

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 85109722.7

[51]Int.Cl⁶

[45]授权公告日 1995年9月6日

C07K 7/06

[24] 颁证日 95.6.18

[21] 申请号 85109722.7

[22] 申请日 85.11.2

[30] 优先权

[32]84.11.9 [33]JP[31]236076 / 84

[73]专利权人 伊萨株式会社

地址 日本东京都

[72]发明人 吉野博 土屋裕 金子武松

A61K 38/02

中泽隆弘 池田益启 荒木伸

山津清实 楠真郎 荒川义弘

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商

标事务所

代理人 辛敏忠 顾柏棣

说明书页数: 附图页数:

[54]发明名称 一种新肽及其制造方法

[57]摘要

制造由 7-10 个氨基酸构成的相当敌诺芬 (Dynorphine)衍生物新肽的方法。该肽可医用，特别是可用来制造止疼药。

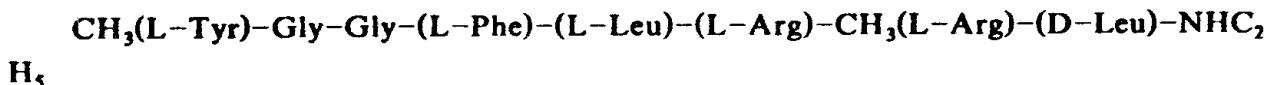
权 利 要 求 书

1.制备下式多肽或其药学上可接受的盐的方法:



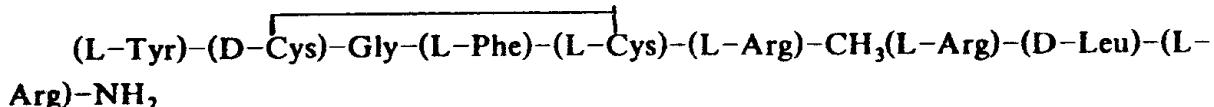
其中 R^1 作为 $L-Tyr$ 的 α -氨基上的取代基代表氢或低级烷基; A 为 Gly 或 D-Cys, 条件是当 A 为 Gly 时 R^1 为低级烷基, 当 A 为 D-Gly 时它通过 S-S 键与第 5 位的 L-Cys 键合以形成分子内闭环且 R^1 为氢; B 为 L-Phe, 其中苯环的对位可被硝基取代; C 选自 L-Leu、 α -N-低级烷基 L-Leu、L-Cys 或 L-Met(O), 条件是当 A 为 D-Cys 时, C 为 L-Cys 且 C 通过所说 S-S 键与 A 键合; D 选自 L-Arg、 α -N-低级烷基 L-Arg 或 L-Lys; E 为 L-Arg 或 α -N-低级烷基 L-Arg; F 为 $-NH_2$ 、 $-(D-Leu)-OR^2$ 、 $-(D-Leu)-NHR^3$ 或 $-(D-Leu)-(L-Arg)-NHR^4$, 其中 R^2 、 R^3 和 R^4 可相同或不同, 且为氢或低级烷基; 其特征在于先用合适方法形成有保护基的形式, 然后再脱掉保护基从而得到上式肽, 需要的话, 还可用通常方法把多肽转化为它们的药学上可接受的盐。

2.根据权利要求 1 的方法, 其中多肽具有下式

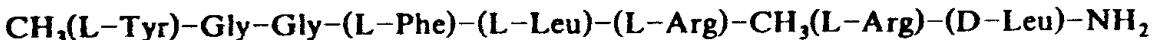


其中 $CH_3(L-Tyr)$ 或 $CH_3(L-Arg)$ 表示甲基与每一氨基酸的 α -氨基连接。

3.根据权利要求 1 的方法, 其中多肽具有下式

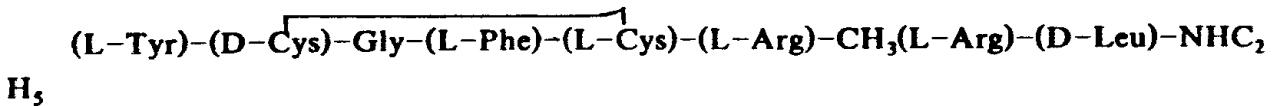


4.根据权利要求 1 的方法, 其中多肽具有下式

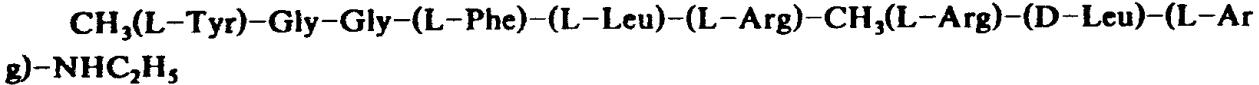


其中 $CH_3(L-Tyr)$ 或 $CH_3(L-Arg)$ 表示甲基与每一氨基酸的 α -氨基连接。

5.根据权利要求 1 的方法, 其中多肽具有下式



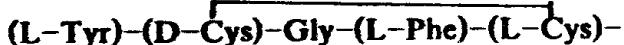
6.根据权利要求 1 的方法, 其中多肽具有下式



7.根据权利要求 1 的方法, 其中序列 $R^1(L-Tyr)-A-Gly-$ 为 $CH_3(L-Tyr)-Gly-Gly-$ 。

8.根据权利要求 1 的方法, 其中序列 $B-C-D-E-$ 为 $-(L-Phe)-(L-Leu)-(L-Arg)-CH_3(L-Arg)$ 。

9.根据权利要求 1 的方法, 其中序列 $R^1(L-Tyr)-A-Gly-B-C-$ 为



10.根据权利要求 1 的方法, 其中序列 $R^1(L-Tyr)-A-Gly-B-C-D-E-$ 为 $CH_3(L-Tyr)-Gly-Gly-(L-Phe)-(L-Leu)-(L-Arg)-CH_3(L-Arg)-$ 。

11.根据权利要求 1 的方法, 其中 A 为 Gly。

12.根据权利要求 1 的方法, 其中 F 为 $-NH_2$ 。

13.根据权利要求 1 的方法, 其中 F 为 $-(D-Leu)-OR^2$ 、 $-(D-Leu)-NHR^3$ 或 $-(D-Leu)-(L-Arg)-NHR^4$ 。

说 明 书

一种新肽及其制造方法

本发明涉及具极好药效的肽，特别是具下列通式的肽，及其制造方法。

R₁

\L-酪氨酸-A-甘氨酸-B-C-D-E-F

R₂

其中 R₁ 和 R₂ 可以是相同或不相同的基团，每个代表一个氢或一个低碳烷基或烷芳基；A 代表一个 D-氨基酸、甘氨酸或肌氨酸，假如 D-氨基酸是 D-半胱氨酸，则其与 L-半胱氨酸或 D-半胱氨酸在 5 位上，通过双硫键相连，形成一个分子内闭环；B 代表 L-苯丙氨酸或 D-苯丙氨酸，其中苯环可被取代，而形成一个它们的 α -N-烷基衍生物；C 代表一个 L-氨基酸，D-半胱氨酸或一个 α -N-烷基衍生物；D 和 E 分别代表 L 型或 D 型碱性氨基酸或一个 α -N-烷基衍生物；F 代表一个-OR₃ 基团（其中 R₃ 是氢或低碳烷基），或一个-N\R₄ 基团（其中 R₄ 和 R₅ 是相同或不同的，分别代表氢或一个低碳烷基），或一个-G-OR₆（其中 G 是一个 α -氨基酸， β -丙氨酸， γ -氨基丁酸或一个 α -N-

R₄

烷基的衍生物，而 R₆ 代表氢或一个低碳烷基），或一个-G-N\R₈ 的基团（其中 G 如上定义，R₇ 和 R₈ 可以是相同或不同的基团，分别代表氢或一个低碳烷基），或一个-G-L-精氨酸-OR₉ 或-G-D-精氨酸-OR₉ 基团（其中 G 如上定义，R₉ 代表氢或一个低碳烷

-R₁₀

\R₁₀

/R₁₀

基），或一个-G-L-精氨酸-N\R₁₁ 或-G-D-精氨酸-N\R₁₁ 或-G-D-精氨酸-N\R₁₁ 基团（其中 G 如上定义，H 是一个中性氨基酸或一个酸性氨基酸，R₁₂ 是氢或一个低碳烷基），或一个-G-精氨酸-I-OR₁₃ 基团（其中 I 是 D-氨基酸，R₁₃ 是氢或一个低碳烷

R

基，假定：组成上式肽链的所有氨基酸不都同时代表通式 NH₂-CH₂-COOH 的 L-氨基酸。（其中 R 代表由式-CH-COOH 衍生的氨基酸结构式中相应的基团，或它们的药学上

NH₂

可接受的盐。本发明还涉及该肽及含有它们的药物的制造方法。

组成这些肽的氨基酸包括 D 型和 L 型氨基酸，除非另有说明，氨基酸均为 L 型氨基酸。这里用的符号与肽化学领域通用者具有相同的含意，它们命名如下：

Tyr: 酪氨酸

Gly: 甘氨酸

Sar: 肌氨酸

Cys: 半胱氨酸

Phe: 苯丙氨酸

Arg: 精氨酸

Leu: 亮氨酸

Ile: 异亮氨酸

Nle: 正亮氨酸

Met: 蛋氨酸

Met(O): 蛋氨酸砜

Ser: 丝氨酸

Val: 缬氨酸

homo-Arg: 高精氨酸

Orn: 鸟氨酸

Glu: 谷氨酸

Trp: 色氨酸

Asp: 天冬氨酸

Alo: 丙氨酸

Pro: 脯氨酸

Gln: 谷氨酰胺

Aib: 2-氨基异丁酸

Phe(p-Cl): 对-氯苯丙氨酸

Phe(p-Br): 对-溴苯丙氨酸

Phe(p-No₂): 对-硝苯丙氨酸

Phe(p-I): 对-碘苯丙氨酸

Phe(p-F): 对-氟苯丙氨酸

Phe(p-CH₃): 对-甲苯丙氨酸

Phe(P-CH₃O): 对-甲苯苯丙氨酸

Phe(P-CF₃): 对-三氟甲苯丙氨酸

Boc: 叔-丁氧碳酰(羧)基

Z: 苯氧碳酰(羧)基

Cl₂Bzl: 2, 6-二氯苄基

CH₃Bzl: 4-甲苄基

TOS: 对-甲苯磺酰基

BZL: 苄基

吗啡止痛作用机制的研究发现：活体内含有所谓内源性类吗啡物质，这些物质控制疼痛、精神活动等各种感觉。进行了一系列的研究后，分离出类鸦片肽的脑啡肽和内啡肽等物质，并测定了它们的结构。此后，这方面进一步研究发现了诸如 β -新内啡肽、 β -卡索吗啡、Kyotorphin, dermorphin 和 dynorphin 等新的类鸦片肽。

在它们当中，dynorphin 是本发明的一些发明者发现的，是具有下述结构的一种类鸦片状。

H-酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-亮氨酸-精氨酸-脯氨酸-赖氨酸-亮氨酸-赖氨酸-色氨酸-天冬氨酸-天冬酰胺-谷氨酰胺-OH

Dynorphin 是一种对 K-受体有特异性的天然类鸦片肽，而且作为止痛药，它没有耐药性和成瘾性等副作用。

然而，dynorphin 具有的一个缺点是静脉注射时不能显示止痛作用，因为它在血液中不稳定。

此外，由于 dynorphin 是一种具有相对较长链的肽，所以需要一种链较短且活性度更高的肽。

发明者集中研究具有比 dynorphin 短的肽链，静脉和皮下注射都能显示止痛作用的肽，最后发现：用含有 7 到 9 个氨基酸组成下述通式 I 的新肽，可以达到此目的。

本发明提供了下列通式的肽：

R₁

 ` L-酪氨酸-A-甘氨酸-B-C-D-E-F (I)

R₂

其中 R_1 和 R_2 可以相同或不同，它们分别代表一个氢原子或一个低碳烷基或烷芳基；A 代表一个 D-氨基酸、甘氨酸或肌氨酸，假如该 D-氨基酸是 D-半胱氨酸，则其与 L-半胱氨酸或 D-半胱氨酸，在 5 位上，通过双硫键相连，形成一个分子内闭环；B 代表 L-苯丙氨酸或 D-苯丙氨酸，其中的苯环可被取代，而形成一个它们的 α -N-烷基衍生物；C 代表一个 L-氨基酸，D-半胱氨酸或一个 α -N-烷基衍生物；D 和 E 分别代表一个 L 型或 D 型碱性氨基酸或一个 α -N-烷基衍生物；F 代表式 $-OR_3$ 的一个基团

(其中 R_3 是氢或一个低碳烷基)，或一个式 $-N(R_4)R_5$ 的基团 (其中 R_4 和 R_5 为相同或不同，分别代表氢或一个低碳烷基)，或一个式 $-G-DR_6$ 的基团 (其中 G 是一个 α -氨基酸， β -丙氨酸， γ -氨基丁酸，或是 α -N-烷基及其衍生物， R_6 代表氢或一个低碳烷基)，或

一个式 $-G-N(R_7)R_8$ 的基团 (其中 G 如上定义， R_7 和 R_8 可以相同或不同，分别代表氢或一个低碳烷基)，或一个式 $-G-L$ -精氨酸- OR_9 或式 $-G-D$ -精氨酸- OR_9 的基团 (其中 G

如上定义， R_9 代表氢或一个低碳烷基)，或一个式 $G-L$ -精氨酸- $N(R_{10})R_{11}$ 或式 $-G-D$ -精氨酸- $N(R_{10})R_{11}$ 的基团 (其中 G 如上定义， R_{10} 和 R_{11} 可以相同或不同，分别代表氢或一个低碳烷基)，或一个式 $-G-H-OR_{12}$ 的基团 (其中 G 如上定义，H 是一个中性氨基酸或酸性氨基酸， R_{12} 是氢或一个低碳烷基)，或一个式 $-G$ -精氨酸-I- OR_{13} 的基团 (其中 I 是 D-氨基酸， R_{13} 是氢或一个低碳烷基)，假定：构成上式肽的所有氨基酸不都同时代表下式的 L-氨基酸。



其中 R 代表由式 $\text{CH}-\text{COOH}$ 衍生的氨基酸结构式中相应的基团，或药学上可接受的盐。

这里药学上可接受的盐的例子，包括诸如：盐酸盐、硫酸盐、溴氢酸盐、碘氢酸盐等无机盐，以及诸如：顺丁烯二酸盐、反丁烯二酸盐、琥珀酸盐、醋酸盐、丙二酸盐、柠檬酸盐和苯甲酸盐等有机盐。

因此，本发明的目的是提供一种药用的，特别是止疼药用的新肽。

本发明的另一个目的是提供制造作为药物的新肽的方法。

本发明的再一个目的是提供一种含有该新肽的止痛药。

在上述给 R_1 到 R_{11} 定义中的术语“低碳烷基”指的是含有 1 到 6 个碳原子烷基的直链、分支链、环链或含烷基的环链，诸如：甲基、乙基、正-丙基、异丙基、正-丁基、异-丁基、1-甲丙基、叔-丁基、环丙甲基、正-戊基、1-乙丙基、异戊基和正-己基。上述 R_1 和 R_2 定义中的术语“低碳烷芳基”指的是上述相应烷基的某些位上含有双键。在给氨基酸定义时，在 α -N-烷基衍生物中的术语“烷基”具有上述低碳烷基相同的含义。

本发明的化合物 (I) 的结构特征在于肽中组成它的所有氨基酸均为具有通式

$\begin{array}{c} R \\ | \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$ 的 L-氨基酸的情况被排除，(其中 R 代表一个相当于除掉

$-\text{CH}-\text{COOH}$ 基团一个氨基酸结构的基团) 也就是说，组成该肽的氨基酸至少有一个 α -N-烷基氨基酸或 D-氨基酸。

本发明的化合物，至少含一个 α -N-烷基氨基酸或 D-氨基酸，则不再有上述 dynorphin 及其衍生物的严重缺点，如静脉注射时不显示止痛作用。因为它们在血液中是稳定的。因此，在活体中具高度稳定性，特别是可作为止疼药使用，本发明的化合物是很有价值的。

本发明化合物 (I) 中的 A 并不限于 D-氨基酸。但优选的例子包括 D-蛋氨酸、D-苯丙氨酸、D-丝氨酸、D-半胱氨酸和 D-苏氨酸。

定义 B 时，L-苯丙氨酸和 D-苯丙氨酸中苯环的取代基，优选的是硝基，卤素如：溴、碘、氟、三氟甲基，低碳烷基和低碳烷氧基。

定义 C 时，氨基酸不限于 L-氨基酸，但优选的例子包括：L-亮氨酸、L-异亮氨酸、L-正亮氨酸、L-叔-亮氨酸、L-蛋氨酸砜、L-丝氨酸、L-半胱氨酸、L-缬氨酸。

在定义 D 和 E 时，优选的 L-和 D-碱性氨基酸包括：L-和 D-精氨酸、L-和 D-赖氨酸、L-和 D-高精氨酸和 L-和 D-鸟氨酸。此外，定义 E 时这些氨基酸优选的例子中还包括这些碱性氨基酸的 α -N-烷基衍生物。

在式 (I) 中 G 的 α -氨基酸可以是任何氨基酸。优选的包括：甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、蛋氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、脯氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、精氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、叔-亮氨酸、2-氨基异丁酸和 α -甲基亮氨酸。作为 G 的氨基酸基团，当它有不对称碳原子时，即以 D-形式也可以 L-形式存在。最好是：L-异亮氨酸、L-亮氨酸、L-丙氨酸、L-天冬氨酸、L-脯氨酸、L-叔-亮氨酸、D-丙氨酸、D-缬氨酸、D-亮氨酸、D-谷氨酸、D-脯氨酸、2-氨基异丁酸和 α -甲基亮氨酸。

式中 H 可为任何中性或酸性氨基酸基团，当其有不对称碳原子时，包括有 D 型和 L 型。优选的是：甘氨酸、肌氨酸、L-丙氨酸、D-丙氨酸、L-苯丙氨酸、D-苯丙氨酸、L-天冬氨酸和 D-天冬氨酸。

任何氨基酸均可用于式中的 I。优选的为：D-脯氨酸、D-丙氨酸和 D-谷氨酸。

为了便于理想本发明，下面列举了本发明的样板化合物，但本发明并不局限于此。

• CH_3 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-NH₂
• 酪氨酸-D-蛋氨酸-甘氨酸-对-氯苯丙氨酸-亮氨酸-鸟氨酸-D-精氨酸-D-丙氨酸-NHCH₂CH₂CH₃

• CH_3 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-精氨酸-NHCH₂CH₃

• CH_3 酪氨酸-D-赖氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-酪氨酸-精氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH₂

CH_3

• CH_3 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-甲苯丙氨酸-蛋氨酸-精氨酸-赖氨酸-天冬氨酸-精氨酸-NHCH₂CH₃

• 酪氨酸-D-丙氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH₂

• CH_3 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-精氨酸-精氨酸-D-谷氨酸-精氨酸-NH₂

• $\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CH}_2$ 酪氨酸-D-苏氨酸-甘氨酸-对-三氟甲苯丙氨酸-缬氨酸-精氨酸-鸟氨酸-甘氨酸-OCH₂(CH₂)₂CH₃

• $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-正-亮氨酸-精氨酸-高精氨酸-肌氨酸-OC(CH₃)₃

• CH_3 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-蛋氨酸砜-精氨酸-CH₃-精氨酸-D-亮氨酸-精氨酸-NH₂

- 酪氨酸-D-半胱氨酸-甘氨酸-苯丙-D-半胱氨酸-精氨酸-CH₃-精氨酸-D-亮氨酸-NHCH₂CH₃
 - 酪氨酸-肌氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH₂
 - ▷ -CH₂ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-甲氧苯丙氨酸-异亮氨酸-精氨酸-CH₃-缬氨酸-D-蛋氨酸-N⁺CH₃
 \CH₃
 - CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH(CH₂)₅CH₃
 - CH₃CH₂ 酪氨酸-D-精氨酸-甘氨酸-对-溴苯丙氨酸-正亮氨酸-CH₃-精氨酸-CH₃, 精氨酸-精氨酸-NH₂
 - CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-叔-亮氨酸-精氨酸-CH₃, 精氨酸-D-亮氨酸-NHCH₂CH₃
 - 酪氨酸-D-酪氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸-D-精氨酸-天冬酰胺-NH₂
 - CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-CH₃ 亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH₂
 - 酪氨酸-D-丝氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-丝氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-NHCH₂CH₃
 - CH₂=CH-CH₂ 酪氨酸-D-天冬氨酸-甘氨酸-对-碘苯丙氨酸-丙氨酸-精氨酸-D-精氨酸-色氨酸-OCH₂CH₃
 \CH₃ \
 - CH₃CH₂/ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-氯苯丙氨酸-苯丙氨酸-精氨酸-D-赖氨酸-丝氨酸-N CH₂CH₃
 - CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-精氨酸-NH₂
 - CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-D-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH₂
 CH₃ \
 - CH₃ CH¹/ 酪氨酸-D-赖氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-色氨酸-D-赖氨酸-精氨酸-OCH₂(CH₂)₄CH₃
 - CH₂=CH-酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-硝苯丙氨酸-苏氨酸-D-精氨酸-D-精氨酸-脯氨酸-N⁺CH₃
 \CH₃
 - CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-OH
 - CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-硝苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃, 精氨酸-D-亮氨酸-精氨酸-NHCH₂CH₃
-
- 酪氨酸-D-半胱-甘-苯丙-半胱-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-NHCH₂CH₃
 - 酪氨酸-D-谷氨酸-对-氯苯丙氨酸-天冬氨酸-精氨酸-CH₃, 鸟氨酸-CH₃, 异亮氨酸-D-精氨酸-NHCH₂CH₂CH₃
 - CH₃CH₂ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-苯丙氨酸-精氨酸-NH₂

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸- CH_3 , 精氨酸-D-亮氨酸-OH

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-溴苯丙氨酸-正亮氨酸-精氨酸-精氨酸-组氨酸-精氨酸-NH₂

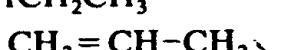
• 酪氨酸-D-半胱-甘-苯丙-半胱-精氨酸-D-精氨酸-赖氨酸-D-精氨酸-NH₂

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸- CH_3 , 精氨酸-OCH₂CH₃,

• $\text{CH}_3\text{-CH}=\text{CH}$ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-硝苯丙氨酸-蛋氨酸-精氨酸-精氨酸-苯丙氨酸-精氨酸-NHCH₃,

• CH_3 , 酪氨酸-D-丙氨酸-甘氨酸- CH_3 , 苯丙氨酸-蛋氨酸砜-精氨酸- CH_3 , 精氨酸-异亮氨酸-NH₂

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸- CH_3 , 苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NHCH₂CH₃,



• $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2$ / 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-谷氨酰胺-精氨酸-NH₂

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸- CH_3 , 精氨酸-D-亮氨酸-OH

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-蛋氨酸-赖氨酸- CH_3 , 赖氨酸-蛋氨酸-NH₂

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-苏氨酸-精氨酸-NH₂

• 酪氨酸-D-丝氨酸-甘氨酸-对-氟苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-天冬酰胺-NHCH₃,

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸- CH_3 , 精氨酸-谷氨酰胺-NH₂,

• CH_3 , 酪氨酸-D-丙氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮-NH₂

• 酪氨酸-D-丝氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸-D-鸟氨酸-精氨酸- CH_3 , 丙氨酸-D-精氨酸-NH₂

• 酪氨酸-D-丙氨酸-甘氨酸-C₂H₅, 对-氟苯丙氨酸-蛋氨酸-精氨酸-精氨酸-D-色氨酸-NH₂,

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸- CH_3 , 精氨酸- CH_3 , 精氨酸-D-赖氨酸-NH₂,

• CH_3 , 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NHCH₂CH₃,

• 酪氨酸-D-蛋氨酸-甘氨酸-对-硝苯丙氨酸-亮氨酸-D-精氨酸-精氨酸-D-脯氨酸-精氨酸-OCH₂CH₃,

• 酪氨酸-D-丝氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-异亮氨酸-精氨酸-D-精氨酸-亮氨酸-NHCH₂CH₃ / CH₃,

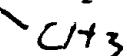


• ▷ -CH₂, 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-缬氨酸-赖氨酸- CH_3 , 赖氨酸-谷氨酸-D-精氨酸-NH₂,

• CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-硝苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH₂



• CH₃ / CH-CH₂ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-氟苯丙氨酸-正亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-精氨酸-NHCH₂ CH₂ CH₃,



• CH₃ 酪氨酸-D-脯氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-叔-亮氨酸-鸟氨酸-CH₃ 鸟氨酸-蛋氨酸-精氨酸-NH₂

• 酪氨酸-D-色氨酸-甘氨酸-对-硝苯丙氨酸-蛋氨酸-精氨酸 C₂H₅ 精氨酸-丙氨酸-精氨酸-NHCH₃,

• CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-硝苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-NHCH₂ CH₃,

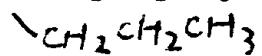
• 酪氨酸-D-组氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-蛋氨酸砜-赖氨酸-精氨酸-D-组氨酸-精氨酸-NH₂

• CH₃ 酪氨酸-D-亮氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-丝氨酸-NH₂

• CH₃ 酪氨酸-D-半胱-甘-苯丙-半胱-精氨酸-精氨酸-谷氨酰胺-NH₂,

• CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-CH₃ 精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH₂

• 酪氨酸-D-苯丙氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-组氨酸-精氨酸-N / CH₂ CH₂ CH₃,

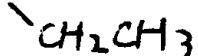


• CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-NHCH₂ CH₃,

• 酪氨酸-D-丝氨酸-甘氨酸-对-氯苯丙氨酸-亮氨酸-鸟氨酸-鸟氨酸-苏氨酸-D-精氨酸-NH₂

• CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-NH₂

• CH₃ 酪氨酸-D-蛋氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸-精氨酸-精氨酸-D-酪氨酸-N / CH₂ CH₃,



• CH₃ CH₂ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-氟苯丙氨酸-蛋氨酸-精氨酸-高精氨酸-甘氨酸-NHCH₃,

• CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-OCH₂ CH₃,

• 酪氨酸-D-缬氨酸-甘氨酸-对-硝苯丙氨酸-谷氨酰胺-精氨酸-精氨酸-D-缬氨酸-NH₂

• 酪氨酸-D-半胱-甘-苯丙-半胱-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-精氨酸-NH₂,

• CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-NHCH₂ CH(CH₃) CH₂ CH₃,

• CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-赖氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-NH₂

- 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃-赖氨酸-酪氨酸-NH₂
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-蛋氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-缬氨酸-NH₂
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH₂
- CH₂=CH-CH₂ 酪氨酸-D-谷氨酰胺-甘氨酸-苯丙氨酸-赖氨酸-D-精氨酸-精氨酸-CH₃ 亮氨酸-N/CH₂CH₃,

$\diagup \text{CH}_2 \text{CH}_3$
 $\diagdown \text{CH}_3$

- CH₂ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-高精氨酸-精氨酸-D-亮氨酸-NH₂

$\diagup \text{CH}_3$
 $\diagdown \text{CH}_3$

- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-对-氯苯丙氨酸-精氨酸-CH₃ 赖氨酸-精氨酸-CH₃ 缬氨酸-NH₂

- 酪氨酸-D-丙氨酸-甘氨酸-CH₃ 苯丙氨酸-蛋氨酸砜-精氨酸-精氨酸-D-天冬氨酸-OH

- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-脯氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-赖氨酸-CH₃ 精氨酸-CH₃ 异亮氨酸-OH

- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-2-氨基异丁酸-OH

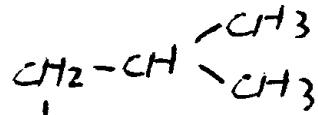
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 赖氨酸-D-丙氨酸-OH

- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-NCH₂CH₂COOH
 \diagup

$\diagup \text{CH}_3$
 $\diagdown \text{CH}_3$

- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-赖氨酸-CH₃ 赖氨酸-CH₂ 缬氨酸-OH

- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-NHCH₂CH₂CH₂COOH



- CH₃ 酪-甘-甘苯丙-亮-精-CH₃ 精-NH-C-COOH
 \diagup
 \diagdown

- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-CH₃ 亮-OC₂H₅



- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-缬氨酸-甘氨酸-OH

- CH₃CH₂ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-脯氨酸-丙氨酸-OH

- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-肌氨酸-OH

- CH₂=CH-CH₂ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-CH₃ 异亮氨酸-D-赖氨酸-OH

- ▷-CH₂ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨

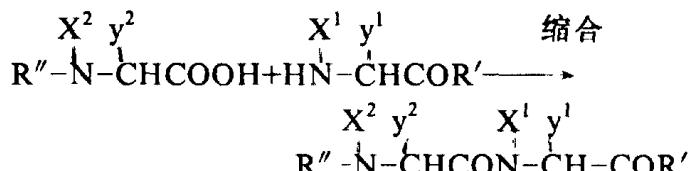
酸-精氨酸-D-脯氨酸-OH

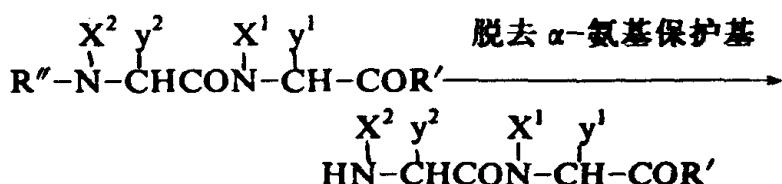
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-丙氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-CH₃ 丙氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-异亮氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-天冬氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-谷氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-CH₃ 异亮氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-肌氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-β-丙氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-天冬氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-苯丙氨酸-OH
- CH₃ 酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-精氨酸-D-谷氨酸-OH

本发明的肽可通过任何合宜的方法合成。通过一般的液相法或固相法可合成该肽的保护性肽。通常优选的方法是保护氨基酸侧链上的一个功能基团。最后再除掉所有的保护基。氨基酸侧链上功能基的保护基包括以前报道的所有保护基，其中较典型的是：甲苯磺酰（TOS）、亚硝基（NO₂）、苄基（BZL）、叔-丁基（But）、苯氧羰基（Z）和叔-丁氧羰基（BOC）。

所有以前报道过的保护基均可作为氨基酸 α -氨基的保护基。然而，最好是选择组合的保护基，这样， α -氨基的保护基可被有选择性的除去而不会影响侧链上其他功能基的保护基。例如，当用叔-丁氧羰基作为 α -氨基的保护基时，最好再用苄基或苯氧羰基作为侧链功能基的保护基。当选用苯氧羰基作为 α -氨基的保护基时，则选用叔-丁基或叔-丁氧羰基为侧链功能基的保护基。当酪氨酸 N 端的氨基二烃基化时，在其没有任何进一步保护的情况下，也可保留下。为抑制外消旋作用，保护性肽要逐步合成，其中所有氨基酸都从 C 端开始顺序键合，或在甘氨酸位上将各片段缩合。当然也可在所需的位上将片段缩合。

无论本发明的固相或液相方法，保护基都需从肽上除去，然后通过下式所示的重复反应将肽纯化。此法步骤，将以液相法为例，表示如下：





其中 X^1 和 X^2 均可代表氢或一个烷基， y^1 和 y^2 代表一个氨基酸侧链，而 R' 和 R'' 代表一个保护基或一个肽残基。

(1) 形成肽键的反应：

肽键可以通过以前报道过的任何方法来形成。一般应用的方法包括活化式

$\text{X}^2 \text{ y}^1$
 $\text{R}-\text{N}-\text{CHCOOH}$ 所示的酸的羧基，可用叠氮法、二环己基碳化二亚胺 (DCC) 法，混

合酸酐法或活化酯法等。然后使活化的化合物与式 $\text{HN}-\text{CHCOR}'$ 所示的含氨基化合物起反应。反应条件，诸如反应溶剂、温度等可根据活化羧基的方法而改变。作为一种典型缩

合法的混合酸酐法如下进行：将一种通式： $\text{HN}-\text{CHCOR}'$ 所示的酸，溶在一种诸如二甲基甲酰胺、四氢呋喃或乙酸乙酯的非质子传递剂中，将该溶液置于约 -20°C 下冷却，再连续加入相同克分子数的 N -甲基吗啉和氯碳酸乙酯。5 分钟后，加入等克分子数的，通

$\text{X}^1 \text{ y}^1$
 $\text{X}^2 \text{ y}^2$
 $\text{R}''-\text{N}-\text{CHCON}-\text{CHCOR}'$ 的含氨基化合物。混合液在 $-15-0^\circ\text{C}$ 下搅拌 2 到 5 小时，然后用通常方法处理，得到下式含保护基的肽：



(2) 从氨基除去保护基：

通过用酸、碱和肼的一般催化反应脱去保护基。根据 α -氨基的不同保护基选择最优的方法。脱去苯氧羰基和叔-丁氧羰基的催化反应一般用三氟乙酸。下面详述用三氟乙酸脱去叔-丁氧羰基的具体实施方法：

在 0.25ml 的苯甲醚和 5ml 的三氟乙酸混合液中，加入 1 克下列通式的 α -N-丁氧羰基肽：



在冰水中冷却。将混合液搅拌 60 分钟，然后用乙醚处理，得到一个式
 $\text{X}^2 \text{ y}^2 \quad \text{X}^1 \text{ y}^1$
 $\text{HN}-\text{CHCON}-\text{CHCOR}'$ 所示肽的三氟乙酸酯，该产物溶在一种溶剂中，然后用胺，诸如三乙胺去中加，得到的化合物再进行以下的反应。

(3) 脱去整个保护基：

通过重复上述缩合反应及脱去 α -氨基的保护基而加长了肽链。然后，就要脱去所有的保护基以得到目的肽的粗提取液。脱保护基是通过常规的用液态氨或碱金属溶液，在催化反应中完成的。也可以用酸溶液、碱溶液或肼。实际上，要根据保护基的不同选择不同的溶液。最常用的是在氟氢酸中脱去保护基，详细过程如下：

把 1 克有保护基的肽溶在大约含 0.5ml 苯甲醚的 30ml 氟氢酸中，所得溶液置于密闭的氟氢酸反应器中，于 $-15-0^\circ\text{C}$ 下搅拌 60 分钟，然后把氟氢酸从反应器中蒸馏出去。残留物用乙醚洗涤，然后溶于水中。所得溶液经 Amberlite IRA-93 (醋酸型树脂) 处理、冷冻干燥，从而得到脱去保护基的粗肽。

(4) 纯化粗肽:

纯化粗肽可用离子交换层析、凝胶过滤、分配层析、反向分配层析和高效液相层析等一般的方法进行。比如，用下述的高效液相层析法进行粗肽的纯化：将 100 毫克粗肽装入以 Nucleosil 5C 18 为载体的柱子里，柱高 250mm，直径 20mm。然后用含 0.05% 盐酸 ($\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CN}$) 的缓冲液洗脱。在紫外光 210 纳米波长处有一个目的肽高峰，收集后冷冻干燥，而得到纯化的肽。

当肽分子中含两个半胱氨酸或 D-半胱氨酸时，在纯化前，先把粗肽用空气或过氧化氢氧化，从而可得到高纯的闭环产物。

下面生动的实验将进一步说明：本发明的化合物作为药物的作用。

实验 1：止痛试验

把被试化合物溶在生理盐水中，给 ddY 品系雄性小鼠（体重 20~27 克，通常每个实验组用 8 只）行静脉或皮下注射。止痛效果以刺尾试验观测之。

刺尾试验中，①用一个能施加 300 克压力的夹子，夹在包括肛粘膜的小鼠尾部，测量被夹子夹痛，反应出现的时间。试验前，通过鼠尾对小夹子的伤害感受度来选择小鼠，3 秒钟内不感到疼痛的小鼠，试验中不能选用。6 分钟以上才感受到疼痛，作为有止痛效果的标准。

ED_{50} 值（对 50% 的小鼠有止痛效果的该药用量（是根据 Lit-chfield 和 Wilcoxon 方法计算出的。

②结果：见表 1 和表 2，表 1 表示静脉注射的结果。表 2 表示皮下注射的结果。

表 1 和表 2 中试验用化合物的号码相当于下述各例中生产的最终化合物的号码。

（注 1）：尾刺法是根据 Takagi,H 等人发表在《日本药学杂志》16 卷，287~294 页，1966 年。

（注 2）：Litchfield-Wilcoxon 法是根据 Litchfield,J.T. 和 Wilcoxon 发表在 J.Pharmacol.Exp.Ther.,96 卷，99~113 页，1949 年。

表 1

试验用化合物号 (相当于最终样品号)	尾刺法 (静脉) ED_{50} (mg / kg)
1	0.75
2	0.24
5	3.4
6	4.3
7	3.9
8	3.3
10	1.2
18	4.5
19	2.0
21	0.8
22	3.0
24	0.22
25	1.8
27	0.7
28	0.7
29	2.0

dynorphine (1-13) > 25.0

表 2

试验用化合物号 (样品号)	尾刺法(皮下) ED ₅₀ (毫克/公斤)
1	1.0
2	0.44
21	0.8
24	0.32
27	0.8
28	1.5

实验 2：类鸦片活性

本发明化合物的类鸦片活性是根据 T.Oka,K.Negishi,M.Suda,T.Matsumiya,T.Inaza 和 M.Ueki 等人发表在“欧洲药物学杂志”73 卷, 235 页, 1980 年的方法, 即用免输精管的方法来进行的。在本试验中, 把空气注入成熟雄兔的耳静脉中, 兔立即死亡, 然后剖腹取出左、右输精管。把精子从输精管挤入林格氏液内。切取每一个输精管的一部分, 即从近前列腺的一端切取 2.5 厘米长。将切下的输精管小段, 用线悬在一个 6ml 的恒温玻璃器皿内, 用具有铂电极的电刺激装置以 0.1 赫兹、90 伏刺激 1 毫秒。电刺激引起的收缩通过传感器记录下来。

类鸦片活性就是根据药物抑制电刺激引起的收缩来测定的。

对 50% 的小鼠收缩有抑制作用的药物浓度称之为 IC₅₀, 见表 3。

从表 3 可看到, 该化合物与 dynorphin A 相比较, 显示非常有效的活性。

进而, 该化合物对抑制豚鼠回肠纵行肌的收缩以及小鼠输精管的收缩也有强大的活性。

表 3

试验用化合物 样品序号	免输精管法 IC ₅₀ (Nm)
1	3.5
2	0.04
3	6.03
6	4.5
8	6.2
19	2.8
24	0.08
25	0.58
27	2.0
28	6.5
dynorphin A(1-17)	17.4

通过上述药物试验, 很显然该肽化合物里具有类似的类鸦片活性, 而且活性很强。静脉或皮下注射均能产生明显止痛效果。

由于 dynorphin 在血液中不稳定, 迄今在报道中 dynorphin 及其衍生物的静脉注射并不产生止痛效果。本发明的价值就在于该药无论静脉注射或皮下注射均可产生强止痛效果。

本发明 1 号及 2 号样品的肽类化合物的毒性(最小致死量)与有效剂量之间的关系,

见表 4。

本项发明的肽类化合物具有明显止痛效果，作为药物可广泛用于治疗。

表 4 小鼠皮下注射有效量与最小致死量

试验化合物	尾刺法	最小致死量
样品号	ED ₅₀ mg / kg	mg / kg
1	1.0	100
2	0.44	20

本发明作为止痛药时，可以口服也可肠道外使用：如静脉、皮下或肌肉注射、栓剂、舌下含片等。用药量取决于病情、年龄、性别、体重、对药的敏感性、疾病阶段、给药途径、给药间隔、制剂性质、处方和制备的不同、活性或成分的不同而改变。药量虽无特殊限定，但通常大约为 0.1 到 1000 毫克，最佳为 300 毫克。

本发明可制成注射剂、坐药、舌下含片、胶囊和片剂。

在制作注射剂时，需加入一些添加剂，如酸碱度控制剂、缓冲剂、悬浮剂、稳定剂、助溶剂、等渗剂和防腐剂，并通过通常方法制成静脉、皮下或肌肉的注射剂。需要的话，还可用常规方法冷冻干燥。

悬浮剂包括甲基纤维素、聚山梨醇酯 60、羟乙基纤维素、阿拉伯胶、黄芪胶粉、羧甲基纤维素的钠盐和聚氧乙烯山梨聚糖单月桂酯。

溶剂包括聚氧乙烯硬化的蓖麻油、聚山梨醇酯 80、菸酰胺、聚氧乙烯山梨聚糖单月桂酯，Macrogol 和蓖麻油脂肪酸乙酯。

稳定剂包括亚硫酸钠、异亚硫酸钠和乙醚。防腐剂包括甲基-对-羟基安息酸酯，乙基-对-羟基安息酸酯，山梨酸，苯酚，甲酚和氯甲酚。

参照下列典型样品进一步说明本项发明，但本发明决不止于此。

例 1：

1) 合成 CH₃-酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-CH₃-精氨酸-D-亮氨酸-NHC₂C₅。

将 25 克叔-丁氧羟基-D-亮氨酸-OH · H₂O 溶于 200 毫升的四氢呋喃中，所得溶液在 -20℃ 下冷却。并向溶液中加入 11 毫升 N-甲基吗啉和 9.56 毫升氯碳酸乙酯。5 分钟后，再加 70% 乙胺溶液 12.9 毫升。把混合液在大约 -5℃ 下搅拌 2 小时，浓缩后将残留物溶于乙酸乙酯，再用碳酸氢钠溶液和水连续洗涤。浓缩至干燥，得到 24.5 克叔-丁氧羧基-D-亮氨酸-NHC₂H₅。

熔点：103–106℃

薄层层析：R_f 值 0.77 (乙酸乙酯)

旋光度：[α]_D = +20.0° (C=1, 甲醇)

C₁₃H₂₆N₂O₃ 的元素分析：

C H N

计算值 (%) 60.44 10.14 10.84

测定值 (%) 60.42 10.33 10.86

2) 合成 苄氧碳酰-CH₃ 精氨酸 (对-甲苯磺酰) -D-亮氨酸-NHC₂H₅

将 1.43 克 苄氧碳酰-CH₃ 精氨酸 (对-甲苯磺酰) -OH, [α]_D = -15° (C=1, 二甲基甲酰胺)，(根据：P.Quitt 等人的方法从组氨酸-精氨酸 (对-甲苯磺酰) -OH 合成的，刊在瑞士化学学报 32 卷，327 页，1963 年) 溶在 15 毫升的四氢呋喃中。冷却到 -30℃ 后，加入 0.33 毫升 N-甲基吗啉和 0.29 毫升氯碳酸乙酯，5 分钟后加入含 817 毫克 CF₃COOH-组氨酸-D-亮氨酸-NHC₂H₅ (在苯甲醚中用 CF₃COOH 处理叔-丁氧羧基

-D-亮氨酸-NHC₂H₅来合成的) 和 0.83 毫升溶在四氢呋喃中的三乙胺。然后，将混合液置于大约-5℃下搅拌 2 小时。浓缩后，残留物溶在乙酸乙酯中，用碳酸氢钠溶液和水连续洗涤，浓缩干燥，从而得到 1.58 克透明的苄氧碳酰-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅。

薄层层析：R_f 值 0.68 (溶剂为甲醇 / 氯仿，1 : 7)

旋光度：[α]_D = 0 ± 0.5° (C=1, 甲醇)

C₃₀H₄₄N₆O₆S 的元素分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 58.42 7.19 13.63

测定值 (%) 58.29 7.19 13.40

3) 合成叔-丁氧碳酰-精氨酸(对-甲基磺酰)-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅：

把有钯 / 碳存在时，催化还原苄氧碳酰-CH₃ 精(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅ 得到的 CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅ 1.1 克，叔-丁氧碳酰-精氨酸(对-甲苯磺酰)-OH 983 克，和 372 毫克的 N-羟基苯并三唑溶在 4 毫升的二甲基甲酰胺中。用冰冷却后，溶液内加入 520 毫克二环己基碳化二亚胺，混合液在冰箱内搅拌一天，再在室温下搅拌 1 天。把形成的沉淀过滤，浓缩滤液。残留物根据硅胶柱层析法纯化(洗脱液：甲醇 / 氯仿 = 1 / 15)，从而得到 1.2 克透明的叔-丁氧碳酰-精氨酸(对-甲苯磺酰)-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅

薄层层析：R_f 值 0.64 (甲醇 / 氯仿，1 : 7)

旋光度：[α]_D = -20.6° (C=1, 甲醇)

C₄₀H₆₄N₁₀O₉S₂ · H₂O 的元素分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 52.72 7.30 15.37

测定值 (%) 52.82 7.22 15.06

4) 合成叔-丁氧碳酰-亮氨酸-精氨酸(对-甲苯磺酰)-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅：

把 1.64 克叔-丁氧碳酰-亮氨酸-OH · H₂O 溶在 12 毫升二甲基甲酰胺中。溶液冷却到-20℃，加入 0.726 毫升 N-甲基吗啉和 0.631 毫升氯碳酸乙酯。5 分钟后，把在苯甲醚中用 CF₃COOH 处理叔-丁氧碳酰-精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅ 得到的 4.986 克 CF₃COOH-精氨酸(对-甲苯磺酰)-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅ 和 12 毫升二甲基甲酰胺中的 0.726 毫升的 N-甲基吗啉加入上述溶液。混合液在大约-5℃下搅拌 2 小时。浓缩后，残留物溶在乙酸乙酯中，用碳酸氢钠水溶液洗涤，然后，用水洗涤。浓缩后，用甲醇 / 乙醚使之固化。从而得到 5.283 克叔-丁氧碳酰-亮氨酸-精氨酸(对-甲苯磺酰)-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅

熔点：120–125℃ (dec)

薄层层析：R_f 值 0.66 (甲醇 / 氯仿，1 : 7)

旋光度：[α]_D = -25.8° (C=1, 甲醇)

C₄₆H₇₅N₁₁O₁₀S₂ · CH₃OH 的元素分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 54.36 7.67 14.84

测定值 (%) 54.49 7.63 14.62

5) 合成叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸(对-甲苯磺酰)-CH₃ 精氨酸(对

-甲苯磺酰) -D-亮氨酸-NHC₂H₅

将 1.465 克叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-OH 溶于 12 毫升二甲基甲酰胺中。冷却到 -30℃。把 0.608 毫升的 N-甲基吗啉和 0.528 毫升的氯碳酸乙酯加入溶液。5 分钟后，把在苯甲醚中用 CF₃COOH 处理叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）-CH₃ 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-NHC₂H₅ 合成的 CF₃COOH · H-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）-CH₃ 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-NHC₂H₅ 4.691 克，和含有 0.608 毫升 N-甲基吗啉的二甲基甲酰胺液 12 毫升一起加入上述溶液。混合液在约 -5℃ 下，搅拌 2 小时，浓缩后，残留物溶于乙酸乙酯中，用碳酸氢钠溶液和水连续洗涤。浓缩后用甲醇 / 乙醇固化。得到 5.072 克叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）-CH₃ 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-NHC₂H₅。

熔点：127–132℃ (dec)

薄层层析：R_f 值 0.66 (甲醇 / 氯仿，1 : 7)

旋光度：[α]_D = -25.4 (C = 1, 甲醇)

C₅₅H₈₄N₁₂O₁₁S₂ · CH₃OH 的元素分析：

C H N

计算值 (%) 56.74 7.48 14.18

测定值 (%) 56.64 7.33 13.86

6) 合成叔-丁氧碳酰-CH₃ 酪氨酸(氯₂ 苄基)-甘氨酸-甘氨酸-OH

根据 S.T.Cheung 等人方法合成的叔-丁氧碳酰-CH₃ 酪氨酸(氯₂ 苄基)-OH 9.09 克，[α]_D = -49° (C = 1, C₂H₅OH) (加拿大化学杂志，55 卷，906 页，1977 年) 和 2.53 克 N-羟基琥珀酰胺共溶在 150 毫升的四氢呋喃中。用冰冷却后，把 4.12 克二氯己基碳化二亚胺加入溶液，混合液在冰箱中搅拌过夜。滤出形成的白色结晶，将 2.91 克的 H-甘氨酸-甘氨酸-OH 和 38 毫升的 1.848 克碳酸氢钠水溶液加入过滤液。混合液在室温下搅拌 2 天，然后浓缩，并加入稀柠檬酸液和乙酸乙酯，分离出乙酸乙酯的一层，水洗并浓缩之。以硅胶柱层析纯化产物，用甲醇 / 氯仿 = 1 / 3，洗脱，乙醚 / 己烷固化。最后得到 9.23 克叔-丁氧碳酰-CH₃ 酪氨酸(氯₂ 苄基)-甘氨酸-甘氨酸-OH。

熔点：70–80℃ (dec)

薄层层析：R_f 值 0.79 (甲醇 / 乙酸 / 氯仿 4 : 1 : 12)

旋光度：[α]_D = -47° (C = 1, 甲醇)

C₂₆H₃₁N₃O₇Cl₂ · 1 / 2C₂H₅OC₂H₅ 的元素分析：

C H N

计算值 (%) 55.54 5.99 6.94

测定值 (%) 55.45 5.81 6.89

7) 合成叔-丁氧碳酰-CH₃ 酪氨酸(氯₂ 苄基)-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸(对-甲苯磺酰)-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅。

把 682 毫克的叔-丁氧碳酰-CH₃ 酪氨酸(氯₂ 苄基)-甘氨酸-甘氨酸-OH 和 195 毫克 N-羟基苯并三唑溶于 4 毫升的二甲基甲酰胺中。用冰冷却之，加入 272 毫克二氯环己基碳化二亚胺，搅拌 2 小时，加入在苯甲醚中用 CF₃COOH 处理叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸(对-甲苯磺酰)-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅ 而合成的 CF₃COOH · H-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸(对-甲苯磺酰)-CH₃ 精氨酸(对-甲苯磺酰)-D-亮氨酸-NHC₂H₅ 1.167 克和含 0.132 毫升 N-甲基吗啉的 8 毫升二甲基甲酰胺到上述溶液。混合液在冰箱中搅拌过夜。将形成的沉淀过滤，浓缩滤液，用硅胶柱层析法

纯化之（洗脱液：甲醇 / 氯仿 = 1 / 20）。以甲醇 / 乙醚固化之，得到 1.391 克叔-丁氧碳酰-CH₃ 酪氨酸（氯₂ 苄基）-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）-CH₃ 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-NHC₂H₅。

熔点：130–135°C (dec)

薄层层析：R_f 值 0.64 (甲醇 / 氯仿, 1 : 7)

旋光度：[α]_D = -35.3° (C = 1, 甲醇)

C₇₆H₁₀₅N₁₅O₁₅S₂Cl₂ · CH₃OH · H₂O 的元素分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 55.92 6.77 12.70

测定值 (%) 56.06 6.49 12.52

8) 合成 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH₃-精-D-亮-NHC₂H₅

-5°C 下，在一个封闭的氟氨酸反应器中把 220 毫克的叔-丁氧碳酰-CH₃ 酪（氯₂ 苄基）-甘-甘-苯丙-亮-精（对-甲苯磺酰）-CH₃ 精（对-甲苯磺酰）-D-亮-NHC₂H₅，溶在含 0.2 毫升苯甲醚的 10 毫升氟氨酸中。溶液搅拌 1 小时，然后把氟氨酸从反应系统中蒸出。残留物用乙醚洗涤，再溶于水中。溶液用 Amberlite IRA-93 处理后，冷冻干燥。所得 120 毫克粗肽用高效液相层析纯化 [用 nucleosil 5c 18.2Φ25cm，洗脱剂为 0.1% 盐酸 (水-CH₃CN, 81 / 91)]，最后冷冻干燥，得到 70 毫克 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH₃ 精-D-亮-NHC₂H₅。

薄层层析：R_f 值 0.70 (丁醇 / 乙酸 / 吡啶 / 水, 15 : 5 : 5 : 8)

旋光度：[α]_D = -21.8° (C = 0.4, 0.01N-HCl)

质谱分析 (FAB): 1036 ([M+H]⁺)

氨基酸分析：甘：1.87 (2) 亮：1.96 (2)

苯丙：1.00 (1) 精：0.95 (1)

(由 CH₃ 酪和 CH₃ 精产生的峰未被计算)。

例 2. 合成酪-D-半胱-精-CH₃ 精-D-亮-精-NH₂

1) 合成叔-丁氧碳酰-D-亮-精（对-甲苯磺酰）-NH₂：

把 2.493 克叔-丁氧碳酰-D-亮-OH · H₂O 溶于 10 毫升的二甲基甲酰胺。溶液冷却到-20°C，加入 1.1 毫升的 N-甲基吗啉和 0.96 毫升的氯碳酸乙酯。5 分钟后，将含 4.414 克 CF₃COOH · H-精（对甲苯磺酰）-NH₂ 的溶液和含 1.65 毫升 N-甲基吗啉的 20 毫升二甲基甲酰胺加入溶液。将混合液于-5°C 下搅拌 2 小时。浓缩后将残留物溶于乙酸乙酯，并用碳酸氢钠液和水连续洗涤。浓缩后，加入乙醚固化产品。从而得到 4.96 克叔-丁氧碳酰-D-亮-精（对-甲苯磺酰）-NH₂。

熔点：110–12°C (dec)

薄层层析：R_f 值 0.49 (甲醇 / 氯仿, 1 : 7)

旋光度：[α]_D = +13° (C = 1, 甲醇)

C₂₄H₄₀N₆O₆S · 1 / 3H₂O 的元素分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 52.73 7.50 15.37

测定值 (%) 52.77 7.60 15.14

2) 合成苯氧碳酰-CH₃ 精（对-甲苯磺酰）-D-亮-精（对-甲苯磺酰）-NH₂

将 3.336 克苯氧碳酰-CH₃ 精（对-甲苯磺酰）-OH 熔于 30 毫升的四氢呋喃。将溶液冷却到-20°C，加入 0.77 毫升 N-甲基吗啉和 0.67 毫升的氯碳酸乙酯。5 分钟后，把用含苯甲醚的 CF₃COOH 处理合成的 CF₃COOH · H-D-亮-精（对-甲苯磺酰）

$-NH_2$ 3.882 克的溶液，和含 1.17 毫升三乙胺的 30 毫升四氢呋喃加入溶液。在 $-5^\circ C$ 下，将混合液搅拌 2 小时。浓缩后用甲醇 / 水固化之，得到 6.14 克苯氧碳酰- CH_3 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）- NH_2 。

熔点：100–113°C (dec)

薄层层析： R_f 值 0.44 (甲醇 / 氯仿, 1 : 7)

旋光度： $[\alpha]_D = -3.4^\circ$ (C=1, 甲醇)

$C_{41}H_{58}N_{10}O_9S_2 \cdot CH_3OH$ 元素的分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 54.18 6.71 15.04

测定值 (%) 54.12 6.62 14.85

3) 合成叔-丁氧碳酰-精（对-甲苯磺酰）- CH_3 精（对-甲苯磺酰）-D-亮-精（对-甲苯磺酰）- NH_2

把有钯 / 碳催化还原苯氧碳酰- CH_3 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）- NH_2 得到的 4.73 克 CH_3 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）- NH_2 , 2.912 克的叔-丁氧碳酰-精氨酸（对-甲苯磺酰）OH 和 1.1 克 N-羟基苯并三唑溶于 17 毫升的二甲基甲酰胺中。用冰冷却溶液后，加入 1.543 克二环己基碳化二亚胺。混合液在冰箱中搅拌一天，然后再在室温下搅拌一天。将形成的沉淀滤出，浓缩滤液。残留物用硅胶柱层析纯化（洗脱剂为甲醇 / 氯仿 = 1 / 15）。然后用乙醚固化。从而得到 4.917 克叔-丁氧碳酰-精氨酸（对-甲苯磺酰）- CH_3 精（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）- NH_2 。

熔点：131–136°C (dec)

薄层层析： R_f 值 0.44 (甲醇 / 氯仿, 1 : 7)

旋光度： $[\alpha]_D = -16.7^\circ$ (C=1, 甲醇)

$C_{51}H_{78}N_{14}O_{12}S_3 \cdot H_2O$ 的元素分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 51.32 6.76 16.43

测定值 (%) 51.15 6.54 16.48

4) 合成叔-丁氧碳酰-半胱氨酸 (CH_3 苄基)-精氨酸（对-甲苯磺酰）- CH_3 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）- NH_2 ：

将 747 毫克叔-丁氧碳酰-半胱氨酸 (CH_3 苄基)-OH 溶于 4 毫升二甲基甲酰胺中。溶液冷却到 $-20^\circ C$ ，再加入 0.254 毫升 N-甲基吗啉和 0.221 毫升氯碳酸乙酯。5 分钟后，将含 2.49 克用含苯甲醚的 CF_3COOH 处理叔-丁氧碳酰-精氨酸（对-甲苯磺酰）- CH_3 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）- NH_2 而合成的 $CF_3COOH \cdot H$ -精氨酸（对-甲苯磺酰）- CH_3 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）- NH_2 的溶液及含 0.277 毫升 N-甲基吗啉的 6 毫升二甲基甲酰胺加入溶液。混合液置于大约 $-5^\circ C$ 下搅拌 2 小时。浓缩后将混合液溶于乙酸乙酯，并用碳酸氢钠和水连续洗涤。进一步浓缩后，用甲醇 / 乙醚固化产物，从而得到 2.548 克叔-丁氧碳酰半胱氨酸 (CH_3 苄基)-精氨酸（对-甲苯磺酰）- CH_3 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）- NH_2 。

熔点：126–132°C (dec)

薄层层析： R_f 值 0.51 (甲醇 / 氯仿, 1 : 7)

旋光度： $[\alpha]_D = -20.6^\circ$ (C=1, 甲醇)

$C_{62}H_{91}N_{15}O_{13}S_4 \cdot CH_3OH \cdot H_2O$ 的元素分析：

C H N

计算值 (%) 52.81 6.82 14.66

测定值 (%) 52.78 6.43 14.29

5) 合成叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-半胱氨酸 (CH₃ 苄基) -精氨酸 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精氨酸 (对-甲苯磺酰) -D-亮氨酸-精 (对-甲苯磺酰) -NH₂。

将 467 毫克叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-OH 溶于二甲基甲酰胺。将溶液冷却到-20℃，把 0.194 毫升 N-甲基吗啉和 0.168 毫升氯碳酸乙酯加入溶液。5 分钟后，把含 2.234 克用含苯甲醚的 CF₃·COOH 处理叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-半胱氨酸 (CH₃ 苄基) -精氨酸 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精氨酸 (对-甲苯磺酰) -D-亮氨酸-精氨酸 (对-甲苯磺酰) -NH₂ 而合成的 CF₃·COOH·H-苯丙氨酸-半胱氨酸 (CH₃ 苄基) -精氨酸 (对-甲苯磺酰) -NH₂ 的溶液和含 0.211 毫升二甲基甲酰胺加入溶液，所得混合液在大约-5℃下搅拌 2 小时。浓缩后残留物溶于乙酸乙酯中，然后用碳酸氢钠水溶液及水连续洗涤。进一步浓缩后，用甲醇 / 乙醚固化产物，得到 2.126 克叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-半胱氨酸 (CH₃ 苄基) -精氨酸 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-亮氨酸-精 (对-甲苯磺酰) -NH₂。

熔点：124-130℃ (dec)

薄层层析：R_f 值 0.56 (甲醇 / 氯仿，1:7)

旋光度：[α]_D = -18.9° (C=1, 甲醇)

C₁₇H₁₀₀N₁₆O₁₄S₄ · 5 / 2CH₃OH 的元素分析：

C H N

计算值 (%) 54.83 6.89 13.91

测定值 (%) 54.62 6.34 13.64

6) 合成叔-丁氧碳酰-D-半胱氨酸 (CH₃ 苄基) -甘氨酸-OC₂H₅

将 3.233 克叔-丁氧碳酰-D-半胱氨酸 (CH₃ 苄基) -OH 溶于 15 毫升的二甲基甲酰胺。把溶液冷却到-20℃，加入 1.1 毫升 N-甲基吗啉和 0.956 毫升氯碳酸乙酯。5 分钟后，加入含 1.396 克 HCl·H-甘氨酸-OC₂H₅ 溶液和含 1.1 毫升 N-甲基吗啉的 20 毫升二甲基甲酰胺。混合液置于大约-5℃下搅拌 2 小时。浓缩后，残留物溶于乙酸乙酯中，并用碳酸氢钠水溶液和水连续洗涤。然后固化产物，从而得到 3.6 克叔-丁氧碳酰-D-半胱氨酸-甘氨酸-OC₂H₅。

熔点：80-82℃

薄层层析：R_f 值 0.74 (氯仿 / 乙酸乙酯，2:1)

旋光度：[α]_D = +30.2° (C=1, 甲醇)

C₂₀H₃₀N₂O₅S 的元素分析：

C H N

计算值 (%) 58.51 7.37 6.82

测定值 (%) 58.35 7.23 6.69

7) 合成叔-丁氧碳酰-酪氨酸 (氯₂ 苄基) -D-半胱氨酸 (CH₃ 苄基) -甘氨酸-OC₂H₅。

把 2.068 克叔-丁氧碳酰-酪氨酸 (氯₂ 苄基) -OH 溶于 20 毫升的四氢呋喃。溶液冷却至-20℃，加入 0.517 毫升 N-甲基吗啉和 0.45 毫升氯碳酸乙酯。5 分钟后，把含 1.94 克用含苯甲醚的 CF₃COOH 处理的叔-丁氧碳酰-D-半胱氨酸 (CH₃ 苄基) -甘氨酸-OC₂H₅ 合成的 CF₃COOH·H-D-半胱氨酸 (CH₃ 苄基) -甘氨酸-OC₂H₅ 溶液和含 1 毫升三乙胺的 20 毫升四氢呋喃加入溶液。把混合液在大约-5℃下，搅拌 2 小时。浓缩

后，加水形成沉淀，过滤，沉淀并将其溶在甲醇与氯仿的混合液中。浓缩后，加入乙醚固化产物。这样，得到 2.661 克叔-丁氧碳酰-酪氨酸（氯₂ 苄基）-D-半胱氨酸（CH₃ 苄基）-甘氨酸-OC₂H₅。

熔点：149–150°C

薄层层析：R_f 值 0.63 (氯仿 / 乙酸乙酯, 2 : 1)

旋光度：[α]_D = +17.0° (C=1, 二甲基甲酰胺)

C₃₆H₄₃N₃O₇SCl₂ 元素分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 59.01 5.91 5.73

测定值 (%) 58.94 5.75 5.62

8) 合成叔-丁氧碳酰-酪氨酸（氯₂ 苄基）-D-半胱氨酸-（CH₃ 苄基）-甘氨酸-OH：

将 2.345 克叔-丁氧碳酰-酪氨酸（氯₂ 苄基）-D-半胱氨酸（CH₃ 苄基）-甘氨酸-OC₂H₅ 溶于 30 毫升四氢呋喃，然后加入 3.2 毫升 N-NaOH，室温下搅拌 1 小时，再加入 N-HCl 3.2 毫升，浓缩混合液。加水固化产品从而得到 1.899 克叔-丁氧碳酰-酪（氯₂ 苄基）-D-半胱（CH₃ 苄基）-甘氨酸-OH。

熔点：133–138°C (dec)

薄层层析：R_f 值 0.25 (甲醇 / 氯仿, 1 : 7)

旋光度：[α]_D = +35.8° (C=1, 甲醇)

C₃₄H₃₉N₃O₇SCl₂ 元素分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 57.95 5.58 5.96

测定值 (%) 57.81 5.33 5.92

9) 合成叔-丁氧碳酰-酪（氯₂ 苄基）-D-半胱（CH₃ 苄基）-甘氨酸-苯丙氨酸-半胱（CH₃ 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）-NH₂：

将 983 毫升叔-丁氧碳酰-酪氨酸（氯₂ 苄基）-D-半胱氨酸（CH₃ 苄基）-甘氨酸-OH 和 226 毫克 N-羟基苯并三唑溶于 5 毫升的二甲基甲酰胺中。冰下冷却，加入 316 毫克二环己基碳化二亚胺，搅拌 2 小时后，把含有 1.94 克，用含苯醚的 CF₃COOH 处理叔-丁氧碳酰-苯丙氨酸-半胱氨酸（CH₃ 苄基）-精氨酸（对-甲苯磺酰）-CH₃ 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）-NH₂ 合成的 CF₃COOH · H-苯丙氨酸-半胱氨酸（CH₃ 苄基）-精氨酸（对-甲苯磺酰）-CH₃ 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）-NH₂ 的溶液和含 0.167 毫升 N-甲基吗啉的 10 毫升二甲基甲酰胺加入上述溶液。在冰箱内搅拌过夜，沉淀过滤。经硅胶柱层析（甲醇 / 氯仿 = 1 / 20 洗脱）纯化后，用甲醇 / 乙醚固化，得到 2.0 克叔-丁氧碳酰-酪氨酸（氯₂ 苄基）-D-半胱氨酸（CH₃ 苄基）-甘氨酸-苯丙氨酸-半胱氨酸（CH₃ 苄基）-精氨酸（对-甲苯磺酰）-CH₃ 精氨酸（对-甲苯磺酰）-D-亮氨酸-精氨酸（对-甲苯磺酰）-NH₂。

熔点：123–130°C (dec)

薄层层析：R_f 值 0.60 (甲醇 / 氯仿 = 1 / 7)

旋光度：[α]_D = -17.5° (C=1, 二甲基甲酰胺)

C₁₀₀H₁₂₉N₁₉O₁₈S₅Cl₂ · C₂H₅OC₂H₅ · 3 / 2CH₃OH 的元素分析：

C	H	N
---	---	---

计算值 (%) 56.60 6.52 11.89

测定值 (%) 56.38 6.18 11.72

10) 合成酪氨酸-D-半胱-甘-苯丙-半胱-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-精氨酸-NH₂:

将 515 毫克叔-丁氧碳酰-酪氨酸（氯，苄基）D-半胱氨酸（CH₃ 苄基）-甘氨酸-苯丙氨酸-半胱氨酸（CH₃ 苄基）-精氨酸（对-甲苯磺酰）-CH₃ 精氨酸（对-甲苯磺酰）-NH₂，在-5℃下，溶于在密闭的氟氢酸反应器中含 2 毫升苯甲醚的 20 毫升氟氢酸中。搅拌 2 小时，然后将氟氢酸蒸出反应器。残留物以乙醚洗涤，再溶于水。溶液用 Amberlite IRA-93 处理，然后冷冻干燥。取此干燥产物 320 毫克溶于 1.3 升水中。用氨水将溶液的 pH 调至 8，引入空气搅拌 2 天，调 pH 至 6，然后冷冻干燥。所得粗肽用高效液相层析法纯化 [Nucleosil 5C 18,2Φ × 25cm，洗脱剂为 0.05% HCl (H₂O / CH₃CN, 88 / 12)]，经冷冻干燥后，得 140 毫克酪氨酸-D-半胱-甘-苯丙-半胱-精氨酸-CH₃ 精氨酸-D-亮氨酸-精氨酸-NH₂。

薄层层析：R_f 值 0.56 (丁醇 / 乙酸 / 吡啶 / 水 = 15 : 5 : 5 : 8)

旋光度：[α]_D = -29° (C = 0.4, 0.01N-HCl)

质谱分析 (FAB): 1183 ([M+H]⁺)

氨基酸分析：

甘氨酸: 1.02 (1), 半胱氨酸: 1.83 (2),

亮氨酸: 1.94 (1), 酪氨酸: 0.80 (1),

苯丙氨酸: 1.00 (1), 精氨酸: 2.06 (2)

(CH₃ 精氨酸的峰值没有计算)

例 3 到 29:

表 1 所示化合物可如例 1 和例 2 用同样的常规液相方法合成。在这些试验中，clgnorphiue 衍生物在 1 到 3 位被修正的 (酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸)，在 4 到 7 位上被修正的 (苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸)，在 4 到 8 位修正的 (苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-异亮氨酸) 及在 4 到 9 位修正的 (苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-异亮氨酸-精氨酸) 每条肽链均从 C 端开始，逐步合成出来，然后在 1 到 3 位的衍生物和 4 到 7, 4 到 8 或 4 到 9 位的衍生物通过 DCC-HOBt 法或混合酸酐法而缩合在一起。所有保护基均用氟氢酸 (HF) 除去，再用逆相载体的高效液相色谱纯化产品。在例 24 中，所有保护基均用氟氢酸 (HF) 除去，化合物用空气氧化，然后，用制备性高效液相色谱纯化。合成每个保护基的反应路线，示于图 1 到图 5 之中。

上述的目的肽的旋光度 [α]_D²⁰，薄层层析 R_f 值，氨基酸分析结果，均示在表 6。

表 5

例号

化合物

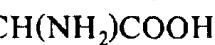
- | | |
|----|--|
| 3 | CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-精-NH ₂ |
| 4 | CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-精-NHCH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃ |
| 5 | CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-OH |
| 6 | CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-OC ₂ H ₅ |
| 7 | CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-NH ₂ |
| 8 | CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-NHC ₂ H ₅ |
| 9 | CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-NH(CH ₂) ₅ CH ₃ |
| 10 | CH ₃ 酪-甘-甘-对-硝苯丙-亮-精-精-D-亮-NH ₂ |
| 11 | CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-高精-精-D-亮-NH ₂ |
| 12 | CH ₃ 酪-D-丙-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-NH ₂ |
| 13 | CH ₃ 酪-甘-甘-CH ₃ 苯丙-亮-精-精-D-亮-NH ₂ |

14 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-CH₃ 亮-精-精-D-亮-NH₂
 15 CH₃ 酪-甘-甘-D-苯丙-亮-精-精-D-亮-NH₂
 16 酪-D-丙-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-NH₂
 17 酪-肌-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-NH₂
 18 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-CH₃ 精-精-D-亮-NH₂
 19 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH₃ 精-D-亮-NH₂
 20 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-叔-亮-精-CH₃ 精-D-亮-NHC₂H₅
 21 CH₃ 酪-甘-甘-对-硝苯丙-亮-精-CH₃ 精-D-亮-NHC₂H₅
 22 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-赖-CH₃ 精-D-亮-NH₂
 23 酪-D-丝-甘-苯丙-丝-精-CH₃-D-亮-NHC₂H₅

 24 酪-D-半胱-甘-苯丙-半胱-精-CH₃ 精-D-亮-NHC₂H₅
 25 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-精-NH₂
 26 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-精-D-亮-精-NH₂
 27 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH₃ 精-D-亮-精-NHC₂H₅
 28 CH₃ 酪-甘-甘-对-硝苯丙-亮-精-CH₃ 精-D-亮-精-NHC₂H₅
 29 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-磺蛋-精-CH₃ 精-D-亮-精-NH₂

叔-亮: (CH₃)₃CCH(NH₂)COOH

高精: NH₂C(=NH)NHCH₂CH₂CH₂CH₂CH(NH₂)COOH

对-硝苯丙: NO₂--CH₂CH(NH₂)COOH

肌: CH₃NHCH₂COOH

图1、图2见文后

A: 酪 (氯₂ 苄), CH₃ 酪 (氯₂ 苄)。

B: 甘, D-丙, 肌

C: 苯丙, D-苯丙, CH₃ 苯丙, 对-硝苯丙,

D: 亮, CH₃ 亮

E: 精 (对-甲苯磺酰), 高精 (对-甲苯磺酰)

R: 氧苄, OC₂H₅, NH₂, NHC₂H₅, NH (CH₂)₅CH₃,

在例11和例18中, Z-高精 (TOS) OH 和 Z-CH₃ 精 (TOS) OH 分别被用作为 E 氨基酸的保护氨基酸。(图3见文后)

A: 酪 (氯₂ 苄), CH₃ 酪 (氯₂ 苄)

B: 甘, D-丝 (苄), D-半胱 (CH₃ 苄)

C: 苯丙, 对-硝苯丙

D: 亮, 叔-亮, 丝 (苄), 半胱 (CH₃ 苄)

E: 精 (对-甲苯磺酰), 赖 (苯氧碳酸酰)

R: NH₂, NHC₂H₅

(图4、图5见文后)

表 6

例号	旋光度 [α] _D ²⁰	薄层层析 R_f 值	氨基酸分析
3	-6.7°	0.53	甘 1.97, 亮 1.03, 苯丙 1.00, 精 2.30
4	-12.1°	0.62	甘 1.96, 亮 1.00, 苯丙 1.00, 精 2.01
5	-1.8°	0.65	甘 2.01, 亮 2.00, 苯丙 1.00, 精 1.99
6	+0.8°	0.63	甘 1.94, 亮 1.96, 苯丙 1.00, 精 1.97
7	-7.5°	0.62	甘 1.95, 亮 1.96, 苯丙 1.00, 精 1.97
8	+5.0°	0.64	甘 1.91, 亮 2.14, 苯丙 1.00, 精 2.78
9	+1.0°	0.68	甘 1.92, 亮 1.95, 苯丙 1.00, 精 1.98
10	+3.4°	0.59	甘 1.97, 亮 2.00, 苯丙 1.00, 精 2.01
11	-4.2°	0.61	甘 1.95, 亮 1.96, 苯丙 1.00, 精 1.01
12	+13.9°	0.68	甘 1.01, 亮 1.96, 苯丙 1.00, 精 1.98, 丙 1.00,
13	-17.2°	0.68	甘 1.92, 亮 2.00, 苯丙 1.00, 精 2.03
14	-11.5°	0.61	甘 1.99, 亮 1.02, 苯丙 1.00, 精 2.03
15	-12.0°	0.67	甘 1.90, 亮 1.93, 苯丙 1.00, 精 1.94
16	+15.0°	0.69	甘 1.07, 亮 1.97, 丙苯 1.00, 精 1.99, 丙 1.03, 酪 0.95
17	-3.8°	0.64	甘 1.00, 亮 1.98, 丙苯 1.00, 精 2.00, 酪 0.89
18	-19.7°	0.59	甘 1.93, 亮 1.91, 丙苯 1.00, 精 0.98,
19	-33.4°	0.62	甘 1.92, 亮 1.95, 丙苯 1.00, 精 0.99,
20	-19.1°	0.70	甘 2.00, 亮 1.01, 丙苯 1.00, 精 0.99,
21	-16.6°	0.69	甘 1.99, 亮 2.00, 丙苯, 精 0.99,
22	-23.3°	0.62	甘 1.97, 亮 1.99, 丙苯 1.00, 精, 赖 1.03
23	-4.8°	0.65	甘 1.01, 亮 1.00, 丙苯 1.00, 精 1.01, 丝 1.72, 酪 1.00
24	-29.1°	0.70	甘 1.01, 亮 1.05, 丙苯 1.00, 精 1.02, 酪 0.82, 半胱 1.89
25	-7.8°	0.64	甘 2.03, 亮 2.08, 丙苯 1.00, 精 3.22,
26	-6.1°	0.43	甘 1.93, 亮 0.98, 丙苯 1.00, 精 2.95, 谷 0.98
27	-31.8°	0.62	甘 1.94, 亮 1.90, 丙苯 1.00, 精 1.91,
28	-27.2°	0.52	甘 1.96, 亮 2.00, 丙苯, 精 2.03,
29	-23.0°	0.46	甘 2.00, 亮 1.00, 丙苯 1.00, 精 1.97,

在氨基酸分析中，仅计算了甘、亮、苯丙、精、丙、酪、赖、丝、半胱和谷的比例。

$[\alpha]_D^{20}$ 旋光度测定条件: C = 0.4 0.01N-HCl

TLC · R_f 值测定条件: 丁醇 / 乙酸 / 吡啶 / 水 = 15 : 5 : 5 : 8

例 30: 合成 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH₃ 精-D-丙-OH:

1) 合成苯氧碳酰-CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t:

将 3.336 克苯氧碳酰-CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) OH 溶于 20 毫升的四氢呋喃中。把溶液冷却到 -30℃。再向溶液加入 0.77 毫升 N-甲基吗啉和 0.669 毫升的氯碳酸乙酯。5 分钟后，加入含 1.272 克 HCl-H-D-丙-OBu^t 的溶液和含 1.16 毫升的 N-甲基吗啉的 20 毫升四氢呋喃。混合液在 -5℃ 搅拌 2 小时。浓缩后，残留物溶于乙酸乙酯中，用碳酸氢钠水溶液和水连续洗涤。浓缩干燥后，得到 4.16 克透明的苯氧碳酰-CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t。

TLC · Bf 值: 0.69 (甲醇 / 氯仿 = 1 / 7)

旋光度: $[\alpha]_D = -15.5^\circ$ (C = 1, 甲醇)

C₂₉H₄₁N₅O₇S 的成分分析:

C H N

计算值 (%) 57.70 6.85 11.60

测定值 (%) 57.54 6.59 11.31

2) 合成苯氧碳酰-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t

将钯 / 碳催化还原苯氧碳酰-CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t 得到的 CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t 2.87 克，苯氧碳酰-精 (对-甲苯磺酰) OH 3.392 克，和 N-羟基苯并三唑 1.188 克溶于 10 毫升的二甲基甲酰胺中。用冰冷却后，加入 1.662 克二环己基碳化二亚胺。混合液在冰箱中搅拌两天。形成的沉淀过滤之，然后浓缩滤液。残留物用硅胶柱层析提纯 (洗脱剂: 甲醇 / 氯仿 = 1 / 20)，从而得到 2.04 克透明的苯氧碳酰-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t。

TLC · R_f 值: 0.57 (甲醇 / 氯仿 = 1 / 7)

旋光度: $[\alpha]_D = -31.6^\circ$ (C = 1, 甲醇)

C₄₂H₅₉N₉O₁₀S₁ · 1 / 2HO 的元素分析:

C H N

计算值 (%) 54.65 6.62 13.66

测定值 (%) 54.64 6.48 13.72

3) 合成苯氧碳酰-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₂ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t:

将 0.629 克苯氧碳酰-亮-OH 溶于 15 毫升的二甲基甲酰胺中，将溶液冷却到 -20℃，再加 0.261 毫升 N-甲基吗啉和 0.227 毫升氯碳酸乙酯。5 分钟后，把含 1.76 克由钯 / 碳催化还原苯氧碳酰-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t 制出的 HCl-H-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t 的溶液和含 0.356 毫升 N-甲基吗啉的 15 毫升的二甲基甲酰胺加入上述溶液。混合液置 -5℃ 搅拌 2 小时。浓缩后，残留物溶乙酯中，然后用碳酸氢钠水溶液和水连续洗涤。浓缩干燥后，得到 2.11 克透明的苯氧碳酰-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -D-丙-OBu^t。

TLC: R_f 值 0.57 (甲醇 / 氯仿 = 1 : 7)

旋光度: $[\alpha]_D = -36.2^\circ$ (C = 1, 甲醇)

C₄₈H₇₀N₁₀O₁₁S₂ · 1 / 2CH₃COOC₂H₅ 的元素分析:

C H N

计算值 (%) 56.06 6.96 13.07

测定值 (%) 56.02 6.85 13.08

4) 合成苯氧碳酸酰-苯丙-亮-精(对-甲苯磺酰)-CH₃精(对-甲苯磺酰)-D-丙-OBu^t

将苯氧碳酸酰-苯丙-OH 595 毫克溶于 15 毫升二甲基甲酰胺中，将溶液冷却到-20℃，加入 0.219 毫升 N-甲基吗啉和 0.190 毫升氯碳酸乙酯。5 分钟后，把含 1.68 克，钯 / 碳催化还原苯氧碳酸酰-亮-精(对-甲苯磺酰)-CH₃精(对-甲苯磺酰)-D-丙-OBu^t 制出的，HCl·H-亮-精(对-甲苯磺酰)-CH₃精(对-甲苯磺酰)-D-丙-OBu^t 和含 0.299 毫升 N-甲基吗啉的 15 毫升的二甲基甲酰胺混入上液，-5℃下搅拌 2 小时，浓缩后，将残留物溶于乙酸乙酯中，并用碳酸氢钠水溶液和水连续洗涤。把溶剂蒸出，再加乙醚，移出上清，浓缩干燥，得到 1.87 克透明的苯氧碳酸酰-苯丙-亮-精(对-甲苯磺酰)-CH₃精(对-甲苯磺酰)-D-丙-OBu^t。

TLC: R_f 值 0.61 (甲醇 / 氯仿 = 1 : 7)

旋光度: [α]_D = -34.7° (C=1, 甲醇)

C₅₇H₇₉N₁₁O₁₂S₂ · C₂H₅OC₂H₅ 元素分析:

C H N

计算值 (%) 58.68 7.19 12.34

测定值 (%) 58.66 6.83 12.42

5) 合成叔-丁氧碳酸酰-CH₃酪(氯₂苄)-甘-甘-苯丙-亮-精(对-甲苯磺酰)-CH₃精(对-甲苯磺酰)-D-丙-OBu^t

将 969 毫克叔-丁氧碳酸酰-CH₃酪(氯₂苄)-甘-甘-OH 溶于 12 毫升的二甲基甲酰胺中。将溶液冷却到-20℃。将 0.188 毫升 N-甲基吗啉和 0.163 毫升的氯碳酸乙酯加入溶液。5 分钟后，将含 1.67 克，钯 / 碳催化还原苯氧碳酸酰-苯丙-亮-精(对-甲苯磺酰)-CH₃精(对-甲苯磺酰)-D-丙-OBu^t 制出的，HCl·H-苯丙-亮-精(对-甲苯磺酰)-CH₃精(对-甲苯磺酰)-D-D-丙-OBu^t 溶液和含 0.256 毫升 N-甲基吗啉的 15 毫升二甲基甲酰胺混在一起，混合液在大约-5℃下，搅拌 2 小时。浓缩后，残留物在乙酸乙酯中，用碳酸氢钠水溶液和水连续洗涤。减压蒸出溶剂，用甲醇 / 乙醚固化残留物，从而得到 2.196 克叔-丁氧碳酸酰-CH₃酪(氯₂苄)-甘-甘-苯丙-亮-精(对-甲苯磺酰)-CH₃精(对-甲苯磺酰)-D-丙-OBu^t。

熔点: 130-135℃ (dec)

TLC: R_f 值 0.61 (甲醇 / 氯仿 = 1 : 7)

旋光度: [α]_D = -40.7° (C=1, 甲醇)

C₇₅H₁₀₂N₁₄O₁₆S₂Cl₂ · 2CH₃OH 元素分析:

C H N

计算值 (%) 55.89 6.70 11.85

测定值 (%) 55.95 6.42 11.78

6) 合成 CH₃酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH₃精-D-丙-OH

将 200 毫克叔-丁氧碳酸酰-CH₃酪(氯₂苄)-甘-甘-苯丙-亮-精(对-甲苯磺酰)-CH₃精(对-甲苯磺酰)-D-丙-OBu^t 溶于 10 毫升氟氢酸中，在含 0.2 毫升苯甲醚的密闭的氟氢酸反应器中，溶液搅拌 1 小时，然后把氟氢酸从反应系统中蒸出。残留物用乙醚洗涤，然后溶于水，溶液用 Amberlite IRA-93 处理，经冷冻干燥，得出 120 毫克粗肽，经用高效液相层析纯出〔Nucleosil 5C 18.2Φ × 25 公分，用 0.05% HCl(H₂O / CH₃CN, 92 / 8)洗脱〕后，冷冻干燥，得到 60 毫克 CH₃酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH₃精-D-丙-OH。

TLC: R_f 值 0.54 (乙醇 / 乙酸 / 吡啶 / 水, 15:5:5:8)

旋光度: $[\alpha]_D = -35.1^\circ$ ($C=0.4$, 0.01N-HCl)

质谱分析 (FAB): 967 ($[M+H]^+$)

氨基酸分析:

甘 1.95 (2), 亮 1.00 (1), 苯丙 1.00 (1),

精 0.99 (1), 丙 1.01 (1)

(CH_3 酯和 CH_3 精的峰值没有计算。)

例 31: 合成 CH_3 酯-甘-甘-苯丙-亮-精- CH_3 精- CH_3 丙-OH:

1) 合成苯氧碳酰- CH_3 精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 -丙-OBu^t:

将 4.508 克苯氧碳酰- CH_3 精 (对-甲苯磺酰) -OH, 1.683 克 H·cl· CH_3 丙-OBu^t, 1.533 克 N-羟基苯并三唑和 1.04 毫升的 N-甲基吗啉溶在 10 毫升二甲基甲酰胺中。用冰冷却后, 加入 2.144 克二环己基碳化二亚胺, 然后将混合液在冰箱中搅拌过夜。滤出形成的沉淀, 浓缩滤液, 残留物溶于乙酸乙酯, 然后用柠檬酸水溶液, 碳酸氢钠水溶液和水连续洗涤。浓缩干燥, 得到 4.24 克透明的苯氧碳酰- CH_3 -精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 丙-OBu^t

TLC: R_f 值 0.61 (甲醇 / 氯仿, 1:7)

旋光度: $[\alpha]_D = -57.8^\circ$ ($C=1$, 甲醇)

$\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$ 的元素分析:

C H N

计算值 (%) 58.33 7.02 11.33

测定值 (%) 58.11 6.88 11.41

2) 合成苯氧碳酰-精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 丙-OBu^t:

将用钯 / 碳催化还原苯氧碳酰- CH_3 精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 现-OBu^t 制出的 CH_3 精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 丙-OBu^t 2.90 克, 与 3.329 克苯氧碳酰-精 (对-甲苯磺酰) -OH, 和 1.166 克 N-羟基苯并三唑溶于 10 毫升的二甲基甲酰胺中。用冰冷却后, 加入 1.359 克二环己基碳化二亚胺。混合液在冰箱中搅拌两天。滤出形成的沉淀, 浓缩滤液。残留物用硅胶柱层析纯化 (用甲醇 / 氯仿 = 1/15 洗脱), 得到 2.1 克透明的苯氧碳酰-精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 精 (对-甲苯磺酰) CH₃ 丙-OBu^t。

ILC: R_f 值 0.46 (甲醇 / 氯仿 = 1/7)

旋光度: $[\alpha]_D = -57.1^\circ$ ($C=1$, 甲醇)

$\text{C}_{43}\text{H}_{61}\text{N}_9\text{O}_{10}\text{S}_2 \cdot 3/2\text{H}_2\text{O}$ 的元素分析:

C H N

计算值 (%) 54.07 6.75 13.20

测定值 (%) 54.10 6.35 13.18

3) 合成苯氧碳酰-亮-精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 丙-OBu^t:

将 247 克苯氧碳酰-亮-OH 溶于 10 毫升二甲基甲酰胺中。溶液冷却到 -20°C, 加入 0.102 毫升 N-甲基吗啉和 0.089 毫升氯碳酸乙酯。5 分钟后, 将含 700 毫克钯 / 碳催化还原苯氧碳酰-精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 丙-OBu^t 制出的 HCl·H-精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 精 (对-甲苯磺酰) CH₃-丙-OBu^t 的溶液和含 0.139 毫升 N-甲基吗啉的 10 毫升的二甲基甲酰胺加入上液。混合液在大约 -5°C 下搅拌 2 小时。浓缩后, 残留物溶于乙酸乙酯, 然后用碳酸氢钠水溶液和水连续洗涤。蒸出溶剂, 加入乙醚, 移出上清浓缩干燥, 得到透明的苯氧碳酰-亮-精 (对-甲苯磺酰) - CH_3 精 (对-甲

苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t 0.86 克。

TLC: R_f 值 0.48 (甲醇 / 氯仿 = 1 / 7)

旋光度: [α]_D = -60.3° (C = 1, 甲醇)

C₄₉H₇₂N₁₀O₁₁S₂ · C₂H₅OC₂H₅ 的元素分析:

C H N

计算值 (%) 57.07 7.41 12.55

测定值 (%) 56.83 7.02 12.64

4) 合成苯氧碳酸-苯丙-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t

将 224 毫克苯氧碳酸-苯丙-OH 溶于 7 毫升的二甲基甲酰胺。将溶液冷却到 -20°C。再加入 0.082 毫升 N-甲基吗啉和 0.071 毫升氯酸乙酯。5 分钟后，将含 640 毫克的钯 / 碳催化还原苯氧碳酸-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t 制出的 HCl · H-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t 的溶液和含 0.112 毫升 N-甲基吗啉的 7 毫升二甲基甲酰胺加入上述溶液。混合液在大约 -5°C 下，搅拌 2 小时。浓缩后，残留物溶于乙酸乙酯。然后用碳酸氢钠水溶液和水连续洗涤。蒸出溶剂，加入乙醚，移出上清，浓缩干燥，得到 770 毫克透明的苯氧碳酸-苯丙-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t。

TLC: R_f 值 0.54 (甲醇 / 氯仿 = 1 / 7)

旋光度: [α]_D = -59.6° (C = 1, 甲醇)

C₅₈H₈₁N₁₁O₁₂S₂ · C₂H₅OC₂H₅ 的元素分析:

C H N

计算值 (%) 58.98 7.26 12.20

测定值 (%) 58.68 6.91 12.24

5) 合成叔-丁氧碳酸-CH₃ 酯 (氯₂ 苄) -甘-甘-苯丙-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t:

将 350 毫克叔-丁氧碳酸-CH₃ 酯 (氯₂ 苄) -甘-甘-OH 溶于 5 毫升的二甲基甲酰胺中。将溶液冷却到 -20°C，再加入 0.068 毫升 N-甲基吗啉和 0.059 毫升的氯碳酸乙酯。5 分钟后，把含 610 毫克，钯 / 碳催化还原苯氧碳酸-苯丙-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t 制出的，HCl · H-苯丙-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t 的溶液和含 0.092 毫升 N-甲基吗啉的 6 毫升的二甲基甲酰胺加入上述溶液。混合液在大约 -5°C，搅拌 2 小时。浓缩后，残留物溶于乙酸乙酯，然后用碳酸氢钠水溶液和水连续洗涤。浓缩后，再用甲醇 / 乙醚固化，得到 760 毫克叔-丁氧碳酸-CH₃ 酯 (氯₂ 苄) -甘-甘-苯丙-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t。

熔点: 125-133°C (dec)

TLC: R_f 值 0.55 (甲醇 / 氯仿 = 1 / 7)

旋光度: [α]_D = -56.4° (C = 1, 甲醇)

C₇₆H₁₀₄N₁₄O₁₆S₂Cl₂ · 1 / 2C₂H₅OC₂H₅

计算值 (%) 57.06 6.69 11.94

测定值 (%) 56.71 6.46 11.49

6) 合成 CH₃ 酯-甘-甘-苯丙-亮-精-CH₃ 精-CH₃ 丙-OH;

将 210 毫升叔-丁氧碳酸-CH₃ 酯 (氯₂ 苄) -甘-甘-苯丙-亮-精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 精 (对-甲苯磺酰) -CH₃ 丙-OBu^t，在一个密闭的氟化氢反应器中，于 -5°C 下，

溶于含 0.2 毫升苯甲醚的 10 毫升氟氢酸中。搅拌此液 1 小时，然后从反应系统中蒸出氟化氢，用醚洗残留物，再把它溶于水。溶液经用 Amberlite IRA-93 处理后，冷冻干燥。得到的 130 毫克粗肽用高效液相层析法纯化 [Nucleosil 5C 18.2Φ × 25cm，洗脱液为 0.05% HCl (H₂O / CN CN, 91 : 9)]，冷冻干燥，得到 50 毫克 CH₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH₃ 精-CH₃ 丙-OH。

TLC: R_f 值 0.54 (丁醇 / 乙酸 / 吡啶 / 水 = 15 : 5 : 5 : 8)

旋光度: $[\alpha]_D^{20} = -64.7^\circ$ (C = 0.4, 0.01N-HCl)

质谱 (FAB): 981 ([M+H]⁺)

氨基酸分析:

甘氨酸 1.92 (2), 亮氨酸 1.04 (1), 苯丙 1.00 (1), 精氨酸 0.986 (1)

(CH₃ 精氨酸、CH₃ 丙氨酸和 CH₃ 酪氨酸的峰值没有计算。)

例 32 到 41:

表 7 所示化合物是用与例 30 和 31 相同的液相方法合成的。在这些试验中，在 1 到 3 位 (酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸) 上修正的 dynorphin 衍生物，在 4 到 8 位的 (苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-精氨酸-异亮氨酸)，及在 4 到 9 位上 (苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-精氨酸-异亮氨酸-精氨酸)，在 4 到 10 位上 (苯丙氨酸-亮氨酸-精氨酸-精氨酸-精氨酸-异亮氨酸-精氨酸-脯氨酸) 修正的 dynorphin 衍生物都是在每一个肽的 C 末端开始逐步合成的。然后，1 到 3 位、4 到 8 位，4 到 9 位或 4 到 10 位的衍生物用 DCC-HOBt 法或混合酸酐法缩合在一起。所有保护基均用氟化氢除去，产物用有逆相载体的预制高效液相层析提纯。各个保护肽合成的反应路线，示在图 6 到图 8。

测得的目的肽的旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ 、TLC · R_f 值和氨基酸分析结果均示在表 8。

表 7

样品号	化 合 物
32	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH ₃ 精-异亮-OH
33	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH ₃ 精-天冬-OH
34	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH ₃ 精-D-亮-OH
35	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH ₃ 精-D-谷-OH
36	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH ₃ 精-CH ₃ 异亮-OH
37	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH ₃ 精-肌-OH
38	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精=CH ₃ 精-β-丙-OH
39	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH ₃ 精-D-亮-天冬-OH
40	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH ₃ 精-D-亮-苯丙-OH
41	CH ₃ 酪-甘-甘-苯丙-亮-精-CH ₃ 精-D-亮-精-D-谷-OH

(图 6、图 7、图 8 见文后)

表 8

样品号	旋光度 [α] _D ²⁰	薄层层析 TLC · R _f 值	氨基酸分析	
			甘氨酸	亮氨酸
32	-10.6	0.63	甘 1.96, 亮 1.05, 苯丙 1.00, 精 1.01, 异亮 0.00	
33	-35.4	0.48	甘 1.96, 亮 0.99, 苯丙 1.00, 精 0.99, 天冬 1.01	
34	-32.4	0.68	甘 1.95, 亮 1.95, 苯丙 1.00, 精 0.99	
35	-30.8	0.51	甘 1.93, 亮 1.00, 苯丙 1.00, 精 1.00, 谷 1.01	
36	-67.1	0.63	甘 1.95, 亮 0.97, 苯丙 1.00, 精 0.96	
37	-23.9	0.51	甘 1.97, 亮 1.01, 苯丙 1.00, 精 1.00	
38	-29.2	0.56	甘 1.96, 亮 1.01, 苯丙 1.00, 精 1.01	
39	-28.6	0.58	甘 1.96, 亮 1.98, 苯丙 1.00, 精 1.00, 天冬 1.06	
40	-25.0	0.70	甘 1.93, 亮 2.01, 苯丙 2.00, 精 0.96	
41	-30.8	0.51	甘 1.96, 亮 1.97, 苯丙 1.00, 精 1.99, 谷 1.01	

在氨基酸分析时，只计算了甘氨酸，亮氨酸，苯丙氨酸，精氨酸，异亮氨酸，天冬氨酸和谷氨酸。

旋光度：[α]_D²⁰ 测定时，C = 0.4, 0.01N-HCl。

TLC · R_f 值测定时，丁醇 / 乙酸 / 吡啶 / 水 = 15 : 5 : 5 : 8。

一些得到的样品化合物，则以上述同样方法试验之。

表 9

样品号	尾刺法 静脉	ED ₅₀ (mg / kg) 皮下
30	0.7	1.9
31	0.5	1.2
34	2.1	0.9
36	0.2	0.4
38	1.7	0.6
dynorphin(1-13)	> 25.0	

表 10

样品号	免输精管法 IC ₅₀ (nM)
30	17.8
31	24.5
36	11.2
dynophin A(1-17)	17.4

表 11

样品号	尾刺法 ED ₅₀ (mg / kg)	最小致死量 (mg / kg)
30	1.9	> 100
31	1.2	> 100
36	0.6	> 100