

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01816227.4

[51] Int. Cl.

*C07D 471/10 (2006.01)*

*A61K 31/438 (2006.01)*

*A61K 31/4545 (2006.01)*

*A61K 31/499 (2006.01)*

*A61K 31/55 (2006.01)*

*A61P 43/00 (2006.01)*

[45] 授权公告日 2006 年 3 月 29 日

[11] 授权公告号 CN 1247577C

[51] Int. Cl. (续)

*A61P 29/00 (2006.01)*

*A61P 37/08 (2006.01)*

*A61P 11/06 (2006.01)*

*A61P 17/00 (2006.01)*

*A61P 27/14 (2006.01)*

*A61P 27/16 (2006.01)*

*A61P 1/16 (2006.01)*

*A61P 13/12 (2006.01)*

*A61P 19/02 (2006.01)*

*A61P 37/06 (2006.01)*

*A61P 1/04 (2006.01)*

[22] 申请日 2001.9.25 [21] 申请号 01816227.4

[30] 优先权

[32] 2000.9.25 [33] JP [31] 289658/00

[86] 国际申请 PCT/JP2001/008290 2001.9.25

[87] 国际公布 WO2002/024697 日 2002.3.28

[85] 进入国家阶段日期 2003.3.25

[71] 专利权人 东丽株式会社

地址 日本东京都

[72] 发明人 高桥俊也 石垣刚 舟桥美由纪

谷口晃司 金子正之 戒能美枝

目黑裕之

审查员 王 颖

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 曹 雯 孟凡宏

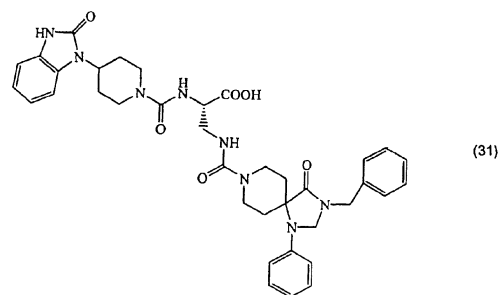
权利要求书 4 页 说明书 81 页

[54] 发明名称

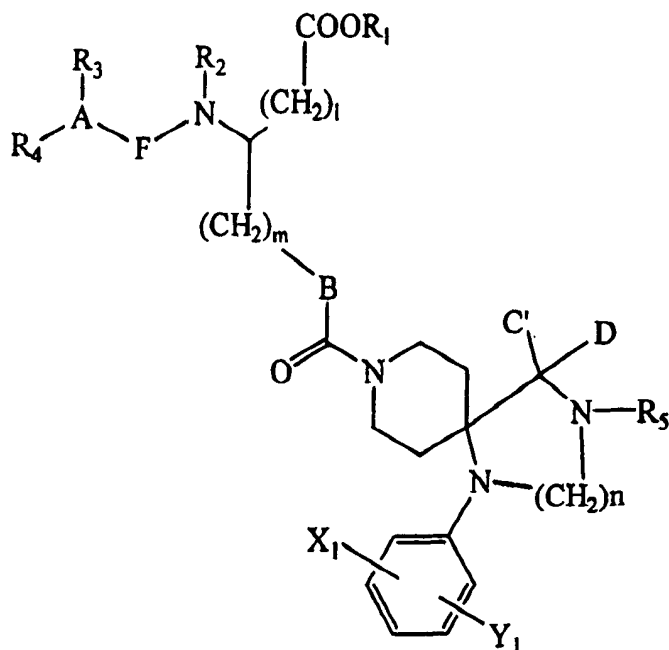
螺环衍生物和以其作为有效成分的粘附分子  
抑制剂

[57] 摘要

公开了一种新型的螺环衍生物及其医药用途，特别是作为对于炎症性疾病的治疗有用的粘附分子抑制剂的用途。本发明的螺环衍生物具有例如下述式(31)所示的化学结构。



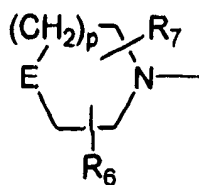
## 1. 式 I 表示的螺环衍生物或其可药用盐,



I

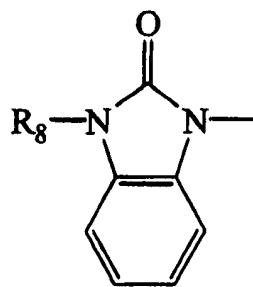
- 5 式中,  $l$  和  $m$  分别独立地表示  $0 \sim 2$  的整数;  $n$  表示  $1 \sim 3$  的整数;  $A$  表示  $-\text{CH}-$ 、 $\text{SP}^2$  碳原子或氮原子;  $B$  表示  $-\text{CH}_2-$  或  $-\text{NH}-$ ;  $C'$ 、 $D$  均表示氢原子, 或者  $C'$  和  $D$  连成一体表示  $=\text{O}$ ;  $X_1$  和  $Y_1$  表示氢;  $R_1$  和  $R_2$  分别独立地表示氢或碳原子数  $1 \sim 3$  的直链烷基;  $F$  表示  $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ ;  $A$  为氮原子时,  $R_3$ 、 $A$  和  $R_4$  连成一体表示下述基团:

(i) 式 II



II

式中,  $p$  表示 1;  $E$  表示  $-\text{CH}_2-$ ;  $R_6$  和  $R_7$  表示氢;  
或者式 III 表示的基团,

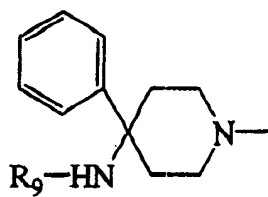


III

5

式中,  $R_8$  表示氢、碳原子数 1~3 的直链烷基;

(ii) 式 IV

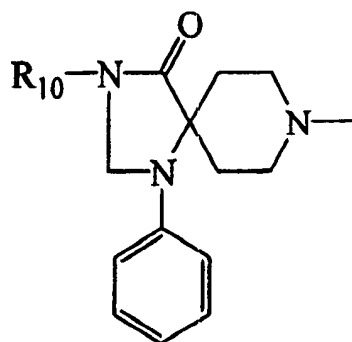


IV

式中,  $R_9$  表示碳原子数 3~8 的支链烷酰基;

(iii) 式 V

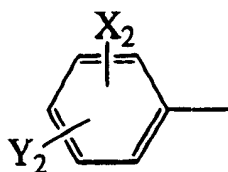
10



V

式中,  $R_{10}$  表示氢、碳原子数 1~3 的直链烷基;

A 为  $-\text{CH}-$  或  $\text{SP}^2$  碳原子时,  $R_3$ 、A 和  $R_4$  连成一体, 表示金刚烷基、或者式 VI,

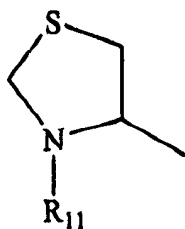


VI

5

式中,  $X_2$ 、 $Y_2$  独立地表示氢、卤素、碳原子数 1~3 的直链烷基、硝基或碳原子数 1~3 的直链烷氧基;

或者式 VII



VII

10

式中,  $R_{11}$  是氢或碳原子数 1~3 的直链烷酰基;

R<sub>3</sub>表示氢、碳原子数1~6的直链烷基、碳原子数3~8的支链烷基、烯丙基、或者苯甲基。

2. 一种药物，含有权利要求1所述的螺环衍生物或其可药用盐作为有效成分。

5        3. 一种粘附分子抑制剂，含有权利要求1所述的螺环衍生物或其可药用盐作为有效成分。

4. 如权利要求3所述的粘附分子抑制剂，上述粘附分子为整合蛋白家族。

10       5. 如权利要求4所述的粘附分子抑制剂，上述整合蛋白家族为 VLA-4。

6. 如权利要求3至5中任意一项所述的粘附分子抑制剂，对象疾病为炎症性疾病。

7. 如权利要求6所述的粘附分子抑制剂，炎症性疾病为变应性疾病。

15       8. 权利要求1所述的螺环衍生物或其可药用盐在制备药物中的用途。

9. 权利要求1所述的螺环衍生物或其可药用盐在制备粘附分子抑制剂中的用途。

10. 如权利要求9所述的用途，上述粘附分子为整合蛋白家族。

20       11. 如权利要求10所述的用途，上述整合蛋白家族为 VLA-4。

12. 如权利要求8至11中任意一项所述的用途，对象疾病为炎症性疾病。

13. 如权利要求12所述的用途，炎症性疾病为变应性疾病。

## 螺环衍生物和以其作为有效成分的粘附分子抑制剂

### 技术领域

- 5 本发明涉及粘附分子抑制药，特别是作为 VLA-4 抑制剂有用的新型螺环衍生物或其可药用盐；以其作为有效成分的粘附分子抑制药，特别是 VLA-4 抑制剂；以及含有其作为有效成分的炎症性疾病治疗药。

### 背景技术

- 10 粘附分子参与细胞与细胞、以及细胞与细胞间质的粘附，并参与细胞的移动和细胞的活化等。粘附分子中存在整合蛋白家族和免疫球蛋白超家族等多种家族。整合蛋白家族是在淋巴细胞、单核细胞、嗜碱细胞、嗜酸细胞等白细胞上表达的粘附分子，具有  $\alpha$  链、 $\beta$  链非共价结合的异源二聚体结构，根据  $\beta$  链的分子种分为几种亚族。整合蛋白家族中的一种，即 VLA-4 (very late antigen-4)，也称为  $\alpha 4\beta 1$ 、CD49d/CD29，与白细胞和血管内皮细胞或细胞外基质的相互作用有关，并且与白细胞向炎症部位浸润有关。作为与 VLA-4 相互作用的粘附分子，已知存在于血管内皮细胞上的 VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) 和细胞外基质的纤连蛋白。

- 20 纤连蛋白上与 VLA-4 结合的部位是称为 CS-1 的纤连蛋白片断。有报道指出，在该片断中，结合时所必需的氨基酸最小单位是亮氨酸-天冬氨酸-缬氨酸 3 个氨基酸的残基。

已经报道了以亮氨酸-天冬氨酸-缬氨酸 3 个氨基酸的残基为基础的链状或环状肽性 VLA-4 粘附抑制化合物 (W095/15973)。

- 25 另一方面，已知与 VLA-4 相互作用的另一种粘附分子 VCAM-1 主要在血管内皮细胞上通过 IL-1、TNF- $\alpha$ 、IL-4 等细胞因子刺激增加其表达量，与淋巴细胞、NK 细胞、单核细胞、嗜酸细胞等细胞上存在的 VLA-4 相互作用。VLA-4 和 VCAM-1 参与白细胞由血管向炎症部位浸润的过程，从这种观点来看，炎症反应中 VLA-4 和 VCAM-1 的相互作用非常重要。

30 VCAM-1 属于粘附分子中免疫球蛋白超家族，已知 7-Ig-like-domain VCAM-1 和 6-Ig-like-domain VCAM-1。VCAM-1 上与

- VLA-4 结合的部位存在于区域 1 和区域 4。特别是这些区域中, VCAM-1 的突变结果表明 CD 环上的氨基酸序列即谷氨酸-异亮氨酸-天冬氨酸-丝氨酸-脯氨酸对于与 VLA-4 的结合很重要(例如 J. Cell Biol., 124, 601 (1994))。另外, J. H. WANG 等报道了以谷氨酸-异亮氨酸-天冬氨酸-丝氨酸-脯氨酸为基本肽并且具有 VLA-4 粘附抑制活性的环状肽 Cys\*GlnIleAspSerProCys\* (Cys\*Cys\*表示二硫键) (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 5714 (1995))。也报道了多种显示 VLA-4 抑制活性的低分子化合物(例如, US577053、US5821231、W099/6436)。
- 10 使用抗 VLA-4 抗体的动物模型, 即接触性过敏、迟发性过敏模型(小鼠、大鼠)、试验性自身免疫性脑脊髓炎模型(小鼠、大鼠)、肾病性肾炎(大鼠)、被动皮肤过敏模型(豚鼠)、免疫复合物诱发肺伤害模型(大鼠)、自然发病大肠炎模型(猴)、哮喘模型(羊)、佐剂关节炎模型等的结果表明, VLA-4 在炎症反应中发挥重要的作用。
- 15 用。

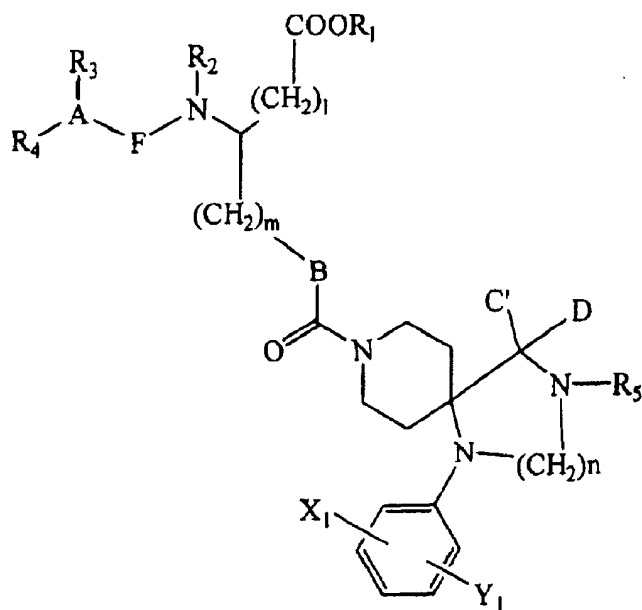
#### 发明公开

- 已经明确过敏性炎症和慢性关节风湿病发展的原因是白细胞反复在炎症部位过剩蓄积。但是, 以前治疗这些疾病时, 一直使用具有抑制化学传递物质作用、或者抑制化学传递物质产生的作用、抑制活性氧产生的作用的药物等。另外, 也使用甾类药物等抑制白细胞活化的药物。这些药物由于其主要作用不是抑制白细胞向炎症部位蓄积的过程, 因此不能抑制炎症的发展。对此, 由于粘附分子 VLA-4 和 VCAM-1 主要参与白细胞向炎症部位蓄积的过程, 因此认为具有抑制 VLA-4 和 VCAM-1 粘附的活性的新型化合物能够抑制白细胞向炎症部位蓄积, 很可能成为上述疾病的有效治疗药。
- 20 25

本发明的目的在于发现抑制由粘附分子, 特别是粘附分子 VLA-4 介导的细胞浸润的物质, 使单核细胞、淋巴细胞、嗜酸细胞等白细胞浸润引起的炎症性疾病的预防和治疗成为可能。

- 本发明人进行了悉心研究, 结果发现特定的螺环衍生物或其可药用盐具有抑制由粘附分子, 特别是粘附分子 VLA-4 介导的细胞粘附的活性, 从而完成了本发明。
- 30

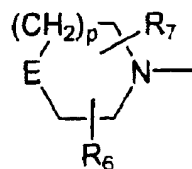
也就是说, 本发明提供式 I 表示的螺环衍生物或其可药用盐;



I

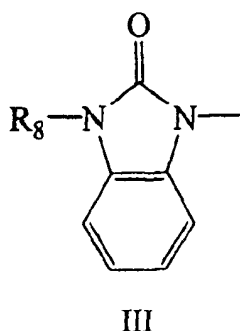
〔式中， $l$  和  $m$  分别独立地表示  $0 \sim 2$  的整数， $n$  表示  $1 \sim 3$  的整数， $A$  表示氧原子、 $-\text{CH}-$ 、 $\text{SP}^2$  碳原子或氮原子（其中， $A$  为氧原子时， $R_3$  不存在）， $B$  表示  $-\text{CH}-$  或  $-\text{NH}-$ ， $C'$ 、 $D$  均表示氢原子，或者  $C'$  和  $D$  连成一体表示羰基， $X_1$  和  $Y_1$  独立地表示氢、卤素、碳原子数  $1 \sim 8$  的烷基、碳原子数  $1 \sim 8$  的烷氧基、氰基、硝基、羟基、氨基或四唑基， $R_1$  和  $R_2$  分别独立地表示氢或碳原子数  $1 \sim 6$  的直链烷基， $R_3$  和  $R_4$  独立地表示氢、碳原子数  $1 \sim 6$  的直链烷基、碳原子数  $3 \sim 8$  的支链烷基、或者被  $0 \sim 2$  个卤素、碳原子数  $1 \sim 8$  的烷基、碳原子数  $1 \sim 8$  的烷氧基、氰基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基或苯甲基， $F$  表示  $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(O)-$ ， $A$  为氮原子时， $R_3$ 、 $A$  和  $R_4$  连成一体表示下述基团：

(i) 式 II

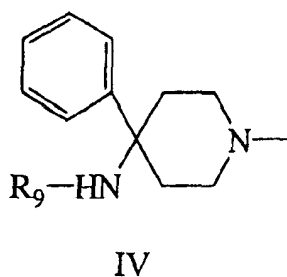


II

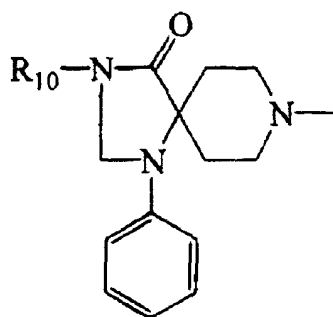
- (式中,  $p$  表示 0~4 的整数,  $E$  表示碳原子或氮原子,  $R_6$  和  $R_7$  独立地表示氢、碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷基、碳原子数 1~6 的直链烷基酰基、碳原子数 3~8 的支链烷基酰基、吡咯烷基、哌啶烷基、或者被 0~2 个卤素、碳原子数 1~8 的烷基、碳原子数 1~8 的烷氧基、氰基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基、苯基磺酰基、苯甲酰基、苯甲基、吲哚基或  $N$ -苯基酰胺基、或者式 III 表示的基团,



- (式中,  $R_8$  表示氢、碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷基、或者被 0~2 个卤素、碳原子数 1~8 的烷基、碳原子数 1~8 的烷氧基、氰基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基或苯甲基))  
(ii) 式 IV



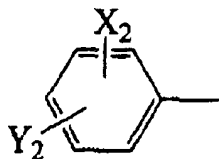
- (式中,  $R_9$  表示碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷基、碳原子数 1~6 的直链烷基酰基、碳原子数 3~8 的支链烷基酰基、碳原子数 5~7 的环烷基酰基、碳原子数 1~6 的直链烷基磺酰基、碳原子数 3~8 的支链烷基磺酰基、或者被 0~2 个卤素、碳原子数 1~8 的烷基、碳原子数 1~8 的烷氧基、氰基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯甲酰基、苯基磺酰基或苯甲基)  
(iii) 式 V



V

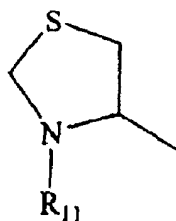
(式中,  $R_{10}$  表示氢、碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷基、碳原子数 6~10 的烷基环烷基、或者被 0~2 个卤素、碳原子数 1~8 的烷基、碳原子数 1~8 的烷氧基、氰基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基或苯甲基)

A 为  $-\text{CH}-$ 、 $\text{SP}^2$  碳原子时,  $R_3$ 、A 和  $R_4$  连成一体, 表示金刚烷基、式 VI 或者式 VII,



VI

(式中,  $X_2$ 、 $Y_2$  分别与  $X_1$ 、 $Y_1$  的定义相同。)



VII

(式中,  $R_{11}$  与  $R_9$  的定义相同。)

$R_5$  表示氢、碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷

基、烯丙基、高烯丙基（ホモアリル）、碳原子数 6~10 的烷基环烷基、或者被 0~2 个卤素、碳原子数 1~8 的烷基、碳原子数 1~8 的烷氧基、氰基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基、苯甲基、苯乙基、苯乙烯基或萘甲基。]

- 5 另外，本发明还提供含有上述本发明的螺环衍生物或其可药用盐作为有效成分的粘附分子抑制剂。而且，本发明还提供上述本发明的螺环衍生物或其可药用盐的医药用途，特别是炎症性疾病治疗剂。而且，本发明还提供粘附分子的抑制方法，包括将上述本发明的螺环衍生物或其可药用盐的有效量给予患者。而且，本发明还提供上述本发
- 10 明的螺环衍生物或其可药用盐在制备药物中的用途。而且，本发明还提供上述本发明的螺环衍生物或其可药用盐在制备粘附分子抑制剂中的用途。

按照本发明，提供一种抑制由粘附分子，特别是粘附分子 VLA-4 介导的细胞浸润的新型物质，从而使单核细胞、淋巴细胞、嗜酸细胞

15 等白细胞浸润引起的炎症性疾病的预防和治疗成为可能。

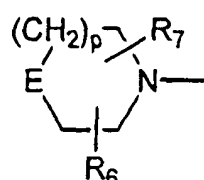
#### 发明的最佳实施方式

- 如上所述，本发明的螺环衍生物由上述式 I 表示。式 I 中，1 表示 0~2 的整数，m 表示 0~2 的整数，n 表示 1~3 的整数，A 表示氧原子、-CH-、 $SP^2$  碳原子或氮原子（其中，A 为氧原子时， $R_1$  不存在），B 表
- 20 示 -CH- 或 -NH-， $C'$ 、D 均为氢原子，或者  $C'$  和 D 连成一体表示羰基， $X_1$  和  $Y_1$  独立地表示氢、卤素、甲基、乙基、正丙基、异丙基等碳原子数 1~8 的烷基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基等碳原子数 1~8 的烷氧基、氰基、硝基、羟基、氨基或四唑基， $R_1$  和  $R_2$  表示氢、或者甲
- 25 基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基或正己基这些碳原子数 1~6 的直链烷基， $R_3$  和  $R_4$  独立地表示氢、甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基或正己基这些碳原子数 1~6 的直链烷基、1-甲基乙基、1-甲基丙基、2-甲基丙基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、1-甲
- 30 基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、1-甲基己基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、3,5-二甲
- 基己基、3,6-二甲基己基、4,5-二甲基己基等碳原子数 3~8 的支链烷基、或者苯基、2-氰基苯基、2-羟基苯基、2-氯苯基、2-硝基苯

基、2-氨基苯基、2-溴苯基、2-氟苯基、2-四唑基苯基、2,6-二羟基苯基、2,6-二甲氧基苯基、2,6-二氯苯基、2,6-二硝基苯基、2,6-二甲基苯基、苯甲基、2-氟基苯甲基、2-羟基苯甲基、2-氯苯甲基、2-硝基苯甲基、2-氨基苯甲基、2-溴苯甲基、2-氟苯甲基、2-四唑基苯甲基、2,6-二羟基苯甲基、2,6-二甲氧基苯甲基、2,6-二氯苯甲基、2,6-二硝基苯甲基、2,6-二甲基苯甲基等被0~2个卤素、碳原子数1~8的烷基、碳原子数1~8的烷氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基或苯甲基, F表示 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ ,

10 A为氮原子时,  $\text{R}_3$ 、A和 $\text{R}_4$ 连成一体表示下述基团:

(i) 式 II



II

(式中,  $p$ 表示0~4的整数, E表示碳原子或氮原子,  $\text{R}_6$ 和 $\text{R}_7$ 独立地表示氢、甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基或正己基这些碳原子数1~6的直链烷基、1-甲基乙基、1-甲基丙基、2-甲基丙基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、1-甲基己基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、3,5-二甲基己基、3,6-二甲基己基、4,5-二甲基己基等碳原子数3~8的支链烷基、乙酰基、乙氧基、正丙氧基等碳原子数1~6的直链烷氧基、异丙氧基、异丁氧基、异戊氧基、异己氧基等碳原子数3~8的支链烷氧基、吡咯烷羰基、哌啶羰基、苯基、2-氟基苯基、2-羟基苯基、2-氯苯基、2-硝基苯基、2-氨基苯基、2-溴苯基、2-氟苯基、2-四唑基苯基、2,6-二羟基苯基、2,6-二甲氧基苯基、2,6-二氯苯基、2,6-二硝基苯基、2,6-二甲基苯基、苯甲酰基、2-氟基苯甲酰基、2-羟基苯甲酰基、2-氯苯甲酰基、2-硝基苯甲酰基、2-氨基苯甲酰基、2-

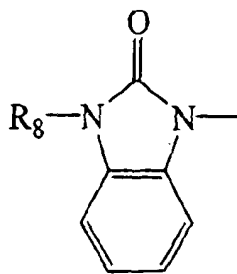
15

20

25

- 溴苯甲酰基、2-氟苯甲酰基、2-四唑基苯甲酰基、2,6-二羟基苯甲酰基、2,6-二甲氧基苯甲酰基、2,6-二氯苯甲酰基、2,6-二硝基苯甲酰基、2,6-二甲基苯甲酰基、苯甲基、2-氟基苯甲基、2-羟基苯甲基、2-氯苯甲基、2-硝基苯甲基、2-氨基苯甲基、2-溴苯甲基、2-氟苯甲基、2-四唑基苯甲基、2,6-二羟基苯甲基、2,6-二甲氧基苯甲基、2,6-二氯苯甲基、2,6-二硝基苯甲基、2,6-二甲基苯甲基、苯基磺酰基、2-氟基苯基磺酰基、2-羟基苯基磺酰基、2-氯苯基磺酰基、2-硝基苯基磺酰基、2-氨基苯基磺酰基、2-溴苯基磺酰基、2-氟苯基磺酰基、2-四唑基苯基磺酰基、2,6-二羟基苯基磺酰基、2,6-二甲氧基苯基磺酰基、2,6-二氯苯基磺酰基、2,6-二硝基苯基磺酰基、2,6-二甲基苯基磺酰基、N-苯基甲酰胺基、N-(2-氟基苯基)甲酰胺基、N-(2-氯基苯基)甲酰胺基、N-(2-羟基苯基)甲酰胺基、N-(2-氨基苯基)甲酰胺基、N-(2-硝基苯基)甲酰胺基、N-(2-氟基苯基)甲酰胺基、N-(2-四唑基苯基)甲酰胺基、N-(2,6-二羟基苯基)甲酰胺基、N-(2,6-二甲氧基苯基)甲酰胺基、N-(2,6-二氯苯基)甲酰胺基、N-(2,6-二硝基苯基)甲酰胺基、N-(2,6-二甲基苯基)甲酰胺基等被0~2个卤素、碳原子数1~8的烷基、碳原子数1~8的烷氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基、苯基磺酰基、苯甲酰基、苯甲基、吲哚基或N-苯基酰胺基、

或者式 III 表示的基团,

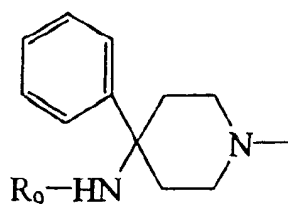


III

- (式中,  $R_8$  表示氢、甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基或正己基这些碳原子数1~6的直链烷基、1-甲基乙基、1-甲基丙基、2-甲

基丙基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、1-甲基己基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、3,5-二甲基己基、3,6-二甲基己基、4,5-二甲基己基等碳原子数 3~8 的支链烷基、  
 5 苯基、2-氟基苯基、2-羟基苯基、2-氯基苯基、2-硝基苯基、2-氨基苯基、2-溴苯基、2-氟苯基、2-四唑基苯基、2,6-二羟基苯基、2,6-二甲氧基苯基、2,6-二氯基苯基、2,6-二硝基苯基、2,6-二甲基苯基、苯甲基、2-氟基苯甲基、2-羟基苯甲基、2-氯基苯甲基、2-硝基苯甲基、2-氨基苯甲基、2-溴苯甲基、2-氟苯甲基、2-四唑基苯甲基、  
 10 2,6-二羟基苯甲基、2,6-二甲氧基苯甲基、2,6-二氯基苯甲基、2,6-二硝基苯甲基、2,6-二甲基苯甲基等被 0~2 个卤素、碳原子数 1~8 的烷基、碳原子数 1~8 的烷氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基或苯甲基))

(ii) 式 IV



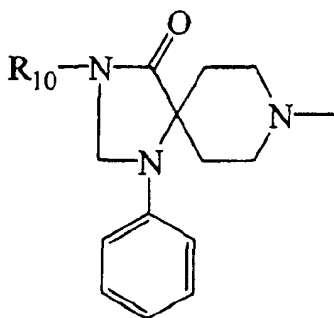
IV

15

(式中,  $R_9$  表示氢、甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基这些碳原子数 1~6 的直链烷基、1-甲基乙基、1-甲基丙基、2-甲基丙基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、1-甲基己基、2-甲基己基、  
 20 3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、3,5-二甲基己基、3,6-二甲基己基、4,5-二甲基己基等碳原子数 3~8 的支链烷基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、戊酰基、己酰基这些碳原子数 1~6 的直链烷酰基、异丙酰基、异丁酰基、新戊酰基、异戊酰基、异己酰基、异庚酰基等碳原子数 3~8 的支链烷酰基、环戊基羰基、环己基羰基等碳原子数 5~7 的环烷基酰基、甲磺酰基、乙磺酰基、正丙磺酰基、  
 25 正丁磺酰基、正戊磺酰基、正己磺酰基这些碳原子数 1~6 的直链烷基

- 磺酰基、异丙磺酰基、异丁磺酰基、叔丁磺酰基、异戊磺酰基、异己磺酰基、异庚磺酰基等碳原子数 3~8 的支链烷基磺酰基、苯甲酰基、2-氟基苯甲酰基、2-羟基苯甲酰基、2-氯苯甲酰基、2-硝基苯甲酰基、2-氨基苯甲酰基、2-溴苯甲酰基、2-氟苯甲酰基、2-四唑基苯甲酰基、2,6-二羟基苯甲酰基、2,6-二甲氧基苯甲酰基、2,6-二氯苯甲酰基、2,6-二硝基苯甲酰基、2,6-二甲基苯甲酰基、苯基磺酰基、2-氟基苯基磺酰基、2-羟基苯基磺酰基、2-氯苯基磺酰基、2-硝基苯基磺酰基、2-氨基苯基磺酰基、2-溴苯基磺酰基、2-氟苯基磺酰基、2-四唑基苯基磺酰基、2,6-二羟基苯基磺酰基、2,6-二甲氧基苯基磺酰基、2,6-二氯苯基磺酰基、2,6-二硝基苯基磺酰基、2,6-二甲基苯基磺酰基、苯甲基、2-氟基苯甲基、2-羟基苯甲基、2-氯苯甲基、2-硝基苯甲基、2-氨基苯甲基、2-溴苯甲基、2-氟苯甲基、2-四唑基苯甲基、2,6-二羟基苯甲基、2,6-二甲氧基苯甲基、2,6-二氯苯甲基、2,6-二硝基苯甲基、2,6-二甲基苯甲基等被 0~2 个卤素、碳原子数 1~8 的烷基、碳原子数 1~8 的烷氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯甲酰基、苯基磺酰基或苯甲基)

(iii) 式 V

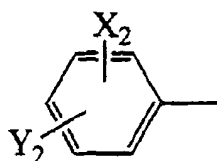


V

- 20 (式中,  $R_{10}$  表示氢、甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基或正己基这些碳原子数 1~6 的直链烷基、1-甲基乙基、1-甲基丙基、2-甲基丙基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、1-甲基己基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、3,5-二甲基己基、

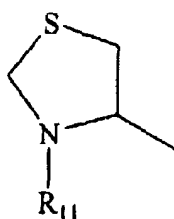
- 3, 6-二甲基己基、4, 5-二甲基己基等碳原子数 3~8 的支链烷基、环戊基甲基、环己基甲基、环庚基甲基等碳原子数 6~10 的烷基环烷基、苯基、2-氟基苯基、2-羟基苯基、2-氯基苯基、2-硝基苯基、2-氨基苯基、2-溴苯基、2-氟苯基、2-四唑基苯基、2, 6-二羟基苯基、2, 6-二甲氧基苯基、2, 6-二氯基苯基、2, 6-二硝基苯基、2, 6-二甲基苯基、苯甲基、2-氟基苯甲基、2-羟基苯甲基、2-氯基苯甲基、2-硝基苯甲基、2-氨基苯甲基、2-溴苯甲基、2-氟苯甲基、2-四唑基苯甲基、2, 6-二羟基苯甲基、2, 6-二甲氧基苯甲基、2, 6-二氯基苯甲基、2, 6-二硝基苯甲基、2, 6-二甲基苯甲基等被 0~2 个卤素、碳原子数 1~8 的烷基、碳原子数 1~8 的烷氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基或苯甲基)

A 为  $-\text{CH}-$  或  $\text{SP}^2$  碳原子时,  $\text{R}_3$ 、A 和  $\text{R}_4$  连成一体, 表示金刚烷基、式 VI 或者式 VII,



VI

(式中,  $\text{X}_2$ 、 $\text{Y}_2$  分别与  $\text{X}_1$ 、 $\text{Y}_1$  的定义相同。)



VII

(式中,  $\text{R}_{11}$  与  $\text{R}_9$  的定义相同。)

- $\text{R}_5$  表示氢、甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基这些碳原子数 1~6 的直链烷基、1-甲基乙基、1-甲基丙基、2-甲基丙基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、1-甲基戊基、2-甲

- 基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、1-甲基己基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、3,5-二甲基己基、3,6-二甲基己基、4,5-二甲基己基等碳原子数3~8的支链烷基、烯丙基、高烯丙基、环戊基甲基、环己基甲基、环庚基甲基等碳原子数6~10的烷基环烷基、苯基、2-氟基苯基、2-羟基苯基、2-氯苯基、2-硝基苯基、2-氨基苯基、2-溴苯基、2-氟苯基、2-四唑基苯基、2,6-二羟基苯基、2,6-二甲氧基苯基、2,6-二氯苯基、2,6-二硝基苯基、2,6-二甲基苯基、苯甲基、2-氟基苯甲基、2-羟基苯甲基、2-氯苯甲基、2-硝基苯甲基、2-氨基苯甲基、2-溴苯甲基、2-氟苯甲基、2-四唑基苯甲基、2,6-二羟基苯甲基、2,6-二甲氧基苯甲基、2,6-二氯苯甲基、2,6-二硝基苯甲基、2,6-二甲基苯甲基、苯乙基、2-氟基苯乙基、2-羟基苯乙基、2-氯苯乙基、2-硝基苯乙基、2-氨基苯乙基、2-溴苯乙基、2-氟苯乙基、2-四唑基苯乙基、2,6-二羟基苯乙基、2,6-二甲氧基苯乙基、2,6-二氯苯乙基、2,6-二硝基苯乙基、2,6-二甲基苯乙基、苯乙烯基、2-氟基苯乙烯基、2-羟基苯乙烯基、2-氯苯乙烯基、2-硝基苯乙烯基、2-氨基苯乙烯基、2-溴苯乙烯基、2-氟苯乙烯基、2-四唑基苯乙烯基、2,6-二羟基苯乙烯基、2,6-二甲氧基苯乙烯基、2,6-二氯苯乙烯基、2,6-二硝基苯乙烯基、2,6-二甲基苯乙烯基萘基、2-氟基萘基、2-羟基萘基、2-氯萘基、2-硝基萘基、2-氨基萘基、2-溴萘基、2-氟萘基、2-四唑基萘基、2,8-二羟基萘基、2,8-二甲氧基萘基、2,8-二氯萘基、2,8-二硝基萘基、2,8-二甲基萘基等被0~2个卤素、碳原子数1~8的烷基、碳原子数1~8的烷氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基、苯甲基、苯乙基、苯乙烯基或萘基。

另外，上述式I表示的化合物中，优选F为 $-C(O)-$ ，A表示 $-CH-$ 、 $sp^2$ 碳原子或氮原子，B表示 $-CH-$ 或 $-NH-$ ，C'、D均为氢原子，或者C'和D连成一体表示羰基， $X_1$ 和 $Y_1$ 独立地表示氢、卤素、甲基、甲氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基， $R_1$ 和 $R_2$ 分别独立地表示氢或碳原子数1~6的直链烷基， $R_3$ 和 $R_4$ 独立地表示氢、碳原子数1~6的直链烷基、碳原子数3~8的支链烷基、或者被0~2个卤素、甲基、甲氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基或苯甲基，

A 为氮原子时,  $R_3$ 、A 和  $R_4$  连成一体表示下述基团:

(i) 上述式 II (式中,  $p$  表示 0~4 的整数, E 表示碳原子或氮原子,  $R_6$  和  $R_7$  独立地表示氢、碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷基、碳原子数 1~6 的直链烷酰基、碳原子数 3~8 的支链烷酰基、吡咯烷羰基、哌啶羰基、或者被 0~2 个卤素、甲基、甲氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基、苯基磺酰基、苯甲酰基、苯甲基、吡啶基或 N-苯基酰胺基、

或者上述式 III (式中,  $R_8$  表示氢、碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷基、或者被 0~2 个卤素、甲基、甲氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基或苯甲基)

(ii) 上述式 IV (式中,  $R_9$  表示碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷基、碳原子数 1~6 的直链烷酰基、碳原子数 3~8 的支链烷酰基、或者被 0~2 个卤素、甲基、甲氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯甲酰基、苯基磺酰基或苯甲基)

(iii) 上述式 V (式中,  $R_{10}$  表示氢、碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷基、碳原子数 6~10 的烷基环烷基、或者被 0~2 个卤素、甲基、甲氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基或苯甲基)

A 为  $-\text{CH}-$  或  $\text{SP}^2$  碳原子时,  $R_3$ 、A 和  $R_4$  连成一体, 表示金刚烷基、或上述式 VI (式中,  $X_2$ 、 $Y_2$  与上述定义相同),

$R_5$  表示氢、碳原子数 1~6 的直链烷基、碳原子数 3~8 的支链烷基、烯丙基、高烯丙基、碳原子数 6~10 的烷基环烷基、或者被 0~2 个卤素、甲基、甲氧基、氟基、硝基、羟基、氨基或四唑基取代的苯基、苯甲基、苯乙基、苯乙烯基或萘甲基的化合物。

作为本发明的化合物的具体实例, 可以例举:

3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)-2-((2, 6-二甲氧基苯基)羰基氨基)丙酸、

3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)-2-((2, 6-二甲基苯基)羰基氨基)丙酸、

3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)-2-((2, 6-二氟苯基)羰基氨基)丙酸、

3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)

- 羰基氨基) - 2 - ((2, 6-二氟苯基)羰基氨基)丙酸、  
3 - ((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)  
羰基氨基) - 2 - ((2-溴-6-甲基苯基)羰基氨基)丙酸、  
3 - ((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)  
5 羰基氨基) - 2 - ((2-甲基-5-硝基苯基)羰基氨基)丙酸、  
2 - ((2, 6-二氟苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-2-  
-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
2 - ((2, 6-二甲基苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-  
2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
10 2 - ((2, 6-二甲氧基苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-  
-2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
2 - ((2, 6-二氟苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-2-  
-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
2 - ((2-溴-6-甲基苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-  
15 -2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
2 - ((2-甲基-5-硝基苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-  
杂-2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙  
酸、  
2 - ((2, 6-二氟苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-2-  
20 -乙基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
2 - ((2, 6-二甲基苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-  
2-乙基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
2 - ((2, 6-二甲氧基苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-  
-2-乙基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
25 2 - ((2, 6-二氟苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-2-  
-乙基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
2 - ((2-溴-6-甲基苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-  
-2-乙基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、  
2 - ((2-甲基-5-硝基苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-  
30 杂-2-乙基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙  
酸、  
2 - ((2, 6-二氟苯基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8-三氮杂-1-

- 氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基) 丙酸、  
2-( (2, 6-二甲基苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂-  
1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基) 丙酸、  
2-( (2, 6-二甲氧基苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂-  
5 -1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基) 丙酸、  
2-( (2, 6-二氟苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂-1  
-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基) 丙酸、  
2-( (2-溴-6-甲基苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂  
-1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基) 丙酸、  
10 2-( (2-甲基-5-硝基苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮  
杂-1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基) 丙  
酸、  
2-( (2, 6-二甲氧基苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂  
-2-(甲基乙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨  
15 基) 丙酸、  
2-( (2, 6-二甲基苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂-  
2-(甲基乙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基)  
丙酸、  
2-( (2, 6-二氯苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂-2  
20 - (甲基乙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基)  
丙酸、  
2-( (2, 6-二氟苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂-2  
- (甲基乙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基)  
丙酸、  
25 2-( (2-溴-6-甲基苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂  
-2-(甲基乙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨  
基) 丙酸、  
2-( (2-甲基-5-硝基苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮  
杂-2-(甲基乙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基) 羰基  
30 氨基) 丙酸、  
2-( (2, 6-二甲氧基苯基) 羰基氨基) -3-( (2, 4, 8-三氮杂  
-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基) 羰

基氨基)丙酸、

2-((2,6-二甲基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

5 2-((2,6-二氟苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((2-甲基-5-硝基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)

10 羰基氨基)丙酸、

2-((2-溴-6-甲基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

15 2-((2,6-二氟苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((2,6-二甲氧基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

20 2-((2,6-二甲基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((2,6-二氟苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

25 2-((2,6-二氟苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((2-溴-6-甲基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

30 2-((2-甲基-5-硝基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((2,6-二甲氧基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂

- 2-( (2,6-二甲基苯基)甲基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 2-( (2,6-二甲基苯基)羰基氨基)-3-( (2,4,8-三氮杂-2-( (2,6-二甲基苯基)甲基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 5 2-( (2,6-二氯苯基)羰基氨基)-3-( (2,4,8-三氮杂-2-( (2,6-二甲基苯基)甲基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 2,3-二( (2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 10 2,3-二( (2,4,8-三氮杂-2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 2,3-二( (2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 15 2,3-二( (2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 2,3-二( (2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 2,3-二( (2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基乙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 20 3-( (2,4,8-三氮杂-2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)-2-( (2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 3-( (2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)-2-( (2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 25 3-( (2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基乙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)-2-( (2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、
- 30 3-( (2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)-2-( (2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

- 2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3  
- ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3  
5 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3  
- ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - 甲基 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 10 2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3  
- ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - 乙基 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3  
- ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 15 2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3  
- ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - ( (4 - (乙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 20 2 - ( (4 - (乙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - 甲基 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - ( (4 - (乙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - 乙基 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 25 2 - ( (4 - (乙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 30 2 - ( (4 - (乙酰基氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基)

羰基氨基)丙酸、

2-((4-苯基-4-(丙酰基氨基)哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

5 2-((4-苯基-4-(丙酰基氨基)哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((4-苯基-4-(丙酰基氨基)哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-乙基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

10 2-((4-苯基-4-(丙酰基氨基)哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((4-苯基-4-(丙酰基氨基)哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

20 2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

25 2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-乙基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

30 2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羰基氨基)

- 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - (金刚烷 - 2 - 基羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 5 2 - (金刚烷 - 2 - 基羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - (金刚烷 - 2 - 基羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - (金刚烷 - 2 - 基羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - 甲基 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 10 2 - (金刚烷 - 2 - 基羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - 乙基 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - (金刚烷 - 2 - 基羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 15 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 氨基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - ( (2, 6 - 二甲基苯基) 氨基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 20 2 - ( (2, 6 - 二甲氧基苯基) 氨基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 氨基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 25 2 - ( (2, 6 - 二甲基苯基) 氨基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 2 - ( (2, 6 - 二甲氧基苯基) 氨基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸、
- 30 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 氨基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基)

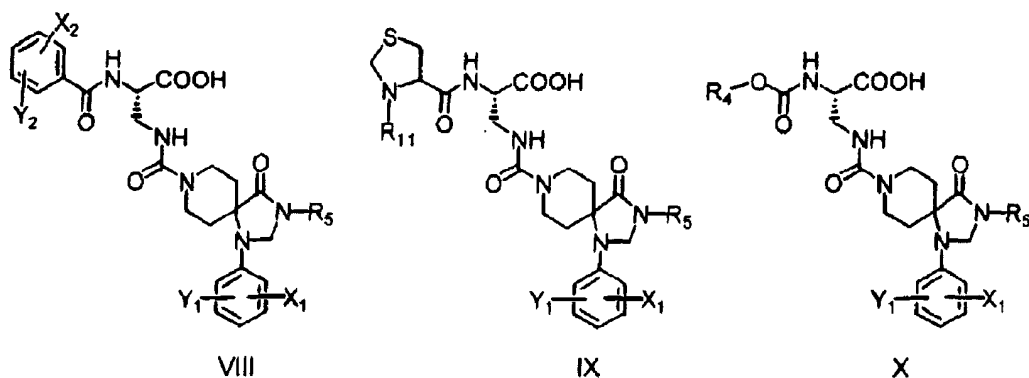
羰基氨基)丙酸、

2-((2,6-二甲基苯基)氨基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸、

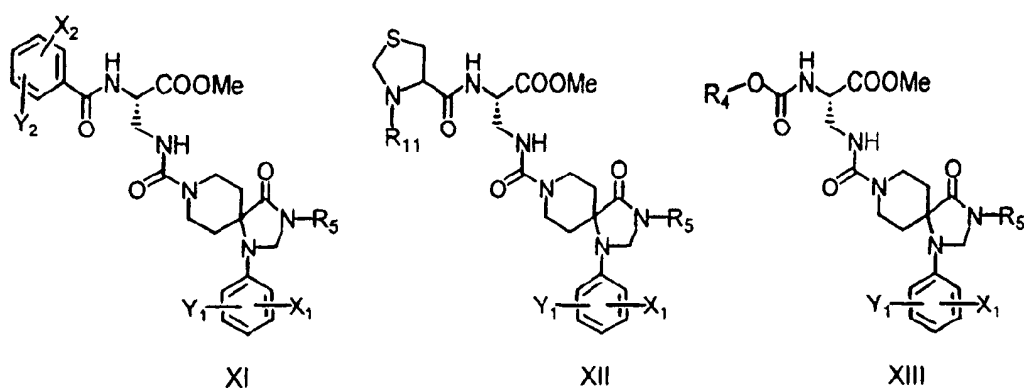
- 5 2-((2,6-二甲氧基苯基)氨基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸等。

以下说明式 I 表示的化合物(以下有时将“式 I 表示的化合物”简单表示为“式 I”)的制备方法,但是各化合物的制备方法并不限于这些方法。另外,对于各种制备方法,反应条件可以由以下记载的条件中适当选择。

- 式 I 表示的化合物中,  $l=1$ ,  $m=1$ ,  $n=1$ , A 表示  $-\text{CH}-$ 、 $\text{SP}^2$  碳原子, B 表示  $-\text{NH}-$ , C' 和 D 连成一体表示羰基, F 表示  $-\text{C}(\text{O})-$ ,  $\text{R}_1$ 、 $\text{R}_2$  表示氢原子,  $\text{R}_3$ 、A 和  $\text{R}_4$  连成一体表示式 VI 所示基团的式 VIII;  $\text{R}_3$ 、A 和  $\text{R}_4$  连成一体表示式 VII 所示基团的式 IX; 或者 A 表示氧原子的式 X 可以通过将式 XI、XII、XIII 在甲醇等醇性溶剂中,用氢氧化钠水溶液、氢氧化钡水溶液等碱水解制备。



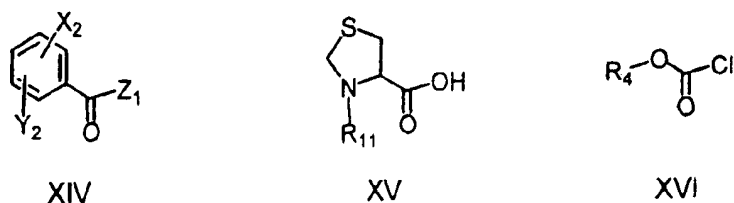
- 20 (式中,  $\text{X}_1$ 、 $\text{X}_2$ 、 $\text{Y}_1$ 、 $\text{Y}_2$ 、 $\text{R}_4$ 、 $\text{R}_5$ 、 $\text{R}_{11}$  与上述定义相同。)



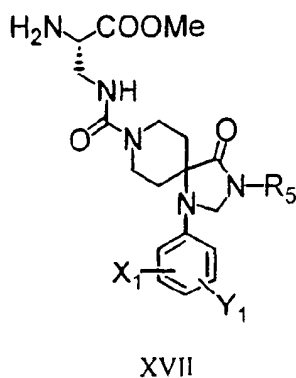
(式中,  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $Y_1$ 、 $Y_2$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_{11}$ 与上述定义相同。)

利用氢氧化钠水溶液、氢氧化钡水溶液等碱的水解没有特别的限定, 通常可以通过在  $0^{\circ}\text{C}$  ~ 室温的温度下反应 1 小时 ~ 24 小时进行, 其添加量没有特别的限定, 通常相对于式 XI、XII、XIII 为 1 当量 ~ 4 当量左右。

式 XI、XII、XIII 可以由式 XIV、XV、XVI 与式 XVII 制备。



(式中,  $X_2$ 、 $Y_2$ 、 $R_4$ 、 $R_{11}$ 与上述定义相同,  $Z_1$ 表示氯、溴或羟基。)



10

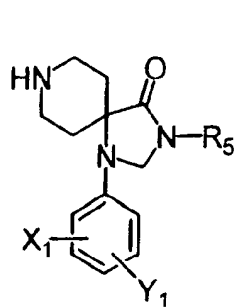
(式中,  $X_1$ 、 $Y_1$ 、 $R_5$ 与上述定义相同。)

式 XIV 中  $Z_1$  为氯、溴的场合, 或者式 XVI 的场合, 可以通过使式 XIV 或式 XVI 以及式 XVII 在四氢呋喃、二甲基甲酰胺、氯仿、二氯甲

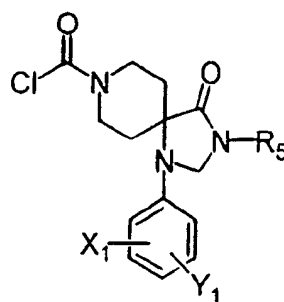
烷、1,4-二氧六环等溶剂中,在三乙胺或二异丙基胺等叔胺存在下反应进行制备。式 XIV、XVI 和式 XVII 的反应没有特别的限定,通常可以通过在 0℃~室温左右的温度下反应 1 小时~24 小时左右制备。式 XIV、XVI 和式 XVII 的混合比例(摩尔比,以下只要没有特别的说明均指摩尔比)没有特别的限定,通常为 1:1~2:1 左右,另外叔胺的添加量没有特别的限定,相对于式 XIV、XVI 通常为 1 当量~4 当量左右。

式 XIV 中 Z<sub>1</sub> 为羟基的场合,或者式 XV 的场合,在四氢呋喃、二甲基甲酰胺、氯仿、二氯甲烷等溶剂中,在三乙胺、二异丙基胺、N-甲基吗啉等叔胺存在下,通常使用二环己基碳二亚胺(DCC)、苯并三唑-1-基氧三(二环戊基氨基)磷六氟磷酸盐(リン化合物盐)(PyBOP)、苯并三唑-1-基氧三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐(BOP)、二苯基磷酰基偶氮化物(DPPA)、1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]碳二亚胺(WSC)等缩合剂。这些缩合剂的添加量没有特别的限定,通常相对于式 XIV、XV 为 1 当量~3 当量左右。另外,添加 1-羟基苯并三唑(HOBT)等添加剂有利于反应的进行。

式 XI、XII、XIII 也可以通过将式 XVIII 在二氯甲烷或氯仿等溶剂中,在三乙胺或二异丙基胺等叔胺存在下,通常用 0.5 当量~2 当量的双光气、三光气、1,1-羰基二咪唑等处理后,使之与式 XX、XXI、XXII 反应进行制备。式 XVIII 与式 XX、XXI、XXII 的混合比例没有特别的限定,通常为 1:1~2:1 左右,通常可以在 0℃~室温左右的温度下反应 1 小时~24 小时进行。叔胺的添加量没有特别的限定,通常相对于双光气、三光气、1,1-羰基二咪唑为 1 当量~4 当量左右。另外,也可以通过在二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二甲氧基乙烷等溶剂中,在 0℃~室温左右的温度下使式 XX、XXI、XXII 和式 XIX 反应 1 小时~24 小时左右实现。式 XX、XXI、XXII 和式 XIX 的混合比例没有特别的限定,通常为 1:1~1:3 左右。

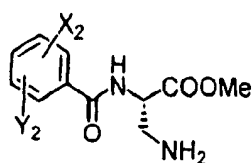


XVIII

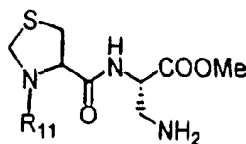


XIX

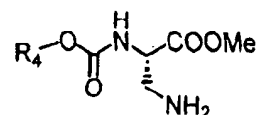
(式中,  $X_1$ 、 $Y_1$ 、 $R_5$ 与上述定义相同。)



XX



XXI

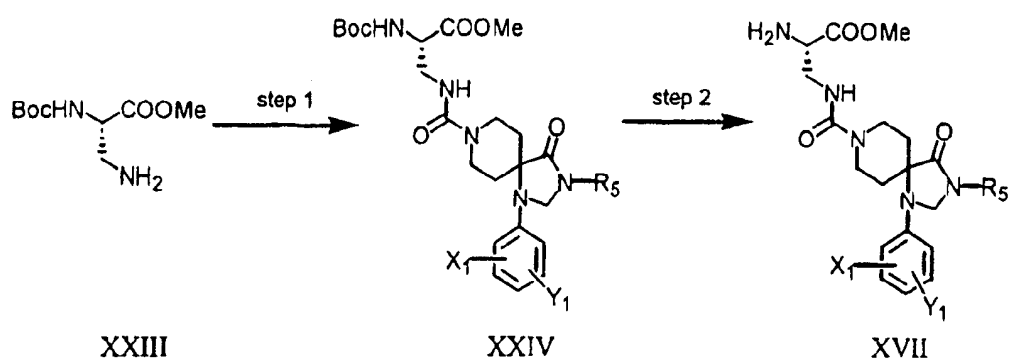


XXII

作为其它方法, 有下述方法: 在乙腈、二氯甲烷、二甲氧基乙烷等溶剂中, 在碳酸氢钠或三苯甲基胺等碱存在下, 使式 XX、XXI、XXII 和氯甲酸对硝基苯酯或氯甲酸苯酯反应后 (步骤 1), 在乙腈、二氯甲烷、二甲氧基乙烷等溶剂中, 在三乙胺或二异丙基胺等叔胺存在下, 与式 XVIII 反应 (步骤 2)。在该方法中, 用于反应的碳酸氢钠或三苯甲基胺等碱没有特别的限定, 通常相对于氯甲酸对硝基苯酯或氯甲酸苯酯为 1 当量 ~ 4 当量左右。叔胺的添加量没有特别的限定, 通常相对于式 XVIII 为 1 当量 ~ 4 当量左右。

步骤 1 中式 XX、XXI、XXII 和氯甲酸对硝基苯酯或氯甲酸苯酯的反应温度没有特别的限定, 通常为 0℃ ~ 室温左右, 关于步骤 2 的反应温度, 在氯甲酸对硝基苯酯的场合, 通常为 0℃ ~ 50℃ 左右, 在氯甲酸苯酯的场合, 为室温 ~ 加热回流温度左右。

式 XVII 可以按照下述步骤进行制备 (另外, 本说明书中, 在化学式中将“步骤”记作“step”)。

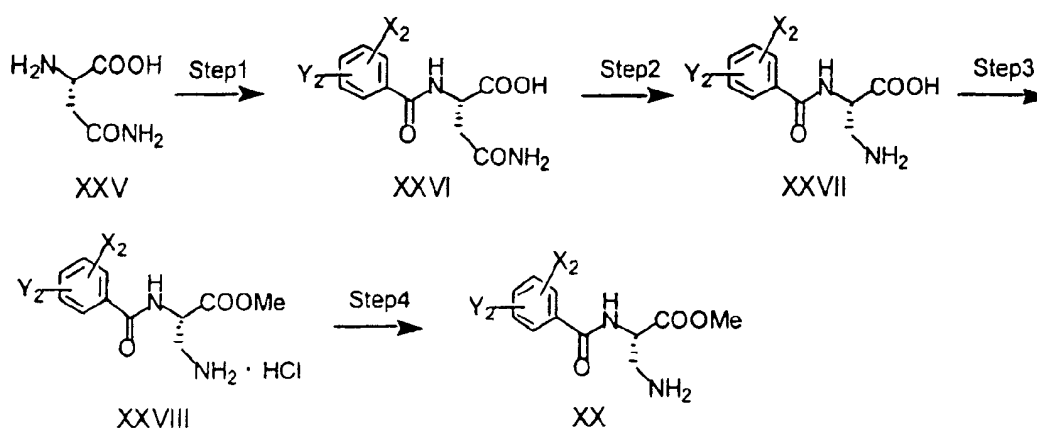


(式中,  $X_1$ 、 $Y_1$ 、 $R_5$ 与上述定义相同。)

步骤1可以与式 XVIII、XIX 和式 XX、XXI、XXII 的反应同样实施。

步骤2是除去氮上的叔丁氧基羰基(简记为Boc)的步骤。通常可以  
5 以通过在作为反应溶剂的氯仿或二氯甲烷等卤素系溶剂中,使用三氟乙酸、盐酸、氢溴酸等实现。另外,单独使用三氟乙酸也可以实施。反应温度没有特别的限定,通常选择  $0^{\circ}\text{C}$  ~ 室温。反应时间根据反应温度等适当选择,通常为 1 ~ 24 小时左右。

式 XX 可以通过以市售的天冬氨酸 XXV 作为原料按照下述步骤进行  
10 制备。



(式中,  $X_2$ 、 $Y_2$ 与上述定义相同。)

步骤1可以使用式 XXV 和式 XIV, 与式 XIV 和 XVII 的反应同样实施。另外,式 XIV 的  $Z_1$  为氯或溴基的场合,作为碱也可以使用氢氧化  
15 钠水溶液或氢氧化钾水溶液等。

步骤2可以通过在氢氧化钠水溶液、氢氧化钾水溶液等碱性溶剂中,使式 XXVI 和溴反应实施,反应时间没有特别的限定,通常反应 1

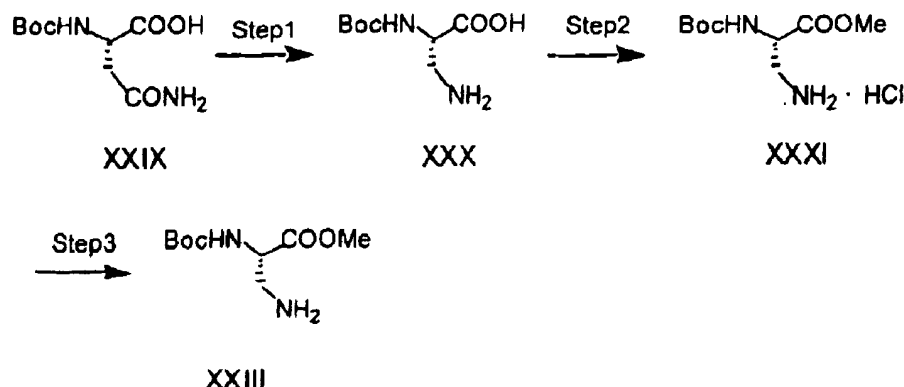
小时~8小时左右。反应温度没有特别的限定,通常为室温~100℃左右,溴的添加量相对于式 XXVI 通常采用过剩量。另外,也可以按照 J. Org. Chem., 62, 6918 (1997)、J. Org. Chem., 49, 4272 (1984) 记载的方法实施。

- 5 步骤3可以通过在甲醇等溶剂中,在0℃~室温左右的温度下,使用亚硫酸氯实施。反应时间没有特别的限定,通常为1小时~8小时左右。式 XXVII 与亚硫酸氯的混合比没有特别的限定,通常为1:1~1:10左右。另外,也可以通过在甲醇等溶剂中,在0℃~室温左右的温度下,用重氮甲烷或三甲基甲硅烷基重氮甲烷处理实施,重氮甲烷和三甲基甲硅烷基重氮甲烷的用量没有特别的限定,通常为过剩量。
- 10

步骤4可以通过在氯仿、二氯甲烷等溶剂中,在0℃~室温左右的温度下,使用相对于式 XXVIII 过剩量的氢氧化钠水溶液、氢氧化钾水溶液、碳酸钾水溶液实施。

式 XXIII 可以使用市售的式 XXIX 按照下述步骤进行制备。

15



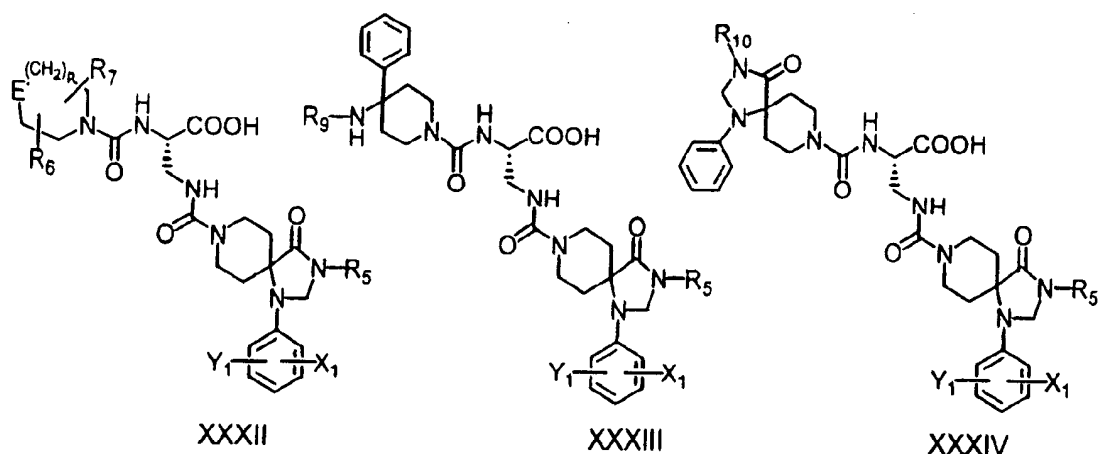
步骤1可以与式 XX 的制备步骤中的 step2 同样实施。

步骤2可以与式 XX 的制备步骤中的 step3 同样实施。

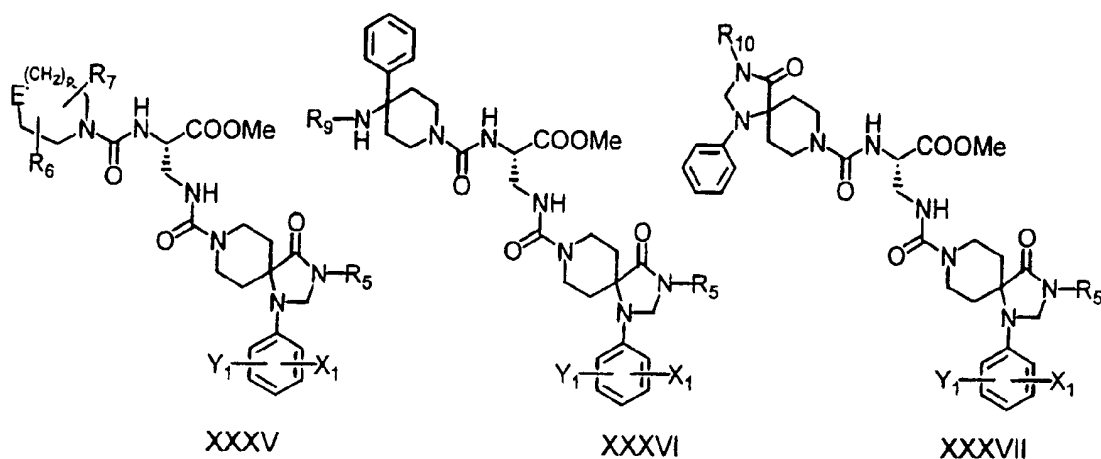
步骤3可以与式 XX 的制备步骤中的 step4 同样实施。

- 20 式 I 表示的化合物中,  $l=0$ ,  $m=1$ ,  $n=1$ ,  $R_1$ 、 $R_2$  均表示氢原子, A 表示氮原子, B 表示 -NH-, C' 和 D 连成一体表示羰基, F 表示 -C(O)-,  $R_3$ 、A 和  $R_4$  连成一体表示式 II、IV、V 所示基团的式 XXXII、XXXIII、XXXIV 可以通过将式 XXXV、XXXVI、XXXVII 在甲醇等醇性溶剂中,用氢氧化钠水溶液、氢氧化钡水溶液等碱水解进行制备。

25



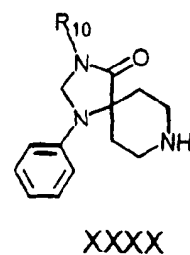
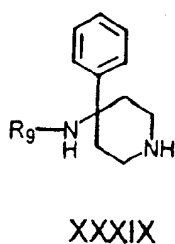
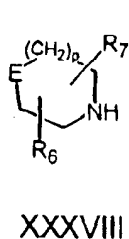
(式中,  $X_1$ 、 $Y_1$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R_9$ 、 $R_{10}$ 与上述定义相同。)



(式中,  $X_1$ 、 $Y_1$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R_9$ 、 $R_{10}$ 与上述定义相同。)

- 5 利用氢氧化钠水溶液、氢氧化钡水溶液等碱的水解没有特别的限定,通常可以通过在  $0^{\circ}\text{C}$  ~ 室温左右的温度下反应 1 小时 ~ 24 小时左右进行,其添加量没有特别的限定,通常相对于式 XXXV、XXXVI、XXXVII 为 1 当量 ~ 4 当量左右。

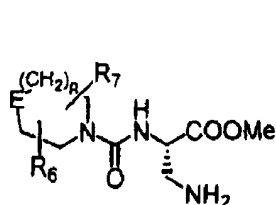
式 XXXV、XXXVI、XXXII 可以通过使用式 XXXVIII、XXXIX、XXXX  
10 和式 XVII 按照与式 XVII 制备步骤中的步骤 1 同样的方法进行制备。



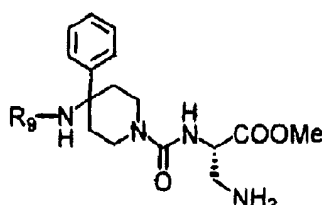
(式中,  $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R_9$ 、 $R_{10}$ 与上述定义相同。)

另外, 式 XXXV、XXXI、XXXVII 可以通过使式 XXXXI、XXXXII、XXXXIII 和式 XVIII 或者式 XIX 反应进行制备。制备方法可以与式 XVII 制备步骤中的步骤 1 同样实施。

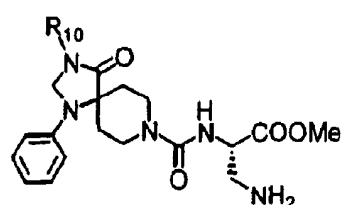
5



XXXXI



XXXXII

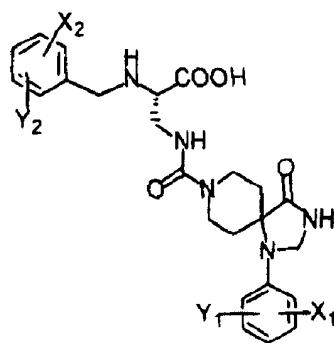


XXXXIII

(式中,  $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R_9$ 、 $R_{10}$ 与上述定义相同。)

式 I 表示的化合物中,  $l = 0$ ,  $m = 1$ ,  $n = 1$ , A 表示  $-\text{CH}-$ 、 $\text{SP}^2$  碳原子, B 表示  $-\text{NH}-$ , C' 和 D 连成一体表示羰基, F 表示  $-\text{CH}_2-$ ,  $R_1$ 、 $R_2$  表示氢原子,  $R_3$ 、A 和  $R_4$  连成一体表示式 VI 所示基团的式 XXXXIV 可以通过在四氢呋喃、二氯甲烷、二甲基甲酰胺、乙腈等溶剂中, 在三乙胺或二异丙基胺等叔胺存在下, 使式 XVII 和 XXXXV 反应, 虽然没有特别的限定, 但是通常在室温~加热回流温度下反应 1 小时~24 小时左右, 之后在与由式 XI 制备式 VIII 的条件同样的条件下水解进行制备。式 XVII 和式 XXXXV 的混合比例为 1:1~1:2 左右。叔胺的添加量没有特别的限定, 通常相对于式 XXXXV 为 1~4 当量左右。

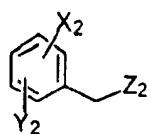
15



XXXXIV

(式中,  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $Y_1$ 、 $Y_2$ 与上述定义相同。)

20



XXXXV

(式中,  $X_2$ 、 $Y_2$ 与上述定义相同,  $Z_2$ 表示卤素等离去基团。)

本发明中使用的新型螺环衍生物具有1个或1个以上手性碳时, 5 可以存在消旋体、非对映异构体以及各种光学异构体, 本发明可以使用所有这些物质。

按照上述各种制备方法得到的反应产物可以作为游离化合物、其盐或者水合物等各种溶剂合物进行分离、精制。盐可以通过常规的造盐处理进行制备。

10 分离、精制可以根据需要采用萃取、浓缩、蒸馏、结晶、过滤、重结晶、各种柱色谱等常规的化学操作。

各种异构体可以利用异构体之间的物理化学差异按照常规方法分离。光学异构体可以通过一般的光学分割法, 例如分别结晶法或者色谱法等进行分离。另外, 光学异构体也能够以适当的光学活性化合物作为原料进行制备。

15 作为式I表示的化合物的可药用盐, 可以例举铵盐、碱金属盐(例如钠盐和钾盐)、碱土金属盐(例如钙盐和镁盐)等无机碱盐, 或者二环己基胺盐、N-甲基-D-葡萄糖胺盐、乙醇胺盐、二乙醇胺盐、三乙醇胺盐、二异丙醇胺盐、三(羟甲基)氨基甲烷盐等有机碱盐, 赖氨酸、精氨酸碱加成盐等。

20 而且, 本发明也包括本发明化合物(I)及其盐的各种水合物或溶剂合物以及多晶型的物质。

作为考察本发明化合物对VLA-4的粘附抑制活性的方法, 可以采用Ramos细胞或Jurkat细胞等VLA-4表达细胞以及固定在免疫板上的纤连蛋白或含有纤连蛋白片断, 例如CS-1序列(Gly Pro Glu Ile 25 Leu Asp Val Pro Ser Thr)的肽(以下称为CS-1肽)的粘附测定系统。而且, 作为其它方法, 可以采用VLA-4蛋白质以及固定在免疫板上的纤连蛋白或纤连蛋白片断, 例如CS-1肽的结合测定系统。本发明中, VLA-4与免疫球蛋白形成的嵌合蛋白(VLA-4-IgG嵌合蛋

白)以及CS-1肽的结合测定系统(特愿平9-234544)适于评价化合物的抑制活性,但是并不限于此。这种VLA-4-IgG嵌合蛋白是指VLA-4的 $\alpha 4$ 和免疫球蛋白形成的嵌合蛋白(以下称为VLA $\alpha 4$ ·IgG嵌合蛋白)以及VLA-4的 $\beta 1$ 和免疫球蛋白形成的嵌合蛋白(以下称为VLA $\beta 1$ ·IgG嵌合蛋白)聚集而成的异源二聚体复合物。另外,作为免疫球蛋白,可以利用IgG、IgM等重链或轻链,但是在本发明中使用IgG1重链。评价化合物的抑制效果时,最好将VLA-4-IgG嵌合蛋白与被测化合物预先混合使用。

本发明的化合物具有VLA-4粘附抑制作用,抑制白细胞向炎症部位蓄积,因此可以作为慢性炎症性疾病的治疗药使用。所述慢性炎症性疾病是指例如支气管哮喘、特应性皮肤病、变应性鼻炎等变应性炎症性疾病,肝炎、肾炎、慢性关节风湿、多发性硬化等自身免疫疾病,脏器移植后的排斥反应,I型糖尿病,克罗恩氏病,溃疡性大肠炎等。此外,也可以作为预防手术后再狭窄、动脉硬化等的治疗药使用。

本发明的化合物用作上述疾病的治疗药时,式I表示的化合物及其碱加成盐可以直接作为粉末剂,或者作为适当剂型的药物组合物经过口服或非口服给予哺乳动物(例如透皮给药、静脉给药、直肠给药、吸入给药等)。

作为给药的剂型,具体可以例举片剂、散剂、丸剂、胶囊剂、颗粒剂、糖浆剂、溶液剂、注射剂、乳剂、悬浊剂、栓剂等。所述剂型可以按照本身公知的方法制备,含有制剂领域中通常使用的各种载体。例如固体制剂中的赋形剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂;液体制剂中的溶剂、助溶剂、悬浮剂、无痛化剂等。另外,根据需要也可以使用防腐剂、抗氧化剂、着色剂、甜味剂、吸附剂、润湿剂等添加剂。

作为赋形剂,例如乳糖、D-甘露糖、淀粉、蔗糖、玉米淀粉、结晶纤维素、轻质硅酸酐等。作为润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸钙、滑石、胶态二氧化硅等。作为粘合剂,例如结晶纤维素、白糖、D-甘露醇、糊精、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚乙烯基吡咯烷酮、淀粉、蔗糖、明胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠等。作为崩解剂,例如淀粉、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钙、交联羧甲基醚纤维素钠、羧甲基淀粉钠、L-羟丙基纤维素等。作为溶剂,例如注射用水、乙醇、丙二醇、聚乙二醇、芝麻油、玉米油等。作为助溶剂,例如聚乙二醇、

丙二醇、D-甘露醇、苯甲酸苯甲酯、乙醇、胆固醇、三乙醇胺、碳酸钠、枸橼酸钠等。作为悬浮剂，例如硬脂基三乙醇胺、月桂基硫酸钠、月桂基氨基丙酸、卵磷脂、苯扎氯铵、苄索氯铵、单硬脂酸甘油酯等表面活性剂、或聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素等亲水性高分子等。作为等渗剂，例如葡萄糖、氯化钠、D-山梨醇、D-甘露醇等。作为缓冲剂，例如磷酸盐、醋酸盐、碳酸盐、枸橼酸盐等的缓冲液等。作为无痛化剂，例如苯甲醇等。作为防腐剂，例如对羟基苯甲酸酯类、氯丁醇、苯甲醇、苯乙醇、脱氢醋酸、山梨酸等。作为抗氧化剂，例如亚硫酸盐、抗坏血酸等。

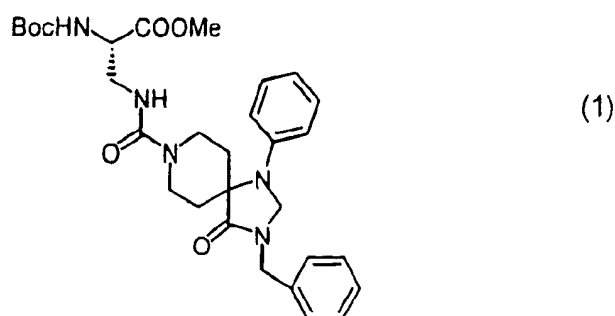
式 I 表示的化合物或其可药用盐的有效给药量和给药次数根据给药方式、患者的年龄、体重、所要治疗的症状的性质或严重程度而不同，通常成人每天 1~1000mg，优选 1~300mg，1 次或分数次给药。

另外，上述各种剂型只要不会由于与式 I 表示的化合物或其盐配合产生不良的相互作用，也可以含有用于其它治疗的有效成分。例如甾类药物、非甾体抗炎剂、脂氧合酶抑制剂、白三烯拮抗剂、支气管扩张剂、血栓烷合成抑制剂、血栓烷拮抗剂、组胺拮抗剂、组胺游离抑制剂、血小板活化因子 (PAF) 拮抗剂、5-羟色胺拮抗剂、腺苷受体拮抗剂、肾上腺素  $\beta$  受体激动剂、免疫抑制剂、免疫调节剂等。

以下结合实施例具体说明本发明的效果。但是本发明并不受下述实施例的限定。

#### 实施例 1

2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 (1)



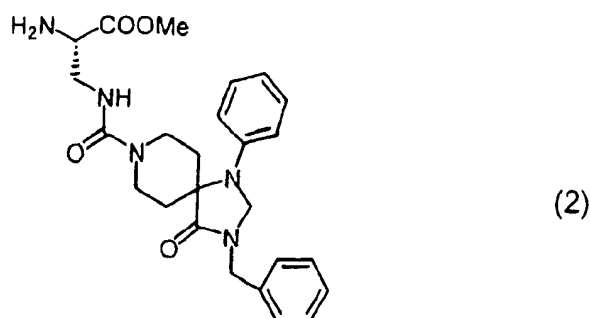
- 在氩气环境中, 将 3-氨基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丙酸甲酯 672mg 溶解于乙腈 15ml 和二氯甲烷 15ml 中, 在冰冷条件下, 加入饱和碳酸氢钠 414mg、氯甲酸对硝基苯酯 746mg, 在室温下搅拌 2.5 小时。在反应混合物中加入 2, 4, 8-三氮杂-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸烷-1-酮 1.385g 和三乙胺 2.1ml, 在室温下搅拌 24 小时。将反应混合浓缩后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用 0.1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱(二氯甲烷/甲醇 = 80: 1)精制残渣, 得到 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 1.275g (收率 73%)。

LR-MS(m/z): 565 (M<sup>+</sup>)

NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 1.43 (9H, s), 1.62-1.75 (2H, m), 2.47-2.62 (2H, m), 3.53-3.80 (3H, m), 3.74 (3H, s), 3.81-3.98 (2H, m), 4.32-4.42 (1H, m), 4.55 (2H, s), 4.60 (2H, s), 5.42 (1H, brs), 5.93 (1H, brs), 6.63-6.71 (2H, m), 6.78-6.84 (1H, m), 7.20-7.40 (7H, m)

## 实施例 2

2-氨基-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 (2)



15

- 将 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 45mg 溶解于二氯甲烷 2ml 中, 加入三氟醋酸 1ml, 在室温下搅拌 2 小时。浓缩反应液后, 向残渣中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩, 得到 2-氨基-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺

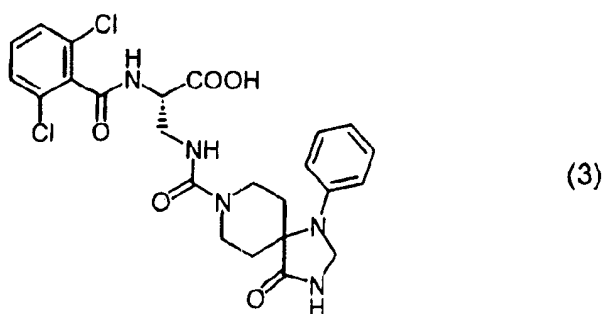
20

[4.5] 癸-8-基) 羧基氨基) 丙酸甲酯 41mg。

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.72-1.85 (2H, m), 2.36-2.42 (2H, m), 3.40-4.20 (6H, m), 3.80 (3H, s), 4.15-4.21 (1H, m), 4.56 (2H, s), 4.58 (2H, s), 4.96 (1H, brs), 6.64-6.70 (2H, m), 6.83-6.90 (1H, m), 7.15-7.60 (7H, m)

### 实施例 3

3 - ((2, 4, 8-三氯杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基) 羧基氨基) - 2 - ((2, 6-二氯苯基) 羧基氨基) 丙酸 (3)



将 3-氨基-2-((2, 6-二氯苯基) 羧基氨基) 丙酸甲酯 (175mg, 0.601mmol) 溶解于 DMF 3.0ml 中, 加入 2, 4, 8-三氯杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸烷-8-羧基氯 (117mg, 0.601mmol) 和三乙胺 (250 $\mu$ l, 1.80mmol), 在室温下搅拌 6 小时。向反应液中加入水后, 10 过滤收集析出的固体, 用水洗涤。将该固体溶解于甲醇 3ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 1ml, 在室温下搅拌 2 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 过滤收集析出的固体。用柱色谱 (乙酸乙酯/甲醇 = 1/1) 精制该固体, 得到 3 - ((2, 4, 8-三氯杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5] 15 癸-8-基) 羧基氨基) - 2 - ((2, 6-二氯苯基) 羧基氨基) 丙酸 122mg (收率: 38%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 533 ( $M^+$ )

IR (KBr): 3422, 2921, 1708, 1656, 1543, 1432, 1376, 1254  $\text{cm}^{-1}$

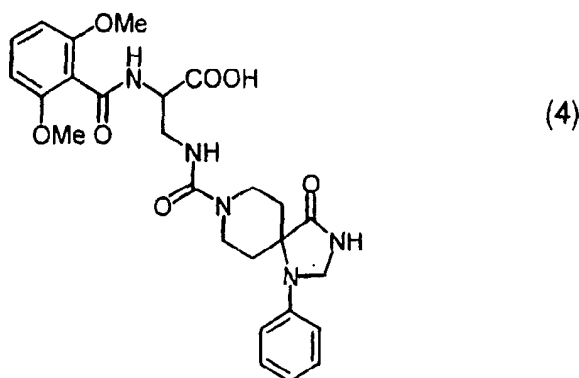
NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  ppm): 1.68-1.80 (m, 2H), 2.50-2.64 (m, 2H), 3.55-3.80 (m, 4H), 3.90-4.05 (m, 2H), 4.75 (s, 2H), 4.80-4.90 (m, 1H), 6.80-6.90 (m, 3H), 7.23-7.35 (m, 2H), 7.38-7.50 (m, 3H).

HR-MS:  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_5$  计算值 532.1154 测定值 532.1140

$[\alpha]_D^{20}$ : -10.5° ( $c=0.30$ , MeOH)

#### 实施例 4

2-((2,6-二甲氧基苯基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸(4)



- 5 将 2-((叔丁氧基羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯 199.2mg 溶解于二氯甲烷 10ml 中, 加入三氟醋酸 2ml, 在室温下搅拌 6 小时。将反应溶液浓缩后, 将残渣溶解于二甲基甲酰胺 2ml 中, 加入 BOP 187mg、
- 10 2,6-二甲氧基苯甲酸 70mg、二异丙基胺 265 $\mu$ l, 在氩气环境下, 在室温下搅拌 2 小时。向反应混合物中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机层, 用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣溶解于甲醇 10ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 1ml, 在室温下搅拌 3 小时。向反应溶液中加入 0.1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色
- 15 谱(DIOL, 乙酸乙酯/甲醇 = 20:1)精制残渣, 得到 44.6mg 的 2-((2,6-二甲氧基苯基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸(收率 20%)。

LR-MS (m/z) : 524 (M<sup>+</sup>-H)

IR (KBr) : 3408, 2927, 1656, 1602, 1542, 1468, 1432, 1381, 1262, 1196, 800, 749 cm<sup>-1</sup>

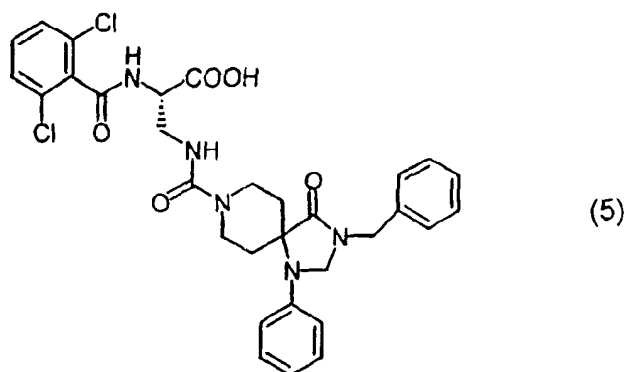
NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm) : 1.68-1.80 (2H, m), 2.41-2.61 (2H, m), 3.45-3.57 (1H, m),  
3.62-3.74 (2H, m), 3.79 (6H, s), 3.82-3.97 (3H, m), 4.52-4.57 (1H, m), 4.70 (2H, s), 6.  
18 (1H, brs), 6.53-6.58 (2H, m), 6.71-6.78 (2H, m), 6.83-6.91 (1H, m), 7.11 (1H, brs),  
7.21-7.32 (2H, m), 7.43-7.48 (1H, m)

HR-MS: C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>      计算值 524.2145      测定值 524.2173

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -10.0° (c=0.07, MeOH)

### 实施例 5

2 - ( (2, 6 - 二甲氧基苯基) 羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂  
- 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙  
5 酸 (5)



将 3 - 氨基 - 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基) 丙酸甲酯 120mg  
溶解于乙腈 5ml 中, 加入饱和碳酸氢钠 55mg、氯甲酸对硝基苯酯 83mg,  
在室温下搅拌 2 小时。向反应混合物中加入 2, 4, 8 - 三氮杂 - 4 - 苯  
10 基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸烷 - 1 - 酮 139mg 和三乙胺 143μl, 在室温  
下搅拌 3 小时。浓缩反应混合物后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用乙  
酸乙酯萃取。合并有机层, 用 1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸  
钠干燥后, 浓缩。将残渣溶于甲醇 2ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液  
0.5ml, 在室温下搅拌 4 小时。向反应溶液中加入 0.1N 盐酸, 用氯仿  
15 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。  
用柱色谱 (DIOL, 乙酸乙酯/环己烷 = 2: 1) 精制残渣, 得到 18mg 的 2

- ( (2, 6-二甲氧基苯基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基) 丙酸 (收率 7%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 622 ( $M^+ - H$ )

IR (KBr): 3385, 2934, 2841, 1709, 1637, 1599, 1534, 1474, 1434, 1377, 1254, 1111, 753  $cm^{-1}$

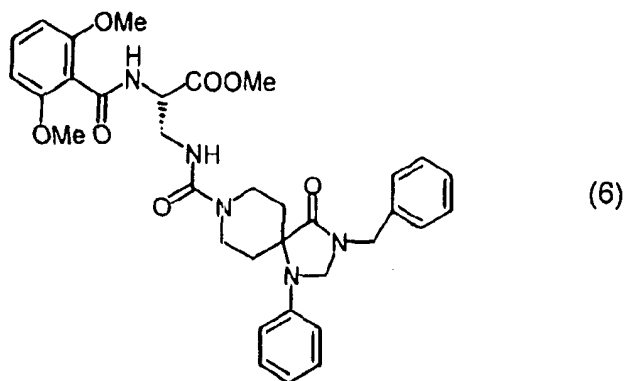
NMR (300MHz,  $CD_3OD$ ,  $\delta$  ppm): 1.64-1.73 (2H, m), 2.43-2.57 (2H, m), 3.60-3.77 (4H, m), 3.88-3.98 (2H, m), 3.82-3.97 (3H, m), 4.41 (2H, s), 4.79-4.83 (1H, m), 4.86 (2H, s), 6.75-6.82 (3H, m), 7.18-7.25 (2H, m), 7.24-7.44 (8H, m)

HR-MS:  $C_{31}H_{30}Cl_2N_5O_5$  计算值 622.1624 测定值 622.1669

$[\alpha]_D^{20}$ : -11.6° ( $c=0.11$ , MeOH)

## 5 实施例 6

2 - ( (2, 6-二甲氧基苯基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基) 丙酸甲酯 (6)



- 10 将 2 - (叔丁氧基羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基) 羰基氨基) 丙酸甲酯 49mg 溶解于二氯甲烷 2ml 中, 加入三氟醋酸 1ml, 在室温下搅拌 1.5 小时。浓缩反应溶液后, 向残渣中加入二氯甲烷 3ml、BOP44mg、2, 6-二甲氧基苯甲酸 18mg、二异丙基胺 61 $\mu$ l, 在氩气环境中在室温下搅拌 3 小时。向反应混合物中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机层, 用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓
- 15

缩。用柱色谱(二氯甲烷/甲醇=30:1)精制残渣,得到2-((2,6-二甲氧基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯22mg(收率40%)。

LR-MS(m/z):629(M<sup>+</sup>)

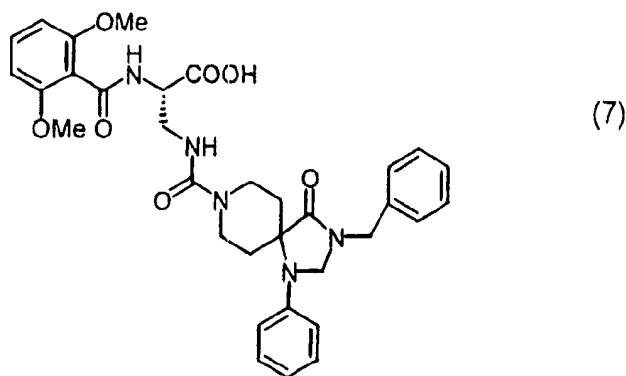
IR(KBr):2934, 1743, 1698, 1653, 1598, 1525, 1472, 1370, 1254, 1112, 750 cm<sup>-1</sup>

NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):1.63-1.77(2H, m), 2.50-2.64(2H, m), 3.62-4.06(6H, m), 3.80(6H, s), 3.81(3H, s), 4.56(2H, s), 4.60(2H, s), 4.85-4.95(1H, m), 5.68(1H, brs), 6.52-6.58(2H, m), 6.64-6.73(2H, m), 6.79-6.84(2H, m), 7.18-7.40(7H, m)

5 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -24.0° (c=0.05, MeOH)

#### 实施例7

2-((2,6-二甲氧基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸(7)



10

将2-((2,6-二甲氧基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯19mg溶解于甲醇1ml中,加入1N氢氧化钠水溶液0.15ml,在室温下搅拌2小时。向反应溶液中加入0.1N盐酸,用氯仿萃取。合并有机相,用饱和食盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥后,浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀,得到16.5mg的2-((2,6-二甲氧基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基

15

-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸(收率89%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 614 ( $M^+-H$ )

IR(KBr): 3397, 2931, 1700, 1653, 1599, 1525, 1510, 1473, 1255, 1112, 749  $cm^{-1}$

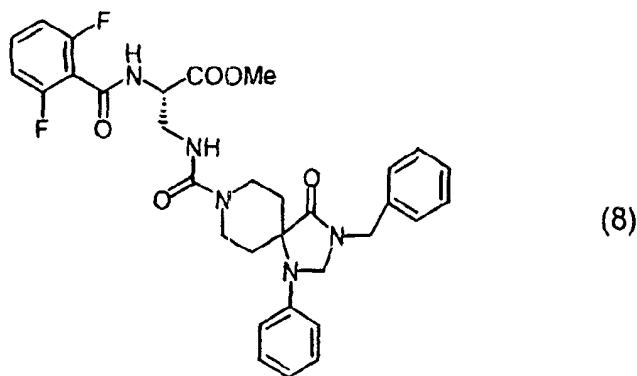
NMR (300MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.67-1.80 (2H, m), 2.42-2.65 (2H, m), 3.40-3.50 (1H, m), 3.73-4.00 (5H, m), 3.78 (6H, s), 4.44-4.51 (1H, m), 4.57 (2H, s), 4.62 (2H, s), 5.99 (1H, brs), 6.53-6.58 (2H, m), 6.64-6.77 (2H, m), 6.82-6.88 (1H, m), 7.20-7.40 (7H, m), 7.52-7.59 (1H, m)

HR-MS:  $C_{33}H_{37}N_5O_7$  计算值 614.2615 测定值 614.2587

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-5.3^\circ$  ( $c=0.04$ , MeOH)

#### 实施例 8

2-((2,6-二氟苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯(8)



将 2-((叔丁氧基羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 78mg 溶解于二氯甲烷 2ml 中, 加入三氟醋酸 1ml, 在室温下搅拌 1 小时。浓缩反应溶液后, 向残渣中加入二氯甲烷 2ml、三乙胺 98 $\mu$ l、2,6-二氟苯甲酰氯 26 $\mu$ l, 在室温下搅拌 12.5 小时。向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用 0.1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱(二氯甲烷/甲醇 = 50:1)精制残渣, 得到 2-((2,6-二氟苯基)羰基氨基)-

3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸甲酯 24mg (收率 28%)。

LR-MS (m/z): 605 (M<sup>+</sup>)

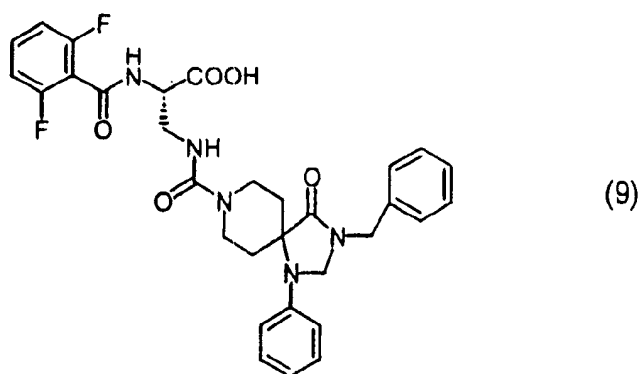
IR (KBr): 3064, 3032, 2907, 1748, 1697, 1625, 1601, 1540, 1468, 1371, 1260, 1208, 1161, 1122, 1010, 910, 795 cm<sup>-1</sup>

NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 1.64-1.80 (2H, m), 2.51-2.63 (2H, m), 3.68-3.98 (6H, m), 3.79 (3H, s), 4.58 (2H, s), 4.61 (2H, s), 4.79-4.84 (1H, m), 5.21 (1H, brs), 6.65-6.72 (2H, m), 6.78-6.84 (1H, m), 6.89-6.99 (2H, m), 7.20-7.40 (7H, m), 7.78 (1H, m)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -18.2° (c=0.11, MeOH)

### 实施例 9

- 5 2 - ( (2, 6 - 二氟苯基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸 (9)



- 将 2 - ( (2, 6 - 二氟苯基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸甲酯 19mg 溶解于甲醇 1ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.2ml, 在室温下搅拌 1 小时。向反应溶液中加入 0.1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀, 得到 15.1mg 的 2 - ( (2, 6 - 二氟苯基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸 (收率 82%)。

LR-MS (m/z) : 590 (M<sup>+</sup>-H)

IR (KBr) : 3395, 2927, 1674, 1626, 1601, 1539, 1468, 1379, 1262, 1009, 749  
cm<sup>-1</sup>

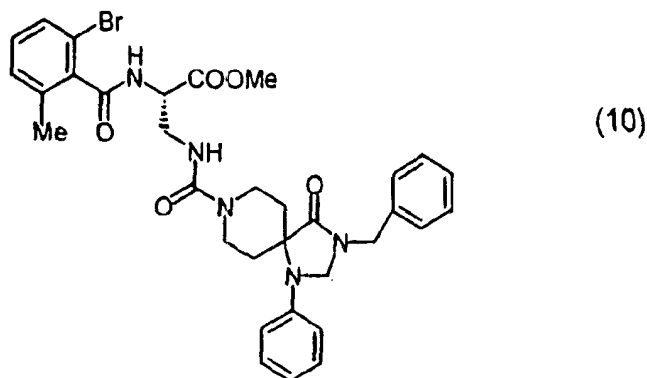
NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ ppm) : 1.71-1.82 (2H, m), 2.43-2.61 (2H, m), 3.43-3.54 (1H, m),  
3.73-4.00 (5H, m), 4.45-4.53 (1H, m), 4.57 (2H, s), 4.60 (2H, s), 5.85 (1H, brs), 6.66  
-6.75 (2H, m), 6.81-6.89 (1H, m), 6.90-7.00 (2H, m), 7.20-7.42 (7H, m), 8.02 (1H, m)

HR-MS: C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>      计算值 590.2215      测定值 590.2209

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -73.5° (c=0.02, MeOH)

### 实施例 10

2 - ( (2 - 溴 - 6 - 甲基苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂  
- 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙  
5 酸甲酯 (10)



将 2 - (叔丁氧基羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧  
代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯  
158mg 溶解于二氯甲烷 2ml 中, 加入三氟醋酸 1ml, 在室温下搅拌 2 小  
10 时。浓缩反应溶液后, 向残渣中加入二氯甲烷 5ml、BOP50mg、2 - 溴  
- 6 - 甲基苯甲酸 67mg、二异丙基胺 195μl, 在氩气环境中在室温下搅  
拌 20 小时。向反应混合物中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机层,  
用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓  
缩。用柱色谱 (二氯甲烷/甲醇 = 60: 1) 精制残渣, 得到 2 - ( (2 -  
15 溴 - 6 - 甲基苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代  
- 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 163mg

(收率 88%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 661 ( $M^+$ )

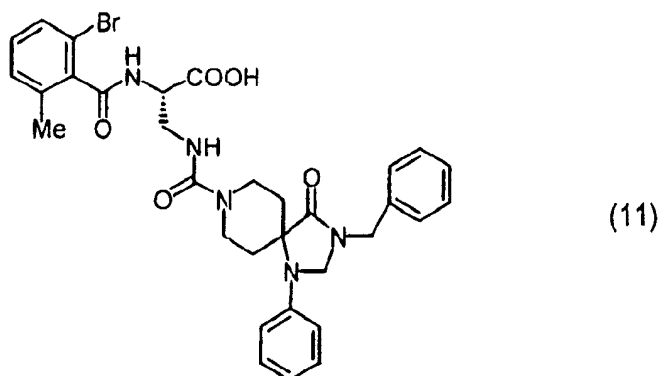
IR (KBr): 2926, 1748, 1699, 1655, 1601, 1526, 1450, 1369, 1258, 1206, 1164, 845, 748  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.64–1.77 (2H, m), 2.39 (3H, s), 2.46–2.61 (2H, m), 3.65–3.94 (6H, m), 3.80 (3H, s), 4.57 (2H, s), 4.59 (2H, s), 4.80–4.90 (1H, m), 5.24 (1H, brs), 6.64–6.73 (2H, m), 6.80–6.87 (1H, m), 7.10–7.40 (10H, m)

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-4.95^\circ$  ( $c=0.22$ , MeOH)

#### 实施例 11

2-((2-溴-6-甲基苯基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸 (11)



将 2-((2-溴-6-甲基苯基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯 150mg 溶解于甲醇 4ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 1.2ml, 在室温下搅拌 5 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀, 得到 121.8mg 的 2-((2-溴-6-甲基苯基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸 (收率 82%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 646 ( $M^+-H$ )

IR(KBr): 3395, 2926, 1700, 1654, 1601, 1526, 1452, 1378, 1261, 749  $\text{cm}^{-1}$

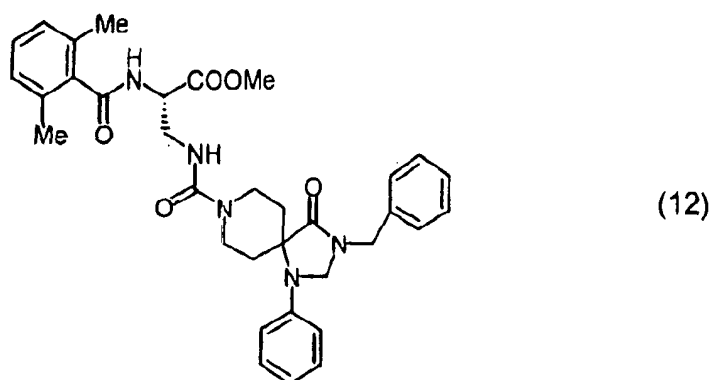
NMR(300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  ppm): 1.62–1.80(2H, m), 2.36(3H, s), 2.43–2.62(2H, m), 3.53–3.62(1H, m), 3.72–4.00(5H, m), 4.57(2H, s), 4.60(2H, s), 5.99(1H, brs), 6.66–6.72(2H, m), 6.81–6.90(1H, m), 7.12–7.40(9H, m), 7.62–7.70(1H, m)

HR-MS:  $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{BrN}_5\text{O}_5$  计算值 646.1665 测定值 646.1701

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-30.5^\circ$  ( $c=0.04$ , MeOH)

## 实施例 12

2-((2,6-二甲基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 (12)



将 2-((叔丁氧基羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 50mg 溶解于二氯甲烷 1ml 中, 加入三氟醋酸 0.5ml, 在室温下搅拌 1 小时。浓缩反应溶液后, 向残渣中加入二氯甲烷 1ml、BOP50mg、2,6-二甲基苯甲酸 15mg、二异丙基胺 70 $\mu$ l, 在氩气环境中在室温下搅拌过夜。向反应混合物中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机层, 用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱(乙酸乙酯/正己烷=2:1)精制残渣, 得到 2-((2,6-二甲基苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 45.8mg (收率 85%)。

LR-MS (m/z) : 597 (M<sup>+</sup>)

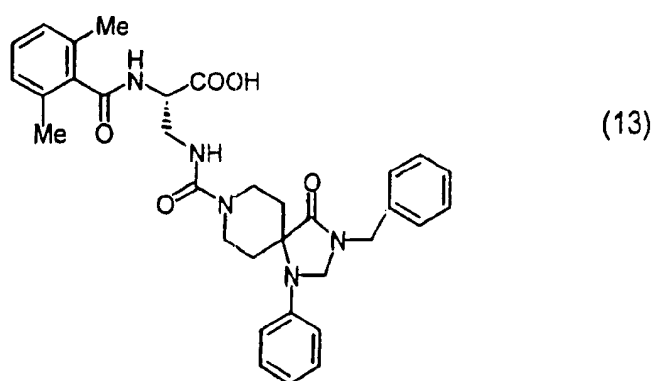
IR (KBr) : 3394, 2925, 1747, 1700, 1635, 1527, 1469, 1378, 1260, 1207, 1161, 750cm<sup>-1</sup>

NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm) : 1.62-1.71 (2H, m), 2.32 (6H, s), 2.40-2.54 (2H, m), 3.60-3.90 (6H, m), 3.78 (3H, s), 4.54 (2H, s), 4.58 (2H, s), 4.76-4.84 (2H, m), 5.63 (1H, brs), 6.63-6.70 (2H, m), 6.80-6.84 (1H, m), 6.93-7.00 (2H, m), 7.06-7.17 (1H, m), 7.18-7.43 (7H, m), 7.40 (1H, brs)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -18.0° (c=0.10, CHCl<sub>3</sub>)

#### 实施例 14

2 - ( (2, 6 - 二甲基苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸  
5 (13)



将 2 - ( (2, 6 - 二甲基苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 44mg 溶解于甲醇 1ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.4ml, 在室温下搅拌 2 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀, 得到 23.1mg 的 2 - ( (2, 6 - 二甲基苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸 (收率 54%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 682 ( $M^+-H$ )

IR (KBr): 3384, 2925, 1698, 1637, 1601, 1534, 1468, 1381, 1262, 1203, 1163, 749  $\text{cm}^{-1}$

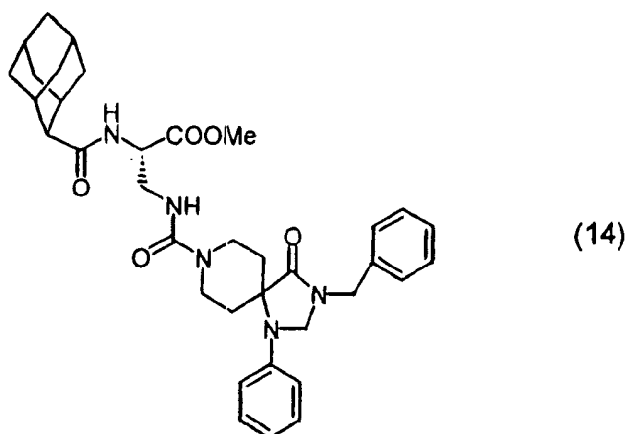
NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  ppm): 1.72–1.80 (2H, m), 2.32 (6H, s), 2.43–2.62 (2H, m), 3.42–3.51 (2H, m), 3.75–4.02 (4H, m), 4.50–4.53 (1H, m), 4.56 (2H, s), 4.61 (2H, s), 5.83 (1H, brs), 6.68–6.71 (2H, m), 6.83–6.90 (1H, m), 7.01–7.05 (2H, m), 7.18–7.40 (8H, m), 7.88 (1H, brs)

HR-MS:  $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_5$       计算值 582.2716      测定值 582.2698

$[\alpha]_D^{20}$ : -31.5° ( $c=0.10$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

#### 实施例 14

2-(金刚烷-2-基羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯(14)



5

将 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 45mg 溶解于二氯甲烷 1ml 中, 加入三氟醋酸 0.5ml, 在室温下搅拌 2 小时。浓缩反应溶液后, 向残渣中加入二氯甲烷 2ml、三乙胺 45 $\mu$ l、  
10 金刚烷-2-羰基氯 25mg, 在室温下搅拌过夜。向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用水、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱(乙酸乙酯/正己烷=1:1)精制残渣, 得到 2-(金刚烷-2-基羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 33mg (收率 65%)。  
15

LR-MS (m/z) : 627 (M<sup>+</sup>)

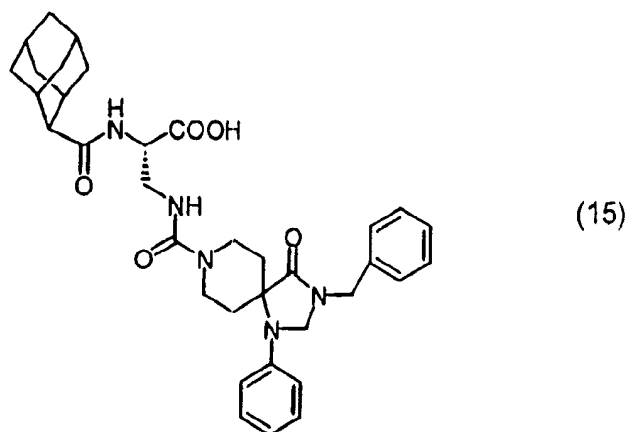
IR (KBr) : 3423, 2908, 2851, 1739, 1702, 1638, 1526, 1453, 1370, 1260, 1203, 1151, 748 cm<sup>-1</sup>

NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm) : 1.61-1.78 (8H, m), 1.80-1.84 (6H, m), 1.97-2.05 (3H, m), 2.46-2.60 (2H, m), 3.51-3.98 (6H, m), 3.77 (3H, s), 4.52-4.60 (2H, m), 4.55 (2H, s), 4.61 (2H, s), 5.33 (1H, brs), 6.64-6.68 (2H, m), 6.80-6.84 (1H, m), 7.20-7.40 (7H, m)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> : -13.0° (c=0.10, CHCl<sub>3</sub>)

### 实施例 15

2 - (金刚烷 - 2 - 基羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸 (15)



5

将 2 - (金刚烷 - 2 - 基羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸甲酯 32.1mg 溶解于甲醇 2ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.3ml, 在室温下搅拌 1.5 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/乙醚再沉淀, 得到 13.9mg 的 2 - (金刚烷 - 2 - 基羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸 (收率 44%)。

10

LR-MS ( $m/z$ ): 612 ( $M^+ - H$ )

IR (KBr): 3423, 2907, 2851, 1701, 1637, 1526, 1451, 1365, 1261, 746  $\text{cm}^{-1}$

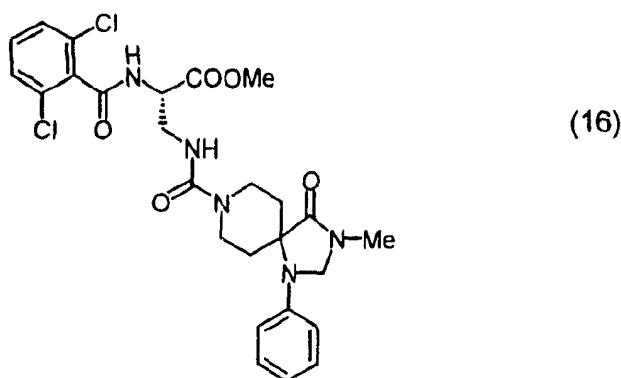
NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.60-1.81 (8H, m), 1.82-1.89 (6H, m), 2.02-2.09 (3H, m), 2.40-2.62 (2H, m), 3.40-3.44 (2H, m), 3.72-4.02 (4H, m), 4.23-4.28 (1H, m), 4.56 (2H, s), 4.61 (2H, s), 5.64 (1H, brs), 6.65-6.70 (2H, m), 6.82-6.87 (1H, m), 7.19-7.40 (7H, m), 8.47 (1H, brs)

HR-MS:  $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{N}_5\text{O}_5$  计算值 612.3186 测定值 612.3190

$[\alpha]_D^{20}$ : -15.0° ( $c=0.1$ , MeOH)

#### 实施例 16

2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - 甲基 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 (16)



将 3 - 氨基 - 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 103mg 溶解于二氯甲烷 10ml 中, 在氩气环境中, 加入饱和碳酸氢钠 52.9mg、氯甲酸对硝基苯酯 84.7mg, 室温下搅拌 1.5 小时。向反应混合物中加入 2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - 甲基 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸烷 - 1 - 酮 130mg 和三乙胺 123 $\mu$ l, 在室温下搅拌过夜。浓缩反应混合物后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用 1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱 (乙酸乙酯/甲醇 = 50:1) 精制残渣, 得到 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - 甲基 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 159.8mg (收率 81%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 561 ( $M^+$ )

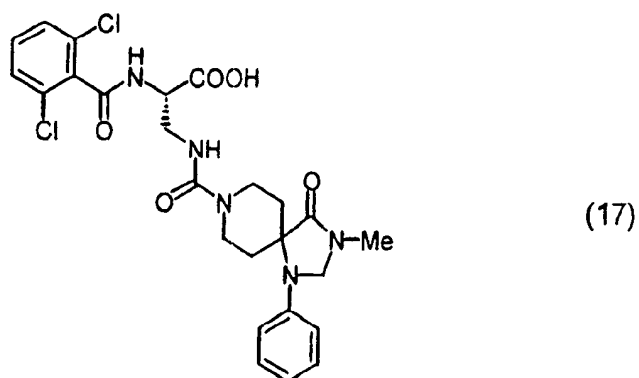
IR (KBr): 3395, 3278, 2952, 2932, 1742, 1703, 1655, 1616, 1532, 1520, 1432, 1272, 749  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.63–1.72 (2H, m), 2.46–2.60 (2H, m), 3.00 (3H, s), 3.63–3.92 (2H, m), 3.82 (3H, s), 4.68 (2H, s), 4.82–4.88 (1H, m), 5.26 (1H, brs), 6.73–6.78 (2H, m), 6.84–6.89 (1H, m), 7.23–7.34 (5H, m), 7.40 (1H, brs)

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-15.4^\circ$  ( $c=0.10$ , MeOH)

### 实施例 17

2-((2,6-氯苯基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸 (17)



5

将 2-((2,6-二氯苯基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯 140mg 溶解于甲醇 2ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.75ml, 在室温下搅拌过夜。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀, 得到 104mg 的 2-((2,6-二氯苯基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-甲基-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸 (收率 76%)。

10

LR-MS( $m/z$ ): 546 ( $M^+-H$ )

IR(KBr): 3383, 3064, 2930, 1685, 1603, 1533, 1432, 1369, 1265, 1197, 117

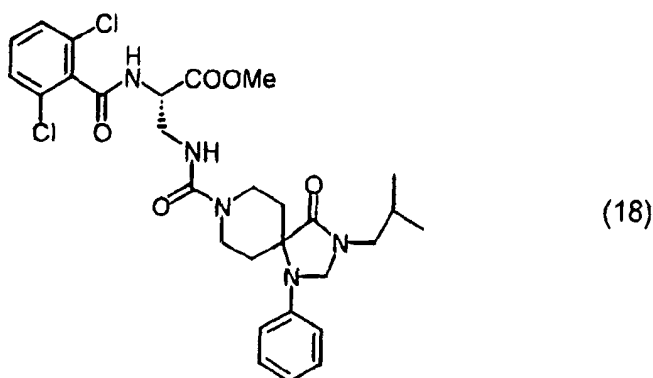
1, 986, 800, 749  $\text{cm}^{-1}$

NMR(300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.68-1.79(2H, m), 2.42-2.63(2H, m), 3.01(3H, s), 3.45-3.59(1H, m), 3.68-4.00(5H, m), 4.53-4.58(1H, m), 4.69(2H, s), 5.98(1H, brs), 6.74-6.78(2H, m), 6.85-6.92(1H, m), 7.24-7.35(5H, m), 7.64(1H, brs)

$[\alpha]_D^{20}$ : -18.5° ( $c=0.10$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

### 实施例 18

2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺[4.5]癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸甲酯 (18)



将 2 - (叔丁氧基羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺[4.5]癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸甲酯 72.2mg 溶解于二氯甲烷 2.7ml 中, 加入三氟醋酸 0.3ml, 在室温下搅拌 2 小时。浓缩反应溶液后, 向残渣中加入二氯甲烷 2.7ml、三乙胺 150 $\mu$ l、2, 6 - 二氯苯甲酰氯 50 $\mu$ l, 在室温下搅拌 5 小时。向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用 0.1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱 (氯仿/甲醇 = 50: 1) 精制残渣, 得到 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羰基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺[4.5]癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸甲酯 58.7mg (收率 71%)。

LR-MS(m/z): 603 (M<sup>+</sup>)

IR(KBr): 3383, 3063, 2958, 1747, 1694, 1528, 1469, 1433, 1375, 1259, 120

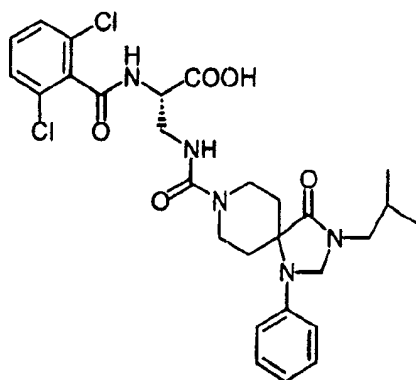
0, 1169, 1128, 965, 800, 782, 749 cm<sup>-1</sup>

NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 0.95(6H, d, J=6.5), 1.63-1.74(2H, m), 1.95-2.08(1H, m), 2.46-2.62(2H, m), 3.23(2H, d, J=7.4), 3.63-3.94(6H, m), 3.83(3H, s), 4.68(2H, s), 4.82-4.88(1H, m), 5.24-5.30(1H, m), 6.74-6.79(2H, m), 6.83-6.88(1H, m), 7.23-7.40(6H, m)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -82.0° (c=0.10, MeOH)

### 实施例 19

2 - ( ( 2, 6 - 二氯苯基 ) 羧基氨基 ) - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - ( 2 - 甲基丙基 ) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [ 4.5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸 ( 19 )



(19)

将 2 - ( ( 2, 6 - 二氯苯基 ) 羧基氨基 ) - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - ( 2 - 甲基丙基 ) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [ 4.5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 55.6mg 溶解于甲醇 2ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 1ml, 在室温下搅拌 1.5 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/乙醚再沉淀, 得到 28.4mg 的 2 - ( ( 2, 6 - 二氯苯基 ) 羧基氨基 ) - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - ( 2 - 甲基丙基 ) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [ 4.5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸 ( 收率 52 % )。

LR-MS ( $m/z$ ): 588 ( $M^+ - H$ )

IR (KBr): 3393, 2960, 2927, 2876, 1740, 1687, 1603, 1531, 1470, 1432, 137

8, 1264, 1187, 1170, 967, 801, 749  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  ppm): 0.97 (6H, d,  $J=6.6$ ), 1.63–1.72 (2H, m), 1.96–2.17 (1H, m),

2.46–2.60 (2H, m), 3.25 (2H, d,  $J=7.6$ ), 3.53–3.77 (4H, m), 3.86–3.98 (2H, m), 4.75 (2H,

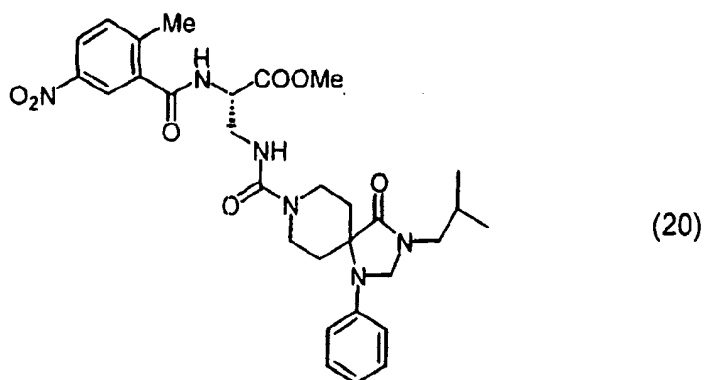
s), 4.80–4.85 (2H, m), 6.80–6.88 (3H, m), 7.22–7.31 (2H, m), 7.37–7.43 (3H, m)

$[\alpha]_D^{20} = -15.5^\circ$  ( $c=0.10$ , MeOH)

HR-MS:  $\text{C}_{12}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_5$  计算值 588.1812 测定值 588.1812

## 实施例 20

2 - ( (2 - 甲基 - 5 - 硝基苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 (20)



将 2 - 氨基 - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 54mg 溶于二氯甲烷 3ml 中, 加入 BOP71mg、2 - 甲基 - 5 - 硝基苯甲酸 25mg、  
 10 二异丙基胺 91 $\mu$ l, 在氩气环境中在室温下搅拌 21 小时。向反应混合物中加入水, 用氯仿萃取。合并有机层, 用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱 (二氯甲烷/甲醇 = 10: 1) 精制残渣, 得到 2 - ( (2 - 甲基 - 5 - 硝基苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 60mg (收率 78%)。  
 15

LR-MS ( $m/z$ ): 594 ( $M^+$ )

IR (KBr): 2958, 2871, 1750, 1698, 1657, 1523, 1469, 1438, 1348, 1261, 120

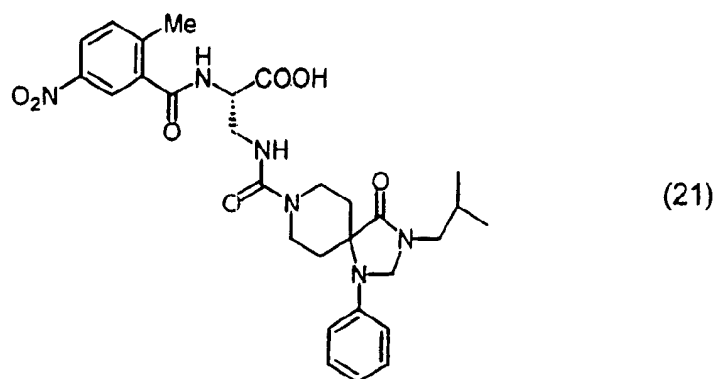
6, 1164, 1136, 912, 740  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 0.96 (6H, d,  $J=6.6$ ), 1.64-1.78 (2H, m), 1.92-2.08 (1H, m), 2.50-2.61 (2H, m), 2.61 (3H, s), 3.23 (2H, d,  $J=7.7$ ), 3.65-3.97 (6H, m), 3.80 (3H, s), 4.69 (2H, s), 4.66-4.75 (1H, m), 5.18 (1H, brs), 6.71-6.77 (2H, m), 6.79-6.84 (1H, m), 7.20-7.30 (2H, m), 7.33-7.40 (1H, m), 8.12-8.18 (1H, m), 8.37-8.40 (1H, m), 8.56 (1H, brs)

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-18.7^\circ$  ( $c=0.05$ , MeOH)

### 实施例 21

2 - ( (2 - 甲基 - 5 - 硝基苯基) 羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸 (21)



将 2 - ( (2 - 甲基 - 5 - 硝基苯基) 羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸甲酯 57mg 溶解于甲醇 2ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.5ml, 在室温下搅拌 1 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀, 得到 2 - ( (2 - 甲基 - 5 - 硝基苯基) 羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - (2 - 甲基丙基) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸 39.5mg (收率 68%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 579 ( $M^+-H$ )

IR(KBr): 3383, 2960, 2929, 1689, 1658, 1523, 1471, 1349, 1265, 1166, 835,  
745  $\text{cm}^{-1}$

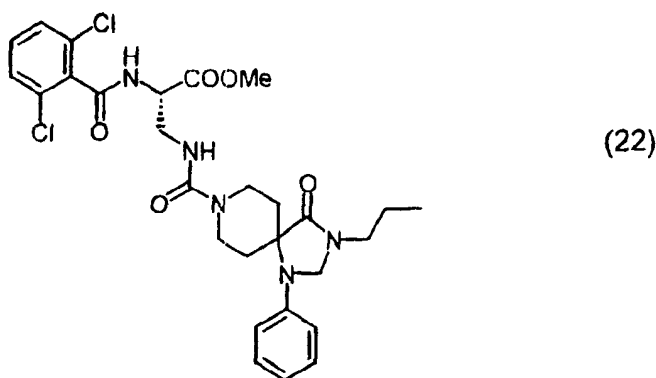
NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  ppm): 0.95 (6H, d,  $J=6.6$ ), 1.65-1.80 (2H, m), 1.92-2.07 (1H, m),  
2.43-2.56 (2H, m), 2.58 (3H, s), 3.23 (2H, d,  $J=7.7$ ), 3.53-3.65 (1H, m), 3.66-3.99 (5H,  
m), 4.53-4.60 (1H, m), 4.68 (2H, s), 5.78 (1H, brs), 6.70-6.79 (2H, m), 6.80-6.88 (1H,  
m), 7.20-7.30 (2H, m), 7.33-7.40 (1H, m), 8.13-8.18 (1H, m), 8.35-8.38 (1H, m), 8.77 (  
1H, brs)

HR-MS:  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_6\text{O}_7$  计算值 579.2567 测定值 579.2516

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-40.8^\circ$  ( $c=0.04$ , MeOH)

## 实施例 22

2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1  
- 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸甲  
5 酯 (22)



10 将 3 - 氨基 - 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 166mg  
溶解于乙腈 3ml 和二氯甲烷 8ml 中, 在氩气环境中, 加入饱和碳酸氢  
钠 69mg、氯甲酸对硝基苯酯 123mg, 在室温下搅拌 1 小时。向反应混  
合物中加入 210mg 和三乙胺 355 $\mu$ l, 在室温下搅拌 13 小时。浓缩反应  
混合物后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用  
0.1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱  
(二氯甲烷/甲醇 = 60: 1) 精制残渣, 得到 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基)  
羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙基

螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 232mg (收率 77%)。

LR-MS( $m/z$ ): 589 ( $M^+$ )

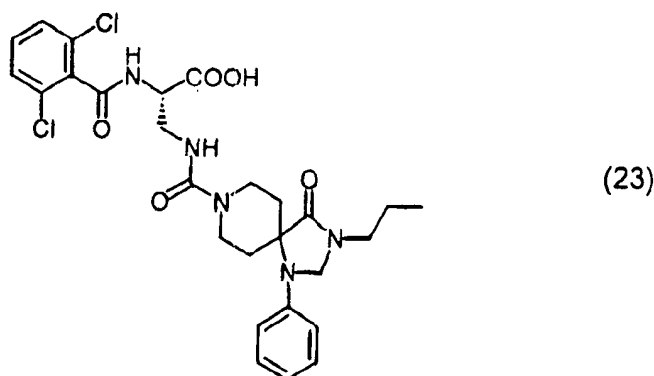
IR(KBr): 2962, 2873, 1748, 1688, 1601, 1530, 1471, 1432, 1379, 1258, 1197, 1169, 1127, 989, 801, 781, 748  $\text{cm}^{-1}$

NMR(300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 0.96(3H, t,  $J=7.1$ ), 1.61-1.72(2H, m), 2.45-2.60(2H, m), 3.40(2H, t,  $J=7.1$ ), 3.61-3.95(4H, m), 3.83(3H, s), 4.68(2H, s), 4.82-4.88(1H, m), 5.23(1H, brs), 6.73-6.79(2H, m), 6.82-6.88(1H, m), 7.24-7.35(5H, m), 7.39(1H, brs)

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-11.3^\circ$  ( $c=0.27$ , MeOH)

### 实施例 23

2-((2,6-二氯苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸(23)



将 2-((2,6-二氯苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 211mg 溶解于甲醇 5ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 2ml, 在室温下搅拌 1.5 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀, 得到 166.3mg 的 2-((2,6-二氯苯基)羰基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-丙基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸 (收率 77%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 574 ( $M^+-H$ )

IR (KBr): 3383, 2965, 2932, 2874, 1684, 1601, 1533, 1475, 1432, 1381, 126

1, 1197, 1172, 801, 782, 749  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 0.97 (3H, t,  $J=7.4$ ), 1.60-1.76 (4H, m), 2.43-2.62 (2H, m),

3.38-3.43 (2H, m), 3.60-3.77 (3H, m), 3.81-3.97 (3H, m), 4.63-4.72 (1H, m), 4.70 (2H,

s), 6.03 (1H, brs), 6.72-6.80 (2H, m), 6.82-6.90 (1H, m), 7.22-7.38 (5H, m), 7.77 (1H,

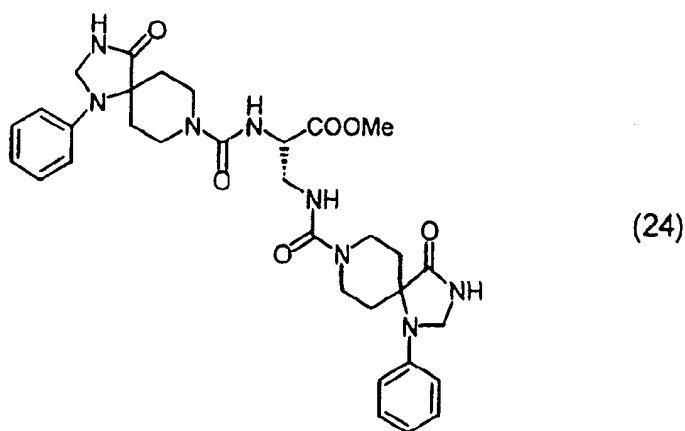
brs)

HR-MS:  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_5$  计算值 574.1624 测定值 574.1614

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-15.5^\circ$  ( $c=0.04$ , MeOH)

#### 实施例 24

- 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) - 2 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸甲酯 (24)



- 在氩气环境下, 将 2 - 氨基 - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸甲酯 61mg 溶解于乙腈 2ml 和二氯甲烷 3ml 中, 冰冷条件下加入饱和碳酸氢钠 22mg、氯甲  
 10 酸对硝基苯酯 36mg, 在室温下搅拌 1.5 小时。向反应混合物中加入 2, 4, 8 - 三氮杂 - 4 - 苯基 - 螺 [4.5] 癸烷 - 1 - 酮 44mg 和三乙胺 56 $\mu$ l, 在室温下搅拌过夜。浓缩反应混合物后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 用 1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱 (二氯甲烷/甲醇 = 50: 1) 精制残渣,

得到 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) - 2 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸甲酯 54mg (收率 53%)。

LR-MS(m/z): 632 (M<sup>+</sup>)

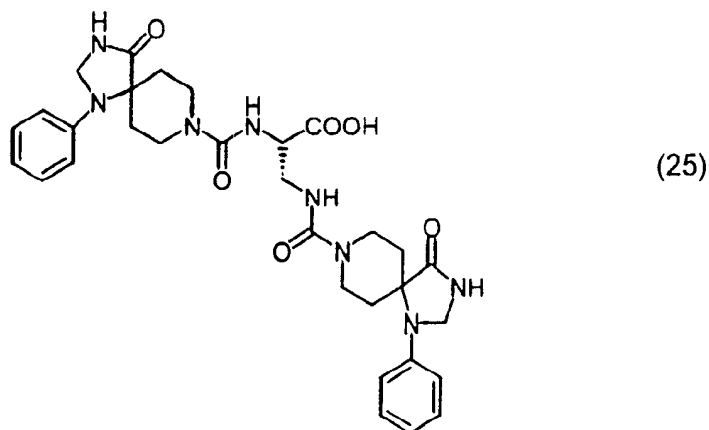
IR(KBr): 2927, 2366, 1705, 1623, 1601, 1501, 1459, 1375, 1256, 1187, 965, 910, 750 cm<sup>-1</sup>

NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 1.60-1.80 (6H, m), 2.43-2.62 (4H, m), 3.50-4.00 (8H, m), 3.71 (3H, s), 4.43-4.51 (1H, m), 4.71 (4H, s), 5.70-5.80 (1H, brs), 6.70-6.80 (4H, m), 6.72-6.90 (2H, m), 7.21-7.33 (4H, m)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -19.5° (c=0.11, MeOH)

## 5 实施例 25

3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) - 2 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸 (25)



- 10 将 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) - 2 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸甲酯 36mg 溶解于甲醇 2ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.3ml, 在室温下搅拌 2.5 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水
- 15 硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/乙醚再沉淀, 得到 38.7mg 的 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) - 2 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基) 丙酸 (25)

基氨基)-2-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸(收率81%)。

LR-MS( $m/z$ ): 617( $M^+-H$ )

IR(KBr): 3347, 2929, 1708, 1601, 1533, 1501, 1397, 1255, 1189, 966, 751  $cm^{-1}$

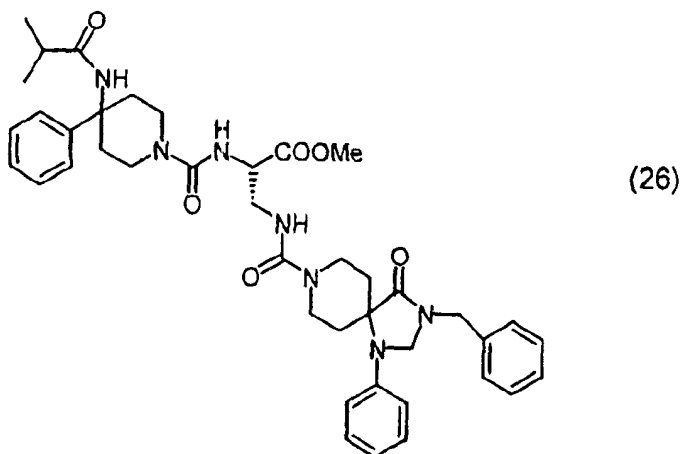
NMR(300MHz,  $CD_3OD$ ,  $\delta$  ppm): 1.63-1.80(3H, m), 2.10-2.40(4H, m), 2.41-2.60(3H, m), 3.54-3.75(4H, m), 3.76-3.87(2H, m), 3.88-4.00(2H, m), 4.24-4.35(1H, m), 4.73(4H, s), 6.65-6.79(4H, m), 6.82-6.92(2H, m), 7.20-7.30(4H, m)

$[\alpha]_D^{20}$ : 26.3° ( $c=0.04$ , MeOH)

HR-MS:  $C_{31}H_{38}N_8O_6$  计算值 617.2836 测定值 617.2834

#### 实施例 26

- 5 2-((4-(2-甲基丙酰氨基)-4-苯基哌啶基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯(26)



- 在氩气环境下, 将 2-氨基-3-((2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯 41mg 溶解于乙腈 2ml 和二氯甲烷 3ml 中, 冰冷条件下加入饱和碳酸氢钠 11mg、氯甲酸对硝基苯酯 18mg, 在室温下搅拌 2.5 小时。向反应混合物中加入 24mg 和三乙胺 28 $\mu$ l, 在室温下搅拌 16 小时。浓缩反应混合物后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 用 1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱(二氯甲烷/甲醇
- 10
- 15

= 40: 1) 精制残渣, 得到 2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸甲酯 11mg (收率 19%)。

LR-MS (m/z) : 647 (M<sup>+</sup>)

NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm) : 1.04-1.18 (6H, m), 1.63-1.76 (2H, m), 1.90-2.04 (2H, m),

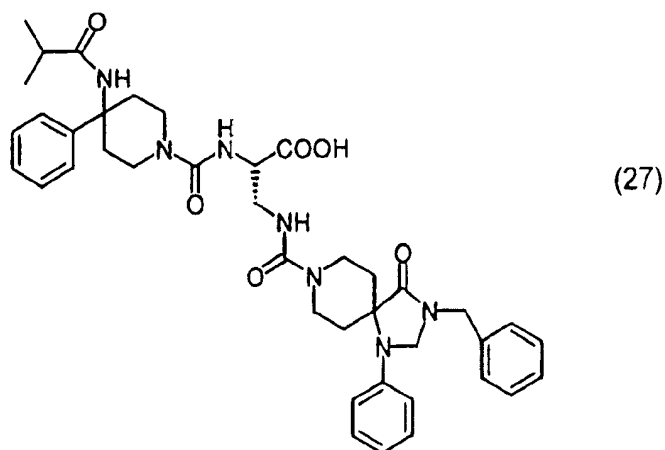
2.28-2.41 (2H, m), 2.51-2.64 (2H, m), 3.02-3.18 (2H, m), 3.53-4.00 (8H, m), 3.78 (3H,

s), 4.43-4.49 (1H, m), 4.58 (2H, s), 4.61 (2H, s), 5.35 (1H, brs), 5.58 (1H, brs), 6.64

-6.71 (2H, m), 6.78-6.85 (1H, m), 6.97-7.02 (1H, m), 7.16-7.40 (11H, m)

## 5 实施例 27

2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸 (27)



- 10 将 2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸甲酯 11mg 溶解于甲醇 1ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.1ml, 在室温下搅拌 2.5 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓
- 15 缩。将残渣用氯仿/乙醚再沉淀, 得到 6.4mg 的 2 - ( (4 - (2 - 甲基丙酰氨基) - 4 - 苯基哌啶基) 羧基氨基) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基) 丙酸 (收率 59%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 722 ( $M^+-H$ )

IR (KBr): 3369, 2966, 2929, 1688, 1628, 1603, 1530, 1469, 1381, 1262, 120

7, 751  $\text{cm}^{-1}$

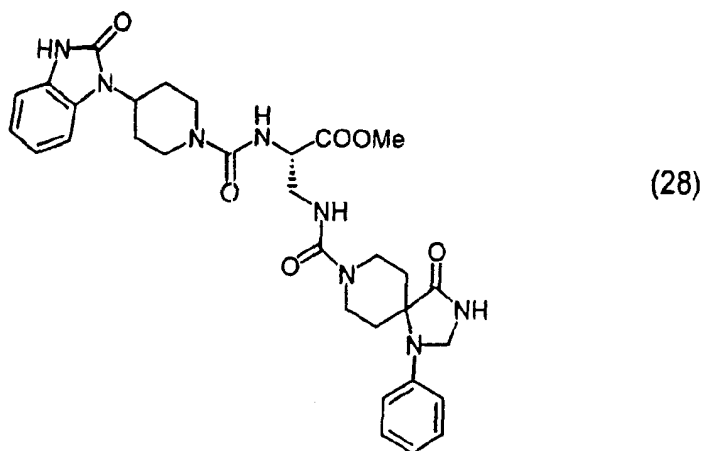
NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.10–1.20 (6H, m), 1.62–1.80 (2H, m), 1.93–2.10 (2H, m), 2.32–2.63 (5H, m), 3.10–3.30 (2H, m), 3.55–4.00 (8H, m), 4.21–4.24 (1H, m), 4.58 (2H, s), 4.60 (2H, s), 5.52 (1H, brs), 5.61 (1H, brs), 6.61–6.70 (2H, m), 6.81–6.88 (1H, m), 7.20–7.40 (12H, m), 8.09 (1H, brs)

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-5.00^\circ$  ( $c=0.02$ , MeOH)

HR-MS:  $\text{C}_{40}\text{H}_{43}\text{N}_7\text{O}_6$  计算值 722.3666 测定值 722.3726

## 实施例 28

2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羧基氨基 )  
- 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [ 4.5 ] 癸 - 8 - 基 )  
5 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 ( 28 )



在氩气环境下, 将 3 - 氨基 - 2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 100.3mg 溶解于二氯甲烷 15ml 中, 加入饱和碳酸氢钠 42mg、氯甲酸对硝基苯酯 67mg, 在室温下搅拌 2 小时。向反应混合物中加入 97mg 和三乙胺 100 $\mu$ l, 在室温下搅拌过夜。浓缩反应混合物后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 用 1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱 (氯仿/甲醇 = 10: 1) 精制残渣, 得到 2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羧基氨基 ) - 3 - ( ( 2, 4,

8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 54.7mg (收率 32%)。

LR-MS(m/z): 618 (M<sup>+</sup>)

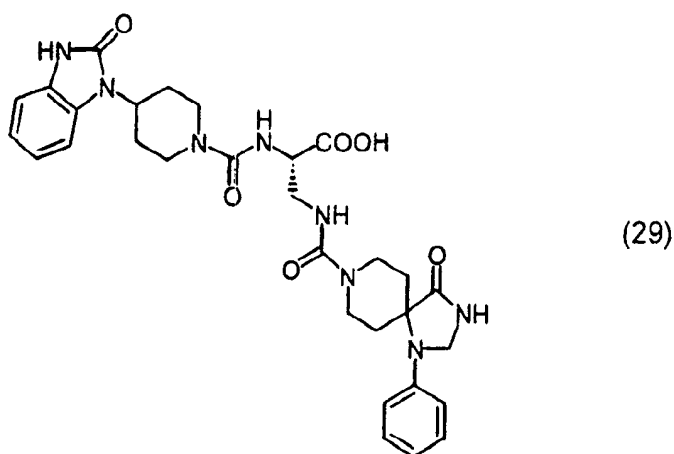
IR(KBr): 3427, 2927, 1704, 1624, 1540, 1381, 1254, 1158, 1087, 753 cm<sup>-1</sup>

NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 1.65-1.85(4H, m), 2.23-2.40(2H, m), 2.49-2.63(2H, m), 2.83-2.98(2H, m), 3.47-3.51(1H, m), 3.60-3.98(5H, m), 3.78(3H, s), 4.17-4.28(2H, m), 4.38-4.52(2H, m), 4.75(2H, s), 5.40(1H, brs), 6.70-6.78(2H, m), 6.84-6.92(1H, m), 6.97-7.09(4H, m), 7.24-7.35(2H, m), 8.75(1H, brs)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -6.85° (c=0.10, MeOH)

### 实施例 29

- 5 2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羰基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸(29)



- 10 将 2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羰基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸甲酯 48mg 溶解于甲醇 2ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.3ml, 在室温下搅拌过夜。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用甲醇/乙醚再沉淀, 得到 24.8mg 的 2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羰基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸
- 15

(收率 53%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 603 ( $M^+ - H$ )

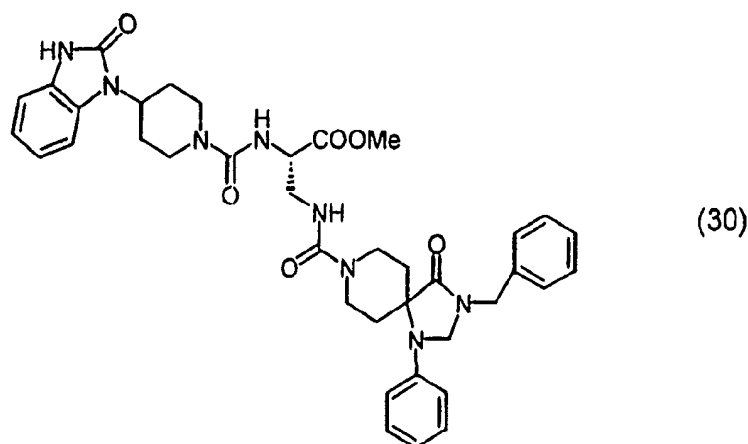
IR (KBr): 3383, 2932, 1702, 1622, 1604, 1541, 1488, 1379, 1254, 1192, 1162, 1091, 966, 754  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  ppm): 1.60–1.78 (4H, m), 2.20–2.40 (2H, m), 2.50–2.62 (2H, m), 2.86–3.00 (2H, m), 3.50–3.57 (4H, m), 3.86–4.00 (2H, m), 4.17–4.30 (2H, m), 4.31–4.37 (1H, m), 4.40–4.52 (1H, m), 4.73 (2H, s), 6.75–6.83 (3H, m), 6.92–7.05 (4H, m), 7.21–7.30 (2H, m)

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-14.7^\circ$  ( $c=0.01$ , MeOH)

### 实施例 30

2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羧基氨基 )  
5 - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [ 4. 5 ]  
癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 ( 30 )



在氩气环境下, 将 2 - 氨基 - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代  
- 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [ 4. 5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 45.1mg  
10 溶解于二氯甲烷 2ml 中, 冰冷条件下加入饱和碳酸氢钠 11.1mg、氯甲  
酸对硝基苯酯 21.3mg, 在室温下搅拌 2.5 小时。向反应混合物中加入  
1 - ( 4 - 哌啶基 ) - 3 - 氢化苯并咪唑 - 2 - 酮 28.7mg 和三乙胺 65 $\mu$ l,  
在室温下搅拌 8 小时。浓缩反应混合物后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液,  
用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 用 1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水  
15 硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱 (二氯甲烷/甲醇 = 20: 1) 精制残渣,

得到 2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羰基氨基基 ) - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [ 4. 5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羰基氨基基 ) 丙酸甲酯 38. 7mg ( 收率 60 % ) 。

LR-MS (m/z) : 708 (M<sup>+</sup>)

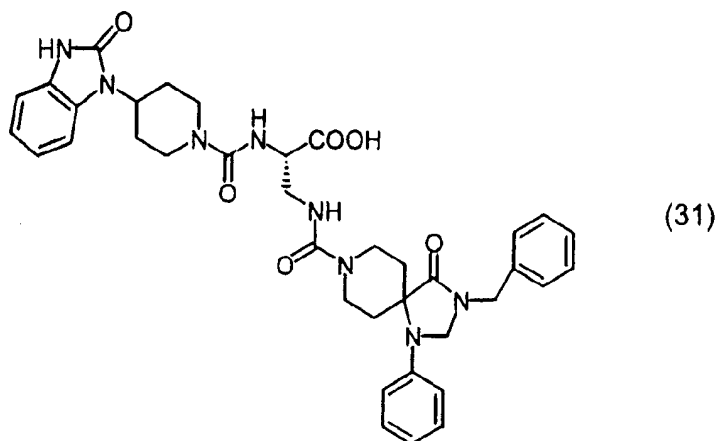
IR (KBr) : 3387, 2931, 1689, 1623, 1543, 1484, 1379, 1267, 1204, 1137, 754  
cm<sup>-1</sup>

NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm) : 1. 63-1. 85 (4H, m), 2. 22-2. 38 (2H, m), 2. 52-2. 66 (2H, m),  
2. 83-2. 99 (2H, m), , 3. 60-3. 88 (4H, m), 3. 77 (3H, s), 3. 91-4. 00 (1H, m), 4. 15-4. 30 (2  
H, m), 4. 40-4. 53 (2H, m), 4. 57 (2H, s), 4. 61 (2H, s), 5. 30-5. 38 (1H, m), 6. 63-6. 72 (2H,  
m), 6. 80-6. 86 (1H, m), 6. 90-7. 08 (6H, m), 7. 21-7. 40 (5H, m), 8. 57 (1H, brs)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -124. 0° (c=0. 10, MeOH)

#### 5 实施例 31

2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羰基氨基基 )  
- 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [ 4. 5 ]  
癸 - 8 - 基 ) 羰基氨基基 ) 丙酸 ( 31 )



- 10 将 2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羰基  
氨基基 ) - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺  
[ 4. 5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羰基氨基基 ) 丙酸甲酯 36. 6mg 溶解于甲醇 1. 5ml  
中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 1ml, 在室温下搅拌 2. 5 小时。向反应溶  
液中加入 1N 盐酸, 用乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤,  
15 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀, 得到 33. 2mg

的 2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羧基氨基 )  
- 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺 [ 4. 5 ]  
癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸 ( 收率 92 % ) 。

LR-MS (m/z) : 695 (M<sup>+</sup>+H)

IR (KBr) : 3368, 2927, 2862, 1697, 1631, 1535, 1485, 1370, 1263, 1196, 115  
7, 1086, 1011, 970, 751 cm<sup>-1</sup>

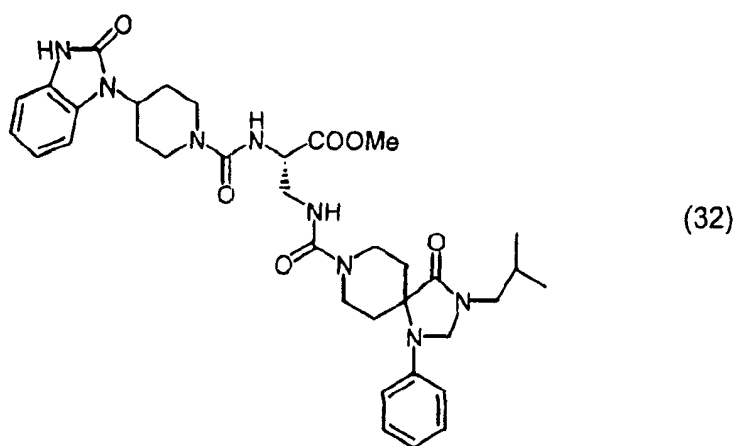
NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ ppm) : 1. 60-1. 80 (4H, m), 2. 20-2. 40 (2H, m), 2. 50-2. 61 (2H, m),  
2. 89-3. 01 (2H, m), , 3. 60-3. 75 (4H, m), 3. 91-4. 02 (2H, m), 4. 16-4. 30 (2H, m), 4. 30-4.  
55 (2H, m), 4. 60 (2H, s), 4. 62 (2H, s), 6. 62-6. 82 (3H, m), 6. 87-7. 07 (4H, m), 7. 20-7. 40  
(7H, m)

HR-MS: C<sub>37</sub>H<sub>43</sub>N<sub>9</sub>O<sub>6</sub>      计算值 695. 3306      测定值 695. 3339

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -12. 0° (c=0. 10, MeOH)

## 5 实施例 32

2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羧基氨基 )  
- 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - ( 2 - 甲基丙基 ) - 1 - 氧代 - 4 - 苯  
基螺 [ 4. 5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 ( 32 )



- 10      将 2 - ( 叔丁氧基羧基氨基 ) - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - ( 2 - 甲基丙基 ) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [ 4. 5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 173. 1mg 溶解于二氯甲烷 2. 7ml 中, 加入三氟醋酸 0. 3ml, 在室温下搅拌 2 小时。浓缩反应溶液。氩气环境下, 将残渣溶解于乙腈 2. 4ml 中, 加入饱和碳酸氢钠 15. 4mg、氯甲酸对硝基苯酯 29. 5mg,

- 室温下搅拌4小时。向反应混合物中加入1-(4-哌啶基)-3-氢化苯并咪唑-2-酮39.8mg和三乙胺85 $\mu$ l, 室温下搅拌过夜。浓缩反应混合物后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用0.1N盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱(氯仿/甲醇=30:1)精制残渣, 得到2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯55.6mg(收率59%)。

LR-MS(m/z):674(M<sup>+</sup>)

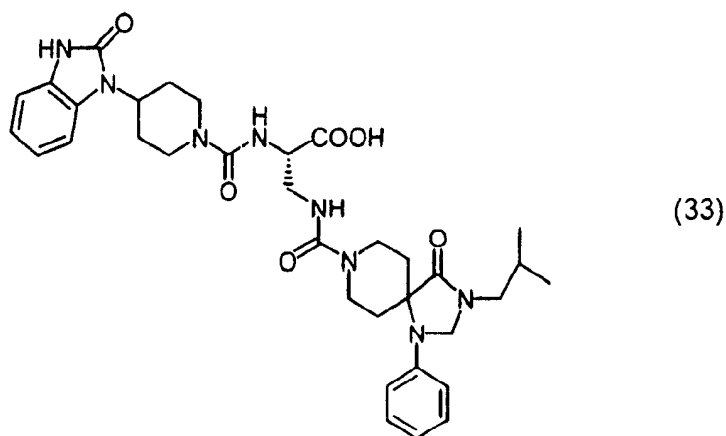
IR(KBr): 3363, 2957, 2869, 1697, 1629, 1536, 1483, 1371, 1265, 1200, 1153, 1087, 1011, 966, 752 cm<sup>-1</sup>

NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 0.95(6H, d, J=6.6), 1.60-1.75(2H, m), 1.78-1.85(2H, m), 1.96-2.08(1H, m), 2.22-2.38(2H, m), 2.53-2.64(2H, m), 2.84-3.00(2H, m), 3.23(2H, d, J=7.4), 3.60-4.00(6H, m), 3.77(3H, s), 4.17-4.30(2H, m), 4.40-4.55(2H, m), 4.70(2H, s), 5.26-5.34(1H, m), 6.72-6.77(2H, m), 6.83-6.90(1H, m), 6.98-7.10(5H, m), 7.24-7.33(2H, m), 8.39(1H, brs)

$[\alpha]_D^{20}$ : -6.5° (c=0.10, MeOH)

#### 10 实施例 33

2-((4-(2-氧代(3-氢化苯并咪唑基))哌啶基)羧基氨基)-3-((2,4,8-三氮杂-2-(2-甲基丙基)-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸(33)



5 将 2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羧基氨基 ) - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - ( 2 - 甲基丙基 ) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [ 4.5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 53.2mg 溶解于甲醇 1ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 1ml, 在室温下搅拌 2 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀, 得到 36.6mg 的 2 - ( ( 4 - ( 2 - 氧代 ( 3 - 氢化苯并咪唑基 ) ) 哌啶基 ) 羧基氨基 ) - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 2 - ( 2 - 甲基丙基 ) - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [ 4.5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸 ( 收率 70% )。

LR-MS (m/z) : 659 (M<sup>+</sup>-H)

IR (KBr) : 3372, 2959, 2871, 1696, 1634, 1536, 1483, 1376, 1266, 1197, 1163, 1090, 1011, 968, 752 cm<sup>-1</sup>

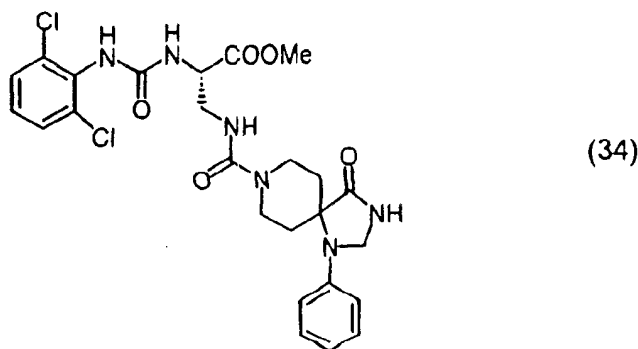
NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$  ppm) : 0.95 (6H, d, J=6.6), 1.59-1.69 (2H, m), 1.70-1.80 (2H, m), 1.99-2.17 (1H, m), 2.22-2.40 (2H, m), 2.50-2.63 (2H, m), 2.90-3.03 (2H, m), 3.24 (2H, d, J=7.7), 3.58-3.70 (4H, m), 3.90-4.02 (2H, m), 4.18-4.31 (2H, m), 4.32-4.39 (1H, m), 4.40-4.53 (1H, m), 4.76 (2H, s), 6.80-6.87 (3H, m), 6.92-7.10 (4H, m), 7.24-7.33 (2H, m)

$[\alpha]_D^{20}$  : -10.0° (c=0.10, MeOH)

0 HR-MS: C<sub>34</sub>H<sub>45</sub>N<sub>9</sub>O<sub>6</sub>      计算值 661.3462      测定值 661.3450

#### 实施例 34

2 - ( ( 2, 6 - 二氯苯基 ) 氨基 ) 羧基氨基 ) - 3 - ( ( 2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [ 4.5 ] 癸 - 8 - 基 ) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 ( 34 )



将 2 - (叔丁氧基羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 苯甲基螺[4.5]癸 - 8 - 基)羰基氨基)丙酸甲酯 100mg 溶解于二氯甲烷 2ml 中, 加入三氟醋酸 1ml, 在室温下搅拌 2 小时。浓缩反应溶液后, 将残渣溶解于二氯甲烷 4ml 中, 加入三乙胺 150 $\mu$ l、2, 6 - 二氯苯异氰酸酯 43mg, 在室温下搅拌 3 小时。向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用水、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后浓缩, 得到 2 - ((2, 6 - 二氯苯基)氨基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺[4.5]癸 - 8 - 基)羰基氨基)丙酸甲酯 90.7mg (收率 77%)。

LR-MS(m/z): 562(M<sup>+</sup>)

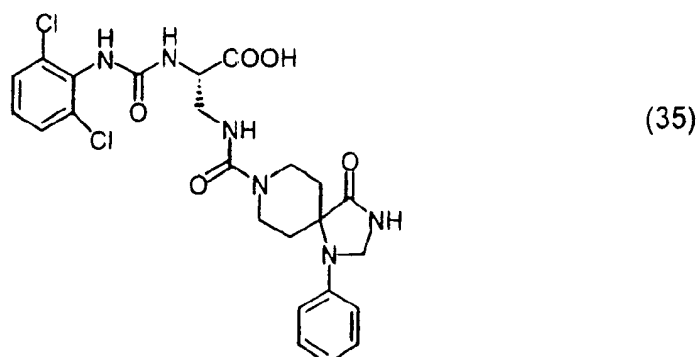
IR(KBr): 3371, 2925, 2852, 1708, 1624, 1539, 1457, 1438, 1372, 1254, 1078, 782, 750  $\text{cm}^{-1}$

NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 1.68-1.81(2H, m), 2.43-2.57(2H, m), 3.58-3.87(6H, m), 3.75(3H, s), 4.52-4.60(1H, m), 4.75(2H, s), 5.26(1H, brs), 6.13(1H, brs), 6.25(1H, brs), 6.33(1H, brs), 6.72-6.78(2H, m), 6.85-6.90(1H, m), 7.10-7.20(2H, m), 7.21-7.39(3H, m).

10  $[\alpha]_D^{20}$ : -5.5° (c=0.10, CHCl<sub>3</sub>)

### 实施例 35

2 - ((2, 6 - 二氯苯基)氨基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺[4.5]癸 - 8 - 基)羰基氨基)丙酸 (35)



15 将 2 - ((2, 6 - 二氯苯基)氨基)羰基氨基) - 3 - ((2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺[4.5]癸 - 8 - 基)羰基氨基)丙酸

甲酯 90mg 溶解于甲醇 4ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 1.6ml, 在室温下搅拌 4 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/乙醚再沉淀, 得到 21.0mg 的 2-((2, 6-二氯苯基)氨基)羧基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸 (收率 52%)。

LR-MS (m/z): 547 (M<sup>+</sup>-H)

IR (KBr): 3355, 2931, 1707, 1604, 1539, 1457, 1437, 1373, 1255, 1203, 1164, 1094, 965, 781 cm<sup>-1</sup>

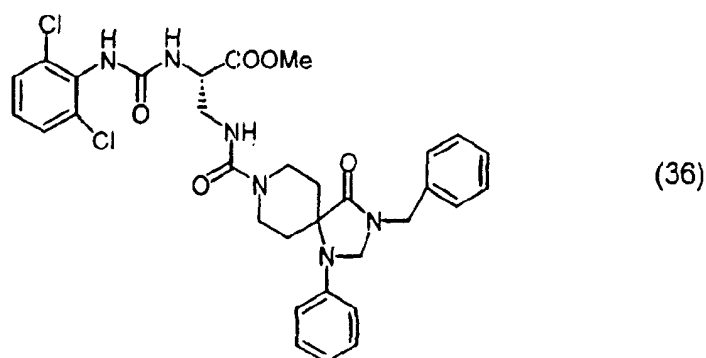
NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ ppm): 1.62-1.74 (2H, m), 2.45-2.60 (2H, m), 3.55-3.70 (4H, m), 3.83-3.99 (2H, m), 4.42-4.50 (1H, m), 4.71 (2H, s), 6.78-6.83 (3H, m), 7.20-7.30 (3H, m), 7.38-7.41 (2H, m)

HR-MS: C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>      计算值 547.1263      测定值 547.1254

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -9.5 (c=0.10, MeOH)

### 实施例 36

2-((2, 6-二氯苯基)氨基)羧基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯 (36)



将 2-((叔丁氧基羧基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯 50mg 溶解于二氯甲烷 1ml 中, 加入三氟醋酸 0.5ml, 在室温下搅拌 2 小时。浓缩反应溶液后, 将残渣溶解于二氯甲烷 2ml 中, 加入三乙胺

60 $\mu$ l、2, 6-二氯苯异氰酸酯 19mg, 在室温下搅拌过夜。向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用水、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后浓缩。用柱色谱(乙酸乙酯/正己烷=1:1)精制残渣, 得到 2-((2, 6-二氯苯基)氨基)羧基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯 46.3mg (收率 80%)。

LR-MS( $m/z$ ): 652 ( $M^+$ )

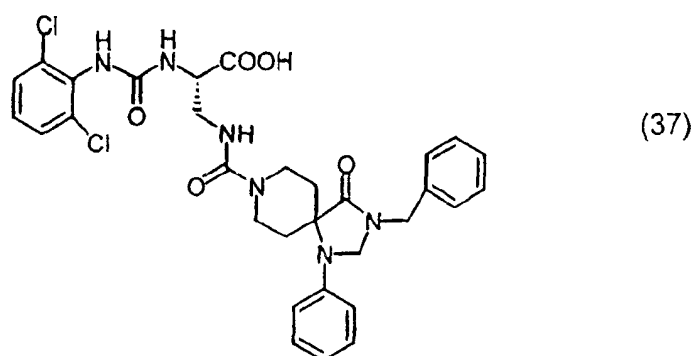
IR(KBr): 3392, 2925, 1740, 1701, 1651, 1539, 1455, 1436, 1375, 1261, 1201, 1162, 1063, 752 $cm^{-1}$

NMR(300MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.65-1.78(2H, m), 2.45-2.60(2H, m), 3.60-3.90(6H, m), 3.78(3H, s), 4.52-4.61(1H, m), 4.54(2H, s), 4.60(2H, s), 5.40(1H, brs), 6.44(1H, brs), 6.63-6.78(3H, m), 6.79-6.84(1H, m), 7.07-7.12(1H, m), 7.20-7.40(9H, m)

$[\alpha]_D^{20}$ : -7.0° ( $c=0.10$ ,  $CHCl_3$ )

### 实施例 37

2-((2, 6-二氯苯基)氨基)羧基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸 (37)



将 2-((2, 6-二氯苯基)氨基)羧基氨基)-3-((2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羧基氨基)丙酸甲酯 41.2mg 溶解于甲醇 2ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.6ml, 在室温下搅拌 2 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/乙醚再沉淀, 得到 21.0mg 的 2-((2, 6-二氯苯基)

氨基)羰基氨基)-3-( (2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基-2-苯甲基螺[4.5]癸-8-基)羰基氨基)丙酸(收率52%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 637 ( $M+H$ )

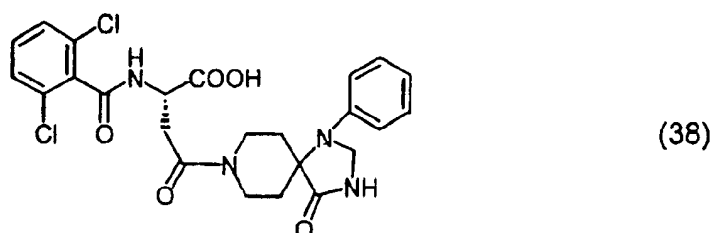
IR(KBr): 3418, 2926, 1724, 1700, 1624, 1539, 1472, 1377, 1265, 1194, 1075, 1025, 786, 750  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.64-1.78 (2H, m), 2.40-2.60 (2H, m), 3.44-3.55 (2H, m), 3.63-3.92 (4H, m), 4.30-4.40 (1H, m), 4.54 (2H, s), 4.60 (2H, s), 5.19 (1H, brs), 5.73 (1H, brs), 6.63-6.70 (2H, m), 6.79-6.89 (2H, m), 7.10-7.45 (9H, m)

$[\alpha]_D^{20}$ : -6.0° ( $c=0.10$ , MeOH)

### 实施例 38

- 5 2-( (2, 6-二氯苯基)羰基氨基)-4-氧代-4-( (2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)丁酸(38)



- 将 2-氨基-4-氧代-4-( (2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)丁酸甲酯 150mg 溶解于 DMF 2ml, 加入 2, 6-二氯苯甲酰氯 97 $\mu$ l、三乙胺 192 $\mu$ l, 在室温下搅拌 14 小时。向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用 0.1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣溶解于甲醇 6ml, 加入 1N 氢氧化钠 2ml 水溶液, 搅拌 1.5 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱 (DIOL, 乙酸乙酯/甲醇 = 10/1) 精制残渣, 得到 2-( (2, 6-二氯苯基)羰基氨基)-4-氧代-4-( (2, 4, 8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)丁酸 270mg (收率 80%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 517 ( $M^+-H$ )

IR (KBr): 3408, 2926, 1709, 1638, 1601, 1500, 1459, 1432, 1382, 1235, 1195  $cm^{-1}$

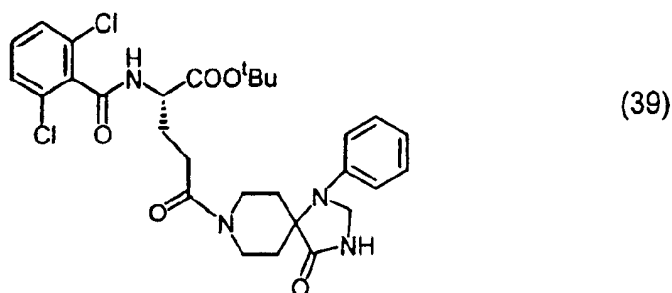
NMR (300MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  ppm): 2.35-2.65 (2H, m), 3.00-3.25 (2H, m), 3.40-3.50 (1H, m), 3.80-4.00 (2H, m), 4.30-4.45 (1H, m), 4.71 (2H, s), 5.00-5.07 (1H, m), 6.80-6.90 (3H, m), 7.20-7.30 (2H, m), 7.50-7.65 (3H, m)

HR-MS:  $C_{24}H_{24}Cl_2N_4O_5$  计算值 517.1046 测定值 517.1092

$[\alpha]_D^{20}$ : +3.37° ( $c=0.31$ , MeOH)

### 实施例 39

2-((2,6-二氯苯基)羧基氨基)-5-氧代-5-(2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)戊酸叔丁酯 (39)



5

将 2-氨基-5-氧代-5-(2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)戊酸叔丁酯 393mg 溶解于 DMF 2ml, 加入 2,6-二氯苯甲酰氯 197 $\mu$ l、三乙胺 385 $\mu$ l, 在室温下搅拌 3 小时。向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用 0.1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色

10 谱 (乙酸乙酯/正己烷 = 6/1) 精制残渣, 得到 2-((2,6-二氯苯基)羧基氨基)-5-氧代-5-(2,4,8-三氮杂-1-氧代-4-苯基螺[4.5]癸-8-基)戊酸叔丁酯 468mg (收率 86%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 588 ( $M^+$ )

IR (KBr): 3259, 3066, 2979, 2932, 1717, 1627, 1502, 1432, 1367, 1299, 124

9, 1155, 1088, 1046, 964, 846, 801, 749  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.50 (9H, s), 1.70-1.87 (2H, m), 2.00-2.20 (1H, m), 2.30-

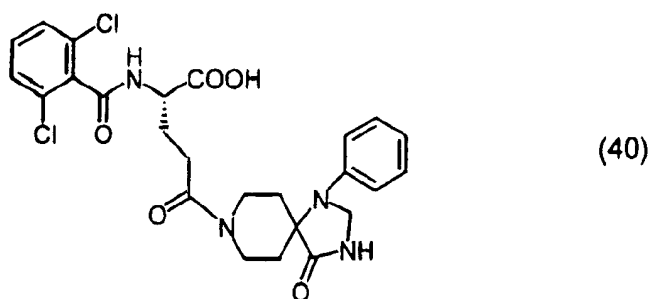
2.76 (5H, m), 3.35-3.45 (1H, m), 3.73-3.98 (2H, m), 4.46-4.61 (1H, m), 4.68-4.82 (1H,

m), 4.76 (2H, s), 6.60 (1H, brs), 6.74-6.97 (4H, m), 7.21-7.33 (4H, m)

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-32.8^\circ$  ( $c=0.19$ , MeOH)

#### 实施例 40

2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) - 5 - 氧代 - 5 - (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 戊酸 (40)



5

将 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) - 5 - 氧代 - 5 - (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 戊酸叔丁酯 436mg 溶解于二氯甲烷 2ml 中, 加入三氟醋酸 1.5ml, 在室温下搅拌 4 小时。浓缩反应溶液后, 用二氯甲烷/乙醚再沉淀, 得到 295mg 的 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) - 5 - 氧代 - 5 - (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 戊酸 (收率 75%)。

10

LR-MS ( $m/z$ ): 531 ( $M^+-H$ )

IR (KBr): 3258, 3066, 2929, 1716, 1657, 1625, 1601, 1501, 1433, 1381, 136

6, 1194, 1089, 801, 751  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.71-1.85 (2H, m), 2.00-2.2

2 (1H, m), 2.35-2.72 (4H, m), 2.78-2.83 (1H, m), 3.40-3.48 (1H, m), 3.78-4.00 (2H, m),

4.43-4.58 (1H, m), 4.70-4.82 (1H, m), 4.73 (2H, s), 6.72-6.93 (3H, m), 7.20-7.35 (5H,

m)

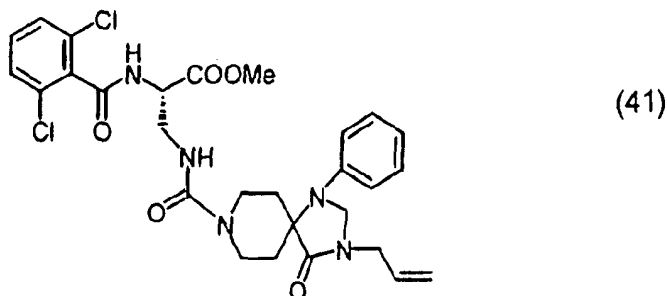
HR-MS:  $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_5$  计算值 531.1202 测定值 531.1218

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-53.6^\circ$  ( $c=0.04$ , MeOH)

#### 实施例 41

2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羰基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙 - 2 - 烯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基 )

#### 5 丙酸甲酯 (41)



将 3 - 氨基 - 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羰基氨基 ) 丙酸甲酯 67mg 溶解于二氯甲烷 3ml 和乙腈 2ml 中, 在氩气环境下, 加入饱和碳酸氢钠 31mg、氯甲酸对硝基苯酯 56mg, 在室温下搅拌 2.5 小时。向反应混合物中加入 2, 4, 8 - 三氮杂 - 4 - 苯基 - 2 - 丙 - 2 - 烯基螺 [4.5] 癸烷 - 1 - 酮 95mg 和三乙胺 167 $\mu$ l, 在室温下搅拌过夜。浓缩反应混合物后, 加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用 0.1N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用柱色谱 (二氯甲烷/甲醇 = 60: 1) 精制残渣, 得到 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羰基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙 - 2 - 烯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羰基氨基 ) 丙酸甲酯 89.8mg (收率 66

% ) 。

LR-MS (m/z) : 587 (M<sup>+</sup>)

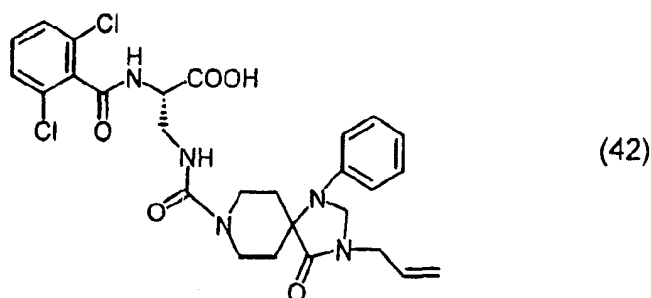
IR (KBr) : 3384, 3065, 2927, 1746, 1696, 1602, 1531, 1470, 1432, 1378, 1260, 1198, 1171, 1128, 802, 749 cm<sup>-1</sup>

NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm) : 1.63-1.73 (2H, m), 2.45-2.60 (2H, m), 3.60-3.92 (6H, m), 3.82 (3H, s), 4.02-4.07 (2H, m), 4.65 (2H, s), 4.80-4.87 (1H, m), 5.24-5.32 (2H, m), 5.38 (1H, brs), 5.75-5.86 (1H, m), 6.73-6.80 (2H, m), 6.82-6.90 (1H, m), 7.22-7.34 (5H, m), 7.45 (1H, brs)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> : -8.03° (c=0.07, MeOH)

#### 实施例 42

2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙 - 2 - 烯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸 (42)



将 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙 - 2 - 烯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸甲酯 86.3mg 溶解于甲醇 3ml 中, 加入 1N 氢氧化钠水溶液 0.75ml, 在室温下搅拌 1 小时。向反应溶液中加入 1N 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用氯仿/正己烷再沉淀, 得到 104mg 的 2 - ( (2, 6 - 二氯苯基) 羧基氨基 ) - 3 - ( (2, 4, 8 - 三氮杂 - 1 - 氧代 - 4 - 苯基 - 2 - 丙 - 2 - 烯基螺 [4.5] 癸 - 8 - 基) 羧基氨基 ) 丙酸 (收率%)。

LR-MS ( $m/z$ ): 572 ( $M^+ - H$ )

IR (KBr): 3384, 2928, 1686, 1601, 1539, 1473, 1432, 1379, 1262, 1197, 801, 749  $\text{cm}^{-1}$

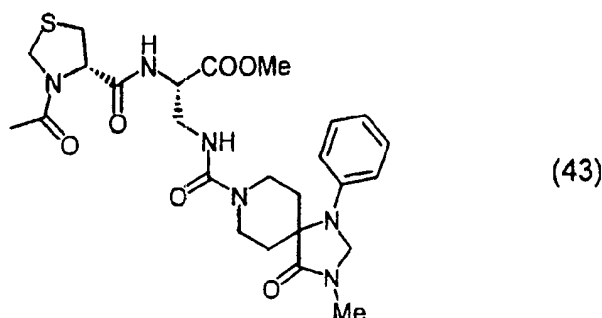
NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.69–1.82 (2H, m), 2.44–2.62 (2H, m), 3.48–3.57 (1H, m), 3.71–4.01 (5H, m), 4.02–4.05 (2H, m), 4.51–4.58 (1H, m), 4.67 (2H, s), 5.25–5.36 (2H, m), 5.77–5.90 (1H, m), 5.95 (1H, brs), 6.73–6.81 (2H, m), 6.54–6.97 (1H, m), 7.23–7.37 (5H, m), 7.63 (1H, brs)

HR-MS:  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_5$  计算值 572.1467 测定值 572.1417

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-55.8^\circ$  ( $c=0.04$ , MeOH)

#### 实施例 43

2 - ( ( (S) - 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 羰基) 氨基) - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲酯 (43)



向 2 - 氨基 - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲酯 331mg (0.85mmol) 的二氯甲烷 8.5ml 溶液中加入 (S) - 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 甲酸 149mg (0.85mmol)、BOP 试剂 376mg (0.85mmol) 和 N, N - 二异丙基乙胺 0.16ml (0.95mmol), 在室温下搅拌过夜。向反应混合物中加入饱和食盐水 10ml, 用乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用 0.5M 盐酸、饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用硅胶柱色谱 (氯仿: 甲醇 = 100: 1 ~ 10: 1) 精制残渣, 得到 2 - ( ( (S) - 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 羰基) 氨基) - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲

酯 305mg (收率 65%)。

LR-MS ( $m/z$ ) : 547 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

IR (KBr) : 3376, 1750, 1699, 1651, 1639, 1532, 1404, 1268, 1204, 1153, 128, 1055, 986  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm) : 8.07 (1H, d,  $J = 6.2$ ), 7.50-7.12 (3H, m), 6.

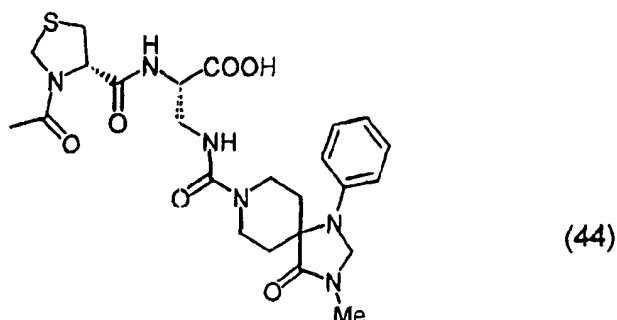
87 (1H, t,  $J = 7.1\text{Hz}$ ), 6.76 (2H, d,  $J = 8.2$ ), 5.15 (1H, t,  $J = 5.5$ ), 5.0

0 (1H, dd,  $J = 7.0, 2.9$ ), 4.73-4.42 (5H, m), 3.93-3.15 (12H, m), 3.02 (3

H, s), 2.66-2.46 (2H, m), 2.17 (3H, s)

#### 实施例 44

2 - ( ( (S) - 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 羰基 ) 氨基 ) - 3 - ( ( 3 - 甲  
5 基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基 )  
氨基 ) 丙酸 (44)



向 2 - ( ( (S) - 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 羰基 ) 氨基 ) - 3 - ( ( 3 -  
- 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基 )  
10 基 ) 氨基 ) 丙酸甲酯 176mg (0.32mmol) 的四氢呋喃 4ml 溶液中加入  
0.1M 氢氧化钾水溶液 4ml, 室温下搅拌过夜。向反应混合物中加入 0.1M  
盐酸, 用乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸  
酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用乙醚/氯仿再沉淀, 得到 2 - ( 3 - 乙酰基  
噻唑烷 - 4 - 羰基 ) 氨基 ) - 3 - ( ( 3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1,  
15 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基 ) 氨基 ) 丙酸 130mg (收率 76  
%)。

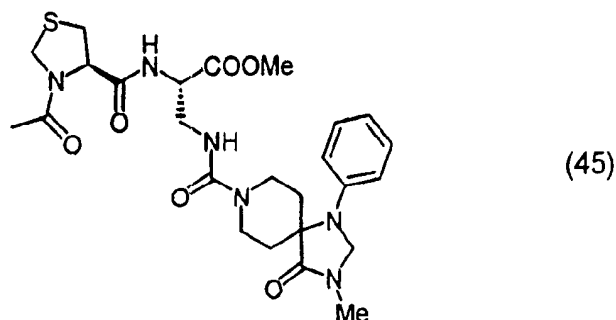
LR-MS ( $m/z$ ) : 533 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

IR (KBr) : 3374, 1689, 1633, 1533, 1407, 1268, 1198, 1155, 1087, 1056, 987  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm) : 8.79 (1H, d,  $J=4.7$ ), 7.48-7.13 (2H, m), 6.86 (1H, t,  $J=7.2$ ), 6.73 (2H, d,  $J=7.2$ ), 5.81 (1H, t,  $J=6.2$ ), 4.99 (1H, dd,  $J=6.8, 3.0$ ), 4.68 (2H, s), 4.61 (1H, d,  $J=8.5$ ), 4.54 (1H, d,  $J=8.5$ ), 4.27 (1H, m), 3.95-3.54 (6H, m), 3.38-3.16 (2H, m), 3.01 (3H, s), 2.62-2.42 (2H, m), 2.21 (3H, s), 1.69 (2H, d,  $J=14.6$ )

#### 实施例 45

2 - ( ( (R) - 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 羰基) 氨基) - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苄基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲酯 (45)



向 2 - 氨基 - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苄基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲酯 301mg (0.77mmol) 的二氯甲烷 7.5ml 溶液中加入 (R) - 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 甲酸 135mg (0.77mmol)、BOP 试剂 342mg (0.77mmol) 和 N, N - 二异丙基乙胺 0.15ml (0.86mmol), 在室温下搅拌过夜。向反应混合物中加入饱和食盐水 10ml, 用乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用 0.5M 盐酸、饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用硅胶柱色谱 (氯仿: 甲醇 = 100: 1 ~ 10: 1) 精制残渣, 得到 2 - ( ( (R) - 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 羰基) 氨基) - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苄基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲酯 309mg (收率 73%)。

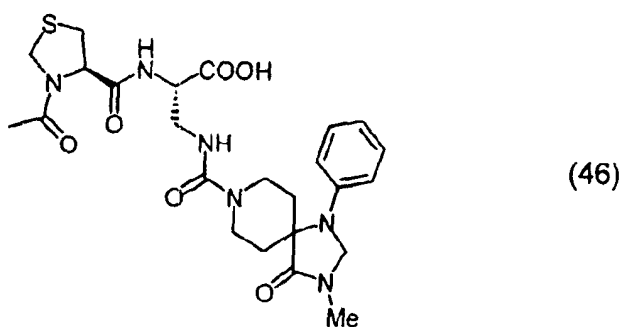
LR-MS ( $m/z$ ) : 547 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

IR (KBr) : 3372, 1749, 1698, 1658, 1634, 1531, 1438, 1404, 1266, 1207, 1153, 1128, 1084, 1055, 986  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm) : 8.98 (0.33H, d,  $J = 5.3$ ), 7.63 (0.67H, d,  $J = 7.0$ ), 7.48-7.13 (3H, m), 6.91-6.72 (3H, m), 5.45 (0.67H, t,  $J = 6.2$ ), 4.98-4.48 (6.33H, m), 4.00-3.32 (11H, m), 3.16 (1H, dd,  $J = 11.5, 6.5\text{Hz}$ ), 3.01 (3H, s), 2.65-2.42 (2H, m), 2.18 (1H, s), 2.15 (2H, s)

#### 实施例 46

2 - ( (R) - 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 羰基 ) 氨基 ) - 3 - ( ( 3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苄基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [ 4.5 ] 癸烷 - 8 - 羰基 ) 氨基 ) 丙酸甲酯 ( 46 )



向 2 - ( 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 羰基 ) 氨基 ) - 3 - ( ( 3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苄基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [ 4.5 ] 癸烷 - 8 - 羰基 ) 氨基 ) 丙酸甲酯 171mg ( 0.31mmol ) 的四氢呋喃 4ml 溶液中加入 0.1M 氢氧化钾水溶液 4ml, 室温下搅拌过夜。向反应混合物中加入 0.1M 盐酸, 用乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用乙醚/氯仿再沉淀, 得到 2 - ( 3 - 乙酰基噻唑烷 - 4 - 羰基 ) 氨基 ) - 3 - ( ( 3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苄基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [ 4.5 ] 癸烷 - 8 - 羰基 ) 氨基 ) 丙酸 135mg ( 收率 81% )。

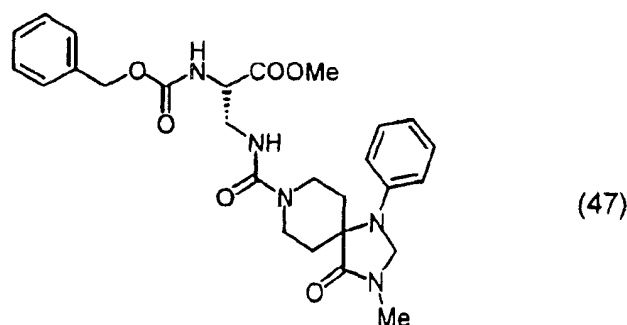
LR-MS ( $m/z$ ) : 533 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

IR (KBr) : 3367, 1693, 1633, 1532, 1408, 1267, 1204, 1154, 1124, 1056, 986  $\text{cm}^{-1}$

NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm) : 9.17 (0.25H, d,  $J = 5.0$ ), 8.38 (0.75H, d,  $J = 5.0$ ), 7.48-7.13 (2H, m), 6.87 (1H, t,  $J = 7.3$ ), 6.74 (2H, d,  $J = 8.2$ ), 5.82 (1H, m), 4.92-4.33 (6H, m), 3.88-3.54 (6H, m), 3.31 (1H, dd,  $J = 11.9, 6.9$ ), 3.20 (1H, dd,  $J = 11.9, 6.9$ ), 3.01 (3H, s), 2.62-2.42 (2H, m), 2.17 (3H, s), 1.68 (2H, d,  $J = 13.2$ )

#### 实施例 47

2-苯甲氧基羰基氨基-3-((3-甲基-4-氧代-1-苯基-1,3,8-三氮杂螺[4.5]癸烷-8-羰基)氨基)丙酸甲酯 (47)



5

向 2-氨基-3-((3-甲基-4-氧代-1-苯基-1,3,8-三氮杂螺[4.5]癸烷-8-羰基)氨基)丙酸甲酯 288mg (0.74mmol) 的二氯甲烷 4ml 溶液中加入三乙胺 0.21ml (1.48mmol) 和苯甲氧基羰基氯 0.1ml (0.89mmol), 在室温下搅拌一天。向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用 10% 枸橼酸水溶液、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用硅胶柱色谱 (氯仿: 甲醇 = 60: 1) 精制残渣, 得到 2-苯甲氧基羰基氨基-3-((3-甲基-4-氧代-1-苯基-1,3,8-三氮杂螺[4.5]癸烷-8-羰基)氨基)丙酸甲酯 284mg (收率 73%)。

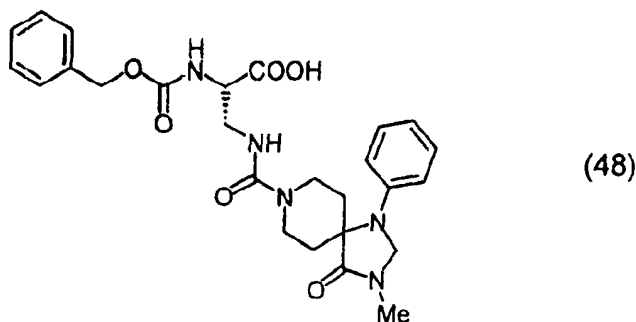
15

LR-MS ( $m/z$ ) : 524 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

NMR (300MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  ppm) : 7.40–7.22 (7H, m), 6.94 (1H, d,  $J$  = 6.9), 6.74 (2H, d,  $J$  = 8.2), 6.31 (1H, br d,  $J$  = 6.6), 5.10 (1H, br s), 5.09 (2H, s), 3.92–3.57 (9H, m), 3.01 (3H, s), 2.62–2.48 (2H, m), 1.66 (2H, d,  $J$  = 13.5)

#### 实施例 48

2-苯甲氧基羰基氨基-3-((3-甲基-4-氧代-1-苯基-1,3,8-三氮杂螺[4.5]癸烷-8-羰基)氨基)丙酸(48)



5

向 2-苯甲氧基羰基氨基-3-((3-甲基-4-氧代-1-苯基-1,3,8-三氮杂螺[4.5]癸烷-8-羰基)氨基)丙酸甲酯 177mg (0.34mmol) 的四氢呋喃 4ml 溶液中加入 0.1M 氢氧化钾水溶液 4ml, 0℃下搅拌过夜。向反应混合物中加入 0.1M 盐酸, 用乙酸乙酯萃取。

10 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用乙醚/氯仿再沉淀, 得到 2-苯甲氧基羰基氨基-3-((3-甲基-4-氧代-1-苯基-1,3,8-三氮杂螺[4.5]癸烷-8-羰基)氨基)丙酸 143mg (收率 83%)。

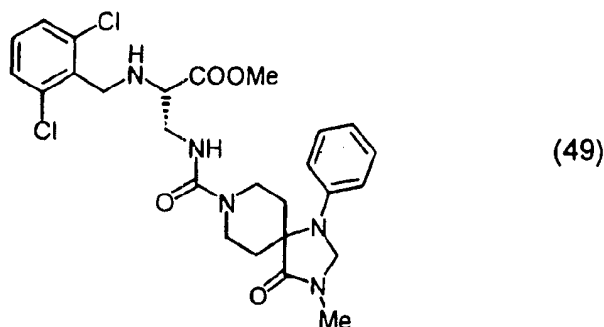
LR-MS ( $m/z$ ) : 510 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

NMR (300MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  ppm) : 7.38–7.20 (7H, m), 6.86 (1H, t,  $J$  = 7.4), 6.73 (2H, d,  $J$  = 8.2), 6.54 (1H, d,  $J$  = 5.0), 5.66 (1H, br s), 5.09 (2H, s), 4.66 (2H, s), 4.24 (1H, br s), 3.90–3.60 (5H, m), 3.45 (1H, br d,  $J$  = 12.3), 3.00 (3H, s), 2.60–2.40 (2H, m), 1.76–1.56 (2H, m)

15

## 实施例 49

2 - (2, 6 - 二氯苯甲基氨基) - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲酯 (49)



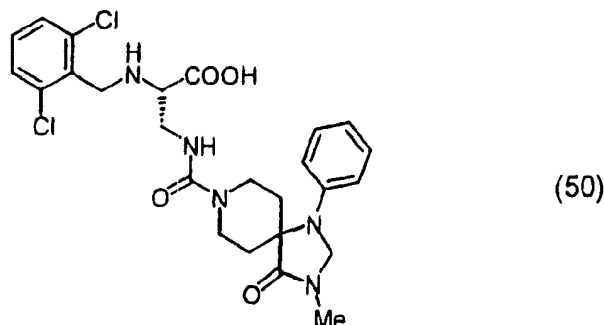
- 5 向 2 - 氨基 - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲酯 288mg (0.74mmol) 的二氯甲烷 4ml 溶液中加入三乙胺 0.21ml (1.48mmol) 和 2, 6 - 二氯苯甲基溴 214mg (0.89mmol), 在室温下搅拌一天。向反应混合物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取。合并有机层, 用饱和食盐水洗涤,
- 10 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。用硅胶柱色谱 (氯仿: 甲醇 = 60: 1) 精制残渣, 得到 2 - (2, 6 - 二氯苯甲基氨基) - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲酯 195mg (收率 48%)。

LR-MS ( $m/z$ ) : 548 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

NMR (300MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  ppm) : 7.31-7.23 (4H, m), 7.11 (1H, dd,  $J$  = 8.8, 7.3), 6.85 (1H, t,  $J$  = 7.5Hz), 6.73 (2H, d,  $J$  = 7.9), 5.28 (1H, dd,  $J$  = 6.1, 3.8), 4.68 (2H, s), 4.17 (1H, d,  $J$  = 12.6), 3.99 (1H, d,  $J$  = 12.6), 3.94-3.58 (5H, m), 3.72 (3H, s), 3.48 (1H, dd,  $J$  = 7.6, 4.4), 3.26 (1H, dd,  $J$  = 13.2, 7.9, 3.8), 3.01 (3H, s), 2.60-2.46 (2H, m), 1.65 (2H, d,  $J$  = 13.8)

## 15 实施例 50

2 - (2, 6 - 二氯苯甲基氨基) - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸 (50)



向 2 - (2, 6 - 二氯苯甲基氨基) - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸甲酯 132mg (0.24mmol) 的四氢呋喃 3ml 溶液中加入 0.1M 氢氧化钾水溶液 2.6ml, 室温下搅拌过夜。向反应混合物中加入 0.1M 盐酸, 用氯仿萃取。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 浓缩。将残渣用乙醚/氯仿再沉淀, 得到 2 - (2, 6 - 二氯苯甲基氨基) - 3 - ( (3 - 甲基 - 4 - 氧代 - 1 - 苯基 - 1, 3, 8 - 三氮杂螺 [4.5] 癸烷 - 8 - 羰基) 氨基) 丙酸 103mg (收率 81%)。

LR-MS (m/z): 534 (M+H)<sup>+</sup>

NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 7.40-7.24 (5H, m), 6.85 (1H, t, J = 7.3), 6.

73 (2H, d, J = 7.9), 6.71 (1H, br s), 4.65 (2H, s), 4.47 (1H, d, J = 13.

5), 4.41 (1H, d, J = 13.5), 4.01-3.56 (7H, m), 3.00 (3H, s), 2.56-2.40 (

2H, m), 1.67 (2H, d, J = 14.9)

### 实施例 51

化合物对 CS - 1 肽与 VLA - 4 - IgG 嵌合蛋白结合的抑制效果

按照报道 (Humphrise, M.J. et al. J.Bio.Chem., 262, 6886-6892(1987)), 制作含有 CS - 1 序列的肽 (Gys Leu His Gly Pro Glu Glu Ile Leu Asp Val Pro Ser Thr) 和兔 IgG (Sigma) 的缀合物。将其用磷酸缓冲液 (以下简称为 PBS (-)) 稀释, 按 100μl/孔加入到 96 孔免疫板 (NUNC) 上, 在 4℃ 下静置 16 小时使之固定。

接着, 用 PBS (-) 将孔内洗涤 2 次后, 按 300μl/孔加入 80℃ 下加热处理 10 分钟后的含有 1% BSA 的 PBS 溶液, 在 4℃ 下静置 3 小时, 然后抽滤除去孔内的溶液。

使各化合物与 VLA-4-IgG 嵌合蛋白 (100μl) 在室温下预先反应 20 分钟后, 在孔内与 CS-1 肽在 30℃ 下反应 3 小时。然后, 抽滤除去非结合 VLA-4-IgG 嵌合蛋白, 再用含有 0.1% BSA 的 TBS 缓冲液 (150mM NaCl、25mM Tris-HCl、1mM MnCl<sub>2</sub>、pH7.4) 洗涤 2 次除去。

5 向结合 VLA-4-IgG 嵌合蛋白中加入生物素标识抗人 IgG 抗体 (Vector) 作为 1 次抗体, 接着加入抗生物素蛋白标识山箭菜 (クサビ) 过氧化物酶 (Sigma) 作为 2 次抗体, 使之反应。加入邻苯二胺作为基质, 使之显色, 在 490nm 处测定吸光度。由该吸光度求出被测化合物的结合抑制活性。代表性化合物的抑制活性如表 1 所示。

10

表 1

| 化合物序号 | 抑制活性 (IC <sub>50</sub> : nM) |
|-------|------------------------------|
| 3     | 6.1                          |
| 7     | 18                           |
| 13    | 2.9                          |
| 27    | 2.1                          |
| 31    | 0.98                         |

工业实用性

15 本发明的新型螺环衍生物具有抑制由粘附分子, 特别是粘附分子 VLA-4 介导的细胞粘附的活性。本发明的螺环衍生物抑制由粘附分子介导的细胞粘附的效果优良, 因此作为各种炎症性疾病的治疗药有用。