



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101817769 B

(45) 授权公告日 2013. 09. 11

(21) 申请号 201010146905. 1

A61P 35/00(2006. 01)

(22) 申请日 2010. 04. 15

A61P 35/02(2006. 01)

(73) 专利权人 山东大学

A61P 1/04(2006. 01)

地址 250012 山东省济南市历下区文化西路
44 号

A61P 1/02(2006. 01)

A61P 17/00(2006. 01)

A61P 25/28(2006. 01)

(72) 发明人 徐文方 宿莉 方浩

A61P 37/02(2006. 01)

(74) 专利代理机构 济南金迪知识产权代理有限
公司 37219

(56) 对比文件

WO 2008/104756 A1, 2008. 09. 04, 说明书第
1 页第 3 行至第 30 页第 6 行.

代理人 赵会祥

ACS. CAS RN 1091592-42-5. 《STN
REGISTRY》. 2008,

(51) Int. Cl.

审查员 张建英

C07C 323/60(2006. 01)

C07C 323/59(2006. 01)

C07C 275/24(2006. 01)

C07C 275/16(2006. 01)

C07C 319/20(2006. 01)

C07C 273/18(2006. 01)

A61K 31/17(2006. 01)

A61K 31/223(2006. 01)

A61K 31/27(2006. 01)

A61K 31/198(2006. 01)

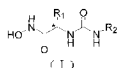
权利要求书2页 说明书20页

(54) 发明名称

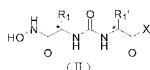
脲基类肽氨肽酶 N 抑制剂及其应用

(57) 摘要

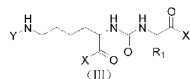
脲基类肽氨肽酶 N 抑制剂及其应用。本发明提供了一类强效的类肽氨肽酶 N 抑制剂,可有效治疗氨肽酶 N 活性或表达异常的疾病。具体而言,本发明涉及具有通式 (I)、(II) 或 (III) 结构的类肽化合物,还涉及其各种光学异构体,药学上可接受的盐,溶剂合物以及前药。本发明还涉及含有式 (I)、(II) 或 (III) 结构类肽化合物的药物组合物



(I)



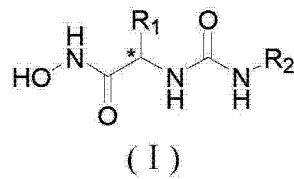
(II)



(III)

及其制药用途。

1. 通式 (I) 的化合物 :



其中,

R_1 是氢, 各种天然或非天然氨基酸 α 碳上的取代基, 这些氨基酸为 : 丙氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、色氨酸、精氨酸、半胱氨酸、瓜氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、酪氨酸 ; β - 氨基丙酸、 β - 氨基苯丙酸 ; γ - 氨基丁酸 ;

R_2 是氢, C1-12 脂肪链烷基, 任选被一个或多个如下基团取代 : 羟基, 卤素, 硝基, 氰基, 胍基, 羧基。

2. 化合物, 其特征在于是下述化合物之一 :

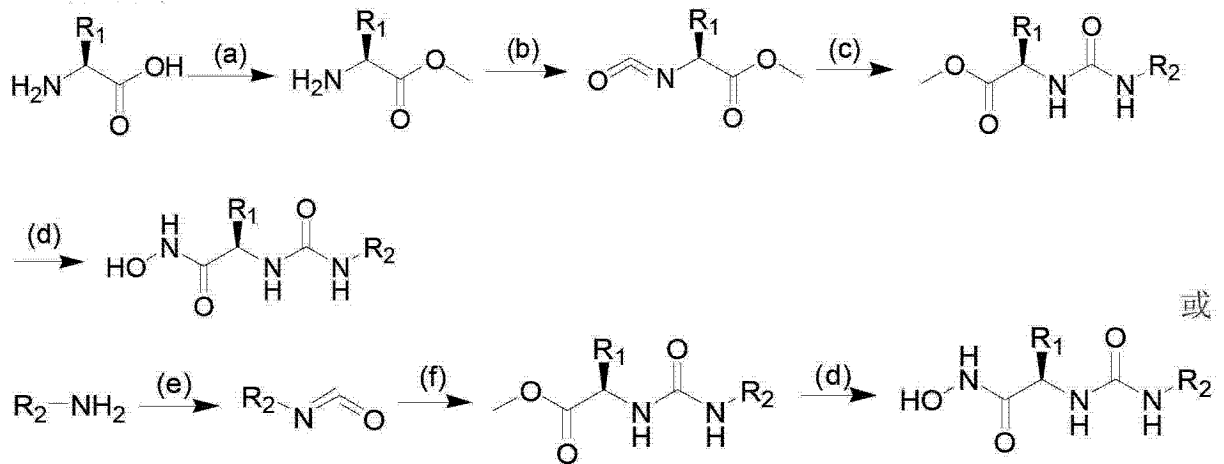
- 1a : 2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 2a : (2S)-2-甲基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 3a : (2S)-2-异丙基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 4a : (2S)-2-(2-甲基)-丙基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 5a : (2S)-2-(1-甲基)-丙基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 6a : (2S)-2-苄基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 7a : (2S)-2-(甲硫基)-乙基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 8a : (2S)-2-[4-(N-苄氧羰基)-氨基丁基]-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 1b : 2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 2b : (2S)-2-甲基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 3b : (2S)-2-异丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 4b : (2S)-2-(2-甲基)-丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 5b : (2S)-2-(1-甲基)-丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 6b : (2S)-2-苄基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 7b : (2S)-2-(甲硫基)-乙基-2-(3-苄基叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 8b : (2S)-2-[4-(N-苄氧羰基)-氨基丁基]-2-(3-苄基叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 1c : 2-(3-苯乙基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 2c : (2S)-2-甲基-2-(3-苯乙基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 3c : (2S)-2-异丙基-2-(3-苯乙基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 4c : (2S)-2-(2-甲基)-丙基-2-(3-苯乙基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 5c : (2S)-2-(1-甲基)-丙基-2-(3-苯乙基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 6c : (2S)-2-苄基-2-(3-苯乙基脲基)-N-羟基乙酰胺、
 7c : (2S)-2-(甲硫基)-乙基-2-(3-苯乙基脲基)-N-羟基乙酰胺或
 8c : (2S)-2-[4-(N-苄氧羰基)-氨基丁基]-2-(3-苯乙基脲基)-N-羟基乙酰胺。

3. 权利要求 1 所述化合物的制备方法, 其特征在于 :

以光学氨基酸为原料, 相继经甲酯化保护羧基, 通过三光气进行缩合连接相应的胺, 再

将甲酯经过相应反应得到目标化合物；或者以相应的胺为原料，相继经由三光气转化为异氰酸酯，再与光学氨基酸的甲酯缩合，而后再将甲酯经过相应反应得到目标化合物；

合成路线：



上述反应式中的试剂：(a) 乙酰氯，无水甲醇，回流 (b) 三光气，饱和碳酸氢钠水溶液，二氯甲烷，0℃ (c) 所用为各种上述的胺，三乙胺，二氯甲烷 (d) 羟胺钾，无水甲醇，25℃ (e) 三光气，甲苯，回流 (f) 所用为上述各种氨基酸甲酯盐酸盐，三乙胺，二氯甲烷。

4. 一种药物组合物，包含权利要求 1 或 2 的化合物和一种或多种药学上可接受载体或赋形剂。

脲基类肽氨肽酶 N 抑制剂及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种脲基类肽氨肽酶 N 抑制剂及其制备方法和用途,属于化学技术领域。

背景技术

[0002] 氨肽酶 N (APN, CD13) 是一族 II 型膜结合糖蛋白,分子量约为 150Kd,属于锌离子依赖性金属蛋白酶和氨肽酶 M1 家族的 Gluzincins 亚族,以同源二聚体的形式存在于细胞膜,参与底物 N 端氨基酸的降解。氨肽酶 N 广泛分布于 GM-SCF 和发育各阶段的髓细胞;在非血细胞,分布于造血器官的基质细胞,肿瘤血管内皮细胞,各种上皮细胞包括肾脏近曲小管上皮细胞、胆管上皮细胞和小肠刷状缘上皮细胞等;也分布于成纤维细胞、间叶细胞肿瘤细胞等的表面;血清中也有少量的可溶性 APN 存在。APN 参与机体的生理调节,在血细胞分化,血管发生,细胞增殖与凋亡和免疫调节等多个生理病理调控网络中起重要作用。研究表明,氨肽酶 N 在肿瘤发生、发展、侵袭转移、凋亡、肿瘤血管生成以及病毒感染中发挥重要的作用。

[0003] 1) 氨肽酶 N 在肿瘤细胞表面高水平表达。该酶可降解细胞外基质,从而促进肿瘤细胞侵袭与转移。细胞外基质在维持细胞连接的稳定性和细胞间信号传导中起着非常重要的作用。细胞外基质的降解还能通过促进存在于其中的生长因子的释放而促进肿瘤的生长增殖 (Sato Y, Biol. Pharm. Bull., 2004, 27 (6) :772-776 ;Saiki, I. ;et al. Int. J. Cancer., 1993, 54, 137 ;Menrad A., Speicher D., Wacker J., et al. Cancer Res., 1993, 53 (6) :1450-1455)。2) 氨肽酶 N 能够刺激血管内皮细胞释放肿瘤微血管形成相关因子,促进肿瘤细胞血管生成。APN 在新生血管内皮细胞和亚内皮细胞高表达,可方便内皮细胞入侵周围其他组织。这也是血管生成的基本内容,血管生成是肿瘤生长和转移的第一步。3) APN 在粒细胞及淋巴细胞表面大量表达,同时也参与了 T 淋巴细胞依赖的炎症反应;还能够表达于抗原递呈细胞表面,降解免疫活性物质 (如白介素 -8);参与抗原处理和细胞表面的主要组织相容性复合体 II 型 (MHC-II) 粘附抗原决定簇依赖的 T 细胞对抗原的识别,降低了 T 细胞对其抗原的识别能力,同时削弱了巨噬细胞和 NK 细胞对肿瘤细胞的识别和杀伤能力,使机体免疫力下降,因而促进了肿瘤细胞的增殖,而抑制了其凋亡。4) 氨肽酶 N 作为人冠状病毒 HCoV-229E 和传染性胃肠炎病毒 (TGEV) 表面的受体,在上呼吸道感染 (如 :SARS) 和急性肠炎中扮演重要角色,且其发挥作用与酶的活性相关 (Delmas, B., et al. Nature, 1992, 357, 417 ;Yeager, C. L. ;et al. Nature, 1992, 357, 420)。APN 还参与了 T 淋巴细胞依赖的炎症反应和 HIV 病毒颗粒进入宿主细胞的过程。研究表明,在感染 HIV 的患者体内氨肽酶 N 活性远远高于健康志愿者 (Shen W, Li B, et al. Blood, 2000, 96 (8), 2887 ;Shipp MA, et al. Blood, 1993, 82 (4), 1052)。5) 氨肽酶 N 参与内源性镇痛物质内啡肽和脑啡肽的降解,从而引起 P 物质的过度释放,导致疼痛。6) 氨肽酶 N 降解血管紧张素,参与机体血压的调节 (Mitsui, T. ;et al. Biol. Pharm. Bull., 2004, 27, 768.)。

[0004] 十几年以来,对 APN 抑制剂的研究开发极为迅速,但至今为止只有唯一一个上市

药物——乌苯美司。APN 抑制剂作为肽酶的抑制剂,大多数为肽或肽的类似物,对体内酶的降解比较敏感;另外由于控制肿瘤生长增殖和凋亡的调控网络十分庞大而且复杂,例如通过多种生长因子受体酪氨酸激酶的体内信号转导或通过对整合素受体的活化从而代偿性促进肿瘤生长增殖、抑制其凋亡,这也是大多数包括 APN 抑制剂在内的非细胞毒靶标型抗肿瘤药物在临床阶段被枪毙的原因所在。另外,目前临床或临床前研究较多的氨肽酶 N 的抑制剂多为天然产物,例如乌苯美司 (Ubenimex) 作为一个具有含 β -氨基酸的类二肽结构,目前作为免疫增强剂用于白血病的治疗,是从橄榄网状链霉菌 (*Streptomyces olivoreticuli*) 的培养液中分离得到的,全合成代价昂贵,因而来源有限。

[0005] 本发明中所设计的脲基类肽化合物在针对于氨肽酶 N 活性筛选中发现,几个药物分子其活性类似或优于目前唯一上市的乌苯美司。

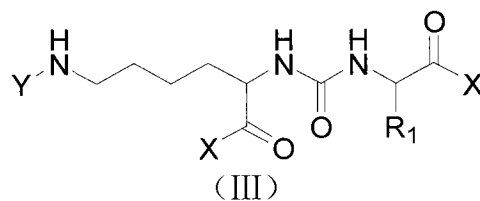
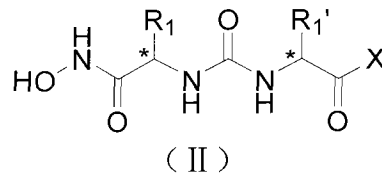
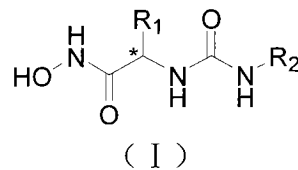
发明内容

[0006] 本发明针对现有技术的不足,提供一种脲基类肽氨肽酶 N 抑制剂及其制备方法和用途。

[0007] 本发明的技术方案是:

[0008] 具有通式 (I)、(II) 或 (III) 的类肽化合物,以及其光学异构体、非对映异构体和消旋体混合物,其药学上可接受的盐,溶剂合物或前药:

[0009]



[0010] 其中,

[0011] R_1 是氢,各种天然或非天然氨基酸 α 碳上的取代基,这些氨基酸包括:各种 α -氨基酸如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、色氨酸、精氨酸、半胱氨酸、瓜氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、酪氨酸等等;各种 β -氨基酸如 β -氨基丙氨酸、 β -氨基苯丙氨酸等等; γ -氨基酸如 γ -氨基丁氨酸等,D-氨基酸如D型的甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、色氨酸、精氨酸、半胱氨酸、瓜氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、酪氨酸等等;其

他氨基酸如各种 δ -氨基酸等。

[0012] R_1' 是氢, 各种天然或非天然氨基酸 α 碳上的取代基, 这些氨基酸包括: 各种 α -氨基酸如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、色氨酸、精氨酸、半胱氨酸、瓜氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、酪氨酸等等; 各种 β -氨基酸如 β -氨基丙酸、 β -氨基苯丙酸等等; γ -氨基酸如 γ -氨基丁酸等, D-氨基酸如 D 型的甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、色氨酸、精氨酸、半胱氨酸、瓜氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、酪氨酸等等; 其他氨基酸如各种 δ -氨基酸等。

[0013] R_2 是氢, C1-12 脂肪链烷基, 芳香基, 芳基烷基, 杂芳基, 杂芳基烷基; 任选被一个或多个如下基团取代: 羟基, 卤素, 硝基, 氰基, 胍基, 羧基, 卤 C1-12 烷基, C1-12 烷氧基, C1-12 烷基, C1-12 环烷基, 芳基, 杂芳基, 或芳基 C1-12 烷基;

[0014] X 是异羟肟酸基, 羧基; 或 C1-12 脂肪链烷氧基, 芳香氧基, 芳基烷氧基, 杂芳氧基, 杂芳基烷氧基, C1-12 脂肪链烷胺基, 芳香胺基, 芳基烷胺基, 杂芳胺基, 杂芳基烷胺基; 任选被一个或多个如下基团取代: 羟基, 卤素, 硝基, 氰基, 胍基, 羧基, 卤 C1-12 烷基, C1-12 烷氧基, C1-12 烷基, C1-12 环烷基, 芳基, 杂芳基, 芳基 C1-12 烷基;

[0015] Y 是氢, 芳酰基, 杂芳酰基, 芳基 C1-6 烷酰基, 杂芳基 C1-9 烷酰基, C1-6 烷酰基, 芳磺酰基, 杂磺酰基, 芳基 C1-6 烷磺酰基或杂芳基 C1-9 烷磺酰基; 各种用于保护氨基酸氨基的保护基, 如叔丁氧羰基, 苄氧羰基, 苄氧羰基, 2-联苯基-2-丙氧羰基, 邻苯二甲酰亚胺基, 对甲苯磺酰基, 三苯甲基, 甲酰基, 乙酰基或三氟乙酰基等。

[0016] 上述式 (I) 或 (II) 中 * 所示的碳具有 S 构型。

[0017] 优选的, 上述的脲基类肽化合物 (I)、(II) 或 (III) 具体包括如下化合物:

[0018] 优选的, 上述的脲基类肽化合物 (I) 是下列化合物之一:

[0019] 1a: 2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0020] 2a: (2S)-2-甲基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0021] 3a: (2S)-2-异丙基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0022] 4a: (2S)-2-(2-甲基)-丙基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0023] 5a: (2S)-2-(1-甲基)-丙基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0024] 6a: (2S)-2-苄基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0025] 7a: (2S)-2-(甲硫基)-乙基-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0026] 8a: (2S)-2-[4-(N-苄氧羰基)-氨基丁基]-2-(3-叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0027] 1b: 2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0028] 2b: (2S)-2-甲基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0029] 3b: (2S)-2-异丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0030] 4b: (2S)-2-(2-甲基)-丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0031] 5b: (2S)-2-(1-甲基)-丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0032] 6b: (2S)-2-苄基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0033] 7b: (2S)-2-(甲硫基)-乙基-2-(3-苄基叔丁基脲基)-N-羟基乙酰胺、

[0034] 8b: (2S)-2-[4-(N-苄氧羰基)-氨基丁基]-2-(3-苄基叔丁基脲基)-N-羟基乙

酰胺、

- [0035] 1c : 2-(3- 苄基脲基)-N- 羟基乙酰胺、
- [0036] 2c : (2S)-2- 甲基-2-(3- 苄基脲基)-N- 羟基乙酰胺、
- [0037] 3c : (2S)-2- 异丙基-2-(3- 苄基脲基)-N- 羟基乙酰胺、
- [0038] 4c : (2S)-2-(2- 甲基)-丙基-2-(3- 苄基脲基)-N- 羟基乙酰胺、
- [0039] 5c : (2S)-2-(1- 甲基)-丙基-2-(3- 苄基脲基)-N- 羟基乙酰胺、
- [0040] 6c : (2S)-2- 苄基-2-(3- 苄基脲基)-N- 羟基乙酰胺、
- [0041] 7c : (2S)-2-(甲硫基)-乙基-2-(3- 苄基脲基)-N- 羟基乙酰胺或
- [0042] 8c : (2S)-2-[4-(N- 苄氧羰基)-氨基丁基]-2-(3- 苄基脲基)-N- 羟基乙酰胺。
- [0043] 优选的, 上述的脲基类肽化合物 (II) 是下列化合物之一 :
- [0044] 1f : 2-[3-(1- 羟基氨基甲酰基-3- 甲基-丁基)-脲基]-4- 甲基戊酸、
- [0045] 2f : 2-[3-(1- 羟基氨基甲酰基-3- 甲基-丁基)-脲基]-3- 苄基丙酸、
- [0046] 3f : 2-[3-(1- 羟基氨基甲酰基-2- 苄基-乙基)-脲基]-4- 甲基戊酸、
- [0047] 4f : 2-[3-(1- 羟基氨基甲酰基-2- 苄基-乙基)-脲基]-3- 苄基丙酸、
- [0048] 1g : 2-[3-(1- 羟基氨基甲酰基-3- 甲基-丁基)-脲基]-4- 甲基戊酸羟基酰胺、
- [0049] 2g : 2-[3-(1- 羟基氨基甲酰基-3- 甲基-丁基)-脲基]-3- 苄基丙酸羟基酰胺、
- [0050] 3g : 2-[3-(1- 羟基氨基甲酰基-2- 苄基-乙基)-脲基]-4- 甲基戊酸羟基酰胺或
- [0051] 4g : 2-[3-(1- 羟基氨基甲酰基-2- 苄基-乙基)-脲基]-3- 苄基丙酸羟基酰胺。
- [0052] 优选的, 上述的脲基类肽化合物 (III) 是下列化合物之一 :
- [0053] 1d : 6- 苄氧羰基氨基-2-(3- 羧甲基脲基)-己酸、
- [0054] 2d : (2S, 2' S)-6- 苄氧羰基氨基-2-[3-(2- 甲基)-羧甲基脲基]-己酸、
- [0055] 3d : (2S, 1' S)-6- 苄氧羰基氨基-2-[3-(1- 羧基-乙基)-脲基]-己酸、
- [0056] 4d : (2S, 1' S)-6- 苄氧羰基氨基-2-[3-(1- 羧基-2- 甲基丙基)-脲基]-己酸、
- [0057] 5d : (2S, 1' S)-6- 苄氧羰基氨基-2-[3-(1- 羧基-3- 甲基丁基)-脲基]-己酸、
- [0058] 6d : (2S, 1' S)-6- 苄氧羰基氨基-2-[3-(1- 羧基-2- 甲基丁基)-脲基]-己酸、
- [0059] 7d : (2S, 1' S)-6- 苄氧羰基氨基-2-[3-(1- 羧基-2- 苄基)-脲基]-己酸、
- [0060] 8d : (2S, 1' S)-6- 苄氧羰基氨基-2-[3-(1- 羧基-3- 甲硫基丙基)-脲基]-己酸、
- [0061] 1e : (2S, 1' S)-6- 苄氧羰基氨基-2-[3-(5- 苄氧羰基氨基-1- 羧基-戊基)-脲基]-己酸、
- [0062] 2e : (3' S)-[5- 羟基氨基羰基-5-(3- 羟基氨基羰基甲基-脲基)-戊基]-氨基甲酸苄酯、
- [0063] 3e : (3' S, 1" S)-{5- 羟基氨基羰基-5-[3-(1- 羟基氨基羰基乙基)-脲基]-戊基}-氨基甲酸苄酯、
- [0064] 4e : (3' S, 1" S)-{5- 羟基氨基羰基-5-[3-(1- 羟基氨基羰基-2- 甲基)-丙基脲基]-戊基}-氨基甲酸苄酯、
- [0065] 5e : (3' S, 1" S)-{5- 羟基氨基羰基-5-[3-(1- 羟基氨基羰基-3- 甲基)-丁基脲基]-戊基}-氨基甲酸苄酯、
- [0066] 6e : (3' S, 1" S)-{5- 羟基氨基羰基-5-[3-(1- 羟基氨基羰基-2- 苄基脲基)-戊基]-氨基甲酸苄酯、

[0067] 7e : (3' S, 1" S) - {5- 羟基氨基羰甲基 -5-[3-(1- 羟基氨基羰基 -3- 甲硫基) - 丙基脲基] - 戊基} - 氨基甲酸苄酯、

[0068] 8e : (3' S, 1" S) - {5-[3-(5- 苄氧羰基氨基 -1- 羟基氨基羰基 - 戊基) - 脲基] -5- 羟基氨基羰基 - 戊基} - 氨基甲酸苄酯、

[0069] 1h : (2S) -6- 苄氧羰基 -2-(3- 甲氧羰基甲基 - 脲基) 己酸甲酯、

[0070] 2h : (2S, 2' S) -6- 苄氧羰基 2-[3-2-(甲氧羰基乙基) - 脲基] 己酸甲酯、

[0071] 3h : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 甲氧羰基 -2- 甲基丙基) - 脲基] 己酸甲酯、

[0072] 4h : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 甲氧羰基 -3- 甲基丁基) - 脲基] 己酸甲酯、

[0073] 5h : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 甲氧羰基 -2- 甲基丁基) - 脲基] 己酸甲酯、

[0074] 6h : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 甲氧羰基 -2- 苯基乙基) - 脲基] 己酸甲酯、

[0075] 7h : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 甲氧羰基 -3- 甲硫基丙基) - 脲基] 己酸甲酯、

[0076] 1i : (2S) -6- 苄氧羰基 -2-(3- 苄氧羰基甲基 - 脲基) 己酸苄酯、

[0077] 2i : (2S, 2' S) -6- 苄氧羰基 2-[3-2-(苄氧羰基乙基) - 脲基] 己酸苄酯、

[0078] 3i : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 苄氧羰基 -2- 甲基丙基) - 脲基] 己酸苄酯、

[0079] 4i : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 苄氧羰基 -3- 甲基丁基) - 脲基] 己酸苄酯、

[0080] 5i : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 苄氧羰基 -2- 甲基丁基) - 脲基] 己酸苄酯、

[0081] 6i : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 苄氧羰基 -2- 苯基乙基) - 脲基] 己酸苄酯或

[0082] 7i : (2S, 1' S) -6- 苄氧羰基 -2-[3-(1- 苄氧羰基 -3- 甲硫基丙基) - 脲基] 己酸苄酯。

[0083] 在上述化合物中, 最优选 : 4b、5b、6b、7b、4c、6c、4d、4e 之一。

[0084] 此外, 本发明还包括一种适于口服给予哺乳动物的药物组合物, 包含上述通式 (I)、(II) 或 (III) 的类肽化合物和药学上可接受载体, 任选包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0085] 此外, 本发明还包括一种适于胃肠外给予哺乳动物的药物组合物, 包含上述通式 (I)、(II) 或 (III) 的类肽化合物和药学上可接受载体, 任选包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0086] 这些类肽化合物在预防或治疗与氨肽酶 N 活性或表达异常相关的哺乳动物疾病的药物的应用。所述的与氨肽酶 N 活性或表达异常的相关哺乳动物疾病包括 : 炎症, 癌症, 多发性硬化症, 各种组织溃疡或组织溃疡性病征, 牙周病, 大疱性表皮松懈症, 白血病等。因此, 本发明还涉及含有 (I)、(II) 或 (III) 结构化合物的药物组合物。

[0087] 发明详述

[0088] 所用的定义和术语

[0089] 本文中使用的术语和定义含义如下：

[0090] “各种天然或非天然氨基酸 α 碳上的取代基”：是指 20 种天然氨基酸，非天然 α -氨基酸， β -氨基酸， γ -氨基酸， δ -氨基酸，D-氨基酸等等，及其仍属于氨基酸的衍生物，优选天然 α -氨基酸，如苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸。

[0091] “卤”，或“卤素”包括氟、氯、溴或碘。

[0092] “环烷基”是取代或未取代的，饱和或不饱和的环状烷基，其含有碳原子和 / 或一个或多个杂原子。该环可以是单环或稠环，桥环或螺环的环系。单环通常有 3-9 个原子，优选有 4-7 个原子，多环含有 7-17 个原子，优选含有 7-13 个原子。

[0093] “杂烷基”指饱和或不饱和、含碳原子和至少一个杂原子的链，其中任意一个杂原子不相邻。杂烷基中含有 2-15 个原子（碳原子），优选含有 2-10 个原子。杂烷基可以是直连或支链、取代或未取代的。

[0094] “芳基”是指芳族碳环基团，优选的芳环含有 6-10 个碳原子。

[0095] “杂芳基”是芳族杂环，可以是单环或双环基团。

[0096] “环烷氧基”是取代或未取代的，饱和或不饱和的环状烷氧基，其含有碳原子和 / 或一个或多个杂原子。该环可以是单环或稠环，桥环或螺环的环系。单环通常有 3-9 个原子，优选有 4-7 个原子，多环含有 7-17 个原子，优选含有 7-13 个原子。

[0097] “环烷胺基”是取代或未取代的，饱和或不饱和的环状烷胺基，其含有碳原子和 / 或一个或多个杂原子。该环可以是单环或稠环，桥环或螺环的环系。单环通常有 3-9 个原子，优选有 4-7 个原子，多环含有 7-17 个原子，优选含有 7-13 个原子。

[0098] “杂烷氧基”指饱和或不饱和、含碳原子和至少一个杂原子的链，其中任意一个杂原子不相邻。杂烷氧基中含有 2-15 个原子（碳原子），优选含有 2-10 个原子。杂烷氧基可以是直连或支链、取代或未取代的。

[0099] “杂烷胺基”指饱和或不饱和、含碳原子和至少一个杂原子的链，其中任意一个杂原子不相邻。杂烷胺基中含有 2-15 个原子（碳原子），优选含有 2-10 个原子。杂烷胺基可以是直连或支链、取代或未取代的。

[0100] “芳氧基”是指芳族碳环氧基基团，优选的芳环含有 6-10 个碳原子。

[0101] “芳胺基”是指芳族碳环胺基基团，优选的芳环含有 6-10 个碳原子。

[0102] “杂芳氧基”是芳族杂环氧基，可以是单环或双环基团。

[0103] “杂芳胺基”是芳族杂环胺基，可以是单环或双环基团。

[0104] “芳酰基”是指芳香族碳环末端连有羰基的基团。优选的芳环含有 6-10 个碳原子。

[0105] “环烷酰基”是取代或未取代的，饱和或不饱和的环状末端连有羰基的基团，其含有碳原子和 / 或一个或多个杂原子。该环可以是单环或稠环，桥环或螺环的环系。单环通常有 3-9 个原子，优选有 4-7 个原子，多环含有 7-17 个原子，优选含有 7-13 个原子。

[0106] “杂芳酰基”是芳族杂环末端连有羰基的基团，可以是单环或双环基团。较佳的杂芳基包括，例如噻吩基，呋喃基、吡咯基、吡啶基、吡嗪基、噻唑基、嘧啶基、喹啉基、以及四氮唑基、苯并噻唑基、苯并呋喃基、吲哚基等。

[0107] “杂烷基”指饱和或不饱和、含碳原子和至少一个杂原子的链，其中任意一个杂原

子不相邻。杂烷基中含有 2-15 个原子（碳原子），优选含有 2-10 个原子。杂烷基可以是直连或支链、取代或未取代的。

[0108] “芳基”是指芳族碳环基团。优选的芳环含有 6-10 个碳原子。

[0109] “环烷基”是取代或未取代的，饱和或不饱和的环状基团，其含有碳原子和 / 或一个或多个杂原子。该环可以是单环或稠环，桥环或螺环的环系。单环通常有 3-9 个原子，优选有 4-7 个原子，多环含有 7-17 个原子，优选含有 7-13 个原子。

[0110] “药学上可接受的盐”是指式 (I)、(II) 或 (III) 化合物具有疗效且无毒的盐形式。其可由任一碱性基团（如氨基）形成阳离子盐。本领域已知许多这样的盐。在任何酸性基团（如羧基）上形成的阳离子盐，或是在任何碱性基团（如氨基）上形成的阴离子盐。这些盐有许多是本领域已知的，如阳离子盐包括碱金属（如钠和钾）和碱土金属（如镁和钙）的盐以及有机盐（如胺盐）。这些盐是熟练技术人员熟知的，熟练的技术人员可制备本领域知识所提供的任何盐。此外，熟练技术人员可根据溶解度、稳定性、容易制剂等取某种盐而舍另一种盐。这些盐的测定和最优化在熟练技术人员的经验范围内。

[0111] “溶剂合物”是溶质（如氨肽酶 N 抑制剂）和溶剂（如水）组合形成的配合物。参见 J. Honig 等, *The Van Nostrand Chemist's Dictionary*, p. 650 (1953)。本发明采用的药学上可接受的溶剂包括不干扰氨肽酶 N 抑制剂的生物活性的那些溶剂（例如水、乙醇、乙酸、N, N- 二甲基甲酰胺、二甲基亚砷以及该领域技术人员所知的或容易确定的溶剂）。

[0112] 本文所用的“光学异构体”、“对映体”、“非对映体”、“消旋体”等定义了本发明化合物或其生理上的衍生物所有可能的立体异构体的形式。除非另有指示，本发明化合物的化学命名包括所有可能的立体化学形式的混合物，所属混合物包含基本结构分子的所有非对映体和对映体，以及基本纯净的本发明化合物的单个异构体形式，即其中含有低于 10%，优选低于 5%，特别是低于 2%，最优选低于 1% 的其它异构体。本发明类肽化合物各种立体异构体形式均明显包含于本发明的范围内。

[0113] 式 (I)、(II) 或 (III) 类肽化合物还可以其它被保护的形式或衍生物的形式存在，这些形式对本领域技术人员而言是显而易见的，均应该包含于本发明的范围内。

[0114] 如上所述的取代基自身还可被一个或多个取代基取代。这样的取代基包括在 C. Hansch 和 A. Leo, *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology* (1979) 中列出的那些取代基。优选的取代基包括，例如烷基，烯基，烷氧基，羟基，氧基，硝基，氨基，氨基烷基（如氨甲基等），氰基，卤，羧基，羰基烷氧基（如羰基乙氧基等），硫基，芳基，环烷基，杂芳基，杂环烷基（如哌啶基，吗啉基，吡咯基等），亚氨基，羟烷基，芳基氧基，芳基烷基，及其结合。

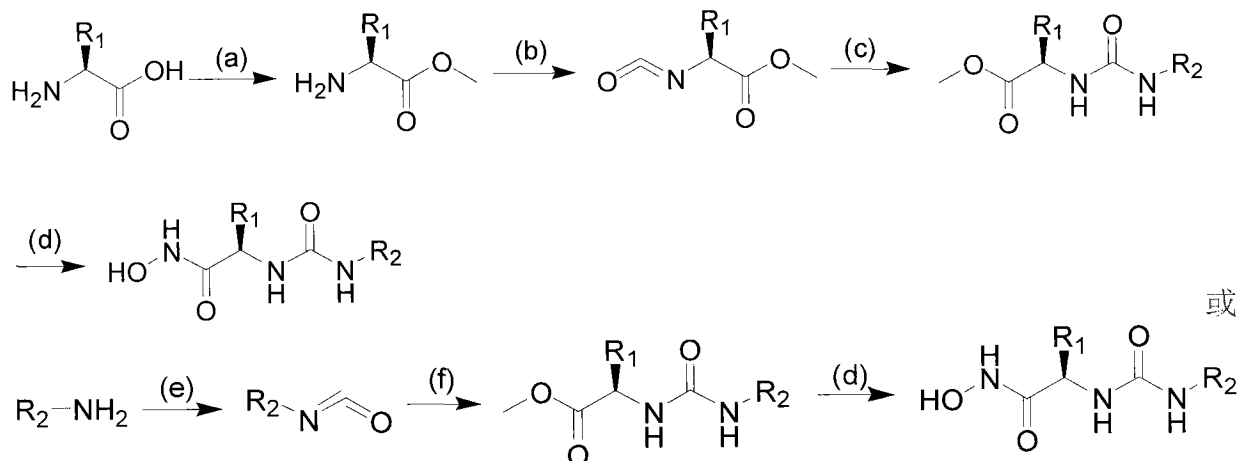
[0115] 所述化合物的制备方法，反应步骤及反应式如下：

[0116] 化合物 (I) 的制备方法如下：

[0117] 以光学氨基酸为原料，相继经酯化保护羧基，通过三光气进行缩合连接相应的胺，再将甲酯经过相应反应得到目标化合物；或者以相应的胺味原来，相继经由三光气转化为异氰酸酯，再与光学氨基酸的甲酯缩合，而后再将甲酯经过相应反应得到目标化合物。

[0118] 合成路线：

[0119]

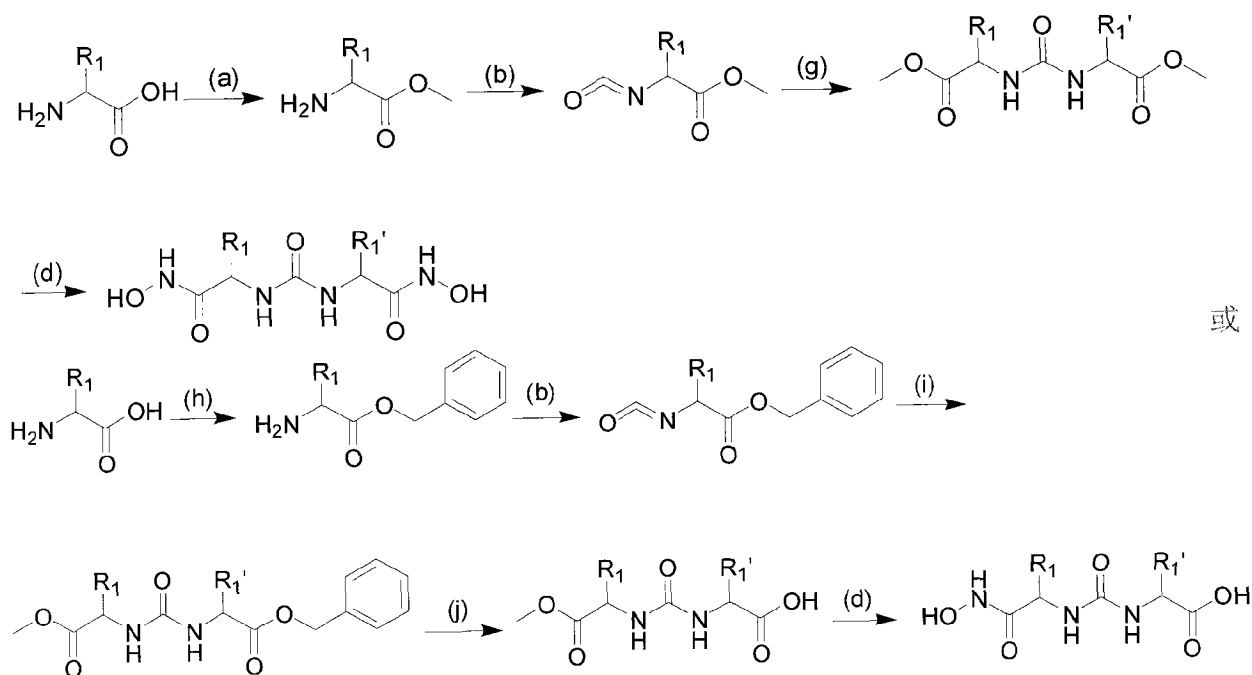


[0120] 化合物 (II) 的制备方法如下：

[0121] 以光学氨基酸为原料，相继经酯化保护羧基，通过三光气进行缩合，连接又一羧基经酯化保护的光学氨基酸，然后将需要脱掉的保护基脱掉，再将甲酯经过相应反应得到目标化合物。

[0122] 合成路线：

[0123]

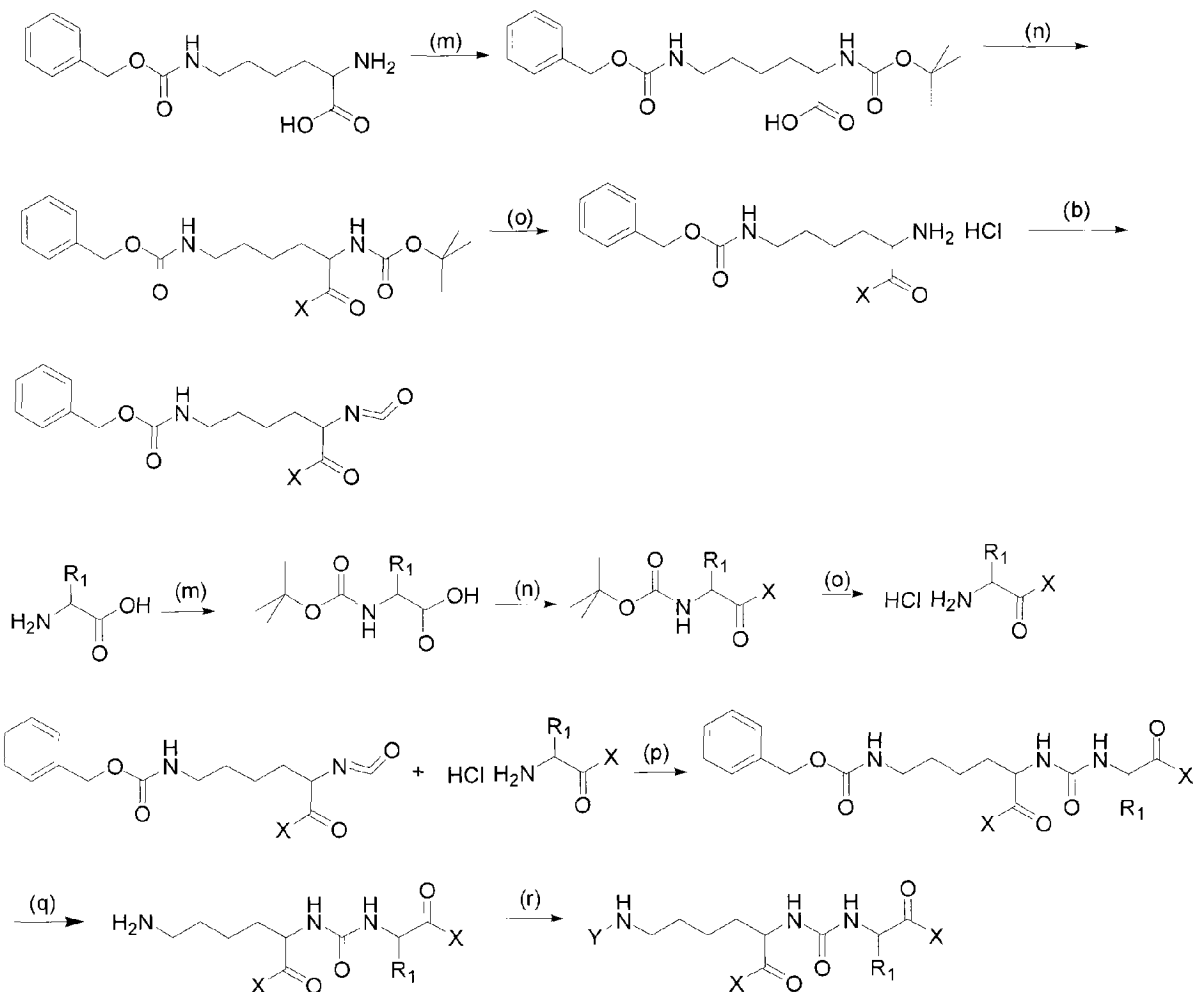


[0124] 化合物 (III) 的制备方法如下：

[0125] 以苄氧羰基赖氨酸为原料相继经过叔丁氧羰基保护氨基，与各种醇、酚、胺缩合，脱去叔丁氧羰基，再通过三光气进行缩合连接相关基团，然后脱去苄氧羰基，或继续跟相应的酰氯或酸酐进行缩合，或上其他的氨基保护基，得到目标化合物。

[0126] 合成路线：

[0127]



[0128] 上述 R_1 、 R_1' 、 R_2 、 X 、 Y 如上述通式 (I)、(II) 或 (III) 的类肽化合物所定义；

[0129] 上述反应式中的试剂及反应条件：(a) 乙酰氯，无水甲醇，回流，(b) 三光气，饱和碳酸氢钠水溶液，二氯甲烷， 0°C ，(c) 如所用为各种上述的胺，三乙胺，二氯甲烷，(d) 羟胺钾，无水甲醇， 25°C ，(e) 三光气，甲苯，回流，(f) 如所用为上述各种氨基酸甲酯盐酸盐，三乙胺，二氯甲烷，(g) 如所用为上述各种氨基酸甲酯盐酸盐，三乙胺，二氯甲烷，(h) 对甲苯磺酸，苯甲醇， 90°C ，(i) 如所用为上述各种氨基酸甲酯盐酸盐，三乙胺，二氯甲烷，(j) 钯/碳，氢气，无水甲醇， 30°C ，(k) 如所用为上述各种氨基酸甲酯盐酸盐，三乙胺，二氯甲烷，(l) 制备羧酸：1mol/L 氢氧化钠，甲醇， 25°C ；制备异羟肟酸：羟胺钾，无水甲醇， 25°C ，(m) $(\text{Boc})_2\text{O}$ ，氢氧化钠水溶液，四氢呋喃，室温，(n) 如所用为上述各种醇、酚或胺，EDCI，HOBT，二氯甲烷，室温，(o) HCl 乙酸乙酯饱和溶液，室温，(p) 三乙胺，二氯甲烷，室温，(q) 钯/碳，氢气，无水甲醇， 30°C ，(r) 如所用为上述各种酰基所对应的酰氯或酸酐。

[0130] 所述化合物的具体操作步骤在实施例中将加以详细说明。

[0131] 本领域技术人员可以对上述步骤进行变动以提高收率，他们可据本领域的基本知识确定合成的路线，如选择反应物，溶剂和温度，可以通过使用各种常规保护基以避免副反应的发生从而提高收率。这些常规的保护方法可参见例如 T. Greene, *Protecting Groups in Organic Synthesis*。

[0132] 显然，上述路线为立体选择性合成，通过上述路线还可制备得到其光学活性的类

肽化合物。例如将原料各种氨基酸替换为其光学异构体(D构型)。本领域技术人员可方便地获得此类脲基类肽衍生物的各种其他异构体,并可通过常规的分段手段纯化,如手性盐或手性层析柱等。

[0133] 氨肽酶 N 抑制活性的测试描述于 Lejczak, B 等. *Biochemistry*, 1989, 28, 3549 中。底物 L-亮氨酸-p-硝基苯胺被氨肽酶 N 降解,产生在 405nm 有吸收的 p-硝基苯胺,并且 p-硝基苯胺的浓度与酶活性的大小呈正相关。通过检测 405nm 处的吸收度确定 p-硝基苯胺的含量,从而确定氨肽酶的活性,间接反映出抑制剂对酶活性抑制程度的大小。

[0134] 通式 (I)、(II) 或 (III) 的类肽化合物的体外抑酶试验证明该类肽化合物为一种脲基类肽氨肽酶 N 抑制剂。本发明的脲基类肽在空间上与氨肽酶 N 的活性位点相匹配,因此在体外显示了较高的抑酶活性。

[0135] 已上市的氨肽酶 N 抑制剂乌苯美司,多年来在临床上用于治疗白血病,并且可以作为免疫调节剂使用。本发明化合物作为脲基类肽氨肽酶 N 抑制剂的应用。在制备预防或治疗与氨肽酶 N 活性异常表达相关的哺乳动物疾病的药物中有广阔的应用前景。根据现有技术,所述的与氨肽酶 N 活性异常表达的相关哺乳动物疾病包括:炎症,癌症,多发性硬化症,各种组织溃疡或组织溃疡性病征,牙周病,大疱性表皮松懈症和白血病。

[0136] 含有本发明化合物的药物组合物:

[0137] 本发明的部分衍生物可以游离形式或以盐形式存在。本领域技术人员已知许多化合物类型的药学上可接受的盐及其制备方法。药学上可接受的盐包括常规的无毒性的盐,包括这样的化合物酸与无机或有机碱形成的盐。

[0138] 本发明的化合物可形成水合物或溶剂合物。本领域熟练人员已知将化合物与水一起冻干时所形成的水合物或在溶液中与合适的有机溶剂浓缩时形成溶剂合物的方法。

[0139] 本发明包含含有治疗量本发明化合物的药物,和一种或多种药学上可接受载体和/或赋形剂的药物组合物。载体包括如盐水,缓冲盐水,葡萄糖,水,甘油,乙醇和它们的结合物,下文更详细地论述。如果需要,该组合物还可以包含较小量的润湿剂或乳化剂,或 pH 缓冲剂。该组合物可以是液体,悬浮液,乳剂,片剂,丸剂,胶囊,持续释放制剂或粉末。该组合物可以用传统的黏合剂和载体如三酸甘油酯配制成栓剂。口服制剂可以包括标准载体如药物品级的甘露糖醇,乳糖,淀粉,硬脂酸镁,糖精钠,纤维素和碳酸镁等等。视需要制剂而定,配制可以设计混合,制粒和压缩或溶解成分。在另一个途径中,该组合物可以配制成纳米颗粒。

[0140] 使用的药物载体可以为,例如,固体或者液体。

[0141] 典型的固体载体包括乳糖,石膏粉,蔗糖,滑石,凝胶,琼脂,果胶,阿拉伯胶,硬脂酸镁,硬脂酸等等。固体载体可以包括一种或多种可能同时作为增香剂,润滑剂,增溶剂,悬浮剂,填料,助流剂,压缩助剂,粘合剂或片剂-崩解剂的物质;它还可以是包封材料。在粉末中,载体为精细粉碎的固体,它与精细粉碎的活性成分的混合。在片剂中活性成分与具有必要的压缩性质的载体以合适的比例混合,以需要的形状和大小压缩。粉末和片剂优选包含至多 99% 活性成分。合适的固体载体包括,例如,磷酸钙,硬脂酸镁,滑石,糖,乳糖,糊精,淀粉,凝胶,纤维素,甲基纤维素,羧甲基纤维素钠盐,聚乙烯吡咯烷酮,低熔点蜡和离子交换树脂。

[0142] 典型的液体载体包括糖浆,花生油,橄榄油,水,等等。液体载体用于制备溶液,悬

浮液,乳剂,糖浆,酏剂和密封的组合物。活性成分可以溶解或悬浮于药学上可接受的液体载体如水,有机溶剂,二者的混合物或药学上可接受的油类或脂肪。液体载体可以包含其他合适的药物添加剂如增溶剂,乳化剂,缓冲剂,防腐剂,增甜剂,增香剂,悬浮剂,增稠剂,颜料,粘度调节剂,稳定形或渗透压-调节剂。用于口服和肠胃外给药的液体载体的合适的例子包括水(部分地包含如同上述的添加剂,例如纤维素衍生物,优选羧甲基纤维素钠盐溶液),醇(包括一元醇和多元醇,例如乙二醇)和它们的衍生物,和油类(例如分馏椰子油和花生油)。用于肠胃外给药的载体还可以为油脂如油酸乙酯和异丙基肉豆蔻酸盐。无菌的液体载体用于肠胃外给药的无菌的液态组合物。用于加压组合物的液体载体可以为卤代烃或其他药学上可接受的推进剂。无菌溶液或悬浮溶液液体药物组合物可以用来,例如,静脉内,肌内,腹膜内或皮下注射。注射时可单次推入或逐渐注入,入30分钟的经脉内灌注。该化合物还可以以液体或者固体组合物的形式口服给药。

[0143] 载体或赋形剂可以包括本领域已知的时间延迟材料,如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯,还可包括蜡,乙基纤维素,羟丙基甲基纤维素,异丁烯酸甲酯等等。当制剂用于口服时,公认PHOSALPG-50(phospholipid与1,2-丙二醇浓缩,A.Nattermann & Cie.GmbH)中的0.01%吐温80用于其他化合物的可接受的口服制剂的配制,可以适应于本发明各种化合物的配制。

[0144] 给予本发明化合物时可以使用各式各样的药物形式。如果使用固体载体,制剂可以为片剂,被放入硬胶囊中的粉末或小药丸形式或锭剂或糖锭形式。固体载体的量在很大程度上变化,但是优选从约25mg到约1.0g。如果使用液体载体,制剂可以为糖浆,乳剂,软胶囊,在安瓿或小瓶或非水的液体悬浮液中的无菌注射溶液或悬浮液。

[0145] 为了获得稳定的水溶性的剂型,可以将化合物或其药学上可接受的盐溶于有机或无机碱的水溶液。如果得不到可溶形式,可将化合物溶于合适的共溶剂或它们的结合。这样的合适的共溶剂的例子包括,但是不局限于,浓度范围从0-60%总体积的乙醇,丙二醇,聚乙二醇300,聚山梨酸酯80,甘油,聚氧乙烯脂肪酸酯,脂肪醇或甘油羟脂肪酸酯等等。

[0146] 各种释放系统是已知的并且可以用于化合物或其他各种制剂的给药,这些制剂包括片剂,胶囊,可注射的溶液,脂质体中的胶囊,微粒,微胶囊,等等。引入的方法包括但是不局限于皮肤的,皮内,肌内,腹膜内的,静脉内的,皮下的,鼻腔内的,肺的,硬膜外的,眼睛的和(通常优选的)口服途径。化合物可以通过任何方便的或者其它适当的途径给药,例如通过注入或快速浓注,通过上皮的或粘膜线路(例如,口腔粘膜,直肠和肠粘膜,等等)吸收或通过负载药物的支架以及可以于其他生物活性剂一起给药。可以全身或局部给药。用于异,支气管或肺疾病的治疗或预防时,优选的给药途径为口服,鼻给药或支气管烟雾剂或喷雾器。

[0147] 本发明含有如上述通式(I)、(II)或(III)的化合物的设计采用了类肽和电子等排体设计策略。类肽和电子等排体策略已经被广泛应用于抗病毒、抗肿瘤药物的设计和开发领域,其结构由天然或非天然氨基酸以及非肽基团组成类似于肽的结构,但总体构象又不同于天然的多肽物质,一方面,类肽具有底物的内在活性,可以通过识别酶的活性中心来抑制酶的活性,同时提高对靶部位的选择性和效能;另外,类肽与天然肽类物质存在着结构上的差异不易被肽酶降解,生物稳定性和利用度得到了提高,且化合物的作用时间长。

[0148] 具体而言,本发明以光学纯度氨基酸为原料,通过选择性保护羧基,经过取代、缩

合、脱保护等步骤合成关键中间体,目的均是为了增强化合物与酶或受体的亲和力以及代谢稳定性。

[0149] 本发明设计合成的一类具有全新结构母核的氨肽酶 N 抑制剂,体外试验表明其无细胞毒活性但体现出显著的体外抑酶活性,有望成为一类非细胞毒类抗癌候选药物。

具体实施方式

[0150] 下面结合实施例对本发明做进一步的说明,但不限于此。

[0151] 实施例 1. 本发明化合物 (I) 的合成

[0152] 1. 以 (2S)-2-异丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺 (3b) 为例:

[0153] 1) 苄基异氰酸酯 (1) 的制备

[0154] 将 1.16g 苄胺溶于 20mL 甲苯得到的溶液室温下滴入 2.22g 三光气的甲苯溶液 80mL,将该反应液回流 4 小时后,蒸干甲苯,得到黄色油状产物苄基异氰酸酯 (1),无需进一步纯化,可直接用于下一步。

[0155] 2) 2-(3-苄基脲基)-2-异丙基乙酸甲酯 (2) 的制备

[0156] 冰浴下将苄基异氰酸酯 (1) 的二氯甲烷溶液滴入含有 2.51g L-缬氨酸甲酯盐酸盐和 2.12g 三乙胺的二氯甲烷溶液中,滴完后将该反应液在室温下搅拌,1 小时后,蒸干二氯甲烷,残渣溶于乙酸乙酯后,用 1N 盐酸和饱和食盐水洗涤,用硫酸镁干燥有机相。得黄色油状物 2-(3-苄基脲基)-2-异丙基乙酸甲酯 (2),无需进一步纯化,可直接用于下一步。

[0157] 3) NH_2OK 的制备

[0158] 140mL KOH 的饱和无水甲醇溶液滴加到 240mL 含有 46.7g (670mmol) 盐酸羟胺的无水甲醇溶液中,控制内温低于 40°C ,滴加完毕,冷却反应液,滤除白色 KCl 沉淀,所得滤液密闭保存备用。

[0159] 4) (2S)-2-异丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺 (3b) 的制备

[0160] 将 2-(3-苄基脲基)-2-异丙基乙酸甲酯 (2) 加入上述 30mL 羟胺钾甲醇溶液中,室温搅拌,TLC 监测进程。反应完成后,减压蒸除甲醇,残渣溶于 1N 盐酸,调节 pH 为 1-2,加入乙酸乙酯萃取,用饱和食盐水洗涤有机相,干燥。得到产物粗品 (2S)-2-异丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺 (3b) 为类白色固体,柱层析分离 (石油醚:乙酸乙酯 = 2 : 1),得到白色固体 (2S)-2-异丙基-2-(3-苄基脲基)-N-羟基乙酰胺 (3b) 2.47g,总产率 68%。 $\text{mp} = 180-183^\circ\text{C}$ 。ESI-MS m/z : 265.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6): δ 10.61 (s, 1H), δ 8.80 (s, 1H), δ 7.33-7.19 (m, 5H), δ 6.50 (t, 1H, $J = 6.0\text{Hz}$), δ 6.16 (d, 1H, $J = 9.3\text{Hz}$), δ 4.20 (d, 2H, $J = 6.0\text{Hz}$), δ 3.87 (dd, 1H, $J = 7.2\text{Hz}, 9.3\text{Hz}$), δ 1.85-1.74 (m, 1H), δ 0.85 (d, 6H, 6.9Hz)。

[0161] 实施例 2. 本发明化合物 (III) 的合成

[0162] 以 (2S)-6-苄氧羰基-2-(3-甲氧羰基甲基-脲基)己酸甲酯 (1h) 为例:

[0163] 1) N6-苄氧羰基-L-赖氨酸甲酯盐酸盐 (3) 的制备

[0164] 将 2.35g 乙酰氯冰浴下缓慢滴加入 50mL 无水甲醇,滴加完毕后室温搅拌半个小时,然后将 2.80g N6-苄氧羰基-L-赖氨酸一次加入,而后将反应混合物缓慢加热至回流,1 小时后,蒸干甲醇,得到白色固体化合物 N6-苄氧羰基-L-赖氨酸甲酯盐酸盐 (3),无需进一步纯化,可直接用于下一步反应。

[0165] 2) N6-苄氧羰基-L-赖氨酸甲酯-1-异氰酸酯(4)的制备

[0166] 上述步骤1)中得到的N6-苄氧羰基-L-赖氨酸甲酯盐酸盐(3)加入40mL饱和碳酸氢钠溶液和40mL二氯甲烷中,冰浴下边搅拌边一次加入1.00g三光气。冰浴剧烈搅拌15min,分液,水层用二氯甲烷提取三次,合并有机层,干燥。蒸干溶剂得到化合物N6-苄氧羰基-L-赖氨酸甲酯-1-异氰酸酯(4),无需纯化,可直接用于下一步反应。

[0167] 3) 甘氨酸甲酯盐酸盐(5)的制备

[0168] 将2.35g乙酰氯冰浴下缓慢滴加入50mL无水甲醇,滴加完毕后室温搅拌半个小时,然后将0.75g甘氨酸一次加入,而后将反应混合物缓慢加热至回流,1小时后,蒸干甲醇,得到白色固体化合物甘氨酸甲酯盐酸盐(5),无需进一步纯化,可直接用于下一步反应。

[0169] 4) (2S)-6-苄氧羰基-2-(3-甲氧羰基甲基-脲基)己酸甲酯(1h)的制备

[0170] 上述步骤3)中得到的甘氨酸甲酯盐酸盐(5)与1.01g三乙胺搅拌于20mL二氯甲烷中,冰浴下滴加10mLN6-苄氧羰基-L-赖氨酸甲酯-1-异氰酸酯(4)的二氯甲烷溶液,滴加完毕后室温搅拌一个小时,蒸干二氯甲烷,残渣溶于乙酸乙酯后用1N的盐酸和饱和食盐水洗涤,然后干燥有机相。蒸干溶剂后得到黄色油状物(2S)-6-苄氧羰基-2-(3-甲氧羰基甲基-脲基)己酸甲酯(1h)粗品,柱层析分离(石油醚:乙酸乙酯=1:4),得到白色固体(2S)-6-苄氧羰基-2-(3-甲氧羰基甲基-脲基)己酸甲酯(1h)1.48g,总产率39%。ESI-MS m/z :410.2[M+H]⁺。¹H-NMR(600MHz, CDCl₃): δ 7.36-7.26(m, 5H), δ 5.13-5.04(m, 3H), δ 4.48-4.44(m, 2H), δ 3.73(s, 3H), δ 3.71(s, 3H), δ 3.21-3.17(m, 2H), δ 1.81-1.35(m, 6H)。

[0171] 实施例3 本发明化合物(II)的合成

[0172] 以2-[3-(1-羟基氨基甲酰基-2-苯基-乙基)-脲基]-3-苯基丙酸羟基酰胺(4g)为例:

[0173] 1) 苯丙氨酸甲酯盐酸盐(6)的制备

[0174] 将4.24g乙酰氯冰浴下缓慢滴加入100mL无水甲醇,滴加完毕后室温搅拌半个小时,然后将2.98g苯丙氨酸一次加入,而后将反应混合物缓慢加热至回流,1小时后,蒸干甲醇,得到白色固体化合物苯丙氨酸甲酯盐酸盐(6),无需进一步纯化,可直接用于下一步反应。

[0175] 2) 苯丙氨酸甲酯-1-异氰酸酯(7)的制备

[0176] 上述步骤1)中得到的苯丙氨酸甲酯盐酸盐(6)1.90g加入40mL饱和碳酸氢钠溶液和40mL二氯甲烷中,冰浴下边搅拌边一次加入1.00g三光气。冰浴剧烈搅拌15min,分液,水层用二氯甲烷提取三次,合并有机层,干燥。蒸干溶剂得到化合物苯丙氨酸甲酯-1-异氰酸酯(7),无需纯化,可直接用于下一步反应。

[0177] 3) 2-[3-1-(甲氧羰基-2-苯基-乙基)-脲基]-3-苯基丙酸甲酯(8)的制备

[0178] 上述步骤1)中得到的苯丙氨酸甲酯盐酸盐(6)1.90g与1.01g三乙胺搅拌于20mL二氯甲烷中,冰浴下滴加苯丙氨酸甲酯-1-异氰酸酯(7)的二氯甲烷溶液,滴加完毕后室温搅拌一个小时,蒸干二氯甲烷,残渣溶于乙酸乙酯后用1N的盐酸和饱和食盐水洗涤,然后干燥有机相。蒸干溶剂后得到黄色油状物2-[3-1-(甲氧羰基-2-苯基-乙基)-脲基]-3-苯基丙酸甲酯(8)粗品,无需进一步纯化,可直接用于下一步反应。

[0179] 4) 2-[3-(1-羟基氨基甲酰基-2-苯基-乙基)-脲基]-3-苯基丙酸羟基酰胺(4g)

的制备

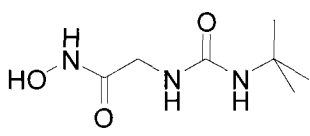
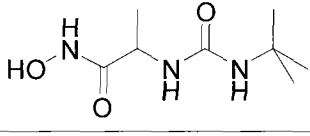
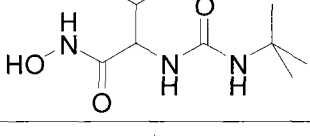
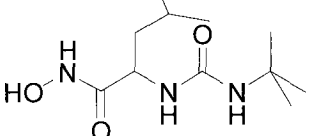
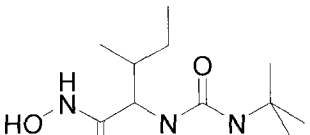
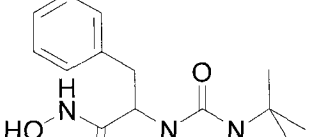
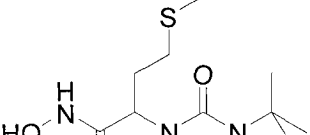
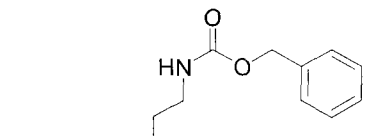
[0180] 将 2-[3-1-(甲氧羰基-2-苯基-乙基)-脲基]-3-苯基丙酸甲酯 (8) 加入上述 30mL 羟胺钾甲醇溶液中, 室温搅拌, TLC 监测进程。反应完成后, 减压蒸除甲醇, 残渣溶于 1N 盐酸, 调节 pH 为 1-2, 析出白色沉淀, 将沉淀以乙酸乙酯洗涤后, 真空干燥。得到产物 2-[3-(1-羟基氨基甲酰基-2-苯基-乙基)-脲基]-3-苯基丙酸羟基酰胺 (4g) 为白色固体 1.89g, 总产率 54%。ESI-MS m/z : 386.2 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ 10.71 (s, 1H), δ 10.56 (s, 1H), δ 8.93 (s, 1H), δ 8.81 (s, 1H), δ 7.32-7.07 (m, 10H), δ 6.38-6.35 (m, 2H), δ 4.05-4.18 (m, 2H), δ 2.84-2.51 (m, 4H)。

[0181] 实施例 4 目标化合物抑制氨肽酶 N 的活性试验 (In vitro)

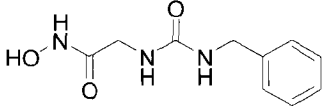
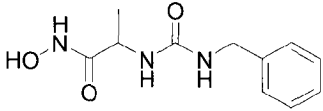
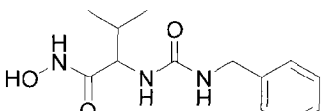
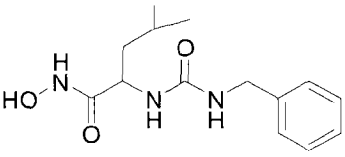
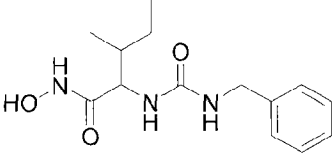
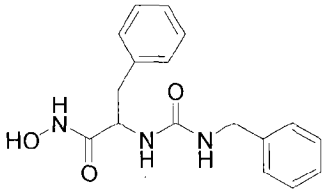
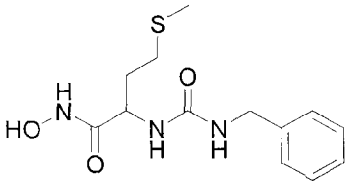
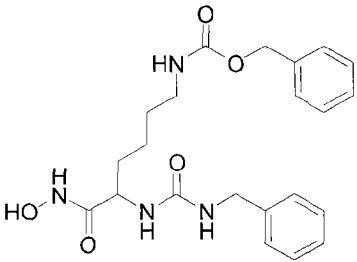
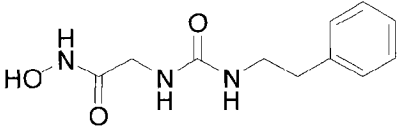
[0182] 试验原理及详细试验步骤参见 CN 1974554A 环酰亚胺类肽金属蛋白酶抑制剂及其应用, 实验结果见表 1。

[0183] 表 1. 体外抑酶试验结果

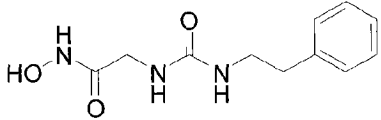
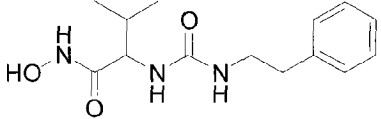
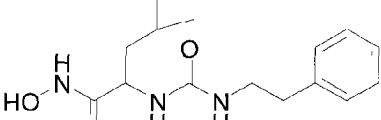
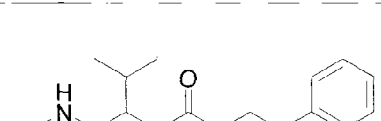
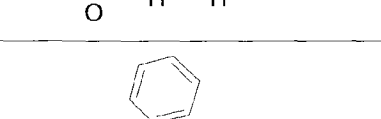
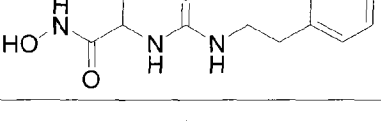
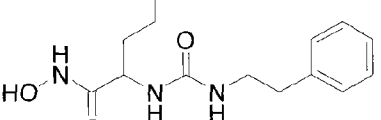
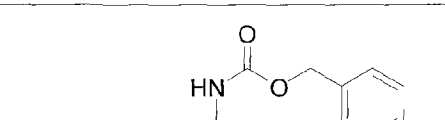
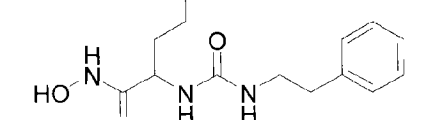
[0184]

编号	结构式	IC ₅₀ (μM) APN
1a		>100
2a		>100
3a		>100
4a		>100
5a		>100
6a		>100
7a		>100
8a		>100

[0185]

1b		33.02
2b		22.95
3b		18.14
4b		0.8868
5b		4.104
6b		5.789
7b		3.77
8b		18.90
1c		49.97

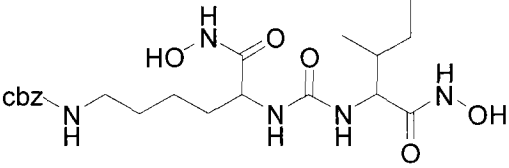
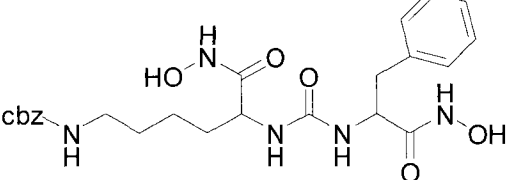
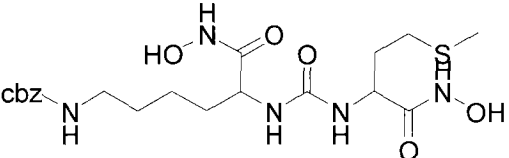
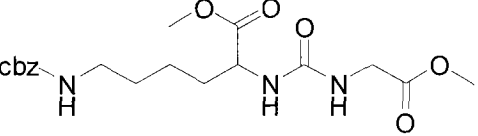
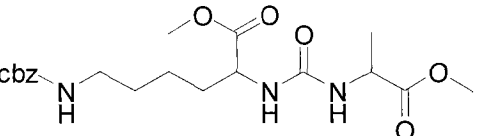
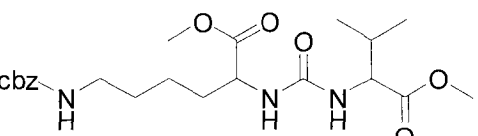
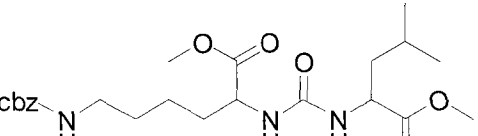
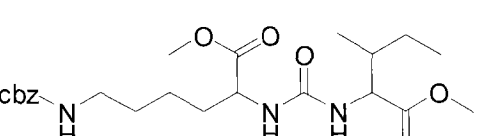
[0186]

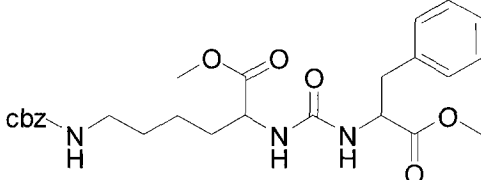
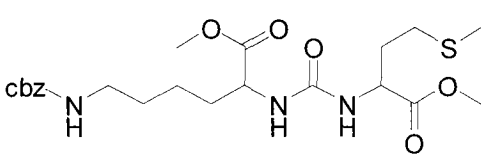
2c		24.35
3c		>100
4c		1.099
5c		>100
6c		6.542
7c		>100
8c		>100
1d		>100
2d		>100

[0187]

3d		>100
4d		8.795
5d		>100
6d		>100
7d		>100
1e		39.25
2e		42.77
3e		NA ^a
4e		7.152

[0188]

5e		>100
6e		20.35
7e		19.67
1h		>100
2h		>100
3h		>100
4h		>100
5h		>100

[0189]	6h 	>100
	7h 	>100
	乌苯美司	8.651

[0190] ^aNA = not available

[0191] 上表测试数据表明,化合物 4b、5b、6b、7b、4c、6c、4d、4e 对氨肽酶 N 的抑制活性均优于阳性对照药乌苯美司,具有良好的开发前景。