



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02818585.4

[43] 公开日 2004 年 12 月 22 日

[11] 公开号 CN 1556707A

[22] 申请日 2002.9.24 [21] 申请号 02818585.4
[30] 优先权
[32] 2001. 9.24 [33] US [31] 09/961,816
[86] 国际申请 PCT/US2002/030213 2002.9.24
[87] 国际公布 WO2003/026668 英 2003.4.3
[85] 进入国家阶段日期 2004.3.23
[71] 申请人 法玛西雅公司
地址 美国密苏里州
[72] 发明人 P·T·马宁 J·R·康纳尔

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所
代理人 刘晓东

权利要求书 7 页 说明书 140 页

[54] 发明名称 使用选择性 iNOS 抑制剂的眼科疾病
治疗方法

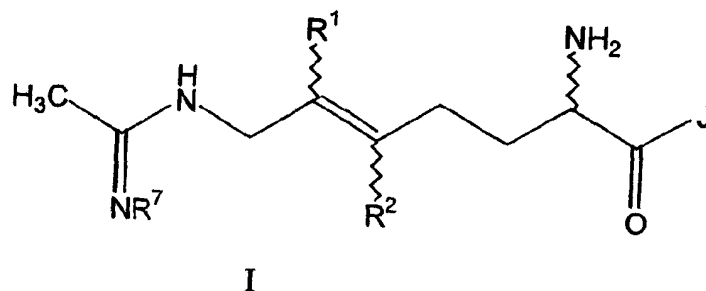
[57] 摘要

本发明描述了用于预防和治疗眼科病症的治疗方法，包括给有此需要的受试者施用诱导型一氧化氮合酶的选择性抑制剂。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 在需要治疗或预防眼科病症的受试者中治疗或预防该疾病的方法，所述方法包括施用眼科病症有效量的化合物，其中所述化合物选自：

式 I 化合物或其可药用盐，



其中：

R^1 选自 H、卤素和烷基，所述烷基可任选被一个或多个卤素取代；

R^2 选自 H、卤素和烷基，所述烷基可任选被一个或多个卤素取代；

条件是： R^1 或 R^2 当中至少有一个含有卤素；

R^7 选自 H 和羟基；

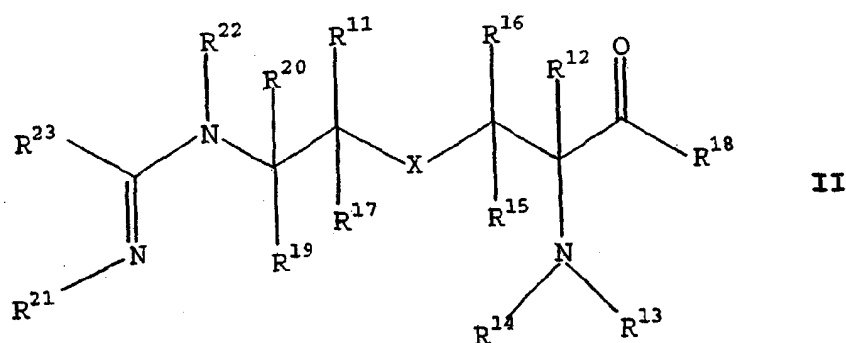
J 选自羟基、烷氧基和 NR^3R^4 ，其中：

R^3 选自 H、低级烷基、低级链烯基和低级炔基；

R^4 选自 H 和杂环，其中在所述杂环中至少有一个环单元是碳，并且有 1 - 约 4 个独立地选自氧、氮和硫的杂原子，所述杂环可任选被下列基团取代：杂芳基氨基、N-芳基-N-烷基氨基、N-杂芳基氨基-N-烷基氨基、卤代烷硫基、烷酰氧基、烷氧基、杂芳烷氧基、环烷氧基、环烯氧基、羟基、氨基、硫基、硝基、低级烷基氨基、烷硫基、烷硫基烷基、芳基氨基、芳烷基氨基、芳硫基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、烷基磺酰氨基、烷基氨基磺酰基、酰氨基磺酰基、一烷基酰氨基磺酰基、二烷基酰氨基磺酰基、一芳基酰氨基磺酰基、芳基磺酰氨基、二芳基酰氨基磺酰基、一烷基一芳基酰氨基磺酰基、芳基亚磺酰基、芳基磺酰基、杂芳硫基、杂芳基亚磺酰基、杂芳基磺酰基、烷酰基、

链烯酰基、芳酰基、杂芳酰基、芳烷酰基、杂芳烷酰基、卤代烷酰基、烷基、链烯基、炔基、亚烷二氧基、卤代亚烷二氧基、环烷基、环烯基、低级环烷基烷基、低级环烯基烷基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基卤代烷基、羟基芳烷基、羟基烷基、羟基杂芳烷基、卤代烷氧基烷基、芳基、芳烷基、芳氧基、芳烷氧基、芳氧基烷基、饱和杂环基、部分饱和杂环基、杂芳基、杂芳氧基、杂芳氧基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基、芳基链烯基、杂芳基链烯基、氧基烷基、二氧基烷基、酰胺基烷基、二酰胺基烷基、氧基烷氧羰基烷基、烷氧羰基烷基、二烷氧羰基烷基、氧基环烷基、二氧基环烷基、酰胺基环烷基、二酰胺基环烷基、烷氧羰基氧基环烷基、烷氧羰基环烷基、二烷氧羰基环烷基、甲酰基烷基、酰基烷基、二烷氧基膦酰基烷基、二芳烷氧基膦酰基烷基、膦酰基烷基、二烷氧基膦酰基烷氧基、二芳烷氧基膦酰基烷氧基、膦酰基烷氧基、二烷氧基膦酰基烷基氨基、二芳烷氧基膦酰基烷基氨基、膦酰基烷基氨基、二烷氧基膦酰基烷基、二芳烷氧基膦酰基烷基、胍基、脒基和酰基氨基；

式 II 化合物或其可药用盐，



其中 X 选自 -S-、-S(O)-和 -S(O)₂-；

R¹² 选自 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 炔基、C₁-C₅ 烷氧基-C₁ 烷基和 C₁-C₅ 烷硫基-C₁ 烷基，其中这些基团分别可任选被一个或多个选自 -OH、烷氧基和卤素的取代基取代；

R¹³ 和 R¹⁸ 是这样选择的，R¹⁸ 选自 -OR²⁴ 和 -N(R²⁵)(R²⁶)，且 R¹³ 选自 -H、-OH、-C(O)-R²⁷、-C(O)-O-R²⁸ 和 -C(O)-S-R²⁹；或者 R¹⁸ 是 -N(R³⁰)-，且 R¹³ 是 -C(O)-，其中 R¹⁸ 和 R¹³ 与它们所连接的原子一起

形成环；或者 R^{18} 是 $-O-$ ，且 R^{13} 是 $-C(R^{31})(R^{32})-$ ，其中 R^{18} 和 R^{13} 与它们所连接的原子一起形成环；如果 R^{13} 是 $-C(R^{31})(R^{32})-$ ，则 R^{14} 是 $-C(O)-O-R^{33}$ ；否则 R^{14} 是 $-H$ 。 R^{11} 、 R^{15} 、 R^{16} 和 R^{17} 独立地选自 $-H$ 、卤素、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 链烯基、 C_2-C_6 炔基和 C_1-C_5 烷氧基- C_1 烷基；

R^{19} 和 R^{20} 独立地选自 $-H$ 、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 链烯基、 C_2-C_6 炔基和 C_1-C_5 烷氧基- C_1 烷基；

R^{21} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C(O)-O-R^{34}$ 和 $-C(O)-S-R^{35}$ ，且 R^{22} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C(O)-O-R^{36}$ 和 $-C(O)-S-R^{37}$ ；或者 R^{21} 是 $-O-$ ，且 R^{22} 是 $-C(O)-$ ，其中 R^{21} 和 R^{22} 与它们所连接的原子一起形成环；或者 R^{21} 是 $-C(O)-$ ，且 R^{22} 是 $-O-$ ，其中 R^{21} 和 R^{22} 与它们所连接的原子一起形成环；

R^{23} 是 C_1 烷基；

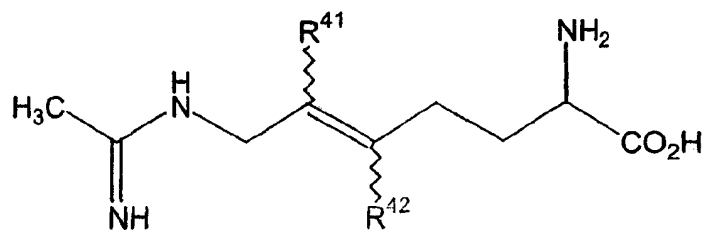
R^{24} 选自 $-H$ 和 C_1-C_6 烷基，其中当 R^{24} 是 C_1-C_6 烷基时， R^{24} 可任选被一个或多个选自下列的基团取代：环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

R^{25} 选自 $-H$ 、烷基和烷氧基，且 R^{26} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、烷基、烷氧基、 $-C(O)-R^{38}$ 、 $-C(O)-O-R^{39}$ 和 $-C(O)-S-R^{40}$ ；其中当 R^{25} 和 R^{26} 独立地为烷基或烷氧基时， R^{25} 和 R^{26} 独立地可任选被一个或多个选自下列的基团取代：环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；或者 R^{25} 是 $-H$ ；且 R^{26} 选自环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 独立地选自 $-H$ 和 烷基，其中所述烷基可任选被一个或多个选自下列的基团取代：环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

其中当任何 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 独立地为选自烷基、链烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基的基团时，则该基团可任选被一个或多个选自 $-OH$ 、烷氧基和卤素的取代基取代；

式 III 化合物或其可药用盐，



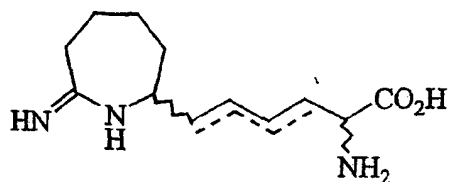
III

其中:

R^{41} 是 H 或甲基; 且

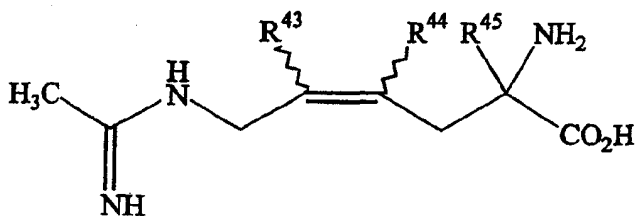
R^{42} 是 H 或甲基;

式 IV 化合物或其可药用盐,



IV

式 V 化合物或其可药用盐,



V

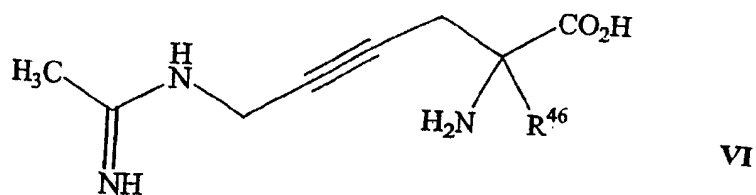
其中:

R^{43} 选自氢、卤素、 C_1-C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1-C_5 烷基;

R^{44} 选自氢、卤素、 C_1-C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1-C_5 烷基;

R^{45} 是 C_1-C_5 烷基或被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1-C_5 烷基;

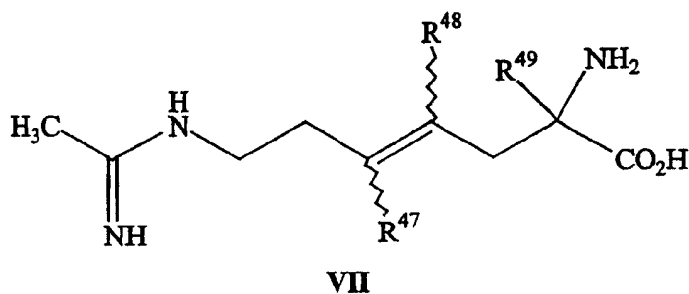
式 VI 化合物或其可药用盐,



其中:

R^{46} 是 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

式 VII 化合物或其可药用盐,



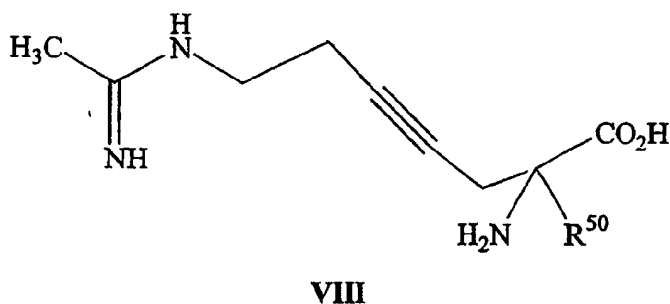
其中:

R^{47} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基;

R^{48} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基;

R^{49} 是 C_1 - C_5 烷基或被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基;

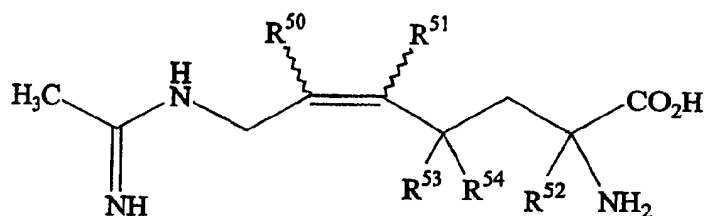
式 VIII 化合物或其可药用盐,



其中:

R^{50} 是 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

式 IX 化合物或其可药用盐,



IX

其中:

R^{50} 选自氢、卤素和 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

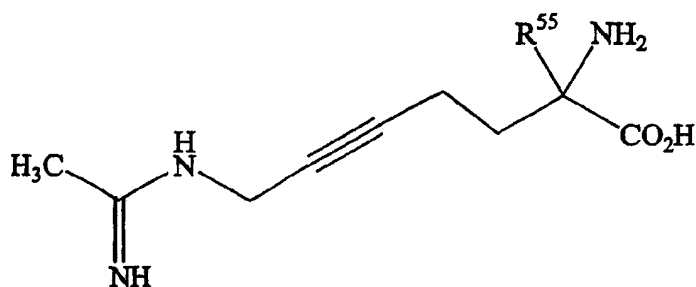
R^{51} 选自氢、卤素和 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

R^{52} 是 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

R^{53} 选自氢、卤素和 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代; 且

R^{54} 选自卤素和 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代; 和

式 X 化合物或其可药用盐,



X

其中:

R^{55} 是 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代。

2. 权利要求 1 的方法, 其中所述眼科病症是青光眼。
3. 权利要求 1 的方法, 其中所述眼科病症是视网膜炎。
4. 权利要求 1 的方法, 其中所述眼科病症是与视网膜缺血有关的病症。
5. 权利要求 4 的方法, 其中所述与视网膜缺血有关的病症是视网膜病性病症。
6. 权利要求 5 的方法, 其中所述视网膜病性病症是糖尿病性视网膜病。
7. 权利要求 5 的方法, 其中所述视网膜病性病症是成年视网膜病。
8. 权利要求 6 的方法, 其中所述视网膜病性病症是视网膜静脉阻塞性视网膜病。
9. 权利要求 1 的方法, 其中所述眼科病症是眼色素层炎。

使用选择性 iNOS 抑制剂的眼科疾病治疗方法

发明背景

本发明一般涉及使用诱导型一氧化氮合酶(iNOS)选择性抑制剂的治疗方法,更特别涉及用于预防和治疗涉及过度 iNOS 活性的眼科病症和疾病的新方法。

在二十世纪八十年代早期发现,由乙酰胆碱引起的血管松弛取决于血管内皮的存在。现在已知,介导这样的血管松弛的称为内皮衍生松弛因子(EDRF)的衍生自内皮的因子是一氧化氮(NO)。NO 是通过一氧化氮合酶(NOS)在血管内皮中产生的自由基气体。人们知道 NO 作为血管舒张剂的活性已有一百多年了。此外,NO 是衍生自己知的硝基血管扩张剂,包括亚硝酸戊酯和甘油三硝酸酯(Glyceritrinitrate)的活性物质。一氧化氮还是可溶性鸟苷酸环化酶的内源性刺激剂,并因此刺激环鸟苷酸(cGMP)生成。当 NOS 被 N-一甲基精氨酸(L-NMMA)抑制时,cGMP 形成被完全阻止。除了内皮依赖性松弛作用以外,已知 NO 还涉及多种生物活动,包括吞噬细胞的细胞毒害性和中枢神经系统中细胞与细胞之间的通讯。

与确定出 EDRF 是 NO 这一事实相一致的是,发现了 NO 是通过 NO 合酶的作用由氨基酸 L-精氨酸合成的这一生化途径。有至少 3 种如下所述的 NO 合酶类型:

(i) 组成型、Ca⁺⁺/钙调蛋白依赖性酶,其位于内皮中,作为对受体或身体刺激的反应而释放出 NO。

(ii) 组成型、Ca⁺⁺/钙调蛋白依赖性酶,其位于脑中,作为对受体或身体刺激的反应而释放出 NO。

(iii) Ca⁺⁺非依赖性酶,是 130 kD 的蛋白,其是在血管平滑肌、巨噬细胞、内皮细胞和多种其它细胞被内毒素和细胞因子激活之后诱导产生的。一旦表达,这种诱导型一氧化氮合酶(下文中称为“iNOS”)

就在长时间内连续产生 NO。

因此，由一氧化氮合酶家族产生的一氧化氮具有多种生理和病理作用(Moncada 等人, Pharmacol. Rev. 43:109-142, 1991)。分别由这两种组成型酶释放的 NO 起几种生理反应的转导机制的作用。而由这种诱导型酶产生的 NO 是肿瘤细胞和侵袭性微生物的细胞毒害分子。诱导型 NOS 还与骨关节炎的炎症有关。

在 CNS 中，诱导型 NOS 似乎与特征是几种人病症的神经变性有关。更具体来说，iNOS 通常不在脑中表达，但是在损伤例如病毒感染或创伤之后可在星形胶质细胞和小神经胶质细胞中诱导产生。例如，脑缺血在脑中诱导 iNOS 活性。在 iNOS 被剔除(knockout)的小鼠中，缺血诱导的脑梗塞在体积上比野生型对照中的梗塞小很多(Shareef 等人, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 40:2884-91, 1999)。诱导型 NOS 涉及与 CNS 疾病和病症例如中风、多发性硬化、肌萎缩性侧索硬化、阿尔茨海默氏病和获得性免疫缺陷综合征有关的神经变性(Shareef 等人)。

此外，NOS 同工型在正常和青光眼视神经头的分布表明了 iNOS 涉及青光眼的神经变性(Shareef 等人)。正常视神经头似乎表达两种组成型 NOS ((i)型和(ii)型)。(i)型存在于遍布视神经及其血管系统的很多星形胶质细胞中，并且可能在细胞间信号传递以及调节血管舒张和血流方面起作用。(ii)型位于遍布视神经头血管系统的血管内皮中，并且除了帮助调节血流以外，还具有神经保护作用。与其相反，iNOS 不在视神经头中正常表达，但是似乎出现在具有实验诱导的、慢性中等程度增高的眼内压(IOP)的大鼠的视神经中(Shareef 等人)。在具有慢性中等程度增高的 IOP 的大鼠中，氨基胍——一种 iNOS 抑制剂阻断视网膜神经节细胞损失(Neufeld 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:9944-48, 1999)。此外，特征是炎症的眼色素层炎可能涉及增高的 iNOS 活性，该增高的活性是由细胞因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)刺激的。

下列各出版物公开了抑制一氧化氮合成，并优选抑制诱导型一氧

化氮合酶的化合物:

PCT 专利申请 WO 96/35677.

PCT 专利申请 WO 96/33175.

PCT 专利申请 WO 96/15120.

PCT 专利申请 WO 95/11014.

PCT 专利申请 WO 95/11231.

PCT 专利申请 WO 99/46240.

PCT 专利申请 WO 95/24382.

PCT 专利申请 WO 94/12165.

PCT 专利申请 WO 94/14780.

PCT 专利申请 WO 93/13055.

PCT 专利申请 WO 99/62875.

欧洲专利 EP 0446699A1.

U.S.专利 5,132,453.

U.S.专利 5,684,008.

U.S.专利 5,830,917.

U.S.专利 5,854,251.

U.S.专利 5,863,931.

U.S.专利 5,919,787.

U.S.专利 5,945,408.

U.S.专利 5,981,511.

PCT 专利申请 WO 95/25717 公开了一些用于抑制诱导型一氧化氮合酶的脒基衍生物。

PCT 专利申请 WO 99/6287 公开了另外一些用于抑制诱导型一氧化氮合酶的脒基化合物。

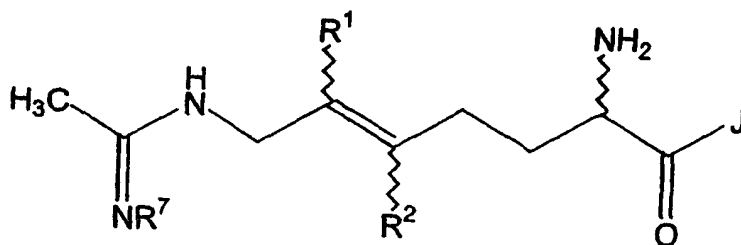
从背景技术可知，人们在下述方面表现出的兴趣越来越大：发现用于涉及过度 iNOS 活性的各种眼科病症的新治疗剂和方法，以提高整个疗效，并具有最小毒性和不利副作用。虽然关于 iNOS 的生物化学和功能的基础发现表明其涉及包括眼科病症和视网膜疾病等在内的

多种病症，但是目前用于治疗和预防这些病症的已知方法不包括使用 iNOS 选择性抑制剂的治疗方法。因此，发现和描述使用新的 iNOS 选择性抑制剂来治疗涉及过度 iNOS 活性的眼科以及视网膜病症的新治疗方法将是有益的。

发明概述

本发明涉及在需要治疗或预防眼科病症的受试者中治疗或预防这种疾病的方法，所述方法包括给该受试者施用眼科病症有效量的诱导型一氧化氮合酶选择性抑制剂，其中所述抑制剂选自：

式 I 化合物或其可药用盐，



I

其中：

R^1 选自 H、卤素和烷基，所述烷基可任选被一个或多个卤素取代；

R^2 选自 H、卤素和烷基，所述烷基可任选被一个或多个卤素取代；

条件是： R^1 或 R^2 当中至少有一个含有卤素；

R^7 选自 H 和羟基；

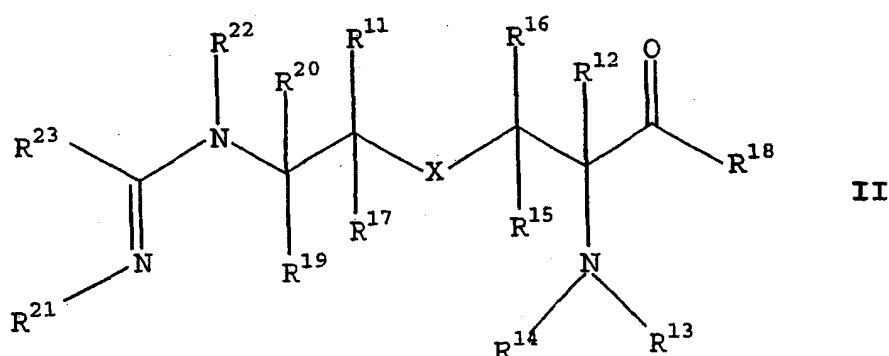
J 选自羟基、烷氧基和 NR^3R^4 ，其中：

R^3 选自 H、低级烷基、低级链烯基和低级炔基；

R^4 选自 H 和杂环，其中在所述杂环中至少有一个环单元是碳，并且有 1-约 4 个独立地选自氧、氮和硫的杂原子，所述杂环可任选被下列基团取代：杂芳基氨基、N-芳基-N-烷基氨基、N-杂芳基氨基-N-烷基氨基、卤代烷硫基、烷酰氧基、烷氧基、杂芳烷氧基、环烷氧基、环烯氧基、羟基、氨基、硫基、硝基、低级烷基氨基、烷硫基、烷硫基烷基、芳基氨基、芳烷基氨基、芳硫基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、烷基磺酰氨基、烷基氨基磺酰基、酰氨基磺酰基、一烷基酰氨基

磺酰基、二烷基酰氨基磺酰基、一芳基酰氨基磺酰基、芳基磺酰氨基、二芳基酰氨基磺酰基、一烷基一芳基酰氨基磺酰基、芳基亚磺酰基、芳基磺酰基、杂芳硫基、杂芳基亚磺酰基、杂芳基磺酰基、烷酰基、链烯酰基、芳酰基、杂芳酰基、芳烷酰基、杂芳烷酰基、卤代烷酰基、烷基、链烯基、炔基、亚烷二氧基、卤代亚烷二氧基、环烷基、环烯基、低级环烷基烷基、低级环烯基烷基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基卤代烷基、羟基芳烷基、羟基烷基、羟基杂芳烷基、卤代烷氧基烷基、芳基、芳烷基、芳氧基、芳烷氧基、芳氧基烷基、饱和杂环基、部分饱和杂环基、杂芳基、杂芳氧基、杂芳氧基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基、芳基链烯基、杂芳基链烯基、氰基烷基、二氰基烷基、酰胺基烷基、二酰胺基烷基、氰基烷氧羰基烷基、烷氧羰基烷基、二烷氧羰基烷基、氰基环烷基、二氰基环烷基、酰胺基环烷基、二酰胺基环烷基、烷氧羰基氰基环烷基、烷氧羰基环烷基、二烷氧羰基环烷基、甲酰基烷基、酰基烷基、二烷氧基膦酰基烷基、二芳烷氧基膦酰基烷基、膦酰基烷基、二烷氧基膦酰基烷氧基、二芳烷氧基膦酰基烷氧基、膦酰基烷氧基、二烷氧基膦酰基烷基氨基、二芳烷氧基膦酰基烷基氨基、膦酰基烷基氨基、二烷氧基膦酰基烷基、二芳烷氧基膦酰基烷基、胍基、脒基和酰基氨基；

式 II 化合物或其可药用盐，



其中 X 选自 -S-、-S(O)-和 -S(O)₂-；

R¹² 选自 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 炔基、C₁-C₅ 烷氧基-C₁ 烷基和 C₁-C₅ 烷硫基-C₁ 烷基，其中这些基团分别可任选被一个或多个选自 -OH、烷氧基和卤素的取代基取代；

R^{13} 和 R^{18} 是这样选择的, R^{18} 选自 $-OR^{24}$ 和 $-N(R^{25})(R^{26})$, 且 R^{13} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C(O)-R^{27}$ 、 $-C(O)-O-R^{28}$ 和 $-C(O)-S-R^{29}$; 或者 R^{18} 是 $-N(R^{30})-$, 且 R^{13} 是 $-C(O)-$, 其中 R^{18} 和 R^{13} 与它们所连接的原子一起形成环; 或者 R^{18} 是 $-O-$, 且 R^{13} 是 $-C(R^{31})(R^{32})-$, 其中 R^{18} 和 R^{13} 与它们所连接的原子一起形成环; 如果 R^{13} 是 $-C(R^{31})(R^{32})-$, 则 R^{14} 是 $-C(O)-O-R^{33}$; 否则 R^{14} 是 $-H$ 。 R^{11} 、 R^{15} 、 R^{16} 和 R^{17} 独立地选自 $-H$ 、卤素、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 链烯基、 C_2-C_6 炔基和 C_1-C_5 烷氧基- C_1 烷基;

R^{19} 和 R^{20} 独立地选自 $-H$ 、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 链烯基、 C_2-C_6 炔基和 C_1-C_5 烷氧基- C_1 烷基;

R^{21} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C(O)-O-R^{34}$ 和 $-C(O)-S-R^{35}$, 且 R^{22} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C(O)-O-R^{36}$ 和 $-C(O)-S-R^{37}$; 或者 R^{21} 是 $-O-$, 且 R^{22} 是 $-C(O)-$, 其中 R^{21} 和 R^{22} 与它们所连接的原子一起形成环; 或者 R^{21} 是 $-C(O)-$, 且 R^{22} 是 $-O-$, 其中 R^{21} 和 R^{22} 与它们所连接的原子一起形成环;

R^{23} 是 C_1 烷基;

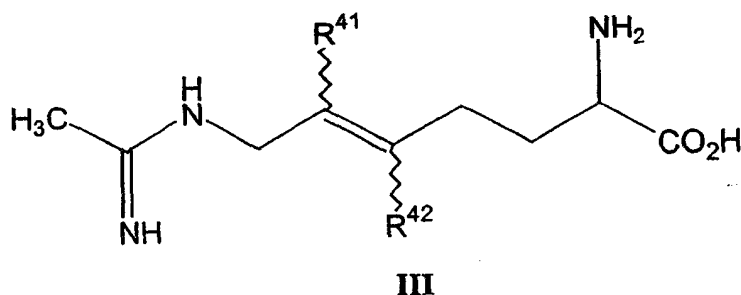
R^{24} 选自 $-H$ 和 C_1-C_6 烷基, 其中当 R^{24} 是 C_1-C_6 烷基时, R^{24} 可任选被一个或多个选自下列的基团取代: 环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

R^{25} 选自 $-H$ 、烷基和烷氧基, 且 R^{26} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、烷基、烷氧基、 $-C(O)-R^{38}$ 、 $-C(O)-O-R^{39}$ 和 $-C(O)-S-R^{40}$; 其中当 R^{25} 和 R^{26} 独立地为烷基或烷氧基时, R^{25} 和 R^{26} 独立地可任选被一个或多个选自下列的基团取代: 环烷基、杂环基、芳基和杂芳基; 或者 R^{25} 是 $-H$; 且 R^{26} 选自环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 独立地选自 $-H$ 和 烷基, 其中所述烷基可任选被一个或多个选自下列的基团取代: 环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

其中当任何 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 独立地为选自烷基、链烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基的基团时, 则

该基团可任选被一个或多个选自-OH、烷氧基和卤素的取代基取代；
式 III 化合物或其可药用盐，

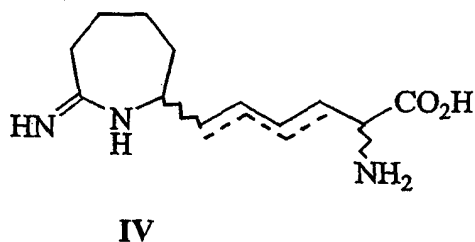


其中：

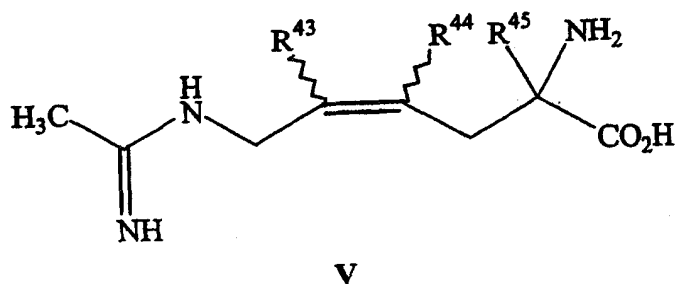
R^{41} 是 H 或甲基；且

R^{42} 是 H 或甲基；

式 IV 化合物或其可药用盐，



式 V 化合物或其可药用盐，



其中：

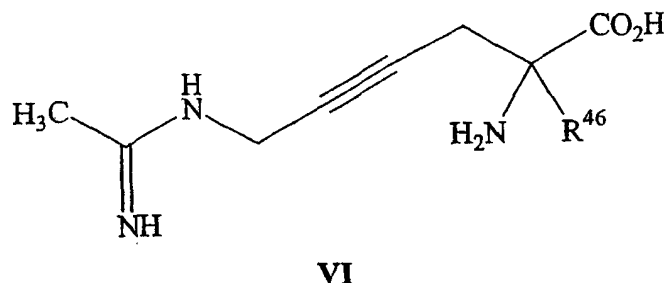
R^{43} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基；

R^{44} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基；

R^{45} 是 C_1 - C_5 烷基或被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷

基；

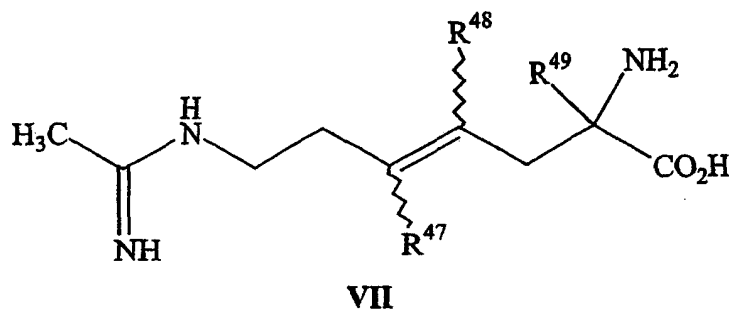
式 VI 化合物或其可药用盐，



其中：

R^{46} 是 C_1 - C_5 烷基，所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代，所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代；

式 VII 化合物或其可药用盐，



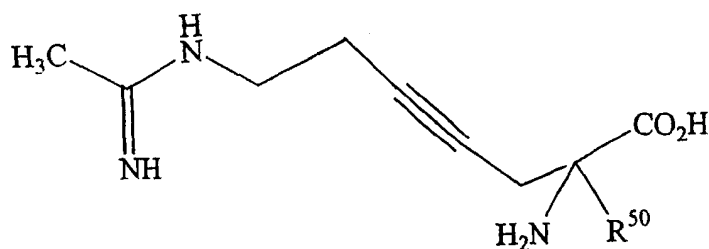
其中：

R^{47} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基；

R^{48} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基；

R^{49} 是 C_1 - C_5 烷基或被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基；

式 VIII 化合物或其可药用盐，

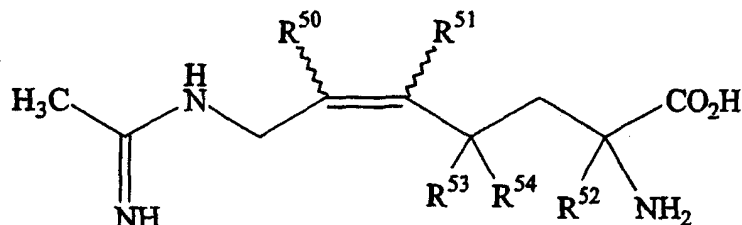


VIII

其中:

R^{50} 是 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

式 IX 化合物或其可药用盐,



IX

其中:

R^{50} 选自氢、卤素和 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

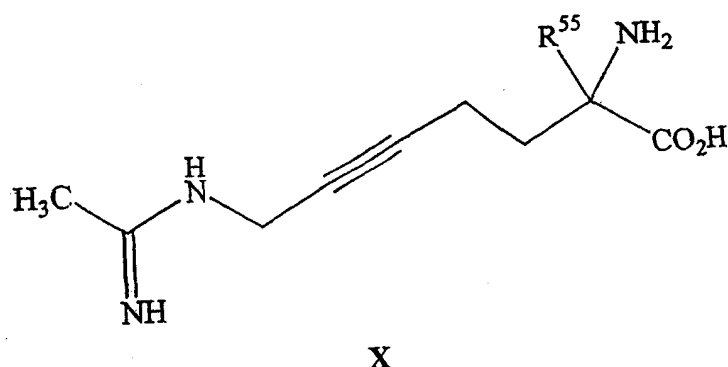
R^{51} 选自氢、卤素和 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

R^{52} 是 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

R^{53} 选自氢、卤素和 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代; 且

R^{54} 选自卤素和 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

和式 X 化合物或其可药用盐,



其中：

R^{55} 是 C_1 - C_5 烷基，所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代，所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代。

眼科病症是例如青光眼、视网膜炎、视网膜缺血或与视网膜缺血有关的病症，视网膜病性病症例如糖尿病性视网膜病、成年视网膜病或视网膜静脉阻塞性视网膜病，眼色素层炎或身体创伤。

上述方法可用于治疗和预防涉及 iNOS 活性增高的眼科病症，包括青光眼、视网膜炎、视网膜病和眼色素层炎。

发明详述

提供下面的详细描述是为了帮助本领域技术人员实施本发明。然而，该详细描述不应当被解释为不适当地限制本发明，因为在不背离由权利要求书限定的范围的情况下，本领域技术人员可对本文所述的示例性实施方案作出改进和改变。

在本文中引用的每一原始参考文献的内容，包括在原始参考文献中引用的参考文献的内容都全文引入本文以供参考。

本发明包括使用新的选择性 iNOS 抑制剂来治疗或预防眼科病症的治疗方法，包括预防和治疗青光眼、视网膜炎、视网膜病和眼色素层炎的治疗方法。所述治疗方法包括施用具有选自下文所述式 I-X 的式的诱导型一氧化氮合酶选择性抑制剂。

a. 定义

提供下列定义来帮助理解本发明的详细描述：

单独或联合使用的术语“烷基”是指无环烷基，其是直链或支链的，优选包含 1-约 10 个碳原子，更优选包含 1-约 6 个碳原子。“烷基”

还包括具有 3-约 7 个碳原子, 优选 3-5 个碳原子的环状烷基。所述烷基可任选被如下文所定义的基团取代。这样的基团的实例包括甲基、乙基、氯乙基、羟基乙基、正丙基、异丙基、正丁基、氯基丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、氨基戊基、异戊基、己基、辛基等。

术语“链烯基”是指不饱和无环烃基, 其是直链或支链的, 并含有至少一个双键。这样的基团含有 2-约 6 个碳原子, 优选 2-约 4 个碳原子, 更优选 2-约 3 个碳原子。所述链烯基可任选被如下文所定义的基团取代。合适的链烯基的实例包括丙烯基、2-氯丙烯基、丁烯-1-基、异丁烯基、戊烯-1-基、2-甲基丁烯-1-基、3-甲基丁烯-1-基、己烯-1-基、3-羟基己烯-1-基、庚烯-1-基和辛烯-1-基等。

术语“炔基”是指不饱和无环烃基, 其是直链或支链的, 并含有一个或多个三键。这样的基团含有 2-约 6 个碳原子, 优选 2-约 4 个碳原子, 更优选 2-约 3 个碳原子。所述炔基可任选被如下文所定义的基团取代。合适的炔基的实例包括乙炔基、丙炔基、羟基丙炔基、丁炔-1-基、丁炔-2-基、戊炔-1-基、戊炔-2-基、4-甲氧基戊炔-2-基、3-甲基丁炔-1-基、己炔-1-基、己炔-2-基、己炔-3-基、3,3-二甲基丁炔-1-基等。

术语“烷氧基”是指分别具有烷基部分的直链或支链含氧基团, 所述烷基部分包含 1-约 6 个碳原子, 优选 1-约 3 个碳原子, 例如甲氧基。术语“烷氧基烷基”是指具有一个或多个烷氧基的烷基, 所述烷氧基连接在烷基上以形成一烷氧基烷基和二烷氧基烷。这样的基团的实例包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基和叔丁氧基烷基。“烷氧基”可进一步被一个或多个卤素原子, 例如氟、氯或溴取代以提供“卤代烷氧基”。这样的基团的实例包括氟甲氧基、氯甲氧基、三氟甲氧基、二氟甲氧基、三氟乙氧基、氯乙氧基、四氟乙氧基、五氟乙氧基和氟丙氧基。

术语“烷硫基”是指包含连接在二价硫原子上的具有 1-约 6 个碳原子的直链或支链烷基的基团。“低级烷硫基”的一个实例是甲硫基($\text{CH}_3\text{-S-}$)。

术语“烷硫基烷基(alkylthioalkyl)”是指连接在烷基上的烷硫基。这样的基团的实例包括甲硫基甲基。

术语“卤素”是指卤素原子，例如氟、氯、溴或碘原子。

术语“杂环基”是指饱和或不饱和单环或多环碳环，其中有一个或多个碳原子被 N、S、P 或 O 代替。其包括例如下列结构：



其中 Z、Z¹、Z² 或 Z³ 是 C、S、P、O 或 N，条件是：Z、Z¹、Z² 或 Z³ 当中有一个不是碳，但是当通过双键与另一个 Z 原子连接时或者当与另一 O 或 S 原子连接时，其不是 O 或 S。此外，任选的取代基应当理解为只有分别是 C 时才连接在 Z、Z¹、Z² 或 Z³ 上。术语“杂环基”还包括全饱和环结构，例如哌嗪基、二氧杂环己烷基、四氢呋喃基、环氧乙烷基、氮杂环丙烷基、吗啉基、吡咯烷基、哌啶基、噻唑烷基等。术语“杂环基”还包括部分不饱和环结构例如二氢呋喃基、吡唑啉基、咪唑啉基、吡咯啉基、苯并二氢吡喃基、二氢噻吩基等。

术语“杂芳基”是指全不饱和杂环。

在“杂环”或“杂芳基”中，与目的分子连接的点可以在杂原子上或者在环内的其它位置上。

术语“环烷基”是指单环或多环碳环，其中每个环含有 3 - 约 7 个碳原子，优选 3 - 约 5 个碳原子。实例包括基团例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环烯基和环庚基。术语“环烷基”还包括螺环系统，其中环烷基环具有与苯并硫杂革的 7-元杂环共用的碳环原子。

术语“氧代”是指双键氧。

术语“烷氧基”是指包含与氧原子键合的烷基的基团，例如甲氧基。更优选的烷氧基是具有 1 - 约 10 个碳原子的“低级烷氧基”。还更优选的烷氧基具有 1 - 约 6 个碳原子。这样的基团的实例包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基和叔丁氧基。

术语“芳基”是指全不饱和单环或多环碳环，包括但不限于取代或

未取代的苯基、萘基或蒽基。

术语“任选取代的”是指所述基团上的氢可以，但不是必须被取代。因此，短语“可任选被一个或多个取代基取代”是指，如果所述基团被取代，则也可以发生一次以上的取代。在这方面，如果存在一个以上任选的取代基，则可以选择取代基，或者可以选择取代基的组合，或者可以选择一个以上的相同取代基。例如但不限于，短语“C₁-C₅烷基可任选被一个或多个卤素或烷氧基取代”应当是指，例如该甲基、乙基、丙基、丁基或戊基可在所有可被取代的位置上具有：氢、氟、氯或其它卤素，甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丁氧基、叔丁氧基、戊氧基或其它烷氧基，及其组合。非限制性实例包括：丙基、异丙基、甲氧基丙基、氟甲基、氟丙基、1-氟-甲氧基甲基等。

当用结构式和命名来描述化合物时，打算让命名与所给出的结构式一致，类似地，也打算让结构式与所给出的命名一致。

本文所用术语“受试者(subject)”是指作为治疗、观测或试验对象的动物，在一个实施方案中是哺乳动物，在一个示例性实施方案中，特别是指人。

本文所用术语“给药”和“治疗”是指任何处置、作用、施用、治疗等，其中是对受试者，尤其是人进行医疗帮助，以直接或间接改善受试者病症。

本文所用术语“治疗化合物”是指可用于预防或治疗眼科病症的化合物。

术语“联合治疗”是指施用两种或更多种治疗化合物来治疗本文所述的病症或疾病例如青光眼、视网膜炎、视网膜病、眼色素层炎以及特征是至少部分是视网膜神经变性的眼科病症。这样的给药包括以基本上同时的方式，例如在具有固定活性组分比例的单一胶囊中，或者在多个分别装有各活性组分的单独胶囊中一起施用这些治疗剂。此外，这样的给药还包括以顺序的方式使用每一类治疗剂。在每种情况下，治疗方案都将给本文所述病症或疾病的治疗提供药物联合的有益作用。

本文所用术语“治疗组合”是指两种或更多种治疗化合物以及用于提供剂型的任何可药用载体的组合，其在受试者中在所需时间产生每一种治疗化合物的有益作用，无论这些治疗化合物是基本上同时还是顺序给药。

本文所用术语“治疗有效”是指治疗化合物的量的特征，或在联合治疗中联合使用的治疗化合物的量的特征。该量或联合量能够实现预防、避免、减轻或消除眼科病症的目标。

术语“眼科病症有效”是指治疗化合物的量的特征，或在联合治疗中联合使用的治疗化合物的量的特征。该量或联合量能够实现预防、避免、减轻或消除眼科病症的目标。

术语“诱导型一氧化氮合酶”和“iNOS”在本文中是可互换地使用，并且是指 Ca^{+2} 非依赖性的诱导同工型一氧化氮合酶。

术语“诱导型一氧化氮合酶选择性抑制剂”、“选择性 iNOS 抑制剂”和“iNOS 选择性抑制剂”在本文中是可互换地使用，并且是指能够选择性地抑制 Ca^{+2} 非依赖性的诱导同工型一氧化氮合酶的治疗化合物。选择性 iNOS 抑制剂定义为，与内皮 NOS 或神经元 NOS 相比，产生对 iNOS 的选择性抑制，这样体内给药产生效力(在啮齿动物内毒素模型中 ED_{50} 小于 100 mg/kg，但优选小于 10 mg/kg)，并且相对于 eNOS 的选择性是至少 20 倍，但优选 100 倍或更大(通过评价平均动脉血压来测定的)，相对于 nNOS 的选择性是至少 20 倍，但优选 100 倍或更大(通过胃肠道经过或阴茎勃起降低测定的)。

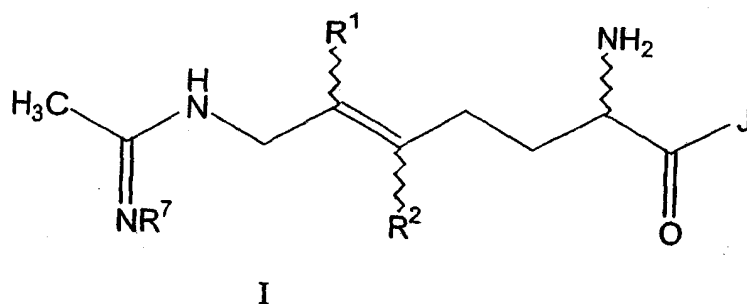
术语“前药”是指这样的化合物，其是药物前体，在施用给受试者并且吸收后，在体内经由某些过程例如代谢过程转化成活性成分。转化过程所生成的其它产物易于被身体处置。更优选的前药是涉及产生通常被安全接受的产物的转化过程的那些。

术语“眼科病症”是指眼睛的任何损伤或损害，其导致眼睛的功能被破坏，并涉及 iNOS 活性水平增高，这种增高的 iNOS 活性是由于原发损伤或损害引起的，或者是由于继发、延迟和进行性破坏机制(由于发生了原发破坏事件而由细胞引起的)造成的。这样的原发损伤或

损害包括身体创伤例如粉碎性或压迫性损伤，青光眼、视网膜炎、视网膜病，包括成年视网膜病、糖尿病性视网膜病和视网膜静脉阻塞性视网膜病，眼色素层炎和视网膜缺血。继发破坏机制包括导致神经毒害分子，包括 NO 产生和释放的任何机制，包括细胞程序死亡，由于线粒体膜渗透性发生改变而导致的细胞能量贮藏耗尽，释放或不能再摄取过量谷氨酸，再灌注损伤，以及细胞因子活动和炎症。

术语“视网膜病性”是指无论病因是什么，导致视网膜病的损伤或损害。

在选择性 iNOS 抑制剂的一个例证性实例中，治疗是经由式 I 化合物或其可药用盐进行的，



其中：

R^1 选自 H、卤素和烷基，所述烷基可任选被一个或多个卤素取代；

R^2 选自 H、卤素和烷基，所述烷基可任选被一个或多个卤素取代；

条件是： R^1 或 R^2 当中至少有一个含有卤素；

R^7 选自 H 和羟基；和

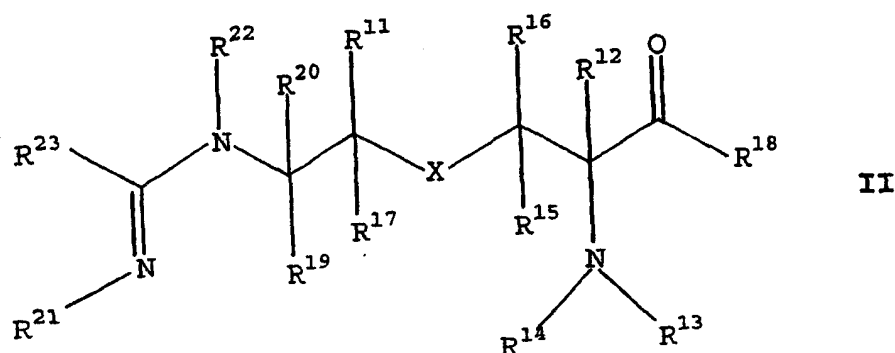
J 选自羟基、烷氧基和 NR^3R^4 ，其中：

R^3 选自 H、低级烷基、低级链烯基和低级炔基；且

R^4 选自 H 和杂环，其中在所述杂环中至少有一个环单元是碳，并且有 1-约 4 个独立地选自氧、氮和硫的杂原子，所述杂环可任选被下列基团取代：杂芳基氨基、N-芳基-N-烷基氨基、N-杂芳基氨基-N-烷基氨基、卤代烷硫基、链烷酰氧基、烷氧基、杂芳烷氧基、环烷氧基、环烯氧基、羟基、氨基、硫基、硝基、低级烷基氨基、烷硫基、烷硫基烷基、芳基氨基、芳烷基氨基、芳硫基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、烷基磺酰氨基、烷基氨基磺酰基、酰氨基磺酰基、一烷基酰

氨基磺酰基、二烷基酰氨基磺酰基、一芳基酰氨基磺酰基、芳基磺酰氨基、二芳基酰氨基磺酰基、一烷基一芳基酰氨基磺酰基、芳基亚磺酰基、芳基磺酰基、杂芳硫基、杂芳基亚磺酰基、杂芳基磺酰基、烷酰基、链烯酰基、芳酰基、杂芳酰基、芳烷酰基、杂芳烷酰基、卤代链酰基、烷基、链烯基、炔基、亚烷二氧基、卤代亚烷二氧基、环烷基、环烯基、低级环烷基烷基、低级环烯基烷基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基卤代烷基、羟基芳烷基、羟基烷基、羟基杂芳烷基、卤代烷氧基烷基、芳基、芳烷基、芳氧基、芳烷氧基、芳氧基烷基、饱和杂环基、部分饱和杂环基、杂芳基、杂芳氧基、杂芳氧基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基、芳基链烯基、杂芳基链烯基、氰基烷基、二氰基烷基、酰胺基烷基、二酰胺基烷基、氰基烷氧羰基烷基、烷氧羰基烷基、二烷氧羰基烷基、氰基环烷基、二氰基环烷基、酰胺基环烷基、二酰胺基环烷基、烷氧羰基氰基环烷基、烷氧羰基环烷基、二烷氧羰基环烷基、甲酰基烷基、酰基烷基、二烷氧基膦酰基烷基、二芳烷氧基膦酰基烷基、膦酰基烷基、二烷氧基膦酰基烷氧基、二芳烷氧基膦酰基烷氧基、膦酰基烷氧基、二烷氧基膦酰基烷基氨基、二芳烷氧基膦酰基烷基氨基、膦酰基烷基氨基、二烷氧基膦酰基烷基、二芳烷氧基膦酰基烷基、胍基、脒基和酰基氨基；

在另一个实施方案中，本发明提供了使用式 II 化合物或其盐的治疗：



在式 II 结构中，X 选自 -S-、-S(O)-和 -S(O)₂-。X 优选是 -S-。R¹² 选自 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 炔基、C₁-C₅ 烷氧基-C₁ 烷基和 C₁-C₅ 烷硫基-C₁ 烷基，其中这些基团分别可任选被一个或多个选自

-OH、烷氧基和卤素的取代基取代。 R^{12} 优选为 C_1 - C_6 烷基, 所述烷基可任选被选自 -OH、烷氧基和卤素的取代基取代。对于 R^{13} 和 R^{18} , R^{18} 选自 $-OR^{24}$ 和 $-N(R^{25})(R^{26})$, 且 R^{13} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C(O)-R^{27}$ 、 $-C(O)-O-R^{28}$ 和 $-C(O)-S-R^{29}$; 或者 R^{18} 是 $-N(R^{30})-$, 且 R^{13} 是 $-C(O)-$, 其中 R^{18} 和 R^{13} 与它们所连接的原子一起形成环; 或者 R^{18} 是 $-O-$, 且 R^{13} 是 $-C(R^{31})(R^{32})-$, 其中 R^{18} 和 R^{13} 与它们所连接的原子一起形成环。如果 R^{13} 是 $-C(R^{31})(R^{32})-$, 则 R^{14} 是 $-C(O)-O-R^{33}$; 否则 R^{14} 是 $-H$ 。 R^{11} 、 R^{15} 、 R^{16} 和 R^{17} 独立地选自 $-H$ 、卤素、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基和 C_1 - C_5 烷氧基- C_1 烷基。 R^{19} 和 R^{20} 独立地选自 $-H$ 、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基和 C_1 - C_5 烷氧基- C_1 烷基。对于 R^{21} 和 R^{22} , R^{21} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C(O)-O-R^{34}$ 和 $-C(O)-S-R^{35}$, 且 R^{22} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C(O)-O-R^{36}$ 和 $-C(O)-S-R^{37}$; 或者 R^{21} 是 $-O-$, 且 R^{22} 是 $-C(O)-$, 其中 R^{21} 和 R^{22} 与它们所连接的原子一起形成环; 或者 R^{21} 是 $-C(O)-$, 且 R^{22} 是 $-O-$, 其中 R^{21} 和 R^{22} 与它们所连接的原子一起形成环。 R^{23} 是 C_1 烷基。 R^{24} 选自 $-H$ 和 C_1 - C_6 烷基, 其中当 R^{24} 是 C_1 - C_6 烷基时, R^{24} 可任选被一个或多个选自下列的基团取代: 环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。对于 R^{25} 和 R^{26} , R^{25} 选自 $-H$ 、烷基和烷氧基, 且 R^{26} 选自 $-H$ 、 $-OH$ 、烷基、烷氧基、 $-C(O)-R^{38}$ 、 $-C(O)-O-R^{39}$ 和 $-C(O)-S-R^{40}$; 其中当 R^{25} 和 R^{26} 独立地为烷基或烷氧基时, R^{25} 和 R^{26} 独立地可任选被一个或多个选自下列的基团取代: 环烷基、杂环基、芳基和杂芳基; 或者 R^{25} 是 $-H$; 且 R^{26} 选自环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 独立地选自 $-H$ 和烷基, 其中所述烷基可任选被一个或多个选自下列的基团取代: 环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。当任何 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 独立地为选自烷基、链烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基的基团时, 则该基团可任选被一个或多个选自 $-OH$ 、烷氧基和卤素的取代基取代。

在优选的化合物中， R^{18} 是-OH。当 R^{18} 是-OH时，X优选为S。在另一个化合物中， R^{11} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{19} 和 R^{20} 独立地选自-H和 C_1 - C_3 烷基。优选地， R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{19} 、 R^{20} 分别是-H。 R^{23} 可以是多种不同基团，例如氟甲基或甲基。 R^{11} 可以是可任选被选自-OH和卤素的取代基取代的 C_1 - C_6 烷基； R^{11} 优选为可任选被卤素取代的 C_1 烷基；更优选地， R^{11} 选自氟甲基、羟基甲基和甲基。在一个重要化合物中， R^{11} 可以是甲基。或者， R^{11} 可以是氟甲基。在另一个化合物中， R^{11} 可以是羟基甲基。在另一个化合物中， R^{12} 是可任选被选自-OH、烷氧基和卤素的取代基取代的 C_1 - C_6 烷基。在一个优选的化合物中， R^{12} 是可任选被卤素取代的 C_1 烷基。例如， R^{12} 可以是甲基。或者， R^{12} 可以是氟甲基。在另一个实例中， R^{12} 可以是羟基甲基。在另一个实例中， R^{12} 可以是甲氧基甲基。

在该示例化合物中，优选的是， R^{13} 、 R^{14} 、 R^{21} 和 R^{22} 分别是-H。在该化合物中，进一步优选的是， R^{11} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{19} 和 R^{20} 独立地选自-H和 C_1 - C_3 烷基。优选地， R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{19} 、 R^{20} 分别是-H。在进一步的化合物中， R^{23} 可以是例如氟甲基，或者在另一个实例中， R^{23} 可以是甲基。在这些实例的优选化合物中， R^{12} 是可任选被选自-OH、烷氧基和卤素的取代基取代的 C_1 - C_6 烷基。 R^{12} 优选为可任选被卤素取代的 C_1 烷基。在一个这样的实例中， R^{12} 是氟甲基。在另一个实例中， R^{12} 是甲基。或者， R^{12} 可以是羟基甲基。在另一个实例中， R^{12} 可以是甲氧基甲基。

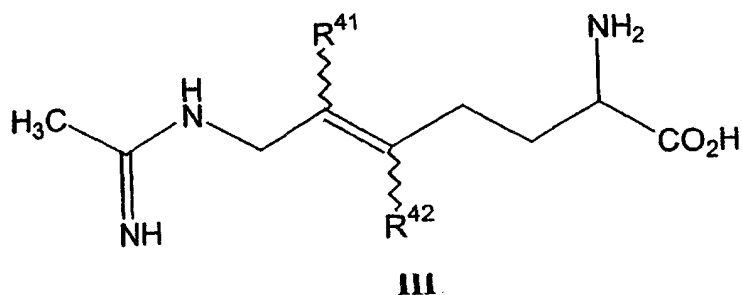
当 R^{23} 是甲基时， R^{11} 可以是例如-H或可任选被选自-OH和卤素的取代基取代的 C_1 - C_6 烷基。在优选的化合物中， R^{11} 是-H。或者， R^{11} 可以是可任选被选自-OH和卤素的取代基取代的 C_1 - C_6 烷基。例如， R^{11} 可以是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、戊基异构体或己基异构体。例如， R^{11} 可以是乙基。或者， R^{11} 可以是可任选被选自-OH和卤素的取代基取代的 C_1 烷基；例如， R^{11} 可以是甲基。或者， R^{11} 可以是氟甲基。在另一个实例中， R^{11} 可以是羟基甲基。

在另一个化合物中, R^{18} 可以是 $-OR^{24}$ 。 R^{24} 可如上所定义。优选地, R^{24} 是 C_1 - C_6 烷基, 所述烷基可任选被一个或多个选自环烷基、杂环基、芳基和杂芳基的基团取代; R^{24} 更优选为 C_1 - C_3 烷基; R^{24} 还更优选为甲基。在化合物 II 的另一个实例中, R^{18} 可以是 $-N(R^{25})(R^{26})$, 其中 R^{25} 和 R^{26} 如上所定义。在另一个化合物中, R^{18} 可以是 $-N(R^{30})-$, 并且 R^{13} 可以是 $-C(O)-$, 其中 R^{18} 和 R^{13} 与它们所连接的原子一起形成环。在另一个实例中, R^{18} 可以是 $-O-$, 且 R^{13} 可以是 $-C(R^{31})(R^{32})-$, 其中 R^{18} 和 R^{13} 与它们所连接的原子一起形成环。

在式 II 化合物中, R^{21} 可选自 $-OH$ 、 $-C(O)-O-R^{34}$ 和 $-C(O)-S-R^{35}$ 。 R^{21} 优选为 $-OH$ 。在另一个实例中, 当 R^{21} 是 $-OH$ 时, R^{22} 是 $-H$ 。

然而, 该实施例还提供了有用的式 II 化合物, 其中 R^{21} 是 $-O-$, 且 R^{22} 是 $-C(O)-$, 其中 R^{21} 和 R^{22} 与它们所连接的原子一起形成环。在另一个有用的化合物中, R^{21} 是 $-C(O)-$, 且 R^{22} 是 $-O-$, 其中 R^{21} 和 R^{22} 与它们所连接的原子一起形成环。或者, R^{22} 可选自 $-OH$ 、 $-C(O)-O-R^{36}$ 和 $-C(O)-S-R^{37}$ 。在该实例中, R^{21} 优选为 $-H$ 。

在可用于实施本发明的另一种选择性 iNOS 抑制剂中, 化合物是式 III 化合物或其可药用盐,

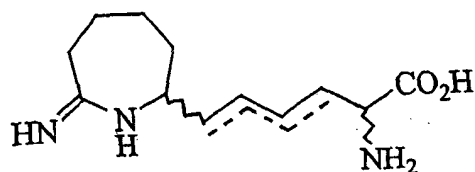


其中:

R^{41} 是 H 或甲基; 且

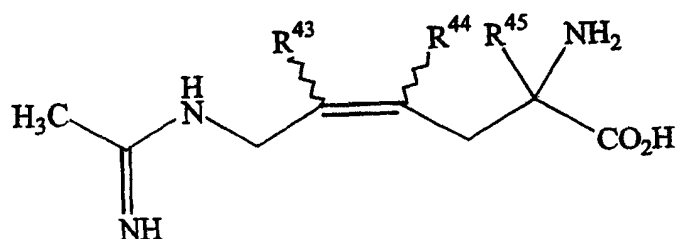
R^{42} 是 H 或甲基。

可用于实施本发明的另一种选择性 iNOS 抑制剂是式 IV 化合物或其可药用盐,



IV

可用于本发明的另一示例性选择性 iNOS 抑制剂是式 V 化合物或其可药用盐,



V

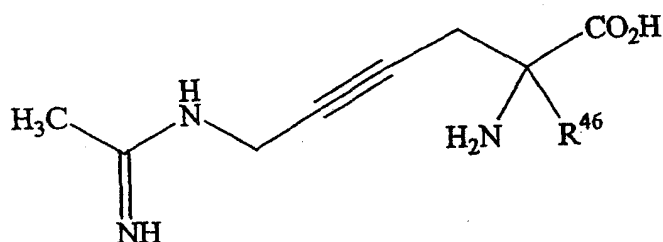
其中:

R^{43} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基;

R^{44} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基;

R^{45} 是 C_1 - C_5 烷基或被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基。

另一示例性选择性 iNOS 抑制剂是式 VI 化合物或其可药用盐,

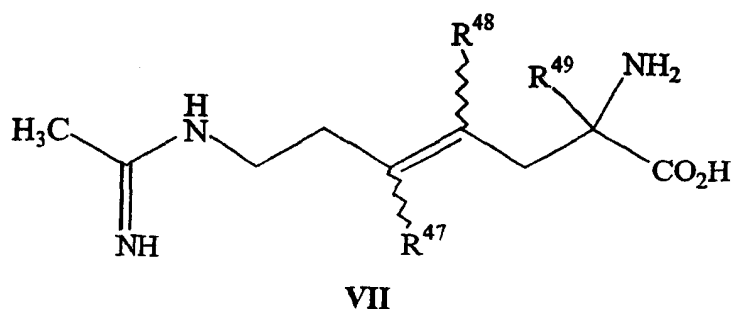


VI

其中:

R^{46} 是 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代。

可用于本发明的另一示例性选择性 iNOS 抑制剂是式 VII 化合物或其可药用盐,



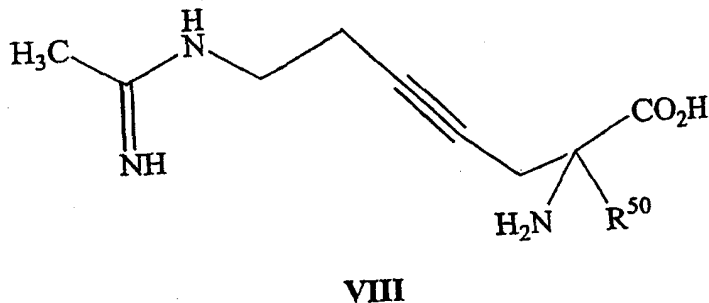
其中:

R^{47} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基;

R^{48} 选自氢、卤素、 C_1 - C_5 烷基和被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基;

R^{49} 是 C_1 - C_5 烷基或被烷氧基或一个或多个卤素取代的 C_1 - C_5 烷基。

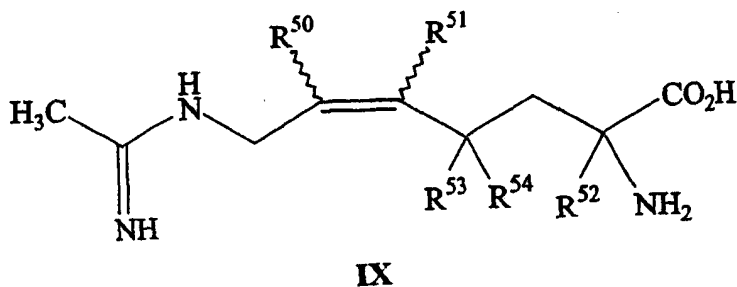
可用于本发明的另一示例性选择性 iNOS 抑制剂是式 VIII 化合物或其可药用盐,



其中:

R^{50} 是 C_1 - C_5 烷基, 所述 C_1 - C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代。

可用于实施本发明的另一选择性 iNOS 抑制剂是式 IX 化合物或其可药用盐,



其中:

R^{50} 选自氢、卤素和 C_1-C_5 烷基, 所述 C_1-C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

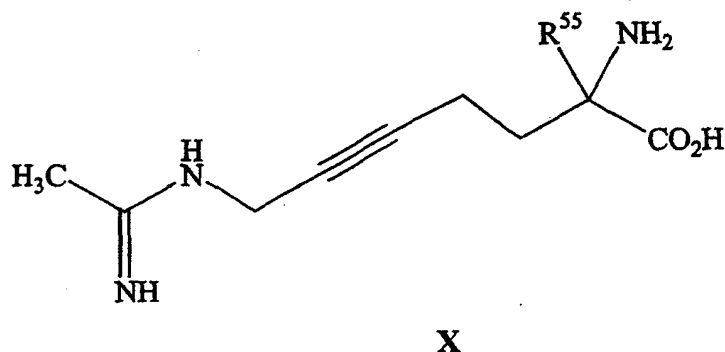
R^{51} 选自氢、卤素和 C_1-C_5 烷基, 所述 C_1-C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

R^{52} 是 C_1-C_5 烷基, 所述 C_1-C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代;

R^{53} 选自氢、卤素和 C_1-C_5 烷基, 所述 C_1-C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代; 且

R^{54} 选自卤素和 C_1-C_5 烷基, 所述 C_1-C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代。

可用于实施本发明的另一选择性 iNOS 抑制剂是式 X 化合物或其可药用盐,



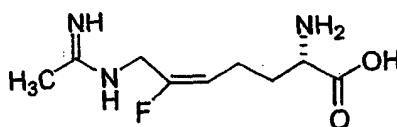
其中:

R^{55} 是 C_1-C_5 烷基, 所述 C_1-C_5 烷基可任选被卤素或烷氧基取代, 所述烷氧基可任选被一个或多个卤素取代。

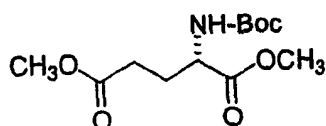
b. 示例性实施例

给出下列合成实施例是为了举例说明, 而不是限制本发明范围。当没有定义异构体时, 使用合适的色谱法可获得单一异构体。

实施例 A



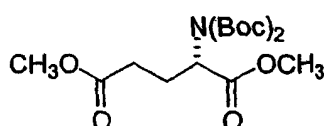
(2S,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐, 一水合物



EX-A-1) 在 0℃, 将三甲基甲硅烷基氯(107.8 g, 1.00 mol)滴加到 L-谷氨酸(30.00 g, 0.20 mol)在 300 mL 甲醇内的冷溶液中。将所得澄清、无色溶液在室温搅拌。18 小时后, 通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯的己烷)表明没有剩余原料。然后将该反应冷却至 0℃, 加入三乙胺(134 g, 1.33 mol), 形成了白色沉淀。加入二碳酸二叔丁酯(49 g, 0.23 mol), 将该混合物温热至室温。3 小时后, 除去溶剂, 加入 700 mL 乙醚。将该溶液过滤, 用另外 500 mL 乙醚洗涤滤饼。将滤液浓缩, 获得了 60.8 g (> 95%)褐色油状物, 其不用进一步纯化直接用于下一步骤。

LCMS: $m/z =$

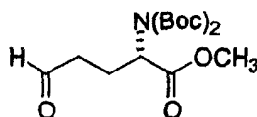
298.1 $[M+Na]^+$. HRMS $C_{12}H_{21}NO_6$ 的计算值: 276.1447 $[M+H]^+$, 实测值: 276.1462. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 1.45 (s, 9H), 1.95 (m, 1H), 2.50 (m, 1H), 2.40 (m, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 4.32 (m, 1H), 5.15 (m, 1H).



EX-A-2) 在室温向得自 EX-A-1 的粗产物(60 g, 0.22 mol)在 300 mL 乙腈内的溶液中加入 4-二甲基氨基吡啶(5.3 g, 0.44 mol)和二碳酸二叔丁酯(79.2 g, 0.36 mol)。将所得混合物在室温搅拌 2 天, 这时通过薄层色谱分析(25% 乙酸乙酯的己烷)表明已消耗了大部分原料。真空除去溶剂, 获得了 85 g 红色油状物。通过快速硅胶柱色谱纯化粗产物, 用 1:10 乙酸乙酯/己烷洗脱, 获得了 66.4 g (81%)所需的 di-Boc 产物, 为浅黄色固体。

LCMS: $m/z = 398.2$ $[M+Na]^+$. HRMS

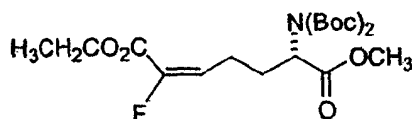
$C_{17}H_{29}NO_8$ 的计算值: 398.1791 $[M+Na]^+$, 实测值: 398.1790. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 1.48 (s, 18H), 2.19 (m, 1H), 2.41 (m, 2H), 2.46 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 4.91 (dd, 1H).



EX-A-3) 在 $-78^\circ C$, 用 30 分钟将 DIBAL (64 mL 1.0 M 在己烷中的溶液, 63.9 mmol) 滴加到 EX-A-2 (20 g, 53.3 mmol) 在 400 mL 无水乙醚内的冷溶液中。在 $-78^\circ C$ 再保持 30 分钟后, 用水 (12 mL, 666 mmol) 处理该溶液, 让其温热至室温。将该浑浊混合物用 350 mL 乙酸乙酯稀释, 用 $MgSO_4$ 干燥, 并经由硅藻土 (celite) 垫过滤。将滤液浓缩至黄色油状物。将粗产物—18.9 g 黄色油状物通过快速硅胶柱色谱纯化, 用 1:4 乙酸乙酯/己烷洗脱, 获得了 13.8 g (75%) 所需的醛产物, 为澄清油状物。

LCMS:

$m/z = 368.2$ $[M+Na]^+$. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 1.48 (s, 18H), 2.19 (m, 1H), 2.41 (m, 2H), 2.46 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 4.91 (dd, 1H), 9.8 (s, 1H).

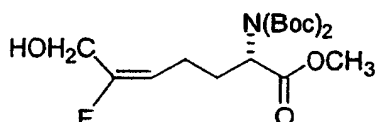


EX-A-4) 向 2-氟膦酰基乙酸三乙酯 (4.67 g, 19.3 mmol) 在 20 mL THF 内的冷 ($-78^\circ C$) 溶液中加入正丁基锂 (10.9 mL 1.6 M 在己烷中的溶液, 17.5 mmol)。将该混合物在 $-78^\circ C$ 搅拌 20 分钟, 形成了亮黄色溶液。然后经由注射器加入 EX-A-3 的产物 (6.0 g, 17.5 mmol) 在 5 mL THF 中的溶液, 将所得混合物在 $-78^\circ C$ 搅拌 2 小时, 这时通过薄层色谱分析 (30% 乙酸乙酯的己烷) 表明没有剩余原料。在 $-78^\circ C$ 用饱和氯化铵水溶液 (30 mL) 中止该反应, 收集有机层, 用乙醚 (2×50 mL) 萃取水层。将合并的有机层用水 (100 mL) 和盐水 (100 mL) 洗涤, 用 $MgSO_4$ 干燥, 过滤并浓缩。将粗产物—8.6 g 黄色油状物通过快速硅胶柱色谱纯化, 用 1:4 乙酸乙酯/己烷中洗脱, 获得了 6.05 g (79%) 所需的氟代烯烃产物, 为澄清的油状物。 1H NMR 和 ^{19}F NMR 表明分离出的产物具有约 95:5

的 E:Z 比例。

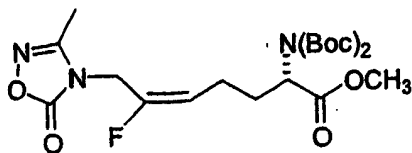
LCMS: $m/z = 456.2$

$[M+Na]^+$. HRMS $C_{26}H_{32}NO_6F$ 的计算值: 456.2010 $[M+Na]^+$, 实测值: 456.2094. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 1.48 (s, 18H), 2.0 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.6 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 4.25 (m, 2H), 4.9 (m, 1H), 5.9 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 20$ Hz), 6.2 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 30$ Hz). ^{19}F NMR ($CDCl_3$) ? -129.12 (d, 0.09F, $J = 31$ Hz, 9% Z-异构体), -121.6 (d, 0.91F, $J = 20$ Hz, 91% E-异构体).



EX-A-5) 在室温向 EX-A-4 (805 mg, 1.86 mmol) 在 20 mL 甲醇内的溶液中以每次 200 mg 的方式分批加入固体 $NaBH_4$ (844 mg, 22.3 mmol)。将该反应在室温搅拌 18 小时, 这时通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯/己烷)表明已消耗了大部分原料。用 20 mL 饱和氯化铵水溶液中止该反应, 用乙酸乙酯(2×35 mL)萃取。将有机层合并, 用 $MgSO_4$ 干燥, 过滤并浓缩。将粗产物—700 mg 澄清油状物通过快速硅胶柱色谱纯化, 用 1: 4 乙酸乙酯/己烷洗脱, 获得了 353 mg (48%) 所需的烯丙型醇产物, 为澄清油状物, ^{19}F NMR 表明其主要含有所需 E-异构体。

LCMS: $m/z = 414.2$ $[M+Na]^+$. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 1.48 (s, 18H), 1.95 (m, 1H), 2.1 (m, 1H), 2.2 (m, 1H), 2.35 (t, 1H), 3.7 (s, 3H), 4.25 (m, 2H), 4.8 (m, 1H), 5.15 (dt, 1H, $J = 20$ Hz). ^{19}F NMR ($CDCl_3$) ? -119.1 (d, 0.02F, $J = 37$ Hz, 2% Z-异构体), -111.8 (d, 0.98F, $J = 24$ Hz, 98% E-异构体).

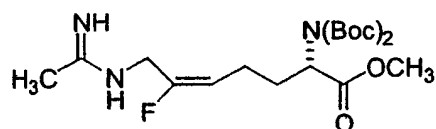


EX-A-6) 向 EX-A-5 (1.37 g, 3.5 mmol)、以聚合物为载体的三苯基膦(3 mmol/g, 1.86 g, 5.6 mmol)和 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮(450 mg, 4.55 mmol)在 50 mL THF 内的混合物中滴加偶氮二甲酸二甲酯(820

mg, 5.6 mmol)。将该反应在室温搅拌 1 小时, 这时通过薄层色谱分析(40 % 乙酸乙酯的己烷中)表明没有剩余原料。将该混合物经由硅藻土过滤; 并将滤液浓缩。将所得黄色油状物在 30 mL 二氯甲烷与 30 mL 水之间分配。分离出有机层, 用水(1×30mL)和盐水(1×30 mL)洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并浓缩。将粗产物—1.8 g 黄色油状物通过快速硅胶柱色谱纯化, 用 1:4 乙酸乙酯/己烷洗脱, 获得了 670 mg (40 %) 所需的保护的 E-烯丙型脒产物, 为澄清油状物, ^{19}F NMR 表明其仅含有所需的 E-异构体。

LCMS: $m/z = 496.2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$. ^1H

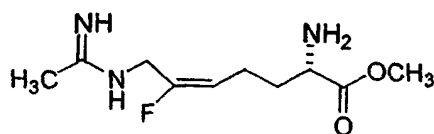
NMR (CDCl_3) ? 1.48 (s, 18H), 1.85 (m, 1H), 2.2 (m, 3H), 2.25 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 4.25 (m, 2H), 4.8 (m, 1H), 5.3 (dt, 1H, $J = 20$ Hz). ^{19}F NMR (CDCl_3) ? -110.8 (q, 1F, $J = 20$ Hz).



EX-A-7) 将 EX-A-6 的产物(670 mg, 1.4 mmol)溶解在 25 mL 甲醇和 25 mL 25 % 乙酸水溶液中。加入锌粉(830 mg, 12.7 mmol), 并将该混合物在超声下搅拌 8 小时, 这时 HPLC 表明仅剩余 20 % 原料。将锌粉从反应混合物中过滤出来, 将滤液在 -20℃ 贮存 12 小时。将滤液温热至室温, 再加入冰醋酸(7 mL)和锌粉(400 mg, 6.1 mmol), 将该混合物在室温超声处理 1 小时, 这时 HPLC 分析表明含有 96 % 产物。将该混合物经由硅藻土过滤, 并将滤液浓缩, 通过在 YMC Combiprep 柱上进行的反相 HPLC 柱色谱法纯化粗产物, 使用 20 - 95 % A 在 8 分钟内进行梯度洗脱(A: 100 % 乙腈, 含有 0.01 % 三氟乙酸, B: 100 % H_2O , 含有 0.01 % 三氟乙酸)。将含有产物的级份合并, 并浓缩, 获得了 344 mg (45 %) 作为三氟乙酸盐的所需乙脒产物, ^{19}F NMR 表明其仅含有所需的 E-异构体。

LCMS: $m/z = 432.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (CD_3OD) ?

1.52 (s, 18H), 2.9 (m, 1H), 2.2 (m, 3H), 2.27 (s, 3H), 4.2 (d, 1H), 5.4 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 20$ Hz). ^{19}F NMR (CD_3OD) ? -110.83 (m, 1F, $J = 20$ Hz).

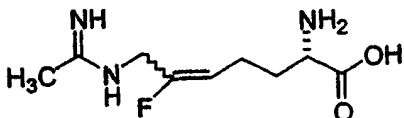


EX-A-8) 将 EX-A-7 产物的样本溶解在冰醋酸中。向该搅拌着的溶液中加入 10 当量 1N HCl 的二氧杂环己烷溶液。将该溶液在室温搅拌 10 分钟，真空除去所有溶剂，以获得所示甲酯二盐酸盐。

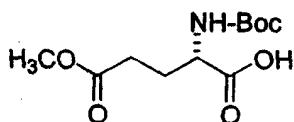
实施例 A) 将 EX-A-7 (344 mg, 1.4 mmol) 在 6 mL 6.0 N HCl 中的溶液回流 1 小时。真空除去溶剂。将所得固体溶解在水中并浓缩 3 次，然后在 1.0 N HCl 中浓缩 5 次以除去任何剩余的 TFA 盐。完成后，获得了 160 mg (37%) 所需的 (2S,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸，二盐酸盐产物，为白色固体，m.p. 51.5-56.3 °C，¹⁹F NMR 表明其仅含有所需的 E-异构体。

LCMS: m/z = 218.1 $[M+H]^+$. HRMS $C_9H_{16}FN_3O_2$ 的计算值: 218.1305 $[M+H]^+$, 实测值: 218.1325. ¹H NMR (D_2O) ? 1.8 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 2.1 (s, 3H), 3.7 (t, 1H), 4.00 (d, 2H), 5.3 (dt, 乙烯基, 1H, J = 21 Hz). ¹⁹F NMR (D_2O) ? -109.9 (m, 1F, J = 20 Hz).

实施例 B



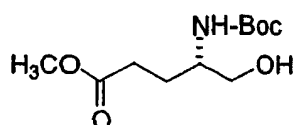
(2S,5E/Z)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸，二盐酸盐



EX-B-1) 向 L-谷氨酸 5-甲酯(50.00 g, 0.31 mol)在 400 mL 1:1 H_2O /二氧杂环己烷内的冷(0 °C)溶液中加入三乙胺(38.35 g, 0.38 mol)，然后加入二碳酸二叔丁酯(80.00 g, 0.37 mol)。将所得澄清、无色溶液在室温搅拌。18 小时后，通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯的己烷)表明没有任何剩余原料。用 200 mL 1.0 N $KHSO_4$ 水溶液处理该反应混合

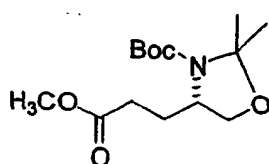
物。除去有机层，用乙酸乙酯(3×100 mL)萃取水层。将有机层合并，用 MgSO_4 干燥，过滤并浓缩，获得了 72.00 g (89%) 所需产物，为浅黄色油状物。

LCMS: $m/z = 284.1$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ? 1.50 (s, 9H), 2.00 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 2.42 (m, 2H), 3.66 (s, 3H), 4.34 (d, 1H), 5.24 (d, 1H).



EX-B-2) 在 -10°C ，向 EX-B-1 产物(72.60 g, 0.28 mol)在 300 mL THF 内的溶液中迅速加入 4-甲基吗啉(28.11 g, 0.28 mol)和氯甲酸异丁酯(37.95 g, 0.28 mol)。该澄清的黄色溶液立即形成了白色沉淀。4 分钟后，将所得混浊黄色混合物过滤，将滤液冷却至 -10°C ，滴加 NaBH_4 (15.77 g, 0.42 mol)在 200 mL H_2O 中的溶液，同时保持零下温度。一旦加入所有 NaBH_4 ，即移去冰浴，将该反应在室温搅拌 1.5 小时。用 200 mL H_2O 处理该反应混合物。分离出有机层，用乙酸乙酯(3×100 mL)萃取水层。将有机层合并，用盐水洗涤，用 MgSO_4 干燥，过滤并浓缩，获得了 58 g (85%) 所需产物，为黄色油状物。

LCMS: $m/z = 270.1$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) ? 1.42 (s, 9H), 1.65 (m, 1H), 1.85 (m, 2H), 2.42 (t, 2H), 3.66 (s, 3H), 4.8 (d, 1H).

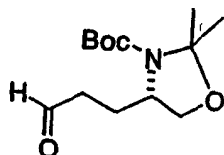


EX-B-3) 向 EX-B-2 (30.95 g, 0.13 mol)在 100 mL 苯内的溶液中加入 2,2-二甲氧基丙烷(65.00 g, 0.63 mol)，然后加入对甲苯磺酸(2.40 g, 12.5 mmol)和 5 g 3Å 分子筛。所得混合物回流 2 小时，这时通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯的己烷)表明反应完全。将该混合物冷却至室温，用乙醚(150 mL)稀释，依次用饱和碳酸氢钠水溶液(100 mL)和盐水(100 mL)洗涤。将有机层用 MgSO_4 干燥，过滤并浓缩。将粗产物—30.5 g 黄色油状物通过快速硅胶柱色谱纯化，用 1:10 乙酸乙酯/己烷

洗脱, 获得了 15.40 g (42%)所需产物, 为浅黄色油状物。

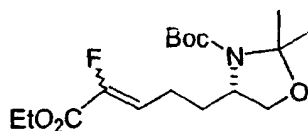
LCMS:

$m/z = 310.1 [M+Na]^+$. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 1.42 (s, 12H), 1.56 (d, 3H), 1.85 (m, 2H), 2.38 (m, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.7 (d, 1H), 3.95 (m, 2H).



EX-B-4) 将 DIBAL (6.0 mL 1.0 M 在甲苯中的溶液)滴加到 EX-B-3 产物(1.00 g, 3.00 mmol)在 10 mL 二氯甲烷内的冷(-78℃)溶液中。30 分钟后, 用 5 mL 饱和酒石酸钾钠盐(Rochelle 盐)中止该反应, 然后让其温热至室温。然后将该混合物经由硅藻土垫过滤, 用 $MgSO_4$ 干燥, 再次过滤并浓缩, 获得了黄色油状物。将粗产物—610 mg 黄色油状物通过快速硅胶柱色谱纯化, 用 1:4 乙酸乙酯/己烷洗脱, 获得了 550 mg (71%)所需产物, 为澄清油状物。

1H NMR ($CDCl_3$) ? 1.50 (s, 12H), 1.58 (d, 3H), 2.00 (m, 2H), 2.5 (m, 2H), 3.7 (d, 1H), 3.95 (m, 2H), 9.8 (s, 1H).



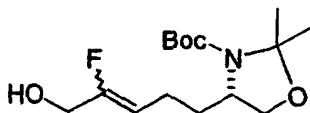
EX-B-5) 向 2-氟-膦酰基乙酸三乙酯(6.70 g, 27.6 mmol)在 100 mL 二氯甲烷内的冷(0℃)溶液中加入 1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯(4.70 g, 31.0 mmol)。将该混合物在 0℃搅拌 1 小时, 获得了橙色溶液。然后经由注射器加入 EX-B-4 产物(5.71 g, 22.2 mmol)在 15 mL 二氯甲烷内的冰冷(0℃)溶液, 将所得混合物在室温搅拌 18 小时, 这时通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯的己烷)表明没有剩余原料。真空除去溶剂, 将所得混合物在 200 mL 乙酸乙酯与 100 mL 水之间分配。收集有机层, 用乙酸乙酯(2×50 mL)萃取水层。将合并的有机层用 1.0 M $KHSO_4$ 水溶液(100 mL)、水(100 mL)和盐水(100 mL)洗涤, 用 $MgSO_4$ 干燥, 过滤并浓缩, 获得了所需的氟代烯烃产物, 为黄色油状物(8.0 g)。

^1H NMR 和 ^{19}F NMR 表明分离出的产物具有约 70:30 的 Z:E 比例。

LCMS: m/z =

368.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. ^1H NMR (CDCl_3) ? 5.9-6.0 (dt, 1H, $J=20$ Hz), 6.05-6.20 (dt, 1H, $J=33$ Hz). ^{19}F NMR (CDCl_3) ? -129.89 (d, 0.7F, $J=38$ Hz, 70% Z-异构体), -122.05 (d, 0.3F, $J=20$ Hz, 30% E-异构体)

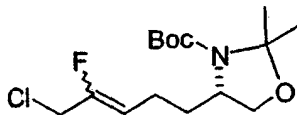
该混合物不用进一步纯化直接使用。



EX-B-6) 经由注射器向 EX-B-5 产物(8.0 g, 23.0 mmol)在 70 mL THF 内的冰冷(0°C)溶液中加入 LiBH_4 (12.7 mL 2.0 M 在 THF 中的溶液, 25.0 mmol)。将该反应混合物在室温搅拌 18 小时, 这时通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯的己烷)表明没有剩余原料。除去 THF, 将所得混合物溶解在二氯甲烷中。冷却至 0°C 后, 缓慢地加入 1.0 M KHSO_4 水溶液以中止反应。用乙酸乙酯(3×50 mL)萃取该混合物。将有机层合并, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并浓缩。将粗产物—8.0 g 澄清油状物通过快速硅胶柱色谱纯化, 用 1:4 乙酸乙酯/己烷洗脱, 获得了 900 mg(13%)所需产物, 为澄清油状物。

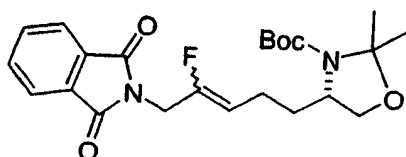
LCMS: m/z =

326.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. ^1H NMR (CDCl_3) ? 4.79-4.94 (dm, 1H), 5.10-5.25 (dt, 1H). ^{19}F NMR (CDCl_3) ? -119.82 (dt, 0.7F, $J=38$ Hz, 70% Z-异构体), -111.09 (dt, 0.3F, $J=27$ Hz, 30% E-异构体)



EX-B-7) 向 EX-B-6 产物(950 mg, 3.1 mmol)在 5 mL 吡啶内的冰冷(0°C)溶液中加入甲磺酰氯(390 mg, 3.4 mmol)。将该反应在 0°C 搅拌 5 分钟, 然后温热至室温并搅拌 3 小时, 这时通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯的己烷)表明没有剩余原料。将该反应用乙醚(10 mL)稀释, 依次用饱和碳酸氢钠水溶液(20 mL)和 1.0M 柠檬酸(20 mL)洗涤。将有机层用 MgSO_4 干燥, 过滤并浓缩, 获得了 500 mg (51%)所需的烯丙

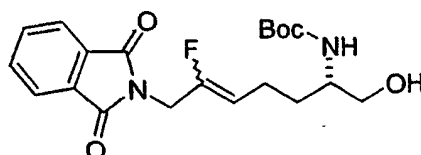
型氯化物产物, 为白色固体。该产物不用进一步纯化直接使用。LCMS: $m/z=344.1[M+Na]^+$ 。



EX-B-8) 向 EX-B-7 产物(440 mg, 1.37 mmol)在 10 mL DMF 内的搅拌着的溶液中加入邻苯二甲酰亚氨基钾(290 mg, 1.57 mmol)。将所得混合物加热回流 18 小时, 这时通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯的己烷)表明没有剩余原料。将冷却的混合物用 30 mL 水稀释, 用乙酸乙酯(30 mL)萃取 2 次, 用 $MgSO_4$ 干燥, 过滤并浓缩, 获得了 540 mg (91%)所需产物, 为黄色油状物。

LCMS: $m/z =$

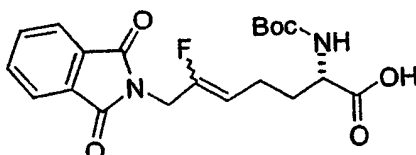
455.2 $[M+Na]^+$. HRMS 计算值 : 433.2139 $[M+H]^+$, 实测值: 433.2144. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 1.4 (s, 18H), 1.6 (m, 6H), 2.05 (m, 2H), 3.6-4.42 (m, 4H), 4.9 (dt, 乙烯基, 1H), 5.2, (m, 乙烯基, 1H), 7.7 (m, 2H), 7.9 (m, 2H). ^{19}F NMR ($CDCl_3$) ? -117.09 (m, 0.7F, $J = 38$ Hz, 70% Z-异构体), -111.61 (m, 0.3F, $J = 22$ Hz, 30% E-异构体)。



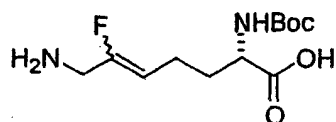
EX-B-9) 将 EX-B-8 产物(600 mg, 1.38 mmol)溶解在 8 mL 乙酸和 2 mL 水中。将该混合物在室温搅拌过夜, 这时通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯的己烷)表明没有剩余原料。将该溶液在氮气流下浓缩, 通过快速硅胶柱色谱纯化粗产物, 用 1: 2 乙酸乙酯/己烷洗脱, 获得了 248 mg (63%)所需产物, 为白色固体。

LCMS:

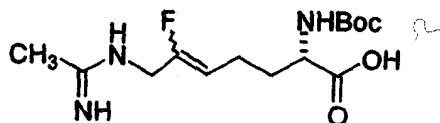
$m/z = 415.1 [M+Na]^+$. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 1.41 (s, 9H), 1.56 (m, 2H), 2.15 (m, 1H), 3.64 (m, 2H), 4.35 (d, 2H), 4.9 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 37$ Hz), 7.73 (m, 2H), 7.86 (m, 2H). ^{19}F NMR ($CDCl_3$) ? -116.96 (dt, 0.8F, $J = 37$ Hz, 80% Z-异构体), -111.09 (dt, 0.2F, $J = 22$ Hz, 20% E-异构体)



EX-B-10) 向 EX-B-9 产物(237 mg, 0.605 mmol)在 6 mL DMF 内的搅拌着的溶液中加入吡啶重铬酸盐(1.14 g, 3.03 mmol)。该溶液变为深橙色, 将其在室温搅拌 18 小时, 然后将其倒入 20 mL H₂O 内。用乙酸乙酯(4×25 mL)萃取该混合物。将合并的有机层用 5% 碳酸氢钾水溶液(3×25 mL)洗涤。用 1.0 M KHSO₄ 将水层酸化至 pH=3, 然后用乙酸乙酯(3×50 mL)萃取。将合并的有机层浓缩, 获得了 235 mg (95%) 所需氨基酸产物。所得白色固体不用进一步纯化直接使用。LCMS: $m/z=429.1[M+Na]^+$ 。



EX-B-11) 向 EX-B-10 产物(230 mg, 0.56 mmol)在 7 mL 乙醇内的搅拌着的溶液中加入水合肼(70 mg, 1.13 mmol), 将所得溶液回流 2 小时, 形成了白色沉淀。真空除去溶剂。将所得白色固体溶解在 8 mL 水中, 用冰醋酸酸化至 pH=4。然后在冰浴中冷却并过滤。将滤液浓缩, 获得了 136 mg (87%) 所需的烯丙基胺产物, 为黄色晶体, 其不用纯化直接用于随后的步骤。LCMS: $m/z=277.1[M+H]^+$ 。



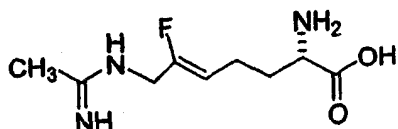
EX-B-12) 向 EX-B-11 产物(136 mg, 0.50 mmol)在 6 mL DMF 内的搅拌着的溶液中以 1.5 小时间隔分 3 批加入乙亚胺酸乙酯(252 mg, 2.04 mmol)。加入完成后, 将该混合物在室温搅拌过夜。过滤该粉红色溶液, 用水洗涤滤饼。真空除去溶剂, 使用 YMC Combiprep ODS-A 半制备柱通过反相 HPLC 纯化所得黄色油状物, 使用 1-50% A 在 7 分钟内进行梯度洗脱(A: 100% 乙腈, 含有 0.05% TFA, B: 100% H₂O, 含有 0.05% TFA)。将含有产物的级份合并, 并浓缩, 获得了约 50 mg

三氟乙酸盐形式的所需乙脒产物，其用于进行下一步骤。LCMS：
 $m/z=318.2[M+H]^+$ 。

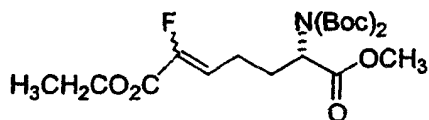
实施例 B) 将 EX-B-12 产物溶解在 6.0 N HCl 中，在室温搅拌 1 小时。真空除去溶剂。将所得固体溶解在水中，浓缩 3 次以除去 TFA 盐。当 ^{19}F NMR 表明所有 TFA 都已被除去时，将产物真空干燥，获得了 30 mg (20%，两步的总产率) 20:80 E:Z 混合物，其中含有所需的 (2S,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸，二盐酸盐和 (2S,5Z)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸，二盐酸盐，为泡沫状澄清固体。

HRMS $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}_2$ 的计算值：218.1305 $[M+H]^+$ ，实测值：218.1309。 ^1H NMR (D_2O) ? 2.01 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.24 (m, 2H), 3.96 (t, 1H), 4.00 (d, 2H), 5.07 (dt, 乙烯基, 1H, $J=37$ Hz), 5.4 (dt, 乙烯基, 1H, $J=37$ Hz)。 ^{19}F NMR (D_2O) ? -116.8 (m, 0.8F, $J=37$ Hz, 80% Z-异构体), -109.6 (m, 0.2F, $J=21$ Hz, 20% E-异构体)

实施例 C



(2S,5Z)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸，二盐酸盐

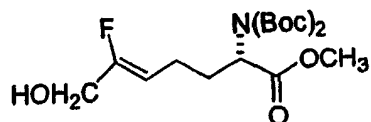


EX-C-1) 在 0℃ 将 2-氟-膦酰基乙酸三乙酯(3.54 g, 14.6 mmol)溶解在 20 mL 二氯甲烷中，加入 1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯(2.4 mL, 16.4 mmol)。将该混合物在 0℃ 搅拌 20 分钟，产生了橙色溶液。然后在 0℃ 加入 EX-A-3 醛产物(4.04 g, 11.7 mmol)的溶液，将所得棕色混合物在室温搅拌过夜，这时 LCMS 表明没有剩余原料。除去溶剂，将残余物在水(60 mL)与乙酸乙酯(120 mL)之间分配。收集有机层，用

乙酸乙酯(2×50 mL)萃取水层。将合并的有机层用水(60 mL)和 10 % KHSO₄ 水溶液(60 mL)洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤并浓缩。将粗产物—5.7 g 橙色油状物通过快速硅胶柱色谱纯化, 用 10 % 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 获得了 3.5 g (69 %)所需的氟代烯烃产物, 为澄清油状物。¹H NMR 和 ¹⁹F NMR 表明分离出的产物具有约 70:30 的 Z:E 比例。

HRMS C₂₀H₃₂O₅FN 的

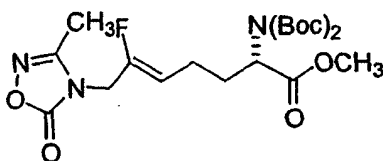
计算值 456.2010 [M+Na]⁺, 实测值 456.2017. ¹H NMR (CDCl₃) ? 1.48 (s, 18H), 2.0 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.6 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 4.25 (m, 2H), 4.9 (m, 1H), 5.9 (dt, 乙烯基, 1H, J = 21.2 Hz), 6.1 (dt, 乙烯基, 1H, J = 32.4 Hz). ¹⁹F NMR (CDCl₃) ? : -129.4 (d, 0.7F, J = 34 Hz, 70% Z-异构体), -121.6 (d, 0.3F, J = 22 Hz, 30% E-异构体)



EX-C-2) 在室温将 EX-C-1 酯产物(3.5 g, 8.1 mmol)溶解在 80 mL 甲醇中, 然后分批加入固体 NaBH₄ (3 g, 80 mmol)。将该混合物在室温搅拌 18 小时, 这时 HPLC 表明反应 >90 % 完全。用饱和氯化铵中止该反应。用乙酸乙酯萃取产物, 用 Na₂SO₄ 干燥。将有机层蒸发, 获得了 3.2 g 粗产物, 为无色油状物, 通过 Biotage 快速柱色谱法纯化, 用 20 % - 30 % 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 获得了 2.11 g (67 %)氟代烯烃产物的 Z/E 混合物, 为澄清油状物, 和 0.41 g (13 %)所需的纯的(¹⁹F NMR 表明 Z:E = 97:3) Z-异构体产物, 为澄清油状物。

HRMS 计算值 C₁₈H₃₀NO₇F:

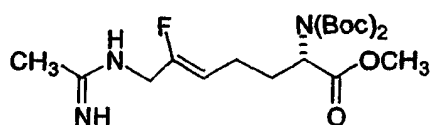
414.1904 [M+Na]⁺, 实测值 414.1911. ¹H NMR (CDCl₃) ? 1.48 (s, 18H), 2.0 (m, 1H), 2.2 (m, 3H), 3.7 (s, 3H), 4.1 (dd, 2H, J = 17Hz), 4.8 (dt, 1H, J = 39 Hz), 4.9 (m, 1H). ¹⁹F NMR (CDCl₃) ? -119.1 (dt, 1F, J = 39 Hz, J = 17 Hz).



EX-C-3) 将 EX-C-2 的 Z-醇产物(390 mg, 1 mmol)和 3-甲基-1,2,4-

恶二唑啉-5-酮(130 mg, 1.3 mmol)溶解在 20 mL THF 中。然后将以聚合物为载体的 PPH_3 加到该溶液中, 将该混合物轻微搅拌 10 分钟。滴加偶氮二甲酸二乙酯, 将该混合物在室温搅拌 1 小时, 这时 LCMS 分析表明形成了产物, 并且不存在原料。经由硅藻土垫过滤出聚合物, 用 THF 洗涤硅藻土垫。将滤液蒸发, 获得了 1.0 g 粗产物, 通过 Biotage 快速柱色谱法纯化, 用 20% - 30% 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 获得了 500 mg 产物, 其中含有某些酰肼副产物。通过 Biotage 快速柱色谱法纯化进一步纯化该产物, 用 98:2:0.01 的二氯甲烷:甲醇:氢氧化铵洗脱, 获得了 180 mg (38%) 所需的保护的脒产物, 为澄清油状物, ^{19}F NMR 表明其仅含有所需的 Z-异构体。

HRMS 计算值 $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_8\text{F}$: 491.2517 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 实测值 491.2523. ^1H NMR (CDCl_3) ? 1.5 (s, 18H), 1.9 (m, 1H), 2.1 (m, 3H), 2.3 (s, 3H), 3.7 (s, 3H), 4.2 (d, 2H), 4.8 (m, 1H), 5.0 (dt, 1H, $J = 36$ Hz). ^{19}F NMR (CDCl_3) ? -116.5 (dt, 1F, $J = 38$ Hz).



EX-C-4) 将 EX-C-3 产物(88 mg, 0.19 mmol)溶解在含有几滴甲醇的 4 mL 25% 乙酸水溶液中, 然后加入锌粉(109 mg, 1.67 mmol)。将该混合物在超声下搅拌 3 小时。经由硅藻土垫过滤出锌, 用水洗涤该滤垫, 将滤液蒸发至干, 获得了粗产物, 通过在 YMC Combiprep 柱上进行的反相 HPLC 柱色谱法纯化, 用 20 - 80% A 在 8 分钟内进行梯度洗脱(A: 100% CAN, 含有 0.01% TFA, B: 100% H_2O , 含有 0.01% TFA)。将在两个级份中的所需产物合并, 将合并的级份浓缩。获得了产物, 为无色油状物, 是仅含所需 Z-异构体(^{19}F NMR 表明)的三氟乙酸盐混合物: 30% 是一 Boc-保护的产物: HRMS $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_4\text{F}$ 的计算值: 332.1986 $[\text{M}+\text{H}^+]$, 实测值 332.2001, 70% 是二-Boc-保护的产物:

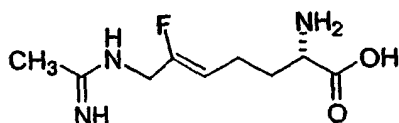
HRMS 计算值 $C_{20}H_{34}N_3O_6F$: 432.2510 $[M+H]^+$, 实测值 432.2503. 1H NMR 的二-Boc 产物 (D_2O) ? 1.3 (s, 18H), 1.8 (m, 1H), 2.1 (m, 3H), 2.1 (s, 3H), 3.6 (s, 3H), 3.9 (d, 2H), 4.9 (dt, 乙烯基, 1H, $J=37$ Hz). ^{19}F NMR (D_2O) ? -117.3 (dt, 1F, $J=37$ Hz).

实施例 C) 将得自 EX-C-4 的合并的一-和二-BOC 产物溶解在 30 mL 6N HCl 中, 将该溶液回流 4 小时, 这时 LCMS 分析表明反应完全。真空除去过量 HCl 和水。完成后, 获得了 9 mg (40%, 两步的总产率) 所需的 (2S,5Z)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐产物, 为浅黄色、强吸湿性泡沫状物, ^{19}F NMR 表明其仅含有所需的 Z-异构体。

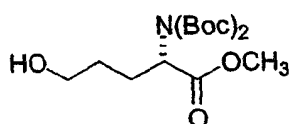
HRMS 计算值

$C_9H_{16}N_3O_2F$: 218.1305 $[M+H]^+$, 实测值 218.1320. 1H NMR (D_2O) ? 1.3 (s, 18H), 1.9 (m, 2H), 2.1 (m, 2H), 2.1 (s, 3H), 3.8 (t, 1H), 3.9 (d, 2H), 4.9 (dt, 乙烯基, 1H, $J=37$ Hz). ^{19}F NMR (D_2O) ? -117.3 (dt, 1F, $J=37$ Hz).

实施例 D



(2S,5Z)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 三盐酸盐, 二水合物

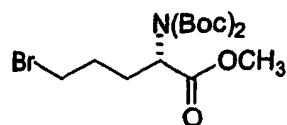


EX-D-1) 将 EX-D-2 产物 (3.75 g, 10 mmol) 溶解在 60 mL 甲醇中, 在室温用 10 小时分批加入固体 $NaBH_4$ (4 g, 106 mmol), 这时 HPLC

分析表明约有 84 % 原料被还原。用饱和氯化铵处理该反应混合物，然后用乙酸乙酯萃取 3 次。将合并的有机层用 MgSO_4 干燥，过滤，并蒸发，获得了 3.2 g 粗产物，为黄色油状物。

HRMS 计算值 $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{NO}_7$: 348.2022 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 实测值:

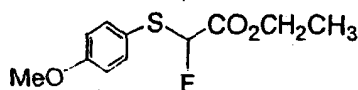
348.2034. ^1H NMR (CD_3OD) ? 4.9 (q, 1H), 3.7 (s, 3H), 3.5 (t, 2H), 3.2 (m, 1H), 2.1 (m, 1H), 1.9 (m, 2H), 1.5 (s, 18H).



EX-D-2) 将 EX-D-1 醇产物(3.2 g, 9.0 mmol)溶解在 100 mL THF 中，并在冰浴中冷却。加入四溴化碳(4.27 g, 12.9 mmol)，将所得溶液在氮气氛围下于 0℃ 搅拌 30 分钟。加入以聚合物为载体的 PPH_3 ，将该混合物在 0℃ 轻微搅拌 1 小时，然后在室温搅拌过夜。通过经由硅藻土过滤来除去聚合物，用 THF 洗涤硅藻土垫。将滤液蒸发，获得了粗产物，通过 Biotage 快速柱色谱法纯化，用 1:3 乙酸乙酯/己烷洗脱，获得了 2.0 g (54 %, 2 步的总产率)所需的溴代产物，为无色油状物。

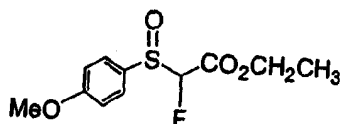
HRMS

计算值 $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{NO}_6\text{Br}$: 410.1178 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 实测值: 410.1137. ^1H NMR (CDCl_3) ? 4.9 (q, 1H), 3.7 (s, 3H), 3.4 (m, 2H), 2.2 (m, 2H), 1.9 (m, 2H), 1.5 (s, 18H).



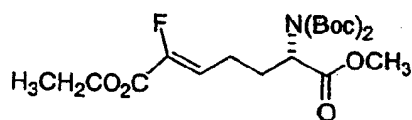
EX-D-3) 将 NaOEt (21 % 在 EtOH 中的溶液, 41.1 mL, 0.11 mol) 在 60 mL 乙醇中的溶液用对甲氧基苯硫醇(14.0 g, 0.1 mol)处理，然后加入氯氟乙酸乙酯(18.3 g, 0.13 mol)。将该混合物在室温搅拌 2 小时，用 250 mL 1:1 己烷/乙酸乙酯稀释。将有机层用水洗涤 3 次，并用 Na_2SO_4 干燥。将干燥的有机层蒸发，获得了 25 g 粗产物，其不用进一步纯化直接使用。

LCMS $C_{11}H_{13}O_3SF$: m/z
 $= 267.10 [M+Na]^+$. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 7.5 (d, 2H), 6.9 (d, 2H), 6.0 (d, 1H, $J=51.9$ Hz), 4.2 (q, 2H), 3.8 (s, 3H), 1.2 (t, 3H). ^{19}F NMR ($CDCl_3$) ? -146.2 (d, 1F, $J=53.6$ Hz).



EX-D-4) 将 EX-D-3 粗产物(24 g, 0.1 mol)在 200 mL 二氯甲烷中的溶液冷却至 -78℃, 用在 200 mL 二氯甲烷中的 3-氯过苯甲酸(27 g, 0.12 mol)处理。将该反应混合物缓慢地温热至室温, 搅拌过夜, 这时 LCMS 分析表明形成了产物, 并且没有剩余原料。过滤出固体, 用饱和碳酸氢钠和氯化铵洗涤滤液。将有机层用 $MgSO_4$ 干燥, 并蒸发, 获得了 30 g 橙色油状物, 通过 Biotage 快速柱色谱法纯化用, 用 2:1 己烷/乙酸乙酯洗脱, 获得了 17.5 g (70%) 所需的亚砷产物, 为灰白色油状物。

HRMS 计算值 $C_{11}H_{13}O_4FS$: 261.0597 $[M+H]^+$, 实测值: 261.0598. 1H NMR ($CDCl_3$) ? 7.6 (m, 2H), 7.0 (m, 2H), 5.6 (d, 1H, $J=50$ Hz 主要非对映体), 5.4 (d, 1H, $J=49$ Hz 次要非对映体), 4.2 (q, 2H), 3.8 (s, 3H), 1.2 (t, 3H). ^{19}F NMR ($CDCl_3$) ? -194.3 (d, 1F, $J=53.6$ Hz 主要非对映体), -191.7 (d, 1F, $J=50.4$ Hz 次要非对映体).

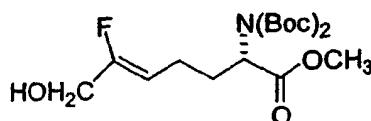


EX-D-5) 将 NaH (60% 矿物油悬浮液, 212 mg, 5.3 mmol)在 6 mL 无水 DMF 中的悬浮液于氨气氛下冷却至 0℃, 用 EX-D-4 亚砷产物(1.25 g, 4.8 mmol)在 2 mL DMF 中的溶液处理。在室温搅拌 20 分钟后, 将该混合物冷却至 5℃, 一次性加入 EX-D-2 溴代产物(2.17 g, 5.3 mmol)。将该反应在室温搅拌 3 小时, 然后在 95℃加热回流 1 小时, 这时 LCMS 分析表明形成了产物。将该混合物倒入冰/氯化铵水溶液混合物内。用 1:1 己烷/乙酸乙酯萃取产物。将有机层用 Na_2SO_4 干燥, 并蒸发, 获得了 3.17 g 黄色油状粗产物, 通过 Biotage 快速柱色谱法

纯化，用 10% 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱，获得了 1.05 g (50%) 所需的氟代烯烃酯产物，为无色油状物。 ^{19}F NMR 表明所分离出的产物含有 95:5 的所需 Z-异构体。

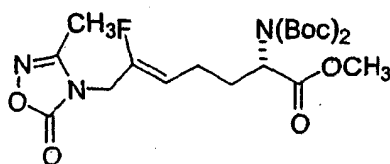
HRMS 计算值 $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_8\text{FN}$: 456.2010 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 实测值: 456.2017.

^1H NMR (CDCl_3) ? 1.5 (s, 18H), 2.0 (m, 1H), 2.3 (m, 4H), 3.7 (s, 3H), 4.3 (m, 2H), 4.9 (m, 1H), 6.1 (dt, 乙烯基, 1H, $J=32.4$ Hz, Z-异构体). ^{19}F NMR (CDCl_3) ? -129.4 (d, 0.95F, $J=34.8$ Hz, 95% Z-异构体), -121.6 (d, 0.05F, $J=21.6$ Hz, 5% E-异构体)



EX-D-6) 在室温将 EX-D-5 酯产物(1.05 g, 2.4 mmol)溶解在甲醇中，分批加入固体 NaBH_4 。将该混合物在室温搅拌 18 小时，然后加入 2 mL 水，将该混合物再搅拌 3 小时，这时 HPLC 分析表明反应已完成了 > 95%。用饱和氯化铵中止该反应。用乙酸乙酯萃取产物，将有机层用 Na_2SO_4 干燥，并蒸发，获得了 0.95 g 粗产物，为无色油状物。 ^{19}F NMR 表明所分离出的粗产物仅含有所需的 Z-异构体。

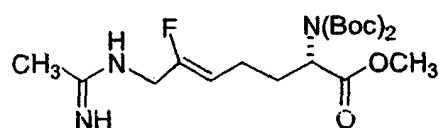
HRMS 计算值 $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{NO}_7\text{F}$: 414.1904 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 实测值: 414.1949. ^1H NMR (CDCl_3) ? 1.48 (s, 18H), 2.0 (m, 1H), 2.2 (m, 3H), 3.7 (s, 3H), 4.1 (dd, 2H, $J=17$ Hz), 4.8 (dt, 1H, $J=36$ Hz), 4.9 (m, 1H). ^{19}F NMR (CDCl_3) ? -119.1 (dt, 1F, $J=38$ Hz, $J=17$ Hz).



EX-D-7) 将 EX-D-6 醇产物(0.95 g, 2.4 mmol)和 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮(290 mg, 2.9 mmol)溶解在 60 mL THF 中。加入结合在聚合物上的三苯基膦，将该混合物轻微搅拌 10 分钟。然后滴加偶氮二甲酸二甲酯，将该混合物在室温搅拌 1 小时，这时 LCMS 分析表明形成了产物，并且没有剩余原料。经由硅藻土垫过滤出聚合物，用 THF 洗涤滤垫。将滤液蒸发，获得了残余物，将残余物在二氯甲烷与水之间分配。将有机层用水洗涤 2 次，用 MgSO_4 干燥，并蒸发，获得了 1.3 g

粗产物, 通过 Biotage 快速柱色谱法纯化, 用 20% - 30% 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 获得了 390 mg (34%, 2 步的总产率) 所需的保护的脒产物, 为无色油状物。 ^{19}F NMR 表明所分离出的产物仅含有所需的 Z-异构体。

HRMS 计算值 $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_8\text{F}$: 491.2517 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 实测值: 491.2523. ^1H NMR (CDCl_3) ? 1.5 (s, 18H), 1.9 (m, 1H), 2.1 (m, 3H), 2.3 (s, 3H), 3.7 (s, 3H), 4.2 (d, 2H), 4.8 (m, 1H), 5.0 (dt, 1H, $J = 36$ Hz). ^{19}F NMR (CDCl_3) ? -116.5 (dt, 1F, $J = 38$ Hz).



EX-D-8) 将 EX-D-7 产物(390 mg, 0.82 mmol)溶解在含有 4 mL 甲醇的 20 mL 25% HOAc 水溶液中, 分两批加入锌粉(482 mg, 7.42 mmol)。将该混合物在超声下搅拌 3 小时。经由硅藻土垫过滤出锌, 用水洗涤滤垫。将滤液蒸发至干, 获得了粗产物, 通过反相 HPLC 纯化。收集含有所需产物的级份, 合并, 浓缩。获得了产物, 为无色油状物, 其是仅含有所需 Z-异构体(^{19}F NMR 表明)的三氟乙酸盐混合物: 30% 是一-Boc 保护的产物: HRMS, $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_4\text{F}$ 的计算值: 332.1986 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 实测值 332.2001; 70% 是二-Boc 保护的产物:

HRMS

计算值 $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_6\text{F}$: 432.2510 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 432.2503. ^1H NMR 的二-Boc 产物 (D_2O) ?

1.3 (s, 18H), 1.8 (m, 1H), 2.1 (m, 3H), 2.1 (s, 3H), 3.6 (s, 3H), 3.9 (d, 2H), 4.9 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 37$ Hz). ^{19}F NMR (D_2O) ? -117.3 (dt, 1F, $J = 37$ Hz).

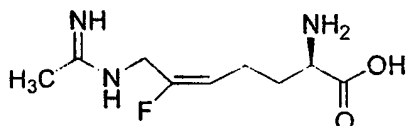
实施例 D) 将 EX-D-8 的一-和二-Boc 产物溶解在 80 mL 6N HCl 中, 将该溶液加热回流 1 小时, 这时 LCMS 分析表明反应完全。真空除去过量 HCl 和水, 获得了 150 mg (50%, 2 步的总产率) 所需的 (2S,5Z)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 三盐酸盐, 二水合物产物, 为浅黄色强吸湿性泡沫状物。

HRMS 计算值 $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_2\text{F}$: 218.1305 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 实测值 218.1290.

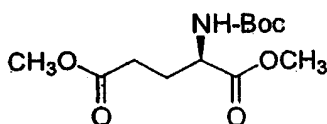
^1H NMR (D_2O) ? 1.3 (s, 18H), 1.9 (m, 2H), 2.1 (m, 2H), 2.1 (s, 3H), 3.8 (t, 1H), 3.9 (d, 2H),

4.9 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 37$ Hz). ^{19}F NMR (D_2O) ?? -117.3 (dt, 1F, $J = 37$ Hz). 元素分析的计算值 $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_2\text{F} \cdot 3\text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 29.81; H, 6.39; N, 11.59; 实测值 C, 29.80; H, 6.11; N, 11.20.

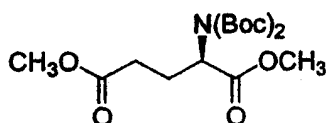
实施例 E



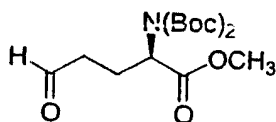
(2R,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐, 一水合物



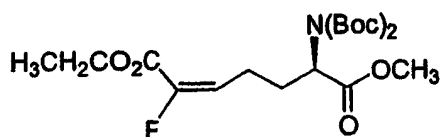
EX-E-1) 在 0°C , 将三甲基甲硅烷基氯滴加到 D-谷氨酸的甲醇冷溶液中。将所得澄清、无色溶液在室温搅拌, 直至通过薄层色谱分析表明没有剩余原料。然后将该反应冷却至 0°C , 加入三乙胺, 形成了白色沉淀。加入二碳酸二叔丁酯, 让该混合物温热至室温。3 小时后, 除去溶剂, 加入乙醚。将该溶液过滤, 用另外的乙醚洗涤滤饼。将滤液浓缩, 获得了所需的一-Boc 二酯产物, 其不用进一步纯化直接用于下一步骤。



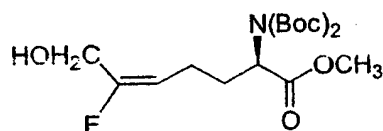
EX-E-2) 在室温, 向 EX-E-1 粗产物在乙腈内的溶液中加入 4-二甲基氨基吡啶和二碳酸二叔丁酯。将所得混合物在室温搅拌, 直至通过薄层色谱分析表明消耗了大部分原料。真空除去溶剂, 通过快速硅胶柱色谱纯化所得残余物, 获得了所需的二-Boc 保护的二酯产物。



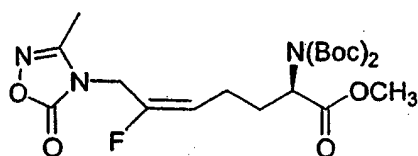
EX-E-3) 在 -78°C ，将 DIBAL 溶液滴加到 EX-E-2 的无水乙醚冷溶液中。在 -78°C 保持 30 分钟后，用水处理该溶液，让其温热至室温。将所得浑浊混合物用乙酸乙酯稀释，用 MgSO_4 干燥，并经由硅藻土垫过滤。将滤液浓缩，通过快速硅胶柱色谱纯化所得残余物，获得了所需的醛产物。



EX-E-4) 向 2-氟肟基乙酸三乙酯的 THF 冷(-78°C)溶液中加入正丁基锂。将该混合物在 -78°C 搅拌，产生了亮黄色溶液。然后经由注射器加入 EX-E-3 产物在 THF 中的溶液，将所得混合物在 -78°C 搅拌，直至通过薄层色谱分析表没有剩余原料。在 -78°C 用饱和氯化铵水溶液中止该反应。收集有机层，用乙醚萃取水层。将合并的有机层用水和盐水洗涤，用 MgSO_4 干燥，过滤并浓缩。然后通过快速硅胶柱色谱纯化粗产物，获得了所需的氟代烯烃产物。

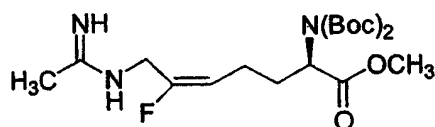


EX-E-5) 在室温向 EX-E-4 的甲醇溶液中分批加入固体 NaBH_4 。将该反应在室温搅拌，直至通过薄层色谱分析表明消耗了大部分原料。用饱和氯化铵水溶液中中止该反应，用乙酸乙酯萃取。合并有机层，用 MgSO_4 干燥，过滤并浓缩。通过快速硅胶柱色谱纯化粗产物，获得了所需的烯丙型醇产物。



EX-E-6) 向 EX-E-5、以聚合物为载体的三苯基膦和 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮在 THF 内的混合物中滴加偶氮二甲酸二甲酯。将该反

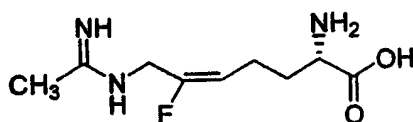
应混合物在室温搅拌，直至通过薄层色谱分析表没有剩余原料。将该混合物经由硅藻土过滤，将滤液浓缩。将所得黄色油状物在二氯甲烷与水之间分配。分离出有机层，用水和盐水洗涤，用 MgSO_4 干燥，过滤并浓缩。通过快速硅胶柱色谱纯化粗产物，获得了所需的保护的 E-烯丙型脒产物。



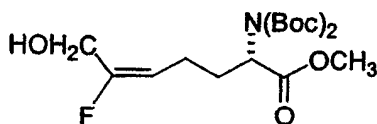
EX-E-7) 将 EX-E-6 产物溶解在甲醇和乙酸水溶液中。加入锌粉，将该混合物在超声下搅拌，直至 HPLC 分析表明剩余少量原料。经由硅藻土从该反应混合物中过滤出锌粉，将滤液浓缩。通过反相 HPLC 柱色谱法纯化粗产物。合并含有产物的级份，并浓缩，获得了所需的乙脒产物，为三氟乙酸盐。

实施例 E) 将 EX-E-7 在 6.0N HCl 中的溶液回流 1 小时。真空除去溶剂。将所得固体溶解在水中，反复从 1.0N HCl 中浓缩以除去任何剩余的 TFA 盐，获得了所需的 (2R,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸，二盐酸盐产物。

实施例 F



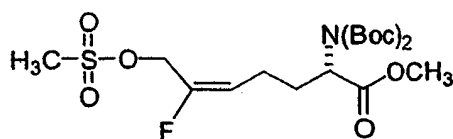
(2S,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸，二盐酸盐，一水合物



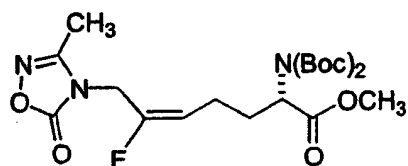
EX-F-1) 在氮气氛围下，用 30 分钟向 EX-A-3 产物 (5.0 g, 11.5 mmol) 的 THF (45ml) 溶液中滴加 Red-Al (5.22 ml, 17.4 mmol) 在 5.6 mL THF 中的溶液。将内温保持在 -10°C 以下。5 分钟后，用 33.7 mL 1.3M 酒石

酸钠钾中止该反应。将甲苯(11 mL)加到该混合物中以改善分离。将有机层依次用 33.7 mL 1.3 M 酒石酸钠钾和盐水(40 mL)洗涤。将有机层合并,用 MgSO_4 干燥,过滤并浓缩。该粗产物—3.8 g (84%) 浅黄色油状物直接用于下一步骤。

LCMS: $m/z = 414.2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.48 (s, 18H), 1.95 (m, 1H), 2.1 (m, 1H), 2.2 (m, 1H), 2.35 (t, 1H), 3.7 (s, 3H), 4.25 (m, 2H), 4.8 (m, 1H), 5.15 (dt, 1H, $J=20$ Hz). ^{19}F NMR (CDCl_3) δ -119.1 (d, 0.02F, $J=37$ Hz, 2% Z-异构体), -111.8 (d, 0.98F, $J=24$ Hz, 98% E-异构体)



EX-F-2) 在 -10°C , 向 EX-F-1 产物(50.0 g, 0.128 mol)在 500 mL 二氯甲烷内的溶液中加入三乙胺(18.0 g, 0.179 mol)。缓慢地加入甲磺酰氯(17.5 g, 0.153 mol)在 50 mL 二氯甲烷中的溶液以把温度保持在 -10°C 以下。将该反应搅拌在 -10°C 搅拌 45 分钟,这时通过薄层色谱分析(50% 乙酸乙酯的己烷)和 LCMS 表明已消耗了大部分原料。用 600 mL 1.0 M 柠檬酸中止该反应,用乙酸乙酯(2×400 mL)萃取。将有机层合并,用 MgSO_4 干燥,过滤并浓缩。该粗产物—70 g 黄色油状物直接用于下一步骤。LCMS: $m/z=492.2$ $[\text{M}+\text{Na}]$ 。

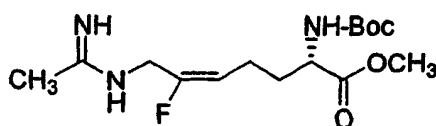


EX-F-3) 在室温向 EX-F-2 产物(70.0 g, 0.128 mol)在 400 mL 二甲基甲酰胺内的溶液中加入 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮酸钾(28.7 g, 0.192 mol)。将该反应在室温搅拌 2.5 小时,这时通过薄层色谱分析(30% 乙酸乙酯的己烷)和 LCMS 表明原料已消耗完。将该反应用 400 mL 水稀释,用乙酸乙酯(5×400 mL)萃取。将有机层合并,用 400 mL 水、400 mL 盐水洗涤,用 MgSO_4 干燥,过滤并浓缩。将该粗产物—70 g 黄色油状物通过快速硅胶柱色谱纯化,用 1:4 乙酸乙酯/己烷洗脱,获

得了 38 g (63 %) 浅黄色油状物。

EX-F-4) 将 EX-F-3 的几次一式两份制备的产物合并, 在 Merk 硅胶 MODCOL 柱上通过 HPLC 柱色谱法纯化, 用 60:40 MtBE:庚烷以 500 mL/分钟的流速进行等度洗脱。将收集到的 63 g 产物在 Chiral Pak-AD 柱上通过手性 HPLC 柱色谱法再次纯化, 用 10:90 A:B (A: 100 % 乙醇, B: 100 % 庚烷) 以 550 mL/分钟的流速进行等度洗脱。将含有产物的级份合并, 并浓缩, 获得了 41 g (68 %) 所需的保护的 L,E-烯丙型脒产物, 为澄清油状物, ^{19}F NMR 和手性色谱法表明其仅含有所需的 L 和 E-异构体。

LCMS: $m/z = 496.2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$. $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$. HRMS 计算值 $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{FN}_3\text{O}_8$: 491.2507 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 实测值: 491.2517. ^1H NMR (CDCl_3) ? 1.48 (s, 18H), 1.85 (m, 1H), 2.2 (m, 3H), 2.25 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 4.25 (m, 2H), 4.8 (m, 1H), 5.3 (dt, 1H, $J = 20$ Hz). ^{19}F NMR (CDCl_3) ? -110.8 (q, 1F, $J = 20$ Hz).

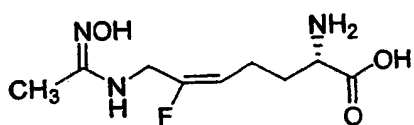


EX-F-5) 将 EX-F-4 产物(22.5 g, 0.047 mol)溶解在 112 mL 甲醇中。开始剧烈搅拌, 加入 225 mL 40 % 乙酸水溶液, 然后加入锌粉(11.5 g, 0.177 mmol)。将该搅拌着的反应回流(约 60℃) 2.5 小时, 这时 HPLC 分析表明已消耗了大部分原料。将该反应冷却, 由硅藻土从该反应混合物中过滤出锌, 用另外的甲醇充分洗涤硅藻土。合并滤液和甲醇洗涤液, 并浓缩。将所得油性白色固体用二氯甲烷(2×500 mL)洗涤, 经由硅藻土垫过滤, 再用 500 mL 二氯甲烷洗涤。合并滤液, 并浓缩, 获得了浅黄色油状物。通过在 200 mL 硅胶上进行的堵塞过滤来纯化粗产物—39 g 浅黄色油状物, 用 80:19:1 甲醇:二氯甲烷:乙酸洗脱, 获得了 13 g (83 %) 所需产物。

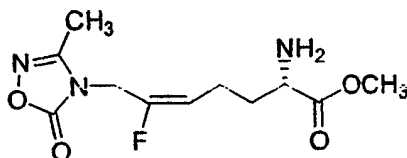
LCMS: $m/z = 432.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS 计算值 $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{FN}_3\text{O}_4$: 332.1986 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 实测值: 332.1982. ^1H NMR (CD_3OD) ? 1.42 (s, 9H), 1.7 (m, 1H), 1.9 (m, 1H), 2.17 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 3.3 (m, 1H), 3.7 (s, 3H), 4.2 (d, 2H), 5.1 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 21$ Hz). ^{19}F NMR (CD_3OD) ? -110.83 (m, 1F, $J = 21$ Hz).

实施例 F) 将 EX-F-5 产物(22 g, 0.066 mol)在 750 mL 6.0N HCl 中的溶液回流 45 分钟。真空除去溶剂。将所得固体溶解在水中, 并浓缩 3 次。通过在 YMC ODS-AQ 柱上进行的反相 HPLC 柱色谱法纯化粗产物, 洗脱 60 分钟, 其中用泵出的 100 % B 等度洗脱 30 分钟, 然后用 0 - 100 % A 梯度洗脱 10 分钟, 之后用 100 % A 洗 20 分钟(A: 100 % 乙腈, B: 100 % H₂O, 含有 0.0025 % 乙酸)。将含有产物的级份合并, 并浓缩, 获得了 3.5 g (68 %)所需的二盐酸盐形式的乙脒产物, 其仅含有所需的(2S,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐产物, 为白色固体, m.p. 51.5-56.3 °C, ¹⁹F NMR 表明其仅含有所需的 E 异构体。LCMS: $m/z = 218.1$ $[M+H]^+$. HRMS 计算值 C₉H₁₆FN₃O₂: 218.1305 $[M+H]^+$, 实测值: 218.1325. ¹H NMR (D₂O) ? 1.8 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 2.1 (s, 3H), 3.7 (t, 1H), 4.00 (d, 2H), 5.3 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 21$ Hz). ¹⁹F NMR (D₂O) ? -109.9 (m, 1F, $J = 20$ Hz). $[\alpha]_{589} = +15.3$ (C, 0.334, (H₂O);). $[\alpha]_{365} = +52.8$ (C, 0.334, (H₂O))

实施例 G



(2S,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-羟基亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸



EX-G-1) 向 EX-F-3 产物(14 g, 30.0 mmol)在 100 mL 甲醇内的搅拌着的冷(0 °C)溶液中通入 5 分钟 HCl 气体。将所得深黄色溶液搅拌 30 分钟, 这时 HPLC 表明原料已完全消耗。用饱和碳酸氢钠将所得混合物中和至 pH=8, 用 EtOAc 萃取产物。用 MgSO₄将有机层干燥, 浓

缩, 获得了所需氨基酯产物, 为深黄色油状物, 其直接用于下一步骤。

LCMS: $m/z = 274 [M+Na]^+$. 1H NMR ($CDCl_3$)

? 1.8 (m, 4H), 2.25 (s, 3H), 3.42 (bm, 1H), 3.80 (s, 3H), 4.4 (dd, 2H), 5.40 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 21$ Hz). ^{19}F NMR ($CDCl_3$) ? -110.38 (m, 1F, $J = 21$ Hz).

实施例 G) 将 EX-G-1 产物(8 g, 30 mmol)在 70 mL 2.5N NaOH 中的溶液搅拌 10 分钟, 这时 HPLC 分析表明原料已完全消耗。用 12N HCl (约 50 mL)将所得溶液中和至 pH=7-8, 并浓缩。用甲醇洗涤所得浆液, 过滤以除去盐, 浓缩, 获得了棕色油状物。通过在 YMC ODS-AQ 柱上进行的反相 HPLC 柱色谱法纯化粗产物, 洗脱 60 分钟, 其中用泵出的 100% B 等度洗脱 30 分钟, 然后用 0 - 100% A 梯度洗脱 10 分钟, 之后用 100% A 洗 20 分钟(A: 100% 乙腈, B: 100%)。将含有产物的级份合并, 并浓缩, 获得了 1.0 g (14%)所需产物, 为白色固体。将产物从热的水与异丙醇中重结晶, 通过过滤来收集, 获得了纯的 (2S,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-羟基亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 为白色固体结晶。熔点: 198.00-200.00 °C。

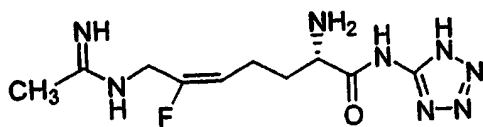
LCMS: $m/z =$

234.1 $[M+H]^+$. 1H NMR (D_2O) ? 1.8 (m, 4H), 2.05 (m, 2H), 3.6 (t, 1H), 3.9 (d, 2H), 5.2 (dt, 乙烯基, 1H, $J = 21$ Hz). ^{19}F NMR (D_2O) ? -112.1 (m, 1F, $J = 20$ Hz). 元素分析的计算值

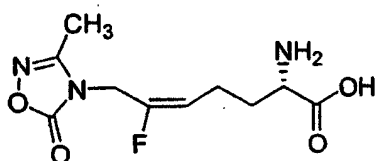
$C_9H_{16}FN_3O_3$: C, 46.35; H, 6.91; N, 18.02; O, 20.58. 实测值: C, 46.44; H, 6.95; N, 17.94; O, 20.78.

手性分析>97.7%: CrownPak CR(+), 用 100% A 以 0.8 mL/分钟等度洗脱(A: $HClO_4$ 水溶液, pH=1.5)。

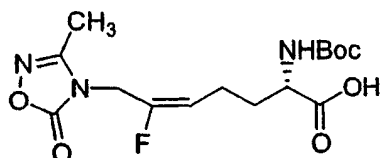
实施例 H



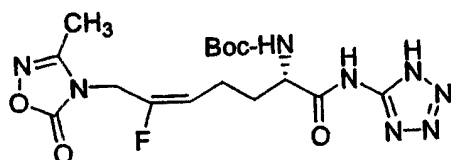
(2S,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-N-(1H-四唑-5-基) 5-庚烯酰胺, 二盐酸盐



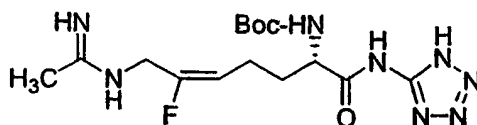
EX-H-1) 将 EX-F-3 产物(6.1 g, 0.013 mol)溶解在 4 mL 甲醇中。开始剧烈搅拌, 加入 10 mL 6N HCl。将搅拌着的反应回流(约 60℃)18 小时, 这时 HPLC 分析表明已消耗了大部分原料。将该反应冷却, 并浓缩, 获得了 3.3 g (100%) 橙色油状物。LCMS: $m/z=282[M+Na]^+$ 。



EX-H-2) 将 EX-H-1 产物(3.3 g, 0.013 mol)溶解在 12 mL 1:1 H₂O: 二氧杂环己烷中。开始搅拌, 并加入三乙胺(1.95 g, 0.019 mol)。将该反应冷却至 0℃, 加入二碳酸二叔丁酯(3.4 g, 0.016 mol)。让该反应温热至室温, 然后加入乙腈(4 mL)以溶解固体。将该反应在室温搅拌 18 小时, 这时 HPLC 分析表明已消耗了大部分原料。用 1.0N KHSO₄ (25 mL)中止该反应, 用乙酸乙酯(3×50 mL)萃取, 将有机层用 MgSO₄ 干燥, 并浓缩。通过快速色谱法纯化该粗产物—3.5 g 深色油状物, 用 4:95:1 甲醇:二氯甲烷:乙酸洗脱, 获得了 2.4 g (52%) 所需产物, 为浅黄色油状物。LCMS: $m/z=382[M+Na]^+$ 。



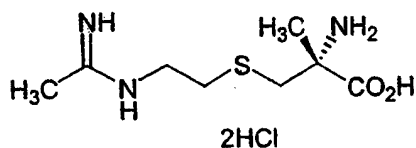
EX-H-3) 将 EX-H-2 产物(2.4 g, 0.007 mol)溶解在 13 mL THF 中。开始搅拌, 加入 5-氨基四唑一水合物(0.83 g, 0.008 mol), 然后加入 1,3-二异丙基碳二亚胺(1.0 g, 0.008 mol)。将所得混合物在室温搅拌 3 小时, 这时 HPLC 表明已消耗了大部分原料。向该反应中加入 12 mL 水, 通过真空蒸馏除去 THF。加入乙醇(30 mL), 将该反应加热至回流。回流 15 分钟后, 将该反应冷却至 -10℃, 这时从溶液中沉淀出了所需产物。通过过滤收集产物, 获得了 1.25 g (50%) 白色固体。LCMS: $m/z=449[M+Na]^+$ 。



EX-H-4) 将 EX-H-3 产物(1.0 g, 0.0023 mol)溶解在 5 mL 甲醇中。开始剧烈搅拌,加入 10 mL 40 % 乙酸水溶液,然后加入锌粉(0.5 g, 0.008 mol)。将搅拌着的反应回流(约 60℃) 1.5 小时,这时 HPLC 分析表明已消耗了大部分原料。将该反应冷却,经由硅藻土从该反应混合物中过滤出锌,用另外的甲醇充分洗涤硅藻土。合并滤液和甲醇洗涤液,并浓缩。通过在 YMC ODS-AQ 柱上进行的反相 HPLC 柱色谱法纯化所得油性白色固体,洗脱 60 分钟,其中用泵出的 100 % B 等度洗脱 30 分钟,然后用 0 - 100 % A 梯度洗脱 10 分钟,之后用 100 % A 洗 20 分钟(A: 100 % 乙腈, B: 100 % H₂O, 含有 0.0025 % 乙酸)。将含有产物的级份合并,并浓缩,获得了 0.390 g (44 %)所需的乙脒产物,为白色固体。LCMS: $m/z = 407.3$ [M+Na]。

实施例 H) 将 EX-H-4 产物(0.30 g, 0.780 mmol)溶解在 5 mL 浓 HOAc 中。向其中加入 1 mL 4N HCl 的二氧杂环己烷溶液。将该反应在室温搅拌 5 分钟。真空除去溶剂。将所得固体溶解在水中,并浓缩 3 次。HPLC 表明了原料的量。将该固体溶解在 1N HCl 中,搅拌 3 小时,这时 HPLC 表明已消耗了大部分原料。将该溶液浓缩,获得了 290 mg (98 %)二盐酸盐形成的所需乙脒产物。LCMS: $m/z = 285.1$ [M+H]。

实施例 I



S-[2-[(1-亚氨基乙基)氨基]乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸, 二盐酸盐

实施例-I-1) (2R,4R)-甲基-2-叔丁基-1,3-噻唑啉-3-甲酰基-4-甲酸酯

参见 Jeanguenat 和 Seebach, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 2291 (1991)和 Pattenden 等人, Tetrahedron, 49, 2131 (1993): 将(R)-半胱氨酸甲酯盐酸盐(8.58 g, 50 mmol)、新戊醛(8.61 g, 100 mmol)和三乙胺(5.57 g, 55mmol)在戊烷(800 ml)中回流,同时用迪安斯榻克分水器

(Dean-Stark trap)连续除去水。将该混合物过滤，并蒸发。将所得噻唑烷(9.15 g, 45 mmol)和甲酸钠(3.37 g, 49.5 mmol)在甲酸(68 ml)中搅拌，在 0 - 5℃用 1 小时滴加乙酸酐(13 mL, 138 mmol)。让该溶液温热至室温，搅拌过夜。将溶剂蒸发，用 5% 碳酸氢钠水溶液中中和该残余物，用乙醚萃取(3×)。将合并的有机层干燥(无水 MgSO_4)，过滤，并蒸发，从己烷-乙醚中结晶，获得了本标题化合物，为白色晶体(8.65 g) (总产率为 80%，8:1 构象异构体混合物)。

^1H NMR (CDCl_3) ?? 主要构象异构体: 1.04 (s, 9H), 3.29 (d, 1H), 3.31 (d, 1H), 3.78 (s, 3H), 4.75 (s, 1H), 4.90 (t, 1H), 8.36 (s, 1H). MS m/z (电子喷雾) 232 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ (100%), 204 (10) 164 (24).

实施例-I-2) (2R,4R)-甲基-2-叔丁基-1,3-噻唑啉-3-甲酰基-4-甲基-4-甲酸酯

在-78℃、氮气氛围下，向实施例-I-1 产物(2R,4R)-甲基-2-叔丁基-1,3-噻唑啉-3-甲酰基-4-甲酸酯(8.65 g, 37.4 mmol)在无水四氢呋喃(130 mL)内的溶液中加入 DMPU (25 mL)，将该混合物搅拌 5 分钟。加入 1M 二(三甲基甲硅烷基)氨基锂的四氢呋喃溶液(37.5 mL)，将该混合物搅拌 30 分钟。加入甲基碘(5.84 g, 41.1 mmol)后，将该混合物在-78℃保持 4 小时，然后在持续搅拌下温热至室温。将溶剂真空蒸发，加入盐水和乙酸乙酯。用 EtOAc 将水相萃取 3 次，将合并的有机层用 10% KHSO_4 、水和盐水洗涤。然后干燥(无水 MgSO_4)，过滤，减压汽提掉所有溶剂。通过硅胶色谱纯化残余油状物，用 1 - 10% EtOAc/己烷洗脱，获得了本标题化合物(5.78 g, 63%，2.4:1 的构象异构体混合物)。

^1H NMR (CDCl_3) ?? 主要构象异构体, 1.08 (s, 9H), 1.77 (s, 3H), 2.72 (d, 1H), 3.31 (d, 1H), 3.77 (s, 3H), 4.63 (s, 1H), 8.27 (s, 1H); 次要构象异构体, 0.97 (s, 9H), 1.79 (s, 3H), 2.84 (d, 1H), 3.63 (d, 1H), 3.81 (s, 3H), 5.29 (s, 1H), 8.40 (s, 1H); MS m/z (电子喷雾) 246 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ (100%), 188 (55) 160 (95).

在 Daicel Chemical Industries Chiracel OAS 柱上的保留时间是 16.5 分钟，10 - 40% IPA/己烷 0 - 25 分钟，> 95% ee.

实施例-I-3) (2R) 2-甲基-L-半胱氨酸盐酸盐

将实施例-I-2 产物(2R,4R)-甲基-2-叔丁基-1,3-噻唑啉-3-甲酰基-4-甲基-4-甲酸酯(5.7 g, 23.2 mmol)与 6N HCl (100 mL)在氮气氛下剧烈搅拌,并在剧烈回流状态下保持 2 天。将该溶液冷却,用 EtOAc 洗涤,并蒸发,获得了产物(2R) 2-甲基-L-半胱氨酸盐酸盐(3.79 g, 95%),为浅黄色粉末。

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 1.48 (s, 3H), 2.82 (t, 1H), 2.96 (bs, 2H), 8.48 (s, 3H).

MS m/z (电子喷雾) 136 $[\text{M}+\text{H}^+]$.

实施例-I-4) S-[2-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基]乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸三氟乙酸盐

将氢氧化钠(2.6 g, 60 % 矿物油悬浮液, 65 mmol)加到含有无氧 1-甲基-2-吡咯烷酮(5 mL)的烘箱干燥、真空冷却的 RB 烧瓶中。将该混合物冷却至 -10°C , 并在氮气氛下搅拌。分批加入溶解在无氧 1-甲基-2-吡咯烷酮(25 mL)中的实施例-I-3 产物 2-甲基-L-半胱氨酸盐酸盐(3.6 g, 21.0 mmol)。所有 H_2 释放停止后,在 -10°C 加入在无氧 1-甲基-2-吡咯烷酮(15 mL)中的 2-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-氨基]乙基溴(4.94 g, 21 mmol)。然后将该反应搅拌 4 小时,让其温热至室温。用 1N HCl 中和该溶液,通过真空蒸发除去 1-甲基 2-吡咯烷酮。通过反相色谱法纯化,用 1-20 % 乙腈的 0.05 % 三氟乙酸水溶液洗脱,获得了本标题化合物(5.9 g),通过把合适的级份冷冻干燥来收集产物。

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 /D $_2$ O) δ 1.31 (s,

9H), 1.39 (s, 3H), 2.55 (m, 2H), 2.78 (d, 1H), 3.04 (d, 1H), 3.06 (t, 2H). HRMS 计算值

$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: 279.1375 ($\text{M}+\text{H}^+$), 实测值 279.1379.

实施例-I-5) S-(2-氨基乙基)-2-甲基-L-半胱氨酸盐酸盐

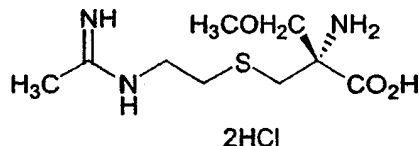
将实施例-I-4 产物 S-[2-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基]乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸三氟乙酸盐(5.5 g, 14.0 mmol)溶解在 1N HCl (100 mL)中,在室温于氮气氛下搅拌过夜。通过冷冻干燥除去该溶液,获得了本标题化合物 S-(2-氨基乙基)-2-甲基-L-半胱氨酸盐酸盐, $^1\text{H NMR}$

(DMSO- d_6 /D $_2$ O) δ 1.43 (s, 3H), 2.72 (m, 2H), 2.85 (d, 1H), 2.95 (t, 2H), 3.07 (d, 1H). m/z [M+H $^+$] 179.

实施例 I) 将实施例-I-5 产物溶解在 H $_2$ O 中, 用 1N NaOH 将 pH 调节至 10, 加入乙亚胺酸乙酯盐酸盐 (ethyl acetimidate hydrochloride)(1.73 g, 14.0 mmol)。将该反应搅拌 15 - 30 分钟, 将 pH 增高至 10, 该操作反复 3 次。用 HCl 将 pH 调节至 3, 把该溶液加到洗涤过的 DOWEX 50WX4-200 柱上。用水和 0.25 M NH $_4$ OH 洗涤该柱, 然后用 0.5 M NH $_4$ OH 洗涤。将得自 0.5 M NH $_4$ OH 洗涤的级份立即冷冻, 合并, 冷冻干燥, 获得了油状物, 将其溶解在 1N HCl 中, 并蒸发, 获得了本标题化合物, 为白色固体 (2.7 g)。

^1H NMR (DMSO- d_6 /D $_2$ O) δ 1.17 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.52 (d, 1H), 2.68 (m, 2H), 2.94 (d, 1H), 3.23 (t, 2H). HRMS 计算值 C $_8$ H $_{18}$ N $_3$ O $_2$ S: 220.1120 [M+H $^+$], 实测值 220.1133.

实施例 J

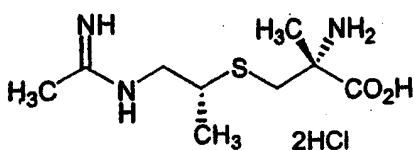


2-[[[2-[(1-氨基甲基)氨基]乙基]硫基]甲基]-O-甲基-D-丝氨酸, 二盐酸盐

该实施例中使用的操作和方法与实施例 I 相同, 除了在步骤实施例-I-2 中使用甲氧基甲基碘来代替甲基碘。通过这些方法获得了本标题产物, 为白色固体(2.7 g)。

^1H NMR (D $_2$ O) δ 2.06 (s, 3H), 2.70 (m, 3H), 3.05 (d, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.32 (t, 2H), 3.46 (d, 1H), 3.62 (d, 1H). HRMS 计算值 C $_9$ H $_{20}$ N $_3$ O $_3$ S: 250.1225 [M+H $^+$], 实测值 250.1228.

实施例 K



S-[(1R)-2-[(1-亚氨基乙基)氨基]-1-甲基乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸, 二盐酸盐

实施例-K-1) (S)-1-[(苄氧基羰基)氨基]-2-丙醇

在 0℃, 用 20 分钟向(S)-1-氨基-2-丙醇(9.76 g, 130 mmol)的无水苯(60 mL)溶液中缓慢地分批加入在无水苯(120 mL)中的氯甲酸苄酯(10.23 g, 60 mmol), 同时在氮气氛围下剧烈搅拌。将该混合物在 0℃ 搅拌 1 小时, 然后让其温热至室温, 再搅拌 2 小时。将该混合物用水(2×)和盐水(2×)洗涤, 用无水 MgSO_4 将有机层干燥。将所有溶剂蒸发, 获得了本标题产物, 为油状物。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.22 (d, 3H), 2.40 (bs, 1H), 3.07 (m, 1H), 3.37 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 5.16 (s, 2H), 5.27 (m, 1H), 7.38 (m, 5H). MS m/z (电子喷雾) 232 $[\text{M}+23]^+$ (100%), 166 (96).

实施例-K-2) (S)-1-[(苄氧基羰基)氨基]-2-丙醇甲苯磺酸酯

在 0℃, 用 20 分钟向实施例-K-1 产物(S)-1-[(苄氧基羰基)氨基]-2-丙醇(9.74 g, 46.7 mmol)和三乙胺(7.27 g, 72 mmol)的二氯甲烷 (60mL) 溶液中缓慢地分批加入在二氯甲烷(18 mL)中的甲苯磺酰氯(9.15 g, 48 mmol), 同时在氮气氛围下剧烈搅拌。让该混合物温热至室温, 在氮气氛围下搅拌 36 小时。将有机层用 1N HCl、水、5% 碳酸氢钠溶液、水和盐水洗涤, 然后用无水 MgSO_4 干燥。将所有溶剂蒸发, 获得了白色固体, 让其过二氧化硅塞(silica plug), 用乙酸乙酯/己烷(1:4)洗脱以除去过量甲苯磺酰氯, 然后用乙酸乙酯/己烷(1:3)洗脱, 获得了本标题产物, 为白色晶体。将其从乙酸乙酯/己烷中重结晶, 获得了白色针状物(10.8 g)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.22 (d, 3H), 2.39 (s, 3H), 3.20 (m, 1H), 3.43 (dd, 1H), 4.66 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 5.04 (ABq, 2H), 7.34 (m, 7H), 7.77 (d, 2H). MS m/z (电子喷雾) 386 $[\text{M}+23]^+$ (100%), 320 (66).

在 Regis Technologies Inc. Perkle Covalent (R,R)-GEM1 HPLC 柱上测定产物, 使用异丙醇/己烷作为流动相, 其中用 10% 异丙醇洗脱 5 分钟, 然后在 25 分钟时间内用 10 - 40% 异丙醇洗脱, 都是用 UV 和

Laser Polarimetry 检测器。主峰的保留时间：22.2 分钟，> 98 % ee。

实施例-K-3) S-[(1R)-2-(苄氧基羰基氨基)-1-甲基乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸三氟乙酸盐

将溶解在无氧 1-甲基-2-吡咯烷酮(5 mL)中的实施例-I-3 产物 2-甲基-L-半胱氨酸盐酸盐(1 g, 6.5 mmol)加到烘箱干燥、用氮气吹扫过的 RB 烧瓶内，将该系统冷却至 0℃。加入氢氧化钠(0.86 g, 60 % 于矿物油中, 20.1 mmol)，将该混合物在 0℃ 搅拌 15 分钟。用 10 分钟加入实施例 K-2-产物(2S)-1-[(N-苄氧基羰基)氨基]-2-丙醇甲苯磺酸酯(2.5 g, 7 mmol)溶解在无氧 1-甲基-2-吡咯烷酮(10 mL)中的溶液。在 0℃ 保持 15 分钟后，将该反应混合物在室温搅拌 4.5 小时。然后用 1N HCl 将该溶液酸化至 pH 4，通过真空蒸发除去 1-甲基-2-吡咯烷酮。通过反相色谱(用 20 - 40 % 乙腈的 0.05 % 三氟乙酸水溶液)，通过冷冻干燥收集，获得了本标题化合物(0.57 g)。

$^1\text{H NMR}$ (H_2O , 400 MHz) δ 1.0 (d, 3H), 1.4 (s, 3H), 2.6 (m, 2H), 2.8 (m, 1H), 3.1 (m, 2H), 3.6 (s, 1H), 5.0 (ABq, 2H), 7.3 (m, 5H). MS m/z (电子喷雾): 327 [$\text{M}+\text{H}^+$] (100%), 238 (20), 224 (10), 和 100 (25).

实施例-K-4) S-[(1R)-2-氨基-1-甲基乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸盐酸盐

将实施例-K-3 产物 S-[(1R)-2-(苄氧基羰基氨基)-1-甲基乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸三氟乙酸盐(0.5 g, 1.14 mmol)溶解在 6N HCl 中，回流 1.5 小时。然后将该混合物冷却至室温，用 EtOAc 萃取。将水层真空浓缩，获得了本标题产物(2R,5R)-S-(1-氨基-2-丙基)-2-甲基-半胱氨酸盐酸盐(0.29 g)，其不用进一步纯化直接使用。 $^1\text{H NMR}$ (H_2O , 400MHz) δ 1.2 (m, 3H), 1.4 (m, 3H), 2.7 (m, 1H), 2.8-3.2 (m, 2H), 3.4 (m, 1H) (由于旋转异构形式而有某些双重峰)。MS m/z (电子喷雾): 193 [$\text{M}+\text{H}^+$] (61%), 176 (53), 142 (34), 134 (100), 和 102 (10)。

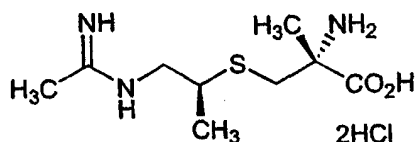
实施例 K) 将实施例-K-4 产物 S-[(1R)-2-氨基-1-甲基乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸盐酸盐(0.2 g, 0.76 mmol)溶解在 2 mL H_2O 中，用 1N

NaOH 将 pH 调节至 10.0, 用 10 分钟分四批加入乙亚胺酸乙酯盐酸盐 (0.38 g, 3 mmol), 按照需要用 1N NaOH 将 pH 调节至 10.0. 1 小时后, 用 1N HCl 将 pH 调节至 3. 将该溶液加到用水洗过的 DOWEX 50WX4-200 柱上. 用水和 0.5N NH_4OH 洗涤该柱. 合并碱性级份, 真空浓缩至干. 用 1N HCl 将残余物酸化, 浓缩, 获得了实施例 K 标题产物 (49 mg).

¹H

NMR (H_2O , 400 MHz) δ 1.3-1.0 (m, 3H), 1.5 (m, 3H), 2.1-1.8 (m, 3H), 3.4-2.6 (m, 5H), 3.6 (m, 1H) (可见旋转异构体). MS m/z (电子喷雾): 234 [$\text{M}+\text{H}^+$] (100%), 176 (10), 和 134 (10).

实施例 L



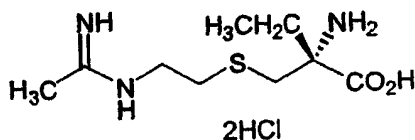
S-[(1S)-2-[(1-亚氨基乙基)氨基]-1-甲基乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸, 二盐酸盐

本实施例使用的操作和方法与实施例 K 相同, 除了在实施例-K-1 中使用(R)-1-氨基-2-丙醇来代替(S)-1-氨基-2-丙醇, 获得了本标题产物 S-[(1S)-2-[(1-亚氨基乙基)氨基]-1-甲基乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸, 盐酸盐. ¹H NMR (H_2O , 400 MHz) δ 3.6 (m, 1H), 3.4-2.6 (m, 5H), 2.1-1.8

(m, 3H), 1.5 (m, 3H), 和 1.3-1.0 (m, 3H). HRMS 计算值 $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ [$\text{M}+\text{H}^+$]: 234.1276.

实测值: 234.1286.

实施例 M



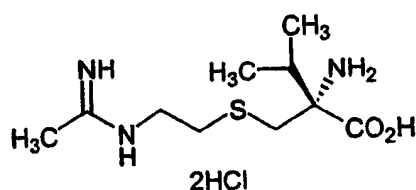
S-[2-[(1-亚氨基乙基)氨基]乙基]-2-乙基-L-半胱氨酸, 二盐酸盐

该实施例中使用的操作和方法与实施例 I 相同, 除了在实施例-I-2 中使用三氟甲磺酸乙酯来代替甲基碘. 使用反相色谱法纯化, 用 10 -

40% 乙腈的水溶液梯度洗脱, 获得了本标题产物(产率为 20%)。

^1H NMR (D_2O) ?? 0.83 (t, 3H), 1.80 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.68 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 2.83 (m, 1H), 3.11 (m, 1H), 3.36 (t, 2H). HRMS 计算值 $\text{C}_9\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: 234.1276 $[\text{M}+\text{H}^+]$, 实测值 234.1284.

实施例 N



2-[[[2-(1-亚氨基乙基)氨基]乙基]硫基]甲基]-D-缬氨酸, 二盐酸盐

实施例-N-1) 三氟甲磺酸异丙酯

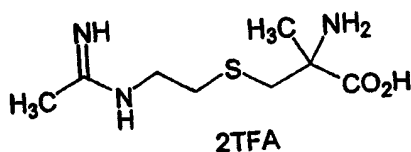
用在乙醚(200mL)中的异丙基磺(16.54g, 98.5mmol)处理在氮气氛下在乙醚(300 mL)内搅拌的三氟甲磺酸银(25.25g, 98.3mmol)。将该混合物搅拌 10 分钟, 然后过滤。将滤液减压蒸馏。将馏出液在常压下再次蒸馏以除去大部分乙醚, 获得了本标题产物三氟甲磺酸异丙酯-乙醚的混合物(84:16 重量比) (15.64 g, 修正后是 70%), 为无色液体。

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) ? 1.52 (d, 6H), 5.21 (七重峰, 1H).

在本实施例中使用的操作和方法与实施例 I 中使用的相同, 除了在实施例-I-2 中使用三氟甲磺酸异丙酯来代替甲基磺。通过反相色谱法纯化本标题产物的粗产物, 用 10 - 40% 乙腈的水溶液进行梯度洗脱。

^1H NMR (H_2O , 400 MHz) ?? 0.94 (dd, 6H), 2.04 (七重峰, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.65, 2.80 (d m, 2H), 2.85, 3.10 (dd, 2H), 3.37 (t, 2H). HRMS 计算值 $\text{C}_{10}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: 248.1433 $[\text{M}+\text{H}^+]$, 实测值 248.1450.

实施例 O



S-[2-(1-亚氨基乙基氨基)乙基]-2-甲基-(D/L)-半胱氨酸, 双三氟乙酸盐

实施例-O-1) S-(2-氨基乙基)-L-半胱氨酸甲酯

将 10 g (50 mmol) S-(2-氨基乙基)-L-半胱氨酸样本溶解在 400 mL 甲醇中。向该冷却的溶液中通入无水 HCl 30 分钟。在室温搅拌过夜后, 将该溶液浓缩, 获得了 12.7 g 本标题化合物。

实施例-O-2) N-{4-氯苯基}亚甲基]-S-[2-[(4-氯苯基)亚甲基]氨基]乙基]-L-半胱氨酸甲酯

将 12.7 g (50 mmol) 实施例-O-1 产物 S-(2-氨基乙基)-L-半胱氨酸甲酯样本溶解在乙腈中。向该溶液中加入 12.2 g (100 mmol) 无水 MgSO_4 、14 g (100 mmol) 4-氯苯甲醛和 100 mmol 三乙胺。将该混合物搅拌 12 小时, 浓缩至小体积, 用 500 mL 乙酸乙酯稀释。将有机溶液依次用 (0.1%) NaHCO_3 、(2N) NaOH 和盐水溶液洗涤。将有机相干燥(无水 MgSO_4), 过滤并浓缩, 获得了 7.5 g 本标题化合物。[M + H⁺] = 179。

实施例-O-3) N-[4-氯苯基]亚甲基]-S-[2-[(4-氯苯基)亚甲基]氨基]乙基]-2-甲基-D/L-半胱氨酸甲酯

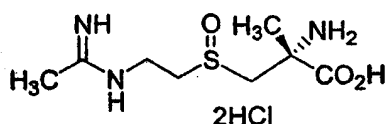
在 -78℃、氮气氛围下, 将在无水 THF 中的实施例-O-2 产物 N-{4-氯苯基}亚甲基]-S-[2-[(4-氯苯基)亚甲基]氨基]乙基]-L-半胱氨酸甲酯样本(7.5 g, 17 mmol)用 17 mmol 二(三甲基甲硅烷基)氨基钠处理, 然后加入 2.4 g (17 mmol) 甲基碘。将该溶液在 -78℃ 保持 4 小时, 然后在持续搅拌下温热至室温。将溶剂真空蒸发, 加入盐水和乙酸乙酯。用 EtOAc 将水相萃取 3 次, 将合并的有机层用 10% KHSO_4 、水和盐水洗涤, 然后干燥(无水 MgSO_4), 过滤并蒸发, 获得了本标题化合物。

实施例-O-4) S-(2-氨基乙基)-2-甲基-D/L-半胱氨酸, 盐酸盐

将实施例-O-3 产物 N-[4-氯苯基]亚甲基]-S-[2-[(4-氯苯基)亚甲基]氨基]乙基]-2-甲基-D/L-半胱氨酸甲酯样本(4.37 g, 10 mmol)与 2N HCl 一起搅拌和加热(60℃)过夜, 用乙酸乙酯洗涤该溶液(3×)。将水溶液冷冻干燥, 获得了本标题化合物。

实施例 O) 将实施例-O-4 产物 S-(2-氨基乙基)-2-甲基-D/L-半胱氨酸, 二盐酸盐样本(2.5 g, 10 mmol)溶解在水中, 用 1N NaOH 将 pH 调节至 10。然后将乙亚胺酸乙酯盐酸盐(1.24 g, 10.0 mmol)加到该反应混合物中。将该反应搅拌 10 - 30 分钟, 将 pH 增加至 10, 该操作重复 3 次。用 HCl 将 pH 降至 4, 将该溶液蒸发。通过反相 HPLC 纯化残余物, 用含有 0.05 % 三氟乙酸的水作为流动相, 获得了实施例 O 标题产物。M + H = 220。

实施例 P

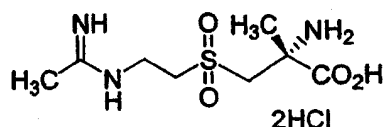


(2R)-2-氨基-3-[[2-[(1-亚氨基乙基)氨基]乙基]亚磺酰基]-2-甲基丙酸, 二盐酸盐

将 S-[2-[(1-亚氨基乙基)氨基]乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸, 二盐酸盐(实施例 I, 0.2 g, 0.73 mmol)在 3 mL 水中的溶液搅拌, 并冷却至 0℃, 以每批 0.3 mL 的量分批加入 3 % H₂O₂ (0.8 mL, 0.73 mmol)在甲酸(0.4 mL, 0.73 mmol)中的溶液。移去冷却浴, 将该反应混合物在室温搅拌 48 小时。将该溶液真空浓缩, 用水(10 mL)稀释, 再次浓缩, 获得了粗产物。通过色谱法纯化该残余物(C-18 反相, 使用含有 0.05 % 三氟乙酸的水作为流动相), 获得了纯的碱。用 1M HCl (10 mL)处理该碱, 真空浓缩, 获得了 140 mg 盐酸盐形式的本标题化合物的两种非对映体的混合物, 为无水油状物。

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 1.5 (s, 2H), 1.6 (s, 1H), 2.0 (s, 3H), 3.1 (m, 2H), 3.3 (m, 2H) 3.6 (m, 2H). HRMS 计算值 C₈H₁₈N₃O₃S: 236.1069 [M+H⁺], 实测值: 236.1024.

实施例 Q



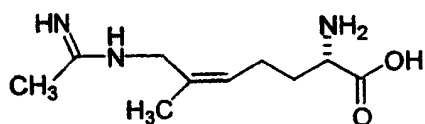
(2R)-2-氨基-3-[[2-[(1-亚氨基乙基)氨基]乙基]磺酰基]-2-甲基丙酸, 二盐酸盐

将实施例 I 产物 S-[2-[(1-亚氨基乙基)氨基]乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸, 二盐酸盐(0.15 g, 0.54 mmol)在 2 mL 水中的溶液冷却至 0℃, 并加入 3% H₂O₂ (1.6 mL, 1.46 mmol)在甲酸(0.9 mL, 14.6 mmol)中的溶液。移去冷却浴, 将该反应混合物在室温搅拌 18 小时。将该溶液真空浓缩, 用 10 mL 水稀释, 再次浓缩, 获得了亚砷粗产物。用 4 mL 水将该残余物稀释, 用 2.5N NaOH 调节至 pH 9。加入丙酮(5 mL), 然后加入 Boc₂O (0.2 g), 将该反应在室温搅拌 48 小时。用 1M HCl 将该反应混合物调节至 pH 6, 并真空浓缩。通过色谱法纯化该残余物(C-18 反相, 40 - 50% CAN:H₂O, 0.05% TFA), 获得了纯的 Boc 保护的产物。将该级份真空浓缩, 用 1M HCl (3 mL)处理该残余物 1 小时。将该溶液浓缩, 获得了 30 mg 本标题化合物, 为无水油状物。

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.0 (d, 1H), 3.7 (d, 1H), 3.6 (t, 2H),

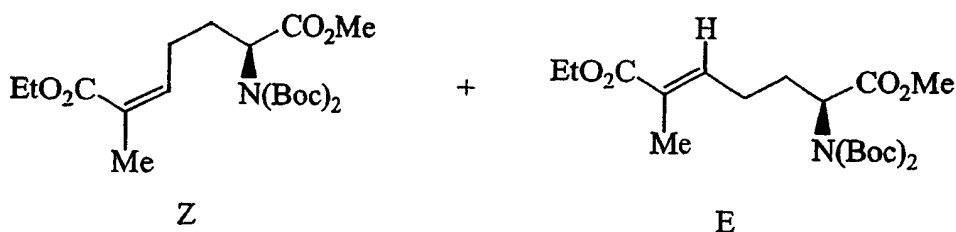
3.5 (t, 2H), 2.1 (s, 3H), 和 1.5 (s, 3H) ppm. HRMS 计算值 C₈H₁₈N₃O₄S: 252.1018 [M + H⁺], 实测值: 252.0992.

实施例 R



(2S,5Z)-2-氨基-6-甲基-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐

实施例 R-1)

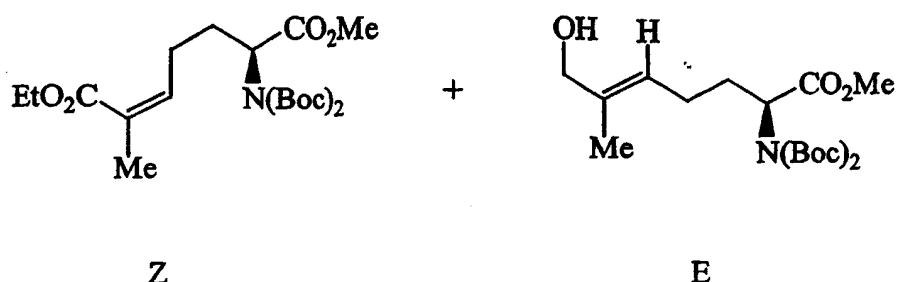


将 2-磺酰基丙酸三乙酯(6.5 mg, 27.1 mmol)在甲苯(60 mL)中的溶液用 0.5 M 二(三甲基甲硅烷基)氨基钾(50.0 mL, 在甲苯中的溶液)处

理,按照实施例 U-4 的方法(参见实施例 U)将所得阴离子与实施例 U-3 醛产物缩合。通过色谱法纯化后获得了 8 g 所需 Z 和 E 二酯的 3:7 混合物。

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 6.7-6.8 ppm (m, 1H), 5.9 ppm (m, 1H), 4.9 ppm (m, 1H), 4.2 ppm (q, 2H), 3.7 ppm (s, 3H), 2.5 ppm (m, 1H), 2.2-2.3 ppm (m, 2H), 2.0 ppm (m, 1H), 1.9 ppm (s, 3H), 1.8 ppm (s, 3H), 1.5 ppm (s, 18H), 1.3 ppm (t, 3H).

实施例 R-2)



通过实施例 U-5 的方法,将实施例 R-1 的产物混合物(850 mg, 2.0 mmol)在 Et_2O (30 mL)中的溶液用二异丁基氢化铝(DIBAL)还原 20 分钟,生成了所示 E-醇与未还原的 Z-酯的所需混合物粗产物。通过硅胶色谱纯化该混合物,用正己烷: EtOAc (9:1) - 正己烷: EtOAc (1:1)洗脱,获得了 Z-酯(530 mg)与 E-醇所需产物样本。

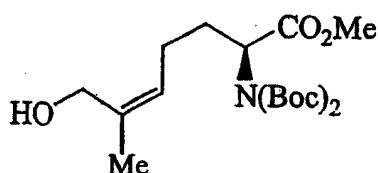
E-酯:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 5.9 ppm (m, 1H), 4.9 ppm (m, 1H), 4.2 ppm (q, 2H), 3.7 ppm (s, 3H), 2.5 ppm (m, 1H), 2.2-2.3 ppm (m, 2H), 1.9 ppm (s, 3H), 1.5 ppm (s, 18H), 1.3 ppm (t, 3H).

E-醇:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 5.35 ppm (m, 1H), 4.9 ppm (m, 1H), 3.95 ppm (s, 1H), 3.7 ppm (s, 3H), 1.8-2.2 ppm (m, 6H), 1.6 ppm (s, 3H), 1.5 ppm (s, 18H).

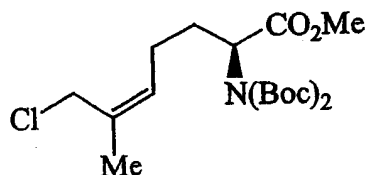
实施例 R-3)



通过实施例 U-5 的方法，将实施例 R-2 的产物 Z-酯(510 mg, 1.2 mmol)在 Et₂O (30 mL)中的溶液用二异丁基氢化铝(DIBAL)还原 2 小时，生成了所示的所需 Z-醇粗产物。通过硅胶色谱纯化该粗产物，用正己烷:EtOAc (9:1) - 正己烷:EtOAc (8:2)洗脱，获得了 340 mg 所需 Z-醇产物。

(¹H)NMR (300 MHz, CDCl₃) ? 5.3 ppm (m, 1H), 4.9 ppm (m, 1H), 4.2 ppm (d, 1H), 4.0 ppm (d, 1H), 2.2 ppm (m, 3H), 1.95 ppm (m, 1H), 1.8 ppm (s, 3H), 1.5 ppm (s, 18H).

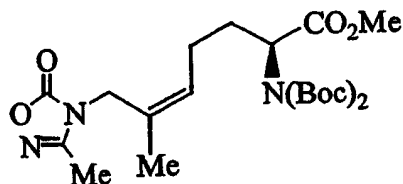
实施例 R-4)



将实施例 R-3 醇产物(340 mg, 0.9 mmol)的二氯甲烷溶液(5 mL)用三乙胺(151 mg, 1.5 mmol)处理。向在冰浴内冷却的该溶液中加入甲磺酰氯的二氯甲烷溶液(1.5 mL)。15 分钟后，移去冰浴，将该反应在室温搅拌 20 小时。然后将该反应混合物用 10% KHSO₄ 洗涤，用 Na₂SO₄ 干燥，减压汽提掉所有溶剂，获得了 350 mg 所需 Z-烯丙型氯化物。

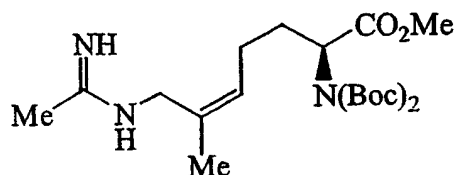
(¹H)NMR (300 MHz, CDCl₃) ? 5.4 ppm (m, 1H), 4.9 ppm (m, 1H), 4.1 ppm (d, 1H), 4.0 ppm (d, 1H), 2.1 ppm (m, 3H), 1.95 ppm (m, 1H), 1.8 ppm (s, 3H), 1.5 ppm (s, 18H).

实施例 R-5)



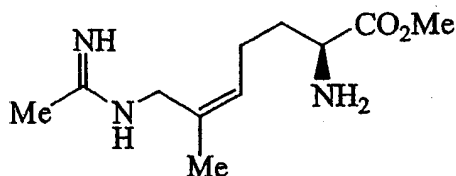
通过下文实施例 S-2 的方法将 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮在 DMF 中的悬浮液与实施例 R-4 产物的 DMF 溶液反应，以获得所需产物。

实施例 R-6)



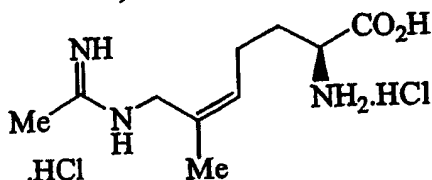
通过实施例 U-7 的方法,将实施例 R-5 产物与 HOAc 中的锌反应,以生成所需的脒。

实施例 R-7)



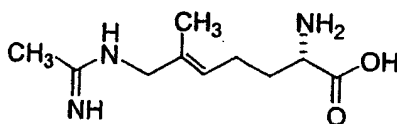
将实施例 R-6 产物与 4N HCl 的二氧杂环己烷溶液在冰醋酸中反应,以生成所需的脒。

实施例 R)



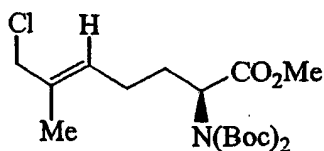
将实施例 R-7 产物脱保护,以生成所需的氨基酸,二盐酸盐。

实施例 S



(2S,5E)-2-氨基-6-甲基-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸,二盐酸盐

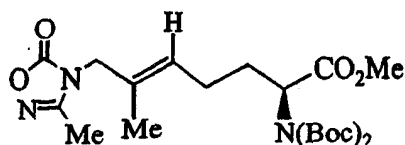
实施例 S-1)



通过实施例 R-4 的方法,将实施例 R-2 的 E-醇产物(1.3 g, 3.3 mmol)与三乙胺(525 mg, 5.2 mmol)和甲磺酰氯(560 mg, 5.2 mmol)反应,获得了 1.4 g 所需的 E-烯丙型氯化物。

(¹H)NMR (400 MHz, CDCl₃) 5.5 ppm (m, 1H), 4.9 ppm (m, 1H), 4.0 ppm (s, 2H), 3.7 ppm (s, 3H), 2.1-2.3 ppm (m, 3H), 1.9 ppm (m, 1H), 1.7 ppm (s, 3H), 1.5 ppm (s, 18H).

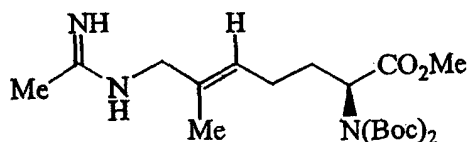
实施例 S-2)



将 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮钾(460 mg, 3.35 mmol)在 5 mL DMF 中的悬浮液用实施例 S-1 产物的 DMF (15 mL)溶液处理. 将该反应混合物在 50℃ 搅拌 17 小时, 然后再加入 50 mg (0.04 mmol)二唑啉-5-酮盐. 将该搅拌着的反应继续加热 3 小时, 然后将其冷却至室温, 用 180 mL 水稀释. 用 EtOAc 萃取该混合物, 将萃取液用 120 mL 正己烷稀释, 用水洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥, 减压汽提掉所有溶剂, 获得了 1.3 g 所需产物.

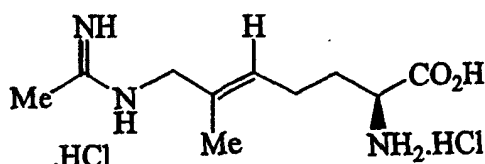
(^1H)NMR (400 MHz, CDCl_3) 5.5 ppm (m, 1H), 4.9 ppm (m, 1H), 4.2 ppm (s, 3H), 3.7 ppm (s, 3H), 2.2 ppm (m, 3H), 1.95 ppm (m, 1H), 1.8 ppm (s, 3H), 1.5 ppm (s, 18H).

实施例 S-3)



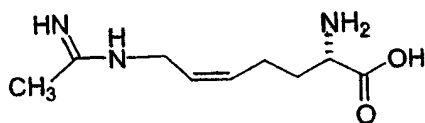
通过实施例 U-7 的方法(见下文实施例 U)将实施例 S-2 产物(460 mg, 1.0 mmol)与 HOAc 中锌反应, 通过 HPLC 纯化后, 获得了 312 mg 所需的脒。

实施例 S)

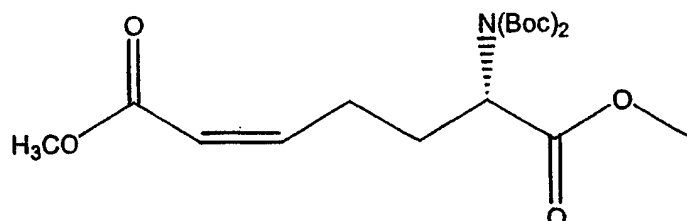


通过实施例 U 的方法, 用 2N HCl 将实施例 S-3 产物(77 mg, 0.2 mmol)脱保护, 获得了 63 mg E-氨基酸, 二盐酸盐。

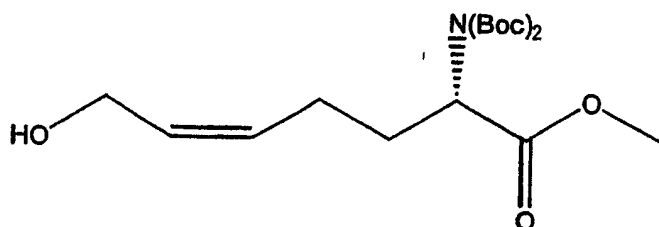
实施例 T



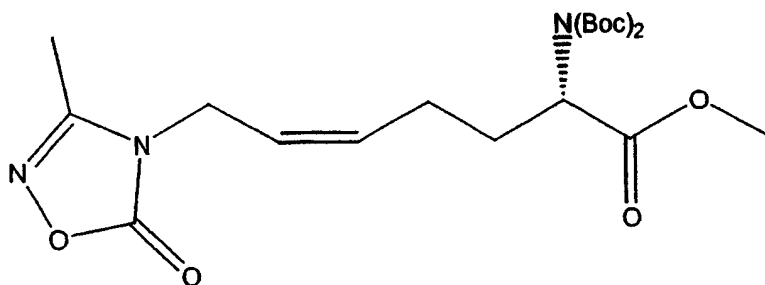
(2S,5Z)-2-氨基-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐



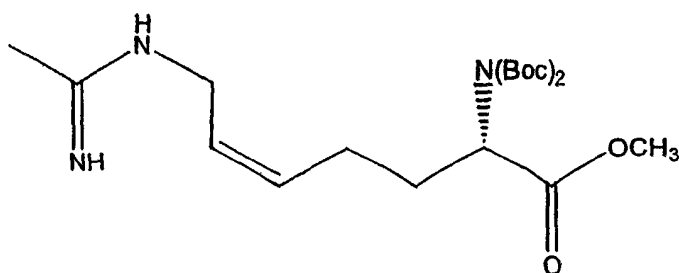
实施例 T-1) 将二(三氟乙基)膦酰基乙酸甲酯(4.77 g, 15 mmol)和 23.7 g (90 mmol) 18-冠-6 溶解在 80 mL 无水 THF 中, 并冷却至 -78°C 。向该溶液中加入 30 mL (15 mmol) 二(三甲基甲硅烷基)氨基钾, 然后加入 5.1 g (14.7 mmol) 实施例 U-3 的 N,N-二 Boc 谷氨酸醛甲酯(见下文实施例 U)。在 -78°C 搅拌 30 分钟后, 用 KHSO_4 水溶液中止该反应。用 EtOAc 萃取该反应混合物, 浓缩, 获得了 2.95 g (49%) 所需化合物。质谱 $\text{M} + \text{H} = 402$ 。



实施例 T-2) 通过实施例 U-5 的方法将实施例 T-1 产物还原, 获得了所需化合物。



实施例 T-3) 通过实施例 U-6 的方法, 将实施例 T-2 的产物与 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮反应, 获得了所需化合物。

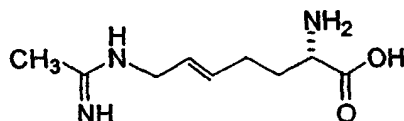


实施例 T-4) 通过实施例 U-7 的方法, 将实施例 T-3 的产物脱保护, 获得了所需化合物。

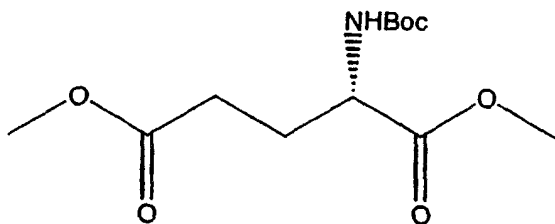
实施例 T) 将实施例 T-4 的产物溶解在 2N HCl 中, 加热回流。将该反应混合物冷却, 浓缩, 获得了 0.12 g 所需产物。

$^1\text{H-NMR}$ 1.8-2.0 (m, 2H); 2.05 (s, 3H); 2.15 (q, 2H); 3.75 (d, 2H); 3.9 (t, 1H); 5.45 (m, 1H); 5.6 (m, 1H)

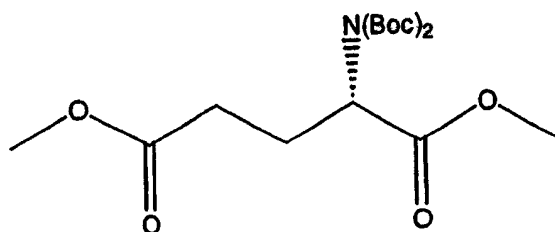
实施例 U



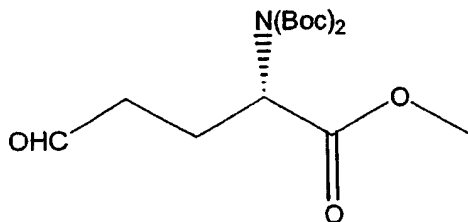
(2S,5E)-2-氨基-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐



实施例 U-1) 将 L-谷氨酸(6.0 g, 40.78 mmol)溶解在甲醇(100 mL)中。在 0℃于氮气气氛下向该反应化合物中加入三甲基甲硅烷基氯(22.9 mL, 180 mmol), 并搅拌过夜。在 0℃于氮气气氛下向该反应化合物中加入三乙胺(37 mL, 256 mmol)和二碳酸二叔丁酯(9.8 g, 44.9 mmol), 并搅拌 2 小时。除去溶剂, 用乙醚(200 mL)研制该残余物。将研制的混合物过滤。将滤液蒸发, 获得了油状物, 通过二氧化硅色谱纯化, 用乙酸乙酯和己烷洗脱, 获得了一-boc-L-谷氨酸二酯(10.99 g, 98%)。



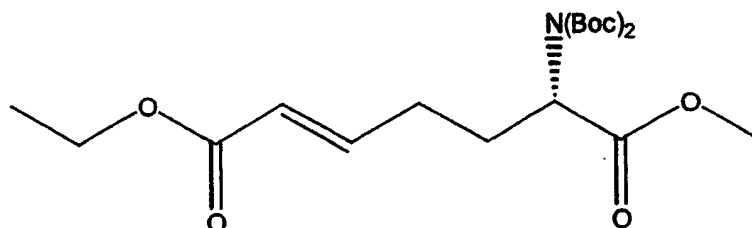
实施例 U-2) 将一-boc-L-谷氨酸二酯(10.95 g, 39.8 mmol)溶解在乙腈(130 mL)中。向该反应混合物中加入 4-二甲基氨基吡啶(450 mg, 3.68 mmol)和二碳酸二叔丁酯(14.45 g, 66.2 mmol)，并搅拌 20 小时。将溶剂蒸发，通过二氧化硅色谱纯化该残余物，用乙酸乙酯和己烷洗脱，获得了二-boc-L-谷氨酸二酯(14.63 g, 98%)。



实施例 U-3) 将实施例 U-2 产物(10.79 g, 28.7 mmol)溶解在乙醚(200 mL)中，在干冰浴中冷却至-80℃。向该反应混合物中加入二异丁基氯化铝(32.0 mL, 32.0 mmol)，并搅拌 25 分钟。从干冰浴上移去该反应混合物，并加入水(7.0 mL)。向该反应混合物中加入乙酸乙酯(200 mL)，并搅拌 20 分钟。将硫酸镁(10 g)加到该反应混合物中，并搅拌 10 分钟。将该反应混合物经由硅藻土过滤，浓缩，获得了澄清的黄色油状物(11.19 g)。通过二氧化硅色谱纯化该黄色油状物，用乙酸乙酯和己烷洗脱。产物(8.61, 87%)是澄清的浅黄色油状物。

质谱: M+H 346, M+Na 378

(¹H)NMR (400 MHz, CDCl₃) 9.74 ppm (s, 1H), 4.85 ppm (m, 1H), 3.69 ppm (s, 3H), 2.49 ppm (m, 3H), 2.08 ppm (m, 1H), 1.48 ppm (s, 18H).

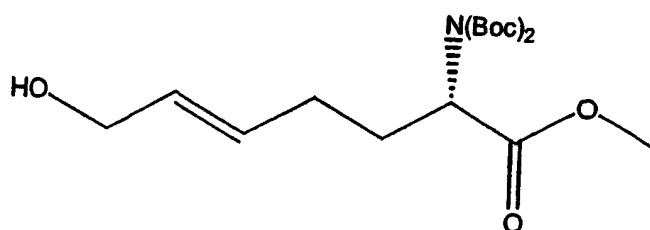


实施例 U-4) 在氮气气氛下将膦酰基乙酸三乙酯(6.2 mL, 31.2 mmol)溶解在甲苯(30 mL)中, 置于冰浴内以冷却至 0℃。向该反应混合物中加入二(三甲基甲硅烷基)氨基钾(70 mL, 34.9 mmol), 并搅拌 90 分钟。向该反应混合物中加入溶解在甲苯(20 mL)中的实施例 U-3 产物(8.51 g, 24.6 mmol), 并搅拌 1 小时。将该反应混合物温热至室温。向该反应混合物中加入硫酸氢钾(25 mL, 25 mmol), 搅拌 20 分钟。用乙酸乙酯(3×100 mL)萃取该混合物, 用硫酸镁干燥, 浓缩, 获得了混浊的棕黄色油状物(12.11 g)。通过二氧化硅色谱纯化该油状物, 用乙酸乙酯和甲苯洗脱, 获得了浅黄色油状物(7.21 g, 70%)。

质谱:

M+H 416, M+NH₄ 433, -boc 316, -2 boc, 216.

(¹H)NMR (400 MHz, CDCl₃) 6.88 ppm (m, 1H), 5.82 ppm (d, 1H), 4.81 ppm (m, 1H), 5.76 ppm (s, 3H), 2.50 ppm (m, 3H), 2.21 ppm (m, 1H), 1.45 ppm (s, 18H).

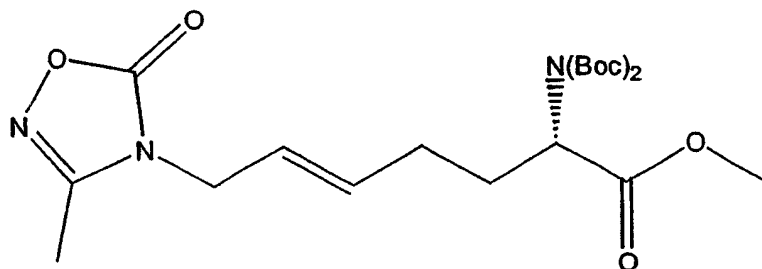


实施例 U-5) 将实施例 U-4 产物(5.0 g, 12.03 mmol)溶解在乙醚(100 mL)中, 置于干冰浴内以冷却至 -80℃。向该反应混合物中加入二异丁基氯化铝(21.0 mL, 21.0 mmol)。搅拌 30 分钟。向该反应混合物中加入水(10 mL), 移去干冰浴, 搅拌 60 分钟。向该反应混合物中加入硫酸镁(10 g), 搅拌 10 分钟。将该反应混合物经由硅藻土过滤, 浓缩, 获得了黄色油状物(5.0 g)。通过二氧化硅色谱纯化该油状物, 用乙酸乙酯与己烷洗脱, 获得了浅黄色油状物(2.14 g, 47%)。

质谱:

M+H 374, M+NH₄ 391

(¹H)NMR (400 MHz, CDCl₃) 5.63 ppm (m, 2H), 4.88 ppm (m, 1H), 4.02 ppm (s, 2H), 3.68 ppm (s, 3H), 2.12 ppm (m, 4H), 1.47 ppm (s, 18H).

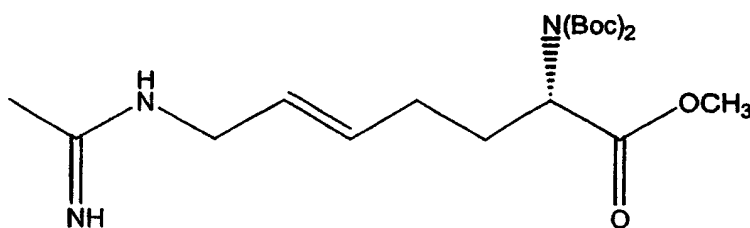


实施例 U-6) 将实施例 U-5 产物溶解在四氢呋喃(50 mL)中。向该反应混合物中加入在聚合物上的三苯基膦(3.00 g, 8.84 mmol)、恶二唑啉酮(720 mg, 7.23 mmol)和偶氮二甲酸二甲酯(1.17 g, 3.21 mmol), 在室温搅拌 6 小时。将该反应混合物经由硅藻土过滤, 浓缩, 获得了浑浊的黄色油状物(2.81 g)。通过二氧化硅色谱纯化该油状物, 用乙酸乙酯与己烷洗脱, 获得了澄清的无色油状物(1.66 g, 68%)。

质谱:

M+H 456, M+NH₄ 473, - boc 356, -2 boc 256

(¹H)NMR (400 MHz, CDCl₃) 5.65 ppm (m, 1H), 5.45 ppm (m, 1H), 4.79 ppm (m, 1H), 4.11 ppm (d, 2H), 3.68 ppm (s, 3H), 2.17 ppm (m, 4H), 1.47 ppm (s, 18 H)。



实施例 U-7) 将实施例 U-6)产物(300 mg, 0.66 mmol)溶解在含有金属锌的乙酸与水的溶液(10 mL, 25/75)中, 并超声处理 3 小时。将该反应混合物经由硅藻土过滤, 通过反相 HPLC 进行色谱纯化, 获得了澄清的无水残余物(13 mg, 4%)。

(¹H)NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.89 ppm (m, 1H), 5.68 ppm (m, 1H), 5.47 ppm (m, 1H), 3.80 ppm (d, 2H), 3.71 ppm (s, 3H), 2.18 ppm (m, 4H), 1.41 ppm (s, 18 H)。

实施例 U) 将实施例 U-7 产物(13.0 mg, 0.031 mmol)溶解在 2N

HCl (1.22 mL, 2.44 mmol)中, 并回流 1 小时。将该反应混合物冷却, 浓缩, 获得了澄清的无色油状物(6.6 mg, 95%)。

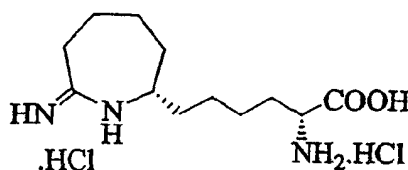
质谱:

M+H 200,

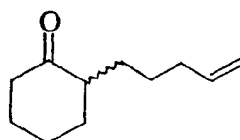
(¹H)NMR (400 MHz, D₂O) 5.65 ppm (m, 1H), 5.47 ppm (m, 1H), 3.80 ppm (t, 1H), 3.72 ppm (d, 2H), 2.0 ppm (m, 5H), 1.87 ppm (m, 2H).

实施例 V:

(R,2S)-氨基六氢-7-亚氨基-1H-氮杂-2-己酸, 三水合物盐酸盐



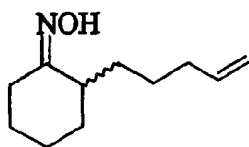
实施例 V-1)



用氮气吹扫 3 L 三颈烧瓶, 然后向其中加入环己酮(1.27 mol, 132 mL)和 500 mL 甲苯。将该搅拌着的混合物冷却至 0℃, 加入 157.2 g (1.1 当量)叔丁醇钾。将该混合物搅拌 1 小时后, 注意到发生了颜色和纹理的改变, 然后用 1 小时将 5-戊烯基溴(1.27 mol, 136 mL)在 100 mL 甲苯中的溶液滴加到该机械搅拌着的反应混合物中。让该反应混合物温热至 25℃, 并搅拌过夜。然后用 800 mL 1N KHSO₄ 稀释, 将有机相干燥(MgSO₄), 过滤, 蒸发至干, 获得了 208.5 g 粗产物。通过真空蒸馏(在水泵压力下)纯化该粗产物, 以 47% 的产率获得了本标题产物。

¹H NMR (CDCl₃, ppm): 1.0- 2.4 (m, 13H), 4.9-5.1 (m, 2H), 5.7-5.9 (m, 1H).

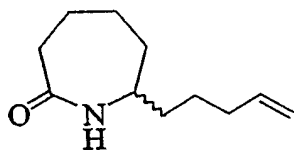
实施例 V-2)



将实施例 V-1 产物(93.67 g, 0.563 mol)与 EtOH (600 mL)、水(300 mL)、NaOAc (101.67 g, 1.24 mol)和 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (78.31 g, 1.13 mol)在 3 L 三颈烧瓶中合并。将该搅拌着的反应混合物回流 16 小时, 然后在 25℃ 搅拌 24 小时。减压除去所有溶剂, 将残余物在乙醚(Et_2O , 500 mL)与水(200 mL)之间分配。用 3×200 mL 乙醚萃取水层。用 MgSO_4 将合并的有机层干燥, 过滤, 真空汽提, 获得了本标题肟(121.3 g, 粗产物产率为 100%)。

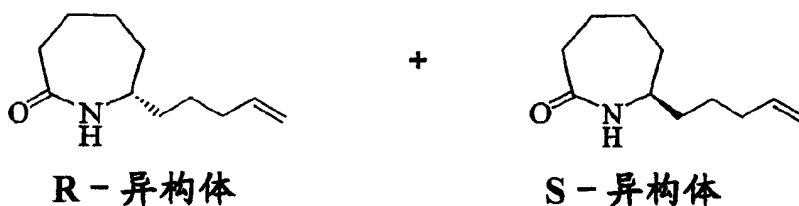
^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.2- 2.6 (m, 13H), 4.9-5.1 (m, 2H), 5.7-5.9 (m, 1H).

实施例 V-3)



用氮气吹扫 3L 三颈烧瓶, 然后加入六甲基二硅氧烷(471.7 mL, 2.2 mol)、甲苯(500 mL)和五氧化磷(203.88 g, 1.4 mol)。将该多相混合物回流直至获得澄清溶液(约 1.5 小时)。将该混合物冷却至室温后, 在 25℃ 用 1 小时将在 200 mL 甲苯中的实施例 V-1 肟产物(102.1 g, 0.563 mol)加到上述反应混合物中。将该反应混合物搅拌 4 - 6 小时(通过 TLC 检查: 50 % EA 的己烷, I_2), 将其倒入冰水内并充分混和。向该冰浆液混合物中加入 250 g NaCl, 通过加入固体碳酸钾将所得混合物调节至 pH 5。用 3×500 mL 乙醚(Et_2O)萃取该浆液, 用 MgSO_4 将合并的有机级份干燥, 过滤, 真空汽提, 获得了区域异构(regioisomeric)内酰胺的粗制混合物(84.6 g)。

实施例 V-4)



然后将实施例 V-3 产物进行色谱处理(二氧化硅: 乙腈), 以纯化和分离区域异构体。从粗产物样本中以 50% 的收率分离出了 7-戊烯基区域异构体, 经过手性色谱分离后, 分别以 43% 的收率分离出了所需的单一对映体。

R-异构体

元素分析的计算值 C₁₁H₁₉NO: C, 71.99; H, 10.57; N, 7.63. 实测值: C, 71.97; H, 10.58; N, 7.52

¹H NMR (CDCl₃, ppm): 1.3-1.6 (m, 7H), 1.75-1.9 (m, 2H), 1.95-2.15 (m, 3H), 2.4-2.5 (m, 2H), 3.25-3.35 (m, 1H), 4.95-5.05 (m, 2H), 5.7-5.85 (m, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃, ppm): 23.166, 25.169, 29.601, 33.209, 35.475, 35.624, 36.783, 53.600, 114.976, 137.923, 177.703

[α]_D²⁵ = +26.9° (CHCl₃) 在 365nm.

S-异构体

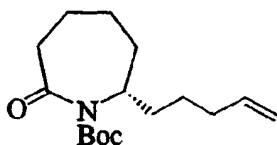
元素分析的计算值 C₁₁H₁₉NO: C, 71.99; H, 10.57; N, 7.63. 实测值: C, 72.02; H, 10.61; N, 7.57

¹H NMR (CDCl₃, ppm): 1.3-1.6 (m, 7H), 1.75-1.9 (m, 2H), 1.95-2.15 (m, 3H), 2.4-2.5 (m, 2H), 3.25-3.35 (m, 1H), 4.95-5.05 (m, 2H), 5.7-5.85 (m, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃, ppm): 23.187, 25.178, 29.630, 33.230, 35.526, 35.653, 36.778, 53.621, 115.032, 137.914, 177.703

[α]_D²⁵ = -25.7° (CHCl₃) 在 365nm.

实施例 V-5)

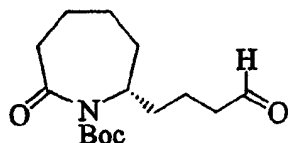


将实施例 V-4 的 R-异构体产物(102.1 g, 0.56 mol)、无水 THF (800 mL)、DMAP (68.9 g, 0.56 mol)、二碳酸二叔丁酯(Boc₂O, 99 g, 0.45 mol)

在用氩气吹扫过的 3L 三颈烧瓶内合并。在 30 分钟内将该反应混合物温热至 70℃, 然后加入 52.8 g Boc_2O 和 200 mL 无水 THF. 30 分钟后, 再加入 32 g Boc_2O , 将该混合物在 70℃ 搅拌 1 小时. 再加入 36 g Boc_2O , 将该混合物搅拌 1 小时. 将该反应混合物冷却至室温, 在 18-20℃ 减压汽提掉 THF. 过滤出沉淀, 用 100 mL 乙酸乙酯(EA)洗涤, 弃去沉淀(~45 g). 将 EA 滤液用 500 mL 另外的 EA 稀释, 然后用 500 mL 1N KHSO_4 、500 mL 饱和碳酸氢钠水溶液和 500 mL 盐水洗涤, 然后用无水 Na_2SO_4 干燥 12 小时. 将 EA 萃取液用 20 g DARCO 处理, 经由顶端盖以硫酸镁的硅藻土过滤, 真空浓缩, 获得了 150 g 本标题产物, 为深棕色油状物。

^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.3-1.6 (m, 4H), 1.5 (s, 9H), 1.6-1.9 (m, 6H), 1.95-2.05 (m, 2H), 2.5-2.7 (m, 2H), 4.2-4.25 (m, 1H), 4.95-5.05 (m, 2H), 5.7-5.85 (m, 1H).

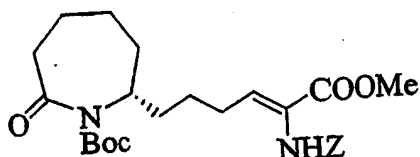
实施例 V-6)



将含有溶解在 3 L 二氯甲烷内的实施例 V-5 产物(150 g, 0.533)的 3 L 三颈烧瓶冷却至 -78℃. 向该溶液中通入 2.5 小时 O_3 气流直至该反应混合物的颜色变为蓝色。然后向保持在 -60℃ - -70℃ 的该溶液中通入氩气直至该溶液变为澄清和无色(~30 分钟)。加入二甲基硫醚(DMS, 500 mL), 然后将该反应加热至回流, 并让回流持续 24 小时。再加入 100 mL DMS, 让回流持续 12 小时。再加入 100 mL DMS, 让回流持续 12 小时。用旋转蒸发器于 20℃ 汽提掉溶剂和过量 DMS. 将所获得的黄色油状残余物用 500 mL DI 水稀释, 用 3×300 mL EA 萃取。用无水 MgSO_4 将 EA 层干燥, 用 20 g DARCO 处理, 经由一薄层上面盖有无水 MgSO_4 的硅藻土过滤, 减压汽提掉所有溶剂, 获得了 156 g 本标题产物的粗产物, 为橙黄色油状物。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1.3-1.6 (m, 4H), 1.5 (s, 9H), 1.6-1.9 (m, 6H), 2.45-2.75 (m, 4H), 4.2-4.25 (m, 1H), 9.75 (s, 1H).

实施例 V-7)



向溶解在 1 L 二氯甲烷(CH_2Cl_2)内并冷却至 0°C 的 N-(苄氧基羰基)- α -酮酰基甘氨酸三甲酯样本(160 g, 0.48 mol)中加入 DBU (110.29 g, 0.72 mol)在 100 mL CH_2Cl_2 中的溶液。将该澄清的无色反应混合物在 $0^\circ\text{C} - 6^\circ\text{C}$ 搅拌 1 小时, 然后在 $-5^\circ\text{C} - -1^\circ\text{C}$ 滴加在 600 mL CH_2Cl_2 中的实施例 V-6 的 Boc-醛产物(150 g, 0.53 mol)。将该反应混合物在室温搅拌 30 分钟, 然后在约 1 小时内将其缓慢地温热至 10°C 。将该反应混合物用 1N KHSO_4 (500 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液(200 mL)和 50 氯化钠水溶液(200 mL)洗涤。然后用无水 MgSO_4 将有机层干燥, 用 40 g DARCO 处理, 经由一薄层上面盖有无水 MgSO_4 的硅藻土过滤, 浓缩, 获得了 258 g 本标题产物的粗产物, 为黄色油状物。通过色谱法纯化该油状物, 获得了 130 g (55%) 纯的本标题产物。

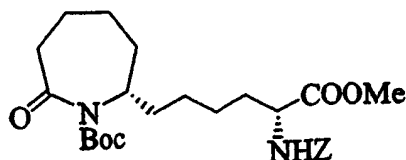
元素分析的计算值 $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_7$: C, 63.96; H, 7.42; N, 5.77. 实测值: C, 63.42; H, 8.16; N, 5.31.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1.25 (m, 2H), 1.5 (s, 9H), 1.51-1.9 (bm, 8H), 2.25 (m, 2H), 2.5 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 4.12 (m, 1H), 5.15 (s, 2H), 6.3 (bs, 1H), 6.55 (t, 1H), 7.45 (m, 5H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 14.04, 22.62, 23.46, 24.08, 25.27, 27.89, 27.92, 28.34, 28.95, 31.81, 31.86, 32.05, 39.18, 52.31, 54.65, 67.27, 82.62, 128.07, 128.18, 128.46, 135.98, 136.82, 154.50, 164.92, 176.68.

$[\alpha]^{25} = +10.9^\circ$ (CHCl_3) 在 365nm.

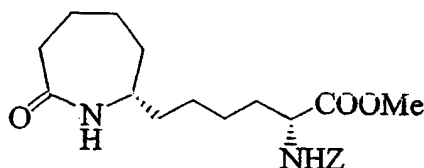
实施例 V-8)



向实施例 V-7 产物(91.3 g, 0.19 mol)的 MeOH (1L)溶液中加入 2.5 g S,S-Rh-DIPAMP 催化剂, 然后通入氢。氢化在帕尔装置中于 25℃ 进行 1.5 小时。将该反应混合物经由硅藻土过滤, 然后浓缩, 获得了本标题化合物的粗产物(90 g, 98%), 为棕色油状物。

^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.35 (m, 4H), 1.5 (s, 9H), 1.55-1.95 (m, 10H), 2.4-2.7 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.2 (m, 1H), 4.4 (m, 1H), 5.1 (m, 2H), 5.35 (d, 1H), 7.35 (m, 5H).

实施例 V-9)



向实施例 V-8 产物(90 g)在 200 mL 冰醋酸内的溶液中加入 200 mL 4N HCl 的二氧杂环己烷溶液。将该反应混合物在 25℃ 搅拌 20 分钟, 然后在 40℃ 减压汽提掉所有溶剂, 获得了红棕色油状物。将该油状产物用 500 mL 水处理, 用 2×300 mL 二氯甲烷萃取。将合并的有机层用饱和碳酸氢钠溶液(100 mL)洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤, 汽提掉所有溶剂, 获得了本标题产物的粗产物。通过色谱法纯化, 获得了 45 g (62%) 纯的本标题产物。

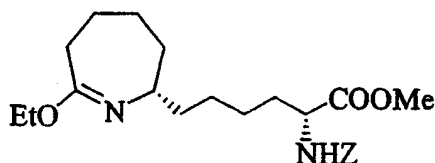
元素分析的计算值 $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 64.02; H, 7.68; N, 7.17. 实测值: C, 63.10; H, 7.88; N, 6.60.

^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.2-2.0 (m, 14H), 2.45 (t, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 4.38 (m, 1H), 5.1 (s, 2H), 5.3 (d, 1H), 5.45 (bs, 1H), 7.35 (m, 5H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , ppm): 14.09, 23.11, 24.89, 25.41, 29.53, 32.33, 35.52, 35.79, 36.68, 52.26, 53.51, 53.55, 53.60, 60.26, 66.86, 127.97, 128.05, 128.40, 136.18, 155.85, 172.85, 177.80.

$[\alpha]^{25} = -9.9^\circ$ (CHCl_3) 在 365 nm.

实施例 V-10)



向在用氩气吹扫过的 300 mL 二氯甲烷内的 45.0 g (0.115 mol) 实施例 V-9 产物样本中加入 23.0 g (0.121 mol) 三乙基氧四氟硼酸盐。将该混合物在 25℃ 搅拌 1 小时, 然后加入 150 mL 饱和碳酸氢钠水溶液。分离出二氯甲烷层, 用 150 mL 50% 氯化钠水溶液洗涤, 用硫酸钠干燥, 经由硅藻土过滤, 在 25℃ 浓缩, 获得了澄清的黄色油状物, 47.0 g (97%) 本标题产物。

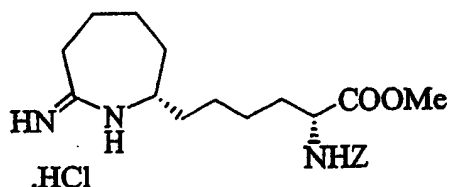
元素分析的计算值

$C_{23}H_{34}N_2O_5$: C, 60.01; H, 8.19; N, 6.69. 实测值: C, 65.13; H, 8.45; N, 6.64.

1H NMR ($CDCl_3$, ppm): 1.2 (t, 3H), 1.25-1.74 (m, 12H), 1.75-1.95 (m, 2H), 2.2-2.3 (m, 1H), 2.4-2.5 (m, 1H), 3.1 (m, 1H), 3.7 (s, 3H), 3.9-4.0 (m, 2H), 4.35 (m, 1H), 5.1 (s, 2H), 5.25 (d, 1H), 7.35 (m, 5H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, ppm): 14.23, 23.38, 25.01, 25.21, 26.10, 30.24, 32.16, 32.77, 33.92, 39.15, 52.22, 53.91, 58.05, 60.19, 66.92, 128.11, 128.33, 128.48, 136.27, 155.83, 166.29, 173.11, 177.64.

实施例 V-11)



向在 500 mL 甲醇内的 7.0 g (0.130 mol) 氯化铵中加入 31.2 g 实施例 V-10 标题产物 (45.0 g, 0.107 mol)。将该反应在 65℃ 回流 5 小时, 然后减压除去所有溶剂, 获得了 40 g (87%) 粗产物, 为泡沫状粘性物质。通过柱色谱法纯化该残余物, 获得了 37 g (81%) 本标题产物。

元素分析的计算值

$C_{21}H_{31}N_3O_4$: C, 59.22; H, 7.57; N, 9.86; Cl, 8.32. 实测值:

$C_{21}H_{31}N_3O_4 + 1.2 HCl + 0.5 H_2O$: C, 57.20; H, 7.99; N, 9.66; Cl, 9.62.

IR (Neat, $max\ cm^{-1}$): 2935, 1716, 1669.

1H NMR ($CDCl_3$, ppm): 1.2-2.0 (m, 13H), 2.5 (t, 1H), 2.95 (m, 1H), 3.4 (bs, 1H), 3.7 (s, 3H), 4.3 (m, 1H), 5.1 (s, 2H), 5.55 (d, 1H), 7.3 (m, 5H), 8.75 (bs, 1H), 8.9 (bs, 1H), 9.5 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, ppm): 23.20, 24.95, 25.22, 28.94, 31.80, 32.05, 33.75, 34.89, 52.33, 53.76, 56.07, 66.83, 127.93, 128.04, 128.43, 136.26, 156.00, 172.24, 172.87.

质量 (ESI): M/Z, 390.

$[\alpha]^{25} = +31.5^\circ$ 在 365 nm.

实施例 V)

将实施例 V-11 标题产物(36.0 g, 0.084 mol)在 1L 2.3N HCl 中回流 3 小时。冷却至室温后, 用 2×150 mL 二氯甲烷洗涤该溶液, 然后真空汽提掉所有溶剂, 获得了 25.6 g (96 %)本标题氨基酸产物, 为浅黄色泡沫状物。

元素分析的计算值 $C_{12}H_{23}N_3O_2 \cdot 2HCl$: C, 46.02; H, 8.01; N, 13.39; Cl 22.45.

实测值: $C_{12}H_{23}N_3O_2 + 2.2 HCl + 0.1 H_2O$: C, 42.76; H, 8.02; N, 12.41; Cl, 22.79.

IR (Neat, ν_{max} , cm^{-1}): 2930, 2861, 1738, 1665.

1H NMR (CD_3OD , ppm): 1.3-2.5 (m, 16H), 2.6 (dd, 1H), 2.8 (t, 1H), 3.65 (m, 1H), 4.0 (t, 1H), 7.85 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.95 (s, 1H).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm): 24.49, 25.67, 26.33, 29.71, 31.26, 32.45, 35.04, 35.87, 53.73, 57.21, 171.77, 173.96.

UV, 282 nm, abs 0.015.

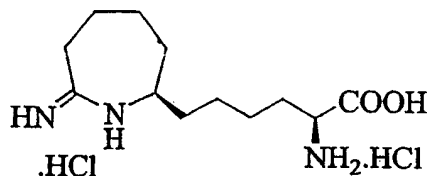
质量 (M^{+1}) = 242.

$[\alpha]^{25} = -47.4^\circ$ (MeOH) 在 365 nm.

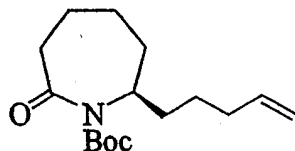
ee = 91% 用 CE 测定的在 $\lambda = 214$ nm.

实施例 W:

(S,2R)-氨基六氢-7-亚氨基-1H-氮杂-2-己酸, 三水合物盐酸盐

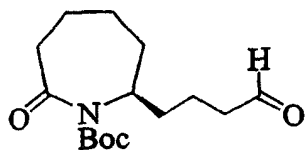


实施例 W-1)



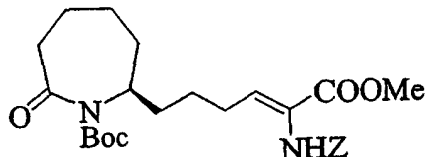
通过实施例 V-5 的方法, 将实施例 V-4 的 S-异构体产物(5.45 g, 0.030 mol)转化成 Boc 衍生物。色谱纯化后, 通过该反应获得了 6.3 g (75 %)所需标题产物。

1H NMR ($CDCl_3$, ppm): 1.3-1.6 (m, 4H), 1.5 (s, 9H), 1.6-1.9 (m, 6H), 1.95-2.05 (m, 2H), 2.5-2.7 (m, 2H), 4.2-4.25 (m, 1H), 4.95-5.05 (m, 2H), 5.7-5.85 (m, 1H).

实施例 W-2)

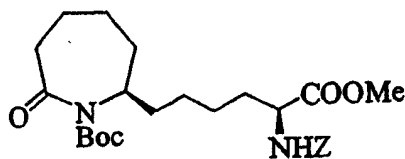
通过实施例 V-6 的方法，将实施例 W-1 产物(6.3 g, 0.025 mol)臭氧化，获得了 8.03 g 本标题醛粗产物，其不用进一步纯化直接使用。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1.3-1.6 (m, 4H), 1.5 (s, 9H), 1.6-1.9 (m, 6H), 2.45-2.75 (m, 4H), 4.2-4.25 (m, 1H), 9.75 (s, 1H).

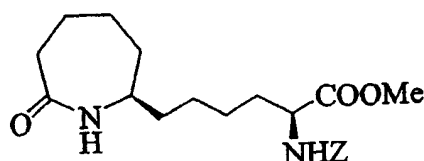
实施例 W-3)

通过实施例 V-7 的方法，将实施例 W-2 产物(8.03 g, 0.024 mol)与 N-(苄氧基羰基)- α -羧基甘氨酸三甲酯样本(7.9 g, 0.024 mol)缩合，色谱纯化后，获得了 4.9 g (44 %)所需标题产物。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1.25 (m, 2H), 1.5 (s, 9H), 1.51-1.9 (bm, 8H), 2.25 (m, 2H), 2.5 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 4.15-4.25 (m, 1H), 5.15 (s, 2H), 6.3-6.4 (bs, 1H), 6.45-6.55 (t, 1H), 7.3-7.4 (m, 5H).

实施例 W-4)

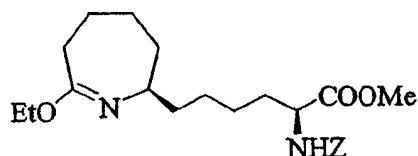
通过实施例 V-8 的方法，在 R,R-Rh-DIPAMP 催化剂存在下将实施例 W-3 产物(4.8 g, 0.010 mol)还原，色谱纯化后，获得了 2.9 g (60 %)所需标题产物。

实施例 W-5)

通过实施例 V-9 的方法, 通过用 HCl 处理将实施例 W-4 产物(2.9 g, 0.006 mol)脱保护, 获得了 2.3 g (100%)所需标题产物。

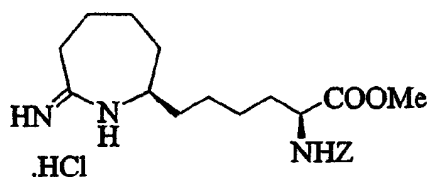
^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.3-2.0 (m, 14H), 2.45 (t, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 4.38 (m, 1H), 5.1 (s, 2H), 5.3 (d, 1H), 5.45 (bs, 1H), 7.35 (m, 5H).

实施例 W-6)



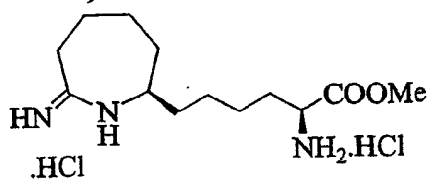
通过实施例 V-10 的方法, 用三乙基氧四氟硼酸盐将实施例 W-5 产物(0.56 g, 0.0015 mol)烷基化, 获得了 0.62 g (98%)所需标题产物。

实施例 W-7)



通过实施例 V-11 的方法, 用在甲醇中的氯化铵处理实施例 W-6 产物(0.62 g, 0.0015 mol), 色谱纯化后, 获得了 0.50 g (88%)所需标题产物。

实施例 W-8)



将溶解在 MeOH 中的实施例 W-7 产物(0.37 g, 0.0009 mol)加到帕尔氢化装置中。向该溶液中加入催化量的 5% Pd/C。引入氢, 让该反应在室温于 5 psi 压力下进行 7 小时。通过过滤除去催化剂, 在减压下将所有溶剂从滤液中除去, 获得了 0.26 g (定量)所需标题产物。

实施例 W)

将溶解在 2N HCl (30 mL)中的实施例 W-8 产物的溶液在回流状

态下保持 2 小时, 然后将其冷却至室温。减压除去所有溶剂, 将残余物溶解在 50 mL 水中。通过减压汽提将溶剂从该溶液中除去, 然后再溶解在 12 mL 水中, 冷冻干燥, 获得了 0.245 g (71%) 本标题化合物。

元素分析的计算值

$C_{12}H_{23}N_3O_2 \cdot 2.3 HCl \cdot 1.9 H_2O$: C, 40.10; H, 8.16; N, 11.69; Cl

22.69. 实测值: $C_{12}H_{23}N_3O_2 + 2.1 HCl + 0.7 H_2O$: C, 40.27; H, 8.28; N, 11.62; Cl, 22.70.

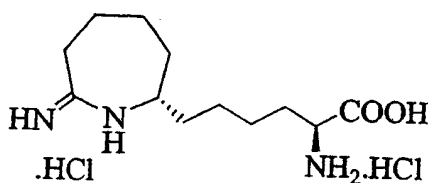
1H NMR (CD_3OD , ppm): 1.4-2.1 (m, 16H), 2.6 (dd, 1H), 2.8 (t, 1H), 3.65 (m, 1H), 4.0 (t, 1H), 7.85 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.9 (s, 1H).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm): 24.46, 25.64, 26.31, 29.69, 31.24, 32.54, 35.00, 35.83, 53.75, 57.20, 171.85, 173.93.

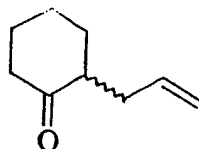
$[\alpha]^{25}_D = +25.7^\circ$ (MeOH) 在 365 nm.

实施例 X:

(S,2S)-氨基六氢-7-亚氨基-1H-氮杂-2-己酸, 三水合物盐酸盐



实施例 X-1)



向装配有高架搅拌器、半月形桨、加热套、热电偶和银真空夹套蒸馏柱(5 板)的 22 L 圆底烧瓶内加入环己酮(4500.0 g, 45.85 mol)、丙酮二甲基缩酮(5252.6 g, 50.43 mol)、烯丙醇(6390.87 g, 110.04 mol)和对甲苯磺酸(PTSA) (0.256 g, 0.001 mol)。开始搅拌(137 rpm)后, 以 70℃ 的初始设置点缓慢地加热烧瓶。梯度提高加热至烧瓶的最终温度为 150℃。提高反应器设置点的决定是基于蒸馏速度作出的。如果蒸馏速度减慢或停止了, 则再施以加热。另外加热至 150℃ 使得发生 Claisen 重排。在烧瓶温度增加至 150℃ 以后, 没有观察到任何馏出液, 放下加热套, 让该反应混合物冷却至 130℃。然后用 3 滴 2.5N NaOH 将 PTSA 中和。开始真空汽提, 将加热套从烧瓶中放下。使用蒸发冷却

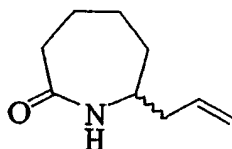
来降低烧瓶温度，将压力逐渐降至 40 mm Hg。当烧瓶温度已降至约 100℃时，再把加热套提升至适当位置以进行加热。蒸馏除去未反应的环己酮和低沸点杂质。缓慢地提高烧瓶温度(烧瓶与蒸汽之间的最大温差为约 12℃)。在 109 - 112℃@ 40 mm Hg 分离出产物。典型产率为 40 - 45%。将<95% (面积 (GC)) 的级份合并，再次蒸馏，以 55% 的总产率获得了本标题产物。

^1H NMR (CDCl_3 , δ ppm): 5.8-5.6 (m, 1H), 4.8-5.0 (m, 2H), 2.5-2.4 (m, 1H), 2.3-2.1 (m, 3H), 2.1-1.2 (m, 7H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ ppm): 212.53, 136.62, 116.32, 50.39, 42.18, 33.91, 33.52, 28.09, 25.10.

GC/MS m/z = 138.

实施例 X-2)



将溶解在乙酸(470 g)中的羟基胺-O-磺酸(91.8 g)加到装配有机械搅拌器、热电偶、冷却至 0℃的冷凝器和加液漏斗的 1L Bayer 烧瓶内，并加热至 70℃。用约 40 分钟将烯丙基环己酮(100 g)滴加到上述溶液中，同时把温度保持在 70 - 78℃。在加入期间，反应混合物的外观从白色浆液变为澄清的橙色溶液。加入完成后，将该反应在 75℃加热和搅拌 5 小时。每小时取一次 IPC 样本。反应完全后，用旋转蒸发仪在 50℃于减压条件下把乙酸汽提。然后向残余物中加入水(200 mL)，用甲苯(2×300 mL)萃取该溶液。将有机层合并，用水(150 mL)处理，搅拌 10 分钟。加入氢氧化钠溶液(79.4 g 的 50 溶液)直至水层变为碱性(pH 12)。通过把温度控制在 40℃以下来在反应器中进行中和。然后分离各层，让甲苯层经过滤器来除去任何固体或焦油物质。然后用旋转蒸发仪在 50℃于减压条件下汽提该有机溶液。在 3 L 反应器内，将残余物置于甲苯(510 mL)和庚烷(2040 mL)中，并加热至 60℃。获得了澄清的黄橙色溶液。在搅拌下将该溶液缓慢地冷却至 5℃，本标题产物在 53

℃开始结晶。过滤出固体，用庚烷(50 mL)洗涤，在真空下于 40℃干燥过夜，获得了 66.3 g (60%)本标题产物，为灰白色晶体。将一部分该产物从甲苯和庚烷中重结晶，获得了本标题产物，为白色固体结晶。

^1H NMR (CDCl_3 , δ ppm): 5.8-5.6 (m, 1H), 5.5 (bs, 1H), 4.8-5.0 (m, 2H), 3.4-3.3 (m, 1H), 2.5-2.3(m, 2H), 2.3-2.1 (m, 2H) 2.0-1.2 (m, 6H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ ppm): 117.73, 133.83, 119.31, 52.88, 40.95, 37.20, 35.75, 29.96, 23.33.

GC/MS (EI mode) = 153.

m.p. = 97-99 °C.

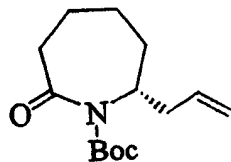
实施例 X-3)



在 Chiralpac AS 20 μm 柱上，通过手性色谱法分离实施例 X-2 的外消旋产物混合物，用 100% 乙腈洗脱。在检测器中采用 220 nm 的波长。使用 0.08 g/mL 乙腈的样本负载量，以 90% 的收率获得了分别具有 >95% ee 的分离出的异构体。将一部分 R-异构体从甲苯和庚烷中重结晶，获得了 R-异构体标题产物，为白色固体结晶。

R-异构体: m.p. = 81-82℃。

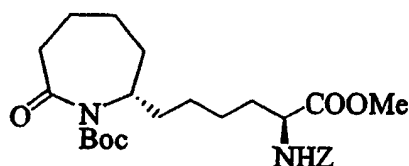
实施例 X-4)



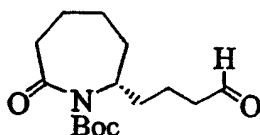
将装配有滴液漏斗、热电偶和机械高架搅拌器的五颈平底烧瓶抽真空，用氮气吹扫 3 次。将实施例 X-3 的 R-异构体产物内酰胺(100.0 g, 0.653 mol)、DMAP (7.98 g, 65 mmol)和 N-二异丙基乙胺(Hünigs 碱, 113.3 g, 0.876 mol)溶解在甲苯(350 mL)中，加入溶解在甲苯(100 mL)

中的二碳酸二叔丁酯(170.2 g, 0.78 mol)。(注意:当使用 2.0 当量 Hünigs 碱时,反应进行得更好)。将该混合物加热至 65℃(注意:在反应期间观察到稳定的气体释放)。1.5 小时后,再加入溶解在甲苯(50 mL)中的 86.25 g 二碳酸二叔丁酯(0.395 mol)。继续加热 17 小时,通过 HPLC 进行的 IPC 表明转化了 75。再加入在甲苯(30 mL)中的 42.78 g 二碳酸二叔丁酯(0.196 mol),将该棕色混合物加热 5.5 小时。冷却至室温后,用 4M HCl (215 mL)处理该混合物,用甲苯(2×80 mL)萃取水层。将合并的有机层用 NaHCO₃ (170 mL)和 250 mL 水洗涤(注意:在处理期间通过在外用冰/水冷却来控制内温)。观察到了气体释放。将有机层蒸发,获得了 257.4 g 棕色液体。通过用 SiO₂ (950 g)塞过滤来纯化粗产物,用甲苯/EtOAc 9/1 (6 L)和甲苯/AcOEt 1/1 (0.5 L)洗脱,获得了 139.5 g (51%)本标题产物,为黄色液体。

实施例 X-5)

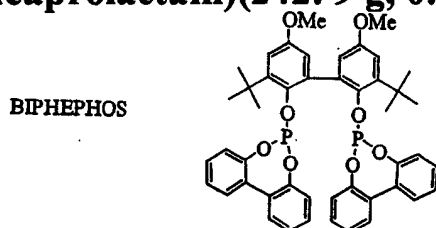


实施例 X-6)



实施例 If

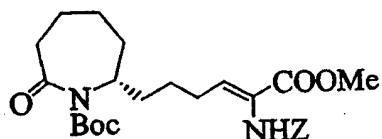
向装配有挡板和六叶片气体分散轴叶轮的 2-L 不锈钢高压釜内加入 Rh(CO)₂(acac) (0.248 g, 0.959 mmol)、BIPHEPHOS (其结构如下所示,是按照 US 专利 4,769,498 实施例 13 中描述的方法制得的, 2.265 g, 2.879 mmol)、实施例 X-4 产物(N-(叔丁氧基羰基)-S-7-烯丙基己内酰胺(allylcaprolactam)(242.9 g, 0.959 mol)和甲苯(965 g)。



将该反应器密封，用 100 % 一氧化碳(8×515 kPa)吹扫。用 100 % 一氧化碳将该反应器加压至 308 kPa (30 psig)，然后加入 1:1 CO/H₂ 气体混合物来获得 515 kPa (60 psig) 的总压力。在剧烈机械搅拌下，将该混合物加热至 50℃，同时加入 1:1 CO/H₂ 气体混合物以把总压力保持在约 515 kPa (60 psig)。22 小时后，将该混合物冷却至约 25℃，小心地释放压力。将产物混合物真空过滤，将滤液减压蒸发，获得了 267.7 g 浅黄色油状物。¹H NMR 分析表明，原料基本上是定量转化，对实施例 V-6 的相应醛产物的选择性是约 96 %。该油状物不用进一步纯化直接用于下一实施例。

¹H NMR (CDCl₃) 1.47 (s, 9H), 1.6-1.80 (m, 9H), 1.84-1.92(m, 1H), 2.41-2.58 (m, 3H), 2.61-2.71 (m, 1H), 4.2 (d, *J*=5.2 Hz, 1H), 9.74 (s, 1H).

实施例 X-8)



实施例 1g

向溶解在 CH₂Cl₂ 中并冷却至 0℃的 N-(苄氧基羰基)-α-酮酰基甘氨酸三甲酯样本(901.8 g, 2.7 mol)内加入 DBU (597.7 g, 3.9 mol)在 CH₂Cl₂ 中的溶液。将该澄清的无色反应混合物在 0℃ - 6℃ 搅拌 1 小时，然后在 -5℃ - -1℃ 滴加在 CH₂Cl₂ 中的实施例 V-6 的 Boc-醛产物样本 (812.0 g, 2.9 mol)。如实施例 V-7 所述完成反应、后处理和纯化，获得了 1550 g 实施例 V-7 的标题产物，其中含有少量 CH₂Cl₂。

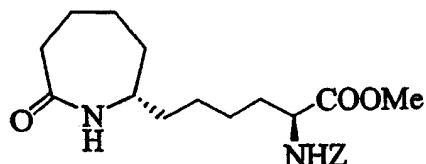
实施例 X-9)

向实施例 V-7 产物(100 g, 0.20 mol)的 MeOH (1 L)溶液中加入 3 g RR-Rh-DIPAMP 催化剂。氢化在帕尔装置中于 25℃ 进行 1.5 小时。将该反应混合物经由硅藻土过滤，然后浓缩，获得了实施例 X-9 标题产

物的粗产物，为棕色油状物(100 g)。

^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.35 (m, 4H), 1.5 (s, 9H), 1.6-1.9(m, 10H), 2.5-2.8 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.25 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 5.1 (m, 2H), 5.65 (d, 1H), 7.35 (m, 5H).

实施例 X-10)

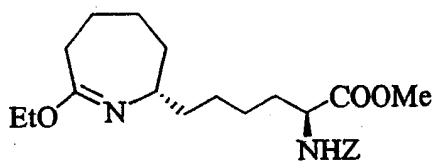


向实施例 V-8 产物(100 g)在 200 mL 冰醋酸内的溶液中加入 25 mL 4N HCl 的二氧杂环己烷溶液。将该反应混合物在 25℃ 搅拌 20 分钟，然后在 40℃ 减压汽提掉所有溶剂，获得了 105 g 红棕色油状物。将该油状产物用 500 mL 水处理，用 2×300 mL 二氯甲烷萃取。将合并的有机层用饱和碳酸氢钠溶液(100 mL)洗涤，用硫酸镁干燥，过滤，汽提掉所有溶剂，获得了 99.9 g 本标题产物，为红棕色油状物。

^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.25-2.0 (m, 14H), 2.45 (t, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.7 (s, 3H), 4.35 (m, 1H), 5.1 (s, 2H), 5.5 (d, 1H), 6.45 (bs, 1H), 7.35 (m, 5H).

ee = 95% 通过手性 HPLC 测定的。

实施例 X-11)



向在用氩气吹扫过的 600 mL 二氯甲烷内的 30.0 g (0.077 mol) 实施例 X-10 产物样本中加入 15.7 g (0.082 mol) 三乙基氧四氟硼酸盐。将该混合物在 25℃ 搅拌 1 小时，然后加入 300 mL 饱和碳酸氢钠水溶液。分离出二氯甲烷层，用 300 mL 50% 氯化钠水溶液洗涤，用硫酸钠干燥，经由硅藻土过滤，在 25℃ 浓缩，获得了澄清的黄色油状物，31.2 g (~97%) 本标题产物。

元素分析的计算值 $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 60.01; H, 8.19; N, 6.69. 实测值: $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5$ + 0.5 H_2O : C, 64.66; H, 8.24; N, 6.59.

^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.2 5(t, 3H), 1.28-1.75 (m, 12H), 1.8-1.98 (m, 2H), 2.2-2.3 (m, 1H), 2.4-2.5 (m, 1H), 3.1 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.9-4.0 (m, 2H), 4.35 (m, 1H), 5.1 (s, 2H), 5.25 (d, 1H), 7.35 (m, 5H).

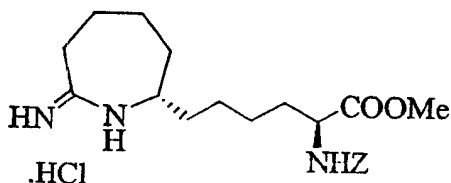
^{13}C NMR (CDCl_3 , ppm): 14.27, 23.36, 25.21, 25.53, 26.09, 30.22, 32.15, 32.73, 33.90, 39.14, 52.21, 53.89, 58.04, 60.33, 66.89, 128.11, 128.35, 128.48, 136.29, 155.86, 166.30, 173.14, 177.69.

IR (Neat, max, cm^{-1}): 3295, 2920, 1739, 1680.

UV, 257 nm, abs 0.015.

$[\alpha]^{25} = +39.8^\circ$ (CHCl_3) 在 365 nm.

实施例 X-12)



向在 500 mL 甲醇内的 4.2 g (0.078 mol)氯化铵中加入 31.2 g 实施例 X-11 标题产物。将该反应在 65℃回流 5 小时，然后减压除去所有溶剂，获得了 29 g (92 %)粗产物，为泡沫状粘性物质。通过柱色谱法纯化该残余物，获得了 23 g (70 %)本标题产物。

元素分析的计算值 $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_4 \cdot \text{HCl}$ C, 59.28; H, 7.57; N, 9.89; Cl, 8.39. 实测值: ($\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_4 + \text{HCl} + 1 \text{ H}_2\text{O}$): C, 56.73; H, 7.74; N, 9.40; Cl, 8.06.

IR (Neat, max cm^{-1}): 3136, 30348, 2935, 1716, 1669.

^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.3-2.05 (m, 13H), 2.5 (t, 1H), 2.98 (m, 1H), 3.4 (bs, 1H), 3.75 (s, 3H), 4.35 (m, 1H), 5.1 (s, 2H), 5.5 (d, 1H), 7.35 (m, 5H), 8.75 (s, 1H), 9.0 (s, 1H), 9.5 (s, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , ppm): 23.25, 25.01, 25.34, 29.01, 31.88, 32.26, 33.89, 35.06, 52.33, 53.73, 56.20, 66.89, 127.95, 128.06, 128.45, 136.27, 155.93, 172.27, 172.80.

UV, 257 nm, abs 0.009.

质量 (ESI): M/Z, 390.

$[\alpha]^{25} = -42.8^\circ$ (MeOH) 在 365 nm.

ee = 96% 通过手性 HPLC 测定的

实施例 X)

将实施例 X-12 标题产物(23 g)在 500 mL 2N HCl 中回流 5 小时。然后真空除去所有溶剂，将残余物再溶解在水中，用 2×300 mL 二氯

甲烷洗涤。将该水溶液真空浓缩，获得了 17 g (100%) 本标题产物，为浅棕色吸湿性固体。

元素分析的计算值 $C_{12}H_{23}N_3O_2 \cdot 2HCl$: C, 45.86; H, 8.02; N, 13.37; Cl 22.56.

实测值: $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2 + 2.1 \text{HCl} + 0.7 \text{H}_2\text{O}$: C, 43.94; H, 8.65; N, 12.52; Cl, 22.23.

IR (Neat, cm^{-1}): 2936, 1742, 1669.

¹H NMR (CD₃OD, ppm): 1.3-2.1 (m, 16H), 2.6 (dd, 1H), 2.8 (t, 1H), 3.65 (m, 1H), 4.0 (t, 1H), 7.85 (s, 1H), 8.4 (s, 1H), 8.95 (s, 1H).

¹³C NMR (CD₃OD, ppm): 24.49, 25.67, 26.33, 29.71, 31.26, 32.45, 35.04, 35.87, 53.73, 57.21, 171.77, 173.96.

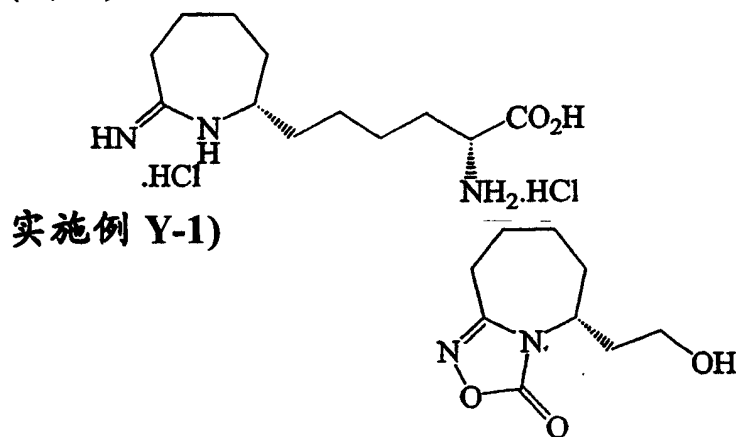
UV, 209 nm, abs 0.343.

质量 (M^{+1}) = 242.

$$[\alpha]^{25} = +60.0^\circ \text{ (MeOH) 在 } 365 \text{ nm.}$$
$$ee = 92\%$$
 用 CE 测定的在 $\lambda_{max} = 210 \text{ nm}$.

实施例 Y

(R,2S)-氨基六氢-7-亚氨基-1H-氮杂-2-己酸, 三水合物盐酸盐

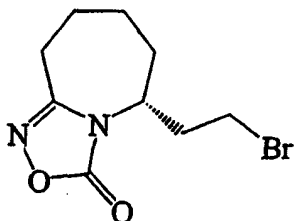


将实施例 X-3 (3.0 g, 0.015 mol) 在二氯甲烷与甲醇(75/45 mL)中的溶液在干冰浴中冷却至 -78℃。搅拌该反应, 同时以 3 ml/分钟 的流速向该溶液中通入臭氧。当溶液保持持续的深蓝色时, 除去臭氧, 用氮气吹扫该反应。向该冷溶液中非常缓慢地加入硼氢化钠(2.14 g, .061 mol), 以将气体的释放减至最少。向该反应中缓慢地加入冰醋酸以把 pH 调节至 3。然后用饱和碳酸氢钠中和该反应。将有机层用 3×50 mL 盐水洗涤, 用无水硫酸镁干燥, 减压除去溶剂。让该苍白色油状物经过二氧化硅(15 g)塞, 获得了醇 5.15 g, 0.026 mol (64%)。C₉H₁₄N₂O₃。

^1H NMR (CDCl_3 , ppm) 1.18 - 2.15(m, 8H), 3.59(m, 2H), 4.39(m, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , ppm) 24.45, 25.71, 26.47, 32.56, 34.67, 51.16, 58.85, 160.66, 160.89.

实施例 Y-2)



在冰浴内，在 0°C ，向实施例 Y-1 (5.15 g, 0.026 mol) 在二氯甲烷 (100 mL) 内的溶液中加入四溴化碳 (10.78 g, 0.033 mol)。将该溶液在冰浴中冷却至 0°C 。然后分批加入三苯基膦 (10.23 g, 0.39 mol) 以不让温度超过 3°C 。将该反应搅拌 2 小时，真空除去溶剂。通过快速色谱法纯化粗产物，以 87% 的产率获得了溴化物 (5.9 g, 0.023 mol)。

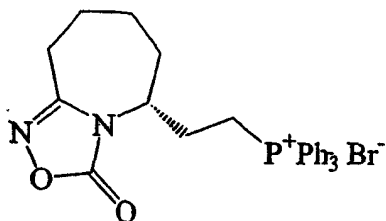
元素分析的计算值 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 41.40; H, 5.02; N, 10.73; Br, 30.60.

实测值: C, 41.59; H, 5.07; N, 10.60, Br, 30.86.

^1H NMR (CDCl_3 , ppm) 1.50 - 2.60 (m, 9H), 2.99 (dd, 1H), 3.35 (m, 2H), 4.41 (m, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , ppm) 23.89, 25.33, 26.04, 28.06, 31.59, 35.05, 52.79, 159.3, 160.2.

实施例 Y-3)



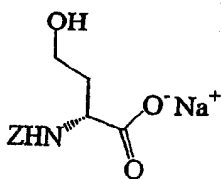
向实施例 Y-2 (5.71 g, 0.026 mol) 在甲苯 (25 mL) 内的溶液中加入三苯基膦 (7.17 g, 0.027 mol)。将该反应在油浴中回流 16 小时。冷却后，倾析出甲苯，获得了玻璃状固体。用乙醚将该固体研制过夜，以 90% 的产率获得了溴化磷 (10.21 g, 0.020 mol)。

^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.50 - 2.9 (m, 11H), 3.58 (m, 1H), 4.16 (m, 1H), 4.41 (m, 1H), 7.6-8.0 (m, 15H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , ppm): 24.43, 24.97, 25.50, 55.08, 55.27, 116.9, 118.1, 130.4, 130.6, 133.5, 135.1, 135.2, 159.4, 160.

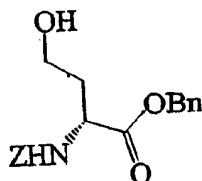
^{31}P NMR (CDCl_3 , ppm) 26.0.

实施例 Y-4)



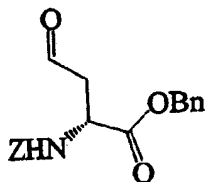
向 1N 圆底烧瓶中加入在乙醇(500 mL)中的 N-苄氧基羰基-D-高丝氨酸内酯(97 g, 0.442 mol)。向该反应中加入氢氧化钠溶液(1M, 50mL)。通过薄层色谱监测该反应 12 小时, 直至原料已消耗完。加入甲苯(60 mL), 然后真空除去溶剂。该残余物不用进一步纯化直接使用。

实施例 Y-5)



在 1L 圆底烧瓶内, 将实施例 Y-4 的残余物悬浮在 DMF 中。向该悬浮液中加入苄基溴(76.9 g, 0.45 mol, 53.5 mL), 将该混合物搅拌 1 小时。处理该样本, 通过质谱分析样本, 结果表明原料已消耗, 并且没有在形成内酯。向该反应中加入 1L 乙酸乙酯和 500 mL 盐水。将水层用 500 mL 乙酸乙酯洗涤 2 次。合并有机层, 用 MgSO_4 干燥, 并浓缩。通过硅胶色谱纯化, 获得了 N-苄氧基羰基-S-高丝氨酸苄酯, 为白色固体(80 g)。

实施例 Y-6)



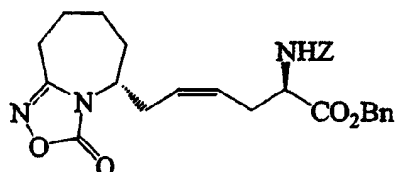
向 2L 圆底烧瓶内加入悬浮在 CH_2Cl_2 (600 mL) 中的吡啶氯铬酸盐(187 g, 0.867 mol)和硅胶(197 g)。向该浆液中加入实施例 Y-5 产物(80 g, 0.233 mol)在 CH_2Cl_2 (600 mL) 中的溶液。将该混合物搅拌 4 小时。薄

层色谱表明原料已消耗完。向该溶液中加入 1 L 乙醚。然后依次经由硅藻土垫和硅胶垫过滤该溶液。真空除去溶剂，通过硅胶色谱纯化所得油状物，以 38 % 的总产率获得了醛(58.8 g)。

MH⁺342.5, MH+NH₄⁺359.5.

¹H NMR (CDCl₃, ppm) 3.15 (q, 2H), 4.12 (m, 1H), 5.15 (s, 2H), 5.20 (s, 2H), 7.31 (m, 10H), 9.72 (s, 1H).

实施例 Y-7)



向 3 L 三颈烧瓶内加入已经用 P₂O₅ 真空干燥的在 THF(1 L)中的得自实施例 Y-3 的磷盐(56.86 g, 0.11 mol)。在干冰浴内将该浆液冷却至 -78℃。向该冷浆液中滴加 KHMDS (220 mL, 0.22 mol)，让温度不超过 -72℃。将该反应在 -78℃ 搅拌 20 分钟，然后在 -45℃ 搅拌 2 小时。再让温度降至 -78℃，用 45 分钟滴加在 THF (50 mL) 中的得自实施例 Y-6 的醛(15.9 g, 0.047 mol)。将该反应在 -77℃ 搅拌 30 分钟，然后温热至 -50℃ 并保持 1 小时，用 4 小时让其温热至室温。向该反应中加入乙酸乙酯(200 mL)和饱和氯化铵。收集有机层，用 MgSO₄ 干燥，并真空浓缩。通过硅胶色谱纯化该油状粗产物，以 81 % 的产率获得了烯烃化合物(45.1 g)，为浅黄色粘性油状物。

¹H NMR (CDCl₃, ppm) 1.4-2.6 (m, 10H), 2.92(d, 1H), 4.17(m, 1H), 4.38(m, 1H), 5.05(q, 2H), 5.40(m, 2H), 7.3(m, 10H).

¹³C NMR (CDCl₃, ppm) 29.49, 29.64, 31.32, 39.60, 49.56, 53.98, 61.01, 65.25, 124.14, 127.81, 128.20, 128.55, 128.79, 129.30, 130.96, 135.68, 137.31, 152.59, 157.57, 171.61.

实施例 Y)

向 20 mL 瓶中加入在二氧杂环己烷(50 mL)和 4N 盐酸(250 mL)内的实施例 Y-7 产物(19.77 g, 0.039 mol)。将该溶液与催化量的 10 % Pd 碳加到氢化烧瓶中。用 H₂ 将该烧瓶加压(50 psi) 5 小时。通过质谱监测该反应，结果表明原料已消耗。将该溶液经由硅藻土垫过滤，用水洗涤。通过冷冻干燥除去溶剂，以 81 % 的产率获得了本标题化合物

(7.52 g).

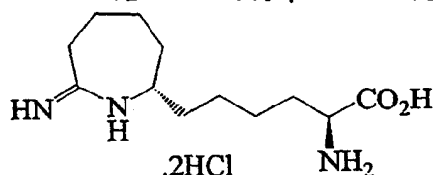
MH^+ 242.2, $MH+NH_4^+$ 259.2.

1H NMR (CD_3OD ppm) 1.2-2.0 (m, 15H), 2.42 (d, 1H), 2.65 (dd, 1H), 3.49 (m, 1H), 3.98 (t, 1H), 7.26 (s), 8.05 (s), 8.35 (s).

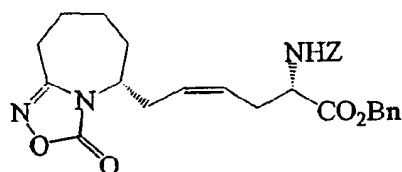
^{13}C NMR ($CDCl_3$, ppm) 24.43, 25.58, 26.00, 26.10, 32.75, 33.45, 35.31, 53.76, 54.55, 157.27, 175.13.

实施例 Z

(S,2S)-氨基六氢-7-亚氨基-1H-氮杂-2-己酸, 三水合物盐酸盐



实施例 Z-1)



向 1 L 三颈烧瓶内加入在 THF (200 mL) 中的得自实施例 Y-3 的磷盐(21.21g, 0.041 mol)。在干冰浴中将该浆液冷却至 $-78^\circ C$ 。向该冷浆液中滴加 $KHMDS$ (88 mL, 0.044 mol), 让内温不超过 $-72^\circ C$ 。将该反应在 $-78^\circ C$ 搅拌 20 分钟, 然后在 $-45^\circ C$ 搅拌 1 小时。再让温度降至 $-78^\circ C$, 用 45 分钟滴加在 THF (50 mL) 中的醛(15.9 g, 0.047 mol) (如实施例 Y(4-6)所述用 N-苄氧基羰基-L-高丝氨酸内酯制得的)。将该反应在 $-77^\circ C$ 搅拌 30 分钟, 然后温热至 $-50^\circ C$ 并保持 30 分钟, 用 4 小时让其温热至室温。向该反应中加入乙酸乙酯(100 mL)和饱和氯化铵。收集有机层, 用 $MgSO_4$ 干燥, 并真空浓缩。通过硅胶色谱纯化该油状粗产物, 以 45% 的产率获得了烯烃化合物(9.0 g), 为浅黄色粘性油状物。

1H NMR ($CDCl_3$, ppm) 1.4-2.6 (m, 10H), 2.92 (d, 1H), 4.17 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 5.05 (q, 2H), 5.40 (m, 2H), 7.3 (m, 10H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, ppm) 29.49, 29.64, 31.32, 39.60, 49.56, 53.98, 61.01, 65.25, 124.14, 127.81, 128.20, 128.55, 128.79, 129.30, 130.96, 135.68, 137.31, 152.59, 157.57, 171.71.

实施例 Z)

向 20 mL 瓶中加入在二氧杂环己烷(5 mL)和 4N 盐酸(16 mL)内的

实施例 Z-1 产物。将该溶液与催化量的 10 % Pd 碳加到氢化烧瓶中。用 H₂ 将该烧瓶加压(50 psi) 5 小时。通过质谱监测该反应, 结果表明原料已消耗。将该溶液经由硅藻土垫过滤, 用水洗涤。通过冷冻干燥除去溶剂, 以 79.4 % 的产率获得了本标题化合物(98.7 mg)。

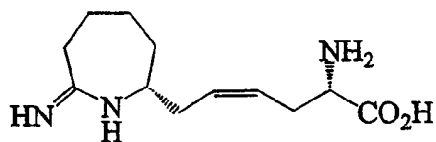
MH⁺ 242.2, MH+NH₄⁺ 259.2.

¹H NMR (CD₃OD, ppm) 1.2-2.0 (m, 15H), 2.42 (d, 1H), 2.6 (dd, 1H), 3.49 (m, 1H), 3.98 (t, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃, ppm) 24.43, 25.58, 26.00, 26.10, 32.75, 33.45, 35.31, 53.76, 54.55, 157.27, 175.13.

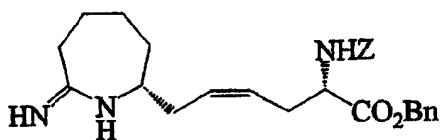
实施例 AA

(2S,4Z)-2-氨基-6-[(2R)-六氢-7-亚氨基-1H-氮杂-2-基]-4-己烯酸



实施例 AA-1)

(2S,4Z)-6-[(2R)-六氢-7-亚氨基-1H-氮杂-2-基]-2-[[[(苯基甲氧基)羰基]氨基]-4-己烯酸苯基甲酯



向 50 mL 烧瓶内加入在甲醇(25 mL)中的实施例 Z-1 样本(1.5 g, 2.97 mmol)。然后将 60 % 冰醋酸溶液(16 mL)加到该反应混合物中。观察到了沉淀。再加入甲醇以溶解固体(1 mL)。然后向该反应中加入锌粉(0.200 g)。将该反应超声处理 4 小时, 期间将温度保持在 37℃。通过 TLC 和 MS 监测该反应直至原料已消耗完, 并观测到与产物相当的质量。倾析该溶液以与锌分离开, 向滤液中加入 30 % 乙腈/水水溶液(100 mL)。在 Water Preparatory HPLC 上用 52 % 乙腈/水纯化该反应 2 次[在 30 分钟内从 20 % 到 70 % 乙腈的梯度]。将所得产物冷冻干燥, 以 73 % 的产率获得了实施例 AA-1 的标题产物(1.01 g), 为白色固体。

MH^+ 464.4, $MH+Na^+$ 486.4.

1H NMR (CD_3OD , ppm): 1.2-2.0 (m, 8H), 2.42 (m, 2H), 2.6 (m, 5H), 3.49 (q, 1H), 4.31 (t, 1H), 5.15 (s, 2H), 5.22 (s, 2H), 5.43 (q, 1H), 5.59 (q, 1H), 7.25 (bs, 10H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, ppm): 24.37, 29.61, 30.76, 32.45, 33.73, 34.42, 55.40, 57.09, 68.06, 68.07, 122.3, 124.9, 128.76, 129.09, 129.28, 129.39, 129.51, 129.61, 155.71, 158.35, 173.90.

实施例 AA)

向 250 mL 烧瓶内加入在 4 M HCl (100 mL) 中的实施例 AA-1 产物 (1.0 g, 2.2 mmol)。将该反应回流过夜, 通过 MS 监测直至原料已消耗完, 并观测到关于产物的质量。不用进一步后处理, 在 Water's 制备反相柱上用 18% 乙腈/水纯化该反应 2 次 [在 30 分钟内从 0% 到 30% 乙腈/水]。将合并的级份冷冻干燥, 以 64% 的产率获得了本标题产物 (0.34g), 为乳色泡沫状物。

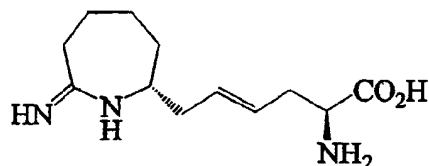
MH^+ 240.3, $MH+Na^+$ 486.4.

1H NMR (CD_3OD , ppm): 1.2-2.0 (m, 6H), 2.35 (m, 2H), 2.45 (dd, 2H), 2.69 (m, 2H), 3.61 (dt, 1H), 3.98 (t, 1H), 5.59 (m, 1H), 5.65 (m, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, ppm): 23.65, 24.66, 32.51, 32.84, 33.1, 33.25, 54.10, 56.1, 126.80, 129.33, 153.33, 172.52.

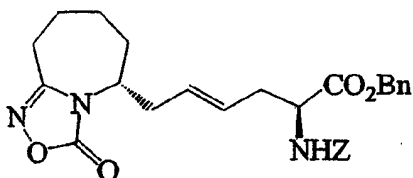
实施例 BB

(2S,4E)-2-氨基-6-[(2R)-六氢-7-亚氨基-1H-氮杂-2-基]-4-己烯酸



实施例 BB-1)

(2S,4E)-2-[(苯基甲氧基)羰基]氨基]-6-[(5R)-6,7,8,9-四氢-3-氧代-3H,5H-[1,2,4]恶二唑并[4,3-a]氮杂-5-基]-4-己烯酸, 苯基甲酯



向 250 mL 烧瓶内加入在环己烷 (70 mL) / 苯 (40 mL) 溶液中的实施例 Z-1 产物 (2.0 g, 3.9 mmol) 和二硫苯 (phenyl disulfide) (0.860 g, 3.9

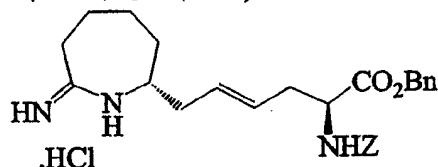
mmol)。向该溶液中通入氮气以除去氧系统。将该反应暴露于短波 UV 灯一个周末。通过正相 HPLC (乙酸乙酯/己烷)评价该反应,观测到有 71 % 反式异构体和 29 % 顺式异构体。将该反应在 UV 下再进行 3 天,这时有 84 % 原料转化成了反式异构体,剩余 16 % 顺式异构体原料。通过色谱法纯化,以 48 % 的产率获得了实施例 BB-1 (0.956 g)。

MH^+ 506.1, $MH+NH_4^+$ 523.2.

1H NMR (CD_3OD , ppm): 1.2-2.0 (m, 8H), 2.42-2.6 (m, 6H), 2.91 (dd, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.31 (dt, 1H), 5.09 (s, 2H), 5.11 (s, 2H), 5.18 (dt, 1H), 5.27(m, 1H), 7.25 (bs, 10H).

实施例 BB-2)

(2S,4E)-6-[(2R)-六氢-7-氨基-1H-氮杂-2-基]-2-[[(苯基甲氧基)羰基]氨基]-4-己烯酸苯基甲酯, 一盐酸盐



通过实施例 AA-1 的方法,用锌粉(1.5 g)和 60 % HOAc/ H_2O (40 mL) 将实施例 BB-1 产物(0.956 g, 1.9 mmol)在 MeOH (80mL)中脱保护。通过反相色谱纯化所得产物,以 28 % 的产率获得了本标题产物(0.248 g)。

实施例 BB)

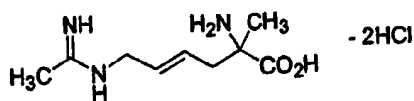
通过实施例 AA 的方法,使用 HCl (2 mL)、 H_2O (2 mL)、 CH_3CN (4 mL)将实施例 BB-2 产物(0.248 g, 0.53 mmol)转化成本标题产物。通过反相色谱纯化该粗产物,以 57 % 的产率获得了实施例 BB 标题产物 (0.073g)。

MH^+ 240.3, $MH+Na^+$ 486.4.

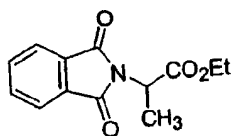
1H NMR (CD_3OD , ppm) 1.2-2.0 (m, 6H), 2.35 (t, 2H), 2.55-2.82 (m, 4H), 3.68 (dt, 1H), 4.05 (t, 1H), 5.65 (m, 2H).

实施例 CC

(E)-2-氨基-2-甲基-6-[(1-亚氨基乙基)氨基]-4-己烯酸, 二盐酸盐



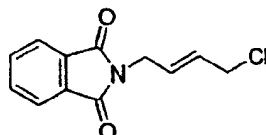
实施例 CC-1)



将 DL-丙氨酸乙酯盐酸盐(5 g, 32.5 mmol)悬浮在甲苯(50 mL)中。加入三乙胺(4.5 mL, 32.5 mmol), 然后加入邻苯二甲酸酐(4.8 g, 32.5 mL)。给反应烧瓶装配迪安斯塔克分水器和回流冷凝器, 将该混合物加热回流过夜。收集约 10 mL 甲苯/水。将该反应混合物冷却至室温, 用氯化铵水溶液和 EtOAc 稀释。分离各层, 用 EtOAc 萃取水层(3×)。将乙酸乙酯萃取液用盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并真空浓缩, 以近乎定量产率获得了本标题邻苯二甲酰基-保护的氨基酸, 为白色固体结晶。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm): 1.2 (t, 3H), 1.6 (d, 3H), 4.2 (m, 2H), 4.9 (q, 1H), 7.7 (m, 2H), 7.9 (m, 2H)

实施例 CC-2)

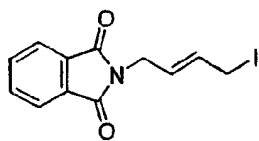


将邻苯二甲酰亚氨基钾(18.5 g, 0.1 mol)加到含有 1,4-丁烯二氯化物(25g, 0.2 mol)的 250 mL 圆底烧瓶中, 在 150℃加热 1.5 小时。将该混合物冷却至室温, 在盐水与 Et_2O 之间分配。将有机层用 MgSO_4 干燥, 过滤并真空浓缩。将残余物从热乙醇中重结晶, 获得了本标题产物 1-氯-4-邻苯二甲酰亚氨基丁烯(8.9 g, 39%), 为橙色晶体。

HRMS 计算值 $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClNO}_2$: $m/z = 236.0478$ [M+H]. 实测值: 236.0449

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , ppm): 4.1 (d, 2H), 4.3 (d, 2H), 5.9 (m, 2H), 7.7 (m, 2H), 7.9 (m, 2H)

实施例 CC-3)

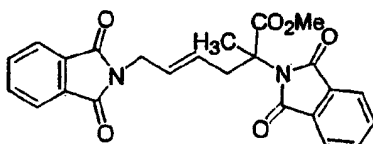


将实施例 CC-2 产物样本(2.3 g, 9.8 mmol)溶解在丙酮(50 mL)中。加入 NaI (3.2 g, 21 mmol), 将该混合物回流过夜。冷却至室温后, 加入 Et₂O, 将该混合物依次用硫代硫酸钠和盐水洗涤。将有机层用 MgSO₄ 干燥, 过滤并真空浓缩, 获得了本标题碘化物(2.8 g, 87.5%), 为浅黄色固体, 其不用进一步纯化直接使用。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm): 3.8 (d, 2H), 4.2 (d, 2H), 5.7 (m, 1H), 6.0 (m, 1H), 7.7 (m, 2H), 7.9 (m, 2H)

质量 (M+1)=328

实施例 CC-4)

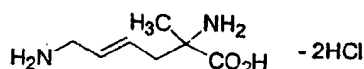


将 KHMDS (2.6 g, 13.3 mmol)在 THF (50 mL)中的溶液冷却至-78 °C。加入实施例 CC-1 产物(2.2 g, 8.87 mmol)在 THF (15 mL)中的溶液, 然后立即加入 1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2(1H)-嘧啶酮(DMPU, 1.0 mL, 8.87 mL)。将该溶液在-78 °C搅拌 40 分钟, 加入实施例 CC-3 产物(2.9 g, 8.87 mmol)在 THF (15 mL)中的溶液。将烧瓶从冰浴中取出, 在室温搅拌 3 小时。将该反应混合物在饱和碳酸氢钠水溶液与 EtOAc 之间分配。将有机层用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤并真空浓缩, 获得了所需的 bis-phthalimide 保护的氨基酯, 为黄色固体。通过硅胶色谱纯化残余物(1:1 己烷:EtOAc), 获得了 1.4 g (35%)本标题产物, 为白色固体。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, ppm) 1.2 (t, 3H), 1.6 (d, 3H), 2.8 (dd, 1H), 3.1 (dd, 1H), 4.2 (m, 4H), 5.6 (m, 1H), 5.8 (m, 1H), 7.6 (m, 4H), 7.7 (m, 2H), 7.9 (m, 2H)

质量 (M+H)=447

实施例 CC-5)



将实施例 CC-4 产物(0.78 g, 1.76 mmol)溶解在甲酸(10 mL, 95%)与 HCl (20 mL, 浓 HCl)的混合物中, 并回流 3 天。将该反应混合物冷却至 0℃, 过滤以除去邻苯二甲酸酐。真空浓缩($T < 40^{\circ}\text{C}$)后, 获得本标题产物不饱和 α -甲基赖氨酸, 为白色固体(0.38 g, 95%), 其不用进一步纯化直接使用。

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O , ppm): 1.4 (s, 3H), 2.4 (dd, 1H), 2.6 (dd, 1H), 3.5 (d, 2H), 5.7 (m, 2H)

质量 ($\text{M}+\text{H}$)=317

实施例 CC)

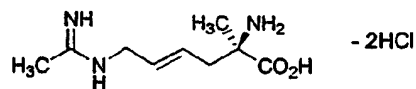
将实施例 CC-5 产物(0.2 g, 0.86 mmol)溶解在 H_2O (8 mL)中, 用 2.5 N NaOH 调节至 pH 9。用 1 小时分 4 批加入乙亚胺酸乙酯-HCl (0.42 g, 3.4 mmol)。1 小时后, 用 10% HCl 将该混合物酸化至 pH 4, 并真空浓缩。然后让该残余物经过用水洗涤过的 DOWEX 50WX4-200 柱(H 型, 用 0.5 N NH_4OH 洗脱)。将该残余物真空浓缩, 用 10% HCl 酸化至 pH 4, 并浓缩, 获得了本标题产物(17 mg, 6%), 为油状物。

HRMS 计算值 $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$: $m/z = 200.1399$ [$\text{M}+\text{H}$]. 实测值: 200.1417

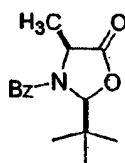
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D_2O , ppm): 1.4 (s, 3H), 2.1 (s, 3H), 2.5 (dd, 1H), 2.6 (dd, 1H), 3.8 (d, 2H), 5.6 (m, 2H)

实施例 DD

(R,E)-2-氨基-2-甲基-6-[(1-亚氨基乙基)氨基]-4-己烯酸, 二盐酸盐

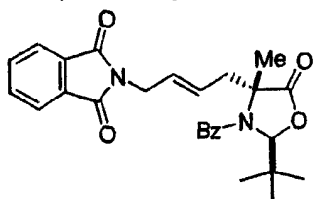


实施例 DD-1)



依据 Seebach 的方法制备(2S,4S)-3-苯甲酰基-2-(叔丁基)-4-甲基-1,3-恶唑烷-5-酮。Seebach, D.; Fadel, A. Helvetica Chimica Acta 1985, 68, 1243.

实施例 DD-2)

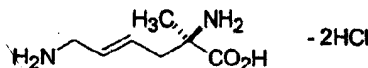


将 KHMDS (0.65 g, 3.24 mmol)、DMPU (0.33 mL, 2.7 mmol) 和 THF (40 mL) 的溶液冷却至 -78℃。滴加(2S,4S)-3-苯甲酰基-2-(叔丁基)-4-甲基-1,3-恶唑烷-5-酮(实施例 DD-1) (0.70 g, 2.7 mmol) 在 THF (10 mL) 中的溶液。45 分钟后, 加入实施例 CC-3 产物(0.88 g, 2.7 mmol) 在 THF (10 mL) 中的溶液。将该反应混合物在室温搅拌 2 小时, 用饱和碳酸氢钠水溶液处理。分离各层, 用 EtOAc 萃取水层。将有机层合并, 用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤并真空浓缩。通过硅胶色谱纯化所得黄色油状物(9:1、然后是 4:1 己烷/乙酸乙酯), 获得了本标题保护的不饱和 α-甲基-D-赖氨酸(0.26 g, 20%), 为无色油状物。

HRMS 计算值 C₂₇H₂₈N₂O₅: m/z = 461.2076[M+H]. 实测值: 461.2033

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, . ppm . 0.9 (s, 9H), 1.5 (s, 3H), 4.3 (m, 2H), 5.5 (m, 2H), 5.6 (m, 2H), 6.1 (m, 1H), 7.5 (m, 5H), 7.7 (m, 2H), 7.9 (m, 2H)

实施例 DD-3)



将实施例 DD-2 产物(0.255 mg, 0.55 mmol)溶解在 6N HCl (6 mL) 和甲酸(6 mL)中, 加热回流 24 小时。将该反应混合物冷却至室温, 并真空浓缩。将残余物悬浮在水中, 用 CH₂Cl₂ 洗涤。将水层浓缩, 经过用水洗涤过的 DOWEX 50WX4-200 柱(H 型, 用 0.5 N NH₄OH 洗脱)。将该残余物真空浓缩, 用 10% HCl 酸化至 pH 4, 并浓缩, 获得了本

标题不饱和 D-赖氨酸(71 mg, 55 %), 为油状物, 其不用进一步纯化直接使用。

^1H NMR (400 MHz, D_2O , ppm): 1.4 (s, 3H), 2.5 (dd, 1H), 2.6 (dd, 1H), 3.4 (d, 2H), 5.6 (m, 2H), 5.7 (m, 2H)

实施例 DD)

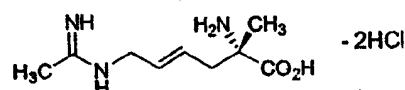
将实施例 DD-3 产物(13 mg, 0.056 mmol)溶解在 H_2O (5 mL)中, 用 2.5 N NaOH 调节至 pH 9。用 2 小时分 4 批加入乙亚胺酸乙酯-HCl (27 mg, 0.2 mmol)。2 小时后, 用 10 % HCl 将该混合物酸化至 pH 4, 并真空浓缩。然后让该残余物经过用水洗涤过的 DOWEX 50WX4-200 柱(H 型, 用 0.5 N NH_4OH 洗脱)。将该残余物真空浓缩, 用 10 % HCl 酸化至 pH 4, 并浓缩, 获得了本标题产物(45 mg), 为油状物。

HRMS 计算值 $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$: $m/z = 200.1399$ [M+H]. 实测值: 200.1386

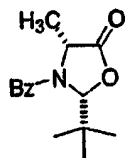
^1H NMR (400 MHz, D_2O , ppm): 1.4 (s, 3H), 2.1 (s, 3H), 2.5 (dd, 1H), 2.6 (dd, 1H), 3.8 (d, 2H), 5.6 (m, 2H)

实施例 E

(S,E)-2-氨基-2-甲基-6-[(1-亚氨基乙基)氨基]-4-己烯酸, 二盐酸盐

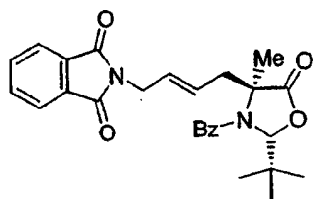


实施例 EE-1)



依据 Seebach 的方法制备(2R,4R)-3-苯甲酰基-2-(叔丁基)-4-甲基-1,3-恶唑烷-5-酮。Seebach, D.; Fadel, A. Helvetica Chimica Acta 1985, 68, 1243.

实施例 EE-2)

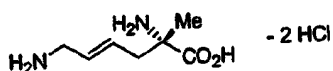


将实施例 EE-1 的(2R,4R)-3-苯甲酰基-2-(叔丁基)-4-甲基-1,3-恶唑烷-5-酮产物(2.0 g, 7.6 mmol)在 THF (50 mL)中的溶液冷却至-78℃。在-78℃滴加 KHMDS (0.65 g, 3.24 mmol)在 THF (25 mL)中的溶液。30 分钟后, 加入实施例 CC-3 产物(2.8 g, 8.6 mmol)在 THF (25 mL)中的溶液。将该反应混合物在室温搅拌 1 小时, 用饱和碳酸氢钠水溶液处理。分离各层, 用 EtOAc 萃取水层。将有机层合并, 用盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并真空浓缩。通过硅胶色谱纯化所得橙色油状物(9:1、然后是 4:1 己烷/乙酸乙酯), 获得了本标题保护的不饱和 α -甲基-L-赖氨酸(0.5 g, 15%), 为白色固体。

HRMS 计算值 $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$; $m/z = 461.2076[\text{M}+\text{H}]$. 实测值: 461.2043

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , . ppm): 0.9 (s, 9H), 1.5 (s, 3H), 4.3 (m, 2H), 5.5 (m, 2H), 5.6 (m, 2H), 6.1 (m, 1H), 7.5 (m, 5H), 7.7 (m, 2H), 7.9 (m, 2H)

实施例 EE-3)



将实施例 EE-2 产物(0.5 g, 1 mmol)溶解在 12N HCl (10 mL)和甲酸(5 mL)中, 将该混合物加热回流 12 小时。将该反应混合物在冰箱中冷却 3 小时, 通过过滤除去固体。将残余物用 CH_2Cl_2 和 EtOAc 洗涤。将水层真空浓缩, 获得了本标题不饱和 α -甲基-L-赖氨酸(0.26 g, 99%), 为油状物, 其不用进一步纯化直接使用。

^1H NMR (300 MHz, D_2O , . ppm): 1.4 (s, 3H), 2.5 (dd, 1H), 2.6 (dd, 1H), 3.4 (d, 2H), 5.7 (m, 2H)

实施例 EE)

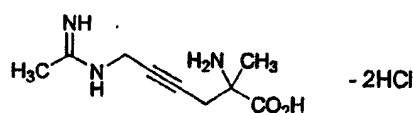
将实施例 EE-3 产物(0.13 g, 0.56 mmol)溶解在 H₂O (1 mL)中, 用 2.5 N NaOH 调节至 pH 9. 用 1 小时分 4 批加入乙亚胺酸乙酯-HCl (0.28 g, 2.2 mmol). 1 小时后, 用 10 % HCl 将该混合物酸化至 pH 4, 并真空浓缩. 然后让该残余物经过用水洗涤过的 DOWEX 50WX4-200 柱 (用 0.5 N NH₄OH 洗脱). 将该残余物真空浓缩, 用 10 % HCl 酸化至 pH 4, 并浓缩, 获得了本标题产物, 为油状物(40 mg).

HRMS 计算值 C₉H₁₇N₃O₂: m/z = 222.1218 [M+Na]. 实测值: 222.1213

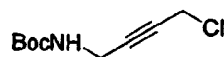
¹H NMR (300 MHz, D₂O, ppm): 1.4 (s, 3H), 2.1 (s, 3H), 2.4 (dd, 1H), 2.6 (dd, 1H), 3.8 (d, 2H), 5.6 (m, 2H)

实施例 FF

2-氨基-2-甲基-6-[(1-亚氨基乙基)氨基]-4-己炔酸, 二盐酸盐

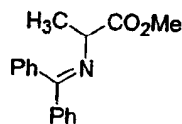


实施例 FF-1)



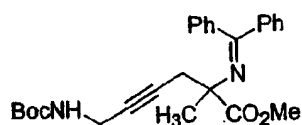
按照描述在 Tetrahedron Lett. 21, 4263 (1980)中的方法制备 N-boc-1-氨基-4-氯丁-2-炔。

实施例 FF-2)



通过 J. Org. Chem., 47, 2663 (1982)中描述的方法制备 N-(二苯基亚甲基)-1-丙氨酸甲酯。

实施例 FF-3)



将无水 THF (1000 mL)加到用氩气吹扫过的烧瓶内, 加入 60% NaH 在矿物油中的分散液(9.04 g, 0.227 mol)。向该混合物中加入实施例 FF-2 产物(30.7 g, 0.114 mol)。然后将该反应混合物在 10℃ - 15℃ 搅拌 30 分钟。加入碘化钾(4 g)和碘(2 g), 然后立即用 30 分钟加入实施例 FF-2 产物(23 g, 0.113 mol 在 200 mL THF 中的溶液)。然后将该反应混合物在 55℃ 搅拌直至原料消失(~2 小时)。将该反应混合物冷却至室温, 将溶剂蒸发。加入乙酸乙酯(500 mL), 将该混合物用 2×200 mL 去离子水小心地洗涤。将有机层用无水 MgSO_4 干燥, 过滤并蒸发, 获得了 44 g 粗产物。通过使用 20% 乙酸乙酯的己烷溶液的色谱法纯化, 获得了本标题保护的不饱和 α -甲基赖氨酸(28 g, 57%)。

元素分析的计算值 $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4$ 和 0.5 乙酸乙酯 : C, 70.42; H, 7.14; N, 5.91. 实测值: C, 70.95; H, 7.73; N, 6.09

IR (Neat, max, cm^{-1}): 2981, 1714, 1631

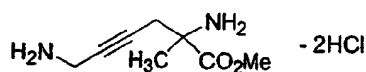
^1H NMR (CDCl_3 , ppm): 1.28 (s, 9H), 1.4 (s, 3H), 2.65-2.76(m, 2H), 3.15 (s, 3H), 3.7 (bs, 2H), 4.6 (bs, 1H), 6.95-7.4 (m, 10H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , ppm): 24.29, 28.33, 28.39, 33.24, 51.60, 53.55, 127.79, 127.97, 128.26, 128.36, 128.43, 128.54, 128.66, 130.05, 130.22, 132.39

质量 ($\text{M}+1$) = 435

DSC 纯度 : 261.95 °C

实施例 FF-4)



将实施例 FF-3 产物(16 g, 0.0368 mol)溶解在 1N HCl (300 mL)中, 在 25℃ 搅拌 1 小时。用乙醚(2×150 mL)洗涤该反应混合物, 分离出水层, 用炭脱色。浓缩, 获得了~9 g (产率为 100%)脱保护的不饱和 α -甲基赖氨酸酯 FF-4, 为白色泡沫状固体。

元素分析的计算值 $C_8H_{14}N_2O_2$ 含有 2.26 HCl 和 1.19 H_2O : C, 35.06; H, 6.86; N, 10.22; Cl, 29.24. 实测值: C, 35.31; H, 7.38; N, 10.70; Cl, 29.77

1H NMR (D_2O , ppm): 1.56 (s, 3H), 2.8-3.0 (2 dt, 2H), 3.75 (s, 2H), 3.79 (s, 3H)

^{13}C NMR (D_2O , ppm): 23.89, 29.81, 32.05, 57.08, 61.90, 79.57, 82.43, 173.92

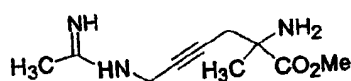
质量 ($M+1$) = 171

DSC 纯度: 114.22 °C

UV = 206 nm, abs 0.013

$[a]_{25}$ 在甲醇中 = 0 在 365 nm

实施例 FF-5)



将实施例 FF-4 产物(2.43 g, 0.01 mol)溶解在去离子水(25 mL)中。在 25 °C 加入 NaOH (400 mg, 0.01 mol) 在去离子水(25 mL)中的溶液以将 pH 调节至 ~7.95, 继续搅拌 10 分钟。将乙亚胺酸乙酯盐酸盐(988 mg, 0.008 mol)加到该反应混合物中, 同时加入 1N NaOH 以将 pH 调节至 ~8.5。加入乙亚胺酸酯后, 将该反应混合物在 pH 8 - 8.5 搅拌 3 小时。将 1N HCl 加到该反应混合物中(4.1 pH)。在 50 °C 将溶剂蒸发, 获得了黄色吸湿性残余粗产物(4 g, 产率 > 100 %)。通过 Gilson 色谱系统纯化, 用 0.1 % AcOH/ CH_3CN/H_2O 。

元素分析的计算值 $C_{10}H_{17}N_3O_2$ 含有 2.25 HCl 和 1.7 H_2O : C, 37.08; H, 7.05; N, 12.97; Cl, 24.63. 实测值: C, 37.01; H, 6.79; N, 12.76; Cl, 24.87

IR (Neat, max, cm^{-1}): 2953, 2569, 1747, 1681, 1631

1H NMR (D_2O , ppm): 1.52 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.74-2.96 (2 dt, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.95 (t, 2H)

^{13}C NMR (D_2O , ppm): 23.89, 29.81, 32.05, 57.08, 61.90, 79.57, 82.43, 173.92

质量 ($M+1$) = 212

实施例 FF)

将实施例 FF-5 产物(100 mg, 0.0005 mol)溶解在 8N HCl (20 mL) 中, 在回流状态下搅拌 10 小时。将该反应混合物冷却至室温, 通过旋转蒸发器将盐酸蒸发。把残余物溶解在去离子水(10 mL)和水中, 再真

空浓缩，以几乎定量产率获得了本标题产物，为黄色玻璃状固体(88 mg)。

元素分析的计算值 $C_9H_{15}N_3O_2$ 含有 2.4 HCl 和 1.8 H_2O : C, 34.08; H, 6.67; N, 13.25; Cl, 26.83. 实测值: C, 34.32; H, 6.75; N, 13.63; Cl, 26.47

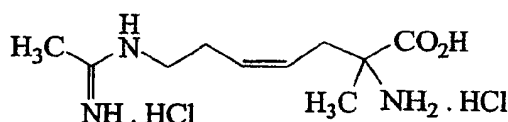
IR (Neat, max, cm^{-1}): 1738, 1677, 1628, 1587

1H NMR (D_2O , ppm): 1.6 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.8-3.0 (2 dt, 2H), 4.1 (s, 2H)

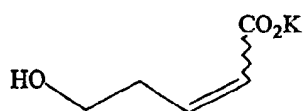
^{13}C NMR (D_2O , ppm): 21.22, 24.10, 29.88, 34.58, 80.04, 80.99, 128.39, 168.07, 176.13

质量 ($M+1$) = 198

实施例 GG

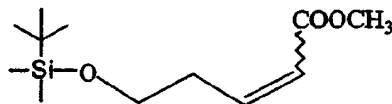


(2R/S,4Z)-2-氨基-2-甲基-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-4-庚烯酸，二盐酸盐



实施例 GG-1) 将 5,6-二氢吡喃-2-酮(49.05 g, 0.5 mol)溶解在 200 mL 水中。加入氢氧化钾(35g, 0.625 mol)，将该反应混合物在室温搅拌 5 小时。真空除去溶剂，获得了无色玻璃状固体(65 g, 84 %)，NMR 表明其主要是本标题化合物的顺式异构体。

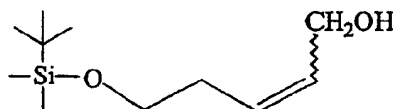
1H NMR ($CDCl_3$) : 2.7 (m, 2H), 3.6 (t, 2H), 5.8-5.85(m, 1H), 5.9-5.97 (m, 1H).



实施例 GG-2) 将实施例 GG-1 产物溶解在 100 mL 二甲基甲酰胺中。然后加入甲基碘(52 mL, 0.84 mol)，产生了达到 40℃ 的放热。将该反应混合物室温搅拌 10 小时，在 150 mL 乙酸乙酯/乙醚(20/80)与冰

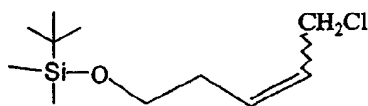
水之间分配。分离出水层，再用 100 mL 乙醚萃取。将有机层合并，干燥(Na_2SO_4)，过滤，汽提掉所有溶剂，获得了所需甲酯产物(40g, 71%)。将该产物溶解在 200 mL 二氯甲烷中，把该溶液冷却至 0℃。加入四丁基二甲基甲硅烷基氯、三乙胺和二甲基氨基吡啶。将该反应混合物缓慢地温热至室温，在氮气氛下搅拌 10 小时。用 100 mL 1N 无水硫酸氢钾溶液萃取该反应。将有机层依次用 2×100 mL 盐水和 3×150 mL 水洗涤。将有机层干燥(Na_2SO_4)，过滤并汽提，获得了 42 g (56%) 本标题产物。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 0.02 (s, 6H), 0.085 (s, 9H), 2.8-2.85 (m, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.66-3.7 (m, 2H), 5.8 (m, 1H), 6.3 (m, 1H)



实施例 GG-3) 将实施例 GG-2 产物溶解在 25 mL 甲苯中，冷却至 0℃。滴加二异丁基氢化铝(1.0 M 的甲苯溶液, 32 mL, 48 mmol)，同时将温度保持在 5 - -10℃。将该反应混合物在 6 - -8℃ 搅拌 1.5 小时，然后将其冷却至 -25℃。向该混合物中加入 100 mL 0.5N 酒石酸钠钾。让该反应混合物温热至室温，搅拌 1 小时。形成了凝胶状沉淀，将其过滤。用 2×100 mL EtOAc 萃取水层。将合并的有机层干燥(硫酸钠)，过滤并真空浓缩，获得了本标题产物(3.45g, 66%)，为无色油状物。

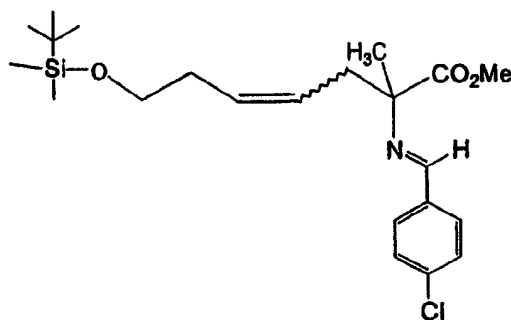
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 0.02 (s, 6H), 0.085 (s, 9H), 2.25-2.32 (m, 2H), 2.6 (bs, 1H), 3.6 (t, 2H), 4.08 (d, 2H), 5.45-5.55 (m, 1H), 5.7-5.75 (m, 1H)



实施例 GG-4) 将实施例 GG-3 产物(8 g, 37 mmol)溶解在 100 mL 二氯甲烷中，将该溶液冷却至 0℃。然后加入甲磺酰氯，将该混合物搅拌 5 分钟。加入三乙胺。将温度保持在 0 - -10℃，期间加入上述试

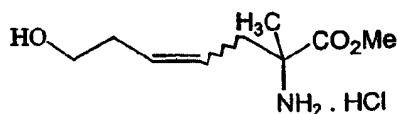
剂。然后将该反应混合物温热至室温，并搅拌 24 小时。用 100 mL 50 % 碳酸氢钠水溶液萃取。将有机层用 100 mL 饱和盐水溶液洗涤，干燥(硫酸钠)，过滤，真空汽提，获得了本标题产物(8.2 g, 94 %)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 0.02 (s, 6H), 0.085 (s, 9H), 2.25-2.32 (m, 2H), 3.6 (t, 2H), 4.08 (d, 2H), 5.6-5.7 (m, 2H)



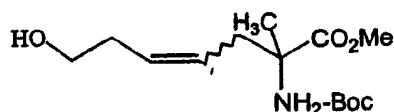
实施例 GG-5) 将溶解在 59 mL 四氢呋喃中的 N-对氯苯基亚胺丙氨酸甲酯(8.85 g, 34 mmol)用氩气吹扫。加入 NaH (1.64 g, 41 mmol)，这时溶液变为亮橙色，然后变为深红色。向上述阴离子溶液中加入实施例 GG-4 标题产物(8 g, 34 mmol)在 40 mL 四氢呋喃中的溶液。观察到了放热现象，温度几乎升至 40℃。将该反应混合物在 48 - 52℃ 保持 2 小时。然后将其冷却至室温，并过滤。将滤液真空汽提，获得了本标题产物(8.4g, 粗产物的产率为 50 %)，为黄色油状物。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 0.02 (s, 6H), 0.085 (s, 9H), 1.45 (s, 3H), 1.6 (s, 1H), 2.2-2.25(m, 2H), 2.65 (d, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 5.45-5.55 (m, 2H), 7.35-7.7 (m, 4H)



实施例 GG-6) 将实施例 GG-5 标题产物(8.4 g, 18.2 mmol)用 125 mL 1N 盐酸处理，将该反应在室温搅拌 1 小时。用 2×75 mL 乙酸乙酯萃取该反应混合物以后，将水层在 56℃ 真空汽提，获得了 4 g 本标题产物(粗产物产率为 100 %)。

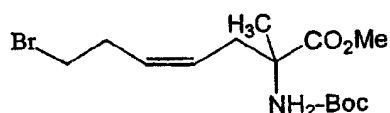
$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD) : 1.6 (s, 3H), 2.3-2.4 (m, 2H), 2.65-2.8 (m, 2H), 3.6-3.65 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 5.4-5.5 (m, 1H), 5.75-5.85 (m, 1H)



实施例 GG-7) 将实施例 GG-6 标题产物(1.9 g, 8.5 mmol)溶解在 15 mL 二氧杂环己烷与 8 mL 水的混合物中。然后小心地加入固体碳酸氢钾以避免形成泡沫。将该反应混合物搅拌 10 分钟, 然后分批加入叔丁氧基羰基酐, 并将该反应混合物在室温搅拌 24 小时。将该反应混合物用 100 mL 乙酸乙酯和 50 mL 水稀释, 然后倒入分液漏斗内。分离出有机层, 干燥(Na_2SO_4), 过滤并汽提, 获得了本标题产物, 为无色油状物(1.9 g, 粗产物产率为 78%)。

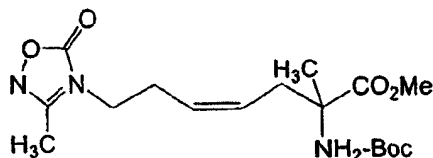
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 1.42 (s, 9H), 1.55 (s, 3H), 2.3-2.36 (m, 2H), 2.58-2.65 (m, 2H), 3.65-3.7 (t, 2H), 3.75 (s, 3H), 5.42-5.5 (m, 1H), 5.55-5.62 (m, 1H)

实施例 GG-8) 通过实施例 GG-7 的方法将另外 1.9 g 实施例 GG-6 标题产物样本转化成实施例 GG-7 标题产物的 Z/E 混合物。用硅胶进一步纯化该产物, 用乙酸乙酯/己烷(比例为 20/80)溶剂系统, 获得了次要的 E-异构体以及主要的 Z-异构体。



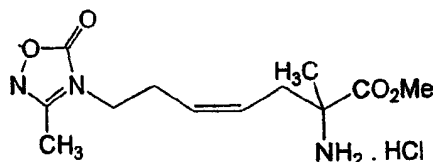
实施例 GG-9) 将得自实施例 GG-8 的 Z-异构体(1.8 g, 6.25 mmol)溶解在 20mL 乙腈中, 将该溶液冷却至 0℃。加入吡啶(0.76 g, 9.4 mmol), 然后用 10 分钟分批加入二溴三苯基正膦(3.46 g, 8.2 mmol)。将该反应混合物在氩气氛下于室温搅拌 24 小时。过滤出所形成的沉淀。将滤液真空浓缩, 获得了 2.8 g 油状物, 用硅胶纯化, 利用乙酸乙酯/己烷(比例为 60/40)溶剂系统。通过 NMR 确定 1.1 g 本标题产物(50%)的特征。

^1H NMR (CDCl_3) : 1.44 (s, 9H), 1.55 (s, 3H), 2.6-2.65 (m, 4H), 3.35-3.4 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 5.4-5.45 (m, 1H), 5.55-5.6 (m, 1H)



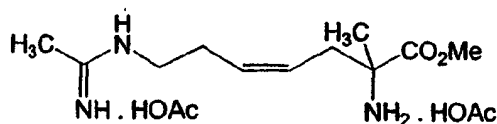
实施例 GG-10) 将实施例 GG-8 标题产物(300 mg, 0.86 mmol)溶解在 25 mL 二甲基甲酰胺(DMF)中。加入 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮的钾盐(130 mg, 0.94 mmol), 将该反应混合物加热至 52℃, 在搅拌下于该温度下保持 18 小时。然后冷却至室温, 将 DMF 于 60℃ 真空汽提。用硅胶纯化该残余物, 用 60/40 - 90/10 的乙酸乙酯/己烷进行梯度洗脱, 获得了 300 mg (95%) 本标题产物。

^1H NMR (CD_3OD) : 1.35 (s, 3H), 1.43 (s, 9H), 2.32 (s, 3H), 2.45-2.55 (m, 4H), 3.65-3.7 (m, 2H), 3.72 (t, 3H), 5.5-5.6 (m, 2H)



实施例 GG-11) 将实施例 GG-10 产物(300 mg)用 0.05 N 盐酸处理, 将该溶液搅拌 30 分钟。真空除去溶剂, 以近乎定量产率获得了所需产物。

^1H NMR (CD_3OD) : 1.6 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.45-2.55 (m, 2H), 2.7-2.8 (m, 2H), 3.3-3.4 (m, 5H), 5.5-5.6 (m, 1H), 5.7-5.8 (m, 1H)



实施例 GG-12) 将实施例 GG-11 标题产物(198 mg, 0.54 mmol)溶解在 50 mL MeOH 中。加入甲酸(40 mg), 然后加入以碳酸钙为载体

的钯(400 mg)。在密封管中,在搅拌下将该反应混合物于 65℃加热 24 小时。然后将其冷却至室温,并过滤。将滤液真空浓缩,通过反相 HPLC 纯化残余物,获得了 115 mg (75%)本标题产物。

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD) : 1.4 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.4-2.52 (m, 4H), 3.25-3.35 (m, 2H), 3.75 (t, 3H), 5.54-5.62 (m, 2H)

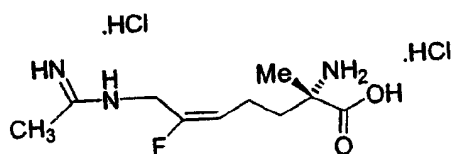
实施例 GG) 将实施例 GG-12 标题产物(75 mg)溶解在 15 mL 2N 盐酸中。将该反应混合物加热至回流,搅拌 6 小时,然后冷却至室温。真空除去溶剂。将残余物溶解在 25 mL 水中,用旋转蒸发仪汽提以除去过量盐酸。将残余物溶解在水中,冷冻干燥,获得了 76 mg (~100%)本标题产物。

元素分析的计算值 $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2 + 2.2\text{HCl} + 2.2\text{H}_2\text{O}$: C, 36.06; H, 7.75; N, 12.61.

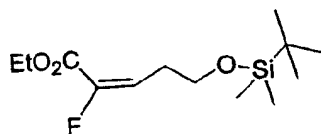
实测值: $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2 + 2.2\text{HCl} + 2.2\text{H}_2\text{O}$: C, 35.91; H, 7.61; N, 12.31

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD) : 1.47 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.45-2.64 (m, 4H), 2.58-2.65 (m, 2H), 3.65-3.7 (t, 2H), 5.55-5.65 (m, 2H)

实施例 HH



(2S,5E)-2-氨基-2-甲基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐



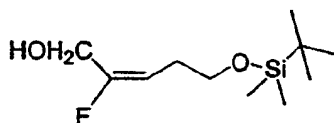
实施例-HH-1) 向 2-氟膦酰基乙酸三乙酯(25.4 g, 105 mmol)在 100 mL THF 内的冷(-78℃)溶液中加入正丁基锂(63 mL 1.6 M 在己烷中的溶液, 101 mmol)。将该混合物在-78℃搅拌 20 分钟,产生了亮黄色溶液。然后用 10 分钟滴加粗制的 3-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丙醛(J. Org Chem., 1994, 59, 1139-1148) (20.0 g, 105 mmol)在 120 mL THF

中的溶液,将所得混合物在-78℃搅拌1.5小时,这时通过薄层色谱分析(5%乙酸乙酯的己烷溶液)表明没有剩余原料.在-78℃用饱和 NH_4Cl 水溶液(150 mL)中止该反应.收集有机层,用乙醚(300 mL)萃取水层.将合并的有机层用盐水(200 mL)洗涤,用 MgSO_4 干燥,过滤并浓缩.将粗产物经由硅胶(150 g)塞过滤,用己烷(2 L)洗脱,获得了 14.38 g (52%)所需的(2E)-5-[[[(1,1-二甲基乙基)二-甲基甲硅烷基]氧基]-2-氟-2-戊烯酸乙酯产物,为澄清的油状物。 ^1H NMR 和 ^{19}F NMR 表明所分离出的产物具有约 95:5 的 E:Z 比例。

HRMS 计算值 $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{FO}_3\text{Si}$: $m/z = 277.1635$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 实测值: 277.1645.

^1H NMR (CDCl_3) 0.06 (s, 6H), 0.94 (s, 9H), 1.38 (t, 3H), 2.74 (m, 2H), 3.70 (m, 2H), 4.31 (q, 2H), 6.0 (dt, 乙烯基, 1H).

^{19}F NMR (CDCl_3) -129.78 (d, 0.05 F, $J = 35$ Hz, 5% Z-异构体) -121.65 (d, 0.95 F, $J = 23$ Hz, 95% E-异构体)

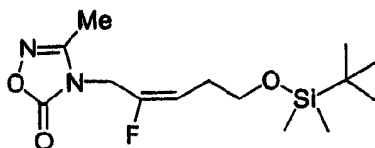


实施例-HH-2) 在室温,向实施例-HH-1 产物(6.76 g, 24.5 mmol)在 100 mL 甲醇内的溶液中用 3 小时以每批 1.4 g 的方式分批加入固体 NaBH_4 (4.2 g, 220 mmol). 3.5 小时后,加入水(10 mL).再用 3 小时以每批 1.4 g 的方式分批加入固体 NaBH_4 (4.2 g, 220 mmol). 用 150 mL 饱和氯化铵水溶液中止该反应,用乙醚(2×250 mL)萃取.将有机层合并,用 MgSO_4 干燥,过滤并浓缩.将粗产物—4.81 g 澄清油状物通过快速硅胶柱色谱纯化,用 10% 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,获得了 2.39 g (42%)所需的(2E)-5-[[[(1,1-二甲基乙基)二甲基甲硅烷基]氧基]-2-氟-2-戊烯-1-醇产物,为澄清油状物, ^{19}F NMR 表明其含有约 93:7 的 E:Z 比例。

HRMS 计算值 $\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{FO}_2\text{Si}$: $m/z = 235.1530$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 实测值: 235.1536.

^1H NMR (CDCl_3) 0.06 (s, 6H), 0.88 (s, 9H), 2.35 (m, 2H), 3.62 (t, 2H), 4.19 (dd, 2H), 5.2 (dt, 乙烯基, 1H).

^{19}F NMR (CDCl_3) -120.0 (dt, 0.07F, 7% Z-异构体), -109.82 (q, 0.93 F, $J = 21$ Hz, 93% E-异构体)

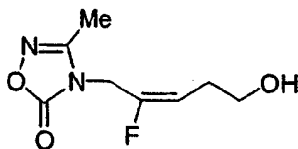


实施例-HH-3) 向实施例-HH-2 产物(2.25 g, 9.58 mmol)、以聚合物为载体的三苯基膦(3 mmol/g, 1.86 g, 15 mmol)和 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮(1.25 g, 12.5 mmol)在 60 mL THF 内的混合物中滴加偶氮二甲酸二乙酯(2.35 mL, 14.7 mmol)。将该反应混合物在室温搅拌 1 小时, 再加入 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮(0.30 g, 3.0 mmol)。30 分钟后, 将该混合物经由硅藻土过滤, 并将滤液浓缩。将所得黄色油状物用乙醚(30 mL)研制, 通过过滤除去固体。将滤液浓缩, 用己烷(30 mL)研制, 并过滤。将滤液浓缩至油状物, 通过快速硅胶柱色谱纯化, 用 15% 乙酸乙酯的己烷洗脱, 获得了 1.83 g (60%)所需的 4-[(2E)-5-[(1,1-二甲基乙基)二甲基甲硅烷基]氧基]-2-氟-2-戊烯基]-3-甲基-1,2,4-恶二唑-5(4H)-酮产物, 为澄清油状物, ^{19}F NMR 表明其仅含有所需的 E-异构体。

HRMS 计算值 $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{FN}_2\text{O}_3\text{Si}$: $m/z = 317.1697$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 实测值: 317.1699.

^1H NMR (CDCl_3) 0.04 (s, 6H), 0.85 (s, 9H), 2.28 (s, 3H), 2.37 (m, 2H), 3.64 (t, 2H), 4.32 (d, 2H), 5.4 (dt, 乙烯基, 1H).

^{19}F NMR (CDCl_3) -110.20 (q, 1 F, $J = 21$ Hz).



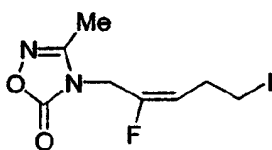
实施例-HH-4) 将实施例-HH-3 产物(1.83 g, 5.78 mmol)在乙酸(6 mL)、THF (2 mL)与水(2 mL)的混合物中的溶液于室温搅拌 2.5 小时。将所得溶液真空浓缩至油状物, 将其溶解在乙醚(50 mL)中。将有机层用饱和碳酸氢钠洗涤, 然后用乙醚(2×50 mL)和乙酸乙酯(2×50 mL)萃

取水层。将合并的有机层干燥(MgSO_4), 过滤并蒸发, 获得了 1.15 g (98 %) 所需的 4-[(2E)-2-氟-5-羟基-2-戊烯基]-3-甲基-1,2,4-恶二唑-5(4H)-酮产物, 为澄清的无色油状物。

HRMS 计算值 $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{FN}_2\text{O}_3$: $m/z = 203.0832$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 实测值: 203.0822.

^1H NMR (CDCl_3) 2.31 (3H), 2.4 (m, 2H), 3.66 (t, 2H), 4.37 (d, 2H), 5.42 (dt, 乙烯基, 1H).

^{19}F NMR (CDCl_3) -110.20 (q, 1 F, $J = 21$ Hz).



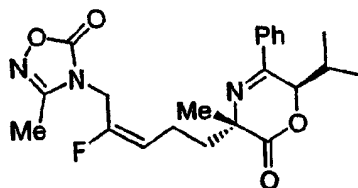
实施例-HH-5) 在 0°C , 向三苯基膦(238 mg, 0.91 mmol)和咪唑(92 mg)的 CH_2Cl_2 (2 mL)溶液中加入固体碘(230 mg, 0.91 mmol), 将该混合物搅拌 5 分钟。向所得黄色浆液中加入实施例-HH-4 产物(0.15 g, 0.74 mmol)的 CH_2Cl_2 (1.5 mL)溶液。让该浆液温热至室温, 并搅拌 30 分钟。将该反应混合物用 CH_2Cl_2 (10 mL)稀释, 用饱和 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (5 mL)和盐水(5 mL)洗涤, 干燥(MgSO_4), 过滤并蒸发, 获得了油状物。将乙醚(10 mL)加到该油状物中, 生成了白色沉淀, 通过过滤除去沉淀, 将滤液浓缩至油状物。通过快速硅胶柱色谱纯化粗产物, 用 30 % 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 获得了 0.18 g (78 %) 所需的 4-[(2E)-2-氟-5-碘-2-戊烯基]-3-甲基-1,2,4-恶二唑-5(4H)-酮产物, 为澄清油状物, 其在静置下固化, $\text{mp} = 58.1\text{-}58.6^\circ\text{C}$ 。

元素分析的计算值 $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{FIN}_2\text{O}_2$: C, 30.79; H, 3.23; N, 8.98. 实测值: C, 30.83; H, 3.11; N, 8.85.

HRMS 计算值 $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{FIN}_2\text{O}_2$: $m/z = 330.0115$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 实测值: 330.0104.

^1H NMR (CDCl_3) 2.31 (s, 3H), 2.75 (q, 2H), 3.21 (t, 2H), 4.31 (d, 2H), 5.39 (dt, 乙烯基, 1H).

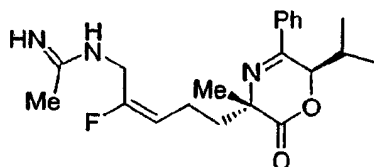
^{19}F NMR (CDCl_3) -108.21 (q, 1F, $J = 21$ Hz).



实施例-HH-6) 向在冰浴内的(3S,6R)-6-异丙基-3-甲基-5-苯基-3,6-二氢-2H-1,4-恶嗪-2-酮(Syntliesis, 1999, 4, 704-717) (1.10 g, 4.76 mmol)、LiI (0.63 g, 4.76 mmol)和实施例-HH-5 (0.85 g, 2.72 mmol)的1-甲基-2-吡咯烷酮(12 mL)溶液中加入 2-叔丁基亚氨基-2-二乙基氨基-1,3-二甲基全氢-1,3,2-二氮磷杂 (diazaphosphorine) (1.38 mL, 4.76 mmol)。加入碱后, 该黄色溶液变为橙色, 将所得溶液在室温搅拌 1 小时。将该反应混合物用乙酸乙酯(100 mL)稀释, 用水(2×30 mL)洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并蒸发, 获得了黄色油状物。通过快速硅胶柱色谱纯化粗产物, 用 30% 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 获得了 0.64 g (57%)所需的烷基化产物, 为澄清油状物。

¹H NMR (C₆D₆) 0.57 (d, 3H), 0.89 (d, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.65 (s, 3H), 1.8 (m, 2H), 2.0 (m, 2H), 2.1 (m, 1H), 3.22 (m, 2H), 4.88 (dt, 乙烯基, 1H), 5.49 (d, 1H), 7.1 (m, 3H), 7.6 (m, 2H).

¹⁹F NMR (CDCl₃) -110.37 (q, 1 F, *J* = 21 Hz).



实施例-HH-7) 向实施例-HH-6 产物(0.13 g, 0.31 mmol)的甲醇(20 mL)溶液中加入 Lindlar 催化剂(1.0 g)。将该搅拌着的浆液在 60℃加热 1 小时, 再加入 Lindlar 催化剂(0.30 g)。将该浆液在 60℃搅拌 1 小时, 然后冷却至室温。通过经由硅藻土过滤除去催化剂, 将滤液汽提, 获得了 0.58 g (100%)所需脱保护的脒产物, 为浅黄色油状物。

MS: *m/z* = 374.2 [M+H]⁺

¹H NMR (CD₃OD) 0.77 (d, 3H), 1.07 (d, 3H), 1.58 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.8-2.2 (m, 5H), 3.83 (d, 2H), 5.20 (dt, 乙烯基, 1H), 5.69 (d, 1H), 7.4 (m, 3H), 7.7 m, 2H)

¹⁹F NMR (CDCl₃) -109.4 (m, 1F, *J* = 21 Hz)

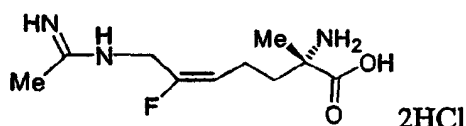
实施例-HH) 将实施例-HH-7 产物(0.58 g, 1.54 mmol)在 1.5N HCl

(25 mL)中的溶液用乙醚(2×20 mL)洗涤,并回流1小时。将溶剂汽提掉,把氨基酸酯粗产物溶解在6 N HCl (15 mL)中,并加热至回流。6小时后,真空除去溶剂,通过反相 HPLC 纯化所得泡沫状物,在30分钟内用0-40% CH₃CN/H₂O (0.25% 乙酸)进行梯度洗脱。将含有产物的级份合并,并浓缩,获得了泡沫状物。将产物溶解在1 N HCl 中,真空除去溶剂(2×),获得了0.15 g (29%)所需的(2S,5E)-2-氨基-2-甲基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸,二盐酸盐产物。

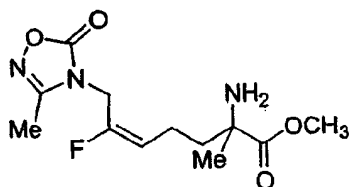
HRMS 计算值 C₁₀H₁₉FN₃O₂: m/z = 232.1461 [M+H]⁺, 实测值 232.1485.

¹H NMR (D₂O) 1.43 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.8-2.1 (m, 4H), 3.98 (d, 2H) 5.29 (dt, 乙烯基, 1H). ¹⁹F NMR (CDCl₃) -109.97 (q, 1 F, J = 21 Hz).

实施例 II



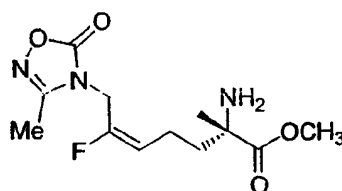
(2S,5E)-2-氨基-2-甲基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐



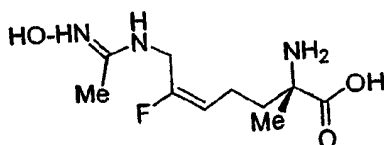
实施例-II-1) 在氮气氛围下, 向 N-[(3,4-二氟苯基)-亚甲基]-丙氨酸甲酯(748.5 g, 2.88 mol)的 1-甲基-2-吡咯烷酮(7500 mL)溶液中加入 LiI (385.5 g, 2.88 mol), 将所得浆液搅拌约 20 分钟, 获得了澄清溶液。然后加入得自实施例-HH-5 的固体(750 g, 2.40 mol), 将所得溶液在冰浴中冷却至约 0℃。用 25 分钟滴加纯净的 BTPP (900 g, 2.88 mol), 同时将内温保持在 5℃以下。在 5℃搅拌 1.5 小时后, 通过 HPLC 测定表明反应已完全。加入 7500 mL 甲基叔丁基醚(MTBE), 然后加入 9750 mL 水/碎冰混合物。在该操作期间让温度升至 20℃。剧烈搅拌 5-10 分钟后, 分离各层, 将水层用 6000 mL MTBE 洗涤 2 次。合并 MTBE 层, 用 7500 mL 水洗涤 2 次。然后将所得 MTBE 溶液浓缩至约 5000 mL,

用 11625 mL 1.0 N HCl 处理, 在室温剧烈搅拌 1 小时。分离各层, 用 7500 mL MTBE 洗涤水层。向水层中加入约 1 kg 氯化钠, 将所得混合物搅拌直至所有盐都已溶解。加入 7500 mL 乙酸乙酯, 将所得混合物冷却至 10℃, 在良好搅拌下加入 2025 mL 6.0 N 氢氧化钠。所得 pH 应当为约 9。分离各层, 用氯化钠将水层饱和, 再用 7500 mL 乙酸乙酯萃取。将合并的乙酸乙酯萃取液干燥(MgSO₄), 浓缩, 获得了浅色油状物。应当注意乙酸乙酯没有被完全除去。然后在搅拌下加入 3000 mL 己烷以生成浆液, 将其冷却至 10℃。通过过滤收集该粒状固体, 用 1500 mL 己烷洗涤。获得了约 564 g (产率为 82%) 所需的纯的氨基酯(HPLC 表明纯度>95%), 为白色固体, m.p. 82.9-83.0℃。LCMS: m/z = 288.2 [M+H]⁺。手性 HPLC (Chiralpak-AD 正相柱, 100% 乙腈, 210 nm, 1 mL/分钟): 在 4.71 和 5.36 min 有两个主要峰(1:1)。

¹H NMR (CDCl₃): 1.40 (s, 3H), 1.7-1.8 (m, 2H), 2.0 (br s, 2H), 2.2 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 4.34 (dd, 2H), 5.33 (dt, 1H)。



实施例-11-2) 使用制备型手性 HPLC 色谱(ChiralPak-AD, 正相柱, 100% 乙腈)分离实施例-II-1 产物的单独对映体, 获得了所需纯的 (2S)-2-甲基氨基酯标题产物。ChiralPak-AD, 正相柱, 100% 乙腈, 210 nm, 1 mL/分钟): 5.14 分钟(99%)。



实施例-II-3) 将实施例-II-2 产物(2.30 g, 8.01 mmol)在 0.993 M NaOH (30.0 ml, 29.79 mmol)中的浆液于室温搅拌 2 小时。向所得澄清无色溶液中加入 1.023 M HCl (29.10 mL, 29.76 mmol)。将所得澄清溶液浓缩直至开始形成沉淀(约 30 mL)。将浆液温热, 获得了澄清溶液,

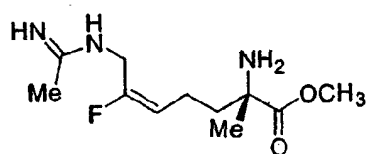
让其在室温静置过夜。通过过滤分离沉淀。将该固体用冷水(2×10 mL)、冷甲醇(2×10 mL)和 Et₂O (2×20 mL)洗涤。将该白色固体在 40℃真空干燥 4 小时, 获得了 1.04 g (53%) 所需的所示 N-羟基产物。mp = 247.2℃。

元素分析的计算值 C₁₀H₁₈FN₃O₃: C, 48.57; H, 7.34; N, 16.99; Cl, 0.0. 实测值 C, 48.49; H, 7.37; N, 16.91; Cl, 0.0.

HRMS 计算值 C₁₀H₁₉FN₃O₃: m/z = 248.1410 [M+H]⁺, 实测值: 248.1390.

¹H NMR (D₂O) 1.35 (s, 3H), 1.81 (s, 3H), 1.7-2.0 (m, 4H), 3.87 (d, 2H) 5.29 (dt, 乙烯基, 1H). ¹⁹F NMR (CDCl₃) -112.51 (q, 1 F, J = 21 Hz).

实施例-II-4) 向实施例-II-3 产物在甲醇内的溶液中加入 Lindlar 催化剂。将该搅拌着的浆液回流 2 小时, 然后冷却至室温。通过经由硅藻土过滤除去催化剂, 将滤液汽提。将所得固体溶解在水中并浓缩, 用 1.0N HCl 重复该操作, 获得了所需的(2R,5E)-2-氨基-2-甲基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐产物。



实施例-11-5) 将 73.5 g (0.3 mol) 实施例-II-2 产物溶解在 300 mL 甲醇中, 滴加到 13.7 g Lindlar 催化剂和 73.5 g 甲酸(1.53 mol)在 312 mL 甲醇内的预先形成的混合物中, 同时将该反应温度保持在 22℃ - 26℃。在室温搅拌约 15 小时后, 通过 ¹⁹F NMR 测定表明该反应已完全。和所得反应混合物经由硅藻土过滤, 用 125 mL 甲醇洗涤 3 次。将甲醇滤液合并, 浓缩, 获得了 115 g 所需标题产物, 为粘性油状物。

MS: m/z = 246 (M+H)⁺.

¹H NMR (CD₃OD) 1.3 (s, 3H), 1.7-2.0 (m, 4H) 2.3 (s, 3H), 3.9 (s, 3H), 4.2 (d, 2H), 5.4 (dt, 乙烯基, 1H), 8.4 (s, 3H).

¹⁹F NMR (CD₃OD) -111.7 (q, J = 21 Hz) -111.7 (q, J = 21 Hz).

为了除去微量铅，将粗产物溶解在 750 mL 甲醇中，加入 150 g 硫羟树脂(Deloxan THP 11)。在室温搅拌 3 小时后，过滤该树脂，用 500 mL 甲醇洗涤 2 次。将滤液合并，浓缩，获得了 99 g 所需的标题产物，为粘性油状物。

另一方法：

将总共 5.0 g 实施例-II-2 产物(0.0174 mol, 1.0 当量)与 5.0 g 锌粉(0.0765 mol, 4.39 当量)在 40 mL 1-丁醇和 10 mL 乙酸中混和。在 50 °C 搅拌 5 小时后，LC 分析表明该反应已完全。迅速过滤出该固体。将滤液在冰水中冷却至 7 °C，然后在剧烈搅拌下一次性加入 30 mL 6 N NaOH (0.180 mol)。将该反应混合物从 33 °C 冷却至 20 °C 以后，分离出澄清的丁醇层，再用 40 mL 1-丁醇萃取水层。将丁醇萃取液合并，依次用 30 mL 盐水和约 10 mL 6N HCl 洗涤。在 70 °C 浓缩后，形成了澄清的玻璃状物，经鉴定其是所需标题产物。

实施例-II) 将 99 g 实施例-II-5 产物在 6 N HCl 中的溶液回流 1 小时，这时 LC 分析表明反应已完全。真空除去溶剂，获得了 89.2 玻璃状油状物，将其溶解在 1466 mL 乙醇与 7.5 mL 去离子水的混合物中。在室温向该搅拌着的溶液中加入 THF，直至达到浊点(5.5 升)。再加入 30 mL 去离子水，将该溶液在室温搅拌过夜。将所得浆液过滤，用 200 mL THF 洗涤，获得了 65 g 白色固体，经鉴定其是所需标题产物。

$[\alpha]_D^{25} = +7.2$ (c=0.9, H₂O)

mp = 126-130 °C.

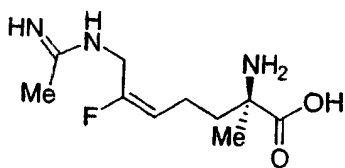
MS: m/z = 232 (M+H)⁺.

元素分析的计算值 C₁₀H₂₂N₃F₁O₃Cl₂: C, 37.28; H, 6.88; N, 13.04; Cl, 22.01. 实测值 C, 37.52, H, 6.84, N, 13.21, Cl, 21.81.

¹H NMR (D₂O) δ 1.1 (s, 3H), 1.8-2.1 (m, 4H), 1.9 (s, 3H), 4.0 (d, 2H), 5.3 (dt, 乙烯基, 1H).

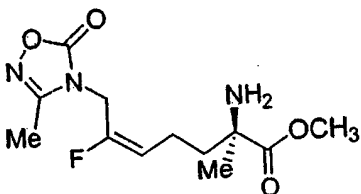
¹⁹F NMR (D₂O) δ 1.1 ~ 1.5 (q, J=21 Hz) -112.1 (q, J=21 Hz).

实施例 JJ

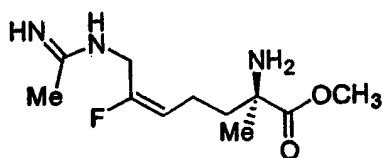


2HCl

(2R,5E)-2-氨基-2-甲基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸,
二盐酸盐



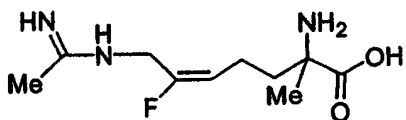
实施例-JJ-1) 使用制备型手性 HPLC 色谱分离实施例-II-1 产物的单独对映体, 获得了所需纯的(2R)-2-甲基氨基酯产物。



实施例-JJ-2) 将实施例-JJ-1 产物溶解在水和乙酸中。加入锌粉, 将该混合物在 60℃加热直至 HPLC 分析表明剩余少量原料。经由硅藻土将锌从该反应混合物中过滤出来, 将滤液浓缩。通过反相 HPLC 柱色谱法纯化粗产物。合并含有产物的级份并浓缩, 获得了所需的(2R)-2-甲基乙脒产物。

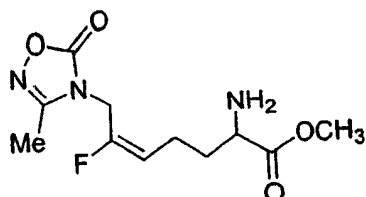
实施例-JJ) 将实施例-JJ-2 产物在 2.0 NHCl 中的溶液回流 2 小时。真空除去溶剂。将所得固体溶解在水中并浓缩, 用 1.0N HCl 重复该操作, 获得了所需的(2R,5E)-2-氨基-2-甲基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐产物。

实施例 KK



2HCl

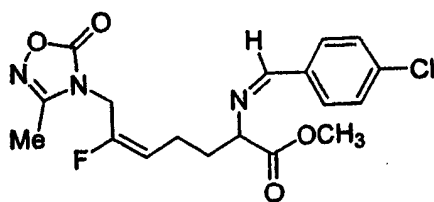
(2R/S,5E)-2-氨基-2-甲基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸,
二盐酸盐



实施例-KK-1) 向在冰浴内的 N-[(4-氯苯基)亚甲基]-甘氨酸甲酯 (0.33 g, 1.6 mmol)、LiI (0.20 g, 1.0 mmol)和实施例-HH-5 产物样本 (0.30 g, 0.96 mmol)的 1-甲基-2-吡咯烷酮(5 mL)溶液中加入 2-叔丁基亚氨基-2-二乙基氨基-1,3-二甲基全氢-1,3,2-二氮磷杂 (diazaphosphorine) (0.433 mL, 1.5 mmol)。将该溶液在室温搅拌 1.5 小时。将该反应混合物用乙酸乙酯(30 mL)稀释,用水(2×20 mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤,并蒸发,获得了所需的外消旋烷基化亚胺粗产物,为黄色油状物。

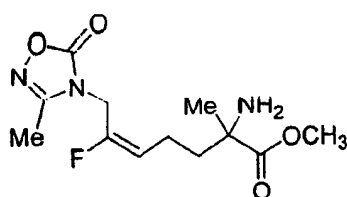
将粗产物溶解在乙酸乙酯 (10 mL)中,加入 1N HCl (10 mL)。将该混合物在室温搅拌 2 小时,分离出有机层。用碳酸氢钠固体中和水层,用乙酸乙酯(2×30 mL)萃取。将有机层干燥(MgSO₄),过滤并蒸发,获得了 0.13 g 所需的外消旋氨基酯标题产物,为黄色油状物。该产物不用进一步纯化直接用于下一步骤。

LCMS: $m/z = 288.2$ $[M+H]^+$.



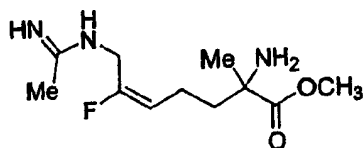
实施例-KK-2) 向实施例-KK-1 (1.36 g, 4.98 mmol)的 CH₂Cl₂ (15 mL)溶液中加入 4-氯苯甲醛(0.70 g, 5.0 mmol)和 MgSO₄ (~5 g)。在室温将浆液搅拌 18 小时。将浆液过滤,将滤液汽提,获得了 1.98 g (100 %)所需的标题亚胺产物,为浅黄色油状物。产物不用进一步纯化直接用于下一步骤。

¹H NMR (C₆D₆) 1.34 (s, 3H), 2.0 (br m, 4H), 3.32 (s, 3H), 3.42 (m, 2H), 3.83 (t, 1H), 4.98 (dt, 乙烯基, 1H).



实施例-KK-3) 向实施例-KK-2 产物(0.25 g, 0.63 mmol)的 CH_2Cl_2 (2 mL)溶液中加入甲基碘(0.200 mL, 3.23 mmol)和 O(9)-烯丙基-N-(9-蒎基甲基)-辛可尼丁溴化物(40 mg, 0.066 mmol)。将该溶液冷却至 -78°C ，加入纯净的 BTPP (0.289 mL, 0.95 mmol)。将所得橙色溶液在 -78°C 搅拌 2 小时，然后让其温度升至 -50°C 。在 -50°C 保持 2 小时后，将该溶液用 CH_2Cl_2 (10 mL)稀释，用水(10 mL)洗涤，干燥(MgSO_4)，过滤，并蒸发，获得了外消旋烷基化亚胺粗产物，为黄色油状物。

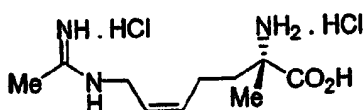
将粗产物溶解在乙酸乙酯(10 mL)中，加入 1N HCl (10 mL)。将该混合物在室温搅拌 1 小时，分离出有机层。用固体碳酸氢钠将水层中和，用乙酸乙酯(2×30 mL)萃取。将有机层干燥(MgSO_4)，过滤并蒸发，获得了 0.16 g 所需的外消旋 2-甲基氨基酯产物，为黄色油状物。产物不用进一步纯化直接用于下一步骤。LCMS: $m/z=288.2[\text{M}+\text{H}]^+$



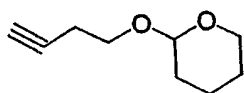
实施例-KK-4) 将实施例-KK-3 外消旋粗产物溶解在水和乙酸中。加入锌粉，将该混合物在 60°C 加热直至 HPLC 分析表明剩余少量原料。经由硅藻土将锌从该反应混合物中过滤出来，将滤液浓缩。通过反相 HPLC 柱色谱法纯化粗产物。合并含有产物的级份并浓缩，获得了所需的乙脒产物。

实施例-KF) 将实施例-KK-4 外消旋产物在 2.0 N HCl 中的溶液回流 1 小时。真空除去溶剂。将所得固体溶解在水中并浓缩，用 1.0N HCl 重复该操作，获得了所需的本标题产物(2R/S,5E)-2-氨基-2-甲基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸，二盐酸盐。

实施例 LL

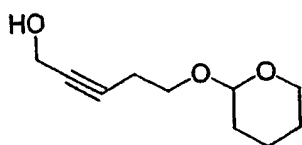


(2S,5Z)-2-氨基-2-甲基-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐



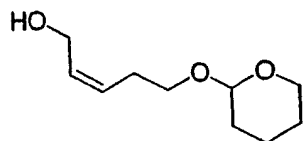
4-[(四氢吡喃基)氧基]丁炔

实施例 LL-1) 将 4-二氢-2H-吡啶(293.2 g 3.5 mol)和浓 HCl (1.1 mL)的混合物冷却至 5℃。在持续从外面冷却下, 用 30 分钟加入 3-丁炔-1-醇(231.5 g, 3.3 mol), 让温度达到 50℃。在混和下将该反应于室温保持 2.5 小时, 然后用 MTBE (1.0 L)稀释。用饱和碳酸氢钠(2×150 mL)洗涤所得混合物。用硫酸钠将有机相干燥, 并减压浓缩, 获得了 500 g (粗产物产率为 98%) 产物; GC 面积% 为 96%。



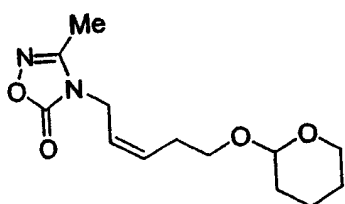
5-(四氢-吡喃-2-基氧基)-戊-2-炔-1-醇

实施例 LL-2) 在氮气氛下, 用 30 分钟向实施例 LL-1 的产物 4-[(四氢吡喃基)氧基]丁炔(50.0 g, 0.33 mol)在 THF (125mL)内的溶液中加入 2 N EtMgCl 的 THF 溶液(242 mL, 0.48 mol), 让温度升至 48℃。将该混合物进一步加热至 66℃, 在该温度下保持 2 小时, 然后冷却至室温。加入低聚甲醛(14.5 g, 0.48 mol) (观察到轻微放热), 将所得混合物加热至 45℃。将温度控制在 45 至 55℃之间 1 小时后, 该混合物变为澄清。将该混合物加热至 66℃, 并搅拌 2.5 小时。将该混合物冷却至室温, 用 30 分钟缓慢地加入饱和氯化铵(125 mL) (观察到强放热), 同时将温度保持在 40℃以下。通过倾析分离出液相; 加入乙酸乙酯(250 mL)和盐水(50 mL)。分离出有机相, 用盐水(2×50 mL)和水(1×50 mL)洗涤。用硫酸钠将有机层干燥, 并减压浓缩, 获得了 51 g 浅黄色油状物(粗产物产率为 85%); GC 面积% = 88% 标题产物, 6% 原料。



5-(四氢-吡喃-2-基氧基)-戊-2-烯-1-醇

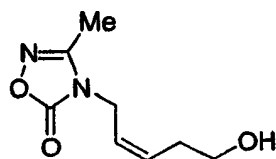
实施例 LL-3) 在氮气氛围下, 向 500 mL 帕尔瓶中加入实施例 LL-2 的产物 5-(四氢-吡喃-2-基氧基)-戊-2-炔-1-醇(40.2 g, 0.22 mol)、Lindlar 催化剂(2.0 g)、乙醇(120 mL)、己烷(120 mL)和 2,6-二甲基吡啶(457 mg)。每次用氮气和氢气将该反应混合物吹扫 5 次。用氢气将帕尔瓶加压至 5 psi, 振摇直至消耗 98% 理论上的氢气。将氢气从瓶中释放出来, 用氮气吹扫 5 次。将该混合物经由 Solka Floc 垫过滤, 用乙醇(2×50 mL)洗涤催化剂。将滤液和洗涤液合并, 减压浓缩, 获得了 40.3 g (产率为 99%) 本标题产物, 为黄色油状物(GC 面积 % = 96%)。



3-甲基-4-[5-(四氢-吡喃-2-基氧基)-戊-2-烯基]-4H-[1,2,4]恶二唑-5-酮

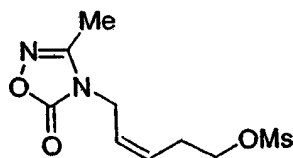
实施例 LL-4) 向实施例 LL-3 产物 5-(四氢-吡喃-2-基氧基)-戊-2-烯-1-醇(11.8 g, 0.063 mol)在甲苯(42 mL)内的溶液中加入三乙胺(6.4 g, 0.063 mol)。将该混合物冷却至 -5℃, 经由注射器以将反应器温度保持在 10℃ 的速度加入甲磺酰氯(7.3 g, 0.63 mol)。将该混合物温热至室温, 搅拌 2 小时。将该混合物抽滤, 在滤器上用甲苯(2×20 mL)洗涤。将滤液和洗涤液加到 3-甲基-1,2,4-恶二唑啉-5-酮的钠盐(8.6 g, 0.063 mol)在 DMF (10 mL)内的混合物中。用机械搅拌器搅拌该混合物, 并在 45℃ 加热 5 小时。加入水(40 mL), 将该混合物搅拌 5 分钟, 然后分离各层。将甲苯层用水(3×20 mL)洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 并浓缩, 获得了 16.5 g (97.3%) 橙色粗产物(面积 % GC 由 71% 本标题产物、18% 甲苯和

4% 杂质构成)。



4-(5-羟基-戊-2-烯基)-3-甲基-4H-[1,2,4]恶二唑-5-酮

实施例 LL-5) 向实施例 LL-4 产物 3-甲基-4-[5-(四氢-吡喃-2-基氧基)-戊-2-烯基]-4H-[1,2,4]恶二唑-5-酮(16 g, 0.06 mol)在甲醇(48 mL)内的溶液中加入对甲苯磺酸(0.34 g, 2.0 mmol)。将该混合物在室温搅拌 4 小时。加入碳酸氢钠(0.27 g, 3.0 mmol)，用旋转蒸发仪将该混合物浓缩。将残余物用饱和碳酸氢钠(20 mL)稀释，用乙酸乙酯(2×60 mL)萃取所得混合物。将萃取液合并，用水(2×25 mL)洗涤，用 MgSO_4 干燥，并浓缩，获得了 8.4 g 本标题产物的粗产物，为橙色油状物(面积 % GC=80%)。



甲磺酸 5-(3-甲基-5-氧代-[1,2,4]恶二唑-4-基)-戊-3-烯基酯

实施例 LL-6) 向实施例 LL-5 产物 4-(5-羟基-戊-2-烯基)-3-甲基-4H-[1,2,4]恶二唑-5-酮(8.27 g, 0.045 mol)在二氯甲烷(33 mL)内的溶液中加入三乙胺(5.0 g, 0.49 mol)。将该混合物冷却至 -5°C ，以将温度保持在 8°C 的速度加入甲磺酰氯(5.5 g, 0.048 mol)。移去冰浴，将该混合物搅拌 3 小时，将其温热至室温。加入水(15 mL)，将该混合物搅拌 5 分钟，然后分离各层。将有机相用水(10 mL)洗涤，用 MgSO_4 干燥，浓缩，获得了浅琥珀色残余物。将该残余物溶解在乙酸乙酯(8 mL)中，并在 5°C 保持过夜。抽滤出沉淀固体，在滤器上用最小体积的乙酸乙酯洗涤，然后在滤器上风干，获得了 6.8 g (产率为 58%) 本标题产物。

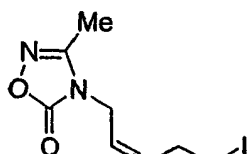
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.76 (dt, $J=10.9, 7.5, 1.5$ Hz, 1H), δ 5.59 (dt, $J=10.9, 7.0, 1.5$ Hz, 1H), δ 4.31 (t, $J=6.3$ Hz, 2H), δ 4.27 (dd, $J=7.0, 1.5$ Hz, 2H), δ 3.04 (s, 3H), δ 2.67 (q, $J=6.7$ Hz,

2H), δ 2.28 (s, 3H)

^{13}C (CDCl_3) δ 159.0, 156.3, 129.9, 125.1, 68.4, 38.9, 37.2, 27.5, 10.2.

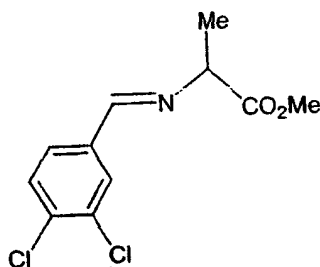
IR (cm^{-1}) 1758, 1605, 1342, 1320, 1170.

元素分析的计算值 $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: C, 41.21; H, 5.38; N, 10.68. 实测值: C, 41.15; H, 5.41; N, 10.51.



4-(5-碘-戊-2-烯基)-3-甲基-4H-[1,2,4]恶二唑-5-酮

实施例 LL-7) 向实施例 LL-6 产物甲磺酸 5-(3-甲基-5-氧代-[1,2,4]恶二唑-4-基)-戊-3-烯酯(20.0 g, 0.076 mol)在丙酮(160 ml)内的溶液中加入碘化钠(17.15 g, 0.114 mol)。将该混合物加热至回流, 并搅拌 3 小时。停止外部加热, 将该混合物在室温保持过夜。通过过滤除去固体, 在滤器上洗涤。将滤液和洗涤液合并, 并浓缩, 用乙酸乙酯(120 mL)萃取该多相残余物。将有机层用水(60 mL)、15% 硫代硫酸钠水溶液(60 mL)和水(60 mL)洗涤; 用 MgSO_4 干燥, 并减压浓缩, 获得了 22.1 g (产率为 98%) 本标题油状产物。

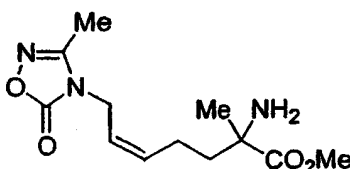


2-[(3,4-二氯-苄基)-氨基]-丙酸甲酯

实施例 LL-8) 在氮气氛围下, 用 12 分钟向 L-丙氨酸甲酯盐酸盐(200.0 g, 1.43 mol)在二氯甲烷(2.1 L)内的机械搅拌着的浆液中加入三乙胺(199.7 mL, 1.43 mol) (期间加入的固体部分溶解, 然后再沉淀)。10 分钟后, 加入 3,4-二氯苯甲醛(227.5 g, 1.30 mol)和硫酸镁(173.0 g, 1.43 mol) (在 30 分钟内温度增加了 6°C)。2.5 小时后, 将该混合物过滤。将滤液用水(1×1 L)和盐水(1×500 mL)洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤

并浓缩，以 92.4 % 的产率获得了 313.3 g 油状产物。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) . 8.25 (s, 1H), 7.91 (d, 1H), 7.58 (dd, 1H), 7.49 (d, 1H), 4.17 (t, 1H), 3.76 (s, 3H), 1.53 (d, 3H). 元素分析的计算值: $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{NO}_2$: C, 50.79; H, 4.26; Cl, 27.26; N, 5.38. 实测值: C, 50.37; H, 4.10; Cl, 26.87; N, 5.38.



外消旋-2-氨基-2-甲基-7-(3-甲基-5-氧代-[1,2,4]恶二唑-4-基)-庚-5-烯酸甲酯

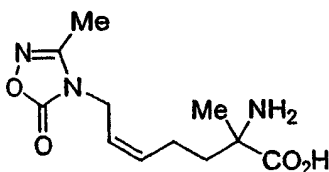
实施例 LL-9) 方法 1. 在氮气氛下将实施例 LL-7 产物(114.2 g, 0.39 mol)和实施例 LL-8 产物(151.5 g, 0.58 mol)在二甲基甲酰胺(1.4 L)中的溶液冷却至 -8°C 。然后用 19 分钟分 3 批(每批的量相等)加入碘化锂(78.1 g, 0.58 mol)。将该混合物在 -7°C 搅拌 20 分钟，然后用 36 分钟加入(叔丁基亚氨基)-三(吡咯烷-2-基)正膦(194.0 mL, 0.62) (最高温度 $=-2.6^{\circ}\text{C}$)。10 分钟后，移去冷却浴，将该溶液在室温搅拌 1 小时。然后将该混合物倒入冷水(1.4 L)内，用乙酸乙酯(2×1.0 L)萃取。将合并的有机层用水(2×400 mL)和盐水洗涤。将乙酸乙酯层用 1N HCl (780 mL)处理，搅拌 1 小时。分离出水层，用乙酸乙酯(2×400 mL)萃取，然后用碳酸氢钠(110 g)中和。用乙酸乙酯(1×500 mL)萃取该混合物。用硫酸钠将有机层干燥，过滤，浓缩，然后用甲基叔丁基醚处理，获得了结晶产物：第一批 14.4 g；第二批 6.6 g (GC 纯度分别 $=96.2$ 和 91.9%)。用氯化钠将水相饱和，用乙酸乙酯(4×500 mL)萃取。用硫酸钠将合并的有机层干燥，过滤，浓缩，然后用甲基叔丁基醚处理，获得了结晶产物：第一批 33.4 g；第二批 10.8 g (GC 纯度分别 $=89.6$ 和 88.8%)。粗产物总产量为 65.2 g, 62.4 %。

方法 2. 在氮气氛下，向实施例 LL-7 产物(20.7 g, 0.070 mol)和实施例 LL-8 产物(22.9 g, 0.088 mol)在二甲基甲酰胺(207 mL)内的溶液中加入碳酸铯(29.8 g, 0.092)。将该混合物在室温搅拌 16 小时，然后用

水(300 mL)稀释, 用乙酸乙酯(2×200 mL)萃取。将合并的乙酸乙酯层用水(3×100 mL)和盐水洗涤, 然后用 1N HCl (184 mL)处理。1 小时后, 分离各层, 用乙酸乙酯(3×100 mL)萃取水层, 然后用碳酸氢钠(15.5 g)中和。用乙酸乙酯(1×150 mL)萃取该混合物。用氯化钠将水层饱和, 用乙酸乙酯(3×100 mL)萃取。用硫酸钠将合并的有机层干燥, 过滤并浓缩, 获得了黄色固体, 11.9 g, 62.9%; GC 纯度=96.6%。将粗产物从温热的甲基叔丁基醚或乙酸乙酯中重结晶。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 5.68 (m, 1H), 5.36 (m, 1H), 4.23 (d, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.18 (m, 2H), 1.81 (m, 1H), 1.69 (s, br, 2H), 1.66 (m, 1H), (1.36, 3H)

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3) 177.60, 159.01, 156.10, 135.12, 121.82, 57.48, 52.29, 40.12, 39.00, 26.62, 22.56, 10.41

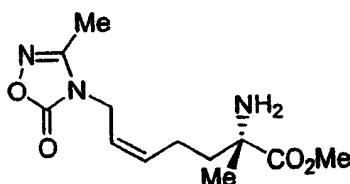


外消旋-2-氨基-2-甲基-7-(3-甲基-5-氧代-[1,2,4]恶二唑-4-基)庚-5-烯酸

实施例 LL-10) 将实施例 LL-9 产物(0.269g, 1 mmol)溶解在 5mL 2N HCl 中, 在氨气氛下加热至回流。回流 6 小时后, 在室温搅拌 72 小时, 取出等份试样, 通过 ^1H NMR 检查。其中有约 6% 未反应的酯原料和所需产物(通过 LC-MS 证实的)。真空除去含水部分, 获得了 0.38 g 浓厚的琥珀色油状物。通过反相色谱纯化, 然后冷冻干燥, 获得了 0.23 g, 90.2% 本标题化合物, 为白色非潮解性固体。

元素分析的计算值 $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4 \cdot 0.77\text{H}_2\text{O}$: C, 49.09; H, 6.94; N, 15.61. 实测值: C, 48.71; H, 6.94; N, 15.98

质谱: $\text{M}+1 = 256$.



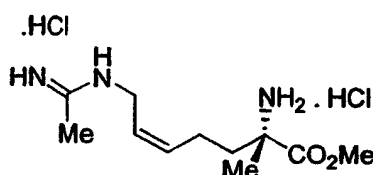
(2S,5Z)-2-氨基-2-甲基-7-(3-甲基-5-氧代-[1,2,4]恶二唑-4-基)-庚-5-烯酸甲酯

实施例 LL-11) 使用具有稳态再循环部件的 Novaprep 200 装置, 通过制备手性色谱法将本标题化合物(827.3 g)与其 R 对映体分离开。将产物以 40 mg/ml 的浓度溶解在无水乙醇中, 负载到 50×500 mm 预填塞的 Chiral Technologies 不锈钢柱上。吸附剂是 20 μ ChiralPak AD。流动相是乙醇/三乙胺 100/0.1; 流速等于 125 ml/分钟。每 12 分钟将粗产物溶液(25 mL)加到柱上。使用稳态再循环技术。使用旋转蒸发仪除去溶剂。分离出最终的产物, 为金色油状物, 其在静置时固化; 399.0 g (收率为 96.4%)。

^1H (400 MHz, CD_3OD) 5.68 (dtt, 1H, $J_{\text{H-H}} = 10.7$ Hz), 5.43 (dtt, 1H, $J_{\text{H-H}} = 10.7$ Hz), 4.82 (s, br, 2H), 4.28 (d, 2H, $J = 5.5$ Hz), 3.73 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.26 (m, 1H), 2.14 (m, 1H), 1.82 (ddd, 1H, $J = 13.6, 11.3, 5.4$ Hz), 1.67 (ddd, 1H, $J = 13.6, 11.2, 5.5$ Hz), 1.34 (s, 3H)

^{13}C NMR (400 MHz, CD_3OD) 178.49, 161.13, 158.70, 135.92, 123.47, 58.55, 52.77, 41.38, 39.96, 26.23, 23.47, 10.23

元素分析的计算值 $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$: C, 53.52; H, 7.11; N, 15.60. 实测值: C 52.35; H, 7.20; N, 15.60.



(2S,5Z)-7-亚氨代乙酰基氨基-2-氨基-2-甲基-庚-5-烯酸甲酯, 二盐酸盐水合物

实施例 LL-12) 在室温, 向实施例 LL-11 产物(114.5 g, 0.425 mol) 在甲醇(2.4 L)内的溶液中加入固体二苯甲酰基-L-酒石酸(152.5 g, 0.425 mol)和 88% 甲酸(147 mL, 3.428 mol)。在氮气氛围下制备 Lindlar 催化剂、5 wt% 用乙酸铅毒化的以碳酸钙为载体的钯(37.9 g)在甲醇(200 mL)中的浆液。然后在室温将原料溶液加到该浅灰色催化剂浆液中, 然后用甲醇(200 mL)洗涤。将该多相反应混合物在 45℃加热 1.5

小时。观察到在约 40℃ 开始稳定地释放出气体，这表明反应在进行。将该混合物在冰/水浴中冷却，然后经由 Supercell HyFlo 塞过滤。将该黄色溶液真空浓缩，获得了粘性油状物，将其在 2N 盐酸(2 L)与乙酸乙酯(0.8 L)之间溶解和分配。分离各层，用乙酸乙酯(0.8 L)将水层洗涤 1 次。在高温下(=70℃)真空除去溶剂和挥发物。该中间体产物不用进一步纯化和特征确定直接用于下一步骤。LC-MS $[M+H]^+ = 228$ 。

实施例 LL) 将实施例 LL-12 粗产物(170 g)溶解在 2N 盐酸(1 L)中。将所得橙色溶液回流过夜，然后冷却至室温。将该反应混合物浓缩至其体积的约 1/3，让该酸性溶液流过固相萃取柱(25 g C18 二氧化硅)以除去颜色和其它杂质。真空除去(=70℃)溶剂，获得了 208 g 粗产物，为淡黄色树胶状物。

将该树胶状粗产物(31.3 g)置于水(250 mL)中，把该材料负载到填塞有酸性树脂 Dowex 50WX4-400 (约 600 g)的预处理离子交换柱上。首先用水(1 L)洗涤树脂，然后用稀盐酸(1 L 10/90 v/v 浓 HCl/水)洗脱。产物被较高离子强度的稀盐酸(1.5 L 20/90 v/v - 25/75 v/v 浓 HCl/水)从树脂上洗脱下来。将含水溶剂真空去除(=70℃)，将树胶状残余物置于 4 vol% 三氟乙酸水溶液(100 mL)中。真空除去(=70℃)含水溶剂，将该操作再重复 1 次。然后在高度真空下将残余物干燥，获得了 32.2 g 三氟乙酸盐形式的树胶状物。

通过反相制备色谱纯化(2S,5Z)-7-亚氨代乙酰基氨基-2-氨基-2-甲基-庚-5-烯酸，双三氟乙酸盐水合物粗产物(32.2 g)。将该粗产物溶解在 0.1% TFA 水溶液(50 ml)中，负载到填塞有吸附剂(BHK 极性 W/S, 50, 1.16 kg)的 2-英寸 ID×1 米不锈钢柱上。用 0.1% TFA 水溶液到 25/75/0.1 乙腈/水/TFA 的步骤梯度以 120 mL/分钟的流速洗脱该产物。负载比例为 36:1 w/w 二氧化硅/样本。真空除去溶剂，通过用稀盐酸反复洗涤和真空除去溶剂来将该产物转化成盐酸盐。在高度真空下干燥，获得了 27.4 g 本标题二盐酸盐水合物，为淡黄色树胶状物。

LC-MS $[M+H]^+ = 214.16$ Da

$^1\text{H NMR}$ (D_2O , δ : 1.48 (s, 3H), 1.8-1.9 (AB, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.01/2.12 (AB, 2H), 3.78 (d,

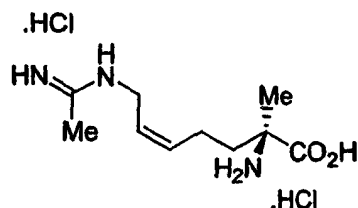
2H), 几何异构体 3.87 (d, 2H), 5.6/5.5 (dt, 2H, 11 Hz)

^{13}C NMR (D_2O) : 18.7, 21.5, 21.6, 36.4, 39.1, 59.8, 122.6, 134.3, 164.5, 173.7

元素分析的计算值 $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 2.2\text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 36.21; H, 8.33; N, 12.67; Cl

23.51. 实测值 C, 36.03; H, 7.72; N, 12.67; Cl, 23.60.

实施例 MM



(2R,5Z)-2-氨基-2-甲基-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸, 二盐酸盐

将在实施例 LL-11 所述的分离期间分离到的 R-对映体(1.13 g, 4.2 mmol)溶解在 11 mL 25% 乙酸水溶液中, 加热至 60℃。然后以 30 分钟的时间间隔分 4 批(每批的量相同)加入锌粉(1.10 g)。加热总共 3 小时后, 取出等份试样, 通过 LC-MS 检查, 结果表明其中含有微量未反应的原料和所需产物。将该混合物冷却至室温, 过滤, 真空汽提, 获得了 2.31 g 融雪状白色固体。用稀热盐酸将该甲酯水解, 获得了本标题化合物。通过反相色谱纯化后, 冷冻干燥, 获得了 0.31 g 本标题化合物, 为玻璃状固体。

元素分析的计算值 $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 1.22\text{HCl} \cdot 1.15\text{H}_2\text{O}$: C, 46.13; H, 8.15; N, 15.09; Cl, 15.53.

实测值: C, 46.38; H, 8.51; N, 15.13; Cl, 15.80

质谱 : $M+1 = 214$

c. 生物学数据

使用某些或所有下列测定来证实本发明化合物的一氧化氮合酶抑制活性, 和证实有用的药理性质。

用于一氧化氮合酶的瓜氨酸测定

一氧化氮合酶(NOS)活性可通过监测 L-[2,3- ^3H]-精氨酸转化成 L-[2,3- ^3H]-瓜氨酸来测定(Bredt 和 Snyder, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87, 682-685, 1990 和 Moore 等人, J. Med. Chem., 39, 669-672,

1996)。分别用从人组织中提取的 RNA 来克隆人诱导型 NOS (hiNOS)、人内皮组成型 NOS (hecNOS) 和人神经元组成型 NOS (hncNOS)。关于人诱导型 NOS (hiNOS) 的 cDNA 是从 λ cDNA 库中分离出来的, 该 λ cDNA 库是用从溃疡性结肠炎患者的结肠样本中提取的 RNA 构建成的。关于人内皮组成型 NOS (hecNOS) 的 cDNA 是从 λ cDNA 库中分离出来的, 该 λ cDNA 库是用从人脐静脉内皮细胞(HUVEC)提取的 RNA 构建成的, 关于人神经元组成型 NOS (hncNOS) 的 cDNA 是从 λ cDNA 库中分离出来的, 该 λ cDNA 库是用从得自尸体的人小脑提取的 RNA 构建成的。使用杆状病毒载体在 Sf9 昆虫细胞中表达重组酶(Rodi 等人, *The Biology of Nitric Oxide, Pt. 4: Enzymology, Biochemistry and Immunology* ; Moncada, S., Feelisch, M., Busse, R., Higgs, E., Eds.; Portland Press Ltd.: London, 1995; pp 447-450)。从可溶细胞提取物中分离出来酶活性, 并通过 DEAE-Sepharose 色谱部分纯化。为了测定 NOS 活性, 在或不在测试化合物存在下, 将 10 μ L 酶加到 40 μ L 50 mM Tris (pH 7.6) 中, 通过加入含有下述组分的 50 μ L 反应混合物来启动反应: 50mM Tris (pH 7.6)、2.0 mg/mL 牛血清白蛋白、2.0 mM DTT、4.0 mM CaCl_2 、20 μ M FAD、100 μ M 四氢生物喋呤、0.4 mM NADPH 和 60 μ M L-精氨酸 (含有 0.9 μ Ci L-[2,3- ^3H]-精氨酸)。L-精氨酸在该测定中的终浓度是 30 μ M。对于 hecNOS 或 hncNOS, 以 40 - 100 nM 的终浓度加入钙调蛋白。在 37 $^\circ\text{C}$ 培养 15 分钟后, 通过加入 400 μ L Dowex 50W X-8 阳离子交换树脂在含有 10 mM EGTA、100 mM HEPES、pH 5.5 和 1 mM L-瓜氨酸的停止缓冲液中的悬浮液(1 份树脂, 3 份缓冲液)来终止该反应。混和后, 让树脂沉降, 通过用液体闪烁计数器计数上清等份试样的悬浮液来测定 L-[2,3- ^3H]-瓜氨酸的形成。结果列在表 1 中, 是以化合物对于 hiNOS、hecNOS 和 hncNOS 的 IC_{50} 值表示。

原细胞亚硝酸盐测定

在 LPS 存在下以诱导 NOS, 可将 RAW 264.7 细胞铺在 96-孔组织培养平板上培养过夜(17 小时)直至铺满。把一排 3 - 6 个孔保持不处理

并用作对照来减去非特异性背景。可将培养基从每个孔中取出,将细胞用含有 2 mg/ml 葡萄糖的 Kreb-Ringers-Hepes (25 mM, pH 7.4) 洗涤 2 次。然后将细胞置于冰上,与含有 L-精氨酸(30 μ M)+/-抑制剂的 50 μ L 缓冲液一起温育 1 小时。通过把平板在水浴中温热至 37 $^{\circ}$ C 并保持 1 小时来启动测定。细胞内 iNOS 产生的亚硝酸盐的量与时间呈线性关系。为了终止细胞测定,把细胞的平板置于冰上,取出含有亚硝酸盐的缓冲液,使用以前出版的用于测定亚硝酸盐的荧光法分析亚硝酸盐(T. P. Misko 等人, *Analytical Biochemistry*, 214, 11-16 (1993))。

人软骨外植块测定

将骨片用 Dulbecco's 磷酸盐缓冲盐水(GibcoBRL)洗涤 1 次,用 Dulbecco's 改性的 Eagles 培养基(GibcoBRL)缓冲液洗涤,置于不含酚红的基本必需培养基(MEM) (GibcoBRL)的培养皿中。将软骨切成重约 15 - 45 mg 的小外植块,以每孔 1 或 2 个外植块的量置于含有 200 - 500 μ L 培养基/孔的 96 或 48 孔培养板中。培养基是具有 Earle's 盐(GibcoBRL)的常规改性的基本必需培养基(Eagle),其中不含有 L-精氨酸、L-谷氨酰胺和酚红;或常规改性的无血清的 Neuman 和 Tytell (GibcoBRL)培养基,其中不含有 L-精氨酸、胰岛素、抗坏血酸、L-谷氨酰胺和酚红。这两种培养基在使用之前都补充 100 μ M L-精氨酸(Sigma)、2 mM L-谷氨酰胺、1X HL-1 补充物(BioWhittaker)、50 mg/ml 抗坏血酸(Sigma)和 150 pg/ml 重组人 IL-1 β (RD Systems)以诱导一氧化氮合酶。然后将化合物以 10 μ L 等份试样的量加入,将外植块在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 下培养 18 - 24 小时。然后弃去旧培养基,用含有重组人 IL-1 β 和化合物的新鲜培养基替换,并再培养 20 - 24 小时。用荧光测定法(Misko 等人, *Anal. Biochem.*, 214, 11-16, 1993)分析上清液中的亚硝酸盐。所有样本都以一式四份的方式进行。在不含重组人 IL-1 β 的培养基中培养未刺激的对照。IC₅₀ 值(表 I)是通过将在 6 个不同抑制剂浓度下的亚硝酸盐生成抑制百分比绘图来确定的。

表 I 显示了某些本发明化合物的生物活性。

表 I

生物活性：值代表所有实验和所有批次的平均值。

化合物的 实施例序号	hiNOS IC ₅₀ (μ M)	HecNOS IC ₅₀ (μ M)	hncNOS IC ₅₀ (μ M)	人软骨 IC ₅₀ (μ M)
实施例 A	0.36	68	3.6	0.1
实施例 B	2.2	195	21	0.2
实施例 C	12	303	105	
实施例 D	8.6	112	65	2.5
实施例 E	<5	279	29	
实施例 I	3.1	77	15	0.7
实施例 J	4.4	302	58	8.2
实施例 K	74	266	86	
实施例 L	197	1100	539	
实施例 M	3.4	78	17	
实施例 N	0.9	26	6.0	
实施例 O	7.2	>100	36	0.7
实施例 P	12	>100	181	
实施例 Q	12	1080	220	
实施例 S	172	1490	523	
实施例 T	0.9	89	8	0.1
实施例 U	20	418	150	
实施例 V	<3	>30	>3	<10
实施例 W	<5	>150	>10	>30
实施例 X	<3	>15	>3	<10

实施例 Y	<3	>30	>3	<10
实施例 Z	<3	>15	>3	<10
实施例 AA	<3	>5	<3	<3
实施例 BB	<10	>25	<10	
实施例 CC	2.9	29	9.9	0.5
实施例 DD	10	74	31	1.8
实施例 EE	1.4	18	5.8	0.5
实施例 FF	16	86	45	
实施例 GG	34	386	122	
实施例 HH	0.4	37	7.6	0.4
实施例 JJ	56	352	584	
实施例 KK	0.57	52	13	
实施例 LL	0.7	31	12	0.8
实施例 MM	121	1930	1480	

体内测定

给大鼠腹腔内注射 1 - 12.5 mg/kg 内毒素(LPS)，给它们或不给它们口服施用一氧化氮合酶抑制剂。处理 5 小时后可测定血浆亚硝酸盐/硝酸盐水平。结果可用于表明施用一氧化氮合酶抑制剂降低了血浆亚硝酸盐/硝酸盐水平的增加，这种增加是内毒素诱导的一氧化氮生成的可靠指标。如表 II 所示，实施例 A ((2S,5E)-2-氨基-6-氟-7-[(1-亚氨基乙基)氨基]-5-庚烯酸，二盐酸盐)抑制了 LPS 诱导的血浆亚硝酸盐/硝酸盐水平增加，所观测到的 ED₅₀ 值 < 0.1 mg/kg，这表明了体内抑制诱导型一氧化氮合酶活性的能力。

表 II

在内毒素处理的大鼠中测定的化合物的 ED_{50} ，除非另有说明，否则所有化合物都是口服给药。

化合物	ED_{50} (mg/kg)
实施例 A	< 0.1
实施例 D	>10
实施例 G	< 0.1
实施例 H	< 0.3
实施例 V	<3
实施例 W	>10
实施例 X	<5
实施例 Y	<3
实施例 Z	<5
实施例 AA	<10
实施例 CC	<3
实施例 EE	0.2
实施例 HH	0.4
实施例 KK	0.3
实施例 LL	0.3

时间依赖性抑制的测定

通过在瓜氨酸酶测定组分（减去 L-精氨酸）存在下，将化合物与酶在 37℃ 预培养 0 - 60 分钟来评价化合物的人 NOS 同工型时间依赖性抑制。在 0、10、21 和 60 分钟取出等份试样(10 μ L)，并立即加到含有 L-[2,3- 3 H]-精氨酸的瓜氨酸酶测定酶反应混合物中，其中 L-精氨酸的终浓度为 30 μ M，终体积为 100 μ l。让该反应在 37℃ 进行 15 分钟，通过加入停止缓冲液来终止反应，并如瓜氨酸 NOS 测定所述用 Dowex

50WX-8 阳离子交换树脂进行色谱分离。抑制剂对 NOS 活性的 % 抑制是，与在没有抑制剂存在的情况下预培养相同时间的对照酶相比的抑制百分比。表 III 所示数据是将抑制剂与酶预培养 21 和 60 分钟后的 % 抑制。

表 III

实施例序号	<u>hiNOS</u>	<u>hecNOS</u>	<u>hncNOS</u>
V	75%@2.8 μ M@21min	11%@33 μ M@21min	0%@5 μ M@21min
	76%@2.8 μ M@60min	11%@33 μ M@60min	0%@5 μ M@60min
W	34%@4.2 μ M@21min	9%@173 μ M@21min	0%@13 μ M@21min
	38%@4.2 μ M@60min	0%@173 μ M@60min	0%@13 μ M@60min
X	86%@2.2 μ M@21min	18%@15 μ M@21min	0%@3 μ M@21min
	85%@2.2 μ M@60min	16%@15 μ M@60min	0%@3 μ M@60min
Y	75%@2.8 μ M@21min	11%@33 μ M@21min	0%@5 μ M@21min
	76%@2.8 μ M@60min	11%@33 μ M@60min	0%@5 μ M@60min
Z	86%@2.2 μ M@21min	18%@15 μ M@21min	0%@3 μ M@21min
	85%@2.2 μ M@60min	16%@15 μ M@60min	0%@3 μ M@60min
AA	96%@2.2 μ M@21min	58%@5.7 μ M@21min	34%@0.9 μ M@21min
	97%@2.2 μ M@60min	55%@2.2 μ M@60min	0%@0.9 μ M@60min

在视网膜缺血期间选择性 iNOS 抑制剂的神经保护作用的测定

在视网膜缺血期间抗神经细胞损伤的药理保护作用与导致缺血的人眼病症的治疗有关，包括青光眼。在插套管的大鼠视网膜中测定选择性 iNOS 抑制剂在缺血视网膜中的神经保护作用。用 Fluoro-Gold 将在受试大鼠两个视网膜中的视网膜神经节细胞逆行标记。标记后，通过给麻醉的大鼠的两只眼睛插套管，并把一只眼睛的血压提高到收缩压之上之后并保持约 90 分钟来诱导视网膜缺血。然后降低血压，并去掉套管。经过接下来的两周，有相当比例的视网膜神经节细胞发生变性。在缺血事件两周后，让测试组的大鼠接受每日在饮用水或食物中施用的 iNOS 选择性抑制剂。在缺血事件后的两周期间内，将所选大鼠杀死，收集它们的视网膜，平坦固定，使用荧光显微镜检术来分

析神经节细胞损失。在收集的视网膜上进行免疫组织化学和免疫印迹测定，以分析神经节细胞损失和确定诱导型一氧化氮合酶的位置。

iNOS 选择性抑制剂抗玻璃体内新血管形成的保护作用的测定

抗玻璃体内新血管形成的药理保护作用与人视网膜病例如与视网膜缺血有关的视网膜病的治疗有关。糖尿病、成年视网膜病、视网膜静脉阻塞以及产生视网膜缺血的其它疾病经常导致在正常无血管玻璃体液中形成新血管，从而造成失明。已知一氧化氮影响新血管形成，因此 iNOS 选择性抑制剂可用于预防和治疗玻璃体内新血管形成。

为了确定施用 iNOS 选择性抑制剂来抗玻璃体内新血管形成，同时促进视网膜再血管化的有效性，将对照组小鼠(对照)和测试组小鼠(测试)暴露于引起视网膜血管闭塞和毛细血管损失的高氧条件下(例如 75% 氧气)5 天——从出生后第 7 天至出生后第 12 天。然后让对照和测试小鼠返回大气条件下，但是视网膜中的缺血期从大约出生后第 12 天一直持续到出生后第 17 天，导致 iNOS 表达(Sennlaub, 等人, J. Clin. Invest. 107:717-25, 2001)。在该缺血期间，测试组以 8 小时的间隔接受皮下注射的溶解在水中的选择性 iNOS 抑制剂，而对照组接受皮下注射的 0.9% NaCl 溶液。在缺血期间的不同时间点，将选择的小鼠麻醉，用在磷酸盐缓冲盐水溶液中的 FITC-葡聚糖灌注，将眼睛剝出。给右眼施以体外血管造影术以定量确定视网膜血管化。具体来说，将眼睛在 4% 低聚甲醛中固定，解剖并平坦固定，使用荧光显微镜观察和照相。扫描照片，用计算机图像分析软件测定总的表面积和不含毛细血管的面积。为了定量确定玻璃体内新血管形成，将左眼包埋在石蜡中，沿着与视神经平行的前后方向切成 7 μm 的系列切片。用 PAS 和 Hemalun 将切片染色，计数在内限制膜的玻璃体侧上发现的血管细胞核数目。将玻璃体内新血管形成程度与视网膜中的再血管化程度进行比较，以确定用 iNOS 选择性抑制剂治疗导致视网膜的有利再血管化，同时不导致玻璃体内新血管形成的程度。

关于 iNOS 选择性抑制剂抗青光眼中一氧化氮介导的神经破坏的保护作用的测定

诱导型 NOS 存在于原发性开角型青光眼患者的视神经头上,并且可能与一氧化氮对视网膜神经节细胞轴突的局部破坏有关(A.H. Neufeld 等人, Arch. Ophthalmol. 115:497-503, 1997; A.H. Neufeld, Surv. Ophthalmol. 43 (suppl 1) :S129-S135, 1999)。为了研究本发明方法的 iNOS 抑制化合物来选择性地阻断 iNOS 的作用,按照 Neufeld 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:9944-48, 1999 中描述的方法产生青光眼样病症。通过烧灼 3 条巩膜血管来在大鼠中产生慢性、单侧中等程度增加的眼内压(IOP)模拟青光眼。将眼内压增加约 2 倍。给实验组动物口服施用在饮用水中的选择性 iNOS 抑制剂 6 个月。对照组以与实验组相同的方案接受得自相同来源的新鲜饮用水。将每个瓶再注满来记录所消耗的总容积。每月监测一次 IOP。将 IOP 中等程度提高 6 个月后,使用眼底照相机拍摄每只眼睛的视神经盘的彩色照片。在处死前一周,用 Fluoro-Gold 或其它合适的逆行标记物,通过在两侧上丘微注射来将视网膜神经节细胞逆行标记。1 周后,将动物处死,收集视网膜,使用荧光显微镜检术来分析完整、平坦固定的视网膜的视网膜神经节细胞密度。比较在实验和对照组中的视网膜神经节细胞损失百分比,并与所记录的 IOP 水平改变相关联。

c. 剂量、制剂和给药途径

用于本发明方法中的多种 iNOS 选择性抑制剂可能具有至少两个不对称碳原子,因此包括外消旋体和立体异构体,例如纯的形式或混合物形式的非对映体和对映体。这样的立体异构体可使用常规技术,通过用对映体原料进行反应,或通过分离本发明化合物的异构体来获得。异构体可包括几何异构体,例如沿着双键的顺式-异构体或反式-异构体。所有这样的异构体都在可用于本发明方法的化合物范围内。本发明方法还包括使用 iNOS 选择性抑制剂化合物的互变异构体、盐、溶剂化物和前药。

对于本发明方法,选择性 iNOS 抑制剂的合适的给药途径包括将这些化合物与受试者中的其作用位点接触,例如在哺乳动物如人的视网膜中接触的任何手段。更具体来说,合适的给药途径包括口服、静

脉内、皮下、直肠、局部、颊(即舌下)、肌内和皮内给药。在示例性实施方案中,选择性 iNOS 抑制剂是口服给药。

为了预防或治疗眼科病症,例如青光眼、视网膜炎、视网膜病和眼色素层炎,本发明方法包括使用化合物自身形式或其可药用盐形式的 iNOS 选择性抑制剂。术语“可药用盐”包括常用于形成碱金属盐和形成游离酸或游离碱的加成盐的盐。盐的性质并不重要,只要其是可药用的即可。可药用盐可特别用作本发明方法的产物,因为与相应的母化合物或中性化合物相比,它们具有较高的水溶解度。这样的盐必须具有可药用阴离子或阳离子。本发明化合物的合适的可药用酸加成盐可由无机酸或有机酸制得。这样的无机酸的实例是盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、碳酸、硫酸和磷酸。合适的有机酸包括脂族、环脂族、芳族、芳脂族、杂环、羧酸和磺酸类有机酸,其实例有甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、葡萄糖醛酸、马来酸、富马酸、丙酮酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯甲酸、邻氨基苯甲酸、甲磺酸(mesylic)、水杨酸、对羟基苯甲酸、苯乙酸、扁桃酸、扑酸(embonic)(双羧基酸(pamoic))、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对氨基苯磺酸、硬脂酸、环己基氨基磺酸、藻酸、半乳糖醛酸。本发明化合物的合适的碱加成盐包括由铝、钙、锂、镁、钾、钠和锌制得的金属盐,或由 N,N'-二苄基乙二胺、胆碱、氯普鲁卡因、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺(meglumine)(N-甲基葡萄糖胺)和普鲁卡因制得的有机盐。在可能时,本发明化合物的合适的可药用酸加成盐包括衍生自无机酸和有机酸的那些,所述无机酸是例如盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硼酸、氟硼酸、磷酸、偏磷酸、硝酸、碳酸(包括碳酸根和碳酸氢根阴离子)、磺酸和硫酸,所述有机酸是例如乙酸、苯磺酸、苯甲酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡萄糖酸、乙醇酸、异硫羧酸(isothionic)、乳酸、乳糖酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、三氟甲磺酸、琥珀酸、甲苯磺酸、酒石酸和三氟乙酸。对于医药用,盐酸盐是特别优选的。合适的可药用碱性盐包括铵盐,碱金属盐例如钠盐和钾盐,和碱土金属盐例如镁盐和钙盐。所有这些盐都可以按照常规方法,通过分别将合

适的酸或碱与化合物的共轭碱或共轭酸反应，而由相应的本发明化合物的共轭碱或共轭酸制得。

在一个实施方案中，可用于本发明方法中的 iNOS 选择性抑制剂是与可药用载体一起以药物组合物的形式呈递的。载体必须在与药物组合物的其它组分相容方面是可接受的，并且必须对受试者无害。载体的适当形式包括固体或液体或二者，在一个示例性实施方案中，载体与治疗化合物一起配制成单位剂量组合物，例如含有约 0.05% - 约 95% 重量的活性化合物的片剂。在另一个实施方案中，还可以提供其它药物活性物质，包括其它本发明化合物。本发明药物组合物可通过众所周知的制药技术制得，这样的技术基本上是将组分混和。

优选的单位剂型是含有如下所述的有效量或其适当分数的一种或多种治疗化合物的那些。

iNOS 选择性抑制剂的总日剂量一般为约 0.001 mg/kg 体重/天 - 约 2500 mg/kg 体重/天。对于成人，剂量范围一般为约 0.005 mg - 约 10 g/天。片剂或以不连续单位提供的其它剂型可适宜地含有有效剂量或多个有效剂量的治疗化合物。例如，在本发明中使用的选择性 iNOS 抑制化合物可在含有 5 mg - 500 mg，典型地约 10 mg - 约 200 mg 的单位中提供。

对于治疗化合物的可药用盐，上述重量是指衍生自所述盐的治疗化合物的酸同等物或碱同等物的重量。

对于本文所述的方法，应当理解，实现所期望的生物作用所需的选择性 iNOS 抑制化合物的量取决于多种因素，包括所选的具体化合物、具体应用、给药途径、受试者的临床病症以及受试者的年龄、体重、性别和饮食。

上述各治疗化合物的日剂量是在单次剂量中施用，或者在相称的多个亚剂量中施用。亚剂量每天施用 2 - 6 次。在一个实施方案中，剂量是在能有效获得所需生物作用的持续释放剂型中施用。

依据本发明方法的口服给药可包括本领域众所周知的制剂，以通过任一多种机制将药物延长或持续递送到胃肠道内。这包括但不限于

从基于小肠改变的 pH 的剂型中的 pH 敏感性释放，片剂或胶囊的缓慢侵蚀，根据制剂的物理性质在胃中保留，剂型与肠道粘膜衬里的生物粘着，或活性药物从剂型中的酶解释放。

本发明方法的口服递送可用固体、半固体或液体剂型来实现。合适的半固体和液体剂型包括例如包含在凝胶胶囊中的糖浆剂或液体。

为了实施本发明方法，适于口服给药的药物组合物可以以下列形式提供：分别含有预定量的至少一种可用于本发明方法的治疗化合物的不连续单位，例如胶囊、扁囊剂、锭剂或片剂；粉剂或粒剂；在水或非水液体中的溶液或悬浮液；或水包油或油包水乳液。

d. 实施方案的实施例

下列非限制性实施例是为了举例说明适于实施本发明治疗方法的不同药物组合物。

实施例 1 药物组合物

可使用湿法制粒技术制备用于口服给药的组成如表 IV 所示的 100 mg 片剂：

表 IV

组分	重量(mg)
化合物 A-1	25
乳糖	54
微晶纤维素	15
羟丙基甲基纤维素	3
交联羧甲基纤维素钠(Croscarmellose Sodium)	2
硬脂酸镁	1
片剂总重量	100

实施例 2 药物组合物

可使用直接压片技术来制备其组成如表 V 所示的 100 mg 片剂：

表 V

组分	重量(mg)
化合物 A-1	25
微晶纤维素	69.5
胶态二氧化硅	0.5
滑石粉	2.5
交联羧甲基纤维素钠	0.5
硬脂酸镁	1
片剂总重量	100

本文所述的实施例可通过用一般性或具体描述的治疗化合物或惰性组分替代在上述实施例中使用的那些来进行。

本文给出的解释和举例说明是为了把本发明、其原理及其实际应用介绍给本领域技术人员。本领域技术人员可以以其多种形式改动和应用本发明，来最好地适合特定应用的需求。因此，所给出的本发明的具体实施方案不是详尽性的或对本发明的限制。