

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 95192899.6

A61K 38/00
C07D205/08 C07D223/16
C07D239/02 C07D211/26
C07D285/08 C07D285/14
C07D417/00 C07D513/00
C07D277/04 C07D277/18
C07D277/38 C07D263/04

[11] 公开号 CN 1147205A

[43]公开日 1997年4月9日

[22]申请日 95.3.3

[30]优先权

[32]94.3.4 [33]US[31]08/206,553

[86]国际申请 PCT/US95/02558 95.3.3

[87]国际公布 WO95/23609 英 95.9.8

[85]进入国家阶段日期 96.11.1

[71]申请人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

[72]发明人 G·F·史密夫 M·R·怀利

A·L·沙特 R·T·舒曼

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘元金 王其灏

权利要求书 14 页 说明书 164 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 抗血栓形成剂

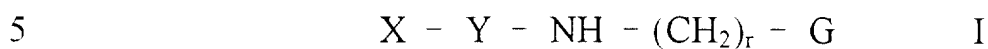
[57]摘要

本发明涉及凝血酶抑制剂化合物,其通式(I)为 $X-Y-NH-(CH_2)_r-G$, 式中 X、Y、r 和 G 具有说明书中所定义的含义,也涉及含有此类化合物的医药配方及其作为凝血酶抑制剂、凝血抑制剂和血栓栓塞有序剂的用途。

(BJ)第 1456 号

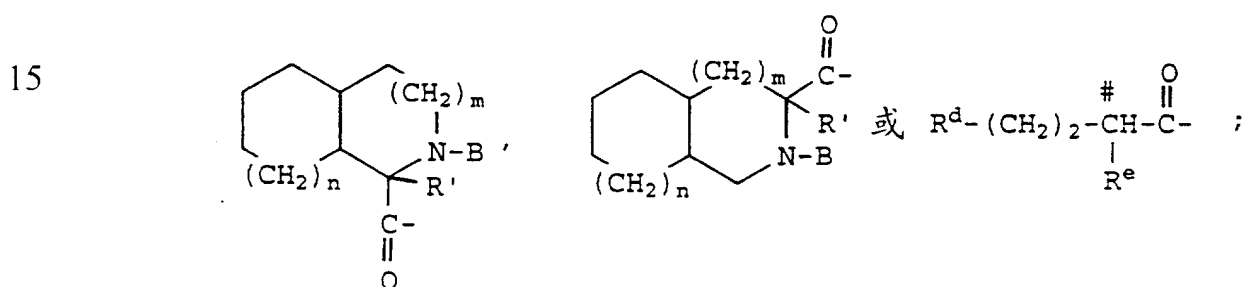
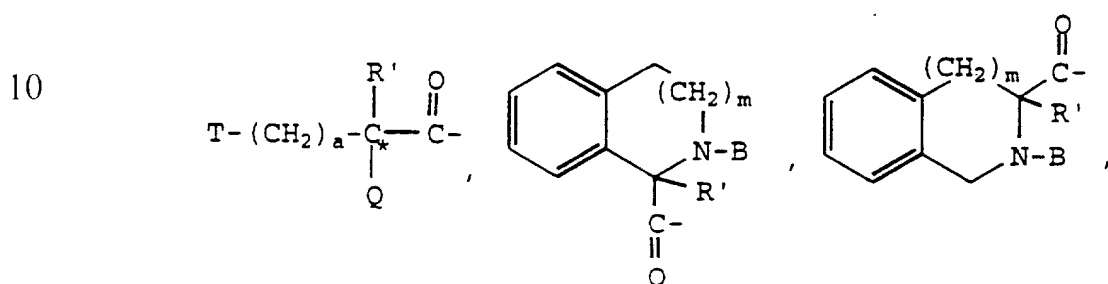
权 利 要 求 书

1. 式 I 所示的化合物或其药物上可接受的盐；或所述化合物的药物上可接受的溶剂化物或其盐：



其中：

X 是脯氨酰基、高脯氨酰基、 $R^m - (CH_2)_g - NH - CH_2C(O) -$ 、

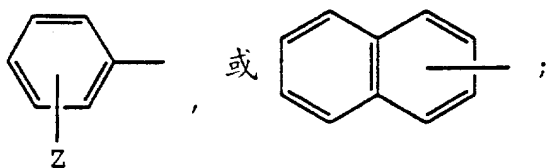


20 其中：

R^d 是羧基或甲磺酰基；

R^e 是 NHR^c 、 $NHCOR^c$ 或 $NHCOOR^c$ ；其中 R^c 是 $C_1 - C_{10}$ 烷基、 $C_3 - C_8$ 环烷基或含有 4 - 10 个碳原子的 ($C_3 - C_8$) 环烷基 ($C_1 - C_6$) 烷基基团；

25 T 是 $C_3 - C_8$ 环烷基、 $C_1 - C_8$ 烷基、



30 a 是 0、1 或 2；以及

Q 是 $-OH$ 、 $C_1 - C_4$ 烷氧基，或 $-NH - A$ ；

A 是氢、 $C_1 - C_4$ 烷基、 $R''SO_2 -$ 、 $R''OC(O) -$ 、 $R''C(O) -$ 、 $R''C(O) -$ 或 $-(CH_2)_g - R^m$;

g 是 1、2 或 3;

B 是氢或 $C_1 - C_4$ 烷基;

5 R' 是氢或 $C_1 - C_4$ 烷基;

R'' 是 $C_1 - C_4$ 烷基、 $C_1 - C_4$ 全氟烷基、 $-(CH_2)_d - R^m$ ，或未取代的或取代的芳基，这里芳基是指苯基、萘基、5 元或 6 元的未取代的或取代的芳族杂环，该杂环含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子，或是一个 9 元或 10 元的未取代的或取代的稠合双环芳族杂环基团，该基团含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子;

R^m 是 $COOR^b$ 、 $-SO_2(C_1 - C_4 \text{ 烷基})$ 、 SO_3H 、 $-P(O)(OR^b)_2$ 或四唑 - 5 - 基;

R^n 是 $COOR^b$ 或四唑 - 5 - 基;

各个 R^b 独立地是氢或 $C_1 - C_4$ 烷基;

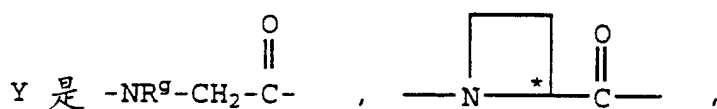
15 d 是 1、2 或 3;

m 是 0、1 或 2;

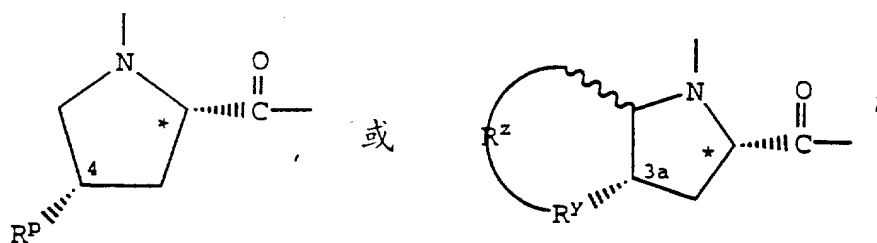
n 是 0、1 或 2; 和

Z 是氢、 $C_1 - C_4$ 烷基、 $C_1 - C_4$ 烷氧基、羟基、卤素或 R_aSO_2NH- ，其中 R_a 是 $C_1 - C_4$ 烷基;

20



25



其中:

30 R^g 是 $C_1 - C_6$ 烷基、 $C_3 - C_8$ 环烷基，或 $-(CH_2)_p-L-(CH_2)_q - T'$;

R^p 是氢、 $C_1 - C_6$ 烷基、 $C_3 - C_8$ 环烷基、或 $-(CH_2)_p-L-(CH_2)_q - T''$;

其中 p 是 0、1、2、3 或 4；L 是一个键，- O -、- S - 或 - NH -；q 是 0、1、2 或 3；T' 是氢、C₁ - C₄ 烷基、C₃ - C₈ 环烷基、- COOH、- CONH₂，或 Ar，其中 Ar 是未取代的或取代的芳基，这里芳基是指苯基、萘基、5 元或 6 元的未取代的或取代的芳族杂环，该杂环含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子，或是一个 9 元或 10 元的未取代的或取代的稠合双环芳族杂环基团，该基团含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子；

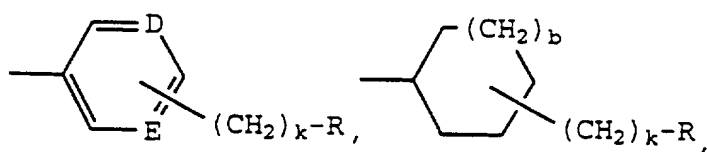
R^y 是 - CH₂ -、- O -、- S -，或 - NH -；和

R^z 是一个键，或当与 R^y 及 3 个邻接的碳原子合在一起时形成一个含有 5 - 8 个原子的饱和碳环，其中一个原子可以是 - O -、- S -，或 - NH -；

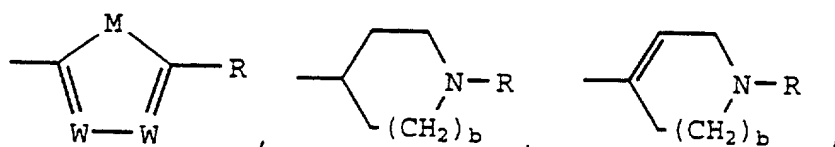
r 是 1、2 或 3；和

G 是 - (CH₂)_s - R，其中 s 是 0 - 5，- CH = CH - (CH₂)_t - R，其中 t 是 0 - 3，或者 G 是：

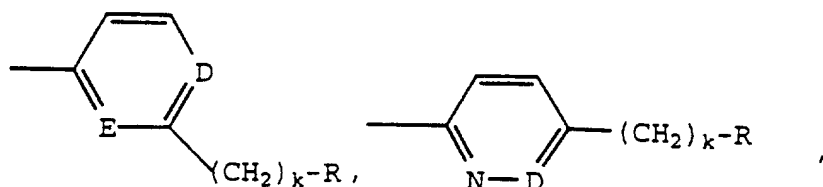
15



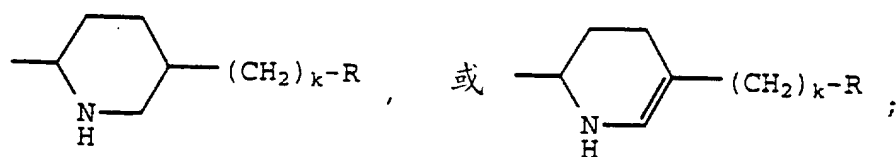
20



25



30



其中 D 和 E 各自独立地是 N 或 CH；

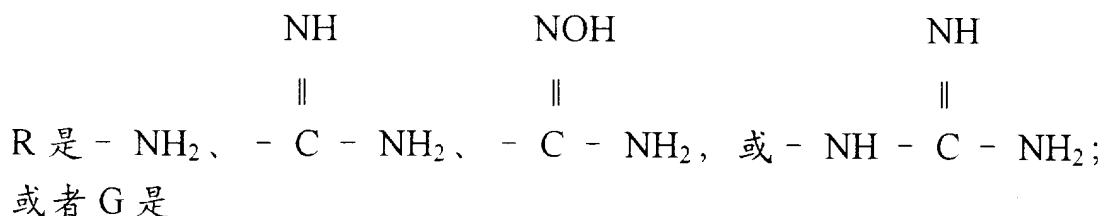
k 是 0 或 1;

b 是 0 或 1;

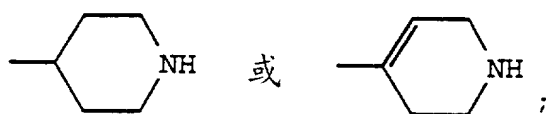
M 是 S、O、或 NH;

各个 W 独立地是 N 或 CH; 以及

5

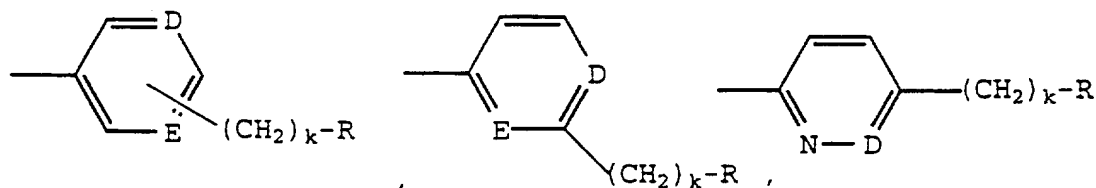


10



而且其中下面的芳环或杂芳环中的一个至所有其余未取代的碳原子可以带有一个氟取代基:

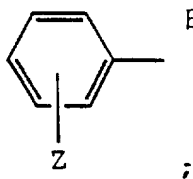
15



20

但其条件是:

(1) 当 G 是 $-(\text{CH}_2)_s-\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2$ 、y 是未取代的脯氨酸基 (R^p 是氢)、及 T 是

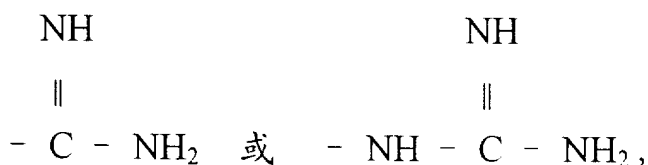


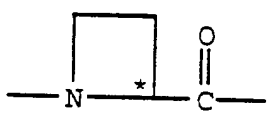
25


(2) 当 $r = 1$ 及 $s = 0$ 时, R 不是氨基或胍基;

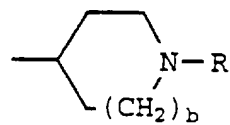
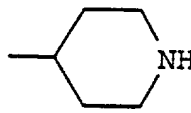
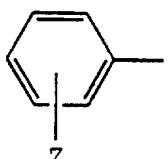
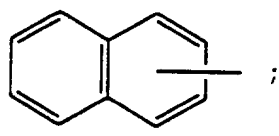
(3) 当 G 是 $-(\text{CH}_2)_s-\text{R}$, 其中 R 是

30



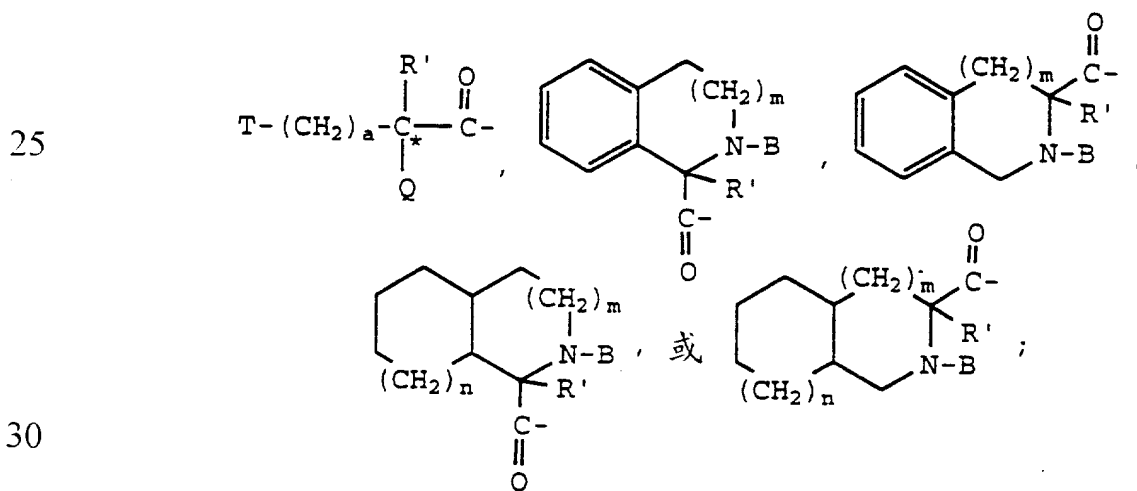
Y 是  , 未取代的脯氨酰基 (R^p 是氢) 或 4 - 羟基脯氨酰基 (R^p 是 OH)、R' 是氢, T 是环己基以及 Q 是 - NH - A 时,
 5 A 不是氢、C₁ - C₄ 烷基、甲磺酰或 - (CH₂)_g - R^m;

(4) 当 G 是 - (CH₂)_s - R, 其中 R 是  - NH₂, y 是未取代的脯氨酰基 (R^p 是氢) 或 4 - 甲基 - 硫代脯氨酰基 (R^p 是 -SCH₃),
 10 及 Q 是 - NH - A 时, R''SO₂ 不是芳基磺酰;

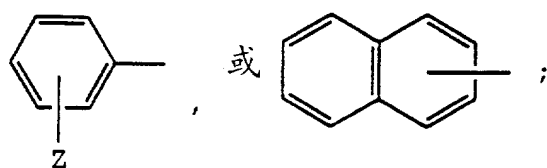
(5) 当 G 是:  或 
 15 T 是 C₁ - C₈ 烷基,  , 或  ;

及 Q 是 - NH - A 时, A 不是 R''SO₂ - .

2. 如权利要求 1 所要求的式 I 化合物, 或其药物上可接受的盐; 或
 20 所述化合物的药物上可接受的溶剂化物或其盐, 其中;
 X 是脯氨酰基、高脯氨酰基、



T 是 C₃ - C₈ 环烷基、C₁ - C₈ 烷基、



5 a 是 0 或 1;

Q 是 OH、 $C_1 - C_4$ 烷氧基、或 $-NH - A$;

A 是 氢或 $C_1 - C_4$ 烷基、 $R''SO_2 -$ 、 $R''OC(O) -$ 、 $R''C(O) -$ 、或 $-(CH_2)_g - COOH$;

g 是 1、2 或 3;

10 B 是 氢或 $C_1 - C_4$ 烷基;

R' 是 氢或 $C_1 - C_4$ 烷基;

R'' 是 $C_1 - C_4$ 烷基、 $C_1 - C_4$ 全氟烷基、 $-(CH_2)_d - COOH$ ，或未取代的或取代的芳基，这里芳基是指苯基、萘基、5 元或 6 元的未取代的或取代的芳族杂环，该杂环含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子，或是一个 9 元或 10 元的未取代的或取代的稠合双环芳族杂环基团，该基团含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子;

d 是 1、2 或 3;

m 是 0、1 或 2;

20 n 是 0、1 或 2; 和

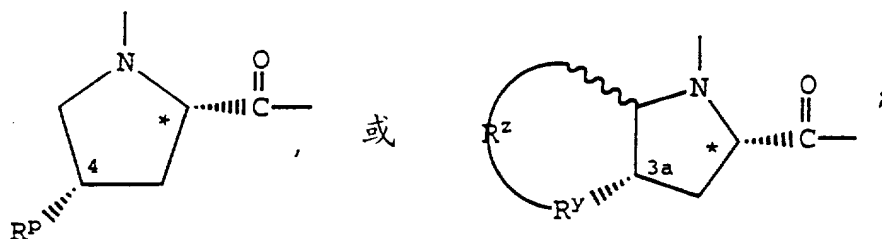
Z 是 氢、 $C_1 - C_4$ 烷基、 $C_1 - C_4$ 烷氧基、羟基、卤素，或 R_aSO_2NH- ，其中 R_a 是 $C_1 - C_4$ 烷基;

Y 是

25



30



其中:

R^E 是 $C_1 - C_6$ 烷基、 $C_3 - C_8$ 环烷基, 或 $-(CH_2)_p-L-(CH_2)_q - T'$;

R^D 是氢、 $C_1 - C_6$ 烷基、 $C_3 - C_8$ 环烷基、或 $-(CH_2)_p-L-(CH_2)_q - T'$;

其中 p 是 0、1、2、3 或 4; L 是一个键, $-O-$ 、 $-S-$ 或

5 $-NH-$; q 是 0、1、2 或 3; T' 是氢、 $C_1 - C_4$ 烷基、 $C_3 - C_8$ 环烷基、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$, 或 Ar , 其中 Ar 是未取代的或取代的芳基, 这里芳基是指苯基、萘基、5 元或 6 元的未取代的或取代的芳族杂环, 该杂环含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子, 或是一个 9 元或 10 元的未取代的或取代的稠合双环芳族杂环基团, 该基团含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子;

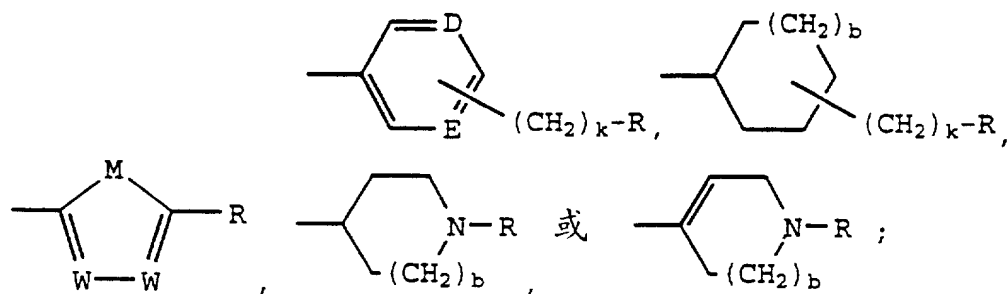
R^Y 是 $-CH_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$, 或 $-NH-$; 和

R^Z 是一个键, 或当与 R^Y 及 3 个邻接的碳原子合在一起时形成一个含有 5 - 8 个原子的饱和碳环, 其中一个原子可以是 $-O-$ 、 $-S-$, 或 $-NH-$;

15 r 是 1 或 2; 及

G 是 $-(CH_2)_s - R$, 其中 s 是 0 - 5, $-CH = CH - (CH_2)_t - R$, 其中 t 是 0 - 3,

20



25

式中 D 和 E 各自独立地是 N 或 CH ;

k 是 0 或 1;

b 是 0 或 1;

M 是 S 、 O 、或 NH ;

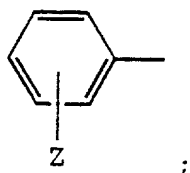
各个 W 独立地是 N 或 CH ; 以及

30

$$\begin{array}{ccc} NH & NOH & NH \\ || & || & || \\ R & -C-NH_2 & -C-NH_2 \end{array}$$
 或 $-NH-C-NH_2$;

但其条件是:

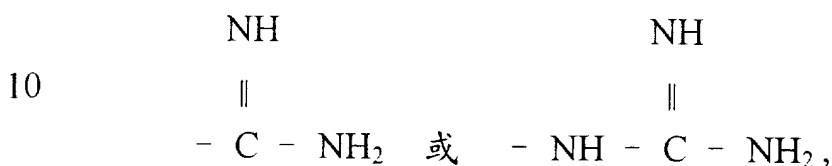
(1) 当 G 是 $-(CH_2)_s - NH - C(NH)NH_2$ 、y 是未取代的脲基 (R^p 是氢)、及 T 是

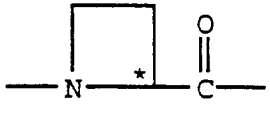


5

(2) 当 r = 1 及 s = 0 时, R 不是氨基或胍基;

(3) 当 G 是 $-(CH_2)_s - R$, 其中 R 是

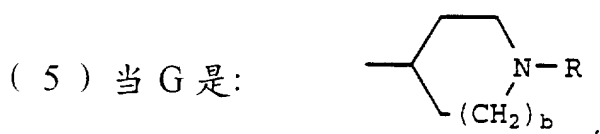


Y 是 , 未取代的脲基 (R^p 是氢) 或 4-羟基脲基 (R^p 是 OH)、R' 是氢, T 是环己基以及 Q 是 $-NH - A$ 时, A 不是氢、C₁ - C₄ 烷基、甲磺酰或 $-(CH_2)_g - COOH$;

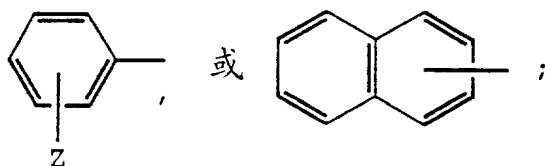
15

(4) 当 G 是 $-(CH_2)_s - R$, 其中 R 是 $-NH - \overset{NH}{\parallel} C - NH_2$, y 是未取代的脲基 (R^p 是氢) 或 4-甲基-硫代脲基 (R^p 是 $-SCH_3$), 及 Q 是 $-NH - A$ 时, R''SO₂ 不是芳基磺酰;

20



25 T 是 C₁ - C₈ 烷基、



及 Q 是 $-NH - A$ 时, A 不是 R''SO₂ -。

30 3. 如权利要求 1 或 2 中所要求的化合物或盐或溶剂化物, 其中烷基本身或作为另一取代基的一部分, 可以是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基;

全氟烷基本身或作为另一取代基的一部分，可以是三氟甲基、全氟乙基、全氟正丙基、全氟异丙基、全氟正丁基、全氟叔丁基、全氟异丁基或全氟仲丁基；

5 $C_3 - C_8$ 环烷基是环丙基、甲基环丙基、环丁基、环戊基、环己基、4 - 甲基环己基或环辛基；

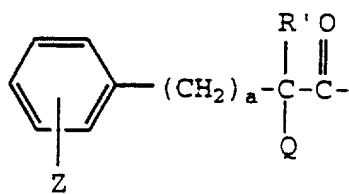
卤素是氯、氟、溴或碘；

5 元或 6 元杂环基是咪唑基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡喃基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、噁嗪基噻嗪基；

10 9 元或 10 元杂环基是吲哚基、苯并噻吩基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并吡唑基、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基或苯并噻唑基；

15 而且此处 Ar 或 R'' 定义中所列出的任何一个芳族基团或杂芳族基团各自可以独立地是未取代的，或被 1 个或 2 个能提供稳定结构的取代基所取代，所述取代基独立地选自卤素、羟基、 $C_1 - C_4$ 烷基、 $C_1 - C_4$ 烷氧基、氨基 ($-NH_2$)、 $-(C_1 - C_4 \text{ 烷基})$ 氨基、 $-(CH_2)_j - COOH$ 、巯基、 $-S(O)_h(C_1 - C_4 \text{ 烷基})$ 、 $-NHS(O)_h(C_1 - C_4 \text{ 烷基})$ 、 $-NHC(O)(C_1 - C_4 \text{ 烷基})$ 、 $-S(O)_hNH_2$ 、 $-S(O)_hNH(C_1 - C_4 \text{ 烷基})$ ，或 $-S(O)_hN(C_1 - C_4 \text{ 烷基})_2$ ，h 是 0、1 或 2，j 是 0、1、2、3 或 4。

20 4. 如权利要求 1、2 或 3 中所要求的化合物或其盐或溶剂化物，其中：



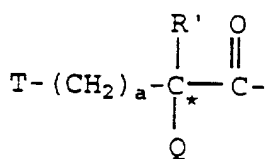
25 X 是

高脯氨酰基、1 - 或 3 - Tig、或 1 - 或 3 - Piq；Y 是脯氨酰基；Q 是 NHA，其中 A 是氢或 $R''SO_2 -$ ，R' 是氢，Z 是氢，B 是氢；以及 R 是胍基或脒基基团。

30 5. 如权利要求 1 - 4 中任何一项所要求的化合物或其盐或溶剂化物，其中：

G 是 4 - 脒基苯基。

6. 如权利要求 1、2 或 3 所要求的化合物或其盐或溶剂化物, 其中:



5 X 是

其中 T 是环己基, a 是 1, R' 是氢, Q 是 -NH-A, 式中 A 是氢、R''SO₂- 或 -(CH₂)_g-COOH。

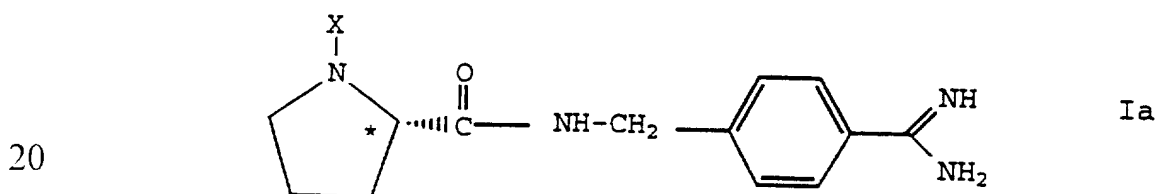
7. 如权利要求 6 所要求的化合物或其盐或溶剂化物, 其中 A 是 R''SO₂-, R'' 是乙基。

10 8. 如权利要求 6 所要求的化合物或其盐或溶剂化物, 其中 A 是 -(CH₂)_g-COOH, g 是 1。

9. 如权利要求 1-3 或 6-8 中任何一项所要求的化合物或其盐或溶剂化物, 其中 Y 是 (L)-脯氨酰基、(S)-顺式-八氢-1H-吡啶-2-羧基, 或 N-(2-苯基乙基)甘氨酸。

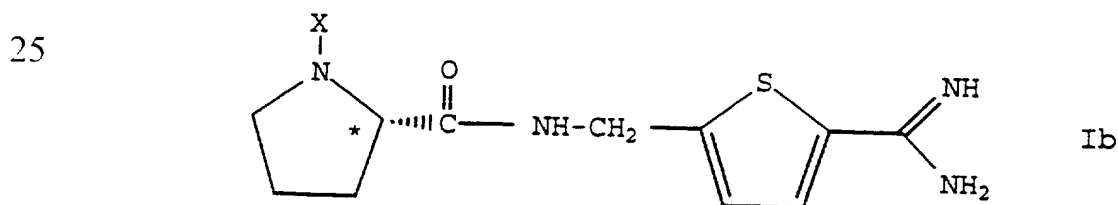
15 10. 一种选自如下的化合物或其药物上可接受的盐或溶剂化物:

a) 式 Ia 所示的化合物



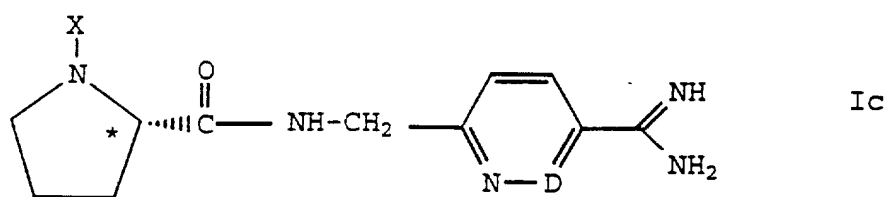
其中苯甲脒环是未取代的或可带有一个或 2 个氟取代基,

b) 式 Ib 所示的化合物



以及 c) 式 Ic 所示的化合物

30



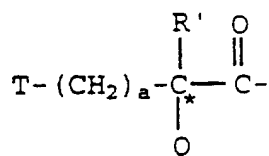
5 其中 D 是 N 或 CH；

且 X 可为权利要求 1 - 4 及 6 - 8 中所定义的任何一个值。

11. 如权利要求 10 所要求的化合物，或其盐或溶剂化物，该化合物是式 Ia 所示的化合物，其中苯甲脒环是未被取代的。

12. 如权利要求 10 或 11 所要求的化合物，或其盐或溶剂化物，其中

10 X 是



15 其中 R' 是氢，a 是 1，T 是环己基或苯基，Q 是 -NH-A，式中 A 是氢，乙磺酰或羧甲基。

13. 如权利要求 1 所要求的化合物，或其盐或溶剂化物，该化合物选自：

20 a) D - 苯丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酸酰胺，

b) N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - 1 - [(4aS, 8aS) - 十氢 - 1(R) - 异喹啉基] 羧基] - L - 脯氨酸酰胺，

c) N - (乙磺酰) - D - 苯丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酸酰胺，

25 d) (S - 顺式) - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - 1 - [N - (乙磺酰) - D - 苯基甘氨酸] - 1H - 吡啶 - 2 - 羧酰胺，

e) (S - 顺式) - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - 1 - [N - (乙磺酰) - D - 苯丙氨酸] - 1H - 吡啶 - 2 - 羧酰胺，

30 f) N - (羧甲基) - D - 苯丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酸酰胺，

g) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酸酰胺，

- h) (S-顺式) - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - 1 - [N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰] - 1H - 吡啶 - 2 - 羧酰胺,
- i) D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- 5 j) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- k) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[1 - (氨基亚氨基甲基) - 六氢吡啶 - 4 - 基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- l) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[5 - (氨基亚氨基甲基) 噻吩 - 2 - 基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- 10 m) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[5 - (氨基亚氨基甲基) 吡啶 - 2 - 基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- n) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[5 - (氨基亚氨基甲基) - 1,2,3,4 - 四氢吡啶 - 2 - 基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- 15 o) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[6 - (氨基亚氨基甲基) 吡嗪 - 3 - 基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- p) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[1 - (氨基亚氨基甲基) - 1,2,3,4 - 四氢吡啶 - 4 - 基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- q) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) - 2 - 氟苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- 20 r) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) - 2,6 - 二氟苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- s) N - (乙磺酰) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- 25 t) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- u) N - (羧甲基) - D - 高苯丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺,
- v) N - (羧甲基) - D - 高环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺, 和
- 30 w) N - (甲磺酰乙酰) - L - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺。

14. 如权利要求 1 所要求的化合物, 或其盐或溶剂化物, 该化合物选自:

i) (S-顺) - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - 1 - [N - (乙磺酰) - D - 苯丙氨酰] - 1H - 吡啶 - 2 - 羧酰胺,

5 ii) N - (羧甲基) - D - 苯丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酰胺,

iii) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酰胺,

10 iv) D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酰胺,

v) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[5 - (氨基亚氨基甲基) 噻吩 - 2 - 基] 甲基] - L - 脯氨酰胺,

vi) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[1 - (氨基亚氨基甲基) - 1,2,3,6 - 四氢吡啶 - 4 - 基] 甲基] - L - 脯氨酰胺,

15 vii) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) - 2 - 氟苯基] 甲基] - L - 脯氨酰胺,

viii) N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) - 2,6 - 二氟苯基] 甲基] - L - 脯氨酰胺。

15 15. 如权利要求 2 所要求的化合物或其盐或溶剂化物, 该化合物是 N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酰胺。

16. 如权利要求 2 所要求的化合物或其盐或其溶剂化物, 该化合物是 N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[5 - (氨基亚氨基甲基) 噻吩 - 2 - 基] 甲基] - L 脯氨酰胺。

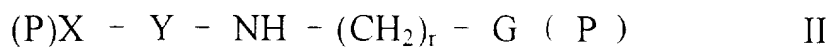
25 17. 含有如权利要求 1 - 16 中任何一项所要求的式 I、Ia、Ib 或 Tc 的化合物, 或其药物上可接受的盐或其溶剂化物, 以及药物上可接受的载体、稀释剂、或赋形剂的药物制剂。

18. 制备如权利要求 1 - 9 中任何一项所要求的式 I 化合物的方法:

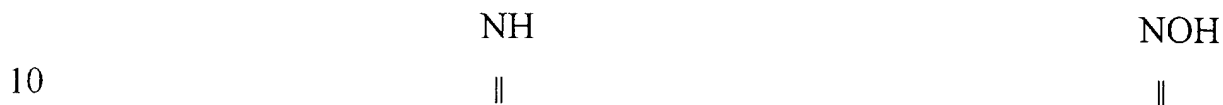


该方法包括:

a) 同时或依次脱除通式 II 对应化合物的保护基团 P,



5 式中(P)X 代表一个可带有一个或多个保护基团 P 的残基 X, 所述 P 独立地选自其 X 包含碱性 NH 残片的通式 I 化合物的氨基保护基 P, 和其 X 包含羧基残片的通式 I 化合物的羧基保护基 P, 而 G(P)代表一个可带有一个或多个独立选择的氨基保护基 P 的残基 G; 或



b) 对于其 R 为 $-C-NH_2$ 的通式 I 化合物, 使其 R 为 $-C-NH_2$ 的通式 I 对应化合物氢解; 然后, 当需要通式 I 化合物的一种盐时, 与一种药物上可接受的酸生成盐。

15 19. 一种抑制哺乳动物中凝血酶的方法, 包括对需要抑制凝血酶的哺乳动物施用有效剂量的如权利要求 1 - 16 中任何一项所要求的化合物或其药物上可接受的盐或其溶剂化物。

20

说明书

抗血栓形成剂

5 本发明涉及可作为抗凝血剂用于哺乳动物体内的凝血酶抑制剂。具体地说，它涉及具有高抗血栓形成活性、抗凝血剂活性和经口生物药效的肽衍生物。

血液凝固过程，即血栓形成，是由一个导致凝血酶生成的复杂蛋白质分解系列反应触发的。凝血酶以蛋白质分解方式脱除可溶于血浆中的纤维蛋白原的 A α - 链和 B β - 链上的活化肽，引发不可溶血纤维蛋白形成。

目前，抗血凝是通过肝素和香豆素给药实现的。

血凝和血栓形成的非经肠药理学控制是以通过使用肝素抑制凝血酶为基础的。肝素通过加速内生抗凝血酶 III（凝血酶的主要生理抑制剂）的抑制效应而间接作用于凝血酶。由于抗凝血酶 III 水平在血浆中是变化的，而且由于结合到表面上的凝血酶看来对这种间接机制有抗性，因而肝素可能是一种无效的治疗。由于血凝试验据信与药效有关，而且与安全性有关，因而血凝试验（尤其活化部分促凝血酶原激酶时间（APTT）试验）时必须监测肝素水平。香豆素通过阻止凝血酶原及同类其它蛋白的合成中的转译后羧基化而妨碍凝血酶产生。由于其作用机制，香豆素的效果只能在给药后 6 ~ 24 小时慢慢表现出来。此外，它们不是选择性抗凝血剂。血凝试验（尤其凝血酶原时间（PT）试验）时，香豆素也需要监测。

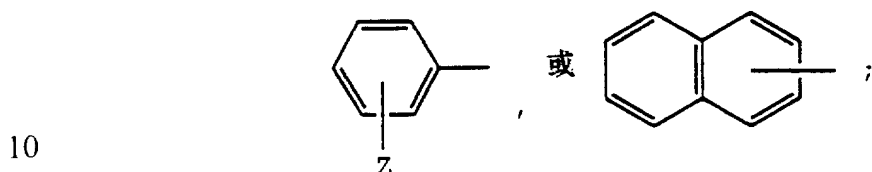
最近，对于能以类似于天然基质的方式被蛋白质水解酶认识的小合成肽的兴趣已经增长。D - Phe - Pro - Arg - H、Boc - D - Phe - Pro - Arg - H 和 D - MePhe - Pro - Arg - H 等三肽醛 [Bajusz et al., J. Med. Chem., 33, 1729 - 1735 (1990)] 显示出对凝血酶的强烈直接抑制。证实 D - MePhe - Pro - Arg - H 硫酸盐是一种人体抗凝血剂的早期临床研究已有报告 [见 Simoons et al., Circulation, 90, 1 - 231, Abstr. 1241(1994)]。很多研究者在开发药剂的努力中已经合成了类似物，例如 Shuman et al., J. Med. Chem., 36, 314 - 319 (1993)。美国专利 No. 4,346,078 公开了一系列含有鲱精胺（1 - 氨基 - 4 - 胍基丁烷）基团的抗凝血肽。鲱精胺衍生物及有关化合物也公开于国际公报号 WO 93 / 11152 的 PCT

其中:

R^d 是羧基或甲磺酰;

R^e 是 NHR^c 、 NHCOR^c 或 NHCOOR^c ; 其中 R^c 是 $\text{C}_1 - \text{C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_3 - \text{C}_8$ 环烷基或含有 4 - 10 个碳原子的 ($\text{C}_3 - \text{C}_8$) 环烷基 ($\text{C}_1 - \text{C}_6$) 烷基基团;

T 是 $\text{C}_3 - \text{C}_8$ 环烷基、 $\text{C}_1 - \text{C}_8$ 烷基、



a 是 0、1 或 2; 以及

Q 是 $-\text{OH}$ 、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷氧基, 或 $-\text{NH} - \text{A}$;

A 是氢、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基、 $\text{R}''\text{SO}_2 -$ 、 $\text{R}''\text{OC}(\text{O}) -$ 、 $\text{R}''\text{C}(\text{O}) -$ 、

15 $\text{R}''\text{C}(\text{O}) -$ 或 $-(\text{CH}_2)_g - \text{R}''$;

g 是 1、2 或 3;

B 是氢或 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基;

R' 是氢或 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基;

20 R'' 是 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基, $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 全氟烷基、 $-(\text{CH}_2)_d - \text{R}''$, 或未取代的或取代的芳基, 这里芳基是指苯基、萘基、5 元或 6 元的未取代的或取代的芳族杂环, 该杂环含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子, 或是一个 9 元或 10 元的未取代的或取代的稠合双环芳族杂环基团, 该基团含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子;

25 R'' 是 COOR^b 、 $-\text{SO}_2(\text{C}_1 - \text{C}_4 \text{ 烷基})$ 、 SO_3H 、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^b)_2$ 或四唑 - 5 - 基;

R^n 是 COOR^b 或四唑 - 5 - 基;

各个 R^b 独立地是氢或 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基;

d 是 1、2 或 3;

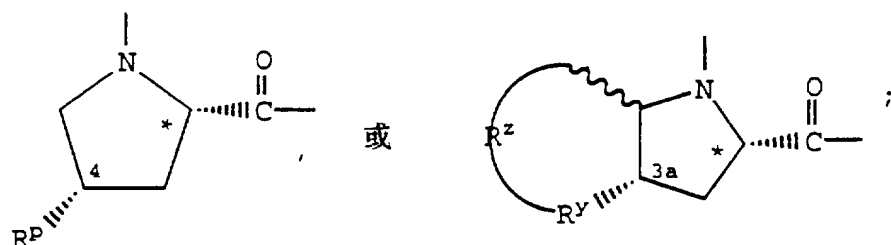
m 是 0、1 或 2;

30 n 是 0、1 或 2; 和

Z 是氢、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷氧基、羟基、卤素或 $\text{R}_a\text{SO}_2\text{NH}-$, 其中 R_a 是 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基;



5



10 其中:

R^g 是 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ 烷基、 $\text{C}_3 - \text{C}_8$ 环烷基, 或 $-(\text{CH}_2)_p-\text{L}-(\text{CH}_2)_q - \text{T}'$;

R^p 是氢、 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ 烷基、 $\text{C}_3 - \text{C}_8$ 环烷基、或 $-(\text{CH}_2)_p-\text{L}-(\text{CH}_2)_q - \text{T}'$;

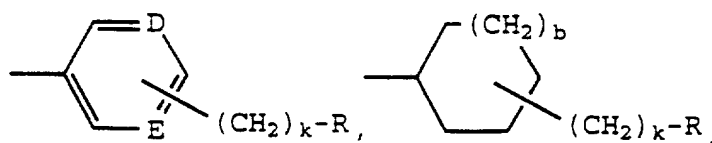
其中 p 是 0、1、2、3 或 4; L 是一个键, $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 或 $-\text{NH}-$; q 是 0、1、2 或 3; T' 是氢、 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基、 $\text{C}_3 - \text{C}_8$ 环烷基、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$, 或 Ar , 其中 Ar 是未取代的或取代的芳基, 这里芳基是指苯基、萘基、5 元或 6 元的未取代的或取代的芳族杂环, 该杂环含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子, 或是一个 9 元或 10 元的未取代的或取代的稠合双环芳族杂环基团, 该基团含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子;

20 R^y 是 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$, 或 $-\text{NH}-$; 和

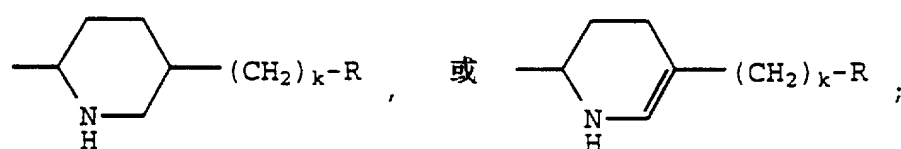
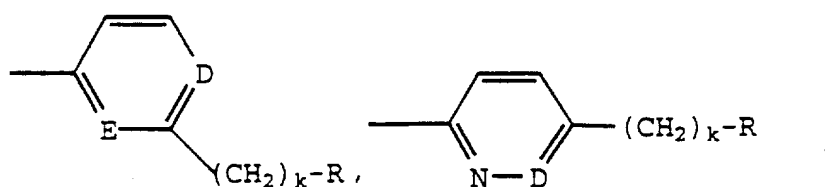
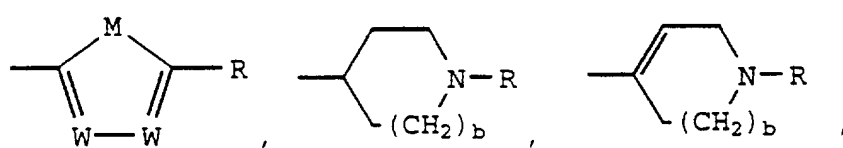
R^z 是一个键, 或当与 R^y 及 3 个邻接的碳原子合在一起时形成一个含有 5 - 8 个原子的饱和碳环, 其中一个原子可以是 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$, 或 $-\text{NH}-$;

r 是 1、2 或 3; 和

25 G 是 $-(\text{CH}_2)_s - \text{R}$, 其中 s 是 0 - 5, $-\text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_t - \text{R}$, 其中 t 是 0 - 3, 或者 G 是:



30



其中 D 和 E 各自独立地是 N 或 CH;

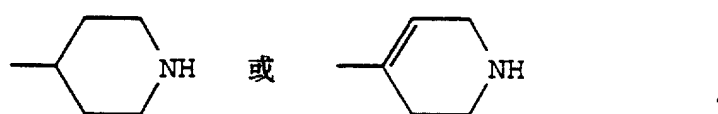
k 是 0 或 1;

b 是 0 或 1;

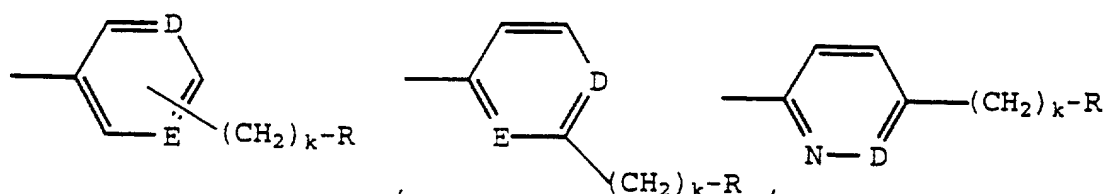
M 是 S、O、或 NH;

各个 W 独立地是 N 或 CH; 以及

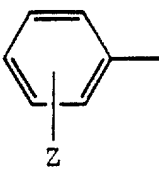
20 R 是 $-\text{NH}_2$ 、 $-\overset{\text{NH}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$ 、 $-\overset{\text{NOH}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$ 、或 $-\overset{\text{NH}}{\parallel}{\text{NH}}-\overset{\text{NH}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$;
或者 G 是



而且其中下面的芳环或杂芳环中的一个至所有其余未取代的碳原子可以带有一个氟取代基:



但其条件是:

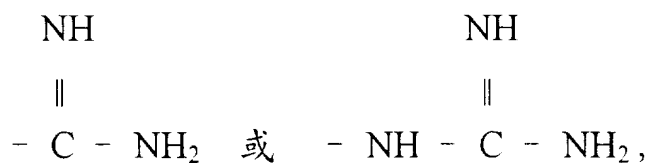
(1) 当 G 是 $-(CH_2)_s - NH - C(NH)NH_2$ 、y 是未取代的脲基
基 (R^p 是氢)、及 T 是  时, A 不是氢或叔丁氧羰基;

5

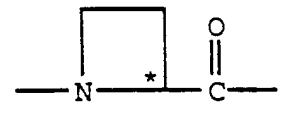
(2) 当 $r = 1$ 及 $s = 0$ 时, R 不是氨基或胍基;

(3) 当 G 是 $-(CH_2)_s - R$, 其中 R 是

10



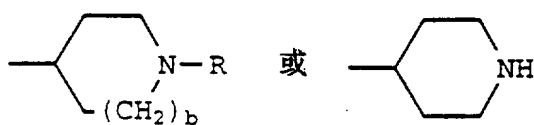
15

Y 是 , 未取代的脲基 (R^p 是氢) 或 4-羟基脲基 (R^p 是 OH)、 R' 是氢, T 是环己基以及 Q 是 $-NH - A$ 时, A 不是氢、 $C_1 - C_4$ 烷基、甲磺酰或 $-(CH_2)_g - R^m$;

20

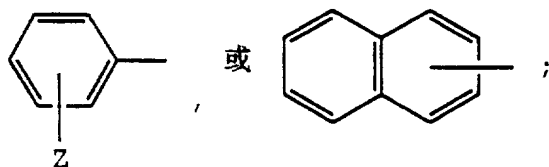
(4) 当 G 是 $-(CH_2)_s - R$, 其中 R 是 $-NH - \overset{NH}{\parallel} C - NH_2$, y 是未取代的脲基 (R^p 是氢) 或 4-甲基-硫代脲基 (R^p 是 $-SCH_3$), 及 Q 是 $-NH - A$ 时, $R''SO_2$ 不是芳基磺酰;

(5) 当 G 是:



T 是 $C_1 - C_8$ 烷基、

25



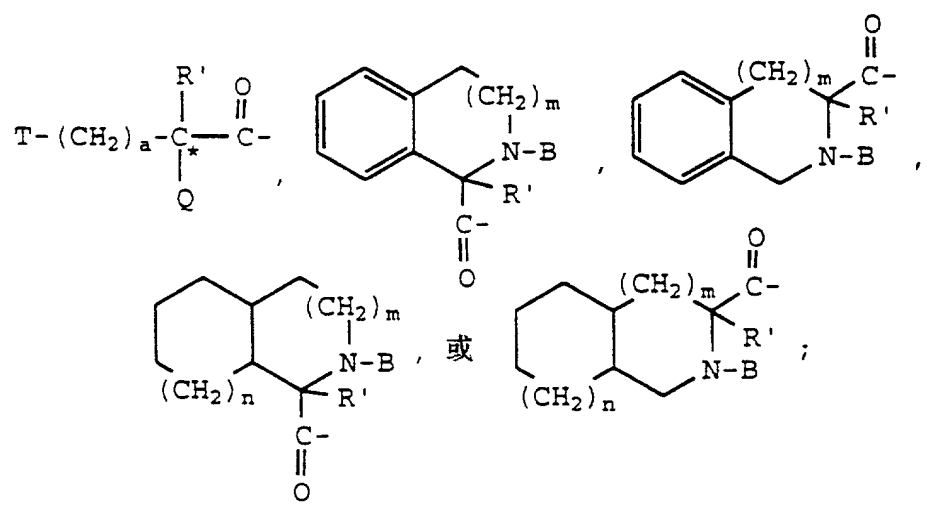
及 Q 是 $-NH - A$ 时, A 不是 $R''SO_2 -$ 。

30

上述式 I 化合物中一组具体的化合物由下面定义的那些式 I 化合物组成, 或其药物上可接受的盐; 或所述化合物的药物上可接受的溶剂化物或其盐, 其中:

X 是脲基、高脲基、

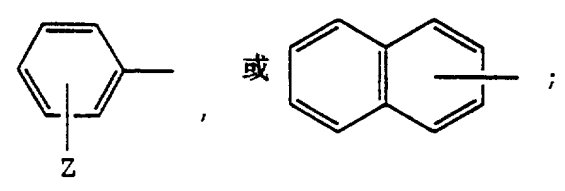
5



10

T 是 C₃ - C₈ 环烷基、C₁ - C₈ 烷基、

15



a 是 0 或 1；

Q 是 OH、C₁ - C₄ 烷氧基、或 -NH - A；

20

A 是氢或 C₁ - C₄ 烷基、R''SO₂ -、R''OC(O) -、R''C(O) -、或 - (CH₂)_g - COOH；

g 是 1、2 或 3；

B 是氢或 C₁ - C₄ 烷基；

R' 是氢或 C₁ - C₄ 烷基；

25

R'' 是 C₁ - C₄ 烷基、C₁ - C₄ 全氟烷基、- (CH₂)_d - COOH，或未取代的或取代的芳基，这里芳基是指苯基、萘基、5 元或 6 元的未取代的或取代的芳族杂环，该杂环含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子，或是一个 9 元或 10 元的未取代的或取代的稠合双环芳族杂环基团，该基团含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子；

30

d 是 1、2 或 3；

m 是 0、1 或 2；

n 是 0、1 或 2；和

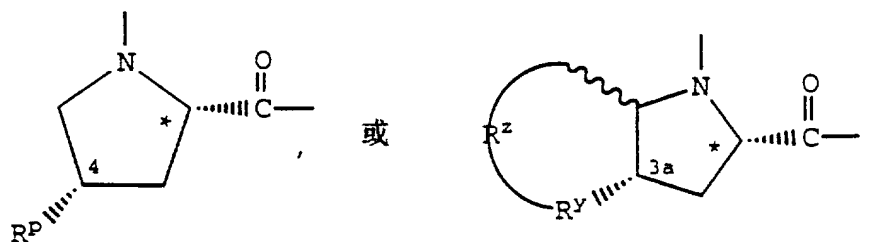
Z 是氢、C₁ - C₄ 烷基、C₁ - C₄ 烷氧基、羟基、卤素，或 R_aSO₂NH-，
其中 R_a 是 C₁ - C₄ 烷基；

Y 是

5



10



其中：

15

R^g 是 C₁ - C₆ 烷基、C₃ - C₈ 环烷基，或 $-(CH_2)_p-L-(CH_2)_q-T'$ ；

R^p 是氢、C₁ - C₆ 烷基、C₃ - C₈ 环烷基、或 $-(CH_2)_p-L-(CH_2)_q-T'$ ；

其中 p 是 0、1、2、3 或 4；L 是一个键，-O-、-S- 或 -NH-；q 是 0、1、2 或 3；T' 是氢、C₁ - C₄ 烷基、C₃ - C₈ 环烷基、-COOH、-CONH₂，或 Ar，其中 Ar 是未取代的或取代的芳基，
20 这里芳基是指苯基、萘基、5 元或 6 元的未取代的或取代的芳族杂环，
该杂环含有 1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子，或是一个
9 元或 10 元的未取代的或取代的稠合双环芳族杂环基团，该基团含有
1 个或 2 个选自硫、氧和氮的相同或不同的杂原子；

R^y 是 -CH₂-、-O-、-S-，或 -NH-；和

25

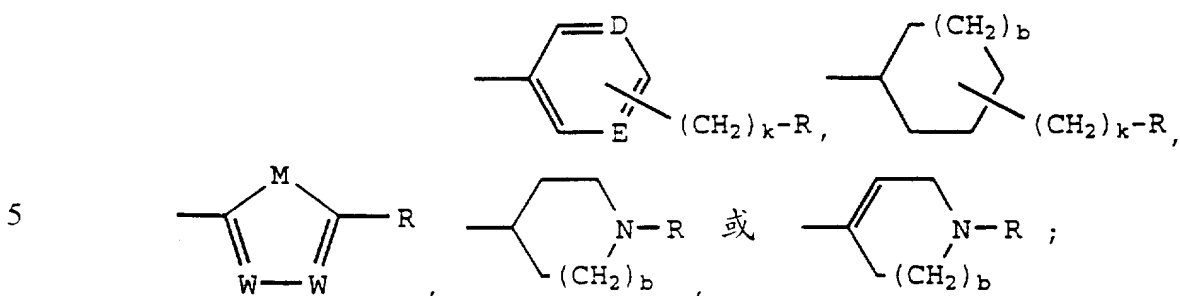
R^z 是一个键，或当与 R^y 及 3 个邻接的碳原子合在一起时形成一个含有 5 - 8 个原子的饱和碳环，其中一个原子 可以是 -O-、-S-，
或 -NH-；

r 是 1 或 2；及

G 是 $-(CH_2)_s-R$ ，其中 s 是 0 - 5， $-CH=CH-(CH_2)_t-R$ ，

30

其中 t 是 0 - 3，



式中 D 和 E 各自独立地是 N 或 CH；

k 是 0 或 1；

10 b 是 0 或 1；

M 是 S、O、或 NH；

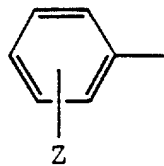
各个 W 独立地是 N 或 CH；以及

15

NH	NOH	NH

R 是 $-NH_2$ 、 $-C-NH_2$ 、 $-C-NH_2$ ，或 $-NH-C-NH_2$ ；
但其条件是：

(1) 当 G 是 $-(CH_2)_s-NH-C(NH)NH_2$ 、y 是未取代的脯氨酸基 (R^p 是氢)、及 T 是



(2) 当 $r = 1$ 及 $s = 0$ 时，R 不是氨基或胍基；

(3) 当 G 是 $-(CH_2)_s-R$ ，其中 R 是

25

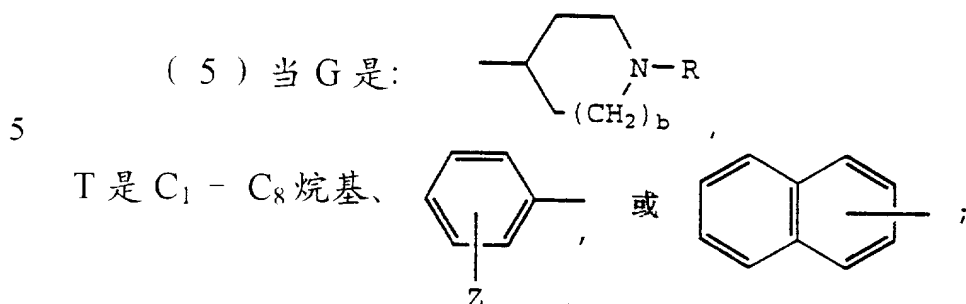
NH	NH

$-C-NH_2$ 或 $-NH-C-NH_2$ ，

30 Y 是 ，未取代的脯氨酸基 (R^p 是氢) 或 4-羟基脯氨酸基 (R^p 是 OH)、 R' 是氢，T 是环己基以及 Q 是 $-NH-A$ 时，A 不是氢、 C_1-C_4 烷基、甲磺酰或 $-(CH_2)_g-COOH$ ；

(4) 当 G 是 $-(CH_2)_s-R$ ，其中 R 是 $-NH-C(=NH)-NH_2$ ，y 是未

取代的脯氨酸基 (R^P 是氢) 或 4-甲基-硫代脯氨酸基 (R^P 是 -SCH₃), 及 Q 是 -NH-A 时, RⁿSO₂ 不是芳基磺酰;



及 Q 是 -NH-A 时, A 不是 RⁿSO₂-.

10 本发明除了提供式 I 的化合物外, 还提供含有式 I 化合物及药物上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物制剂。

本发明也提供一种抑制哺乳动物中血栓形成的方法, 包括对需要治疗的哺乳动物施用抗血栓形成剂量的式 I 化合物。

15 本发明还提供一种抑制凝血酶的方法, 包括对需要治疗的哺乳动物施用凝血酶抑制剂剂量的式 I 化合物。

20 本发明涉及新型凝血酶抑制剂、含有该化合物作为活性组分的医药组合物以及该化合物作为抗凝血剂用于预防和治疗血栓栓塞疾病, 如静脉血栓形成、肺栓塞、动脉血栓形成、尤其心肌缺血、心肌栓塞形成和脑血栓形成, 普遍凝固性过高状态和局部凝固性过高状态, 如血管成形术和冠状动脉分流术之后出现的此类状态, 以及与发炎过程有关的全身化组织伤害。

25 “烷基”这一术语本身或作为另一个取代基的组成部分, 系指有所述碳原子数的直链或支链烷基, 如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基和仲丁基。“全氟烷基”这一术语本身或作为另一个取代基的组成部分, 系指其每个氢原子都被氟原子所取代、有所述碳原子数的直链或支链烷基, 如三氟甲基、全氟乙基、全氟正丙基、全氟异丙基、全氟正丁基、全氟叔丁基、全氟异丁基和全氟仲丁基。

30 “C₃ - C₈ 环烷基”这一术语系指有 3 ~ 8 个碳原子的饱和脂族环, 如环丙基、甲基环丙基、环丁基、环戊基、环己基、4-甲基环己基、环辛基等。

“烷氧基”这一术语系指一个氧原子键合到母体部分、有所述碳原子数的直链或支链烷基。“卤素”这一术语系指氯、氟、溴或碘。“乙

酰”这一术语系指 $\text{CH}_3\text{-C(O)-}$ 。“叔丁氧碳酰”这一术语系指 $(\text{CH}_3)_3\text{C-O-C(O)-}$ ，缩略为“Boc”。“苄氧碳酰”这一术语系指 $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{-O-C(O)-}$ ，缩略为“Cbz”。

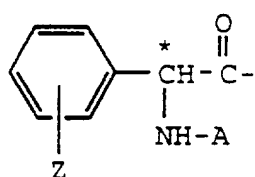
5 “五元或六元杂环”这一术语系指含有一个或两个氮原子、一个硫原子、一个氧原子、一个氮原子和一个硫原子、或一个氮原子和一个氧原子、能提供稳定结构的任何一个五元或六元环。这种五元环有一个或两个双键，而这种六元环有两个或三个双键。这样的杂环系统包括咪唑基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡喃基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、噁嗪基和噻嗪基。

10 “九元或十元杂环”这一术语系指任何一种双环基团，其中上述任何一种五元或六元环稠合到一个苯环或另一个以上定义的六元杂环上，提供一种稳定结构。这些杂环系统包括吲哚基、苯并噻吩基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并吡唑基、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基和苯并噻唑基。

15 要知道的是，上述许多杂环可能以互变异构形式存在。所有这样的形式都纳入本发明的范围。

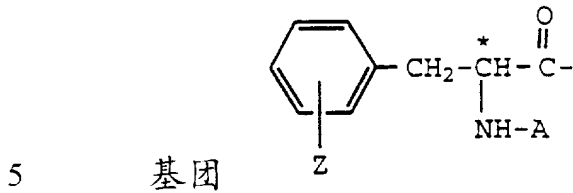
为定义 Ar 或 R”而列出的芳族基团或杂芳族基团全部独立地是无取代的或者有一个或两个能提供稳定结构的取代基取代的，所述取代基独立地选自卤素、羟基、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷氧基、氨基 ($-\text{NH}_2$)、
20 $-(\text{C}_1\text{-C}_4\text{ 烷基})\text{氨基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_j\text{COOH}$ 、巯基、 $-\text{S(O)}_h(\text{C}_1\text{-C}_4\text{ 烷基})$ 、 $-\text{NHS(O)}_h(\text{C}_1\text{-C}_4\text{ 烷基})$ 、 $-\text{NHC(O)}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{ 烷基})$ 、 $-\text{S(O)}_h\text{NH}_2$ 、 $-\text{S(O)}_h\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{ 烷基})$ 或 $-\text{S(O)}_h\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{ 烷基})_2$ ，h 是 0、1 或 2，且 j 是 0、1、2、3 或 4。取代基 R”(C)O - 的一个特别好的此类数值是 1 - 甲基吲哚 - 2 - 酰基。

25 在通式 I 的表述中，基团 X 的羰基官能度连接到 Y 基团的胺官能度上。然后，Y 的羰基官能度连接到通式 I 中所画的氨基上。



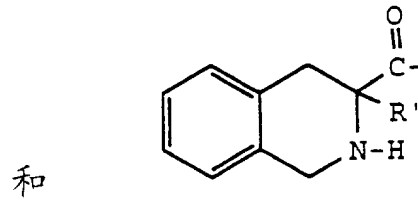
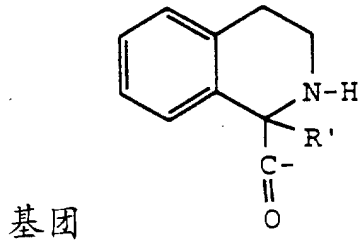
30 基团 Z ，式中 Z 和 A 均为氢，在此时称为苯基甘氨酸并缩略为 Phg。其 A 为诸如甲基的化合物称为 N^α-甲基苯基甘氨酸基团，并缩略为 MePhg。其 Z 为氢以外的其它取代基的有取代化合

物按取代基的类型和位置称谓，如 3'-氯苯基甘氨酸或 Phg (3 - Cl)。



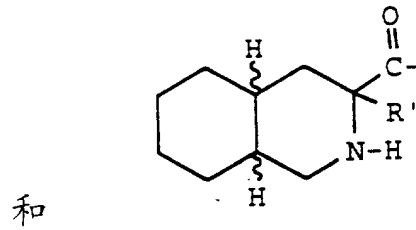
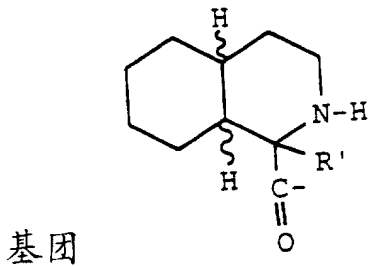
，式中 Z 和 A 均为氢，在此时称为苯基丙氨酸并缩略为 Phe。其 A 为诸如甲基的化合物称为 N^α-甲基苯基丙氨酸基团，并缩略为 MePhe。其 Z 为氢以外的其它取代基的有取代化合物按取代基的类型和位置称谓，如 3'-氯苯基丙氨酸或 Phe (3 - Cl)。

10



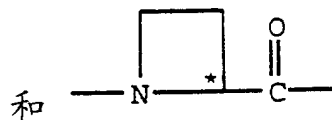
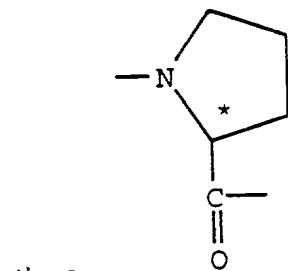
15 是氢时，在此时分别称为 1 - 和 3 - 四氢异喹啉碳酰，并分别缩略为 1 - Tiq 和 3 - Tiq。

20



25 是氢时，在此时分别称为 1 - 和 3 - 全氢异喹啉碳酰，并分别缩略为 1 - Piq 和 3 - Piq。如波纹线所指出的，存在着这些取代基的各种环稠合异构体 - 本发明期待任何一种单个异构体及其组合。

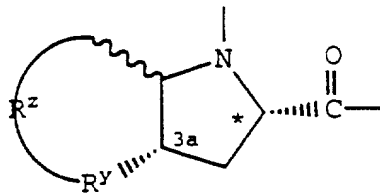
30



分别称为脯氨酸和氮杂环丁烷 - 2 - 碳酰，并分别缩略为 Pro 和 Azt。

5

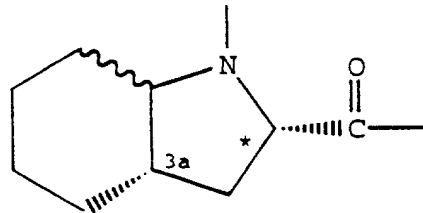
基团



代表 4,5、5,5、6,5、7,5 或 8,5 类

型的饱和双环系统。3a 的立体化学对羰基是顺式的；另一个桥头键可以是顺式的也可以是反式的，但对于 4,5 和 5,5 系统来说在这个桥头必须是顺式的。R^y 和 R^z 的定义规定，这个包括所示三个碳原子在内的可变环是一个有 4 ~ 8 个原子的饱和碳环系统。环原子可以全部是碳，或这些环原子之一可以是一个选自 - O -、- S - 和 - NH - 的杂原子。这个定义包括如

10



15

所代表的、从八氢吲哚 - 2 - 羧酸（缩略为“Ohi”）衍生的较好部分。这个部分的各种顺式和反式形式都是本发明所期待的。

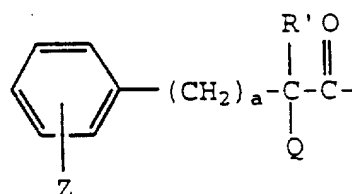
20

基团 Y 中的星号表示一个 (L) 手性中心。基团 X 中的星号表示一个 (D) 或 (DL) 手性中心；基团 X 中的井号表示一个 (L) 手性中心。

此外，因烷基取代基的枝化而异，也可能存在非对映异构体。本发明的化合物包括两种或多种非对映体的混合物以及每种单个异构体。

本发明的较好化合物包括这样的通式 I 化合物，其中 X 是

25

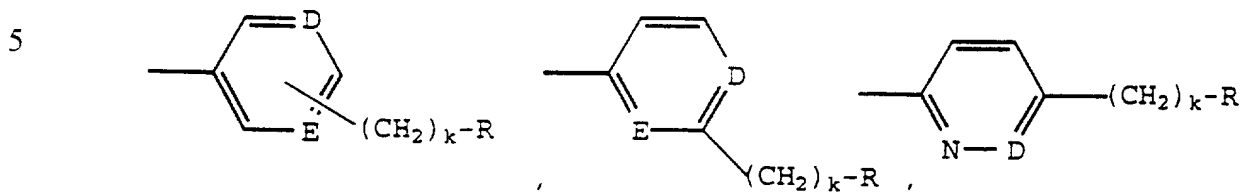


30

高脯氨酸、1 - 或 3 - Tiq、或 1 - 或 3 - Piq，且 Y 是脯氨酸，及其药物上可接受的盐和溶剂化物。具体地说，其 Q 为 NHA 且 A 为氢或氨基磺酰（如 A = R''SO₂ -）、R' 为氢、Z 为氢和 B 为氢的化合物全都是较好的。此外，其 R 为胍基或尤其脒基的化合物也是较好的。

一种尤其好的取代基组合是其 G 为有 R 取代的苯基 (即 D = E = CH, K = 0); 特别好的是其 G 为一个 4-脞基苯基基团。

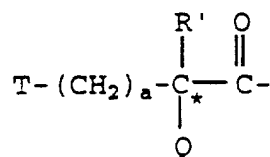
在其中



10 的芳环或杂芳环上一个至所有其它无取代的碳原子带有一个氟取代基的化合物中, 较好的一组是当 D 或 E 为 N 时其 D 或 E 的 α - 或 γ - 位上没有氟取代基的那些化合物。

15

本发明的另一组较好化合物包括其 X 为的如上所定义通式 I 化合物, 其中 T 是环己基, a 是 1, R' 是氢, 且 Q 是 $-NH-A$ 。一个特定的亚组是其 A 为氢的亚组。第二个特定的亚组是其 A 为 $R''SO_2-$ 、尤其 R'' 为乙基的亚组。第三个特定的亚组是其 A 为 $-(CH_2)_g-COOH$ 、较好 g 为 1 的亚组。



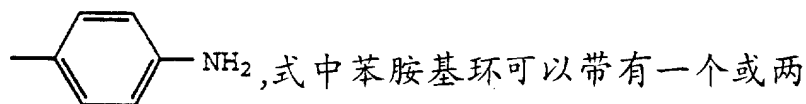
20

对于其 X、r 和 G 有如上定义的通式 I 化合物, Y 的特定值包括 (L)-脯氨酸 (Pro)、(S)-顺式-八氢-1H-吡啶-2-羧酸 (ohi) 和 N-(2-苯基乙基)甘氨酸 [N(PhCH₂CH₂)Gly]。

对于其 R 为 $-NH_2$ 的通式 I 化合物, 较好的是 X 和 Y 的值选自以上定义的值, 且 r 和 G 的值选自

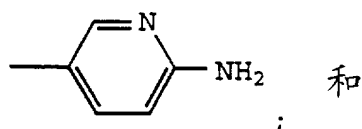
25

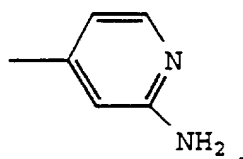
a) r 为 1 且 G 为



30

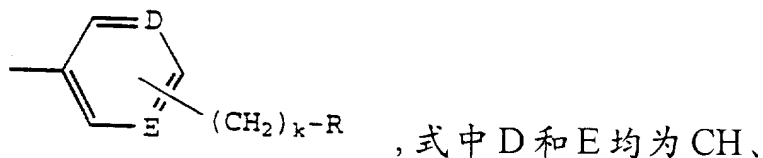
b) r 为 1 且 G 为





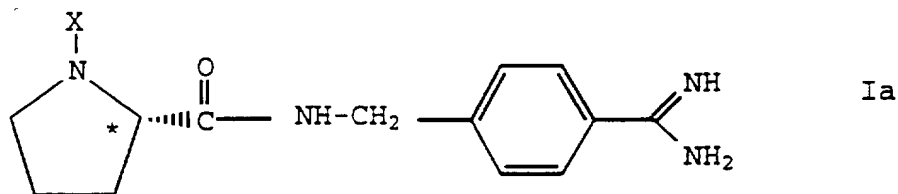
c) r 为 1 或 2 且 G 为

5 一组特别好的通式 I 化合物是这样的化合物, 其中 Y 为 (L) - 脯



氨酸、r 为 1 且 G 值为

10 k 为 0 且 R 为脞基, 而且可以通式 Ia 代表

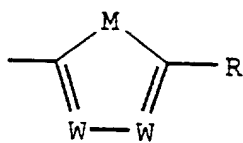


15

式中苯脞环是无取代的, 也可以带有一个或两个氟取代基, 较好在脞基的间位, 而且 X 有以上定义的任何值。

通式 Ia 化合物的一个更具体的值是其苯脞环无取代基这样的值。

20 另一组特别好的通式 I 化合物是这样的化合物, 其中 Y 为 (L) -

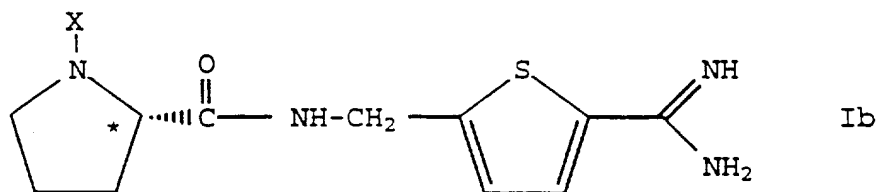


脯氨酸、r 为 1 且 G 值为

25 脞氨酸、r 为 1 且 G 值为

, 式中 M 为 S、W 均

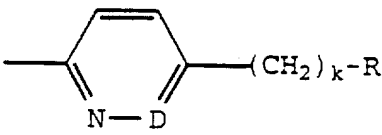
为 CH 且 R 为脞基, 而且可以用通式 Ib 代表



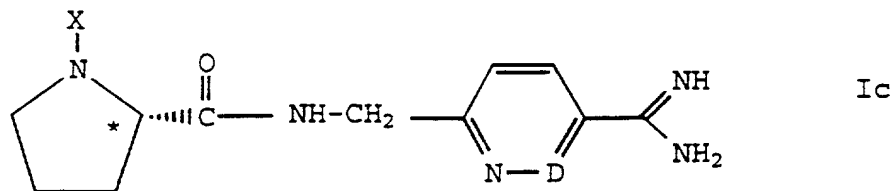
25

30 式中 X 有以上定义的任何值。

还有一组较好的通式 I 化合物是这样的化合物, 其中 Y 为 (L) -

脯氨酸、r 为 1 且 G 值为 ，式中 D 为 N 或 CH、k 为 0 且 R 为咪基，而且可以用通式 Ic 代表

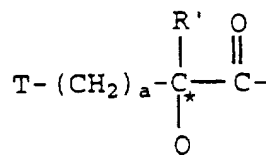
5



10 式中 X 有以上定义的任何值，且 D 为 N 或 CH。

通式 Ia、Ib 或 Ic 化合物中 X 的一个较好的值是

15



式中 R' 为氢、a 为 1、T 为环己基或苯基且 Q 为 -NH-A。更具体地说，A 是氢、乙磺酰或羧甲基。X 的一个特别好的值是 N-羧甲基-D-环己基丙氨酸。X 的另一个较好的值是 N-羧甲基-D-苯丙氨酸。

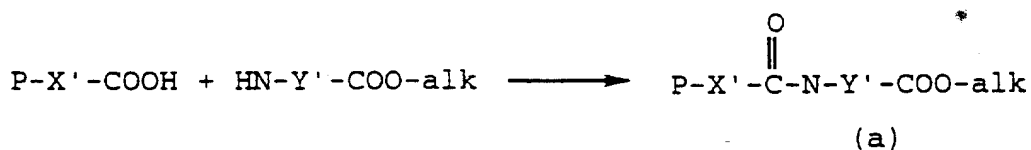
20 本发明通式 I 的特定化合物在实例中加以描述。可以作为药物上可接受的盐或溶剂化物使用的一个较好的化学种，可以选自作为实例 15、18、23、44、45、46、48、49、51、52、56、65、66、68、69、70、71、72、80、86、87、88 和 92 公开的那些化学种。一个更好的化学种可以选自实例 45、46、48、51、65、70、71 和 72 所公开的化合物。以其意外优异的性质为依据，一种最好的化学种是实例 48。另一种高度优选的化学种是实例 65。

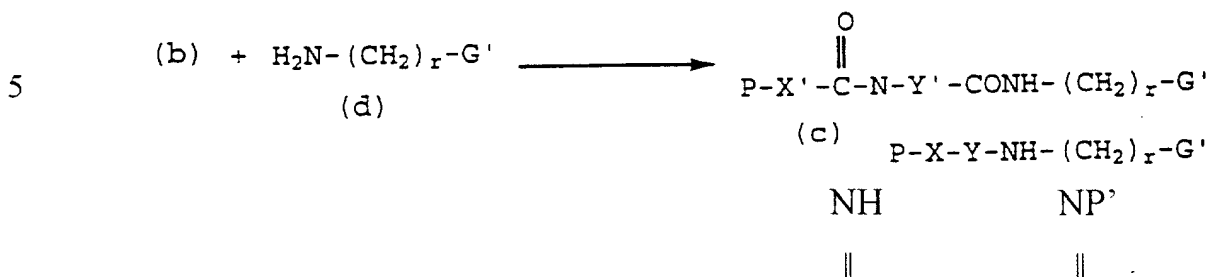
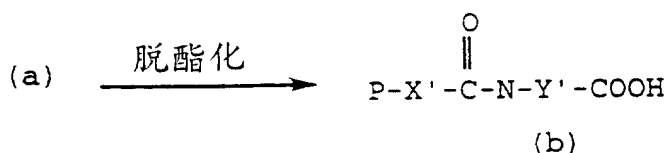
30 如以上提到的，本发明包括上述通式 I 所定义的化合物的药物上可接受的盐。本发明的一种特定化合物可以具有一个或多个有足够碱性的官能团，因而能与许多无机酸和有机酸中的任何一种反应，生成一种药物上可接受的盐。常用来生成酸加成盐的酸是无机酸，如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、磷酸等，和有机酸，如对甲苯磺酸、甲磺酸、草酸、对溴苯磺酸、碳酸、琥珀酸、柠檬酸、苯甲酸、乙酸等。因此，这样一些

药物上可接受的盐的实例是硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、磷酸-氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、富马酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯乙酸盐、苯丙酸盐、苯丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、r-羟基丁酸盐、乙醇酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、丙磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐、扁桃酸盐等。较好的药物上可接受的酸加成盐是与盐酸、氢溴酸、硫酸等无机酸生成的盐。

本发明的化合物已知能与适当溶剂生成水合物和溶剂化物。用于制备溶剂化物形态的较好溶剂包括水、醇类、四氢呋喃、DMF和DMSO。较好的醇是甲醇和乙醇。其它适用溶剂可以根据溶剂分子的大小来选择。小溶剂分子较好，有利于对应的溶剂化物生成。溶剂化物或水合物典型地是在重结晶过程中或在盐生成过程中形成的。关于溶剂化物的一篇有用的参考文献是 Sykes, Peter, A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry, 6th Ed. (1986, John Wiley & Sons, New York)。本文中使用的“溶剂化物”这一术语包括水合物形态，如一水合物和二水合物。

通式 I 化合物是用已知的肽偶合方法制备的。按照一种这样的方法，酸 $P-X'-COOH$ (其中 $-X'-C(O)-$ 是 $-X-$ ，其含义与对通式 I 的定义相同，且 P 是一个氨基保护基) 必要时与一种有羧基保护的 Y 化合物偶合，生成二肽 (a)。然后将 Y 部分的羧基保护酯基脱除 (解封或脱酯化)，并使该二肽的游离酸形式 (b) 与受保护的试剂 (d) 偶合。上述反应序列用如下方案 1 说明：





10 式中 G' 与 G 相同，只是 R 为 -CN、-NHP、-C-NHP 或 -NH-C-NHP；每个 P 代表一个氨基保护基团，必要时 P' 为 H 或 P，alk 是低级烷基或某种类似的羧酸保护基团，且 -Y'- 与 Y 相同，也有可见的氨基和羧基官能度，即 -Y- 与 -N-Y'-C(O)- 相同。

15 若存在的话，G' 中的氨基被精心制作成 R 的一种值；然后，用本门技术行家已知的步骤例如用金属催化剂加氢使 (c) 中的保护基团脱除，提供通式 I 化合物。

P-X'-COOH 化合物与 NH-Y'-COO-alk 的偶合是首先保护该氨基酸的氨基（若有的话）来进行的。采用的是常用于氨基基团暂时保护或封闭的普通氨基保护基团。

20 氨基保护基团系指该氨基上的取代基，它们常用来封闭或保护氨基官能度同时使该化合物上的其它官能团能发生反应。此类氨基保护基团的实例包括甲酰基、三苯甲基、邻苯二甲酰亚胺基、三氯乙酰基、氯乙酰基、溴乙酰基和碘乙酰基，尿烷型封闭基团如苄氧碳酸酯、叔丁氧碳酸酯、
 4-苯基苄氧碳酸酯、2-甲基苄氧碳酸酯、4-甲氧基苄氧碳酸酯、4-氟苄氧碳酸酯、4-氯苄氧碳酸酯、3-氯苄氧碳酸酯、2-氯苄氧碳酸酯、2,4-二
 25 氯苄氧碳酸酯、4-溴苄氧碳酸酯、3-溴苄氧碳酸酯、4-硝基苄氧碳酸酯、4-氟基苄氧碳酸酯、2-(4-联苯基)异丙氧碳酸酯、1,1-二苯基乙-1-基氧碳酸酯、1,1-二苯基丙-1-基氧碳酸酯、2-苯基丙-2-基氧碳酸酯、2-(对甲苯基)丙-2-基氧碳酸酯、环戊基氧碳酸酯、1-甲基环戊基氧碳酸酯、环己基氧碳酸酯、1-甲基环己基氧碳酸酯、2-甲基环己
 30 基氧碳酸酯、2-(4-甲苯磺酰)乙氧碳酸酯、2-(甲磺酰)乙氧碳酸酯、2-(三苯膦基)乙氧碳酸酯、9-芴基甲氧碳酸酯（“FMOC”）、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧碳酸酯、烯丙氧碳酸酯、1-(三甲基甲硅烷基甲

基) 丙-1-烯氧碳酰、5-苯并异噁唑基甲氧基碳酰、4-乙酰氧基苄氧碳酰、2,2,2-三氯乙氧碳酰、2-乙炔基-2-丙氧碳酰、环丙基甲氧碳酰、4-(癸氧基)苄氧碳酰、异冰片基氧碳酰、1-哌啶基氧碳酰等; 苯甲酰甲磺酰基、2-(硝基)苯亚磺酰基、二苯氧磷基及诸如此类的氨基保护基团。所采用的氨基保护基团化学种并不十分重要, 只要所衍生的氨基基团适合于随后在该分子其它位置上发生反应的条件而且能在适当时候脱除而不破坏该分子其余部分即可。较好的氨基保护基团是苄氧碳酰、烯丙氧碳酰、叔丁氧碳酰和三苯甲基等基团。以上术语也涵盖头孢菌素、青霉素和肽技术上使用的类似氨基保护基团。以上术语所指的基团的进一步实例可参阅 J. W. Barton, “有机化学中的保护基”, J. G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, N. Y., 1973, Chapter 2, 和 T. W. Greene, “有机合成中的保护基”, John Wiley and Sons, New York, N. Y., 1981, Chapter 7。 “受保护氨基”这一相关术语定义有以上所讨论氨基保护基取代的氨基。

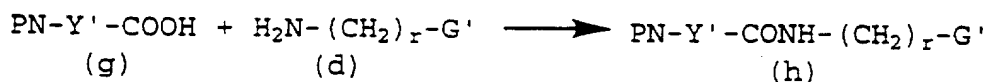
在进行偶合反应时, 对 $\text{NH}-\text{Y}'-\text{COOH}$ 采用的酯保护基是一种可用能使氨基保护基团保持原样不变的条件脱除的保护基。因此, 酰化酸 $\text{P}-\text{X}'-\text{COOH}$ 的氨基保护基在随后与胺 (d) 偶合生成 (c) 期间仍能充分保护该氨基。

本说明书中使用的羧基保护酯基系指在对该化合物的其它官能团进行反应时常用来封闭或保护羧酸基团的羧酸基团酯衍生物之一。这类羧酸保护基团的实例包括 C_1-C_4 烷基、苄基、4-硝基苄基、4-甲氧基苄基、3,4-二甲氧基苄基、2,4-二甲氧基苄基、2,4,6-三甲氧基苄基、2,4,6-三甲基苄基、五甲基苄基、3,4-亚甲基二氧苄基、二苯甲基、4,4'-二甲氧基二苯甲基、2,2',4,4'-四甲氧基二苯甲基、叔丁基、叔戊基、三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基、4,4'-二甲氧基三苯甲基、4,4',4''-三甲氧基三苯甲基、2-苯基丙-2-基、三甲基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、苯甲酰甲基、2,2,2-三氯乙基、 β -(三甲基甲硅烷基)乙基、 β -(二正丁基甲基甲基甲硅烷基)乙基、对甲苯磺酰乙基、4-硝基苄基磺酰乙基、烯丙基、肉桂基、1-(三甲基甲硅烷基甲基)丙-1-烯-3-基和诸如此类的基团。所采用的羧基保护基团的化学种并不十分重要, 只要所衍生的羧酸对于该分子其它部

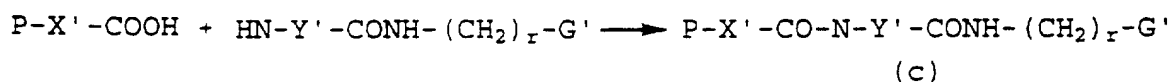
位上后续反应的条件是稳定的而且可以在适当时候脱除而不破坏该分子的其余部分即可。具体地说，重要的是不要让该羧基保护的分子遭遇强亲核碱或采用高度活化的金属催化剂例如 Raney 镍等还原性条件。（如此严厉的脱除条件在脱除以下讨论的氨基保护基团时也是要避免的。）

- 5 这些基团的进一步实例详见 E. Haslam, “有机化学中的保护基”, J. G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, N. Y., 1973, Chapter 5, 和 T. W. Greene, “有机合成中的保护基”, John Wiley and Sons, New York, N. Y., 1981, Chapter 5。

10 通式 I 化合物的制备也可以先合成 $\text{HN} - \text{Y}' - \text{CONH}(\text{CH}_2)_r - \text{G}'$ 酰胺前体, 然后与受保护的 $\text{X} -$ 部分反应。按照一种这样的方法, 制备 (d) 并如以下所示那样使之与 $\text{PN} - \text{Y}' - \text{COOH}$ (g) 偶合, 给出酰胺 (h)。



- 15 式中 P 代表一个氨基保护基团如苄氧羰基 (Cbz) 基团, 叔丁氧羰基 (Boc)、对甲苯磺酰等。较好的是, 所用的氨基保护基团可通过加氢或者用一种温和的酸 (如三氟乙酸) 或一种强酸 (如 HCl) 处理来脱除。其它适用氨基保护基团的实例可参阅“有机化学中的保护基”, 第二版, T. W. Greene 和 Peter G. M. Wuts 著, 第 7 章, 第 309 - 405 页 (1919),
- 20 John Wiley & Sons, Inc. 出版。Boc 或其它适用保护基团从 Y 残基的氨基氮上脱除, 然后用所希望的氨基酸酰基基团使之酰化, 给出以下所示的二肽。



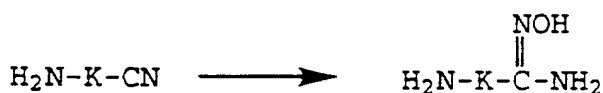
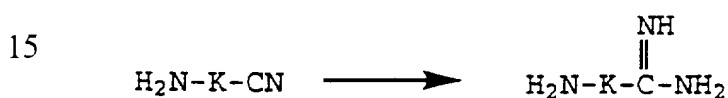
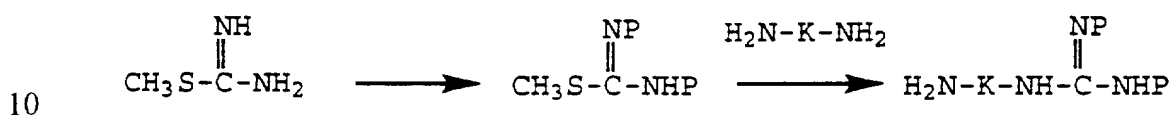
25

氨基若存在于 G' 中则加以精心制作, 并按以上所述脱除 (C) 上的保护基团。

- 30 P - X' - COOH 化合物的偶合是通过先保护氨基酸的氨基 (如果有的话) 来进行的。采用的是常用于氨基暂时保护或封闭的普通氨基保护基团。此类保护基团的实例见上述。

上述偶合反应是在较低温度下、较好在大约 - 20 °C 与大约 15 °C 之间的温度进行。偶合反应是在惰性有机溶剂如二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺、四氢呋喃、二氯甲烷、氯仿等常用溶剂或此类溶剂的混合物中进行的。一般来说，当在偶合反应中使用该酰化酸的一种活泼酯时，要使用无水条件。

中间体 (d) 和 (g) 是通过下列方案中所总结的有机化学标准技术制备的：



20 式中 - K - R 是 - (CH₂)_r - G。

按照以上序列，受保护的胍可以通过对 S - 甲基异硫脲进行双保护来制备。较好的封闭基团是叔丁氧碳酰 (Boc) 基团，它可以通过在草酸二叔丁酯存在下让 S - 甲基异硫脲发生反应来引进。通常采用 S - 甲基异硫脲的一种酸盐形式，可以通过使该盐溶于水并用碱水溶液处理而使之就地转化成游离碱形式。然后，在一种水可混溶溶剂如叔丁醇中，把草酸二叔丁酯引进该反应，给出双保护的 S - 甲基异硫脲。然后，在一种非活泼溶剂或溶剂组合中用适当二胺 H₂N - K - NH₂ 处理，生成所希望的双保护的胍。典型地说，采用二甲基甲酰胺或水或其混合物等水可混溶溶剂是行之有效的。这样的反应一般在大约 3 ~ 72 小时内完成。然后，可以如前面所述那样使所得到的受保护的胍偶合，提供其 R 为

$$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \parallel \\ \text{-NH-C-NH}_2 \end{array}$$

的通式 I 化合物的受保护中间体。

对于 $R = -\text{NH}_2$ 的通式 I 化合物来说，中间体是一种单保护的二胺。

- 5 在多数情况下，这种中间体只需让一种无保护的二胺与一摩尔当量的保护试剂反应就能制备。最终胺 ($R = -\text{NH}_2$) 的其它引进方法对于有机化学家是显而易见的。例如，这种胺可以从某种其它前体官能度如一个硝基基团或一个氰基基团得到。在硝基基团的情况下，转化成氨基基团通常是依靠那些有硝基直接连接到芳环、尤其苯基上的基质来完成的。
- 10 在这样的情况下，利用技术上已知的许多方法中的任何一种，使硝基苯基还原成对应的苯胺官能度。一种特别有效的方法是在一种非活泼溶剂如乙醇、水或其混合物中用亚硫酸氢钠处理该硝基化合物。当该硝基化合物在亚硫酸氢钠存在下在一种水/乙醇混合物中加热回流时，还原通常在若干小时内完成。氰基可类似地进行还原，适当时在一种溶剂如四氢
- 15 呋喃中在一种还原剂如氢化铝锂、硼烷的存在下，或用金属促进的硼氢化钠还原法进行。

- $$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \parallel \\ \text{(R= -C-NH}_2) \end{array}$$
- 20 本发明的脘也可以从一种脞前体制备。用于实现这种转化的许多步骤是技术上已知的。具体地说，在吡啶和三乙胺的混合物中使用硫化氢、随后用丙酮和甲基碘处理、最后在甲醇中用乙酸铵处理，是进行这种转化的一种较好和高效率的方法。此外，该脞与羟胺盐酸盐和一种碱如 N,N - 二异丙基乙胺一起在一种羟基溶剂如乙醇中
- 25 加热，随后催化加氢（例如用炭载钨氢解），也可以用来进行这种转变。

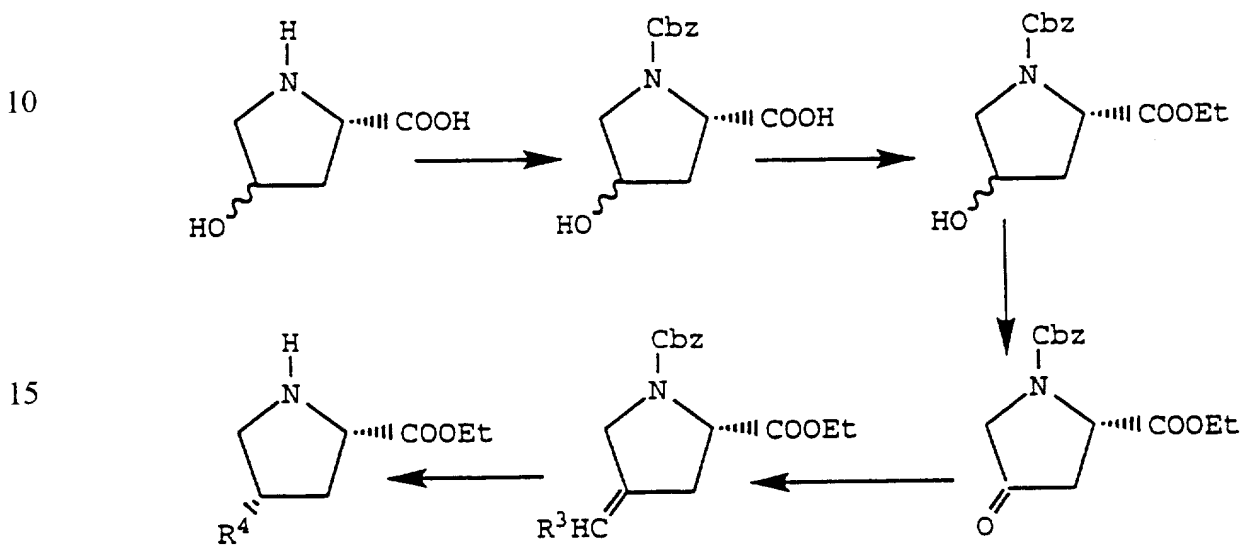
- $$\begin{array}{c} \text{NOH} \\ \parallel \\ \text{(R= -C-NH}_2) \end{array}$$
- 30 这种工艺提供了作为中间体的羟基脘，如果愿意可将其分离。

在本发明化合物的合成中用作最初起始原料的其它化合物是众所周知的，而且在商业上不可得的情况下，也容易用技术上一般熟练人员常

用的标准步骤合成。

用于制备本发明化合物的 4 - 取代脯氨酸 (R^P 是 $C_1 - C_6$ 烷基、 $C_3 - C_8$ 环烷基或 $-(CH_2)_p - L - (CH_2)_q - T'$) 的 4 - 取代基相对于羰基部分全都具有顺式构型。用于将这种官能度引进通式 I 化合物中的中间体是用标准技术制备的。

例如, 其 R^P 基团在与脯氨酸环的连接点上含有一个亚甲基基团的 4 - 取代脯氨酸衍生物可以用如下方式制备:

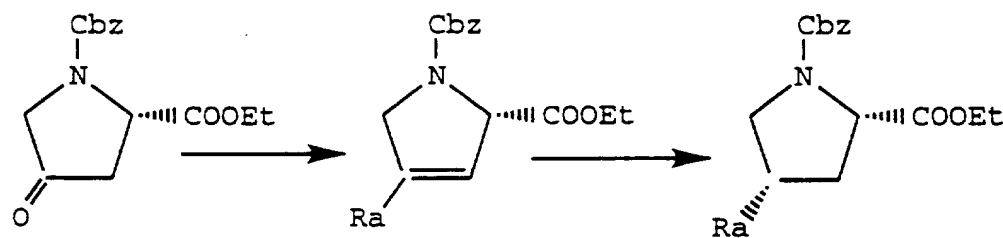


式中 $R^4 = R^3CH_2 =$ 一个在与脯氨酸环的连接点上含有亚甲基基团的 R^P 基团。

4 - 羟基脯氨酸 (顺式和反式这两种形态都是商业上可得的) 首先用氨基保护基团保护, Cbz 基团尤其可用于这一序列。然后将所得到的中间体酯化 (甲酯或尤其乙酯是特别方便的), 然后氧化, 给出对应的酮。这种氧化是在 Jones 氧化或氯铬酸吡啶鎓等许多氧化条件中任何一种条件下实现的, 尤其可用于这种转化的是在一种干的非活泼溶剂例如二氯甲烷中使用氯铬酸吡啶鎓。当令其进行 8 ~ 16 小时反应时, 这个反应一般在常温进行时就能完成。然后, 让这种易变的酮中间体与一种适用的 Wittig 试剂反应, 给出所希望的烯烃。典型地说, 将有适当 R^P 取代的卤化三苯磷添加到一种含有强碱 (如叔丁醇钾) 的干惰性溶剂 (如四氢呋喃) 中。将这种酮引进, 在常温下大约三小时后, 可以分离出所希望的烯烃中间体。为了得到该烯烃的良好产率, 较好是采用相对于该酮而言过量 0.4~0.6 摩尔的 Wittig 试剂。然后, 用标准还原技术将该烯烃还原成

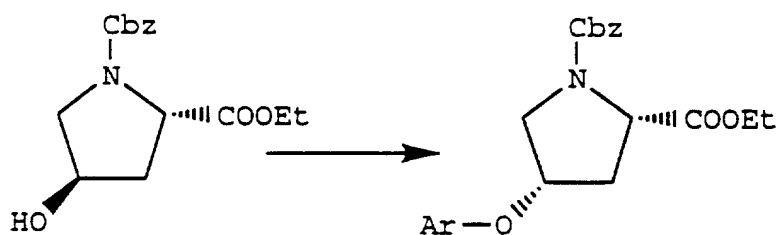
所希望的 R^P 取代脯氨酸。催化加氢是在实验室中实现这种转化的最简便方法。在一种惰性溶剂如乙醇中在一种催化剂（如 5% 炭载钯）存在下，该烯烃的加氢可在常压进行。在其氨基保护基为 Cbz 的中间体的情况下，加氢也使该保护基脱除，提供一种可用于偶合到 $P - X' - COOH$ 上的化合物。如熟悉本门技术的人员将要知道的，这种工艺不能用于制备那些其 R^P 基团通过一个杂原子或一个芳环连接到脯氨酸环上的化合物。因此，在以上方案中， R^3 是烷基、芳烷基（如苄基）、（环烷基）烷基等。

以下方案总结了一种用制备这些中间体的有关方法：



以上反应方案是上述 Wittig 反应的一种替代，而且可用于制备那些无法为其制备 Wittig 试剂的化合物。例如，为了制备其 R_a 为烷基、苯基等的中间体，让吡咯烷酮中间体与一种适当 Grignard 试剂反应。典型地说，采用稍微摩尔过量的 Grignard 试剂，通常在低温（如 $-80 \sim -60^\circ C$ ）在一种低凝固点惰性溶剂如四氢呋喃中进行。在这些试剂添加后，可以让反应混合物回升到室温，此后，反应通常在若干小时内完成。使所得到的中间体脱水，例如，用三氟乙酸处理。然后，用与以上对烯烃中间体还原所述相同的还原条件，使 3,4 - 脱氢中间体还原成所希望的顺式中间体。

其杂“L”基团为氧并直接连接到脯氨酸环上（即 $P = O$ ）的中间体可以用 Mitsunobu 反应（Mitsunobu, *Synthesis*, 1(1981))制备：

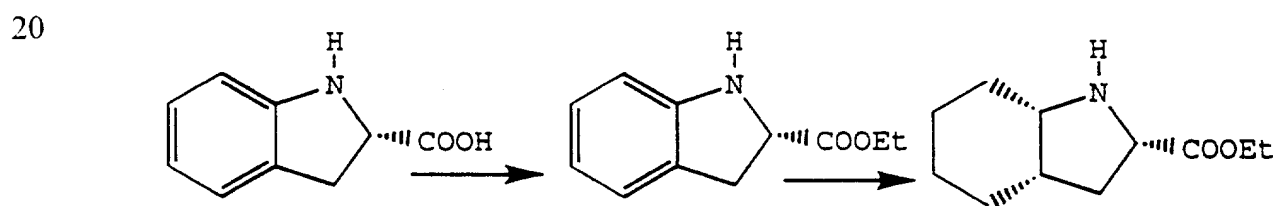


在这个反应中，反式羟基吡咯烷羧酸酯在一种溶剂中，在 Ar-O-H 存在下，用三苯膦处理。将混合物冷却至大约 0 °C，添加偶氮二羧酸二乙酯。回收至室温后，对反应混合物进行后处理，提供所希望的顺式中间体。虽然上述方案说明了其 L = - O -、p=q=0 且 T = Ar 的化合物的反应，但这一序列也适用于制备其 p=0 且 L 为 - O - 的其它化合物。

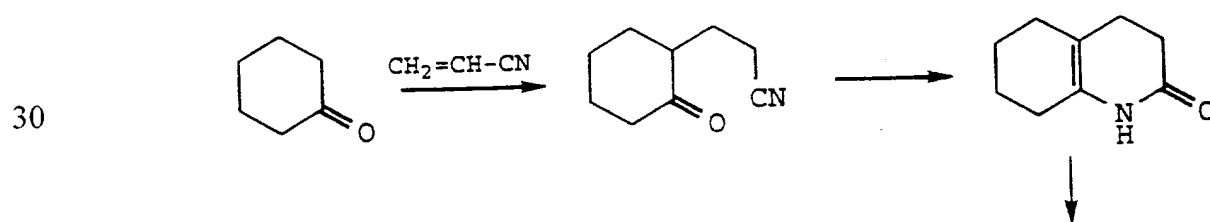
其 L 是硫且直接连接到环上的中间体，制备时可先将羟基转化成甲苯磺酸盐或其它类似离去基团，然后用硫醇盐阴离子置换（见，例如，Krapcho 等，J. Med. Chem., 31, 1148 - 1160 (1988)；Smith 等人，J. Med. Chem., 31, 875 - 855 (1988)）。

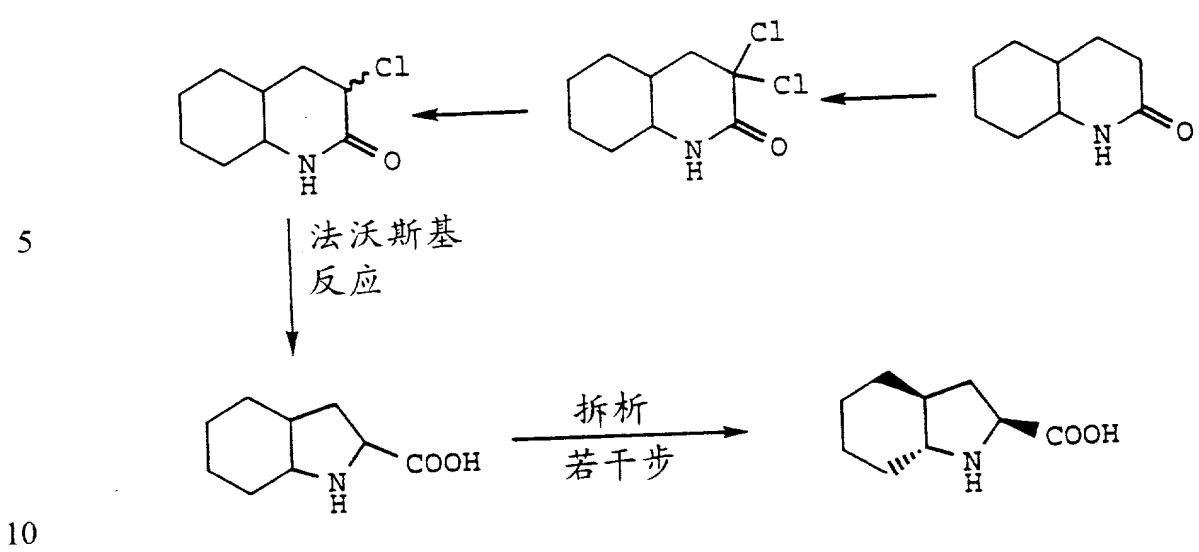
其 L 是氮且直接连接到环上的中间体，制备时可先将羟基转化成甲苯磺酸盐或其它类似离去基团，然后用叠氮化物置换。这种叠氮化物可以用已知方法还原，然后烷基化，从而提供所希望的官能度（见，例如，Smith 等人，J. Med. Chem., 31, 875 - 855 (1988)）。

含有顺式 - Ohi 官能度的本发明化合物，其制备时先从对应的酸制备 (S) - 二氢吲哚羧酸乙酯（见 Vincent 等人，Drug Design and Discovery, Vol. 9, pp 11 - 28 (1992)），然后在乙醇中用 5 % Pd/C 加氢使这种中间体还原，给出八氢吲哚 - 2 - 羧酸酯，一般称之为 Ohi - 酯，如以下所总结。

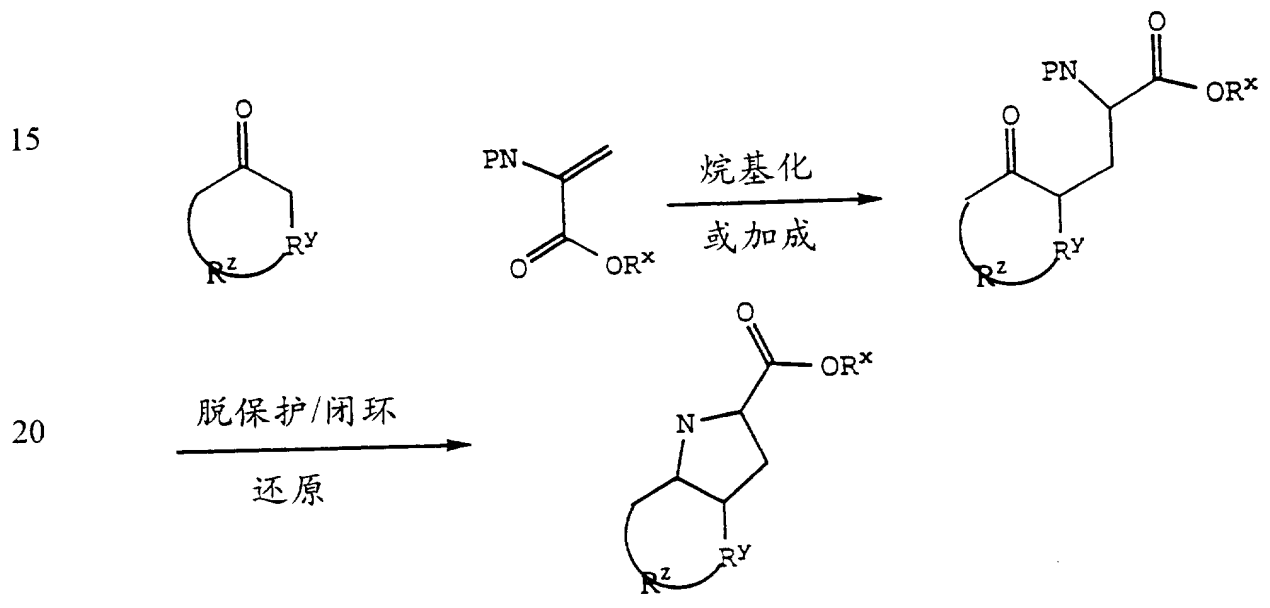


25 含有反式 - Ohi 官能度的本发明化合物，是用 Vincent 等人 [Drug Design and Discovery, Vol. 9, pp 11 - 28 (1992)] 的方法制备的。这总结在以下所示方案中：





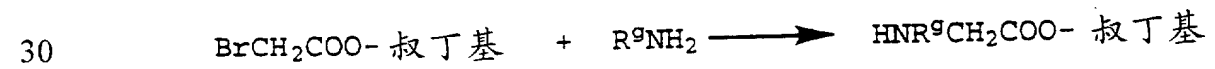
含有双环系统（有或无杂原子）的本发明化合物可以用 Teetz 等人 [Tetrahedron Letters, 25, 4479(1984)] 的方法制备。一般地是：



式是 P 是一个保护基团， R^X 是烷基。

25 引进用于制备本发明化合物的 N-取代甘氨酸官能度（Y）所需的中间体是用标准技术制备的。

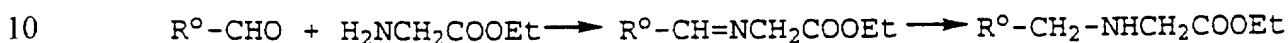
例如，一种卤代乙酸酯如溴乙酸叔丁酯当用适当的伯胺处理时可转化成有所希望取代的化合物：



让这种溴乙酸叔丁酯与适当的胺反应，可在纯态下或较好在一种非

活泼溶剂如一种醇中进行。较好的是，用摩尔过量的胺迫使该反应完成。较好的是，反应混合物也含有一种非活泼的酸清除剂，例如至少一摩尔当量的三乙胺。虽然反应物合并时通常要冷却（如 0 °C），但通常让反应混合物回升到室温，此后该反应通常在 24 小时内完成。尽管溴乙酸酯较好，但也可以采用其它卤代乙酸酯如碘乙酸酯和氯乙酸酯进行这种转化。类似地，也可以采用其它酯基。叔丁酯之所以较好，是因为在后来用茴香醚和三氟乙酸处理时可容易地使之脱除。

用于制备这些中间体的第二种方法可用以下方案概括：



式中 R^o-CH_2- 是一个在与甘氨酸部分的连接点的相邻位置有一个无取代的亚甲基基团的 R^e -基团。

在以上反应方案中，适当的醛在一种非活泼溶剂如甲醇或乙醇中与甘氨酸酯混合。如果使用该甘氨酸酯的盐形式，则可以添加一摩尔当量的碱如氢氧化钾，使得能产生该氨酸酯的游离碱。醛与甘氨酸酯的反应生成 Schiff 碱中间体，然后可以用一种还原剂如氰基硼氢化钠处理使之就地还原。Schiff 碱生成通常在不到 1 小时后发生；还原一般在 10 ~ 15 小时后完成。甲酯或乙酯是特别适用的，因为这些基团在二噁烷水溶液中用氢氧化锂处理时可以脱除（解封闭）。采用一种适用的酮代替醛 R^o-CHO ，可制备其与甘氨酸胺连接的亚甲基基团有取代的中间体。

此外，且尤其对于那些其 R^e 为 Ar（即没有介在烷基）的化合物，较好的是用标准技术（例如让活化形式的 $P-X'-COOH$ 与 $ArNH_2$ 反应）制备中间体 $P-X'-CONHAr$ ，然后按以上所述使这种中间体与卤代乙酸烷酯反应，给出 $P-X'-CONHAr-CH_2-COO-alk$ ，然后可以用常用方法使之进一步转化。

本发明的最终化合物或其中间体多数可以用标准技术相互转化。例如，可以使有硝基取代的芳基化合物还原（例如，在亚硫酸氢钠存在下，在一种非活泼溶剂如乙醇、水或其混合物中进行）。当该硝基化合物在亚硫酸氢钠存在下在水/乙醇混合物中加热回流时，还原通常在若干小时内完成。所生成的胺可能存在于最终产物中；如果这种胺存在于一种中间体中，则可能理想的是将其转化成其最终所希望的形式（例如，酰化，

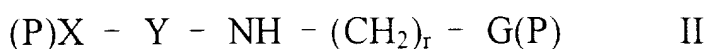
以提供酰化的胺)或加以保护,以避免在随后的化学反应期间发生副反应。如果游离胺是所希望的化合物,则 Cbz 保护基团在这一方面是特别有用的。这种类型的其它转变和相互转化对于熟练的有机化学家来说是显而易见的。

5 如同本门技术的熟练人员将要知道的那样,上述转变可以依靠以上所说明的起始原料进行,或者在大多数情况下也可以依靠含有各自相同官能团的二肽或三肽中间体来实现。在后者的情况下,可以不管是否需要保护各种基团;因此,所涉及的化学反应顺序与类型将制约保护基团的需要与类型以及合成的进行顺序。如同熟练的技师们也将知道的,人们
10 可以选用其它保护基团,只要它们能在随后的化学反应期间达到保护官能团的目的但也能在适当条件下以适当顺序脱除从而能进行随后的转化即可。例如,在方案 I 中,上述 G' 包括其 R 为 -CN 的取代基;这种腈基可以转化成脞或还原成胺,后者可以任选地进一步制作成本发明的脞。

15 本发明的化合物最好是以酸加成盐的形式分离。通式 I 化合物与诸如以上提到的那些酸生成的盐可作为药物上可接受的盐用于抗血栓形成剂给药和用于制备这些药剂的配方。其它酸加成盐也可以制备,和用于此类肽的分离与纯化。例如,与甲磺酸、正丁磺酸、对甲苯磺酸和萘磺酸等磺酸生成的盐就可以这样使用。

20 通式 I 的化合物是按如下制备的:

a) 同时或依次脱除通式 II 对应化合物的保护基团 P,



25 式中(P)X 代表一个可带有一个或多个保护基团 P 的残基 X,所述 P 独立地选自其 X 包含碱性 NH 残片的通式 I 化合物的氨基保护基 P,和其 X 包含羧基残片的通式 I 化合物的羧基保护基 P,而 G(P)代表一个可带有一个或多个独立选择的氨基保护基 P 的残基 G; 或



b) 对于其 R 为 -C - NH₂ 的通式 I 化合物,使其 R 为 -C - NH₂ 的通式 I 对应化合物氢解;然后,当需要通式 I 化合物的一种盐时,与一

种药物上可接受的酸生成盐。

可能较好的是，过程 b) 与过程 a) 同时进行。对于其酸保护基为叔丁酯和/或其氨基保护基为叔丁氧碳酰的通式 I 化合物，可通过在茴香醚存在下在一种惰性溶剂如二噁烷或二氯甲烷中用一种强酸如三氟乙酸或无水氯化氢处理来脱除保护基。对于其酸保护基为苄酯和/或其氨基保护基为苄氧碳酰的通式 I 化合物，可通过氢解、方便地在乙醇-HCl 中用炭载钨催化剂进行来脱除保护基。

在制备所希望的稳定盐形式的同时使通式 I 化合物纯化的较好方法是美国专利 5,250,660 中所述的方法。按照该方法，稳定的硫酸盐或盐酸盐是通过用 C₁₈ 逆相色谱法的制备型纯化来提供的，其中含水部分包含 pH 2.5 的硫酸或盐酸，而乙腈是有机部分。这种酸性洗脱液的 pH 是用一种羟基形式的阴离子交换树脂如 Bio - Rad AG - 1X8 调节到约 pH 4 与约 pH 6 之间的。在 pH 调整之后，将三肽硫酸盐或盐酸盐的溶液冻干，提供干粉形式的纯盐。在这种工艺的一个实例中，可将粗 D - Phe - Pro - p - NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ 硫酸盐溶解在水中，并将溶液装到 Vydac C₁₈ RP HPLC 5cm x 50cm 柱上。用 10 小时时间，使用 2 - 10 % B (A = 0.01 % H₂SO₄; B = 乙腈) 的梯度。收集多个级分，把分析型 RP HPLC 测定表明含有产物的级分合并在一起。合并级分的 pH 用氢氧化物形式的 AG - 1X8 树脂 (Bio - Rad , 3300 Ragatta Blvd., Richmond, CA94804) 调至 pH 4.0 - 4.5。将溶液过滤，滤液冻干，提供硫酸盐形式的纯 D - 、 L - 二酰胺。

这些非对映体在残基 X 上的光学活性异构体也被认为是本发明的组成部分。这样的光学活性异构体可以从其各自的光学活性前体物用上述步骤制备，或通过使外消旋混合物拆析来制备。这种拆析可以通过与一种手性试剂衍生化、随后用色谱法或用重复结晶法进行。用标准方法将手性助剂脱除，提供基本上光学纯的本发明化合物或其前体的异构体。关于拆析的进一步细节可参阅 Jacques 等人，Enantiomers, Racemates, and Resolutions, John Wiley & Sons, 1981。

作为本发明化合物合成中最初起始原料采用的化合物是众所周知的，而且在商业上不可得的情况下，容易用有本门技术普通技能的人员常用的标准步骤合成。

下列实例是为进一步描述本发明和提供比较例而提供的，不要理解成对本发明的限制。

本说明书中使用的缩略语有如下含义。

氨基酸残基： Arg = 精氨酸， Glu = 谷氨酸， Gly = 甘氨酸， Pro = 脯氨酸， hPro = 高脯氨酸， Azt = 氮杂环丁烷 - 2 - 碳酰， Phg = 苯甘氨酸， Phe = 苯丙氨酸， hPhe = 高苯丙氨酸， 1 - Tiq = 1,2,3,4 - 四氢异喹啉 - 1 - 碳酰， 3 - Tiq = 1,2,3,4 - 四氢异喹啉 - 3 - 碳酰， Cha = β - 环己基丙氨酸， hCha = α - 氨基 - γ - 环己基丁酰， NMI = N - 甲基吡啶 - 2 - 甲酰， Ohi = 顺式 - 八氢吡啶 - 2 - 甲酰， 1 - Piq = 全氢异喹啉 - 1 - 碳酰， 3 - Piq = 全氢异喹啉 - 3 - 碳酰， Met = 甲硫氨酸， Met(O₂) = S,S - 二氧代甲硫氨酸。

Agm = 胍基丁胺； 鲱精胺

Boc = 叔丁氧碳酰

Bn = 苄基

15 Cbz = 苄氧碳酰

DCC = 二环己基碳化二亚胺

DMF = 二甲基甲酰胺

Et = 乙基

DMSO = 二甲基亚砷

20 EtOAc = 乙酸乙酯

Et₂O = 二乙醚

EtOH = 乙醇

Fmoc = 9 - 芴基甲氧碳酰

FAB - MS = 快原子轰击质谱

25 FD - MS = 场解吸质谱

IS - MS = 离子喷雾质谱

HRMS = 高分辨率质谱

HOBT = 1 - 羟基苯并三唑水合物

IR = 红外光谱

30 RPHPLC = 逆相高性能液体色谱法

Ph = 苯基

TFA = 三氟乙酸

THF = 四氢呋喃

TLC = 薄层色谱法

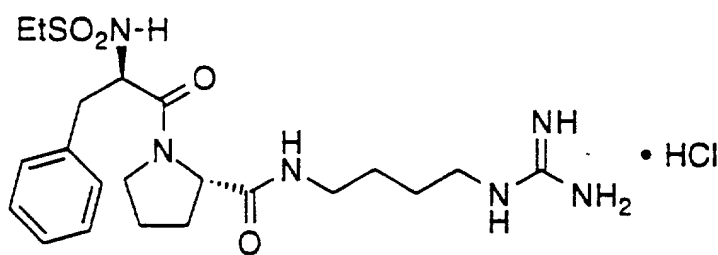
采用了下列 RPHPLC 参数: 溶剂 A: 0.05 % 盐酸水溶液 (3L 水中 1.5ml 浓盐酸); 溶剂 B: 乙腈; 梯度: 如每个实例中所定义; 方法 1: 5 柱: Vydac C₁₈ - 2.5cm × 25cm; 流量率: 5ml/分; 方法 2: 柱: Vydac C₁₈ - 5cm × 25cm; 流量率: 10 ml/分; 方法 3: 柱: Vydac C₁₈ - 2.5cm × 50cm; 流量率: 10 ml/分。

除非另有说明, 否则 pH 调节和后处理都是用酸或碱水溶液进行。

在显示 ¹H - NMR 的实例中, 反应所给出的产品是用质子 NMR 表 10 征的, 以证实得到了所指出的化合物; 无此类数据的 IR 类似地指出得到了令人满意的红外光谱。HRMS 用来证实那些没有为所述步骤的产物获得令人满意的元素分析的化合物的准确质量; 指出了所观察离子 (如 MH⁺) 的元素组成。

实例 1

15



20

EtSO₂-D-Phe-Pro-Agm·HCl

A) Boc-D-Phe-Pro-OBn 的制备

在 0 °C, 向 Boc - D - Phe - OH (89.1g, 336mmol), Pro - OBn 25 盐酸盐 (81.2g, 336mmol), HOBt (50g, 370mmol) 和 N,N - 二异丙基乙胺 (176ml, 1,008mmol) 的二氯甲烷 (600ml) 溶液中添加 1 - (3 - 二甲胺基丙基) - 3 - 乙基碳化二亚胺盐酸盐 (71g, 370mmol)。搅拌 18 小时后, 混合物用二乙醚 (1L) 稀释, 并依次用 1N 柠檬酸 (250ml) 洗涤 3 次、用水 (250ml) 洗涤 1 次、用饱和碳酸氢钠水溶液 (250ml) 洗涤 3 次、用饱和氯化钠水溶液 (250ml) 洗涤 1 次。有 30 机相干燥 (Na₂SO₄)、过滤、真空浓缩, 给出 140g (92.5 %) 淡黄色泡沫状物。

FD-MS, m/e 452 (M⁺)

¹H NMR

B) D-Phe-Pro-OBn · TFA 的制备

在 0 °C 搅拌下, 向 Boc-D-Phe-Pro-OBn (68g, 150mmol) 的二氯甲烷 (50ml) 溶液中添加茴香醚 (20ml), 随后添加三氟乙酸 (400ml)。搅拌 3 小时后, 溶剂真空蒸发, 将稠油状残留物溶解在二乙醚 (1.5L), 冷藏 (72 小时)。将白色沉淀物滤出、用二乙醚 (300ml) 洗涤、干燥, 给出 59.4g (85 %) 白色粉末。

¹H NMR

10 C) EtSO₂-D-Phe-Pro-OBn 的制备

在 - 78 °C 搅拌下, 向 D-Phe-Pro-OBn · TFA (12g, 25.7mmol) 和三乙胺 (7ml, 50.2mmol) 的二氯甲烷 (200ml) 溶液中, 通过加料漏斗滴加乙磺酰氯 (2.65ml, 28.3mmol)。让反应容器回升到 0 °C, 搅拌 4 小时后加水 (10ml)。有机相用 1N 盐酸 (100ml) 洗涤 3 次、用饱和氯化钠溶液 (100ml) 洗涤 1 次, 然后真空脱除溶剂。产物用硅胶闪急色谱法纯化, 以乙酸乙酯/己烷 (6 : 4) 洗脱。含产物的级分 (用 TLC 判断) 合并、浓缩, 给出 6.62g (58 %) 黄色油状物, 放置后凝固。

¹H NMR

FD-MS, m/e 445 (M⁺)

20 分析 C₂₃H₂₈N₂O₅S :

计算: C, 62.14; H, 6.35; N, 6.30

实测: C, 61.87; H, 6.37; N, 6.18。

D) EtSO₂-D-Phe-Pro-OH 的制备

在搅拌下, 向 EtSO₂-D-Phe-Pro-OBn (4.5g, 10.1mmol) 的对二噁烷 (150ml) 溶液中添加氢氧化锂一水合物 (2.1g, 50.5mmol) 的水 (75ml) 溶液。搅拌 16 小时后, 真空浓缩使溶液体积减半, 溶液用水 (300ml) 和 0.1N NaOH (100ml) 稀释。然后, 水相用二乙醚 (250ml) 洗涤 2 次, 用固体柠檬酸酸化, 然后用乙酸乙酯 (150ml) 萃取 3 次。合并的乙酸乙酯萃取液用饱和氯化钠水溶液 (200ml) 洗涤、干燥 (MgSO₄)、过滤、浓缩, 给出 3.6g (90 %) 白色固体。

FD-MS, m/e 335 (M⁺)

分析 $C_{16}H_{22}N_2O_5S$:

计算: C, 54.22; H, 6.26; N, 7.90

实测: C, 54.40; H, 6.42; N, 7.85。

E) N,N' -二 Boc - S - 甲基异硫脲的制备

- 5 在搅拌下, 向草酸二叔丁酯 (100g, 458mmol) 的叔丁醇 (300ml) 溶液中添加二 - S - 甲基异硫脲硫酸盐 (32.7g, 117mmol) 的水(150ml) 溶液, 随后添加氢氧化钠 (19.2g, 480mmol) 的水 (150ml) 溶液。搅拌 48 小时后, 混合物真空浓缩至原体积的大约 1/3, 用二乙醚 (500ml) 稀释。有机相用水 (250ml) 洗涤 1 次, 用 1N 柠檬酸 (250ml) 洗涤 3
- 10 次, 再用水 (250ml) 洗涤 1 次。然后, 将有机相干燥 ($MgSO_4$)、过滤、真空浓缩, 给出 42g (62 %) 白色固体。

1H NMR

F) $N^{\epsilon},N^{\epsilon'}$ -二 Boc - 胍基丁胺的制备

- 15 在搅拌下, 向 1,4 - 丁二胺 (23g, 258mmol) 的 2:1 二甲基甲酰胺 : 水 (300ml) 溶液中, 通过加料漏斗添加 N,N' -二 Boc - S - 甲基异硫脲 (15g, 52mmol) 的二甲基甲酰胺 (100ml) 溶液。搅拌 2 小时后, 真空脱除溶剂, 将残留物溶解在 1N 柠檬酸 (250ml) 中, 用水 (250ml) 稀释, 用乙酸乙酯 (250ml) 洗涤。乙酸乙酯相用 1N 柠檬酸 (100ml) 反萃, 合并的水相用碳酸钠碱化, 用固体氯化钠饱和, 用乙酸乙酯
- 20 (250ml) 萃取 2 次。合并的乙酸乙酯萃取物用饱和氯化钠水溶液 (200ml) 洗涤、干燥 ($MgSO_4$)、过滤、浓缩, 给出 12.5g (73 %) 稠糖浆状物。

1H NMR

G) $EtSO_2$ -D-Phe-Pro-Agm(Boc) $_2$ 的制备

- 25 在搅拌下, 向 $N^{\epsilon},N^{\epsilon'}$ -二 Boc - 胍基丁胺 (2g, 6mmol) 的二氯甲烷 (30ml) 溶液中添加 $EtSO_2$ -D-Phe-Pro-OH (2.1g, 6mmol)、HOBT (810mg, 6mmol) 和 N,N -二异丙基乙胺 (1.6g, 12mmol), 随后添加 1 - (3 - 二甲氨基丙基) - 3 - 乙基碳化二亚胺盐酸盐 (1.4g, 73mmol)。搅拌 20 小时后, 溶液用乙酸乙酯 (300ml) 稀释, 用 1N
- 30 柠檬酸 (150ml) 洗涤 3 次、用水 (150ml) 洗涤 1 次、用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤 2 次。然后, 将有机相干燥 ($MgSO_4$)、过滤、真空浓缩。残留物用硅胶柱色谱法纯化, 以乙酸乙酯 : 己烷 (1:4) 直至乙酸乙酯

的步进梯度洗脱。含产物的级分（用 TLC 判断）合并、浓缩，给出 2.4g（60%）稠油状物。

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 668 (M^+)

5 H) EtSO₂-D-Phe-Pro-Agm · HCl 的制备

在搅拌下，将 EtSO₂-D-Phe-Pro-Agm(Boc)₂ (1.6g, 2.4mmol) 的茴香醚 (1ml) 悬浮液溶解在三氟乙酸 (20ml) 中，在室温搅拌 1 小时。真空脱除溶剂，将残留物分配在水 (100ml) 和二乙醚 (50ml) 之间。水相再次用二乙醚 (50ml) 洗涤，然后部分浓缩、冻干，得到 1.4g 粗三氟乙酸盐。然后将此物料的一半溶解在水中，用 RPHPLC (方法 1; 98/2(A/B); 递减至 50/50 (A/B); 60 分钟) 纯化，给出 490mg(81%) 白色粉末。

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 467 (M^+)

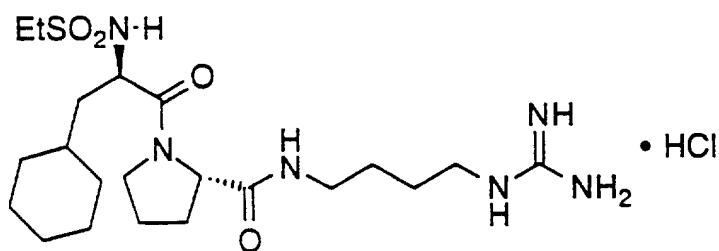
15 分析 C₂₁H₃₄N₆O₄S · HCl · H₂O

计算: C, 48.41; H, 7.16; N, 16.13; Cl, 6.80;

实测: C, 48.01; H, 6.81; N, 16.15; Cl, 6.97。

实例 2

20



25

EtSO₂-D-Cha-Pro-Agm · HCl

A) Boc-D-Cha-Pro-OBn 的制备

用大体上相当于实例 1 - A 中所述的那种方法，从 Boc-D-Cha-OH 和 Pro-OBn · HCl 制备 Boc-D-Cha-Pro-OBn，产率 91% (109g)。

30 FD-MS, m/e 458 (M^+)

B) D-Cha-Pro-OBn · TFA 的制备

用基本上相当于实例 1 - B 所述的那种方法, 制备 D-Cha-Pro-OBn · TFA (理论产率的 116 %, 130g)。

¹H NMR

FD-MS, m/e 359 (M⁺)

5 C) EtSO₂-D-Cha-Pro-OBn 的制备

用基本上相当于实例 1 - C 所述的那种方法, 制备 EtSO₂-D-Cha-Pro-OBn (产率 20 %, 2.3g)。

¹H NMR

FD-MS, m/e 450 (M⁺)

10 分析 C₂₃H₃₄N₂O₅S :

计算: C, 61.31; H, 7.61; N, 6.22 ;

实测: C, 61.55; H, 7.59; N, 6.28 。

D) EtSO₂-D-Cha-Pro-OH 的制备

用基本上相当于实例 1 - D 所述的那种方法, 制备 EtSO₂-D-Cha-Pro-OH (产率 48 %, 0.78g)。

¹H NMR

FD-MS, m/e 361 (M⁺)

E) EtSO₂-D-Cha-Pro-Agm(Boc)₂ 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 EtSO₂-D-Cha-Pro-OH 和 N^ε-N^{ε'}-di-Boc-Agm 制备 400mg (40 %) EtSO₂-D-Cha-Pro-Agm(Boc)₂。

¹H NMR

FD-MS, m/e 674 (MH⁺)

F) EtSO₂-D-Cha-Pro-Agm · HCl 的制备

25 用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备 EtSO₂-D-Cha-Pro-Agm · HCl (产率 45 %, 100mg)。产品用 RPHPLC (方法 1, 98/2(A/B), 递减至 50/50 (A/B), 60 分钟) 纯化。

¹H NMR

FD-MS, m/e 473 (M⁺)

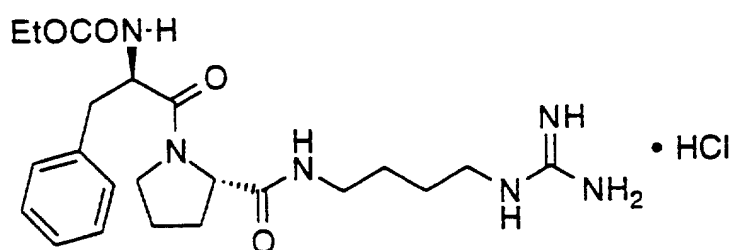
30 分析 C₂₁H₄₀N₆O₄S · 1.2HCl · H₂O

计算: C, 47.20; H, 8.15; N, 15.73; Cl, 7.96;

实测: C, 47.47; H, 7.84; N, 16.10; Cl, 7.80 。

实例 3

5



EtOCO-D-Phe-Pro-Agm·HCl

10 A) EtOCO-D-Phe-Pro-OH 的制备

用基本上相当于实例 1 - C 和 1 - D 所述的那些方法, 用氯甲酸乙酯代替乙磺酰氯, 制备了 6.59g (92%) EtOCO-D-Phe-Pro-OH。

¹H NMR

FD-MS, m/e 335 (M⁺)

15 分析 C₁₇H₂₂N₂O₅:

计算: C, 61.07; H, 6.63; N, 8.38;

实测: C, 60.88; H, 6.72; N, 8.14。

B) EtOCO-D-Phe-Pro-Agm·HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 EtOCO-D-Phe-Pro-OH 和 N^ε-N^{ε'}-di-Boc-Agm 制备 2.1g (54%) EtOCO-D-Phe-Pro-Agm(Boc)₂。然后, 用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备 390mg (77%) EtOCO-D-Phe-Pro-Agm·HCl, 产品用 RPHPLC (方法 1, 98/2 (A/B), 递减至 50/50 (A/B), 60 分钟) 纯化。

¹H NMR

25 FD-MS, m/e 447 (M⁺)

分析 C₂₂H₃₄N₆O₄·0.9HCl·0.2TFA·H₂O:

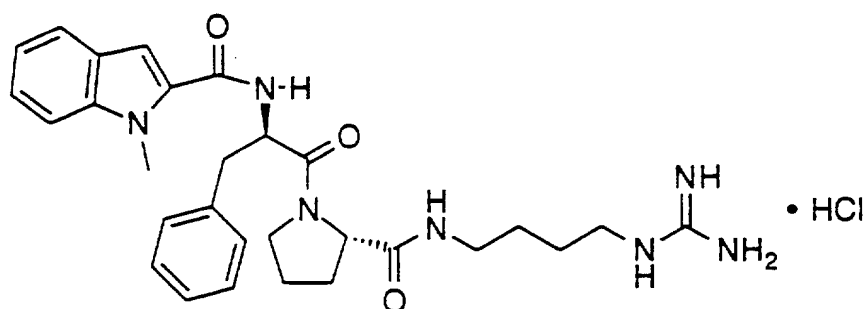
计算: C, 51.70; H, 7.22; N, 16.15; Cl, 6.13;

实测: C, 51.73; H, 7.20; N, 16.54; Cl, 6.36。

30

实例 4

5



NMI-D-Phe-Pro-Agm·HCl

10

(N - [(1 - 甲基 - 1H - 吲哚 - 2 - 基) 羰基] - D - 苯丙氨酸 - N - [4 - [(氨基亚氨基甲基) 氨基] 丁基] - L - 脯氨酸 - 盐酸盐)

A) NMI-D-Phe-Pro-OH 的制备

向 N - 甲基吲哚 - 2 - 羧酸 (2.6g, 14.9mmol) 的干四氢呋喃(45ml)
 15 溶液中添加五氟苯酚 (3g, 16.5mmol), 随后添加 1 - (3 - 二甲氨基
 丙基) - 3 - 乙基碳化二亚胺 (3.2g, 16.5mmol)。让混合物搅拌回流
 3.5 小时, 然后冷却到室温。向此混合物中添加 D-Phe-Pro-OBn · TFA (7g,
 14.9mmol) 和 N,N - 二异丙基乙胺 (4g, 30mmol) 的四氢呋喃 (25ml)
 溶液。在额外搅拌 2 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物溶解在乙酸乙酯
 20 (500ml) 中, 然后用 0.1N 硫酸氢钠水溶液(250ml)洗涤 3 次。用 1N 碳
 酸钾水溶液 (250ml) 洗涤 3 次。有机相干燥 (Na₂SO₄)、过滤、真空
 浓缩, 给出 6.5g 无定形固体(沾污了五氟苯酚的、所希望产品的混合物)。
 然后, 用基本上相当于实例 1 - D 所述的那种方法使这种粗产品水解,
 给出 3.8g (62%) 泛白色固体。

25 ¹H NMR

FD-MS, m/e 419 (M⁺)

B) NMI-D-Phe-Pro-Agm · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 制备了 900mg(20%)
 NMI-D-Phe-Pro-Agm(Boc)₂。然后用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种
 30 方法, 制备了 144mg (31%) NMI-D-Phe-Pro-Agm · HCl。这种粗产
 品溶解在冰乙酸中, 用 RPHPLC 纯化 (方法 1, 90/10 (A/B), 递减
 至 40/60 (A/B), 80 分钟)。

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 532 (M^+)

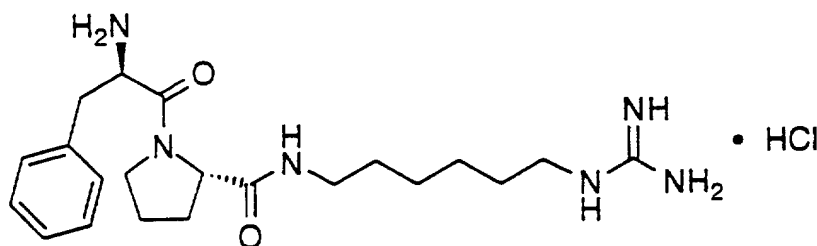
分析 $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_7\text{O}_3 \cdot 0.9\text{HCl} \cdot 0.6\text{TFA} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 56.46; H, 6.29; N, 15.27; Cl, 4.97;

5 实测: C, 56.77; H, 6.58; N, 15.35; Cl, 5.28。

实例 5

10



D-Phe-Pro-NH(CH₂)₆NHC(NH)NH₂ · HCl

15

A) Boc-D-Phe-Pro-OH 的制备

向 Boc-D-Phe-Pro-OBn (145g, 320mmol) 的对二噁烷 (660ml) 溶液中添加氢氧化锂一水合物 (54g, 1,280mmol) 的水 (300ml) 溶液, 猛烈搅拌。4 小时后, 溶液真空浓缩到原体积的大约 1/4, 用水 (350ml) 和 0.1N 氢氧化钠 (100ml) 稀释。水相用二乙醚 (250ml) 洗涤 3 次, 然后用固体柠檬酸酸化到 pH3, 引起一种沉淀物生成。将固体滤出、用水洗涤 2 次, 然后高真空干燥, 得到 91g (78%) 白色固体。

20

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 363 (M^+)

25

B) $\text{N}^{\epsilon}, \text{N}^{\epsilon'}$ -二 Boc - 6 - 氨基己基胍的制备

用基本上相当于实例 1 - F 所述的那种方法, 从 1,6 - 己二胺制备 4.7g (66%) $\text{N}^{\epsilon}, \text{N}^{\epsilon'}$ -二 Boc - 6 - 氨基己基胍。

C) Boc-D-Phe-Pro-NH(CH₂)₆NHC(NBoc)NH(Boc)的制备

30

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phe-Pro-OH 和 $\text{N}^{\epsilon}, \text{N}^{\epsilon'}$ -二 Boc - 6 - 氨基己基胍制备 1.3g (62%) Boc-D-Phe-Pro-NH(CH₂)₆NHC(NBoc)NH(Boc)。

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 703 (M^+)

D) D-Phe-Pro-NH(CH₂)₆NHC(NH)NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备了大约 100mg

5 D-Phe-Pro-NH(CH₂)₆NHC(NH)NH₂ · HCl。

FD-MS, m/e 389 (M^+)

分析 C₂₁H₃₄N₆O₂ · 0.9HCl · 0.9TFA · 0.5H₂O:

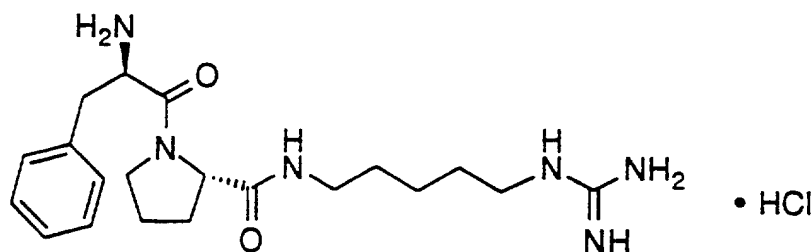
计算: C, 49.97; H, 6.95; N, 15.34;

实测: C, 49.60; H, 7.13; N, 15.23。

10

实例 6

15



A) N^ε,N^{ε'}-二 Boc - 5 - 氨基戊基胍的制备

20 用基本上相当于实例 1 - F 所述的那种方法, 从 1,5 - 戊二胺制备 1.73g (72%) N^ε,N^{ε'}-二 Boc - 5 - 氨基戊基胍。

FD-MS, m/e 345 (M^+)

$^1\text{H NMR}$

B) Boc-D-Phe-Pro-NH(CH₂)₅NHC(NBoc)NH(Boc)的制备

25 用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phe-Pro-OH 和 N^ε,N^{ε'}-二 Boc-5 - 氨基戊基胍制备 1.9g (92%) Boc-D-Phe-Pro-NH(CH₂)₅NHC(NBoc)NH(Boc)。

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 689 (M^+)

30 C) D-Phe-Pro-NH(CH₂)₅NHC(NH)NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备了大约 100mg D-Phe-Pro-NH(CH₂)₅NHC(NH)NH₂ · HCl。此产品用 RPHPLC 纯化(方法 1,

98/2 (A/B) , 递减至 40/60 (A/B) , 40 分钟)。

FD-MS, m/e 389 (M⁺)

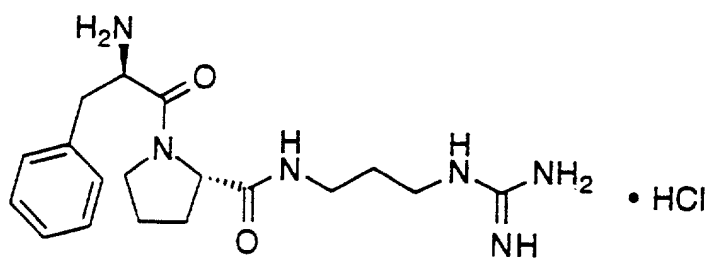
分析 C₂₀H₃₂N₆O₂ · 0.9HCl · 0.9TFA · 0.7H₂O :

计算: C, 48.71; H, 6.79; N, 15.63;

5 实测: C, 48.34; H, 6.68; N, 16.01 。

实例 7

10



D-Phe-Pro-NH(CH₂)₃NHC(NH)NH₂ · HCl

15 A) Boc-D-Phe-Pro-NH(CH₂)₃NHC(NBoc)NH(Boc)的制备

向 1,3 - 二氨基丙烷 (2.2g, 30mmol) 的二甲基甲酰胺 (25ml) 溶液中添加 N,N' - 二 Boc - S - 甲基异硫脲 (2.9g, 10mmol) 的二甲基甲酰胺 (25ml) 溶液。搅拌 1 小时后, 混合物用二氯甲烷 (400ml) 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液的混合液 (200ml) 洗涤 2
20 次, 用饱和氯化钠水溶液 (250ml) 洗涤 1 次。有机相干燥 (MgSO₄)、
过滤、真空法部分浓缩至约 200ml 体积。

然后, 向此溶液中添加 Boc-D-Phe-Pro-OH (3.6g, 10mmol)、HOBT (1.3g, 10mmol) 和 N,N - 二异丙基乙胺 (1.3g, 10mmol) , 随后添加
1 - (3 - 二甲氨基丙基) - 3 - 乙基碳化二亚胺 · HCl (2.1g,
25 11mmol)。搅拌 16 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物用乙酸乙酯 (250ml)
收集。有机相用 1N 柠檬酸 (200ml) 洗涤 3 次, 用水 (100ml) 洗涤 1
次, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (200ml) 洗涤 2 次, 用饱和氯化钠水溶液
洗涤 1 次。然后将有机相干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩。然后, 残
留物用硅胶柱色谱法纯化, 以乙酸乙酯/己烷 (1:4) 直至乙酸乙酯的步
30 进梯度洗脱。含产品的级分 (用 TLC 判断) 浓缩, 得到 2.6g (40 %)
粘稠无色油状物。

¹H NMR

FD-MS, m/e 661 (M⁺)

B) D-Phe-Pro-NH(CH₂)₃NHC(NH)NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备 460mg (71 %)

5 D-Phe-Pro-NH(CH₂)₃NHC(NH)NH₂ · HCl。产品用 RPHPLC 纯化(方法 1, 98/2 (A/B), 递减至 40/60 (A/B), 40 分钟)。

¹H NMR

FD-MS, m/e 361 (M⁺)

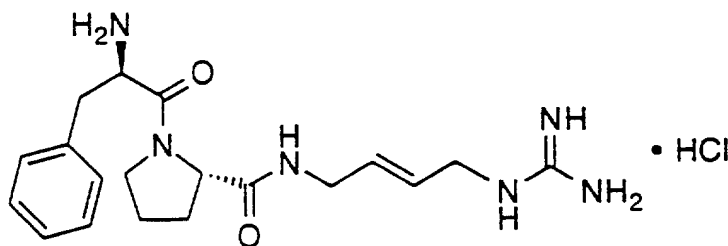
分析 C₁₈H₂₈N₆O₂ · HCl · 1.1TFA · 1.1H₂O :

10 计算: C, 44.66; H, 6.20; N, 15.47;

实测: C, 44.69; H, 6.10; N, 15.19。

实例 8

15



D-Phe-Pro-NHCH₂-trans-CH=CHCH₂NHC(NH)NH₂ · HCl

20

A) N^ε,N^{ε'} - 二 Boc - 4 - 氨基 - 反式 - 2 - 丁烯基胍的制备

用基本上相当于实例 1 - F 所述的那种方法, 从 1,4 - 二氨基 - 反式 - 2 - 丁烯制备 2.4g (42 %) N^ε,N^{ε'} - 二 Boc - 4 - 氨基 - 反式 - 2 - 丁烯基胍。

25 B) Boc-D-Phe-Pro-NHCH₂ - 反式 - CH=CHCH₂NHC(NBoc)NHBoc 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phe-Pro-OH 和 N^ε,N^{ε'} - 二 Boc - 4 - 氨基 - 反式 - 2 - 丁烯基胍制备 2.7g (55 %) Boc-D-Phe-Pro-NHCH₂ - 反式 - CH=CHCH₂NHC(NBoc)NHBoc。

30 ¹H NMR

FD-MS, m/e 673 (M⁺)

C) D-Phe-Pro-NHCH₂ - 反式 - CH=CHCH₂NHC(NH)NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备大约 100mg D-Phe-Pro-NHCH₂ - 反式 - CH=CHCH₂NHC(NH)NH₂ · HCl。此产品用 RPHPLC 纯化 (方法 1, 98/2 (A/B), 递减至 40/60 (A/B), 40 分钟)。

¹H NMR

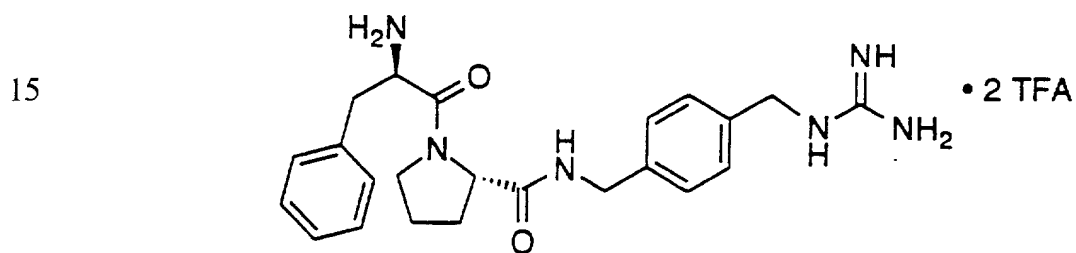
FD-MS, m/e 373 (M⁺)

分析 C₁₉H₂₈N₆O₂ · HCl · 0.5TFA · 2.5H₂O:

10 计算: C, 47.01; H, 6.81; N, 16.45;

实测: C, 47.36; H, 6.53; N, 16.70。

实例 9



D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CH₂NHC(NH)NH₂ · 2TFA

20

A) p-H₂NCH₂C₆H₄CH₂NHC(NBoc)NHBoc 的制备

用基本上相当于实例 1 - F 所述的那种方法, 从对二甲苯二胺制备 2.3g (42%) p-H₂NCH₂C₆H₄CH₂NHC(NBoc)NHBoc。

¹H NMR

25 B) Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄CH₂NHC(NBoc)NHBoc 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phe-Pro-OH 和 p-H₂NCH₂C₆H₄CH₂NHC(NBoc)NHBoc 制备 2.8g (63%) Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄CH₂NHC(NBoc)NHBoc。

¹H NMR

30 FD-MS, m/e 723 (M⁺)

C) D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄CH₂NHC(NH)NH₂ · 2TFA 的制备

用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备 725mg (81 %) 标题二 TFA 盐, 但没有用 RPHPLC 进一步纯化。

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 423 (M^+)

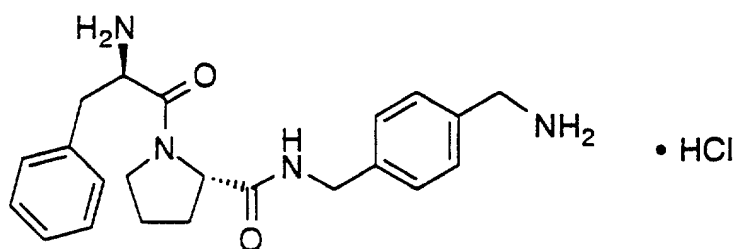
5 分析 $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_2 \cdot 2.1\text{TFA} \cdot \text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 48.05; H, 5.05; N, 12.36;

实测: C, 48.06; H, 4.85; N, 12.28。

实例 10

10



15

D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CH₂NH₂ · HCl

A) N-Boc - 对 (氨基甲基) 苄胺的制备

在搅拌下, 向对二甲苯二胺 (10g, 73mmol) 的二甲基甲酰胺/水 (1:1, 100ml) 溶液中添加草酸二叔丁酯 (8g, 37mmol)。搅拌 20 小时后, 混合物真空浓缩, 残留物在二乙醚 (200ml) 和 1N 柠檬酸 (200ml) 之间分配。水相再次用二乙醚 (200ml) 洗涤, 然后用固体碳酸氢钠碱化, 用固体氯化钠饱和。然后, 水相用乙酸乙酯 (200ml) 萃取 4 次。合并的乙酸乙酯萃取液干燥 (MgSO_4)、过滤、浓缩, 给出 2.1g (24 %) 稠油状物。

25 $^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 237 (M^+)

分析 $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$

计算: C, 66.07; H, 8.53; N, 11.85;

实测: C, 66.33; H, 8.44; N, 12.11。

30

B) Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CH₂NHBoc 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phe-Pro-OH 和 N-Boc - 对 (氨基甲基) 苄胺制备 1.1g (63 %) Boc-D-Phe-Pro-p-

NHCH₂C₆H₄CH₂NHBoc。

¹H NMR

FD-MS, m/e 581 (M⁺)

分析 C₃₂H₄₄N₄O₆

5 计算: C, 66.19; H, 7.64; N, 9.65;

实测: C, 65.99; H, 7.63; N, 9.42。

C) D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CH₂NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备大约 100mg D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CH₂NH₂ · HCl。此产品用 RPHPLC 纯化(方法 1, 10 98/2 (A/B), 递减至 40/60 (A/B), 40 分钟)。

¹H NMR

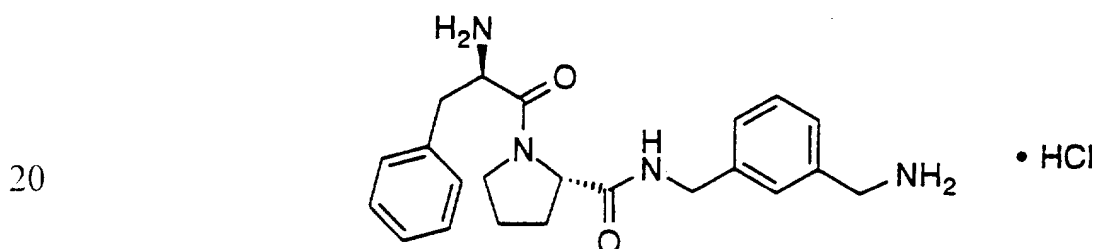
FD-MS, m/e 381 (M⁺)

分析 C₂₂H₂₈N₄O₂ · HCl · 1.1TFA · H₂O

计算: C, 51.87; H, 5.77; N, 10.00;

15 实测: C, 51.78; H, 5.88; N, 10.28。

实例 11



D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CH₂NH₂ · HCl

A) N - Boc - 间 (氨基甲基) 苄胺的制备

25 用基本上相当于实例 10 - A 所述的那种步骤, 从间二甲苯二胺制备 2.6g (30 %) N - Boc - 间 (氨基甲基) 苄胺。

¹H NMR

FD-MS, m/e 237 (MH⁺)

分析 C₁₃H₂₀N₂O₂

30 计算: C, 66.07; H, 8.53; N, 11.85;

实测: C, 65.81; H, 8.48; N, 11.98。

B) Boc-D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄CH₂NHBoc 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phe-Pro-OH 和 N - Boc - 间 (氨基甲基) 苄胺制备 1.6g (95 %) Boc-D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄CH₂NHBoc。

5 ¹H NMR

FD-MS, m/e 581 (M⁻)

C) D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄CH₂NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备约 100mg D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄CH₂NH₂ · HCl。

10 ¹H NMR

FD-MS, m/e 381 (M⁺)

分析 C₂₂H₂₈N₄O₂ · HCl · TFA · H₂O

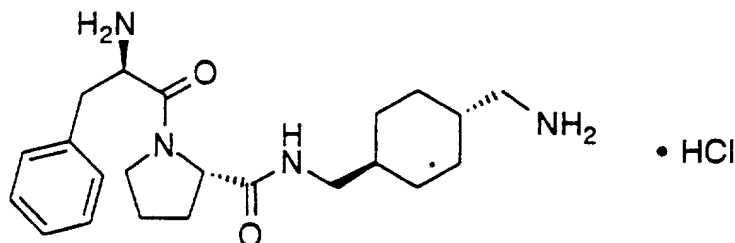
计算: C, 52.51; H, 5.87; N, 10.21;

实测: C, 52.13; H, 6.21; N, 10.48。

15

实施例 12

20



D-Phe-Pro-NHCH₂ - 反式 - 4 - (氨基甲基) 环己烷 · HCl

A) N - Boc - 反式 - 4 - (氨基甲基) 环己烷羧酸的制备

25 向反式 - 4 - (氨基甲基) 环己烷羧酸 (50g, 318mmol) 的 1N 氢氧化钠 (334ml, 334mmol) 和叔丁醇 (400ml) 溶液中添加草酸二叔丁酯 (73g, 334mmol) 的四氢呋喃 (50ml) 溶液。搅拌 20 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物在水 (500ml) 和二乙醚 (250ml) 之间分配。水相再次用二乙醚 (250ml) 洗涤, 然后用固体柠檬酸酸化, 导致生成白色沉淀。将此固体过滤、用水 (100ml) 洗涤 2 次、真空干燥, 给出 48g
30 (59 %) 白色粉末。

¹H NMR

B) HOCH₂ - 反式 - 4 - (N - Boc - 氨基甲基) 环己烷的制备

在 0 °C 搅拌下，向 N - Boc - 反式 - 4 - (氨基甲基) 环己烷羧酸 (15g, 58mmol) 的四氢呋喃 (150ml) 溶液中添加 N - 甲基吗啉 (5.9g, 58mmol)，随后添加氯甲酸乙酯 (6.3g, 58mmol)。搅拌 30 分钟后，添加硼氢化钠 (6.5g, 175mmol)，然后用 5 分钟时间通过加料漏斗添加
5 甲醇 (300ml)。让混合物搅拌 1 小时，然后真空脱除溶剂。将残留物溶解在乙酸乙酯 (500ml) 中，用 1N 柠檬酸 (250ml) 洗涤 2 次，用水 (100ml) 洗涤 1 次，用饱和碳酸氢钠水溶液 (250ml) 洗涤 2 次，用饱和氯化钠水溶液 (250ml) 洗涤 1 次。将有机相干燥 (MgSO₄)、过滤、浓缩，给出 13g (91 %) 标题化合物。

10 ¹H NMR

C) NH₂CH₂ - 反式 - 4 - (N - Boc - 氨基甲基) 环己烷的制备
在搅拌下，向 HOCH₂ - 反式 - 4 - (N - Boc - 氨基甲基) 环己烷 (13g, 53mmol) 和三苯膦 (21g, 80mmol) 的四氢呋喃 (300ml) 溶液中添加偶氮二羧酸二乙酯 (13.9g, 80mmol)，随后添加二苯基磷酰叠氮
15 氮 (22g, 80mmol) 的四氢呋喃 (100ml) 溶液。搅拌 16 小时后，真空脱除溶剂，残留物用硅胶柱色谱法分离，用乙酸乙酯/己烷 (1 : 3) 直至乙酸乙酯/己烷 (3 : 1) 的步进梯度洗脱。含产品的级分 (用 TLC 判断) 合并、浓缩，给出 17.4g 粗产品 (有较高 R_f 化合物沾污)。这种粗叠氮化合物溶解在甲醇 (200ml) 中，此溶液添加到正在搅拌的微细
20 Na₂S · 9H₂O (51g, 212mmol) 和三乙胺 (1g, 11mmol) 的甲醇 (100ml) 悬浮液中。所形成的混合物加热回流 (16 小时)，然后冷却到室温，真空脱除溶剂。残留物用水 (250ml) 稀释，用固体柠檬酸酸化。水相用乙酸乙酯 (250ml) 洗涤 2 次，用固体碳酸氢钠碱化，用固体氯化钠饱和。然后，水相用乙酸乙酯 (200ml) 萃取 3 次，合并的萃
25 取液干燥 (MgSO₄)、过滤、浓缩，给出 6.4g (45 %) 稠油状物。

¹H NMR

D) N-Boc-D-Phe-Pro-NHCH₂ - 反式 - 4 - (N-Boc-氨基甲基) 环己烷的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法，从 Boc-D-Phe-Pro-OH
30 和 NH₂CH₂ - 反式 - 4 - (N-Boc-氨基甲基) 环己烷制备 4.5g (74 %) N-Boc-D-Phe-Pro-NHCH₂ - 反式 - 4 - (N-Boc-氨基甲基) 环己烷。

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 587 (M^+)

E) D-Phe-Pro-NHCH₂ - 反式 - 4 - (氨基甲基) 环己烷 · HCl 的制备

- 5 用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备了 588mg (75%) D-Phe-Pro-NHCH₂ - 反式 - 4 - (氨基甲基) 环己烷 · HCl。在这种情况下, 中间体 TFA 盐的分析型 RPHPLC 纯化是非常清洁的, 但该盐是吸湿的。因此, 将该盐溶解在 0.1N HCl (20ml) 中, 把 pH 调到 5, 将此样品再次冻干, 得到稳定的白色固体盐酸盐。

10 $^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 387 (M^+)

分析 $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot \text{HCl} \cdot \text{TFA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

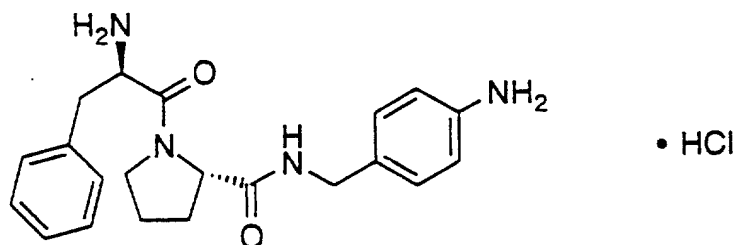
计算: C, 50.30; H, 7.04; N, 9.78;

实测: C, 50.44; H, 7.20; N, 9.62。

15

实例 13

20



D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄NH₂ · HCl

A) Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄NH₂ 的制备

- 25 用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phe-Pro-OH 和对 - NO₂ - 苄胺 · HCl 制备 8g Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄NO₂。将此中间体溶解在乙醇 (250ml) 中, 加热回流。在搅拌下, 向此溶液中添加 Na₂S₂O₄ (12.3g, 70mmol) 的水 (125ml) 溶液。搅拌回流 2 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物分配在乙酸乙酯 (250ml) 和水 (250ml) 之间。水相再次用乙酸乙酯 (250ml) 萃取, 将合并的有机相干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩, 给出 2.4g (21%) 淡黄色固体。
- 30

B) D-Phe-Pro-p-NHCH₂CH₂C₆H₄NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备了 175mg (58 %) D-Phe-Pro-p-NHCH₂CH₂C₆H₄NH₂ · HCl。此产品用 RPHPLC 纯化(方法 1, 98/2 (A/B), 递减至 60/40 (A/B), 60 分钟)。

5 ¹H NMR

FD-MS, m/e 380 (M⁺)

分析 C₂₂H₂₈N₄O₂ · HCl · 0.7TFA · 0.7H₂O

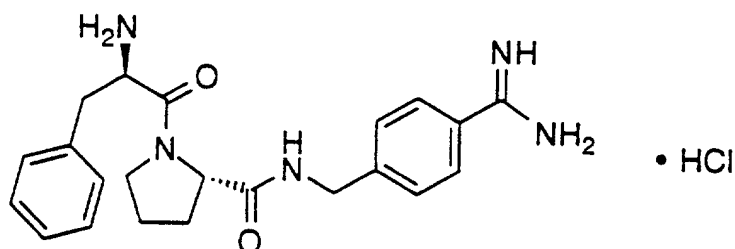
计算: C, 55.18; H, 6.15; N, 11.00;

实测: C, 55.12; H, 6.18; N, 10.99。

10

实例 15

15



D-Phe-Pro-p-NHCH₂CH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl

(D - 苯丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基]L - 脯氨酰胺 · 盐酸盐)

A) 对 (氨基甲基) 苄腈 · TFA 的制备

在搅拌下, 向氢化钠 (2.2g, 56mmol, 60 % 油分散液) 的四氢呋喃 (100ml) 悬浮液中添加 4 - (溴甲基) 苄腈 (10g, 51mmol)。通过加料漏斗向此混合物中缓缓添加亚氨基二羧酸二叔丁酯 (12.2g, 56mmol) 溶液。搅拌 16 小时后, 此混合物用二乙醚 (300ml) 稀释, 用水 (150ml) 洗涤 2 次。然后, 将有机相干燥 (MgSO₄)、过滤、浓缩。然后, 将所生成的固体溶解在少量二氯甲烷中。添加茴香醚 (10ml) , 使溶液冷却到 0 °C。然后, 此溶液用三氟乙酸 (200ml) 稀释, 将其搅拌 1 小时。然后真空脱除溶剂, 油状残留物与二乙醚 (100ml) 一起猛烈搅拌, 几分钟后此产品凝固。将沉淀物过滤、用二乙醚洗涤、真空干燥, 给出 11.3g (90 %) 白色粉末。

IR

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 132 (M^+)

B) Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CN 的制备

- 5 用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phe-Pro-OH 和对(氨基甲基)苄腈·TFA 制备 7.4g (78%) Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CN。在这种情况下, 产品用二乙醚重结晶法纯化。

IR

$^1\text{H NMR}$

10 FD-MS, m/e 476 (M^+)

C) Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ 的制备

- 15 硫化氢气体通过 Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CN (2g, 4.2mmol) 的吡啶 (25ml) 和三乙胺 (2.5ml) 溶液鼓泡 30 分钟。然后将反应容器密封, 在室温静置 2 天。然后该溶液用水 (100ml) 稀释, 用乙酸乙酯 (200ml) 萃取 2 次。合并的有机相用饱和氯化钠水溶液洗涤 2 次, 干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩。

- 20 将残留物溶解在丙酮 (50ml) 中, 添加甲基碘 (10ml), 溶液加热回流 (2 小时)。真空脱除溶剂, 将残留物溶解在甲醇 (20ml) 中, 添加 NH₄OAc (712mg, 9.2mmol), 溶液加热回流 (12 小时)。再次真空脱除溶剂, 残留物溶解在 1N 柠檬酸 (100ml) 中, 水相用乙酸乙酯 (200ml) 洗涤 2 次, 然后用固体碳酸氢钠碱化, 用固体氯化钠饱和, 用乙酸乙酯 (200ml) 萃取 2 次。合并的乙酸乙酯萃取液干燥 (MgSO₄)、过滤、浓缩, 给出 1.4g (67%) 稠油状物。

$^1\text{H NMR}$

25 FD-MS, m/e 494 (M^+)

D) D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl 的制备

- 30 用基本上相当于实例 1 - H 所述的那种方法, 制备了 7.7g (57%) D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl。此产品用 RPHPLC 纯化 (方法 3, 98/2 (A/B), 递减至 70/30 (A/B), 300 分钟)。

$^1\text{H NMR}$

FD-MS, m/e 394 (M^+)

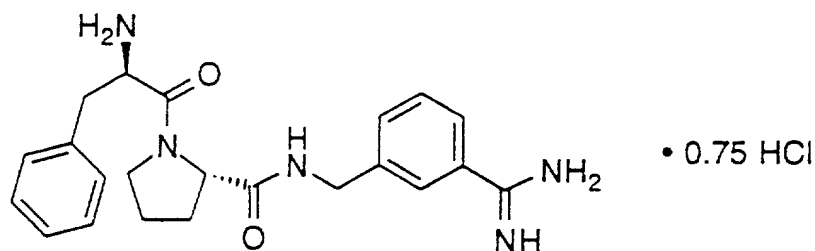
分析 $C_{22}H_{27}N_5O_2 \cdot HCl \cdot 1.4TFA \cdot 0.5H_2O$

计算: C, 49.76; H, 5.12; N, 11.70;

实测: C, 49.75; H, 5.19; N, 11.58。

实例 16

5



10

D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 0.75HCl

A) 间(氨基甲基)苄脒·TFA的制备

用基本上相当于实例 15 - A 所述的那种方法, 从间(溴甲基)苄脒
15 制备 10.8g (86%) 间(氨基甲基)苄脒·TFA。

IR

¹H NMR

FD-MS, m/e 132 (M⁺)

B) Boc-D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄CN的制备

20 用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phe-Pro-OH
和间(氨基甲基)苄脒·TFA 制备 7.5g (79%) Boc-D-Phe-Pro-m-
NHCH₂C₆H₄CN。在这种情况下, 产品用二乙醚重结晶法纯化。

IR

¹H NMR

25 FD-MS, m/e 476 (M⁺)

分析 C₂₇H₃₂N₄O₄:

计算: C, 68.05; H, 6.77; N, 11.76;

实测: C, 68.27; H, 6.82; N, 11.96。

C) Boc-D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂的制备

30 用基本上相当于实例 15 - C 所述的那种方法, 制备了 1.1g (53%)
Boc-D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂。

FD-MS, m/e 494 (M⁺)

D) D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 0.75HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 制备了 0.65g (63%)
D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 0.75HCl。此产品用 RPHPLC 纯化
(方法 2, 98/2 (A/B), 递减至 75/25 (A/B), 120 分钟)。

FD-MS, m/e 394 (M⁺)

分析 C₂₂H₂₇N₅O₂ · 0.75HCl · 1.2TFA · 0.5H₂O

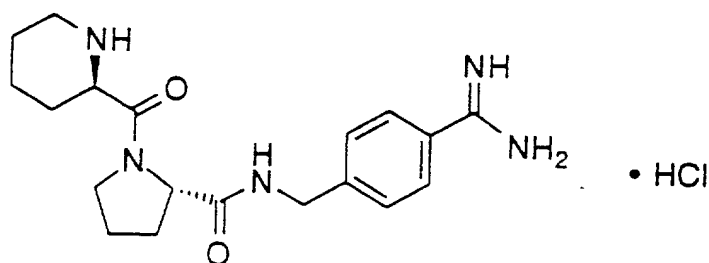
计算: C, 51.72; H, 5.33; N, 12.36; Cl, 4.69;

实测: C, 51.79; H, 4.93; N, 11.96; Cl, 4.82。

10

实例 17

15



D-hPro-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl

(D - 高脯氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨
酰胺 · 盐酸盐)

A) Cbz-D-hPro-OH 的制备

D-hPro-OH (5.0g, 38.7mmol) 溶解在四氢呋喃 (100ml) 和水
(30ml) 中。溶液的 pH 用 2N 氢氧化钠调节到 9.5, 滴加氯甲酸苄酯
(5.5ml, 38.7mmol), pH 用 2N 氢氧化钠保持在 9.5。反应混合物在室
温再搅拌 1 小时。有机溶剂真空蒸发, 向残留物中添加二乙醚 (100ml)
和水 (50ml)。将水层分离, 溶液的 pH 用 3N 盐酸调节至 2.8, 添加乙
酸乙酯 (150ml)。将有机层分离、干燥 (MgSO₄); 滤液真空浓缩,
给出 9.6g (95%) 透明油状物。

¹H NMR

FD-MS, m/e 264 (MH⁺)

B) Cbz-D-hPro-Pro-OH 的制备

Cbz-D-hPro-OH (9.5g, 36mmol) 溶解在乙酸乙酯 (100ml) 中,

将溶液冷却到 0 °C。向溶液中添加 2,4,5 - 三氯苯酚 (7.1g, 36mmol) 和 1,3 - 二环己基碳化二亚胺 (7.4g, 36mmol)。反应混合物在 0 °C 搅拌 1 小时, 并在室温搅拌 1 小时。把沉淀物滤出, 滤液真空浓缩成油状物。此油状溶解在吡啶 (100ml) 中, 添加 Pro-OH (4.2g, 36mmol) 和三乙胺 (5.0ml, 36mmol)。反应混合物在室温搅拌 (24 小时)。反应溶剂真空脱除, 成为一种油状物。残留物溶解在水 (100ml) 中, 添加二乙醚 (50ml), pH 用 2N 氢氧化钠调节至 9.5。水层用二乙醚萃取 2 次。将水层分离, pH 用 3N 盐酸调节至 2.8, 添加乙酸乙酯 (150ml)。将有机层分离、干燥 ($MgSO_4$), 滤液真空浓缩, 成为一种无定形固体 (11.4g, 88 %)。

FD-MS, m/e 361 (M^+)

分析 $C_{19}H_{24}N_2O_5$:

计算: C, 63.32; H, 6.71; N, 7.77;

实测: C, 63.42; H, 6.84; N, 7.96。

15 C) Cbz-D-hPro-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CN 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Cbz-D-hPro-Pro-OH 和 p-NH₂CH₂C₆H₄CN · TFA 制备了 2.2g (84 %) Cbz-D-hPro-Pro-p-NHCH₂C₆H₄CN。

¹H NMR

20 FD-MS, m/e 474 (M^+)

分析 $C_{27}H_{30}N_4O_4$:

计算: C, 68.34; H, 6.37; N, 11.81;

实测: C, 68.36; H, 6.47; N, 11.57。

D) D-hPro-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl 的制备

25 用基本上相当于实例 15 - C 所述的那种方法, 制备了 Cbz-hPro-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ (28mmol, 理论值)。然后将这种粗材料溶解在乙酸 (35ml) 中, HBr 气体通过该溶液鼓泡 30 分钟。在另外搅拌 1 小时后, 溶剂真空脱除, 将残留物溶解在水 (200ml) 中, 用乙酸乙酯 (100ml) 洗涤 2 次。然后, 水相用离子交换树脂 (BiO Rad AG1-X8, 碱性形式) 调节到 pH4、冻干, 给出松散白色固体。然后将此产物重新溶解在水 (25ml) 中, 用制备型 RPHPLC 纯化 (方法 3, 98/2 (A/B), 递减至 70/30 (A/B), 300 分钟), 给出 5g (41 %)

hPro-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 0.9HCl · 0.9HBr · 0.5H₂O。

¹H NMR

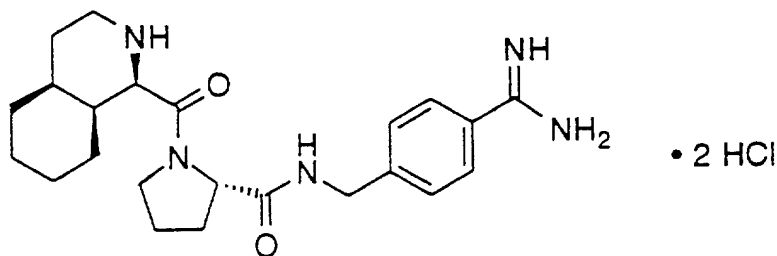
FD-MS, m/e 357 (M⁺)

分析 C₁₉H₂₇N₅O₂ · 0.9HCl · 0.9HBr · 0.5H₂O

- 5 计算: C, 48.34; H, 6.36; N, 14.83; Cl, 6.76; Br, 15.23;
实测: C, 48.66; H, 6.36; N, 14.62; Cl, 7.14; Br, 14.90。

实例 18

10



1-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl

15

(N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - 1 - [[(4aS,8aS) - 十氢 - 1(R) - 异喹啉基] 羰基] - L - 脯氨酸酰胺 · 二盐酸盐)

A) Cbz-D-l-Piq-Pro-OH 的制备

- 20 1 - 异喹啉羧酸 (50g, 0.288mol) 的 EtOH (150ml) 和 60ml 5N HCl 溶液用 5% Rh/Al₂O₃ (14g)、以 52 巴 (750 psi) 氢、在高压装置中于 50 °C 还原 17 小时。还原混合物通过一层硅藻土过滤, 滤液真空浓缩。固体与水一起研制、过滤、干燥, 给出 DL - 全氢化 - 1 - 异喹啉羧酸 (DL - 1 - Piq - OH) (30g, 48%) FD - MS 184 (MH⁺)。

- 25 DL - 1 - Piq - OH (30.2g, 137mmol) 溶解在四氢呋喃 (150ml) 和水 (150ml) 中。溶液的 pH 用 5N NaOH 调节至 9.8, 滴加氯甲酸苄酯 (21.6ml, 151mmol), 用 2N NaOH 使 pH 保持在 9.5。反应混合物在室温搅拌另外 2 小时。有机溶剂真空蒸发, 向残留物中添加二乙醚 (150ml) 和水 (50ml)。将水层分离, 溶液的 pH 用 5N HCl 调节至 2.5, 添加乙酸乙酯 (200ml)。将有机层分离、干燥 (MgSO₄), 滤液真空浓缩, 给出一种透明油。将该油溶解在二乙醚 (150ml) 中, 溶液在室温静置 (24 小时)。将沉淀物滤出、干燥, 给出 2 - Cbz - DL - 全氢化 - 1 - 异喹啉羧酸 (Cbz - DL - 1 - Piq - OH) (32g, 75%)

FD - MS 318 (MH⁺)。

Cbz - DL - l - Piq - OH (31.8g, 100mmol) 溶解在 DMF (100ml) 中, 冷却至 0 ℃。向反应混合物中添加脯氨酸叔丁酯 (17.1g, 100mmol)、1 - 羟基苯并三唑 (13.5g, 100mmol) 和 DCC (20.6g, 100mmol)。反应混合物在 0 ℃ 搅拌 3 小时, 在温室搅拌 24 小时。将反应沉淀滤出, 滤液真空浓缩成一种油状物。该油状物溶解在 EtOAc (200ml) 和水 (100ml) 中。将有机层分离, 依次用 1N NaHCO₃、水、1.5N 柠檬酸和水洗涤。有机层干燥 (MgSO₄), 滤液蒸发成油状物、干燥, 给出 2 - Cbz - DL - 全氢化 - 1 - 异喹啉碳酰 - L - 脯氨酸叔丁酯 (Cbz-DL-l-Piq-Pro-O-t-Bu) (47.0g, 100 %) FAB - MS 470 (MH⁺)。

(Cbz-DL-l-Piq-Pro-O-t-Bu) (47.0g, 100mmol) 放入一个盛有三氟乙酸 (100ml)、CH₂Cl₂ (35ml)、茴香醚 (5ml) 的圆底烧瓶中, 在室温搅拌 (1 小时)。反应混合物真空浓缩而无加热, 添加二乙醚 (100ml) 和水 (100ml)。溶液的 pH 用 5N NaOH 调节至 9.8。水层分离, 溶液的 pH 用 5N HCl 调节至 2.5, 添加乙酸乙酯 (200ml)。将有机层分离、干燥 (MgSO₄), 滤液真空浓缩, 给出一种透明油状物。该油状物溶解在二乙醚 (700ml) 中, 向溶液中添加 (L) - (-) - α - 甲基苄胺。让该溶液在室温静置 5 天。将所生成的固体滤出, 用二乙醚洗涤。滤液用 1.5N 柠檬酸和水洗涤。有机层干燥 (MgSO₄), 滤液蒸发成油状物。将该油状物溶解在二乙醚 (400ml) 中, 在室温静置 (48 小时)。将所生成的固体滤出, 用二乙醚洗涤、干燥, 给出 2-Cbz-D-全氢化-1-异喹啉碳酰-L-脯氨酸 (Cbz-D-l-Piq-Pro-OH) (5.86g ,36%) FAB-MS 415 (MH⁺); [α]_D = -34.2° (C=0.5, MeOH)。

25 B) N-Boc-对 (氨基甲基) 苄腈的制备

在搅拌下, 向氢氧化钠 (4.6g, 115mmol , 60% 油分散液) 的四氢呋喃 (150ml) 悬浮液中添加 4- (溴甲基) 苄腈 (20.5g , 105mmol)。向此混合物中 (通过加料漏斗缓慢) 添加亚氨基二羧酸二叔丁酯 (25g, 115mmol) 溶液。在搅拌 16 小时后, 混合物用二乙醚 (500ml) 稀释, 用水 (250ml) 洗涤 2 次。然后将有机相干燥 (MgSO₄)、过滤、浓缩, 给出 40.2g 粗固体。

然后，将所生成的固体（28.3g, 85mmol）溶解在四氢呋喃（150ml）中，添加氢氧化钠（3.4g, 85mmol）的甲醇（300ml）溶液。搅拌过滤之后，将溶液浓缩至大约一半体积，加水以促进产品沉淀。将沉淀物滤出、真空干燥，给出18.5g(94%)白色固体。

5 IR

^1H NMR

FD-MS, m/e 232 (M^+)

分析 $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$:

计算 C, 67.22; H, 6.94; N, 12.06;

10 实测 C, 67.19; H, 7.16; N, 11.82.

C)P-(BocNHCH₂)C₆H₄C(NH)NHCBz 的制备

用基本上相当于实例 15 - C 所述的那种方法，把 N-Boc-对（氨基甲基）苄腈（32.7g, 140mmol）精心制作成 P - (BocNHCH₂) C₆H₄C(NH) NH₂。将此步骤的残留物溶解在二甲基甲酰胺（700ml）中，
15 添加 N, N - 二异丙基乙胺（72g, 560mmol）。在搅拌下，向此溶液中滴加氯甲酸苄酯（48g, 280mmol）。搅拌 16 小时后，加水（100ml），然后真空脱除溶剂。将残留物分配在水（250ml）和乙酸乙酯（500ml）之间。将两相分离，有机相用饱和氯化铵水溶液（250ml）洗涤 3 次，用水（200ml）洗涤 1 次，用饱和碳酸氢钠水溶液（250ml）洗涤 2 次。
20 然后将有机相干燥（MgSO₄）、过滤、浓缩，产品用二乙醚重结晶，给出 14g（26%）白色固体。

^1H NMR

FD-MS, m/e 384 (M^+)

D)P-H₂NCH₂C₆H₄C(NH)NHCBz · 2HCl 的制备

25 在 0 °C 向 P-(BocNHCH₂)C₆H₄C(NH)NHCBz（11g, 28.7mmol）的二氯甲烷（125ml）溶液中添加茴香醚（10ml），随后添加三氟乙酸（125ml）。搅拌 2 小时后，真空脱除溶剂，将残留物溶解在 1N 盐酸（50ml）中，用二乙醚（50ml）洗涤 2 次。用离子交换树脂（Bio Rad AG1-X8, 碱形式）将 P^H 调节至 3，将该溶液冻干，给出 9.2g(90%)白色粉末。
30

^1H NMR

FD-MS, m/e 284 (M^+)

E) Cbz-1-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Cbz-1-Piq-Pro-OH 和 P-H₂NCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl 制备了 4.4g (79 %) Cbz-1-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 。在这种情况下, 由于溶解度问题, 反应是用 P-H₂NCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl 。在二甲基甲酰胺中进行的。

¹H NMR

FD-MS, m/e 681 (MH⁺)

分析 C₃₉H₄₅N₅O₆

10 计算 C, 68.91; H, 6.67; N, 10.30;

实测 C, 68.71; H, 6.93; N, 10.38,

F) 1-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl 的制备

向 Cbz-1-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz (4.2g, 6.1mmol) 的乙醇 (200ml) 溶液中添加 1N 盐酸 (18.3ml, 18.3mmol) 和水 (100ml) 。在搅拌下向此溶液中添加 5 % Pd/C (1g) , 让氢气通过该溶液鼓泡 2 小时。然后, 该混合物用氮气吹扫, 然后通过一层硅藻土过滤。然后将滤液真空浓缩、重新溶解于水 (25ml) 中, 用 RPHPLC 纯化 (方法 2, 98/2(A/B), 递减至 60/40(A/B), 300 分钟) , 给出 1.3g (53 %) 1-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl 。

20 ¹H NMR

FD-MS, m/e 412 (M⁺)

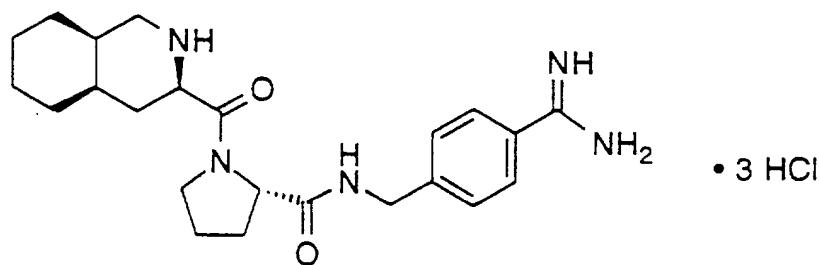
分析 C₂₃H₃₃N₅O₂ · 1.9HCl · 2.5H₂O :

计算 C, 52.53; H, 7.65; N, 13.32; Cl, 12.81 ;

实测 C, 52.63; H, 7.36; N, 13.47; Cl, 12.95 。

25

实例 19



30

D-3-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 3HCl

A) Cbz-D-3-Piq-Pro-OH 的制备

D - 苯丙氨酸 (50g, 302mmol) 与 37 % 甲醛溶液 (120ml) 和浓 HCl (380ml) 回流反应。30 分钟后, 再添加 50ml 甲醛, 反应继续进行 3 小时。让反应混合物冷却到 - 10 °C, 把沉淀物过滤出来。此固体真空干燥, 给出 D - 1,2,3,4 - 四氢 - 3 - 异喹啉羧酸 (24.2g, 45 %), FD - MS 178 (MH⁺)。

D - 1,2,3,4 - 四氢 - 3 - 异喹啉羧酸 (17g, 96mmol) 的水 (200ml) 和 20ml 5N HCl 溶液用 5 % Rh/Al₂O₃ (8.5g) 以 138 巴 (2000psi) 在高压装置中于 120 °C 加氢 16 小时。反应混合物通过一层硅藻土过滤, 滤液冷冻干燥, 给出 D - 全氢化 - 3 - 异喹啉羧酸 (D - 3 - Piq - OH) (21g, 100 %) FD - MS 184 (MH⁺)。

D - 3 - Piq - OH (21.0g, 95.8mmol) 溶解在四氢呋喃 (75ml) 和水 (50ml) 中。溶液的 pH 用 5N NaOH 调节至 10.0, 滴加氯甲酸苄酯 (16.4ml, 115mmol), pH 用 2N NaOH 保持在 9.5。反应混合物在室温又搅拌 1 小时。有机溶剂真空蒸发, 向残留物中添加二乙醚 (100ml) 和水 (50ml)。将水层分离, 溶液的 pH 用 3N HCl 调节至 3.0, 添加乙酸乙酯 (250ml)。将有机层分离、干燥 (MgSO₄)。滤液真空浓缩, 给出 2 - Cbz-D - 全氢化 - 3 - 异喹啉羧酸 (Cbz - D - 3 - Piq - OH) 的透明油状物 (25.8g, 85 %), FD - MS 318 (MH⁺)。

Cbz - D - 3 - Piq - OH (17.2g, 54mmol) 溶解在 DMF (50ml) 中, 冷却至 0 °C。向此反应混合物中添加脯氨酸叔丁酯 (9.2g, 54mmol)、1 - 羟基苯并三唑 (7.3g, 54mmol) 和 DCC (11.1g, 54mmol)。反应混合物在 0 °C 搅拌 3 小时, 在室温搅拌 24 小时。将反应沉淀物滤出, 滤液真空浓缩成油状物。将该油状物溶解在 EtOAc (200ml) 和水 (100ml) 中。将有机层分离, 依次用 1N NaHCO₃、水、1.5N 柠檬酸和水洗涤。将有机层干燥 (MgSO₄), 滤液蒸发成油状物, 干燥后给出 2 - Cbz - D - 全氢化 - 3 - 异喹啉碳酰 - L - 脯氨酸叔丁酯 (Cbz - D - 3 - Piq - Pro - O - t - Bu) (23.8, 94 %) FAB - MS 471 (MH⁺)。

Cbz - D - 3 - Piq - Pro - O - t - Bu (31.2g, 66.3mmol) 放置在一个盛有三氟乙酸 (100ml)、茴香醚 (5ml) 的圆底烧瓶中, 在室

温搅拌 (1 小时)。反应混合物真空浓缩而无加热, 添加二乙醚 (150ml) 和水 (100ml)。溶液的 pH 用 5N NaOH 调节至 9.8。将水层分离, 溶液的 pH 用 3N HCl 调节至 2.8, 添加乙酸乙酯 (200ml)。将有机层分离、干燥 (MgSO₄)、过滤。滤液真空浓缩, 给出一种透明油状物。该油状物溶解在二乙醚 (300ml) 中, 溶液在室温静置 (24 小时)。将所形成的固体滤出、用二乙醚洗涤、干燥, 给出 2 - Cbz - 全氢化 - 3 - 异喹啉碳酰 - L - 脯氨酸 (Cbz - D - 3 - Piq - Pro - OH) (13.5g, 49%) FAB - MS 415 (MH⁺)。

分析 C₂₃H₃₀N₂O₅:

10 计算: C, 66.65; H, 7.29; N, 6.76;

实测: C, 66.90; H, 7.33; N, 6.81。

B) Cbz-D-3-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 的制备

用基本上相当于实例 18 - E 所述的那种方法, 从 Cbz - D - 3 - Piq - Pro - OH 和 P - H₂NCH₂C₆H₄C (NH) NHCbz · 2HCl 制备了 1.6g (49%) Cbz-D-3-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C (NH) NHCbz。

MD-MS, m/e 680 (M⁺)。

C) D-3-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 3HCl 的制备

用基本上相当于实例 17 - C 所述的那种方法, 制备 150mg D - 3 - Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 3HCl。产品用 RPHPLC 纯化 (方法 2, 98/2 (A/B), 递减至 60/40 (A/B), 240 分钟)。

¹H NMR

FD-MS, m/e 412 (M⁺)

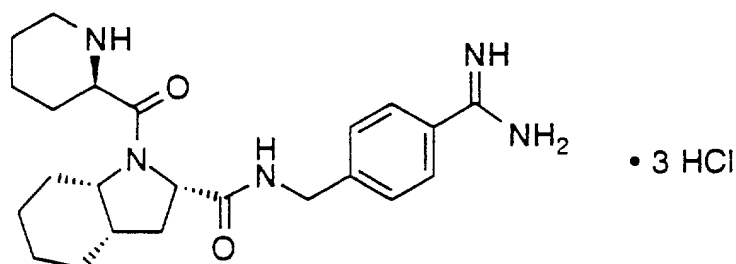
分析 C₂₃H₃₃N₅O₂ · 3HCl · 0.5H₂O:

计算: C, 52.13; H, 7.04; N, 13.22;

25 实测: C, 52.35; H, 7.23; N, 12.95。

实施例 20

30



D-hPro-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 3HCl

((S-顺式)-N[[4-(氨基亚氨基甲基)苯基]甲基]-八氢-1-D-高脯氨酰-1H-吡啶-2-甲酰胺 · 三盐酸盐)

A) Cbz-D-hPro-Ohi-OH 的制备

5 HCl 气体通入正在搅拌的 (S)-二氢吡啶-2-羧酸 (20g, 110mmol) 的乙醇 (500ml) 悬浮液中。当这种酸完全溶解时, 让溶液开始回流。16 小时后, 使溶液冷却, 真空脱除溶剂。残留物用二乙醚研制, 所形成的灰白色固体用过滤法收集、用乙烷洗涤、在 30 °C 的真空烘箱中干燥过夜, 给出 (S)-二氢吡啶-2-羧酸乙酯 · HCl (25.7g, 78%)。

10 将此固体溶解在乙醇 (800ml) 中, 添加 5% Pd/C (25g), 所形成的悬浮液在帕尔摇动器上加氢 8 小时 (4.1 巴, 60psi)。溶液过滤, 真空脱除溶剂。残留物溶解、与二乙醚研制, 用过滤法收集 18.8g(73%) 灰白色固体 (顺式 - Ohi-OEt · HCl)。

用基本上相当于实例 1 - A 所述的那种方法, 从 Cbz-D-hPro-OH 和
15 顺式 - Ohi-OEt · HCl 制备了 13.5 (93%) Cbz - D - hPro - 顺式 - Ohi - OEt

¹H NMR

FD-MS, m/e 442 (M⁺)

分析 C₂₅H₃₄N₂O₅:

20 计算 C, 67.85; H, 7.74; N, 6.33;

实测 C, 67.59; H, 7.72; N, 6.48。

用基本上相当于实例 1 - D 所述的那种方法, 制备了 12.5g (102%) Cbz - D - hPro - 顺式 - Ohi - OH。

¹H NMR

25 FD-MS, m/e 414 (M⁺)

分析 C₂₃H₃₀N₂O₅:

计算 C, 66.65; H, 7.29; N, 6.76;

实测 C, 66.46; H, 7.30; N, 6.86,

B) Cbz-D-hPro-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 的制备

30 用基本上相当于实例 18 - E 所述的那种方法, 从 Cbz - D - hPro - Ohi - OH 和 P-H₂NCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl 制备了 3.3g (67%) Cbz-D-hPro-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz。

^1H NMR

PD - MS, m/e 681 (MH^+)

C) D-hPro-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 3HCl 的制备

用基本上相当于实例 18 - F 所述的那样方法, 制备了 2.2g (66%)

5 D-hPro-Ohi-p-NHCH₂ · C₆H₄C(NH)NH₂ · 3HCl。此产品用 RPHPLC 纯化 (方法 2, 98/2 (A/B), 递减至 60/40 (A/B), 3000 分钟)。

^1H NMR

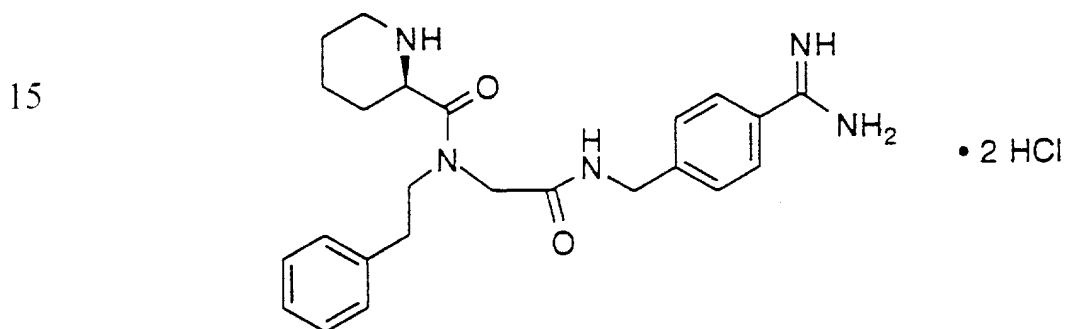
FD-MS, m/e 412 (M^+)

分析 C₂₃H₃₃N₅O₂ · 3HCl · 0.5H₂O

10 计算 C, 52.13; H, 7.04; N, 13.22;

实测 C, 51.98; H, 7.04; N, 13.35。

实施例 21



20

D-hPro-N(PhCH₂CH₂)Gly-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl

(D - 高脯氨酰 - N(α) - (2 - 苯基乙基) - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] 甘氨酸酰胺 · 二盐酸盐)

A) Cbz - D - hPro - N(PhCH₂CH₂)Gly - OH 的制备

25 在 0 °C 向苯乙胺 (58ml, 461mmol) 和三乙胺 (21ml, 154mmol) 的乙醇 (200ml) 溶液中添加溴乙酸叔丁酯 (30g, 154mmol) 的乙醇 (50ml) 溶液, 在一小时内完成。撤去冷浴, 让溶液回升室温。搅拌过夜后, 真空脱除溶剂, 将残留物溶解在 1N 柠檬酸中。该水溶液用二乙醚洗涤 2 次, 用固体碳酸氢钠碱化, 然后用乙酸乙酯 (200ml) 萃取 3 次。

30 合并的乙酸乙酯萃取液干燥 (MgSO₄)、过滤、静置 24 小时。所形成的沉淀物滤出、用二乙醚洗涤、干燥, 给出 10.5g 白色固体。母液浓缩至约 100ml 体积, 然后用二乙醚 (400ml) 稀释。静置 30 分钟后, 将溶液过

滤, 得到另外 23.5g 白色固体, 合计 34g (94 %) N (PhCH₂CH₂) Gly - O - t - Bu。

¹H - NMR

FD - MS, m/e 235 (M⁺)

- 5 用基本上相当于实例 1 - A 所述的那种方法, 从 Cbz - D - hPro - OH 和 N (PhCH₂CH₂) Gly - O - t - Bu 制备了 10.8g (56 %) Cbz - D - hPro - N (PhCH₂CH₂) Gly - O - t - Bu。

¹H NMR

FD-MS, m/e 480 (M⁺)

- 10 分析 C₂₈H₃₆N₂O₅:

计算 C, 69.98; H, 7.55; N, 5.83;

实测 C, 69.68; H, 7.56; N, 5.77。

用基本上相当于实例 18 - A 所述的那种方法, 即 Cbz - DL - 1 - Piq - Pro - O - t-Bu 脱保护, 制备了 9.2g (100 %) Cbz - D - hPro - N (PhCH₂CH₂) Gly - OH。

- 15 ¹H NMR

FD-MS, m/e 425 (M⁺)

分析 C₂₄H₂₈N₂O₅:

计算 C, 67.91; H, 6.65; N, 6.60

- 20 实测 C, 68.19; H, 6.68; N, 6.71

B) Cbz-D-hPro -N(PhCH₂CH₂)Gly-p-NHCH₂-C₆H₄C(NH)NHCBz 的制备

- 用基本上相当于实例 18 - E 所述的那种方法, 从 Cbz - D - hPro - N (PhCH₂CH₂) Gly - OH 和 P - H₂NCH₂C₆H₄C(NH)NHCBz · 2HCl 制备了 3.2g (55 %) Cbz - D - hPro - N (PhCH₂CH₂) Gly - p - HNCH₂C₆H₄C (NH) NHCBz。

¹H NMR

FD-MS, m/e 690 (M⁺)

分析 C₄₀H₄₃N₅O₆:

- 30 计算 C, 69.65; H, 6.28, N, 10.15

实测 C, 69.80; H, 6.46, N, 10.14

C) D-hPro -N(PhCH₂CH₂)Gly-p-NHCH₂-C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl 的制备

用基本上相当于实例 19-F 所述的那种方法, 制备了 770mg (54 %) D-hPro -N(PhCH₂CH₂)Gly-p-NHCH₂-C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl。此产品用 RPHLC 纯化(方法 2, 98/2 (A/B), 递减至 85/15(A/B), 120 分钟)。¹H NMR

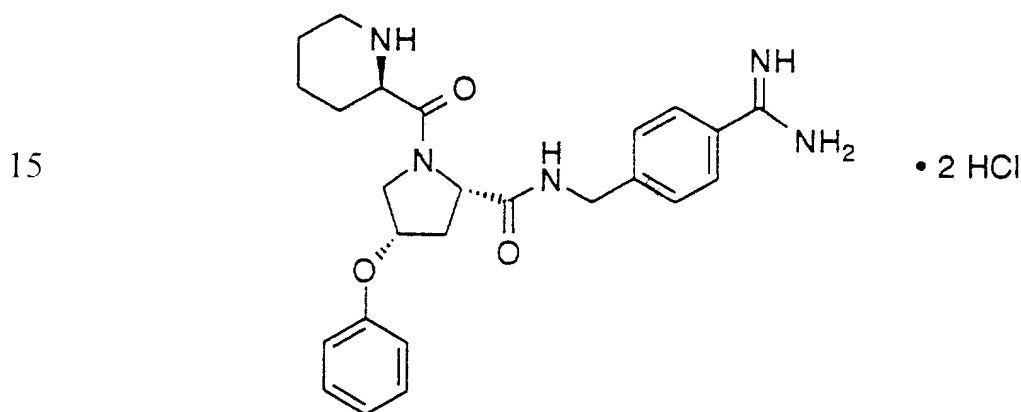
FD-MS, m/e 423 (MH⁺)

分析 C₂₄H₃₁N₅O₂ · 2HCl:

计算 C, 58.30; H, 6.73; N, 14.16;

10 实测 C, 58.05; H, 6.60; N, 14.28。

实施例 22



20 D-hPro -Pro (4-cis-Pho) -p-NHCH₂-C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl

(顺式 - D - 高脯氨酸 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - 4 - 苯氧基 - L - 脯氨酸酰胺 · 二盐酸盐)

A) Cbz-D-hPho -Pro (4-cis-Pho) - OH 的制备

25 在 0 °C 向 Cbz - Pro (4 - 反式 - OH) - Et (58.8g, 200mmol), 三苯膦 (65.6g, 250mmol) 和苯酚 (23.5g, 250mmol) 的四氢呋喃 (500ml) 溶液中, 在 1 小时内滴加偶氮二羧酸二乙酯 (40ml, 250mmol) 的四氢呋喃 (50ml) 溶液。然后撤去冷浴, 让溶液回升到室温 (16 小时)。然后真空脱除溶剂, 剩余的琥珀糖浆状物用二乙醚研制。过滤法除去白色固体, 滤液浓缩。然后, 残留物用硅胶 (1kg) 柱色谱法纯化, 用乙烷直至 1: 1 乙酸乙酯/己烷的步进梯度洗脱。含纯产品的级分 (用 TLC 判断) 合并, 真空浓缩, 给出 36.3g (50 %) 无色糖浆状 Cbz - Pro (4 - 顺式 - 苯氧基) - OEt。

30

¹H NMR

FD-MS, m/e 369 (M⁺)

分析 C₂₁H₂₃NO₅:

计算 C, 68.28; H, 6.28; N, 3.79;

5 实测 C, 68.38; H, 6.30; N, 3.89。

向 Cbz - Pro (4 - 顺式 - 苯氧基) - OEt (25g, 67.7mmol) 的乙醇 (400ml) 溶液中添加 5% Pd/C (5g)。在向该溶液中通入氢气 3 小时之后, 溶液通过一层硅藻土过滤, 添加 3ml 浓盐酸, 将溶液真空浓缩。残留物悬浮在二乙醚中, 猛烈搅拌, 然后过滤、干燥, 给出 14.2g (77%) 白色固体状 Pro (4 - 顺式 - 苯氧基) - OEt · HCl。

¹H NMR

FD-MS, m/e 235 (M⁺)

分析 C₁₃H₁₈NO₃Cl:

计算 C, 57.46; H, 6.68; N, 5.15;

15 实测 C, 57.68; H, 6.78; N, 5.18;

用基本上相当于实例 1 - A 所述的那种方法, 从 Cbz - D - hPro - OH 和 Pro (4 - 顺式 - 苯氧基) - OEt · HCl 制备了 19.4g(100%) Cbz - D - hPro - Pro (4 - 顺式 - 苯氧基) - OEt。

¹H NMR

20 FD-MS, m/e 480 (M⁺)

分析 C₂₇H₃₂N₂O₆:

计算 C, 67.48; H, 6.71; N, 5.83;

实测 C, 67.71; H, 6.79; N, 5.89。

用基本上相当于实例 1 - D 所述的那种方法, 制备了 16g (100%) Cbz - D - hPro - Pro (4 - 顺式 - 苯氧基) - OH。

¹H NMR

FD-MS, m/e 452 (M⁺)

分析 C₂₅H₂₈N₂O₆:

计算 C, 66.36; H, 6.24; N, 6.19;

30 实测 C, 66.22; H, 6.18; N, 6.17。

B) Cbz-D-hPro-Pro-(4 - cis - Pho)-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 的制备

用基本上相当于实例 18 - E 所述的那种方法, 从 Cbz - D - hPro - Pro (4 - cis - Pho) - OH 和 p - H₂NCH₂C₆H₄C (NH) NHCbz · 2HCl 制备了 4.55g (75 %) Cbz-D-hPro -Pro (4 - cis - Pho) - p - NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz。

5 ¹H NMR

FD-MS, m/e 718 (M⁺)

C) D-hPro -Pro(4 - cis-Pho)-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl 的制备用基本上相当于实例 18 - F 所述的那种方法, 制备了 873mg (40 %) D-hPro -Pro(4-Cis-Pho)-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl。此产品用 10 RPHPLC 纯化 (方法 2, 98/2 (A/B), 递减到 85/15 (A/B), 120 分钟)。

¹H NMR

FD-MS, m/e 451 (MH⁺)

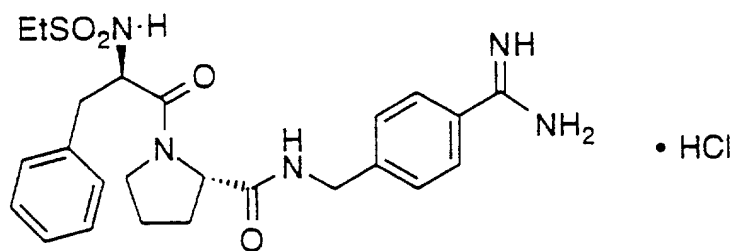
分析 C₂₅H₃₁N₅O₃ · 2HCl:

15 计算 C, 57.47; H, 6.37; N, 13.40;

实测 C, 57.22; H, 6.29; N, 13.47。

实例 23

20



EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C (NH) NH₂ · HCl

25

(N - (乙磺酰) -D-苯丙氨酰-N-[[4-(氨基亚氨基甲基)苯基]甲基]-L-脯氨酸酰胺 · 盐酸盐)

A) p-NH₂CH₂-C₆H₄CN · HCl 的制备

正在 0 °C 搅拌的、 N-Boc-对氨基甲基苄腈 (15g ,64.6mmol) 的乙酸乙酯 (400ml) 溶液中通入 HCl 气体 10 分钟。撤去冷浴, 搅拌 1.5 小时后, 真空脱除溶剂, 将残留物悬浮在二乙醚中、过滤、用二乙醚洗涤、干燥, 给出 10.1g (93 %) 白色固体。

IR

¹H NMR

FD-MS, m/e 132 (M⁺)

分析 C₈H₉N₂Cl:

5 计算: C, 56.98; H, 5.38; N, 16.61; Cl, 21.02;

实测: C, 56.36; H, 5.46; N, 16.22; Cl, 21.31。

B) EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄CN 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 EtSO₂-D-Phe-Pro-OH 和 p-NH₂CH₂-C₆H₄CN · HCl 制备了 1.5g(80%) EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄CN。

IR

¹H NMR

FD-MS, m/e 468 (M⁺)

分析 C₂₄H₂₈N₄O₄S:

15 计算 C, 61.52; H, 6.02; N, 11.90;

实测 C, 61.23; H, 6.13; N, 11.80。

C) EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄C(=NOH)NH₂ · HCl 的制备

向 EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄CN (1g, 2.1mmol) 的绝对乙醇 (35ml) 溶液中添加 N, N - 二异丙基乙胺 (0.47ml, 2.7mmol), 随后添加盐酸羟胺 (185mg, 2.7mmol), 使溶液开始回流。16 小时后, 使溶液冷却、真空脱除溶剂。此物料取 250mg 继续进行下一步, 其余部分用 RPHPLC 纯化(方法 1, 90/10 (A/B); 在 200 分钟内递减至 60/60 (A/B))。

IR

25 ¹H NMR

FD-MS, m/e 501 (M⁺)

分析 C₂₄H₃₁N₅O₅S · 1.2HCl · H₂O:

计算 C, 51.17; H, 6.12; N, 12.42; Cl, 7.55;

实测 C, 51.04; H, 5.81; N, 12.39; Cl, 7.18。

30 D) EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl 的制备

向 EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄C(=NOH)NH₂ · HCl (250mg, 0.52mmol) 的乙醇 (40ml) 和水 (19ml) 溶液中添加 1N HCl (1ml),

随后添加 5 % Pd/C (250mg)。这种搅拌的悬浮液在氢气氛下放置 18 小时, 然后过滤、浓缩、用 RPHPLC 纯化 (方法 1, 90/10 (A/B) , 在 200 分钟内递减至 60/40 (A/B)) , 给出 140mg (52 %) EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl。

5 ¹H NMR

FD - MS, m/e 486 (M⁺)

分析 C₂₄H₃₁N₅O₄S · HCl · 1.5H₂O :

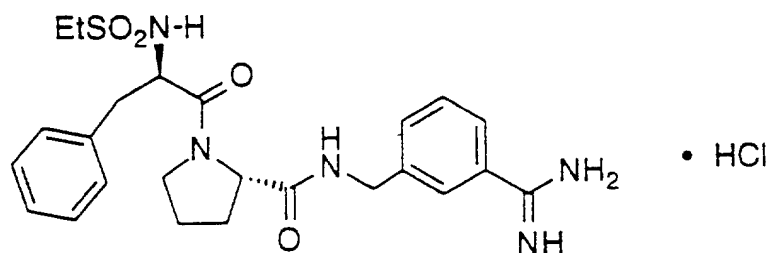
计算: C, 52.50; H, 6.42; N, 12.75;

实测: C, 52.56; H, 6.19; N, 12.59。

10 另 5g 产品用实例 15 所述的方法制备, 用 RPHPLC 纯化 (方法 3 ; 98/2 (A/B) , 60 分钟, 在 300 分钟内递减至 60/40 (A/B)) 。

实例 24

15



EtSO₂-D-Phe-Pro-m-NHCH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl

20 A) EtSO₂-D-Phe-Pro-m-NHCH₂-C₆H₄C(=NOH)NH₂ 的制备

用基本上相当于实例 23 所述的那些方法, 用 m-BrCH₂-C₆H₄CN 代替 p-BrCH₂-C₆H₄CN, 制备了 EtSO₂-D-Phe-Pro-mNHCH₂-C₆H₄C(=NOH)NH₂。此结晶中间体的 140mg (13 %) 予以保留, 其余部分继续进行步骤 B。

¹H NMR

25 FD - MS, m/e 502 (M⁺)

分析 C₂₄H₃₁N₅O₅S :

计算: C, 57.47; H, 6.23; N, 13.96;

实测: C, 57.28; H, 6.21; N, 13.66。

B) EtSO₂-D-Phe-Pro-m-NHCH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl 的制备

30 用基本上相当于实例 23 - C 和 23 - D 所述的那种方法, 制备了 0.27g (28 % , 2 步) EtSO₂-D-Phe-Pro-m-NHCH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl。

¹H NMR

FD - MS, m/e 486 (M⁺)

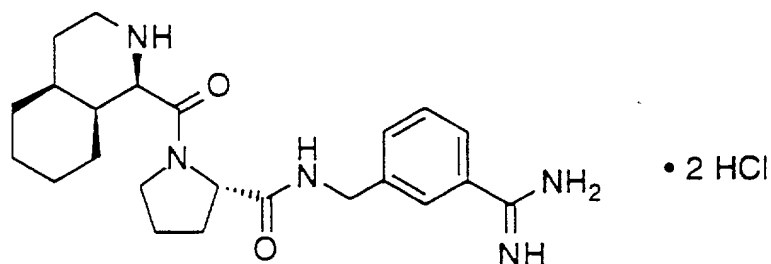
分析 C₂₄H₃₁N₅O₄S · 1.1HCl · 2H₂O:

计算: C, 51.32; H, 6.48; N, 12.47; Cl, 6.94;

5 实测: C, 51.33; H, 6.09; N, 12.20; Cl, 6.66。

实例 25

10



D-1-Piq-Pro-m-NHCH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl

15

用基本上相当于实例 23 所述的那种方法, 从 Cbz-D-1-Piq-Pro-OH 和 m - NH₂CH₂ - C₆H₄CN · HCl 制备了 0.86g D - 1 - Piq - Pro-m-NHCH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl。

¹H NMR

20 FD - MS, m/e 412 (M⁺)

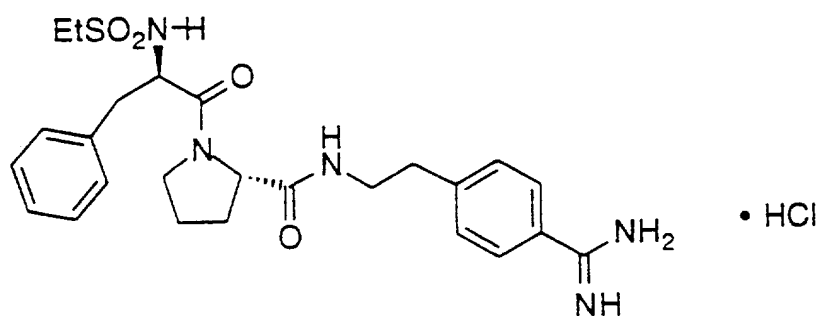
分析 C₂₃H₃₃N₅O₂ · 2.5HCl · 0.5H₂O:

计算: C, 53.99; H, 7.19; N, 13.69;

实测: C, 54.19; H, 7.02; N, 13.81。

实例 26

25



30

EtSO₂-D-Phe-Pro- p-NHCH₂CH₂-C₆H₄C(=NOH)NH₂ · HCl

A) 对氰基-反式-肉桂酸甲酯的制备

在 0 °C 搅拌下, 向 NaH (6.1g 60 % 油悬浮液, 153mmol) 和对氰基苯甲醛 (20g, 153mmol) 的四氢呋喃 (250ml) 悬浮液中, 通过加料漏斗添加磷酸乙酸三甲酯 (28g, 153mmol) 的四氢呋喃 (50ml) 溶液。搅拌 48 小时后, 真空脱除溶剂, 粗残留物溶解在乙酸乙酯 (500ml) 中。乙酸乙酯溶液用水洗涤 1 次, 用饱和 NaHSO₃ 水溶液洗涤 3 次, 用盐水洗涤 1 次。然后, 有机相用 MgSO₄ 干燥、过滤、真空浓缩, 给出 28g (98 %) 白色固体。

IR

10 ¹H NMR

FD - MS, m/e 187 (M⁺)

B) 对氰基-二氢肉桂酸甲酯的制备

向对氰基-反式-肉桂酸甲酯 (13.6g, 73mmol) 的甲苯 (485ml) 溶液中添加 5 % Pd/ BaSO₄ (2.7g)。在 4 巴 (60 psi) 的氢气下 9 小时后, 将溶液过滤、真空浓缩、硅胶柱色谱法纯化, 用己烷直至 30 % 乙酸乙酯/己烷的步进梯度洗脱。含产品的级分合并、浓缩, 给出 10.6g (77 %) 无色油状物。

IR

¹H NMR

20 FD - MS, m/e 189 (M⁺)

C) 对氰基-二氢肉桂酸的制备

用基本上相当于实例 1 - D 所述的那种方法, 利用 1.1 当量 LiOH · H₂O, 从对氰基-二氢肉桂酸甲酯制备 5.1g (58%) 对氰基-二氢肉桂酸。

25 IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 175 (M⁺)

D) Boc-p-NHCH₂CH₂-C₆H₄CN 的制备

向对氰基-二氢肉桂酸 (6.7g, 38.2mmol) 和三乙胺 (5.9ml, 42mmol) 的叔丁醇 (150ml) 溶液中添加二苯基磷酰叠氮 (11.6g, 42mmol), 使溶液开始回流。搅拌过夜后, 使溶液冷却, 真空脱除溶剂。残留物溶解在乙酸乙酯中, 用 1N 柠檬酸洗涤 3 次, 用盐水洗涤 1 次, 用

饱和 NaHCO_3 水溶液洗涤 2 次, 然后干燥 (MgSO_4)、过滤、真空浓缩。然后, 残留物用硅胶柱色谱法纯化, 以 10 % 乙酸乙酯/己烷直到 50 % 乙酸乙酯/己烷洗脱。用 TLC 判断的含产品级分合并、浓缩, 给出 5.4g (57 %) 白色固体。

5 IR

^1H NMR

FD - MS, m/e 246 (M^+)

分析 $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$:

计算: C, 68.27; H, 7.37; N, 11.37;

10 实测: C, 68.39; H, 7.50; N, 11.40.

E) $p\text{-NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN} \cdot \text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 23 - A 所述的那些方法, 制备了 3.6g (98 %) $p\text{-NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN} \cdot \text{HCl}$ 。

^1H NMR

15 FD - MS, m/e 147 (MH^+)

分析 $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Cl}$:

计算: C, 59.18; H, 6.07; N, 15.34; Cl, 19.41;

实测: C, 58.90; H, 6.16; N, 15.20; Cl, 19.30.

F) $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-}p\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN}$ 的制备

20 用基本上相当于实例 1 - G 所述的那些方法, 从 $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-OH}$ 和 $p\text{-NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN} \cdot \text{HCl}$ 制备了 1.5g $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-}p\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN}$ 。

IR

^1H NMR

25 FD - MS, m/e 482 (M^+)

G) $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-}p\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NOH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备

30 在搅拌下, 向 $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-}p\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN}$ (1g, 2.07mmol) 和 N,N -二异丙基乙胺 (0.45ml, 2.59mmol) 的溶液中添加盐酸羟胺 (180mg, 2.59mmol), 使溶液开始回流。18 小时后, 让溶液冷却、真空脱除溶剂、残留物溶解在乙酸(15ml)中, 用 RPHPLC 纯化(方法 2, 90/10(A/B); 在 200 分钟内递减至 60/40(A/B))。用分析型 RPHPLC

确定的、含有纯 $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-p-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NOH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的级分合并，像以上所述那样调节 pH、冻干，给出 0.35g(31%) $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-p-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NOH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

$^1\text{H NMR}$

5 FD - MS, m/e 516 (M^+)

分析 $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_5\text{S} \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 52.67; H, 6.36; N, 12.28; Cl, 6.22;

实测: C, 52.40; H, 6.10; N, 12.25; Cl, 6.51.

10 H) $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-p-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备用基本上相当于实例 23 - D 所述的那种方法，从 $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-p-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NOH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 制备了 0.098g (50%) $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-p-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

$^1\text{H NMR}$

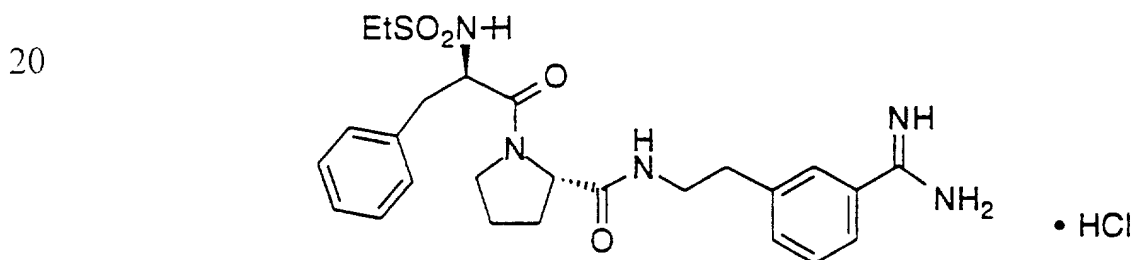
FD - MS, m/e 500 (M^+)

15 分析 $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_4\text{S} \cdot 2.6\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 49.03; H, 6.19; N, 11.44;

实测: C, 48.87; H, 5.79; N, 11.15.

实例 27



25

$\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-m-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$

A) $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-m-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NOH)NH}_2$ 的制备

用基本上相当于实例 26 - A 至 26 - E 和 24 - A 所述的那些方法，从间氰基苯甲醛制备了 0.15g $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-m-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NOH)NH}_2$ 。

30

$^1\text{H NMR}$

FD - MS, m/e 516 (M^+)

分析 $C_{25}H_{33}N_5O_5S$:

计算: C, 58.23; H, 6.45; N, 13.50;

实测: C, 57.99; H, 6.57; N, 13.28.

5 B) EtSO₂-D-Phe-Pro- m-NHCH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl 的制备用基本上相当于 24 - B 所述的那种方法, 从 EtSO₂-D-Phe-Pro- m-NHCH₂CH₂-C₆H₄C(=NOH)NH₂ 制备了 0.21g (20 %) EtSO₂-D-Phe-Pro- m-NHCH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl。

¹H NMR

FD - MS, m/e 500 (M⁺)

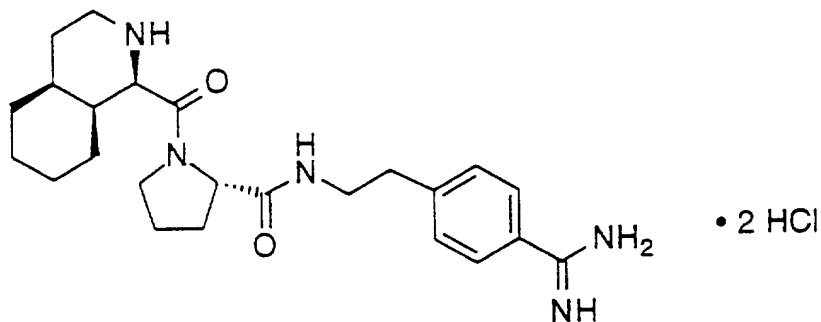
10 分析 $C_{25}H_{33}N_5O_4S \cdot 2.1HCl \cdot 0.7H_2O$

计算: C, 51.00; H, 6.25; N, 11.89;

实测: C, 50.79; H, 5.86; N, 11.54.

实例 28

15



20

D-1-Piq-Pro-p-NHCH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · 2HCl

用基本上相当于实例 23 所述的那种方法, 从 Cbz-D-1-Piq-Pro-OH 和 p-NH₂CH₂CH₂-C₆H₄CN · HCl 制备了 0.85g l-Piq-Pro- p-NHCH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · 2HCl。

25

¹H NMR

FD - MS, m/e 426 (M⁺)

分析 $C_{24}H_{35}N_5O_2 \cdot 2HCl \cdot 2H_2O$:

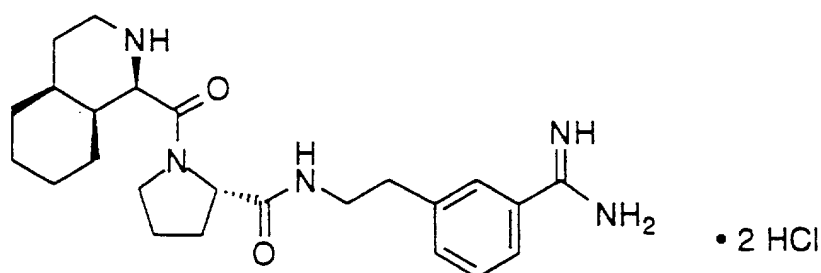
计算: C, 53.93; H, 7.73; N, 13.10;

30

实测: C, 53.94; H, 7.60; N, 13.06.

实例 29

5



D-1-Piq-Pro-m-NHCH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · 2HCl

10 用基本上相当于实例 23 所述的那种方法, 从 Cbz-D-1-Piq-Pro-OH 和 m-NH₂CH₂CH₂-C₆H₄CN · HCl 制备了 0.8g l-Piq-Pro- m-NHCH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · 2HCl。

¹H NMR

FD - MS, m/e 426 (M⁺)

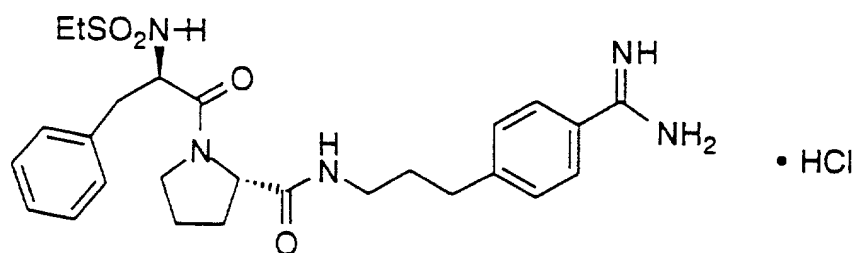
15 分析 C₂₄H₃₅N₅O₂ · 2HCl · 2H₂O:

计算: C, 53.93; H, 7.73; N, 13.10;

实测: C, 53.62; H, 7.57; N, 13.18.

实例 30

20



25

EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl

A) p-HOCH₂CH₂CH₂-C₆H₄CN 的制备

30 在搅拌下, 向对氰基-二氢肉桂酸甲酯 (10g, 53mmol) 的四氢呋喃 (150ml) 溶液中添加 LiBH₄ (1.15g, 53mmol), 溶液加热回流。2 小时后, 将溶液冷却, 滴加磷酸钠缓冲剂 (pH 7)。气体释放完成后, 添加乙酸乙酯和水, 将两层分离。水相用乙酸乙酯萃取 1 次, 合并的乙

酸乙酯相用盐水洗涤，然后用 MgSO_4 干燥，过滤。浓缩，给出 8.1g (95 %) 粘稠无色油状物。

IR

^1H NMR

5 FD - MS, m/e 161 (M^+)

B) $\text{p-BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN}$ 的制备

在搅拌下，向 $\text{p-HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN}$ (8.1g, 50mmol) 的四氢呋喃 (100ml) 溶液中添加三苯膦 (14.4g, 55mmol)，随后添加四溴化碳 (18.2g, 55mmol)。搅拌 18 小时后，真空脱除溶剂，残留物用硅胶柱
10 色谱法纯化，以己烷直至 20 % 乙酸乙酯/己烷的步进梯度洗脱。用 TLC 判断的含产品级分合并、浓缩，给出 7.3g (65 %) 粘稠无色油状物。

IR

^1H NMR

FD - MS, m/e 223 (M^+)

15 分析 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{BrN}$:

计算: C, 53.60; H, 4.50; N, 6.25;

实测: C, 53.90; H, 4.67; N, 6.24.

C) $\text{p-Boc}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN}$ 的制备

在搅拌下，向 NaH (1.4g 60 % 油分散液, 34mmol) 的 DMF
20 (100ml) 悬浮液中，通过加料漏斗滴加亚氨基二羧酸二叔丁酯 (7.4g, 34mmol) 的 DMF (20ml) 溶液。气体释放完成后，通过加料漏斗添加 $\text{p-BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{CN}$ (7g, 31mmol) 的 DMF 溶液，把溶液加热到 70 °C。搅拌 12 小时后，将溶液冷却、真空脱除溶剂。残留物溶解在二乙醚中，用水洗涤 3 次。有机相用 MgSO_4 干燥、过滤、浓缩，残留物用硅胶柱
25 色谱法纯化，以己烷直至 20 % 乙酸乙酯/己烷洗脱。含产品的级分合并、浓缩，给出 9.38g (84 %) 白色固体。

IR

^1H NMR

FD - MS, m/e 361 (M^+)

30 分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$:

计算: C, 66.64; H, 7.83; N, 7.77;

实测: C, 66.40; H, 7.81; N, 7.57.

D) p-NH₂CH₂CH₂CH₂-C₆H₄CN · HCl 的制备

用基本上相当于实例 23 - A 所述的那种方法, 制备了 4.3g (84 %)
p-NH₂CH₂CH₂CH₂-C₆H₄CN · HCl。

IR

5 ¹H NMR

FD - MS, m/e 160 (M⁺)

E) EtSO₂-D-Phe-Pro- p-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NOH)NH₂ · HCl 的
的制备

用基本上相当于实例 1-G 和 26-G 所述的那些方法, 从 EtSO₂-D-
10 Phe-Pro- OH 和 p-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄CN · HCl 制备了 0.32g EtSO₂-D-
Phe-Pro- p-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NOH)NH₂ · HCl。

¹H NMR

FD - MS, m/e 530 (M⁺)

分析 C₂₆H₃₅N₅O₅S · 1.2HCl · H₂O:

15 计算: C, 52.88; H, 6.51; N, 11.84;

实测: C, 52.71; H, 6.26; N, 11.76.

F) EtSO₂-D-Phe-Pro- p-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl 的制
备

用基本上相当于实例 23 - D 所述的那种方法, 从 EtSO₂-D-Phe-Pro-
20 p-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NOH)NH₂ · HCl 制备了 0.13g (67 %)
EtSO₂-D-Phe-Pro- p-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl。

¹H NMR

FD - MS, m/e 514 (M⁺)

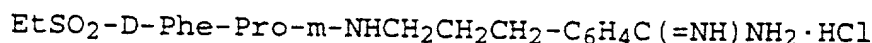
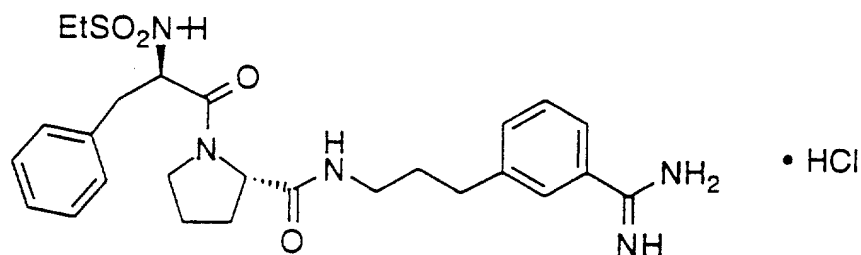
分析 C₂₆H₃₅N₅O₄S · 1.5HCl · 2H₂O:

25 计算: C, 51.67; H, 6.75; N, 11.59;

实测: C, 51.36; H, 6.46; N, 11.28.

30

实例 31



10 A) $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-m-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NOH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$
的制备

用基本上相当于实例 1 - G 和 26 - G 所述的那些方法, 从间氰基 - 二氢肉桂酸制备了 0.32g $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-m-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NOH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

15 ^1H NMR

FD - MS, m/e 530 (M^+)

分析 $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_5\text{S} \cdot \text{HCl} \cdot 1.1\text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 53.30; H, 6.57; N, 11.95; Cl, 6.05;

实测: C, 52.97; H, 6.19; N, 11.96; Cl, 6.13.

20 B) $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-m-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 23 - D 所述的那种方法, 从 $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-m-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NOH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 制备了 0.12g (62%) $\text{EtSO}_2\text{-D-Phe-Pro-m-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C(=NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

25 ^1H NMR

FD - MS, m/e 514 (M^+)

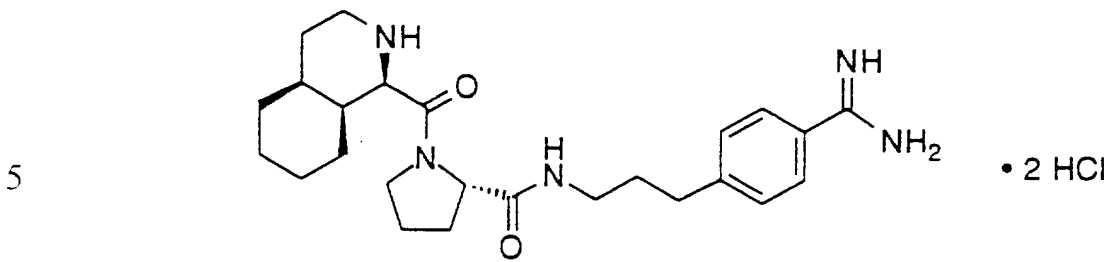
分析 $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_4\text{S} \cdot 1.5\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 53.26; H, 6.62; N, 11.94;

实测: C, 53.19; H, 6.25; N, 12.00.

30

实例 32



1-Piq-Pro-p-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · 2HCl

10 用基本上相当于实例 23 所述的那种方法, 从 1 - Piq - Pro - OH 和 p-NH₂CH₂CH₂CH₂-C₆H₄CN · HCl 制备了 0.66g (48 %) 1-Piq-Pro-p-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl 。

¹H NMR

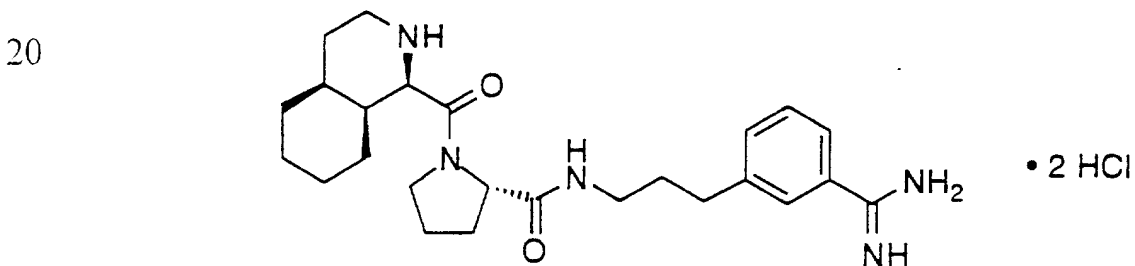
FD - MS, m/e 440 (M⁺)

15 分析 C₂₅H₃₇N₅O₂ · 2.1HCl · H₂O:

计算: C, 56.21; H, 7.75; N, 13.11;

实测: C, 56.36; H, 7.44; N, 12.79.

实例 33



25 1-Piq-Pro-m-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · 2HCl

用基本上相当于实例 23 所述的那种方法, 从 1 - Piq - Pro - OH 和 m-NH₂CH₂CH₂CH₂-C₆H₄CN · HCl 制备了 0.64g (46 %) 1-Piq-Pro-m-NHCH₂CH₂CH₂-C₆H₄C(=NH)NH₂ · HCl 。

30 ¹H NMR

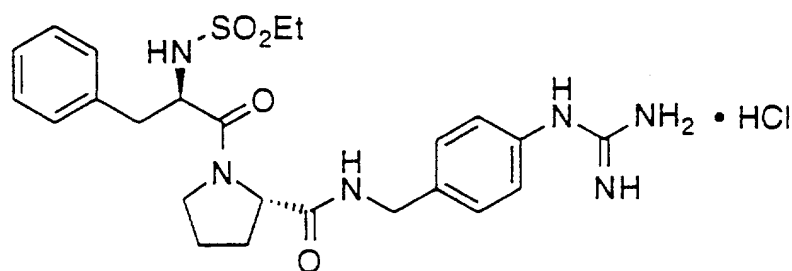
FD - MS, m/e 440 (M⁺)

分析 $C_{25}H_{37}N_5O_2 \cdot 2HCl \cdot H_2O$:

计算: C, 56.60; H, 7.79; N, 13.20;

实测: C, 56.92; H, 7.55; N, 13.26.

实例 34



EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · HCl

A) Boc-p-NHCH₂C₆H₄NO₂ 的制备

在搅拌下, 向 4-硝基苄胺盐酸盐 (15g, 79mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (14ml, 79mmol) 的二氯甲烷 (200ml) 溶液中添加草酸二叔丁酯 (17g, 79mmol)。48 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物溶解在乙酸乙酯 (500ml) 中, 用 1M 柠檬酸洗涤 2 次, 用水洗涤 1 次, 用饱和 NaHCO₃ 水溶液洗涤 1 次。有机相用 MgSO₄ 干燥、过滤、真空浓缩, 给出一种灰白色固体, 后者用氯仿/己烷重结晶。将三茬晶体合并、用己烷洗涤、真空干燥, 给出 11.5g (58%) 灰白色固体。

IR

¹H NMR

FD-MS, m/e 252 (M⁺)

分析 C₁₂H₁₆N₂O₄:

计算: C, 57.13; H, 6.39; N, 11.10;

实测: C, 57.27; H, 6.60; N, 11.13.

B) p-BocNHCH₂C₆H₄NH₂ 的制备

在 0 °C 搅拌下, 向 p-BocNHCH₂C₆H₄NO₂ (7.5g, 29.7mmol) 和 NiCl₂ · 6H₂O (17.7g, 74.3mmol) 的甲醇 (150ml) 溶液中, 在 30 分钟内分若干小批添加 NaBH₄ (5.6g, 149mmol)。NaBH₄ 添加完成之后 15 分钟, 使溶液真空蒸发, 残留物溶解在浓氢氧化铵中, 用二氯甲烷萃取 2 次。合并的有机萃取物用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥、过滤、真空浓缩,

给出 6.4g (97 %) 白色固体。

IR

^1H NMR

FD - MS, m/e 222 (M^+)

5 分析 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$:

计算: C, 64.84; H, 8.16; N, 12.60;

实测: C, 65.10; H, 8.42; N, 12.76.

C) $\text{N,N}'$ - 二 Cbz - S - 甲基异硫脲的制备

10 在搅拌下, 向二 - S - 甲基异硫脲硫酸盐 (20g, 144mmol) 的二氯甲烷(200ml)悬浮液中添加 5N 氢氧化钠 (16ml)。使溶液冷却到 0 °C, 滴加氯甲酸苄酯 (41ml, 288mmol)。同时, 以能使溶液的 pH 保持在大约 11 的速率添加 2N 氢氧化钠。然后撤去冷浴, 回升到室温后, 将两相分离, 水相用二氯甲烷 (250ml) 萃取。然后, 合并的有机相用 0.1N HCl (250ml) 洗涤 2 次、用盐水 (250ml) 洗涤 1 次。然后, 有机相用 MgSO_4 干燥、过滤、真空浓缩, 给出 41g (79 %) 粘稠无色糖浆状物。

^1H NMR

D) p-BocNHCH₂C₆H₄NHC(NCbz)NHCbz 的制备

20 在搅拌下, 向 p-BocNHCH₂C₆H₄NH₂ (5g, 22.5mmol) 的四氢呋喃 (50ml) 溶液中添加 $\text{N,N}'$ - 二 Cbz - S - 甲基异硫脲 (8.9g, 24.7mmol)。48 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物溶解在氯仿中, 添加硅胶, 真空脱除溶剂, 给出一种灰白色粉末, 然后将其干装填到硅胶柱上。然后, 该柱以 5 % 乙酸乙酯/己烷直至 30 % 乙酸乙酯/己烷的步进梯度洗脱。含产品的级分(用 TLC 确定)合并、真空浓缩, 给出 7.6g(63 %) 白色固体。

25 IR

^1H NMR

FD - MS, m/e 532 (M^+)

分析 $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_6$:

计算: C, 65.40; H, 6.06; N, 10.52;

30 实测: C, 65.66; H, 6.35; N, 10.59.

E) HCl · p-NH₂CH₂C₆H₄NHC(NCbz)NHCbz 的制备

用基本上相当于实例 23 - A 所述的那种方法, 从 p-

BocNHCH₂C₆H₄NHC(NCbz)NHCbz 制备 4.7g (89 %) 白色固体状
HCl · p-NH₂CH₂C₆H₄NHC(NCbz)NHCbz。

IR

¹H NMR

5 FD - MS, m/e 433 (MH⁺)

F) EtSO₂-D-Phe-Pro- p-NHCH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · HCl 的制备
用基本上相当于实例 1 - G 和实例 18 - F 所述的那些方法, 从
EtSO₂-D-Phe-ProOH 和 HCl · p-NH₂CH₂C₆H₄NHC(NCbz)NHCbz 制备了
1.1g EtSO₂-D-Phe-Pro- p-NHCH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · HCl 。

10 IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 501 (M⁺)

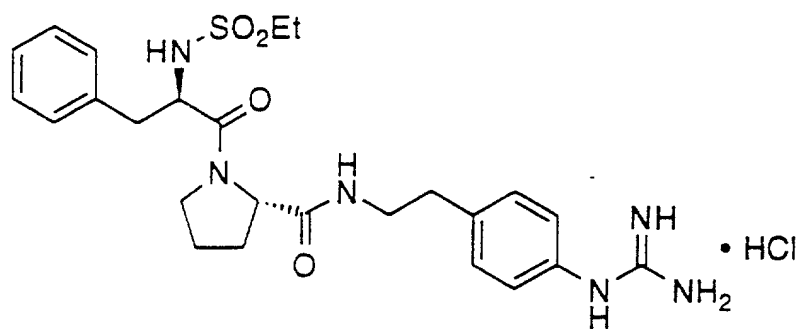
分析 C₂₄H₃₂N₆O₄S · HCl · H₂O:

计算: C, 51.73; H, 6.36; N, 15.14;

15 实测: C, 52.32; H, 5.99; N, 14.79.

实例 35

20



EtSO₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂CH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · HCl

25

用基本上相当于实例 34 所述的那些方法, 从 4 - 硝基苯乙胺 · HCl
制备 1.8g EtSO₂-D-Phe-Pro- p-NHCH₂CH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · HCl 。

IR

¹H NMR

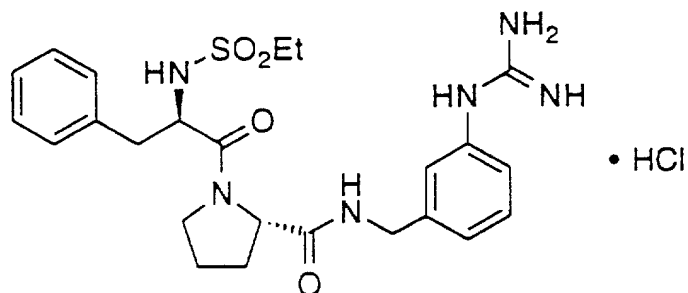
30 FD - MS, m/e 515 (MH⁺)

HRMS (FAB), m/e 计算 C₂₅H₃₅N₆O₄S: 515.2441

实测: 515.2483 。

实例 36

5



10 用基本上相当于实例 30 - C 和 34 - B 直至 34 - F 所述的那些方法，从 3 - 硝基苄基溴制备了 1.8g EtSO₂-D-Phe-Pro-m-NHCH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · HCl。

IR

¹H NMR

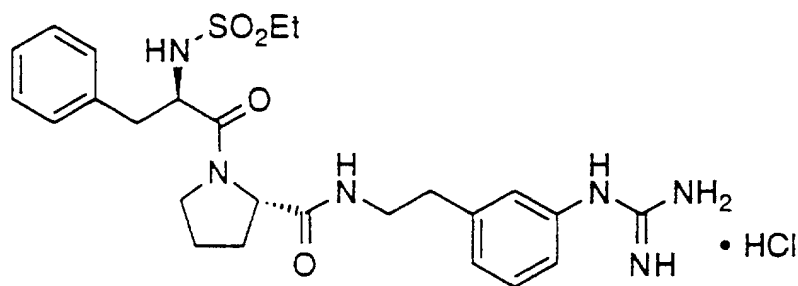
15 FD - MS, m/e 501 (MH⁺)

HRMS (FAB), m/e 计算 C₂₄H₃₃N₆O₄S: 501.2284

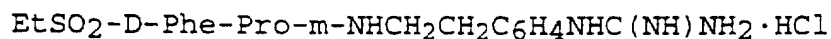
实测: 501.2280。

实例 37

20



25



用基本上相当于实例 26-D、26-B(用 5% Pd/C 代替 Pd/BaSO₄,用乙酸乙酯代替甲苯)和 34-D 直至 34-F 所述的那些方法，从 3-硝基肉桂酸制备了 0.85g EtSO₂-D-Phe-Pro-m-NHCH₂CH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · HCl。

30 ¹H NMR

FD - MS, m/e 515 (MH⁺)

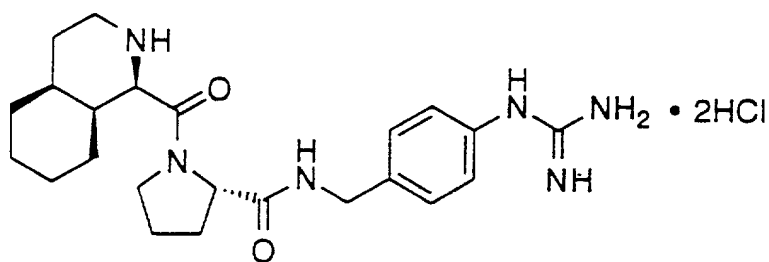
分析 $C_{25}H_{34}N_6O_4S \cdot 2.2HCl \cdot 0.5H_2O$:

计算: C, 49.73; H, 6.21; N, 13.92;

实测: C, 49.45; H, 5.82; N, 13.55.

实例 38

5



10

D-1-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · 2HCl

用基本上相当于实例 34 所述的那些方法, 制备了 0.94g D-1-Piq-Pro-p-NHCH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · 2HCl。最终产品用 RPHPLC 纯化(方法 2, 98/2 (A/B), 递减至 70/30 (A/B), 180 分钟)。

15

¹H NMR

FD - MS, m/e 427 (MH⁺)

分析 $C_{23}H_{34}N_6O_2 \cdot 2HCl$:

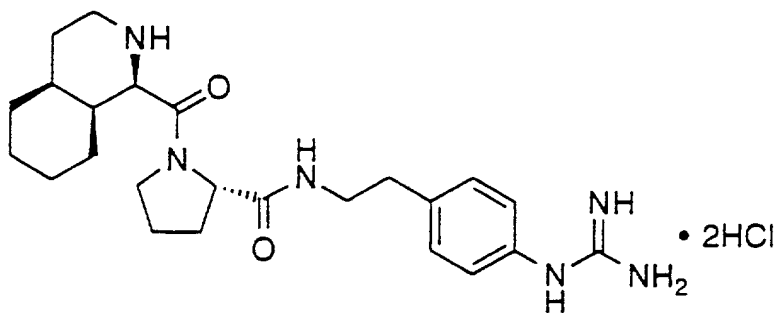
计算: C, 55.31; H, 7.26; N, 16.82; Cl, 14.20;

20

实测: C, 55.05; H, 7.23; N, 16.55; Cl, 14.24.

实例 39

25



D-1-Piq-Pro-p-NHCH₂CH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · 2HCl

30

用基本上相当于实例 35 所述的那些方法, 制备了 1.03g D-1-Piq-Pro-p-NHCH₂CH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · 2HCl。最终产品用 RPHPLC 纯化

(方法 2, 98/2(A/B), 递减至 70/30(A/B), 180 分钟)。

^1H NMR

FD - MS, m/e 441 (M^+)

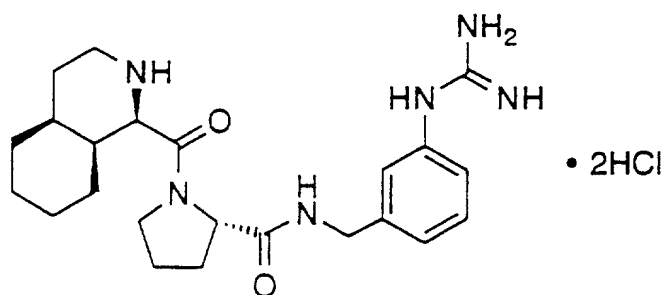
分析 $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$:

5 计算: C, 53.33; H, 7.65; N, 15.55; Cl, 13.12;

实测: C, 53.41; H, 7.45; N, 15.37; Cl, 13.48.

实例 40

10



15 D-1-Piq-Pro-m-NHCH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · 2HCl

用基本上相当于实例 36 所述的那些方法, 制备了 1.04g D-1-Piq-Pro-m-NHCH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · 2HCl。最终产品用 RPHPLC 纯化(方法 2, 98/2(A/B), 递减至 70/30(A/B), 180 分钟)。

^1H NMR

20 FD - MS, m/e 427 (M^+)

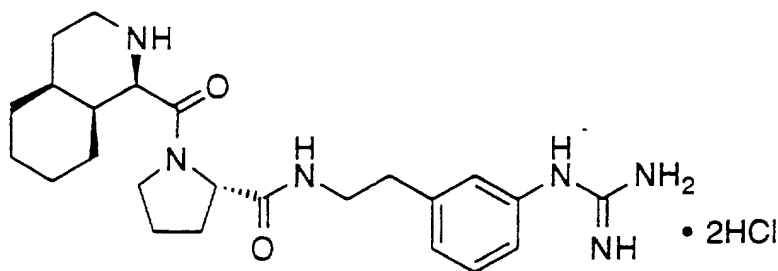
分析 $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 53.38; H, 7.40; N, 16.24; Cl, 13.70;

实测: C, 53.25; H, 7.50; N, 16.23; Cl, 13.88.

实例 41

25



30

D-1-Piq-Pro-m-NHCH₂CH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · 2HCl

用基本上相当于实例 37 所述的那些方法, 制备了 0.96g D-l-Piq-Pro-m- NHCH₂CH₂C₆H₄NHC(NH)NH₂ · 2HCl。最终产品用 RPHPLC 纯化 (方法 2, 98/2(A/B), 递减至 70/30(A/B), 180 分钟)。

¹H NMR

5 FD - MS, m/e 441 (M⁺)

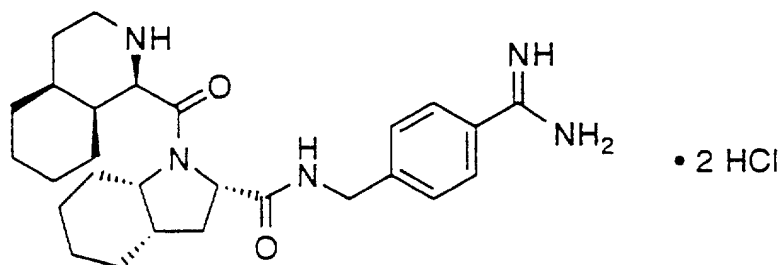
分析 C₂₄H₃₆N₆O₂ · 2.1HCl · 1.5H₂O:

计算: C, 52.97; H, 7.61; N, 15.44; Cl, 13.68;

实测: C, 52.80; H, 7.57; N, 15.46; Cl, 13.35.

实例 42

10



15

D-1-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl

A) Cbz-DL-l-Piq-cis-Ohi-OEt 的制备

用基本上相当于实例 1 - A 所述的那种方法, 从 Cbz-DL-l-Piq-OH
20 和 cis-Ohi-OEt · HCl 制备了 16.6g(100 %) Cbz-DL-l-Piq-cis-Ohi-OEt。

¹H NMR

FD - MS, m/e 496 (M⁺)

分析 C₂₉H₄₀N₂O₅:

25 计算: C, 70.13; H, 8.12; N, 5.64;

实测: C, 69.96; H, 8.23; N, 5.73.

B) Cbz-D-l-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 的制备

用基本上相当于实例 1 - D 和 18-E 所述的那些方法, 从 Cbz-D, L-
l-Piq-Pro-OH 和 p-H₂NCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl 制备了 Cbz-D-l-Piq-
30 cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 和 Cbz-L-l-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C
(NH)NHCbz。这些非对映体用硅胶柱色谱法分离, 利用乙酸乙酯/己烷
梯度洗脱。含前导非对映体的级分 (R_f = 0.31, 乙酸乙酯) 合并、浓缩,

给出 1.3g Cbz-L-l-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz。含拖尾非对映体的级分 (Rf = 0.19, 乙酸乙酯) 合并、浓缩, 给出 1.5g 白色泡沫状 Cbz-D-l-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz。

¹H NMR

5 FD - MS, m/e 735 (MH⁺)

分析 C₄₃H₅₁N₅O₆:

计算: C, 70.37; H, 7.00; N, 9.54;

实测: C, 70.20; H, 7.22; N, 9.36.

C) D-l-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl 的制备

10 用基本上相当于实例 18 - F 所述的那种方法, 从 Cbz-D-l-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 制备了 0.61g (63 %) D-l-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl。这种情况下使用的 HPLC 梯度是在 120 分钟内从 98/2 (A/B) 递减至 70/30 (A/B)。

¹H NMR

15 FAB-MS, m/e 466.4 (MH⁺)

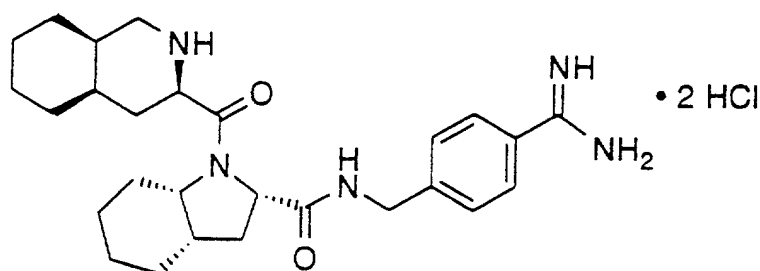
分析 C₂₇H₃₉N₅O₂ · 2HCl · 1H₂O:

计算: C, 58.27; H, 7.79; N, 12.58;

实测: C, 58.66; H, 7.56; N, 12.78.

实例 43

20



25

D-3-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl

A) D-3-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl 的制备

30 用基本上相当于实例 1 - A、1 - D、18 - E 和 18 - F 所述的那些方法, 制备了 1.3g 3-Piq-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl。这种情况下使用的 HPLC 梯度是在 120 分钟内从 98/2 (A/B) 递减至 70/30 (A/B)。

^1H NMR

FAB-MS, m/e 466.4 (MH^+)

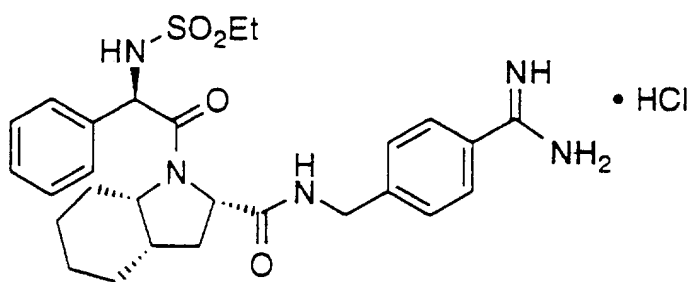
分析 $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_2 \cdot 2\text{HCl}$:

计算: C, 60.22; H, 7.67; N, 13.00;

5 实测: C, 59.95; H, 7.73; N, 12.89.

实例 44

10



$\text{EtSO}_2\text{-Phg-cis-Ohi-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$

15 ((S - 顺式) - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - 1 - [N - (乙磺酰) - D - 苯甘氨酸] - 1H - 吡啶 - 2 - 羧酰胺 · 盐酸盐)

A) Boc-D-Phg-cis-Ohi-OEt 的制备

用基本上相当于实例 1 - A 所述的那种方法, 从 Boc-D-Phg-OH 和 (S) - 顺式 - 八氢吡啶 - 2 - 羧酸乙酯 · HCl 制备了 14.9g (58%)

20 Boc-D-Phg-cis-Ohi-OEt .

^1H NMR

FD - MS, m/e 430 (M^+)

分析 $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5$:

计算: C, 66.95; H, 7.96; N, 6.51;

25 实测: C, 66.69; H, 8.02; N, 6.40.

B) D-Phg-cis-Ohi-OEt · HCl 的制备

向冷 (0 °C) 搅拌的 Boc-D-Phg-cis-Ohi-OEt 的乙酸乙酯溶液中通入 HCl 气体 10 分钟。在回升到室温同时搅拌 2 小时之后, 真空脱除溶剂。所形成的固体悬浮在二乙醚中, 随后用过滤法分离, 给出 10.7g (97%)

30 D-Phg-cis-Ohi-OEt · HCl .

^1H NMR

FD - MS, m/e 331 (M^+)

分析 $C_{19}H_{27}N_2O_3Cl$:

计算: C, 62.20; H, 7.41; N, 7.64;

实测: C, 62.42; H, 7.36; N, 7.85.

C) $EtOS_2$ -D-Phg-cis-Ohi-OEt 的制备

- 5 在 $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 向 D-Phg-cis-Ohi-OEt \cdot HCl (10g, 27mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (10.7ml, 61mmol) 的 THF (200ml) 溶液中, 通过加料漏斗滴加乙磺酰氯 (3.9g, 30mmol) 的 THF (20ml) 溶液。然后撤去冷浴, 让溶液慢慢回升至室温。约 18 小时后, 溶液真空浓缩。残留物溶解在乙酸乙酯 (200ml) 中, 用 1N 柠檬酸 (200ml)、饱和 $NaHCO_3$ 水溶液 (200ml) 和盐水 (200ml) 各洗涤 2 次。然后, 有机相用 $MgSO_4$ 干燥、过滤, 真空浓缩, 给出 11.2g (97%) 黄色泡沫状物。

1H NMR

FD - MS, m/e 422 (M^+)

分析 $C_{21}H_{30}N_2O_5S$:

- 15 计算: C, 59.69; H, 7.16; N, 6.63;

实测: C, 59.94; H, 7.08; N, 6.78.

D) $EtSO_2$ -Phg-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ \cdot HCl 的制备

- 用基本上相当于实例 1 - D、18 - E 和 18 - F 所述的那些方法, 得到了 0.62g $EtSO_2$ -Phg-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ \cdot 2HCl。这种情况下使用的 HPLC 梯度是在 120 分钟内从 90/10 (A/B) 递减至 60/40 (A/B)。

1H NMR

FAB - MS, m/e 526.3 (MH^+)

分析 $C_{27}H_{35}N_5O_4S \cdot HCl$

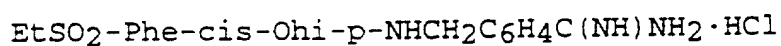
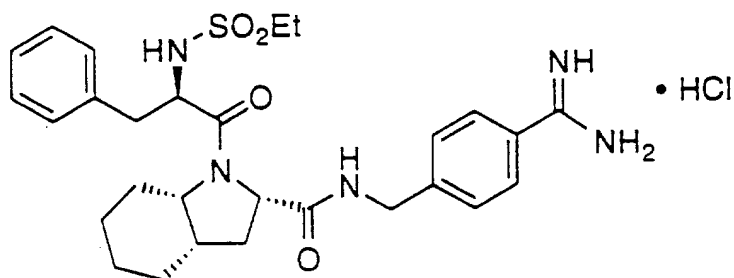
- 25 计算: C, 57.69; H, 6.45; N, 12.46;

实测: C, 57.47; H, 6.48; N, 12.20.

30

实例 45

5



10 ((S - 顺式) - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - 1 - [N - (乙磺酰) - D - 苯丙氨酸] - 1H - 吡咯 - 2 - 羧酰胺 · 盐酸盐)

A) $\text{EtSO}_2\text{-Phe-cis-Ohi-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 44 所述的那些方法, 从 Boc-D-Phe-OH 制备了 1.5g $\text{EtSO}_2\text{-Phe-cis-Ohi-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

15 ^1H NMR

FAB - MS, m/e 540.3 (MH^+)

分析 $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_4\text{S} \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$

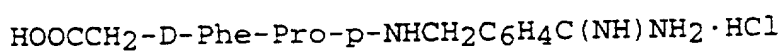
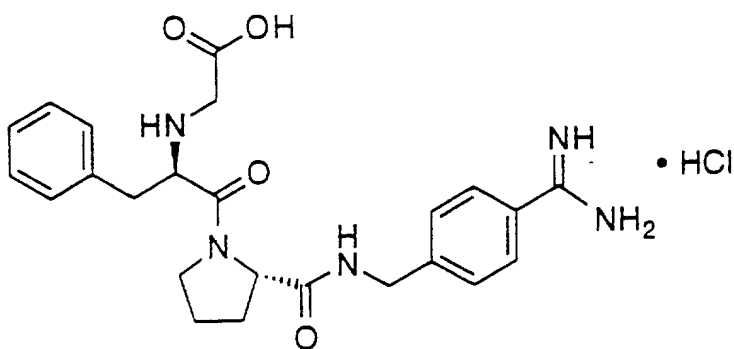
计算: C, 56.51; H, 6.94; N, 11.77;

实测: C, 56.24; H, 6.55; N, 11.72.

20

实例 46

25



30 (N - (羧甲基) - D - 苯丙氨酸 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酸 · 盐酸盐)

A) N-(t-BuOOCCH₂)-N-Boc-D-Phe-Pro-OBn 的制备

向 D-Phe-Pro-OBn · HCl (20g, 51mmol) 的 DMF (100ml) 溶液中一次性添加溴乙酸叔丁酯 (9.9g, 56mmol) , 并在 30 分钟内滴加 N,N - 二异丙基乙胺 (17.4ml, 101 mmol) 。此混合物在室温搅拌 18 小时。
5 然后, 一次性添加草酸二叔丁酯 (16.6g, 76mmol) 和 N,N - 二异丙基乙胺 (13.2ml, 76mmol) , 反应混合物再搅拌 24 小时。真空脱除溶剂, 让残留物在乙酸乙酯 (1L) 和 1M 柠檬酸水溶液 (500ml) 之间分配。将两层分离, 有机相用 1M 柠檬酸水溶液洗涤 1 次、用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤 2 次、用盐水洗涤 1 次 (各 500ml) 。有机相干燥 (Na₂SO₄) 、
10 过滤、真空浓缩。这种琥珀色油状物用硅胶柱色谱法纯化, 以乙酸乙酯/己烷梯度 (己烷到 30 % 乙酸乙酯/己烷) 洗脱, 含产品的级分合并、浓缩, 给出 19.0g (66 %) 无色油状物, 静置时慢慢结晶。

¹H NMR

FD - MS, m/e 566 (M⁺)

15 分析 C₃₂H₄₂N₂O₇:

计算: C, 67.82; H, 7.47; N, 4.94;

实测: C, 68.06; H, 7.33; N, 5.17.

B) N-(t-BuOOCCH₂)-N-Boc-D-Phe-Pro-OH 的制备

向 N-(t-BuOOCCH₂)-N-Boc-D-Phe-Pro-OBn (18.5g, 33mmol) 的乙酸乙酯 (250ml) 溶液中添加 5 % Pd/C 催化剂 (5g) 。此溶液真空脱气若干次, 在氢气气氛下搅拌放置 2 小时。取走氢气源, 添加硅藻土, 浆状物用一层硅藻土过滤。滤液真空浓缩, 给出 13.2g (84 %) 白色泡沫状物。

¹H NMR

25 FD - MS, m/e 476 (M⁺)

分析 C₂₅H₃₆N₂O₇:

计算: C, 63.01; H, 7.61; N, 5.88;

实测: C, 63.23; H, 7.73; N, 5.59.

C) N-(t-BuOOCCH₂)-N-Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz
30 的制备

用基本上相当于实例 18 - E 的方法, 从 N-(t-BuOOCCH₂)-N-Boc-D-Phe-Pro-OH 和 p-H₂NCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl 制备了 2.7g (90 %)

N-(t-BuOOCCH₂)-N-Boc-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz .

¹H NMR

FD - MS, m/e 743 (MH⁺)

分析 C₄₁H₅₁N₅O₈:

5 计算: C, 66.38; H, 6.93; N, 9.44;

实测: C, 66.08; H, 6.92; N, 9.16.

D) HOOCCH₂-D-Phe-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl 的制备

向冷却的(℃), N - (t - BuOOCCH₂) - N - Boc - D - Phe - Pro
- p - NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz (2.2g, 3mmol) 的二噁烷 (100ml) 溶液
10 中通入 HCl 气体 10 分钟。在回升至室温的同时搅拌 3 小时之后, 真空脱
除二噁烷。残留物溶解在绝对乙醇 (150ml)、水 (75ml) 和 1N HCl
(6ml) 的混合液中。向其中添加 5 % Pd/C (1g)。真空脱气之后,
此混合物在氢气氛下放置 16 小时同时在室温搅拌。添加硅藻土, 形成的
浆状物用一层硅藻土过滤。滤液真空浓缩成残留物, 此残留物立即用
15 HPLC 方法 2 纯化 (2 小时内从 98/2 (A/B) 递减至 70/30 (A/B))。
含纯产品的级分合并、冻干, 给出 1.1g (72 %) 白色固体。

¹H NMR

FAB - MS, m/e 452.3 (MH⁺)

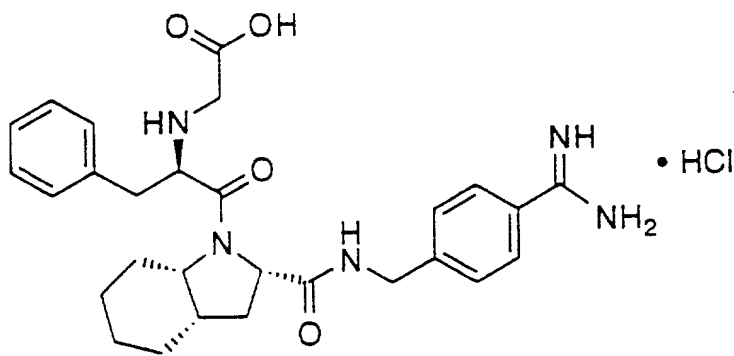
分析 C₂₄H₂₉N₃O₄ · 2HCl:

20 计算: C, 54.97; H, 5.96; N, 13.35;

实测: C, 55.21; H, 6.11; N, 13.39.

实例 47

25



30

HOOCCH₂-D-Phe-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl

A) t-BuOOCCH₂-D-Phe-cis-Ohi-OEt 的制备

向 D-Phe-cis-Ohi-OEt · HCl (30g, 79mmol) 的乙腈 (400ml) 溶液中添加 N,N - 二异丙基乙胺 (41ml, 236mmol) 和溴乙酸叔丁酯 (14ml, 87mmol)。将此溶液温热至 50 °C, 并在此温度保持 3 小时。冷却至室温后, 溶液真空浓缩。残留物溶解在乙酸乙酯 (300ml) 中, 此溶液用饱和氯化铵水溶液 (200ml) 洗涤 2 次、用饱和碳酸氢钠水溶液 (200ml) 洗涤 2 次、用盐水 (200ml) 洗涤 2 次。有机层干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩, 给出一种橙色油状物, 用硅胶柱色谱法纯化, 以己烷至 1:1 己烷/乙酸乙酯的梯度洗脱。含产品的级分 (用 TLC 判断) 合并、浓缩, 给出 33.2g (92 %) 无色油状物。

¹H NMR

FD - MS, m/e 458 (M⁺)

分析 C₂₆H₃₈N₂O₅:

计算: C, 68.10; H, 8.35; N, 6.11;

15 实测: C, 68.37; H, 8.47; N, 5.90.

B) N-(t-BuOOCCH₂)-N-Boc-D-Phe-cis-Ohi-OH 的制备

向 t-BuOOCCH₂-D-Phe-cis-Ohi-OEt (30g, 65mmol) 的 THF(200ml) 溶液中添加 N,N - 二异丙基乙胺 (17ml, 98mmol) 和草酸二叔丁酯 (15.7g, 72mmol)。让此溶液开始缓缓回流并使之保持 16 小时。停止加热, 一旦冷却就使溶液真空浓缩。残留物溶解在乙酸乙酯 (400ml) 中, 用 1.0M 柠檬酸 (200ml) 洗涤 2 次、用饱和碳酸氢钠水溶液 (200ml) 洗涤 2 次、用盐水 (200ml) 洗涤 2 次。有机溶液干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩, 给出一种黄色油状物。将一份这种油状物 (24.8g, 44mmol) 溶解在 300ml 二噁烷中。向其中添加一种含有 2.05g 25 LiOH · H₂O (49mmol) 和 150ml 水的溶液。此混合物在室温搅拌 5 小时, 此时添加 100ml 饱和氯化铵水溶液。真空脱除溶剂, 残留物在饱和碳酸氢钠水溶液与二乙醚之间分配。将两层分离, 水层用柠檬酸酸化到 26 pH 3。这种酸性水溶液用二乙醚 (200ml) 萃取 3 次, 这些萃取物合并、干燥 (MgSO₄)、过滤、浓缩, 给出 24.3g 白色泡沫状 N-(t-BuOOCCH₂)-N-Boc-D-Phe-cis-Ohi-OH。

¹H NMR

FD - MS, m/e 530 (M⁺)

分析 $C_{29}H_{42}N_2O_7$:

计算: C, 65.64; H, 7.98; N, 5.28;

实测: C, 65.39; H, 8.04; N, 5.39.

5 备 C) $HOOCCH_2$ -D-Phe-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl 的制

用基本上相当于实例 18 - E 和 46 - D 所述的那些方法, 得到 1.2g (67%) $HOOCCH_2$ -D-Phe-cis-Ohi-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl。

¹H NMR

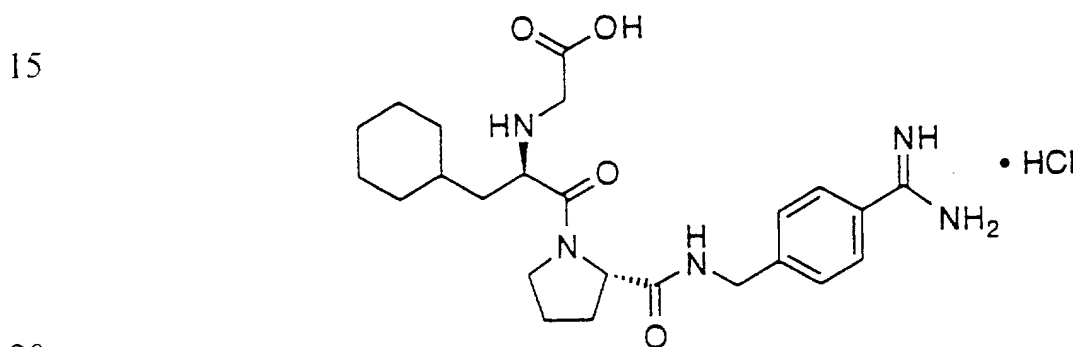
FAB - MS, m/e 506.3 (MH⁺)

10 分析 $C_{28}H_{35}N_5O_4 \cdot 2HCl \cdot H_2O$:

计算: C, 57.24; H, 6.52; N, 11.92;

实测: C, 57.40; H, 6.30; N, 11.69.

实例 48



$HOOCCH_2$ -D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl

(N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺)

25 A) $HOOCCH_2$ -D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl 的制备
用基本上相当于实例 46 所述的那些方法, 制备了 0.92g $HOOCCH_2$ -D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl。

¹H NMR

FD - MS, m/e 458 (M⁺)

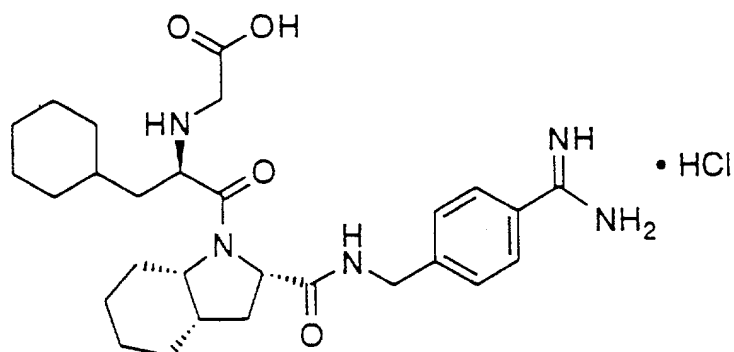
30 分析 $C_{24}H_{35}N_5O_4 \cdot HCl \cdot 0.5H_2O$:

计算: C, 57.30; H, 7.41; N, 13.92;

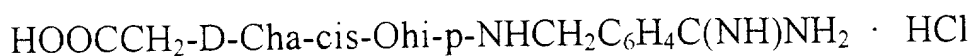
实测: C, 57.52; H, 7.29; N, 13.83.

实例 49

5



10



((S - 顺式) - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - 1 - [N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰] - 1H - 咪唑 - 2 - 羧酰胺 · 盐酸盐)

A) $\text{HOOCCH}_2\text{-D-Phe-cis-Ohi-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备

15

用基本上相当于实例实例 1 - A 和 1 - D、18 - E、44 - B、47 - A (用溴乙酸苄酯) 和 18 - F 所述的那些方法, 从 Boc-D-Cha 和 cis - Ohi-OEt · HCl 出发, 得到了 0.75g $\text{HOOCCH}_2\text{-D-Cha-cis-Ohi-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。用 HPLC 方法 2, 利用在 3 小时内从 98/2 (A/B) 至 70/30 (A/B) 的梯度, 进行这种材料的纯化。

20

^1H NMR

FAB - MS, m/e 512.3 (MH^+)

分析 $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot \text{HCl}$:

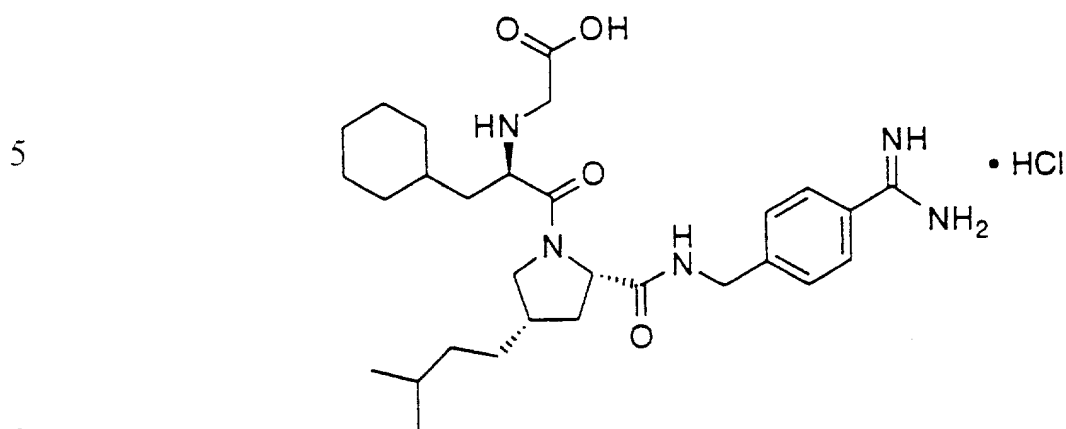
计算: C, 61.36; H, 7.72; N, 12.78;

实测: C, 61.08; H, 7.47; N, 12.53.

25

30

实例 50



HOOCCCH₂-D-Phe-Pro(4-顺-异戊基)-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl

A) Cbz-Pro (4-反式-OH) - OEt 的制备

15 向 Cbz-Pro (4-反式-OH) - OH (33g, 124mmol) 的乙醇 (500ml) 溶液中添加对甲苯磺酸 (1g), 溶液加热回流。16 小时后, 将溶液冷却至室温, 真空脱除溶剂。残留物溶解在乙酸乙酯 (400ml) 中, 用饱和 NaHCO₃ 水溶液洗涤 2 次、用饱和氯化钠水溶液洗涤 2 次。该乙酸乙酯溶液用 MgSO₄ 干燥、过滤、真空浓缩, 给出 34.5g (95%) 无色油状物。

¹H NMR

20 FD - MS, m/e 293 (M⁺)

分析 C₁₅H₁₉NO₅:

计算: C, 61.42; H, 6.53; N, 4.77;

实测: C, 61.20; H, 6.65; N, 4.73.

B) Cbz-Pro (4-氧代) - OEt 的制备

25 在 1L 圆底烧瓶中, 用机械搅拌法, 使 Cbz-Pro (4-顺式-OH) - OEt (32.7g, 111mmol) 溶解在二氯甲烷 (500ml) 中。向此溶液中分批添加 3Å 分子筛 (100g) 和氯铬酸吡啶鎓 (60g, 278mmol), 每批数量要小到足以保持有效搅拌。在室温搅拌 12 小时之后, 添加二乙醚 (200ml), 将黑色浆状物从焦油状残留物中萃析出来, 并使之迅速通过硅胶 (200g) 柱。残留物用二氯甲烷 (200ml) 洗涤 2 次, 合并的洗涤液也通过该硅胶柱。滤液迅速通过一根硅胶柱, 以 1:1 乙酸乙酯/己烷 (4L) 洗脱, 收集 500ml 级分。所有含产品的级分 (用 TLC 判断) 合

30

并、真空浓缩，给出 23.8g (74 %) 无色油状物。

^1H NMR

FD - MS, m/e 291 (M^+)

分析 $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_5$:

5 计算: C, 61.85; H, 5.88; N, 4.81;

实测: C, 61.57; H, 5.82; N, 4.71.

C) Cbz - Pro (4 - 异丁基次甲基) - OEt 的制备

10 在一个配备氮气入口、磁搅拌棒和加料漏斗的、烘箱干燥的 2 颈 2L 圆底烧瓶中，使叔丁醇钾 (34g, 288mmol) 悬浮在四氢呋喃 (800ml) 中。向此悬浮液中分若干批添加溴化异戊基三苯磷 (120g, 288mmol)。搅拌 30 分钟后，用 1 小时时间通过加料漏斗滴加 Cbz - Pro (4 - 氧代) - OEt (70g, 240mmol) 的四氢呋喃 (150ml) 溶液。再搅拌 2 小时后，添加饱和 NH_4Cl 水溶液 (100ml)。此溶液用乙酸乙酯 (750ml) 稀释，
15 将各层分离。有机层用 1N 柠檬酸洗涤 2 次、用饱和 NaHCO_3 水溶液洗涤 2 次、用饱和氯化钠水溶液洗涤 2 次。有机溶液用 MgSO_4 干燥、过滤、浓缩，给出一种黄色油状物。这种油状物用硅胶闪急色谱法纯化，以 2:1 己烷/乙酸乙酯洗脱。含产品的级分 (用 TLC 判断) 合并，真空浓缩，给出 37g (45 %) 无色油状物。

^1H NMR

20 FD - MS, m/e 345 (M^+)

分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_4$:

计算: C, 69.54; H, 7.88; N, 4.05;

实测: C, 69.74; H, 7.85; N, 3.99.

D) Pro (4 - 顺式 - 异戊基) - OEt · HCl 的制备

25 向 Cbz - Pro (4 - 异丁基次甲基) - OEt (37g, 107mmol) 的乙醇 (500ml) 溶液中添加 5 % Pd/C (5g)。向此溶液中通入氮气 5 分钟，然后通入氢气 3 小时。此溶液通过一层硅藻土过滤。然后，向该溶液中通入氯化氢气体直至饱和，然后将该溶液真空浓缩，给出 26g (97 %) 琥珀色油状物。

30 ^1H NMR

FD - MS, m/e 214 (M^+)

分析 $C_{12}H_{24}ClNO_2$:

计算: C, 57.70; H, 9.68; N, 5.61;

实测: C, 57.46; H, 9.50; N, 5.82.

E) $HOOCCH_2$ -D-Phe-Pro(4-cis-异戊基)-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl

5 的制备

用基本上相当于实例 1 - A 和 1 - D、18 - E、44 - B、47 - A (用溴乙酸苄酯) 与 18 - F 所述的那些方法, 从 Boc - D - Cha 和 Pro (4 - cis - 异戊基) - OEt · HCl 出发, 得到 0.27g $HOOCCH_2$ -D-Phe-Pro(4 - cis - 异戊基)-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl。用 HPLC 方法 2, 以在 3 小时内从 98/2 (A/B) 到 50/50 (A/B) 的梯度, 进行此材料的纯化。

¹H NMR

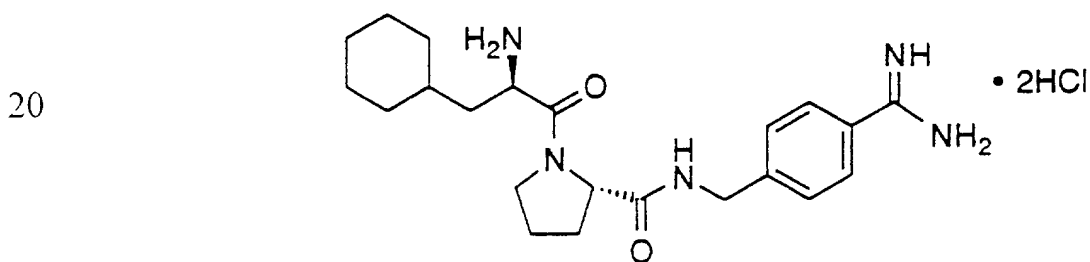
FAB - MS, m/e 528.4 (MH⁺)

分析 $C_{29}H_{45}N_5O_4 \cdot 1.9HCl$:

15 计算: C, 58.34; H, 7.92; N, 11.73; Cl, 11.28;

实测: C, 58.30; H, 7.85; N, 11.83; Cl, 11.27.

实例 51



D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl

25

(D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酰胺 · 二盐酸盐)

A) Boc-D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCBz 的制备

用基本上相当于实例 1 - A、46 - E 和 18 - E 所述的那些方法, 从 Boc-D-Cha-Pro-OH 出发, 制备了 32.5g (94%) Boc-D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCBz。

30

^1H NMR

FD - MS, m/e 634 (MH^+)

分析 $\text{C}_{35}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{O}_6$:

计算: C, 66.33; H, 7.47; N, 11.05;

5 实测: C, 66.30; H, 7.47; N, 11.26.

B) D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl 的制备

用基本上相当于实例 23-A 所述的那种方法, 从 Boc-D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 制备了 9.6g(101 %) D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl。

10 ^1H NMR

FD - MS, m/e 534 (M^+)

分析 $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_4\text{Cl}_2$:

计算: C, 59.40; H, 6.81; N, 11.54; Cl, 11.69;

实测: C, 59.54; H, 6.80; N, 11.77; Cl, 11.21.

15 C) D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl 的制备

用基本上相当于实例 18 - F 所述的那种方法, 制备了 0.74g (62 %) D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · 2HCl。用 HPLC 方法 2, 以在 2.5 小时内从 98/2 (A/B) 到 75/25 (A/B) 的梯度, 进行此材料的纯化。

^1H NMR

20 FAB - MS, m/e 400.3 (M^+)

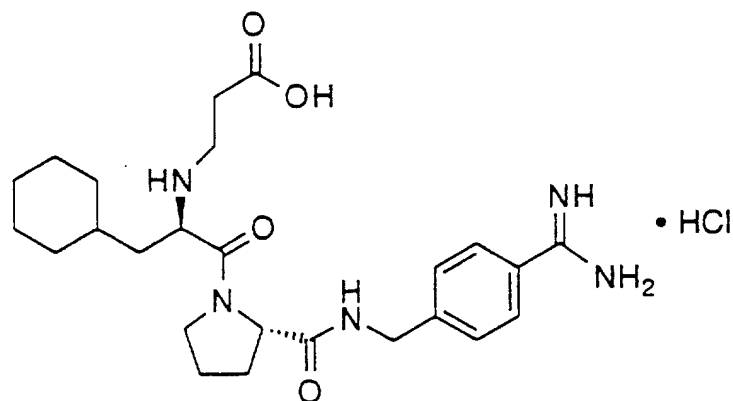
分析 $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_2 \cdot 2\text{HCl}$:

计算: C, 55.50; H, 7.43; N, 14.71; Cl, 15.64;

实测: C, 55.64; H, 7.50; N, 14.65; Cl, 15.81.

实例 52

25



30

$\text{HOOCCH}_2\text{CH}_2\text{-D-Cha-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$

(N - (2 - 羧乙基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸 · 盐酸盐)

A) HOOCCH₂CH₂-D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl 的制备

5 在搅拌下, 将 D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl (2.5g, 4.1mmol) 悬浮在 EtOAc (100ml) 中。 向此悬浮液中添加 1M KHCO₃ 溶液 (100ml), 混合物搅拌直至所有固体溶解。 把混合物转移到分液漏斗中, 将两层分离。 有机层干燥 (MgSO₄)、 过滤、 真空浓缩, 给出 1.24g 白色固体状游离碱。 此固体溶解在 EtOH (100ml) 中。 添加丙烯酸苄酯 (0.41g, 2.6mmol), 此溶液在室温搅拌 2 天。 然后, 向此溶液中添加水 (50ml)、 1N HCl (4.6ml) 和 5 % Pd/C (0.5g), 使正在搅拌的悬浮液脱气并置于氢气氛之下。 16 小时后。 添加硅藻土, 浆状物用一层硅藻土过滤。 滤液真空浓缩到 25ml 体积, 用制备型 RPHPLC 方法 2、 以在 2.5 小时内从 98/2 (A/B) 到 75/25 (A/B) 的梯度纯化。 15 含纯产品的级分 (用分析型 HPLC 判断) 合并、 浓缩、 冻干, 给出 0.27g (23 %) HOOCCH₂CH₂-D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl。

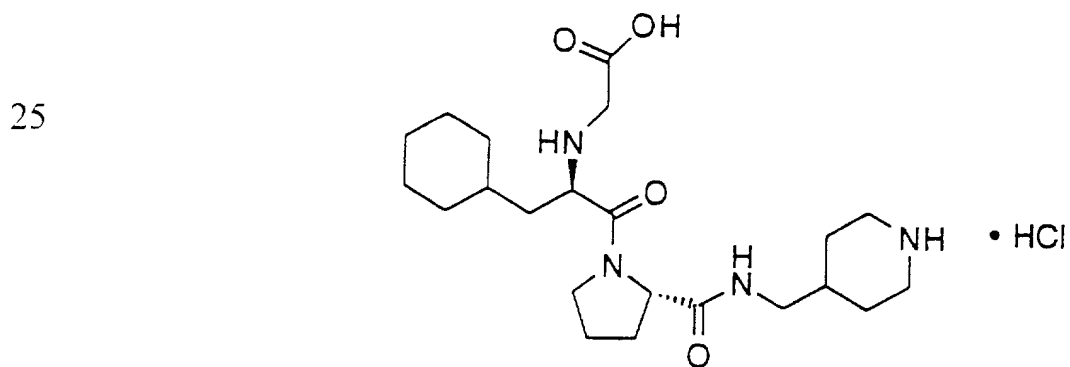
¹H NMR

FAB - MS, m/e 472.4 (MH⁺)

分析 C₂₅H₃₇N₅O₄ · 1.9HCl :

20 计算: C, 55.50; H, 7.25; N, 12.94; Cl, 12.45;
实测: C, 55.26; H, 7.26; N, 13.21; Cl, 12.85.

实例 53



HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂ - 哌啶 · HCl

A) Boc - 4 - (氨基甲基) 吡啶的制备

用基本上相当于实例 34 - A 所述的那种方法, 从 4 - (氨基甲基) 吡啶制备 19g (87%) Boc - 4 - (氨基甲基) 吡啶。

¹H NMR

5 B) 4-BocNHCH₂-N-Cbz - 哌啶的制备

4 - BocNHCH₂ - 吡啶 (10g, 48mmol) 溶解在乙醇 (280ml) 中, 添加 5% Rh/C (10g)。此悬浮液在 60 °C、在氢气氛 (4.1 巴, 60 psi) 下摇荡过夜。然后将催化剂滤出, 溶液真空浓缩, 给出 9.0g 灰色固体。将 1 份 3.2g 该固体溶解在四氢呋喃 (75ml) 中, 添加碳酸钾 (4.2g, 30mmol) 水溶液 (75ml)。向这种正在搅拌的溶液中添加氯甲酸苄酯 (2.3ml, 16mmol)。15 分钟后, 溶液真空浓缩到原体积的约 1/2, 然后用乙酸乙酯稀释。将有机相分离、用盐水洗涤、然后干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩, 给出 4.6g (76%) 白色固体。

¹H NMR

15 FD - MS, m/e 349 (M⁺)

C) 4-NH₂CH₂-N-Cbz - 哌啶 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 23 - A 所述的那种方法, 从 4-BocNHCH₂-N-Cbz - 哌啶制备了 3g (84%) 4-NH₂CH₂-N-Cbz - 哌啶 · HCl。

IR

20 ¹H NMR

FD - MS, m/e 249 (MH⁺)

D) N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-OH 的制备

N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Phe-Pro-OH (13g, 27mmol) 溶解在乙醇 (750ml) 中, 添加 PtO₂ (13g)。此悬浮液在 40 °C、在 4.1 巴 (60 psi) 氢气氛下摇荡 16 小时。然后将催化剂滤出、滤液真空浓缩, 给出 11.7g (90%) 白色泡沫状物。

IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 483 (M⁺)

30 分析 C₂₅H₄₂N₂O₇:

计算: C, 62.22; H, 8.77; N, 5.80;

实测: C, 62.99; H, 8.96; N, 5.48.

E) $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2$ - 哌啶 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 和实例 46 - D 所述的那些方法, 从 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-OH 和 HCl · 4-NH₂CH₂-N-Cbz - 哌啶制备了 1.1g $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2$ - 哌啶 · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 以在 2 小时内从 98/2 (A/B) 递减至 70/30 (A/B) 的梯度纯化。

IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 423 (M⁺)

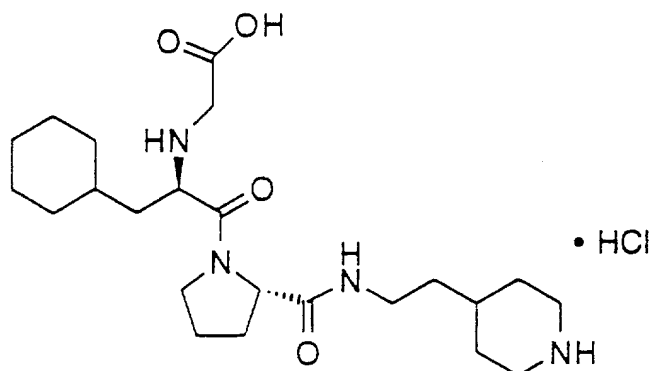
10 分析 $\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 2\text{HCl} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 50.57; H, 8.29; N, 10.72;

实测: C, 50.31; H, 8.46; N, 10.93.

实例 54

15



20

$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2$ - 哌啶 · HCl

Cl

$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2$ - 哌啶 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 52 所述的那些方法, 从 4 - 氨基乙基吡啶制备了 0.59g $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2$ - 哌啶 · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 以在 2 小时内从 98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B) 的梯度纯化。

IR

¹H NMR

30 FD - MS, m/e 437 (M⁺)

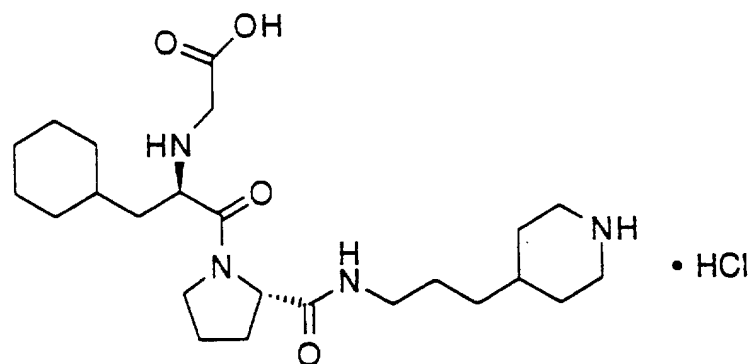
分析 $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 2.5\text{HCl} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 49.80; H, 8.27; N, 10.10;

实测: C, 49.95; H, 8.08; N, 10.34.

实例 55

5



10

$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-哌啶} \cdot \text{HCl}$

A) 4-羧丙基-N-Cbz-哌啶的制备

用基本上相当于实例 53 - B 所述的那些方法, 从 4-羧丙基吡啶制
15 备 28g (67%) 4-羧丙基-N-Cbz-哌啶。

^1H NMR

B) 4-($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$)-N-Cbz-哌啶 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 30 - B、30 - C 和 30 - D 所述的那些方法,
20 从 4-羧丙基-N-Cbz-哌啶制备了 7.3g 4-($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$)-N-Cbz
-哌啶 · HCl。

^1H NMR

FD - MS, m/e 276 (M^+)

C) $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-哌啶} \cdot \text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 53 - D 和 53 - E 所述的那些方法, 从 N-(t-
25 BuO_2CCH_2)-N-Boc-D-Cha-Pro-OH 和 4-氨基丙基-N-Cbz-哌啶 · HCl
制备了 0.39g $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-哌啶} \cdot \text{HCl}$ 。此
产品用 RPHPLC 方法 2 以在 2 小时内从 98/2 (A/B) 直到 70/30 (A/B)
的梯度纯化。

IR

30 ^1H NMR

IS - MS, m/e 451.4 (MH^+)

分析 $C_{24}H_{42}N_4O_4 \cdot 2HCl \cdot H_2O$:

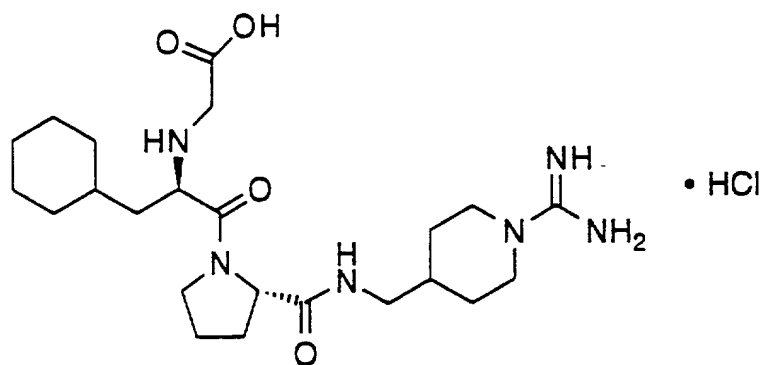
计算: C, 53.23; H, 8.56; N, 10.35;

实测: C, 53.43; H, 8.63; N, 10.19.

实例 56

5

10



HO_2CCH_2 -D-Cha-Pro-4-NHCH₂-1-咪基哌啉 · HCl

(N-(羧甲基)-D-环己基丙氨酸-N-[[1-(氨基亚氨基甲基)-六氢吡啶-4-基]甲基]-L-脯氨酸 · 盐酸盐)

15 HO_2CCH_2 -D-Cha-Pro-4-NHCH₂-1-咪基哌啉 · HCl 的制备

用基本上相当于 34 - D、23 - A、1 - G (用 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-OH)、18 - E 和 1 - H 所述的那些方法, 从 4 - BocNHCH₂哌啉制备了 0.35g HO_2CCH_2 -D-Cha-Pro-4-NHCH₂-1-咪基哌啉 · HCl。最终产品用 RPHPLC 方法 2 (98/2 (A/B) 递减至 75/25

20 (A/B), 150 分钟) 纯化。

IR

¹H NMR

FAB - MS, m/e 465 (MH⁺)

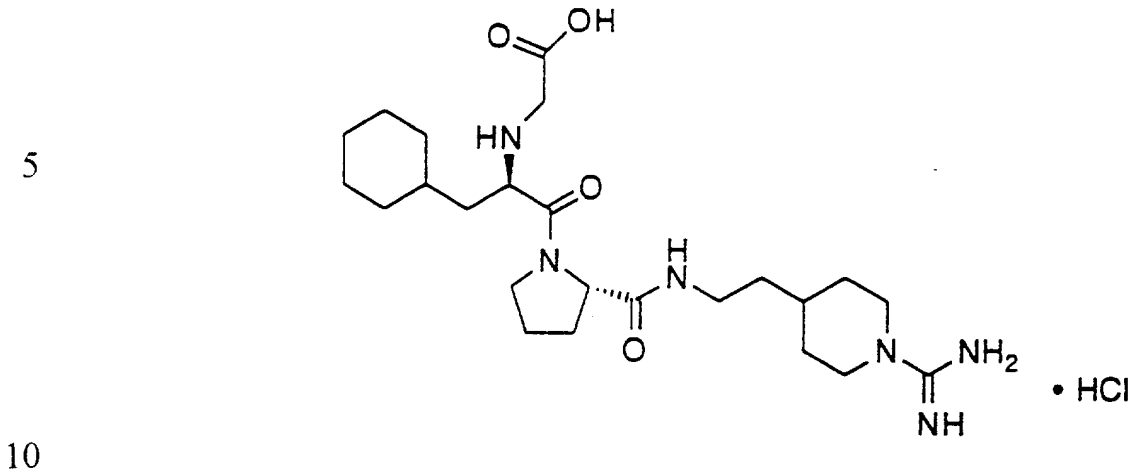
分析 $C_{23}H_{40}N_6O_4 \cdot 2HCl$:

25 计算: C, 51.39; H, 7.88; N, 15.63; Cl, 13.19;

实测: C, 51.66; H, 7.98; N, 15.80; Cl, 13.48.

30

实例 57



HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂CH₂-1 - 咪基哌啶 · HCl

HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂CH₂-1 - 咪基哌啶 · HCl 的制备

15 用基本上相当于实例 34 - D、23 - A、1 - G (用 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-OH), 18 - E 和 1 - H 所述的那些方法, 从 4 - BocNHCH₂CH₂ - 哌啶制备了 0.34g HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂CH₂-1 - 咪基哌啶 · HCl。此最终产品用 RPHPLC 方法 2 (98/2 (A/B) 递减至 75/25 (A/B), 150 分钟) 纯化。

IR

20 ¹H NMR

FAB - MS, m/e 479.4 (MH⁺)

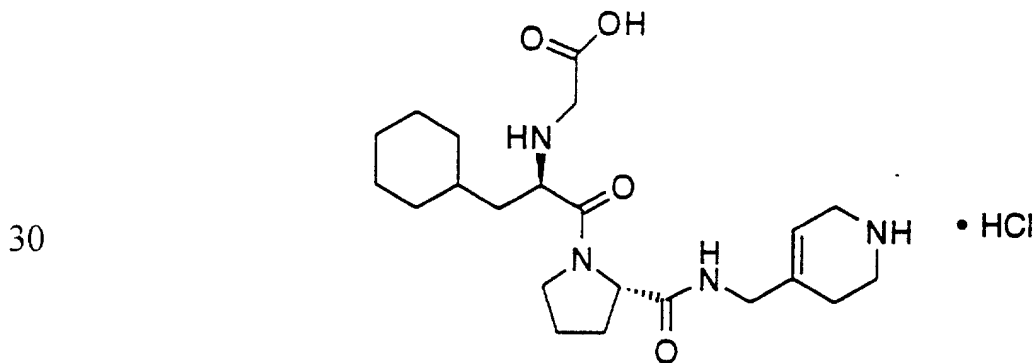
分析 C₂₄H₄₂N₆O₄ · 2HCl:

计算: C, 52.26; H, 8.07; N, 15.24; Cl, 12.86;

实测: C, 52.56; H, 8.15; N, 15.37; Cl, 13.07。

25

实例 58



HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3,4 - 脱氢哌啶 · HCl

A) 4 - BocNHCH₂ - N - 甲基吡啶鎓碘化物的制备

在搅拌下, 向 4 - BocNHCH₂ - 吡啶 (20g, 96mmol) 的乙腈 (200ml) 溶液中添加碘甲烷 (8.9ml, 144mmol)。16 小时后, 溶液真空浓缩, 给出 33.8g (96 %) 粘稠淡黄色油状物。

FD - MS, m/e 223.1 (M⁺)

B) 4 - BocNHCH₂ - N - Fmoc - 3,4 - 脱氢哌啶的制备

在搅拌下, 向碘化 4 - BocNHCH₂ - N - 甲基吡啶鎓 (7.7g, 34mmol) 的 1,2 - 二氯乙烷 (100ml) 溶液中添加 1,8 - 二(二甲氨基) 萘 (1.5g, 6.8mmol), 随后添加氯甲酸 2 - 氯乙酯 (5.3g, 37ml)。溶液加热回流, 2 小时后将溶液冷却到室温, 真空脱除溶剂, 残留物迅速通过硅胶柱, 用 20 % 乙酸乙酯/己烷洗脱。真空脱除有机溶剂, 残留物溶解在甲醇 (300ml) 中, 加热回流 20 分钟。然后添加饱和 NaHCO₃ 水溶液 (100ml), 真空脱除溶剂。残留物溶解在水 (200ml) 中, 用己烷洗涤 2 次, 然后用固体 NaCl 饱和, 用乙酸乙酯萃取若干次。合并的乙酸乙酯萃取液干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩, 给出淡黄色油状物, 后者溶解在二氯甲烷 (75ml) 中。然后, 向这种正在搅拌的溶液中添加 N,N - 二异丙基乙胺 (2.1ml, 12.2mmol), 然后添加氯甲酸 9 - 芴基甲酯 (3.2g, 12.2mmol)。2 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物溶解在乙酸乙酯 (250ml) 中, 用 1N 柠檬酸洗涤 2 次、用盐水洗涤 1 次、用饱和 NaHCO₃ 水溶液洗涤 2 次、最后用盐水洗涤 1 次。然后将有机相干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩, 残留物用硅胶柱色谱法纯化, 以 5 % 乙酸乙酯/己烷直至 50 % 乙酸乙酯/己烷的步进梯度洗脱。含产品的级分(用 TLC 判断) 合并、浓缩, 给出 4g (27 %) 白色固体。

25 IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 435 (M⁺)

C) N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-N-Fmoc-3,4 - 脱氢哌啶的制备

30 用基本上相当于实例 23 - A 和 1 - G (用 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-OH) 所述的那些方法, 从 4 - BocNHCH₂ - N - Fmoc - 3,4 - 脱氢哌啶制备了 2.5g N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-

N-Fmoc-3,4 - 脱氢哌啶。

IR

^1H NMR

FD - MS, m/e 799 (M^+)

- 5 D) N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3,4 - 脱氢哌啶的制备

N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-N-Fmoc-3,4 - 脱氢哌啶 (1.5g, 1.9mmol) 溶解在吗啉 (25ml) 中, 搅拌 5 小时后真空蒸发溶剂。残留物溶解在乙酸乙酯中, 用饱和 NaHCO₃ 水溶液洗涤 2 次、干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩。然后将残留物溶解在少量氯仿中, 用硅胶柱色谱法纯化, 以 5% ~ 10% A/B (A = 9:1 甲醇/浓 NH₄OH; B = 氯仿) 的梯度洗脱。用 TLC 判断的含产品级分合并、真空浓缩, 给出 890mg (82%) 白色固体。

^1H NMR

- 15 FD - MS, m/e 576 (MH^+)

E) HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3,4 - 脱氢哌啶 · HCl 的制备

向 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3,4 - 脱氢哌啶 (820mg, 1.4mmol) 和茴香醚 (1ml) 的二噁烷 (25ml) 溶液中, 在 0 °C 通入 HCl 气体 10 分钟。搅拌 12 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物溶解在水 (50ml) 中, 用二乙醚洗涤 2 次。然后将水相真空浓缩到约 20ml 的体积, 用 RPHPLC 纯化 (方法 2, 98/2 (A/B) 直到 70/30 (A/B), 2 小时)。用分析型 RPHPLC 判断的含产品的级分合并、部分地真空浓缩、冻干, 给出 442mg (68%) 白色固体。

IR

- 25 ^1H NMR

FD - MS, m/e 423 (MH^+)

分析 C₂₂H₃₆N₄O₄ · 2HCl · 1.5H₂O:

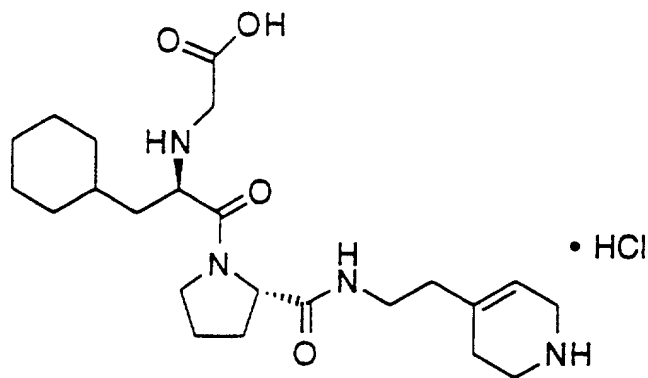
计算: C, 50.57; H, 8.29; N, 10.72;

实测: C, 50.31; H, 8.46; N, 10.93。

30

实例 59

5



10

$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-3,4 - 脱氢哌啶} \cdot \text{HCl}$

$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-3,4 - 脱氢哌啶} \cdot \text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 58 所述的那些方法, 从 4 - $\text{BocNHCH}_2\text{CH}_2\text{-}$ 吡啶制备了 73mg $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-3,4 - 二氢哌啶} \cdot \text{HCl}$ 。最终产品用 RPHPLC 方法 2 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B) , 2 小时) 纯化。

IR

$^1\text{H NMR}$

IS - MS, m/e 435.2 (MH^+)

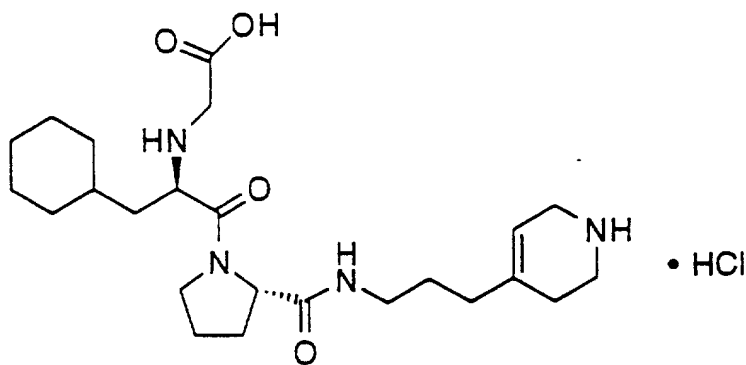
20 分析 $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 2.3\text{HCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 48.26; H, 8.15; N, 9.79; Cl, 14.24;

实测: C, 48.31; H, 7.93; N, 9.66; Cl, 14.56。

实例 60

25



30

$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-3,4 - 脱氢哌啶} \cdot \text{HCl}$

HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂CH₂CH₂-3,4 - 脱氢哌啶 · HCl 的制备基本上相当于实例 58 所述的那些方法, 从 4 - BocNHCH₂CH₂CH₂ - 吡啶制备了 205mg HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂CH₂CH₂-3,4 - 脱氢哌啶 · HCl。

5 IR

¹H NMR

IS - MS, m/e 449.2 (MH⁺)

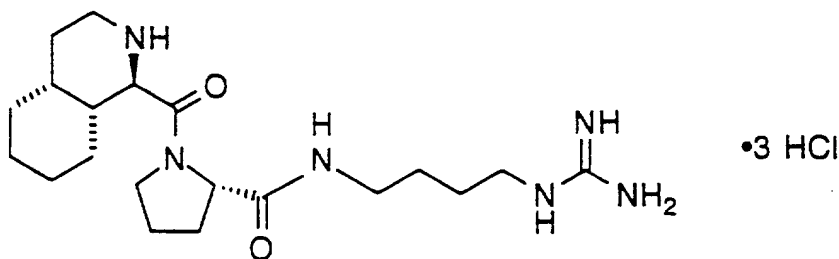
分析 C₂₄H₄₀N₄O₄ · 2.3HCl · H₂O:

计算: C, 52.37; H, 3.11; N, 10.18;

10 实测: C, 51.64; H, 7.72; N, 10.31; Cl, 14.69。

实例 61

15



(1R, 4aR, 8aR)-1-Piq-Pro-Agm·3HCl

20 (N - [4 - [(氨基亚氨基甲基)氨基]丁基] - 1 - [(4aR, 8aR) - 十氢 - 1(R) - 异喹啉基]碳酰) - 1 - 脯氨酸 · 三盐酸盐)

本实例中的 R_f 值是用硅胶薄层色谱法 (Kieselgel 60F - 254) 以下列系统 (体积比):

(A) 氯仿 : 甲醇 : 乙酸 (135 : 15 : 1)

25 (B) 乙酸乙酯 : 乙酸 : 绝对乙醇 (90 : 10 : 10)

(C) 乙酸乙酯 : 己烷 (70 : 30)

(D) 氯仿

A) N - 甲氧碳酰苯乙胺

30 在搅拌下, 向苯乙胺 (75.2ml, 0.6mol) 和三乙胺 (83ml, 0.6mol) 的 THF (500ml) 溶液中缓缓地加入氯甲酸甲酯 (46.2ml, 0.6mol) 的 THF (50ml) 溶液。反应混合物在室温再搅拌 1 小时后, 添加二乙醚 (2L) 和 1N HCl (800ml)。有机层用水洗涤、干燥 (MgSO₄)、

过滤、滤液真空浓缩，给出纯标题化合物的透明油状物（102g, 95%）。

B) 2-甲氧羰酰-DL-1,2,3,4-四氢异喹啉-1-羧酸

向N-甲氧羰酰苯乙胺（102g, 0.57mol）的三氟乙酸（300ml）溶液中添加二羧乙酸（63g, 0.68mol），将混合物加热到回流温度。回流
5 4小时后，将反应混合物冷却到室温，真空脱除溶剂、向残留物中添加二
乙醚（800ml）/水（100ml）。用5N NaOH使反应混合物pH上升到
12，将水层分离。向水层中添加二乙醚（500ml），用5N HCl使溶液
酸化到pH 2.5。将有机层分离、干燥（MgSO₄）、过滤、滤液真空浓缩，
给出纯标题化合物的油状物（107g, 80%）；FAB-MS 236（MH⁺）。

10 C) 2-甲氧羰酰-DL-1,2,3,4-四氢异喹啉-1-羧酸叔丁酯

在搅拌、冷却（0℃）下，向2-甲氧羰酰-DL-1,2,3,4-四氢
异喹啉-1-羧酸（2）（105g, 0.45mol）的CH₂Cl₂（200ml）溶液中
添加叔丁醇（52ml, 0.54mol）和DCC（92g, 0.45mol）。在0℃ 2小
时和在室温 24 小时后，真空脱除溶剂，向残留物中添加乙酸乙酯
15 （800ml）/ 1N NaHCO₃（300ml）。将有机层分离，用水、1.5N 柠
檬酸和水洗涤。有机层干燥（MgSO₄）、过滤、滤液真空浓缩，给出纯
标题化合物的油状物（106g, 81%）；FAB-MS 292（MH⁺）；TLC Rf
（A）0.61；元素分析（计算值）C₁₆H₂₁NO₄：C, 65.96；H, 7.27；N, 4.81；
实测值：C, 66.24；H, 7.28；N, 4.73。

20 D) 2-甲氧羰酰-（1RS,4aSR,8aSR）-全氢化异喹啉-1-羧酸叔丁酯

2-甲基羰酰-DL-1,2,3,4-四氢异喹啉-1-羧酸叔丁酯（105g,
0.36mol）的叔丁醇（800ml）溶液用5% Rh/Al₂O₃（52.5g）、以55
巴（800 psi）氢气、在高压装置中于50℃还原24小时，反应混合物通
25 过一层硅藻土过滤，滤液真空浓缩。所形成的油状物干燥，给出纯标题
化合物（96.5g, 90%）FD-MS 298（MH⁺）；TLC Rf（C）0.63。

E) 2-甲氧羰酰-（1RS,4aRS,8aRS）-全氢化异喹啉-1-羧酸乙酯

向2-甲氧羰酰-（1RS,4aSR,8aSR）-全氢化异喹啉-1-羧酸
30 叔丁酯（81.2g, 273mmol）的EtOH（500ml）溶液中添加乙醇钠（21
%乙醇溶液）（88.4ml, 273mmol），反应混合物回流（24小时）。有
机溶剂真空蒸发，向残留物中添加乙酸乙酯（400ml）和水（100ml）。

将有机层分离、用水洗涤 2 次、干燥 (MgSO_4)、过滤、滤液真空浓缩, 给出纯标题化合物的油状物 (70g, 95 %); FAB - MS 270 (MH^+); TLC Rf(A) 0.61。

5 F) 2 - 甲氧羰酰 - (1RS,4aRS,8aRS) - 全氢化异喹啉 - 1 - 羧酸

向步骤 E 的产品 (70g, 260mmol) 的 THF (250ml) 溶液中添加 2N NaOH (156ml, 312mmol), 反应混合物在室温搅拌 (30 小时)。有机溶剂真空蒸发, 向残留物中添加二乙醚 (400ml) 和水 (100ml)。将水层分离, 添加乙酸乙酯 (400ml)。溶液的 pH 用 5N HCl 调至 2.0。10 有机层干燥 (MgSO_4)、过滤、滤液真空浓缩, 给出一种透明油状物。该油状物用己烷 (200ml) 结晶, 给出纯标题化合物 (46.4g, 74 %); FAB - MS 242 (MH^+); TLC Rf(A) 0.36; 元素分析 (计算值) $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_4$: C, 59.74; H, 7.94; N, 5.81; 实测值: C, 59.95; H, 7.88; N, 5.54。NMR 排布是同核去偶、COSY、HMQC 和 DEPT 实验确定的。

15 G) 2 - Cbz - (1RS,4aRS,8aRS) - 全氢化异喹啉 - 1 - 羧酸

在室温搅拌下, 在惰性气氛下, 向步骤 F 的产品 (46g, 191mmol) 的无水 CH_3CN (200ml) 溶液中添加碘三甲基甲硅烷 (62.4ml, 440mmol) 的 CH_3CN (60ml) 溶液。反应混合物在 55 °C 搅拌 30 分钟, 冷却到室温。反应用水 (100ml) 终止, 随后添加偏亚硫酸氢钠 (1g)。20 用 5N NaOH 使反应混合物的 pH 上升到 10.0, 滴加氯甲酸苄酯 (27.3ml, 191mmol), 同时用 2N NaOH 使 pH 保持在 10。反应混合物在室温再搅拌 30 分钟后, 真空蒸发有机溶剂, 添加二乙醚 (200ml)。让反应混合物在室温静置 (2 小时), 添加乙酸乙酯 (200ml)。水溶液用 5N HCl 酸化到 pH 2.5; 将有机层分离、干燥 (MgSO_4)、过滤、滤液真空浓缩, 25 给出油状纯标题化合物 (39.5g, 65%); FAB - MS 318 (MH^+); 元素分析 (计算值) $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_4$: C, 68.12; H, 7.30; N, 4.41; 实测值: C, 66.37; H, 7.52; N, 4.37。

H) 2-Cbz- (1RS, 4aRS, 8aRS) - 全氢化异喹啉 - 1 - 碳酰 - Pro - O - t - Bu

30 在搅拌、冷却 (0 °C) 下, 向步骤 G 的产品 (39g, 123mmol) 的 DMF (200ml) 溶液中添加脯氨酸叔丁酯 (21.1g, 123mmol)、1 - 羧

基苯并三唑 (16.6g, 123mmol) 和 DCC (25.3g, 123mmol)。反应混合物在 0 °C 搅拌 2 小时、在室温搅拌 24 小时。将反应沉淀物滤出, 滤液真空浓缩成油状物。该油状物溶解在 EtOAc (200ml) 和水 (100ml) 中。有机层依次用 1N NaHCO₃、水、1.5N 柠檬酸、水洗涤。有机层干燥 (MgSO₄)、过滤、滤液蒸发成标题化合物的无定形固体, 呈非对映体混合物形式 (52.7g, 91 %) FAB - MS 471 (MH⁺)。

I) 2 - Cbz - (4aR, 8aR) - 全氢化异喹啉 - 1(R) - 碳酰 - Pro-OH

在搅拌下, 向步骤 H 的产品 (52.4g, 111mmol) 的 CH₂Cl₂ (20ml) 溶液中添加三氟乙酸 (70ml) 和茴香醚 (5ml)。反应混合物在室温搅拌 1 小时, 真空浓缩而无加热。残留物用二乙醚 (400ml)、水 (100ml) 稀释, 溶液的 pH 用 5N NaOH 调节到 10.0。将水层分离, 添加乙酸乙酯 (300ml)。溶液的 pH 用 5N HCl 调节到 2.5; 将有机层分离、干燥 (MgSO₄)、过滤, 滤液真空浓缩, 给出一种透明油状物。该油状物溶解在二乙醚 (500ml) 中, 向该溶液中添加 (L) - (-) - α - 甲基苄胺。让此溶液在室温静置 (24 小时)。将所形成的固体滤出、用二乙醚洗涤、干燥。将此固体悬浮在乙酸乙酯中, 用 1.5N 柠檬酸和水洗涤。有机层干燥 (MgSO₄)、过滤、滤液蒸发, 给出油状标题化合物 (20.2g, 44 %) FAB - MS 415 (MH⁺); [α]_D = 3.2° (c=0.5, MeOH); 元素分析 (计算值) C₂₃H₃₀N₂O₅: C, 66.65; H, 7.30; N, 6.76。实测值: C, 66.38; H, 7.36; N, 6.63。

J) 2 - Cbz - (4aR, 8aR) - 全氢化异喹啉 - 1(R) - 碳酰 - Pro - NH - (CH₂)₄ - NH - Boc

在烧瓶 1 中, 将步骤 I 的产品 (1.06g, 2.55mmol) 溶解在 DMF (10ml) 中, 冷却到 - 15 °C, 添加 N - 甲基吗啉 (0.28ml, 2.55mmol), 随后添加氯甲酸异丁酯 (0.33ml, 2.55mmol)。反应混合物在 - 15 °C 搅拌 2 分钟。

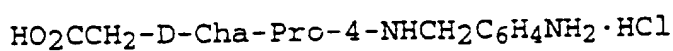
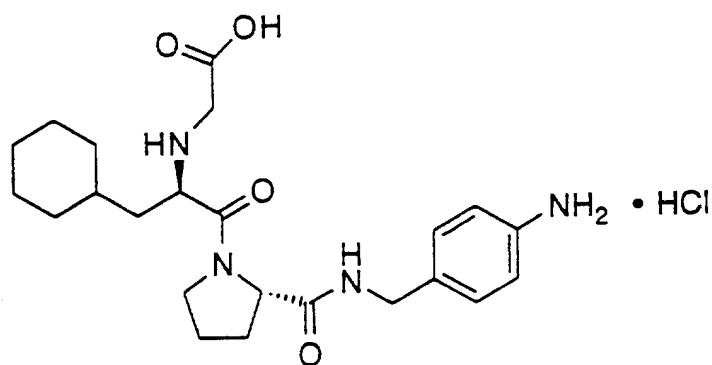
在烧瓶 2 中, 将 N - Boc - 1,4 - 二氨基丁烷 (0.48g, 2.55mmol) 溶解在 DMF (10ml) 中、冷却至 0 °C, 向该溶液中添加 N - 甲基吗啉 (0.28ml, 2.55mmol)。反应混合物在 0 °C 搅拌 2 分钟。

将烧瓶 2 的内容物添加到烧瓶 1 中, 反应混合物搅拌 4 小时 (-15 °C) 并在室温搅拌 24 小时。向该反应混合物中添加 1N NaHCO₃ (1ml),

将反应溶剂真空脱除，给出一种油状物。将此残留物溶解在 EtOAc (200ml) 中，依次用 1.5N 柠檬酸、水、1N NaHCO₃ (100ml) 和水洗涤。有机溶液干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩至干，给出固体状粗标题化合物 (1.47g, 99 %)； FAB - MS 585 (MH⁺)； TLC Rf (A)0.70。

K) (4aR, 8aR) - 全氢化异喹啉 - 1(R) - 碳酰 - Pro - Agm · 3HCl
在搅拌下，向步骤 J 的产品 (1.4g, 2.4mmol) 的 CH₂Cl₂ (2ml) 溶液中添加三氟乙酸 (25ml) 和茴香醚 (2.5ml)。反应混合物在室温搅拌 30 分钟，真空浓缩而无加热。反应混合物用二乙醚 (100ml) 稀释，
10 将上清液离心。所得到的油状物用二乙醚研制 2 次、干燥。干燥的油状物溶解在 THF (20ml) 中，向混合物中添加三乙胺 (0.66ml, 4.8mmol) 和二 Cbz - S - 甲基异硫脲 (0.859g, 2.4mmol)。反应混合物在室温搅拌 48 小时。有机溶剂真空蒸发，残留物溶解在 EtOAc (200ml) 中，
15 依次用 1N NaHCO₃ (100ml) 和水洗涤。有机溶液干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩至干，给出一种粗固体 (1.5g, 79 %)： TLC Rf (D) 0.33。此粗固体 (1.5g, 1.93mmol) 溶解在乙醇 (50ml)、水 (10ml) 和 1N HCl (5.8ml, 5.8mmol) 中，在 5 % Pd/C 催化剂 (2.5g) 存在下，在常温、常压下加氢。用过滤法除去催化剂，滤液真空浓缩成油状物。此油状物溶解在三氟乙酸 (10ml) 中，向该混合物中添加硫代茴香醚
20 (1.0ml) 和三氟甲磺酸 (1.0ml)。反应混合物在室温搅拌 0.5 小时，添加二乙醚 (100ml)。将上清液离心，所得到的油用二乙醚研制 2 次、真空干燥，给出一种粗固体 (1.3g)。将该固体 (1.3g) 溶解在 0.05% HCl 中，加到一根 5 × 25cm Vydac C₁₈ 树脂柱中。用 CH₃CN 浓度递增 (2 % 至 25 %) 的梯度使肽从该柱上洗脱。根据分析型 RPHPLC 分布，
25 将各级分收集、合并、冻干，给出纯标题化合物 (0.139g, 15 %)： FAB - MS 393 (MH⁺)；元素分析(计算值) C₂₀H₃₆N₆O₂ · 5HCl · 3H₂O C, 38.28；实测值： C, 38.34。

实例 62



HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₄NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 1 - G (用 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-ProOH)、23 - D 和 58 - E 所述的那些方法, 从 4 - 硝基苄胺盐酸盐制备了 0.17g HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₄NH₂ · HCl。最终产品

用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 2 小时)。

IR

¹H NMR

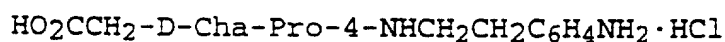
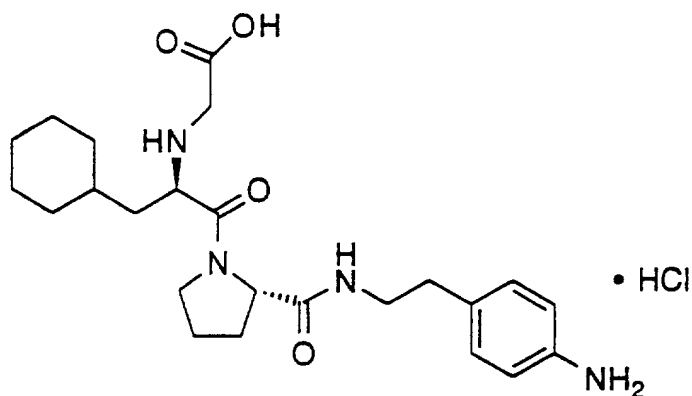
FAB - MS, m/e 431.3 (MH⁺)

分析 C₂₃H₃₄N₄O₄ · 2.2 HCl · 1.5 H₂O:

计算: C, 51.37; H, 7.35; N, 10.42; Cl, 14.50;

实测: C, 50.87; H, 6.72; N, 10.41; Cl, 14.18.

实例 63



HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂CH₂C₆H₄NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 62 所述的那些方法, 从 4 - 硝基苯乙胺盐酸盐制备了 0.19g HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂CH₂C₆H₄NH₂ · HCl。最终产品用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 2 小时)。

5 IR

¹H NMR

FAB - MS, m/e 445.3 (MH⁺)

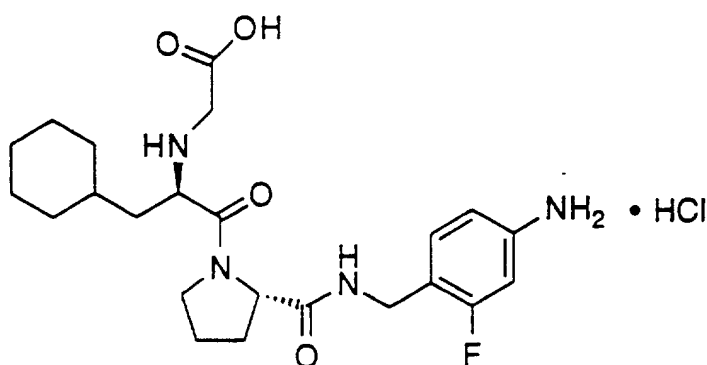
分析 C₂₄H₃₆N₄O₄ · 2.2HCl · 0.5H₂O:

计算: C, 54.00; H, 7.40; N, 10.50; Cl, 14.61;

10 实测: C, 53.65; H, 7.59; N, 10.24; Cl, 14.33.

实例 64

15



20

HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3-F-C₆H₃NH₂ · HCl

A) 4 - Boc₂NCH₂-3-F-C₆H₃NO₂ 的制备

在搅拌下, 向 2 - 氟 - 4 - 硝基甲苯 (5g, 32mmol) 的四氯化碳 (160ml) 溶液中添加 N - 溴琥珀酰亚胺 (5.7g, 32mmol), 随后添加过氧化苯甲酰 (0.78g, 3.2mmol), 将溶液加热到回流、12 小时后, 除去热量, 混合物用四氯化碳 (100ml) 稀释, 用水洗涤。然后, 有机相用乙酸乙酯 (300ml) 稀释、干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩。残留物溶解在四氢呋喃 (50ml) 中, 并添加到正在搅拌的 NaH (60 % 油分散液; 1.3g, 32mmol) 和亚氨基二羧二叔丁酯 (6.9g, 32mmol) 的四氢呋喃 (100ml) 溶液中。搅拌过夜后, 溶剂真空脱除, 残留物用硅胶柱色谱法纯化, 以己烷直至 20 % 乙酸乙酯/己烷的步进梯度洗脱。含产品的级分 (用 TLC 判断) 合并、真空浓缩, 给出 3.9g (33 %) 白色固体。

25

30

IR

^1H NMR

FD - MS, m/e 370 (M^+)

分析 $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6$:

5 计算: C, 55.13; H, 6.26; N, 7.56;

实测: C, 55.27; H, 6.23; N, 7.44.

B) $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-3-F-C}_6\text{H}_3\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 23-A、1-G (用 $\text{N-(t-BuO}_2\text{CCH}_2)\text{-N-Boc-D-Cha-ProOH}$)、23 - D 和 58 - E 所述的那些方法, 制备了 0.44g
10 $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-3-F-C}_6\text{H}_3\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。最终产品用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 2 小时)。

IR

^1H NMR

FAB - MS, m/e 449.3 (MH^+)

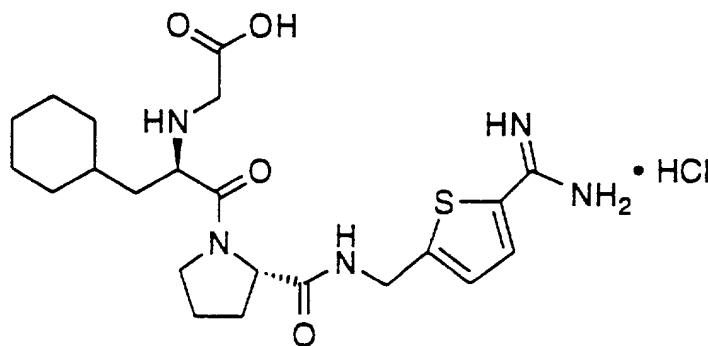
15 分析 $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_4\text{F} \cdot 1.3\text{HCl}$:

计算: C, 55.70; H, 6.97; N, 11.30; Cl, 9.29;

实测: C, 55.38; H, 6.97; N, 11.05; Cl, 9.31.

实例 65

20



25

$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-2 - 咪基噻吩} \cdot \text{HCl}$

(N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[5 - (氨基亚氨基甲基) 噻吩 - 2 - 基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺 · 盐酸盐)

A) 2 - 氨基 - 5 - 甲酰噻吩的制备

30

在氮气氛下, 向火焰干燥的 3 颈 1L 圆底烧瓶中添加二异丙胺 (9ml, 66mmol) 和 THF (150ml)。将该烧瓶冷却到瓶内温度为 -78°C (干冰 / 丙酮)。在搅拌下, 通过注射器向此溶液中添加正丁基锂 (1.6M

己烷溶液, 41.3ml, 66.1mmol), 将混合物搅拌 5 分钟。用 10 分钟时间
向此溶液中添加 2 - 噻吩脒 (6.55g, 60mmol) 的 THF (30ml) 溶液。
所形成的亮红色溶液在 - 78 °C 搅拌 45 分钟, 此时通过注射器添加二甲
5 甲基甲酰胺 (23.3ml, 300mmol)。此混合物在 - 78 °C 搅拌 2 小时, 然后
添加固体柠檬酸 (约 10g), 随后加水 (60ml)。真空脱除挥发性溶剂,
将残留物分配于二乙醚和盐水 (各 200ml) 之间。将两层分离, 水相用
二乙醚洗涤 1 次。合并的有机相用盐水洗涤 1 次, 干燥 (MgSO₄)、过
10 滤、真空浓缩, 给出一种黄色固体, 再用硅胶柱色谱法纯化, 以乙酸乙
酯/己烷梯度 (己烷至 50 % 乙酸乙酯/己烷) 洗脱。含纯产品的级分合并、
真空浓缩, 给出 6.9g (84 %) 2 - 氰基 - 5 - 甲酰噻吩。

¹H NMR

B) 2 - 氰基 - 5 - (羟甲基) 噻吩的制备

向 2 - 氰基 - 5 - 甲酰噻吩 (6.9g, 50mmol) 的 EtOH (100ml)
溶液中分批添加硼氢化钠 (1.9g, 50mmol)。搅拌 5 分钟后, 真空脱除
15 溶剂, 残留物分配于乙酸乙酯与盐水之间。将两层分离, 有机相用 1M
柠檬酸洗涤 1 次、用盐水洗涤 1 次, 然后干燥 (MgSO₄)、过滤、真空
浓缩, 给出 6.1g (88 %) 2 - 氰基 - 5 - (羟甲基) 噻吩。

¹H NMR

FD - MS, m/e 140 (M⁺)

20 分析 C₆H₅NOS :

计算: C, 51.78; H, 3.62; N, 10.06;

实测: C, 51.54; H, 3.62; N, 9.86.

C) 2 - 氰基 - 5 - (溴甲基) 噻吩的制备

向 2 - 氰基 - 5 - (羟甲基) 噻吩 (6.0g, 43mmol) 的 THF (50ml)
25 溶液中添加三苯膦 (15.7g, 47mmol) 和四溴化碳 (12.3g, 47mmol)。
在氮气氛下在室温搅拌过夜, 真空脱除溶剂, 残留物溶解在氯仿中, 然
后吸附到硅胶上并装进一根硅胶柱中。产品用乙酸乙酯/己烷梯度洗脱。
含纯产品的级分 (用 TLC 判断) 合并、真空浓缩, 给出 6.5g (75 %) 2
- 氰基 - 5 - (溴甲基) 噻吩。

30 ¹H NMR

FD - MS, m/e 203 (M⁺)

分析 C_6H_4NSBr :

计算: C, 35.66; H, 1.99; N, 6.93;

实测: C, 35.71; H, 2.03; N, 6.95.

D) 2-氟基-5-(氨基甲基)噻吩·HCl 的制备

- 5 向 2-氟基-5-(溴甲基)噻吩 (6.0g, 30mmol) 的 THF (50ml) 冷 (0 °C) 溶液中, 在氮气氛下分批添加 NaH (60% 油分散液, 1.3g, 33mmol)。在搅拌下, 向此悬浮液中添加亚氨基二羧酸二叔丁酯 (7.1g, 33mmol) 的 THF (50ml) 溶液, 在 30 分钟内加完。搅拌 3 小时后, 添加饱和氯化铵水溶液 (100ml)。然后真空脱除挥发性溶剂, 残留物
- 10 分配于乙酸乙酯与水之间。将两层分离, 有机相用盐水洗涤 2 次、干燥 ($MgSO_4$)、过滤、真空浓缩, 给出 10.5g (100%) 2-氟基-5-Boc₂NCH₂-噻吩, 静置时结晶。这种固体溶解在 EtOAc (200ml) 中, 用冰/水浴冷却到 0 °C。该溶液通入无水 HCl 气体 10 分钟, 混合物搅拌 2 小时同时使之回升至室温。真空脱除溶剂, 所形成的固体悬浮在二乙醚
- 15 中, 用过滤法分离。此白色固体真空干燥过夜, 给出 5.2g (100%) 2-氟基-5-(氨基甲基)噻吩·HCl。

¹H NMR

FD - MS, m/e 139 (M^+)

分析 $C_6H_7N_2SCl$:

20 计算: C, 41.26; H, 4.04; N, 16.04;

实测: C, 41.19; H, 4.12; N, 15.82.

E) N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2-氟基噻吩的制备

- 25 用基本上相当于实例 1 - G (用 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-ProOH) 所述的那种方法, 从 2-氟基-5-(氨基甲基)噻吩·HCl 制备了 4.6g (93%) N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2-氟基噻吩。

IR

¹H NMR

30 FD - MS, m/e 602 (M^+)

F) N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2-C(NH)NHBoc-噻吩的制备

向 N - (t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂ - 2 - 氨基噻吩 (1.5g, 2.5mmol) 和三乙胺 (4.5ml) 的吡啶 (45ml) 溶液中通入硫化氢气体 5 分钟, 然后将反应器密封、静置过夜。次日早上向该溶液中通入氮气 5 分钟, 真空脱除溶剂。残留物溶解在乙酸乙酯中, 用水洗涤 1 次、用盐水洗涤 1 次, 然后干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩。然后, 将残留物溶解在甲苯中, 真空浓缩 2 次。

然后将残留物溶解在丙酮 (100ml) 中, 添加碘甲烷 (5ml)。在室温搅拌过夜后, 真空脱除溶剂。然后把所形成的金色泡沫状物溶解在甲醇 (20ml) 中, 添加 NH₄OAc (0.39g, 5mmol), 溶液加热回流。1 小时后真空脱除溶剂, 残留物溶解在四氢呋喃 (10ml) 中。在搅拌下, 向此溶液中添加 K₂CO₃ (1.73g, 12.5mmol) 的水 (10ml) 溶液, 随后添加草酸二叔丁酯 (2.2g, 10mmol)。搅拌 1 小时后, 悬浮液用乙酸乙酯 (400ml) 稀释, 用水洗涤, 然后用盐水洗涤。然后, 有机相真空浓缩、用硅胶柱色谱法纯化、以 10 % 乙酸乙酯/己烷直至 75 % 乙酸乙酯/己烷的步进梯度洗脱。用 TLC 判断的含产品级分合并、真空浓缩, 给出 1.1g (61 %) 白色泡沫状物。

¹H NMR

FD - MS, m/e 720 (M⁺)

分析 C₃₆H₅₇N₅O₈S:

20 计算: C, 60.06; H, 7.98; N, 9.73;

实测: C, 59.76; H, 8.07; N, 9.52.

G) HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2 - 咪基噻吩 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 58-E 所述的那种方法, 制备了 500mg HO₂CCH₂ - D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2 - 咪基噻吩 · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 2 小时)。

IR

¹H NMR

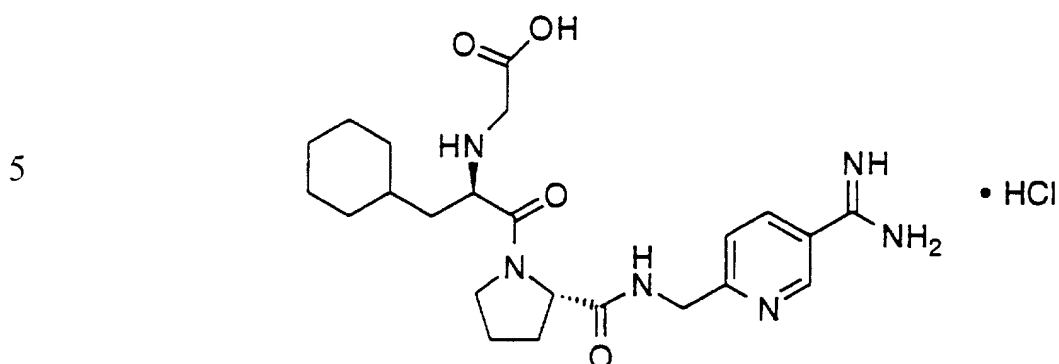
FAB - MS, m/e 464.2 (MH⁺)

分析 C₂₂H₃₃N₅O₄S · 2HCl · H₂O:

30 计算: C, 47.65; H, 6.73; N, 12.63; Cl, 12.79;

实测: C, 47.53; H, 6.57; N, 12.59; Cl, 12.67.

实例 66



10 $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-2-NHCH}_2\text{-5-咪基吡啶}\cdot\text{HCl}$
 (N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酸 - N - [[5 - (氨基亚氨基甲基)
 吡啶 - 2 - 基] 甲基] - L - 脯氨酸酰胺 · 盐酸盐)

A) N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-2-NHCH₂-5 - 氨基吡啶的制
 备

15 用基本上相当于实例 64-A 、 23-A 和 1-G (用 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-
 Boc-D-Cha-ProOH) 所述的那些方法, 从 2 - 甲基 - 5 - 氨基吡啶制备
 了 4.4g N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-2-NHCH₂ - 5 - 氨基吡啶。

IR

¹H NMR

20 FD - MS, m/e 597 (M⁺)

B) HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-2-NHCH₂-5 - 咪基吡啶 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 65 - F 和 65 - G 所述的那些方法, 从 N-(t-
 BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-2-NHCH₂ - 5 - 氨基吡啶制备了 130mg
 HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-2-NHCH₂-5 - 咪基吡啶 · HCl。此产品用 RPHPLC
 25 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B) , 2 小时)。

IR

¹H NMR

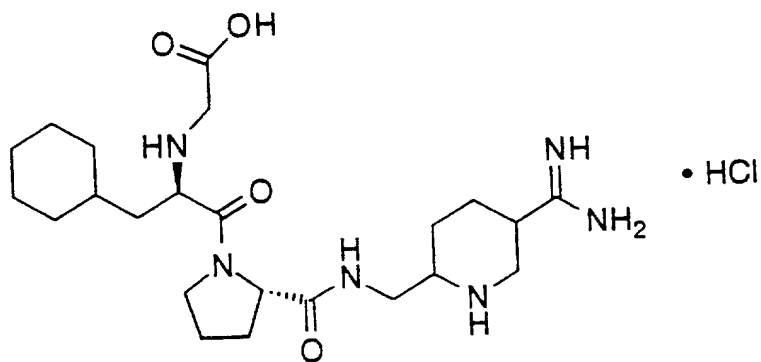
FAB - MS, m/e 459.3 (MH⁺)

HRMS (FAB), m/e 计算值 C₂₃H₃₅N₆O₄ : 459.2720 实测值:

30 459.2707

实例 67

5



10

HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-2-NHCH₂-5 - 咪基哌啶 · HCl

HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-2-NHCH₂-5 - 咪基哌啶 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 23 - A、23 - B 和 1 - B 所述的那些方法，精心制作了 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-2-NHCH₂-5 - 氨基吡啶
 15 (1.2g, 2mmol)。此产品用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B)，2 小时)。分析型 RPHPLC 判断的含少量产品的级分合并、真空部分浓缩、冻干，给出 93mg (9 %) 淡绿色固体。

IR

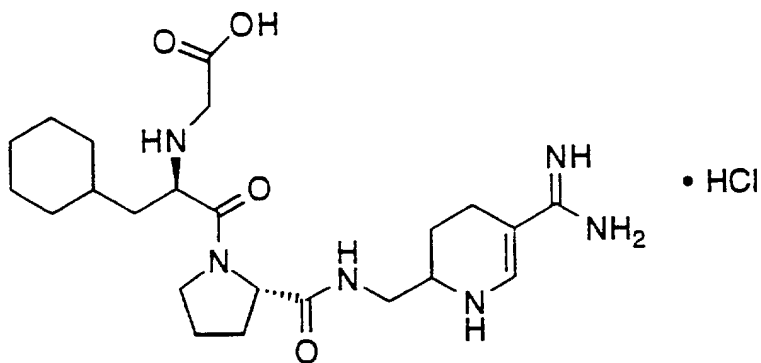
¹H NMR

20 IS - MS, m/e 465.5 (MH⁺)

HRMS (FAB), m/e 计算值 C₂₃H₄₁N₆O₄: 465.3189 实测值:
 465.3191

实例 68

25



30

HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-2-NHCH₂-5 - 咪基-5,6-脱氢哌啶 · HCl

(N-(羧甲基)-D-环己基丙氨酸-N-[[5-(氨基亚氨基甲基)-1,2,3,4-四氢吡啶-2-基]甲基]-L-脯氨酸·盐酸盐)

HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-2-NHCH₂-5-咪基-5,6-脱氢吡啶·HCl 的制备

5 用基本上相当于实例 23 - A、23 - B 和 1 - B 所述的那些方法，精心制作了 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-2-NHCH₂-5-氨基吡啶 (1.2g, 2mmol)。此产品用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B)，2 小时)。用分析型 RPHPLC 判断的含大量产品的级分合并、部分浓缩、冻干，给出 422mg (39%) 白色固体。

10 IR

¹H NMR

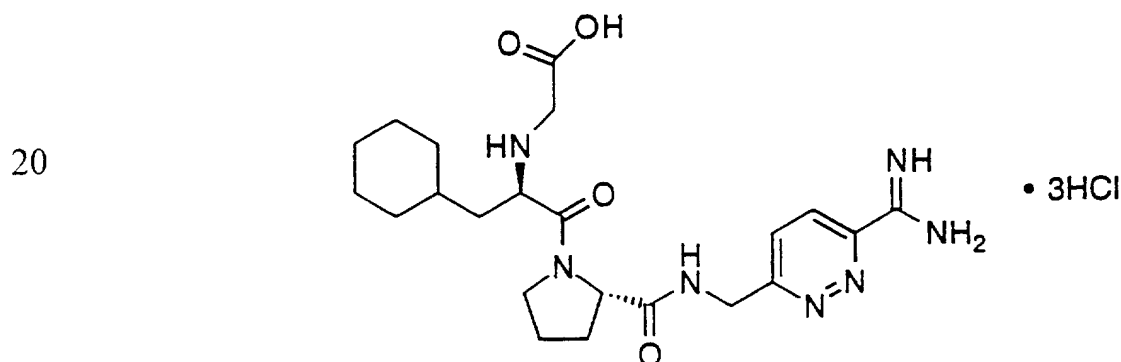
IS - MS, m/e 463.3 (MH⁺)

分析 C₂₃H₃₈N₆O₄·2.9HCl·2H₂O:

计算: C, 45.71; H, 7.49; N, 13.91; Cl, 17.01;

15 实测: C, 45.51; H, 6.83; N, 13.66; Cl, 16.83.

实例 69



25 HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-3-NHCH₂-6-咪基吡嗪·3HCl

(N-(羧甲基)-D-环己基丙氨酸-N-[[6-(氨基亚氨基甲基)吡嗪-3-基]甲基]-L-脯氨酸·三盐酸盐

A) 3-甲基-6-氨基吡嗪的制备

30 在搅拌下，向 3-甲基吡嗪 (11g, 118mmol) 的二氯甲烷 (200ml) 溶液中添加 AlCl₃ (0.05g)，随后添加三甲基甲硅烷基氟 (21g, 211mmol)。20 分钟后，通过加料漏斗添加对甲苯磺酰氟 (38g, 201mmol) 的二氯甲烷 (50ml) 溶液，该溶液继续搅拌过夜。次日早上真空脱除溶剂，将残

留物悬浮在乙醇中，搅拌 15 分钟，然后过滤，给出一种白色固体。此固体溶解在四氢呋喃（200ml）中，在搅拌下向此溶液中添加 1,8 - 二氮杂双环[5.4.0]十一碳 - 7 - 烯（16ml, 105mmol）。1 小时后，真空脱除溶剂，残留物分配于己烷和饱和 NH₄Cl 水溶液之间。将两相分离，水相用固体 Na₂CO₃ 碱化，然后用乙酸乙酯萃取 3 次。合并的乙酸乙酯相干燥（MgSO₄）、过滤、真空浓缩，给出 9g（64%）白色固体。

IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 119.1 (M⁺)

10 B) HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-3-NHCH₂-6 - 咪基吡嗪 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 66 所述的那些方法，从 3 - 甲基 - 6 - 氟基吡嗪制备了 90mg HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-3-NHCH₂-6 - 咪基吡嗪 · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 纯化（98/2（A/B）直至 70/30（A/B），2 小时）。

15 IR

¹H NMR

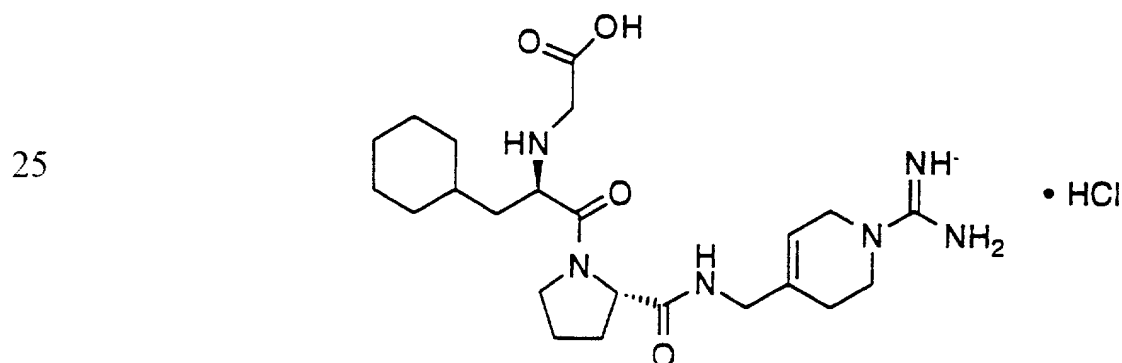
FAB - MS, m/e 460.3 (MH⁺)

分析 C₂₂H₃₃N₇O₄ · 3HCl · 2H₂O:

计算: C, 43.68; H, 6.66; N, 16.21;

20 实测: C, 44.04; H, 6.45; N, 15.57.

实例 70



30 HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-1 - 咪基 - 3,4 - 脱氢吡啶 · HCl
 (N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[1 - (氨基亚氨基甲基) - 1,2,3,6 - 四氢吡啶 - 4 - 基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺 · 盐酸盐)

A) N,N' -Boc₂-硫脲的制备

在 0 °C 搅拌下, 向 NaH (60 % 油分散, 9.4g, 234mmol) 的四氢呋喃 (500ml) 悬浮液中添加硫脲 (4.0g, 52mmol)。30 分钟后, 撤去冷浴, 让反应混合物在室温搅拌 30 分钟。再次使反应器冷却到 0 °C, 通过加料漏斗添加草酸二叔丁酯 (25g, 115mmol) 的四氢呋喃 (100ml) 溶液。在 0 °C 搅拌 30 分钟并在室温再搅拌 2 小时后, 添加饱和 NaHCO₃ 水溶液。然后, 将溶液真空浓缩至原体积的大约一半, 添加乙酸乙酯。然后, 有机相用饱和 NaHCO₃ 水溶液洗涤、随后用盐水洗涤, 然后用 MgSO₄ 干燥、过滤、浓缩, 给出 11.9g (83 %) 白色固体。

10 IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 276 (M⁺)

分析 C₁₁H₂₀N₂O₄S:

计算: C, 47.81; H, 7.30; N, 10.14;

15 实测: C, 47.69; H, 7.28; N, 10.34.

B) N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂ - 1 - (N, N' - Boc₂ - 咪基) - 3,4 - 脱氢吡啶的制备

在搅拌下, 向 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂ - 3,4 - 脱氢吡啶 (0.6g, 1mmol) 和三乙胺 (0.35g, 3.4mmol) 的二甲基甲酰胺 (10ml) 溶液中添加 N,N' -Boc₂-硫脲 (0.28g, 1mmol), 随后添加 HgCl₂ (0.28g, 1mmol)。4 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物溶解在乙酸乙酯中, 用盐水洗涤 2 次。然后, 有机相用 MgSO₄ 干燥、过滤、真空浓缩。产品用硅胶柱色谱法纯化, 以 20 % 乙酸乙酯/己烷直至 75 % 乙酸乙酯/己烷的梯度洗脱。用 TLC 判断的含产品级分合并、真空浓缩, 给出 800mg (94 %) 白色泡沫状物。

25 IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 820 (MH⁺)

分析 C₄₂H₇₀N₆O₁₀:

30 计算: C, 61.59; H, 8.61; N, 10.26;

实测: C, 61.81; H, 8.79; N, 10.45.

C) $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-1-咪基-3,4-脱氢哌啶}\cdot\text{HCl}$
的制备

用基本上相当于实例 58 - E 所述的那些方法, 从 $\text{N-(t-BuO}_2\text{CCH}_2\text{)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-1-(N,N'-Boc}_2\text{-咪基)-3,4-脱氢哌啶}$ 制备了 0.22g (55%) $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-1-咪基-3,4-脱氢哌啶}\cdot\text{HCl}$ 。此产品用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 2 小时)。

IR

$^1\text{H NMR}$

10 FAB - MS, m/e 463.3 (MH^+)

分析 $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_4\cdot 2.2\text{HCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$:

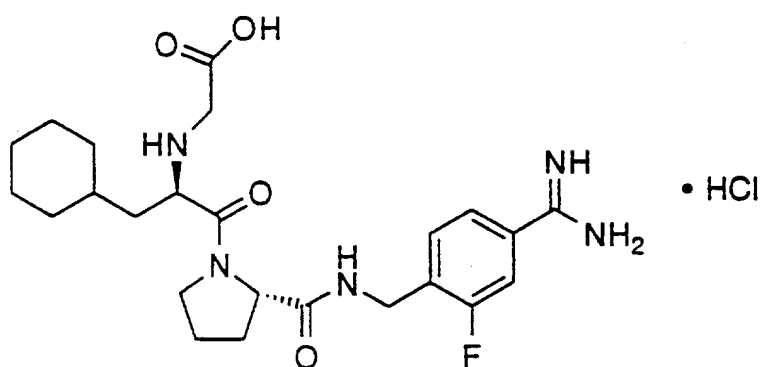
计算: C, 47.73; H, 7.70; N, 14.52; Cl, 13.47;

实测: C, 47.49; H, 7.64; N, 14.55; Cl, 13.48.

实例 71

15

20



$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-3-F-苄脒}\cdot\text{HCl}$

(N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) - 2 - 氟苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺 · 盐酸盐)

25 $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-3-F-苄脒}\cdot\text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 66 所述的那些方法, 从 3 - F - 4 - Me - 苄脒制备了 0.27g $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-3-F-苄脒}\cdot\text{HCl}$ 。此产品用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 2 小时)。

30 IR

$^1\text{H NMR}$

FAB - MS, m/e 476.3 (MH⁻)

分析 C₂₄H₃₄N₅O₄F · 2HCl · 1.5H₂O:

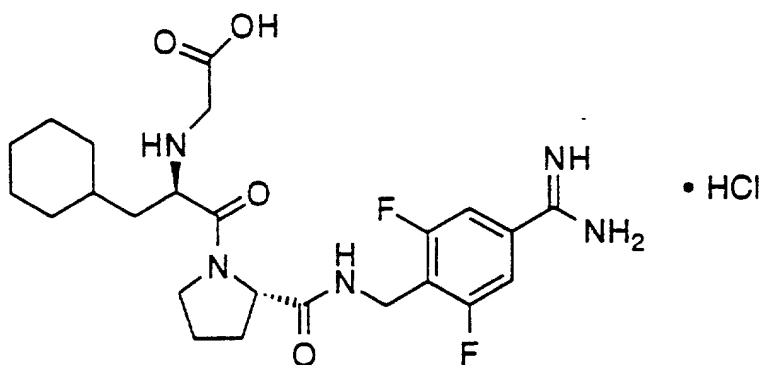
计算: C, 50.09; H, 6.83; N, 12.17; Cl, 12.32;

实测: C, 49.89; H, 6.65; N, 12.17; Cl, 12.42.

5

实例 72

10



HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3,5-F₂ - 苜脘 · HCl

15 (N - (羧甲基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) - 2,6 - 二氟苯基]甲基] - L - 脯氨酸 · 盐酸盐)

HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3,5-F₂ - 苜脘 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 65 所述的那些方法, 从 3,5 - F₂ - 苜脘制备了
0.28g HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3,5-F₂ - 苜脘 · HCl。此产品用
20 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 150 分钟)。

IR

¹H NMR

FAB - MS, m/e 494.2 (MH⁺)

分析 C₂₄H₃₃N₅O₄F₂ · 2HCl · 1.5H₂O:

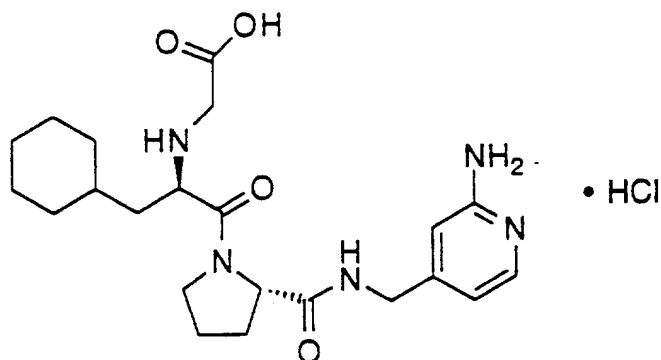
25 计算: C, 48.57; H, 6.45; N, 11.80; Cl, 11.95;

实测: C, 48.26; H, 6.17; N, 11.89; Cl, 11.90.

30

实例 73

5



HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂ - 2 - 氨基吡啶 · HCl

10

A) 4 - 甲基 - 2 - 邻苯二甲酰亚胺基吡啶的制备

在搅拌下, 向 4 - 甲基 - 2 - 氨基吡啶 (50g, 460mmol) 的乙酸 (1L) 溶液中添加邻苯二甲酸酐 (68g, 460mmol), 反应混合物加热回流。 12 小时后, 添加乙酸酐 (43ml, 460mmol), 溶液继续搅拌回流另外 48 小时。然后真空脱除溶剂, 将固体残留物悬浮在甲苯中, 真空浓缩 2 次。然后将固体悬浮在乙酸乙酯中, 猛烈搅拌、过滤。重复这种乙酸乙酯洗涤步骤之后, 固体真空干燥过夜, 给出 46.6g (42%) 白色固体。

15

IR

¹H NMR

20 FD - MS, m/e 238 (M⁺)

分析 C₁₄H₁₀N₂O₂:

计算: C, 70.58; H, 4.23; N, 11.76;

实测: C, 70.42; H, 4.29; N, 11.70.

25

B) N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂ - 2 - 邻苯二甲酰亚胺基吡啶的制备

用基本上相当于实例 64 - A、 23 - A 和 1 - G (用 N-(t-BuO₂CCH₂) - N-Boc-D-Cha-ProOH) 所述的那些方法, 从 4 - 甲基 - 2 - 邻苯二甲酰亚胺基吡啶制备了 2.4g N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH₂ - 2 - 邻苯二甲酰亚胺基吡啶。

30 IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 717.7 (M⁺)

C) $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-2-氨基吡啶}\cdot\text{HCl}$ 的制备

在搅拌下, 向 $\text{N-(t-BuO}_2\text{CCH}_2\text{)-N-Boc-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{-2-邻苯二甲酰亚胺基吡啶}$ (1.6g, 2.2mmol) 的乙醇 (25ml) 溶液中添加水合肼 (0.52ml, 10.4mmol)。1 小时后, 真空脱除溶剂, 残留物溶解在乙酸乙酯中、真空浓缩 2 次。残留物用基本上相当于实例 58 - E 所述的那种步骤精心制作, 给出 380mg (37%) 白色固体。此产品用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 150 分钟)。

IR

$^1\text{H NMR}$

10 FAB - MS, m/e 432.3 (MH^+)

分析 $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_4\cdot 2.1 \text{ HCl}\cdot\text{H}_2\text{O}$:

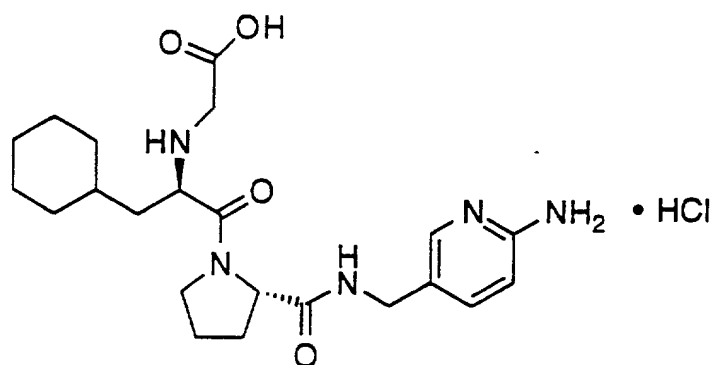
计算: C, 50.23; H, 7.11; N, 13.31;

实测: C, 50.05; H, 7.08; N, 13.54.

实例 74

15

20



$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-5-NHCH}_2\text{-2-氨基吡啶}\cdot\text{HCl}$

$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-5-NHCH}_2\text{-2-氨基吡啶}\cdot\text{HCl}$ 的制备

25 用基本上相当于实例 73 所述的那些方法, 从 5 - 甲基 - 2 - 氨基吡啶制备了 0.88g $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-5-NHCH}_2\text{-2-氨基吡啶}\cdot\text{HCl}$ 。此产品用 RPHPLC 方法 2 纯化 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 150 分钟)。

IR

30 $^1\text{H NMR}$

FAB - MS, m/e 432.3 (MH^+)

分析 $C_{22}H_{33}N_5O_4 \cdot 2HCl \cdot H_2O$:

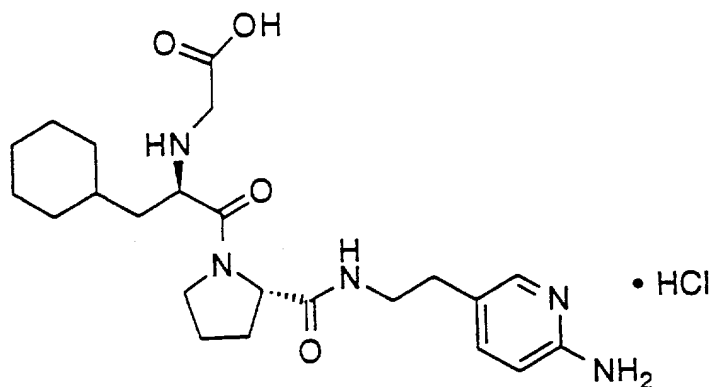
计算: C, 50.58; H, 7.14; N, 13.40;

实测: C, 50.79; H, 7.20; N, 13.58.

实例 75

5

10



HO_2CCH_2 -D-Cha-Pro-5-NHCH₂CH₂-2-氨基吡啶 · HCl

15 A) 5 - Me - 2 - Boc₂N - 吡啶的制备

在 0 °C 搅拌下, 向 5 - 甲基 - 2 - 氨基吡啶 (10.5g, 100mmol) 的二氯甲烷 (200ml) 溶液中添加 N,N - 二异丙基乙胺 (25.8g, 200mmol), 随后添加草酸二叔丁酯 (55g, 250mmol), 最后添加 4 - (N,N - 二甲氨基) 吡啶 (12.2g, 100mmol) 。撤去冷浴, 让溶液继续搅拌过夜。

20 然后, 混合物用乙酸乙酯 (600ml) 稀释, 用饱和 NH₄Cl 水溶液洗涤 3 次, 用盐水洗涤 1 次, 用饱和 NaHCO₃ 水溶液洗涤 2 次, 再用盐水洗涤 1 次。然后, 有机相干燥 (MgSO₄) 、过滤、真空浓缩, 用硅胶柱色谱法纯化, 以 10 % 乙酸乙酯/己烷直至 75 % 乙酸乙酯/己烷的梯度洗脱。用 TLC 判断的含产品级分合并、真空浓缩, 给出 12.8g (42 %) 白色固体。

25 IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 308 (M⁺)

分析 C₁₆H₂₄N₂O₄:

计算: C, 62.32; H, 7.84; N, 9.08;

30 实测: C, 62.51; H, 8.11; N, 9.37.

B) 5 - BrCH₂ - 2 - Boc₂N - 吡啶的制备

用基本上相当于实例 64 - A 所述的那些方法, 从 5-Me-2-Boc₂N - 吡啶制备了大约 11.6g 5 - BrCH₂ - 2 - Boc₂N - 吡啶 (沾污了起始原料)。

¹H NMR

5 FD - MS, m/e 386.3 (M⁺)

分析 C₁₆H₂₃N₂O₄Br :

计算: C, 49.62; H, 5.99; N, 7.23;

实测: C, 49.86; H, 6.00; N, 7.07.

C) 5 - NCCH₂ - 2 - Boc₂N - 吡啶的制备

10 在搅拌下, 向轻微不纯的 5 - BrCH₂ - 2 - Boc₂N - 吡啶 (9.7g, 25mmol) 的二甲基甲酰胺 (150ml) 溶液中添加 18 - 冠醚 - 6 (1.32g, 5mmol), 随后添加 KCN (1.95g, 30mmol)。在搅拌 6 小时之后, 真空脱除溶剂, 残留物用硅胶柱色谱法纯化, 以己烷直到 40 % 乙酸乙酯/己烷的步进梯度洗脱。用 TLC 判断的含产品级分合并、真空浓缩, 给出
15 2.6g (31 % , 用 2 步) 白色固体。

IR

¹H NMR

FD - MS, m/e 333.4 (M⁺)

分析 C₁₇H₂₃N₃O₄ :

20 计算: C, 61.25; H, 6.95; N, 12.60;

实测: C, 61.09; H, 6.92; N, 12.53.

D) HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-5-NHCH₂CH₂ - 2 - 氨基吡啶 · HCl 的制备

25 在搅拌下, 向 5 - NCCH₂ - 2 - Boc₂N - 吡啶 (2.5g, 7.5mmol) 的甲醇 (150ml) 溶液中添加 CoCl₂ (0.97g, 7.5mmol) 和水 (0.81g, 45mmol)。5 分钟后, 用 15 分钟时间分小批添加 NaBH₄ (2.84g, 75mmol)。再过 15 分钟之后真空脱除溶剂, 残留物溶解在浓 NH₄OH 水溶液中, 用乙酸乙酯萃取若干次。合并的乙酸乙酯萃取液用 MgSO₄ 干燥、过滤、真空浓缩。

30 然后, 用基本上相当于实例 1 - A 和 73 - C 所述的那些方法, 将残留物精心制作, 给出 1.2g (33 %) HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-5-NHCH₂CH₂ - 2 - 氨基吡啶 · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 (98/2 (A/B) 直至

60/40 (A/B), 150 分钟) 纯化。

IR

^1H NMR

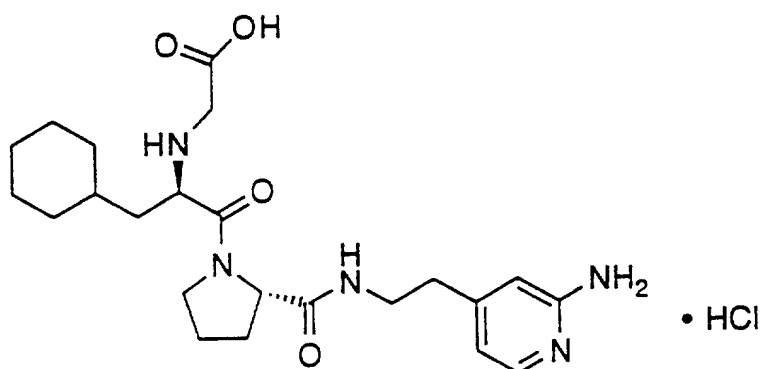
FAB - MS, m/e 446.3 (MH^+)

5 HRMS (FAB) 计算值 $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_4$: 446.2767

实测值: 446.2769。

实例 76

10



15

$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{CH}_2\text{-2-氨基吡啶} \cdot \text{HCl}$

A) 4 - BocNHCH₂CH₂ - 2 - CN - 吡啶的制备

20 向 4 - BocNHCH₂CH₂ - 吡啶 (2.22g, 10mmol) 的丙酮 (50ml) 溶液中, 在 10 分钟内通过加料漏斗添加间氯过苯甲酸的丙酮 (50ml) 溶液。在搅拌过夜后, 真空脱除溶剂, 残留物分配于水 (100ml) 和二乙醚 (100ml) 之间。将有机相分离, 用水萃取 3 次。然后, 合并的水相用固体 NaCl 饱和, 用二氯甲烷 (100ml) 萃取 3 次。合并的二氯甲烷萃取液用盐水洗涤 1 次, 用 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 真空浓缩成小体积, 然后添加二乙醚。将白色沉淀物 (2.0g) 滤出、真空干燥。

25 将所分离固体的一半 (4.2mmol) 溶解在二氯甲烷 (10ml) 中, 在搅拌下向此溶液中添加三甲基甲硅烷基氯 (0.84ml, 6.3mmol), 随后添加 N, N - 二甲基氨基甲酰氯 (0.58ml, 6.3mmol)。搅拌过夜后, 缓缓添加 1M KHCO₃ 水溶液 (1ml), 将混合物分配在乙酸乙酯和水之间。然后, 有机相用盐水洗涤 2 次, 用 MgSO₄ 干燥、过滤、真空浓缩, 给出 30 0.6g (58%) 琥珀色油状物, 静置时结晶。

IR

^1H NMR

FD - MS, m/e 247 (M⁺)

分析 C₁₃H₁₇N₃O₂:

计算: C, 63.31; H, 7.02; N, 16.99;

实测: C, 63.31; H, 7.02; N, 16.71.

5 B) 4 - BocNHCH₂CH₂ - 2 - CbzNH - 吡啶的制备

在搅拌下, 向 4 - BocNHCH₂CH₂ - 2-CN - 吡啶 (0.5g, 2mmol) 的甲醇 (2.4ml) 溶液中添加 5N NaOH (1.6ml, 8mmol), 此溶液加热回流。24 小时后, 将溶液冷却到室温, 并使之再搅拌 48 小时。然后用 1N HCl 将 pH 调节至 7, 真空脱除溶剂。

10 残留物悬浮在甲苯 (50ml) 中, 加热回流。在搅拌下, 向此溶液中依次添加三乙胺 (0.36ml, 2.6mmol)、苄醇 (0.27ml, 2.6mmol) 和二苯磷酰叠氮 (0.72g, 2.6mmol)。搅拌回流过夜之后, 使溶液冷却, 然后用乙酸乙酯 (200ml) 稀释, 用饱和 NH₄Cl 水溶液洗涤 2 次, 用盐水洗涤 2 次。然后, 有机相用 MgSO₄ 干燥、过滤、真空浓缩。然后, 残留物用硅胶柱色谱法纯化, 以己烷直至 50% 乙酸乙酯/己烷的步进梯度洗脱。由 TLC 确定的含产品级分合并、真空浓缩, 给出 0.37g (50%) 白色固体。

¹H NMR

FD - MS, m/e 371.2 (M⁺)

20 分析 C₂₀H₂₅N₃O₄:

计算: C, 64.67; H, 6.78; N, 11.31;

实测: C, 64.90; H, 7.07; N, 11.06.

C) HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂CH₂ - 2 - 氨基吡啶 · HCl 的制备

25 用基本上相当于实例 23-A、1-G(用 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-ProOH)、23 - D 和 58 - E 所述的那些方法, 从 4 - BocNHCH₂CH₂ - 2 - CbzNH - 吡啶制备了 48mg HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂CH₂ - 2 - 氨基吡啶 · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 (98/2 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 150 分钟) 纯化。

30 IR

¹H NMR

FAB - MS, m/e 446.4 (MH⁻)

分析 C₂₃H₃₅N₅O₄·1.5HCl·H₂O:

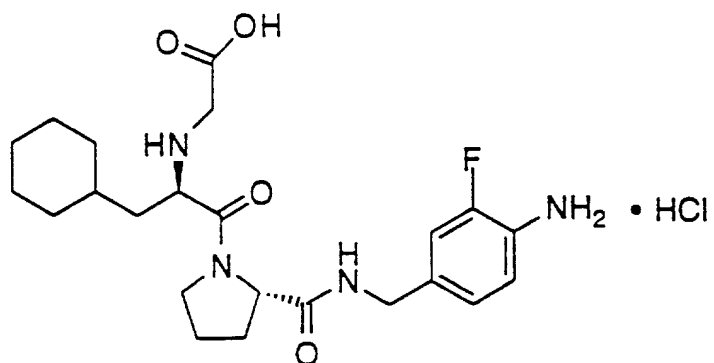
计算: C, 53.30; H, 7.49; N, 13.51;

实测: C, 53.64; H, 7.27; N, 13.80.

5

实例 77

10



HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2-F - 苯胺 · HCl

15

HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2-F - 苯胺 · HCl 的制备

用基本上相当于实例 64 所述的那些方法, 从 3 - F - 4 - NO₂ - 甲苯制备了 0.55g HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2-F - 苯胺 · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 (98/2 (A/B) 直至 60/40 (A/B), 180 分钟) 纯化。

20

IR

¹H NMR

FAB - MS, m/e 449.3 (MH⁺)

分析 C₂₃H₃₃N₄O₄F·0.9HCl·H₂O:

计算: C, 55.32; H, 7.25; N, 11.22; Cl, 6.39;

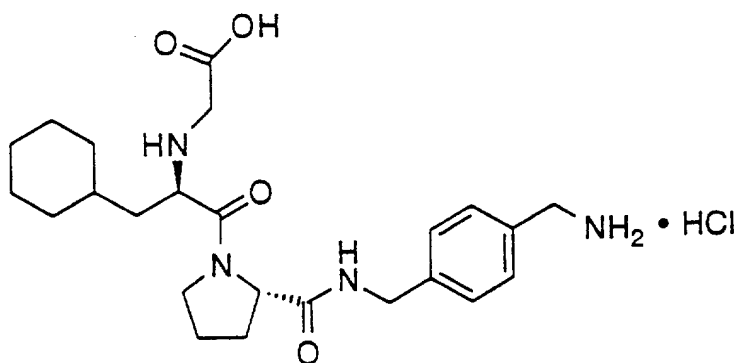
25

实测: C, 55.49; H, 6.93; N, 11.15; Cl, 6.23.

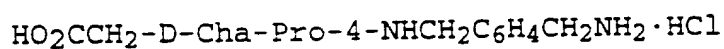
30

实例 78

5



10



$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 10 所述的那些方法, 以 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-ProOH 代替 Boc-D-Phe-ProOH, 制备了 0.53g $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{-D-Cha-Pro-4-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。此产品用 RPHPLC 方法 2 (98/2

15 (A/B) 直至 70/30 (A/B), 150 分钟) 纯化。

IR

¹H NMR

FD-MS, m/e 445.4 (MH⁺)

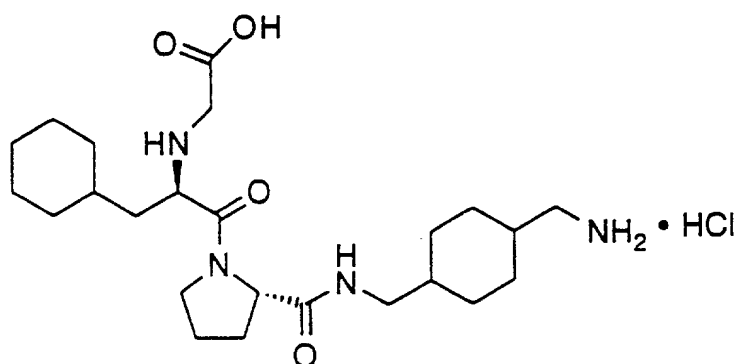
分析 $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 2.2\text{HCl} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$:

20 计算: C, 54.00; H, 7.40; N, 10.50; Cl, 14.61;

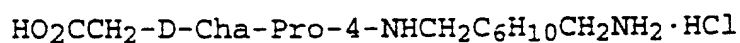
实测: C, 54.18; H, 7.54; N, 10.31; Cl, 14.86.

实例 79

25



30



HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₁₀CH₂NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 12 所述的那些方法，以 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-ProOH 代替 Boc-D-Phe-ProOH，制备了 0.04g HO₂CCH₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₁₀CH₂NH₂ · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 (98/25 (A/B) 直至 70/30 (A/B)，150 分钟) 纯化。

¹H NMR

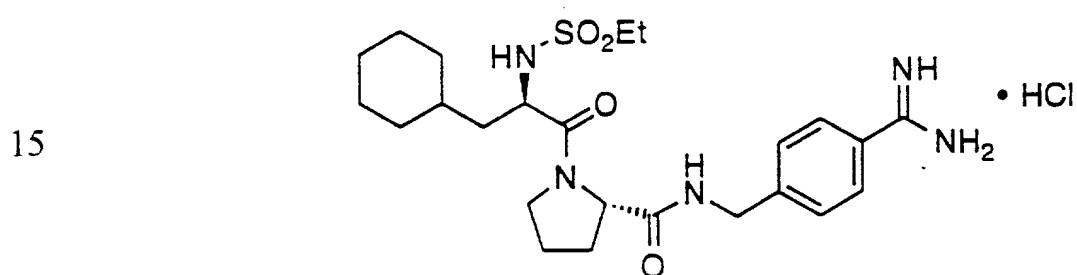
FD - MS, m/e 451 (MH⁺)

分析 C₂₄H₄₂N₄O₄ · 2.7HCl · 0.5H₂O:

计算: C, 51.65; H, 8.25; N, 10.04;

10 实测: C, 51.47; H, 7.87; N, 9.97.

实例 80



EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl

20 (N-(乙磺酰)-D-环己基丙氨酰-N-[[4-(氨基亚氨基甲基)苯基]甲基]-L-脯氨酸 · 盐酸盐)

EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 18 所述的那些方法，以 EtSO₂-D-Cha-ProOH 代替 Cbz-D-l-Piq-ProOH，制备了 3.6g EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 (90/10 (A/B) 直至 50/50 (A/B)，180 分钟) 纯化。

IR

¹H NMR

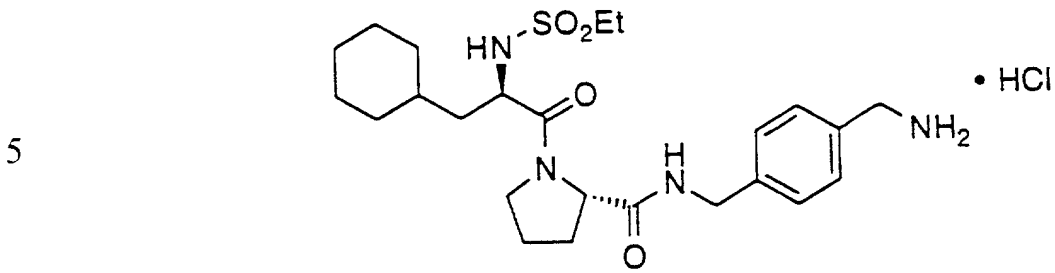
FAB - MS, m/e 492.3 (MH⁺)

30 分析 C₂₄H₃₇N₅O₄S · HCl:

计算: C, 54.58; H, 7.25; N, 13.26; Cl, 6.71;

实测: C, 54.31; H, 7.31; N, 13.37; Cl, 6.71.

实例 81



EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₄CH₂NH₂ · HCl

10 EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₄CH₂NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 10 所述的那些方法，以 EtSO₂-D-Cha-ProOH 代替 Boc-D-Phe-ProOH，制备了 EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂C₆H₄CH₂NH₂ · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2（90/10（A/B）直至 50/50（A/B），180 分钟）纯化。

15 IR

¹H NMR

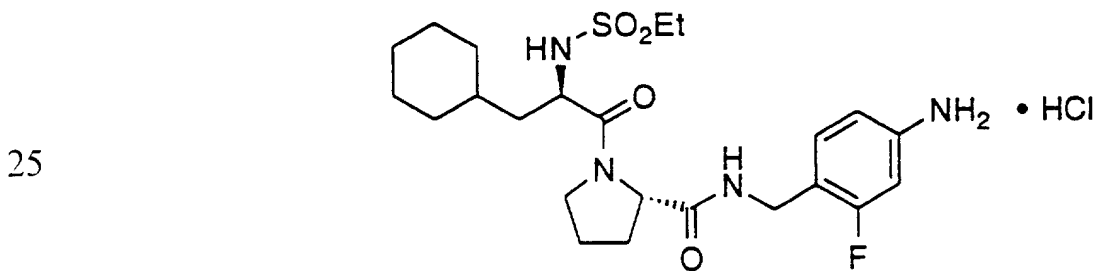
FAB - MS, m/e 479.4 (MH⁺)

分析 C₂₄H₃₈N₄O₄S · HCl · H₂O:

计算: C, 54.07; H, 7.75; N, 10.51; Cl, 6.65;

20 实测: C, 54.13; H, 7.44; N, 10.51; Cl, 6.78.

实例 82



EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3-F-C₆H₃NH₂ · HCl

30 EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-3-F-C₆H₃NH₂ · HCl 的制备

用基本上相当于实例 64 所述的那些方法，以 EtSO₂-D-Cha-ProOH 代替 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-ProOH，制备了 0.35g EtSO₂-D-Cha-

Pro-4-NHCH₂-3-F-C₆H₃NH₂ · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 (90/10 (A/B) 直至 50/50 (A/B), 180 分钟) 纯化。

IR

¹H NMR

5 FAB - MS, m/e 483.3 (MH⁻)

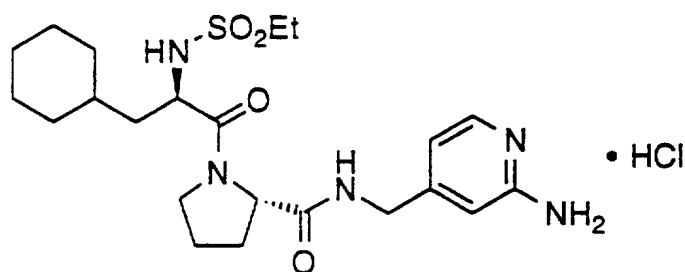
分析 C₂₃H₃₅N₄O₄SF · 1.1HCl · 0.5H₂O:

计算: C, 51.95; H, 7.03; N, 10.54; Cl, 7.33;

实测: C, 52.09; H, 6.94; N, 10.39; Cl, 7.24.

实例 83

10



15

EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2-氨基吡啶 · HCl

EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2-氨基吡啶 · HCl 的制备

20 用基本上相当于实例 73 所述的那些方法, 以 EtSO₂-D-Cha-ProOH 代替 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-ProOH, 从 4-甲基-2-氨基吡啶制备了 0.22g EtSO₂-D-Cha-Pro-4-NHCH₂-2-氨基吡啶 · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 (90/10 (A/B) 直至 50/50 (A/B), 180 分钟) 纯化。

¹H NMR

25 FAB - MS, m/e 466.4 (MH⁺)

分析 C₂₂H₃₅N₅O₄S · 1.1HCl:

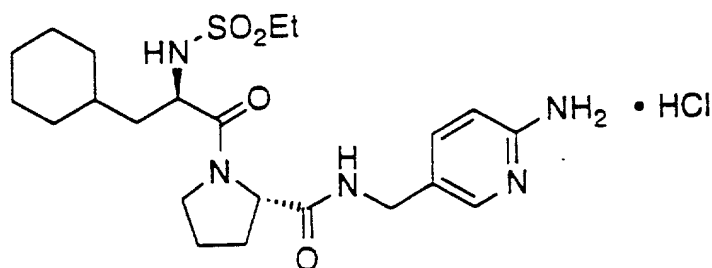
计算: C, 52.25; H, 7.19; N, 13.85; Cl, 7.71;

实测: C, 52.49; H, 6.96; N, 13.96; Cl, 7.76.

30

实例 84

5



EtSO₂-D-Cha-Pro-5-NHCH₂-2 - 氨基吡啶 · HCl

EtSO₂-D-Cha-Pro-5-NHCH₂-2 - 氨基吡啶 · HCl 的制备

10 用基本上相当于实例 73 所述的那些方法, 以 EtSO₂-D-Cha-ProOH 代替 N-(t-BuO₂CCH₂)-N-Boc-D-Cha-ProOH, 从 5 - 甲基 - 2 - 氨基吡啶制备了 0.24g EtSO₂-D-Cha-Pro-5-NHCH₂-2 - 氨基吡啶 · HCl。此产品用 RPHPLC 方法 2 (90/10 (A/B) 直至 50/50 (A/B), 180 分钟) 纯化。

¹H NMR

15 FAB - MS, m/e 466.4 (MH⁺)

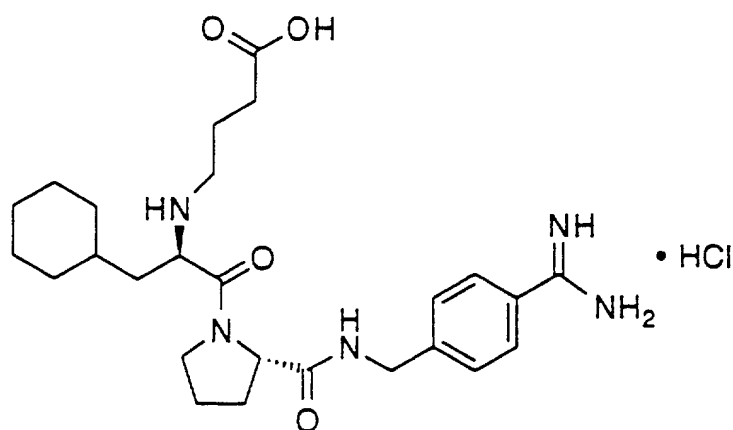
分析 C₂₂H₃₅N₅O₄S · 1.15HCl:

计算: C, 52.06; H, 7.18; N, 13.80; Cl, 8.03;

实测: C, 52.38; H, 6.97; N, 14.20; Cl, 8.46.

实例 85

20



25

HOOCCH₂CH₂CH₂-D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl

30 (N - (3 - 羧基丙基) - D - 环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酸 · 盐酸盐)

A) Cbz-MeOOCCH=CHCH₂-D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz
的制备

向 D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl (2.5g, 4.1mmol)
的 DMF (50ml) 溶液中添加 N,N - 二异丙基乙胺 (2.2ml, 12.2mmol)
5 和 3 - 溴巴豆酸甲酯(0.95g, 4.5gmmol)。搅拌 48 小时后, 添加 Cbz-Cl
(0.7ml, 5mmol) 和额外的 N,N - 二异丙基乙胺 (0.85ml, 5mmol)。
再搅拌 16 小时后, 真空脱除挥发物。残留物分配于乙酸乙酯 (100ml)
和饱和氯化铵水溶液 (100ml) 之间。将两层分离, 有机相用饱和氯化
铵 (50ml) 水溶液洗涤 1 次, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (50ml) 洗涤 2
10 次, 用盐水 (50ml) 洗涤 2 次。有机相干燥 (MgSO₂)、过滤、真空
浓缩。粗产品用闪急色谱法(乙酸乙酯/己烷梯度)纯化, 给出 660mg (22
%) 白色泡沫状物。

¹H NMR

FD - MS, m/e 766 (M⁺)

15 分析 C₄₃H₅₁N₅O₈:

计算: C, 67.43; H, 6.71; N, 9.14;

实测: C, 67.22; H, 6.57; N, 8.98.

B) HOOCCH₂CH₂CH₂-D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl
的制备

20 向 Cbz-MeOOCCH=CHCH₂-D-Cha-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz
(0.5g, 0.65mmol) 的乙醇 (5ml) 溶液中添加 1N 氢氧化钠 (0.65ml)。
在室温搅拌 5 小时后, 添加 1N HCl (3ml)、10 % Pd/C (0.5g)、
H₂O (15ml) 和乙醇 (25ml)。在搅拌下使该悬浮液真空脱气, 然后
在氢气氛下放置 18 小时。添加硅藻土, 然后将浆状物过滤。滤液真空浓
25 缩, 用 RPHPLC (方法 2, 98/2 (A/B), 在 150 分钟内递减至 75/25
(A/B)) 纯化。含纯产品的级分合并、冻干, 给出 46mg (13 %)。

¹H NMR

FAB - MS, m/e 486.3 (MH⁺)

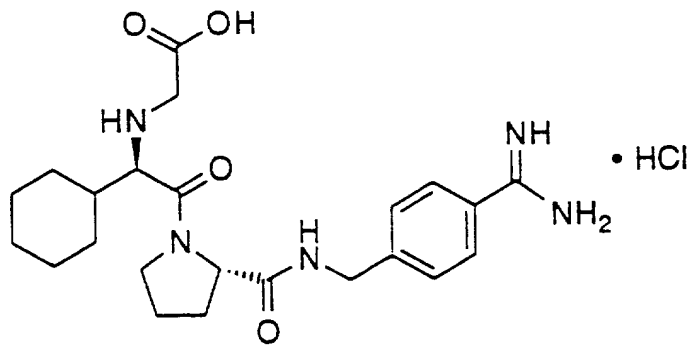
分析 C₂₆H₃₉N₅O₄ · 2.1HCl:

30 计算: C, 55.15; H, 7.35; N, 12.19; Cl, 13.24;

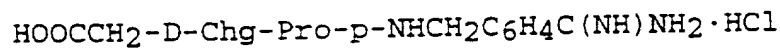
实测: C, 55.55; H, 7.37; N, 12.19; Cl, 13.58.

实例 86

5



10



(N - (羧甲基) - D - 环己基甘氨酸酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酸酰胺 · 盐酸盐)

A) D - 环己基甘氨酸的制备

15 用基本上相当于实例 53 - B 所述的那种方法, 从 D - 苯基甘氨酸出发制备了 16.1g (16%) D - 环己基甘氨酸。

^1H NMR

FD - MS, m/e 117 (M^+)

分析 $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_2$:

计算: C, 61.12; H, 9.62; N, 8.91;

20 实测: C, 61.23; H, 9.56; N, 8.73.

B) Boc - D - 环己基甘氨酸的制备

用基本上相当于实例 17 - A 所述那种方法 (采用草酸二叔丁酯), 制备了 22g (90%) Boc-D - 环己基甘氨酸。

^1H NMR

25 FD - MS, m/e 258 (M^+)

分析 $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_4$:

计算: C, 60.68; H, 9.01; N, 5.44;

实测: C, 60.91; H, 9.18; N, 5.38.

C) Boc-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 的制备

30 用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc - Pro - OH 和 $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NHCbz} \cdot 2\text{HCl}$ 制备了 20.5g (76%) Boc-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz。

^1H NMR

FD - MS, m/e 481 (M^+)

分析 $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_5$:

计算: C, 64.98; H, 6.71; N, 11.66;

5 实测: C, 64.76; H, 6.78; N, 11.62.

D) Pro-p- $\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{NH})\text{NHCbz} \cdot 2\text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 23 - A 所述的那种方法, 制备了 18.4g(100 %)

Pro-p- $\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{NH})\text{NHCbz} \cdot 2\text{HCl}$ 。

^1H NMR

10 FD - MS, m/e 381 (M^+)

分析 $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}_2$:

计算: C, 55.63; H, 5.78; N, 12.36;

实测: C, 54.19; H, 6.27; N, 12.15.

E) Boc-D-Chg- Pro-p- $\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{NH})\text{NHCbz}$ 的制备

15 用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 制备了 3.6g (97 %)

Boc-D-Chg- Pro-p- $\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{NH})\text{NHCbz}$ 。

^1H NMR

FD - MS, m/e 619 (M^+)

分析 $\text{C}_{34}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_6$:

20 计算: C, 65.89; H, 7.32; N, 11.30;

实测: C, 67.59; H, 8.07; N, 10.99.

F) Cbz-t-BuOOCCH₂-D-Chg-Pro-p- $\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{NH})\text{NHCbz}$ 的制备

25 用基本上相当于实例 23 - A 和 85 - A (使用溴乙酸叔丁酯和氯甲酸苄酯) 所述的那些方法, 制备了 1.6g(45 %) N-Cbz-N-(t-BuOOCCH₂) -D-Chg-Pro-p- $\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{NH})\text{NHCbz}$ 。

^1H NMR

FD - MS, m/e 769 (M^+)

分析 $\text{C}_{43}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_8$:

30 计算: C, 67.26; H, 6.96; N, 9.12;

实测: C, 67.50; H, 6.97; N, 9.11.

G) $\text{HOOCCH}_2\text{-D-Chg-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备用基本上相当于实例 23 - A (以二噁烷作为溶剂)和 18-F 所述的那些方法, 制备了 411mg(61%) $\text{HOOCCH}_2\text{-D-Chg-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

5 $^1\text{H NMR}$

FAB - MS, m/e 444.3 (MH^+)

分析 $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 2.5\text{HCl}$:

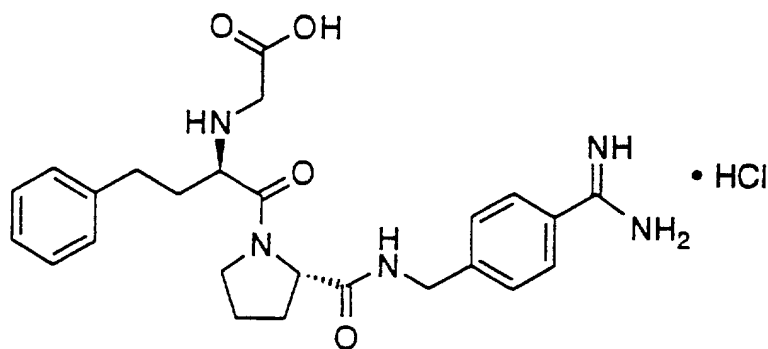
计算: C, 51.67; H, 6.69; N, 13.10;

实测: C, 51.84; H, 6.50; N, 13.15.

10

实例 87

15



$\text{HOOCCH}_2\text{-D-hPhe-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$

20 (N - (羧甲基) - D - 高苯丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基]甲基] - L - 脯氨酰胺 · 盐酸盐)

A) $\text{HOOCCH}_2\text{-D-hPhe-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备用基本上相当于实例 86 所述的那些方法, 从 Boc-D-hPhe-OH 出发制备了 335mg $\text{HOOCCH}_2\text{-D-hPhe-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

25 $^1\text{H NMR}$

FAB - MS, m/e 466.3 (MH^+)

分析 $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 2.1\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$:

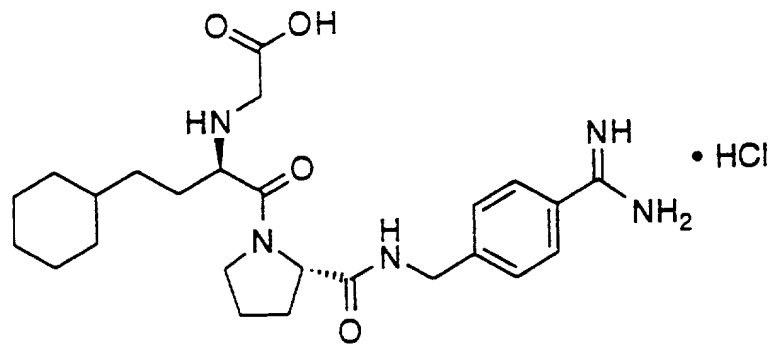
计算: C, 53.61; H, 6.32; N, 12.50; Cl, 13.29;

实测: C, 53.58; H, 6.08; N, 12.59; Cl, 13.67.

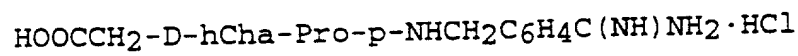
30

实例 88

5



10



(N - (羧甲基) - D - 高环己基丙氨酰 - N - [[4 - (氨基亚氨基甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酸酰胺 · 盐酸盐)

A) Boc-D-hCha-OH 的制备

用基本上相当于实例 53 - D 所述的那种方法, 从 Boc-D-hPhe-OH 制备了 5.1g (100%) Boc-D-hCha-OH。

^1H NMR

FD - MS, m/e 240 (M^+)

分析 $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{NO}_4$:

计算: C, 63.13; H, 9.54; N, 4.91;

20 实测: C, 63.38; H, 9.39; N, 5.12.

B) $\text{HOOCCH}_2\text{-D-hCha-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 86 所述的那些方法, 制备了 135mg $\text{HOOCCH}_2\text{-D-hPhe-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

^1H NMR

25 FAB - MS, m/e 472.3 (MH^+)

分析 $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 2.2\text{HCl} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$:

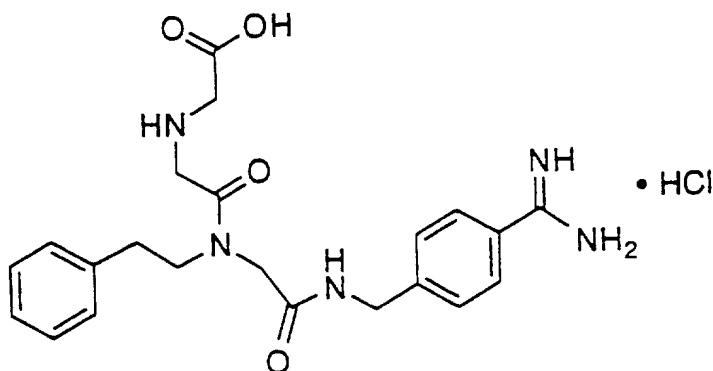
计算: C, 53.54; H, 7.22; N, 12.49; Cl, 13.91;

实测: C, 53.29; H, 7.01; N, 12.46; Cl, 14.30.

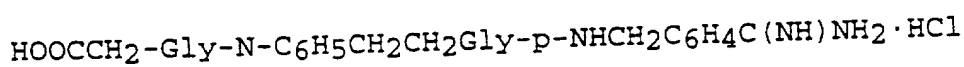
30

实例 89

5



10



A) $\text{HOOCCH}_2\text{-Gly-N-C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Gly-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$
的制备

用基本上相当于实例 1 - G、1 - D、1 - G、23 - A、85 - A
和 18 - F 所述的那些方法，制备了 365mg $\text{N-HOOCCH}_2\text{-Gly-N-}$
15 $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-Gly-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

$^1\text{H NMR}$

FAB - MS, m/e 426.2 (MH^+)

分析 $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 2.2\text{HCl} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$:

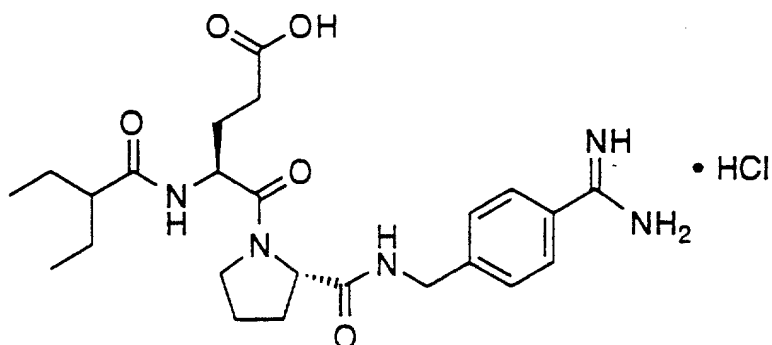
计算: C, 49.60; H, 6.09; N, 13.15; Cl, 14.64;

20

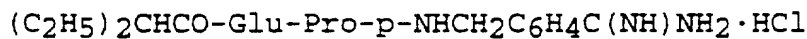
实测: C, 49.79; H, 5.71; N, 13.31; Cl, 14.49.

实例 90

25



30



A) Boc-(γ -OBn)-Glu-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCBz 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 所述的那种方法, 从 Boc-(γ -OBn)-Glu-OH 和 Pro-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl 出发, 制备了 2.7g (64%) Boc-(γ -OBn)-Glu-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz。

¹H NMR

5 FD - MS, m/e 700 (M⁺)

分析 C₃₈H₄₅N₅O₈:

计算: C, 65.22; H, 6.48; N, 10.01;

实测: C, 65.00; H, 6.56; N, 10.06.

B) (γ -OBn)-Glu-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl 的制备

10 用基本上相当于实例 23 - A 所述的那种方法, 制备了 2.38g (98%) (γ -OBn)-Glu-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl。

¹H NMR

FD - MS, m/e 600 (M⁺)

分析 C₃₃H₃₉N₅O₆Cl₂:

15 计算: C, 58.93; H, 5.84; N, 10.41;

实测: C, 58.64; H, 6.00; N, 10.63.

C) (C₂H₅)₂CHCO-(γ -OBn)-Glu-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz 的制备

20 在搅拌下, 向(γ -OBn)-Glu-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NHCbz · 2HCl (1.3g, 2mmol) 的 THF/H₂O (各 50ml) 混合物中添加 K₂CO₃ (1.38g, 10mmol) 和 2-乙基丁酰氯 (0.3g, 2.2mmol)。搅拌 10 分钟后, 真空脱除挥发物。所形成的残留物分配于水和乙酸乙酯 (各 100ml) 之间。将两层分离, 有机相用饱和氯化铵水溶液和盐水各洗涤 2 次, 干燥 (MgSO₄)、过滤、真空浓缩, 给出 1.45g (100%)。

25 ¹H NMR

FD - MS, m/e 698 (M⁺)

分析 C₃₉H₄₇N₅O₇:

计算: C, 67.13; H, 6.79; N, 10.04;

实测: C, 67.11; H, 6.70; N, 9.74.

30 D) (C₂H₅)₂CHCO-Glu-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl 的制备
用基本上相当于实例 18 - F 所述的那种方法, 制备了 425mg (47%) (C₂H₅)₂CHCO-Glu-Pro-p-NHCH₂C₆H₄C(NH)NH₂ · HCl。此产品用

HPLC 方法 2 (在 150 分钟内从 98:2 (A/B) 递减至 75:25 (A/B))。

^1H NMR

FAB - MS, m/e 474.3 (MH^+)

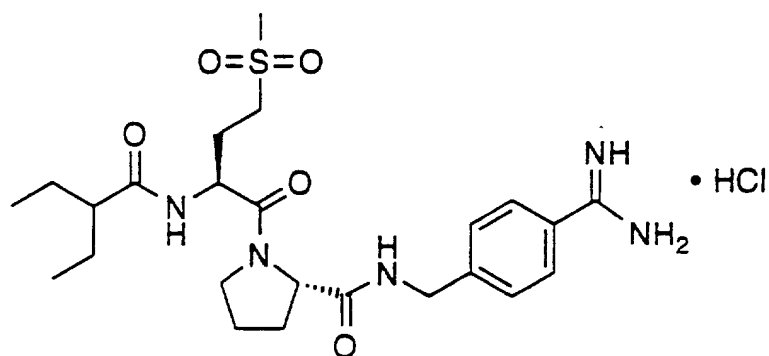
分析 $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_5 \cdot 1.5\text{HCl} \cdot 1.1\text{H}_2\text{O}$:

5 计算: C, 51.10; H, 6.91; N, 12.41; Cl, 9.43;

实测: C, 51.10; H, 6.81; N, 12.41; Cl, 9.62.

实例 91

10



15

$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{CHCO-Met}(\text{O}_2)\text{-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$

A) $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{CHCO-Met}(\text{O}_2)\text{-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备

20 用基本上相当于实例 90 所述的那些方法, 制备了 530mg
 $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{CHCOMet}(\text{O}_2)\text{-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。

^1H NMR

FAB - MS, m/e 508.2 (MH^+)

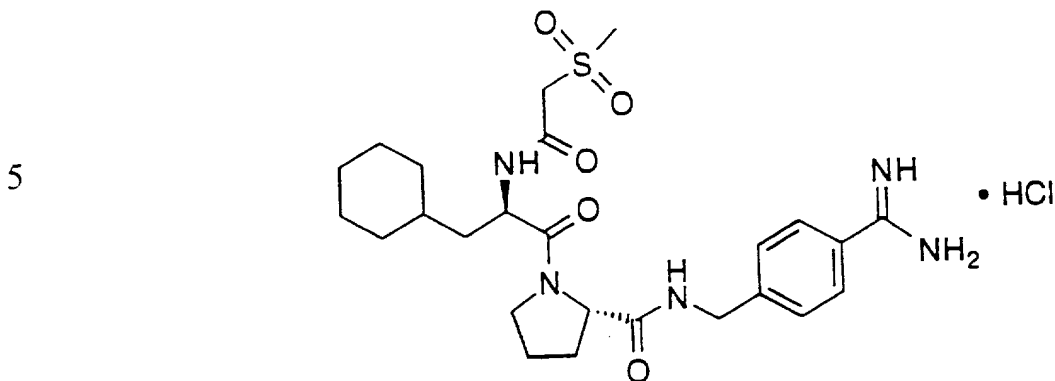
分析 $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_5\text{S} \cdot 1.1\text{HCl}$:

计算: C, 52.63; H, 7.01; N, 12.79; Cl, 7.12;

25 实测: C, 52.42; H, 7.03; N, 12.80; Cl, 6.99.

30

实例 92



10 $\text{MeSO}_2\text{CH}_2\text{CO-D-Cha-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$
 (N - (甲磺酰乙酰) - L - 环己基丙氨酸 - N - [[4 - (氨基亚氨基
 甲基) 苯基] 甲基] - L - 脯氨酸胺 · 盐酸盐)

$\text{MeSO}_2\text{CH}_2\text{CO-D-Cha-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 的制备

用基本上相当于实例 1 - G 和 18 - F 所述的那些方法, 制备了 550mg

15 $\text{MeSO}_2\text{CH}_2\text{CO-D-Cha-Pro-p-NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C(NH)NH}_2 \cdot \text{HCl}$.

$^1\text{H NMR}$

FAB - MS, m/e 520.5 (MH^+)

分析 $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_5\text{S} \cdot 1.2\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$:

计算: C, 51.64; H, 6.97; N, 12.04; Cl, 7.32;

20 实测: C, 51.58; H, 6.84; N, 12.18; Cl, 7.61.

25 相信本发明化合物能选择性抑制凝血酶而不抑制其它蛋白酶和非酶蛋白参与血凝, 无显著干扰人体天然的血块溶解能力 (此类化合物对血纤维蛋白溶解作用的抑制效应低) 。进而, 相信这样的选择性使得能使用血栓溶解剂而无实质性干扰血栓溶解作用和血纤维蛋白溶解作用。此外, 相信本发明化合物有经口活性。

在其诸多方面之一, 本发明提供哺乳动物体内凝血酶的抑制方法, 包括对需要治疗的哺乳动物给药一有效 (凝血酶抑制) 剂量的通式 I 化合物。

30 本方法所期待的凝血酶抑制包括适当的医学治疗性处理和/或预防性处理。

在一个进一步的实施方案中, 本发明涉及治疗人体或哺乳动物中需要凝血酶抑制的病症。预期本发明化合物可在包括人在内的动物中用于

治疗或预防血栓形成和血液与组织中的过高可凝固性。此类化合物有潜在效用的疾病状态就在于血栓形成和血液与组织中过高可凝固性的治疗或预防。此类化合物在治疗和/或预防中有潜在效用的疾病状态包括静脉血栓形成和肺栓塞、动脉血栓形成、例如心肌缺血、心肌梗塞形成、不稳定心绞痛、血栓形成引起的中风和末梢动脉形成。进而，此类化合物在动脉粥样硬化疾病如冠状动脉病、脑动脉病和末梢动脉病的预防方面有预期效用。进而，此类化合物预期可与血栓溶解剂一起用于（预防和
5 治疗）心肌梗塞形成。进而，此类化合物在血栓溶解、经皮穿透血管成形术（PTCA）和冠状动脉旁通手术之后重新闭合的治疗或预防方面有预期的效用。进而，此类化合物在防止显微外科之后重新形成血栓方面有预期效用。进而，此类化合物预期可用于与人造器官和心瓣膜有关的抗血凝治疗。进而，此类化合物在血液透析和播散性血管内凝血的抗凝血治疗方面有预期效用。进一步的预期效用在于患者活体使用的导管与机械器具的漂洗，和作为抗凝剂用于血液、血浆及其它血液产品的离体
10 保存。再进一步，此类化合物在血液凝固可能成为其基本贡献过程或二次病理学来源的其它疾病如癌症（包括转移瘤）和发炎性疾病（包括关节炎和糖尿病）方面也有预期效用。这种抗凝化合物是经口或非经肠如静脉内输注（iv）、肌内注射（im）或皮下注射（sc）给药的。

按照本发明给药的化合物获得治疗和/或预防效果的具体剂量，当然
20 将决定于围绕该病例的特定情况，包括诸如给药的化合物、给药速率和所治疗的病症。

以上各效用的典型日剂量在约 0.01mg/kg 和约 1000mg/kg 之间。剂量制度可以不同，例如，对于预防用途，可以给药单一日剂量，或者每日 3~5 次这样的多剂量也可能是合适的。在危急的护理情况下，本发明
25 化合物是以约 0.01mg/kg/h 和约 20mg/kg/h 之间、较好在约 0.1mg/kg/h 和约 5mg/kg/h 之间的速率，用 iv 输注法给药的。

本发明的方法也与血块溶解剂如组织纤维蛋白溶酶原激酶（t-PA）、改性 t-PA、链激酶或尿激酶结合实施。在血块形成已经发生而且动脉或静脉被部分阻塞或完全阻塞的情况下，通常采用一种血块溶解
30 剂。本发明化合物可在该溶解剂之前或与其一起或在其单独使用之后给药，进而较好的是与阿司匹林一起给药，以防止血块形成的再发生。

本发明的方法也与能抑制血小板凝聚的血小板糖蛋白受体 (IIb/IIIa) 拮抗药结合实施。本发明的化合物可在 (IIb/IIIa) 拮抗药之前或与其一起或其使用之后给药, 以防止血块形成的再发生。

5 本发明的方法也与阿司匹林结合实施。本发明的化合物可在阿司匹林之前或与其一起给药, 或在其使用之后给药, 以防止血块形成的再发生。如上所述, 较好的是本发明化合物与血块溶解剂及阿司匹林结合给药。

10 本发明也提供可用于上述治疗方法的医药配方。本发明的医药配方包含有效凝血酶抑制量的通式 I 化合物, 以及药物上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。为了经口给药, 把抗血栓形成化合物配制成明胶胶囊或片剂, 它们可以含有粘结剂、润滑剂、崩解剂等这样一些赋形剂。为了非经肠给药, 把抗血栓形成剂配制在一种药物上可接受的稀释剂如生理盐水 (0.9 %)、5 % 右旋葡萄糖、林格溶液等中。

15 本发明的化合物可以配制成含有约 0.1mg 至约 1000mg 剂量的单元剂量配方。较好的是, 此类化合物呈药物上可接受的盐的形式, 例如, 硫酸盐、乙酸盐或磷酸盐。单元剂量配方的实例是在 10ml 无菌玻璃安瓿中含有 5mg 作为药物上可接受的盐的本发明化合物。单元剂量配方的另一个实例是在一个无菌安瓿所含的 20ml 等渗盐水中含有约 10mg 作为药物上可接受的盐的本发明化合物。

20 此类化合物可以经各种各样的途径给药, 其中包括经口、经直肠、经皮、经皮下、经静脉内、经肌内和经鼻内。本发明化合物较好在给药之前制成配方。因此, 本发明的另一种实施方案是一种医药配方, 其中包含有效量的通式 I 化合物或其药物上可接受的盐或溶剂化物, 及其药物上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

25 此类配方中的活性组分占该配方重量的 0.1 % 至 99.9 %。所谓“药物上可接受”, 系指该载体、稀释剂或赋形剂必须能与该配方的其它组分兼容, 而且对其接受者无害。

30 本发明医药配方是用众所周知和容易得到的组分通过已知步骤制备的。在制作本发明的组合物时, 通常使活性组分掺合一种载体、或用一种载体稀释、或包容在一种载体内, 后者可以呈胶囊、小药囊、纸或其它容器的形式。当载体起稀释剂作用时, 它可以是一种固体、半固体或液体材料, 充当该活性组分的载体、赋形剂或介质。因此, 此类组合物

可以呈片剂、丸剂、粉末剂、锭剂、小药囊剂、小扁囊剂、酏剂、悬浮液剂、乳液剂、溶液剂、糖浆剂、气雾剂（固体状或在液体介质中）、软和硬胶囊剂、栓剂、无菌可注射溶液、无菌包装的粉末剂等形式。本发明的组合物可以用技术上已知的步骤配制，使得能在对患者给药之后迅速、持久或延时释放出活性组分。

以下配方实例只是举例说明，无意以任何方式限制本发明的范围。

“活性组分”当然是指按照通式 I 的化合物或其药物上可接受的盐或溶剂化物。

配方 1

10 用下列组分制备硬胶囊剂：

	数量 (mg/胶囊)
活性组分	250
干燥淀粉	200
15 硬脂酸镁	<u>10</u>
合计	460

配方 2

用下列组分制备一种片剂：

	数量 (mg/片)
20 活性组分	250
微晶纤维素	400
烟气二氧化硅	10
硬脂酸	<u>5</u>
25 合计	665

将这些成分掺合、压片、形成每片重 665mg 的片剂。

配方 3

制备含有下列成分的气溶胶溶液：

	重量
30 活性组分	0.25
乙醇	25.75

推进剂 22 (氯二氟甲烷)	70.00
合计	<u>100.00</u>

5 将活性化合物与乙醇混合，把混合物添加到一部分推进剂 22 中，冷却到 - 30 ℃，并转移到一台灌装机中。然后，将所需数量灌入一个不锈钢容器中，用该推进剂的剩余部分稀释。然后给该容器装上阀门单元。

配方 4

每片含有 60mg 活性组分的片剂制作如下：

活性组分	60mg
淀粉	45mg
10 微晶纤维素	35mg
聚乙烯基吡咯烷酮 (10 % 水溶液)	4mg
羧甲基淀粉钠	4.5mg
硬脂酸镁	0.5mg
滑石粉	<u>1mg</u>
15 合计	150mg

20 让活性组分、淀粉和纤维素通过 45 号目美国筛、充分混合。使含有聚乙烯基吡咯烷酮的水溶液与所形成的粉末混合，然后让混合物通过 14 号目美国筛。这样产生的颗粒在 50 ℃干燥，并使之通过 18 号目美国筛。然后，把事先通过 60 号目美国筛的羧甲基淀粉钠、硬脂酸镁和滑石粉添加到该颗粒中，混合后在压片机上压片，得到每片重 150mg 的片剂。

配方 5

每个含有 80mg 活性组分的胶囊制作如下：

活性组分	80mg
淀粉	59mg
25 微晶纤维素	59mg
硬脂酸镁	<u>2mg</u>
合计	200mg

30 将活性组分、纤维素、淀粉和硬脂酸镁掺合、通过 45 号目美国筛、以 200mg 数量灌装到硬胶囊中。

配方 6

每个含有 225mg 活性组分的栓剂制作如下：

活性组分	225mg
------	-------

饱和脂肪酸甘油酯	2.000mg
合计	<u>2.225mg</u>

5 让活性组分通过 60 号目美国筛，并悬浮在事先用必要的最低限度热量熔融的饱和脂肪酸甘油酯中。然后把混合物倾入标称 2g 容量的栓剂模具中，并使之冷却。

配方 7

每 5ml 剂量各含 50mg 活性组分的悬浮液剂制作如下：

活性组分	50mg
羧甲基纤维素钠	50mg
10 糖浆	1.25ml
苯甲酸溶液	0.10ml
芳香剂	适量
色素	适量
纯化水添加至总量	5ml

15 使活性组分通过 45 号目美国筛，与羧甲基纤维素钠和糖浆混合，形成一种均匀膏状物。苯甲酸溶液、芳香剂和色素用一部分水稀释，在搅拌下添加到膏状物中。然后添加足够的水以产生所需要的体积。

配方 8

一种静脉内配方可以制备如下：

20 活性组分	100mg
等渗盐水	1,000ml

上述组分的溶液一般是以 1ml/分钟的速率对患者静脉内给药的。

本发明（通式 I）所提供的化合物是有经口活性的，而且能选择性抑制哺乳动物中凝血酶的作用。

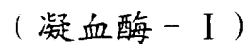
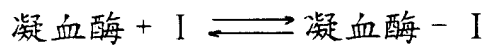
25 本发明化合物作为一种有效并具有经口活性的凝血酶抑制剂的能力是用下列一种或多种试验评估的。

凝血酶的抑制是用凝血酶的酰胺酶活性的离体抑制证实的，这是用凝血酶使产色基质 N - 苯甲酰 - L - 苯丙氨酰 - L - 缬氨酰 - L - 精氨酰 - 对硝基苯胺水解的试验测定的。

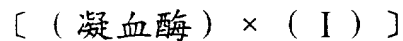
30 此试验按如下进行：使 50 μ l 缓冲剂 (0.03M Tris, 0.15M NaCl, pH7.4) 与 25 μ l 牛凝血酶或人凝血酶溶液 (0.21mg/ml 血栓性郁血牛凝血酶, Parke - Davis, 或纯化的人凝血酶, 印第安纳州南本德市酶研究

实验室, 大约 8NIH 单位/ml, 缓冲剂相同) 和 25 μl 试验化合物溶液(溶剂是 50 % 甲醇水溶液, 体积比) 混合。添加 150 μl 产色基质水溶液 (0.25mg/ml), 通过在 405nm 监测对硝基苯胺的释放反应, 测定该基质的水解速度。以游离凝血酶浓度对水解速度作图, 制作标准曲线。然后, 把用试验化合物观察到的水解速度, 利用标准曲线换算成各试验中的“游离凝血酶”值。(与试验化合物结合的) 结合凝血酶是通过从试验中所用的凝血酶的已知初始量减去每个试验中观察到的游离凝血酶数量计算得到的。每个试验中的游离抑制剂数量是通过从所添加抑制剂(试验化合物) 的摩尔数减去结合凝血酶的摩尔数计算得到的。

10 Kass 值是凝血酶与试验化合物 (I) 之间的反应的假设平衡常数。



$$\text{Kass} = \frac{\text{凝血酶} - \text{I}}{(\text{凝血酶}) \times (\text{I})}$$



15 Kass 是对试验化合物的一系列浓度计算的, 其平均值以升/摩尔的单位报告。

大体上遵照以上对人体凝血酶所述的步骤, 并使用其它人体血凝系统丝氨酸蛋白酶和血纤维蛋白溶解系统蛋白酶以及以下识别的适当产色基质, 评估了本发明化合物对血凝因子丝氨酸蛋白酶和对血纤维蛋白溶解系统丝氨酸蛋白酶的选择性, 以及它们基本上不干扰血纤维蛋白溶解系统的丝氨酸蛋白酶。凝血酶抑制剂较好应不伤害尿激酶、组织纤维蛋白溶酶原激酶 (t-PA) 和链激酶诱发的血纤维蛋白溶解。这对于此类药剂作为链激酶、 t-PA 或尿激酶血栓溶解治疗的辅助药物的治疗用途, 和对于此类药剂作为不伤害内生血纤维蛋白溶解 (相对于 t-PA 和尿激酶) 的抗血栓形成剂的用途, 都会是重要的。除了不干扰血纤维蛋白溶解蛋白酶的酰胺酶活性外, 这样的血纤维蛋白溶解系统保护还可以利用人体血浆块及其被各自的血纤维蛋白溶酶原激酶溶解来研究。

25 人体因子 X、 Xa、 IXa、 XIa 和 XIIa 购自酶研究实验室 (印第安纳州南本德); 人体尿激酶购自 Leo 医药公司 (丹麦); 重组体活化的蛋白 C (aPC) 是在 Eli Lilly 公司基本上按照美国专利 4,981,952 制备的。
30 产色基质: N - 苯甲酰 - Ile-Glu-Gly-Arg-对硝基苯胺 (用于因子 Xa);
N - Cbz-D-Arg-Gly-Arg-对硝基苯胺 (用于因子 IXa 试验作为因子 Xa 基

质)；焦谷氨酰 - Pro-Arg-对硝基苯胺 (用于因子 XIa 和用于 aPC)：
H-D-Pro-Phe-Arg-对硝基苯胺 (用于因子 XIIa)；和焦谷氨酰 - Gly-Arg-
对硝基苯胺 (用于尿激酶)；这些购自 Kabi Vitrum (瑞典斯德哥尔摩) 或
5 购自 Midwest Biotech (印第安纳州 Fishers)。牛胰蛋白酶购自
Worthington Biochemieals (新泽西州弗里霍尔德)；人体血浆激肽释放
酶购自 Kabi Vitrum (瑞典斯德哥尔摩)。用于血浆激肽释放酶的产色基
质 H-D-Pro-Phe-Arg-对硝基苯胺购自 Kabi Vitrum (瑞典斯德哥尔摩)。
N - 苯甲酰 - Phe-Val-Arg-对硝基苯胺这种用于人体凝血酶和用于胰蛋
白酶的基质是按照以上对本发明化合物所述的步骤用已知的肽偶合方法
10 从商业上可得的反应物合成的，或购自 Midwest Biotech (印第安纳州
Fishers)。

人体血纤维蛋白溶酶购自 Boehringer Mannheim (印第安纳州印第安
纳波利斯)；nt-PA 以单链活性参考物形式购自 American Diagnostica
(康涅狄格州格林威治)；改性的 t-PA6(mt-PA6)是在 Eli Lilly 公司用技
15 术上已知的步骤(见 Burck 等人, J. Biol. Chem., 265, 5120-5177 (1990))
制备的。血纤维蛋白溶酶产色基质 H-D-Val-Leu-Lys-对硝基苯胺和组织血
纤维蛋白溶酶原激酶 (t-PA) 基质 H-D-Ile-Pro-Arg-对硝基苯胺购自 Kabi
Vitrum (瑞典斯德哥尔摩)。

在以上所述的产色基质中，三字母符号 Ile、Glu、Gly、Pro、
20 Arg、Phe、Val、Leu 和 Lys 分别用来指出对应的氨基酸基团异亮氨
酸、谷氨酸、甘氨酸、脯氨酸、精氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和
赖氨酸。

以下表 1 列出了用所指出的、通式 I 代表的化合物得到的 Kass 值。

25

30

表 1

抑制性能

-----Kass × 10⁶(1/摩尔) -----

实例	人体凝血酶	Xa	胰蛋白酶	血纤维蛋白溶酶	t-PA
1	3.3	0.0017	0.38	0.010	0.082
2	4.4	0.0092	1.0	0.045	0.023
3	2.1	0.0021	0.24	0.0046	0.033
4	13.	0.0057	0.076	0.0033	0.074
5	0.035	0.00039	0.00015	0.00022	<0.001
6	2.3	0.00024	0.0016	0.00023	<0.001
7	1.9	0.0041	0.0081	0.00022	0.0037
8	5.3	0.00038	0.022	0.00080	0.0012
9	0.033	0.00058	0.00017	<0.001	<0.001
10	1.4	0.000024	0.077	0.0045	0.00055
11	0.064	0.000068	0.0036	0.0060	<0.001
12	0.44	0.000042	0.0022	0.00087	0.000042
13	0.49	0.00098	0.00066	0.00011	<0.001
14	0.021	0.00014	0.000056	0.000046	<0.001
15	220	0.0070	2.6	0.017	0.004
16	0.97	0.0051	0.02	0.0017	0.0012
17	33	0.049	3.8	0.024	0.0034
18	180	0.21	14	0.085	0.0094
19	11	0.14	41	0.16	0.0056
20	10	0.10	19	0.10	0.0077
21	3.6	0.62	0.96	0.031	0.002
22	3.0	0.043	8.5	0.042	0.004
23	770	0.14	21	0.44	0.31
24	0.78	<0.001	0.03	<0.001	<0.001
25	0.43	<0.001	0.01	<0.001	0.01
26	13.	0.01	0.21	0.01	0.01
27	0.29	0.02	0.02	<0.001	0.02
28	0.95	0.01	0.11	<0.001	<0.001
29	0.76	0.02	0.02	<0.001	<0.001
30	0.55	0.02	0.03	<0.001	<0.001

	31	0.07	0.14	0.05	<0.001	<0.001
	32	0.13	0.03	0.04	<0.001	0.01
	33	0.04	0.04	0.02	<0.001	<0.001
	34	0.65	<0.001	0.49	0.01	0.01
5	35	0.09	<0.001	0.04	<0.001	<0.001
	36	0.06	<0.001	0.01	<0.001	<0.001
	37	0.02		<0.009		
	38	1.1	<0.001	0.07	<0.001	
	39	0.12	<0.001	<0.02	<0.001	
10	40	0.03	<0.001	0.01	<0.001	
	41	0.01	<0.001	<0.001	<0.001	
	42	38.	0.07	43.	0.12	0.01
	43	1.4	0.05	100.	0.30	0.01
	44	630	0.66	2,600.	1.8	0.04
15	45	610	1.5	110.	1.1	0.77
	46	240	0.07	48.	0.13	0.01
	47	45	0.04	82.	0.18	0.01
	48	4,100	5.5	250.	0.43	0.05
	49	400	3.4	940.	0.84	0.04
20	50	40	4.3	2,200.	1.8	0.04
	51	1,300	0.84	27.	0.13	0.01
	52	700	0.46	47.	0.11	0.01
	53	0.36	<0.001	0.1	<0.001	<0.001
	54	2.8	<0.001	0.52	0.01	<0.001
25	55	0.01	<0.001	0.01	<0.001	<0.001
	56	490	0.20	3.6	0.01	<0.001
	57	39	0.01	0.24	0.01	<0.001
	58	0.60	<0.001	0.40	<0.001	<0.001
	59	1.10	<0.001	0.21	<0.001	<0.001
30	60	0.24	<0.001	0.03	<0.001	<0.001
	61	63	0.03	1.0	0.004	0.008
	62	7.6				
	63	0.31				
	64	15	0.01			
35	65	4,500		570.		
	66	120		4.6		
	67	11				

	68	600	
	69	340	3.7
	70	430	9.8
	71	1,400	240.
5	72	2,300	280
	73	28	
	74	29	
	75	0.45	
	76	12	0.36
	77	11	
10	78	11	8.6
	79	2.0	0.24
	80	1,700.	90.
	81	5.3	2.1
	82	5.0	
	83	2.4	0.03
15	84	2.9	0.07
	85	265	30.8
	86	200	0.63
	87	30	2.5
	88	410	3.9
	89	0.14	0.071
20	90	0.61	0.002
	91	3.6	0.007
	92	130	7.7

要说明的是，其 X 含有 D - 环己基丙氨酰部分的化合物意外地改善了关于凝血酶抑制的强度，而且当与其 X 含有 D - 苯丙氨酰部分的对应化合物比较时显示出特别令人惊讶地增强的关于因子 Xa 抑制的强度。

材料

狗血浆是从有意识混种狗（任意一种性别的 Hazelton-LRE, Kalamazoo, 美国密歇根州）用静脉穿刺到 3.8% 柠檬酸盐中得到的。血纤维蛋白原是从新鲜狗血浆制备的，而人血纤维蛋白原则是按照以前的步骤和规格从当日 ACD 人血以 I - 2 级分制备的（Smith, Biochem. J., 185, 1-11 (1980); 和 Smith 等人, Biochemistry, 11, 2958-2967(1972)）。

人血纤维蛋白原 (98 % 纯度/无血纤维蛋白溶酶) 购自 American Diagnostica (康涅狄格州格林威治)。血纤维蛋白原 I - 2 制剂的放射标记是按以前报告的方法进行的 (Smith 等人, Biochemistry, 11, 2958-2967,) (1972))。尿激酶购自 Leo 医药公司 (丹麦), 2200 Ploug 单位/管形瓶。链激酶购自 Hoechst-Roussel 医药公司 (新泽西州萨默维尔)。

方法: 对人体血浆块被 t-PA 溶解的影响

人体血浆块是通过在微试管中向 100 μ l 含有 0.0229 μ Ci 碘 - 125 标记的血纤维蛋白原的人体血浆中添加 50 μ l 凝血酶 (73NIH 单位/ml) 形成的。该血浆块溶解是通过在血浆块上叠加 50 μ l 尿激酶或链激酶 (50, 100 或 1000 单位/ml) 并在室温培养 20 小时进行的。培养后, 这些试管用一台 Beckman 微离心机离心分离。把 25 μ l 上清液添加到 1.0ml 体积的 0.03M Tris/0.15M NaCl 缓冲剂中进行 r 计数。100 % 溶解计数对照是通过省略凝血酶 (且用缓冲剂代替) 而得到的。通过在叠加溶液中以 1、5 和 10 μ g/ml 浓度包括本化合物, 评估凝血酶抑制剂对血纤维蛋白溶解的可能干扰。通过把数据点线性外推到一个能代表该血纤维蛋白溶解剂特定浓度的 50 % 溶解的数值, 估计 IC₅₀ 值的粗略近似。

抗凝血剂活性

20 材料

狗血浆和大鼠血浆是从有意识混种狗 (任意性别, Hazelton-LRE, Kalamazoo, 美国密歇根州) 或从麻醉的雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (Harlan Sprague-Dawley 公司, 美国印第安纳州印第安纳波利斯) 静脉穿刺到 3.8 % 柠檬酸盐得到的。血纤维蛋白原是按照以前的步骤和规格 (Smith, Biochem. J. 185, 1-11(1980) ; 和 Smith 等人, Biochemistry, 11, 2958 - 2967 (1972) 从当日 ACD 人体血液以 I - 2 级分形式制备的。人体血纤维蛋白原也以 98 % 纯度/无血纤维蛋白溶酶形式购自 American Diagnostica (康涅狄格州格林威治)。血凝试剂 ACTIN、组织促凝血酶原激酶和人体血浆购自 Baxter Healthcare 公司 Dade 分公司 (佛罗里达州迈阿密)。购自 Parke-Davis (密歇根州安底特律) 的牛凝血酶用于血浆凝固试验

方法

抗凝血测定

凝血试验步骤如以前所述 (Smith 等人, Thrombosis Research, 50, 163-174(1988))。用一台 CoASCreener 凝血仪 (American LABor 公司) 进行所有凝血试验测定。凝血酶原时间 (PT) 是通过向 0.05ml 试验血浆中添加 0.05ml 盐水和 0.05ml 组织促凝血酶原激酶 - C 试剂测定的。活化的部分组织促凝血酶原激酶时间 (APTT) 是用 0.05ml 试验血浆与 0.05ml 肌动蛋白试剂一起温育 120 秒随后添加 0.05ml CaCl_2 (0.02M) 测定的。凝血酶时间 (TT) 是通过向 0.05ml 试验血浆中添加 0.05ml 盐水和 0.05ml 凝血酶 (10NIH 单位/ml) 测定的。向人体或动物血浆中添加浓度范围广泛的通式 I 化合物, 以确定其对 APTT、PT 和 TT 试验的延时效应。进行线性外推, 以估计使每个试验的凝固时间延长一倍所需要的浓度。

动物

15 雄性 Sprague Dawley 大鼠) 350 - 425g, Harlan Sprague Dawley 公司, 印第安纳州印第安纳波利斯) 用甲苯噻嗪 (20mg/kg, 皮下注射) 和氯胺酮 (120mg/kg, 皮下注射) 麻醉, 并在加热水毯 (37 °C) 上保温。给颈静脉插上导管以便输注。

动静脉支路模型

20 左颈静脉和右颈动脉各插入一根 20cm 长度的 PE60 聚乙烯管。其腔内有一根棉线 (5cm) 的一根 6cm 长中心段大管 (PE190) 摩擦配合于两根较长的管段之间, 以完成该动静脉分支回路。血液通过该支路循环 15 分钟, 然后小心取出棉线并称重。湿棉线的重量从该棉线与血栓的总重量中扣除 (见 J.R.Smith, Br.J. Pharmacol., 77, 29(1982)) 。

25 当实例 48 的化合物与 D-MePhe-Pro-Arg-H (以上第 2 页讨论的) 在此动静脉支路模中比较时, 发现抗血栓形成强度在连续静脉内输注期间大 9 倍。为了使血栓重量减少到相同程度 (减少到对照组的大约 20 %), 实例 48 的化合物使血浆凝血酶时间延长了约 3 倍, 而在标准化合物输注期间血浆凝血酶时间被延长了 20 倍以上。在实例 48 化合物输注期间, 30 凝血酶原时间和 APTT 只被延长到对照组的约 120 % (少数几秒) 。

FeCl_3 动脉损伤模型

颈动脉是通过中线前侧颈切口分离的。每根动脉下设置一只热电偶，用纸带式记录仪连续记录血管温度。一个沿纵向切开的管套（0.058ID × 0.077OD × 4mm, Baxter Med. Grade Silicone）放置在紧贴该热电偶上面的每根颈动脉周围。六水合 FeCl₃ 溶解在水中，浓度（20%）仅以 FeCl₃ 的实际重量表达。为了伤害该动脉和诱发血栓形成，用移液管取 2.85 μl 置于该管套上，以浸蚀该热电偶探针上方的动脉。温度迅速下降时表明动脉闭塞。闭塞时间以分钟报告，代是施用 FeCl₃ 和血管温度迅速下降之间经过的时间（见 K.D.Kurz, Thromb.Res., 60, 269(1990)）。

10 自发血栓溶解模型

离体数据表明，肽凝血酶抑制剂能抑制凝血酶及其它丝氨酸蛋白酶，如血纤维蛋白溶酶和组织血纤维蛋白溶酶原激酶。为了评价本发明化合物是否会抑制活体血纤维蛋白溶解，通过把一种有标记的全血块移植到肺循环中，测定自发血栓溶解速度。将大鼠血液（1ml）与牛凝血酶（4IU, Parke Davis）和 ¹²⁵I 人体血纤维蛋白原（5 μCi, ICN）迅速混合，立即吸入硅橡胶管中，在 37 °C 温育 1 小时。将老化的血栓从该管中挤出，切成 1cm 段，用常用盐水洗涤 3 次，每段都用 γ 计数器计数。把一个有已知计数的血栓段吸进一根导管中，随后将其移植到颈静脉中。把导管前端推进到右心房附近，将该血栓块挤出，使之漂移到肺循环中。移植后 1 小时，将心脏和肺脏摘取、分别计数。血栓溶解用百分率表示，其中：

$$\% \text{ 血栓溶解} = \frac{(\text{注入的 cpm} - \text{肺 cpm})}{\text{注入的 cpm}} \times 100$$

25

移植的血栓块的血纤维蛋白溶解是依赖于时间而发生的（见 J.P. Clozel, Cardiovas. Pharmacol., 12, 520(1988)）。

血凝参数

30 血浆凝血酶时间（TT）和活化的部分组织促凝血酶原激酶时间（APTT）是用血纤维计（fibrometer）测定的。血液从颈导管采样，并收集在含有柠檬酸钠（3.8%，1份对9份血液）的注射器中。测定 TT 时，将大鼠血浆（0.1ml）与盐水（0.1ml）和牛凝血酶（0.1ml, 30U/ml Tris

缓冲剂溶剂; Parke Davis) 在 37 °C 混合。测定 APTT 时, 血浆 (0.1ml) 和 APTT 溶液 (0.1ml, Organon Teknika) 一起温育 5 分钟 (37 °C), 添加 CaCl₂ (0.01ml, 0.025M) 以开始凝固。试验重复进行, 取平均值。

生物利用度指数

- 5 生物活性的量度, 即血浆凝血酶时间 (TT), 用来代替母体化合物试验所依据的假设是, TT 的增量仅源于母体化合物的凝血酶抑制作用。凝血酶抑制剂对 TT 的影响的时程是在对麻醉大鼠经静脉内 (iv) 浓缩药团给药之后和在对禁食的有意识大鼠经口 (po) 处理之后测定的。由于血液体积的限制, 和确定从处理时间到其响应回到处理前数值的时间的时程所需要的点数, 使用了两个大鼠种群。每个样品种群代表交替顺序的时点。该时程内的平均 TT 用来计算曲线下面积 (AUC)。生物利用度指数是用以下所示公式计算的, 并以百分相对活性表示。

10 确定血浆 TT 时程的曲线下面积 (AUC), 并按剂量加以调整。这种生物利用度指数称为 “% 相对活性”, 按如下计算:

15

$$\% \text{ 相对活性} = \frac{\text{AUC}_{\text{po}} \times \text{剂量}_{\text{iv}}}{\text{AUC}_{\text{iv}} \times \text{剂量}_{\text{po}}} \times 100$$

化合物

20

化合物溶液是每日用常用盐水新鲜制备的, 以浓缩药团方式注射, 或在实验干扰前 15 分钟开始输注并在整个实验干扰中继续输注, 这种实验干扰在动静脉支路模型中是 15 分钟, 而在 FeCl₃ 动脉损伤模型中和在自发血栓溶解模型中是 60 分钟。浓缩药团注射体积对 iv (经静脉内) 是 1ml/kg, 对 po (经口给药) 是 5ml/kg, 输注体积是 3ml/hr。

25

统计

结果用平均 + /-SEM 表示。用单向方差分析来检测统计上显著的差异, 然后运用 Dunnett 试验来确定哪些平均值是不同的。等平均值零假设剔除的显著水平是 P<0.05。

动物

30

雄性狗 (Beagles; 18 个月 ~ 2 年; 12 ~ 13kg, Marshall Farms, North Rose, New York 14516) 被禁食过夜, 并在给药后 240 分钟喂养 Purina 认证的配方食谱 (Purina Mills, St. Louis, Missouri)。水可随意摄取。

室温保持在 66 ~ 74 °F, 相对湿度 45 ~ 50 %: 照明时间早 6 时至晚 6 时。

药物动力学模型

5 试验化合物是在给药前即时配制的, 将其溶解在无菌 0.9 % 盐水中配成 5mg/ml 制剂。用经口管饲法给狗以单剂量 2mg/kg 试验化合物。血样在给药后 0.25、0.5、0.75、1、2、3、4 和 6 小时采自头侧静脉。样品用加柠檬酸的 Vacutainer 管收集。并在用离心法还原成血浆之前在冰上保存。血浆样品用二硝基苯胍衍生, 用 HPLC (Zorbax SB-C8 柱) 分析, 以用磷酸调至 pH7 的甲醇/500mM 乙酸铵 (60:40, 体积比) 洗脱。记录血浆中的试验化合物浓度, 用来计算药物动力学参数: 消除速度常数, K_e ; 总清除率, Cl_t ; 分布体积, VD ; 血浆中试验化合物最大浓度的时间, t_{max} ; t_{max} 的试验化合物最大浓度, C_{max} ; 血浆半衰期, $t_{0.5}$, 曲线下面积, A.U.C.; 和吸收的试验化合物分数, F 。

犬冠状动脉血栓形成模型

15 狗的外科准备和仪器化按 Jackson 等人 (Circulation, 82, 930-940 (1990)) 所述那样进行。混种狗 (6 ~ 7) 个同龄, 任意性别, Hazelton-LRE, Kalamazoo, MI, USA) 用戊巴比妥钠 (30mg/kg 经静脉内) i.v.) 麻醉、插管、用室内空气通气。调整潮间体积和呼吸速度, 以使血液 PO_2 , PCO_2 和 pH 保持在正常极限之内。插入皮下针状电极, 以记录导程 II 心电图。

20 通过左中侧颈切口分离左颈静脉和共用颈动脉。用插入颈动脉中的预标定 Millar 换能器 (MPC-500 型, Millar Instruments, 美国得克萨斯州休斯顿) 连续测量动脉血压 (ABP)。颈静脉中插入套管, 用于在实验期间采血样。此外, 两只后脚的股静脉都插入套管, 用于试验化合物给

25 药。
在第五肋间空间进行左胸廓造口术, 使心脏悬在一个心包支架上。在靠近第一主对角线心室分支的位置分离出一段 1 ~ 2cm 长的左弯曲冠状动脉 (LCX)。一根 3 ~ 4cm 长的、有 26 号针尖的导线阳极电极 (有 Teflon® 涂层的 30 号镀银铜丝) 插入 LCX 中, 使之与该动脉的内膜表面接触 (在实验结束时予以证实)。此模拟电路是通过在皮下位置 (s.c.) 放置阴极完成的。在电极区上方的 LCX 周围放置一个可调塑料吻合器。在靠近该阳极的 LCX 周围放置一个预标定的电磁流量探针 (Carolina

Medical Electronics, King, NC, USA)。用于测定冠状血液流量 (CBF)。调节该吻合器, 以产生在 LCX 10 秒钟机械闭塞后观察到的充血性血液流动反应的 40 ~ 50 % 抑制作用。用数据采集系统 (M3000 型, Modular Instruments, Malvern, PA, USA) 记录和分析所有血液动测量与心电图测量。

5

血栓形成与化合物给药方案

通过给该阳极施加 100 μ A 直流电 (DC), 产生 LCX 内膜的电解性损伤。此电流保持 60 分钟, 然后使之中断, 不管血管是否已经闭塞。血栓形成自发进行, 直至 LCX 完全闭塞 (根据零 CBF 和 S - T 段增大来确定)。使闭塞性血栓能老化 1 小时之后, 开始化合物给药。本发明化合物以 0.5 和 1mg/kg/h 的剂量输注 2 小时, 同时开始输注血栓溶解剂 (如组织血纤维蛋白溶酶原激酶、链激酶、APSAC)。试验化合物给药后进行 3 小时再灌注。成功的血栓溶解之后冠状动脉的再闭塞定义为零 CBF 持续 \geq 30 分钟。

10

血液学和模板流血时间测定

用血液学分析仪 (Cell-Dyn 900, Sequoia-Turner, Mount View, CA, USA), 以 40 μ l 加柠檬酸盐 (3.8 %) 的血液样品 (1 份柠檬酸盐: 9 份血液), 测定全血细胞数、血红蛋白和血细胞比容值。用一台 Simplate II 流血时间测定仪 (Organon Teknika Durham, N. C., USA) 测定牙龈模板流血时间。用该测定仪在狗的上或下左颌牙龈上做 2 个横向切口。每个切口均为 3mm 宽 \times 2mm 深。在做切口时, 用秒表测定出血到底发生多长时间。当血液从切口渗出时用棉签吸取血液。模板流血时间是从切口到流血停止的时间。流血时间是在试验化合物临给药前 (0 分钟)、输注 60 分钟、试验化合物给药结束时 (120 分钟) 和实验结束时取值的。

15

20

25

所有数据都进行单向方差分析 (ANOVA), 随后进行 Student-Neuman-Kuels 此后 t 检验, 以确定其显著性水平。用重复测定 ANOVA 来确定各实验期间各时点之间的显著差异。各数值均确定为至少在 $p < 0.05$ 的水平上是有统计差异的。所有数值都是平均 \pm SEM。所有研究都按照美国生理学学会的指导原则进行。关于这些步骤的进一步细节, 详见 Jackson 等人, J. Cardiovasc. pharmacol., 21, 587-599 (1993) 。

30

表 2
人体血浆抗凝血

实例	2 × 凝固时间 (ng/ml)			% 经口/经静脉内 活性 (大鼠)
	TT	APTT	PT	
1	250	NT	NT	8
2	170	NT	NT	NT
3	590	NT	NT	NT
4	230	NT	NT	NT
5	30,000	NT	NT	NT
6	390	NT	NT	NT
7	490	NT	NT	NT
8	130	NT	NT	NT
9	>91,000	NT	NT	NT
10	420	NT	NT	NT
11	8,800	NT	NT	NT
12	1,700	NT	NT	NT
13	660	NT	NT	NT
14	21,000	NT	NT	NT
15	9	89	200	4
16	650	8,600	8,500	NT
17	26	370	400	15
18	7	79	170	12
19	58	300	540	NT
20	62	550	600	23
21	160	2,000	1,000	NT
22	170	2,300	1,000	NT
23	7	86	120	12
24	1,000	25,900	25,000	NT
25	1,430	34,600	40,400	NT
26	37	870	750	NC ¹
27	1,940	27,800	27,000	NT
28	520	8,100	8,300	NT
29	750	9,800	15,800	NT
30	1,000	14,000	14,400	NT
31	10,800	34,500	30,000	NT

32	3,100	28,500	47,800	NT
33	18,900	59,300	70,900	NT
34	530	4,900	5,500	NT
35	4,500	50,400	78,400	NT
36	7,700	>91,000	>91,000	NT
37	>9,000	>9,000	>9,000	NT
38	540	6,100	11,100	NT
39	5,300	69,200	78,600	NT
40	35,100	>91,000	>91,000	NT
41	82,200	>91,000	>91,000	NT
42	20	270	320	NC ²
43	280	1,100	930	NT
44	4.	100	170	NT
45	8	200	330	NC ²
46	2.	67	77	NC ³
47	12.	140	270	NC ²
48	2.	33	59	22
49	5	130	130	NC ²
50	35	460	420	NT
51	2	48	110	NT
52	6	80	170	NT
53	1,400	33,800	34,500	NT
54	140	3,300	2,200	NT
55	55,800	>91,000	>91,000	NT
56	5	160	200	NT
57	14	360	340	NT
58	710	14,300	11,400	NT
59	420	5,500	7,000	NT
60	3,200	22,200	77,700	NT
61	45	679	756	NT
62	54			NT
63	680			NT
64	23	900	650	NC ³
65	1	48	85	NT
66	7.9	180	270	NT
67	34.	1,800	1,300	NT

68	4.	49	190	NT
69	5.	110	220	NT
70	2	160	180	NT
71	1	89	150	NC ¹
72	1	160	160	NC ¹
73	21	340	330	NT
74	20	420	350	NT
75				NT
76	29	490	560	NT
77	53	1,600	890	NT
78	46	430	760	NT
79	140	1,700	2,400	NT
80	4	40	130	NT
81	110	1,500	2,700	NT
82	130	3,800	3,000	NT
83	91	1,000	1,300	NT
84	110	1,500	1,900	NT
85	4.9	100	197	NT
86	4	81	180	NT
87	9	260	310	NT
88	4	100	200	NT
89	570	51,000	37,000	NT
90	330	14,500	14,600	NT
91	63	3,000	3,500	NT
92	8.9	210	340	NT

表 2 注释

NC¹ 表示筛选没有完成; 在 20mg/kg (经口给药) 时观察到低或非
常低的活性。

NC² 表示筛选没有完成; 在 60mg/kg (经口给药) 时观察到低或非
常低的活性。

NC³ 表示筛选没有完成; 在 50mg/kg (经口给药) 时观察到低或非
常低的活性。

NT 表示没有试验, 视为空白项目。