



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101284820 B

(45) 授权公告日 2011.05.04

(21) 申请号 200810106825.6

(22) 申请日 2008.04.25

(73) 专利权人 南昌大学

地址 330031 江西省南昌市红谷滩新区学府大道 999 号

(72) 发明人 涂国刚 李少华 黄惠明 熊芳
李刚 薛哲 吴火华 匡滨海
麦曦

(74) 专利代理机构 南昌洪达专利事务所 36111
代理人 刘凌峰

(51) Int. Cl.

C07D 285/135(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 37/00(2006.01)

A61P 31/12(2006.01)

(56) 对比文件

CN 101039690 A, 2007.09.19, 说明书第 1 页
第 1 段 - 第 31 页最后 1 段.

STN Columbus. RN 941566-48-9

941536-61-4. 《Database REGISTRY》. 2007,

STN Columbus. RN 1009779-54-7. 《Database
REGISTRY》. 2008,

STN Columbus. RN 1009607-16-2. 《Database

REGISTRY》. 2008,

STN Columbus. RN 1009588-28-6

1009487-41-5 1009419-06-0 1009417-96-2.

《Database REGISTRY》. 2008,

STN Columbus. RN 1008079-16-0

1008074-49-4 1008052-37-6 1008019-42-8

1008006-25-4 1007949-89-4 1007933-59-6.

《Database REGISTRY》. 2008,

STN Columbus. RN 1009005-72-4

1008949-54-9 1008943-60-9 1008931-15-4

1008867-13-7. 《Database REGISTRY》. 2008,

STN Columbus. RN 1008674-41-6. 《Database

REGISTRY》. 2008,

STN Columbus. RN 1008458-91-0

1008422-29-4 1008386-40-0. 《Database

REGISTRY》. 2008,

STN Columbus. RN 1008249-74-8

1008229-90-0 1008189-72-7 1008184-86-8.

《Database REGISTRY》. 2008,

STN Columbus. RN 1009282-73-8

1009282-07-8 1009279-89-3. 《Database

REGISTRY》. 2008,

审查员 张炳楠

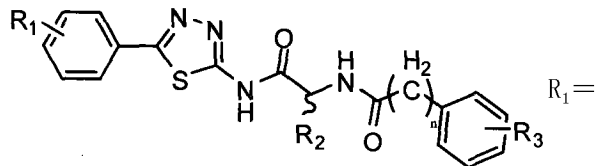
权利要求书 1 页 说明书 4 页

(54) 发明名称

一种氨肽酶抑制剂及合成方法

(57) 摘要

一种氨肽酶抑制剂, 化学通式为:



-H, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CH₃, -OCH₃ R₂ = H, 1 至 5
个碳原子的直链或支链烷烃或烯烃 R₃ = -H, -OH,
OCH₃n = 0, 1 至 3 个碳原子的烷烃或烯烃。本发
明还涉及到该氨肽酶抑制剂的合成方法, 所设计
的化合物均为小分子拟肽类化合物, 合成工艺路
线短, 原材料易得, 生产成本低。

1. 一种氨肽酶抑制剂的合成方法,其特征是合成方法步骤为:

(1) 5-对甲苯基-2-氨基-1,3,4-噻二唑的合成:将对甲基苯甲酸、氨基硫脲、三氯氧磷置于带有回流装置的圆底烧瓶中,油浴控温 75°C,搅拌回流 0.5hr,冷却至室温,在圆底烧瓶中缓慢加入 55ml 水,油浴控温 110°C,回流 4hr,反应毕,冷却,用 50% NaOH 调 pH 至 8,趁热抽滤,沉淀用 EtOH 重结晶,干燥后得白色目的物;

(2) N-苯甲酰基-D-丙氨酸的合成:将苯甲酸、N-羟基丁二酰亚胺溶于二氧六环中,室温缓慢加入 DCC 的二氧六环溶液,室温反应 4hr,滤除白色沉淀,滤液加入 D-丙氨酸和 NaHCO₃ 的水溶液中,于 50°C 反应 24hr,反应毕,冷却至室温,滤除白色沉淀,滤液真空浓缩,余物用适量水溶解,并滤除不溶物,用浓盐酸调 pH 至 2,置冰箱中过夜,析出白色沉淀,过滤并用水重结晶,干燥后得白色目的物;

(3) (R)-5-对甲基苯基-N-(2-苯甲酰基氨基-1-氧代丙基)-1,3,4-噻二唑-2-胺的合成:将 N-苯甲酰基-D-丙氨酸、N-羟基丁二酰亚胺溶于二氧六环中,室温反应 4hr,滤除白色沉淀,滤液中加入 5-对甲苯基-2-氨基-1,3,4-噻二唑,室温反应 48hr,反应完毕,置冰箱中过夜,滤除不溶物,滤液真空浓缩,余物用适量 EtOAc 溶解,依次用饱和 Na₂CO₃ 溶液、水、0.1mol 盐酸、水各洗三次,收集有机相,并减压蒸除有机相,余物用 MeOH 溶解,缓慢加入水使析出白色沉淀,过滤,MeOH-乙腈重结晶,干燥后得白色目的物。

一种氨肽酶抑制剂及合成方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种氨肽酶抑制剂及合成方法。

背景技术

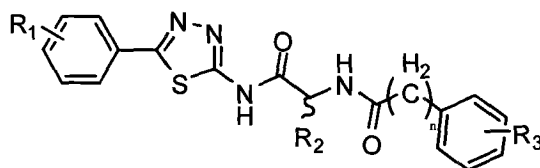
[0002] 氨肽酶是一系列从蛋白质多肽链氨基端催化降解氨基酸残基的水解蛋白酶,种类繁多,作用广泛。其中的氨肽酶 N, (又称 CD13), 因其与肿瘤生长、免疫调节和病毒感染等多方面的生理病理过程有关而倍受人们的关注。氨肽酶 N 能够从蛋白质多肽链的 N 末端降解氨基酸, 从而激活体内一系列的重要生化过程。它在肿瘤细胞表面高水平表达, 被称作肿瘤细胞标记物或相关抗原 CD13。通过对肿瘤细胞外基底膜的降解作用, 而引起肿瘤的转移。因此, 氨肽酶 N/CD13 抑制剂对于肿瘤的诊断与治疗有重要意义。另外, 氨肽酶 N/CD13 还能降解胸腺肽、IL 等免疫活性介质引起机体免疫功能下降。所以, 抑制氨肽酶的活性能有效的阻止肿瘤的侵袭和转移, 氨肽酶 N 抑制剂的研究是寻找和开发抗肿瘤药物的新领域。

发明内容

[0003] 本发明的目的是提供一种氨肽酶抑制剂及合成方法。

[0004] 本发明是这样来实现的, 其化学通式为:

[0005]



[0006] $R_1 = -H, -F, -Cl, -Br, -I, -NO_2, -CH_3, -OCH_3$

[0007] $R_2 = H, 1 \text{ 至 } 5 \text{ 个碳原子的直链或支链烷烃或烯烃}$

[0008] $R_3 = -H, -OH, OCH_3$

[0009] $n = 0, 1 \text{ 至 } 3 \text{ 个碳原子的烷烃或烯烃}$ 。

[0010] 本发明的合成方法步骤是:

[0011] (1) 5-对甲苯基-2-氨基-1,3,4-噻二唑的合成: 将对甲基苯甲酸、氨基硫脲、三氯氧磷置于带有回流装置的圆底烧瓶中, 油浴控温 75°C , 搅拌回流 0.5hr, 冷却至室温, 在圆底烧瓶中缓慢加入水, 油浴控温 110°C , 回流 4hr, 反应毕, 冷却, 用 50% NaOH 调 PH 至 8, 趁热抽滤, 沉淀用 EtOH 重结晶, 干燥后得白色目的物;

[0012] (2) 苯甲酰-D-丙氨酸的合成: 将苯甲酸、N-羟基丁二酰亚胺溶于二氧六环中, 室温缓慢加入 DCC 的二氧六环溶液, 室温反应 4hr, 滤除白色沉淀, 滤液加入 D-丙氨酸和 NaHCO_3 的水溶液中, 于 50°C 反应 24hr, 反应毕, 冷却至室温, 滤除白色沉淀, 滤液真空融缩, 余物用适量水溶解, 并滤除不溶物, 用浓 HCl 调 PH 至 2, 置冰箱中过夜, 析出白色沉淀, 过滤并用水重结晶, 干燥后得白色目的物;

[0013] (3) (R)-5-对甲基苯基-N-((2-苯甲酰胺)-1-氧-丙基)-1,3,4-噻二唑-2-胺的合成: 将苯甲酰-D-丙氨酸、N-羟基丁二酰亚胺溶于二氧六环中, 室温反应 4hr, 滤除白

色沉淀,滤液中加入 5-对甲苯基-2-氨基-1,3,4-噻二唑,室温反应 48hr,反应毕,置冰箱中过夜,滤除不溶物,滤液真空融缩,余物用适量 EtOAc 溶解,依次用饱和 Na_2CO_3 、水、0.1mol HCl、水各洗三次,收集有机相,并减压蒸除有机相,余物用 MeOH 溶解,缓慢加入水使析出白色沉淀,过滤,MeOH-乙腈重结晶,干燥后得白色目的物。

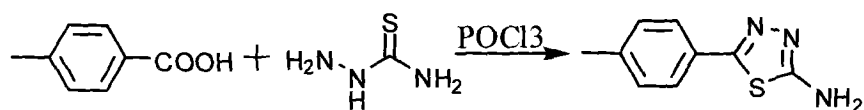
[0014] 本发明的优点是:所设计的化合物均为小分子拟肽类化合物,合成工艺路线短,原材料易得,生产成本低。

具体实施方式

[0015] 实施例:

[0016] 5-对甲苯基-2-氨基-1,3,4-噻二唑的合成:

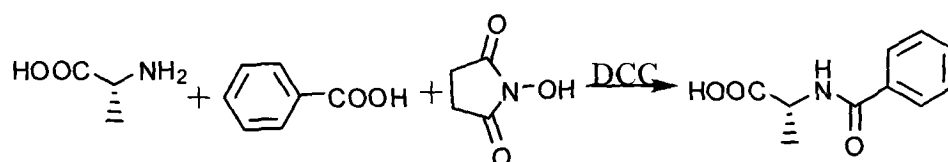
[0017]



[0018] 将 6.8g (0.05mol) 对甲基苯甲酸、4.55g (0.05mol) 氨基硫脲、13ml 三氯氧磷置于带有回流装置的圆底烧瓶中,油浴控温 75°C ,搅拌回流 0.5hr,冷却至室温,在圆底烧瓶中缓慢加入 55ml 水,油浴控温 110°C ,回流 4hr,反应毕,冷却,用 50% NaOH 调 PH 至 8,趁热抽滤,沉淀用 EtOH 重结晶,干燥后得白色目的物 8.6g,产率 90%,熔点 $210-212^\circ\text{C}$ 。

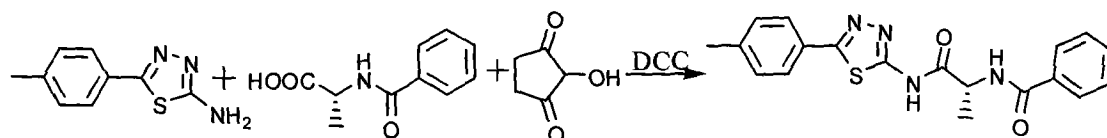
[0019] 苯甲酰-D-丙氨酸的合成:

[0020]



[0021] 将 4.88g (0.04mol) 苯甲酸、5.18g (0.045mol) N-羟基丁二酰亚胺溶于二氧六环中,室温缓慢加入 DCC 的二氧六环溶液,室温反应 4hr,滤除白色沉淀,滤液加入 4.01g (0.045mol) D-丙氨酸和 3.78g (0.045mol) NaHCO_3 的水溶液中,于 50°C 反应 24hr,反应毕,冷却至室温,滤除白色沉淀,滤液真空融缩,余物用适量水溶解,并滤除不溶物,用浓 HCl 调 PH 至 2,置冰箱中过夜,析出白色沉淀,过滤并用水重结晶,干燥后得白色目的物 3.67g,产率 47.5%,熔点 $142-144^\circ\text{C}$, $[\alpha] = -5.78^\circ$ (0.025g/ml 甲醇溶液,室温) (R)-5-对甲基苯基-N-((2-苯甲酰胺)-1-氧-丙基)-1,3,4-噻二唑-2-胺的合成:

[0022]



[0023] 将 1.16g (0.006mol) 苯甲酰-D-丙氨酸、0.69g (0.006mol) N-羟基丁二酰亚胺溶于二氧六环中,室温反应 4hr,滤除白色沉淀,滤液中加入 1.0g (0.0052mol) 5-对甲苯基-2-氨基-1,3,4-噻二唑,室温反应 48hr,反应毕,置冰箱中过夜,滤除不溶物,滤液真空融缩,余物用适量 EtOAc 溶解,依次用饱和 Na_2CO_3 、水、0.1mol HCl、水各洗三次,收集有机相,并减压蒸除有机相,余物用 MeOH 溶解,缓慢加入水使析出白色沉淀,过滤,MeOH-乙腈重

结晶,干燥后得白色目的物 0.554g,产率 29.2%,熔点 181-182°C。¹H-NMR(d_6 -DMSO) δ ppm: 12.83(s, 1H), 8.84-8.82(d, 1H), 7.95-7.93(d, 2H), 7.92-7.84(d, 2H), 7.59-7.52(m, 1H), 7.50-7.48(d, 2H), 7.35-7.33(d, 2H), 4.74-4.71(t, 1H), 2.41-2.37(d, 3H), 1.51-1.49(d, 3H). MS(ESI), m/z 365 (MH^+)

[0024] 体外抑酶活性

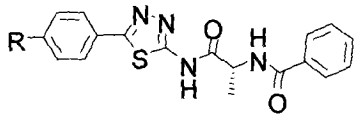
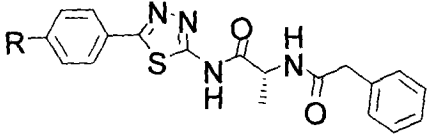
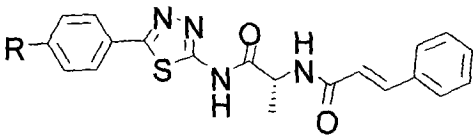
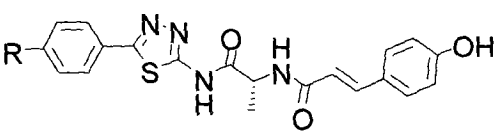
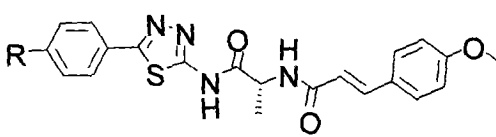
[0025] 原理: 氨肽酶 N 与其底物 (L-亮氨酸-p-硝基苯胺) 相互作用, 产生在 405nm 有吸收的对硝基苯胺, 并且对硝基苯胺的浓度与酶活性的大小呈正相关。通过检测 405nm 处的吸收度确定对硝基苯胺的含量, 从而确定氨肽酶的活性, 间接反映出抑制剂对酶活性抑制程度的大小。

[0026] 溶液的配制: 缓冲液, 7.5mmol 的三乙醇胺溶解在 900mL 蒸馏水中, 加 1NHCl 调 pH 至 8.4, 加蒸馏水定容, 室温放置备用。氨肽酶 N 溶解在缓冲液中配成 0.2mg/mL 的溶液; 底物溶解在 DMSO 中配成 0.5mg/mL 溶液, 各溶液冰箱放置备用。

[0027] 方法: 96 孔板中分别加入上述氨肽酶 N 溶液 5 μ l, 底物 5 μ l, 不同浓度 (1280 μ g/mL、3200 μ g/mL、80 μ g/mL、20 μ g/mL、5 μ g/mL、1.25 μ g/mL) 的化合物 40 μ l, 7.5mmol/L 的三乙醇胺缓冲液 (pH8.4) 补足 200 μ l, 100% 组不含抑制剂, 空白组不含酶, 均用缓冲液补足 200 μ l。37°C 孵育 0.5hr, 于 405nm 波长处测定吸收值。按照如下公式计算抑制率:

[0028] 抑制率 = (100% 吸收度 - 化合物吸收度) / (100% 吸收度 - 空白吸收度) 根据化合物的浓度与相应的抑制率, 计算得到各化合物的 IC_{50}

[0029] 表 1. 化合物的抑酶活性

Compds	R	IC ₅₀ /μM
	-H	170.1
	-F	287.5
	-Cl	160.5
	-Br	308.9
	-NO ₂	317.8
	-CH ₃	217.8
	-OCH ₃	69.8
	-H	141.6
	-F	169.0
	-Cl	296.6
	-Br	>1000
	-NO ₂	309.1
	-CH ₃	107.0
	-OCH ₃	39.9
[0030] 	-H	>1000
	-F	>1000
	-Cl	>1000
	-Br	>1000
	-NO ₂	342.7
	-CH ₃	206.2
	-OCH ₃	31.4
	-H	123.9
	-F	344.4
	-Cl	104.9
	-Br	35.3
	-NO ₂	54.1
	-CH ₃	126.8
	-OCH ₃	244.8
	-H	108.1
	-F	58.7
	-Cl	>1000
	-Br	>1000
	-NO ₂	44.6
	-CH ₃	>1000
	-OCH ₃	78.5