷基或環烷基(其可為飽和不飽和)。

在一些態樣中， R_1 可選自以下相同或不同之一者或多者：H、烷氧基、烷羰基、芳基、乙醯氧基、含1至10個碳原子之烷基或含3至8個碳原子之環烷基基團(其可為飽和或不飽和)、經取代之烷基，及一種選自白胺酸、纈胺酸、異白胺酸及甘胺酸之胺基酸。

本文亦提供其醫藥上可接受之鹽、酯、醯胺及溶劑化物。

在一實施例中，烷基或環烷基經以下相同或不同之一者或多者取代：鹵基、側氧基、羥基、烷氧基、芳氧基、羰基、胺基、醯胺、烷胺基、硝基、硝酸鹽、亞硝酸鹽、亞硝基基團、腈、雜環基團、芳基、芳烷基，經OH、COOH及/或 NH_2 取代之烷基。

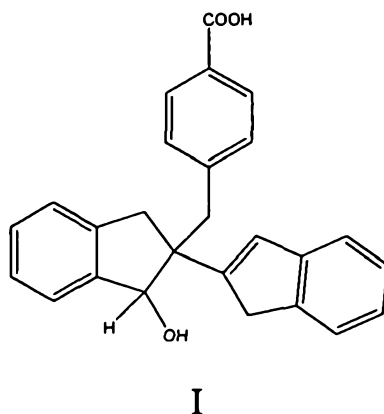
在一實施例中，胺基經以下相同或不同之一者或多者取代：羥基、烷羥基、芳基，及經OH、 NH_2 及COOH之一者

或多者取代之芳基。

在一情況中，酰經芳基或由OH、NH₂及COOH之一者或多者取代之芳基取代。

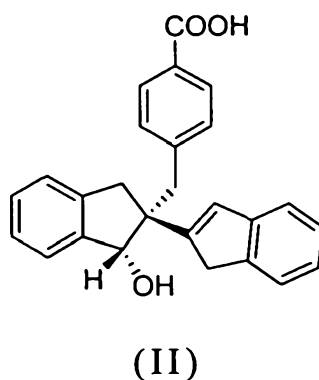
在一實施例中，R為OH，而R₁為H。

本發明亦提供具有結構式I之化合物：



亦提供式(I)化合物(化合物1)之醫藥上可接受之異構體及鹽。

特定言之，本發明提供如結構式II所示之相對立體化學之化合物：

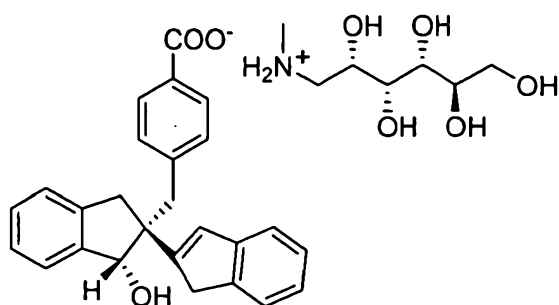


亦提供式(II)化合物(化合物2)之醫藥上可接受之鹽。

活性對映異構體係依據其物理及化學特性，與標準及對掌性HPLC滯留數據來進行光譜鑑別。

已發現，一種特定對映異構體形式對治療IBD尤其有效。

本發明亦提供式III化合物之N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽：



(III, 化合物6)

本發明進一步提供一種醫藥組合物，其包括有效量之本發明化合物及一種醫藥上可接受之載劑。

本發明亦提供一種預防或治療發炎性腸病之方法，其包括向個體投與有效量之本發明化合物。

本發明亦提供一種預防或治療潰瘍性結腸炎之方法，其包括向個體投與有效量之本發明化合物。

亦提供一種預防或治療克隆氏病之方法，其包括向個體投與有效量之本發明化合物。

本發明化合物亦可有效增強或抑制由IL-2介導之信號。臨床用途包括治療癌症、自體免疫發炎病症、器官移植及HIV。

特定言之，本發明提供如下所示例之化合物。

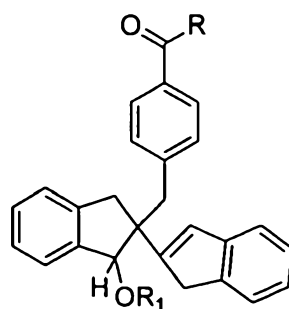
化合物編號	化學名稱
1	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸

2	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
3	4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
4	4-(((1R,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
5	4-(((1S,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
6	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸6-(甲胺基)己烷-1,2,3,4,5-戊醇酯
7	4-(((1S,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸6-(甲胺基)己烷-1,2,3,4,5-戊醇酯
8	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸(S)-1-苯乙基銨
9	4-(((1R,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸(R)-1-苯乙基銨
10	4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯
11	4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯
12	4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯
13	4-(((1'R,2'R)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲醯胺
14	4-(((1'R,2'R)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)-N-(2-羥乙基)苯甲醯胺
15	4-(((1'R,2'R)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)-N-甲基苯甲醯胺
16	4-(((1'R,2'R)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)-N,N-二甲基苯甲醯胺
17	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯

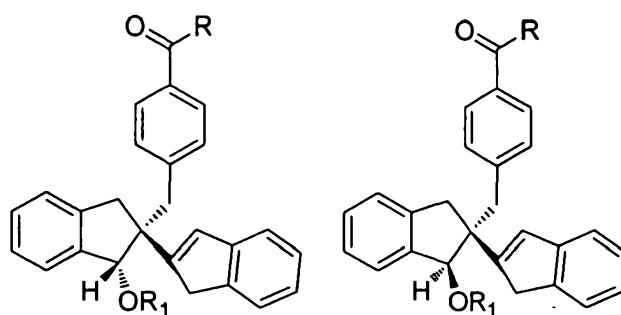
18	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯
19	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯
20	4-(((1'S,2'S)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲醯胺
21	4-(((1'S,2'S)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)-N-(2-羥乙基)苯甲醯胺
22	4-(((1'S,2'S)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)-N-甲基苯甲醯胺
23	4-(((1'S,2'S)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)-N,N-二甲基苯甲醯胺
24	4-(((1'R,2'R)-1'-(L-白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
25	4-(((1'R,2'R)-1'-(L-纈胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
26	4-(((1'R,2'R)-1'-(L-異白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
27	4-(((1'R,2'R)-1'-(甘胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
28	4-(((1'S,2'S)-1'-(L-白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
29	4-(((1'S,2'S)-1'-(L-纈胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
30	4-(((1'S,2'S)-1'-(L-異白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
31	4-(((1'S,2'S)-1'-(甘胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
32	4-(((1R,2R)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯
33	4-(((1R,2R)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯
34	4-(((1R,2R)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯

35	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-(4-胺甲醯基苄基)-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
36	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-{4-[(2-羥乙基)胺甲醯基]苄基}-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
37	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-[4-(甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
38	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-[4-(二甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯(38)
39	4-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯
40	4-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯
41	4-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯
42	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(4-胺甲醯基苄基)-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
43	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-{4-[(2-羥乙基)胺甲醯基]苄基}-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,2'-二節-1-基白胺酸酯
44	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-[4-(甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
45	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-[4-(二甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
46	2-羥基-5-(4-(((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-羥基-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲醯胺基)苯甲酸
47	2-羥基-5-(4-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1-羥基-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲醯胺基)苯甲酸

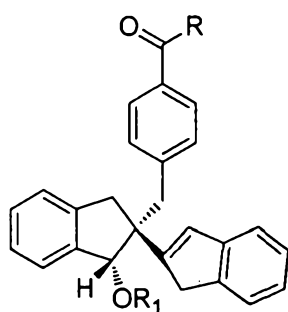
本發明亦提供下式化合物：



該化合物包括兩種非對映異構體



較佳異構體為



本發明進一步提供一種醫藥組合物，其包括任何上述化合物。

活性化合物可以合適劑量存在於用於人類之藥劑中，以達到所需效果。例如，最終劑量可介於0.1至10 mg/kg之間。

可以批量活性化學形式投與本發明化合物。但是，最好以醫藥調配物或組合物形式投與該等化合物。此等調配物可包括一種或多種醫藥上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑。

本發明化合物可以多種不同方式投與。可經口投與該等化合物。經口投與之較佳醫藥調配物包括錠劑、膠囊、囊片、溶液、懸浮液或糖漿。

醫藥調配物可以改良釋放之形式提供，例如定時釋放膠囊或錠劑。

藥劑可經口、非經腸、鼻內、經皮或藉由吸入而投與。

本發明亦提供一種預防或治療發炎性腸病之方法，其包括向個體投與有效量之本發明化合物。

本發明進一步提供一種預防或治療潰瘍性結腸炎之方法，其包括向個體投與有效量之本發明化合物。

本發明亦提供一種預防或治療克隆氏病之方法，其包括向個體投與有效量之本發明化合物。

如本文所述，本發明化合物可視情況經一種或多種取代基取代，諸如上文一般所述，或如藉由本發明之特定類別、亞類別及種類所示。一般言之，術語經取代指使用一種特定取代基置換給定結構中之氫原子。除非另有說明，否則視情況經取代之基團可在該基團之每個可取代位置上具有一取代基，且當在任何給定位置結構中多於一個位置可經多於一種選自特定基團之取代基取代時，每一位置上之取代基可為相同或不同。較佳地，本發明所期望之取代基之組合為彼等導致形成穩定或化學上可行的化合物者。如本文所用之術語「穩定」指當其經受製造、檢測及較佳回收、純化，及用於一種或多種本文所揭示目的之用途之條件時，實質上不發生改變的化合物。在一些實施例中，穩定化合物或化學上可行之化合物係一種在40°C或更低之溫度、不含水分或其他化學反應條件下保持至少一週時，實質上不發生改變之化合物。

本發明係以熟習此項技術者所知且瞭解之術語來說明。為便於參考，定義下文之若干術語，以(但不限於)闡明所定義之術語。

術語烷基指直鏈或分支鏈烴，其較佳具有一至十個碳原子。典型烷基基團為甲基、乙基、丙基、異丙基、異丁基、正丁基、第三丁基、異戊基、正戊基等等。

術語不飽和意指一種具有一個或多個不飽和單元之基團。

術語環烷基指非芳香環狀烴環。示例性環烷基基團包括(但不限於)環丙基、環丁基、環戊基及環己基。術語「環烷基」包括稠環系統，其中(例如)一個環烷基環與一個芳香環融合。

單獨或作為較大基團之部分使用之術語芳基指單環或多環系統，其總共具有五至十四個環組員，其中該系統中至少一個環為芳香環，且其中該系統中每一環包含3至7個環組員。特定言之，術語芳基指苯環或稠合苯環系統，諸如蒽、菲或萘環系統。芳基基團之實例包括苯基、2-萘基、1-萘基等等。

術語烷氧基指基團--OX，其中X為如本文所定義之烷基。

單獨或作為另一基團之部分之術語芳氧基包括任何與氧原子連接之上述芳基基團。

如本文所用，烷氧羰基指基團--C(O)OX，其中X為如本文所定義之烷基。

術語胺基指經氫、烷基、芳基或其組合取代之氮基團。胺基基團之實例包括--NH甲基、--NH₂、--N(甲基)₂、--N苯甲基、--NH苯基、--N乙基甲基等等。「烷胺基」指經至少一個烷基基團取代之氮基團。烷胺基基團之實例包括--NH甲基、--N(甲基)₂、--N丙基甲基、--NH丁基、--N乙基甲基、--N苯甲基等等。「芳胺基」指經至少一個芳基基團取代之氮原子。

術語「鹵素」指氟、氯、溴或碘。

術語「羥基」指基團--OH。

術語「硫醇」指基團--SH。

本發明化合物可以多於一種形式結晶。該特性稱為多態形，而此等多態形式(「多形體」)落在本發明範圍內。多態形通常可隨著對溫度、壓力或兩者變化之反應而發生。結晶方法之不同亦可引起多態形。多形體可藉由各種此項技術中已知之物理特性而區分，諸如x-射線繞射圖、溶解度及熔點。

本文所述之若干化合物可作為立體異構體而存在。本發明範圍包括立體異構體之混合物及經純化或經濃化混合物。本發明範圍亦包括本發明化合物之單個異構體及其任何經完全或部分平衡之混合物。本發明之若干化合物包含一個或多個對掌性中心。因此，本發明包括本發明化合物之外消旋物、經純化之對映異構體及對映異構體濃化混合物。本發明化合物包括外消旋性及對掌性1,2-二氫茛二聚物。較佳地，本發明之鹽為醫藥上可接受之鹽。術語醫藥

上可接受之鹽所涵蓋之鹽指本發明化合物之無毒性鹽。本發明化合物之鹽可包括酸加成鹽。

溶劑化物指由溶質(在本發明中，一種本發明化合物或其鹽或其生理功能性衍生物)及溶劑所形成之可變化學計量之複合物。為本發明之目的，此等溶劑不應干擾溶質之生物活性。合適溶劑之非限定性實例包括(但不限於)水、甲醇、乙醇及乙酸。較佳地，所用溶劑為醫藥上可接受之溶劑。合適的醫藥上可接受之溶劑之非限定性實例包括水、乙醇及乙酸。最佳地，所用溶劑為水。

前藥指本發明化合物之任何醫藥上可接受之衍生物，當投與至哺乳動物時，可提供(直接或間接地)本發明化合物或其活性代謝產物。此等衍生物(例如酯及醯胺)對於熟習此項技術者將是易懂的。

醫藥調配物可經修改以便以任何合適途徑投與，例如經口(包括口腔或舌下)、經直腸、經鼻、局部(包括口腔、舌下或經皮)、陰道或非經腸(包括皮下、肌肉內、靜脈內或皮內)途徑。此等調配物可藉由一同引入活性成分與載劑或賦形劑而製備。

適於經口投與之醫藥調配物可以離散單元(諸如膠囊或錠劑；粉劑或顆粒；溶液或懸浮液，各具有水性或非水性液體；食用泡沫；或水包油液體乳液或油包水液體乳液)呈現。對於以錠劑或膠囊形式之口服投與，活性藥物組分可與一種口服、無毒性醫藥上可接受之惰性載劑(諸如乙醇、甘油、水等等)組合。粉劑可藉由將化合物碾碎至合

適細微大小，並與一種合適的醫藥載劑(諸如可食用碳水化合物，諸如澱粉或甘露醇)混合而製備。亦可包括調味劑、保存劑、分散劑及著色劑等等。

膠囊可藉由製備粉末、液體，或懸浮液混合物，並密封入明膠或其他合適殼體材料而製成。可將潤滑劑(諸如膠態二氧化矽、滑石粉、硬脂酸鎂、硬脂酸鈣或固體聚乙二醇)添加至混合物。當攝取膠囊時，亦可添加崩解劑或增溶劑(諸如碳酸鈣或碳酸鈉)，以增進藥劑之利用率。亦可將其他製劑併入混合物，諸如結合劑、潤滑劑、崩解劑及著色劑。合適結合劑之實例包括澱粉、明膠、天然糖、玉米甜味劑、天然或合成樹膠、黃耆膠或海藻酸鈉、羧甲基纖維素、聚乙二醇等等。適於該等劑型之潤滑劑包括，例如油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉等等。合適崩解劑包括(但不限於)澱粉、甲基纖維素、瓊脂、膨潤土、黃原膠等等。

錠劑可藉由製備粉末混合物、使該混合物粒化、添加潤滑劑及崩解劑及壓成錠劑而製備。粉末混合物可藉由混合化合物與如上所述稀釋劑或鹼、合適地粉碎而製備。可選成份包括結合劑(諸如羧甲基纖維素、藻酸、明膠或聚乙烯吡咯啉酮)、阻溶劑(諸如石蠟)、吸收促進劑(諸如季鹽)及/或吸收劑(膨潤土、高嶺土或類似物)。粉末混合物可使用結合劑(諸如糖漿、澱粉糊或纖維素或聚合材料之溶液)予以濕式粒化，並通過濾網。

本發明化合物亦可與自由流動的惰性載劑組合，並直接

壓成錠劑而不需經過其他諸如粒化之步驟。可提供一種由合適材料(諸如蟲膠、糖或聚合材料)之密封層組成之透明或不透明的保護性塗層，及一種拋光塗層(例如蠟)。若合適，向該等塗層添加著色劑，以區分不同單位劑量。

口服液(諸如溶液、糖漿及醃劑)可製成單位劑型，以使給定量包含預定量之化合物。糖漿可(例如)藉由將化合物溶解於一種合適口味的水性溶液中而製備，而醃劑藉由使用無毒性醇媒劑而製備。懸浮液可藉由將化合物分散於無毒性媒劑中而調配。亦可添加增溶劑及乳化劑(諸如乙氧基化之異十八醇及聚氧乙烯山梨糖醇醚)、保存劑；香味添加劑(諸如薄荷油)或天然甜味劑、糖精，或其他人造甜味劑等等。

在適當情況下，用於經口投與之劑量單位調配物可為微囊封裝的。調配物亦可(例如)藉由將微粒物質塗佈或包埋於合適聚合物、蠟或其類似物中而製備，以延長或持續釋藥。

式(I)化合物及其鹽、溶劑化物及生理功能性衍生物亦可以脂質體傳遞系統(諸如小型單層微脂粒、大型單層微脂粒及多層微脂粒)之形式投與。脂質體可自各種磷脂(諸如膽固醇、硬脂胺或磷脂醯膽鹼)而製得。

本發明化合物及其鹽、溶劑化物及生理功能性衍生物亦可以藉由使用單株抗體作為化合物分子所耦合之單一載劑而給藥。

化合物亦可與可溶性聚合物耦合而作為靶向給藥載劑。

此等聚合物包括(例如)聚乙烯吡咯啉酮(PVP)。化合物亦可偶聯至一種生物可降解聚合物，以達到藥物之控釋。此等聚合物包括聚乳酸、聚氰基丙烯酸酯及水凝膠之嵌段共聚物。

適於經皮投與之醫藥調配物可作為離散貼片而呈現，以與患者皮膚/表皮保持長期緊密接觸。例如，活性成分可藉由離子透入自貼片傳遞。

適於局部投與之醫藥調配物可作為軟膏、乳霜、懸浮液、洗劑、粉劑、溶液、糊膏、凝膠、噴霧劑、氣霧劑或油而調配。為治療體外組織，調配物可作為外用軟膏或乳霜而施用。

對於局部投與於口腔，調配物可包括口含錠、片劑及漱口水。

對於經鼻投與，可使用具有(例如)介於20至500微米間之粒徑之粉劑。粉劑可藉由自手持靠近鼻之粉劑容器經由鼻道迅速吸入而投與。用於作為噴鼻劑或滴鼻劑投與之合適調配物(其中載劑為液體)包括活性成分之水性或油性溶液。

適於藉由吸入而投與之醫藥調配物包括細粒粉末或霧，可憑藉加壓定量氣溶膠、噴霧器或吹入器等等而產生。

對於直腸投與，調配物可作為栓劑或作為灌腸器而呈現。

對於陰道投與，調配物可以子宮托、止血棉塞、乳霜、凝膠、噴霧劑或類似物之形式而投與。

對於非經腸投與，調配物可為水性及非水性無菌注射液，其可包含各種添加劑，諸如抗氧化劑、緩衝液、抑菌劑，及使得調配物與預定接受者血液等滲之溶質；及水性或非水性無菌懸浮液，其可包括懸浮劑及增稠劑。調配物可以單一劑量或多劑量容器而呈現，例如封裝安甌及小瓶，且可在冷凍乾燥(凍乾)條件下儲存，其僅需在使用前添加無菌液體載劑(例如用於注射之水)。即用注射液及懸浮液可自無菌粉末、顆粒等等而製備。

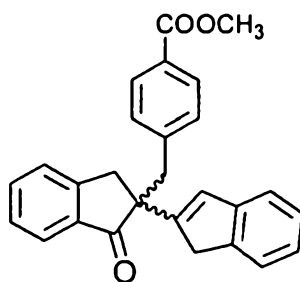
本發明化合物及其鹽、溶劑化物及生理功能性衍生物亦可單獨使用，或與其他治療劑組合使用。本發明化合物及其他醫藥活性劑可一起投與或分開投與。若分開投與，可同時或依次(以任何順序)進行投與。本發明化合物及其他醫藥活性劑之量以及投與之相對時序將經選擇，以達到所需組合療效。本發明化合物及其鹽、溶劑化物或生理功能性衍生物與其他處理劑之組合投與可藉由以包括二者化合物之單一醫藥組合物，或以分別包括該等化合物之一者之獨立醫藥組合物合併投與而組合。在一些情況中，藥物之組合可以連續方式分別地投與，其中第一次投與一製劑，而第二次投與第二製劑，或者相反。此種投與可於相同時間範圍內或在較長時間內執行。

【實施方式】

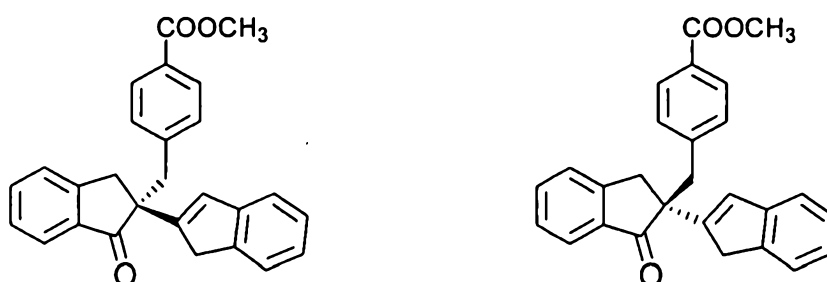
由以下說明將更充分地理解本發明，其僅以舉例而提供。

化合物1代表一對因酮化合物A之還原作用及脫甲基作用

而產生之非對映異構體，其在C-2具有對掌性中心，且因此為一對對映異構體。

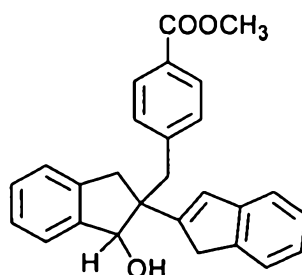


化合物 A

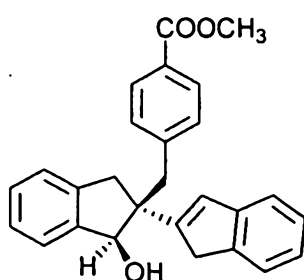


化合物 A 之對映異構體

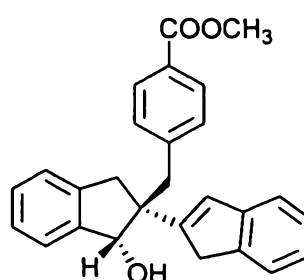
使用 LiAlH_4 還原該化合物，產生具有下式之化合物



該化合物包括兩種非對映異構體：

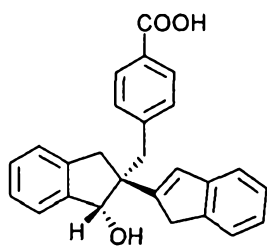


非對映異構體 B

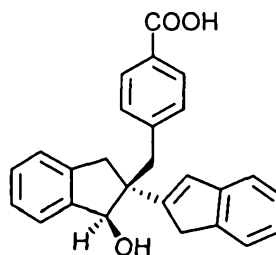


非對映異構體 C

非對映異構體B水解產生化合物2及3

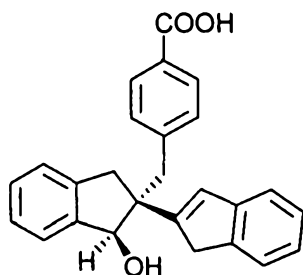


化合物 2

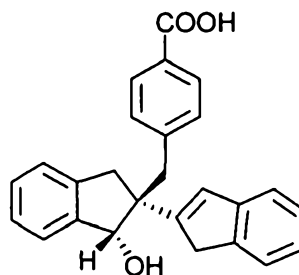


化合物 3

非對映異構體C水解產生化合物4及5



化合物 4



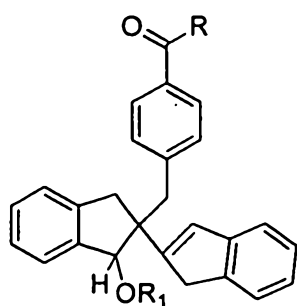
化合物 5

該等非對映異構體可化學地或層析法地解析為其組成對映異構體。

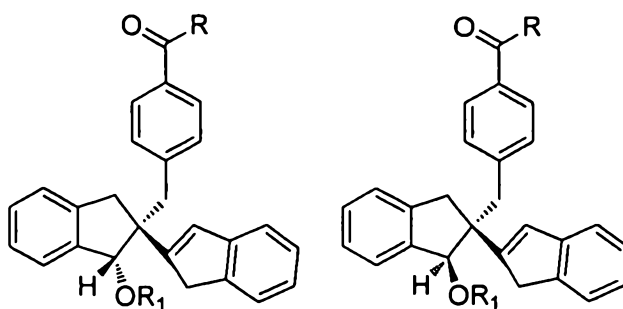
藉由化合物4(R)-(+)-甲基苄胺鹽(化合物9)之單晶X-射線已建立化合物4之絕對立體化學(圖1)。

化合物2之絕對立體化學係藉由化合物2(S)-(-)-甲基苄胺鹽(化合物8)之單晶X-射線而確定(圖2及2A)。

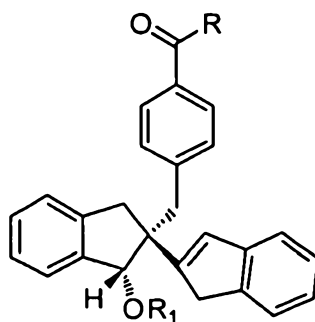
本發明亦係關於具有下式之化合物：



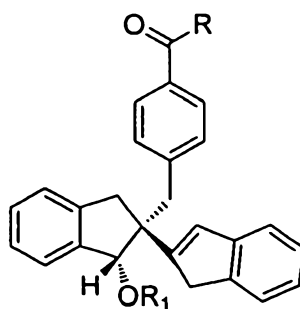
該等化合物包括兩種非對映異構體



以下呈現具有以下相對立體化學之較佳非對映異構體



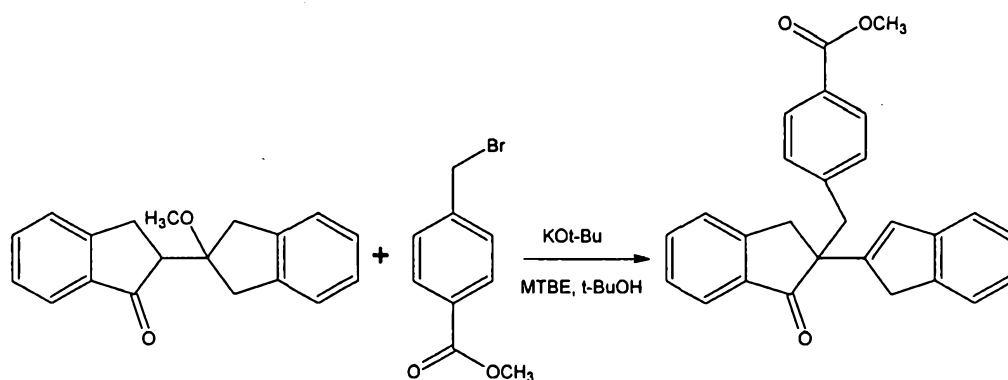
該非對映異構體由兩種對映異構體組成。以下呈現該較佳對映異構體之絕對立體化學



一般反應程序

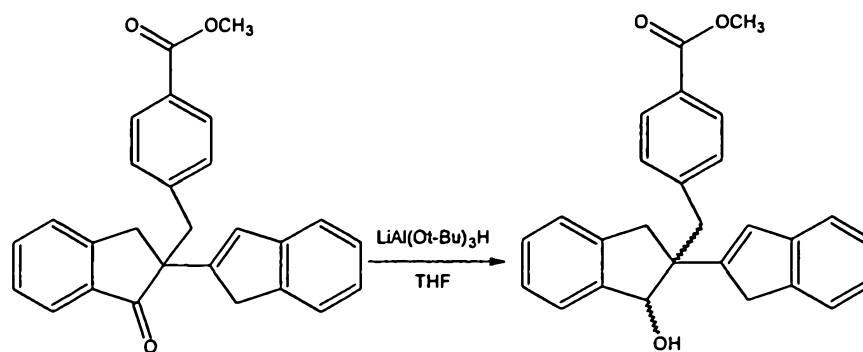
如下例示的用於對映異構性混合物之偶聯之一般合成程序描述於WO 9720806A中，其全部內容以引用方式併入本文中。

酸衍生物化合物A之一般製備



在氮下將(4-溴甲基)苯甲酸甲酯(6 mmol, 1.41 g)添加至於第三丁醇(5 mL)及二乙醚(30 mL)中之偶聯產物(4 mmol, 1.00 g)的攪拌液中。緩慢地向其逐滴添加於第三丁醇(30 mL)及二乙醚(5 mL)中之第三丁醇鉀溶液。每添加一滴，混合物變為黃色，然後其恢復至其原來的灰色。進一步攪拌該混合物3小時，直至TLC(80:20, 己烷:乙酸乙酯)顯示不再有起始物質。藉由添加飽和NH₄Cl使反應中止。分離層，且使用二乙醚(2×120 mL)萃取水性層。使用水、鹽水清洗合併有機層，在MgSO₄上乾燥並蒸發。在移除大部分溶劑時自粗產物沈澱出固體產物。濾出固體並使用冷二乙醚清洗，以產生0.98 g(62%)固體乳狀物。

苯甲酸甲酯化合物之還原



緩慢地將三第三-丁氧基氫化鋁鋰(1.9 mmol, 0.48 g)逐份地添加至於THF(15 mL)中之苯甲酸甲酯化合物(1.27 mmol, 0.50 g)之攪拌液中。藉由TLC(80:20, 己烷:乙酸乙酯)監控反應, 3小時後, 所有起始物質皆被消耗。

藉由傾倒於冰上使反應中止, 並使用乙酸乙酯, 藉由攪拌水性混合物10-15分鐘將粗產物萃取至乙酸乙酯中, 接著傾倒於分液漏斗中, 然後分離。使用水、鹽水清洗合併有機層, 在MgSO₄上乾燥並蒸發, 以產生0.34 g(68%)棕黃色固體乳狀物。該產物係作為兩種非對映異構體混合物以約2:1之比例而分離。

兩種非對映異構體混合物之分析結果

純度(HPLC): 94.9% (以 2:1 之比例之非對映異構體)

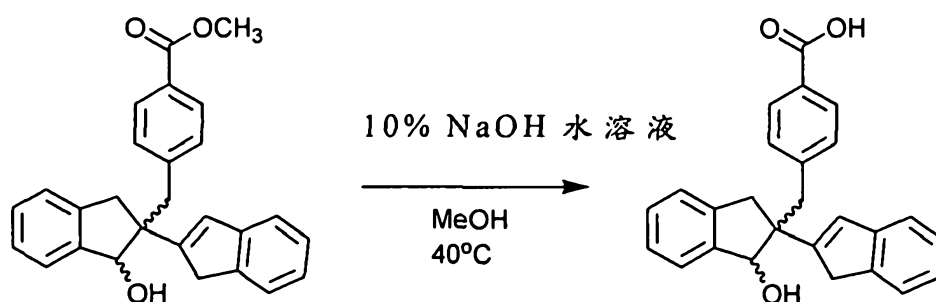
δ_{H} (300 MHz, CDCl₃): 2.77-3.60 (6H, *m*, 3×CH₂), 3.85 (3H, *s*, CH₃), [5.02 (1H, *s*, CH-OH)] 5.18 (1H, *s*, CH-OH), [6.23 (1H, *s*, CH=C)] 6.43 (1H, *s*, CH=C), 6.90-6.98 (2H, *m*, Ar-H), 7.11-7.21 (1H, *m*, Ar-H), 7.22-7.31 (5H, *m*, Ar-H), 7.36-7.42 (2H, *m*, Ar-H),

7.78-7.84 (2H, *m*, Ar-H)。

若可能的話，在括號中提供少量非對映異構體之數值。

δ_c (75.5 MHz, CDCl₃): 38.3 (CH₂), 38.4 (CH₂), 38.6 (CH₂),
39.9 (CH₂), 40.3 (CH₂), 43.4 (CH₂),
51.9 (COOCH₃), 52.0 (COOCH₃), 55.9
(第四 C), 56.3 (第四 C), 82.0 (CH-OH),
82.8 (CH-OH), 120.5 (第三 C), 120.7
(第三 C), 123.5 (第三 C), 123.6 (第三
C), 124.0 (第三 C), 124.2 (第三 C),
124.5 (第三 C), 124.6 (第三 C), 124.8
(第三 C), 124.9 (第三 C), 125.1 (第三
C), 125.2 (第三 C), 126.1 (第三 C),
126.4 (第三 C), 127.0 (第四 C), 127.1
(第四 C), 128.0 (第三 C), 128.2 (第三
C), 128.5 (第三 C), 128.8 (第三 C),
129.0 (第三 C), 129.2 (第三 C), 129.5
(第三 C), 2×130.0 (2×第三 C), 2×130.2
(2×第三 C), 130.7 (第三 C), 140.4 (第
四 C), 141.5 (第四 C), 142.8 (第四 C),
143.2 (第四 C), 143.5 (第四 C), 143.6
(第四 C), 143.7 (第四 C), 144.2 (第四
C), 144.3 (第四 C), 144.5 (第四 C),
150.4 (第四 C), 152.6 (第四 C), 167.0
(C=O), 167.2 (C=O)。

苯甲酸甲酯部分之水解



將酯置於圓底燒瓶中，並添加 10% NaOH 水溶液 (1 mL)，接著添加足量甲醇以形成溶液 (6 mL)。在 40°C 下加熱該溶液，並藉由 TLC (80:20, 己烷 : 乙酸乙酯) 監控。靜置約 4 小時後，不再有酯。

使該混合物冷卻，並添加飽和 NH_4Cl (溶液 pH 12)。添加稀 HCl 以酸化 pH (pH 2)。使產物自混濁溶液萃取至乙酸乙酯 (3×10 mL) 中。合併萃取物在 MgSO_4 上乾燥並在真空中蒸發，以產生 0.15 g (定量的) 固體乳狀物。該產物係作為兩種非對映異構體混合物以約 2:1 之比例而分離。

兩種非對映異構體混合物之分析結果

純度 (HPLC): 95.2% (以 2:1 之比例之非對映異構體)

δ_{H} (400 MHz, CDCl_3): 2.81-3.59 (6H, *m*, $3\times\text{CH}_2$), [5.05 (1H, *s*, CH-OH), 5.23 (1H, *s*, CH-OH), 6.46 (1H, *s*, CH=C), [6.66 (1H, *s*, CH=C), 6.95-7.03 (2H, *m*, Ar-H), 7.12-7.17 (1H, *m*, Ar-H), 7.21-7.29 (5H, *m*, Ar-H), 7.37-7.43 (2H, *m*, Ar-H), 7.85-7.91 (2H,

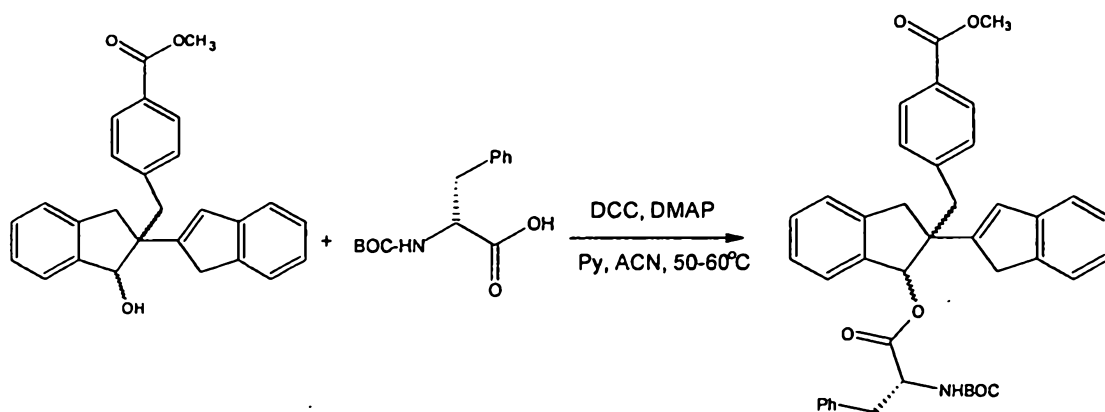
m, Ar-H)。

若可能的話，在括號中提供少量非對映異構體之數值。

δ_C (100 MHz, $CDCl_3$): 37.9 (CH₂), 38.1 (CH₂), 38.2 (CH₂), 39.5 (CH₂), 39.9 (CH₂), 43.1 (CH₂), 55.5 (第四 C), 55.9 (第四 C), 81.6 (CH-OH), 82.4 (CH-OH), 120.2 (第三 C), 120.3 (第三 C), 123.1 (第三 C), 123.2 (第三 C), 123.5 (第三 C), 123.9 (第三 C), 124.1 (第三 C), 124.4 (第三 C), 124.5 (第三 C), 124.7 (第三 C), 125.9 (第三 C), 126.0 (第三 C), 126.5 (第三 C), 2×126.7 (第四 C & 第三 C), 126.9 (第四 C), 128.1 (第三 C), 128.2 (第三 C), 128.4 (第三 C), 2×129.2 (2×第三 C), 2×129.4 (2×第三 C), 2×129.8 (2×第三 C), 2×129.9 (2×第三 C), 130.4 (第三 C), 140.0 (第四 C), 141.0 (第四 C), 142.3 (第四 C), 142.7 (第四 C), 143.0 (第四 C), 143.2 (第四 C), 143.8 (第四 C), 144.0 (第四 C), 144.1 (第四 C), 144.7 (第四 C), 150.0 (第四 C), 152.0 (第四 C), 170.8 (C=O), 171.1 (C=O)。

對映異構體之化學分離

製備苯甲酸甲酯非對映異構體之 N-BOC D-苯丙胺酸衍生物及/或分離後續非對映異構體 α_1 及 α_2 (或 β_1 及 β_2)。



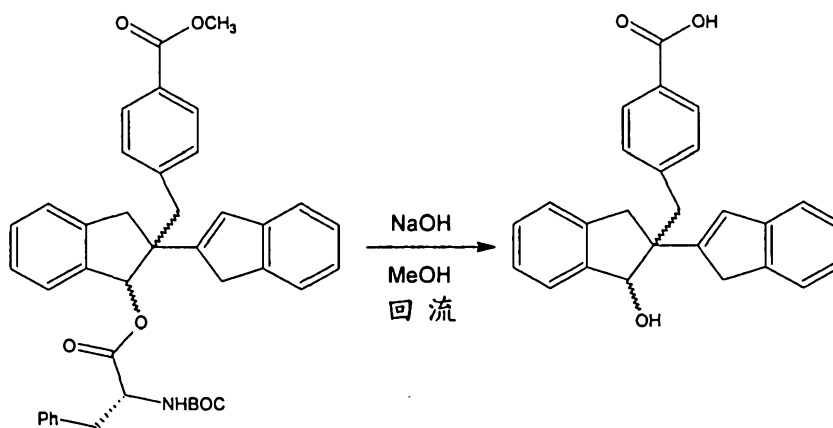
註：製程可應用於兩種非對映異構體，但所給定實例為第一非對映異構體。

將非對映異構體 A (2.5 mmol, 1.0 g) 及 N-BOC D-苯丙胺酸 (3.1 mmol, 0.8 g) 置於配備有冷凝器之圓底燒瓶中，並在氮下懸浮於 CH_3CN (25 mL) 中。將吡啶 (3.1 mmol, 0.3 mL) 添加至該懸浮液中，接著添加於 CH_3CN (2 mL) 中之 DCC (3.1 mmol, 0.7 g) 及 DMAP (10% mol, 0.25 mmol, 0.05 g) 之溶液。在 50°C 下攪拌混合物 20 小時，然後達到室溫。

濾去白色固體，並在真空中移除該溶劑。添加乙酸乙酯並使用 10% H_2SO_4 、飽和 NaHCO_3 清洗所得溶液，在 MgSO_4 上乾燥並蒸發，以產生 2.1 g 黃色油 (經由 HPLC 檢測純度為 83%，產量：定量的)。

使用己烷/MTBE 90:10 藉由急驟層析法 (90 g 二氧化矽/g 產物) 分離非對映異構體 $\alpha 1$ 及 $\alpha 2$ 。自 4.17 g 混合物得到 1.3 g $\alpha 2$ 衍生物 (及 1.71 g $\alpha 1$ 衍生物，及 0.3 g 兩者之混合物)。

苯甲酸甲酯化合物 ($\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ 或 $\beta 2$) 之 N-BOC D-苯丙胺酸衍生物之水解



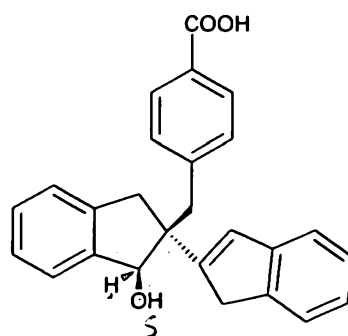
將非對映異構體 $\alpha 2$ (2.3 mmol, 1.45 g) 溶解於甲醇 (25 mL) 中，並添加 NaOH (11.5 mmol, 0.45 g)，且在回流溫度下攪拌混合物，並藉由 TLC 監控。20 小時後，起始物質被消耗。

使反應冷卻至室溫，並藉由添加飽和 NH_4Cl 而中止。在真空中移除甲醇，並使用濃 HCl 將水性溶液酸化至 pH 1。使用乙酸乙酯萃取產物，在 MgSO_4 上乾燥並蒸發，以得到 1.6 g 黃色膠狀物，藉由短矽膠管柱純化，使用己烷：MTBE 80:20 作為溶離劑。得到 0.44 g 酸性衍生化合物 5 (產率 50%)，由 HPLC 檢測之純度為 97.2%。

註：亦在 40-50°C 下使用於甲醇中之 10% NaOH 水溶液進行替代水解。該製程花費約 5 天完成。

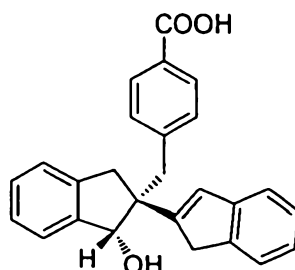
對映異構體 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 之分析結果

非對映異構體 B 之對映異構體 $\beta 1$ -化合物 3



描述：	非晶固體乳狀物
熔點	195-196°C
[α] _D ：	+98.51 (1.07% , MeOH)
純度：	99.0%
δ_{H} (400 MHz, CDCl ₃):	2.87 (1H, <i>d</i> , J=13.28 Hz, CH ₂), 3.00-3.09 (2H, <i>m</i> , CH ₂), 3.29 (1H, <i>d</i> , J=13.36 Hz, CH ₂), 3.43-3.61 (2H, <i>m</i> , CH ₂), 5.27 (1H, <i>s</i> , CH-OH), 6.49 (1H, <i>s</i> , CH=C), 7.00 (2H, <i>d</i> , J=7.88 Hz, Ar-H), 7.16-7.32 (6H, <i>m</i> , Ar-H), 7.44 (2H, <i>d</i> , J=7.24 Hz, Ar-H), 7.90 (2H, <i>d</i> , J=7.92 Hz, Ar-H)。

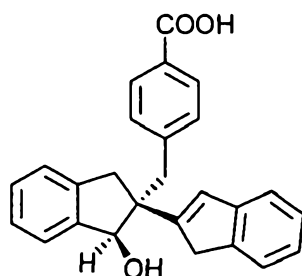
非對映異構體B之對映異構體 β 2-化合物2



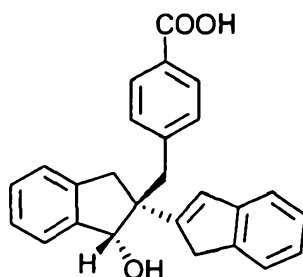
描述：	非晶固體乳狀物
熔點	184-185°C

[α]_D : -114.44 (0.18% , MeOH)
 純度 : 99.8%
 δ_{H} (400 MHz, CDCl₃): 2.87 (1H, *d*, $J=13.32$ Hz, CH₂), 3.00-3.09 (2H, *m*, CH₂), 3.29 (1H, *d*, $J=13.28$ Hz, CH₂), 3.46 (1H, *d*, $J=22.64$ Hz, CH₂), 3.58 (1H, *d*, $J=22.56$ Hz, CH₂), 5.27 (1H, *s*, CH-OH), 6.49 (1H, *s*, CH=C), 7.00 (2H, *d*, $J=8.04$ Hz, Ar-H), 7.15-7.34 (6H, *m*, Ar-H), 7.44 (2H, *d*, $J=7.20$ Hz, Ar-H), 7.90 (2H, *d*, $J=8.04$ Hz, Ar-H)。

非對映異構體 C 之對映異構體 $\alpha 1$ -化合物 4



描述 : 固體乳狀物
 熔點 : 136-140°C
 $[\alpha]_{\text{D}}$: -39.3 (0.66% , MeOH)
 純度 : 94.0%
 δ_{H} (400 MHz, CDCl₃): 2.90-3.59 (6H, *m*, 3×CH₂), 5.08 (1H, *s*, CH-OH), 6.70 (1H, *s*, CH=C), 7.05 (2H, *d*, $J=8.08$ Hz, Ar-H), 7.19 (1H, *t*, $J=7.34$ Hz, Ar-H), 7.26-7.47 (7H, 2×*m*, Ar-H),

7.93 (2H, *d*, $J=8.08$ Hz, Ar-H)。非對映異構體 C 之對映異構體 α 2-化合物 5

- 描述：非晶固體乳狀物
- 熔點 195-196°C
- $[\alpha]_D$ ：+32.1 (1.18% , MeOH)
- 純度：97.2%
- δ_H (400 MHz, $CDCl_3$): 2.94-3.59 (6H, *m*, $3 \times CH_2$), 5.08 (1H, *s*, $CH-OH$), 6.70 (1H, *s*, $CH=C$), 7.05 (2H, *d*, $J=8.12$ Hz, Ar-H), 7.19 (1H, *t*, $J=7.34$ Hz, Ar-H), 7.26-7.47 (7H, $2 \times m$, Ar-H), 7.93 (2H, *d*, $J=8.12$ Hz, Ar-H)。

HPLC 方法

已建立用於定性及定量分離對映異構體化合物 2、3、4、5 之非對掌性及對掌性 HPLC 方法。

對映異構體之 HPLC 解析

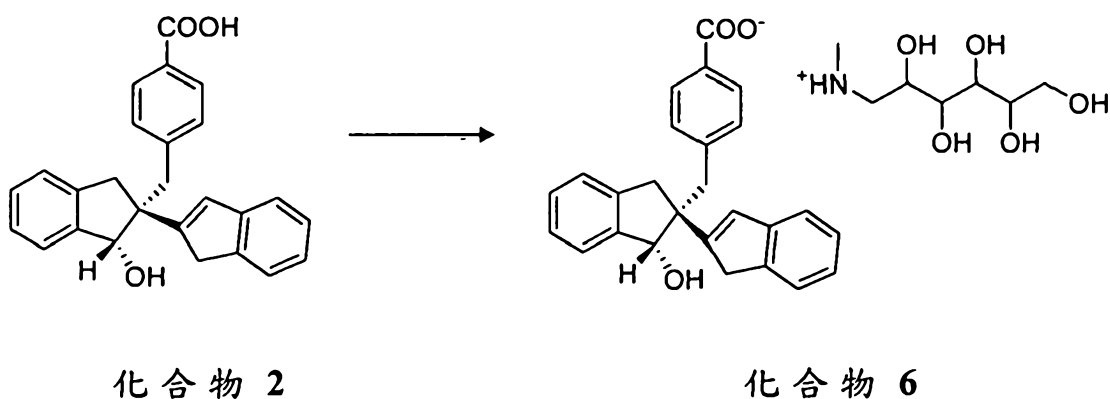
逆相方法	
管柱	Hypersil BDS C18, 5 μ , 250×4.6 mm Phenomenex Luna C18, 5 μ , 250×4.6 mm, N:32
波長	210 nm

流動速率	1 mL/分鐘(用於酮及酯) 0.6 mL/分鐘(用於酸及鹽)
移動相	70:30 CH ₃ CN : 0.1%乙酸水溶液
樣品	1 mg/mL，於移動相中製成(或 CH ₃ CN:dIW=50:50 用於酸/鹽)
滯留時間	化合物 1-20 分鐘
	非對映異構體 C (化合物 4/5) 9 分鐘
	非對映異構體 B (化合物 2/3) 10 分鐘
對掌性方法	
管柱	ChiralPack IC, 5 μ, 250×4.6 mm
波長	210 nm
溫度	25°C
流動速率	0.35 mL/分鐘
移動相	正庚烷/IPA/HOAc (或 TFA)=90/10/0.1
樣品	1 mg/mL，於移動相中製成(或正庚烷/IPA/MeOH=81/9/10 用於鹽)
滯留時間	化合物 A 54 分鐘及>60 分鐘
	化合物 4-30 分鐘
	化合物 5-37 分鐘
	化合物 3-18 分鐘
	化合物 2-19 分鐘

形成鹽

在存在合適鹼下，藉由將化合物 2、3、4 及 5 之游離酸溶解於水性或水性有機溶劑中，並藉由蒸發溶劑分離鹽而製備鹽。

化合物 6：化合物 2 之 N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽 (NMDG)



化合物 6 之生理化學特性：

- 外觀： 灰白色固體
- 分子量： 577(游離酸：382)
- 分子式： $C_{33}H_{39}O_8N$ (游離酸： $C_{26}H_{22}O_3$)
- 熔點： 165-167°C
- 化合物 6： $[\alpha]_D$ ： -76.5(樣品濃度：200 mg/10 ml 於水中)
- 質量(Da)： ES+僅 [NMDG+Na] 可見
- 元素分析： 計算值： C (68.61)、H (6.80)、N (2.42)、O (22.16)。實驗值： C (68.44)、H (6.80)、N (2.50)、O (21.98)
- δ_H (400 MHz, DMSO- d_6): 2.48 (3H, 表觀 *s*, NCH_3), 2.65 (1H, *d*, $J=13.56$ Hz, HCH), 2.84-3.02 (4H, *m*), 3.16 (1H, *d*, $J=13.60$ Hz, HCH), 3.40-3.70 (7H, *m*), 3.85-3.92 (1H, *m*), 5.06 (1H, *s*, $CH-OH$), 5.93 (1H, 寬 *s*, $CH-OH$), 6.41 (1H, *s*,

$\text{CH}=\text{C}$), 6.80 (2H, *d*, $J=7.92$ Hz, Ar-H), 7.06-7.41 (8H, *m*, Ar-H), 7.64 (2H, *d*, $J=7.80$ Hz, Ar-H)。

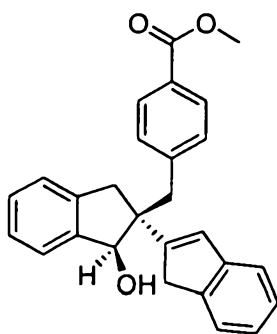
δ_{C} (100 MHz, DMSO): 33.8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 37.9 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 38.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 39.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 51.6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-N}$), 55.8 (第 四 $\underline{\text{C}}$), 63.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-O}$), 69.0 ($\underline{\text{C}}\text{H-O}$), 70.3 ($\underline{\text{C}}\text{H-O}$), 70.6 ($\underline{\text{C}}\text{H-O}$), 71.3 ($\underline{\text{C}}\text{H-O}$), 81.1 ($\underline{\text{C}}\text{H-OH}$), 120.1 (第 三 $\underline{\text{C}}$), 123.4 (第 三 $\underline{\text{C}}$), 123.7 (第 三 $\underline{\text{C}}$), 124.3 (第 三 $\underline{\text{C}}$), 124.4 (第 三 $\underline{\text{C}}$), 126.1 (第 三 $\underline{\text{C}}$), 126.3 (第 三 $\underline{\text{C}}$), 127.0 (第 三 $\underline{\text{C}}$), 127.5 (第 三 $\underline{\text{C}}$), 2×128.5 ($2\times$ 第 三 $\underline{\text{C}}$), 2×129.1 ($2\times$ 第 三 $\underline{\text{C}}$), 140.4 (第 四 $\underline{\text{C}}$), 141.1 (第 四 $\underline{\text{C}}$), 142.9 (第 四 $\underline{\text{C}}$), 144.5 (第 四 $\underline{\text{C}}$), 145.2 (第 四 $\underline{\text{C}}$), 154.3 (第 四 $\underline{\text{C}}$), 170.4 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$)。

X-射線研究

化合物 2 之絕對立體化學係藉由其 (*S*)-(-)-甲基苄胺鹽 (化合物 8) 之單晶 X-射線分析而構建。結果提供於附錄 2 中。結果與圖 2 中所示之立體化學一致。化合物 4 及 5 之絕對立體化學係藉由將醇 (化合物 2-5) 轉化為其酮並藉由對比其旋光度而構建。

合成 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)

甲基)苯甲酸甲酯(10)：



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(100 mg, 0.26 mmol)及 K_2CO_3 (72 mg, 0.52 mmol)於 DMF(2.5 mL)中之溶液添加 MeI(148 mg, 1.04 mmol)，並接著在室溫下攪拌4小時。使用 1.5 N HCl (50 mL)稀釋該反應混合物，並使用乙酸乙酯(3×25 mL)萃取。使用 10% $NaHCO_3$ 水溶液(25 mL)、鹽水(25 mL)清洗經分離之有機層，在無水 Na_2SO_4 上乾燥，並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20%乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 58 mg (56%)灰白色固體之標題化合物。

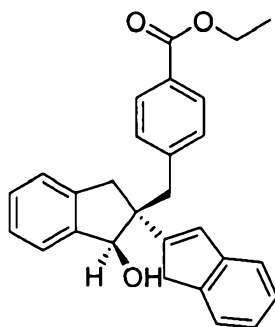
LCMS(-OH)：測定值 379.3，計算值 396.17，分子式 $C_{27}H_{24}O_3$ 。

純度(HPLC)：94%。

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 2.73 (1H, d, $J=13.48$ Hz, $\underline{CH_2}$), 2.96 (2H, s, $\underline{CH_2}$), 3.20 (1H, d, $J=13.52$ Hz, $\underline{CH_2}$), 3.44 (1H, d, $J=23.16$ Hz, $\underline{CH_2}$), 3.58 (1H, d, $J=23.00$ Hz, $\underline{CH_2}$), 3.78 (3H, s, OCH_3), 5.06 (1H, d, $J=6.76$ Hz, \underline{CHOH}), 5.85 (1H, d, $J=6.88$ Hz, \underline{OH}), 6.40 (1H, s, $\underline{CH=C}$), 6.98 (2H,

d, $J=8.16$ Hz, Ar-H), 7.08 (1H, t, $J=7.32$ Hz, Ar-H), 7.16 (1H, t, $J=7.40$ Hz, Ar-H), 7.20-7.23 (4H, m, Ar-H), 7.34-7.36 (1H, m, Ar-H), 7.39 (1H, d, $J=7.36$ Hz, Ar-H), 7.71 (2H, d, $J=8.16$ Hz, Ar-H)。

合成 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯(11)：



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(100 mg, 0.26 mmol)及 K_2CO_3 (72 mg, 0.52 mmol)於 DMF(2.5 mL)中之溶液添加 EtI(82 mg, 0.52 mmol)，並接著在室溫下攪拌4小時。使用 1.5 N HCl (50 mL)稀釋該反應混合物，並使用乙酸乙酯(3×25 mL)萃取。使用 10% $NaHCO_3$ 水溶液(25 mL)、鹽水(25 mL)清洗有機層，在無水 Na_2SO_4 上乾燥，並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20%乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 88 mg(82%)灰白色固體之標題化合物。

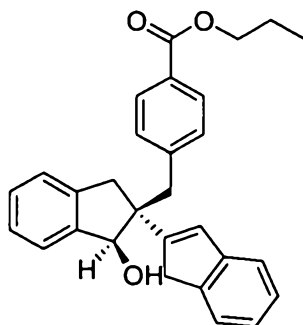
LCMS (-OH)：測定值 393.3，計算值 410.19，分子式 $C_{28}H_{26}O_3$ 。

純度(HPLC)：92%。

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 1.27 (3H, t, $J=7.08$ Hz,

CH₃), 2.72 (1H, d, J=13.52 Hz, CH₂), 2.96 (2H, s, CH₂), 3.20 (1H, d, J=13.48 Hz, CH₂), 3.45 (1H, d, J=23.08 Hz, CH₂), 3.59 (1H, d, J=22.84 Hz, CH₂), 4.24 (2H, q, J=7.08 Hz, OCH₂), 5.05 (1H, d, J=6.84 Hz, CHOH), 5.85 (1H, d, J=6.92 Hz, OH), 6.40 (1H, s, CH=C), 6.97 (2H, d, J=8.24 Hz, Ar-H), 7.08 (1H, td, J=1.16, 7.30 Hz, Ar-H), 7.16 (1H, t, J=6.84 Hz, Ar-H), 7.19-7.25 (4H, m, Ar-H), 7.34-7.36 (1H, m, Ar-H), 7.40 (1H, d, J=7.36 Hz, Ar-H), 7.70 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H)。

合成 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯 (12)：



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (100 mg, 0.26 mmol) 及 K₂CO₃ (72 mg, 0.52 mmol) 於 DMF (2.5 mL) 中之溶液添加 *n*-PrI (90 mg, 0.52 mmol)，並接著在室溫下攪拌 4 小時。使用 1.5 N HCl (50 mL) 稀釋該反應混合物，並使用乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取。使用 10% NaHCO₃ 水溶液 (25 mL)、鹽水 (25 mL) 清洗有機層，在無水 Na₂SO₄ 上乾燥，並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘

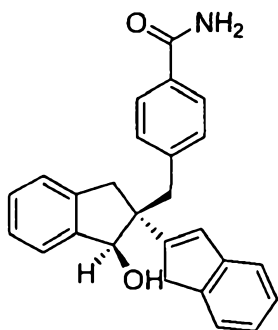
物，以產生 82 mg (73%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (-OH)：測定值 407.3，計算值 424.20，分子式 $C_{29}H_{28}O_3$ 。

純度 (HPLC)：95%。

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0.93 (3H, t, $J=7.40$ Hz, CH_3), 1.67 (2H, q, $J=6.92$ Hz, OCH_2CH_2), 2.72 (1H, d, $J=13.56$ Hz, CH_2), 2.96 (2H, s, CH_2), 3.20 (1H, d, $J=13.52$ Hz, CH_2), 3.46 (1H, d, $J=22.84$ Hz, CH_2), 3.59 (1H, d, $J=22.96$ Hz, CH_2), 4.16 (2H, t, $J=6.56$ Hz, OCH_2), 5.05 (1H, d, $J=6.88$ Hz, $CHOH$), 5.85 (1H, d, $J=6.92$ Hz, OH), 6.40 (1H, s, $CH=C$), 6.98 (2H, d, $J=8.16$ Hz, Ar-H), 7.10 (1H, dt, $J=1.00$ Hz, Ar-H), 7.16 (1H, t, $J=7.32$ Hz, Ar-H), 7.21-7.25 (4H, m, Ar-H), 7.35-7.36 (1H, m, Ar-H), 7.40 (1H, d, $J=7.28$ Hz, Ar-H), 7.71 (2H, d, $J=8.16$ Hz, Ar-H)。

合成 4-{[(1'*R*,2'*R*)-1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}苯甲醯胺 (13)



向於 DMSO (5 mL) 中之 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (100 mg, 0.26 mmol) 溶液添加 Boc 酐 (69 mg, 0.31 mmol)，接著添加吡啶 (24

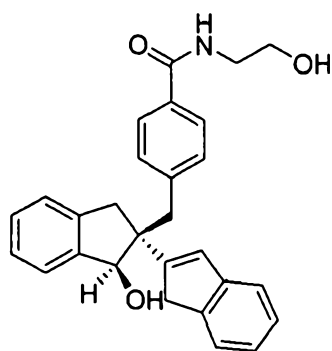
mg, 0.26 mmol), 並在室溫下攪拌5分鐘。添加碳酸氫銨 (62 mg, 0.78 mmol), 並額外攪拌1小時。將反應混合物倒入水 (25 mL) 中, 並使用乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取。使用鹽水 (25 mL) 清洗有機層, 在無水 Na₂SO₄ 上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之20%乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 59 mg (59%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS(+H⁺): 測定值 382.4, 計算值 381.17, 分子式 C₂₆H₂₃NO₂。

純度 (HPLC): 99%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2.68 (1H, d, J=13.60 Hz, CH₂), 2.94 (1H, d J=16.92 Hz, CH₂), 2.99 (1H, d, J=16.00 Hz, CH₂), 3.19 (1H, d, J=13.60 Hz, CH₂), 3.47 (1H, d, J=23.08 Hz, CH₂), 3.61 (1H, d, J=23.00 Hz, CH₂), 5.05 (1H, d, J=6.92 Hz, CHOH), 5.84 (1H, d, J=6.96 Hz, OH), 6.41 (1H, s, CH=C), 6.89 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H), 7.09 (1H, td, J=1.28, 7.28 Hz, Ar-H), 7.17 (1H, t, J=7.32 Hz, Ar-H), 7.22-7.27 (5H, m, Ar-H及NH), 7.35-7.37 (1H, m, Ar-H), 7.41 (1H, d, J=7.32 Hz, Ar-H), 7.63 (2H, d, J=8.24 Hz, Ar-H), 7.82 (1H, br s, NH)。

合成 4-{[(1'*R*,2'*R*)-1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}-*N*-(2-羥乙基)苯甲醯胺 (14):



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (100 mg, 0.26 mmol)、Et₃N (157 mg, 1.56 mmol) 及 2-氨基乙醇 (40 mg, 0.65 mmol) 於 DCM (5 mL) 中之溶液添加 T₃P (0.33 mL, 於乙酸乙酯中之 50 wt% 溶液, 0.52 mmol), 並接著在室溫下攪拌 12 小時。使用水 (25 mL) 使該反應混合物驟冷, 並經 DCM (3×25 mL) 萃取。使用鹽水 (25 mL) 清洗有機層, 在無水 Na₂SO₄ 上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 80 mg (72%) 灰白色固體之標題化合物。

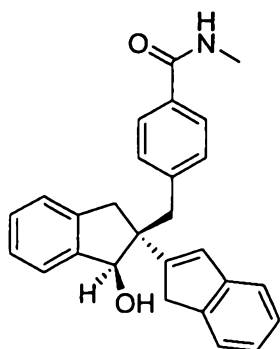
LCMS (+H⁺): 測定值 426.4, 計算值 425.20, 分子式 C₂₈H₂₇NO₃。

純度 (HPLC): 99%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2.68 (1H, d, J=13.56 Hz, CH₂), 2.94 (1H, d, J=15.64 Hz, CH₂), 2.98 (1H, d, J=15.84 Hz, CH₂), 3.19 (1H, d, J=13.56 Hz, CH₂), 3.26-3.29 (2H, m, CONHCH₂), 3.43-3.49 (3H, m, CH₂OH 之 2H 及 CH₂ 之 1H), 3.61 (1H, d, J=23.16 Hz, CH₂), 4.68 (1H, t, J=5.60 Hz, CH₂OH), 5.05 (1H, d, J=6.88 Hz, CHOH), 5.84 (1H, d,

$J=6.96$ Hz, CHOH), 6.40 (1H, s, $\text{CH}=\text{C}$), 6.89 (2H, d, $J=8.20$ Hz, Ar-H), 7.09 (1H, dt, $J=1.20, 10.13$ Hz, Ar-H), 7.17 (1H, t, $J=7.40$ Hz, Ar-H), 7.21-7.28 (4H, m, Ar-H), 7.35-7.37 (1H, m, Ar-H), 7.41 (1H, d, $J=7.28$ Hz, Ar-H), 7.61 (2H, d, $J=8.20$ Hz, Ar-H), 8.28 (1H, t, $J=5.64$ Hz, NH)。

合成 4-{[(1'*R*,2'*R*)-1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}-*N*-甲基苯甲醯胺(15)：



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(100 mg, 0.26 mmol)、 Et_3N (157 mg, 1.56 mmol)及甲胺(0.32 mL, 於 THF 中之 2.0 M 溶液, 0.65 mmol)於 DCM(5 mL)中之溶液添加 T_3P (0.33 mL, 於乙酸乙酯中之 50 wt% 溶液, 0.52 mmol), 並接著在室溫下攪拌 12 小時。使用水(25 mL)使該反應混合物驟冷, 並經 DCM (3×25 mL)萃取。使用鹽水(25 mL)清洗有機層, 在無水 Na_2SO_4 上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 89 mg (86%) 灰白色固體之標題化合物。

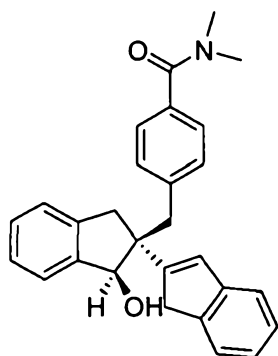
LCMS (+ H^+): 測定值 396.4, 計算值 395.19, 分子式

$C_{27}H_{25}NO_2$ 。

純度 (HPLC) : 100%。

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.67 (1H, d, $J=13.60$ Hz, CH_2), 2.72 (3H, d, $J=4.48$ Hz, $CONHCH_3$), 2.93 (1H, d, $J=15.64$ Hz, CH_2), 2.98 (1H, d, $J=15.68$ Hz, CH_2), 3.18 (1H, d, $J=13.60$ Hz, CH_2), 3.44 (1H, d, $J=23.12$ Hz, CH_2), 3.59 (1H, d, $J=23.04$ Hz, CH_2), 5.05 (1H, d, $J=6.88$ Hz, $CHOH$), 5.83 (1H, d, $J=6.92$ Hz, OH), 6.40 (1H, s, $CH=C$), 6.89 (2H, d, $J=8.12$ Hz, Ar-H), 7.06-7.10 (1H, m, Ar-H), 7.16 (1H, t, $J=7.32$ Hz, Ar-H), 7.23-7.27 (4H, m, Ar-H), 7.34-7.36 (1H, m, Ar-H), 7.40 (1H, d, $J=7.24$ Hz, Ar-H), 7.57 (2H, d, $J=8.16$ Hz, Ar-H), 8.26-8.28 (1H, m, NH)。

合成 4- $\{[(1'R,2'R)$ -1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}-*N,N*-二甲基苯甲醯胺(16) :



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(100 mg, 0.26 mmol)、 Et_3N (157 mg, 1.56 mmol)及二甲胺(0.33 mL, 於 THF 中之 2.0 M 溶液, 0.65 mmol)於 DCM (5 mL) 中之溶液添加 T_3P (0.33 mL, 於乙酸乙

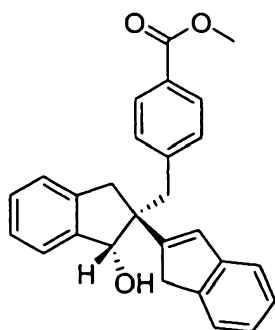
酯中之 50 wt% 溶液，0.52 mmol)，並在室溫下攪拌 12 小時。使用水 (25 mL) 使該反應混合物驟冷，並經 DCM (3×25 mL) 萃取。使用鹽水 (25 mL) 清洗有機層，在無水 Na₂SO₄ 上乾燥，並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 75 mg (70%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺)：測定值 410.4，計算值 409.20，分子式 C₂₈H₂₇NO₂。

純度 (HPLC)：100%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2.69 (1H, d, J=13.60 Hz, CH₂), 2.83 (3H, s, CONCH₃), 2.93 (3H, s, CONCH₃), 2.98 (2H, s, CH₂), 3.16 (1H, d, J=13.52 Hz, CH₂), 3.45 (1H, d, J=23.44 Hz, CH₂), 3.59 (1H, d, J=23.04 Hz, CH₂), 5.06 (1H, d, J=6.84 Hz, CHOH), 5.85 (1H, d, J=6.96 Hz, OH), 6.45 (1H, s, CH=C), 6.89 (2H, d, J=8.04 Hz, Ar-H), 7.07-7.24 (8H, m, Ar-H), 7.34-7.36 (1H, m, Ar-H), 7.40 (1H, d, J=7.24 Hz, Ar-H)。

合成 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯 (17)：



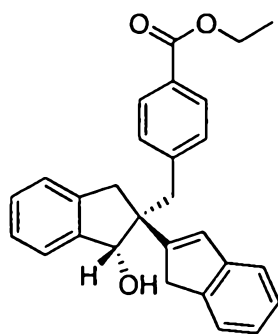
向 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (100 mg, 0.26 mmol) 及 K_2CO_3 (72 mg, 0.52 mmol) 於 DMF (2.5 mL) 中之溶液添加 MeI (148 mg, 1.04 mmol), 並在室溫下攪拌 4 小時。使用 1.5 N HCl (50 mL) 稀釋該反應混合物, 並使用乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取。使用 10% $NaHCO_3$ 水溶液 (25 mL)、鹽水 (25 mL) 清洗有機層, 在無水 Na_2SO_4 上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 62 mg (59%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (-OH): 測定值 379.2, 計算值 396.17, 分子式 $C_{27}H_{24}O_3$ 。

純度 (HPLC): 97%。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 2.84 (1H, d, $J=13.28$ Hz, CH_2), 3.00 (1H, d, $J=15.64$ Hz, CH_2), 3.05 (1H, d, $J=15.56$ Hz, CH_2), 3.27 (1H, d, $J=13.32$ Hz, CH_2), 3.45 (1H, d, $J=22.52$ Hz, CH_2), 3.57 (1H, d, $J=22.60$ Hz, CH_2), 3.89 (3H, s, OCH_3), 5.25 (1H, s, $CHOH$), 6.47 (1H, s, $CH=C$), 6.96 (2H, d, $J=8.24$ Hz, Ar-H), 7.17 (1H, dt, $J=2.04, 9.88$ Hz, Ar-H), 7.24-7.33 (5H, m, Ar-H), 7.43 (2H, d, $J=7.60$ Hz, Ar-H), 7.83 (2H, dd, $J=1.76, 6.60$ Hz, Ar-H)。

合成 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯 (18):



向 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(100 mg, 0.26 mmol)及 K_2CO_3 (72 mg, 0.52 mmol)於 DMF(2.5 mL)中之溶液添加 EtI(81 mg, 0.52 mmol), 並在室溫下攪拌4小時。使用 1.5 N HCl(50 mL)稀釋該反應混合物, 並使用乙酸乙酯(3×25 mL)萃取。使用 10% $NaHCO_3$ 水溶液(25 mL)、鹽水(25 mL)清洗有機層, 在無水 Na_2SO_4 上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20%乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 55 mg(50%)灰白色固體之標題化合物。

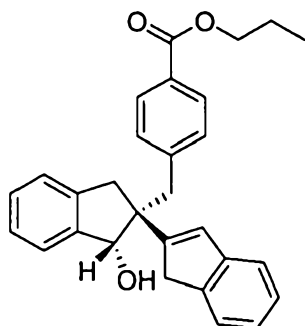
LCMS (-OH): 測定值 393.4, 計算值 410.19, 分子式 $C_{28}H_{26}O_3$ 。

純度(HPLC): 92%。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1.38 (3H, t, $J=7.12$ Hz, CH_3), 2.84 (1H, d, $J=13.28$ Hz, CH_2), 3.00 (1H, d, $J=15.60$ Hz, CH_2), 3.05 (1H, d, $J=15.60$ Hz, CH_2), 3.27 (1H, d, $J=13.28$ Hz, CH_2), 3.45 (1H, d, $J=22.52$ Hz, CH_2), 3.58 (1H, d, $J=22.52$ Hz, CH_2), 4.35 (2H, q, $J=7.12$ Hz, OCH_2), 5.25 (1H, s, $CHOH$), 6.48 (1H, s, $CH=C$), 6.96 (2H, d, $J=8.28$ Hz, Ar-H), 7.17 (1H, dt, $J=2.00, 9.92$ Hz, Ar-H), 7.25-7.34

(5H, m, Ar-H), 7.44 (2H, d, $J=7.72$ Hz, Ar-H), 7.85 (2H, dd, $J=1.72, 6.56$ Hz, Ar-H)。

合成 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯 (19)：



向 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (100 mg, 0.26 mmol) 及 K_2CO_3 (72 mg, 0.52 mmol) 於 DMF (2.5 mL) 中之溶液添加 *n*-PrI (89 mg, 0.52 mmol)，並在室溫下攪拌 4 小時。使用 1.5 N HCl (50 mL) 稀釋該反應混合物，並使用乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取。使用 10% $NaHCO_3$ 水溶液 (25 mL)、鹽水 (25 mL) 清洗有機層，在無水 Na_2SO_4 上乾燥，並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 54 mg (50%) 淺黃色固體之標題化合物。

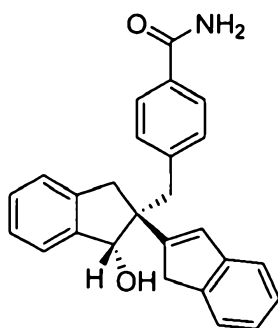
LCMS (-OH)：測定值 407.2，計算值 424.20，分子式 $C_{29}H_{28}O_3$ 。

純度 (HPLC)：90%。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1.03 (3H, t, $J=7.48$ Hz, CH_3), 1.73-1.82 (2H, m, CH_2), 2.84 (1H, d, $J=13.32$ Hz, CH_2), 3.00 (1H, d, $J=15.04$ Hz, CH_2), 3.06 (1H, d, $J=15.52$ Hz,

CH₂), 3.27 (1H, d, J=13.32 Hz, CH₂), 3.46 (1H, d, J=22.56 Hz, CH₂), 3.58 (1H, d, J=22.68 Hz, CH₂), 4.26 (2H, t, J=6.64 Hz, OCH₂), 5.25 (1H, s, CHOH), 6.48 (1H, s, CH=C), 6.96 (2H, d, J=8.24 Hz, Ar-H), 7.18 (1H, dt, J=1.96, 9.96 Hz, Ar-H), 7.24-7.33 (5H, m, Ar-H), 7.44 (2H, d, J=7.60 Hz, Ar-H), 7.85 (2H, dd, J=1.68, 6.60 Hz, Ar-H)。

合成 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲醯胺 (20) :



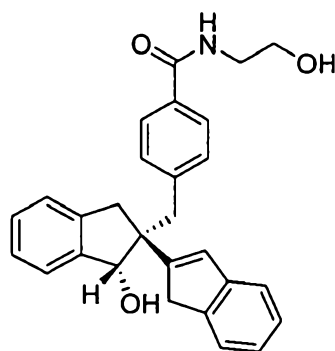
向於 DMSO (5 mL) 中之 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (100 mg, 0.26 mmol) 溶液添加 Boc 酐 (69 mg, 0.31 mmol), 接著添加吡啶 (24 mg, 0.26 mmol), 並在室溫下攪拌 5 分鐘。添加碳酸氫銨 (62 mg, 0.78 mmol), 並額外攪拌 1 小時。將反應混合物傾倒於水 (25 mL) 中, 並使用乙酸乙酯 (3×25 mL) 萃取。使用鹽水 (25 mL) 清洗有機層, 在無水 Na₂SO₄ 上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 57 mg (57%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (-OH) : 測定值 364.2 , 計算值 381.17 , 分子式 $C_{26}H_{23}NO_2$ 。

純度 (HPLC) : 98% 。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 2.84 (1H, d, $J=13.32$ Hz, CH_2), 3.00 (1H, d, $J=15.68$ Hz, CH_2), 3.05 (1H, d, $J=15.56$ Hz, CH_2), 3.26 (1H, d, $J=13.32$ Hz, CH_2), 3.46 (1H, d, $J=22.60$ Hz, CH_2), 3.58 (1H, d, $J=22.68$ Hz, CH_2), 5.25 (1H, s, $CHOH$), 5.65 及 6.07 (2H, $2 \times br$ s, NH 及 $CHOH$), 6.48 (1H, s, $CH=C$), 6.97 (2H, d, $J=8.16$ Hz, $Ar-H$), 7.17 (1H, dt, $J=2.00, 9.95$ Hz, $Ar-H$), 7.24-7.33 (5H, m, $Ar-H$), 7.44 (2H, d, $J=7.56$ Hz, $Ar-H$), 7.60 (2H, d, $J=8.24$ Hz, $Ar-H$) 。

合成 4- $\{[(1'S,2'S)-1'$ -羥基- $1',3'$ -二氫- $1H,2'H-2,2'$ -二節- $2'$ -基]甲基 $\}$ - N -(2-羥乙基)苯甲醯胺 (21) :



向 4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫- $1H,1'H$ -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (100 mg, 0.26 mmol)、 Et_3N (157 mg, 1.56 mmol) 及 2-氨基乙醇 (40 mg, 0.65 mmol) 於 DCM (5 mL) 中之溶液添加 T_3P (0.33 mL, 於乙酸乙酯中之 50 wt% 溶液, 0.52 mmol), 並在室溫下攪拌 12 小時。使用水 (25 mL) 使該反應

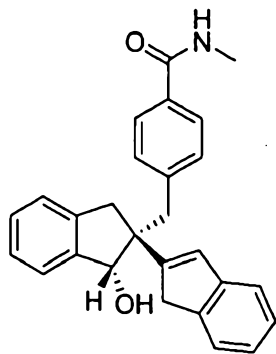
混合物驟冷，並經DCM(3×25 mL)萃取。使用鹽水(25 mL)清洗有機層，在無水Na₂SO₄上乾燥，並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之20%乙酸乙酯作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物，以產生76 mg (68%)灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺)：測定值 426.5，計算值 425.20，分子式 C₂₈H₂₇NO₃。

純度(HPLC)：99%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2.68 (1H, d, J=13.44 Hz, CH₂), 2.94 (1H, d, J=15.04 Hz, CH₂), 2.98 (1H, d, J=16.28 Hz, CH₂), 3.19 (1H, d, J=13.32 Hz, CH₂), 3.25-3.30 (2H, m, CH₂), 3.44-3.49 (3H, m, 2×CH₂-之 3H), 3.61 (1H, d, J=23.16 Hz, CH₂), 4.68 (1H, t, J=5.48 Hz, CH₂OH), 5.05 (1H, d, J=6.84 Hz, CH-OH), 5.84 (1H, d, J=6.88 Hz, CH-OH), 6.40 (1H, s, CH=C), 6.89 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H), 7.09 (1H, dt, J=1.16, 10.12 Hz, Ar-H), 7.17 (1H, t, J=7.32 Hz, Ar-H), 7.22-7.28 (4H, m, Ar-H), 7.36 (1H, t, J=3.48 Hz, Ar-H), 7.41 (1H, d, J=7.20 Hz, Ar-H), 7.61 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H), 8.28 (1H, t, J=5.52 Hz, NH)。

合成 4-{[(1'S,2'S)-1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}-*N*-甲基苯甲醯胺(22)：



向 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (100 mg, 0.26 mmol)、Et₃N (157 mg, 1.56 mmol) 及 甲胺 (0.32 mL, 於 THF 中之 2.0 M 溶液, 0.65 mmol) 於 DCM (5 mL) 中之溶液添加 T₃P (0.33 mL, 於乙酸乙酯中之 50 wt% 溶液, 0.52 mmol), 並在室溫下攪拌 12 小時。使用水 (25 mL) 使該反應混合物驟冷, 並經 DCM (3×25 mL) 萃取。使用鹽水 (25 mL) 清洗有機層, 在無水 Na₂SO₄ 上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 80 mg (78%) 灰白色固體之標題化合物。

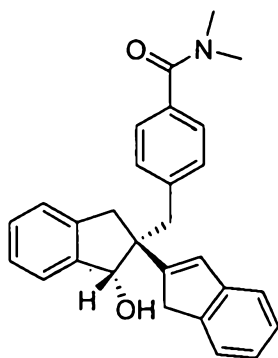
LCMS (+H⁺): 測定值 396.4, 計算值 395.19, 分子式 C₂₇H₂₅NO₂。

純度 (HPLC): 93%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.68 (1H, d, J=13.64 Hz, CH₂), 2.72 (3H, d, J=4.48 Hz, CH₃), 2.94 (1H, d, J=16.28 Hz, CH₂), 2.99 (1H, d, J=15.84 Hz, CH₂), 3.19 (1H, d, J=13.56 Hz, CH₂), 3.45 (1H, d, J=22.92 Hz, CH₂), 3.60 (1H, d, J=23.40 Hz, CH₂), 5.05 (1H, d, J=6.88 Hz, CHOH), 5.84 (1H, d, J=6.92 Hz, CHOH), 6.40 (1H, s, CH=C), 6.90 (2H,

d, $J=8.12$ Hz, Ar-H), 7.09 (1H, t, $J=7.24$ Hz, Ar-H), 7.15-7.26 (5H, m, Ar-H), 7.35-7.37 (1H, m, Ar-H), 7.41 (1H, d, $J=7.24$ Hz, Ar-H), 7.58 (2H, d, $J=8.16$ Hz, Ar-H), 8.27 (1H, d, $J=4.36$ Hz, NH)。

合成 4-{[(1'S,2'S)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基}-N,N-二甲基苯甲醯胺(23)：



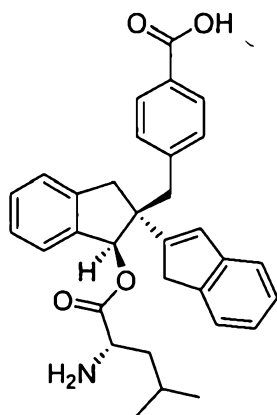
向 4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(100 mg, 0.26 mmol)、Et₃N(157 mg, 1.56 mmol)及二甲胺(0.33 mL, 於 THF 中之 2.0 M 溶液, 0.65 mmol)於 DCM (5 mL)中之溶液添加 T₃P(0.33 mL, 於乙酸乙酯中之 50 wt%, 0.52 mmol), 並接著在室溫下攪拌 12 小時。使用水(25 mL)使該反應混合物驟冷, 並經 DCM(3×25 mL)萃取。使用鹽水(25 mL)清洗有機層, 在無水 Na₂SO₄上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 80 mg(75%)灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺)：測定值 410.4, 計算值 409.20, 分子式 C₂₈H₂₇NO₂。

純度(HPLC)：97%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.70 (1H, d, $J=13.64$ Hz, CH_2), 2.83-2.98 (8H, m, CH_2 -之 2H 及 $2\times\text{CH}_3$ -之 6H), 3.16 (1H, d, $J=13.60$ Hz, CH_2), 3.45 (1H, d, $J=22.92$ Hz, CH_2), 3.59 (1H, d, $J=23.20$ Hz, CH_2), 5.06 (1H, s, CHOH), 6.45 (1H, s, $\text{CH}=\text{C}$), 6.89 (2H, d, $J=8.08$ Hz, Ar-H), 7.09 (1H, dt, $J=1.20, 10.12$ Hz, Ar-H), 7.13-7.17 (3H, m, Ar-H), 7.19-7.25 (4H, m, Ar-H), 7.34-7.36 (1H, m, Ar-H), 7.40 (1H, d, $J=7.36$ Hz, Ar-H)。

合成 4- $\{[(1'R,2'R)$ -1'-(L-白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}苯甲酸(24)：



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(200 mg, 0.52 mmol)、DCC(129 mg, 0.62 mmol)及 DMAP(6 mg, 0.052 mmol)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液添加 *N*-[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]-L-白胺酸(183 mg, 0.52 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯(25 mL)清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液，在無水 Na_2SO_4 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將該殘餘物

1(210 mg)溶解於無水THF (5 mL)中，然後冷卻至0°C。在N₂氣氛下逐滴添加二甲胺(5 mL, 20%於THF中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之10%甲醇作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物，以產生125 mg(49%)灰白色固體之標題化合物。

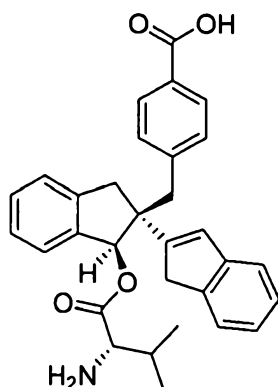
LCMS (+H⁺)：測定值 496.4，計算值 495.24，分子式 C₃₂H₃₃NO₄。

純度(HPLC)：93%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.90 (3H, d, J=8.00 Hz, CH₃), 0.93 (3H, d, J=8.00 Hz, CH₃), 1.58-1.66 (1H, m, CH), 1.68-1.76 (2H, m, CH₂), 3.13-3.37 (5H, m, 3×CH₂之5H), 3.49 (1H, d, J=24.00 Hz, CH₂), 4.05 (1H, t, J=4.00 Hz, CH-N), 6.39 (1H, s, CH-O), 6.53 (1H, s, CH=C), 7.06-7.11 (3H, m, Ar-H), 7.16-7.23 (3H, m, Ar-H), 7.29-7.39 (4H, m, Ar-H), 7.73 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H)。

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 22.36 (CH₃), 22.75 (CH₃), 24.36-25.80 (CH), 39.36-40.61 (4×CH₂), 51.59及 54.71 (第四C及CH-N), 84.38 (CH-O), 120.93, 123.92, 124.72, 125.27, 126.24, 126.72, 127.13, 129.20, 2×129.29, 129.51, 129.77, 2×130.35 (13×第三C及1×第四C), 139.90 (第四C), 142.99 (第四C), 143.23 (第四C), 143.90 (第四C), 144.36 (第四C), 151.55 (第四C), 167.65 (O-C=O), 170.70 (C=O)。

合成 4-[[[(1'*R*,2'*R*)-1'-(*L*-纈胺醯氧基)-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基]苯甲酸 (25) :



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (230 mg, 0.60 mmol)、DCC(148 mg, 0.72 mmol)及 DMAP(7 mg, 0.059 mmol)於乙酸乙酯(12 mL)中之溶液添加 *N*-[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]-*L*-纈胺酸 (193 mg, 0.60 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯 (25 mL) 清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水 (25 mL)、鹽水 (10 mL) 清洗該合併濾液，在無水 Na₂SO₄ 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將該殘餘物 1 (250 mg) 溶解於無水 THF (7 mL) 中，然後冷卻至 0°C。在 N₂ 氣氛下逐滴添加二甲胺 (7 mL, 20% 於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之 10% 甲醇作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 105 mg (36%) 灰白色固體之標題化合物。

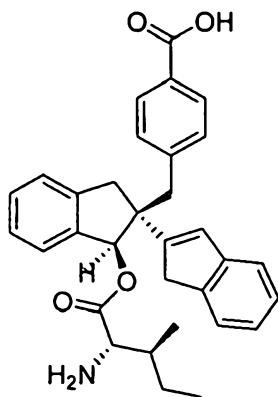
LCMS (+H⁺) : 測定值 482.6，計算值 481.23，分子式 C₃₁H₃₁NO₄。

純度 (HPLC) : 95%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0.97-1.05 (6H, m, $(\text{CH}_3)_2$), 2.30-2.35 (1H, m, CH), 3.12 (1H, d, $J=12.84$ Hz, CH_2), 3.16 (1H, d, $J=5.48$ Hz, CH_2), 3.21-3.24 (2H, m, CH_2), 3.41-3.49 (2H, m, CH_2), 4.05 (1H, d, $J=4.28$ Hz, CH-N), 6.40 (1H, s, CH-O), 6.56 (1H, s, CH=C), 7.08 (1H, dt, $J=1.24, 10.15$ Hz, Ar-H), 7.10-7.21 (5H, m, Ar-H), 7.28-7.40 (4H, m, Ar-H), 7.73 (2H, d, $J=4.48$ Hz, Ar-H)。

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 18.14 (CH_3), 18.43 (CH_3), 29.89 (CH), 39.36-40.61 ($3\times\text{CH}_2$), 54.76及58.16 (第四 C 及 CH-N), 84.73 (CH-O), 120.91, 123.89, 124.72, 125.27, 126.39, 126.71, 127.08, 129.15, 2×129.26 , 129.69, 129.83, 2×130.42 ($13\times$ 第三 C 及 $1\times$ 第四 C), 139.93 (第四 C), 142.97 (第四 C), 143.53 (第四 C), 143.97 (第四 C), 144.36 (第四 C), 151.42 (第四 C), 167.66 (O-C=O), 169.09 (C=O)。

合成 4- $\{[(1'R,2'R)$ -1'-(L-異白胺鹽氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'基]甲基}苯甲酸 (26) :



向 4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)

甲基)苯甲酸(250 mg, 0.65 mmol)、DCC(160 mg, 0.78 mmol)及DMAP (8 mg, 0.06 mmol)於乙酸乙酯(15 mL)中之溶液添加 *N*-[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]-*L*-異白胺酸(228 mg, 0.65 mmol), 並接著在室溫下攪拌12小時。濾去固體, 使用乙酸乙酯(25 ml)清洗, 並使用1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液, 在無水Na₂SO₄上乾燥。在減壓下蒸發有機層, 並將該殘餘物1(275 mg)溶解於無水THF (10 mL)中, 然後冷卻至0°C。在N₂氣氛下逐滴添加二甲胺(10 mL, 20%於THF中), 並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物, 並使用於氯仿中之10%甲醇作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物, 以產生110 mg (31%)灰白色固體之標題化合物。

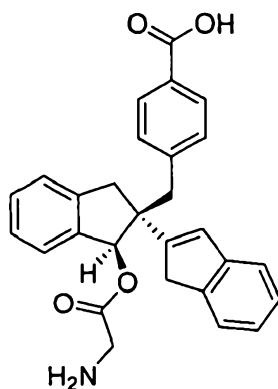
LCMS (+H⁺): 測定值 496.6, 計算值 495.24, 分子式 C₃₂H₃₃NO₄。

純度(HPLC): 91%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.90 (3H, t, J=7.40 Hz, CH₃), 0.93 (3H, d, J=6.96 Hz, CH₃), 1.26-1.36 (1H, m, CH₂-CH₃), 1.44-1.52 (1H, m, CH₂-CH₃), 2.02-2.08 (1H, m, CH-CH₃), 3.09-3.25 (4H, m, 2×CH₂), 3.35-3.48 (2H, m, CH₂), 4.11 (1H, d, J=7.12 Hz, CH-N), 6.40 (1H, s, CH-O), 6.54 (1H, s, CH=C), 7.05-7.21 (6H, m, Ar-H), 7.27-7.38 (4H, m, Ar-H), 7.72 (2H, d, J=8.24 Hz, Ar-H), 8.58 (2H, br s, NH₂)。

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 11.98 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 14.95 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 25.20 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 36.42 ($\underline{\text{C}}\text{H}$), 36.35-40.60 ($3\times\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 54.77 ($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{N}$ 或第四 $\underline{\text{C}}$), 57.26 (第四 $\underline{\text{C}}$ 或 $\underline{\text{C}}\text{H}-\text{N}$), 84.77 ($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{O}$), 120.91, 123.89, 124.72, 125.23, 126.39, 126.72, 127.05, 129.15, 2×129.24 , 129.65, 129.78, 2×130.45 ($13\times$ 第三 $\underline{\text{C}}$ 及 $1\times$ 第四 $\underline{\text{C}}$), 139.91 (第四 $\underline{\text{C}}$), 142.97 (第四 $\underline{\text{C}}$), 143.43 (第四 $\underline{\text{C}}$), 143.99 (第四 $\underline{\text{C}}$), 144.36 (第四 $\underline{\text{C}}$), 151.46 (第四 $\underline{\text{C}}$), 167.66 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$), 168.83 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$)。

合成 4- $\{[(1'R,2'R)-1'-(\text{甘胺鹽氧基})-1',3'-\text{二氫}-1H,2'H-2,2'-\text{二節}-2'-\text{基}]甲基\}$ 苯甲酸 (27) :



向 4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸 (220 mg, 0.57 mmol)、DCC(142 mg, 0.69 mmol)及 DMAP(7 mg, 0.059 mmol)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液添加 *N*-[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]甘胺酸(171 mg, 0.57 mmol), 並接著在室溫下攪拌12小時。濾去固體, 使用乙酸乙酯(25 mL)清洗, 並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液, 在無水 Na_2SO_4 上乾燥。在減壓下蒸發有機層, 並將該殘餘物 1(250 mg)溶

解於無水THF (8 mL)中，然後冷卻至0°C。在N₂氣氛下逐滴添加二甲胺(8 mL，20%於THF中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之10%甲醇作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物，以產生130 mg (56%)灰白色固體之標題化合物。

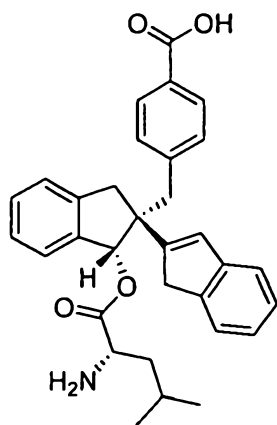
LCMS (-H⁺)：測定值438.2，計算值439.18，分子式C₂₈H₂₅NO₄。

純度(HPLC)：97%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 3.05-3.28 (5H, m, 3×CH₂之5H), 3.45-3.50 (1H, m, CH₂), 3.60-3.76 (2H, m, NCH₂), 6.32 (1H, s, CH-O), 6.48 (1H, s, CH=C), 7.02 (2H, d, J=8.12 Hz, Ar-H), 7.05-7.09 (1H, m, Ar-H), 7.15-7.22 (3H, m, Ar-H), 7.28-7.36 (4H, m, Ar-H), 7.70 (2H, d, J=8.08 Hz, Ar-H)。

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 39.36-40.61 (4×CH₂), 54.86 (第四C), 82.96 (CH-O), 120.91, 123.94, 124.65, 125.24, 125.87, 126.69, 127.14, 2×129.21, 129.32, 129.52, 129.76, 2×130.33 (13×第三C及1×第四C), 140.42 (第四C), 142.96 (第四C), 143.04 (第四C), 143.61 (第四C), 144.43 (第四C), 151.89 (第四C), 167.89 (C=O)。

合成4-([(1'S,2'S)-1'-(L-白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基}苯甲酸(28)：



向 4-(((1*S*,2*S*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(200 mg, 0.52 mmol)、DCC (129 mg, 0.62 mmol)及 DMAP (6 mg, 0.052 mmol)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液添加 *N*-[(9*H*-芴-9-基甲氧基)羰基]-*L*-白胺酸(183 mg, 0.52 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯(25 mL)清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液，在無水 Na₂SO₄上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1(210 mg)溶解於無水 THF (5 mL)中，然後冷卻至 0°C。在 N₂ 氣氛下逐滴添加二甲胺(5 mL, 20%於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之 10% 甲醇作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 120 mg (47%) 灰白色固體之標題化合物。

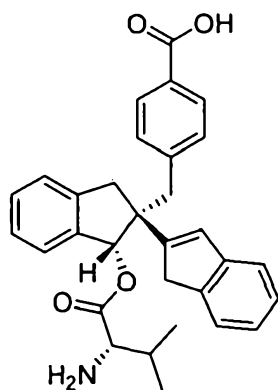
LCMS (+H⁺)：測定值 496.5，計算值 495.24，分子式 C₃₂H₃₃NO₄。

純度(HPLC)：98%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 0.84 (3H, d, J=6.24 Hz,

CH₃), 0.86 (3H, d, J=6.28 Hz, CH₃), 1.37-1.71 (3H, 2×m, CH-之1H及CH₂-之2H), 3.04-3.53 (7H, m, 3×CH₂-之6H及CH-N之1H), 6.26 (1H, s, CH-O), 6.48 (1H, s, CH=C), 7.01 (2H, d, J=8.04 Hz, Ar-H), 7.08 (1H, dt, J=1.04, 10.12 Hz, Ar-H), 7.14-7.24 (4H, m, Ar-H), 7.25-7.36 (3H, m, Ar-H), 7.69 (2H, d, J=8.12 Hz, Ar-H)。

合成 4-{[(1'S,2'S)-1'-(L-纈胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基}苯甲酸(29)：



向 4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(230 mg, 0.60 mmol)、DCC (148 mg, 0.72 mmol)及DMAP (7 mg, 0.06 mmol)於乙酸乙酯(12 mL)中之溶液添加 *N*-[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]-*L*-纈胺酸(193 mg, 0.60 mmol)，並接著在室溫下攪拌12小時。濾去固體，使用乙酸乙酯(25 ml)清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液，在無水 Na₂SO₄上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1 (250 mg)溶解於無水 THF (8 mL)中，然後冷卻至 0°C。在 N₂ 氣氛下逐滴

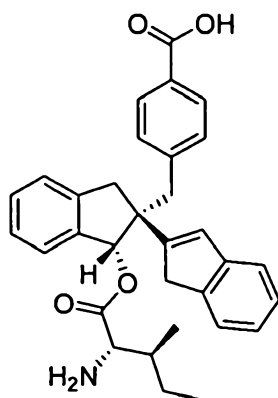
添加二甲胺(8 mL, 20%於THF中), 並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物, 並使用於氯仿中之10%甲醇作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物, 以產生105 mg (36%)灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺): 測定值 482.5, 計算值 481.23, 分子式 C₃₁H₃₁NO₄。

純度(HPLC): 96%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.80 (3H, d, J=6.80 Hz, CH₃), 0.87 (3H, d, J=6.80 Hz, CH₃), 1.88-1.90 (1H, m, CH), 3.05-3.47 (7H, m, 3×CH₂及CH-N之1H), 6.27 (1H, s, CH-O), 6.49 (1H, s, CH=C), 6.95 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H), 7.07 (1H, t, J=14.40 Hz, Ar-H), 7.14-7.22 (3H, m, Ar-H), 7.25-7.29 (2H, m, Ar-H), 7.32-7.35 (2H, m, Ar-H), 7.67 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H)。

合成 4-{[(1'S,2'S)-1'-(L-異白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基}苯甲酸(PH30):



向 4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)

甲基)苯甲酸(250 mg, 0.65 mmol)、DCC (160 mg, 0.78 mmol)及DMAP (8 mg, 0.06 mmol)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液添加 *N*-[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]-*L*-異白胺酸(228 mg, 0.65 mmol), 並接著在室溫下攪拌12小時。濾去固體, 使用乙酸乙酯(25 ml)清洗, 並使用1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液, 在無水Na₂SO₄上乾燥。在減壓下蒸發有機層, 並將殘餘物1(275 mg)溶解於無水THF (8 mL)中, 然後冷卻至0°C。在N₂氣氛下逐滴添加二甲胺(8 mL, 20%於THF中), 並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物, 並使用於氯仿中之10%甲醇作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物, 以產生110 mg (31%)灰白色固體之標題化合物。

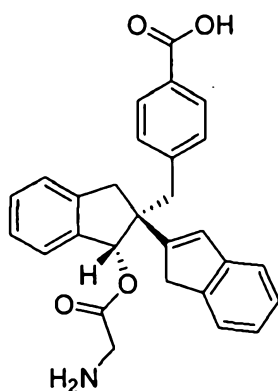
LCMS (+H⁺): 測定值 496.4, 計算值 495.24, 分子式 C₃₂H₃₃NO₄。

純度(HPLC): 95%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.77 (3H, t, J=8.00 Hz, CH₃), 0.82 (3H, d, J=4.00 Hz, CH₃), 1.02-1.12 (1H, m, CH₂-CH₃), 1.28-1.38 (1H, m, CH₂-CH₃), 1.62-1.68 (1H, m, CH-CH₃), 3.10-3.50 (7H, m, 3×CH₂之6H及CH-N之1H), 6.26 (1H, s, CH-O), 6.49 (1H, s, CH=C), 7.01 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H), 7.07 (1H, t, J=8.00 Hz, Ar-H), 7.13-7.21 (3H, m, Ar-H), 7.25-7.29 (2H, m, Ar-H), 7.33 (2H, t, J=8.00 Hz, Ar-H), 7.70 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H)。

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 11.94 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 15.88 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 24.90 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$), 39.35-40.60 ($3\times\underline{\text{C}}\text{H}_2$ 及 $1\times\underline{\text{C}}\text{H}$), 54.77 (第四 $\underline{\text{C}}$ 或 $\underline{\text{C}}\text{H}-\text{N}$), 58.69 ($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{N}$ 或 第四 $\underline{\text{C}}$), 82.53 ($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{O}$), 120.86, 123.91, 124.60, 125.22, 125.84, 126.66, 127.02, 2×129.21 , 2×129.32 , 129.44, 2×130.05 ($13\times$ 第三 $\underline{\text{C}}$ 及 $1\times$ 第四 $\underline{\text{C}}$), 140.79 (第四 $\underline{\text{C}}$), 2×143.01 ($2\times$ 第四 $\underline{\text{C}}$), 143.11 (第四 $\underline{\text{C}}$), 144.45 (第四 $\underline{\text{C}}$), 151.95 (第四 $\underline{\text{C}}$), 175.25 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$)。

合成 4- $\{[(1'S,2'S)\text{-}1'\text{-}(\text{甘胺鹽氧基})\text{-}1',3'\text{-}二氫\text{-}1H,2'H\text{-}2,2'\text{-}二節\text{-}2'\text{-}基]\text{甲基}\}$ 苯甲酸(31)：



向 4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸(220 mg, 0.57 mmol)、DCC (142 mg, 0.69 mmol)及 DMAP (7 mg, 0.057 mmol)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液添加 *N*-[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]甘胺酸(171 mg, 0.57 mmol)，並接著在室溫下攪拌12小時。濾去固體，使用乙酸乙酯(25 mL)清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液，在無水 Na_2SO_4 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1 (250 mg)溶解

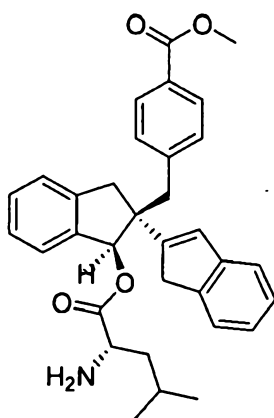
於無水 THF (8 mL) 中，然後冷卻至 0°C。在 N₂ 氣氛下逐滴添加二甲胺 (8 mL, 20% 於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之 10% 甲醇作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 130 mg (56%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (-H⁺)：測定值 438.4，計算值 439.18，分子式 C₂₈H₂₅NO₄。

純度 (HPLC)：95%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2.84-3.57 (8H, 2×m, 4×CH₂), 6.30 (1H, s, CH-O), 6.48 (1H, s, CH=C), 7.00 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H), 7.09 (1H, t, J=7.20 Hz, Ar-H), 7.14-7.22 (3H, m, Ar-H), 7.28-7.37 (4H, m, Ar-H), 7.69 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H)。

合成 4-(((1*R*,2*R*)-1-(((*S*)-2-氨基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯 (32)：



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯 (10, 180 mg, 0.45 mmol)、DCC (112 mg, 0.54 mmol) 及 DMAP (6 mg, 0.045 mmol) 於乙酸乙酯

(10 mL)中之溶液添加Fmoc白胺酸(158 mg, 0.45 mmol), 並接著在室溫下攪拌12小時。濾去固體, 使用乙酸乙酯(25 ml)清洗, 並使用1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液, 在無水Na₂SO₄上乾燥。在減壓下蒸發有機層, 並將殘餘物1(250 mg)溶解於無水THF(5 mL)中, 然後冷卻至0°C。逐滴添加二甲胺(5 mL, 20%於THF中), 並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物, 並使用於石油醚中之30%乙酸乙酯作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物, 以產生150 mg (66%)無色半固態標題化合物。

LCMS (+H⁺): 測定值 510.0, 計算值 509.26, 分子式 C₃₃H₃₅NO₄。

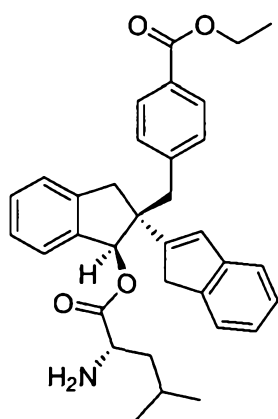
純度(HPLC): 94%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.98 (3H, d, J=6.56 Hz, CH₃), 1.01 (3H, d, J=6.64 Hz, CH₃), 1.56-1.96 (3H, 3×m, CH₂-CH之2H及-CH-之1H), 3.06-3.37 (6H, m, 3×CH₂之6H), 3.64 (1H, dd, J=5.40, 8.90 Hz, CH-N), 3.89 (3H, s, OCH₃), 6.45 (1H, s, CH-O), 6.54 (1H, s, CH=C), 7.03 (2H, d, J=8.28 Hz, Ar-H), 7.12-7.16 (1H, m, Ar-H), 7.19-7.30 (5H, m, Ar-H), 7.32-7.35 (2H, m, Ar-H), 7.85 (2H, d, J=8.28 Hz, Ar-H)。

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 21.74 (CH₃), 23.15 (CH₃), 24.85 (CH), 39.67 (CH₂), 40.45 (CH₂), 40.81 (CH₂), 43.77 (CH₂), 52.03 (OCH₃或CH-N), 53.19 (第四C), 54.38 (CH-N)

或 OCH_3), 83.48 (CH-O), 120.70, 123.50, 124.49, 124.62, 125.76, 126.46, 127.07, 128.30, 3×129.25 , 129.79, 2×129.94 ($13 \times$ 第三 C 及 $1 \times$ 第四 C), 140.21 (第四 C), 142.16 (第四 C), 142.54 (第四 C), 143.65 (第四 C), 144.22 (第四 C), 150.99 (第四 C), 167.03 (C=O), 175.90 (C=O)。

合成 4-(((1*R*,2*R*)-1-(((*S*)-2-氨基-4-甲基戊酰基)氧基)-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二茛]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯 (33) :



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二茛]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯 (11, 200 mg, 0.48 mmol)、DCC (120 mg, 0.58 mmol) 及 DMAP (6 mg, 0.048 mmol) 於乙酸乙酯 (10 mL) 中之溶液添加 Fmoc 白胺酸 (168 mg, 0.48 mmol), 並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體, 使用乙酸乙酯 (25 mL) 清洗, 並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水 (25 mL)、鹽水 (10 mL) 清洗該合併濾液, 在無水 Na_2SO_4 上乾燥。在減壓下蒸發有機層, 並將殘餘物 1 (250 mg) 溶解於無水 THF (5 mL) 中, 然後冷卻至 0°C 。逐滴添加二甲胺 (5 mL, 20% 於 THF 中), 並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減

壓下蒸發該反應混合物，並使用於石油醚中之30%乙酸乙酯作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物，以產生150 mg (60%)無色半固態標題化合物。

LCMS (+H⁺)：測定值 524.2，計算值 523.27，分子式 C₃₄H₃₇NO₄。

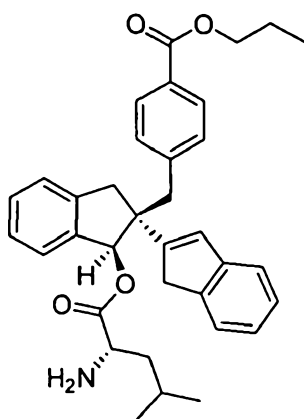
純度(HPLC)：98%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.97 (3H, d, J=6.56 Hz, CH₃), 1.01 (3H, d, J=6.64 Hz, CH₃), 1.37 (3H, t, J=7.08 Hz, CH₃), 1.56-1.60 (1H, m, CH₂-CH), 1.66-1.73 (1H, m, CH₂-CH), 1.88-1.93 (1H, m, -CH-(CH₃)₂), 3.06-3.36 (6H, m, CH₂之4H及烯丙基CH₂之2H), 3.62 (1H, dd, J=5.36, 8.92 Hz, CH-N), 4.35 (2H, q, J=7.12 Hz, OCH₂), 6.44 (1H, s, CH-O), 6.53 (1H, s, CH=C), 7.02 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H), 7.10-7.15 (1H, m, Ar-H), 7.18-7.29 (5H, m, Ar-H), 7.31-7.35 (2H, m, Ar-H), 7.85 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H)。

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 14.32 (CH₃), 21.74 (CH₃), 23.16 (CH₃), 24.85 (CH), 39.67 (CH₂), 40.47 (CH₂), 40.79 (CH₂), 43.85 (CH₂), 53.22 (第四 C), 54.38 (CH-N), 60.86 (OCH₂), 83.45 (CH-O), 120.70 (第三 C), 123.50 (第三 C), 124.48 (第三 C), 124.62 (第三 C), 125.75 (第三 C), 126.45 (第三 C), 127.06 (第三 C), 128.65 (第四 C), 3×129.23 (3×第三 C), 129.77 (第三 C), 2×129.88 (2×第三 C), 140.25 (第四 C), 142.17 (第四 C), 142.55 (第四 C), 143.51 (第四 C), 144.24 (第四 C), 151.03 (第四 C), 166.55 (C=O), 176.02

($\underline{C=O}$)。

合成 4-(((1*R*,2*R*)-1-(((*S*)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯(34)：



向 4-(((1*R*,2*R*)-1-羥基-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯(12, 190 mg, 0.44 mmol)、DCC (111 mg, 0.54 mmol)及 DMAP (6 mg, 0.045 mmol)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液添加 Fmoc 白胺酸(158 mg, 0.45 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯(25 mL)清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液，在無水 Na₂SO₄ 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1 (250 mg) 溶解於無水 THF (6 mL) 中，然後冷卻至 0°C。逐滴添加二甲胺(6 mL, 20% 於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於石油醚中之 30% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 122 mg (51%) 無色半固態標題化合物。

LCMS (+H⁺)：測定值 538.2，計算值 537.29，分子式

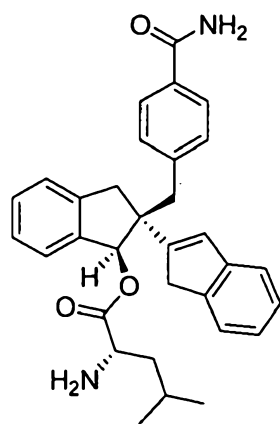
$C_{35}H_{39}NO_4$ 。

純度 (HPLC) : 89%。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.97-1.04 (9H, m, $3 \times CH_3$), 1.56-1.96 (5H, $3 \times m$, $2 \times CH_2$ 之 4H 及 CH 之 1H), 3.07-3.38 (6H, m, $3 \times CH_2$ 之 6H), 3.62-3.68 (1H, m, $CH-N$), 4.26 (2H, t, $J=6.60$ Hz, OCH_2), 6.45 (1H, s, $CH-O$), 6.54 (1H, s, $CH=C$), 7.03 (2H, d, $J=8.28$ Hz, Ar-H), 7.12-7.16 (1H, m, Ar-H), 7.18-7.32 (5H, m, Ar-H), 7.34 (2H, dd, $J=3.32, 7.34$ Hz, Ar-H), 7.86 (2H, d, $J=8.24$ Hz, Ar-H)。

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 10.52 (CH_3), 21.74, 22.10, 23.13 ($2 \times CH_3$ 及 $1 \times CH$), 24.84 (CH_2), 39.66 (CH_2), 40.46 (CH_2), 40.77 (CH_2), 43.67 (CH_2), 53.15 (第四 C), 54.36 ($CH-N$), 66.46 (CH_2-O), 83.56 ($CH-O$), 120.70 (第三 C), 123.51 (第三 C), 124.48 (第三 C), 124.61 (第三 C), 125.78 (第三 C), 126.45 (第三 C), 127.07 (第三 C), 128.67 (第四 C), 3×129.23 ($3 \times$ 第三 C), 129.79 (第三 C), 2×129.89 ($2 \times$ 第三 C), 140.18 (第四 C), 142.19 (第四 C), 142.56 (第四 C), 143.50 (第四 C), 144.24 (第四 C), 151.02 (第四 C), 166.60 ($C=O$), 175.69 ($C=O$)。

合成 (1*R*,2*R*)-2-(4-胺甲醯基苜基)-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯 (35) :



向 4-{[(1'*R*,2'*R*)-1'-羥基 -1',3'-二氫 -1*H*,2'*H*-2,2'-二節 -2'-基]甲基} 苯甲醯胺 (13, 140 mg, 0.36 mmol)、DCC (90 mg, 0.44 mmol) 及 DMAP (4.3 mg, 0.036 mmol) 於乙酸乙酯 (10 mL) 中之溶液添加 Fmoc 白胺酸 (126 mg, 0.36 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯 (25 mL) 清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水 (25 mL)、鹽水 (10 mL) 清洗該合併濾液，在無水 Na₂SO₄ 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1 (250 mg) 溶解於無水 THF (5 mL) 中，然後冷卻至 0°C。逐滴添加二甲胺 (5 mL, 20% 於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之 10% 甲醇作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 110 mg (63%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺): 測定值 495.5, 計算值 494.26, 分子式 C₃₂H₃₄N₂O₃。

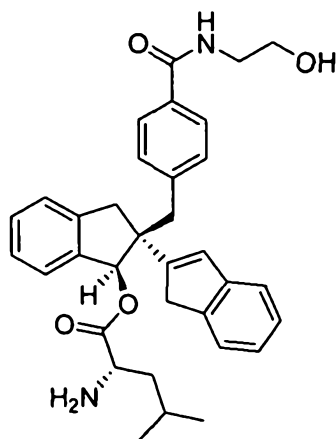
純度 (HPLC): 91%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.87 (3H, d, J=6.56 Hz, CH₃), 0.91 (3H, d, J=6.64 Hz, CH₃), 1.42-1.48 (1H, m, CH₂-

CH), 1.52-1.58 (1H, m, $\text{CH}_2\text{-CH}$), 1.72-1.82 (1H, m, CH), 3.04-3.56 (7H, 3×m, 3× CH_2 之6H及 CH-N 之1H), 6.30 (1H, s, CH-O), 6.49 (1H, s, CH=C), 7.00 (2H, d, $J=8.20$ Hz, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.08 (1H, dt, $J=1.16, 10.15$ Hz, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.16 (1H, t, $J=7.28$ Hz, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.21 (2H, t, $J=6.48$ Hz, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.25-7.30 (2H, m, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.34 (2H, t, $J=7.80$ Hz, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.65 (2H, d, $J=8.20$ Hz, Ar- $\underline{\text{H}}$), 7.84 (1H, br s, NH_2)。

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 22.33 (CH_3), 23.27 (CH_3), 24.66 (CH), 39.36-40.62 (3× CH_2), 43.51 (CH_2), 53.27 (第四 $\underline{\text{C}}$), 54.75 (CH-N), 82.79 (CH-O), 120.89 (第三 $\underline{\text{C}}$), 123.93 (第三 $\underline{\text{C}}$), 124.65 (第三 $\underline{\text{C}}$), 125.23 (第三 $\underline{\text{C}}$), 125.81 (第三 $\underline{\text{C}}$), 126.70 (第三 $\underline{\text{C}}$), 127.14 (第三 $\underline{\text{C}}$), 2×127.45 (2×第三 $\underline{\text{C}}$), 129.21 (第三 $\underline{\text{C}}$), 129.44 (第三 $\underline{\text{C}}$), 2×129.98 (2×第三 $\underline{\text{C}}$), 132.49 (第四 $\underline{\text{C}}$), 140.62 (第四 $\underline{\text{C}}$), 142.08 (第四 $\underline{\text{C}}$), 142.86 (第四 $\underline{\text{C}}$), 143.03 (第四 $\underline{\text{C}}$), 144.44 (第四 $\underline{\text{C}}$), 152.06 (第四 $\underline{\text{C}}$), 168.04 ($\text{O-}\underline{\text{C}}=\text{O}$), 175.44 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$)。

合成(1*R*,2*R*)-2-{4-[(2-羥乙基)胺甲醯基]苜基}-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-2,2'-二茛-1-基L-白胺酸酯(36)：



向 4-{{[(1'R,2'R)-1'-(L-白胺鹽氧基)-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基}苯甲酸(24, 130 mg, 0.26 mmol)、Et₃N (78 mg, 0.78 mmol)及 2-胺基乙醇(24 mg, 0.39 mmol)於 DCM (5 mL)中之溶液添加 T₃P(0.33 mL, 50 wt%溶液於乙酸乙酯中, 0.52 mmol), 並接著在室溫下攪拌 12 小時。使用水(25 mL)使該反應混合物驟冷, 並經 DCM (3×25 mL)萃取。使用鹽水(25 mL)清洗經分離之有機層, 在無水 Na₂SO₄上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 10% 甲醇作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 70 mg (54%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺): 測定值 539.6, 計算值 538.28, 分子式 C₃₄H₃₈N₂O₄。

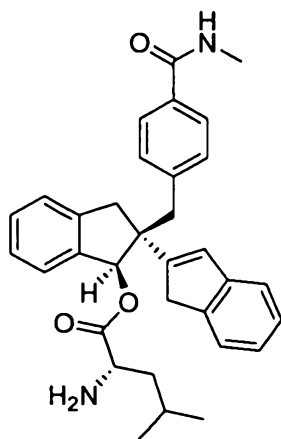
純度(HPLC): 92%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.87 (3H, d, J=6.52 Hz, CH₃), 0.92 (3H, d, J=6.64 Hz, CH₃), 1.38-1.46 (1H, m, CH₂-CH-), 1.50-1.56 (1H, m, CH₂-CH-), 1.74-1.82 (1H, m, CH₂-CH-), 3.03-3.56 (11H, 5×CH₂之 10H 及 CH-N 之 1H), 4.70 (1H, br s, CH₂-OH), 6.29 (1H, s, CH-O), 6.49 (1H, s, CH=C), 7.00 (2H, d, J=8.24 Hz, Ar-H), 7.09 (1H, dt, J=1.20, 10.16 Hz, Ar-H), 7.15-7.23 (3H, m, Ar-H), 7.27-7.37 (4H, m, Ar-H), 7.64 (2H, d, J=8.24 Hz, Ar-H), 8.31 (1H, t, J=5.64 Hz, NH)。

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): 22.33 (CH₃), 23.38 (CH₃), 24.72 (CH), 39.36-40.62 (3×CH₂), 42.55 (CH₂), 44.19

($\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 53.63 ($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{N}$ 或第四 $\underline{\text{C}}$), 54.79 (第四 $\underline{\text{C}}$ 或 $\underline{\text{C}}\text{H}-\text{N}$), 60.20 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$), 82.46 ($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{O}$), 120.88 (第三 $\underline{\text{C}}$), 123.94 (第三 $\underline{\text{C}}$), 124.63 (第三 $\underline{\text{C}}$), 125.21 (第三 $\underline{\text{C}}$), 125.72 (第三 $\underline{\text{C}}$), 126.69 (第三 $\underline{\text{C}}$), 3×127.12 ($3 \times$ 第三 $\underline{\text{C}}$), 129.17, 129.37, 2×130.01 , 132.77 ($4 \times$ 第三 $\underline{\text{C}}$ 及 $1 \times$ 第四 $\underline{\text{C}}$), 140.78 (第四 $\underline{\text{C}}$), 141.91 (第四 $\underline{\text{C}}$), 142.76 (第四 $\underline{\text{C}}$), 143.04 (第四 $\underline{\text{C}}$), 144.45 (第四 $\underline{\text{C}}$), 152.12 (第四 $\underline{\text{C}}$), 166.44 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$), 176.37 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$)。

合成(1*R*,2*R*)-2-[4-(甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-2,2'-二節-1-基L-白胺酸酯(37)：



向 4-{[(1'*R*,2'*R*)-1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}-*N*-甲基苯甲醯胺(15, 150 mg, 0.38 mmol)、DCC (94 mg, 0.45 mmol)及 DMAP (5 mg, 0.038 mmol)於乙酸乙酯 (10 mL)中之溶液添加 Fmoc 白胺酸 (133 mg, 0.38 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯 (25 mL)清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水 (25 mL)、鹽水 (10 mL)清洗該合併濾液，在無水 Na_2SO_4 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1 (250 mg)溶解於

無水 THF (5 mL) 中，然後冷卻至 0°C。逐滴添加二甲胺 (5 mL, 20% 於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之 10% 甲醇作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 100 mg (52%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺)：測定值 509.5，計算值 508.27，分子式 C₃₃H₃₆N₂O₃。

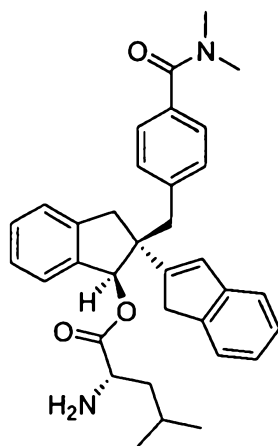
純度 (HPLC)：99%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.95 (3H, d, J=6.52 Hz, CH₃), 0.98 (3H, d, J=6.52 Hz, CH₃), 1.60-1.76 (2H, m, CH₂-CH), 1.86-1.96 (1H, m, CH), 2.97 (3H, d, J=4.80 Hz, NH-CH₃), 3.04-3.36 (6H, m, 3×CH₂), 3.62-3.68 (1H, m, CH-N), 6.08-6.14 (1H, m, NH-CH₃), 6.45 (1H, s, CH-O), 6.51 (1H, s, CH=C), 7.00 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H), 7.09-7.19 (2H, m, Ar-H), 7.21-7.29 (4H, m, Ar-H), 7.32 (2H, d, J=6.84 Hz, Ar-H), 7.50-7.56 (2H, m, Ar-H)。

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 21.74 (CH₃), 23.14 (CH₃), 24.84 (CH₃-N 或 CH), 26.80 (CH 或 CH₃-N), 39.67 (CH₂), 40.46 (CH₂), 40.64 (CH₂), 43.74 (CH₂), 53.17 (第四 C), 54.38 (CH-N), 83.48 (CH-O), 120.68 (第三 C), 123.51 (第三 C), 124.47 (第三 C), 124.63 (第三 C), 125.75 (第三 C), 126.45 (第三 C), 2×126.52 (2×第三 C), 127.06 (第三 C), 129.25 (第三 C), 129.75 (第三 C), 2×130.06 (2×第三 C), 132.66 (第四 C), 140.22 (第四 C), 141.84 (第四 C), 142.21

(第四 C), 142.56 (第四 C), 144.25 (第四 C), 151.10 (第四 C), 168.03 (C=O)。

合成 (1*R*,2*R*)-2-[4-(二甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯 (38)：



向 4-{[(1'*R*,2'*R*)-1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}-*N,N*-二甲基苯甲醯胺 (16, 185 mg, 0.45 mmol)、DCC (112 mg, 0.54 mmol) 及 DMAP (6 mg, 0.045 mmol) 於乙酸乙酯 (10 mL) 中之溶液添加 Fmoc 白胺酸 (158 mg, 0.45 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯 (25 mL) 清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水 (25 mL)、鹽水 (10 mL) 清洗該合併濾液，在無水 Na₂SO₄ 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1 (250 mg) 溶解於無水 THF (5 mL) 中，然後冷卻至 0°C。逐滴添加二甲胺 (5 mL, 20% 於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之 10% 甲醇作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 120 mg (51%) 灰白色固體之標題化合物。

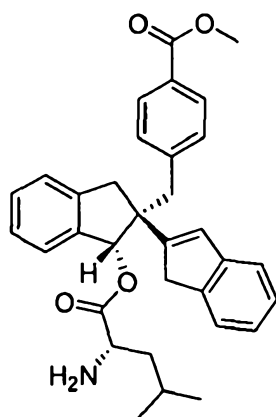
LCMS (+H⁺) : 測定值 523.2 , 計算值 522.29 , 分子式 C₃₄H₃₈N₂O₃ 。

純度 (HPLC) : 95% 。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.97 (3H, d, J=6.52 Hz, CH₃), 1.01 (3H, d, J=6.56 Hz, CH₃), 1.60-1.94 (3H, 3×m, CH₂-CH 之 1H 及 CH₂-CH 之 2H), 2.92 (3H, s, N-CH₃), 3.05-3.36 (9H, m, 3×CH₂ 之 6H 及 N-CH₃ 之 3H), 3.63-3.67 (1H, m, CH-N), 6.43 (1H, s, CH-O), 6.53 (1H, s, CH=C), 6.97 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H), 7.10-7.14 (1H, m, Ar-H), 7.18-7.28 (7H, m, Ar-H), 7.30-7.35 (2H, m, Ar-H) 。

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 21.76 (CH₃), 23.14 (CH₃), 24.85 (CH), 39.70, 40.29 及 40.57 (2×CH₂ 及 1×N-CH₃), 43.61 (CH₂), 53.13 (第四 C), 54.42 (CH-N), 83.62 (CH-O), 120.66 (第三 C), 123.48 (第三 C), 124.42 (第三 C), 124.61 (第三 C), 125.72 (第三 C), 126.43 (第三 C), 2×126.89 (2×第三 C), 127.01 (第三 C), 129.20 (第三 C), 129.72 (第四 C), 2×129.82 (2×第三 C), 134.25 (第四 C), 139.75 (第四 C), 140.19 (第四 C), 142.26 (第四 C), 142.60 (第四 C), 144.31 (第四 C), 151.23 (第四 C), 171.54 (C=O) 。

合成 4-(((1S,2S)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯 (39) :



向 4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯 (17, 200 mg, 0.50 mmol)、DCC (125 mg, 0.60 mmol) 及 DMAP (6 mg, 0.045 mmol) 於乙酸乙酯 (10 mL) 中之溶液添加 Fmoc 白胺酸 (176 mg, 0.50 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯 (25 mL) 清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水 (25 mL)、鹽水 (10 mL) 清洗該合併濾液，在無水 Na₂SO₄ 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1 (220 mg) 溶解於無水 THF (5 mL) 中，然後冷卻至 0°C。逐滴添加二甲胺 (5 mL, 20% 於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於石油醚中之 30% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 150 mg (60%) 無色半固態標題化合物。

LCMS (+H⁺)：測定值 510.2，計算值 509.26，分子式 C₃₃H₃₅NO₄。

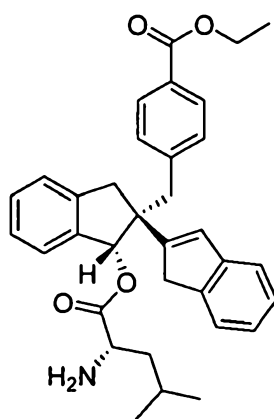
純度 (HPLC)：96%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.93 (3H, d, J=6.44 Hz, CH₃), 0.94 (3H, d, J=5.20 Hz, CH₃), 1.54-1.80 (3H, 2×m,

$\text{CH}_2\text{-CH}$ 之 2H 及 CH_2CH 之 1H), 3.05-3.39 (6H, m, $3\times\text{CH}_2$), 3.70-3.74 (1H, m, CH-N), 3.89 (3H, s, OCH_3), 6.42 (1H, s, CH-O), 6.51 (1H, s, CH=C), 7.01 (2H, d, $J=8.32$ Hz, Ar-H), 7.11-7.16 (1H, m, Ar-H), 7.18-7.31 (6H, m, Ar-H), 7.36 (1H, d, $J=7.28$ Hz, Ar-H), 7.84 (2H, d, $J=8.28$ Hz, Ar-H)。

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 21.95 (CH_3), 22.78 (CH_3), 24.77 (CH), 39.62 (CH_2), 40.37 (CH_2), 40.73 (CH_2), 43.69 (CH_2), 52.02, 52.96 及 54.40 (OCH_3 , 第四 C 及 CH-N), 83.54 (CH-O), 120.71, 123.54, 124.49, 124.64, 125.59, 126.45, 127.04, 128.28, 3×129.21 , 129.77, 2×130.00 ($13\times$ 第三 C 及 $1\times$ 第四 C), 140.06 (第四 C), 142.06 (第四 C), 142.56 (第四 C), 143.62 (第四 C), 144.22 (第四 C), 150.94 (第四 C), 167.04 (C=O), 175.51 (C=O)。

合成 4-(((1S,2S)-1-(((S)-2-氨基-4-甲基戊酰基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二茛]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯 (40) :



向 4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二茛]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯 (18, 200 mg, 0.48 mmol)、DCC (120

mg, 0.58 mmol)及DMAP (6 mg, 0.048 mmol)於乙酸乙酯 (10 mL)中之溶液添加Fmoc白胺酸(161 mg, 0.48 mmol), 並接著在室溫下攪拌12小時。濾去固體, 使用乙酸乙酯 (25 ml)清洗, 並使用1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液, 在無水Na₂SO₄上乾燥。在減壓下蒸發有機層, 並將殘餘物1 (250 mg)溶解於無水THF (6 mL)中, 然後冷卻至0°C。逐滴添加二甲胺(6 mL, 20%於THF中), 並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物, 並使用於石油醚中之30%乙酸乙酯作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物, 以產生140 mg (55%)無色半固態標題化合物。

LCMS (+H⁺): 測定值 524.2, 計算值 523.27, 分子式 C₃₄H₃₇NO₄。

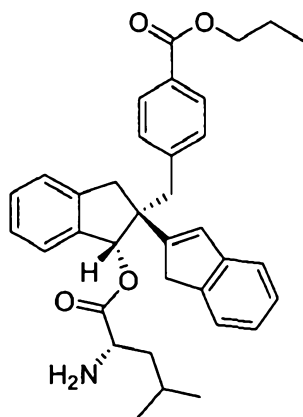
純度(HPLC): 98%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.89-0.94 (6H, m, (CH₃)₂), 1.37 (3H, t, J=6.80 Hz, CH₃), 1.64-1.80 (3H, m, CH之1H及 CH₂-CH之2H), 3.02-3.16 (2H, m, CH₂), 3.20-3.36 (4H, m, 2×CH₂), 3.82-3.86 (1H, m, CH-N), 4.34 (2H, q, J=7.20 Hz, OCH₂), 6.41 (1H, s, CH-O), 6.49 (1H, s, CH=C), 6.99 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H), 7.11-7.15 (1H, m, Ar-H), 7.16-7.30 (6H, m, Ar-H), 7.36 (1H, d, J=7.60 Hz, Ar-H), 7.83 (2H, d, J=8.40 Hz, Ar-H)。

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 14.31 (CH₃), 21.95 (CH₃), 22.80 (CH₃), 24.78 (CH), 39.62 (CH₂), 40.39 (CH₂), 40.70

($\underline{\text{CH}_2}$), 43.86 ($\underline{\text{CH}_2}$), 52.99 (第四 $\underline{\text{C}}$), 54.40 ($\underline{\text{CH-N}}$), 60.87 ($\underline{\text{CH}_2\text{-O}}$), 83.49 ($\underline{\text{CH-O}}$), 120.71 (第三 $\underline{\text{C}}$), 123.54 (第三 $\underline{\text{C}}$), 124.48 (第三 $\underline{\text{C}}$), 124.64 (第三 $\underline{\text{C}}$), 125.57 (第三 $\underline{\text{C}}$), 126.45 (第三 $\underline{\text{C}}$), 127.03 (第三 $\underline{\text{C}}$), 128.62 (第四 $\underline{\text{C}}$), 3×129.18 ($3 \times$ 第三 $\underline{\text{C}}$), 129.74 (第三 $\underline{\text{C}}$), 2×129.94 ($2 \times$ 第三 $\underline{\text{C}}$), 140.10 (第四 $\underline{\text{C}}$), 142.06 (第四 $\underline{\text{C}}$), 142.57 (第四 $\underline{\text{C}}$), 143.49 (第四 $\underline{\text{C}}$), 144.24 (第四 $\underline{\text{C}}$), 150.99 (第四 $\underline{\text{C}}$), 166.58 ($\underline{\text{C=O}}$), 175.80 ($\underline{\text{C=O}}$)。

合成 4-(((1S,2S)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯(41)：



向 4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯(19, 180 mg, 0.42 mmol)、DCC (105 mg, 0.50 mmol)及 DMAP (6 mg, 0.042 mmol)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液添加 Fmoc 白胺酸(148 mg, 0.42 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯(25 mL)清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液，在無水 Na_2SO_4 上乾燥。在減

壓下蒸發有機層，並將殘餘物1(210 mg)溶解於無水THF (5 mL)中，然後冷卻至0°C。逐滴添加二甲胺(5 mL，20%於THF中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於石油醚中之30%乙酸乙酯作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物，以產生120 mg (53%)無色半固態標題化合物。

LCMS (+H⁺)：測定值 538.5，計算值 537.29，分子式 C₃₅H₃₉NO₄。

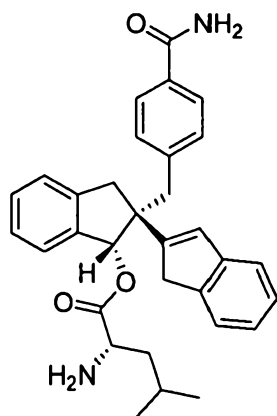
純度(HPLC)：95%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.93 (3H, d, J=4.12 Hz, CH₃), 0.94 (3H, d, J=4.12 Hz, (CH₃)), 1.03 (3H, t, J=8.00 Hz, CH₃), 1.49-1.81 (5H, m, CH之1H及2×CH₂之4H), 3.07-3.41 (6H, m, 3×CH₂), 3.64-3.67 (1H, m, CH-N), 4.26 (2H, t, J=8.00 Hz, OCH₂), 6.42 (1H, s, CH-O), 6.53 (1H, s, CH=C), 7.01 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H), 7.13-7.17 (1H, m, Ar-H), 7.20-7.32 (6H, m, Ar-H), 7.37 (1H, d, J=4.00 Hz, Ar-H), 7.86 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H)。

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 10.53 (CH₃), 21.93 (CH₃), 22.09 (CH₃), 22.87 (CH), 24.80 (CH₂), 39.61 (CH₂), 40.43 (CH₂), 40.68 (CH₂), 44.24 (CH₂), 53.12 (第四C), 54.39 (CH-N), 66.47 (CH₂-O), 83.31 (CH-O), 120.72 (第三C), 123.53 (第三C), 124.48 (第三C), 124.64 (第三C), 125.54 (第三C), 126.46 (第三C), 127.02 (第三C), 128.65 (第四C), 129.15 (第三C), 2×129.19 (2×第三C), 129.71 (第三C),

2×129.93 (2×第三 C), 140.18 (第四 C), 142.01 (第四 C), 142.57 (第四 C), 143.51 (第四 C), 144.26 (第四 C), 151.05 (第四 C), 166.64 (O-C=O), 176.39 (C=O)。

合成(1*S*,2*S*)-2-(4-胺甲醯基苜基)-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-2,2'-二節-1-基L-白胺酸酯(42)：



向4-{[(1'*S*,2'*S*)-1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}苜甲醯胺(20, 150 mg, 0.26 mmol)、DCC (64 mg, 0.31 mmol)及DMAP (3 mg, 0.026 mmol)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液添加Fmoc白胺酸(91 mg, 0.26 mmol)，並接著在室溫下攪拌12小時。濾去固體，使用乙酸乙酯(25 mL)清洗，並使用1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液，在無水Na₂SO₄上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物1 (180 mg)溶解於無水THF (5 mL)中，然後冷卻至0°C。逐滴添加二甲胺(5 mL, 20%於THF中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之10%甲醇作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物，以產生110 mg (86%)灰

白色固體之標題化合物。

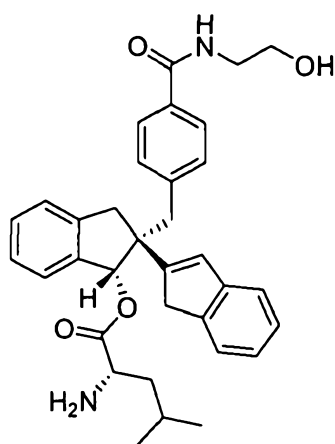
LCMS (+H⁺) : 測定值 495.2 , 計算值 494.26 , 分子式 C₃₂H₃₄N₂O₃ 。

純度 (HPLC) : 97% 。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.85 (3H, d, J=6.20 Hz, CH₃), 0.87 (3H, d, J=6.20 Hz, CH₃), 1.40-1.74 (3H, 2×m, CH₂-CH 之 2H 及 CH-CH₂ 之 1H), 3.04 (1H, d, J=13.44 Hz, CH₂), 3.11-3.28 (4H, m, 2×CH₂), 3.48-3.56 (2H, m, CH₂ 之 1H 及 CH-N), 6.27 (1H, s, CH-O), 6.49 (1H, s, CH=C), 6.99 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H), 7.09 (1H, dt, J=1.20, 10.16 Hz, Ar-H), 7.15-7.38 (8H, m, 7H×Ar-H 及 NH₂ 之 1H), 7.66 (2H, d, J=8.24 Hz, Ar-H), 7.84 (1H, br s, NH₂) 。

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): 22.50 (CH₃), 23.18 (CH₃), 24.71 (CH), 39.35-40.60 (2×CH₂), 44.30 (CH₂), 53.26 (第四 C), 54.80 (CH-N), 82.43 (CH-O), 120.89 (第三 C), 123.95 (第三 C), 124.62 (第三 C), 125.22 (第三 C), 125.57 (第三 C), 126.69 (第三 C), 127.14 (第四 C), 2×127.41 (2×第三 C), 129.14 (第三 C), 129.34 (第三 C), 2×130.05 (2×第三 C), 132.47 (第三 C), 140.70 (第四 C), 142.10 (第四 C), 142.73 (第四 C), 143.08 (第四 C), 144.47 (第四 C), 152.17 (第四 C), 168.06 (N-C=O), 176.56 (C=O) 。

合成 (1*S*,2*S*)-2-{4-[(2-羥乙基)胺甲醯基]苄基}-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-2,2'-二茛-1-基白胺酸酯 (43) :



在 -78°C 下向 4-{[(1'S,2'S)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基}-N-(2-羥乙基)苯甲醯胺(21, 300 mg, 0.79 mmol)及 2,4,6-三甲基吡啶(85 mg, 0.79 mmol)於 DCM(10 mL)中之溶液添加乙醯氯(62 mg, 0.79 mmol), 然後在 1 小時之時期內緩慢加熱至室溫。使用冰(25 mL)使反應混合物驟冷, 並經 DCM (3×25 mL)萃取。使用鹽水(25 mL)清洗有機層, 在無水 Na_2SO_4 上乾燥, 並在減壓下蒸發。使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物, 以產生 250 mg (68%) 灰白色固體之中間產物 1。

LCMS ($+\text{H}^+$): 測定值 468.4, 計算值 467.56, 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{NO}_4$ 。

純度(UPLC): 99%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.10 (3H, s, CH_3), 2.83 (1H, d, $J=13.20$ Hz, CH_2), 3.01-3.03 (2H, m CH_2), 3.26 (1H, d, $J=13.20$ Hz, CH_2), 3.46 (1H, d, $J=22.40$ Hz, CH_2), 3.58 (1H, d, $J=22.80$ Hz, CH_2), 3.69-3.73 (2H, m, CONHCH_2), 4.28 (2H, t, $J=5.60$ Hz, CH_2OCH_3), 5.25 (1H, d, $J=7.60$ Hz, CH-OH), 6.44 (1H, m, CH-OH 或 NH), 6.47 (1H, s, CH=C), 6.97

(2H, d, $J=8.00$ Hz, Ar-H), 7.17 (1H, dt, $J=2.00, 9.87$ Hz, Ar-H), 7.26-7.32 (5H, m, Ar-H), 7.44 (2H, d, $J=6.40$ Hz, Ar-H), 7.57 (2H, d, $J=8.40$ Hz, Ar-H)。

向 2-[(4-{[(1'S,2'S)-1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}苯甲醯基)胺基]乙酸乙酯(中間產物 1, 250 mg, 0.53 mmol)、DCC (142 mg, 0.62 mmol)及 DMAP (7 mg, 0.053 mmol)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液添加 *N*-[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]白胺酸(226 mg, 0.53 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯(25 mL)清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水(25 mL)、鹽水(10 mL)清洗該合併濾液，在無水 Na_2SO_4 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並使用於氯仿中之 20% 乙酸乙酯作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 320 mg (76%) 灰白色固體之中間產物 2。

LCMS ($+\text{H}^+$)：測定值 803.4，計算值 802.95，分子式 $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_7$ 。

純度(UPLC)：96%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 0.93 (6H, d, $J=5.53$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.46-1.78 (3H, 3 \times m, $\text{CH}_2\text{-CH-}$), 2.07 (3H, s, COCH_3), 3.06-3.41 (6H, m, 3 \times CH_2), 3.66-3.70 (2H, m, CONHCH_2), 4.22-4.27 (3H, m, $\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$ 及 $\text{CH-CH}_2\text{O}$), 4.42-4.46 (2H, m, $\text{CH-CH}_2\text{O}$), 4.49-4.54 (1H, m, CH-NH), 5.21 (1H, d, $J=8.92$ Hz, CH-NH), 6.41-6.43 (2H, m, CH-O 及 CH_2NHCO), 6.51 (1H, s, CH=C), 6.98 (2H, d, $J=8.20$ Hz,

Ar-H), 7.11-7.14 (1H, m, Ar-H), 7.19-7.25 (4H, m, Ar-H), 7.30-7.34 (5H, m, Ar-H), 7.71 (2H, t, $J=7.68$ Hz, Ar-H), 7.54 (2H, d, $J=8.32$ Hz, Ar-H), 7.59-7.63 (2H, m, Ar-H), 7.78 (2H, d, $J=7.24$ Hz, Ar-H)。

取(1*S*,2*S*)-2-(4-{[2-(乙醯氧基)乙基]胺甲醯基}苄基)-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-2,2'-二節-1-基*N*-[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]白胺酸酯(中間產物2, 320 mg, 0.40 mmol)溶解於無水THF (5 mL)中, 並冷卻至0°C。逐滴添加二甲胺(5 mL, 20%於THF中), 並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物1小時。在減壓下蒸發該反應混合物, 並使用於氯仿中之10%甲醇作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物, 以產生160 mg固體物質[由UPLC測得38%產物質量(581.5)]。將該固體溶解於THF:H₂O (1:1, 10 mL)中, 在0°C添加氫氧化鋰二水合物(6 mg, 0.27 mmol), 然後在室溫下攪拌1小時。使用1.5 N HCl中和該反應混合物(pH 7.0), 然後使用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取, 使用10% NaHCO₃水溶液(10 mL)清洗, 接著使用鹽水(10 mL)清洗。在無水Na₂SO₄上乾燥有機層, 在減壓下蒸發, 並使用於氯仿中之10%甲醇作為溶離劑藉由CombiFlash純化該殘餘物, 以產生35 mg (21%)灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺): 測定值 540.3, 計算值 538.68, 分子式 C₃₄H₃₈N₂O₄。

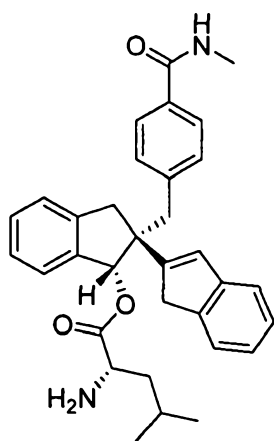
純度(HPLC): 95%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.92-0.94 (6H, m,

CH(CH₃)₂), 1.46-1.78 (3H, 3×m, CH₂-CH-), 3.06-3.13 (2H, m, CH₂), 3.18-3.27 (3H, m, CH₂之1H及烯丙基CH₂之2H), 3.37 (1H, d, J=22.40 Hz, CH₂), 3.58-3.65 (3H, m, CONHCH₂及CH-NH₂), 3.82 (2H, t, J=5.20 Hz, CH₂OH), 6.41 (1H, s, CH-O), 6.52 (1H, s, CH=C), 6.61 (1H, t, J=5.20 Hz, CONH或CH₂OH), 7.00 (2H, d, J=8.40 Hz, Ar-H), 7.12-7.19 (1H, m, Ar-H), 7.15-7.31 (6H, m, Ar-H), 7.36 (1H, d, J=7.20 Hz, Ar-H), 7.59 (2H, d, J=8.40 Hz, Ar-H)。

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 21.94 (CH₃), 22.85 (CH₃), 24.79 (CH), 29.27 (CH₂), 39.61 (CH₂), 40.59 (CH₂), 42.82 (CH₂), 44.19 (CH₂), 53.08 (第四C), 54.39 (CH-N), 62.44 (CH₂OH), 83.26 (CH-O), 120.72 (第三C), 123.54 (第三C), 124.49 (第三C), 124.65 (第三C), 125.54 (第三C), 126.47 (第三C), 2×126.66 (2×第三C), 127.03 (第三C), 129.18 (第三C), 129.70 (第三C), 2×130.13 (2×第三C), 132.18 (第四C), 140.18 (第四C), 142.01 (第四C), 142.24 (第四C), 142.55 (第四C), 144.25 (第四C), 151.07 (第四C), 168.36 (C=O), 176.27 (C=O)。

合成(1*S*,2*S*)-2-[4-(甲基胺甲酰基)苄基]-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-2,2'-二節-1-基L-白胺酸酯(44):



向 4-{[(1'S,2'S)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基}-N-甲基苯甲醯胺(22, 150 mg, 0.38 mmol)、DCC (94 mg, 0.45 mmol)及 DMAP (5 mg, 0.038 mmol)於乙酸乙酯 (10 mL)中之溶液添加 Fmoc 白胺酸 (134 mg, 0.38 mmol)，並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體，使用乙酸乙酯 (25 mL) 清洗，並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水 (25 mL)、鹽水 (10 mL) 清洗該合併濾液，在無水 Na₂SO₄ 上乾燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1 (180 mg) 溶解於無水 THF (5 mL) 中，然後冷卻至 0°C。逐滴添加二甲胺 (5 mL, 20% 於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之 10% 甲醇作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 75 mg (39%) 灰白色固體之標題化合物。

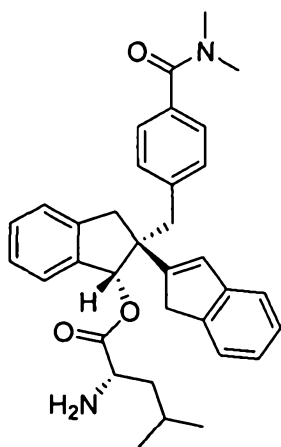
LCMS (+H⁺)：測定值 509.5，計算值 508.27，分子式 C₃₃H₃₆N₂O₃。

純度 (HPLC)：97%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.85 (3H, d, J=6.00 Hz, CH₃), 0.87 (3H, d, J=6.40 Hz, CH₃), 1.39-1.72 (3H, 2×m,

CH₂-CH 之 2H 及 CH-CH₂ 之 1H), 2.73 (3H, d, J=4.40 Hz, CH₃), 3.04 (1H, d, J=13.60 Hz, CH₂), 3.15 (1H, t, J=26.80 Hz, CH₂), 3.23-3.27 (3H, m, 2×CH₂ 之 3H), 3.49-3.55 (2H, m, CH₂ 之 1H 及 CH-N 之 1H), 6.27 (1H, s, CH-O), 6.48 (1H, s, CH=C), 6.99 (2H, d, J=8.40 Hz, Ar-H), 7.09 (1H, dt, J=1.20, 10.27 Hz, Ar-H), 7.15-7.25 (4H, m, Ar-H), 7.27-7.37 (3H, m, Ar-H), 7.61 (2H, d, J=8.40 Hz, Ar-H), 8.31 (1H, d, J=4.40 Hz, NH)。

合成 (1*S*,2*S*)-2-[4-(二甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1*H*,1'*H*-2,2'-二節-1-基-L-白胺酸酯 (45) :



向 4-{[(1*S*,2*S*)-1'-羥基-1',3'-二氫-1*H*,2'*H*-2,2'-二節-2'-基]甲基}-*N,N*-二甲基苯甲醯胺 (23, 100 mg, 0.24 mmol)、DCC (56 mg, 0.28 mmol) 及 DMAP (3 mg, 0.024 mmol) 於乙酸乙酯 (5 mL) 中之溶液添加 Fmoc 白胺酸 (84 mg, 0.24 mmol), 並接著在室溫下攪拌 12 小時。濾去固體, 使用乙酸乙酯 (25 mL) 清洗, 並使用 1.5 N HCl (25 mL)、水 (25 mL)、鹽水 (10 mL) 清洗該合併濾液, 在無水 Na₂SO₄ 上乾

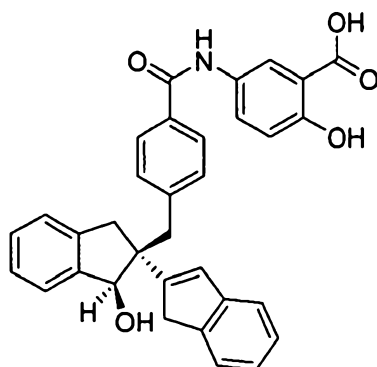
燥。在減壓下蒸發有機層，並將殘餘物 1 (140 mg) 溶解於無水 THF (5 mL) 中，然後冷卻至 0°C。逐滴添加二甲胺 (5 mL, 20% 於 THF 中)，並在室溫下緩慢攪拌該反應混合物 1 小時。在減壓下蒸發該反應混合物，並使用於氯仿中之 10% 甲醇作為溶離劑藉由 CombiFlash 純化該殘餘物，以產生 45 mg (36%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺)：測定值 523.5，計算值 522.29，分子式 C₃₄H₃₈N₂O₃。

純度 (HPLC)：97%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.82-0.87 (6H, m, 2×CH₃), 1.58-1.66 (3H, m, CH₂CH 之 2H 及 CH₂CH 之 1H), 2.83 (3H, s, N-CH₃), 2.93 (3H, s, N-CH₃), 3.11 (1H, d, J=13.20 Hz, CH₂), 3.18-3.30 (4H, m, 2×CH₂), 3.45 (1H, d, J=22.80 Hz, CH₂), 4.26-4.30 (1H, m, CH-N), 6.36 (1H, s, CH-O), 6.55 (1H, s, CH=C), 7.00 (2H, d, J=8.00 Hz, Ar-H), 7.09 (1H, dt, J=1.20, 10.00 Hz, Ar-H), 7.15-7.23 (5H, m, Ar-H), 7.27-7.37 (4H, m, Ar-H), 8.47 (2H, br s, NH₂)。

合成 2-羥基-5-(4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲醯胺基)苯甲酸 (46)：



向 4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯 (11, 200 mg, 0.48 mmol)、5-胺基-2-羥基苯甲酸 (75 mg, 0.48 mmol) 及 THF (1.0 mL) 於 5 mL 微波瓶中之混合物添加三甲基鋁 (0.5 mL, 於甲苯中之 20% 溶液), 並使該混合物在 100°C 下輻照 5 分鐘。緩慢添加 1.5 N HCl (2 mL) 使該反應混合物驟冷, 並經乙酸乙酯 (3×15 mL) 萃取。使用水 (25 mL)、鹽水 (25 mL) 清洗有機層, 在無水 Na₂SO₄ 上乾燥, 並在減壓下蒸發。藉由製備型 HPLC [Kromasil C18 (250×50 mm), 流動速率: 40 mL/分鐘, 於水/MeOH 中之 0.1% TFA, 運行時間: 40 分鐘] 純化該殘餘物, 以產生 75 mg (30%) 灰白色固體之標題化合物。

LCMS (+H⁺): 測定值 518.4, 計算值 517.19, 分子式 C₃₃H₂₇NO₅。

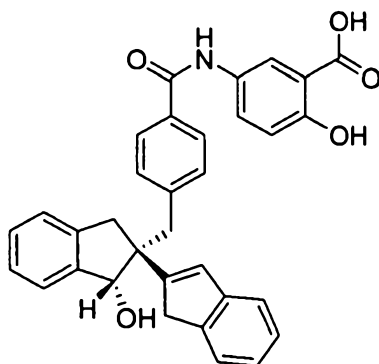
純度 (HPLC): 90%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2.72 (1H, d, J=13.64 Hz, -CH₂-), 2.97 (1H, d, J=17.20 Hz, -CH₂), 3.01 (1H, d, J=16.36 Hz, -CH₂-), 3.23 (1H, d, J=13.64 Hz, -CH₂), 3.50 (1H, d, J=23.16 Hz, CH₂), 3.65 (1H, d, J=23.16 Hz, CH₂), 5.07 (1H, s, CH-OH), 5.87 (1H, br s, CH-OH), 6.44 (1H, s, CH=C), 6.87 (1H, d, J=8.88 Hz, Ar-H), 6.97 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H), 7.10 (1H, t, J=7.28 Hz, Ar-H), 7.16-7.21 (1H, m, Ar-H), 7.23-7.29 (4H, m, Ar-H), 7.37 (1H, t, J=3.52 Hz, Ar-H), 7.42 (1H, d, J=7.28 Hz, Ar-H), 7.73 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H), 7.77 (1H, dd, J=2.68, 8.90 Hz, Ar-H), 8.18 (1H, d,

$J=2.64$ Hz, Ar-H), 10.05 (1H, s, Ar-OH或O=C-OH)。

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 39.34-40.59 ($3\times\text{CH}_2$), 56.23 (第四C), 81.49 (CH-OH), 117.10, 120.64, 122.41, 123.94, 124.27, 124.80, 124.92, 126.58, 126.81, 2×127.38 , 127.67, 128.05, 128.30, 3×130.21 , 130.81, 132.74 ($16\times$ 第三C及 $3\times$ 第四C), 140.77 (第四C), 143.39 (第四C), 143.42 (第四C), 144.88 (第四C), 145.53 (第四C), 154.46 (第四C), 158.14 (第四C), 165.36 (N-C=O), 172.15 (O-C=O)。

合成 2-羥基-5-(4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲醯胺基)苯甲酸(47)：



向 4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯(18, 200 mg, 0.48 mmol)、5-胺基-2-羥基苯甲酸(75 mg, 0.48 mmol)及 THF (1.0 mL)於 5 mL 微波瓶中之混合物添加三甲基鋁(0.5 mL, 於甲苯中之 20% 溶液), 並使該混合物在 100°C 下輻照 5 分鐘。緩慢添加 1.5 N HCl (2 mL)使該反應混合物驟冷, 並經乙酸乙酯(3×15 mL)萃取。使用水(25 mL)、鹽水(25 mL)清洗有機層, 在無水 Na_2SO_4 上乾燥, 並在減壓下蒸發。藉由製備型 HPLC

[Kromasil C18 (250×50 mm), 流動速率: 40 mL/分鐘, 於水/MeOH中之0.1% TFA, 運行時間: 40分鐘]純化該殘餘物, 以產生90 mg (36%)灰白色固體之標題化合物。

LCMS (-H⁺): 測定值 516.0, 計算值 517.19, 分子式 C₃₃H₂₇NO₅。

純度 (HPLC): 89%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2.72 (1H, d, J=13.64 Hz, CH₂), 2.97 (1H, d, J=16.92 Hz, CH₂), 3.01 (1H, d, J=16.24 Hz, -CH₂-), 3.23 (1H, d, J=13.60 Hz, CH₂), 3.49 (1H, d, J=23.12 Hz, CH₂), 3.64 (1H, d, J=23.12 Hz, CH₂), 5.06 (1H, s, CH-OH), 5.85 (1H, br s, CH-OH), 6.43 (1H, s, CH=C), 6.93 (1H, d, J=8.96 Hz, Ar-H), 6.97 (2H, d, J=8.04 Hz, Ar-H), 7.07 (1H, t, J=7.28 Hz, Ar-H), 7.17 (1H, t, J=7.40 Hz, Ar-H), 7.22-7.28 (4H, m, Ar-H), 7.39 (1H, t, J=3.44 Hz, Ar-H), 7.41 (1H, d, J=7.28 Hz, Ar-H), 7.72 (2H, d, J=8.20 Hz, Ar-H), 7.82 (1H, dd, J=2.60, 8.94 Hz, Ar-H), 8.24 (1H, d, J=2.48 Hz, Ar-H), 10.09 (1H, s, Ar-OH或O=C-OH)。

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 38.47-40.58 (3×CH₂), 56.23 (第四C), 81.48 (CH-OH), 112.82, 117.46, 120.64, 122.15, 123.94, 124.27, 124.81, 124.91, 126.58, 126.82, 2×127.39, 127.68, 128.06, 129.00, 2×130.23, 131.35, 132.64 (16×第三C及3×第四C), 140.76 (第四C), 143.38 (第四C), 143.53 (第四C), 144.87 (第四C), 145.52 (第四C), 154.45 (第四C), 157.77 (第四C), 165.47 (N-C=O), 172.22

(O-C=O)。

IL2及自體免疫發炎疾病。

細胞激素可藉由各種細胞群體產生，且已證實其可加強或限制對病原菌之免疫反應，並影響自體免疫反應。已將細胞激素之一家族(其使用常見受體 γ 鏈(cc)(一種介白素(IL)-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15及IL-21之受體組分))一般地定義為生長及存活因子。

IL-2生產可藉由促進CD4+ Th1、CD4+ Th2及CD8+ CTL效應細胞之增殖及產生而誘導免疫反應。諸多治療自體免疫疾病及器官移植排斥所用之免疫抑制藥物(諸如皮質類固醇)及免疫抑制藥物(環孢素、他克莫司(tacrolimus))藉由抑制抗原活化T細胞之IL-2之生產而起作用。其他的藥物(西羅莫司(sirolimus))阻斷IL-2R信號傳導，從而防止抗原選擇性T細胞之單株擴增及發揮作用[參考：Opposing functions of IL-2 and IL-7 in the regulation of immune responses Shoshana D. Katzman, Katrina K. Hoyer, Hans Doms, Iris K. Gratz, Michael D. Rosenblum, Jonathan S. Paw, Sara H. Isakson, Abul K. Abbas. Cytokine 56 (2011) 116-121]。

相反，IL-2可藉由促進自然(胸腺)調節性T細胞(Tregs)之存活及功能，促進誘導(周邊)Tregs之產生，並抑制CD4+ Th17效應細胞之產生而抑制免疫反應[參考：IL-2 and autoimmune disease. Anneliese Schimpl, A., Berberich, I, Kneitz, B., Krämer, S., Santner-Nanan, B., Wagner, S.,

Wolf, M., Hünig, T. Cytokine & Growth Factor Reviews 13 (2002) 369-378]。介白素-2/IL-2R缺陷隨時間之推移將導致多器官發炎及多種特異性自體抗體之形成。取決於遺傳背景，死亡將在幾週至幾個月內發生，多數死於自體免疫溶血性貧血或發炎性腸病(IBD)[參考：Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I. Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. Cell 1993;75:253-61]。

已顯示，IL-2信號傳導在免疫反應之起始及調節方面很重要。在該等雙重及對立作用中，IL-2起平衡免疫反應之作用，既促進免疫細胞活化又推動後續減低。其增強或抑制受IL-2介導之訊號之潛在臨床應用係很顯著的，且包括癌症、自體免疫發炎疾病、器官移植及HIV。

化合物對T淋巴細胞中之IL-2分泌之影響

1. 方法學

使用T細胞系Jurkat 6.1 (ATCC)。使用1 μ M或10 μ M各別化合物預處理細胞30分鐘，並接著使用結合盤之抗-CD3 (BD Pharmingen)及抗-CD28 (AnCell)刺激。使用DMSO作為媒劑對照組。免疫抑制劑環孢素A用作抑制IL-2產生之對照組。24小時後，收集上清液，並藉由ELISA測定IL-2分泌。

2. 製備化合物(原料)

藉由溶解於DMSO中而製備化合物，以得到1及10 μ g/ml之最終濃度。

3. 結果

IL-2 生產之絕對值

化合物	IL-2 pg/ml	盤 ID
未受刺激之 2	-16.56	2
DMSO 對照組 2	320.67	2
環孢素 A2	101.00	2
未受刺激之 2	-16.56	2
10 1 uM	185.56	2
10 10 uM	112.22	2
11 1 uM	272.22	2
11 10 uM	105.11	2
12 1 uM	240.22	2
12 10 uM	132.44	2
13 1 uM	276.78	2
13 10 uM	151.78	2
14 1 uM	214.44	2
14 10 uM	146.44	2
15 1 uM	207.78	2
15 10 uM	113.67	2
16 1 uM	243.00	2
16 10 uM	171.78	2
17 1 uM	168.44	2
10 10 uM	56.11	2
18 1 uM	190.78	2
18 10 uM	79.56	2
19 1 uM	174.44	2
19 10 uM	81.00	2
20 1 uM	174.11	2
20 10 uM	141.78	2
21 1 uM	210.89	2

21 10 uM	137.78	2
22 1 uM	198.56	2
22 10 uM	113.33	2
23 1 uM	191.44	2
23 10 uM	193.56	2
24 1 uM	202.13	2
24 10 uM	149.63	2
25 1 uM	208.38	2
25 10 uM	174.25	2
26 1 uM	202.25	2
26 10 uM	192.63	2
27 1 uM	350.13	2
27 10 uM	172.88	2
28 1 uM	214.75	2
28 10 uM	135.63	2
29 1 uM	220.50	2
29 10 uM	177.88	2
30 1 uM	191.63	2
30 10 uM	174.50	2
31 1 uM	233.38	2
31 10 uM	225.63	2
32 1 uM	215.25	2
32 10 uM	74.88	2
33 1 uM	186.25	2
33 10 uM	74.38	2
34 1 uM	173.25	2
34 10 uM	71.38	2
35 1 uM	238.88	2
35 10 uM	189.38	2
36 1 uM	207.38	2
36 10 uM	138.13	2

37 1 uM	275.50	2
37 10 uM	79.00	2
38 1 uM	226.75	2
38 10 uM	268.63	2
化合物	IL-2 pg/ml	盤 ID
未受刺激之 3	15.38	3
DMSO 對照組 3	338.25	3
環孢素 A 3	90.75	3
星形孢菌素 3	117.75	3
2 1 uM	98.71	3
2 10 uM	124.36	3
3 1 uM	150.07	3
3 10 uM	98.57	3
4 1 uM	97.21	3
4 10 uM	94.21	3
5 1 uM	127.29	3
5 10 uM	134.14	3
39 1 uM	105.94	3
39 10 uM	40.69	3
40 1 uM	84.86	3
40 10 uM	12.71	3
41 1 uM	99.50	3
41 10 uM	62.50	3
42 1 uM	77.71	3
42 10 uM	49.57	3
43 1 uM	97.57	3
43 10 uM	12.79	3
44 1 uM	72.50	3
44 10 uM	12.43	3
45 1 uM	56.07	3

45 10 uM	14.29	3
46 1 uM	92.21	3
46 10 uM	72.07	3
47 1 uM	99.64	3
47 10 uM	98.79	3

化合物培育結果

圖 21 及 22 中展示合成化合物 2-5、10-16、18-38 及 39-47 對 IL2 自 Jurkat 細胞之釋放之影響。在 1 及 10 μm 濃度下評估化合物。相對於陰性對照組，多數化合物顯示抑制釋放。但是，化合物 40(12.71 pg/ml)、43(12.79 pg/ml)、44(12.43 pg/ml)、45(14.29 pg/ml) 及 46(72.07 pg/ml) (圖 22) 係最有效的，相對於陰性對照組(326.67 pg/ml)顯著降低 IL-2 釋放，且接近 1 μm 之環孢素(101.00 pg/ml)之功效。此外，化合物 10(122.22 pg/ml)、32(74.88 pg/ml)、33(74.38 pg/ml) 及 34(71.38 pg/ml)(圖 21) 亦係有效的，相對於陰性對照組(320.67 pg/ml)顯著降低 IL-2 釋放。相反，化合物 27 在 1 μm 下加強 IL2 之釋放(350.13 pg/ml)，比陰性對照組(338.25 pg/ml)更強。已顯示，IL-2 信號傳導在免疫反應之起始及調節方面很重要。在該等雙重及對立作用中，IL-2 起平衡免疫反應之作用，既促進免疫細胞活化又推動後續減低。其增強或抑制受 IL-2 介導之訊號之潛在臨床應用係很顯著的，且包括癌症、自體免疫發炎疾病、器官移植及 HIV。

發炎性腸病 (IBD)

發炎性腸病 (IBD) 係一種發炎性免疫疾病，包括兩種先天性的發炎性疾病：潰瘍性結腸炎 (UC) 及克隆氏病

(Crohn's disease)(CD)。CD與UC間最大的區別在於發炎腸組織之範圍。在CD中炎症係不連續分段的，稱為局部性腸炎，而UC為淺表性炎症，自直腸近端連續延伸。目前，IBD之確切病因不為人所知。該疾病似乎與黏膜對腸上皮細胞感染之過度免疫反應有關，因為促炎分子與免疫調節分子並不平衡。IBD之遺傳模式顯示，病理之複雜遺傳性組分可包括若干組合基因突變。當前仍無針對IBD之專一性診斷，但隨著對病理機制的理解增進，測試方法亦有改善。IBD之治療包括誘導及保持緩解。IBD患者可藉由使用5-胺基水楊酸酯而保持緩解。但是，雖然在UC中使用胺基水楊酸酯提供顯著益處，不但可以誘導輕度至中度疾病之緩解，而且可防止復發，但該等藥物維持CD之緩解之有效性並不可靠，且不再建議使用。治療活動性疾病主要依靠皮質類固醇，常用於使UC及CD患者在有限時間內重回緩解，雖然設計用於局部投與之布地奈德(budesonide)之全身性吸收受限制，但在保持緩解方面並無益處。替代物，諸如免疫抑制藥物硫唑嘌呤(azathioprine)及巯基嘌呤(mercaptopurine)，與甲胺喋呤(methotrexate)及環孢素(cyclosporine)之功效有限，且會引發嚴重副作用。抗-TNF α 抗體，諸如英利昔單抗及阿達姆單抗，可用於彼等對標準免疫抑制療法沒有反應之患者。但是，由於其特定表現型或產生自體抗體，故諸多患者對抗-TNF α 療法沒有反應。

急性鼠科DSS結腸炎模型

葡聚糖硫酸鈉 (DSS) 結腸炎模型為實驗小鼠模型，其顯示人類 UC 中所觀測到之諸多症狀，諸如腹瀉、便血、黏膜潰瘍、結腸縮短、體重減輕及若干結腸細胞激素變化。該研究廣泛用作研究 UC 病理亦及篩選治療 UC 之新穎治療性干預之模型。

在該等研究中，使用急性 DSS 結腸炎模型，在 BALB/c 小鼠飲用水中投與 5% DSS。該餵養方案誘發嚴重急性結腸炎，在第 7-8 天時，小鼠直腸明顯出血，且體重明顯減輕；除非預先犧牲，否則所有小鼠將在第 10-12 天時死亡。

實驗 1：關於化合物 2-6

小鼠

自商業供應商 (Harlan UK) 獲得無特定病原體 BALB/c 小鼠，6-8 週大。向小鼠餵食輻照食品，並在正壓下圈養於獨立換氣籠 (Tecniplast UK) 中。

DSS 處理

將 DSS (5%) 溶解於飲用水中。在第 0-7 天以 10 mg/kg 或 30 mg/kg 的劑量經口投與化合物，並在第 8 天或第 9 天依據疾病嚴重性挑選小鼠。每天檢查小鼠之發病率，並記錄單個小鼠之體重。依據屍體解剖、結腸長度及組織學確定結腸炎之誘導。回收結腸並在 -20°C 下保存，以備免疫分析。隨機地按字母順序標記所有化合物及實驗組。以盲檢方式記錄整個實驗的所有數據。箱/組之編碼直至分析數據時才揭開，即標有 A、B、C 等等之箱子確定為未經處

理、經DSS處理或經DSS+化合物處理。

基於體重減輕、便血及糞便硬度確定疾病活動指數(DAI)，以使結腸炎嚴重程度量化。給每一參數一個評分，評分總和用作DAI。對於每個處理組n=8。

DAI 說明			
評分	體重減輕%	糞便硬度	便血
0	無	正常	無
1	1-3		
2	3-6	軟便 ¹	糞便中可見
3	6-9		
4	>9	腹瀉 ²	明顯出血 ³

定義

¹軟便-糞便不成形，但成糊狀。

²腹瀉-不成糞便，黏在肛門周圍。

³明顯出血-糞便中血超標，鮮血遍佈肛門周圍。

投與化合物

所有化合物製備成於0.5%羧甲基纖維素/2%吐溫80中之懸浮液(0.1 mL經口(p.o.)每10 g體重)，以3-30 mg/Kg之劑量經口填餵。開始，化合物作為游離酸溶解於無水酒精中，並使用14+1及0.5%羧甲基纖維素/2%吐溫80稀釋，此舉導致於懸浮液中細沉澱，而僅有N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽在此媒劑中可溶。

單個對映異構體化合物2、3、4及5對5% DSS鼠科結腸炎之影響

對經餵食於飲用水中之5% DSS之BALB/c投與化合物2、

3、4及5，每天以30 mg/kg經口作為於0.5%羧甲基纖維素/2%吐溫80之懸浮液投與7天。DAI測量此模型中疾病之嚴重程度。化合物4在此變量中沒有活性，DAI在任何時間點上皆沒有顯著($P>0.05$)差異(圖3)。在第7天，化合物2及化合物5兩者皆使DAI明顯地($P<0.5$)大幅降低，從媒劑對照組之 9.0 ± 0.53 至化合物5之 3.2 ± 0.73 及化合物2之 2.5 ± 0.71 ，兩者間沒有顯著差異(圖4)。相較之下，化合物3僅使DAI降低至 5.3 ± 0.6 。此明顯($P>0.05$)比化合物2或化合物5之影響更小。另外，在第7天，雖然經化合物3處理之小鼠之DAI比媒劑對照組之影響在統計學上($P<0.05$)更低(圖4)，但在第6天，化合物3與媒劑沒有統計學上($P>0.05$)差異(圖3)。總之，化合物2、3、4及5之四種對映異構體中，在30 mg/kg時，化合物2及5兩者在此模型中皆具有高活性。化合物3具有最低活性，明顯($P<0.05$)低於化合物2及化合物5。化合物4在該5% DSS鼠科結腸炎模型中幾乎無活性。

選擇化合物2及5之鹽

由於對映異構體化合物2及化合物5之水溶性有限，故吾人嘗試合成化合物5之五種鹽。合成鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽、 α -甲基苄胺鹽及N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽。鈉鹽及鈣鹽並不成功。將化合物5之三種鹽，即鉀鹽、 α -甲基苄胺鹽及N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽用於溶解度及分配係數(logP)研究。

測定四種化合物之溶解度：

發現化合物5之每種鹽之分配係數相似。顯示發生此現象係因為，當鹽在溶液中時，化合物解離成母化合物5及相關鹽離子。因此，所測得之分配係數係來自母離子而非鹽分子。

成功測得化合物2之N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽(化合物6)在中性、鹼性及酸性條件下之分配係數(Log₁₀ POW)分別為3.5、4.3及2.6。

N-甲基-(D)-葡萄糖胺被選為化合物2及化合物5之候選鹽。10 mg/kg之對映異構體化合物2及化合物5及其N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽(化合物6及7)對5% DSS鼠科結腸炎之影響

在30 mg/kg時，已知化合物2及5在5% DSS模型中顯示較佳活性，吾人再次以10 mg/kg之較低劑量測試其及其N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽之活性，以於0.5%羧甲基纖維素/2%吐溫80中之懸浮劑或溶液每日給藥，持續7天。不對鹽之劑量進行調整以補償其分子量之增加。在10 mg/kg時，相較於媒劑對照組時，化合物5及7兩者對5% DSS鼠科結腸炎模型之DAI皆沒有明顯($P>0.05$)影響(參見圖5)。相反，在第7天，以10 mg/kg之化合物2及6、N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽明顯地($P<0.05$)且有效地使DAI自 9.3 ± 0.51 (媒劑)分別降低至 2.1 ± 0.7 及 3.3 ± 0.52 (圖6)。

總之，化合物2(及其N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽，化合物6)在四種對映異構體中顯然係最有效的，且為唯一在10 mg/kg之較低劑量下保持活性之對映異構體。

化合物6之劑量範圍對5% DSS鼠科結腸炎之影響，並與去氫皮質醇對比

化合物6被選為最佳對映異構體。測定5% DSS鼠科模型結腸炎中不同劑量水平之化合物6之活性，以確定是否存在劑量/反應關係，並與一種有效口服類固醇(去氫皮質醇，常用於使遭受IBD急性發作之患者重返緩解)比較。

以3、10及30 mg/Kg(相當於6.6-20 mg/Kg化合物2)之劑量水平向小鼠投與化合物6。亦用去氫皮質醇(5 mg/Kg)處理一組經DSS處理之小鼠。去氫皮質醇為一種在臨床上用於治療人類IBD之皮質類固醇，且此研究中所用之量為用於該模型之去氫皮質醇之最佳劑量。使用於飲用水中之5% DSS處理BALB/c小鼠3天後，結腸炎之病癥很明顯。表現為體重減輕(圖7)及疾病DAI增加(圖8)。但是，在每日口服投與達7天後，以三種劑量(3、10及30 mg/Kg)之化合物6對小鼠不產生明顯反應。在急性DSS處理後，化合物6在所檢測疾病之多種參數中減輕結腸炎之嚴重性。化合物6減輕DSS模型疾病之能力為劑量依賴性。以30 mg/Kg之化合物6對DSS模型係有療效的，療效不亞於或更甚於5 mg/Kg之去氫皮質醇。

該等症狀之嚴重性是漸進性的，在第7天時，經DSS處理之小鼠已失去高至其體重之15%，且所有小鼠直腸皆出血。屍體解剖當日之DAI值顯示，經化合物6(3-30 mg/kg)處理之小鼠在每一劑量水平上具有明顯($P < 0.05$ - $P < 0.01$)低於媒劑對照組之DAI。去氫皮質醇(5 mg/kg)亦明顯

($P < 0.01$; ANOVA ; Dunnett氏多重比較試驗)降低DAI評分(圖9)。

在第7天之屍體解剖時，所有經DSS處理之組別之結腸長度相對於未經DSS處理之小鼠結腸明顯縮短($P < 0.05$ - $P < 0.01$; ANOVA ; Dunnett氏多重比較試驗)(圖10)。當與媒劑對照組比較時，化合物6之3 mg/kg最低劑量對抑制結腸縮短方面沒有明顯效果，而10及30 mg/kg組與去氫皮質醇組確實有明顯效果。30 mg/kg之化合物6明顯比去氫皮質醇更佳($P < 0.05$; ANOVA ; Dunnett氏多重比較試驗)(圖10)。

DSS處理後，末端結腸之組織學切片顯示腺窩全面受損及細胞浸潤(圖11)。

使用任意評分系統量化結腸損傷之程度。相對於媒劑組，化合物6在10及30 mg/Kg皆導致結腸病理之劑量依賴性及高度統計學顯著減少($P < 0.01$; Kruksal-Wallis ANOVA ; Dunnett氏多重比較試驗)。相反，相對於經媒劑處理小鼠，經去氫皮質醇(5 mg/Kg)處理組在組織學評分方面沒有明顯改善。

小鼠結腸之炎症與組織學結果一致，僅投與媒劑之經DSS處理之小鼠中結腸骨髓過氧化酶(MPO)活性明顯($P < 0.001$; Kruksal-Wallis ANOVA ; Dunnett氏多重比較試驗)提升。在第7天時，結腸骨髓過氧化酶活性(MPO)(代表嗜中性白血球細胞滲入腸道壁之水平)，由於DSS處理而增長了約8倍，但由於以30 mg/kg之化合物6與去氫皮質醇而

分別明顯($P < 0.05$)降低63%及54%(圖13)。

結腸細胞激素之定量濃度顯示，DSS處理引起IL1 β (圖14(a))、TNF α (圖14(b))及IL6(圖14(c))分別升高至 0.744 ± 0.076 ng/mg、 1.478 ± 0.378 ng/mg及 1.057 ± 0.1784 ng/mg。在每種情況中，化合物6導致該等細胞激素濃度之明顯($P < 0.05$, 30 mg/kg)及劑量依賴性降低。去氫皮質醇(5 mg/kg)亦降低($p < 0.05$)細胞激素濃度之升高；在第7天，對於每種細胞激素，去氫皮質醇(5 mg/kg)與化合物6(30 mg/kg之較高劑量水平)之效果沒有顯著差異。

總而言之，每日口服投與7天後，三種劑量(3、10及30 mg/Kg)之化合物6對小鼠不會導致明顯反應。急性5% DSS處理後，化合物6在所檢測疾病之多種參數中減輕結腸炎之嚴重性，且減輕疾病之能力係劑量依賴性的。另外，30 mg/Kg之化合物6對DSS模型係有療效的，療效不亞於或更勝於去氫皮質醇(5 mg/Kg)。

慢性IL10^{-/-}模型

刪除IL10^{-/-}基因之小鼠自然地發展出慢性結腸炎，發病年齡及疾病嚴重性取決於背景鼠品系及圈養動物之條件。在此項研究中所用之圈養條件下，IL10^{-/-}小鼠結腸炎之發病亦取決於品系，就死亡率而言，BALB/c品系小鼠比C57BL/6品系動物發病更早且更嚴重。在此實驗中，動物在九週內接受MWF方案之口服治療。起初，兩組小鼠逐漸增重(圖15)。經媒劑處理之小鼠體重自處理第5週停止增長，而經化合物6處理之小鼠體重保持增長，直至第8

週。在第9週時動物體重明顯下降，在第60天，在每組中人道地處死一隻瀕死的動物。隨著其他小鼠體重不斷下降，並顯現出疾病之臨床症狀，在第9週(第63天)精選出兩組，並作分析。雖然藉由Kaplan-Meier分析顯示，經媒劑處理組(25%)比經化合物6處理小鼠(9.2%)死亡率更高，但在9週內IL10^{-/-}小鼠存活率沒有統計學差異。

自小鼠回收血清，並分析血清澱粉樣蛋白A(SAA)作為結腸炎之嚴重性之標記。經化合物6處理小鼠比經媒劑處理之IL10^{-/-}小鼠之SAA濃度明顯($P < 0.05$; 司徒頓氏t-試驗)降低(圖16)。

圖17中顯示經媒劑或化合物6處理之IL10^{-/-}小鼠之組織學切片。

為經媒劑或化合物6處理之IL10^{-/-}小鼠之結腸之組織學切片評分。接受化合物6之IL10^{-/-}小鼠比經媒劑處理者之結腸病理之程度明顯降低($P < 0.05$; 司徒頓氏t-試驗)(圖18)。

總而言之，9週內使用MWF方案，相對於經媒劑處理小鼠，在IL10^{-/-} BALB/c品系小鼠中使用化合物6口服治療(300 mg/kg/週)更能延緩因為結腸炎所致的體重減輕且降低死亡。在該慢性結腸炎模型中，就結腸發炎之血清標記及發炎程度及對結腸之損傷而言，化合物6明顯降低疾病指數。於大鼠中化合物6之血漿半衰期($t_{1/2}$)為3小時尤其值得注意。由於標準MWF投與方案，故小鼠在實驗期間將有相當長時期不受化合物6影響。

實驗2：關於化合物31及47

1. 程序

2.1 動物及圈養

該研究中總共使用 90 隻 BDF1(無幽門螺桿菌 (*H. Pylori*-free)，無諾羅病毒鼠) 雄性小鼠 (Harlan Laboratories, UK)。供應 8-10 週大動物，於 10-12 週大時使用。所有小鼠皆單獨圈養在 SPF(無特定病原體) 屏障單元之獨立換氣籠 (IVC) 中。藉由標號籠及耳朵穿孔識別動物。

2.2 飲食及動物福利

向動物餵食來自 B & K 之大鼠及小鼠膨化飼料。飼料及水(來自飲水瓶)皆可隨意利用。恒定室溫為 $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ，而平均相對濕度為 $55 \pm 10\%$ 。晝夜週期恒定，光照期及黑暗期分別為 12 小時。每日監控動物健康，並定期清掃籠子。

2.3 分組、劑量、投與及調配物

將小鼠隨機分成實驗組。任何籠中之所有小鼠皆接受相同處理，並出於識別目的進行耳穿孔。使用日體重測量值來計算適用組中所投與測試物或媒劑之體積。

2.4 DSS 與測試物之製備及投與

DSS

將 DSS(MP Biomedicals 0216011090, lot# M2709) 製備成於飲用水中之 5%(w/v) 溶液，並於第 0 至 6 天(包括首末日) 每日現做。自第 0 至 7 天投與 DSS。

化合物 31 及 47

將測試物保存在 -20°C 下，直至研究開始。於研究前一天，使用 Ultraturax 勻漿器將每個測試物調配成於 0.5% 羧

甲基纖維素(CMC, Sigma C4888)中之均質懸浮液(於無菌水(Sigma W3500, lot# RNBC1419)中)。將化合物31調配成2 mg/ml，而將化合物47調配成4 mg/ml。在調配後，使用字母代碼將測試物及媒劑原料匿名化。在研究期間將所有溶液保存在4°C，每日分配3.8 ml之每種懸浮液。自研究第0天至研究第6天，每日在09.00小時以10 ml/kg藉由口服填餵來投與測試物。

5-ASA

將5-ASA (5-胺基水楊酸，Sigma A3537，lot# 051M1878V)等分為介於71與84 mg之預稱重量。如測試物懸浮液一樣，藉由字母代碼將該等等分試樣匿名化。在每一個投藥日，將每種等份試樣調配成於0.5% CMC (Sigma C4888)中之10 mg/ml懸浮液(於無菌水(Sigma W3500, lot# RNBC1419)中)。在研究第0天至研究第6天，每日在09.00小時以10 ml/kg(以產生100 mg/kg之劑量)藉由口服填餵來投與5-ASA。

2.5臨床檢查

任何顯示體重減輕超過15%之動物皆視為不適，且可能將停止處理。若體重減輕超過20%，則任何動物都將被剔除。每天監控動物健康。自第0天直至研究結束，為所有小鼠稱重並評估糞便硬度，及根據2.1之標準評估糞便中及肛門周圍之明顯出血情況，每天一次。

評分	體重減輕 (%第0天重量)	糞便硬度	明顯出血 (糞便中/肛門周圍)
0	<1%	正常	無
1	≥1% <5%	輕微腹瀉	輕微
2	≥5% <10%	中度腹瀉	中度
3	≥10% <15%	嚴重腹瀉	嚴重
4	≥15%		

表 2.1 活體疾病參數之評分標準

在屍體解剖時，觀察大腸中糞便，以增補活體觀測。若大腸中空，且未作活體觀測，則糞便硬度之預設評分為 1。除以上詳述之標準觀測外，單獨圈養小鼠達至多 30 分鐘之時間段，以提升糞便觀測之可能性；此僅對主要研究組之小鼠進行。根據製造商說明，使用潛血試驗卡 (Becton Coulter)，亦對主要研究組所觀測之糞便進行糞便潛血測試。

化合物 47 及 31 之單一劑量之效果及在第 7 天時對鼠科 DSS(模型 2) 之影響。

最初結果顯示，與媒劑對照組相比，化合物 47 並不導致 DSS 鼠科結腸炎模型之體重減輕之加劇，且與 5ASA 相當 (圖 19)。此外，與媒劑相比，化合物 47 及化合物 31 二者皆降低 DAI，與 5ASA 相當或相等 (圖 20)。此顯示，該等化合物對患病模型之該等參數之活性與 5ASA 相當，且有治療 IBD 之用途。

圖 21 為條形圖，顯示化合物對自 Jurkat 細胞釋放 IL2 之影響。

圖 22 為條形圖，顯示化合物對自 Jurkat 細胞釋放 IL2 之影響。

本發明不受限於上文中所述之細節上可有差異之實施例。

附錄 1

所用化學品縮列語列表

Aq	水溶液
b.p.	沸點
CDCl_3	氘化氯仿
$\text{CH}(\text{OCH}_3)_3$	原甲酸三甲基甲矽烷基酯
CO_2	二氧化碳
DCM	二氯甲烷
dIW	經蒸餾去離子水
DMSO	二甲基亞砷
Et_2O	乙醚
EtOH	乙醇
H_2O	水
HCl	氫氯酸
IR	紅外線
IPA	異丙醇
KCl	氯化鉀
M	莫耳
min	分鐘

μl	微升
mM	毫莫耳
m.p.	熔點
N_2	氮氣
NaBH_4	硼氫化鈉
NaOH	氫氧化鈉
Na_2SO_4	硫酸鈉
NMR	核磁共振
O_2	氧氣
RT	室溫
$^t\text{BuOH}$	第三丁醇
$^t\text{BuOK}$	第三-丁醇鉀
S.E.M.	平均標準誤差
THF	四氫呋喃
TLC	薄層層析法
μl	微升
Triflic Acid	三氟甲磺酸
TMS Triflate	三氟甲磺酸三甲基甲矽烷酯
v/v	體積/體積
w/v	重量/體積
λ_{em}	發射波長
λ_{exc}	激發波長

所用生物

縮略語列表

5-ASA	5-胺基水楊酸
DAI	疾病活動指數
DSS	葡聚糖硫酸鈉
IBD	發炎性腸病
IVC	獨立換氣籠
MPO	骨髓過氧化酶
PBS	磷酸鹽緩衝鹽水
PEG	聚乙二醇
p.o.	經口
p.r.	經直腸
q.d.	每日一次
SD	標準偏差
SPF	無特定病原體
v/v	體積/體積
w/v	重量/體積

附錄 2

X-射線研究

化合物 2(S)-(-)-甲基苄胺鹽(化合物 8)之單晶 X-射線分析，使用 SuperNova、雙、零度 Cu、Altas 繞射儀與表 1 中所列的參數。

表 1. 化合物 8、化合物 2 之 (*S*)-(-)-甲基苄胺鹽之數據收集及結構精算

繞射儀	SuperNova, 雙, 零度Cu, Atlas
輻射源	SuperNova (Cu) X-射線源, Cu K α
數據收集方法	掃描 Ω
數據收集之 θ 角範圍	3.74至76.22°
指標範圍	-13 $\leq h \leq$ 13, -11 $\leq k \leq$ 12, -14 $\leq l \leq$ 14
反射點收集	12753
獨立反射	5263 [R(int)=0.0196]
獨立反射覆蓋率	99.4%
校對反射差角	N/A
吸收校正	當量之半經驗係數
最大及最小透光率	1.00000及0.90238
結構解析技術	直接法
結構解析程式	Bruker SHELXTL
精算技術	基於 F^2 之全矩陣最小平方
精算程式	Bruker SHELXTL
函數最小化	$\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2$
數據/限制/參數	5263/1/363
基於 F^2 之擬合優度	1.007
Δ/σ_{\max}	0.001
最終折射率	
5161數據; $I > 2\sigma(I)$	R1=0.0321, wR2=0.0857
所有數據	R1=0.0327, wR2=0.0865
加權方案	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0600P)^2 + 0.2200P]$ 其中 $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
絕對結構參數	0.04 (14)
消光係數	0.0035 (5)
最大繞射峰及谷	0.214及-0.154 e \AA^{-3}

精算概述：

有序非-H原子，XYZ	自由精算
有序非-H原子，U	各向異性
H原子(在碳上)，XYZ	依靠附屬原子之理想位置
H原子(在碳上)，U	鍵合原子之合適多個U(eq)
H原子(在雜原子上)，XYZ	自由精算
H原子(在雜原子上)，U	各向同性
無序原子，OCC	使用兩個部分受限模型精算為一
無序原子，XYZ	自由精算
無序原子，U	自由精算

- 單晶X-射線數據確認化合物8結構為單斜晶系，空間群 $P2_1$ ，其中一化合物8分子在不對稱單元中(表2)。

表2. 化合物8之樣品及晶體數據

結晶溶劑	二乙醚，MeOH，THF	
結晶法	緩慢蒸發	
實驗式	$C_{34}H_{33}N_1O_3$	
式量	503.61	
溫度	100(1) K	
波長	1.54178 Å	
晶體粒度	0.50×0.50×0.50 mm	
晶體慣態	無色塊	
晶系	單斜晶系	
空間群	$P2_1$	
單位晶格大小	$a=11.0344(2)$ Å	$\alpha=90^\circ$
	$b=10.1727(2)$ Å	$\beta=93.682(2)^\circ$
	$c=11.8532(2)$ Å	$\gamma=90^\circ$
體積	$1327.77(4)$ Å ³	
Z	2	
密度(計算值)	1.260 Mg/m ³	
吸收係數	0.627 mm ⁻¹	
F(000)	536	

- 化合物 2 在 C9 及 C10 處之絕對立體化學確定為 *S*, *S*, 而甲基苄胺陽離子在 C33 處為 *S*。此分配係考慮到確定為 0.04(14) 之弗萊克參數及成鹽物立體化學之先驗知識而做出的。
- 亦可對 Bijvoet 對差異使用貝氏統計以確定絕對立體化學, 得到立體化學之對掌性中心 C9、C10 及 C33 為 *S*、*S* 及 *S* 之概率分別為 1.000, 而為 *R*、*R* 及 *R* 之概率為 0.000。從弗萊克參數測量值來看, 此結果支持 C9、C10 及 C33 分別為 *S*、*S* 及 *S* 之分配。
- 自單晶 X-射線結構所計算的 X-射線粉末繞射圖與圖 2 (或以下圖) 中所示之立體化學一致。

表 3. 化合物 8 之原子座標及等效各向異性、原子位移參數 (\AA^2) 確定為正交 U_{ij} 張量之 1/3。

	x/a	y/b	z/c	U(eq)
O1	0.02763(10)	0.17316(11)	1.16556(8)	0.0228(2)
O2	0.07430(9)	-0.03465(10)	1.12294(7)	0.0194(2)
O3	0.10561(8)	0.01057(10)	1.90142(8)	0.0184(2)
C1	0.08315(12)	-0.12167(14)	1.47373(12)	0.0198(3)
C2	0.07248(13)	-0.09752(14)	1.35802(12)	0.0192(3)
C3	0.08014(11)	0.02912(13)	1.31666(11)	0.0158(3)
C4	0.05975(11)	0.05851(14)	1.19195(11)	0.0164(3)
C5	0.10196(12)	0.13219(14)	1.39262(11)	0.0184(3)
C6	0.11261(13)	0.10790(14)	1.50817(11)	0.0197(3)
C7	0.10101(11)	-0.01884(14)	1.55106(10)	0.0164(3)
C8	0.09988(12)	-0.04205(14)	1.67717(10)	0.0177(3)
C9	0.22568(11)	-0.05199(14)	1.74191(10)	0.0160(3)
C10	0.20981(12)	-0.06390(14)	1.87231(10)	0.0173(3)

C11	0.32285(12)	-0.00001(14)	1.92450(11)	0.0183(3)
C12	0.36695(13)	-0.00323(15)	2.03747(11)	0.0217(3)
C13	0.46523(13)	0.07703(16)	2.07062(12)	0.0263(3)
C14	0.51796(13)	0.15733(16)	1.99312(13)	0.0271(3)
C15	0.47368(13)	0.16061(15)	1.87974(13)	0.0237(3)
C16	0.37476(12)	0.08173(14)	1.84684(11)	0.0188(3)
C17	0.30303(12)	0.07486(14)	1.73362(11)	0.0189(3)
C18	0.29536(12)	-0.17122(14)	1.70380(10)	0.0170(3)
C19	0.24493(13)	-0.29849(15)	1.68674(11)	0.0224(3)
C20	0.34284(13)	-0.38466(15)	1.64945(10)	0.0202(3)
C21	0.34340(15)	-0.51740(16)	1.62093(12)	0.0279(3)
C22	0.45250(18)	-0.57426(17)	1.59308(13)	0.0363(8)
C23	0.55837(16)	-0.50075(18)	1.59165(13)	0.0317(4)
C24	0.55735(14)	-0.36697(17)	1.61785(12)	0.0269(3)
C25	0.44911(13)	-0.31016(15)	1.64729(11)	0.0212(3)
C26	0.42215(14)	-0.17370(16)	1.68241(12)	0.0238(3)
C18A	0.29536(12)	-0.17122(14)	1.70380(10)	0.0170(3)
C19A	0.24493(13)	-0.29849(15)	1.68674(11)	0.0224(3)
C20A	0.34284(13)	-0.38466(15)	1.64945(10)	0.0202(3)
C21A	0.34340(15)	-0.51740(16)	1.62093(12)	0.0279(3)
C22A	0.45250(18)	-0.57426(17)	1.59308(13)	0.0279(3)
C23A	0.55837(16)	-0.50075(18)	1.59165(13)	0.0317(4)
C24A	0.55735(14)	-0.36697(17)	1.61785(12)	0.0269(3)
C25A	0.44911(13)	-0.31016(15)	1.64729(11)	0.0212(3)
C26A	0.42215(14)	-0.17370(16)	1.68241(12)	0.0238(3)
N1	-0.09024(11)	-0.21952(13)	1.02800(10)	0.0194(2)
C27	-0.18541(12)	0.06679(15)	0.92258(12)	0.0220(3)
C28	-0.19466(13)	0.15069(16)	0.82981(13)	0.0256(3)
C29	-0.23606(14)	0.10317(17)	0.72421(13)	0.0273(3)
C30	-0.26855(15)	-0.02757(18)	0.71195(13)	0.0301(3)
C31	-0.26063(14)	-0.11089(16)	0.80481(13)	0.0255(3)
C32	-0.21928(12)	-0.06417(15)	0.91135(11)	0.0200(3)
C33	-0.21444(12)	-0.15827(15)	1.01084(12)	0.0205(3)
C34	-0.24587(14)	-0.09613(16)	1.12172(13)	0.0256(3)

表 4. 化合物 8 之選定鍵長 (Å)

O1-C4	1.2528(18)	O2-C4	1.2688(17)
O3-C10	1.4373(16)	O3-H3A	0.88(2)
C1-C2	1.3909(19)	C1-C7	1.3964(19)
C2-C3	1.383(2)	C3-C5	1.3929(19)
C3-C4	1.5108(17)	C5-C6	1.3893(18)
C6-C7	1.395(2)	C7-C8	1.5141(16)
C8-C9	1.5457(17)	C9-C18	1.5203(19)
C9-C17	1.5537(19)	C9-C10	1.5713(16)
C10-C11	1.5040(18)	C11-C16	1.391(2)
C11-C12	1.3953(17)	C12-C13	1.394(2)
C13-C14	1.385(2)	C14-C15	1.401(2)
C15-C16	1.390(2)	C16-C17	1.5152(18)
C18-C19	1.418(2)	C18-C26	1.4380(19)
C19-C20	1.481(2)	C20-C21	1.392(2)
C20-C25	1.398(2)	C21-C22	1.394(2)
C22-C23	1.388(3)	C23-C24	1.396(2)
C24-C25	1.391(2)	C25-C26	1.485(2)
N1-C33	1.5073(18)	N1-H1B	0.91(2)
N1-H1C	0.93(2)	N1-H1D	0.90(2)
C27-C32	1.388(2)	C27-C28	1.390(2)
C28-C29	1.391(2)	C29-C30	1.383(3)
C30-C31	1.387(2)	C31-C32	1.398(2)
C32-C33	1.5172(19)	C33-C34	1.518(2)

表 5. 化合物 8 之選定鍵角 (°)

C10-O3-H3A	107.0(15)	C2-C1-C7	120.96(13)
C3-C2-C1	120.72(13)	C2-C3-C5	118.95(12)
C2-C3-C4	121.50(12)	C5-C3-C4	119.48(12)
O1-C4-O2	125.44(12)	O1-C4-C3	116.78(12)
O2-C4-C3	117.77(12)	C6-C5-C3	120.23(13)
C5-C6-C7	121.32(13)	C6-C7-C1	117.75(12)
C6-C7-C8	120.71(12)	C1-C7-C8	121.43(13)

C7-C8-C9	115.87(10)	C18-C9-C8	111.09(11)
C18-C9-C17	110.70(11)	C8-C9-C17	113.19(11)
C18-C9-C10	108.74(10)	C8-C9-C10	109.89(10)
C17-C9-C10	102.86(10)	O3-C10-C11	109.18(11)
O3-C10-C9	109.69(10)	C11-C10-C9	103.26(10)
C16-C11-C12	121.07(13)	C16-C11-C10	110.61(11)
C12-C11-C10	127.84(13)	C13-C12-C11	118.29(14)
C14-C13-C12	120.72(13)	C13-C14-C15	120.99(14)
C16-C15-C14	118.34(14)	C15-C16-C11	120.58(13)
C15-C16-C17	129.14(13)	C11-C16-C17	110.16(12)
C16-C17-C9	103.90(11)	C19-C18-C26	109.64(13)
C19-C18-C9	124.70(12)	C26-C18-C9	125.65(13)
C18-C19-C20	107.21(12)	C21-C20-C25	120.31(14)
C21-C20-C19	131.41(14)	C25-C20-C19	108.27(13)
C20-C21-C22	118.51(15)	C23-C22-C21	121.31(15)
C22-C23-C24	120.24(15)	C25-C24-C23	118.68(15)
C24-C25-C20	120.94(14)	C24-C25-C26	130.48(14)
C20-C25-C26	108.57(13)	C18-C26-C25	106.29(13)
C33-N1-H1B	108.3(13)	C33-N1-H1C	112.0(13)
H1B-N1-H1C	107.4(18)	C33-N1-H1D	111.6(13)
H1B-N1-H1D	112.5(18)	H1C-N1-H1D	105.0(17)
C32-C27-C28	120.51(14)	C27-C28-C29	120.09(15)
C30-C29-C28	119.78(14)	C29-C30-C31	120.10(14)
C30-C31-C32	120.61(15)	C27-C32-C31	118.89(14)
C27-C32-C33	122.36(13)	C31-C32-C33	118.74(13)
N1-C33-C32	110.61(11)	N1-C33-C34	108.16(11)
C32-C33-C34	114.30(12)		

表 6. 化合物 8 之選定扭轉角 (°)

C7-C1-C2-C3	0.4(2)	C1-C2-C3-C5	1.7(2)
C1-C2-C3-C4	-175.50(12)	C2-C3-C4-O1	156.41(13)
C5-C3-C4-O1	-20.75(18)	C2-C3-C4-O2	-22.38(18)
C5-C3-C4-O2	160.46(12)	C2-C3-C5-C6	-1.7(2)
C4-C3-C5-C6	175.57(12)	C3-C5-C6-C7	-0.5(2)

C5-C6-C7-C1	2.5(2)	C5-C6-C7-C8	-173.65(12)
C2-C1-C7-C6	-2.52(19)	C2-C1-C7-C8	173.64(12)
C6-C7-C8-C9	-83.92(16)	C1-C7-C8-C9	100.03(15)
C7-C8-C9-C18	-64.43(16)	C7-C8-C9-C17	60.83(15)
C7-C8-C9-C10	175.19(12)	C18-C9-C10-O3	-155.49(11)
C8-C9-C10-O3	-33.70(15)	C17-C9-C10-O3	87.10(12)
C18-C9-C10-C11	88.22(13)	C8-C9-C10-C11	-149.99(11)
C17-C9-C10-C11	-29.19(13)	O3-C10-C11-C16	-96.36(13)
C9-C10-C11-C16	20.29(15)	O3-C10-C11-C12	75.67(18)
C9-C10-C11-C12	-167.68(14)	C16-C11-C12-C13	-0.5(2)
C10-C11-C12-C13	-171.75(13)	C11-C12-C13-C14	-0.3(2)
C12-C13-C14-C15	0.3(2)	C13-C14-C15-C16	0.4(2)
C14-C15-C16-C11	-1.2(2)	C14-C15-C16-C17	174.32(14)
C12-C11-C16-C15	1.2(2)	C10-C11-C16-C15	173.88(13)
C12-C11-C16-C17	-175.05(12)	C10-C11-C16-C17	-2.40(16)
C15-C16-C17-C9	167.34(14)	C11-C16-C17-C9	-16.79(15)
C18-C9-C17-C16	-88.09(12)	C8-C9-C17-C16	146.44(11)
C10-C9-C17-C16	27.92(13)	C8-C9-C18-C19	-44.46(16)
C17-C9-C18-C19	-171.10(11)	C10-C9-C18-C19	76.60(15)
C8-C9-C18-C26	137.25(13)	C17-C9-C18-C26	10.60(17)
C10-C9-C18-C26	-101.70(15)	C26-C18-C19-C20	-1.81(14)
C9-C18-C19-C20	179.67(11)	C18-C19-C20-C21	-179.77(14)
C18-C19-C20-C25	1.34(15)	C25-C20-C21-C22	1.5(2)
C19-C20-C21-C22	-177.24(14)	C20-C21-C22-C23	-1.1(2)
C21-C22-C23-C24	-0.3(2)	C22-C23-C24-C25	1.2(2)
C23-C24-C25-C20	-0.7(2)	C23-C24-C25-C26	177.73(14)
C21-C20-C25-C24	-0.6(2)	C19-C20-C25-C24	178.39(12)
C21-C20-C25-C26	-179.41(12)	C19-C20-C25-C26	-0.38(15)
C19-C18-C26-C25	1.57(15)	C9-C18-C26-C25	-179.92(11)
C24-C25-C26-C18	-179.32(14)	C20-C25-C26-C18	-0.71(15)
C32-C27-C28-C29	-1.2(2)	C27-C28-C29-C30	0.3(2)
C28-C29-C30-C31	0.4(2)	C29-C30-C31-C32	-0.3(2)
C28-C27-C32-C31	1.2(2)	C28-C27-C32-C33	-178.07(13)
C30-C31-C32-C27	-0.5(2)	C30-C31-C32-C33	178.85(14)
C27-C32-C33-N1	-86.99(16)	C31-C32-C33-N1	93.72(15)
C27-C32-C33-C34	35.36(18)	C31-C32-C33-C34	-143.93(14)

表 7. 化合物 8 之各向異性原子位移參數 (Å²)，各向異性原子
 位移因數指數採用以下形式： $-2\pi^2 [h^2 a^2 U_{11} + \dots + 2hka^* b^* U_{12}$

	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
O1	0.0325(5)	0.0206(5)	0.0153(4)	0.0025(4)	0.0015(4)	0.0044(4)
O2	0.0255(5)	0.0206(5)	0.0123(4)	-0.0017(4)	0.0024(3)	-0.0014(4)
O3	0.0205(4)	0.0232(5)	0.0116(4)	-0.0002(4)	0.0027(3)	0.0016(4)
C1	0.0257(7)	0.0179(7)	0.0159(6)	0.0017(5)	0.0018(5)	-0.0028(5)
C2	0.0267(7)	0.0171(7)	0.0139(6)	-0.0035(5)	0.0024(5)	-0.0019(5)
C3	0.0160(6)	0.0187(7)	0.0128(6)	-0.0004(5)	0.0017(4)	0.0011(5)
C4	0.0166(5)	0.0193(7)	0.0134(6)	0.0000(5)	0.0014(4)	-0.0018(5)
C5	0.0234(6)	0.0155(7)	0.0159(6)	-0.0001(5)	-0.0011(5)	0.0020(5)
C6	0.0251(6)	0.0175(7)	0.0158(6)	-0.0030(5)	-0.0024(5)	0.0028(5)
C7	0.0150(5)	0.0213(7)	0.0129(6)	0.0000(5)	0.0009(4)	0.0028(5)
C8	0.0188(6)	0.0217(7)	0.0124(6)	-0.0007(5)	0.0000(4)	0.0018(5)
C9	0.0186(6)	0.0177(7)	0.0117(5)	0.0004(5)	0.0007(4)	-0.0002(5)
C10	0.0206(6)	0.0190(7)	0.0121(6)	0.0000(5)	0.0005(4)	0.0022(5)
C11	0.0201(6)	0.0185(7)	0.0163(6)	-0.0030(5)	0.0004(5)	0.0033(5)
C12	0.0234(6)	0.0249(8)	0.0166(6)	-0.0018(5)	-0.0015(5)	0.0056(5)
C13	0.0237(7)	0.0322(9)	0.0216(7)	-0.0074(6)	-0.0074(5)	0.0074(6)
C14	0.0196(7)	0.0284(8)	0.0324(8)	-0.0099(6)	-0.0049(6)	0.0015(6)
C15	0.0199(6)	0.0229(7)	0.0282(7)	-0.0035(6)	0.0008(5)	0.0012(6)
C16	0.0186(6)	0.0198(7)	0.0178(6)	-0.0023(5)	0.0007(5)	0.0028(5)
C17	0.0213(6)	0.0203(7)	0.0151(6)	0.0004(5)	0.0018(5)	-0.0008(5)
C18	0.0200(6)	0.0206(7)	0.0101(5)	0.0011(5)	-0.0009(4)	0.0004(5)
C19	0.0245(7)	0.0249(8)	0.0176(6)	-0.0024(5)	0.0008(5)	0.0029(5)
C20	0.0256(7)	0.0227(7)	0.0124(6)	0.0001(5)	0.0015(5)	0.0027(5)
C21	0.0392(8)	0.0237(8)	0.0215(6)	-0.0032(6)	0.0059(6)	-0.0017(7)
C22	0.063(2)	0.0236(16)	0.0226(13)	-0.0024(11)	0.0090(13)	0.0165(15)
C23	0.0359(8)	0.0356(9)	0.0240(7)	-0.0034(6)	0.0049(6)	0.0140(7)
C24	0.0253(7)	0.0331(9)	0.0225(7)	-0.0050(6)	0.0034(5)	0.0047(6)

C25	0.0253(7)	0.0253(8)	0.0129(5)	0.0003(5)	0.0016(5)	0.0035(5)
C26	0.0277(7)	0.0248(8)	0.0197(6)	-0.0005(6)	0.0069(5)	0.0012(6)
C18A	0.0200(6)	0.0206(7)	0.0101(5)	0.0011(5)	-0.0009(4)	0.0004(5)
C19A	0.0245(7)	0.0249(8)	0.0176(6)	-0.0024(5)	0.0008(5)	0.0029(5)
C20A	0.0256(7)	0.0227(7)	0.0124(6)	0.0001(5)	0.0015(5)	0.0027(5)
C21A	0.0392(8)	0.0237(8)	0.0215(6)	-0.0032(6)	0.0059(6)	-0.0017(7)
C22A	0.0392(8)	0.0237(8)	0.0215(6)	-0.0032(6)	0.0059(6)	-0.0017(7)
C23A	0.0359(8)	0.0356(9)	0.0240(7)	-0.0034(6)	0.0049(6)	0.0140(7)
C24A	0.0253(7)	0.0331(9)	0.0225(7)	-0.0050(6)	0.0034(5)	0.0047(6)
C25A	0.0253(7)	0.0253(8)	0.0129(5)	0.0003(5)	0.0016(5)	0.0035(5)
C26A	0.0277(7)	0.0248(8)	0.0197(6)	-0.0005(6)	0.0069(5)	0.0012(6)
N1	0.0248(6)	0.0191(6)	0.0143(5)	-0.0013(5)	0.0005(4)	-0.0007(5)
C27	0.0216(6)	0.0233(7)	0.0213(7)	-0.0001(5)	0.0017(5)	-0.0030(5)
C28	0.0250(7)	0.0228(8)	0.0293(7)	0.0035(6)	0.0038(6)	-0.0021(6)
C29	0.0265(7)	0.0298(9)	0.0254(7)	0.0087(6)	-0.0001(5)	-0.0017(6)
C30	0.0326(8)	0.0357(9)	0.0214(7)	0.0019(6)	-0.0041(6)	-0.0050(7)
C31	0.0286(7)	0.0238(8)	0.0234(7)	0.0001(6)	-0.0034(6)	-0.0053(6)
C32	0.0169(6)	0.0233(7)	0.0198(6)	0.0024(5)	0.0007(5)	-0.0024(5)
C33	0.0196(6)	0.0205(7)	0.0212(6)	0.0023(5)	0.0001(5)	-0.0031(5)
C34	0.0280(7)	0.0264(8)	0.0232(7)	0.0029(6)	0.0065(6)	0.0024(6)

附錄 3

化合物 編號	化學名稱
1	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
2	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
3	4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
4	4-(((1R,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
5	4-(((1S,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
6	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸 6-(甲胺基)己烷-1,2,3,4,5-戊醇酯
7	4-(((1S,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸 6-(甲胺基)己烷-1,2,3,4,5-戊醇酯
8	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸 (S)-1-苯乙基銨
9	4-(((1R,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸 (R)-1-苯乙基銨
10	4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲 酸甲酯
11	4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲 酸乙酯
12	4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲 酸丙酯
13	4-([(1'R,2'R)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基)苯甲 醯胺
14	4-([(1'R,2'R)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基)-N- (2-羥乙基)苯甲醯胺
15	4-([(1'R,2'R)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基)-N- 甲基苯甲醯胺
16	4-([(1'R,2'R)-1'-羥基-1',3'-二氫-1H,2'H-2,2'-二節-2'-基]甲基)- N,N-二甲基苯甲醯胺

17	4-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1-羥基-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯
18	4-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1-羥基-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯
19	4-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1-羥基-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯
20	4-(((1 <i>S</i> ,2' <i>S</i>)-1'-羥基-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲醯胺
21	4-(((1 <i>S</i> ,2' <i>S</i>)-1'-羥基-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)- <i>N</i> -(2-羥乙基)苯甲醯胺
22	4-(((1 <i>S</i> ,2' <i>S</i>)-1'-羥基-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)- <i>N</i> -甲基苯甲醯胺
23	4-(((1 <i>S</i> ,2' <i>S</i>)-1'-羥基-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)- <i>N,N</i> -二甲基苯甲醯胺
24	4-(((1' <i>R</i> ,2' <i>R</i>)-1'-(<i>L</i> -白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
25	4-(((1' <i>R</i> ,2' <i>R</i>)-1'-(<i>L</i> -纈胺醯氧基)-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
26	4-(((1' <i>R</i> ,2' <i>R</i>)-1'-(<i>L</i> -異白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
27	4-(((1' <i>R</i> ,2' <i>R</i>)-1'-(甘胺醯氧基)-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
28	4-(((1' <i>S</i> ,2' <i>S</i>)-1'-(<i>L</i> -白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
29	4-(((1' <i>S</i> ,2' <i>S</i>)-1'-(<i>L</i> -纈胺醯氧基)-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
30	4-(((1' <i>S</i> ,2' <i>S</i>)-1'-(<i>L</i> -異白胺醯氧基)-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
31	4-(((1' <i>S</i> ,2' <i>S</i>)-1'-(甘胺醯氧基)-1',3'-二氫-1 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-二節-2'-基)甲基)苯甲酸
32	4-(((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-(((<i>S</i>)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯

33	4-(((1R,2R)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯
34	4-(((1R,2R)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯
35	(1R,2R)-2-(4-胺甲醯基苄基)-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
36	(1R,2R)-2-{4-[(2-羥乙基)胺甲醯基]苄基}-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
37	(1R,2R)-2-[4-(甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
38	(1R,2R)-2-[4-(二甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯(38)
39	4-(((1S,2S)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸甲酯
40	4-(((1S,2S)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸乙酯
41	4-(((1S,2S)-1-(((S)-2-胺基-4-甲基戊醯基)氧基)-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲酸丙酯
42	(1S,2S)-2-(4-胺甲醯基苄基)-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
43	(1S,2S)-2-{4-[(2-羥乙基)胺甲醯基]苄基}-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-1-基白胺酸酯
44	(1S,2S)-2-[4-(甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
45	(1S,2S)-2-[4-(二甲基胺甲醯基)苄基]-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-1-基 L-白胺酸酯
46	2-羥基-5-(4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲醯胺基)苯甲酸
47	2-羥基-5-(4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-[2,2'-二節]-2-基)甲基)苯甲醯胺基)苯甲酸

【圖式簡單說明】

圖 1 為 X-射線晶體結構，顯示對映異構體化合物 4(R)-

(+)-甲基苄胺鹽(化合物9)之絕對立體化學；

圖2為X-射線晶體結構，顯示對映異構體化合物2(S)-(-)-甲基苄胺鹽(化合物8)之絕對立體化學；

圖2A為所採用顯示編號方案之化合物8分子之晶體結構視圖。顯示50%概率水平之非氫原子之各向異性原子位移橢球體。氫原子以任意小半徑展示。僅顯示主要無序組分；

圖3為7天內30 mg/kg之化合物2、3、4及5對5% DSS結腸炎疾病活動指數(DAI)之影響之圖表；

圖4在第7天時30 mg/kg之化合物2、3、4及5對5% DSS結腸炎疾病活動指數(DAI)之影響之條形圖；

圖5為7天內10 mg/kg之化合物5、7、2及6對5% DSS結腸炎疾病活動指數(DAI)之影響之圖表；

圖6為在第7天時10 mg/kg之化合物5、7、2及6對5% DSS結腸炎疾病活動指數(DAI)之影響之條形圖。星號表示與媒劑對照組有顯著差異($P < 0.05$)(單因數變異數分析)；

圖7為顯示化合物6對經5% DSS處理的小鼠體重減輕之影響之圖表。數據為來自6-7隻小鼠/組之平均值 \pm SEM；

圖8為顯示化合物6對經5% DSS處理的小鼠DAI之影響之圖表。數據為來自6-7隻小鼠/組之平均值 \pm SEM；

圖9為在第7天時化合物6對經5% DSS處理的小鼠DAI之影響之條形圖。數據為平均值 \pm SEM。星號表示與媒劑對照組有顯著差異($P < 0.05$)(單因數變異數分析)；

圖10為在第7天時化合物6對經5% DSS處理的小鼠之結

腸長度之影響之條形圖。星號表示與媒劑對照組有顯著差異($P < 0.05$)(單因數變異數分析)；

圖 11 顯示小鼠末端結腸之代表性蘇木精及曙紅染色切片。顯示較高放大倍數(X10)；

圖 12 為顯示化合物 6 對經 DSS 處理的小鼠結腸之組織學評分之影響之條形圖。數據為來自 5-6 隻小鼠之平均值 \pm SEM。星號表示與媒劑對照組有顯著差異($P < 0.05$)(單因數變異數分析)。註，最大評分值為 10；

圖 13 為顯示化合物 6 對未經處理或經媒劑、去氫皮質醇及化合物 2 處理小鼠(曝露至 5% DSS)結腸中骨髓過氧化酶(MPO)活性之影響之條形圖。數據為來自 5-6 隻小鼠之平均值 \pm SEM。星號表示與媒劑對照組有顯著差異($P < 0.05$)(單因數變異數分析)；

圖 14(A)至(C)為顯示化合物 6 對經 DSS 處理小鼠中細胞激素(IL1 β (A)、TNF α (B)及 IL6(C))濃度之影響之條形圖。數據為來自 5-6 隻小鼠之平均值 \pm SEM。星號表示與媒劑對照組有顯著差異($P < 0.05$)(單因數變異數分析)；

圖 15 為顯示經媒劑或化合物 6 處理 IL10^{-/-}小鼠之體重減輕之圖表。小鼠係以週一/週三/週五(MWF)給藥方案經口投與化合物 6(300 mg/kg/週)或媒劑。在實驗開始時小鼠為~4週大，且處理 9週。每週為小鼠稱重，且數據係以來自 9-12 隻小鼠/組之平均值 \pm SEM 表示。監控小鼠明顯疾病、直腸脫垂，並人道地處死瀕死動物；

圖 16 為散點圖，代表來自在第 9 週時存活動物之單隻小

鼠血清澱粉樣蛋白A(SAA)濃度及平均值(橫線)(經化合物6或媒劑處理組分別為11及9隻小鼠)。使用司徒頓氏t-試驗法(Student's t-test)測試組間統計學差異；

圖17為經媒劑或化合物6處理9週之IL10^{-/-}小鼠末端結腸之代表性蘇木精及曙紅染色切片；

圖18為經媒劑或化合物6處理之IL10^{-/-}小鼠末端結腸之組織學評分。散點圖表示來自在第9週時存活動物之單隻小鼠組織學評分及平均值(橫線)(經化合物6或媒劑處理組分別為11及9隻小鼠)。使用司徒頓氏t-試驗法測試組間統計學差異；

圖19為顯示在第7天時經5% DSS處理小鼠之體重減輕之散點圖。數據為來自6-7隻小鼠/組之平均值±SEM；對於化合物31及47，DSS鼠科結腸炎(方法2)；

圖20為顯示在第7天時經5% DSS處理小鼠之DAI之散點圖。數據為來自6-7隻小鼠/組之平均值±SEM；對於化合物31及47，DSS鼠科結腸炎(方法2)；

圖21為條形圖，顯示化合物10-16及18-38對自Jurkat細胞釋放之IL2之影響；及

圖22為條形圖，顯示化合物2-5及39-47對自Jurkat細胞釋放之IL2之影響。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101126408

※申請日：101.7.20

※IPC 分類：

C07C 65/19 (2006.01) A61K 31/166 (2006.01)
 C07C 69/78 (2006.01) A61K 31/192 (2006.01)
 C07C 229/08 (2006.01) A61K 31/221 (2006.01)
 C07C 235/42 (2006.01) A61K 31/235 (2006.01)
 A61P 1/00 (2006.01)
 A61P 29/00 (2006.01)
 A61P 37/00 (2006.01)

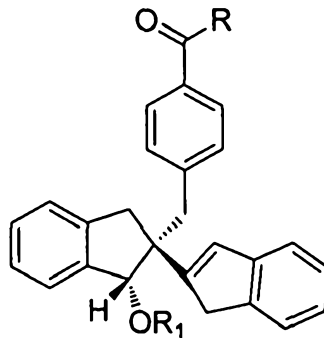
一、發明名稱：(中文/英文)

用於治療自體免疫發炎疾病之化合物

COMPOUNDS FOR USE IN THE TREATMENT OF AUTOIMMUNE
 INFLAMMATORY DISEASE

二、中文發明摘要：

本發明揭示特別用於自體免疫發炎疾病及尤其治療發炎性腸病之化合物，其具有下式：

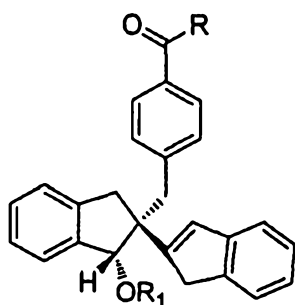


其中R係選自以下相同或不同之一者或多者：氫、羥基、視情況經取代之烷基、視情況經取代之芳基、烷氧基、芳氧基、硫醇，及視情況經取代之胺基，

及其中R₁係選自以下相同或不同之一者或多者：氫、乙醯基、視情況經取代之烷基、視情況經取代之芳基，及選自白胺酸、纈胺酸、異白胺酸及甘胺酸之胺基酸。

三、英文發明摘要：

Compounds particularly for use in an autoimmune inflammatory disease and especially the treatment of inflammatory bowel disease have the formula:



wherein R is selected from one or more of the same or different of hydrogen, hydroxyl, optionally substituted alkyl, optionally substituted aryl, alkoxy, aryloxy, thiol, and optionally substituted amino,

and wherein R₁ is selected from one or more of the same or different of hydrogen, acetyl, optionally substituted alkyl, optionally substituted aryl, and an amino acid selected from leucine, valine, isoleucine, and glycine.

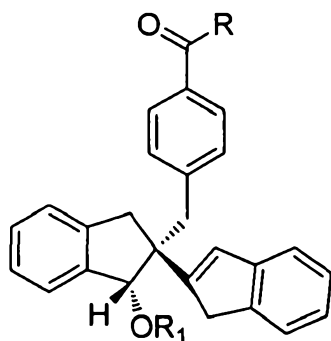
四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



化合物	Milli-RO H ₂ O µg/mL	pH 4.0 緩衝液 µg/mL	pH 7.0 緩衝液 µg/mL	pH 9.0 緩衝液 µg/mL
化合物 5	1.38	0.33	320.1	369.6
化合物 5 之鉀鹽	217.0	0.15	54.71	340.3
化合物 5 之甲基 苄胺鹽	413.9	0.20	227.4	311.0
化合物 5 之 N-甲 基-(D)-葡萄糖胺鹽	>60,000 *	0.14	>60,000*	>3,000*

*估計值

出乎意料地，發現化合物 5 之 N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽(化合物 7) 溶解度最大，大大高於該組類似化合物，溶解度 >60,000 µg/mL(在 Milli-RO 水中)、0.14 µg/mL(在 pH 4 緩衝液中)、>60,000 µg/mL(在 pH 7.0 緩衝液中)及 >3,000 µg/mL(在 pH 9.0 緩衝液中)。化合物 2 之 N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽(化合物 6) 得到基本相同的數值，溶解度 >60,000 µg/mL(在 Milli-RO 水中)、0.5 µg/mL(在 pH 4 緩衝液中)、>60,000 µg/mL(在 pH 7.0 緩衝液中)及 >3,000 µg/mL(pH 9.0 緩衝液中)。

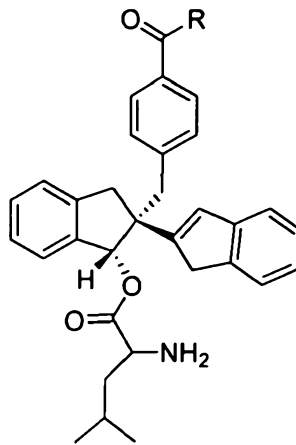
使用 HPLC 方法(逆相 C18 HPLC 管柱)研究在中性、酸性及鹼性 pH 下化合物 5 及相關類似化合物物之分配係數。

化合物	中性 Log ₁₀ POW	鹼性 Log ₁₀ POW	酸性 Log ₁₀ POW
化合物 5	3.7	3.7	3.9
化合物 5 鉀鹽	3.7	3.7	3.9
化合物 5 甲基苄胺鹽	3.6	3.6	3.9
化合物 5 N-甲基-(D)-葡萄糖胺鹽	3.5	3.5	3.8

七、申請專利範圍：

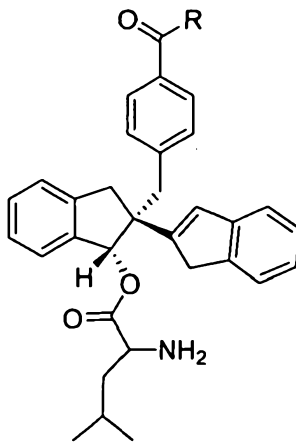
105年1月19日修正頁(本)
劃線

1. 一種具有絕對立體化學及下式之化合物



其中 R 係選自： NH_2 、 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 NHCH_3 或 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 。

2. 一種具有絕對立體化學及下式之化合物



其中 R 係選自： $\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ 或 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 。

3. 一種醫藥組合物，其包含有效量之如請求項 1 或 2 之化合物及醫藥上可接受之載劑。