

〔19〕中华人民共和国专利局

〔11〕公开号 CN 1076199A



〔12〕发明专利申请公开说明书

〔21〕 申请号 92115304.X

〔51〕 Int.Cl⁵

C07K 5/06

〔43〕 公开日 1993 年 9 月 15 日

〔22〕申请日 92.12.4

〔30〕优先权

〔32〕91.12.4 〔33〕SE 〔31〕9103612

〔71〕申请人 阿斯特拉公司

地址 瑞典南泰利耶

〔72〕发明人 E·A·C·泰格-尼尔森

R·E·拜隆德

〔74〕专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 罗才希

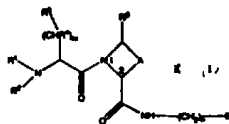
C07K 5/04 C07C279/12
A61K 37/02

说明书页数: 102 附图页数: 5

〔54〕发明名称 新的肽衍生物

〔57〕摘要

本发明涉及根据下式(I)的新的凝血酶抑制剂,



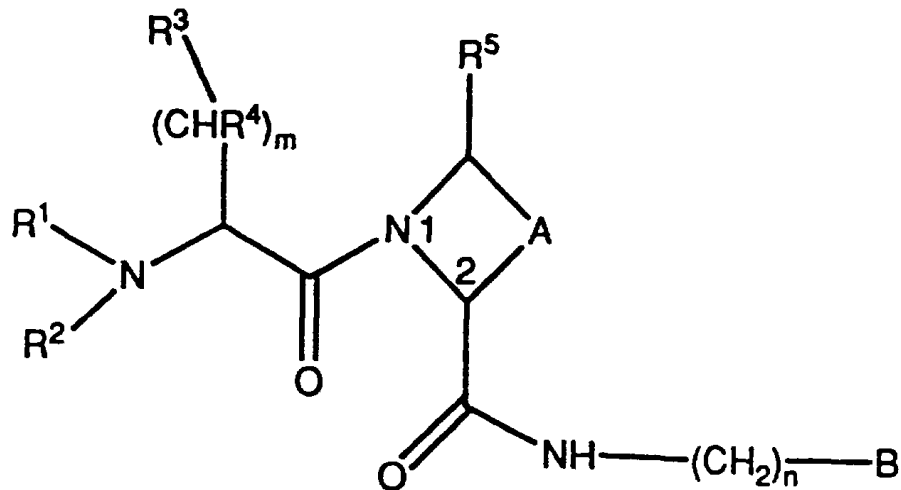
它们的合成,含有作为活性成分的这些化合物的药用组合物,以及应用本化合物作为抗凝血剂预防和治疗血栓栓塞疾病的用途

其中 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, A、B 和 n 如叙述的定义。进一步的涉及了上式(II)化合物的药用化合物在合成上的新用途,该化合物如上式II。

(BJ)第1456号

权 利 要 求 书

1、通式 I 的化合物



通式 I

其中：

A 表示亚甲基，或

A 表示亚乙基且所得的 5 - 元环可以带或不带有一或二个氟原子，在 4 位的羟基或氧基，或可以是或可以不是不饱和的，或

A 表示杂原子官能团在 4 位的 $-CH_2-O-$ ， $-CH_2-S-$ ， $-CH_2-SO-$ ，或

A 表示 n - 亚丙基，且所得 6 - 元环在 5 位可以带或不带有一个氟原子，羟基或氧基，在 4 或 5 位之一带有两个氟原子，或在 4 位和 5 位是不饱和的，或在 4 - 位带有 1 到 4 碳原子烷基，或

A 表示 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ ， $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$ ， $-\text{CH}_2-\text{SO}-\text{CH}_2-$ ；

R^1 表示 H，具有 1 到 4 碳原子的烷基，具有 2-3 碳原子的羟基烷基或 $\text{R}^{11}\text{OOC}-$ 烷基，其中烷基具有 1 到 4 碳原子且 R^{11} 是 H 或具有 1-4 碳原子的烷基或分子内连接在 R^1 烷基的 2 位的具有 2-3 碳原子的亚烷基，或 R^1 表示 $\text{R}^{12}\text{OOC}-1,4-$ 苯基 CH_2- ，其中 R^{12} 是 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基，或

R^1 表示 $\text{R}^{13}-\text{NH}-\text{CO}-$ 烷基，其中烷基具有 1 到 4 碳原子且可以用 1 到 4 碳原子的烷基在羰基的 α 位取代，且其中 R^{13} 是 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基或 $-\text{CH}_2\text{COOR}^{12}$ ，其中 R^{12} 定义如上述，或

R^1 表示 $\text{R}^{12}\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{OOC}-$ 烷基，其中烷基具有 1 到 4 碳原子，且可以用具有 1 到 4 碳原子的烷基在 α 位取代的羰基，且其中 R^{12} 定义如上述，或

R^1 表示 CH_3SO_2- ，或

R^1 表示 $\text{R}^{12}\text{OCOCO}-$ 其中 R^{12} 如上述定义，或

R^1 表示 $-\text{CH}_2\text{PO}(\text{OR}^{14})_2$ ， $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 或 $\text{CH}_2-(5-(1\text{H})-\text{四唑})$ ，其中 R^{14} 是，分别在每次出次 H，甲基或乙基； R^2 表示 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基或 $\text{R}^{21}\text{OOC}-$ 烷基，其中烷基具有 1 到 4 碳原子且可以在羰基的 α 位取代，且 α 取代基是 $\text{R}^{22}-(\text{CH}_2)_p-$ 基，其中 $p=0-2$ 且 R^{22} 是甲基，苯基，OH， COOR^{21} ，且 R^{21} 是 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基；

m 是 0，1 或 2， R_3 表环己基且 R_4 表示 H，或

m 是 1 且 R^3 表示环己基或苯基，且 R^4 与 R^1 一起形成亚乙基桥，

或

m 是 1 且 R^3 和 R^4 分别表示环己基或苯基；

R^5 表示 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基；

n 是 2 到 6 的整数；且

B 表示 $-N(R^6)-C(NH)-NH_2$ ，其中 R^6 是 H 或甲基，

或

B 表示 $-S-(CNH)-NH_2$ ，或 $-C(NH)-NH_2$ ，

或者是上述化合物或是其生理上可接受盐形式以及其包括的立异构体，

2、根据权利要求 1 的化合物，其中 R^1 表示 $R^{11}-OOC-$ 烷基-，其中烷基基团具有 1 到 4 碳原子，且 R^{11} 是 H。

3、根据权利要求 2 的化合物，其中 A 是亚乙基且 R^5 是 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基。

4、根据权利要求 2 的化合物，其中 A 是 n -亚丙基且所得的 6-元环在 4 位可以带或不带有 1 到 4 碳原子的烷基，且 R^5 是 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基。

5、根据前述一个或多个权利要求的化合物，其中 R^3 是环己基， m 是 1，2 和 R^4 是 H。

6、根据前述一个或多个权利要求的化合物，其中 n 是 3。

7、根据前述一个或多个权利要求的化合物，具有在 P_2 位 α -氨基酸上具有 S-构象。

8、根据权利要求 7 的化合物，其中在 P_3 位的 α -氨基酸具有 R-构象。

9、选自下述的化合物

$\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $\text{Me}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $\text{HO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $^i\text{PrOOC-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $\text{HOOC}-(\text{R}, \text{S})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm/a}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(^n\text{Pr})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm/a}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(^n\text{Pr})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm/b}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm/b}$
 $\text{HOOC}-(\text{R}, \text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm/a}$
 $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $\text{EtOOC-CO}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $(\text{R}, \text{S})\text{Bla}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm/b}$
 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $^n\text{Bu}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{EtOOC-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $^i\text{PrOOC-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $^t\text{BuOOC-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-CH}_2\text{-OOC-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{H}_2\text{N-CO-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $(\text{HOOC-CH}_2)_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-CH}_2-(n\text{Bu})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-(\text{R}, \text{S})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag/a}$
 $\text{EtOOC}-(\text{R}, \text{S})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(^n\text{Pr})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag/a}$
 $\text{HOOC}-(\text{R})\text{CH}(\text{CH}_2\text{-OH})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$

$\text{HOOC}-(R, S)\text{CH}(\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-(S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-(R)\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{EtOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{EtOOC}-(\text{CH}_2)_3-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CO}-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{MeOOC}-\text{CO}-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $(R, S)\text{Bla}-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-(R, S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{COOH})-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{MeOOC}-(R, S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{COOMe})-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{Ph-4-CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{EtO}(\text{HO})\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Mag}$
 $\text{H}-(R, S)\text{Pro}(3-\text{Ph})-\text{Pro-Agm}$
 $\text{H}-(R, S)\text{Pro}(3-(\text{trans})\text{Ch})-\text{Pro-Agm}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(R, S)\text{Pro}(3-(\text{trans})\text{Ph})-\text{Pro-Agm}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(R, S)\text{Pro}(3-(\text{trans})\text{Ph})-\text{Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{Me})(R)\text{Cha}-(R, S)\text{Pic-Agm}$
 $\text{HOOC}-(R, S)\text{CH}(\text{Me})-(R)\text{Cha-Pic-Agm}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(R)\text{Cha-Pic-Agm/a}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pic-Agm}$
 $\text{H}-(R)\text{Cha-Pic-Nag}$
 $\text{Me}-(R)\text{Cha}-(R, S)\text{Pic-Nag}$
 $\text{MeOOC}-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pic-Nag}$
 $^i\text{PrOOC}-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pic-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{Me})(R)\text{Cha}-(\text{RorS})\text{Pic-Nag/b}$
 $\text{HOOC}-(R, S)\text{CH}(\text{Me})-(R)\text{Cha}-(R, S)\text{Pic-Nag}$

$\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-(\text{RorS})\text{Pic-Nag/c}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pic-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-(\text{R,S})\text{Mor-Agm}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-(\text{RorS})\text{Mor-Nag}$
 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Aze-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Aze-Nag}$
 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro}(5-(\text{S})\text{Me})-\text{Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-(\text{RorS})\text{Pic}(4,5\text{-dehydro})-\text{Nag/b}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-(\text{R})\text{Pic}(4-(\text{R})\text{Me})-\text{Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cgl-Pic-Nag}$
 $\text{H}-(\text{R})\text{Hoc-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Hoc-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Hoc-Pic-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Dph-Pic-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Dch-Pic-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro}(5-(\text{R,S})\text{Me})-\text{Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pic}(4-(\text{R})\text{Me})-\text{Nag}$
 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pic}(4-(\text{R})\text{Me})-\text{Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pic}(6-(\text{S})\text{Me})-\text{Nag}$

或是上述化合物或是其生理上可接受的盐和其包括的立体异构体。

10、选自下述的化合物

$\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{Me})(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm/b}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pic-Agm}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha-Pic-Agm/b}$
 $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-(\text{RorS})\text{Pic-Nag/d}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro}(5-(\text{S})\text{Me})-\text{Nag}$
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pic}(4-(\text{S})\text{Me})-\text{Nag}$

或是其生理上适合的盐和其包括的立体异构体。

1 1、化合物 $\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-Pro-Nag}$ 本身或者是其生理上适合的盐和其包括的立体异构体。

1 2、化合物 $\text{HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/b}$ 本身或者是生理上适合的盐和其包括的立体异构体。

1 3、化合物 $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag}$ 本身或是其生理上适合的盐和其包括的立体异构体。

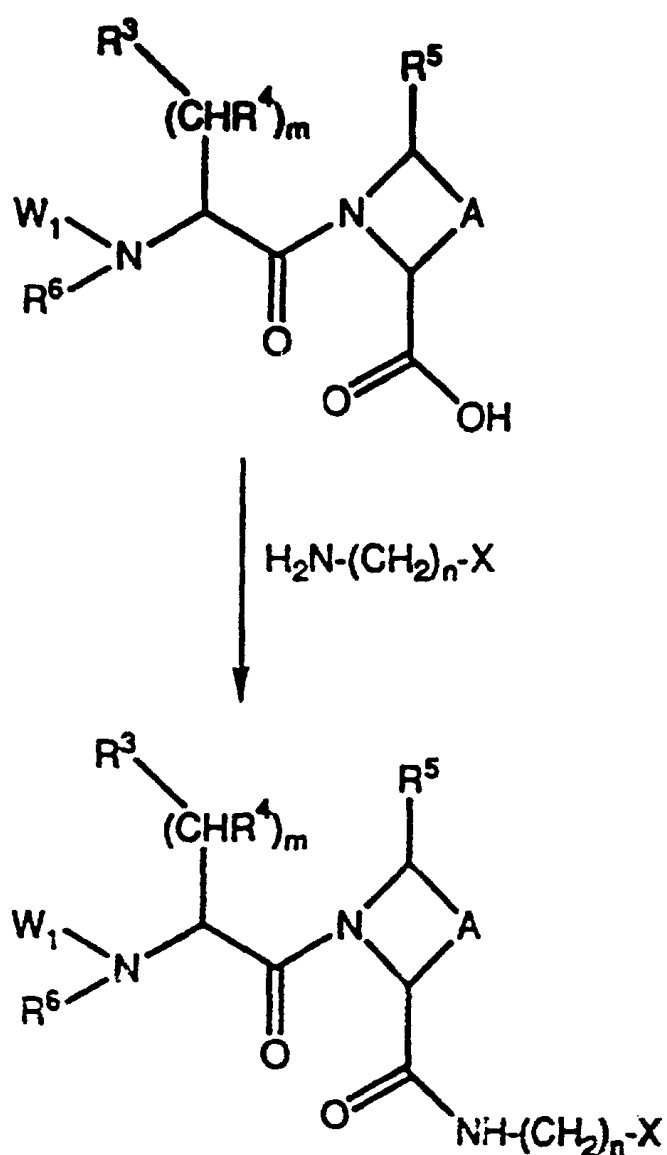
1 4、制备权利要求 1 - 1 3 任一化合物的方法，该方法包括将 N - 末端保护的氨基酸或二肽，或预先形成的 N - 末端烷基化的被保护的二肽与下式化合物相连接



其中 n 是 2 到 6 的整数且 X 是未保护或被保护的氨基或保护的氨基，或可以转化成氨基的基团，其中的氨基随后可以转化成氨基，且如果需要，形成生理上适合的盐，且在有情况下其中所得反应物是立体异构体的混合物，如果需要分离单个的立体异构体，可任意地通过常规色谱或重结晶技术分离。

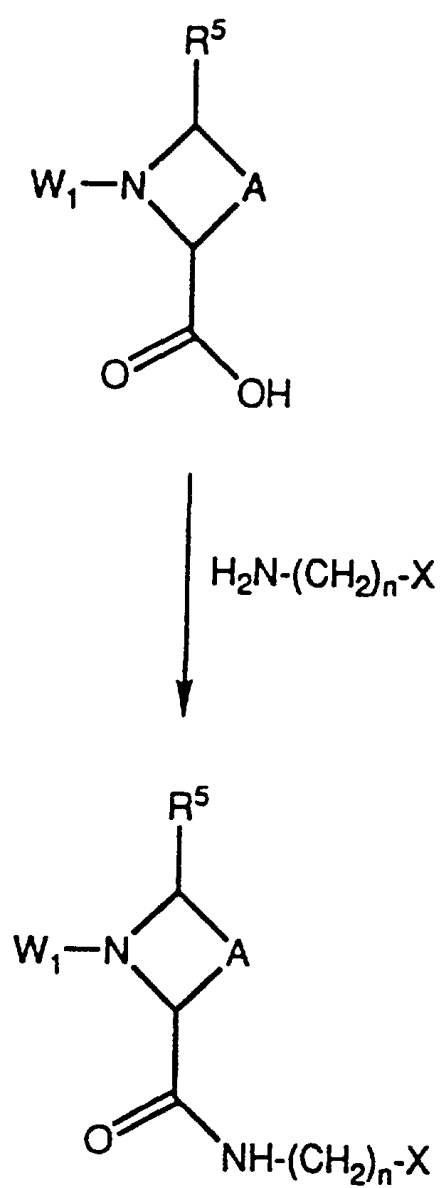
1 5、根据权利要求 1 4 的方法制备权利要求 1 - 1 3 任一权利要求中化合物的方法，其方法包括：

a) (方法 I) 两者任一的保护或不保护氨基羧或在烷基的末端带有保护和掩蔽氨基的直链烷基胺和 N - 末端保护的二肽相连接，采用如下式所示的常规的肽连接方法：



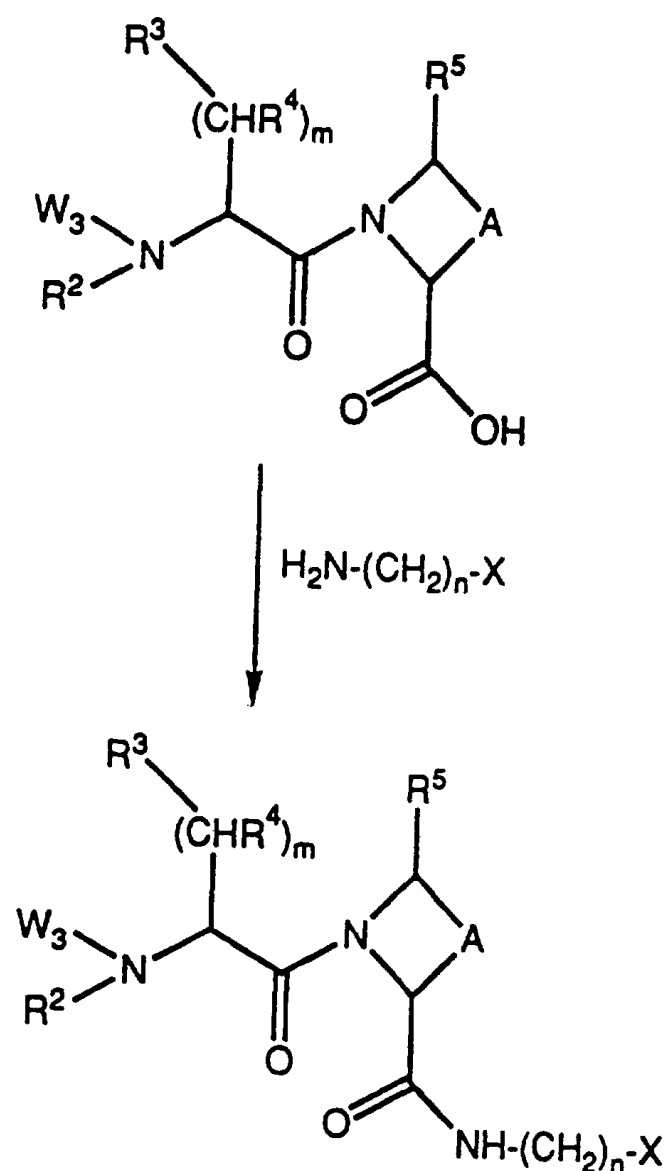
其中 R^3 , R^4 , R^5 , n , m 和 A 如式 I 中定义 2, R^6 是 H 或烷基, W_1 是氨基保护基, 如叔丁氧羰基和苯甲氧羰基且 X 是 $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2$ ' $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-W_2$ ' $-\text{N}(W_2)-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-W_2$ ' $-\text{NH}-\text{C}(\text{NW}_2)$ ' $-\text{NH}W_2$ 或 $-\text{NH}-W_2$ ' 其中 W_2 是氨基保护基, 如叔丁氧羰基或苯甲氧羰基, 或 X 是蔽掩的氨基如叠氮化合物, 得到保护的肽, 或

b) (方法 II) 连接 N - 末端保护的氨基酸, 和两者择一的保护或未保护氨基酐或在烷基末端带有保护或掩蔽氨基的直链烷基胺, 采用如下式的常规的肽连接方法:



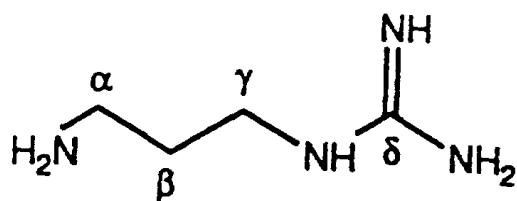
其中 W_1 , A , R^5 和 X 如上述定义, 接着将 W_1 - 基去保护并连接保护形式的 N - 末端氨基酸, 或

c) (方法 III) 采用常规的肽连接方法连接预先形成的 N - 末端烷基化和保护的二肽, 和两者择一的保护或未保护氨基脒或在烷基链末端带有保护或掩蔽氨基的直链烷基胺, 采用如下式所述的常规的肽连接方法



其中 R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , n , m , A 和 X 如上述定义, 除了 R^2 不是 H 且 W_3 是如三氟乙酰基的酰基保护基, 上述最终的化合物, 以下述任一的方法制备, 依赖于采用的原来的 X -基: 除去保护基 (当 $X = -NH-C(NH)NH_2$, $NH-C(NH)NH-W_2$, $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$, $-NH-C(NW_2)NH-W_2$) 或选择性地去保护 W_1 -基 (例如当 $X = -NH-C(NH)NH-W_2$, $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$, $-NH-C(NW_2)NH-W_2$, 在这种情况下 W_2 必须正交于 W_1) 接着将 N -末端氮烷基化并将末端烷基氨基功能团去保护或选择性地去保护/去掩蔽 ($X = NH-W_2$, W_2 在这种情况下必须分别和 W_1 和 W_3 正交, 或 $X =$ 掩蔽的氨基基团, 如叠氮化物) 接着采用常规的方法, 游离胺进行酰化反应, 并分别使 W_1 -或 W_3 -基团去保护, 且如果需要可形成生理上适合的盐, 且在一些情况下所得反应物是立体异构体的混合物, 如果需要分离的单个异构体可任意地采用常规的色谱或重结晶技术分离。

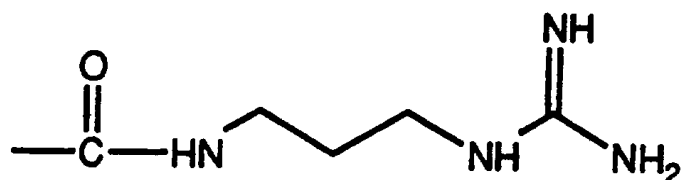
16、下式化合物的应用:



或是以上述化合物或是以其盐形式, 或是上述化合物或是具有两者择一的在 δ -氮上单保护或在 δ -氮或在 γ , δ -氮双保护的羰基基团的化合物, 可以作为合成丝氨酸蛋白酶的抑制剂的起始物, 且特别是作为合成凝血酶抑制剂的起始物。

17、根据权利要求16的用途, 其中的丝氨酸蛋白酶抑制剂是肽化合物。

1 8、下式结构的片断



作为药用活性的化合物结构单元。

1 9、根据权利要求 1 8 的结构片断，其中药用活性化合物是肽化合物。

2 0、根据权利要求 1 - 1 3 任一权利要求中的化合物用于医疗。

2 1、根据权利要求 2 0 的化合物用于抗凝血剂或抗血栓形成剂。

2 2、药用制剂，其包括有效量的如权利要求 1 - 1 3 概括的化合物与一或多种药用载体相结合。

2 3、根据权利要求 2 2 的药用制剂，用作抗凝血剂或抗血栓形成剂。

2 4、根据权利要求 1 - 1 3 的化合物用作制造抑制人体或动物有机体凝血酶抑制剂的药用制剂的有效成份的用途。

2 5、获得需要抑制凝血酶的人体或动物有机体的凝血酶抑制的方法，包括对所述的有机体给予有效量的任何权利要求 1 - 1 3 中的化合物。

2 6、预防和治疗人体或动物有机体血液和组织中血栓形成和过凝固状态的方法，包括对需要上述治疗或预防的宿主，给予有效量的任何权利要求 1 - 1 3 的化合物。

2 7、权利要求 1 - 2 6 和实际上描述的化合物，合成方法，药、用制备物，用途和方法。

新的肽衍生物

本发明涉及凝血酶的新的竞争性抑制剂，它们的合成，含有这些化合物作为活性成分的药用组合物，以及应用这些化合物作为抗凝血剂以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，特别如心肌梗塞和脑血栓，通常的过凝固状态和局部凝固状态，例如，成血管细胞和冠状旁通手术后的状态。

本发明还涉及这些化合物用作合成丝氨酸蛋白酶抑制剂起始物的新用途。本发明进一步涉及丝氨酸蛋白酶中的新的结构片断。

血液凝固是包括在止血（即：防止从损坏血管中失血）和血栓形成（即：通过血块使血管病理性的闭塞）中的关键过程。血液凝固是一系列复杂酶反应的结果，其中之一的最后步骤是前凝血酶原转化成活性的凝血酶。

凝血酶在血液凝固中扮演重要角色。它激活血小板，它把血纤维蛋白原转化成血纤维蛋白单体，该单体自发聚合成丝，且它激活XIII因子，该因子依次联接不溶的血纤维单体和聚合物，凝血酶进一步激活在正反馈反应中的V因子和VIII因子。因此期望凝血酶抑制剂通过抑制血小板，血纤维蛋白单体的形成和血纤维蛋白的固定成为有效的抗凝血剂。通过抑制正反馈机制，期望可选择地早期抑制导致血液凝固和血栓形成的链过程。

Blomback 等人在 J. Clin. Lab. Invest 24, 增刊 107, 59, (1969) 中首先报导了基于环绕血纤维蛋白原 A α 链分裂点的氨基酸序列的凝血酶抑制剂。他提出 Phe-Val-Avg 序列 (P9-P2-P1, 本文

中参见 P3-P2-P1 序列) 是最好的抑制剂。

在 US 4,346,078 (Richter Gedeon Vegyeszeti Gyar R T, 优先权日1980, 10, 7) 和 S. Bajusz 等人的Peptides 1983, Walter de Gruyter & Co, Berlin, pp 643 - 647中, 描述了凝血酶抑制剂 H-DPhe-Pro-Arg, 一种在 P₁ - 位在氨基烷基羧的二肽基衍生物。

S. Bajusz 等人还在 J. Med. Chem. 1990, 33, 1729-1735中和在 EP-A2 -0,185,390 (Richter Gedeon Vegyeszeti Gyar R T) (优先权日 84,12,21)中报道了用精氨酸醛取代缬氨酸提供了一种具有非常高效力的凝血酶抑制剂。

据推断这些凝血酶抑制剂活性增加的原因, 可能是由于醛与 Ser-OH在酶活性位点形成半缩醛的相互作用。可以想到的, 在二肽衍生物 H-DPhe-Pro-Arg 中, 由于它不具有在 P₁ - 位带有羧基的氨基酸衍生物, 所以不具有相同类型的相互作用。

在凝血酶抑制剂领域的其它工作中, 基于用亲电性酮代替在 P₁ - 位醛的丝氨酸蛋白酶的抑制剂包括在下述:

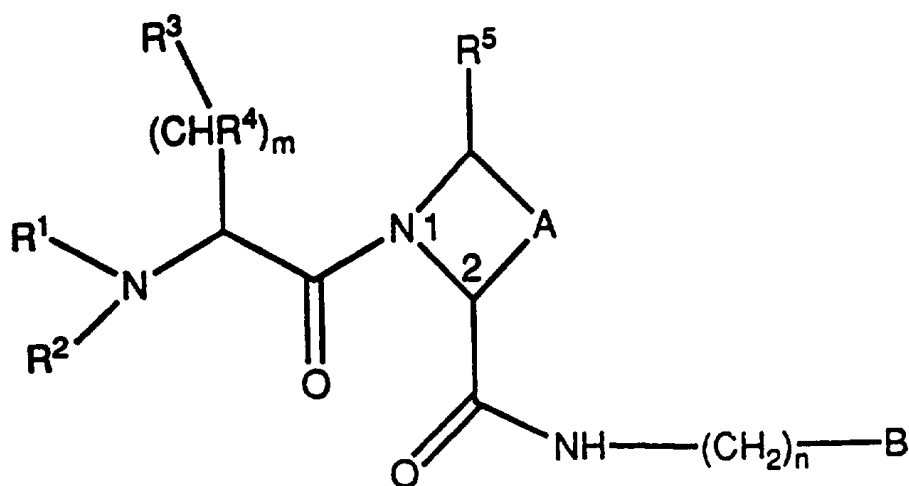
E.N. Shaw 等人 (研究公司) US-4,318,904 (优先权日80.4.25) 描述了氯-甲基酮类的肽, 例如: H-Dphe-Pro-Arg-CH₂ Cl。

M. Szelke 和 D.M. Jones 在 EP-A1 -0, 118,280 (优先权日 83.3.4) 中描述了衍生于血纤维蛋白源 A₂ 链的 P₃ - P₂' 戊肽序列的化合物, 其中裂开的 P₁ - P₁' 肽键被 -CO-CH₂ - 部分取代, 形成相应肽的酮电子等排物。

M. Kolb 等人 (Merrell-Dow) EP-A2 -0,195,212 (优先权日 85.2.4) 描述了 α 酮肽基酯和酰胺。

B.Imperiali 和 R.H. Abeles, Biochemistry 1986.25. 3760描

根据本发明已经发现通式 I 的化合物本身或生理适合盐的形式, 包括立体异构体, 是有效的凝血酶抑制剂。



式 I

其中：

A 表示亚甲基，或

A 表示亚乙基且所得 5 - 元环可以带或不带有一或二个氟原子, 在 4 位的羟基或桥氧基, 或可以是或可以不是不饱和的, 或

A 表示 $-\text{CH}_2-\text{O}-$, $-\text{CH}_2-\text{S}-$, $-\text{CH}_2-\text{SO}-$, 其中杂原子官能团在 4 位, 或

A 表示 n - 亚丙基且所得的 6 - 元环可以或不可以在 5 位带有一个氟原子, 羟基或桥氧基, 或在 4 或 5 位之一带有两个氟原子或在 4 位和 5 位是不饱和的, 或在 4 位带有 1 到 4 碳原子的烷基基团, 或

A 代表 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$, -

$$\text{CH}_2 - \text{SO} - \text{CH}_2 - ;$$

R^1 代表 H, 具有 1 到 4 个碳原子的烷基, 具有 2 - 3 个碳原子的羧烷基或 $R^{11}OOC-$ 烷基-, 其中烷基具有 1 到 4 个碳原子且 R^{11} 是 H 或具有 1 到 4 个碳原子的烷基或具有 2 - 3 个碳原子的亚烷基, 其分子内键连于 R^1 中烷基的 α 位, 或

R^1 表示 $R^{12}OOC-$ 1, 4-苯基- CH_2- , 其中 R^{12} 是 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基, 或

R^1 表示 $R^{13}-NH-CO-$ 烷基-, 其中烷基具有 1 到 4 碳原子且可以用 1 到 4 碳原子的烷基在羰基 α 位取代且其中 R^{13} 是 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基或 $-CH_2COOR^{12}$ 其中 R^{12} 如上述定义, 或

R^1 表示 $R^{12}OOC-CH_2-OOC-$ 烷基, 其中烷基具有 1 到 4 个碳原子且可以用 1 到 4 个碳原子的烷基在烷基的 α 位取代, 且其中 R^{12} 如上述定义, 或

R^1 表示 CH_3 , SO_2 —, 或

R^1 表示 $R^{12}OCCO-$ 其中 R^{12} 如上述定义, 或

R^1 表示 $-CH_2PO(OR^{14})_2$, $-CH_2SO_3H$ 或 $-CH_2-(5(1H)-四唑基)$ 其中 R^{14} 是, 单独的每次出现, H, 甲基或乙基;

R^2 表示 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基或 $R^{21}OOC-$ 烷基, 其中烷基具有 1 到 4 碳原子且可以在烷基的 α 位被取代, 且 α 取代基是 $R^{22}-(CH_2)_P-$, 其中 $P=0-2$ 且 R^{22} 是甲基, 苯基, OH, $COOR^{21}$, 且 R^{21} 是 H 或具有 1 到 4 碳原子的烷基;

III 是 0、1 或 2, R^3 表示环己基且 R^4 表示 H, 或

■是1且 R^3 表示环己基或苯基和且 R^4 与 R^1 一起形成亚乙基桥，或

■是1中 R^3 和 R^4 各自表示环己基或苯基基团，

R^5 表示H或具有1到4碳原子的烷基；

n 是2到6的整数；且

B表示 $-N(R^6)-C(NH)-NH_2$ ，其中 R^6 是H或甲基基团，或

B表示 $-S-C(NH)-NH_2$ ，或 $-C(NH)-NH_2$ ，

除非另外具有指明，烷基表示直链或支链烷基，具有1到4碳原子的烷基基团是甲基，乙基， n -丙基， i -丙基， n -丁基， i -丁基， s -丁基和 t -丁基。不饱和意指碳碳双键，缩写例示于本说明书的后面。

根据本发明优选的方面涉及式I的化合物，其中 R^1 表示 $R^{11}OOC-$ 烷基-，其中烷基具有1到4碳原子且 R^{11} 是氢。在这些化合物中，其中A是亚乙基且 R^5 是H或具有1到4碳原子的烷基，特别是那些 R^5 是H的化合物是优选的。

在式I化合物中，其中 R^3 是环己基， m 是1或2，特别的 m 是1且 R^4 是H结构的化合物是另一个优选的亚类。

其它的优选的化合物组是其中A是 n -亚丙基且所得6-元环可以在或可以不在4位带有1到4个碳原子的烷基，和 R^5 是H或具有1到4碳原子的烷基，特别是那些其中 R^5 是H的化合物。

根据本发明另一优选的方面是 n 是3的化合物。

在 α -氨基酸 P_2 -位具有S-构型的式I化合物是优选的化合物，在 α -氨基酸 P_3 位还具有R-构型的那

些化合物是特别优选的化合物。

本发明的优选化合物是：

<u>实施例序号</u>	<u>化合物</u>
1	H - (R) Cha-Pro-Agm
2	Me - (R) Cha-Pro-Agm
3	HO - (CH ₂) ₃ - (R) Cha-Pro-Agm
4	HOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pro-Agm
5	ⁱ PrOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pro-Agm
6	HOOC-CH ₂ - (Me) (R) Cha-Pro-Agm
7	HOOC - (R, S) CH (Me) - (R) Cha-Pro-Agm
8	HOOC - (RorS) CH (Me) - (R) Cha-Pro-Agm/a
9	HOOC - (RorS) CH (Me) - (R) Cha-Pro-Agm/b
10	HOOC - (RorS) CH (ⁿ Pr) - (R) Cha-Pro-Agm/a
11	HOOC - (RorS) CH (ⁿ Pr) - (R) Cha-Pro-Agm/b
12	HOOC - (RorS) CH (Ph) - (R) Cha-Pro-Agm/b
13	HOOC - (R, S) CH (CH ₂ CH ₂ Ph) - (R) Cha-Pro-Agm
14	HOOC - (RorS) CH (CH ₂ CH ₂ Ph) - (R) Cha-Pro-Agm/a
15	HOOC-CH ₂ -CH ₂ - (R) Cha-Pro-Agm
16	EtOOC-CO- (R) Cha-Pro-Agm
17	(R, S) Bla - (R) Cha-Pro-Agm
18	HOOC - (RorS) CH (CH ₂ CH ₂ Ph) - (R) Cha-Pro-Agm/b
19	H - (R) Cha-Pro-Nag
20	ⁿ Bu - (R) Cha-Pro-Nag
21	HO - (CH ₂) ₃ - (R) Cha-Pro-Nag
22	HOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pro-Nag
23	EtOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pro-Nag
24	ⁿ PrOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pro-Nag
25	^t BuOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pro-Nag
26	HOOC-CH ₂ -OOC-CH ₂ - (R) Cha-Pro-Nag
27	H ₂ N-CO-CH ₂ - (R) Cha-Pro-Nag
28	HOOC-CH ₂ -NH-CO-CH ₂ - (R) Cha-Pro-Nag
29	(HOOC-CH ₂) ₂ - (R) Cha-Pro-Nag
30	HOOC-CH ₂ - (Me) (R) Cha-Pro-Nag

31	HOOC-CH ₂ -(nBu) (R) Cha-Pro-Nag
32	HOOC-(R, S) CH(Me) - (R) Cha-Pro-Nag
33	HOOC-(RorS) CH(Me) - (R) Cha-Pro-Nag/a
34	HOOC-(RorS) CH(Me) - (R) Cha-Pro-Nag/b
35	EtOOC-(R, S) CH(Me) - (R) Cha-Pro-Nag
36	HOOC-(RorS) CH(ⁿ Pr) - (R) Cha-Pro-Nag/a
37	HOOC-(R) CH(CH ₂ -OH) - (R) Cha-Pro-Nag
38	HOOC-(R, S) CH(Ph) - (R) Cha-Pro-Nag
39	HOOC-(S) CH(CH ₂ CH ₂ Ph) - (R) Cha-Pro-Nag
40	HOOC-(R) CH(CH ₂ CH ₂ Ph) - (R) Cha-Pro-Nag
41	HOOC-CH ₂ -CH ₂ -(R) Cha-Pro-Nag
42	EtOOC-CH ₂ -CH ₂ -(R) Cha-Pro-Nag
43	HOOC-(CH ₂) ₃ -(R) Cha-Pro-Nag
44	EtOOC-(CH ₂) ₃ -(R) Cha-Pro-Nag
45	HOOC-CO-(R) Cha-Pro-Nag
46	MeOOC-CO-(R) Cha-Pro-Nag
47	(R, S) Bla-(R) Cha-Pro-Nag
48	HOOC-(R, S) CH(CH ₂ COOH) - (R) Cha-Pro-Nag
49	MeOOC-(R, S) CH(CH ₂ COOMe) - (R) Cha-Pro-Nag
50	HOOC-Ph-4-CH ₂ -(R) Cha-Pro-Nag
51	(HO) ₂ P(O)-CH ₂ -(R) Cha-Pro-Nag
52	EtO(HO)P(O)-CH ₂ -(R) Cha-Pro-Nag
53	(EtO) ₂ P(O)-CH ₂ -(R) Cha-Pro-Nag
54	HOOC-CH ₂ -(R) Cha-Pro-Mag
55	H-(R, S) Pro(3-Ph)-Pro-Agm
56	H-(R, S) Pro(3-(trans)Ch)-Pro-Agm
57	HOOC-CH ₂ -(R, S) Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Agm
58	HOOC-CH ₂ -(R, S) Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Nag
59	HOOC-CH ₂ -(R) Cha-Pic-Agm
60	HOOC-CH ₂ -(Me) (R) Cha-(R, S) Pic-Agm
61	HOOC-(R, S) CH(Me) - (R) Cha-Pic-Agm
62	HOOC-(RorS) CH(Me) - (R) Cha-Pic-Agm/a
63	HOOC-(RorS) CH(Me) - (R) Cha-Pic-Agm/b
64	HOOC-CH ₂ -CH ₂ -(R) Cha-Pic-Agm

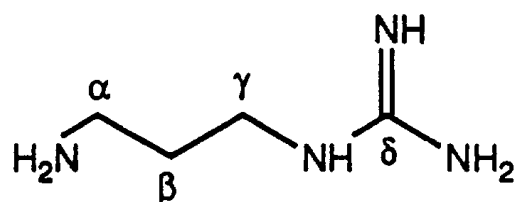
65	H- (R) Cha-Pic-Nag
66	Me- (R) Cha- (R, S) Pic-Nag
67	HOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pic-Nag
68	MeOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pic-Nag
69	ⁱ PrOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pic-Nag
70	HOOC-CH ₂ - (Me) (R) Cha- (RorS) Pic-Nag/b
71	HOOC- (R, S) CH (Me) - (R) Cha- (R, S) Pic-Nag
72	HOOC- (RorS) CH (Me) - (R) Cha- (RorS) Pic-Nag/c
73	HOOC- (RorS) CH (Me) - (R) Cha- (RorS) Pic-Nag/d
74	HOQC-CH ₂ -CH ₂ - (R) Cha-Pic-Nag
75	HOOC-CH ₂ - (R) Cha- (R, S) Mor-Agm
76	HOOC-CH ₂ - (R) Cha- (RorS) Mor-Nag
77	H- (R) Cha-Aze-Nag
78	HOOC-CH ₂ - (R) Cha-Aze-Nag
79	H- (R) Cha-Pro (5- (S) Me) -Nag
80	HOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pro (5- (S) Me) -Nag
81	HOOC-CH ₂ - (R) Cha- (RorS) Pic (4, 5-dehydro) -Nag/b
82	HOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pic (4- (S) Me) -Nag
83	HOOC-CH ₂ - (R) Cha- (R) Pic (4- (R) Me) -Nag
84	HOOC-CH ₂ - (R) Cgl-Pic-Nag
85	H- (R) Hoc-Pro-Nag
86	HOOC-CH ₂ - (R) Hoc-Pro-Nag
87	HOOC-CH ₂ - (R) Hoc-Pic-Nag
88	HOOC-CH ₂ - (R) Dph-Pic-Nag
89	HOOC-CH ₂ - (R) Dch-Pic-Nag
90	HOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pro (5- (R, S) Me) -Nag
91	H- (R) Cha-Pic (4- (R) Me) -Nag
92	HOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pic (4- (R) Me) -Nag
93	HOOC-CH ₂ - (R) Cha-Pic (6- (S) Me) -Nag

在这些化合物中，实例例序号为 4, 6, 9, 22, 30, 34, 59, 63, 67, 73, 80 和 82 的化合物特别优选，且下述的化合物最优选：

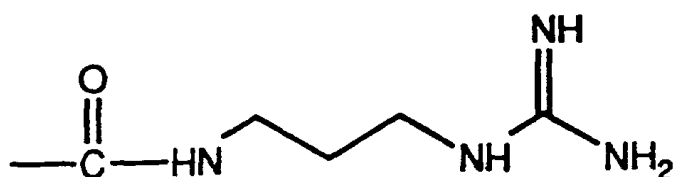
30	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{Me}) (\text{R}) \text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
34	$\text{HOOC}-(\text{RorS}) \text{CH}(\text{Me})-(\text{R}) \text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}/\text{b}$
67	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R}) \text{Cha}-\text{Pic}-\text{Nag}$

在上述化合物表中，字母 / a, / b, / c 和 / d 意味着在表示“R或S”的碳原子上实质上是纯的立体异构体。每个化合物立体异构体的鉴别可以参见本文的实验部分。“R, S”表示立体异构体的混合物。

在本发明进一步的方面涉及将下式化合物



作为合成丝氨酸蛋白酶抑制剂，且特别是合成凝血酶抑制剂的起始物的新的用途。上式化合物可以如上述应用或两者择一的在羧基上具有在 δ 氮上的单保护基或在 δ -氮上或 γ , δ -氮上的双保护基，优选的保护基如苯甲氧羰基。去甲羧基丁胺衍生物的保护通过现有技术中保护羧基化合物的已知方法进行。本文中该化合物命名为“去甲羧基丁胺”或“N a g”。除此之外，该化合物曾经在 GB 1,599,324 (Henkel, 优先权日 1977.2.5.) 中，公开用作头发漂白加速剂。可是下式的结构片断



不曾在先公开用作药用活性化合物的结构单元。

作为上述结构单元的“去甲胍基丁胺”片断表现为丝氨酸蛋白酶抑制剂，且特别是有价值的凝血酶抑制剂。

医疗和制药上的用途

本发明进一步的方面涉及治疗人体或动物有机体需要抑制凝血酶的症状。本发明化合物特别期望用于动物，包括人治疗或预防在血液和组织中的血栓和过凝固状态。其进一步地期望用于没有凝固状态信号时，不需要的过量凝血酶状况。在治疗和/和或预防疾病状态时，本化合物具有用途，这些症状包括静脉血栓形成和肺栓塞，动脉血栓，如心肌梗塞，不稳定绞痛，中风引起的血栓形成和外周动脉血栓。进一步的，本化合物期望用于预防动脉粥样硬化症如冠心病，脑动脉疾病和外周动脉疾病，进一步的，本化合物期望在血栓形成疾病中与血栓溶解物一起应用，特别是在心肌梗塞中。进一步的，本化合物期望用于预防血栓形成。经皮的转移鲁米那血管病（PTCA）和冠状旁通手术后的再闭塞，进一步的，本化合物期望用于预防显微外科后的再血栓形成，进一步的，本化合物期望用于人造器定和贲门瓣连接的抗血凝剂的处理。进一步的，本化合物期望用于在血透析和散布肌内凝血的抗血凝剂处理。

进一步期望的用途是冲洗用于患者体内的导管和医疗设备，并用作抗凝血剂在体外保存血液，血浆和其它血液制品。

药用的制剂

式 I 的化合物通常通过口服，直肠，皮，鼻或肠胃外的途径，以含有活性成份的自由碱或适于药用无毒酸加成盐药用制剂的形式，在适于药用的剂量形式下给药，这些酸加成盐例如，盐酸盐，溴酸盐，乳酸盐，乙酸盐，柠檬酸盐，P-甲苯磺酸盐，三氟乙酸盐和类似物。

通过现有技术的已知方法可以制备固体，半固体或液体配方的剂量形式。通常在配方中由 0.1 到 99% 重量的活性成分组成，更具体的活性成分占 0.1 到 50% 重量的配方将用于肠胃外给药，且活性成分为 0.2 到 75% 重量的配方适于口服给药。

在对人的治疗处理中，本发明化合物每天适当的经口服给药剂量大约为 0.001 - 100 mg / kg 体重，且肠胃外给药剂量为 0.01 - 50 mg / kg 体重。

制备

本发明进一步的目的是化合物的制备方式。式 I 化合物的制备是通过 N-末端保护的氨基酸或二肽或预先形成的 N-末端烷基化保护的二肽与下式化合物连接

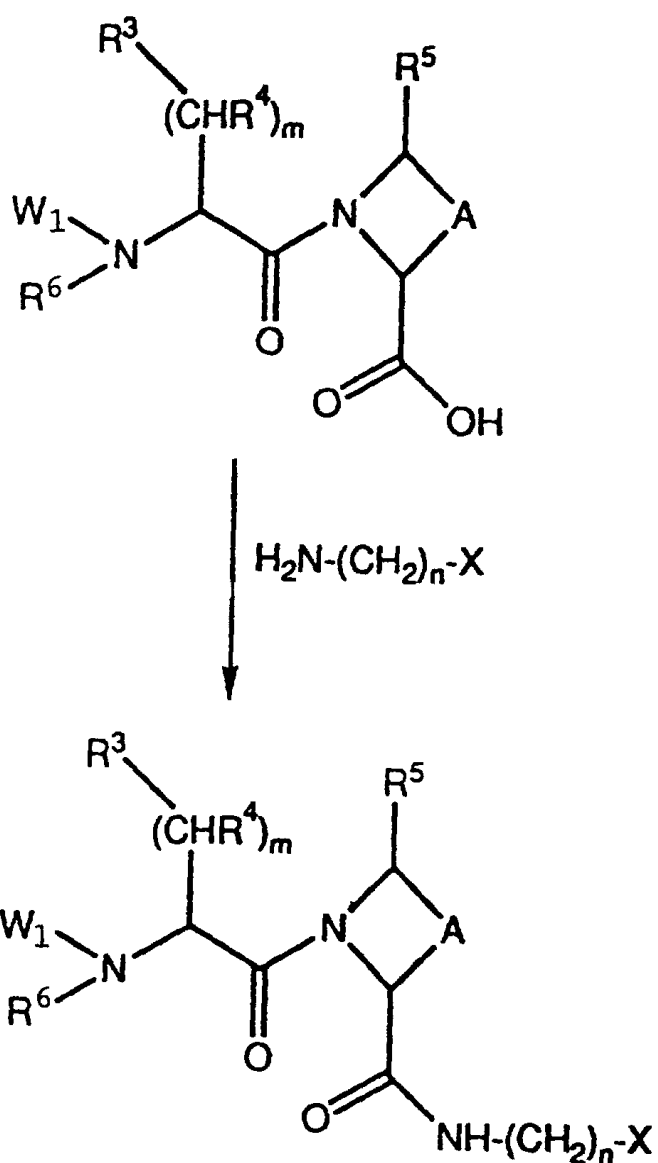


其中 n 如式 I 定义且 X 是未保护或保护的氨基或保护的氨基，或可变成氨基的基团，其中氨基随后可转移成氨基。

通过下述的方法之一进行连接

方法 I

通过常规的肽连接方法，用保护或不保护氨基胍或在烷基链的末端带有保护或掩蔽氨基的直链烷基胺制备 N-末端保护的二肽的连接物，采用的常规的肽连接方法示于下式

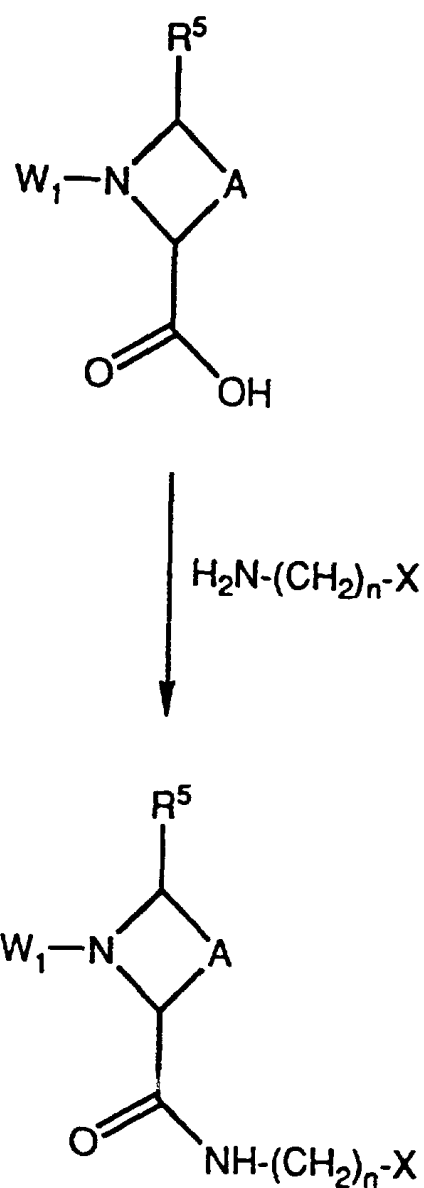


其中 R^3 , R^4 , R^5 , n , m 和 A 如式 I 定义, R^6 是 H 或烷基, W_1 是氨基保护基如叔丁氧羰基和苯甲氧羰基且 X 是 $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2$, $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-W_2$, $-\text{N}(W_2)-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-W_2$, $-\text{NH}-\text{C}(\text{NW}_2)\text{NH}-W_2$ 或 $-\text{NH}W_2$, 其 W_2 是氨基保护基如叔丁氧羰基或苯甲氧羰基, 或 X 是掩

蔽氨基如叠氮化物，以提供保护的肽。根据原来采用的 X-基团，可以且下述任何的方法制备最终化合物：除去保护基（当 $X = -NH-C(NH)NH_2$ ， $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$ ， $-NH-C(NW_2)NH-W_2$ 或 $-NH-C(NH)NH-W_2$ ）或选择性地使 W_1 -基去保护（例如当 $X = -NH-C(NH)NH-W_2$ ， $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$ ， $-NH-C(NW_2)NH-W_2$ ，在这种情况下 W_2 必须和 W_1 正交）然后通过 N-末端氮的烷基化作用和去保护或选择性地去保护/去掩蔽烷基氨基末端官能团（ $X = NH-W_2$ ，在这种情况下 W_2 必须和 W_1 正交或 $X =$ 掩蔽的氨基基团，如叠氮化物）接着采用常规的方法通过胍化反应，得到游离的胺和去保护的 W_1 -基团。

方法 II

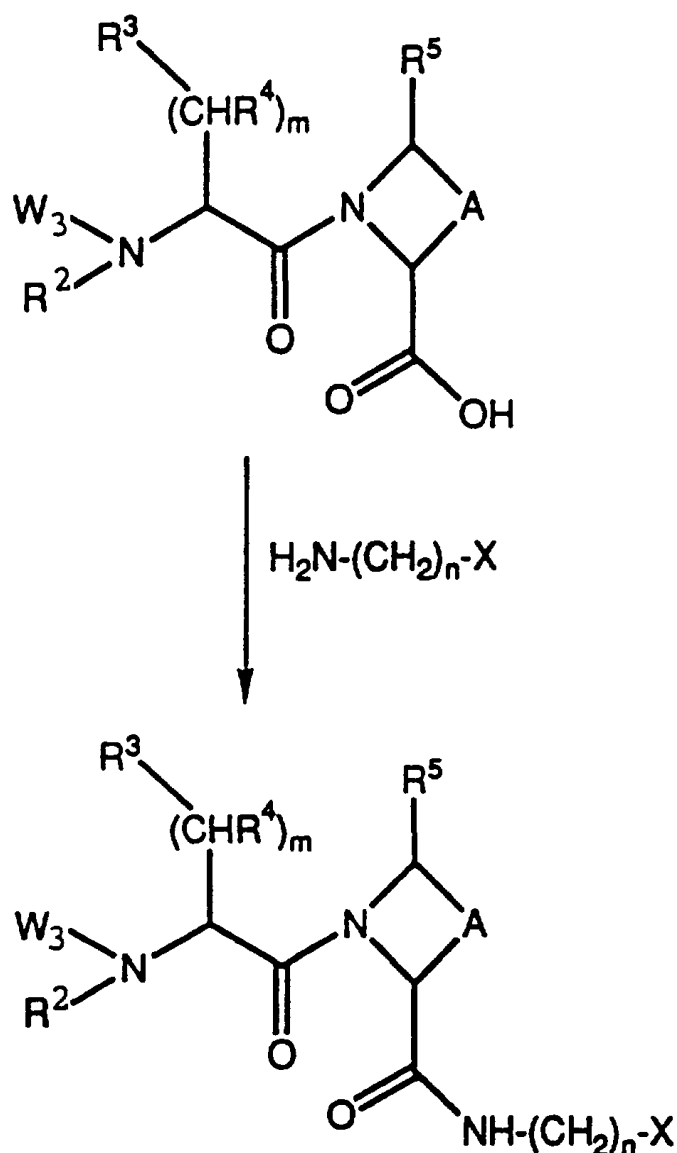
通过常规肽连接方法，用保护或不保护氨基胍或在烷基链的末端带有保护或掩蔽氨基的直链烷基胺制备 N-末端保护的氨基酸的连接物，采用的常规的肽连接方法示于下式：



其中 W_1 , A , R^5 和 X 如上述定义, 接着使 W_1 - 基团去保护并与 N - 末端的氨基酸以被保护的形式连接, 得到描述于方法 I 或 III 中的被保护的多肽, 依赖于用于连接程的 N - 末端氨基酸的氮上的选择的取代模式, 然后根据方法 I 或方法 III 继续合成得到最终的肽。

方法 III

通过常规的连接方法连接预先形成的 N-末端烷基化和被保护二肽，与保护或不保护的氨基羧或在链末端带有保护或掩蔽氨基的直链烷基胺，采用的常规的肽连接的方法示于下式：



其中 R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , n , m , A 和 X 如上述定义, 除了 R^2 不是 H 和 W_3 是酰基保护基如三氟酰基。

根据原来采用的 X -基团可以用下述的任何方法制备最终化合物保护基的去除 (当 $X = -NH-C(NH)NH_2$, $NH-C(NH)NH-W_2$, $-N(W_2)-$)-

C(NH)NH-W₂ NH-C(NW₂)NH-W₂ 或 NH-W₂), 或末端烷基氨基官能团选择性的去保护/去掩蔽 (X = NH-W₂, 在这种情况下W₂ 必须和W₃ 正交或X = 掩蔽的氨基如叠氮化物) 接着通过氟化反应将W₃ 基团去保护。

图 I 是实施例3-18,20-21,24-28,30-34,36-40,43-49, 51-53,57-64 和 67-93 的图解。

图 II 是实施例55, 56, 65 和 66 的图解。

图 III 是实施例1 和 2 的图解。

图 IV 是实施例19 的图解。

图 V 是实施例54 的图解。

图 VI 是实施例22, 23, 29, 35, 41, 42 和 50 的图解。

一般的实验方法

在 BRUKER AC-P 300 和 BRUKER AM 500 分光计上对 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 进行测定, 前者操作 ¹H 频率为 500.14 MHz 和 ¹³C 频率为 125.76 MHz 且后者 ¹H 和 ¹³C 的频率分别为 300.13 MHz 和 75.46 MHz。

10-50 mg 样品溶解于 0.6 ml 下述任一溶剂中; CDCl₃ (同位素纯度 > 99.8% Dr. Glaser AG Basel), CD₃OD (同位素纯度 > 99.95% Dr. Glaser AG Basel), 或 D₂O (同位素纯度 > 99.98% Dr. Glaser AG Basl;)。

在 CDCl₃ 和 CD₃OD 中 ¹H 和 ¹³C 的化学位移值与作为外标的四甲基甲硅烷相关。在 D₂O 中 ¹H 的化学位移与 3-(三甲基甲硅烷基)-d₄-丙酸钠盐相关且在 D₂O 中 ¹³C 的化学位移参见相关的 1, 4-二噁烷 (67.3 ppm), 对照物均作为外标, 在一些情况下会引起外标的标准与内标相比很小的区别位移, 但是, 在 ¹H 化学位移的区别小于 0.02 ppm 中且在 ¹³C 且小于 0.1 ppm。

含有脯氨酸残基的肽序列的 ¹H NMR 光谱中, 经常存在两个记录响应, 这是由于存在作用于环绕酰胺链旋转的构象, 此时脯氨酸为肽链的 N 末端。上述构象命名为顺和反。在本化合物 (R)CHa-Pro-

和-(R)Cha-Pic 序列中，由于一个构象是占优势的构象 ($> 90\%$)，时常出现顺-反平衡，在这些情况中只报道主要旋转异构体的化学位移。

在商品化的 Merck Silicagel 60F₂₅₄ 涂层的玻璃板或铝板上进行薄层色谱，用联合的 UV-光观察。接着喷布通过混合 372ml EtOH (95%)，13.8 ml 浓 H₂SO₄，4.2 ml 的浓乙酸和 10.2 ml 的 P-甲氧基苯甲醛或磷钼酸试剂 (5-10 W.T% 的 EtOH 溶液) 制备的溶液，并加热。

在 N₂ 压下，在 Merck Silicagel 60(40-63 μ m 230-400 目) 上进行闪色谱。

在 Waters M-590 仪器上进行反相高效液谱 (在实施例表示为 RPLC)，该设备上装有具有不同维的三反相 Kromail 100, C8柱 (Eka-Nobel) 用于分析，(4.6mm $\times$ 250mm)，半制备 (1" $\times$ 250mm) 和制备 (2" $\times$ 500mm) 色谱在 266nm 鉴定。

在 Leybold-Heraeus, model Lyovac GT 2, 设备上冷冻。

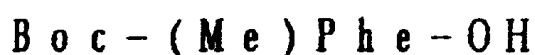
保护方法

Boc-(R)Cha-OH

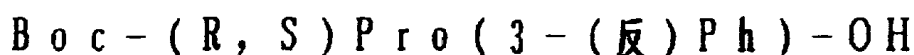
在 H-(R)Cha-OH, 21.55g(125.8 μ mol) 的 130ml 1M NaOH 和 65 ml THF 溶液中加入 30g (137.5 μ mol) 的 (Boc)₂O, 并在室温下搅拌混合物 4.5h。蒸发掉 THF 并追加 150ml 水。用 EtOAc 洗涤碱溶液相两次，然后用 2M KHSO₄ 酸化，并用 3 $\times$ 150ml EtOAc 提取。合并的有机相用水，盐水洗涤并干燥 (Na₂SO₄)。蒸发溶剂得到 30.9g (90.5%) 白色固体的标题化合物。

Z-(R)Cha-OH

采用描述于 Bodanszky M. 和 Bodanszky A “The Practice of Peptide synthesis”, Springer-Verlag 1984, p. 12, 中的相同方法, 用 H-(R)Cha-OH 作为起始物。



采用如 Me-(R)Phe-OH 的相同方法, 在 Me-(R)Phe-OH 制备。

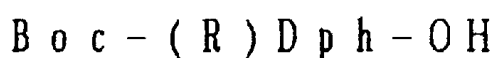


在充分搅拌的 2.0g (8.8mmol, 1 eq.) H-(R,S) Pro (3- 反) Ph) -OH X HCl (如描述于 J. Org. Chem., 55, P. 270-75, 1990和 J. Org. Chem., 39, 1710-1716, 1974 中的方法制备) 的 17.6ml 1 N NaOH, 12ml H₂O 和 12ml THF 的溶液中, 在 +5℃加入 2.33g (Boc)₂O(10.7mmol, 1.2eq.)。使反应到达室温并连续搅拌另外的 18 小时。除去有机溶剂并在残留物中加入 50 ml H₂O。用 2×50ml 的 EtOAc 洗涤碱性水相并用 2M KHSO₄ 酸化 (PH 大约1)。酸化的水相用 4 x 75 ml EtOAc 提取且合并的有机相用 1×40ml 水, 1×40ml 盐水洗涤并干燥。蒸发溶剂得到 2.0 g (78%) 的白色固体的纯产物。

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz, 两旋转异构体的混合物): δ 1.4 和 1.5 (2s, 9H), 2.0-2.1 (m, 1H), 2.3-2.4 (m, 1H), 3.45-3.88(m, 3H), 4.3 和 4.45 (2d, 1H), 7.2-7.4 (m, 5H)。



制备如上述, 起始于顺/反 H-(R, S) Pro (3-Ph) -OH 的混合物。



根据描述于 K. Hsich 等人 J. Med. Chem., 32, p. 898(1989)

的方法，从 H-(R)Dph-OH 制备。

B o c - (R) H o p - O H

采用所述的制备 B o c - (R) C h a - O H 的相同方法，从 H - (R) H o p - O H 制备。

¹ H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.45 (s, 9H), 2.00 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.75 (bt, 2H), 4.36 (bs, 1H), 5.05 (bs, 1H), 7.15-7.33 (m, 5H)。

去保护方法

(a) 被保护的肽溶于 EtOH (95%) 中并在过量的 TFA 或 HOAc (> 2 eq.) 存在下，在大气压力下用 5% Pd/c 充分氢化大约 1-4h。过滤掉催化剂，蒸发溶剂，冷冻干燥后 (H₂O) 分离出如白色粉末状的最终的肽 (TFA 或 HOAc 盐)。

(b) 除了将 EtOH/H₂O (ca : 5/1) 用作溶剂外，与 (a) 中的相同。

(c) 除了将 MeOH 用作溶剂，与 (a) 中的方法相同。

(d) 除了将 2 M HCl 用作酸得到 HCl 盐，与 (a) 中的方法相同。

(e) 酯水解，列示于下述实施例：

EtOOC-CH₂ -(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc (0.4 mmol) 溶于 1.5ml MeOH 中并在室温下加入 1.2ml (1.2mmol) 的 1M NaOH。3 h 后蒸发除去甲醇并加入过量 HOAc 到残留物中，冷冻干燥混合物并用 RPLC 纯化 (CH₃ CN/0.1M NH₄ OAc (70/30))。从水中冷冻干燥后，获得粉末纯产物，产率为 73%。

t - 丁基酯裂解，列示于下述实施例

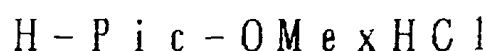
将 *t*-丁基酯溶于过量的 TFA 中。在室温下搅拌 2 h 后，蒸发 TFA。在水-乙醇中用活性炭活化处理以提纯，接着从水中冷冻干燥得到所需的化合物。

起始物的制备

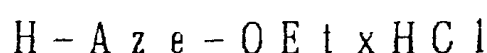


L-缬氨酸 4.0g (0.031 mmol) 在 100ml abs 乙醇中浆化，通入 HCl (g)，短暂地冒泡，直到获得澄清溶液。溶液在冰浴中冷却，用超过 15 min 的时间滴加入 17 ml 的亚硫酸氢。除去冰浴，使混合物回流 2.5 小时，除去溶剂，获得等量的产物的盐酸盐。

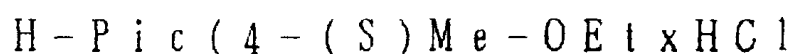
¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 1.33 (t, 3H), 1.8-2.1 (m, 5H), 2.3-2.5 (m, 1H), 3.1-3.3 (m, 1H), 3.5-3.7 (m, 1H), 4.14 (dd, 1H), 4.44 (q, 2H)。



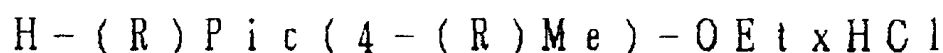
用上述的 H-PIC-OEt x HCl 的相同方式制备，用 MeOH 代替了 EtOH。



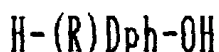
如上述 H-Pic-OEt x HCl 的相同方法，从 H-Aze-OH 制备。



如上述 H-Pic-OEt x HCl 的相同方法，从 H-Pic(4-(R)Me)-OH (从 Synthelec, Lund, Sweden 购买到) 制备。



如上述 H-PIC-OEt x HCl 的相同方法，从 H-Pic(4-(S)Me)-OH (从 Synthelec, Lund, Sweden 购买到) 制备。



通过 A. Evans 等人, 在 JACS, 112, 4011 (1990) 中提供的一般方法制备。

H-(R,S)Pic(4.5-dehydro)-OEt

将 H-(R,S)Pic(4.5-dehydro)-OH, 3.05g (18.1mmol) (根据 Burgstahler 等人, J. Org. Chem, 25, 4. p. 489-92 (1960) 的方法制备), 溶于 75ml EtOH/HCl (饱和)中, 将混合物回流5小时. 蒸发溶剂并把残留物溶于水中, 用氢氧化钠 (水溶液) 碱化并用乙酸乙酯提取三次。干燥 (Na₂SO₄), 小心蒸发得到 2.05g (71%) 的标题产物。

¹ H-NMR (CDCl₃): δ 1.28 (t, 3H), 1.88 (bs, NH) 2.2-2.4 (m, 2H), 3.45 (bs, 2H), 3.57 (dd, 1H), 4.21 (q, 2H), 5.68-5.82 (m, 2H)。

Boc-(R)Cgl-OH

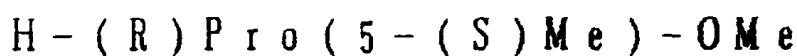
在 5 M p a 和甲醇中将 Boc-(R)Pg-OH 用 5% Rh/Al₂O₃ 充分氢化。过滤并蒸发溶剂, 得到不需要进一步提纯的标题产物。

¹ H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.9-1.7 (m, 20H), 4.0-4.2 (m, 1H) 5.2 (d, 1H)。

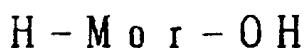
Boc-(R)Dch-OH

Boc-(R)Dph-OH, 0.75g (2.2mmol) 溶于 25ml 的 MeOH中并加入催化量的 5% Rh/Al₂O₃。将混合物在 5 M p a, 50 °C 氢化 40h, 过滤并蒸发得到 0.72g (93%) 的标题化合物。

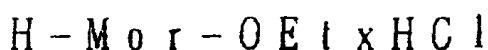
¹ H-NMR (CDCl₃): δ 0.92-2.0 (m, 32H), 它的 1.45 (bs, 9H), 4.55 (bd) 和 4.9 (bd); 两个旋光体结合的全部 1H, 5.7-6.1 (宽, NH)。



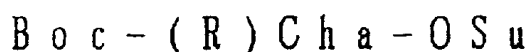
根据 B. Gopalan 等人, 在 J. Org. Chem., 51, 2405, (1986) 中提供的方法制备。



根据 K. Nakajima 等人, Bull. Chem. Soc. Jpn., 51 (5), 1577-78, 1978 和 ibid 60, 2963-2965, 1987 中的方法制备。



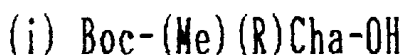
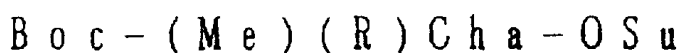
如 H-Pic-OEt x HCl 的相同方式, 从 H-Mor-OH 制备。



Boc-(R)Cha-OH (1 eq.), HOSu (1.1eq) 和 DCC 或 CME-CDI (1.1 eq) 溶于乙腈 (大约 2.5 ml/mmol 酸) 中, 并在室温下搅拌过夜。过滤掉在反应中形成的沉淀, 蒸发掉溶剂并在真空干燥产物。

(当 CME-CDI 用于反应中, 残留物在蒸发掉 CH₃CN 后, 溶于 EtOAc 中, 用水洗涤有机相并干燥。蒸发溶剂得到标题化合物)。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 2 旋光异构体约: 1:1 比例) δ 0.85-1.1 (m, 2H), 1.1-1.48 (m, 4H), 1.5-1.98 (m, 16H; 它的 1.55 (bs, 9H), 2.82 (bs, 4H), 4.72 (bs, 1H 较多的旋光异构体), 4.85 (bs, 1H, 较少的)。



11.9g (42.6mmol) Boc-(Me)(R)Phe-OH 150ml 在 MeOH 中的溶液, 在 0.28Mpa 用 5% Rh/Al₂O₃ 充分氢化 24 h。过滤掉催化剂并蒸发溶剂, 得到白色固体的产物 (95% 产率), 其不需要进一步提纯用于下面的步骤。

¹ H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 两个旋光异构体的混合物约: 1/1) δ 0.8-1.1 (m, 2H), 1.1-1.9 (m, 20H 它的 1.47 和 1.45 (s, 9H)), 2.82 和 2.79 (s, 全部 3H), 4.88 和 4.67 (m, 全部 1H)。

(ii) Boc-(Me)₂(R)Cha-OSu

如所述的制备 Boc-(R)Cha-OSu 的相同方式, 从 Boc-(Me)₂(R)Cha-OH 制备。

Boc-(R)Cha-Pro-OSu

(i) Boc-(R)Cha-Pro-OH

H-(S)Pro-OH (680 mmol) 溶于 0.87M 氢氧化钠 (750 ml) 中, 用 20 分钟滴加溶于 DMF (375ml) 中的 Boc-(R)Cha-OSu (170mmol)。在室温下搅拌反应混合物 20 h。酸化混合物 (2M KHSO₄) 并用乙酸乙酯提取三次。合并有机层用水洗涤三次用盐水洗涤一次。用硫酸钠充分干燥后并蒸发溶剂, 把浆状油溶于二乙基醚中, 蒸发溶剂最后真空干燥产物得到白色粉末状的 Boc-(R)Cha-Pro-OH, 其产率几乎等量。

¹ H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 较少旋光异构体 10%) δ 0.8-1.05 (m, 2H), 1.05-1.55 (m, 15H; 它的 1.5 (bs, 9H)), 1.55-1.8 (m, 5m), 1.8-2.15 (m, 3H), 2.47 (m, 1H); 3.48 (m, 1H), 3.89 (m, 1H), 4.55 (m, 2H), 5.6 (m, 1H); 较少旋光异构体单峰 2.27 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 5.0 (m, 1H)

(ii) Boc-(R)Cha-Por-OSu

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-OSu-的相同方式, 从 Boc-(R)Cha-Por-OH 制备。

¹ H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 2 旋光异构体, 5:1 比例) δ 0.78-

1.05 (m, 2H), 1.05-1.83 (m, 20H; 它的 1.43 (bs, 9H)), 1.83-2.26 (m, 3H), 2.32 (m, 1H), 2.72-2.9 (m, 4H), 3.2 (m, 1H, 较少的旋光体), 3.52 (m, 1H, 较多的), 3.68 (m, 1H, 较少的旋光异构体), 3.89 (m, 1H, 较多的), 4.31 (bq, 1H, 较少的旋光异构体), 4.56 (bq, 1H, 较多的), 4.71 (bt, 1H, 较多的旋光异构体), 4.93 (bt, 1H, 较少的), 5.22 (bd, 1H, 较多的旋光异构体), 5.44 (bd, 1H, 较少的)。

Z-(R)Cha-Pro-OSu

采用如 Boc-(R)Cha-Por-OSu 的相同方法, 从 Z-(R)Cha-OH 制备。

Boc-(R)Cha-Pic-OSu

(i) Boc-(R)Cha-Pic-OEt

将 Boc-(R)Cha-OH, 6.3g (0.023 mol) 溶于 150ml 的 CH_2Cl_2 中。在冰浴中使溶液冷却加入 6.3g (0.047 mol) 的 N-羧基三唑和 11.2g (0.0265 mol) 的 CME-CDI。15 分钟后除去冰浴, 在室温下搅拌反应混合物 4 h。蒸发除去溶剂残留物溶于 150ml 的 DMF 中并在冰浴中冷却。加入 H-Pic-OEt $\cdot$ HCl, 4.1g (0.021 mol) 通过加入 N-甲基吗啡将 pH 调节至大约 9。15 min 后除去冰浴, 搅拌反应混合物 3 天。蒸发溶剂并把残留物溶于乙酸乙酯中, 用稀 KHSO_4 (aq), NaHCO_3 (aq) 和水洗涤, 干燥有机层 (Na_2SO_4) 并蒸发得到 7.7g (89%) 的 Boc-(R)Cha-Pic-OEt, 它不必进一步提纯即可应用。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 2 旋光异构体, 3:1 比例) δ 0.7-1.0 (m, 2H), 1.1-1.9 (m, 29H; 它的 1.28 (t, 3H)), 1.45 (bs, 9H), 2.01 (bd, 1H, 较多的旋光异构体), 2.31 (bd, 1H), 2.88 (bt, 1H, 较少的), 3.30 (bt, 1H, 较多的), 3.80 (bd, 1H, 较多

的), 4.15-4.3 (m, 2H), 4.5-4.7 (m, 2H 较少的), 4.77 (bq, 1H, 较多的), 4.90 (bq, 1H, 较少的), 5.28 (bd, 1H, 较多的), 5.33 (bd, 1H, 较多的)。

(ii) Boc-(R)Cha-Pic-OH

Boc-(R)Cha-Pic-OEt, 5.6g (0.014 mol), 与 100ml THF, 100 ml 水和 7g 的 LiOH 混合。在室温下搅拌混合物过夜。蒸发 THF 水溶液用 KHSO_4 (aq) 酸化并用乙酸乙酯提取三次。合并有机相用水洗涤, 干燥 (Na_2SO_4) 并蒸发得到 4.9g (94%) 的 Boc-(R)Cha-Pic-OH, 它不需要进一步提纯即可应用, 化合物可从二异丙基醚/己烷中重结晶。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 2 旋光异构体, 3.5:1 比例) δ 0.8-1.1 (m, 2H), 1.1-2.1 (m, 27H; 它的 1.43 (s, 9H, 较多的旋光异构体), 1.46 (s, 9H 较少的)), 2.33 (bd, 1H), 2.80 (bt, 1H, 较少的), 3.33 (bd, 1H, 较少的), 3.85 (bd, 1H, 较多的), 4.57 (bq, 1H, 较少的), 4.68 (m, 1H, 较少的), 4.77 (bd, 1H, 较多的), 5.03 (bs, 1H, 较少的), 5.33 (bd, 1H, 较多的), 5.56 (m, 1H, 较多的)。

(iii) Boc-(R)Cha-Pic-OSu

将 Boc-(R)Cha-Pic-OH (1 g, 2.6 mmol) 在室温下溶解于 DMF (15 ml) 中, 然后冷却到 -18°C , 在添加反应物的过程中保持该温度。加入羧基琥珀酸亚胺 (0.60g 5.2 mmol) 并搅拌反应混合物几分钟直到结晶溶解。预先冷却的溶于 DMF (10 ml) 中的二环己基 (0.56g, 2.7 mmol) 滴加入反应混合物。几分钟后, 把在 -18°C 的反应混合物倒入 20°C 的水浴中 2 h, 并伴随搅拌。蒸发溶剂, 加入乙酸乙酯

(40 ml) 并过滤掉沉淀的膜。有机相用一次水，二次 0.3M KHSO_4 ，二次稀 NaHCO_3 ，一次水，一次盐水洗涤并干燥 (Na_2SO_4)。蒸发溶剂，真空干燥产物，得到 1.16g (93%) 的产物。根据 $^1\text{H-NMR}$ ，产物含有二种立体异构体 (异构体在 Pic, S/R)，比例为 95 / 5。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz CDCl_3 ，较多的非对映体) δ 0.7-2.0 (m, 27H; 它的 1.46 (bs, 9H), 2.29 (bd, 1H), 2.85 (bs, 4H), 3.40 (m, 1H), 4.5-4.8 (m, 1H), 5.1-5.4 (m, 1H), 5.70 (bd, 1H, 较多的)。

Boc-(R)Cha-Mor-OSu

采用如 Boc-(R)Cha-Pic-OSu 的相同方法从 H-Mor-OEt x HCl 制备，除了在形成 OSu- 酯中把 CH_3CN 用作溶剂，代替 DMF。

Boc-(Me)(R)Cha-Pro-OSu

采用如 Boc-(R)Cha-Pro-OSu 的相同方法，从 Boc-(Me)-(R)Cha-OH 制备。

Boc-(Me)(R)Cha-Pic-OSu

采用如 Boc-(R)Cha-Pic-OSu 的相同方法，从 Boc-(Me)(R)Cha-OH 制备。

Boc-(R, S)Pro(3-Ph)-Pro-OSu

采用如 Boc-(R)Cha-Pro-OSu 的相同方法，从 Boc-(R, S)Pro(3-Ph)-OH 制备。

Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ph)-Pro-OSu

(i) Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ph)-Pro-OBn

在室温下在 1.0g 的 Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ph)-OH (3.43 mmol, 1 eq.)，1.04g 的 H-Pro-OBn x HCl (4.29 mmol, 1.25 eq.)，

0.04g 的 HOBt (0.24 mmol, 0.07 eq.) 的 15 ml DMF 浆液中加入 1.83g 的 CME-CDI (4.29 mmol, 1.25 eq.) 和 0.525 ml 的 NMW (4.73 mmol, 1.38 eq.) 搅拌附加的 4 天后蒸发掉溶剂, 残留物用 200ml EtOAc 吸收, 有机相用 2×40ml 的水, 2×25ml 的 1M KHSO₄, 2×25ml 的 1M NaOH, 2×25ml 的 H₂O 洗涤并干燥 (MgSO₄)。蒸发溶剂并通过闪色谱 (CH₂ Cl₂ /MeOH, 97/3) 得到纯产物 (44% 产率) 如计算: 1:1 对映体的混合物。

(ii) Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ph)-Pro-OH

从在前步骤中得到的苯甲基酯, 通过在大气压力下, 用 5% Pd/c 在乙醇中充分氢化 4 小时而移去, 过滤并蒸发得到纯产物, 如计算为 1:1 等量对映体的混合物。

¹ H-NMR(CDCl₃, 500MHz, 二个非对映体每个由二个旋光异构体组成): δ 1.3-2.4 (m + 4s 来自 Boc 基, 全部 (4H), 2.5-2.9 (m, 全部 1H), 3.2-3.9 (m, 全部 5H), 4.3-4.65 (m, 全部 2H), 7.2-7.5 (m, 5H)。

(iii) Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ph)-Pro-OSu

根据所述的制备 Boc-(R)Cha-OSu 的方法, 从 Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ph)-Pro-OH 制备。

Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ch)-Pro-OSu

(i) Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ch)-Pro-OH

在 0.34 Mpa 下, Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ph)-Pro-OH 用 5% Rh/Al₂O₃ 在甲醇和少量的 HOAr 中充分氢化 7 天。过滤掉催化剂, 蒸发溶剂并用闪色谱 (CH₂ Cl₂ /MeOH, 94/6) 得到白色固体 (非对映体的混合物)。

(ii) Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ch)-Pro-OSu

根据所述的制备Boc-(R)Cha-OSu的方法, 从Boc-(R, S)Pro(3-(反)CH)-Pro-OH制备。

Boc-(R)Hoc-Pro-OH

(i) Boc-(R)Hoc-OH

将Boc-(R)Hop-OH, 3.2g (11.46 mmol) 溶于甲醇 (75 ml) 中。加入铑/活性铝氧化物 ($\text{Rh}/\text{Al}_2\text{O}_3$), 0.5g, 混合物在 0.41Mpa 的氢气压力下搅拌 18 h。催化剂通过硅藻土过滤掉并蒸发溶剂得到几乎等量的产物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.90 (m, 2H), 1.08-1.33 (m, 6H), 1.43 (s, 9H), 1.60-1.74 (m, 6H), 1.88 (bs, 1H), 4.27 (bs, 1H)。

(ii) Boc-(R)Hoc-OSu

采用所述的制备Boc-(R)Cha-OSu的方法, 从Boc-(R)Hoc-OSu制备。

(iii) Boc-(R)Hoc-Pro-OH

采用所述的制备Boc-(R)Cha-Pro-OH的方法, 从Boc-(R)Hoc-OSu制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.80-0.94 (m, 2H), 1.05-1.36 (m, 7H), 1.36-1.48 (bs, 9H), 1.48-1.78 (m, 7H), 1.98-2.14 (m, 2H), 2.34 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.43 (m, 1H), 4.52 (bd, 1H), 5.26 (bd, 1H), 较少的旋转异构体的信号出现在:
 δ 1.92, 2.25, 3.58, 4.20 和 4.93。

Boc-(R)Hoc-Pic-OH

(i) Boc-(R)Hoc-Pic-OMe

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OEt 的方法, 从 Boc-(R)Hoc-OH 和 H-Pic-OMe X HCl 制备。

(ii) Boc-(R)Hoc-Pic-OH

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OH 的方法, 从 Boc-(R)Hoc-Pic-OMe 制备。

¹ H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.82-0.97 (m, 2H), 1.10-1.36 (m, 7H), 1.36-1.50 (bs, 9H), 1.50-1.82 (m, 11H), 2.35 (bd, 1H), 3.28 (bt, 1H), 3.85 (bd, 1H) 4.63 (m, 1H), 5.33 (bs, 1H), 5.44 (bd, 1H), 较少的旋转异构体的信号出现在: δ 1.88, 2.80, 4.25, 4.55 和 4.97。

Boc-(R)Cha-Aze-OH

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OH 的相同方法, 从 H-Aze-OEt X HCl 制备。

Boc-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-OH

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OH 的相同方法, 除了用 CH₂ Cl₂ 作溶剂, 从 H-Pic(4-(S)Me)-OEt X HCl 制备。

Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(S)Me)-OSu

(i) Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OEt

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OEt 的相同方法, 从 H-(R)Pic(4-(R)Me)-OEt X HCl 制备。

(ii) Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OH

采用去保护的 (e) 在上述的产物 (i) 上制备。

(iii) Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)OSu

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OSu 的相同方法, 从 Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(S)Me)-OH 制备。

Boc-(R)Cha-(R, S)Pic(4.5- 去氢) -OH

根据所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OH 的相同方法, 从 H-(R, S)Pic(4.5- 去氢) -OEt 制备。

Boc-(R)Cgl-Pic-OH

(i) Boc-(R)Cgl-Pic-OMe

特戊酰氯 (1.000 ml, 8.1 mmol) 加入到 Boc-(R)Cgl-OH (2.086g, 8.1 mmol) 和三乙基胺 (1.13 ml, 8.1 mmol) 的甲苯 (25 ml) 和 DMF (5 ml) 的溶液中。在冰浴的温度下随后加入 H-Pic X HCl (1.46g, 8.1 mmol) 和三乙基胺 (1.13 ml, 8.1 mmol) 在 DMF (20 ml) 中的混合物。使反应混合物缓慢升至室温且 24 h 后用水稀释并用甲苯提取, 用 0.3M KHSO₄, 10% Na₂CO₃ 和盐水洗涤后, 真空除去溶剂, 得到 2.52g (81%) 无色油, 它不需要进一步提纯即可使用。

¹ H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 2 旋转异构体, 5:1 比例) δ 0.8-1.8 (m, 25H), 2.25 (d, 1H), 2.75 (t, 1H, 较少的旋转异构体), 3.3 (t, 1H), 3.7 (s, 3H), 3.85 (d, 1H), 4.3 (t, 1H, 较少的旋转异构体), 4.5-4.6 (m, 1H), 5.25 (d, 1H), 5.30 (d, 1H)。

(ii) Boc-(R)Cgl-Pic-OH

根据水解 Boc-(R)Cgl-Pic-OEt 的方法, 用上述 (i) 的产物制备。产物用二-异丙基醚和己烷结晶。

¹ H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 2 旋转异构体, 5:1 比例) δ 0.8-1.8 (m, 25H), 2.3 (d, 1H), 2.8 (t, 1H, 较少的旋转异构体), 3.3

(t, 1H), 3.9 (d, 3H), 4.4 (t, 1H, 较少的), 4.5-4.6 (m, 1H), 5.1 (s, 1H, 较少的旋转异构体), 5.3 (d, 1H), 5.40 (d, 1H)。

Boc-(R)Dph-Pic-OH

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OH 的相同方法, 从 Boc-(R)Dph-OH 制备。

Boc-(R)Dch-Pic-OH

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OH 的相同方法, 从 Boc-(R)Dch-OH 制备。

Boc-(R)Cha-Pro-(5-(S)Me)-OH

采用所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-OH 的相同方法, 从 H-Pro(5-(S)Me)-OMe 制备。

Boc-Nag(Z)

(i) N-苯甲基氧羰基-O-甲基异脲

在 18 °C 对搅拌的浓 NaOH 水液 (2.8L, 50% W/W, 19.1M, 53 mol) 和水中, 加入二份半硫酸 O-甲基异脲酯 (1.57 kg, 99% 9.0 mol)。将反应混合物冷却至 3-5 °C, 在冷却和剧烈搅拌下用超过 20 分钟的时间加入氯甲酸苯甲基酯 (3.88kg, 92% 20.9 mol)。加入 Z-C1 期间反应温度升至 3 到 8 °C, 添加的漏斗用 5 升水冲洗, 冲洗液加入到反应容器。在 0-3 °C 搅拌反应混合物 18 h, 过滤且结晶用冷水 (3 °C) 洗涤, 25 °C 真空干燥 (10-20 mbar) 48 h, 得到白色结晶粉末状的 3.78 kg (89%) 的标题化合物。

(ii) Boc-Nag(Z)

对 Boc-NH-(CH₂)₃-NH₂ X HCl (根据 Mattingly P.G., Synthesis, 367 (1990) 制备) (3.9 kg, 18.5 mol) 的异丙醇 (24

kg) 的搅拌溶液, 在 60-70℃, 用超过 30 分钟的时间按份加入 KHCO_3 (4.2 kg, 42 mol), 缓慢放出产生的 CO_2 (g)。混合物搅拌另外的 30 分钟, 然后用超过 30 分钟的时间按份加入 N-苯甲氧羰基-O-甲基异脲 (3.74 kg, 18.0 mol)。在 65-70℃ 搅拌反应混合物 16 h, 冷却至 20℃ 并过滤。沉淀用异-丙醇 (10 + 5 L) 洗涤。在减压下浓缩合并的滤液。保持加热的表面不超过 65-70℃。当大约蒸馏掉 45 升时, 加入 EtOAc (90L)。将反应混合物冷却至 20-25℃, 用水 (10 和 5L 和盐水 (5L) 洗涤, 用 Na_2SO_4 (2 kg) 干燥。搅拌反应混合物后过滤, 滤块用 EtOAc (11 和 7L) 洗涤, 减压浓缩合并的滤液, 保持加热的表面不超过 40-50℃。当大约 90 升 EtOA (蒸馏掉时, 加入甲苯 (25L) 并继续蒸发, 收集另外大约 18 升的未馏物后, 在强烈搅拌下加入甲苯 (20L), 并将所得混合物冷却至 -1 至 0℃, 温和搅拌过夜 (17 h)。过滤结晶的浆液, 产物用冷却的甲苯洗涤 (10 和 5 L), 真空干燥 (10-20 mbar, 40℃) 24h, 得到 4.83 kg (13.8 mol, 76%) 的 Boc-Nag(Z)。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1.41 (s, 9H), 1.6-1.7 (m, 2H), 3.0-3.3 (m, 4H), 4.8-5.0 (bs, 1H), 5.10 (s, 2H), 7.2-7.4 (m, 5H)。

Boc-Ag $\blacksquare$ (Z)

(i) Boc-Ag $\blacksquare$

在室温下用 5 分钟的时间对 14.95g (65.5 μmol , 1 eq.) 的硫酸酐丁基胺 (Aldrich), 13.7 ml 的 EtN_3 (98.25 μmol , 1.5 eq), 165 ml 的水和 165 ml 的 THF 的浆液加入 21.5 g (98.25 μmol , 1.5 eq.) 的 $(\text{Boc})_2\text{O}$ 。将混合物剧烈搅拌过夜, 蒸发至干, 并用 2

x 100 ml 的 Et_2O 洗涤残留物, 得到白色粉末状的 Boc-Ag_m, 它不需要进一步提纯用于以下的步骤.

(ii) Boc-Ag_m(2)

对冷却的 (+ 5 °C), 从以上步骤获得的粗 Boc-Ag_m (大约: 65.5 mmol) 的 180 ml 4 N NaOH 和 165 ml 的 THF 的浆液, 用 10 分钟加入 24 ml (169 mmol, 2.5 eq) 氯甲酸苯甲基酯。在室温搅拌 4 h 后, 加入甲醇 (150 ml), 在室温下继续搅拌附加的 20 h。蒸发有机层, 将 200 ml 水加入残留物。碱性的水相用 1 x 300 ml 和 2 x 200 ml 的 EtOAc 提取, 合并有机相用 H_2O (2 X 100 ml), 盐水 (1 x 100 ml) 洗涤并干燥 (MgSO_4)。蒸发溶剂用闪色谱 (CH_2Cl_2 / MeOH, 采用 97/3, 95/5 和 9/1 的分部梯度) 得到 14.63g (58%) 白色粉末状的纯 Boc-Ag_m(Z)。

¹H-NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 1.35-1.40 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.5-1.6 (m, 2H), 3.0-3.2 (m, 4H), 4.65 (bs, 1H), 5.1 (s, 2H), 7.25-7.40 (m, 5H)。

¹³C-NMR (CDCl_3 , 75.5 MHz): δ 25.44, 27.36, 28.21, 65.83, 79.15, 127.47, 127.66, 128.14, 137.29, 156.47, 161.48, 163.30。

Boc-NH-(CH_2)₃-N₃

根据 Mattingly P.G, 在 Synthesis 1990, 367 中所述的方法制备。

Z-NH-(CH_2)₂-NH₂

对 6g 亚乙基二胺 (0.1 mol) 和 22 ml 三乙基胺在 20 ml 氯仿中的冷却溶液, 加入溶于 5 ml 氯仿中的 2.5g Z-OSu。使混合物升至室温并在搅拌下放置过夜。过滤, 蒸发溶剂并用闪色谱 (CH_2Cl_2

/ MeOH (NH₃ - 饱和的), 95/5) 得到 0.9g (46%) 的标题化合物。

¹ H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.27 (s, 2H), 2.85 (t, 2H), 3.24 (q, 2H), 5.14 (s, 2H), 7.22-7.40 (m, 5H)。

Ag⁺ x HCl

通过在离子交换柱上把硫酸氢离子转化成氯化物, 从 Ag⁺ x H₂ SO₄ (Aldrich) 制备。

H-Nag(Z) x 2HCl

通过把 HCl(e) 通入 Boc-Nag(Z) 的 EtOAc 溶液, 然后蒸发掉溶剂制备。

BnOOC-CH₂-NH-CO-CH₂-Br

对 P-TsOH x H-Gly-OBn (5 mmol) 和三乙胺 (5 mmol) 的 10 ml CH₂ Cl₂ 的溶液加入溶于 10 ml CH₂ Cl₂ 和二环己基碳化二亚胺 (5 ml) 中的 2-溴乙酸 (5 mmol) 混合物在室温下搅拌过夜并过滤, 有机相用二次 0.2M KHSO₄, 0.2M NaOH, 盐水洗涤并干燥. 蒸发并用闪色谱 (CH₂ Cl₂ /MeOH, 95/5) 得到一定量的所需化合物。

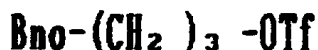
¹ H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.89 (s, 2H), 4.05-4.11 (d, 2H), 5.19 (s, 2H), 7.06 (bs, 1H), 7.3-7.4 (m, 5H)。

BnOOC-CH₂-OCO-CH₂-Br

2.8g (0.020 mmol) 溴乙酸, 4.2g (0.020 mmol) 的溴乙酸苯甲酯和 2.0g (0.020 mmol) 的三乙胺在 25 ml EtOAc 中的混合物回流 3 h。混合物用较多的 EtOAc 稀释并冷却。用稀 HCl 洗涤溶液, 然后用 NaHCO₃ (aq) 且最后用水洗涤。干燥 (Na₂ SO₄) 并蒸发, 然后用闪色谱 (庚烷/乙酸乙酯, 75/25) 得到标题化合物 26% 产率。

¹ H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 3.95 (s, 2H), 4.75 (s, 2H),

5.23 (s, 2H), 7.35-7.45 (m, 5H)。



丙烷二醇单苯甲基醚 (0.83g, 5 mmol) 溶于干燥吡啶 (0.6g, 7 mmol) 和二氯甲烷 (20 ml) 中, 冷却至 -15°C 。将预冷却到 -15°C 的 Triflic anhydride, 用 4-5 分钟加入到搅拌的反应混合物中加入后使温度升至 15°C 。蒸发掉溶剂, 产物溶于己烷/乙酸乙酯 4:1 (10 ml) 中, 并用硅藻土过滤。最后蒸发掉溶剂并使产物真空干燥得到 0.95g (64%) 的 1-苯甲氧基-3-氟甲烷磺酰丙烷。它可以直接使用 (见实施例 21)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 2.12 (m, 2H), 3.6 (t, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.72 (t, 2H), 7.22-7.42 (m, 5H)。



通过 Swern 氧化作用 (叙述在 D. Swern 等人, J. Org. Chem., 1978, 2480-82) 制备 $\text{BnO}-(\text{CH}_2)_3-\text{OH}$ 。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 2.63 (dt, 2H), 3.80 (t, 2H), 4.51 (s, 2H), 7.30 (m, 5H), 9.76 (bt, 1H)。



O-苯甲基丝氨酸 (3.9g, 19 mmol) 的水溶液 (10 ml) 加入到溴化钠 (Vg, 107 mmol) 水溶液 (20 ml) 和硫酸 (2g, 20 mmol) 中。使反应混合物冷却到 -10°C , 并在剧烈搅拌下加入 NaNO_2 (1.73g, 25 mmol)。在粘稠的混合物中再加入其它份的水, 几分钟后, 加入 H_2SO_4 (1g, 10 mmol)。在室温下搅拌混合物过夜, 然后用 EtOAc (100 ml) 提取两次。合并有机相用二次水和一次盐水洗涤并干燥

(N_2S_4)。蒸发溶剂得到 3.7g (75%) 的如黄色油状的标题化合物，它的纯度已足够直接用于以下步骤。

(ii) $\text{Br}-(\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2 \text{OBn})-\text{COOBn}$

对上述 (i) 粗产物 (2.6g, 10 mmol) 的干燥苯 (25 ml) 溶液，加入乙二酰氯 (2.6g, 20.5 mmol) 和分子筛 (4A°, 1g)。在室温和氩气条件下搅拌混合物 18h。过滤除去分子筛并蒸发溶剂。浅黄色残留物溶于 CH_3CN (10 ml) 中并加入苯甲醇 (1g, 9.2 mmol)。在室温搅拌混合物 5 h。蒸发溶剂，残留物溶于 Et_2O 中。并用 1N NaOH, 水, 盐水洗涤一次并干燥蒸发溶剂，然后用闪色谱 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 95/5) 得到 1.8g (67%) 的所需化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 3.82 (dd, 1H), 3.99 (dd, 1H), 4.38 (dd, 1H), 4.56 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 7.23-7.46 (m, 5H)。

操作实施例

实施例 1

$\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Ag} \times 2 \text{HOAc}$

(i) $\text{Boc}-(\text{R})\text{Cha-Pfro-Ag} \times \text{HOAc}$

$\text{Boc}-(\text{R})\text{Cha-Pro-OSu}$ (1.7 mmol) 和二氢氯化胍基丁胺 (2.0 mmol, 1.18 eq) 溶于 DMF/ H_2O 95:5 (35 ml) 中。加入三乙胺调节 pH 大约为 10，并在室温下搅拌溶液 2 天。蒸发溶液 (5 mm Hg/60°C) 直到干，粗产物用 RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 38:62) 纯化。冷冻干燥后获得白色粉末状的所需化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6$ 5:2, 两个旋转异构体, 9:1

δ (较多的旋转异构体): 0.75-0.90 (m, 2H), 1.1-2.05 (m, 19H),

1.35 (s, 9H) 2.98-3.14 (m, 4H), 3.37 (q, 1H), 3.76 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.33 (dd, 1H), 6.30 (d, 1H), 7.05-7.80 (宽 m, 5H), 8.67 (宽 d, 1H)。

改变较多的旋转异构体信号宽度, 可以明确地观察到 δ 3.44 (m, 1H), 3.62 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 4.64 (m, 1H), 5.56 (d, 1H), 9.08 (m, 1H)。

(ii) H-(R)Cha-Pro-Agm x 2 HOAc

在室温下搅拌 Boc-(R)Cha-Pro-Agm (0.2 mmol) 的 TFA (2 ml) 溶液 4.5h。蒸发溶剂, 所剩下的油直接 RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 25:75)。反复冷冻干燥后获得如白色粉末的二乙酸盐。

$^1\text{H-NMR}$ (500.13 MHz, D_2O): δ 0.80-0.95 (m, 2H), 1.00-1.21 (m, 3H), 1.32 (m, 1H), 1.40-1.78 (m, 12H), 1.83-2.00 (m, 2H), 1.90 (s, 乙酸酯), 2.20 (m, 1H), 3.06-3.14 (m, 4H), 3.50 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 4.20-4.30 (m, 2H)。

$^{13}\text{C NMR}$ (75.6 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.4; 羰基碳: δ 169.9, 174.5。

实施例 2

Me-(R)Cha-Pro-Agm x 2 HOAc

(i) Boc-(Me)(R)Cha-Pro-Agm

对 479.6 mg (1 mmol, 1eq.) 的 Boc-(Me)(R)Cha-Pro-Osu 和 500 ml 的 NWM 的 16 ml DMF/ H_2O (15/1) 的溶液中, 在室温下, 加入 166.5 mg (1.2 mmol, 1.2 eq.) 的 Agm XHCl 再搅拌反应混合物另外 70 hr., 蒸发溶剂, 得到油状的粗产物。它不需要进一步提

纯可用于以下步骤。

(ii) Me-(R)Cha-Pro-Ag_m x 2 HOAc

在室温，从上一步骤得到的粗油溶于 10 ml TFA/CH₂ Cl₂ (1:4)。搅拌 2 小时 25 分钟后，蒸发溶剂并用 RPLC 纯化粗产物 (CH₃ CN/NH₄ OAc (0.1 M), 35/65)，冷冻干燥后得到白色粉末状的所需产物。

¹ H-NMR (500 MHz, D₂ O): δ 0.93-1.05 (m, 2H), 1.10-1.29 (m, 3H), 1.33-1.43 (m, 1H), 1.50-1.80 (m, 12H), 1.88-2.10 (m, 2H), 1.92 (s, 乙酸酯), 2.27-2.36 (m, 1H), 2.68 (s, 3H), 3.15-3.23 (m, 3H), 3.24-3.31 (m, 1H), 3.57-3.66 (m, 1H), 3.76-3.83 (m, 1H), 4.28 (t, 1H), 4.39 (dd, 1H)。

¹³ C NMR (125.76 MHz, D₂ O): 羰基: δ 157.24; 羧基碳: δ 174.03, 168.24。

实施例 3

HO-(CH₂)₃ -(R)Cha-Pro-Ag_m x 2 HCl

(i) Boc-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z)

Boc-Ag_m(Z) (1 eq) 溶于 TFA/CH₂ Cl₂ (1:4, ca: 6 ml/mmol) 中，并在室温下搅拌大约 2h。蒸发溶剂，产物与 Boc-(R)Cha-Pro-OSu (1 eq) 一起溶于 DMF (大约: 1ml/mmol)，用 NMM 调节 PH 到大约 9，混合物在室温下搅拌 20 h。真空蒸发溶剂，粗产物溶于 CH₂ Cl₂ 中用水洗涤三次并用盐水洗一次。干燥后 (硫酸钠) 蒸发溶剂，产物用闪色谱提纯 (CH₂ Cl₂ /MeOH) 得到白色粉末状的 Boc-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z)。

(ii) H-(R)-Cha-Pro-Ag_m(Z)

Boc-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) 溶于 TFA/CH₂Cl (1:4, 大约: 6 ml/mmol), 并在室温下搅拌 2 h。蒸发溶剂, 产物溶于 0.2M NaOH (20 ml/mmol) 并用二氯甲烷提取两次。合并有机层并用盐水洗涤, 干燥 (硫酸钠) 蒸发溶剂, 得到白色粉末状的 H-(R)-Cha-Pro-Ag_m(Z)。

(iii) BnO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z)

将 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) (1 mmol) 溶于甲醇 (10 ml) 中。加入氯化三乙基铵 (1 mmol), 氰硼氢化钠 (0.7 mmol) 然后加入 BnO-(CH₂)₂-CHO (1.05 mmol), 反应混合物在室温下搅拌过夜。蒸发溶剂, 粗产物溶于乙酸乙酯中, 用水洗两次, 盐水洗一次, 用硫酸钠充分干燥。蒸发溶剂, 粗产物用闪色谱提纯 (EtOAc/MeOH)。

(iv) HO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Ag_m X 2 HCl

通过在上述产物 (iii) 上, 采用去保护的方法 (d) 制备。

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.72 (m, 较少的旋转异构体), 0.84 (m, 较少的旋转异构体), 0.87-1.03 (m, 2H), 1.03-1.26 (m, 3H), 1.28-1.40 (bs, 1H), 1.44-1.80 (m, 11H), 1.80-1.95 (bs, 3H), 1.95-2.10 (bs, 2H), 2.28 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 3.08-3.27 (m, 5H), 3.58 (bs, 1H), 3.67 (bs, 2H), 3.78 (m, 1H), 4.12 (bd, 较少的旋转异构体), 4.30 (m, 1H), 4.37 (m, 1H)。

¹³C NMR (125 MHz, D₂O): 羰基: δ 157.26; 羧基碳: δ 174.06, 168.36。

实施例 4

HOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Ag_m x HOAc

N-末端烷基化的一般方法。

在此叙述的方法是比较一般方法，且可以参见下述的实施例以及每个具体实施例中采用的烷基化试剂。

将被烷基化的肽 (1 eq) 和烷基化试剂 (1.1-1.2 eq) 溶于乙腈 (大约 10 ml/mol) 中。加入碳酸钾 (2.0-2.2 eq)。在 50-60 °C 搅拌反应混合物，直到起始产物消耗掉 (TLC, 通常 1-5h)。过滤，蒸发溶剂并用闪色谱 (CH₂ Cl₂ /MeOH, CH₂ Cl₂ /MeOH(NH₃ -饱和) 或 EtOAc/MeOH, 大约 9/1) 提纯，蒸发掉溶剂得到烷基化的产物。

(i) BnOOC-CH₂ -(R)Cha-Pro-Agⁿ(Z)

根据上述的方法，从 H-(R)Cha-Pro-Agⁿ(Z) (参见实施例 3) 和 Br-CH₂ COOBn 制备。

(ii) HOOC-CH₂ -(R)Cha-Pro-Agⁿ x HOAc

在上述的产物 (i) 上，采用去保护的方法 (b) 制备。

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.9-1.1 (m, 2H), 1.1-2.3 (m, 19H) 1.95 (s, 乙酸酯), 3.1-3.2 (m, 4H), 3.2-3.65 (m, 3H), 3.85 (m, 1H), 4.0 (bt, 1H), 4.35 (dd, 1H)。

¹³C-NMR (75 MHz, D₂ O): 羰基: δ 157.55; 羧基碳: δ 168.71, 171.37 和 174.3。

实施例 5

¹pr-OOC-CH₂ -(R)Cha-Pro-Agⁿ x HOAc

如实施例 4 中，采用 H-(R)Cha-Pro-Agⁿ-Agⁿ(Z) (参见实施例 3) 和 Br-CH₂ COO¹Pr 烷基化，然后采用去保护的方法 (b) 得到标题化合物。

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.85-1.05 (m, 2H), 1.1-1.35 (m,

9H; 它的 1.23 (d, 3H), 1.25 (d, 3H), 1.35-2.02 (m, 14H) 1.92 (s, 乙酸酯), 2.08 (m, 1H), 2.2 (m, 1H), 3.07-3.45 (m, 6H), 3.55 (m, 1H), 3.7-3.8 (m, 2H), 4.3 (dd, 1H), 5.05 (m, 1H)。

^{13}C NMR (125 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.39; 羧基碳: δ 171.10, 172.76 和 174.44。

实施例 6

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-Pro-Ag}_m \times 2 \text{ TFA}$

(i) $\text{Me-(R)Cha-Pro-Ag}_m(\text{Z})$

从 $\text{Boc-(ME)(R)Cha-Pro-OSu}$ 制备, 采用实施例 3 中所述的制备 $\text{H-(R)Cha-Pro-Ag}_m(\text{Z})$ 的相同方法。

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-Pro-Ag}_m \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中, 采用 $\text{(Me)-(R)Cha-Pro-Ag}_m(\text{Z})$ 和 $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$ 烷基化, 然后采用去保护方法 (b) 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.9-1.35 (m, 6H), 1.5-2.2 (m, 14H), 2.25-2.45 (m, 1H), 3.12 (s, 3H), 3.15-3.35 (m, 4H), 3.6-3.75 (m, 1H), 3.8-3.95 (m, 1H), 4.22 (出现 bs, 2H), 4.45 (m, 1H), 4.6 (bt, 1H)。

^{13}C NMR (75.47 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.52; 羧基碳: δ 173.86, 168.79 和 167.38。

实施例 7

$\text{HOOC-(R, S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Ag}_m \times \text{HOAc}$

如实施例 4 中, 采用 H-(R)Cha-Pro-Ag $\blacksquare$ (Z) (参见实施例 3) 和 Br-CH(Me)COOBn 烷基化, 然后采用去保护方法 (a), 得到两种对映体混合物的标题化合物。

实施例 8

HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Ag $\blacksquare$ /a x HOAC

采用 RPLC (CH₃ CN/NH₄ OAc (0.1M), 1/4), 通过分离实施例 7 形成的非对映体而得到。从柱的两个峰中最早出现的一个是本非对映体。

¹ H-NMR (500 MHz, D₂ O; 2 旋转异构体 大约: 5:1 比例): δ 0.74 (■, 较少的旋转异构体), 1.01 (■, 2H), 1.10-1.33 (■, 3H), 1.48-1.88 (■, 15H; 它的 1.51 (d, 3H)), 1.92-2.12 (■, 3H) 1.96 (s, 乙酸酯), 2.30 (■, 1H), 3.20 (■, 3H), 3.38 (■, 1H), 3.47 (q, 较少的旋转异构体), 3.53-3.68 (■, 2H), 3.73 (■, 1H), 4.20 (d, 较少的旋转异构体), 4.33 (■, 1H), 4.38 (■, 1H), 4.51 (d, 较少的旋转异构体)。

¹³C-NMR (125 MHz, D₂ O): 羰基: δ 157.38; 羧基碳: δ 174.11, 173.45 和 168.64。

实施例 9

HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Ag $\blacksquare$ /b x HOAC

在实施例 8 的分离中, 从柱中最先出现的峰之后的非对映体, 是上述的标题化合物

¹ H-NMR (500 MHz, D₂ O, 2 旋光体 大约 9:1 比例): δ 0.88

(m, 较少的旋转异构体), 1.05 (m, 2H), 1.12-1.33 (m, 3H), 1.42 (bs, 1H), 1.50-1.88 (m, 15H; 它的 1.55 (d, 3H)), 1.93-2.13 (m, 3H) 1.95 (s, 乙酸酯), 2.30 (m, 1H), 2.40 (m, 转少的旋转异构体), 3.22 (t, 2H), 3.28 (t, 2H), 3.64 (m, 1H), 3.70 (q, 1H), 3.98 (t, 较少的旋转异构体), 4.35 (t, 1H), 4.41 (dd, H)。

实施例 10

$\text{HOOC}-(R\text{or}S)\text{CH}(^n\text{Pr})-(R)\text{Cha-Pro-Ag}_{\text{m}}/\text{a} \times \text{HOAc}$

如实施例 4 中, 采用 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) (参见实施例 3) 和 Br-CHⁿ(Pr)COOEt 烷基化, 并用去保护方法 (e), 然后用去保护方法 (b) 得到 HOOC-(R, S)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Ag_m。用 RPLC (CH₃ CN/NH₄ OAc (0.1M), 1/4) 分离非对映体并在蒸发掉溶剂后冷冻干燥 (H₂ O) 得到标题化合物。从柱中的两个峰中最早出现的是本非对映体。

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.8-1.1 (m, 5H; 它的 0.92 (t, 3H), 1.1-2.1 (m, 22H) 1.95 (s, 乙酸酯), 2.2 (m, 1H), 3.1-3.35 (m, 5H), 3.48 (m, 1H), 3.88 (m, 1H), 4.0 (m, 1H), 4.4 (dd, 1H)。

¹³C-NMR (75 MHz, D₂ O): 羧基: δ 157.50; 羰基碳: δ 168.55 和 174.16。

实施例 11

$\text{HOOC}-(R\text{or}S)\text{CH}(^n\text{Pr})-(R)\text{Cha-Pro-Ag}_{\text{m}}/\text{b} \times \text{HOAc}$

在实施例 10 分离中, 从柱中出现第一个峰之后出现的非对映体

是上述标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.85-1.05 (m, 5H; 它的 0.95 (t, 3H), 1.1-2.08 (m, 22H) 1.9 (s, 乙酸酯), 2.14 (m, 1H), 3.1-3.4 (m, 5H), 3.45 (m, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 4.34 (dd, 1H)。

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.53; 羧基碳: δ 169.01 和 174.27。

实施例 1 2

$\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Ag}\blacksquare/\text{b} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{tBuOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Ag}\blacksquare(\text{Z})$

将 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Ag}\blacksquare(\text{Z})$ (参见实施例 3) (0.55 mmol), 溴乙酸特丁基 - (R, S) 苯基酯 (0.66 mmol), K_2CO_3 (1.4 mmol) 在 CH_3CN (10 ml) 中的混合物在室温下搅拌 28 h 并在 60 °C 搅拌附加的 5 h。把非对映体的混合物 (根据 NMR 大约: 3:1) 过滤并蒸发。所得的油直接用二次闪色谱 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 92/8) 提纯, 得到二个非对映体的完全分离物 (分别的, $R_f=0.36$ (较少的异构体) 和 0.27 (较多的异构体))。

$^1\text{H NMR}$ of 较多的异构体 (500.13 MHz, CDCl_3): δ 0.79 (quart, 1H), 0.90 (quart, 1H); 1.06-1.70 (m, H), 1.37 (s, 9H), 1.85-2.03 (m, 3H), 2.20 (m, 1H), 3.10-3.24 (m, 3H), 3.25-3.38 (m, 2H), 3.42 (m, 1h), 3.53 (m, 1H), 4.30 (s, 1H), 4.49 (dd, 1H), 5.08 (s, 2H), 7.19-7.40 (m, 10H); 在 6.7-8.6 位置观察到宽 NH 信号。

(ii) $\text{HOOC}-(R\text{ or }S)\text{CH}(\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Ag}_{\text{m}}/b \times \text{HOAc}$

较多的异构体 (50 mmol) 和苯硫基甲烷 (0.5 mmol) 溶于 TFA 中, 在室温下保持 8 小时。蒸发 5 h 后 (0.1 mm Hg), 残留的油在 RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M) 2:3) 后纯化后, 经过蒸发溶剂和冷冻干燥得到标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500.13 MHz, MeOD): δ 0.85-1.01 (m, 2H), 1.13-1.38 (m, 4H), 1.53-2.05 (m, 14H) 1.92 (s, 乙酸酯), 2.18 (m, 1H), 3.08-3.26 (m, 3H), 3.32-3.45 (m, 2H), 3.64 (m, 1H), 3.93 (t, 1H), 4.37 (dd, 1H) 4.43 (s, 1H), 7.28-7.50 (m, 5H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.6 MHz, MeOD): 羧基: δ 158.7; 羰基碳: δ 173.8, 174.7, 177.0。

实施例 1 3

$\text{HOOC}-(R, S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Ag}_{\text{m}}/b \times \text{HOAc}$

如实施例 4 中采用 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) (参见实施例 3) 和 Br-CH(CH₂-CH₂-Ph)COOEt 烷基化, 并用去保护方法 (a) 接着用去保护方法 (e) 得到

$\text{HOOC}-(R, S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Ag}_{\text{m}}$

实施例 1 4

$\text{HOOC}-(R\text{ or }S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Ag}_{\text{m}}/a \times 2 \text{ TFA}$

通过 RPLC($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 2/3) 和蒸发溶剂后冷冻干燥 ($\text{H}_2\text{O}/\text{TFA}$), 分离实施例 13 中获得的非对映体, 得到标题化合物。从往的两个峰中最早出现的非对映体是上述标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.93-1.11 (m, 2H), 1.24 (m, 1H), 1.29-1.40 (m, 2H), 1.52-1.85 (m, 11H), 1.89-2.11 (m, 4H), 2.14-2.32 (m, 3H), 2.83 (t, 2H), 3.14 (t, 2H), 3.24 (t, 2H), 3.50 (q, 1H), 3.70 (m, 1H), 4.00 (t, 1H), 4.36-4.42 (m, 2H), 7.17-7.31 (m, 5H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): 羰基: δ 158.66; 萜基碳: δ 168.08, 171.53, 174.16。

实施例 15

$\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Ag}_m\text{/b xHOAc}$

(i) $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Ag}_m\text{(Z)}$

将丙烯酰基苯甲基酯 (1.1 eq) 和 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) (参见实施例 3) (1 eq) 溶于乙醇 (20 mL/mol) 中, 在室温下搅拌 20h。蒸发溶剂, 粗产物用闪色谱纯化 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}(\text{NH}_3\text{-饱和})$, 95/5)。最后蒸发溶剂并真空干燥产物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.7-0.95 (m, 2H), 1.0-1.5 (m, 10H), 1.5-1.75 (m, 5H), 1.75-1.92 (m, 2H), 2.0 (m, 1H), 2.17 (bs, 1H), 2.45 (m, 2H), 2.63 (m, 1H), 2.79 (m, 1H), 2.94-3.25 (m, 4H), 3.33 (m, 2H), 3.52 (bt, 1H), 4.45 (bd, 1H), 4.95-5.12 (m, 4H), 7.13-7.4 (m, 10H)。

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Ag}_m\text{ x HOAc}$

在上述产物 (i) 上采用去保护的方法 (a) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 0.88 (m, 2H), 1.00-1.23 (m, 3H), 1.33 (bs, 1H) 1.42-1.72 (m, 11H), 1.78-2.00 (m, 3H) 1.94

(s, 乙酸酯), 2.18 (m, 1H), 2.52 (m, 2H), 3.03-3.20 (m, 6H), 3.50 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 4.23 (mm, 1H) 4.30 (m, 1H)。

^{13}C -NMR (125 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.25; 羧基碳: δ 178.07, 173.96, 168.24。

实施例 1 6

$\text{EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Ag}^{\text{m}} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Ag}^{\text{m}}(\text{Z})$

对冷却 (-10°C) 的 $\text{H-(R)Cha-Pro-Ag}^{\text{m}}(\text{Z})$ (参见实施例 3) (0.46g, 0.89 mmol) 和 NHM (199mg, 1.97 mmol) 的 10 ml THF 溶液, 加入溶于 3ml THF 中的 Cl-COOCOEt (134 mg, 0.98 mmol)。将混合物保持在 -10°C 一小时, 然后在室温下搅拌另外的 1 小时。蒸发溶剂, 残留物溶于乙酸乙酯。有机相用水洗涤二次并干燥 (Na_2SO_4)。蒸发溶剂, 从 EtOAc 中结晶, 得到 0.275g (5%) 的白色结晶状的标题化合物。

(ii) $\text{EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Ag}^{\text{m}} \times \text{HOAc}$

在上述产物 (i) 上采用去保护方法 (b) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.9-2.25 (m, 24H; 它的 1.17 (t, 3H)), 1.90 (s, 乙酸酯), 3.1-3.25 (m, 4H), 3.5-3.65 (m, 3H; 它的 3.59 (q, 2H)), 3.88 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.69 (dd, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, MeOD): 羰基: δ 157.56; 和羧基碳: δ 159.21, 160.74, 172.81, 174.56。

实施例 1 7

(R, S)Bla-(R)Cha-Pro-Ag_m x 2 TFA

采用实例 4 中的方法, 用 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) (参见实施例 3) 和 α-溴丁内酯, 接着用去保护的方法 (a) 得到两种非对映体混合物的标题化合物。

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 非对映体的混合物大约: 1/1): δ 0.93-1.06 (m, 2H), 1.09-1.30 (m, 3H), 1.37-1.49 (m, 1H), 1.50-1.87 (m, 11H), 1.89-2.10 (m, 3H), 2.24-2.36 (m, 1H), 2.44-2.56 (m, 1H), 2.72-2.85 (m, 1H), 3.10-3.30 (m, 4H), 3.56-3.65 (m, 1H), 3.75-3.84 (m, 1H), 4.2-5.0 (m, 5H 部分被 H-O-D 信号掩蔽)。

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₂O) 羧: δ 157.34; (重叠峰); 和羰基碳: δ 174.34, 173.90, 173.62, 167.88, 167.58 (两个重叠峰)。

实施例 18

HOOC-(RorS)CH(CH₂ CH₂ Ph)-(R)Cha-Pro-Ag_{m/b} x 2 TFA

采用实施例 14 中的相同方法, 通过处理实施例 13 中的非对映体, 获得标题化合物。从柱中出现第一个峰后, 出现本非对映体。

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.95-1.06 (m, 2H), 1.14-1.40 (m, 4H), 1.48-1.84 (m, 11H) 1.87-2.30 (m, 6H), 2.72-2.90 (m, 2H), 3.12-3.32 (m, 4H), 3.52 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 4.04 (dd, 1H), 4.27 (t, 1H), 4.37 (dd, 1H), 7.17-7.32 (m, 5H)。

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): 羧: δ 158.68; 羰基碳: δ 168.14, 171.46, 174.03。

实施例 19

H-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

(i) Z-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH(Boc)

对 Z-(R)Cha-Pro-OSu (1 mmol) 的 1 ml DMF 溶液, 在 0 °C 下加入溶于 1 ml DMF 中的 H₂N-(CH₂)₃-NH(Boc) (参见起始产物的分离物), 并用 NMM 将 PH 调节至大约 9。在室温下搅拌反应 3 天, 然后将反应物倒入水中。水相用 EtOAc 提取四次, 合并的有机相用二次 0.3M KHSO₄, 0.2M NaOH, 盐水洗涤并干燥。蒸发并用闪色谱 (EtOAc/石油醚, 4/1) 得到产率 59% 的标题化合物。

(ii) Z-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH₂

将 Z-(R)Cha-Pro-NH(CH₂)₃-NH(Boc) (0.6 mmol) 溶解于 CH₂Cl₂ (8 ml)。将 TFA (2 ml) 加入到反应混合物中, 搅拌 1 h。蒸发溶剂残留物溶于 CH₂Cl₂ 中, 用 0.2M NaOH 洗涤两次并干燥 (Na₂SO₄)。蒸发溶剂得到胺, 产率为 93%。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.79-1.03 (m, 2H), 1.05-1.75 (m, 15H), 1.84-2.08 (m, 4H), 2.36 (m, 1H), 2.66 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.43 (q, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 4.56 (d, 1H), 5.09 (m, 2H), 5.35 (d, 1H), 7.30-7.45 (m, 5H)。

(iii) Z-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

将 Z-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH₂ (0.55 mmol, 1 eq) 溶于 DMF (2 ml) 中, 用三乙胺把 PH 调节至 8-9。加入溶于 DMF (1 ml) 中的硝酸 3,5-二甲基-1-吡唑基甲咪盐 (0.55 mmol) (1 eq) 并在室温下搅拌反应混合物三天。蒸发溶剂, 冷冻干燥 (H₂O) 粗产物并用 RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0.1 M), 4/6) 提纯, 蒸发掉溶剂并冷

冻后得到产率为93%的标题化合物。

(iv) H-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

在上述的产物 (iii) 上用去保护方法 (a) 制备。

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.82-1.03 (m, 2H), 1.03-1.28 (m, 3H), 1.35 (m, 1H), 1.53-1.82 (m, 9H), 1.82-2.05 (m, 3H), 1.89 (s, 乙酸酯), 2.24 (m, 1H), 3.15 (t, 2H), 3.23 (q, 2H), 3.55 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 4.27-4.34 (m, 2H)。

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): 羰基: δ 157.37; 羧基碳: δ 169.81, 174.52。

实施例 20

ⁿBu-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

(i) H-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

采用实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag^m(Z) 的相同方法, 从 Boc-(R)Cha-OSu 制备。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.8-1.03 (m, 2H), 1.10-1.50 (m, 6H), 1.60-1.83 (m, 8H), 1.87-2.20 (m, 3H), 3.15 (m, 1H), 3.25 (m, 2H), 3.42 (m, 2H), 3.63 (dd, 1H), 3.70 (m, 1H), 4.36 (bs, 1H), 5.07 (s, 2H), 7.22-7.43 (m, 5H)。

(ii) ⁿBu-(R)-Cha-Pro-Nag-(Z)

将 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (0.5 g, 1 mmol) 溶于 10 ml 甲醇中, 加入氯化三乙基铵 (0.1 g, 1 mmol), 氨基硼氢化钠 (44 mg, 0.7 mmol) 然后加入丁醛, 使反应混合物在室温下搅拌 20h。蒸发溶剂, 粗产物溶于乙酸乙酯中, 用水洗涤二次, 盐水洗涤一次并用硫酸钠充

分干燥。蒸发溶剂粗产物用闪色谱纯化 (EtOAc/EtOH/Et₃ N, 88/10/2), 最后蒸发溶剂, 真空干燥产物得到 0.22g (40%) 的 ⁿBu-(R)Cha-Pro-Nag(Z)。

¹ H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.82-1.0 (m, 5H; 它的 0.88 (t, 3H)), 1.08-1.49 (m, 10H), 1.58-1.8 (m, 7H), 1.88-2.22 (m, 3H), 2.4 (m, 1H), 2.5 (m, 1H), 3.05 (bs, 1H), 3.3 (m, 1H), 3.4-3.53 (m, 3H), 3.73 (m, 1H), 4.42 (bs, 1H), 5.1 (s, 2H), 7.25-7.43 (m, 5H)。

(iii) ⁿBu-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

在上述产物 (ii) 上, 用去保护的方法 (a) 制备。

¹ H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 0.94 (t, 2H), 1.10-1.31 (m, 3H), 1.38 (m, 3H), 1.55-1.88 (m, 11H), 1.88-2.15 (m, 3H), 1.95 (s, 乙酸酯), 2.34 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 3.08 (m, 1H), 3.24 (t, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.66 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 4.32 (t, 1H) 4.41 (dd, 1H)。

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): 羰基: δ 157.40; 羧基碳: δ 180.39, 174.82, 168.55。

实施例 2.1

HO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

(i) BnO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

将 1-苯甲氧基 3-氟甲烷磺酰丙烷 (参见制备的起始物) (0.5 g, 1 mmol) 和 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (参见实施例 2.0) 溶于四氢呋喃 (10 ml) 中。把碳酸钾 (0.28 g, 2 mmol) 加入到反应混合物

中，在室温下搅拌二小时。蒸发溶剂粗产物用乙酸乙酯/水萃取。有机相用一次碳酸氢钠水溶液，一次水，和一次盐水洗涤。用硫酸钠充分干燥后，蒸发溶剂，粗产物用闪色谱提纯 ($\text{CH}_2\text{CH}_2/\text{MeOH}(\text{NH}_3 - \text{饱和})$ ，95:5)，最后蒸发溶剂并真空干燥产物得到 0.29 g (45%) 的标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.77-1.03 (m, 2H), 1.03-2.18 (m, 19H), 2.52 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 3.03 (bs, 1H), 3.1-3.6 (m, 7H) 3.66 (m, 1H), 4.41 (bs, 1H), 4.46 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 7.2-7.4 (m, 5H), 7.55 (m, 1H)。

(ii) $\text{HO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

在上述产物 (i) 上，用去保护方法 (a) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 1.00 (bs, 2H), 1.10-1.32 (m, 3H), 1.40 (bs, 1H), 1.55-2.15 (m, 14H), 2.30 (m, 1H), 3.05-3.35 (m, 6H), 3.57-3.75 (m, 3H), 3.81 (bs, 1H), 4.35 (bs, 1H), 4.42 (bs, 1H)。

实施例 2 2

$\text{HOOC-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}_3$

采用如 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Ag}^\text{III}(\text{Z})$ (参见实施例 3) 的相同方法制备，以 $\text{Boc}-(\text{R})\text{Cha-Pro-OSu}$ 和 $\text{Boc-NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}_3$ (代替 $\text{Boc-Ag}^\text{III}(\text{Z})$) 作为起始物。

(ii) $\text{EtOOC-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2 \times \text{HOAc}$

如实施例 4 中的方法，采用 $\text{H}-(\text{R})\text{-Cha-Pro-NH-CH}_2)_3-\text{N}_3$ 和

EtOOC-CH₂-Br 烷基化,然后用去保护方法 (a) 还原叠氮化物,得到标题化合物。

(iii) EtOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

如实施例 19 (iii) 中制备 Z-(R)Cha-Pro-Nag 的相同方法,采用上述 (ii) 的胺完成腈化反应。用 RPLC (CH₃ CN/NH₄ OAc (0.1M), 3/7) 纯化,蒸发溶剂并冷冻干燥 (H₂ O) 后,获得纯化的标题化合物。

(iv) HOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

在上述产物 (iii) 上,采用去保护的方法 (e) 制备。

¹H-NMR (500 MHz, D₂ O): δ 0.99 (m, 2H), 1.09-1.30 (m, 3H), 1.44 (m, 1H), 1.59-2.09 (m, 12H), 1.92 (s, 乙酸酯), 2.29 (m, 1H), 3.20 (t, 2H), 3.28 (m, 2H), 3.52-3.63 (m, 3H), 3.76 (m, 1H), 4.38 (dd, 1H) 4.42 (t, 1H)。

¹³C-NMR (125 MHz, D₂ O): 腈: δ 157.43; 羧基碳: δ 168.72, 171.36, 174.35。

实施例 23

EtOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

根据实施例 22 (iii) 制备。

¹H-NMR (300 MHz, D₂ O): δ 1.07 (m, 2H), 1.17-1.59 (m, 7H; 它的 1.38 (t, 3H)), 1.60-2.24 (m, 12H), 2.04 (s, 乙酸酯), 2.39 (m, 1H), 3.31 (t, 2H), 3.39 (m, 2H), 3.63-3.90 (m, 4H), 4.12 (t, 1H), 4.36 (q, 2H) 4.46 (dd, 1H)。

¹³C-NMR (75 MHz, D₂ O): 腈: δ 157.73; 羧基碳: δ

173.73, 175.09, 175.70。

实施例 2 4

$^1\text{PrOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

如实施例 4 中, 采用 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (参见实施例 2 0) 和 Br-CH₂ COOiP 烷基化), 然后用去保护的方法 (b), 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.85-1.05 (m, 2H), 1.1-2.15 (m, 22H; 它的 1.23 (d, 3H), 1.25 (d, 3H)), 1.92 (s, 乙酸酯), 2.2 (m, 1H), 3.10-3.35 (m, 5H), 3.4 (m, 1H), 3.55 (m, 1H), 3.65-3.8 (m, 2H), 4.28 (dd, 1H) 5.03 (m, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D₂O): 羰基: δ 157.39; 羧基碳: δ 170.40, 172.00 和 174.50。

实施例 2 5

$^t\text{BuOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中, 采用 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (参见实施例 20) 和 Br-CH₂ COO^tBu 烷基化, 然后用去保护的方法 (b), 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.9-1.15 (m, 2H), 1.15-2.15 (m, 25H; 它的 1.55 (bs, 9H)), 2.3 (m, 1H), 3.15-3.45 (m, 4H), 3.55 (m, 1H), 3.7-3.95 (m, 3H), 4.3-4.4 (m, 2H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D₂O): 羰基: δ 157.55; 羧基碳: δ 166.55, 168.13 和 174.33。

实施例 2 6

$\text{HOOC-CH}_2\text{-OOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-OOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$

将 $\text{H-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$ (参见实施例 20), 0.20 g (0.40 mmol), 与 0.115 g (0.40 mmol) 的溴乙酸苯甲氧基羰基甲基酯, 55 mg 的 K_2CO_3 (0.40 mmol) 和 5 ml 的 CH_3CN 混合。在室温下搅拌混合物 6 小时。蒸发溶剂且粗产物用色谱 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9/1) 纯化, 蒸发掉溶剂后, 得到 0.20 g (71%) 的所需化合物。

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-OOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

在上述产物 (i) 上, 用去保护方法 (a) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.85-1.1 (m, 2H), 1.1-1.6 (m, 8H), 1.6-2.15 (m, 10H), 1.99 (s, 乙酸酯), 2.23 (m, 1H), 3.1-3.4 (m, 4H), 3.45-3.65 (m, 4H), 3.7-3.9 (m, 3H), 4.34 (m, 1H), 4.48 (dd, 2H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): 羧基: δ 158.8; 羰基碳: δ 176.1, 175.2, 174.9, 173.1。

实施例 2 7

$\text{H}_2\text{N-CO-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

如实施例 4 中, 采用 $\text{H-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$ (参见实施例 20) 和 $\text{Cl-CH}_2\text{CONH}_2$ 烷基化, 反应中存在催化量的 KI。然后用去保护方法 (a) 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 1.02 (m, 2H), 1.12-1.34 (m, 3H), 1.46 (m, 1H), 1.61-2.13 (m, 9H), 1.99 (s, 乙酸酯), 2.34

(m, 1H), 3.25 (t, 2H), 3.33 (t, 2H), 3.60-3.82 (m, 4H), 4.22 (t, 1H), 4.41 (dd, 1H)。

^{13}C -NMR (75 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.5; 羧基碳: δ 168.94, 169.40, 174.43。

实施例 2 8

$\text{HOOC-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中, 采用 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (参见实施例 20) 和 $\text{Br-OH}_2\text{CONHCH}_2\text{COOBn}$ (参见制备的起始产物) 烷基化, 然后用去保护方法 (a) 得到标题化合物。

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 1.01 (m, 2H), 1.15-1.38 (m, 3H), 1.47 (m, 1H), 1.64-2.13 (m, 12H), 2.27 (m, 1H), 3.17-3.26 (m, 3H), 3.37 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 3.88 (s, 2H), 3.93-4.06 (m, 2H), 4.35-4.45 (m, 2H)。

^{13}C -NMR (75 MHz, MeOD): 羰基: δ 158.71; 羧基碳: δ 166.94, 168.35, 172.44, 174.17。

实施例 2 9

$(\text{HOOC-CH}_2)_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ HOAc}$

(i) $(\text{EtOOC-CH}_2)_2\text{-(R)Cha-Pro-NH-(CH}_2)_3\text{-NH}_2 \times \text{HOAc}$

如实施例 4 中, 采用 H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃ (参见实施例 22) 和 $\text{Br-CH}_2\text{COOEt}$ (10 eq. 用于完成二烷基化作用) 烷基化, 然后用去保护方法 (a) 得到标题化合物。

(ii) $(\text{EtOOC-CH}_2)_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

采用如实施例 19 (iii) 中制备 Z-(R)Cha-Pro-Nag 的相同方法, 对上述胺完成脲化合应。用 RPLC 进行化合物的纯化 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1 M), 4:6)。

(iii) $(\text{HOOC-CH}_2)_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

根据去保护方法方法 (e), 用二倍量的 NaOH 使酯基水解, 用 RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 2:8) 纯化后, 蒸发掉溶剂并冷冻干燥 (H_2O) 获得纯化的最终化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.92-1.49 (m, 6H), 1.60-2.54 (m, 10H), 2.05 (s, 乙酸酯), 3.25-3.50 (m, 4H), 3.65-4.03 (m, 6H; 它的 3.95 (s, 4H)), 4.49 (m, 1H), 4.71 (m, 1H; 部分地被 H-O-D 峰掩蔽)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 脲: δ 157.64; 羰基碳: δ 168.62, 171.39, 174.30。

实施例 30

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-Pro-Nag} \times 2\text{ TFA}$

(i) Me-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

如实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) 的相同方法, 从 Boc-(Me)(R)Cha-Pro-OSu 和 Boc-Nag(Z) 制备。

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-Pro-Nag} \times 2\text{ TFA}$

如实施例 4 中, 采用 Me-(R)Cha-Pro-Nag(Z) 和 $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$ 烷基化, 然后用去保护方法 (b) 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 0.8-1.06 (m, 2H), 1.08-1.27 (m, 4H), 1.55-2.10 (m, 12H), 2.30 (m, 1H), 3.04 (s, 3H), 3.14

-3.33 (m, 4H), 3.63 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 4.13 (出现 bs, 2H), 4.38 (br.dd, 1H), 4.56 (bt, 1H)。

^{13}C -NMR (125.76 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.40; 羧基碳: δ 174.05, 168.83, 167.44。

实施例 3 1

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(}^n\text{Bu)}(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中, 采用 $^n\text{Bu-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$ (参见实施例 20) 和 $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$ 烷基化, 然后用去保护方法 (a) 得到标题化合物。

^1H -NMR (500 MHz, D_2O): δ 0.78-0.88 (m, 3H), 0.88-1.02 (m, 2H), 1.02-1.23 (m, 4H), 1.23-1.38 (m, 2H), 1.45-1.84 (m, 11H), 1.84-2.10 (m, 3H), 2.24 (m, 1H), 3.05-3.18 (m, 3H), 3.18-3.38 (m, 3H), 3.57 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 4.05-4.25 (m, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.50 (m, 1H)。

^{13}C -NMR (125 MHz, D_2O): 羰基: δ 159.17; 羧基碳: δ 175.66, 171.13, 169.31。

实施例 3 2

$\text{HOOC-(R, S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

如实施例 4 中, 采用 $\text{H-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$ (参见实施例 20) 和 Br-CH(Me)COOBn 烷基化, 然后用去保护方法 (a), 得到两种非对映体混合物的标题化合物。

实施例 3 3

HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/a x HOAc

采用 RPLC (CH₃ CN/NH₄ OAc (0.1 M), 1/4), 分离实施例 3 2 中形成的非对映体, 蒸发溶剂后获得, 从柱中出现的两个峰中的第一个是本非对映体。

¹ H-NMR (300 MHz, D₂ O 2 旋转异构体大约 9:1 比例): δ 0.78 (m, 较少的旋转异构体), 1.07 (m, 2H), 1.17-1.42 (m, 3H), 1.48-1.64 (m, 4H; 它的 1.56 (d, 3H)), 1.64-1.95 (m, 9H), 1.95-2.20 (m, 3H), 2.00 (s, 乙酸酯), 2.37 (m, 1H), 3.28 (t, 2H), 3.38 (t, 2H), 3.53 (m, 较少的旋转异构体), 3.63 (m, 2H), 3.77 (m, 1H), 4.24 (d, 较少的旋转异构体), 4.35-4.50 (m, 2H), 4.60 (d, 较少的旋转异构体)。

实施例 3 4

HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/b x HOAc

采用描述于实施例 3 3 中的相同方法, 通过实施例 3 2 形成的化合物获得标题化合物。从柱中出现的第二个峰是本对映体。

¹ H-NMR (300 MHz, D₂ O 2 旋转异构体大约 9:1 比例): δ 0.95 (m, 较少的旋转异构体), 1.12 (m, 2H), 1.22-1.40 (m, 3H), 1.40-1.67 (m, 4H; 它的 1.60 (d, 3H)), 1.67-2.00 (m, 9H), 2.00-2.25 (m, 3H), 2.03 (s, 乙酸酯), 2.40 (m, 1H), 3.25-3.48 (m, 4H), 3.66-3.84 (m, 2H), 3.93 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.93 (m, 较少的旋转异构体)。

¹³C-NMR (75.5 MHz, D₂ O): δ 157.42; 羰基碳: δ 168.05, 171.99, 174.04。

实施例 3 5

EtOOC-(R, S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

采用实施例 2 2 中的相同方法, 在烷基化中用 EtOOC-CH(Me)-Br 代替 Br-CH₂-COOEt 而制备。

¹H-NMR (500 MHz, MeOD, 2 非对映体大约 2.5:1 比例和 4 旋转变构体): δ 0.88-2.43 (m, 25H), 3.1-4.55 (m, 11H)。

¹³C-NMR (75 MHz, MeOD): 羰基: δ 158.65; 羧基碳: δ 174.33, 170.66, 168.20。

实施例 3 6

HOOC-(RorS)CH(nPr)-(R)Cha-Pro-Nag/a x HOAc

如实施例 4 中, 用 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (参见实施例 20) 和 Br-CH(nPr)COOEt 烷基化, 采用去保护方法 (e), 然后用去保护方法 (b) 得到 HOOC-(R, S)CH(nPr)-(R)Cha-Pro-Agm。通过用 RPLC(CH₃ CN/NH₄ OAc (0.1m), 1/4) 分离非对映体 (从柱中出现的两个峰中的第一个是本非对映体), 蒸发溶剂后, 冷冻干燥 (H₂O) 获得标题化合物。

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.85-1.05 (m, 5H; 它的 0.95 (t, 3H)), 1.1-2.05 (m, 20H), 1.95 (s, 乙酸酯), 2.18 (m, 1H), 3.15-3.3 (m, 4H), 3.35 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 4.38 (dd, 1H)。

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): 羰基: δ 158.73; 羧基碳: δ 171.63, 174.43 和 176.78。

实施例 3 7

$\text{HOOC}-(\text{R})\text{CH}(\text{CH}_2-\text{OH})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中, 采用 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$ (参见实施例 20) 和 $\text{Br}-(\text{S})\text{ch}(\text{ch}_2-\text{OBn})-\text{COOBn}$ 烷基化, 然后用去保护方法 (a) 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.75-1.56 (m, 7H), 1.56-2.30 (m, 11H), 2.40 (m, 1H), 3.15-3.55 (m, 4H), 3.55-4.60 (m, 7H)。

实施例 3 8

$\text{HOOC}-(\text{R}, \text{S})\text{CH}(\text{ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中, 采用 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro}(\text{Z})$ (参见实施例 20) 和 $\text{Br-CH}(\text{ph})\text{COO}^t\text{Bn}$ 烷基化, 并用去保护方法 (a) 然后用去保护 (f)。得到两种非对映体混合物的标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.8-1.1 (m, 2H), 1.1-2.18 (m, 16H), 2.26 (m, 1H), 3.04-3.35 (m, 5H), 3.45 (m, 1H), 3.7 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.85 (s, 1H, 一个异构体), 5.05 (s, 1H, 另一个异构体), 7.4-7.6 (m, 5H), 7.75 (bt, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羧基: δ 158.68; 羰基碳: δ 174.39, 174.15 和 170.5, 170.06 和 168.32, 167.78。

实施例 3 9

$\text{HOOC}-(\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

如实施例 2 1 中烷基化, 采用 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$ (参见实施

例 20) 和 Tfo-(R)CH(CH₂ CH₂ ph)-COOEt 烷基化, 并用去保护方法 (e), 接着用去保方法 (a), 得到标题化合物。

¹ H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.77-1.05 (m, 2H), 1.05-1.35 (m, 5H), 1.35-2.16 (m, 14H), 1.88 (s, 乙酸酯), 2.71 (t, 2H), 3.07-3.53 (m, 7H), 3.73 (m, 1H), 4.32 (m, 1H), 7.03-7.25 (m, 5H)。

¹³ C-NMR (75 MHz, MeOD): 羰基: δ 158.71; 萜基碳: δ 174.15, 177.31 182.61。

实施例 4 0

HOOC-(R)CH(CH₂ CH₂ ph)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

如实施例 4 中, 采用 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (参见实施例 20) 和 Br-CH(CH₂ CH₂ Ph)-COOEt 烷基化, 然后通过去保护方法 (a) 和 (e), 得到 HOOC-(R, S)CH(CH₂ -CH₂ -Ph)-(R)Cha-Pro-Nag。用 RPLC (CH₃ CN/NH₄ OAc (0.1 M), 2/3) 分离两种非对映体, 蒸发掉溶剂后, 冷冻干燥 (H₂ O) 获得标题化合物。

¹ H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.97 (m, 2H), 1.10-1.41 (m, 3H), 1.43-2.30 (m, 16H), 1.96 (s, 乙酸酯), 2.70 (m, 2H), 3.06-3.26 (m, 3H), 3.28-3.66 (m, 3H), 3.84 (m, 1H), 4.14 (bt, 1H), 4.39 (dd, 1H), 7.11-7.28 (m, 5H)。

¹³ C-NMR (75 MHz, MeOD): 羰基: δ 158.66

实施例 4 1

HOOC-CH₂ -CH₂ -(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(i) $\text{EtOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-NH}_2$

如实施例 1 5 中所述, 用 $\text{H-(R)Cha-Pro-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-N}_3$ 代替 $\text{H-(R)Cha-Pro-Ag}_m\text{(Z)}$ 烷基化, 然后用去保护方法 (a) 获得标题化合物。

(ii) $\text{Et-OOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc}$

采用实施 1 9 中所述的制备 Z-(R)Cha-Pro-Nag 的方法, 腈化上述的酯得到标题化合物 (ii)。

(iii) $\text{HOOC-CH}_2\text{CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc}$

在上述产物 (ii) 上, 采用去保护方法 (e) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 1.12 (m, 2H), 1.22-1.48 (m, 3H), 1.54 (bs, 1H), 1.70-2.37 (m, 12H), 2.14 (s, 乙酸酯), 2.53 (m, 1H), 2.70 (bs, 2H), 3.15 (t, 1H), 3.25-3.55 (m, 5H), 3.75 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 4.43 (t, 1H), 4.52 (m, 1H)。

实施例 4 2

$\text{EtOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc}$

根据实施例 4 1 (ii) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 0.97 (m, 2H), 1.11-1.39 (m, 7H; 它的 1.30 (t, 3H)), 1.50 (t, 2H), 1.62-1.76 (m, 5H), 1.76-2.14 (m, 5H), 1.93 (s, 乙酸酯), 2.29 (m, 1H), 2.62 (t, 2H), 2.77-2.94 (m, 2H), 3.23 (t, 2H), 3.32 (t, 2H), 3.60-3.87 (m, 3H), 4.20 (q, 2H), 4.36 (dd, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): 羧基: δ 157.39; 羰基碳: δ 182.05, 175.13, 175.02。

实施例 4 3

$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ HOAc}$

(i) $\text{Et-OOC-CH=CH-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag(Z)}$

将 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag(Z)}$ (参见实施例 20) (1 eq) 和 3-溴巴豆酸乙基酯 (1.1 eq) 溶于乙腈 (15 ml/mmol) 中。将碳酸钾加入到反应混合物中, 在室温下搅拌 2 h。过滤后和蒸发溶剂, 用闪色谱 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) 纯化粗产物。最后蒸发溶剂并真空干燥产物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.73-1.0 (m, 2H), 1.0-1.4 (m, 8H; 它的 1.33 (t, 3H)), 1.43-2.15 (m, 12H), 2.96 (bs, 1H), 3.12 (dd, 1H), 3.16-3.48 (m, 6H), 3.56 (m, 1H), 4.15 (q, 2H), 4.35 (bs, 1H), 5.03 (s, 1H), 6.0 (d, 1H), 6.85 (dt, 1H), 7.05 (bs, 1H), 7.17-7.37 (m, 5H), 7.5 (bs, 1H)。

(ii) $\text{EtOOC}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

在上述产物 (i) 上, 用去保护方法 (a) 制备。

(iii) $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ HOAc}$

在上述产物 (ii) 上, 用去保护方法 (e) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 1.02 (bs, 2H), 1.08-1.32 (m, 3H), 1.42 (bs, 1H), 1.55-2.15 (m, 14H), 1.92 (s, 乙酸酯), 2.33 (bs, 3H), 3.00 (bs, 1H), 3.07 (bs, 1H), 3.18-3.40 (m, 4H), 3.62 (bs, 1H), 3.82 (bs, 1H), 4.33 (bs, 1H), 4.40 (bs, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.42; 羧基碳: δ 181.87, 174.34, 168.64。

实施例 4 4

$\text{EtOOC}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

根据实施例 4 3 (ii) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$): δ 0.63-1.30 (m, 9H; 它的 1.02 (t, 3H)), 1.30-1.97 (m, 14H), 2.06 (bs, 1H), 2.28 (m, 2H), 2.72-3.20 (m, 6H), 3.36 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.94 (m, 2H), 4.06 (m, 1H), 4.17 (m, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{MeOD}/\text{D}_2\text{O}$): 羰基: δ 158.10; 羧基碳: δ 175.40, 174.23, 168.54。

实施例 4 5

$\text{HOOC-CO}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{EtOOC-CO}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$

将 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$, 0.50 g (0.97 mmol) 溶于 0.54 ml 三乙基胺和 8 ml 的 CH_2Cl_2 中。加入溶于 2 ml 的 CH_2Cl_2 中的乙基草酰氯 0.146 g (1.07 mmol), 此时温度升到 22-28°C 并在室温下搅拌反应 2 小时。有机相用水洗涤两次, 干燥 (Na_2SO_4 并用闪色谱 (EtOAc/EtOH (99%), 9/1) 得到 92 mg (15%) 的标题化合物。

(ii) $\text{HOOC-CO}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

采用去保护方法 (b), 然后用 (e) 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.88-1.14 (m, 2H) 1.15-1.5 (m, 4H), 1.5-2.3 (m, 13H), 1.9 (s, 乙酸酯), 3.1-3.43 (m, 4H),

3.6 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 4.43 (dd, 1H), 4.5 (m, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.57; 羧基碳: δ 165.94, 173.95, 174.85 和 181.22。

实施例 4 6

$\text{MeOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{MeOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$

通过在柱上 $\text{EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$ (参见实施例 45) 的酯基转移作用获得甲基酯, 在内色谱中 EtOAc/MeOH (9:1) 用作溶剂。
产率 55%

(ii) $\text{MeOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

在上述产物 (i) 上, 用去保护方法 (b) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.9-1.1 (m, 2H) 1.1-2.3 (m, 17H), 1.9 (s, 乙酸酯), 3.12-3.4 (m, 4H), 3.52-3.67 (m, 2H), 3.9 (s, 3H), 4.35 (m, 1H), 4.65 (m, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.52; 羧基碳: δ 159.11, 161.20, 173.17 和 174.90。

实施例 4 7

$(R, S)\text{Bla-(R)Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中, 采用 $\text{H-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$ (参见实施例 20) 和 α -溴丁内酯烷基化, 然后用去保护方法 (a), 得到两种非对映体混合物的标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O , 非对映体混合物): δ 1.0-1.43 (m,

5H), 1.45-1.60 (br.s, 1H), 1.64-2.28 (m, 12H), 2.31-2.50 (m, 1H), 2.80-2.98 (m, 1H), 3.23-3.46 (m, 4H), 3.66-3.79 (m, 1H), 3.82-3.96 (m, 1H), 4.33-5.08 (m, 5H, 部分被 H-O-D 信号掩蔽)。

实施例 4 8

HOOC-(R, S)CH(CH₂ COOH)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(i) BnOOC-(R, S)CH(CH₂ COOBn)-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

将 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (参见实施例 20), 0.21 g (0.42 mmol), 和 0.12 g (0.42 mmol) 的马来酸二苯甲基酯溶于 10 ml 的 CH₃ CN 中。使混合物回流过夜, 蒸发并用闪色谱 (CH₂ Cl₂ /MeOH, 94/6) 提纯, 蒸发溶剂得到所需化合物, 产率 22%。

(ii) HOOC-(R, S)CH(CH₂ COOH)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

在上述产物 (i) 上, 用去保护方法 (a) 制备。

¹ H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.9-2.4 (m, 19H) 2.00 (s, 乙酸酯), 2.7-3.0 (m, 2H), 3.1-3.6 (m, 5H), 3.75-3.9 (s, 2H), 4.2-4.5 (m, 2H)。

实施例 4 9

MeOOC-(R, S)CH(CH₂ COOMe)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(i) MeOOC-(R, S)CH(CH₂ COOMe)-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

将 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (参见实施例 20), 0.21 g (0.42 mmol), 和 0.24 g (1.7 mmol) 的马来酸二甲基酯溶于 15 ml 的 MeOH 中。混合物回流过夜, 蒸发并用闪色谱 (CH₂ Cl₂ /MeOH, 9/1) 提纯, 蒸发溶剂得到所需化合物, 产率 45%。

(ii) $\text{MeOOC}-(R, S)\text{CH}(\text{CH}_2 \text{COOMe})-(R)\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

在上述产物 (i) 上, 用去保护方法 (c) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.85-1.1 (m, 2H) 1.15-2.3 (m, 17H), 1.91 (s, 乙酸酯), 2.6-2.8 (m, 2H), 3.1-3.5 (m, 5H), 3.5-3.8 (m, 10H; 它的 4 单 3.66, 3.68, 3.71, 3.73), 4.29 (m, 1H)。

实施例 50

$\text{HOOC-Ph-4-CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

(i) $^t\text{BuOoc-Ph-4-CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_3$

将 $\text{H}-(R)\text{Cha-Pro-NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}_3$ (参见实施例 22), 0.39 g (1.1 mmol) 和 0.33 g (1.2 mmol) P -溴甲基苯甲酸叔戊基丁基酯溶于 10 ml CH_3CN 中, 加入 0.19 g (2.4 mmol) 的 K_2CO_3 。混合物回流过夜并蒸发。粗产物用闪色谱 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 92:8) 提纯, 得到 0.50 g (84%) 的标题化合物。

(ii) $^t\text{BuOoc-Ph-4-CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_3$

在 0°C 对 0.60 g (1.8 mmol) 的双-苯硫基锡烷, 0.20 g (1.8 mmol) 的苯硫酚和 0.18 g (1.8 mmol) 的三乙胺的 50 ml 的 CH_2Cl_2 溶液中, 加入 0.50 g (0.92 mmol) 的 $^t\text{BuOoc-Ph-4-CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_3$ 。在 0°C 搅拌混合物 30 分钟, 在室温下 4 h。然后用 CH_2Cl_2 稀释, 并用碳酸氢钠水溶液洗涤, 随后用 2% H_2O_2 洗涤 3 次。用稀 HCl 提取有机层。合并的酸化水相用 EtOAc 洗涤, 随后用 NaOH(aq) 碱化。用乙酸乙酯提取水层两次, 合并的有机层干燥 (Na_2SO_4) 并蒸发。用内色谱 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$

(NH₃ -饱和), 8:2) 提纯得到 0.12 g (26%) 的标题化合物。

(iii) H₂OOC-Ph-4-CH₂ -(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

采用实施例 19 中所述的制备 Z-(R)Cha-Pro-Nag 的相同方法, 氟化上述的胺, 然后采用去保护的方法 (f), 得到标题化合物。

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.9-1.5 (m, 7H), 1.4-1.9 (m, 9H), 1.95-2.1 (m, 2H), 2.16 (m, 1H), 2.32 (m, 1H), 3.2-3.3 (m, 3H), 3.41 (t, 1H), 3.53 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 4.2-4.3 (m, 3H), 4.42 (dd, 1H), 7.15 (d, 2H), 8.10 (d, 2H)。

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): 羰基: δ 160.8; 羧基碳: δ 174.3, 168.9, 168.2。

实施例 51

(HO)₂P(O)-CH₂ -(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

将 (EtO)₂PO=CH₂ -(R)Cha-Pro-Nag(Z) (参见实施例 53)。60 mg (92 μmol) 溶于 3 ml 的 CH₃CN。加入 0.15 ml 三甲基甲硅烷基溴化物, 并将混合物放置在室温下 21 小时。蒸发后, NMR 分析发现还存在一些酯。粗产物再溶于 3 ml 的 CH₃CN 中并加入 0.15 ml 的三甲基甲硅烷基溴化物。5 小时后, 蒸发混合物, 用 RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0.1M), 30:70), 过滤, 蒸发和冷冻后, 得到最后的化合物, 产率 8%。

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.8-1.1 (m, 2H), 1.15-1.4 (m, 4H), 1.5-1.9 (m, 10H), 1.9-2.1 (m, 4H), 1.96 (s, 乙酸酯), 2.20 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 3.0-3.2 (m, 3H), 3.4-3.5 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 4.39 (bd, 1H), 4.59 (m, 1H)。

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): 羰基: δ 158.6 羧基碳: δ 174.2, 170.6。

实施例 5 2

$\text{EtO}(\text{HO})\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ HOAc}$

(i) $(\text{EtO})_2\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$ 。

将 $(\text{EtO})_2\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$ (参见实施例 53), 50 mg (77 μmol) 溶于 2 ml EtOH 和 2 ml 2M NaOH 中。混合物搅拌过夜并蒸发。粗产物用 RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 30:70) 纯化, 过滤和蒸发溶剂后得到标题化合物。

(ii) $(\text{EtO})_2(\text{HO})\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ HOAc}$

在上述产物 (i) 上, 用去保护方法 (c) 制备。

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.9-1.1 (m, 2H), 1.15-1.35 (m, 6H; 它的 1.28 (t, 3H)), 1.35-1.5 (m, 2H), 1.5-1.6 (m, 1H), 1.65-1.8 (m, 6H), 1.9-2.1 (m, 3H), 1.95 (s, 乙酸酯), 2.19 (m, 1H), 2.80-3.0 (m, 2H), 3.1-3.25 (m, 2H), 3.27 (m, 1H), 3.36 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.9-4.05 (m, 4H), 4.36 (bd, 1H)。

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): 羰基: δ 158.6 羧基碳: δ 175.0, 174.7

实施例 5 3

$(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $(\text{EtO})_2\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$ 。

将 H-(R)Cha-PRO-Nag(Z) (参见实施例 20), 0.2g (0.40 μmol),

溶于 5ml THF 中，加入 0.11 g (0.80 mmol) 的羧酸钾和 0.12 g (0.40 mmol) 三氟甲磺酰基磷酸二乙基酯。混合物在室温下搅拌 2h，用水结束反应，用 EtOAc 提取水层三次。合并的有机层干燥 (Na₂ SO₄) 并蒸发得到 0.14 g (53%) 的标题化合物。

(ii) (EtO)₂ PO-CH₂ -(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

在上述产物 (i) 上，用去保护方法 (c) 制备。

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.85-1.05 (m, 2H), 1.15-1.3 (m, 5H), 1.34 (t, 6H), 1.5-1.85 (m, 8H), 1.9-2.05 (m, 3H), 1.91 (s, 乙酸酯), 2.10 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.90 (dd, 1H), 3.05 (dd, 1H), 3.1-3.3 (m, 3H), 3.42 (m, 1H), 3.53 (m, 1H), 3.71 (dd, 1H), 3.82 (m, 1H), 4.1-4.2 (m, 4H) 4.28 (dd, 1H)。

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): 羧基: δ 158.7 羧基碳: δ 176.1, 175.1。

实施例 5 4

HOOC-CH₂ -(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(i) H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₂ -NH(Z)

从 Boc-(R)Cha-Pro-OSu 和 H₂N-(CH₂)₂ -NH(Z) 制备。采用实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) 的相同方法。

(ii) EtOOC-CH₂ -(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₂ -NH₂ x HOAc

如实施例 4 中烷基化，然后通过去保护方法 (a)，得到标题化合物。

(iii) HOOC-CH₂ -(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

采用实施例 1 9 中所述的制备 Z-(R)Cha-Pro-Nag 的相同方法，

酞化上述的胺，接着用去保护方法 (e)，用 RPLC(CH₃ CN/NH₄ OAc (0.1M), 1/4) 纯化合并冷冻干燥 (H₂ O) 得到标题化合物。

¹ H-NMR (300 MHz, D₂ O): δ 0.90-1.18 (m, 2H), 1.19-1.43 (m, 3H), 1.52 (m, 6H), 1.63-2.20 (m, 10H), 2.06 (s, 乙酸酯), 2.31-2.47 (m, 1H), 3.44 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.60-3.75 (m, 3H), 3.85 (m, 1H), 4.46-4.54 (m, 2H)。

¹³ C-NMR (75 MHz, D₂ O): 羰基: δ 157.82; 羧基碳: δ 168.80, 171.41, 174.81。

实施例 5 5

H-(R, S)Pro(3-Ph)-Pro-Ag_m x 2 TFA

从 Boc-(R, S)Pro(3-Ph)-Pro-OSu (参见制备的起始物) 制备，采用实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) 的相同方法，接着用去保护方法 (b)。

¹ H-NMR (500 MHz, D₂ O, 具有未知相关立体化学的两种非对映体混合物): δ 1.0-1.8 (m, 7H), 2.0-2.5 (m, 3H), 2.8-4.3 (m, 10H), 4.56 (d, 1H, 较多的), 4.90 (d, 1H, 较多的), 7.2-7.5 (m, 5H)。

¹³ C-NMR (125.76 MHz, D₂ O): 羰基: δ 157.36 (较少的和较多的); 羧基碳: δ 174.1 (较多的), 174.0 (较少的), 167.8 (较多的), 167.0 (较少的)。

实施例 5 6

H-(R, S)Pro(3-(反)Ch)-Pro-Ag_m x 2 TFA

从 Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ch)-Pro-OSu (参见制备的起始物) 制备。采实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) 的相同方法, 接着用去保护方法 (b)。

¹ H-NMR (500 MHz, D₂O, 两种非对映体混合物, 比例, 1.8/1):
δ 0.95-1.32 (m, 5H), 1.35-1.46 (m, 1H), 1.50-1.92 (m, 10H),
1.93-2.15 (m, 4H), 2.23-2.43 (m, 2H), 3.15-3.30 (m, 4H), 3.35-3.50 (m, 2H), 3.57-3.68 (m, 1H), 3.74-3.82 (m, 1H), 4.34-4.41 (m, 1H), 4.51 (d, 1H, 较少的), 4.48 (d, 1H, 较多的)。

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₂O): 羰基: δ 157.36 较少的和较多的); 羰基碳: δ 174.34 (较多的), 174.07 (较少的), 168.94 (较少的和较多的)。

实施例 5 7

HOOC-CH₂ -(R, S)Pro(3-(反)Ph)-Pro-Ag_m x 2 TFA

(i) H-(R, S)Pro(3-(反)Ch)-Pro-Ag_m(Z)

从 Boc-(R, S)Pro(3-(反)Ph)-Pro-OSu (参见制备的起始物) 制备。采用实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) 的相同方法。

(ii) HOOC-CH₂ -(R, S)Pro(3-(反)Ph)-Pro-Ag_m x 2 TFA

如实施例 4 中, 用 Br-CH₂ COOBn 烷基化, 接着用去保护的方法 (b), 得到二种非对映体混合物的标题化合物。

¹ H-NMR (500 MHz, MeOD, 两种非对映体混合物, 比例大约: 1.1/1): δ 1.40-1.80 (m, 6H), 1.85-2.05 (m, 1H), 2.10-2.30 (m, 1H), 2.50-2.65 (m, 2H), 3.10-3.40 (m, 6H), 3.50-3.70 (m, 2H),

3.9-4.40 (m, 4H), 4.63 (d, 1H, 较多的), 4.67 (d, 1H, 较少的)
7.30-7.60 (m, 5H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.52 所有异构体);
羧基碳: δ 173.87, 173.73, 169.12, 168.94, 167.21, 167.00。

实施例 5 8

$\text{HOOC-CH}_2-(\text{R}, \text{S})\text{Pro}(3-(\text{反})\text{Ph})-\text{Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

(i) $\text{H}-(\text{R}, \text{S})\text{Pro}(3-(\text{反})\text{Ph})-\text{Pro-Nag}(\text{Z})$

从 $\text{BOC}-(\text{R}, \text{S})\text{Pro}(3-(\text{反})\text{Ph})-\text{Pro-OSu}$ (参见制备的起始物)
和 $\text{Boc-Nag}(\text{Z})$ 制备, 采实施例 3 中所述的制备 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}$
(Z) 的相同方法。

(ii) $\text{HOOC-CH}_2-(\text{R}, \text{S})\text{Pro}(3-(\text{反})\text{Ph})-\text{Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中, 用 $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$ 烷基化, 接着用去保护的方法
(b), 得到如两种非对映体混合物的标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD , 两种非对映体混合物, 比例大约:
1.5/1): δ 1.40-1.85 (m, 4H), 1.90-2.00 (m, 1H), 2.10-2.30 (m,
1H), 2.45-2.70 (m, 2H), 3.08-3.46 (m, 6H), 3.57-3.70 (m, 2H),
3.90-4.0 (m, 1H), 4.32-4.40 (m, 1H), 4.04 和 4.29 (AB-四,
2H, 较多的), 4.16 和 4.37 (AB-四, 2H, 较少的), 4.60 (d, 1H,
较多的), 4.64 (d, 1H, 较少的), 7.33-7.6 (m, 5H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.48 所有异构体);
羧基碳: δ 173.90, 173.71, 169.01, 168.94, 167.07 (所有异构
体)。

实施例 5 9

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Ag}_{\text{m}} \times 2 \text{ TFA}$

(i) $\text{H-(R)Cha-Pic-Ag}_{\text{m}}(\text{Z})$

从 $\text{BOC-(R)Cha-Pic-OSu}$ (参见制备的起始物) 制备, 采用实施例 3 中所述的制备 $\text{H-(R)Cha-Pro-Ag}_{\text{m}}(\text{Z})$ 的相同方法。

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Ag}_{\text{m}} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中, 采用 $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$ 烷基化, 接着用去保护的方法 (a), 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 1.02 (m, 2H), 1.13-2.00 (m, 20H), 2.24 (bd, 1H), 3.12-3.45 (m, 5H), 3.71 (bd, 1H), 3.87 (s, 2H), 4.65 (bt, 1H), 5.06 (m, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.47; 羧基碳: δ 169.42, 170.03, 172.71。

实施例 6 0

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-(R, S)Pic-Ag}_{\text{m}} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{Me-(R)Cha-(R, S)Pic-Ag}_{\text{m}}(\text{Z})$

从 $\text{BOC-(Me)(R)Cha-Pic-OSu}$ 制备, 采用实施例 3 中所述的制备 $\text{H-(R)Cha-Pro-Ag}_{\text{m}}(\text{Z})$ 的相同方法。

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-(R, S)Pic-Ag}_{\text{m}} \times \text{HOAc}$

如实施例 4 中, 用 $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$ 烷基化, 接着用去保护的方法 (b), 得到标题化合物。

注释: 在合成中, 某处出现 Pic 的差向异构表异构化。

$^1\text{H-NMR}$ 是复合谱, 由两个大约 1:1 比例的非对映体和它的旋

转异构体组成。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.75-2.15 (几个 m, 20H) 1.95 (bs, 乙酸酯), 2.2-2.7 (6H, 两个不清楚的信号, 观察到的比例大约: 1:1; 它的 2.35 和 2.55 (s, 3H)), 3.0-3.5 (m, 6H), 3.9-4.17 (m, 2H; 它的 4.14 (dd)), 4.4-4.5 (m, 1H), 4.97-5.15 (二个 bdd, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.50; 羰基碳: δ 169.65, 170.01, 170.54, 172.67, 172.89。

实施例 6 1

$\text{HOOC}-(\text{R}, \text{S})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha-Pic-Agm} \times \text{TFA}$

如实施例 4 中, 采用 $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pic-Agm}(\text{Z})$ (参见实施例 59) 和 $\text{Br-CH}(\text{Me})\text{COOBn}$ 烷基化, 然后用去保护的 (a), 得到两种非对映体混合物的标题化合物。

实施例 6 2

$\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha-Pic-Agm/a} \times 2 \text{ TFA}$

采用 $\text{RPLC}(\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1 M), 1/3) 分离实施例 6 1 形成的非对映体, 接着蒸发溶剂并从 $\text{H}_2\text{O}/\text{TFA}$ 中冷冻干燥而得到。柱中出现的二个峰的第一个是非对映体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O , 2 旋转异构体大约: 5:1 比例): δ 0.70 (m, 较少的旋转异构体), 0.75-1.0 (m, 2H), 1.0-1.28 (m, 3H), 1.28-1.83 (m, 20H; 它的 1.57 (d, 3H)), 2.14 (bd, 1 H), 2.92 (t, 较少的旋转异构体), 3.03-3.32 (m, 5H), 3.59 (bd,

1H), 3.85 (q, 较少的旋转异构体), 3.98 (q, 1H), 4.30-4.50 (m, 较少的旋转异构体), 4.54 (m, 1H), 4.95 (s, 1H)。

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): 羰基: δ 157.39; δ 172.26 (2 碳), 169.92。

实施例 6 3

HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Ag_m/b x 2 TFA

在实施例 6 1 形成的化合物上, 采用实施例 6 2 所述的相同的方法, 获得标题化合物。从柱中出现的第二个峰是本非对映体。

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 旋转异构体大约: 5:1 比例): δ 0.72 (m, 较少的旋转异构体), 0.82 (m, 较少的旋转异构体), 0.97 (m, 2H), 1.0-1.23 (m, 3H), 1.23-1.40 (m, 2H), 1.40-1.83 (m, 18H; 它的 1.63 (d, 3H)), 2.11 (d, 1 H), 2.17 (d, 较少的旋转异构体), 2.92 (t, 较少的旋转异构体), 3.05-3.25 (m, 4H), 3.29 (t, 1H), 3.74 (d, 1H), 4.02 (q, 1H), 4.34 (d, 较少的旋转异构体), 4.41 (dd, 较少的旋转异构体), 4.52 (t, 1H), 4.95 (s, 1H)。

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): 羰基: δ 154.68; 羧基碳: δ 169.81, 169.60, 167.36。

实施例 6 4

HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pic-Ag_m x 2 TFA

采用实施例 1 5 中所述的制备 HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Ag 的相同方法, 从 H-(R)Cha-Pic-Ag_m(Z) 制备, 用 1.2 eq 的丙烯酸苯甲基酯代替 1.1 eq。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O , 2 旋转异构体大约: 4:1 比例): δ 0.70-0.90 (m, 较少的旋转异构体), 0.90-1.0 (m, 2H), 1.05-1.25 (m, 3H), 1.30-1.45 (m, 2H), 1.45-1.85 (m, 15H), 2.1 (bd, 1H), 2.2 (bd, 较少的旋转异构体), 2.75 (t, 2H), 2.95 (t, 较少的旋转异构体), 3.1-3.4 (m, 7H), 3.75 (bd, 1H), 4.55 (t, 1H), 4.95 (m, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基: δ 157.48; 羧基碳: δ 170.10, 172.58, 174.75。

实施例 6 5

H-(R)Cha-Pic-Nag x 2 TFA

(i) Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z)

(ia) 采用实施例 3 中所述的制备 Boc-(R)Cha-Pro-Ag m (Z) 的相同方法, 以 Boc-(R)Cha-Pic-OSu 作为起始物制备。

(ib) 从 Boc-(R)Cha-Pic-OH 起始制备。

将二苯基磷酰基叠氮化物 (0.432 ml, 2 mmol) 加入到 -5°C 的, Boc-(R)Cha-Pic-OH (765 mg, 2 mmol) 的搅拌溶液中。10 分钟后, 加入 H-Nag(Z) x 2 HCl (600 mg 2.1 mmol, 参见分离的起始物) 的 5 ml DMF 溶液和三乙基胺 (615 mg, 4.4 mmol)。保持反应混合物在冰浴中 3 h, 然后在室温下 12 小时, 此后, 将其倒入水中。提取水相并真空蒸发溶剂 1.18 g (96%) 得到如非对映体混合物 (Pic 上差向异构体) 1.18 g (96%) 的产物, 其比例为 97:3 (RS/RF)。

(ic) 从 Boc-(R)Cha-Pic-OH 起始

在 -15°C 下, 将 EDC 氢氯化物 (4.2 g, 21.9 mmol) 加入到

Boc-(R)Cha-Pic-OH (8 g, 20.9 mmol), DMAP (10.6 g, 88 mmol)和 H-Nag-(Z) x HCl (6.3 g, 19.5 mmol, 参见制备的起始物) 的乙腈溶液中, 在 16 小时中, 使反应混合物升至室温, 真空除去溶液, 残留物溶于乙酸乙酯中, 用水, 0.3M KHSO₄, 0.3 M NaHCO₃, 水和盐水洗涤, 接着通过干燥 (Na₂SO₄) 和蒸发溶剂得到如非对映体混合物 (Pic 上的差面异构体) 的 11.9 g (92.5 %) 的产物, 其比例为 98/2 (RS/RR)。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.85-2.0 (m, 29H; 它的 1.40 bs, 9H), 2.46 (bd, 1H), 3.1-3.4 (m, 5H), 3.92 (bd, 1H), 4.53 (bq, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.22 (bs, 1H), 5.29 (bd, 1H), 6.7-7.2 (b, 3H), 7.25-7.45 (m, 5H)。

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): 羰基 δ 156.9; 羰基碳: δ 173.6, 170.3, 163.7, 161.7。

(ii) H-(R)Cha-Pic-Nag(Z)

如实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) 的相同方法, 以 Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) 作为起始物制备。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.8-2.0 (m, 22H), 2.24 (bd, 1h), 3.1-3.4 (m, 5H), 3.72 (bd, 1H), 3.84 (bq, 1H), 5.05 (bd, 1H), 5.08 (s, 2H), 7.3-7.5 (m, 5H)。

(iii) H-(R)Cha-Nag x 2 TFA

在产物 (ii) 上, 采用去保护方法 (a) 制备。

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.9-1.1 (m, 2H), 1.2-2.0 (m, 18H), 2.32 (bd, 1H), 3.20 (t, 2H), 3.30 (t, 2H), 3.36 (m, 1H), 3.69 (bd, 1H), 4.49 (dd, 1H), 5.05 (bd, 1H)。

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): 羰基 δ 158.7; 羧基碳: δ 172.7, 171.4

实施例 6 6

Me-(R)Cha-(R, S)Pic-Nag x 2 TFA

(i) Me-(R)Cha-(R, S)Pic-Nag(Z)

采用实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag $\blacksquare$ (Z) 的相同方法, 从 BOC-(Me)(R)Cha-Pic-OSu 和 Boc-Nag(Z) 起始制备。在合成中 Pic 出现差向异构表异构化, 获得两个非对映体的混合物。

(ii) Me-(R)Cha-(R, S)Pic-Nag x 2 TFA

采用去保护方法 (b) 制备。

^1H -NMR 谱是复合的由两种比例大约为 4:1 的非对映体组成和它的旋转异构体。

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.8-1.08 ($\blacksquare$, 2H), 1.15-2.4 (几个 $\blacksquare$, 19H), 2.6-2.75 和 2.9-2.95 (几个 s, 3H), 3.1-3.6 (几个 $\blacksquare$, 5H), 3.75-4.1 (几个 $\blacksquare$, 1H) 4.4-4.7 (几个 $\blacksquare$, 1H), 5.05-5.15 (二 dd, 1H)。

^{13}C -NMR (125 MHz, D $_2$ O): 羰基 δ 154.84; 羧基碳: δ 167.60 和 169.99。

实施例 6 7

HOOC-CH $_2$ -(R)Cha-Pic-Nag

(i) BnOOC-CH $_2$ -(R)Cha-Pic-Nag(Z)

如实施例 4 中采用 H-(R)Cha-Pic-Nag(Z) (参见实施例 65) 和

Br-CH₂ COOBn 烷基化得到标题化合物。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.8-1.0 (m, 2H), 1.1-1.7 (m, 19H), 1.79 (bd, 1H), 2.3-2.5 (m, 2H; 它的 2.38 (bd, 1H)), 3.00 (bt, 1H), 3.1-3.4 (m, 5H; 它的 3.38 (d, 1H)) 3.58 (d, 1H), 3.67-3.7 (m, 2H), 5.06 (dd, 2H), 5.07 (s, 2H), 5.16 (bs, 1H), 6.7-7.1 (b, 1H), 7.15 (bs, 1H), 7.2-7.4 (m, 10H)。

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): 羰基和羰基碳: δ 176.0, 173.6, 170.8, 163.8, 161.7。

(iia) HOOC-CH₂ -(R)Cha-Pic-Nag x 2 HCl

采用去保护方法 (a) 接着用 RPLC 纯化, 用 CH₃ CN/ 0.1 M NH₄ OAc, 1/3 作为洗脱剂, 在 40-50 °C 蒸发并冷冻干燥, 得到标题化合物的乙酸酯。用 20 倍的过量盐酸处理, 蒸发并重新冷冻干燥得到所需化合物的二氢氯化物。

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 两种旋转异构体的混合物): δ 0.7-2.0 (m, 20H), 2.17 (bd, 1H), 2.95 (t, 较少的旋转异构体), 3.17 (t, 2H), 3.25-3.35 (m, 3H), 3.72 (bd, 1H), 3.86 (dd, 较少的旋转异构体), 3.90 (s, 2H), 4.72 (t, 1H), 4.99 (bs, 1H)。

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): 羰基 δ 157.4; 羰基碳: δ 169.9, 170.2, 173.0。

(iib) HOOC-CH₂ -(R)Cha-Pic-Nag x 2 HBr

将 BnOOC-CH₂ -(R)Cha-Pic-Nag(Z) 溶于 ¹Pr-OH/H₂O (95/5) 中, 在大气压下, HBr (2.2 eq) 存在下用 5% Pb/c 充分氢化。过滤掉催化剂, 蒸发溶剂, 得到黄色油。(可选择的, 氢化和过滤后可加入酸), 从 ¹Pr-OH (或 EtOH)/EtOAc (1/1) 结晶, 得到如白色结

晶粉末的标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O , 两种旋转异构体的混合物): δ 1.15-2.0 (m, 20H), 2.30 (bd, 1H), 3.30 (m, 2H), 3.40-3.50 (m, 3H), 3.85-3.90 (m, 1H), 3.95 (出现 s, 2H), 4.75-4.85 (m, 1H, 被 H-O-D 线部分掩蔽), 5.10 (bs, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): 羰基 δ 157.6; 羧基碳: δ 169.7, 170.2, 173.0。

实施例 6 8

$\text{MeOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

在上通过 $^1\text{PrOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ (参见实施例 6 9) 的酯化转移作用, 得到 $\text{MeOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ 的甲基酯, 在内色谱期间, 用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 作为洗脱剂。通过去保护方法 (a) 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.95-1.15 (m, 2H), 1.2-1.6 (m, 6H), 1.65-2.0 (m, 13H), 2.25 (bd, 1H), 3.21 (t, 2H), 3.30 (t, 2H), 3.37 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.97 (dd, 2H), 4.67 (bt, 1H), 5.05 (bs, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): 羰基 δ 158.0; 羧基碳: δ 173.0, 171.1, 168.3。

实施例 6 9

$^1\text{PrOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中所述采用 $\text{H(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ (参见实施例 65)

和 $\text{Br-CH}_2\text{-COO}^t\text{Pr}$ 烷基化，接着用去保护方法 (a) 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.95-1.1 (m, 2H), 1.15-1.16 (m, 12H; 它的 1.25 (d, 3H), 1.28 (d, 3H)), 1.65-1.95 (m, 12H), 2.28 (bd, 1H), 3.21 (t, 2H), 3.30 (t, 2H), 3.36 (m, 1H), 3.93 (dd, 2H), 4.67 (t, 1H), 5.04 (bs, 1H), 5.11 (戊, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): 羧基 δ 157.9; 羰基碳: δ 173.1, 171.0, 168.3。

实施例 70

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-(RorS)Pic-Nag/b} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中所述，采用 $\text{Me(R)Cha-(R, S)Pic-Nag(Z)}$ (参见实施例 66) 和 $\text{Br-CH}_2\text{-COOBn}$ 烷基化，通过去保护方法 (b) 得到 $\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-(R, S)Pic-Nag}$ 。用 RPLC ($\text{CH}_3\text{CN/NH}_4\text{OAc}$, 1:3) 分离两种非对映体，接着从 $\text{H}_2\text{O/TFA}$ 中冷冻干燥。从柱中出现的两个峰的最后一个是本非对映体。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.9-1.1 (m, 2H), 1.15-1.35 (m, 4H), 1.4-1.55 (m, 2H), 1.6-1.85 (m, 12H), 2.3 (m, 1H), 2.85 (s, 3H), 3.15-3.45 (m, 5H), 3.65 (bs, 2H), 4.0 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 5.08 (dd, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羧基 δ 157.65; 羰基碳: δ 169.86 和 172.48。

实施例 7 1

$\text{HOOC}-(R, S)\text{CH}(\text{Me})-(R)\text{Cha}-(R, S)\text{Pic-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

如实施例 4 中所述, 采用 $\text{H}-(R)\text{Cha-Pic-Nag}(Z)$ (参见实施例 65) 和 $\text{Br-CH}(\text{Me})-\text{COOBn}$ 烷基化, 接着用去保护方法 (a) 得到标题化合物。

实施例 7 2

$\text{HOOC}-(R\text{or}S)\text{CH}(\text{Me})-(R)\text{Cha}-(R\text{or}S)\text{Pic-Nag/c} \times 2 \text{ TFA}$

采用 RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1 M), 1/4) 分离实施例 7 1 中形成的非对映体, 接着蒸发并从 $\text{H}_2\text{O}/\text{TFA}$ 中冷冻干燥而获得, 从柱中出现的四个峰的第三个是本非对映体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O , 2 旋转异构体大约: 5:1 比例): δ 0.88 (m, 较少的旋转异构体), 0.98-1.63 (m, 7H), 1.63-2.02 (m, 16H; 它的 1.68 (d, 3H)), 2.28 (m, 1H), 3.10 (t, 较少的旋转异构体), 3.25-3.50 (m, 5H; 它的 3.33 (t, 2H) 和 3.43 (t, 2H)), 3.82 (bd, 1H), 4.02 (q, 1H), 4.55 (d, 较少的旋转异构体), 4.65 (d, 较少的旋转异构体), 4.72 (m, 1H), 5.10 (m, 1H)。

实施例 7 3

$\text{HOOC}-(R\text{or}S)\text{CH}(\text{Me})-(R)\text{Cha}-(R\text{or}S)\text{Pic-Nag/d} \times 2 \text{ TFA}$

采用 RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1 M), 1:4) 分离实施例 7 1 形成的非对映体, 接着通过蒸发和用 $\text{H}_2\text{O}/\text{TFA}$ 中冷冻干燥获得, 柱中的四个非对映体中, 最后出现是本非对映体。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O , 2 旋转异构体大约: 5:1 比例): δ

0.80 (m, 较少的旋转异构体), 0.90 (m, 较少的旋转异构体), 1.03 (m, 2H), 1.10-1.33 (m, 3H), 1.42 (m, 2H), 1.51-1.92 (m, 16H; 它的 1.57 (d, 3H)), 2.18 (d, 1H), 2.24 (d, 较少的旋转异构体), 2.98 (t, 较少的旋转异构体), 3.21 (t, 2H), 3.28-3.40 (m, 5H; 它的 3.44 (t, 2H)), 3.82 (d, 1H), 4.02 (q, 1H), 4.42 (d, 较少的旋转异构体), 4.50 (t, 较少的旋转异构体), 4.62 (t, 1H), 4.67 (s, 较少的旋转异构体), 5.03 (s, 1H)。

实施例 7 4

HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag x 2 TFA

从 H-(R)Cha-Pic-Nag(2) (参见实施例 65) 制备, 采用实施例 1 5 中所述的制备 HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm 的相同方法, 用 1.2 eq 的丙烯酸苯甲基酯代替 1.1 eq。

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 旋转异构体大约: 4:1 比例): δ 0.7-0.9 (m, 较少的旋转对映体), 0.9-1.0 (m, 2H), 1.05-1.3 (m, 3H), 1.3-1.45 (m, 2H), 1.05-1.8 (m, 13H), 2.10 (d, 较少的旋转异构体), 2.75 (t, 2h), 2.95 (t, 较少的旋转对映体), 3.15 (t, 2H), 3.2-3.35 (m, 5H), 3.75 (d, 1H), 4.55 (t, 1H), 4.95 (m, 1H)。

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): 羧基 δ 157.57; 羰基碳: δ 170.16, 172.82, 174.75。

实施例 7 5

HOOC-CH₂-(R)Cha-(R, S)Mor-Agm x 2 TFA

(i) H-(R)Cha-Mor-Ag_n(Z)

从 Boc-(R)Cha-Mor-OSu (参见制备的起始物) 制备, 采用实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag_n(Z) 的相同方法。

(ii) HOOC-CH₂ -(R)Cha-(R, S)Mor-Ag_n x 2 TFA

如实施例 4 中, 采用 Br-CH₂ COOBn 烷基化, 接着用去保护的方法 (b) 得到标题化合物。在合成中, Mor 的某些地方出现差面异构表异构化, 且观察终产物是大约 9:1 的两种非对映体的混合物

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.92-1.95 (m, 17H), 3.12-3.39 (m, 4H), 3.44-4.05 (m, 7H), 4.37 (d, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.79 (bd, 1H)。

¹³C-NMR (75.47 MHz, MeOD): 羰基 δ 158.63; 羧基碳: δ 170.87, 170.82, 169.08 其它的: δ 69.06, 67.01 (C-O-C)。

实施例 7 6

HOOC-CH₂ -(R)Cha-(RorS)Mor-Nag x 2 TFA

(i) H-(R)Cha-Mor-Nag(Z)

从 Boc-(R)Cha-Mor-OSu (参见制备的起始物) 制备和 Boc-Nag (Z) 制备, 采用实施例 3 中所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag_n(Z) 的相同方法。

(ii) HOOC-CH₂ -(R)Cha-(RorS)Mor-Nag x 2 TFA

如实施例 4 中所述, 采用 Br-CH₂ COOBn 烷基化, 接着用去保护的方法 (b) 得到标题化合物。

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.92-1.13 (m, 2H), 1.15-1.42 (m, 3H), 1.50 (br.s, 1H), 1.62-1.95 (m, 9H), 3.14-3.40

(m, 4H), 3.46-4.13(m, 7H) 4.41 (d, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.80 (br.d, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, MeOD): 羰基 δ 158.68; 羧基碳: δ 171.19, 170.90, 169.46。其它的: δ 68.81, 67.00 (C-O-C)。

实施例 7 7

H-(R)Cha-Aze-Nag x 2 HOAc

(i) Boc-(R)Cha-Aze-Nag(Z)

根据实施例 65 (ic) 中所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) 的相同方法, 从 Boc-(R)Cha-Aze-OH 制备。

(ii) H-(R)Cha-Aze-Nag(Z)

如所述制备 H-(R)Cha-Pro-Ag α (Z) (参见实施例 3) 的相同方法制备。

(iii) H-(R)Cha-Aze-Nag x 2 HOAc

在上述产物 (ii) 上, 采用去保护方 (a) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D₂O): δ 0.85-1.10 (m, 2h), 1.10-2.04 (m, 13H), 1.95 (s, 乙酸酯), 2.20-2.37 (m, 1H), 2.60-2.82 (m, 1H), 3.15-3.40 (m, 4H), 3.96-4.15 (m, 2H), 4.18-4.30 (m, 1H), 4.30-4.42 (m, 1H), 较少的旋转异构体的信号出现在: δ 0.70, 3.90 和 5.10。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D₂O): 羰基 δ 157.39 和羧基碳: δ 170.22 和 172.38。

实施例 7 8

HOOC-CH₂ -(R)Cha-Aze-Nag x HOAc

(i) BnOOC-CH₂ -(R)Cha-Aze-Nag(Z)

根据描述于实施例 4 中的方法，从 H-(R)Cha-Aze-Nag(Z) (参见实施例 7 7) 制备。

(ii) HOOC-CH₂ -(R)Cha-Aze-Nag x HOAc

在上述产物 (i) 上，采用去保护 (a) 制备。

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.90-1.10 (m, 2h), 1.15-2.00 (m, 13H), 1.95 (s, 乙酸酯), 2.20-2.30 (m, 1H), 2.58-2.70 (m, 1H), 3.17-3.30 (m, 4H), 3.35-3.50 (m, 2H), 3.55-3.68 (m, 1H), 4.10-4.20 (m, 1H), 4.30-4.38 (m, 1H), 4.65-4.77 (m, 1H), 较少的旋转异构体的信号出现在: δ 3.75, 3.98, 4.03 和 5.08。

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): 羰基 δ 157.40 和 羧基碳: δ 169.16, 171.92 和 172.13。

实施例 7 9

H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag x 2 HCl

(i) Boc-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag(Z)

采用所述的联结 Boc(R)Cha-OH 和 H-Pic-OEt x HCl (参见制备的起始物) 的相同方法，用来完成 (R)Cha-Pro(5-(S)Me)-OH 和 H-Nag(Z) x 2 HCl 之间的联接。

(ii) H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag(Z)

采用所述的合成 H-(R)-Cgl-Pic-Nag(Z) (参见实施例 84 (ii)) 的相同方法。

(iii) H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag x 2 HCl

在上述产物 (ii) 上, 采用去保护方法 (d) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 1.0-2.3 (m, 21H), 它的 1.47 (d, 3H), 2.4-2.55 (m, 1H), 3.3-3.6 (m, 4H), 4.30 (bt, 1H), 4.38 (dd, 1H), 4.47 (bt, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基 δ 157.6; 羧基碳: δ 174.6, 169.6。

实施例 80

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag} \times 2 \text{ HOAc}$

如实施例 4 中, 采用 $\text{H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag(Z)}$ (参见实施例 79) 和 $\text{Br-CH}_2\text{-COOBn}$ 烷基化, 接着用去保护方法 (a) 得到标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.9-1.9 (m, 19H); 它的 1.34 (bd, 3H), 1.93 (s, 乙酸酯), 2.0-2.2 (m, 3H), 2.34 (m, 1H), 3.1-3.5 (m, 7H), 3.97 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.31 (bt, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基 δ 157.4。

实施例 81

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(RorS)Pic(4,5-去氢)-Nag/b} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{Boc-(R)Cha-(R, S)Pic(4,5-去氢)-Nag(Z)}$

从 $\text{Boc-(R)Cha-(R, S)Pic(4,5-去氢)-OH}$ 制备, 采用所述的制备 $\text{BOC-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ 的相同方法 (参见实施例 65 (ic))。

(ii) $\text{H-(R)Cha-(R, S)Pic(4,5-去氢)-Nag(Z)}$

采用所述的 $\text{H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$ (参见实施例 3) 的相同方法

制备。

(iii) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(R, S)Pic(4,5-去氢)-Nag(Z)}$

根据实施例 4 所述的方法，从 $\text{H-(R)Cha-(R, S)Pic(4,5-去氢)-Nag(Z)}$ 制备。

(iv) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(RorS)Pic(4,5-去氢)-Nag/b x 2 HOAc}$

将 356 mg (0.539 mmol) 的 $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(R, S)Pic(4,5-去氢)-Nag(Z)}$ ，10.8 mL 三氟乙酸和 3.4 mL 的混合物，在室温下搅拌 3.5 小时。加入水且混合物用 CH_2Cl_2 洗涤二次，蒸发溶剂得到 $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(R, S)Pic(4,5-去氢)-Nag}$ 。通过 RPLC ($\text{CH}_3\text{CN/NH}_4\text{OAc}$ (0.1 M), 3/7) 分离非对映体，并在蒸发溶剂后，冷冻干燥 (H_2O) 获得标题化合物，从柱中出现的两个峰的第二个是本非对映体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.85-1.95 (m, 15H), 2.50-2.80 (m, 2H), 3.25 (t, 2H), 3.35 (t, 2H), 3.55 (bs, 2H), 3.85-4.6 (m, 3H), 4.92 (较少), 5.30 (d, 1H), 5.85-6.1 (m, 2H),

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基 δ 157.59; 和羧基碳: δ 171.46, 172.58, 173.03。

实施例 8 2

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag x 2 HCl}$

(i) $\text{Boc-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z)}$

从 $\text{Boc-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-OH}$ 制备，根据实施例 6 5 的方法 (ic)，采用所述的制备 $\text{Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ 的相同方法制备。

(ii) $\text{H-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z)}$

如所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) (参见实施例 3) 的相同方法制备。

(iii) BnOOC-CH₂ -(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z)

根据描述于实施例 4 中的方法, 从 H-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag 制备。

(iv) HOOC-CH₂ -(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag x 2 HCl

在上述产物 (iii) 上, 采用去保护方法 (d) 制备。

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.95-2.05 (m, 22H; 它的 1.05 (d, 3H)), 2.30-2.38 (bd, 1H), 3.28-3.36 (m, 2H), 3.36-3.50 (m, 3H), 3.85-3.95 (m, 1H), 3.98 (s, 2H), 4.70-4.90 (m, 1H; 部分掩藏在 HOD 信号的后面), 5.22-5.27 (d, 1H), 较少的旋转异构体的信号出现在: δ 0.93, 3.13 和 4.57。

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): 羰基 δ 157.58; 羧基碳: δ 170.12, 170.32 和 172.82。

实施例 8 3

HOOC-CH₂ -(R)Pic(4-(R)Me)-Nag x 2 HCl

(i) Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z)

从 Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OSu 和 Boc-Nag(Z) 制备, 采用如 Boc-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) (参见实施例 3) 的相同方法制备。

(ii) H-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z)

如所述的制备 H-(R)Cha-Pro-Ag_m(Z) (参见实施例 3) 的相同方法制备。

(iii) BnOOC-CH₂ -(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z)

根据描述于实施例 4 中的方法, 从 H-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z) 制备。

(iv) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag} \times 2 \text{ HCl}$

在上述产物 (iii) 上, 采用去保护方法 (d) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 1.00-2.05 (m, 22H), 2.18-2.26 (bd, 1H), 3.28-3.36 (m, 2H), 3.36-3.55 (m, 3H), 3.85-4.05 (m, 3H), 4.70-4.90 (m, 1H; 部分掩藏在 HOD 信号的后面), 5.25-5.30 (d, 1H), 较少的旋转异构体的信号出现在: δ 2.40, 2.90, 4.10, 4.42, 4.55 和 5.23。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): 羰基 δ 157.56; 和羧基碳: δ 169.69, 169.84 和 173.20。

实施例 8 4

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cgl-Pic-Nag} \times 2 \text{ HCl}$

(i) Boc-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)

从 Boc-(R)Cgl-Pic-OH 制备, 根据实施例 6 5 的方法 (ic), 如所述的制备 Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) 的相同方法制备。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0.9-1.8 (m, 27H), 2.4 (d, 1H), 3.1-3.3 (m, 5H), 3.9 (d, 1H), 4.2 (t, 1H), 5.1 (s, 2H), 5.2 (bd, 2H), 6.7-7.4 (m, 9H)。

(ii) H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)

将氯化氢气体通入 Boc-(R)Cgl-Pic-Nag(Z) (1.38 g, 2.22 mmol) 的乙酸乙酯溶液中。10 分钟后蒸发溶剂, 残留物溶于乙酸乙酯和 10 % Na_2CO_3 中。分离有机相, 用盐水洗涤并干燥 (MgSO_4)。蒸发溶

剂得到 1.02 g (92%) 的标题化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 1.0-1.9 (m, 18H), 2.2-2.3 (m, 1H), 3.2-3.3 (m, 5H), 3.6 (d, 1H), 3.8-3.9 (bd, 1H), 4.2 (t, 1H), 4.7-4.8 (bs, 5H), 5.1 (s, 2H), 5.2 (s, 1H), 7.2-7.3 (m, 5H)。

(iii) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)}$

在 -25°C , 将苯甲基乙二醇三酯 (291 mg, 0.98 mmol) 的 CH_2Cl_2 (2 ml) 溶液, 加入到 $\text{H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)}$ (0.52 g, 1.04 mmol) 和 K_2CO_3 (494 mg, 3.58 mmol) 的乙腈 (5 ml) 和 CH_2Cl_2 (1 ml) 的搅拌混合物中, 两个小时之间使温度升至室温, 且 5 天后, 用水稀释反应混合物, 并用 EtOAc 和甲苯提取。干燥有机相 (MgSO_4), 浓缩溶液, 得到 319 mg (47%) 无色晶体。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 1.0-1.1 (m, 1H), 1.1-1.3 (m, 4H), 1.35-1.6 (m, 5H), 1.6-1.85 (m, 8H), 1.8-2.2 (bs, 1H), 2.23-2.5 (m, 2H), 2.9 (t, 1H), 3.1-3.5 (m, 6H), 3.6-3.7 (m, 2H), 5.0-5.1 (m, 4H), 5.2 (s, 1H), 6.5-7.4 (m, 13H)。

(iv) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cgl-Pic-Nag} \times 2\text{HCl}$

将 $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)}$ (319 mg, 0.49 mmol) 溶于加热的异丙醇 (50 ml) 和水 (5 ml), 并用 10 % Pd/c (228 mg) 充分氢化 24 h。过滤和蒸发溶剂后, 接着溶于稀盐酸中并冷冻干燥, 分离如白色粉末状的肽 (223 mg, 91%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 1.1-2.1 (m, 18H), 2.3 (d, 1H), 3.3 (t, 2H), 3.4 (t, 3H), 3.85-4.05 (m, 3H), 4.6 (d, 1H), 5.15 (s, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羰基 δ 157.43; 羧基碳: δ 169.2, 172.94。

实施例 8 5

$\text{H-(R)Hoc-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

(i) $\text{Boc-(R)Hoc-Pro-Nag(Z)}$

从 Boc-(R)Hoc-Pro-OH 制备, 根据实施例 6 5 (ic) 中所述的制备 $\text{Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ 的相同方法。

(ii) $\text{H-(R)Hoc-Pro-Nag(Z)}$

如所述的制备 $\text{H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$ (参见实施例 3) 的相同方法制备。

(iii) $\text{H-(R)Hoc-Pro-Nag} \times \text{TFA}$

在产物 (ii) 上, 采用去保护方法 (a) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.90-1.05 (m, 2H), 1.16-1.48 (m, 6H), 1.48-1.84 (m, 6H), 1.84-2.24 (m, 6H), 2.40 (m, 1H), 3.25-3.45 (m, 4H), 3.74 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.51 (m, 1H)。

实施例 8 6

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pro-Nag(Z)}$

根据实施例 4 中叙述的方法, 从 $\text{H-(R)Hoc-Pro-Nag(Z)}$ (参见实施例 8 5) 制备。

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

在上述产物 (a) 上, 采用去保护方法 (a) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.76-0.97 (m, 2H), 1.00-1.37 (m, 6H), 1.50-2.12 (m, 12H), 1.89 (s, 乙酸酯), 2.27 (m, 1H), 3.10-3.33 (m, 4H), 3.41 (bs, 2H), 3.61 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.37 (m, 1H)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): 羧基 δ 157.4; 羰基碳: δ 170.08, 173.9, 174.5。

实施例 8 7

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pic-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{Boc-(R)Hoc-Pic-Nag(Z)}$

从 Boc-(R)Hoc-Pic-OH 制备, 根据实施例 6 5 的方法 (ic), 采用所述的制备 $\text{Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ 的相同方法制备。

(ii) $\text{H-(R)Hoc-Pic-Nag(Z)}$

采用所述的制备 $\text{H-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$ (参见实施例 3) 的相同方法制备。

(iii) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pic-Nag(Z)}$

根据如实施例 4 所述的方法制备。

(iv) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pic-Nag} \times \text{HOAc}$

在上述产物 (iii) 上, 用去保护方法 (a) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.75-0.95 (m, 2H), 1.00-1.30 (m, 6H), 1.30-1.50 (m, 2H), 1.50-1.82 (m, 12H), 1.82-1.95 (bs, 乙酸酯), 2.23 (bd, 1H), 3.08-3.32 (m, 6H), 3.52 (bs, 2H), 3.77 (bd, 1H), 4.50 (bs, 1H), 5.00 (bs, 1H)。

实施例 8 8

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Dph-Pic-Nag} \times 2 \text{ HCl}$

(i) $\text{Boc-(R)Dph-Pic-Nag(Z)}$

从 Boc-(R)Dph-Pic-OH 制备, 采用所述的制备 $\text{Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ (参见实施例 6 5 (ic)) 的相同方法。

(ii) $\text{H-(R)Dph-Pic-Nag(Z)}$

采用所述的制备 $\text{H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)}$ (参见实施例 84 (ii)) 的相同方法制备。

(iii) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Dph-Pic-Nag(Z)}$

根据实施例 4 中所述的方法, 从 $\text{H-(R)Dph-Pic-Nag(Z)}$ 制备。

(iv) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Dph-Pic-Nag} \times 2 \text{ HCl}$

在上述产物 (iii) 上, 用去保护方法 (d) 制备。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 0.46 (m, 1H), 1.2-1.35 (m, 2H), 1.45 (m, 1H), 1.53 (m, 1H), 1.89 (成, 2H), 2.03 (bd, 1H), 3.24 (bt, 1H), 3.29 (t, 2H), 3.38 (t, 2H), 3.72 (d, 1H), 3.78 (d, 1H), 3.79 (m, 1H), 4.68 (d, 1H), 4.89 (m, 1H), 5.73 (d, 1H), 7.4-7.6 (m, 6H), 7.65 (t, 2H), 7.81 (d, 2H)。

实施例 8 9

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Dph-Pic-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{Boc-(R)Dch-Pic-Nag(Z)}$

从 Boc-(R)Dch-Pic-OH 制备, 采用所述的制备 $\text{Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ (参见实施例 6 5 (ic) 中) 的相同方法。

(ii) H-(R)Dch-Pic-Nag(Z)

采用所述的制备 H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z) (在实施例 8 4 (ii) 中) 的相同方法制备。

(iii) BnOOC-CH₂ -(R)Dch-Pic-Nag(Z)

根据实施例 4 中所述的方法, 从 H-(R)Dch-Pic-Nag x HOAc 制备。

(iv) HOOC-CH₂ -(R)Dch-Pic-Nag x HOAc

通过去保护作在上述 (iii) 产物中制备。

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 1.2-2.0 (m, 30H), 2.09 (s, 乙酸酯), 2.30 (bd, 1H), 3.32 (t, 2H), 3.4-3.5 (m, 3H), 3.65 (d, 1H), 3.70 (d, 1H), 3.86 (bd, 1H), 4.86 (m, 1H), 5.09 (m, 1H)。

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): 羰基 δ 159.4; 羰基碳: δ 172.5, 173.3, 174.9。

实施例 P 1

非肠道给药的溶液

以下述成分制备溶液

HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag x 2 HBr	5g
注射用氯化钠	9g
乙酸	3g

注射水至 1000 ml

将活性成分, 氯化钠和乙酸溶于水中。用 2M NaOH 将 PH 调节至 PH 3-7。通过消毒的 0.2 μm 滤器过滤溶液, 并无菌地倒入消毒的安瓿瓶。

实施例 P 2

口服给药的片剂

以下述成分制备 1000 片

凝血酶抑制剂	100g
乳糖	200g
聚乙烯吡咯烷酮	30g
微晶纤维素	30g
硬脂酸镁	6g

将活性成分和乳糖与聚乙烯吡咯烷酮的水溶液混合。干燥混合物并磨成颗粒。然后混合微晶纤维素，再混合硬脂酸镁。然后将混合物用压片机，压出 1000 片，每片含有 100 mg 的活性成分。

生物学

测定凝血酶的凝固时间和 IC_{50} TT:

将人体凝血酶 (T 6769, Sigma Chem Co) PH 7.4 的 100 μ l 的缓冲溶液，和 100 μ l 抑制剂溶液，温育一分钟。汇合入正常的人体血浆柠檬酸盐，100 μ l 加入后，用自动设备 (KC 10, Amelung)测定凝固时间。

按秒计算的凝固时间，相对抑制浓度绘图应用内推法测定 LC_{50} TT。

LC_{50} TT是两倍于人体血浆凝血酶凝固时间的抑制剂浓度。 pIC_{50} TT是以 mol/l 为单位的 IC_{50} TT 的 $-\log 10$ 。本发明中优选的化合物具有的 pIC_{50} TT 在 6.6-8.2 之间。

测定活化部分凝血激活的时间 (APTT)。

汇合正常人体血浆柠檬盐和由 Stago 制造的 PTT Automated 5 试剂。将抑制剂加入到血浆中 (10 μ l 抑制剂溶液对 90 μ l 血浆。并测定混合物的 APTT，根据试剂生产者的建议，采用凝血分析仪 KC

10 (Amelung)测定。按秒计的凝固时间，相对血浆的抑制剂浓度作图。应用内推法确定 IC_{50} APTT。

IC_{50} APTT 定义为两倍于活化部分凝血激活酶时间的血浆中的抑制剂浓度， pIC_{50} APTT 是以 $\mu\text{mol/l}$ 计的 IC_{50} APTT 的 $-\log 10$ 。实验中显示的 pIC_{50} APTT 在 5.1-6.4 之间的那些本发明化合物是优选的。

缩写词

Ag $\blacksquare$ = 胍基丁胺

Ag $\blacksquare$ (Z) = 四 - N - 苯甲氧羰基胍基丁胺

AA₁ = 氨基酸 1

AA₂ = 氨基酸 2

Aze = (S) - 氮杂环丁烷 - 2 - 羧酸

BLa = α - 取代的丁内酯

Boc = 叔丁氧羰基

Brine = 饱和的水 / NaCl 溶液

Bu = 丁基

Bn = 苯甲基

Cgl = (S) 环己基甘氨酸

Ch = 环己基

Cha = (S) - β - 环己基丙氨酸

CME-CDI = N - 甲 - P - 甲苯磺酰 1 - 环己基 - 3 - (2 - 吗啉代乙基) 碳化二亚胺

DCC = 二环己基碳化二亚胺

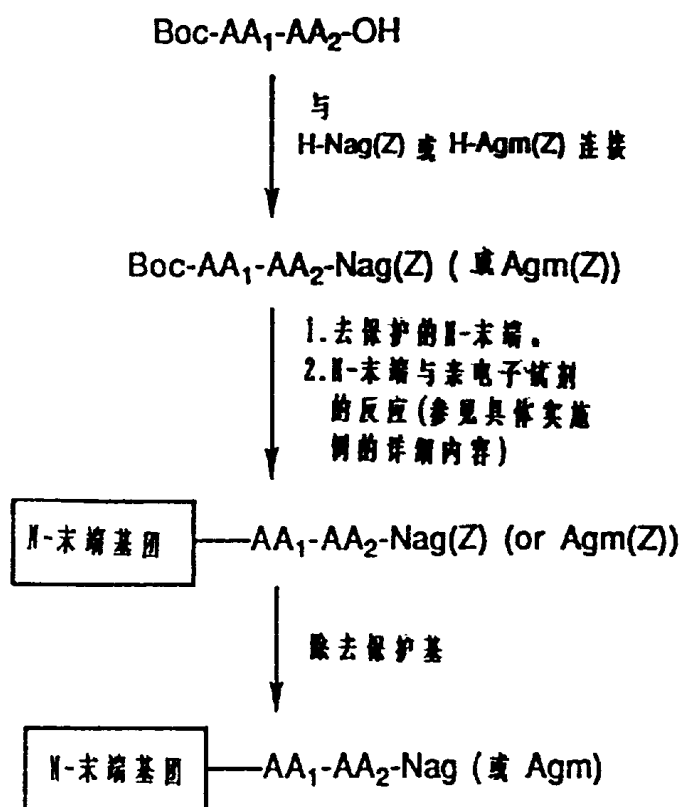
Dch = 二环己基丙氨酸

DMAP =	N, N - 二甲基氨基吡啶
DMF =	二甲基甲酰胺
DMSO =	二甲基亚砷
Dph =	(S) - 二苯基丙氨酸
EDC =	氯化 1 - (3 - 二甲基氨基丙基) - 3 - 乙基碳化二 亚胺
Et =	乙基
EtOAc =	乙酸乙酯
HOAc =	乙酸
HOBt =	N - 羟基苯并三唑
Hoc =	(S) - 环己基丙氨酸
Hop =	(S) - 高苯基丙氨酸
HOSu =	N - 羟基琥珀酰亚胺
Mag =	Miniagmatine
Me =	甲基
Mor =	(S) - 吗啡基 - 2 - 羧酸
Mpa =	mega pascal
Nag =	去甲麻基丁胺
Nag(Z) =	δ - N - 苯甲基氧羰基 - 去甲麻基丁胺
NMM =	N - 甲基吗啡
Pgl =	(S) - 苯基甘氨酸
Ph =	苯基
Phe =	(S) - 苯基丙氨酸
Pic =	(S) - 甲基吡啶酸

Pr = 丙基
Pro = (S) - 脯氨酸
RPLC = 反相高效液相色谱
Tf = 三氟甲基磺酰基
TFA = 三氟乙酸
THF = 四氢呋喃
p-TsOH = 对 - 甲苯磺酸
Val = (S) - 缬氨酸
Z = 苯甲氧羰基

词头 n , s , i 和 t 具有它们通常的意义：正，异，仲和叔。

图 1



AA₁ = H-(R)Cha-OH, Me-(R)Cha-OH, H-(R,S)Pro(3-(反)Ph)-OH,
H-(R)Hoc-OH, H-(R)Cgl-OH, H-(R)Dph-OH, H-(R)Dch-OH

AA₂ = H-Pro-OH, H-Pic-OH, H-Mor-OH, H-Aze-OH, H-Pic(4-(S)Me)-OH
H-Pic(4-(R)Me)-OH, H-(R,S)Pic(4,5-去氢)-OH,
H-(R)Pic(4-(R)Me)-OH, H-Pro(5-(R,S)Me)-OH,
H-Pro(5-(S)Me)-OH, H-Pic(6-(S)Me)-OH

最终化合物的N末端基团 =

H, HO-(CH₂)₃-, ⁿBu-, HOOC-CH₂-, MeOOC-CH₂-, ⁱPrOOC-CH₂-, ^tBuOOC-CH₂-,
HOOC-CH(Me)-, HOOC-CH(ⁿPr)-, HOOC-CH(Ph)-, HOOC-CH(CH₂CH₂Ph)-
HOOC-CH₂CH₂-, HOOC-CH₂CH₂CH₂-, EtOOC-CH₂CH₂CH₂-, Bta,
HOOC-CH₂OOC-CH₂-, EtOOC-CO-, MeOOC-CO-, HOOC-CO-, H₂NOC-CH₂-
HOOC-CH(CH₂COOH)-, MeOOC-CH(CH₂COOMe)-, HOOC-CH₂-NH-CO-CH₂-,
HOOC-CH(CH₂OH)-, (HO)₂P(O)-CH₂-, EtO(HO)P(O)-CH₂-,
(EtO)₂P(O)-CH₂-,

图 II

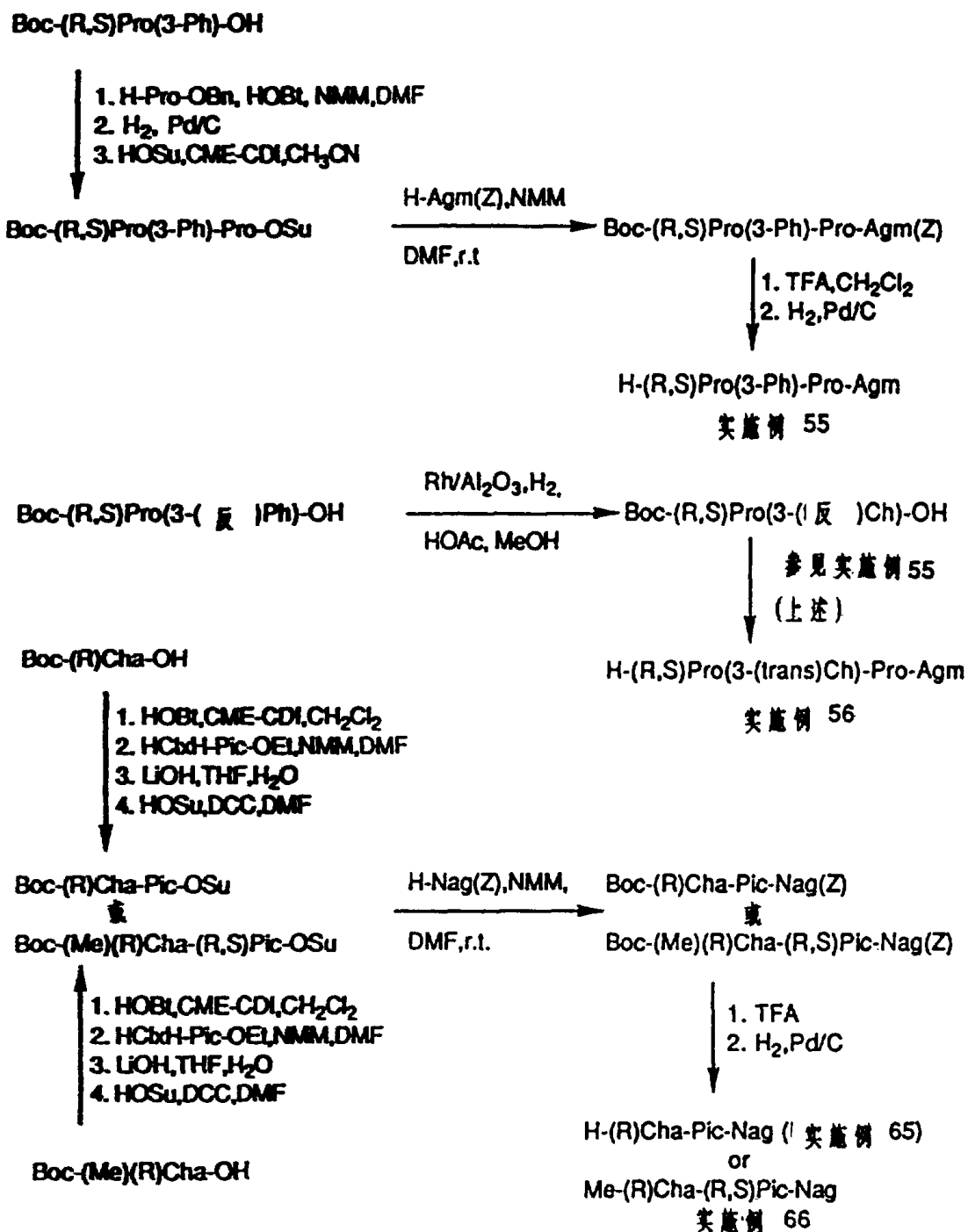


图 III

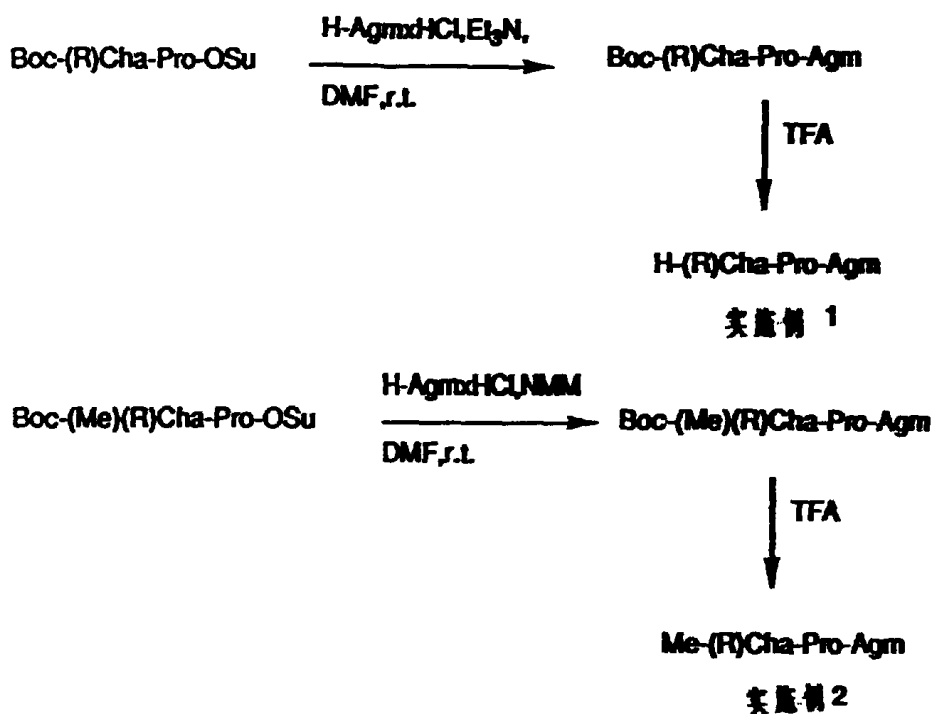


图 IV

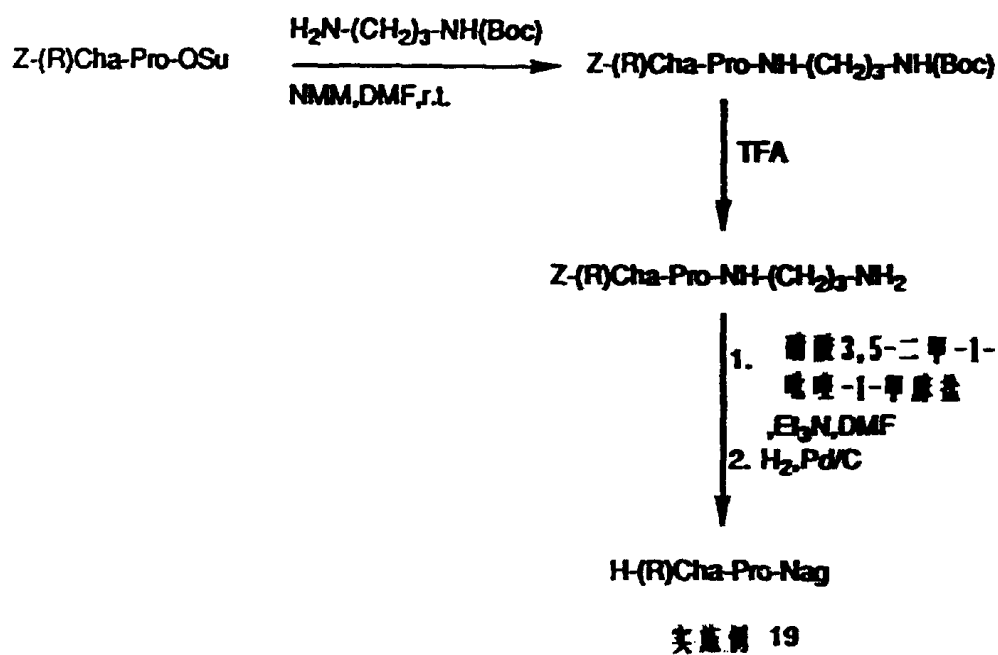
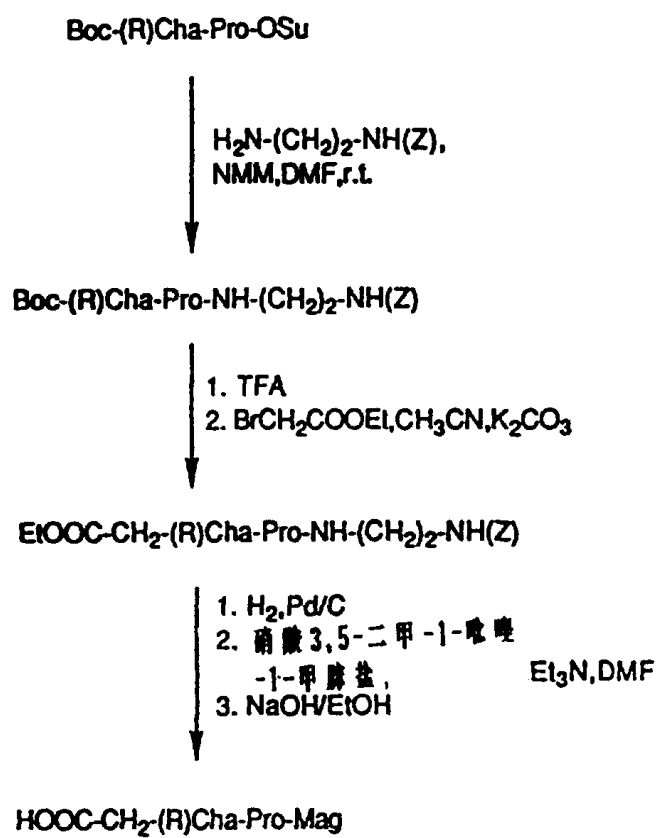


图 V



实施例 54

图 VI

