

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

C07K 5/10

C07K 5/12 C07K 7/04

C07D495/04 A61K 31/415

A61K 38/04 A61K 49/00



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96112598.5

[45] 授权公告日 2004 年 9 月 29 日

[11] 授权公告号 CN 1168738C

[22] 申请日 1996.9.12 [21] 申请号 96112598.5

[30] 优先权

[32] 1995.9.14 [33] DE [31] 19534016.7

[71] 专利权人 默克专利股份有限公司

地址 德国达姆施塔特

[72] 发明人 A·约茨克 S·高德曼

B·狄芬芭切

审查员 陈中伟

[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

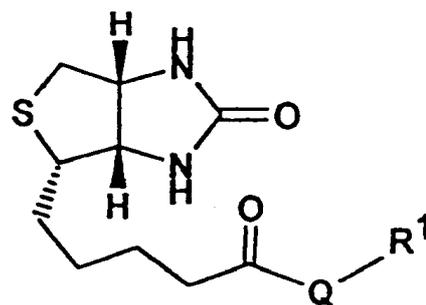
代理人 黄革生

权利要求书 1 页 说明书 37 页

[54] 发明名称 生物素衍生物

[57] 摘要

式 I 的生物素化合物及其盐可用作整合蛋白抑制剂，用于预防或治疗循环系统疾病，如血栓形成、心肌梗塞、冠心病、动脉硬化、血管生成疾病以及用于肿瘤治疗。其中各基团的定义详见说明书。



ISSN 1008-4274

1. 选自下列的化合物及其生理上可接受的盐:

Bit-Gly-Gly-Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro-Lys-OH,  
Bit-Gly-Gly-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH,  
cyclo-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit)),  
cyclo-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(N<sup>ε</sup>-Aha)),  
cyclo-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha)-Gly),  
cyclo-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha)),  
cyclo-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha)),  
cyclo-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(BOC-Aha))

2. 药物制剂, 其特征在于含有至少一种权利要求 1 的化合物和/或一种其生理上可接受的盐。

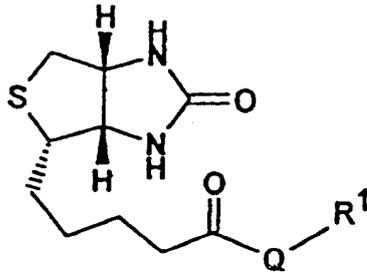
3. 根据权利要求 1 的化合物和/或其生理上可接受的盐用于制备整合蛋白抑制剂的用途。

4. 利用权利要求 1 的化合物通过亲和层析纯化整合蛋白。

5. 权利要求 1 的化合物在 EUSA 型检测和 FACS 分析中用作抗生物素抗体反应的诊断标记物。

## 生物素衍生物

本发明涉及式 I 的生物素化合物及其盐:



其中

Q 不存在, 或为  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-$  或  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-$ ,

$\text{R}^1$  为  $x\text{-Arg-Gly-Asp-Y}$ 、 $\text{A-Cys}(\text{R}^2)-\text{B}-\text{U}$  或环- $(\text{Arg-Gly-Asp-Z})$ , 其中 Z 在侧链与 Q 键连或在 Q 不存在时与生物素键连,

x 和 y 各自独立地为氨基酸残基或二-、三-、四-或五肽残基, 其中氨基酸各自独立地选自 Ala、Asn、Asp、Arg、Cys、Gln、Glu、Gly、4-Hal-Phe、His、homo-Phe、Ile、Leu、Lys、Met、Nle、Phe、Phg、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val, 且上述氨基酸也可被衍生,

A 不存在, 或为 Asp 或为选自下列一组的肽: Ala-Asp,

Thr-Ala-Asp, Lys-Thr-Ala-Asp, Lys-Thr-Ala-Asn,

Lys-Thr-Gly-Asp, Lys-Ala-Ala-Asp,

Arg-Thr-Ala-Asp, Ser-Ala-Asp, Gln-Ser-Ala-Asp,

Glp-Ser-Ala-Asp, Gly-Lys-Thr-Ala-Asp,

Asn-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp, Ile-Ser-Ala-Gly,

Arg-Ser-Ala-Gly, Cys-Asn-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp,

Tyr-Cys-Asn-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp,  
 Asp-Tyr-Cys-Asn-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp,  
 Asp-Asp-Tyr-Cys-Asn-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp,  
 Gly-Lys-Thr-Cys (Trt) -Asp,  
 Met-Asp-Asp-Tyr-Cys-Asn-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp,  
 Asp-Met-Asp-Asp-Tyr-Cys-Asn-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp,

B 不存在, 或为 OH、Ala、Arg、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Orn、Phe、4-Hal-Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr、Val 或这些氨基酸残基的 N-甲基化衍生物, 或为选自下列一组的肽片段: Pro-Arg、Pro-Arg-Asn,

Pro-Arg-Asn-Pro, Pro-Arg-Asn-Pro-His,  
 Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys,  
 Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly,  
 Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro,  
 Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala,  
 Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr,

其中如果  $R^1$  为 A - Cys( $R^2$ )-B-U, 则残基 A 和 B 中只能有一个不存在,

$R^2$  为 H、 $C_1-6$  烷基、Trt、Dpm 或 Bzl,

U 为 OH、 $OR^9$ 、 $NH_2$ 、 $NHR^9$  或  $N(R^9)_2$ ,

Z 各自独立地为氨基酸残基或二-、三-或四肽残基, 其中氨基酸残基也可选自 Ala、Asn、Asp、Arg、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr、Val 或 M, 上述氨基酸也可被衍生, 且氨基酸残基可按肽的方式通过  $\alpha$ -氨基和  $\alpha$ -羧基基团相连, M 始终存在,

M 为  $NH(R^8) - CH(R^3) - COOH$ ,

$R^3$  为  $R^5 - R^4$ 、 $R^6 - R^4$  或  $R^7 - R^4$ ,

$R^4$  为 OH、 $NH_2$ 、SH 或 COOH,

$R^5$  为  $C_1-6$  亚烷基,

$R^6$  为  $C_7-14$  亚烷基苯基,

$R^7$  为  $C_8-14$  亚烷基苯基亚烷基,

$R^8$  为 H、 $C_1-6$  烷基或  $C_7-12$  亚烷基苯基,

$R^9$  为  $C_1-6$  烷基,

Hal 为 F、Cl、Br 或 I, 且

n 为 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 或 10,

如果其中存在光学活性的氨基酸或氨基酸衍生物残基, 则包括 D 和 L 两种构型。

WO 9415956 (生物素化的内皮素受体拮抗剂)、WO9413313 (生物素化的 LHRH 拮抗剂) 或 WO9418325 (生物素化的坏死因子) 等专利文献中记载了类似的生物素化的肽化合物。

T.J.Lobl 等人在 *Anal.Biochem.*170,502(1988)中曾提到, 为了改进纯化的程度而在树脂上进行固相合成过程中将肽生物素化。在 DE 43 10643、DE 4336 758、EP0406428 和 WO 89/05150 等专利文献中公开了类似的环状或线状肽化合物。

本发明的目的是发现具有有价值的性质的新的化合物, 特别是那些能够被用于药剂制备中的化合物。现已发现式 I 化合物和它们的盐具有非常有用的药理特性。它们特别适用于作为整合蛋白抑制剂。它们特别地抑制了  $\alpha_v$ 、 $\beta_3$  或  $\beta_5$  整合蛋白受体与配体间的相互作用, 例如血纤维蛋白原与  $\beta_3$  整合蛋白受体的结合。这些化合物对整合蛋白  $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_1$ 、 $\alpha_v\beta_6$  和  $\alpha_{IIIb}\beta_3$  尤其有效, 这种作用可被, 例如 J.W.Smith 等人在 *J.Biol.Chem.*265,12267-12271(1990)中所述的方法证实。

P.C.Brooks、R.A.Clark 和 D.A.Chersesh 等人在 *Science* 264,569-71(1994)中报道了血管发生对血管整合蛋白与脑外基质蛋白相互作用的依赖性。

P.C.Brooks、A.M.Montgomery, M.Rosenfeld、R.A.Reisfeld, T-Hu、G.Klier 和 D.A.Chersesh 等人在 *Cell* 79,1157-64(1994)中报道了通过环肽抑制该相互作用, 从而引发生成血管的血管细胞的程序设计死亡的可能性。

式 I 化合物抑制整合蛋白受体与配体间的相互作用, 例如血纤维蛋白原与血纤维蛋白原受体 (糖蛋白 IIb/IIIa) 的相互作用, 从而作为 GP

IIb/IIIa 拮抗剂阻止了肿瘤细胞通过转移而扩散。这一点可通过以下观察结果得以证实：

肿瘤细胞由局部肿瘤向血管系统扩散是通过肿瘤细胞与血小板相互作用，形成小颗粒（小血栓）而发生的。肿瘤细胞通过小颗粒的保护而被屏蔽，并且不被免疫系统的细胞识别。

小颗粒可被吸附于血管壁，从而有助于肿瘤细胞进一步向该组织渗透。由于小颗粒的形成受血纤维蛋白原与被激活的血小板上的血纤维蛋白原受体的结合的介导，因此 GPIIa/IIIb 拮抗剂被认为是肿瘤转移的有效抑制剂。

这些化合物能用作人和兽类药物中药剂的活性物质，尤其适于预防和治疗血栓形成、心肌梗塞、动脉硬化、动脉粥样硬化、炎症、中风、心绞痛、肿瘤、溶骨病特别是骨质疏松、病源性血管生成疾病如炎症、眼科疾病如视网膜病、黄斑变性、近视、眼组织胞浆菌病、类风湿性关节炎、骨关节炎、青光眼、溃疡性结肠炎、节段性回肠炎、动脉粥样硬化、牛皮癣、血管成形术后再狭窄、病毒感染、细菌感染、真菌感染、急性肾衰竭。此外，它们在伤口愈合过程中起辅助作用。

在插入生物材料、植入物、导管或心脏起搏器的手术操作过程中，式 I 化合物可用作杀菌活性物质。在此情况下，它们起抗菌剂作用。可利用 P.Valentin-Weigund 等人在 *Infection and Immunity*, 2851 - 2855 (1988) 中所述的方法来证实抗菌活性的效力。

由于式 I 化合物是血纤维蛋白原与血小板上血纤维蛋白原受体的配体结合的抑制剂，因此可将它们作为体内诊断工具，用于血管系统中血栓的检测和定位，因为生物素残基是一个可被紫外线检测出的基团。

作为血纤维蛋白原结合抑制剂的式 I 化合物也可被用作有效手段，用于研究各个激活阶段血小板的机制或细胞内血纤维蛋白原受体的信号机制。“生物素标记物”的可检测单位使得研究与受体结合后的所述机制成为可能。

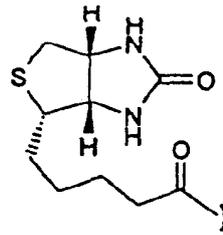
上文和下文中给定的氨基酸残基的缩写表示下列的氨基酸残基：

Abu	4 - 氨基丁酸
Aha	6 - 氨基己酸

---

Ala	丙氨酸
Asn	天冬酰胺
Asp	天冬氨酸
Arg	精氨酸
Cys	半胱氨酸
Dab	2, 4 - 二氨基丁酸
Dap	2, 3 - 二氨基丙酸
Glp	焦谷氨酸
Glu	谷氨酸
Gly	甘氨酸
His	组氨酸
homo-phe	高苯丙氨酸
Ile	异亮氨酸
Leu	亮氨酸
Lys	赖氨酸
Met	蛋氨酸
Nle	正亮氨酸
Orn	鸟氨酸
Phe	苯丙氨酸
Phg	苯甘氨酸
4 - Hal-Phe	4 - 卤代 - 苯丙氨酸
Pro	脯氨酸
Ser	丝氨酸
Thr	苏氨酸
Trp	色氨酸
Tyr	酪氨酸
Val	缬氨酸

Bit



此外，下文所用的缩写具有下面的定义：

BOC	叔丁氧基羰基
CBZ	苄氧基羰基
DCCI	二环己基碳化二亚胺
DMF	二甲基甲酰胺
Et	乙基
Fmoc	9-芴基甲氧基羰基
HOBt	1-羟基苯并三唑
Me	甲基
MBHA	4-甲基二苯甲基胺
Mtr	4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯基磺酰基
OBut	叔丁酯
OMe	甲酯
OEt	乙酯
POA	苯氧基乙酰基
TFA	三氟乙酸
Trt	三苯甲基。

上述氨基酸可能存在有两种或多种对映体形式，则在上文和下文中，例如作为式 I 化合物的组成部分包括所有对映体形式以及它们的混合物（例如 DL 形式）。作为式 I 化合物组成部分的氨基酸可进一步被适当的保护基保护。

本发明的化合物也包括所谓的前药衍生物，即已被例如烷基、酰基、糖或多肽修饰且能在体内迅速裂解成本发明活性化合物的式 I 化合物。

本发明还涉及制备式 I 化合物及其盐的方法，其特征在于：

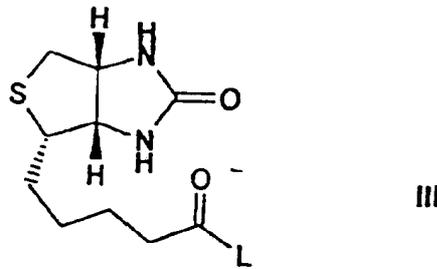
(a) 将式 II 化合物与式 III 化合物进行酰化反应



式 II 中

Q 不存在, 或为  $-\text{NH} - (\text{CH}_2)_n - \text{CO} -$  或  $-\text{NH} - (\text{CH}_2)_n - \text{NH}$

$\text{R}^1$  为  $x\text{-Arg-Gly-Asp-Y}$ 、 $\text{A-Cys}(\text{R}^2) - \text{B} - \text{U}$  或环 - ( $\text{Arg-Gly-Asp-Z}$ ) , 其中 Z 在侧链与 Q 键连或在 Q 不存在时与生物素键连,



式 III 中

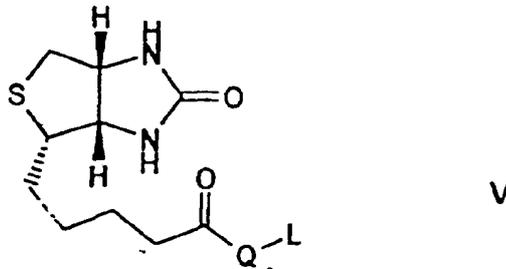
L 为 Cl、Br、I、游离的或活性功能性修饰的 OH 基团, 或

(b) 将式 IV 化合物与式 V 化合物进行酰化反应:

$\text{H} - \text{R}^1$  (IV)

式 IV 中

$\text{R}^1$  为  $x\text{-Arg-Gly-Asp-Y}$ 、 $\text{A-Cys}(\text{R}^2) - \text{B} - \text{U}$  或环 - ( $\text{Arg-Gly-Asp-Z}$ ) , 其中 Z 在侧链与 Q 键连或在 Q 不存在时与生物素键连,



式 V 中

Q 为不存在, 或为  $-\text{NH} - (\text{CH}_2)_n - \text{CO} -$  或  $-\text{NH} - (\text{CH}_2)_n - \text{NH} -$ ,

L 为 H、Cl、Br、I、游离的或活性功能性修饰的 OH 基团, 或

(c) 通过溶剂分解剂或氢解剂将它们从其功能性衍生物中释放出来,

和/或通过用酸或碱处理将碱性或酸性的式 I 化合物转化为其一种盐.

在上下文中，除非另有解释，残基 Q、R<sup>1</sup> 和 L 的含义与式 I、II 和 III 中所述相同。

在上述各式中，烷基优选为甲基、乙基、异丙基或叔丁基。

亚烷基优选为亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基或亚己基。亚烷基苯基优选为苄基或苯乙基。亚烷基苯基亚烷基优选为 4 - 亚甲基苄基或 4 - 亚乙基苄基。

残基 - R<sup>6</sup> - R<sup>4</sup> 优选为 2 -、3 - 或 4 - 羟基苄基、2 -、3 - 或 4 - 氨基苄基、2 -、3 - 或 4 - 巯基苄基、2 -、3 - 或 4 - 羟基苯基，还优选 2 -、3 - 或 4 - 羟基苯乙基、2 -、3 - 或 4 - 氨基苯乙基、2 -、3 - 或 4 - 巯基苯乙基或 2 -、3 - 或 4 - 羧基苯乙基。

Q 优选为 6 - 氨基己酸或不存在。

M 优选为 Dap、Ser、Cys、Asp、D-Asp、Dab、高丝氨酸、高半胱氨酸、Glu、D - Glu、Thr、Orn、Lys、D-Lys、4 - 氨基甲基 - Phe 或 4 - 氨基甲基 - D - Phe。

x 优选为 Ala、Asn、Asp、Arg、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val，也优选为

Lys-Gly, Lys-Ala, Lys-β-Ala, Tyr-Gly, Tyr-Ala, Tyr-β-Ala, Phe-Gly, Phe-Ala, Phe-β-Ala, Tyr-Gly-Gly, Phe-Gly-Gly, Lys-Gly-Gly, Tyr-Gly-Ala, Phe-Gly-Ala, Lys-Gly-Ala, Arg-Gly-Asp, Lys-Gly-Gly-Gly, Tyr-Gly-Gly-Gly, Phe-Gly-Gly-Gly, Lys-Gly-Gly-Ala, Tyr-Gly-Gly-Ala, Phe-Gly-Gly-Ala, Lys-Gly-Gly-β-Ala, Tyr-Gly-Gly-β-Ala, Phe-Gly-Gly-β-Ala, 也优选为 Lys-Gly-Gly-Gly-Gly, Tyr-Gly-Gly-Gly-Gly, Phe-Gly-Gly-Gly-Gly, Lys-Gly-Gly-Ala-Gly, Tyr-Gly-Gly-Ala-Gly, Phe-Gly-Gly-Ala-Gly, Lys-Gly-Gly-β-Ala-Gly, Tyr-Gly-Gly-β-Ala-Gly or Phe-Gly-Gly-β-Ala-Gly.

Y 优选为 Ala, Asn, Asp, Arg, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr or Val, 也优选为 Tyr-Ala, Tyr-Asn, Tyr-Asp, Tyr-Arg, Tyr-Cys, Tyr-Gln, Tyr-Glu, Tyr-Gly, Tyr-His, Tyr-Ile, Tyr-Leu, Tyr-Lys, Tyr-Met, Tyr-Phe, Tyr-Pro, Tyr-Ser,

Tyr-Thr, Tyr-Trp, Tyr-Tyr, Tyr-Val, Phe-Ala, Phe-Asn, Phe-Asp, Phe-Arg,  
 Phe-Cys, Phe-Gln, Phe-Glu, Phe-Gly, Phe-His, Phe-Ile, Phe-Leu,  
 Phe-Lys, Phe-Met, Phe-Phe, Phe-Pro, Phe-Ser, Phe-Thr, Phe-Trp,  
 Phe-Tyr, Phe-Val, Trp-Ala, Trp-Asn, Trp-Asp, Trp-Arg, Trp-Cys, Trp-Gln,  
 Trp-Glu, Trp-Gly, Trp-His, Trp-Ile, Trp-Leu, Trp-Lys, Trp-Met, Trp-Phe,  
 Trp-Pro, Trp-Ser, Trp-Thr, Trp-Trp, Trp-Tyr, Trp-Val, Asp-Ala, Asp-Asn,  
 Asp-Asp, Asp-Arg, Asp-Cys, Asp-Gln, Asp-Glu, Asp-Gly, Asp-His, Asp-Ile,  
 Asp-Leu, Asp-Lys, Asp-Met, Asp-Phe, Asp-Pro, Asp-Ser, Asp-Thr,  
 Asp-Trp, Asp-Tyr, Asp-Val, Ser-Pro-Lys, Tyr-Pro-Lys, Phe-Pro-Lys,  
 Trp-Pro-Lys, Asp-Pro-Lys, Ser-Gly-Lys, Tyr-Gly-Lys, Phe-Gly-Lys,  
 Trp-Gly-Lys, Asp-Gly-Lys, Ser-Ala-Lys, Tyr-Ala-Lys, Phe-Ala-Lys,  
 Trp-Ala-Lys, Asp-Ala-Lys, Ser-Pro-Ala, Ser-Leu-Lys, Tyr-Leu-Lys,  
 Phe-Leu-Lys, Trp-Leu-Lys, Asp-Leu-Lys, Ser-Ile-Lys, Tyr-Ile-Lys,  
 Phe-Ile-Lys, Trp-Ile-Lys, Asp-Ile-Lys, Ser-Pro-Ala-Ser, Tyr-Pro-Ala-Ser,  
 Phe-Pro-Ala-Ser, Trp-Pro-Ala-Ser, Asp-Pro-Ala-Ser, Ser-Gly-Ala-Ser,  
 Tyr-Gly-Ala-Ser, Phe-Gly-Ala-Ser, Trp-Gly-Ala-Ser, Asp-Gly-Ala-Ser,  
 Ser-Ala-Ala-Ser, Tyr-Ala-Ala-Ser, Phe-Ala-Ala-Ser, Trp-Ala-Ala-Ser,  
 Asp-Ala-Ala-Ser, Ser-Val-Ala-Ser, Tyr-Val-Ala-Ser, Phe-Val-Ala-Ser,  
 Trp-Val-Ala-Ser, Asp-Val-Ala-Ser, Ser-Leu-Ala-Ser, Tyr-Leu-Ala-Ser,  
 Phe-Leu-Ala-Ser, Trp-Leu-Ala-Ser, Asp-Leu-Ala-Ser, Ser-Ile-Ala-Ser,  
 Tyr-Ile-Ala-Ser, Phe-Ile-Ala-Ser, Trp-Ile-Ala-Ser, Asp-Ile-Ala-Ser,  
 也优选为 Ser-Pro-Ala-Ser-Ser, Tyr-Pro-Ala-Ser-Ser, Phe-Pro-Ala-Ser-Ser,  
 Trp-Pro-Ala-Ser-Ser, Asp-Pro-Ala-Ser-Ser, Ser-Gly-Ala-Ser-Ser,  
 Tyr-Gly-Ala-Ser-Ser, Phe-Gly-Ala-Ser-Ser, Trp-Gly-Ala-Ser-Ser,  
 Asp-Gly-Ala-Ser-Ser, Ser-Ala-Ala-Ser-Ser, Tyr-Ala-Ala-Ser-Ser,  
 Phe-Ala-Ala-Ser-Ser, Trp-Ala-Ala-Ser-Ser, Asp-Ala-Ala-Ser-Ser,  
 Ser-Val-Ala-Ser-Ser, Tyr-Val-Ala-Ser-Ser, Phe-Val-Ala-Ser-Ser,  
 Trp-Val-Ala-Ser-Ser, Asp-Val-Ala-Ser-Ser, Ser-Leu-Ala-Ser-Ser,  
 Tyr-Leu-Ala-Ser-Ser, Phe-Leu-Ala-Ser-Ser, Trp-Leu-Ala-Ser-Ser,  
 Asp-Leu-Ala-Ser-Ser, Ser-Ile-Ala-Ser-Ser, Tyr-Ile-Ala-Ser-Ser,  
 Phe-Ile-Ala-Ser-Ser, Trp-Ile-Ala-Ser-Ser or Asp-Ile-Ala-Ser-Ser.

x、y 和 z 定义中的氨基酸和氨基酸残基也可被衍生，优选为 N - 甲基、N - 乙基、N - 丙基、N - 苄基或 C $\alpha$  - 甲基衍生物。

还优选 Asp 和 Glu 的衍生物，尤其是侧链羧基的甲基、乙基、丙基、丁基、叔丁基、新戊基或苄基酯，及在 -NH - C(=NH) - NH<sub>2</sub> 基团上被乙酰基、苯甲酰基、甲氧羰基或乙氧羰基取代的 Arg 的衍生物。

而且，x 和 y 定义中所提到的氨基酸或氨基酸残基上可加上本身已知的合适保护基。

Z 优选为 M，更优选为：

D-Phe-M, D-Trp-M, D-Tyr-M, D-Phe-Lys, D-Phe-D-Lys,  
 D-Trp-Lys, D-Trp-D-Lys, D-Tyr-Lys, D-Tyr-D-Lys,  
 D-Phe-Orn, D-Phe-Dab, D-Phe-Dap, D-Phe-D-Orn,  
 D-Phe-D-Dab, D-Phe-D-Dap, D-Phe-4-氨基甲基 -Phe,  
 D-Phe-4-氨基甲基 -D-Phe, D-Trp-4-氨基甲基 -Phe,  
 D-Trp-4-氨基甲基 -D-Phe, D-Tyr-4-氨基甲基 -Phe,  
 D-Tyr-4-氨基甲基 -D-Phe, D-Phe-Asp, D-Phe-D-Asp,  
 D-Trp-Asp, D-Trp-D-Asp, D-Tyr-Asp, D-Tyr-D-Asp,  
 D-Phe-Cys, D-Phe-D-Cys, D-Trp-Cys, D-Trp-D-Cys,  
 D-Tyr-Cys, D-Tyr-D-Cys, Phe-D-Lys, Trp-D-Lys,  
 Tyr-D-Lys, Phe-Orn, Phe-Dab, Phe-Dap, Trp-Orn, Trp-Dab,  
 Trp-Dap, Tyr-Orn, Tyr-Dab, Tyr-Dap, Phe-4-氨基甲基 -  
 D-Phe, Trp-4-氨基甲基 -D-Phe, Tyr-4-氨基甲基 -  
 D-Phe, Phe-D-Asp, Trp-D-Asp, Tyr-D-Asp, Phe-D-Cys,  
 Trp-D-Cys, Tyr-D-Cys, D-Phe-Lys-Gly, D-Phe-M-Gly,  
 D-Trp-Lys-Gly, D-Trp-M-Gly, D-Tyr-Lys-Gly, D-Tyr-M-Gly,  
 D-Phe-Val-Lys, D-Phe-Gly-Lys, D-Phe-Ala-Lys, D-Phe-Ile-  
 Lys, D-Phe-Leu-Lys, D-Trp-Val-Lys, D-Trp-Gly-Lys,  
 D-Trp-Ala-Lys, D-Trp-Ile-Lys, D-Trp-Leu-Lys, D-Tyr-Val-  
 Lys, D-Tyr-Gly-Lys, D-Tyr-Ala-Lys, D-Tyr-Ile-Lys,  
 D-Tyr-Leu-Lys, 也优选为 M-Pro-Ala-Ser-Ser.

式 I 化合物可能含有一个或多个手性中心，因此存在着各种立体异构体形式。式 I 化合物包括所有这些形式。

相应地，本发明尤其其中至少一个所述残基具有如上所述优选含义的式 I 化合物。部分优选的化合物组可由下式 Ia 至 If 表示，它们对应于

式 I, 其中未定义的基团取式 I 中所述的定义,

- Ia      Q      Q 不存在, 且  
          R<sup>1</sup>      为 X-Arg-Gly-Asp-Y;
- Ib      Q      为 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CO- 且  
          R<sup>1</sup>      为 X-Arg-Gly-Asp-Y;
- Ic      Q      为 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CO- 且  
          R<sup>1</sup>      为 cyclo-(Arg-Gly-Asp-Z);
- Id      Q      为 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CO- 且  
          R<sup>1</sup>      为 cyclo-(Arg-Gly-Asp-M);
- Ie      Q      为 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CO- 且  
          R<sup>1</sup>      为 A-Cys(R<sup>2</sup>)-B;
- If      Q      为 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CO-,  
          R<sup>1</sup>      为 X-Arg-Gly-Asp-Y 且  
          n      为 1, 2, 3, 4, 5 or 6.

式 I 的化合物, 以及制备它们的反应物, 是用已知的方法制备的, 如在文献中所述 (例如在标准著作如 Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie [有机化学方法] (Methods of Organic Chemistry), (Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart), 尤其是在已知的并适用于所提到的反应的条件下进行。也可利用在本文中未详细提到的已知的改进方法。

如果需要, 起始物料也可就地形成, 因此不必从反应混合物中将它们分离出来而是直接进一步反应产生式 I 的化合物。

优选通过将式 II 化合物与式 III 化合物反应来获得式 I 化合物。

一般来说, 式 II 和式 III 化合物是已知的。如果它们不是已知的, 则可按已知方法制得。

式 III 化合物中的残基 - CO - L 为预活化的羧酸, 优选为碳酰卤、对称或混合酐或活性酸。在典型的酰化反应中用于活化羧基的这类残基

在文献中已有记载（如在 Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart）。活性酯优选就地形式，例如通过加入 HOBt 或 N-羟基琥珀酰亚胺。L 优选为 H、Cl、Br 或 -ON-琥珀酰亚胺。

一般来说，在酸结合剂存在于惰性溶剂中进行反应，酸结合剂优选为有机碱，如三乙胺、二甲基苯胺、吡啶或喹啉或过量的式 III 的羧基组分。

较为有利的是加入碱金属或碱土金属氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐，或碱金属或碱土金属的弱酸的盐，优选钾、钠、钙或铯的盐。

反应时间取决于所用的条件，一般在几分钟到 14 天。反应温度为约  $-30^{\circ}$  至  $140^{\circ}$ ，通常为  $-10^{\circ}$  至  $90^{\circ}$ ，尤其是约  $0^{\circ}$  至  $70^{\circ}$ 。

适宜的惰性溶剂的例子有烃，如己烷、石油醚、苯、甲苯或二甲苯；氯代烃，如三氯乙烷、1, 2-二氯乙烷、四氯甲烷、氯仿或二氯甲烷；醇，如甲醇、乙醇、异丙醇、正丙醇、正丁醇或叔丁醇；醚，如乙醚、二异丙基醚、四氢呋喃（THF）或二噁烷；二元醇醚，如乙二醇单甲醚或单乙醚、乙二醇二甲醚；酮，如丙酮或丁酮；酰胺，如乙酰胺、二甲基乙酰胺或二甲基甲酰胺（DMF）；腈，如乙腈；亚砷，如二甲基亚砷（DMSO）；二硫化碳；羧酸，如甲酸或乙酸；硝基化合物，如硝基甲烷或硝基苯；酯，如乙酸乙酯；水；或上述溶剂的混合物。

还可通过将式 IV 化合物与式 V 化合物反应制备式 I 化合物。式 IV 和 V 起始化合物一般是已知的。如果它们不是已知的，则可通过已知方法制得。

式 V 化合物中的残基 -CO-L 为预活化的羧酸，优选为碳酰卤、对称或混合酐或活性酯。在典型的酰化反应中用于活化羧基的这类残基在文献中已有记载（如在 Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart）。L 优选为 Cl、Br 或 -ON-琥珀酰亚胺。

可在与式 II 化合物和式 III 化合物反应相同的反应时间、温度、溶剂等条件下进行式 IV 与式 V 化合物的反应。

其中  $R^1$  为 x-Arg-Gly-Asp-Y 或 A - Cys(- $R^2$ ) - B 的式 I 线性开链

化合物还可通过如下方法制得：在固相合成的最后一步，将生物素作为最后的组分按在与正常的 N - 末端保护的氨基酸同样的循环中偶联，并在正常条件下从树脂上裂解生物素 - 肽。

可按 A.Jonczykt 和 J.Meienhofer 在 Peptides, Proc. 8th A.mPept. Symp. Eds. V.Hruby and D.H.Rich, Pierce Comp. III, P73-77(1983) 中所述的方法或按与在 Angew. Chem. 104, 375-391(1992) 中所述类似的技术进行固相合成、裂解和纯化。

而可按合成氨基酸和肽的常规方法，例如在所提到的典型著作和专利中涉及 Merrifield 的固相合成法 ( B.F Gysin and R.B.Merrifield, J.Am.Chem.Soc. 94, 3102 ff.(1972) ) 中所述的方法制备式 I 与式 IV 的开链线性化合物。

可按在例如 DE 4310 643 或 Houben -Weyl, l.c., Volume 15/II, Pages/to 806(1974) 中所述的方法环化线性方法制备出其中 R<sup>1</sup> 为环 - ( Arg-Gly-Asp-Z ) 的环状式 II 和 IV 化合物。

通过溶剂分解尤其是水解或通过氢解可将式 I 化合物从其功能性衍生物中释放出来。

用于溶剂分解或氢解的优选起始物是这样一些化合物，它们在其它方面对应于式 I，但以相应的保护氨基和/或羟基替代了一个或多个游离氨基和/或羟基，优选以氨基保护基替代了与氮原子键和的 H，例如对应于式 I 但以 NHR' 基团替代了 NH<sub>2</sub> 基团 ( 其中 R' 为氨基保护基，如 BOC 或 CBZ ) 的化合物。

也优选的起始物是以羟基保护基替代了羟基中的 H 原子的化合物，例如对应于式 I，但以 R''O - 苯基 ( 其中 R'' 为羟基保护基 ) 替代了羟苯基的化合物。

在起始物分子中也可能存在多个相同或不同的保护氨基和/或羟基。如果这些存在的保护基彼此不同，则在许多情况下可将它们选择性地裂解掉。

术语“氨基保护基”是普遍熟知的，指适于保护 ( 封阻 ) 氨基免于化学反应但在分子中其它处所需的化学反应进行后又易于除去的基团。典型的这类基团包括未取代或取代酰基、芳基、芳烷氧基甲基或芳烷基。

由于氨基保护基在所需反应（或反应序列）后被除去，因此其性质和大小并不重要。但是仍优选具有1 - 20个，尤其是1 - 8个碳原子的保护基。与本方法相关联的“酰基”取其最宽含义。它包括得自脂族、芳脂族、芳族或杂环族羧酸或磺酸的酰基，尤其是烷氧羰基、芳氧羰基以及芳烷氧羰基。这类酰基的例子包括烷酰基，如乙酰、丙酰或丁酰；芳烷酰基，如苯乙酰；芳酰基，如苯甲酰或甲苯酰；芳氧基烷酰基，如苯氧乙酰；烷氧羰基，如甲氧羰基、乙氧羰基、2, 2, 2 - 三氯乙氧羰基、叔丁氧羰基（BOC）或2 - 碘代乙氧羰基；或芳烷氧羰基，如苄氧羰基（CBZ）、4 - 甲氧基苄氧羰基、9 - 芴基甲基羰基（FMOC）芳基磺酰基，如Mtr。优选的氨基保护基是BOC和Mtr，以及CBZ，Fmoc、苄基和乙酰基。

术语“羟基保护基”也是普遍熟知的，它是指适于保护羟基免于化学反应但在分子中其它处发生的所需化学反应完成后又能易于除去的基团。典型的这类基团是上面所提到的未取代或取代芳基、芳烷基或酰基以及烷基。由于羟基保护基在所需的化学反应或反应序列发生后被除去，因此其性质和大小并不重要；优选具有1 - 20个，尤其是1 - 10个碳原子的基团。羟基保护基的例子包括苄基、对 - 硝基苯甲酰基、对 - 甲苯磺酰基、叔丁基和乙酰基，尤其优选的是苄基和叔丁基。天冬氨酸和谷氨酸中的COOH基团优选以其叔丁基酯（如Asp(OBut)）加以保护。

根据所使用保护基的不同，可用不同的方式使式I化合物从其功能性衍生物中释放出来，例如用强酸，尤其是三氯乙酸或高氯酸处理，但也可使用其它的强无机酸，如盐酸或硫酸；强有机羧酸，如三氯乙酸；或磺酸，如苯磺酸或对 - 甲苯磺酸。另一种惰性溶剂的存在是可能的，但并不总是必需的。

适宜的情性溶剂优选为有机溶剂，如乙酸等羧酸，四氢呋喃（THF）或二噁烷等醚，二甲基甲酰胺（DMF）等酰胺，二氯甲烷等卤代烃，以及甲醇、乙醇或异丙醇等醇，和水。上述溶剂的混合物也是可能的。三氯乙酸优选是在不加入其它溶剂的情况下过量使用，高氯酸是以乙酸和70%的高氯酸的9:1混合物的形式使用。用于去保护反应

的温度在约 0 - 50° 较为有利, 优选在 15 - 30° (室温)。

BOC、OBut 和 Mtr 基团优选在 15 - 30° 用三氟乙酸的二氯甲烷溶液或约 3 - 5N HCl 的二噁烷溶液除去。FMOC 基团可在 15 - 30° 用 5 - 50% 的二甲胺、二乙胺或吡啶的 DMF 溶液除去。

可用三苯甲基保护组氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺和半胱氨酸等氨基酸。根据所需终产物的不同该保护基的除去可由不同试剂完成, 当用 TFA/10% 苯硫酚处理时可从所有上述氨基酸上除去三苯甲基, 当使用 TFA/苯甲醚或 TFA/苯硫基甲烷时, 三苯甲基只能从 His、Asn 和 Gln 上除去, 而不能从 Cys 上除去。

能够被氢解除去的保护基(例如, CBZ 或苄基)能够用, 例如, 氢在催化剂(例如, 贵金属催化剂如钯, 较有利地是载于活性炭上)存在下进行处理来除去。在这方面, 适当的溶剂是那些上面所给定的, 特别是醇如甲醇或乙醇, 或酰胺如 DMF。氢解通常是在大约 0 - 100 °C 的温度下和大约 1 - 200 巴的压力下, 优选在 20 - 30 °C 和 1 - 10 巴下实施, 例如, CBZ 基的氢解较有利地是于 20 - 30 °C 用 5 - 10% Pd - C 在甲醇中或用甲酸铵(代替 H<sub>2</sub>)于 Pd - C 上在甲醇/DMF 中完成。

用酸可将式 I 的碱转化成相应的酸加成盐, 例如可将等量的碱和酸在惰性溶剂如乙醇中反应, 然后蒸发。特别适用该反应的酸是那些能产生生理上可接受的盐的酸。例如, 可被使用的无机酸的实例是硫酸、硝酸, 氢卤酸和盐酸或氢溴酸, 磷酸如正磷酸, 氨基磺酸, 和有机酸, 特别是脂族、脂环, 芳脂族, 芳香族或杂环的单一或多元羧酸、磺酸或硫酸, 例如, 甲酸、乙酸、丙酸, 新戊酸, 二乙基乙酸、丙二酸, 琥珀酸、庚二酸、富巴酸、马来酸、乳酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、葡萄糖酸、抗坏血酸、烟酸、异烟酸、甲磺酸或乙磺酸、乙二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、萘一磺酸和萘二磺酸和月桂基硫酸。与生理上不能接受的酸形成的盐, 例如苦味酸盐, 能被用来分离和/或纯化式 I 化合物。

另外, 通过与碱反应式 I 的酸能被转化成一种它的生理上可接受的金属盐或铵盐。特别适当的盐是钠、钾、镁、钙和铵盐, 还有取代的铵盐, 例如二甲基铵盐, 二乙基铵盐或二异丙基铵盐, 单乙醇铵盐、二乙

醇铵盐或二异丙基铵盐，环己基胺盐和二环己基铵盐、二苄基亚乙基二铵盐，还有例如，与精氨酸或赖氨酸形成的盐。

式 I 的化合物及其生理上可接受的盐可用于制备药物制剂，尤其是通过非化学途径。它们可与至少一种固体、液体和/或半液体载体或助剂一起制成合适的剂量形式，如果需要还可加入一种或多种其它活性化合物。

本发明还涉及组合物，尤其是药物制剂，它包含至少一种式 I 化合物和/或一种其生理上可接受的盐。

这些制剂可作为人用药或兽药使用。可能的载体是适用于肠道（如口腔）、非肠道或局部给药或以吸入喷雾方式给药且不与该新物质反应的无机或有机物质，如水、植物油、苄基醇、聚乙二醇、三乙酸甘油酯、明胶，碳水化合物（如乳糖或淀粉）、硬脂酸镁、滑石和矿脂。片剂、丸剂、包衣片剂、胶囊、粉剂、颗粒剂、糖浆、溶液或滴剂可用于口服，栓剂可用于直肠给药，溶液，尤其是油或水溶液及悬浮液、乳液或植入物可用于非肠道给药，软膏、乳油、或粉剂可用于局部给药。本发明新化合物也可被冻干，所产生的冻干物可用于制备注射制品。

脂质体也可用于局部给药。所述制剂可被灭菌和/或含有助剂，如润滑剂、防腐剂、稳定剂和/或湿润剂、乳化剂、影响渗透压的盐、缓冲物质、着色剂、调味剂和/或芳香物质。根据需要，它们也可含有一种或多种其它活性物质，如一种或多种维生素。对于吸入剂喷雾的服用方式来说，可以使用含有溶解于或悬浮于推进气或推进气混合物（例如，CO<sub>2</sub>或氟氯烃）的活性物质的喷雾剂。在这种情况下活性物质优选以微粉化的形式被使用，可以存在有一种或多种外加的生理上可接受的溶剂，例如，乙醇。可利用通常的吸入器施用吸入剂溶液。

式 I 化合物及其生理上可接受的盐可作为整合蛋白抑制剂用于控制疾病，尤其是病源性血管生成疾病、血栓形成、心肌梗塞、冠心病、动脉硬化、肿瘤、骨质疏松病、炎症和感染。

根据本发明的物料通常按与其它已知的商业上可得到的多肽相类似的方法服用，特别是用于与在 US - A - 4472 305 中所述的化合物相似的方法服用，优选的剂量是大约每剂量单位，0.05 - 500mg，特别是

0.05 - 100mg。每天剂量优选大约 0.01 - 2mg/kg 体重。但是，每个特定病人的特定剂量取决于许多因素，例如，所用的特定化合物的效力，年龄、体重、健康的一般状态、性别、饮食、给药的时间和途径、排泄速度、药物的结合和各自病情的严重性。非肠道服用是优选的。

式 I 新化合物还可用于分析生物学和分子生物学。它利用的是生物素残基与糖蛋白抗生物素蛋白形成复合物的能力。E.A.Bager 和 M.Wilchek 在 *Methods of Biochemical Analysis* 26, 1 - 45 (1980) (文献 1) 中记载了生物素抗生物素蛋白复合物的应用。

式 I 新化合物还可作为整合蛋白配位体用于生产亲和层析柱，该柱用于制备纯整合蛋白。按照已知方法如参考文献 1 中所述的方法可形成由抗生物素蛋白产生的载体与式 I 新化合物的复合物。因此，在这方面未提供该方法的详细情况，可参考相应的文献，如参考文献 1。

适宜的聚合物载体材料是在肽化学中本身是已知的并优选地具有亲水性的固态聚合物相，实例为交联的多糖如纤维素、Sephacrose 或 Sephadex<sup>®</sup>、丙烯酰胺、以聚乙二醇为基体的聚合物或 Tentacutar<sup>R</sup> 聚合物。

式 I 新化合物也可作为抗生物素抗体反应的诊断标记物用于 ELISA 型检测或用于 FACS (荧光活化细胞分类器) 分析。M.Berger, *Biochemistry* 14, 2338-2342 (1975) 记载了用抗生物素抗体检测生物素。U.Holmkov-Nielsen 等人在 *Journal of Chromatography*, 297, 225-233 (1984) 中记载了利用被生物素衍生的免疫球蛋白 IgG 进行酶联免疫检测 (ELISA)。

J.Gao 和 S.J.Shattil 在 *J.Immunol.Methods* 181, 55-64 (1995) 中记载了一种 ELISA 试验，它能够检测抑制整合蛋白  $\alpha$  IIb  $\beta$  III 活化的物质。其中使用了生物素化的血纤维蛋白原进行检测。

G.Schmitz 和 G.Rothe 在 *DG Klinische Chemie Mitteilungen* 24 (1993) No.1, Page 1-44 中记载了流动血细胞计数在临床细胞诊断中的应用。

式 I 化合物还可用于力场显微镜 (原子力显微镜 AFM)，以测定配体 - 受体反应物的强度。配体优选总指抗生物素蛋白和式 I 新化合物的

复合物。受体优选总指整合蛋白受体。E.L.Florin 等人在 *Science* 264,415-417(1994)中记载了抗生物素功能化的力场显微镜和生物素化的琼脂之间的粘合力。

上下文中所用温度均为℃，在后面的实例中“常规操作”是指：如果必需加入水，如果必需根据终产物的组成将 pH 调节至 2 - 10，用乙酸乙酯或二氯甲烷萃取，相分离，有机相用硫酸钠干燥并蒸发，以及通过硅胶层析和/或结晶化进行纯化。R<sub>f</sub> 值是在硅胶上；流动相：乙酸乙酯/甲醇 9：1。

R<sub>T</sub> 为在下列系统中的保留时间（分钟）。

[ A ]

柱：Nucleosil 7C18 250 × 4mm

洗脱剂 A：0.1 % TFA 水溶液

洗脱剂 B：0.1 % TFA 乙腈溶液

流速：1ml/min

梯度：20 - 50 % B/30min

[ B ]

利用 0.3%TFA 以 1ml/min 的流速在 Lichrosorb<sup>R</sup> RP Select B(7 μ m)250 × 4mm 柱上在 50 分钟内形成 0 - 80 % 2 - 丙醇水溶液梯度。

[ C ]

柱：Lcchrospher(5 μ m)100RP8 125 × 4mm

洗脱剂 A：0.01M 磷酸钠 ( pH7.0 )

洗脱剂 B：0.005M 磷酸钠 ( pH7.0 ) /60 % ( 体积 ) 2 - 丙醇

流速：0.7ml/min

梯度：1 - 99 % B /50min

质谱 ( MS )：EI ( 电子碰撞电离 )

M<sup>+</sup>

FAB ( 快原子轰击 )

( M + H )<sup>+</sup>

DMPP - 树脂代表 4 - ( 2',4'-二甲氧基苯基羟甲基 ) 苯氧基树脂，

它是一种可以合成侧链受保护的肽的超级酸不稳定树脂。

### 实施例 1

将 0.6g Fmoc-Lys(Boc)-OH 溶于 100ml 二氯甲烷, 加入 1.2 当量 DMPP - 树脂、1.4 当量 HOBt 和 1.4 当量 DCCI, 并将混合物于室温下搅拌 12 小时。除去溶剂, 产生 Fmoc-Lys(BOC)-DMPP-树脂。在一肽合成仪中, 使用三倍过量的被保护脯氨酸将 Fmoc-Pro-OH 与 H - Lys(BOC)-DMPP-树脂 [利用吡啶/DMF (20%) 从 Fmoc-Lys(BOC)-DMPP-树脂上释放] 缩合。于室温下利用 DCCI/OHBt 进行偶联, 得到 Fmoc-Pro-Lys(BOC)-DMPP-树脂。类似地, 随后除去 Fmoc 保护基, 并在重复的反应条件下按如下步骤连续地与 Fmoc-ser(But)-OH、Fmoc-Asp(OBut)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Arg(Mtr)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Gly-OH 和 Bit-OH 偶联:

- 用吡啶/DMF (20%) 释放出  $\alpha$  - 氨基。
- 用二甲基乙酰胺洗涤
- 与 Fmoc-氨基酸或 Bit-OH 反应

从而得到 Bit-Gly-Gly-Gly-Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-Ser(But)-Pro-Lys(BOC)-DMPP-树脂。

用  $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$  洗涤该树脂, 产生 Bit-Gly-Gly-Gly-Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-Ser(But)-Pro-Lys(BOC)-OH。

用 2N HCl 的二噁烷溶液除去保护基, 若除去溶剂, 将残余物溶于 TFA/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  并用  $\text{Et}_2\text{O}$  沉淀, 通过 RP - HPLC 进行纯化。得到

Bit-Gly-Gly-Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro-Lys-OH x 2 TFA;  
RT [B] = 12.14                      FAB 1056.

### 实施例 2

与实施例 1 类似, 将 DMPP - 树脂连续与 Fmoc-Rro-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Asp(OBut)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Thr(But)-OH、Fmoc-Lys(BOC)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Gly-OH 和 Bit-OH 偶联, 得到:

Bit-Gly-Gly-Gly-Lys(BOC)-Thr(But)-Ala-Asp(OBut)-Cys(Trt)-Pro-DMPP-树脂。

与树脂裂解，除去保护基并纯化，得到：

Bit-Gly-Gly-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH x2 TFA;  
RT [B] 27.6; FAB 1273.

类似地，通过将 DMPP - 树脂与下列成分依次缩合，可分别得到相应产物：

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH,  
Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和  
Bit-OH 反应，得到：

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH,  
Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应，  
得到：Bit-Lys-Ala-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH,  
Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH 和  
Bit-OH 反应，得到：

Bit-Arg-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH,  
Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But)-OH 和 Bit-OH 反应，得到：

Bit-Ser-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Gln-Ser-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But)-OH, Fmoc-Glp-OH 和 Bit-OH 反应, 得到: Bit-Glp-Ser-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But)-OH, Fmoc-Ile-OH 和 Bit-OH 反应, 得到: Bit-Ile-Ser-Ala-Gly-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Arg-Ser-Ala-Gly-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到: Bit-Lys-Gly-Gly-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到: Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-OH;

与 Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH 和 Bit-OH 反应,

a)当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-OH;

b)当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-OH;

与 Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-Gly-OH 和 Bit-OH 反应,

a)当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Gly-Lys-Thr-Cys-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-OH;

b)当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Gly-Lys-Thr-Cys(Trt)-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-OH;

与 Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应,

a)当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-OH;

b)当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-OH;

与 Fmoc-Thr (But) -OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys (BOC) -OH, Fmoc-His (Trt) -OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn (Trt) -OH, Fmoc-Arg (Mtr) -OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp (OBut) -OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr (But) -OH, Fmoc-Lys (BOC) -OH 和 Bit-OH 反应,

a) 当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-OH;

b) 当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-OH;

与 Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys (BOC) -OH, Fmoc-His (Trt) -OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn (Trt) -OH, Fmoc-Arg (Mtr) -OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp (OBut) -OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr (But) -OH, Fmoc-Lys (BOC) -OH, Fmoc-Gly-OH 和 Bit-OH 反应,

a) 当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-OH;

b) 当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-OH;

与 Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH,  
 Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH,  
 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH,  
 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH,  
 Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Thr-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-  
 Pro-Ala-Thr-OH;

与 Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH,  
 Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH,  
 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH,  
 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH,  
 Fmoc-Ala-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-  
 Ala-Thr-OH;

与 Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH,  
 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH,  
 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH,  
 Fmoc-Ala-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-OH;

与 Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-OH;

与 Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-His-OH;

与 Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-OH;

与 Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-OH;

与 Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH,  
Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:  
Bit-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-OH;

与 Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH,  
Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, 和  
Bit-OH 反应, 得到:  
Bit-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-OH;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH,  
Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和  
Bit-OH 反应, 得到:  
Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-OH;

与 Fmoc-NMeAla-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH,  
Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH,  
Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:  
Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-NMeAla-OH;

**实施例 3**

向 3.05g 环 - ( Arg - Gly - Asp - D - Phe - Lys ) [ 通过环化 H - Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-D-Phe-Lys(BOC)-OH 为环 - (Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-D-Phe-Lys(BOC)); 然后裂解掉保护基而获得 ] 的 100ml 二氯甲烷溶液中, 加入 1.7g 廉价的 ( + ) - 生物素基 - N - 琥珀酰亚胺基脂和 0.5g 三乙胺。于室温搅拌该混合物 5 小时, 再经常规操作即得到环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(N<sup>ε</sup> - Bit) ) × TFA; RT [ B ] 11.32; FAB830。

**实施例 4**

与实施例 3 类似, 由 3.05g 环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys ), 2.3g 可廉价购得的 ( + ) - 生物素基 - 6 - 氨基己酸 N - 琥珀酰亚胺基酯 ( “ A ” ) 和 0.5g 三乙胺制得环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(N<sup>ε</sup> - Bit-Aha) ) × TFA; RT [ C ] 23.67; FAB943

类似地, 由 “ A ” 和下列环状化合物反应:

环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Trp-Lys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Lys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-D-Lys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Cys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Dab )

环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Trp-D-Cys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Tyr-D-Cys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-Phe-D-Lys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-Trp-D-Lys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-Tyr-D-Lys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-Phe-D-Cys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-Phe-Dab )

环 - ( Arg-Gly-Asp-Trp-D-Cys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-Tyr-D-Cys )

环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Trp-Om )

环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Om)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Om)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-D-Om)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-D-Om)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-D-Om)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-Dab)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Dab)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-Dap)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Dap)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Dap)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-D-Dap)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-D-Dap)  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-D-Dap)

可得到下列化合物

环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-D-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Cys(S-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Dab(N<sup>γ</sup>-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-D-Cys(S-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-D-Cys(S-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-Phe-D-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-Trp-D-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-Tyr-D-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha))  
环-(Arg-Gly-Asp-Phe-D-Cys(S-Bit-Aha))

环-(Arg-Gly-Asp-Phe-Dab(N<sup>7</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-Trp-D-Cys(S-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-Tyr-D-Cys(S-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-Om(N<sup>5</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Om(N<sup>5</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Om(N<sup>5</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-D-Om(N<sup>5</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-D-Om(N<sup>5</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-D-Om(N<sup>5</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-Dab(N<sup>7</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Dab(N<sup>7</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-Dap(N<sup>6</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Dap(N<sup>6</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Dap(N<sup>6</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Trp-D-Dap(N<sup>6</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-D-Dap(N<sup>6</sup>-Bit-Aha))  
 环-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-D-Dap(N<sup>6</sup>-Bit-Aha))

#### 实施例 5

向 3.05g 环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys ) 的 40ml 5 % NaHCO<sub>3</sub> 水溶液和 40ml THF 的溶液中加入 6g Boc-Aha N-琥珀酰亚胺基酯。搅拌 4 小时, 并经常规操作, 得到环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(Boc-Aha) ) RT [ C ] 27.7; FAB 817。在 HCl/二噁烷中裂解掉 BOC 基团, 并经常规操作, 得到环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(N<sup>ε</sup> - Aha) ) × 2TFA; RT [ C ] 14.76; FAB 717。与实施例 1 类似, 随后与 (+) - 生物素基 - N - 琥珀酰亚胺基酯反应, 得到环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(N<sup>ε</sup> - Bit-Aha) ) × 2TFA; RT [ C ] 23.67; FAB 943。

#### 实施例 6

与实施例 4 类似, 由环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys-Gly ) [ 通过环化 H - Arg ( Mtr ) - Gly-Asp(OBut)-D-Phe-Lys(BOC)-Gly-OH 为环 - ( Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-D-Phe-Lys(BOC)-Gly ) , 然后裂解掉保护基而获得 ] 和 (+) - 生物素基 - 6 - 氨基己酸 N - 琥珀酰亚胺基酯反应, 可得到:

环 - ( Agr-Gly-Asp-D - Phe-Lys(N<sup>ε</sup> - Bit-Aha)-Gly ) × TFA;

RT [ A ] 10.97; FAB1000.

类似地, 由环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Lys ) [ 通过环化 H - Arg ( Mtr ) - Gly - Asp(OBut)-D-Phe-Val-Lys(BOC)-OH 为环 - ( Arg(mtr)-Gly-Asp(OBut)-D-Phe-Val-Lys(BOC) ) 并随后裂解掉保护基获得 ] 和 ( + ) - 生物素基 - 6 - 氨基己酸 N - 琥珀酰亚胺基酯得到环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha) ) × TFA; RT [ A ] 16.11; FAB1042.

类似地, 由环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-N-Me-Lys ) 和 ( + ) - 生物素基 - 6 - 氨基己酸 N - 琥珀酰亚胺基酯得到环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-N-Me-Lys(N<sup>ε</sup>-Bit-Aha) ) .

#### 实施例 7

与实施例 1 类似, 通过向 MBHA - 树脂上加入 1.4 当量 HOBt 和 1.4 当量 DCCI 及 Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Asp(OBut)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Thr(But)-OH、Fmoc-Lys(BOC)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Gly-OH 进行连续偶联, 得到:

Bit-Gly-Gly-Gly-Lys(BOC)-Thr(But)-Ala-Asp(OBut)-Cys(Trt)-Pro-MBHA-resin.

用 TFA 使其从树脂上裂解, 用吡啶/DMF 除去保护基并纯化, 得到:

Bit-Gly-Gly-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-NH<sub>2</sub>

类似地, 通过将 MBHA - 树脂与下列反应物缩合, 可得到相应产物:

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到: Bit-Lys-Ala-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Arg-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp(OBut) -OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But) -OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Ser-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp(OBut) -OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But) -OH, Fmoc-Gln(Trt) -OH, 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Gln-Ser-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp(OBut) -OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But) -OH, Fmoc-Glp-OH, 和 Bit-OH 反应, 得到: Bit-Glp-Ser-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But) -OH, Fmoc-Ile-OH 和 Bit-OH 反应, 得到: Bit-Ile-Ser-Ala-Gly-Cys (Trt) -Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(But) -OH, Fmoc-Arg(Mtr) -OH 与 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Arg-Ser-Ala-Gly-Cys (Trt) -Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp(OBut) -OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC) -OH, 和 Bit-OH 反应, 得到: Bit-Lys-Gly-Gly-Asp-Cys (Trt) -Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp(OBut) -OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But) -OH, Fmoc-Lys(BOC) -OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Thr(But) -OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC) -OH, Fmoc-His(Trt) -OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt) -OH, Fmoc-Arg(Mtr) -OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp(OBut) -OH, Fmoc-Ala-OH 和 Bit-OH 反应,

a) 当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-NH<sub>2</sub>;

b) 当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-Gly-OH 和 Bit-OH 反应,

a) 当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Gly-Lys-Thr-Cys-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-NH<sub>2</sub>;

b) 当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Gly-Lys-Thr-Cys(Trt)-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应,

a) 当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-NH<sub>2</sub>;

b)当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-Arg-Asn-Pro-His-  
Lys-Gly-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Thr (But) -OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH,  
Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys (BOC) -OH, Fmoc-His (Trt) -OH,  
Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn (Trt) -OH, Fmoc-Arg (Mtr) -OH,  
Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp (OBut) -OH,  
Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr (But) -OH, Fmoc-Lys (BOC) -OH 和  
Bit-OH 反应,

a)当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-  
Gly-Pro-Ala-NH<sub>2</sub>;

b)当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-Arg-Asn-Pro-His-  
Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys (BOC) -OH, Fmoc-His (Trt) -OH,  
Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn (Trt) -OH, Fmoc-Arg (Mtr) -OH,  
Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys (Trt) -OH, Fmoc-Asp (OBut) -OH,  
Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr (But) -OH, Fmoc-Lys (BOC) -OH,  
Fmoc-Gly-OH 和 Bit-OH 反应,

a)当用 TFA 和 10 % 苯硫酚裂解保护基时, 得到:

Bit-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-  
Lys-Gly-NH<sub>2</sub>;

b)当用 TFA 和 10 % 苯硫基甲烷裂解保护基时, 得到:

Bit-Gly-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-Arg-Asn-Pro-  
His-Lys-Gly-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Thr-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-Pro-Ala-Thr-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Ala-Asp-Cys-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-Gly-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-Arg-Asn-Pro-His-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys (Trt) -Pro-Arg-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-Asn-Pro-His-Lys-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-Arg-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-Pro-NH<sub>2</sub>;

与 Fmoc-NMeAla-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OBut)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Thr(But)-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH 和 Bit-OH 反应, 得到:

Bit-Lys-Thr-Ala-Asp-Cys(Trt)-NMeAla-NH<sub>2</sub>;

### 实施例 8

适用于纯化整合蛋白的亲合层析材料的生产

按文献 1 第 14 页中所述活化 Sepharose。然后向 10g 活化 Sepharose 中加入 20mg 抗生物素蛋白的 20ml 0.1M 碳酸氢钠溶液。于 4 °C 搅拌该悬浮液 12 小时，然后洗涤。将该物质悬浮于少许叠氮化钠晶体的水中。

将 1.1 当量肽溶于乙酸钠缓冲液，将该溶液加至抗生物素蛋白 - Sepharose 悬液并于 4 °C 搅拌 10 小时，形成抗生物素蛋白与本发明生物素化的化合物如环 - ( Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(N<sup>ε</sup> - Bit) ) × TFA 的复合物。过量的肽通过洗涤除去。

以下实施例涉及药物制剂。

#### 实施例 A：注射小瓶

将 100g 式 I 的活性化合物和 5g 磷酸氢二钠在 3 升双蒸水中的溶液，用 2N 盐酸调节至 pH6.5，无菌过滤，分装到注射小瓶中并冻干，将小瓶无菌密封。每个注射小瓶含有 5mg 活性化合物。

#### 实施例 B：栓剂

将 20g 式 I 的活性化合物与 100g 大豆卵磷脂和 1400g 可可脂的混合物熔融，并将该混合物倒入模子中，使其冷却。每粒栓剂含有 20mg 活性化合物。

#### 实施例 C：溶液

用在 940ml 双蒸水中的 1g 式 I 活性化合物、9.38g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> × 2H<sub>2</sub>O、28.48g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> × 12H<sub>2</sub>O 和 0.1g 氯苄烷胺制备溶液。调节该溶液的 pH 至 6.8，配制为 1 升，并通过辐射灭菌。该溶液可以以滴眼剂的形式使用。

#### 实施例 D：油膏

将 500mg 式 I 的活性化合物与 99.5g 凡士林在无菌条件下混合。

#### 实施例 E：片剂

采用常规方法，将 1kg 式 I 的活性化合物、4kg 乳糖、1.2kg 土豆淀粉、0.2kg 滑石和 0.1kg 硬脂酸镁的混合物压成片，如此得

到的片剂每片含有 10mg 活性化合物。

**实施例 F：包衣片剂**

按照与实施例 E 类似的方法压片，然后采用常规方法，用蔗糖、土豆淀粉、滑石、黄耆胶和着色剂包衣层进行包衣。

**实施例 G：胶囊**

采用常规方法，将 2kg 式 I 的活性化合物装入硬明胶胶囊中，如此得到的胶囊每粒含有 20mg 活性化合物。

**实施例 H：安瓿**

将 1kg 式 I 的活性化合物在 60 升双蒸水中的溶液过滤除菌，分装到安瓿中，冻干，将安瓿无菌密封。每只安瓿含有 10mg 活性化合物。

**实施例 I：吸入喷雾剂**

将 14g 式 I 活性化合物溶于 10 升等渗 NaCl 溶液，并用该溶液装填带有唧筒装置的市售喷雾容器。该溶液可被喷雾至口腔或鼻。一次喷雾（约 0.1ml）对应的剂量约为 0.14mg。