

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101357893 B

(45) 授权公告日 2011. 12. 07

(21) 申请号 200810139552. 5

(22) 申请日 2008. 08. 22

(73) 专利权人 山东大学

地址 250012 山东省济南市历下区文化西路
44 号

(72) 发明人 徐文方 尚鲁庆 方浩

(74) 专利代理机构 济南金迪知识产权代理有限
公司 37219

代理人 赵会祥

(51) Int. Cl.

C07C 237/02(2006. 01)

C07C 233/34(2006. 01)

C07C 231/02(2006. 01)

A61K 31/16(2006. 01)

A61P 43/00(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1636978 A, 2005. 07. 13, 全文.

CN 1974554 A, 2007. 06. 06, 全文.

CN 1528745 A, 2004. 09. 15, 全文.

审查员 王大为

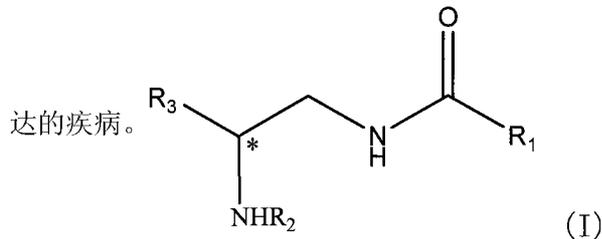
权利要求书 2 页 说明书 13 页 附图 1 页

(54) 发明名称

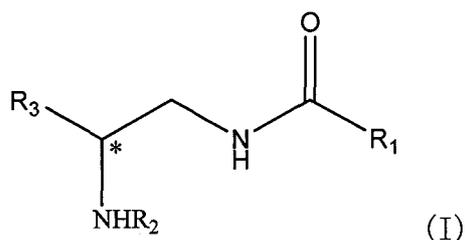
乙二胺类金属蛋白酶抑制剂及其应用

(57) 摘要

本发明涉及乙二胺类金属蛋白酶抑制剂及其
应用。乙二胺类金属蛋白酶抑制剂是具有通式
(I) 结构的类肽化合物, 及其各种光学异构体、药
学上可接受的盐、溶剂合物以及前药。本发明还涉
及含有式 (I) 结构类肽化合物的药物组合物及其
制药用途。本发明提供了一类强效的类肽金属蛋
白酶抑制剂, 可有效治疗金属蛋白酶活性异常表



1. 通式 I 的化合物, 以及其光学异构体、非对映异构体和消旋体混合物, 其药学上可接受的盐:



所述式 I 的化合物是下述化合物之一:

- 2-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]乙酰胺,
- (2S)-2-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-苯丙酰胺,
- (2S)-2-氨基-4-甲基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]戊酰胺,
- (2S)-2-氨基-3-甲基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]戊酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-L-吡咯烷酰胺,
- (3S)-3-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丙酰胺,
- (2S)-2-氨基-3-甲基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丙酰胺,
- (2S)-2-氨基-4-甲基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-羟基-L-脯氨酸酰胺,
- (2S)-2,6-二氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]己酰胺,
- (2S)-2-氨基-4-甲硫基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丁酰胺,
- 4-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丁酰胺,
- 6-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]己酰胺,
- (2S)-2-氨基-3-羟基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丙酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-苯丙酰胺,
- (2S)-2,5-二氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]戊酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-L-组氨酸酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-4-甲基-苯磺酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-4-氯-丁酰胺,
- (2S)-2-氨基-3-巯基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丙酰胺,
- (2E)-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-苯丙烯酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3,4,5-三甲氧基-苯甲酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-2-苯乙酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-4-苯丁酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3,5-二氯苯甲酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-2-(2-萘基)-甲酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-2-[2-(2,6-二氯苯基)氨基]苯乙酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]苯甲酰胺,
- (2E)-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-(3,4-二甲氧基)苯丙烯酰胺,
- (2E)-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-(3-甲氧基-4-羟基)苯丙烯酰胺,
- (2E)-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-(3,4-二羟基)苯丙烯酰胺,
- N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-4-硝基-苯甲酰胺,

N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3,5-二硝基-苯甲酰胺,

4-[N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]甲酰胺基]苯甲酸甲酯。

2. 如权利要求 1 所述的化合物,其特征在于:式 I 中 * 所示的碳具有 R 构型。

3. 权利要求 1 或 2 所述的化合物的制药用途,用于制备预防或治疗与金属蛋白酶活性异常表达相关的哺乳动物疾病的药物。

4. 如权利要求 3 所述的化合物的制药用途,其特征在于所述金属蛋白酶是基质金属蛋白酶或氨肽酶 N。

5. 如权利要求 3 所述的化合物的制药用途,其特征在于所述的与金属蛋白酶活性异常表达的相关哺乳动物疾病是:炎症,癌症,多发性硬化症,各种组织溃疡或组织溃疡性病征,牙周病,大疱性表皮松懈症和白血病。

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

乙二胺类金属蛋白酶抑制剂及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一类具有乙二胺骨架的选择性抑制金属蛋白酶作用的类肽化合物的制备方法、活性试验和含该类肽化合物的组合物,以及这些组合物的用途。

背景技术

[0002] 1、基质金属蛋白酶 (MMPs)

[0003] MMPs 是一类依赖钙离子和锌离子的内肽酶,对细胞外基质降解、组织重建以及细胞间多种可溶性因子的调控起重要作用。MMPs 的活性由基因表达水平和酶原激活/抑制因子的分泌水平严格控制,在很多病理过程,如关节炎、组织溃烂、恶性肿瘤的生长和转移中, MMPs 也起到了重要作用。

[0004] 目前在哺乳动物中发现了 MMPs 家族的 28 个成员 (Szabo, K. A. et al. *Clinical and Applied Immunology Reviews*. 2004, 4, 295), 根据其结构、特异性底物和不同的细胞位置,分为不同的亚型,包括种胶原酶 (MMP-1, -8, -13, -18), 2 种明胶酶 (MMP-2, -9), 3 种基质降解酶 (MMP-3, -10, -11), 6 种膜型 - 基质金属蛋白酶 (MMP-14, -15, -16, -17, -24, -25), 以及其他未归类的如基质溶解素 (MMP-7 和 -26) 和巨噬细胞金属弹性蛋白 (MMP-12) 等。其中明胶酶 (MMP-2 和 -9) 已被证明于侵袭性肿瘤的恶性表型及癌症病人的不良预后密切相关,他们参与了肿瘤细胞对基底膜、基质的侵袭,对血管壁的穿透,以及肿瘤细胞的转移。近年来研究表明, MMPs 还与原发瘤和继发瘤的生长、以及血管生成有关,甚至对肿瘤增值过程亦起促进作用。因此,瞄准以这些酶为作用靶点的治疗策略也迅速发展起来, MMPs 抑制剂已成为癌症治疗药物研究中的热点。

[0005] 可用 MMPs 抑制剂治疗的例子包括:类风湿性关节炎 (Mullins, D. E. ; et al. *Biochim. Biophys. Acta*. 1983, 695, 117); 骨关节炎 (Henderson, D. ; et al. *Drugs of the Future*, 1990, 15, 495); 癌症; 肿瘤细胞转移 (Deryugina, E. I. ; et al. *Cancer Metastasis Rev*. 2006, 25, 9); 多发性硬化症 (Rosenberg, G. A. et al. *Ann Neurol*. 2001, 50, 431); 以及各种组织溃疡或组织溃疡性病征。如发生在角膜的溃疡可能是因碱灼伤所致,或因感染铜绿假单孢菌、*Acanthamoeba*、单纯性疱疹和牛痘病毒所致。

[0006] 以金属蛋白酶活性过度为特征的病症的其他例子包括牙周病、大疱性表皮松懈症、发热、炎症和巩膜炎 (Cf. Decicco, et al W095/29892)。

[0007] 2、氨肽酶 N

[0008] 氨肽酶 N (APN, CD13) 是一族 II 型膜结合糖蛋白,分子量约为 150Kd,属于锌离子依赖性金属蛋白酶和氨肽酶 M1 家族的 Gluzincins 亚族,以同源二聚体的形式存在于细胞膜,参与底物 N 端氨基酸的降解。APN 广泛表达于肾脏和肠刷状缘细胞、骨髓始祖细胞膜、单核细胞膜,中枢神经系统突触细胞膜、成纤维细胞、内皮细胞膜、胎盘细胞膜表面,参与机体的生理调节。研究证明, APN 在肿瘤发生、免疫功能调节以及病毒感染中发挥重要的作用。

[0009] 1) APN 在肿瘤细胞表面高水平表达。该酶可降解细胞外基质 (ECM) 的主要成分,破坏了机体的天然屏障,并作为一个新型信号转导分子参与肿瘤新血管的生成,从而促

进肿瘤细胞浸润与转移 (Sato Y, Biol. Pharm. Bull., 2004, 27 (6) :772-776 ;Saiki, I. ; et al. Int. J. Cancer., 1993, 54, 137 ;Menrad A., Speicher D., Wacker J., et al. Cancer Res., 1993, 53 (6) :1450-1455)。2) APN 在粒细胞及淋巴细胞表面大量表达,同时也参与了 T 淋巴细胞依赖的炎症反应;还能够表达于抗原递呈细胞表面,降解免疫活性物质(如白介素-8);参与抗原处理和细胞表面的主要组织相容性复合体 II 型 (MHC-II) 粘附抗原决定簇依赖的 T 细胞对抗原的识别,降低了 T 细胞对其抗原的识别能力,同时削弱了巨噬细胞和 NK 细胞对肿瘤细胞的识别和杀伤能力,使机体免疫力下降。3) APN 作为人冠状病毒 HCoV-229E 和传染性胃肠炎病毒 (TGEV) 表面的受体,在上呼吸道感染(如:SARS)和急性肠炎中扮演重要角色,且其发挥作用与酶的活性相关 (Delmas, B., et al. Nature, 1992, 357, 417 ;Yeager, C. L. ;et al. Nature, 1992, 357, 420)。4) APN 参与了 T 淋巴细胞依赖的炎症反应和 HIV 病毒颗粒进入宿主细胞的过程。研究表明,在感染 HIV 的患者体内 APN 活性远远高于健康志愿者。在 HIV-1 入侵宿主细胞时,高表达的 APN 通过降解能够使 HIV-1 辅助受体 CCR5 脱敏的趋化因子 fMLP,从而降低细胞的天然免疫功能,并使 CCR5 增敏,促进病毒进入宿主细胞。(ShenW, Li B, et al. Blood, 2000, 96 (8), 2887 ;Shipp MA, et al. Blood, 1993, 82 (4), 1052) 5) APN 参与内源性镇痛物质内啡肽和脑啡肽的降解,从而引起 P 物质的过度释放,导致疼痛。6) APN 降解血管紧张素,参与机体血压的调节 (Mitsui, T. ;et al. Biol. Pharm. Bull., 2004, 27, 768.)。

[0010] 十几年以来,对 MMPs 抑制剂的研究开发极为迅速,但至今为止尚且没有一个上市。MMPs 抑制剂大多数为肽或肽的类似物,对酶的降解比较敏感,另外由于 MMPs 表现出一种广谱的作用特点,除了 ECM 还裂解其他底物如它们可以作为促进生长因子表达的酶或通过抑制蛋白水解而活化整合素从而间接促进肿瘤生长,这也是大多数 MMPs 抑制剂在临床阶段被枪毙的原因所在。另外针对 APN 的抑制剂多为天然产物,唯一一个上市的药物乌苯美司 (Ubenimex) 具有含 β -氨基酸的类二肽结构,目前作为免疫增强剂用于白血病的治疗,但由于是从橄榄网状链霉菌 (*Streptomyces olivoreticuli*) 的培养液中分离得到,来源有限。

[0011] 研究表明, MMPs 和 APN 与恶性肿瘤的浸润与转移的发生和发展密切相关 (Sounni N. E., Janssen M., Foidart J. M., et al. Matrix Biol., 2003, 22 (1), 55-61)。二者均以细胞外基质的主要成分—胶原蛋白为底物,通过破坏机体对肿瘤细胞的天然屏障,导致肿瘤细胞的浸润与转移。然而二者的不同在于其对底物的降解位点不同:前者为内肽酶 (endopeptidase),能够从肽段中间降解底物;后者为外肽酶 (ectopeptidase),其特点是由底物末端氨基开始降解底物。本发明将 MMPs 和 APN 结合起来研究,本项专利中涉及所设计的类肽化合物对两者的选择性问题的,而且通过对类肽化合物结构的优化有望分别开发出特异性选择性抑制剂。本发明中所设计的类肽化合物针对于 APN 活性筛选发现几个药物分子其活性微弱于目前唯一上市的乌苯美司。

发明内容

[0012] 本发明针对现有技术的不足,提供一种乙二胺类金属蛋白酶抑制剂及其制备方法。

[0013] 本发明含有如下所示通式 (I) 的化合物的设计采用了类肽和电子等排体设计策

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

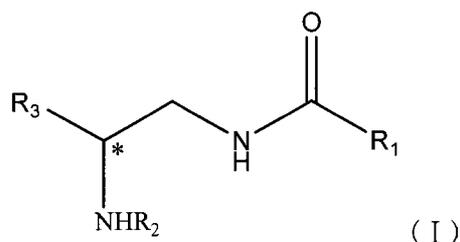
[0014] 具体而言,本发明以光学纯度氨基酸为原料,通过在酸性条件下甲酯化,所得的化合物再经过 Boc 或 Cbz 保护氨基保护,还原,甲磺酰化,亲核取代等步骤合成关键中间体,再通过与具有生物活性的不同酰氯(如没食子酸、咖啡酸、苯乙酸、阿魏酸、非甾体抗炎药有机酸)以及氨基酸衍生物缩合,然后脱保护得到不同系列的类二肽或类三肽,目的均是为了增强化合物与酶或受体的亲和力以及代谢稳定性。

[0015] 本发明设计合成了一类具有全新结构母核的金属蛋白酶抑制剂。体外试验表明其无细胞毒活性但体现出显著的体外抑酶活性,有望成为一类非细胞毒类抗癌候选药物。

[0016] 本发明的技术方案如下:

[0017] 具有通式 I 的类肽化合物,以及其光学异构体、非对映异构体和消旋体混合物,其药学上可接受的盐,溶剂合物或前药。

[0018]



[0019] 其中,

[0020] R_1 是芳基,杂芳基,芳基 C1-6 烷基,杂芳基 C1-9 烷基,芳基 C2-6 烯基,杂芳基 C2-6 烯基,芳基 C2-6 炔基,杂芳基 C2-6 炔基, C1-6 烷基,任选被一个或多个如下基团取代:羟基,卤素,硝基,氰基,卤 C1-8 烷基, C1-8 烷氧基, C1-6 烷基羰基, C1-8 烷氧羰基,芳基 C1-8 烷氧羰基;

[0021] R_2 是氢,芳基,杂芳基,芳基 C1-6 烷基,杂芳基 C1-9 烷基,芳基 C2-6 烯基,杂芳基 C2-6 烯基,芳基 C2-6 炔基,杂芳基 C2-6 炔基,任选被一个或多个如下基团取代:卤素,硝基,氰基,卤 C1-8 烷基, C1-8 烷氧基, C1-6 烷基羰基, C1-8 烷氧羰基;

[0022] R_3 是芳基 C1-6 烷基,杂芳基 C1-9 烷基,芳基 C2-6 烯基,杂芳基 C2-6 烯基,芳基 C2-6 炔基,杂芳基 C2-6 炔基,任选被一个或多个如下基团取代:卤素,硝基,氰基,卤 C1-8 烷基, C1-8 烷氧基, C1-6 烷基羰基, C1-8 烷氧羰基。

[0023] * 所示的碳具有 R 构型。

[0024] 优选的, R_1 是芳基 C1-6 烷基,芳基 C2-6 烯基,杂芳基 C1-9 烷基; R_2 是氢; R_3 是芳基 C1-6 烷基,芳基 C2-6 烯基,杂芳基 C1-9 烷基,最优选 R_3 是苄基。

[0025] 上述的类肽化合物 (I) 具体包括如下化合物:

[0026] (2S)-2,6-二氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]己酰胺,

[0027] (2S)-2-氨基-4-甲硫基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丁酰胺,

[0028] 4-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丁酰胺,

- [0029] 6-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]己酰胺，
- [0030] (2S)-2-氨基-3-羟基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丙酰胺，
- [0031] N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-苯丙酰胺，
- [0032] (2S)-2,5-二氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]戊酰胺，
- [0033] 2-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]乙酰胺，
- [0034] (2S)-2-氨基-4-甲基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-羟基-L-脯氨酸酰胺，
- [0035] (2S)-2-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-苯丙酰胺，
- [0036] (2S)-2-氨基-4-甲基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]戊酰胺，
- [0037] (2S)-2-氨基-3-甲基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]戊酰胺，
- [0038] N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-L-吡咯烷酰胺，
- [0039] (3S)-3-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丙酰胺，
- [0040] (2S)-2-氨基-3-甲基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丙酰胺，
- [0041] N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-L-组氨酸酰胺，
- [0042] N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-4-甲基-苯磺酰胺，
- [0043] (2S)-2-氨基-3-巯基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]丙酰胺，
- [0044] (2E)-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-苯丙烯酰胺，
- [0045] N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3,4,5-三甲氧基-苯甲酰胺，
- [0046] N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-2-苯乙酰胺，
- [0047] (2E)-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-(3,4-二甲氧基)苯丙烯酰胺，
- [0048] (2E)-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-(3-甲氧基-4-羟基)苯丙烯酰胺，
- [0049] (2E)-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3-(3,4-二羟基)苯丙烯酰胺，
- [0050] N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-4-硝基-苯甲酰胺，
- [0051] N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]-3,5-二硝基-苯甲酰胺，
- [0052] 4-{N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]甲酰胺基}苯甲酸甲酯，
- [0053] 制备上述通式(I)的类肽化合物中间体为:(2R)-2-叔丁氧羰酰胺基-3-苯基-丙胺,或2-叔丁氧羰酰氨基-N-[(2R)-2-叔丁氧羰酰氨基-3-苯丙基]乙酰胺。
- [0054] 这些类肽化合物在预防或治疗与金属蛋白酶,包括基质金属蛋白酶或氨肽酶N,活性异常表达相关的哺乳动物疾病的药物的应用。所述的与金属蛋白酶活性异常表达的相关哺乳动物疾病包括:炎症,癌症,多发性硬化症,各种组织溃疡或组织溃疡性病征,牙周病,大疱性表皮松懈症,白血病等。因此,本发明还涉及含有(I)结构化合物的药物组合物。
- [0055] 一种药物组合物,包含(1)权利要求1-3任一项的类肽化合物,和(2)一种或多种药学上可接受载体或赋形剂。
- [0056] 此外,本发明还包括一种适于口服给予哺乳动物的药物组合物,包含(1)权利要求1-3任一类肽化合物,和(2)药学上可接受载体,任选包含(3)一种或多种药学上可接受的赋形剂。
- [0057] 此外,本发明还包括一种适于胃肠外给予哺乳动物的药物组合物,包含(1)权利要求1-3任一类肽化合物,和(2)药学上可接受载体,任选包含(3)一种或多种药学上可接受的赋形剂。
- [0058] 发明详述

[0059] 所用的定义和术语

[0060] 本文中所述的术语和定义含义如下：

[0061] “杂烷基”指饱和或不饱和、含碳原子和至少一个杂原子的链，其中任意一个杂原子不相邻。杂烷基中含有 2-15 个原子（碳原子），优选含有 2-10 个原子。杂烷基可以是直连或支链、取代或未取代的。

[0062] “芳基”是指芳族碳环基团。优选的芳环含有 6-10 个碳原子。

[0063] “卤”，或“卤素”包括氟、氯、溴或碘，优选氟和氯。

[0064] “环烷基”是取代或未取代的，饱和或不饱和的环状基团，其含有碳原子和 / 或一个或多个杂原子。该环可以是单环或稠环，桥环或螺环的环系。单环通常有 3-9 个原子，优选有 4-7 个原子，多环含有 7-17 个原子，优选含有 7-13 个原子。

[0065] “杂芳基”是芳族杂环，可以是单环或双环基团。较佳的杂芳基包括，例如噻吩基，呋喃基、吡咯基、吡啶基、吡嗪基、噻唑基、嘧啶基、喹啉基、以及四氮唑基、苯并噻唑基、苯并呋喃基、吲哚基等。

[0066] “药学上可接受的盐”是指式 (I) 化合物具有疗效且无毒的盐形式。其可由任一酸性基团（如羧基）形成阴离子盐，或由任一碱性基团（如氨基）形成阳离子盐。本领域已知许多这样的盐。在任何酸性基团（如羧基）上形成的阳离子盐，或是在任何碱性基团（如氨基）上形成的阴离子盐。这些盐由许多式本领域已知的，如阳离子盐包括碱金属（如钠和钾）和碱土金属（如镁和钙）的盐以及有机盐（如铵盐）。还可通过使用相应的酸处理碱性形式的 (I) 方便地获得阴离子盐，这样的酸包括无机酸如硫酸、硝酸、磷酸等；或有机酸如乙酸、丙酸、羟基乙酸、2-羟基丙酸、2-氧代丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、2-羟基-1,2,3-丙三酸、甲磺酸、乙磺酸、苯甲磺酸、4-甲基苯磺酸、环己基亚磺酸、2-羟基苯甲酸、4-氨基-2-羟基苯甲酸等。这些盐是熟练技术人员熟知的，熟练的技术人员可制备本领域知识所提供的任何盐。此外，熟练技术人员可根据溶解度、稳定性、容易制剂等取某种盐而舍另一种盐。这些盐的测定和最优化在熟练技术人员的经验范围内。

[0067] “溶剂合物”是溶质（如金属蛋白酶抑制剂）和溶剂（如水）组合形成的配合物。参见 J. Honig 等, *The Van Nostrand Chemist's Dictionary*, p. 650 (1953)。本发明采用的药学上可接受的溶剂包括不干扰金属蛋白酶抑制剂的生物活性的那些溶剂（例如水、乙醇、乙酸、N, N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷以及该领域技术人员所知的或容易确定的溶剂）。

[0068] 本文所用的“光学异构体”、“对映体”、“非对映体”、“消旋体”等定义了本发明化合物或其生理上的衍生物所有可能的立体异构体的形式。除非另有指示，本发明化合物的化学命名包括所有可能的立体化学形式的混合物，所属混合物包含基本结构分子的所有非对映体和对映体，以及基本纯净的本发明化合物的单个异构体形式，即其中含有低于 10%，优选低于 5%，特别是低于 2%，最优选低于 1% 的其它异构体。本发明类肽化合物各种立体异构体形式均明显包含于本发明的范围内。

[0069] 式 (I) 类肽化合物还可以其它被保护的形式或衍生物的形式存在，这些形式对本领域技术人员而言是显而易见的，均应该包含于本发明的范围内。

[0070] 如上所述的取代基自身还可被一个或多个取代基取代。这样的取代基包括在

C. Hansch 和 A. Leo, *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology* (1979) 中列出的那些取代基。优选的取代基包括, 例如烷基, 烯基, 烷氧基, 羟基, 氧基, 硝基, 氨基, 氨基烷基 (如氨基甲基等), 氰基, 卤, 羧基, 羰基烷氧基 (如羰基乙氧基等), 硫基, 芳基, 环烷基, 杂芳基, 杂环烷基 (如哌啶基, 吗啉基, 吡咯基等), 亚氨基, 羟烷基, 芳基氧基, 芳基烷基, 及其结合。

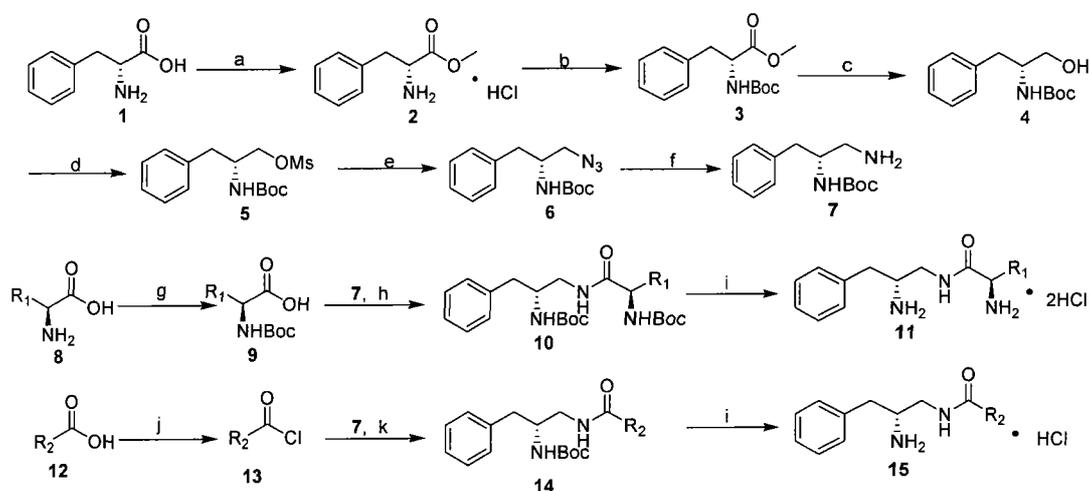
[0071] 合成

[0072] 目标化合物经如下路线合成。

[0073] 简言之, 以光学氨基酸为原料, 这里我们选用 D- 苯丙氨酸为例, 相继经甲酯化, Boc 保护, 还原, 甲磺酰化, 与叠氮钠的 S_N2 取代反应, 经镁在质子溶剂中还原, 再经多肽缩合, 脱去保护基得到目标化合物。

[0074] 合成路线:

[0075]



[0076] 试剂: (a) 甲醇, 盐酸; (b) 碳酸二叔丁酯, 二氯甲烷, 三乙胺, 0°C ; (c) 四氢铝锂, 乙醚; (d) 甲磺酰氯, 四氢呋喃, 0°C ; (e) 叠氮钠, 二甲亚砜; (f) 镁, 甲醇; (g) 碳酸二叔丁酯, 二氯甲烷, 三乙胺, 0°C ; (h) 氯甲酸异丁酯, N-甲基吗啡啉, 四氢呋喃, -15°C ; (i) 氯化氢饱和的乙酸乙酯; (j) 草酰氯, 二氯甲烷, 0°C ; (k) 三乙胺, 四氢呋喃, 0°C 。

[0077] 本领域技术人员可以对上述步骤进行变动以提高收率, 他们可据本领域的基本知识确定合成的路线, 如选择反应物, 溶剂和温度, 可以通过使用各种常规保护基以避免副反应的发生从而提高收率。这些常规的保护方法可参见例如 T. Greene, *Protecting Groups in Organic Synthesis*。

[0078] 显然, 上述路线为立体选择性合成, 可通过上述路线还可制备得到其光学活性的类肽化合物。例如将原料 D- 苯丙氨酸替换为其光学异构体 (L 构型)。本领域技术人员可方便地获得乙二胺衍生物的各种其他异构体, 并可通过常规的分离手段纯化, 如手性盐或手性层析柱等。

[0079] MMPs 抑制活性的测试描述于 Vijaykumar, M. B. 等, *Matrix Biol.* 2000, 19, 26 中。琥珀酰明胶已证明能被明胶酶 (包括 MMP-2, -9) 水解, 肽键水解产生的游离氨基浓度的高低与酶活性大小呈正相关。琥珀酸酐保护明胶中的游离氨基, 水解后暴露的伯氨与 2, 4, 6- 三硝基苯磺酸 (TNBS) 反应显色, 通过检测 450nm 处的吸收度确定氨基含量, 从而确定明胶酶的活性。

[0080] APN 抑制活性的测试描述于 Lejczak, B 等. *Biochemistry*, 1989, 28, 3549 中。底物 L-亮氨酸-p-硝基苯胺被 APN 降解, 产生在 405nm 有吸收的 p-硝基苯胺, 并且 p-硝基苯胺的浓度与酶活性的大小呈正相关。通过检测 405nm 处的吸收度确定 p-硝基苯胺的含量, 从而确定氨肽酶的活性, 间接反映出抑制剂对酶活性抑制程度的大小。

[0081] 化合物的细胞活性的测试使用 MTT 检测方法, HL-60 细胞悬液接种于 96 孔板), 每孔中加入含不同浓度化合物的培养基, 经孵育后, 用 MTT 染色, 继续孵育后, 于酶标仪上在 570nm 处测定每孔的吸光度 OD 值, 计算出细胞生长抑制率, 从而确定化合物的活性。

[0082] 通式 (I) 的类肽化合物的体外抑酶试验证明该类肽化合物为一种乙二胺类肽金属蛋白酶抑制剂

[0083] 本发明的乙二胺衍生物在空间上与金属蛋白酶的活性位点相匹配, 因此在体外显示了较高的抑制活性。而且, 其可在体内代谢成活性片段, 如咖啡酸, 肉桂酸衍生物, 仍具有抗肿瘤活性, 因此在体内也显示了较高的抗肿瘤活性

[0084] 制剂, 药物组合物, 剂量和服用

[0085] 本发明的乙二胺衍生物可以游离形式或以盐形式存在。本领域技术人员已知许多化合物类型的药学上可接受的盐及其制备方法。药学上可接受的盐包括常规的无毒性的盐, 包括这样的化合物碱与无机或有机酸形成的季铵盐。

[0086] 本发明的化合物可形成水合物或溶剂合物。本领域熟练人员已知将化合物与水一起冻干时所形成的水合物或在溶液中与合适的有机溶剂浓缩时形成溶剂合物的方法。

[0087] 本发明包含含有治疗量本发明化合物的药物, 和一种或多种药学上可接受载体和/或赋形剂的药物组合物。载体包括如盐水, 缓冲盐水, 葡萄糖, 水, 甘油, 乙醇和它们的结合物, 下文更详细地论述。如果需要, 该组合物还可以包含较小量的润湿剂或乳化剂, 或 pH 缓冲剂。该组合物可以是液体, 悬浮液, 乳剂, 片剂, 丸剂, 胶囊, 持续释放制剂或粉末。该组合物可以用传统的黏合剂和载体如三酸甘油酯配制成栓剂。口服制剂可以包括标准载体如药物品级的甘露糖醇, 乳糖, 淀粉, 硬脂酸镁, 糖精钠, 纤维素和碳酸镁等等。视需要制剂而定, 配制可以设计混合, 制粒和压缩或溶解成分。在另一个途径中, 该组合物可以配制成纳米颗粒。

[0088] 使用的药物载体可以为, 例如, 固体或者液体。

[0089] 典型的固体载体包括乳糖, 石膏粉, 蔗糖, 滑石, 凝胶, 琼脂, 果胶, 阿拉伯胶, 硬脂酸镁, 硬脂酸等等。固体载体可以包括一种或多种可能同时作为增香剂, 润滑剂, 增溶剂, 悬浮剂, 填料, 助流剂, 压缩助剂, 粘合剂或片剂-崩解剂的物质; 它还可以是包封材料。在粉末中, 载体为精细粉碎的固体, 它与精细粉碎的活性成分的混合。在片剂中活性成分与具有必要的压缩性质的载体以合适的比例混合, 以需要的形状和大小压缩。粉末和片剂优选包含至多 99% 活性成分。合适的固体载体包括, 例如, 磷酸钙, 硬脂酸镁, 滑石, 糖, 乳糖, 糊精, 淀粉, 凝胶, 纤维素, 甲基纤维素, 羧甲基纤维素钠盐, 聚乙烯吡咯烷酮, 低熔点蜡和离子交换树脂。

[0090] 典型的液体载体包括糖浆, 花生油, 橄榄油, 水, 等等。液体载体用于制备溶液, 悬浮液, 乳剂, 糖浆, 酏剂和密封的组合物。活性成分可以溶解或悬浮于药学上可接受的液体载体如水, 有机溶剂, 二者的混合物或药学上可接受的油类或脂肪。液体载体可以包含其他合适的药物添加剂如增溶剂, 乳化剂, 缓冲剂, 防腐剂, 增甜剂, 增香剂, 悬浮剂, 增稠剂, 颜

料,粘度调节剂,稳定形或渗透压-调节剂。用于口服和肠胃外给药的液体载体的合适的例子包括水(部分地包含如同上述的添加剂,例如纤维素衍生物,优选羧甲基纤维素钠盐溶液),醇(包括一元醇和多元醇,例如乙二醇)和它们的衍生物,和油类(例如分馏椰子油和花生油)。用于肠胃外给药的载体还可以为油脂如油酸乙酯和异丙基肉豆蔻酸盐。无菌的液体载体用于肠胃外给药的无菌的液态组合物。用于加压组合物的液体载体可以为卤代烃或其他药学上可接受的推进剂。无菌溶液或悬浮溶液液体药物组合物可以用来,例如,静脉内,肌内,腹膜内或皮下注射。注射时可单次推入或逐渐注入,入30分钟的经脉内灌注。该化合物还可以以液体或者固体组合物的形式口服给药。

[0091] 载体或赋形剂可以包括本领域已知的时间延迟材料,如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯,还可包括蜡,乙基纤维素,羟丙基甲基纤维素,异丁烯酸甲酯等等。当制剂用于口服时,公认 PHOSALPG-50(phospholipid 与 1,2-丙二醇浓缩, A. Nattermann&Cie. GmbH) 中的 0.01%吐温 80 用于其他化合物的可接受的口服制剂的配制,可以适应于本发明各种化合物的配制。

[0092] 给予本发明化合物时可以使用各式各样的药物形式。如果使用固体载体,制剂可以为片剂,被放入硬胶囊中的粉末或小药丸形式或锭剂或糖锭形式。固体载体的量在很大程度上变化,但是优选从约 25mg 到约 1.0g。如果使用液体载体,制剂可以为糖浆,乳剂,软胶囊,在安瓿或小瓶或非水的液体悬浮液中的无菌注射溶液或悬浮液。

[0093] 为了获得稳定的水溶性的剂型,可以将化合物或其药学上可接受的盐溶于有机或无机酸的水溶液,0.3M 琥珀酸或柠檬酸溶液。选择性地,酸性的衍生物可以溶于合适的碱性溶液。如果得不到可溶形式,可将化合物溶于合适的共溶剂或它们的结合。这样的合适的共溶剂的例子包括,但是不局限于,浓度范围从 0-60%总体积的乙醇,丙二醇,聚乙二醇 300,聚山梨酸酯 80,甘油,聚氧乙烯脂肪酸酯,脂肪醇或甘油羟脂肪酸酯等等。

[0094] 各种释放系统是已知的并且可以用于化合物或其他各种制剂的给药,这些制剂包括片剂,胶囊,可注射的溶液,脂质体中的胶囊,微粒,微胶囊,等等。引入的方法包括但是不局限于皮肤的,皮内,肌内,腹膜内的,静脉内的,皮下的,鼻腔内的,肺的,硬膜外的,眼睛的和(通常优选的)口服途径。化合物可以通过任何方便的或者其它适当的途径给药,例如通过注入或快速浓注,通过上皮的或粘膜线路(例如,口腔粘膜,直肠和肠粘膜,等等)吸收或通过负载药物的支架以及可以于其他生物活性剂一起给药。可以全身或局部给药。用于鼻,支气管或肺疾病的治疗或预防时,优选的给药途径为口服,鼻给药或支气管烟雾剂或喷雾器。

附图说明

[0095] 图 1 和图 2 为化合物 15n 与 APN 的活性区域对接结果示意图。

具体实施方式

[0096] 下面结合实施例对本发明做进一步的说明,但不限于此。

[0097] 实施例 1. 本发明化合物的合成。

[0098] 1) (2R)-苯丙氨酸甲酯盐酸盐 (2)。在 250ml 三颈瓶中,苯丙氨酸 (20g, 0.121mol) 混悬于 150ml 无水甲醇中,通入干燥的 HCl 气体至溶液变澄清,继续通 HCl 气体,溶液变浑

浊为止。将反应液旋转蒸干得白色固体。甲醇溶解后再蒸干,重复三次,以除尽 HCl 气体。用少量的甲醇溶解后,加入无水乙醚,析出大量白色沉淀,冰箱静置过夜。过滤干燥称重,得 22.7g 结晶状固体。产率 86.90%, mp 158-160.5°C。

[0099] 2) (2R)-2-叔丁氧羰酰胺基-苯丙酸甲酯 (3)。将苯丙氨酸甲酯盐酸盐 (10.8g, 0.02mol) 混悬于 200ml 无水二氯甲烷中,冰浴条件下加入 16.3ml 三乙胺 (0.12mol) 和碳酸二叔丁酯 ((Boc)₂O, 9.6g, 0.04mol), 室温搅拌 12 小时。TLC 监测至无原料点, 停止反应, 依次用 1M 磷酸水溶液, 饱和碳酸氢钠水溶液洗涤后, 用无水硫酸钠除水, 过滤, 将氯液旋转蒸干, 得无色油状产物。

[0100] 3) (2R)-2-叔丁氧羰酰胺基-3-苯基-丙醇 (4)。将化合物 3 (2.8g, 0.01mol) 溶于无水乙醚中, 在冰浴条件下, 分批加入 LiAlH₄ (0.76g, 0.02mol), 维持室温反应 8 小时。向反应液中加入盐酸溶液 (浓盐酸: 水 1:1) 淬灭反应, 反应 10min, 过滤, 除去粘性残留物, 将滤液旋转蒸干, 得到白色固体。产率 78.68%, mp : 92-93°C。

[0101] 4) (2R)-2-叔丁氧羰酰胺基-3-苯基-甲磺酸丙酯 (5)。将化合物 4 (2.5g, 0.01mol) 溶于无水四氢呋喃中, 冰浴冷却至 0°C, 加入三乙胺 (2.08ml, 0.015mol), 冰浴条件下缓慢滴加含甲磺酰氯 (1.7g, 0.01mol) 的四氢呋喃溶液, 约 0.5h 滴完。撤去冰浴, 室温反应 5h, 将反应液倾入冷水中, 白色固体析出, 过滤干燥, 得 2.85g, 产率 86.63%。mp : 105-108°C。

[0102] 5) 叔丁基 (2-叠氮甲基-1-苯乙基) 氨基甲酸酯 (6)。将化合物 (10g, 0.030mol) 溶于 DMF, 控制内温 55-60°C, 分批加入叠氮化钠 (3.96g, 0.060mol), 恒温反应, TLC 监测反应进程。反应完毕后, 将反应液倾入 300ml 冷水中, 放置于冰箱内冷却静置, 析出大量黄色固体, 过滤干燥, 得 6.51g 粗品, 柱层析分离纯化 (洗脱剂: 石油醚-乙酸乙酯 10:1), 得到 5.24g 纯品, 产率 63.52%。mp : 112-114°C。

[0103] 6) (2R)-2-叔丁氧羰酰胺基-3-苯基-丙胺 (7)。将化合物 6 (4g, 0.015mol) 溶于无水甲醇中, 冰浴冷却至 0°C, 分批加入镁条 (1.08g, 0.045mol), 反应经过约 0.5h, 反应液内温升高, 有大量气体产生, TLC 监测反应进程。反应完毕后, 将反应液蒸除, 残留物加冷水稀释, 并调其 pH 值至 9-10。用乙醚提取, 饱和食盐水洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸除溶剂, 得 2.13g 白色固体, 产率 56.35%。mp : 71-74°C。ESI-MS m/z : 251.1 (M+H); ¹H-NMR (MeOD) δ ppm 1.41 (s, 9H), 2.59-2.65 (J₁ = 6, J₂ = 12, dd, 1H), 2.71-2.81 (m, 3H), 3.79 (m, 1H), 7.18-7.32 (m, 5H)。

[0104] 7) 叔丁氧羰酰甘氨酸的制备 (9)。在两侧分别装有两个恒压滴液漏斗、搅拌桨的 500ml 三颈瓶中加入 0.1mol 甘氨酸, 用 110ml 氢氧化钠溶液 (1N) 溶解后, 冰浴冷却至零度。缓慢加入 50ml 含碳酸二叔丁基酯 ((Boc)₂O, 21.8g, 0.11mol) 的 THF 溶液。同时用 1N 氢氧化钠溶液控制 pH 在 8~9 之间。约 1 小时滴加完毕, 冰浴条件下搅拌 1 小时。撤冰浴, 室温搅拌 18 小时。整个过程中以 1N NaOH 控制 pH 8~9。反应完毕后将反应液浓缩以蒸除 THF, 残留溶液以石油醚萃取 (100ml × 3), 水相再用 1N KHSO₄ (或 KHSO₄ 固体) 调节至 pH 2~3, 再以乙酸乙酯萃取 (150ml × 10), 有机相以无水硫酸钠干燥 12 小时。过滤, 浓缩即得。mp : 87-88°C。

[0105] 8) 2-叔丁氧羰酰氨基-N-[(2R)-2-叔丁氧羰酰氨基-3-苯丙基]乙酰胺 (10a)。在 -15°C 下, 叔丁氧羰酰甘氨酸 (1.54g, 0.088mol) 和 N-甲基吗啡啉 (1.05ml, 0.096mol)

溶于 THF (15ml) 中, 搅拌滴加氯甲酸异丁酯 (1.23ml, 0.096mol) 的 THF (10ml) 溶液, 反应 0.5h 后, 滴加化合物 7 (2g, 0.08mol) 的 THF 溶液, 继续反应 1h, 撤除冷浴, 室温反应 5h, 过滤, 减压蒸除溶剂, 将残留物溶于乙酸乙酯, 依次用 5% NaHCO₃ 水溶液, 10% 柠檬酸水溶液, 饱和食盐水洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 用乙酸乙酯重结晶, 得到 2.45g 白色固体。产率 73.84%。mp = 103-105°C。ESI-MS m/z : 408.3 (M+H)⁺; ¹H-NMR (DMSO) δ ppm 1.22 (s, 9H), 1.38 (s, 9H), 2.58-2.61 (m, 1H), 2.67-2.74 (J₁ = 5.4, J₂ = 13.8, dd, 1H), 3.01-3.07 (m, 1H), 3.16-3.19 (m, 1H), 3.50-3.56 (m, 2H), 3.66-3.68 (m, 1H), 7.17-7.27 (m, 5H)。

[0106] 9) 2-氨基-N-[(2R)-2-氨基-3-苯丙基]乙酰胺盐酸盐 (11a)。将化合物 10 (1.0g, 0.0024mol) 溶于盐酸饱和的乙酸乙酯 (15ml) 中, TLC 监测反应进程, 室温反应 5h 后, 有白色固体析出, 过滤洗涤, 得到 0.38g 白色固体, 产率 78.35%。mp = 195.5-197.8°C。ESI-MS m/z : 208.3 (M+H)⁺; ¹H-NMR (D₂O) δ ppm 2.81-2.89 (J₁ = 6, J₂ = 15, dd, 1H), 2.94-3.01 (J₁ = 6, J₂ = 15, dd, 1H), 3.38-3.48 (J₁ = 4.5, J₂ = 15, dd, 1H), 3.49-3.56 (J₁ = 4.5, J₂ = 15, dd, 1H), 3.62-3.73 (m, 1H), 3.80 (s, 2H), 7.23-7.37 (m, 5H)。

[0107] 实施例 2 目标化合物抑制明胶酶活性试验 (In vitro)

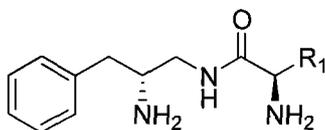
[0108] 试验原理及详细试验步骤参见 CN1528745A 吡咯烷类基质金属蛋白酶抑制剂及其制备方法, 实验结果见表 1。

[0109] 实施例 3 目标化合物抑制氨肽酶 N 的活性试验 (In vitro)

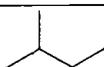
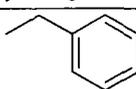
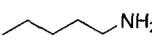
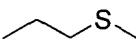
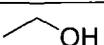
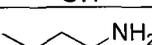
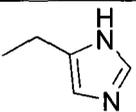
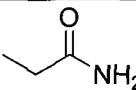
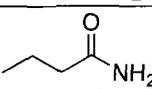
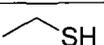
[0110] 试验原理及详细试验步骤参见 CN1974554A 环酰亚胺类肽金属蛋白酶抑制剂及其应用, 实验结果见表 1。

[0111] 表 1. 体外抑酶试验结果

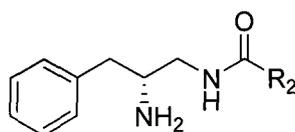
[0112]



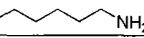
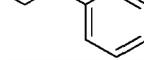
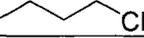
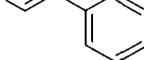
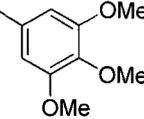
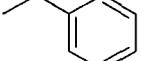
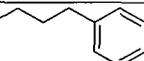
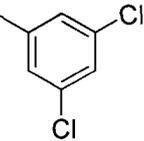
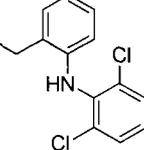
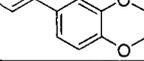
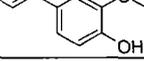
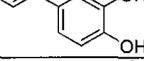
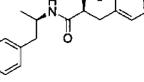
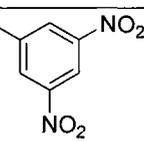
[0113]

化合物	R ₁	IC ₅₀ ^a (M)	
		APN	MMP-2
11a	H	>10000	23.5±1.2
11b		142.4±5.3	170.2±2.3
11c		1215.7±2.4	174.6±2.6
11d		333.3±3.6	33.9±1.9
11e		476.0±1.9	151.4±3.6
11f		164.2±2.3	99.74±2.2
11g		118.7±1.5	112.1±3.5
11h		33.75±1.1	201.9±2.9
11i		50.52±0.9	219.4±2.8
11j		>10000	311.4±1.6
11k	CH ₃	2627.9±6.9	771.9±3.9
11l		3408.8±6.6	644.5±4.8
11m		6295.6±5.8	802.3±6.5
11n		21.1±0.8	78.8±1.8

[0114]



[0115]

化合物	R ₂	IC ₅₀ (M)	
		APN	MMP-2
15a		408.6±4.6	11.2±0.8
15b		164.3±3.2	99.7±2.6
15c		289.5±2.7	546.8±3.4
15d		3943±6.3	823.5±6.8
15e		595.8±2.8	211.3±3.4
15f		1722.8±8.4	167.8±2.5
15g		1177.6±6.6	632.4±3.9
15h		3095.4±5.8	221.0±2.3
15i		2677.6±4.6	77.4±1.5
15j		1971.8±5.2	>10000
15k		1602.8±6.5	173.9±2.8
15l		1764.5±5.7	202.8±3.6
15m		491.83±2.7	328.5±1.9
15n		15.5±1.2	182.9±2.7
15o		204.47±3.5	100.7±3.4
乌苯美司		3.1±0.6	162.0±4.8

[0116] 表中数值为三次试验的平均值，“±”后的数值表示标准偏差。

[0117] 实施例 4 目标化合物抑制细胞增殖的活性试验 (In vitro)

[0118] 1. [材料] HL-60 细胞株, 四甲基偶氮唑蓝 MTT, 10% 胎牛血清, 96 孔板

[0119] 2. [方法]

[0120] 细胞培养人急性粒细胞白血病细胞 HL60, 由中科院上海细胞所引进。采用常规培养。实验时均用对数生长期细胞。

[0121] 细胞生长检测 (MTT 法) HL-60 细胞悬液调整至 1×10^5 /ml, 接种于 96 孔板 (50 μ l/孔), 10^4 个细胞/孔。铺板 4h 后, 每孔中加入 50 μ l 含不同浓度化合物的培养基, 使孔中化合物终浓度分别为: 800、600、400、200、100 μ g/ml, 每个浓度设三个复孔, 不加细胞的孔读数时作空白, 加细胞不加化合物的孔作化合物空白孔, bestatin 作化合物阳性对照。于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 中孵育 48h, 每孔加入 10 μ l 10.5% 的 MTT 染色液, 继续孵育 4h 后, 2500rpm, 离心 30min, 然后弃孔中培养基, 加入 DMSO, 100 μ l/孔。酶标仪上于 570nm 处测定每孔的吸光度 OD 值, 细胞生长抑制率按下式计算:

[0122]

$$\text{抑制率 (\%)} = \frac{\text{对照孔平均OD值} - \text{实验孔平均OD值}}{\text{对照孔平均OD值}} \times 100\%$$

[0123] 表 2 细胞增殖实验结果

[0124]

化合物	IC ₅₀ (mM)	化合物	IC ₅₀ (mM)
乌苯美司	1.65		
11h	2.29	11n	1.09
11i	3.2	15n	0.63

[0125] 实施例 5 目标化合物的构效关系研究

[0126] 应用软件 Syby17.0 将目标化合物与 APN 的活性区域进行对接, 附图 1 展示了本系列中具有最好活性的化合物 15n 的对接结果。

[0127] 如图 1 所示, 化合物 15n 的构型与乌苯美司 (左图中深色结构) 的构型在和 APN 的活性区域结合时有一定的相似性, 15n 可以很好地占据 APN 的疏水性口袋 A, C, C', 同时结构中的羰基和氨基可以螯合 APN 活性区域的锌离子。图 2 是用 Ligplot 模拟的 15n 与 APN 对接的二维结构示意图, 从图中我们可以得到, 15n 与 APN 催化中心的氨基酸保守序列 (HEXXHX₁₈E) 的三个氨基酸 His²⁹⁷, Glu²⁹⁸, His³⁰¹ 分别形成了疏水键; 另外 15n 与 Tyr³⁸¹ 也形成了较强的疏水作用。这些结构特征为我们进行构效关系研究从而合理预期并设计具有更好抑制活性的 APN 抑制剂提供了依据。

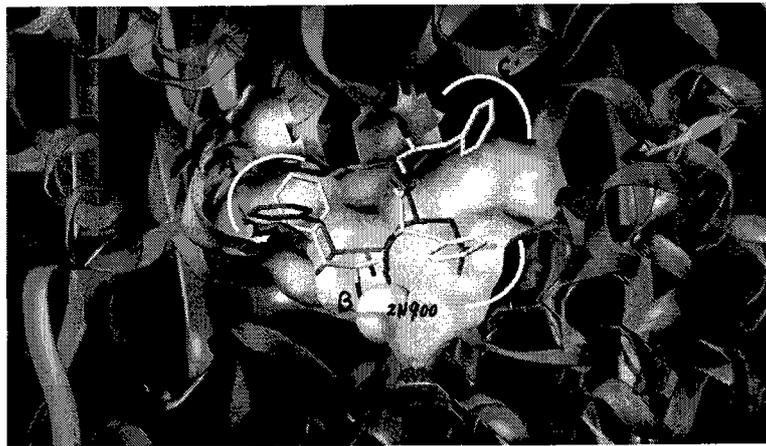


图 1

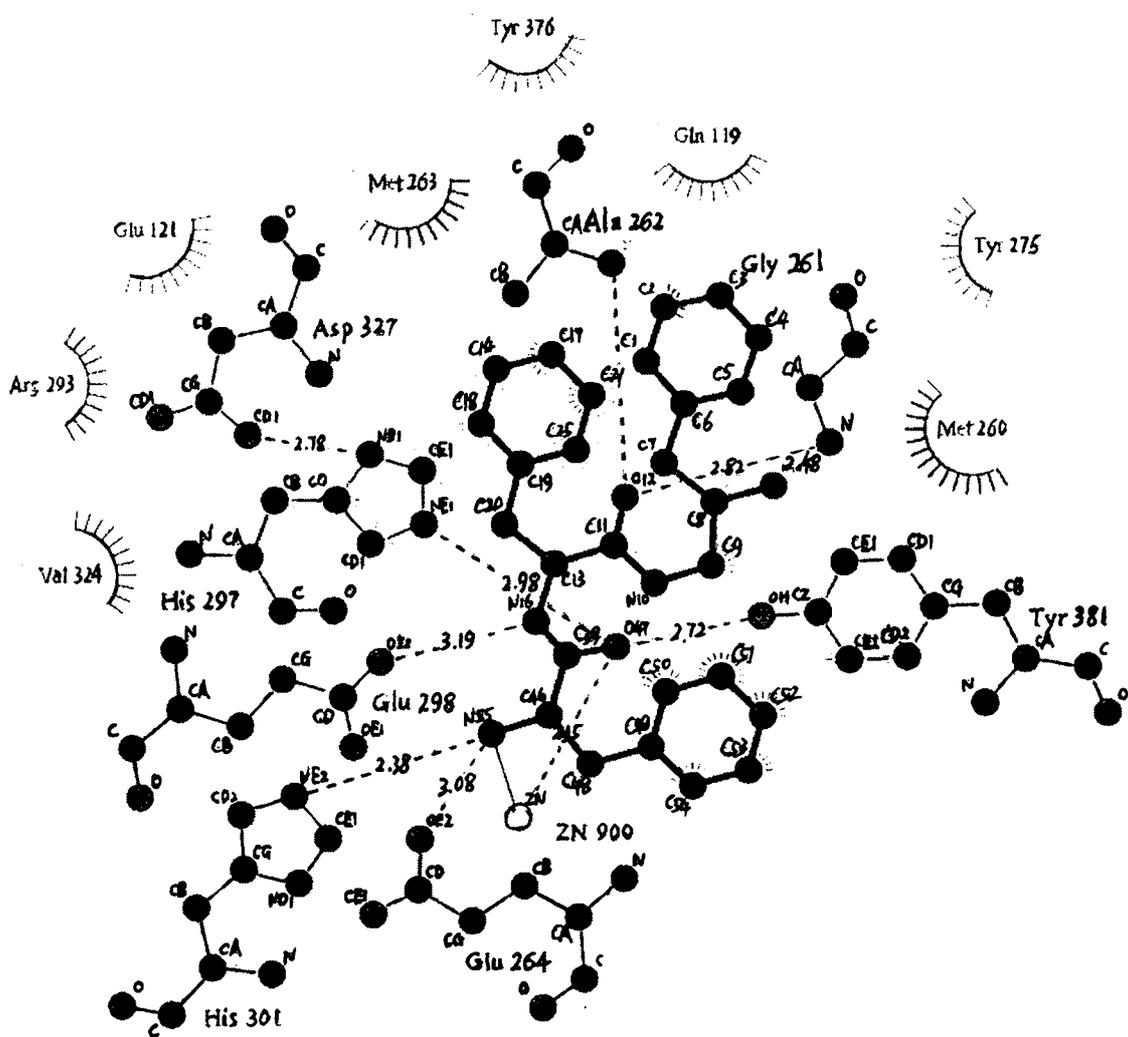


图 2