



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102464701 B

(45) 授权公告日 2015. 10. 21

(21) 申请号 201010535094. 4

W0 02060894 A2, 2002. 08. 08,

(22) 申请日 2010. 11. 08

W0 8002559 A1, 1980. 11. 27,

(73) 专利权人 上海医药工业研究院

审查员 冯晓亮

地址 200040 上海市北京西路 1320 号

专利权人 李敏

(72) 发明人 单汉滨 黄雨 袁哲东 俞雄
李敏

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所
11256

代理人 郑立柱 谢燕军

(51) Int. Cl.

C07K 5/062(2006. 01)

A61K 38/05(2006. 01)

A61P 9/10(2006. 01)

A61P 7/02(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101605540 A, 2009. 12. 16,

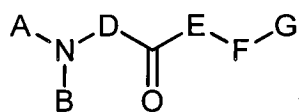
权利要求书6页 说明书49页

(54) 发明名称

一类新型化合物、其制备方法及应用

(57) 摘要

本发明公开一种式 (I) 化合物, 其药学上可接受的盐和其药学上可接受的前体药物:

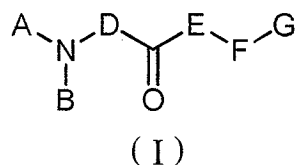


本发明也公开了式 (I) 化

(I)

合物的制备方法, 及其在抑制凝血酶方面的应用
以及在治疗和防止凝血酶介导的和与凝血酶有关的
疾病中的应用。

1. 式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐：



其中：

A 代表 $-\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{COR}^1$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{COR}^1$ 或 $-\text{R}^2\text{CO}_2\text{R}^1$ ；

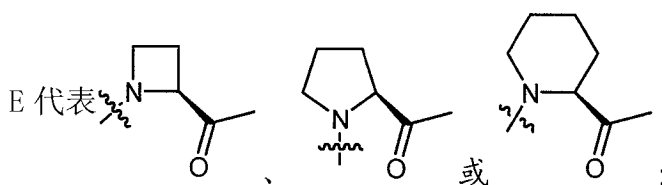
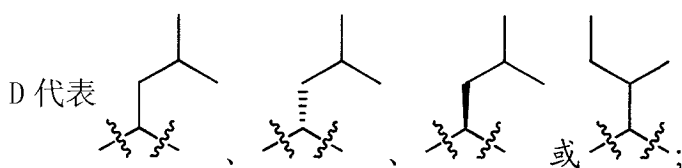
其中：

R^1 代表氢、 $\text{C}_{1\sim 6}$ 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-\text{R}^3$ - 芳基或 $-\text{NR}^4\text{R}^5$ ；

R^2 和 R^3 代表 $\text{C}_{1\sim 6}$ 烷基；

R^4 和 R^5 独立地代表氢或 $\text{C}_{1\sim 6}$ 烷基；

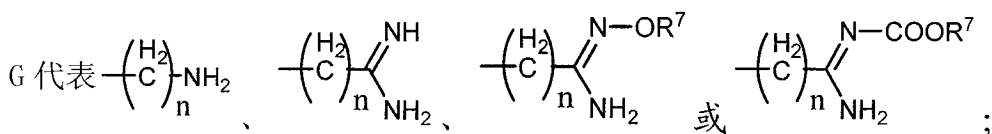
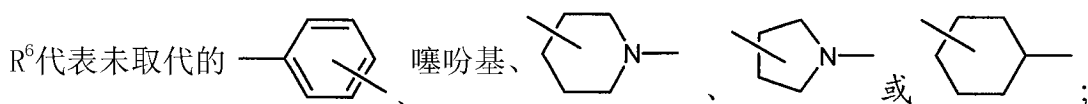
B 代表氢；



F 代表 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-\text{R}^6$ ；

其中：

m 代表 1-2；



其中：

n 代表 0-3；

R^7 代表氢或 $\text{C}_{1\sim 6}$ 烷基。

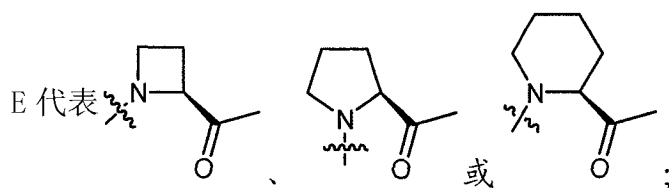
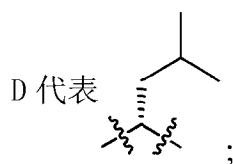
2. 根据权利要求 1 所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐, 其特征在于, A 代表 $-\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{COR}^1$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{COR}^1$ 或 $-\text{R}^2\text{CO}_2\text{R}^1$ ；

其中：

R^1 代表氢、 $\text{C}_{1\sim 6}$ 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-\text{R}^3$ - 芳基或 $-\text{NR}^4\text{R}^5$ ；

R^2 和 R^3 代表 $\text{C}_{1\sim 6}$ 烷基；

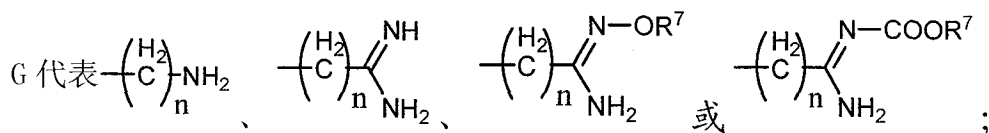
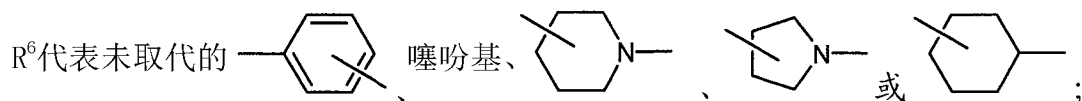
R^4 和 R^5 独立地代表氢或 $\text{C}_{1\sim 6}$ 烷基；



F 代表 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-\text{R}^6$;

其中:

m 代表 1-2;



其中:

n 代表 0-3;

R^7 代表氢或 C_{1-6} 烷基。

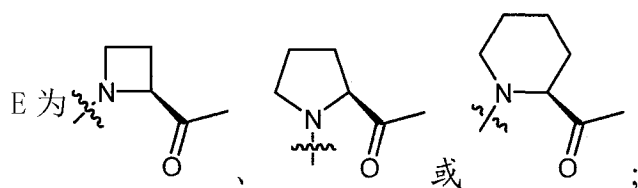
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐, 其特征在于, A 代表 $-\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{COR}^1$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{COR}^1$ 或 $-\text{R}^2\text{CO}_2\text{R}^1$;

其中:

R^1 代表氢、 C_{1-6} 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-\text{R}^3$ - 芳基或 $-\text{NR}^4\text{R}^5$;

R^2 和 R^3 代表 C_{1-6} 烷基;

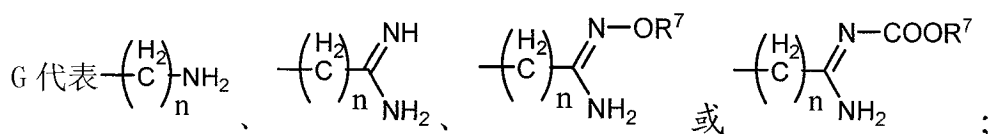
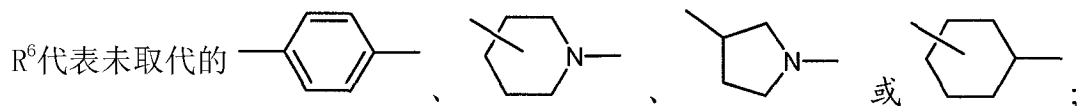
R^4 和 R^5 独立地代表氢或 C_{1-6} 烷基;



F 为 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-\text{R}^6$;

其中:

m 为 1;



其中:

n 代表 0-3；

R^7 代表氢或 $C_{1\sim 6}$ 烷基。

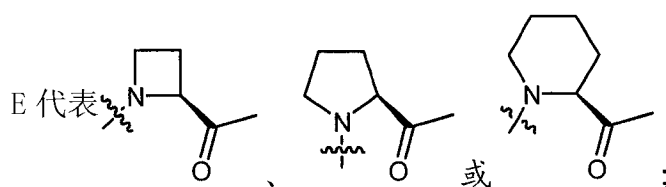
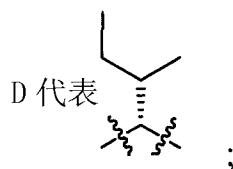
4. 根据权利要求 1 或 2 所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐, 其特征在于, A 代表 $-SO_2R^1$ 、 $-CO_2R^1$ 、 $-R^2SO_2R^1$ 、 $-R^2COR^1$ 或 $-R^2CO_2R^1$;

其中:

R^1 代表氢、 $C_{1\sim 6}$ 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-R^3-$ 芳基或 $-NR^4R^5$;

R^2 和 R^3 代表 $C_{1\sim 6}$ 烷基;

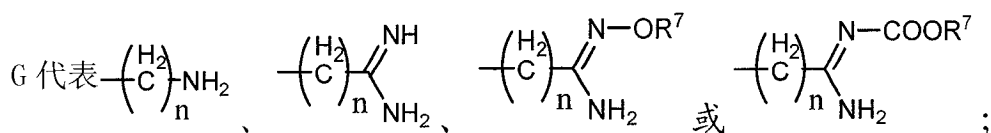
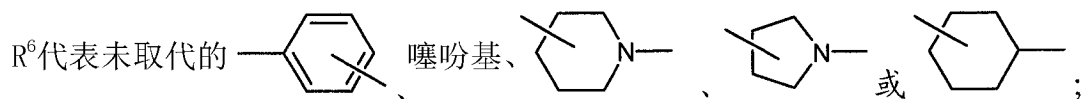
R^4 和 R^5 独立地代表氢或 $C_{1\sim 6}$ 烷基;



F 代表 $-NH-(CH_2)_m-R^6$;

其中:

m 代表 1-2;



其中:

n 代表 0-3;

R^7 代表氢或 $C_{1\sim 6}$ 烷基。

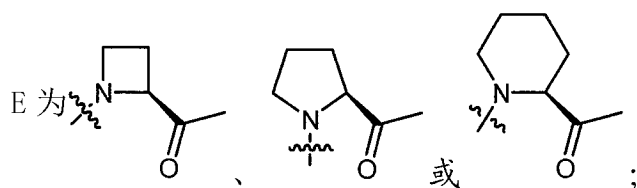
5. 根据权利要求 1 或 2 所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐, 其特征在于, A 代表 $-SO_2R^1$ 、 $-CO_2R^1$ 、 $-R^2SO_2R^1$ 、 $-R^2COR^1$ 或 $-R^2CO_2R^1$;

其中:

R^1 代表氢、 $C_{1\sim 6}$ 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-R^3-$ 芳基或 $-NR^4R^5$;

R^2 和 R^3 代表 $C_{1\sim 6}$ 烷基;

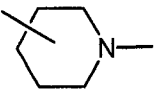
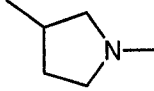
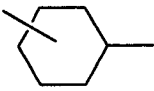
R^4 和 R^5 独立地代表氢或 $C_{1\sim 6}$ 烷基;



F 为 $-NH-(CH_2)_m-R^6$;

其中:

m 为 1；

R⁶代表未取代的 、、 或 ；

G 代表 $\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-NH}_2$ 、 $\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-C(=NH)-NH}_2$ 、 $\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-C(=N-OR}^7\text{)-NH}_2$ 或 $\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-C(=N-COOR}^7\text{)-NH}_2$ ；

其中：

n 代表 0-3；

R⁷代表氢或 C_{1~6}烷基。

6. 根据权利要求 1 或 2 所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述药学上可接受的盐选自源于药学上可接受的无机和有机酸的盐。

7. 根据权利要求 6 所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述无机和有机酸选自硫酸、亚硫酸、盐酸、氢溴酸、硝酸、磷酸、偏磷酸、焦磷酸、马来酸、富马酸、琥珀酸、柠檬酸、高氯酸、对甲苯磺酸、酒石酸、甲酸、乙酸、丙酸、庚酸、草酸、苯甲酸、丙二酸、羟基丁酸、甲磺酸、苯磺酸、乳酸或扁桃酸。

8. 根据权利要求 6 所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述无机和有机酸选自盐酸或醋酸。

9. 根据权利要求 1 或 2 所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，药学上可接受的前体药物选自所述式 (I) 的 N-烷氧基羰基保护的衍生物或羧酸被酯保护的衍生物。

10. 根据权利要求 1 或 2 所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述化合物选自：

N-苯磺酰基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(甲脒基苯基)甲基]酰胺醋酸盐；

N-苯磺酰基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺；

N-苯磺酰基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺醋酸盐；

N-苯磺酰基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺；

N-苯甲酰基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(甲脒基苯基)甲基]酰胺醋酸盐；

N-苯甲酰基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺；

N-苯乙酰基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(甲脒基苯基)甲基]酰胺醋酸盐；

N-苯乙酰基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺；

N-羧基甲基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐；

N-羧基甲基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺盐酸盐；

N-苯甲酰基-D,L-异亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(甲脒基苯基)甲基]酰胺醋酸盐；

N-苯甲酰基-D,L-异亮氨酸-L-脯氨酸-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺；

N-苯乙酰基-D,L-异亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(甲脒基苯基)甲基]酰胺醋酸盐；

N-苯乙酰基-D,L-异亮氨酸-L-脯氨酸-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺；

N-羧基甲基-D,L-异亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐；

N- 羧基甲基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酰 -{[4-(N' - 羟基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -L- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺;

N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯甲酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯乙酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 羧基甲基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[1-(氨基亚氨基甲基)- 哌啶 -4- 基] 甲基酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[1-(氨基亚氨基甲基)- 哌啶 -3- 基] 甲基酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[1-(氨基亚氨基甲基)- 吡咯 -3- 基] 甲基酰胺盐酸盐;

N- 苯甲酰基 -D- 异亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(6- 甲脒基 -3- 吡啶基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(5- 甲脒基 -2- 噻吩基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 高脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -(S)- 氮杂环丁烷 -2-[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[1-(氨基)- 环己烷 -4- 基] 甲基酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -(4- 甲脒基苯基) 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 乙基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(3- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -{[4-(N' - 甲氧基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 氨甲基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(5- 氨甲基 -2- 噻吩基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 二甲胺基磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 甲烷磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 乙烷磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 环丙烷磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 叔丁氧羰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;

N- 甲氧羰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐;或

N- 羧基乙基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐。

11. 权利要求 1-10 任一权利要求所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐的制备方法, 该方法包括使氮位由保护基保护的氨基酸与氨基酸的苄酯进行偶联反应的步骤。

12. 根据权利要求 11 所述的制备方法, 其特征在于, 所述保护基为 N- 叔丁氧羰基或

N- 苄氧羰酰基。

13. 权利要求 1-10 中任一所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐在制备抑制凝血酶的药物中的应用。

14. 权利要求 1-10 中任一所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗和防止凝血酶介导的和与凝血酶有关的疾病的药物中的应用。

15. 根据权利要求 14 所述的应用, 其特征在于, 所述疾病选自静脉血栓形成和肺栓塞; 动脉血栓形成, 选自心肌缺血、心肌梗塞、不稳定心绞痛; 血栓形成引起的中风和末梢动脉形成; 动脉粥样硬化疾病, 选自冠状动脉病、脑动脉病或末梢动脉病。

16. 药物组合物, 该药物组合物包含权利要求 1-10 中任一所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐和药学可接受的载体。

17. 根据权利要求 16 所述的药物组合物, 其特征在于, 其为片剂、胶囊剂、混悬剂、丸剂或注射剂。

一类新型化合物、其制备方法及用途

技术领域

[0001] 本发明涉及新的药用化合物,具体涉及该类化合物的制备方法、其作为药物的用途以及含有它们的药用组合物。本发明的新的药用化合物可作为类胰蛋白酶丝氨酸蛋白酶,特别是凝血酶的竞争性抑制剂。

背景技术

[0002] 世界上心脑血管疾病的死亡率一直居于第二位,其中血栓栓塞是造成高比率心脑血管疾病发病和死亡的主要原因。尤其随着人们生活方式的变化以及人口老龄化程度日益加剧,这类疾病的发病率呈现出持续上升的趋势。这使得探索和研究有效防治此类疾病的药物显得尤为紧迫,无论在临床应用还是基础研究方面都具有重大意义。

[0003] 目前临床使用的传统抗凝药物如肝素、华法林和水蛭素等在疗效和安全性方面存在严重缺陷,使其应用受到很大限制。如肝素必须注射使用,且对血凝块中的凝血酶无作用,并可引起血小板减少症状;华法林为唯一的口服药物,但由于没有明确的药物靶标,个体抗凝反应差异较大,影响因素多,需进行凝血功能监测。因此研究开发人工合成的具有口服活性的新抗凝药物十分重要。

[0004] 血液凝固是复杂的系列酶作用的结果,其中关键的一步是凝血酶原活化生成凝血酶。凝血酶是一种类胰蛋白酶的丝氨酸蛋白酶,主要作用是水解纤维蛋白原生成不溶性的纤维状凝合物。在血液凝固级联反应中起关键作用。因此,抑制凝血酶的活性,就能阻断血栓的形成。由于其靶点明确且与传统抗凝药物的作用靶点不同,直接凝血酶抑制剂(DTI)有望克服传统抗凝药的应用局限性。很明显,对血栓行程的方便治疗控制、有效的选择性且具有口服生物药效的凝血酶抑制剂代表了一个具吸引力的目标。

[0005] 在过去三十多年里,以人工合成的凝血酶抑制剂作为抗凝血活性研究取得许多重大的进步,大量的高活性和高选择性的小分子凝血酶抑制剂被报导。如在US4346078中报道了D-Phe-Pro-Arg-H和Me-D-Phe-Pro-Arg-H三肽醛类凝血酶抑制剂。近来,在US4346078和W09311152中描述了D-Phe-Pro-胍丁胺及其衍生物作为凝血酶抑制剂。后来,又在W09429336和W09523609中报道了一种三肽型抑制剂,在P1位掺入4-咪基苄胺以代替胍丁胺等等。

[0006] 在US4101653中,Okamoto等公开了以N-对甲苯磺酰基精氨酸甲酯(TAMA)为凝血酶底物,设计合成了系列精氨酸衍生物,发现阿加曲班(argatroban)具有很好的抑制凝血酶活性。经药理临床研究已于2001年FDA批准作为注射剂上市,阿加曲班是一种可逆竞争性凝血酶抑制剂,与凝血酶的活性部位结合而发挥作用,对凝血酶有高度选择性。临床用于治疗外周血栓病和急性脑卒中,也可用于肝素诱发的血小板减少和血栓综合征。

[0007] 同样,Stürzebecher等按TAMA的结构,设计合成系列苯甲脒类化合物,进一步结构改造发现NAPAP的抑制凝血酶活性比阿加曲班强一倍(JMed Chem,1994,37,3889)。将NAPAP的苯甲脒改为哌啶甲脒的系列化合物也有较高的抑制凝血酶活性,其中Hoffmann-La Roche公司合成的napsagatran活性最强,对血纤维蛋白酶也有作用,曾进行II期临床研

究,但半衰期短,口服生物利用度差。

[0008] Astra 公司在 W09429336 公开了一类苯甲脒类似物,其中美拉加群 (melagatran) 有强效抑制凝血酶活性,无明显出血问题可安全地用于深度静脉血栓 (DVT),但口服生物利用度低,进一步合成其双前体药希美拉加群 (ximelagatran),于 2004 年上市。是继华法林后的 60 多年里第一个口服的抗凝血药物,但上市后在临床中发现严重肝损伤,于 2006 年 2 月终止。

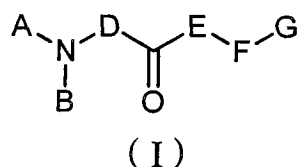
[0009] 另外,W09311152、W09715190、US5510369 中报道了一类在 P3 位上带有独特的 D-二苯基甘氨酸的凝血酶抑制剂。据报道这类化合物与相应的 D-苯基甘氨酸类似物相比,抗凝血酶活性更高 (J Med Chem, 1997, 40, 830),其中的一些化合物具有较好的口服生物利用率 (J Med Chem, 1997, 40, 3687 ; J Med Chem, 1997, 40, 3726)。

[0010] 已报道的化合物中只有少数具有适合的体内药动学和药效学性质。迄今为止,凝血酶抑制剂的研究仍然是目前药物化学领域中的热门研究课题之一。

发明内容

[0011] 本发明的第一个目的是提供一类新颖的式 (I) 所示的化合物,其药学上可接受的盐和其药学上可接受的前体药物:

[0012]



[0013] 其中:

[0014] A 代表 $\text{C}_{1\sim6}$ 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{SO}_3\text{R}^1$ 、 $-\text{COR}^1$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{PO}(\text{OR}^1)_2$ 、 $-\text{R}^2$ -环烷基、 $-\text{R}^2$ -杂环烷基、 $-\text{R}^2$ -芳基、 $-\text{R}^2\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{SO}_3\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{COR}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{CO}_2\text{R}^1$ 、或 $-\text{R}^2\text{PO}(\text{OR}^1)_2$;

[0015] 其中:

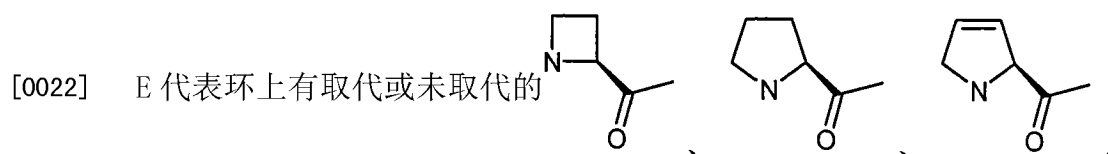
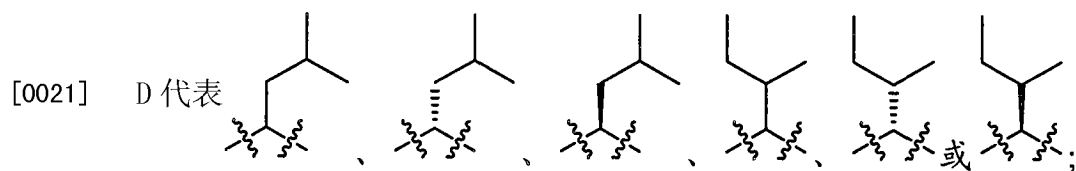
[0016] R^1 代表氢、 $\text{C}_{1\sim6}$ 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-\text{R}^3$ -环烷基、 $-\text{R}^3$ -杂环烷基、 $-\text{R}^3$ -芳基、链烯基或 $-\text{NR}^4\text{R}^5$;

[0017] R^2 和 R^3 代表 $\text{C}_{1\sim6}$ 烷基;

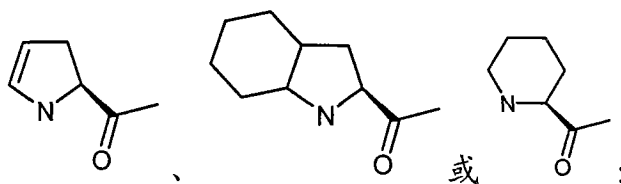
[0018] 其中:

[0019] R^4 和 R^5 独立的代表氢、 $\text{C}_{1\sim6}$ 烷基、环烷基或杂环烷基;

[0020] B 代表氢;



[0023]



[0024] 其中环上的取代基可为羧基、卤素、烷基、烷氧基、酰基、磺酰基、巯基、烷硫基、环烷基、杂环烷基、氨基、烷氨基、二烷氨基、氰基、酯基、三氟甲基或带上述基团的 $C_1 \sim 4$ 的烷基。

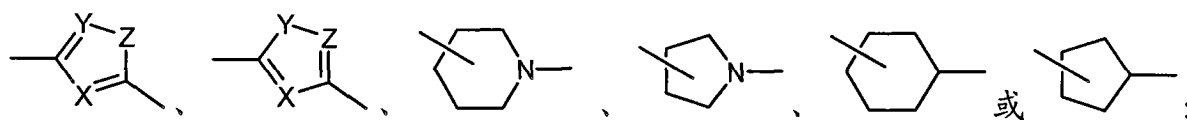
[0025] F 代表 $-NH-(CH_2)_m-R^6$;

[0026] 其中:

[0027] m 代表 $0 \sim 3$;

[0028] R^6 代表未取代的 、、、、

[0029]

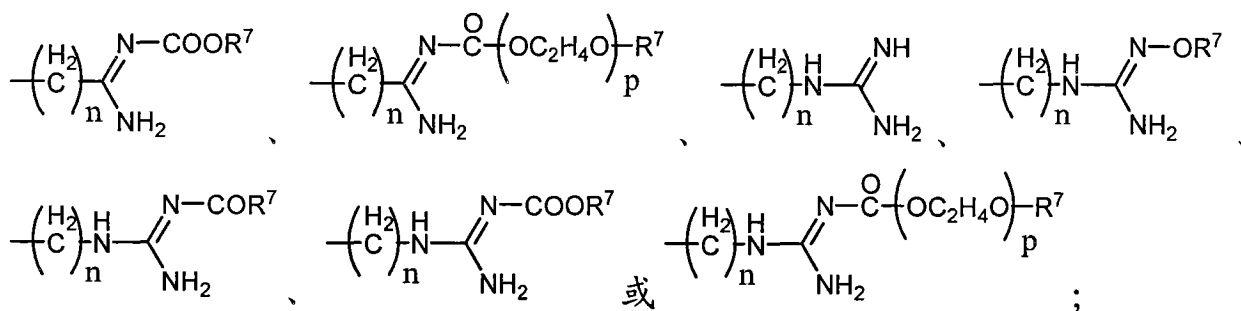


[0030] 其中:

[0031] X、Y 和 Z 独立的代表 S、O 或 N;

[0032] G 代表 $-(CH_2)_n-NH_2$ 、 $-(CH_2)_n-NH$ 、 $-(CH_2)_n-N-OR^7$ 、 $-(CH_2)_n-N-COR^7$ 、

[0033]



[0034] 其中:

[0035] n 代表 $0 \sim 3$;

[0036] p 代表 $1 \sim 8$;

[0037] R^7 代表氢或 $C_1 \sim 6$ 烷基。

[0038] 根据本发明优选的方面,式(I)的化合物中,A代表 $-SO_2R^1$ 、 $-SO_3R^1$ 、 $-COR^1$ 、 $-CO_2R^1$ 、 $-PO(OR^1)_2$ 、 $-R^2$ -环烷基、 $-R^2$ -杂环烷基、 $-R^2$ -芳基、 $-R^2SO_2R^1$ 、 $-R^2SO_3R^1$ 、 $-R^2COR^1$ 、 $-R^2CO_2R^1$ 、或 $-R^2PO(OR^1)_2$;

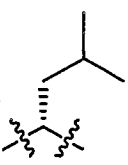
[0039] 其中:

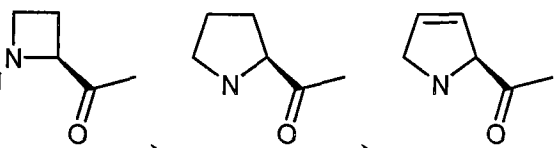
[0040] R^1 代表氢、 $C_1 \sim 6$ 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-R^3$ -环烷基、 $-R^3$ -杂环烷基、 $-R^3$ -芳基、链烯基或 $-NR^4R^5$;

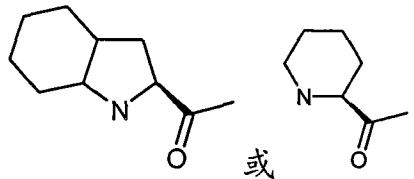
[0041] R^2 和 R^3 代表 $C_{1\sim6}$ 烷基；

[0042] 其中：

[0043] R^4 和 R^5 独立的代表氢、 $C_{1\sim6}$ 烷基、环烷基或杂环烷基；

[0044] D 代表  ；

[0045] E 代表环上有取代或未取代的  、 、 、

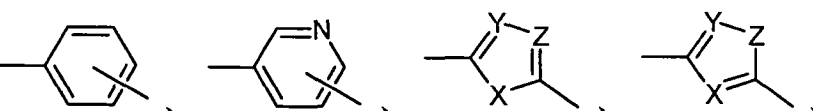
[0046]  或 ；

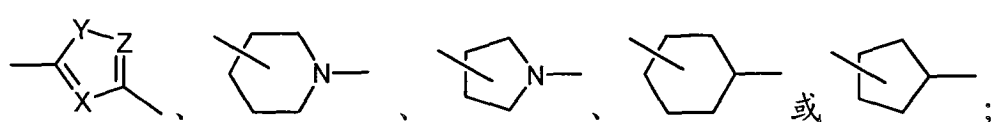
[0047] 其中环上的取代基可为羧基、卤素、烷基、烷氧基、酰基、磺酰基、巯基、烷硫基、环烷基、杂环烷基、氨基、烷氨基、二烷氨基、氰基、酯基、三氟甲基或带上述基团的 $C_{1\sim4}$ 的烷基。

[0048] F 代表 $-NH-(CH_2)_m-R^6$ ；

[0049] 其中：

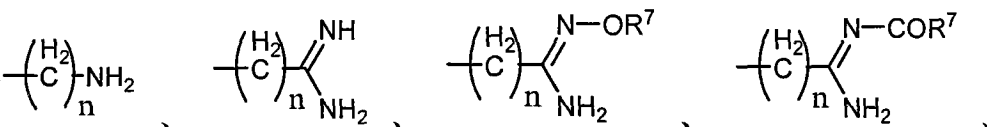
[0050] m 代表 0 ~ 3 ；

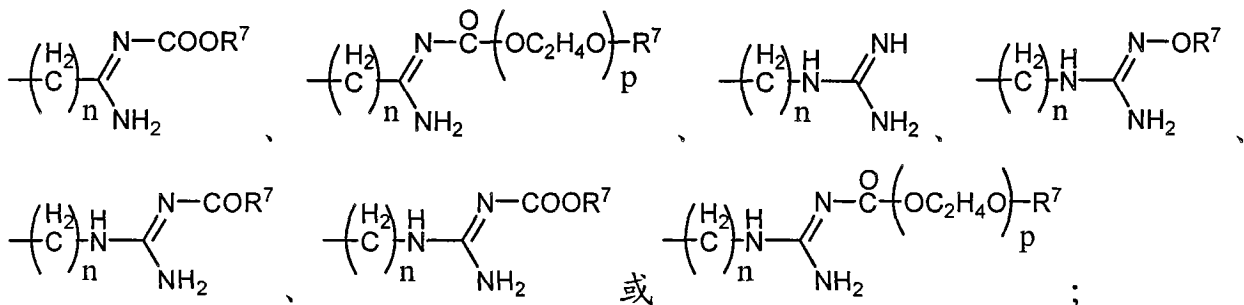
[0051] R^6 代表未取代的  、 、 、 、

[0052]  或 ；

[0053] 其中：

[0054] X、Y 和 Z 独立的代表 S、O 或 N ；

[0055] G 代表  、 、 、 、

[0056]  ；

[0057] 其中：

[0058] n 代表 0 ~ 3；

[0059] p 代表 1 ~ 6；

[0060] R^7 代表氢或 $C_{1\sim6}$ 烷基。

[0061] 在这些化合物中，特别优选的化合物是，其中 A 代表 $-SO_2R^1$ 、 $-COR^1$ 、 $-CO_2R^1$ 、 $-R^2$ - 环烷基、 $-R^2$ - 杂环烷基、 $-R^2$ - 芳基、 $-R^2SO_2R^1$ 、 $-R^2COR^1$ 或 $-R^2CO_2R^1$ ；

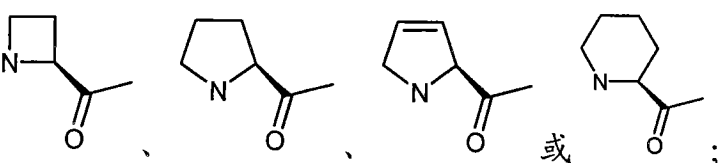
[0062] 其中：

[0063] R^1 代表氢、 $C_{1\sim6}$ 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-R^3$ - 环烷基、 $-R^3$ - 杂环烷基、 $-R^3$ - 芳基、链烯基或 $-NR^4R^5$ ；

[0064] R^2 和 R^3 代表 $C_{1\sim6}$ 烷基；

[0065] 其中：

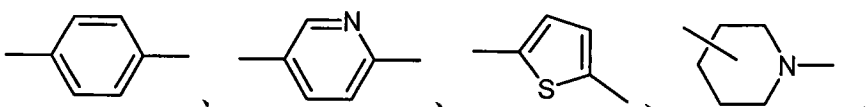
[0066] R^4 和 R^5 独立的代表氢、 $C_{1\sim6}$ 烷基、环烷基或杂环烷基；

[0067] E 为  ；

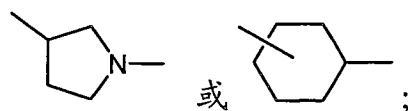
[0068] F 为 $-NH-(CH_2)_m-R^6$ ；

[0069] 其中：

[0070] m 为 1；

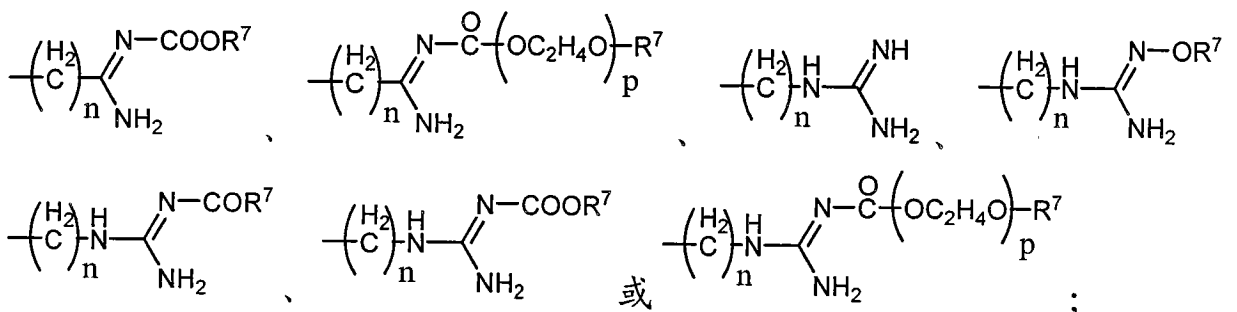
[0071] R^6 代表未取代的  ；

[0072]



[0073] G 代表 $-(CH_2)_n-NH_2$ 、 $-(CH_2)_n-\frac{NH}{NH_2}$ 、 $-(CH_2)_n-\frac{N-OR^7}{NH_2}$ 、 $-(CH_2)_n-\frac{N-COR^7}{NH_2}$ 、

[0074]



[0075] 其中：

[0076] n 代表 0 ~ 3；

[0077] p 代表 1 ~ 6；

[0078] R^7 代表氢或 $C_{1\sim6}$ 烷基。

[0079] 在式 (I) 化合物中,更优选的化合物组为:

[0080] 其中 A 代表 $-\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{SO}_3\text{R}^1$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{PO}(\text{OR}^1)_2$ 、 $-\text{R}^2$ -环烷基、 $-\text{R}^2$ -杂环烷基、 $-\text{R}^2$ -芳基、 $-\text{R}^2\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{SO}_3\text{R}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{COR}^1$ 、 $-\text{R}^2\text{CO}_2\text{R}^1$ 、或 $-\text{R}^2\text{PO}(\text{OR}^1)_2$;

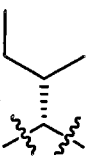
[0081] 其中:

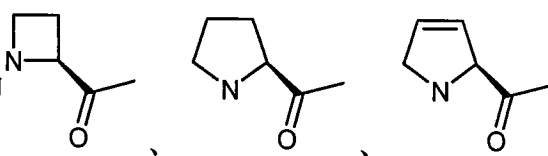
[0082] R^1 代表氢、 $\text{C}_{1\sim6}$ 烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、 $-\text{R}^3$ -环烷基、 $-\text{R}^3$ -杂环烷基、 $-\text{R}^3$ -芳基、链烯基或 $-\text{NR}^4\text{R}^5$;

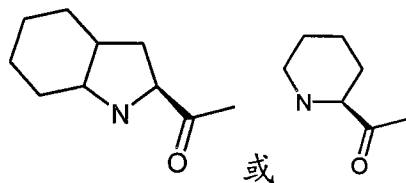
[0083] R^2 和 R^3 代表 $\text{C}_{1\sim6}$ 烷基;

[0084] 其中:

[0085] R^4 和 R^5 独立的代表氢、 $\text{C}_{1\sim6}$ 烷基、环烷基或杂环烷基;

[0086] D 代表  ;

[0087] E 代表环上有取代或未取代的  ,

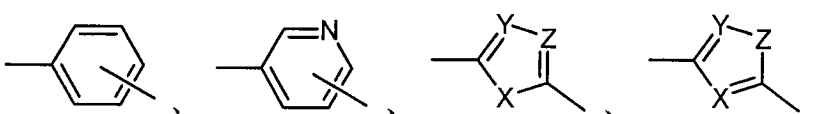
[0088]  或 ;

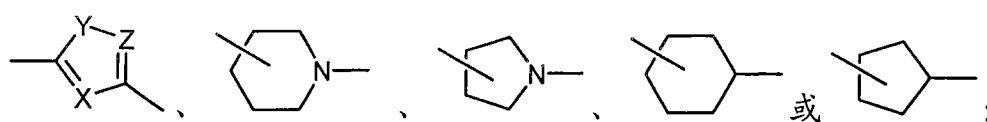
[0089] 其中环上的取代基可为羧基、卤素、烷基、烷氧基、酰基、磺酰基、巯基、烷硫基、环烷基、杂环烷基、氨基、烷氨基、二烷氨基、氰基、酯基、三氟甲基或带上述基团的 $\text{C}_{1\sim4}$ 的烷基。

[0090] F 代表 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-\text{R}^6$;

[0091] 其中:

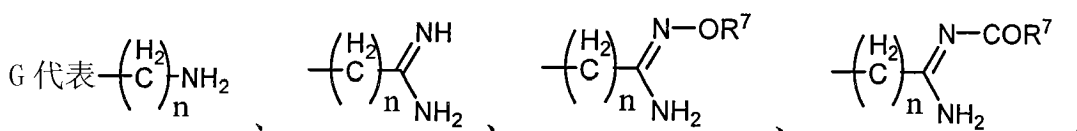
[0092] m 代表 0 ~ 3 ;

[0093] R^6 代表未取代的  ,

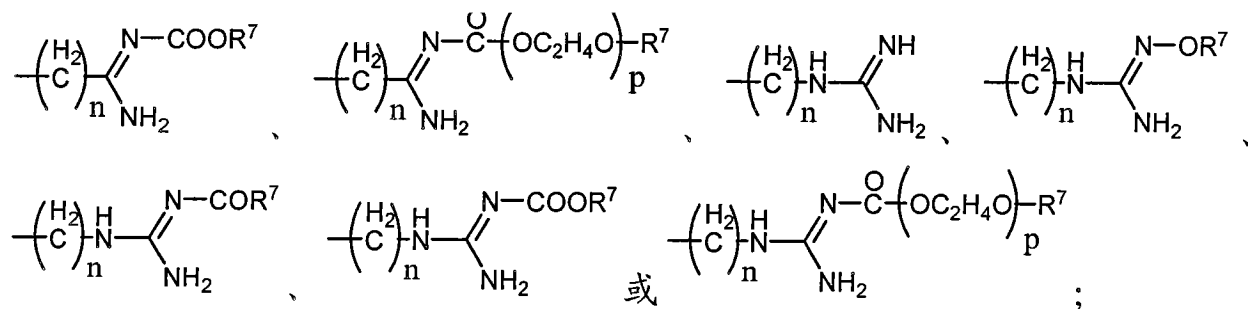
[0094]  ;

[0095] 其中:

[0096] X、Y 和 Z 独立的代表 S、O 或 N;

[0097] G 代表  ,

[0098]



[0099] 其中：

[0100] n 代表 0 ~ 3；

[0101] p 代表 1 ~ 6；

[0102] R⁷代表氢或 C_{1~6}烷基。

[0103] 更优选地，在这些化合物中，其中 A 代表 -SO₂R¹、-CO₂R¹、-R²- 环烷基、-R²- 杂环烷基、-R²- 芳基、-R²SO₂R¹、-R²COR¹或 -R²CO₂R¹；

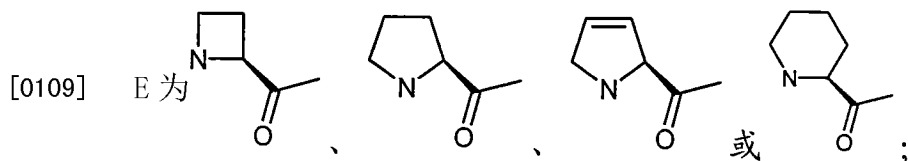
[0104] 其中：

[0105] R¹代表氢、C_{1~6}烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、-R³- 环烷基、-R³- 杂环烷基、-R³- 芳基、链烯基或 -NR⁴R⁵；

[0106] R²和 R³代表 C_{1~6}烷基；

[0107] 其中：

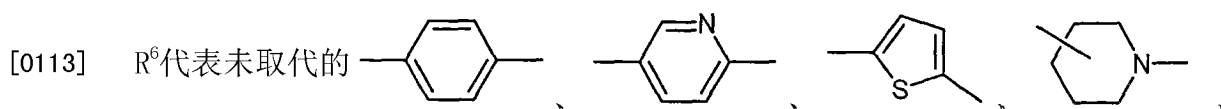
[0108] R⁴和 R⁵独立的代表氢、C_{1~6}烷基、环烷基或杂环烷基；



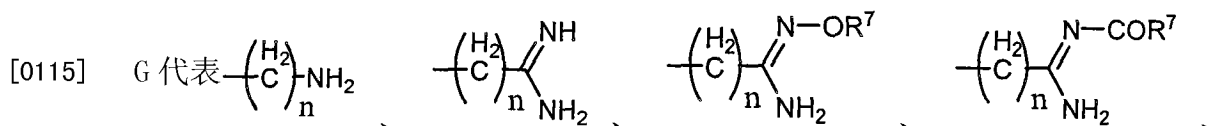
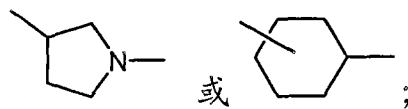
[0110] F 为 -NH-(CH₂)_m-R⁶；

[0111] 其中：

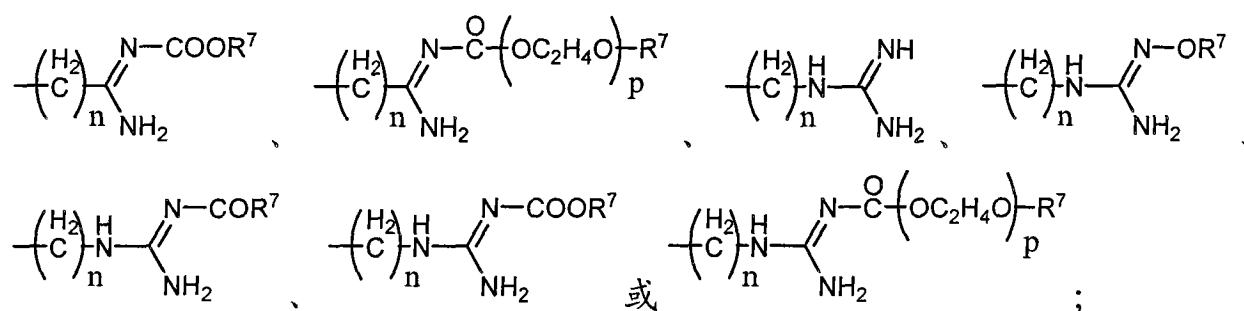
[0112] m 为 1；



[0114]



[0116]



[0117] 其中：

[0118] n 代表 0 ~ 3；

[0119] p 代表 1 ~ 6；

[0120] R⁷代表氢或 C_{1~6}烷基。

[0121] 本发明中,使用以下定义：

[0122] 按照本技术领域的惯例,这里在结构式中使用  用于描绘基团部分或取代基与核心或主链结构连接点处的键。

[0123] “C_{1~6}烷基”是指 1 ~ 6 个饱和和 / 或不饱和碳原子和氢原子组成的直链或支链一价残基,例如甲基 (Me)、乙基 (Et)、丙基、异丙基、丁基 (Bu)、异丁基、叔丁基 (t-Bu)、乙烯基、戊烯基、丙烯基、丁烯基、乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基等等,其可以是未取代的或被一个或多个适宜的如下定义的取代基所取代。

[0124] “环烷基”是指非芳族的含有 3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13 或 14 个碳原子的一价单环、双环或三环残基,每种都可以是饱和或不饱和的,并且可以是未取代的或被一个或多个适宜的如下定义的取代基所取代,并且可以与一个或多个杂环烷基或芳基稠合,所说的杂环烷基或芳基本身可以是未取代的或被一个或多个适宜的如下定义的取代基所取代。

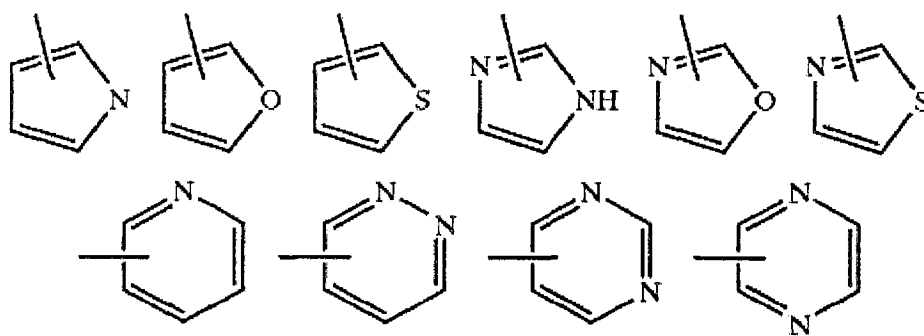
[0125] “杂环烷基”是指非芳族的含有 3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13 或 14 个碳原子的一价单环、双环或三环残基,其包括 1,2,3,4,5 或 6 个杂原子,杂原子包括有氮、氧和硫,并且可以与一个或多个杂环烷基或芳基稠合,所说的杂环烷基或芳基本身可以是未取代的或被一个或多个适宜的如下定义的取代基所取代。

[0126] “芳基”是指苯基、萘基、5-6 元芳族杂环,该杂环含有一个或两个选自氮、氧和硫的相同或不不同的杂原子,其可以是未取代的或被一个或多个适宜的如下定义的取代基所取代,并且可以与一个或多个环烷基、杂环烷基或 5-6 元芳族杂环稠合,所说的环烷基、杂环烷基或 5-6 元芳族杂环本身可以是未取代的或被一个或多个适宜的如下定义的取代基所取代。

[0127] “取代基”为羧基、卤素、烷基、烷氧基、酰基、磺酰基、巯基。烷硫基、环烷基、杂环烷基、氨基、烷氨基、二烷氨基、氰基、酯基、三氟甲基或带上述基团的 C_{1~4}的烷基。

[0128] 所述 5 元或 6 元芳族杂环为取代或未取代的式 (II) 代表的结构单元：

[0129]

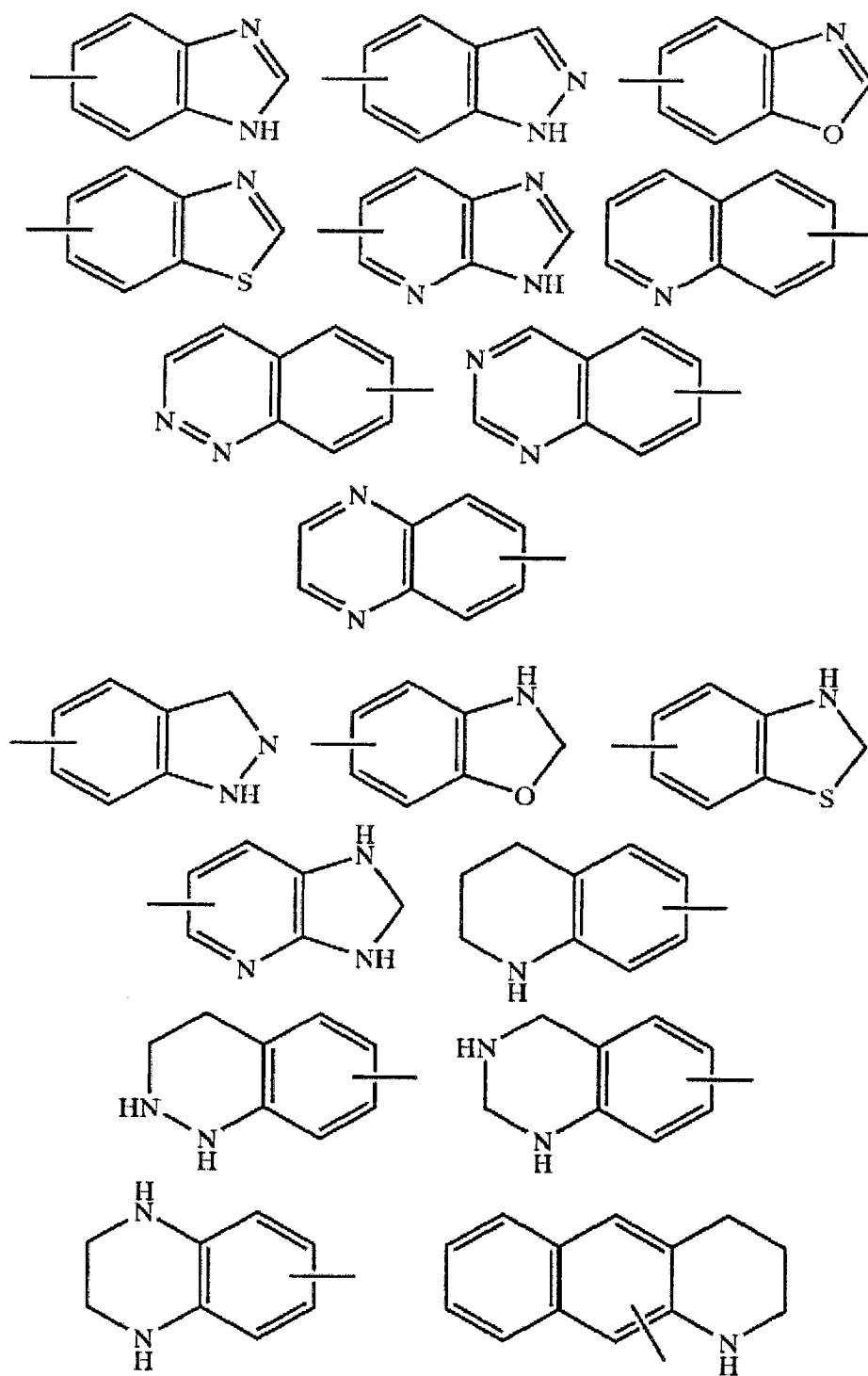


(II)

[0130] 其中取代基为羧基、卤素、烷基、烷氧基、酰基、磺酰基、巯基。烷硫基、环烷基、杂环烷基、氨基、烷氨基、二烷氨基、氰基、酯基、三氟甲基或带上述基团的 $C_{1\sim4}$ 的烷基。

[0131] 所述苯并饱和或不饱和杂环为取代或未取代的式 (III) 代表的结构单元：

[0132]

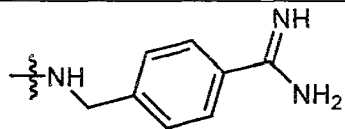
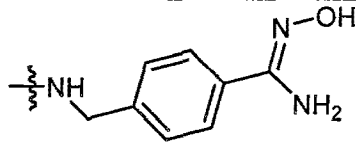
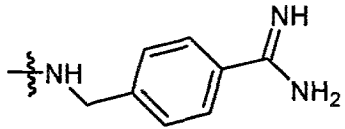
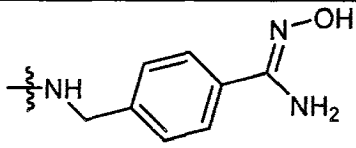
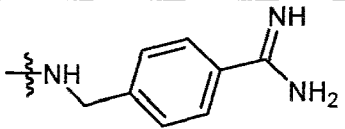
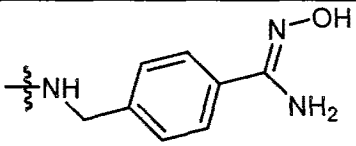
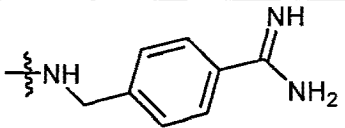
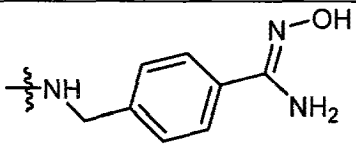
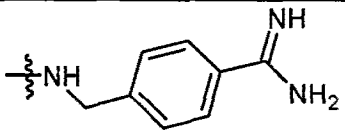
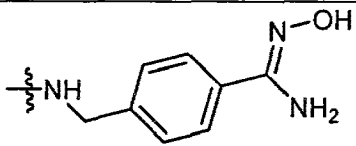
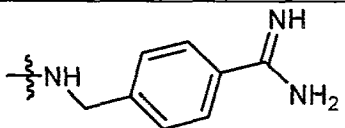


(III)

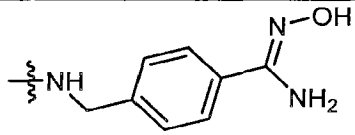
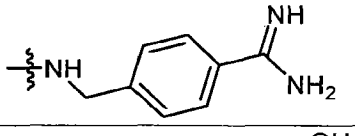
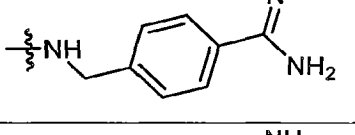
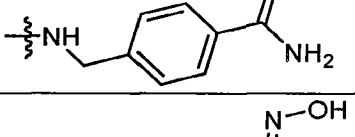
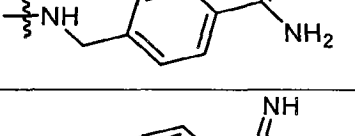
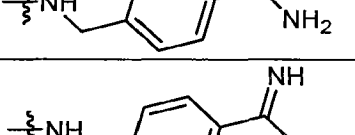
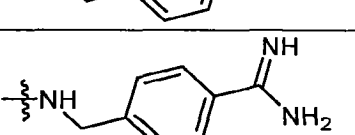
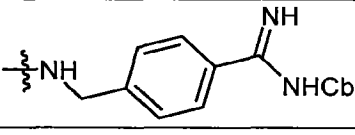
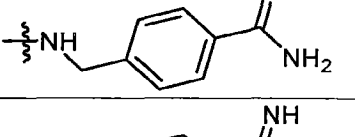
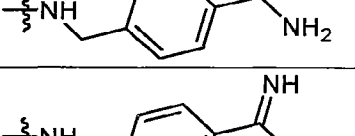
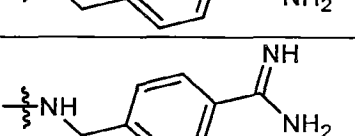
[0133] 其中取代基为羧基、卤素、烷基、烷氧基、酰基、磺酰基、巯基、烷硫基、环烷基、杂环烷基、氨基、烷氨基、二烷氨基、氰基、酯基、三氟甲基或带上述基团的 C1 ~ 4 的烷基。

[0134] 本发明优选的具体化合物包括但不限于：

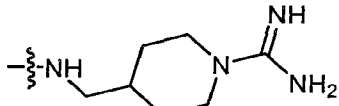
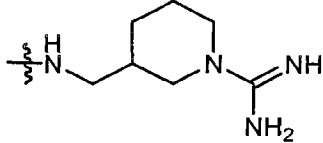
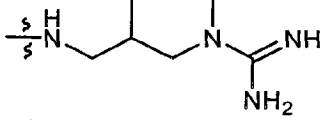
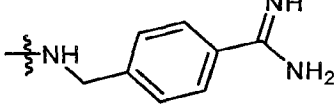
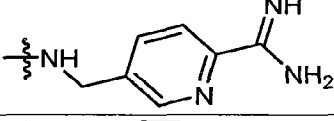
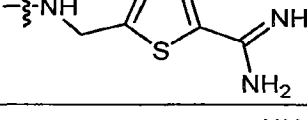
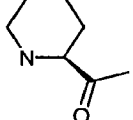
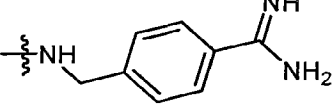
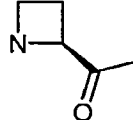
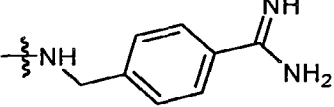
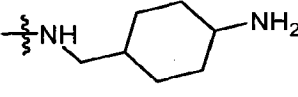
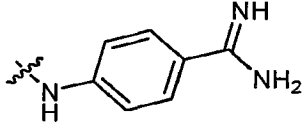
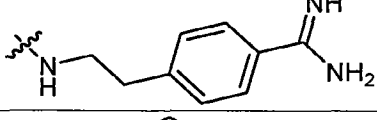
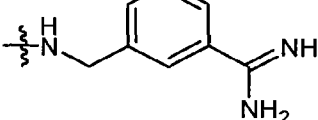
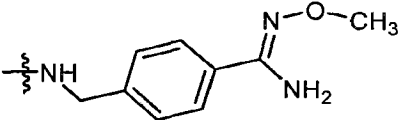
[0135]

A	D	E	F-G
苯磺酰基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
苄磺酰基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
苄磺酰基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯甲酰基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯甲酰基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯乙酰基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯乙酰基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
羧基甲基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
羧基甲基	D, L-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯甲酰基	D, L-异亮氨酸	L-脯氨酸	

[0136]

苯甲酰基	D, L-异亮氨酰	L-脯氨酰	
苯乙酰基	D, L-异亮氨酰	L-脯氨酰	
苯乙酰基	D, L-异亮氨酰	L-脯氨酰	
羧基甲基	D, L-异亮氨酰	L-脯氨酰	
羧基甲基	D, L-异亮氨酰	L-脯氨酰	
苯磺酰基	L-亮氨酰	L-脯氨酰	
苯磺酰基	D-亮氨酰	L-脯氨酰	
苯磺酰基	D-亮氨酰	L-脯氨酰	
苄磺酰基	D-亮氨酰	L-脯氨酰	
苄磺酰基	D-亮氨酰	L-脯氨酰	
苯甲酰基	D-亮氨酰	L-脯氨酰	
苯乙酰基	D-亮氨酰	L-脯氨酰	
羧基甲基	D-亮氨酰	L-脯氨酰	

[0137]

苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯甲酰基	D-异亮氨酸	L-脯氨酸	
苄磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苄磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸		
苯磺酰基	D-亮氨酸		
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	

[0138]

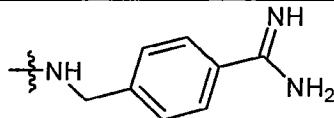
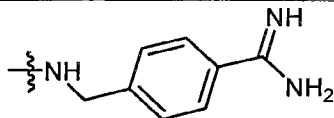
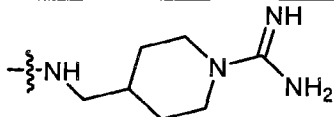
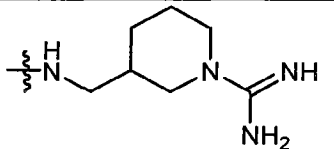
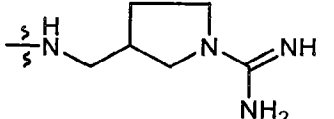
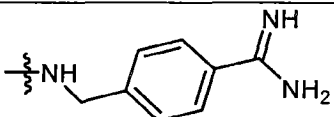
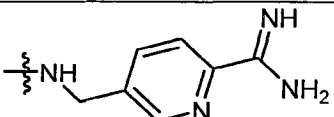
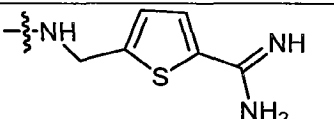
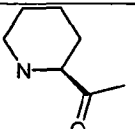
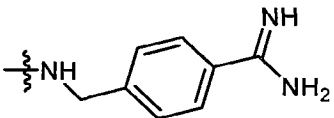
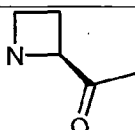
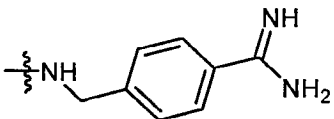
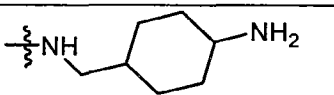
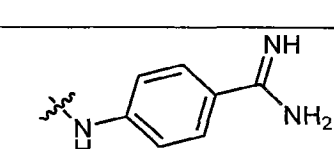
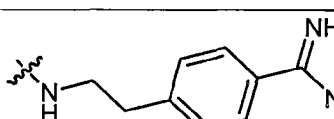
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
二甲胺基磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
甲烷磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
乙烷磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
环丙烷磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
叔丁氧羰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
甲氧羰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
羧基乙基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	

[0139] 在这些化合物中,特别优选的化合物为:

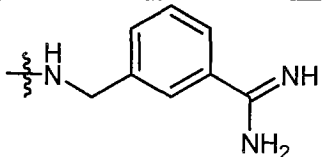
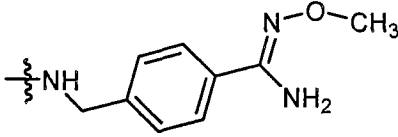
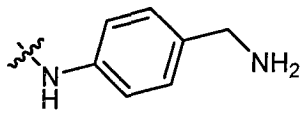
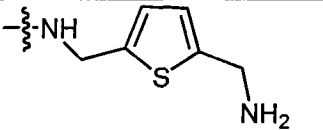
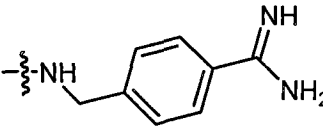
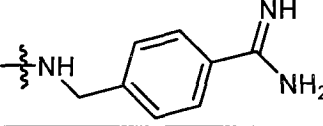
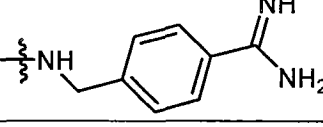
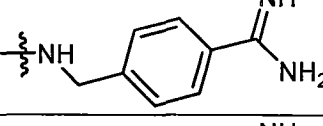
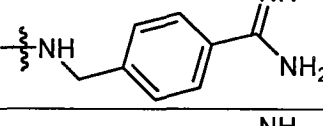
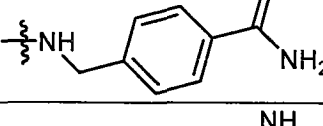
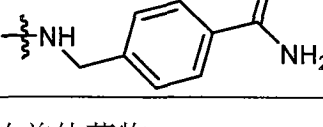
[0140]

A	D	E	F-G
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苄磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯甲酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	

[0141]

苯乙酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
羧基甲基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯甲酰基	D-异亮氨酸	L-脯氨酸	
苄磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苄磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸		
苯磺酰基	D-亮氨酸		
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	

[0142]

苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
苯磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
二甲胺基磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
甲烷磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
乙烷磺酰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
环丙烷磺酰氯	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
叔丁氧羰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
甲氧羰基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	
羧基乙基	D-亮氨酸	L-脯氨酸	

[0143] 本发明还包括其药学上可接受的盐及药学可接受的前体药物。

[0144] 本发明式 (I) 的可用于介导类胰蛋白酶的丝氨酸蛋白酶的活性。更具体的说, 本发明化合物可用作抗凝剂和用于调制或抑制类胰蛋白酶的丝氨酸蛋白酶活性的药剂, 由此治疗血栓形成和其他心血管疾病。

[0145] 除另有说明, 本发明中公开的术语和缩写具有它们标准的含义。

[0146] 式 (I) 化合物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

当酸的实例包括硫酸、亚硫酸、盐酸、醋酸、氢溴酸、硝酸、磷酸、偏磷酸、焦磷酸、马来酸、富马酸、琥珀酸、柠檬酸、高氯酸、对甲苯磺酸、酒石酸、甲酸、乙酸、丙酸、庚酸、草酸、苯甲酸、丙二酸、丁二酸、丁二酸、顺丁烯二酸、羟基丁酸、枸橼酸、甲磺酸、苯磺酸、乳酸、扁桃酸。

[0147] 由于本发明式 (I) 化合物的结构中具有一个或多个手性碳原子, 因此其也可以外消旋物、非对映体混合物和纯对映体存在, 所有这些异构体均属本发明范围之内。

[0148] 本发明还涉及通式化合物药学可接受的前体药物, 它被施用后能够代谢成活性化合物。合适的前体药物是例如所述通式的 N- 烷氧基羰基保护的衍生物或羧酸被酯保护的衍生物。

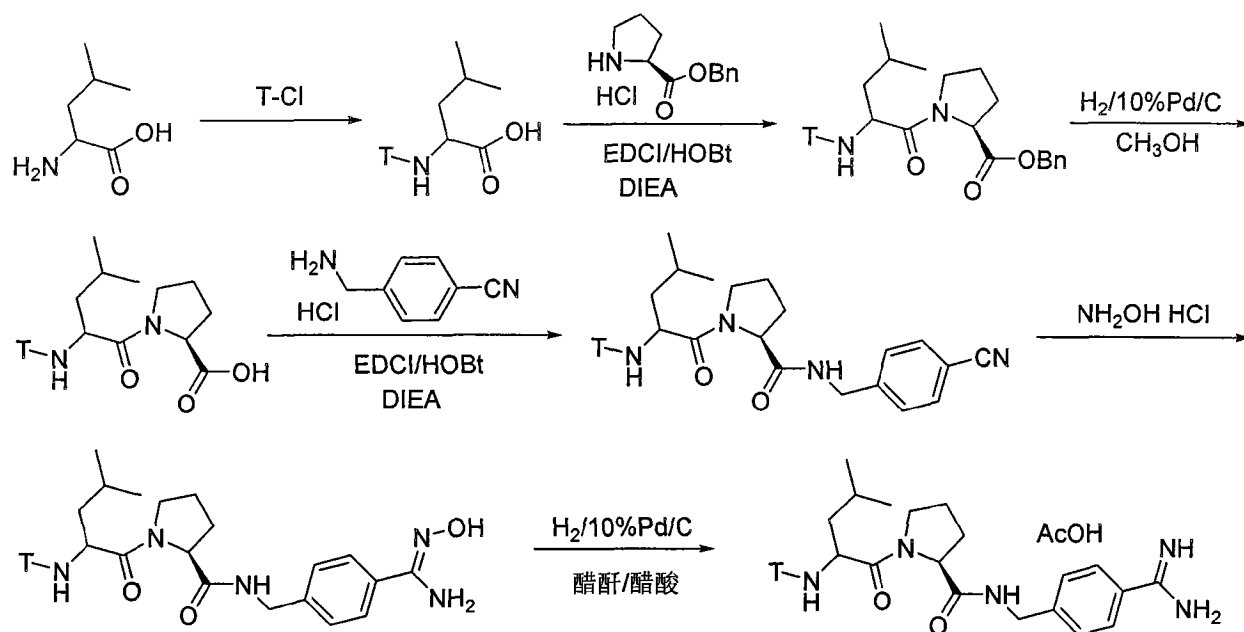
[0149] 本发明的第二个目的是提供式 (I) 化合物的制备方法, 该方法包括以氮位由保护基保护的氨基酸为原料制得最终产物的步骤。该方法可以用现有技术中已知的类似标准化化学反应制备 (本发明的化合物可以按照以下几个大致的过程来制备), 路线中所用起始原料、试剂、技术和方法都是众所周知的, 并且对于本领域任何普通技术人员都是熟知的和理解的。

[0150] 本发明的化合物可以按照以下大致的过程来制备:

[0151] 如实施例 2 举例所示 (路线一), 将氨基酸与酰化试剂和碱反应, 将所得的酸与氨基酸的苄酯偶联, 然后氢化脱苄, 所得的酸偶联到所需的胺上, 如对氨基苯腈。再通过两步将偶联产物转化为脒, 所说的两步包括与盐酸羟胺反应和氢化反应。

[0152] 路线一:

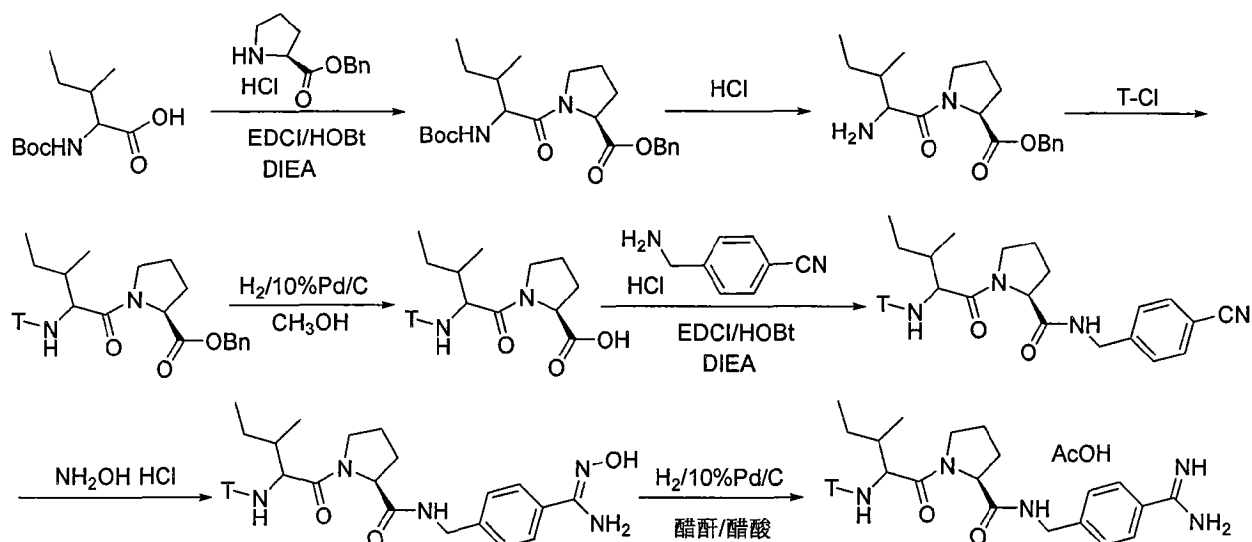
[0153]



[0154] 另一种供选择的合成路径如路线二所示, 将保护的氨基酸如 N-叔丁氧羰基-D-异亮氨酸使用缩合剂如 EDCI/HOBt 偶联至脯氨酸苄酯上。所得二肽用盐酸等强酸处理, 除去叔丁氧羰基保护剂。所得的胺与酰化试剂和碱反应。然后氢化脱苄, 所得的酸偶联到所需的胺上, 如对氨基苯腈。再通过两步将偶联产物转化为脒, 所说的两步包括与盐酸羟胺反应和氢化反应。

[0155] 路线二:

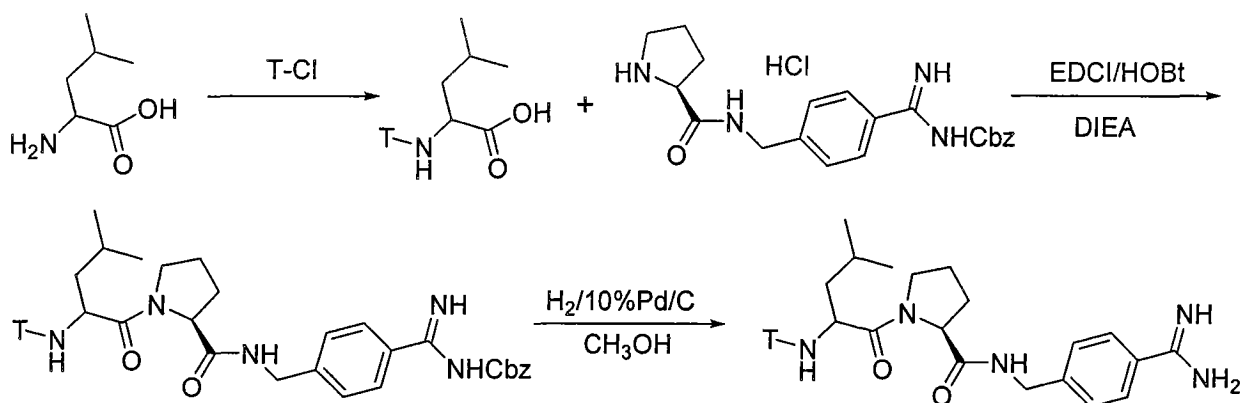
[0156]



[0157] 再一种供选择的合成路径如路线三所示,将氮位取代的氨基酸使用缩合剂如 EDCI/HOBt 偶联至所需的胺上。再通过氢解反应脱去保护基将偶联产物转化为肽。

[0158] 线路三:

[0159]



[0160] 上述三种合成路线中,酰胺偶联采用标准肽偶合方法在惰性气体如氮气下进行,如叠氮化方法,混合酸酐方法,碳化二亚胺(二环己基碳化二亚胺 DCC,二异丙基碳化二亚胺 EDC)方法,活性酯方法,羰基二咪唑方法,磷试剂如 BOP-Cl 方法。这些方法中有些方法(尤其是碳化二亚胺方法)可以通过加入 1-羟基苯并三唑 HOBt 被改进。如果有需要,偶合反应中需要在缚酸剂存在下进行,适当的缚酸剂的实例是有机叔胺如二异丙基乙胺、三乙胺、三甲胺、吡啶、N-甲基吗啡啉等,特别优选 N-甲基吗啡啉或二异丙基乙胺作为缚酸剂。

[0161] 上述偶联反应在无水溶剂存在下进行,能够选用的溶剂实例包括:二氯甲烷、四氢呋喃、乙醚、乙腈、二氯乙烷、乙酸乙酯、N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砜。反应温度通常不重要,优选 0~30℃ 下反应 2~24 小时。

[0162] 除去氨基保护基的方法通过常规方法进行,例如在酸(例如:有机酸如三氟乙酸、苯磺酸、甲酸等,或无机酸如盐酸、硫酸、氢溴酸等)存在下的水解或在碱(例如:碱金属或碱土金属的氢氧化物、氢化物、碳酸盐或碳酸氢盐,如氢氧化钠、氢氧化钾、氢化钠、碳酸钾、碳酸氢钠等,或有机碱如二异丙基乙胺、三乙胺、哌啶等)存在下的水解,或在催化剂(如钯、铂、镍等金属催化剂)存在下通过用氢气进行的氢解还原。适宜方法可参见《有机合成中的保护基团》,第三版, T. W. Green 和 Peter G. M. Wuts (1999), 出版商: John Wiley & Sons,

Inc。

[0163] 一般情况下,该反应能在对反应无不利影响的溶剂存在下进行,能过选用的溶剂实例包括:二氯甲烷、醇如甲醇、乙醇等、四氢呋喃、二氧六环、丙酮、醋酸、乙酸乙酯。反应温度通常不重要,优选 0 ~ 40℃。

[0164] 除去羧酸保护基的方法通过常规方法进行,例如在碱(例如:碱金属或碱土金属的氢氧化物、氢化物、碳酸盐或碳酸氢盐,如氢氧化钠、氢氧化钾、氢化钠、碳酸钾、碳酸氢钠等,或有机碱如二异丙基乙胺、三乙胺等)存在下的水解,或在催化剂(如钯、铂、镍等金属催化剂)存在下通过用氢气进行的还原。适宜方法可参见《有机合成中的保护基团》,第三版,T. W. Green 和 Peter G. M. Wuts(1999),出版商:John Wiley&Sons, Inc。

[0165] 一般情况下,该反应能在对反应无不利影响的溶剂存在下进行,能够选用的溶剂实例包括:水、醇如甲醇、乙醇等、四氢呋喃、二氧六环、丙酮。反应温度通常不重要,优选 0 ~ 30℃。

[0166] N 上烷基化反应可采用还原胺化方法和亲核取代方法。如使用亲核取代方法。合适的亲核取代事迹包括但不限于:烷基溴,烷基碘,烷基氯、烷基磺酸酯,烷基苯磺酸酯,烷基对甲苯磺酸酯、烷基甲磺酸酯或含有酸式硫酸根。甲基硫酸根的试剂。优选烷基碘或烷基对甲苯磺酸酯。亲核取代反应需要在缚酸剂存在下进行,适当的缚酸剂可以是无机碱(碱金属或碱土金属的氢氧化物、氢化物、碳酸盐碳酸氢盐,磷酸氢盐,如氢氧化钠、氢化钠、碳酸钾、磷酸氢二钾等),或有机碱如二异丙基乙胺、三乙胺、哌啶等实例是有机叔胺如二异丙基乙胺、三乙胺、三甲胺、吡啶、N-甲基吗啡啉等,特别优选磷酸氢二钾或二异丙基乙胺作为缚酸剂。能够选用的溶剂实例包括:四氢呋喃、二氧六环、乙腈、丙酮、N, N-二甲基甲酰胺等。反应温度优选 30 ~ 80℃。

[0167] 如使用还原胺化方法。可将反应物和相应的醛在恰当的溶剂中用适当还原剂处理。适当的还原剂是本领域熟知的,包括但不限于三-叔丁氧基锂、硼氢化钾、硼氢化钠、三乙酰氧基硼氢化钠、雷尼镍、三乙基硼氢化锂,其中优选硼氢化钾或三乙酰氧基硼氢化钠。进行还原胺化反应的适当溶剂是本领域已知的,如甲醇、乙醇、四氢呋喃、二氯乙烷、乙腈和混合溶剂等。反应温度优选 0 ~ 50℃。

[0168] 每个步骤的产物可以通过本领域已知方法如柱色谱和重结晶法纯化。

[0169] 本发明的第三个目的是提供式(I)所示的化合物在抑制凝血酶方面的应用以及在治疗和防止凝血酶介导的和与凝血酶有关的疾病中的应用。

[0170] 本发明的化合物可用于治疗和防止凝血酶介导的和与凝血酶有关的疾病。所述疾病包括但不限于:静脉血栓形成和肺栓塞、动脉血栓形成例如心肌缺血、心肌梗塞、不稳定心绞痛、血栓形成引起的中风和末梢动脉形成;动脉粥样硬化疾病如冠状动脉病、脑动脉病和末梢动脉病。

[0171] 本发明所述的化合物也可作为体外血液管路中的抗凝剂。

[0172] 另外,此类化合物预期可与血栓溶解剂一起用于预防和治疗心肌梗塞形成。此外,此类化合物预期可用于防止显微外科手术之后重新形成血栓。此类化合物在血液透析和散播性血管内凝血的抗凝血治疗方面有预期效用。并可用于血液、血浆及其他血液产品的离体保存。

[0173] 本发明的化合物预期可经口或非肠道途径如静脉内输注、肌肉注射、或皮下注射

给药。按照本发明给药的化合物获得治疗和预防效果的具体计量,取决于该病例的特定情况,包括给药的形式,给药速率和所治疗的病症。产生效用的典型口服日剂量在约 0.01mg/kg 和约 1000mg/kg 之间;典型的非肠道给药日剂量在约 0.001mg/kg 和约 100mg/kg 之间。给剂量的方式可以不同,如可以每日单一剂量,或者每日 3~5 次这样的多剂量也可能是合适的。需清楚的是,可根据患者的年龄和体重以及所治疗疾病的严重程度,对给药剂量和给药方式做必要的常规调整。准确的给药剂量和途径应有主治医师决定。

[0174] 本发明的第四个目的是提供一种药物组合物,该药物组合物包含式 (I) 所示的化合物和药学可接受的载体。

[0175] 本发明化合物可以药物组合物的方式给药。比如为了经口给药,把化合物制成胶囊或片剂形式,其中可能含有润滑剂、粘结剂、崩解剂等赋形剂。为了注射使用,把化合物溶于一种药学上可接受的溶媒如无菌、无热源水,生理盐水中。

[0176] 剂型可以是由本身已知的技术制成的固体、半固体或液体制剂。此类组合物中活性成分占配方重量 0.1% 至 99.9%。且组合物中所用的载体、稀释剂或赋形剂与活性成分互相兼容,并对被接受的对象无害。

[0177] 本申请中出现的缩写如下:

[0178] Boc:叔丁氧羰基

[0179] Cbz:苄氧羰基

[0180] DCHA:二环己胺

[0181] Leu:亮氨酸

[0182] Ile:异亮氨酸

[0183] Pro:脯氨酸

[0184] Hpro:高脯氨酸

[0185] DIEA:二异丙基乙基胺

[0186] EDCI:1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二酰亚胺盐酸盐

[0187] HOBT:1-羟基苯并三唑

[0188] TFA:三氟乙酸

[0189] AcOH:乙酸

[0190] DMF:N,N'-二甲基甲酰胺。

[0191] 活性测定

[0192] 本发明化合物的体外抑制凝血酶活性可通过发色底物法来测定。在实验中,采用 S2238 作为显色底物,测定其抑制人体 α -凝血酶的活性。并计算其 IC_{50} 值。

具体实施方式

[0193] 下列实施例将详细具体说明路线一、二所述的具体合成方法,并合成了本发明的优选化合物,但技术人员理解所述化学反应可以稍作改动,以制备很多本发明的其他凝血酶抑制剂。例如,通过本领域技术人员显而易见的改进,可以成功地合成本发明中非实例的化合物。这些实施例仅用于说明,而不是以任何方式限制本发明范围。

[0194] 检测方法:

[0195] 核磁共振仪采用 Varian INOVA-400 型核磁共振仪,以四甲基硅为内标,化学位移

() 的单位为 ppm。薄层层析 (TLC, 用 HSG-F254 高效薄层层析硅胶预制板, 烟台芝罘黄务硅胶开发试验厂制) 和 HPLC 用于检测反应和产品纯度。显色采用碘蒸气或在 254A 及 310A 紫外灯下照射或 1% 茚三酮的乙醇溶液。所用试剂除特殊说明均为分析纯, 无水溶剂及试剂按常规方法处理。熔点用显微熔点测定仪测定, 所用温度计未经校正。

[0196] HPLC: Waters 1525; 检测器: Waters 2487; 色谱柱: Phenomenex C18 (4.6 × 250mm, 5 μm); 检测波长: 220nm 及 254nm; 柱温: 40℃; 流速: 1.0ml/min;

[0197] 流动相 1: A: 0.1% 的三氟乙酸水溶液 B: 乙腈

[0198] 流动相 2: A: pH2.0 的磷酸三乙胺缓冲液 B: 乙腈

[0199] 流动相 3: A: pH8.0 的磷酸盐缓冲液 B: 乙腈

[0200] 方法 1: 流动相 A 从 75% 到 25%, 梯度洗脱 10 分钟

[0201] 方法 2: 流动相 A 从 95% 到 30%, 梯度洗脱 20 分钟

[0202] 实施例 1: 合成 N- 苯磺酰 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[4-(N'- 羟基) 甲基苯基] 甲基} 酰胺

[0203] a) N- 苯磺酰 -D, L- 亮氨酸的制备

[0204] 将 D, L- 亮氨酸 (2g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (15ml), 冷却控温 0 ~ 5℃; 缓慢滴加苯磺酰氯 (3g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 大量固体析出; 过滤, 所得固体用乙酸乙酯 / 石油醚重结晶得 3.7g 白色固体。含量 99% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0205] R_f = 0.8 展开剂正丁醇: 水: 醋酸: 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0206] ¹H NMR (CDCl₃+D₂O) ppm: 0.845-0.861 (3H, d), 0.912-0.929 (3H, d), 1.514-1.562 (2H, m), 1.732-1.785 (1H, m), 3.942-4.003 (1H, m), 7.492-7.888 (5H, m)

[0207] b) N- 苯磺酰 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸苄酯的制备

[0208] 将 N- 苯磺酰 -D, L- 亮氨酸 (2.7g), L- 脯氨酸苄酯 (2.7g) 溶解于二氯甲烷 (50ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (3.1g), 滴加完毕后加入 HOBt (1.4g) 和 EDCI (2.6g), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 3.8g 白色固体 (82%), 含量 98% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0209] R_f = 0.3 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0210] ¹H NMR (CDCl₃+D₂O) ppm: 0.921-0.950 (6H, m), 1.223-1.529 (3H, m), 1.719-2.078 (4H, m), 3.105-3.494 (2H, m), 3.816-3.963 (1H, m), 4.418-4.597 (1H, m), 5.122 (2H, s), 7.281-7.854 (10H, m)

[0211] c) N- 苯磺酰 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸的制备

[0212] 将 N- 苯磺酰 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸苄酯 (2g) 溶于甲醇 (40ml), 加入 10% 钯碳 (200mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到白色泡状固体 (1.6g, 99%)。直接进行下步反应。

[0213] d) N- 苯磺酰 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 氰基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0214] 将 N- 苯磺酰 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 (921mg)、对氨基苯腈盐酸盐 (464mg)、DIEA (742mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (338mg),

EDCI (575mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 1.5g, 柱层析纯化得无色油状物 (1.06g, 收率 :87%)。

[0215] Rf = 0.4 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色 : 紫外及碘

[0216] MS : 505 (M+Na⁺)

[0217] ¹H NMR (CDCl₃+D₂O) ppm : 0.860-0.922 (6H, m), 1.603-1.673 (1H, m), 1.795-1.878 (1H, m), 2.047-2.408 (4H, m), 3.233-3.296 (1H, m), 3.373-3.418 (1H, m), 3.968-4.106 (1H, m), 4.123-4.160 (1H, m), 4.321-4.619 (3H, m), 7.284-7.862 (6H, m)

[0218] e) N- 苄磺酰 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[4-(N'- 羟基) 甲基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0219] 将上步所得产物 (1.01g) 溶于水 / 乙醇 (20ml/20ml), 氮气保护, 加入盐酸羟胺和碳酸钠, 回流反应 2 小时冷却, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得到白色泡状固体 (978mg, 90.7%)。

[0220] Rf = 0.1 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色 : 紫外及 1% 茚三酮液 MS : 516 (M+H)

[0221] 实施例 2 : N- 苄磺酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲基苯基) 甲基] 酰胺醋酸盐的制备

[0222] 将实施例 1 所得的化合物溶解于醋酸 (7ml) 中, 加入醋酸酐 (277mg) 和 10% 钯碳 (150mg), 通氢反应 24 小时, 过滤, 减压浓缩除去溶剂, 加入乙醚 (20ml), 放置冰箱过夜, 析出固体, 过滤干燥 (250mg, 66%)

[0223] MS : 560 (M+H)

[0224] 实施例 3 : N- 苄磺酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[4-(N'- 羟基) 甲基苯基] 甲基} 酰胺

[0225] a) N- 苄磺酰 -D, L- 亮氨酸的制备

[0226] 将 D, L- 亮氨酸 (2g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (15ml), 冷却控温 0 ~ 5℃ ; 缓慢滴加苄磺酰氯 (3.2g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10 ; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 大量固体析出 ; 过滤, 所得固体用乙酸乙酯 / 石油醚重结晶得 3.5g 白色固体。含量 99% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0227] Rf = 0.8 展开剂正丁醇 : 水 : 醋酸 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色 : 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0228] MS : 308 (M+Na)

[0229] b) N- 苄磺酰 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸苄酯的制备

[0230] 将 N- 苄磺酰 -D, L- 亮氨酸 (4.3g), L- 脯氨酸苄酯 (4.1g) 溶解于二氯甲烷 (50ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (4.7g), 滴加完毕后加入 HOBt (2g) 和 EDCI (3.8g), 自然升至室温反应 4h。2) 减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 5.3g 白色泡状固体 (74.8%), 含量 98% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0231] Rf = 0.5 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色 : 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0232] MS : 473 (M+H)

[0233] c) N-苄磺酰-D, L-亮氨酸-L-脯氨酸的制备

[0234] 将 N-苄磺酰-D, L-亮氨酸-L-脯氨酸苄酯 (1.2g) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钨碳 (120mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到白色泡状固体 (1g, 99%)。直接进行下步反应。

[0235] d) N-苄磺酰-D, L-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(氰基苯基)甲基]酰胺的制备

[0236] 将 N-苄磺酰-D, L-亮氨酸-L-脯氨酸 (1g)、对氨基苯腈盐酸盐 (464mg)、DIEA (742mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (338mg), EDCI (575mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 1.5g, 柱层析纯化得无色油状物 (905mg, 收率: 80%)。

[0237] $R_f = 0.4$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及碘

[0238] MS : 519 (M+H)

[0239] e) N-苄磺酰-D, L-亮氨酸-L-脯氨酸-[[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基]酰胺的制备

[0240] 将上步所得产物 (905mg) 溶于水 / 乙醇 (20ml/20ml), 氮气保护, 加入盐酸羟胺和碳酸钠, 回流反应 2 小时冷却, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得到白色泡状固体 (871mg, 87.7%)。

[0241] $R_f = 0.1$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及 1% 茚三酮液

[0242] MS : 530 (M+H)

[0243] 实施例 4: N-苄磺酰基-D, L-亮氨酸-L-脯氨酸-[[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基]酰胺醋酸盐

[0244] 将实施例 3 所得的化合物溶解于醋酸 (7ml) 中, 加入醋酸酐 (270mg) 和 10% 钨碳 (140mg), 通氢反应 24 小时, 过滤, 减压浓缩除去溶剂, 加入乙醚 (20ml), 放置冰箱过夜, 析出固体, 过滤干燥 (540mg, 62.7%)

[0245] MS : 514 (M+1)

[0246] 实施例 5: N-苯甲酰基-D, L-亮氨酸-L-脯氨酸-[[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基]酰胺

[0247] a) N-苯甲酰基-D, L-亮氨酸的制备

[0248] 将 D, L-亮氨酸 (2g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (15ml), 冷却控温 0 ~ 5℃; 缓慢滴加苯甲酰氯 (2.3g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取, 所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液得 2.6g 无色油状物。含量 92% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0249] $R_f = 0.9$ 展开剂正丁醇: 水: 醋酸: 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0250] MS : 258 (M+Na)

[0251] b) N-苯甲酰基-D, L-亮氨酸-L-脯氨酸苄酯的制备

[0252] 将 N-苯甲酰基-D, L-亮氨酸 (2.3g), L-脯氨酸苄酯 (2.7g) 溶解于二氯甲烷 (50ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (3g), 滴加完毕后加入 HOBt (1.5g) 和 EDCI (2.5g), 自

然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液,直接过柱纯化得 3.3g 无色油状物 (72%),含量 98% (HPLC,流动相 1,方法 1)。

[0253] $R_f = 0.4$ 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 2 : 1 显色:紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0254] MS :423 (M+H)

[0255] c) N- 苯甲酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸的制备

[0256] 将 N- 苯甲酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸苄酯 (2g) 溶于甲醇 (40ml), 加入 10% 钯碳 (200mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到白色泡状固体 (1.5g, 98%)。直接进行下步反应。

[0257] d) N- 苯甲酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 氰基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0258] 将 N- 苯甲酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 (830mg)、对氨基苯腈盐酸盐 (464mg)、DIEA (742mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (338mg), EDCI (575mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 1.4g, 柱层析纯化得无色油状物 (861mg, 收率: 77%)。

[0259] $R_f = 0.5$ 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 1 : 1 显色:紫外及碘

[0260] MS :469 (M+Na)

[0261] e) N- 苯甲酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[4-(N'- 羟基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0262] 将上步所得产物 (861mg) 溶于水 / 乙醇 (20ml/20ml), 氮气保护, 加入盐酸羟胺和碳酸钠, 回流反应 2 小时冷却, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得到白色泡状固体 (863mg, 94.7%)。

[0263] $R_f = 0.1$ 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 1 : 1 显色:紫外及 1% 茚三酮液

[0264] MS :480 (M+H)

[0265] 实施例 6 : N- 苯甲酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺醋酸盐

[0266] 将实施例 7 所得的化合物 (500mg) 溶解于醋酸 (7ml) 中, 加入醋酸酐 (250mg) 和 10% 钯碳 (120mg), 通氢反应 24 小时, 过滤, 减压浓缩除去溶剂, 加入乙醚 (20ml), 放置冰箱过夜, 析出固体, 过滤干燥 (424mg, 81%)

[0267] MS :464 (M+H)

[0268] 实施例 7 : N- 苯乙酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[4-(N'- 羟基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺

[0269] a) N- 苯乙酰基 -D, L- 亮氨酸的制备

[0270] 将 D, L- 亮氨酸 (2g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (15ml), 冷却控温 0 ~ 5℃; 缓慢滴加苯乙酰氯 (2.4g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取, 所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液得 2.5g 无色油状物。含量 90% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0271] $R_f = 0.9$ 展开剂正丁醇:水:醋酸:乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色:紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0272] MS :272 (M+Na)

[0273] b) N- 苄乙酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸苄酯的制备

[0274] 将 N- 苄乙酰基 -D, L- 亮氨酸 (2.5g), L- 脯氨酸苄酯 (2.4g) 溶解于二氯甲烷 (50ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (2.8g), 滴加完毕后加入 HOBt (1.35g) 和 EDCI (2.3g), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 3.6g 略带浅绿色油状物 (83%), 含量 97% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0275] $R_f = 0.4$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0276] MS :437 (M+H)

[0277] c) N- 苄乙酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸的制备

[0278] 将 N- 苄乙酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸苄酯 (2g) 溶于甲醇 (40ml), 加入 10% 钯碳 (200mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到无色粘稠物 (1.55g, 98%)。直接进行下步反应。

[0279] d) N- 苄乙酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 氰基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0280] 将 N- 苄乙酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 (866mg)、对氨基苯腈盐酸盐 (464mg)、DIEA (742mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (338mg), EDCI (575mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 1.2g, 柱层析纯化得无色油状物 (802mg, 收率: 69.6%)。

[0281] $R_f = 0.5$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及碘

[0282] MS :483 (M+Na)

[0283] e) N- 苄乙酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{ [4-(N'- 羟基) 甲脒基苯基] 甲基 } 酰胺的制备

[0284] 将上步所得产物 (802mg) 溶于水 / 乙醇 (20ml/20ml), 氮气保护, 加入盐酸羟胺和碳酸钠, 回流反应 2 小时冷却, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得到白色泡状固体 (760mg, 88.5%)。

[0285] $R_f = 0.1$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及 1% 茚三酮液 MS : 494 (M+H)

[0286] 实施例 8 : N- 苄乙酰基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺醋酸盐

[0287] 将实施例 9 所得的化合物 (500mg) 溶解于醋酸 (7ml) 中, 加入醋酸酐 (250mg) 和 10% 钯碳 (120mg), 通氢反应 24 小时, 过滤, 减压浓缩除去溶剂, 加入乙醚 (20ml), 放置冰箱过夜, 析出固体, 过滤干燥 (386mg, 71.2%)

[0288] MS :478 (M+H)

[0289] 实施例 9 : N- 羧基甲基 -D, L- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{ [4-(N'- 羟基) 甲脒基苯基] 甲基 } 酰胺盐酸盐

[0290] a) N- (叔丁氧羰基) 甲基 -D, L- 亮氨酸苄酯的制备

[0291] 将 D, L- 亮氨酸苄酯盐酸盐 (4.9g) 溶于 DMF (30ml) 中, 加入 DIEA (15ml), 缓慢滴加溴乙酸叔丁酯 (3.7g), 40℃ 下反应 12h。减压浓缩除去大量溶剂, 加入乙酸乙酯 (30ml), 有机相用饱和碳酸氢钠溶液 (20ml*3)、5% KHSO_4 溶液 (20ml*3) 洗涤, 水洗至中性, 饱和食

盐水 (20ml*1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液得黄色油状物, 过柱纯化得 3.6g 浅黄色油状物。含量 99% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0292] $R_f = 0.5$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0293] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3+\text{D}_2\text{O})$ ppm: 0.913-0.942 (6H, d), 1.474 (9H, s), 1.532-1.584 (2H, m), 1.744-1.761 (1H, m), 3.236-3.305 (2H, m), 3.372-3.408 (1H, m), 5.182 (2H, s), 7.282-7.385 (5H, m)

[0294] b) N-(叔丁氧羰基) 甲基 -N-叔丁氧羰基 -D, L-亮氨酸苄酯的制备

[0295] 将 N-(叔丁氧羰基) 甲基 -D, L-亮氨酸苄酯 (3.4g) 溶解于二氯甲烷 (20ml) 中, 滴加 DIEA (1.3g) 和二碳酸二叔丁酯 (2.8g), 40℃ 反应 36h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 4.4g 无色油状物 (98%), 含量 98% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0296] $R_f = 0.5$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 20 : 3 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0297] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ ppm: 0.910-0.938 (6H, d), 1.480 (18H, s), 1.522-1.57 (2H, m), 1.751-1.764 (1H, m), 3.321-3.342 (2H, m), 3.381-3.410 (1H, m), 5.214 (2H, s), 7.277-7.384 (5H, m)

[0298] c) N-(叔丁氧羰基) 甲基 -N-叔丁氧羰基 -D, L-亮氨酸的制备

[0299] 将 N-(叔丁氧羰基) 甲基 -N-叔丁氧羰基 -D, L-亮氨酸苄酯 (3.5g) 溶于甲醇 (25ml), 加入 10% 钯碳 (200mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到白色泡状固体 2.8g, 100%)。直接进行下步反应。

[0300] d) N-(叔丁氧羰基) 甲基 -N-叔丁氧羰基 -D, L-亮氨酸 -L-脯氨酸苄酯的制备

[0301] 将上步所得产品 (2.8g)、L-脯氨酸苄酯盐酸盐 (2.1g)、DIEA (2.4g) 用无水二氯甲烷 (50ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (1.1g), EDCI (2.1g), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 4.6g, 柱层析纯化得无色油状物 (3.3g, 收率: 77%)。

[0302] $R_f = 0.7$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色: 紫外及碘

[0303] MS: 555 ($\text{M}+\text{Na}^+$)

[0304] e) N-(叔丁氧羰基) 甲基 -N-叔丁氧羰基 -D, L-亮氨酸 -L-脯氨酸的制备

[0305] 将 N-(叔丁氧羰基) 甲基 -N-叔丁氧羰基 -D, L-亮氨酸 -L-脯氨酸苄酯 (3.3g) 溶于甲醇 (30ml), 加入 10% 钯碳 (330mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到无色油状物 2.7g, 98%)。直接进行下步反应。

[0306] $R_f = 0.1$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及 1% 茚三酮液

[0307] f) N-(叔丁氧羰基) 甲基 -N-叔丁氧羰基 -D, L-亮氨酸 -L-脯氨酸 -[(4-氰基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0308] 将上步所得产品 (1.4g)、对氨基苯腈盐酸盐 (591mg)、DIEA (974mg) 用无水二氯甲烷 (50ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (443mg), EDCI (754mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 1.8g, 柱层析纯化得无色油状物 (1.5g, 收率: 81.7%)。

[0309] $R_f = 0.4$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及碘 MS: 579 ($\text{M}+\text{Na}^+$)

[0310] g) N-(叔丁氧羰基)甲基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺的制备

[0311] 将上步所得产物 (757mg) 溶于水 / 乙醇 (20ml/20ml), 氮气保护, 加入盐酸羟胺和碳酸钠, 回流反应 2 小时冷却, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得到白色泡状固体 (785mg, 97.7%)。

[0312] $R_f = 0.2$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及 1% 茚三酮液 MS: 612 (M+Na)

[0313] h) N-羧基甲基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺盐酸盐的制备

[0314] 将上步所得产物 (200mg) 溶于乙酸乙酯 (2ml), 加入 15% 盐酸 / 乙酸乙酯溶液 (2ml), 室温反应 2 小时, 减压浓缩得到白色泡状固体 (157mg, 99%)。

[0315] MS: 492 (M+Na)

[0316] 实施例 10: N-羧基甲基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐

[0317] 将 N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D,L-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺 (500mg) 溶解于醋酸 (7ml) 中, 加入醋酸酐 (250mg) 和 10% 钨碳 (120mg), 通氢反应 24 小时, 过滤, 减压浓缩除去溶剂, 加入乙醚 (20ml), 放置冰箱过夜, 析出固体, 过滤干燥 (409mg, 76%)

[0318] 将上步所得产物 (409mg) 溶于乙酸乙酯 (4ml), 加入 15% 盐酸 / 乙酸乙酯溶液 (4ml), 室温反应 2 小时, 减压浓缩得到白色泡状固体 (264mg, 90%)。

[0319] MS: 440 (M+Na)

[0320] 实施例 11: N-苯甲酰基-D,L-异亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺

[0321] a) N-叔丁氧羰基-D,L-异亮氨酸-L-脯氨酸苄酯的制备

[0322] 将 N-叔丁氧羰基-D,L-异亮氨酸 (8g), L-脯氨酸苄酯 (9.17g) 溶解于二氯甲烷 (100ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (10.3g), 滴加完毕后加入 HOBt (4.7g) 和 EDCI (6.6g), 自然升至室温反应 8h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 13.2g 略带浅绿色油状物 (91.42%), 含量 97% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0323] $R_f = 0.5$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 10 : 3 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0324] MS: 441 (M+Na)

[0325] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ ppm: 0.869-0.919 (3H, m), 0.943-0.961 (3H, m), 1.085-1.215 (1H, m), 1.424 (9H, s), 1.485-1.599 (1H, m), 1.659-1.758 (1H, m), 1.906-2.123 (3H, m), 2.145-2.238 (1H, m), 3.514-3.574 (0.5H, m), 3.620-3.680 (0.5H, m), 3.809-3.849 (1H, m), 4.265-4.306 (0.5H, m), 4.471-4.483 (4H, dd), 4.567-4.601 (0.5H, m), 5.103-5.280 (3H, m), 7.259-7.362 (5H, m)

[0326] b) D,L-异亮氨酸-L-脯氨酸苄酯盐酸盐的制备

[0327] 将 N-叔丁氧羰基-D,L-异亮氨酸-L-脯氨酸苄酯 (13g) 溶解于乙酸乙酯 (34ml) 中, 冷却下滴加 15% HCl / 乙酸乙酯溶液 (25ml), 滴加完毕后自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 油状物用异丙醇 / 正己烷重结晶得 4.5g 白色固体 (90%), 含量 94% (HPLC,

流动相 1, 方法 2)。

[0328] MS :319 (M+H)

[0329] c) N- 苯甲酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯的制备

[0330] 将 D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯盐酸盐 (1.2g) 溶于二氯甲烷 (10ml) 中, 冷却至 0℃, 滴加 DIEA (860mg) 和苯甲酰氯 (477mg), 自然升至室温反应 2h, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得浅黄色油状物 (1.1g, 79%)

[0331] MS :423 (M+H)

[0332] d) N- 苯甲酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸的制备

[0333] 将 N- 苯甲酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯 (1.1g) 溶于甲醇 (15ml), 加入 10% 钨碳 (120mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到无色粘稠物 (1.04g, 99%)。直接进行下步反应。

[0334] e) N- 苯甲酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 -[(4- 氰基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0335] 将 N- 苯甲酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 (1.04g)、对氨基苯腈盐酸盐 (580mg)、DIEA (929mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (423mg), EDCI (720mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 1.3g, 柱层析纯化得无色油状物 (1.15g, 收率 :82.3%)。

[0336] Rf = 0.1 展开剂 石油醚 : 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色 : 紫外及碘

[0337] MS :447 (M+H)

[0338] f) N- 苯甲酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 -{[4-(N'- 羟基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0339] 将上步所得产物 (824mg) 溶于水 / 乙醇 (20ml/20ml), 氮气保护, 加入盐酸羟胺和碳酸钠, 回流反应 2 小时冷却, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得到白色泡状固体 (861mg, 97%)。

[0340] Rf = 0.2 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色 : 紫外及 1% 茚三酮液 MS : 480 (M+H)

[0341] 实施例 12 : N- 苯甲酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺醋酸盐

[0342] 将实施例 11 所得的化合物 (667mg) 溶解于醋酸 (7ml) 中, 加入醋酸酐 (216mg) 和 10% 钨碳 (111mg), 通氢反应 24 小时, 过滤, 减压浓缩除去溶剂, 加入乙醚 (20ml), 放置冰箱过夜, 析出固体, 过滤干燥 (454mg, 62%) MS :464 (M+H)

[0343] 实施例 13 : N- 苯乙酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 -{[4-(N'- 羟基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺

[0344] a) N- 苯乙酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯的制备

[0345] 将 D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯盐酸盐 (1.1g) 溶于二氯甲烷 (10ml) 中, 冷却至 0℃, 滴加 DIEA (776mg) 和苯乙酰氯 (473mg), 自然升至室温反应 2h, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得浅黄色油状物 (1.2g, 93%)

[0346] Rf = 0.3 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色 : 紫外及碘

[0347] MS :437 (M+H)

[0348] b) N- 苄乙酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸的制备

[0349] 将 N- 苄乙酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯 (1.2g) 溶于甲醇 (15ml), 加入 10% 钯碳 (120mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到无色粘稠物 (939mg, 97%)。直接进行下步反应。

[0350] c) N- 苄乙酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 -[(4- 氰基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0351] 将 N- 苄乙酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 (693mg)、对氨基苯腈盐酸盐 (337mg)、DIEA (581mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (270mg), EDCI (460mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 1.3g, 柱层析纯化得无色油状物 (782mg, 收率: 85%)。

[0352] $R_f = 0.1$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及碘

[0353] MS : 461 (M+H)

[0354] d) N- 苄乙酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 -{[4-(N'- 羟基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0355] 将上步所得产物 (782mg) 溶于水 / 乙醇 (20ml/20ml), 氮气保护, 加入盐酸羟胺和碳酸钠, 回流反应 2 小时冷却, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得到白色泡状固体 (704mg, 84%)。

[0356] $R_f = 0.2$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及 1% 茚三酮液

[0357] MS : 494 (M+H)

[0358] 实施例 14 : N- 苄乙酰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺醋酸盐

[0359] 将实施例 13 所得的化合物 (500mg) 溶解于醋酸 (7ml) 中, 加入醋酸酐 (200mg) 和 10% 钯碳 (110mg), 通氢反应 24 小时, 过滤, 减压浓缩除去溶剂, 加入乙醚 (20ml), 放置冰箱过夜, 析出固体, 过滤干燥 (321mg, 59%) MS : 478 (M+H)

[0360] 实施例 15 : N- 羧基甲基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸 -{[4-(N'- 羟基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺盐酸盐

[0361] a) N-(叔丁氧羰基) 甲基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯的制备

[0362] 将 D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯盐酸盐 (1.8g) 溶于乙腈 (30ml) 中, 加入 DIEA (1.3g), 缓慢滴加溴乙酸叔丁酯 (1.1g), 40℃ 下反应 24h。减压浓缩除去大量溶剂, 加入乙酸乙酯 (30ml), 有机相用饱和碳酸氢钠溶液 (20ml*3)、5% KHSO_4 溶液 (20ml*3) 洗涤, 水洗至中性, 饱和食盐水 (20ml*1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液得黄色油状物, 过柱纯化得 1.7g 浅黄色油状物。含量 99% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0363] $R_f = 0.5$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0364] MS : 455 (M+Na)

[0365] b) N-(叔丁氧羰基) 甲基 -N- 叔丁氧羰基 -D, L- 异亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯的制备

[0366] 将 N-(叔丁氧羰基) 甲基 -D, L- 异亮氨酸 -L- 脯氨酸苄酯 (1.7g) 溶解于二氯甲烷 (20ml) 中, 滴加 DIEA (542mg) 和二碳酸二叔丁酯 (1g), 40℃ 反应 48h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 1.7 浅黄绿色油状物 (81.2%), 含量 96% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0367] $R_f = 0.6$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 20 : 4 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0368] MS :555 (M+Na)

[0369] c) N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D,L-亮氨酸的制备

[0370] 将 N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D,L-亮氨酸苄酯 (1.7g) 溶于甲醇 (25ml), 加入 10% 钯碳 (200mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到白色泡状固体 1.38g, 100%)。直接进行下步反应。

[0371] d) N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D,L-异亮氨酰-L-脯氨酰-[(4-氰基苯基)甲基]酰胺的制备

[0372] 将上步所得产品 (930mg)、对氨基苯腈盐酸盐 (390mg)、DIEA (630mg) 用无水二氯甲烷 (50ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (284mg), EDCI (483mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品, 柱层析纯化得无色油状物 (708mg, 收率 :60.6%)。

[0373] Rf = 0.4 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色 : 紫外及碘

[0374] MS :579 (M+Na⁺)

[0375] e) N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D,L-异亮氨酰-L-脯氨酰-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺的制备

[0376] 将上步所得产物 (680mg) 溶于水 / 乙醇 (20ml/20ml), 氮气保护, 加入盐酸羟胺和碳酸钠, 回流反应 2 小时冷却, 减压浓缩除去溶剂, 过柱纯化得到白色泡状固体 (780mg, 97.8%)。

[0377] Rf = 0.2 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色 : 紫外及 1% 茚三酮液

[0378] MS :612 (M+Na)

[0379] h) N-羧基甲基-D,L-异亮氨酰-L-脯氨酰-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺盐酸盐的制备

[0380] 将上步所得产物 (200mg) 溶于乙酸乙酯 (2ml), 加入 15% 盐酸 / 乙酸乙酯溶液 (2ml), 室温反应 2 小时, 减压浓缩得到白色泡状固体 (145mg, 91%)。

[0381] MS :456 (M+Na)

[0382] 实施例 16 : N-羧基甲基-D,L-异亮氨酰-L-脯氨酰-[(4-甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐

[0383] 将 N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D,L-异亮氨酰-L-脯氨酰-{[4-(N'-羟基)甲脒基苯基]甲基}酰胺 (580mg) 溶解于醋酸 (7ml) 中, 加入醋酸酐 (155mg) 和 10% 钯碳 (100mg), 通氢反应 24 小时, 过滤, 减压浓缩除去溶剂, 加入乙醚 (20ml), 放置冰箱过夜, 析出固体, 过滤干燥 (610mg, 87.5%)

[0384] 将上步所得产物 (500mg) 溶于乙酸乙酯 (4ml), 加入 15% 盐酸 / 乙酸乙酯溶液 (4ml), 室温反应 2 小时, 减压浓缩得到白色泡状固体 (294mg, 75%)。

[0385] MS :440 (M+Na)

[0386] 实施例 17 : N-苯磺酰基-L-亮氨酰-L-脯氨酰-[(4-甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐

[0387] a) N-苯磺酰-L-亮氨酸的制备

[0388] 将 L-亮氨酸 (6.5g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (40ml) 中, 加入二氧六环 (40ml),

冷却控温 0 ~ 5℃ ;缓慢滴加苯磺酰氯 (10g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液,维持 pH 值 9 ~ 10 ;0 度下反应 2h,自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3,减压浓缩除去二氧六环,大量固体析出 ;过滤,所得固体用乙酸乙酯 / 石油醚重结晶得 9.4g 白色固体。含量 99% (HPLC,流动相 1,方法 2)。

[0389] Rf = 0.8 展开剂正丁醇 : 水 : 醋酸 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色 : 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0390] b) N-叔丁氧羰基-L-脯氨酰-{[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺的制备

[0391] 将 N-叔丁氧羰基-L-脯氨酸 (2.2g), 4-氨基甲基-N'-苄氧羰基苯甲脒盐酸盐 (3.7g) 溶解于 DMF (50ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (4.3g), 滴加完毕后加入 HOBt (1.35g) 和 EDCI (2.3g), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 4.6g 白色泡状固体 (95.7%), 含量 98% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0392] Rf = 0.6 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色 : 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0393] MS : 503 (M+Na)

[0394] c) L-脯氨酰-{[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐的制备

[0395] 将 N-叔丁氧羰基-L-脯氨酰-{[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺 (4.6g) 溶于异丙醇 (30ml), 冷却下加入 15% HCl / 乙酸乙酯溶液 (30mg), 减压浓缩除去溶剂, 油状物用异丙醇 / 乙醚重结晶得到白色固体 (3.6g, 91%)。

[0396] MS : 381 (M+H)

[0397] d) N-苯磺酰基-L-亮氨酰-L-脯氨酰-{[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺的制备

[0398] 将 N-苯磺酰基-L-亮氨酸 (406mg)、L-脯氨酰-{[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (203mg), EDCI (345mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 905mg, 柱层析纯化得白色泡状固体 (680mg, 收率 : 71%)。

[0399] Rf = 0.4 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 4 显色 : 紫外及碘

[0400] MS : 634 (M+H)

[0401] e) N-苯磺酰基-L-亮氨酰-L-脯氨酰-[(4-甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐的制备

[0402] 将上步所得产物 (450mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (90mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl / 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (328mg, 87%)。

[0403] MS : 500 (M+H)

[0404] 实施例 18 : N-苯磺酰基-D-亮氨酰-L-脯氨酰-{[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺

[0405] a) N-苯磺酰基-D-亮氨酸的制备

[0406] 将 D-亮氨酸 (13.11g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (80ml) 中, 加入二氧六环 (80ml), 冷却控温 0 ~ 5℃ ;缓慢滴加苯磺酰氯 (19.8g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10 ;

0 度下反应 2h,自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3,减压浓缩除去二氧六环,大量固体析出;过滤,所得固体用乙酸乙酯/石油醚重结晶得 22.2g 白色固体。含量 99% (HPLC,流动相 1,方法 2)。

[0407] $R_f = 0.8$ 展开剂正丁醇:水:醋酸:乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色:紫外、碘及 1%茚三酮液

[0408] b) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0409] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 (406mg)、L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺盐酸盐 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解,氮气保护,冷却至 0℃ 后,加入 HOBt (203mg), EDCI (345mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温,反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液,饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗品 922mg,柱层析纯化得白色泡状固体 (707mg, 收率:74%)。

[0410] $R_f = 0.4$ 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 1 : 4 显色:紫外及碘

[0411] MS :634 (M+H)

[0412] 实施例 19 :N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0413] c) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0414] 将上步所得产物 (467mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (90mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (321mg, 85%)。

[0415] MS :500 (M+H)

[0416] 实施例 20 :N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺

[0417] a) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸的制备

[0418] 将 D- 亮氨酸 (2g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (15ml), 冷却控温 0 ~ 5℃; 缓慢滴加苄磺酰氯 (3.2g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 大量固体析出; 过滤, 所得固体用乙酸乙酯/石油醚重结晶得 3.2g 白色固体。含量 99% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0419] $R_f = 0.8$ 展开剂正丁醇:水:醋酸:乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色:紫外、碘及 1%茚三酮液

[0420] MS :308 (M+Na)

[0421] b) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0422] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 (426mg)、L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺盐酸盐 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水三氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (203mg), EDCI (345mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干

干燥,过滤,减压浓缩得到粗品 814mg,柱层析纯化得白色泡状固体 (650mg,收率 :67%)。

[0423] $R_f = 0.2$ 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 1 : 4 显色:紫外及碘

[0424] MS :648 (M+H)

[0425] 实施例 21 :N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0426] c)N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0427] 将上步所得产物 (450mg) 溶于甲醇 (20ml),加入 10% 钯碳 (90mg),通氢反应,40℃ 下反应 8h,过滤减压浓缩除去溶剂,用甲醇 (5ml) 溶解,加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液,蒸干得白色泡状固体 (306mg,80%)。

[0428] MS :514 (M+H)

[0429] 实施例 22 :N- 苯甲酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0430] a)N- 苯甲酰基 -D- 亮氨酸的制备

[0431] 将 D- 亮氨酸 (2g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中,加入二氧六环 (15ml),冷却控温 0 ~ 5℃;缓慢滴加苯甲酰氯 (2.3g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液,维持 pH 值 9 ~ 10 ;0 度下反应 2h,自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3,减压浓缩除去二氧六环,水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取,所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性,无水硫酸钠干燥,浓缩滤液得 2.5g 无色油状物。含量 92% (HPLC,流动相 1,方法 2)。

[0432] $R_f = 0.9$ 展开剂正丁醇:水:醋酸:乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色:紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0433] MS :258 (M+Na)

[0434] b)N- 苯甲酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺} 的制备

[0435] 将 N- 苯甲酰基 -D- 亮氨酸 (366mg)、L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺} 酰胺盐酸盐 (626mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解,氮气保护,冷却至 0℃ 后,加入 HOBt (203mg),EDCI (345mg),在 0℃ 下搅拌 20min,自然升至室温,反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液,饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗品 778mg,柱层析纯化得白色泡状固体 (600mg,收率 :67%)。

[0436] $R_f = 0.3$ 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 1 : 2 显色:紫外及碘

[0437] MS :598 (M+H)

[0438] c)N- 苯甲酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0439] 将上步所得产物 (500mg) 溶于甲醇 (20ml),加入 10% 钯碳 (100mg),通氢反应,40℃ 下反应 8h,过滤减压浓缩除去溶剂,用甲醇 (5ml) 溶解,加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液,蒸干得白色泡状固体 (315mg,78.7%)。

[0440] MS :464 (M+H)

[0441] 实施例 23 :N- 苯乙酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0442] a) N- 苄乙酰基 -D- 亮氨酸的制备

[0443] 将 D- 亮氨酸 (2g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (15ml), 冷却控温 0 ~ 5℃; 缓慢滴加苄乙酰氯 (2.4g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取, 所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液得 2.7g 无色油状物。含量 93% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0444] $R_f = 0.9$ 展开剂正丁醇 : 水 : 醋酸 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色 : 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0445] MS : 272 (M+Na)

[0446] b) N- 苄乙酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0447] 将 N- 苄乙酰基 -D- 亮氨酸 (379mg)、L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲基苯基] 甲基} 酰胺盐酸盐 (626mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (203mg), EDCI (345mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 850mg, 柱层析纯化得白色泡状固体 (514mg, 收率 : 56%)。

[0448] $R_f = 0.3$ 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 4 显色 : 紫外及碘

[0449] MS : 612 (M+H)

[0450] c) N- 苄乙酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0451] 将上步所得产物 (500mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (100mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (180mg, 44%)。

[0452] MS : 478 (M+H)

[0453] 实施例 24 : N- 羧基甲基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0454] a) N-(叔丁氧羰基) 甲基 -D- 亮氨酸苄酯的制备

[0455] 将 D- 亮氨酸苄酯盐酸盐 (3.9g) 溶于 DMF (30ml) 中, 加入 DIEA (3.9g), 缓慢滴加溴乙酸叔丁酯 (3.2g), 40℃ 下反应 36h。减压浓缩除去大量溶剂, 加入乙酸乙酯 (50ml), 有机相用饱和碳酸氢钠溶液 (50ml*3)、5% KHSO_4 溶液 (50ml*3) 洗涤, 水洗至中性, 饱和食盐水 (50ml*1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液得 5.2g 黄色油状物, 过柱纯化得 4.14g 浅黄绿色油状物。含量 96% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0456] $R_f = 0.5$ 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色 : 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0457] MS : 358 (M+Na)

[0458] b) N-(叔丁氧羰基) 甲基 -N- 叔丁氧羰基 -D- 亮氨酸苄酯的制备

[0459] 将 N-(叔丁氧羰基) 甲基 -D- 亮氨酸苄酯 (3.74g) 溶解于二氯甲烷 (40ml) 中, 滴加 DIEA (1.4g) 和二碳酸二叔丁酯 (3.2g), 40℃ 反应 36h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 3.5g 无色油状物 (81.2%), 含量 96% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0460] $R_f = 0.6$ 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 10 : 1 显色 : 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0461] MS :458 (M+Na)

[0462] c)N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸的制备

[0463] 将N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸苄酯(2.1g)溶于甲醇(25ml),加入10%钯碳(210mg),通氢,室温反应3小时。过滤,减压浓缩除去溶剂得到无色油状物1.66g,96%)。直接进行下步反应。

[0464] d)N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐的制备

[0465] 将N-(叔丁氧羰基)甲基-N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸(528mg)、L-脯氨酸-[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐(626mg)、DIEA(426mg)用无水二氯甲烷(20ml)溶解,氮气保护,冷却至0℃后,加入HOBt(203mg),EDCI(345mg),在0℃下搅拌20min,自然升至室温,反应5小时。用5%硫酸氢钾溶液,饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗品883mg,柱层析纯化得白色泡状固体(752mg,收率:71%)。

[0466] $R_f = 0.4$ 展开剂石油醚:乙酸乙酯=10:15 显色:紫外及碘

[0467] MS :730 (M+Na)

[0468] e)N-羧基甲基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[4-(甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐的制备

[0469] 将上步所得产物(500mg)溶于甲醇(20ml),加入10%钯碳(100mg),通氢反应,40℃下反应8h,过滤减压浓缩除去溶剂,用甲醇(5ml)溶解,加入15% HCl/乙酸乙酯溶液,反应2h,蒸干得白色泡状固体(246mg,71.4%)。MS:440 (M+Na)

[0470] 实施例25:N-苄磺酰-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[1-(氨基亚氨基甲基)-哌啶-4-基]甲基酰胺盐酸盐

[0471] a)N-苄磺酰-D-亮氨酸-L-脯氨酸-{1-[(N,N'-双苄氧羰基)氨基亚氨基甲基]-哌啶-4-基}甲基酰胺的制备

[0472] 将N-苄磺酰-D-亮氨酸(325mg)、L-脯氨酸-{1-[(N,N'-双苄氧羰基)氨基亚氨基甲基]-哌啶-4-基}甲基酰胺盐酸盐(670mg)、DIEA(341mg)用无水二氯甲烷(20ml)溶解,氮气保护,冷却至0℃后,加入HOBt(162mg),EDCI(276mg),在0℃下搅拌20min,自然升至室温,反应5小时。用5%硫酸氢钾溶液,饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗品622mg,柱层析纯化得白色泡状固体(528mg,收率:56.8%)。

[0473] $R_f = 0.4$ 展开剂石油醚:乙酸乙酯=1:1 显色:紫外及碘

[0474] MS :776 (M+H)

[0475] b)N-苄磺酰-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[1-(氨基亚氨基甲基)-哌啶-4-基]甲基酰胺盐酸盐的制备

[0476] 将上步所得产物(450mg)溶于甲醇(20ml),加入10%钯碳(90mg),通氢反应,40℃下反应8h,过滤减压浓缩除去溶剂,用甲醇(5ml)溶解,加入15% HCl/乙酸乙酯溶液,蒸干得白色泡状固体(210mg,66.7%)。

[0477] MS :507 (M+H)

[0478] 实施例26:N-苄磺酰-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[1-(氨基亚氨基甲基)-哌

啉-3-基]甲基酰胺盐酸盐

[0479] a) N-苯磺酰-D-亮氨酸-L-脯氨酸-{1-[(N,N'-双苄氧羰基)氨基亚氨基甲基]-哌啉-3-基}甲基酰胺的制备

[0480] 将 N-苯磺酰-D-亮氨酸 (325mg)、L-脯氨酸-{1-[(N,N'-双苄氧羰基)氨基亚氨基甲基]-哌啉-3-基}甲基酰胺盐酸盐 (670mg)、DIEA (341mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (162mg), EDCI (276mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 597mg, 柱层析纯化得白色泡状固体 (495mg, 收率: 51%)。

[0481] $R_f = 0.3$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及碘

[0482] MS : 776 (M+H)

[0483] b) N-苯磺酰-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[1-(氨基亚氨基甲基)-哌啉-3-基]甲基酰胺盐酸盐的制备

[0484] 将上步所得产物 (450mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (90mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (200mg, 64%)。

[0485] MS : 507 (M+H)

[0486] 实施例 27 : N-苯磺酰-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[1-(氨基亚氨基甲基)-吡咯-3-基]甲基酰胺盐酸盐

[0487] a) N-苯磺酰-D-亮氨酸-L-脯氨酸-{1-[(N,N'-双苄氧羰基)氨基亚氨基甲基]-吡咯-3-基}甲基酰胺的制备

[0488] 将 N-苯磺酰-D-亮氨酸 (325mg)、L-脯氨酸-{1-[(N,N'-双苄氧羰基)氨基亚氨基甲基]-哌啉-3-基}甲基酰胺盐酸盐 (816mg)、DIEA (341mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (162mg), EDCI (276mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 681mg, 柱层析纯化得白色泡状固体 (554mg, 收率: 48%)。

[0489] $R_f = 0.3$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及碘

[0490] MS : 761 (M+H)

[0491] b) N-苯磺酰-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[1-(氨基亚氨基甲基)-吡咯-3-基]甲基酰胺盐酸盐的制备

[0492] 将上步所得产物 (450mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (90mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (257mg, 64%)。

[0493] MS : 507 (M+H)

[0494] 实施例 28 : N-苯磺酰基-D-异亮氨酸-L-脯氨酸-[(4-甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐

[0495] a) N-苯磺酰-D-异亮氨酸的制备

[0496] 将 D-异亮氨酸 (262mg) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (4ml) 中, 加入二氧六环 (4ml),

冷却控温 0 ~ 5℃ ;缓慢滴加苯磺酰氯 (389mg) 和 1.5N 氢氧化钠溶液,维持 pH 值 9 ~ 10 ; 0 度下反应 2h,自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3,减压浓缩除去甲醇,水相用乙酸乙酯萃取 (5ml×3) ;合并有机相,无水硫酸钠干燥,过滤减压浓缩,所得粗品过柱纯化得 434mg 无色油状物,静置固化。含量 99% (HPLC,流动相 1,方法 2)。

[0497] Rf = 0.8 展开剂正丁醇 : 水 : 醋酸 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色 : 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0498] b) N- 苄磺酰基 -D- 异亮氨酰 -L- 脯氨酰 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺} 的制备

[0499] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酸 (406mg)、L- 脯氨酰 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺} 盐酸盐 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解,氮气保护,冷却至 0℃ 后,加入 HOBt (203mg), EDCI (345mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温,反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液,饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗品 894mg,柱层析纯化得白色泡状固体 (627mg, 收率 : 66%)。

[0500] Rf = 0.4 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 4 显色 : 紫外及碘

[0501] MS : 634 (M+H)

[0502] e) N- 苄磺酰基 -D- 异亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0503] 将上步所得产物 (450mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (90mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (304mg, 81%)。

[0504] MS : 500 (M+H)

[0505] 实施例 29 : N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酰 -[(5- 甲脒基 -2- 噻吩基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0506] a) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯的制备

[0507] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 (4.3g), L- 脯氨酸苄酯 (4.1g) 溶解于二氯甲烷 (50ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (4.7g), 滴加完毕后加入 HOBt (2g) 和 EDCI (3.8g), 自然升至室温反应 4h。2) 减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 5g 无色油状物, 静置固化 (72%), 含量 98% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0508] Rf = 0.5 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色 : 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0509] MS : 473 (M+H)

[0510] b) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酸的制备

[0511] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酸苄酯 (1.2g) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (120mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到白色泡状固体 (981mg, 97%)。直接进行下步反应。

[0512] c) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酸 -[(5- 氰基 -2- 噻吩基) 甲基] 酰胺的制备

[0513] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酰 -L- 脯氨酸 (1g)、5- 氨基噻吩 -2- 甲脒盐酸盐 (463mg)、DIEA (773mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (351mg), EDCI (600mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和

碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗品 1.4g,柱层析纯化得无色油状物 (900mg,收率 :69%)。

[0514] Rf = 0.3 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 1 : 1 显色:紫外及碘

[0515] MS :503 (M+H)

[0516] d)N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[5-(N'- 羟基) 甲脒基 2- 噻吩基] 甲基} 酰胺的制备

[0517] 将上步所得产物 (900mg) 溶于水 / 乙醇 (20ml/20ml),氮气保护,加入盐酸羟胺和碳酸钠,回流反应 2 小时冷却,减压浓缩除去溶剂,过柱纯化得到白色泡状固体 (857mg, 88.9%)。

[0518] Rf = 0.1 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 1 : 1 显色:紫外及 1% 茚三酮液

[0519] MS :536 (M+H)

[0520] e)N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(5- 甲脒基 -2- 噻吩基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0521] 将上步所得的化合物溶解于醋酸 (7ml) 中,加入醋酸酐 (260mg) 和 10% 钨碳 (130mg),通氢反应 24 小时,过滤,减压浓缩除去溶剂,加入乙醚 (20ml),放置冰箱过夜,析出固体,过滤干燥 (467mg, 50.3%)

[0522] MS :520 (M+1)

[0523] 实施例 30 :N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 高脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0524] a)N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 高脯氨酸苄酯的制备

[0525] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 (1.4g),L- 高脯氨酸苄酯 (1.3g) 溶解于二氯甲烷 (30ml) 中,氮气保护,冷却下滴加 DIEA (1.5g),滴加完毕后加入 HOBt (675mg) 和 EDCI (230mg),自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液,直接过柱纯化得 1.7g 白色固体 (74.2%),含量 98% (HPLC,流动相 1,方法 1)。

[0526] Rf = 0.3 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 2 : 1 显色:紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0527] MS :473 (M+H)

[0528] b)N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 高脯氨酸的制备

[0529] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 高脯氨酸苄酯 (1g) 溶于甲醇 (10ml),加入 10% 钨碳 (100mg),通氢,室温反应 3 小时。过滤,减压浓缩除去溶剂得到白色泡状固体 (764mg, 99%)。直接进行下步反应。

[0530] c)N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 高脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0531] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 高脯氨酸 (573mg)、4- 氨基 -N'- 苄氧羰基苯甲脒盐酸盐 (540mg) 溶解于 DMF (10ml) 中,氮气保护,冷却下滴加 DIEA (446mg),滴加完毕后加入 HOBt (203mg) 和 EDCI (345mg),自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液,直接过柱纯化得 559mg 白色泡状固体 (57.6%),含量 98% (HPLC,流动相 1,方法 1)。

[0532] Rf = 0.5 展开剂石油醚:乙酸乙酯 = 1 : 2 显色:紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0533] MS :648 (M+H)

[0534] d)N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 高脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的

制备

[0535] 将上步所得产物 (500mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (90mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (318mg, 75%)。

[0536] MS :514 (M+H)

[0537] 实施例 31 :N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -(S)- 氮杂环丁烷 -2-[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0538] a) N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -(S)- 氮杂环丁烷 -2- 羧酸苄酯的制备

[0539] 将 N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 (1.4g), (S)- 氮杂环丁烷 -2- 羧酸苄酯 (1g) 溶解于二氯甲烷 (30ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (1.5g), 滴加完毕后加入 HOBt (675mg) 和 EDCI (230mg), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 1.5g 白色固体 (69%), 含量 98% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0540] Rf = 0.2 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 2 : 1 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0541] MS :445 (M+H)

[0542] b) N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -(S)- 氮杂环丁烷 -2- 羧酸的制备

[0543] 将 N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -(S)- 氮杂环丁烷 -2- 羧酸苄酯 (667mg) 溶于甲醇 (10ml), 加入 10% 钯碳 (80mg), 通氢, 室温反应 3 小时。过滤, 减压浓缩除去溶剂得到白色泡状固体 (520mg, 99%)。直接进行下步反应。

[0544] c) N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -(S)- 氮杂环丁烷 -2-[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0545] 将 N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -(S)- 氮杂环丁烷 -2- 羧酸 (520mg)、4- 氨基甲基 -N'- 苄氧羰基苯甲脒盐酸盐 (540mg) 溶解于 DMF (10ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (446mg), 滴加完毕后加入 HOBt (203mg) 和 EDCI (345mg), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 566mg 白色泡状固体 (61%), 含量 98.5% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0546] Rf = 0.4 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0547] MS :620 (M+H)

[0548] d) N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -(S)- 氮杂环丁烷 -2-[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0549] 将上步所得产物 (500mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (90mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (328mg, 78%)。

[0550] MS :486 (M+H)

[0551] 实施例 32 :N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[1-(氨基)- 环己烷 -4- 基] 甲基酰胺盐酸盐

[0552] a) N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{1-[(N- 苄氧羰基) 氨基]- 环己烷 -4- 基} 甲基酰胺的制备

[0553] 将 N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 L- 脯氨酸 (553mg)、4- 氨基甲基 -N'- 苄氧羰基环己胺盐酸盐 (450mg) 溶解于 DMF (10ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (446mg), 滴加完毕后加入 HOBt (203mg) 和 EDCI (345mg), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化

得 542mg 白色泡状固体 (59%), 含量 98.5% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0554] Rf = 0.6 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0555] MS :613 (M+H)

[0556] d) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[1-(氨基)- 环己烷 -4- 基] 甲基酰胺盐酸盐的制备

[0557] 将上步所得产物 (400mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (90mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (273mg, 81%)。

[0558] MS :516 (M+H)

[0559] 实施例 33 : N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -(4- 甲脒基苯基) 酰胺盐酸盐

[0560] a) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 酰胺] 的制备

[0561] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 L- 脯氨酸 (553mg)、4- 氨基 -N- 苄氧羰基苯甲脒盐酸盐 (460mg) 溶解于 DMF (10ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (446mg), 滴加完毕后加入 HOBt (203mg) 和 EDCI (345mg), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 315mg 白色泡状固体 (34%), 含量 98.5% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0562] Rf = 0.4 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0563] MS :620 (M+H)

[0564] b) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -(4- 甲脒基苯基) 酰胺盐酸盐的制备

[0565] 将上步所得产物 (300mg) 溶于甲醇 (15ml), 加入 10% 钯碳 (50mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (201mg, 80%)。

[0566] MS :486 (M+H)

[0567] 实施例 34 : N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 乙基] 酰胺盐酸盐

[0568] a) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 乙基] 酰胺} 的制备

[0569] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 L- 脯氨酸 (553mg)、4- 氨基乙基 -N- 苄氧羰基苯甲脒盐酸盐 (501mg) 溶解于 DMF (10ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (446mg), 滴加完毕后加入 HOBt (203mg) 和 EDCI (345mg), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 704mg 白色泡状固体 (72.5%), 含量 98.5% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0570] Rf = 0.45 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0571] MS :648 (M+H)

[0572] b) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 乙基] 酰胺盐酸盐的制备

[0573] 将上步所得产物 (500mg) 溶于甲醇 (15ml), 加入 10% 钯碳 (50mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (361mg, 85%)。

[0574] MS :514 (M+H)

[0575] 实施例 35 :N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(3- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0576] a) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[(3-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺} 的制备

[0577] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 L- 脯氨酸 (553mg)、3- 氨基 -N- 苄氧羰基苯甲脒盐酸盐 (450mg) 溶解于 DMF (10ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (446mg), 滴加完毕后加入 HOBt (203mg) 和 EDCI (345mg), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 681mg 白色泡状固体 (71.8%), 含量 98.5% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0578] $R_f = 0.4$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0579] MS : 634 (M+H)

[0580] b) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(3- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0581] 将上步所得产物 (500mg) 溶于甲醇 (15ml), 加入 10% 钯碳 (50mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (364mg, 86%)。

[0582] MS : 500 (M+H)

[0583] 实施例 36 :N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[4-(N' - 甲氧基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺盐酸盐

[0584] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 L- 脯氨酸 (553mg)、4- 氨基 -(N' - 甲氧基) 苯甲脒盐酸盐 (323mg) 溶解于 DMF (10ml) 中, 氮气保护, 冷却下滴加 DIEA (446mg), 滴加完毕后加入 HOBt (203mg) 和 EDCI (345mg), 自然升至室温反应 4h。减压浓缩除去反应液, 直接过柱纯化得 420mg 白色泡状固体 (52.9%), 含量 98.5% (HPLC, 流动相 1, 方法 1)。

[0585] $R_f = 0.2$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色: 紫外、碘及 1% 茚三酮液

[0586] MS : 530 (M+H)

[0587] 实施例 37 :N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 氨基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0588] a) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 氨基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0589] 将 N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 (737mg)、对氨基苯腈盐酸盐 (337mg)、DIEA (569mg) 用 DMF (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (270mg), EDCI (460mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 1.1g, 柱层析纯化得无色油状物 (650mg, 收率: 67.3%)。

[0590] $R_f = 0.65$ 展开剂石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1 显色: 紫外及碘

[0591] MS : 505 (M+Na⁺)

[0592] b) N- 苄磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 氨基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0593] 将上步所得产物 (500mg) 溶于甲醇 (15ml), 加入 10% 钯碳 (50mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (455mg, 84%)。

[0594] MS :487 (M+H)

[0595] 实施例 38 :N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(5- 氨基 -2- 噻吩基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0596] 将 N- 苯磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(5- 氨基 -2- 噻吩基) 甲基] 酰胺 (500mg) 溶于甲醇 (15ml), 加入 10% 钯碳 (50mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (383mg, 71%)。

[0597] MS :493 (M+H)

[0598] 实施例 39 :N- 二甲胺基磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0599] a) N- 二甲胺基磺酰基 -D- 亮氨酸的制备

[0600] 将 D- 亮氨酸 (1.3g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (30ml), 冷却控温 0 ~ 5℃; 缓慢滴加二甲胺基磺酰氯 (1.4g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取, 所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液, 过柱纯化得 1.33g 无色油状物。含量 97% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0601] $R_f = 0.8$ 展开剂正丁醇 : 水 : 醋酸 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色 : 碘及 1% 茚三酮液

[0602] b) N- 二甲胺基磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[(4- (N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺} 的制备

[0603] 将 N- 二甲胺基磺酰基 -D- 亮氨酸 (357mg)、L- 脯氨酸 -{[(4- (N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺} 的制备 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (203mg), EDCI (345mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 mg, 柱层析纯化得白色泡状固体 (316mg, 收率 : 35%)。

[0604] $R_f = 0.2$ 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 4 显色 : 紫外及碘

[0605] MS :601 (M+H)

[0606] c) N- 二甲胺基磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0607] 将上步所得产物 (300mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (40mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (154mg, 62%)。

[0608] MS :467 (M+H)

[0609] 实施例 40 :N- 甲烷磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0610] a) N- 甲烷磺酰基 -D- 亮氨酸的制备

[0611] 将 D- 亮氨酸 (1.3g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (30ml), 冷却控温 0 ~ 5℃; 缓慢滴加甲烷磺酰氯 (1.1g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取, 所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性, 无水硫酸钠干燥,

浓缩滤液,过柱纯化得 1.05g 无色油状物。含量 97% (HPLC,流动相 1,方法 2)。

[0612] Rf = 0.5 展开剂正丁醇:水:醋酸:乙酸乙酯=1:1:1:1 显色:碘及 1% 茚三酮液

[0613] b)N- 甲烷磺酰基-D- 亮氨酸-L- 脯氨酸-[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0614] 将 N- 甲烷磺酰基-D- 亮氨酸 (315mg)、L- 脯氨酸-[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺盐酸盐 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解,氮气保护,冷却至 0℃ 后,加入 HOBt (203mg),EDCI (345mg),在 0℃ 下搅拌 20min,自然升至室温,反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液,饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗品 mg,柱层析纯化得白色泡状固体 (300mg,收率:47%)。

[0615] Rf = 0.3 展开剂石油醚:乙酸乙酯=1:3 显色:紫外及碘

[0616] MS:572 (M+H)

[0617] c)N- 甲烷磺酰基-D- 亮氨酸-L- 脯氨酸-[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0618] 将上步所得产物 (300mg) 溶于甲醇 (20ml),加入 10% 钯碳 (50mg),通氢反应,40℃ 下反应 8h,过滤减压浓缩除去溶剂,用甲醇 (5ml) 溶解,加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液,蒸干得白色泡状固体 (127mg,51%)。

[0619] MS:438 (M+H)

[0620] 实施例 41:N- 乙烷磺酰基-D- 亮氨酸-L- 脯氨酸-[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0621] a)N- 乙烷磺酰基-D- 亮氨酸的制备

[0622] 将 D- 亮氨酸 (1.4g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中,加入二氧六环 (10ml),冷却控温 0~5℃;缓慢滴加乙烷磺酰氯 (1.3g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液,维持 pH 值 9~10;0 度下反应 2h,自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3,减压浓缩除去二氧六环,水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取,所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性,无水硫酸钠干燥,浓缩滤液,过柱纯化得 1.17g 无色油状物。含量 98% (HPLC,流动相 1,方法 2)。

[0623] Rf = 0.7 展开剂正丁醇:水:醋酸:乙酸乙酯=1:1:1:1 显色:碘及 1% 茚三酮液

[0624] b)N- 乙烷磺酰基-D- 亮氨酸-L- 脯氨酸-[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺的制备

[0625] 将 N- 乙烷磺酰基-D- 亮氨酸 (336mg)、L- 脯氨酸-[(4-(N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基] 甲基} 酰胺盐酸盐 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解,氮气保护,冷却至 0℃ 后,加入 HOBt (203mg),EDCI (345mg),在 0℃ 下搅拌 20min,自然升至室温,反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液,饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗品 mg,柱层析纯化得白色泡状固体 (473mg,收率:54%)。

[0626] Rf = 0.3 展开剂石油醚:乙酸乙酯=1:2 显色:紫外及碘

[0627] MS:586 (M+H)

[0628] c)N- 乙烷磺酰基-D- 亮氨酸-L- 脯氨酸-[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0629] 将上步所得产物 (320mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钨碳 (50mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (179mg, 67%)。

[0630] MS :452 (M+H)

[0631] 实施例 42 :N- 环丙烷磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0632] a) N- 环丙烷磺酰基 -D- 亮氨酸的制备

[0633] 将 D- 亮氨酸 (1.3g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (10ml), 冷却控温 0 ~ 5℃; 缓慢滴加环丙烷磺酰氯 (1.4g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取, 所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液, 过柱纯化得 658mg 无色油状物。含量 98% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0634] $R_f = 0.7$ 展开剂正丁醇 : 水 : 醋酸 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色 : 碘及 1% 茚三酮液

[0635] b) N- 环丙烷磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -{[(4- (N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺} 的制备

[0636] 将 N- 环丙烷磺酰基 -D- 亮氨酸 (355mg)、L- 脯氨酸 -{[(4- (N- 苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺} 盐酸盐 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (203mg), EDCI (345mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 mg, 柱层析纯化得白色泡状固体 (340mg, 收率 : 38%)。

[0637] $R_f = 0.2$ 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色 : 紫外及碘

[0638] MS :598 (M+H)

[0639] c) N- 环丙烷磺酰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0640] 将上步所得产物 (300mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钨碳 (40mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (110mg, 44%)。

[0641] MS :464 (M+H)

[0642] 实施例 43 :N- 叔丁氧羰基 -D- 亮氨酸 -L- 脯氨酸 -[(4- 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0643] a) N- 叔丁氧羰基 -D- 亮氨酸的制备

[0644] 将 D- 亮氨酸 (1.3g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (10ml); 缓慢滴加二碳酸二叔丁酯 (2.6g), 室温反应 8h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取, 所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液, 过柱纯化得 1.64g 无色油状物, 静置固化。含量 98% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0645] $R_f = 0.8$ 展开剂正丁醇 : 水 : 醋酸 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色 : 碘及 1% 茚三酮液

[0646] b) N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[[(4-(N-苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0647] 将 N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸 (349mg)、L-脯氨酸-[[(4-(N-苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (203mg), EDCI (345mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 mg, 柱层析纯化得白色泡状固体 (614mg, 收率 : 69%)。

[0648] $R_f = 0.5$ 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色 : 紫外及碘

[0649] MS : 616 (M+Na)

[0650] c) N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[(4-甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0651] 将上步所得产物 (500mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (80mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (302mg, 73%)。

[0652] MS : 482 (M+Na)

[0653] 实施例 44 : N-甲氧羰基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[(4-甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐

[0654] a) N-甲氧羰基-D-亮氨酸的制备

[0655] 将 D-亮氨酸 (1.5g) 溶于 1.5N 氢氧化钠溶液 (10ml) 中, 加入二氧六环 (10ml), 冷却控温 0 ~ 5℃ ; 缓慢滴加氯甲酸甲酯 (1g) 和 1.5N 氢氧化钠溶液, 维持 pH 值 9 ~ 10 ; 0 度下反应 2h, 自然升至室温反应 2h。冷却下滴加稀盐酸调节 pH 至 3, 减压浓缩除去二氧六环, 水相用乙酸乙酯 (20ml*3) 萃取, 所得有机相酸洗、碱洗、水洗至中性, 无水硫酸钠干燥, 浓缩滤液, 过柱纯化得 1.35g 无色油状物。含量 98% (HPLC, 流动相 1, 方法 2)。

[0656] $R_f = 0.7$ 展开剂正丁醇 : 水 : 醋酸 : 乙酸乙酯 = 1 : 1 : 1 : 1 显色 : 碘及 1% 茚三酮液

[0657] b) N-甲氧羰基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[[(4-(N-苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺的制备

[0658] 将 N-甲氧羰基-D-亮氨酸 (288mg)、L-脯氨酸-[[(4-(N-苄氧羰基) 甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐 (625mg)、DIEA (426mg) 用无水二氯甲烷 (20ml) 溶解, 氮气保护, 冷却至 0℃ 后, 加入 HOBt (203mg), EDCI (345mg), 在 0℃ 下搅拌 20min, 自然升至室温, 反应 5 小时。用 5% 硫酸氢钾溶液, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到粗品 mg, 柱层析纯化得白色泡状固体 (438mg, 收率 : 53%)。

[0659] $R_f = 0.4$ 展开剂石油醚 : 乙酸乙酯 = 1 : 2 显色 : 紫外及碘

[0660] MS : 574 (M+Na)

[0661] c) N-甲氧羰基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[(4-甲脒基苯基) 甲基] 酰胺盐酸盐的制备

[0662] 将上步所得产物 (300mg) 溶于甲醇 (20ml), 加入 10% 钯碳 (90mg), 通氢反应, 40℃ 下反应 8h, 过滤减压浓缩除去溶剂, 用甲醇 (5ml) 溶解, 加入 15% HCl/ 乙酸乙酯溶液, 蒸干得白色泡状固体 (143mg, 58%)。

[0663] MS :418 (M+H)

[0664] 实施例 45 :N-羧基乙基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[(4-甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐

[0665] a)N-[2-(乙氧羰基)乙基]-D-亮氨酸苄酯的制备

[0666] 将D-亮氨酸苄酯盐酸盐(5g)溶于DMF(30ml)中,加入DIEA(2.6g),缓慢滴加3-溴丙酸乙酯(4.1g),60℃下反应36h。减压浓缩除去大量溶剂,加入乙酸乙酯(20ml),有机相用饱和碳酸氢钠溶液(50ml*3)、5% KHSO₄溶液(50ml*3)洗涤,水洗至中性,饱和食盐水(50ml*1)洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩滤液得1.57g黄色油状物,过柱纯化得2.1g浅黄绿色油状物。含量96%(HPLC,流动相1,方法1)。

[0667] R_f = 0.5 展开剂石油醚:乙酸乙酯=2:1 显色:紫外、碘及1%茚三酮液

[0668] MS :344 (M+Na)

[0669] b)N-[2-(乙氧羰基)乙基]-N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸苄酯的制备

[0670] 将N-[2-(乙氧羰基)乙基]-D-亮氨酸苄酯(2.1g)溶解于二氯甲烷(20ml)中,滴加DIEA(1.1g)和二碳酸二叔丁酯(1.8g),40℃反应36h。减压浓缩除去反应液,直接过柱纯化得837mg无色油状物(30.4%),含量96%(HPLC,流动相1,方法1)。

[0671] R_f = 0.5 展开剂石油醚:乙酸乙酯=10:1 显色:紫外、碘及1%茚三酮液

[0672] MS :444 (M+Na)

[0673] c)N-[2-(乙氧羰基)乙基]-N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸的制备

[0674] 将N-[2-(乙氧羰基)乙基]-N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸苄酯(837mg)溶于甲醇(25ml),加入10%钯碳(90mg),通氢,室温反应3小时。过滤,减压浓缩除去溶剂得到无色油状物612mg,93%)。直接进行下步反应。

[0675] d)N-[2-(乙氧羰基)乙基]-N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐的制备

[0676] 将N-[2-(乙氧羰基)乙基]-N-叔丁氧羰基-D-亮氨酸(499mg)、L-脯氨酸-[(4-(N-苄氧羰基)甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐(626mg)、DIEA(426mg)用无水二氯甲烷(20ml)溶解,氮气保护,冷却至0℃后,加入HOBt(203mg),EDCI(345mg),在0℃下搅拌20min,自然升至室温,反应5小时。用5%硫酸氢钾溶液,饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水溶液依次洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗品1.06g,柱层析纯化得白色泡状固体(591mg,收率:57%)。

[0677] R_f = 0.4 展开剂石油醚:乙酸乙酯=10:15 显色:紫外及碘

[0678] MS :716 (M+Na)

[0679] e)N-羧基乙基-D-亮氨酸-L-脯氨酸-[(4-甲脒基苯基)甲基]酰胺盐酸盐的制备

[0680] 将上步所得产物(500mg)溶于甲醇(20ml),加入10%钯碳(100mg),通氢反应,40℃下反应8h,过滤减压浓缩除去溶剂,用甲醇(5ml)溶解,15% HCl/乙酸乙酯溶液反应1h,蒸干溶剂,用甲醇(5ml)溶解,加入0.5N LiOH水溶液,反应2h,将反应混合物用稀盐酸调节pH至4, TLC纯化得白色泡状固体(83mg,24.7%)。

[0681] MS :490 (M+Na)

[0682] 实施例 46 :抗凝血酶活性测试

[0683] 在实验中,将待测的样品加入到内含有 0.15U/ml 的从牛血中提纯得到的冻干牛凝血酶标准品的酶反应体系中进行孵育 15 分钟后加入特异性的底物 S2238 (0.075 μ M),使用紫外检测器,在室温下,动态检测 4 分钟内 405nm 下吸收值的变化。

[0684] 依据公式 1 计算样品对酶活性的抑制率 (% Inhibition),

[0685] $\% \text{ Inhibition} = [1 - \Delta A_s / \Delta A_c] \times 100\%$ 公式 1

[0686] 其中 ΔA_s 表示抑制吸光值变化率, ΔA_c 表示未抑制吸光值变化率。 IC_{50} 值 (酶活性被抑制 50% 时药物的浓度) 是抑制率 (% Inhibition) 对样品浓度的对数值 X 通过公式 2 进行非线性拟和计算得到的。

[0687] $\% \text{ Inhibition} = \frac{100}{1 + 10^{(LogIC_{50} - X)^h}}$ 公式 2

[0688] 其中 h 代表 Hill 系数

[0689] 在下表中,列出了本发明部分化合物的 IC_{50} 值 (nM)

[0690]

化合物	IC_{50}
实施例 2	115
实施例 4	47
实施例 6	154
实施例 12	561
实施例 18	30
实施例 19	12
实施例 20	246
实施例 21	170
实施例 22	55
实施例 23	472
实施例 24	561
实施例 27	8
美拉加群	69

[0691] 以下配方实例只是举例说明,无意以任何方式限制本发明的范围。活性组分是指通式 (I) 的化合物或其药物上可接受的盐或溶剂化物。

[0692] 以下配方实例只是举例说明,无意以任何方式限制本发明的范围。活性组分是指通式 (I) 的化合物或其药物上可接受的盐或溶剂化物。

[0693] 实施例 47 :注射剂的制备

[0694] 处方 :

[0695]	%W/V	
	活性组分	1
	生理盐水	100

[0696] 可加入适当的稀酸或碱或缓冲盐,将 pH 调节至最稳定状态,还可包括抗氧化剂或金属螯合剂。将溶液通过过滤灭菌,在无菌条件下,填充于无菌安瓶中。

[0697] 实施例 48 :片剂的制备

[0698] 处方 :

[0699]	mg/片	
	活性组分	60
	微晶纤维素	35
	羧甲基淀粉	4.5
	钠	
	玉米淀粉	45
	硬脂酸镁	0.5
	滑石粉	1

[0700] 将活性组分与赋形剂充分混合,过筛,在压片机上压片。

[0701] 实施例 49 :硬胶囊剂的制备

[0702] 处方 :

[0703]	%W/W	
	活性组分	55
	干燥淀粉	43
[0704]	硬脂酸镁	2

[0705] 将活性组分过筛,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。

[0706] 实施例 50 :混悬剂的制备

[0707] 处方 :

	mg/5ml
活性组分	50
羧甲基纤维素	75
钠	
[0708] 糖浆	1.2ml
色素	0.05ml
苯甲酸	0.05mg
纯化水添加至	5ml
总量	

[0709] 使活性组分过筛,与羧甲基纤维素钠和糖浆混合,形成一种均匀膏状物,色素、苯甲酸用一部分纯化水稀释,在搅拌下添加到膏状物中,然后添加足够的水以产生所需要的体积。

[0710] 尽管本发明已经用具体实例加以说明,但仍应该理解它可以被进一步改进本申请将包括任何变化,用途,或遵循本发明一般远离并且包括背离本公开但属于本发明领域已知或常规应用,并且同样使用于前面所说的基本特征,而且包括在所附权利要求书范围内。