

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 95193374.4

A61K 38/05
A61K 38/06 A61K 38/07
A61K 38/55 C07K 5/08
C07K 5/10 C07D207/04
C07D413/10 C07D413/12

[43]公开日 1997年5月14日

[11] 公开号 CN 1149833A

[22]申请日 95.5.8

[30]优先权

[32]94.6.2 [33]US[31]08 / 252,798

[32]95.4.19 [33]US[31]08 / 420,859

[86]国际申请 PCT / US95 / 05879 95.5.8

[87]国际公布 WO95 / 33478 英 95.12.14

[85]进入国家阶段日期 96.12.2

[71]申请人 默里尔药物公司

地址 美国俄亥俄州

[72]发明人 N·P·皮特 J·P·布克哈特

S·米德

[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 杜京英

权利要求书 9 页 说明书 67 页 附图页数 2 页

[54]发明名称 作为弹性蛋白酶抑制剂前药的酰化烯醇
衍生物

[57]摘要

本发明涉及已知弹性蛋白酶抑制剂的酰化烯醇衍生物。这些化合物可用于治疗各种炎性疾病，包括细胞纤维变性和气肿，或作为可用于治疗所述疾病之化合物的前药。

(BJ)第 1456 号

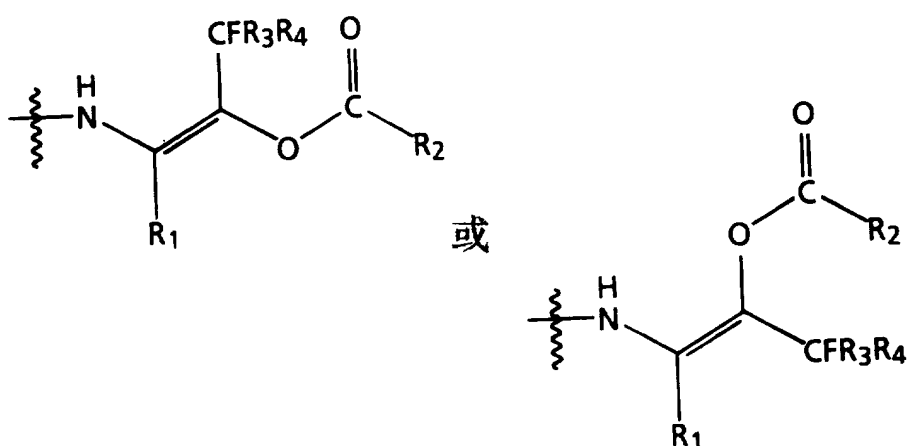
权 利 要 求 书

1. 下式 1 的化合物或其水合物、电子等排体或药理学上可接受的盐



其中

EAC 为下式基团



其中

R_1 为 $-CH_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 或 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$;

R_2 为 $-\text{H}$, 或为 (C_{1-8}) 烷基, $(C_3 - 12)$ 环烷基, (C_{6-10}) 芳基, 或 (C_{6-10}) 芳基 (C_{1-6}) 烷基;

R_3 为 $-\text{H}$ 或 $-\text{F}$;

R_3 为 $-\text{H}$, $-\text{F}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_5$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$ 或为 (C_{1-8}) 烷基, $(C_3 - 12)$ 环烷基, (C_{6-10}) 芳基, 或 (C_{6-10}) 芳基 (C_{1-6}) 烷基;

R_5 和 R_6 各自独立地为 $-\text{H}$, 或 (C_{1-8}) 烷基, $(C_3 - 12)$ 环烷基, (C_{6-10}) 芳基, 或 (C_{6-10}) 芳基 (C_{1-6}) 烷基;

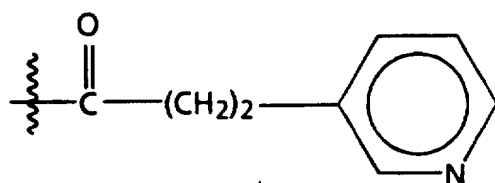
P_2 为 Ala, bAla, Leu, Ile, Val, Nva, bVal, Met, Nle, Gly, Phe, Tyr, Trp, 或 Nal(1), 其中 α 氨基的氮可被 R 基团取代, R 为 (C_{1-8}) 烷基, $(C_3 - 12)$ 环烷基,

(C₃₋₁₂)环烷基(C₁₋₆)烷基, (C₄₋₁₁)双环烷基, (C₄₋₁₁)双环烷基(C₁₋₆)烷基, (C₆₋₁₀)芳基, (C₆₋₁₀)芳基(C₁₋₆)烷基; (C₃₋₇)杂环烷基, (C₃₋₇)杂环烷基(C₁₋₆)烷基, (C₅₋₉)杂芳基, (C₅₋₉)杂芳基(C₁₋₆)烷基, 稠合(C₆₋₁₀)芳基-(C₃₋₁₂)环烷基, 稠合(C₆₋₁₀)芳基(C₃₋₁₂)环烷基-(C₁₋₆)烷基, 稠合(C₅₋₉)杂芳基(C₃₋₈)环烷基, 或稠合(C₅₋₉)杂芳基(C₃₋₁₂)环烷基-(C₁₋₆)烷基, 或 P₂ 为 Pro, Ind, Tic, Pip, Tca, Pro(4-OBzl), Aze, Pro(4-OAc), Pro(4-OH);

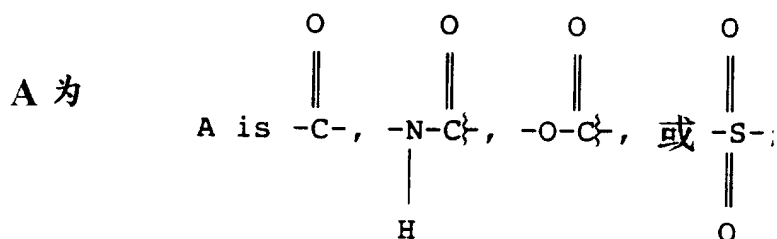
P₃ 为 Ala, bAla, Leu, Ile, Val, Nva, bVal, Met 或 Nle 或 N-甲基衍生物, Pro, Ind, Tic, 或 Tca, 或 ε 氨基上用吗啉-B-基团取代的 Lys 或 δ 氨基上用吗啉-B-基团取代的 Orn;

P₄ 为 Ala, bAla, Leu, Ile, Val, Nva, bVal, Met 或 Nle 或一键;

K 为 氨、甲酰基、乙酰基、琥珀酰基、苯甲酰基、叔丁氧羰基、苄氧羰基、甲苯磺酰基、丹酰、异戊酰、甲氧基琥珀酰基、1-金刚烷磺酰基、1-金刚烷乙酰基、2-羧基苯甲酰基、苯基乙酰基、叔丁基乙酰基、双((1-萘基)甲基)乙酰基、-C(O)N-(CH₃)₂,



-A-R_z, 其中



R_z 为被 1-3 个独立地选自下组的取代基适当取代的含 6、10 和 12 个碳的芳基: 氟、氯、溴、碘、三氟甲基、羟基、含 1-6 个碳的烷基、含 1-6 个碳的烷氧基、羧基、烷基部分含 1-6 个碳的烷基羰基氨基、5-四唑基、和含 1-15 个碳的酰基磺酰氨基, 条件是当酰基磺酰氨基含有芳基时, 该芳基可进一步被选自氟、氯、溴、碘和硝基的基团取代; 及与其功能相当的其他末端氨基保护基,

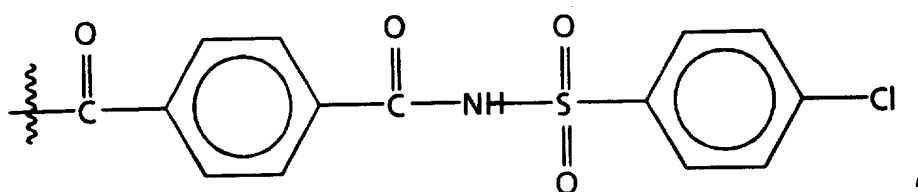
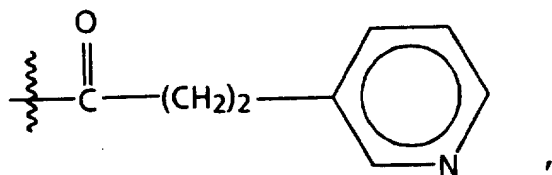
R_5 和 R_6 各自独立地为 $-H$, (C_{1-8}) 烷基, 环戊基, 环己基, 苯基或苄基;

P_2 为 Pro, Pip, Aze, 或 Pro(4-OBzl);

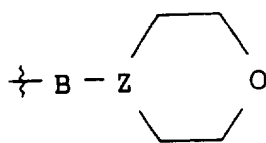
P_3 为 Ile, Val 或 Ala;

P_4 为 Ala 或一键;

K 为苯甲酰基, 叔丁氧羰基, 苄氧羰基, 异戊酰基, $-C(O)N(CH_3)_2$;



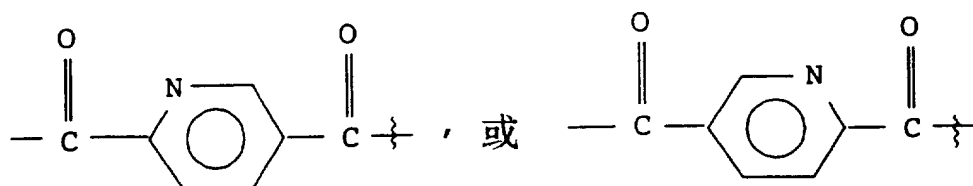
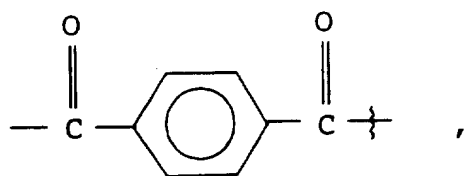
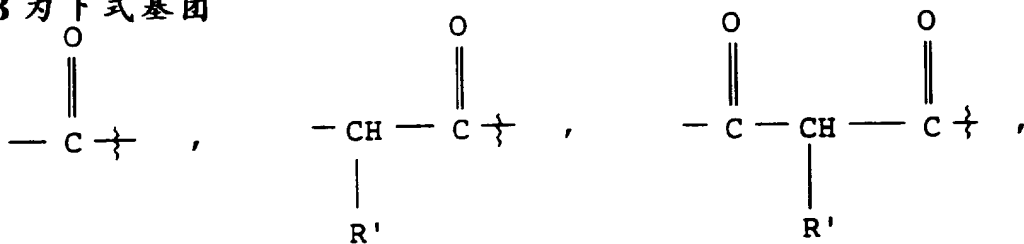
或



其中

Z 为 N 及

B 为下式基团



其中 R' 为氢或 C₁-6 烷基。

3. 权利要求 2 的化合物，其中

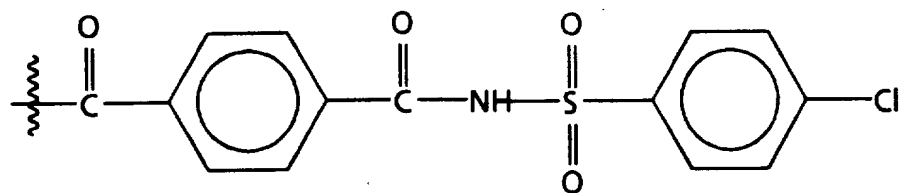
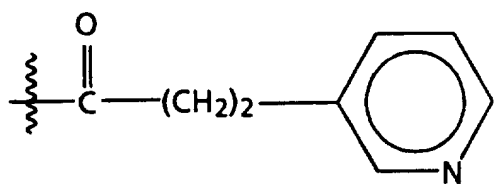
R₂ 为 -H，甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，环戊基，环己基，环己基甲基，苯基或苄基；

R₄ 为 -H，-F，-CF₃，-C(O)OR₅，-C(O)NR₅R₆，甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，叔丁基，环戊基，环己基，苯基，苄基；

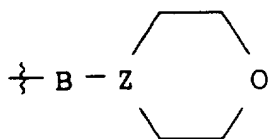
R₅ 和 R₆ 各自独立地为 -H，甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，叔丁基，环戊基，环己基，苯基或苄基。

4. 权利要求 2 的化合物，其中

K 为叔丁氧羰基，



或



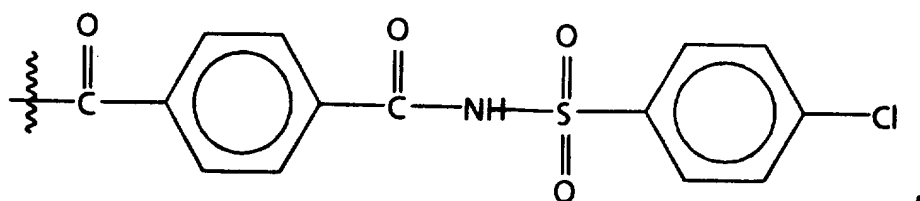
其中

Z 为 N

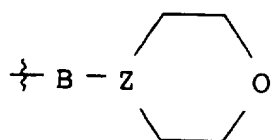
B 为下式基团

P_4 为 Ala 或一键;

K 为



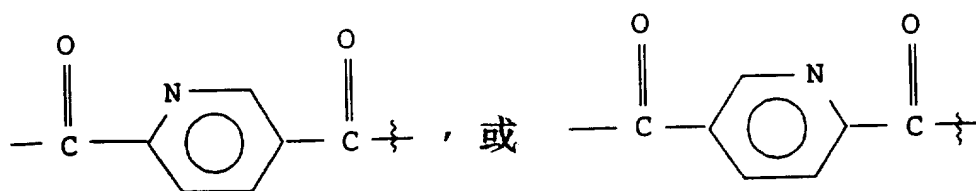
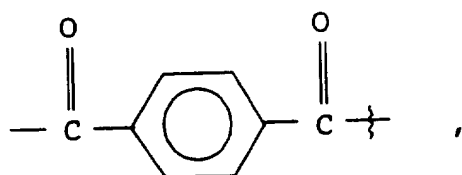
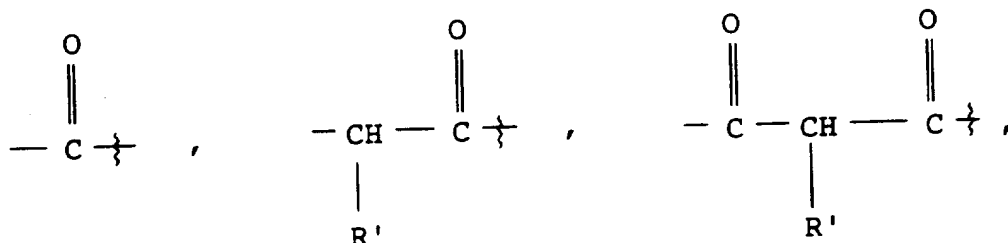
或



其中

Z 为 N,

B 为下式基团



及其中 R' 为异丙基。

7. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物为 (E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺。

8. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物为(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-(1-氧代丙氧基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺。

9. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物为(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-(2-甲基-1-氧代丙氧基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺。

10. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物为(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺。

11. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物为(E)-N-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺(SEQ ID NO.2)。

12. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物为(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺。

13. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物为(E)-N-(4-吗啉基羰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺。

14. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物为(E)-N-[4-[(4-氯苯基)磺酰氨基羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺。

15. 含有权利要求 1 的化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。

16. 含有权利要求 1 的化合物和载体的组合物。

17. 一种在需要治疗的患者身上治疗中性白细胞相关炎性疾病的方法，其包括给患者服用抗炎有效量的权利要求 1 的化合物。

18. 一种在需要治疗的患者身上治疗气肿病的方法，其包括给患者服用抗炎有效量的权利要求 1 的化合物。

19. 一种在需要治疗的患者身上治疗细胞纤维变性的方法，其包括给患者服用抗炎有效量的权利要求 1 的化合物。

20. 一种在需要治疗的患者身上治疗慢性支气管炎的方法，其包括给患者服用抗炎有效量的权利要求 1 的化合物。

21. 一种在需要治疗的患者身上治疗肠炎的方法，其包括给患者服用抗炎有效量的权利要求 1 的化合物。

说明书

作为弹性蛋白酶抑制剂前药的 酰化烯醇衍生物

本发明涉及作为弹性蛋白酶抑制剂或弹性蛋白酶抑制剂前药的化合物，它们具有许多生理应用和临床应用。

人中性白细胞弹性蛋白酶已被认为是在几种炎症性疾病中参与组织破坏的物质，例如慢性支气管炎、细胞纤维变性和类风湿性关节炎。J.L. Malech 和 J.I. Gallin, *New Engl. J. Med.*, 317(11), 687(1987)。弹性蛋白酶对许多结缔组织大分子具有广谱的蛋白水解活性，包括对弹性蛋白、纤连蛋白、胶原和蛋白聚糖。弹性蛋白酶的存在可能是这些疾病的病因之一。

正常血浆含有大量的蛋白酶抑制剂，它们控制着结缔组织转变和发炎中有关的多种酶。例如， α -1-蛋白酶抑制剂 (α -1-PI) 是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂，它阻断弹性蛋白酶的活性。 α -1-PI 已受到人们的重视，因为其血浆水平降至正常水平的 15% 以下与气肿的早期形成有关。

除血浆蛋白酶抑制剂以外，包括支气管粘液、鼻粘液、宫颈粘液和精液的分泌液中也含有内源性蛋白酶抑制剂，称为分泌性亮蛋白酶抑制剂 (SLPI)，它能灭活弹性蛋白酶，据信它在炎症细胞蛋白酶存在下维持上皮的完整性中起重要作用。在某些病理状态下， α -1-PI 和 SLPI 被中性白细胞氧化机制所灭活，使中性白细胞蛋白酶在基本无抑制剂的环境中起作用。例如，已发现成人呼吸窘迫综合症 (ARDS) 病人的支气管灌洗液中含有活性弹性蛋白酶和被氧化灭活的 α -1-PI。

除氧化机制外，中性白细胞还有逃避抗蛋白酶抑制的非氧化机制。慢性肉芽肿病病人的中性白细胞在过量 α -1-PI 存在下能够降解内皮细胞基质。有大量体外证据说明受激中性白细胞能与其底物紧密结合，将血清抗蛋白酶有效地排除在细胞-底物紧密接触的微环境之外。炎症位点流入大量中性白细胞会由于在此发生的蛋白水解作用而造成相当的组织损伤。

本申请人通过测定中性白细胞溶胞产物、纯化弹性蛋白酶、和受激中

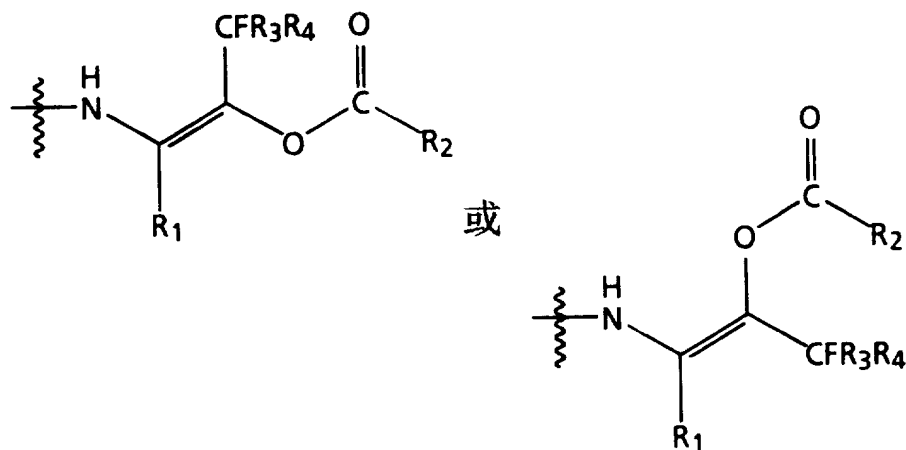
性白细胞降解软骨基质蛋白聚糖的能力，确定了弹性蛋白酶是参与软骨基质降解的主要中性白细胞蛋白酶之一。而且本申请人以前已发现肽衍生物可作为弹性蛋白酶抑制剂，显示有用的药理活性。例如，作为弹性蛋白酶抑制剂的以下肽衍生物公开在申请日为 1993 年 3 月 3 日发明人为 Peet 等的欧洲专利申请 OPI No.0529568 中，其中羧基端羧基被五氟乙基羧基(-C(O)C₂F₅)取代，氨基端氨基酸被各种含杂环基团如 4-吗啉羧基所保护。申请人最近发现了如欧洲专利申请 OPI No.0529568 中公开的已知弹性蛋白酶抑制剂的酰化烯醇衍生物，它们可作为已知衍生物的前药或其本身就是弹性蛋白酶抑制剂。

本发明涉及具有下式 1 的化合物或其水合物、电子等排体或药学上可接受的盐



其中

EAC 为下式基团



其中

R₁ 为 -CH₃ , -CH(CH₃)₂ , -CH₂CH₂CH₃ , -CH₂CH(CH₃)₂ 或 -CH(CH₃)CH₂CH₃ ;

R₂ 为 -H, 或为 (C₁₋₈) 烷基, (C₃₋₁₂) 环烷基, (C₆₋₁₀) 芳基, 或 (C₆₋₁₀) 芳基 (C₁₋₆)

烷基;

R_3 为 -H 或 -F;

R_3 为 -H, -F, $-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_5$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$ 或为 (C_{1-8}) 烷基, (C_3-12) 环烷基, (C_{6-10}) 芳基, 或 (C_{6-10}) 芳基 (C_{1-6}) 烷基;

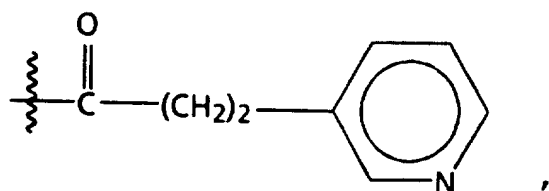
R_5 和 R_6 各自独立地为 -H, 或 (C_{1-8}) 烷基, (C_3-12) 环烷基, (C_{6-10}) 芳基, 或 (C_{6-10}) 芳基 (C_{1-6}) 烷基;

P_2 为 Ala, bAla, Leu, Ile, Val, Nva, bVal, Met, Nle, Gly, Phe, Tyr, Trp, 或 Nal(1), 其中 α 氨基的氮可被 R 基团取代, R 为 (C_{1-8}) 烷基, (C_3-12) 环烷基, (C_3-12) 环烷基 (C_{1-6}) 烷基, (C_{4-11}) 双环烷基, (C_{4-11}) 双环烷基 (C_{1-6}) 烷基, (C_{6-10}) 芳基, (C_{6-10}) 芳基 (C_{1-6}) 烷基; (C_3-7) 杂环烷基, (C_3-7) 杂环烷基 (C_{1-6}) 烷基, (C_{5-9}) 杂芳基, (C_{5-9}) 杂芳基 (C_{1-6}) 烷基, 稠合 (C_{6-10}) 芳基 $-(\text{C}_3-12)$ 环烷基, 稠合 (C_{6-10}) 芳基 (C_3-12) 环烷基 $-(\text{C}_{1-6})$ 烷基, 稠合 (C_{5-9}) 杂芳基 (C_3-8) 环烷基, 或稠合 (C_{5-9}) 杂芳基 (C_3-12) 环烷基 $-(\text{C}_{1-6})$ 烷基, 或 P_2 为 Pro, Ind, Tic, Pip, Tca, Pro(4-OBzl), Aze, Pro(4-OAc), Pro(4-OH);

P_3 为 Ala, bAla, Leu, Ile, Val, Nva, bVal, Met 或 Nle 或 N-甲基衍生物, Pro, Ind, Tic, 或 Tca, 或 ϵ 氨基上用吗啉-B-基团取代的 Lys 或 δ 氨基上用吗啉-B-基团取代的 Orn;

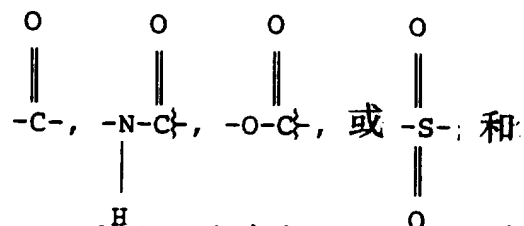
P_4 为 Ala, bAla, Leu, Ile, Val, Nva, bVal, Met 或 Nle 或一氢;

K 为氨、甲酰基、乙酰基、琥珀酰基、苯甲酰基、叔丁氧羰基、苄氧羰基、甲苯磺酰基、丹酰、异戊酰、甲氧基琥珀酰基、1-金刚烷磺酰基、1-金刚烷乙酰基、2-羧基苯甲酰基、苯乙酰基、叔丁基乙酰基、双((1-萘基)甲基)乙酰基、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}-(\text{CH}_3)_2$,

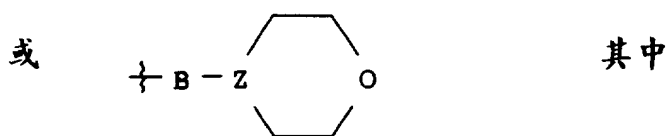


-A- R_z , 其中

A 为

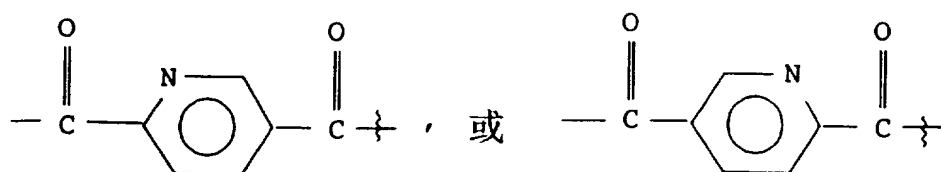
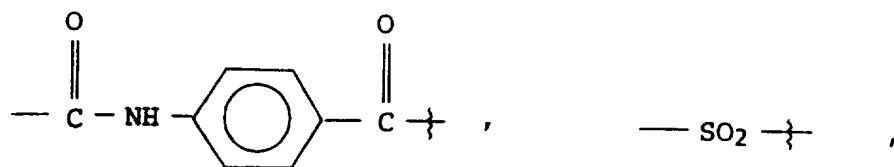
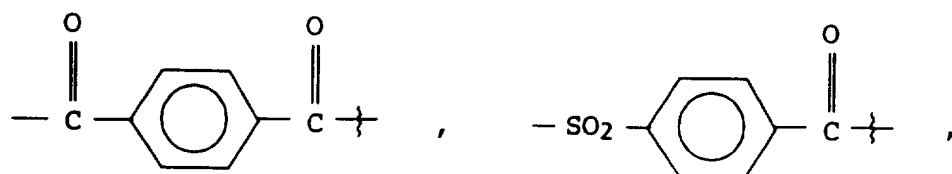
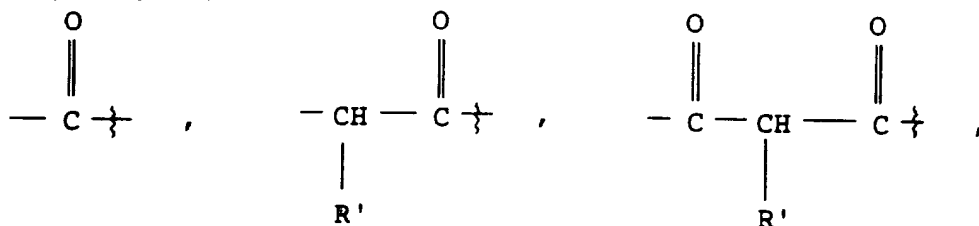


R_2 为被 1 - 3 个独立地选自下组的取代基适当取代的含 6、10 和 12 个碳的芳基：氟、氯、溴、碘、三氟甲基、羟基、含 1 - 6 个碳的烷基、含 1 - 6 个碳的烷氧基、羧基、烷基部分含 1 - 6 个碳的烷基羰基氨基、5 - 四唑基、和含 1 - 15 个碳的酰基磺酰氨基，条件是当酰基磺酰氨基含有芳基时，该芳基可进一步被选自氟、氯、溴、碘和硝基的基团取代；及与其功能相当的其他末端氨基保护基，



Z 为 N 或 CH, 及

B 为下式基团



(波浪线表示与分子其余部分的连接处，即不是与 Z 相连)

且 R' 为氢或(C₁₋₆)烷基，

它们可作为已知弹性蛋白酶抑制剂的前药或其本身抑制弹性蛋白酶。因而式 1 化合物显示抗炎作用，用于治疗气肿、细胞纤维变性、成人呼吸窘迫综合症、败血症、弥漫性血管内凝血、痛风、类风湿性关节炎、慢性支气管炎和肠炎；或者是显示这种效应之化合物的前药。

图 1 显示用 MDL103,279 和各种对照物在 60 分钟时间范围内的人中性白细胞弹性蛋白酶试验(如本文实施例 9 中所述)的时间曲线的比较。横坐标(x-轴)代表由于弹性蛋白酶反应产物的形成而产生的吸光度。纵坐标(y-轴)代表以秒测量的反应时间。吸光度随时间的增加代表弹性蛋白酶反应的速率。各个时间曲线说明如下。

- 1 弹性蛋白酶+弹性蛋白酶底物
- 2 弹性蛋白酶+弹性蛋白酶底物+酯酶
- 3 弹性蛋白酶+弹性蛋白酶底物+DML103,279
- 4 弹性蛋白酶+弹性蛋白酶底物+酯酶+DML103,279

图 2 显示利用本文实施例 9 所述人中性白细胞弹性蛋白酶试验，MDL105,457、MDL104,226、MDL105,658、对照和对照+酯酶与 ML103,279 的时间曲线的比较。横坐标和纵坐标的定义与图 1 中相同。各时间曲线的说明如下。

- 1 对照
- 2 对照+酯酶
- 3 66nm MDL105,457+酯酶
- 4 66nm MDL103,279-02+酯酶
- 5 66nm MDL104,226+酯酶
- 6 66nm MDL105,658+酯酶

式 1 化合物的电子等排体包括以下化合物：其中(a)P₂-P₄取代基的一个或多个α氨基残基呈其非天然构型(当存在天然构型时)，或(b)当正常的肽酰胺键[-C(=O)NH-]被修饰时，例如变成-CH₂NH-(被还原)、-COCH₂-(酮)、-CH(OH)CH₂-(羟基)、-CH(NH₂)CH₂-(氨基)、-CH₂CH₂-(炔)、-CH=CH-(烯)。本发明化合物优选不呈电子等排体形式；尤其优选不存在修饰的肽酰胺基团，但如果有的话则优选保持这种电子等排修饰为最小。

本文所用术语(C₁₋₈)烷基指 1 - 8 个碳原子的直链或支链烷基，如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、正戊基、仲戊基、异戊基、正己基、庚基和辛基。类似地，术语(C₁₋₆)烷基指 1 - 6 个碳原子的直链或支链烷基，如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、正戊基、仲戊基、异戊基和正己基。术语(C₃₋₁₂)环烷基指由 3 - 12 个环成员组成的环状烷基，它可以被低级烷基取代，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、4 - 甲基环己基、4 - 乙基环己基、环庚基和环辛基。术语(C₃₋₁₂)环烷基(C₁₋₆)烷基指被(C₃₋₁₂)环烷基取代的(C₁₋₆)烷基，如环己基甲基或环戊基乙基。术语(C₄₋₁₁)双环烷基指含一对桥头碳原子的烷基，如 2 - 双环[1.1.0]丁基、2 - 双环[2.2.1]己基和 1 - 双环[2.2.2]辛烷。术语(C₄₋₁₁)双环烷基(C₁₋₆)烷基指被(C₄₋₁₁)双环烷基取代的(C₁₋₆)烷基，如 2 - 双环己基甲基。术语(C₆₋₁₀)芳基指共轭碳原子的环状芳香集合，例如苯基、1 - 萘基和 2 - 萘基。术语(C₆₋₁₀)芳基(C₁₋₆)烷基指被(C₆₋₁₀)芳基取代的(C₁₋₆)烷基，如苄基、苯乙基和 1 - 萘基甲基。术语(C₃₋₇)杂环烷基指含 1 - 3 个选自氧、氮和硫的杂原子的非芳香含碳环状基团，例如吗啉基和吡啶基。术语(C₃₋₇)杂环烷基(C₁₋₆)烷基指被(C₃₋₇)杂环烷基取代的(C₁₋₆)烷基，如吗啉代甲基。术语(C₅₋₉)杂芳基指共轭碳原子和 1 - 3 个氮、氧和硫原子的环状或双环芳香集合，例如吡啶基、2 - 喹啉基和喹啉基。术语(C₅₋₉)杂芳基(C₁₋₆)烷基指被(C₅₋₉)杂芳基取代的(C₁₋₆)烷基，如 3 - 喹啉基甲基。术语稠合(C₆₋₁₀)芳基(C₃₋₁₂)环烷基指与(C₆₋₁₀)芳基共享一个或多个边的(C₃₋₁₂)环烷基，例如可包括苯与环戊烷稠合的衍生基团，即 2 - 茚基。术语稠合(C₆₋₁₀)芳基(C₃₋₁₂)环烷基(C₁₋₆)烷基指被(C₆₋₁₀)芳基(C₃₋₁₂)环烷基取代的(C₁₋₆)烷基。术语稠合(C₅₋₉)

杂芳基(C₃ - 8)环烷基指与(C₃ - 8)环烷基共享一个或多个边的(C₅ - 9)杂芳基，例如可包括环己烷和吡啶稠合而衍生的基团，即四氢喹啉。最后，术语稠合(C₅ - 9)杂芳基(C₃ - 8)环烷基(C₁₋₆)烷基指被(C₅ - 9)杂芳基(C₃ - 8)环烷基取代的(C₁₋₆)烷基。

每个α 氨基酸具有一个特征的“R-基团”，R-基团是与α 氨基酸的α 碳原子连接的侧链或残基。例如，甘氨酸的R-基团侧链是氢，丙氨酸的是甲基，缬氨酸的是异丙基。α 氨基酸的特异R-基团或侧链见A.L.Lehninger的生物化学课本。

除非另有说明，这些肽酶底物类似物的α 氨基酸优选为L-构型，但申请人认为式1化合物的氨基酸可以是D-或L-构型或者是D和L异构体的混合物，包括外消旋混合物。α 氨基酸的缩写列于下表I中。

表 I	
氨基酸	符号
丙氨酸	Ala
甘氨酸	Gly
异亮氨酸	Ile
亮氨酸	Leu
赖氨酸	Lys
苯丙氨酸	Phe
脯氨酸	Pro
色氨酸	Trp
酪氨酸	Tyr
缬氨酸	Val
正缬氨酸	Nva
正亮氨酸	Nle
1-萘基丙氨酸	Nal(1)
2-二氢吲哚羧酸	Ind
肌氨酸	Sar

β -丙氨酸	bAla
β -缬氨酸	bVal
甲硫氨酸	Met
1,2,3,4-四氢-3-异唑啉羧酸	Tac
噻唑烷-4-羧酸	Tca
鸟氨酸	Orn
2-哌啶酸	Pip
氮杂环丁烷羧酸	Aze
4-羟基脯氨酸	Pro(4-OH)
4-乙酰氧基脯氨酸	Pro(4-OAc)
4-苄氧基脯氨酸	Pro(4-OBzl)

本发明化合物中优选的是以下式 1 化合物，其中：

R_1 为 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ；优选 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ；

R_2 为 $-\text{H}$ ， (C_{1-8}) 烷基， (C_{3-12}) 环烷基或 (C_{6-10}) 芳基；优选氢、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、环戊基、环己基、环己基甲基、苯基或苄基；

R_3 为 $-\text{F}$ ；

R_4 为 $-\text{H}$ ， $-\text{F}$ ， $-\text{CF}_3$ ， $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_5$ ， $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$ ， (C_{1-8}) 烷基，环戊基，环己基，苯基或苄基；

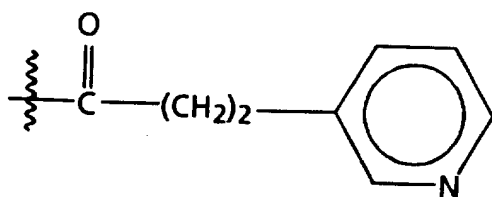
R_5 和 R_6 各自独立地为 $-\text{H}$ ， (C_{1-8}) 烷基，环戊基，环己基，苯基或苄基；

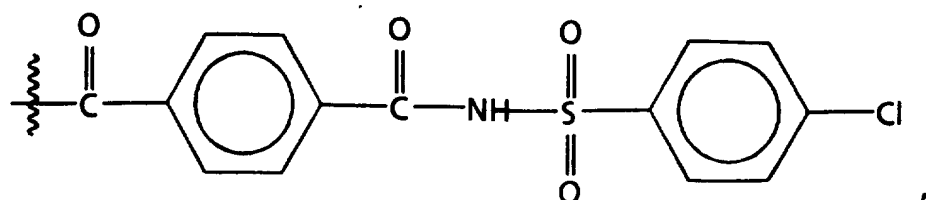
P_2 为 Pro, Pip, Aze, 或 Pro(4-OBzl)；

P_3 为 Ile, Val 或 Ala；

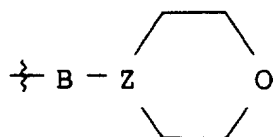
P_4 为 Ala 或一氢；

K 为苯甲酰基，叔丁氧羰基，苄氧羰基，异戊酰基， $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ；





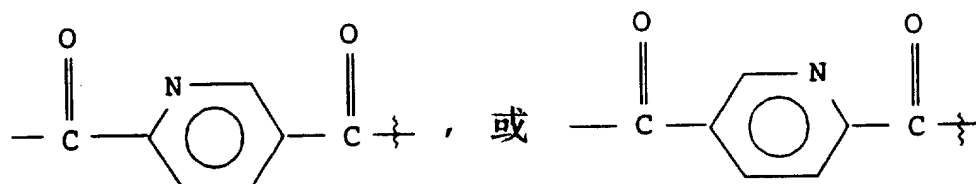
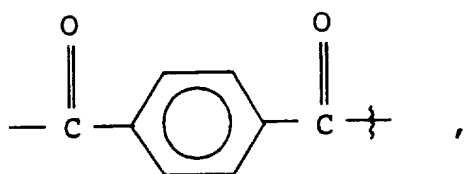
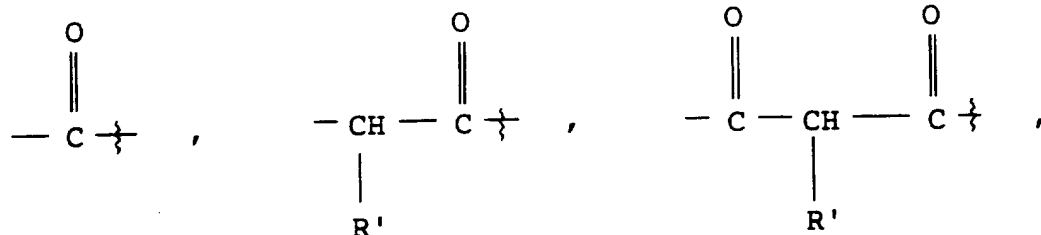
或



其中

Z 为 N 及

B 为下式基团



其中 R' 为氢或 C₁-₆ 烷基。

优选化合物的具体实例包括:

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-(1-氧代丙氧基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-(2-甲基-1-氧代丙氧基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(SEQ. ID. NO. 2)

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-(4-吗啉基羰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[4-[(4-氯苯基)磺酰氨基羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-(4-吗啉基羰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(Z)-N-(4-吗啉基羰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基磺酰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(Z)-N-[4-(4-吗啉基磺酰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[3-(3-吡啶基)丙酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(Z)-N-[3-(3-吡啶基)丙酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-正缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-正缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-丙氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-丙氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-2-氮杂环丁烷羧酸酰胺;

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-2-氮杂环丁烷羧酸酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-D,L-2-哌啶羧酸酰胺;

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五

氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-D,L-2-哌啶羧酸酰胺；

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-反-4-羟基脯氨酸酰胺；

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-反-4-羟基脯氨酸酰胺；

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-反-4-乙酰氧基脯氨酸酰胺；

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-反-4-乙酰氧基脯氨酸酰胺；

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-反-4-苄氧基脯氨酸酰胺；

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-反-4-苄氧基脯氨酸酰胺；

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-D,L-1,2,3,4-四氢-3-异喹啉羧酸酰胺；

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-D,L-1,2,3,4-四氢-3-异喹啉羧酸酰胺；

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-1,2,3,4-四氢-3-异喹啉羧酸酰胺；

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-1,2,3,4-四氢-3-异喹啉羧酸酰胺；

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-4-噻唑烷羧酸酰胺；

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-4-噻唑烷羧酸酰胺；

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-丙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-丙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

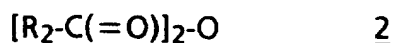
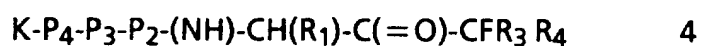
(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3-二氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

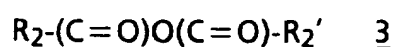
(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3-二氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺;

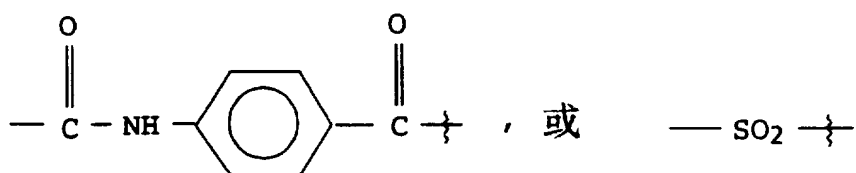
一般，式 1 化合物可以用类似与本领域已知方法的标准化学反应来制备，如方案 A 中所示。

方案 A



或





其中 R' 为氢或 C₁₋₆ 烷基; R₃ 为 -F; R₄ 为 -CF₃;

R₁ 为氨基酸 Ala, bAla, Leu, Ile, Val, Nva, bVal, Met, Nle, Gly 的 R-基团, 或 N-甲基衍生物;

P₂ 为 Ala, bAla, Llu, Ile, Val, Nva, bVal, Met, Nle, Gly, Phe, Tyr, Trp, 或 Nal(1), 其中 α 氨基的氢可被 R 基团取代, R 为 (C₁₋₆) 烷基, (C₃₋₁₂) 环烷基, (C₃₋₁₂) 环烷基(C₁₋₆) 烷基, (C₄₋₁₁) 双环烷基, (C₄₋₁₁) 双环烷基(C₁₋₆) 烷基, (C₆₋₁₀) 芳基, (C₆₋₁₀) 芳基(C₁₋₆) 烷基; (C₃₋₇) 杂环烷基, (C₃₋₇) 杂环烷基(C₁₋₆) 烷基, (C₅₋₉) 杂芳基, (C₅₋₉) 杂芳基(C₁₋₆) 烷基, 稠合(C₆₋₁₀) 芳基 - (C₃₋₁₂) 环烷基, 稠合(C₆₋₁₀) 芳基(C₃₋₁₂) 环烷基 - (C₁₋₆) 烷基, 稠合(C₅₋₉) 杂芳基(C₃₋₁₂) 环烷基, 或稠合(C₅₋₉) 杂芳基(C₃₋₁₂) 环烷基 - (C₁₋₆) 烷基, 或 P₂ 为 Pro, 1,2,3,4-四氢-3-异唑啉羧酸(Tic), 噻唑烷-4-羧酸(Tca), 或 Ind;

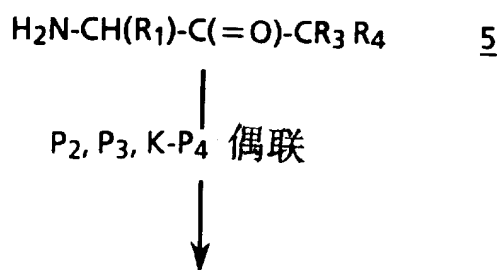
P₃ 为 Ala, bAla, Leu, Ile, Val, Nva, bVal, Met 或 Nle 或 N-甲基衍生物, Pro, Ind, Tic, 或 Tca, 或 ε 氨基(定义为“omega”基团)上用吗啉-B-基团取代的 Lys 或 δ 氨基(定义为“omega”基团)上用吗啉-B-基团取代的 Orn;

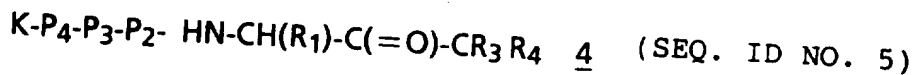
P₄ 为 Ala, bAla, Leu, Ile, Val, Nva, bVal, Met 或 Nle 或 N-甲基衍生物或一氢。
欧洲专利申请 0529568A1 全部引入本文作为参考。

在欧洲专利申请 0529568 中没有公开的本文所定义的那些式 4 化合物, 可以用下述本领域普通技术人员熟知的合成步骤来制备。

一般而言, 所有的式 4 化合物都可以用本领域已知的类似标准化学反应来制备, 如方案 B 中所示。

方案 B





方案 B 提供了一种制备式 4 化合物的一般合成方案。

基团 P_2 , P_3 和 K-P_4 可与式 5 氨基酸衍生物的游离氨基相连。注意, 式 5 代表其中游离羧基已被以上定义的“ CR_3R_4 ”残基取代的 P_1 部分。可用熟知的肽偶联技术将 P_2 , P_3 和 K-P_4 连接到未保护的游离氨基化合物($\text{P}_1\text{-CR}_3\text{R}_4$)上。而且 P_1 , P_2 , P_3 和 K-P_4 基团可以任意顺序连接, 只要最终产物为 $\text{K-P}_4\text{-P}_3\text{-P}_2\text{-P}_1\text{-CR}_3\text{R}_4$ 。例如, K-P_4 与 P_3 连接生成 $\text{K-P}_4\text{-P}_3$, 后者再与 $\text{P}_2\text{-P}_1\text{-CR}_3\text{R}_4$ 连接; 或者 K-P_4 与 $\text{P}_3\text{-P}_2$ 连接, 然后连接到 C 末端适当保护的 P_1 上, 再将 C 末端保护基转化为 CR_3R_4 。

肽的延长一般是将 N-末端残基的 α 氨基脱保护, 并用所述方法通过肽连接来偶联下一个 N-保护氨基酸。重复这一脱保护和偶联步骤直到获得理想的序列。可以按方案 B 所示用组成氨基酸逐步进行偶联, 或者缩合片段(两个到数个氨基酸), 或将两者结合起来, 或通过固相肽合成方法进行, 后者在 Merrifield, J.Am.Chem.Soc.,1963,85,2149-2154 中有一般描述, 该公开内容引入本文作为参考。当用固相肽合成方法时, C 末端羧酸连接到不溶性载体上(通常为聚苯乙烯)。这些不溶性载体含有与羧酸反应的基团, 反应形成的键要在肽延伸条件下稳定, 但随后又容易裂解。其实例有: 氯甲基或溴甲基树脂, 羟甲基树脂和氨基甲基树脂。这些树脂中许多都是已带有适当 C 末端氨基酸的商品。

或者, 本发明化合物可以用自动肽合成仪来合成。除此之外, 在下列文献中描述了肽合成: Stewart 和 Young, “Solid Phase Peptide Synthesis” 2nd ed.,Pierce Chemical Co., Rockford,IL(1984); Gross,Meienhofer, Udenfriend,Eds., “The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology” Vol 1, 2, 3, 5 和 9, Academic Press, New York, 1980-1987; Bodanszky, “Peptide Chemistry: A Practical Textbook” Springer-

Verlag, New York(1988)和 Bodanszky 等, “ The Practice of Peptide Synthesis ” Springer-Verlag, New York(1984),这些文献的公开内容引入本文作为参考。

两个氨基酸之间、氨基酸和肽之间或肽片段之间的偶联可用标准的偶联技术进行,例如叠氮化物法、混合碳酸-羧酸酐法(氯甲酸异丁酯)、碳化二亚胺法(二环己基碳化二亚胺、二异丙基碳化二亚胺或水溶性碳化二亚胺)、活性酯法(对硝基苯酯、N-羟基琥珀酸酐亚胺酯)、Woodward K 试剂法、羰基二咪唑法、磷试剂法如 BOP-Cl、或氧化还原法。这些方法中有些(特别是碳化二亚胺法)可以通过加入 1-羟基苯并三唑来增强。这些偶联反应可以在溶剂中(液相)或在固相中进行。

在偶联过程中必须保护组成氨基酸的功能团,以避免形成不必要的键。可使用的保护基列在以下文献中: Greene “ Protective Groups in Organic Chemistry ”, John Wiley & Sons, New York(1981)和 “ The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology ” Vol.3, Academic Press, New York(1981),其公开内容引入本文作为参考。

C 末端残基的 α -羧基通常(但不是必须)通过酯保护,该酯可被裂解为羧酸。可使用的保护基包括: 1)烷基酯如甲酯和叔丁酯, 2)芳基酯如苄酯和取代苄酯,或 3)可经弱碱或温和还原方法裂解的酯如三氯乙基酯和苯乙酮酯。

待偶联到肽链上的氨基酸的 α 氨基必须保护。可使用本领域中已知的任何保护基。实例包括: 1)酰基型如甲酰基、三氯乙酰基、邻苯二甲酰和对甲苯磺酰基; 2)芳香甲氧基酯型如苄氧羰基(Cbz 或 Z)和取代的苄氧羰基、1-(对联苯基)-1-甲基乙氧基-羰基、和 9-芴基甲氧羰基(Fmoc); 3)脂肪甲氧基酯型如叔丁氧羰基(Boc)、乙氧羰基、二异丙基甲氧羰基、和烯丙氧基羰基; 4)甲氧基环烷酯型如环戊氧基羰基和金刚烷氧基羰基; 5)烷基型如三苯甲基和苄基; 6)三烷基甲硅烷如三甲基甲硅烷; 和 7)含硫醇类如苯硫基羰基和二硫杂琥珀酰基。优选的 α 氨基保护基是 Boc 或 Fmoc, 优选 Boc。许多用于肽合成的适当保护的氨基酸衍生物是有商业供应的。

新增氨基酸残基的 α 氨基保护基在偶联下一个氨基酸之前要去除。当

使用 Boc 时，选用的方法是纯的或二氯甲烷中的三氟乙酸，或二噁烷或乙酸乙酯中的 HCl。生成的铵盐随后用碱溶液如缓冲液或二氯甲烷或二甲基甲酰胺中的叔胺在偶联前或偶联过程中进行中和。当使用 Fmoc 时，选用的试剂是二甲基甲酰胺中的吡啶或取代吡啶，但也可以使用仲胺或碱水溶液。脱保护反应是在 0℃ 到室温的温度下进行的。

任何带有侧链官能团的氨基酸在制备肽过程中必须用上述方法进行保护。本领域技术人员会认识到对这些侧链官能团保护基的选择和使用取决于该氨基酸和肽中其他保护基的存在。选择这种保护基重要的是在该 α 氨基酸的脱保护和偶联过程中不被去除。

例如，当 Boc 用作 α 氨基保护基时，下列保护基是适合的：对甲苯磺酰基可用于保护诸如 Lys 和 Arg 氨基酸的氨基侧链；对甲基苄基、乙酰氨基甲基、苄基或叔丁基磺酰基可用于保护诸如半胱氨酸等氨基酸的含硫醚侧链；苄基可用于保护诸如 Ser 或 Thr 等氨基酸的含羟基侧链。

当选用 Fmoc 保护 α 氨基时，基于叔丁基的保护基通常是可以接受的。例如可用 Boc 保护赖氨酸，叔丁基醚保护丝氨酸和苏氨酸，叔丁基酯保护谷氨酸。

肽延伸完成后除去所有的保护基。当用液相合成时，使用保护基的选择所决定的任何方法除去保护基。这些方法是本领域中所熟知的。

当使用固相合成时，一般随着保护基的去除同时将肽从树脂上裂解下来。当合成中使用 Boc 保护方案时，用含无水 HF 的添加剂如二甲硫醚、茴香醚、硫代茴香醚或对甲苯酚处理是从树脂上裂解肽的优选方法。肽的裂解也可以用其他酸性试剂完成，如三氟甲磺酸/三氟乙酸混合物。如果使用 Fmoc 保护方法，用前文所述试剂去除 N-末端的 Fmoc 基团。再用三氟乙酸溶液和各种添加剂如茴香醚等除去其他保护基并将肽从树脂上解下。

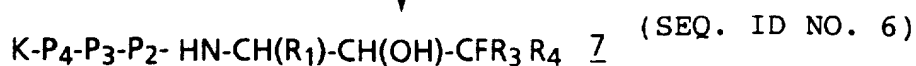
或者，可以用如方案 C 所示的本领域已知的类似标准化学反应来制备式 4 化合物。

方案 C

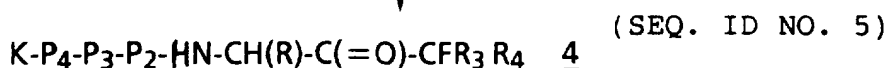


6

$\text{P}_2, \text{P}_3, \text{K}-\text{P}_4$ 偶联



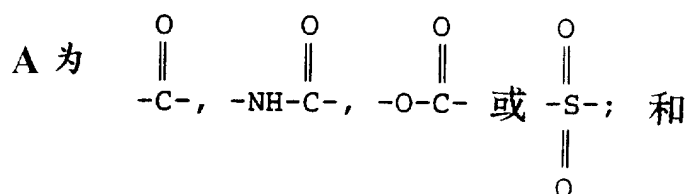
氧化



方案 C 提供了制备式 4 化合物的一种替代的一般合成方法。可以如前述方案 B 中的方法将 P_2 、 P_3 和 $\text{K}-\text{P}_4$ 连接到式 6 氨基醇衍生物的游离氨基上，生成式 7 的肽醇。

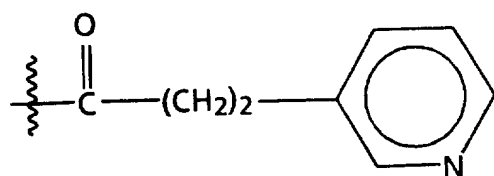
式 7 肽醇的醇官能团然后用本领域普通技术人员已知的技术和方法氧化生成式 4 化合物，如使用草酰氯和二甲基亚砷的 Swern 氧化。

用于方案 B 和方案 C 的起始物是本领域普通技术人员易于得到的。例如，氨基酸 P_2 、 P_3 和 $\text{K}-\text{P}_4$ (其中 K 为氢) 有商品供应。另外以下氨基保护基 K 及功能与其相当的其他末端氨基保护基在欧洲专利申请 OPI No.0363284(1990 年 4 月 11 日) 中有描述，其中 K 为乙酰，琥珀酰基，苯甲酰，叔丁氧羰基，苄氧羰基，对甲苯磺酰基，丹酰、异戊酰、甲氧基琥珀酰基、1-金刚烷磺酰基、1-金刚烷乙酰基、2-羧基苯甲酰基、苯乙酰基、叔丁基乙酰基、双((1-萘基)甲基)乙酰基、或 $-\text{A}-\text{R}_z$ ，其中

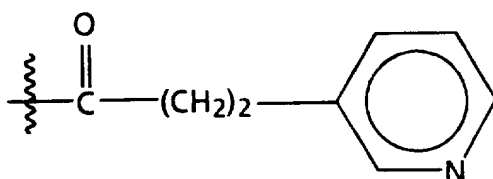


R_z 为被 1-3 个独立地选自下组的取代基适当取代的含 6、10 或 12 个碳的芳基：氟、氯、溴、碘、三氟甲基、羟基、含 1-6 个碳的烷基、含 1-6 个碳的烷氧基、羧基、烷基部分含 1-6 个碳的烷基羰基氨基、5-四唑基、和含 1-15 个碳的酰基磺酰氨基(即酰氨基磺酰基和磺酰氨基羰基)，条件是当酰基磺酰氨基含有芳基时，该芳基可进一步被选自氟、氯、

溴、碘和硝基的基团取代。另外，二甲基氨基甲酰氯有商品供应，对其中 K 为 $-C(O)N-(CH_3)_2$ 或



的式 1 化合物，



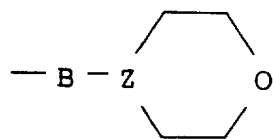
可通过文献制备来得到。所述化合物转化为 K-P₄ 取代基的合成方法是本领域普通技术人员熟知的。

式 5 起始氨基化合物是本领域普通技术人员易得的。例如在欧洲专利申请 0195212(发明人 Michel 等，公开日为 1986 年 9 月 24 日)中描述了一些式 5 保护的氨基化合物，其中 CFR_3R_4 为 $-CF_3$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CF_2C(=O)NHR_6'$ 或 $-CF_2C(O)OR_6'$ (其中 R_6' 为 C_1-4 直链或支链烷基、苯基、环己基、环己基甲基或苄基)。另外，欧洲专利申请 OPI No.0503203(1992 年 9 月 16 日)描述了其中 CFR_3R_4 为 $-CF_3$ 、 $-CF_2(CH_2)_tCH_3$ (其中 $t=2, 3$ 或 4)或 $-CF_2CF_3$ 的式 5 氨基化合物。Biochem.J.(1987),241,871-5, Biochem.J.(1986),239,633-40 和美国专利 NO.4,518,528(1985 年 5 月 21 日)中公开了其中 CFR_3R_4 为 $-CFH_2$ 的式 5 氨基化合物。欧洲专利申请 0410411(发明人 Bey 等，公开日为 1991 年 1 月 30 日)以及欧洲专利申请 0529568(发明人 Peet 等，公开日为 1993 年 3 月 3 日)描述了其中其中 CFR_3R_4 为 $-CF_2CF_3$ 的式 5 氨基化合物。与此相似，1991 年 12 月 20 日递交的专利申请 PCT/US91/09741(发明人 Daniel Schirlin 等)中公开了其中 CFR_3R_4 为 $CF_2C(=O)NHR_6'$ (其中 R_6' 为 C_1-6 烷基、芳基或芳基烷基)的式 5 氨基化合物。以上文献全文并入这里作为参考。

另外，用于方案 B 和方案 C 的其他起始物可通过以下本领域普通技术

人員熟知的合成方法来制备。

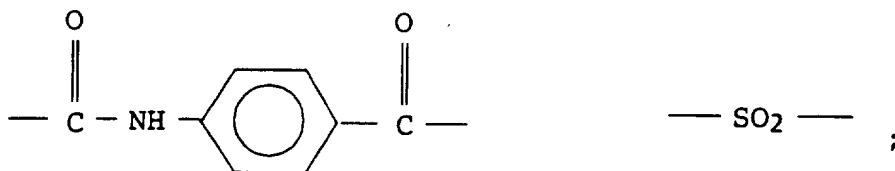
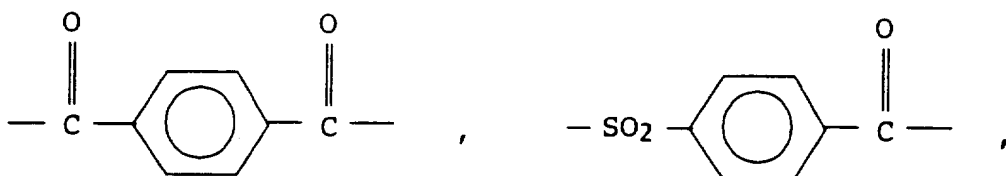
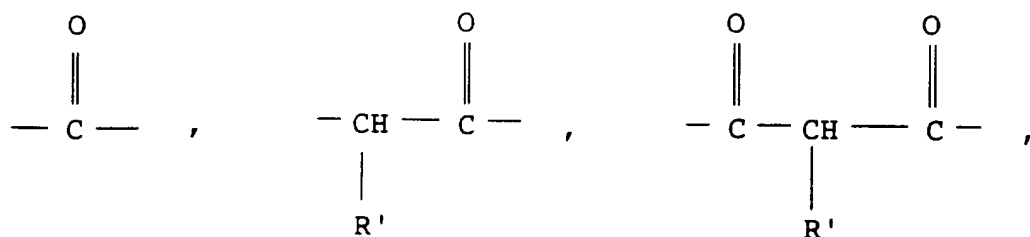
式 K-P₄ 取代氨基酸，其中 K 为



其中

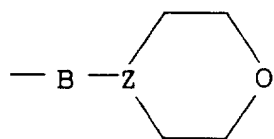
Z 为 N 或 CH,

B 为下式



其中 R' 为氢或 C₁₋₆ 烷基,它们可用本领域熟知的类似标准化学反应来制备。

制备其中 K 为

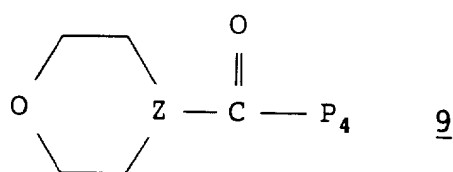
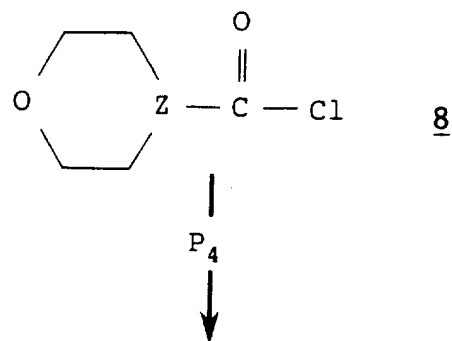


其中

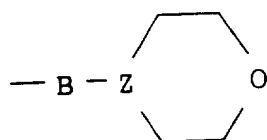
B 为 -C(=O)- 的取代氨基酸 K-P₄ 的方法示于方案 D 中,其中 P₄ 和 Z 如前所

定义或为这些基团的功能等价物。

方案 D

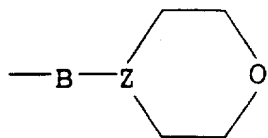


具体讲，其中 K 为



其中

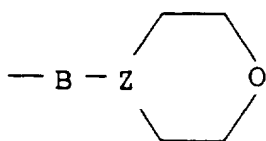
B 为 $-\text{C}(=\text{O})-$ 的取代氨基酸 K-P₄，通过其中 K 为氢的氨基酸 K-P₄ 在 1 - 4 摩尔当量的能作为卤化氢接受体的适当胺存在下与式 8 酰卤偶联而制得。作为卤化氢接受体的适当胺是有机叔胺如三(低级烷基)胺，例如三乙胺；或芳香胺如甲基吡啶、二甲基吡啶或吡啶。当使用吡啶、甲基吡啶或二甲基吡啶时，可以大大过量地使用它们，因而作为反应溶剂。尤其适合于该反应的是 N-甲基吗啉(“NMM”)。偶联反应可按如下进行：向其中 K 为氢的氨基酸 K-P₄ 溶液中加入过量如过量 1 - 5 倍(优选 4 倍)的胺，然后加入式 8 的酰氯。溶剂可以是任何适当的溶剂，例如石油醚，氯代烃如四氯化碳、二氯乙烷、二氯甲烷或氯仿；氯代芳烃如 1,2,4-三氯苯或邻二氯苯；二硫化碳；醚类溶剂如乙醚、四氢呋喃或 1,4-二噁烷；或芳烃溶剂如苯、甲苯或二甲苯。二氯甲烷是这种偶联反应的优选溶剂。反应可进行 15 分钟到 6 小时，这取决于反应物、溶剂、浓度、和其他因素，如温度，它可以在约 0 - 60 °C，常为室温左右，即 25 °C。其中 K 为



其中

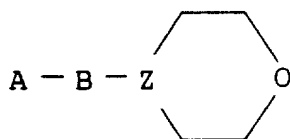
B 为 $-\text{C}(=\text{O})-$ 的 N-保护氨基酸 K-P_4 可用任何适当技术如硅胶层析从反应混合物中分离得到。

其中 K 为



其中

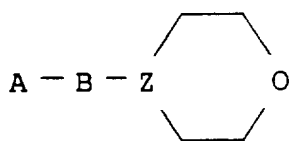
B 不为 $-\text{C}(=\text{O})-$ 的 N-保护氨基酸 K-P_4 可按类似方法制备，只是用适当的中间体



其中

B 不为 $-\text{C}(=\text{O})-$ 及 A 为 Cl 或 OH(相应的酸、酰氯或磺酰氯)代替方案 D 中的式 8 化合物。

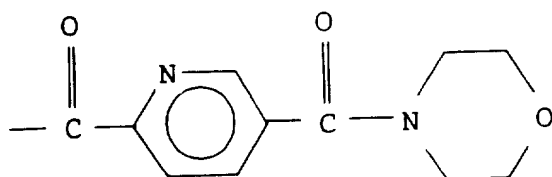
式 8 酰氯和下式适当中间体



其中

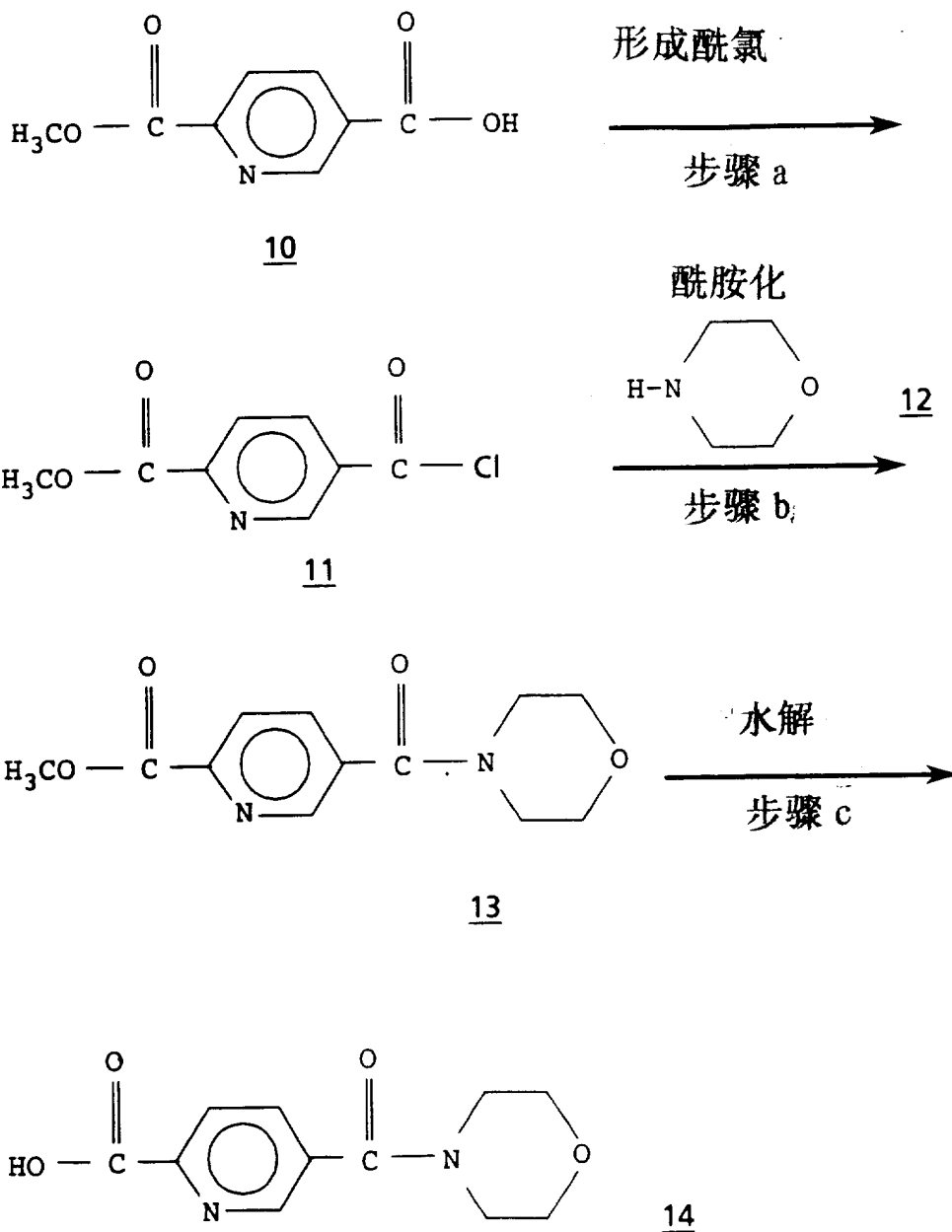
B 不为 $-\text{C}(=\text{O})-$ 及 A 为 Cl 或 OH(相应的酸、酰氯或磺酰氯)有商业供应，并且用本领域普通技术人员熟知的技术和方法易于制得。

例如，下式的适当中间体

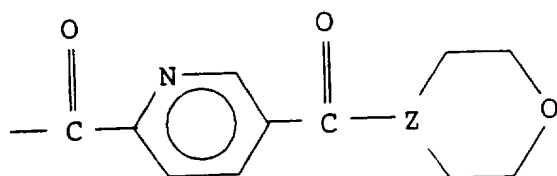


可如方案 E 中所示制备，其中所有取代基如前所定义。

方案 E



方案 E 提供了一种制备下式适当中间体的一般合成方法:



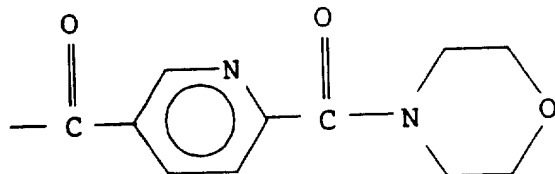
其中 Z 如前所定义。

步骤 a 中, 适当的 2, 5 - 吡啶二羧酸 2 - 甲基酯 10(Nippon Kagaku Zasshi 1967, 88, 563)用本领域普通技术人员已知的技术和方法如亚硫酸酐转化为其酰氯, 生成相应的 6 - 甲氧羰基烟酰氯 11。

步骤 b 中, 酰氯 11 用本领域普通技术人员熟知的技术和方法与吗啉 12 酰胺化, 生成相应的 5 - (吗啉-4-羰基) - 2 - 吡啶羧酸甲酯 13。

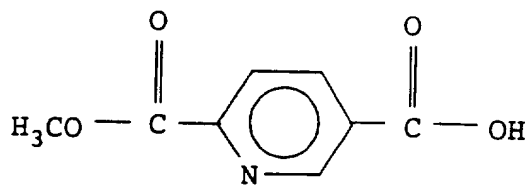
步骤 c 中, 13 的甲酯功能团用本领域普通技术人员熟知的技术和方法水解, 例如用甲醇中的氢氧化锂, 得到 5 - (吗啉-4-羰基) - 2 - 吡啶羧酸 14。

另外, 下式的适当中间体



可如方案 F 中所示制备, 其中所有取代基如前所定义。

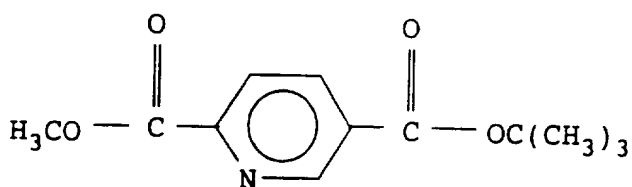
方案 F



10

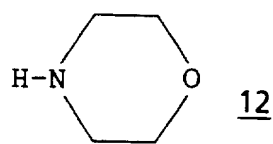
酯化

步骤 a



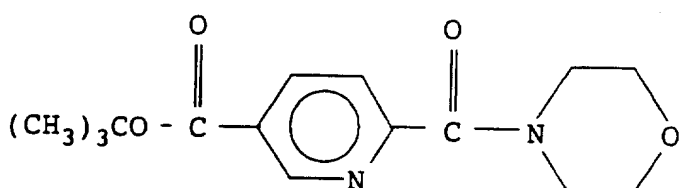
15

酰胺化



12

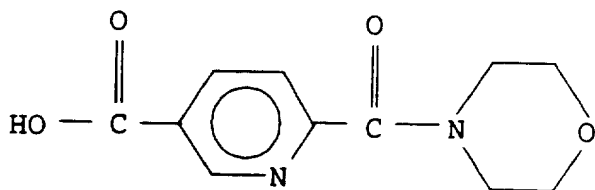
步骤 b



16

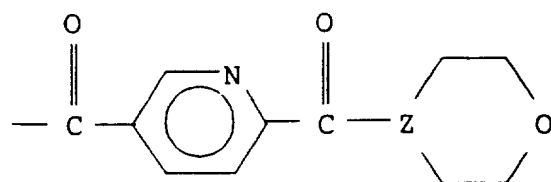
水解

步骤 c



17

方案 F 提供了一种制备下式适当中间体的一般合成方法：



其中 Z 如前所定义。

步骤 a 中，2,5-吡啶二羧酸 2-甲酯 10(Nippon Kagaku Zasshi 1967, 88, 563)的游离羧酸功能团用本领域普通技术人员熟知的技术和方法如二环己基碳化二亚胺叔丁醇加合物(Synthesis, 1979, 570)转化为其叔丁基酯，生成相应的 2,5-吡啶二羧酸 2-甲酯 5-叔丁基酯 15。

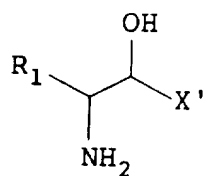
例如，将 2,5-吡啶二羧酸 2-甲基酯和过量 1 摩尔的二环己基碳化二亚胺叔丁醇加合物在适当的有机溶剂如二氯甲烷中混合。该反应一般在 0 °C 到室温下进行 2 - 24 小时。用本领域中的标准提取方法从反应混合物中分离 2,5-吡啶二羧酸 2-甲基酯 5-叔丁基酯 15，并经结晶方法纯化。

在步骤 b 中，15 的甲基酯功能团用吗啉 12 酰胺化，得到相应的 6-(吗啉-4-羧基)烟酸叔丁基酯 16。

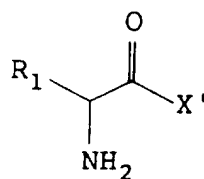
例如，2,5-吡啶二羧酸 2-甲基酯 5-叔丁基酯 15 在适当的有机溶剂如四氢呋喃中与过量 1 摩尔的吗啉接触。该反应一般在室温到回流温度下进行 5 小时到 3 天。用本领域中的标准提取方法从反应混合物中分离 6-(吗啉-4-羧基)烟酸叔丁基酯 16，并经结晶方法纯化。

在步骤 c 中，6-(吗啉-4-羧基)烟酸叔丁基酯 16 用例如 HCl/硝基甲烷水解，得到相应的 6-(吗啉-4-羧基)烟酸 17。

一般而言，式 4 化合物可以用本领域已知的类似标准化学反应制备。对于其中 CFR_3R_4 为 $-\text{CFH}_2$, $-\text{CFH}_2$ 或 $-\text{CF}_3$ 的式 4 化合物，用于标准肽偶联技术的中间体是其中 X' 为 CFR_3R_4 的式 IIa 和 IIb 化合物，其中 CFR_3R_4 为 $-\text{CFH}_2$, $-\text{CFH}_2$ 或 $-\text{CF}_3$ ， R_1 如前所定义。



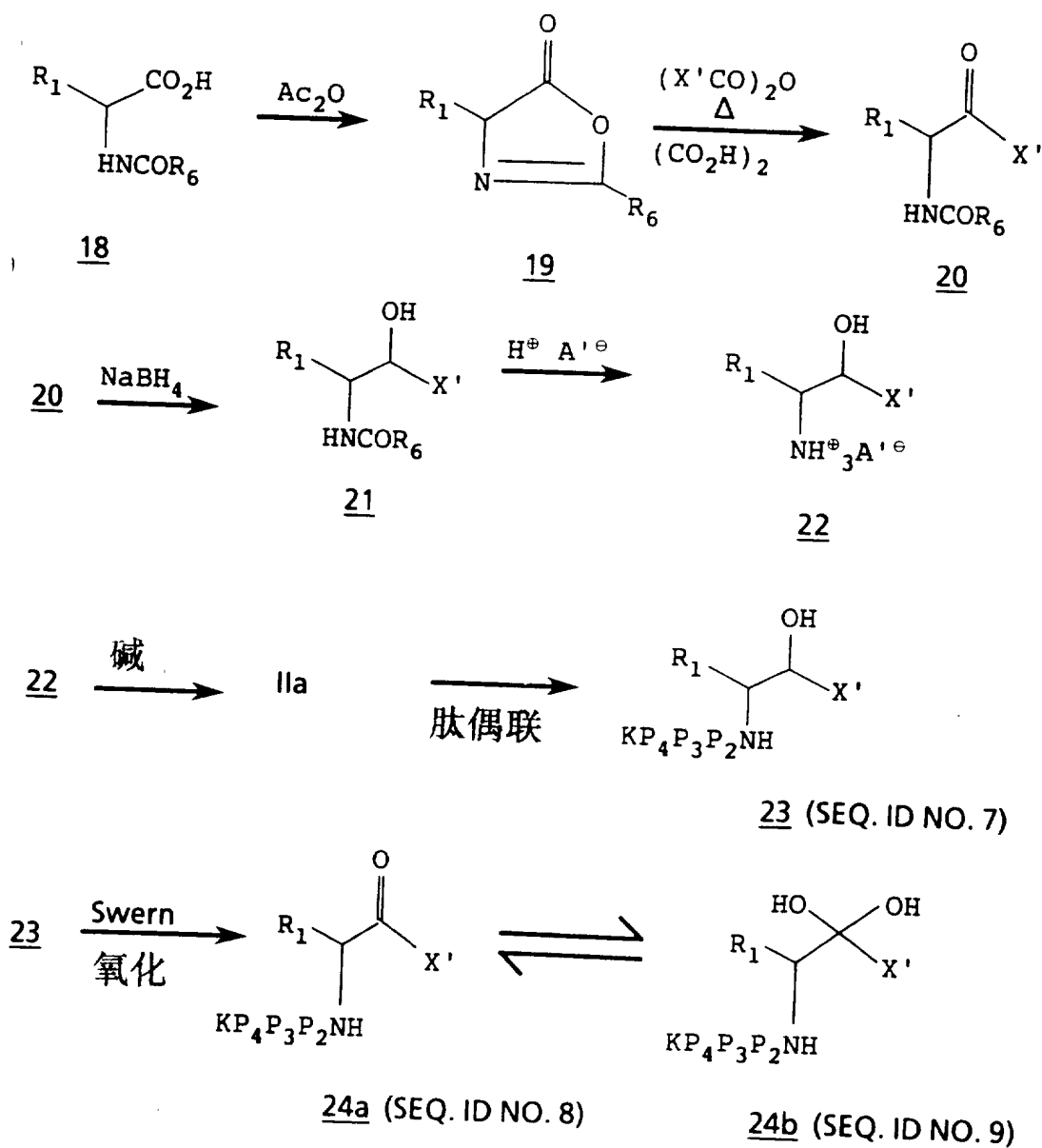
IIa



IIb

类似地，在前述方案中的指称 P_2 、 P_3 、 P_4 和 K 如前所定义，只是其下属分类或修饰用具体指称这种修饰的辅助符号表示。注意方案 G 中“X'”用于代表 CFR_3R_4 基团的下属修饰。这些化合物的制备和应用示于方案 G 中。

方案 G



其中 R_6 为苯基或其他相当的残基, X' 为 $-CF_2H$ 或 $-CF_3$ 。 $H^{\oplus}A^{\ominus}$ 表示酸。除非另有说明, 所有的取代基均如前所定义。试剂和起始物是本领域普通技术人员易于得到的。

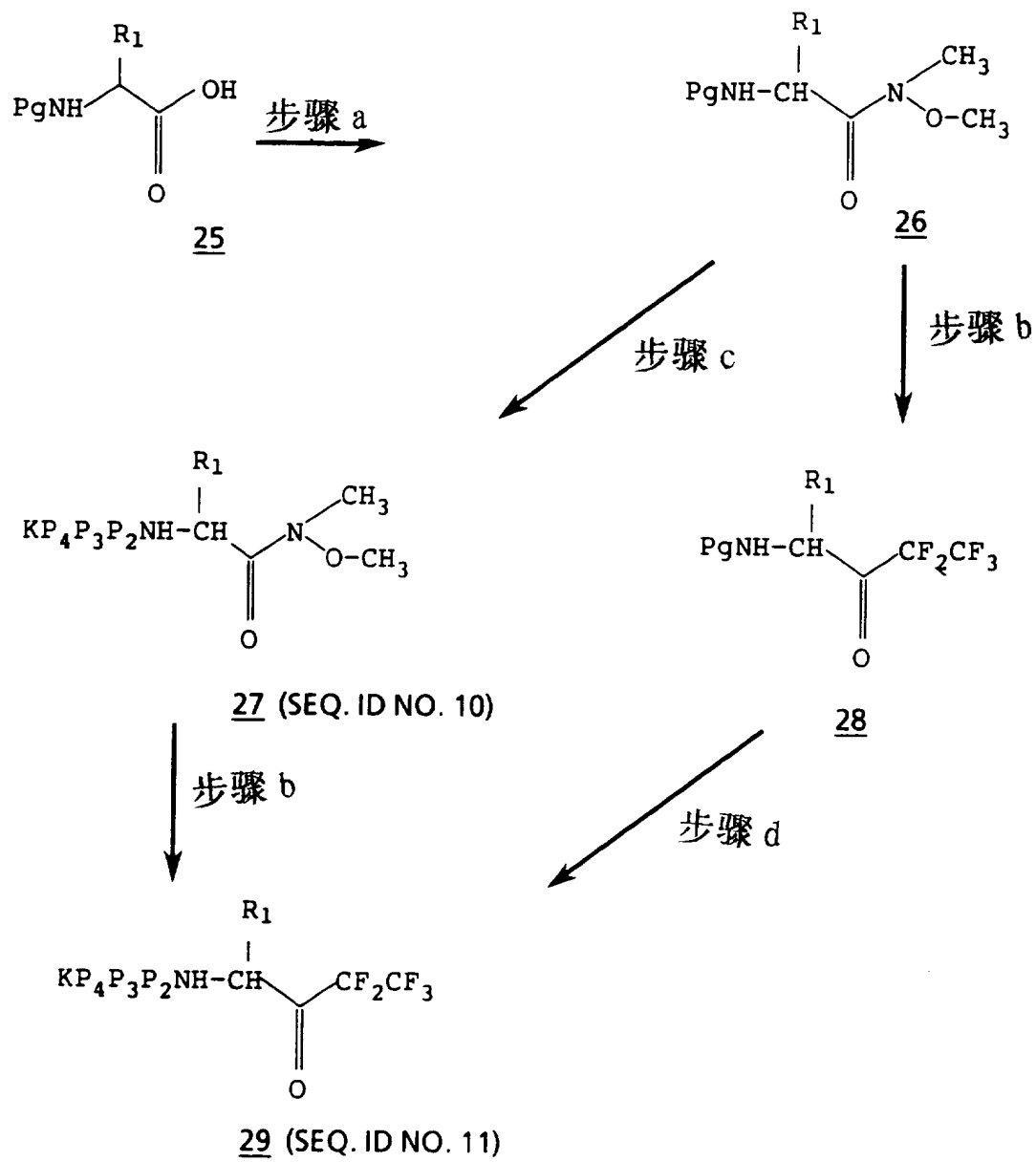
一般, 取代的吡内酯 19 是从 N-保护氨基酸 18 在标准反应条件下制得的, 即氨基酸衍生物 18 在酸酐存在下加热。所生成的吡内酯 19 与二氟乙酸酐或三氟乙酸酐或酰卤反应, 得到的氟代中间体(分离或不分离)用无水草酸处理生成 N-保护的氟代酮 20, 再经化学还原成为酰胺醇 21。酰胺 21 在标准酸性条件下裂解生成其胺的酸盐[例如, 其盐酸盐 22]。中和后, 醇 IIa 可与 $KP_4P_3P_2OH$ 用标准肽化学技术偶联, 生成的化合物 23 进行 Swern 氧化得到目标产物 24a 和 24b(分别为酮或水合物)。或者, 醇 IIa 可被氧化成 IIb, 或者用标准肽化学技术与 $KP_4P_3P_2OH$ 偶联。当使用这种替换途径时, 氨基先用 Boc 保护基保护, OH 功能团经 Swern 氧化方法氧化为酮, 然后除去 Boc 保护基, 生成的化合物 IIb 再与 $KP_4P_3P_2OH$ 偶联。

方案 G 也适用于制备其中 CFR_3R_4 为 $-CF_2R_4'$ 的式 4 化合物, 其中 R_4' 为 (C_{1-8}) 烷基、 (C_3-12) 环烷基、 (C_6-10) 芳基或 (C_6-10) 芳基 (C_{1-6}) 烷基, 取代的吡内酯 19 在碱如三乙胺存在下用酰卤处理, 然后用 4-二甲氨基吡啶处理(Tetrahedron Letters, 1986, 4437-4440)。

类似地, 方案 G 也适用于制备其中 CFR_3R_4 为 $-CF_2F_3$ 的式 4 化合物, 取代的吡内酯 19 用五氟丙酸酐或酰卤处理。

制备其中 CFR_3R_4 为 $-CF_2F_3$ 的式 4 化合物的另一途径示于方案 H 中。

方案 H



所需起始物化合物 25 或有商业供应或应用已知方法和技术易于得到。术语“Pg”指如前文详细定义的适当保护基。

方案 H 步骤 a 中，保护的氨基酸 25 被转化为异羟肟酸酯 26。这种酰胺化可以利用保护氨基酸 25 和 N-烷基 O-烷基羟基胺之间类似两个氨基酸的偶联反应来进行。该标准偶联反应可用前文所述两个氨基酸之间的标准偶联方法进行，生成异羟肟酸酯 26。

在步骤 b 中，保护的异羟肟酸酯 26 被转化为保护的五氟酮 28[或 29]。该反应可以利用以下文献中描述的此类反应来进行：N.P.Peet, *Tetrahedron Letters*, 33(1992),3265-3268。

在步骤 c 中，异羟肟酸酯 26 在本领域熟知的条件下脱保护，生成脱保护的异羟肟酸酯，如 T.H.Geen “*Protection Groups in Organic Synthesis*”, Jhon Wiley and SONS, 1981, 第 7 章中所述。用方案 G 中的前述方法与下一个适当保护的氨基酸偶联进行肽连接、或经片段缩合或结合两种方法，脱保护的异羟肟酸被延长，得到延长的肽 27。

在步骤 d 中，酮 28 在前述条件下脱保护。用方案 G 中的前述方法与下一个适当保护的氨基酸偶联进行肽连接、或经片段缩合或结合两种方法，脱保护的酮 28 被延长，得到延长的酮 29。

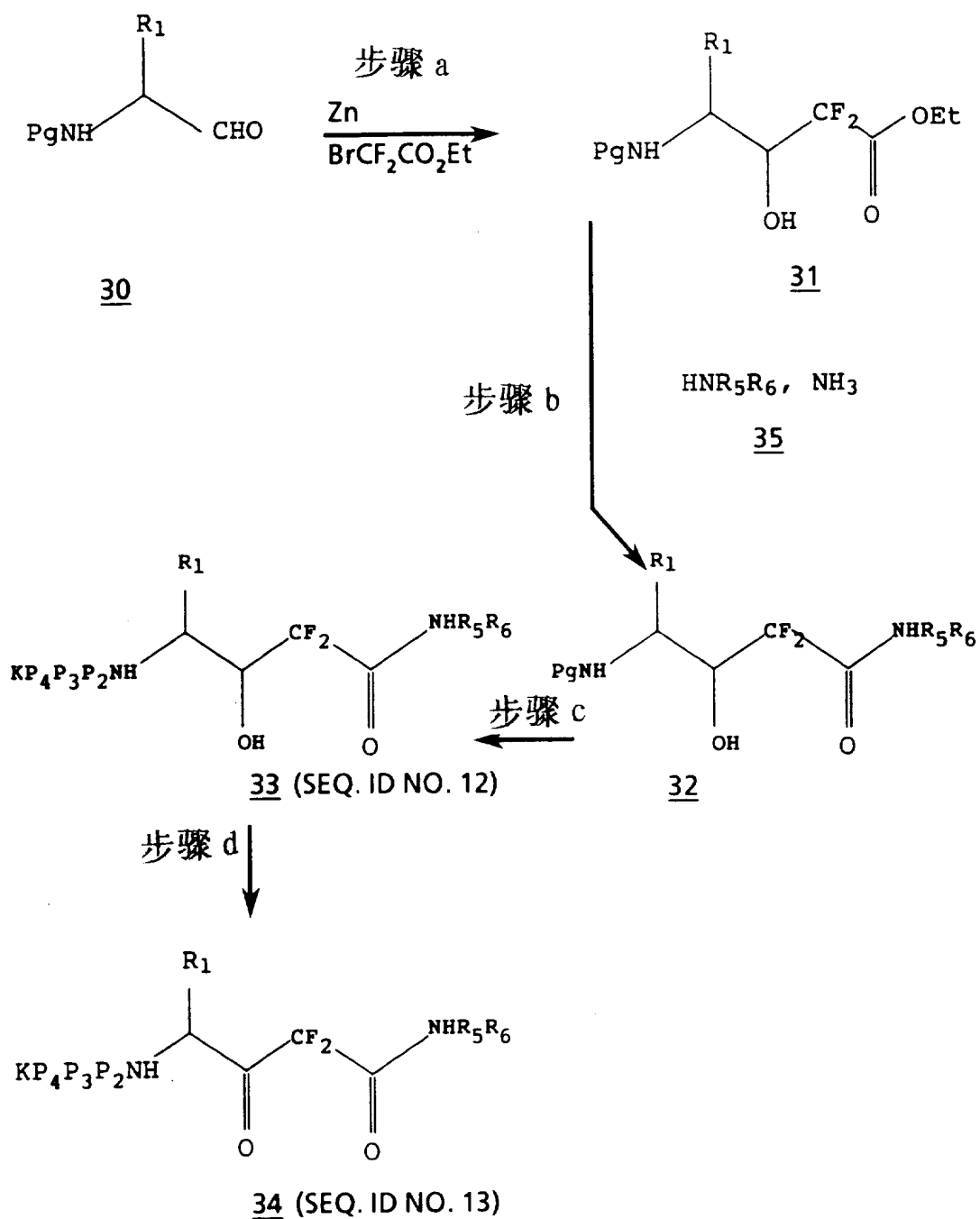
或者，25 的相应保护氨基酸酯[即 $\text{PgNH-CH(R}_1\text{)OR}_4'$ ，26a, 其中 R_4' 如前所定义]可以代替异羟肟酸 26。25 的相应保护氨基酸酯有商业供应或用本领域普通技术人员熟知的方法易于从 25 合成。步骤 b 中，氨基酸酯 26a 用直接类似于相应异羟肟酸所有方法的方法转化为保护的五氟酮 28[或 29]。步骤 c 和 d 与使用异羟肟酸 26 时的相同。

方案 H 也适用于制备其中 CFR_3R_4 为 $-\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$ 或 $-\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$ 的式 4 化合物，氨基酸酯 26a 在 4 - 8 当量 MeLi/LiBr 存在下在适当的无水溶剂如乙醚、THF 或甲苯中用 4 - 8 当量的全氟丙基碘或全氟丁基碘烷基化；反应在 $-100\text{ }^\circ\text{C}$ 到 $0\text{ }^\circ\text{C}$ ，优选 $-30\text{ }^\circ\text{C}$ 到 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度下进行，分别生成保护的全氟丙基氨基酮和保护的全氟丁基氨基酮。步骤 c 和 d 与使用异羟肟酸 26 时的相同。

为制备其中 CFR_3R_4 为 $\text{CF}_2\text{C(=O)-NR}_5\text{R}_6$ 的式 4 化合物，可使用方案 I

的方法，其中 R_5 和 R_6 如式 1 中所定义。

方案 I



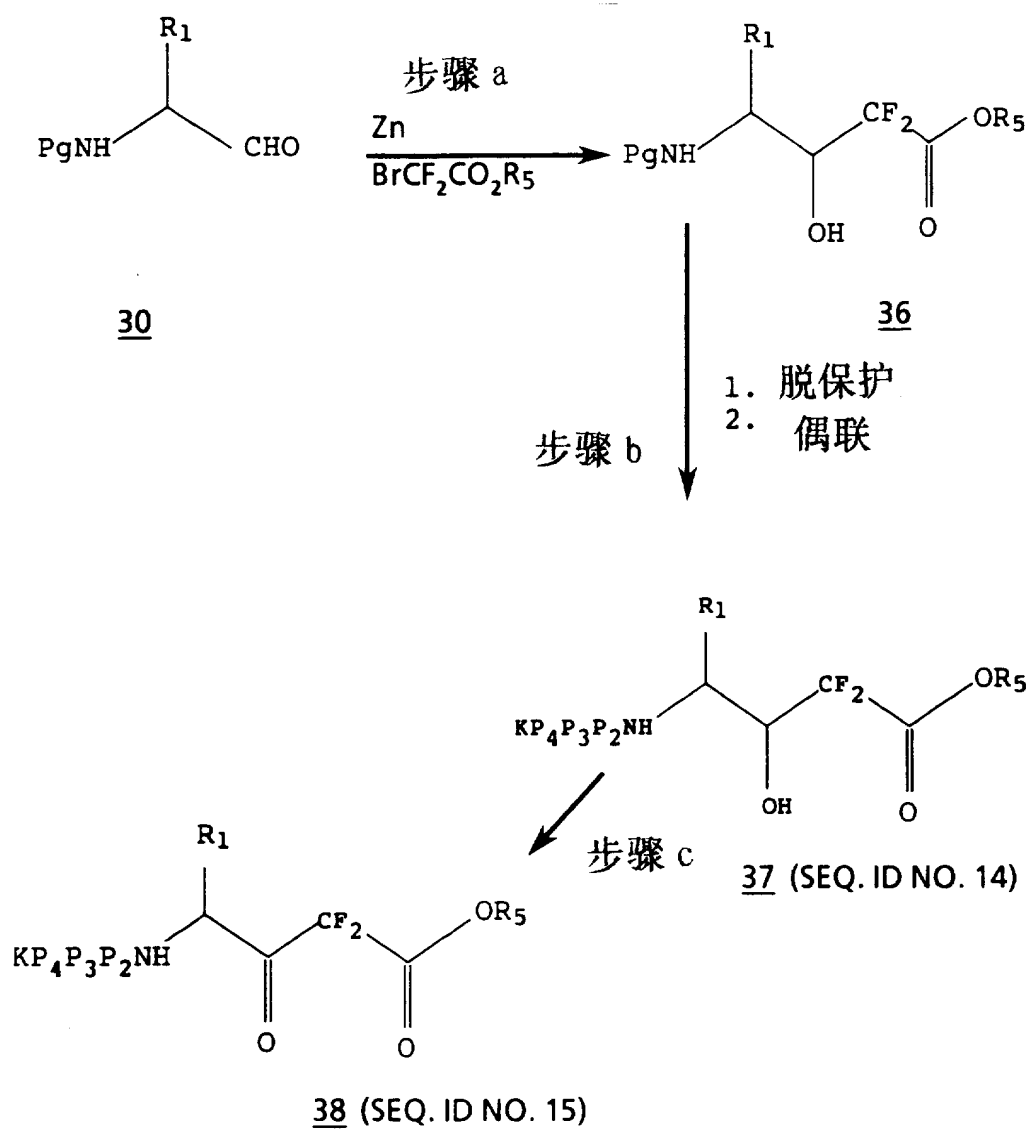
在实施方案 I 的步骤时优选从醛 30 开始，其中保护基是氨基甲酸酯，优选其中 Pg 为苄氧羰基(CBZ)。如此保护的醛在锌存在下与溴二氟乙酸酯(优选乙基酯)进行缩合反应。该反应优选在无水非质子溶剂中在氮气气氛进行，溶剂如为四氢呋喃、乙醚、二甲氧基乙烷等。将反应混合物在回流温度下，优选约 60 °C 下温和加热约 1 - 12 小时。方案 I 中的酯 31 通过用相应的伯胺 35 在无水条件下处理，优选使用溶剂如 THF，转化为仲胺或叔酰胺 32。该酰胺化反应在 0 °C 或室温下引发，可将反应混合物加热至回流以使反应完全。

步骤 c 中，这样形成的酰胺 32 在本领域熟知的条件下脱保护，生成脱保护的酰胺 32，如 T.H.Geen “Protection Groups in Organic Synthesis”，Jhon Wiley and SONS, 1981, 第 7 章中所述。用方案 B 中的前述方法与下一个适当保护的氨基酸偶联进行肽连接、或经片段缩合或结合两种方法，脱保护的酰胺被延长，得到延长的肽 33。

步骤 d 中，式 33 醇的醇官能团用本领域普通技术人员已知的技术和方法氧化生成式 34 化合物，如使用草酰氯和二甲基亚砷的 Swern 氧化。

为制备其中 CFR_3R_4 为 $\text{CF}_2\text{C}(=\text{O})-\text{OR}_5$ 的式 4 化合物，可使用方案 J 的方法，其中 R_5 如式 1 中所定义。

方案 J

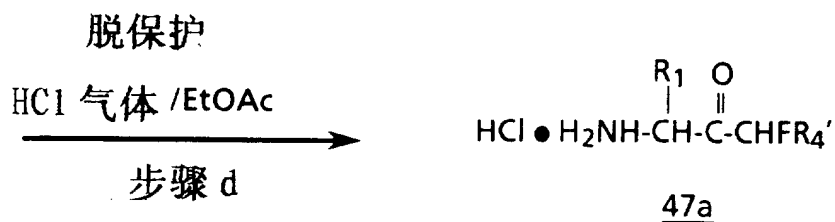
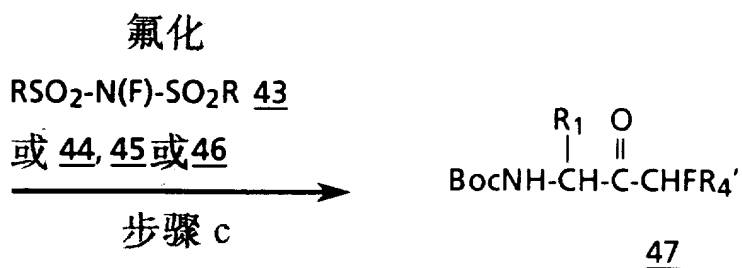
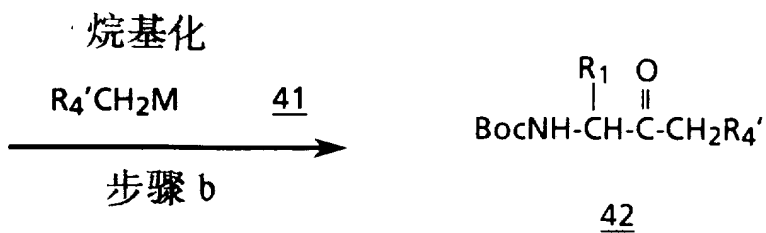
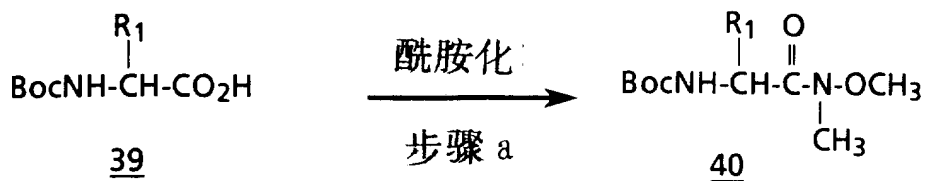


步骤 a 与方案 I 相似，步骤 a 可以适用于 R_5 的所有定义。类似地，方案 J 步骤 b 与方案 I 步骤 c 中所用方法相同或相似，方案 J 步骤 c 与方案 I 步骤 d 中所用方法相同或相似。

式 1 化合物的合成中使用的所有氨基酸或有商品供应或易于合成。例如， P_2 中定义的氨基酸衍生物 Pro(4-OAc) 可通过用本领域普通技术人员熟知的技术酯化 Pro 残基而制得。

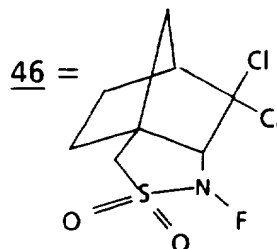
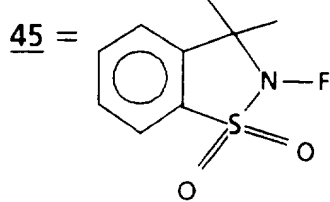
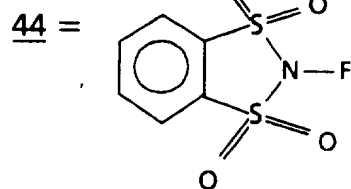
另外，其中 CFR_3R_4 为 $-CHFR_4'$ ，其中 R_4' 为 (C_{1-8}) 烷基、 $(C_3 - 12)$ 环烷基、 $(C_6 - 10)$ 芳基或 $(C_6 - 10)$ 芳基 $(C_1 - 6)$ 烷基的式 4 化合物可按方案 K 中所述方法制备，其中所有取代基如前所定义。注意所有氨基用叔丁氧羰基保护，本领域技术人员可以用其他适当氨基保护基代替。

方案 K



R = CF₃, 苯基

M = Li, Mg



步骤 a 中，式 39 的适当酸按本领域普通技术人员熟知的技术和方法用 N-甲基-N-甲氧基胺酰胺化，如使用 1,3-二环己基碳化二亚胺(DCC)和 1-羟基苯并三唑(HOBT)的偶联反应，得到相应的式 40 的酰胺。

步骤 b 中，适当的式 40 酰胺用适当的烷基金属化合物 41 烷基化，得到相应的式 42 的酮化合物。

例如，适当的式 40 酰胺在适当的非质子无水有机溶剂如四氢呋喃或乙醚中用式 41 的烷基金属化合物处理。该反应一般在-78 °C 到-40 °C 的温度下进行 30 分钟到 5 小时。用本领域已知的萃取方法从反应区中回收相应的式 42 酮化合物，并可通过层析纯化。

步骤 c 中，式 42 的适当酮化合物用 N-氟磺酰胺化合物 43 或可替换的氟化试剂 44、45 或 46 氟化，生成式 47 氨基保护化合物，它是其中末端氨基被 Boc 取代且 CFR_3R_4 为 $-\text{CHFR}_4$ 的式 5 氨基化合物。

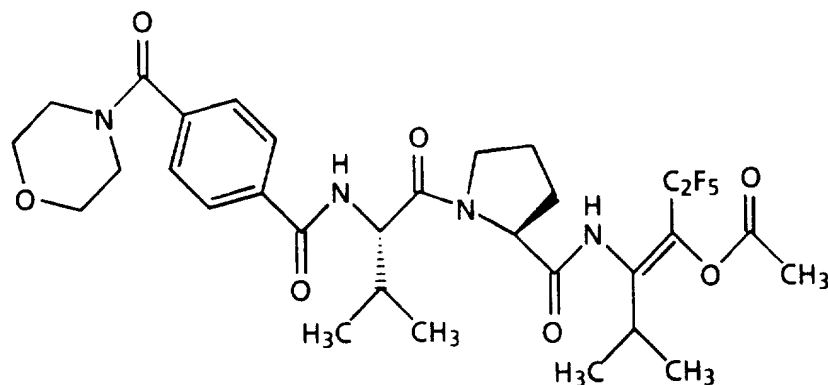
例如，适当的式 42 酮化合物在适当的无水非质子有机溶剂如四氢呋喃中在-78 °C 到-40 °C 下，用适当的非亲核碱如二异丙基氨基锂处理 5 分钟到 2 小时。然后反应混合物用 N-氟磺酰胺化合物 42 处理，该反应在-78 °C 到-40 °C 下进行 30 分钟到 10 小时。用本领域中已知的萃取方法从反应区中回收其中 CFR_3R_4 为 $-\text{CHFR}_4$ 的 N-t-Boc 保护的式 5 氨基化合物，并可通过层析纯化。

下列实施例提供了典型的合成实例。这些实施例仅用于说明本发明，而绝无意限制本发明的范围。本文所用术语的含义如下：“g”指克；“mmol”指毫摩尔；“mL”指毫升；“bp”指沸点；“°C”指摄氏度；“mmHg”指毫米汞柱；“ μL ”指微升；“ μg ”指微克；“ μM ”指微摩尔；“ Et_3N ”指三乙胺；“ CH_2Cl_2 ”指二氯甲烷；“EtOAc”指乙酸乙酯；“NMM”指 N-甲基吗啉；“IBCF”指氯甲酸异丁基酯；“DMF”指 N,N-二甲基甲酰胺。燃烧分析结果落在计算值的 $\pm 0.4\%$ 之内。

除非另有说明，NMR谱是在CDCl₃中获得的。¹H和¹³CNM信号是以低场于四甲基甲硅烷的ppm数报道的，¹⁹FNMR信号是以低场于CFCl₃的ppm数报道的。偶合常数以赫兹(Hz)表示。

实施例 1

制备(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺



MDL 103,279

将 N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丁基]-L-脯氨酸酰胺(2.00g, 3.16mmol, 欧洲专利申请 0529568A1)、Et₃N(0.66mL, 4.74mmol)和 4-二甲氨基吡啶(0.77g, 6.32mmol)在二氯甲烷中的溶液在搅拌下氮气氛下冷却到-20℃(干冰-CCl₄浴),5分钟内向其中滴加乙酸酐(0.89mL, 9.48mmol)。-20℃下1.5小时后用二氯甲烷(70mL)稀释反应混合物,并用0.5N的盐酸水溶液(2×50mL)、再用50mL的0.5N盐酸水溶液-盐水(1:9)洗涤该有机溶液。干燥(MgSO₄)并浓缩得到粗产物。该粗产物可用乙酸乙酯-己烷重结晶得到白色固体结晶标题化合物(MDL103,279; 2.25g, 收率85%, 两次), mp127-137(分解)。

TLC R_f 0.34 (1:9 丙酮 -EtOAc).

¹HNMR δ 8.02 (br s, 1H, NHC=C), 7.88-7.84 (m, 2H, 1/2 芳基),

7.51-7.46 (m, 2H, 1/2 芳基), 6.85 (br d, 1H, J = 8.9 Hz,

NH), 4.87 (dd, 1H, J = 6.3, 8.8 Hz, CH), 4.65 (dd, 1H, J = 2.6, 8.0 Hz, CH), 3.92-3.54 (m, 8H), 3.39 (br s, 2H), 2.73 (七重峰 1H, J = 6.9 Hz, CHC=C), 2.52-2.42 (m, 1H), 2.24 (s, 3H, COCH₃), 2.25-1.85 (m, 4H), 1.08 (d, 3H, J = 6.9 Hz, CH₃), 1.07 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH₃), 1.05 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH₃), 1.01 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH₃).

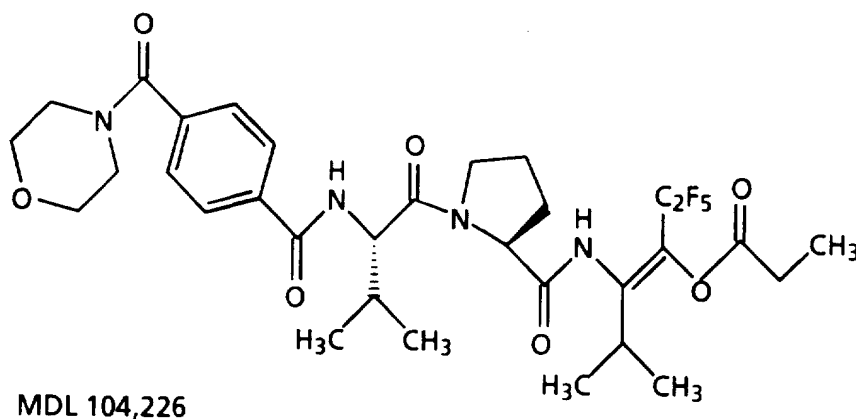
¹⁹FNMR δ -83.55 (s, CF₃), -116.50 (br s, CF₂).

MS (CI, CH₄) m/z (相对密度:) 675 (MH⁺, 25), 359(100), 317(75), 262(28), 230(40), 210(22), 70(52).

元素分析(C₃₁H₃₉F₅N₄O₇) C, H, N.

实施例 2

制备(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-(1-氧代丙氧基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺



MDL 104,226

按实施例 1 中所用的相同方法, 用丙酸酐处理 N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丁基]-L-脯氨酸酰胺, 粗产物在乙酸乙酯中重结晶, 得到白色固体 MDL104,226。产率 69%, mp138-144 °C(分解)。

TLC R_f 0.35 (1:9 丙酮 -EtOAc).

¹HNMR δ 8.00 (br s, 1H, NHC=C), 7.88-7.84 (m, 2H, 1/2 aryl), 7.52-7.46 (m, 2H, 1/2 aryl), 6.85 (br d, 1H, J = 8.8 Hz, NH), 4.87 (dd, 1H, J = 6.3, 8.8 Hz, CH), 4.65 (dd, 1H, J = 2.6, 8.0 Hz, CH), 3.92-3.53 (m, 8H), 3.40 (br s, 2H), 2.71 (七重峰, 1H, J = 6.9 Hz, CHC=C), 2.52 (q, 2H, J = 7.5 Hz,

COCH₂), 2.50-2.40 (m, 1H), 2.24-1.85 (m, 4H), 1.22 (t, 3H, J = 7.5 Hz, CH₃), 1.08 (d, 3H, J = 6.9 Hz, CH₃), 1.07 (d, 3H, J = 6.5 Hz, CH₃), 1.05 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH₃), 1.01 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH₃).

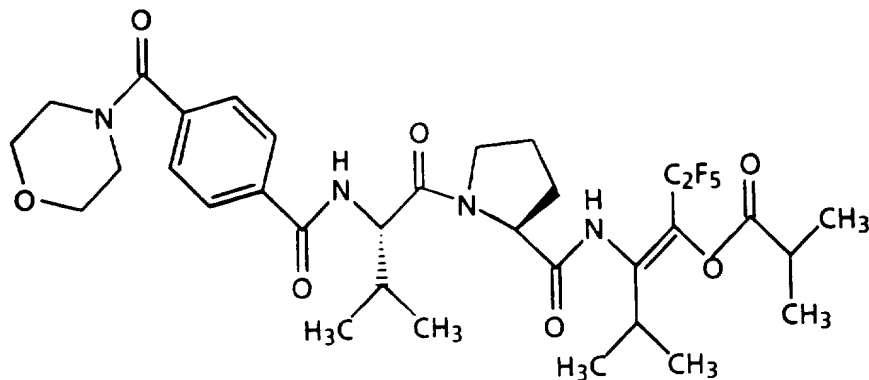
¹⁹FNMR δ -83.57 (s, CF₃), -116.27 和 -116.55 (AB 四重峰 J = 280 Hz, CF₂).

MS (CI, CH₄) m/z (相对密度:) 689 (MH⁺, 17), 414(20), 373 (100), 317(22), 77(54), 75(23), 70(20).

元素分析(C₃₂H₄₁F₅N₄O₇) C, H, N.

实施例 3

制备(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-(2-甲基-1-氧代丙氧基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺



MDL 105,658

按实施例 1 中所用的相同方法, 用异丁酸酐处理 N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丁基]-L-脯氨酸酰胺, 粗产物在乙酸乙酯中重结晶, 得到白色固体 MDL105,658。产率 54%, mp135-142 °C(分解)。

TLC R_f 0.34 (1: 9 丙酮 - 乙酸乙酯)。

¹HNMR δ 7.98 (br s, 1H, NHC=C), 7.89-7.84 (m, 2H, 1/2 芳基), 7.51-7.46 (m, 2H, 1/2 芳基), 6.87 (br d, 1H, J = 8.8 Hz, NH), 4.87 (dd, 1H, J = 6.3, 8.8 Hz, CH), 4.65 (dd, 1H, J =

2.6, 8.1 Hz, CH), 3.94-3.55 (m, 8H), 3.40 (br s, 2H), 2.74 (七重峰 1H, J = 7.0 Hz, COCH), 2.68 (七重峰, 1H, J = 6.9 Hz, CHC=C), 2.50-2.40 (m, 1H), 2.25-1.86 (m, 4H), 1.26 (d, 6H, J = 7.0 Hz, 2x CH₃), 1.09 (d, 3H, J = 6.9 Hz, CH₃), 1.07 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH₃), 1.05 (d, 3H, J = 6.9 Hz, CH₃), 1.01 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH₃).

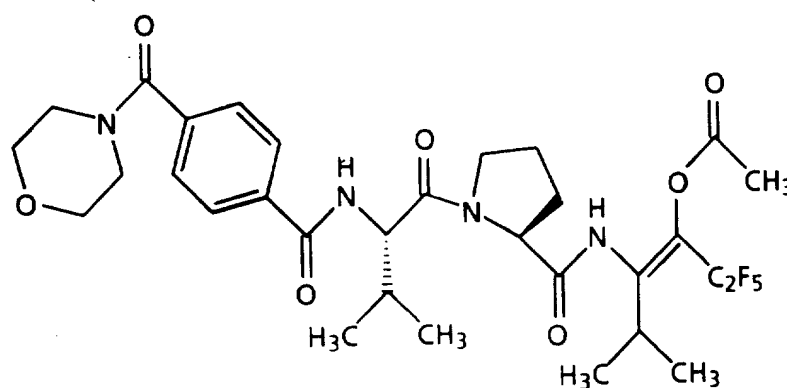
¹⁹FNMR δ -83.68 (s, CF₃), -116.16 and -116.66 (AB 四重峰, J = 282 Hz, CF₂).

MS (CI, CH₄) m/z (相对密度) 703 (MH⁺, 20), 387(56), 317(78), 290(28), 230(35), 91(100), 89(80), 71(90), 70(80).

元素分析(C₃₃H₄₃F₅N₄O₇) C, H, N.

实施例 4

制备(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺



MDL 105,457

将 N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丁基]-L-脯氨酸酰胺 (0.50g, 0.79mmol)、Et₃N(0.16mL, 1.19mmol)和 4-二甲氨基吡啶(0.19g, 1.58mmol)在二氯甲烷(2mL)中的溶液搅拌下在氮气氛下加热至回流,向其中滴加乙酸酐(0.22mL, 2.37mmol)。回流 30 分钟后,冷却反应混合物,用二氯甲烷(45mL)稀释反应混合物,并用 0.5N 的盐酸水溶液(2 × 35mL)、再用 25mL 的 0.5N 盐酸水溶液-盐水(1:9)洗涤该有机溶液。用乙酸乙酯洗脱,进行快速层析(5 × 17cm 硅胶柱),然后在乙醚中重结晶,得到白色固体 MDL105,457;收率: 49mg(9%)。

TLC $R_f = 0.17$ (EtOAc).

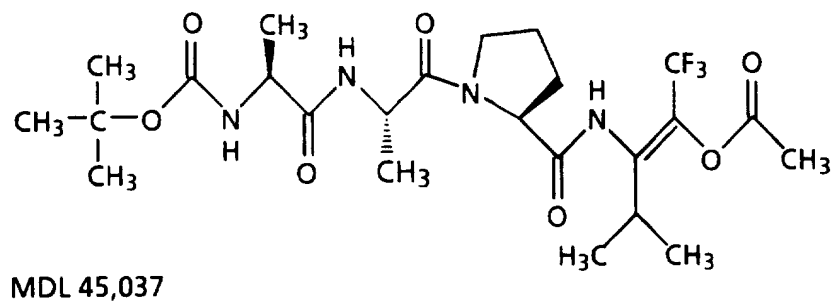
$^1\text{H NMR}$ δ 7.96 (br s, 1H, NHC=C), 7.89-7.83 (m, 2H, 1/2 芳基), 7.53-7.46 (m, 2H, 1/2 芳基), 6.78 (br d, 1H, $J = 8.7$ Hz, NH), 4.84 (dd, 1H, $J = 6.6, 8.8$ Hz, CH), 4.61 (dd, 1H, $J = 2.6, 8.0$ Hz, CH), 3.97-3.53 (m, 8H), 3.41 (br s, 2H), 3.13 (七重峰 1H, $J = 6.7$ Hz, CHC=C), 2.50-2.39 (m, 1H), 2.20-2.03 和 2.01-1.87 (pr m, 4H), 2.13 (s, 3H, COCH₃), 1.11 (d, 6H, $J = 6.7$ Hz, 2x CH₃), 1.06 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz, CH₃), 1.02 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz, CH₃).

$^{19}\text{F NMR}$ δ -84.73 (t, $J = 3$ Hz, CF₃), -113.63 (br s, CF₂).

MS (CI, CH₄) m/z (相对密度) 675 (MH⁺, 17), 635(16), 385(100), 121(30).

实施例 5

制备(E)-N-[(1,1-二甲基乙氧基)羧基]-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺(SEQ.ID.NO. 2)



方法 A: 将 N-[(1,1-二甲基乙氧基)羧基]-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺(1.00g, 1.97mmol, 欧洲专利申请 0195212)在乙腈(5ML)中的溶液在氮气氛围下搅拌并冷却到-20 °C(干冰-CCl₄浴),向其中加入乙酸酐(0.56mL,5.90mmol),然后立即加入 4-二甲氨基吡啶(480mg, 3.93mmol)。-20 °C下 2 小时后用二氯甲烷(75mL)稀释反应混合物,并用 0.5N 的盐酸水溶液(2 × 50mL)、再用 50mL 的 0.5N 盐酸水溶液-盐水(1:9)洗涤该有机溶液。干燥(MgSO₄)并浓缩得到粗产物。该粗产

物用乙酸乙酯-己烷(85:15)洗脱进行快速层析(6 × 17cm 硅胶柱), 得到白色固体 MDL45,037[0.54g, 收率 50 %], mp=111-114(分解)。

TLC R_f = 0.35 (EtOAc).

$^1\text{H NMR}$ δ 8.44 (br s, 1H, NHC=C), 7.88 (br d, 1H, J = 6.7 Hz, NH), 5.29 (br d, 1H, J = 7.4 Hz, NH), 4.94-4.82 (m, 1H, CH), 4.75 (dd, 1H, J = 2.8, 8.0 Hz, CH), 4.61-4.45 (m, 1H, CH), 3.79-3.68 and 3.68-3.57 (pr m, 2H, CH_2N), 2.70 (七重峰 1H, J = 6.9 Hz, $\text{CHC}=\text{C}$), 2.36-1.96 (m, 4H), 2.23 (s, 3H,

COCH_3), 1.44 (s, 9H, O-*t*-Bu), 1.33 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH_3), 1.24 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH_3), 1.00 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH_3), 0.96 (d, 3H, J = 6.90 Hz, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ δ 172.2, 171.9, 171.2, 167.9, 155.7, 139.9, 132.9 (q, J = 35.0 Hz), 119.9 (q, J = 274.5 Hz, CF_3), 80.4, 49.5, 47.5, 46.2, 30.2, 28.3, 28.25, 27.9, 24.9, 20.1, 20.02, 19.96, 19.1, 19.0, 18.5.

$^{19}\text{F NMR}$ δ -66.04 (s, CF_3).

IR (CHCl_3 膜) 3428, 3293, 2980, 2936, 2878, 1788, 1670, 1630, 1460, 1370, 1333, 1244, 1219, 1179, 1141, 1117, 756 cm^{-1} .

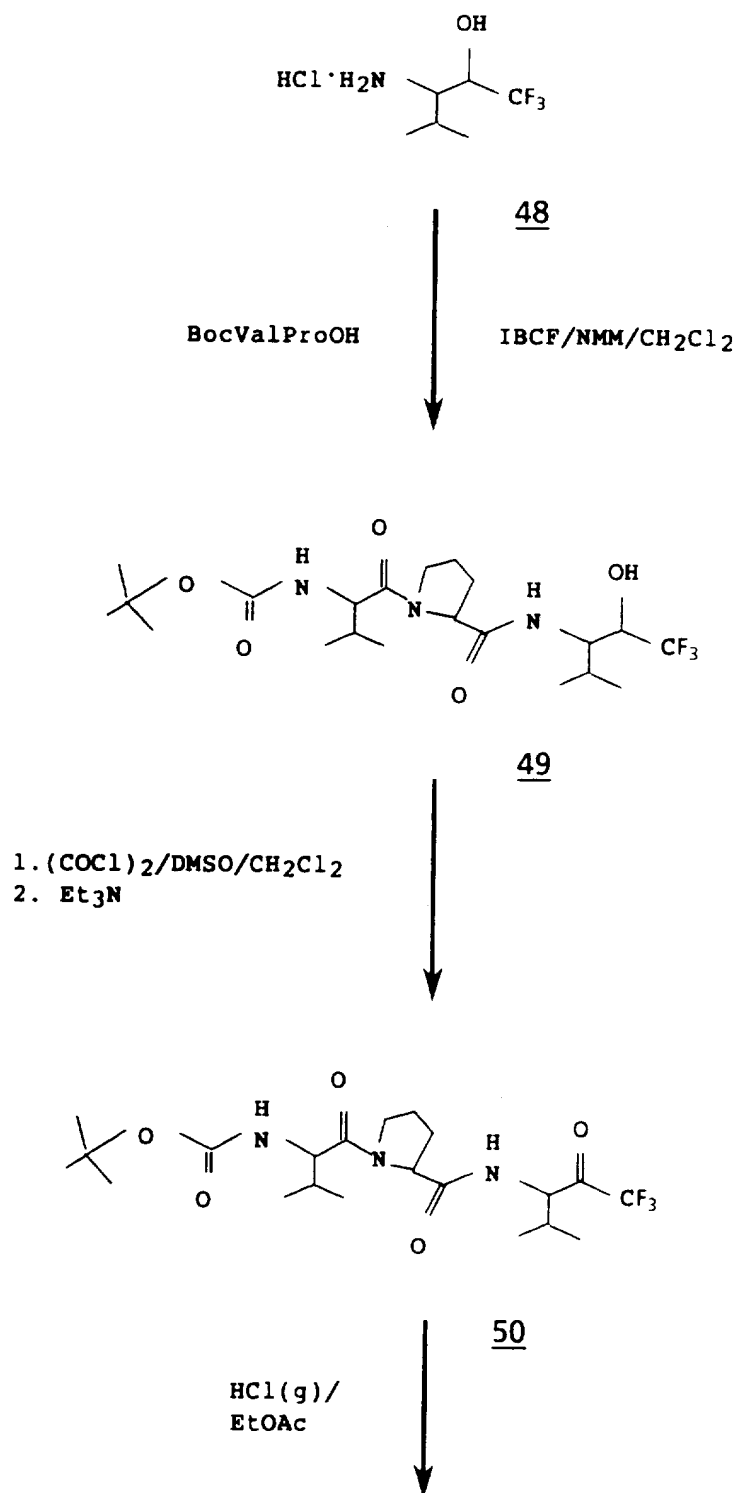
MS (CI, CH_4) m/z (相对密度) 551 (MH^+ , 38), 495(100), 453(18), 452(17), 340(17), 309(52), 284(13), 70(19).

元素分析($\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_7$) C, H, N.

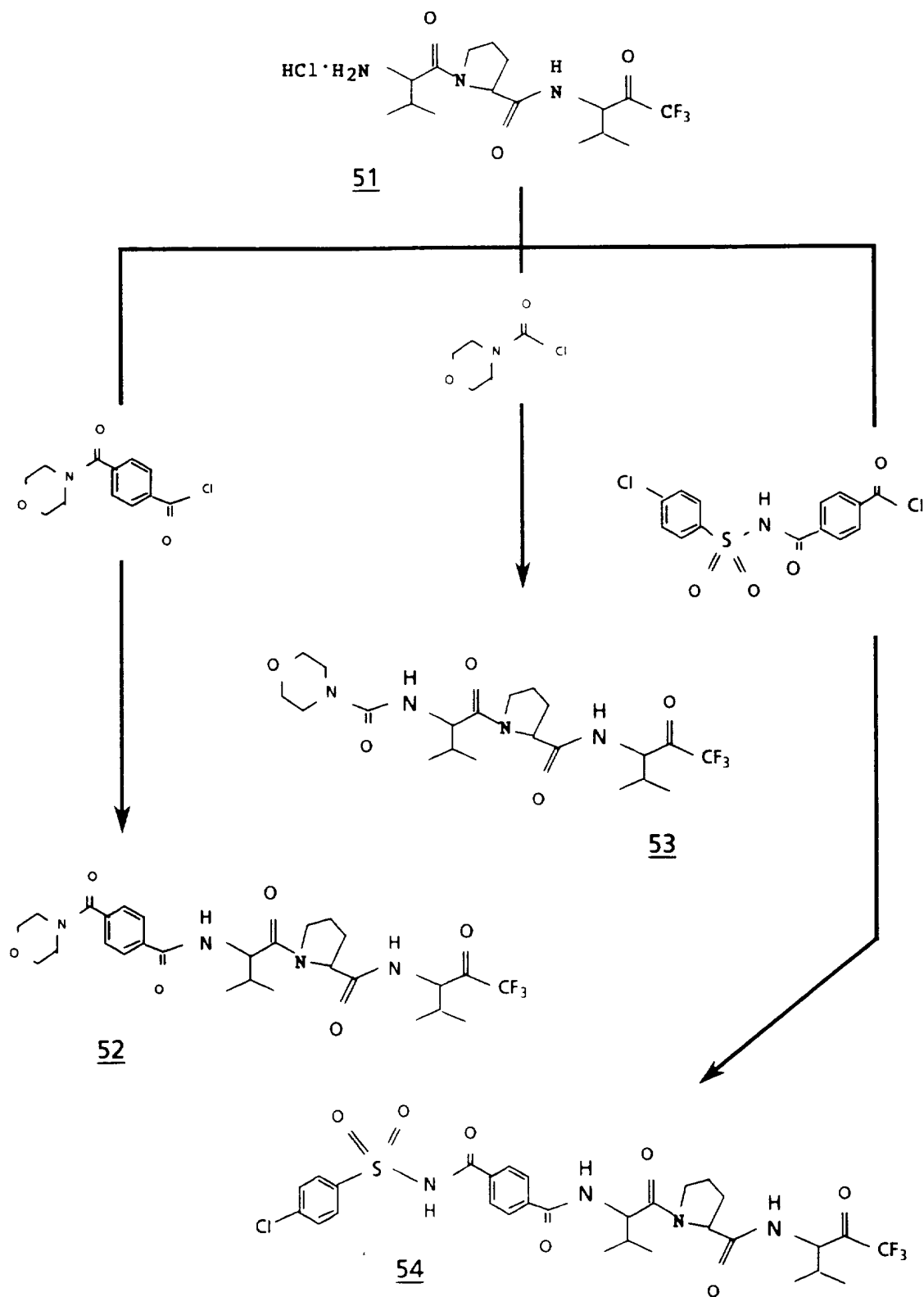
方法 B: 将 N-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺(254mg, 0.50mmol, 欧洲专利申请 0195212)在吡啶(1.25mL)中的溶液在氮气气氛下搅拌并用干冰-水浴冷却,向其中滴加乙酸酐(0.47mL,5.0mmol)。26 小时后用二氯甲烷(45mL)稀释反应混合物,并用 0.5N 的盐酸水溶液(2 × 30mL)、再用 40mL 的 0.5N 盐酸水溶液-盐水(1:9)洗涤该有机溶液。干燥(MgSO_4)并浓缩得到粗产物[0.32g,91%(E)-烯醇乙酸酯, < 3%起始物, 3%(Z)-烯醇乙酸酯, 由 $^{19}\text{F NMR}$ 测定]。用乙酸乙酯-己烷(4:1)洗脱进行快速层析(3 × 16cm 硅胶柱), 得到 MDL45,037。

其中 CFR_3R_4 取代基为 $-\text{CF}_3$ 的实施例 6 - 8 标题化合物的中间体都可用方案 L 的方法合成。

方案 L

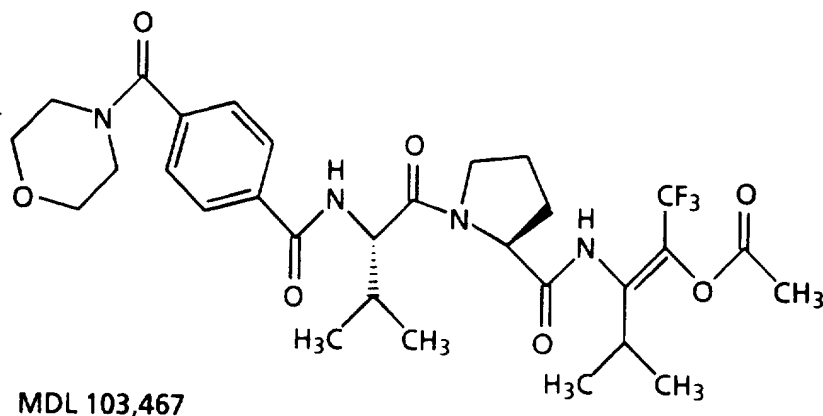


方案 L (续)



实施例 6

制备(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺



步骤 a: N-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,3-三氟-2-羟基-1-(1-甲基乙基)-丙基]-L-脯氨酸酰胺(49)

将 Boc-L-Val-L-Pro-OH(2.00g, 6.36mmol)在乙腈(85mL)的溶液在氮气下搅拌并冷却至-18℃, 向其中加入 NMM(0.70mL, 6.36mmol), 然后加入 IBCF(0.83mL, 6.36mmol)。15 分钟后加入 48(只有一对对映体, 1.78g, 6.36mmol)和 NMM(0.70mL, 6.36 mmol)在乙腈(25mL)中的稀悬浮液。搅拌 3 小时, 然后让反应混合物温热至室温。浓缩反应混合物, 并将残余物在二氯甲烷(400mL)和 0.5N 盐酸水溶液(200mL)之间分配。酸性水层用另外的 100mL 二氯甲烷萃取, 合并有机萃取物, 用 0.5N 盐酸、碳酸氢钠饱和水溶液(2 × 200mL)和盐水(125mL)洗涤。干燥(MgSO₄)并浓缩, 得到粗品 49。用乙醚-己烷研制, 过滤得到 49(2.41g(81%)), 两个非对映异构体的混合物, 比率 ≈ 1: 1), 灰白色固体。

¹HNMR (DMSO-d₆) δ 7.70 (br d, 0.5H, NH), 7.39 (br d, 0.5H, NH), 6.77 (br d, 0.5H, NH), 6.71 (br d, 0.5H, NH), 6.39 (d, 0.5H, OH), 6.36 (d, 0.5H, OH), 4.40-4.26 (m, 1H, CH), 4.09-3.94 (m, 2H), 3.94-3.46 (m, 3H), 2.20-1.60 (m, 6H), 1.37 (s, 9H, tBu), 0.98-0.72 (m, 12H, 4 × CH₃).

^{19}F NMR δ -74.04 (d, J = 6.8 Hz, CF_3 , 非对映异构体 A), -74.14 (d, J = 6.8 Hz, CF_3 , 非对映异构体 B).

MS (DCI, CH_4) m/z (相对密度) 468 (MH^+ , 40), 412 (92), 368 (100).

元素分析($\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_5$) C, H, N.

步骤 b: N-[(1,1-二甲基乙氧基)羧基]-L-缬氨酸-N-[3,3,3-三氟-2-羟基-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺(50)

搅拌下向冷却到 $-60\text{ }^\circ\text{C}$ 的草酰氯(0.31mL, 3.56mmol)二氯甲烷(30mL)溶液中滴加 DMSO(0.51mL, 7.12mmol)。6 分钟后加入 49(1.11g, 2.37mL)在二氯甲烷(5mL)和 DMSO(3mL)混合物中的溶液, 再过 20 分钟加入三乙胺(1.99mL, 14.25mmol)。让反应混合物温热至室温, 用二氯甲烷(100mL)稀释, 用 0.5N 盐酸水溶液($2 \times 150\text{mL}$)、碳酸氢钠半饱和水溶液($2 \times 100\text{mL}$)和盐水(75mL)洗涤。干燥(MgSO_4)并浓缩得到白色泡沫状化合物 50(1.06g, 96%, 两个非对映异构体的混合物, 比率 $\approx 1:1$)。

^1H NMR δ 7.98 (br d, 0.5H, NH), 7.61 (br d, 0.5H, NH), 5.23 (d, 1H, NH), 4.87-4.79 (m, 1H, CH), 4.74 (dd, 0.5H, CH), 4.64 (dd, 0.5H, CH), 4.36-4.24 (m, 1H, CH), 3.82-3.68 和 3.65-3.54 (pr m, 2H, CH_2N), 2.57-1.76 (m, 6H, CH_2CH_2 和 $2 \times \text{CH}$), 1.42 (s, 9H, *t*Bu), 1.10-0.87 (m, 12H, $4 \times \text{CH}_3$).

^{19}F NMR δ -76.94 (s, CF_3 , 非对映异构体 A), -77.00 (s, CF_3 , 非对映异构体 B).

MS (DCI, CH_4) m/z (相对密度) 466 (MH^+ , 58), 410 (100), 390 (17), 366 (17).

HRMS ($\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_5$)(MH^+) 计算 466.2529, 实测 466.2507.

步骤 c: N-L-缬氨酸-N-[3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺盐酸盐(51)

将搅拌后的化合物 50(1.19g, 2.56mmol)的溶液冷却至 $0\text{ }^\circ\text{C}$, 并用 HCl 处理直到饱和。将混合物在 $0\text{ }^\circ\text{C}$ 下搅拌 30 分钟, 真空除去溶液, 得到白色固体化合物 51(1.0g, 97%, 两个酮式非对映异构体和两个水合物形式非对映异构体的混合物, 非对映异构体的比率为 3:1, 水合物与酮的比率为 4:1)。

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.80 (d, $J = 7.15$ Hz, 0.1H, NH), 8.73 (d, $J = 7.15$ Hz, 0.2H, NH), 8.14 (bs, 5H), 7.69 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 7.52 (d, $J = 10.2$ Hz, 0.2H, NH), 6.93 (s, 0.3H, OH), 6.90 (s, 0.7H, NH), 6.84 (s, 0.7H, NH), 6.79 (s, 0.3H, NH), 4.75 (多个 m, 2H), 4.04-3.91 (多个 m, 3H), 3.73 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 2.34-1.66 (多个 m, 6H, 2x β -CH Val 和 CH_2CH_2), 1.06-0.77 (m, 12H, 4x CH_3).

$^{19}\text{F NMR}$ (DMSO- d_6) δ -74.84 (s, COCF_3), -74.98 (s, COCF_3), -80.88 [s, $\text{C}(\text{OH})_2\text{CF}_3$], -81.10 [s, $\text{C}(\text{OH})_2\text{CF}_3$].

IR (KBr 压片) 3431, 2970, 1647, 1595, 1506, 1471, 1172 cm^{-1} .

MS (DCI, CH_4) m/z (相对密度) 366 (MH^+ , 100), 267 (48), 197 (20), 169 (25).

HRMS ($\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3$) (MH^+ 游离胺) 计算 366.2005, 实测 366.1995.

步骤 d: N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丙烯基]-L-脯氨酸酰胺(52)

向搅拌后的 4-(4-吗啉基羰基)苯甲酸(1.10g, 4.68mmol)在 1, 2-二氯乙烷(10mL)中的悬浮液中加入苄基三乙基氯化铵(5mg)和亚硫酸氯(4.80mmol, 0.35mL),并将混合物加热回流。2 小时后冷却反应溶液至室温,真空浓缩得到酰氯。将该酰氯溶解在二氯甲烷(10ml)中,并加入到 51(1.00g, 2.49mmol)和 NMM(0.82mL, 7.50mmol)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中。搅拌 3 小时后,用二氯甲烷(50mL)稀释,用 0.5N 盐酸水溶液(2 \times 40mL)、碳酸氢钠饱和水溶液(2 \times 40mL)和盐水(25mL)洗涤。干燥(MgSO_4)并浓缩得到粗品 52。快速层析纯化得到白色泡沫状 52(2:1::LLL:LLD)。产率 = 1.20g(82%)。

$^1\text{H NMR}$ δ 7.85 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, 芳基); 7.76 (d, $J = 7.0$ Hz, 0.33H, NH), 7.47 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, 芳基), 7.34 (d, $J = 7.5$ Hz, 0.66H, NH), 6.80 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, NH), 4.86 (m,

2H), 4.70 (dd, $J = 8.0, 2.13$ Hz, 0.33H, CH of Pro), 4.61 (dd, $J = 8.3, 3.1$ Hz, 0.66H, CH of Pro), 3.91-3.35 (m, 10H), 2.53-1.80 (多个 m, 6H, 2x β -CH Val 和 CH_2CH_2), 1.12-0.88 (m, 12H, 4x CH_3).

^{19}F NMR δ -76.89 (s, CF_3), -76.96 (s, CF_3).

MS (DCI, CH_4) m/z (相对密度) 583 (MH^+ , 20), 317 (10), 267 (100).

HRMS ($\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_6$)(MH^+) 计算 583.2793, 实测 583.2765.

步骤 e: (E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺(MDL 103,467)

按实施例 5 方法 A 的一般步骤用乙酸酐处理 52, 然后快速层析(用丙酮-乙酸乙酯(1: 9)洗脱)并在乙酸乙酯-己烷中重结晶, 得到白色细针状的 DML 103,467(产率 38%, mp121 - 129 $^{\circ}\text{C}$).

TLC R_f 0.34 (15:85 丙酮 -EtOAc).

^1H NMR δ 8.01 (br s, 1H, $\text{NHC}=\text{C}$), 7.89-7.84 (m, 2H, 1/2 aryl), 7.51-7.46 (m, 2H, 1/2 aryl), 6.83 (br d, 1H, $J = 8.8$ Hz, NH), 4.87 (dd, 1H, $J = 6.3, 8.7$ Hz, CH), 4.67 (dd, 1H, $J = 2.4, 8.0$ Hz, CH), 3.93-3.52 (m, 8H), 3.40 (br s, 2H), 2.72 (septet, 1H, $J = 6.9$ Hz, $\text{CHC}=\text{C}$), 2.55-2.45 (m, 1H), 2.25 (s, 3H, COCH_3), 2.23-2.02 (m, 3H), 1.99-1.85 (m, 1H), 1.07 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz, CH_3), 1.06 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz, CH_3), 1.05 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz, CH_3), 1.01 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz, CH_3).

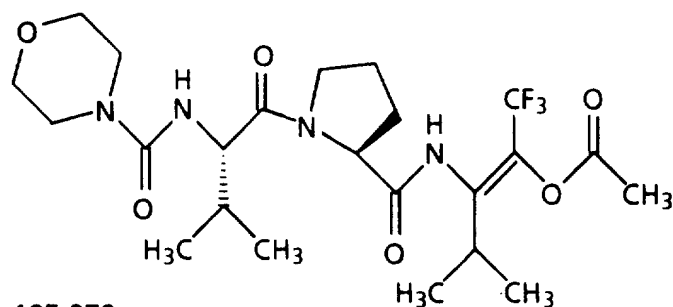
^{19}F NMR δ -67.30 (s, CF_3).

MS (CI, CH_4) m/z (相对密度) 625 (MH^+ , 90), 414(17), 309(100), 86(35), 85(38).

元素分析($\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_7$) C,H,N.

实施例 7

制备(E)-N-(4-吗啉基羰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺



MDL 105,070

步骤 a: N-(4-吗啉基羰基)-L-缬氨酸-N-[3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺(53)

搅拌下向氩气下的化合物 51(430mg, 1.07mmol)的二氯甲烷(35mL)溶液中加入 NMM(0.24mL, 2.14mmol), 然后立即加入 4-吗啉羰基氯(0.50mL, 4.28mmol)。2.5 小时后, 浓缩反应混合物, 得到 53 粗品。快速层析(20:80::丙酮: 乙酸乙酯)纯化得到白色固体 53(240mg, 47%, 两个酮式非对映异构体和两个水合物形式非对映异构体的混合物, 比率分别 $\approx 9: 9: 1: 1$)。

^{19}F NMR δ -76.94 (s, COCF₃), -77.01 (s, COCF₃), -82.51 [s, C(OH)₂CF₃], -83.04 [s, C(OH)₂CF₃].

MS (DCI, CH₄) m/z (相对密度) 479 (MH⁺, 62), 267(43), 213(100), 185(22).

HRMS (C₂₁H₃₃F₃N₄O₅) (M⁺) 实测 478.2403, 计算 478.2401.

步骤 b: (E)-N-(4-吗啉基羰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺(DML 105,070)

按实施例 5 方法 A 的一般步骤用乙酸酐处理 53, 然后快速层析(用丙酮-乙酸乙酯(1: 9)洗脱)纯化, 得到白色固体 DML 105,070(产率 6 %).

TLC R_f 0.33 (15:85 丙酮-EtOAc).

^1H NMR δ 8.12 (br s, 1H, NHC=C), 5.12 (br d, 1H, J = 8.5 Hz, NH), 4.68 (dd, 1H, J = 1.6, 7.7 Hz, CH), 4.52 (dd, 1H, J = 6.5, 8.5 Hz, NH), 3.92-3.79 (m, 1H, 1/2 CH₂N), 3.75-3.59 (m, 5H, 1/2 CH₂N 和 CH₂OCH₂), 3.49-3.31 (m, 4H, CH₂NCH₂), 2.71 (七重峰 1H, J = 6.9 Hz, CHC=C), 2.55-2.43 (m, 1H), 2.25 (s, 3H, COCH₃), 2.16-1.81 (m, 4H), 1.05 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH₃), 1.04 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃), 1.01 (d, 3H, J = 6.8

Hz, CH₃), 0.96 (d, 3H, J = 6.6 Hz, CH₃).

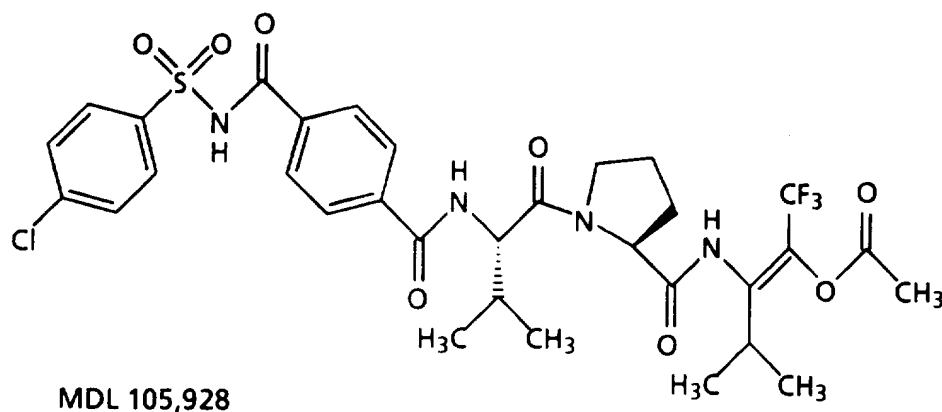
¹⁹FNMR δ -67.33 (s, CF₃).

MS (CI, CH₄) m/z (相对密度) 521 (MH⁺, 59), 501(10), 461(17), 337(10), 309(68), 213(100), 185(22), 114(10), 85(10), 84(15), 70(12).

HRMS (C₂₃H₃₆F₃N₄O₆) (MH⁺) 计算 521.2587, 实测 521.2603.

实施例 8

制备(E)-N-[4-[(4-氯苯基)磺酰氨基羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺



方法 A ; 步骤 a:

N-[4-[(4-氯苯基)磺酰氨基羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺(54)

搅拌下向氩气下的 4-[4-[(4-氯苯基)磺酰氨基羰基]苯甲酸(0.68g, 2.02mmol; 欧洲专利申请 0189305BI)在二氯甲烷(18mL)和DMF(2mL)中的稀悬浮液中, 滴加草酰氯(0.18mL, 2.02mmol)。50 分钟后加入 51(0.81g, 2.02mmol)和 NMM(1.00mL, 9.07mmol)的二氯甲烷(8mL)溶液。搅拌 3 小时后将反应混合物倾入水(75ml)中, 分离各层。水层用乙酸乙酯(2 × 35mL)萃取, 合并有机萃取物, 用 1 当量盐酸水溶液(2 × 30mL)再用盐水(30mL)洗涤。干燥(MgSO₄)并浓缩得到 54 粗品。快速层析[乙酸乙酯对含 1 % 乙酸的己烷的梯度(54-74%)]纯化得到白色泡沫状的 54[0.96g(70%), (1:1::LLL:LLD)]。

$^1\text{H NMR}$ δ 10.40 (br s, 1H, SO_2NH), 8.11-8.03 和 7.79-7.71 和 7.68-7.60 和 7.56-7.49 (4m, 8H, 2 x Ar), 7.28-7.13 (m, 2H, 2 x NH), 4.97-4.84 (m, 2H, 2 x CH), 4.67 (dd, 0.5H, α -CH), 4.59 (dd, 0.5H, α -CH), 3.99-3.86 和 3.77-3.61 (pr m, 2H, CH_2N), 2.47-1.83 (m, 6H), 1.14-0.81 (m, 12H, 4 x CH_3).
 $^{19}\text{F NMR}$ δ -76.89 (s, CF_3 , 非对映异构体 A), -76.97 (s, CF_3 , 非对映异构体 B).

MS (DCI, CH_4) m/z (相对密度) 687 (MH^+ , 38), 267 (100), 249 (45), 247 (58).

HRMS ($\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}_7\text{S}$)(MH^+) 计算 687.1867, 实测 687.1841.

步骤 b:

(E)-N-[4-[(4-氯苯基)磺酰氨基羧基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺(MDL 105,928)

按实施例 5 方法 A 的一般步骤用乙酸酐处理 54, 然后快速层析(用乙酸乙酯中的乙酸梯度(0 - 0.5%)洗脱)纯化, 得到实施例 8 的标题化合物。

方法 B: 按实施例 5 方法 B 的另一一般步骤用乙酸酐处理 54, 然后快速层析(用乙酸乙酯中的乙酸梯度(0 - 0.5%)洗脱)纯化, 得到收率 49% 的实施例 8 的标题化合物。

TLC R_f 0.38 (0.5:99.5 乙酸 -EtOAc)

$^1\text{H NMR}$ δ 10.08 (br s, 1H, NHSO_2), 8.06 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, 芳基), 7.87 (br s, 1H, $\text{NHC}=\text{C}$), 7.77 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, 芳基), 7.65 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, 芳基), 7.51 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, 芳基), 7.05 (br d, 1H, $J = 7.3$ Hz, NH), 4.92 (dd, 1H, $J = 6.7, 7.8$ Hz, CH), 4.65 (dd, 1H, $J = 1.8, 7.3$ Hz, CH), 3.96-3.83 (m, 1H, 1/2 CH_2N), 3.76-3.65 (m, 1H, 1/2 CH_2N), 2.71 (七重峰 1H, $J = 6.8$ Hz, $\text{CHC}=\text{C}$), 2.46-2.34 (m, 1H), 2.25 (s, 3H, COCH_3), 2.25-1.89 (m), 1.07 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz, CH_3), 1.03 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz, CH_3), 1.01 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz, CH_3), 0.99 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz, CH_3).

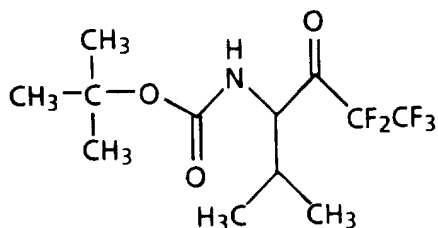
$^{19}\text{F NMR}$ δ -67.00 (s, CF_3).

MS (CI, CH_4) m/z (相对密度) 729 (MH^+ , 100), 709 (10), 669 (13), 518 (25), 309 (100), 212 (10), 70 (28).

元素分析($\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}_8\text{S}\cdot\text{1H}_2\text{O}$)C, H, N.

实施例 9

制备 Boc-Val-CF₂CF₃ 的替代方法



MDL 101,286

将 288.0g(1.11mol)Boc-Val N-甲基-O-甲基异羟肟酸和 4.7L 无水乙醚的混合物加到一 12-L 的三颈瓶中，该烧瓶装有搅拌器、温度计、干冰冷凝器、气体扩散管和连续的氮气吹洗。将形成的溶液冷却至 -60 °C 到 -65 °C。通过气体扩散管在 30 分钟内向 Boc-Val N-甲基-O-甲基异羟肟酸溶液中加入总量为 885.2g(3.60mol)的 C₂F₅I，同时保持温度为约 -65 °C。加完气体后立即在 1 小时内加入总量为 2.39L 的 1.5M CH₃Li · LiBr 乙醚(3.59mol)溶液，同时保持反应温度为 -52 °C 到 -58 °C。加入约 1/3 的 CH₃Li · LiBr 后形成沉淀，但加完后形成完全的溶液。形成的溶液在 -52 °C 到 -58 °C 下搅拌 1 小时。通过气相色谱监测反应(MDL 101,286 的 R_t=1.3 分，Boc-Val N-甲基-O-甲基异羟肟酸的 R_t=5.1 分)，发现含有 7.2% 的 Boc-Val N-甲基-O-甲基异羟肟酸。保持反应温度在 -52 °C 到 -58 °C，15 分钟内加入总量 255 mL(3.47mol)的丙酮，将形成的混合物搅拌 10 分钟。将该混合物倾入含有 4.7L 0.75M KHSO₄ 并已冷却到约 0 °C 的一 22L 烧瓶中淬灭。分出有机层并用 3L 水洗。用 500g MgSO₄ 干燥有机层，过滤除去干燥剂。在 40 °C/100 托下浓缩滤液至半固体，重 409g。将此粗品溶解在 1.2L 45 °C 己烷中，在 30 分钟内慢慢冷却至 -25 °C 到 -30 °C。滤出结晶的固体，-30 °C 下用 250mL 己烷洗涤。真空干燥(25 °C/100 托)MDL 101,286 得 176.7g。将滤液在 35 °C/100 托下浓缩成残余物，重 153.5g。将此品放在 Kugelrohr 蒸馏仪中，收集前边的流份至 40 °C/0.6 托。更换接收瓶，在 40 °C/0.6 托下收集总量为

100.5g 的 MDL 101,286 粗品。将此粗产物溶解在 500mL 50 ℃ 己烷中。将形成的溶液冷却至 -30 ℃。滤出结晶的固体，并用 100mL 冷己烷(-30 ℃)洗涤。在 50 ℃/100 托下真空干燥该产品，又得到 68.0g MDL 101,286，总产率为 244.7g(收率 70%)，GC 测定其纯度为 99.9%。

元素分析 .计算 $C_{12}H_{18}F_5NO_3$ (319.28): C, 45.14, H, 5.68, N, 4.39; 实测: C, 45.30, 45.49, H, 5.50, 5.58, N, 4.26, 4.35.

在另一实施方案中，本发明提供一种治疗患有中性白细胞相关炎性疾病之患者的方法，其中包括给其服用治疗有效量的式 I 化合物。术语“中性白细胞相关炎性疾病”指以中性白细胞迁移到炎症部位及其参与生物基质蛋白降解为特征的病状。用式 I 化合物治疗将特别有用的中性白细胞相关炎性疾病包括：气肿、细胞纤维变性、成人呼吸窘迫综合症、败血症、弥散性血管内凝血、痛风、类风湿性关节炎、支气管炎和肠炎疾病。特别优选用于治疗中性白细胞相关炎性疾病的式 I 化合物包括：

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-(1-氧代丙氧基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-2-(2-甲基-1-氧代丙氧基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺

(Z)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基乙基)-1-丁烯基]-L-脯氨酸酰胺

(E)-N-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺

(E)-N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺

(E)-N-(4-吗啉基羰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺

(E)-N-[4-[(4-氯苯基)磺酰氨基羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺

本文所用术语“患者”指患有具体炎性疾病的温血动物如哺乳动物。应理解：豚鼠、狗、猫、大鼠、小鼠、马、牛、羊和人在这一术语的意义范围内。

术语“治疗有效量”指当以单一剂量或多剂量给患者服用时，对缓解中性白细胞相关炎性疾病症状有效的剂量。本文所用术语“缓解症状”指与无治疗时相比减小疾病的严重性，不一定指完全消除或治愈该疾病。在确定治疗有效量或剂量时，主治医师要考虑许多因素，包括但不限于：哺乳动物种类；其大小、年龄、和体质；所涉及的具体疾病；累计程度或疾病的严重性；个体患者的反应；服用的具体化合物；给药方式；所用制剂的生物利用度特征；选自的给药方案；联合用药；和其他相关状况。

式 I 化合物的治疗有效量可望在约 0.1 毫克每千克体重每天(mg/kg/天)到约 100 mg/kg/天之间变化。优选的量可望为约 0.5 到约 10 mg/kg/天。

本发明化合物是弹性蛋白酶特别是人中性白细胞弹性蛋白酶高效抑制剂的前药，或者其本身为弹性蛋白酶抑制剂。相信本发明化合物通过抑制弹性蛋白酶而起作用，从而缓解弹性蛋白酶介导的疾病，包括但不限于：气肿、细胞纤维变性、成人呼吸窘迫综合症、败血症、弥散性血管内凝血、痛风、类风湿性关节炎、支气管炎和肠炎疾病。但应认识到不限于用任何理论或机制来解释其最终应用的有效性。

在对患有上述疾病的患者进行治疗时，式 I 化合物可用任何能提供有

效量的可生物利用化合物的形式或方式给药，包括口服、气溶胶和胃肠外途径。例如，式 I 化合物可通过口服、气溶胶、皮下、肌肉内、静脉内、经皮、鼻内、直肠内、表皮等途径给药。一般优选口服和气溶胶给药。制剂领域的技术人员根据所选化合物的具体特征、待治疗的病状、疾病的阶段和其他相关因素易于选择适当的给药形式和方式。Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 18 版, Mack 出版公司(1990)。

式 I 化合物 I 可以单独给药或与药学上可接受的载体或赋形剂组成药物组合物，载体或赋形剂的比例和性质由所选化合物的溶解度和化学性质、选择的给药途径和标准的药物实际来决定。本发明化合物本身有效时，可以其药学上可接受的盐如酸加成盐来配制和给药，以便提高稳定性、方便结晶和提高溶解度等。在另一实施方案中，本发明提供含有与一种或多种惰性载体混合或以其他方式结合的式 I 化合物的组合物。这些组合物可用作检测标准、大量运输的工具或作为药物组合物。式 I 化合物的可检测量是用本领域技术人员熟知的标准检测方法和技术易于测定的量。式 I 化合物的可检测量一般为组合物重的约 0.001% 到约 75 %。惰性载体可以是不降解或以其他方式与式 I 化合物共价反应的任何物质。适当的惰性载体的实例是水、缓冲水溶液如一般用于高效液相色谱分析的那些；有机溶剂如乙腈、乙酸乙酯、己烷等；药学上可接受的载体或赋形剂。

用药学领域中熟知的方式制备这些药物组合物。载体或赋形剂可以是可作为活性成分载体或介质的固体、半固体或液态物质。适当载体或赋形剂是本领域中熟知的。可制备药物组合物使其适于口服、胃肠外给药或表皮使用，可以片剂、胶囊、栓剂、溶液、悬浮液等形式给患者服用。本发明化合物例如可与惰性稀释剂或可食载体一起口服给药。可将它们装入胶囊或压成片剂。用于口服治疗给药，本发明化合物可与赋形剂结合，以片剂、锭剂、胶囊、酞剂、悬液、糖浆、糯米纸囊剂、橡皮糖等形式使用。这些制剂应含有至少 4 % 的本发明化合物(活性成分)，但可以根据具体的形式在单位剂量重的 4 % 到 70 % 之间变化。组合物中存在的化合物的量应使得获得适当的剂量。本发明的优选组合物和制剂是含有 5.0-300 毫克本发

明化合物的口服单位剂量形式。

片剂、丸剂、胶囊、锭剂等还可以含有一种或多种下列佐剂：粘合剂如微晶纤维素、黄耆胶或明胶；赋形剂如淀粉或乳糖；崩解剂如藻酸、Primogel、谷物淀粉等；润滑剂如硬脂酸镁或 Sterotex；滑动剂如胶态二氧化硅；和甜味剂如蔗糖或糖精；调味剂如薄荷、水杨酸甲酯或有机香料。当剂量单位形式是胶囊时，除以上类型物质外还含有液态载体如聚乙烯醇或脂肪油。其他剂量单位形式可以含有其他各种改变剂量单位的物理形式的材料，如包衣材料。例如，片剂或丸剂可用蔗糖、紫胶、或其他肠衣试剂来包衣。除本发明化合物外，糖浆可含有蔗糖作为甜味剂，还可以含有防腐剂、染料和着色剂和香料。用于制备这些组合物的材料应该是药学的，或在使用量下无毒。

用于胃肠外治疗给药，可将本发明化合物制成溶液或悬液。这些制剂至少应该含有 0.1% 的本发明化合物，但可以在其重量的 0.1-50% 之间变化。本发明化合物在这种组合物中的量应使得获得适当的剂量。本发明的优选组合物和制剂是含有 5.0-300 毫克本发明化合物的胃肠外单位剂量形式。

本发明的式 I 化合物还可以气溶胶的形式给药。气溶胶这一术语用于指具有胶体性质的各种系统到含有加压包装的系统。化合物的输送由液化或压缩气体进行或通过适当的分送活性成分的泵系来完成。为了输送活性成分，本发明式 1 化合物的气溶胶可以单相、双相或三相形式输送。气溶胶的输送系统包括必要的容器、活化器、阀门、分容器等。本领域技术人员能够确定优选的气溶胶。

本发明式 I 化合物还可以表皮给药，当如此使用时，适当的载体可包括溶液、软膏或凝胶基质。例如该基质可包括一种或多种下列物质：凡士林、亚油精、聚乙二醇、蜂蜡、矿物油、稀释剂如水和醇、乳化剂和稳定剂。表皮制剂可含有约 0.1-10%w/v(每单位体积的重量)浓度的式 1 化合物或其药物盐。

美国专利 3,742,951、3,797,494、3,996,934 和 4,031,894 中公开了一些适当的透皮吸收装置。这些装置一般含有构成一个表面的背衬元件、构成另一表面的活性剂可以透过的粘性层、和含有活性剂并夹在两表面之间的至少一个储囊。或者，活性剂可以被包含在分布在整个粘性层上的多个微胶囊中。无论那一种情况，活性剂都是从储囊或微胶囊通过一个膜持续输送到活性剂可穿透的粘合层，粘合层与患者的皮肤或粘膜接触。如果活性剂通过皮肤被吸收，则可以给患者输以受控的和预定的活性剂物流。使用微胶囊时，包囊剂还可以用作膜。

在经皮投送本发明化合物的另一装置中，药物活性化合物含于基质中，从中以理想的逐步、恒定和受控的速率释放。化合物可以通过扩散或微孔流动穿透基质而释放。释放速率可以控制。这种不需要膜的系统描述在美国专利 3,921,636 中。这些系统中至少有两种可能的释放类型。当基质是非多孔性时发生扩散释放。药物活性化合物溶解在基质中并通过基质本身扩散。当药物有效化合物通过液相在基质的微孔中输送时，则发生微孔流释放。

溶液或悬液还可以含于一种或多种下列佐剂：无菌稀释剂如注射用水、盐水溶液、固化油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶剂；抗菌剂如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯；络合剂如乙二胺四乙酸；缓冲剂如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐；和渗透压调节剂如氯化钠或葡萄糖。胃肠外制剂可以包封在安瓿中、一次性注射器中或由玻璃或塑料制成的多剂量小瓶中。

相信式 1 化合物在体内被酯酶转化为已知有人弹性蛋白酶抑制剂活性的化合物。例如，式 1 化合物被转化为下列文献中公开的化合物：欧洲专利申请 OPI No. 0410411, 1991 年 1 月 30 日公开；欧洲专利申请 OPI No. 0195212, 1986 年 9 月 24 日公开；欧洲专利申请 OPI No. 0529568, 1993 年 3 月 3 日公开；所述文献全文引入这里作为参考。下列实施例说明选择的式 1 化合物对弹性蛋白酶的抑制程度。

实施例 10

在 MDL 103,279 和猪肝酯酶存在下的人中性白细胞弹性蛋白酶的体外试验

用 N-MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-对硝基苯胺酰胺(有商品供应)作为底物对人中性白细胞弹性蛋白酶进行体外测定。试验技术与 Mehdi 等在 *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 166, 595(1990)中描述的方法相似。试验混合物由 0.1M HEPES(pH 7.5), 0.5M NaCl, 10% DMSO 和 0.1% Brij 35 中的部分纯化的弹性蛋白酶和底物(0.2 mM)组成。反应(3.0mL, 塑料比色杯中)保持在 37 °C, 在 66nM 的 MDL 103,279 和 12.5 单位的猪肝酯酶(Sigma Chemical Co., 目录号 E-3128)存在下进行底物水解。酶是从人痰中分离到的, 尽管最近已有商品供应。反应时间持续 60 分钟。弹性蛋白酶的抑制程度随着时间持续增加, 半衰期约为 10 分钟。从最后速率计算出了最后一种抑制剂的 K_i 值为 25nM, 推定为 MDL 101,146(如欧洲专利申请 OPI No. 0529568 中所述, 1993 年 3 月 3 日公开)。这与独立地从 DML 101,146 获得的 K_i 值一致。从起始速率估算前药 MDL 103,279 的 K_i 值大于 2 μ M。为了排除酯酶对弹性蛋白酶试验的干扰或 MDL 103,279 的显著性自发水解(即非酶水解), 如图 1 中所示, 进行了下列对照试验: (A)弹性蛋白酶+弹性蛋白酶底物; (B)弹性蛋白酶+弹性蛋白酶底物+猪肝酯酶; (C)弹性蛋白酶+弹性蛋白酶底物+ MDL 103,279; 及(D)弹性蛋白酶+弹性蛋白酶底物+酯酶+ MDL 103,279。

实施例 11

在 MDL 104,226 和猪肝酯酶存在下的人中性白细胞弹性蛋白酶的体外试验

在 MDL 104,226 存在下体外测定人中性白细胞弹性蛋白酶, 技术和方法如实施例 10 中所述。如图 2 中曲线 4 所示, 用 MDL 104,226 产生了相同的时间曲线, 最终 K_i 值为 25nM。

实施例 12

在 MDL 105,658 和猪肝酯酶存在下的人中性白细胞弹性蛋白酶的体外试验

在 MDL 105,658 存在下体外测定人中性白细胞弹性蛋白酶，技术和方法如实施例 10 中所述。如图 2 中曲线 6 所示，用 MDL 105,658 产生了相同的时间曲线，最终 Ki 值(Ki=25nM)如上述对 MDL 103,279 的 Ki。

实施例 13

在 MDL 105,457 和猪肝酯酶存在下的人中性白细胞弹性蛋白酶的体外试验

在 MDL 105,457 存在下体外测定人中性白细胞弹性蛋白酶，技术和方法如实施例 10 中所述。如图 2 中曲线 3 所示，用 MDL 105,457 产生的弹性蛋白酶抑制程度显著低于在 MDL 103,279 中观察到的抑制程度。

实施例 14

在 MDL 103,467 和猪肝酯酶存在下的人中性白细胞弹性蛋白酶的体外试验

用 133nM 的 MDL 103,467 体外测定人中性白细胞弹性蛋白酶，技术和方法如实施例 10 中所述。水解结束后从最终速率测得 Ki 值为 16nM[比较：本药 N-[4-(4-吗啉基羰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丙基)]-L-脯氨酸酰胺 52 的 Ki 值为 12nM，独立测定]。

实施例 15

在 MDL 105,070 和猪肝酯酶存在下的人中性白细胞弹性蛋白酶的体外试验

用 1.67 μ M 的 MDL 105,070 体外测定人中性白细胞弹性蛋白酶，技术和方法如实施例 10 中所述。水解结束后从最终速率测得 Ki 值为

150nM[比较: 本药 N-(4-吗啉基羰基)-L-缬氨酸-N-[3,3,3-三氟-1-(1-甲基乙基)-2-氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺 53 的 K_i 值为 190nM, 独立测定]。

序列表

(1)一般信息:

(i) 申请人:

(A)名称: MERRELL DOW PHAMACEUTICALS INC.

(B)街道: 2110 E GALBRAITH ROAD

(C)城市: CINCINNATI

(D)州: OHIO

(E)国家: 美国

(F)邮政编码: 45215

(G)电话: 513-948-7960

(H)传真: 513-948-7961

(I)电传: 214320

(ii)发明名称: 作为弹性蛋白酶抑制剂的酰化烯醇衍生物

(iii)序列数: 15

(iv)计算机可读形式:

(A)媒介类型: 软盘

(B)计算机: IBM PC 兼容机

(C)操作系统: PC-DOS/MS-DOS

(D)软件: PatentIn Release #1.0, #1.30 版(EPO)

(2)SEQ ID NO:1 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:1

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:2 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 3 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(ix)特征:

(A)名称/关键词: 修饰位点

(B)位置: 1

(D)其他信息: /note= “叔丁氧羰基保护”

(ix)特征:

(A)名称/关键词: 修饰位点

(B)位置: 3

(D)其他信息: /note= “末端 OH 被修饰的缬氨酸类似物取代”

(xi)序列描述: SEQ ID NO:2

Xaa Ala Xaa

1

(2)SEQ ID NO:3 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:3

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:4 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:4

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:5 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:5

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:6 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:6

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:7 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:7

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:8 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:8

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:9 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:9

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:10 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:10

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:11 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:11

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:12 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型： 肽

(xi)序列描述： SEQ ID NO:12

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:13 的信息：

(i)序列特征：

(A)长度： 4 个氨基酸

(B)类型： 氨基酸

(D)拓扑结构： 线性

(ii)分子类型： 肽

(xi)序列描述： SEQ ID NO:13

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:14 的信息：

(i)序列特征：

(A)长度： 4 个氨基酸

(B)类型： 氨基酸

(D)拓扑结构： 线性

(ii)分子类型： 肽

(xi)序列描述： SEQ ID NO:14

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:15 的信息：

(i)序列特征：

(A)长度： 4 个氨基酸

(B)类型： 氨基酸

(D)拓扑结构: 线性

(ii)分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO:15

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

说明书附图

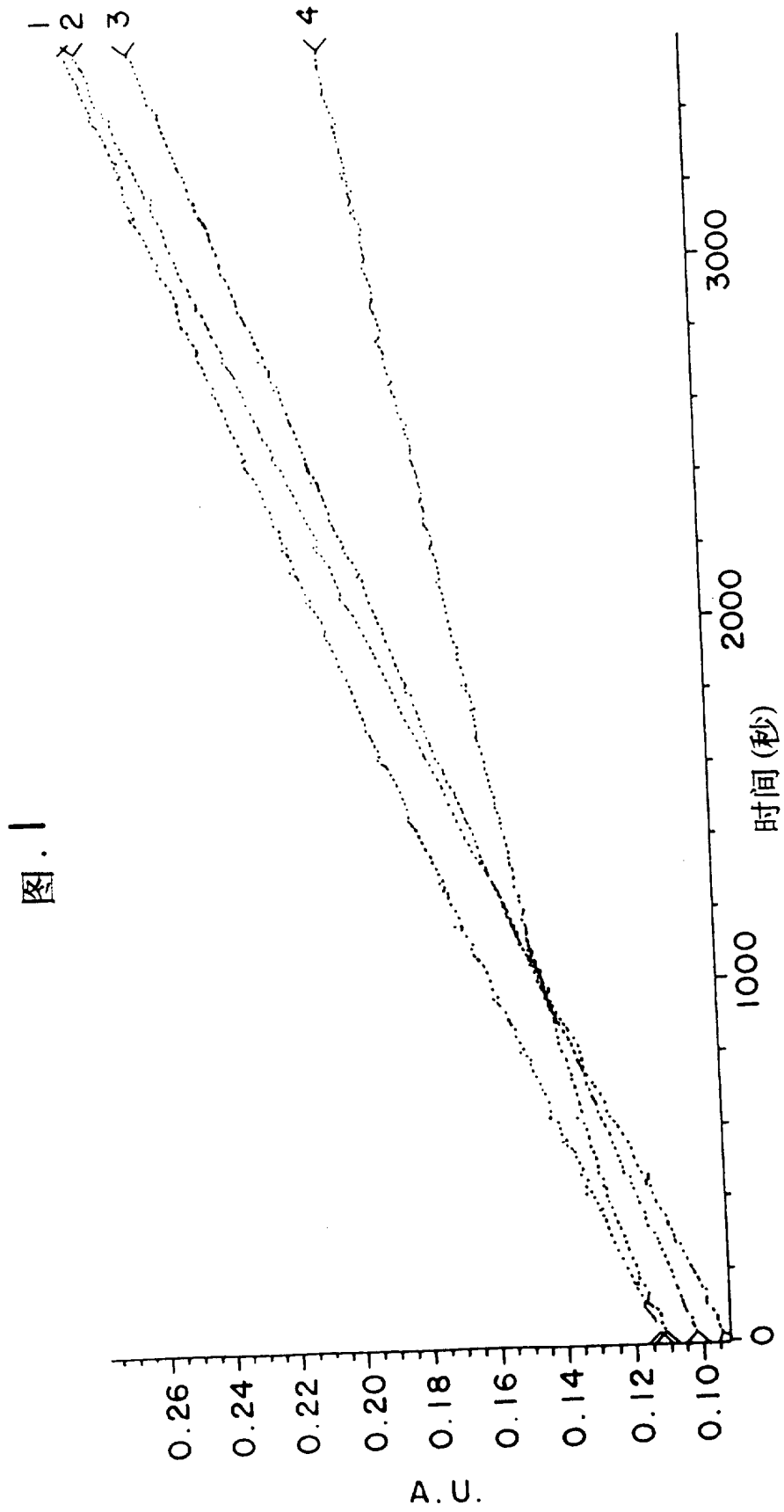


图.2

