[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl[6]
A61K 47/48

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 95192754.X

[43]公开日 1997 年 4 月 2 日

[11] 公开号 CN 1146726A

[22]申请日 95.2.28

[30]优先权

[32]94.2.28 [33]US[31]08/203,106

[86]国际申请 PCT/GB95/00418 95.2.28

[87]国际公布 WO95/22991 英 95.8.31

[85]进入国家阶段日期 96.10.25

[71]申请人 耐克麦德英梅金公司

地址 挪威奥斯陆

[72]发明人 尤金·库珀 斯蒂芬·琼斯
科林·波顿 迈克尔·思雷德吉尔

[74]专利代理机构 柳沈知识产权律师事务所

代理人 巫肖南

权利要求书 3 页 说明书 43 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 嵌段共聚物

[57]摘要

一种用作为成象剂，药物，原药或用作成象剂，药物或原药的释放系统的直链嵌段共聚物，所述共聚物含有借助于一个连接基团连接到肽单位上的环氧乙烷单位，所述连接基团含有$-CH_2CHOHCH_2N(R)-$成分。

权　利　要　求　书

1、一种直链嵌段共聚物，含有借助于一个连接基团与肽单位相连的氧化烯烃单位，所述连接基团包括 $CH_2CHOHCH_2N(R)$－成分，基中 R 是低级烷基。

2、根据权利要求 1 所述的共聚物，它含有借助于一个连接基团连接到多肽单位上的聚氧化烯烃单位，所述连接基团包括一种胺：环氧乙烷结合产物。

3、根据权利要求 1 和 2 任一项所述的共聚物，其中连接基团含有一个成分

－ $CONH(CH_2)_pNHCOCH_2N(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4$ －；

－ $CONH(CH_2)_pNHCOCH_2N(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4CO$ －；

－ $CONH(CH_2)_pNHCOCH_2N(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4(CH_2)_2$ －；

－ $CONH(CH_2)_pNHCOCH_2N(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4(CH_2)_2NH$ －；

－ $NH(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4$ －；

－ $NH(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4CO$ －；

－ $NH(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4(CH_2)_2$ －；

－ $NH(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4(CH_2)_2NH$ －；

－ $CONH(CH_2)_pNHCO(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2$ －；

－ $NH(CH_2)_pNHCO(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2$ －；

－ $NHCO(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2$ －或

－ $CO(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2$ －；

其中 p 是一个值为 1 － 6 的整数。

4、根据权利要求 1 － 3 任一项所述的共聚物，其中该肽的长度为约 3 －约 50 个氨基酸残基。

5、根据权利要求 1 － 4 任一项所述的共聚物，其中烯烃氧化单位含有环氧乙烷残基。

6、根据权利要求 1 － 5 任一项所述的共聚物，其分子量为约 10,000 －约 1 百万。

7、根据权利要求 1 － 6 任一项所述的共聚物，其中肽单位结合到一种整合剂成分上。

8、根据权利要求 7 所述的共聚物，其中所述的螯合剂成分被金属化。

9、根据权利要求 7 所述的共聚物，其中将所述的螯合剂成分用一种顺磁性金属进行金属化。

10、根据权利要求 7 所述的共聚物，其中将所述的螯合剂成分用一种金属放射性核素进行金属化。

11、根据权利要求 1 - 10 任一项所述的共聚物，它含有具有下列通式的成分的重复单位

- (PAG)N(R)$CH_2CHOHCH_2OC_6H_4CO$(肽)$NH(CH_2)_PC_6H_4$ - O - $CH_2CHOHCH_2N(R)$ - 或

- (PAG)$CH_2CHOHCH_2N(R)CH_2CO$ (肽) $NH(CH_2)_PNHCOCH_2N(R')$ CH_2 $CHOHCH_2$ -

(其中 R 是一种 $C_{1\ 4}$ 的低级烷基；和 P 是从 1-6 的整数； PAG 包括一个聚环氧乙烷链；和肽是 Gly - Phe - Leu - Gly - 或 Lys - Gly - Phe - Leu - Gly 残基)。

12、一种约物组合物，含有与至少一种生理学上可接受的载体或赋形剂结合的权利要求 1 - 11 任一项所述的共聚物。

13、一种用于制备权利要求 1 所述的共聚物的方法，所述方法包括将一种双环氧乙烷试剂与一种双胺试剂反应，所述试剂之一掺入到肽单位中并且另一种试剂惨入到所述环氧乙烷单位中。

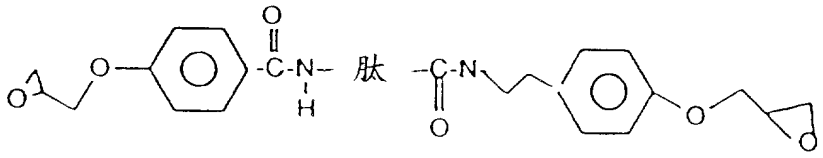
14、一种用于制备携带螯合的金属的共聚物的方法，所述方法包括如权利要求 7 定义的金属化含有螯合成分的共聚物。

15、一种用于制备治疗共聚物的方法，所述方法包括将权利要求 1 所述的共聚物与一种药物或原药结合。

16、一种制备人或非人动物体的加强图象的方法，所述方法包括给所述动物体施用一种如权利要求 1 所述的加强对比的共聚物，以及产生至少一部分分布有所述共聚物所述动物体的图象。

17、根据权利要求 1 - 11 任一项定义的共聚物的应用，用于制备一种诊断剂或治疗剂。

18、一种下列通式的化合物

5 

(其中肽基是一种肽残基)。

说　明　书

嵌段共聚物

本发明涉及用于诊断成象，药物释放，和用作药物的直链嵌段共聚物，更具体地说，涉及在聚合主链中具有多肽和多聚烯烃氧化物组分的共聚物。

Nathen 等人， Bioconjugate Chemistry 4:54 - 62(1993)公开了通过由赖氨酸的氨基和聚乙二醇的活化酯衍生物发生反应而制备的赖氨酸和聚乙二醇的共聚物。优选的聚合物为由赖氨酸的ε - 氨基和α - 氨基形成的多聚酰胺。

1979 年 12 月 18 日 Davis 等人的美国专利 4,179,337 公开了分子量为 500 - 20,000 的共轭到聚乙二醇或聚丙二醇的胰岛素。

1969 年 4 月 29 日授权的 Zilkha 等人的美国专利 3,441,526 公开了一个 N - 羧酸酐缩合反应，该反应提供了具有侧多肽支链的多羟基聚合物(例如淀粉等等)。

英国专利 1,469,472 公开了被低分子量的聚乙烯氧化物固定的蛋白质，据说该蛋白质具有低免疫原性。

但是，这些参考文献中没有暗示具有借助于通过胺前体物与环氧化物前体反应所形成的连接基团具有将烯烃氧化物基团的重复单位连接到一种肽的重复单位上的直链嵌段共聚物。而且，现有技术告诉我们交联(借助于氨基酸侧链)常常阻挠了所需的直链共聚合化。本文描述的发明有利于避免这样的交联。

本发明涉及含有连接到肽单位上的单个或重复单位的聚烯烃氧化物(PAG)的直链嵌段共聚物。可以制作产生水溶性的聚合物的共聚物，它稳定地参与血液循环但是最后被降解从而更易在尿中分泌低分子量的 PAG 衍生物。

因此一方面本发明提供了一种直链嵌段共聚物，它含有借助于包括 - $CH_2CHOHCH_2N(R)$ - 成分的连接基团将烯烃氧化物单位连接到肽单位上，其中 R 是一个低级烷基(例如， C_{1-6} - 烷基)，例如含有连接到多肽单位上的多烯烃氧化物单位的共聚物，所述连接借助于一个含有胺：环氧化物共轭产物的一个连接基团。

本发明的共聚物具有各种各样的终用途。具体地说，可用作为诊断剂，

例如，在诊断成象技术例如MRI和闪烁扫描中用作图象对比加强剂，例如在放射性治疗或药物释放中用作治疗剂，例如在细胞毒性或成象程序中用作靶击剂。因此例如肽单位可以具有与某基团(例如，肽侧链)结合的螯合剂，以使所得螯合剂组成可以用诊断和治疗中所使用的金属种类，例如顺磁性或放射性金属离子进行金属化。同样可以将药物或原药物种类结合到肽侧链上，以便使共聚物既可以用作靶击剂又可以用作释放该药物种类的库。当然由本发明的共聚物实现的靶击释放系统也特别适应于释放在身体器官或组织的诊断成象中使用的金属种类或用作为细胞毒性剂。

因此，另一方面本发明也提供了一种药物组合物，它含有与至少一种生理学上可接受的载体或赋形剂结合一起的本发明的共聚物。

本发明的组合物可包括与一种或多种非毒性生理学上可接受的载体，助剂或赋形剂(本文中一般称为载体)一起配制的一种或多种本发明的共聚物，该组合物可以是用于非肠胃的注射，用于口服给药的固体或液体形式，用于肠道或局部给药等等。

通过将双胺试剂和双环氧化物试剂进行特定的精致的和简单的缩合，胺：环氧化物缩合产生上面提到的连接基团成分－ $CH_2CHOHCH_2N(R)$－，可以制备本发明的共聚物。通过利用这些试剂的聚合，一种试剂导入了聚烯烃氧化物链和另一个试剂导入了一个多肽链，产生了本发明化合物的直链嵌段共聚物结构。

因此本发明另一方面还提供了用于制备本发明的直链嵌段共聚物的方法，所述方法包括将双环氧化物试剂和双胺试剂反应，所述试剂之一导入了所述的肽单位和另一个试剂导入了所述的烯烃氧化物单位。

本发明共聚物中的连接基团优选包括－ CH_2 － CHOH － $CH_2N(CH_3)$－组分，特别优选的是结合到氮原子端的烯烃链$(CH_2)_P$，(其中P是1－6的整数)，并且必要时可在碳端结合到亚苯基氧组分上。因此连接基团优选包括的组分是：

－ $CONH(CH_2)_PNHCOCH_2N(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4$ －；

－ $CONH(CH_2)_PNHCOCH_2N(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4CO$ －；

－ $CONH(CH_2)_PNHCOCH_2N(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4(CH_2)_2$ －；

－ $CONH(CH_2)_PNHCOCH_2N(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4(CH_2)_2NH$ －；

－ $NH(CH_2)_PN(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4$ －；

- $NH(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4CO$ -;

- $NH(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4(CH_2)_2$ -;

- $NH(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2OC_6H_4(CH_2)_2NH$ -;

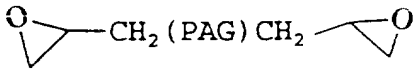
- $CONH(CH_2)_pNHCO(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2$ -;

- $NH(CH_2)_pNHCO(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2$ -;

- $NHCO(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2$ - 或

- $CO(CH_2)_pN(CH_3)CH_2CHOHCH_2$ -;

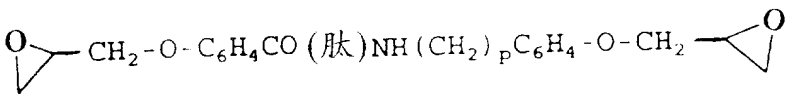
通常出现在一个聚烯烃氧化物链中的烯烃氧化物残基优选地是低级烯烃氧化物残基，例如 $C_{2\ 6}$，优选地是 $C_{2\ 4}$ 并且特别优选地是环氧乙烷残基，通常它们是衍生化连接到连接基团的胺：环氧化物共扼产物成分上的链末端，例如将聚烯烃氧化物的链的末端醚的氧原子连接到环氧化物反应性氨基或者连接到胺反应性环氧化物基团上。链末端衍生化的特性不是关键，这种双功能试剂可由下列通式代表，HNR -(PAG)- NRH 或者，



其中 PAG 代表聚烯烃氧化物基团并且用括弧标记表示任何这样的链末端衍生化。

通常肽单位还存在于含有大量氨基酸残基的多肽链。可以使用合成的或天然存在的多肽单位或片段，其本身可提供治疗或靶击成分或者另一种可选方法，如果需要，进一步可将例如药物，原药或螯合剂结合到该肽侧链上。对于聚烯烃氧化物侧链，该多肽侧链可以是衍生化连接到连接基团的胺：环氧化物共扼产物成分上的链末端，例如将羰基的碳或胺基的氮末端连接到环氧化物反应性氨基或者连接到胺反应性环氧化物基团上。在本文中使用的通式中通常用 CO(肽) NH 表示一个肽基团，它表示末端羰基和氨基是在括弧外面。

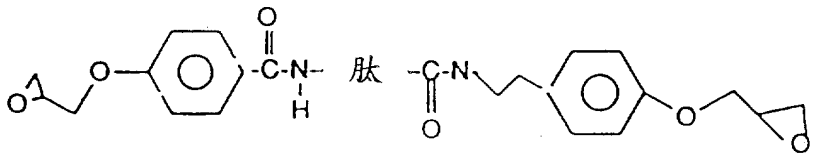
在本发明的一个实施方案中特别优选的肽成分衍生于双环氧化物。



或衍生于双胺

$NHRCH_2CO$ (肽) $NH(CH_2)_pCOCH_2NHR$

(其中 P 和 R 按上述定义，优选的 R 是 C_{1-4} 烷基)。通式 I 的双环氧化物



(I)

是特别优选的并且构成了本发明的另一方面。但是通常具有下列重复单位的嵌段共聚物

- (PAG)N(R)$CH_2CHOHCH_2OC_6H_4CO$(肽)$NH(CH_2)PC_6H_4$ - O - $CH_2CHOHCH_2N(R)$ - 通式 A

或

- (PAG)$CH_2CHOHCH_2N(R)CH_2CO$(肽)$NH(CH_2)_PNHCOCH_2NRCH_2CHOHCH_2$ - 通式 B

其中 R 是 1 - 4 碳原子的烷基；和 P 是从 1 - 6 是优选的。

通过改变聚合物的大小或者改变肽组合物以提供不同的血库保存时间，酶促裂解速率和组织分布，可以制作具特定用途的共聚物化合物。

作为成象剂，优选具有分子量为至少约 5000 的本发明的共聚物和用作为对比加强剂的金属离子，和与相关的荧光团或 X 射线不能穿过的离子，因此适合用作为诊断成象剂。

成象金属的定义是在 X 射线成象中的使用的金属(例如原子序数 50 或以上的金属)或用于核磁共振成象中的金属(优选的是顺磁性金属，更优选的是镧系金属和过渡金属)或用于荧光成象中的金属(优选的是镧系金属，更优选的是钕)。

一个特别优选的特征是本发明的聚合螯合剂在显著长的时间内有效地加强了在血管系统内血库成象象差。

本发明的另一个优异的特征是提供了具有在不同的组织，例如在肿瘤和肝中积累的特异性的聚合化合物。

如本文中使用的缩写 PAG 是具有烯烃氧化物成分，在每个 PAG 中具有单型重复单位或不同(非重复)单位的烯烃氧化物或其混合物。在 PAG 中每个烯烃氧化物优选地含有约 2 - 4 个碳原子并且是直链或支链。在该聚合物中聚(烯烃氧化物)单位其长度和组分互相可以是不同的。典型的 PAG 成分包括

聚(环氧乙烷)，聚(氧化丙烯)和聚(氧化丁烯)。优选的 PAG 成分包括聚(环氧乙烷)、聚(氧化丙烯)和其随机和嵌段的共聚物。当需要最终聚合物具有水溶性时特别优选的是含聚(环氧乙烷)的共聚物，还涉及聚烯烃氧化物成分可以包括丙三醇聚烯烃氧化物三醚，聚合缩水甘油，烯烃氧化物与相容共聚用单体例如聚(氧化丙烯－共氧化乙烯)，或聚(氧化丁烯－共氧化乙烯)的直链，嵌段和嫁接共聚物和嫁接的嵌段共聚物。这些成分可以来源于聚(烯烃氧化物)成分，它可以购买或者通过本领域内技术人员熟知的技术来制备。来源于聚(环氧乙烷)的特别优选的聚烯烃氧化物成分由下列结构代表:

$$-O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2O-$$

其中 m 是 1 － 750。优选的长度取决于所需的分子量。

用于制备本发明的聚合物的这些 PAG 成分和其反应衍生物是本领域内所已知的。例如双(甲基氨基)聚乙二醇和其在制备嵌段共聚物作为中间产物的用途是本领域内已知的。例如 Mutter， Tetrahedron Letters， 31:2839－2842(1987)描述了将聚(环氧乙烷)末端羟基转化为反应性伯氨基以及制备结合到聚(环氧乙烷)胺上的许多试剂的方法； Harris et al， J. Polymer.Science， 22:341－352(1984)描述了包括例如氨基聚(环氧乙烷)的各种 PAD 衍生物。采用已知的化学技术例如下文中描述的例子，可以制备其它的 PAG 衍生物。

如本文中使用的，肽是指至少两个氨基酸的氨基酸链，其中该肽中的每个氨基酸可以是相同或不相同的，并且可以或不可以选自于 20 个天然存在的 L 氨基酸。因此肽单位可以含有 D 氨基酸，人造氨基酸或氨基酸衍生物，例如谷氨酸酯，赖氨酰(ε氨基)酰胺等等。该定义还包括蛋白质，酶，多肽和寡肽，它们是本领域内识别氨基酸链。特别优选的肽包括低于 100kD 的小型酶，肽激素，肽识别区，肽药，和具有已知酶解速率的肽。

在本文和方案中出现缩写的定义是: Boc 是指在固相肽合成中用作为阻断剂的正丁氧羰基。在整个说明书中使用了代表氨基酸残基的常规三字母缩写。 OPFP 是指五氟苯氧基； Bn 是指卞氧基； CBZ 是指苯基甲氧羰基; OTCP 是指 2， 4， 5－三氯苯氧基； Troc 是指 2， 2， 2－三氯乙氧羰基。

通过将双(环氧乙烷)衍生物(已知也称为双环氧化物)与双(氨基或烷基氨基)衍生物(已知也称为双胺)反应能够发生共聚合化。该聚合反应没有产生副产物。如果产生共聚物的反应发生在胺和环氧化物之间则可以制备双(环氧乙

烷)衍生物或双(胺)衍生物形式的 PAG 和肽的单体单位。因此有两种用于制备下文中描述的本发明产物的化学方法。双胺与双环氧化物反应的结果，使 PAG 和肽单位方向发生倒转。

在本发明共聚物的 PAG 和肽亚单位之间有一个连接基团。该连接基团含有一个通常来源于一个胺与一个环氧化物的反应的 - $CH_2CHOHCH_2N(R)$ - 二基团。优选的是双环氧化物亚单位与一个双胺亚单位发生反应。本领域内熟练的技术人员将认识到在整个说明书中记载的每一种类型的连接基团二原子团可以被倒传并且有相同的含义。因此将连接基团的方向倒转(末端接末端)，一个末端结合到 PAG 成分，另一个末端结合到肽，或者相反，而说明书和权利要求书有关这方面的描述是相同的。

采用本领域内已知标准技术可以制备在本发明的共聚物的制备中使用的肽。可利用的肽包括来自于天然或重组生物体的肽，来自固相肽合成方法或传统的湿法肽合成方法的肽等等。这些肽的制备方法是本领域内熟知的并且利用常规的已知材料。蛋白质的表达和从天然和重组体来源纯化蛋白质的方法是本领域内已知的(参见 Protein Expression and Purification (1990); Harris et al., Protein purification Methods (1989); Deutscher, M.P.Guide to Protein purification Methods in Enzymology.Vol.82 (1990).)。肽合成方法也是本领域内已知的。(参见 Atherton, et al., Solid Phase Peptide Synthesis a Practical Approach, Oxford University Press(1989))。因此，采用已知的化学方法容易制造这种肽。

可以制备直链肽片段，使它们在血液中稳定存在，但是易于受普遍存在蛋白酶的溶酶体的降解。这种敏感性肽单位的例子是 gly - phe - leu - gly, gly - phe - tyr - ala, ala - gly - val - phe, gly - phe - ala - gly, 和本领域内熟知的其它肽。现有技术描述了这种在制备原药的中使用的寡肽，其中该药物结合到寡肽的一个末端。(通常参见 " Polymers Containing Enzymatically DegradableBonds " Makromol.Chem.184(1983)R.Duncan, H.C.Cable, J.B.Lloyd, P.Rejmanov'a and J.Kopecek, in Polymers containing enzymatically degradable bonds. 7 Design of oligopeptide side - chains to promote efficient degradation by lyosomal enzymes, Makromol.Chem., 184, p.1997 - 2008 (1983); and P.Rejmanova, J. Kopecek, J. Pohl, M.Baudys and V.Kostva, in Polymers Containing Enzymatically Degradable Bonds.8.

Degradation of oligopeptide sequences in N - (2 - hydroxypropyl) methacrylamide copolymers by bovine spleen cathepsin B, Makromoi.Chem. 184, p.2009 - 2020, (1983).)。对于本发明的化合物可以计划将原药结合到该肽的功能侧链，而不是该肽末端。

在最近几年药靶的概念，尤其是对抗癌药，获得重视，由于因缺乏抗癌药对癌细胞的选择性，抗癌药对正常细胞的有毒副作用是癌症化疗的一个主要障碍。在现有技术中通过将药物与大抗体结合，或者包囊于特异于靶的运输体中而得到药靶。类似于蛋白质、多糖、脂类和合成聚合体的物质可用作这样的运输体。由于具有靶特异性和广泛的适用性因而最广泛使用的是抗体。但是在商业方面没有开发这些方法。因为用于靶击唯一一种类型细胞或组织的运输体或靶制剂的价格昂贵。

可以制作能识别(或靶击)一定的细胞或细胞的功能的聚合体的肽部分。因为该聚合体能够使用一种以上的肽并且由此可以使用一种以上的类型的肽，有利的是该聚合体一次可以靶击一种以上类型的细胞或组织，因此明智的做法是选择的肽可以治疗和靶击例如，一种以上类型的癌细胞，或其它疾病。由于现有技术中具有大量的对某些细胞具有抗原性的已知寡肽，因而有利于进行这种选择。再者，本发明可以完成这样的靶击作用而不需要消耗制备针对某些细胞的抗体，收集这种抗体，将抗体与药物结合并且在结合之后进一步检测保持的特异性这些步骤的成本。本发明通过短的识别序列而完成特异性靶击作用。通过将靶击剂掺入到聚合体中实现细胞的特异性释放。优选的肽是具有特异于目的配体的受体分子的肽。因此，涉及该试剂的特异性结合反应可用于完成预期的靶击作用。

基于预计的用途，可以从各种各样的天然存在的或合成制备的材料中选出这样的肽，包括，例如酶，蛋白质，肽激素，病毒外膜，或来自于血液成分，组织和器官成分的蛋白质，包括肝素，抗体，抗原蛋白质物质，或这些肽的片段以及本领域内技术人员已知的其它肽。

这些靶击用肽的例子包括：整合素结合基元 RGDS(arg - gly - asp - ser)，它存在于许多胞外基质蛋白质上并且可以用于干扰与白细胞的迁移相关的细胞吸附作用。可用于释放聚合体的其它肽序列包括阳离子序列(即富含 lys 或 arg)，该序列可用于生产用于抑制基因表达，反意义寡聚体释放等等的 DNA 结合聚合体；肽激素例如 α MSH，该激素可用于靶击黑素瘤；以及针

对靶制备的相当低分子量(15 - 20kDa)的改造过的高变异性抗体结合区(V_H + V_L 构件体)。通过合成，从细胞或噬菌体中分离可以获得这样的序列或也可以在一个宿主中制备抗细胞，蛋白质或外来物质的这样的序列。用于制备识别序列的通用的宿主包括兔、羊、鼠、等等。这些和获得识别序列的其它方法是本领域内已知的。

在某些实施例中，上面描述的肽可以是免疫反应基团，这些基团存在于活的生物体中或可用于进行活生物体的诊断，治疗或细胞物质的处理和遗传工程。该肽具有与另一成分相互作用的能力，所述另一种成分存在于生物体液，细胞中或与待处理或成象有关的细胞，例如肿瘤细胞等等。

本发明的聚合体的两种特别优选的用途是用于肿瘤的诊断成象和肿瘤的治疗。因此优选的免疫反应基团包括抗肿瘤相关性抗原的抗体，或其免疫反应片段。特定的例子包括识别结肠直肠肿瘤的 B72.3 抗体(描述于 U. S.专利 No. 4,522,918 和 4,612,282)， 9.2.27 抗黑素瘤抗体，识别结肠直肠肿瘤的 D612 抗体，识别小细胞肺癌的 UJ13A 抗体，识别小细胞肺癌和结肠直肠肿瘤(Pan - 癌)的 NRLU - 10 抗体，识别前列腺肿瘤的 7E11C5 的抗体，识别结肠直肠肿瘤的 CC49 抗体，识别坏死组织的 TNT 抗体，识别结肠癌的 PR1A3 抗体，本领域内已知的并且描述于国际专利公开 WO - A - 90/02569 的 ING - 1 抗体，识别鳞屑细胞癌的 B174 抗体，与某些淋巴瘤和败血病反应的 B43 抗体以及特定需要的其它抗体。

由于聚合体的肽是直链，通过在主链的肽部分中存在的单个氨基酸的侧链可以提供与诊断剂，药物，或原药或其它靶成分结合的功能基团。通过与功能性碱性基团(例如存在于赖酰基或精氨酰基)或酸性基团(如存在于提供游离羧基的天冬氨酸，谷氨酸)，或巯基(例如半胱氨酸)，羟基(例如存在于丝氨酸)等等反应或衍生出这些基团也可以加入功能性基团。通过本领域内已知的标准肽化学可完成结合。

细胞毒性药物也可以结合到聚合体上从而产生以药的形式向靶细胞或组织释放的原药。这样的结合方法是本领域内已知的，参见例如 Duncan, P. Kopeckova - Rejmanova, J. Strohalm, I. Hume, H. C. Cable, J. Pohl, J.B. Lloyd 和 J. Kopecek(1987)结合到 N -(2 - 羟基丙基)甲基丙烯酰胺共聚物上的抗癌剂。 I 、正定霉素和嘌呤霉素结合物的体外评价。 British J. Cancer 55:165 - 174 ； 和 R. Duncan, P.Kopeckova, J. Strohalm, I. Hume, J.B.Lloyd 和 J.

Kopecek(1988)结合到 N －(2 －羟基丙基)甲基丙烯酰胺共聚物上的抗癌剂。II、正定霉素结合物的体内抗 L1210 败血病的评价。 British J. Cancer 57:147 － 156。可使用的药物包括可共价结合到聚合物上的并且这样结合后保留其活性的任何药物。仅在从该聚合体中释放时变成有活性的药物也可使用，并且包括这样的原药。

可用于聚合体中的药物包括胞毒剂，和如上文中描述的免疫调节肽和蛋白质。

“胞毒剂”是指任何能够杀死细胞的试剂，包括化疗剂例如胞毒药和胞毒抗体，螯合放射核素和毒素或启动或导致细胞死亡的任何试剂。术语胞毒剂也包括激活导致细胞死亡的宿主免疫应答的试剂。胞毒剂的选择要参照各种因子，例如疾病状态的类型，例如癌肿瘤的类型和用于治疗所述的癌肿瘤的特定化疗剂的效力等等。胞毒剂也可选自于烷基化试剂，抗代谢物，用作为胞毒药的天然产物，激素和拮抗剂和其它类型的胞毒化合物。

烷基化试剂的例子包括氮芥(即 2 －氯乙基胺)例如，氯次甲基，苯丁酸氮芥，苯丙氨酸氮芥，尿嘧啶氮芥、甘露醇氮芥、特优氮芥(extramustine)、磷酸盐、氧氮芥(mechlor － thaminoxide)，环磷酰胺，异环磷酰胺(ifosamide)和三磷酰胺(trifosfamide)；具有取代的氮丙啶基团的烷基化试剂，例如三亚胺嗪，噻替派，三亚胺醌和丝裂霉素；烷基磺酸盐型的烷基化试剂，例如白血福恩和哌酰硫烷；烷基化的 N －烷基－ N －亚硝基脲衍生物例如，卡氮芥，环己亚硝脲，赛氮芥或链脲菌素；二溴甘露醇，地卡巴嗪(decarbazine)和甲基苄肼型的烷基化试剂；和铂复合物例如顺氯氨铂和其它。抗代谢物的例子包括叶酸衍生物例如氨甲喋呤，氨喋呤和 3 －二氯氨甲喋呤；嘧啶衍生物例如 5 －氟尿嘧啶， 5 －氟去氧尿苷，呋氟尿嘧啶，阿糖胞苷，碘苷，和氟胞嘧啶；嘌呤衍生物例如巯基嘌呤，硫鸟嘌呤，硫唑嘌呤，硫咪嘌呤，阿糖腺苷，戊斯但啶(pentostatin)和嘌呤霉素和其它。

用作为胞毒剂的天然产物的例子包括例如蔓长春花生物碱，例如长春碱和长春新碱；表鬼臼脂素例如鬼臼乙叉甙和鬼臼噻吩甙；抗菌素例如阿霉素，柔红霉素，更生霉素，多诺霉素，亚德里亚霉素，光辉霉素，博莱霉素和丝裂霉素；酶例如 L －天冬氨酸酶；生物应答修饰剂例如 α －干扰素；喜树碱；紫杉酚；和类视黄素例如视黄酸等等。

激素和拮抗剂的例子包括类肾上腺皮质，例如强的松；孕酮，例如羟基

孕酮乙酸酯；甲孕酮和甲地孕酮；雌激素例如二乙基己烯雌酚和炔雌醇；抗雌激素例如三苯氧胺；雄性激素例如丙酸睾丸素和氟羟甲睾酮；抗雄性激素例如氟硝丁酰胺；和促性腺激素释放素类似物例如 leuprolide 。

混杂的胞毒剂的例子包括蒽二酮例如， mitoxantrone ；取代的脲例如羟基脲；和肾上腺皮质的阻抑剂例如邻氯苯对氯苯二氯乙烷和氨基导眠能。胞毒剂可以等离子地与螯合残基结合。例如，在优选的实施例中，胞毒剂是一种放射核素，包括与肽连接的螯合残基结合的下文描述的放射性金属例子。本发明的聚合体可含有一种或多种各种各样的螯合剂。如已知的，螯合剂是含有供体原子的化合物，该原子可通过配位键与原子阳离子结合以便形成称为螯合复合物或螯合物的环状结构。该类化合物描述于 Kirk － Othmer Encyclopedia of Chemical Technology， Vol.5， 339 － 368 。

采用已知的化学方法借助于肽的功能性侧链也可结合螯合残基。当与合适的金属复合时这些螯合残基可以结合到聚合体上以便产生用于诊断成象或胞毒剂的对比剂。通过蛋白质反应基团螯合残基可结合到聚合体的肽部分的有效的氨基酸侧链。“蛋白质反应基团”是指能与通常存在于蛋白质中的任何功能基团反应的任何基团，尤其是氨基酸侧链。

优选的蛋白质反应基团可选自于但不限于:

(1)将直接与氨基酸侧链上的氨或巯基反应的一种基团。例如，含有活性卤原子的基团包括例如，氯甲基苯基和氯乙酰基[Cl － CH_2CO －]，活化的 2 － 离去基团－取代的乙基磺酰基和乙基羰基例如 2 － 氯乙基磺酰基和 2 － 氯乙基羰基；乙烯磺酰基；乙烯羰基；环氧；异氰酸根合；异硫氰酸根合；醛；氮丙啶；唬珀酰亚胺氧羰基；活化的酰基例如羧酸卤化物；混合的酐等等；和其它已知可用于结合分子到蛋白质或交联蛋白质上的基团等等。

(2)易于与经改变的蛋白质或类似的生物分子反应的一种基团，其中所述的改变是通过将氨基酸侧链氧化为一种醛或一种羧酸而使该分子含有例如类似上面(1)中介绍的反应基团，在这种情况下其中的“蛋白质反应基团”可选自于氨基，烷基氨基，芳胺基，肼基，烷基肼基，芳基肼基，卡巴肼基，脲氨基，硫代卡巴肼基，硫代脲氨基，巯基，巯基烷基，巯基芳基，羟基，羧基，羧基烷基和羧基芳基。该蛋白质反应基团的烷基部分可含有 1 －约 18 碳原子或一种更低的烷基如上文中 R 的定义。该蛋白质反应基团的芳基部分可含有约 6 － 20 碳原子。

(3)通过使用一种交联剂可以连接到氨基酸侧链或类似的生物分了，或连接到上面(1)和(2)中说明的修饰肽上的一个基团。一些可用的交联剂例如双功能明胶加固剂，双异硫氰酸盐等等，在交联反应期间变成聚合体中连接基团的一部分。另一些可用的交联剂例如可消耗的催化剂在最终的结合物中不存在。这样的交联剂的例子是 U.S 专利 4,421,847 中公开的碳化二亚胺和氨基甲酰　交联剂和 U.S 专利 4,877,724 中公开的二阳离子醚。对于这些交联剂，反应物之一必须具有羧基并且另一反应物必须具有一个氨基，醇，或巯基。该交联剂首先选择性地与羧基反应，然后在该“活化”的羧基与例如氨基发生反应时裂开而在该聚合体的肽部分和金属复合剂之间形成酰胺键，从而将两个成分共价结合。这种方法的优点是避免了类似分子例如氨基酸侧链与亚氨基酸侧链或复合剂与复合剂的交联，而双功能交联剂的反应的选择性低。特别优选的蛋白质反应基团包括氨基和异硫氰酸基。优选的螯合剂前体具有酐，磺酰氯，烷基硫酸，乙烯基硫酸或酯功能烷基。

从选定的含有提供电子的原子的螯合成分可以衍生出螯合残基，所述残基通过与一种金属形成配位键而螯合该金属。这些成分可以选自于多磷酸盐，例如三聚磷酸盐和六偏磷酸;

直链，有支链的或环状的氨基羧酸，例如乙二胺四乙酸，　N－(2－羟基乙基)乙二胺三乙酸，氮川三乙酸，　N，　N－二(2－羟基乙基)甘氨酸，乙烯双(羟基苯基甘氨酸)，二乙烯三胺戊乙酸和 N－羧甲基化的大环聚氮杂环烷基例如 DOTA 和 D03A 和膦酰基甲基化的类似物;

1，3－二酮，例如乙酰丙酮，三氟乙酰丙酮，和噻吩甲酰三氟丙酮;

羟基羧酸，例如酒石酸，柠檬酸，葡萄糖酸和 5－磺基水杨酸;

多胺，例如乙二胺，二乙烯三胺，三乙烯四胺和三氨基三乙基胺;

氨基醇，例如三乙醇胺和 N－(2－羟基乙基)乙二胺;

芳香杂环碱，例如 2，2－二吡啶，2，2二咪唑，二甲基吡啶氨基和 1,10－菲咯啉;

酚，例如水杨醛，二磺基邻苯二酚，和铬变酸;

氨基酚，例如 8－羟基喹啉和喔星磺酸;

肟，例如二甲基乙二肟和水杨醛肟;

含有近基的螯合功能的肽例如多半胱氨酸，多组氨酸，多天冬氨酸，多谷氨酸，或这些氨基酸的组合;

希夫氏碱，例如二水杨醛 1，2－丙烯二亚胺；

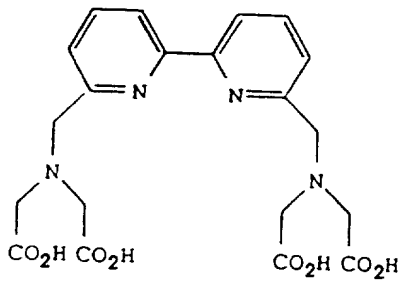
四吡咯，例如四苯基卟吩和酞菁；

硫化合物，例如甲苯二硫醇，中位－2，3－二巯基琥珀酸，二巯基丙醇，巯基乙酸，乙基黄原酸钾，二乙基二硫代氨基甲酸钠，，双硫腙，二乙基二硫磷酸和硫脲；

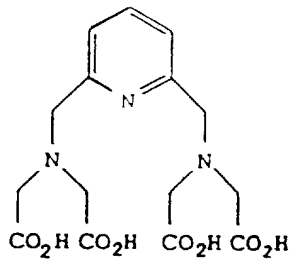
合成的大环化合物，例如二苯并[18]冠形－6，$(CH_3)_6$－[14]－4,11－二烯－N_4，和(2.2.2)穴状化合物；和

膦酸；例如次氮基三亚甲基膦酸，乙二胺四(亚甲基膦酸)，和羟亚乙基二膦酸，或两种或多种上述试剂的结合。

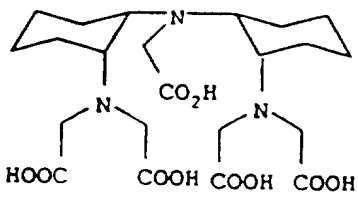
优选的螯合残基含有多羧酸或羧基化基团并且包括存在于下列物质的元素：乙二胺－N，N，N'，N'－四乙酸(EDTA)；N，N，N'，N''，N'''－二乙三胺戊乙酸(DTPA)；1,4,7,10－四氮杂环十二烷－N，N'，N''，N'''－四乙酸(DOTA)；1,4,7,10－四氮杂环十二烷－N，N'，N''－三乙酸(DO3A)；1－－4,7,10－三氮杂环十二烷－N，N'，N''－三乙酸(OTTA)；反式(1,2)－环己基二乙三胺戊乙酸(CDTPA)；



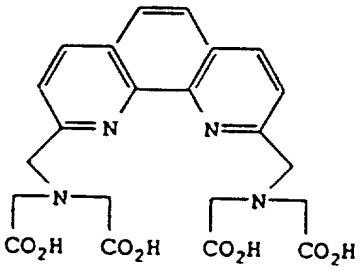
(B4A)；



(P4A)；



(DCDTPA) ；和



(PheMT)。

这样的螯合化合物，包括其制备和操作是本领域内已知的。例如， EDTA 和 DTPA 的酸和酐形式可以通过商业途径购买；在 U.S 专利 4,859,777 中描述了 B4A， P4A 和 TMT 的制备；该文献引入本文作为参考；并且其它合适的螯合基团是本领域内已知的，并且描述于 WO - A - 92/08494 和其它易于获得的文献中。

如果螯合残基由多个螯合成分或亚单位组成，那么这样的亚单位可通过一个连接基团连接在一起。因此，可利用一个以上的螯合成分配制螯合残基。如果在螯合残基中存在一个以上的螯合成分，那么这些成分可以是相同的或不同的。可利用已知的化学方法将螯合成分连接在一起。因此螯合成分可是一个成分或螯合成分的一个“核心”。例如，通过将 DTPA 二酐与一种二胺，例如乙二胺反应以形成一个 DTPA 螯合剂核心，从而制备 DTPA 残基核心。由多个螯合成分配制的其它螯合残基是本领域内已知的并且也可以采用已知的化学方法制备。

对于核磁共振成象应用，螯合的金属离子 $M^{(+a)}$优选的是顺磁性金属离子例如原子序数为 21 - 29,42,44 和 57 - 71，特别是 57 - 71 的金属离子。下面的金属离子是优选的： Sr， V， Mn， Fe， Co， Ni， Cu， Ce， Pr，

Nd，Pm，Sm，Eu，Gd，Tb，Dy，Ho，Er，Tm 和 Yb。特别优选的是 Cr^{3+}，Cr^{2+}，V^{2+}，Mn^{3+}，Mn^{2+}，Fe^{3+}，Fe^{2+}，Co^{2+}，Gd^{3+}和 Dy^{+3}。一个特别有利的特征是提供的聚合体具有高取代比例，即，每分子含有很大量的顺磁性金属离子。

胞毒剂可以是放射性同位素，优选的是一种放射性金属离子同位素。该放射性金属离子同位素可以是选自于例如 Sc，Fe，Pb，Ga，Y，Bi，Mn，Cu，Cr，Zn，Ge，Mo，Tc，Ru，In，Sn，Re，Sr，Sm，Lu，Du，Sb，W，Re，Po，Ta 和 Tl 离子的金属同位素离子。在一个优选的实施例中，特别涉及也可用于诊断成象应用中的放射性同位素，因此该实施例发现了在成象和治疗中的应用，其中可与其它方法结合应用或者作为辅助方法。该实施例中优选的放射性金属离子同位素包括用于治疗和诊断成象中的 ^{44}Sc, $^{64,67}Cu$, ^{111}In, ^{212}Pb, ^{68}Ga, ^{90}Y, ^{153}Sm, ^{212}Bi, ^{99m}Tc 和 ^{188}Re。

如果例如在上面的成象或治疗中由该聚合体螯合一种金属，那么该聚合体中金属含量可以占该聚合体总重量的约 0.1 至高达 20 %。例如在核磁共振成象实施例中，该聚合体优选含有重量为 1 - 25 %，更优选的是 2 - 20 % 的顺磁性金属离子。在一个治疗实施例中，放射性核素金属离子的存在量约相当于成象实验中的同样量。

可在该组合物的 PAG 成分的末端加上选自于氢，羟基，烷基氨基或烷氧基的帽成分。优选的帽成分是氢或羟基基团。因此采用已知的化学方法可完成加帽操作并且可以获得预加帽的予聚物。进一步涉及制备环状的共聚物。

基于预定的应用可制备水溶性形式，水悬浮性形式或水不溶性形式的本发明的共聚物。该共聚物的分子量为 10,000 - 1 百万，优选的是 11,000 - 80,000。优选的分子量随下文中描述的应用而变化。

除了本发明的聚合体进行靶击释放以外，可以在有或没有靶击剂帮助下选择性地将聚合体释放到特定的细胞，组织类型或器官中。如果不使用靶击剂，这样的靶击释放只取决于大小(流体动力学半径)和电荷。通过对用于该共聚物肽成分中的氨基酸进行明智的选择可以改变该聚合物的电荷以便适合具体的应用。当然，通过改变用于制备聚合体的 PAG 或肽的大小或通过改变聚合化程度可以选择该聚合体的大小。据认为聚合体的靶击释放是以该聚合体在组织中的被动性生物分布为基础的。据认为由于聚合体中的 PAG 成分使

该聚合体可以在循环系统内自由分布并且具有低抗原性或不受单核噬菌系统的干扰，因而可以出现这种被动性生物分布。与本领域内已知的疏水聚合体(被网状内皮系统吸收)不同，将本发明的聚合体设计为在没有进行代谢的情况下分布到组织中。因此，在组织中该聚合体的大小和电荷是所给药的聚合体的大小和电荷的函数。未代谢的聚合体在组织中的分布受各个组织中局部血管内皮的特性和存在或不存在淋巴系统的影响。三种一般的血管内皮的种类是具有不连续性和较少或没有基底膜特性的正弦曲线样的内皮；被穿孔的血管内皮；和具有紧密连接和基底膜特性的连续的血管内皮。已知淋巴系统将蛋白质再循环并且自由漂浮在血浆中但是逃脱了循环系统的其它分子在组织中存在一定时间，然后借助于淋巴系统重新回到循环系统中。熟练的技术人员根据在已知的给定时期内已知的扩散通过该组织的蛋白质的分子量的接近或更优选的流体动力学半径的接近程度可以确定那一种组织被聚合体被动靶击。

类似于骨髓，肝和脾的组织其特征为正弦曲线样的内皮(这样的内皮允许大分子从循环系统中逃脱进入周围组织)，因此可用较大的聚合体分子被动靶击这样的组织。类似于在 GI 道，肾小球和内分泌腺组织中所存在的组织其特征为被穿孔的血管内皮(这种内皮允许较小的大分子从循环系统中逃脱)，因此稍微较小的聚合体分子可用于被动靶击这样的组织。类似于肌肉和肺组织的组织其特征为连续的血管内皮(这样的内皮允许小分子从循环系统中逃脱进入周围组织)，因此较小的聚合体分子可用于被动靶击这样的组织。

例如，白蛋白的流体动力学半径大约是 37Å ，其分子量是 67kd，其电荷是已知的。已知白蛋白在组织中循环的平均半衰期是约 24 小时，其半衰期在一些组织中更长而在另一些组织中更短。而且，在某些组织中白蛋白的浓度是明显的而在另一些组织中几乎没有白蛋白。本领域内技术人员可制备近似于相同大小，或优选的是相同的流体动力学半径和电荷的聚合体，并且预期在组织中有类似的半衰期和浓度。

本领域内技术人员将认识到组织的炎性将干扰那些组织的正常生理学状态并且从而干扰了大分子例如本发明的蛋白质或聚合体在发炎组织或发炎组织位点的半衰期和浓度。因此在成象和/或治疗这种炎性组织或炎性组织位点中聚合物是有用的。

本领域内技术人员将认识到一个组织中没有淋巴系统将干扰大分子在

该组织中的浓度并且提高其半衰期，因为没有便利的机理用于清除这样的大分子。在生长中的肿瘤中涉及这样的情况。基于聚合体的大小和上面描述的周围靶击组织的脉管系统可将胞毒剂，原药或成象成分释放到生长中的肿瘤表明。以胞毒剂给药导致这样的药剂在肿瘤的生长表面中的积累。

可将聚合体的分子量和电荷配制成适合基于组织类型，是否存在炎症，肿瘤和/或脉管系统的类型和是否存在淋巴系统的特定应用，为靶击预期的组织提供具有正确特性的聚合体。

用于产生直链交替聚合体的一般的合成方法可按照两种相关的方案(A和 B)，这两种方案涉及双(甲基氨基)－单体与双(环氧乙烷基)单体的反应，如下文描述。采用常规的和化学领域内熟练的技术人员已知的化学转化可制备本发明的化合物。再者，可利用已知的转化实现聚合体或用于制备本发明聚合体的化合物中功能基团的改变。例如，羟基或氨基取代基的酰基化以分别制备相应的酯或酰胺；简单的芳基和杂环取代或替换；烷基或苯甲醚裂解以产生相应的醇或酚；酯或酰胺水解以产生相应的酸，醇或胺，酐，酸卤化物，醛的制备，简单的芳基烷基化和所需的芳基变化等等。

这样的转化提供了合适的螯合剂和其含有反应功能基团的前体，所述反应功能基团包括例如二酸酐形式的多羧酸，二(磺酰基氯)，二(烷基硫酸盐)，二(乙烯砜)，二酯等等。这些已知的转化也可以用于将螯合剂结合到聚合体或聚合体前体上，以及用于制备聚合体本身。但是，本领域内技术人员也将会认识到通过阻断或提供特定的惰性功能基团可以更好地促进一些反应而获得所需的产物。现有技术中充分地认识到这些具体方法，参见例如，Theodora Greene, Protective Groups in Organic Synthesis(1991)。因此，当反应条件可以引起与该分子的其它部分，例如计划变为配体的螯合剂部分进行不希望的反应，熟练的技术人员将认识到保护该分子的这些反应区的必要性并且因此而起作用。例如，通过合适地封阻螯合残基前体可以防止含有反应功能基团的螯合残基发生反应而形成不需要的产物，所述残基可以与反应多(烯烃氧化物)成分接触而形成聚合体，然后采用本领域内已知的技术除去保护基团。例如，如果羟基取代基是选择性地存在于终产物中，那么优选的是在聚合期间暂时将它们封阻，例如通过常规的封阻技术从羟基形成烷基醚以便减少不希望的副产物形成。但是，含有一个或多个通过聚合体的主链中的未封阻的反应前体基团形成的键的副产物也是有用的。

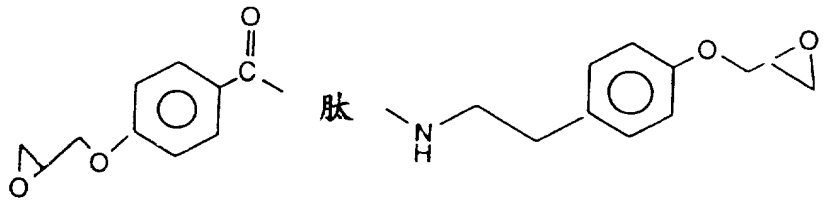
采用下文中描述的方法将小蛋白或肽掺入到聚合体中。这些化学方法的优点是在本发明的聚合体中将该肽的 N 末端和 C 末端逆转或随机化，使之降低免疫原性或掩饰肽活性，直到将肽释放。

方案 A

双-(环氧乙烷基)－肽单体(Apep)与双－(烷基氨基)－ PAG 衍生的单体(Apag)发生反应

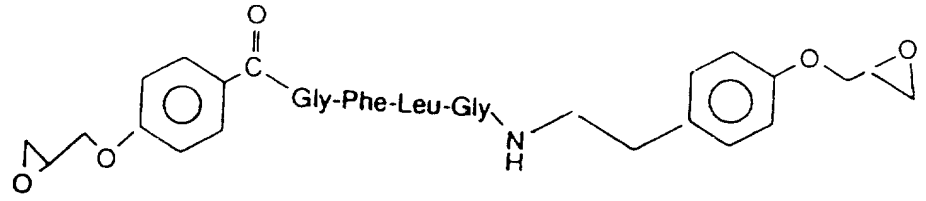
将一个连接基团前体加到 PAG 单体的末端羟基。已知连接基团前体与已知 PAG 成分反应而形成一个(PAG)连接基团前体残基。通常该前体残基选自于氨基烷基氨基， N－肌氨酰基－氨基烷基－氨基，或 N－肌氨酰基氨基烷基氨基－ N－羧基。

在该方案中，该肽单体含有 4 －(环氧乙烷基甲氧基)芳基，利用羧基功能基团将该芳基作为连接基团前体结合到该肽的N末端或者利用氨基功能基团结合到该肽的 C 末端，从而形成了使该肽单体的 N 末端和 C 末端与各个连接基团前体的一个末端形成酰胺键，并且在各个连接基团的另一个末端具有环氧乙烷，如下所示:



将该环氧乙烷功能化的肽称为 Apep 。

作为举例， Apep 可以是;



并且与双(氨基)PAG 单体(Apag)结合，例如;

$$NH - CH_2CONH(CH_2)_3NHCO - [PAG]CONH(CH_2)_2NHCOCH_2NH(R)$$
$$|$$
$$R$$

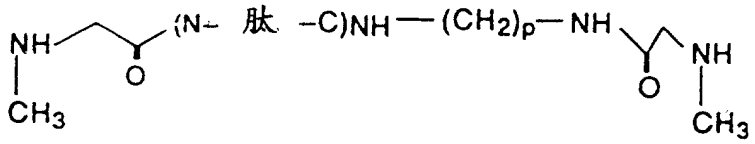
其中 R 表示低级烷基。

采用已知的化学方法可以制备这样的 PAG 衍生物，例如：采用 $SOCl_2$，$COCl_2$ 等等从 PAG 单体制备酸氯化物，随后与合适的二胺，或另一种合适的连接基团，例如 - $N(R)CH_2CONHCH_2CH_2NH_2$ 等等发生反应。

方案 B

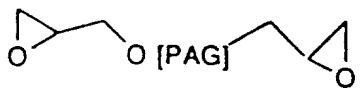
另一种可选的方法，在 PAG 衍生物单体上使用环氧乙烷功能基团，而在肽衍生物单体上使用氨基功能基团。在该方案中，双(烷基氨基) - 肽单体(Bpep)与双 - (环氧乙烷基) - PAG 单体(Bpag)发生反应。该肽具有连接到 C 和 N 末端的一个连接基团前体残基以便提供末端胺功能基团。可以利用甘氨酸或肌氨酸作为 N 末端的连接基团的前体。将 C 末端结合到 - $NH(CH_2)_PNHCOCH_2NH(R)$ 或 - $NH(CH_2)_PNHCOCH_2NH_2$ 连接基前体基团上，所述前体基来自于二胺(其中 P 是 1 - 6，R 是一个 1 - 约 4 个碳原子直链或支链的烷基)，和甘氨酸或肌氨酸。因此借助于在 N 末端和 C 末端的酰胺键将肽结合到连接基团前体上。

Bpep 的一个例子是：



其中 p 是 1 - 约 6。

双(环氧乙烷基)PAG 单体(Bpag)的通式是本领域内已知的。(参见 Y.Chen and M.Feng，中国专利 86/104,089(1987))。



因此将会认识到双(烷基胺)和双(环氧乙烷基)功能基团可以是在 PAG 成分或肽成分上；只要利用胺和环氧乙烷的反应在肽和 PAG 之间进行的聚合。

在聚合化之前，期间或之后，可将合适的螯合剂和其前体结合到聚合体或聚合体前体上。如前面描述的，可将对含有反应功能基团的螯合剂或其前体适当封阻的先代与掺入到聚合体或聚合体前体中的反应性氨基酸侧链接触以便形成螯合聚合体或螯合聚合体前体，然后采用本领域内已知的技术去除保护基团，从而避免了不希望有的副产物形成。

通过将未金属化的聚合体依次或同时与一种或多种来源的金属离子接触可形成金属化的聚合体。通过将一种或多种金属离子溶液或一种或多种金属离子固体盐或金属离子氧化物，优选的是依次加入到一种聚合体的溶液中，优选的是一种聚合体的水溶液中可便利地完成该过程。此后，或依次加入金属离子之间，螯合聚合体优选的是在水中渗析滤过以便去除过量的未结合的金属。

优选的是在水溶液中制备共聚物，例如，用作血库成象的核磁共振对比剂的可注射形式，如计划静脉给药的组合物等等。采用本领域内已知的方法可以完成分子量为 10,000 - 50,000 的水溶性化合物的制备。

如果共聚物携带总电荷，那么使用具有生理学上可接受的补偿离子的盐形式例如，一种铵，取代的铵，碱金属或碱土金属(例如，钙)阳离子或来自于无机酸或有机酸的一种阴离子将是便利的。关于这一点，麦格鲁明(meglumine)盐是特别优选的。

在本发明的组合物中，可将该共聚物与常规药物的或兽药制备的助剂例如稳定剂，抗氧化剂，，渗克分子浓度调节剂，缓冲剂，pH 调节剂等等一起配制，并且可以是适合非肠道或肠道给药的形式例如注射或输注或直接给药，或在用生理学上可接受的介质例如水进行稀释或分散之后用于注射到具有外部逃脱管道的体腔内，例如胃肠道，膀胱或子宫。因此本发明的组合物可以是常规的药物给药形式例如粉剂，溶液，悬浮液，分散液，等等；但是，通常优选的是溶于生理学上可接受的载体介质例如注射用水中的溶液，悬浮液和分散液。

因此利用生理学上可接受的载体或赋形剂以本领域内熟知的方式可配制药用的本发明的共聚物。例如，可将共聚物(必要时添加药物学上可接受的赋形剂)悬浮于或溶解于水介质中，将得到的溶液或悬浮液灭菌。合适的添加剂包括例如，生理学上生物相容的缓冲液(例如，氨基丁三醇盐酸盐)，加入(例如0.01 - 10 摩尔百分数)的螯合剂(例如， DTPA)或螯合钙复合物(例如DTPA

的钙盐，CaNaDTPA－双酰胺，或钙盐)或必要时加入(例如，1－50摩尔百分数)钙盐或钠盐(例如，氯化钙，抗坏血酸钙，葡萄糖酸钙或乳酸钙等等)。

如果共聚物要配制成悬浮液形式，例如配制于水或生理盐水中以用于口服给药，可将小量的可溶性螯合剂与一种或多种失活的通常用于口服溶液和/或表面活性剂和/或用于增香的芳香剂中的成分相混合。

对于MRI和对于身体的某些部位的X－射线成象，将金属螯合剂用作为对比剂的最优选的给药方式是非肠道，例如静脉给药。可非肠道给药的形式例如静脉用溶液，应该是无菌的和没有生理学上不能接受的试剂，并且应该具有低渗克分子浓度以便使给药时产生的其它副作用的影响降低到最小，因此优选的是对比介质应该是等渗或稍微高渗的。合适的赋形剂包括习惯用于非肠道给药的溶液的水赋形剂例如氯化钠注射液，林格氏注射液，葡聚糖注射液，葡聚糖和氯化钠注射液，乳酸盐化的林格氏注射液和在Remington's Pharmaceutical Sciences. 15th ed., Easton:Mack Publishing Co., pp. 1405－1412 and 1461－1478(1975) and The National Formulary XIV, 14th ed. Washington: American Pharmaceutical Association(1975)中描述的其它溶液。该溶液可以含有通常用于非肠道给药溶液中的防腐剂，抗菌剂，缓冲剂和抗氧化剂，与该共聚物相容并且不会干扰产物的制造，储存或使用的赋形剂和其它添加剂。

如果共聚物含有螯合的有毒金属，例如重金属离子，则令人满意的是在该制剂中包括稍微过量的螯合剂，例如由Schering在DE－A－3640708中讨论的或更优选的是稍微过量的螯合剂的钙盐。

在本发明的给药组合物中活性成分的实际量可随特定的组合物和给药方法而可以是变化的，以便获得一定量的活性成分，所述的量可有效地获得所需的作用。因此选定的剂量水平取决于预期的效果，给药途径，预期的治疗持续期和其它经常考虑的因素。

根据本发明方法使用的对比剂的剂量将随所使用的对比剂的精确特性而变化的。但是优选的是，剂量应低至保持获得加强成象的对比效果和将IV滴注剂或团药注射液的体积降低至最小。在这种方式中，潜在的毒性降低至最小。

对于MR诊断检查，如果本发明的诊断剂呈溶液，悬浮液或分散液，则通常将含有浓度为lmM－1.5M/L，优选的是0.1－700mM的螯合的金属。

但是可以供应更浓缩的形式的该组合物，在给药之前进行稀释。

对于大多数的 MR 对比剂，通常合适的剂量范围是 0.02 - 3mmol 顺磁性金属/kg 体重，尤其是 0.05 - 1.0mmol/kg，特别是 0.08 - 0.5，更具体的是 0.1 - 0.4mmol/kg。本领域内的一般的技术人员能够测出特定的对比剂在体内或体外应用的最适剂量。

对于 X-射线检查，通常对比剂的剂量应该更高并且对于闪烁检查剂量通常应该低于 MR 检查。对于放射性治疗和药物释放治疗，可以使用常规或次常规的剂量。

对于胞毒治疗，以单剂量或分开的剂量形式供给宿主的本发明的化合物的每日总剂量可以是例如从约 1 微微摩尔 - 约 10 毫摩尔胞毒剂/kg 体重的量。剂量单位组合物可以含有类似于其每日剂量或其次多倍量。但是必须明白对于特定患者的特定剂量取决于各种各样的因素包括体重，总的健康，性别，食物，给药的时间和途径，吸收和分泌的速率，与其它药物结合和待治疗的特定疾病的严重程度。

对于另一个方面，本发明提供了一种产生人或非人动物体的加强成象的方法，该方法包括给所述的动物体施用一种本发明的诊断组合物并且产生至少所述身体的一部分的 X - 射线，MR，超声或闪烁图象，该部分身体中分散有所述共聚物。

对于另一方面，本发明提供了在人或非人身体上进行的治疗方法，该方法包括给所述身体施用本发明的治疗学上有效的共聚物，例如，掺入了药物或原药或治疗学上有效的例如胞毒的，螯合金属的共聚物。

本发明包括与一种或多种非毒性生理学上可接受的载体，助剂，赋形剂或媒介物(在本文中通常称为载体)一起配制为组合物的一种或多种本发明的聚合体，所述组合物可通过非肠道注射，固体或液体形式的口腔给药，肠道或局部给药等等。

可通过口腔，肠道，非肠道(静脉，肌内或皮下)，脑池内的，阴道内，腹膜内，局部(粉剂，油膏或滴剂)，或颊或鼻内喷雾的方式将该组合物施用给人和动物。

适应于非肠道注射用的组合物包括生理学上可接受的无菌水或非水溶液，分散体，悬浮液或乳液和用于重新构成无菌水溶液或分散体的无菌粉剂和冻干粉。合适的水和非水载体，稀释剂，溶剂或赋形剂的例子包括水，乙

醇，多元醇(丙二醇，聚乙二醇，甘油等等)，及其合适的混合物，植物油(例如橄榄油)和可注射的有机酯例如油酸乙酯。例如通过使用一层覆盖物例如卵磷脂，通过保持分散体的所需的颗粒大小和通过使用表面活性剂可以保持正确的流动性。

这些组合物也可以含有助剂例如保存剂，润湿剂，乳化剂，低温防护剂和分散剂。采用各种抗菌剂和抗真菌剂例如对羟基甲酸酯(paraben)，氯代丁醇，山梨酸等等可确保防止微生物的作用。令人满意的是还包括等渗剂例如糖，氯化钠等等。通过使用推迟吸收的试剂例如单硬脂酸铝和明胶可导致可注射药物剂型的吸收延缓。

用于口服的固体剂量形式包括胶囊，片剂，丸剂，粉剂和药粒。对于这样的固体剂型，将活性化合物与至少一种惰性惯用赋形剂(或载体)例如柠檬酸钠或磷酸二钙混合，或者与(a)填充剂或膨胀剂，例如淀粉，乳糖，蔗糖，葡萄糖，甘露醇和硅酸，(b)粘结剂，例如羧甲基纤维素，藻酸盐，明胶，聚乙烯吡咯烷酮，蔗糖和阿拉伯胶，(c)致湿剂，例如甘油，(d)崩解剂，例如琼脂，碳酸钙，马铃薯或木薯淀粉，藻酸，某些复合的硅酸盐和碳酸钠，(e)溶液阻留剂，例如石蜡，(f)吸收加速剂，例如四胺化合物，(g)润湿剂，例如十六烷醇和单硬脂酸甘油，(h)吸附剂，例如高岭土和膨润岩，(i)润滑剂，例如滑石粉，硬脂酸钙，硬脂酸镁，固体聚乙二醇，月桂基硫酸钠或其混合物混合。对于胶囊，片剂和丸剂，剂型还包括缓冲剂。

相似类型的固体组合物也可使用如乳糖或奶糖以及高分子量的聚乙二醇等等的赋形剂作为软和硬的明胶填充的胶囊中的填充剂。

可以制备有覆盖层和外壳例如肠衣和本领域内已知的其它类似物质的固体剂型例如片剂，糖衣丸，胶囊，丸剂和药粒，它们可以含有遮光剂，也可以是在肠道的某些部位以延迟的方式释放活性化合物的这样的组合物。可用的植入组合物的例子是聚合物质和蜡。

活性化合物也可以是微被囊形式的，如果合适，可含有一种或多种上面介绍的赋形剂。

口服给药的液体剂型包括药物学上可接受的乳液，溶液，悬浮液，糖浆和酏剂。除了活性成分外，液体剂型可以含有通常用于本领域内的惰性稀释剂例如水或其它溶剂，增溶剂和乳化剂，例如乙醇，异丙醇，碳酸乙酯，乙酸乙酯，苯甲醇，苯甲酸苄酯，丙二醇，1，3－丁二醇，N，N－二甲基

甲酰胺，油，尤其是棉籽油，花生油，玉米胚油，橄榄油，蓖麻油和芝麻油，甘油，四氢糠醇，聚乙二醇和山梨糖醇的脂肪酸酯或这些物质的混合物等等。

除了惰性稀释剂，该组合物还含有助剂，例如润湿剂，乳化剂和悬浮剂，甜味剂，调味剂，加香剂。

除了活性组合物，悬浮液可含有悬浮剂，例如乙氧基化的异十八烷醇，聚氧乙烯山梨糖醇和脱水山梨糖醇酯，微晶体纤维素，偏氢氧化铝，膨润岩，琼脂和黄蓍胶，或这些物质的混合物等等。

用于直肠或阴道给药的组合物优选的是栓剂，通过将本发明的化合物与合适的非刺激性赋形剂或载体例如可可油，聚乙二醇或栓剂蜡混合可制备这样的栓剂，所述的蜡在普通温度下是固体但在体温下是液体，因此在直肠或阴道内可溶化并且释放活性成分。

对于局部给药的本发明化合物的剂型包括油膏，粉剂，喷雾剂和吸入剂。在无菌条件下将活性成分与生理学上可接受的载体和防腐剂，缓冲剂或推进剂(如果需要)混合。本发明范围内还包括眼用制剂，眼用油膏，粉剂和溶液。

对于再一方面，本发明还提供了将本发明的共聚物用于制造诊断剂或治疗剂，所述诊断剂或治疗剂用于在人或非人动物体上实施的图象产生方法或治疗的方法中。

对于再一方面，本发明提供了制备携带螯合金属的共聚物的方法，所述方法包括将含有本发明共聚物的螯合成分金属化，例如通过将共聚物与至少难溶的金属化合物例如氯化物，氧化物，乙酸盐或碳酸盐一起在溶剂中混合。

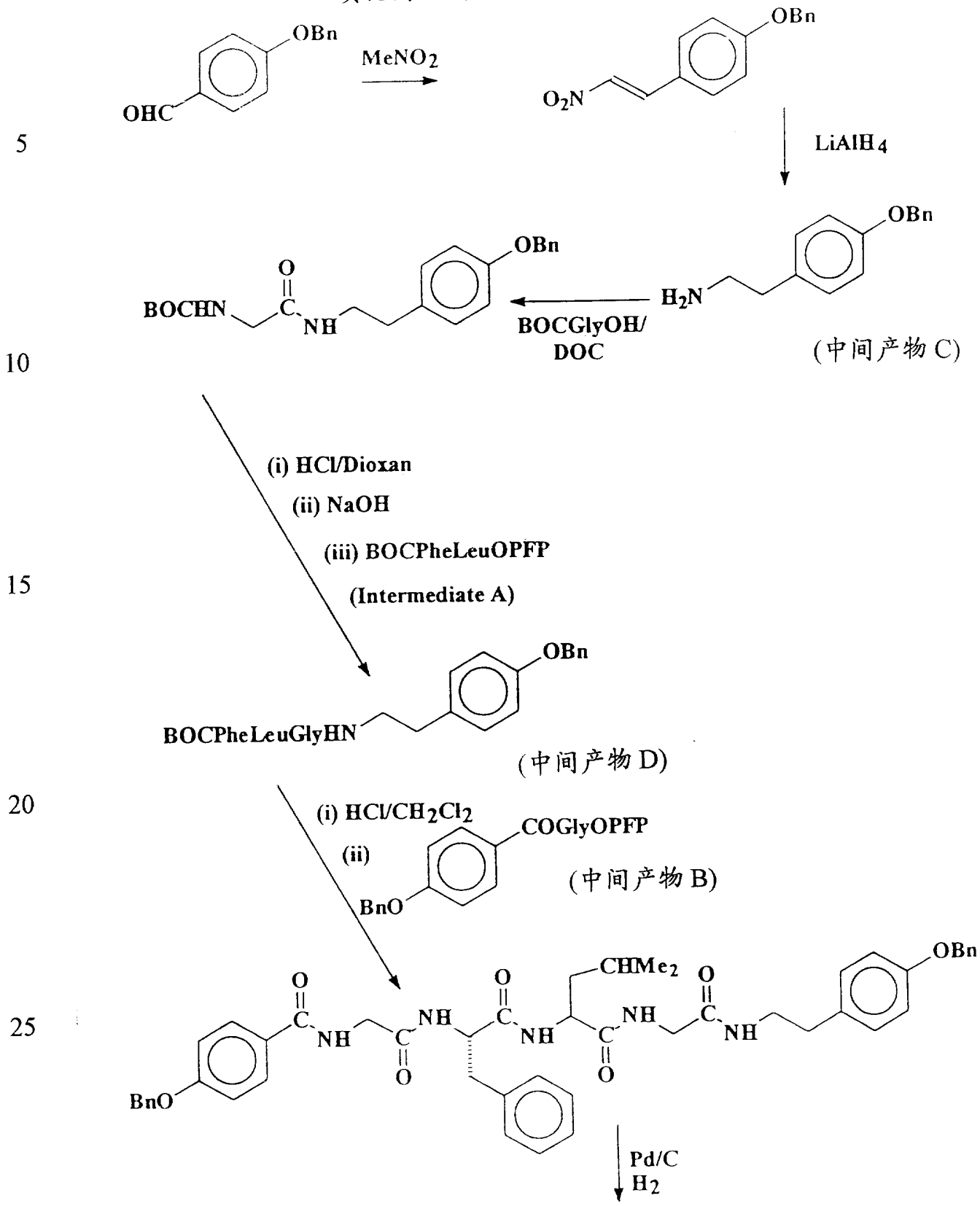
对于再一方面，本发明提供了制备本发明的治疗用共聚物的方法，该方法包括将一种药物或原药结合到本发明的共聚物上。

下面的非限制性实施例描述了制备通式 A 的化合物的实施例。

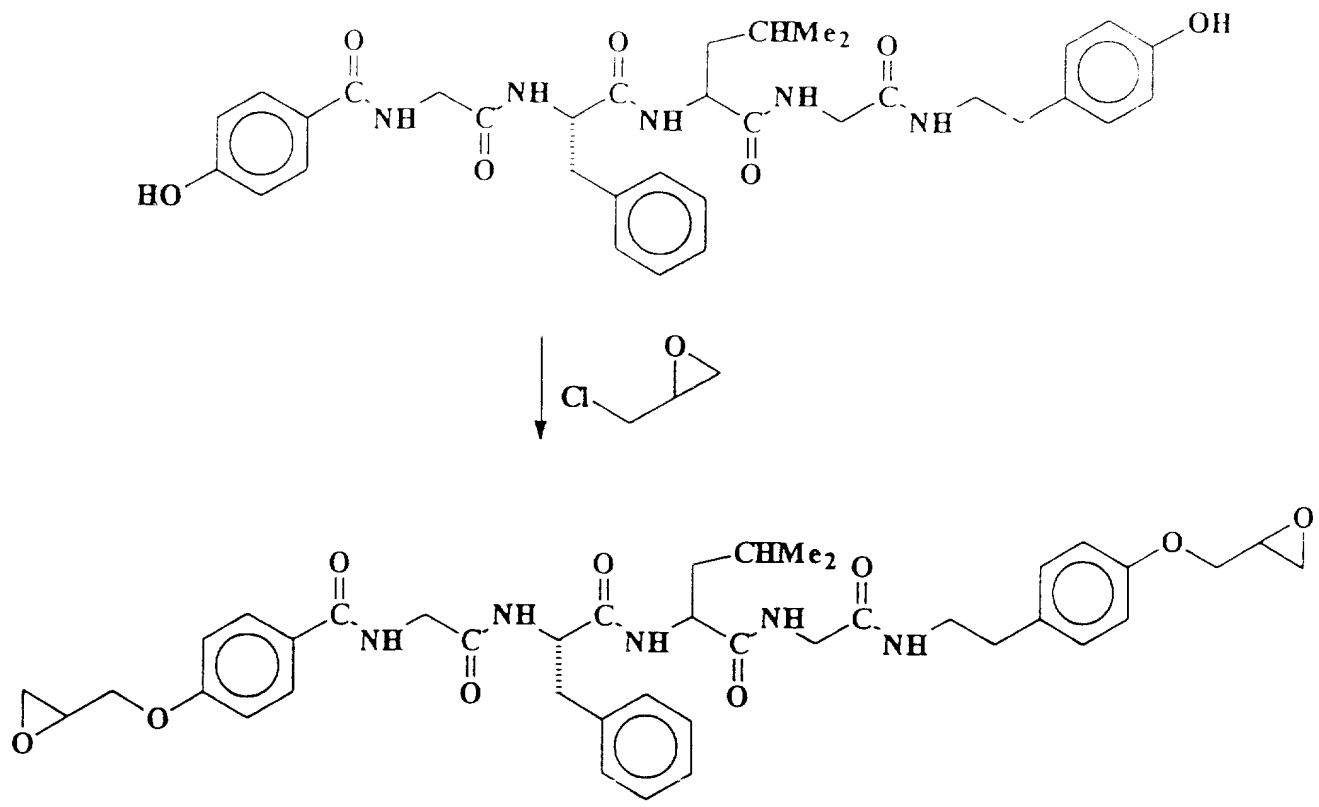
实施例 A

根据下面的方案可获得由方法 A 制备的化合物的合成，得到通式 A 和化合物;

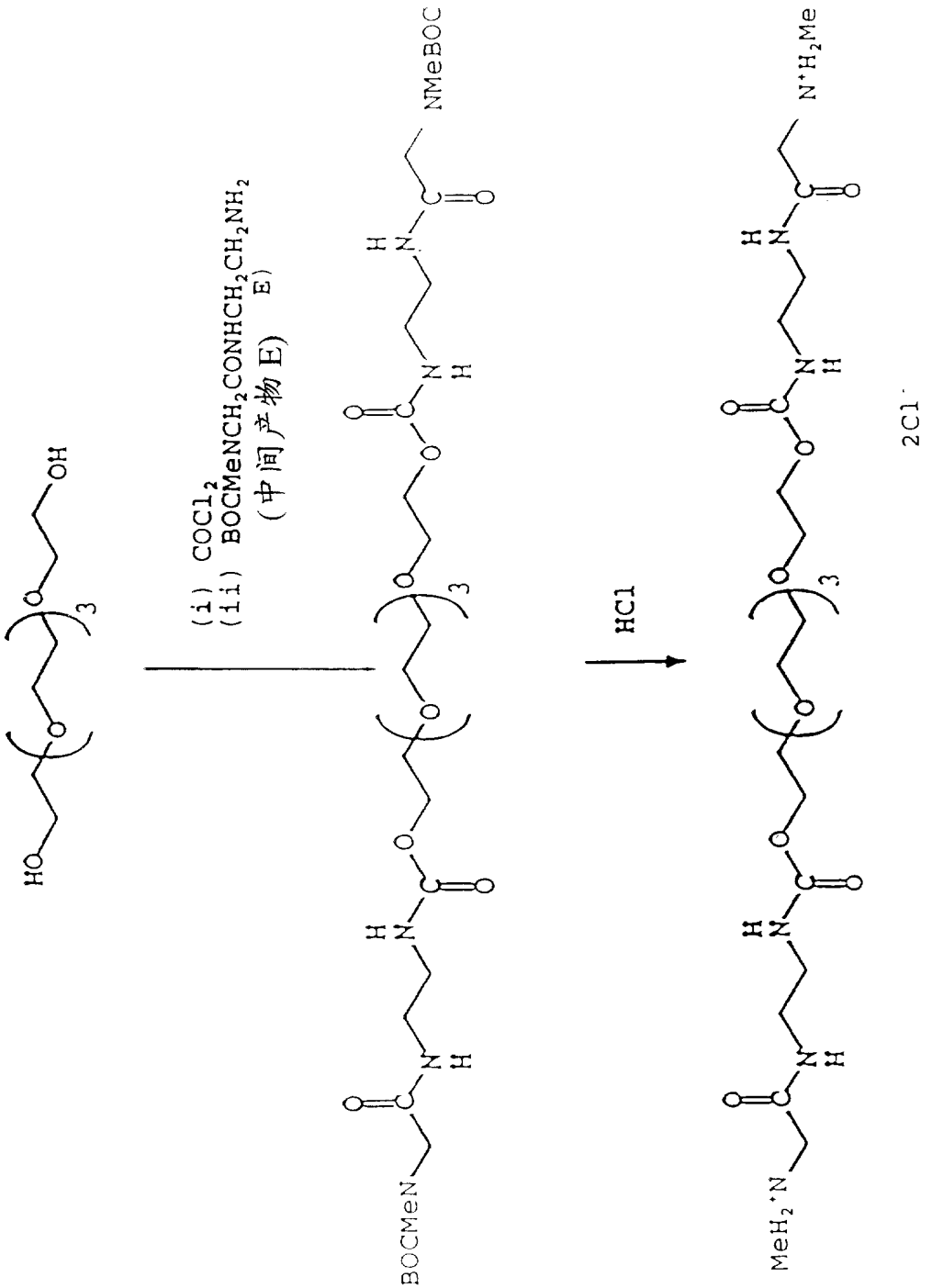
实施例 A 的肽部分的制备



实施例 A 的 PAG 部分的制备



实施例 A 的肽部分的制备(续)



中间产物 A

1， N－(N－(1， 1－二甲基－乙氧基羰基)－苯基丙氨酰)亮氨酸五氟苯基酯

将 N －(N －(1， 1 －二甲基－乙氧基羰基)－苯基丙氨酰)亮氨酸(23.0g， 61mmol)(由文献方法制备[Anderson， G. W.; McGregor， A. C.， t－Butoxycarbonyl amino acids and their use in peptide synthesis， J. Am. Chem. Soc.， 1957,79,6180－6183])与五氟酚(11.2g， 61mmol)和二环己基碳化二亚胺(12.5g， 61mmol)一起在四氢呋喃(170mL)中， 0 ℃下搅拌 1 小时。将悬液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂。在二氯甲烷中的残留物用饱和的碳酸氢钠水溶液和用水洗涤两次。用无水硫酸镁干燥该溶液，在减压条件下蒸发溶剂得到 N－(N－(1， 1－二甲基－乙氧基羰基)－苯基丙氨酰)亮氨酸五氟苯基酯(28.0g， 85 %)。

中间产物 B

1. 4(苯甲氧基)苯甲酸

在修改的文献方法中[E. L. Elied， R. P. Anderson， Reactions of esters with targeting amine. I. Benzyl esters from methyl esters and benzyldimethylamine， J. Am. chem. Soc.， 1952,74,547－549]，在回流条件下将 4－羟基苯甲酸(27.6g， 200mmol)，氯甲基苯(57.0g， 450mmol)，碳酸钾(50g)和碘化钠(25g)在乙腈(500mL)中回流煮沸 16 小时。将悬浮液过滤并且在减压条件下从滤液蒸发溶剂。将残留物从乙醇中重结晶与得到苯甲基 4－(苯甲氧基)苯甲酸酯(48.8g, 76 %)。在回流条件下将苯甲基 4－(苯甲氧基)苯甲酸酯(48.8g， 150mmol)与氢氧化钠水溶液(2M； 250mL)和乙醇(250ml)一起煮沸 4 小时。在减压条件下蒸发乙醇。加入水(1000mL)。通过过滤收集白色固体，与硫酸水溶液(2M； 300mL)加热到 65 ℃ 1 小时并且用热乙酸乙酯提取。用无水硫酸镁干燥该乙酸乙酯溶液，在减压条件下蒸发溶剂得到 4(苯甲氧基)苯甲酸(27.15g， 80 %)。用二乙醚将滤液洗涤两次，通过加入硫酸(2M)酸化，用二乙醚提取。将二乙醚蒸发后得到另一部分 4(苯甲氧基)苯甲酸(6.0g， 18 %)。总产量是 98 %。

2. 4－(苯甲氧基)苯甲酰氯

将 4(苯甲氧基)苯甲酸(500mg， 2.2mmol)与草酰氯(280mg， 2.2mmol)和 N， N－二甲基甲酰胺(25mg)在 1， 4－二 烷(25ml)中搅拌 20 分钟。在

减压条件下蒸发溶剂和催化剂。将残留物从己烷中重结晶得到 4 －(苯甲氧基)苯甲酰氯(460mg， 85 %)。

3. N －(4 －(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酸甲基酯

将溶于二氯甲烷(90ml)中的 4 －(苯甲氧基)苯甲酰氯(13.64g， 55.5mmol)滴加到溶于二氯甲烷(250mL)中的甘氨酸甲基酯盐酸盐(7.66g， 61mmol)和三乙胺(11.78g， 116.5mmol)中。将混合物搅拌 16 个时。将悬浮液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂。从二氯甲烷/己烷中重结晶残留物得到 N －(4 －(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酸甲基酸(14.75g， 89 %)。

4. N －(4 －(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酸五氟苯基酯

在回流条件下将 N －(4 －(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酸甲基酯(14.75g 49..2mmol)与甲醇化氢氧化钠(1M)(80mL)一起煮沸 2 小时。在减压条件下蒸发溶剂。将残留物溶于水中，通过加入盐酸水溶液使之酸化。用乙酸乙酯提取该悬浮液。用饱和的盐水洗涤提取物并且用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂得到 N －(4 －(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酸(6.59g， 47 %)。将二环己基碳化二亚胺(720mg， 3.5mmol)加到溶于无水四氢呋喃(100ml)中的 N －(4 －(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酸(100g， 3.5mmol)，将混合物置于 0 ℃。滴加入五氟酚(640g， 3.5mmol)，将混合物在 0 ℃搅拌 17 小时。将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂。将残留物溶于乙酸乙酯(200ml)中，用饱和的碳酸氢钠水溶液(2 × 75ml)，硫酸水溶液(10 %)和水洗涤。用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂得到 N －(4 －(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酸五氟苯基酯(中间产物 B)(1.5g， 95 %)。

中间产物 C

1. 1 －(2 －硝基乙烯基)－ 4 －(苯甲氧基)苯

按修改的文献的方法[M. Hoequanx， B. Macot， G. Recleuith， C. Viel， M. Brunaub， J. Nauamo， C. Lacoun and C. Cozeubon， Diazoestrones and analogs. I. Pharmacological； study and sgntheses of heterosteroid analogs to establish structure analogesic activity relationship， Eur. J. Med. Chem.， 1983,18,319 － 329]，在 5 ℃将硝基甲烷(16.1g 264mmol)加入到溶于乙醇(90ml)中的 4 －(苯甲氧基)苯甲醛(28g， 132mmol)中。滴加入溶于乙醇(200ml)中的氢氧化钠(13.2g， 330ml)，将混合物在 5 ℃搅拌 30 分钟。将该混合物倾倒入盐酸(9M， 136mL)和水(208ml)的混合物中。通过过滤收集沉淀并且从乙醇

中重结晶得到 1 －(2 －硝基乙烯基)－ 4 －(苯甲氧基)苯(14.0g， 42 %)。

2. 2 －(4 －(苯甲氧基)苯基)乙基胺

将氢化铝锂(8,48g， 223mmol)悬浮于无水二乙醚(600ml)中。利用索格利特(Soxhlet)仪器将 1 －(2 －硝基乙烯基)－ 4 －(苯甲氧基)苯(13.9g， 55mmol)提取到该混合物中。在回流条件下将该混合物煮沸 16 小时。加入水(7.38ml)，随后加入氢氧化钠水溶液(20 %， 5.53ml)和水(27.8ml)。将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到 2 －(4 －(苯甲氧基)苯基)乙基胺(11.25g， 91 %)。

中间产物 D

1. N －(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 N － 2 －(4 －(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺

将 N －(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)甘氨酸(850mg， 4.85mmol)与二环己基碳化二亚胺(1.00g， 4.85mmol)和 2-(4 －(苯甲氧基)苯基)乙基胺(中间产物 C)(1.00g， 4.4mmol)在无水四氢呋喃(30ml)中搅拌 16 小时。将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂。将残留物溶于乙酸乙酯中，用硫酸水溶液(10 %)和饱和盐水洗涤。用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂得到 N －(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 N － 2 －(4 －(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺(1.65g， 98 %)

2. 甘氨酸 N －(2 －(4 －(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺)

用溶于 1，4 －二 烷(45ml)中的过量氯化氢处理 N －(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 N － 2 －(4 －(苯基)乙基)酰胺(2.01g， 5.23mmol)2 小时。通过过滤收集固体，并且溶于水和乙酸乙酯中。加入氢氧化钠水溶液使溶液碱化至 pH9。用无水硫酸镁干燥该乙酸乙酯溶液。在减压条件下蒸发溶剂得到甘氨酸 N －(2 －(4 －(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺(1.15g， 77 %)。

3. N －(N －(N －(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)苯基丙氨酰基)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(4 －(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺

将溶于四氢呋喃(30ml)中的 N －(N －(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)苯基丙氨酰)－亮氨酸 五氟苯酯(1.19g， 2.18mmol)(实施例 A，中间产物 A)滴加到溶于四氢呋喃(30ml)中的甘氨酸 N －(2 －(4 －(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺(620mg， 2.18mmol)， N， N －二异丙乙胺(310mg， 2.4mmol)和 1 －羟基苯并三唑(20mg)中，将混合物搅拌 16 小时。在减压条件下蒸发溶剂。溶于乙

酸乙酯中的残留物用硫酸水溶液(10 %)和用饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤。用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂。用二乙醚研制残留物，通过过滤收集固体得到N－(N－(N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)苯基丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(4－(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺(360mg，26 %)，(中间产物D)。

中间产物E

1. N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酸2，4，5－三氯苯酯

在－10℃下将N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酸(10.00g, 53mmol)与溶于乙酸乙酯(100ml)中的2，4，5－三氯酚(10.6g，53mmol)和二环己基碳化二亚胺(10.9g，53mmol)一起搅拌2.5小时。将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂，将残留物溶于乙酸乙酯中，将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酸2，4，5－三氯苯酯(19.3g，98 %)。

2. N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酸N－(2－氨基乙基)酰胺

在30分钟内将溶于二氯甲烷(50ml)中的N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酸2，4，5－三氯苯酯(12.7g，34.5mmol)加入到溶于二氯甲烷(150ml)中的乙烷-1，2－二胺(20..7g，345mmol)中，将溶液再搅拌2小时。用水和10 %碳酸氢钠水溶液洗涤该溶液并且用无水硫酸镁干燥。在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酸N－(2－氨基乙基)酰胺(6.9g，86 %)。

3. 双(2－(2－(N－(2－N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酰基)氨基乙基)－氨基羧基)乙氧基)乙氧基)乙烷

将双(2－羟乙氧基)乙氧基)乙烷(5.0g，21mmol)在甲苯(120ml)中煮沸20小时以便共沸去除水。将得到的溶液冷却到20℃。加入二氯甲烷(35ml)，随后加入碳酰氯(溶于二氯甲烷中的1.93M，109ml，210mmol)。将溶液搅拌4小时。在减压条件下从该溶液的一部分(30ml)蒸发溶剂和过量试剂得到粗的双(2－(2－(氯羧基)乙氧基)乙氧基)乙烷(900mg，2.5mmol)。将该物质溶于二氯甲烷(50ml)中。向该溶液中加入三乙胺(1.26g，12.5mmol)和4－(二甲基氨基)吡啶(20mg)。然后在40分钟时间内滴加入溶于二氯甲烷(100ml)的N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酸 N－(2－氨基乙基)酰胺(1.73g，7.5mmol)(中间产物 E2)。将溶液搅拌20小时。用水和10 %硫酸水溶液和水

洗涤该溶液并且用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂得到双(2－(2－(N－(2－N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酰)氨基乙基)－氨基羧基)乙氧基)乙氧基)乙烷(1.2g，59％)。

4. 双(2－2－(N－(2－肌氨酰)氨基乙基)－氨基羧基)乙氧基)乙烷二盐酸盐

用溶于二氯甲烷中的过量氯化氢处理 双(2－(2－(N－(2－N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)肌氨酰)氨基乙基)－氨基羧基)乙氧基)乙氧基)乙烷(752mg，1mmol)2小时。蒸发溶剂得到双(2－(2－(N－(2－肌氨酰)氨基乙基)－氨基羧基)乙氧基)乙氧基)乙烷二盐酸盐(550mg，定量)。

实施例A肽部分的制备

1. N－(N－苯丙氨酰基亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺盐酸盐

用溶于二氯甲烷(200ml)中的过量氯化氢对N－(N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)苯基丙氨酰亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺(3.89g，6.05mmol)处理3小时。在减压条件下蒸发溶剂和过量试剂。用二乙醚研制残留的油以便得到N－(N－苯丙氨酰基亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺盐酸盐(3.62g，93％)。

2. N－(N－(N－(N－(4－(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酰)－苯丙氨酰)亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺

将N-(N－苯丙氨酰亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺盐酸盐(165mg，284mmol)与溶于无水二氯甲烷(5ml)中的N，N－二异丙基乙胺(100mg，774mmol)，4－(二甲基氨基)吡淀(10mg)和1－羟基苯并三唑(10mg)一起搅拌直到所有固体溶解。在30分钟内滴加入溶于氯仿(10ml)中的N－(4－(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酸五氟苯基酯(117mg，258mmol)(实施例A，中间产物B)，将反应混合物搅拌5小时。在减压条件下蒸发溶剂。将残留物柱层析公离(硅胶，氯仿/甲醇 50:1)得到N－(N－(N－(N－(4－(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酰)－苯丙氨酰)亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺(170mg，81％)。

3. N－(N－(N－(N－(4－羟基苯甲酰)甘氨酰)－苯丙氨酰)亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(羟基苯基)乙基)酰胺

将溶于乙醇(45ml)的N－(N－(N－(N－(4－(苯甲氧基)苯甲酰)甘氨酰)

－苯丙氨酰)亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(苯甲氧基)苯基)乙基)酰胺(444mg，547mmol)与活性炭上的钯(10％，50mg)和氢一起剧烈搅拌12小时。用硅藻土过滤该悬浮溶液。在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到N－(N－(N－(N－(4－羟基苯甲酰)甘氨酸)－苯丙氨酰)亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(羟基苯基)乙基)酰胺(304mg，88％)。

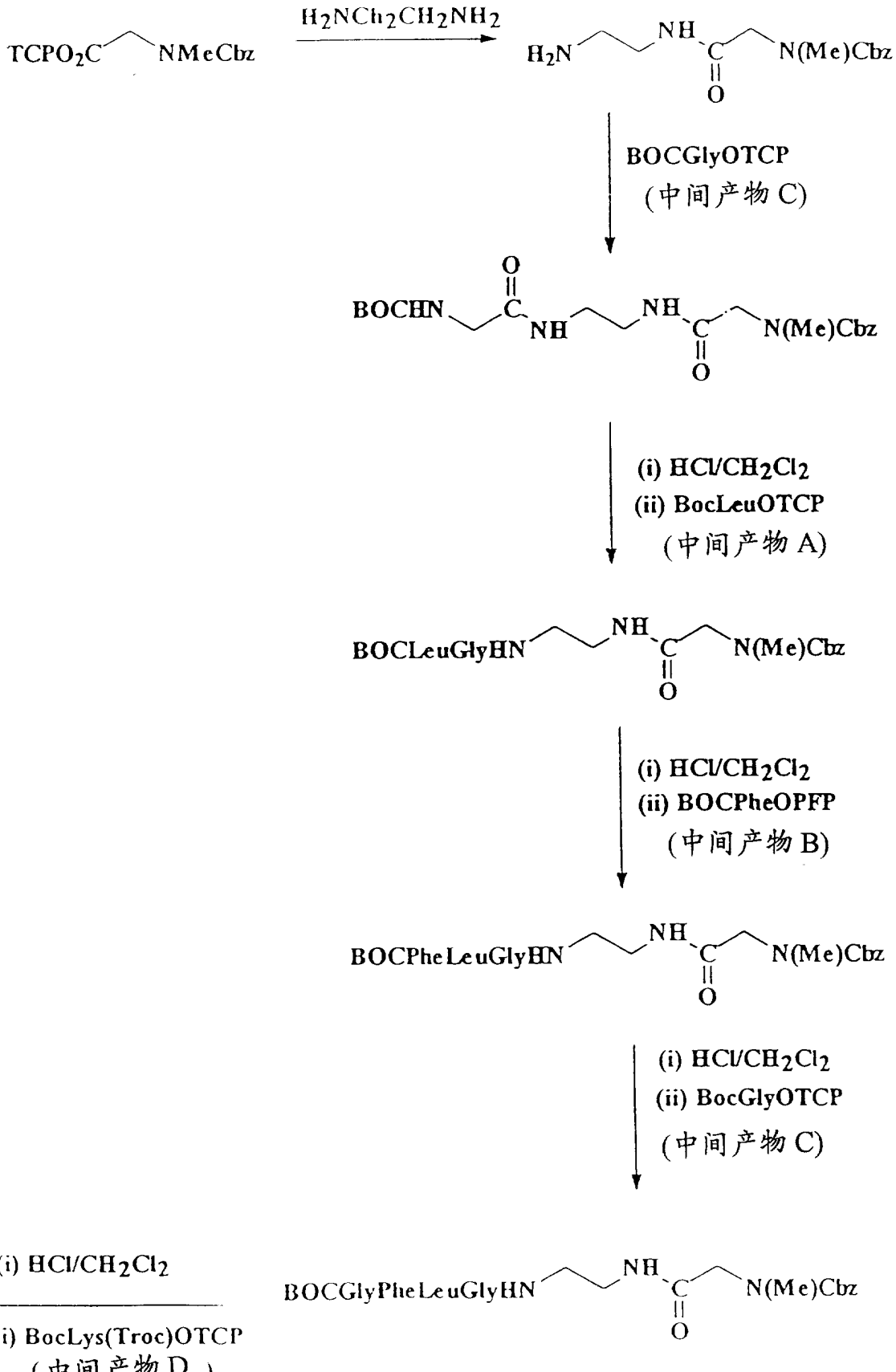
4. N－(N－(N－(N－(4－(环氧乙烷基甲氧基)苯甲酰)甘氨酰)－苯丙氨酰)亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(环氧乙烷基甲氧基)苯基)乙基)酰胺

将N－(N－N－(N－(4－羟基苯甲酰)甘氨酰)－苯丙氨酰)亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(羟基苯基)乙基)酰胺(106mg，0.131mmol)悬浮于含有氢氧化钠(52.3mg，1.31mmol)的水(12ml)中。加入溶于甲醇(10ml)中的氯甲基环氧乙烷(604mg，6.5mmol)，随后加入苯甲基三甲基氢氧化铵(40％水溶液，90mg)。在40℃将溶液搅拌48小时。在减压条件下蒸发溶剂和过量试剂。将残留物溶于乙酸乙酯中，用水洗涤用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂。柱层析(硅胶；乙酸乙酯，然后乙酸乙酯/甲醇39:1，然后乙酸乙酯/甲醇19:1，然扣乙酸乙酯/甲醇9:1)得到N－(N－(N－(N－(4－(环氧乙烷基甲氧基)苯甲酰)甘氨酰－苯丙氨酰)亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(环氧乙烷基甲氧基)苯基)乙基)酰胺(26.5mg，27％)。

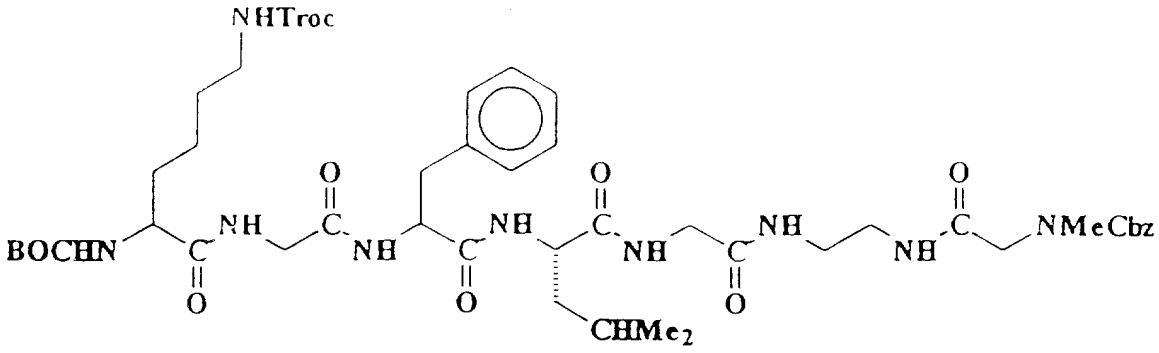
5. 聚合体A.

在回流条件下将N－(N－(N－(N－(4－(环氧乙烷基甲氧基)苯甲酰)甘氨酰)－苯丙氨酰)亮氨酰)甘氨酸N－(2－(4－(环氧乙烷基甲氧基)苯基)乙基)酰胺与溶于乙醇中的无水碳酸钠和双(2－(2－(N－(2－肌氨酰)氨基乙基)－氨基羧基)乙氧基)乙氧基)乙烷二盐酸盐(中间产物E)一起煮沸6小时，得到通式A的聚合体。

实施例 B 的肽部分的制备



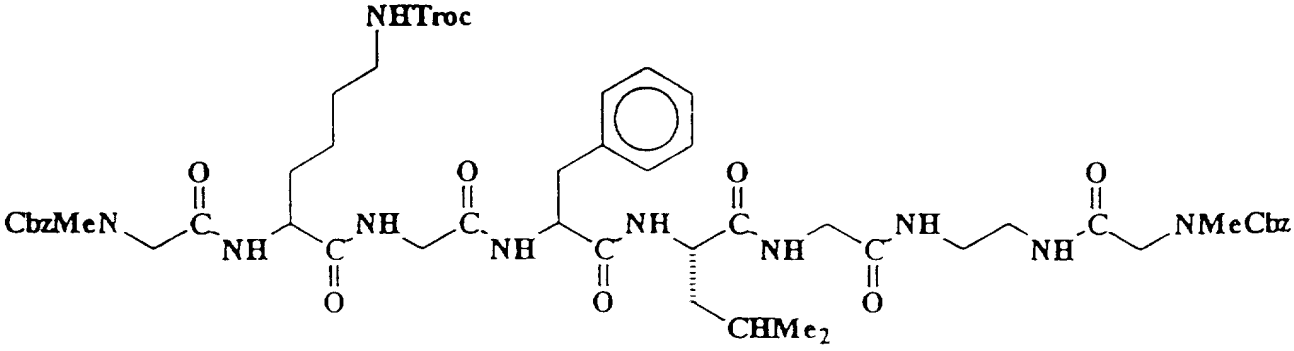
实施例 B 的肽部分的制备



(i) HCl/CH_2Cl_2

(ii) CbzSarOTCP

(中间产物 E)



实施例 B

中间产物的制备

中间产物 A

N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)亮氨酸 2，4，5－三氯苯酯

在－10℃下将 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)亮氨酸(6.32g，15mmol)与溶于乙酸乙酯(50ml)中的 2，4，5－三氯酚(3.01g，15.2mmol)和二环己基碳化二亚胺(3.14g，15.2mmol)一起搅拌 4 小时。将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂。将残留物溶于乙酸乙酯中，将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)亮氨酸 2，4，5－三氯苯酯(6.2g，99％)。

中间产物 B

N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)苯丙氨酸五氟苯基酯

在 0℃将溶于乙酸乙酯(50ml)中的 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)苯丙氨酸(6.36g，24mmol)加入到溶于乙酸乙酯(50ml)中的二环己基碳化二亚胺(4.95g，24mmol)和五氟酚(4.42g，24mmol)中。将该混合物在 0℃搅拌 2.75 小时。将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂。将残留物溶于乙酸乙酯中，将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)苯丙氨酸五氟苯基酯(10.32g，定量)。

中间产物 C

N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 2，4，5－三氯苯酯

在 0℃下将 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酸(6.12g，35mmol)与溶于乙酸乙酯(100ml)中的 2，4，5－三氯酚(6.91g，35mmol)和二环己基碳化二亚胺(7.22g，35mmol)一起搅拌 4 小时。将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂。将残留物溶于乙酸乙酯中，将悬浮溶液过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 2，4，5－三氯苯酯(12.4g，定量)。

中间产物 D

1. N^{α}－(1，1－二甲基乙氧基羰基)－N^{ε}-(2，2，2－三氯乙氧基羰基)赖氨酸

在一种修改的文献方法中[Yajima，H.；Watanabe，H.；Okamoto，M.，Studies on peptides. XXX III. N^{ε} β，β，β-三氯乙氧基羰基赖氨酸，

Chem. Pharm. Bull， 1971,19,2185 - 2189], 在回流条件下将赖氨酸单盐酸盐(9.14g， 50mmol)与溶于水(180ml)中的碳酸铜(Ⅱ)(21.6g， 75mmol)一起搅拌3小时。在热的时候将溶液过滤，将滤液冷到20℃。另一方面在30分钟内向滤液中分成小量加入2，2，2-三氯乙基氯甲酸盐(15.9g， 75mmol)和碳酸钠水溶液(13.3g， 125mmol， 40ml)，在0℃将该混合物剧烈搅拌20小时。收集蓝色沉淀并且在回流条件下用溶于水(200mL)中的乙二胺四乙酸二钠盐(18.6g， 100mmol)一起煮沸2小时。将溶液冷却到0℃保持20小时并且收集胶状固体的形式的粗制 N^{ε}-(2，2，2-三氯乙氧基羰基)赖氨酸。将这些材料溶于水(75ml)中并且加入三乙胺(20.2g， 200ml)，随后加入二-正丁基重碳酸盐(13.64g， 62mmol)和1，4-二 烷(30ml)。将该混合物剧烈搅拌3天。用二乙醚洗涤该混合物。向水相中加入乙酸乙酯，通过小心加入冷的10％硫酸水溶液而使该混合物酸化。用水洗涤乙酸乙酯相并且用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂得到 N^{α}-(1，1-二甲基乙氧基羰基)-N^{ε}-(2，2，2-三氯乙氧基羰基)赖氨酸(12.32g， 55％)。

2. N^{α}-(1，1-二甲基乙氧基羰基)-N^{ε}-(2，2，2-三氯乙氧基羰基)赖氨酸2，4，5-三氯苯酯

在0℃将 N^{α}-(1，1-二甲基乙氧基羰基)-N^{ε}-(2，2，2-三氯乙氧基羰基)赖氨酸(6,32g， 15mmol)与溶于乙酸乙酯(100ml)中的2，4，5-三氯酚(2.96g， 15mmol)和二环己基碳化二亚胺(3.10g， 15mmol)一起搅拌20小时。将悬浮溶液过滤，在减压条件下从滤液蒸发溶剂。将残留物溶于乙酸乙酯中，将悬浮溶液过滤，在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到 N^{α}-(1，1-二甲基乙氧基羰基)-N^{ε}-(2，2，2-三氯乙氧基羰基)赖氨酸2，4，5-三氨苯酯(7.50g， 97％)。

中间产物E

1. N-(苯甲氧基羰基)肌氨酸2，4，5-三氯苯酯

在-10℃下将N-(苯甲氧基羰基)肌氨酸(4.0g， 18mmol)与溶于乙酸乙酯(40ml)中的2，4，5-三氯酚(3.53g， 18mmol)和二环己基碳化二亚胺(3.69g， 18mmol)一起搅拌1小时，然后在20℃搅拌20小时。将悬浮溶液冷却到0℃。将悬浮溶液过滤，在减压条件下从滤液蒸发溶剂。将残留物溶于乙酸乙酯中，将悬浮溶液过滤，在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到N-(苯甲氧基羰基)肌氨酸2，4，5-三氯苯酯(7.2g，定量)。

2. N－(苯甲氧基羰基)肌氨酸 五氟苯基酯

在 0 ℃下将 N－(苯甲氧基羰基)肌氨酸(3.0g， 13.4mmol)与溶于乙酸乙酯(30ml)中五氟苯酚的(2.46g， 13.4mmol)和二环己基碳化二亚胺(2.32g， 13.4mmol)一起搅拌 2 小时。将悬浮溶液过滤，在减压条件下从滤液蒸发溶剂。将残留物溶于乙酸乙酯中，将悬浮溶液过滤，在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到 N－(苯甲氧基羰基)肌氨酸五氟苯基酯(4.66g， 89 %)。

中间产物 F

1. 5－(4－硝基苯基)－ 10,15,20－三苯基－ 21H,23H－卟吩

在 2 小时内向溶于氯仿(无乙醇)(300ml)中的 5,10,15,20－四苯基－ 21H， 23H－卟吩(2.00g， 3.26mmol)加入发烟硝酸(密度 1.5ml $^{-1}$)(2.26ml)。用水洗涤该混合物(5 × 300ml)并且用无水碳酸钠和无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂。将残留物进行柱层析(硅胶，二氯甲烷/己烷 2:1)得到 5－(4－硝基苯基)－ 10,15,20－三苯基－ 21H， 23H－卟吩(1.17g， 55 %)。

2. 4－(10,15,20－三苯基－ 21H， 23H－卟吩－ 5－基)－苯胺

向溶于盐酸水溶液(9M， 20ml)中的 5－(4－硝基苯基)－ 10,15,20－三苯基－ 21H， 23H－卟吩(580mg， 0.88mmol)中加入二水合氯化锡(Ⅱ)(595mg， 2.6mmol)，并且在 65 ℃将该混合物搅拌 2 小时。将该溶液冷却并且加入到水(70ml)中。 加入浓氨水，直到溶液碱化至 pH8。用氯仿提取该悬浮溶液(9 × 75ml)。将氯仿馏分合并，用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂。将残留物柱层析(硅胶，二氯甲烷/己烷 5:1)得到 4－(10,15,20－三苯基－ 21H， 23H－卟吩－ 5－基)－苯胺(460mg， 89 %)。

3. 4 氧代－ 4－(4－(10,15,20－三苯基－ 21H， 23H－卟吩－ 5－基)－苯胺)丁酸

在加热情况下将 4－(10,15,20－三苯基－ 21H， 23H－卟吩－ 5－基)－苯胺(450mg， 0.72mmol)溶于氯仿(无乙醇)(10ml)中。加入琥珀酸酐(四氢呋喃－ 2,5－二酮)(64mg， 0.72mmol)，在回流条件下将该混合物煮沸 2.5 小时。加入另一部分琥珀酸酐(32mg， 0.36mmol)，在回流条件下再继续煮沸 2 小时。将混合物冷却到室温保持 16 小时。通过过滤收集沉淀的固体得到 4－氧代－ 4－(4－(10,15,20－三苯基－ 21H， 23H－卟吩－ 5－基)－苯胺丁酸(460mg， 89 %)。

实施例 B 肽部分的制备

1. N－(苯甲氧基羰基)肌氨酸 N－(2－氨基乙基)酰胺

在 30 分钟内将溶于二氯甲烷(40ml)中的 N－(苯甲氧基羰基)肌氨酸五氟苯基酯(3.5g，9.2mmol)加入到溶于二氯甲烷(300ml)中的乙烷－1，2－二胺(10.8g，180mmol)，将溶液再搅拌 2 小时。用水和 10 %碳酸氢钠水溶液洗涤该溶液并且用无水硫酸镁干燥。在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到 N－(苯甲氧基羰基)肌氨酸 N－(2－氨基乙基)酰胺(2.1g，88 %)。该材料也可以从 N－(苯甲氧基羰基)肌氨酸 2，4，5－三氯苯酯制备。

2. N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺

将 N－(苯甲氧基羰基)肌氨酸 N－(2－氨基乙基)酰胺(3.71g，14mmol)与溶于二氯甲烷(100ml)中的 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 2，4，5－三氯苯酯(4.96g，14mmol，实施例 B，中间产物 C)和 N，N－二异丙基乙胺(1.99g，15.4mmol)一起搅拌 20 小时。用冷却的 10 %硫酸水溶液(2×)和用饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤并且用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂。将残留物柱层析(硅胶，乙酸乙酯/甲醇 10:1，然后乙酸乙酯/甲醇 5:1，然后乙酸乙酯/甲醇 3;1)得到 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(2.12g，37 %)。

3. 甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐

用过量的溶于二氯甲烷(100ml)中的氯化氢处理 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 N－(2－(N-苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(2.04g，4.95mmol)1 小时。在减压条件下蒸发溶剂和过量的试剂，得到甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐(1.5g，定量)。

4. N－(N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)亮氨酰基)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺

用过量的溶于二氯甲烷(50ml)中的氯化氢处理 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(5.22g，8mmol)1 小时。加入水并且将该混合物剧烈搅拌 15 分钟。在减压条件下从水层蒸发溶剂和过量的试剂得到白色固体的粗甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐。将这些材料与溶于二甲基甲酰胺(30ml)中的 N，N－二异丙乙胺(3.231g，25mmol)和 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 2，4，5－三氯苯酯(3.19g，7.8mmol，实施例 II，中间产物

A)搅拌 3 天。在减压条件下蒸发溶剂。将残留物溶于乙酸乙酯中，用氢氧化钠水溶液(5 %)，硫酸水溶液(10 %)和水洗涤该溶液并且用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂得到 N－(N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)亮氨酰基)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(3.26g，78 %)。

5. N－亮氨酰甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐

用过量的溶于二氯甲烷(40ml)中的氯化氢处理 N－(N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)亮氨酰基)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(3.26g，6.1mmol)1 小时。在减压条件下蒸发溶剂和过量的试剂，得到 N－亮氨酰甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐(2.65g，定量)。

6. N－(N－(N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)苯丙氨酰基)－亮氨酰甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺

将 N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)苯丙氨酸五氟苯基酯(2.65g，6.1mmol)(实施例 B，中间产物 B)加入到溶于二氯甲烷(30ml)中的 N－亮氨酰甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐(2.81g，6.16mmol)，N－二异丙基乙胺(1,75g，13.5mmol)和 4－(二甲氨基)吡啶(10mg)中并且将该混合物搅拌 2 天。用冷却的硫酸水溶液(10 %)，碳酸钠水溶液(10 %)和饱和盐水洗涤该溶液。用无水硫酸镁干燥，在减压条件下蒸发溶剂。柱层板(硅胶；氯仿/甲醇 1:1)得到 N－(N－(N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)苯丙氨酰基)－亮氨酰甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(1.94g，46 %)。

7. N－(N－苯丙氨酰亮氨酰基)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐

用过量的溶于二氯甲烷(25ml)中的氯化氢处理 N－(N－(N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)苯丙氨酰)－亮氨酰甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(1.94g，2.8mmol)1 小时。在减压条件下蒸发溶剂和过量的试剂。将残留物溶于甲醇中。在减压条件下蒸发溶剂得到 N－(N－苯丙氨酰亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐(1.67g，95 %)。

8. N－(N－(N－(N－(1，1－二甲基乙氧基羰基)甘氨酰苯丙氨酰)

－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺。

向溶于二氯甲烷(20ml)中的 N －(N －苯丙氨酰亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐(904g， 2.55mmol)和 N， N －二异丙基乙胺(990mg， 7.7mmol)中加入 N －(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)甘氨酸 2， 4， 5 －三氯苯酯(1.58g， 2.55mmol)(实施例 B， 中间产物 C)和 4 －(二甲基氨基)吡啶(3.1g， 2.5mmol)。将该混合物搅拌 4 天。用冷却的硫酸水溶液(10 %)，碳酸钠水溶液(10 %)和饱和盐水洗涤该溶液。用无水硫酸镁干燥，在减压条件下蒸发溶剂。残留物进行柱层析(硅胶；氯仿，然后氯仿/甲醇 10:1)得到 N －(N －(N-(N －(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)甘氨酰苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(1.14g， 61 %)。

9. N －(N －(N －甘氨酰苯丙氨酰)-亮氨酰)甘氨酸 N －(2 － N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐

用过量的溶于二氯甲烷(10ml)中的氯化氢处理 N －(N －(N －(N －(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)甘氨酰苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(1.29g， 1.77mmol)。加入甲醇(1ml)并且在减压条件下蒸发溶剂和过量的试剂得到 N －(N －(N －甘氨酰苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐(1.1g，定量)。

10. N －(N －(N －(N －(N^{α}－(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)－N^{ε}－(2， 2， 2 －三氯乙氧基羰基)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺

向溶于二氯甲烷(10ml)中的 N， N －二异丙基乙胺(683mg， 5.3mmol)中加入 N －(N －(N －甘氨酰苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐(1.11g， 1.77mmol)。向该混合物中加入溶于二氯甲烷(20ml)中 N^{α}－(1， 1 －二甲基乙氧基羰基)－N^{ε}－(2， 2， 2 －三氯乙氧基羰基)赖氨酸 2， 4， 5 －三氯苯酯(950mg， 1.77mmol)(实施例 B， 中间产物 D)和 4 －(二甲基氨基)吡啶(10mg)。将该混合物搅拌 3 天。用冷却的硫酸水溶液(10 %)，碳酸钠水溶液(10 %)和饱和盐水洗涤该溶液。用无水硫酸镁干燥，在减压条件下蒸发溶剂。残留物进行柱层析(硅胶；氯仿，然后氯仿/甲醇 10:1)得到 N －(N －(N －(N －(N^{α}－(1， 1 －二甲基乙氧基

羰基)－ N$^{\varepsilon}$－(2， 2， 2－三氯乙氧基羰基)赖氨酸)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(1.44mg， 78 %)。

11. N－(N－N－(N－(N$^{\varepsilon}$－(2， 2， 2－三氯乙氧基羰基)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐

用过量的溶于二氯甲烷(20ml)中的氯化氢处理 N－(N－(N－(N－N$^{\alpha}$－(1， 1－二甲基乙氧基羰基)－ N$^{\varepsilon}$－(2， 2， 2－三氯乙氧基羰基)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(1..32mg， 1.27mmol)1 小时。加入甲醇(1.0ml)并且将该混合物过滤。在减压条件下从滤液蒸发溶剂得到 N－(N－(N－(N－(N$^{\varepsilon}$－(2， 2， 2－三氯乙氧基羰基)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐(1.14g， 92 %)。

12. N－(N－(N－(N－(N$^{\alpha}$－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰)－ N$^{\varepsilon}$－(2， 2， 2－三氯乙氧基羰基)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺

将 N－(N－(N－(N－(N$^{\varepsilon}$－(2， 2， 2－三氯乙氧基羰基)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺盐酸盐(980mg， 1.0mmol)和 N， N－二异丙基乙胺(402mg， 3.1mmol)， N－(苯甲氧基羰基)肌氨酸 2， 4， 5－三氯苯酯(418mg， 1.0mmol)(实施例 B，中间产物 E)和 4－(二甲基氨基)吡啶(10mg)一起在二氯甲烷(30mg)中搅拌 24 小时。用饱和的含水碳酸氢钠水溶液和用硫酸水溶液(2M)洗涤该溶液并且用无水硫酸镁干燥。在减压条件下蒸发溶剂。残留物进行柱层析(硅胶；氯仿/甲醇 20:1，然后氯仿/甲醇 10:1)得到 N－(N－(N－(N$^{\alpha}$－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰)－ N$^{\varepsilon}$－(2， 2， 2－三氯乙氧基羰基)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺(418mg， 36 %)。

13. N－(N－(N－(N－(N$^{\alpha}$－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酸)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N－(2－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺

在回流条件下将 N－(N－(N－(N－(N$^{\alpha}$－(N－苯甲氧基羰基)肌氨酰)

－ N$^{\varepsilon}$－(2， 2， 2 －三氯乙氧基羰基)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酸)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酸氨基)乙基)酰胺和锌粉一起在甲醇中煮沸 2 小时。在减压条件下蒸发溶剂。向该残留物中加入乙酸乙酯。将该悬浮液过滤，滤液用水洗涤 2 次。用无水硫酸镁干燥该溶液。在减压条件下蒸发溶剂得到 N －(N －(N －(N －(N$^{\alpha}$－(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺。

14. N －(N －(N －(N －(N －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酸)－ N －(4 －氧代 4 －(4 －(10,15,20 －三苯基－ 21H， 23H －卟吩－ 5 －基)－苯氨基丁酰)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺

将 4 －氧代－ 4 －(4 －(10,15,20 －三苯基－ 21H， 23H －卟吩－ 5 －基)－苯氨基丁酸(实施例 B，中间产物 F3)与五氟酚和二环己基碳化二亚胺一起在二甲基甲酰胺中于 4 ℃搅拌 16 小时。将该悬浮液过滤并且将滤液加入溶于四氢呋喃中的 N －(N －(N －(N －(N －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺和 4 －(二甲基氨基)吡啶中。将该混合物搅拌 2 天。加入乙酸乙酯并且用水将该溶液洗涤三次，用 10 % 碳酸钠水溶液洗涤两次和用饱和盐水洗涤一次。用无水硫酸镁干燥该溶液。在减压条件下蒸发溶剂得到 N －(N －(N －(N －(N －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酸)-N －(4 －氧代-4 －(4 －(10,15,20 －三苯基-21H， 23H －卟吩－ 5 －基)－苯氨基丁酰)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺。

15. N －(N －(N －(N －(N －肌氨酰-N －(4 －氧代－ 4 －(4 －(10,15,20 －三苯基－ 21H， 23H －卟吩－ 5 －基)－苯氨基丁酰)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －肌氨酰氨基乙基)酰胺二溴化氢盐

将 N －(N －(N －(N －(N －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰－ N －(4 －氧代－ 4 －(4 －(10,15,20 －三苯基－ 21H,23H －卟吩－ 5 －基)－苯氨基丁酰)赖氨酰)甘氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －(N －苯甲氧基羰基)肌氨酰氨基)乙基)酰胺与溶于乙酸中的 30 % 溴化氢一起搅拌 1 小时。在减压条件下蒸发溶剂和过量的试剂。用五份无水二乙醚研制该残留物得到 N －(N －(N －(N －(N －肌氨酰－ N －(4 －氧代－ 4 －(4 －(10,15,20 －三苯基－

21H， 23H －卟吩－ 5 －基)－苯氨基丁酰)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －肌氨酰氨基乙基)酰胺二溴化氢盐

16. 聚合体 B

在回流条件下将 N －(N －(N －(N －(N －肌氨酰－ N －(4 －氧代－ 4 －(4 －(10,15,20 －三苯基－ 21H， 23H －卟吩－ 5 －基)－苯氨基丁酰)赖氨酰)甘氨酰)苯丙氨酰)－亮氨酰)甘氨酸 N －(2 －肌氨酰氨基乙基)酰胺二溴化氢盐与无水碳酸钠和聚(氧乙烯)－，－双(环氧乙烷－甲基)醚根据文献方法(Y. Chen and M. Feng， Chinese Patent 86 104 089, 1987]制备)一起在乙醇中煮沸 6 小时。将该悬浮液过滤，在减压条件下从滤液中蒸发溶剂得到该聚合体。