

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99813613.1

C07D213/34

C07D295/08

C07C311/49

A61K 31/18

A61K 31/4402

A61K 31/5377

A61P 1/00

[45] 授权公告日 2005 年 7 月 6 日

[11] 授权公告号 CN 1209352C

[22] 申请日 1999.11.20 [21] 申请号 99813613.1

[30] 优先权

[32] 1998.11.27 [33] GB [31] 9826153.0

[86] 国际申请 PCT/EP1999/008970 1999.11.20

[87] 国际公布 WO2000/032570 英 2000.6.8

[85] 进入国家阶段日期 2001.5.23

[71] 专利权人 霍夫曼-拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 迈克尔·约翰·布罗德赫斯特

威廉·亨利·约翰逊

达里尔·西蒙·沃尔特

审查员 陈 矛

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司

代理人 胡交字

A61P 7/04 A61P 9/04 A61P 11/06

A61P 17/06 A61P 19/02 A61P 29/00

A61P 29/02 A61P 35/00 A61P 37/00

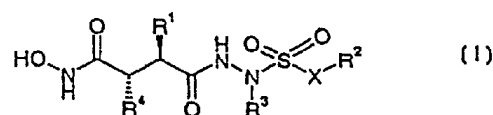
权利要求书 4 页 说明书 25 页

[54] 发明名称 胍衍生物

[57] 摘要

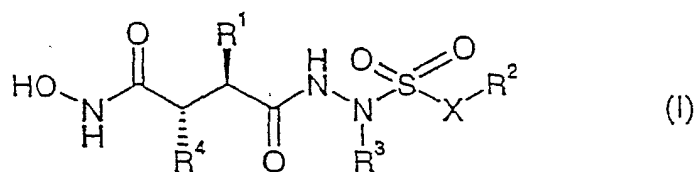
通式(I)的胍衍生物, 其中 R¹代表低级烷基, 低级烯基, 低级环烷基, 低级环烷基-低级烷基, 芳基, 或芳基-低级烷基, R²代表杂环基或 NR⁵R⁶; R³代表氢, 低级烷基, 卤素-低级烷基, 氰基-低级烷基, 羟基-低级烷基, 氨基-低级烷基, 低级烷氧基-低级烷基, 低级烷氧基羰基-低级烷基, 低级环烷基-低级烷基, 芳基-低级烷基, 杂环基-低级烷基, 杂环基羰基-低级烷基, 低级烯基, 低级炔基, 低级环烷基, 芳基, 杂芳基, 或芳基-低级烷基, R⁴代表低级烷基, 低级烯基, 低级环烷基-低级烷基, 或通式为 -Z-芳基, -Z-杂环基或 -(CH₂)_n-CH=CR⁷R⁸的基团, R⁵和 R⁶各自独立地代表氢或低级烷基, R⁷和 R⁸各自独立地代表氢或低级烷基, 或 R⁷和 R⁸一起代表低级亚烷基, 其中一个 CH₂基团被一个杂原子任选取代; X 和 Z 各自代表间隔基; 并且 n 为 0, 1 或 2, 及其适

合药用的盐, 可抑制细胞释放肿瘤坏死因子 α (TNF-α)。它们可用作药物, 特别是治疗发炎和自身免疫疾病, 骨关节炎, 呼吸疾病, 肿瘤, 恶病体质, 心血管疾病, 发烧, 出血和败血症的药物。



1. 通式如下的化合物:

5



10 其中:

R^1 代表低级烷基;

R^2 代表吡啶基, 吗啉基或 NR^5R^6 ;

R^3 代表低级烷基;

R^4 代表通式为 $-Z$ -芳基的基团;

15 R^5 和 R^6 各自独立地代表氢或低级烷基;

X 和 Z 各自代表间隔基;

其中:

“低级烷基”指含有 1-8 个碳原子的烷基;

“低级烯基”指含有 2-7 个碳原子的烯基;

20 “低级环烷基”指含有 3-7 个碳原子的环烷基;

“低级炔基”指含有 2-7 个碳原子的炔基;

用 X 表示的间隔基是通式为 $-(CH_2)_l-$ 或 $-(CH_2)_l-Y-(CH_2)_m-$ 所代表的基团, 其中 l 和 m 各自独立地为 0, 1 或 2, 并且 Y 代表亚芳基;

用 Z 表示的间隔基是通式为 $-(CH_2)_p-W-(CH_2)_q-$ 所代表的基团, 其中 p 和 q 各自独立地为 0, 1, 2 或 3, 并且 W 可以不存在, 或代表 $-CH=CH-$ 或 $-C\equiv C-$;

或其适合药用的盐。

2. 按照权利要求 1 的化合物, 其中 R^1 代表异丁基。

3. 按照权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 R^2 代表吡啶基。

30 4. 按照权利要求 3 的化合物, 其中 R^2 代表 2-吡啶基。

5. 按照权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 R^2 代表 NR^5R^6 , 其中 R^5 和 R^6 各自代表氢原子, 或各自代表甲基或乙基。

6. 按照权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 R^2 为吗啉基。

7. 按照权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 R^3 代表异丁基。

5 8. 按照权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 Z 代表 $-(CH_2)_2-$ 或 $-CH_2CH=CH-$, 并且芳基代表苯基。

9. 按照权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 X 代表 $-(CH_2)_{1-4}-$ 或 $-CH_2-Y-$, 其中 Y 代表亚芳基。

10. 按照权利要求 9 的化合物, 其中 Y 代表亚苯基。

10 11. 按照权利要求 10 的化合物, 其中 Y 代表邻亚苯基。

12. 一种按照权利要求 1 的化合物, 选自:

(E)-2'-(2-氨基乙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼;

15 2'-(2-氨基苯磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼;

(E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼;

(E)-2'-(3-氨基丙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼;

20 (E)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[2-(2-吡啶基)乙烷磺酰基]戊酰肼;

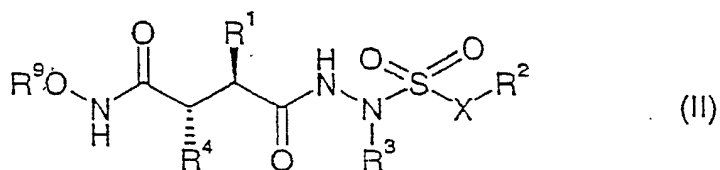
(E)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-(3-(4-吗啉基)丙基磺酰基)戊酰肼;

25 (E)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]戊酰肼; 和

(E)-2'-(4-氨基丁烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼。

13. 一种制备权利要求 1 的化合物或其适合药用的盐的方法, 该方法包括:

30 a) 从通式如下的化合物中脱除 R^9 代表的保护基:



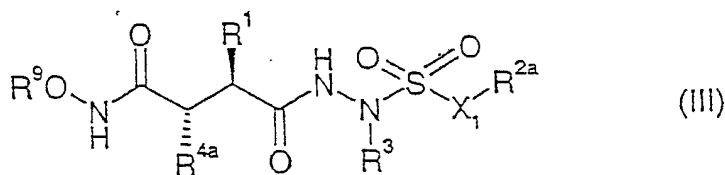
5

其中 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 和 X 的含义如权利要求 1 所述, 并且 R^9 代表的保护基为四氢吡喃基, 4-甲氧基苄基, 苄基, 或三(低级烷基)硅基, 其中低级烷基如权利要求 1 所定义,

或

- 10 b) 从通式如下的化合物中脱除 R^9 代表的保护基, 以制备通式 I 的化合物, 其中 R^4 代表 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 芳基, X 代表 $-\text{CH}_2-$ 亚芳基, 并且 R^2 代表氨基:

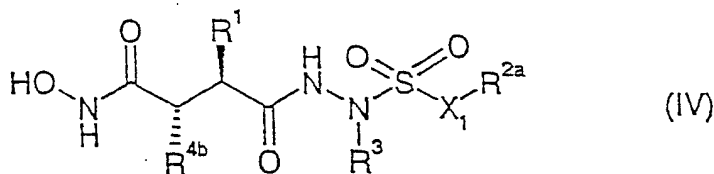
15



20

其中 R^1 和 R^3 的含义如权利要求 1 所述, R^{4a} 代表 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$ 芳基, X_1 代表 $-\text{CH}_2-$ 亚芳基, R^{2a} 代表硝基, 并且 R^9 代表的保护基为四氢吡喃基, 4-甲氧基苄基, 苄基, 或三(低级烷基)硅基, 其中低级烷基如权利要求 1 所定义,

- 25 并将得到的通式如下的化合物还原:



30

其中 R^1 和 R^3 的含义如权利要求 1 所述, R^{2a} 和 X_1 的含义如上述对通式(III)的限定, 并且 R^{4b} 代表 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -芳基,

和

5 c) 如果需要, 将得到的通式 I 的化合物转化成适合药用的盐。

14. 权利要求 13 中的通式 II 的化合物。

15. 权利要求 13 中的通式 III 的化合物。

16. 权利要求 13 中的通式 IV 的化合物。

10 17. 一种药物, 含有按照权利要求 1~12 任意一项的化合物或其适合药用的盐, 及治疗惰性的载体材料。

18. 一种制备药物的方法, 该方法包括将按照权利要求 1~12 中任意一项的化合物或其适合药用的盐, 与治疗惰性的载体材料, 并且如果需要, 与一种或多种另外的治疗活性物质, 一起制成可服用的制剂。

15 19. 按照权利要求 1~12 中任意一项的化合物在制备药物中的应用, 所述药物可用于治疗发炎和自身免疫疾病, 骨关节炎, 呼吸疾病, 肿瘤, 恶病体质, 心血管疾病, 发烧, 出血或败血症。

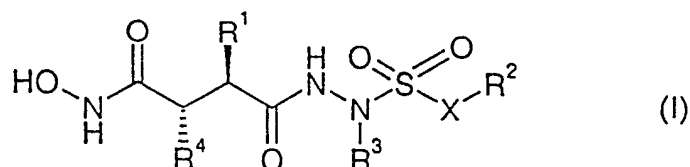
胍衍生物

5

本发明涉及新型胍衍生物，其制备方法及含有这些衍生物的药物制剂。

本发明提供的新型胍衍生物是通式如下的化合物：

10



其中：

- 15 R^1 代表低级烷基，低级烯基，低级环烷基，低级环烷基-低级烷基，芳基，或芳基-低级烷基；
- R^2 代表杂环基或 NR^5R^6 ；
- R^3 代表氢，低级烷基，卤素-低级烷基，氰基-低级烷基，羟基-低级烷基，氨基-低级烷基，低级烷氧基-低级烷基，低级烷氧基羰基-低级烷基，低级环烷基-低级烷基，芳基-低级烷基，杂环基-低级烷基，杂环基羰基-低级烷基，低级烯基，低级炔基，低级环烷基，芳基，杂芳基，或芳基-低级烷基；
- 20 R^4 代表低级烷基，低级烯基，低级环烷基，低级环烷基-低级烷基，或通式为 $-Z-$ 芳基， $-Z-$ 杂环基或 $-(CH_2)_n-CH=CR^7R^8$ 的基团；
- R^5 和 R^6 各自独立地代表氢或低级烷基；
- R^7 和 R^8 各自独立地代表氢或低级烷基，或 R^7 和 R^8 一起代表低级亚烷基，其中一个 CH_2 基团被一个杂原子任选取代；
- 25 X 和 Z 各自代表间隔基；并且
- 30

n 为 0, 1 或 2;

及其适合药用的盐。

本发明还涉及含有如上所述化合物或其适合药用的盐及无治疗活性的载体材料的药物, 和制备这种药物的方法。

5 本发明还涉及用于合成上述化合物的新型中间体。

而且, 本发明涉及制备通式(I)的化合物的方法。

另一方面, 本发明涉及通式(I)的化合物或其适合药用的盐在治疗疾病中的应用。还有一方面, 本发明涉及通式(I)的化合物或其适合药用的盐在制剂或药物中的应用, 所述制剂或药物可用于治疗发炎和自身免疫
10 疾病, 骨关节炎, 呼吸疾病, 肿瘤, 恶病体质, 心血管疾病, 发烧, 出血和败血症。

本发明提供的胍衍生物是细胞释放的肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的抑制剂。它们可用作药物, 特别是用于治疗发炎和自身免疫疾病 (例如风湿性关节炎, 肠炎病, 多发性硬化症和牛皮癣), 骨关节炎, 呼吸疾
15 病 (例如哮喘和慢性肺梗阻疾病), 肿瘤, 恶病体质, 心血管疾病 (例如充血性心力衰竭), 发烧, 出血和败血症。

与结构上相关的异羟肟酸衍生物相反, 本发明提供的胍衍生物对基质金属蛋白酶 (MMP) 家族, 例如胶原酶, 基质溶素和明胶酶, 仅显示出弱的抑制活性。

20 本文中, 单独地或在如“卤素-低级烷基”或“低级环烷基-低级烷基”中组合使用的术语“低级烷基”, 是指含有最高达 8 个碳原子, 优选最高达 4 个碳原子的直链或支链烷基, 例如甲基, 乙基, 正丙基, 异丙基, 正丁基, 异丁基, 仲丁基, 叔丁基, 正戊基和正己基。

术语“卤素-低级烷基”, 是指带有一个或多个卤原子的如前所定义的低级烷基。卤素-低级烷基的实例为氯甲基, 三氟甲基和 2,2,2-三氟乙
25 基。

单独地或如在“低级烷氧基-羰基”中组合使用的术语“低级烷氧基”, 是指通过氧原子结合的如上所定义的低级烷基, 例如甲氧基, 乙氧基, 正丙氧基, 异丙氧基, 正丁氧基, 异丁氧基和叔丁氧基。低级烷氧基羰基
30 基的实例为甲氧基羰基, 乙氧基羰基等。

单独地或如在“低级环烷基-低级烷基”中组合使用的术语“低级环烷基”，是指含 3~7 个碳原子的环烷基，即，环丙基，环丁基，环戊基，环己基和环庚基。低级环烷基-低级烷基的实例为环丙基甲基，2-环丁基乙基和 3-环己基丙基。

- 5 术语“低级烯基”是指含有 2~7 个碳原子的烯基，例如烯丙基，乙烯基和丁烯基。

术语“低级炔基”是指含有 2~7 个碳原子的炔基，例如炔丙基或丁炔基。

- 10 单独地或如在“芳基-低级烷基”中组合使用的术语“芳基”，是指被卤素，即氟，氯，溴或碘，低级烷基，低级烷氧基，三氟甲基，羟基，低级烷氧基羰基，硝基，苯基等任选取代的苯基或萘基，例如苯基，1-萘基，2-甲基苯基，4-甲氧基苯基，2,4-二氟苯基，4-硝基苯基和 4-甲氧基羰基苯基。芳基-低级烷基的典型实例为苄基，4-氯苄基，4-溴苄基，3-羟基苄基，4-甲氧基苄基，4-硝基苄基，2-苯基乙基，3,4-二甲氧基苯乙基等。
- 15

- 单独地或如在“杂环基-低级烷基”中组合使用的术语“杂环基”，是指通过 C 原子或二级 N 原子（即-NH-）结合的 4-, 5-, 6-或 7-元饱和或部分不饱和杂环，或 5-或 6-元芳香杂环，该基团含有 1 个或多个选自氮，硫和氧的杂原子和/或 SO 或 SO₂ 基团，并且该基团可以被例如卤素，低级烷基，低级烷氧基和/或氧，和/或任选的苯稠和环任选取代。这种杂环基的实例为吡咯烷基，吡咯啉基，吡唑啉基，哌啶基，N-甲基哌啶基，吗啉基，噻吗啉基，噻吗啉基 S,S-二氧化物，六氢吡康因基，四氢吡喃基，四氢硫代吡喃基，呋喃基，噻吩基，噻唑基，噁唑基，异噁唑基，氧杂环丁烷基，咪唑烷基，二氧戊环基，吡咯基，吡啶基，嘧啶基，苯并呋喃基，苯并噻吩基，苯并噻唑基，吲哚基，异吲哚基，例如苯二甲酰亚氨基，喹啉基和异喹啉基。
- 20
- 25

术语“杂环基羰基”，是指通过二级 N 原子结合到 C(O)上的如前所定义的杂环基。这种杂环基羰基的典型实例为吗啉代羰基。

术语“杂芳基”，是指在“杂环基”定义范围内的芳香杂环基。

- 30 术语“卤素”，是指氟，氯，溴或碘，除非特别指出与此相反。

用 X 表示的间隔基可以是例如，通式为 $-(CH_2)_{1-5}-$ 或 $-(CH_2)_l-Y-(CH_2)_m-$ 的基团，其中 l 和 m 各自独立地为 0, 1 或 2，并且 Y 代表亚芳基，低级亚环烷基或亚杂环基。

用 Z 表示的间隔基可以是例如，通式为 $-(CH_2)_p-W-(CH_2)_q-$ 的基团，
5 其中 p 和 q 各自独立地为 0, 1, 2 或 3，并且 W 可以不存在，或优选代表 $-CH=CH-$ ， $-C\equiv C-$ ， $-S-$ ， $-O-$ ， $-NH-$ ， $-NHCO-$ ， $-CONH-$ ， $-SO_2-$ ， $-NHSO_2-$ ， $-SO_2NH-$ ， $-NHCONH-$ 或 $-NHSO_2NH-$ 。

术语“亚芳基”，“低级亚环烷基”，“低级亚烷基”和“亚杂环基”，分别指二价的如前所定义的芳基，低级环烷基，低级烷基，及杂环基。

10 酸性的通式 I 的化合物，与碱，例如碱金属氢氧化物，如氢氧化钠和氢氧化钾，碱土金属氢氧化物，如氢氧化钙，氢氧化钡和氢氧化镁等，形成适合药用的盐。那些碱性的通式 I 的化合物，可以与无机酸，例如，诸如盐酸和氢溴酸的氢卤酸，硫酸，硝酸和磷酸，和有机酸，例如乙酸，酒石酸，琥珀酸，富马酸，马来酸，苹果酸，水杨酸，柠檬酸，甲磺酸
15 和对甲苯磺酸，形成适合药用的盐。

应该明白，尽管此处列出的化学式显示了各个化合物的绝对立体化学，但本发明包括的不仅是所指出的立体异构体，还包括相应的外消旋物和非对映异构体混合物。而且，当 Z 代表的间隔基含有烯烃双键时，如 $-CH_2-CH=CH-$ ，可具有(E)或(Z)构型，优选(E)构型。

20 优选的通式 I 的化合物为这样一些化合物，其中 R^1 代表低级烷基，特别是异丁基。 R^2 优选代表吡啶基，特别是 2-吡啶基，或 NR^5R^6 ，其中 R^5 和 R^6 各自代表氢原子，或各自代表甲基或乙基，或 R^5 和 R^6 一起代表其中一个 CH_2 基团被氧原子取代的低级亚烷基，特别是 3-氧杂亚戊基，即 R^2 为吗啉基。 R^3 优选代表低级烷基，特别是异丁基。 R^4 优选代表通
25 式为 $-Z-$ 芳基的基团，特别是其中 Z 代表 $-(CH_2)_2-$ 或 $-CH_2CH=CH-$ ，并且芳基代表苯基的基团。X 优选代表 $-(CH_2)_{1-4}-$ 或 $-CH_2-Y-$ ，其中 Y 代表亚芳基，特别是亚苯基，最优选为邻亚苯基。

本发明提供的优选化合物的实例为：

(E)-2'-(2-氨基乙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁
30 烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼；

2'-(2-氨基苯磺酰基)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼;

(E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼;

5 (E)-2'-(3-氨基丙磺酰基)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼;

(E)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[2-(2-吡啶)乙烷磺酰基]戊酰肼;

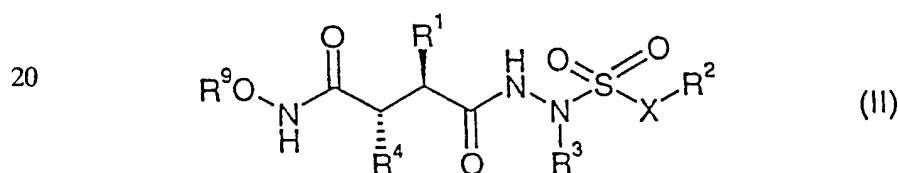
(E)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[3-吗啉代丙基磺酰基]戊酰肼;

(E)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]戊酰肼; 和

(E)-2'-(4-氨基丁磺酰基)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼。

15 按照本发明提供的方法, 可用下列方法制备如前所定义的新型肼衍生物:

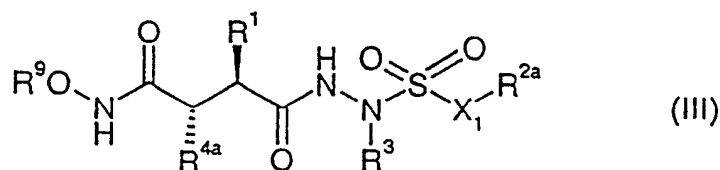
a) 从通式如下的化合物中切去 R⁹ 代表的保护基:



其中 R¹, R², R³, R⁴ 和 X 含义如前, 并且 R⁹ 代表保护基,
25 或

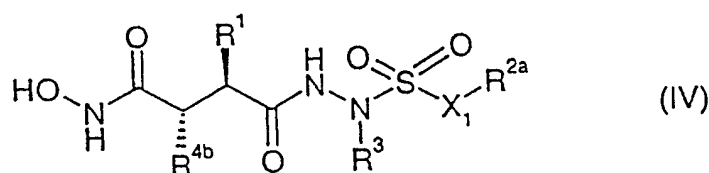
b) 从通式如下的化合物中切去 R⁹ 代表的保护基, 以制备通式 I 的化合物, 其中 R⁴ 代表-CH₂CH₂CH₂-芳基, X 代表-CH₂-亚芳基, 并且 R² 代表氨基:

30



5

其中 R^1 和 R^3 含义如前, R^{4a} 代表 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$ 芳基, X_1 代表 $-\text{CH}_2-$ 亚芳基, R^{2a} 代表硝基, 并且 R^9 代表保护基, 并将得到的通式如下的化合物还原:



10

15 其中 R^1 , R^{2a} , R^3 和 X_1 含义如前, 并且 R^{4b} 代表 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 芳基, 和

c) 如果需要, 将得到的通式 I 的化合物转化成适合药用的盐。

在通式 II 的化合物中, R^9 代表的保护基可以是任何常规的保护基, 但优选四氢吡喃基, 4-甲氧基苄基, 苄基, 或三(低级烷基)硅基, 特别是叔丁基二甲基硅基。

20

按照本发明方法实施方案 a) 进行的通式 II 的化合物中 R^9 代表的保护基的切断, 是按照本质上已知的方法进行。例如, 通过用磺酸, 例如甲磺酸或对甲苯磺酸, 在低级链烷醇, 例如甲醇中处理, 或用盐酸处理, 可断裂掉四氢吡喃基。可以采用例如三氟乙酸处理, 来切断 4-甲氧基苄基。在例如钨的催化剂存在下, 在例如甲醇的低级链烷醇中进行氢解, 25 可用来切断苄基。可使用水或具有低 pH 值的介质切断三(低级烷基)硅基, 同时该断裂通常是在从制备通式 II 的化合物所使用的介质中分离各个化合物的过程中即发生(即, 断裂是原位进行的)。

按照本发明方法实施方案 b) 第一步进行的通式 III 的化合物中 R^9 代 30 表的保护基的断裂, 是按照前述的通式 II 的化合物中 R^9 代表的保护基

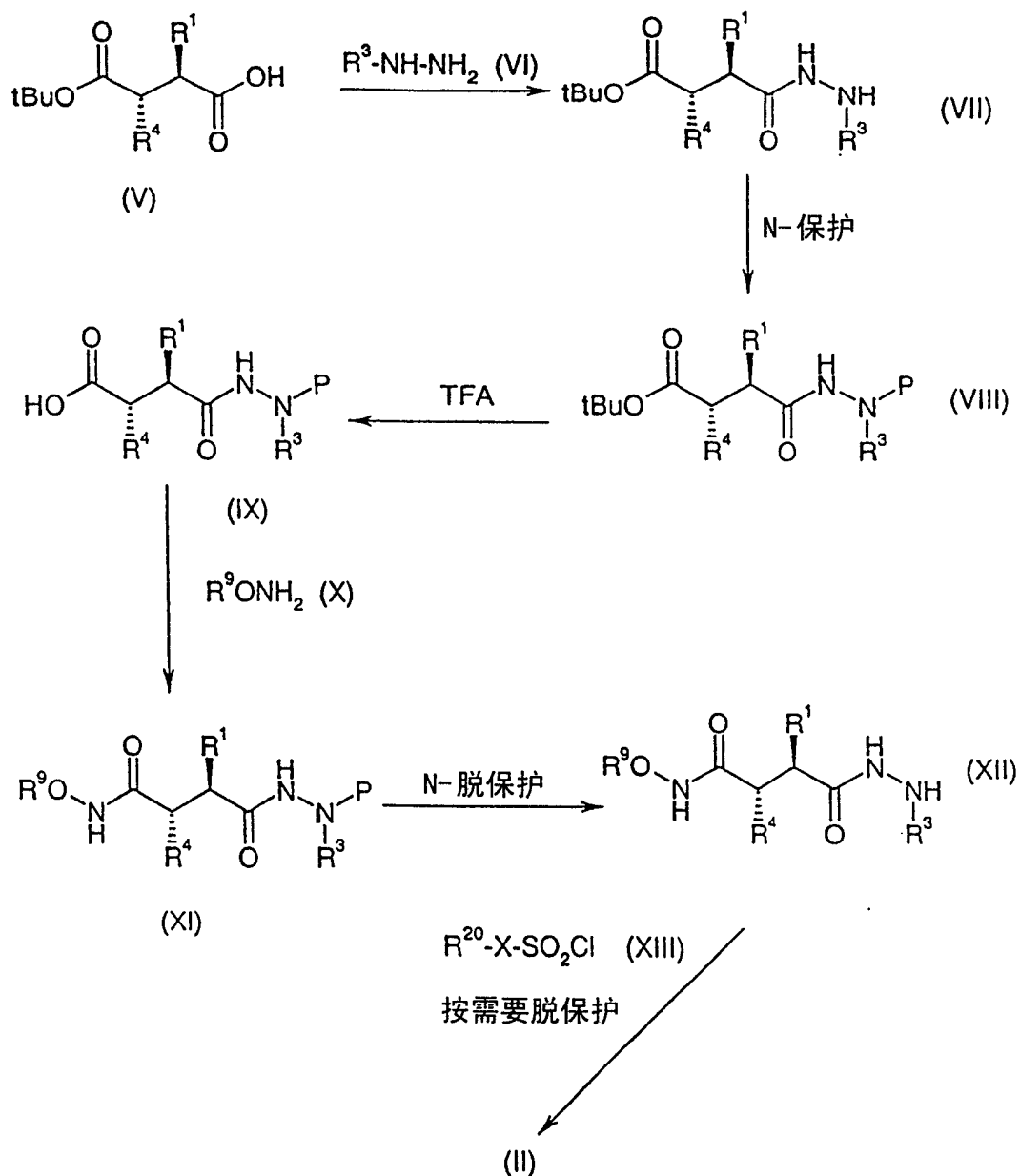
的断裂类似的方法进行的。

按照本发明方法实施方案 b) 第二步进行的通式 IV 的化合物的还原，是按照本质上已知的方法进行的。例如，通常是在常规的氢化催化剂，例如，诸如钨-碳的钨催化剂存在下，并且在氢化反应条件下为惰性的有机溶剂，例如，诸如甲醇，乙醇等的低级链烷醇中，使用氢气进行还原反应。优选地，在约室温和大气压下进行还原反应。不需要从制备通式 IV 的化合物所使用的介质中分离出化合物，就很容易进行还原反应。

按照本发明方法实施方案 c) 将通式 I 的化合物转化成适合药用的盐，是按照已知的方式，用合适的酸或碱处理来进行的。

10 用作前述方法实施方案 a) 的起始原料的通式 II 的化合物是新的，并且是本发明的又一个目的。它们可以按照例如反应流程图 A 所示的方法来制备，其中 R^1 , R^3 , R^4 和 R^9 含义如前， R^{20} 与前述 R^2 的含义相同，前提是 NR^5R^6 所表示的伯氨基是被保护的，优选苯二甲酰亚氨基，P 代表保护基，tBu 代表叔丁基，并且 TFA 代表三氟乙酸。

反应流程图 A



25 关于反应流程图 A，第一步包括式 V 的化合物与式 VI 的化合物或其酸加成盐的缩合，得到式 VII 的胍。该缩合反应的进行，是在已知的肽偶合反应条件下，使用对该偶合反应来说本质上已知的偶合剂，例如在 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐存在下的 1-羟基苯并三唑。

30 然后将式 VII 的胍按照已知的方式进行 N-保护，得到式 VIII 的化

合物。这种保护可用任何常规的氨基保护基。然而，更方便地是使用三氟乙酰基作为保护基，并且在反应条件下为惰性的有机溶剂，例如诸如二氯甲烷的卤代烃中，在有机碱，例如吡啶存在下，在约室温下，很容易通过式 VII 的胍与三氟乙酸酐反应来引入该保护基。

- 5 在下一步，式 VIII 的化合物用三氟乙酸脱保护，得到式 IX 的羧酸。该脱保护反应是按照本质上已知的方式进行的，例如在该反应条件下为惰性的有机溶剂，例如诸如二氯甲烷的卤代烃中，在约室温下完成。

随后，通过与式 X 的 O-保护的羟胺缩合，式 IX 的羧酸转化成式 XI 的化合物。该缩合反应，是按照对于肽偶合反应本质上已知的方式，使用常规的偶合剂，例如在 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐
10 酸盐存在下的 1-羟基苯并三唑来完成的。

然后对式 XI 的化合物进行 N-脱保护，得到式 XII 的化合物。根据存在的 N-保护基的性质，该脱保护可按照本质上已知的方式进行。例如，当 N-保护基为三氟乙酰基时，可使用碱金属碳酸盐水溶液，例如碳酸钾
15 水溶液进行脱保护。

最后，通过与式 XIII 的化合物反应，然后在需要时脱去 R^{20} 的保护基，将式 XII 的化合物转化成通式 II 的化合物。式 XII 的化合物与式 XIII 的化合物的反应是以常规方式进行的，通常是在反应条件下为惰性的有机溶剂中，并在有机碱存在下，在约 0°C ~ 约室温下进行。合适的溶剂
20 包括卤代烃，例如二氯甲烷。可以使用的合适的有机碱的一个实例是吡啶。在该反应后任何需要的 R^{20} 上保护基的脱除，都可以根据存在的保护基的性质，按照已知的方式进行。例如，通过用水合胍处理，将苯二甲酰亚氨基转化成氨基。

在可选择的制备通式 II 化合物的方法中，所述化合物中 X 代表
25 $-(\text{CH}_2)_{1.5}-$ ，并且 R^2 代表 NR^5R^6 ，其中 R^5 和 R^6 都代表低级烷基，式 XII 的化合物首先与通式为 $\text{Cl}-(\text{CH}_2)_{1.5}-\text{SO}_2\text{Cl}$ 的化合物反应，该反应通常是在反应条件下为惰性的有机溶剂，例如诸如二氯甲烷的卤代烃中，并在有机胺，例如吡啶存在下进行。然后，该反应得到的产物，即其中 X 代表 $-(\text{CH}_2)_{1.5}-$ ，并且 R^2 代表氯的式 II 的化合物，在碘化钠存在下，并且在
30 反应条件下为惰性的溶剂，例如诸如甲乙酮的酮中，在升高的温度下，

例如回流条件下，与二（低级烷基）胺反应，得到所需的式 II 的起始原料，其中 X 代表 $-(CH_2)_{1-5}-$ ，并且 R^2 代表 NR^5R^6 ，其中 R^5 和 R^6 都代表低级烷基。

如果需要，在反应流程图 A 中出现的，或用反应流程图 A 的方法
5 制备的化合物，可以互变或被替代。

例如，通过在低温，例如 -78°C ，在反应条件下为惰性的有机溶剂，例如诸如二氯甲烷的卤代烃中，与臭氧反应，随后与二甲硫醚和合适的 Witting 试剂反应，可将式 V 的化合物，其中 R^4 代表通式为 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ 芳基的基团，转化成相应的式 III 的化合物，其中 R^4 代表通式为 $-\text{CH}_2-$
10 $\text{CH}=\text{CH}-$ 芳基或 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ 杂芳基的不同的基团。

又例如，可用本质上已知的方式，将其中 R^3 代表氢的式 VII 的化合物，转化成相应的其中 R^3 代表低级烷基，低级烯基，低级炔基，低级环烷基或芳基-低级烷基的式 VII 的化合物。例如，其中 R^3 代表氢的式 VII 的化合物，与通式为 $R^{30}-\text{CHO}$ ，其中 R^{30} 代表低级烷基，低级烯基，低级炔基，低级环烷基或芳基-低级烷基的醛，例如在对甲苯磺酸和分子筛
15 存在下缩聚，并且得到的取代亚胺可被还原，优选原位还原，使用碱金属氰基硼氢化物，特别是氰基硼氢化钠。

另外，其中 R^3 代表氢的式 II 的化合物，通过与通式为 $R^{30}-X$ ，其中 R^{30} 含义如前，并且 X 代表卤素的卤化物反应，可以转化成相应的式 II
20 的化合物，通常是在碱，例如诸如碳酸钠或碳酸钾的碱金属碳酸盐存在下，并在反应条件下为惰性的有机溶剂，例如二甲基甲酰胺中进行。

在前述方法实施方案 b) 中作为起始原料的式 III 的化合物，和作为中间体的式 IV 的化合物，是新型的并构成本发明的又一个目的。例如通过使前述的式 XII 的化合物与通式为 $\text{O}_2\text{N}-X_1-\text{SO}_2\text{Cl}$ ，其中 X_1 含义如
25 前的硝基化合物反应，可以制备式 III 的化合物。该反应是按照与前述的式 XII 化合物与式 XIII 化合物反应类似方式进行的。

此前的式 V, VI, X 和 XIII 的化合物，及通式为 $R^{30}-\text{CHO}$ 的醛，通式为 $R^{30}-X$ 的卤化物，和通式为 $\text{O}_2\text{N}-X_1-\text{SO}_2\text{Cl}$ 的硝基化合物，是已知化合物或已知化合物的类似物，该类似物可按照与已知化合物类似的方式制
30 备。

特别地，式 V 的化合物可采用公开的专利申请 EP-497192-A 和 EP-574758-A 中公开的方法制备，也可采用 Beckett 等, Synlett, 1993, 137 和 Pratt 等, Synlett, 1998, 531 中公开的方法来制备。

式 VI 的化合物可以商购（例如，甲基胂，Aldrich 目录号 M5,000-1; 苄基胂二盐酸盐，Aldrich 目录号 B2,285-2; 苄乙胂盐酸盐，Sigma 目录号 P6,777; N-丙基胂盐酸盐，Ubichem 目录号 002665），或采用 Zwierzak, Synthesis, 1987, 485 中公开的方法制备。

式 X 的化合物可以商购（例如，邻苄基羟胺盐酸盐，Aldrich 目录号 B2,298-4; 邻（四氢-2H-吡喃-2-基）羟胺，Aldrich 目录号 48,089-4; 邻（三甲基硅基）羟胺，Aldrich 目录号 44,044-2），或采用 Teodozyl 等, Roczn. Chem., 1976, 50 (2), 367(CAN 85:62908)中公开的方法制备。

式 XIII 的化合物可以商购（例如，2-苯二甲酰亚氨基乙烷磺酰氯，Asta Tech, Inc. 目录号 N88865），或采用本领域众所周知的方法，例如用 PCl_5 处理，由商购的磺酸（例如，2-(2-吡啶基)乙烷磺酸，Aldrich 目录号 30,392-5; N-(吗啉基)乙烷磺酸，Sigma 目录号 M3023）制备，或采用 Atwell G.J., Cain B.F. 和 Denny W.A., J. Med. Chem., 1977, 20, 128-134; 和 Kricheldorf H. R. 和 Schultz J., Synthesis, 1976, 11, 739-741 中提供的方法制备。

式 $\text{R}^{30}\text{-CHO}$ 的化合物可以商购（例如苯甲醛，Aldrich 目录号 B133-4; 异丁醛，Aldrich 目录号 32,035-8），或按照本领域众所周知的方法制备，见 Organic Chemistry, 第三版, Fieser and Fieser 主编, Reinhold Publishing 出版, 纽约, 193~198 和 675~684 页中醛的制备; Compendium of Organic Synthetic Methods, 第一卷, Harrison and Harrison 著, Wiley-Interscience 出版, 第 4 章, 醛的制备。

式 $\text{R}^{30}\text{-X}$ 的化合物可以商购（例如溴化苄，Aldrich 目录号 B1,790-5; 1-溴-2-甲基丙烷，Aldrich 目录号 15,658-2），或按照本领域众所周知的方法制备，见 Organic Chemistry, 第三版, Fieser and Fieser 主编, Reinhold Publishing 出版, 纽约, 61~63 和 145~146 页中卤代烷的制备; Compendium of Organic Synthetic Methods, 第一卷, Harrison and Harrison 主编, Wiley-Interscience 出版, 第 10 章, 卤化物和磺酸盐的制备。

通式为 $O_2N-X_1-SO_2Cl$ 的化合物可以商购（例如，2-硝基- α -甲苯磺酰氯，Aldrich 目录号 37,582-9），或按照 US Patent No. 3,471,474 和 EP 0 514 66 A2 中公开的方法，由商购的苄基卤化物制备。

如前所述，本发明提供的胍衍生物可抑制哺乳动物细胞释放 TNF- α 。这可用下面公开的体外试验方法来证明：

在用抗生素和 10%牛胎血清补充的 RPMI 1640 介质中培养 THP1 细胞，用离心法采集，并在用 20mM HEPES 缓冲液补充的上述介质中稀释至 5×10^5 个细胞/ml。将该细胞悬浮液的等分试样（200 μ l）涂敷到 96 孔培养板上，并在加入试验化合物之前，于 37°C 培养 0.5h。将试验化合物溶解在二甲亚砜（DMSO）中，制成浓度为 1.2mM 的储备溶液，再用磷酸盐缓冲液/10%DMSO 溶液稀释，得到最终浓度为 $10^{-9} \sim 10^{-5}$ M 的试验化合物，每个浓度试验两遍。将细胞在 37°C 用试验化合物培养 0.5h，然后加入 LPS(细菌脂多糖)至浓度为 2mg/ml，并在 37°C，在含有 5%CO₂，相对湿度为 95%的气氛下，继续培养 3h。在 260g 下离心 10 分钟后，除去每种等分试样的上层清液，并用 ELISA(R&D Sustems Europe Ltd., Abingdon, 英国)测定 TNF- α 的量。LPS-诱导的 TNF- α 释放达到 50%抑制的试验化合物的浓度 (IC₅₀)，可由剂量-响应曲线计算出来。

下面列出的化合物 A~E，在前述试验方法中的 IC₅₀ 值为 318~866mMol：

化合物 A：2'-(2-氨基苯磺酰基)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰胍对甲苯磺酸盐。

化合物 B：(E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰胍对甲苯磺酸盐。

化合物 C：(E)-2'-(3-氨基丙磺酰基)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰胍对甲苯磺酸盐。

化合物 D：(E)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]戊酰胍对甲苯磺酸盐。

化合物 E：(E)-2'-(4-氨基丁磺酰基)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-

3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐。

本发明提供的肼衍生物（即通式 I 的化合物及其适合药用的盐），可作为药物使用，例如以药物制剂的形式。该药物制剂可以口服，例如，以片剂，糖衣片剂，糖衣丸，硬的和软的明胶胶囊，溶液，乳剂或悬浮液的形式。而且，它们也可通过直肠服用，例如以栓剂的形式，或肠胃外服用，例如以注射溶液的形式。

为制备药物制剂，所述肼衍生物可与治疗惰性的，无机或有机载体复配在一起。例如，可使用乳糖，玉米淀粉或其衍生物，滑石，硬脂酸或其盐，作为片剂，糖衣片剂，糖衣丸和硬的明胶胶囊的载体。软明胶胶囊的合适的载体为，例如植物油，蜡，脂肪，半固体和液体状多元醇等。然而，根据活性组分的性质，软明胶胶囊通常不需要载体。适合制备溶液和糖浆的合适的载体为，例如，水，多元醇，蔗糖，转化糖，葡萄糖等。适合制备注射溶液的合适的载体为，例如，水，醇，多元醇，甘油，植物油等。适合制备栓剂的合适的载体是天然油或硬化油，蜡，脂肪，半液体状多元醇等。

所述药物制剂还可含有防腐剂，稳定剂，润湿剂，乳化剂，甜味剂，着色剂，食用香料，调节渗透压的盐，缓冲液，掩蔽剂或抗氧剂。它们还可含有其它有治疗活性的物质。

含有前述肼衍生物和适合治疗用的载体的药物及制备这种药物的方法，也是本发明的目的。该方法包括，将通式 I 的化合物或其适合药用的盐，与治疗惰性的载体材料，并且如果需要，与另外的一种或多种治疗活性物质，一起制成可服用的制剂。

通式(I)的化合物及其适合药用的盐，都是 TNF- α 释放的抑制剂。因此，本发明的化合物是抗炎剂，它们可用于抵抗由 TNF- α 过量引起的各种疾病中出现的发炎情况。

因此，本发明的另一个目的，包括本发明提供的肼衍生物在治疗疾病中的应用，所述疾病包括发炎和自身免疫疾病（例如风湿性关节炎，肠炎病，多发性硬化症和牛皮癣），骨关节炎，呼吸疾病（例如哮喘和慢性肺梗阻疾病），瘤，恶病体质，心血管疾病（例如充血性心力衰竭），发烧，出血和败血症。服药量可在很宽的范围内进行改变，并且当然地

根据每个特定病例中的个体所需进行调节。通常，在给成人服用时，合适的日剂量约为 1~20mg/kg，优选约为 3~5mg/kg，尽管在认为有利的情况下可以超过该上限。该日剂量可以一次或分次服用。

下列实施例用以举例说明本发明。

5

实施例 1

2'-(2-氨基苄基磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐

将 0.35g (E)-2 (R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基] -4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-(2-硝基苄基磺酰基)戊酰肼在 10ml 甲醇中的溶液，用 0.101g 一水合对甲苯磺酸处理。该混合物在室温搅拌 1.5h，然后加入 0.035g 10% 钨-碳。将该混合物氢化 1h，然后过滤并将滤液蒸发。残余物用乙醚捣碎，得到 0.27g 2'-(2-氨基苄基磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐白色固体。

15

MS: 547(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟，其间淋洗液由含有 5% 溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95% 溶剂 B 的溶剂 A；流速为 1ml/分钟。保留时间：13.15 分钟。

溶剂 A: H₂O/0.1%TFA；溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPERPEP 300A。

20

作为起始原料的(E)-2 (R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基] -4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-(2-硝基苄基磺酰基)戊酰肼的制备如下：

i) 在搅拌及氮气氛围下，将 253.3g 2(R)-异丁基琥珀酸单叔丁基酯在 2L 干燥的四氢呋喃中的溶液冷却到-70℃。滴加入 1.2L 2M 的二异丙基氨基锂的四氢呋喃溶液，并将该混合物在-70℃搅拌 30 分钟。然后滴加入 282g 肉桂酰溴在 2L 干燥四氢呋喃中的溶液，并使该混合物的温度逐渐自然升至室温。搅拌过夜后，蒸发掉四氢呋喃，并将残余物在乙酸乙酯和 2M 盐酸溶液之间进行分配。再用一份 2M 盐酸溶液，水和饱和氯化钠溶液洗涤乙酸乙酯层，然后用无水硫酸镁干燥。蒸发掉溶剂，得到粘性固体。

30

将其悬浮在 2L 己烷中，并过滤取出产品（收获 1：77.3g）。用 109g 环己胺处理己烷溶液，并将混合物在室温下放置 1h，在 4℃放置 16h。过滤出生成的固体，并将其溶解在 2.5L 甲基叔丁基醚和 1.5L 2M 盐酸中，得到透明溶液。有机相用水和饱和氯化钠溶液洗涤两遍，然后用无水硫酸镁干燥。蒸发掉溶剂后，得到 189.8g 固体（收获 2）。将这两个收获物合并并干燥，得到 267.1g (E)-2 (R)-[1(R)-(叔丁氧基羰基)-4-苯基-3-丁烯基]-4-甲基戊酸浅米色固体。

ii) 将在步骤(i)中得到的化合物溶解在 2.5L 干燥的四氢呋喃中，在搅拌下冷却到-78℃，并用 2h向其中滴加入 860ml 2M 的二异丙基氨基锂的四氢呋喃溶液。在-78℃搅拌 0.5h 后，滴加入 330ml 甲醇。使该混合物逐渐自然升温至室温，然后搅拌过夜。蒸发掉四氢呋喃，残余物在乙酸乙酯和 2M 盐酸溶液间进行分配。用另外两份盐酸溶液，两份水和饱和氯化钠溶液连续洗涤乙酸乙酯相，并用硫酸镁干燥。经蒸发后得到橙色油状物，其中含有(E)-2-[1-(叔丁氧基羰基)-4-苯基-3-丁烯基]-4-甲基戊酸的 1(S), 2(R)和 1(R), 2(R)异构体的混合物。上述的差向异构过程重复 3 遍，得到基本上富集 1(S), 2(R)异构体的混合物。将该粗品溶解在 2500ml 的己烷中，并用 89ml 叔丁基胺处理该溶液。在 4℃放置一段时间后，过滤出沉淀出来的盐并干燥。得到 210.3g 浅米色固体，采用前述方法其可转化成自由酸，得到(E)-2 (R)-[1(S)-(叔丁氧基羰基)-4-苯基-3-丁烯基]-4-甲基戊酸黄色固体。

(iii) 将 4.05kg (E)-2 (R)-[1(S)-(叔丁氧基羰基)-4-苯基-3-丁烯基]-4-甲基戊酸在 12L 二甲基甲酰胺中的溶液冷却到 4℃，并用 1.97kg 羟基苯并三唑的水合物和 2.466kg 的 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐处理，将该溶液在 4℃搅拌 2h。加入 3.895kg 异丁基胍二甲苯磺酸盐，随后加入 2.36L N-甲基吗啉。该混合物在 4℃搅拌 2h，并在室温搅拌 50h，然后用 12L 2M 盐酸和 12L 甲基叔丁基醚稀释，分离出有机相。有机相用水，饱和碳酸氢钠溶液和水洗涤，然后进行蒸发，得到暗米色固体。用己烷重结晶，得到 2.47kg (E)-2 (R)-[1(S)-(叔丁氧基羰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰胍米色固体。

MS: 417(M+H)⁺。

(iv) 将 40.0g (E)-2 (R)-[1(S)-(叔丁氧基羰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼和 11.2ml 吡啶在 400ml 二氯甲烷中的溶液在氮气氛下搅拌。加入 16.3ml 三氟乙酸酐，并将该混合物在室温下搅拌 10 分钟，然后蒸发。残余物溶在乙酸乙酯中，用 5%碳酸氢钠溶液，水，2M 盐酸水溶液和水洗涤。乙酸乙酯相用无水硫酸镁干燥，蒸发掉溶剂，得到 55g (E)-2 (R)-[1(S)-(叔丁氧基羰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-2'-(三氟乙酰基)-4-甲基戊酰肼暗橙色胶状物。

MS: 513(M+H)⁺。

(v) 将按照(iv)得到的叔丁酯粗品溶解在 250ml 40%的三氟乙酸二氯甲烷溶液中，并在室温下搅拌 2.5h。蒸发掉溶剂，通过加入甲苯并蒸发掉甲苯（2x30ml）的方法除去痕量的三氟乙酸。残余物用己烷捣碎，得到 39.1g (E)-2 (R)-[1(S)-(羧基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-2'-(三氟乙酰基)-4-甲基戊酰肼灰白色固体。

(vi) 将在上段中制备的羧酸溶解在 90ml 二甲基甲酰胺中，冷却到 0℃，并相继用 50.0g O-(四氢-2H-吡喃-2(RS)-基)羟基胺和 18.0g 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐处理。使该混合物逐渐自然升温至室温，并搅拌过夜。蒸发掉溶剂，并将残余物在乙酸乙酯和水之间进行分配。乙酸乙酯相用水洗至中性，用无水硫酸镁干燥后进行蒸发。将得到的固体用己烷捣碎并过滤，得到 37.6g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-2'-(三氟乙酰基)-4-甲基戊酰肼白色固体。

(vii) 将按照步骤(vi)得到的化合物溶解在 200ml 甲醇中，并在室温用 18.7g 碳酸钾在 50ml 水中的溶液处理 16h。蒸发除去甲醇后得到固体，用水洗涤该固体，并在真空下用固体氢氧化钠干燥，得到 28.2g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼白色固体。

MS: 460(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟，其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A；流速为 1ml/分钟。保留时间：12.46 分钟。

溶剂 A: H₂O/0.1%TFA；溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPERPEP

300A。

- (viii) 在室温和氮气气氛下，用 0.236g 2-硝基- α -甲苯磺酰氯和 0.152ml 吡啶，处理 0.689g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 8ml 二氯甲烷中的溶液。将该混合物搅拌 2h 并蒸发。将残余物溶解在乙酸乙酯中，并依次用水，5% 柠檬酸水溶液，水，5%碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液洗涤，然后用无水硫酸镁干燥。蒸发并用乙醚将残余物捣碎，得到 0.72g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-(2-硝基苄基磺酰基)戊酰肼白色固体。
- 10 MS: 659(M+H)⁺。

实施例 2

(E)-2'-(2-氨基乙烷磺酰基)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐

- 15 将 0.25g (E)-2'-(2-氨基乙烷磺酰基)-2 (R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 5ml 甲醇中的溶液，用 0.1g 一水合对甲苯磺酸处理。将该混合物在室温搅拌 2.5h 并蒸发。残余物用乙醚捣碎，过滤并干燥，得到 0.255g (E)-2'-(2-氨基乙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐白色固体。
- 20

MS: 483(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟，其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A；流速为 1ml/分钟。保留时间：11.22 分钟。溶剂 A: H₂O/0.1%TFA；溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPBDSC18。

- 25 作为起始原料的(E)-2'-(2-氨基乙烷磺酰基)-2 (R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼的制备如下：

- (i) 在室温和氮气气氛下，将 0.459g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 8ml 二氯甲烷中的溶液，用 0.287g 2-苯二酰亚氨基乙烷磺酰氯和 0.1ml 吡啶处理。
- 30

该混合物在室温搅拌 2h，并再加入 0.287g 1,3-二氧代-2-苯二酰亚氨基乙烷磺酰氯。该混合物在室温下搅拌过夜并蒸发。将残余物溶解在乙酸乙酯中，并依次用水，5%柠檬酸水溶液，水，5%碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液洗涤，然后用无水硫酸镁干燥，将蒸发得到残余物用乙醚捣碎，得到 0.47g (E)-2(R)- [1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-2'-(1,3-二氧代-2-苯二酰亚氨基乙烷磺酰基)-4-甲基戊酰肼浅黄色固体。

MS: 697(M+H)⁺。

(ii) 用 4.5ml 水合肼处理 0.46g (E)-2(R)- [1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-2'-(1,3-二氧代-2-苯二酰亚氨基乙烷磺酰基)-4-甲基戊酰肼在 10ml 乙醇中的溶液，并在室温下搅拌 2h。将蒸发得到的残余物用乙酸乙酯捣碎并过滤。滤液用水和饱和氯化钠水溶液洗涤，然后用无水硫酸镁干燥。残余物用硅胶填充的柱色谱纯化，使用甲醇/二氯甲烷（5：95）作为洗脱液，得到 0.26g (E)-2'-(2-氨基乙烷磺酰基)-2 (R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼浅黄色胶状物。

MS: 567(M+H)⁺。

实施例 3

(E)-2'-(3-氨基丙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐

按照与实施例 2 中公开的类似方法，但使用 3-苯二酰亚氨基丙烷磺酰氯代替 2-苯二酰亚氨基乙烷磺酰氯，得到(E)-2'-(3-氨基丙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐灰白色固体。

MS: 497(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟，其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A；流速为 1ml/分钟。保留时间：11.21 分钟。溶剂 A: H₂O/0.1%TFA；溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPBDSC18。

实施例 4

(E)-2'-(4-氨基丁烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐

按照与实施例 2 中公开的类似方法，但使用 4-苯二酰亚氨基丁烷磺酰氯代替 2-苯二酰亚氨基乙烷磺酰氯，得到(E)-2'-(4-氨基丁烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐。

MS: 511(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟，其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A，流速为 1ml/分钟。保留时间：11.31 分钟。
溶剂 A: H₂O/0.1%TFA; 溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPBDSC18。

实施例 5

(E)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[2-(2-吡啶基)乙烷磺酰基]戊酰肼盐酸盐

用 4ml 1M 的氯化氢二氧杂环己烷溶液处理 0.547g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[2-(2-吡啶基)乙烷磺酰基]戊酰肼在 5ml 甲醇中的溶液。该混合物在室温下搅拌 3h 并蒸发。残余物用乙醚捣碎，得到 0.463g (E)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[2-(2-吡啶基)乙烷磺酰基]戊酰肼盐酸盐白色固体。

MS: 545(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟，其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A；流速为 1ml/分钟。保留时间：11.33 分钟。
溶剂 A: H₂O/0.1%TFA; 溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPERPEP 300A。

用作起始原料的(E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[2-(2-吡啶基)乙烷磺酰基]戊酰肼的制备如下：

将 0.459g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-

3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 10ml 二氯甲烷中的溶液,用 0.400ml 吡啶和 0.337g 2-(2-吡啶)乙烷磺酰氯处理。该混合物在室温下搅拌过夜。向其中再加入 0.1g 2-(2-吡啶)乙烷磺酰氯和 0.4ml 吡啶,该混合物在室温下再搅拌 3 天。将蒸发得到的残余物溶解在乙酸乙酯中,并用 5%碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液洗涤。用无水硫酸镁干燥,蒸发并用乙醚/己烷捣碎,得到 0.547g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-[2-(2-吡啶基)乙烷磺酰基]戊酰肼白色固体。

MS: 629(M+H)⁺。

10

实施例 6

(E)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-(3-(4-吗啉基)丙基磺酰基)戊酰肼盐酸盐

按照与在实施例 5 中公开的类似方法,但使用 3-(4-吗啉基)丙烷磺酰氯代替 2-(2-吡啶基)乙烷磺酰氯,得到(E)-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基-2'-(3-(4-吗啉基)丙基磺酰基)戊酰肼盐酸盐白色固体。

MS: 567(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟,其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A;流速为 1ml/分钟。保留时间: 11.28 分钟。溶剂 A: H₂O/0.1%TFA;溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPERPEP 300A。

实施例 7

(E)-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]-2 (R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐

用 0.069g 一水合对甲苯磺酸处理 0.184g (E)-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 4ml 甲醇中的溶液。该混合物在室温下搅拌 3.5h 并蒸发。用乙醚将残余物捣碎,得到 0.19g (E)-2'-[3-(二甲基

氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐灰白色固体。

MS: 525(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟, 其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A; 流速为 1ml/分钟。保留时间: 11.33 分钟。
溶剂 A: H₂O/0.1%TFA; 溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPERPEP 300A。

用作起始原料的(E)-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼的制备如下:

将 0.459g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 10ml 二氯甲烷中的溶液, 用 0.6ml 吡啶和 0.85g 3-(二甲基氨基)-1-丙烷磺酰氯盐酸盐处理。该混合物在室温下搅拌过夜。将蒸发得到的残余物溶解在乙酸乙酯中, 并用 5%碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液洗涤。用无水硫酸镁干燥, 并将蒸发得到的残余物用硅胶填充的柱色谱纯化, 使用甲醇/二氯甲烷(8: 92)作为洗脱液, 得到 0.184g (E)-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼胶状物。

MS: 609(M+H)⁺。

实施例 8

(E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐

用 0.057g 一水合对甲苯磺酸处理 0.16g (E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 4ml 甲醇中的溶液。该混合物在室温下搅拌 2h 并蒸发。将残余物用乙醚捣碎, 得到 0.125g (E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼对甲苯磺酸盐灰白色固体。

MS: 553(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟, 其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A; 流速为 1ml/分钟。保留时间: 11.46 分钟。

溶剂 A: H₂O/0.1%TFA; 溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPERPEP 300A。

用作起始原料的(E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼的制备如下:

- (i) 将 0.918g (E)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 10ml 二氯甲烷中的溶液, 用 0.202ml 吡啶和 0.354g 3-氯丙烷磺酰氯处理。该混合物在室温下搅拌 2h。向其中再加入 0.177g 3-氯丙烷磺酰氯和 0.160ml 吡啶, 该混合物在室温下再搅拌 2h。将蒸发得到的残余物溶解在乙酸乙酯中, 并依次用水, 5%柠檬酸水溶液, 水, 5%碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液洗涤。用无水硫酸镁干燥, 蒸发, 并用乙醚/己烷捣碎, 得到的残余物用硅胶填充的柱色谱纯化, 使用己烷/乙酸乙酯 (6: 4) 作为洗脱液, 得到 0.8g (E)-2'-(3-氯丙基磺酰基)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼浅黄色固体。

MS: 600(M+H)⁺。

- (ii) 将 0.60g (E)-2'-(3-氯丙基磺酰基)-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 10ml 甲乙酮中的溶液, 用 0.18g 碘化钠和 1.04ml 二乙胺处理。该混合物在 80℃加热 4h, 然后在 60℃加热 48h。该混合物用乙酸乙酯稀释, 用水和饱和氯化钠水溶液洗涤, 用无水硫酸镁干燥并蒸发。残余物用硅胶填充的柱色谱纯化, 使用甲醇/二氯甲烷 (1: 9) 作为洗脱液, 得到 0.16g (E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-[(四氢-2(RS)-吡喃氧基)氨基甲酰基]-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼胶状物。

MS: 637(M+H)⁺。

30 实施例 9

2'-(3-氨基丙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼

- 在 60mg10%钨-碳催化剂存在下，将 0.15g (E)-2'-(3-氨基丙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼在 5ml 甲醇中的溶液进行氢化，直到氢的吸收结束为止。过滤除去催化剂，并将溶剂蒸发掉。残余物用乙醚捣碎，得到 0.088g 2'-(3-氨基丙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼浅粉色固体。

MS: 499(M+H)⁺。

- 10 HPLC: 梯度淋洗 15 分钟，其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A；流速为 1ml/分钟。保留时间：9.14 分钟。溶剂 A: H₂O/0.1%TFA；溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPERPEP 300A。

- 15 用作起始原料的(E)-2'-(3-氨基丙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼的制备如下：

按照实施例 2 中步骤(i)和(ii)公开的类似方法，由(E)-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼和 3-苯二酰亚氨基丙烷磺酰氯出发，制得(E)-2'-(3-氨基丙烷磺酰基)-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼白色固体。

- 20 MS: 587(M+H)⁺。

实施例 10

2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼

- 25 按照实施例 9 中公开的类似方法，由 0.28g (E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼出发，可得到 0.232g 2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼灰白色固体。

- 30 MS: 555(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟, 其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A; 流速为 1ml/分钟。保留时间: 9.84 分钟。溶剂 A: H₂O/0.1%TFA; 溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPERPEP 300A。

- 5 用作起始原料的(E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼的制备如下:

按照实施例 8 中步骤(i)和(ii)公开的类似方法, 由(E)-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼和 3-氯丙烷磺酰氯出发, 得到(E)-2'-[3-(二乙基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼胶状物。

MS: 643(M+H)⁺。

实施例 11

- 15 2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼

按照实施例 9 中公开的类似方法, 由 0.17g (E)-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼出发, 可得到 0.089g 2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(羟基氨基甲酰基)-4-苯基丁基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼粉红色固体。

MS: 527(M+H)⁺。

HPLC: 梯度淋洗 15 分钟, 其间淋洗液由含有 5%溶剂 B 的溶剂 A 变化为含 95%溶剂 B 的溶剂 A; 流速为 1ml/分钟。保留时间: 9.41 分钟。溶剂 A: H₂O/0.1%TFA; 溶剂 B: CH₃CN/0.085%TFA。柱型: HYPERPEP 300A。

用作起始原料的(E)-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼的制备如下:

- 30 按照实施例 7 中公开的类似方法, 由(E)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-

4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼和 3-(二甲基氨基)-1-丙烷磺酰氯盐酸盐出发,得到(E)-2'-[3-(二甲基氨基)丙基磺酰基]-2(R)-[1(S)-(苄氧基氨基甲酰基)-4-苯基-3-丁烯基]-2'-异丁基-4-甲基戊酰肼胶状物。

MS: 615(M+H)⁺。