

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99807091.2

C07D401/12
A61K 31/44 C07K 5/023
C07D213/82 C07D495/10
C07D409/12 C07D333/38
C07D403/12 C07D417/12

[43] 公开日 2001 年 7 月 18 日

[11] 公开号 CN 1304406A

[22] 申请日 1999.4.9 [21] 申请号 99807091.2
 [30] 优先权
 [32] 1998.4.10 [33] US [31] 60/081,394
 [86] 国际申请 PCT/US99/04297 1999.4.9
 [87] 国际公布 WO99/52896 英 1999.10.21
 [85] 进入国家阶段日期 2000.12.6
 [71] 申请人 G·D·瑟尔公司
 地址 美国伊利诺伊州
 [72] 发明人 N·S·钱德拉库马 B·N·德赛
 B·德瓦达斯 R·胡夫
 I·K·克汉纳 S·N·劳
 J·G·里科 T·E·罗杰斯
 P·G·鲁明斯基 M·A·鲁瑟尔
 Y·于 A·F·加斯基
 J·W·马勒查

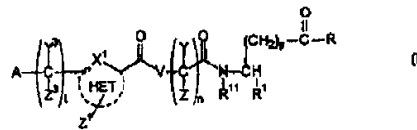
J·M·米亚施罗
 [74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
 代理人 钟守期

权利要求书 24 页 说明书 191 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 作为玻连蛋白拮抗剂的杂环甘氨酸 β-丙氨酸衍生物

[57] 摘要

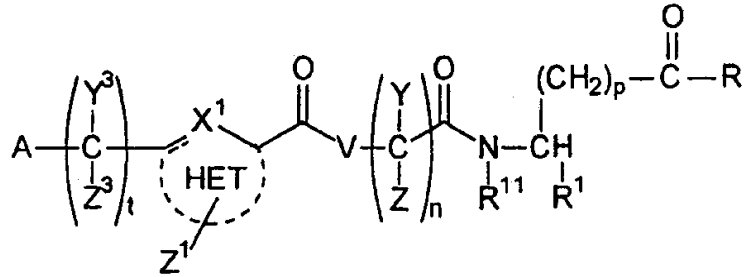
本发明涉及一类由式(I)表示的化合物或者它们的药学上可接受的盐,含有这类化合物的药用组合物和治疗由 α₃β₃ 整联蛋白介导的 疾病的方法。



ISSN 1008-4274

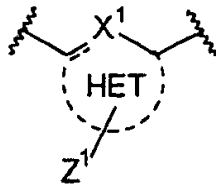
权 利 要 求 书

1. 下式化合物或者它们的药学上可接受的盐:



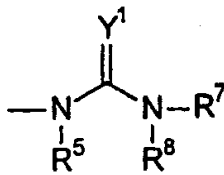
5

其中



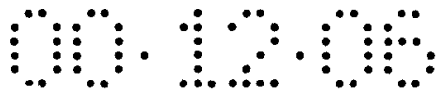
10 为含有 1 至 4 个选自 O、N 或 S 的杂原子的、任选不饱和的 5-8 元单环杂环，其中 X¹ 选自 CH、CH₂、N、NH、O 和 S;

A 为



其中 Y¹ 选自 N-R²、O 和 S;

15 R² 选自 H、烷基、芳基、羟基、烷氧基、氟基、硝基、氨基、链烯基、链炔基、酰氨基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、卤代烷基羰基、卤代烷氧基羰基、烷硫基羰基、芳硫基羰基、酰氧基甲氧基羰基、以一个或多个选自以下的取代基任选取代的烷



基：低级烷基、卤素、羟基、卤代烷基、氰基、硝基、羧基、氨基、烷氧基、芳基或以一个或多个卤素、卤代烷基、低级烷基、烷氧基、氰基、烷基磺酰基、烷硫基、硝基、羧基、氨基、羟基、磺酸、磺酰胺、芳基、稠合的芳基、单环杂环或稠合的单环杂环任选取代的芳基，
5 以一个或多个选自以下的取代基任选取代的芳基：卤素、卤代烷基、羟基、低级烷基、烷氧基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、氰基、硝基、烷硫基、烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、羧基衍生物、氨基、芳基、稠合的芳基、单环杂环和稠合的单环杂环，单环杂环和以一个或多个选自以下的取代基任选取代的单环杂环：卤素、卤代烷基、低级烷基、
10 烷氧基、氨基、硝基、羟基、羧基衍生物、氰基、烷硫基、烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、芳基或稠合的芳基；或者

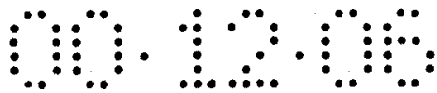
R^2 与 R^7 一起形成以一个或多个选自低级烷基、硫代烷基、烷基氨基、羟基、酮基、烷氧基、卤代、苯基、氨基、羧基或羧酸酯、螺二氧戊环和稠合的苯基的取代基任选取代的含有两个氮的 4-12 元杂环；
15 或

R^2 与 R^7 一起形成含有一个或多个选自 O、N 和 S 的杂原子的、任选不饱和的 4-12 元杂环；或

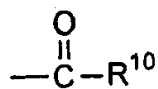
R^2 与 R^7 一起形成以一个或多个选自低级烷基、苯基、烷氧基和羟基的取代基任选取代的 5-9 元杂芳环；或者

20 R^2 与 R^7 一起形成与芳基或杂芳基环稠合的 5 元杂芳环；

R^7 (当不与 R^2 一起时) 和 R^8 独立选自 H, 烷基, 链烯基, 链炔基, 芳烷基, 氨基, 烷基氨基, 羟基, 烷氧基, 芳基氨基, 酰氨基, 烷基羰基, 芳基羰基, 烷氧基羰基, 芳氧基, 芳氧基羰基, 卤代烷基羰基, 卤代烷氧基羰基, 烷硫基羰基, 芳硫基羰基, 酰氧基甲氧基羰基, 环
25 烷基, 双环烷基, 芳基, 酰基, 苯甲酰基, 以一个或多个选自以下的取代基任选取代的烷基：低级烷基、卤素、羟基、卤代烷基、氰基、硝基、羧基衍生物、氨基、烷氧基、硫代、烷硫基、磺酰基、芳基、芳烷基、以一个或多个选自以下的取代基任选取代的芳基：卤素、卤



- 代烷基、低级烷基、烷氧基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、烷硫基、卤代烷硫基、硫代、羟基、氰基、硝基、羧基衍生物、芳氧基、酰氨基、酰基氨基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、三氟代烷氧基、三氟代甲基、磺酰基、烷基磺酰基、卤代烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、芳基、
- 5 稠合的芳基、单环杂环、稠合的单环杂环，以一个或多个选自以下的取代基任选取代的芳基：卤素、卤代烷基、低级烷基、烷氧基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、烷硫基、卤代烷硫基、硫代、羟基、氰基、硝基、羧基衍生物、芳氧基、酰氨基、酰基氨基、氨基、烷基氨基、二
- 10 烷基氨基、三氟烷氧基、三氟甲基磺酰基、烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、芳基、稠合的芳基、单环杂环或稠合的单环杂环，单环杂环，以一个或多个选自卤素、卤代烷基、低级烷基、烷氧基、芳氧基、氨基、硝基、羟基、羧基衍生物、氰基、烷硫基、烷基磺酰基、芳基、稠合的芳基的取代基任选取代的单环杂环，单环和二环杂环烷基，其中 R¹⁰选自烷基、芳基和单环杂环的-SO₂R¹⁰，所有基团以一个或多个选自卤
- 15 素、卤代烷基、烷基、烷氧基、氰基、硝基、氨基、酰基氨基、三氟烷基、酰氨基、烷基氨基磺酰基、烷基磺酰基、烷基磺酰基氨基、烷基氨基、二烷基氨基、三氟甲基硫代、三氟烷氧基、三氟甲基磺酰基、芳基、芳氧基、硫代、烷硫基和单环杂环的取代基任选取代；和其中 R¹⁰如上定义的

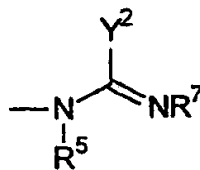


20 ; 或者

NR⁷和R⁸一起形成含有单氮的4-12元单环或双环，其以一个或多个选自低级烷基、羧基衍生物、芳基或羟基的取代基任选取代并且其中所述环任选含有一个选自O、N和S的杂原子；

R⁵选自H、烷基、链烯基、链炔基、苄基和苯乙基；或者

25 A为

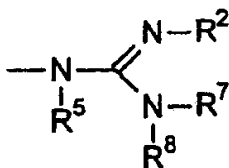


其中 Y² 选自烷基, 环烷基, 双环烷基, 芳基, 单环杂环, 由也能
 以一个或多个选自卤代、卤代烷基、烷基、硝基、羟基、烷氧基、芳
 氧基、芳基或稠合的芳基的取代基任选取代的芳基所任选取代的烷
 5 基, 以一个或多个选自卤代、卤代烷基、羟基、烷氧基、芳氧基、芳
 基、稠合的芳基、硝基、亚甲二氧基、亚乙二氧基或烷基的取代基任
 选取代的芳基, 链炔基, 链烯基, -S-R⁹ 和 -O-R⁹, 其中 R⁹ 选自 H、烷
 基、芳烷基、芳基、链烯基和链炔基, 或者 R⁹ 与 R⁷ 一起形成以低级
 烷基、羟基、酮基、苯基、羧基或羧酸酯和稠合的苯基任选取代的、
 10 含有单氮和单硫或单氧的 4-12 元杂环, 或者 R⁹ 与 R⁷ 一起为噻唑、噁
 唑、苯并噻唑或苯并噁唑; 和

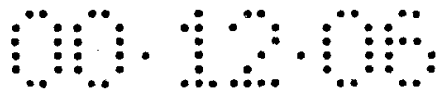
R⁵ 和 R⁷ 如上定义; 或者

Y² (当 Y² 为碳时) 与 R⁷ 一起形成以烷基、芳基、酮基或羟基任选取
 代的、含有单氮或二氮的 4-12 元环; 或者

15 A 为



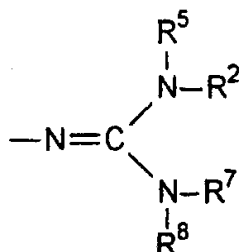
其中 R² 和 R⁷ 一起形成以一个或多个选自低级烷基、羟基、烷氧基、
 酮基、苯基或羧基衍生物的取代基任选取代的含有二氮的 5-8 元杂环;
 20 并且 R⁸ 选自烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、卤代烷
 基羰基、卤代烷氧基羰基、烷硫基羰基、芳硫基羰基或酰氧基甲氧基
 羰基; 和



R⁵如上定义; 或者

R²和R⁷一起形成杂芳环例如咪唑或嘧啶酮; 或者

A为



5

其中R²和R⁷一起形成以羟基、酮基、苯基或烷基任选取代的含有二氮的5-8元杂环; 和

R⁸选自烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、卤代烷基羰基、卤代烷氧基羰基、烷硫基羰基、芳硫基羰基和酰氧基甲氧基羰基;

10

Z¹为一个或多个选自H、烷基、羟基、烷氧基、芳氧基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、硝基、氨基、烷基氨基、酰基氨基、二烷基氨基、氰基、烷硫基、烷基磺酰基、羧基衍生物、三卤代乙酰胺、乙酰胺、酰基、芳基、稠合的芳基、环烷基、硫代、单环杂环、稠合的

15

单环杂环和A的取代基, 其中A如上定义;

V选自-N-(R⁶)-, 其中R⁶选自H、低级烷基、环烷基、芳烷基、芳基和单环杂环; 或者R⁶与Y一起形成含有单氮的4-12元环;

Y、Y³、Z和Z³独立选自氢、烷基、芳基和环烷基; 或者Y与Z一起形成环烷基; 或者Y³和Z³一起形成环烷基;

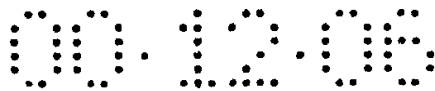
20

n为整数1、2或3;

t为整数0、1或2;

p为整数0、1、2或3;

R为其中X选自O、S和NR⁴的X-R³, 其中R³和R⁴独立选自氢、烷基、链烯基、链炔基、卤代烷基、芳基、芳基烷基、糖类、甾体化



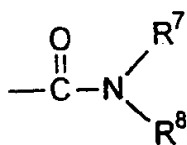
合物、聚烷基醚、烷基酰氨基、烷基 N,N-二烷基酰氨基、新戊酰氧基甲基；和在游离酸的情况下所有它们的药学上可接受的盐；

R¹选自氢、烷基、链烯基、链炔基、芳基、羧基衍生物、卤代烷基、环烷基、单环杂环、以烷基、卤素、卤代烷基、氰基、羟基、芳基、稠合的芳基、硝基、烷氧基、芳氧基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、磺酰胺、硫代、烷硫基、羧基衍生物、氨基、酰氨基任选取代的单环杂环；

以一个或多个以下基团任选取代的烷基：卤代、卤代烷基、羟基、烷氧基、芳氧基、硫代、烷硫基、链炔基、链烯基、烷基、芳硫基、烷基亚砷、烷基磺酰基、芳基亚砷、芳基磺酰基、氰基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基磺酰胺、芳基磺酰胺、酰基酰胺、羧基衍生物、磺酰胺、磺酸、膦酸衍生物、次膦酸衍生物、在芳基环上均用卤代、烷基、卤代烷基、氰基、硝基、羟基、羧基衍生物、烷氧基、芳氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、酰氨基、芳基、稠合的芳基、单环杂环任选取代的芳基、芳硫基、芳基亚砷或芳基砷；和稠合的单环杂环、单环杂环硫代、单环杂环亚砷和单环杂环砷，其能够用卤代、卤代烷基、硝基、羟基、烷氧基、稠合的芳基或烷基任选取代；

烷基羰基、卤代烷基羰基和芳基羰基；

在一个或多个位置上用以下基团任选取代的芳基，包括：卤代、卤代烷基、烷基、烷氧基、芳氧基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、烷硫基、卤代烷硫基、硫代、羟基、氰基、硝基、酰氧基、羧基衍生物、羧基烷氧基、酰氨基、酰基氨基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、三氟烷氧基、三氟甲基磺酰基、烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、芳基、稠合的芳基、单环杂环和稠合的单环杂环和

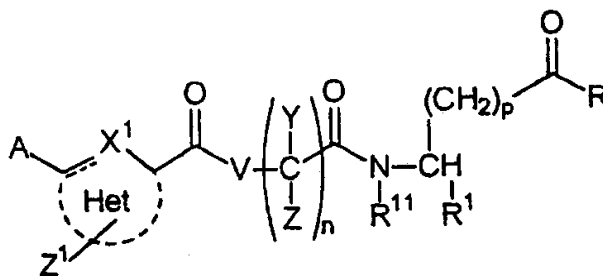


，其中 R⁷和 R⁸如上定义并且条件是与所述氮一起，R⁷和 R⁸包括氨基酸；和

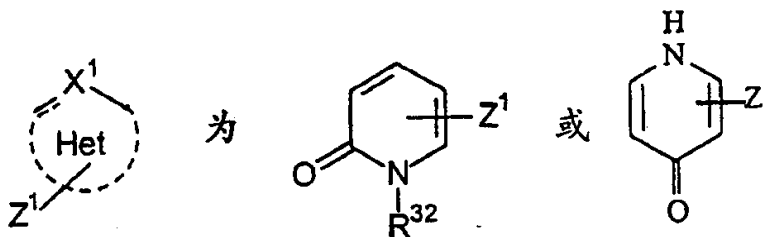
R^{11} 选自 H、烷基、芳烷基、链烯基、链炔基、卤代烷基或卤代链炔基或者 R^{11} 与 Y 一起形成含有单氮的 4-12 元环；
或者它们的药学上可接受的盐。

2. 权利要求 1 的下式化合物

5



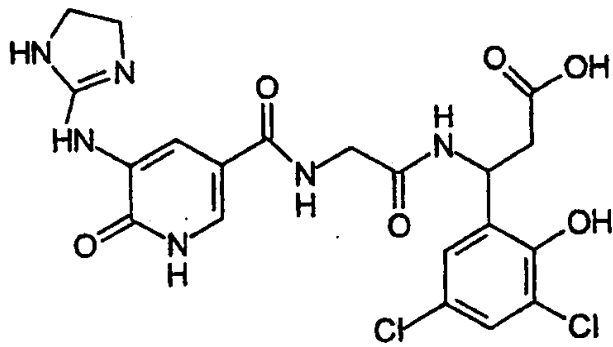
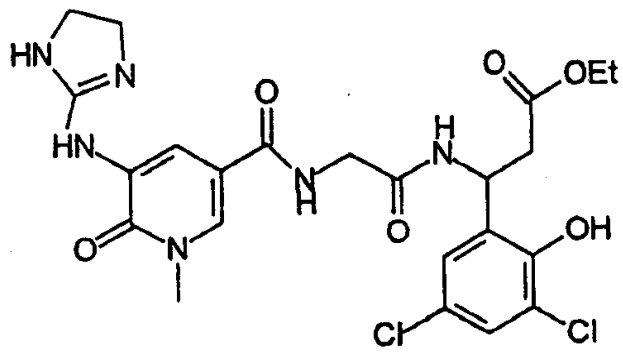
其中



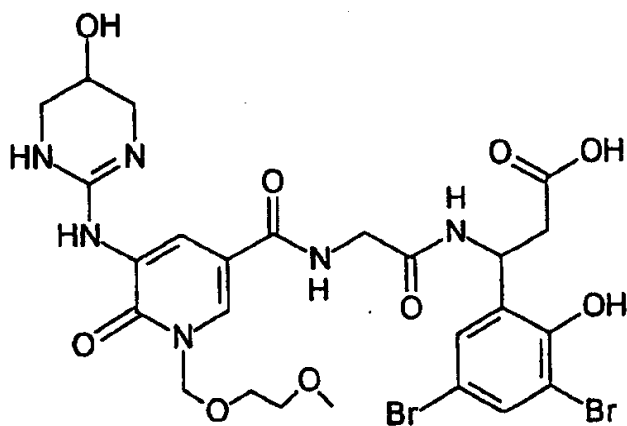
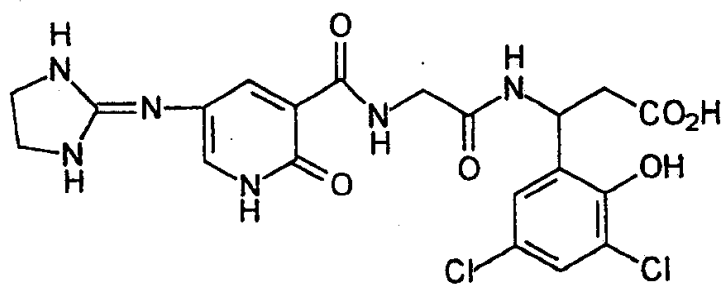
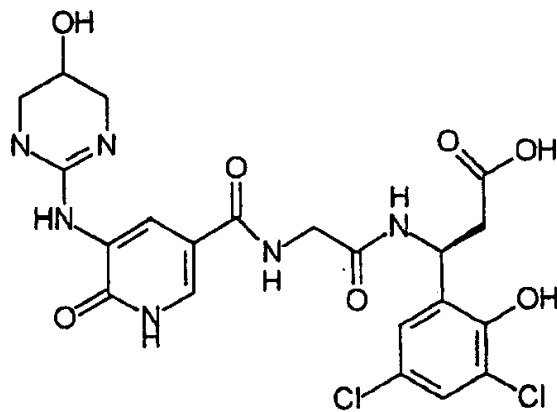
其中 R^{32} 为 H、烷基、烷氧基烷基、氨基烷基、二烷基氨基烷基，其中所述烷基由一个或多个选自羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、芳基-或烷基-磺酰基、羧基和羧基衍生物的取代基任选取代。

3. 权利要求 2 的化合物，其中所述化合物选自：

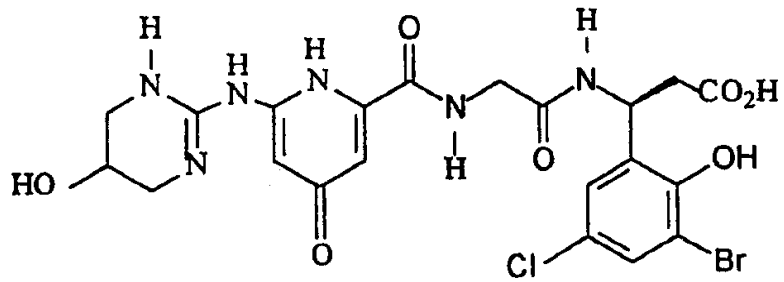
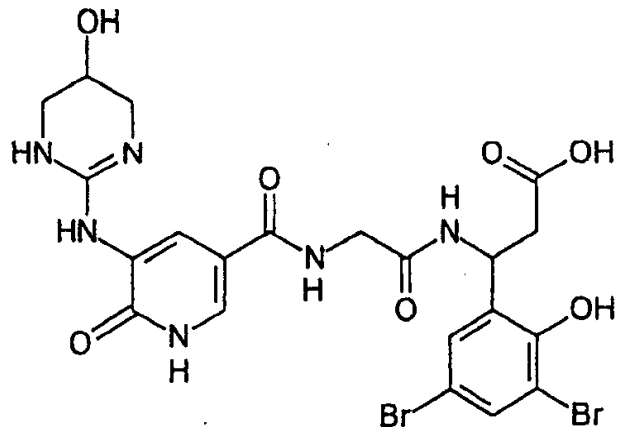
00.12.05



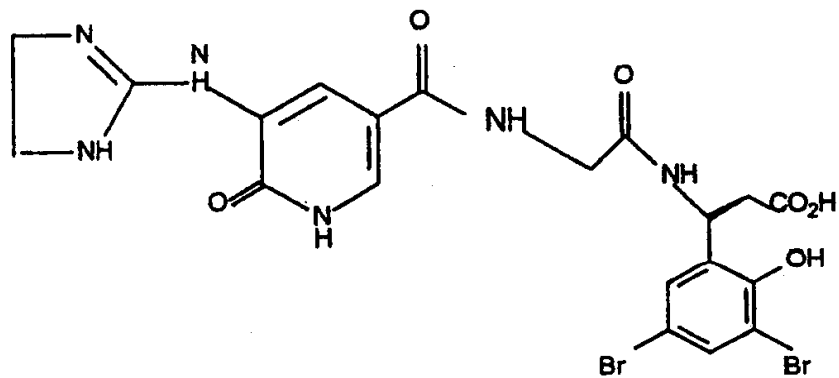
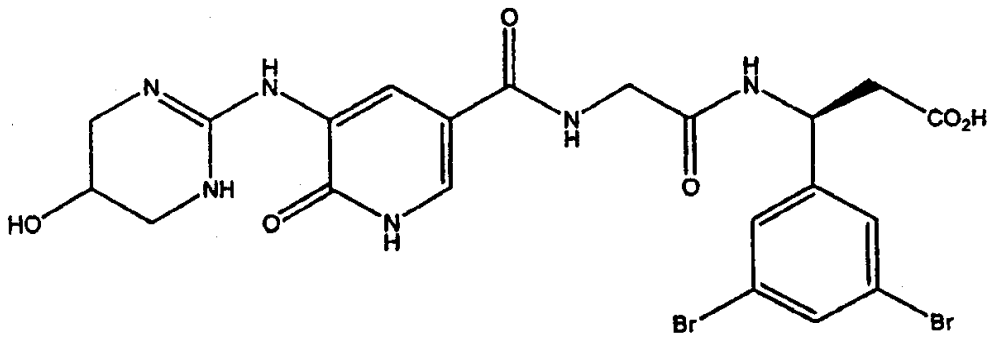
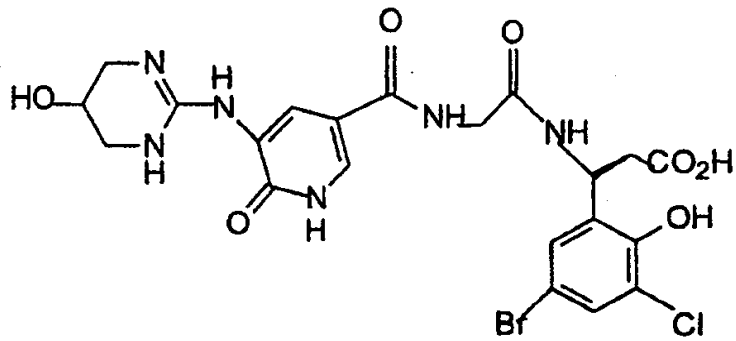
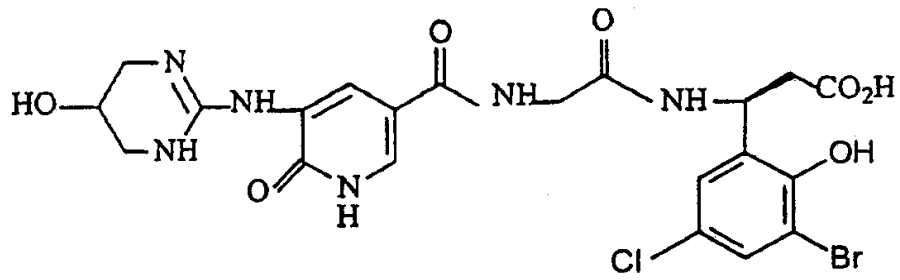
00.12.05



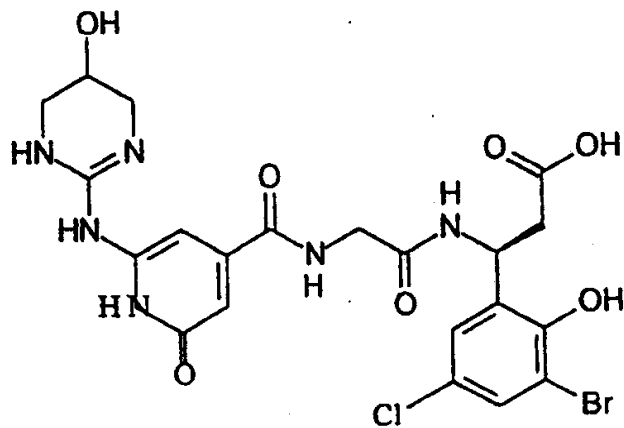
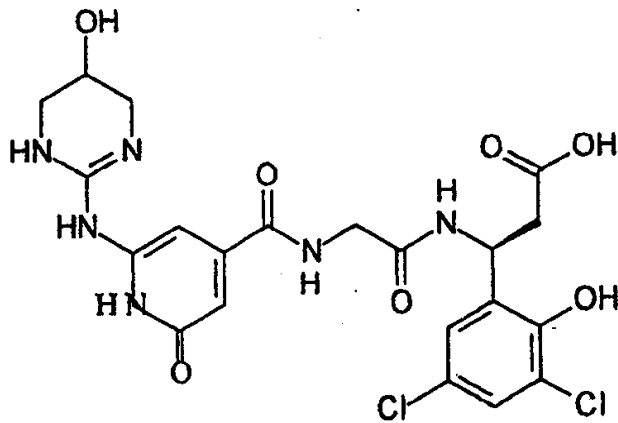
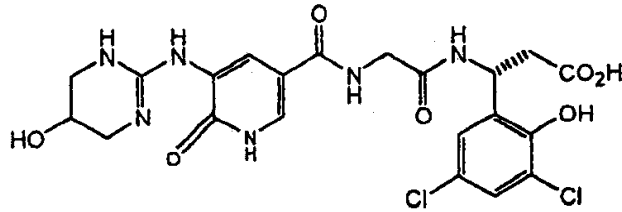
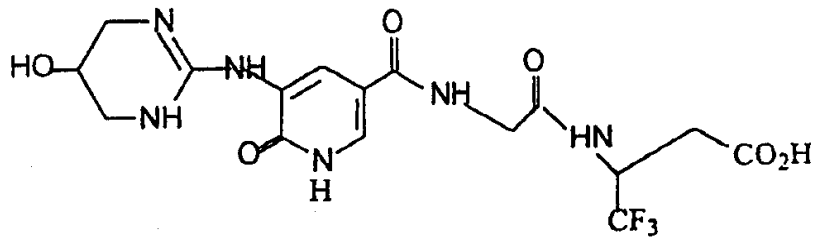
00.12.05

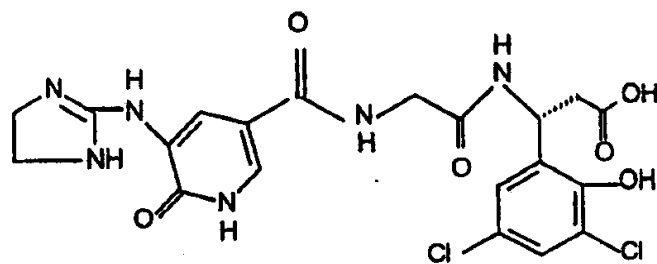
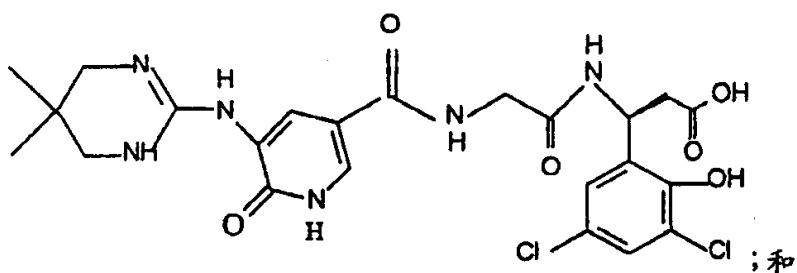
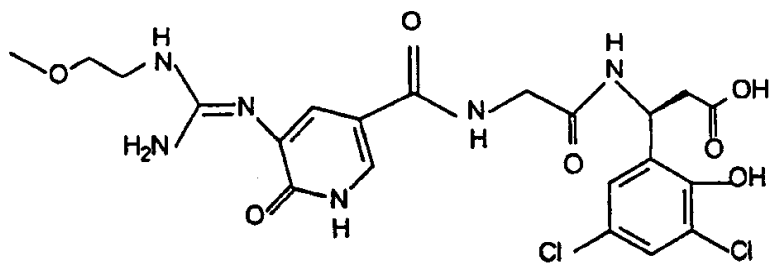


00.12.05

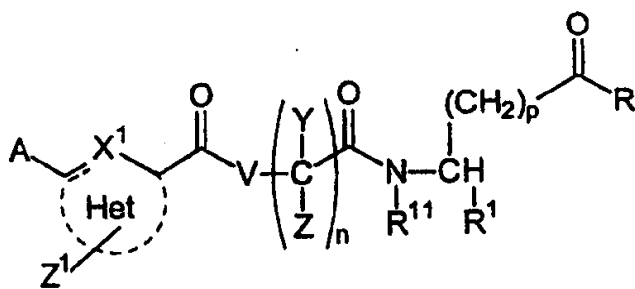


00.12.05

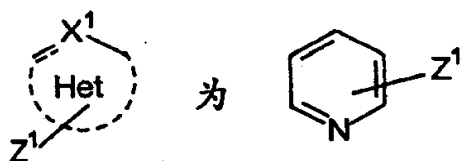




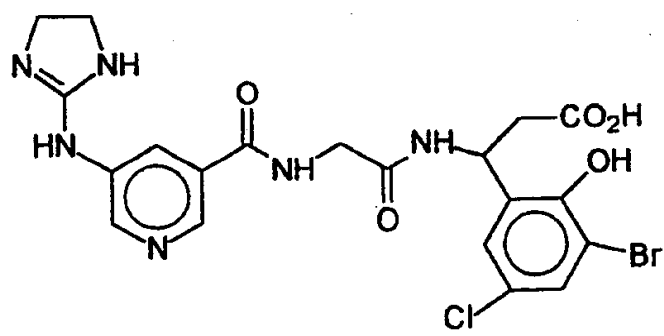
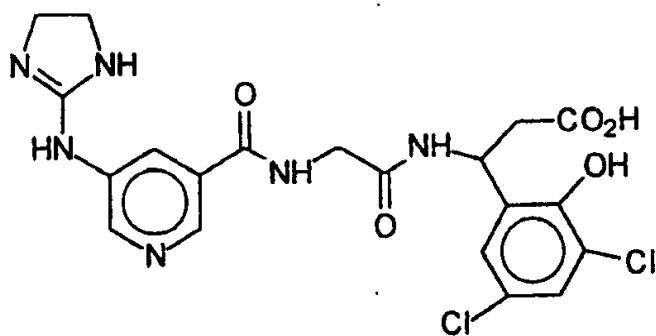
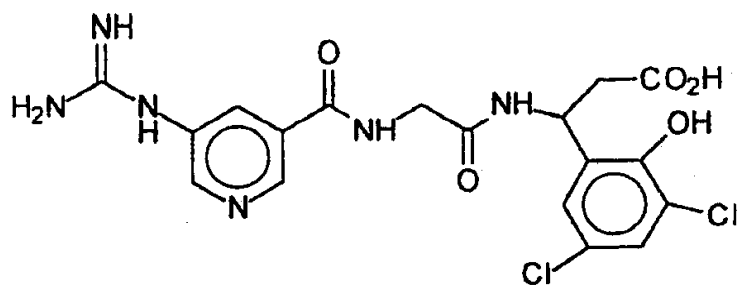
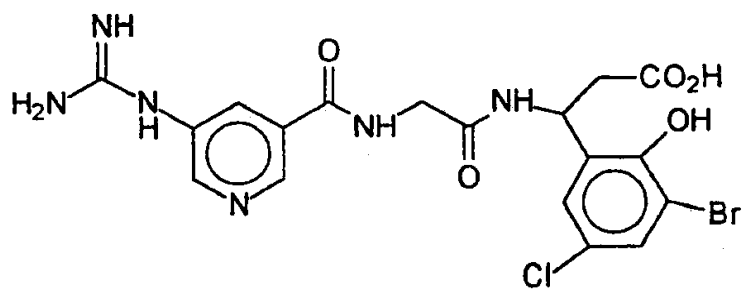
4. 权利要求1的下式化合物



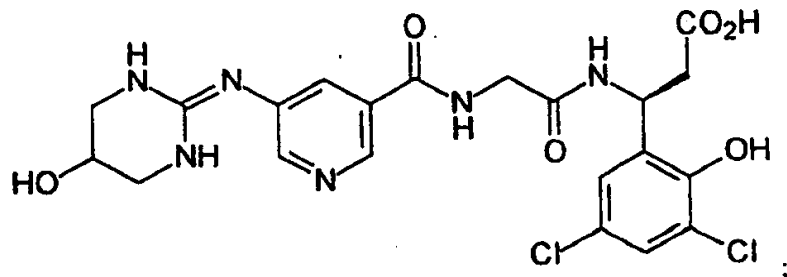
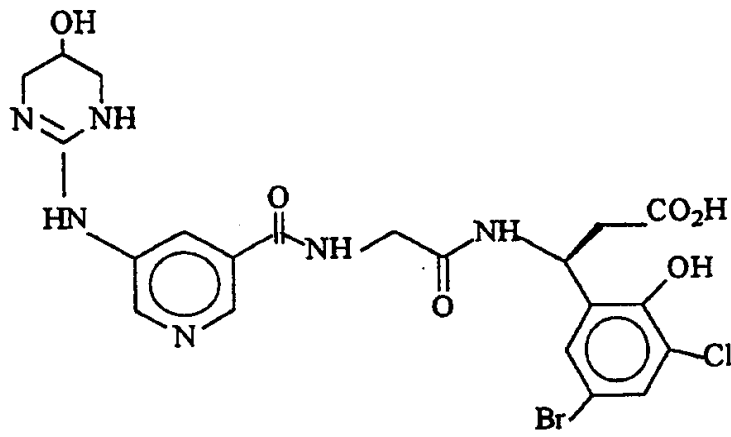
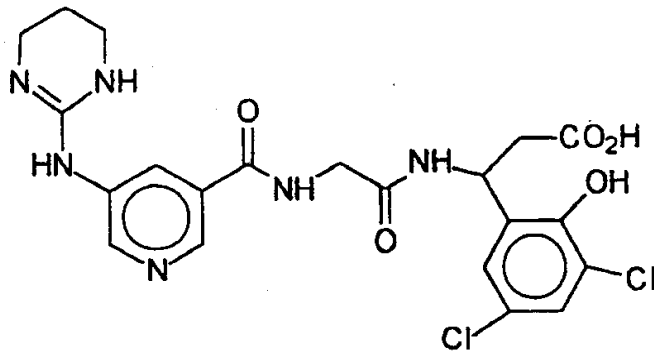
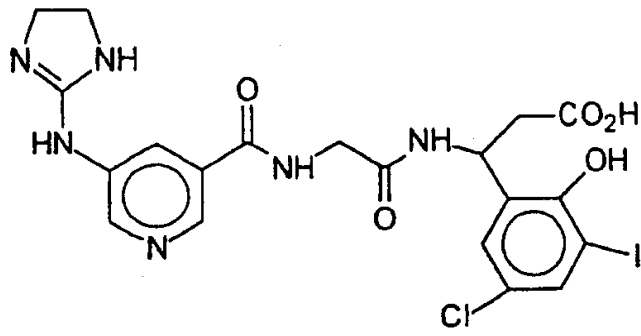
其中



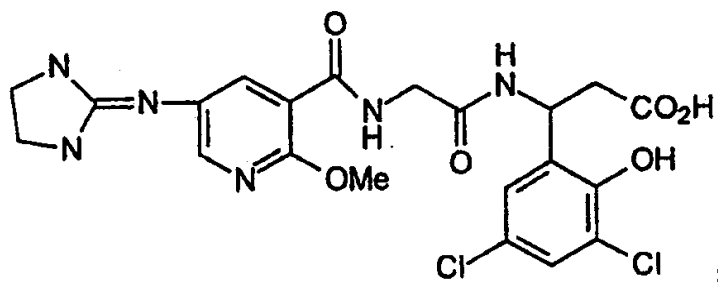
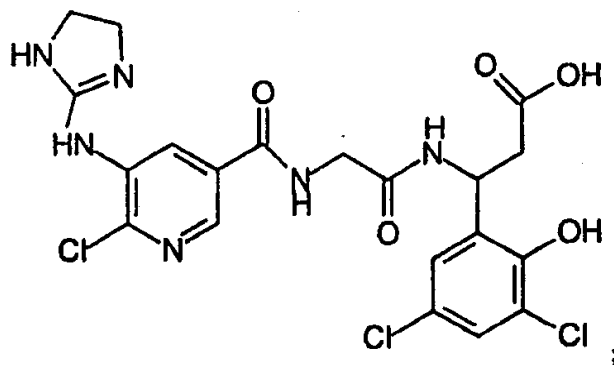
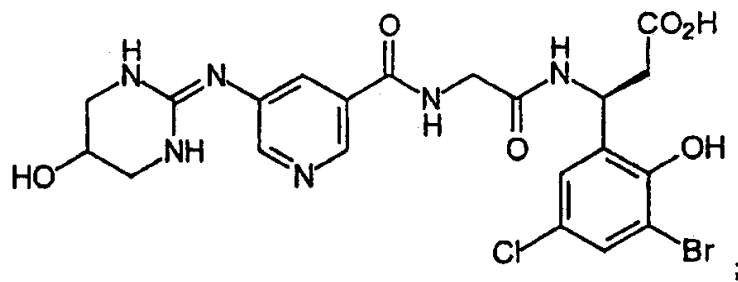
5. 权利要求4的化合物，其中所述化合物选自：



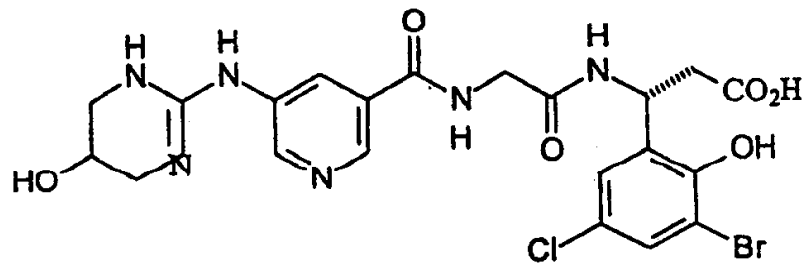
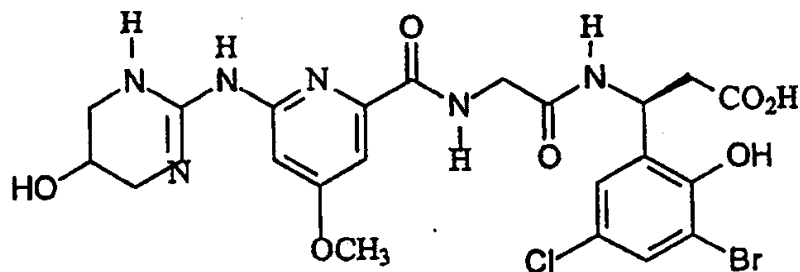
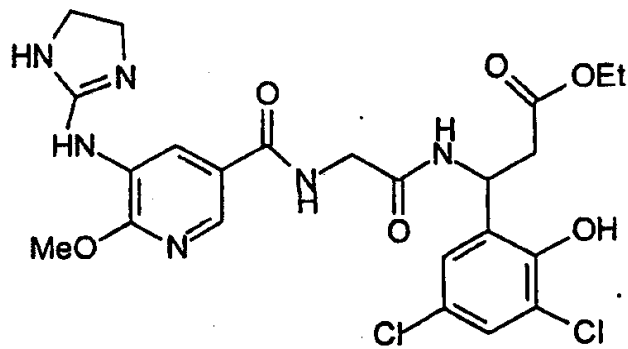
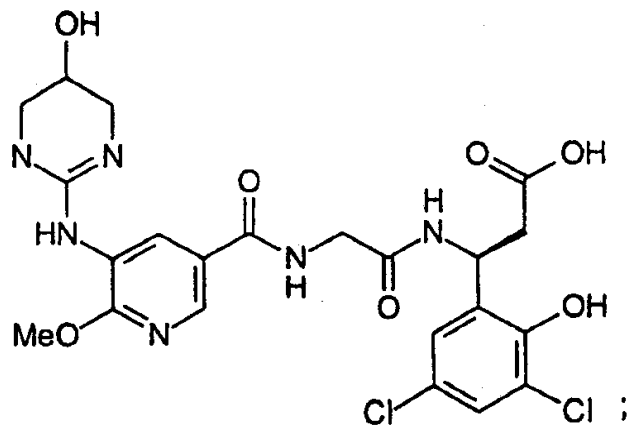
00.12.05



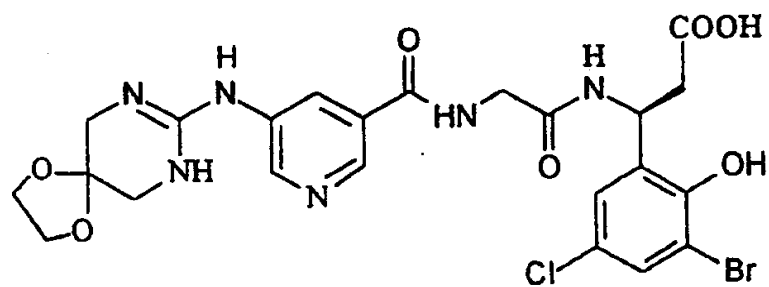
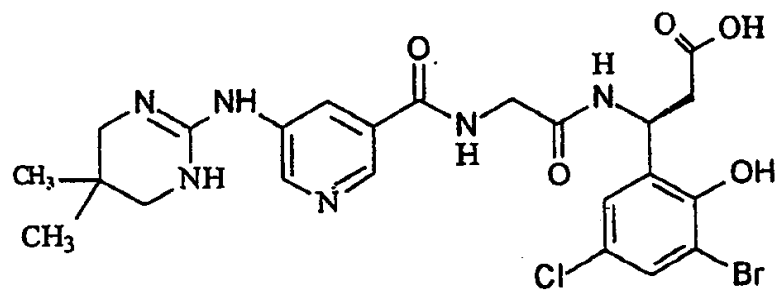
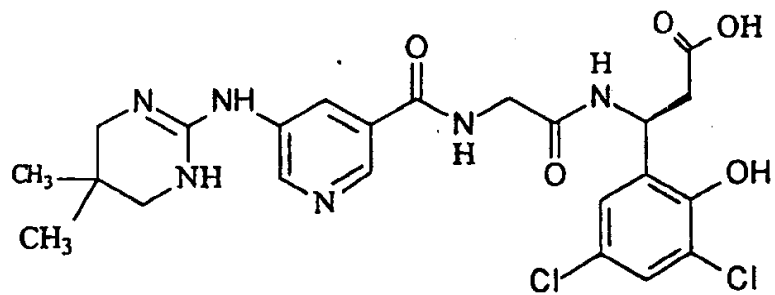
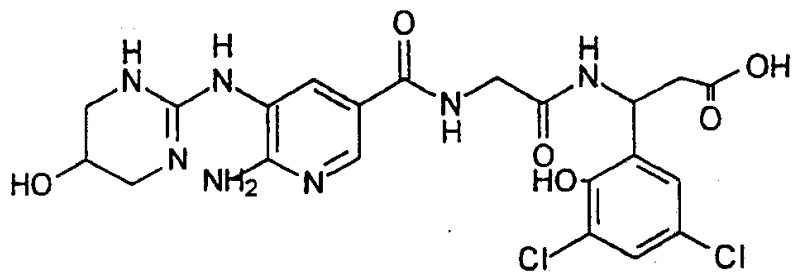
00.12.05



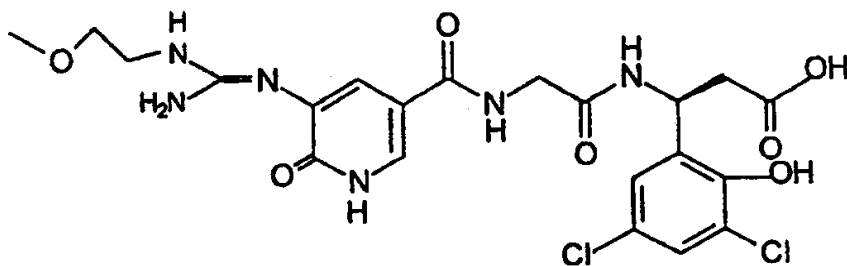
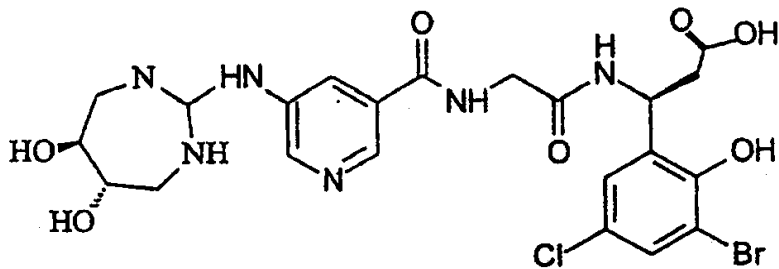
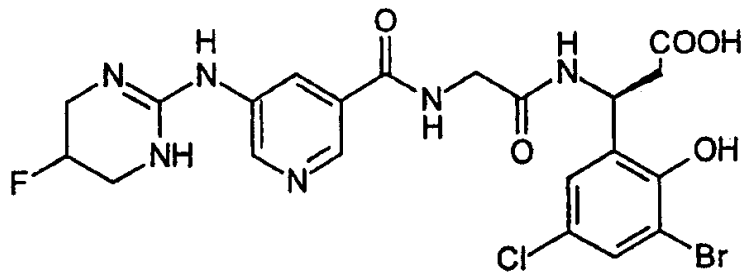
00.12.05



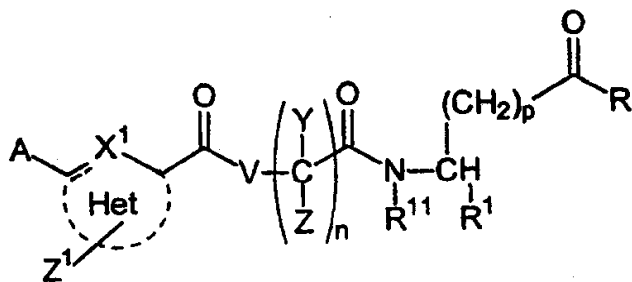
00.12.05



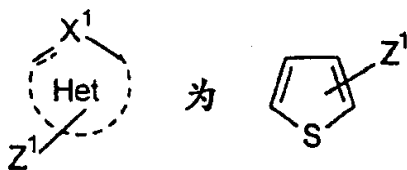
00.10.05



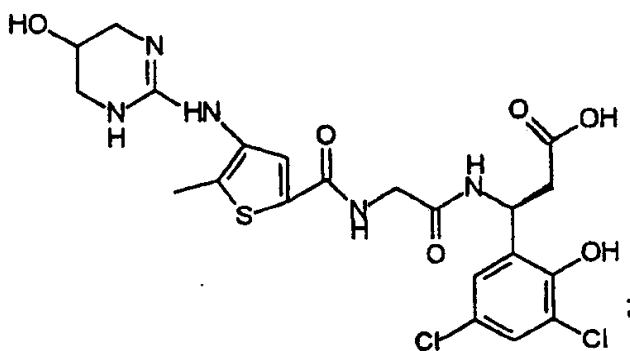
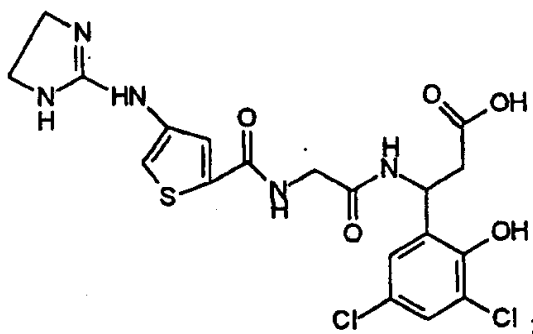
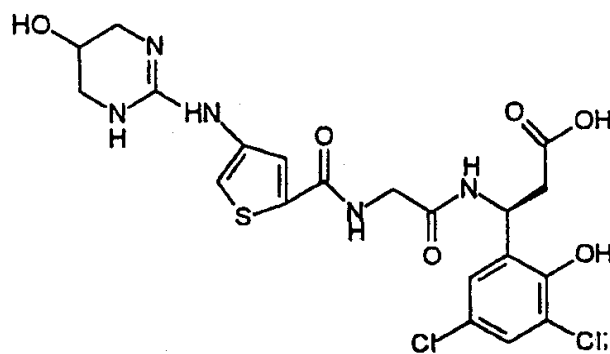
6. 权利要求 1 的下式化合物



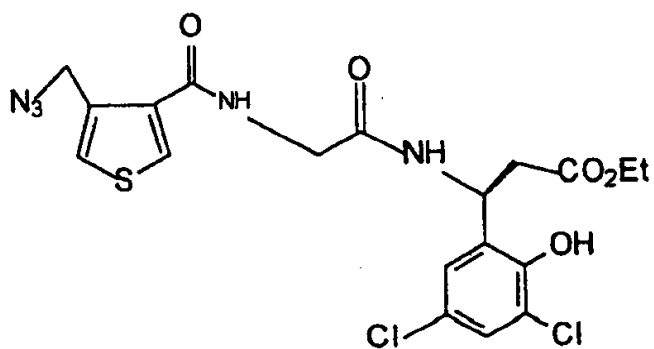
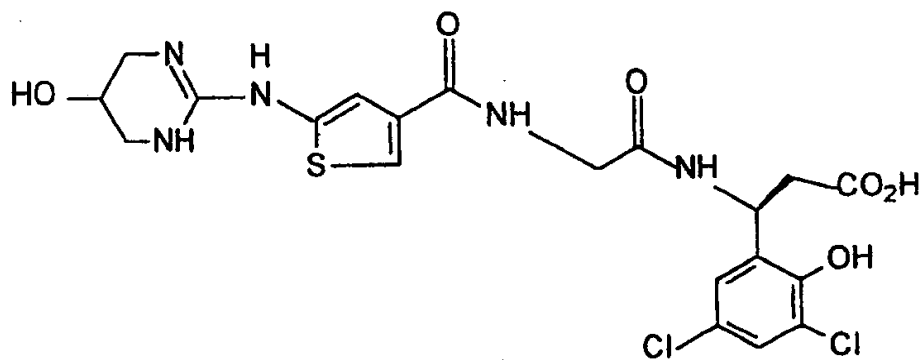
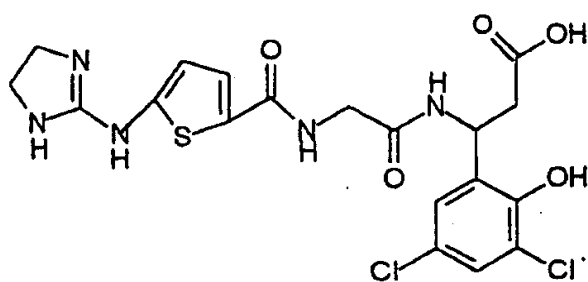
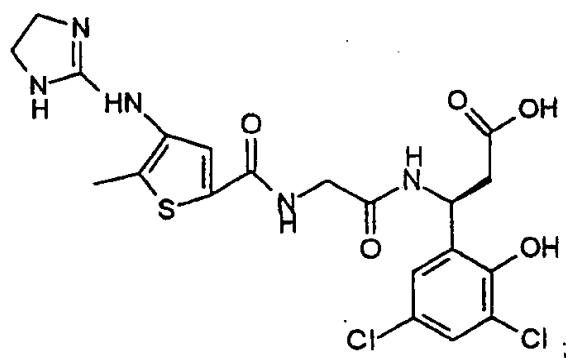
其中



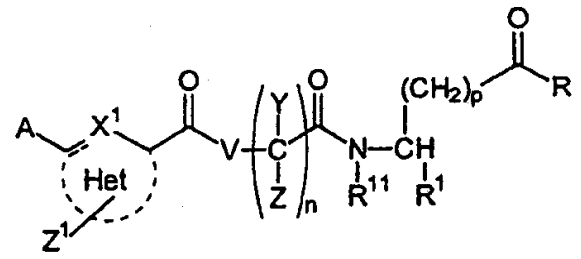
7. 权利要求6的化合物选自:



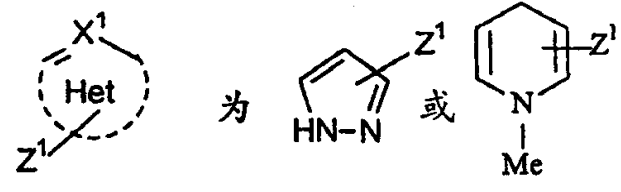
00.12.05



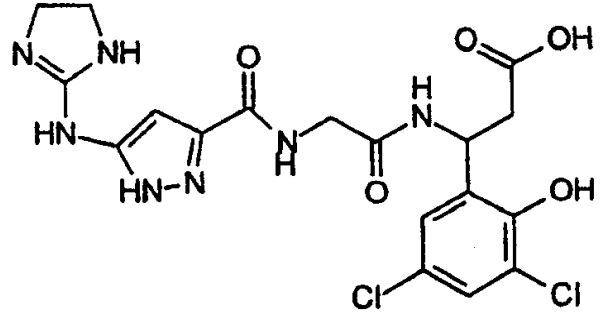
8. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物为下式化合物:



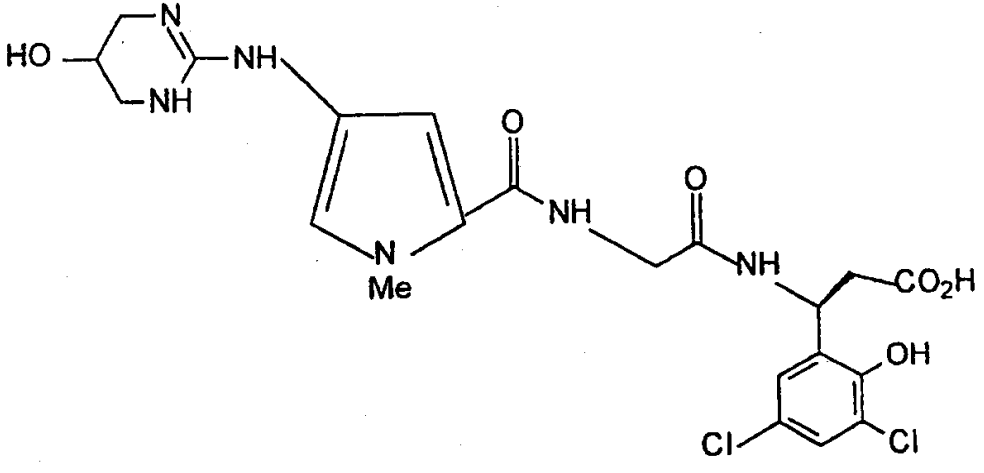
其中



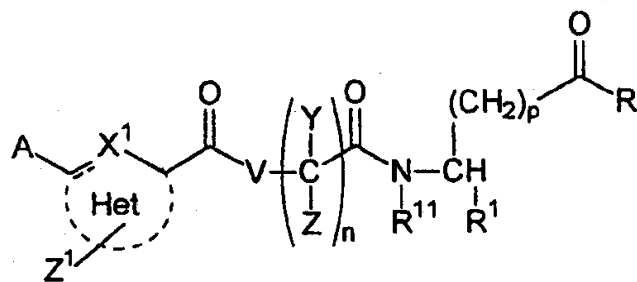
9. 权利要求 8 的下式化合物:



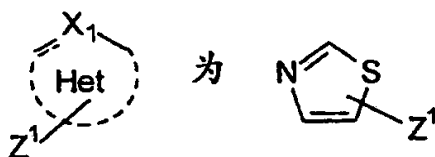
5



10. 权利要求 1 的下式化合物:

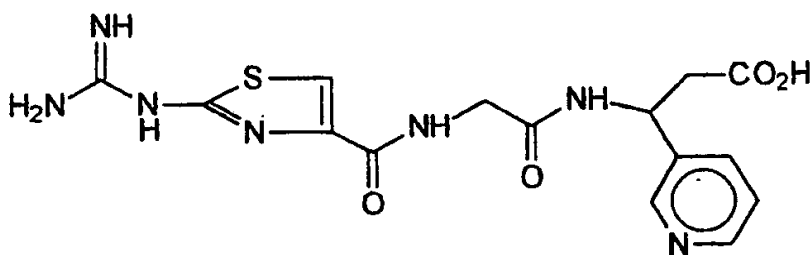


其中



11. 权利要求 10 的下式化合物:

5



12. 药用组合物, 包括治疗有效量的权利要求 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或 11 的化合物和药学上可接受的载体。

13. 在需要这样的治疗的哺乳动物上治疗由 $\alpha_v\beta_3$ 介导的疾病的方法, 包括给予治疗上有效抑制 $\alpha_v\beta_3$ 量的权利要求 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或 11 的化合物。

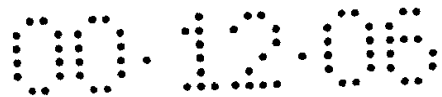
14. 权利要求 13 的方法, 其中所治疗的疾病为肿瘤转移。

15. 权利要求 13 的方法, 其中所治疗的疾病为实体肿瘤的生长。

16. 权利要求 13 的方法, 其中所治疗的疾病为血管生成。

17. 权利要求 13 的方法, 其中所治疗的疾病为骨质疏松症。

18. 权利要求 13 的方法, 其中所治疗的疾病为恶性肿瘤体液高钙血症。



19. 权利要求 13 的方法, 其中所治疗的疾病为平滑肌细胞迁移。
20. 权利要求 13 的方法, 其中抑制再狭窄。
21. 权利要求 13 的方法, 其中所治疗的疾病为类风湿性关节炎。
22. 权利要求 13 的方法, 其中所治疗的疾病为黄斑变性。



说明书

作为玻连蛋白拮抗剂的杂环甘氨酸 β -丙氨酸衍生物

5 本申请按照 35USC § 119(e), 要求在 1998 年 4 月 10 日呈交的美
国临时专利申请系列第 60/081,394 号的优先权。

本发明领域

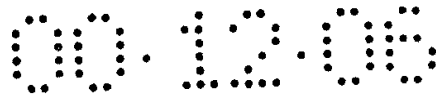
10 本发明涉及用作 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白拮抗剂的和如此通过抑制或者拮
抗 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白用于治疗由 $\alpha_v\beta_3$ 介导的疾病的药用组合物和方法
中的药物(化合物)。

本发明背景

15 整联蛋白是一组介导细胞粘附的细胞表面糖蛋白并由此是在多
种生物过程中发生的细胞粘附相互作用的有用介质。整联蛋白为由
非共价键连接的 α 和 β 多肽亚基组成的异二聚体。目前已经鉴定了
十一种不同的 α 亚基并且已经鉴定六种不同的 β 亚基。各种 α 亚基
能够与各种 β 亚基结合形成独特的整联蛋白。

20 鉴定为 $\alpha_v\beta_3$ (也称作玻连蛋白受体)的整联蛋白已被鉴定为在多
种疾病或疾病状态包括肿瘤转移、实体肿瘤生长(瘤形成)、骨质疏松
症、培吉特病、恶性肿瘤体液高钙血症、血管发生包括肿瘤血管发
生、视网膜病包括黄斑变性、关节炎包括类风湿性关节炎、牙周病、
牛皮癣和平滑肌细胞迁移(例如再狭窄)中起作用的整联蛋白。另外,
已发现这样的药物将用作抗病毒剂、抗真菌剂和抗菌药。因此,选
25 择性抑制或拮抗 $\alpha_v\beta_3$ 的化合物将有利于治疗这样的疾病。

 已显示 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白和其它含有 α_v 的整联蛋白结合多种含有
Arg-Gly-Asp(RGD)的基质大分子。含有 RGD 序列的化合物模拟细胞
外基质配体以便结合于细胞表面受体。然而,人们也已知 RGD 肽对



RGD 依赖的整联蛋白一般是非选择性的。例如，大多数结合 $\alpha_v\beta_3$ 的 RGD 肽也结合 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_1$ 和 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 。已知血小板 $\alpha_{IIb}\beta_3$ (也称作血纤蛋白原受体) 拮抗作用阻断在人体中的血小板聚集。当治疗与整联蛋白 $\alpha_v\beta_3$ 有关的病症或疾病状态时，为避免出血副作用，开发为抗 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 的选择性拮抗剂的化合物将是有益的。

肿瘤细胞侵入的发生经过三个步骤的过程：1) 肿瘤细胞附着于细胞外基质；2) 蛋白水解下基质溶解和 3) 细胞运动穿过溶解的屏障。这个过程能够重复发生并且能够导致转移至远离原来肿瘤的位置。

Seftor 等(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 第 89 卷(1992)第 1557-1561 页)已显示 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白在黑素瘤细胞侵入中具有生物功能。Montgomery 等(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 第 91 卷(1994), 第 8856-60 页)已证实在人黑素瘤细胞上表达的整联蛋白 $\alpha_v\beta_3$ 促进生存信号，保护细胞免于编程性细胞死亡。通过 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白细胞粘附受体的干扰作用以阻抑肿瘤转移的肿瘤细胞转移途径的介导作用将是有益的。

Brooks 等(细胞, 第 79 卷(1994)第 1157-1164 页)已证实 $\alpha_v\beta_3$ 拮抗剂提供用于治疗瘤形成(抑制实体肿瘤生长)的治疗方法，因为全身性给予 $\alpha_v\beta_3$ 拮抗剂引起多种组织学上不同的人肿瘤的出人意料的退化。

粘附受体整联蛋白 $\alpha_v\beta_3$ 被鉴定为在小鸡和人中的新生成血管的标记物，因此这样的受体在血管发生或者新血管形成中起着至关重要的作用。血管发生的特征在于平滑肌细胞和内皮细胞的侵入、迁移和增殖。 $\alpha_v\beta_3$ 拮抗剂通过选择性促进新血管形成中细胞的编程性细胞死亡来抑制这个过程。新的血管生长或者血管发生也有助于病理性状况例如糖尿病性视网膜病包括黄斑变性(Adamis 等, Amer. J. Ophthal, 第 118 卷(1994), 第 445-450 页)和类风湿性关节炎(Peacock 等, J. Exp. Med., 第 175 卷(1992), 第 1135-1138 页)。因此， $\alpha_v\beta_3$



拮抗剂将是用于治疗与新血管生成有关疾病的有用的治疗药物
(Brooks 等, 科学, 第 264 卷(1994), 第 569-571 页)。

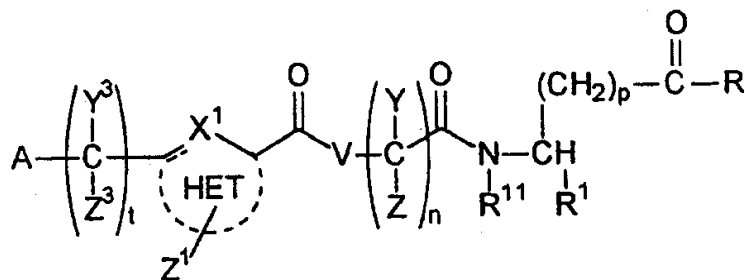
已报道细胞表面受体 $\alpha_v\beta_3$ 为负责粘附骨头的破骨细胞上的主要的整联蛋白。破骨细胞引起骨吸收, 并且当这样的骨吸收活性超过骨形成活性时, 这导致骨质疏松症(骨丧失), 该疾病导致增加的骨折、使残废的人数和增加的死亡率。已显示 $\alpha_v\beta_3$ 拮抗剂为体外[Sato 等, J. Cell. Biol., 第 111 卷(1990), 第 1713-1723 页]和体内[Fisher 等, Endocrinology, 第 132 卷(1993), 第 1411-1413 页]有效的破骨细胞活性的抑制剂。 $\alpha_v\beta_3$ 的拮抗作用导致减少的骨吸收, 因此恢复骨形成和骨吸收活性的正常平衡。因此, 提供为骨吸收的有效抑制剂并且由此用于治疗或阻止骨质疏松症的破骨细胞 $\alpha_v\beta_3$ 拮抗剂是有益的。

$\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白在平滑肌细胞迁移中的作用也使其成为用于阻止或抑制新内膜增生的治疗靶, 其为血管手术后再狭窄的首要因素(Choi 等, J. Vasc. Surg. 第 19 卷(1)(1994), 第 125-34 页)。经药物阻止或抑制新内膜增生来阻止或抑制再狭窄将是有利的。

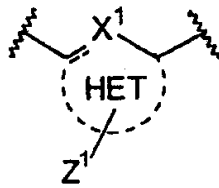
White(Current Biology, 第 3 卷(9)(1993), 第 596-599 页)已报道腺病毒使用 $\alpha_v\beta_3$ 进入宿主细胞。整联蛋白似乎被病毒颗粒的胞吞作用所需要并且可被用于病毒基因组侵入宿主细胞胞质所需要。因此, 将发现抑制 $\alpha_v\beta_3$ 的化合物作为抗病毒药是有用的。

本发明概述

本发明涉及一类由式 I 表示的化合物或者它们的药学上可接受的盐:



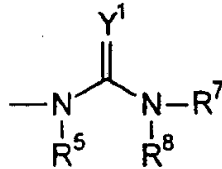
其中



为含有 1 至 4 个选自 O、N 或 S 的杂原子的、任选不饱和的 5-8 元单环杂环，其中 X¹ 选自 CH、CH₂、N、NH、O 和 S；

5

A 为



其中 Y¹ 选自 N-R²、O 和 S；

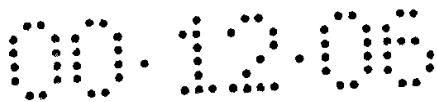
10

R² 选自 H、烷基、芳基、羟基、烷氧基、氟基、硝基、氨基、链烯基、链炔基、酰氨基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、卤代烷基羰基、卤代烷氧基羰基、烷硫基羰基、芳硫基羰基、酰氧基甲氧基羰基、以一个或多个选自以下的取代基任选取代的烷基：低级烷基、卤素、羟基、卤代烷基、氟基、硝基、羧基、氨基、烷氧基、芳基或以一个或多个卤素、卤代烷基、低级烷基、烷氧基、氟基、烷基磺酰基、烷硫基、硝基、羧基、氨基、羟基、磺酸、磺酰胺、芳基、稠合的芳基、单环杂环或稠合的单环杂环任选取代的芳基，以一个或多个选自以下的取代基任选取代的芳基：

15

卤素、卤代烷基、羟基、低级烷基、烷氧基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、氟基、硝基、烷硫基、烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、羧基衍生物、氨基、芳基、稠合的芳基、单环杂环和稠合的单环杂环，单环杂环和以一个或多个选自以下的取代基任选取代的单环杂环：卤素、卤代烷基、低级烷基、烷氧基、氨基、硝基、羟基、羧基衍生

20



物、氰基、烷基硫基、烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、芳基或稠合的芳基；或者

5 R^2 与 R^7 一起形成以一个或多个选自低级烷基、硫代烷基、烷基氨基、羟基、酮基、烷氧基、卤代、苯基、氨基、羧基或羧酸酯和稠合的苯基的取代基任选取代的含有两个氮的 4-12 元杂环；或

R^2 与 R^7 一起形成含有一个或多个选自 O、N 和 S 的杂原子的、任选不饱和的 4-12 元杂环；或

R^2 与 R^7 一起形成以一个或多个选自低级烷基、苯基、烷氧基和羟基的取代基任选取代的 5-9 元杂芳环；或

10 R^2 与 R^7 一起形成与芳基或杂芳基环稠合的 5 元杂芳环；

R^7 (当不与 R^2 一起时) 和 R^8 独立选自 H, 烷基, 链烯基, 链炔基, 芳烷基, 氨基, 烷基氨基, 羟基, 烷氧基, 芳基氨基, 酰氨基, 烷基羰基, 芳基羰基, 烷氧基羰基, 芳氧基, 芳氧基羰基, 卤代烷基羰基, 卤代烷氧基羰基, 烷硫基羰基, 芳硫基羰基, 酰氧基甲氧基羰基, 环烷基, 双环烷基, 芳基, 酰基, 苯甲酰基, 以一个或多个选自以下的取代基任选取代的烷基: 低级烷基、卤素、羟基、卤代烷基、氰基、硝基、羧基衍生物、氨基、烷氧基、硫代、烷硫基、磺酰基、芳基、芳烷基, 以一个或多个选自以下的取代基任选取代的芳基: 卤素、卤代烷基、低级烷基、烷氧基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、烷硫基、卤代烷硫基、硫代、羟基、氰基、硝基、羧基衍生物、芳氧基、酰氨基、酰基氨基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、三氟代烷氧基、三氟代甲基、磺酰基、烷基磺酰基、卤代烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、芳基、稠合的芳基、单环杂环、稠合的单环杂环, 以一个或多个选自以下的取代基任选取代的芳基: 卤素、卤代烷基、低级烷基、烷氧基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、烷硫基、卤代烷硫基、硫代、羟基、氰基、硝基、羧基衍生物、芳氧基、酰氨基、酰基氨基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、三氟代烷氧基、三氟甲基磺酰基、烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、芳基、稠合的芳基、单

15

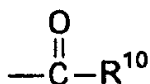
20

25



5 环杂环或稠合的单环杂环，单环杂环，以一个或多个选自卤素、卤代烷基、低级烷基、烷氧基、芳氧基、氨基、硝基、羟基、羧基衍生物、氰基、烷硫基、烷基磺酰基、芳基、稠合的芳基的取代基任选取代的单环杂环，单环和二环杂环烷基，其中 R¹⁰ 选自烷基、芳基和单环杂环的-SO₂R¹⁰，所有基团以一个或多个选自卤素、卤代烷基、烷基、烷氧基、氰基、硝基、氨基、酰基氨基、三氟烷基、酰氨基、烷基氨基磺酰基、烷基磺酰基、烷基磺酰基氨基、烷基氨基、二烷基氨基、三氟甲基硫代、三氟烷氧基、三氟甲基磺酰基、芳基、芳氧基、硫代、烷硫基和单环杂环的取代基任选取代；和其中 R¹⁰ 如上定义的

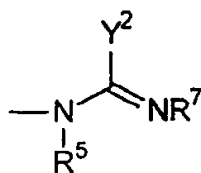
10



；或者 NR⁷ 和 R⁸ 一起形成含有单氮的 4-12 元单环或双环，其以一个或多个选自低级烷基、羧基衍生物、芳基或羟基的取代基任选取代并且其中所述环任选含有一个选自 O、N 和 S 的杂原子；

R⁵ 选自 H、烷基、链烯基、链炔基、苄基和苯乙基；或者

15 A 为



其中 Y² 选自烷基，环烷基，二环烷基，芳基，单环杂环，由也能以一个或多个选自卤代、卤代烷基、烷基、硝基、羟基、烷氧基、芳氧基、芳基或稠合的芳基的取代基任选取代的芳基所任选取代的烷基，以一个或多个选自卤代、卤代烷基、羟基、烷氧基、芳氧基、芳基、稠合的芳基、硝基、亚甲二氧基、亚乙二氧基或烷基的取代基任选取代的芳基，链炔基，链烯基，-S-R⁹ 和 -O-R⁹，其中 R⁹ 选自 H、烷基、芳烷基、芳基、链烯基和链炔基，或者 R⁹ 与 R⁷ 一起形成

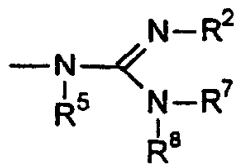
20

以低级烷基、羟基、酮基、苯基、羧基或羧酸酯和稠合的苯基任选取代的、含有单氮和单硫或单氧的 4-12 元杂环，或者 R⁹ 与 R⁷ 一起为噻唑、噁唑、苯并噻唑或苯并噁唑；和

R⁵ 和 R⁷ 如上定义；或者

- 5 Y²(当 Y² 为碳时)与 R⁷ 一起形成以烷基、芳基、酮基或羟基任选取代的、含有单氮或二氮的 4-12 元环；或者

A 为

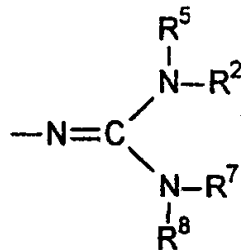


- 10 其中 R² 和 R⁷ 一起形成以一个或多个选自低级烷基、羟基、烷氧基、酮基、苯基或羧基衍生物的取代基任选取代的含有二氮的 5-8 元杂环；并且 R⁸ 选自烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、卤代烷基羰基、卤代烷氧基羰基、烷硫基羰基、芳硫基羰基或酰氧基甲氧基羰基；和

- 15 R⁵ 如上定义；或者

R² 和 R⁷ 一起形成杂芳环例如咪唑或嘧啶酮；或者

A 为



- 20 其中 R² 和 R⁷ 一起形成以羟基、酮基、苯基或烷基任选取代的含有二氮的 5-8 元杂环；和

R⁸ 选自烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、卤代

烷基羰基、卤代烷氧基羰基、烷硫基羰基、芳硫基羰基和酰氧基甲氧基羰基；

5 Z^1 为一个或多个选自 H、烷基、羟基、烷氧基、芳氧基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、硝基、氨基、烷基氨基、酰基氨基、二烷基氨基、氰基、烷硫基、烷基磺酰基、羧基衍生物、三卤代乙酰胺、乙酰胺、酰基、芳基、稠合的芳基、环烷基、硫代、单环杂环、稠合的单环杂环和 A 的取代基，其中 A 如上定义；

V 选自 $-N-(R^6)-$ ，其中 R^6 选自 H、低级烷基、环烷基、芳烷基、芳基和单环杂环；或者 R^6 与 Y 一起形成含有单氮的 4-12 元环；

10 Y、 Y^3 、Z 和 Z^3 独立选自氢、烷基、芳基和环烷基；或者 Y 与 Z 一起形成环烷基；或者 Y^3 和 Z^3 一起形成环烷基；

n 为整数 1、2 或 3；

t 为整数 0、1 或 2；

p 为整数 0、1、2 或 3；

15 R 为其中 X 选自 O、S 和 NR^4 的 $X-R^3$ ，其中 R^3 和 R^4 独立选自氢、烷基、链烯基、链炔基、卤代烷基、芳基、芳基烷基、糖类、甾体化合物、聚烷基醚、烷基酰氨基、烷基 N,N-二烷基酰氨基、新戊酰氧基甲基；和在游离酸的情况下所有它们的药学上可接受的盐；

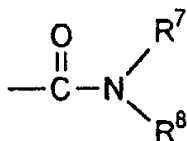
20 R^1 选自氢、烷基、链烯基、链炔基、芳基、羧基衍生物、卤代烷基、环烷基、单环杂环、以烷基、卤素、卤代烷基、氰基、羟基、芳基、稠合的芳基、硝基、烷氧基、芳氧基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、磺酰胺、硫代、烷硫基、羧基衍生物、氨基、酰氨基任选取代的单环杂环；

25 以一个或多个以下基团任选取代的烷基：卤代、卤代烷基、羟基、烷氧基、芳氧基、硫代、烷硫基、链炔基、链烯基、烷基、芳硫基、烷基亚砷、烷基磺酰基、芳基亚砷、芳基磺酰基、氰基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基磺酰胺、芳基磺酰胺、酰基酰胺、羧基衍生物、磺酰胺、磺酸、膦酸衍生物、次膦酸衍生物、

在芳基环上均用卤代、烷基、卤代烷基、氰基、硝基、羟基、羧基衍生物、烷氧基、芳氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、酰氨基、芳基、稠合的芳基、单环杂环任选取代的芳基、芳硫基、芳基亚砷或芳基砷；和稠合的单环杂环、单环杂环硫代、单环杂环亚砷和单环杂环砷，其能够用卤代、卤代烷基、硝基、羟基、烷氧基、稠合的芳基或烷基任选取代；

烷基羰基、卤代烷基羰基和芳基羰基；

在一个或多个位置上用以下基团任选取代的芳基，包括：卤代、卤代烷基、烷基、烷氧基、芳氧基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、烷硫基、卤代烷硫基、硫代、羟基、氰基、硝基、酰氧基、羧基衍生物、羧基烷氧基、酰氨基、酰基氨基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、三氟烷氧基、三氟甲基磺酰基、烷基磺酰基、磺酸、磺酰胺、芳基、稠合的芳基、单环杂环和稠合的单环杂环和



，其中 R⁷ 和 R⁸ 如上定义并且条件是与所述氮一起， R⁷ 和 R⁸ 包括氨基酸；

和

R¹¹ 选自 H、烷基、芳烷基、链烯基、链炔基、卤代烷基或卤代链炔基或者 R¹¹ 与 Y 一起形成含有单氮的 4-12 元环。

本发明另一个目的是提供含有式 I 化合物的药用组合物。这样的化合物和组合物用于选择性抑制或者拮抗 α_vβ₃ 整联蛋白，由此在另一个实施方案中本发明涉及选择性抑制或者拮抗 α_vβ₃ 整联蛋白的方法。本发明另外包括在需要这样治疗的哺乳动物上治疗或抑制与此有关的病理性疾病例如骨质疏松症、恶性肿瘤体液高钙血症、培吉特病、肿瘤转移、实体肿瘤生长(瘤形成)、血管发生包括肿瘤血管发生、视网膜病包括黄斑变性和糖尿病性视网膜病、关节炎包括类风湿性关节炎、牙周病、牛皮癣、平滑肌细胞迁移和再狭窄。另外，

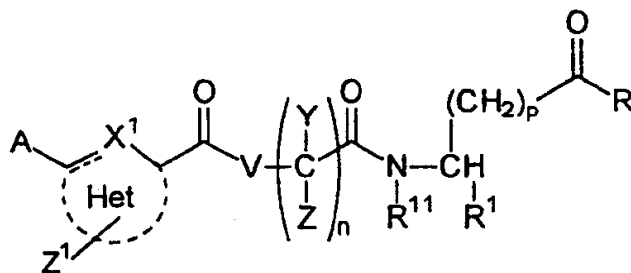
这样的药物用作抗病毒剂和抗菌药。

详细描述

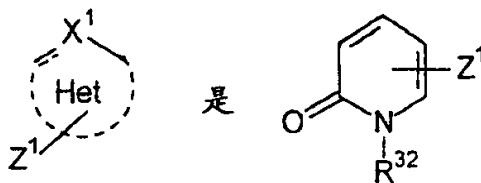
本发明涉及一类由以上描述的式 I 表示的化合物。

5

本发明的一个优选实施方案为式 II 化合物



其中

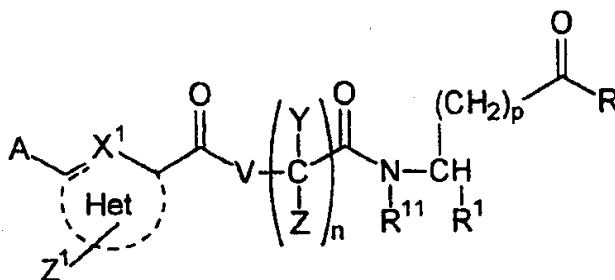


10

其中 R³² 为 H、烷基、烷氧基烷基、氨基烷基、二烷基氨基烷基，其中所述烷基由一个或多个选自羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、芳基-或烷基-磺酰基、羧基和羧基衍生物的取代基任选取代并且其它的变量如同在式 I 中描述。

15

本发明的另一个优选实施方案为式 III 化合物



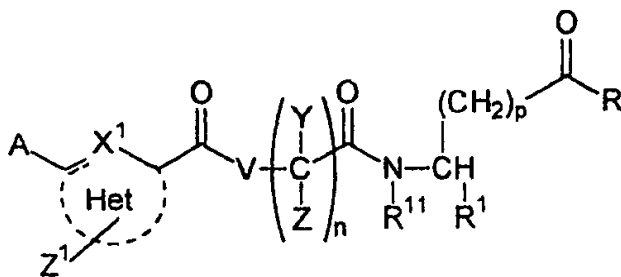
其中



后者被任选取代并且其它的变量如同在式 I 中定义。

本发明的另一个优选实施方案为式 IV 化合物

5



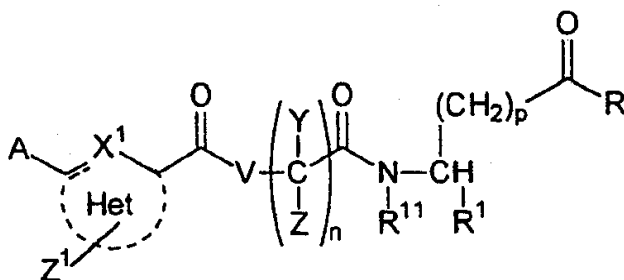
其中



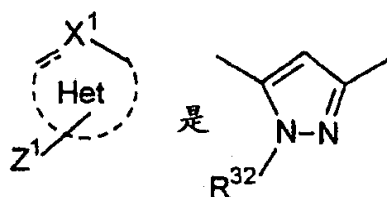
10

后者被任选取代并且其它的变量如同在式 I 中定义。

本发明另一个优选实施方案为式 V 化合物



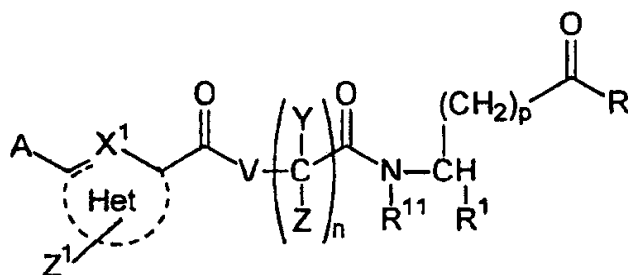
其中



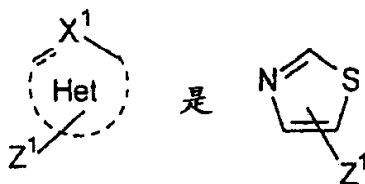
后者被任选取代并且其它的变量如同在式 I 中定义。

本发明的另一个优选实施方案为式 VI 化合物

5



其中



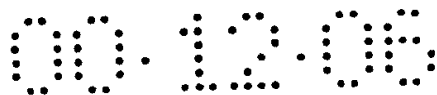
10

后者被任选取代并且其它的变量如同在式 I 中定义。

本发明另外涉及含有治疗有效量的式 I-VI 化合物的药用组合物。

15

本发明也涉及选择性抑制或拮抗 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白的方法，并且更具体地讲，涉及通过给予与药学上可接受的载体一起的、治疗有效量的式 I-VI 化合物(以达到这样的抑制作用)来抑制骨吸收、牙周病、骨质疏松症、恶性肿瘤体液高钙血症、培吉特病、肿瘤转移、实体肿瘤生长(瘤形成)、血管发生包括肿瘤血管发生、视网膜病包括黄斑



变性和糖尿病性视网膜病、关节炎包括类风湿性关节炎、平滑肌细胞迁移和再狭窄的方法

以下列出在此使用的多种术语的定义:

5 如同在此使用的术语“烷基”或“低级烷基”指的是具有大约1至大约10个碳原子并且更优选为1至大约6个碳原子的直链的或分枝链的烃基。这样的烷基实例为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、新戊基、己基、异己基等。

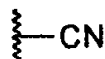
10 如同在此使用的术语“链烯基”或“低级链烯基”指的是含有至少一个双键和2至大约6个碳原子的不饱和无环烃基，相对于在所述双键碳上取代的基团，其在链烯基部分中的碳-碳双键可具有顺式或者反式几何构型。这样基团的实例为乙烯基、丙烯基、丁烯基、异丁烯基、戊烯基、己烯基等。

15 如同在此使用的术语“链炔基”或“低级链炔基”指的是含有一个或多个叁键和2至大约6个碳原子的无环烃基。这样基团的实例为乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基等。

如同在此使用的术语“环烷基”意指饱和的或部分不饱和的含有3至大约8个碳原子并且更优选为4至大约6个碳原子的环碳基团。这样的环烷基的实例包括环丙基、环丙烯基、环丁基、环戊基、环己基、2-环己烯-1-基等。

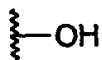
20 如同在此使用的术语“芳基”意指包括一个或多个芳香环的芳香环体系。优选芳基为那些含有一个、两个或三个芳香环的基团。该术语包括芳基例如苯基、吡啶基、萘基、噻吩、呋喃、联苯等。

如同在此使用的术语“氰基”由式



的基团表示。

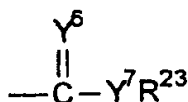
25 如同在此使用的术语“羟基”由式



的基团表示。

如同在此使用的术语“羧酸酯”指的是式-COOR²³的基团，其中R²³选自如上定义的H、烷基、芳烷基或芳基。

如同在此使用的术语“羧基衍生物”指的是式

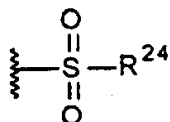


的基团，其中Y⁶和Y⁷独立选自O、N或S并且R²³选自如上定义的H、烷基、芳烷基或芳基。

5

如同在此使用的术语“氨基”由式-NH₂的基团表示。

如同在此使用的术语“烷基磺酰基”或“烷基砜”指的是式

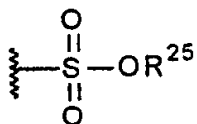


的基团，其中R²⁴为如上定义的烷基。

如同在此使用的术语“烷硫基”指的是式-SR²⁴的基团，其中R²⁴为如上定义的烷基。

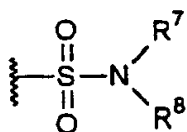
10

如同在此使用的术语“磺酸”指的是式



的基团，其中R²⁵为如上定义的烷基。

如同在此使用的术语“磺酰胺”指的是式



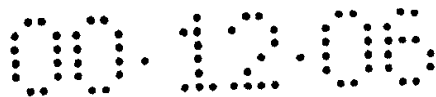
的基团，其中R⁷和R⁸如上定义。

15

如同在此使用的术语“稠合的芳基”指的是芳香环例如如上定义的芳基稠合于一个或多个苯基环上。术语“稠合的芳基”包括的基团有萘基等。

如同在此使用的术语“单环杂环”或“单环杂环的”指的是含有4至大约12个原子并且更优选为5至大约10个原子的、其中的1至3个原子为选自氧、氮和硫的杂原子的单环，需要理解的是如果

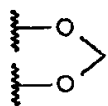
20



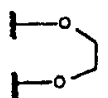
存在两个或多个不同的杂原子，至少所述杂原子之一必须为氮。这样的单环杂环的代表为咪唑、呋喃、吡啶、噁唑、吡喃、三唑、噻吩、吡唑、噻唑、噻二唑等。

5 如同在此使用的术语“稠合的单环杂环”指的是用苯稠合于其上面的如上定义的单环杂环。这样的稠合的单环杂环的实例包括苯并呋喃、苯并吡喃、苯并二氧杂戊环、苯并噻唑、苯并噻吩、苯并咪唑等。

如同在此使用的术语“亚甲二氧基”指的是式

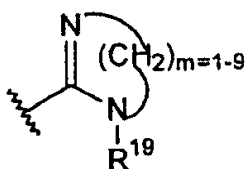


的基团和术语“亚乙二氧基”指的是式



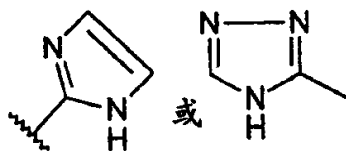
10 的基团。

如同在此使用的术语“含有二氮的 4-12 元杂环”指的是式



的基团，其中 m 为 1 或 2 并且 R^{19} 为 H、烷基、芳基或芳烷基且更优选为 4-9 元环并包括例如咪唑啉环。

如同在此使用的术语“5-元任选取代的杂芳香环”包括例如式



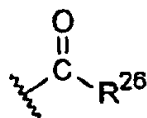
15

的基团并且“与苯基稠合的 5-元杂芳香环”指的是这样的与苯基稠合的 5-元杂芳香环。这样的与苯基稠合的 5-元杂芳香环的代表为苯并咪唑。

如同在此使用的术语“二环烷基”指的是含有其为饱和的或者部分不饱和的、6 至大约 12 个碳原子的二环烷基。

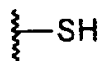


如同在此使用的术语“酰基”指的是式



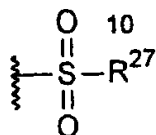
的基团，其中 R^{26} 为烷基、链烯基、链炔基、芳基或芳烷基并如上定义那样在其上任选取代。这样的基团包括乙酰基、苯甲酰基等。

如同在此使用的术语“硫代”指的是式



5 的基团。

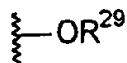
如同在此使用的术语“磺酰基”指的是式



的基团，其中 R^{27} 为如上定义的烷基、芳基或芳烷基。

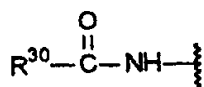
如同在此使用的术语“卤代烷硫基”指的是式 -S-R^{28} 的基团，其中 R^{28} 为如上定义的卤代烷基。

10 如同在此使用的术语“芳氧基”指的是式



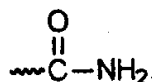
的基团，其中 R^{29} 为如上定义的芳基。

如同在此使用的术语“酰基氨基”指的是式



的基团，其中 R^{30} 为如上定义的烷基、芳烷基或芳基。

如同在此使用的术语“酰氨基”指的是式



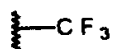
15 的基团。

如同在此使用的术语“烷基氨基”指的是式 -NHR^{32} 的基团，其中 R^{32} 为如上定义的烷基。

如同在此使用的术语“二烷基氨基”指的是式 $\text{-NR}^{33}\text{R}^{34}$ 的基团，

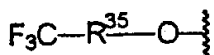
其中 R^{33} 和 R^{34} 为如上定义的相同的或不同的烷基。

如同在此使用的术语“三氟甲基”指的是式



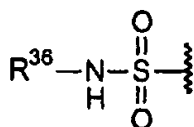
的基团。

如同在此使用的术语“三氟烷氧基”指的是式



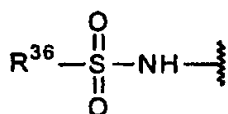
5 的基团，其中 R^{35} 为如上定义的键或亚烷基。

如同在此使用的术语“烷基氨基磺酰基”指的是式



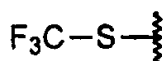
的基团，其中 R^{36} 为如上定义的烷基。

如同在此使用的术语“烷基磺酰氨基”指的是式



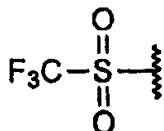
的基团，其中 R^{36} 为如上定义的烷基。

10 如同在此使用的术语“三氟甲基硫代”指的是式



的基团。

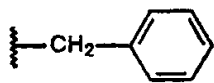
如同在此使用的术语“三氟甲基磺酰基”指的是式



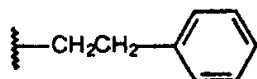
的基团。

15 如同在此使用的术语“含有单氮的 4-12 元单环或双环”指的是饱和的或者部分不饱和的、4-12 个原子并且更优选为其中一个原子为氮的 4-9 个原子的环的单环或双环。这样的环任选含有另外的选自氮、氧或硫的杂原子。在这个组中包括吗啉、哌啶、哌嗪、硫代吗啉、吡咯烷、脯氨酸、氮杂环庚烯等。

如同在此使用的术语“苄基”指的是基团

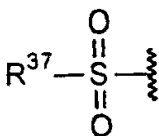


如同在此使用的术语“苯乙基”指的是基团

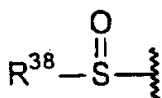


- 5 如同在此使用的术语“含有单氮的、含有单硫或单氧的 4-12 元杂环”指的是包括 4-12 个原子并且更优选为 4-9 个原子的环，其中至少一个原子为氮并且至少一个原子为氧或硫。在此定义内包括的环如噻唑啉等。

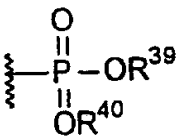
- 10 如同在此使用的术语“芳基磺酰基”或“芳基砒”指的是其中 R³⁷ 为如上定义的芳基的下式基团：



如同在此使用的术语“烷基亚砒”或“芳基亚砒”指的是其中 R³⁸ 分别为如上定义的烷基或芳基的下式基团：

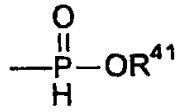


- 15 如同在此使用的术语“磷酸衍生物”指的是其中 R³⁹ 和 R⁴⁰ 为相同的或者不同的 H、烷基、芳基或芳烷基的下式基团：

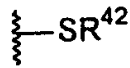


如同在此使用的术语“次磷酸衍生物”指的是其中 R⁴¹ 为如上定

义的 H、烷基、芳基或芳烷基的下式基团:

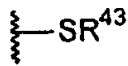


如同在此使用的术语“芳硫基”指的是其中 R⁴² 为如上定义的芳基的下式基团:



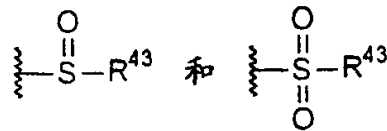
5

如同在此使用的术语“单环杂环硫代”指的是其中 R⁴³ 为如上定义的单环杂环基团的下式基团:

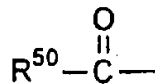


10

如同在此使用的术语“单环杂环亚砷”和“单环杂环砷”分别指的是其中 R⁴³ 为如上定义的单环杂环基团的下式基团:

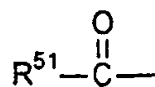


如同在此使用的术语“烷基羰基”指的是其中 R⁵⁰ 为如上定义的烷基的下式基团:



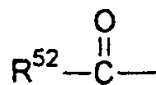
15

如同在此使用的术语“芳基羰基”指的是其中 R⁵¹ 为如上定义的芳基的下式基团:

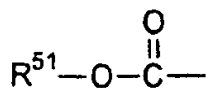


如同在此使用的术语“烷氧基羰基”指的是其中 R⁵² 为如上定义

的烷氧基的下式基团:

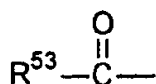


如同在此使用的术语“芳氧基羰基”指的是其中 R^{51} 为如上定义的芳基的下式基团:



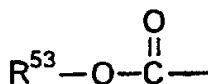
5

如同在此使用的术语“卤代烷基羰基”指的是其中 R^{53} 为如上定义的卤代烷基的下式基团:

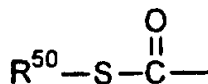


10

如同在此使用的术语“卤代烷氧基羰基”指的是其中 R^{53} 为如上定义的卤代烷基的下式基团:

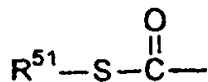


如同在此使用的术语“烷硫基羰基”指的是其中 R^{50} 为如上定义的烷基的下式基团:



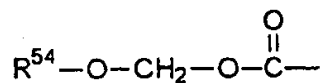
15

如同在此使用的术语“芳硫基羰基”指的是其中 R^{51} 为如上定义的芳基的下式基团:



如同在此使用的术语“酰氧基甲氧基羰基”指的是其中 R^{54} 为如

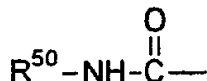
上定义的酰基的下式基团:



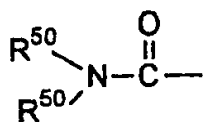
如同在此使用的术语“芳基氨基”指的是其中 R^{51} 为如上定义的芳基的式 $R^{51}-NH-$ 基团。

- 5 如同在此使用的术语“聚烷基醚”指的是经常使用的二元醇例如三甘醇、四甘醇、聚乙二醇等。

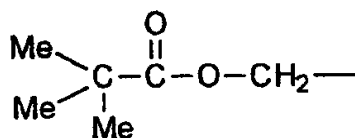
如同在此使用的术语“烷基酰氨基”指的是其中 R^{50} 为如上定义的烷基的下式基团:



- 10 如同在此使用的术语“N,N-二烷基酰氨基”指的是下式基团, 其中 R^{50} 为相同的或不同的如上定义的烷基:



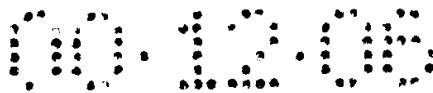
如同在此使用的术语“新戊酰氧基甲基”指的是下式基团:



- 15 如同在此使用的术语“酰氧基”指的是其中 R^{55} 为如上定义的酰基的式 $R^{55}-O-$ 基团。

如同在此使用的术语“组合物”意指由将多于一种的要素或组分混合而得到的产物。

- 20 如同在此使用的术语“药学上可接受的载体”意指药学上可接受的材料、组成或溶媒, 例如涉及携带或转运化学药物的液体或固



体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料。

术语“治疗有效量”将意指引发组织、系统或研究者或临床医生研究的动物的生物或医学应答的药物或药剂的量。

以下列出如同在此互换使用的缩写与相应的含义：

- 5 $^1\text{H-NMR}$ =核磁共振氢谱
AcOH=乙酸
Ar=氩
BH₃-THF=硼烷-四氢呋喃复合物
Bn=苄基
- 10 BOC=叔丁氧基羰基
ButLi=丁基锂
Cat.=催化量
CDMT=2-氯-4,6-二甲氧基三嗪
CH₂Cl₂=二氯甲烷
- 15 CH₃CN=乙腈
CH₃I=碘甲烷
CHN 分析=碳/氢/氮元素分析
CHNCl 分析=碳/氢/氮/氯元素分析
CHNS 分析=碳/氢/氮/硫元素分析
- 20 DAST=二乙基氨基三氟化硫
DCC=1,3-二环己基碳二亚胺
DCM=二氯甲烷
DIBAL=氢化二异丁基铝
DIEA=二异丙基乙基胺
- 25 DI 水=去离子水
DMA=N,N-二甲基乙酰胺
DMAC=N,N-二甲基乙酰胺
DMAP=4-(N,N-二甲基氨基)吡啶

DMF= N,N-二甲基甲酰胺

DSC=二琥珀酰基碳酸酯

EDCI=1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐

Et=乙基

5 Et₂O=乙醚

Et₃N=三乙胺

EtOAc=乙酸乙酯

EtOH=乙醇

FAB MS=快速原子轰击质谱

10 g=克

GIHA=间胍基马尿酸

GIHA HCl=间胍基马尿酸盐酸盐

Gly=甘氨酸

HMPA=六甲基磷酰胺

15 HOBT=1-羟基苯并三唑水合物

HPLC=高效液相色谱法

IBCF=氯甲酸异丁酯

i-Pr=异丙基

i-Prop=异丙基

20 K₂CO₃=碳酸钾

KMnO₄=高锰酸钾

KOH=氢氧化钾

KSCN=硫氰酸钾

L=升

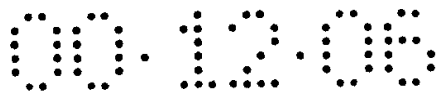
25 LiOH=氢氧化锂

MCPBA=间-氯过苯甲酸

Me=甲基

MeI=碘甲烷

- MeOH=甲醇
- MEMCl=甲氧基乙氧基甲基氯
- MesCl=甲磺酰氯
- mg=毫克
- 5 MgSO₄=硫酸镁
- ml=毫升
- mL=毫升
- MS=质谱
- MTBE=甲基叔丁基醚
- 10 N₂=氮
- NaCNBH₃=氰基硼氢化钠
- NaH=氢化钠
- NaHCO₃=碳酸氢钠
- NaOH=氢氧化钠
- 15 NaOMe=甲醇钠
- Na₂PO₄=磷酸钠
- Na₂SO₄=硫酸钠
- NEt₃=三乙胺
- NH₄HCO₃=碳酸氢铵
- 20 NH₄⁺HCO₂⁻=甲酸铵
- NH₄OH=氢氧化铵
- NMM=N-甲基吗啉
- NMP=1-甲基-2-吡咯烷酮
- NMR=核磁共振
- 25 Pd/C=披钯炭
- Ph=苯基
- Pt/C=披铂炭
- RPHPLC=反相高效液相色谱法



RT=室温

t-BOC=叔丁氧基羰基

TFA=三氟乙酸

THF=四氢呋喃

5 TLC=薄层层析法

TMEDA=四甲基亚乙基二胺

TMS=三甲基甲硅烷基

Δ =加热反应混合物

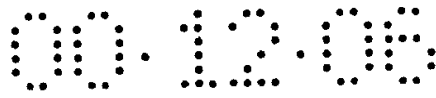
10 如同在式 I-VI 中显示的化合物能够以多种异构形式存在并且意指包括所有这样的异构形式。也包括互变异构形式以及这样的异构体和互变异构体的药学上可接受的盐。

在此所述结构和式中，穿过环的键所画出的键可为环上任何可利用的原子。

15 术语“药学上可接受的盐”指的是通过使式 I 化合物与其一般考虑适宜于人体消耗的酸的阴离子接触来制备的盐。药学上可接受的盐的实例包括盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、磷酸盐、乙酸盐、丙酸盐、乳酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐等。可通过常规方法制备所有的药学上可接受的盐。(用于药学上可接受的盐的另外的实例参见 Berge 等, J. Pharm. Sci., 66(1), 1-19
20 (1977))。

为选择性抑制或拮抗 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白，本发明化合物可以其包括常规药学上可接受的载体、辅助剂和溶媒的单位剂型经口服、胃肠外给药或通过吸入喷雾或局部给药。在此使用的术语胃肠外包括例如皮下、静脉、肌内、胸骨内、输注技术或腹膜内。

25 本发明化合物通过以适合于所述途径的药用组合物的形式和以用于治疗的有效剂量的任何适宜的途径给药。使用对医学领域熟悉的临床前和临床方法，本领域普通技术人员易于确定预防或阻止疾病的发展或治疗疾病所需要的治疗有效剂量的化合物。



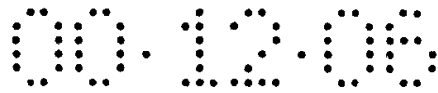
因此，本发明提供治疗由选择性抑制或拮抗 $\alpha_v\beta_3$ 细胞表面受体介导的疾病的方法，该方法包括给予治疗有效量的选自式 I-VI 中阐明的这类化合物的化合物，其中一种或多种式 I-VI 化合物与一种或多种非毒性的、药学上可接受的载体和/或稀释剂和/或辅剂(总称“载体”材料)和如果需要的话的其它活性成分一起给药。更准确地讲，
5 本发明提供用于抑制 $\alpha_v\beta_3$ 细胞表面受体的方法。本发明最优选提供用于抑制骨吸收、治疗骨质疏松症、抑制恶性肿瘤体液高钙血症、治疗培吉特病、抑制肿瘤转移、抑制瘤形成(实体肿瘤生长)、抑制血管发生包括肿瘤血管发生、治疗视网膜病包括黄斑变性和糖尿病性
10 视网膜病、抑制关节炎、牛皮癣和牙周病和抑制平滑肌细胞迁移包括再狭窄的方法。

基于本领域技术人员熟知和理解的标准实验室实验技术和方法以及与已知用途的化合物相比较，式 I 化合物能够用于治疗患有以上病理疾病的患者。本领域技术人员将认识到选择最适当的本发明化
15 合物在具有本领域一般技术的人的能力范围内并且将依多种因素包括在标准试验和动物模型中得到的结果来确定。

治疗受到所述病理症状之一困扰的患者的方法包括给予这样的患者一定量的式 I 化合物，其在所述疾病的控制或者延长患者的存活率中是有效的，超出不采用该治疗方法所能期待的存活率。如同在此使用的术语疾病的“抑制”指的是延缓、中断、阻止或停止疾症
20 而不必表明全部消除所述疾病。人们相信除了自身的明显有利作用之外，延长患者的存活率也表明所述疾病被有利地控制到某种程度。

如同先前陈述的那样，能够在多种生物、预防或治疗领域中使用本发明化合物。打算把这些化合物用于预防或治疗其中 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白起作用的任何疾病或者症状。
25

用于化合物和/或含有这些化合物的组合物的剂量方案基于多种因素，包括患者的类型、年龄、体重、性别和医疗条件、疾病的严重程度、给药途径和所使用特定的化合物的活性。因此，剂量方案



可变化很大。剂量水平从每天每公斤体重大约 0.01 至大约 1000 mg 来用于治疗上述的疾病。

5 将经注射给予的活性成分配制为其中例如盐水、葡萄糖或水可用作适宜的载体的组合物。依以上列出的因素而定，适宜的每日剂量一般为每日以多剂量注射大约 0.01 至 10 mg/kg 体重。

10 为给予需要这样治疗的哺乳动物，一般将治疗有效量的所述化合物与一种或多种适宜于所指明给药途径的辅剂混合。化合物可与乳糖、蔗糖、淀粉粉末、链烷酸纤维素酯、纤维素烷基酯、滑石粉、硬脂酸、硬脂酸镁、氧化镁、磷酸和硫酸的钠和钙盐、明胶、阿拉伯胶、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮和/或聚乙烯醇混合，并且压片或包封以便于给药。或者可把化合物溶于水、聚乙二醇、丙二醇、乙醇、玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、苯甲醇、氯化钠和/或多种缓冲剂中。其它的辅剂和给药模式为药学领域中广泛熟知的。

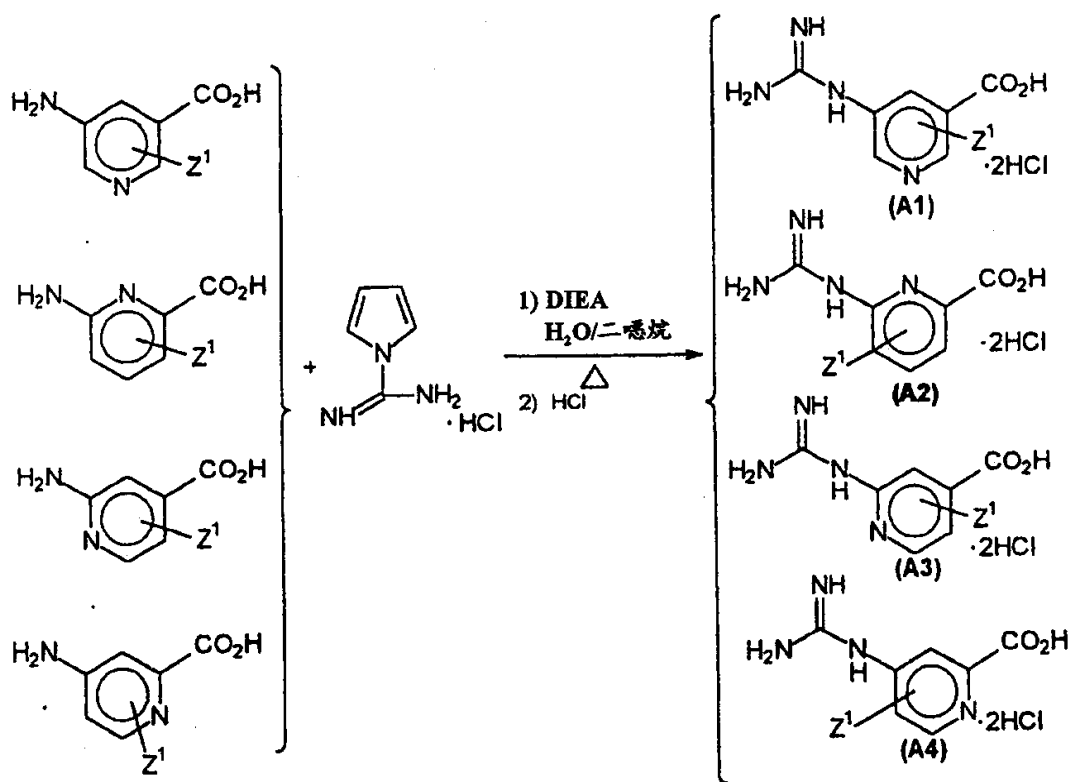
15 用于本发明中的药用组合物可经受常规药用操作例如灭菌和/或可含有常规药用辅剂例如防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、缓冲剂等。

20 制备用于本发明的化合物的一般合成顺序列于流程 1-15 中。对于本发明的多种方面的解释和实际方法两者被适当描述。以下流程和实施例仅打算阐明本发明，而不限制它们的范围或精神。本领域技术人员将易于理解在所述流程和实施例中描述的条件和方法的已知的变化形式能够用于合成本发明化合物。

除非另外指出，所使用的所有起始原料和装置可市售得到。

25

流程 1

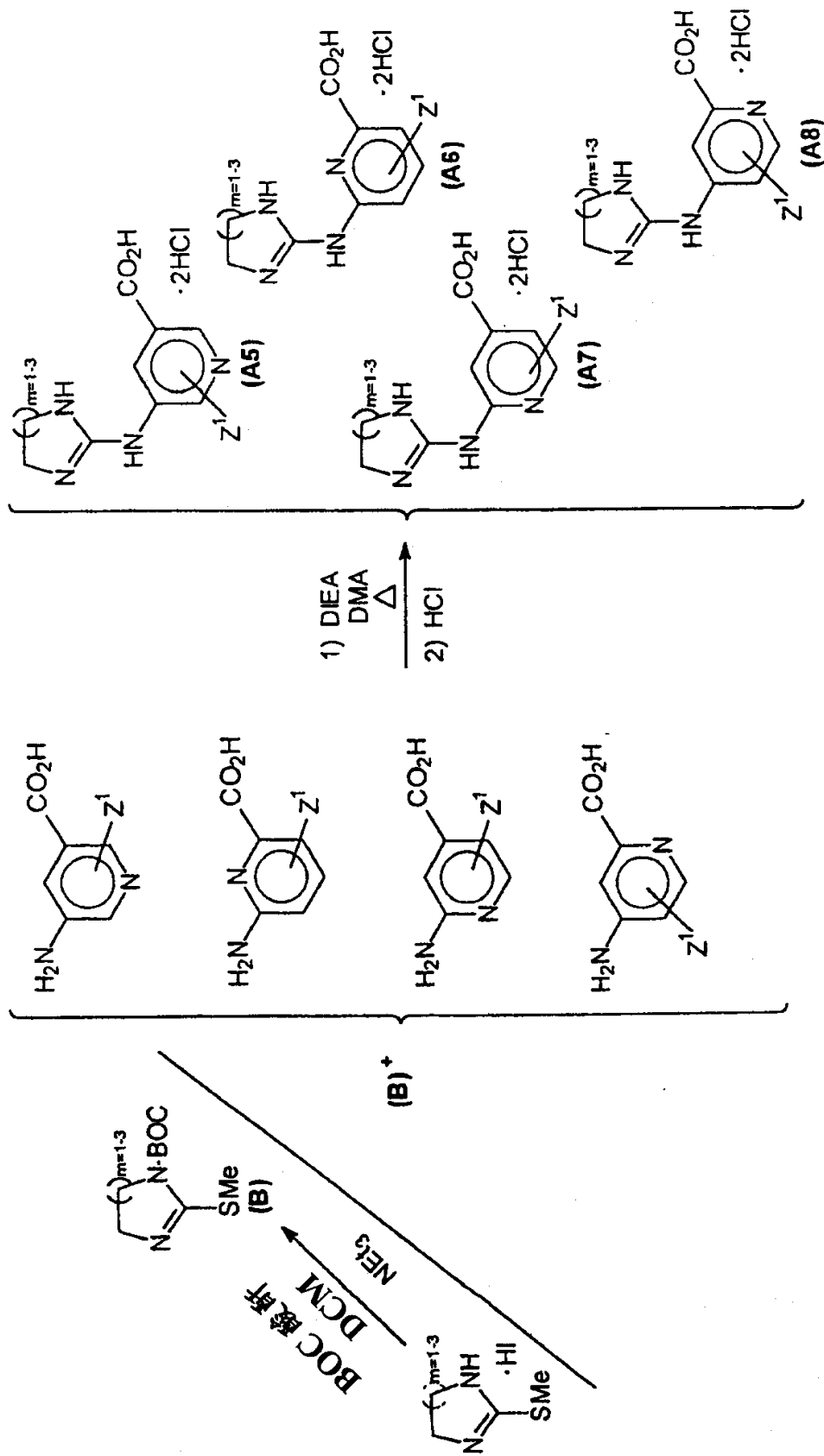


5

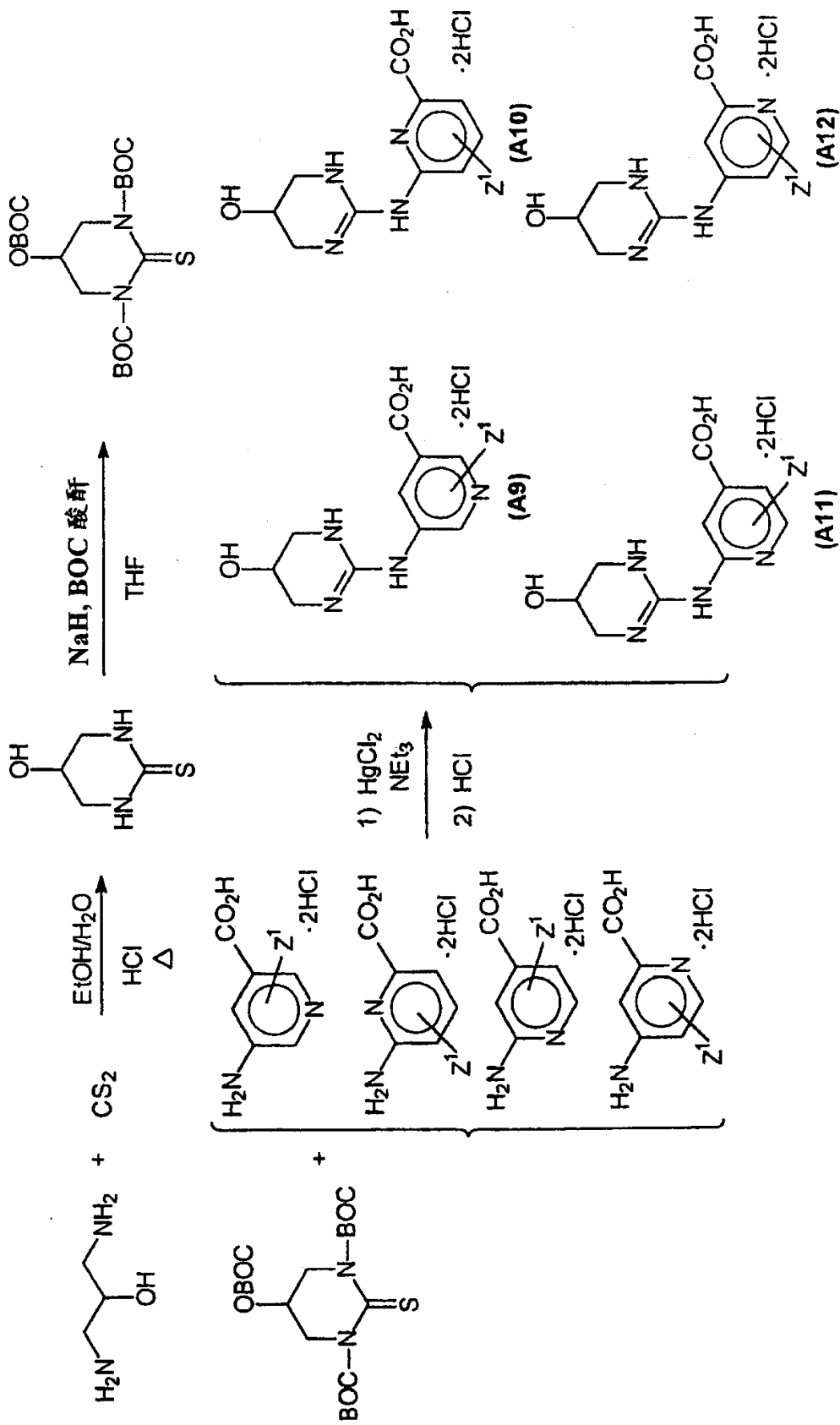
10

15

流程 2



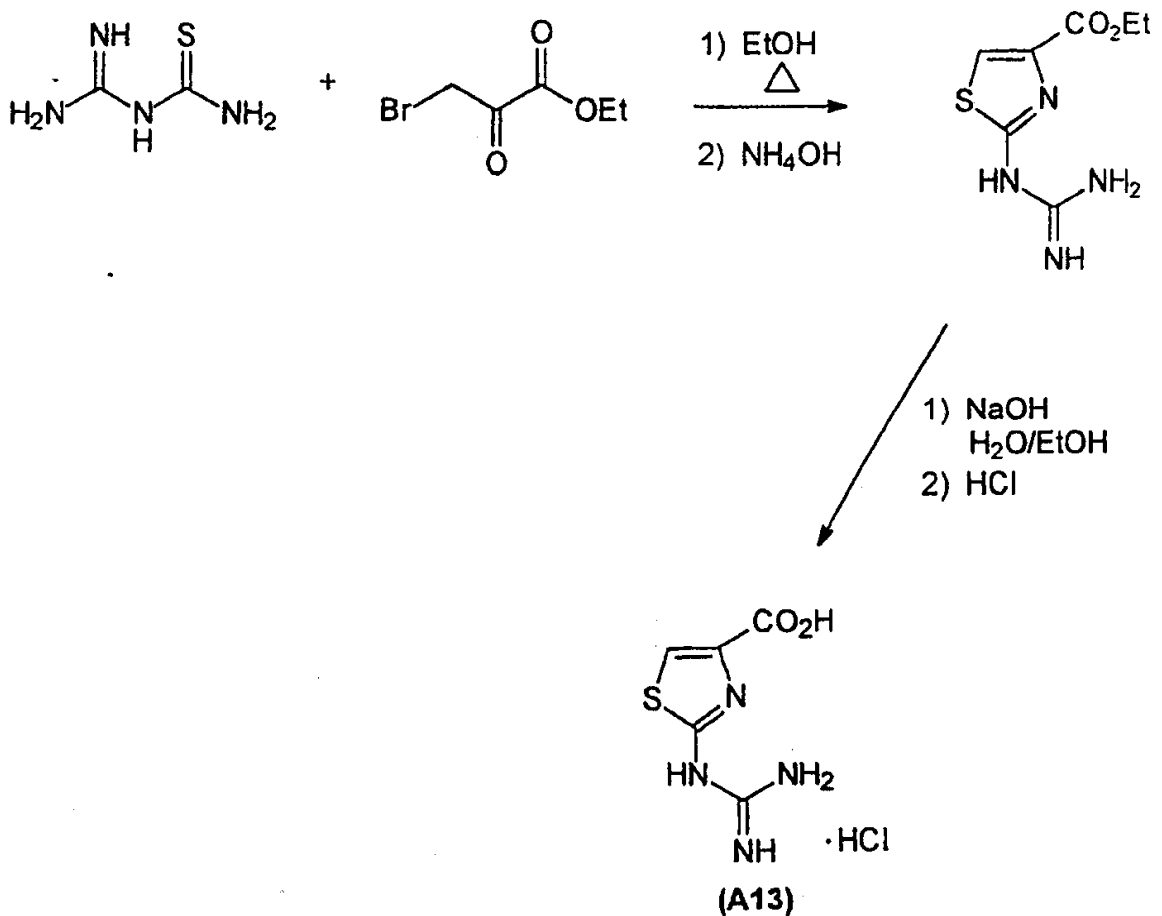
流程 3



流程 1-3 阐明用于制备其用于偶合到甘氨酸- β -氨基酸部分的本发明胍基吡啶/环胍基吡啶羧酸部分的方法。这可以使用本领域技术人员已知的其它适当的胍基化(guanidating)试剂来完成。使用常规技术和方法能够改进流程 1-3 的方法以制备用于偶合到甘氨酸- β -氨基酸部分的另外的化合物。

5

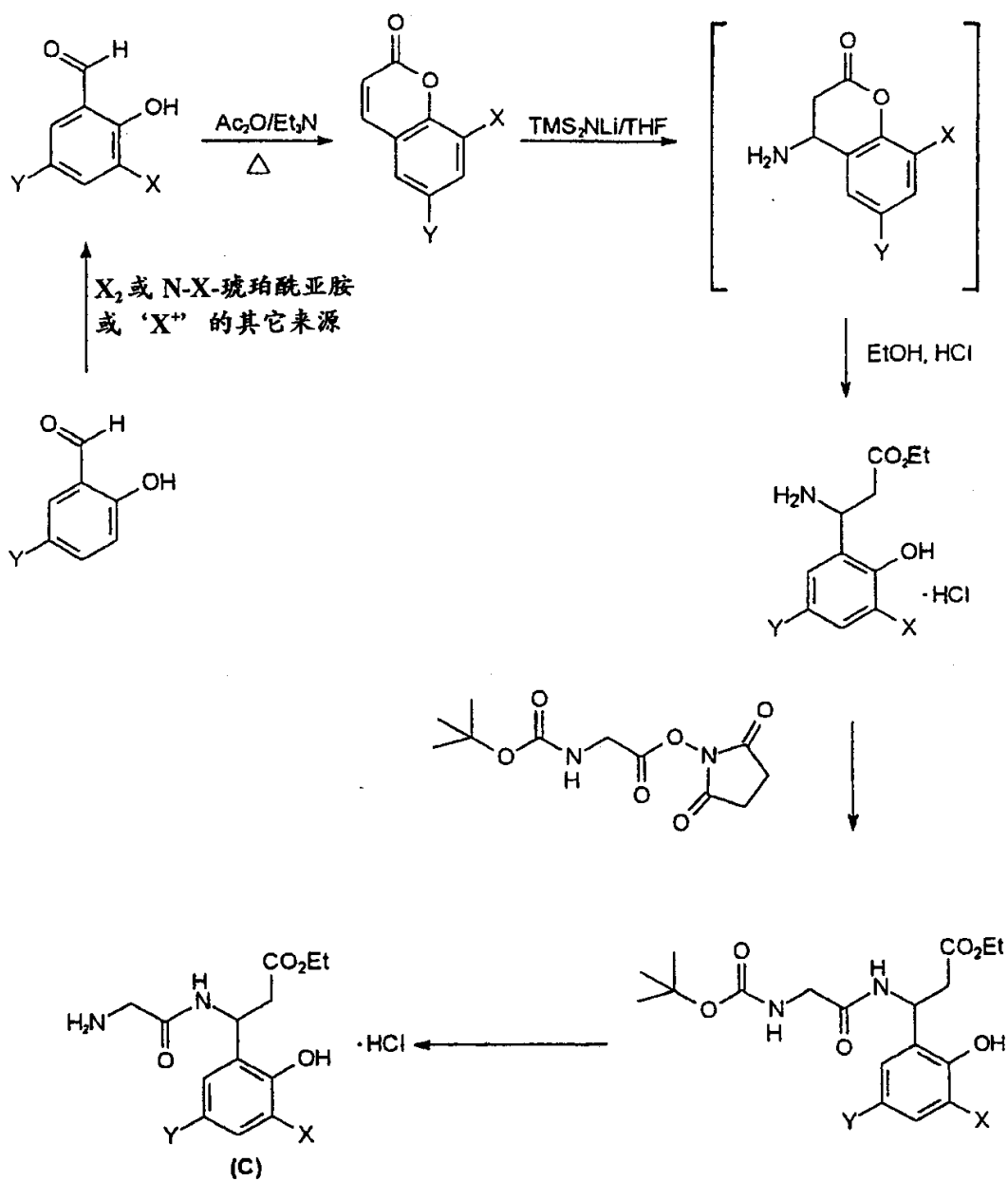
流程 4



10

流程 4 阐明用于制备其用于偶合甘氨酸- β -氨基酸部分的本发明的胍基噻唑羧酸部分的方法。使用本领域技术人员已知的常规技术能够改进流程 4 的方法以制备用于偶合到甘氨酸- β -氨基酸部分的这些和另外的化合物。

流程 5



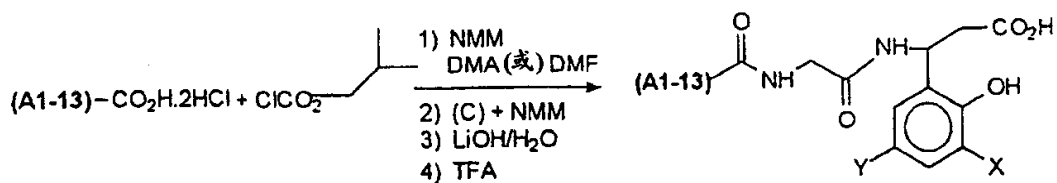
流程 5 阐明用于制备本发明化合物的 N-甘氨酸-氨基-3-(3,5-二卤代-2-羟基)苯基丙酸乙酯部分的方法。简言之, 通过直接卤代制备 3,5-卤代的水杨醛(卤代-2-羟基苯甲醛)。例如, 将 5-溴代水杨醛在乙酸中浆化并加入等当量或更多量的氯, 以生成 3-氯-5-溴-2-羟基苯甲醛。

5 一些产物沉淀出来并经过滤回收。经用水稀释滤液并分离沉淀, 回收剩余部分。合并固体并干燥, 得到 3-氯-5-溴-2-羟基苯甲醛。通过在 DMF 中使 5-氯水杨醛与 N-碘代琥珀酰亚胺反应并使该反应混合物经受常规处理条件, 制备 3-碘代-5-氯代水杨醛。能够通过乙腈中使 5-溴代水杨醛与碘化钾和氯胺 T 反应能够制备 3-碘代-5-溴代水杨醛。常规处理得到物料, 当用己烷处理时, 得到要求的 3-碘代-5-氯代水杨醛。

10 使用改进的佩金反应(例如, *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 第 5 版, 1989, 1040 页), 从水杨醛易于制备香豆素类。将卤代的香豆素类转化为 3-氨基氢化香豆素类(参见 J. G. Rico, 四面体快报, 1994, 35, 6599-6602), 其在酸性醇中易于开环, 得到 3-氨基-3-(3,5-卤代-2-羟基)苯基丙酸酯。

15 通过 Boc-N-甘氨酸-N-羟基琥珀酰亚胺的反应, 把 3-氨基-3-(3,5-卤代-2-羟基)苯基丙酸酯转化为 N-甘氨酸-3-氨基-3-(3,5-卤代-2-羟基)苯基丙酸酯, 得到 Boc-N-甘氨酸-3-氨基-3-(3,5-卤代-2-羟基)苯基丙酸酯, 将其转化为 N-甘氨酸-3-氨基-3-(3,5-卤代-2-羟基)苯基丙酸酯的 HX 盐(其中 X 为 Cl、Br 或 I)。

流程 6



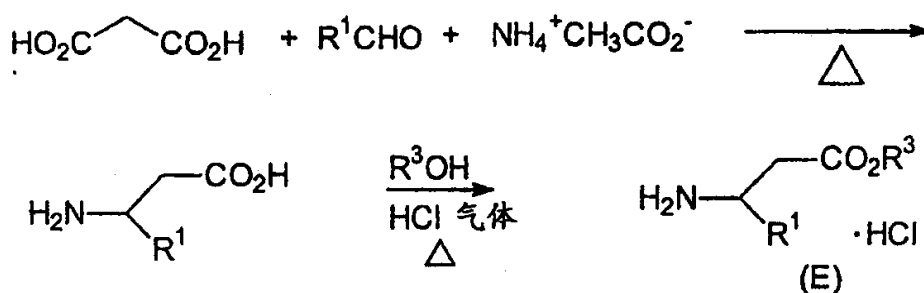
流程6 阐明用于使杂环酸部分(A1-A13)偶合于本发明的甘氨酸- β -氨基部分(C)的方法。

在流程1-4 中阐明 A1-A13 的合成并且在流程5(其中 X 和 Y 为相同的或不同的卤素)中阐明(C)的合成。

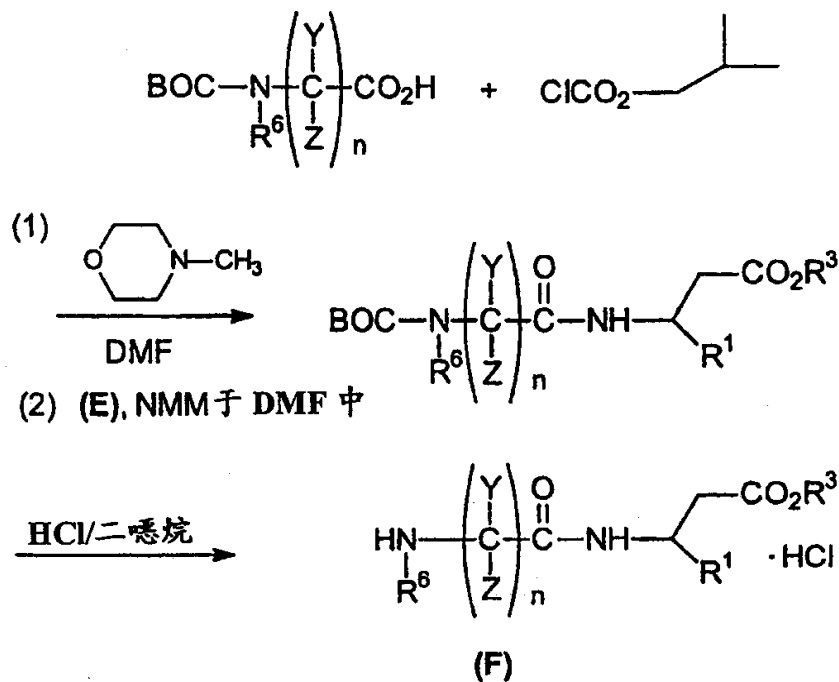
5 使用本领域普通技术人员已知的常规方法, 能够进一步改进这样的方法。

流程7

步骤A



步骤B



10

流程 7 阐明以通法制备分子(F)的甘氨酸- β -氨基酸部分的方法。

在这个方法中使用的醛(R'CHO)可市售得到或者能够使用本领域普通技术人员通常已知的用于制备醛的方法由市售得到的试剂来制备。

5 所有其它的试剂可市售得到或者能够易于由本领域技术人员合成。

使用常规技术, 能够进一步改进这样的方法和条件以生成相似要求的中间体。

10

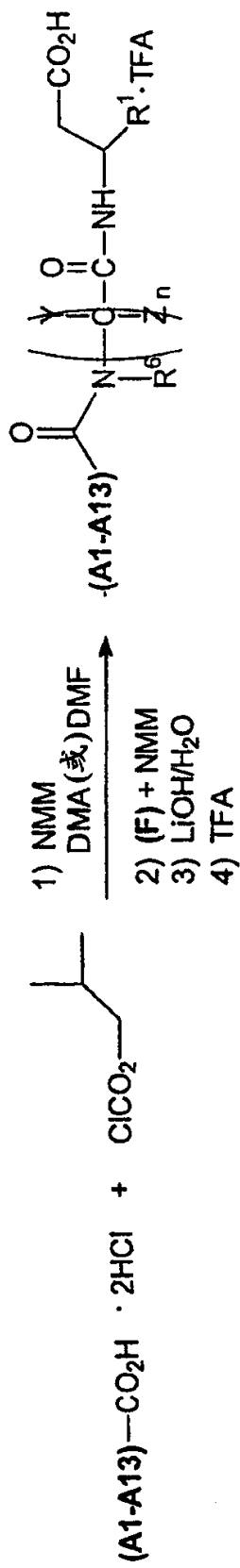
15

20

25

30

流程 8

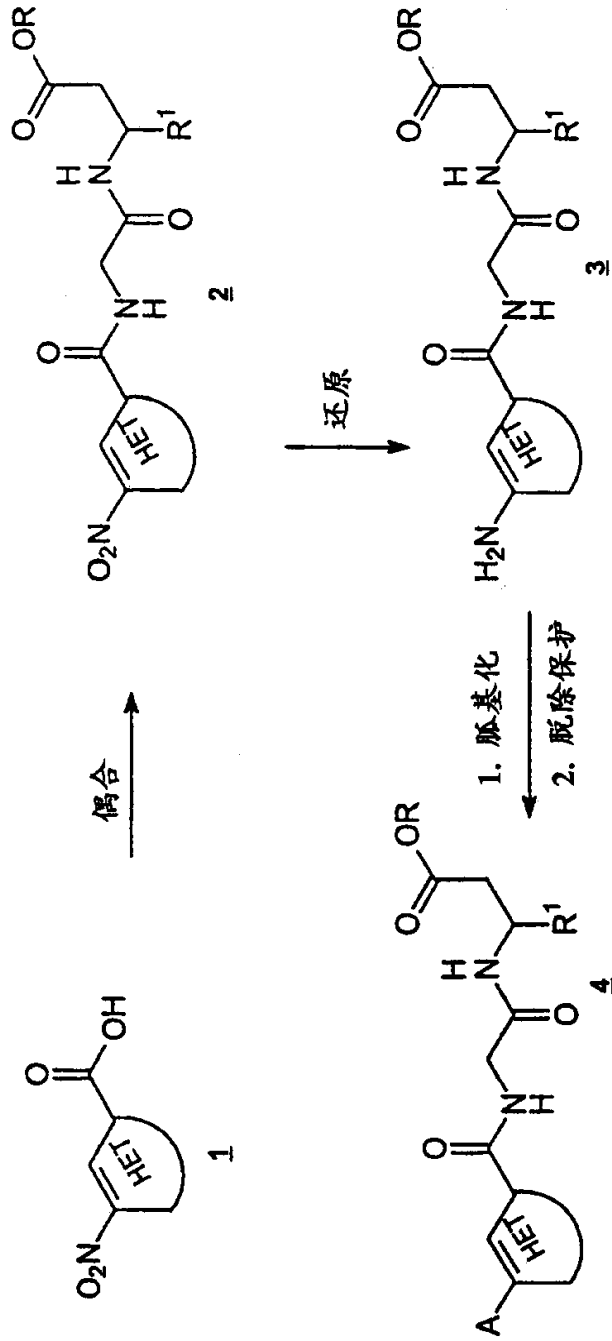


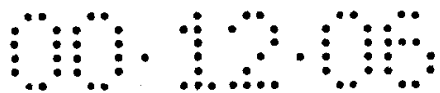
流程 8 阐明用于使杂环部分(A1-13)偶合至甘氨酸- β -氨基酸部分(F)来制备本发明化合物的方法。

在流程 1-4 中阐明 A1-13 的合成并且在流程 7 中阐明(F)的合成。使用本领域普通技术人员已知的常规方法，能够改进这样的方法。

流程 9-12 阐明制备本发明化合物的通法。

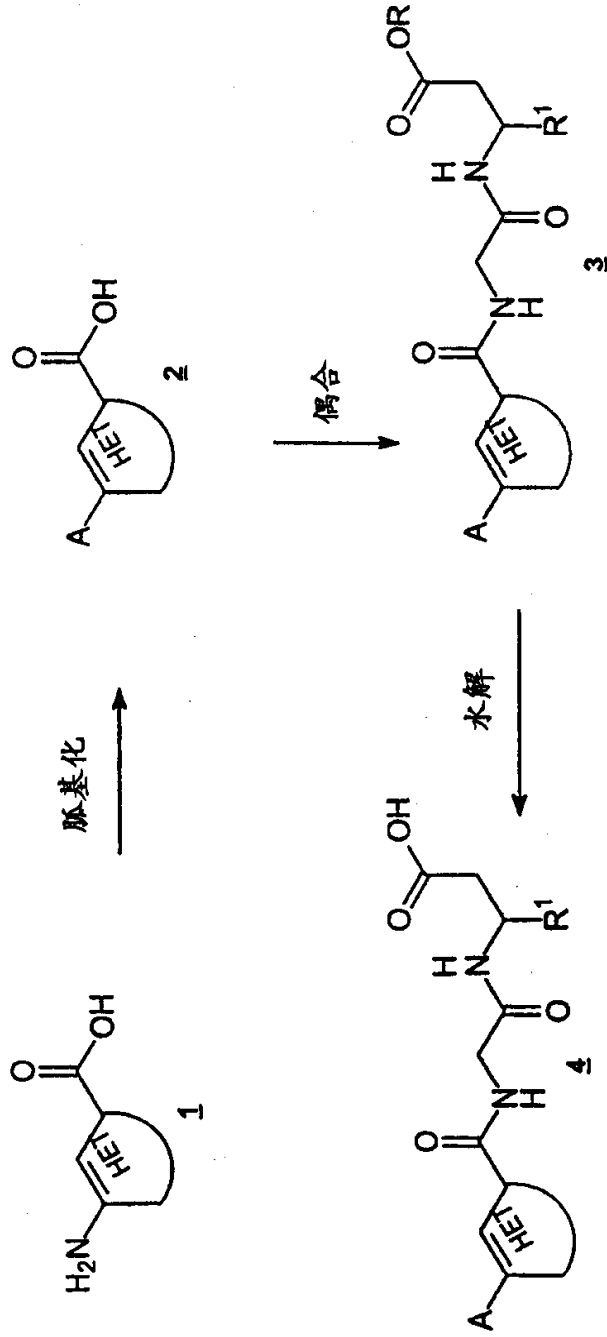
流程 9

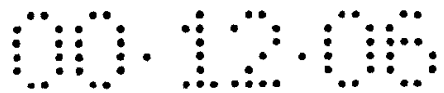




流程9 阐明用于合成杂环衍生的甘氨酸- β -氨基酸偶合的目标化合物的通用方法。在肽偶合条件下，杂环羧酸与甘氨酸- β -氨基酸反应，得到中间体(2)。使用催化氢化(例如 Pt/C, H₂)还原硝基，得到氨基中间体(3)。使用 SnCl₂ 也可化学上实施这个转化。使用以上讨论的方法，能够将氨基精心制备以得到式 I 的胍基或其它的官能团。

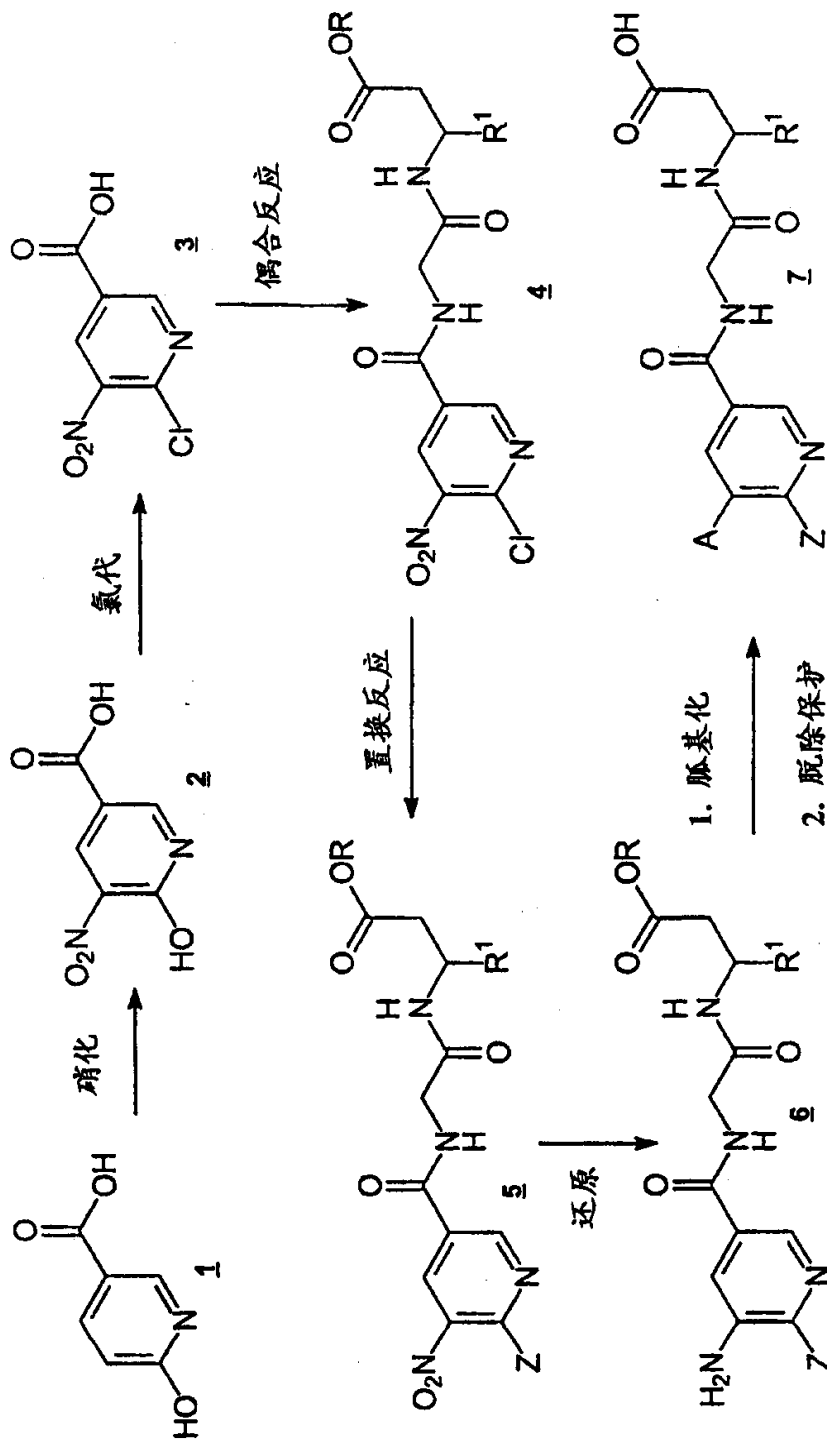
流程 10

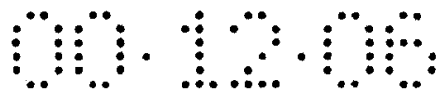




或者，可通过在与甘氨酸- β -氨基酸偶合之前，建立所述分子的左手部分来合成所述目标化合物(流程 10)。杂环胺(1)的氨基官能度被官能化成为脒或其它基团(A, 式 1)，然后在标准偶合条件下偶合于甘氨酸- β -氨基酸。

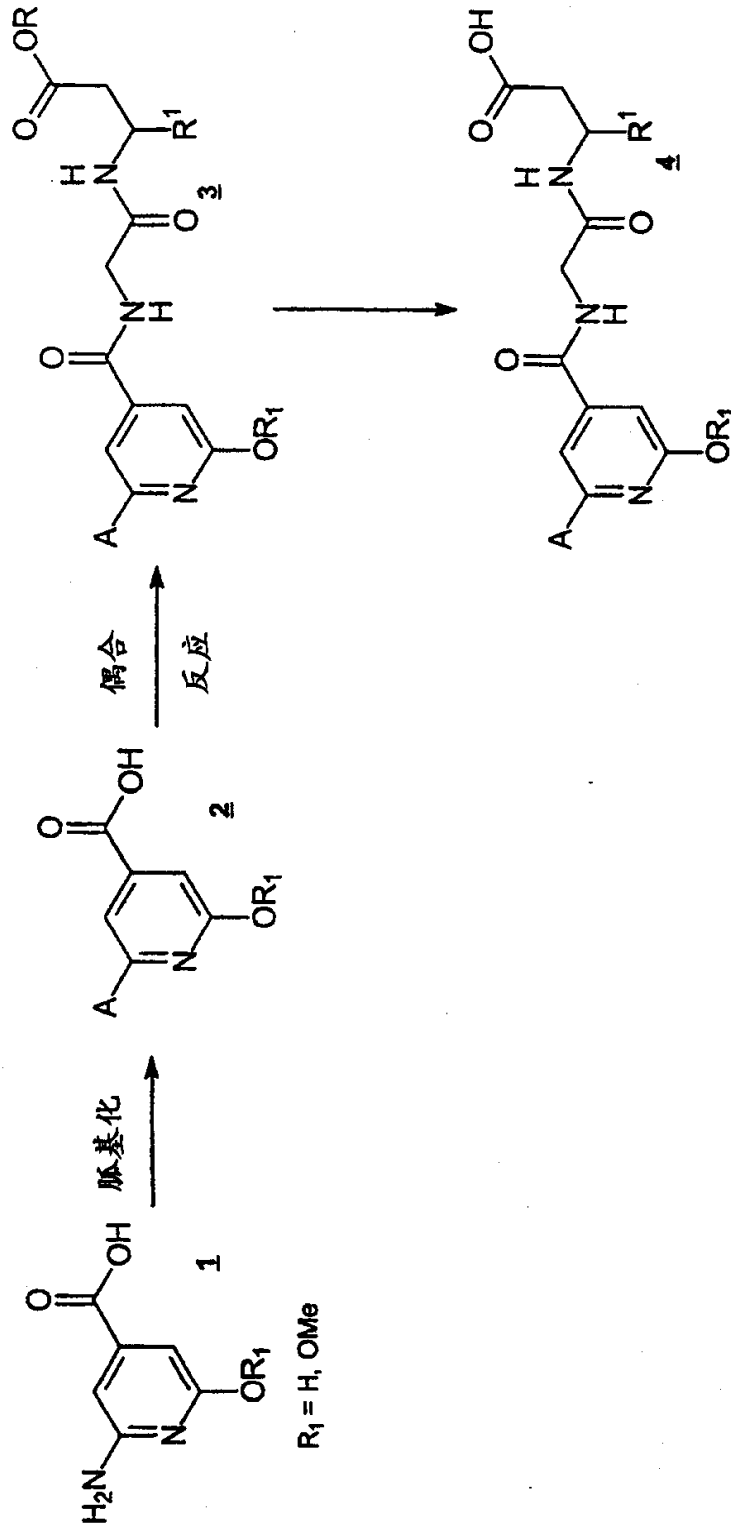
流程 II

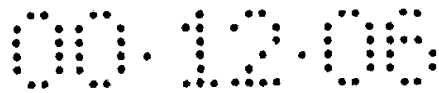




流程 11 显示取代的吡啶和吡啶酮衍生的目标化合物的合成通法。把 6-羟基烟酸硝化随后经氯化，得到 6-氯-5-硝基烟酸。使中间体 3 与甘氨酸- β -氨基酸偶合，得到产物 4。在通用中间体 4 中的氯基团能易于由多种亲核试剂置换，得到 5。如同在流程 9 中讨论的那样，还原 4 或 5 的硝基并进一步精心加工氨基，得到目标化合物。

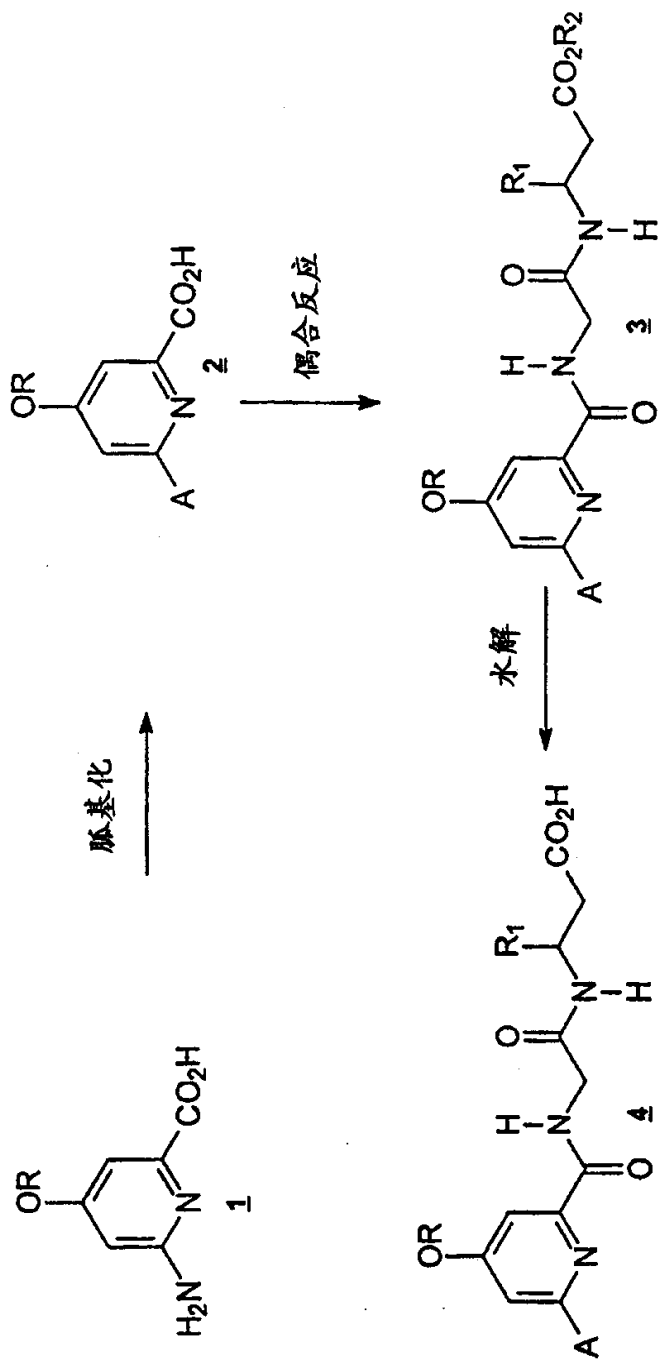
流程 12





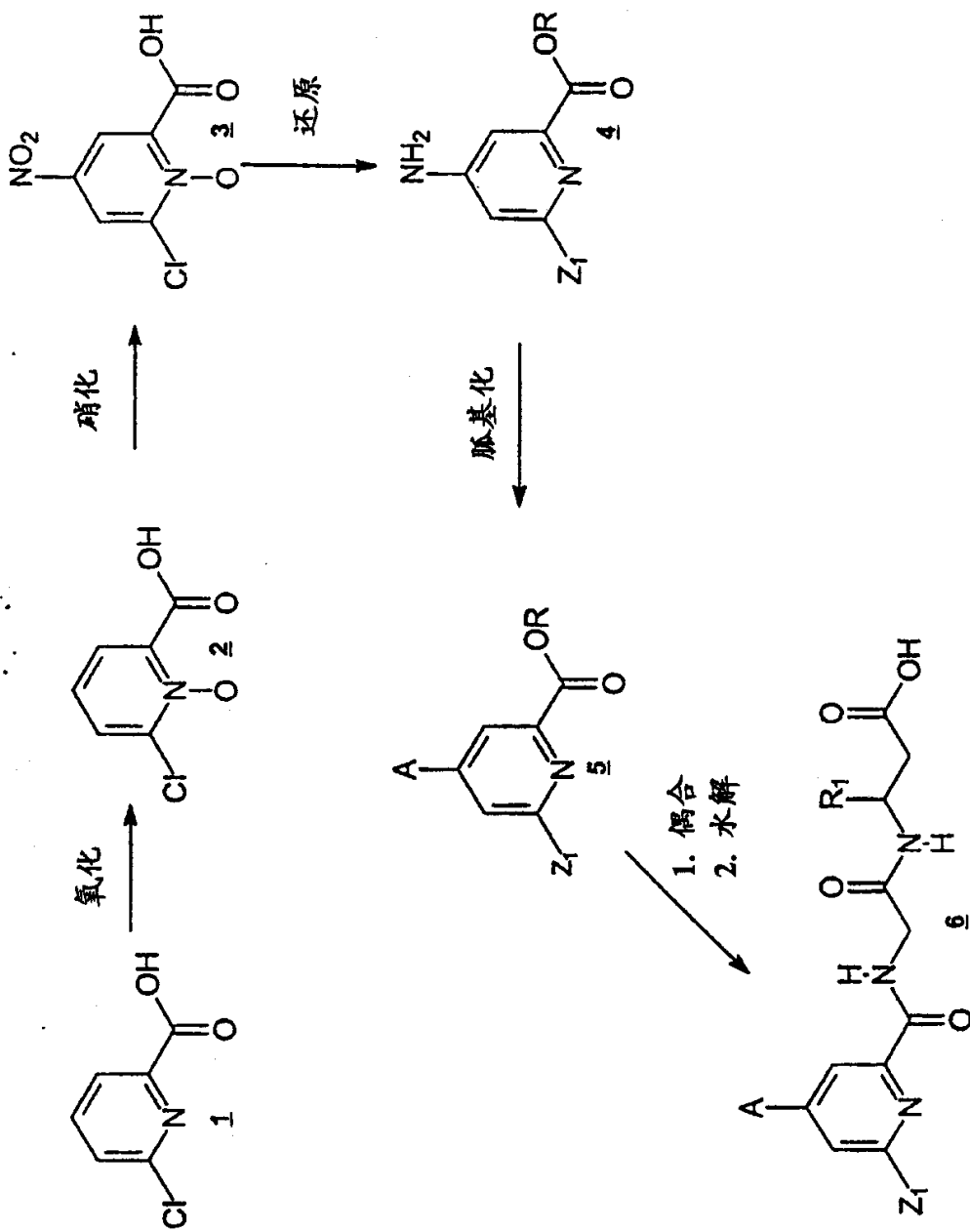
流程 12 显示用 2-氨基-6-羟基吡啶-4-甲酸起始进行取代的吡啶和吡啶酮衍生的目标化合物的合成。在本流程中使用的起始物料 1 可通过在高压条件下，使市售得到的 2-氯-6-甲氧基-吡啶-4-甲酸与氢氧化铵反应来制备。如同在流程 10 中讨论的那样，精心加工氨基随后偶合于甘氨酸- β -氨基酸，得到目标化合物。

流程 13



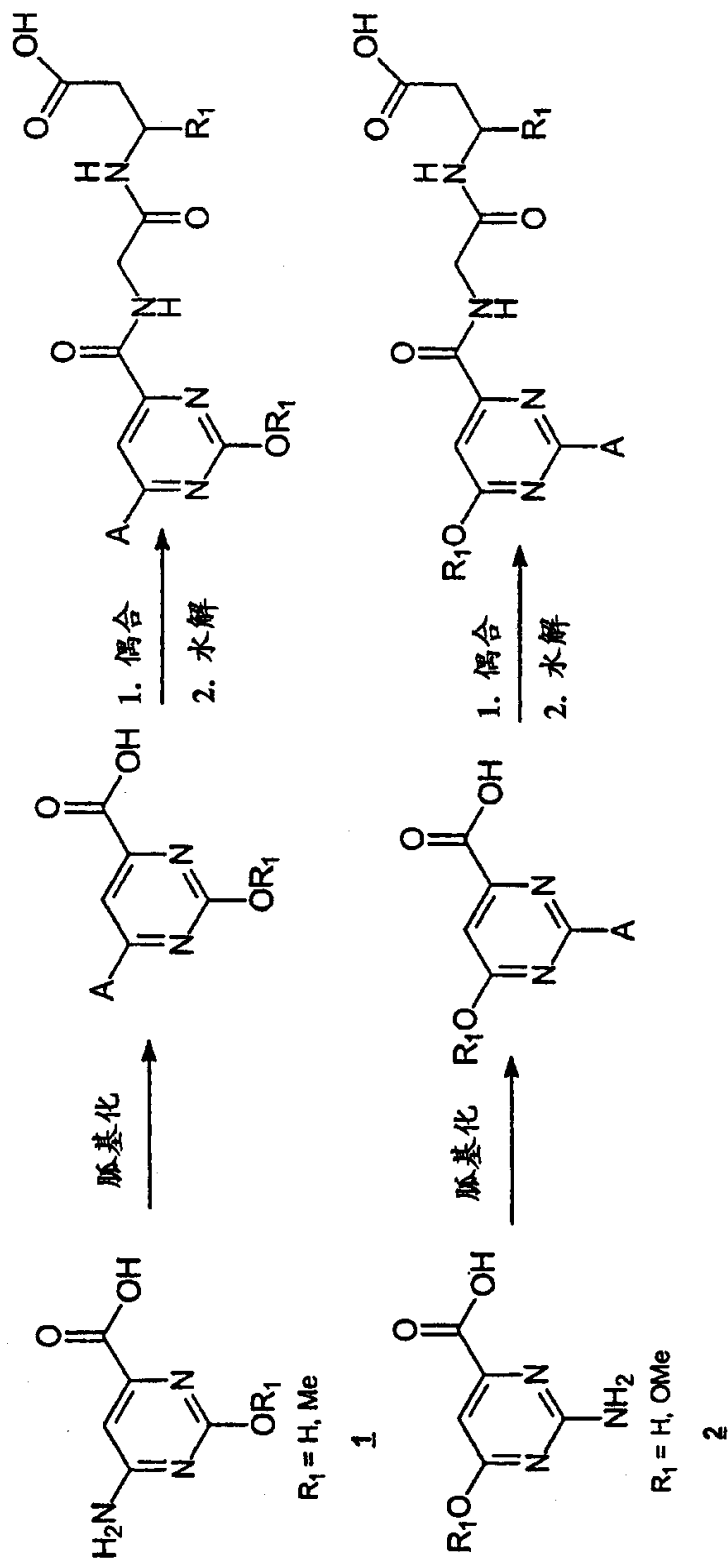
流程 13 显示用 6-氨基-4-甲氧基-吡啶甲酸起始的异构吡啶和吡啶酮的合成。在流程 13 中使用的起始物料 1 可如同在文献(J. Am. Chem. Soc., 78, 4130, 1956)中描述的那样来制备。在 1 中的氨基进行官能化作用, 随后经偶合反应和水解(如同在流程 10 中那样), 得到目标化合物。

流程 14



使用在流程 14 中显示的方法，可制备异构吡啶和吡啶酮衍生的化合物。通过用 6-氯-吡啶甲酸开始，可制备关键中间体 4。氧化随后通过硝化得到 4-硝基吡啶衍生物(3)。将 N-氧化物脱氧、还原硝基和亲核取代氯基团，得到中间体 4。可使用在流程 10 中讨论的方法，以完成目标化合物的合成。

流程 15

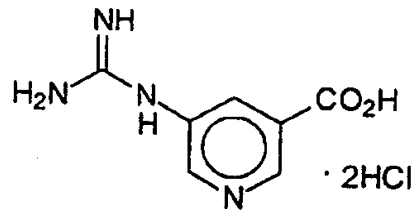


在流程 10 中显示的方法也能用于合成嘧啶衍生的目标化合物(流程 15)。按照文献制备方法, 可合成异构的嘧啶衍生物 1 和 2(J. Org. Chem., 26, 2755, 1961)。

5

实施例 A

制备



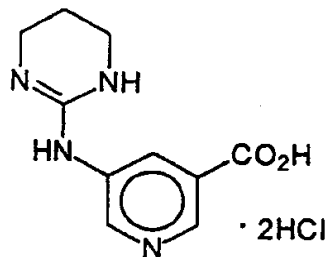
10 将 5-氨基烟酸(4.0 g, 0.021 mole)(*Helv. Chim. Acta*, 47, 363(1964); *JACS*, 70, 2381[1948])、1H-吡唑-1-甲脒盐酸盐(4.6 g, 0.031 mole)、二异丙基乙基胺(8.0 g, 0.062 mole)、二噁烷(14 mL)和 H₂O(7 mL)于回流下加热 2 天。将反应物冷却至室温, 过滤沉淀, 用 H₂O/二噁烷(50:50)洗涤并干燥。把该沉淀在 H₂O 中浆化并用 2 N HCl 酸化。真空除去溶剂, 得到作为白色固体的以上化合物(750 mg)。

15

MS 和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

实施例 B

制备



20

步骤 1

向在无水乙醇(75 mL)中的 3,4,5,6-四氢-2-嘧啶硫醇(10 g, 0.086 mole)(Aldrich)中加入 MeI(12.2 g, 0.086 mole). 在回流下搅拌反应物 2.5 小时. 真空除去溶剂并干燥产物, 得到作为白色固体的 2-甲基硫代-3,4,5,6-四氢-2-嘧啶氢碘酸盐(22 g).

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致.

步骤 2

在冰浴温度下, 向在 CH_2Cl_2 (25 mL)中的来自以上步骤 1 的产物(5.3 g, 0.021 mole)和三乙胺(2.07 g, 0.021 mole)中加入 BOC 酸酐(4.5 g, 0.021 mole). 然后在室温下将反应物搅拌 2 天. 用 H_2O (3X)洗涤 CH_2Cl_2 , 经 MgSO_4 干燥, 并且真空除去, 得到 N-Boc-2-甲基硫代-3,4,5,6-四氢-2-嘧啶(4.14 g).

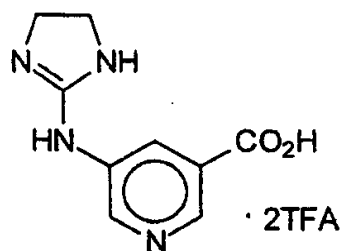
MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致.

步骤 3

在 80-85°C 下, 将在 DMA(12 mL)中的来自以上步骤 2 的产物(3.08 g, 0.0134 mole)、5-氨基烟酸(1.8 g, 0.0134 mole)加热两周. 用 CH_3CN 稀释该反应混合物, 过滤沉淀, 用 CH_3CN 洗涤并干燥. 将该沉淀在 H_2O 中浆化并用浓 HCl 使 pH 降至 1-2. 把溶液冷冻并冷冻干燥, 得到作为淡棕色固体的要求的产物(1.2 g). MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致.

实施例 C

制备



步骤 1

在冰浴温度下，向在 CH_2Cl_2 (100 mL) 中的 2-甲硫基-2-咪唑啉氢碘酸盐 (20 g, 0.082 mole) (Aldrich) 和三乙胺 (8.28 g, 0.082 mole) 中加入 BOC 酸酐 (17.9 g, 0.082 mole)。在室温下，将反应物搅拌过夜。以 H_2O (2x) 洗涤 CH_2Cl_2 ，经 MgSO_4 干燥，并且真空除去，得到转化为蜡状白色固体的粘稠油的 N-BOC-2-甲硫基-2-咪唑啉 (15.93 g)。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

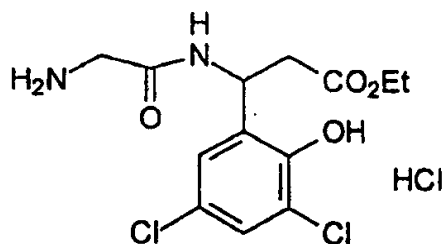
步骤 2

在 100°C 下，将在 DMA (60 mL) 中的来自以上步骤 1 的产物 (15.93 g, 0.0737 mole)、5-氨基烟酸 (9.6 g, 0.07 mole) 和三乙胺 (7.1 g, 0.07 mole) 加热两天，然后在 130°C 下加热 1 天，并在 150°C 下加热另外 2 天。冷却后并用 CH_3CN 稀释该反应混合物，过滤沉淀，用乙醚洗涤并干燥 (两性离子产量为 10.16 g)。将其在 H_2O 中浆化并用 TFA 酸化 (pH 1-2)。把溶液冷冻并冷冻干燥，得到淡黄色固体的要求的产物 (20.15 g)。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

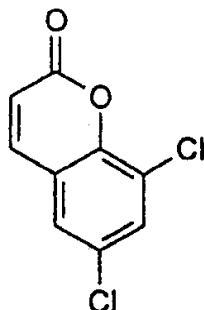
实施例 D

制备



步骤 1

制备

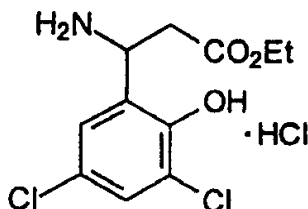


向配置机械搅拌器和冷凝器的 2 L 圆底烧瓶中加入 3,5-二氯水杨醛(200.0 g, 1.05 mol, 1 当量)、乙酸酐(356 g, 3.49 mol)和三乙胺(95.0 g, 0.94 mol, 0.90 当量)。将该反应溶液回流下加热过夜。把暗棕色反应混合物冷却至 50°C 并伴随搅拌下加入水(1 L)。1 小时后, 过滤混合物并把滤液与 EtOH(1 L)混合。将该混合物加热至 45°C 一小时, 冷却至室温, 过滤并用 EtOH(0.5 L)洗涤固体(部分 A)。经旋转蒸发浓缩合并的 EtOH 溶液至产生油(部分 B)。将来自部分 A 的固体溶于二氯甲烷(1.5 L)中并把生成的溶液通过硅胶垫(1300 mL 体积)。将生成的暗棕色溶液浓缩至油, 该油用己烷(1.3 L)研磨, 得到固体, 经过滤分离并洗涤(己烷), 得到基本上纯的 6,8-二氯香豆素(163 g)。经用相似方法处理油(部分 B), 得到另外 31 g 产物; 将油溶于二氯甲烷(0.5 L)中, 通过硅胶垫(0.5 L 体积)并用己烷研磨。总分离收率为 194 g 或 86% 的棕色固体。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的产物相一致。

步骤 2

制备

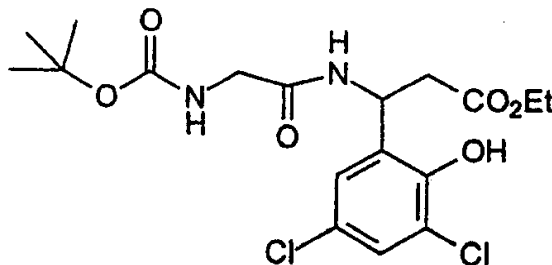


向配置机械搅拌器的 2 L 三口圆底烧瓶中加入在步骤 1 中制备的 6,8-二氯香豆素(160 g, 0.74 mol)和干燥 THF(375 mL, Aldrich Sure Seal)。将生成的混合物冷却至 -40°C (干冰-丙酮浴)并加入双(三甲基甲硅烷基)氯化锂(0.80 mol, 800 ml 的 1 M 在 THF 中的溶液), 其间维持温度在 -40°C 以下。加入完成后, 撤除冷却浴。在 0.5 小时后, 使该混合物温热至 -5°C 。通过加入在 EtOH(1.25 L)中的 HCl 溶液(0.5 L 的 4M 在二噁烷中的溶液)猝灭。把温度维持在 0°C 以下过夜。将反应混合物浓缩至其原来体积的大约一半并在 EtOAc(3 L)和水(2 L)之间分配。用 HCl 水溶液(3X1 L, 0.5 N HCl)洗涤有机层。经加入 10%的 NaOH 水溶液把合并的水层的 pH 调至大约 7 并用二氯甲烷(3X2 L)提取。干燥(MgSO_4)合并的有机层, 过滤, 并伴随搅拌下加入 HCl(210 mL 的 4M 在二噁烷中的溶液)。沉淀完全后, 过滤除去固体。将滤液浓缩至小的体积并加入甲基叔丁基醚。将得到的固体与最初形成的固体合并, 且用甲基叔丁基醚洗涤合并的产物, 过滤分离并干燥(真空箱中放置过周末), 得到要求的产物(172 g, 74%收率)。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的产物相一致。

步骤 3

制备

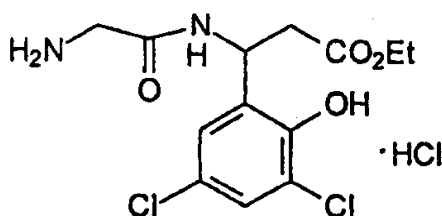


5 在惰性气氛(Ar)中,向配置磁力搅拌棒的火焰干燥的圆底烧瓶(0.5 L)中加入 N-叔丁氧基羰基-甘氨酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯(Sigma, 15.0 g, 0.055 mol)、干燥的 DMF(Aldrich Sure Seal, 200 mL)和来自步骤 2 的产物(21.67 g, 0.055 mol)。将反应混合物冷却至大约 0°C(盐-冰浴)并加入 N-甲基吗啉(5.58 g, 0.056 mole)和催化量的 DMAP。使反应进行过夜。将反应混合物浓缩至脂膏并在 EtOAc(0.4 L)和碱水溶液(2X0.2 L, 10 饱和的 NaHCO₃ 水溶液)之间分配。有机层用枸橼酸水溶液(2X0.2 L, 10% w/v)、碳酸氢钠水溶液(2X0.2 L)、盐水依次洗涤并干燥(Na₂SO₄)。在 55°C 下,真空下除去挥发物,得到油(22.5 g, 92%收率),其放置后固化。

MS 和 ¹H-NMR 与要求的产物相一致。

15 步骤 4

制备



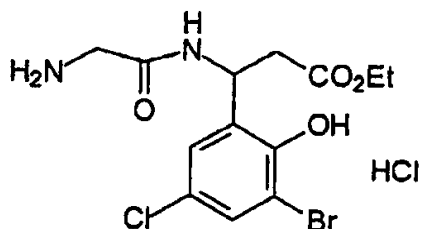
使用以下方法,将在步骤 3 中得到的产物脱除保护,得到所述胺盐酸盐。向在配备搅拌棒的火焰干燥的圆底烧瓶(0.1 L)中的步骤 3

中得到的产物(14.0 g, 0.032 mole)中加入干燥的二噁烷(40 mL)。在 0 °C 下, 向该溶液中加入 HCl(4.0 N 在二噁烷中, 2 当量, 6.32 mL)。使反应进行直到气体释放停止并且反应完全。真空除去挥发物并且用乙醚(50 mL)研磨残余物。过滤收集固体, 用乙醚洗涤并干燥, 得到要求的产物(12.5 g)。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的产物相一致。

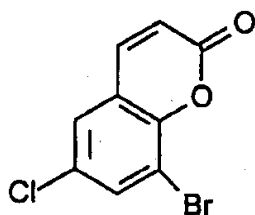
实施例 E

制备



步骤 1

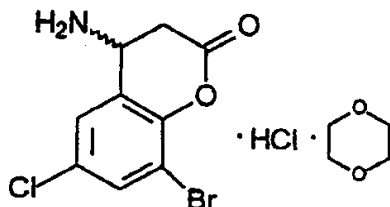
制备



向 3-溴-5-氯水杨醛(175 g, 743.2 mmol)在乙酸酐(280.5 mL, 3 mol)的悬浮液中加入三乙胺(103.6 mL, 743.2 mmol)。在回流下, 将该反应物溶液加热 4.5 小时。冷却溶液并真空浓缩。把棕色残余物加入到无水乙醇(730 mL)中。在 0 °C 下, 将混合物贮存 14 小时。经过滤收集棕色固体并用冷的乙醇洗涤。真空干燥固体, 得到要求的产物(123 g, 64%收率)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 2

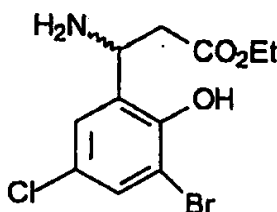
制备



在 -76°C 下, 向步骤 1 中生成的香豆素(40.0 g, 154.1 mmol)在
 5 THF(400 mL)的悬浮液中伴随搅拌下滴加入双(三甲基甲硅烷基)氯化
 锂(154.1 mL 的 1 M 在 THF 中的溶液)。10 分钟内加入完成。然后,
 将该反应混合物搅拌 5 分钟, 温热至 -20°C 并搅拌 15 分钟。在 5 分钟
 内, 向该溶液中加入在 THF(28 mL)中的乙酸(9.25 g, 154.1 mmol)。将
 混合物温热至室温并真空除去挥发物。把残余物溶于乙醚(850 mL),
 10 用饱和的 NaHCO_3 水溶液(2X100 mL)、盐水(2X40 mL)洗涤并干燥
 (MgSO_4)。将乙醚溶液浓缩至大约 160 mL, 并且冷却至 0°C 。向该悬
 浮液中加入 HCl(4 M 在二噁烷中, 56.3 mL, 225 mmol)并在 0°C 下将该
 混合物搅拌 30 分钟。过滤悬浮液并用乙醚彻底洗涤滤饼。真空干燥
 15 固体, 得到作为 HCl 盐的要求的产物, 二噁烷溶剂合物(45 g)。 $^1\text{H-NMR}$
 与提出的结构相一致。

步骤 3

制备



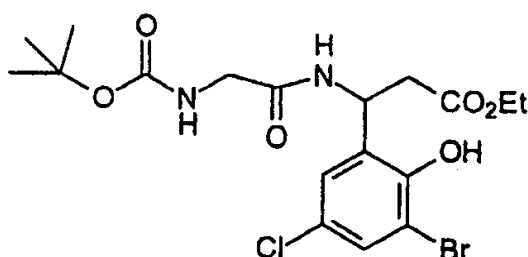
于 10 分钟内向步骤 2 中生成的内酯(142.2 g, 354.5 mmol)在无水
 20 乙醇(533 mL)中的悬浮液中加入 HCl(4 M 在二噁烷中, 157.8 mL, 631.1

mmol)。在室温下，将该反应混合物搅拌 2.5 小时。真空除去挥发物。把残余物溶于乙酸乙酯(450 ml)中并在 0℃ 下使该溶液保持 15 小时。经过滤收集褐色沉淀并用冷的乙酸乙酯洗涤。真空干燥固体，得到作为盐酸盐的要求的产物(100.4 g, 79%收率)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

5

步骤 4

制备



10

在惰性气氛(Ar)中，向配置磁力搅拌棒的火焰干燥的圆底烧瓶(0.1 L)中加入 N-叔丁氧基羰基-L-甘氨酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯(Sigma, 2.72 g, 0.010 mol)、干燥的 THF(Aldrich Sure Seal, 50 mL)和步骤 3 的产物(3.10 g, 0.01 mol, 经 P₂O₅ 真空干燥过夜)。将反应混合物冷却至大约 0℃(盐-冰浴)并加入三乙胺(1.01 g, 0.010 mole)。使反应进行过夜。将反应混合物浓缩至半固体并用与实施例 A 步骤 3 相似的方法处理。在 55℃

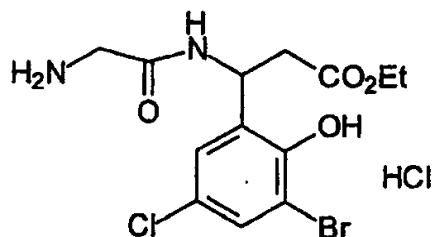
15

下，从有机层中真空除去挥发物，得到油(4.0 g, 83%收率)，其放置后固化。

MS 和 ¹H-NMR 与要求的产物相一致。

步骤 5

制备

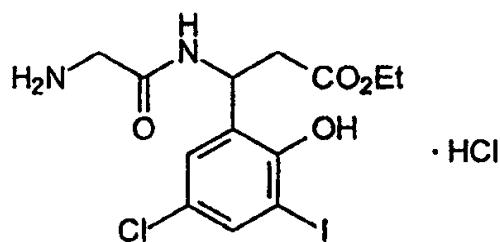


- 5 使用以下方法，将在步骤 4 中得到的产物脱除保护，得到所述
 盐酸盐。向在配备搅拌棒的火焰干燥的圆底烧瓶(0.1 L)中的步骤 4 中
 得到的产物(4.0 g, 0.0084 mole)中加入干燥的二噁烷(20 mL)。向该溶
 液中加入 HCl(4 N 在二噁烷中, 20 mL)，并使反应进行直到气体逸出
 停止并且反应完全(大约 1 小时)。真空除去挥发物并且用乙醚(50 mL)
 10 研磨残余物。过滤收集固体，用乙醚洗涤并干燥，得到淡棕色固体(2.7
 g, 78%收率)。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的产物相一致。

实施例 F

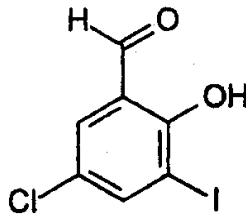
制备



15

步骤 1

制备 3-碘代-5-氯水杨醛

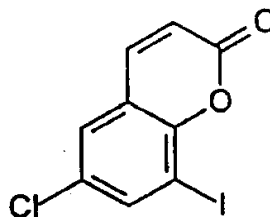


5 将 N-碘代琥珀酰亚胺(144.0 g, 0.641 mole)加入到 5-氯水杨醛(100 g, 0.638 mole)在二甲基甲酰胺(400 mL)中的溶液中。在室温下, 将该反应混合物搅拌 2 天。另外加入 N-碘代琥珀酰亚胺(20.0 g)并继续搅拌另外 2 天。用乙酸乙酯(1 L)稀释反应混合物, 用盐酸(300 mL, 0.1 N)、水(300 mL)、碘代硫酸钠(5%, 300 mL)、盐水(300 mL)洗涤, 干燥(MgSO₄)并浓缩至干, 得到浅黄色固体的要求的醛(162 g, 90%收率)。

10 ¹H-NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

步骤 2

制备 6-氯-8-碘代香豆素



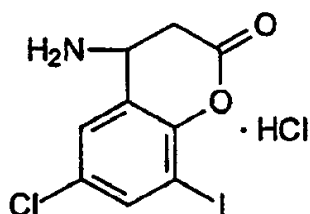
15 在回流下, 将 3-碘代-5-氯水杨醛(100 g, 0.354 mole)、乙酸酐(300 mL)和三乙胺(54 mL)的混合物加热 18 小时。冷却下, 要求的香豆素作为深棕色结晶物料沉淀出来。过滤沉淀, 用己烷/乙酸乙酯(4:1, 200 mL)洗涤并且空气干燥[产量:60 g(55%收率)]. 贮存后, 从滤液中能够得到另外量的要求的产物(10 g, 9%收率)。

20

¹H-NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

步骤 3

制备(R,S)-4-氨基-3,4-二氢-6-氯-8-碘代香豆素盐酸盐

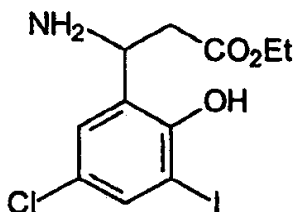


5 在-78℃下，将六甲基二硅氮烷锂(21.62 mL, 1 M, 21.62 mmol)加入
 入到 6-氯-8-碘代香豆素(6.63 g, 21.62 mmol)在四氢呋喃(100 mL)中的
 溶液中。在该温度下，将反应混合物搅拌 30 分钟，然后在 0℃下搅
 拌 1 小时。将乙酸(1.3 g, 21.62 mmol)加入到反应混合物中。把反应
 10 混合物倾入到乙酸乙酯(300 mL)和饱和的碳酸钠溶液(200 mL)中。分
 离有机层，在 0℃下，用盐水(200 mL)、二噁烷/HCl(4 N, 30 mL)先后
 洗涤。在室温下，将反应混合物搅拌 1 小时，过滤，并真空干燥，
 得到作为粉末的要求的产物(4.6 g, 59%收率)。(反相高效液相色谱法：
 Rf 6.8 分钟。15 分钟内梯度 10%乙腈-90%乙腈，然后下一个 6 分钟
 100%乙腈。水和乙腈两者含有 0.1% TFA。Vydac C18 蛋白肽柱，2
 15 mL/min 流速，在 254 nm 下监控)。

¹H-NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

步骤 4

制备(R,S)-乙基 3-氨基-3-(5-氯-2-羟基-3-碘代)苯基丙酸酯盐酸盐

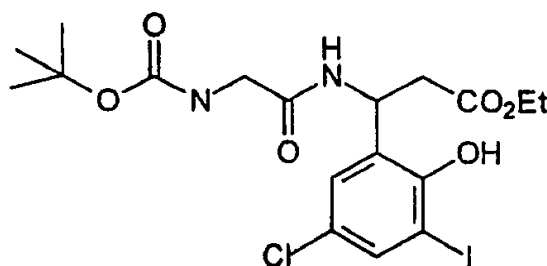


将氯化氢气体鼓泡进入 4-氨基-3,4-二氢-6-氯-8-碘代香豆素盐酸盐(22.0 g, 61.09 mmol)在乙醇(250 mL)中的溶液中, 把该反应混合物维持在 0-10℃ 下直到饱和。回流 6 小时后, 经蒸馏除去大多数溶剂。将冷却的残余物加入到无水乙醚中并搅拌 2 小时。初始的胶状物转变为结晶物料。过滤结晶产物并干燥, 得到作为灰白色结晶粉末的要求的产物(20 g, 81%收率)。(Rf. 7.52 分钟。条件如同步骤 3)。

$^1\text{H-NMR}$ 和 MS 与要求的产物相一致。

步骤 5

制备(R,S)-乙基 3-(N-叔丁氧基羰基-甘氨酸)-氨基-3-(5-氯-2-羟基-3-碘代)苯基丙酸酯

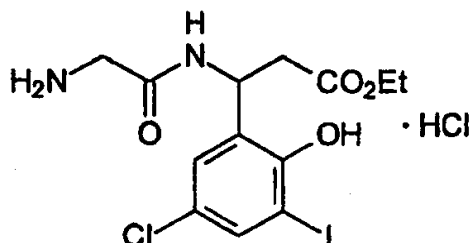


在 0℃ 下, 将叔丁氧基羰基-甘氨酸(2.16 g, 12.31 mmol)、HOBT(1.67 g, 12.31)、EDCI(2.36 g, 12.31 mmol)和 DMF(50 mL)的混合物搅拌 1 小时。将 3-氨基-3-(5-氯-2-羟基-3-碘代)丙酸乙酯盐酸盐(5.0 g, 12.31 mmol)加入到反应混合物中, 随后加入三乙胺(3.5 mL)。在室温下, 将该反应混合物搅拌 18 小时。真空除去 DMF 并且残余物在乙酸乙酯(300 mL)和碳酸氢钠(200 mL)之间分配。用盐酸(1 N, 100 mL)、盐水(200 mL)洗涤有机层, 干燥(MgSO_4)并浓缩, 得到作为固体的要求的产物(6 g, 93%收率)。

$^1\text{H-NMR}$ 和 MS 与要求的产物相一致。

步骤 6

制备(R,S)-乙基 3-(N-甘氨酸)-氨基-3-(5-氯-2-羟基-3-碘代)苯基丙酸酯
盐酸盐

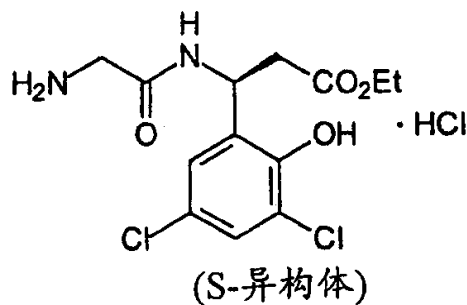


- 5 在 0℃ 下，将二噁烷/HCl(4 N, 20 mL)加入到乙基 3-(N-叔丁氧基羧基-甘氨酸)-氨基-3-(5-氯-2-羟基-3-碘代)丙酸酯(6.0 g, 11.30 mmol)中并在室温下搅拌 3 小时。将该反应混合物浓缩并在加入甲苯(100 mL)后再次浓缩。把得到的残余物悬浮于乙醚中，过滤并干燥，得到结晶粉末的要求的产物(5.0 g, 95%收率)。(反相高效液相色谱法: Rf 8.3 分钟。条件如同步骤 3)。
- 10

¹H-NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

实施例 G

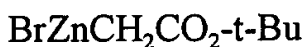
制备



15

步骤 1

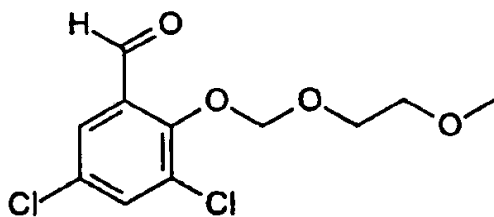
制备雷佛马茨基试剂



把锌金属(180.0 g, 2.76 mol, 30-100 目)和 THF(1.25 L)放入配备冷
 凝器、温度探头和机械搅拌器的 4 L 烧瓶中。搅拌期间, 借助加料管
 5 加入 1,2-二溴乙烷(4.74 mL, 0.06 mol)[或者, 可替代为 TMS Cl(0.1 当
 量)在室温下 1 小时]。在惰性气体(3 N₂/真空循环)清洗之后, 将锌在
 THF 中的悬浮液加热至回流(65°C)并维持这个温度达 1 小时。在将混
 合物冷却至 50°C 之后, 于 1.5 小时内借助 50 mL 加料管和加料泵(传
 10 递设置为 4.1 mL/min)加入溴代乙酸叔丁酯(488 g, 369 mL, 2.5 mol)。
 整个加入期间维持反应温度 50°±5°C。加入完成后, 在 50°C 下, 使
 反应混合物搅拌一小时。随后, 使该混合物冷却至 25°C 并使沉淀出
 来的产物沉降。使用粗玻璃料的滤棒将 THF 母液倾析到 2 L 圆底烧
 瓶中并且部分真空转移(20 mmHg)。从该混合物中除去大约 65% 的
 15 THF。加入 1-甲基-2-吡咯烷酮(NMP, 800 mL)并继续搅拌 5 分钟。过
 滤反应混合物以除去任何残留的锌。分析表明要求的雷佛马茨基试
 剂的滴定度为 1.57 M, 具有摩尔收率 94%。或者经过滤能够把固体
 试剂与原来的反应混合物分离。用 THF 洗涤滤饼直到得到白色固体
 并在 N₂ 下干燥, 得到作为一 THF 溶剂合物的要求的产物, 其可在-20
 20 °C(干燥)下贮存用于以下阶段。一般回收率为 85-90%。

步骤 2

A. 制备



25 在室温下, 将碳酸钾(粉末, 烘箱中在 100°C 下真空干燥, 8.82 g, 60

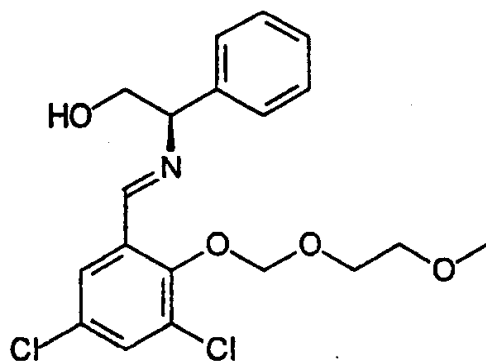
mmoles)加入到 3,5-二氯水杨醛(11.46 g, 60 moles)在 DMF(40 ml)中的溶液中, 得到亮黄色浆状物。然后加入 MEMCl(纯品, 7.64 g, 61 mmoles), 其间维持浴温在 20℃。在 22℃下将混合物搅拌 6 小时并加入 MEMCl(0.3 g, 2.4 mmoles)。将混合物搅拌另外 0.5 小时并将反应混合物倾入到冷水(200 mL)中, 以沉淀出产物。在压力过滤器上过滤该浆状物并用水(2X50 mL)洗涤滤饼, 并于 N₂下真空干燥, 得到灰白色固体的产物(14.94 g, 89%收率)。¹H-NMR(CDCl₃, TMS) 3.37 (s, 3H), 3.54-3.56 (m, 2H), 3.91-3.93 (m, 2H), 5.30 (s, 2H), 7.63 (d, 1H), 7.73 (d, 1H), 10.30 (s, 1H); ¹³C NMR(CDCl₃, TMS) δ (ppm): 59.03, 70.11, 99.57, 126.60, 129.57, 130.81, 132.07, 135.36, 154.66, 188.30. DSC: 48.24℃(内 90.51 J/g);

微量分析: 对 C₁₁H₁₂Cl₂O₄ 的

计算值: C: 47.33%; H:4.33%; Cl:25.40%;

实测值: C: 47.15%; H:4.26%; Cl:25.16%.

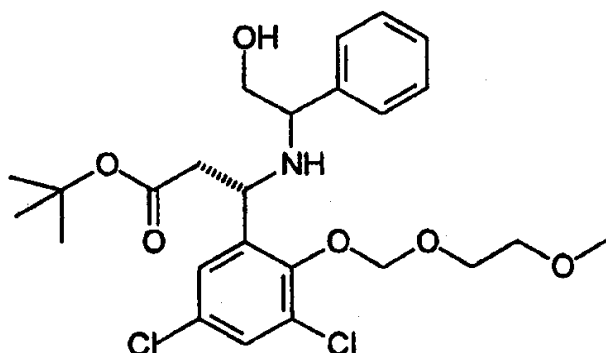
B. 制备



15 将来自步骤 2A 的产物(35.0 g, 0.125 mol)置于配备机械搅拌器和加料漏斗的 1 L 三口圆底烧瓶中, 随后加入 THF(200 mL)。在 22℃下, 搅拌该溶液并立即加入(S)-苯基甘氨酸(17.20 g, 0.125 mol)。在 22℃下 30 分钟后, 加入 MgSO₄(20 g)。在 22℃下, 将该混合物搅拌 1 小时并在粗玻璃料过滤器上过滤。减压下浓缩滤液, 无需进一步纯化, 粗品亚胺直接用于偶合反应步骤 2 的 C 中。

20

C. 制备



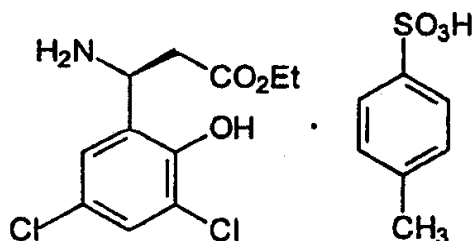
在氮气下，将在步骤 1 中得到的固体试剂(91.3 g, 0.275 mol)和 NMP(200 mL)加入配备机械搅拌器和加料漏斗的 1 L 三口圆底烧瓶中。然后将该溶液冷却至 -10°C 并在 350 rpm 下搅拌。在氮气下，制备亚胺(在步骤 B 中制备)在 NMP 中的溶液，然后于 20 分钟内加入到以上反应混合物中，其间温度维持在 -5°C (夹套温度 -10°C)。加入完成后，在 -8°C 下，将该混合物搅拌另外 1.5 小时并在 -5°C 下搅拌 1 小时。冷却至 -10°C 之后，将浓 HCl/饱和的 NH_4Cl 溶液(100 mL)、水(100 mL)和盐水(100 mL)的混合物加入到所述溶液中。加入 MTBE(200 mL)并在 23°C 下以 200 rpm 的转速将该混合物搅拌 15 分钟。停止搅拌并分层。用 MTBE(100 ml)提取水层。合并两个有机层，依次用饱和的 NH_4Cl 溶液(100 ml)、水(100 ml)和盐水(100 ml)洗涤。用 MgSO_4 (30 g)干燥溶液，过滤并浓缩，如同质子和碳 NMR 测量的那样，得到含有作为单一非对映异构体的要求的产物的橙色的油(66.3 g)(放置固化)。经从庚烷重结晶，得到作为灰白色固体的产物，将样品纯化用于分析。质子和碳 NMR 和 IR 谱与要求的产物一致。 $[\alpha]_{25}^{\text{D}}=+8.7^{\circ}$ ($c=1.057$, MeOH)。微量分析：对 $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{Cl}_2\text{NO}_6$ 的

计算值：C: 58.77%; H: 6.47%; N: 2.72%; Cl: 13.78%;

实测值：C: 58.22%; H: 6.54%; N: 2.70%; Cl: 13.66%。

步骤 3

制备



5 A. 将在步骤 2 中制备的粗品酯[17.40 g, 0.033 mole(理论)]和 EtOH(250 mL)的溶液加入到 1L 的三口夹套反应器中。将该溶液冷却至 0°C 并立即加入 $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (14.63 g, 0.033 mole)。2 小时后, 加入 15% 的 NaOH 溶液(30 mL)并减压下除去乙醇。加入另一份 15% 的 NaOH(100 mL)并用 MTBE(2X100 mL)提取混合物, 以水(2X100 mL)和盐水(50 mL)洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥, 硅藻土过滤并减压下浓缩, 得到橙色的油(12.46 g), 其经 tlc 测定为纯的。无须进一步纯化即可使用所述油。

10 B. 用 EtOH(30 mL)稀释来自 A 的油并加入对甲苯磺酸(1.3 当量, 0.043 mole, 8.18 g)。将该溶液加热回流 8 小时, 冷却至环境温度并减压下浓缩。用 THF(20 mL)处理残余物并加热回流以形成溶液。将该溶液冷却至室温并且该化合物结晶。加入庚烷(30 mL)和 THF(10 mL)以形成流体浆状物, 使其过滤。用 THF/庚烷(40 mL, 1/1)洗涤滤饼, 在氮气气氛下, 于压力过滤器上真空干燥 2 小时, 得到白色固体(7.40 g)。

质子和碳 NMR 和 IR 谱与作为基本上单一的对映体的要求的产物相一致。

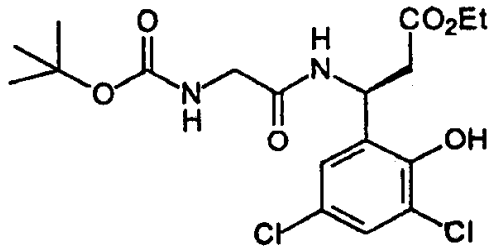
微量分析: 对 $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{NO}_6\text{S}, 0.25 \text{ C}_4\text{H}_8\text{O}$ 的

计算值: C: 48.73%; H: 4.95%; N: 2.99%; Cl: 15.14%;

实测值: C: 48.91%; H: 4.95%; N: 2.90%; Cl: 14.95%。

步骤 4

制备

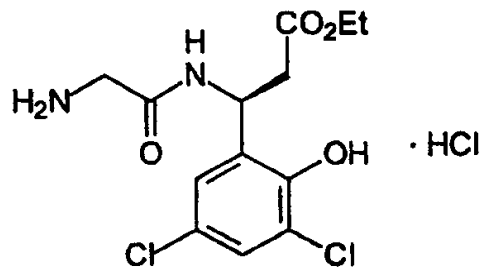


5 向配备磁力搅拌棒和氮气通气管的 500 mL 圆底烧瓶中加入来自步骤 3 的产物(21.7 g, 0.065 mole)、N-叔丁氧基羰基-甘氨酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯(17.7 g, 0.065 mole)和 DMF(200 mL)。在室温下, 于氮气中将反应混合物搅拌 3.25 小时并形成浅橙色溶液。将反应混合物倾入到冰冷的乙酸乙酯(1.2 L)中。用 1 M HCl(250 mL)洗涤有机溶液, 然后用盐水(500 mL)洗涤, 干燥(MgSO₄)并真空浓缩几近至干, 得到

10 油, 随后将其在 50°C 下干燥, 得到无色油的产物(28.12 g, 99%收率)。从乙酸乙酯/己烷中制备晶种。把产物(大约 28 g)溶于乙酸乙酯(35 mL)和己烷(125 mL)中。以晶种接种该溶液并形成沉淀。过滤固体并在 55°C 下真空干燥过夜, 得到无色固体(27.0 g, 95%收率)。¹H-NMR 与要求的产物相一致。

15 步骤 5

制备



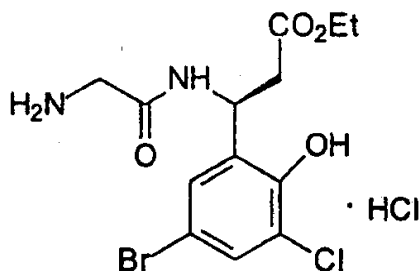
经 P_2O_5 和 NaOH 小片将在步骤 4 中制备的叔丁氧基羰基保护的甘氨酸(27.0 g, 0.062 mole)干燥过夜。将该固体溶于二噁烷(40 mL)中并把溶液冷却至 $0^\circ C$ 。加入等量体积的 4 N HCl/二噁烷(0.062 mole)并将反应进行 2 小时。如同反相高效液相色谱法测量的那样, 在此时的转化率为 80%。4 小时内使反应混合物温热至室温。在 $40^\circ C$ 下, 将该反应混合物浓缩至泡沫, 其用乙醚(200 mL)研磨。过滤形成的白色固体并经 P_2O_5 干燥, 得到作为盐酸盐的要求的甘氨酸 β -氨基酸乙酯化合物(20.4%, 88.5%分离收率)。

1H -NMR 和 MS 与所述结构相一致。

10

实施例 H

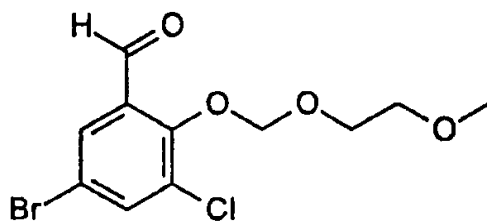
制备



步骤 1:

15

制备



在室温下, 将碳酸钾(粉末, 烘箱中在 $100^\circ C$ 下真空干燥, 22.1 g, 0.16 moles)加入到 3-氯-5-溴代水杨醛(35 g, 0.15 moles)在 DMF(175 ml)中的溶液中, 得到亮黄色浆状物。然后维持浴温在 $20^\circ C$ 下, 加入

20

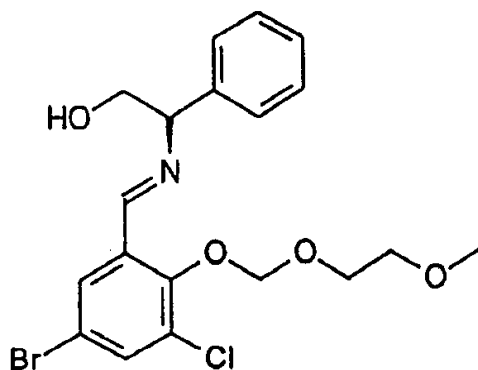
MEMCl(纯品, 25.0 g, 0.2 moles). 然后在 22℃ 下将混合物搅拌 6 小时并倾入 DI 水(1200 mL)中, 沉淀出产物。在压力过滤器上过滤该浆状物, 用 DI 水(2X400 mL)洗涤滤饼并在 N₂/真空下干燥, 得到灰白色固体的产物(46 g, 95%收率)。¹H-NMR(CDCl₃, TMS) 3.35 (s, 3H), 3.54-3.56 (m, 2H), 3.91-3.93 (m, 2H), 5.30 (s, 2H), 7.77 (d, 1H), 7.85 (d, 1H), 10.30 (s, 1H); ¹³C NMR(CDCl₃, TMS)(ppm): 59.05, 70.11, 71.49, 99.50, 117.93, 129.69, 129.78, 132.37, 138.14, 155.12, 188.22. DSC: 48.24℃ (内 90.51 J/g);

微量分析: 对 C₁₁H₁₂BrClO₄ 的

计算值: C: 40.82%; H:3.74%; Cl:10.95%; Br:24.69%;

实测值: C: 40.64%; H:3.48%; Cl:10.99%; Br:24.67%.

10 步骤 2 制备



将在步骤 1 中得到的产物(32.35 g, 0.1 mol)加入配备机械搅拌器的 500 ml 的三口圆底烧瓶中, 随后加入 THF(160 ml)和(S)-苯基甘氨酸(13.71 g, 0.1 mol)。在 22℃ 下 30 分钟后, 加入 MgSO₄(20 g)。在 22℃ 下, 将该混合物搅拌 1 小时并在粗玻璃料过滤器上过滤。减压下浓缩滤液, 得到含有亚胺的浅黄色油(48.0 g)。无需进一步纯化, 该粗品产物直接用于偶合反应。

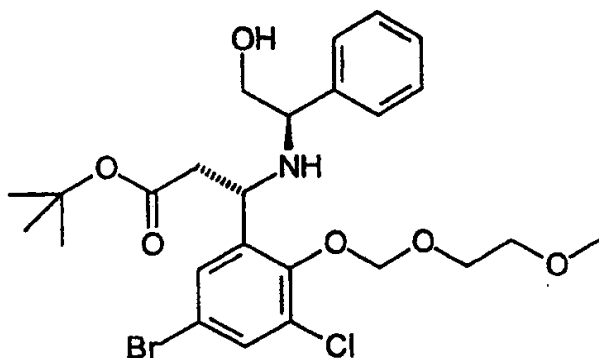
微量分析: 对 C₁₉H₂₁BrClNO₄ 的

计算值: C: 51.54%; H: 4.78%; N: 3.16%; Br: 18.04%; Cl: 8.00%;

实测值: C: 51.52%; H: 5.02%; N: 2.82%; Br: 16.31%; Cl: 7.61%.

步骤 3

制备



5 在配备机械搅拌器的 5 L 三口圆底烧瓶中，于氮气下，将来自
 实施例 G 的步骤 1 的试剂(332 g, 0.8 mol)溶于 NMP(660 mL)。然后将
 该溶液冷却至-10℃。在氮气下，制备步骤 2 中生成的亚胺在 NMP(320
 mL)中的溶液，然后在 30 分钟内将其加入到以上反应混合物中，其
 间温度维持在-5℃。将该混合物搅拌另外 1 小时，然后冷却至-10℃。
 10 于 10 分钟内加入浓 HCl/饱和的 NH₄Cl 溶液(30 mL/720 mL)的混合
 物。加入 MTBE(760 mL)并在 23℃ 下将该混合物搅拌 1 小时。停止
 搅拌并分层。用 MTBE(320 ml)提取水层。合并两个有机层，依次用
 饱和的 NH₄Cl 溶液(320 ml)、DI 水(320 ml)和盐水(320 ml)洗涤。用
 MgSO₄(60 g)干燥溶液，过滤并浓缩，得到含有作为单一对映异构体
 的要求的产物的黄色的油(228 g)。

15 DSC: 227.54℃ (内 61.63 J/g)

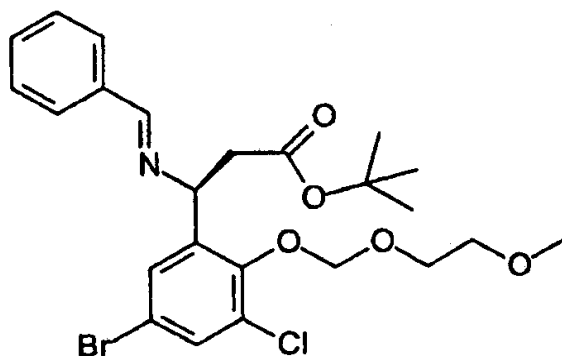
微量分析: 对 C₂₅H₃₃BrClNO₆ 的

计算值: C: 53.72%; H: 5.95%; N: 2.50%; Br: 14.29%; Cl: 6.33%;

实测值: C: 53.80%; H: 6.45%; N: 2.23%; Br: 12.85%; Cl: 6.12%.

步骤 4

制备



- 于氮气氛下，将来自步骤 3 的粗品酯(~111 g)在乙醇(1500 mL)中的溶液加入到配备机械搅拌器的 3L 三口圆底烧瓶中。将该反应混合物冷却至 0°C 并一次性加入四乙酸铅(88.67 g, 0.2 mol)。在 0°C 下，将该反应混合物搅拌 3 小时，然后向 5°C 下的反应混合物中加入 15% NaOH 水溶液(150 mL)。在旋转蒸发器上减压下除去乙醇。加入另外的 15% NaOH 水溶液(600 mL)并用乙酸乙酯(2X300 mL)、
- 10 MTBE(2X200 mL)和乙酸乙酯(2X200 mL)提取反应混合物。合并有机层，并用 DI 水(2X200 mL)和盐水(2X100 mL)洗涤，经无水 MgSO₄(30 g)干燥。然后在硅藻土上过滤该溶液并减压下浓缩，得到作为橙色的油的产物(96 g)，其无需进一步纯化即可用于下一步反应。

DSC:233.60°C (内 67.85 J/g)

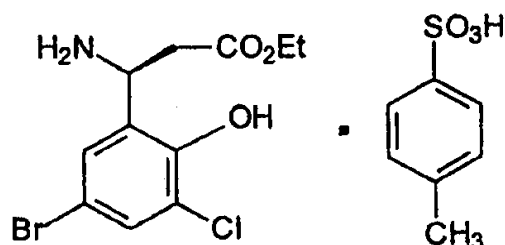
- 15 微量分析: 对 C₂₄H₂₉BrClNO₅ 的

计算值: C: 54.71%; H: 5.54%; N: 2.65%; Br: 15.16%; Cl: 6.72%;

实测值: C: 52.12%; H: 5.40%; N: 2.47%; Br: 14.77%; Cl: 6.48%.

步骤 5

制备



5 将来自步骤 4 的粗品产物 (~94 g) 溶于无水乙醇 (180 mL) 中并加入对甲苯磺酸一水合物 (50.0 g, 0.26 mol)。然后将该反应混合物加热至回流 8 小时，之后减压下除去溶剂。将残留的固体以 THF (100 mL) 处理，然后减压下除掉 THF。把残余物溶于乙酸乙酯 (500 mL) 中并冷却至 ~5°C。过滤生成的固体并用庚烷 (2X50 ml) 洗涤，得到白色固体。固体经空气干燥，得到作为单一异构体的白色固体的产物 (38 g)。

10 ¹H-NMR (DMSO, TMS) (ppm) 1.12 (t, 3H), 2.29 (s, 3H), 3.0 (m, 2H), 4.05 (q, 2H), 4.88 (t, 1H), 7.11 (d, 2H), 7.48 (d, 2H), 7.55 (d, 1H), 7.68 (1H, d), 8.35 (br, s, 3H); ¹³C-NMR (DMSO, TMS) (ppm): 13.82, 20.75, 37.13, 45.59, 60.59, 110.53, 122.47, 125.44, 127.87, 128.06, 129.51, 131.95, 137.77, 145.33, 150.14, 168.98; DSC: 69.86°C (内 406.5 J/g), 165.72°C (内 62.27 J/g), 211.24°C (外 20.56 J/g), [α]_D²⁵ = +4.2° (c=0.960, MeOH); IR (MIR) (cm⁻¹) 2922, 1726, 1621, 1591, 1494, 1471, 1413, 1376, 1324, 1286, 1237, 1207;

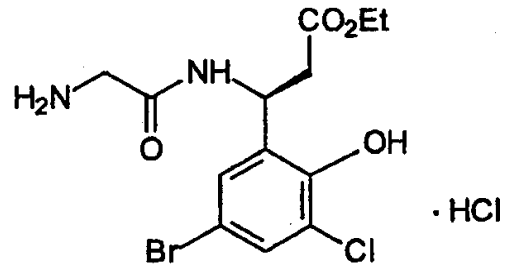
15 微量分析: 对 C₁₈H₂₁BrClNO₆S 的

计算值: C: 43.69%; H: 4.27%; N: 2.83%; Br: 16.15%; Cl: 7.16%; S: 6.48%

实测值: C: 43.40%; H: 4.24%; N: 2.73%; Br: 16.40%; Cl: 7.20%; S: 6.54%.

步骤 6

制备

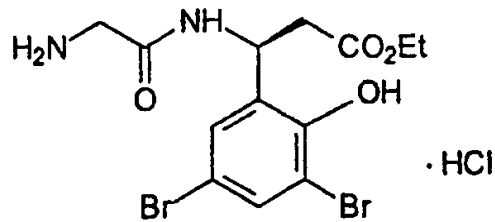


5 按照在实施例 G 步骤 4 和步骤 5 中概述的方法，制备以上化合物，其中在步骤 5 中制备的等量的中间体作为游离碱替代实施例 G 步骤 4。

¹H-NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

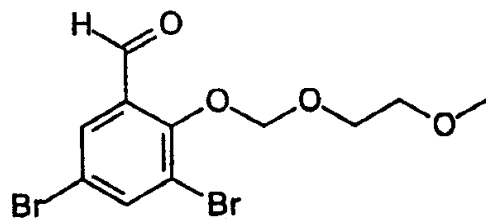
实施例 I

10 制备



步骤 1

制备



按照在实施例 G 步骤 2A 的方法, 制备以上化合物, 以等量的 2-羟基-3,5-二溴苯甲醛替代 3,5-二氯水杨醛。

收率: 88%; 浅黄色固体: m.p. 46-47°C; $R_f=0.6$ (EtOAc/己烷 1:1 v/v); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 3.37 (s, 3H), 3.56 (m, 2H), 3.92 (m, 2H), 5.29 (s, 2H), 7.91 (d, 1H, $J=2.4$ Hz), 7.94 (d, 1H, $J=2.4$ Hz), 10.27 (s, 1H);

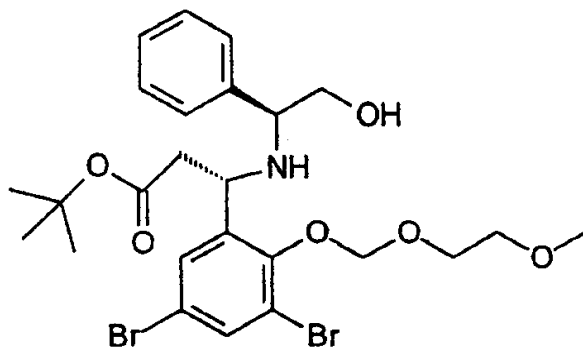
FAB-MS m/z 367

对 $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{O}_4$ 的(M⁺)HR-MS 的计算值: 367.9083

实测值: 367.9077.

$^1\text{H-NMR}$ 和 MS 与要求的化合物相一致。

10 步骤 2



使用实施例 G 步骤 2B 和 2C 的方法, 制备以上化合物, 在所述方法中以等量的步骤 1 的化合物替代。

收率: 90%; 黄色固体: m.p. 57-59°C; $R_f=0.46$ (EtOAc/己烷 1:1 v/v); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 1.45 (s, 9H), 2.1 (br, 1H, 可交换), 2.51 (d, 1H, $J_1=9.9$ Hz, $J_2=15.3$ Hz), 2.66 (d, 1H, $J_1=4.2$ Hz, $J_2=15.3$ Hz), 3.02 (br, 1H, 可交换), 3.39 (s, 3H), 3.58-3.62 (m, 4H), 3.81 (m, 1H), 3.93 (m, 2H), 4.63 (dd, 1H, $J=4.2$ Hz), 5.15 (s, 2H), 7.17-7.25 (m, 6H), 7.49 (d, 1H); FAB-MS m/z 602(M+H)

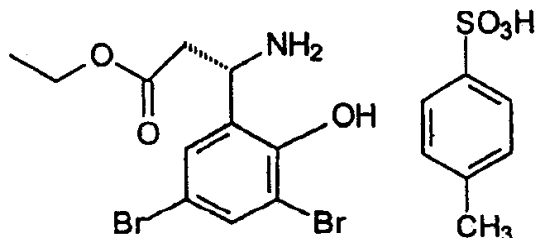
20 对 $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{NBr}_2\text{O}_6$ 的 HR-MS 的计算值: 602.0753

实测值: 602.0749.

$^1\text{H-NMR}$ 和 MS 与要求的化合物相一致。

步骤 3

制备



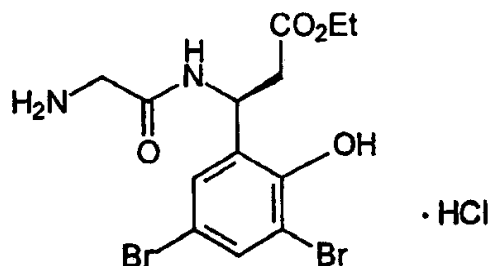
按照在实施例 G 步骤 3 中的方法，制备以上化合物(对甲苯磺酸
 5 盐)，以等量的实施例 G 步骤 2 中的产物替代步骤 3A。收率：62%；
 白色固体；¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 1.09 (t, 3H, J=7.2 Hz), 2.27 (s, 3H),
 2.97 (dd, 2H, J₁=3.0 Hz, J₂=7.2 Hz), 4.02 (q, 2H, J=7.2 Hz), 4.87 (t, 1H,
 J=7.2 Hz), 7.08 (d, 2H, J=4.8 Hz), 7.45 (m, 3H), 7.57 (d, 1H, J=2.4 Hz),
 8.2 (br, 3H); FAB-MS *m/z* 365(M+H)

10 对 C₁₁H₁₄NBr₂O₃ 的 HR-MS 的计算值: 365.9340
 实测值: 365.9311.

¹H-NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

步骤 4

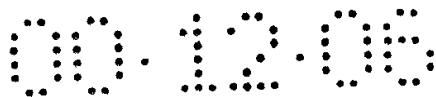
制备



15

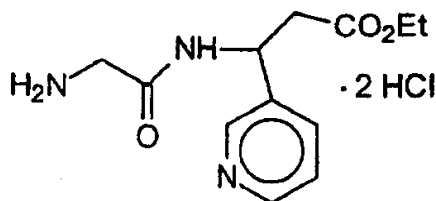
使用实施例 G 步骤 4 的方法，制备以上化合物，并且替代在步
 骤 3 中制备的化合物以生成 BOC 保护的中间体。使用实施例 G 步骤
 5 的方法，将生成的 BOC 保护的中间体转变为要求的化合物。

¹H-NMR 和 MS 与要求的化合物相一致。



实施例 J

制备 β -[(2-氨基乙酰基)氨基]吡啶-3-丙酸乙酯双盐酸盐



步骤 1

5 向在 2-丙醇(3 升)中的 3-吡啶甲醛(300 ml)中加入乙酸铵(297 g), 随后加入丙二酸(398 g)。在回流下将该反应混合物搅拌 5 小时。趁热过滤沉淀并用热的异丙醇(2 升)洗涤。然后干燥生成的白色固体, 得到作为白色固体的 DL-3-氨基-3-(3-吡啶基)丙酸(220 g)。

NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

10 步骤 2

将来自步骤 1 的 DL-3-氨基-3-(3-吡啶基)丙酸(220 g)在无水乙醇(3.6 升)中浆化。使 HCl 气体(一个演示瓶-1b)鼓泡通入该反应物中, 其间搅拌 40 分钟。然后将该浆化物加热回流 4 小时(1 至 1.5 小时后溶液形成)。在冰浴上, 把反应混合物冷却至 5°C。在 5°C 下搅拌 1.5 小时后, 过滤生成的白色沉淀并用乙醚彻底洗涤。在 50°C 下真空干燥后, 得到作为白色固体的要求的产物 DL-3-氨基-3-(3-吡啶基)丙酸乙酯二盐酸盐(331.3 g)。

NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

步骤 3

20 在 5-10°C 下, 向在无水 THF(2 升)和三乙胺(167.2 g, 1.65 moles)中的来自步骤 2 的 DL-3-氨基-3-(3-吡啶基)丙酸乙酯二盐酸盐(220.6 g, 0.83 mole)中分批加入 N-叔丁氧基羰基-甘氨酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯(225 g, 0.826 moles)(Sigma)。在室温下, 将该反应混合物搅拌过夜。过滤生成的沉淀并用 THF 洗涤。真空除去滤液中的溶剂。用乙酸乙



5 酯(2.3 升)处理残余物。用饱和的碳酸氢钠(2X900 ml)和 H₂O(3X900 ml)洗涤乙酸乙酯层, 经 MgSO₄ 干燥并真空除去。该残余物在 10%乙酸乙酯/己烷(2.5 升)中浆化过夜。过滤沉淀, 用 10%乙酸乙酯/己烷(1 升)洗涤, 然后以己烷洗涤, 然后干燥, 得到作为白色固体的 β -[[2-[[[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基]乙酰基]-氨基]-吡啶-3-丙酸乙酯(233 g)。

NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

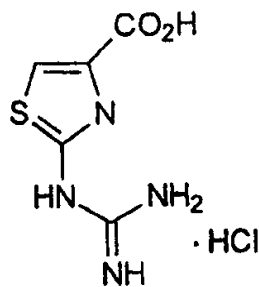
步骤 4

10 将 β -[[2-[[[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基]-吡啶-3-丙酸乙酯(来自步骤 3)(232 g, 0.66 mole)溶于热的二噁烷(1 升)中。在冷却至室温后, 缓慢加入在二噁烷(1.6 升)(Aldrich)中的 4 M HCl。几分钟后白色沉淀形成, 然后转变为稠粘的物料。2 小时后, 倾析溶剂。将该残余物在乙醚中浆化并倾析乙醚直到生成白色固体。使其真空干燥, 得到作为白色吸湿性固体的 β -[(2-氨基乙酰基)氨基]吡啶-3-丙酸乙酯双盐酸盐(224.2 g)。

15 NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

实施例 K

制备 2-胍基-4-羧基噻唑盐酸盐



20 步骤 1

向在无水 EtOH(100 mL)中的 2-亚氨基-4-硫代缩二脲(11.1 g, 0.094 mole)(Aldrich)中, 在回流下分批加入溴代丙酮酸乙酯(20.0 g, 0.102 mole)(Aldrich)。在回流下, 将该溶液搅拌 2 小时。加入另外的

溴代丙酮酸乙酯(2.0 g)并且把该反应物继续回流另外2小时。将反应物冷却至10℃并加入浓NH₄OH直到pH=10。过滤生成的沉淀,用乙醚洗涤并干燥,得到作为黄色固体的2-胍基-4-羧基乙基噻唑(15.1 g)。

5 MS 和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

步骤2

10 向在H₂O(100 mL)和乙醇(40 mL)中浆化的步骤1的产物(5.0 g, 0.023 mole)中加入NaOH(0.93 g, 0.023 mole)。在室温下,将该溶液搅拌过夜。将另外的乙醇(20 mL)和NaOH(0.93 g)加入到反应混合物中并在室温下将该溶液搅拌另外1小时。用1 N HCl使pH降至7并过滤生成的沉淀,用H₂O和乙醚洗涤,然后干燥,得到作为两性离子的产物(4.1 g)。

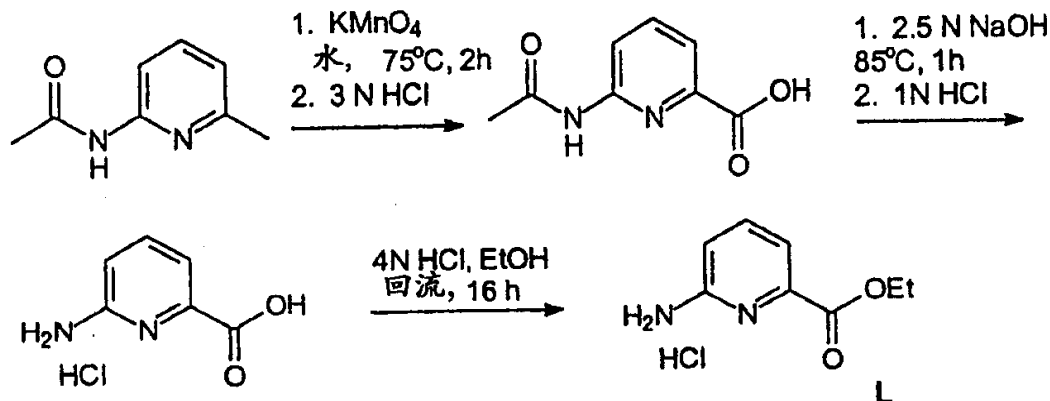
15 将该两性离子产物在H₂O中浆化并用浓HCl酸化直到生成溶液。将该溶液冷冻并冷冻干燥,得到作为淡黄色固体的2-胍基-4-羧基噻唑盐酸盐(4.33 g)。

MS 和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

按照所描述的流程,分别从市售2-氨基-6-甲基吡啶和2-氨基-4-甲基-吡啶起始,制备实施例L和M。

实施例 L

制备 2-氨基吡啶-6-羧酸



步骤 A

5 在 75°C 下，向 2-乙酰氨基-6-甲基吡啶(10.0 g)在水(125 mL)中的溶液中分批加入 KMnO_4 (21.0 g)并且继续加热 2 小时。将该反应混合物冷却，过滤并用热水(2X25 mL)洗涤残余物。用二氯甲烷(3X40 mL)洗涤合并的滤液水溶液和洗涤液，并以冷的 3 N HCl 酸化。过滤生成的沉淀，用水洗涤至 pH 呈中性，真空干燥，得到 2-乙酰氨基吡啶-6-甲酸(3.8 g, 48%收率)。将二氯甲烷提取液浓缩至干，得到未反应的 2-乙酰氨基-6-甲基吡啶(3.5 g)。

$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD}) \delta$ 8.32 (m, 1H), 7.94 (t, 1H), 7.87 (m, 1H), 2.2 (s, 3H), FAB MS m/z 181(M+H).

步骤 B

15 在 80°C 下，于氨气氛下将 2-乙酰氨基吡啶-6-甲酸(4.1 g)在 2.5 N 的 NaOH(36.5 ml)中的悬浮液加热 1.5 小时。将生成的溶液冷却并用冷的 3 N HCl 酸化。过滤得到的沉淀，用水和乙腈连续洗涤。真空干燥生成的白色固体，得到 2-氨基吡啶-6-甲酸(2.4 g, 76%收率)。

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6) \delta$ 7.57 (t, 1H, $J=8.1$ Hz), 7.14 (d, 1H, $J=7.2$ Hz), 6.67 (1H, $J=8.1$ Hz), 6.51 (br, 2H); FAB MS m/z 139(M+H).

20

步骤 C

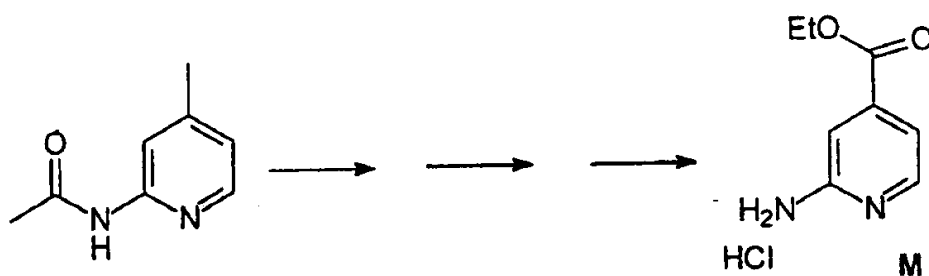
5 在无水条件下, 将 2-氨基吡啶-6-甲酸(2 g)在 EtOH(10.0 mL)和 4 N HCl/二噁烷(10.0 mL)中的悬浮液加热回流 16 小时。然后将反应混合物浓缩至干并且真空下在干燥器中干燥残余物, 得到作为白色粉末的 2-氨基-6-乙酯基吡啶盐酸盐(1.6 g)。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.3 (br), 7.94 (m, 1H), 7.37 (d, 1H, $J=7.2$ Hz), 7.22 (dd, 1H, $J=8.7$ Hz), 4.37 (q, 2H, $J=7.2$ Hz), 1.32 (t, 3H, $J=7.2$ Hz);
FAB MS m/z 167(M+H).

10

实施例 M

制备 2-氨基吡啶-4-乙酯基吡啶盐酸盐



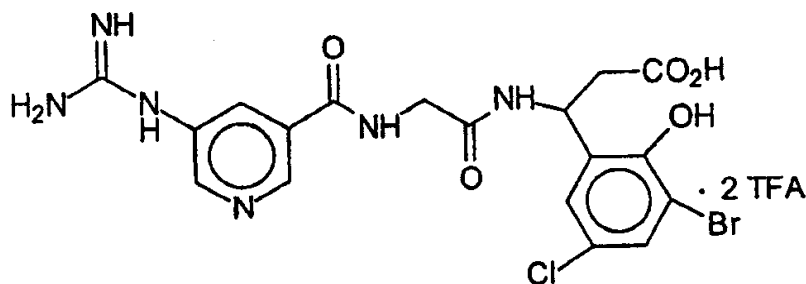
从 2-乙酰氨基-4-甲基吡啶开始, 通过类似于制备实施例 L 的 2-氨基吡啶-6-乙酯基吡啶盐酸盐的方法, 制备该化合物(M)。

15

$^1\text{H-NMR}$ 和 MS 与所述的结构相一致。

实施例 1

制备



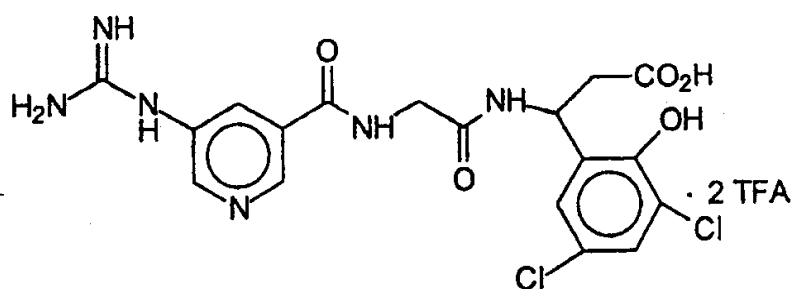
在冰浴温度下，向在无水 DMA(5 mL)中的实施例 A 的产物(0.5 g, 0.002 mole)、实施例 E 的产物(0.83 g, 0.002 mole)、三乙胺(0.2 g, 0.002 mole)和 DMAP(24 mg)中加入 EDCI(0.38 g, 0.002 mole)。在室温下，将反应物搅拌 2 天。经反相制备型 HPLC 分离酯产物。向在 H₂O(3 mL)和 CH₃CN(3 mL)中的酯中加入 LiOH(0.51 g, 0.012 mole)。在室温下，将其搅拌 1 小时。用 TFA 使 pH 降至 2 并经反相制备型 HPLC 分离该产物，得到(冷冻干燥后)作为白色固体的要求的产物(350 mg)。

MS 和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

10

实施例 2

制备



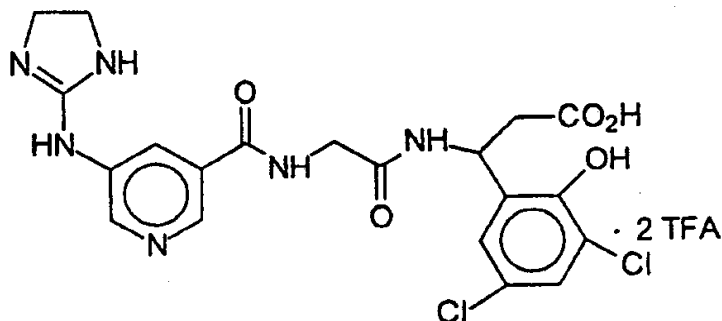
按照实施例 1 的方法，制备标题化合物，用等量的实施例 D 的产物替代实施例 E 的产物，得到白色固体的要求的产物(210 mg)。

15

MS 和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

实施例 3

制备

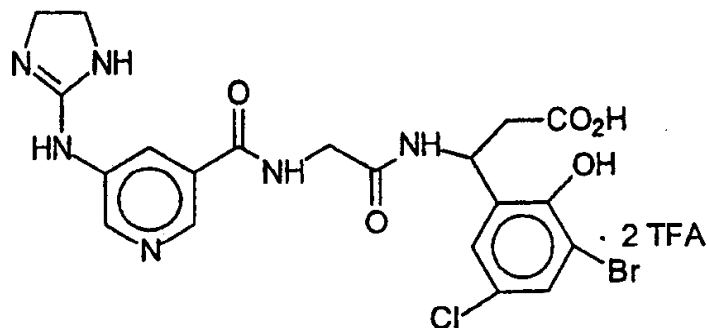


在 N_2 下，在冰浴温度下，向在火焰干燥的烧瓶中的无水 DMA(85
 5 mL)中的实施例 C 的产物(19.5 g, 0.045 mole)和 N-甲基吗啉(9.1 g, 0.09
 mole)中缓慢加入氯甲酸异丁酯(6.2 g, 0.045 mole)。在冰浴温度下，
 将该溶液搅拌 15 分钟。然后在冰浴温度下加入实施例 D 的产物(15 g,
 0.04 mole)，随后缓慢加入 N-甲基吗啉(4.1 g, 0.04 mole)。在室温下，
 将反应混合物搅拌过夜。向在 H_2O (50 mL)/ CH_3CN (30 mL)中的酯中加
 10 入 LiOH(16 g, 0.38 mole)。在室温下，将其搅拌 1 小时。用 TFA 使 pH
 降至 2 并经反相制备型 HPLC 分离产物，得到(冷冻干燥之后)作为白
 色固体的要求的产物(13.7 g)。

MS 和 1H -NMR 与要求的结构相一致。

实施例 4

制备



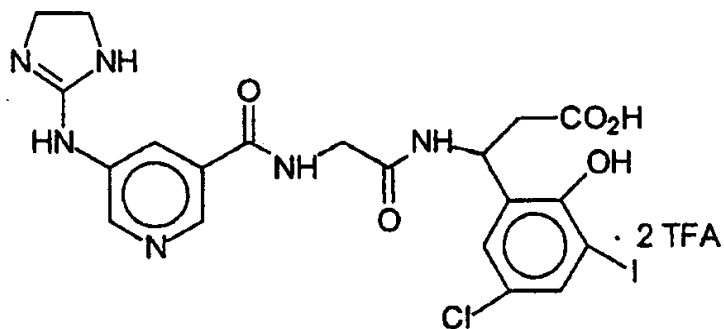
按照实施例 3 的方法，制备以上化合物，用等量的实施例 E 的
5 产物替代实施例 D 的产物。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

实施例 5

制备

10

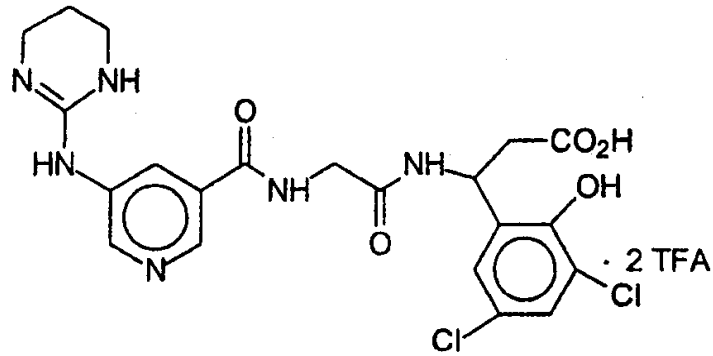


按照实施例 3 的方法，制备以上化合物，用等量的实施例 F 的
产物替代实施例 D 的产物。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

实施例 6

制备



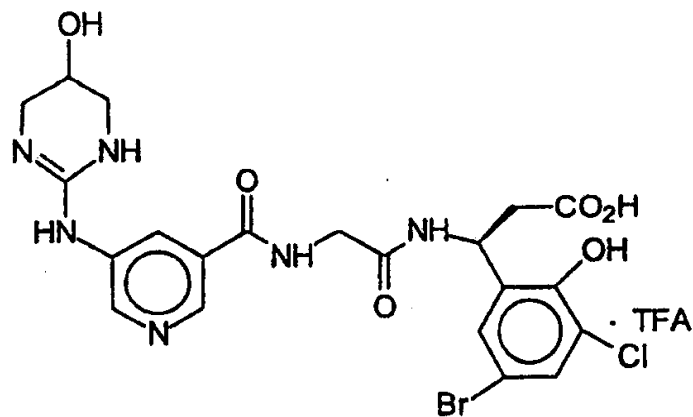
按照实施例 3 的方法，制备以上化合物，用等量的实施例 B 的
5 产物替代实施例 C 的产物。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

实施例 7

制备

10



在冰浴温度下，向在无水 DMA(4 mL)中的实施例 9 步骤 3 的产
物(0.6 g, 0.0019 mole)中加入氯甲酸异丁酯(0.27 g, 0.002 mole)，随后
加入 N-甲基吗啉(0.4 g, 0.0038 mole)。在冰浴温度下，将该溶液搅拌
15 分钟。在冰浴温度下，加入实施例 H 的产物(0.71 g, 0.0017 mole)，
15

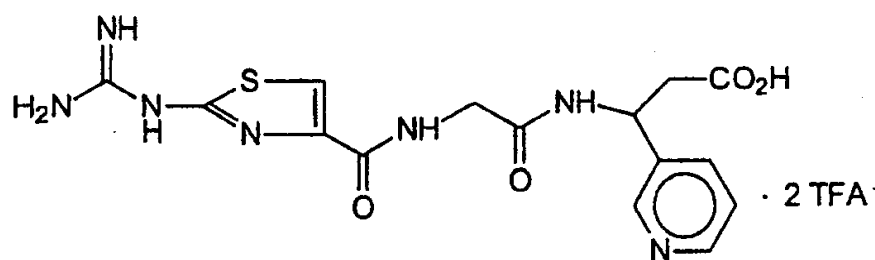
随后加入 N-甲基吗啉(0.17 g, 0.0017 mole)。在室温下, 将反应物搅拌过夜。HPLC 分析指明产物含有明显量的起始物料。将 EDCI(0.38 g, 0.002 mole)和 DMAP(15 mg)加入到反应混合物中并在室温下将该反应物搅拌过夜。经反相制备型 HPLC 分离酯产物。向在 H₂O(10 mL)和 CH₃CN(5 mL)中的酯中加入 LiOH(700 mg, 0.017 mole)。在室温下, 将其搅拌 1 小时。用 TFA 使 pH 降至 2 并经反相制备型 HPLC 分离产物, 得到(冷冻干燥之后)作为白色固体的要求的产物(270 mg)。

MS 和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

10

实施例 8

制备



在冰浴温度下, 向在无水 DMF(8 mL)中的实施例 K 的产物(0.5 g, 0.0022 mole)和 N-甲基吗啉(0.23 g, 0.0022 mole)中加入氯甲酸异丁酯(0.31 g, 0.0022 mole)。在冰浴温度下搅拌 5 分钟后, 于冰浴温度下一次性加入在无水 DMF(8 mL)中的实施例 J 的产物(0.73 g, 0.0022 mole)和 N-甲基吗啉(0.45 g, 0.0045 mole)。在室温下, 将反应混合物搅拌过夜。经反相制备型 HPLC 分离酯(530 mg)。

向在 H₂O(10 mL)中的该酯(400 mg)中加入 LiOH(91 mg)。在室温下, 将其搅拌 1 小时。用 TFA 把 pH 降至 3 并且该产物经反相制备型 HPLC 分离, 得到(冷冻干燥之后)白色固体的要求的产物(350 mg)。

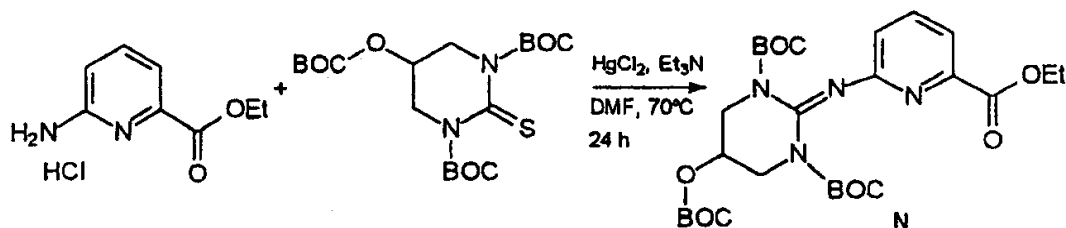
MS 和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

如同在实施例 N 和 O 中描述的流程中阐明的那样, 使用三-叔丁

氧基羰基试剂, 进行 2-氨基-6-乙酯基吡啶盐酸盐和 2-氨基-4-乙酯基吡啶盐酸盐的脲基化(Kim. S. K., Qian, L., 四面体快报, 34, 7677, 1993).

5

实施例 N

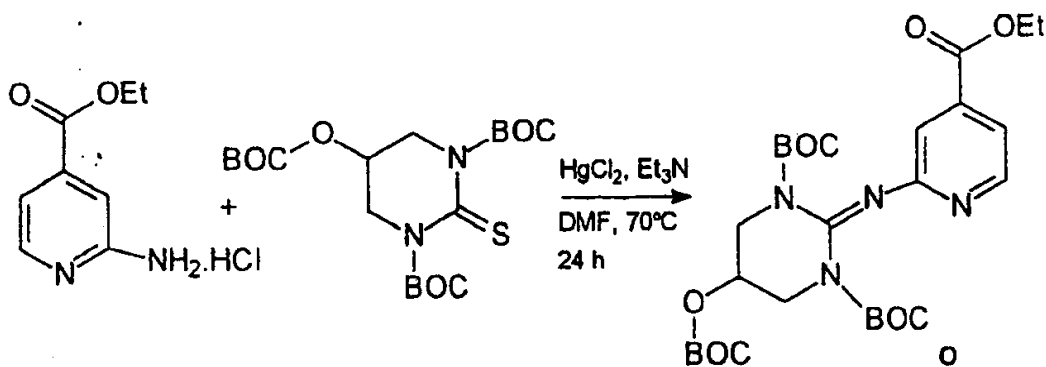


10

向 2-氨基-6-乙酯基吡啶盐酸盐(0.56 g, 2.8 mmol)和三-叔丁氧基羰基试剂(91.2 g, 2.8 mmol)在脱气的 DMF(7.0 mL)中的溶液中加入氯化汞(0.76 g, 2.8 mmol)和三乙胺(0.79 g, 7.8 mmol)。在 70°C 下, 于氮气气氛中将生成的混合物加热 24 小时并且过滤。真空蒸馏 DMF, 用乙酸乙酯研磨残余物并过滤。浓缩橙色滤液并经硅胶快速层析法纯化生成的物料, 使用含有 1%三乙胺的乙酸乙酯作为洗脱液。合并适当的部分(蓝色荧光)且减压下浓缩至干, 得到黄色粉末。MS 分析[m/z 565 (M+H)]证实形成要求的三-叔丁氧基羰基产物 N。

15

实施例 O

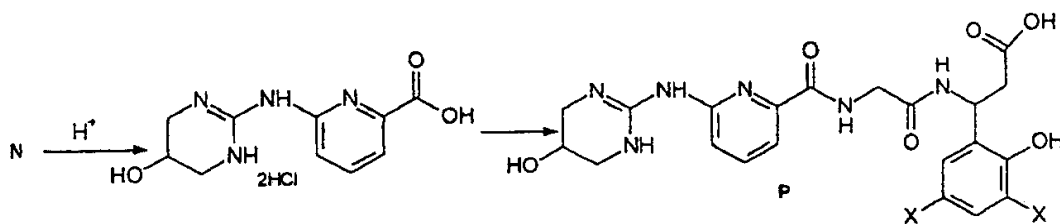


使用与实施例 N 相似的方法，制备化合物(O)。MS 分析[m/z 565 (M+H)]证实形成要求的三-叔丁氧基羰基产物 O。

按照在实施例 9 步骤 3-5 中阐述的条件，能够制备以下化合物 P 和 Q。

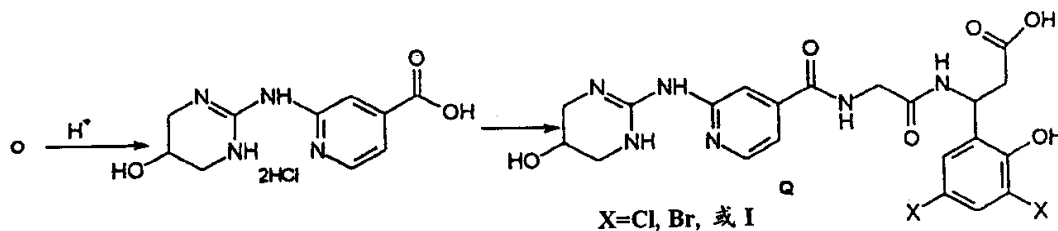
5

实施例 P

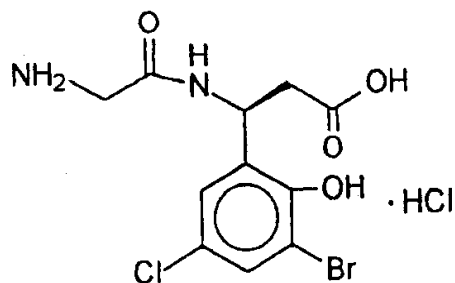


实施例 Q

10

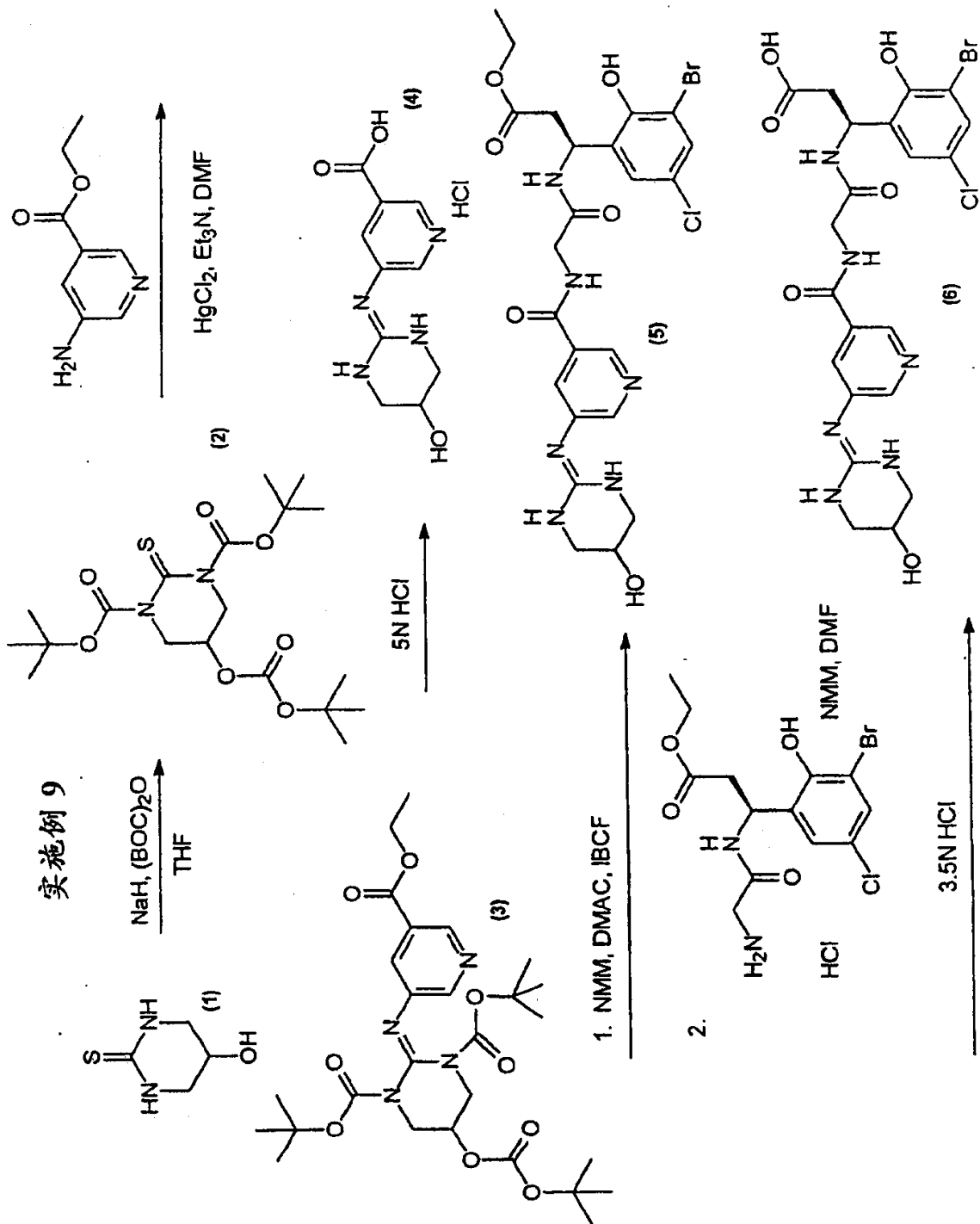


实施例 R



15

使用在实施例 G 中描述的方法，制备以上化合物。以步骤 2 中使用的试剂 3-溴-5-氯代水杨醛替代 3,5-二氯代水杨醛。



步骤 1

在 0°C 下, 于 30 分钟内向机械搅拌着的试剂 1(18.68 g)在 THF(1 L)中的悬浮液中加入氯化钠(19 g 在矿物油中的 60%悬浮液)。在 30 分钟后, 加入纯的二碳酸二叔丁酯(95 g)并在温和回流下将反应混合物加热 16 小时。将该混合物冷却至 0°C 并用饱和 NaHCO₃ 溶液猝灭。用乙酸乙酯提取混合物。用水洗涤有机提取液, 干燥(Na₂SO₄)并浓缩。使用小硅胶柱(60 mm X 180 mm)快速层析残余物, 得到作为粘稠黄色液体的要求的产物 2(68 g)。NMR 与指明的结构相一致。

步骤 2

在 0°C 下, 将搅拌着的 3-氨基-吡啶-6-甲酸(25 g)在乙醇(300 mL)中的悬浮液用氯化氢气体饱和。使该混合物温热至 23°C 并加热至回流 2 小时。得到透明的溶液。在冷却至 23°C 之后, 真空浓缩混合物, 用 NaHCO₃ 水溶液中和并以乙酸乙酯提取。用水洗涤有机相, 经 MgSO₄ 干燥, 并真空浓缩, 得到作为浅黄色固体的 3-氨基-吡啶-6-甲酸乙酯。

将步骤 1 的产物(40.0 g)、HgCl₂(25.0 g)、三乙胺(27 mL)和 3-氨基-吡啶-6-甲酸乙酯(13 g)和 DMF(200 mL)的混合物搅拌并加热至 55°C 30 小时。将反应混合物冷却至 23°C, 用乙酸乙酯(500 mL)稀释并通过硅藻土过滤。用水(2X)洗涤滤液, 经 MgSO₄ 干燥并真空浓缩。使用在己烷中的乙酸乙酯作为洗脱剂, 经硅胶层析残余物, 得到要求的中间体 3。NMR 与要求的结构相一致。

步骤 3

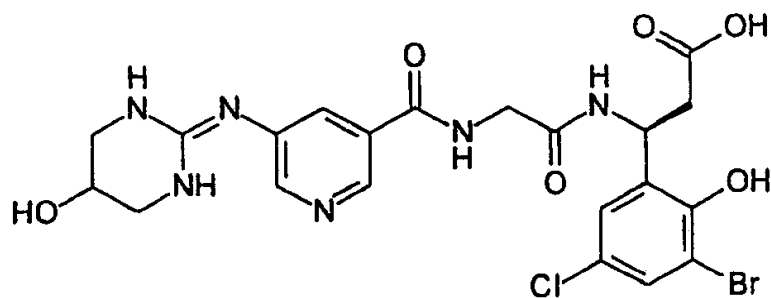
在 23°C 下, 将步骤 2 的产物(13 g)在 5 N 盐酸(100 mL)中的悬浮液搅拌 16 小时。真空浓缩该混合物。用甲醇研磨残余物并过滤白色固体, 得到要求的产物 4。NMR 和 MS 与要求的结构相一致。

步骤 4

将步骤 3 的产物(0.308 g)悬浮于 DMF(10 mL)中并把 4-甲基吗啉(0.2 mL)加入到悬浮液中。在 23°C 下, 把该混合物搅拌 1 小时。在将反应混合物冷却至 0°C 后, 加入 IBCF(0.129 mL)。在 1/2 小时后, 加

入实施例 R 的产物(0.416 g)和 4-甲基吗啉(0.11 mL)在 DMF(3 mL)中的溶液。2 小时内使该混合物温热至 23℃。然后过滤混合物并真空浓缩滤液。经 HPLC 纯化残余物, 得到 5。微量分析数据、NMR 和 MS 与要求的结构相一致。

5 步骤 5

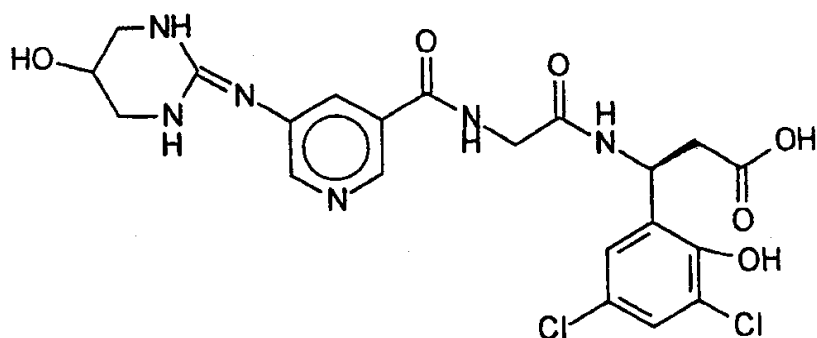


在 23℃下, 使步骤 4 的产物在 3.5 N HCl 中的溶液放置 3 小时, 真空浓缩并且经 HPLC 纯化残余物, 得到要求的产物。微量分析数据、NMR 和 MS 与要求的产物相一致。

10

对 $C_{21}H_{22}BrClN_6O_6 \cdot 2CF_3CO_2H \cdot H_2O$ 的分析计算值: C, 36.80; H, 3.21; N, 10.30; 实测值: C, 36.52; H, 2.90; N, 9.91。

实施例 10

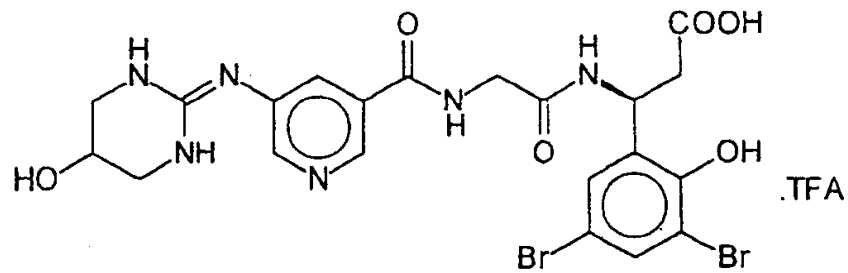


15

除了使用实施例 G 的产物替代实施例 R 在步骤 4 中的产物以外, 使用在实施例 9 中描述的方法, 制备该化合物。

对 $C_{21}H_{22}Cl_2N_6O_6 \cdot 2CF_3CO_2H \cdot H_2O$ 的
 分析计算值: C, 38.93; H, 3.40; N, 10.89;
 实测值: C, 39.27; H, 3.12; N, 11.09.

实施例 11

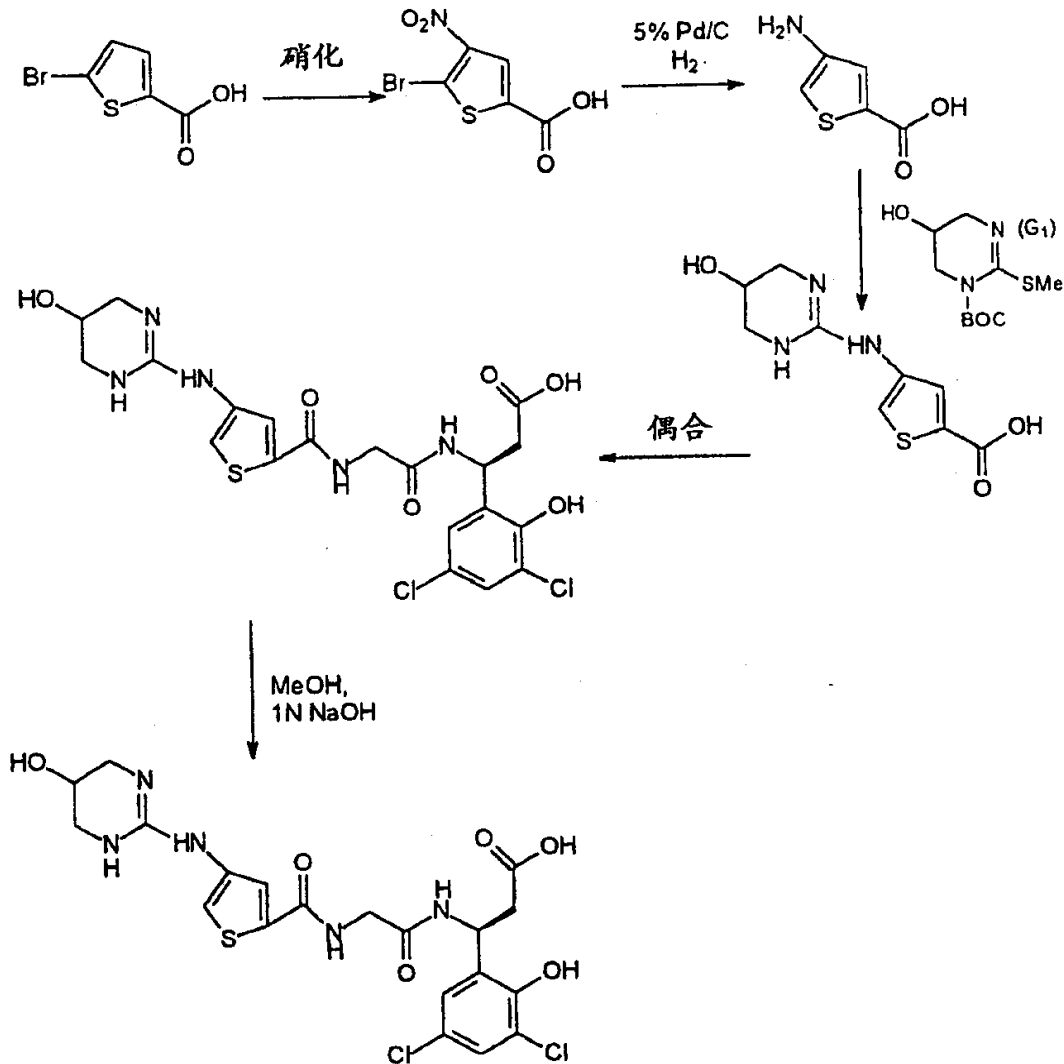


- 5 使用实施例 I 的产物替代实施例 R 在步骤 4 中的产物, 如同实施例 9 描述的那样, 制备该化合物。

对 $C_{21}H_{22}Br_2N_6O_6 \cdot 2CF_3COOH \cdot H_2O$ 的
 分析计算值: C, 35.65; H, 2.87; N, 9.98;
 实测值: C, 35.81; H, 2.79; N, 10.14.

实施例 12

制备(3S)-N-[[4-[(1,4,5,6-四氢-5-羟基-2-嘧啶基)氨基]-2-噻吩基]羧基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸三氟乙酸盐



5 步骤 1

将 5-溴-2-噻吩甲酸(5.0 g)在浓硫酸(30 ml)中的溶液冷却至-30℃并滴加在浓硫酸(30 ml)中的 70%硝酸溶液(7.7 ml)(d=1.40)来处理。在-25℃下,将该反应混合物搅拌 30 分钟然后倾入冰水中浆化并搅拌几分钟。过滤沉淀的固体,从水中重结晶并干燥,得到白色粉末(2.3 g)。

10

¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

在室温下，于 5 磅/平方英寸(psi)的氢气下，用催化量的 5% Pd/C 将来自步骤 1 的产物(1.7 g)在 THF(25 ml)中的溶液处理 16 小时。过滤反应混合物并浓缩。用乙酸乙酯加热残余物并过滤，得到棕色固体(750 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

将来自步骤 2 的产物(725 mg)和在 THF(15 ml)中的胍基化试剂 G1 和二甲基乙酰胺(10 ml)的溶液回流 16 小时。浓缩反应混合物并用 TFA(5 ml)和 CH₂Cl₂(5 ml)的溶液处理残余物。在室温下搅拌 1 小时后，浓缩反应混合物并经反相 HPLC 纯化残余物，使用水(0.5% TFA)和乙腈梯度作为洗脱剂，得到淡黄色的粘稠液体(300 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 4

在火焰干燥的烧瓶中，在 N₂ 下，将来自步骤 3 的产物(275 mg)溶于 8 ml 二甲基乙酰胺和 N-甲基吗啉(81 mg)中。将搅拌着的溶液冷却至 0°C 并滴加入氯甲酸异丁酯(109 mg)在二甲基乙酰胺(1 ml)中的溶液处理。在 0°C 下，将反应混合物搅拌 45 分钟，然后滴加入实施例 G 的产物(286 mg)和 N-甲基吗啉(81 mg)在二甲基乙酰胺(2 ml)中的溶液处理。使反应混合物温热至室温并继续搅拌 16 小时。浓缩反应混合物，并如同在步骤 3 中描述的那样使用反相 HPLC 纯化残余物，得到粘稠的无色液体(262 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 5

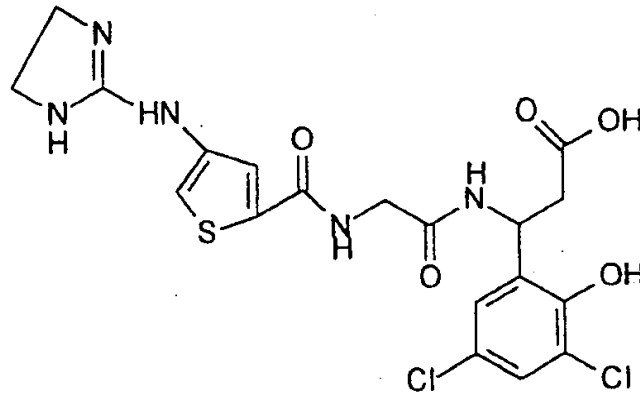
在室温下，将来自步骤 4 的产物(250 mg)在甲醇(8 ml)中的溶液和 1 N 氢氧化钠溶液(8 ml)搅拌 16 小时。用 TFA(0.7 ml)猝灭反应并浓缩。如同在步骤 3 中描述的那样，使用反相 HPLC 纯化残余物，得到白色固体(144 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

对 C₂₀H₂₁N₅O₆Cl₂S · 1.50 TFA · 0.25 H₂O 的
分析计算值: C, 39.13; H, 3.28; N, 9.92; S, 4.54; Cl, 10.04;

实测值: C, 38.81; H, 3.17; N, 9.90; S, 4.86; Cl, 10.25.

实施例 13

制备 N-[[4-[(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-2-噻吩基]羧基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸三氟乙酸盐



5 以如同在实施例 12 中描述的化合物的制备中所使用的类似的反应顺序, 制备以上化合物。使用在实施例 C(步骤 1)中描述的脲基化试剂替代在实施例 12 步骤 3 中的 G1。相似地用实施例 D 的产物来替代在实施例 G 步骤 4 中的产物。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

对 $C_{19}H_{19}N_5O_5Cl_2S \cdot 1.50 \text{ TFA} \cdot 0.50 \text{ H}_2\text{O}$ 的

分析计算值: C, 38.84; H, 3.18; N, 10.29; S, 4.71; Cl, 10.42;

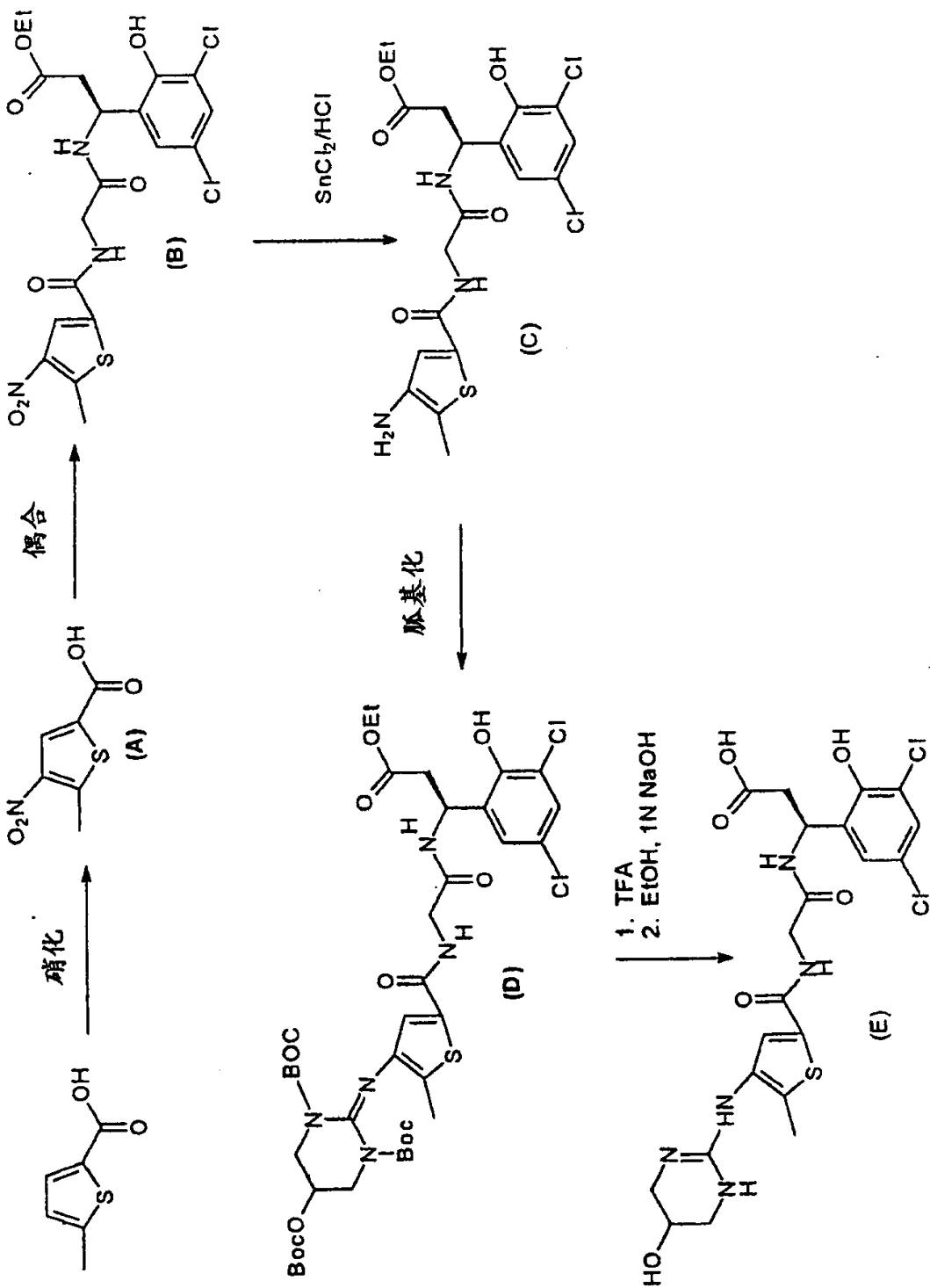
实测值: C, 38.84; H, 3.01; N, 10.50; S, 5.08; Cl, 11.01.

10

实施例 14

制备(3S)-N-[[5-甲基-4-[(1,4,5,6-四氢-5-羟基-2-嘧啶基)氨基]-2-噻吩基]羧基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸三氟乙酸盐

15



步骤 1

使用 5-甲基-2-噻吩甲酸(5.2 g), 如同在实施例 13 的步骤 1 中描述的那样, 制备(A)。通过用稀氢氧化钠溶液提取, 用稀盐酸酸化并用乙酸乙酯提取, 纯化该产物。干燥(Na_2SO_4)有机提取液并浓缩, 得到黄橙色固体(2.2 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 2

使用步骤 1 的产物(2.2 g)并按照如同在实施例 12 的步骤 4 中描述的偶合条件, 制备(B)。浓缩该反应物并在乙酸乙酯和水之间分配残余物。用饱和的氯化钠溶液洗涤有机提取液。干燥(Na_2SO_4)并浓缩。将残余物从乙酸乙酯中重结晶, 得到褐色固体(3.5 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 3

在室温下, 滴加入氯化锡(II)二水合物在浓盐酸中的溶液(1.0 g/2 ml)处理步骤 2 的产物(2.8 g)在 THF(25 ml)中的溶液, 直到 TLC 表明起始原料完全消失。除去有机溶剂并用碳酸氢钠溶液中和水溶液部分。用 CH_2Cl_2 提取水溶液部分, 干燥(Na_2SO_4)并浓缩, 得到黄色粉末(1.1 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 4

向在步骤 3 中描述的产物(375 mg)和实施例 9 步骤 1 的产物(519 mg)在 DMF(15 ml)中的溶液中加入氯化汞(326 mg)和三乙胺(182 mg)。在 95-100 $^\circ\text{C}$ 下加热混合物 3 小时。将反应混合物冷却, 用乙酸乙酯(30 ml)处理, 搅拌 30 分钟, 然后通过硅藻土垫过滤。浓缩滤液并使用快速层析法(用 97.5% CHCl_3 -2.5% CH_3OH 洗脱)纯化残余物, 得到黄棕色固体(415 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 5

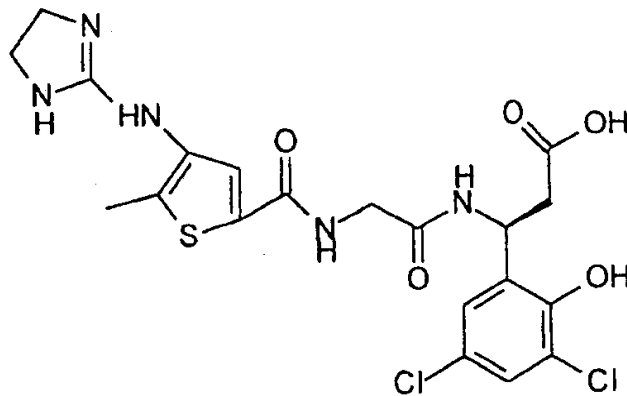
在室温下, 将步骤 4 的产物(400 mg)在 CH_2Cl_2 (7.5 ml)和 TFA(7.5 ml)中的溶液搅拌 1 小时。浓缩反应物并在室温下于 CH_3OH (10 ml)和 1 N 氢氧化钠的溶液(10 ml)中把残余物搅拌 16 小时, 使其溶解。用

TFA(0.8 ml)猝灭反应物并浓缩。如同先前描述的那样,使用反相 HPLC 纯化残余物,得到白色固体(80 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

对 $C_{21}H_{23}N_5O_6Cl_2 \cdot 1.50 \text{ TFA} \cdot 0.50 \text{ H}_2\text{O}$ 的
 分析计算值: C, 39.79; H, 3.55; N, 9.67; S, 4.43; Cl, 9.79;
 实测值: C, 39.50; H, 3.24; N, 9.58; S, 4.71; Cl, 10.22。

实施例 15

5 制备(3S)-N-[[4-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-5-甲基-2-噻吩基]羧基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸三氟乙酸盐

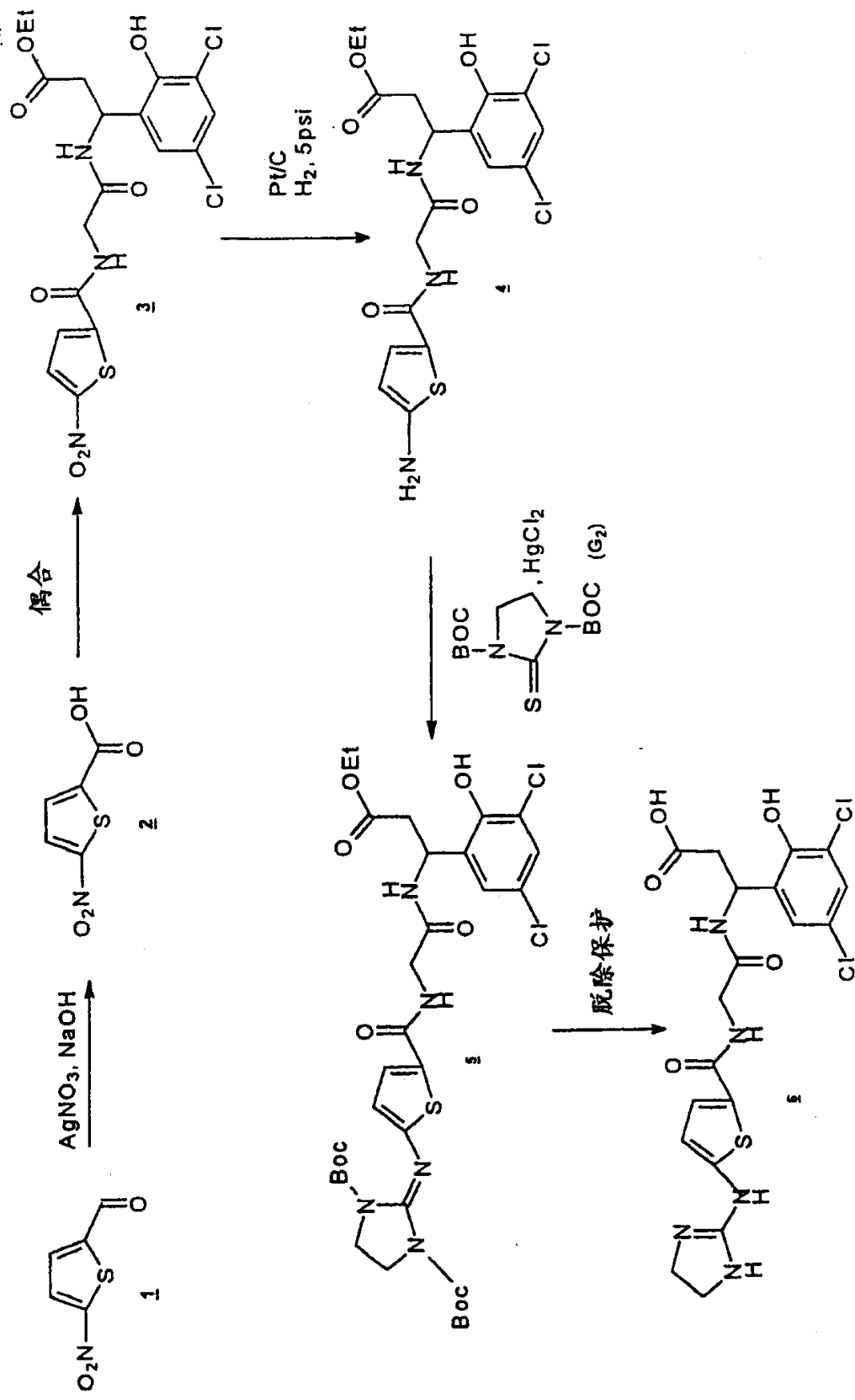


10 除了使用在实施例 C(步骤 1)中描述的胍基化试剂替代在实施例 14 步骤 4 中的试剂以外,以如同在实施例 14 中描述的化合物的制备中使用的类似的反应顺序,制备以上化合物。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

对 $C_{20}H_{21}N_5O_5Cl_2S \cdot 1.50 \text{ TFA} \cdot 0.25 \text{ H}_2\text{O}$ 的
 分析计算值: C, 40.04; H, 3.36; N, 10.15; S, 4.65; Cl, 10.28;
 实测值: C, 39.82; H, 3.19; N, 10.17; S, 4.86; Cl, 10.69。

实施例 16

15 N-[[5-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-2-噻吩基]羧基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸三氟乙酸盐



使用如同在实施例 15 中描述的相同的反应顺序, 以 2-硝基-5-噻吩甲酸开始, 合成标题化合物。对于胍基化反应, 按照在实施例 17 步骤 G 中描述的条件进行。

对 $C_{19}H_{19}N_5O_5Cl_2S \cdot 1.50$ TFA 的

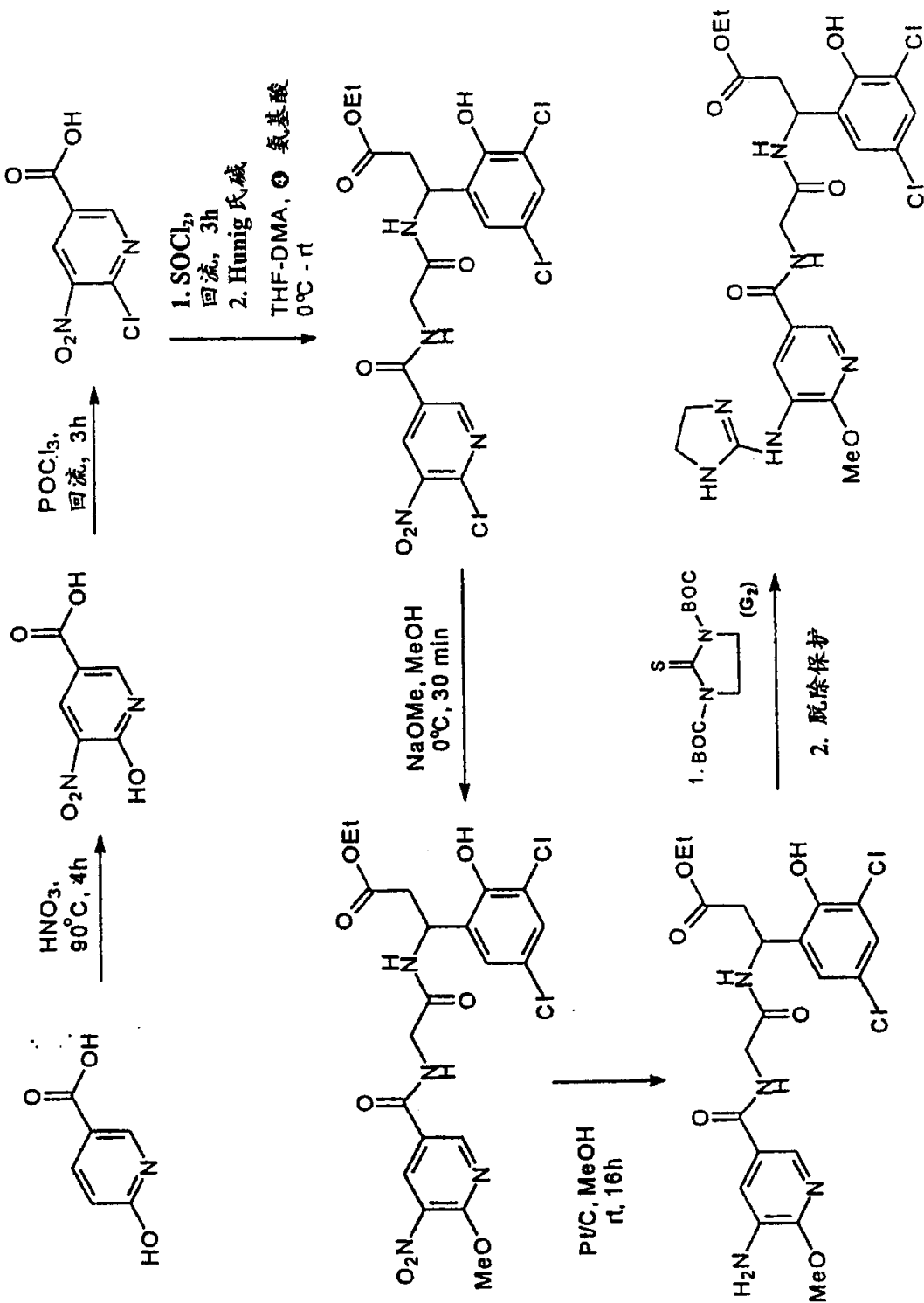
分析计算值: C, 39.36; H, 3.08; N, 10.43; S, 4.78;

实测值: C, 39.05; H, 2.79; N, 10.37; S, 4.90。

5

实施例 17

N-[[5-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-6-甲氧基-3-吡啶基]羧基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸双(三氟乙酸)盐



步骤 1

将 6-羟基烟酸(20 g)和无色发烟硝酸(60 ml)($d=1.50$)的混合物加热到 90-95°C 反应 3 小时。把反应物冷却至室温并在搅拌下倾入到 1.5 升冰-水浆状物中且于 15 分钟后过滤。用水洗涤沉淀并干燥, 得到淡黄色粉末(9.3 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

对 $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_5$ 的

分析计算值: C, 39.14; H, 2.19; N, 15.22;

实测值: C, 39.08; H, 2.17; N, 15.19.

步骤 2

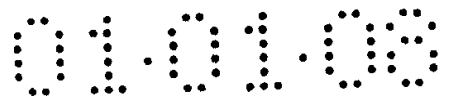
将步骤 1 的产物(5.0 g)和三氯氧化磷(15 ml)的混合物回流 3 小时。将反应混合物冷却至室温并加入到冰水混合物中且搅拌 30 分钟。加入另外的冰以保持混合物在此期间冷却。用 THF-乙醚(1:2)的混合物提取反应混合物并用饱和的氯化钠溶液洗涤有机提取物, 干燥(Na_2SO_4)并浓缩。残余物从 1:1 乙醚-己烷中重结晶, 得到黄色粉末(4.0 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 3

将步骤 2 的产物(1.6 g)在亚硫酰氯(5.0 ml)中的溶液回流 3 小时。将该反应物冷却至室温并在氮气流下蒸发。减压下干燥残余物并未经进一步纯化使用。在氮气下, 于火焰干燥的烧瓶中, 将实施例 D 的产物(3.0 g)溶于二甲基乙酰胺(30 ml)和 N,N-二异丙基乙基胺(2.3 g)中。在冰浴上冷却溶液并滴加入酰氯(如同以上得到的)在 THF(20 ml)中的溶液。搅拌该反应物并使其温热至室温, 然后用水(25 ml)猝灭。用乙酸乙酯提取混合物并用饱和的氯化钠溶液洗涤有机提取液, 干燥(Na_2SO_4)并浓缩。生成的黄色固体从乙酸乙酯中重结晶, 得到淡黄色粉末(3.4 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 4

在 0°C 下, 向甲醇钠(2.2 g)在甲醇(30 ml)中的悬浮液中滴加入步骤 3 的产物(4.5 g)在甲醇(30 ml)中的溶液。将该反应物搅拌 30 分钟,



然后用乙酸(2.3 ml)猝灭。浓缩反应物并在乙酸乙酯和水之间分配。干燥(Na_2SO_4)有机提取液, 浓缩并在硅胶柱(用 80%乙酸乙酯-20%己烷洗脱)上纯化, 得到淡黄色固体(3.5 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

5 步骤 5

在室温下, 于 5 磅/平方英寸的氢气压力下, 用以硫毒化的催化量的 3% Pt/C 将在步骤 4 中描述的产物(1.07 g)在乙醇(25 ml)中的溶液处理 4 小时。过滤反应混合物并浓缩, 得到白色固体(930 mg), 其无需进一步纯化即可使用。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

10 步骤 6

向步骤 5 的产物(330 mg)、 G_2 (276 mg)在 DMF(10 ml)中的溶液中加入三乙胺(150 mg)和氯化汞(258 mg)并在氮气中、于 85°C 下把该混合物加热 16 小时。将反应物冷却, 用乙酸乙酯(25 ml)处理并过滤。浓缩滤液并且在硅胶柱上纯化残余物, 使用 98% CH_2Cl_2 -2% 甲醇洗脱, 得到白色固体(325 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

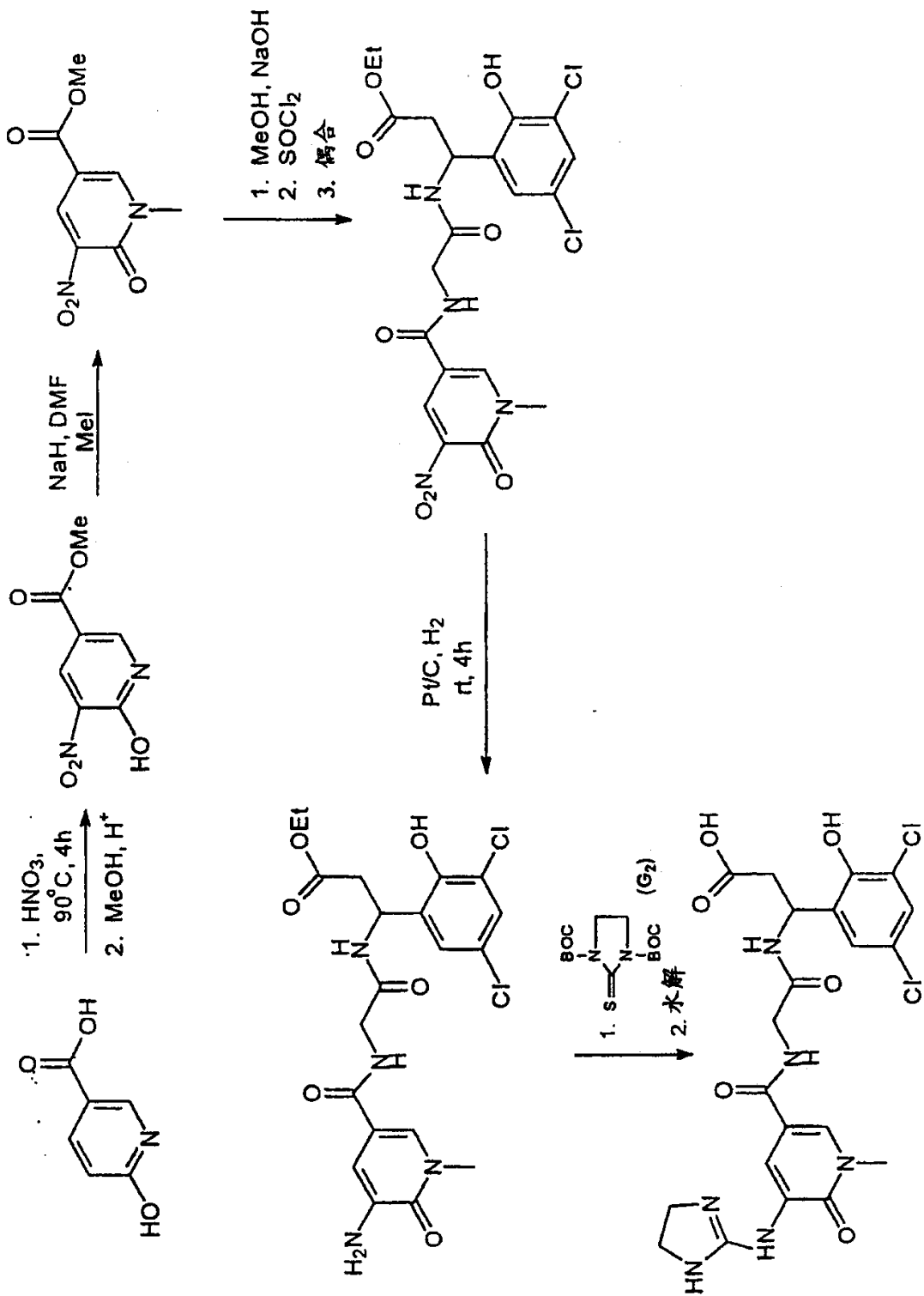
15 步骤 7

在室温下, 将步骤 6 的产物(114 mg)、TFA(8 ml)和二氯甲烷(8 ml)的溶液搅拌 90 分钟。蒸发溶剂并在室温下用 1 N 氢氧化钠的溶液(8 ml)和甲醇(8 ml)将残余物处理 16 小时。用 TFA(1 ml)猝灭反应并浓缩。使用先前描述的反相 HPLC 纯化残余物, 得到白色固体(76 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

对 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_6\text{Cl}_2 \cdot 2 \text{ TFA}$ 的
分析计算值: C, 41.74; H, 3.88; N, 12.70;
实测值: C, 41.47; H, 3.49; N, 12.85.

实施例 18

25 N-[[5-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-1,6-二氢-1-甲基-6-氧代-3-吡啶基]羧基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)- β -丙氨酸(三氟乙酸)盐



步骤 1

用浓硫酸(1 ml)处理实施例 17 步骤 1 的产物(12.0 g)在甲醇(200 ml)中的悬浮液并使其回流。回流 16 小时后, 反应混合物变成均匀的溶液, 并使其冷却至室温。除去大约一半的溶剂, 此时产物从溶液中
5 结晶出来。在冰浴上冷却该混合物, 过滤并干燥, 得到黄色粉末(16.7 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

在 N₂ 下, 将来自步骤 1 的产物(2.6 g)在 DMF(40 ml)中的溶液冷却至 0°C 并用 60% 氯化钠在矿物油中的分散液(655 mg)处理。在 0°C
10 下, 将该混合物搅拌 45 分钟, 然后用碘甲烷(2.8 g)一次性处理。在室温下, 将反应物搅拌 16 小时, 然后在乙酸乙酯和水之间分配。用另外的乙酸乙酯将水部分提取几次, 然后用饱和的氯化钠溶液洗涤合并的有机提取液, 干燥(Na₂SO₄)并浓缩。在硅胶柱(2% 甲醇-98% 二
15 氯甲烷洗脱)上纯化残余物, 得到黄色固体(1.9 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

在室温下, 将步骤 2 的产物(2.6 g)、甲醇(60 ml)和 2 N 氢氧化钠溶液(60 ml)的溶液搅拌 16 小时。用冰乙酸(6.9 ml)猝灭反应物并浓缩。高真空下干燥残余物。然后在氮气下将该物料与亚硫酰氯(100 ml)回
20 流 3 小时。将该反应物冷却, 浓缩并在高真空下彻底干燥, 得到褐色固体(2.2 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。在氮气下, 于火焰干燥的烧瓶中把实施例 D 的产物(3.5 g)溶于 N,N 二甲基乙酰胺(35 ml)和二异丙基乙基胺(2.9 ml)中。将该溶液冷却至 0°C 并用酰氯(1.9 g)(如同以上得到的)在 THF(35 ml)中的溶液处理。将该反应物搅拌 30
25 分钟, 然后高真空下浓缩以除去溶剂。把残余物在乙酸乙酯和水之间分配并用另外的乙酸乙酯把水部分提取几次。用水洗涤合并的有机提取液几次, 然后用饱和的氯化钠溶液洗涤, 干燥(Na₂SO₄)并浓缩, 生成黄色固体(1.3 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。



步骤 4

在室温下，于 5 磅/平方英寸的氢气压力下，用催化量的 5% Pt/C 将来自步骤 3 的产物(1.0 g)在 THF(10 ml)和 DMF(10 ml)中的溶液处理 4 小时。过滤反应混合物并浓缩。用最少量的 THF 处理残余物并使其在室温下缓慢结晶。把等体积的乙酸乙酯加入到结晶出来的混合物中并消化 15 分钟。将该混合物冷却，过滤并用冷的乙酸乙酯洗涤。干燥产物，得到白色固体(730 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 5

向步骤 4 的产物(720 mg)和 G₂(581 mg)在 DMF(25 ml)中的溶液中加入三乙胺(304 mg)和氯化汞(544 mg)并在氮气下于 85°C 下把该混合物加热反应 1 小时。将反应混合物冷却并通过硅藻土垫过滤。浓缩滤液并在硅胶柱(用 10% 甲醇-90% 氯仿洗脱)上纯化，得到白色固体(375 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 6

使用在实施例 14(步骤 5)中描述的方法，由在步骤 5 中制备的化合物(360 mg)来制备以上化合物。使用先前描述的反相 HPLC 纯化粗品产物，得到白色固体(223 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

对 C₂₁H₂₂N₆O₆Cl₂ · 2.5 TFA · 0.5H₂O 的

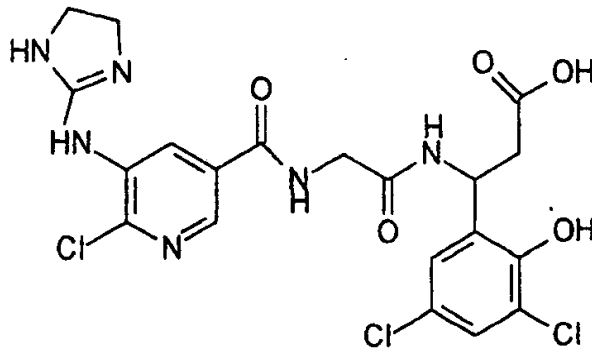
分析计算值: C, 38.11; H, 3.14; N, 10.26; Cl, 8.65

实测值: C, 38.18; H, 3.05; N, 10.79; Cl, 9.34.

20

实施例 19

N-[[6-氯-5-[(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-3-吡啶基]羰基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸(三氟乙酸)盐一水合物



5 步骤 1

制备氯化锡(II)(6.3 g)在浓盐酸(10 ml)中的溶液并滴加入实施例 17 步骤 3 的产物(1.0 g)在 THF(15 ml)中的溶液中。将该反应物搅拌 15 分钟，其间使反应物冷却至室温。除去有机溶剂，得到胶状沉淀。倾析水溶液部分并把胶状沉淀在乙酸乙酯和稀的碳酸氢钠溶液之间
10 分配。用另外的乙酸乙酯把水溶液部分提取几次，然后以水和饱和的氯化钠溶液洗涤合并的有机提取液，干燥(Na_2SO_4)并浓缩。真空干燥残余物，得到褐色粉末(375 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 2

使用在实施例 18 步骤 5 中概述的方法，将步骤 1 中描述的化合物(365 mg)胺基化。在硅胶柱(用 2% 甲醇-98% 氯仿洗脱)上纯化粗品
15 产物，得到棕色粘稠的液体(205 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 3

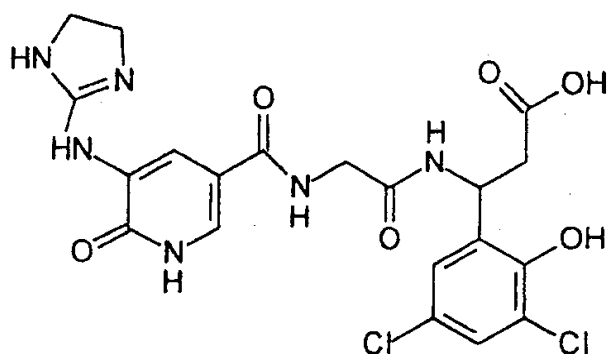
使用步骤 2 的产物(200 mg)并按照在实施例 17 步骤 7 中描述的方法，制备标题化合物。如前所述，使用反相 HPLC 纯化粗品产物，
20 得到白色固体(53 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

对 $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}_5\text{Cl}_3 \cdot 1.7 \text{ TFA} \cdot 1.0 \text{ H}_2\text{O}$ 的
分析计算值: C, 37.90; H, 3.09; N, 11.33; Cl, 14.34

实测值: C, 37.53; H, 2.71; N, 11.33; Cl, 15.01.

实施例 20

N-[[5-[(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-1,6-二氢-6-氧代-3-吡啶基]羰基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸(三氟乙酸)盐



5 在室温下, 通过将来自实施例 17 的步骤 6 的产物(353 mg)溶于 6 N 盐酸溶液(50 ml)中进行 48 小时, 制备以上化合物。浓缩该反应物并如同先前描述的那样使用反相 HPLC 纯化残余物, 得到白色固体(115 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

对 C₂₀H₂₀N₆O₆Cl₂ · 1.25 TFA 的

分析计算值: C, 41.33; H, 3.28; N, 12.85;

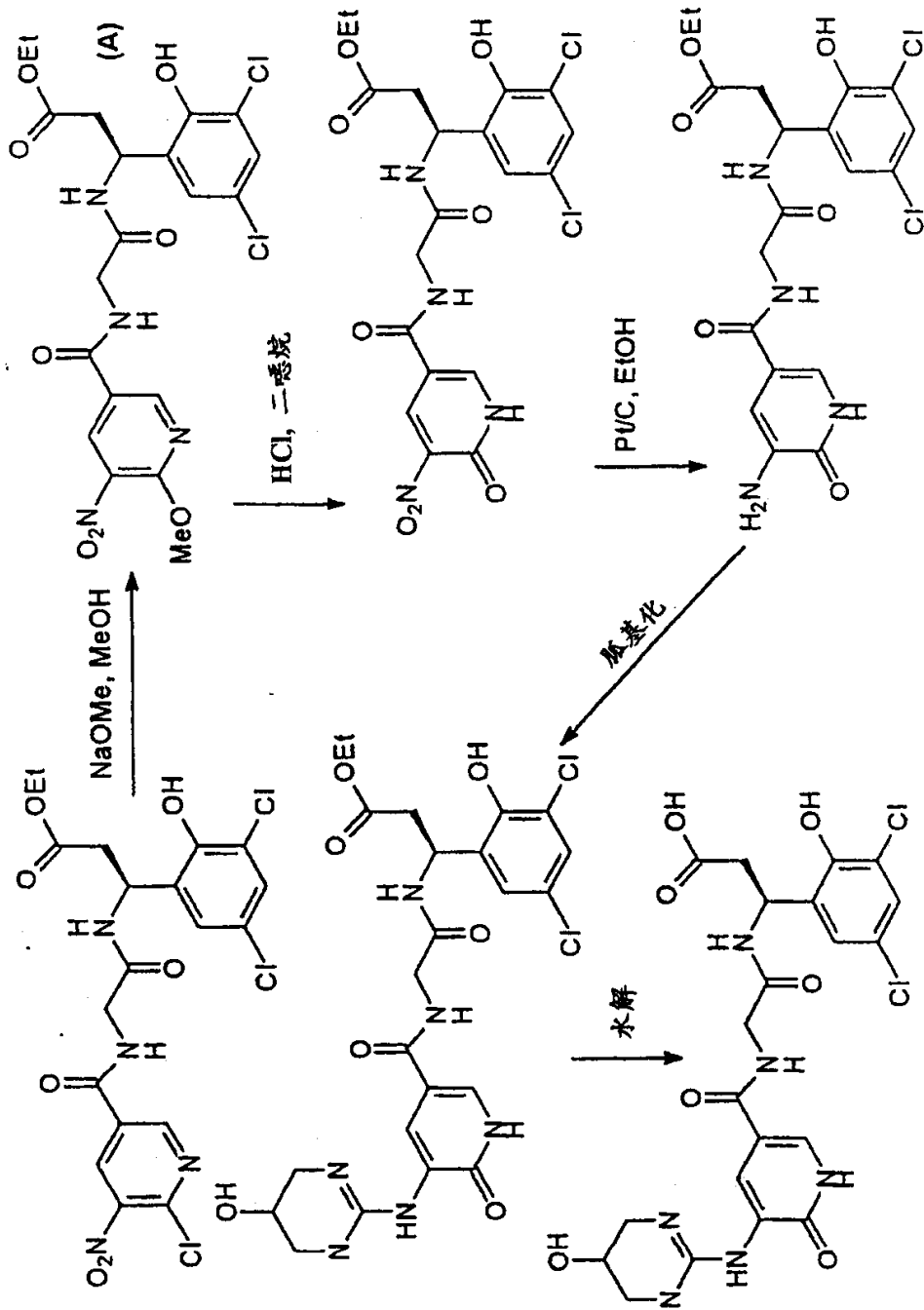
实测值: C, 41.57; H, 3.29; N, 12.92.

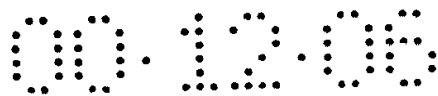
10 实施例 21

制备(3S)-N-[[1,6-二氢-6-氧代-5-[(1,4,5,6-四氢-5-羟基-2-嘧啶基)氨基]-3-吡啶基]羰基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸三氟乙酸盐

15

20





使用在实施例 17(步骤 1-3)中描述的反应顺序, 合成用在制备标题化合物中的起始原料。替代实施例 D 产物的实施例 G 的手性中间体被用于在步骤 3 中详述的偶合反应中。

步骤 1

5 使用实施例 17 步骤 4 中给出的方法, 制备(A)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

10 在 N₂ 下, 将步骤 1 的物料(2.7 g)在 4 N 的无水 HCl/二噁烷(100 ml)中的溶液温热至 45°C 反应 72 小时。将反应物浓缩至干, 得到淡棕色固体(2.6 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

15 在室温下, 于 5 磅/平方英寸的氢气氛下, 用催化量的 5% Pt/C 将来自步骤 2 的产物(1.85 g)在乙醇(50 ml)中的溶液处理 2 小时。过滤反应混合物并浓缩, 且使用反相 HPLC 纯化残余物, 得到白色固体(507 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 4

20 向步骤 3 的产物(500 mg)和实施例 4 步骤 1 的产物(650 mg)在 DMF(15 ml)中的溶液中加入三乙胺(304 mg)和氯化汞(408 mg)并在氮气下把该混合物加热至 100°C 反应 2 小时。将反应混合物冷却至室温并与乙酸乙酯(30 ml)一起搅拌 15 分钟, 然后过滤。浓缩滤液并且在室温下用 TFA(7 ml)和 CH₂Cl₂(7 ml)的溶液处理残余物 1 小时。浓缩混合物并使用先前描述的反相 HPLC 纯化残余物, 得到白色固体(400 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 5

25 在室温下, 将步骤 4 的产物(200 mg)、1 N 氢氧化钠(8 ml)和甲醇(8 ml)的溶液搅拌 16 小时。用 TFA(1 ml)猝灭该反应物并浓缩。使用先前描述的反相 HPLC 纯化残余物, 得到白色固体(79 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

对 $C_{21}H_{22}N_6O_7Cl_2 \cdot 1.5 TFA$ 的

分析计算值: C, 40.46; H, 3.32; N, 11.80;

实测值: C, 40.12; H, 3.57; N, 12.26.

实施例 22

制备 N-[[5-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-2-甲氧基-3-吡啶基]羰基]
甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)- β -丙氨酸(三氟乙酸)盐

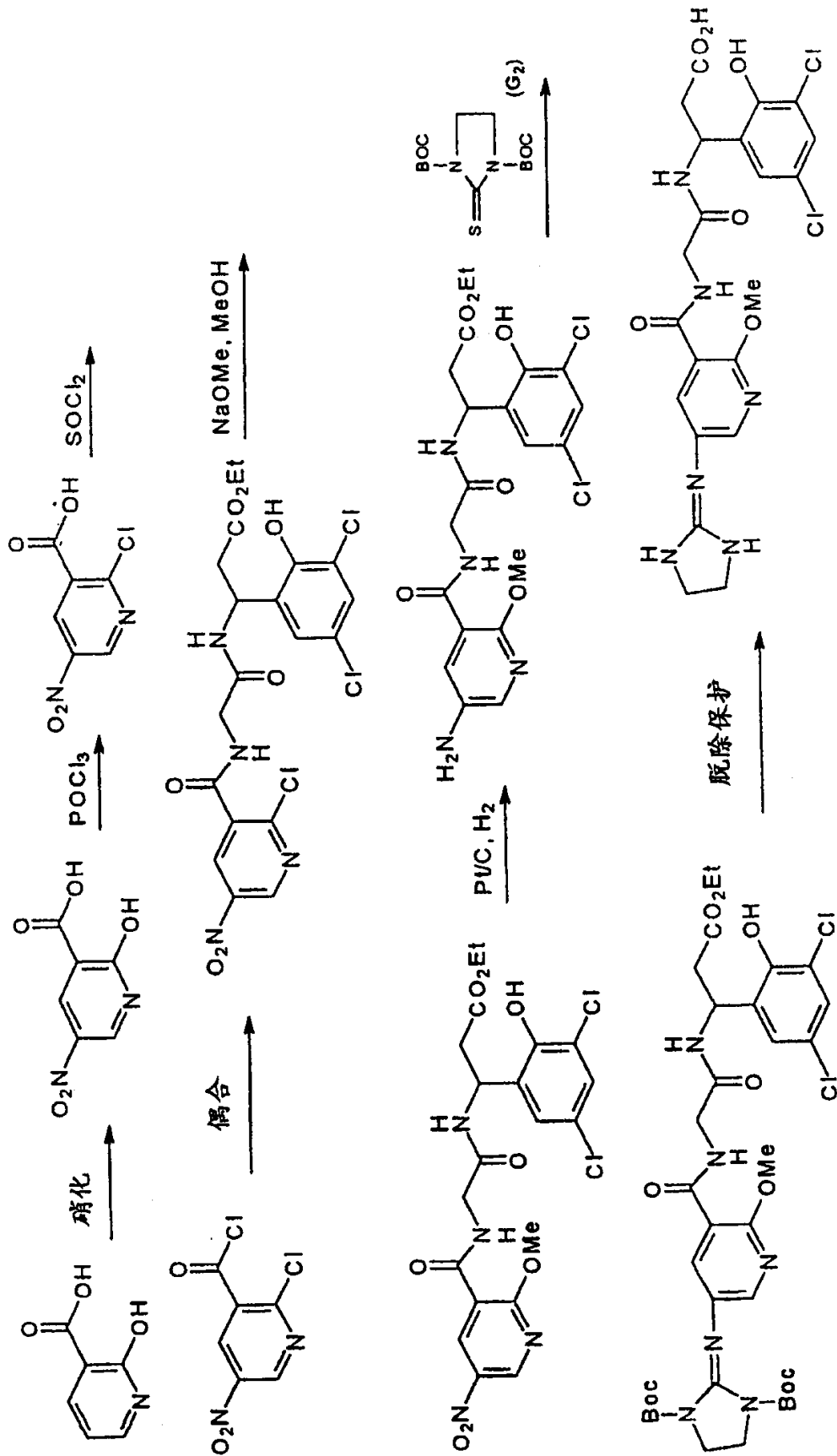
5

10

15

20

25



步骤 1

向 2-羟基烟酸(10.0 g, 71.9 mmol)在浓硫酸(28.6 ml)中的溶液中以滴加方式加入发烟硝酸(7.1 ml)。在 55°C 下, 将该反应混合物加热 4 小时。把冷却的反应混合物倾入到冰水上。产物作为黄色固体沉淀出来。过滤收集沉淀的固体, 用水洗涤并空气干燥, 得到要求的产物(7.2 g, 54%收率)。NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

将步骤 1 的产物(5.0 g, 27.2 mmol)在三氯化磷(13.5 g)中的溶液回流 4.5 小时。将冷却的反应混合物倾入到冰水(200 g)上。将生成的混合物搅拌 30 分钟并用四氢呋喃/乙酸乙酯(2/1)提取。用盐水洗涤有机层, 经 Na₂SO₄ 干燥并过滤。浓缩滤液得到油。用己烷/乙醚(4/1)的混合物处理油, 得到作为细黄色粉末的要求的产物(5.0 g, 91%收率)。NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

将步骤 2 的产物(3.1 g, 15.3 mmol)在亚硫酸酐(8.1 ml)中的溶液回流 4.5 小时。减压下从该反应混合物中除去剩余的亚硫酸酐, 得到浅棕色的油。真空干燥油, 得到作为黄色固体的产物(2.7 g, 79%收率)。NMR 与提出的结构相一致。

步骤 4

将二异丙基乙基胺(3.7 g, 4.9 ml)加入到实施例 D 的产物(5.5 g, 14.8 mmol)在 N,N-二甲基乙酰胺(40 ml)和四氢呋喃(15 ml)中的溶液中并把该反应混合物冷却至 -5°C。于 15 分钟内把步骤 3 的产物(3.1 g, 14.1 mmol)在四氢呋喃(25 ml)中的溶液加入到反应液中。在 -5°C 下, 将反应物搅拌 30 分钟并使其温热至室温。3 小时后, 减压下从该反应混合物中除去四氢呋喃。将反应混合物倾入到冰水上。过滤收集沉淀的固体, 用水洗涤并空气干燥, 得到作为黄色固体的产物(6.2 g, 85%收率)。NMR 与提出的结构相一致。

步骤 5

在 0℃ 下, 将步骤 4 的产物(4.0 g, 7.7 mmol)和甲醇钠(1.67 g, 30.8 mmol)在甲醇(45 ml)中的溶液搅拌 4 小时。用乙酸中和反应物。从反应混合物中除去甲醇并经层析法(硅胶, 乙酸乙酯-甲苯, 6/4)纯化粗品混合物, 得到作为黄色固体的要求的产物(2.5 g, 67%收率)。NMR 与提出的结构相一致。

步骤 6

在室温下, 于 5 磅/平方英寸压力下, 用 H₂ 将来自步骤 5 的产物(0.99 g, 1.9 mmol)、3%披铂炭和甲醇的混合物处理 16 小时。过滤除去铂催化剂。减压下除去甲醇, 得到作为黄色固体的要求的产物(0.62 g, 70%收率)。其无需进一步纯化即可用于下一步反应。NMR 与提出的结构相一致。

步骤 7

在 90-5℃ 下, 将步骤 6 的产物(0.26 g, 0.54 mmol)、G₂(0.18 g, 0.59 mmol)、三乙胺(0.25 g, 1.78 mmol)、氯化汞(II)(0.16 g, 0.59 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(15 ml)的混合物加热 16 小时。将冷却的反应混合物通过短硅藻土柱过滤, 用乙酸乙酯(40 ml)和二氯甲烷(30 ml)先后洗脱。把粗品混合物层析(硅胶, CH₂Cl₂-CH₃OH-NH₄OH, 95/5/0.5), 得到黄色固体的产物(0.31 g, 76%收率)。NMR 与提出的结构相一致。

步骤 8

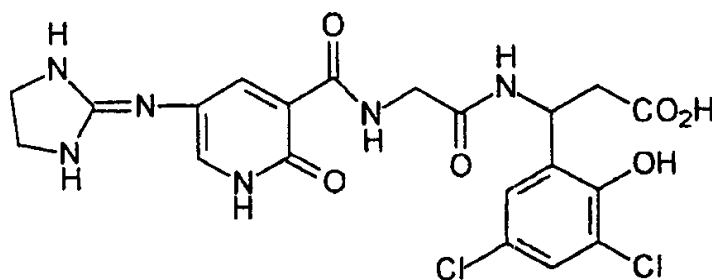
在室温下, 把步骤 7 的产物(0.31 g, 0.41 mmol)、三氟乙酸(3.5 ml)和二氯甲烷(7.0 ml)的溶液搅拌 2 小时。减压除去三氟乙酸和二氯甲烷并在室温下用甲醇(5 ml)和氢氧化钠溶液(2 N, 2.5 ml)把该粗品混合物处理 18 小时。加入乙酸以中和氢氧化钠。除去甲醇, 得到粗品混合物。使用反相 HPLC 纯化粗品混合物, 得到作为白色固体的以上化合物(0.10 g, 36%收率)。

对 C₂₁H₂₂N₆O₆Cl₂ · 1.3 CF₃COOH · 0.25 H₂O 的分析计算值: C, 41.80; H, 3.54; N, 12.39; Cl, 10.46;

实测值: C, 42.12; H, 3.84; N, 11.87; Cl, 10.99.

实施例 23

制备 N-[[5-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-1,2-二氢-2-氧代-3-吡啶基]-羧基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸(三氟乙酸)盐



5 在室温下,用 6 N HCl(6 ml)将实施例 22 步骤 7 的产物(0.21 g, 0.28 mmol)在二噁烷(4 ml)中的溶液处理 72 小时。减压下除去溶剂,并使用乙腈-水作为洗脱剂,于反相 HPLC 上纯化粗品混合物,得到作为灰白色固体的要求的化合物(0.052 g, 27%收率)。

对 $C_{20}H_{20}N_6O_6Cl_2 \cdot 1.6 CF_3COOH$ 的

分析计算值: C, 40.17; H, 3.14; N, 12.11;

实测值: C, 40.10; H, 3.22; N, 11.84.

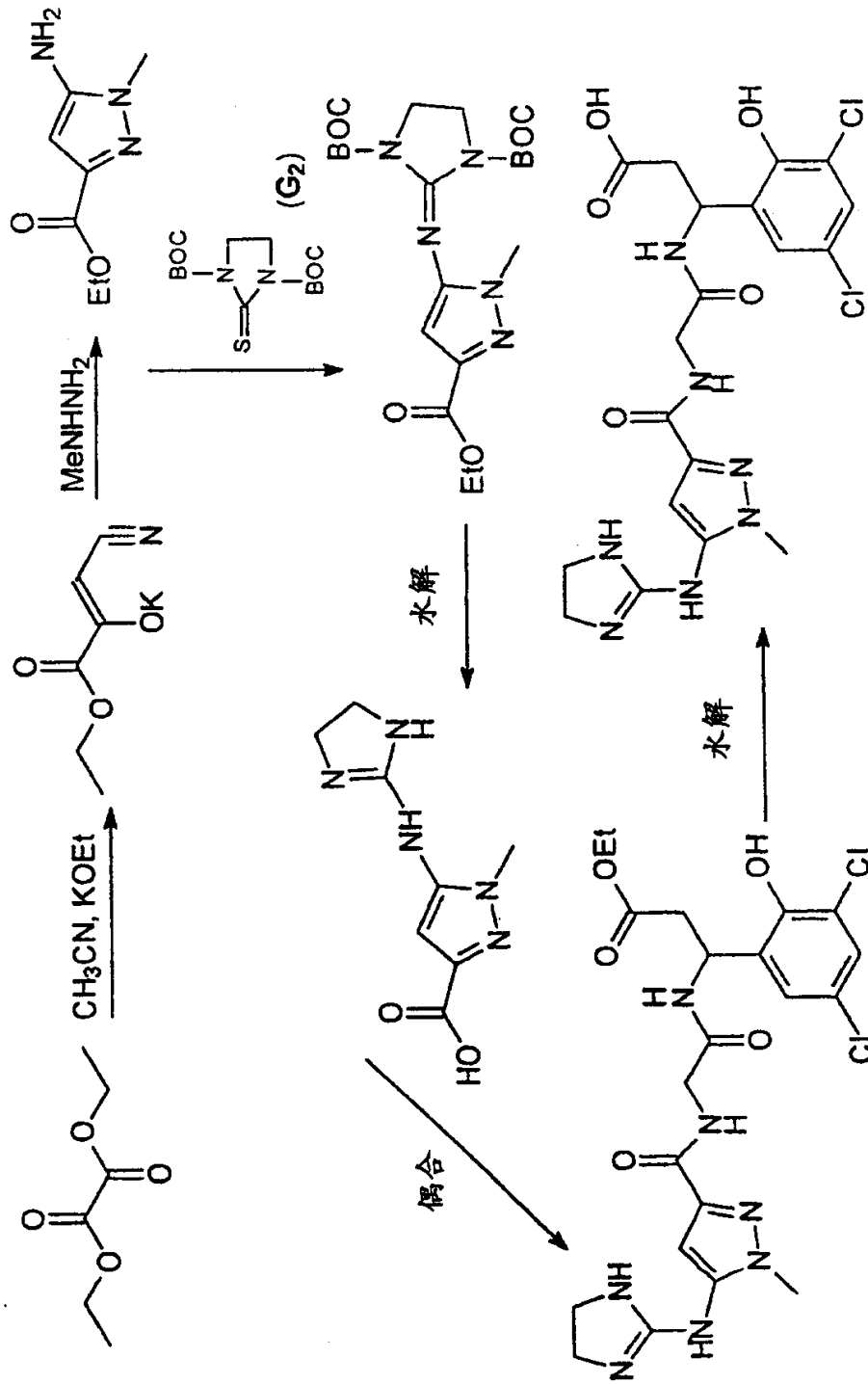
10

实施例 24

制备 N-[[5-[(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-1-甲基-1H-吡唑-3-基]羧基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸(三氟乙酸)盐

15

20





按照文献方法，实施合成目标化合物的步骤 1 和 2(分别为 Justus Liebigs. Ann. Chem, 512, 97, 1934 和 J. Heterocyclic Chem. 21, 737, 1994).

步骤 3

5 向步骤 2 的产物(0.9 g, 5.3 mmol)和 G_2 (1.9 g, 5.9 mmol)在 DMF(25 ml)中的溶液中加入三乙胺(2.5 ml, 17.6 mmol)和氯化汞(1.6 g, 5.9 mmol)。在 80-85°C 下把该混合物加热 18 小时后，使该反应混合物冷却并通过硅藻土柱过滤。用二氯甲烷洗涤残余物并浓缩合并的部分。将残余物重新溶解于二氯甲烷中并用水和盐水洗涤。在经硫酸钠干燥后，
10 过滤混合物并浓缩。使用硅胶层析法(己烷/乙酸乙酯 1/1)纯化粗品橙色固体(1.8 g)，得到作为灰白色固体的 N-叔丁氧基羰基保护的产物(1.4 g)。

步骤 4

15 向步骤 3 的产物(2.4 g, 5.5 mmol)在乙醇(50 ml)中的溶液中加入氢氧化锂水溶液(526 mg 在 5 ml 水中)。在室温下，将反应混合物搅拌 24 小时。向反应物中加入乙酸(22 ml)并把混合物搅拌 15 分钟。减压下除去溶剂后，在反相 HPLC(含有三氟乙酸的乙腈/水)上纯化该粗品混合物，得到作为粘稠白色液体的 TFA 盐的产物。用氯化氢(4 M 在二噁烷中的溶液)处理残余物并搅拌 10 分钟。浓缩反应物以除去溶
20 剂并将该过程重复两次，得到作为白色固体的要求的产物(3.9 g)。无需进一步纯化，将所述产物用于下一步。

步骤 5

25 在 0°C 下，向步骤 4 的产物(0.9 g, 3.7 mmol)在 DMF(15 ml)中的溶液中依次加入 N-甲基吗啉(605 ml, 5.5 mmol)和氯甲酸异丁酯(475 ml, 3.7 mmol)。在搅拌 5 分钟后，将步骤 D 的产物在含有 N-甲基吗啉(605 ml, 5.5 mmol)的 DMF(10 ml)中的溶液注射到反应液中。在 0°C 下，将混合物搅拌 1 小时并在室温下搅拌 36 小时。减压下除去溶剂并在反相 HPLC(含有三氟乙酸的乙腈/水)上纯化残余物，得到作为

TFA 盐的产物(525 mg).

步骤 6

5 向步骤 5 的产物(540 mg, 1 mmol)在乙醇(50 ml)中的溶液中加入氢氧化锂水溶液(144 mg 在 10 ml 水中)。在室温下, 将反应混合物搅拌 24 小时。向反应物中加入乙酸(305 ml)并把混合物搅拌 15 分钟。减压下除去溶剂后, 在反相 HPLC(含有三氟乙酸的乙腈/水)上纯化该粗品混合物, 得到作为 TFA 盐的要求的产物(486 mg, 75%收率)。

对 $C_{19}H_{21}N_7O_5Cl_2 \cdot 1.5 CF_3CO_2H$ 的

分析计算值: C, 39.48; H, 3.39; N, 14.65;

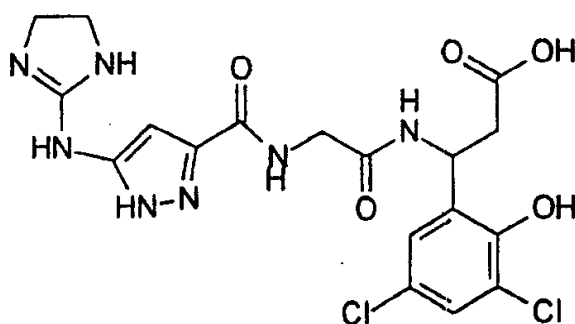
实测值: C, 39.29; H, 3.14; N, 14.72.

NMR 和 MS 与要求的结构相一致。

10

实施例 25

制备 N-[[5-[(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)氨基]-1H-吡唑-3-基]羰基]甘氨酸-3-(3,5-二氯-2-羟基苯基)-β-丙氨酸(三氟乙酸)盐



15

使用苄基胍替代在步骤 2 中的甲基胍, 如同在实施例 24 中描述的那样, 合成所述化合物。在最后一步使用催化氢化条件(5% Pd/C, 20 磅/平方英寸, 室温, 26 小时)将生成的 N-苄基吡唑化合物脱除保护。使用乙酸-三氟乙酸(4/1)作为溶剂, 进行这个反应。

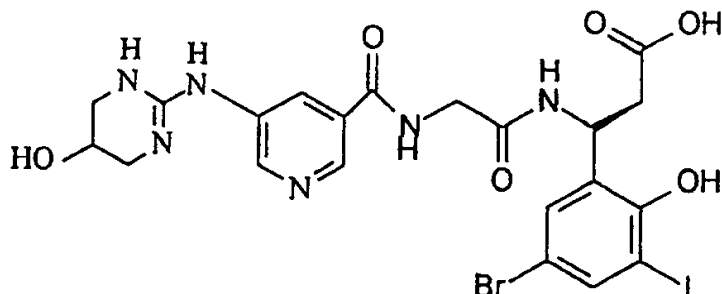
对 $C_{18}H_{19}N_7O_5Cl_2 \cdot 1.75 CF_3CO_2H \cdot 1.25 H_2O$ 的

分析计算值: C, 36.56; H, 3.32; N, 13.88;

实测值: C, 36.35; H, 2.96; N, 14.28.

NMR 和 MS 与要求的结构相一致。

实施例 26

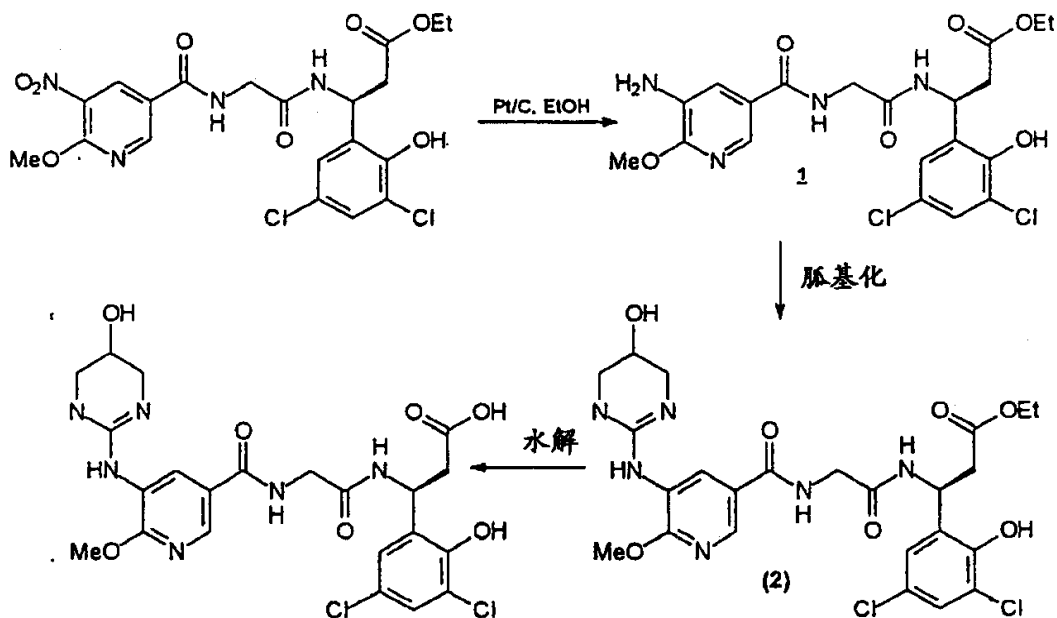


除了使用实施例 S 的产物替代实施例 R 步骤 4 的产物以外，如同在实施例 9 中描述的那样，制备以上化合物。

对 $C_{21}H_{22}BrIN_6O_6 \cdot 2 CF_3COOH \cdot 0.25 H_2O$ 的分析计算值: C, 33.60; H, 2.76; N, 9.40;

实测值: C, 34.23; H, 2.35; N, 9.72。

实施例 27



10

使用实施例 21 步骤 1 的方法，合成在这个制备中所需要的起始原料。

步骤 1

在室温下, 于 5 磅/平方英寸压力的氢气下, 用催化量的 5% Pt/C 将起始原料(1.4 g)在乙醇(50 ml)中的溶液处理 5 小时。过滤该反应混合物, 浓缩并干燥, 得到白色固体(1.1 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

5

步骤 2

按照在实施例 21 步骤 4 中给出的实验方法, 制备化合物 2。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

按照在实施例 21 步骤 5 中给出的实验方法, 使产物 2 的酯基团水解。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

10

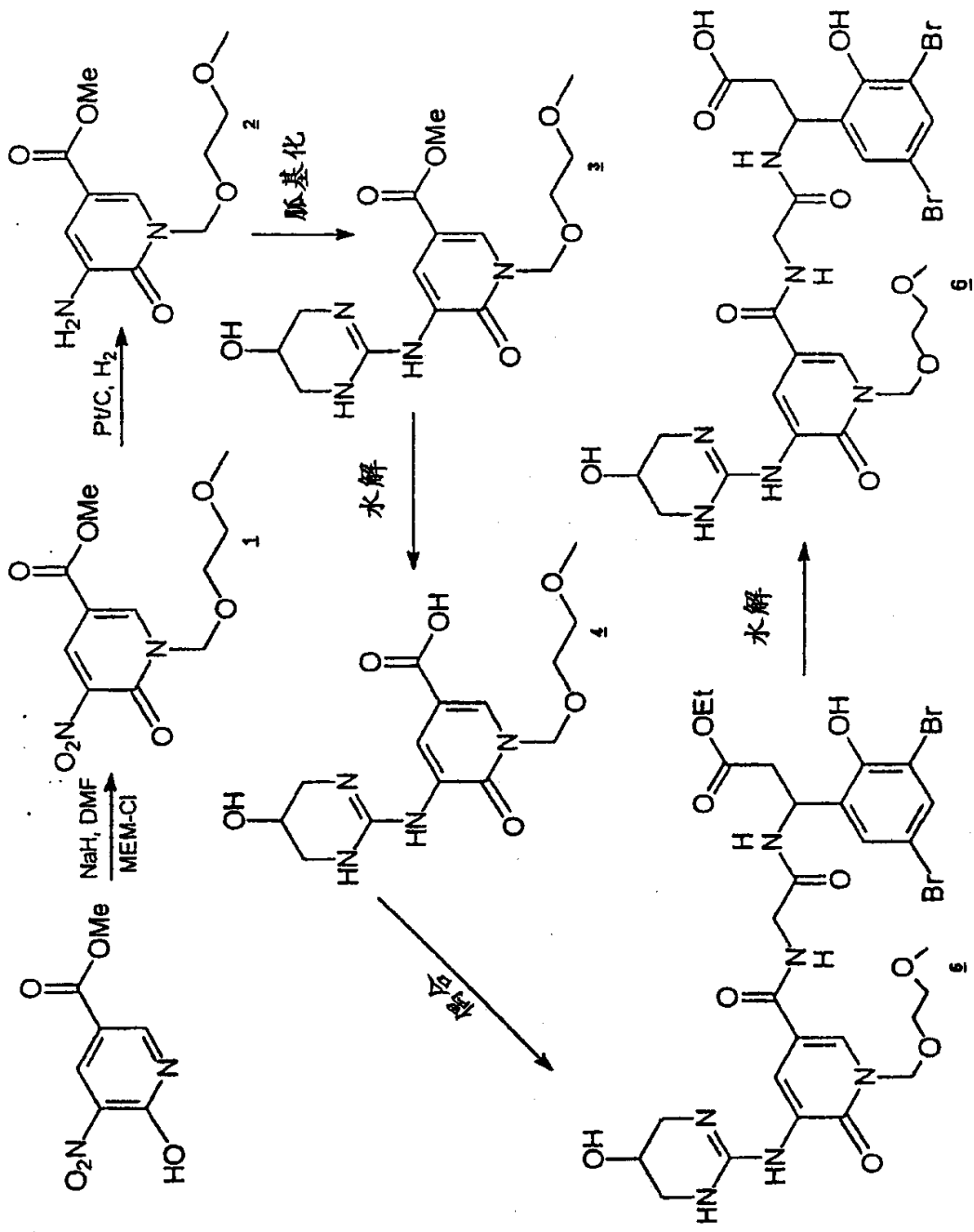
对 $C_{22}H_{24}N_6O_7Cl_2 \cdot 1.50 \text{ TFA} \cdot 0.25 \text{ H}_2\text{O}$ 的分析计算值: C, 41.08; H, 3.59; N, 11.50;
实测值: C, 41.03; H, 3.69; N, 11.45。

实施例 28

15

20

25



如同在实施例 18 步骤 1 中描述的那样，制备在这个制备中所需要的起始原料。

步骤 1

除了 2-甲氧基乙氧基甲基氯替代碘甲烷用作烷基化试剂以外，
5 按照在实施例 18 步骤 2 中给出的方法，制备化合物 1。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

在室温下，于 5 磅/平方英寸的氢气下，以催化量的 5% Pt/C 将
10 步骤 1 中描述的产物(4.6 g)在甲醇(50 ml)中的溶液处理 2 小时。过滤该反应混合物，浓缩并干燥，得到粘性的油(4.3 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

使用在实施例 21 步骤 4 中描述的反应条件，使一份步骤 2 的产
15 物(2.0 g)胍基化，得到作为粘性金黄色油的产物 3(890 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 4

使用在实施例 21 步骤 5 中给出的实验方法，使产物 3 的酯基团
水解。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 5

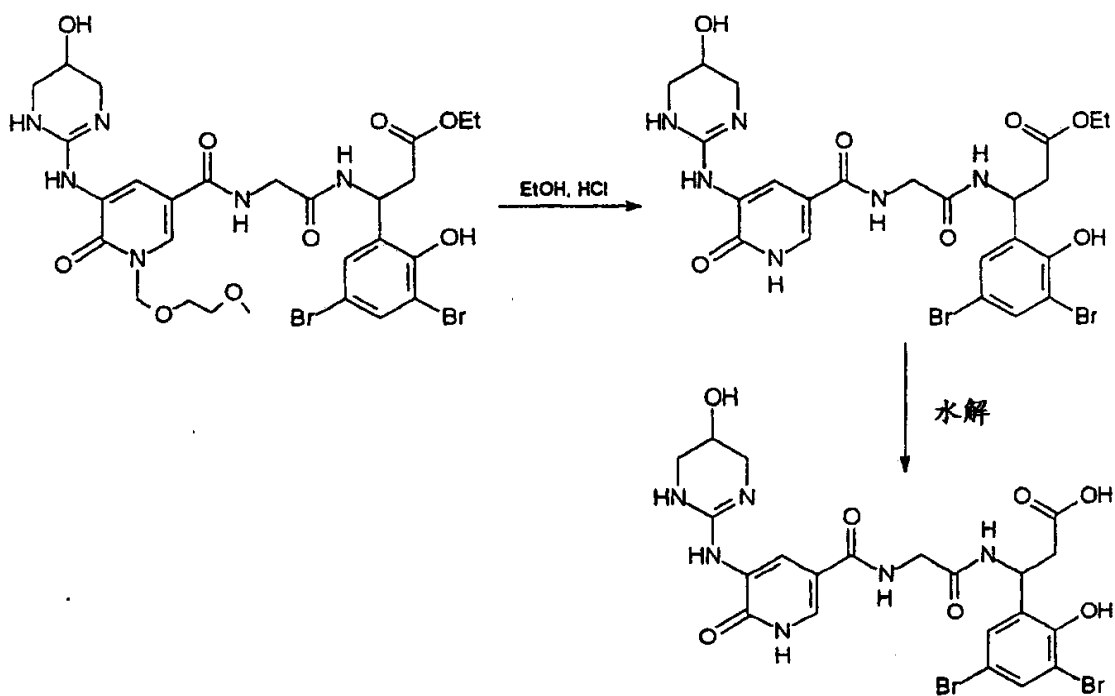
20 按照实施例 12 步骤 4 中给出的方法，将步骤 4 的产物偶合于实施例 1 的产物。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 6

按照在实施例 21 步骤 5 中给出的方法，使步骤 5 产物的酯基团
水解。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

25 对 $C_{25}H_{31}N_6O_9Br_2 \cdot 1.75 TFA \cdot 0.25 H_2O$ 的
分析计算值: C, 37.07; H, 3.63; N, 9.10;
实测值: C, 36.86; H, 3.66; N, 9.39。

实施例 29



在这个方法中，实施例 28 步骤 5 的产物用作起始原料。

步骤 1

- 5 在室温下，用无水 HCl 在乙醇(10 ml)中的饱和溶液将一份起始原料(425 mg)处理 4 小时。将该反应混合物浓缩至干并且不经纯化把该产物用于下一步。

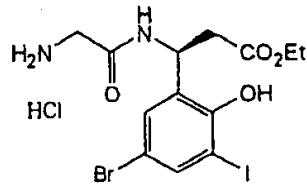
步骤 2

- 10 按照实施例 21 步骤 5 中的方法，将来自步骤 1 的粗品产物的酯基团水解。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

对 $C_{21}H_{22}N_6O_7Br_2 \cdot 1.75 TFA \cdot 0.25 H_2O$ 的分析计算值: C, 35.27; H, 2.93; N, 10.07;

实测值: C, 35.21; H, 3.16; N, 10.27。

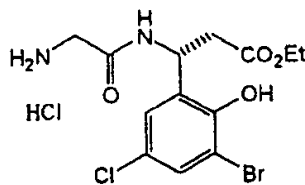
实施例 S



按照在实施例 G 中描述的方法，制备以上化合物。在步骤 2A 中，使用 3-碘代-5-溴代水杨醛替代 3,5-二氯水杨醛。

5

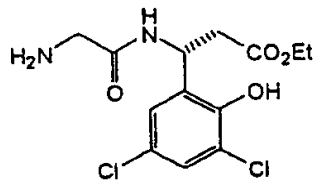
实施例 T



按照在实施例 G 中描述的方法，制备以上化合物。在步骤 2A 中，使用 3-溴-5-氯代水杨醛替代 3,5-二氯代水杨醛。相似地，在步骤 2B 中，使用 R-苯基甘氨酸替代 S-苯基甘氨酸。

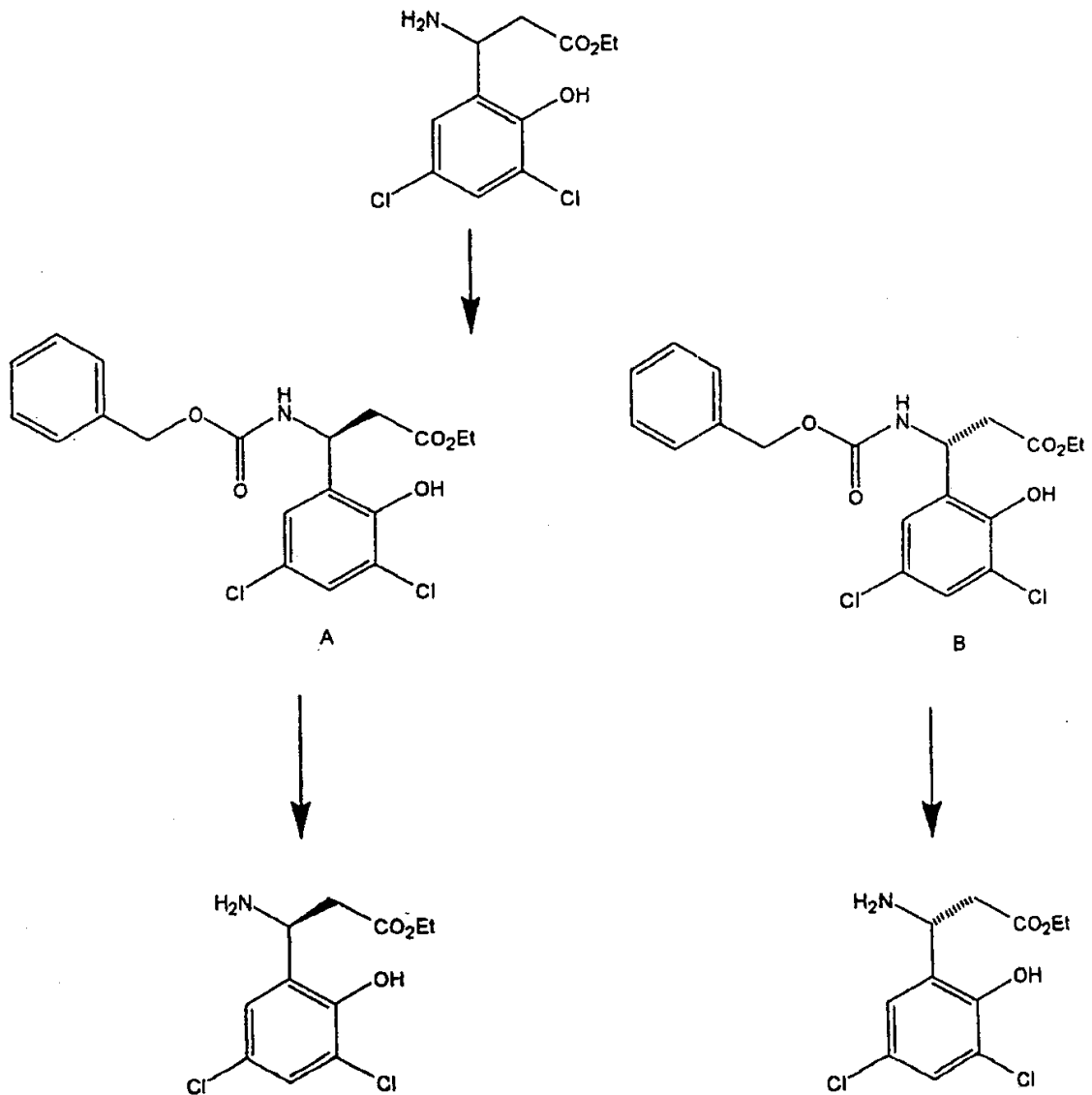
10

实施例 U



15

按照在实施例 D 中描述的方法，制备以上化合物。如同以下描述的那样，拆分在步骤 2 中得到的外消旋混合物。



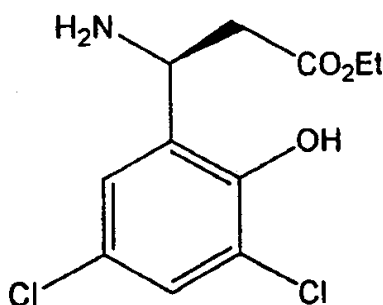
步骤 1

5 向在 CH_2Cl_2 (500 mL) 和水 (380 mL) 中的从实施例 D 步骤 2 中得到的外消旋氨基酯盐酸盐 (50.0 g, 158.9 mmol) 中加入 NaHCO_3 (38.2 g, 454.5 mmol)。在室温下，将该混合物搅拌 10 分钟，伴随剧烈气体逸出。伴随快速搅拌下，于 20 分钟内加入氯甲酸苄酯 (43.4 g, 222.8 mmol) 在 CH_2Cl_2 (435 mL) 中的溶液。40 分钟后，把反应混合物倾入到分液漏斗中并收集有机溶液。用 CH_2Cl_2 (170 mL) 洗涤水相。干燥 (MgSO_4) 合并的有机溶液并真空浓缩。用己烷研磨生成的胶状固体并经过滤

10 收集。真空干燥褐色固体，得到要求的外消旋产物 (62.9 g, 96% 收率)。

使用手性柱使该物料经受反相 HPLC, 得到每一个纯的对映体 A 和 B. 所使用的柱为 10 微米粒度的 Whelk-O(R,R), 使用 90:10 庚烷:乙醇的流动相. 使用具有相似的溶剂和条件的分析型 HPLC 测量光学纯度是 >98%. $^1\text{H NMR}$ 与提出的结构相一致.

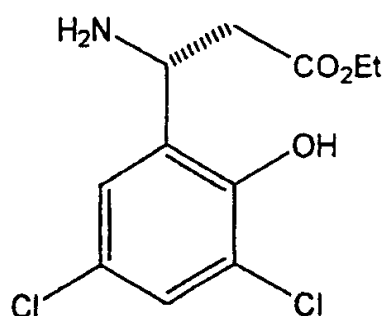
5 步骤 2A



10 向步骤 1 的对映体 A(57.9 g, 140.4 mmol)在 CH_2Cl_2 (600 ml)中的溶液中借助加料管加入在 CH_2Cl_2 (125 ml)中的三甲基甲硅烷基碘(33.7 g, 168.5 mmol). 在室温下, 将该橙色溶液搅拌 1 小时. 滴加入甲醇(27.3 mL, 674.1 mmol)并把该溶液搅拌 15 分钟. 真空浓缩反应溶液, 得到橙色的油. 将残余物溶于甲基叔丁基醚(670 ml)中并用 1 M HCl(420 mL)和水(1X230 mL, 1X130 mL)提取. 用 MTBE(130 mL)回洗水提取液.

15 向该水溶液中分小批加入固体 NaHCO_3 (52.9 g, 630 mmol). 用 MTBE(1X1.2 L, 2X265 mL)提取碱化的含水混合物. 用盐水洗涤合并的有机溶液并真空浓缩, 得到要求的产物, (28.6 g, 73%收率). $^1\text{H NMR}$ 与提出的结构相一致.

步骤 2B



向步骤 1 的对映体 B、实施例 1 化合物(38.5 g, 93.4 mmol)在
 CH₂Cl₂(380 ml)中的溶液中借助加料管加入在 CH₂Cl₂(80 ml)中的三甲
 5 基甲硅烷基碘(25.0 g, 125.0 mmol)。在室温下, 将该橙色溶液搅拌 1.5
 小时, 滴加入甲醇(20.0 mL, 500.0 mmol)并把该溶液搅拌 20 分钟。真
 空浓缩反应物溶液, 得到橙色的油。将残余物溶于乙醚(450 ml)中并
 用 1 M HCl(320 mL)和水(1X200 mL, 1X100 mL)提取。用乙醚(100 mL)
 10 回洗水提取液。向该水溶液中分小批加入固体 NaHCO₃(40.1 g, 478
 mmol)。用乙醚(1X1.0 L, 2X200 mL)提取碱化的含水混合物。用盐水
 洗涤合并的有机溶液并真空浓缩, 得到要求的产物(20.8 g, 80%收
 率)。

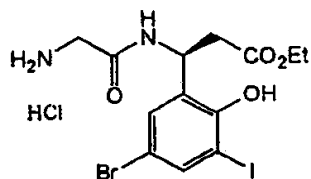
对 C₁₁H₁₃Cl₂NO₃ 的

分析计算值: C, 47.50; H, 4.71; N, 5.04;

实测值: C, 47.11; H, 4.66; N, 4.93。

15 通过使用在实施例 G 的步骤 4 和 5 中描述的试剂和条件, 将步
 骤 2B 的产物转化为目标中间体。

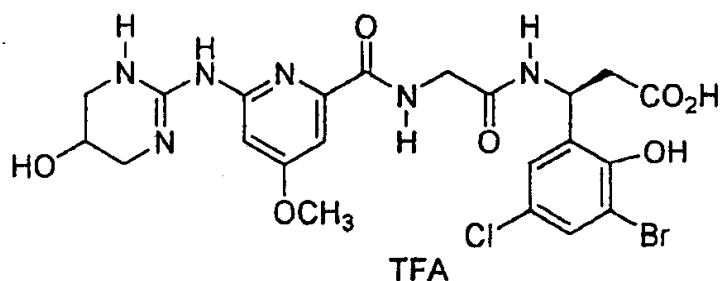
实施例 V



按照在实施例 G 中描述的方法，制备以上化合物，在步骤 2A 中，使用 5-溴-3-碘代苯甲醛替代 3,5-二氯水杨醛。

5

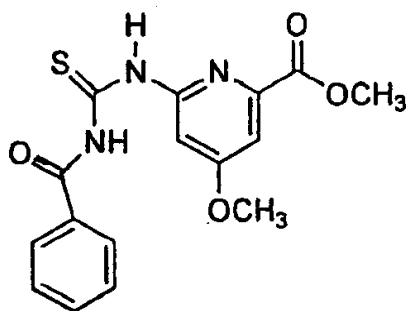
实施例 30



步骤 1

制备

10



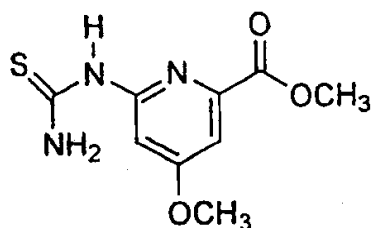
向搅拌着的 4-甲氧基-2-氨基吡啶甲酸甲酯(602 mg, 3.3 mmol)(JACS, 78, 4130, 1956)在 CH_2Cl_2 (20 ml)中的溶液中加入苯甲酰基异硫氰酸酯(1 ml, Aldrich)，并在室温下将该反应混合物搅拌 90 分钟。用乙醚(20 ml)稀释混合物。在冰浴上冷却混合物并过滤固体且

15

用乙醚洗涤,干燥,得到作为白色固体的要求的化合物(828 mg, 73.27%收率): $^1\text{H NMR}$: 300 MHz 与提出的结构相一致。

步骤 2

制备



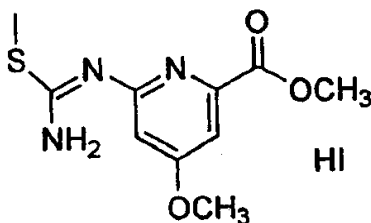
5

在氮气氛下,向搅拌着的步骤 1 的产物(750 mg, 2.17 mmol)在甲醇(30 ml)中的溶液中加入 NaOMe(538 mg). 在室温下,把该反应混合物搅拌 2 小时. 用冰乙酸(0.575 ml)猝灭该混合物,并在室温下搅拌 15 分钟. 真空过滤固体,用冷的甲醇洗涤并干燥,得到作为白色固体的要求的化合物(385 mg, 73%收率): $^1\text{H NMR}$: 300 MHz 与提出的结构相一致。

10

步骤 3

制备



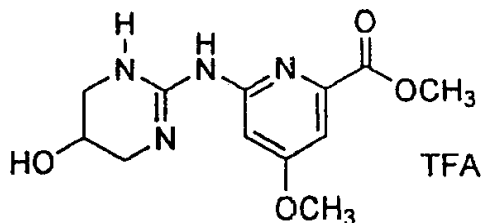
15

向搅拌着的步骤 2 的产物(364 mg, 1.5 mmol)在甲醇(20 ml)中的溶液中加入碘甲烷(0.25 ml). 将该反应混合物加热回流 2 小时. 把该混合物冷却至室温并浓缩,得到作为白色固体的要求的化合物(560 mg): $^1\text{H NMR}$: 300 MHz 与提出的结构相一致。

20

步骤 4

制备

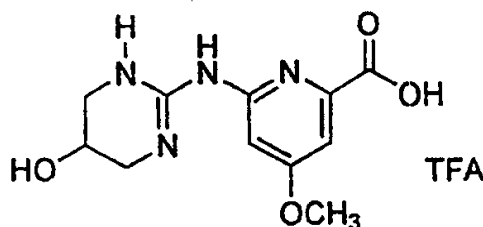


5 向搅拌着的步骤 3 的产物(500 mg, 1.30 mmol)在 N,N-二甲基乙酰胺(10 ml)中的溶液中加入 1,3-二氨基-2-羟基丙烷(123 mg, 1.37 mmol)。将该反应混合物加热至 90℃ 反应 2 小时。真空浓缩混合物, 得到粗品产物, 其经反相 HPLC 纯化, 得到作为白色固体的要求的化合物(228 mg): $^1\text{H NMR}$: 300 MHz 与提出的结构相一致。

步骤 5

10

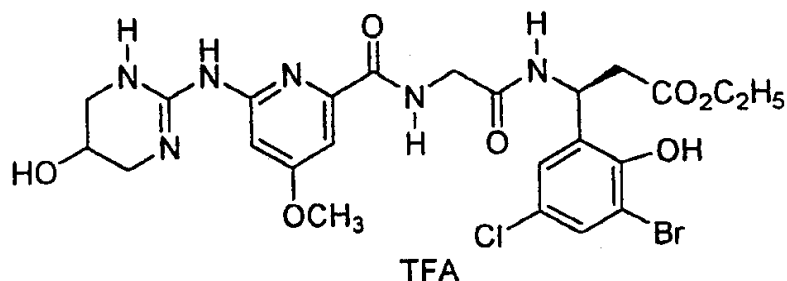
制备



15 向搅拌着的步骤 4 的产物(200 mg)在甲醇(3 ml)和 THF(3 ml)中的溶液中加入 1 N NaOH 溶液(3 ml)。在室温下, 将该反应混合物搅拌 1 小时。真空浓缩混合物, 得到油状胶, 用水(2 ml)处理, 并用 1 N HCl(3 ml)中和。真空浓缩混合物, 得到粗品产物, 其经反相 HPLC 纯化, 得到作为白色固体的要求的化合物(228 mg)。 $^1\text{H NMR}$: 300 MHz 与提出的结构相一致。

步骤 6

制备

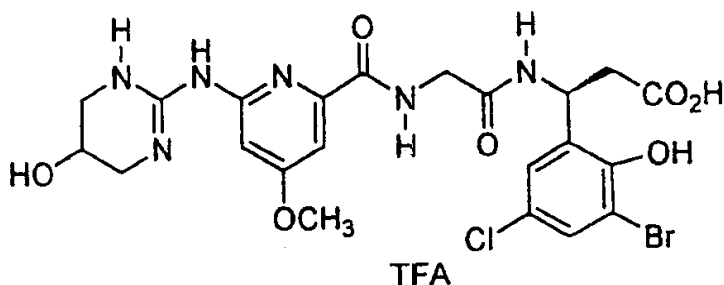


5 向搅拌着的步骤 5 的产物(151.25 mg, 0.5 mmol)在 N,N-二甲基乙酰胺(5 ml)中的溶液中加入 4-甲基吗啉(202 mg, 2 mmol)和 1-羟基苯并三唑(67 mg, 0.5 mmol)及实施例 R 的氨基酯产物(208.5 mg, 0.5 mmol)。在室温下, 将该混合物搅拌 5 分钟。用 1-[3-(二甲基氨基)丙基-3-乙基碳二亚胺(96 mg, 0.5 mmol)和 4-(二甲基氨基)吡啶(10 mg)处理反应混合物。在氮气氛围下, 在室温下把反应混合物搅拌 72 小时。

10 用水(1 ml)猝灭反应混合物并真空浓缩, 得到粗品产物, 其经反相 HPLC 纯化, 得到作为白色固体的要求的化合物(42 mg): $^1\text{H NMR}$: 400 MHz 与提出的结构相一致。

步骤 7

制备



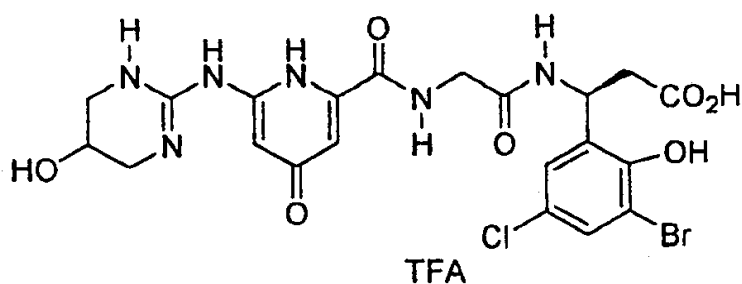
15

向搅拌着的步骤 6 的产物(35 mg)在甲醇(3 ml)和 THF(3 ml)中的溶液中加入 1 N NaOH 溶液(3 ml)。在室温下, 将该反应混合物搅拌 1 小时。真空浓缩混合物, 得到油状物, 用水(2 ml)处理, 并用 1 N HCl(3

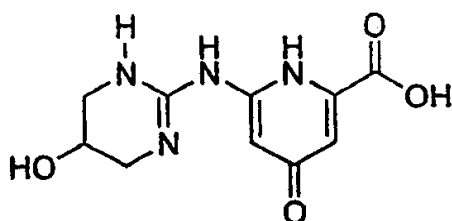
ml)中和。真空浓缩混合物，得到粗品产物，其经反相 HPLC 纯化，得到作为白色固体的要求的化合物(22 mg)。¹H NMR: 400 MHz 与提出的结构相一致。

对 C₂₂H₂₄N₆O₇BrCl · 2TFA, 0.5H₂O 的分析计算值: C, 37.22; H, 3.25; N, 10.04; 实测值: C, 36.91; H, 3.17; N, 10.02。

实施例 31



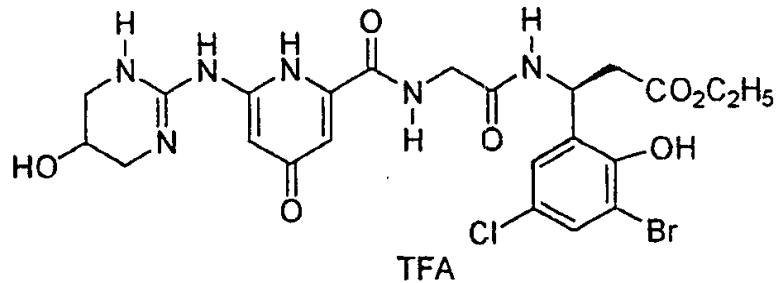
步骤 1 制备



向搅拌着的实施例 30 步骤 4 的产物(900 mg)在冰乙酸(10 ml)中的溶液中加入 48% HBr(10 ml)。将该反应混合物加热回流 3 小时。把混合物冷却至室温并在室温下搅拌 18 小时。真空浓缩混合物，得到粗品产物，其经反相 HPLC 纯化，得到作为油状胶的要求的化合物(720 mg)。¹H NMR: 300 MHz 与提出的结构相一致。

步骤 2

制备

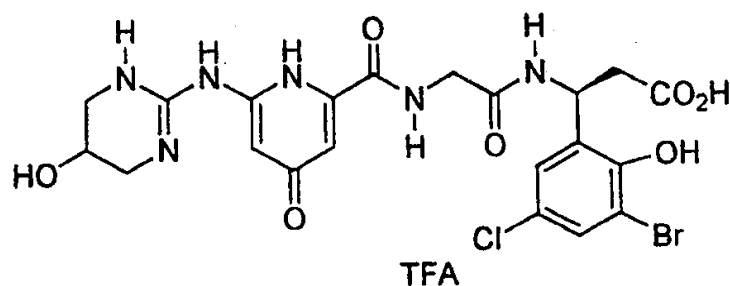


5 向搅拌着的步骤 1 的产物(720 mg, 1.7 mmol)在 *N,N*-二甲基乙酰胺(10 ml)中的溶液中加入 4-甲基吗啉(520 mg, 5.2 mmol)和 1-羟基苯并三唑(221 mg, 1.71 mmol)及实施例 R 的氨基酯产物(710 mg, 1.71 mmol)。在室温下, 将该混合物搅拌 5 分钟。用 1-[3-(二甲基氨基)丙基-3-乙基碳二亚胺(211 mg, 1.7 mmol)和 4-(二甲基氨基)吡啶(10 mg)处理反应混合物。在氮气氛下, 在室温下把反应混合物搅拌 72 小时。

10 用水(1 ml)猝灭反应混合物并真空浓缩, 得到粗品产物, 其经反相 HPLC 纯化, 得到作为白色固体的要求的化合物(182 mg)。¹H NMR: 300 MHz 与提出的结构相一致。

步骤 3

制备



15

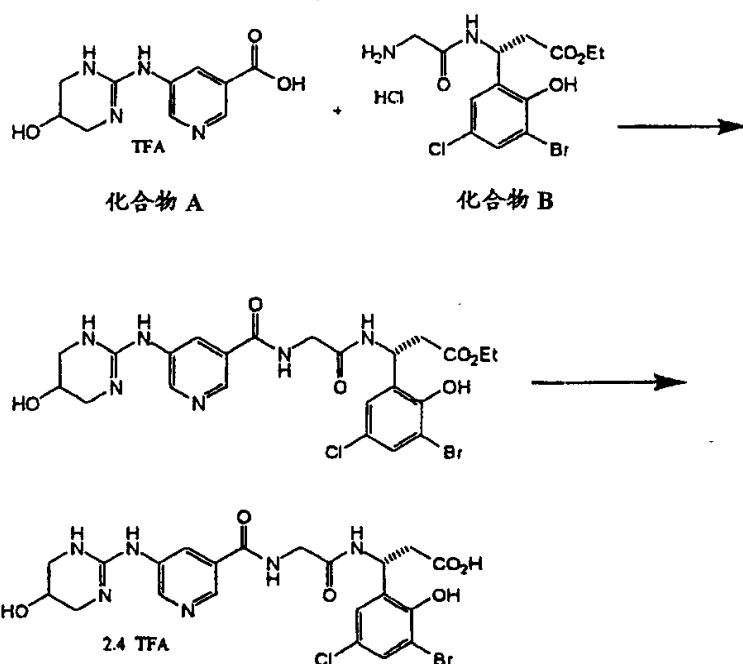
向搅拌着的步骤 2 的产物(100 mg)在甲醇(3 ml)和 THF(3 ml)中的溶液中加入 1 N NaOH 溶液(3 ml)。在室温下, 将该反应混合物搅拌 1 小时。真空浓缩混合物, 得到油状胶, 用水(2 ml)处理, 并用 1 N HCl(3

ml)中和。真空浓缩混合物，得到粗品产物，其经反相 HPLC 纯化，得到作为白色固体的要求的化合物(42 mg)。¹H NMR: 300 MHz 与提出的结构相一致。

对 $C_{21}H_{22}N_6O_7BrCl \cdot 1.5TFA, 0.5H_2O$ 的分析计算值: C, 37.64; H, 3.22; N, 10.97; 实测值: C, 37.56; H, 3.05; N, 10.99。

5

实施例 32



10

在 0°C 下，向实施例 9 步骤 3 的产物(860 mg, 2.45 mmol)和实施例 T 的产物(1.0 g, 2.41 mmol)在二甲基乙酰胺(24 mL)中的溶液中加入 HOBT(358 mg, 2.64 mmol)随后加入 N-甲基吗啉(0.6 mL, 5.15 mmol)。将该反应物溶液搅拌 15 分钟并加入 EDC(470 mg, 2.45 mmol)。把该混合物温热至室温过夜。真空浓缩混合物并将残余物在乙酸乙酯和水之间分配。用乙酸乙酯提取水溶液，干燥(Na_2SO_4)合并的有机层并且浓缩。经反相 HPLC(90:10 水/TFA:MeCN 开始梯度洗脱，保留时间 22.5 min)纯化残余物，得到含有回收的化合物 B(480 mg)的要求的偶合产物。用 1 M NaOH 水溶液(6 mL)处理物料(化合物 B)并搅拌 3

15

小时。用 TFA 将溶液酸化至 pH 4。经反相 HPLC(95:5 水/TFA:MeCN 开始梯度洗脱, 保留时间 24.5 min)纯化该混合物, 得到要求的产物(160 mg, 8%收率对于这两个步骤)。

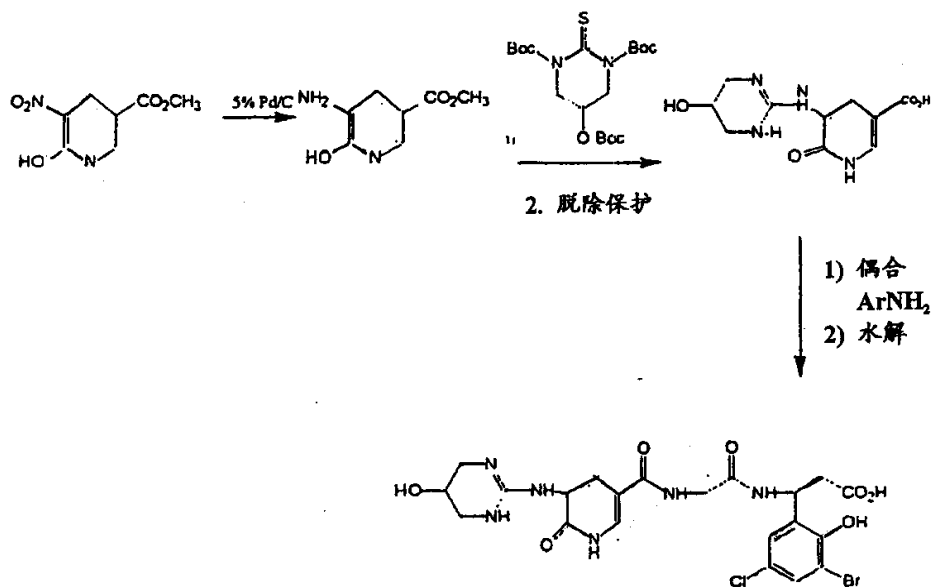
对 $C_{21}H_{22}BrClN_5O_6 + 2.4TFA$ 的

分析计算值: C, 36.74; H, 2.92; N, 9.96;

实测值: C, 36.83; H, 3.07; N, 9.88。

5 1H NMR 与提出的结构相一致。

实施例 33



步骤 1

10 在室温下, 于 5 磅/平方英寸的氢气压力下, 用催化量的 5% Pd/C 把实施例 18 步骤 2 的物料(5.72 g)在 THF(80 ml)中的溶液处理 2 小时。过滤反应混合物并用 DMF(250 ml)洗涤残余物。浓缩滤液并用乙醚处理残余物, 过滤并空气干燥, 得到棕色粉末(4.9 g), 其无需进一步纯化直接用于下一步。 1H -NMR 与提出的结构相一致。

15 步骤 2

使用三 BOC 试剂和在实施例 21 步骤 4 中描述的条件, 使步骤 1 的物料(500 mg)胍基化, 得到作为金黄色玻璃状物的要求的产物(128

mg). $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 3

使用在实施例 21 步骤 5 中给出的实验方法，将步骤 2 产物的酯基团水解。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

5 对 $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 1.5\text{TFA}$ 的

分析计算值: C, 38.45; H, 3.57; N, 12.81;

实测值: C, 38.32; H, 3.77; N, 12.80。

步骤 4

使用与在实施例 12 步骤 4 中描述的相同的方法，通过将在步骤 3 中描述的产物与实施例 R 的产物偶合，制备要求的化合物。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

10 步骤 5

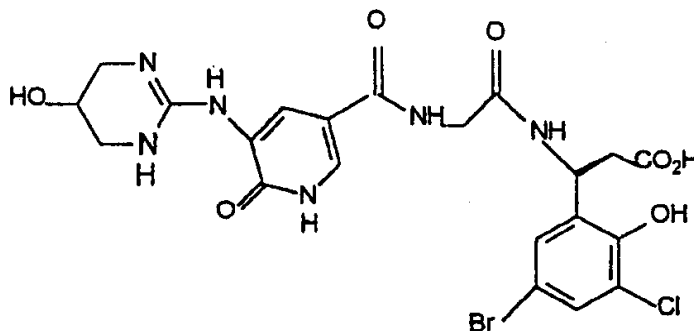
使用如同在实施例 12 步骤 5 中描述的相同方法，将步骤 4 产物的酯基团水解。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

对 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_7\text{BrCl} \cdot 1.5\text{TFA} \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ 的

分析计算值: C, 37.86; H, 3.18; N, 11.04; Cl, 4.66; Br, 10.50。

实测值: C, 37.60; H, 3.26; N, 11.20; Cl, 4.79; Br, 10.19。

实施例 34



15

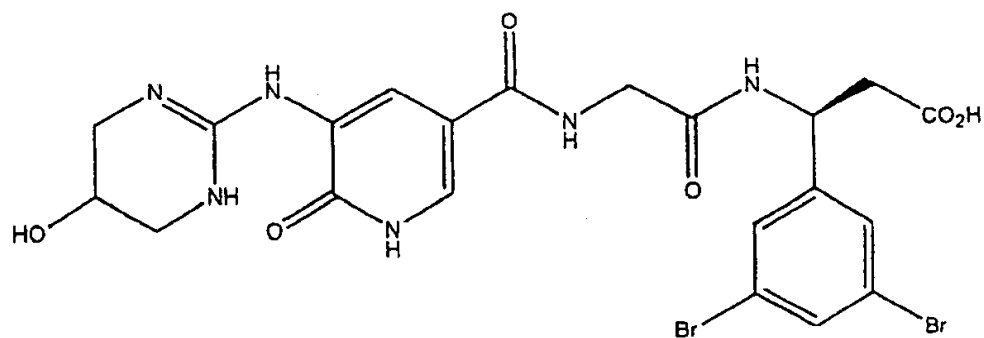
使用在实施例 33 中描述的方法，制备以上化合物。在步骤 4 中，实施例 H 的产物被用于替代实施例 R 的产物。

对 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_7\text{BrCl} \cdot 2.0\text{TFA} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ 的

分析计算值: C, 36.49; H, 3.06; N, 10.21;

实测值: C, 36.10; H, 2.83; N, 10.29.

实施例 35



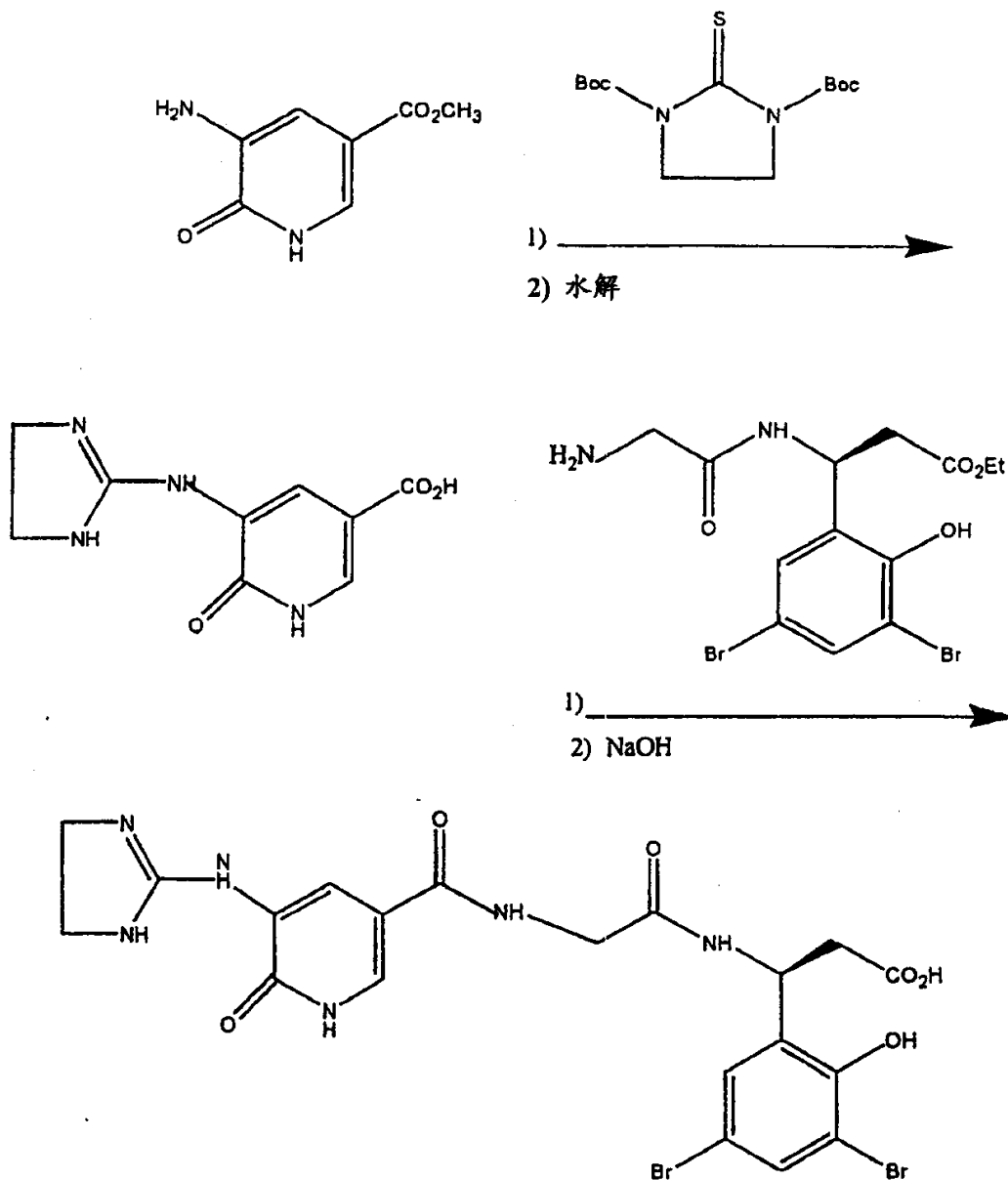
使用在实施例 33 中描述的方法, 制备以上化合物。在步骤 4 中, 实施例 V 的产物被用于替代实施例 R 的产物。

5 对 $C_{21}H_{22}N_6O_6Br_2 \cdot 1.75TFA$ 的

分析计算值: C, 35.76; H, 3.03; N, 10.21;

实测值: C, 35.58; H, 3.07; N, 10.61.

实施例 36



步骤 1

使用双-BOC 试剂 G₂ 和在实施例 18 步骤 5 中描述的反应条件，
5 将实施例 33 步骤 1 的产物(261 mg)脲基化，得到作为白色固体的产
物(207 mg)。然后使用在实施例 21 步骤 5 中描述的实验条件把该物
料皂化。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

使用与实施例 12 步骤 4 中描述的相同的方法，制备要求的化合物。将在步骤 1 中描述的产物与实施例 1 的产物偶合。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

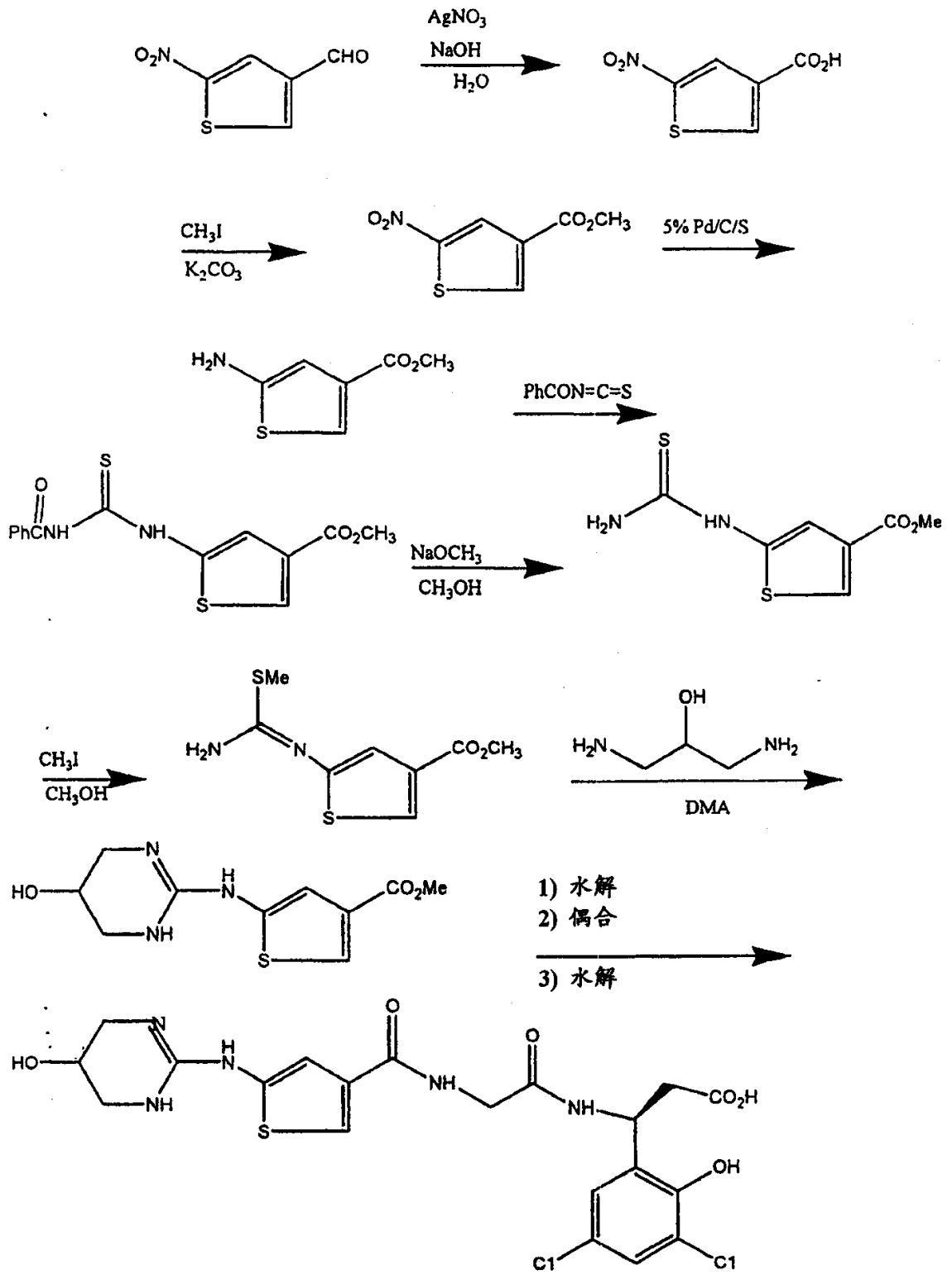
使用与实施例 12 的步骤 5 中描述的相同的方法，将步骤 2 产物的酯基团水解。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

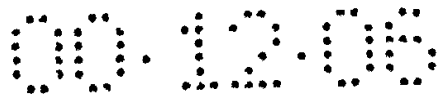
对 $C_{20}H_{20}N_6O_6Br_2 \cdot 1.75TFA \cdot 0.25H_2O$ 的

分析计算值: C, 35.10; H, 2.79; N, 10.45;

实测值: C, 34.85; H, 2.59; N, 10.62.

实施例 37





步骤 1

在室温下，将 2-硝基噻吩-4-甲醛(5.0 g)悬浮于水(100 ml)中并且
一次性加入氢氧化钠(5.2 g)在水(50 ml)中的溶液。在室温下，将黑色
的反应混合物搅拌 1 小时，然后经过硅藻土垫过滤。用 1 N HCl 溶液
5 使滤液酸化，然后用乙酸乙酯提取。用饱和的氯化钠溶液洗涤合并
的有机提取液，干燥(Na_2SO_4)并浓缩，得到淡黄色固体(5.0 g)。其无
需进一步纯化即可使用。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 2

在室温下，将步骤 1 的产物(2.5 g)与在 DMF(30 ml)中的碳酸钾(2.0
10 g)和碘甲烷(2.2 g)一起搅拌 16 小时。把反应混合物在乙酸乙酯和水
之间分配并分层。用另外的乙酸乙酯提取含水部分，然后用水、饱
和的氯化钠溶液洗涤合并的有机提取液，干燥(Na_2SO_4)并浓缩。在硅
胶柱上纯化深色残余物，用 15% 乙酸乙酯-85% 己烷洗脱，得到黄色
固体(950 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 3

将步骤 2 中得到的产物(2.0 g)溶于甲醇(50 ml)中，并在 60°C 下，
于 50 磅/平方英寸的氢气压力下用催化量的 5% Pd/C 处理 32 小时。
将反应物冷却并过滤，浓缩滤液。在硅胶柱上纯化残余物，用 25%
乙酸乙酯-75% 己烷洗脱，得到淡黄色固体(920 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出
15 的结构相一致。

步骤 4

将步骤 3 的产物(900 mg)的溶液溶于乙酸乙酯(20 ml)中并在室温
下用一份苯甲酰基异硫氰酸酯(947 mg)处理。将反应物搅拌 30 分钟
并过滤沉淀，用乙酸乙酯洗涤且空气干燥，得到淡黄色固体(1.51 g)。
25 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 5

将实施例 35 步骤 4 中得到的产物溶于甲醇(70 ml)中并在室温下
分批用甲醇钠(1.3 g)处理。将反应物搅拌 30 分钟，然后用冰乙酸(1.4 g)

粹灭。浓缩反应物并且残余物在乙酸乙酯和水之间分配。用另外的乙酸乙酯提取含水部分并用饱和的氯化钠溶液洗涤合并的有机提取液，干燥(Na_2SO_4)并浓缩，得到淡黄色粉末(900 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

5 步骤 6

将步骤 5 的产物(900 mg)溶于甲醇(20 ml)中并用碘甲烷(1.4 g)处理。将该反应物回流 2 小时，然后冷却并浓缩。用乙醚处理残余物，过滤并空气干燥，生成白色固体(1.27 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

10 步骤 7

在 95-100°C 下，将步骤 6 的产物(1.2 g)与 1,3-二氨基-2-羟基丙烷(469 mg)和 DMA(20 ml)一起加热 8 小时。将该反应物冷却并高真空下除去溶剂。借助反相 HPLC 纯化残余物，以水(0.5%TFA)-乙腈梯度洗脱，得到要求的产物(255 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

15 步骤 8

使用如同在实施例 21 步骤 5 中描述的条件，使用步骤 7 中生成的产物，制备要求的化合物。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 9

20 使用与实施例 12 步骤 4 中描述的相同的方法，通过使步骤 8 的产物与实施例 G 的物料偶合，制备要求的化合物。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 10

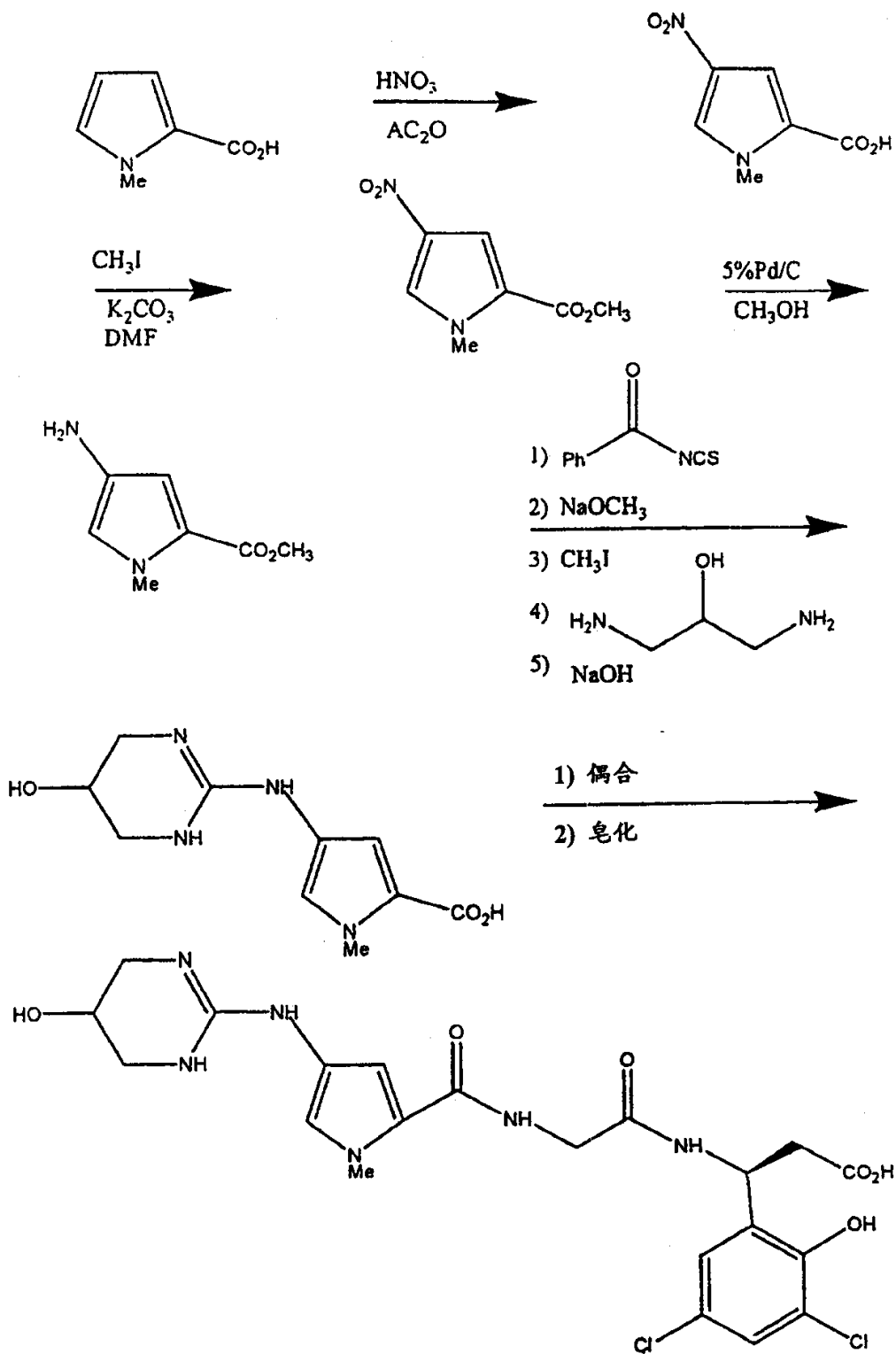
使用与实施例 12 步骤 5 中描述的相同的方法，将步骤 9 产物的酯基团水解。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

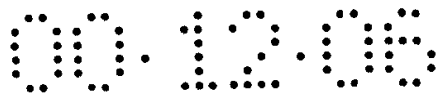
25 对 $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_6\text{Cl}_2\text{S} \cdot 1.75 \text{ TFA}$ 的

分析计算值: C, 38.43; H, 3.19; N, 9.54; S, 4.37;

实测值: C, 38.43; H, 3.39; N, 9.73; S, 4.27.

实施例 38





步骤 1

在室温下，用 70%硝酸(4 ml)处理乙酸酐(20 ml)。然后在-30℃下将该溶液滴加到 N-甲基吡咯-2-甲酸(5.0 g)在乙酸酐(30 ml)中的搅拌着的混合物中。将该反应物搅拌并使其温热至室温 30 分钟。然后把反应物重新冷却至-25℃并通过冷的滤器过滤，用冷的己烷洗涤并空气干燥，得到黄色粉末(1.5 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

使用在步骤 1 中制备的产物，使用在实施例 37 步骤 2 中描述的方法，制备要求的化合物。经硅胶柱上的层析法纯化粗品产物，使用 40%乙酸乙酯-己烷洗脱。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

将步骤 2 的产物(1.0 g)溶于甲醇(25 ml)中，并在室温下，于 5 磅/平方英寸的氢气压力下用催化量的 5% Pd/C 处理 3 小时。过滤反应物并浓缩，得到深红色液体(1.0 g)，其无需进一步纯化即可使用。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 4

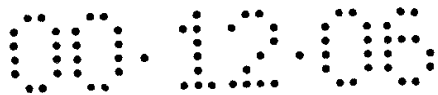
使用实施例 37 中描述的步骤 4-8 的顺序，使用在步骤 3 中描述的产物，制备要求的化合物。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 5

在氮气下，将步骤 4 的产物(425 mg)、2-氯-4,6-二甲氧基三嗪(201 mg)和 N-甲基吗啉(263 mg)在 DMA(10 ml)中的溶液于冰浴上搅拌。将该反应物温热至室温，并继续搅拌 3 小时。制备实施例 G 的产物(386 mg)和 N-甲基吗啉(105 mg)在 DMA(5 ml)中的溶液并在室温下一次性加入到反应物中。将反应物搅拌 15 小时，用 TFA(1.5 ml)猝灭，然后高真空浓缩。借助反相 HPLC 纯化残余物，以水(0.5%TFA)-乙腈梯度洗脱，得到白色固体(706 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 6

使用与实施例 12 步骤 5 中描述的相同的方法，将步骤 5 产物的

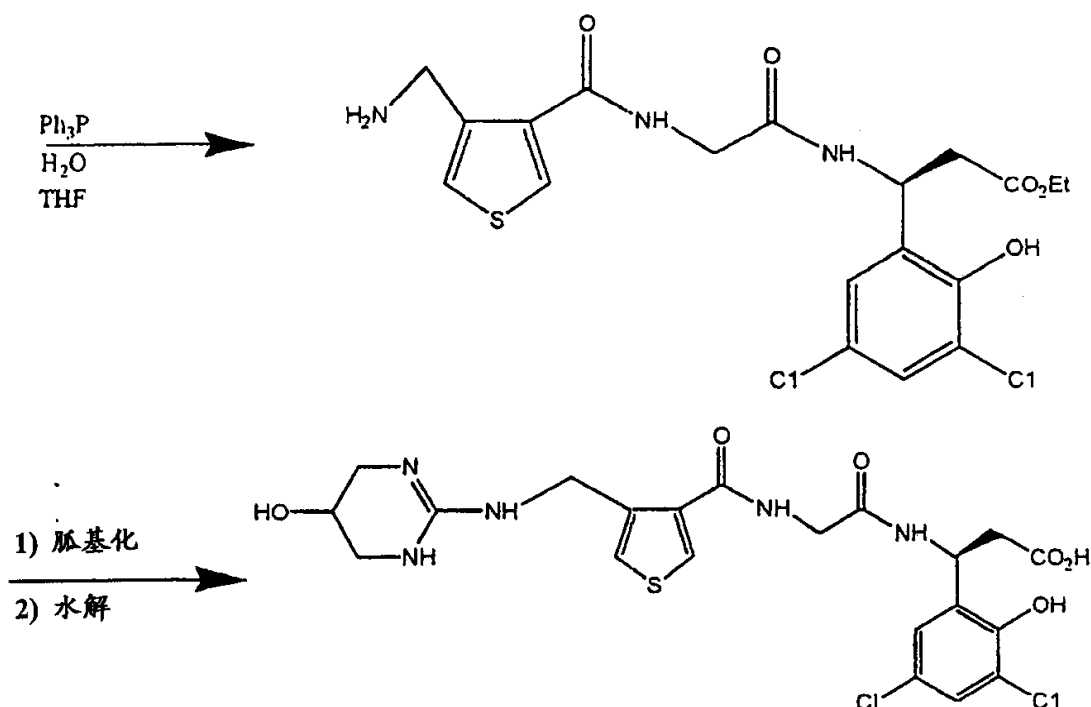


酯基团水解。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

对 $C_{21}H_{24}N_6O_6Cl_2 \cdot 1.5 TFA \cdot 0.5H_2O$ 的

分析计算值: C, 40.75; H, 3.78; N, 11.88; Cl, 10.02;

实测值: C, 40.40; H, 3.68; N, 12.10; Cl, 10.20.



步骤 1

在 130-140°C 下，将 3-溴-4-甲基噻吩(10 g)、氯化铜(I)(11.3 g)和 HMPA(15 ml)的混合物加热 18 小时。将混合物冷却并倾入到搅拌着的氯化钠(18.8 g)在水(28 ml)中的溶液中并搅拌 1 小时。用一些另外的水稀释粘稠的棕色混合物并以乙醚提取。用水、饱和的氯化钠溶液洗涤合并的乙醚提取液，干燥(Na_2SO_4)并浓缩。残余物在硅胶柱上纯化，以 90% 己烷-10% 乙酸乙酯洗脱，得到浅黄色液体(5.2 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 2

将在步骤 1 中制备的脒(1.5 g)和 2 N 氢氧化钠溶液(150 ml)的混合物回流 1 小时。使该反应物冷却并用 2 N 盐酸酸化直到 pH~2 且以乙醚提取。干燥(Na_2SO_4)合并的乙醚提取液并浓缩，得到白色固体(16.4 g)，其无需进一步纯化即可使用。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 3

如同在实施例 37 步骤 2 中描述的那样，将步骤 2 的产物(16.4 g)

酯化，硅胶柱上纯化，用 10%乙酸乙酯-90%己烷洗脱后，得到要求的产物(13.6 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 4

5 将 N-溴代琥珀酰亚胺(6.3 g)和过氧化二苯甲酰(100 mg)在四氯化碳(25 ml)中的混合物于 90 分钟内加入到步骤 3 的产物(5.0 g)和过氧化二苯甲酰(100 mg)在 CCl₄(25 ml)中的回流着的溶液中。在回流 2 小时后，使反应混合物冷却，过滤并浓缩，且残余物在硅胶柱上纯化，使用 10%乙酸乙酯-90%己烷洗脱，得到要求的化合物(4.3 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

10 步骤 5

在氮气气氛下，于 55℃ 下将步骤 4 中描述的产物(4.2 g)、叠氮化钠(2.9 g)和 DMF(50 ml)的混合物加热 5 小时。使反应混合物冷却并在水和乙酸乙酯之间分配。分层并用另外的乙酸乙酯提取含水部分。用饱和的氯化钠溶液洗涤合并的有机提取液，干燥(Na₂SO₄)并浓缩，
15 得到金黄色的油(3.5 g)，其无需进一步纯化即可使用。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 6

在室温下，将步骤 5 中描述的产物(1.0 g)、1 N 氢氧化钠溶液(15 ml)和甲醇(15 ml)的溶液搅拌 16 小时。用冰乙酸(2 ml)处理反应物并浓缩。将残余物在水和乙酸乙酯之间分配。分层，并用另外的乙酸乙酯提取含水部分。用水、饱和的氯化钠溶液洗涤合并的有机提取液，干燥(Na₂SO₄)并浓缩。在 61℃ 下，高真空下干燥残余物 2 小时，得到
20 白色固体(860 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 7

25 在冰浴上使步骤 6 中描述的产物(850 mg)在二氯甲烷(10 ml)中的溶液冷却并用 2 N 草酰氯在二氯甲烷中的溶液(5 ml)一次性处理，随后加入 2 滴 DMF。将反应物搅拌 2 小时，其间使其温热至室温。浓缩溶液并在室温下高真空下干燥 16 小时，得到黄棕色固体(785 mg)。



$^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

步骤 8

5 在氮气下，于火焰干燥的烧瓶中加入二异丙基乙基胺(1.3 ml)、
实施例 G 的产物(1.4 g)和 DMA(10 ml)的溶液。在冰浴上使该溶液冷
却并滴加入步骤 7 的酰氯(770 mg)在 DMA(5 ml)中的溶液。加入完成
后，将该反应物搅拌 30 分钟，然后在乙酸乙酯和水之间分配。分层
并用另外的乙酸乙酯提取含水部分。在硅胶柱上纯化合并的有机提
取液，用 50%乙酸乙酯-50%己烷洗脱，得到白色固体(1.0 g)。 $^1\text{H-NMR}$
与提出的结构相一致。

10 步骤 9

在室温下，于 5 磅/平方英寸的氢气下，将步骤 8 的产物(806 mg)
在乙醇(20 ml)中的溶液与催化量的 5% Pt/C 一起加热 21 小时。过滤
反应物并浓缩，且残余物经反相 HPLC 纯化，用水(.5%TFA)-乙腈梯
度洗脱，得到白色固体(480 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

15 步骤 10

使用在实施例 21 步骤 4 中描述的条件，将步骤 9 中描述的产物
(550 mg)胍基化并纯化，得到白色固体(206 mg)。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的
结构相一致。

步骤 11

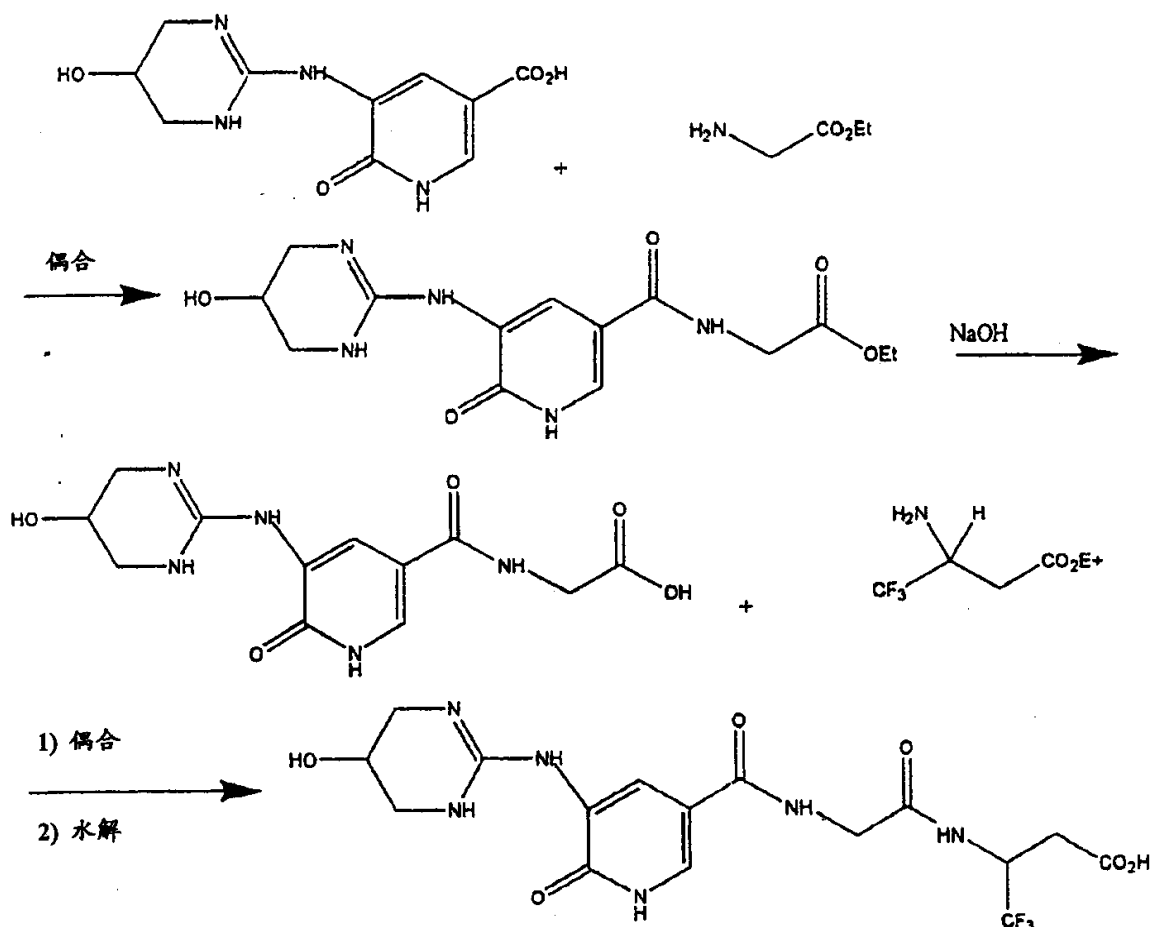
20 使用在实施例 12 步骤 5 中阐述的相同方法，将步骤 10 的产物
的酯基团水解。 $^1\text{H-NMR}$ 与提出的结构相一致。

对 $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_5\text{Cl}_2\text{S} \cdot 1.5\text{TFA}, 0.5\text{H}_2\text{O}$ 的

分析计算值: C, 39.79; H, 3.55; N, 9.67; Cl, 9.79; S, 4.43

实测值: C, 39.91; H, 3.58; N, 9.94; Cl, 10.06; S, 4.52.

实施例 40



步骤 1

使用在实施例 38 步骤 5 中描述的方法，将实施例 33 步骤 3 中制备的产物(1.0 g)与甘氨酸乙酯盐酸盐偶合，类似纯化后得到黄色固体(1.1 g)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

使用在实施例 21 步骤 5 中描述的方法，将步骤 1 中描述的产物(1.0 g)水解，得到白色固体(910 mg)。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

使用在实施例 38 步骤 5 中描述的方案，将步骤 2 的产物与 3-氨基-4,4,4-三氟-丁酸乙酯盐酸盐偶合。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

步骤 4

使用实施例 12 步骤 5 中描述的方法, 将步骤 3 的产物中的酯基团水解。¹H-NMR 与提出的结构相一致。

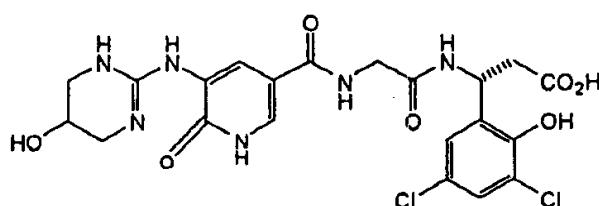
对 $C_{17}H_{20}N_5O_6F_3 \cdot 1.5TFA$ 的

分析计算值: C, 38.01; H, 3.67; N, 11.08;

实测值: C, 37.88; H, 3.64; N, 11.02.

5

实施例 41



步骤 1

10 在氩气下, 将实施例 33 步骤 3 的产物(527 mg, 1.3 mmol)和 CDMT(244 mg, 1.4 mmol)溶于 DMAC(8 ml)中。把该溶液冷却至 0°C 下反应 3 小时并滴加入 NMM(0.15 ml, 1.3 mmol)。在 0°C 下, 把该溶液搅拌 3 小时, 然后加入在 DMAC(10 ml)中的实施例 U 的产物和 NMM(0.15 ml)。把反应物温热至室温并在室温下搅拌过夜。用 TFA(2 ml)猝灭反应物并真空浓缩。经反相 HPLC 纯化粗品黄色固体, 使用
15 90:10 的 $H_2O/TFA:CH_3CN$ ($\lambda = 254$ nm)梯度洗脱。分离得到作为白色固体的产物(725 mg, 75%收率)。

对 $C_{23}H_{26}N_6O_7Cl_2 \cdot 1.5 TFA$ 的

分析计算值: C, 42.12; H, 3.74; N, 11.35;

实测值: C, 42.26; H, 3.87; N, 11.45.

H.R.M.S. M+1 对 $C_{23}H_{27}N_6O_7Cl_2$ 的计算值 569.1318。实测值 569.1323.

20

步骤 2

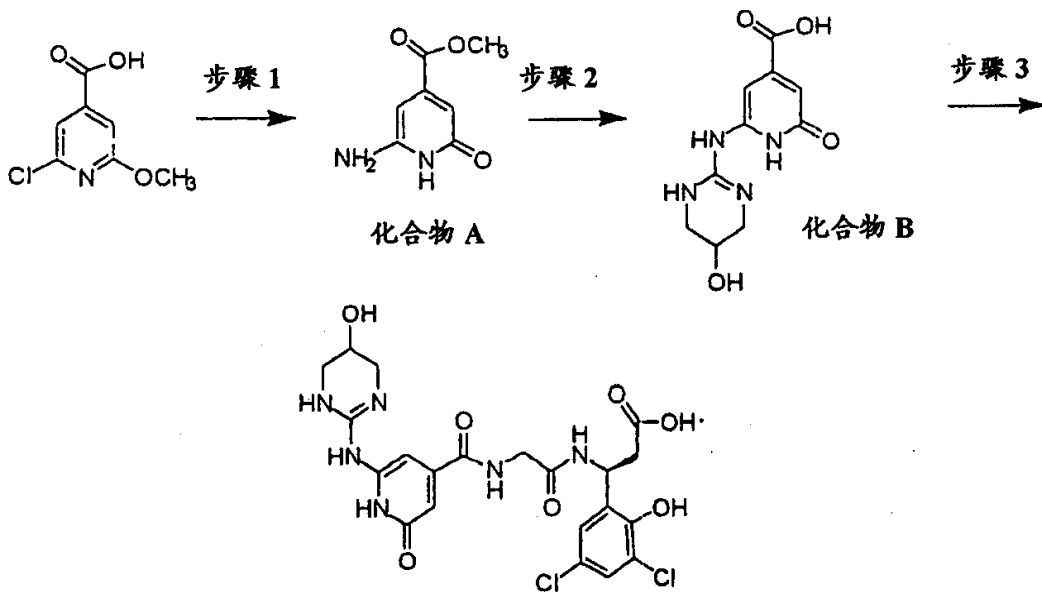
将步骤 1 的产物(725 mg, 0.98 mmol)溶于 THF(5 ml)/1CH₃OH)中

并加入 1 M NaOH(6.5 ml)。在室温下, 将该反应物搅拌过夜, 然后加入 1 M HCl(6.5 ml)。在真空下浓缩后, 经反相 HPLC 纯化粗品黄色固体, 使用 95:5 的 H₂O/TFA:CH₃CN(λ =254 nm)梯度洗脱。分离得到作为白色固体的产物(589 mg, 79%收率)。

- 5 对 C₂₁H₂₂N₆O₇Cl₂ · 1.9 TFA 的
分析计算值: C, 39.30; H, 3.18; N, 11.09;
实测值: C, 39.22; H, 3.16; N, 11.39。

H.R.M.S. M+1 对 C₂₁H₂₃N₆O₇Cl₂ 的计算值 541.1005。实测值 541.1000。

实施例 42



10

步骤 1

在高压反应器中, 将 2-甲氧基-6-氯吡啶甲酸(10 g, 0.053 mol)溶于过量的浓氢氧化铵水溶液中并在 175℃ 下加热 24 小时, 达到 500 磅/平方英寸的压力。把该溶液减压下蒸发至干并在 25℃ 下经 2 N HCl 处理 2 天转化为酸, 然后在高真空下蒸发至干, 其间加热到 60℃。12 小时后, 用无水乙醇共沸除去残留的水, 并且用甲醇处理生成的残余物且减压下蒸发三次。将生成的残余物溶于甲醇(250 ml)并把在二

15

噤烷中的 4 N HCl(25 mol)加入到该溶液中, 然后回流 2.5 天。减压下蒸发除去溶剂并经反相 HPLC(梯度, 95/5 在 H₂O 中的 0.1%TFA/CH₃CN-60/40 在 H₂O 中的 0.1% TFA/CH₃CN)纯化生成的粗品残余物。将要求的产物溶于甲醇中并且用固体碳酸氢钠处理, 过滤, 并蒸发溶剂。将生成的固体悬浮于 50/50 乙酸乙酯/己烷中并过滤收集固体, 得到要求的棕色固体(1.7 g, 20%收率)。

步骤 2

将步骤 1 的化合物(300 mg, 1.8 mmol)溶于 DMF(7.1 ml)中并加入实施例 9 步骤 1 的产物(927 mg, 2.1 mmol), 随后加入三乙胺(0.44 ml, 325. mg, 3.2 mmol)和氯化汞(326 mg, 1.2 mmol)。在 25℃下, 将反应混合物搅拌 3.5 小时, 然后在 60℃下加热 16 小时。在冷却至室温后, 向反应物中加入乙酸乙酯(7 ml)并通过硅藻土过滤不均匀的溶液。用 97/3 的乙酸乙酯/乙醇彻底洗涤硅藻土。减压下除去溶剂并把生成的红色粗品油溶于二氯甲烷(30 ml)中并用三氟乙酸(2.77 ml)处理且回流 1 小时。将反应物冷却并减压下除去溶剂, 得到棕色的油。经反相 HPLC(C18, 梯度 90/10 0.1% TFA/H₂O)纯化样品, 得到不纯的化合物, 使其溶于甲醇(2 ml)中并用 1 N NaOH(0.15 ml)处理且解吸至干, 得到深棕色的油。经反相 HPLC(C18, 梯度 99/1 0.1% TFA/H₂O/CH₃CN)纯化该油, 得到褐色的固体(36 mg)。

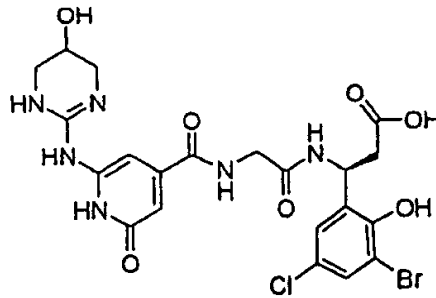
步骤 3

将先前步骤的化合物(74 mg; 0.18 mmol)在真空烘箱中干燥过夜并且溶于 DMF(1 ml)(经分子筛贮存)中, 并冷却至 0℃。然后加入 N-甲基哌啶(27 ml; 22 mg; 0.22 mmol), 随后加入氯甲酸异丁酯(47 ml; 49 mg, 0.36 mmol)并搅拌 5 分钟。加入实施例 G 的产物在 DMF 中的溶液(0.2 mL)并用另外的 DMF(0.2 mL)洗涤残留的 β-氨基酯。加入下一份 N-甲基哌啶(22 ml; 18 mg; 0.18 mmol)。使该反应混合物缓慢温热至室温。在 25℃下搅拌 12 小时后, 高真空下除去溶剂, 得到红棕色的油, 其经反相 HPLC(C18, 梯度 80/20 0.1% TFA/H₂O/CH₃CN)纯化,

5 得到所述偶合产物(22 mg)和具有结合到吡啶酮的氧原子上的异丁基甲酰基的偶合产物(47 mg)。合并这些产物并溶于甲醇(2 ml)中, 向其中加入 1 N 氢氧化钠水溶液(240 ml)。在 25°C 下, 将该反应物搅拌过夜并加入三氟乙酸(84.7 ml)。减压下除去溶剂并经反相 HPLC(C18, 梯度 95/5 0.1% TFA/H₂O/CH₃CN)纯化, 得到要求的产物(37 mg)。

对 C₂₁H₂₂N₆O₇Cl₂ · 2.1 TFA · 0.2 H₂O 的
微量分析计算值: C, 38.58; H, 3.15; N, 10.71;
实测值: C, 38.12; H, 3.36; N, 10.71。

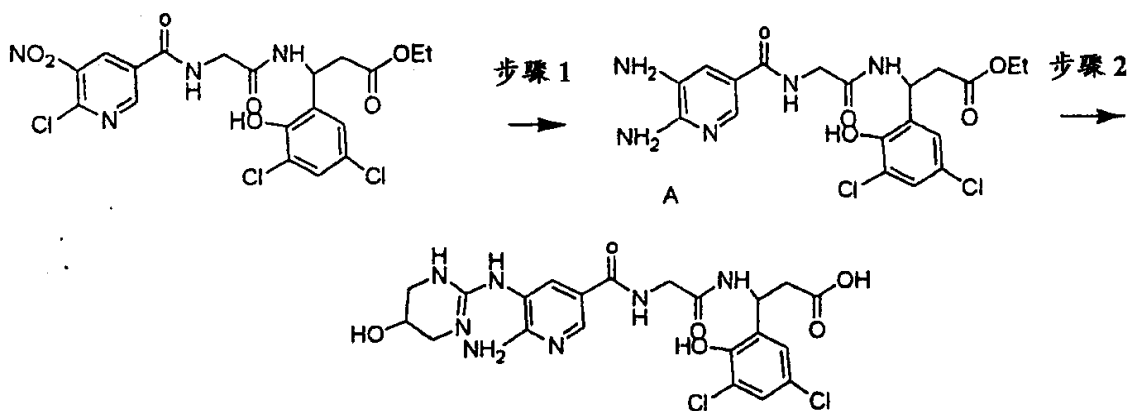
实施例 43



10 按照实施例 42 步骤 3 中描述的方法, 通过使实施例 42 步骤 2 的产物与实施例 R 的产物反应, 制备以上化合物。

对 C₂₁H₂₂N₆O₇ClBr · 1.8 TFA 的
微量分析计算值: C, 37.35; H, 3.03; N, 10.62;
实测值: C, 37.31; H, 3.23; N, 10.65。

实施例 44



步骤 1

5 将实施例 17 步骤 3 的产物(3.0 g, 5.77 mmol)溶于异丙醇(25 ml)中并向该溶液中加入浓氢氧化铵(45 ml)。在 25℃ 下搅拌 3 小时后，该溶液减压下蒸发至干。在 25℃ 下，在 5 磅/平方英寸下，于帕尔振荡器中，把粗品样品在乙醇(3A)(50 ml)中经 5% 披铂炭氢化 2.5 小时。过滤样品并减压下将滤液浓缩至干。经反相层析法(C18, 80/20 CH₃CN/H₂O 梯度)纯化化合物，得到要求的产物(1.5 g, 39% 收率)。

10 步骤 2

15 将步骤 1 的产物(200 mg)溶于甲醇(2 ml)中并加入碳酸氢钠(133 mg)。在 25℃ 下，将溶液搅拌 30 分钟，过滤并使生成的溶液蒸发至干。把生成的样品(205 mg; 0.43 mmol)溶于 DMF(1.72 ml)中，然后加入实施例 9 步骤 1 的产物(282.8 mg, 0.65)，随后加入三乙胺(99 mg; 0.97 mmol, 0.14 ml)，然后加入氯化汞(177 mg; 0.65 mmol)。将溶液加热至 60℃ 下进行 30 分钟，然后加热至 90℃ 12 小时。冷却反应混合物，然后用乙酸乙酯(1.7 ml)稀释并经硅藻土过滤。把生成的滤液蒸发至干。经快速层析法纯化粗品，以除去未反应的原料。用 50/50 的 TFA/CH₂Cl₂ 处理所述物料，得到不纯的要求的产物。将该物料溶于 20 甲醇(2 ml)和 1 N 氢氧化钠(2 ml)中。在 25℃ 下搅拌 12 小时后，用 TFA(77 ml)中和该溶液，然后减压下蒸发至干。经反相层析法(C18,

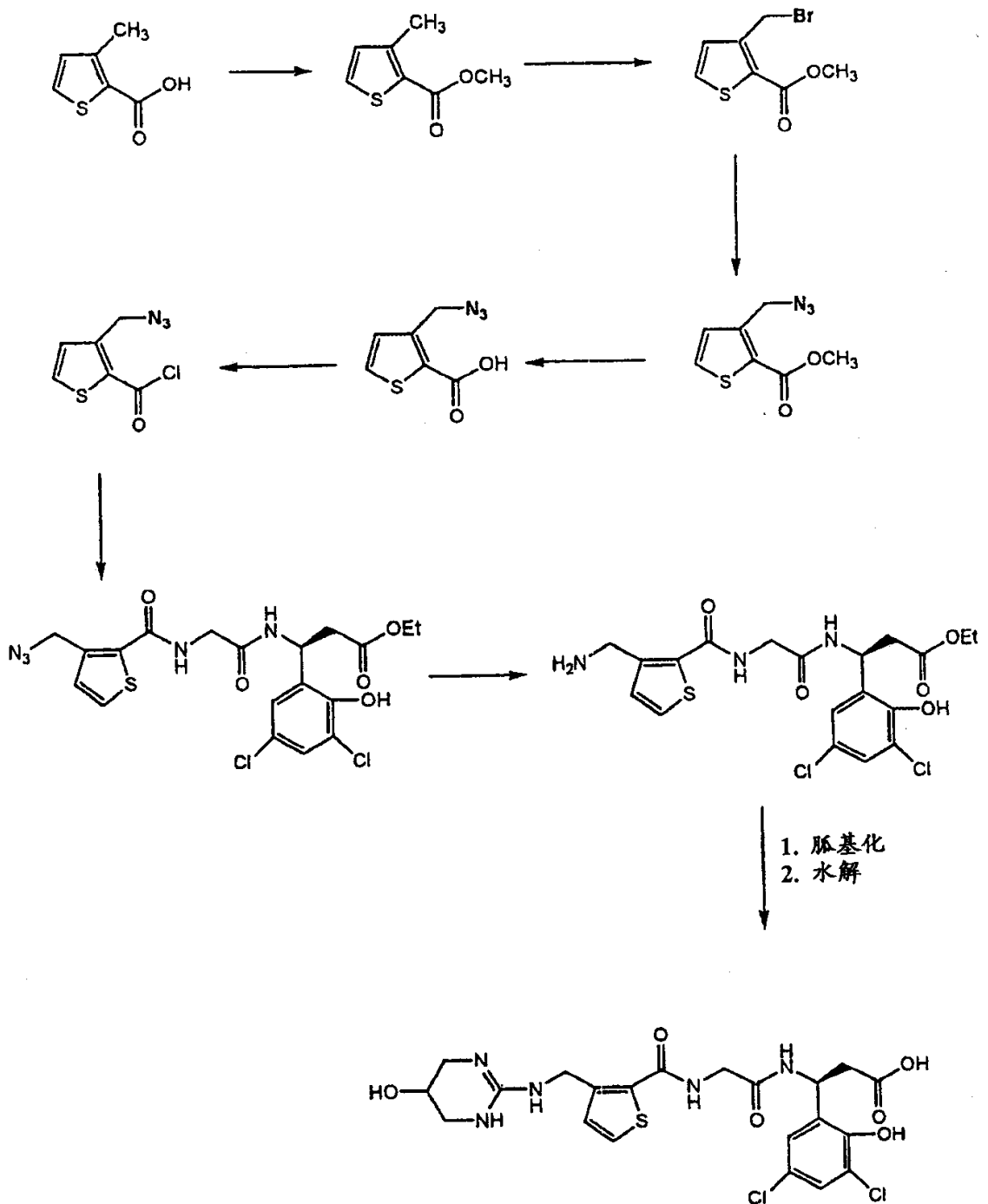
95/5 H₂O/CH₃CN)纯化粗品产物, 得到要求的产物(6.8 mg).

对 C₂₁H₂₃N₇O₆Cl₂ · 3.3TFA 的

微量分析计算值: C, 36.17; H, 2.89; N, 10.70;

实测值: C, 36.57; H, 3.21; N, 10.37.

实施例 45



步骤 1

向 3-甲基-2-噻吩甲酸(1.0 g, 7.0 mmol)、N,N-二甲基甲酰胺(4.0 ml)和碳酸钾(1.93 g, 14 mmol)的混合物中加入碘甲烷(1.49 g, 10.5 mmol)。在室温下, 将反应物搅拌 80 小时, 并用乙酸乙酯(150 ml)稀
5 释, 用 H₂O (100 ml)和盐水(100 ml)洗涤。干燥(Mg₂SO₄)有机层并浓缩至作为浅棕色油的纯的产物(0.87 g, 81%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

在回流下, 于 30 分钟内向步骤 1 的产物(5.0 g, 32.0 mmol)、过
10 氧化二苯甲酰(0.08 g)和四氯化碳(20 ml)的溶液中加入 N-溴代琥珀酰亚胺(6.3 g, 35.3 mmol)和过氧化二苯甲酰(0.08 g)和四氯化碳(20 ml)的混合物。将生成的反应混合物加热回流 18 小时。过滤固体并用四氯化碳(2x10 ml)洗涤。浓缩滤液, 得到油和固体的混合物(8.1 g, 80%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

15 步骤 3

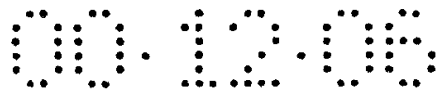
在 58°C 下, 将步骤 2 的产物(8.1 g, 34.7 mmol)、叠氮化钠(5.6 g, 87 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(25 ml)的混合物加热 2.5 小时。用乙酸乙酯(800 ml)稀释反应物并用 H₂O(500 ml)洗涤。用乙酸乙酯(100 ml)提取水层。干燥(Mg₂SO₄)合并的有机层并浓缩, 得到浅棕色的油(6.0 g,
20 85%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 4

将步骤 3 的产物(6.0 g, 25.9 mmol)、NaOH(1 N, 50 ml)和 MeOH (50 ml)的溶液搅拌过夜。用乙酸(2.5 ml)处理反应物。用乙酸乙酯 (300 ml)提取产物。以 Na₂SO₄干燥有机层并浓缩, 得到黄色的油。真空下得
25 到黄色固体(2.0 g, 42%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 5

在室温下, 将步骤 4 的产物(0.5 g, 2.7 mmol)、草酰氯(2 M 在二
氯甲烷中, 2.7 ml, 5.4 mmol)和二氯甲烷(20 ml)的混合物搅拌 2.5 小



时。从反应物中除去溶剂，得到作为棕色油的产物(0.51 g, 85%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 6

5 在 0℃ 下，将实施例 G 的产物(0.91 g, 2.43 mmol)、二异丙基乙基胺(0.63 g, 4.86 mmol)和 N,N-二甲基乙酰胺(20 ml)的溶液加入到步骤 5 的产物(0.46 g, 2.43 mmol)和 THF(10 ml)的混合物中。在 0℃ 下，将反应混合物搅拌 10 分钟并使其温热至室温。16 小时后，真空下从该反应物中除去溶剂。用乙酸乙酯(300 ml)提取产物。用饱和的 NaHCO₃ 溶液(100 ml)、H₂O(100 ml)洗涤有机溶液，用 Na₂SO₄ 干燥并
10 浓缩，得到粗品产物。经柱层析法(在硅胶上，CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH, 98/2/0.2)纯化粗品产物，得到作为胶状固体的纯的产物(0.7 g, 58%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 7

15 在室温下，于 5 磅/平方英寸下将步骤 6 的产物(0.78 g, 1.56 mmol)、5% Pt/C 和 EtOH 的混合物搅拌 20 小时。过滤催化剂。用三氟乙酸(0.6 ml)处理滤液并浓缩，得到粗品产物。经 HPLC 纯化粗品产物得到白色固体(0.4 g, 54%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 8

20 在室温下，将氯化汞(II)(0.51 g, 1.87 mmol)加入到步骤 7 的产物(0.55 g, 1.25 mmol)、实施例 9 步骤 1 的产物(0.81 g, 1.87 mmol)、三乙胺(0.38 g, 3.75 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(15 ml)的混合物中。在 95-100℃ 下，将反应物加热 16 小时。通过硅藻土垫(2'')过滤冷却的反应物并用乙酸乙酯洗涤。真空下从滤液中除去溶剂，得到油。用 CH₂Cl₂/三氟乙酸(10 ml/10 ml)稀释该油并在室温下搅拌 1 小时。经过
25 过滤收集形成的固体。浓缩滤液并用 CH₂Cl₂/三氟乙酸(15 ml/15 ml)处理 1.5 小时。减压下除去溶剂，得到棕色的油。经 HPLC 纯化该油，得到要求的产物及其乙酯的混合物。从乙腈中重结晶得到作为白色固体的要求的化合物(0.068 g)。用 NaOH/乙醇(7.0 ml/7.0 ml)把酯产物

处理 18 小时, 并经 HPLC 纯化, 得到另外的化合物(0.055 g).

对 $C_{21}H_{23}N_5O_6Cl_2S \cdot 2.0 CF_3COOH$ 的

计算值: C, 38.87; H, 3.26; N, 9.07;

实测值: C, 38.78; H, 3.6; N, 9.16.

步骤 1

在室温下，将苯甲酰基异硫氰酸酯(3.34 g, 21.3 mmol)加入到实施例 33 步骤 1 的产物(3.5 g, 20.8 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(45 ml)的溶液中。将该反应物搅拌 2 小时并倾入到乙醚(300 ml)中。将生成的混合物搅拌 15 分钟。经过滤收集产物，用乙醚(2X40 ml)洗涤并空气干燥为黄色固体(6.95 g, 100%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

在室温下，把甲醇钠(2.64 g, 48.9 mmol)分小批量加入到步骤 1 产物(6.90 g, 20.8 mmol)和甲醇(200 ml)的悬浮液中。完成加入后，将该反应物搅拌 1 小时。把乙酸(2.8 ml, 48.9 mmol)加入到该反应物中。将生成的混合物搅拌 15 分钟。经过滤收集产物，用甲醇(2X30 ml)洗涤并减压下干燥，得到灰白色固体(3.8 g, 81%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 3

在回流下，将步骤 2 的产物(1.90 g, 8.4 mmol)、碘甲烷(3.56, 25.1 mmol)和甲醇(60 ml)的混合物加热 3.5 小时，并冷却至室温。减压下从反应物溶液中除去溶剂，得到黄色的油。用乙醚处理油状残余物，得到作为黄色固体的纯的产物(3.1 g, 100%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 4

在 85°C 下，将步骤 3 的产物(0.5 g, 1.36 mmol)、2-甲氧基乙基胺(0.12 ml, 1.36 mmol)和 N,N-二甲基乙酰胺(5.0 ml)的溶液加热 2.5 小时。加入另外的 2-甲氧基乙基胺(0.12 ml, 1.36 mmol)。在 85°C 下，将反应物加热 2 小时。减压下从冷却的反应物中除去 N,N-二甲基乙酰胺，得到粗品产物。经反相 HPLC 纯化粗品产物，得到要求的纯的产物(0.38 g, 76%收率)。¹H NMR 谱与提出的结构相一致。

步骤 5

在室温下,将步骤 1 的产物(0.38 g, 1.42 mmol)、NaOH 溶液(1 N, 15 ml)和 MeOH(15 ml)的溶液搅拌 16 小时,然后用三氟乙酸(1.2 ml)处理。减压下从反应物溶液中除去溶剂,得到粗品产物。经 HPLC 纯化粗品产物,得到作为白色固体的要求的产物(0.55 g, 100%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 6

将 N-甲基吗啉(0.1 ml, 1.42 mmol)加入到步骤 5 的产物(0.54 g, 1.42 mmol)在 N,N-二甲基乙酰胺(16 ml)中的溶液中。在-5℃下,于 5 分钟内将氯甲酸异丁酯(0.18 g, 1.35 mmol)加入到反应物中,并搅拌 15 分钟。将实施例 G 的产物(0.396 g, 1.07 mmol)和 N-甲基吗啉(0.075 ml, 1.07 mmol)和 N,N-二甲基乙酰胺(10 ml)的溶液加入到该反应物中。使生成的反应物溶液温热到室温并搅拌 16 小时。减压下从反应物溶液中除去溶剂,得到粗品产物。经 HPLC 纯化粗品产物,得到作为白色固体的要求的产物(0.145 g, 14%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 7

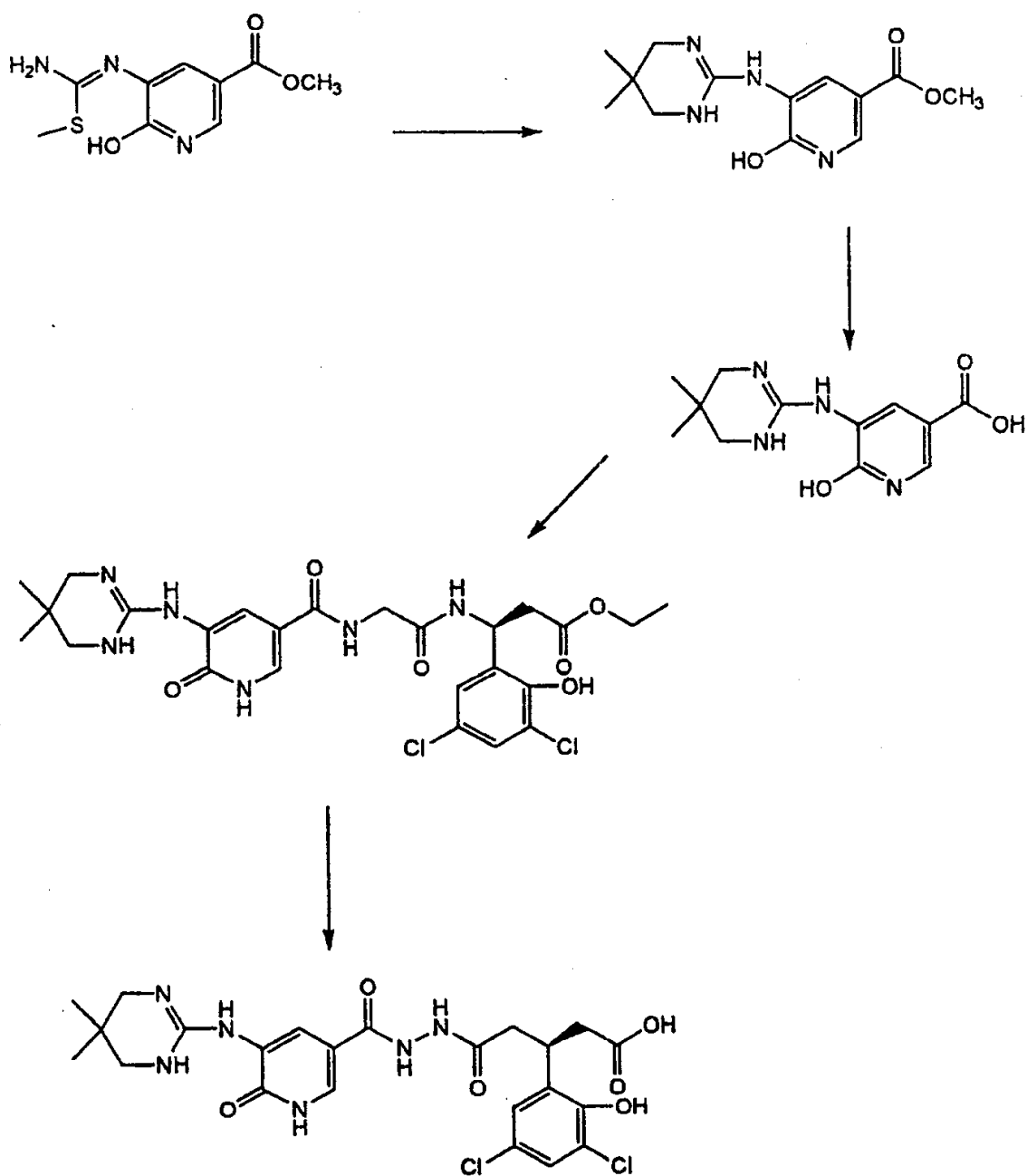
将步骤 6 的产物(0.145 g, 0.20 mmol)、NaOH(1 N, 25 ml)和 MeOH(25 ml)的溶液搅拌 16 小时,减压下从反应混合物中除去溶剂,得到粗品产物。用三氟乙酸(2 ml)处理粗品产物并经 HPLC 纯化,得到作为灰白色固体的要求的产物(0.11 g, 70%收率)。

对 $C_{21}H_{24}N_6O_7Cl_2 \cdot 2CF_3COOH$ 的

计算值: C, 38.93; H, 3.40; N, 10.89;

实测值: C, 39.29; H, 3.47; N, 11.15.

实施例 47



步骤 1

5 在 92-95℃ 下, 将实施例 46 步骤 3 的产物(1.56 g, 4.22 mmol)、2,2-二甲基-1,3-丙二胺(0.45 g, 4.40 mmol)和 N,N-二甲基乙酰胺(15 ml)的混合物加热 6.5 小时, 然后使之冷却至室温。过夜形成固体。过滤收集产物, 用 N,N-二甲基乙酰胺(5 ml)和乙醚(5 ml)洗涤, 得到作为白

色固体的纯的产物(0.50 g, 43%收率)。¹H NMR 与提出的结构相一致。

步骤 2

5 在室温下, 将步骤 1 的产物(0.48 g, 1.7 mmol)、NaOH(1 N, 10 ml)和 MeOH(10 ml)的溶液搅拌过夜。减压下从反应混合物中除去溶剂, 得到粗品产物。用三氟乙酸(2 ml)处理粗品产物并经 HPLC 纯化, 得到作为要求的产物的白色固体(0.38 g, 58%收率)。

步骤 3

10 在 0℃下, 将 4-甲基吗啉(0.14 g, 1.41 mmol)在 N,N-二甲基乙酰胺(1.5 ml)中的溶液加入到步骤 2 的产物(0.36 g, 0.94 mmol)、2-氯-4,6-二甲氧基三嗪(0.18 g, 1.03 mmol)和 N,N-二甲基乙酰胺(10 ml)的溶液中。使生成的亮橙色溶液温热至室温并搅拌 3 小时。将实施例 G 的产物(0.350 g, 0.94 mmol)、4-甲基吗啉(0.93 g, 0.94 mmol)和 N,N-二甲基乙酰胺(4 ml)的溶液加入到反应物溶液中。在室温下, 将生成的溶液搅拌过夜, 并用三氟乙酸(1.0 ml)处理。减压下从反应物溶液中除去溶剂, 得到粗品产物。经 HPLC 纯化粗品产物, 得到作为要求的产物的黄色固体(0.35 g, 54%收率)。

步骤 4

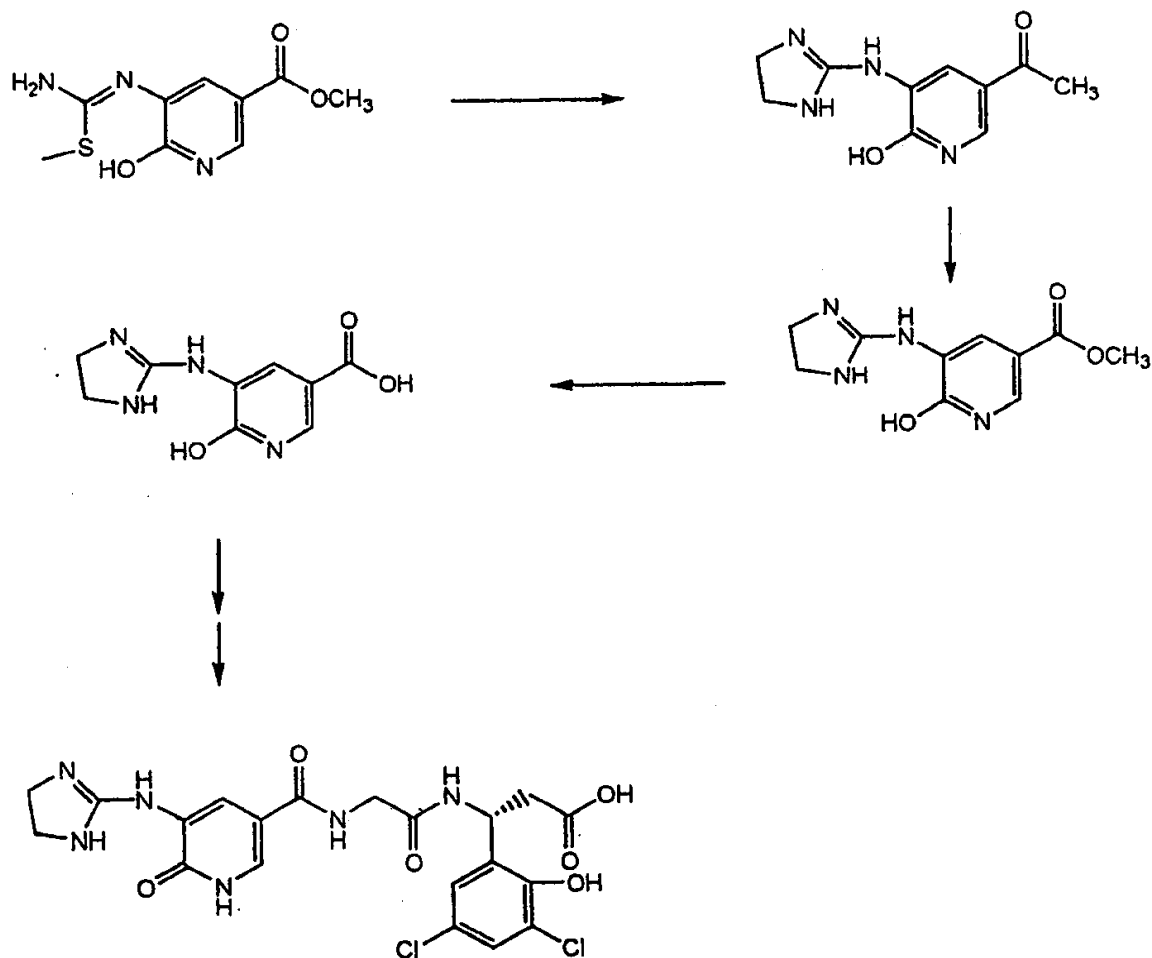
20 将步骤 3 的产物(0.33 g, 0.47 mmol)、NaOH(1 N, 9 ml)和 MeOH(9 ml)的溶液搅拌 18 小时。用三氟乙酸(1.0 ml)处理反应物。减压下从反应物溶液中除去溶剂, 得到粗品产物。粗品产物经 HPLC 纯化, 得到作为浅黄色固体的要求的化合物(0.285 g, 84%收率)。

对 $C_{23}H_{26}N_6O_6Cl_2 \cdot 1.25 CF_3COOH \cdot 1.0 H_2O$ 的

计算值: C, 42.90; H, 4.13; N, 11.77;

实测值: C, 43.03; H, 4.03; N, 11.26。

实施例 48



使用在实施例 47 中描述的方法，合成以上化合物。在步骤 1 中，用乙二胺替代 2,2-二甲基-1,3-二氨基丙二胺。在步骤 3 中，用实施例 5 U 的产物替代实施例 G 的产物。

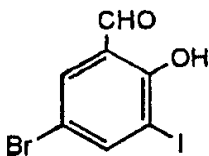
对 $C_{20}H_{20}N_6O_6Cl_2 \cdot 1.25CF_3COOH \cdot 0.5H_2O$ 的

计算值: C, 40.77; H, 3.38; N, 12.68;

实测值: C, 40.98; H, 3.17; N, 12.57.

实施例 X

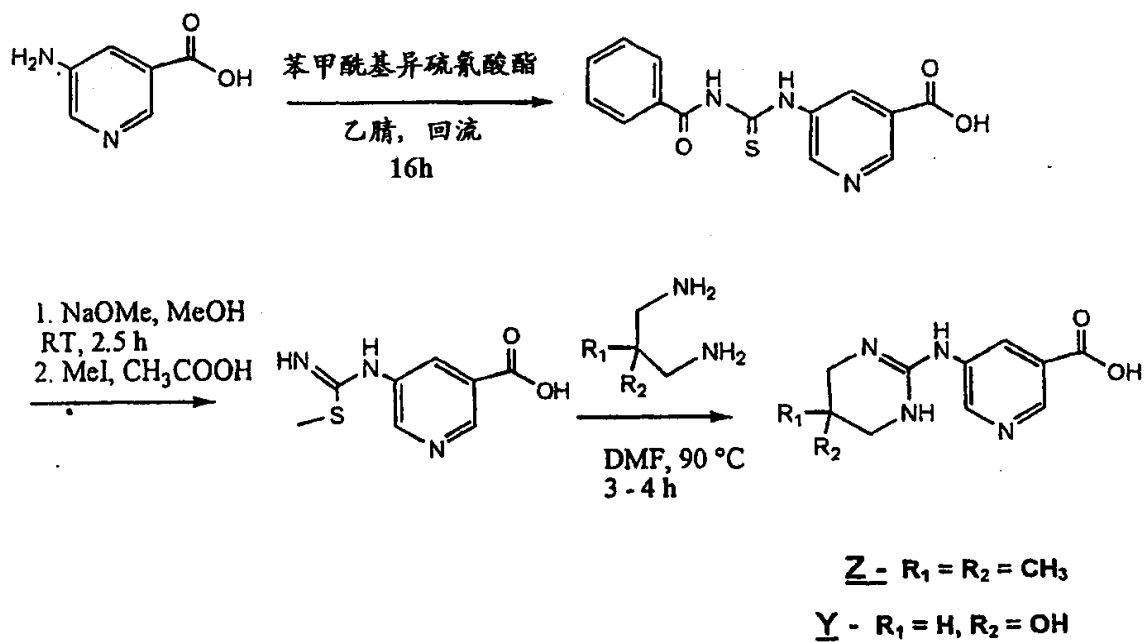
制备 5-溴-3-碘代水杨醛



如同在文献(J. Org. Chem. 1990, 55, 5287-5291)中描述的那样,
5 通过 5-溴代水杨醛的碘化, 制备以上化合物。

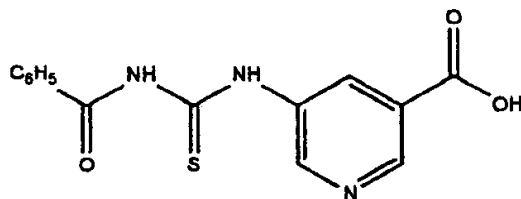
实施例 Y 和 Z

流程 A1



步骤 1

制备

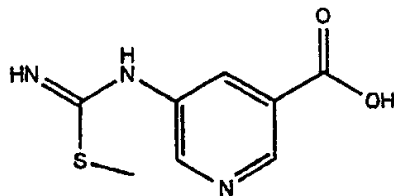


5 在无水条件下，伴随剧烈搅拌下将 5-氨基烟酸(10.0 g, 0.072 mole)、苯甲酰基异硫氰酸酯(11.8 g, 0.072 mole)和 DMAP(催化量)在无乙腈(250 mL)中的混合物加热回流过夜(流程 A1)。将生成的黄色悬浮液冷却并过滤。用水洗涤残余物，随后用乙腈洗涤，并且真空干燥过夜，得到作为浅黄色固体的要求的产物(21.4 g, 98%收率)。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

10 步骤 2

制备



15 向步骤 1 的产物(11.1 g, 0.037 mole)在无 MeOH(230 mL)中的悬浮液中加入 NaOMe(25 wt%在甲醇中的溶液, 21.1 mL, 0.092 mole)，此时所述反应剂进入溶液，得到橙棕色的溶液(流程 A1)。在室温下，把该溶液搅拌 3 小时，在冰浴上冷却并加入碘甲烷(3.45 mL, 0.055 mole)。在 10℃下，将生成的混合物搅拌 30 分钟并在室温下搅拌 1.5 小时。然后用乙酸(2 mL)猝灭反应混合物，在冰浴上冷却并过滤，用冷的 MeOH 洗涤固体并真空干燥，得到作为米黄色固体的要求的产物(2.66 g, 37%收率)。

20

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

步骤 3

制备实施例 Y 和 Z

5 向 1,3-二氨基-2-羟基丙烷(11.2 g, 0.124 mol)在无水 DMF(80 mL)中的溶液中加入步骤 2 的产物(8.7 g, 0.041 mol)。在无水条件下,于 85°C 下将该混合物加热 3 小时(流程 A1)。在加热 1-2 小时后,溶液变得混浊并且在加热期间浊度增加。然后在冰浴上冷却反应混合物并过滤。用乙腈、水、乙腈洗涤固体,并真空干燥,得到作为米黄色固体的要求的产物(实施例 Y)(3.7 g, 38%收率)。

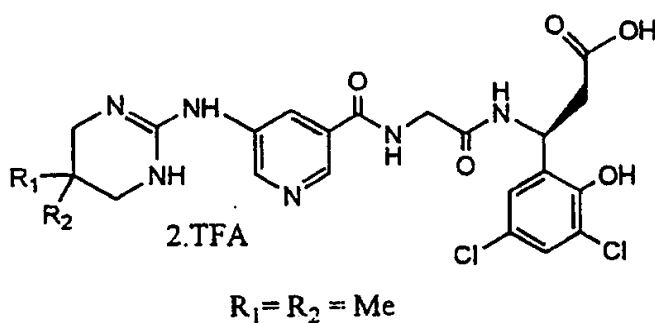
10 MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

使用对实施例 Y 描述的方法,合成实施例 Z,以 4 当量的 2,2-二甲基-1,3-丙二胺替代 1,3-二氨基-2-羟基丙烷。

15 通过在 10°C 下,将在无水 THF(对 1.0 g 底物 10 mL)和 TFA(1 当量)或 4 N HCl/二噁烷(2 当量)中的溶液搅拌 1 小时,将步骤 3 的每一个产物转化为它们相应的 TFA 或者 HCl 盐。

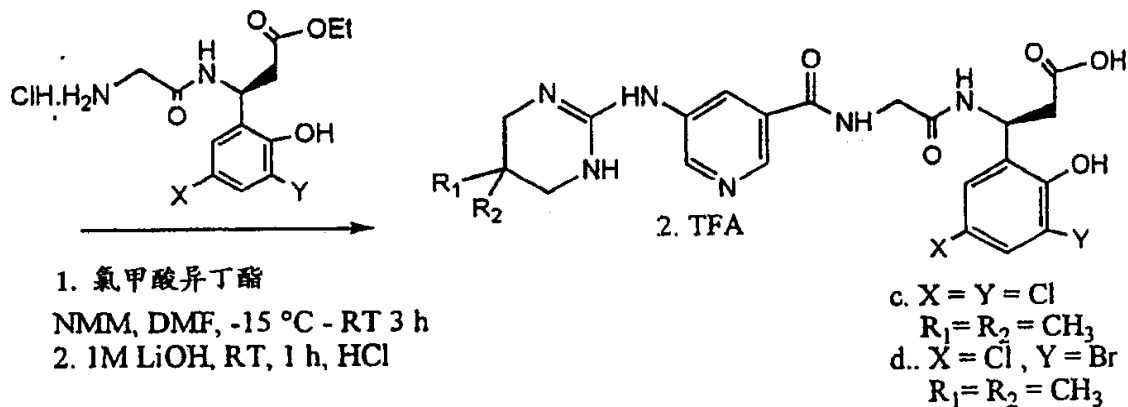
实施例 49

制备



流程 A2

流程 A2



在-20°C下，向实施例 Y(0.40 g, 0.00125 mole, 流程 A2)在无水
5 DMF(10 mL)中的悬浮液中加入氯甲酸异丁酯(0.17 g, 0.00125 mole),
随后滴加入 N-甲基吗啉(0.14 g, 0.00137 mole). 于-20°C下，在氩气氛
下把该混合物搅拌 20 分钟之后，加入另外量的 N-甲基吗啉(0.14 g,
0.00137 mole), 随后加入实施例 G 的产物(0.46 g, 0.00125 mole). 在-
20°C下，将生成的混合物搅拌 15 分钟，然后在室温下搅拌 2 小时。
10 真空蒸馏 DMF 并经反相 HPLC 纯化残余物，得到(冷冻干燥后)作为
白色固体的要求的酯(0.20 g, 21%收率).

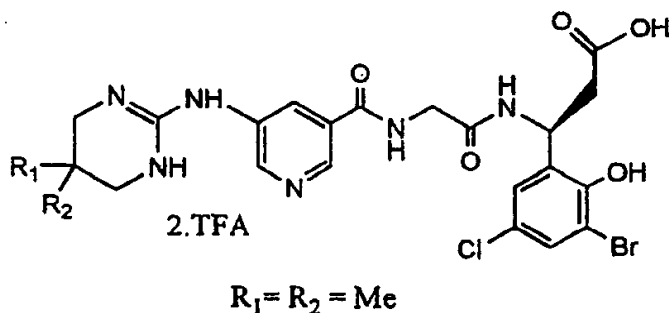
MS 和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

在室温下，将该酯(0.2 g)与 1 M LiOH(2 mL)一起搅拌 1 小时。以
三氟乙酸将 pH 调至 2 并通过反相 HPLC 纯化产物，提供(冷冻干燥
15 后)作为白色固体的要求的酸(0.11 g).

MS 和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

实施例 50

制备



使用在实施例 49 中描述的方法, 以等量实施例 R 替代实施例 G,
5 制备以上化合物(流程 A2)。

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

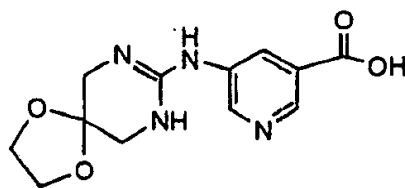
在室温下, 将酯(0.19 g, 0.00023 mole)与 1 M LiOH(2 mL)一起搅
拌 1 小时。以三氟乙酸将 pH 调至 2 并通过反相 HPLC 纯化产物, 提
供(冷冻干燥后)作为白色固体的要求的酸(0.13 g, 72%收率)。

10

MS 和 $^1\text{H-NMR}$ 与要求的结构相一致。

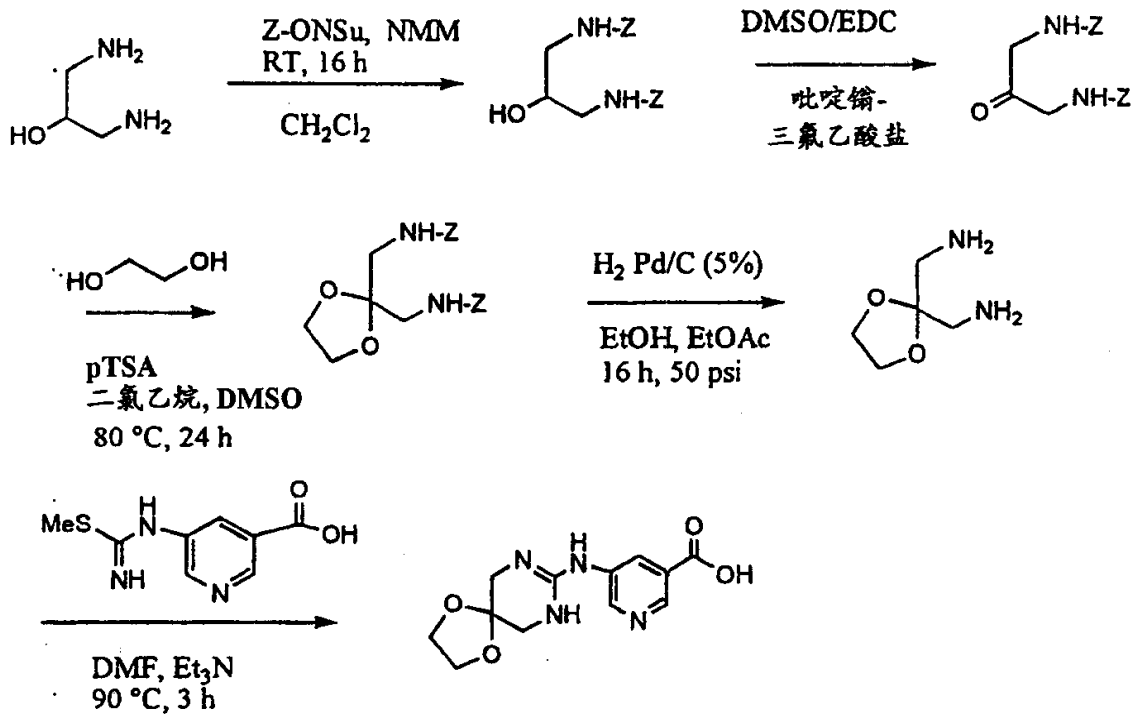
实施例 51

制备



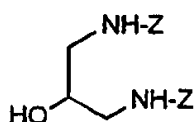
流程 B

流程 B



步骤 1

5 制备双-N-苄氧基羰基-2-羟基-1,3-二氨基丙烷

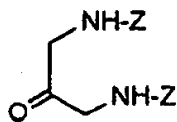


10 在 10°C 下，向 2-羟基-1,3-二氨基丙烷(5.8 g, 0.064 mol)在含有 N-甲基吗啉(14 mL)的二氯甲烷(150 mL)中的悬浮溶液中分批加入苄氧基羰基琥珀酰亚胺(32 g, 0.129 mol)(流程 B)。在室温下，把反应混合物搅拌 16 小时，并用二氯甲烷(100 mL)稀释生成的透明溶液，用 10% 柠檬酸(2x50 mL)、水连续洗涤并干燥(Na_2SO_4)。过滤后，减压下除去溶剂，并且生成的白色固体从二氯甲烷中结晶，得到要求的化合物(20.0 g, 87%)。

$^1\text{H-NMR}$ 和 MS 与该结构相一致。

步骤 2

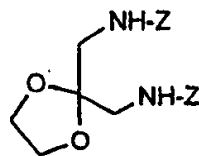
制备双-N-苄氧基羰基-1,3-二氨基丙-2-酮



5 于 30 分钟内，向步骤 1 的产物(21.0 g, 0.058 mol)和 EDC(33.0 g) 在含有 DMSO(24.0 mL)的二氯甲烷(120 mL)中的悬浮液中滴加入三氟乙酸吡啶鎓盐(33.0 g)在二氯甲烷(50 mL)中的溶液并在 10°C 下搅拌。加入后，得到透明的黄色溶液。在室温下搅拌 3 小时后，从反应混合物中分离白色固体。冷却，过滤，并且用冷的二氯甲烷和水
10 洗涤该固体。于干燥器中真空干燥得到的白色固体，得到要求的产物(15.5 g, 74%收率)。 $^1\text{H-NMR}$ 和 MS 与该结构相一致。

步骤 3

制备



15 在无水条件下，将步骤 2 的产物(2.5 g, 0.007 mol)、对甲苯磺酸(0.3 g, 0.0016 mol)和 DMSO(1.0 mL)在含有乙二醇(2.0 mL)的二氯乙烷(25 mL)中的混合物加热至回流(流程 B)。24 小时后，冷却反应混合物，用二氯甲烷(25 mL)稀释并用 10%碳酸氢钠、水连续洗涤并干燥 (Na_2SO_4)。减压下除去溶剂后，残余物从二氯甲烷/己烷中结晶，得
20 到要求的化合物(2.5 g, 89%收率)。 $^1\text{H-NMR}$ 和 MS 与该结构相一致。

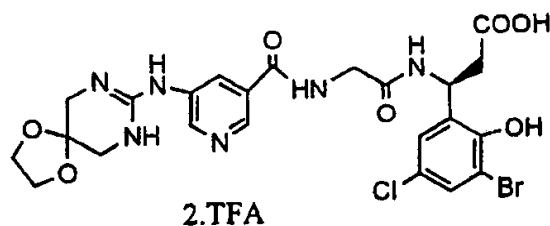
步骤 4

将步骤 3 的产物(3.0 g, 0.0075 mol)溶于乙醇(50.0 mL)和乙酸乙酯

(50.0 mL)的溶剂混合物中, 并且在室温下, 在 Pd/C(5%, 1.5 g)存在下于 50 磅/平方英寸下氢化 16 小时(流程 B)。过滤除去催化剂, 用含有 40%水的乙醇溶液(50 mL)洗涤并过滤。将合并的滤液和水洗涤液减压下浓缩至干, 得到糖浆状物。将该物料溶于 DMF(10.0 mL)中, 与三乙胺(0.7 mL)和 DMAP(0.05 g)一起加入到实施例 1 步骤 2 的产物(1.0 g, 0.0047 mol)中。在无水条件下, 于 90℃下将生成的混合物加热。3 小时后, 真空蒸馏 DMF, 用水研磨残余物并过滤。其用水、乙腈洗涤, 并在干燥器中真空干燥, 得到作为粉末的实施例 5(0.4 g, 30%)。在步骤 B 中, 该物料无需进一步纯化即可使用。¹H-NMR 和 MS 与该结构相一致。

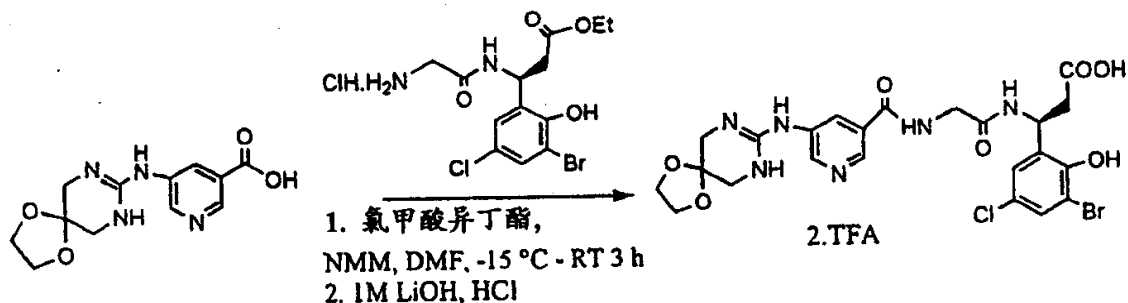
实施例 52

制备

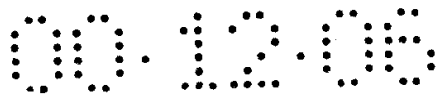


流程 C

流程 C



将实施例 51 的化合物(0.38 g, 0.0014 mol)悬浮于干燥的 THF(5.0 ml)中并加入三氟乙酸(0.1 ml)且在无水条件下于 10℃搅拌(流程 C)。

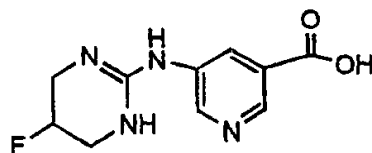


分钟后，减压下蒸馏 THF 并把残余物真空干燥 3 小时。将生成的物料溶于干燥的 DMF(4.0 ml)中，冷却至-15℃，并加入氯甲酸异丁酯(0.18 mL)，随后加入 N-甲基吗啉(0.17 mL)。在氩气氛下将该溶液搅拌 30 分钟。在 0℃下，向该混合物中加入通过将 N-甲基吗啉(0.17 mL)加入到实施例 R(0.51 g)在 DMF(3.0 mL)中的溶液中生成的胺的溶液。
5 在-15℃下，将生成的混合物搅拌 30 分钟，然后在室温下搅拌 16 小时。然后经真空蒸馏除去溶剂，并通过反相 HPLC 纯化残余物，使用 10-90%乙腈/水梯度(40 分钟)以 70 mL/min 的流速洗脱。

合并适当的部分并冷冻干燥，得到作为松散白色粉末的要求的酯(0.4 g)。在室温下，将该物料与氢氧化锂(1 M, 2.0 mL)一起搅拌。45 分钟后，冷却反应混合物，用水稀释，用三氟乙酸酸化，并使用如同以上描述的 10-90%乙腈/水洗脱，经反相 HPLC 分离要求的酸(0.25 g)。¹H-NMR 和 MS 与该结构相一致。

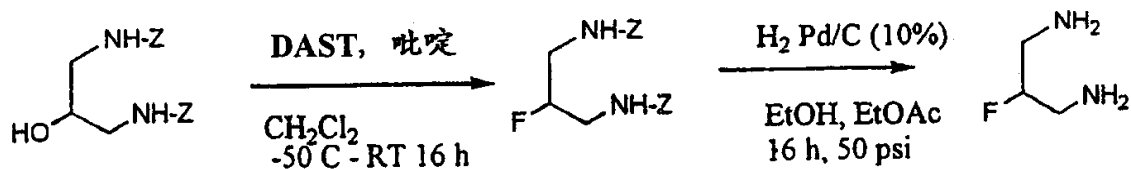
实施例 53

15 制备

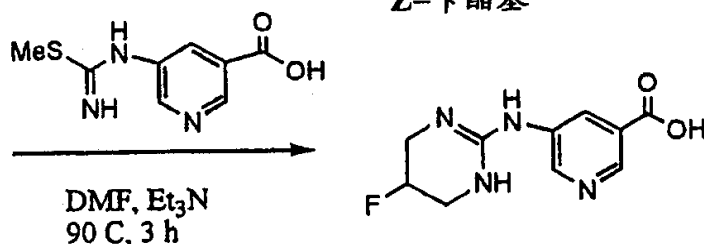


流程 D

流程 D

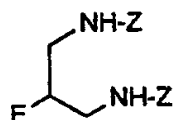


Z=苄酯基



步骤 1

5 制备双-N-苄氧基羰基-2-氟-1,3-二氨基丙烷



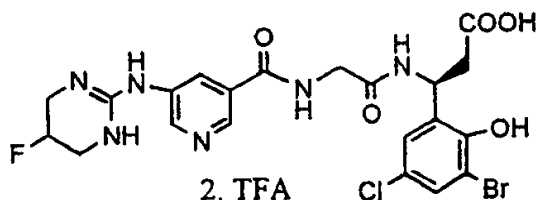
在-50℃下，向搅拌着的双-N-苄氧基羰基-2-羟基-1,3-二氨基丙烷
 (6.0 g, 0.017 mol)在二氯甲烷(50 mL)和吡啶(2.7 mL)中的悬浮液中滴
 10 加入 DAST(2.5 mL)在二氯甲烷(7.5 mL, 流程 D)中的溶液。在氩气氛
 下，于 16 小时内把反应混合物逐渐温热至室温。得到透明黄色溶液。
 冷却该溶液并倾入到冰、水(100 mL)和二氯甲烷(50 mL)的混合物中。
 用水(2X50 mL)洗涤有机相并干燥(Na_2SO_4)。除去溶剂后，经硅胶快
 速层析法纯化残余物，使用 30%在己烷中的 EtOAc 洗脱。合并适宜
 15 的部分，浓缩至干，并且产物从二氯甲烷/己烷中结晶，得到作为白
 色松散粉末的要求的氟代中间体(2.0 g)。 $^1\text{H-NMR}$ 和 MS 与该结构相
 一致。

步骤 2

在室温下，在 Pd/C(10%, 2.7 g)存在下，将步骤 1 中得到的双-N-苄氧基羰基-2-氟-1,3-二氨基丙烷(3.3 g, 0.0092 mol)在 EtOAc(30 mL)和 EtOH(30 mL)中的溶液在 50 磅/平方英寸下氢化 16 小时(流程 D)。过滤后，将催化剂与含有 40%水的 EtOH(50 mL)一起搅拌并再次过滤。将滤液浓缩至干，得到糖浆状物(0.7 g)。将该糖浆状物悬浮于 DMF(8.0 mL)中。加入实施例 1 步骤 2 的产物(0.7 g, 0.0033 mol)、催化量的 DMAP(0.01 g)并在无水条件下于 90°C 下加热 3 小时。真空蒸馏 DMF，将残余物悬浮于水(25 mL)中并经加入 1 N HCl 调节 pH 至 4.5。冷却生成的混合物。过滤分离的固体并用水、乙腈彻底洗涤，在干燥器中真空干燥，得到作为棕色粉末的要求的化合物(0.24 g)。¹H-NMR 和 MS 与该结构相一致。

实施例 54

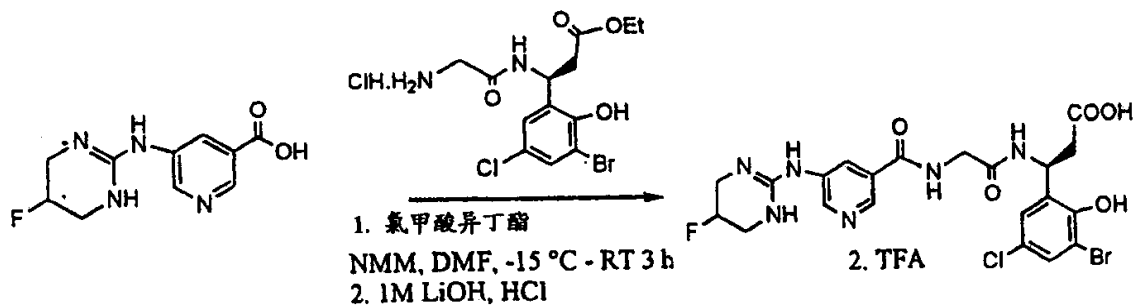
制备

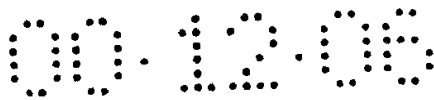


15

流程 E

流程 E





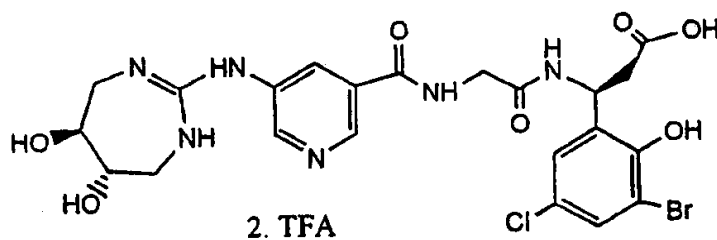
5 将以上得到的实施例 53 的化合物(0.22 g)悬浮于干燥的 THF(4.0 mL)中。加入三氟乙酸(0.1 mL)并在 10°C 下将该溶液搅拌 30 分钟，并减压下浓缩。在干燥器中真空干燥残余物。将得到的物料悬浮于干燥的 DMF(5 mL)中。加入氯甲酸异丁酯(0.12 mL)，随后加入 N-甲基吗啉(0.11 mL)。在氩气氛下，于 -15°C 下搅拌该溶液(流程 E)。30 分钟后，加入通过把 N-甲基吗啉(0.095 mL)加入到实施例 R 的产物(0.37 mg)在 DMF (3.0 mL)中的溶液中生成的胺的溶液。在 -15°C 下，将生成的混合物搅拌 30 分钟，并且在室温下搅拌 16 小时。真空蒸馏 DMF 并经反相 HPLC 纯化残余物，使用 10-90%乙腈/水洗脱。合并适宜的部分并冷冻干燥，得到作为浅黄色粉末的要求的酯产物(0.35 g)。¹H-NMR 和 MS 与该结构相一致。

15 在室温下，将生成的产物(0.3 g，流程 E)与 1 M LiOH(3.0 mL)一起搅拌。1 小时后，用水(3.0 mL)稀释该溶液，冷却并用三氟乙酸酸化。然后，生成的混合物经反相 HPLC 纯化，使用 10-90%乙腈/水(30 分钟的梯度)以流速 70 mL/min 洗脱。合并适宜的部分并冷冻干燥，得到作为白色粉末的要求的化合物(0.22 g)。

¹H-NMR 和 MS 与该结构相一致。

实施例 55

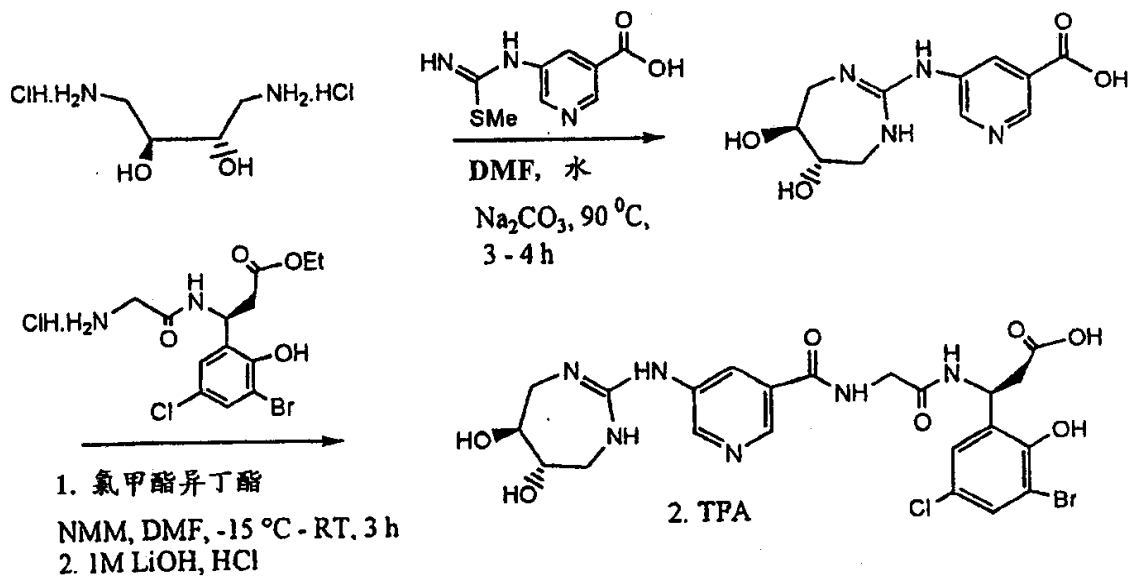
制备



20

流程 F

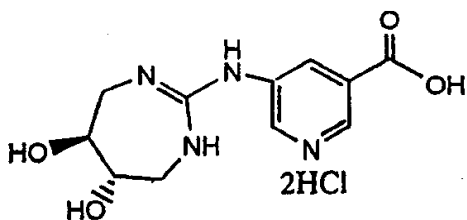
流程 F



步骤 1

5

制备

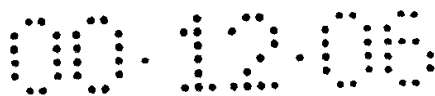


10

向 1,4-二氨基-2,3-二羟基丁烷二盐酸盐[2.21 g, 0.012 mole][如同在 J. Carbohydrate Chemistry, 5(2), 183-197 [1986]中描述的那样, 由二甲基-L-酒石酸酯合成]在水(6 mL)和无水 DMF(10 mL)中的溶液中加入碳酸钠(1.83 g, 0.017 mole)。向该混合物中加入实施例 1 步骤 2 的产物(1.21 g, 0.006 mole)并在 85°C 下把该混合物加热 3 小时。在冰浴上冷却后, 真空蒸馏 DMF 并将生成的残余物悬浮于水中。调节 pH 至 5.6。冷冻干燥该溶液, 得到要求的产物(0.907 g, 59%收率)。

15

MS 与要求的结构相一致(M+H 267)。通过在 10°C 下与在 THF(10



mL)中的 4 N HCl/二噁烷(2 当量)一起搅拌 1 小时, 将所得到的化合物转化为其 HCl 盐。

步骤 2

5 在-20℃下, 向步骤 1 的产物(0.11 g, 0.00023 mole)在无水 DMF(10 mL)中的悬浮液中加入氯甲酸异丁酯(0.016 g, 0.00012 mole), 随后滴加入 N-甲基吗啉(0.013 g, 0.00013 mole, 流程 F)。在氩气氛下, 于-20℃下将该混合物搅拌 20 分钟后, 加入另外量的 N-甲基吗啉(0.013 g, 0.00013 mole), 随后加入实施例 R 的产物(0.048 g, 0.00012 mole)。在-20℃下, 将生成的混合物搅拌 15 分钟。在室温下搅拌 2 小时后, 真空蒸馏 DMF 并经反相 HPLC 纯化残余物, 得到(冷冻干燥后)作为白色固体的要求的酯(0.03 g, 33%收率)。

MS(M+H 627 M+H 629)和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD): δ 8.8 (s, 1H), 8.5 (s, 1H), 8.1 (s, 1H), 7.4 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 5.6 (m, 1H), 4.1 (m, 4H), 3.7 (m, 2H), 3.6 (m, 2H), 3.3 (m, 2H), 2.9 (m, 2H), 1.2 (m, 3H)。

15 将生成的酯(0.03 g, 0.000035 mole)与 1 N LiOH(2 mL)一起搅拌。在室温下搅拌 1 小时后, 用三氟乙酸调节 pH 至 2, 并且经反相 HPLC 分离产物, 得到(冷冻干燥后)作为白色固体的要求的酸(0.001 g, 3.5%收率)。

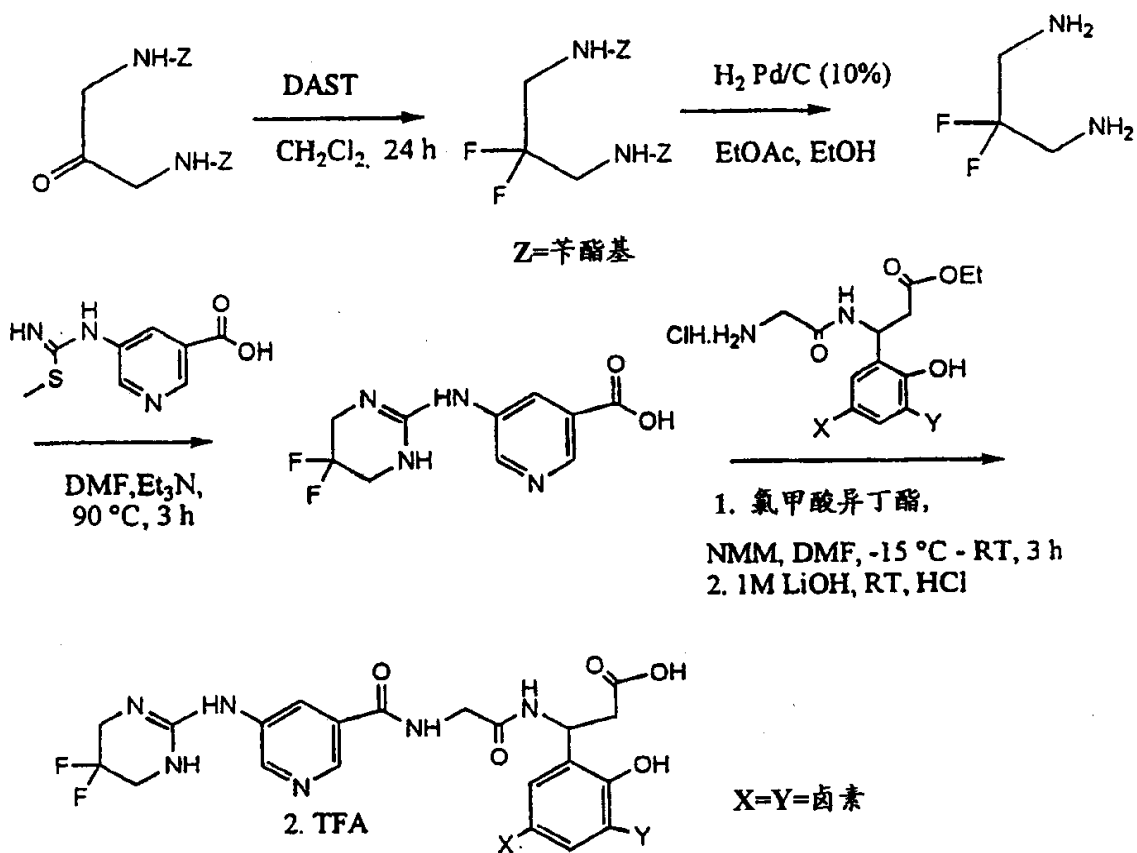
20 MS(M+H 599 M+H 601)和 ¹H-NMR 与要求的结构相一致。

¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD): δ 8.8 (s, 1H), 8.5 (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.4 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 5.6 (m, 1H), 4.1 (m, 2H), 3.8 (m, 2H), 3.5 (m, 2H), 3.3 (m, 2H), 2.8 (m, 2H)。

实施例 56

25 按照在以下流程 1 中概述的合成顺序, 制备二氟代类似物。

流程 1



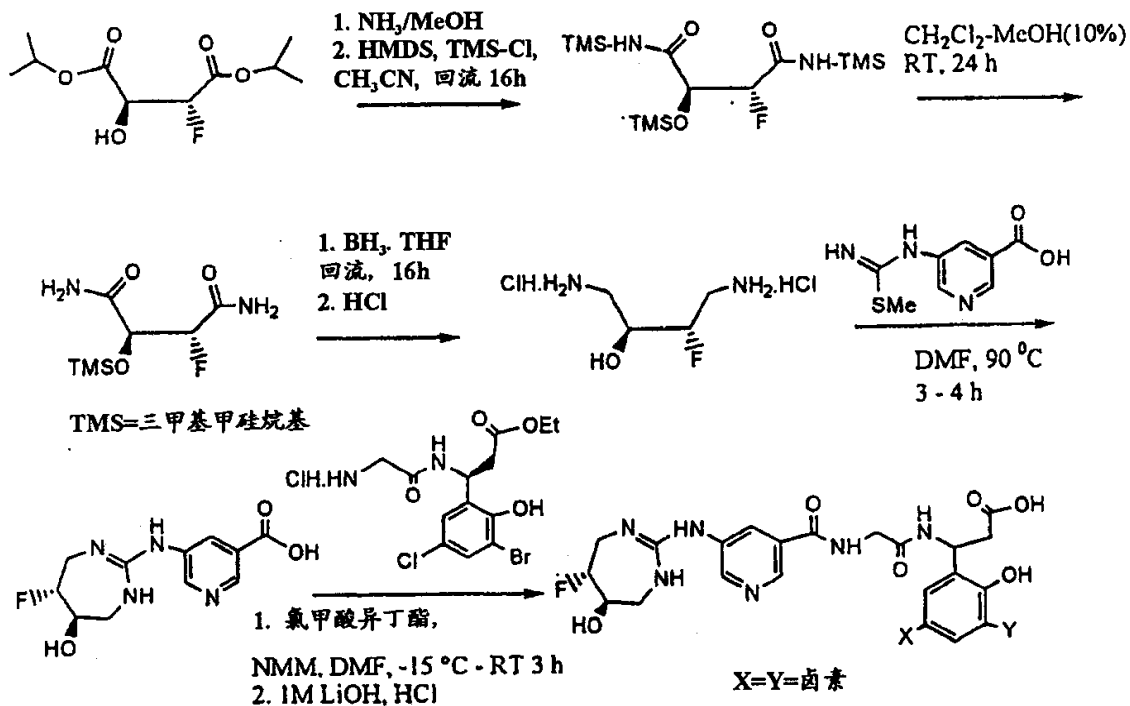
使用 DAST 二乙基氨基三氟化硫，将苄酯基保护的酮转化为相应的二氟代中间体。随后经催化氢化除去苄酯基(Z)并使生成的二胺与 5-氨基烟酸衍生物的 S-甲基异硫脲衍生物偶合，提供相应的二氟取代的含有烟酸前体的胍。该化合物与甘氨酸-β-氨基酸酯反应随后水解和酸化，得到最终要求的化合物。

实施例 57

按照以下流程，从已知的二异丙基-L-酒石酸酯开始，制备含有七元氟代/羟基取代的胍的化合物(*J. Am. Chem. Soc.* 1988, 110, 7538)。

流程 2

流程 2



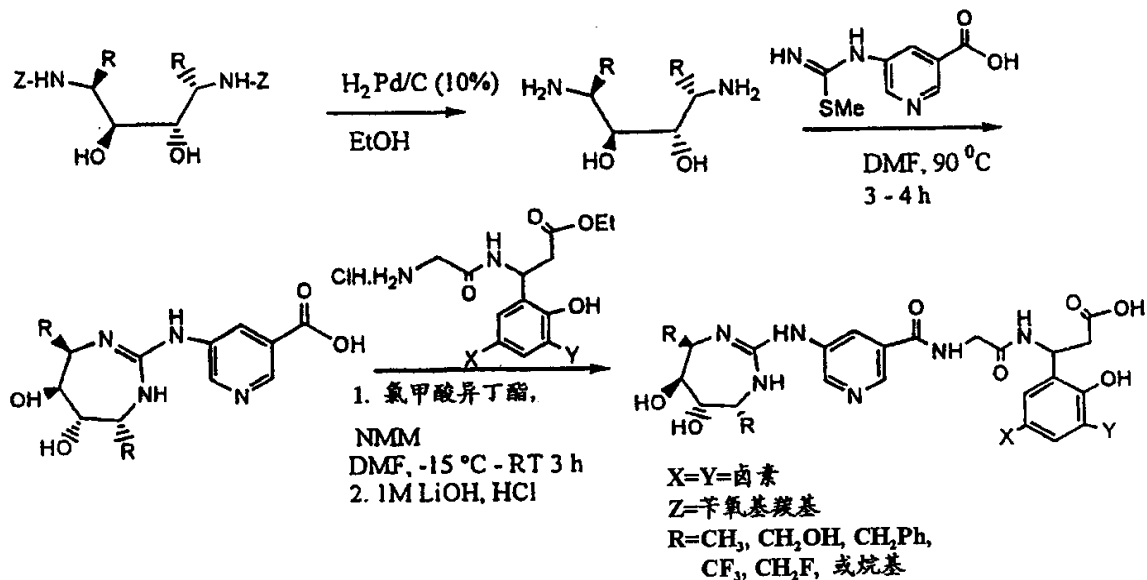
5 经过酰胺化、甲硅烷基化和 N-脱甲硅烷基化，合成单甲硅烷基化中间体。乙硼烷还原该单甲硅烷基衍生物提供相应的二胺二盐酸盐。随后所述游离的二胺与 S-甲基异硫脲 5-氨基烟酸衍生物缩合，提供相应的七元胍衍生物。该胍进一步与甘氨酸- β -氨基酸酯反应，随后水解和酸化，得到最终要求的化合物。

实施例 58

10 按照在以下流程中概述的反应，制备二烷基/二醇取代的七元环状胍化合物。由已知的苄酯基保护的二胺(*J. Med. Chem.* 1996, 39, 2156)开始，通过使游离的二胺前体与 S-甲基异硫脲 5-氨基烟酸衍生物反应，合成相应的七元环状胍。生成的胍羧酸与甘氨酸- β -氨基酸酯缩合，随后经过水解和酸化，得到最终要求的化合物。

流程 3

流程 3



5

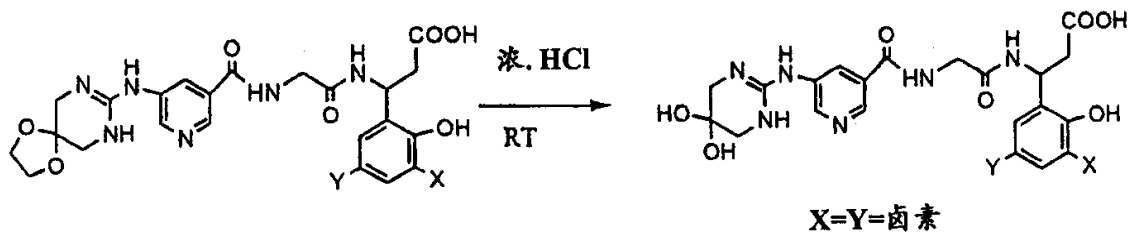
实施例 59

如同在以下流程中显示的那样，经酸催化下的环缩酮前体裂解，制备二羟基化合物。

流程 4

流程 4

10

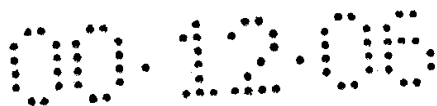


实施例 60

15

如同在实施例 F 中概述的那样，由 D 或者内消旋-酒石酸衍生物起始制备含有二醇取代的七元环状脒的化合物。

本发明化合物的活性在以下试验中测试。在所述试验中的测试



结果列于表 1 中。

玻连蛋白粘附试验

材料

如同以前描述的那样[Pytela 等, 酶学中的方法, 144:475-489 (1987)], 自人胎盘纯化人玻连蛋白受体($\alpha_v\beta_3$)。如同以前描述的那样[Yatohgo 等, 细胞结构与功能, 13:281-292 (1988)], 自新鲜冷冻的血浆纯化人玻连蛋白。如同以前描述的那样[Charo 等, J. Biol. Chem., 266(3):1415-1421 (1991)], 通过将 Pierce 化学公司(Rockford, IL)的 NHS-生物素与纯化的玻连蛋白偶合来制备生物素化的人玻连蛋白。
10 从 Sigma(St. Louis, MO)得到试验缓冲液、OPD 底物片和 RIA 级别的 BSA。从 Calbiochem(La Jolla, CA)得到抗生物素抗体。从 Flow Labs(McLean, VA)得到 Linbro 微量滴定板。从 Sigma(St. Louis, MO)得到 ADP 试剂。

15 方法

固相受体试验

这个试验与先前报道[Niiya 等, 血液, 70:475-483 (1987)]的基本相同。在含有 1.0 mM 的 Ca^{++} 、 Mg^{++} 和 Mn^{++} , pH 7.4 的 Tris 缓冲的盐水(TBS^{+++})中, 将纯化的人玻连蛋白受体($\alpha_v\beta_3$)从贮备液稀释至 1.0
20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。将稀释的受体以 100 $\mu\text{L}/\text{孔}$ (100 ng 受体/孔)立即转移至 Linbro 微量滴定板中。把这些板密封并在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜以使受体结合到孔上。所有其余的步骤在室温下进行。把这些试验板排空并加入 200 μL 在 TBS^{+++} 中的 1% RIA 级别的 BSA($\text{TBS}^{+++}/\text{BSA}$), 以封闭暴露的塑料表面。随后孵育 2 小时, 使用 96 孔板洗涤器, 用 TBS^{+++} 洗涤这些
25 试验板。在贮备液浓度 2 mM 下开始并且使用在 $\text{TBS}^{+++}/\text{BSA}$ 作为稀释液中的 2 nM 生物素化的玻连蛋白, 制备受试化合物和对照组的对数级数稀释液。用 CETUS Propette 自动机进行, 使受试(或者对照组)配基与标记的配基预先混合, 并且随后将 50 μL 等分试样转移至试

5 验板上；所述标记的配基的最终浓度为 1 nM 和受试化合物的最高浓度为 1.0×10^{-4} M。竞争作用发生两小时后，如同以前那样用板洗涤器洗涤所有的孔。在 TBS⁺⁺⁺/BSA 中，将亲和纯化的辣根过氧化物酶标记的山羊抗生物素抗体稀释为 1:3000 并且将 125 μ L 加入到每一个孔中。30 分钟后，洗涤这些板并在 100 mM/L 枸橼酸缓冲液(pH 5.0)中与 OPD/H₂O₂ 底物一起孵育。在 450 nm 波长下，用微量滴定板读数器读取这些板并且当最大结合对照组孔达到大约 1.0 的吸收度时，记录最终的 A₄₅₀ 用于分析。使用以 EXCELJ 电子表格程序写出的宏分析这些数据。测定平均值、标准偏差和 %CV 用于重复试验浓度。将平均 A₄₅₀ 值标准化为四个最大结合对照组的平均值(不加入竞争剂)(B-MAX)。使标准化的数值经四个参数曲线拟合算法[Rodbard 等, Int. Atomic Energy Agency, Vienna, 第 469 页(1977)], 在半-log 标度上作图表示, 并且计算相应于生物素化的玻连蛋白的最大结合的 50% 抑制率的浓度(IC₅₀)和相应的 R² 被报道用于在最高试验浓度下呈现大于 50% 抑制率的那些化合物; 另外, 据报道所述 IC₅₀ 大于最高试验浓度。为有效的 $\alpha_v \beta_3$ 拮抗剂(IC₅₀ 在 3-10 nM 范围内)的 β -[[2-[[5-[(氨基亚氨基甲基)氨基]-1-氧代戊基]氨基]1-氧代乙基]氨基]-3-吡啶丙酸 [USSN 08/375,338, 实施例 1] 作为阳性对照包含在每一个板中。

20 纯化的 IIb/IIIa 受体试验

材料

从过时的血小板纯化人血纤蛋白原受体($\alpha_v \beta_3$)(Pytela, R., Pierschbacher, M. D., Argraves, S., Suzuki, S. 和 Rouslahti, E. “精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸粘附受体”, 酶学中的方法, 144:475-489 (1987)).

25 如同在 Yatohgo, T., Izumi, M., Kashiwagi, H. 和 Hayashi, M., “通过肝素亲和层析法对来自人血浆中玻连蛋白的新的纯化方法”, 细胞结构与功能, 13:281-292 (1988) 中描述的那样, 将来自新鲜冷冻的血浆的人玻连蛋白纯化。如同以前描述的那样(Charo, I. F., Nannizzi, L.,



Phillips, D. R., Hsu, M. A., Scarborough, R. M., “通过 GP IIIa 肽抑制结合于 GP IIb/IIIa 的血纤蛋白原”, J. Biol. Chem. 266(3)(1991):1415-1421), 通过将 Pierce 化学公司(Rockford, IL)的 NHS-生物素与纯化的玻连蛋白偶合来制备生物素化的人玻连蛋白。从 Sigma(St. Louis, MO)得到试验缓冲液、OPD 底物片和 RIA 级别 BSA。从 Calbiochem(La Jolla, CA)得到抗生物素抗体。从 Flow Labs(McLean, VA)得到 Linbro 微量滴定板。从 Sigma(St. Louis, MO)得到 ADP 试剂。

方法

10 固相受体试验

这个试验与 Niiya, K., Hodson, E., Bader, R., Byers-Ward, V. Koziol, J. A., Plow, E. F. 和 Ruggeri, Z. M., “由血小板活化引起的膜糖蛋白 IIb/IIIa 复合物的增加的表面表达: 血纤蛋白原结合与血小板聚集的关联”, 血液, 70(1987):475-483 中报道的基本相同。在含有 1.0 mM 的 Ca^{++} 、 Mg^{++} 和 Mn^{++} , pH 7.4 的 Tris 缓冲的盐水(TBS^{+++})中, 将纯化的人血纤蛋白原受体($\alpha_v\beta_3$)从贮备液稀释至 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。将稀释的受体以 100 $\mu\text{L}/\text{孔}$ (100 ng 受体/孔)的量立即转移至 Linbro 微量滴定板中。把这些板密封并在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜以使受体结合到孔上。所有其余的步骤在室温下进行。把这些试验板排空并加入 200 μL 在 TBS^{+++} 中的 1% RIA 级别的 BSA($\text{TBS}^{+++}/\text{BSA}$), 以封闭暴露的塑料表面。随后孵育 2 小时, 使用 96 孔板洗涤器, 用 TBS^{+++} 洗涤这些试验板。在贮备液浓度 2 mM 下开始并且使用在 $\text{TBS}^{+++}/\text{BSA}$ 作为稀释液中的 2 nM 生物素化的玻连蛋白, 制备受试化合物和对照组的对数级数稀释液。用 CETUS Propette 自动机进行使标记的配基与受试(或者对照组)配基预先混合, 并且随后将 50 μL 等分试样转移至试验板上; 所述标记的配基的最终浓度为 1 nM 并且受试化合物的最高浓度为 1.0×10^{-4} M。竞争作用发生两小时后, 如同以前那样用板洗涤器洗涤所有的孔。在 $\text{TBS}^{+++}/\text{BSA}$ 中, 将亲合纯化的辣根过氧化物酶标记的山羊抗



生物素抗体稀释为 1:3000 并且将 125 μ L 加入到每一个孔中。30 分钟后，洗涤这些板并在 100 mM/L 枸橼酸缓冲液(pH 5.0)中与 ODD/H₂O₂ 底物一起孵育。在 450 nm 波长下，用微量滴定板读数器读取这些板并且当最大结合对照组孔达到大约 1.0 的吸收度时，记录最终的 A₄₅₀ 用于分析。使用以 EXCELJ 电子表格程序写出的宏分析这些数据。测定平均值、标准偏差和 %CV 用于重复试验浓度。将平均 A₄₅₀ 值标准化为四个最大结合对照组的平均值(不加入竞争剂)(B-MAX)。使标准化的数值经四个参数曲线拟合算法[Rodbard 等, Int. Atomic Energy Agency, Vienna, 第 469 页(1977)], 在半-log 标度上作图表示, 并且计算相应于生物素化的玻连蛋白的最大结合的 50% 抑制率的浓度(IC₅₀)和相应的 R² 被报道用于在最高试验浓度下呈现大于 50% 抑制率的那些化合物; 另外, 据报道所述 IC₅₀ 大于最高试验浓度。为有效的 $\alpha_v\beta_3$ 拮抗剂(IC₅₀ 在 3-10 nM 范围内)的 β -[[2-[[5-[(氨基亚氨基甲基)氨基]-1-氧代戊基]氨基]-1-氧代乙基]氨基]-3-吡啶丙酸 [USSN 08/375,338, 实施例 1] 作为阳性对照包含在每一个板中。

人血小板富集血浆试验

从志愿者中选择健康的不服用阿司匹林供血者。如同在 Zucker, M. B. “通过光量法测量血小板聚集”, 酶学中的方法 169(1989):117-133 中描述的那样, 收集富血小板血浆并随后实施 ADP 诱导的血小板聚集试验。使用翼形胶粘带的标准静脉穿刺术的技术使抽取 45 mL 全血进入到含有 5 mL 的 3.8% 枸橼酸三钠盐的 60 mL 注射器中。随后在注射器中彻底混合, 将抗凝全血转移至 50 mL 锥形聚乙烯试管中。在室温下, 于 200 xg 下将该血离心 12 分钟, 以沉淀非血小板细胞。将富血小板血浆转移到聚乙烯试管中并在室温下贮存备用。于 2000 xg 下将剩余的血第二次离心 15 分钟得到贫血小板血浆。血小板计数一般为每微量滴定管 300,000 至 500,000。将富血小板血浆(0.45 mL)等分加入硅化杯中并在 37°C 下搅拌(1100 rpm)1 分钟, 然后加入 50 μ L

5 预先稀释的受试化合物。在混合 1 分钟后，通过加入 50 μL 的 200 μM ADP 引发聚集。于 Payton 双道聚集仪(Payton Scientific, Buffalo, NY)上记录聚集 3 分钟。对于一系列受试化合物稀释液的最大应答(盐水对照组)抑制百分率用于测定剂量应答曲线。所有化合物重复试验并对于在试验的最高浓度下呈现 50%或者更大抑制作用的化合物的剂量应答曲线作图计算半数最大抑制作用浓度(IC_{50})，另外据报道所述 IC_{50} 比最高试验浓度更大。

实施例编号	$\alpha_v\beta_3(\text{IC}_{50}, \text{nm})$	Iib/IIIa($\text{IC}_{50}, \text{nm}$)
1	1.58	313
2	1.32	272
3	0.41	298
4	0.74	581
5	0.42	884
6	0.27	1260
7	0.21	361
8	95.1	857
9	0.18	244
10	0.14	161
11	0.34	462
12	4.5	442
13	9.32	780
14	12.4	772
15	25.4	1040
16	22000	6180
17	0.46	724
18	0.43	798
19	2.96	2490
20	0.32	2020
21	0.2	551

00.12.05

22	6.96	1710
23	3600	10100
24	91200	15800
25	1870	3910
26	0.71	831
27	0.26	482
28	0.43	984
29	0.46	1385
30	155	29.5
31	3942	1803
32	2.1	49
33	0.2	520
34	0.34	1203
35	0.14	340
36	1.13	970
37	63.8	267
38	278	115
39	1917	2458
40	1.5	20630
41	10.2	35400
42	3.1	5954
43	6.5	7527
44	42.1	1061
45	1094	1678
46	1.97	2693
47	0.99	6709
48	4.3	27910