



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 91102295.3

[51] Int.Cl⁵
C07D487 / 04

[43] 公开日 1992 年 1 月 8 日

[22] 申请日 91.4.11

[30] 优先权

[32] 90.4.12 [33] US [31] 508873

[71] 申请人 健康研究公司

地址 美国纽约

共同申请人 默里尔多药物公司密执安大学董
事会

[72] 发明人 菲利浦·贝 詹姆斯·K·考华德
约翰·J·莫古里

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
代理部

代理人 黄革生

C07D471 / 04 A61K 31 / 505
/ / (C07D487 / 04, 239 : 00,
241 : 00)

说明书页数: 20 附图页数:

[54] 发明名称 用于治疗肿瘤的二氟谷氨酸与叶酸类
化合物和抗叶酸剂的结合物

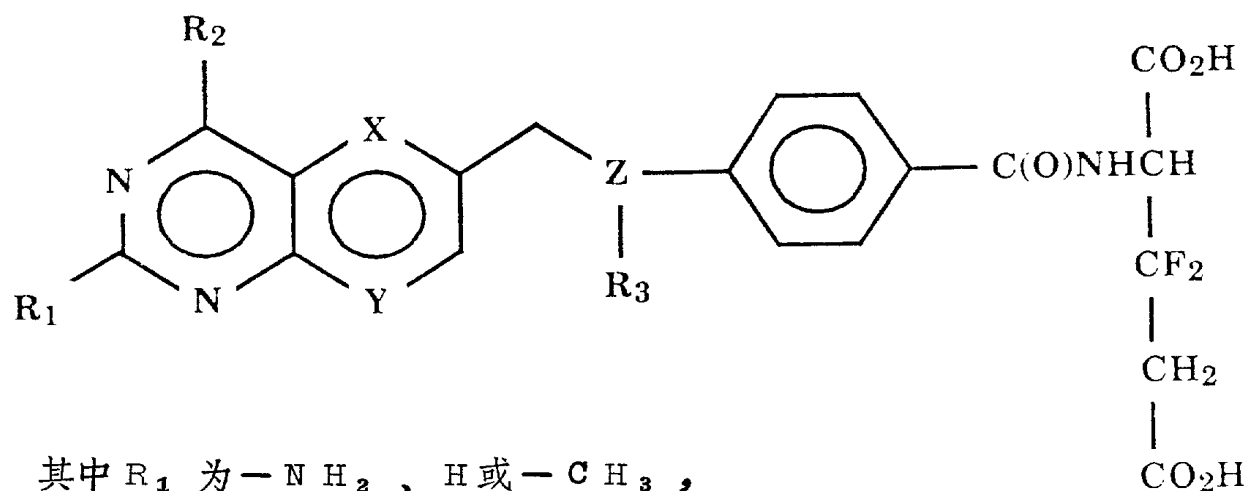
[57] 摘要

本发明涉及某些叶酸类化合物和抗叶酸剂与二
氟谷氨酸的结合物, 该结合物可用于治疗患有某些肿
瘤(包括白血病、黑素瘤、癌、肉癌和混合肿瘤)的患
者。

>20<

权 利 要 求 书

1. 下式化合物或其药学上适用的盐,



其中 R_1 为 $-NH_2$ 、 H 或 $-CH_3$,

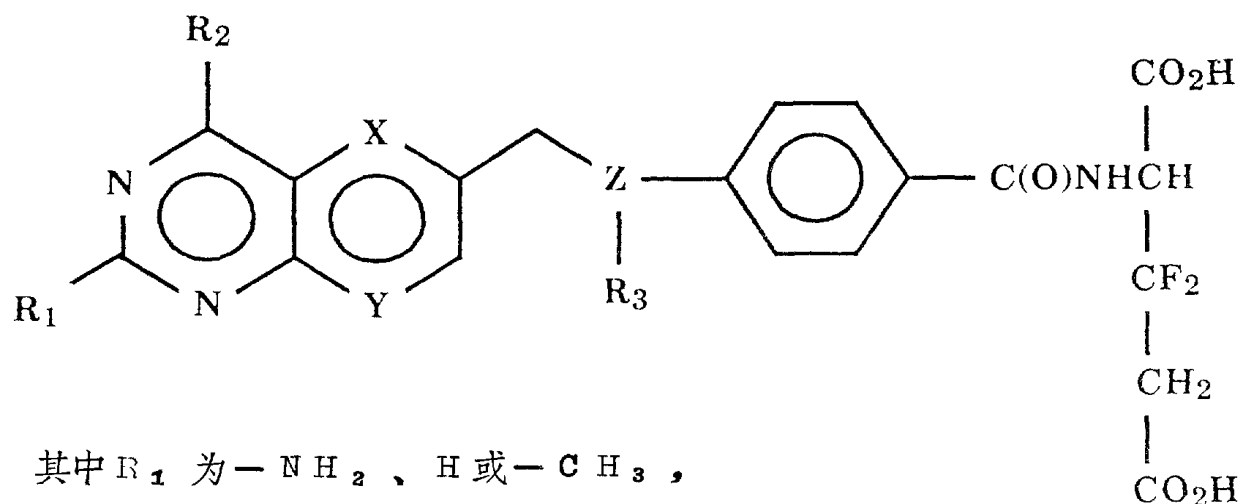
R_2 为 $-NH_2$ 或 $-OH$,

R_3 为 H 、 $(C_1 \sim C_4)$ 烷基、烯丙基或炔丙基, X 、 Y 和 Z 各自独立地为氮原子或 CH 基团。

2. 权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_1 和 R_2 各自为 $-NH_2$ 基团, R_3 为甲基, 并且 X 、 Y 和 Z 各自为氮原子。

3. 权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_1 为 $-NH_2$ 基团, R_2 为 $-OH$ 基团, R_3 为 H , X 和 Z 各自为 CH 基团, 并且 Y 为氮原子。

4. 治疗需要治疗之肿瘤性疾病患者的方法, 该方法包括给患者服用有效量的下式化合物或其药学上适用的盐,



其中 R_1 为 $-NH_2$ 、 H 或 $-CH_3$ ，

R_2 为 $-NH_2$ 或 $-OH$ ，

R_3 为 H 、 $(C_1 \sim C_4)$ 烷基、烯丙基或炔丙基，且

X 、 Y 和 Z 各自独立地为氮原子或 CH 基团。

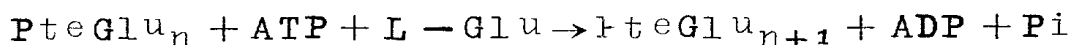
5. 权利要求 4 所述的方法，其中所述化合物的 R_1 和 R_2 各自为 $-NH_2$ 基团， R_3 为甲基， X 、 Y 和 Z 各自为氮原子。

6. 权利要求 4 所述的方法，其中所述化合物的 R_1 为 $-NH_2$ 基团， R_2 为 $-OH$ 基团， R_3 为 H ， X 和 Z 各自为 CH 基团，并且 Y 为氮原子。

用于治疗肿瘤的二氟谷氨酸与叶
酸类化合物和抗叶酸剂的结合物

本发明涉及二氟谷氨酸与叶酸类化合物和抗叶酸剂的新的结合物，这些结合物在治疗肿瘤方面的应用，以及用于上述结合物制备过程的中间体。

通过叶酰聚谷氨酸合成酶 (*folylpolyglutamate synthetase*) 的作用，叶酸类药物和经典的抗叶酸剂 (如 MTX^1) 在细胞内转变成聚 (γ -谷氨酰) 代谢物，

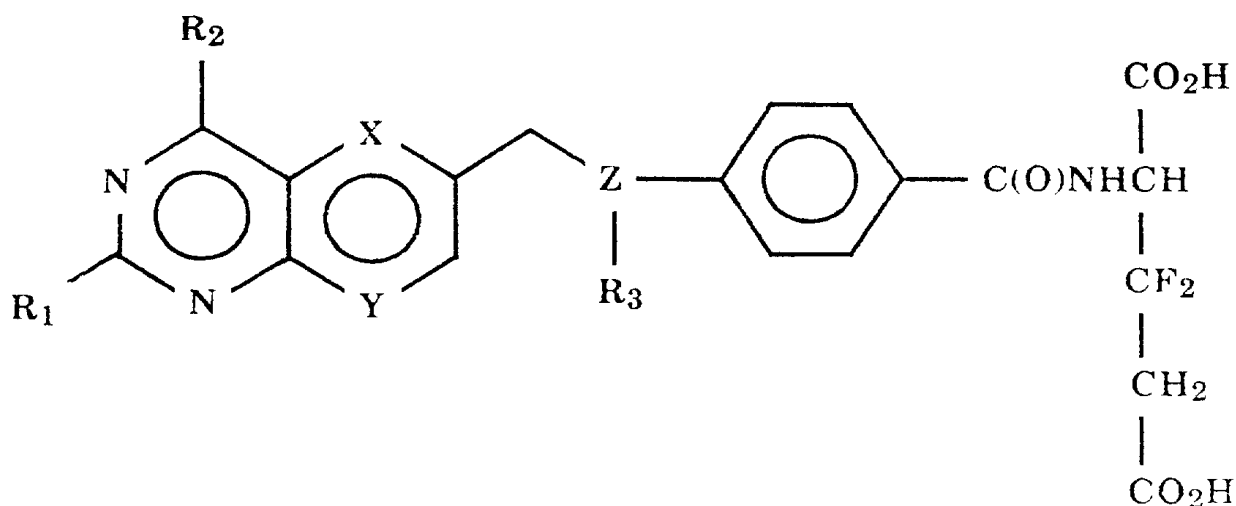


由于现在已知叶酰聚谷氨酸 (*folylpolyglutamates*) 对于叶酸代谢的正常运行是必需的，并且知道抗叶酰聚谷氨酸 (*antifolylpolyglutamates*) 与经典的抗叶酸剂 (如 MTX) 的细胞毒性作用有连带关系，因此叶酰聚谷氨酸合成酶已成为研究叶酸生物化学和生化药理学的重要的酶。在这方面，已经广泛研究了该种酶对蝶酰和 L -谷氨酸酶底物的特异性。对于蝶酰酶底物，其杂环部分的结构可以明显地不同，但是现在所有的报告均表明，末端的 L -谷氨酸残基对于酶底物活性是绝对需要的。引入的氨基酸的特异性是严格的，但不是绝对的。 L -高磺基丙氨酸和 D, L -叠同一或 D, L -对映-4-氟谷氨酸都可以用作有效的代用酶底物，但是在每种情况下其掺入均会引起链终止。由4-氟谷氨酸非对

映体所引起的链终止证明，在 γ -谷氨酰基受体位点对L-谷氨酸具有严格的特异性。

应用〔 ^3H 〕Glu和氨甲蝶呤（ $4-\text{NH}_2-10-\text{CH}_3\text{Pte}-\text{Glu}$ ）或四氢叶酸作底物时， F_2Glu 是聚（ γ -谷氨酰化作用）（Poly（ γ -glutamylatation））的强有力的浓度依赖性抑制剂。申请人已经检测了 F_2Glu 作为可替代之底物的作用，但是与以前所特征化的可替代之底物4-氟谷氨酸（McGuire和Coward, J. Biol. Chem. 260: 6747 (1985)）相反， F_2Glu 并不终止聚谷氨酸链延长反应。换句话说，即 F_2Glu 可促进链延长。因此，当与Glu存在下进行的同一反应进行比较时，在 F_2Glu 存在下能够以明显高的速度从含有1个和2个附加氨基酸残基的〔 ^3H 〕氨甲蝶呤得到合成产物，而对于多含2个残基的产物来讲，这种效果尤为明显。增加加入的速度不只是起到连接 F_2Glu 到内部Glu上或到以前掺入之 F_2Glu 上的功能，因为连接Glu到 $4-\text{NH}_2-10-\text{CH}_3\text{PteGlu}-\gamma-(3,3\text{-二氟谷氨酸})$ 上的作用也增加了。上述结果与 F_2Glu 在引入氨基酸（谷氨酸类似物）或在 γ -谷氨酰基受体水平上增加聚（ γ -谷氨酸）代谢产物的合成是一致的。因此， F_2Glu 是第一个谷氨酸类似物，它可增加由叶酰聚谷氨酸合成酶所催化的链延长。

应用化合物3，3-二氟谷氨酸（ F_2Glu ）与某些叶酸类化合物和抗叶酸剂制备式1的结合物及其药学上适用的盐，



1

其中 R_1 为 $-NH_2$ 、 H 或 $-CH_3$ ；

R_2 为 $-NH_2$ 或 $-OH$ ；

R_3 为 H 、 $(C_1 \sim C_4)$ 烷基、烯丙基或炔丙基，并且 X 、 Y 和 Z 各自独立地为氮原子或 CH 基团。

结构式 1 的结合物可用于治疗肿瘤和牛皮癣。此外，化合物 F_2 Glu 和某些 $PABA-F_2$ Glu 化合物是用于制备式 1 化合物的中间体。

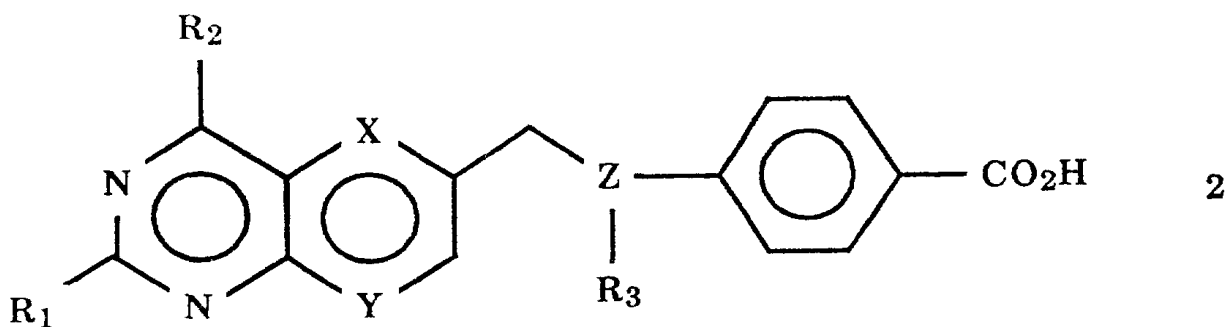
本发明化合物的二氟谷氨酸部分具有一个手性中心，因此本发明化合物存在立体化学异构体对。虽然相当于 L-谷氨酸天然构型的对映体是较好的，但是申请人意图是各别异构体和包括外消旋混合物在内的各个异构体混合物均包括在本发明的范围内。除非另有说明，否则本申请的化合物是 2 个立体异构体的混合物。此外，其中 Z 为 CH 基团， R_3 不是氢的上述式 1 化合物有第 2 个手性位点。以第 2 个手性位置为基础的立体化学构型不是很严格的，并且申请人再次指出，分离的异构体及其混合物均包括在本发明的范围内。就上述第 2 个手

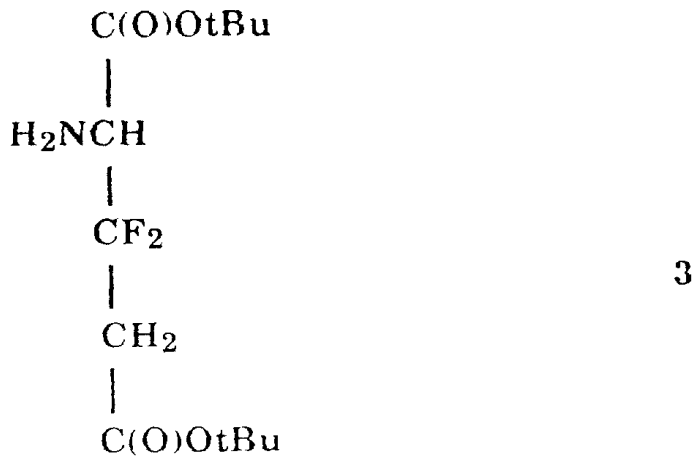
性位点来说，异构体的外消旋混合物是较好的。

式 1 化合物含有 2 个羧酸部分，因此能形成 1 个或 2 个碱或盐。具体地说，这些盐包括碱金属盐，例如钠盐和钾盐；碱土金属盐，例如钙盐和镁盐，包括铝在内的 III A 族轻金属盐；有机伯胺、仲胺和叔胺盐，例如包括三乙胺在内的三烷基胺，普鲁卡因、二苄胺、1-乙胺、N, N'-二苄基乙二胺、二氢枞胺、N-(低级)烷基哌啶以及其他合适的胺盐。其中优选的是钠盐。

式 1 化合物还可以与任一无毒的有机或无机酸一起形成药学上适用的酸加成盐。可形成合适盐的具体的无机酸有盐酸、氢溴酸、硫酸和磷酸，以及酸式金属盐，如磷酸一氢钠和硫酸氢钾。可以形成合适盐的具体的有机酸有一、二和三羧酸。这样的羧酸其实例有乙酸、羟基乙酸、乳酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、戊二酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、马来酸、羟基马来酸、苯甲酸、羟基苯甲酸、苯乙酸、肉桂酸、水杨酸、2-苯氧基苯甲酸和磺酸（如甲磺酸和 2-羟基乙磺酸）。优选的是盐酸盐。

式 1 化合物可以从式 2 的叶酸或抗叶酸衍生物—其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、X、Y 和 Z 定义同上述式 I 化合物，与被合适保护的 $F_2\text{Glu}$ 的衍生物—如式 3 的叔丁基酯衍生物， $F_2\text{Glu}(\text{OtBu})_2$ ，

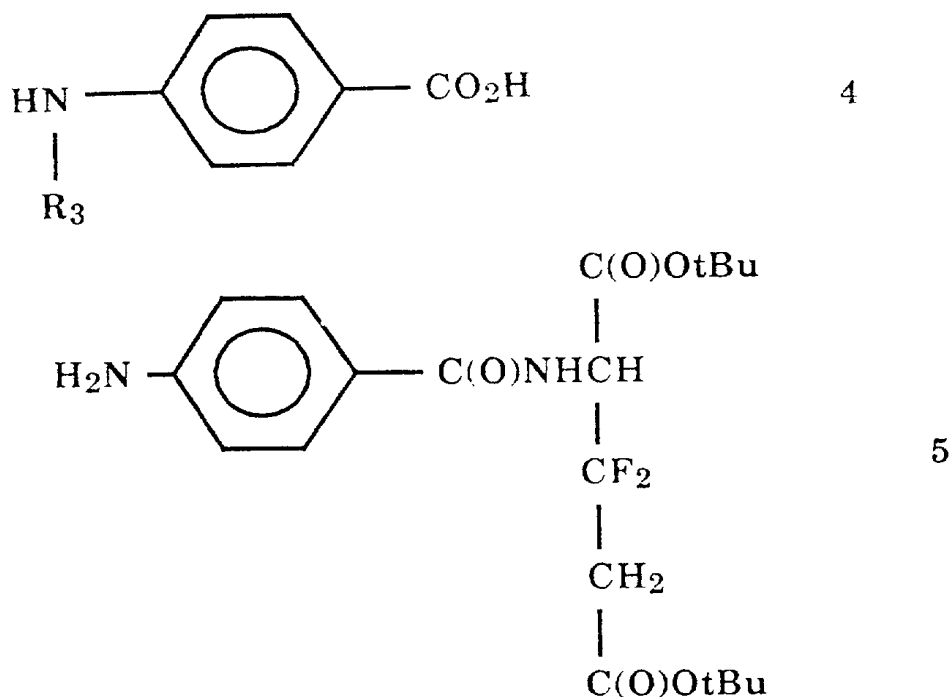




反应，然后由其反应产物上除去保护基团而制得。

式2化合物与式3的受保护之 F_2Glu 衍生物的偶联可按照比胺和羧酸制备酰胺任何适当方法来实现。本申请人已使用磷酰氰酸二乙酯 $(\text{EtO})_2\text{P}(=\text{O})\text{CN}$ 实现了式2与式3化合物的偶联。该反应按下法进行：将合适的式2化合物的溶液慢慢地滴加到 $(\text{EtO})_2\text{P}(=\text{O})\text{CN}$ 和酸消除剂（如吡啶，或最好为三乙胺）的溶液中。使生成的混合物于 $0^\circ \sim 60^\circ\text{C}$ （最好于室温）下约反应 $1 \sim 10$ 小时，最好反应 $2 \sim 5$ 小时，直至式2化合物充分地 与磷酰氰酸酯反应为止。然后向该混合物中加入 $\text{F}_2\text{Glu}(\text{OtBu})_2$ 溶液，使产生的反应于 $0^\circ \sim 60^\circ\text{C}$ （最好于室温）下进行约 $24 \sim 100$ 小时，一般为约 72 小时。例如可通过蒸发溶剂，用水洗涤并干燥等方法分离粗产物。然后用纯的三氟乙酸处理粗产物，以便脱去叔丁基酯保护基。分离出所需的式1化合物，并进行纯化，例如可用柱层析法纯化。适用于上述偶联反应的溶剂包括各种反应物在其中均可溶并且对反应无干扰的任何溶剂，例如二甲基甲酰胺（DMF）是较好的。

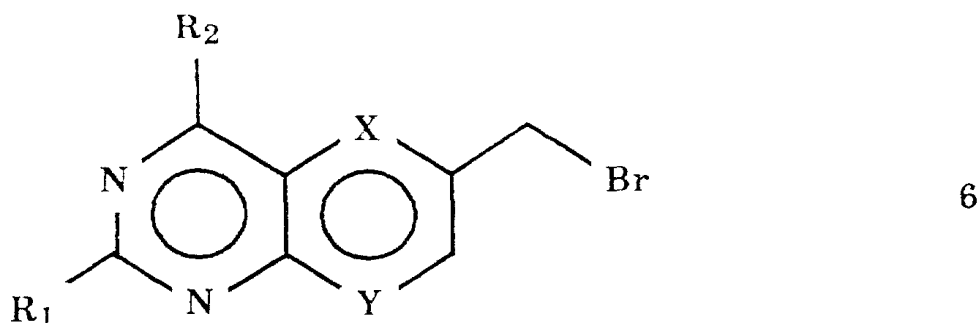
其中 Z 为氮原子的式 1 化合物可以由另一方法制备，该方法包括使式 4 的使对氨基苯甲酸 (PABA) 衍生物——其中， R_3 与在上述式 1 化合物中的定义相同，与式 3 化合物 ($F_2\text{Glu}(\text{OtBu})_2$) 反应，得到式 5 中间体化合物，



——其中， R_3 与在上述式 1 化合物中的定义相同。该偶联反应可以按任一合适的方式进行，例如可以按 McGuire 等 (Cancer Research 1989, 49, 4517~4525); Galican 等 (Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1985, 82, 2598~2602); Piper 和 Montgomery (J. Org. Chem., 42(2), 208~211(1977)); Taylor 等 (J. Med. Chem. 28, 913~921(1985)); Taylor 等 (J. Med. Chem. 28, 1517~1522(1985)); Jones 等 (J. Med. Chem. 32, 847~

852 (1989)) 所述的方法进行。

然后将式5中间体与式6的溴甲基衍生物缩合，得到叔丁氧基保护的化合物，例如用三氟乙酸水解，除去叔丁氧基保护基，即得到所需的式1化合物。



——其中 R_1 、 R_2 、X和Y与在上述式1化合物中的定义相同。该反应可以按下法进行：使式5和式6化合物的混合物与二甲基乙酰胺 (Me_2NAC) 于 $25^\circ \sim 80^\circ C$ ，最好在 $50 \sim 55^\circ C$ 下反应 $2 \sim 12$ 小时，最好约4小时，然后将反应混合物于室温下静置 $6 \sim 24$ 小时，最好为约12小时。再在减压下除去 Me_2NAC ，将粗产物置于冰浴中，并用三氟乙酸处理，在加入完成之后使混合物升温至室温。静置 $1 \sim 6$ 小时（一般为约4小时）之后，减压下除去 $TFAC$ ，得到所需的式1的粗产物。该产物可以经层析法（DEAE—纤维素柱，用 NH_4HCO_3 梯度洗脱）纯化。该缩合反应更详细的叙述见前面所提到的参考文献。

对具体保护基的选择和应用是本技术领域内一般专业人员所熟知的。一般来讲，应该选择在接着进行的合成步骤中能充分保护所述氨基或羟基，并且在不引起所需产物降解的条件下容易脱去的保护基。合适的羟基保护基其实例有 $C_1 \sim C_6$ 烷基、四氢吡喃基、甲氧基甲基、甲氧基乙氧基—甲基、叔丁基、苯甲酰基和三苯基甲基。术语

C₁ ~ C₆。烷基是指有 1 ~ 6 个碳原子的直链、支链或环状结构的饱和烃基。苯甲酰化的衍生物可以在吡啶存在下由未被保护的化合物与苯甲酰氯反应生成。合适的氨基保护基的实例有苯甲酰基、甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、邻苯二甲酰基、甲苯磺酰基、苯磺酰基、苄氧基羰基、取代的苄氧基羰基（例如对一氯、对一溴、对一硝基、对一甲氧基、邻一氯、2, 4-二氯和 2, 6-二氯衍生物）、叔丁氧基羰基（B O C）、叔戊氧基羰基、异丙氧基羰基、2-（对一联苯基）-异丙氧基羰基、烯丙氧基羰基、环戊氧基羰基、环己氧基羰基、金刚烷氧基羰基、苯基硫代羰基和三苯基甲基。较好的氨基被保护的化合物包括苯甲酰基衍生物和乙酰基衍生物，它们可以分别由未被保护的化合物与苯甲酰氯反应或者未被保护的化合物与乙酸酐反应而制得。

本发明提供了治疗患有肿瘤性疾病患者的方法，该方法包括给患者使用治疗上抗肿瘤有效剂量的式 1 化合物。通过给患有肿瘤性疾病的患者使用治疗上抗肿瘤有效剂量的式 1 化合物，可以得到抗肿瘤的效果。术语“患者”是指温血动物，例如包括人的灵长目、羊、马、牛、猪、狗、猫、大白鼠和小白鼠。

这里所用的术语“肿瘤性疾病”是指异常的状态或疾病，其特征在于迅速增殖性细胞生长或肿瘤生成。根据本领域的技术人员熟知的一般实验室实验技术和方法，以及根据与已知的有效化合物进行对比的结果证明，式 1 化合物可用于治疗患有通常是用或者可以用叶酸类药物或抗叶酸剂（如氨甲蝶呤、氨蝶呤、5, 10-二脱氮杂叶酸（5, 10-dideazafolate）和甲酰四氢叶酸）治疗之肿瘤的患者。上述肿瘤性疾病包括但不限于急性成淋巴细胞白血病、慢性淋

巴细胞白血病、急性髓细胞白血病和慢性髓细胞白血病；包括但不限于子宫颈癌、食管癌、胃癌、小肠癌、结肠癌和肿瘤；包括但不限于骨肉瘤、骨肉瘤、脂肪瘤、脂肪瘤、血管瘤、血管瘤；无黑色素的黑色素瘤和黑变病的黑色素瘤；混合型的肿瘤，如淋巴系统癌肉瘤、滤泡网状组织癌肉瘤、细胞肉瘤和何杰全氏疾病。当然，熟悉本技术领域的技术人员懂得，不是每个式 1 化合物对上述各种肿瘤都会有效，并且懂得，选择最合适的化合物是属于本技术领域技术人员能力范围之内的事，并且可以根据包括在普通动物肿瘤模型上得到的结果在内的各种因素来选择最合适的式 1 化合物。一般来讲，目前用叶酸类药物和抗叶酸剂治疗的上述肿瘤性疾病均可用式 1 化合物进行治疗。与未结合的叶酸类药物或抗叶酸剂相比较，本发明的化合物预计将是更有效的，并且是更具有选择性的。本发明化合物所增加的效果据信是由于这些化合物具有促进谷氨酰胺链延长的作用，从而可致使毒性叶酸和抗叶酸剂在细胞内的聚集。

术语“抗肿瘤有效的”和术语“治疗肿瘤性疾病”是指控制肿瘤生长或增殖的效果，或者是指能延长患者的存活时间而超过不经该治疗所能达到的预计存活时间。通过减慢、中断、阻止或终止肿瘤的生长、增殖或转移来控制肿瘤的生长和增生。因此术语“治疗肿瘤性疾病”不一定表示肿瘤疾病全部消除。可以认为，延长患者的存活时间超过本来或自身所能够达到的显著有益的效果，也表示控制了该肿瘤疾病。

为了有效地治疗患有上述肿瘤性疾病的患者，可在治疗肿瘤性疾病的有效剂量下以生物可利用的任一方式服用式 1 化合物，包括口服和经胃肠道外途径给药。例如，式 1 化合物可以口服、局部给药、皮

下注射、肌肉注射、静脉注射、经皮肤给药、鼻内给药、直肠给药等。通常优先选用口服给药。根据所选用的化合物的具体特性、需治疗的疾病、疾病的严重程度及其他有关的情况，本技术领域的专业人员可以很容易地选择合适的给药形式和方式。

这里所用的术语“抗肿瘤治疗上有效的剂量”是指抗肿瘤作用有效的式 1 化合物的量。作为本技术领域的专业人员，可应用已知技术并观察在相同情况下所得到的结果，诊断医生可以容易地确定抗肿瘤治疗上有效的剂量。在确定抗肿瘤治疗上有效的剂量中，主治的诊断医生要考虑许多因素，这些因素包括但不限于：哺乳动物的种类、其大小、年龄、一般健康情况、所患的特定疾病、疾病的严重程度和并发症、患者的个体反应性、所服用的具体化合物、给药方式、所用制剂的生物可利用性、所选用的剂量、伴随应用的药物以及其他有关的情况。

式 1 化合物抗肿瘤治疗上有效的剂量可预计在每天每公斤体重 0.1 毫克 ($\text{mg}/\text{kg}/\text{天}$) ~ 每天每公斤体重 500 毫克的范围内变化。优选的剂量可预计在 1 ~ 20 $\text{mg}/\text{kg}/\text{天}$ 范围内变化。上述范围尤其与口服的有效剂量有关，但也与非胃肠道途径给药范围有关。每天给药 1 ~ 4 次，通常每次给予之活性化合物的剂量为 5 mg ~ 100 mg 。

已将氨甲蝶呤和其他的叶酸类化合物及抗叶酸剂用于治疗牛皮癣和以增加表皮细胞增殖速度为特征的疾病。具有相同作用机理的式 1 化合物可望是治疗牛皮癣有价值的新药剂。抗牛皮癣的剂量与抗肿瘤的剂量是相同的，但式 1 化合物用于治疗牛皮癣时最好是局部应用。

本发明的化合物可以单独使用，也可以与药用载体或赋形剂一起配成药用组合物使用，所选用的载体或赋形剂的比例和性质可以根据

所选用的化合物的溶解度和化学性质。选择的给药途径以及一般的制药经验而定。虽然式 1 化合物本身是有效的，但为了提高其稳定性、便于结晶、增加溶解度等目的，可以将式 1 化合物以其药学上适用的酸加成盐的形式配制并给药。

可以将式 1 化合物配制在组合物中，该组合物包含可检测量的式 1 化合物，并将其与一种或多种惰性载体一起混合。所述组合物例如可用作检测标准品，整装运输的方便形式，或作为药用组合物。式 1 化合物的可检测量是指可以由本领域的专业人员用熟知的一般检测方法和技术容易地测定出量。式 1 化合物的可检测量通常可以为组合物重量的 0.001%~75%。惰性载体可以是不降解，或不与式 1 化合物共价反应的任何物质。适用的惰性载体其实例包括水、含水缓冲液，如通常用于高效液相色谱（HPLC）分析的含水缓冲液、有机溶剂如乙腈、乙酸乙酯、己烷等，以及药学上适用的载体或赋形剂。可用本技术领域熟知的技术和方法，将式 1 化合物与惰性载体混合而制得这些组合物。

更具体地说，可以将式 1 化合物配制成药用组合物，该组合物包括抗肿瘤治疗上有效剂量的式 1 化合物，式 1 化合物与一种或多种药用载体或赋形剂组成混合物，或式 1 化合物与一种或多种药用载体或赋形剂结合。

可以按药学领域已知的方法制备药用组合物。载体或赋形剂可以是固体、半固体或液体物质，它们可以用作为有效成分的运载物或介质。合适的载体或赋形剂是本技术领域已知的。药用组合物可适于经口服或非胃肠道途径给药，并且可以以片剂、胶囊剂、栓剂、溶液剂、悬浮剂等形式给患者使用。

式 1 化合物可以口服给药，例如可以与惰性稀释剂或与可食的载体一起服用。可以将它们封在明胶胶囊中，或者压制成片剂。为了口服给药，可以将本发明的化合物与赋形剂一起混合，并且以片剂、锭剂、胶囊剂、锭剂、悬浮剂、糖浆剂、糯米纸囊剂、口香糖剂等形式应用。上述制剂应该含有至少 4 % 本发明化合物（作为活性成分），但是可以根据具体的形式有所变化，并且活性成分通常可以占组合物重量的 4 ~ 70 %。存在于组合物中的本发明化合物的量应达到合适的剂量。根据本发明的组合物和制剂，最好每一口服单位剂量含有 5.0 ~ 300 mg 本发明的化合物。

片剂、小丸剂、胶囊剂、锭剂等还可以含有一种或多种下述的辅助剂：粘合剂，如微晶纤维素、西黄蓍胶或明胶；赋形剂，如淀粉或乳糖；崩解剂，如藻酸、Primogel、玉米淀粉等；润滑剂，如硬脂酸镁或 Sterotex；助流剂，如胶体二氧化硅；并且可以加入甜味剂，如蔗糖或糖精，或矫味剂如薄荷，水杨酸甲酯或矫味橙汁。当剂量单位形式为胶囊剂时，除含有以上类型的物质之外还可以含有液体载体，如聚乙二醇或脂肪油。其他剂量单位形式可以含有改变该剂量单位之物理形式的其他各种物质，例如包衣材料。因此，片剂和小丸剂可以用糖、紫胶或其他肠包衣剂进行包衣。糖浆剂除含有本发明化合物之外还可以含有蔗糖作为甜味剂，以及某些防腐剂、染料、着色剂和调味剂。用于制备上述各种组合物的物质应该是药学上纯的，并且在所用量的范围内应是无毒的。

为了经非胃肠道途径给药，可以将式 1 化合物加到溶液或悬浮液中。这些制剂应该含有至少 0.1 % 的式 1 化合物，但是其重量可以在 0.1 ~ 50 % 之间变化。存在于上述组合物中之本发明化合物的

量应能达到合适的剂量。制备优选的根据本发明的组合物和制剂，以使经胃肠道外途径给药的剂量单位含有 5.0 ~ 100 mg 本发明的化合物。

溶液剂或悬浮剂还可以包括一种或多种下述辅助剂：无菌稀释剂，如注射用水，盐水溶液，固定的油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成的溶剂；抗菌剂，如苯甲醇或羟苯甲酸甲酯；抗氧化剂，如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂，如乙二胺四乙酸；缓冲剂，如乙酸盐，柠檬酸盐或磷酸盐，以及调节体液渗透压的试剂，如氯化钠或葡萄糖。非胃肠道途径给药的制剂可以封装在安瓿内，由玻璃或塑料制成的一次性注射管内或多倍剂量小瓶内。

具有特定的同类用途的任何一组结构上相关的化合物中，就其最终应用来说最好选用式 1 化合物的某些基团和构型。

申请人优先选用其中 R_1 和 R_2 各自为 $-NH_2$ 基团， X 、 Y 和 Z 各自为氮原子，并且 R_3 为甲基的式 1 化合物。申请人还优先用其中 R_1 为 $-NH_2$ 基团， R_2 为 OH 基团， R_3 为氢， X 和 Z 各自为 CH 基团，并且 Y 为氮原子的式 1 化合物。

实例 1

$N - [4 - ([(2, 4 - \text{二氨基} - 6 - \text{蝶呤基}) \text{甲基}] \text{甲氨基}) - \text{苯甲酰基}] - 4, 4 - D - \text{氟代谷氨酸}$

将 $N - CH_3 PABA - F_2 Glu (OBu)_2 (0.201 \text{ mmol})$ 和 $2, 4 - \text{二氨基蝶啶} - 6 - \text{溴甲基氢溴酸化物} (75 \text{ mg}, 0.223 \text{ mmol})$ 在 $Me_2 NAc (2.5 \text{ ml})$ 中的混合物于 $50 \sim 55^\circ C$ 搅拌 4 小时，然后在室温下放置过夜。再在减压下除

去 Me_2NAC 。将该粗制材料置于冰浴中，在搅拌下加入 2 ml 三氟乙酸。10 分钟后，将反应混合物加温至室温并搅拌 4 小时。在减压下除去三氟乙酸，得到粗产物。该粗产物经 DEAE-纤维素层析纯化，用 NH_4HCO_3 进行梯度 (15 ~ 600 mM) 洗脱。含所需产物的柱流出物经冷冻干燥，得到所需的纯产物。

实例 2

4-氨基-4-脱氧-10-甲基蝶酰 [D, L-叠(同)，对映-4, 4-(二氟)谷氨酸] (1, $\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{NH}_2$; X, Y, Z = N; $\text{R}_3 = \text{CH}_3$)

将 2.5 ml DMF, 23 μl Et_3N (0.16 mmol) 和 25 μl (0.16 mmol) 磷酰氰酸二乙酯置于装有干燥管的 15 ml 园底烧瓶中。然后加入二氨基蝶酸酯 (1, $\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{NH}_2$; X, Y, Z = N; $\text{R}_3 = \text{CH}_3$) (0.16 mmol), 并在室温下搅拌反应溶液。3 小时后，加入另外的 5 μl (0.04 mmol) 磷酰氰酸二乙酯。将 F_2Glu (0.16 mmol) 溶于 1 ml DMF 中，加到反应烧瓶内并在室温下继续搅拌 72 小时。真空下除去溶剂 DMF，将残余物溶于 35 ml CHCl_3 中，并用 1% NH_4OH (2 × 20 ml) 洗涤以除去未反应的起始物质。有机层用 20 ml H_2O 洗涤，再经 Na_2SO_4 干燥并在真空下蒸发，得到粗制的受保护基保护的产物。将该偶联产物溶解于纯净的 TFA (3 ml) 中并用 TLC 监测脱酯反应的进程。24 小时后，用旋转式蒸发仪除去溶剂 TFA，并在真空下干燥残余物。

将粗产物溶于 20 ml H_2O 中，用稀 NH_4OH 调节 pH 至 8。

为了获得足够低的流速，在装填 D E A E - 纤维素 (Whatman D E - 5 2) 柱 ($30 \times 1 \text{ Cm}$) 之前使样品体积加到 160 ml 。该柱用 100 ml 水洗涤，用 175 ml 15 mM $\text{NH}_4 \text{HCO}_3$ 和 175 ml 500 mM $\text{NH}_4 \text{HCO}_3$ 进行线性梯度洗脱，得到所需的式 1 化合物。

实例 3

β , β -二氟谷氨酸双-L-丁酯

3 a. 2, 2-二氟戊-4-烯酰胺

将 2, 2-二氟戊-4-烯酸 (27.2 g , 0.2 mol) 的已烷 (200 ml) 溶液置于装有回流冷凝器和氮气进气管的三颈烧瓶中，在搅拌下向其中加入 D M F (20 滴，催化剂) 和草酰氯 (20 ml , 0.23 mol)。将混合物在室温下搅拌 2 小时，此时不再看见气体逸出。溶液在冰/盐浴中冷却，氮气进气管用空的 CaCl_2 管代替 (防止固体物质从烧瓶中被气流冲出)，并向烧瓶中通入 NH_3 气。在开始的剧烈反应减缓后保持气流 30 分钟。然后将混合物倒入 H_2O (1 l) 和 Et_2O (0.5 l) 中。用 H_2O 和 Et_2O 洗涤玻璃仪器，并将洗涤液加入上述混合物中。加入硅藻土，并滤除不溶物。使水相和有机相分离。用盐水将 Et_2O 洗涤 1 次，经 Na_2SO_4 干燥并浓缩之。水相用 CH_2Cl_2 萃取 2 次。合并的萃取液用盐水洗涤 1 次，经 Na_2SO_4 干燥，再与醚相残余物合并，并浓缩。残余物经蒸馏后得到标题酰胺化合物 (20.6 g , 76%)， $\text{bp. } 100 \sim 110^\circ\text{C} / 10 \text{ mm}$ ，为淡黄色油状物，经冷却后固化， $\text{mp. } 33 \sim 35^\circ\text{C}$ 。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ

7.0 ~ 6.0 (2H, br. d), 5.75 (1H, ddt, $J = 18, 9, 6$ Hz), 5.3 (2H, m), 2.87 (2H, dt, $J = 6, 17$ Hz)。 ^{19}F NMR ($\delta_{\text{CF}_3} = 0$) δ -56.0 (t, $J = 17$ Hz)。

元素分析, $\text{C}_5\text{H}_7\text{F}_2\text{NO}$: 计算值: C, 44.45; H, 5.22; N, 10.37。实测值: C, 42.03; H, 4.74; N, 9.33。

3 b. 2, 2-二氟戊-4-烯基腈

将上述酰胺 (3 a) (20.6 g, 0.152 mol) 的无水吡啶 (25 ml, 0.31 mol) 溶液置于冰/盐浴中, 在 N_2 气流下向其中滴加三氟乙酸酐 (TFAA, 23.5 ml, 0.166 mol), 在 $1\frac{1}{2}$ 小时内滴加完毕。反应混合物变成固体, 并在室温下放置 4 小时。然后将烧瓶装成在 N_2 气流下的蒸馏装置, 并在油浴中加热 (最终为 130°C) 蒸馏。收集蒸馏液, 得到 17.7 g 无色油状物, 该油状物在空气中冒烟, bp. $70 \sim 80^\circ\text{C}/760$ 托。

经 NMR 分析表明, 蒸馏液的成分为腈: TFAA: 吡啶 = 80 : 12 : 8。因此腈的产率为 0.116 mol (76%)。 ^1H NMR (CDCl_3) 6.0 ~ 5.5 (1H, m), 5.4 (2H, m), 2.93 (2H, dt, $J = 6, 15$ Hz)。 ^{19}F NMR ($\delta_{\text{CF}_3} = 0$) δ -71.7 (t, $J = 15$ Hz)。

3 c. 4, 4-二氟辛-1, 6-二烯-5-基胺盐酸盐

向镁屑 (5.47 g, 0.225 mol) 中加入 1-丙烯基溴 (27.22 g, 0.225 mol) 的 THF (225 ml) 溶液, 控制加入的速度, 使混合物保持温热但不沸腾, 制得溴化丙烯基

镁。加毕，将混合物搅拌 20 分钟，然后用 THF (300 ml) 稀释并冷却至 -15°C 。向该混合物中加入由实例 3 b 制得的腈 (0.116 mmol) 在 THF (80 ml) 中的溶液，控制加入的速度，使反应混合物的温度在 $-15 < T < -10^{\circ}\text{C}$ 的范围内。在该温度范围内将混合物再搅拌 1 小时，然后冷却至 -40°C 。将 NaBH_4 (6.4 g, 0.169 mmol) 在 MeOH (650 ml) 和水 (30 ml) 中的冷却溶液 (-40°C) 一次加入。除去冷却浴并将混合物搅拌 2 小时，然后倒入 6 N HCl (800 ml) 中。经旋转蒸发除去有机溶剂，将水溶液用 CH_2Cl_2 洗涤 2 次。然后用颗粒状 NaOH 将溶液硷化至 pH 10 (需要用冰冷却)，并用 NaCl 饱和之。加入硅藻土，滤除析出的 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 。固体残余物用 CH_2Cl_2 洗涤。滤液用 CH_2Cl_2 萃取 3 次，将萃取液和残余物洗涤液合并，经 Na_2SO_4 干燥，过滤，用 $\text{Et}_2\text{O}/\text{HCl}$ 酸化，经蒸发得到标题胺盐化合物，其为淡黄色固体 (3 g)。这一过程中不需要将该物质纯化。

3 d. N-(叔丁氧基羰基)-4,4-二氟辛-1,6-二烯-5-基胺

将上述实例 3 c 制得的粗制盐 (35 g) 溶于水 (200 ml) 和二噁烷 (200 ml) 中。加入固体 KHCO_3 ，得到对 pH 试纸呈中性的混合物，再向混合物中加入 KHCO_3 (12 g, 0.12 mmol) 和二叔丁基二碳酸酯 (34 g, 0.156 mmol)。混合物在室温下搅拌过夜，再用 NaCl 饱和。分离水相和有机相。水相用己烷萃取 (x3)。萃取液和有机相合并，用水洗涤 (x3)。合并的水洗涤液用己烷萃取 1 次。该萃取液和有机相合并，然后用盐水

洗涤，经 Na_2SO_4 干燥，浓缩，残余物经快速层析纯化（用 CH_2Cl_2 / 戊烷（1/1）洗脱），得到标题化合物氨基甲酸酯（199, 65%）， R_f 0.29，为油状物，静置后固化。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 6.0~5.5 (2H, m); 5.5~4.5 (5H, m); 2.67 (2H, dt, $J=7, 16\text{ Hz}$); 1.73 (3H, dd*, $J=7, 1\text{ Hz}$); 1.47 (9H, s)。 ^{19}F NMR ($\delta\text{C}_6\text{F}_6=0$) δ -53.2 (m)。

3 e. β , β -二氟谷氨酸盐酸盐

向冰冷却的 KMnO_4 (52.56g, 0.33 mol) 的水 (1.2 l) 溶液中加入由实例 3 d 制备的氨基甲酸酯 (10.95g, 0.042 mol) 的 AcOH (160 ml) 溶液。混合物在室温下搅拌过夜，在该期间析出棕色固体。加入固体焦性亚硫酸钠使混合物脱色，随后加入浓 HCl ，得到 pH 为 2 的溶液。该溶液用 Et_2O 萃取 (3 $\times$ 500 ml)，然后用 NaCl 饱和，再用 Et_2O 萃取 2 次。合并的有机相用盐水洗涤 1 次并浓缩。残余物溶于 1N HCl (500 ml) 中并浓缩。再次将残余物溶于 1N HCl 中，将混合物加温，并加入活性炭。将混合物搅拌 10 分钟，过滤并将滤液蒸发至干。残余物用热的异丙醇萃取，得到粗制的氨基酸 (2.22g) 再用 EtOH 进一步萃取异丙醇不溶的物质，没有得到任何有用的物质。 ^{19}F NMR (D_2O ; δCF_3 , $\text{CO}_2\text{H}=0$) δ +23 (ddt, $J=280$, s, 21 Hz), +27 (ddt, $J=280$, 22, 9 Hz); +28 (t); 积分比例 5:5:3。

3 f. β , β -二氟谷氨酸双叔丁酯

将由实例 3 e 制得的粗制酸 (2.22g) 悬浮于叔乙酸叔丁酯

(500 ml) 中, 向混合物中加入 HCl (2.16 ml 70% 的水溶液, 25 mmol)。混合物在室温下搅拌 48 小时, 然后用 H_2O 萃取 ($2 \times 200 \text{ ml}$)。合并的萃取液用 CH_2Cl_2 洗涤 ($2 \times 100 \text{ ml}$), 再用 4 N NaOH 硷化至 $\text{pH} 10$ 。该溶液用 CH_2Cl_2 萃取 ($3 \times 100 \text{ ml}$)。合并的萃取液用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 并浓缩至其体积的 $1/3$ 。该溶液不需作进一步处理即可用于下一步骤。蒸发比较彻底的样品显示出如下的核磁共振谱:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 4.10 (1H, t, $J = 1.4 \text{ Hz}$), 3.10 (1H, t, $J = 1.5 \text{ Hz}$), 3.00 (1H, t, $J = 1.5 \text{ Hz}$), 1.5 (18H, 2S); $^{19}\text{F NMR}$ (δ $\text{C}_6\text{F}_6 = 0$) $\delta -58.7$ (d t, $J = 1.4, 1.5 \text{ Hz}$)。

实例 4

β , β -二氟谷氨酸盐酸盐

向实例 3 之 BOC-双-酯 (300 mg, 0.76 mmol) 的无水 Et_2O (10 ml) 溶液中加入饱和的 $\text{Et}_2\text{O}/\text{HCl}$ (3 ml)。混合物在室温下搅拌 6 天 (CaCl_2 管防护)。收集析出的白色固体并用 Et_2O 洗涤。经 TLC 和 NMR 分析表明酯的裂解不完全。将该物质溶于 1 N HCl (5 ml) 中, 并在室温下搅拌过夜。反应仍不完全。加入几滴浓 HCl 并将混合物搅拌 3 天。真空下除去水, 残余物和 CCl_4 一起经共沸蒸馏干燥。加二异丙醚 ($\times 2$) 一起研磨, 得到淡绿色粉末, 收集并经 P_2O_5 干燥, 得到标题氨基酸化合物 (175 mg, 100%)。 $^1\text{H NMR}$ (D_2O) 分析表明, 有溶剂的模糊信号。 $^{19}\text{F NMR}$ (δ CF_3 , $\text{CO}_2\text{H} = 0$) $\delta +23$

(d d t , $J = 280, 5, 21 \text{ Hz}$) , $+ 27$ (d d t , $J = 280, 22, 9 \text{ Hz}$) 。 MS (CI , NH_3) m / e 184 (MH^+ , 100%) , 140 (75%) , 120 (40%) , 102 (40%) 。 R_f (H o A c / H_2O / BuOH 1 / 1 / 3) 0 . 19 。

元素分析, $\text{C}_5\text{H}_7\text{F}_2\text{NO}_4 \cdot \text{HCl}$: 计算值: C, 27.35; H, 3.67; N, 6.38。实测值: C, 28.13; H, 3.58; N, 6.52。