



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107459552 B

(45)授权公告日 2020.03.17

(21)申请号 201610391348.7

C07K 1/02(2006.01)

(22)申请日 2016.06.03

A61K 38/06(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61P 35/00(2006.01)

申请公布号 CN 107459552 A

A61P 29/00(2006.01)

(43)申请公布日 2017.12.12

审查员 赵永江

(73)专利权人 首都医科大学

地址 100069 北京市丰台区右安门外西头条10号

(72)发明人 赵明 彭师奇 王玉记 吴建辉 吴建民

(74)专利代理机构 北京思元知识产权代理事务所(普通合伙) 11598

代理人 余光军

(51)Int.Cl.

C07K 5/097(2006.01)

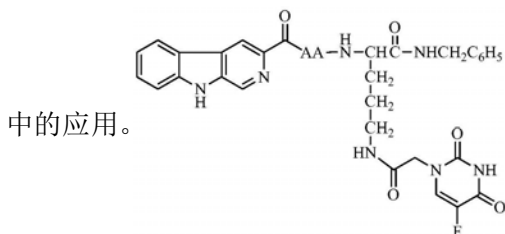
权利要求书1页 说明书15页 附图1页

(54)发明名称

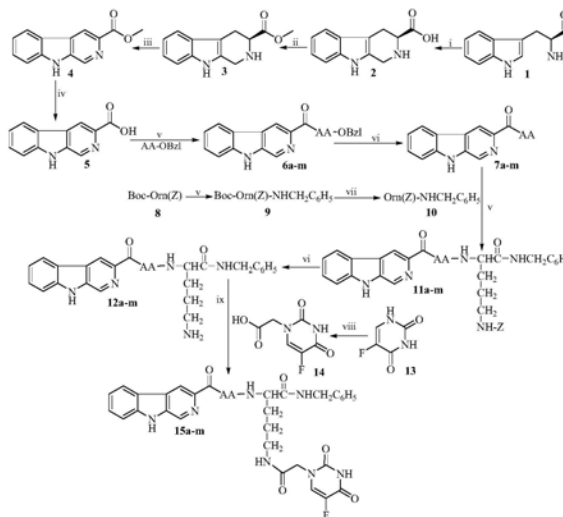
咪啉酰-AA-氟尿嘧啶乙酰-Orn-NHCH₂C₆H₅, 其合成,活性和应用

(57)摘要

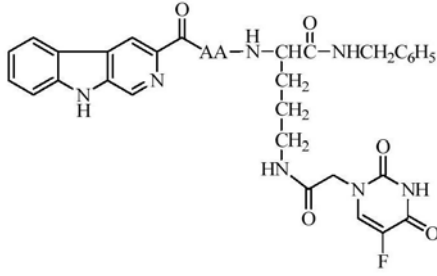
本发明公开了下式的13种N^α-(β-咪啉-3-甲酰-AA)-N^ω-(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅, 公开了它们的制备方法,公开了它们的抗肿瘤活性,公开了它们的抗炎活性,因而本发明公开了它们在制备抗肿瘤药物和抗炎药物



中的应用。



1. 下式的13种 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅,



式中AA选自L-Ala, Gly, L-Leu, L-Ile, L-Val, L-Ser, L-Thr, L-Tyr, L-Phe, L-Pro, L-Trp, L-Asn, L-Gln残基。

2. 权利要求1的 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NH-CH₂C₆H₅的制备方法,该方法包括:

(1) L-色氨酸在稀硫酸催化下与甲醛进行Pictet-Spengler缩合生成(3s)- β -四氢咔啉-3-羧酸;

(2) (3s)- β -四氢咔啉-3-羧酸转化为(3s)- β -四氢咔啉-3-羧酸甲酯;

(3) (3s)- β -四氢咔啉-3-羧酸甲酯用高锰酸钾氧化为 β -咔啉-3-羧酸甲酯;

(4) β -咔啉-3-羧酸甲酯在2N NaOH溶液中水解生成 β -咔啉-3-羧酸;

(5) β -咔啉-3-羧酸与L-AA-OBzl偶联得到 β -咔啉-3-甲酰-AA-OBzl;

(6) 5-氟尿嘧啶(5-Fu)在6N KOH溶液中与Br-CH₂COOH偶联得到5-氟尿嘧啶-1-基乙酸(5-Fu-Ac);

(7) β -咔啉-3-甲酰-AA-OBzl在H₂Pd/C催化下,转化成 β -咔啉-3-甲酰-AA;

(8) Boc-Orn(Z)与苄胺偶联得到Boc-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅;

(9) Boc-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅在浓度为4N的氯化氢-乙酸乙酯溶液中,0℃脱Boc,转化成Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅;

(10) β -咔啉-3-甲酰-AA与Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅偶联得到 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅;

(11) N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅在H₂Pd/C催化下,转化成 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)-Orn-NHCH₂C₆H₅;

(12) N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)-Orn-NHCH₂C₆H₅与5-Fu-Ac偶联,得到 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅。

3. 权利要求1的 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅在制备抗肿瘤药物中的应用。

4. 权利要求1的 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅在制备抗炎药物中的应用。

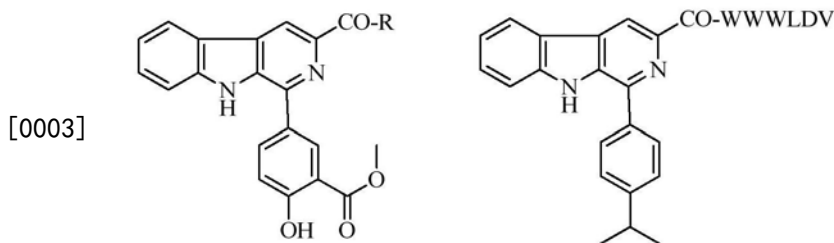
咪啉酰-AA-氟尿嘧啶乙酰-Orn-NHCH₂C₆H₅, 其合成, 活性和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及13种N^α-(β-咪啉-3-甲酰-AA)-N^ω-(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅, 涉及它们的制备方法, 涉及它们对肿瘤细胞生长的抑制作用, 涉及它们的抗肿瘤作用, 涉及它们的抗炎作用。本发明属于生物医药领域。

背景技术

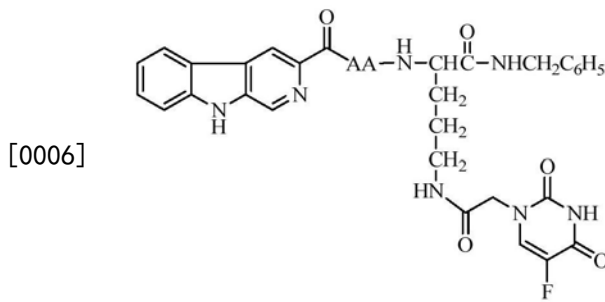
[0002] β-咪啉是重要的天然产物, 具有广泛的药理作用, 例如抗血栓作用和抗肿瘤作用。发明人曾经公开了一系列具有抗血栓作用和抗肿瘤活性的β-咪啉-3-甲酰-氨基酸、β-咪啉-3-甲酰-氨基酸苄酯、β-咪啉-3-甲酰-寡肽。它们的腹腔给药剂量为8.9-10μmol/kg。发明人对这种水平的活性不满意。于是, 发明人开始了低剂量口服目标的实验探索。发明人发现在咪啉的1-位引入水杨酸样取代基, 确实可使剂量实质性下降。在下式(左, R为氨基酸苄酯基或多肽基)代表的1-(水杨酸衍生基)-β-咪啉-3-甲酰氨基酸、1-(水杨酸衍生基)-β-咪啉-3-甲酰氨基酸苄酯和1-(水杨酸衍生基)-β-咪啉-3-甲酰寡肽中, 有些化合物的口服有效剂量为10μmol/kg。可是1-水杨酸甲酯基的甲酯基对胃酸的不稳定性可产生不期望的胃刺激性, 1-水杨酸甲酯基的酚羟基对氧化的不稳定性可产生不期望的药物代谢结果。发明人对它们的这些性质不满意。在下式(右)代表的1-(异丙苯基)-β-咪啉-3-甲酰WWLDV的口服有效剂量也是10μmol/kg。可是, 它的1-异丙苯基和3-甲酰WWLDV肽基使得水溶性非常差。发明人对它的这个性质同样不满意。



[0004] 于是, 发明人又回到1位无取代基的β-咪啉-3-甲酰衍生物的实验摸索, 发明人发现用Orn-AA-NHCH₂C₆H₅替代AA-OBzl得到β-咪啉-3-甲酰-Orn-AA-NHCH₂-C₆H₅不仅在1nmol/kg剂量下就具有明确的抗肿瘤作用, 而且在0.1μmol/kg剂量下对肿瘤的并发症炎症有明确的治疗作用。显然, 这是意想不到的技术效果。根据这个发现, 发明人提出了本发明。

发明内容

[0005] 本本发明的第一个内容是提供N^α-(β-咪啉-3-甲酰-AA)-N^ω-(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅, 式中AA选自L-Ala, Gly, L-Leu, L-Ile, L-Val, L-Ser, L-Thr, L-Tyr, L-Phe, L-Pro, L-Trp, L-Asn, L-Gln残基。



[0007] 本发明的第二个内容是提供 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (式中AA选自L-Ala, Gly, L-Leu, L-Ile, L-Val, L-Ser, L-Thr, L-Tyr, L-Phe, L-Pro, L-Trp, L-Asn, L-Gln残基)的合成方法,该方法包括:

[0008] (1) L-色氨酸在稀硫酸催化下与甲醛进行Pictet-Spengler缩合生成(3s)- β -四氢咔啉-3-羧酸;

[0009] (2) (3s)- β -四氢咔啉-3-羧酸转化为(3s)- β -四氢咔啉-3-羧酸甲酯;

[0010] (3) (3s)- β -四氢咔啉-3-羧酸甲酯用高锰酸钾氧化为 β -咔啉-3-羧酸甲酯;

[0011] (4) β -咔啉-3-羧酸甲酯在2N NaOH溶液中水解生成 β -咔啉-3-羧酸;

[0012] (5) β -咔啉-3-羧酸与L-AA-OBzl (式中AA的定义同上)偶联得到 β -咔啉-3-甲酰-AA-OBzl;

[0013] (6) 5-氟尿嘧啶在6N KOH溶液中与Br-CH₂COOH偶联得到5-氟尿嘧啶-1-基乙酸(5-Fu-Ac);

[0014] (7) β -咔啉-3-甲酰-AA-OBzl (式中AA的定义同上)在H₂Pd/C催化下,转化成 β -咔啉-3-甲酰-AA;

[0015] (8) Boc-Orn (Z) 与苄胺偶联得到Boc-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅;

[0016] (9) Boc-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅在浓度为4N的氯化氢-乙酸乙酯溶液中,0℃脱Boc,转化成Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅;

[0017] (10) β -咔啉-3-甲酰-AA与Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅ (式中AA的定义同上)偶联得到 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅;

[0018] (11) N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅ (式中AA的定义同上)在H₂Pd/C催化下,转化成 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)-Orn-NHCH₂C₆H₅;

[0019] (12) N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (式中AA的定义同上)与5-Fu-Ac偶联,得到 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅;

[0020] 本发明的第三个内容是评价 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (式中AA的定义同上)的抗肿瘤活性。

[0021] 本发明的第四个内容是评价 N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (式中AA的定义同上)的抗炎活性。

附图说明

[0022] 图1. N^{α} -(β -咔啉-3-甲酰-AA)- N^{ω} -(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅的合成路线. i) 甲醛,浓H₂SO₄; ii) 甲醇,SOCl₂; iii) KMnO₄,丙酮; iv) 2N NaOH,甲醇,冰浴; v) 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC),1-羟基苯并三唑(HOBt),N-甲基吗啉(NMM),N,N-

二甲基甲酰胺 (DMF);vi) Pd/C, H₂;vii) 4N HCl/EA;viii) 60°C, KOH, Br-CH₂COOH;ix) O-苯并三氮唑-四甲基脒六氟磷酸酯 (HBTU), 无水DMF, NMM;。6a-15a中AA=L-Ala;6b-15b中AA=Gly;6c-15c中AA=L-Val;6d-15d中AA=L-Leu;6e-15e中AA=L-Ile;6f-15f中AA=L-Ser;6g-15g中AA=L-Thr;6h-15h中AA=L-Tyr;6i-15i中AA=L-Trp;6j-15j中AA=L-Phe;6k-15k中AA=L-Pro;6l-15l中AA=L-Asn;6m-15m中AA=L-Gln。

具体实施方式

[0023] 为了进一步阐述本发明,下面给出一系列实施例。这些实施例完全是例证性的,它们仅用来对本发明进行具体描述,不应当理解为对本发明的限制。

[0024] 实施例1制备(3s)β-四氢吡啶-3-羧酸(2)

[0025] 将400mL蒸馏水置于500mL茄瓶中,向其缓慢加入0.2mL浓硫酸,均匀搅拌10分钟,继续向得到的稀硫酸中加入5g(25.0mmol)色氨酸,超声震荡将色氨酸完全溶解;向反应液中加入10mL 40%的甲醛溶液,室温反应6小时。冰浴0°C下,向反应液中缓慢滴加浓氨水,调节pH值至6,反应瓶中出现浑浊,静置2小时后减压滤出白色沉淀。将滤出的无色固体平铺于培养皿中,通风橱中干燥,得4.8g(产率为90.7%),产品为乳白色粉末,ESI-MS(m/z):205[M+H]⁺。

[0026] 实施例2制备(3s)β-四氢吡啶-3-羧酸甲酯(3)

[0027] 向100mL的茄瓶中加入36mL的甲醇,冰盐浴-10°C下用恒压漏斗向里滴加2.4mL的二氯亚砷,搅拌30分钟。加入2.16g(10.0mmol)β-四氢吡啶-3-羧酸,撤去冰盐浴逐渐恢复到室温,继续反应24小时。TLC检测反应原料消失(二氯甲烷:甲醇=20:1)。减压除去溶剂后,残留物中再加甲醇15mL,减压除去溶剂,重复3次;加入无水乙醚10mL,减压除去溶剂,得到黄色粉末;用50mL的乙酸乙酯将其溶解,转移至100mL分液漏斗,加入20mL的饱和碳酸氢钠溶液萃洗3次,再用10mL饱和氯化钠溶液萃洗3次,有机相用无水硫酸钠干燥过夜;过滤,滤液减压浓缩,残留物进行硅胶柱层析分离,得到黄色粉末状固体1.023g(产率为44.5%),ESI-MS(m/e):231[M+H]⁺。

[0028] 实施例3制备β-吡啶-3-羧酸甲酯(4)

[0029] 用60mL丙酮将2.3g(10.0mmol)β-四氢吡啶-3-羧酸甲酯溶解,在冰浴0°C条件下缓慢加入高锰酸钾2.21g(14.0mmol),搅拌混合均匀后,撤去冰浴,室温反应6小时,TLC板监测反应(二氯甲烷:甲醇=20:1)。反应结束后,用布氏漏斗过滤反应液,将滤饼转移至100mL茄瓶中,加入50mL丙酮,搅拌30分钟,用布氏漏斗过滤,如此反复3次,直至TLC监测显示滤液中萃不出产物为止;合并滤液,减压浓缩,残留物进行硅胶柱层析分离纯化,得到淡黄色固体750mg(产率为33.2%),ESI-MS(m/e):227[M+H]⁺。

[0030] 实施例4制备β-吡啶-3-羧酸(5)

[0031] 将2.26g(10.0mmol)β-吡啶-3-羧酸甲酯用甲醇和四氢吡喃溶解,用2N NaOH溶液调节pH值为12,室温下反应。反应4小时后,用饱和硫酸氢钾溶液调节pH值为7,减压除去甲醇和四氢吡喃,水相用饱和硫酸氢钾溶液调节pH值为2,有大量固体析出,过滤,用20mL蒸馏水淋洗滤饼,得到淡黄色固体1.89g(产率为89.2%),ESI-MS(m/e):213[M+H]⁺。

[0032] 实施例5制备5-氟尿嘧啶-1-基乙酸(14)

[0033] 将2.56g(45.7mmol)KOH用8mL蒸馏水溶解,加入1.56g(12.0mmol)5-氟尿嘧啶,在

60℃下搅拌30分钟。将2.78g (20.0mmol) Br-CH₂COOH溶解于8mL蒸馏水中,缓慢滴入反应液中。60℃下反应6小时。TLC监测反应(乙酸乙酯:水:冰醋酸=5:1:2)。反应完全后,停止加热,冰浴下用浓盐酸调节pH值为5.5,静置2小时,无固体析出。再在冰浴下用浓盐酸调节pH值为2,静置12小时,有无色固体析出。过滤,收集滤饼,用冷热水进行重结晶,得无色针状固体1.14g(产率为50.7%),ESI-MS(m/e):187[M-H]⁻。

[0034] 实施例6制备Boc-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅(9)

[0035] 用无水四氢呋喃将366mg(1mmol)的Boc-Orn(Z)-OH溶解,冰浴0℃下加入149 mg(1.1mmol)的1-羟基苯并三唑(HOBt)和247mg(1.2mmol)的1-(3-二甲氨基丙

[0036] 基)-3-乙基碳二亚胺(EDC)活化30分钟,加入118mg(1.1mmol)苄胺(C₇H₉N)反应,用N-甲基吗啉(NMM)调节pH值为8,撤去冰浴,室温反应6小时,TLC监测反应(石油醚:丙酮=2:1),待反应完全,过滤除去二环己基脲(DCU),减压旋除四氢呋喃,加入乙酸乙酯30mL,再次过滤除去DCU,得到的乙酸乙酯层进行后处理,按照饱和碳酸氢钠溶液、饱和氯化钠溶液、5%硫酸氢钾溶液、饱和氯化钠溶液、饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液萃洗(10mL×3),无水硫酸钠干燥过夜。过滤除去硫酸钠,减压除去部分乙酸乙酯,加石油醚进行重结晶,得到无色固体398mg(产率为87.1%),ESI-MS(m/z):456[M+H]⁺。

[0037] 实施例7制备HCl·Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅(10)

[0038] 将455mg(1.0mmol) Boc-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅用5mL无水乙酸乙酯溶解,冰浴0℃条件下加入4N氯化氢/乙酸乙酯10mL,加干燥管,反应须一直在冰浴条件下,反应1小时,TLC板监测(石油醚:丙酮=2:1),反应完全。进行后处理,用隔膜泵抽反应液的溶剂,待抽干后,加5mL的无水乙酸乙酯到反应瓶中,隔膜泵抽溶剂,重复三次,最后加入无水乙醚10mL,浸泡10分钟,抽干溶剂,重复三次,得到无色固体380mg(产率为97.1%),ESI-MS(m/z):356[M+H]⁺。

[0039] 实施例8制备β-咔啉-3-甲酰-Ala-OBzl(6a)

[0040] 将212mg(1.0mmol)β-咔啉-3-羧酸用10mL无水DMF溶解,冰浴0℃下加入149mg(1.1mmol)HOBt活化5分钟,后加入296mg(1.3mmol)1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(HCl·EDC),活化30分钟后加入197mg(1.1mmol)HCl·Ala-OBzl,用NMM调节pH值为8。撤去冰浴,室温反应6小时,TLC监测反应(二氯甲烷:甲醇=20:1)。反应结束后将30mL饱和氯化钠加入到反应液,出现黄色浑浊,加入乙酸乙酯萃洗(30mL×3),TLC检测水层中无产物点即可。收集乙酸乙酯层,依次用饱和碳酸氢钠、饱和氯化钠、5%硫酸氢钾溶液、饱和氯化钠、饱和碳酸氢钠和饱和氯化钠溶液萃洗(10mL×3),加入无水硫酸钠干燥过夜,过滤除去硫酸钠,滤液减压浓缩,残留物进行硅胶柱层析纯化得到无色固体276mg(产率为74%),ESI-MS(m/z):374[M+H]⁺。

[0041] 实施例9制备β-咔啉-3-甲酰-Ala(7a)

[0042] 将373mg(1mmol)β-咔啉-3-甲酰-Ala-OBzl置于50mL的茄瓶中,加入10mL甲醇,溶解后加入32mg Pd/C,加上三通,隔膜泵抽气5分钟之后,旋转三通阀,通入H₂,持续5分钟之后再旋转三通阀至隔膜泵抽气,重复三次操作,反应8小时后TLC监测(二氯甲烷:甲醇=20:1),反应完全,反应结束后减压过滤除去Pd/C,减压除去甲醇,得到淡黄色固体275mg(产率为97.2%),ESI-MS(m/z):282[M-H]⁻。

[0043] 实施例10制备N^α-(β-咔啉-3-甲酰-Ala)-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅(11a)

[0044] 将283mg(1.0mmol)β-咔啉-3-甲酰-Ala用10mL无水DMF溶解,冰浴0℃下加入149mg

(1.1mmol) HOBt活化5分钟,后加入296mg (1.3mmol) HCl · EDC,活化30 分钟后加入431mg (1.1mmol) HCl · Orn (Z) -NBzl,用NMM调节pH值为8。撤去冰浴,室温反应6小时,TLC监测反应(二氯甲烷:甲醇=20:1)。反应结束后将饱和氯化钠溶液加入到反应液,反应液出现黄色浑浊,过滤得到黄色滤饼,加入乙酸乙酯萃洗水层 (30mL×3),TLC检测水层中无产物点。收集乙酸乙酯层,依次用饱和碳酸氢钠、饱和氯化钠、5%硫酸氢钾溶液、饱和氯化钠、饱和碳酸氢钠和饱和氯化钠溶液萃洗(10 mL×3),加入无水硫酸钠干燥过夜,过滤除去硫酸钠,减压浓缩滤液减压浓缩,残留物进行硅胶柱层析纯化得到无色固体376mg (产率为60.6%),ESI-MS (m/z) : 621 [M+ H]⁺。

[0045] 实施例11制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Ala)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12a)

[0046] 将620mg (1.0mmol) N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Ala)-Orn (Z) -NHCH₂C₆H₅置于100mL的茄瓶中,加入10mL无水DMF,溶解后补加入50mL甲醇,加入58mg Pd/C,加上三通,隔膜泵抽气5分钟,通入H₂ 5分钟,重复三次操作,反应8小时后TLC监测(二氯甲烷:甲醇=20:1),原料点消失后减压过滤除去Pd/C,减压除去甲醇和DMF,得到淡黄色固体468mg (产率为96.3%),ESI-MS (m/z) : 487 [M+H]⁺。

[0047] 实施例12制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Ala)-N^ω(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15a)

[0048] 将243mg (0.5mmol) 的N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Ala)-Orn-NHCH₂C₆H₅置于50mL的茄瓶中,加入10mL的无水DMF,溶解后冰浴0℃下加入209mg (0.55mmol) 0-苯并三氮唑-四甲基脲六氟磷酸酯(HBTU)和104mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac,用NMM调节pH 值为8。撤去冰浴,室温反应6小时,TLC监测反应(二氯甲烷:甲醇:冰醋酸=10:1:5 滴)。反应结束后将反应液倒入表面皿中,置于通风橱中吹干。残留物进行硅胶柱层析纯化得到淡黄色固体35mg (产率为10.7%);ESI-MS (m/z) : 657 [M+H]⁺;mp: 172-173℃; $[\alpha]_D^{25} = -30.0$ (c = 0.1, 甲醇);IR (cm⁻¹) : 3276, 3062, 2965, 2867, 1693, 1596, 1496, 1459, 1373, 1241, 1032, 753, 730, 673; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) : δ/ppm = 12.09 (s, 1H), 11.89 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.75 (d, J=7.5Hz, 1H), 8.45 (t, J= 5.7Hz, 1H), 8.42 (d, J=5.7Hz, 1H), 8.37 (d, J=8.7Hz, 1H), 8.15 (t, J=5.4Hz, 1H), 7.95 (d, J=6.6Hz, 1H), 7.67 (d, J=8, 4Hz, 1H), 7.61 (t, J=7.5Hz, 1H), 7.38-7.19 (m, 6H), 4.67 (m, J=7.2Hz, 1H), 4.40-4.29 (m, 3H), 4.24 (s, 2H), 3.08 (m, 2H), 1.73 (m, 1H), 1.61 (m, 1H), 1.46 (m, 1H), 1.39 (d, J=6.9Hz, 3H)。

[0049] 实施例13制备β-咪啉-3-甲酰-Gly-OBzl (6b)

[0050] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β-咪啉-3-羧酸用和182mg (1.1mmol) HCl · Gly-OBzl 得到245mg (产率为68.3%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) : 360 [M+H]⁺。

[0051] 实施例14制备β-咪啉-3-甲酰-Gly (7b)

[0052] 按照实施例9从359mg (1.0mmol) β-咪啉-3-甲酰-Gly-OBzl得到255mg (产率为96.2%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) : 268 [M-H]⁻。

[0053] 实施例15制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gly)-Orn (Z) -NHCH₂C₆H₅ (11b)

[0054] 按照实施例10从269mg (1.0mmol) β-咪啉-3-甲酰-Gly和431mg (1.1mmol) HCl · Orn (Z) -NBzl得到376mg (产率为62.1%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) : 607 [M+H]⁺。

[0055] 实施例16制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gly)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12b)

[0056] 按照实施例11从606mg (1.0mmol) N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gly)-Orn (Z) -NHCH₂C₆H₅得

到537mg (产率为95.6%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :473 [M+H]⁺。

[0057] 实施例17制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gly)-N^ω(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15b)

[0058] 按照实施例12从236mg (0.5mmol) N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gly)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104 mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到31mg (产率为9.7%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) : 642 [M+H]⁺; mp: 188-189 °C; $[\alpha]_D^{25} = -26.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR (cm⁻¹): 3270, 3064, 2923, 2865, 1693, 1650, 1598, 1498, 1463, 1376, 1280, 746, 695; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ/ppm = 12.19 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.86 (t, J=5.4Hz, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.53 (t, J=6.0Hz, 1H), 8.38 (d, J=7.8Hz, 1H), 8.32 (d, J=8.1Hz, 1H), 8.12 (t, J=5.1Hz, 1H), 7.77 (d, J=6.9Hz, 1H), 7.68 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.59 (t, J=7.5Hz, 1H), 7.33-7.18 (m, 6H), 4.39-4.31 (m, 3H), 4.25 (s, 2H), 4.08 (t, J=4.2Hz, 2H), 3.11-3.05 (m, 2H), 1.70 (m, 1H), 1.58 (m, 1H), 1.49 (m, 1H)。

[0059] 实施例18制备β-咪啉-3-甲酰-Val-OBzl (6c)

[0060] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β-咪啉-3-羧酸和227mg (1.1mmol) TosH • Val-OBzl, 得到254mg (产率为63.4%) 标题化合物,为无色固体;ESI-MS (m/z) : 402 [M+H]⁺。

[0061] 实施例19制备β-咪啉-3-甲酰-Val (7c)

[0062] 按照实施例9从401mg (1.0mmol) β-咪啉-3-甲酰-Val-OBzl得到295mg (产率为94.9%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) : 310 [M-H]⁻。

[0063] 实施例20制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Val)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅ (11c)

[0064] 按照实施例10从311mg (1.0mmol) β-咪啉-3-甲酰-Val和431mg (1.1mmol) HCl • Orn (Z)-NBzl得到356mg (产率为54.9%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) : 649 [M+H]⁺。

[0065] 实施例21制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Val)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12c)

[0066] 按照实施例11从648mg (1.0mmol) N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Val)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅得到477mg (产率为92.8%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) : 515 [M+H]⁺。

[0067] 实施例22制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Val)-N^ω(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15c)

[0068] 按照实施例12从257mg (0.5mmol) N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Val)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104 mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到30mg (产率为8.8%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) : 685 [M+H]⁺; mp: 186-187 °C; $[\alpha]_D^{25} = -66.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR: (cm⁻¹) 3374, 3269, 3067, 2964, 1718, 1698, 1639, 1595, 1495, 1459, 1243, 753, 731, 693; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ/ppm = 12.09 (s, 1H), 11.88 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.64 (d, J=9.3 Hz, 1H), 8.45 (m, 2H), 8.40 (d, J=7.8Hz, 1H), 8.16 (t, J=5.4Hz, 1H), 7.96 (d, J=6.6Hz, 1H), 7.67 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.61 (t, J=7.1Hz, 1H), 7.34-7.21 (m, 6H), 4.59 (m, 1H), 4.41-4.34 (m, 2H), 4.27-4.20 (m, 3H), 3.11-3.05 (m, 2H), 2.14 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.66 (m, 1H), 1.46 (m, 2H), 0.94 (d, J=6.9Hz, 3H), 0.89 (d, J=6.9Hz, 3H)。

[0069] 实施例23制备β-咪啉-3-甲酰-Leu-OBzl (6d)

[0070] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β-咪啉-3-羧酸和243mg (1.1mmol) TosH • Leu-OBzl得到264mg (产率为63.6%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) : 416 [M+H]⁺。

- [0071] 实施例24制备 β -咔啉-3-甲酰-Leu (7d)
- [0072] 按照实施例9从415mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Leu-OBzl得到287mg (产率为88.3%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :324[M-H]⁻。
- [0073] 实施例25制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Leu)-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅ (11d)
- [0074] 按照实施例10从325mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Leu和431mg (1.1mmol) HCl·Orn(Z)-NBzl得到376mg (产率为56.8%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) : 663[M+H]⁺。
- [0075] 实施例26制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Leu)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12d)
- [0076] 按照实施例11从662mg (1.0mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Leu)-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅得到487mg (产率为92.2%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :530[M+H]⁺。
- [0077] 实施例27制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Leu)-N^ω(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15d)
- [0078] 按照实施例12从264mg (0.5mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Leu)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到24mg (产率为6.9%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) : 699[M+H]⁺; mp:191-192°C; $[\alpha]_D^{25} = -60.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR: (cm⁻¹) 3379, 3264, 2964, 2874, 1717, 1640, 1596, 1495, 1459, 1380, 1242, 1147, 729, 693; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) : δ /ppm = 12.14 (s, 1H), 11.92 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.68 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.51 (t, J = 6.0Hz, 1H), 8.46 (d, J = 8.1Hz, 1H), 8.40 (d, J = 7.8Hz, 1H), 8.22 (t, J = 5.4Hz, 1H), 7.97 (d, J = 6.9Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.4Hz, 1H), 7.60 (t, J = 7.8Hz, 1H), 7.33-7.18 (m, 6H), 4.71 (m, 1H), 4.37-4.20 (m, 5H), 3.10-3.04 (m, 2H), 1.70-1.56 (m, 5H), 1.46-1.42 (m, 2H), 0.93 (d, J = 5.7Hz, 3H), 0.90 (d, J = 5.7Hz, 3H)。
- [0079] 实施例28制备 β -咔啉-3-甲酰-Ile-OBzl (6e)
- [0080] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β -咔啉-3-羧酸和243mg (1.1mmol) TosH·Ile-OBzl得到283mg (产率为68.2%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) :416 [M+H]⁺。
- [0081] 实施例29制备 β -咔啉-3-甲酰-Ile (7e)
- [0082] 按照实施例9从415mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Ile-OBzl得到293mg (产率为90.2%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :324[M-H]⁻。
- [0083] 实施例30制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ile)-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅ (11e)
- [0084] 按照实施例10从325mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Ile和431mg (1.1mmol) HCl·Orn(Z)-NBzl得到356mg (产率为53.8%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) : 663[M+H]⁺。
- [0085] 实施例31制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ile)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12e)
- [0086] 按照实施例11从662mg (1.0mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ile)-Orn(Z)-NHCH₂C₆H₅得到495mg (产率为93.8%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :529[M+H]⁺。
- [0087] 实施例32制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ile)-N^ω(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15e)
- [0088] 按照实施例12从264mg (0.5mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ile)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到47mg (产率为13.5%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) :699[M+H]⁺; mp:189-190°C; $[\alpha]_D^{25} = -48.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR: (cm⁻¹) 3380, 3263, 3068, 2935, 2874, 1717, 1698, 1640, 1495, 1459, 1380, 1242, 729, 693; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) :

$\delta/\text{ppm}=12.10$ (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.63 (d, $J=9.3\text{Hz}$, 1H), 8.45 (m, 2H), 8.40 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 8.16 (t, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 7.93 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 1H), 7.67 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.60 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 7.34-7.21 (m, 6H), 4.60 (m, 1H), 4.41-4.35 (m, 2H), 4.25-4.19 (m, 3H), 3.10-3.04 (m, 2H), 1.89 (m, 1H), 1.69 (m, 1H), 1.60 (m, 1H), 1.69 (m, 1H), 1.49 (m, 3H), 1.15 (m, 1H), 0.92 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H), 0.85 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0089] 实施例33制备 β -咔啉-3-甲酰-Ser-OBzl (6f)

[0090] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β -咔啉-3-羧酸和215mg (1.1mmol) HCl • Ser-OBzl得到(产率为58.6%)标题化合物,为无色固体228mg,ESI-MS (m/z): 390 [M+H]⁺。

[0091] 实施例34制备 β -咔啉-3-甲酰-Ser (7f)

[0092] 按照实施例9从389mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Ser-OBzl得到283mg (产率为94.6%)标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z): 298 [M-H]⁻。

[0093] 实施例35制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ser)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅ (11f)

[0094] 按照实施例10从299mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Ser得到339mg (产率53.3%)标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z): 637 [M+H]⁺。

[0095] 实施例36制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ser)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12f)

[0096] 按照实施例11从636mg (1.0mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ser)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅得到486mg (产率为96.8%)标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z): 503 [M+H]⁺。

[0097] 实施例37制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ser)-N^ω(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15f)

[0098] 按照实施例12从251mg (0.5mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Ser)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到33mg (产率为9.8%)标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z): 673 [M+H]⁺; mp: 189-190°C; $[\alpha]_D^{25} = -40.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR: (cm⁻¹) 3279, 3066, 2950, 2877, 1698, 1650, 1537, 1499, 1460, 1377, 1242, 729, 692; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): $\delta/\text{ppm}=12.10$ (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.77 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 8.50 (m, 2H), 8.41 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 8.20 (t, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 7.97 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 1H), 7.67 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.61 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 7.34-7.20 (m, 6H), 4.67 (m, 1H), 4.37-4.28 (m, 3H), 4.30 (s, 2H), 3.85 (dd, $J_1=10.8\text{Hz}$, $J_2=5.1\text{Hz}$, 1H), 3.67 (dd, $J_1=11.1\text{Hz}$, $J_2=5.7\text{Hz}$, 1H), 3.09-3.05 (m, 2H), 1.67 (m, 1H), 1.51 (m, 1H), 1.47 (m, 2H)。

[0099] 实施例38制备 β -咔啉-3-甲酰-Thr-OBzl (6g)

[0100] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β -咔啉-3-羧酸和230mg (1.1mmol) HCl • Thr-OBzl得到237mg (产率为58.8%)标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z): 404 [M+H]⁺。

[0101] 实施例39制备 β -咔啉-3-甲酰-Thr (7g)

[0102] 按照实施例9从403mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Thr-OBzl得到287mg (产率为91.7%)标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z): 312 [M-H]⁻。

[0103] 实施例40制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Thr)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅ (11g)

[0104] 按照实施例10从313mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Thr和431mg (1.1mmol) HCl • Orn (Z)-NBzl得到333mg (产率为51.3%)标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z): 651 [M+H]⁺。

[0105] 实施例41制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Thr)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12g)

[0106] 按照实施例11从650mg (1.0mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Thr)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅得

到489mg (产率为94.7%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :517 [M+H]⁺。

[0107] 实施例42制备N^α-(β-咔啉-3-甲酰-Thr)-N^ω(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15g)

[0108] 按照实施例12从258mg (0.5mmol) N^α-(β-咔啉-3-甲酰-Thr)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104 mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到27mg (产率为7.9%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) : 687 [M+H]⁺; mp: 188-189 °C; $[\alpha]_D^{25} = -56.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR: (cm⁻¹) 3281, 3067, 2922, 2853, 1715, 1698, 1643, 1597, 1496, 1459, 1377, 1242, 1149, 730, 696; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ/ppm = 12.03 (s, 1H), 11.89 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.73 (d, J = 8.1Hz, 1H), 8.44 (t, J = 6.0Hz, 1H), 8.40 (d, J = 7.8Hz, 1H), 8.25 (d, J = 7.8Hz, 1H), 8.16 (t, J = 5.4Hz, 1H), 7.98 (d, J = 6.6Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.1Hz, 1H), 7.61 (t, J = 7.2Hz, 1H), 7.34-7.20 (m, 7H), 5.26 (s, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.40-4.30 (m, 3H), 4.24 (s, 2H), 4.19 (m, 1H), 3.11-3.07 (m, 2H), 1.71 (m, 1H), 1.59 (m, 1H), 1.45 (m, 2H), 1.10 (d, J = 5.1Hz, 3H)。

[0109] 实施例43制备β-咔啉-3-甲酰-Tyr-OBzl (6h)

[0110] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β-咔啉-3-羧酸和298mg (1.1mmol) HCl • Tyr-OBzl得到250mg (产率为53.8%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) :466 [M+H]⁺。

[0111] 实施例44制备β-咔啉-3-甲酰-Tyr (7h)

[0112] 按照实施例9从465mg (1.0mmol) β-咔啉-3-甲酰-Tyr-OBzl得到355mg (产率为94.9%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :374 [M-H]⁻。

[0113] 实施例45制备N^α-(β-咔啉-3-甲酰-Tyr)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅ (11h)

[0114] 按照实施例10从375mg (1.0mmol) β-咔啉-3-甲酰-Tyr和431mg (1.1mmol) HCl • Orn (Z)-NBzl得到392mg (产率为55.1%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) : 713 [M+H]⁺。

[0115] 实施例46制备N^α-(β-咔啉-3-甲酰-Tyr)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12h)

[0116] 按照实施例11从712mg (1.0mmol) N^α-(β-咔啉-3-甲酰-Tyr)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅得到556mg (产率为96.2%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :579 [M+H]⁺。

[0117] 实施例47制备N^α-(β-咔啉-3-甲酰-Tyr)-N^ω(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15h)

[0118] 按照实施例12从289mg (0.5mmol) N^α-(β-咔啉-3-甲酰-Tyr)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104 mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到37mg (产率为9.9%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) : 749 [M+H]⁺; mp: 181-182 °C; $[\alpha]_D^{25} = -50.0$ (c = 0.2, 甲醇); IR (cm⁻¹) :3481, 3372, 3277, 3069, 2935, 2844, 1693, 1643, 1596, 1496, 1461, 1377, 1241, 729, 693; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ/ppm = 12.09 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.60 (d, J = 8.4Hz, 1H), 8.47 (d, J = 8.4Hz, 1H), 8.44 (t, J = 6.0Hz, 1H), 8.38 (d, J = 7.8Hz, 1H), 8.17 (t, J = 5.4Hz, 1H), 7.95 (d, J = 6.6Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.4Hz, 1H), 7.59 (t, J = 7.5Hz, 1H), 7.35-7.21 (m, 6H), 6.99 (d, J = 8.4Hz, 2H), 6.58 (d, J = 8.4Hz, 2H), 4.85 (m, 1H), 4.42-4.35 (m, 2H), 4.29-4.24 (m, 3H), 3.12-3.06 (m, 3H), 2.97 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.62 (m, 1H), 1.49 (m, 2H)。

[0119] 实施例48制备β-咔啉-3-甲酰-Trp-OBzl (6i)

[0120] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β-咔啉-3-羧酸和323mg (1.1mmol) HCl • Trp-OBzl得到274mg (产率为56.3%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) :489 [M+H]⁺。

- [0121] 实施例49制备β-咔啉-3-甲酰-Trp (7i)
- [0122] 按照实施例9从488mg (1.0mmol) β-咔啉-3-甲酰-Trp-OBzl得到383mg (产率为96.3%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :397 [M-H]⁻。
- [0123] 实施例50制备N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Trp) -Orn (Z) -NHCH₂C₆H₅ (11i)
- [0124] 按照实施例10从398mg (1.0mmol) β-咔啉-3-甲酰-Trp和431mg (1.1mmol) HCl • Orn (Z) -NBzl得到365mg (产率为49.7%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) : 736 [M+H]⁺。
- [0125] 实施例51制备N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Trp) -Orn-NHCH₂C₆H₅ (12i)
- [0126] 按照实施例11从735mg (1.0mmol) N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Trp) -Orn (Z) -NHCH₂C₆H₅得到584mg (产率为97.2%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :602 [M+H]⁺。
- [0127] 实施例52制备N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Trp) -N^ω (5-氟尿嘧啶-1-乙酰) -Orn-NHCH₂C₆H₅ (15i)
- [0128] 按照实施例12从300mg (0.5mmol) N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Trp) -Orn-NHCH₂C₆H₅和104 mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到40mg (产率为10.4%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) :772 [M+H]⁺; mp:192-193°C; $[\alpha]_D^{25} = -42.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR (cm⁻¹) :3388, 3265, 3058, 3037, 2941, 1715, 1692, 1644, 1598, 1496, 1459, 1382, 1244, 1148, 730, 692; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) : δ/ppm = 12.49 (s, 1H), 10.94 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.72 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.66 (d, J=7.8Hz, 1H), 8.61 (t, J=6.3Hz, 1H), 8.36 (d, J=7.8Hz, 1H), 8.13 (t, J=6.0Hz, 1H), 7.67 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.61-7.55 (m, 3H), 7.31-7.17 (m, 8H), 7.00 (t, J=7.5Hz, 1H), 6.87 (t, J=7.5Hz, 1H), 4.93 (m, 1H), 4.37-4.31 (m, 3H), 4.17 (s, 2H), 3.27-3.19 (m, 2H), 3.08-3.05 (m, 2H), 1.69 (m, 1H), 1.61 (m, 1H), 1.46 (m, 2H)。
- [0129] 实施例53制备β-咔啉-3-甲酰-Phe-OBzl (6j)
- [0130] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β-咔啉-3-羧酸和281mg (1.1mmol) HCl • Phe-OBzl得到260mg (产率为57.9%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) :450 [M+H]⁺。
- [0131] 实施例54制备β-咔啉-3-甲酰-Phe (7j)
- [0132] 按照实施例9从449mg (1.0mmol) β-咔啉-3-甲酰-Phe-OBzl得到346mg (产率为96.3%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :358 [M-H]⁻。
- [0133] 实施例55制备N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Phe) -Orn (Z) -NHCH₂C₆H₅ (11j)
- [0134] 按照实施例10从359mg (1.0mmol) β-咔啉-3-甲酰-Phe和431mg (1.1mmol) HCl • Orn (Z) -NBzl得到384mg (产率为55.2%) 标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z) : 697 [M+H]⁺。
- [0135] 实施例56制备N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Phe) -Orn-NHCH₂C₆H₅ (12j)
- [0136] 按照实施例11从696mg (1.0mmol) N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Phe) -Orn (Z) -NHCH₂C₆H₅得到541mg (产率为96.2%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) :563 [M+H]⁺。
- [0137] 实施例57制备N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Phe) -N^ω (5-氟尿嘧啶-1-乙酰) -Orn-NHCH₂C₆H₅ (15j)
- [0138] 按照实施例12从281mg (0.5mmol) N^α- (β-咔啉-3-甲酰-Phe) -Orn-NHCH₂C₆H₅和104 mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到42mg (产率为11.4%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) :733 [M+H]⁺; mp:184-185°C; $[\alpha]_D^{25} = -38.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR (cm⁻¹) :3498, 3271, 3062, 2923, 2825, 1697, 1643, 1596, 1496, 1461, 1376, 1240, 729, 695; ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) :

$\delta/\text{ppm}=12.15(\text{s}, 1\text{H}), 8.90(\text{s}, 1\text{H}), 8.79(\text{s}, 1\text{H}), 8.66(\text{d}, J=8.1\text{Hz}, 1\text{H}), 8.61(\text{d}, J=8.4\text{Hz}, 1\text{H}), 8.54(\text{t}, J=6.0\text{Hz}, 1\text{H}), 8.38(\text{d}, J=7.8\text{Hz}, 1\text{H}), 8.21(\text{t}, J=5.7\text{Hz}, 1\text{H}), 7.95(\text{d}, J=6.6\text{Hz}, 1\text{H}), 7.66(\text{d}, J=8.1\text{Hz}, 1\text{H}), 7.59(\text{t}, J=7.5\text{Hz}, 1\text{H}), 7.34-7.13(\text{m}, 11\text{H}), 4.94(\text{m}, 1\text{H}), 4.42-4.29(\text{m}, 3\text{H}), 4.24(\text{s}, 2\text{H}), 3.21(\text{m}, 1\text{H}), 3.12-3.06(\text{m}, 3\text{H}), 1.72(\text{m}, 1\text{H}), 1.62(\text{m}, 1\text{H}), 1.46(\text{m}, 2\text{H})$ 。

[0139] 实施例58制备 β -咔啉-3-甲酰-Pro-OBzl (6k)

[0140] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β -咔啉-3-羧酸和223mg (1.1mmol) HCl · Pro-OBzl得到(产率为52.1%)标题化合物,为无色固体208mg,ESI-MS (m/z): 400 [M+H]⁺。

[0141] 实施例59制备 β -咔啉-3-甲酰-Pro (7k)

[0142] 按照实施例9从399mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Pro-OBzl得到286mg (产率为92.6%)标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z): 308 [M-H]⁻。

[0143] 实施例60制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Pro)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅ (11k)

[0144] 按照实施例10从309mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Pro和431mg (1.1mmol) HCl · Orn (Z)-NBzl得到331mg (产率为51.2%)标题化合物,为无色固体,ESI-MS (m/z): 647 [M+H]⁺。

[0145] 实施例61制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Pro)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12k)

[0146] 按照实施例11从646mg (1.0mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Pro)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅得到477mg (产率为93.2%)标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z): 513 [M+H]⁺。

[0147] 实施例62制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Pro)-N^ω(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15k)

[0148] 按照实施例12从256mg (0.5mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Pro)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到33mg (产率为9.8%)标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z): 683 [M+H]⁺; mp: 178-179°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -18.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR (cm⁻¹): 3281, 3062, 2980, 2949, 2820, 1708, 1692, 1649, 1611, 1549, 1476, 1447, 1241, 724, 694; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta/\text{ppm}=12.42(\text{s}, 1\text{H}), 12.06(\text{s}, 1\text{H}), 8.92(\text{s}, 1\text{H}), 8.67(\text{s}, 1\text{H}), 8.39(\text{t}, J=6.0\text{Hz}, 1\text{H}), 8.25-8.13(\text{m}, 3\text{H}), 8.02(\text{d}, J=6.6\text{Hz}, 1\text{H}), 7.66(\text{d}, J=8.1\text{Hz}, 1\text{H}), 7.59(\text{t}, J=7.2\text{Hz}, 1\text{H}), 7.30-7.12(\text{m}, 6\text{H}), 5.09(\text{m}, 1\text{H}), 4.40-3.99(\text{m}, 6\text{H}), 3.12-3.09(\text{m}, 2\text{H}), 2.94-2.89(\text{m}, 2\text{H}), 1.95-1.83(\text{m}, 4\text{H}), 1.65(\text{m}, 1\text{H}), 1.55(\text{m}, 1\text{H}), 1.43(\text{m}, 2\text{H})$ 。

[0149] 实施例63制备 β -咔啉-3-甲酰-Asn-OBzl (6l)

[0150] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β -咔啉-3-羧酸和244mg (1.1mmol) HCl · Asn-OBzl得到201mg (产率为48.3%)标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z): 417 [M+H]⁺。

[0151] 实施例64制备 β -咔啉-3-甲酰-Asn (7l)

[0152] 按照实施例9从416mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Asn-OBzl得到294mg (产率为90.1%)标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z): 325 [M-H]⁻。

[0153] 实施例65制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Asn)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅ (11l)

[0154] 按照实施例10从326mg (1.0mmol) β -咔啉-3-甲酰-Asn和431mg (1.1mmol) HCl · Orn (Z)-NBzl得到275mg (产率为41.5%)标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z): 664 [M+H]⁺。

[0155] 实施例66制备N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Asn)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12l)

[0156] 按照实施例11从663mg (1.0mmol) N^α-(β -咔啉-3-甲酰-Asn)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅得

到485mg (产率为91.7%) 标题化合物,为黄色固体,ESI-MS (m/z) :530 [M+H]⁺。

[0157] 实施例67制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Asn)-N^ω-(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15l)

[0158] 按照实施例12从265mg (0.5mmol) N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Asn)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104 mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到28mg (产率为7.8%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) : 700 [M+H]⁺; mp: 168-169°C; $[\alpha]_D^{25} = -28.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR (cm⁻¹): 3398, 3293, 3015, 2965, 2843, 1692, 1640, 1597, 1496, 1460, 1338, 1241, 1145, 728, 696; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ/ppm = 12.02 (s, 1H), 11.83 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.89 (d, J = 8.1Hz, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.54 (t, J = 5.7Hz, 1H), 8.40 (d, J = 7.8Hz, 1H), 8.28 (d, J = 7.5Hz, 1H), 8.16 (t, J = 5.4Hz, 1H), 8.00 (d, J = 6.9Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.1Hz, 1H), 7.63-7.58 (m, 2H), 7.34-7.19 (m, 6H), 7.07 (s, 1H), 4.84 (m, 1H), 4.37-4.20 (m, 5H), 3.08-3.04 (m, 2H), 2.79 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.59 (m, 1H), 1.44 (m, 2H)。

[0159] 实施例68制备β-咪啉-3-甲酰-Gln-OBzl (6m)

[0160] 按照实施例8从212mg (1.0mmol) β-咪啉-3-羧酸和260mg (1.1mmol) HCl · Gln-OBzl得到197mg (产率为45.8%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) : 431 [M+H]⁺。

[0161] 实施例69制备β-咪啉-3-甲酰-Gln (7m)

[0162] 按照实施例9从430mg (1.0mmol) β-咪啉-3-甲酰-Gln-OBzl得到294mg (产率为90.1%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) : 339 [M+H]⁺。

[0163] 实施例70制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gln)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅ (11m)

[0164] 按照实施例10从340mg (1.0mmol) β-咪啉-3-甲酰-Gln和431mg (1.1mmol) HCl · Orn (Z)-NBzl得到318mg (产率为46.9%) 标题化合物,为淡黄色固体,ESI-MS (m/z) : 678 [M+H]⁺。

[0165] 实施例71制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gln)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (12m)

[0166] 按照实施例11从677mg (1.0mmol) N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gln)-Orn (Z)-NHCH₂C₆H₅得到495mg (产率为91.7%) 标题化合物,为黄色固体,ESI-MS (m/z) : 544 [M+H]⁺。

[0167] 实施例72制备N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gln)-N^ω-(5-氟尿嘧啶-1-乙酰)-Orn-NHCH₂C₆H₅ (15m)

[0168] 按照实施例12从272mg (0.5mmol) N^α-(β-咪啉-3-甲酰-Gln)-Orn-NHCH₂C₆H₅和104 mg (0.55mmol) 5-Fu-Ac得到32mg (产率为9.1%) 标题化合物,为淡黄色固体;ESI-MS (m/z) : 714 [M+H]⁺; mp: 168-169°C; $[\alpha]_D^{25} = -16.0$ (c = 0.1, 甲醇); IR (cm⁻¹): 3412, 3292, 3063, 2935, 2871, 1692, 1639, 1597, 1496, 1461, 1423, 1243, 1146, 728, 692; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ/ppm = 12.03 (s, 1H), 11.96 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.78 (d, J = 8.4Hz, 1H), 8.57-8.40 (m, 3H), 8.08 (d, J = 6.6Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.1Hz, 1H), 7.60 (t, J = 7.2Hz, 1H), 7.34-7.19 (m, 7H), 6.80 (s, 1H), 4.67 (m, 1H), 4.39-4.30 (m, 5H), 3.09-3.02 (m, 2H), 2.17 (m, 2H), 2.09 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.68 (m, 1H), 1.59 (m, 1H), 1.45 (m, 2H)。

[0169] 实施例73评价15a-m抗肿瘤细胞增殖活性

[0170] 本发明的化合物15a-m用含0.5%二甲基亚砷(DMSO)的培养基配制成所需浓度。共使用了S180(小鼠肉瘤细胞)、HT-29(人结肠癌细胞)、A549(人肺癌细胞)、MCF-7(人乳腺癌

细胞)以及HL60(人骨髓细胞白血病细胞)5株肿瘤细胞。

[0171] 将生长状态良好,处于对数生长期的细胞按照 5×10^4 个/mL的密度接种于96孔板,每孔100 μ L。在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱中培养4小时,按预设的浓度梯度100 μ M,50 μ M,25 μ M,12.5 μ M加入经灭菌处理的本发明的化合物,采用阿霉素作对照。继续培养48小时后,每孔加25 μ L浓度为5mg/mL的噻唑蓝溶液,置于37 $^{\circ}$ C孵育4小时,小心除去上清液(悬浮细胞经离心后除去上清液)后每孔加入100 μ L DMSO,振荡约15min溶解沉淀。立即于酶标仪上570nm波长下测定O.D.(吸光度)值。计算抑瘤率及IC₅₀。结果也列入表1。

[0172] 结果表明本发明的化合物中大部分化合物对细胞株HT-29和MCF-7比较敏感,均有一定的抑制作用。

[0173] 表1 15a-m体外抗肿瘤细胞增殖活性数据(IC₅₀±SD μ M,n=3)

	A549	HL60	HT-29	S180	MCF-7
阿霉素	1.23 ± 0.04	0.92 ± 0.06	1.11 ± 0.17	0.59 ± 0.09	0.77 ± 0.10
5-氟尿嘧啶	31.71 ± 3.38	52.71 ± 2.11	31.64 ± 2.93	11.60 ± 0.37	25.19 ± 0.57
15a	55.3 ± 1.08	> 100	47.41 ± 0.21	33.45 ± 2.37	28.75 ± 2.20
15c	44.43 ± 4.00	> 100	46.57 ± 4.43	50.12 ± 2.89	53.51 ± 3.15
15d	53.11 ± 4.53	> 100	25.11 ± 2.84	21.10 ± 1.24	57.72 ± 1.66
15e	53.95 ± 1.35	> 100	51.43 ± 3.19	46.93 ± 2.70	55.02 ± 1.44
15j	> 100	> 100	36.15 ± 1.86	15.50 ± 1.52	46.63 ± 3.35
15b	> 100	> 100	53.75 ± 3.73	27.89 ± 0.09	62.53 ± 2.67
15f	> 100	74.86 ± 1.44	44.62 ± 2.05	> 100	43.18 ± 1.67
15g	67.40 ± 1.74	> 100	54.92 ± 1.46	> 100	49.85 ± 2.72
15i	> 100	> 100	37.94 ± 0.73	> 100	46.17 ± 2.95
15h	36.75 ± 2.45	77.70 ± 6.13	41.3 ± 7.14	> 100	44.32 ± 2.28
15m	> 100	63.95 ± 5.15	68.89 ± 3.95	27.99 ± 2.14	> 100
15k	60.96 ± 2.18	> 100	50.34 ± 1.89	> 100	37.94 ± 1.90
15l	> 100	54.47 ± 2.22	41.96 ± 0.49	> 100	> 100

[0174] 实施例74评价15a-m的抗肿瘤活性

[0175] 测定前将本发明的15a-m加DMSO助溶,溶于0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)。无菌条件下取接种于ICR小鼠7-10天的S180肉瘤,加入适量生理盐水配制成瘤细胞悬液,细胞数为 2×10^7 /mL,接种于健康雄性ICR小鼠前肢腋皮下,每只小鼠注射0.2mL。肿瘤接种24h后,治疗组小鼠每日口服灌胃给药0.2ml,连续给药10天,剂量均为1nmol/kg。空白组小鼠每日口服灌胃0.2ml 0.5%CMC-Na(含0.5%DMSO)。以5-氟尿嘧啶(剂量为150 μ mol/kg)作阳性对照,以0.5%CMC-Na(含0.5%DMSO)为阴性对照。实验进行至第11天,称小鼠体重,并剖取各组小鼠的肿瘤称重,最后统计各组动物的抑瘤率。实体瘤的疗效以瘤重抑制百分率表示,计算如下:瘤重抑制率%=(1-给药组瘤重/空白组瘤重)×100%。以瘤重或百分抑瘤率表示化合物的活性,数据列入表2。

[0176] 结果表明本发明的化合物在1nmol/kg的剂量下,化合物均显示了良好的抗肿瘤活性。

[0178] 表2 15a-m对S180肉瘤小鼠的瘤重的影响(均值±SD g)

给药组别	剂量(nmol/kg)	瘤重
CMC-Na		3.016 ± 0.315
5-氟尿嘧啶	150000	0.928 ± 0.293 ^a
15a	1	1.591 ± 0.212 ^a
15b	1	1.589 ± 0.390 ^a
15c	1	1.650 ± 0.372 ^a
15d	1	1.587 ± 0.325 ^a
15e	1	1.829 ± 0.325 ^a
15l	1	1.660 ± 0.258 ^a
15m	1	2.159 ± 0.358 ^a
15f	1	2.055 ± 0.155 ^a
15g	1	1.687 ± 0.573 ^a
15h	1	1.876 ± 0.418 ^a
15i	1	1.856 ± 0.349 ^a
15j	1	1.771 ± 0.233 ^a
15k	1	1.780 ± 0.417 ^a

[0180] n=10, a) 与CMC-Na比p<0.05

[0181] 实施例75评价15a-m的抗炎活性

[0182] 体重20±2g雄性小鼠口服100nmol/kg化合物15a-m或1100μmol/kg阿司匹林或0.2mL/20g 0.5%CMC-Na(含0.5%DMSO)30分钟后,往小白鼠的左耳外廓涂二甲苯(0.03mL),2小时后将小白鼠颈椎脱臼处死。将小鼠的左,右耳剪下,用直径7mm的打孔器在两耳的相同位置,取圆形耳片,分别称重,求出两圆耳片的重量差作为肿胀度。(肿胀度=左耳原片重量-右耳原片重量)以肿胀度表示化合物的活性。本实验数据统计均采用t检验和方差分析,肿胀度以($\bar{x} \pm SD$ mg)表示。结果表明本发明的化合物在100 nmol/kg的剂量下均具有抗炎活性,其中15a和15b与阿司匹林具有相当的活性,其剂量相对阿司匹林来说降低了11000倍。显示了意想不到的技术效果。

[0183] 表3 15a-m对二甲苯致炎小鼠耳重的影响($\bar{x} \pm SD$ mg)

	给药组别	剂量(nmol/kg)	耳肿胀度($\bar{X} \pm SD$ mg)
	CMC-Na		10.69 ± 1.48
	阿司匹林	1100000	5.46 ± 1.29 ^a
	15a	100	6.84 ± 1.29 ^b
	15c	100	8.73 ± 1.93 ^a
	15d	100	7.60 ± 1.51 ^a
	15e	100	7.26 ± 1.29 ^a
[0184]	15j	100	7.90 ± 1.66 ^a
	15b	100	7.16 ± 1.94 ^b
	15f	100	8.06 ± 1.23 ^a
	15g	100	8.11 ± 1.71 ^a
	15i	100	8.27 ± 1.57 ^a
	15h	100	8.03 ± 1.80 ^a
	15m	100	8.52 ± 1.95 ^a
	15k	100	8.06 ± 2.75 ^a
	15l	100	7.53 ± 1.49 ^a

[0185] n=10;a) 与CMC-Na比p<0.05;b) 与阿司匹林比p>0.05。

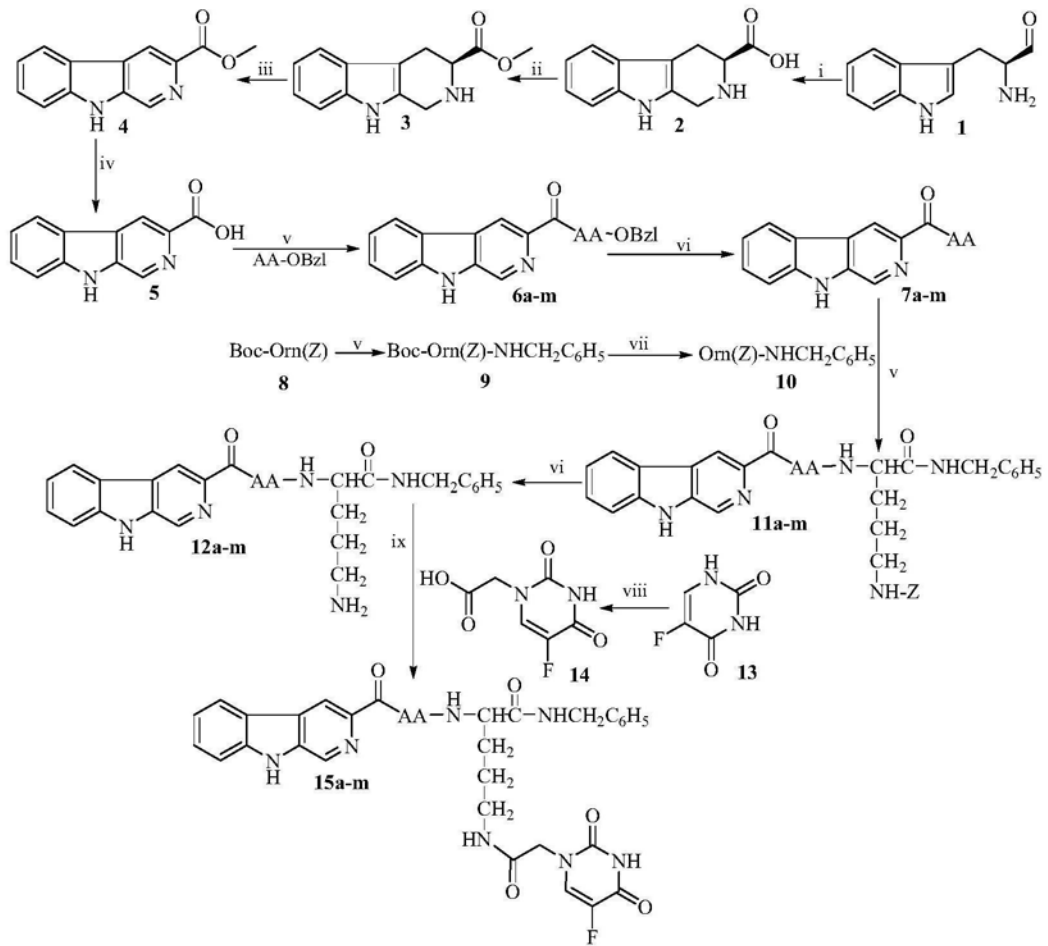


图1