



[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 94194242.2

[51]Int.Cl⁶

A61K 38/07

[43]公开日 1996年11月13日

[22]申请日 94.10.17

[30]优先权

[32]93.10.15 [33]US [31]08 / 138,820

[86]国际申请 PCT / US94 / 12135 94.10.17

[87]国际公布 WO95 / 10295 英 95.4.20

[85]进入国家阶段日期 96.5.21

[71]申请人 罗纳-布朗克·罗莱尔药物有限公司

地址 美国宾夕法尼亚

[72]发明人 S·I·克莱恩

B·F·莫利诺

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商
标事务所

代理人 张元忠

权利要求书 8 页 说明书 50 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 抗血栓形成的氮杂环烷基链烷酰胺和假肽

[57]摘要

本发明涉及氮杂环烷基链烷酰胺和假肽，它们抑制血小板聚集和血栓形成，因此用于预防和治疗与疾病状态如心肌梗塞，中风，外周动脉性疾病和广泛性血管内凝集有关的血栓形成，涉及预防或治疗需要治疗的哺乳动物血栓形成的方法，它包含给予治疗有效量的该化合物，并且涉及含有该化合物的药用组合物。

基,杂环烷基,取代的杂环烷基, OR^1 或 NR^1R^2 ,其中 R^1 和 R^2 独立地为 H ,烷基,环烷基,环烷基烷基,烷基环烷基,烷基环烷基烷基,芳基,芳烷基,烷基芳基,或烷基芳烷基,和

r 为0或1;

R 为 H ,烷基,芳基或芳烷基;

m 为1-5;

n 为0-6;和

P 为1-4。

2. 权利要求1的化合物,其中 F 为 H ,烷基,羟甲基,1-羟乙基,巯基甲基,2-甲基硫乙基,羧甲基,2-羧乙基,4-氨基丁基,3-胍基丙基,环烷基,环烷基烷基,烷基环烷基,烷基环烷基烷基,芳基,取代的芳基,芳烷基,取代的芳烷基,杂环基,取代的杂环基,杂环烷基,取代的杂环烷基或与 E 连接形成4-,5-,6-或7-元氮杂链烷环,假设杂环烷基是吡啶-3-基甲基外的基团。

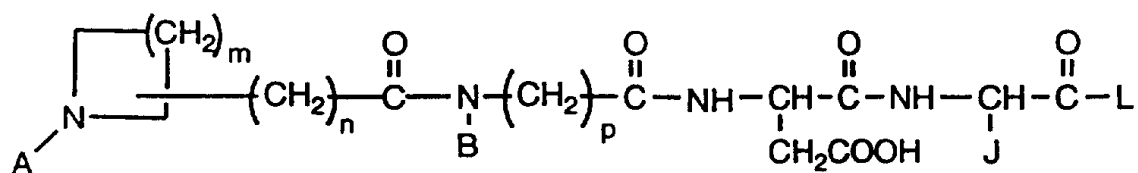
3. 权利要求2的化合物,其中 F 为 H ,烷基,羟甲基,1-羟乙基,巯基甲基,2-甲基硫乙基,羧甲基,2-羧乙基,4-氨基丁基,3-胍基丙基,环烷基,环烷基烷基,烷基环烷基,烷基环烷基烷基,芳基,取代的芳基,芳烷基,取代的芳烷基或与 E 连接形成4-,5-,6-,或7-元氮杂链烷环。

4. 权利要求3的化合物,其中 F 为 H ,烷基,羟甲基,1-羟乙基,巯基甲基,2-甲基硫乙基,羧甲基,2-羧乙基,4-氨基丁基,3-胍基丙基,环烷基,环烷基烷基,烷基环烷基,烷基环烷基烷基,或与 E 连接形成4-,5-,6-或7-元氮杂链烷环。

5. 权利要求4的化合物,其中 B 为烷基,环烷基,环烷基烷

基,烷基环烷基或烷基环烷基烷基。

6. 下式化合物或其可药用的盐。



其中:

A 为 H 或脒基,

B 为烷基,环烷基,环烷基烷基,烷基环烷基,烷基环烷基烷基,芳基,芳烷基,烷基芳基或烷基芳烷基,

J 为 H,烷基,环烷基,环烷基烷基,烷基环烷基,烷基环烷基烷基,芳基,取代的芳基,芳烷基,取代的芳烷基,

L 为 OR^1 或 NR^1R^2 , 其中 R^1 和 R^2 独立地为 H,烷基,环烷基,环烷基烷基,烷基环烷基,烷基环烷基烷基,芳基,芳烷基,烷基芳基,或烷基芳烷基,

m 为 1—5;

n 为 2—6; 和

P 为 1—2。

7. 权利要求 6 的化合物,其中

A 为 H,

B 为烷基,环烷基,环烷基烷基,烷基环烷基,烷基环烷基烷基,

J 为 H,烷基,环烷基,环烷基烷基,烷基环烷基或烷基环烷基

烷基,

m 为 3, 和

n 为 3 或 4。

8. 权利要求 7 的化合物, 其中

A 为 H ,

B 为烷基,

J 为烷基, 环烷基或环烷基烷基,

R^1 和 R^2 独立地为 H , 烷基, 环烷基, 环烷基烷基, 烷基环烷基, 烷基环烷基烷基,

m 为 3,

n 为 3 或 4, 和

p 为 1。

9. 权利要求 7 的化合物, 其为

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]缬氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]- D -缬氨酸,

N -[N -[N -(3-(哌啶-4-基)丙酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]缬氨酸,

N -[N -[N -(5-(哌啶-4-基)戊酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]缬氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]- L - α -环己基甘氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- β -环己基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]正亮氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- L - α -(2,2-二甲基)丙-3-基甘氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- L - β -顺式-十氢化萘-2-基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- α -氨基环己烷羧酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- β -环己基- D -丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- β -十氢化萘-1-基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- β -环辛基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- β -金刚烷-1-基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- β -(4-环己基)环己基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]- β -环庚基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- α -环己基丙基甘氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- β -环辛基甲基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- β -环戊基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- L - β -十氢化萘-1-基丙氨酸,或

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- L - α -(2-环己基乙基)甘氨酸,

或其可药用盐。

10. 权利要求 7 的化合物为

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]苯丙氨酸,

N -[N -[N -(4-哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰

基]天冬氨酰基]- β -(1,2,3,4)-四氢化萘-5-基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- L - β -萘-1-基丙氨酸,或

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- L - β -萘-2-基丙氨酸,

或其可药用的盐。

11. 权利要求 7 的化合物为

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- L - β -环己基丙氨酸酰胺,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- β -环辛基丙氨酸酰胺,或

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸

酰基]天冬氨酰基]- β -环己基甲基丙氨酸酰胺,或

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- β -环己基丙氨酸乙基酰胺,

或其可药用盐。

12. 权利要求 6 的化合物为

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- L - β -环己基丙氨酸乙酯,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- β -环己基甲基丙氨酸乙酯,或

3-金刚烷-1-基丙基- N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸

或其可药用盐。

13. 权利要求 1 化合物为

2-环己基- N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]-乙胺,或

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酰基]- α -环己基甲基乙醇胺,

或其可药用盐。

14. 含有抗血栓形成有效量权利要求 1 化合物和可药用载体的药用组合物。

15. 含抗血栓形成有效量的权利要求 6 化合物和可药用载体的药用组合物。

16. 预防或治疗需要治疗的哺乳动物血栓形成的方法,它包括给予治疗有效量的权利要求 1 化合物。

17. 预防或治疗需要治疗的哺乳动物血栓形成的方法,它包括给予治疗有效量的权利要求 6 化合物。

18. 预防或治疗需要治疗的哺乳动物血栓形成的方法,它包括给予治疗有效量的权利要求 13 组合物。

19. 预防或治疗需要治疗的哺乳动物血栓形成的方法,它包括给予治疗有效量的权利要求 14 组合物。

说明书

抗血栓形成的 氮杂环烷基链烷酰肽和假肽

本申请是 1993 年 10 月 15 日提出的共同未决的美国申请编号 08/138,820 的部分继续申请。

发明背景

1. 发明领域

本发明涉及具有抗血栓形成活性的化合物。尤其,本发明涉及抑制哺乳动物血小板聚集和血栓形成的氮杂环烷基链烷酰肽(*azacycloalkylalkaneyl Peptides*)和假肽,并且它们可用于预防和与治疗与疾病如心肌梗塞,中风,外周动脉病和广泛的血管内凝集有关的血栓形成。

止血(血凝的生物化学)是相当复杂的现象,由此,正常全血和组织自发阻止受伤的血管出血。有效的止血要求将血管活性,血小板和血浆因子以及控制机理结合起来以便防止过度凝集。这些组分中的任一组分的缺损,不足或过量都可能导致出血或血栓形成的后果。

血小板在细胞外基质上粘连,涂布和聚集是血栓形成的主要活动。这些活动受粘连糖蛋白族即血纤维蛋白原,粘连蛋白和 *Von Willebrand* 因子的调节。血纤维蛋白原是血小板聚集的辅因子,同

时,粘连蛋白支持血小板附着和涂布反应,并且 *Von Willebrand* 因子在血小板在内皮下基质上附着和涂布中是重要的。血纤维蛋白原粘连蛋白和 *Von Willebrand* 因子的结合部位在已知称作糖蛋白 II b/III a 的血小板膜蛋白复合物上。

粘连糖蛋白如血纤维蛋白原不与正常的休止血小板结合。然而,当血小板被激动剂如凝血酶或二磷酸腺苷激活时,血小板改变其形状,也许使得 GP II b/III a 结合部位易接近血纤维蛋白原。本发明范围内的化合物阻断血纤维蛋白原受体,因此抑制血小板聚集和随之产生的血栓形成并且当以含该化合物的药用组合物形式给予时,适用于预防和治疗血栓形成性疾病如心肌梗塞,中风,外周动脉性疾病和广泛的血管内凝集。

2. 所报道的进展情况

已观察到,在血纤维蛋白原,粘连蛋白和 *Von Willebrand* 因子与细胞表面受体的相互作用中含有 Arg—Gly—Asp (RGD) 是必需的 (Ruoslahti E., Pier—Schbacher Call 1986, 44, 517—18)。似乎两种其它的氨基酸顺序也参与血纤维蛋白原的血小板粘连功能,即 Gly—Pro—Arg 顺序和十二肽 His—His—Leu—Gly—Gly—Ala—Lys—Gln—Ala—Gly—Asp—Ual 顺序。含 RGD 或十二肽的小的合成肽已显示出结合到血小板 GP II b/III a 受体上并且竞争性抑制血纤维蛋白原,粘连蛋白和 *Von Willebrand* 因子的结合,也抑制激活的血小板的聚集 (Plow 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1985, 82, 8057—61; Ruggeri 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986, 5708—12; Ginsberg 等人, *J. Biol. Chem.*, 1985, 260, 3931—36; 和 Gartner 等人 *J. Biol. Chem.* 1987, 260, 11, 891—94)。

Tjoeng 等人在美国专利 5,037,808 和 4,879,313 中报道了含胍基链烷酰基和胍基链烯酰基—天冬氨酰基部分的吡啶基化合物是血小板聚集抑制剂。

1991 年 2 月 12 日提出的美国专利 4,992,463(Tjoeng 等人)中一般性公开一系列表现血小板聚集抑制活性的芳香基和芳烷基胍基烷基肽摹拟化合物并且特异性公开一系列单和二甲氧基苯基肽摹拟化合物和二苯基烷肽摹拟化合物。

1989 年 4 月 15 日提出的美国专利 4,857,508 中一般性公开了一系列表现血小板聚集抑制活性的含末端芳烷基取代基胍基烷基肽衍生物并且特异性公开了一系列含末端酰胺官能团的邻—甲基酪氨酸,二苯基和萘基衍生物。

Haverstick, D. M. 等人在 *Blood*66(4),946—952(1985)中公开了许多合成肽,包括 $Grg-gly-asp-Ser$ 和 $gly-arg-gly-asp-ser$ 能够抑制诱导血栓的血小板聚集。

Plow, E. F. 等人在 *Proc. Natl. Acad. Sci USA*79,3711—3715(1982)中公开了四肽甘氨酸—脯氨酸—L—精氨酸—脯氨酸抑制纤维蛋白原结合到人血小板上。

1986 年 12 月 15 日提出的法国申请 86/17507 中公开了含— $arg-gly-asp$ —顺序的四、五和六肽衍生物可用作抗血栓形成剂。

1987 年 7 月 28 日提出的美国专利 4,683,291(Zimmerman 等人)公开了一系列由 6—40 个氨基酸的肽组成的含— $arg-gly-asp$ —顺序的肽是血小板结合抑制剂。

1989 年 6 月 7 日出版的欧洲申请公开号 0319506 中公开了一系列含— $arg-gly-asp$ —顺序的四、五和六肽衍生物是血小板聚集

抑制剂。

在美国专利 5,023,233 中报道了含 Gly—Asp 部分的环状肽类似物是血纤维蛋白原受体拮抗剂。

分别在 1991 年 3 月 28 日,1990 年 6 月 7 日和 1990 年 1 月 4 日提出的 *Pending* 美国申请 07/677,006,07/534,385 和 07/460,777 中及在 1990 年 9 月 25 日发行的美国专利 4,952,562 和国际申请 PCT/US90/05448 中报道了含氨基,胍基,imidizaloyl 和/或脒基链烷酰基,和链烯酰基部分的肽和假肽是抗血栓形成剂,全部申请都转让给本发明相同的同一受让人。

在 1990 年 2 月 5 日提出的未决美国申请 07/475,043 和 1991 年 4 月 11 日发行的国际申请 PCT/US91/02471 及 1992 年 10 月 29 日出版的国际公开号 WO92/13117 中报道了含氨基和胍基烷基和链烯基苯甲酰基,苯基链烷酰基和苯基链烯酰基部分的肽和假肽是抗血栓形成剂,受让人与本发明受让人相同。

在 1989 年 12 月 1 日提出的美国专利 5,053,392 中报道了链烷酰基和取代的链烷酰基氮杂环烷基甲酰基天冬氨酸衍生物是血小板聚集抑制剂,受让人和发明人与本发明相同。

在 1990 年 4 月 5 日,由本发明同一发明者和同一受让人提出的美国专利 5,064,814 中报道了 N-取代的氮杂环烷基羰基环状氨基酰天冬氨酸衍生物是抗血栓形成剂。在 1989 年 10 月 10 日提出的,代理人 with 本发明相同的美国专利 5,051,405 中报道了氮杂环烷基甲酰基甘氨酸酰天冬氨酸衍生物是抗血栓形成剂。

在 1992 年 4 月 8 日出版的欧洲专利申请 0,479,481 中公开了氮杂环烷基链烷酰基甘氨酸酰基天冬氨酸酰基氨基酸作为血纤维蛋白原

与 E 连接形成 4-, 5-, 6- 或 7- 元氮杂环链烷环,

G 为烷基, 环烷基, 环烷基烷基, 烷基环烷基, 烷基环烷基烷基, 芳基, 取代的芳基, 芳烷基, 取代的芳烷基, 杂环基, 取代的杂环基, 杂环烷基, 取代的杂环烷基, OR¹ 或 NR¹R², 其中 R¹ 和 R² 独立地为 H, 烷基, 环烷基, 环烷基烷基, 烷基环烷基, 烷基环烷基烷基, 芳基, 芳烷基, 烷基芳基, 或烷基芳烷基, 和

r 为 0 或 1;

R 为 H, 烷基, 芳基或芳烷基;

m 为 1-5;

n 为 0-6; 和

P 为 1-4。

另外, 本发明涉及含这些化合物的药用组合物和通过给予需要治疗的哺乳动物这些化合物和药用组合物来预防和治疗血栓形成的方法。

本发明的特征是在口服给予上述式 I 化合物后可见其显著并且延长的抗血栓形成活性。

本发明详细描述

在上述使用和本发明全部描述中, 除另外说明外, 下述术语可理解为具有下列含义:

“脒基”指 $\begin{array}{c} \text{NH} \\ \parallel \\ \text{—C—NH}_2 \end{array}$ 基。

“取代的脒基”指由一个或多个烷基, 环烷基, 环烷基烷基, 烷基不烷基, 烷基环烷基烷基, 芳基或芳烷基在一个或两个氮上进行 N-取代的脒基。

“烷基”指可以是直链或支链并且在链上具有约1—20个碳原子的饱和脂肪族烃基。支链指将低级烷基如甲基,乙基或丙基连接到直链烷基链上。优选的直链或支链烷基是“低级烷基”它们是那些具有1—约10个碳原子的烷基。最优选具有1—约6个碳原子的低级烷基。

“环烷基”指具有1或多个环并且具有约3—10个碳原子的饱和碳环基。优选的环烷基包括环丙基,环丁基,环戊基,环己基,环庚基和十氢化萘基。

“环烷基烷基”指由环烷基取代的烷基。优选的环烷基烷基包括环戊基甲基,环己基甲基,环己基乙基,十氢化萘—1—基甲基和十氢化萘—2—基甲基。

“烷基环烷基”指由烷基取代的环烷基。典型的烷基环烷基包括1—,2—,3—,或4—甲基或乙基环己基。

“烷基环烷基烷基”指由烷基环烷基取代的烷基。典型的烷基环烷基包括1—,2—,3—,或4—甲基或乙基环己基甲基或1—,2—,3—,或4—甲基或乙基环己基乙基。

“氮杂环链烷”指含氮原子的饱和脂肪环优选的氮杂环链烷包括 *Pyrollidine* 和哌啶。

“天然存在的氨基酸”指甘氨酸,丙氨酸,缬氨酸,亮氨酸,异亮氨酸,丝氨酸,苏氨酸,苯丙氨酸,酪氨酸,色氨酸,半胱氨酸,甲硫氨酸,脯氨酸,羟脯氨酸,天冬氨酸,天冬酰胺,谷氨酰胺,谷氨酸,组氨酸,精氨酸,鸟氨酸和赖氨酸。

“天然存在的 α -氨基酸的 α -碳侧链”指取代天然存在的 α -氨基酸的 α -碳的部分。典型的天然存在的 α -氨基酸的 α -碳侧链

包括分别与缬氨酸,丙氨酸和天冬氨酸对应的异丙基,甲基和羧甲基。

“芳基”指苯基或萘基。

“取代的芳基”指由一个或多个可以相同或不同的芳基取代基取代的苯基或萘基,其中“芳基取代基”包括烷基,链烯基,链炔基,芳基,芳基烷基,羟基,烷氧基,芳基氧基,芳烷氧基,羟基烷基,酰基,甲酰基,羧基,链烯酰基(*alkenoyl*),芳酰基,卤素,硝基,三卤代甲基,氰基,烷氧基羰基,芳烷氧基羰基,酰氨基,芳酰氨基,氨基甲酰基,烷基氨基甲酰基,二烷基氨基甲酰基,芳基氨基甲酰基,芳烷基氨基甲酰基,烷基磺酰基,烷基亚磺酰基,芳基磺酰基,芳基亚磺酰基,芳烷基磺酰基,芳烷基亚磺酰基,或 $-NRaRb$,其中 *Ra* 和 *Rb* 独立地为氢,烷基,芳基或芳烷基。

“芳烷基”指由芳基取代的烷基。优选的芳烷基包括苄基,萘-1-基甲基,萘-2-基甲基和苯乙基。

“取代的芳烷基”指由一个或多个芳基取代基在芳基部分取代的芳烷基。

“杂环基”指大约4—大约15元单环或多环环系,其中环上的一个或多个原子是碳以外的其它元素,例如氮,氧或硫。优选的杂环基包括吡啶基,嘧啶基和吡咯烷基。

“取代的杂环基”指由一个或多个芳基取代基取代的杂环基。

“杂环基烷基”和“取代的杂环基烷基”指分别由杂环基和取代的杂环基取代的烷基。

通过式 I 来描述优选的本发明化合物种类,其中 *F* 为 *H*, 烷基, 经甲基, 1-羟乙基, 巯基甲基, 2-甲基硫乙基, 羧甲基, 2-羧乙基, 4

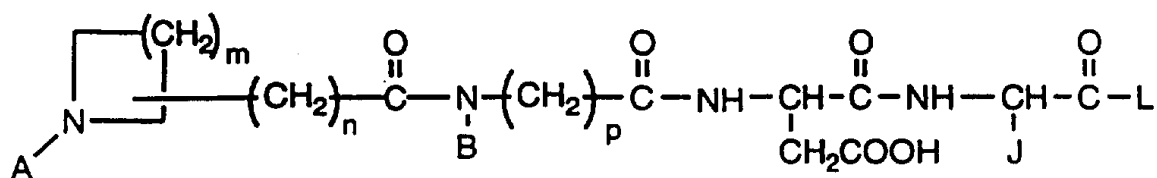
-氨基丁基, 3-胍基丙基, 环烷基, 环烷基烷基, 烷基环烷基, 烷基环烷基烷基, 芳基, 取代的芳基, 芳烷基, 取代的芳烷基, 杂环基, 取代的杂环基, 杂环烷基, 取代的杂环烷基或与 E 连接形成 4-, 5-, 6- 或 7-元氮杂环链烷环, 假设杂环烷基是吡啶-3-基甲基外的其他基团。

通过优选种类的化合物来描述更优选种类的本发明化合物, 其中 F 为 H, 烷基, 羟甲基, 1-羟乙基, 巯基甲基, 2-甲基硫乙基, 羧甲基, 2-羧乙基, 4-氨基丁基, 3-胍基丙基, 环烷基, 环烷基烷基, 烷基环烷基, 烷基环烷基烷基, 芳基, 取代的芳基, 芳烷基, 取代的芳烷基或与 E 连接形成 4-, 5-, 6-, 或 7-元氮杂链烷环。

通过更优选种类的化合物来描述进一步更优选种类的本发明化合物, 其中 F 为 H, 烷基, 羟甲基, 1-羟乙基, 巯基甲基, 2-甲基硫乙基, 羧甲基, 2-羧乙基, 4-氨基丁基, 3-胍基丙基, 环烷基, 环烷基烷基, 烷基环烷基, 烷基环烷基烷基, 或与 E 连接形成 4-, 5-, 6- 或 7-元氮杂环链烷环。

通过进一步更优选种类的化合物来描述最优选种类的本发明化合物, 其中 B 为烷基, 环烷基, 环烷基烷基, 烷基环烷基, 或烷基环烷基烷基。

通过式 II 来描述本发明特定实例及其可药用盐。



结构式 II

其中：

A 为 *H* 或脒基，

B 为烷基，环烷基，环烷基烷基，烷基环烷基，烷基环烷基烷基，芳基，芳烷基，烷基芳基或烷基芳烷基，

J 为 *H*，烷基，环烷基，环烷基烷基，烷基环烷基，烷基环烷基烷基，芳基，取代的芳基，芳烷基，取代的芳烷基，

L 为 OR^1 或 NR^1R^2 ，其中 R^1 和 R^2 独立地为 *H*，烷基，环烷基，环烷基烷基，烷基环烷基，烷基环烷基烷基，芳基，芳烷基，烷基芳基，或烷基芳烷基，

m 为 1—5；

n 为 2—6；和

P 为 1—2。

通过特定实例的化合物来描述更优选的本发明方案，其中

A 为 *H*，

B 为烷基，环烷基，环烷基烷基，烷基环烷基，烷基环烷基烷基，

J 为 *H*，烷基，环烷基，环烷基烷基，烷基环烷基，或烷基环烷基烷基，

m 为 3，

n 为 3 或 4，

通过本发明更优选的实例描述本发明最优选的方案，

其中

A 为 *H*，

B 为烷基，

J 为烷基，环烷基，或环烷基烷基，

R^1 和 R^2 独立地为 H , 烷基, 环烷基, 环烷基烷基, 烷基环烷基, 烷基环烷基烷基,

m 为 3,

n 为 3 或 4, 并且

P 为 1。

有代表性的本发明化合物包括:

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰]天冬氨酸酰]缬氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰]天冬氨酸酰]- D -缬氨酸,

N -[N -[N -(3-(哌啶-4-基)丙酰基)- N -乙基甘氨酸酰]天冬氨酸酰]缬氨酸,

N -[N -[N -(5-(哌啶-4-基)戊酰基)- N -乙基甘氨酸酰]天冬氨酸酰]缬氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰]天冬氨酸酰]- L - α -环己基甘氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)可酰基)- N -乙基甘氨酸酰]天冬氨酸酰]- β -环己基丙氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰]天冬氨酸酰]正亮氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰]天冬氨酸酰]- L - α -(2,2-二甲基)丙-3-基甘氨酸,

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰]天冬氨酸酰]- L - β -十氢化萘-1-基丙氨酸,

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸}]\text{天冬氨酸酰基}]-L-\alpha-(2\text{-环己基乙基})\text{甘氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸}]\text{天冬氨酸酰基}]\text{苯丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸}]\text{天冬氨酸酰基}]-L-\beta\text{-萘}-1\text{-基丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸}]\text{天冬氨酸酰基}]-L-\beta\text{-萘}-2\text{-基丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸}]\text{天冬氨酸酰基}]-L-\beta\text{-环己基丙氨酸酰胺},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸}]\text{天冬氨酸酰基}]-L-\beta\text{-环己基丙氨酸乙酯},$

$2\text{-环己基}-N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸酰基}]\text{天冬氨酸酰基}]-\text{乙胺},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸酰基}]\text{天冬氨酸酰基}]-L-\beta\text{-顺}-10\text{氢化萘}-2\text{-基丙氨酸},$

$3\text{-金刚烷}-1\text{-基丙基}-N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸酰基}]\text{天冬氨酸酯},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸酰基}]\text{天冬氨酸酰基}]-\alpha\text{-氨基环己烷羧酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸酰基}]\text{天冬氨酸酰基}]-\beta\text{-环己基}-D\text{-丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸酰基}]\text{天冬氨酸酰基}]-\beta\text{-10氢化萘}-1\text{-基丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-环己基丙氨酸乙酰胺},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-环辛基丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\alpha\text{-环己基甲基乙醇胺},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-环己基甲基甲氨酸酰胺},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-金刚烷-1-基丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4\text{-哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-}(1,2,3,4)\text{-四氢化萘-5-基丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-}(4\text{-环己基})\text{环己基丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-环己基丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-环辛基丙氨酸酰胺},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\alpha\text{-环己基丙基甘氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-环辛基甲基丙氨酸},$

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-环戊基丙氨酸},$ 和,

$N-[N-[N-(4-(\text{哌啶}-4\text{-基})\text{丁酰基})-N\text{-乙基甘氨酸基}]\text{天冬氨酸基}]-\beta\text{-环己基甲基丙氨酸乙酯}$,及其可药用盐。

本发明化合物含不对称的中心。这些不对称的中心可以独立地为 *R* 或 *S* 构型。本发明包含单独的立体异构体及其混合物。

本发明化合物可以以游离碱或酸的形式或以其可药用盐的形式使用。所有形式均在本发明范围内。

在用碱性基团取代本发明化合物之处,可以形成酸加成盐并且只是使用更方便;实际上使用盐形式相当于使用游离碱形式。可用于制备酸加成盐的酸优选包括那些酸,当它们与游离碱结合时,可以产生可药用盐,即阴离子在药用剂量下对动物机体无毒的盐,结果,由阴离子引起的副作用不会破坏游离碱固有的有益的抗血栓形成性质。尽管所述碱性化合物可药用盐是优选的,但所有的酸加成盐都可用作游离碱的来源,即使只要求某指定盐本身作为中间体产物,例如当制备盐只为了纯化和鉴定,或者当用作中间体,通过离子交换方法来制备可药用盐。本发明范围内的可药用盐是那些由下列酸衍生的盐:无机酸如盐酸,硫酸,磷酸和氨基磺酸;和有机酸如乙酸,枸橼酸,乳酸,酒石酸,丙二酸,甲磺酸,乙磺酸,苯磺酸,对甲苯磺酸,环己基氨基磺酸,金鸡钠酸等等。相应的酸加成盐分别包括下列盐:盐酸盐,硫酸盐,磷酸盐,氨基磺酸盐,乙酸盐,枸橼酸盐,乳酸盐,酒石酸盐,丙二酸盐,甲磺酸盐,乙磺酸盐,苯磺酸盐,对甲苯磺酸盐,环己基氨基磺酸盐和金鸡钠酸盐。

制备本发明化合物的酸加成盐可如下进行,通过将游离碱溶解在含适宜酸的水或含水醇溶液或其它适宜的溶剂中并且通过蒸发溶液分离出盐,或者通过在有机溶剂中,让游离碱和酸反应,反应后可

直接分离出盐或通过浓缩溶液得到盐。

在用酸性基团取代本发明化合物之处，可以形成碱加成盐并且只是使用更方便；实际上，使用盐形式相当于使用游离酸形式。用于制备碱加成盐的碱优选包括那些碱，当它们与游离酸结合时，产生可药用盐，即阳离子在药用剂量时对动物机体无毒，结果，由阳离子引起的副作用不会破坏游离酸固有的有益的抗血栓形成性质。本发明范围内的可药用盐包括那些由下列碱衍生的盐：氢氧化钠，氢氧化钾，氢氧化钙，氢氧化铝，氢氧化锂，氢氧化镁，氢氧化锌，氨，乙二胺，*N*-甲基-葡糖胺，赖氨酸，精氨酸，鸟氨酸，胆碱，*N,N'*-二苄基乙二胺，氯普鲁卡因，二乙醇胺，普鲁卡因，*N*-苄基苯乙胺，二乙胺，吡嗪，三(羟甲基)氨基甲烷，氢氧化四甲铵等等。

通过将所选择金属的氢氧化物，碳酸盐或类似的反应化合物在含水溶剂中与本发明化合物的游离酸形式接触可以得到本发明化合物的金属盐。所使用的含水溶剂可以是水或者可以是水与有机溶液的混合物，所述有机溶剂优选醇如甲醇或乙醇，酮如丙酮，脂族醚如四氢呋喃，或酯如乙酸乙酯。该反应通常在室温下进行，但如果需要，可以在加热下进行。

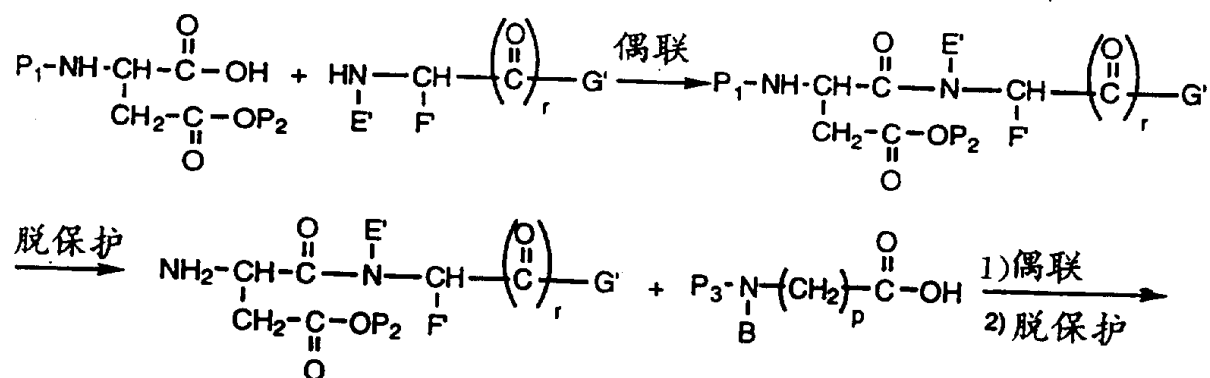
通过将胺在含水溶剂中与本发明化合物的游离酸形式接触可得到本发明化合物的胺盐。适宜的含水溶剂包括水和水与醇如甲醇或乙醇醚如四氢呋喃，氟如乙氟或酮如丙酮的混合物。可以类似地制备氨基酸盐。

可以用下列所述的反应顺序或本领域公知的方法来制备本发明化合物。制备本发明化合物所使用的起始物质是公知的或可以购得，或通过公知的方法或本文所述的特定反应制得。

通过标准的固体状态或溶液状态肽合成法,利用起始物质和/或容易从化学供应公司购得的中间体可以很容易地制备本发明化合物,所述化学供应公司如 Aldrich 或 Sigma(H. Paulsnn, G. Merz, V. Weichart, "Solid-Phase Synthesis of O-Gly-Copeptide Sequences", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988); H. Mergler, R. Tanner, J. Gostel; and P. Grogg, "Peptidc Synthesis by a Combination of solid Phase and Solution Methods I: A New Very Acid-Labile Anchor Group for the solid-Phase Synthesis of Fully Protected Fragment. *Tetrahedron Letters* 29, 4005 (1988); Merrifield, R. B. , "Solid Pheue Peptido synthesis after 25 Years: The Design and Synthesis of Antagonists of Glucagon", *Makromol. Chem. Marromol. Symp.* 19, 31 (1988))。

制备本发明化合物优选的方法是下列流程式 1 所述的溶液状态法。

流程式 I



联剂存在下,胺和羧酸结合。优选的偶联剂为在 *N*-甲基哌啶存在下的氯甲酸异丙酯。另一种优选的偶联剂为在 1-羟基苯并三唑 (*HOBt*) 和三乙胺存在下的 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐 (*EDC*), 再一个优选的偶联剂是在三乙胺存在下的二(2-氧-3-恶唑烷基)-膦酰氯 (*BOP-Cl*)。

用已知的方法选择性地得到受保护产品脱保护, 得到天冬氨酸部分的 *N*-端游离胺。优选的除 *BOC* 基的方法是用在非质子传递有机溶剂, 例如二氯甲烷中的三氟乙酸处理。

然后将得到的脱保护的产品与适宜的具有游离羧基的 *N*-保护 *N* 取代甘氨酸或 β -丙氨酸衍生物偶联。将得到的产品 *N*-脱保护。通过已知的方法将所得到的游离胺与适宜的受保护氮杂环烷基链烷酸偶联并且将该产品脱保护, 得到最终产品。

在另一个优选的方法中, 可以用本领域公知的固态法来制备本发明化合物, 在固态法中, 将 *C* 端残基在羧基部位结合到不溶树脂上, 例如, 可以将残基结合成对烷氧基苄基醇树脂酯。在类似于液态法的某方法中, 将受保护的氨基酸或其它残基每次增加一个直到在树脂上制备出全部顺序。然后按标准方法将化合物脱保护并且从树脂上释放下来。

在制备本发明化合物或其中间体过程中, 除了在天然存在的或其它氨基酸上存在的那些取代基外, 抑制化学活性的取代基之间的交叉反应也是需要的或必需的。可以用标准的保护基来保护取代基, 如果需要, 用已知的方法, 可以除去或保留标准保护基得到需要的产品或中间体 (例如见 *Green, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York, 1981*)。为了转换或除去存在的取代

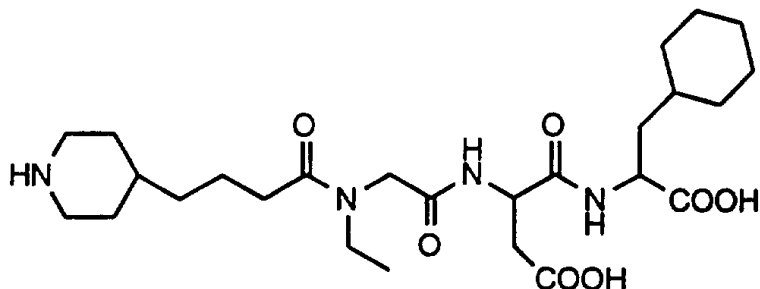
基,或为了进行以后的反应得到最终需要的产品,选择性保护或脱保护也是必需的或需要的。

通过下列说明性实施例可以进一步解释本发明。除非另外说明,可能具有手征性 α 碳的 α 氨基酸为L构型。

除非另外的说明,所报道的质谱分析数据由 *Low Resolution Fast Atom Bombardment* 在 *VG70SE* 上进行的,其中“计算”值为 $(M+H)^+$ 。核磁共振数据是在 *Brucker ACF300* 上,在 D_2O 中得到的。闪式色谱在硅胶上进行。高效液相色谱(*HPLC*)在 *Dynamax 60Å, 8μ, C-18 Reverse Phase Column* 上进行。

实施例 1

N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]- β -环己基丙氨酸,



A. 将 β -环己基丙氨酸(1.12g)溶解在甲醇(50ml)中并且将氯化氢以气泡的形式通过溶液约15分钟。将溶液在真空中蒸发并且将甲苯与残渣共沸,得到 β -环己基-L-丙氨酸甲酯的盐酸盐。

B. 将 *BOC*-L-天冬氨酸 β -苄基酯(1.27g)溶解在二氯甲烷(20ml)中。将溶液冷却至 0°C 并且加入 *N*-甲基哌啶(0.48ml), 然后加入氯甲酸异丙酯(3.94ml)。在 0°C 下将溶液搅拌约2分钟并且加入 β -环己基-L-丙氨酸甲酯盐酸盐(0.88g)。让溶液升温至室温

并且搅拌过夜。将溶液真空蒸发并且将残基在乙酸乙酯(200ml)和1N 盐酸(HCl)(50ml)之间分配。用1N HCl,饱和碳酸氢钠溶液,盐水洗涤有机层,用硫酸镁干燥,过滤并且真空蒸发,得到N-[BOC-L-天冬氨酸基(β -苄基酯)]- β -环己基-L-丙氨酸甲酯。

C. 将N-[BOC-L-天冬氨酸基(β -苄基酯)]- β -环己基丙氨酸甲酯(2.01g)溶解在二氯甲烷(15ml)中。将溶液冷却至0℃并且用大约1分钟的时间加入三氟乙酸(5ml)。在0℃下将溶液搅拌2小时,真空蒸发并且将残渣溶解到乙酸乙酯中,用饱和的碳酸氢钠溶液洗涤有机溶液直至洗涤液为碱性,用盐水洗涤有机溶液,用硫酸镁干燥,过滤并且真空蒸发,得到L-天冬氨酸基(β -苄基酯)- β -环己基-L-丙氨酸甲酯。

D. 通过使用上述实施例1B基本相同的偶联方法,使用上述实施例1C基本相同的脱保护方法,用L-天冬氨酸基(β -苄基酯)- β -环己基-L-丙氨酸甲酯和N-BOC-N-乙基甘氨酸来制备N-乙基甘氨酸基-L-天冬氨酸基(β -苄基酯)-L- β -环己基-L-丙氨酸甲酯。

E. 在乙酸(100ml)中,将4-吡啶乙酸(10g)和氧化铂(1.0g)混合起来并且在50psi氢气下将混合物振摇大约18小时。将混合物过滤并且将溶液真空蒸发,将甲苯与残渣共沸,得到2-(吡啶-4-基)乙酸。

F. 将2-(吡啶-4-基)乙酸(11.6g)溶解在1N氢氧化钠水溶液(200ml)中并且将溶液冷却至0℃。滴加碳酸二叔丁酯(18.0g)在四氢呋喃(THF)(100ml)中的溶液并且让混合物升温至室温搅拌约18小时。将混合物真空蒸发除去THF并且将残渣溶解到水中,用乙

酸乙酯洗涤。将乙酸乙酯加到水层并且用 1N HCl 将混合物酸化。分离有机层并且用乙酸乙酯萃取水层。用水, 盐水洗涤并合并的有机部分, 用硫酸镁干燥, 过滤并且真空蒸发, 得到 *N*-BOC-2-(哌啶-4-基)乙酸。

G. 将 *N*-BOC-2-(哌啶-4-基)乙酸 (15.8g) 溶解在 THF (150ml) 中并且滴加 1M 甲硼烷/THF (70ml)。在室温下将溶液搅拌约 20 小时并且滴加 1N 氢氧化钠溶液 (200ml)。将 THF 真空蒸发并且用乙酸乙酯萃取残渣水溶液。用水洗涤乙酸乙酯水溶液, 用硫酸钠干燥, 过滤并且真空蒸发, 得到 *N*-BOC-2-(哌啶-4-基)乙醇。

H. 将草酰氯 (11.8g) 的二氯甲烷 (180ml) 溶液冷却到 -78°C 并且滴加二甲基亚砷 (DMSO) (8.9ml)。在 -78°C 下将溶液搅拌约 3 分钟并且在约 10 分钟内加入 *N*-BOC-2-(哌啶-4-基)乙醇 (14.3g) 的二氯甲烷 (250ml) 溶液。将溶液搅拌约 1 小时并且在约 15 分钟内加入 *N*-甲基吗啉 (21.6g)。让溶液升温至室温并且在约 30 分钟后加入 (三苯正膦亚基) 乙酸甲酯 (68.6g)。在室温下将溶液搅拌 18 小时, 真空蒸发并且将残渣溶解在乙酸乙酯中。用水, 5% HCl, 5% 次氯酸钠溶液, 盐水洗涤乙酸乙酯溶液, 用硫酸钠干燥, 过滤并真空蒸发, 得到 4-(*N*-BOC-哌啶-4-基)反式-巴豆酸甲酯。

I. 将 4-(*N*-BOC-哌啶-4-基)反式-巴豆酸 (11.5g) 溶解在甲醇 (200ml) 中并且加入 10% 钨/碳 (3g), 在 50psi 氢气下将混合物振摇 18 小时。将混合物过滤。向溶液中加入新鲜催化剂, 并重复氢化反应。将混合物过滤并且真空蒸发, 得到 4-(*N*-BOC-哌啶-4-基)丁酸甲酯。

J. 向 1N 氢氧化钠(100ml)和甲醇(200ml)的混合物中加入 4-(*N*-BOC-哌啶-4-基)丁酸甲酯(10.1g)并且在室温下将混合物搅拌约 18 小时。将混合物真空蒸发,用水稀释并且用醚洗涤。用 5% HCl 将含水部酸化,用乙酸乙酯萃取并且用水,盐水洗涤有机溶液,经硫酸钠干燥后过滤并且真空蒸发,得到 4-(*N*-BOC-哌啶-4-基)丁酸。

K. 将 4-(*N*-BOC-哌啶-4-基)丁酸(0.91g)的二氯甲烷(50ml)溶液冷却至 0°C 并且加入二(2-氧代-3-恶唑烷基)次磷酰氯(*BOP*-Cl)(0.86g)和三乙胺(0.47ml)。在 0°C 下将溶液搅拌约 10 分钟并且加入在最小量二氯甲烷中的 *N*-乙基甘氨酸基-*L*-天冬氨酸基(β -苄基酯)-*L*- β -环己基-*L*-丙氨酸甲酯,然后在约 15 分钟内滴加在二氯甲烷中的三乙胺(0.47ml)。在 0°C 下将混合物搅拌约 1 小时,并且在室温下搅拌约 18 小时。将混合物真空蒸发并且将残渣溶解到乙酸乙酯中。用 1N HCl,饱和碳酸氢钠溶液,盐水洗涤有机溶液,经硫酸镁干燥,过滤,真空蒸发并且通过闪式色谱法,用 60%乙酸乙酯的己烷液洗脱来纯化残渣,得到 *N*-[*N*-[*N*-(4-(*N*-BOC-哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基(β -苄基酯)]- β -环己基丙氨酸甲酯。

L. *N*-[*N*-[*N*-(4-(*N*-BOC-哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基(β -苄基酯)]- β -环己基丙氨酸甲酯(1.79g)溶解在甲醇(40ml)中并且加入 10%钯/碳(0.25g)。在 50psi 氢气下将混合物振摇约 18 小时。将混合物经硅藻土板过滤并且将滤液真空蒸发,得到 *N*-[*N*-[*N*-(4-(*N*-BOC-哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]- β -环己基丙氨酸甲酯,将该

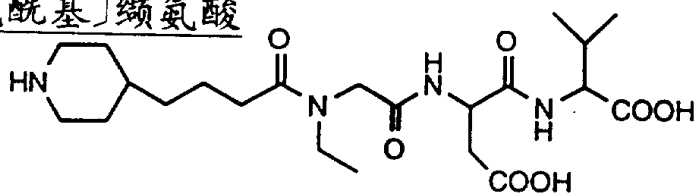
酯溶解在甲醇(20ml)中并且加入 1N 氢氧化钠水溶液(10ml)。在室温下将混合物搅拌约 4 小时,用水(25ml)稀释,并且用 1N HCl 酸化至 pH2。用乙酸乙酯(3×100ml)萃取混合物并且经硫酸镁干燥乙酸乙酯溶液,过滤并且真空蒸发,得到 N -[N -[N -(4-(N -BOC-哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]- β -环己基丙氨酸。

M. 将 N -[N -[N -(4-(N -BOC-哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]- β -环己基丙氨酸(1.39g)溶解在二氯甲烷(15ml)中并且将溶液冷却至 0°C。加入三氟乙酸(5ml)并且在 0°C 下将溶液搅拌约 2.5 小时。将溶液真空蒸发并且用水稀释残渣,冷冻干燥。通过反相 HPLC,用含 0.1% 三氟乙酸的 40%-80% 甲醇/水梯度洗脱来纯化残渣。合并适宜的部分并且冷冻干燥,得到 N -[N -[N -(4-哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]- β -环己基丙氨酸的三氟乙酸盐。M. S., 计算值: 525, 实测值 525; NMR, δ =4.58-4.48(m, 1H), 4.35-4.22(m, 1H), 3.88(s, 2H), 3.32(q, 2H), 3.28-3.10(m, 2H), 2.88-2.60(m, 4H), 2.33(t, 2H), 1.85-1.70(m, 2H), 1.62-1.35(m, 10H), 1.30-1.06(m, 5H), 1.04-0.65(m, 8H)。

通过使用上述实施例 1 基本相同的方法,用适宜的起始物制备下列化合物。

实施例 2

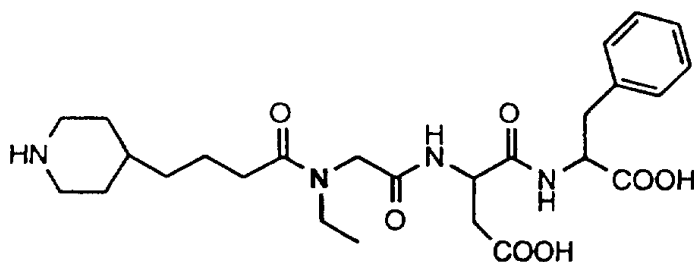
N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]缬氨酸



M.S., 计算值 471, 实测值 471; NMR, $\delta = 4.15-4.05$ (m, 2H), 3.90 (s, 2H), 3.30 (q, 2H), 3.30-3.15 (m, 2H), 2.90-2.60 (m, 4H), 2.33 (t, 2H), 2.05 (q, 1H), 1.85-1.72 (m, 2H), 1.55-1.35 (m, 3H), 1.30-1.08 (m, 4H), 1.02 (t, 3H), 0.70 (d, 6H).

实施例 3

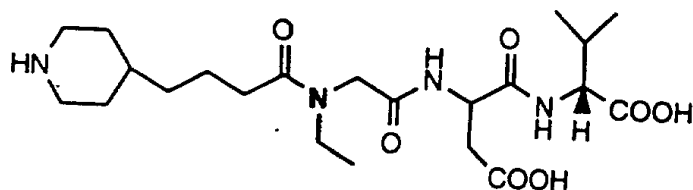
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)-*N*-乙基甘氨酸酰基)]天冬氨酸酰基]苯丙氨酸



M.S., 计算值 519, 实测值 519; NMR, $\delta = 7.20-6.95$ (m, 5H), 4.55-4.35 (m, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.30-2.40 (m, 10H), 2.25 (t, 2H), 1.75-1.60 (m, 2H), 1.45-1.25 (m, 3H), 1.20-0.97 (m, 4H), 0.92 (t, 3H).

实施例 4

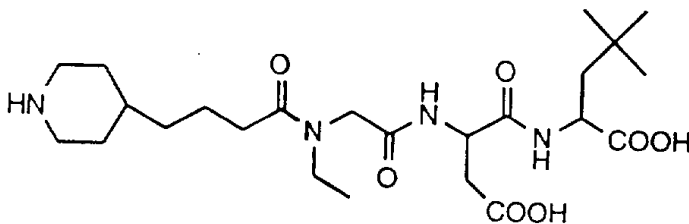
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基-*N*-乙基甘氨酸酰基)]天冬氨酸酰基]-*D*-缬氨酸



M.S., 计算值 471, 实测值 471; NMR, $\delta = 4.10-3.98$ (m, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.28 (q, 2H), 3.23-3.10 (m, 2H), 2.82-2.58 (m, 4H), 2.28 (t, 2H), 2.02 (q, 1H), 1.80-1.65 (m, 2H), 1.50-1.28 (m, 3H), 1.25-1.00 (m, 4H), 0.95 (t, 3H), 0.78-0.65 (m, 6H).

实施例 5

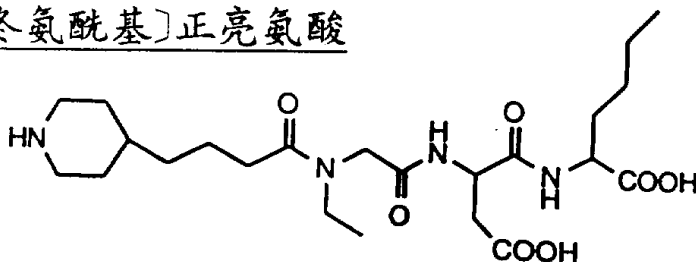
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]-*L*- α -2,2-二甲基丙-3-基甘氨酸



M.S., 计算值 499, 实测值 499; NMR, $\delta = 4.63-4.55$ (m, 1H), 4.30-4.20 (m, 1H), 3.88 (s, 2H), 3.33 (q, 2H), 3.30-3.15 (m, 2H), 2.88-2.60 (m, 4H), 2.35 (t, 2H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.73-1.35 (m, 5H), 1.30-1.08 (m, 4H), 1.03 (t, 3H), 0.78 (s, 9H).

实施例 6

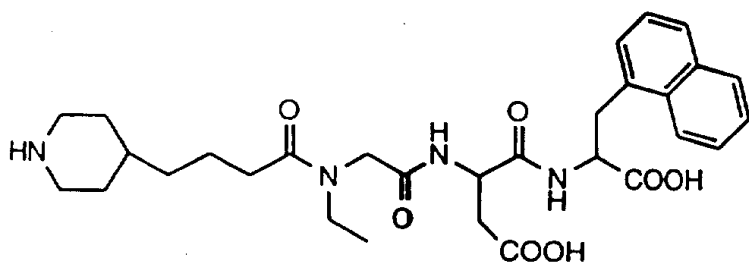
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]正亮氨酸



M.S., 计算值 485, 实测值 485; NMR, $\delta = 4.58-4.50$ (m, 1H), 4.20-4.10 (m, 1H), 3.85 (s, 2H), 3.32 (q, 2H), 3.25-3.10 (m, 2H), 2.85-2.55 (m, 4H), 2.30 (t, 2H), 1.82-1.50 (m, 4H), 1.50-1.30 (m, 3H), 1.28-1.05 (m, 8H), 0.98 (t, 3H), 0.75-0.60 (m, 3H).

实施例 7

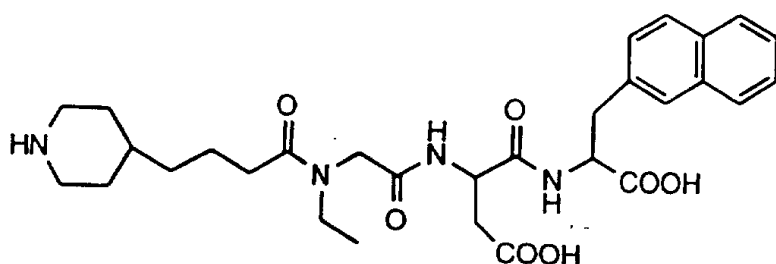
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基-*N*-乙基甘氨酸酰基)]天冬氨酸酰基]-*L*- β -萘-1-基丙氨酸



M.S., 计算值 569, 实测值 569; NMR, δ = 8.00-7.15 (m, 7H), 4.60-4.45 (m, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.65-3.50 (m, 2H), 3.40-2.98 (m, 4H), 2.70-2.42 (m, 4H), 2.21 (t, 2H), 1.70-1.45 (m, 2H), 1.40-0.96 (m, 7H), 0.92 (t, 3H).

实施例 8

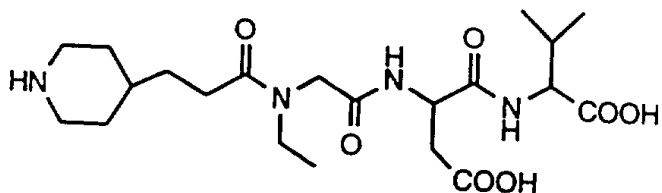
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基-*N*-乙基甘氨酸酰基)]天冬氨酸酰基]-*L*- β -萘-2-基丙氨酸



M.S., 计算值 569, 实测值 569; NMR, δ = 7.65-7.03 (m, 7H), 4.60-4.45 (m, 2H), 3.41 (s, 2H), 3.20-3.01 (m, 3H), 3.00-2.71 (m, 3H), 2.68-2.40 (m, 4H), 1.98 (t, 2H), 1.68-1.42 (m, 3H), 1.25-0.85 (m, 6H), 0.71 (t, 3H).

实施例 9

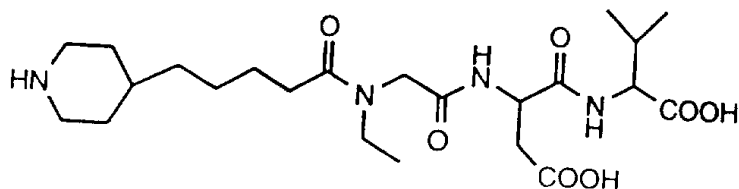
N-[*N*-[*N*-(3-(哌啶-4-基)丙酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]缬氨酸



M.S. 计算值 547, 实测值 457; NMR, $\delta = 4.62$ (m, 2H), 3.90 (s, 2H), 3.33 (m, 4H), 2.66 (m, 4H), 2.37 (t, 2H), 2.16 (m, 1H), 2.03 (m, 1H), 1.78 (m, 2H), 1.44 (m, 2H), 1.20 (m, 2H), 1.00 (m, 3H), 0.78 (d, 6H).

实施例 10

N-[*N*-[*N*-(5-(哌啶-4-基)戊酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]缬氨酸

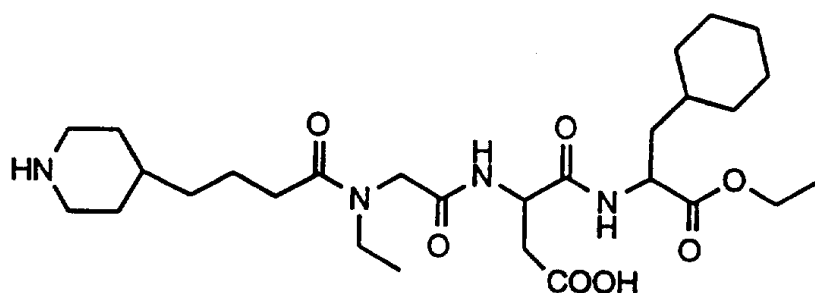


M.S., 计算值 485, 实测值 485; NMR, $\delta = 4.20-4.05$ (m, 2H), 3.92 (s, 2H), 3.33 (m, 2H), 3.28-3.15 (m, 2H), 2.90-2.61 (m, 4H), 2.34 (t, 2H), 2.06 (m, 1H), 1.85-1.70 (m, 2H), 1.55-1.32 (m, 3H), 1.30-1.12 (m, 6H), 1.06 (t, 3H), 0.81 (d, 6H).

实施例 11

N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]缬氨酸

冬氨酸基]-L-β-环己基丙氨酸乙酯



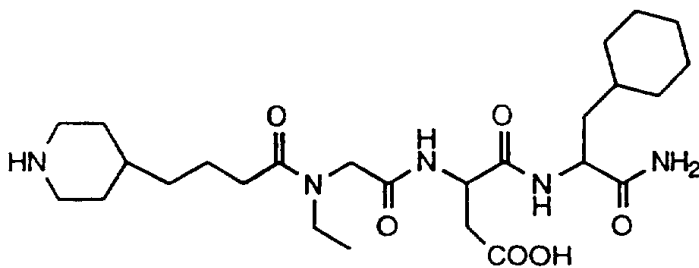
A. 将 β-环己基丙氨酸 (1.5g) 溶解在纯乙醇 (75ml) 中并且将溶液冷却至 0°C。在 10—15 分钟内滴加亚硫酸氯 (1.1ml)，将溶液升温至室温，然后在室温下搅拌 18 小时。将反应混合物真空蒸发，将甲苯与残渣共沸两次，并将残渣溶解到乙酸乙酯中。用水，1N 氢氧化钠，水，盐水，洗涤乙酸乙酯溶液，用硫酸钠干燥，过滤，并且真空蒸发，得到 β-环己基丙氨酸乙酯。

B. 使用实施例 1B—1M 基本相同的方法 (除去步骤 1L 用氢氧化钠水溶液水解) 得到需要的产物。

M.S., 计算值 553, 实测值 553; NMR, $\delta = 4.4$ (1H, m); 4.1 (4H, q); 4.0 (2H, d); 3.2-3.5 (5H, m); 2.7-3.0 (5H, m); 2.4 (2H, t); 2.2 (1H, m); 1.9 (2H, d); 1.4-1.7 (7H, m); 0.7-1.4 (18H, m).

实施例 12

N-[N-[N-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-N-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]-L-β-环己基丙氨酸酰胺



A. 将 *N*-BOC- β -环己基丙氨酸 (2.0g) 和三乙胺 (1.03ml) 一起溶解在 THF (100ml) 中并且将溶液冷却至 -20°C 。加入氯甲酸异丁酯 (1.06ml) 并且在 -20°C 下将溶液搅拌约 30 分钟。加入氨在甲醇 (20ml) 中的饱和溶液并且让溶液升温至室温, 在室温下搅拌约 18 小时。将溶液真空蒸发并用乙酸乙酯溶解残渣。用水, 5% HCl, 饱和碳酸氢钠, 水, 盐水洗涤乙酸乙酯溶液, 用硫酸钠干燥, 过滤并真空蒸发, 得到 *N*-BOC- β -环己烷丙氨酸酰胺。

B. 将 *N*-BOC- β -环己基丙氨酸酰胺 (2.0g) 溶解在乙酸乙酯 (100ml) 中并且将 HCl 气体以气泡的形式通入溶液中, 在室温下将溶液搅拌约 18 小时。将溶液真空蒸发并且将甲苯与残渣共沸两次, 得到 β -环己基丙氨酸酰胺的盐酸盐。

C. 使用实施例 1B-1M 基本相同的方法 (除去实施例 1L 用氢氧化钠水溶液水解) 得到需要的产品。

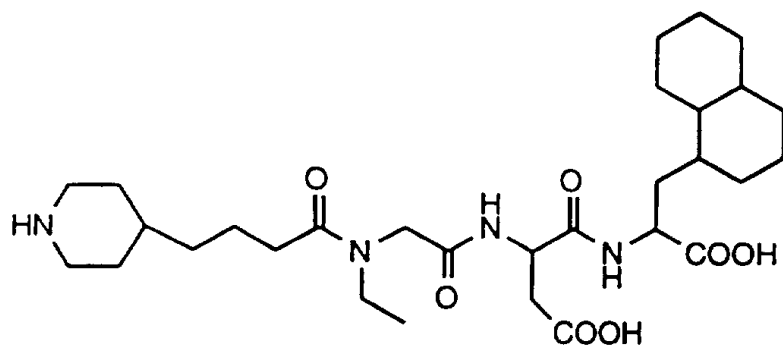
M.S., 计算值 524, 实测值 524; NMR, $\delta = 8.4$ (1H, d); 8.1 (1H, d); 4.2 (2H, q); 4.1 (1H, s); 3.9 (4H, q); 3.4 (2H, q); 3.3 (4H, d); 2.8-3.0 (6H, m); 2.4 (2H, t); 2.2 (1H, m); 1.8 (4H, d); 1.4-1.7 (7H, m); 0.7-1.3 (10H, m).

实施例 13

N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸酰基]天

实施例 14

N -[N -[N -(4-(哌啶-4-基)丁酰基)- N -乙基甘氨酸]天冬氨酸]- L - β -十氢化萘-1-基丙氨酸



A. 在室温下, 在饱和氯化氢/甲醇溶液中, 将 β -(1-萘基)丙氨酸(2.0g) 搅拌约 2 小时。将混合物真空蒸发并且将甲苯与残渣共沸两次。将残渣悬浮在二氯甲烷中, 加入 N -甲基吗啉(1.02mol) 并且将混合物冷却至 0°C 。加入碳酸二叔丁酯(2.02g) 和 4-二甲基氨基吡啶(DMAP) (0.8g), 让溶液升温至室温, 并且在室温下搅拌约 2 小时。用 5% HCl , 水洗涤混合物, 用硫酸钠干燥, 过滤, 并且真空蒸发, 得到 N -BOC- β -(1-萘基)丙氨酸甲酯。

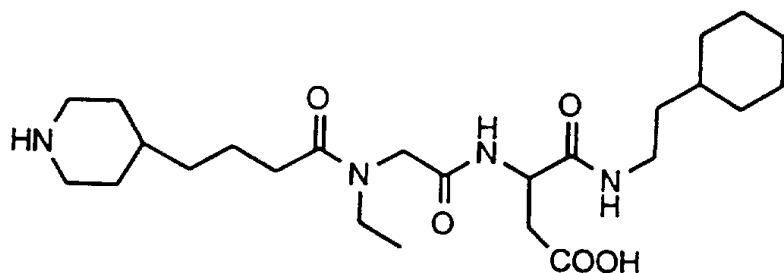
B. 在含乙酸(1.0ml)的甲醇(50ml)中, 将 N -BOC- β -(1-萘基)丙氨酸甲酯(2.0g) 和 5% 的铯/铝(1.0g) 混合并且在 50psi 氢气下将混合物振摇约 18 小时。将混合物过滤, 真空蒸发, 并且将残渣溶解到乙酸乙酯中。用水, 5% 碳酸氢钠溶液, 水, 盐水洗涤有机溶液, 用硫酸钠干燥, 过滤并且真空蒸发, 得到 L - β -十氢化萘-1-基丙氨酸甲酯。

C. 使用与实施例 1B-1M 基本相同的方法, 得到需要的产品。

M.S., 计算值 579, 实测值 579; NMR, $\delta = 4.1-4.3$ (m, 1H), 3.8-4.1 (m, 2H), 2.6-2.9 (m, 4H), 2.3 (m, 1H), 2.0 (m, 1H), 1.8 (d, 3H), 0.5-1.6 (m, 33H).

实施例 15

2-环己基-N-[N-[N-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-N-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]-乙胺



A. 将 2-苯乙胺 (2.0g) 溶解在二氯甲烷中并且将溶液冷却至 0°C。加入碳酸二叔丁酯 (4.0g) 和 *DMAP* (0.4g)。让溶液升温至室温并且在室温下搅拌约 18 小时。用 5% *HCl*, 水洗涤溶液, 过滤并且真空蒸发, 得到 *N-BOC-2-苯乙胺*。

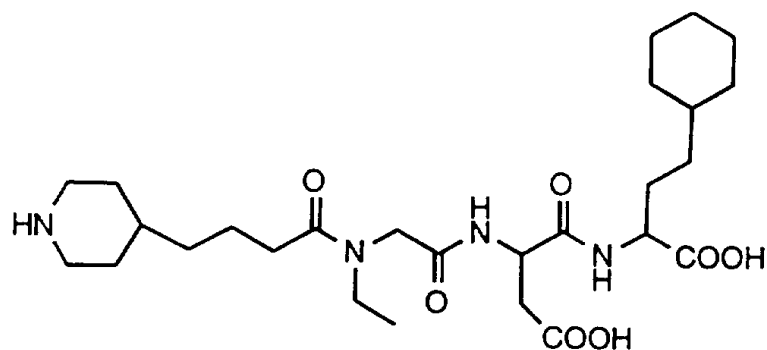
B. 在含乙酸 (1.0ml) 的甲醇 (40ml) 中, 将 *N-BOC-2-苯乙胺* (3.1g) 和 5% 铈/氧化铝 (1.1g) 混合。在 50psi 氢气下, 将混合物振摇约 20 小时。将混合物过滤, 真空蒸发, 并且将残渣溶解在乙酸乙酯中。用水, 5% 碳酸氢钠溶液, 水, 盐水, 洗涤有机溶液, 用硫酸钠干燥, 过滤并且真空蒸发, 得到 *N-BOC-2-环己基乙胺*。

C. 使用与实施例 1B-1M 基本相同的方法 (除去实施例 1L 中用氢氧化钠水溶液水解), 得到需要的产品。

M.S., 计算值 481, 实测值 481; NMR, $\delta = 3.9$ (s, 2H), 3.35 (d, 4H), 3.25 (d, 4H), 2.6-2.9 (m, 8H), 2.35 (t, 2H), 2.15 (t, 1H), 1.8 (4H, d), 1.4-1.7 (m, 7H), 0.9 - 1.3 (m, 12H), 0.7 (t, 2H).

实施例 16

N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]-*L*- α -(2-环己基乙基)甘氨酸



A. 使用上述实施例 13A 基本相同的方法,用 *L*-高苯丙氨酸来制备 *N*-*BOC*- α -(2-苯乙基)甘氨酸甲酯。

B. 使用与上述实施例 14B 基本相同的方法,用 *N*-*BOC*- α -(2-苯乙基)甘氨酸甲酯来制备 *N*-*BOC*- α -(2-环己基乙基)甘氨酸甲酯。

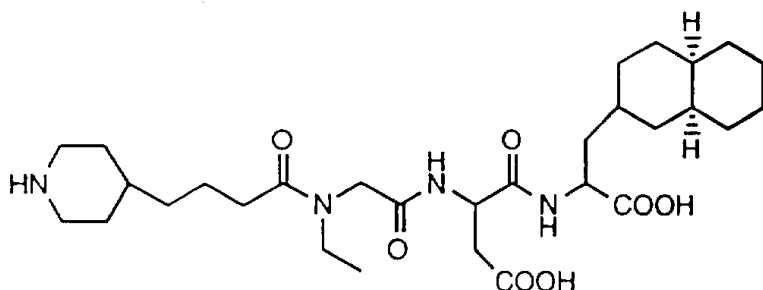
C. 使用与实施例 1B-1M 基本相同的方法,得到需要的产品。

M.S., 计算值 539, 实测值 539; NMR, δ = 4.60-4.55 (m, 1H), 4.20-4.08 (m, 1H), 3.85 (s, 2H), 3.29 (q, 2H), 3.25-3.12 (m, 2H), 2.84-2.55 (m, 4H), 2.29 (t, 2H), 1.83-1.65 (m, 2H), 1.63-1.32 (m, 10H), 1.28-0.81 (m, 13H), 0.79-0.56 (m, 2H).

使用与上述实施例基本相同的方法,用适宜的起始物来制备下列化合物。

实施例 17

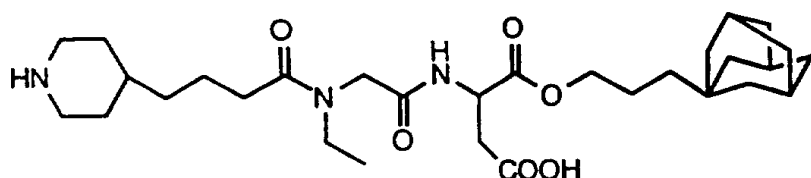
N-[N-[N-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-N-乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]-L-β-顺式-十氢化萘-2-基丙氨酸



M.S., 计算值 579, 实测值 579; NMR, $\delta = 4.7$ (m, 1H), 4.3 (m, 1H), 4.1 (d, 2H), 3.3-3.7 (m, 5H), 2.6-2.8 (m, 5H), 2.5 (t, 2H), 2.3 (t, 1H), 1.9 (d, 2H), 1.3-1.8 (m, 14H), 0.9-1.3 (m, 14H), 0.7-0.8 (m, 3H).

实施例 18

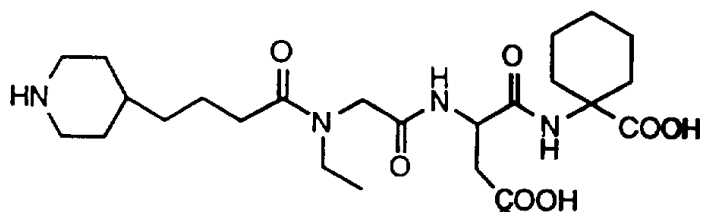
3-金刚烷-1-基丙基-N-[N-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-N-乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸



M.S., 计算值 548, 实测值 548; NMR (DMSO-d₆), $\delta = 4.65-4.50$ (m, 1H), 4.05-3.85 (m, 4H), 3.35-3.15 (m, 4H), 2.90-2.50 (m, 4H), 2.30 (t, 2H), 2.18 (t, 1H), 1.94 (d, 2H), 1.85-1.35 (m, 20H), 1.32-1.12 (m, 4H), 1.10-0.90 (m, 5H).

实施例 19

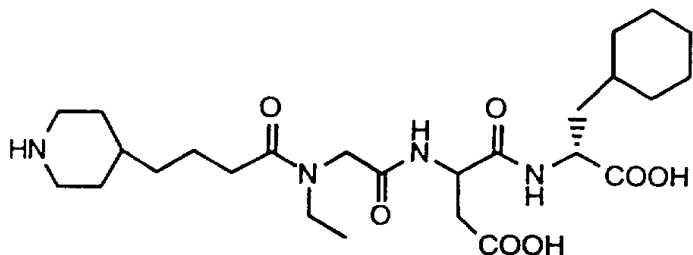
N-[N-[N-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-N-乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]-α-氨基环己羧酸



M.S., 计算值 497, 实测值 497; NMR, $\delta = 4.60-4.55$ (m, 1H), 4.05 (s, 1H), 3.90 (s, 1H), 3.30 (q, 2H), 3.25-3.12 (m, 2H), 2.85-2.55 (m, 4H), 2.35 (t, 1H), 2.11 (t, 1H), 1.90-1.70 (m, 4H), 1.68-1.55 (m, 2H), 1.53-1.32 (m, 6H), 1.30-1.06 (m, 7H), 1.05-1.85 (m, 3H).

实施例 20

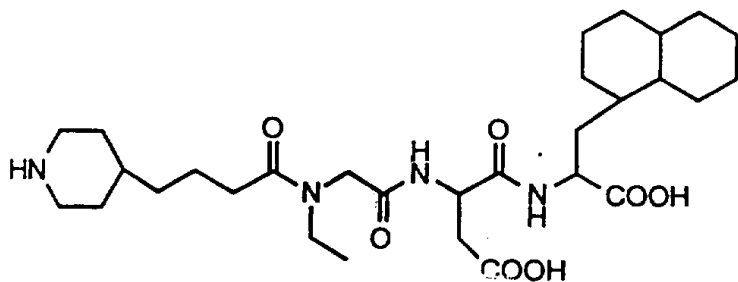
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]- β -环己基-*D*-丙氨酸



M.S., 计算值 525, 实测值 525; NMR, $\delta = 4.60-4.55$ (m, 1H), 4.32-4.20 (m, 1H), 4.05 (s, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.32 (q, 2H), 3.25-3.12 (m, 2H), 2.85-2.60 (m, 4H), 2.32 (t, 1H), 2.12 (t, 1H), 1.85-1.68 (m, 2H), 1.60-1.32 (m, 10H), 1.28-0.60 (m, 13H).

实施例 21

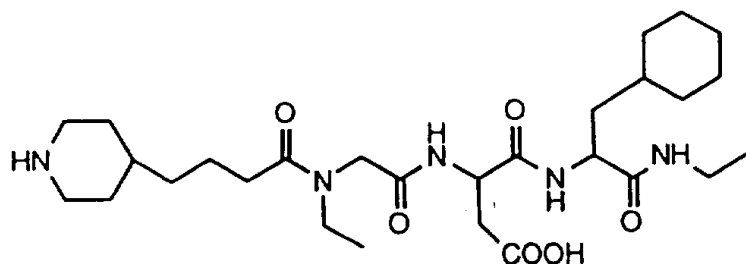
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]- β -十氢化萘-1-基丙氨酸



M.S., 计算值 579, 实测值 579; NMR, $\delta = 4.1-4.3$ (1H, m), 3.8-4.1 (2H, m), 3.1-3.4 (4H, m), 2.6-2.9 (4H, m), 2.3 (1H, m), 2.0 (1H, m), 1.8 (3H, d), 0.5-1.6 (33H, m).

实施例 22

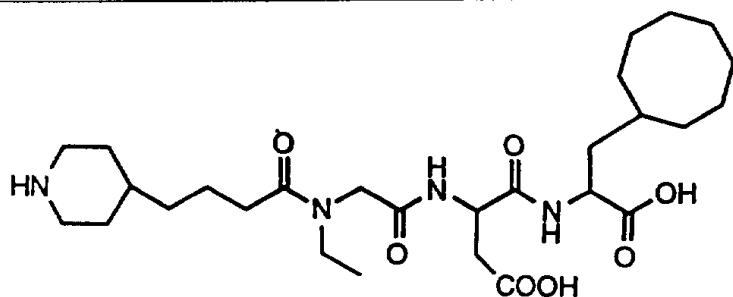
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基- β -环己基丙氨酸乙酰胺



M.S., 计算值 552, 实测值 552; NMR, $\delta = 4.55-4.45$ (m, 1H), 4.20-4.06 (m, 1H), 4.05-3.85 (m, 2H), 3.40-3.25 (m, 2H), 3.28-3.15 (m, 2H), 3.10-2.90 (m, 2H), 2.88-2.55 (m, 4H), 2.40-2.25 (m, 1H), 2.20-2.05 (m, 1H), 1.85-1.70 (m, 2H), 1.60-1.32 (m, 9H), 1.30-0.62 (m, 17H).

实施例 23

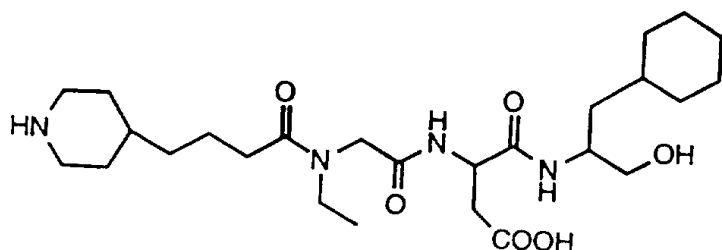
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基- β -环辛基丙氨酸



M.S., 计算值 553, 实测值 553; NMR, $\delta = 4.1-4.3$ (1H, m), 3.8-4.1 (2H, m), 3.1-3.4 (4H, m), 2.6-2.9 (4H, m), 2.3 (1H, m), 2.0 (1H, m), 1.8 (2H, d), 0.5-1.6 (31H, m).

实施例 24

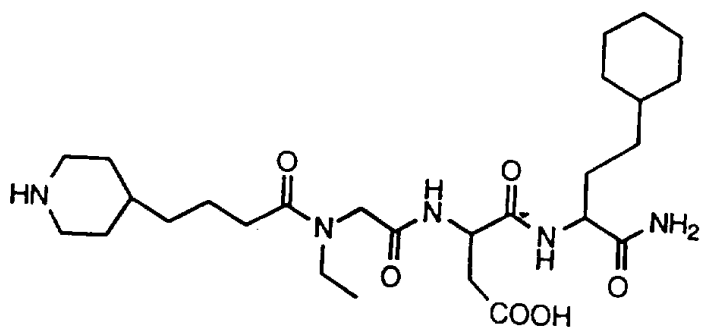
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基- α -环己基甲基乙醇胺



M.S. 计算值 511, 实测值 511; NMR, $\delta = 4.60-4.45$ (m, 1H), 4.10-3.75 (m, 3H), 3.45-3.15 (m, 6H), 2.90-2.60 (m, 4H), 2.35 (t, 1H), 2.00-2.08 (m, 1H), 1.88-1.75 (m, 2H), 1.62-1.35 (m, 8H), 1.30-1.08 (m, 7H), 1.10-0.60 (m, 8H).

实施例 25

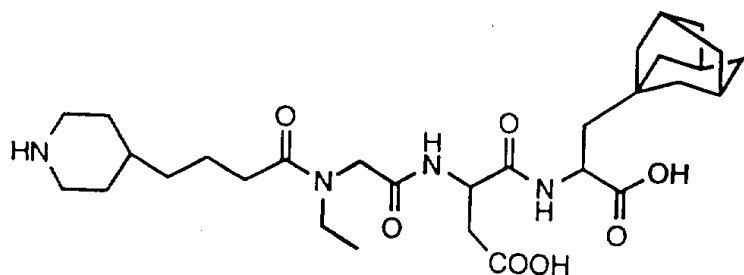
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基- β -环己基甲基丙氨酸酰胺



M.S., 计算值 538, 实测值 538; NMR, $\delta = 4.60-4.50$ (m, 1H), 4.15-4.00 (m, 1H), 4.00-3.80 (m, 2H), 3.35 (q, 2H), 3.30-3.15 (m, 2H), 2.90-2.62 (m, 4H), 2.35 (t, 1H), 2.15 (t, 1H), 1.88-1.75 (m, 2H), 1.65-1.40 (m, 9H), 1.30-0.88 (m, 14H), 0.85-0.65 (m, 2H).

实施例 26

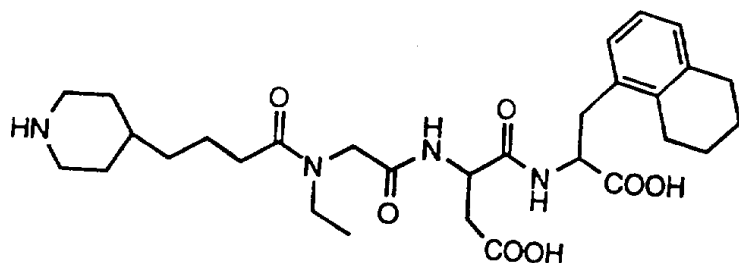
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]- β -金刚烷-1-基丙氨酸



M.S., 计算值 577, 实测值 577; NMR, $\delta = 4.5-4.1$ (1H, m), 4.1-4.2 (1H, m), 3.8 (2H, d), 3.2 (2H, q), 3.1-3.1 (6H, m), 2.4-2.98 (5H, m), 2.3 (1H, m), 2.0 (1H, m), 1.8 (4H, m), 1.2-1.7 (16H, m), 1.0-1.2 (6H, m), .8-1.0 (3H, m).

实施例 27

N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸酰基]天冬氨酸酰基]- β -(1,2,3,4)-四氢化萘-5-基丙氨酸,

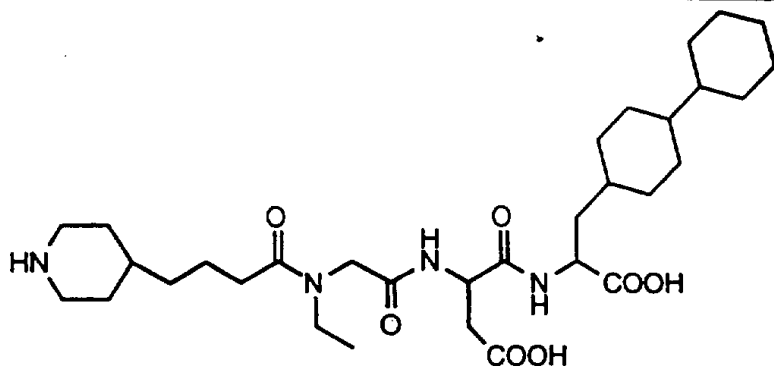


M.S., 计算值 573, 实测值 573; NMR, $\delta = 6.9$ (d, 4H), 4.7 (m, 1H), 4.3 (m, 1H), 4.1 (d, 2H), 3.3-3.7 (m, 6H), 2.6-3.1 (m, 12H), 2.5 (t, 2H), 2.3 (t, 1H), 1.9 (d, 2H), 1.2-1.8 (m, 16H), 1.1 (t, 2H), 1.0 (t, 2H).

实施例 28

N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸酰基]天

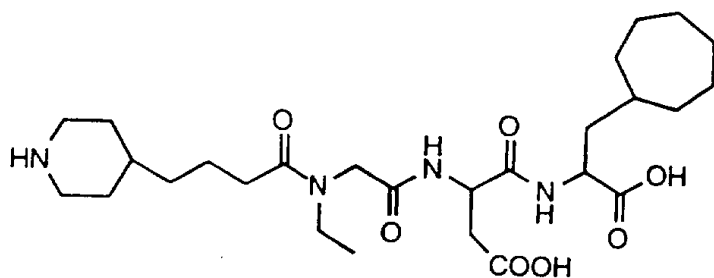
冬氨酸基]-β-(4-环己基)环己基丙氨酸,



M.S., 计算值 607, 实测值 607; NMR, $\delta = 4.2-4.3$ (1H, m), 3.9-4.1 (2H, m), 3.1-3.4 (5H, m), 2.6-2.9 (5H, m), 2.3 (1H, m), 2.0 (1H, m), 1.8 (3H, d), 0.9-1.6 (32H, m), 0.7-0.8 (3H, m).

实施例 29

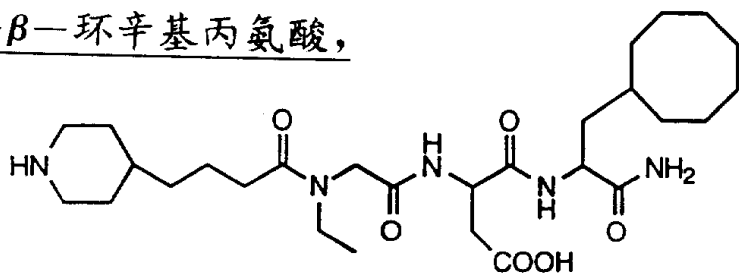
N-[N-[N-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-N-乙基甘氨酸基]-β-环庚基丙氨酸,



M.S. 计算值 539, 实测值 539; NMR, $\delta = 4.60-4.55$ (m, 1H), 4.35-4.25 (m, 1H), 4.08 (s, 1H), 3.92 (s, 1H), 3.35 (q, 2H), 3.33-3.20 (m, 2H), 2.90-2.60 (m, 4H), 2.35 (t, 1H), 2.18 (t, 1H), 1.90-1.75 (m, 2H), 1.70-1.10 (m, 22H), 1.10-0.85 (m, 3H).

实施例 30

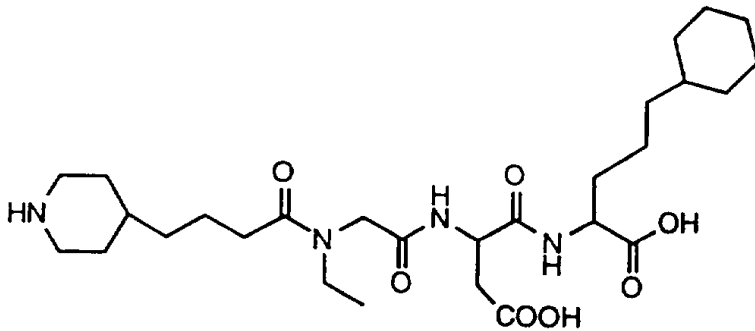
N-[N-[N-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-N-乙基甘氨酸基]-β-环辛基丙氨酸,



M.S., 计算值 551, 实测值 551; NMR, $\delta = 4.45$ (dd, 1H, H-12), 4.18 (m, 1H, H-14), 3.89 (d, 1H, H-11), 3.69 (d, 1H, H-11), 3.31 (q, 2H, H-9), 3.18 (dt, 2H, H-1a), 2.74 (dt, 2H, H-1e), 2.65 (dd, 2H, H-13), 2.25 (t, 2H, H-8), 1.85-1.10 (m, 26H, H-3 through H-7 and H-15 through H-23), 1.06 (t, 3H, H-10).

实施例 31

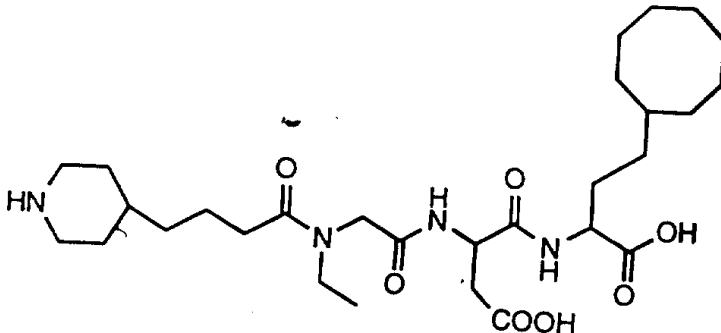
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]- α -环己基丙基甘氨酸,



M.S., 计算值 553, 实测值 553; NMR, $\delta = 4.70-4.60$ (m, 1H), 4.30-4.15 (m, 1H), 4.10 (s, 1H), 3.95 (s, 1H), 3.35 (q, 2H), 3.35-3.20 (m, 2H), 2.90-2.60 (m, 4H), 2.40 (t, 1H), 2.15 (t, 1H), 1.90-1.75 (m, 2H), 1.75-1.45 (m, 10H), 1.35-1.15 (m, 6H), 1.12-0.90 (m, 9H), 0.85-0.60 (m, 2H).

实施例 32

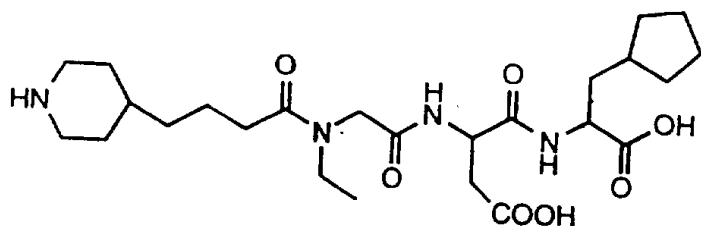
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]- β -环辛基甲基丙氨酸,



M.S., 计算值 567, 实测值 567; NMR, $\delta = 4.05-4.15$ (m, 1H, 14), 3.75-4.00 (m, 2H, 11 & 18), 3.10-3.30 (m, 4H, 19 & 26 eq), 2.50-2.80 (m, 4H, 15 & 26 ax), 2.05-2.25 (m, 2H, 21), 0.75-1.75 (m, 31H, 1-10, 20 & 22-25).

实施例 33

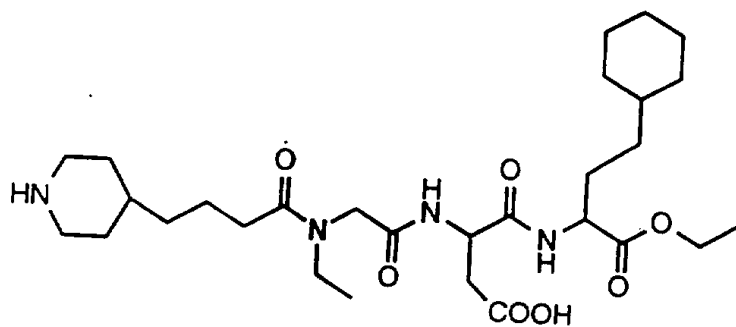
N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]- β -环戊基丙氨酸,



M.S., 计算值 511, 实测值 511; NMR, $\delta = 4.7$ (m, 1H), 4.3 (m, 1H), 4.1 (d, 2H), 3.3-3.7 (m, 5H), 2.8 (t, 2H), 2.7 (m, 3H), 2.5 (t, 2H), 2.3 (t, 1H), 1.9 (d, 2H), 1.0-1.8 (m, 16H).

实施例 34

N-[*N*-[*N*-(4-(哌啶-4-基)丁酰基)-*N*-乙基甘氨酸基]天冬氨酸基]- β -环己基甲基丙氨酸乙酯



M.S., 计算值 567, 实测值 567; NMR, $\delta = 4.30-4.10$ (m, 1H), 4.10-3.80 (m, 3H), 3.35 (q, 2H), 3.30-3.15 (m, 2H), 2.90-2.60 (m, 4H), 2.40-2.10 (t, 2H), 1.90-1.70 (m, 2H), 1.65-1.40 (m, 10H), 1.35-0.85 (m, 18H), 0.85-0.60 (m, 2H).

本发明范围内化合物通过抑制血纤维蛋白原结合到激活的血小板和其它涉及血小板聚集和血液凝固的粘连糖蛋白上来抑制血小板聚集并且用来预防和与治疗与某些疾病, 如人或其它哺乳动物的心肌梗塞, 中风, 外周动脉性疾病和广泛的血管内凝集有关的血栓形成。

通常, 在治疗或预防与疾病状态有关的血栓形成中, 可口服或非肠道给予本发明化合物。

可以将本发明化合物配制成以任何适宜的方式给予的剂型, 并且本发明包括在其范围内的, 适于作人用或兽用药物的, 至少含一种本发明化合物的药用组合物。通过使用一种或多种可药用载体或赋形剂, 可以用任何适宜的方式来配制该组合物。适宜的载体包括稀释剂或填充剂, 无菌含水溶媒和各种无毒有机溶剂。组合物配制为片剂, 胶囊剂, 糖锭剂, 锭剂, 硬糖果, 粉剂, 含水悬浮液或溶液, 可注射的溶液剂, 酏剂, 糖浆剂等等并且为了配制适宜的可药用制剂, 组合物中可以含有一种或多种下列试剂, 包括甜味剂, 矫味剂, 着色剂和防腐剂。

通过化合物的溶解度和化学性质, 给药的特定方式及标准药用惯例来测定特定的载体及抑制血小板聚集和血栓的化合物与载体的比率。例如, 在生产片剂中, 可使用赋形剂如乳糖, 枸橼酸钠, 碳酸钙

和磷酸二钙,和各种崩解剂如淀粉,藻酸和某些硅酸盐复合物,以及润滑剂如硬脂酸镁,十二烷基硫酸钠和滑石粉。对于胶囊剂而言,乳糖和高分子量的聚乙二醇为优选的可药用载体。在配制口服用含水悬浮液时,可使用乳化剂或悬浮剂。可以使用稀释剂如乙醇,丙二醇,甘油和氯仿及其混合物,也可以使用其它物质。

就非肠道给药而言,可以使用这些化合物在芝麻或花生油或含水聚丙二醇溶液中形成的溶液或悬浮液,也可以使用本文所述的可溶性药用盐的灭菌水溶液。这些化合物的盐溶液尤其适用肌肉或皮下注射。含有溶解在纯蒸馏水中的那些盐的水溶液也适用于静脉内注射,假设适宜地调节其 pH ,适宜地缓冲,用足够的盐和葡萄糖使其等渗并且通过加热或微量过滤法灭菌。

实现本发明方法的剂量方案是确保最大治疗反应直至症状改善和此后产生缓解作用的最小有效量。通常,口服剂量可以在约 0.1mg/kg — 100mg/kg ,优选约 0.1mg/kg — 20mg/kg ,并且最优选约 1mg/kg — 20mg/kg ,静注剂量约为 $0.1\mu\text{g/kg}$ — $100\mu\text{g/kg}$,优选 $0.1\mu\text{g/kg}$ — $50\mu\text{g/kg}$,当然,要记住在任何特定的病例中选择适宜的剂量时,必须考虑病人的体重,一般健康状况,年龄和可以影响药物反应的其它因素。可以每天 1—4 次口服给予药物,优选每天 1—2 次。

下列药理试验评估本发明化合物对调节血小板聚集的血纤维蛋白原的抑制活性,血纤维蛋白原与激发凝血酶的血小板的结合和 ADP —诱导的体外血小板聚集的抑制作用,并且这些试验结果与本发明化合物体内抑制性质相关。

血小板聚集测定基于 *Blood*66(4)946—952(1985)中的描述。血纤维蛋白原结合测定基本相同于 *Ruggeri, Z. M. 等人 Proc. Natl.*

Acad. Sci. USA 82, 8057—8061 (1985)。ADP—诱导外体血小板聚集抑制作用的测定基于 Zucker “Platelet Aggregation Measured by the Photoelectric Method”, *Methods in Enzymology* 169, 117—133 (1989)。

血小板聚集测定

制备凝固的激活血小板

按照 Marguerie, G. A. 等人在 *J. Biol. Chem.*, 254, 5357—5363 (1979) 和 Ruggeri, Z. M. 等人在 *J. Clin. Invest.*, 72, 1—12 (1983) 中所述的用凝胶过滤技术, 从人血小板浓缩物中分离出血小板, 在含 127mM 氯化钠, 2mM 氯化镁, 0.42mM Na_2HPO_4 , 11.9mM NaHCO_3 , 2.9mM KCl , 5.5mM 葡萄糖, 10mM HEPES, 在 pH 为 7.35 下和 0.35% 人血清白蛋白 (HSA) 改变的无钙 Tyrode's 缓冲液中, 以 2×10^8 个细胞/ml 的浓度将血小板悬浮。通过加入最终浓度为 2 单位/ml 的人 α -凝血酶, 再加入最终浓度为 40 μM 的凝血酶抑制剂 I-2581 来激活这些洗涤过的血小板。向激活的血小板中加入多聚甲醛至最终浓度为 0.50% 并且在室温下孵育 30 分钟。通过在 650xg 下离心 15 分钟收集凝固的被激活的血小板。用上述 Tyrode's—0.35% HSA 缓冲液洗涤血小板 4 次并且在相同的缓冲剂中重新悬浮到 2×10^8 个细胞/ml。

血小板聚集测定

为了测定血小板聚集抑制作用, 将凝固的激活血小板与选择剂量的化合物孵育 1 分钟并且通过加入最终浓度为 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的人纤维蛋白原使血小板开始聚集。用血小板聚集描绘仪 Model PAP4 来记录血小板聚集, 用加入抑制剂对观察到的聚集速度的百分数来表示

抑制聚集的程度。然后计算每个化合物的 IC_{50} , 即减小聚集速度 50% 所要求的抑制剂的量(例如见 *Plow, E. F* 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci, USA* 82, 8057—8061(1985))。

血纤维蛋白原结合测定

按照由 *Trapani—Lombardo, v.* 等人在 *J. Clin Invest.* 76, 1950—1958(1985) 修改的 *Walsh, P. N.* 等人在 *Br. J. Haematol* 281—296(1977) 中所述的白蛋白密度梯度技术, 洗掉血小板中的血浆组分。在每种试验用化合物中, 在 22—25°C 下, 用人 α -凝血酶刺激在修改的 *Tyrode's* 缓冲剂(*Ruggeri, Z. M.* 等人 *J. Clin Invest.* 72, 1—12(1983)) 中的血小板 10 分钟(3.125×10^{11} 个血小板/升, 并且凝血酶为 0.1 NIH 单位/ml)。然后在加入 ^{125}I -标记的血纤维蛋白原之前, 用 5 分钟的时间加入 25 倍过量(单位/单位)的水蛭素并且测定化合物。加完后, 混合物中最终血小板计数为 1×10^{11} /升。在 22—25°C 下再孵育 30 分钟后, 进行结合并且通过在 12,000 $\times g$ 下从 300 μl 20%蔗糖中离心 50 μl 的混合物 4 分钟来分离游离的配位体。然后, 从测定血小板结合放射活性的其余混合物中分离出血小板块。在含有过量未标记配位体的混合物中测定非特异性结合。当用 *Scatchard* 分析法来分析结合曲线时, 通过计算机化程序化的方法, 从结合等温线上可以推出作为适宜参数的非特异性结合(*Munson, P. J., Methods Enzymol* 92, 542—576(1983))。为了测定每种抑制剂化合物抑制 50% 血纤维蛋白原结合到激发凝血酶的血小板上 (IC_{50}) 所必需的浓度, 在 6 个或多个浓度下试验含 0.176 μmol /升 (60 $\mu g/ml$) ^{125}I -标记的血纤维蛋白原的每种化合物。通过绘制未结合血纤维蛋白原与样品化合物浓度的对数推出 IC_{50} 。

ADP—诱导的体外血小板聚集的抑制作用

实验记录

在给予体重为 10—20kg 的某种狗试验化合物前 5—10 分钟,采取对照血样。经过水溶液管饲法,或口服,通过明胶胶囊胃内给予化合物,然后在给药后每 30 分钟间隔共 3 小时和在 6, 12 和 24 小时得到血样(5ml)。通过头部颈脉的静脉穿刺术得到血样并且直接收集到含一份 3.8% 枸橼酸钠和九份血的塑料注射器中。

犬体外血小板聚集

在 1000rpm 下将血样离心 10 分钟得到富含血小板血浆 (PRP)。除掉 PRP 后,在 2000rpm 下将样品再离心 10 分钟,得到全血小板血浆 (PPP)。用 Coulter 计数器 (Coulter Electronics, Hialeah, FL) 来测定 PRP 中的血小板计数。如果在 PRP 中的血小板的浓度大于 300,000 个血小板/ μl ,那么,用 PPP 稀释 PRP,将血小板计数调节到 3000,000 个血小板/ μl 。然后将等分试样的 PRP (250 μl) 放到硅玻璃杯 (7.25 × 55mm, Bio/Data corp, Horsham, PA) 中。向 PRP 中加入肾上腺素 1 最终浓度为 1 μm ,在 37°C 下将其孵育 1 分钟。向 PRP 中加入最终浓度为 10 μm 的血小板聚集激发剂 ADP。通过分光光度计法,利用光透射集合度计 (Bio/Data Platelet Aggregation Prolifer, Model PAP — 4, Bio/Data Corp, Horsham, PA) 来监测血小板聚集。就试验的化合物而言,重复记录光透射改变速率(斜率)和最大光透射(最大聚集)。用斜率减小的百分数(平均值 ± SEM)或与对照 PRP 得到的数据比较的最大聚集来记录血小板聚集,其中所述对照 PRP 是由给予试验化合物前得到的血样制备的。

在前面试验中，本发明化合物表现出明显的活性并且考虑可用来预防和治疗与某些疾病状态有关的血栓形成。在犬体外血小板聚集测定中的抗血栓形成活性可预测人的该活性(例如见 *Catalfamo, J. L.* , 和 *Dodds, W. Jean* , “*Isolation of Platelets from Laboratory Animals*”, *Methods Enzymol*, 169, Part A, 27(1989)。通过上述方法得到的本发明化合物的试验结果显示于下表中。表中也显示出 4-4 (哌啶基)丁酰基甘氨酸基天冬氨酸基色氨酸即在欧洲专利申请公开号 0479,481 中公开的化合物的比较试验结果。

化合物实施 例序号	凝固的血小板聚集 抑制作用(IC ₅₀ μm)	剂量(mg/kg)	ADP 诱导的体外血小板聚集的抑制作用					
			口服给药后体外血小板 聚集的抑制百分数					
			1h	3h	6h	12h	24h	
2	0.027	10	90	60	<20			
3	0.064	10	40	<20				
9	0.77							
1	0.026	5	100	100	100	88	42	
4	0.72	10	90	50	<20			
6	0.130	10	80	20				
5	0.082	10	100	90	35			
11	0.064	5	100	100	60	37		
12	0.097	5	100	100	100	98	50	
7	0.110	5	30	<20				
8	0.068	5	30	<20				
15	0.072	5	35	18				
14	0.019	5	100	100	100	100	95	
13		5	100	100	25			
17	0.096							
18	0.104							
19	3.41							
20	1.37							

化合物实施 例序号	凝固的血小板聚集 抑制作用 (IC ₅₀ μm)	ADP 诱导的体外血小板聚集的抑制作用					
		口服给药后体外血小板聚集的抑制百分数					
		1h	3h	6h	12h	24h	
21	0.055						
22	0.09						
23	0.078						
24	0.129						
25	0.046						
26	0.029						
27	0.119						
28	0.048						
29	0.032						
30	0.07						
31	0.053						
32	0.052						
33	0.047						
34	0.074						
(EPA' 481 化合物)	0.047	5	53	<20			

本领域技术人员很容易意识到，本发明相当适用于实现本发明目的并且获得所述的结果和优点及其固有的特性。本文所述的化合物，组合物和方法是有代表性的优选的实施方案，或者是例举性的，但不限定本发明的范围。对于本领域技术人员来说，其中的改变及其它用途将包含在本发明主题内或由附加权利要求范围所定义的主题内。