

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D213/74

A61K 31/4409

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99813786.3

[43] 公开日 2001 年 12 月 26 日

[11] 公开号 CN 1328548A

[22] 申请日 1999.9.30 [21] 申请号 99813786.3

[30] 优先权

[32] 1998.10.3 [33] GB [31] 9821483.6

[86] 国际申请 PCT/EP99/07194 1999.9.30

[87] 国际公布 WO00/20394 英 2000.4.13

[85] 进入国家阶段日期 2001.5.28

[71] 申请人 葛兰素集团有限公司

地址 英国梅得塞克斯

[72] 发明人 H·A·凯利 M·帕斯

D·N·史密斯

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

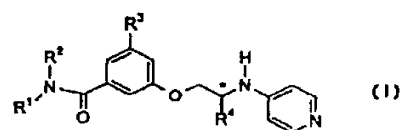
代理人 周慧敏

权利要求书 3 页 说明书 33 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 作为凝血酶抑制剂的苯甲酰胺衍生物

[57] 摘要

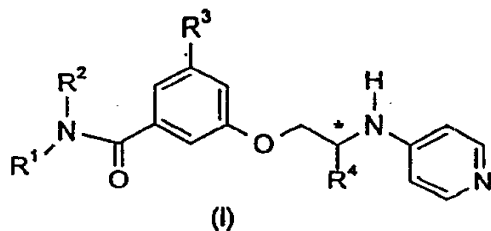
本发明提供新的式(I)化合物,其中 R¹代表 C₁₋₄烷基或 C₃₋₈环烷基, R²代表 C₁₋₄烷基或 C₃₋₄链烯基, R³代表氢、C₁₋₃烷基或卤素, R⁴代表 C₁₋₆烷基,其制备方法、含有其的药用制剂及其尤其作为凝血酶抑制剂在医疗上的用途。



ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 式(I)化合物或其药学上可接受的衍生物或溶剂化物,



其中

5 R^1 代表 C_{1-4} 烷基或 C_{3-8} 环烷基;

R^2 代表 C_{1-4} 烷基或 C_{3-4} 链烯基;

R^3 代表氢、 C_{1-3} 烷基或卤素;

R^4 代表 C_{1-6} 烷基。

2. 根据权利要求1的化合物或其药学上可接受的衍生物或溶剂化
10 物, 其中 R^3 代表甲基。

3. 根据权利要求1或2的化合物或其药学上可接受的衍生物或溶剂化物, 其中 R^4 代表甲基。

4. 化合物或其药学上可接受的衍生物或溶剂化物选自:

N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺;

N,N-二异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺;

N-异丙基-3,N-二甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺;

3,N-二甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺;

3-甲基-N,N-二丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺;

N-乙基-3-甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺;

N-丁基-3-甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺;

N-环己基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺;

N-异丙基-3-甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

胺;

3-氯-N-异丙基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺;

3-氯-N,N-二异丙基-5-[2-(吡啶-4-基氨基)-丁氧基]-苯甲酰胺。

5. 化合物, N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)丙氧基]苯甲酰胺 4-甲基苯磺酸盐或其药学上可接受的衍生物或溶剂化物。

6. 治疗和/或预防患有易被凝血酶抑制剂改善的病症的哺乳动物包括人的方法, 该方法包括给予受治疗者有效量的根据权利要求 1-5 中任一项的化合物或其药学上可接受的衍生物或溶剂化物。

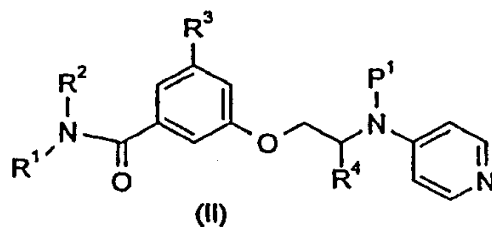
7. 根据权利要求 1-5 中任一项的化合物或其药学上可接受的衍生物或溶剂化物, 用于医疗。

8. 根据权利要求 1-5 中任一项的化合物或其药学上可接受的衍生物或溶剂化物, 用于制备用于治疗易被凝血酶抑制剂改善的病症的药物。

9. 药物制剂, 其含有根据权利要求 1-5 中任一项的化合物或其药学上可接受的衍生物或溶剂化物以及一或多种药学上可接受的载体。

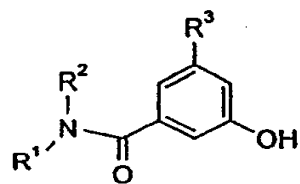
10. 制备式(I)化合物的方法, 该方法包括以下任一过程:

15 (A) 将式(II)化合物脱保护,

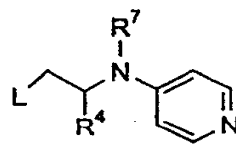


其中 P¹ 代表适当的保护基;

(B) 使式(III)化合物与式(IV)化合物反应,



(III)

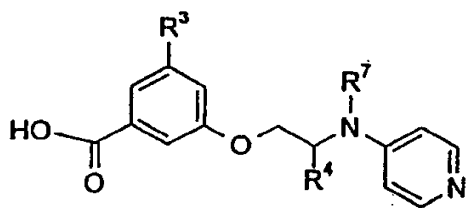


(IV)

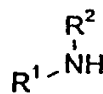
其中 R^7 代表氢, L 代表羟基;

(C) 在碱存在下, 使式(III)化合物与式(IV)化合物反应, 其中 R^7 代表氢, L 代表适当的离去基团; 或者

5 (D) 在一或多种活化试剂和碱存在下, 使式(V)化合物与式(VI)化合物反应,



(V)



(VI)

其中 R^7 代表氢。

说明书

作为凝血酶抑制剂的苯甲酰胺衍生物

5 本发明涉及新的类型的化合物及其在药物中的用途。尤其是，
本发明涉及新的酰胺衍生物、其制备方法、含有其的药用组合物以
及作为凝血酶抑制剂的用途。

凝血酶抑制剂先前已在国际专利申请 No.WO97/22589 中公开。

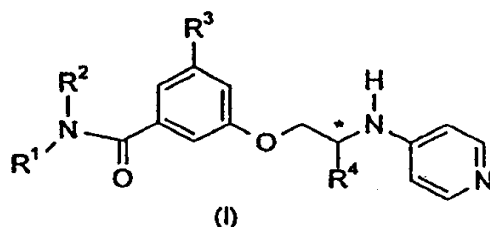
10 凝血酶是血浆中存在的丝氨酸蛋白酶，其通过因子 Xa 对其凝血
酶原前体的作用转化形成。凝血酶通过将可溶性血浆蛋白、纤维蛋
白原转化为不溶性纤维蛋白，其在血液凝固机制中起着关键作用。
不溶性纤维蛋白基质为初级止血栓子稳定所必需。许多重大疾病都
与止血的异常有关。对于冠状动脉血管系统而言，由于已形成的动
15 脉粥样硬化斑块破裂引起的异常血栓形成是急性心肌梗死和不稳定
心绞痛的主要原因。通过溶解血栓的疗法和经皮经管腔冠状血管成
形术(PTCA)治疗阻塞性冠脉血栓的两种疗法一般都伴随着所影响的
血管的急性血栓再闭塞，该血栓需要立即再溶解。对于静脉血管系
统而言，下肢或腹部经历大手术的大部分患者都遭受静脉血管系统
20 形成血栓之苦，其可导致流向治疗肢端的血流减少并是肺部栓塞的
诱因。弥散性血管内凝血一般发生在败血性休克、某些病毒性感染
和癌症过程中的血管系统中，其特征为凝固因子的快速消耗和系统
凝固，其导致形成威胁生命的血栓，该血栓出现在整个血管系统中，
导致广泛的器官衰竭。

25 除了其在形成纤维蛋白丰富的血块中的直接作用外，已报道凝
血酶对血管系统和血液中的大量细胞成分具有明显的生物调节作用
(Shuman, M.A., Ann. NY Acad. Sci., 405:349(1986))。

已报道，抑制凝血酶可有效治疗多种疾病。凝血酶抑制剂可用于
治疗急性血管疾病，如冠脉血栓形成、休克、肺栓塞、深静脉血

栓形成、再狭窄、心房纤维性颤动、心肌梗死和不稳定心绞痛。已公开它们可作为体内和体外抗凝固剂，并用于水肿和炎症，因此，低剂量凝血酶抑制剂可降低炎症反应介导的血小板和内皮细胞凝血酶，而并不伴随着抗凝固作用。已报道，凝血酶与肺的成纤维细胞增殖有关，因此，凝血酶抑制剂可用于治疗某些肺纤维变性疾病。还报道，凝血酶抑制剂可用于治疗肿瘤转移，因此凝血酶抑制剂可预防由因子 X 不适当激活引起的纤维蛋白沉积和转移，因子 X 的激活是由某些肿瘤细胞产生的丝氨酸蛋白酶引起的。已表明凝血酶抑制剂具有抑制神经突收缩作用，因此可用于治疗神经发生疾病，如 Parkinson 氏病和 Alzheimer 氏病。还报道，通过使用低剂量的溶解血栓剂，凝血酶抑制剂可与溶解血栓剂联合使用。US5371091 中报道了其它的用途，用于治疗 Kasabach Merritt 综合征和溶血性尿毒症，EP565897 中报道在眼部手术中预防眼中纤维蛋白沉积的作用，DE4126277 中报道治疗骨质疏松症的作用。

因此，我们现已发现了一类新的、作为凝血酶抑制剂的酰胺衍生物及其药学上可接受的衍生物或溶剂化物，如式(I)所示：



其中

R^1 代表 C_{1-4} 烷基或 C_{3-8} 环烷基；

R^2 代表 C_{1-4} 烷基或 C_{3-4} 链烯基；

R^3 代表氢、 C_{1-3} 烷基或卤素；

R^4 代表 C_{1-6} 烷基。

对于通式(I)而言，烷基包括直和支链饱和烃基，如甲基、乙基和异丙基；环烷基包括饱和的环烃基，如环戊基和环己基；链烯基包括含有一个双键的直和支链烃基，如丙烯基、2-甲基丙烯基和丁烯

基。

需了解的是，式(I)化合物在*标明的位置含有手性中心。因此，式(I)的每个化合物可存在两种不同的光学异构体。本发明范围还包括式(I)化合物的单个对映体以及任意比例的式(I)化合物的对映体混合物，包括外消旋混合物。一般优选使用纯的单一对映体形式的式(I)化合物，最优选(S)异构体。

对于通式(I)， R^1 适于代表丙基、异丙基、丁基、环戊基或环己基。 R^1 优选异丙基。

R^2 适于是甲基、乙基、丙基或异丙基。 R^2 优选为乙基。

R^3 适于是甲基或氯代。 R^3 优选为甲基。

R^4 适于是甲基或乙基。 R^4 优选为甲基。

适当的本发明所用的式(I)化合物及其药学上可接受的衍生物或溶剂化物包括：

N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

N,N-二异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

N-异丙基-3,N-二甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

3,N-二甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

3-甲基-N,N-二丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

N-乙基-3-甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

N-丁基-3-甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

N-环己基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

N-异丙基-3-甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

胺；

3-氯-N-异丙基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

胺；

3-氯-N,N-二异丙基-5-[2-(吡啶-4-基氨基)-丁氧基]-苯甲酰胺。

本发明所用的具体的通式(I)化合物包括：

N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺；

及其药学上可接受的衍生物或溶剂化物。

- 5 “药学上可接受的衍生物”是指任何药学上可接受的盐或易代谢的衍生物，例如式(I)化合物或任何其它化合物的胺基衍生物，其在给予受体时，能够提供(直接或间接)式(I)化合物或其活性代谢物或残基。本领域技术熟练人员清楚，可对式(I)化合物进行修饰而得到式(I)化合物中任何官能团上的药学上可接受的衍生物。这些衍生物
- 10 对于本领域技术熟练人员是清楚的，不需过度的实验，并可参考结合到本发明中作为参考的 Burger's Medicinal Chemistry And Drug Discovery, 第 5 版, 第 1 卷: Principle and Practice.

式(I)化合物的优选药学上可接受的衍生物是其药学上可接受的盐。

- 15 式(I)化合物的药学上可接受的盐包括源于药学上可接受的无机和有机酸的盐。适当酸的实例包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、富马酸、马来酸、磷酸、乙醇酸、乳酸、水杨酸、琥珀酸、对甲苯磺酸、二-对甲苯甲酰酒石酸酯(di-p-toluoyl tartrate)、磺胺酸、酒石酸、乙酸、柠檬酸、甲磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸和苯磺酸。式(I)化合物的优选药学上可接受的盐包括对甲苯磺酸盐。其它酸，如草酸，虽然本身不是药学上可接受的盐，但可用于
- 20 制备用作中间体的盐的制备，以便获得本发明化合物及其药学上可接受的酸加成盐。

- 25 式(I)化合物作为凝血酶抑制剂的适用性可通过采用 N-对甲苯磺酰基-gly-pro-lys 对硝基酰苯胺作为显色底物，在显色试验中，其抑

制人体 α -凝血酶的能力来表现。

另外，式(I)化合物显示出有效的体外抗凝血活性，其可通过本发明的 APTT 试验说明。

5 另外，式(I)化合物显示出有效的体外抗血栓活性，其可通过本发明的动静脉短路模型方案说明。

因此，式(I)化合物可用于治疗通过给予凝血酶抑制剂易缓解的临床症状。这些症状包括急性血管疾病，如冠脉血栓形成、中风、肺栓塞、深静脉血栓形成、外周动脉阻塞、再狭窄和心房纤维性颤动；炎症介导的水肿和 PAF，如成人呼吸休克综合征、败血性休克和再灌注损伤；治疗肺纤维变性；治疗肿瘤转移；神经生成疾病，如 Parkinson 氏病和 Alzheimer 氏病；病毒性感染；Kasabach Merritt 综合征；溶血性尿毒症；关节炎；骨质疏松症；如透析、血过滤、旁路和血液产品储存中作为体外血抗凝剂；以及用于侵入性装置(如假体、人造瓣膜和导管)的包被中，以便减低血栓形成的危险。

10

15 因此，本发明提供治疗患有易被凝血酶抑制剂改善的症状的哺乳动物(包括人)的方法，该方法包括给予受治疗者有效量的通式(I)化合物或其药学上可接受的衍生物。

本说明书中的治疗包括预防性治疗以及缓解症状。

20 另一方面，本发明提供用作医疗(尤其是人的医疗)治疗剂的式(I)化合物或其药学上可接受的衍生物。

另一方面，本发明提供用于制备治疗易被凝血酶抑制剂改善的症状的药物的式(I)化合物或其药学上可接受的衍生物的用途。

在临床应用中，虽然可以以化学原料形式给予本发明化合物，但优选以药用制剂形式给予该活性组分。

25 因此，本发明还提供药用制剂，其含有式(I)化合物或其药学上可接受的衍生物和一或多种药学上可接受的载体，以及任选其它治疗和/或预防组分。本发明化合物可与其它抗凝血药物结合使用，其它抗凝血药物如血栓烷受体拮抗剂、拟前列环素、磷酸二酯酶抑制

剂、纤维蛋白原拮抗剂、溶栓药物，如组织纤溶酶原激活物和链激酶，非甾体抗炎药物，如阿司匹林，等等。

因此，可将本发明化合物制成供口服、颊内、非肠道、局部、
5 直肠或经皮给药的制剂，或者制成适用于吸入或吹入(通过口腔或鼻腔)给药的形式。

对于口服给药，药用组合物可采用如片剂或胶囊剂的形式，其
通过常用的方法制备，即加入药学上可接受的赋形剂，如粘合剂(如
预胶凝玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮或羟丙基甲基纤维素)；填充剂(如
乳糖、微晶纤维素或磷酸氢钙)；润滑剂(如硬脂酸镁、滑石粉或硅胶)；
10 崩解剂(如马铃薯淀粉或淀粉乙醇酸钠)；或湿润剂(如十二烷基硫酸
钠)。可用本领域熟悉的方法，将片剂包衣。口服液体制剂可采用，
如溶液剂、糖浆剂或混悬剂的形式，或者可制成干燥产物，使用前
用水或其它适当的溶媒制成溶液。这些液体制剂可通过常用的方法，
用药学上可接受的添加剂制备，添加剂如悬浮剂(如山梨醇糖浆、纤
15 维素衍生物或氢化食用脂肪)；乳化剂(如卵磷脂或阿拉伯胶)；非水
溶媒(如杏仁油、油酯、乙醇或分级植物油)；以及防腐剂(如对羟基
苯甲酸甲酯或丙酯或山梨酸)。该制剂还可含有适当的缓冲盐、矫味
剂、着色剂和甜味剂。

可将口服制剂制成适于控制释放活性化合物的制剂。

20 对于颊内给药，可用常用方法，将组合物制成片剂或锭剂形式。

可将本发明化合物制成通过注射(如大剂量注射或连续输注)的供
非肠道给药的制剂。注射剂可以为单位剂量形式，如在安瓿中或者
与添加的防腐剂填充于多剂量容器中。组合物可采用这些形式，如
油溶性或水溶性溶媒中的混悬剂、溶液剂或乳剂，也可含有配制剂，
25 如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。另外，可将活性组分制成供使用前
用适当溶媒(如无菌、无热原水)复制成溶液的粉末形式。

可将本发明化合物制成通过吹入和吸入局部给药的制剂形式。
局部给药制剂类型的实例包括采用吸入器或吹入器的喷雾剂和气雾

剂, 或者制成供吸入给药的粉末剂。

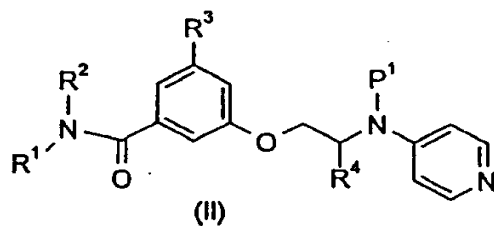
可在任何适当的粉末基质(如乳糖、滑石粉或淀粉)帮助下, 制成供外部应用的粉末剂。可将喷雾组合物制成水溶性溶液剂或混悬剂或者制成使用适当抛射剂的压力包装内的气雾剂, 如计量剂量吸入剂。

还可将本发明化合物制成直肠给药组合物, 如栓剂或滞留灌肠剂, 如含有常用栓剂基质(如可可脂或其它甘油酯)。

除以上说明的制剂外, 还可将该化合物制成储存制剂。可通过植入(例如皮下、经皮或肌内)或肌内注射给予这些长效的制剂。因此, 如, 可将本发明化合物与适当的聚合物或疏水性物质(如作为可接受油类中的乳剂)或离子交换树脂制成制剂, 或者作为微溶的衍生物(如作为微溶的盐)制成制剂。

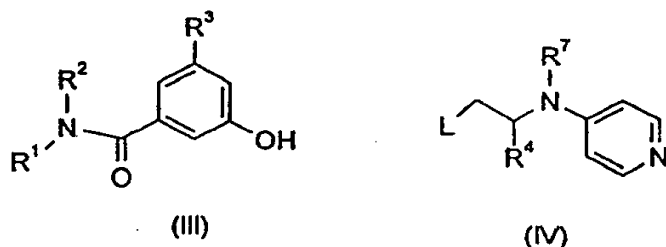
对于人(约 70kg 体重)的给药而言, 本发明化合物的建议给药剂量为每单位剂量 0.1mg 至 1g, 优选 1mg 至 500mg 的活性成分(以游离碱的重量表示)。该单位剂量可以以如每日 1-4 次给予。剂量随给药途径而定。需清楚的是, 可根据患者的年龄和体重以及所治疗症状的严重程度, 对给药剂量作必要的常规调节。准确的给药剂量与途径最终由主治医生或兽医决定。

可根据本领域制备类似化合物所知的任何方法, 制备本发明化合物。例如, 根据第一个方法(A), 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 定义同上, 通过在适当的条件下, 如除去叔丁氧基羰基的酸性条件下, 将式(II)化合物脱保护可制备式(I)化合物,



其中 P^1 代表适当的保护基, 如叔丁氧基羰基。

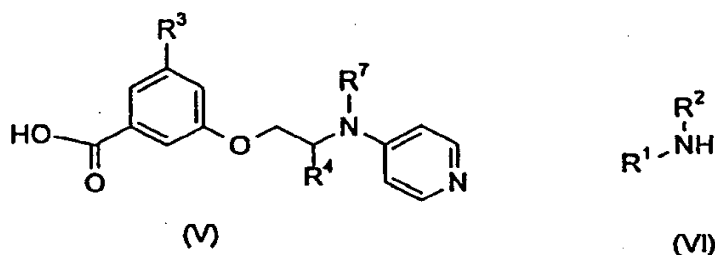
根据第二种方法(B), 通过使式(III)化合物与式(IV)化合物反应可制备式(I)化合物,



5 其中 R^7 代表氢, L 代表羟基。该偶合反应一般采用标准试剂, 如偶氮二甲酸二乙酯和三苯膦, 在适当的溶剂如甲苯中进行。

根据第三种方法(C), 通过在适当的碱, 如碳酸钾存在下, 使式(III)化合物与式(IV)化合物反应可制备式(I)化合物, 其中 R^7 代表氢, L 代表适当的离去基团, 如氯离子。该偶合反应一般在适当的溶剂, 如
10 N,N-二甲基甲酰胺中, 优选在提高温度下进行。

根据第四种方法(D), 通过式(V)与式(VI)化合物反应可制备式(I)化合物,



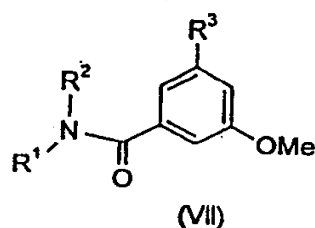
15 其中 R^7 代表氢。该反应一般可在一或多种活化试剂, 如 1-羟基苯并三唑、2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓(uronium)四氟硼酸盐(TBTU)和碱如乙基二异丙基胺存在下, 在适当的溶剂如 N,N-二甲基甲酰胺中进行。

式(II)化合物可通过使式(III)化合物与式(IV)化合物反应制备, 其中 R^7 代表 P^1 , 定义同上, L 代表羟基或适当的离去基团, 如 4-甲苯磺酸酯(甲苯磺酸酯)。当 L 代表羟基时, 一般用类似于方法(B)的条

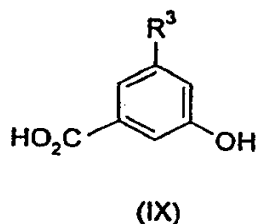
件进行该偶合反应。当 L 代表甲苯磺酸酯时，一般在适当的溶剂(如 N,N-二甲基甲酰胺)中，在适当的碱(如氢化钠)存在下，进行该偶合反应。

5 式(II)化合物还可通过适当采用方法(D)的条件，使式(V)化合物与式(VI)化合物反应制备，其中 R^7 代表 P^1 ，定义同上。

式(III)化合物可通过在适当溶剂(如二氯甲烷)中，一般使用三溴化硼，用式(VII)化合物制备。

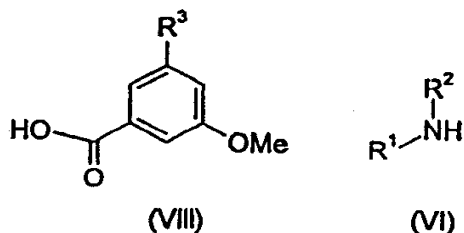


10 式(III)化合物还可使用式(IX)化合物，



通过在适当溶剂(如甲苯)中，在碱(如三乙胺)存在下，与酰氯(如新戊酰氯)反应，然后与式(VI)化合物反应制备。

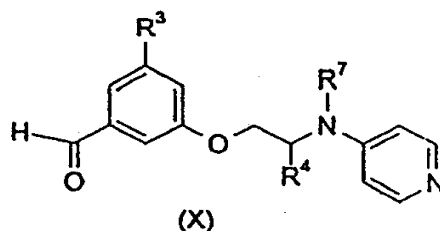
15 式(VII)化合物可一般根据方法(D)的条件，通过式(VIII)与(VI)化合物反应制备。



另外, 可在适当的溶剂(如四氢呋喃)中, 在 N,N-二甲基甲酰胺存在下, 采用草酰氯进行式(VIII)与(VI)化合物的反应。

式(V)化合物可通过氧化对应的式(X)醛制备,

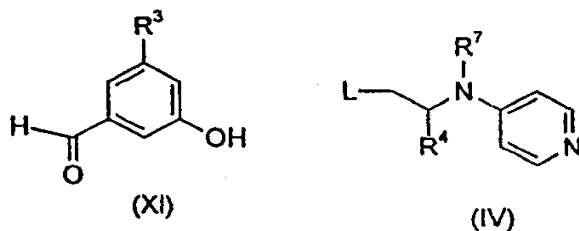
5



其中 R⁷ 代表氢或 P¹。该转化反应通过在氨基磺酸的水和 1,4-二氧六环混合液溶液存在下, 将该醛用适当的氧化剂如亚氯酸钠处理进行。

式(X)化合物可通过式(XI)与(IV)化合物反应制备,

10

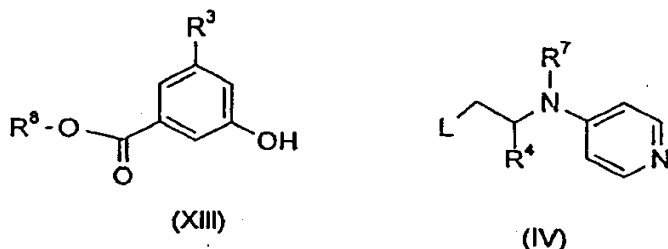


其中 R⁷ 代表氢或 P¹, L 代表羟基或适当的离去基团, 如 4-甲苯磺酸酯(甲苯磺酸酯), 条件是, 其中 L 是适当的离去基团, R⁷ 优选代表 P¹。当 L 代表羟基时, 一般用方法(B)中所用的相同的标准试剂进行该偶合反应。当 L 代表甲苯磺酸酯时, 一般在适当的溶剂(如 N,N-二甲基甲酰胺)中, 在适当的碱(如氢氧化钠)存在下, 进行该偶合反应。

15

式(V)化合物还可用式(XII)化合物制备,

5 式(XII)化合物, 可通过在类似于合成式(X)化合物所用的适当条件下, 使式(XIII)与(IV)化合物反应制备,



10 式(IV)、(VI)、(VIII)、(IX)、(XI)和(XIII)化合物是本领域已知的化合物，或者可以通过本发明说明的标准方法制备。

I. 凝血酶抑制活性

- 11 -

该反应 10 分钟; 该试验在室温下进行。为获得 IC_{50} 值, 采用 Kineticalc™ 分析数据, 并用 ActivityBase™ 处理以得到 IC_{50} 值。为测定 0 和 15 分钟时的 IC_{50} 值, 可将化合物与凝血酶预孵育这些时间, 然后加入显色底物。

5

II. APTT 方案

本发明化合物具有抗凝血活性, 该活性可通过其延长人体血浆凝固时间的能力即活化部分促凝血酶原激酶时间(APTT)确定。用从健康志愿者中抽取的血制备混合的柠檬酸(0.38% (w/v)柠檬酸三钠)化的血浆, 在-70℃下储存。采用 Nycomed 的 Thrombtrack 4 进行 APTT 试验。肌动蛋白试剂(从脱水兔脑中得到的重组提取物, 也含有鞣花酸)由美国 Baxter Healthcare Corporation 提供。简言之, 将柠檬酸化的血浆加入到化合物或蒸馏水中, 然后加入肌动蛋白试剂。在 37℃ 下, 将其混合 2 分钟, 然后加入氯化钙引发凝固。化合物根据其浓度不同, 不同程度地延长正常的凝固时间, 正常凝固时间为 30-35 秒。APTT 延长的程度, 可根据化合物存在或不存在时凝固时间的比率计算。延长 1.5x ‘正常’ APTT 的化合物浓度被用作为比较化合物抗凝固活性的标准。

10

15

20

结果

以下结果说明: 采用以上说明的生物方法得到的式(I)化合物范围的凝血酶抑制活性和抗凝固活性。

25

实施例编号	IC ₅₀ (nM)	APTT(nM)
1	<1	40(1.5x)
2	<1	80(1.5x)
3	3	90(1.5x)
4	5	97(1.5x)
5	<1	110(1.5x)
6	1.5	120(1.5x)
7	<1	100(1.31x)
8	<1	100(1.32x)
9	<1	60(1.5x)
10	3.4	100(1.28x)
11	26	65(1.5x)

III. 动静脉短路模型方案

本发明化合物具有抗血栓活性，可通过在大鼠动静脉短路模型中降低血栓形成的能力进行体内测定。通过在左颈动脉和右颈静脉之间插入体外分路，制备麻醉的(非肌动蛋白 120mg/kg i.p.)大鼠。该分路由 2 根 12cm 长的聚乙烯管子(Portex, 内径分别为 0.58 和 0.86mm)组成，其通过 3mm (基底直径)硅氧烷橡胶塞(Jencons Scientific Ltd)与一 6cm 长的聚乙烯管子(Portex, 内径 3mm)相连。该管子通过所钻孔(通过每个塞子中心)连接。8cm 一段丝线通过两个塞的中心孔拉紧在两塞之间，用以保持分路中心部分的纵向排列取向。插管之前，用 154mM 氯化钠溶液(盐水)充填该分路。插管后，在颈动脉位置留下止血钳，以防止血液流过该分路。该左颈动脉还装置有超声流式探针(Transonic Systems Inc., 0.5mm)，该探针与超音速流量计(T206 型)相连以便连续显示阶段颈动脉血流。通过 MI² 数据收集系统(Modular Instruments Inc.)获得连续颈动脉血流。

分路插管后，平衡一段时间，开始给予介质或化合物。预处理时间为 30 分钟，然后从颈动脉移去止血钳，让血流流过分路。血流

流过分路 15 分钟后，夹上动脉止血钳，取下该分路，通过分路的中心部分，慢慢注射 0.5ml 盐水以除去游离血液。小心移去棉线和相连的血栓，测定血栓的重量。计算凝固参数，包括活化部分促凝血酶原激酶时间(APTT)。通过直接心脏穿刺，取出 2ml 血样，转移至含有柠檬酸三钠(比率 9:1，柠檬酸盐的终浓度为 12.9mM)的试管中。将血样轻轻混合，转移至微量离心管中，在 10000g 下，离心 2 分钟。倾出血浆，在 4℃ 下储存以备分析。所有试验采用 Sysmex CA5000 自动分析仪，根据说明书指导进行。

抗血栓活性可根据血栓重量的降低、阻塞时间的延长以及血流面积的增加评定，并且该活性与所测定的凝固参数有关。

还通过以下中间体和实施例说明本发明。

缩写

H.p.l.c.	高效液相色谱
Rt	保留时间
DIPEA	N-乙基二异丙基胺
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
TBTU	2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓四 氟硼酸盐
DMAP	4-二甲氨基吡啶
br	宽峰
s	单峰
d	双重峰
t	三重峰
m	多重峰
t.l.c.	薄层色谱

15 方法

用 Hewlett Packard Series II 1090 液相色谱仪进行分析 H.p.l.c.,

采用 Rainin Microsorb C18 柱(4.6 x 150mm, 目录号 80-215-C5), 在流速 1.5 ml/min 下操作。洗脱剂为 A: 0.1% 三氟乙酸/水, B: 0.05% 三氟乙酸/乙腈。

5 梯度:

体系 1: 15-95%B 的 A 溶液, 15 分钟

除另有说明, 在波长(λ)254nm 下, 测定保留时间。

制备 H.p.l.c.:

10 体系 A: Supelcosil LC-ABZ 柱(21.2mm x 25cm 或 21.2mm x 10cm), 在流速 15 ml/min 下操作(洗脱剂为 A: 0.1% 三氟乙酸/水, B: 0.01% 三氟乙酸的 95:5 乙腈/水溶液)。

体系 B: 50mm 用 200g Sorbsil C60 硅胶填充的 Prochrom 柱, 在流速 80 ml/min 下操作[洗脱剂为二氯甲烷(80), 甲醇(20), 乙酸(0.5)和氨水(0.5)]。

用 Camlab 硅胶(Polygram® SILG/UV₂₅₄)进行 T.l.c.. 洗脱液为所述比例的二氯甲烷:乙醇:氨水。

用 Merck 硅胶(Merck 9385)或用 SI Megabond Elut®(正常键合相, 60cc/10g)柱体进行快速柱层析。

20

中间体 1

(S)-2-(2,3,5,6-四氯-吡啶-4-基氨基)-丙-1-醇

向五氯吡啶(30g)的 2-丙醇(300ml)溶液中加入 DIPEA (18ml)、DMAP (0.8g)和(S)-(+)-2-氨基-1-丙醇(18g), 将反应混合液加热回流 18 小时。冷却后, 减压浓缩该反应混合液。将残留物用甲醇研磨, 过滤得到标题化合物, 为白色固体(18g)。

25

质谱: 实测值: MH⁺ 279

中间体 2(S)-2-(吡啶-4-基氨基)-丙-1-醇

5 在氢气下, 将(S)-2-(2,3,5,6-四氯-吡啶-4-基氨基)-丙-1-醇(6g)、10% 披钨碳(3g)、碳酸钾(14.3g)和乙醇(110ml)的混合液搅拌 24 小时。通过 Harbolite™ 过滤该反应混合液, 减压浓缩滤液得到标题化合物, 为白色固体(3.2g)。

质谱: 实测值: MH^+ 153

中间体 310 3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酸

在 60℃ 下, 将 3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酸甲酯(9.5g)和 2M 氢氧化钠溶液(31.5ml)的乙醇(100ml)中的混合液加热 1 小时。冷却后, 将反应混合液用 2M 盐酸中和至 pH7, 减压浓缩。残留物经快速柱层析, 用二氯甲烷:乙醇(4:1)、乙醇和甲醇:甲酸(10:1)洗脱得到不纯的该标题化合物样品。经 megabond 快速层析进一步纯化, 用二氯甲烷:甲醇(4:1)和甲醇洗脱得到标题化合物, 为浅黄色固体 (6.8g)。

15 质谱: 实测值: MH^+ 287

20 中间体 43-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酸甲酯

(A): 将 3-羟基-5-甲基苯甲酸甲酯¹ (11.2g)、三苯膦(17.7g)、(S)-2-(吡啶-4-基氨基)-丙-1-醇(10.3g)和四氢呋喃(300ml)的混合液用偶氮二甲酸二乙酯(10.6ml)处理 10 分钟, 室温、通氮气下, 将得到的溶液搅拌 72 小时。减压浓缩反应混合液, 粗品产物经快速柱层析, 用二氯甲烷:乙醇:氨水(95:5:0.5)洗脱得到标题化合物, 为无色油状物 (9.5g)。

25 质谱: 实测值: MH^+ 301

(B): 将 3-羟基-5-甲基苯甲酸甲酯¹ (8g)、三丁基磷(11.9ml)、(S)-2-(吡啶-4-基氨基)-丙-1-醇(4.9g)和甲苯(300ml)的混合液用 1,1'-(偶氮二羰基)二哌啶(12.1g)处理, 室温、通氮气下, 将得到的溶液搅拌 18 小时。过滤反应混合液, 减压浓缩滤液。残留物经快速柱层析纯化, 用氯仿:甲醇:氨水(95:5:1)洗脱得到标题化合物, 为油状物(13.3g)。
 质谱: 实测值: MH^+ 301

中间体 5

2-(叔丁氧基羰基-吡啶-4-基氨基)丁酸乙酯

向吡啶-4-基氨基甲酸叔丁基酯² (2g)的干燥 DMF(25ml)溶液中加入氢氧化钠(60%矿油中的分散液, 0.54g)和 2-溴丁酸乙酯(1.7ml)。室温下, 将该混合液搅拌 18 小时。加入水(25ml), 将混合液用乙醚提取。将合并的有机提取液用盐水洗涤, 干燥(硫酸镁), 减压浓缩。粗产物经快速柱层析, 用环己烷:乙酸乙酯(4:1)洗脱得到标题化合物, 为无色油状物(0.332g)。
 质谱: 实测值: MH^+ 295

中间体 6

2-(吡啶-4-基氨基)丁-1-醇

将搅拌的 2-(叔丁氧基羰基-吡啶-4-基氨基)丁酸乙酯(0.33g)的乙醇(5ml)溶液用硼氢化钠(0.12g)处理, 继续搅拌 18 小时。加入水(1ml), 将混合液减压浓缩。将残留物吸附于硅胶上, 将得到的粉末上样到快速层析柱上, 用甲醇:氯仿:氨水(10:89:1)洗脱。将含有产物的部分蒸发后得到标题化合物, 为油状物(0.168g)。
 质谱: 实测值: MH^+ 167

中间体 73-氯-N,N-二异丙基-5-甲氧基-苯甲酰胺

将草酰氯(2.36ml)滴加入 DMF(0.1ml)和 3-氯-5-甲氧基苯甲酸³ (4.67g)的无水四氢呋喃(100ml)溶液中。1 小时后, 加入二异丙基胺 (3.75ml)和 DIPEA(9.51ml), 继续搅拌 18 小时。将反应混合液在乙酸乙酯和水之间分配, 将有机层用 1M 盐酸、饱和碳酸氢钠水溶液和水萃取。用盐水并经硫酸钠干燥有机相, 减压除去溶剂得到标题化合物, 为棕色固体(4.6g)。

质谱: 实测值: MH^+ 270

中间体 83-氯-5-羟基-N,N-二异丙基-苯甲酰胺

在-78℃下, 向搅拌的 3-氯-N,N-二异丙基-5-甲氧基-苯甲酰胺 (2.96g)的无水二氯甲烷(30ml)溶液中加入三溴化硼的二氯甲烷(40ml)溶液。将反应混合液温热至室温, 搅拌 19 小时。将反应混合液冷却至-78℃, 加入甲醇(20ml)。将反应混合液再温热至室温, 搅拌 24 小时, 然后减压浓缩。将残留物在乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠水溶液之间分配。有机相用水洗涤, 用盐水并经硫酸钠干燥。粗产物经快速柱层析纯化, 用环己烷:乙酸乙酯(1:1)洗脱得到标题化合物, 为白色固体(2.24g)。

H.p.l.c.体系 1 Rt 11.1min

中间体 93-氯-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酸甲酯

将 3-氯-5-羟基苯甲酸甲酯⁴ (4.5g)、三苯膦(6.3g)、(S)-2-(吡啶-4-基氨基)-丙-1-醇(3.65g)和四氢呋喃(100ml)的混合液用偶氮二甲酸二乙酯(5.7ml)处理 10 分钟, 室温、通氮气下, 将得到的混合液搅拌 96 小时。减压浓缩反应混合液, 粗产物经快速柱层析, 用二氯甲烷:甲醇:氨水(97:3:0.3)洗脱得到标题化合物, 为无色油状物(1.5g)。

质谱: 实测值: MH^+ 321

中间体 10

3-氯-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酸

5 在 60℃ 下, 将 3-氯-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酸甲酯 (1.47g) 的乙醇(15ml)溶液和 2M 氢氧化钠溶液(4.6ml)加热 3 小时。将反应混合液减压浓缩, 用乙酸酸化至 pH4。将得到的溶液用乙醚处理, 过滤沉淀的固体。将该固体在水中搅拌, 然后过滤得到标题化合物, 为乳膏状固体(1.1g)。

10 质谱: 实测值: MH^+ 307

中间体 11

N-[(1S)-2-氯-1-甲基乙基]吡啶-4-胺盐酸盐

15 将(S)-2-(吡啶-4-基氨基)-丙-1-醇(15g)的二氯甲烷(150ml)溶液用亚硫酸氯(59g)处理, 期间保持温度<10℃, 室温下, 将得到的混合液搅拌 18 小时。减压浓缩该反应混合液得到标题化合物, 为白色固体(20.1g)。

质谱: 实测值: MH^+ 171

20 中间体 12

N-乙基-3-羟基-N-异丙基-5-甲基苯甲酰胺

25 通氮气下, 向冷却(<5℃)的 3-羟基-5-甲基苯甲酸¹ (50g)的三乙胺(100g)和甲苯(500ml)的混悬液中加入新戊酰氯(97.2ml), 在 0-5℃ 下, 将得到的混合液搅拌 2 小时。加入乙基异丙基胺(55.7ml), 在 0-5℃ 下, 将反应混合液搅拌 2 小时, 升至室温。将混合液用水洗涤 2 次, 减压浓缩至剩余深色油状物。将该油状物溶于乙醇(500ml)中, 室温下用 5M NaOH 溶液(100g NaOH 溶于 500ml 水中)处理 3 小时。减压除去乙醇, 将得到的碱性溶液用水稀释, 用甲苯提取。将碱溶液层用乙酸酸化至 pH5, 将得到的混合水溶液用二氯甲烷提取。将

合并的有机提取液用盐水洗涤，减压浓缩得到标题化合物，为橙/棕色固体(41g)。

质谱：实测值：MH⁺ 222

5 实施例 1

N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

向 N-乙基-3-羟基-N-异丙基-5-甲基苯甲酰胺(5g)的 DMF (50ml) 溶液中加入碳酸钾(14.1g)。将该混合液加热至 45℃，用 5 分钟分次加入 N-[(1S)-2-氯-1-甲基乙基]吡啶-4-胺盐酸盐(9.4g)。将该混合液加
10 热至 115-120℃，在此温度下搅拌 100 小时。冷却至室温后，加入水 (100ml)，将得到的浆状液用二氯甲烷提取。将合并的有机相用 10% NaOH (10g 溶于 100ml 水中)洗涤，经硫酸镁干燥，过滤，减压浓缩得到棕色油状物。该油状物经快速柱层析纯化，用二氯甲烷:甲醇:氨水(98:1:1)-(94:5:1)洗脱得到标题化合物，为黄色油状物(4.4g)。

15 质谱：实测值：MH⁺ 356

¹H-NMR δ ppm (DMSO-d₆) 8.04 (1/2AA'BB', 2H), 6.90 (brs, 1H), 6.72 (brs, 1H), 6.67 (brs, 1H), 6.58 (1/2AA'BB', 2H), 4.45, 3.83 (2 x brs, 1H), 4.05-3.90 (m, 3H), 3.33 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 1.28 (d, 3H), 1.30-1.05 (m, 9H)。

20 还可按下列方法制备实施例 1 化合物。

N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

室温下，将 3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酸(0.1g)、TBTU (0.225g)、DIPEA (0.5ml)和 N-乙基异丙基胺(0.09ml)的干燥 DMF
25 (2ml)的混合液搅拌 60 小时。减压浓缩反应液，将残留物在乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠水溶液之间分配。将合并的有机部分用盐水并经硫酸镁干燥，减压浓缩。粗产物经 megabond 快速柱层析，用二氯甲烷:乙醇:氨水(95:5:0.5)洗脱得到标题化合物，为黄色油状物(0.097g)。

T.l.c.(95:5:0.5) R_f 0.3。质谱：实测值：MH⁺ 356

采用市售提供的胺类似地制备如下化合物:

实施例 2

N,N-二异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

5 T.l.c. (95:5:0.5) Rf 0.1. 质谱: 实测值: MH^+ 370

实施例 3

N-异丙基-3,N-二甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

10 T.l.c. (95:5:0.5) Rf 0.3. 质谱: 实测值: MH^+ 342

实施例 4

3,N-二甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

T.l.c. (95:5:0.5) Rf 0.3. 质谱: 实测值: MH^+ 342

实施例 5

3-甲基-N,N-二丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

15 T.l.c. (95:5:0.5) Rf 0.3. 质谱: 实测值: MH^+ 370

实施例 6

N-乙基-3-甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

20 T.l.c. (95:5:0.5) Rf 0.3. 质谱: 实测值: MH^+ 356

实施例 7

N-丁基-3-甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

25 T.l.c. (95:5:0.5) Rf 0.3. 质谱: 实测值: MH^+ 384

实施例 8

N-环己基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

T.l.c. (95:5:0.5) Rf 0.3. 质谱: 实测值: MH^+ 410

实施例 9N-异丙基-3-甲基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

T.l.c. (100:8:1) Rf 0.3. 质谱: 实测值: MH^+ 370

5 实施例 103-氯-N-异丙基-N-丙基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺

室温下, 将 3-氯-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酸(0.1g)、TBTU (0.225g)、DIPEA (0.5ml)和 N-丙基异丙基胺(0.067g)的干燥 DMF (2ml)混合液搅拌 24 小时。将混合液倒入饱和碳酸氢钠水溶液中, 用乙酸乙酯提取。减压浓缩合并的有机提取液, 残留物经 megabond 快速柱层析, 用二氯甲烷:甲醇:氨水(95:5:0.5)洗脱得到标题化合物, 为黄色油状物(0.08g)。

T.l.c.(97:3:0.3) Rf 0.2. 质谱: 实测值: MH^+ 390

15 实施例 113-氯-N,N-二异丙基-5-[2-(吡啶-4-基氨基)-丁氧基]-苯甲酰胺盐酸盐

将 3-氯-5-羟基-N,N-二异丙基-苯甲酰胺(0.05g)、2-(吡啶-4-基-氨基)-丁-1-醇(0.023g)、三苯膦(0.04g)和甲苯(1ml)的混合液用偶氮二甲酸二异丙基酯(0.03ml)处理, 通氮气下, 将得到的溶液搅拌 8 日。减压浓缩反应混合液, 残留物经快速柱层析纯化, 用氯仿:甲醇:氨水(90:10:1)洗脱得到不纯的标题化合物样品。将该不纯样品经制备 H.p.l.c.(体系 A)纯化, 将纯化的物质用 1M 氯化氢乙醚溶液处理得到标题化合物, 为胶状物(0.002g)。

质谱: 实测值: MH^+ 404

25 H.p.l.c.体系 1 Rt 11.1min

实施例 12

N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺盐 酸盐

将 N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺(6.21g)溶于 2M 盐酸(35ml)中, 搅拌 10 分钟, 然后减压浓缩该混合液。将残留物与乙腈共沸两次。将全过程重复一次得到标题化合物, 为无定形粉末(6.19g)。

质谱: 实测值: MH^+ 356

H.p.l.c.体系 1 Rt 7.0min

还可根据以下方法制备实施例 12 化合物。

N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺盐 酸盐

将 1,1'-(偶氮二羧基)二吡啶(10.3g)和三丁基膦(10.3g)的甲苯(350ml)中的混合液用(S)-2-(吡啶-4-基氨基)-丙-1-醇(4.1g)和 N-乙基-3-羟基-N-异丙基-5-甲基苯甲酰胺(12g)处理, 在 40℃、通氮气下, 将得到的溶液搅拌 24 小时。过滤反应混合液, 减压浓缩滤液得到浅棕色油状物, 经制备 H.p.l.c.(体系 B)部分纯化。将得到的油状物(21.17g)溶于二氯甲烷中, 用氨水、水和盐水洗涤, 然后减压浓缩得到油状物(5.74g)。将该油状物溶于四氢呋喃(50ml)中, 加入到甲醇(0.52ml)和乙酰氯(1.2ml)的混合液中, 室温下搅拌 30 分钟。减压浓缩该溶液, 将残留物与二异丙基醚共沸得到标题化合物, 为白色泡沫状物(3.7g)。

质谱: 实测值: MH^+ 356

1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6) 13.62 (brs, 1H), 8.84 (brd, 1H), 8.22, 8.07 (brd, 2H), 7.02, 6.93 (2 x brd, 2H), 6.78 (brs, 1H), 6.68 (brs, 1H), 6.60 (brs, 1H), 4.40, 3.76 (brs, 1H), 4.22 (m, 1H), 4.06, 3.98 (ABX, 2H), 3.29, 3.12 (2 x brs, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.28 (d, 3H), 1.25-1.00 (brm, 9H)。

实施例 13N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺 4-甲苯磺酸盐

向 N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺(3g)的异丙醇(30ml)溶液中加入对甲苯磺酸(1.62g), 室温下, 将得到的溶液搅拌 30 分钟。减压除去溶剂得到浅黄色油状物, 再将其溶于异丙醇(10ml)中。然后将得到的溶液加入二异丙基醚(50 ml)中, 得到标题化合物, 为白色结晶固体(3.22g)。

质谱: 实测值: MH^+ 356

1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6) 13.09 (brs, 1H), 8.61 (brd, 1H), 8.23, 8.08 (2 x 1/2AA'BB', 2H), 7.48 (1/2AA'BB', 2H), 7.11 (1/2AA'BB', 2H), 7.03, 6.88 (2 x 1/2AA'BB', 2H), 6.78 (brs, 1H), 6.68 (brs, 1H), 6.60 (brs, 1H), 4.40, 3.76 (2 x brs, 1H), 4.22 (m, 1H), 4.09, 3.97 (ABX, 2H), 3.29, 3.12 (2 x brs, 2H), 2.28 (s, 6H), 1.27 (d, 3H), 1.24-1.02 (m, 9H).

实施例 14N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺 2-羟基苯甲酸盐

向 N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺(0.65g)的甲苯(3.2ml)溶液中加入水杨酸(0.25g)的四氢呋喃(1.2ml)溶液, 室温下, 将得到的溶液搅拌 2 小时。将该溶液冷却至 0℃, 用二异丙基醚(5ml)稀释; 没有结晶出现。然后将该溶液减压浓缩得到标题化合物, 为泡沫状物(1.0g)。

质谱: 实测值: MH^+ 356

1H -NMR δ ppm ($CDCl_3$) 8.02 (brd, 2H), 7.95(dd, 1H), 7.61 (brd, 1H), 7.31 (dt, 1H), 6.91 (brd, 1H), 6.80 (dt, 1H), 6.70 (brs, 1H), 6.66 (brd, 2H), 6.56 (brs, 1H), 4.59, 3.92 (2 x brs, 1H), 4.07-3.82 (3 x m, 3H), 3.38, 3.20 (2 x brs, 2H), 2.30 (s, 3H), 1.35 (d, 3H), 1.26 (brt, 3H), 1.13 (brd, 6H).

实施例 15N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺
(2R,3R)-2,3-二羟基丁二酸盐

向 N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲
 酰胺(0.65g)的四氢呋喃(3.2ml)溶液中加入 L-酒石酸(0.28g)的甲醇(5ml)
 溶液。室温下无结晶出现。减压浓缩该反应混合液得到无色胶状物,
 将其溶于最少量的异丙醇中, 然后加入到过量的二异丙基醚(250 ml)
 中。室温下, 将得到的溶液搅拌 2 日, 过滤得到标题化合物, 为白
 色固体(0.82g)。

质谱: 实测值: MH^+ 356

1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6) 8.12 (1/2AA'BB', 2H), 7.97 (d, 1H), 6.83
 (1/2AA'BB', 2H), 6.79 (brs, 1H), 6.68 (brs, 1H), 6.61 (brs, 1H), 4.40, 3.76
 (2 x brs, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.04 (s + ABX, 3H), 3.98 (ABX, 1H), 3.28,
 3.13 (2 x brs, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.27 (d, 3H), 1.24-1.00 (m, 9H)。

实施例 16N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲酰胺 4-
氨基苯磺酸盐

向 N-乙基-N-异丙基-3-甲基-5-[2S-(吡啶-4-基氨基)-丙氧基]-苯甲
 酰胺(0.65g)的四氢呋喃(3.2ml)溶液中加入对氨基苯磺酸(0.32g)的水
 (5ml)浆状液。室温下, 将得到的澄清溶液搅拌 2.5 小时, 然后减压
 浓缩。将残留物溶于二异丙基醚(30 ml)中, 2 日后过滤得到标题化合
 物, 为白色粉末(0.86g)。

质谱: 实测值: MH^+ 356

1H -NMR δ ppm (DMSO- d_6) 13.1 (brs, 1H), 8.61 (brd, 1H), 8.23, 8.08 (2 x
 1/2AA'BB', 2H), 7.30 (1/2AA'BB', 2H), 7.03, 6.88 (2 x 1/2AA'BB', 2H),
 6.78 (brs, 1H), 6.68 (brs, 1H), 6.60 (brs, 1H), 6.54 (1/2AA'BB', 2H), 6.02
 (brs, 2H), 4.40, 3.76 (2 x brs, 1H), 4.23 (m, 1H), 4.09, 3.97 (ABX, 2H),
 3.29, 3.12 (2 x brs, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.28 (d, 3H), 1.24-1.00 (m, 9H)。

参考文献

- 1) Turner, FA; Gearien, JE, J.Org Chem., 1959, 1952.
- 2) Kelly, TA; McNeil, DW, Tetrahedron Lett., 1994, 35(48), 9003.
- 3) Sargent, MV, J.Chem.Soc., Perkin Trans. 1, 1982, 1095.
- 5 4) Kimio, T; Sumio, S; Masaru, O, Heterocycles, 1985, 23(6), 1483.

式(I)化合物可包括在药物制剂中, 以下给出这些制剂的详细内容。

10 口服给药片剂A. 直接压制

	% w/w
活性组分	32.7
无水乳糖	36.8
微晶纤维素	25.0
预凝胶化玉米淀粉	5.0
硬脂酸镁	0.5

将活性组分过筛, 然后与赋形剂混合。用带有适当直径冲头的压片机, 将得到的混合物压制成片。

15 还可用旋转式机械压片。

可通过如改变活性组分与乳糖的比例或压片重量以及采用适当的冲头来制备不同强度的片剂。

B. 湿法制粒

制剂(i)

	% w/w
活性组分	3.5
乳糖	73.25
淀粉	15.0
预凝胶化玉米淀粉	7.5
硬脂酸镁	0.75

5 将活性组分通过适当的筛过筛，然后与乳糖、淀粉和预凝胶化玉米淀粉混合。加入适当体积的纯化水，将粉末制粒。干燥后，将颗粒过筛，与硬脂酸镁混合。然后用带有适当直径冲头的压片机，将该颗粒压制成片。在终产品中未出现制粒所用的水。

还可用旋转机械压片。

10 可通过如改变活性组分与乳糖的比例或压片重量以及采用适当的冲头来制备不同强度的片剂。

制剂(ii)

	% w/w
活性组分/乳糖颗粒*	93.0
微晶纤维素	5.5
交联羧甲基纤维素钠	1.0
硬脂酸镁	0.5

活性组分/乳糖颗粒*	% w/w
活性组分	50.0
乳糖	50.0
纯化水	适量+

+终产品中未出现水。每 kg 混合物中水的量一般为 100-140g。

将活性组分与乳糖一起混合，然后通过加入纯化水制粒。将混合后得到的颗粒干燥，过筛，然后将得到的颗粒与其它片芯赋形剂混合。将混合物压制成片。

还可用旋转机械压片。

- 5 可通过如改变活性组分与乳糖的比例或压片重量以及采用适当的冲头来制备不同强度的片剂。

可采用标准技术，将片剂用适当的成膜物质包衣，成膜物质如羟丙基甲基纤维素，优选在制剂中加入颜料。另外，还可将片剂包糖衣或肠溶衣。

10

包衣混悬液	% w/w
羟丙基甲基纤维素	10.0
Opaspray	5.0
纯水至	100.0++

或

包衣混悬液	% w/w
Opadry	10.0
纯水至	100.0++

++终产品中未出现水。

压制包衣片

- 15 还可用常用的赋形剂如填充剂、粘合剂、崩解剂和润滑剂，将活性组分制成片芯，然后用常用的赋形剂如与 pH 无关的亲水性聚合物、填充剂、粘合剂、崩解剂和润滑剂，将该片芯压制在外层片(压制包衣)中。外层包衣中也可含有活性组分。可采用常用的压片机制备压制片芯和外层压制包衣。

- 20 还可设计制成按需要控制释放活性组分的剂型。

泡腾片

	% w/w
活性组分	8.75
碳酸氢钠	41.03
无水柠檬酸一钠	41.22
天冬甜素	2.5
聚乙烯吡咯烷酮	2.0
苯甲酸钠	3.0
橙矫味剂	1.0
柠檬矫味剂	0.5
制粒用无水乙醇	适量

- 5 将活性组分、无水柠檬酸一钠、碳酸氢钠和天冬甜素一起混合，通过加入聚乙烯吡咯烷酮的醇溶液制粒。将混合后得到的颗粒干燥，过筛，然后将得到的颗粒与苯甲酸钠和矫味剂混合。用带有适当直径冲头的压片机，将颗粒化的物质压制成片。

还可使用旋转机械压片。

口服液体填充胶囊剂

- 10 通过在不断搅拌下，将活性组分慢慢加入到其它组分中来制备液体制剂。

实施例	A % w/w	B % w/w
活性组分	18.2	18.2
油酸	60.985	68.485
聚乙二醇 600	7.3	7.3
丙二醇	6.0	6.0
多乙氧基醚	7.5	-
棕榈酸抗坏血酸酯	0.015	0.015

将液体制剂填充入明胶胶囊中，所用胶囊和填料的尺寸决定可能填充的重量/体积，并决定每个胶囊中活性组分的量。

粉末填充胶囊剂

	% w/w
活性组分	24.5
乳糖	75.0
硬脂酸镁	0.5

5

将活性组分过筛，然后与赋形剂混合。用适当的设备，将混合物填充于硬明胶胶囊中。根据填充的重量和胶囊尺寸确定剂量。

糖浆剂

	mg/5ml 剂量
活性组分	49.0
羟丙基甲基纤维素 (粘度类型 4000)	22.5
缓冲液	适量
矫味剂	适量
着色剂	适量
防腐剂	适量
甜味剂	适量
纯化水至	5.0ml

10

将羟丙基甲基纤维素分散于热水中，冷却，然后与含有活性组分和其它该制剂组分的水溶液混合。将得到的溶液调节至一定体积，混合。过滤澄清该糖浆剂。

混悬剂

	mg/5ml 剂量
活性组分	49.0
单硬脂酸铝	75.0
甜味剂	适量
矫味剂	适量
着色剂	适量
分级椰子油至	5.0ml

- 5 将单硬脂酸铝分散于约 90%分级椰子油中。搅拌下，将得到的混悬液加热至 115℃，然后冷却。加入甜味剂、矫味剂和着色剂，将活性组分适当地分散。用剩余的分级椰子油将混悬液调至一定体积，混合。

舌下片

	% w/w
活性组分/乳糖颗粒*	49.0
可压制糖	50.5
硬脂酸镁	0.5

- 10 将活性组分通过适当的筛过筛，然后与赋形剂混合，用适当的冲头压制。可通过改变活性组分与赋形剂的比例或压片重量以及采用适当的冲头来制备不同强度的片剂。

还可用旋转机械压片。

15 直肠给药栓剂

活性组分	49.0mg
*Witepsol W32	1.0g

*专有等级的固态动物脂 Ph Eur

制备活性组分在熔融 Witepsol 中的混悬液, 采用适当的设备, 填充于 1g 尺寸的栓剂模中。

注射剂

	% w/v
活性组分	1.0
注射用水 B.P.至	100

5

可加入氯化钠以调节溶液的张力, 可通过使用稀酸或碱或者通过加入适当的缓冲盐, 将 pH 调节至最大稳定态和/或易于溶解活性组分。还可包括抗氧化剂和金属螯合剂盐。将溶液澄清过滤, 用水调至终体积, 再测定 pH, 如果必要再调节。

10

可将该溶液包装成注射剂, 例如通过填充并密封于安瓿、管形瓶或注射器中。可将安瓿、管形瓶或注射器进行无菌填充(如, 可将溶液通过过滤灭菌, 然后在无菌条件下, 填充于无菌安瓿中)和/或最后灭菌(如, 通过采用其中一种可接受的循环, 在高压锅中加热灭菌)。可在惰性氮气下, 包装该溶液。

15

优选将该溶液填充于安瓿中, 通过熔融玻璃密封, 然后进行最终灭菌。

吸入剂

吸入药筒

	mg/药筒
活性组分(微粉化)	0.56
乳糖	25.00

20

在流能磨中, 将活性组分微粉化成细粒, 然后在高能混合器中, 与正常的压片等级的乳糖混合。在适当的封装机中, 将混合的粉末填充于 3 号硬明胶胶囊中。通过粉末吸入器, 如 Glaxo Rotahaler, 给

予药筒中的内容物。

计量剂量压力气雾剂

混悬气雾剂	mg/计量剂量	每罐
活性组分(微粉化)	0.280	73.92mg
油酸	0.020	5.28mg
异戊烷	23.64	5.67g
四氟乙烷	61.25	14.70g

- 5 在流能磨中，将活性组分微粉化成细粒。在 10-15℃ 下，将油酸与以上物质混合，用高剪切混合器，将微粉化的药物混入该溶液中。将该混悬液计量加入铝制气雾剂罐中，将该气雾罐上装配适当的可传送 85mg 混悬液的计量阀，通过该计量阀，向该罐中用压力充填二氯二氟甲烷。

10

鼻腔喷雾剂

	% w/v
活性组分	7.0
氯化钠	0.9
纯化水至	100
喷射重量	100mg(相当于 7mg 活性组分)

将活性组分和氯化钠溶于部分水中，用水将溶液调至一定体积，将该溶液充分混合。

- 15 可通过使用酸或碱，调节 pH 以便易溶解活性组分，和/或如果必要，再调节至最大稳定态下的 pH。另外，还可使用适当的缓冲盐液。对于多剂量鼻腔喷射剂，还可使用如苯扎氯铵和苯乙醇，使该溶液防腐。