

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C分類：

A6
B6

本案已向：

國 (地區) 申請專利，申請日期： 案號： ， ☒ 有 ☐ 無主張優先權
歐洲 西元 1998 年 9 月 15 日 98117506.0

本局能批准之主張應不予受理

有關微生物已寄存於： ，寄存日期： ，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

五、發明說明 (1)

本發明係有關一種新穎化合物、其製法、其用途及含該化合物之醫藥組合物，該化合物經由可逆性抑制活化之血液凝結因子 VIIa (FVIIa)而具有強烈抗血栓效果。

發明背景

血栓之形成通常為組織受傷造成，而引發一連串凝結反應，因此減緩或阻止傷口癒合處之血流。其化與組織受傷沒有直接關係因素如：動脈硬化及發炎，亦引起一連串凝結作用，且可能造成病理後果。

血液凝結為一種複雜過程，其涉及一系列逐漸擴增之酵素活化反應，其中血漿酶原依序被有限制之蛋白質水解作用活化。在機轉上，這一連串血液凝結反應分成內因性與外因性途徑，包括活化 X 因子；隨後透過單一共同途徑產生凝血酶（見圖 1）。

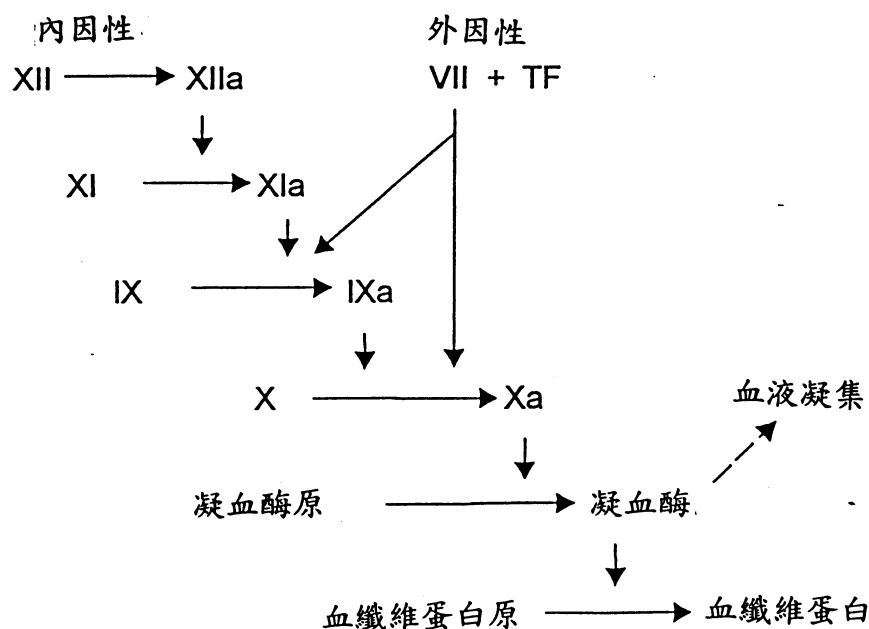


圖 1：血液凝結連串反應

五、發明說明（ 2 ）

目前的證據顯示，內因性途徑在形成血纖維蛋白之維持及成長上扮演重要角色，而外因性途徑則對血液凝結之引發期很重要（H. Cole, Aust. J. Med. Chem. 16 (1995) 87；G.J. Broze, Blood Coagulation and Fibrinolysis & Suppl. 1 (1995) S7-S13）。通常認為當組織因子（TF）／VIIa 因子複合物形成時，即物理性引發血液凝結。一旦形成此複合物，即由 IX 與 X 因子迅速引發凝結作用。新產生之活化因子（即 Xa 因子）即與 Va 因子及磷脂形成一對一複合物，而形成凝血酶原酶複合物，其經由活化前體凝血酶原形成凝血酶，而負責轉化可溶性纖維蛋白原形成血纖維蛋白。VIIa 因子／組織因子複合物（外因性途徑）之活性隨時間演進而受到庫尼茲（Kunitz）型蛋白酶抑制劑蛋白質（TFPI）壓抑，該蛋白質與 Xa 複合時，可直接抑制 VIIa 因子／組織因子蛋白質水解活性。為了在受抑制之外因性系統中維持凝結過程，需經由內因性途徑之凝血酶所調節之活性另產生 Xa 因子。因此，凝血酶扮演雙重自體催化角色，調節其自行生產作用及轉化血纖維蛋白原成為血纖維蛋白。

產生凝血酶之自體催化性質為對抗未控制下之出血之一種重要防衛，當凝血酶原含量達指定閥值時，這種自體催化性質則確使血液完全凝結。形成血塊的能力係維持存活所必要者。然而，某些疾病下，在循環系統內形成血塊本身即為一種致命傷。但在這種疾病狀態下仍不希望完全抑制凝血系統，因為會引發威脅生命之出血情形。因此，

五、發明說明 (3)

極需要發展利用抑制 VIIa 因子但未直接抑制凝血酶來抑制凝結作用之製劑。

在許多臨床用途中，極需要預防血管內血塊或一些抗凝血劑處理。目前可採用之藥物在許多專一性臨床用途中不令人滿意，例如：幾乎 50%接受過整個髖部置換處理之患者發展出深部靜脈血栓 (DVT)。目前核准之療法為固定劑量之低分子量肝素 (LMWH) 及變化劑量之肝素。即使採用此等藥物療程，仍有 10 至 20% 患者發展出 DVT，5 至 10% 發展成出血併發症。

另一種需要更佳抗凝血劑之臨床情況係有關接受穿透血管冠狀動脈血管造形術之患者及有罹患心肌梗塞危險或已罹患新月體心絞痛之患者。目前最常用之療法包括投與肝素及阿司匹靈，但在處理過程 24 小時內，有 6 至 8% 患者發生血管突然封閉。由於亦使用肝素，因此因出現出血併發症而需要輸血療法之比例為約 7%。此外，僅管顯著延緩封閉血管之現象，但在此過程結束之後投與肝素並沒有多大價值，且可能有害。

最常用之血液凝塊抑制劑為肝素及相關之硫酸化多糖，LMWH 及肝素硫酸鹽。這些分子因可促進凝塊過程中之天然調節物 (抗凝血酶 III) 與凝血酶及與 Xa 因子結合而具有抗凝塊效果。肝素之抑制活性主要針對凝血酶，其失去活性之速度比 Xa 因子快 100 倍。水蛭素及水蛭素類似物 (hirulog) 為目前臨床實驗上使用之另二種針對凝血酶之抗凝血劑。然而，這些抑制凝血酶之抗凝血劑亦與

五、發明說明（4）

出血併發症有關。於狒狒與狗身上進行之臨床前試驗已顯示該等目標酵素涉及一連串凝結反應之早期階段，如：Xa 因子或 VIIa 因子防止血塊形成，沒有如直接使用凝血酶抑制劑時所看到之出血副作用（T. Yokoyama, A.B. Kelly, U.M. Marzec, S.R. Hanson, S. Kunitada, L.A. Harker, Circulation 92(1995) 485-491; L.A. Harker, S.R. Hanson, A.B. Kelly, Thromb. Hemostas. 74(1995) 464-472; C.R. Benedict, J. Ryan, J. Todd, K. Kuwabara, P. Tyburg, Jr., J. Cartwright, D. Stern, Blood 81(1993) 2059-2066）。

使用單株抗體（國際專利申請案 No. 92/06711）及蛋白質如：經氯甲基酮去活性之 FVIIa（國際專利申請案 No.W096/12800 及 WO 97/47651）專一性抑制 VIIa 因子／TF 催化性複合物為一種控制急性動脈傷害或與細菌性敗血症有關之血栓併發症所引起之血栓形成之極有效方法。亦有實驗證據認為抑制 VIIa／TF 活性可抑制氣球血管造形術之後再狹窄現象（L.A. Harker, S.R. Hanson, J.W. Wilcox, A.B. Kelly, Haemostasis 26(1996) S1:76-82），於狒狒身上進行之出血實驗顯示抑制 VIIa 因子／TF 複合物對所試驗之抗凝血劑方法（包括：抑制凝血酶、血小板及 Xa 因子）之醫療有效性及出血危險性具有最寬的安全範圍（L.A. Harker, S.R. Hanson, A.B. Kelly, Thromb. Hemostat, 74(1995) 464-472）。

VIIa 因子之專一性抑制劑在醫學操作上具有相當實用之價值。特定言之，當目前選用之藥物：肝素及相關硫酸

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

線

五、發明說明(6)

其中

R12 為選自：烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷胺基、烯胺基、炔胺基、烯氧基、炔氧基、芳基、雜芳基、雜環烷基、芳烷基、雜芳烷基、雜環烷基烷基、雜烷基、雜烯基及雜炔基，該殘基均可經取代，

R13 為選自：胺基保護基團、氫、烷基、芳基、芳烷基、雜芳基、雜芳烷基、雜環烷基及雜環烷基烷基，

R14 與 R15 分別選自：烷基、芳基、芳烷基、雜芳基、雜芳烷基、雜環烷基及雜環烷基烷基，

A 為 A1-A2-A3 基團，其中

A1 為 NH，

A2 為 CHR93，其中 R93 為 4-脛苯甲基，

A3 為 C(O)，

B 為 B1-B2-B3 基團，其中

B1 為 NR95，其中 R95 選自氫與烷基，

B2 為 CHR97，其中 R97 為乙基，其 2-位置經選自：羥羰基、烷氧羰基及芳烷氧羰基之取代基取代，

B3 為 C(O)，

D 為 D1-D2-D3 基團，其中

D1 為 NH，

D2 為 CR81R82，其中 R81 與 R82 分別選自：氫及未取代或經取代之殘基：烷基、芳基、芳烷基、雜芳基、雜芳烷基、雜環烷基及雜環烷基烷基，

D3 為 C(O)，

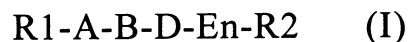
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂線

五、發明說明（ 8 ）

本發明之詳細說明

本發明提供式 I 肽



其中 R1、R2、A、B、D、E 與 n 如上述定義，其係抑制 VIIa 因子活性之化合物，但對涉及血液凝結途徑之其他蛋白酶活性有實質抑制作用。式 I 化合物中，結構單位包含在例如：A、B、D 或 E 基團中或 R1 基團中，當 R1 代表一、二或三個胺基酸時，其係胺基酸或其衍生物或胺基酸類似物或擬似結構，且其呈肽形式，利用其中一個胺基酸等等之羧基與另一個胺基酸等等之胺基之間形成之醯胺鍵 C(O)-N 與相鄰基團連接。肽化學中常見之胺基酸二價殘基或如出現在式 I 中之 A、B、D 或 E 基團之二價殘基係來自各胺基酸之胺基脫離一個氫原子及由羧基脫離一個羥基而得。

本文採用之”胺基酸”一詞之廣義係指二十種天然胺基酸，其係由遺傳密碼轉譯而來，且構成蛋白質之組成結構，其包括（除非另有說明）：L-胺基酸及 D-胺基酸，及經化學修飾之胺基酸如：胺基酸類似物，通常未納入蛋白質之天然胺基酸，如：正白胺酸，及具有相關技藝已知為胺基酸特性之化學合成化合物。例如：苯基丙胺酸或脯胺酸之類似物或擬似物，其可與天然 Phe 或 Pro 具有相同之肽化合物之構形限制，此等胺基酸均包括在”胺基酸”之定義中，並係相關技藝已知者。這些類似物與擬似物在本文中稱為胺基酸之”官能同等物”，胺基酸及胺基酸類似

五、發明說明(9)

物之其他實例列於 Roberts and Vellaccio(The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology, eds. Gross and Meienhofer, Vol. 5, p. 341, Academic Press, Inc., New York, 1983, 該文獻已以提之方式併入本文中)。胺基酸、胺基酸類似物及擬似物結構之縮寫及本申請案中採用之其他縮寫列於表 1。

表 1：本申請案採用之縮寫

化合物／殘基	縮寫
乙酸	AcOH
乙醯胺甲基	Acm
丙胺酸	Ala
烯丙氧羰基	Alloc
對脛苯基丙胺基	pAph
2-胺基丁酸	2-Abu
精胺酸	Arg
天冬醯胺	Asn
天冬胺酸	Asp
苄基	Bzl
第三丁氧羰基	Boc
第三丁基	tBu
環己基甘胺酸	Chg
環己基	Chx
環己基丙胺酸	Cha
半胱胺酸	Cys
2, 4-二胺基丁酸	Dab

五、發明說明 (10)

2, 3-二氨基丙酸	Dap
二氯甲烷	DCM
二異丙基碳化二亞胺	DIC
二異丙基乙胺	DIEA
N, N-二甲基甲醯胺	DMF
二甲亞砜	DMSO
9-芴甲氧羰基	Fmoc
麩胺酸	Glu
麩醯胺	Gln
甘胺酸	Gly
組胺酸	His
N-羥基苯並三唑	HOBt
4-羥基苯氧基乙酸	HMPA
異白胺酸	Ile
白胺酸	Leu
離胺酸	Lys
甲基	Me
N-甲基咪唑	NMI
N-甲基嗎啉	NMM
2, 2, 5, 7, 8-五甲基- 色滿-6-磺醯基	Pmc
鳥胺酸	Orn
苯基	ph
苯基丙胺酸	Phe

五、發明說明 (11)

苯基甘胺酸	Phg
脯胺酸	Pro
絲胺酸	Ser
四氫呋喃	THF
四甲基氟甲脒—	
六氟磷酸鹽	TFFH
蘇胺酸	Thr
三氟乙酸	TFA
三苯甲基	Trt
色胺酸	Trp
纈胺酸	Val

除非另外說明，否則上述胺基酸縮寫具有 L-組態。D-組態之胺基酸係採用三字母代碼加上 D-字首表示（例如 D-Ala, D-Cys, D-Asp, D-Trp, D-pAph）。如例如：Phe(4-CN)及 Phe[4-C(S-CH₂-CH₂-S)-Ph]之縮寫代表胺基酸苯基丙胺酸之苯基中 4-位置分別帶有一個氰基取代基或 2-苯基-1,3-二硫戊環-2-基取代基。如，例如：Dap[-C(=NH)-NH₂]之縮寫代表胺基酸殘基 2,3-二胺基丙酸中，側鏈上胺基，亦即 3-位置上胺基，被脒基-C(=NH)-NH₂ (甲脒基)取代，藉以使胍基-NH-C(=NH)-NH₂ 附接丙酸單位之 3-位置上：如，例如：Orn[-C(=NH)-NH₂]或 Cys(Me)之縮寫代表胺基酸殘基鳥胺酸中側鏈上之胺基帶有一個脒基，或胺基酸殘基半胱胺酸中氫硫基帶有一個甲基。

TOTU, HATU 及 BOT 係別指 O-[氰基 (乙氧羰基) 亞

五、發明說明 (12)

甲胺基]-1, 1, 3, 3-甲甲基糖醛鎗四氟硼酸鹽，O-(7-氮雜苯並三唑-1-基)-1, 1, 3, 3-四甲基糖醛鎗六氟磷酸鹽，及 1-苯並三唑基氧-參-(二甲胺基)-磷六氟磷酸鹽。

本文中當 VIIa 因子活性之抑制作用上提及”專一性”時，係指式 I 化合物可抑制 VIIa 因子活性，實質上不會抑制其他特定蛋白酶，包括血纖維蛋白溶酶與凝血酶（使用相同濃度抑制劑）。此等蛋白酶涉及血液凝結及血纖維蛋白溶解之連串反應。

本文中採用之”取代基”一詞係指任何取代在本文所提示之肽、肽類似物、擬似物或有機化合物之肽主幹或側鏈上之各種不同化學基團。取代基可包括相關技藝已知之各種不同部份（參見例如：Giannis and Kolter, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 32 (1993) 1244-1267, 該文獻已以提及之方式併入本文中）。

本文採用之”烷基”一詞廣義上係指約 1 至 13 個碳原子之飽和或未飽和、直線、分支或環狀鏈，其中未飽和烷基當然包含至少 2 個碳原子，且環狀基團當然包含至少 3 個碳原子。未飽和基團可包含一個或多個雙鍵及／或參鍵。因此”烷基”一詞包括例如：甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、1-甲基丁基、2, 2-二甲基丁基、2-甲基戊基、2, 2-二甲基丙基、正戊基及正己基、伸烷基，碳原子之環狀鏈如：環丙基、環丁基、環戊基、環己基及環庚基，及直鏈或分支鏈與碳原子之環狀鏈之組合，如：甲基環己基-、環己基甲基-

五、發明說明 (13)

1-環己基乙基-、2-環己基乙基-、環戊基甲基-、1-環戊基乙基-、2-環戊基乙基-、環丙基甲基-、1-環丙基乙基-、2-環丙基乙基或環丙基亞甲基。因此，烷基亦包括帶一個或多個烷基取代基之環狀烷基，其他烷基實例為下述明確之未飽和基團。此外，應了解，本文定義之烷基可經一個或多個相同或相異取代基取代，例如，一、二、三或四個取代基，其可出現在任何所需之合適位置。

較佳者，”烷基”一詞指 1 至 6 個碳原子之飽和、直鏈或分支鏈、2 至 6 個碳原子之未飽和、直鏈或分支鏈、或 3 至 8 個碳原子之環狀烷基，特定言之 3 至 6 個或 4 至 6 個環碳原子。未飽和之烷基鏈以(C₂-C₆)烯基及(C₂-C₆)-炔基較佳。未飽和烷基實例為烯基與炔基如：乙烯基、丙-1-烯基、丙-2-烯基(=烯丙基)、丁-2-烯基、丁-3-烯基、3-甲基丁-2-烯基、乙炔基、丙-2-炔基、丁-2-炔基，等等。

同樣地，”醯基”之廣義用法係指約 1 至 13 個碳原子之飽和或未飽和、直鏈、分支或環狀鏈，或 5 至 13 個環碳原子之芳基，其附接羰基部份-C(O)-，且利用該羰基鍵結，醯基可衍生自含羧基 C(O)-OH 之化合物經脫除羥基後得到，因此”醯基”一詞涵括例如：甲醯基、乙醯基、苯甲醯基，等等，較佳醯基包括上述具有較佳碳原子數範圍之飽和或未飽和，直鏈，分支或環狀鏈，其另包含一個藉以鍵結之羰基。

”芳基”一詞指含 5 至 13 個碳原子及至少一個具有共軛 π 電子系統之”環”基之芳香系基團，較佳者，”芳

五、發明說明 (14)

基”係指含 6 至 10 個環碳原子之芳香基。芳基實例包括例如；苯基、萘基如：1-萘基與 2-萘基、苐基、聯苯基及其類似物與衍生物，其均可視需要經一個或多個（例如：1、2、3 或 4 個）相同或相異取代基取代，該等取代基可出現在任何所需之合適位置上。例如：單取代之苯基可於 2-、3-或 4-位置上經取代，二取代之苯基則於 2, 3-, 2, 4-, 2, 5-, 2, 6-, 3, 4-或 3, 5-位置上取代。

”芳烷基”一詞指如上述定義烷基經一個或多個（例如：1 或 2 個）相同或相異芳基取代。合適芳烷基包括：苄基，苯乙基如：1-苯乙基與 2-苯乙基，二苯甲基，二苯乙基如：1,2-二苯乙基與 2, 2-二苯乙基，苯丙基如：1-苯丙基、2-苯丙基與 3-苯丙基、二苯丙基如：2, 3-二苯丙基與 3, 3-二苯丙基、萘甲基、萘乙基如：1-萘乙基與 2-萘乙基、萘丙基如：1-萘丙基、2-萘丙基與 3-萘丙基，1, 2, 3, 4-四氫-1-萘基，1, 2, 3, 4-四氫-2-萘基，等等，其均可視需要經取代。

”雜烷基”、“雜烯基”、“雜炔基”、“雜芳烷基”及”雜芳基”在本文中係分別指烷基、芳烷基及芳基，其中一個或多個碳原子（例如：一、二或三個碳原子）經相同或相異雜原子（如：N、O 或 S）置換。此外，”雜環烷基”一詞係指環狀烷基中一個或多個環碳原子被雜原子置換。較佳者，”雜環烷基”一詞指含 3 至 8 個環碳原子之環狀烷基，其中 1, 2 或 3 個碳原子被相同或相異雜原子（如：N、O 或 S）置換。

五、發明說明 (15)

所有此等基團可由任何所需之合適位置鍵結，包括氮雜環之合適環氮原子位置。合適雜芳基、雜芳烷基、雜烷基及雜環烷基包括例如：2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-噻吩基、3-噻吩基、吡咯基、咪唑基、呋喃基、胡椒基、2-吡啶甲基、3-吡啶甲基、4-吡啶甲基、1-(2-吡啶基)乙基、1-(3-吡啶基)乙基、1-(4-吡啶基)乙基、2-(2-吡啶基)乙基、2-(3-吡啶基)乙基、2-(4-吡啶基)乙基、吡啶甲基、吡咯啶基、六氫吡啶基、四氫呋喃基、四氫呋喃-2-基、嗎啉基、4-嗎啉基、2-(4-嗎啉基)乙基、六氫吡啶基、2-(4-甲基六氫吡啶-1-基)乙基，等等，其均可視需要經一個或多個（例如：1, 2, 3 或 4 個）相同或相異取代基取代。

本發明之肽之 N-末端及／或 C-末端可與合適試劑反應而修飾或分別引進（或含有）胺基保護基團或羧基保護基團。肽或肽類似物之 N-末端可經化學修飾，使 N-末端胺基經例如下列基團取代：醯基（例如：乙醯基、環戊羧基、異喹啉羧基、呋喃甲醯基、甲苯磺醯基、苯甲醯基、吡啶羧基或其他此等基團），與下列基團反應：異氰酸酯、氯甲酸酯、烷化劑、或引進其他此等基團，此等基團均可經上述取代基取代。應了解，”胺基”一詞在本文中廣泛用於任何游離胺基，包括出現在肽中之一級、二級或三級胺基。相對地，”N-末端”指一般方式寫出之肽中第一個胺基酸之 α -胺基。

本發明肽之 N-末端可連接胺基保護基團而加以保

五、發明說明 (16)

護。”胺基保護基團”在本文中廣泛用於代表可與游離胺基反應之化學基團，包括例如：出現在本發明肽之 N-末端之 α -胺基。藉由此反應，使得胺基保護基團保護反應性胺基免於可能發生之不要之反應，例如：在合成過程中或因終化合物受到外切肽酶活性可能發生之反應。修飾胺基亦有其他優點，包括例如：提高化合物之溶解度或活性。本文中揭示多種不同胺基保護基團或係相關技藝已知者，且包括例如：鹽基如：乙鹽基、第三丁氧羰基、烯丙氧羰基、苄氧羰基、或苯甲鹽基，及胺鹽基，其本身可經胺基保護基團修飾。其他胺基保護基團說明於例如：The Peptides, eds. Gross and Meienhofer, vol. 13 (Academic Press, Inc., New York, 1981)；及 Gross and Wuts, in Protective Groups in Organic Synthesis, 2d ed., p.309-405 (John Wiley & Sons, New York, 1991)，各該文獻已以提及之方式併入本文中。本發明肽或肽類似物之 N-末端胺基之任何此等修飾作用產物在本文中稱為”N-末端衍生物”。

同樣地，羧基（如：出現在肽之 C-末端上之羧基）可使用羧基保護基團進行化學修飾。”羧基”與”C-末端”名詞之使用方式與上述定義之”胺基”與”N-末端”一致。如：出現在肽之 C-末端之羧基之修飾法可還原 C-末端羧基形成醛或醇，或形成口服酯或以如：噻唑基、環己基或其他基團之取代基取代羧基。口服酯係相關技藝習知者，且包括例如：烷氧甲基如：甲氧甲基、乙氧甲基、異丙氧甲基，等等；1-((C₁-C₄)-烷氧基乙基如：甲氧乙基、

五、發明說明 (17)

乙氧乙基、丙氧乙基、異丙氧乙基，等等；2-氧-1, 3-二氧環戊烯-4-基甲基如：5-甲基-2-氧-1, 3-二氧環戊烯-4-基甲基，5-苯基-2-氧-1, 3-二氧環戊烯-4-基甲基，等等；((C₁-C₃)-烷硫基)甲基如：甲硫甲基、乙硫甲基、異丙硫甲基，等等；醯氧甲基如：特戊醯氧甲基、乙醯氧甲基，等等；乙氧羰甲基；1-醯氧基-1-經取代甲基如：1-乙醯氧乙基；3-酞醯基或 5, 6-二甲基酞醯基；1-(((C₁-C₄)-烷氧基)羰氧基)乙基如：1-(乙氧羰氧基)乙基；及 1-(((C₁-C₄)-烷氧基)羰氧基)乙基如：1-(甲胺羰氧基)乙基。

本發明肽可經連接羧基保護基團而修飾。羧基保護基團係相關技藝習知者，且藉由與肽結合，因此可保護羧基對抗不要之反應（參見例如：Green and Wuts, *supra*, p.224-276 (1991)，該文獻已以提及之方式併入本文中）。相關技藝專家們咸了解如上述可在肽之 N-末端胺基或 C-末端羧基上進行之修飾法同樣可在例如：本發明肽中胺基酸或胺基酸類似物之側鏈上任何反應性胺基或羧基上進行。進行這種修飾之方法揭示於本文中或相關技藝已知者。

在本發明化合物中包含 L-或 D-胺基酸之選擇法一部份依肽所需特性而定。例如：引進一個或多個 D-胺基酸可提高化合物在試管內或活體內之安定性。引進一個或多個 D-胺基酸亦可提高或降低化合物之醫藥活性。有時候需使化合物保持短時間活性。此時，在化合物中引進一個或多個 L-胺基酸可使該個體之內因性肽於活體內分解化合

五、發明說明 (18)

物，藉以限制該個體曝露到活性化合物。相關技藝專家們可考量例如：個體之年齡與一般健康狀況來決定本發明化合物所需特性。通常本發明係有關式 I 化合物所有立體異構型及其中二種或多種立體異構物依所有比例形成之混合物，例如：純對映異構物、純非對映異構物、二種對映異構物依所有比例形成之混合物，包括消旋物、非對映異構物、順式異構物、反式異構物、E 異構物或 Z 異構物。本發明亦有關式 I 化合物之所有互變異構型。本發明亦有關呈其互變異構型之式 I 化合物。此外，本發明係有關式 I 化合物之前藥，例如：由上述羧基得到乙酸、醯胺、醛或醇，或由可醯化基團得到之醯基衍生物如：(C₁-C₆)烷羧基、(C₁-C₆)-烷氧羧基或芳基-(C₁-C₄)-烷氧羧基衍生物，該可醯化基團包括胺基、亞胺基、胍基及脒基，且本發明亦有關式 I 化合物之活性代謝物。

式 I 化合物中，R1 基團為 R12C(O)較佳。R12 代表一系列明確基團為：烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷胺基、烯胺基、炔胺基、烯氧基、炔氧基、芳基、雜芳基、雜環烷基、雜芳烷基、雜環烷基烷基、雜烷基、雜烯基、及雜炔基，該殘基均未經取代或經取代。R12 較佳為烷基、烯基、炔基、烷氧基、烯氧基、炔氧基、烷胺基、烯胺基、炔胺基、芳基、雜芳基、芳烷基或雜芳烷基，更佳為烯氧基、烯胺基或芳基，該殘基均未取代或經取代。R12 特別佳為烯氧基或烯胺基，如：各含一個雙鍵之(C₂-C₆)-烯氧基或(C₂-C₆)-烯胺基，如：各含一個雙鍵之(C₂-C₆)烯氧基或

五、發明說明 (19)

(C₂-C₆)烯胺基，例如：烯丙氧基或烯丙胺基。此外 R12 較佳為(C₂-C₆)-烯氧基。R12 代表之殘基可未取代或經取代。經取代之 R12 殘基中，該殘基最好經一個或多個相同取代基取代，該取代基選自：鹵素，亦即氟、氯、溴或碘，三氟甲基、羥基、硝基、胺基、氰基、羧基、胺羧基、烷磺醯基、胺磺醯基、烷氧基、烷胺基及單-或二烷胺基。同樣地，R13、R14 與 R15 代表之殘基可未取代或經取代，例如：經可出現在 R12 上之取代基取代，其中 R14 與 R15 各自獨立且可相同或相異。

式 I 化合物中之基團 A 為二價 4-脛基苯基丙胺酸殘基 -NH-CH-[-CH₂-C₆H₄-(4-C(=NH)-NH₂)]-C(O)-，較佳為(L)-4-脛基苯基丙胺酸殘基 (=S)-4-脛基苯基丙胺酸殘基)。B 基團為二價麩胺酸殘基 -NH-CH-[-CH₂-CH₂-C(O)-OH]-C(O)-或其醫藥可接受之鹽或酯，較佳者為(L)-麩胺酸殘基 (=S)-麩胺酸殘基) 或其醫藥上可接受之鹽或酯。

R95 較佳為氫或(C₁-C₄)-烷基，更佳者為氫或甲基，特別佳為氫。

經取代之殘基 R81 與 R82 可分別帶有一個或多個 (例如：1、2、3 或 4) 相同或相異殘基，其最好選自：胺基、胺羧基、脛基、胍基、胺烷基、羥基、氫硫基，其均可經保護基團取代，及乙醯亞胺基 (-C(=NH) - CH₃)，硝基及氰基。若為硝基時，根據本發明式 I 化合物最好僅含至多二個硝基。適合上列基團之保護基團係相關技藝已知者，且可參見上述參考文獻，如：Greene and Wuts,

五、發明說明 (20)

Protective Groups in Organic Synthesis, 2d ed., (John Wiley & Sons, New York, 1991), 該文獻已以提及之方式併入本文中。保護基團實例為上述胺基保護基團如：第三丁氧羰基、苄氧羰基、及烯丙氧羰基（其亦可作為脒基與胍基之保護基團），可用於保護胍基之硝基，或如：苄基、甲基、三苯甲基或乙醯胺甲基可用於保護如：羥基、氫硫基，等等之基團。R81 與 R82 最好選自：氫、烷基（如：(C₁-C₆)烷基）、芳基（如：苯基）、芳烷基（如：苄基-(C₁-C₂)烷基）及雜芳烷基（如：雜芳基-(C₁-C₂)-烷基），其均可未取代或經取代，且其中雜芳基較佳為含一或二個相同或相異環雜原子（如：N、O 或 S）之單環或雙環芳香環系。更佳者 R81 為氫且 R82 為如上述定義之未取代或經取代殘基。

特別佳者，D 基團代表選自下列之殘基：Arg, Dap, Dab, Orn, Lys, Dap[-C(=NH)-NH₂], Dab[-C(=NH)-NH₂], Lys[-C(=NH)-NH₂], Lys[-C(=NH)-CH₃], Orn[-C(=NH)-CH₃], Dab[-C(=NH)-CH₃], Dap[-C(=NH)-CH₃], Dab(Alloc), Asn, Gln, Met, Ser, Thr, Ser(Bzl), Thr(Bzl), Cys(Me), Cys(Bzl), Cys(Acm), Arg(NO₂), His, Trp, Phg, Gly, Ala, Val, Ile, Leu, Phe, Phe(4-NO₂), Phe(4-NH-C(=NH)-NH₂), 2-Abu, Ala(3-CN), Ala[3-C(=NH)-NH₂], 2-Abu(4-CN)與 2-Abu[4-C(=NH)-NH₂]。特別佳之 D 殘基之副族群選自：(Arg, Dap, Dab, Orn, Lys, Dap[-C(=NH)-NH₂], Dab[-C(=NH)-NH₂], Lys[-C(=NH)-NH₂], Asn, Ser, Thr, Ser(Bzl), Arg(NO₂), Trp, Phg,

五、發明說明 (21)

Ala, Val, Ile, Leu, Phe, 2-Abu, Ala(3-CN), Ala[3-C(=NH)-NH₂], 2-Abu(4-CN)與 2-Abu[4-C(=NH)-NH₂]。

數字 n 為 0、1 或 2 較佳，為 0 或 1 更佳。若 n 為零時，R2 基團直接鍵結 D3 代表之羰基。若 n 不為零時，R2 基團鍵結 E3 末端基團代表之羰基。若 n 為 2 或 3 時，E 基團可相同或相異。

經取代之 R71 與 R72 殘基可分別帶有一個或多個（例如：1、2、3 或 4 個）相同或相異殘基，其最好選自：烷基、烷氧基、鹵素、三氟甲基、硝基、氰基、烷磺醯基、烷羰基、苯羰基及 2-苯基-1, 3-二硫戊環-2-基，其可再經取代。可出現在 R71 與 R72 之取代基副族群包括下列基團：烷基、烷氧基、鹵素、三氟甲基、硝基、氰基、烷磺醯基及烷羰基，其可再經取代。較佳者 R71 為氫且 R72 為如上述定義未取代或經取代殘基。R72 較佳為烷基，特定言之 (C₃-C₈)-烷基，包括環狀烷基（如：環烷基烷基，如：環烷基-(C₁-C₂)-烷基），或芳基（特定言之苯基），或芳烷基（特定言之苯基-(C₁-C₂)-烷基），或雜芳烷基（特定言之雜芳基-(C₁-C₂)-烷基），其中所有殘基均可未取代或經取代，且其中雜芳基較佳為含 1 或 2 個相同或相異環雜原子（如：N、O 與 S）之 5 員或 6 員芳香環。E 基團（群），特別當數字 n 為 1 時，最好選自下列：Phe（其苯基係未取代或經取代）、Cha 與 Chg。特別佳之 E 係選：Cha、Chg 及 Phe[4-C(-S-CH₂-CH₂-S)-Ph]。出現在 E 基團之 R70 基團較佳為氫、烷基（特定言

五、發明說明 (22)

之 (C_1-C_4)-烷基，包括甲基)，或芳烷基（特定言之苯基- (C_1-C_4)-烷基，包括苄基與 2-苯乙基，其苯基可未取代或經取代）。R70 為氫特別佳。

經取代殘基 R21、R22、R23 與 R24 可分別帶有一個或多個（例如：1、2、3 或 4 個）相同或相異殘基，其最好選自：鹵素（特定言之 F、Cl、Br）、羥基、三氟甲基、硝基、氰基、二烷胺基、烷氧基（如：甲氧基）、伸烷二氧基、烷磺醯基、胺磺醯基及氧基 (=O)，其可再經取代。伸烷二氧基實例為亞甲二氧基 ($O-CH_2-O$) 或 1, 2-伸乙二氧基。二烷胺基實例為二甲胺基、二乙胺基或二丁胺基，烷磺醯基實例為甲磺醯基、乙磺醯基或丁磺醯基。R2 較佳為 NR21R22，其中 R21 與 R22 如上述定義。R21 較佳為氫、(C_1-C_4)-烷基或苯基(C_1-C_4)-烷基，其苯基未取代或經取代。R21 為氫特別佳，亦即 NR21R22 為 NHR22 特別佳，因此 R2 為 NHR22 特別佳。R22 為選自下列之殘基特別佳：氫、烷基（特定言之(C_1-C_{12})-烷基），包括環狀烷基（如：環烷基烷基，如：環烷基(C_2-C_{14})-烷基）、芳基（特定言之(C_6-C_{13})-芳基）、芳烷基（特定言之經一或二個(C_6-C_{12})芳基取代之(C_1-C_4)-烷基）、雜芳烷基（特定言之經含一或二個相同或相異雜原子如：N、O 或 S 之單環或雙環雜芳基取代之(C_1-C_4)-烷基），及雜環烷基烷基（特定言之經含一或二個相同或相異雜原子如：N、O 或 S 之 4、5、6 或 7 員雜環烷基取代之(C_1-C_4)-烷基），該等殘基可未取代或如上述經取代。

五、發明說明 (23)

R22 為選自下列之殘基特別佳：氫、苄基、萘甲基、吡啶甲基、苯乙基、萘乙基、吡啶乙基、苯丙基、萘丙基、吡啶丙基、苄基、二苯甲基、二苯乙基、及二苯丙基，其可未取代或經一個或多個（例如：1、2、3 或 4 個）相同或相異取代基取代，該取代基最好選自：F、Cl、Br、羥基、甲氧基、亞甲二氧基、硝基、氰基、二烷胺基、烷磺醯基、胺磺醯基及三氟甲基，其可再經取代。一系列特別佳式 I 化合物係由其中數字 n 不為零，R2 為 NHR22 且 R22 為氫之化合物組成。另一系列特別佳化合物係由其中數字 n 為零，R2 為 NHR22 且 R22 不為氫之化合物組成，此系列化合物中，D 基團為 Asn 較佳。

較佳式 I 化合物為彼等式中一個或多個基團或殘基具有較佳定義者，較佳定義之所有組合為本發明之主題。

一類本發明較佳化合物係由式 I 化合物組成，式中 R1 為 R12C(O)，其中 R12 如上述定義，

A 如上述定義，

B 如上述定義，且 B 較佳為 NH-CHR97-C(O)，其中 R97 為 2-位置經羥羰基取代之乙基，或其鹽或烷氧羰基（如：(C₁-C₄)-烷氧羰基），

D 為 NH-CHR82-C(O)，其中 R82 如上述定義，

En 為 (E1-E2-E3) n，其中

n 為零、1 或 2，

E1 為 NH，

E2 為 CHR72，其中 R72 殘基分別獨立且相同或相異，係

五、發明說明 (24)

如上述定義，

E3 為 C(O)，且

R2 如上述定義，

其呈其任何立體異構型或其依任何比例形成之混合物，及其醫藥上可接受之鹽、醯胺與酯。

一類特別佳化合物係由 I 化合物形成，式中

R1 為烯丙氧羰基或烯丙胺羰基，

A 為(L)-4-脒基苯基丙胺酸殘基，

B 為(L)-麩胺酸殘基或(L)-麩胺酸之醫藥上可接受之鹽或酯，

D 為選自下列之殘基：Arg, Dap, Dab, Orn, Lys, Dap[-C(=NH)-NH₂], Dab[-C(=NH)-NH₂], Lys[-C(=NH)-NH₂], Lys[-C(=NH)-CH₃], Orn[-C(=NH)-CH₃], Dab[-C(=NH)-CH₃], Dap[-C(=NH)-CH₃], Dab(Alloc), Asn, Gln, Met, Ser, Thr, Ser(Bzl), Thr(Bzl), Cys(Me), Cys(Bzl), Cys(Acm), Arg(NO₂), His, Trp, Phg, Gly, Ala, Val, Ile, Leu, Phe, Phe(4-NO₂), Phe(4-NH-C(=NH)-NH₂), 2-Abu, Ala(3-CN), Ala[3-C(=NH)-NH₂], 2-Abu(4-CN)與 2-Abu[4-C(=NH)-NH₂]，

n 為零或 1，

E 為選自下列之殘基：Cha、Chg 及 Phe[4-C(-S-CH₂-CH₂-S-)-Ph]，

R2 為 NHR22，

R22 為氫或選自下列之殘基：苄基、萘甲基、吡啶甲基、苯乙基、萘乙基、吡啶乙基、苯丙基、萘丙基、吡啶丙

五、發明說明 (25)

基、苄基、二苯甲基、二苯乙基、及二苯丙基，該殘基係未取代或經一個或多個選自下列之相同或相異取代基取代：F、Cl、Br、羥基、甲氧基、亞甲二氧基、硝基、氰基、二烷胺基、烷磺醯基、胺磺醯基及三氟甲基，其任何立體異構型或其依任何比例形成之混合物，及其醫藥上可接受之鹽、醯胺與酯。

本發明化合物之明確實例包括例如：下表 2 及實例所列化合物，及其醫藥上可接受之鹽、醯胺與酯，

式 I 化合物可根據例如固相化學方法製備，該方法包括：

a1)由式 Fmoc-En-OH 化合物（其中 n 為 1、2 或 3）與附接樹脂或通常附接固體擔體之酸敏感性連接基偶合，裂解保護基團 Fmoc，由式 Fmoc-D1-D2-C(O)OH 化合物與所得游離胺基偶合，再次裂解保護基團 Fmoc，或製備式 I 中 n 為零之化合物時，由式 fomc-D1-D2-C(O)OH 化合物與附接樹脂或通常附接固體擔體之酸敏感性連接基偶合，並裂解保護基團 Fmoc，

a2)由式 Fmoc-B1-B2-C(O)OH 化合物與 a1)步驟得到之游離胺基偶合，裂解保護基團 Fmoc，

a3)由式 R1-A1-A2-C(O)OH 與 a2)步驟得到之游離胺基偶合，及

a4)利用三氟乙酸自樹脂上裂解根據步驟 a1)至 a3)得到之化合物。

本方法採用之樹脂或連接基型態可使與樹脂或連接基

五、發明說明 (26)

偶合之化合物中羧基分別轉形成醯胺基 $C(O)-NH_2$ ，例如：克諾連接基 (Knorr Linker) 或林克 (Rink) 醯胺樹脂。式中數字 n 為 2 或 3 之化合物製法亦可依下文所述，逐步組合單位 En 進行。步驟 a1) 中，改用式中 n 為 1 之式 Fmoc-En-OH 化合物替代式中 n 為 2 或 3 之式 Fmoc-En-OH 化合物，與附接樹脂之酸敏感性連接基偶合，然後裂解保護基團 Fmoc，再由第二個式中 n 為 1 之 Fmoc-En-OH 化合物與所得游離胺基偶合。製備式中 n 為 3 之化合物時，則裂解保護基團 Fmoc，再由第三個式中 n 為 1 之式 Fmoc-En-OH 化合物與所得游離胺基偶合。最後，裂解保護基團 Fmoc，並進行步驟 a2) 至 a4)。

另一種製備式 I 化合物之方法包括：

- b1) 由式 Fmoc-B1-CHR97-C(O)OPG 化合物 (式中 R97 為 2-羥羧乙基且 PG 為保護基團) 之側鏈羧酸與附接胺基官能化樹脂之酸敏感性苄醇型連接基偶合，
- b2) 裂解保護基團 PG，
- b3) 由式 $H_2N-D2-D3-En-R2$ 化合物 (式中 n 為 0、1、2、或 3) 與步驟 b2) 所得游離羧酸偶合，
- b4) 裂解保護基團 Fmoc，
- b5) 由式 $R1-A1-A2-C(O)OH$ 化合物與步驟 b4) 所得游離胺基偶合，及
- b6) 利用三氟乙酸，自樹脂上裂解根據步驟 b1) 至 b5) 得到之化合物。

類似上述第一種方法之修飾法，於樹脂上逐步組合結

五、發明說明 (27)

構單位 $H_2N-D2-D3-En-R2$ 。根據類似此方法之另一個方法，亦可製備式 I 化合物，其係先由含在 D 基團（亦即含在 R81 與 R82 基團之一）之 D2 基團中側鏈之羧酸根與附接樹脂之連接基偶合。類似上述式 $Fmoc-B1-CHR97-C(O)OPG$ 化合物，此等化合物可例如：如式 $Fmoc-NH-CR81R82-C(O)OPG$ ，其中 R82 如上述定義，但其中包含 $C(O)OH$ 基團，且 R81 如上述定義。例如：R81 可為氫且 R82 可為羥羧甲基，且式 $Fmoc-NH-CR81R82-C(O)OPG$ 化合物可為受保護之天冬胺酸衍生物，脫除 $C(O)OPG$ 基團之保護後，該羧基為式 I 中 D3 基團，所得游離羧酸根再與如式 $H_2N-En-R2$ 或 $H-R2$ 化合物偶合。然後脫除保護基團 $Fmoc$ 後，所得胺基再與式 $Fmoc-B1-B2-C(O)OH$ 化合物偶合，及脫除胺基之保護基團後，產物再與式 $R1-A1-A2-C(O)OH$ 化合物偶合。所採用之樹脂或連接基型態可使化合物中與樹脂或連接基偶合之羧酸根轉形成醯胺基 $C(O)NH_2$ 。例如：使用醯胺樹脂，使附接樹脂之天冬胺酸單位轉化成最終化合物中之天冬醯胺單位。

本發明化合物可利用，例如：自動化合成儀進行化學合成（見實例 1）。選擇性修飾反應性基團如：含在胺基酸側鏈上之基團或肽之 N-末端或 C-末端反應性基團，可賦與所需特性，如：提高本發明化合物之溶解度或加強其抑制功能。若使用固相合成法時，可處理化合物之化學組成，同時使未成熟之肽附接樹脂，或自樹脂上裂解肽，得到例如：N-末端衍生物如：N-末端醯化，例如：乙醯化之

五、發明說明 (28)

化合物。類似之修飾法亦可在化合物之羧基上進行，包括 C-末端羧基，例如：可經醯胺化。

該化合物之製法亦可由受保護之胺基酸根據傳統醫學化學方法或溶液相有機化學方法偶合，且採用相關技藝已知標準方法脫除保護，得到目標分子，通常，合成式 I 化合物之合適反應為固相法或溶液相法，且實驗細節如：合適偶合劑如：碳化二亞胺、TOTU 或 HATU，或溶劑與反應溫度，均係相關技藝習知者，且可參見標準參考文獻，包括本文述及之參考文獻且舉例說明於下文中。

所合成之化合物可採用已知方法純化，如：逆相高效液相層析法 (RP-HPLC，見實例 1) 或其他根據例如：化合物之分子大小、帶電價或疏水性進行之分離法。同樣地，可採用習知方法如：胺基酸序列分析法或質譜法 (MS) 來鑑定本發明化合物之結構 (見實例 1)。

含不同取代基排列之各種不同化合物對 VIIa 因子具有程度不等之抑制活性。例如：取代基之選擇會影響化合物之結合親和性。這些化合物係根據實例所述方法合成。測試肽之抑制活性之方法述於實例 22。相關技藝專家們採用這種方法可合成本文揭示之化合物，包括其修飾法，並測定化合物之 VIIa 因子抑制活性，本發明組合物可呈均一混合物或呈含不同取代基組合之化合物混合物。選擇取代基之彈性可以大幅控制本發明化合物與組合物之生物與物化性質。

本發明提供專一抑制 VII 因子活性之化合物。此等化

五、發明說明 (29)

合物對 VIIa 之 $K_i \leq 500\text{nM}$ 較佳， $\leq 500\text{nM}$ 更佳，且相對於抑制 VIIa 因子，實質上不會抑制涉及凝結作用及血纖維蛋白分解作用連串反應之其他蛋白酶（採用相同抑制劑濃度）。此等其他蛋白酶包括例如：Xa 因子，凝血酶及血纖維蛋白溶酶。

下表 2 出示亦舉例說明本發明之特定式 I 化合物之 VIIa 因子抑制活性（則實例 22 之測定 K_i 方法）。

表 2：特定式 I 化合物之 VIIa 因子抑制活性	$K_i (\mu\text{M})$
Alloc-pAph-Glu-Arg-Cha-NH ₂	0.046
烯丙胺羧基-pAph-Glu-Arg-Cha-NH ₂	0.042
Alloc-pAph-Glu-Arg-Chg-NH ₂	0.238
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	0.012
Alloc-pAph-Glu-Ala[3-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	0.03
Alloc-pAph-Glu-Asn-Cha-NH ₂	0.021
Alloc-pAph-Glu-Dab-Cha-NH ₂	0.055
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH ₂]-NH ₂	0.26
Alloc-pAph-Glu-Gly-Cha-NH ₂	0.12
Alloc-pAph-Glu-Thr(Bzl)-NH-(CH ₂) ₂ -CH(Ph) ₂	0.17
Alloc-pAph-Glu-Dab-NH-(CH ₂) ₂ -Ph	0.38
Alloc-pAph-Glu-Asn-NH-CH ₂ -Chx	0.15
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-CH ₃]-Cha-NH ₂	0.11
Alloc-pAph-Glu-Dab[-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	0.012
Alloc-pAph-Glu-2-Abu(4-CN)-Cha-NH ₂	0.063
Alloc-pAph-Glu-Ala(3-CN)-Cha-NH ₂	0.12
Alloc-pAph-Glu-Asn-1- 萘甲醯胺	0.031
Alloc-pAph-Glu-Asn-1-(1-萘基)乙醯胺	0.021
Alloc-pAph-Glu-Asn-2- 萘甲醯胺	0.027
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4- 二氯苄醯胺	0.026

五、發明說明 (30)

Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(3-氯苯基)乙醯胺	0.023
Alloc-pAph-Glu-Arg(NO ₂)-Cha-NH ₂	0.014
Alloc-pAph-Glu-Cys(Bzl)-Cha-NH ₂	0.026
Alloc-pAph-Glu-Trp-Cha-NH ₂	0.017
Alloc-pAph-Glu-Phg-Cha-NH ₂	0.017
Alloc-pAph-Glu-Asn-9- 苄醯胺	0.023
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,5- 雙三氯甲基苄醯胺	0.033
Alloc-pAph-Glu-Phe(4- 胍基)-Cha-NH ₂	0.12
Alloc-pAph-Glu-D-Phe(4- 胍基)-Cha-NH ₂	11.3
Alloc-pAph-Glu-Orn[-C(=NH)-CH ₃]-Cha-NH ₂	0.13
Alloc-pAph-Glu-Dab[-C(=NH)-CH ₃]-Cha-NH ₂	0.19
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH ₂]-Phe[4-C(-S-(CH ₂) ₂ -S-)-Ph]-NH ₂	0.015
Alloc-pAph-Glu-Gln-NH ₂	1.5
Alloc-pAph-Glu-Orn-NH ₂	6.2
Alloc-pAph-Glu-Gly-Cha-NH ₂	0.12
Alloc-pAph-Glu-Cys(Acm)-Cha-NH ₂	0.12
Alloc-pAph-Glu-Cys(Me)-Cha-NH ₂	0.20
Alloc-pAph-Glu-Cys(Bzl)-Cha-NH ₂	0.026
Alloc-pAph-Glu-Thr(Bzl)-Cha-NH ₂	0.019
Alloc-pAph-Glu-Dab(Alloc)-Cha-NH ₂	0.15
Alloc-pAph-Glu-His-Cha-NH ₂	0.14
Alloc-pAph-Glu-Met-Cha-NH ₂	0.11
Alloc-pAph-Glu-Phe(4-NO ₂)-Cha-NH ₂	0.046
Alloc-pAph-Glu-D-Lys[-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	22
Alloc-pAph-Glu-D-Arg-Cha-NH ₂	12
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4- 亞甲二氧苄醯胺	0.12
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(4- 嗎啉基)乙醯胺	0.41
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2- 萘基)乙醯胺	0.052
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(1- 萘基)乙醯胺	0.022
Alloc-pAph-Glu-Asn-2- 四氫呋喃基甲醯胺	0.17
Alloc-pAph-Glu-Asn-3- 甲基丁醯胺	0.11

五、發明說明 (31)

Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2-吡啶基)乙醯胺	0.071
Alloc-pAph-Glu-Asn-1,2,3,4-四氫-1-萘醯胺	0.045
Alloc-pAph-Glu-Asn-N,N-二苄醯胺	0.41
Alloc-pAph-Glu-Asn-N-甲基-N-(1-萘甲基)醯胺	1.7
Alloc-pAph-Glu-Asn-2,2-二苄基乙醯胺	0.049
Alloc-pAph-Glu-Asn-2,4-二氯苄醯胺	0.051
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(4-胺磺醯苄基)乙醯胺	0.35
Alloc-pAph-Glu-Asn-4-二甲胺苄醯胺	0.11
Alloc-pAph-Glu-Asn-(CH ₃ -)Cha-NH ₂	0.062
Alloc-pAph-Glu-Asn-3-苄基丙醯胺	0.026
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,3-二苄基丙醯胺	0.024
Alloc-pAph-Glu-Asn-4-甲氧苄醯胺	0.083
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4-二氯苄醯胺	0.026

上述化合物之凝血酶活性可以 Ki 值表示，其通常遠高於上述 VIIa 因子抑制活性，例如為 VIIa 因子抑制活性之約 200 或約 500 或約 1000 倍，此外，上述化合物之 Xa 因子抑制活性以 Ki 值表示，通常遠高於上述 VIIa 因子抑制活性，例如：為 VIIa 因子抑制活性之約 100 倍。

這些結果證明式 I 化合物適用為 VIIa 因子之抑制劑，但實質上不會抑制涉及血液凝結與血纖維蛋白溶解作用之 Xa 因子或絲胺酸蛋白酶，如：凝血酶之活性。

本發明化合物宜用為抗凝血劑，可與血樣接觸而防止凝結。例如：可由有效量本發明化合物與新鮮抽出之血樣接觸，來防止血樣凝結。本文中提及本發明化合物時採用之“有效量”一詞係指抑制 VIIa 因子活性之化合物用量。相關技藝專家們咸了解，本發明化合物之有效量可採用本

五、發明說明 (32)

文揭示之方法 (見實例 22) 或相關技藝已知之方法測定。就所揭示之本發明化合物用途而言，如：肝素之製劑可改由本發明化合物替代。本發明化合物之這種用法結果例如：相對於其他抗凝血劑較節省成本。

此外，本發明化合物可投與個體供處理多種不同臨床病症，包括例如：治療心血管病變或與例如：感染或手術相關之併發症。心血管病變實例包括血管造形術後之再狹窄、成人呼吸困難症候群、多器官衰竭、中風及多發性血管內凝結血塊病變。與手術有關之相關併發症實例包括例如：可能在手術後發生之深部靜脈與近側靜脈栓塞。因此本發明化合物適用為減少或抑制某個體不期望之凝結作用之醫藥。

由於本發明化合物可抑制 VIIa 因子活性，因此此等化合物通常適用於減少或抑制某個體之血液凝塊，本文中採用之“個體”指脊椎動物，包括哺乳動物，如：人類，其中 VIIa 因子涉及凝塊之連串反應。

對個體投與醫療有效量之本發明化合物可減少或抑制該個體之血液凝塊，本文中採用之“醫療有效量”一詞係指必須投與某個體以抑制該個體之 VIIa 因子活性之化合物劑量。更明確言之，本發明化合物之醫療有效量可含在凝血酶原酶複合物中或呈可溶性副單位直接抑制 VIIa 因子因子催化活性，或抑制 VIIa 因子結合形成凝血酶原酶複合物，而間接抑制 VIIa 因子催化活性。較佳化合物抑制 VIIa 因子活性之 $K_i \leq 500\text{nM}$ ，更佳化合物之 $K_i \leq 500\text{nM}$ 。醫療有

五、發明說明 (33)

效量可使用述於例如：實例 22 之方法或相關技藝已知之方法測定。

操作本發明之醫療法時，投與個體之醫藥組合物要達到醫療有效量之特定劑量依多種因素而定，包括例如：疾病之性質與嚴重性，投藥計劃及個體之年齡與物理特性。適當劑量可採用醫學技藝中習知之臨床方法建立。因此本發明提供一種明確抑制 VIIa 因子活性之方法，其係使 VIIa 因子與如式 R1-A-B-D-En-R2 化合物接觸。本發明尚提供一種減少或抑制個體形成血液凝塊之方法，其係投與醫療有效量之本發明化合物。

本發明化合物通常呈包含一種或多種式 I 化合物及醫藥上可接受之載體之組合物投與個體。“醫藥上可接受之載體”係指對個體無毒或經由適當管理機構判定其毒性在可接受範圍內之介質或組合物。本文中採用之“醫藥上可接受之載體”一詞包括任何標準醫藥用載體，包括固體載體物質，如：玉米澱粉、乳糖、脂肪、蠟類，等等，或液體，如，例如：磷酸鹽緩衝食鹽水、水、乳液如：油／水或水／油乳液，及／或一般添加物，例如：任何型態之溼化劑。合適之醫藥載體及其調配物說明於：“Martin in Remington's Pharmaceutical Sciences,” 15th ed. (Mack Publishing Co., Easton, 1975)，該文獻已以提及之方式併入本文中。此等組合物通常包含醫療有效量之本發明化合物及適量載體，以便形成可投與個體之適當劑量。因此本申請專利之化合物適用為抑制某個體之 VIIa 因子活性及血

五、發明說明 (34)

液凝塊之醫藥。

本發明醫藥組合物或醫藥可經口投藥，例如：呈丸劑、片劑，塗覆片劑、包衣片劑、粒劑，硬性與軟性明膠囊、溶液、糖漿、乳液、懸浮液或氣溶膠混合物。然而，亦可例如：呈塞劑形式，經直腸投藥，或呈注射溶液或輸液，微膠囊，植入物或桿狀，進行非經腸式投藥，例如：經靜脈內、肌內或皮下投藥，或呈例如：軟膏，溶液或酏劑形式，經皮膚或局部投藥，或依其他方式，例如：呈氣溶膠或鼻噴液形式投藥。式 I 活性成份或其醫藥上可接受之鹽或衍生物於醫藥組合物單位劑量中之含量通常約 0.5 毫克至約 1000 毫克，以約 1 毫克至約 500 毫克較佳，但隨醫藥組合物之型態而異，該用量亦可能提高。投與之式 I 化合物每日劑量可為單一每日劑量，或可分成數個（例如：2,3 或 4 個）小部份投藥。

醫藥上可接受之載體亦可包括例如：可加強式 I 化合物作為 VIIa 因子抑制劑之醫藥功能之其他介質、化合物或修飾作用。醫藥上可接受之介質可包括例如：醫藥上可接受之鹽。式 I 化合物之酸加成鹽可例如：與無機酸（如：鹽酸、氫溴酸、磷酸、硫酸或過氯酸）或與有機羧酸（如：乙酸、草酸、馬來酸、蘋果酸、甲酸、乳酸、酒石酸、檸檬酸、琥珀酸或丙二酸）或與有機磺酸（如：甲磺酸或對甲苯磺酸）形成之鹽。式 I 化合物之酸根，例如：羧酸根可形成金屬鹽，其陽離子則以鹼金屬及鹼土金屬為主（如：鈉、鋰、鉀、鈣或鎂），及無毒性銨鹽，包

五、發明說明 (35)

括四級銨鹽及與胺形成之酸加成鹽，例如：銨、甲銨、二甲銨、三甲銨、四甲銨、乙銨、三乙銨或四乙銨鹽。

可加強化合物醫藥功能之修飾法實例包括例如：酯化，如：形成(C₁-C₆)-烷基酯，以(C₁-C₄)-烷基酯較佳，其中烷基為直鏈或分支鏈。其他可接受之酯包括例如：(C₅-C₇)-環烷基酯及芳烷基酯如：苄酯。此等酯可由本文說明之化合物採用肽化學上習知之一般方法製備。

醫藥上可接受之修飾法亦可包括例如：肽鹽胺之形成。此等可於本發明化合物上進行之鹽胺修飾法包括例如：彼等衍生自氨、一級(C₁-C₆)-烷胺及二級=(C₁-C₆)-烷胺，其中烷基為直鏈或分支鏈，或具不同取代之芳胺，若為二級胺時，該胺亦可為 5 或 6 員雜環，其中除了鹽胺氮原子外，尚可包含未取代或經取代之氮原子、氧原子或硫原子。製備此等鹽胺之方法係相關技藝習知者。

本發明另一項具體實施例中，可於分析法中使用本發明化合物來鑑別 VIIa 因子之存在或單離實質上呈純化型之 VIIa 因子。較佳者，本發明化合物標識例如：放射性同位素，且採用適用於檢測特定標識物之例行方法檢測有標識之化合物。此外，本發明化合物宜用為探針，於活體內，試管內或活體外檢測 VIIa 因子活性之位置或含量。

咸了解，不會實質影響本發明多種不同具體實施例之活性之修飾法亦包括在本文揭示之本發明中。因此，下列實例希望說明本發明但未加以限制。

五、發明說明 (36)

實例 1：肽合成法及一般合成法

合成法所採用之起始物來自化學廠商，如：艾力奇 (Aldrich)、希格馬 (Sigma)、富卡 (Fluka)、諾瓦生化 (Nova Biochem) 及先進化學科技 (Advanced Chemtech)。合成期間，所採用胺基酸衍生物之官能基採用封端基團保護，以防止偶合步驟期間出現副反應。合適保護基團實例及其用法說明於上述文獻 The Peptides, 1981, 及 Vol. 9, Udenfriend and Meienhofer (eds.), 1987, 該文獻已以提及之方式併入本文中。

採用一般固相肽合成法產生本發明化合物，這種方法說明於例如：Steward and Young, Solid Phase Peptide Synthesis (Freeman & Co., San Francisco, 1969)，該文獻已以提及之方式併入本文中。

除非另外說明，否則肽係於 Tenta Gel S NH₂ 樹脂 (Rapp Polymere, Tübingen, Germany) 上合成。使酸敏感性連接基 p-[(R,S)- α -[1-(9H-芴-9-基)甲氧甲醯胺基]-2,4-二甲氧苄基]苯氧乙酸 (克諾連接基) 偶合固體擔體 (Bernatowicz et al., Tetr. Lett, 30 (1989), 4656, 該文獻已以提及之方式併入本文中)，或者，於與 1% 二乙烯苯交鏈且經酸敏感性連接基修飾之聚苯乙烯樹脂上合成 (林克樹脂) (Rink, Tetr. Lett, 28 (1987) 3787; Sieber, Tetr. Lett, 28 (1987) 2017, 各該文獻已以提及之方式併入本文中)。當合成肽時，首先使式 Fmoc-B1-CHR⁹⁷-C(=O)OPG 化合物之側鏈羧酸與樹脂偶合，該樹脂為經附接 HMPA 連接基

五、發明說明 (37)

而修飾之 Tenta Gel S NH₂ 樹脂。於一當量 HOBt 之存在下，使用 N, N'-二異丙基碳化二亞胺(DIC)進行偶合，但 Alloc-pAph-OH 則使用 2 當量 HOBt。所有偶合反應均在 N, N-二甲基甲醯胺(DMF)或 DMF/DMSO(1/1 混合物)中，於室溫(RT)下進行。以茚滿三酮試驗追蹤偶合反應是否完成。若第一次偶合反應不完全時，則進行第二次偶合反應。

採用 50%六氫吡啶，於 DMF 中，脫除 Fmoc 基團之保護 2+10 分鐘。脫除保護後，測定溶液於 300nm 之吸光度，合成法中使用之洗液體積及樹脂重量，決定 Fmoc 釋出量。

各偶合循環如下：

步驟：作用／試劑	溶劑
1 0.5 克官能化肽樹脂	
2 3 倍過量之胺基酸衍生物/HOBt/DIC	4 毫升 DMF
3 偶合(分鐘，1 小時)	
4 洗條(3 x 5 毫升)	DMF
5 茚滿三酮試驗	
6 脫除保護(2 + 10 分鐘)	
六氫吡啶／DMF	5 毫升 50%
7 洗滌(6 x 5 毫升)	DMF
8 自步驟 2 開始重覆	

五、發明說明 (38)

於樹脂上完成肽之組合後，若需要時脫除最終 Fmoc 之保護。肽樹脂再以 DMF 及 DCM 依序洗滌，然後裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚(95/5)混合物脫除保護 1.5 小時，除非另有說明。以 DCM 洗滌樹脂，DCM 洗液與 TFA 釋出液合併。溶液蒸發，產物經無水乙醚沈澱，過濾或離心分離固體沈澱，經固體 KOH 丸粒真空乾燥。固體再溶於水與乙腈之

混合物中，冷凍乾燥。

乾燥之肽使用含 0.1%TFA 之水及乙腈 (ACN) 適當梯度進行 HPLC 純化。收集含有所需合成產物之高峰後，肽溶液冷凍乾燥，取肽進行鑑定，包括電子噴灑質譜(MS) 及/或 NMR 及/或胺基酸分析法，以確定合成正確化合物。

進行 HPLC 分析時，取產物樣本使用貝克曼 (Beckman)HPLC 系統(包括 126 溶劑傳送系統，166 調控式檢測器 507e 型自動取樣機，由附 Gold Nouveau 軟體之數據站控制)及 YMC ODS-AM 4.6 x 250mm 管柱，230 nm，流速 1 毫升/分鐘分析。

純化產物時，取冷凍乾燥之肽粗產物樣本溶於含 10% 至 50%ACN 之 0.1%TFA 水溶液之混合物中。肽溶液通常經連接 0.45 微米 “ACRODISC” 13 CRPTFE (Gelman Sciences ; Ann Arbor MI)濾器之針筒過濾。取適當體積已過濾之肽溶液注入半製備性 C18 管柱(Vydac Protein and Peptide C18, 218 TP 1022 (22 x 250 mm) ; The Separation

五、發明說明 (39)

Group ; Hesperia CA, 或 YMC ODS-A 管柱(20 x 250 mm), YMC, Inc., Wilmington, NC)。作為溶離液之 0.1%TFA 緩衝液與 ACN(HPLC 級)之梯度或等濃度混合物之流速採用 Beckman “SYSTEM GOLD” HPLC (Beckman , System Gold , 可調控溶劑 126 型及可調控檢測器 166 型以 “SYSTEM GOLD” 軟體控制)。於 230 nm, 以 UV 檢測追蹤肽之溶離, 採用 MS , 相應於合成之化合物鑑別吸收高峰, 收集化合物, 冷凍乾燥, 進行生物試驗。採用 VG 平台(Fisons Instruments)儀器, ES+型, 進行 MS。測定 NMR 時, 主要採用 Bruker Avance DP x 300 儀器, 於 DMSO-d6(艾力奇公司)中測定樣本。

實例 2： Alloc-pAph-OH 之合成法

依相同方法應用在 Alloc-D-pAph-OH

Alloc-Phe (4-CN)-OH

取 5.7 克(30 毫莫耳)H-Phe(4-CN)-OH 溶於冰冷却下之添加 2M NaOH 至 PH=10 之 100 毫升 1M NaOH 中。在激烈攪拌下, 緩緩添加氯甲酸烯丙酯(7.5 毫升)(以 2M NaOH 保持 PH 10)。反應混合物於 0°C 下攪拌 15 分鐘, 於 RT 下 30 分鐘, 以 HCl 酸化至 PH=2, 以乙酸乙酯萃取 3 次, 以 MgSO₄ 脫水, 蒸發。殘質自乙酸乙酯/己烷中再結晶, 產生白色固體。收率: 7.0 克(85%)。

五、發明說明 (40)

Alloc-Phe[4-C(=S)-NH₂]-OH

取 2.74 克 Alloc-Phe(4-CN)-OH 溶於吡啶(50 毫升)與三乙胺(20 毫升)之混合物中，使 H₂S 通過 30 分鐘。反應混合物保持 RT 一夜，蒸發。經高度真空乾燥，產生 3.21 克硫醯胺粗產物之固體泡沫狀物，直接用於轉化成甲硫亞胺酸酯。

Alloc-Phe[4-C(=NH)-SCH₃]-OH.HI

取 1 克 Alloc-Phe[4-C(=S)-NH₂]-OH 溶於丙酮(50 毫升)中，添加甲基碘(5 毫升)。反應混合物保持 RT 一夜，蒸發揮發性物質(快速，最高 35°C)，以乙醚處理殘質。於 0°C 下 1 小時後，傾析醚，以乙醚洗滌產物，真空乾燥。得到之黃色固體直接轉化成脒，

Alloc-pAph-OH

取所有 Alloc-Phe (4-C(=NH)-SCH₃) -OH.HI 溶於含 300 毫升乙酸之 50 毫升甲醇中，添加 0.5 克乙酸銨。混合物加熱至 55°C 3 小時，蒸發及添加 10 毫升丙酮。於 0°C 下 2 小時後，過濾固體產物，以少量冷丙酮，少量冷甲醇及乙醚洗滌，真空乾燥，產生黃色固體。收量：0.53 克。

五、發明說明 (42)

化，以 MS 鑑定。(M+H)⁺：實測值：728.3，計算值：728.4。

實例 5: Alloc-pAph-Glu-Arg-Chg-NH₂ 之合成法

使克諾醯胺連接基附接 1 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂（取代度 0.26 毫莫耳／克）。根據實例 1 所示一般方法，偶合下列受保護之胺基酸：Fmoc-Chg-OH，Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH 及 Alloc-pAph。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚(95/5)脫除保護 3 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。(M+H)⁺：實測值：715.8，計算值：715.4。

實例 6: Alloc-D-pAph-Glu-Arg-Cha-NH₂ 之合成法

由克諾醯胺連接基附接 1 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂（取代度 0.26 毫莫耳／克）。根據實例 1 之一般方法，偶合下列受保護之胺基酸：Fmoc-Cha-OH，Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH 及 Alloc-D-pAph-OH（根據實例 2 中 Alloc-pAph-OH 之相同方法合成）。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚(95/5)脫除保護 3 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。(M+H)⁺：實測值：729.2，計算值：729.4。

實例 7: Alloc- pAph-Glu-Phe(4-胍基)-Cha-NH₂ 之合成法

使克諾醯胺連接基附接 0.25 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

五、發明說明 (43)

(取代度 0.23 毫莫耳／克)。根據實例 1 所示一般方法，偶合下列受保護之胺基酸：Fmoc-Cha-OH，Fmoc-Phe(4-NH-C(=NBOC)-NH-BOC)-OH，Fmoc-Glu(OtBu)-OH 及 Alloc-pAph-OH。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚(95/5)脫除保護 1 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述進行 HPLC，以 MS 鑑定。(M+H)⁺：實測值：777.1，計算值：777.4。

實例 8: Alloc- pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH₂]-Cha-NH₂ 之合成法

使克諾醯胺連接基附接 0.25 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂 (取代度 0.23 毫莫耳／克)。根據實例 1 所示一般方法，偶合下列受保護之胺基酸：Fmoc-Cha-OH，Fmoc-Dap[C(=N-BOC)-NH-BOC]-OH，Fmoc-Glu(OtBu)-OH 及 Alloc-pAph-OH。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚(95/5)脫除保護 1 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述進行 HPLC，以 MS 鑑定。(M+H)⁺：實測值：729.1，計算值：729.4。

實例 9: Alloc- pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-CH₃]-Cha-NH₂ 之合成法

由克諾醯胺連接基附接 0.25 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂 (取代度 0.26 毫莫耳／克)。根據實例 1 之一般方法，偶合下列受保護之胺基酸：Fmoc-Cha-OH，及 Fmoc-

五、發明說明 (44)

Dap(Alloc)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH。N-末端附接 Fmoc-保護基團，以 DMF/NMM/AcOH(5/0.5/1)混合物洗滌樹脂，通入氬氣且恆定攪拌下，以 3 小時時間添加 100 毫克 $\text{Pd}(\text{P}(\text{Ph})_3)_4$ ，脫除 Alloc 基團之保護。以 DMF 洗滌樹脂，以含 150 毫克 2-甲基萘基乙醯硫亞胺酸酯之 4 毫升乙醇/DMSO(3/1)溶液處理 1 小時。以 DMF 洗滌後，脫除 Fmoc 基團之保護(1+5 分鐘)，偶合 N-末端 Alloc-pAph-OH。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚(95/5)脫除保護 1 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。 $(\text{M}+\text{H})^+$:實測值:700.1，計算值:700.4。

實例 10: Alloc- pAph-Glu-Ala[3-C(=NH)-NH₂]-Cha-NH₂ 之
合成法

由克諾醯胺連接基附接 0.25 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂 (取代度 0.26 毫莫耳/克)。根據實例 1 之一般方法，偶合下列受保護之胺基酸: Fmoc-Cha-OH, Fmoc-Ala(3-CN)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH 及 Fmoc-Phe(4-CN)-OH。取含吡啶與三乙胺(2/1)混合物經 H₂S 飽和(RT, 15-30 分鐘)，添加此溶液至經吡啶/三乙胺(2/1)預洗滌之樹脂中。靜置一夜後，以丙酮洗滌樹脂，以 20% 甲基碘之丙酮溶液處理一夜，以丙酮及甲醇洗滌樹脂。樹脂與含 10 當量乙酸銨之含 0.5% 乙酸之甲醇溶液加熱(水浴 55°C, 3 小時)，使與樹脂結合之甲硫亞胺酸酯轉化成脒。經過這次最後轉化後，以甲醇，DMF, DCM 洗滌樹脂。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (45)

(95/5)脫除保護 1 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述，進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。 $(M+H)^+$:實測值:685.9，計算值：686.4。

實例 11: Alloc- pAph-Glu-Asn-Cha-NH₂ 之合成法

脫除 Fmoc 之保護後，在 0.125 克林克樹脂（取代度 0.78 毫莫耳／克）上，根據實例 1 所述一般方法偶合下列受保護之胺基酸: Fmoc-Cha-OH, Fmoc-Asn-OH, Fmoc- Glu(OtBu)-OH 及 Fmoc-pAph-OH。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚 (95/5)脫除保護 1 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述進行 HPLC，以 MS 鑑定。 $(M+H)^+$:實測值:686.9，計算值：687.3。

實例 12: Alloc- pAph-Glu-Dab-Cha-NH₂ 之合成法

使克諾醯胺連接基附接 0.25 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂（取代度 0.26 毫莫耳／克）。根據實例 1 所示一般方法，偶合下列受保護之胺基酸: Fmoc-Cha-OH, Fmoc-Dab(Boc)-OH, Fmoc- Glu(OtBu)-OH 及 Alloc- pAph。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚(95/5)脫除保護 1 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述進行 HPLC，以 MS 鑑定。 $(M+H)^+$:實測值:673.2，計算值：673.4。

實例 13: Alloc- pAph-Glu-Ala[3-C(=NH)-NH₂]-NH₂ 之合成法

五、發明說明 (46)

由克諾醯胺連接基附接 0.25 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂 (取代度 0.26 毫莫耳/克)。根據實例 1 之一般方法，偶合下列受保護之胺基酸：Fmoc-Ala(3-CN)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH 及 Fmoc-Phe(4-CN)-OH。取含吡啶與三乙胺 (2/2) 混合物經 H₂S 飽和 (RT, 15-30 分鐘)，添加此溶液至經吡啶/三乙胺 (2/1) 預洗滌之樹脂中。靜置一夜後，以丙酮洗滌樹脂，以 20% 甲基碘之丙酮溶液處理一夜，以丙酮及甲醇洗滌樹脂。樹脂與含 10 當量乙酸銨之含 0.5% 乙酸之甲醇溶液加熱 (水浴 55°C, 3 小時) 使與樹脂結合之甲硫亞胺酸酯轉化成脒。經過這次最後轉化後，以甲醇，DMF, DCM 洗滌樹脂。裂解脒，以 TFA/硫苯甲醚 (95/5) 脫除保護 1 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述，進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。(M+H)⁺: 實測值: 533.3，計算值: 533.2。

實例 14: Alloc- pAph-Glu-Gly-Cha-NH₂ 之合成法

脫除 Fmoc 之保護後，在 0.150 克林克樹脂 (取代度 0.78 毫莫耳/克) 上，根據實例 1 所述一般方法偶合下列受保護之胺基酸：Fmoc-Cha-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH 及 Alloc-pAph-OH。裂解脒，以 TFA/硫苯甲醚 (95/5) 脫除保護 1 小時，依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。(M+H)⁺: 實測值: 630.1，計算值: 630.3。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

五、發明說明 (47)

實例 15: Alloc- pAph-Glu-Asn-(Ph-CH₂-CH₂-)Gly-NH₂ 之合成法

N-經取代之甘胺酸係採用祖克曼(Zuckermann)等人之方法(J. Am. Chem. Soc.,114(1992) 10646, 該文獻已以提及之方式併入本文中)。脫除 Fmoc 之保護後, 在 0.1 克林克樹脂(取代度 0.78 毫莫耳/克)上,

利用含對稱酸酐之 DCM/DMF 偶合溴乙酸。10 分鐘後, 以 DCM 洗滌樹脂, 再重覆偶合一次。以 DCM 及 DMF 洗滌後, 以 1M2-苯乙胺之 DMSO 溶液處理樹脂一夜。以 DMF 洗滌後, 樹脂現在帶著殘基(Ph-CH₂-CH₂-)NH-CH₂-C(0)附接連接基, 與含 Fmoc-Asn(Trt)-OH 之對稱酸酐於 DCM/DMF 中反應。脫除 Fmoc 之保護後, 根據實例 1 之一般方法偶合下列受保護之胺基酸: Fmoc-Glu(OtBu)-OH 及 Alloc-pAph-OH。裂解肽, 以 TFA/硫苯甲醚(95/5)脫除保護 1 小時, 依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述, 進行 HPLC 純化, 以 MS 鑑定。(M+H)⁺: 實測值:694.9, 計算值: 695.3。

實例 16: Alloc- pAph-Glu-Thr(Bzl)-NH-CH₂-CH₂-CH(Ph)₂ 之合成法

H-Thr(Bzl)-NH-CH₂-CH₂-CH(Ph)₂.HCl

取 0.62 克(2 毫莫耳)Boc-Thr(Bzl)-OH 溶於 10 毫升

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (48)

DCM 中，添加 2 毫莫耳三乙胺，溶液冷卻至 0℃。緩緩攪拌添加 2 毫莫耳氯甲酸異丁酯。離開冷卻槽，溶液攪拌 15 分鐘，添加 2.5 毫莫耳 3,3-二苯基丙胺之 2 毫升 DMF 溶液，於室溫下攪拌 1 小時。溶液蒸發，溶於乙酸乙酯中，以 0.5MKHSO₄，飽和 NaHCO₃ 溶液及鹽水萃取，以 MgSO₄ 脫水及蒸發。油狀產物溶於 10 毫升 DCM 中，添加 10 毫升 4M 鹽酸之二氧陸園溶液。10 分鐘後，蒸發溶劑，鹽酸鹽產物經乙醚沈澱，過濾，以乙醚洗滌，真空乾燥，產生白色固體。MS 分析法：(M+H)⁺:實測值:403.1，計算值：403.2。

Alloc-pAph-Glu-Thr(Bzl)-NH-CH₂-CH₂-CH(Ph)₂

在 0.5 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂（取代度 0.26 毫莫耳/克）上附接 4-羥甲基苯氧乙酸（3 當量，經 DIC/HOBt 活化 1.5 小時）。採用 DIC/HOBt/NMI，於 DMF 中，使 Fmoc-Glu(OH)-O-烯丙基經由側鏈附接樹脂。樹脂與 Pd(PPh₃)₄ 於 DMF/AcOH/NMM(10/2/1)於氫氣下振盪 4 小時，脫除烯丙基保護基團。脫除保護之羧基經含 0.5 毫莫耳 BOP，0.5 毫莫耳 HOBt，1.5 毫莫耳 DIEA 及 0.5 毫莫耳 H-Thr(Bzl)-NH-CH₂-CH₂-CH(Ph)₂.HCl 之 1.5 毫升 DMF 之溶液活化 2 小時。脫除 Fmoc 之保護後，根據實例 1 之一般方法，偶合 Alloc-pAph-OH。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚 (95/5) 脫除保護 1.5 小時，並依實例 1 所述處理。粗化合物

五、發明說明 (49)

依實例 1 所述，進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。(M+H)⁺: 實測值:805.0，計算值：805.4。

實例 17: Alloc-pAph-Glu-Dab-NH-CH₂-CH₂-Ph 之合成法

在 0.2 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂（取代度 0.26 毫莫耳/克）上附接 4-羥甲基苯氧乙酸（2.5 當量，經 DIC/HOBt 活化 4 小時）。於 DCM 中，以 CBr₄(5 當量)/P Ph₃(5 當量)處理樹脂 4 小時，以溴取代羥基。以 2M 苯乙胺之 DCM 溶液處理經溴衍化之樹脂一夜。使用 TFFH/DIEA（於原位產生之鹽基氟化物），使 Fmoc-Dab(Boc)-OH 與樹脂偶合。根據實例 1 之一般方法，偶合下列受保護之胺基酸：Fmoc-Glu(OtBu)-OH 與 Alloc-pAph-OH。裂解肽，以 TFA/三異丙基矽烷(95/1)脫除保護 2 小時，蒸發 TFA，肽溶於 H₂O/ACN 中，冷凍乾燥，粗產物依實例 1 之方法，進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。(M+H)⁺: 實測值:624.2，計算值：624.3。

實例 18: Alloc- pAph-Glu-NH-CH₂-CH₂-CN 之合成法

在 0.2 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂（取代度 0.26 毫莫耳/克）上附接 4-羥甲基苯氧乙酸（3 當量，經 DIC/HOBt 活化 1.5 小時）。採用 DIC/HOBt/NMI，於 DMF 中，使 Fmoc-Glu(OH)-O-烯丙基經由側鏈附接樹脂。樹脂與 Pd(P Ph₃)₄ 於 DMF/AcOH/NMM(10/2/1)中於氫氣下振盪 4 小時，脫除烯丙基保護基團。脫除保護之羧基經 DIC(3 當

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明 (50)

量)/HOBt(3 當量)活化 10 分鐘，添加 2-氟基乙胺(3 當量)之 DMF 溶液至樹脂中 3 小時。脫除 Fmoc 之保護後，根據實例 1 之一般方法，偶合 Alloc-pAph-OH。裂解肽，以 TFA/硫苯甲醚(99/1)脫除保護 2 小時。蒸發 TFA，肽溶於 H₂O/ACN 中，冷凍乾燥，粗化合物依實例 1 所述，進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。(M+H)⁺:實測值:473.1，計算值:473.2。

實例 19: Alloc- pAph-Glu-Asn-NH-CH₂-Chx 之合成法

使克諾醯胺連接基附接 0.1 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂(取代度 0.26 毫莫耳/克)。使 Fmoc-Asp(OH)-O-烯丙基利用側鏈偶合連接基，並依實例 18 脫除烯丙基保護基團。脫除保護之羧基經 DIC(5 當量)/HOBt(5 當量)活化，以 2.5 小時時間添加環己基甲胺(5 當量)。脫除 Fmoc 之保護後，根據實例 1 之一般方法，偶合 Alloc-Glu(OtBu)-OH 與 Alloc-pAph-OH。裂解肽，以 TFA/三異丙基矽烷(99/1)脫除保護 2 小時，蒸發 TFA，肽溶於 H₂O/ACN 中，冷凍乾燥，粗產物依實例 1 所述，進行 HPLC 純化，以 MS 鑑定。(M+H)⁺:實測值:629.9，計算值:630.3。

實例 20: Alloc-pAph-Glu-Asn-NH-CH₂-CH₂-Ph 之合成法

2-(S)-[2-(S)-烯丙氧羰胺基-3-(4-胺甲醯亞胺基-苯基)丙醯胺基]戊二酸 5-第三丁酯 1-甲酯鹽酸鹽。

於-15℃下，添加 TOTU(3.83 克，11.67 毫莫耳)與 N-

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (51)

乙基嗎啉(2.7 毫升, 21.2 毫莫耳)至含 2-(S)-烯丙氧羰胺基-3-(4-胺甲醯亞胺基)丙酸鹽酸鹽(3.48 克, 10.6 毫莫耳)與 2-(S)-胺基戊二酸 5-第三丁酯 1-甲酯鹽酸鹽(2.7 克, 10.6 毫莫耳)之 20 毫升 DMF 溶液中, 混合物攪拌 1 小時後, 使之回升室溫。蒸發乙酸乙酯後, 加至殘質中, 以碳酸氫鈉水溶液, 硫酸氫鉀水溶液及水萃取有機層。有機層蒸發。收量: 2.8 克(50%)。MS:m/z=491.3(M+H)⁺。

2-(S)-[2-(S)-烯丙氧羰胺基-3-(4-胺甲基醯亞胺基-苯基)-丙醯胺基]戊二酸 5-第三丁酯。

添加氫氧化鋰水合物(0.49 克, 11.6 毫莫耳)至含 2-(S)-[2-(S)-烯丙氧羰胺基-3-(4-胺甲醯亞胺基-苯基)-丙醯胺基]戊二酸 5-第三丁酯 1-甲酯鹽酸鹽(3.06 克, 5.8 毫莫耳)之 100 毫升與 30 毫升 THF 中。溶液於室溫下攪拌 12 小時, 蒸發及冷凍乾燥。殘質經 Sephadex LH 20 使用正丁醇/冰醋酸/水(17/1/2)為溶離液進行層析純化。合併純溶離份。蒸發溶劑, 殘質溶於水中, 水溶液冷凍乾燥。收量: 2.7 克(97%)。MS:m/z=477.4(M+H)⁺。

4-(S)-[2-(S)- 烯丙氧羰胺基-3-(4-胺甲醯亞胺基-苯基)-丙醯胺基]-4-[2 胺甲醯基-1-(S)-(2-苯乙基胺甲醯基)-乙基胺甲醯基]丁酸鹽酸鹽(Alloc-pAph-Glu-Asn-NH-CH₂-CH₂-Ph)

於 0°C 下添加 HATU(39 毫克, 0.1 毫莫耳)與 2,4,6-三甲基吡啶(24.2 毫克, 0.2 毫莫耳)至含 2-(S)-[2-(S)-烯丙氧羰胺基-3-(4-胺甲醯亞胺基-苯基)-丙醯胺基]戊二酸 5-第三丁酯(48 毫克, 0.1 毫莫耳)及 2-(S)-胺基-N1-苯乙基-琥珀醯

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (52)

胺鹽酸鹽(27 毫克,0.1 毫莫耳)之 5 毫升 DMF 中。混合物攪拌 1 小時後，使之回升至室溫。蒸發後，殘質經 Sephadex LH 20 使用正丁醇／冰醋酸／水(17/1/2)為溶離液層析純化。合併純溶離份。蒸發溶劑，殘質溶於水中，水溶液冷凍乾燥。收量：45 毫克 (66%)。MS:m/z=638.4(M+H)⁺。

實例 21:Alloc-pAph-Glu-Asn-NH-(3-氯苄基)之合成法

於-0°C下，添加 TOTU(36 毫克，0.11 毫莫耳)及 N-乙基嗎啉(57 微升，0.4 毫莫耳)至含 Z-(S)-[2-(S)-烯丙氧羰胺基-3-(4-胺甲醯亞胺基-苄基)-丙醯胺基]戊二酸 5-第三丁酯(50 毫克，0.105 毫莫耳)與 2-(S)-胺基-N1-(3-氯苄基)琥珀醯胺三氟乙酸鹽(61 毫克，0.16 毫莫耳)之 5 毫升 DMF 中。混合物攪拌 1 小時後，使之回升室溫。蒸發後，殘質經 Sephadex LH 20 使用正丁醇／冰醋酸／水(17/1/2)為溶離液層析純化。合併純溶離份。蒸發溶劑，殘質溶於水中，水溶液冷凍乾燥。4-(S)-[2-(S)- 烯丙氧羰胺基-3-(4-胺甲醯亞胺基-苄基)丙醯胺基]-4-(2-胺甲醯基-1(S)-(3-氯苄基胺甲醯基)-乙基胺甲醯基)丁酸(Alloc-pAph-Glu-Asn-NH-(3-氯苄基)或 Alloc- pAph-Glu-Asn-3-氯苄基醯胺)之收量：28 毫克(41%)。MS:m/z=658.3(M+H)⁺。

類似上述實例製備之其他實例化合物列於上表 2。

實例 22:測定對 FVIIa 抑制作用之 Ki

五、發明說明 (53)

基本上依過去文獻說明之呈色分析法，測定各化合物對 Vlla 因子／組織因子活性之抑制活性(Ki)(J.A.Ostrem , F. Al-Obeidi , P. Safer , A. Safarova , S.K. Stringer , M. Patek , M. T. Cross , J. Spoonamore , J. C. Locascio , P. Kasireddy , D. S. Thorpe , N. Sepetov , M. Lebl , P. Wildgoose , P. Strop , Discovery of a novel , potent and specific family of factor Xa inhibitors via combinatorial chemistry. Biochemistry 37 (1998)1053-1059)。採用動力板讀數器(Molecular Devices Spectrmax 250)，於一半面積之微滴定板(Costar , Corp., Cambridge, MA)中，於 25℃ 下進行動力分析法。典型分析法包括 25 微升人類因子 Vlla 與 TF(5 nM 與 10 nM，各終濃度)與 40 微升含於 10%DMSO/TBS-PEG 緩衝液(50mM Tris , 15mM NaCl , 5 mM CaCl₂ , 0.05%/PEG 8k , PH 8.15)之抑制劑稀釋液合併。預培養 15 分鐘後，添加 35 毫升產色性受質 S-2288(D-Ile-Pro-Arg-pNA, Pharmacia Hepar Inc., 500 μM 終濃度)開始分析。由隨時間變化之進度曲線所出現之直線部份之斜率計算表觀抑制常數，典型地在添加受質至分析法中之後 1 至 5 分鐘之間計算。隨後採用公式 $K_i = K_{iapp} / (1 + (s) / K_m)$ (I.H. Segal , Enzyme Kinetics , pp 100-125 (John Wiley & Sons, New York , 1975)校正受質濃度(S)及 K_m，測定各化合物之真正 K_i。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

四、中文發明摘要(發明之名稱：第 VIIa 因子抑制劑)

本發明係有關一種新穎化合物、其製法、其用途及含該化合物之醫藥組合物，該化合物經由可逆性抑制活化之血液凝結因子 VIIa(FVIIa)而具有強烈抗血栓效果。

英文發明摘要(發明之名稱：Factor VIIa inhibitors)

The present invention relates to novel compounds, their preparation, their use and pharmaceutical compositions containing the compounds which have a strong antithrombotic effect through reversible inhibition of activated blood coagulation factor VIIa (FVIIa).

蔡中曾
專利代理人

公告本

90.1.18

申請日期	88.9.20
案 號	88115707
類 別	C07K 5/11, 5/19, A61K 38/06, 38/07

專利申請案第 88115707 號
ROC Patent Appln. No. 88115707
修正之中文說明書第 1 頁-附件三
Amended Page 1 of the Chinese Specification - Encl. III
(民國 90 年 1 月 18 日送呈)
(Submitted on January 18, 2001)

(以上各欄由本局填註)

576839

發明專利說明書

一、發明名稱	中 文	第 VIIa 因子抑制劑
	英 文	Factor VIIa inhibitors
二、發明人	姓 名	1. 沙帕維 Pavel SAFAR 2. 薩若華 Alena SAFAROVA 3. 威格斯 Peter WILDGOOSE
	國 籍	1.、2. 皆為捷克籍 3. 為瑞典籍
三、申請人	住、居所	1. 美國亞歷桑那州塔森市北林湖大道 12431 號 12431 N. Forest Lake Way, Tucson, Arizona 85737, USA 2. 美國亞歷桑那州塔森市北林湖大道 12431 號 12431 N. Forest Lake Way, Tucson, Arizona 85737, USA 3. 德國奧柏城因特街 18 號 Hintergasse 18, 61440 Oberursel, Germany
	代 表 人 姓 名	德國阿凡提斯藥品德意志有限公司 Aventis Pharma Deutschland GmbH 德國 德國法蘭克福城伯洛格街 50 號 Brüningstraße 50, D-65926 Frankfurt am Main, Germany 吉瑪斯(Markus Jacobi) 費漢根(Hans-Jürgen Fischer)

五、發明說明 (5)

化多醣無效或有效性有限時，VIIa 因子抑制劑應有效。因此需要一種低分子量之 VIIa 因子專一性凝血抑制劑，其有效但不會引起不要之副作用。本發明可提供式 I VIIa 因子活性抑制衍生物及相關優點來滿足此需求。

式 I 化合物為血液凝塊酵素 VIIa 因子之抑制劑。本發明亦有關製備式 I 化合物之方法，抑制 VIIa 因子活性及抑制血液凝塊之方法，式 I 化合物於治療及預防可因抑制 VIIa 因子活性而治癒或預防之疾病之用途，此等疾病如：血栓性阻塞疾病，包括栓塞、再狹窄、梗塞及心絞痛，並有關式 I 化合物於製備用於此等疾病之醫藥上之用途。本發明尚有關於混合物中或與惰性載體之組合中含有式 I 化合物之組合物，特定言之含有式 I 化合物及醫藥上可接受之載體物質或賦形劑及／或輔劑物質或添加物之醫藥組合物。

發明概要

本發明提供專一性抑制 VIIa 因子活性之化合物。特定言之，本發明之主題為式 I 化合物：



其中

R1 代表

R13，

R12 C(O)或

1 至 3 個胺基酸，其 N-末端可經選自：R14C(O)、R15S(O)₂ 及胺基保護基團取代，

五、發明說明 (7)

En 為 (E1-E2-E3) n，其中

n 為零、1、2 或 3，

E1 為 NR70，其中 R70 選自：氫、烷基、芳基、芳烷基、雜芳基、雜芳烷基、雜環烷基及雜環烷基烷基，

E2 為 CR71R72，其中 R71 與 R72 分別選自：氫及未取代或經取代之殘基：烷基、芳基、芳烷基、雜芳基、雜芳烷基、雜環烷基及雜環烷基烷基，

E3 為 C(O)，

R2 為選自：NR21R22、OR23 及 R24，其中 R21、R22、R23 與 R24 分別選自：氫及未取代或經取代之殘基：烷基、芳基、芳烷基、雜芳基、雜芳烷基、雜環烷基及雜環烷基烷基，

烷基與雜烷基包含 1 至 13 個碳原子，其中雜烷基殘基中一個或多個碳原子被選 N、O 與 S 雜原子置換；

烯基、炔基、雜烯基與雜炔基包含 2 至 13 個碳原子，其中雜烯基與雜炔基中一個或多個碳原子被選自 N、O 與 S 之雜原子置換；

芳基與雜芳基包含 5 至 13 個環碳原子，其中雜芳基中一個或多個碳原子被選自 N、O 與 S 之雜原子置換；

雜環烷基包含 3 至 8 個環碳原子，其中一至三個碳原子被選自 N、O 與 S 之雜原子置換；

其係呈其任何立體異構型，及其依任何比例形成之混合物，及其醫藥上可接受之鹽。

五、發明說明 (41)

實例 3: Alloc-pAph-Glu-Arg-Cha-NH₂ 之合成法

使克諾醯胺連接基附接 1 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂 (取代度 0.26 毫莫耳/克)。根據實例 1 所示一般方法, 偶合下列受保護之胺基酸: Fmoc-Cha-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Glu (OtBu)-OH 及 Alloc-pAph。裂解肽, 以 TFA/硫苯甲醚(95/5)脫除保護 3 小時, 依實例 1 所述處理。粗化合物依實例 1 所述進行 HPLC, 以 MS 鑑定。(M + H)⁺: 實測值: 729.1, 計算值 729.4。

實例 4: 烯丙基-NH-C(O)-pAph-Glu-Arg-Cha-NH₂ 合成法

由克諾醯胺連接基附接 0.5 克 Tenta Gel S NH₂ 樹脂 (取代度 0.26 毫莫耳/克)。根據實例 1 之一般方法, 偶合下列受保護之胺基酸: Fmoc-Cha-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH 及 Fmoc-Phe(4-CN), 脫除 N 末端 Fmoc 之保護後, 以含 1 毫莫耳異氰酸烯丙酯之 3 毫升 DMF 溶液處理樹脂 2 小時。再以 DMF 及三乙胺/吡啶 (1/2) 洗滌樹脂, 以飽和 H₂S 之吡啶/三乙胺溶液處理一夜。以丙酮洗滌樹脂, 硫醯胺樹脂與甲基碘 (3 毫升 10% 甲基碘之丙酮溶液) 反應 6 小時, 以丙酮、甲醇洗滌甲硫亞胺酸酯樹脂, 以含 0.2 克乙酸銨, 100 微升乙酸之 3 毫升甲醇溶液於 55°C 下處理 3 小時。以甲醇、DMF 及 DCM 洗滌樹脂, 裂解肽, 以 TFA/硫苯甲醚(95/5)脫除保護 3 小時, 依實例 1 所述處理, 粗物質依實例 1 進行 HPLC 純

六、申請專利範圍

專利申請案第 88115707 號
ROC Patent Appln. No. 88115707
修正後無劃線之申請專利範圍中文本 - 附件(二)
Amended Claims in Chinese - Encl. II
5 (民國 92 年 5 月 27 日送呈)
(Submitted on May 27, 2003)

1. 一種式(I)化合物，

10
$$R1-A-B-D-E_n-R2 \quad (I)$$

其中

R1 代表

$R12C(O)$ ，

15 其中

R12 為 (C_2-C_8) -烯胺基或 (C_2-C_8) -烯氧基；

A 為 A1-A2-A3 基團，其中

A1 為 NH，

A2 為 CHR93，其中 R93 為 4-脛苯甲基，

20 A3 為 $C(O)$ ；

B 為 B1-B2-B3 基團，其中

B1 為 NH，

B2 為 CHR97，其中 R97 為乙基，其 2-位置經羰基取代，

25 B3 為 $C(O)$ ，

D 為 D1-D2-D3 基團，其中

D1 為 NH，

六、申請專利範圍

D2 為 CHR82，其中 R82 係選自氫；

(C₁-C₆)-烷基，其可經氫基、硝基苯基、胍基
苯基、苄基氧基、胺基羰基、咪唑基、吡啶基
或-C(=NH)-NH₂所取代；

5 胺基-(C₁-C₆)-烷基，其上之氮原子可經-
C(=NH)-NH-NO₂、-C(=NH)-NH₂、-C(=NH)-
CH₃或(C₂-C₈)-烯基氧基羰基所取代；

巰基-(C₁-C₆)-烷基，其硫原子係經(C₁-C₄)-烷
基、苄基或

10 (C₁-C₄)-烷基羰基胺基-(C₁-C₄)-烷基所取代；以
及
苯基；

D3 為 C(O)，

E_n為(E1-E2-E3)_n，其中

15 n 為零或 1，

E1 為 NH，

E2 為 CHR72，其中 R72 係選自氫；

(C₁-C₆)-烷基，其係經(C₃-C₈)-環烷基、苯基或
(苯基-1,3-二硫戊環基)苯基取代；以及

20 (C₃-C₈)-環烷基；

E3 為 C(O)，

R2 為 NR21R22，其中 R21 與 R22 分別選自：
氫；

(C₁-C₈)-烷基，其可經一、二或三個選自於(C₁-

六、申請專利範圍

- C₄)-烷基、苯基、萘基、吡啶基、(C₃-C₈)-環烷基、胺磺鹽基苯基、鹵苯基、四氫呋喃基及嗎福啉基之取代基所取代；
- 5 苄基，其可經一、二或三個選自於鹵素、(C₁-C₄)-烷氧基、二-((C₁-C₄)-烷基)-胺基、三鹵(C₁-C₄)-烷基及(C₁-C₄)-伸烷二氧基之取代基所取代；
- 1,2,3,4-四氫萘基；以及
- 萘基；
- 10 其係呈其任何立體異構型，或其醫藥上可接受之鹽。
2. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 n 為 0 或 1，且 R₂ 為 NHR₂₂，其中 R₂₂ 如上述定義。
3. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 R₁ 為烯丙
- 15 氧羰基或烯丙胺羰基。
4. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 A 為(L)-4-脒苯基丙胺酸之殘基。
5. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 B 為(L)-麩胺酸之殘基或其醫藥上可接受之鹽。
- 20 6. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 D 為選自下列之殘基：Arg, Dap, Dab, Orn, Lys, Dap[-C(=NH)-NH₂], Dab[-C(=NH)-NH₂], Lys[-C(=NH)-NH₂], Lys[-C(=NH)-CH₃], Orn[-C(=NH)-CH₃], Dab[-C(=NH)-CH₃], Dap[-C(=NH)-CH₃], Dab(Alloc), Asn, Gln, Met, Ser, Thr,

六、申請專利範圍

- Ser(Bzl), Thr(Bzl), Cys(Me), Cys(Bzl), Cys(Acm), Arg(NO₂), His, Trp, Phg, Gly, Ala, Val, Ile, Leu, Phe, Phe(4-NH-C(=NH)-NH₂), Phe(4-NO₂), 2-Abu, Ala(3-CN), Ala[3-C(=NH)-NH₂], 2-Abu(4-CN) 與 2-Abu[4-C(=NH)-NH₂]。
- 5
7. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 E 為選自下列之殘基：Cha, Chg 及 Phe[4-C(-S-CH₂-CH₂-S-)Ph]。
8. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中
- R1 為烯丙氧羰基或烯丙胺羰基，
- 10 A 為(L)-4-脒基苯基丙胺酸殘基，
- B 為(L)-麩胺酸殘基或(L)-麩胺酸之醫藥上可接受之鹽，
- D 為選自下列之殘基：Arg, Dap, Dab, Orn, Lys, Dap[-C(=NH)-NH₂], Dab[-C(=NH)-NH₂], Lys[-C(=NH)-NH₂], Lys[-C(=NH)-CH₃], Orn[-C(=NH)-CH₃], Dab[-C(=NH)-CH₃], Dap[-C(=NH)-CH₃], Dab(Alloc), Asn, Gln, Met, Ser, Thr, Ser(Bzl), Thr(Bzl), Cys(Me), Cys(Bzl), Cys(Acm), Arg(NO₂), His, Trp, Phg, Gly, Ala, Val, Ile, Leu, Phe, Phe(4-NO₂), Phe(4-NH-C(=NH)-NH₂), 2-Abu, Ala(3-CN), Ala[3-C(=NH)-NH₂], 2-Abu(4-CN) 與 2-Abu[4-C(=NH)-NH₂]。
- 15
- 20
- n 為零或 1，
- E 為選自下列之殘基：Cha, Chg 及 Phe[4-C(-S-CH₂-

六、申請專利範圍

CH₂-S-)Ph]。

R2 為 NHR22，

5 R22 為氫或選自下列之殘基：苄基、苯甲基、吡啶甲基、苯乙基、苯乙基、吡啶乙基、苯丙基、苯丙基、吡啶丙基、苄基、二苯甲基、二苯乙基、及二苯丙基，該殘基係未取代或經選自下列之取代基取代：F、Cl、Br、羥基、甲氧基、亞甲二氧基、硝基、氰基、二烷胺基、烷磺醯基、胺磺醯基及三氟甲基，

10 其任何立體異構型，及其醫藥上可接受鹽。

9. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其係：

Alloc-pAph-Glu-Arg-Cha-NH₂,
 烯丙胺羧基 -pAph-Glu-Arg-Cha-NH₂,
 Alloc-pAph-Glu-Arg-Chg-NH₂,
 15 Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH₂]-Cha-NH₂,
 Alloc-pAph-Glu-Ala[3-C(=NH)-NH₂]-Cha-NH₂,
 Alloc-pAph-Glu-Asn-Cha-NH₂,
 Alloc-pAph-Glu-Dab-Cha-NH₂,
 Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH₂]-NH₂,
 Alloc-pAph-Glu-Gly-Cha-NH₂,
 20 Alloc-pAph-Glu-Thr(Bzl)-NH-(CH₂)₂-CH(Ph)₂,
 Alloc-pAph-Glu-Dab-NH-(CH₂)₂-Ph,
 Alloc-pAph-Glu-Asn-NH-CH₂-Chx,
 Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-CH₃]-Cha-NH₂,

六、申請專利範圍

- 5 Alloc-pAph-Glu-Dab[-C(=NH)-NH₂]-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-2-Abu(4-CN)-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Ala(3-CN)-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Asn-1-萘基甲醯胺
Alloc-pAph-Glu-Asn-1-(1-萘基)乙醯胺
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-萘基甲醯胺
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4-二氧苄醯胺
- 10 Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(3-氧苄基)乙醯胺
Alloc-pAph-Glu-Arg(NO₂)-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Cys(Bzl)-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Trp-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Phg-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Asn-9-苄基醯胺
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,5-雙-三氧甲基苄醯胺
- 15 Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH₂]-Phe[4-C(-S-(CH₂)₂-S)-Ph]-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Cys(Bzl)-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Thr(Bzl)-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Phe(4-NO₂)-Cha-NH₂,
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4-亞甲二氧苄醯胺
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2-萘基)乙醯胺
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(1-萘基)乙醯胺
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2-吡啶基)乙醯胺
Alloc-pAph-Glu-Asn-2,2-二苯基乙醯胺
Alloc-pAph-Glu-Asn-2,4-二氧苄醯胺，或
Alloc-pAph-Glu-Asn-4-二甲胺基苄醯胺
- 20

或其醫藥上可接受之鹽、醯胺或酯。

六、申請專利範圍

10. 一種製備根據申請專利範圍第 1 至 9 項中任一項之化合物之方法，其包括：
- 5 a1) 由式 Fmoc-En-OH 化合物(其中 n 為 1、2 或 3)與
附接樹脂之酸敏感性連接基偶合，裂解保護基團
Fmoc，由式 Fmoc-D1-D2-C(O)OH 化合物與所得
游離胺基偶合，再次裂解保護基團 Fmoc，或若
製備式 I 中 n 為 0 之化合物時，由式 Fmoc-D1-
D2-C(O)OH 化合物與附接樹脂之酸敏感性連接基
偶合，並裂解保護基團 Fmoc，
- 10 a2) 由式 Fmoc-B1-B2-C(O)OH 化合物與 a1) 步驟得
到之游離胺基偶合，裂解保護基團 Fmoc，
- a3) 由式 R1-A1-A2-C(O)OH 與 a2)步驟得到之游離胺
基偶合，及
- 15 a4) 利用三氟乙酸，自樹脂上裂解根據步驟 a1) 至
a3)得到之化合物，或
- b1) 由式 Fmoc-B1-CHR⁹⁷-C(O)OPG 化合物(式中 R⁹⁷
為 2-羥羧乙基且 PG 為保護基團)之側鏈羧酸與附
接胺基官能化樹脂之酸敏感性苄醇型連接基偶
合，
- 20 b2) 裂解保護基團 PG，
- b3) 由式 H₂N-D2-D3-En-R2 化合物(式中 n 為 0，1，
2 或 3 與步驟 b2)所得游離羧酸偶合，
- b4) 裂解保護基團 Fmoc，

六、申請專利範圍

b5) 由式 R1-A1-A2-C(O)OH 化合物與步驟 b4)所得游離胺基偶合，及

b6) 利用三氟乙酸，自樹脂上裂解根據步驟 b1)至 b5)得到之化合物，

5 或

c1) 利用傳統醫學化學偶合受保護之胺基酸，並利用相關技藝已知之標準方法脫除保護基團，形成目標分子，

10 其中 R1,R2,A1,A2,B1,B2,D1,D2,D3 及 E 如申請專利範圍第 1 至 9 項之定義，且 Fmoc 為 9-芴甲氧羰基。

11. 一種作為 VIIa 因子之抑制劑之醫藥組合物，其包含有效量之根據申請專利範圍第 1 項之化合物或其醫藥上可接受之鹽為活性成分，及醫藥上可接受之載體。

12. 根據申請專利範圍第 1 至 9 項中任一項之化合物，或其醫藥上可接受之鹽，其係用為 VIIa 因子之抑制劑。

13. 根據申請專利範圍第 1 至 9 項中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其係用於抑制或降低血液凝塊，發炎反應，血栓性插塞疾病或血管再狹窄。

20

90.7.19

專利申請案第 88115707 號
ROC Patent Appln. No. 88115707
補充之試驗資料中文本 - 附件(三)
Supplemented Test Data in Chinese - Encl. (III)
(民國 90 年 7 月 19 日送呈)
(Submitted on July 19, 2001)

實例化合之特性化

使用 Beckman HPLC 系統（其係由 126 溶劑傳遞系統、166 可程式化檢測模組，由具 Gold Nouveau 軟體之數據站所控制之 507e 自動分樣器所組成）與 YMC ODS-AM 4.6X250 mm 管柱（230nm，流速：1ml/min，於水（0.1%TFA）與乙腈所形成之二元梯度中，起始於 0%水（0.1%TFA）線形增量每分鐘 2%之乙腈）分析產物之試樣，以測定 HPLC 持著時間（Rt）。標示“DA”之持著時間係除了使用 Beckman Diode Array 168 Detector 做為檢測器外，均使用相同之系統所測得者。而標示“VY”之持著時間係除了使用分析 Vydac 管柱（C18，5 μ m，4.6X250mm）外，均使用相同之條件所測得者。

使用於 ES+模式下之 VG 平台（Fisons 儀器）進行質譜分析。

實例化合物	Rt(min)	備 註
實例 3	17.98	VY
實例 4	17.22	
實例 5	15.73	
實例 6	17.06	VY
實例 7	18.53	

實例 8	17.32	
實例 9	16.73	
實例 10	16.58	
實例 11	17.29	
實例 12	16.40	
實例 13	10.22	
實例 14	17.78	
實例 15	15.80	
實例 16	26.92	
實例 17	16.83	DA
實例 18	13.37	DA
實例 19	17.83	
實例 20	18.02	DA
實例 21	18.67	DA

表 2 化合物

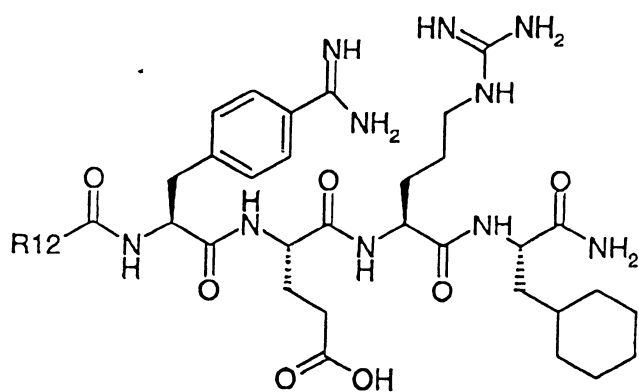
MS Rt(min)

備 註

Alloc-pAph-Glu-Arg-Cha-NH ₂	見 Ex. 3	
Allylaminocarbonyl-pAph-Glu-Arg-Cha-NH ₂	見 Ex. 4	
Alloc-pAph-Glu-Arg-Chg-NH ₂	見 Ex. 5	
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	見 Ex. 8	
Alloc-pAph-Glu-Ala[3-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	見 Ex. 10	
Alloc-pAph-Glu-Asn-Cha-NH ₂	見 Ex. 11	
Alloc-pAph-Glu-Dab-Cha-NH ₂	見 Ex. 12	
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH ₂]-NH ₂	548.2 10.64	
Alloc-pAph-Glu-Gly-Cha-NH ₂	見 Ex. 14	
Alloc-pAph-Glu-Thr(Bzl)-NH-(CH ₂) ₂ -CH(Ph) ₂	見 Ex. 16	
Alloc-pAph-Glu-Dab-NH-(CH ₂) ₂ -Ph	見 Ex. 17	
Alloc-pAph-Glu-Asn-NH-CH ₂ -Chx	見 Ex. 19	
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-CH ₃]-Cha-NH ₂	見 Ex. 9	
Alloc-pAph-Glu-Dab[-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	715.3 18.01	DA

表 2 化合物	MS Rt(min)		備 註
Alloc-pAph-Glu-2-Abu(4-CN)-Cha-NH ₂	682.9	19.05	
Alloc-pAph-Glu-Ala(3-CN)-Cha-NH ₂	669.0	19.73	
Alloc-pAph-Glu-Asn-1-naphthylmethylamide	673.9	20.10	DA
Alloc-pAph-Glu-Asn-1-(1-naphthyl)ethylamide	687.7	20.83	DA
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-naphthylmethylamide	673.9	18.81	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4-dichlorobenzylamide	691.6	20.54	DA
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(3-chlorophenyl)ethylamide	671.9	19.89	DA
Alloc-pAph-Glu-Arg(NO ₂)-Cha-NH ₂	774.5	17.88	
Alloc-pAph-Glu-Cys(Bzl)-Cha-NH ₂	766.4	23.53	
Alloc-pAph-Glu-Trp-Cha-NH ₂	759.2	23.40	
Alloc-pAph-Glu-Phg-Cha-NH ₂	706.1	22.65	
Alloc-pAph-Glu-Asn-9-fluorenylamide	698.4	19.95	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,5-bistrifluoromethylbenzylamide	760.3	21.41	
Alloc-pAph-Glu-Phe(4-guanidino)-Cha-NH ₂	見 Ex. 7		
Alloc-pAph-Glu-D-Phe(4-guanidino)-Cha-NH ₂	777.2	18.57	
Alloc-pAph-Glu-Orn[-C(=NH)-CH ₃]-Cha-NH ₂	728.5	16.93	
Alloc-pAph-Glu-Dab[-C(=NH)-CH ₃]-Cha-NH ₂	714.6	17.75	DA
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH ₂]-Phe[4-C(-S-(CH ₂) ₂ -S-)-Ph]-NH ₂	875.0	21.80	
Alloc-pAph-Glu-Gln-NH ₂	548.1	10.93	
Alloc-pAph-Glu-Orn-NH ₂	534.0	10.08	
Alloc-pAph-Glu-Gly-Cha-NH ₂	630.1	17.78	
Alloc-pAph-Glu-Cys(Acm)-Cha-NH ₂	746.8	18.42	
Alloc-pAph-Glu-Cys(Me)-Cha-NH ₂	690.0	19.68	
Alloc-pAph-Glu-Cys(Bzl)-Cha-NH ₂	766.3	23.57	
Alloc-pAph-Glu-Thr(Bzl)-Cha-NH ₂	764.4	23.48	
Alloc-pAph-Glu-Dab(Alloc)-Cha-NH ₂	756.8	20.38	
Alloc-pAph-Glu-His-Cha-NH ₂	709.9	17.29	DA
Alloc-pAph-Glu-Met-Cha-NH ₂	704.1	21.84	DA
Alloc-pAph-Glu-Phe(4-NO ₂)-Cha-NH ₂	765.1	23.30	DA

表 2 化合物	MS Rt(min)		備 註
Alloc-pAph-Glu-D-Lys[-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	743.2	17.20	
Alloc-pAph-Glu-D-Arg-Cha-NH ₂	729.2	16.68	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4-methylenedioxybenzylamide	667.7	15.73	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(4-morpholinyl)ethylamide	647.1	11.67	DA
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2-naphthyl)ethylamide	688.3	19.99	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(1-naphthyl)ethylamide	688.7	19.89	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-tetrahydrofuranylmethylamide	617.8	13.82	DA
Alloc-pAph-Glu-Asn-3-methylbutylamide			
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2-pyridyl)ethylamide	639.1	10.88	
Alloc-pAph-Glu-Asn-1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthylamide	663.9	17.90	
Alloc-pAph-Glu-Asn-N,N-dibenzylamide	714.2	20.44	
Alloc-pAph-Glu-Asn-N-methyl-N-(1-naphthylmethyl)amide	688.1	19.05	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2,2-diphenylethylamide	713.9	22.10	DA
Alloc-pAph-Glu-Asn-2,4-difluorobenzylamide	660.0	16.33	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(4-sulfamoylphenyl)ethylamide	717.3	13.32	
Alloc-pAph-Glu-Asn-4-dimethylaminobenzylamide	667.5	11.50	
Alloc-pAph-Glu-Asn-(CH ₃ -)Cha-NH ₂	700.9	18.40	DA
Alloc-pAph-Glu-Asn-3-phenylpropylamide	651.8	17.93	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,3-diphenylpropylamide	728.1	23.18	DA
Alloc-pAph-Glu-Asn-4-methoxybenzylamide	654.5	15.55	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4-dichlorobenzylamide	691.6	20.54	DA



A

R ₁₂ C(O)	K _i (μM)
環己基羰基	0.6
環己基甲基羰基	0.7
苯甲醯基	0.17
3-碘苯甲醯基	0.13
3-溴苯甲醯基	0.09
4-三氟甲基苯甲醯基	0.6
苯基乙醯基	1.1
1-萘基乙醯基	0.6