

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D217/26



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96198294.2

A61K 31/47 C07D405/12

C07D221/16 C07D209/42

A61K 31/40 C07D471/04

C07D491/04 C07D413/12

/(C07D471/04, 221 : 00,

209 : 00) (C07D491/04,

[45] 授权公告日 2003 年 12 月 17 日

[11] 授权公告号 CN 1131215C

[22] 申请日 1996. 11. 4 [21] 申请号 96198294. 2

[30] 优先权

[32] 1995. 11. 13 [33] DE [31] 19542189. 2

[32] 1996. 3. 28 [33] DE [31] 19612298. 8

[86] 国际申请 PCT/EP96/04776 1996. 11. 4

[87] 国际公布 WO97/18194 德 1997. 5. 22

[85] 进入国家阶段日期 1998. 5. 13

[71] 专利权人 赫彻斯特股份公司

地址 联邦德国法兰克福

[72] 发明人 W·所瓦特 W·施瓦伯

M·舒多克 B·哈司

E·巴特尼克 K-U·威茨曼

[56] 参考文献

EP468231A 1992. 01. 29

EP614911A 1994. 09. 14

审查员 李 越

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 吴亦华

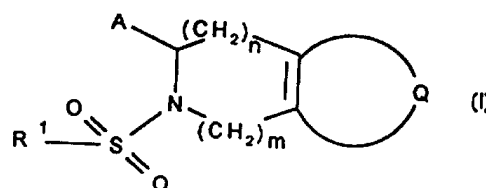
221 : 00)

权利要求书 10 页 说明书 45 页

[54] 发明名称 环和杂环 N - 取代的 α - 亚氨基异
羟肟酸和羧酸

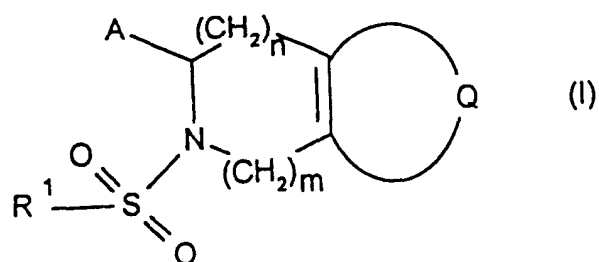
[57] 摘要

式 I 化合物适用于制备治疗在其过程中降解基
质的金属蛋白酶活性增加的疾病的药物。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

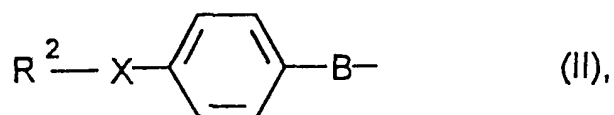
1. 式 I 化合物



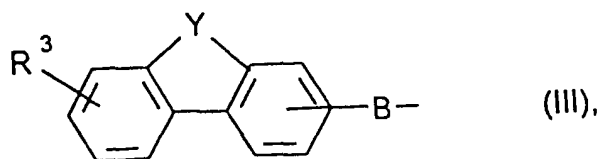
或式 I 化合物的任何立体异构形式、或式 I 化合物的生理耐受盐，其中在第 i) 种情况下：

R^1 是

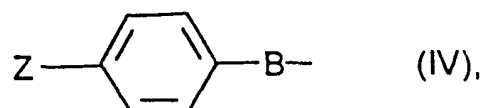
a) 式 II 基团



b) 式 III 基团

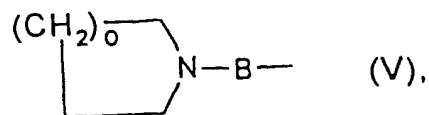


c) 式 IV 基团

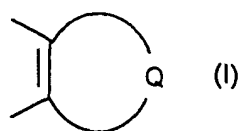


其中 Z 是吗啉杂环基

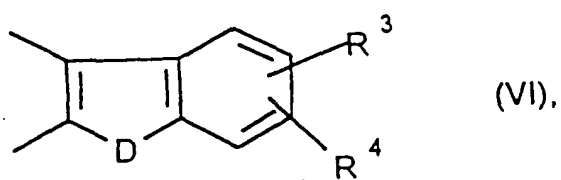
d) 式 V 基团



其中 o 是 1 或 2, 且环碳原子中的一个可以被 -O- 或 -S- 置换, 并且 Q 作为结构式 I 的一部分

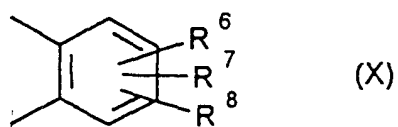


1) 是结构部分 VI



或

5) 是结构部分 X



其中 D 是 NR⁴ 或 S,

R² 是

1) 苯基或

2)被下列基团一 - 至三 - 取代的苯基

2.1 羟基,

2.2 $-O-R^{10}$, 其中 R^{10} 是

1) C_1-C_6 -烷基,

2) C_3-C_6 -环烷基,

3)苄基或

4)苯基,

2.3 $-COOH$,

2.4 C_1-C_6 -烷基,

2.5 C_3-C_6 -环烷基 $-O-C_1-C_4$ -烷基,

2.6 卤素,

2.7 $-CN$,

2.8 $-NO_2$,

2.9 $-CF_3$,

2.10 $-O-C(O)-R^{10}$, 并且 R^{10} 如上所定义,

2.11 $-O-C(O)-$ 苯基, 苯基被 R^3 基团一 - 或二 - 取代,

2.12 $-C(O)-O-R^{10}$, 并且 R^{10} 如上所定义,

2.13 亚甲二氧基,

2.14 $-C(O)-NR^{11}R^{12}$, 其中

R^{11} 和 R^{12} 可以相同或不同, 它们各自为

1)氢原子,

2) C_1-C_4 -烷基或

3)苄基或

4) R^{11} 和 R^{12} 与和其相连的氮原子一起形成吡咯烷、哌啶、吗啉或哌嗪基, 或者

2.15 $-NR^{13}R^{14}$, 其中 R^{13}

是氢原子或 C_1-C_4 -烷基, 并且

R^{14} 是

1)氢原子,

2) $C_1 - C_4$ - 烷基,

3) 苄基,

4) $-C(O)-R^{10}$ 或

5) $-C(O)-O-R^{10}$, 且 R^{10} 如上所定义

R^3 和 R^4 各自为

1) 氢原子,

R^6 、 R^7 和 R^8 彼此相同或不同, 它们各自为

a) 氢原子, 或

b) 在第 i) 种情况下, 具有 2.1 至 2.14 条目下 R^2 的含义, 并且

n 是 0、1 或 2,

m 是 0、1 或 2, n 与 m 之和为 1、2 或 3, 或者

在第 ii) 种情况下

R^1 是

1) 苯基或

2) 被 R^2 基团一 - 至三 - 取代的苯基, 其中 R^2 如上在第 i) 种情况下条目 2.1 至 2.15 中所定义,

Q 是结构部分 X , 并且

R^6 、 R^7 和 R^8 彼此相同或不同, 它们各自如上所定义,

n 是 1, 并且

m 是 1, 或者

在第 iii) 种情况下

R^1 、 Q 、 R^6 、 R^7 和 R^8 彼此相同或不同, 并且它们各自如上对第 ii) 种情况所定义,

m 和 n 是 0、1 或 2, 并且其中 m 与 n 的含义不同, 以及

X 是

a) 共价键,

- b) $-O-$,
 c) $-S-$,
 d) $-S(O)-$,
 e) $-S(O)_2-$,
 f) $-C(O)-$ 或
 g) $-C(OH)-$, 以及

Y 是

- a) $-O-$ 或
 b) $-S-$, 并且

A 是 $HO-NH-C(O)-$ 或 $HO-C(O)-$ 以及

B 是 a) $-(CH_2)_q-$, 其中 q 是 0、1、2、3 或 4。

2. 权利要求 1 的式 I 化合物或式 I 化合物的生理耐受盐或式 I 化合物的任何立体异构形式, 其中

在第 i) 种情况下, R^1 是式 II 或 III 基团, 并且 Q 是结构部分 VI 或 X,
 在第 ii) 种情况下, R^1 是苯基或者被甲氧基一-至三-取代的苯基, 并且 Q 是结构部分 X, 或

在第 iii) 种情况下, R^1 是苯基, Q 是结构部分 X, n 是 0 并且 m 是 2, 以及

A 是 $HO-NH-C(O)-$ 或 $HO-C(O)-$,

B 是共价键,

X 是氧原子或共价键, 并且

R^2 是苯基或者被下列基团取代的苯基

- a) 羟基,
 b) $-O-R^{10}$, 其中 R^{10} 是 C_1-C_3 -烷基或苄基,
 c) C_1-C_2 -烷基,
 d) 氟或氯,

e) - CN,

f) - CF₃, 或

g) NR¹³R¹⁴, 其中 R¹³ 和 R¹⁴ 各自为 C₁ - C₃ - 烷基,

R³ 和 R⁴ 各自为氢原子,

R⁶、R⁷ 和 R⁸ 彼此相同或不同, 它们各自为

a) 氢原子,

b) 甲氧基,

c) 亚甲基二氧基,

d) 氨基或

e) 羟基。

3. 权利要求 1 或 2 的式 I 化合物, 其中所述化合物选自

R - 2 - (联苯基磺酰基) - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 异羟肟酸,

R - 2 - (4 - 氯联苯基磺酰基) - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 异羟肟酸,

R - 2 - (4 - 氯联苯基磺酰基) - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 甲酸,

R - 2 - (4 - 苯氧基苯磺酰基) - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 异羟肟酸,

R - 2 - (4 - 苯氧基苯磺酰基) - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 甲酸,

R - 2 - (4 - (4 - 二甲氨基苯氧基)苯磺酰基) - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 异羟肟酸,

R - 2 - (4 - 二甲氨基联苯基磺酰基) - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 甲酸,

R - 2 - (4 - 苯甲酰基苯磺酰基) - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 异羟肟酸,

R - 2 - (4 - 甲氧基苯磺酰基) - 7 - 羟基 - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 异羟肟酸,

R - 2 - (4 - 甲氧基苯磺酰基) - 7 - 硝基 - 1, 2, 3, 4 - 四氢异喹啉 - 3 - 异羟肟酸,

2- (4- 甲氧基苯磺酰基 - 6, 7- 亚丙基 - 1, 2, 3, 4- 四氢异喹啉 - 1 - 异羟肟酸,

R - 5 - (4- 甲氧基苯磺酰基) - 4, 5, 6, 7- 四氢 - 1H - 咪唑并 - (4, 5- c) - 吡啶 - 6 - 异羟肟酸,

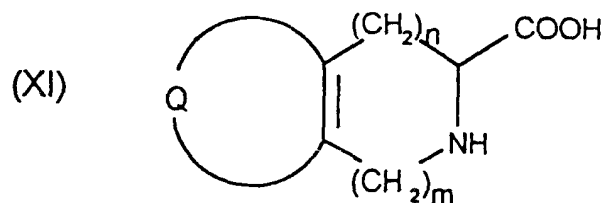
R - 2 - (4- 甲氧基苯磺酰基) - 1, 2, 3, 4- 四氢 - 9H - 吡啶并 - (3, 4- c) - 吡啶 - 3 - 异羟肟酸,

R - 2 - (4- 苯氧基苯磺酰基) - 1, 2, 3, 4- 四氢 - 9H - 吡啶并 - (3, 4- c) - 吡啶 - 3 - 异羟肟酸。

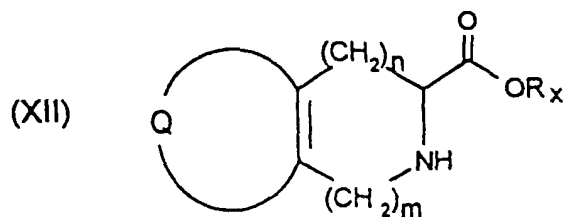
4. 权利要求 1 或 2 所述的式 I 化合物, 其中在氨基与异羟肟酸基之间的中心碳原子为 R 对映体形式。

5. 权利要求 1 - 4 中一项所述的式 I 化合物的制备方法, 该方法包括

a) 将式 XI 的亚氨基酸与 C₁ - C₄ - 醇或苄醇反应

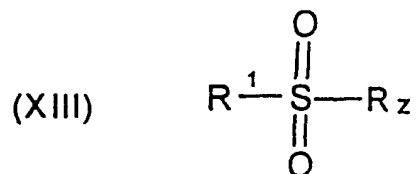


其中基团 Q 以及 m 和 n 如权利要求 1 - 4 任一项中所定义, 得到式 XII 化合物

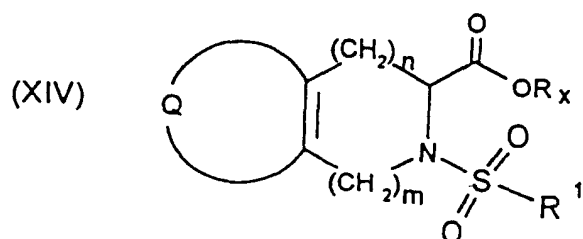


其中 R_x 是 C₁ - C₄ - 烷基或苄基, 或者

b)在碱存在下,将通过方法 a)制备的式 XII 化合物与式 XIII 化合物反应



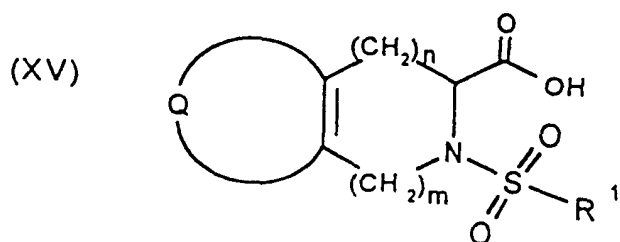
其中 R^1 如权利要求 1-4 任一项中所定义, R_z 是氯原子、咪唑基或 -OH,
得到式 XIV 化合物



其中 Q、 R^1 、n 和 m 如权利要求 1-4 任一项中所定义, R_x 如在式 XII 中所定义, 或者

c)将通过方法 a)制备的式 XII 化合物与碱反应, 然后与式 XIII 化合物反应, 得到式 XIV 化合物, 或者

d)将式 XI 化合物与式 XIII 化合物反应, 得到式 XV 化合物



其中 Q、R¹、n 和 m 如权利要求 1-4 任一项中所定义, 或者

e)使式 XIV 化合物反应生成式 XV 化合物, 或者

f)将通过方法 b)或 c)制备的式 XIV 化合物与式 XVI 的羟胺反应



其中 R_y 是氢原子或氧保护基,

得到式 I 化合物, 并且如果需要, 除去氧保护基, 或者

g)将通过方法 d)或 e)制备的式 XV 化合物与式 XVI 的羟胺反应, 得到式 I 化合物, 或者

h)通过与对映体纯的酸或碱形成盐、在手性固定相上进行色谱分离或者用手性对映体纯的化合物进行衍生, 分离所得非对映体, 并除去手性助剂, 将按照方法 f)或 g)制备的基于其化学结构以对映体形式存在的式 I 化合物分离成纯的对映体, 或者

i)将按照方法 f)、g)或 h)制备的式 I 化合物以游离形式分离, 或者如果存在酸性或碱性基团, 任选地将其转化为生理耐受的盐。

6. 权利要求 5 所述的制备方法, 其中在步骤(h)中所用的手性对映体纯的化合物为氨基酸。

7. 药物组合物, 该药物组合物含有有效量的至少一种权利要求 1-4 中一项所述的式 I 化合物和/或式 I 化合物的生理耐受盐和/或式 I 化合物的任何立体异构形式, 以及生理耐受的助剂和赋形剂, 还任意含有其他添加剂和/或其他活性化合物。

8. 权利要求 1-4 中一项所述的至少一种式 I 化合物在制备预防和治疗在其过程中降解基质的金属蛋白酶活性增加的疾病的药物中的用途。

9. 权利要求 8 的用途, 所述用途是用于治疗结缔组织疾病, 牙周疾病, 创伤愈合疾病, 运动器官慢性疾病或者退化性关节疾病, 或者用于治疗溃疡、动脉粥样硬化和狭窄, 或者抑制肿瘤坏死因子的释放, 或用于治疗炎症、癌病、转移瘤形成、恶病质、厌食和败血性休克。

10. 权利要求 9 的用途, 其中所述结缔组织疾病是胶原病。

11. 权利要求 9 的用途, 其中所述运动器官慢性疾病为炎症、与免疫或代谢有关的急性和慢性关节炎性皮炎、关节病、肌病和骨代谢疾病。

12. 权利要求 9 的用途, 其中所述退化性关节疾病为骨关节病、脊椎病、关节损伤后或者半月板或髌骨损伤或韧带撕裂后关节较长时间固定后的软骨萎缩。

13. 权利要求 7 的药物的制备方法, 该方法包括用生理耐受的助剂和赋形剂, 以及如果需要, 加入添加剂和/或其他活性化合物, 将至少一种权利要求 1-4 中一项所述的式 I 化合物和/或式 I 化合物的生理耐受盐和/或式 I 化合物的任何立体异构形式配制成适于给药的形式。

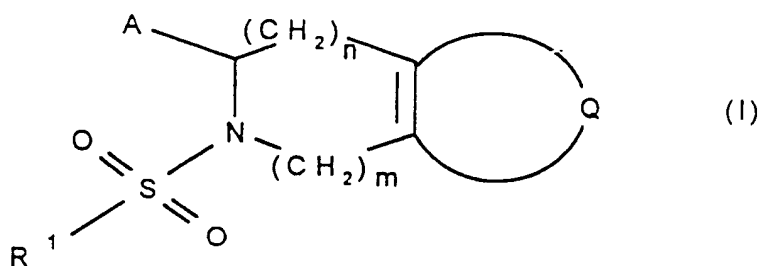
环和杂环 N-取代的 α -亚氨基异羟肟酸和羧酸

本发明涉及环和杂环 N-取代的 α -亚氨基异羟肟酸和羧酸、其制备方法及其作为药物的应用。

EP 0606046 公开了某些芳基磺酰氨基异羟肟酸衍生物及其作为基质金属蛋白酶抑制剂的作用。

为了寻找可用于治疗结缔组织疾病的其它有效化合物，经过努力，现已发现本发明的亚氨基异羟肟酸衍生物是金属蛋白酶的抑制剂。

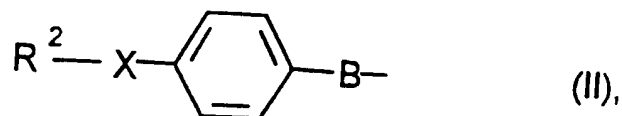
本发明涉及式 I 化合物



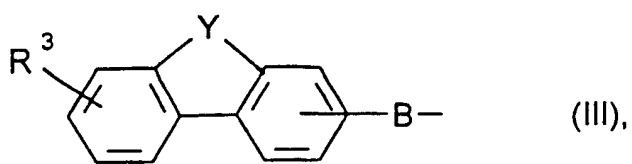
和/或式 I 化合物的任何立体异构形式、和/或式 I 化合物的生理耐受盐，其中在第 i) 种情况下：

R^1 是

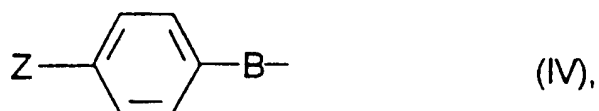
a) 式 II 基团



b) 式 III 基团



c) 式 IV 基团



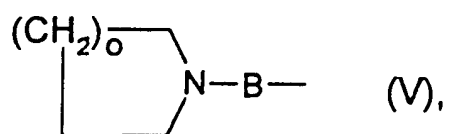
其中 Z 是杂环或取代杂环基, 例如

- 1) 吡咯,
- 2) 噻唑,
- 3) 吡唑,
- 4) 吡啶,
- 5) 咪唑,
- 6) 吡咯烷,
- 7) 哌啶,
- 8) 噻吩,
- 9) 噁唑,
- 10) 异噁唑,
- 11) 吗啉或
- 12) 哌嗪,

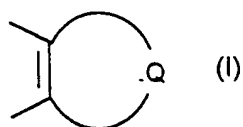
d) 萘基,

e) 被 R^2 基团——或三-取代的萘基, 或

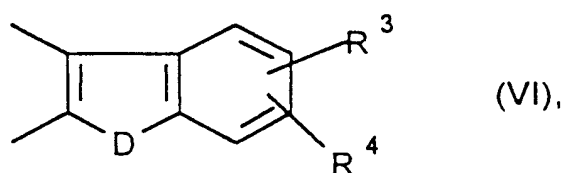
f) 式 V 基团



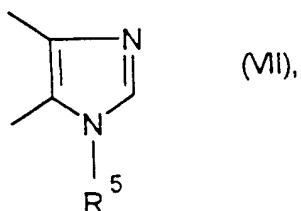
其中 o 是 1 或 2，且环碳原子中的一个可以被 -O- 或 -S- 置换，并且 Q 作为结构式 I 的一部分



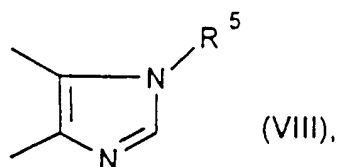
1) 是结构部分 VI



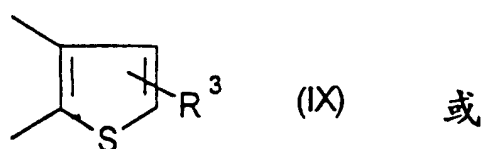
2) 是结构部分 VII



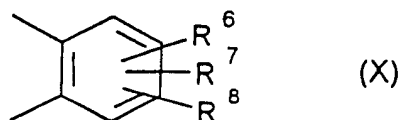
3) 是结构部分 VIII



4) 是结构部分 IX



5) 是结构部分 X



其中 D 是 NR^4 或 S,

R^2 是

1) 苯基或

2) 被下列基团——至三-取代的苯基

2.1 羟基,

2.2 $-\text{O}-\text{R}^{10}$, 其中 R^{10} 是

1) (C_1-C_6) -烷基,

2) (C_3-C_6) -环烷基,

3) 苄基或

4) 苯基,

2.3 $-\text{COOH}$,

2.4 (C_1-C_6) -烷基,

2.5 (C_3-C_6) -环烷基- $-\text{O}-$ (C_1-C_4) -烷基,

2.6 卤素,

2.7 $-\text{CN}$,

2.8 $-\text{NO}_2$,

2.9 $-\text{CF}_3$,

2.10 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{R}^{10}$, 并且 R^{10} 如上所定义,

2.11 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})$ -苯基, 苯基被 R^3 基团——或二-取代,

2.12 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{R}^{10}$, 并且 R^{10} 如上所定义,

2.13 亚甲二氧基 (Methylenedioxy),

2.14 $-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, 其中

R^{11} 和 R^{12} 可以相同或不同, 它们各自为

1) 氢原子,

2) (C_1-C_4) -烷基或

3) 苄基或

4) R^{11} 和 R^{12} 与和其相连的氮原子一起形成吡咯烷、哌啶、吗啉或哌嗪基, 或者

2.15 $-NR^{13}R^{14}$, 其中 R^{13} 是氢原子或 (C_1-C_4) -烷基, 并且

R^{14} 是

- 1) 氢原子,
- 2) (C_1-C_4) -烷基,
- 3) 苄基,
- 4) $-C(O)-R^{10}$ 或
- 5) $-C(O)-O-R^{10}$,

R^3 和 R^4 彼此相同或不同, 它们各自为

- 1) 氢原子,
- 2) (C_1-C_5) -烷基,
- 3) (C_1-C_5) -烷氧基,
- 4) 卤素,
- 5) 羟基,
- 6) $-O-C(O)-R^{10}$, 并且 R^{10} 如上所定义, 或者
- 7) R^3 和 R^4 结合在一起形成 $-O-CH_2-O-$ 基团,

R^5 是

- a) 氢原子,
- b) (C_1-C_5) -烷基, 或
- c) 苄基, 以及

R^6 、 R^7 和 R^8 彼此相同或不同, 它们各自为

- a) 氢原子, 或
 - b) 在第 i) 种情况下, 具有 2.1 至 2.14 条目下 R^2 的含义, 并且
- n 是 0、1 或 2,
- m 是 0、1 或 2, n 与 m 之和为 1、2 或 3, 或者

在第 ii) 种情况下

R^1 是

1) 苯基或

2) 被 R^2 基团一至三-取代的苯基, 其中 R^2 如上在第 i) 种情况下条目 2.1 至 2.15 中所定义,

Q 是结构部分 X, 并且

R^6 、 R^7 和 R^8 彼此相同或不同, 它们各自如上所定义,

n 是 1, 并且

m 是 1, 或者

在第 iii) 种情况下

R^1 、Q、 R^6 、 R^7 和 R^8 彼此相同或不同, 并且它们各自如上对第 ii) 种情况所定义,

m 和 n 是 0、1 或 2, 并且其中 m 与 n 的含义不同, 以及

X 是

a) 共价键,

b) $-O-$,

c) $-S-$,

d) $-S(O)-$,

e) $-S(O)_2-$,

f) $-C(O)-$ 或

g) $-C(OH)-$, 以及

Y 是

a) $-O-$ 或

b) $-S-$, 并且

A 是 $HO-NH-C(O)-$ 或 $HO-C(O)-$ 以及

B 是 a) $-(CH_2)_q-$, 其中 q 是 0、1、2、3 或 4, 或者

b) $-CH=CH-$.

优选的是以下式 I 化合物和/或式 I 化合物的生理耐受盐和/或式 I 化合物的任何立体异构形式, 其中

在第 i) 种情况下, R^1 是式 II 或 III 基团, 并且 Q 是结构部分 VI、VII、VIII 或 X,

在第 ii) 种情况下, R^1 是苯基或者被甲氧基--至三-取代的苯基, 并且 Q 是结构部分 X, 或

在第 iii) 种情况下, R^1 是苯基, Q 是结构部分 X, n 是 0 并且 m 是 2, 以及

A 是 HO-NH-C(=O)- 或 HO-C(=O)- ,

B 是共价键,

X 是氧原子或共价键, 并且

R^2 是苯基或者被下列基团取代的苯基

a) 羟基,

b) $-\text{O-R}^{10}$, 其中 R^{10} 是 $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ -烷基或苄基,

c) $(\text{C}_1\text{-C}_2)$ -烷基,

d) 氟或氯,

e) $-\text{CN}$,

f) $-\text{CF}_3$, 或

g) $\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$, 其中 R^{13} 和 R^{14} 各自为 $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ -烷基,

R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 彼此相同或不同, 它们各自为

a) 氢原子,

b) 甲氧基,

c) 亚甲基二氧基,

d) 氨基或

e) 羟基。

特别优选的是以下化合物

R-2-(联苯基磺酰基)-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸,

R-2-(4-氯联苯基磺酰基)-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸,

R-2-(4-氯联苯基磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸,
R-2-(4-苯氧基苯磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸,
R-2-(4-苯氧基苯磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸,
R-2-(4-(4-二甲氨基苯氧基)苯磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸,
R-2-(4-二甲氨基联苯基磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸,
R-2-(4-苯甲酰基苯磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸,
R-2-(4-甲氧基苯磺酰基)-7-羟基-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸,
R-2-(4-甲氧基苯磺酰基)-7-硝基-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸,
2-(4-甲氧基苯磺酰基)-6,7-亚丙基-1,2,3,4-四氢异喹啉-1-异羟肟酸,
R-5-(4-甲氧基苯磺酰基)-4,5,6,7-四氢-1H-咪唑并-(4,5-c)-吡啶-6-异羟肟酸,
R-2-(4-甲氧基苯磺酰基)-1,2,3,4-四氢-9H-吡啶并-(3,4-c)-咪唑-3-异羟肟酸,
R-2-(4-苯氧基苯磺酰基)-1,2,3,4-四氢-9H-吡啶并-(3,4-c)-咪唑-3-异羟肟酸。

此外,尤其值得推荐的是其中在氨基与酸基之间的中心碳原子为R对映体的那些式I化合物。

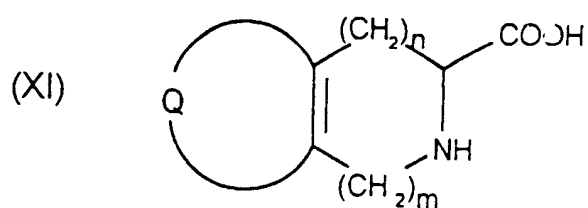
术语卤素的含义是氟、氯、溴或碘。术语烷基或烷氧基应理解为其中的碳链可以是直链、支链或环状的基团,环烷基是例如3-至6-元单环如环丙基、环丁基、环戊基或环己基。

“式V的杂环”包括例如硫代吗啉、哌啶、吗啉或哌嗪。

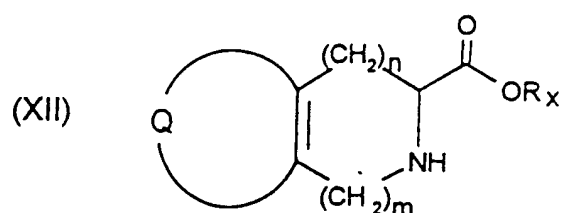
合适的式I化合物的生理耐受盐是例如碱金属、碱土金属和铵盐,包括有机铵碱或碱性氨基酸的盐。

本发明还提供了式I化合物和/或式I化合物的生理耐受盐和/或式I化合物的任何立体异构形式的制备方法,该方法包括

a) 将式XI的亚氨基酸与(C₁-C₄)-醇或苄醇反应

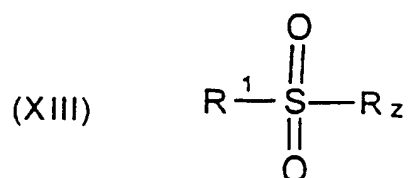


其中基团 Q 以及 m 和 n 如在式 I 中所定义，
得到式 XII 化合物



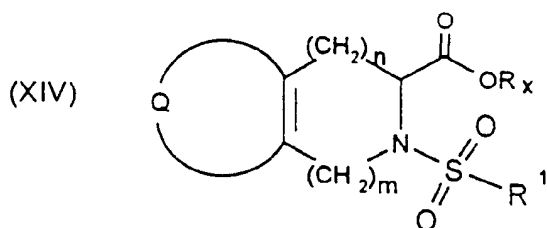
其中 R_x 是 (C_1-C_4) -烷基或苄基，或者

b) 在碱存在下，或者如果需要，在脱水剂存在下，将通过方法 a) 制备的式 XII 化合物与式 XIII 化合物反应



其中 R^1 如在式 I 中所定义， R_z 是氯原子、咪唑基或 -OH，

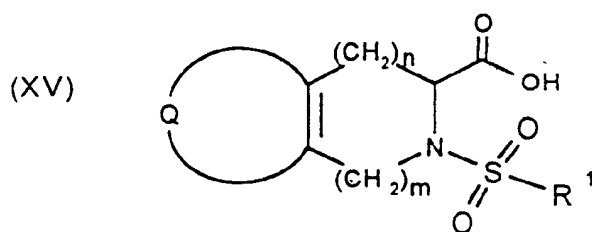
得到式 XIV 化合物



其中 Q、 R^1 、n 和 m 如在式 I 中所定义， R_x 如在式 XII 中所定义，或者

c) 将通过方法 a) 制备的式 XII 化合物与碱反应，然后与式 XIII 化合物反应，得到式 XIV 化合物，或者

d) 将式 XI 化合物与式 XIII 化合物反应，得到式 XV 化合物



其中 Q、 R^1 、n 和 m 如在式 I 中所定义，或者

e) 使式 XIV 化合物反应生成式 XV 化合物，或者

f) 将通过方法 b) 或 c) 制备的式 XIV 化合物与式 XVI 的羟胺反应



其中 R_y 是氢原子或氧保护基,

得到式 I 化合物, 并且如果需要, 除去氧保护基, 或者

g) 将通过方法 d) 或 e) 制备的式 XV 化合物与式 XVI 的羟胺反应, 得到式 I 化合物, 或者

h) 通过与对映体纯的酸或碱形成盐、在手性固定相上进行色谱分离或者用手性对映体纯的化合物例如氨基酸进行衍生, 分离所得非对映体, 并除去手性助剂, 将按照方法 f) 或 g) 制备的基于其化学结构以对映体形式存在的式 I 化合物分离成纯的对映体, 或者

i) 将按照方法 f)、g) 或 h) 制备的式 I 化合物以游离形式分离, 或者如果存在酸性或碱性基团, 任选地将其转化为生理耐受的盐。

如果使用 (C_1-C_4) -醇, 则方法步骤 a) 的反应在氯化氢气体或亚硫酸氯存在下、在常规条件下进行。使用合适的醇和酸例如对甲苯磺酸, 在苯或甲苯中制备相应的式 XII 的苄基酯。例如, 可以采用异丁烯和硫酸, 按照已知方法制备叔丁酯。

在碱性化合物例如 N-甲基吗啉 (NMM)、N-乙基吗啉 (NEM)、三乙胺 (TEA)、二异丙基乙胺 (DIPEA)、吡啶、可力丁、咪唑或碳酸钠存在下, 在溶剂例如四氢呋喃 (THF)、二甲基甲酰胺 (DMF)、二甲基乙酰胺、二噁烷、乙腈、甲苯、氯仿或二氯甲烷中, 或甚至在水存在下, 进行方法步骤 b) 的反应。优选在 NMM 存在下、在 THF 中, 使用式 XIII 的磺酰氯进行该反应,

在碱例如氢氧化钾、氢氧化锂或氢氧化钠存在下进行方法步骤 c) 的反应。

在含水有机溶剂体系中, 优选在 THF 和水中, 在碱例如碳酸钠和

式 XIII 化合物存在下, 进行方法步骤 d) 的反应。此外, 可以在无溶剂、有碱或无碱的情况下在减压条件下 (例如可由油泵达到) 进行该反应。

通过例如碱性或优选酸性水解, 或者如果是苺基衍生物, 则通过氢解, 由式 XIV 化合物得到式 XV 化合物 (方法步骤 e)。如果是碱性水解, 则必须用另一种酸, 例如用稀盐酸进行处理, 从羧酸盐中将游离羧酸释放出来。

在形成羧酰胺的常规条件下, 在合适的溶剂例如乙醇或二甲基甲酰胺中, 进行方法步骤 f) 的反应。

在方法步骤 g), 将式 XV 的羧酸活化。活性羧酸是例如酰卤、酰基叠氮化物、混合酸酐和碳酸酯。优选的是酰氯或酰氟、混合酸酐和新戊酰氯的碳酸酯、氯甲酸乙酯、氯甲酸异丙酯或氯甲酸异丁酯; 活性酯, 例如氰基乙酯、邻硝基苯酯或对硝基苯酯、琥珀酰亚氨基或邻苯二甲酰亚氨基, 以及可用偶合剂 (如二异丙基碳化二亚胺 (DIC)、羰基二咪唑 (CDI)、二环己基碳化二亚胺 (DCC) 或四氟硼酸苯并三唑基四甲基铈 (TBTU)) 得到的活性羧酸, 如果需要, 可以在偶合剂中加入羟基苯并三唑 (Hobt) 或氧代羟基苯并三唑 (HObt), 优选的溶剂是非质子传递溶剂。

所用原料和试剂可以按照已知方法制备, 或者可以是商购的。

其中 n 和 m 是 1 的合适的式 XI 的亚氨基酸是例如, 1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-甲酸、1, 2, 3, 4-四氢-9H-吡啶并 (3, 4-b)-吡啶-3-甲酸或任意 1-或 3-取代的 4, 5, 6, 7-四氢-1H-咪唑并-(4, 5-c)-吡啶-6-甲酸。该化合物优选在酸例如盐酸或硫酸存在下, 采用 Pictet-Spengler 方法 (参见 W.M. Whaley, 有机反应 (Organic Reactions) 6 (1951) 151), 用甲醛将相应的氨基酸环合进行制备。

如果是其中 n 为 0 且 m 为 2 的式 XI 的亚氨基酸, 则可以使用例如, 1, 2, 3, 4-四氢-9H-吡啶并 (3, 4-b)-吡啶-1-甲酸和 6, 7-亚丙基-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-1-甲酸作为原料。为了制备后一化合物, 用苯磺酰基氮丙啶 (arziridine) 将 1, 2-二氢化茛按 Friedel-Crafts 反应烷基化。在 HBr/冰醋酸中, 将得到 4-(2-苯磺酰氨基乙基)-1, 2-二氢化茛与乙醛酸进行环合反应; 然后在 HBr/冰醋酸中, 用碘/红磷裂解苯磺酰

基。

其中 n 是 1 且 m 是 0 的式 XI 化合物的实例是二氢吡啶-2-甲酸。例如，通过催化氢化吡啶-2-甲酸制备上述化合物。此外，可以提及的是，将 2-氯苯丙氨酸或 2-羟基-3-(2-氯苯基)丙酸环化，得到式 XI 的亚氨基酸。

如果式 I 化合物存在非对映体或对映体，并且在所选择的合成中以其混合物形式获得，则可以通过以下方法将其分离成纯的立体异构体：在任选手性载体物质上进行色谱分离，或者，如果外消旋的式 I 化合物或式 XI 化合物可以形成盐，则将其与作为助剂的旋光性的碱或酸形成的非对映体的盐分级结晶。用于分离对映体的薄层色谱或柱色谱的合适手性固定相是，例如，改性二氧化硅载体（所谓的 Pirkle 相）和高分子量碳水化合物如三乙酰基纤维素。为了进行分析，还可以在本领域专业人员已知的适当衍生化之后，采用利用手性固体相的气相色谱法。为进行外消旋羧酸的对映体分离，用旋光活性的、通常市售的碱，例如 (-)-尼古丁、(+)-和 (-)-苯乙胺、奎宁碱、L-赖氨酸或 L-和 D-精氨酸形成具有不同溶解度的非对映体的盐。分离固体形式的难溶性成分，从母液中除去更易溶的非对映体，并由如此得到的非对映体的盐得到纯的对映体。以基本同样的方式，可以用旋光活性的酸例如 (+)-樟脑-10-磺酸、D-和 L-酒石酸、D-和 L-乳酸以及 (+) 和 (-)-扁桃酸，将含有碱性基团例如氨基的式 I 外消旋化合物转化为纯的对映体。还可以用适当活化的或任意 N-保护的对映体纯的氨基酸将含有醇或胺官能团的手性化合物转化为相应的酯或酰胺，或者相反，用羧基保护的对映体纯的氨基酸将手性羧酸转化为酰胺，或者，用对映体纯的羟基羧酸例如乳酸将手性羧酸转化为相应的手性酯。然后，通过采用结晶或在合适的固定相上进行色谱分离来分离存在的非对映体，然后除去引入的手性分子部分（采用合适的方法进行），可以利用对映体纯的氨基酸或醇基的手性分离异构体。

酸性或碱性式 I 化合物可以以其盐或游离的形式存在。优选生理耐受的盐，例如碱金属盐或碱土金属盐或盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、半硫酸盐、所有可能的磷酸盐以及氨基酸盐、生物碱或羧酸盐。

可以使用游离形式的羟胺,它是由羟胺盐和合适的碱在溶液中得到,或O-保护形式的羟胺,或者在任何情况下也可以是其盐的形式的羟胺。游离羟胺的制备方法是文献中已知的,并且可以在例如醇溶液中进行制备。优选使用盐酸与醇盐例如甲醇钠、氢氧化钾或叔丁醇钾的混合物。

O-保护的羟胺衍生物优选含有这样保护基,该保护基可以在温和的条件下除去。特别优选的保护基是甲硅烷基、苄基和缩醛类。特别适用于此目的的保护基是O-三甲基甲硅烷基、O-叔丁基二甲基甲硅烷基、O-苄基、O-叔丁基和O-四氢吡喃基衍生物。

如果用于制备式I化合物的原料和中间体在例如基团 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 中含有如羟基、巯基、氨基或羧基的官能基,则可以以适当保护的形式使用。

在所有这样的情况下均需引入保护基,其中在所需的化学反应中,预期不希望的副反应发生在除反应中心之外的其他位置(T.W. Greene, 有机合成中的保护基, Wiley, New York, 1991)。

可在将式XII化合物转化为式I化合物之前或之后,将所用的保护基除去。

特别适用的助剂和碱是: $HObt$ 、 $HOObt$ 、N-羟基琥珀酰亚胺($HOSu$)、TEA、NMM、NEM、DIPEA、咪唑。优选的反应溶剂是: 二氯甲烷(DCM)、THF、乙腈、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、DMF和N-甲基吡咯烷酮(NMP)。

根据所用溶剂的沸点和性质,优选的温度是 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 至 $+90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。特别优选的是 -20 至 $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

按照本身已知的方法,由可以形成盐的式I化合物、包括其立体异构形式,制备生理耐受的盐。羧酸和异羟肟酸与碱性试剂形成稳定的碱金属盐、碱土金属盐或任意取代的铵盐,碱性试剂例如是氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐、醇盐和氨或有机碱(例如三甲胺或三乙胺、乙醇胺或三乙醇胺)或碱性氨基酸(例如赖氨酸、鸟氨酸或精氨酸)。如果式I化合物具有碱性基团,还可以用强酸制备稳定的酸加成盐。适用于此目的的是无机酸和有机酸,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、

甲磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、4-溴苯磺酸、环己基酰氨基磺酸、三氟甲磺酸、乙酸、草酸、酒石酸、琥珀酸或三氟乙酸。

本发明还涉及药物，该药物含有有效量的至少一种式 I 化合物和/或式 I 化合物的生理耐受盐和/或式 I 化合物的任何立体异构形式，以及可药用的和生理耐受的赋形剂、添加剂和/或其他活性化合物和助剂。

根据药理学性质，本发明化合物适用于预防和治疗所有在其过程中降解基质的金属蛋白酶活性增加的那些疾病。这些疾病包括退化性关节疾病例如骨关节病、脊椎病、关节损伤后或者半月板或髌骨损伤或韧带撕裂后关节较长时间固定后的软骨萎缩(Knorpelschwund)。此外，所述疾病还包括结缔组织疾病，例如胶原病、牙周疾病、创伤愈合疾病和运动器官慢性疾病例如炎症、与免疫或代谢有关的急性或慢性关节炎性皮炎(Arthritiden)、关节病、肌痛和骨代谢疾病。式 I 化合物还适用于治疗溃疡、动脉粥样硬化和狭窄。式 I 化合物还可以明显抑制细胞肿瘤坏死因子(TNF α)的释放，因而适用于治疗炎症、癌病、转移瘤形成、恶病质、厌食和败血性休克。

本发明的药物一般经口和非肠道给药。也可以经直肠或经皮给药。

本发明还涉及药物的制备方法，该方法包括用可药用和生理耐受的赋形剂，以及如果需要，加入其他合适的活性化合物、添加剂或助剂，将至少一种式 I 化合物配制成适于给药的形式。

合适的固体药物制剂是例如颗粒剂、粉末、包衣片、片剂、(微)胶囊、栓剂、糖浆、汁剂、悬浮液、乳液、滴剂或注射溶液以及延长活性化合物释放的制剂，在这些制剂中使用常规助剂，例如赋形剂、崩解剂、粘合剂、包衣剂、膨胀剂、助流剂或润滑剂、矫味剂、甜味剂和加溶剂。可以提及的经常使用的助剂是碳酸镁、二氧化钛、乳糖、甘露醇和其他糖、滑石、乳蛋白、明胶、淀粉、纤维素及其衍生物、动物和植物油例如鱼肝油、葵花油、花生油或芝麻油、聚乙二醇，以及溶剂例如无菌水和一元醇或多元醇如甘油。

优选将药物制剂制备成剂量单位形式，并以此形式给药，每一剂

量单位含有预定量的本发明式 I 化合物作为活性成分。如果是固体剂量单位如片剂、胶囊、包衣片或栓剂，该剂量可以高达约 1000 毫克，但是优选约 50 - 300 毫克，如果是安瓿形式的注射溶液，该剂量可以高达约 300 毫克，优选约 10 - 100 毫克。

如果是治疗体重约 70 公斤的成年患者 - 根据式 I 化合物的功效，日剂量约为 20 毫克至 1000 毫克活性化合物，优选约 100 毫克 - 500 毫克。当然，在某些情况下，可以适当提高或降低日剂量。该日剂量可以以单一剂量单位的形式或者以几个较小的剂量单位形式单次给药，以及按照特定的时间间隔多次分小剂量给药。

用 Varian 公司的 200MHz 装置记录 ^1H -NMR 图谱，通常使用四甲基硅烷 (TMS) 做内标，并在室温 (RT) 进行。在每种情况下指明所用溶剂。通常，用质谱法 (FAB-、ESI-MS) 测定最终产物。温度数据以摄氏度表示，RT 表示室温 (22 °C - 26 °C)。所用的缩写或者给予解释或者与常规方式相应。

制备实施例

按照与实施例 13、24 - 26、28、29、31 和 32 中所述类似的方法制备表 1 中的化合物 1 - 12、14 - 23、27、30 和 33。

在实施例 4 - 9 中，首先如 “Tic-sulfonation” 所述 (参见实施例 13)，用对- (实施例 4、6、9) 或间- (实施例 5、7、8) 硝基苯磺酰氯进行磺化反应。然后，在本领域技术人员已知的标准条件下，在大气压下，在 10 % Pd-活性炭存在下、在甲醇中，用氢将硝基氢化，得到胺。

在所有情况下，还可以使用实施例 13 中所述的 Tic 苺基酯进行磺化反应。在随后的氢化中，同时将苺基酯裂解并还原，得到胺。然后将在两种情况下得到的相同产物对-或间-氨基苯磺酰 Tic 如下进行进一步反应：

实施例 4：

首先，在标准条件 (三乙胺/DMAP/乙酸酐) 下进行乙酰化：然后，

按照实施例 25 所述将以高产率得到的 N-乙酰基化合物进行进一步反应，得到异羟肟酸。

实施例 5 和 6：

为了制备异羟肟酸，按照与实施例 13 所述同样的方法将对氨基苯磺酰-Tic 活化，不同的是使用双倍量的氯甲酸乙酯和 N-甲基吗啉。一步完成不可逆的 N-乙氧羰基化反应，并将羧酸活化。

实施例 7、8 和 9：

在本领域专业人员已知的 Schotten-Baumann 条件下，将上述对-或间-氨基苯磺酰-Tic 酰化。为此，使用实施例 7：水杨酰氯，实施例 8：对甲氧基苯甲酰氯，实施例 9：氯甲酸苄基酯。如实施例 25 所述进行进一步反应，得到异羟肟酸。

实施例 13：

R-2-(4-苯氧基苯磺酰)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸

一般方法：

对甲苯磺酸的 Tic 苄基酯

将 1 摩尔 Tic（游离氨基酸）、10 摩尔苄醇和 1 摩尔对甲苯磺酸一水合物溶解或悬浮在 1.2 升甲苯中，并用分水器加热回流。反应结束时，蒸发溶剂，将固体结晶残余物多次吸收在乙醚中并吸滤，然后用油泵真空干燥。产量：定量。

¹H-NMR: (200 MHz, δ in ppm, DMSO-d₆) 9,7 (s, br., 2 H, prot.NH), 7,5-7,25 (2m, 7H, 芳族, 7,1 (d, 2H, 芳族. p-TsOH), 5,3 (s, 2H, CH₂ 苄基); 4,7 (dd, 1H, CHα); 4,4 "d", 2H, CH₂); 3,4-3,1 (m, 2H, CH₂); 2,3 (s, 1H, CH₃ p-TsOH).

Tic 磺化

在 0 °C，将 0.1 摩尔 Tic 在 50 毫升 2N 氢氧化钠水溶液中的溶液(游

离氨基酸 17.7 克)与细粉化的磺酰氯 (105 毫摩尔)混合, 然后加入 14.2 克 (110 毫摩尔) 二异丙基乙胺和 50 毫升丙酮或 THF。10 分钟后移去冰浴, 在室温再搅拌或多或少均匀的溶液 6 小时。然后将反应混合物浓缩, 与 300 毫升乙酸乙酯混合, 并用 4N 盐酸酸化。分离有机相, 水相用各 50 毫升的乙酸乙酯萃取两次。合并的有机相用饱和氯化钠溶液振摇萃取, 用硫酸钠干燥。蒸馏除去溶剂, 得到油状或固体残余物状的磺化四氢异喹啉甲酸, 在某些情况下, 可以将产物从乙酸乙酯/石油醚中重结晶进行纯化, 但是通常所得产物的纯度足以用于下一步反应。

13a R-2-(4-苯氧基苯磺酰)-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-甲酸甲酯

在 1.7 毫升 (0.01 摩尔) N-乙基吗啉存在下, 将 1.92 克 (0.01 摩尔) R-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-甲酸甲酯和 2.7 克 (0.01 摩尔) 4-苯氧基苯磺酰氯在 50 毫升无水 THF 中的溶液加热回流 8 小时。除去溶剂, 将残余物吸收在二氯甲烷中, 所得溶液依次用 5 % 柠檬酸、5 % 碳酸氢钠溶液和 2 次用水萃取。有机相用硫酸钠干燥并浓缩, 得到酯, 无需纯化, 即将所得酯用于下一步反应。

产量: 4.0 克 (理论值的 95 %) 13a。

13b R-2-(4-苯氧基苯磺酰)-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-甲酸

在室温下, 向 4.0 克 (9.5 毫摩尔) 酯 (13a) 在 50 毫升异丙醇中的溶液中加入 9.5 毫升 1N 氢氧化钠水溶液, 然后搅拌该溶液 24 小时。用 1N 盐酸将该混合物酸化, 并减压蒸发至干。将残余物吸收在甲苯中, 所得溶液用 5 % 柠檬酸萃取, 有机相用硫酸钠干燥, 并减压浓缩。

产量: 3.4 克羧酸 13b (理论值的 83 %)

熔点: 147 °C。

13c R-2-(4-苯氧基苯磺酰)-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸

将 3.4 克 (8.3 毫摩尔) 羧酸 13b 溶解在 30 毫升 DMF 中, 并在 -20

℃依次与 1.4 克 (12 毫摩尔) N-乙基吗啉和 1.13 克 (8.3 毫摩尔) 氯甲酸异丁酯混合。活化 30 分钟后, 将该混合物与 4.37 克 (41.5 毫摩尔) 0-三甲基甲硅烷基羟胺混合, 并在室温搅拌 4 小时。向该混合物中加入 250 毫升乙酸乙酯和 500 毫升水, 并用柠檬酸酸化。分离有机相, 萃取水相 4 次, 合并的有机相用硫酸钠干燥, 并减压浓缩。从甲苯/乙酸乙酯 (1:1) 中重结晶, 得到标题化合物 13。

产量: 2.9 克 (理论值的 82 %), 熔点: 170 °C (分解)。

实施例 17:

在标准条件下, 使用反- β -苯乙烯磺酰氯将 Tic - 苄基酯磺化 (参见实施例 13)。在随后的氢化 (H_2 , Pd/C) 中, 脱苄基和双键的氢化一步完成。然后按照实施例 25 的方法形成异羟肟酸。

实施例 20、21 和 22:

原料是市售的 7-羟基-Tic。按照方法的方案 d), 在标准条件下进行磺化。经常规处理后, 得到 2-和 7-二磺化的 7-羟基-Tic 混合物和单独的 2-磺化的 7-羟基-Tic。但是, 在此阶段不需要分离两种化合物。在标准条件下直接进行转化, 得到异羟肟酸。如同预期的那样, 在活化过程中部分 7-羟基发生乙氧羰基化作用。因此, 异羟肟酸产物的混合物含有所有三种产物, 这些产物可以用硅胶 60 经色谱、经制备薄层色谱或 HPLC 分离。

实施例 23:

制备 7-硝基-Tic 的原料是对映体纯的市售 (R)-Tic-OH 或 (S)-Tic-OH。按照 E. D. Bergann, J. Am. Chem. Soc. 74, 4947 (1952) 或按照 E. Erlenmeyer, A. Lipp. Liebigs Ann. Chem. 219, 218 (1983) 的方法, 通过用硝化酸硝化, 制备 7-硝基-Tic。其中形成 6-和 7-硝基异构体混合物, 并且反应混合物中还含有未硝化的原料。首先在标准条件下将该混合物磺化, 然后进行分离。之后在硅胶 60 上经色谱分离三种磺酰胺的混合物。依次得到含有原料/6-硝基-和 6-硝基-/7-硝基-

基-(4-甲氧基苯磺酰基)-Tic 的混合馏分；最后，洗脱出纯的 7-硝基化合物馏分。按照与实施例 25 类似的方法，采用常规方法，可以将该物质转化为异羟肟酸。

实施例 24：

2-(4-甲氧基苯磺酰基)-6, 7-亚甲基二氧基-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸

由羧酸制备相应的羧酸苄基酯的方法与一般方法相应（参见实施例 13）。按照与实施例 25a 类似的方法进行磺化或苄基酯的裂解。如实施例 25b 所述进行游离磺化羧酸的反应。

用乙醚处理后，得到结晶形式的产物。产量为 140 毫克，理论值的 57 %；熔点 166 °C。

实施例 25：

2-(4-甲氧基苯磺酰基)-6, 7, 8-三甲氧基-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸

25a 2-(4-甲氧基苯磺酰基)-6, 7, 8-三甲氧基-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-甲酸

按照一般方法（参见实施例 13）制备苄基酯。使用 1.2 克（3.05 毫摩尔）苄基酯进行磺化。将其溶解在 20 毫升 THF 中，并在 0 °C 与 0.63 克（3.05 毫摩尔）4-甲氧基苯磺酰氯混合。加入 0.32 毫升 N-甲基吗啉，并在 0 °C 至室温搅拌反应混合物过夜。然后将该混合物与 20 毫升乙酸乙酯混合，用浓度为 10 % 碳酸钠溶液和饱和氯化钠溶液萃取。有机相用硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。剩余的残余物在减压条件下，经硅胶 60 色谱色谱纯化，用乙酸乙酯/石油醚/冰醋酸（20/10/1）洗脱。合并纯的产物馏分（600 毫克），浓缩后，在 50 毫升乙醇中，用 100 毫克 10 % Pd/C 直接氢化。反应结束后，分离催化剂，并将剩余的溶液减压浓缩。得到 330 毫克（理论值的 66 %）产物。

25b 2-(4-甲氧基苯磺酰基)-6,7,8-三甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸

将实施例 25a 得到的 330 毫克 (0.75 毫摩尔) 羧酸溶解在 15 毫升 THF 中,并在-20℃依次与 0.07 毫升 (0.75 毫摩尔) 氯甲酸乙酯和 0.15 毫升 (1.5 毫摩尔) N-甲基吗啉(NMM)混合。在此温度保持 30 分钟后,将该混合物与 0.474 毫升 0-三甲基甲硅烷基胺 (3.75 毫摩尔)混合。在室温保持 6 小时后,向该混合物中加入 30 毫升乙酸乙酯,然后用浓度为 20 % 的柠檬酸溶液和饱和氯化钠溶液萃取。有机相用硫酸钠干燥,并减压浓缩,得到 290 毫克透明的粘稠油,将该油从乙醚中结晶。

实施例 26:

2-(吗啉代磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸

26a 2-(吗啉代磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸甲酯

在搅拌下,将在 20 毫升 THF 中的 4.2 克 (0.025 摩尔) 吗啉-N-磺酰氯滴加至 4.8 克 (0.025 摩尔) 1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸甲酯和 2.9 克 (0.025 摩尔) N-乙基吗啉溶液中。在室温搅拌该混合物 2 小时,然后再加热回流 2 小时使反应进行完全。向反应溶液中加入氯仿,然后用浓度为 5 % 的柠檬酸、5 % 碳酸氢钠溶液和水处理。有机相用硫酸钠干燥并蒸发至干。酯(26a)的产量: 7.5 克(理论值的 92 %)。

26b 2-(吗啉代磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸

按照 13b 的方法,用 7.5 克 (0.023 摩尔) 26a 进行反应。
羧酸 26b 的产量: 6.7 克(理论值的 93 %)。

26c 2-(吗啉代磺酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-异羟肟酸

将 2.3 克 (7.5 毫摩尔) 羧酸 26b 溶解在 40 毫升无水 THF 中,并在-20℃依次与 1.2 克 (12 毫摩尔) N-甲基吗啉和 1.1 克 (7.5 毫摩

尔) 氯甲酸异丁酯混合。30 分钟后, 将该混合物与 3.9 克 (37.5 毫摩尔) 0-三甲基甲硅烷基羟胺混合, 并在室温再搅拌 5 小时。加入 200 毫升水, 用稀盐酸酸化该混合物, 并用二氯甲烷反复萃取。合并的有机相用硫酸钠干燥, 并减压浓缩。所得油在减压条件下经硅胶 60 色谱纯化, 用乙酸乙酯/二氯甲烷 (1:1) 做流动相。产物馏分从乙酸乙酯中重结晶, 得到结晶状的异羟肟酸 26c。

产量: 1.4 克 (理论值的 55 %), 熔点: 164 - 165 °C (分解)。

实施例 28:

1-(4-甲氧基苯磺酰基)二氢吲哚-2-异羟肟酸

28a 1-(4-甲氧基苯磺酰基)二氢吲哚-2-甲酸

在 50 °C 和 0.02 毫巴下, 在缓慢并连续旋转的 Kugelrohr 中, 将 1 克 (6.1 毫摩尔) 二氢吲哚-2-甲酸和 2.5 克 (12.2 毫摩尔) 4-甲氧基苯磺酰氯保持 4 小时。然后将棕色结晶产物吸收在碳酸钠溶液中, 用乙醚萃取两次。水相用 6N 盐酸酸化, 并用乙酸乙酯萃取 4 次。合并的有机相用饱和氯化钠溶液萃取, 用硫酸钠干燥, 并减压浓缩。用油泵真空除去剩余的溶剂。

产量: 1.34 克 (理论值的 65 %)

¹H-NMR: (DMSO-d₆) 7,8; 7,1 (2d, 4H, 芳族. p-TsOH); 7,4-7,0 (m, 4H, 芳族.); 4,9 (dd, 1H, CH α); 3,8 (2, 3H, OMe); 3,4-2,9 (2 dd, 2H, CH₂)

28b 1-(4-甲氧基苯磺酰基)二氢吲哚-2-异羟肟酸

将 1.3 克 (3.9 毫摩尔) 实施例 28a 的 1-(4-甲氧基苯磺酰基)二氢吲哚-2-甲酸溶解在 10 毫升 N,N-二甲基乙酰胺(DMA)中, 并在 -20 °C 依次与 0.37 毫升 (1 当量) 氯甲酸乙酯和 0.81 毫升 N-甲基吗啉混合。活化 30 分钟后, 将该混合物与 3.8 毫升 (19.5 毫摩尔) 0-三甲基甲硅烷基羟胺混合, 并在室温再搅拌 4 小时。将该混合物用乙酸乙酯稀释, 用柠檬酸酸化, 并在除去水相后, 用饱和氯化钠溶液洗涤。有机相用硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。所得油在减压条件下经硅胶 60 色

谱纯化, 用二氯甲烷/乙酸乙酯/乙酸(5.5/3.5/1)做流动相。合并产物馏分(显示阳性氯化铁(III)反应)并浓缩。然后将结晶产物与乙醚混合, 并减压除去剩余的溶剂。

产量: 400 毫克(理论值的 33 %), 熔点: 142 °C。

实施例 29:

R-5-(4-甲氧基苯磺酰基)-4, 5, 6, 7-四氢-1H-咪唑并-(4, 5-c)-吡啶-6-异羟肟酸盐酸盐

29a: R-3, 5-二(4-甲氧基苯磺酰基)-4, 5, 6, 7-四氢-1H-咪唑并-(4, 5-c)-吡啶-6-甲酸

在冰冷却下, 向 6.1 克(30 毫摩尔) 4, 5, 6, 7-四氢-1H-咪唑并-(4, 5-c)-吡啶-6-甲酸盐酸盐在 50 毫升水中的溶液中依次加入 15 毫升 2N 氢氧化钠和 4.5 克(42 毫摩尔) 碳酸钠。在搅拌下, 加入在 40 毫升乙醚中的 13.7 克(67 毫摩尔) 4-甲氧基苯磺酰氯。在室温再搅拌反应混合物 24 小时, 然后在用冰冷却下, 用 5N 盐酸调节反应混合物至 pH 3-4, 并用乙酸乙酯萃取。有机相用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩至干, 得到 11.9 克(理论值的 78 %) 油状所需产物。

29b: R-5-(4-甲氧基苯磺酰基)-4, 5, 6, 7-四氢-1H-咪唑并-(4, 5-c)-吡啶-6-甲酸盐酸盐

在冰冷却和搅拌下, 以 1 小时的间隔, 向 11.0 克(24 毫摩尔) 二磺化的中间体在 300 毫升甲醇中的溶液中滴加各 23.5 毫升 1N 的氢氧化钠溶液。6 小时后, 最后加入 15 毫升 1N 氢氧化钠, 并在室温搅拌该混合物过夜。减压除去甲醇, 然后用 5N 盐酸调节该混合物至 pH 5。吸滤出沉淀的结晶, 并用 P205 减压干燥。

产量: 5.2 克(理论值的 60 %) 29b

熔点: 264 - 265 °C (分解)

29c: R-5-(4-甲氧基苯磺酰基)-4, 5, 6, 7-四氢-1H-咪唑并-(4, 5-c)-吡

啉-6-异羟肟酸盐

将在 60 毫升 DMF 中的 8.0 克 (24 毫摩尔) 化合物 29b 与 4.27 克 (24 毫摩尔) 四甲基氢氧化铵混合, 然后在 0 °C 与 2.7 克 (24 毫摩尔) N-乙基吗啉混合, 并分批地与 5.2 克 (24 毫摩尔) 碳酸二叔丁酯 (di-tert-butyl dicarbonate) 混合。搅拌反应混合物过夜, 将其倒入冰水中, 用稀盐酸调节至 pH 5, 并用乙酸乙酯反复萃取。合并干燥的有机相, 除去溶剂后, 得到 10.5 克 BOC-保护的 29b, 该产物直接用于制备异羟肟酸。

为此, 将 10.5 克 (23 毫摩尔) 上述化合物溶解在 150 毫升无水 THF 中, 并在 -20 °C 与 4.4 克 (38 毫摩尔) N-乙基吗啉和 3.4 克 (25 毫摩尔) 氯甲酸异丁酯混合。搅拌该混合物 1 小时, 然后加入 10.9 克 (0.1 摩尔) O-三甲基甲硅烷基羟胺, 保持 -20 °C 的温度 1 小时。在室温搅拌 4 小时后, 用 1N 盐酸将反应混合物调节至 pH = 1, 与 300 毫升水混合, 并用二氯甲烷反复萃取。合并的有机相用硫酸钠干燥并减压浓缩至干。

为了裂解 BOC 保护基, 将 8.1 克剩余的油吸收在 50 毫升二氯甲烷中, 并在 0 °C 滴加 25 毫升三氟乙酸。在室温搅拌反应混合物 4 小时, 然后减压浓缩。用二氯甲烷浸提残余物, 然后溶解在 0.1N 盐酸中, 过滤并冻干。

异羟肟酸 29 的产量: 5.2 克 (理论值的 56 %)

熔点: 110 °C。

实施例 31:

R-2-(4-甲氧基苯磺酰基)-1, 2, 3, 4-四氢-9H-吡啶并-(3, 4-b)-吡啶-3-异羟肟酸

31a R-2-(4-甲氧基苯磺酰基)-1, 2, 3, 4-四氢-9H-吡啶并-(3, 4-b)-吡啶-3-甲酸

在加入 10.5 毫升 2N 氢氧化钠后, 在搅拌下, 将 2.16 克 (10 毫摩尔) 1, 2, 3, 4-四氢-9H-吡啶并-(3, 4-b)-吡啶-3-甲酸在 10 毫升丙酮

和 10 毫升水的混合物中的溶液与 2.06 克 (10 毫摩尔) 4-甲氧基苯磺酰氯混合。在室温搅拌该溶液 18 小时, 除去丙酮, 用浓盐酸调节溶液至 pH 1。滤出所得沉淀, 用水洗涤并干燥。

产量: 2.7 克羧酸 31a (理论值的 85 %)

熔点: 232 - 234 °C

31b R-2-(4-甲氧基苯磺酰基)-1, 2, 3, 4-四氢-9H-吡啶并-(3, 4-b)-吡啶-3-羧酸

将 2.5 克 (7.4 毫摩尔) 羧酸 31a 溶解在 40 毫升无水 DMF 中, 并在 -20 °C 依次与 1.4 毫升 (12 毫摩尔) N-乙基吗啉和 0.97 毫升 (7.4 毫摩尔) 氯甲酸异丁酯混合。活化 30 分钟后, 加入 4.53 毫升 (37 毫摩尔) 0-三甲基甲硅烷基胺, 然后在室温搅拌该混合物 19 小时。用柠檬酸将该混合物调节至 pH 3.5, 然后用乙酸乙酯反复萃取。合并的有机相用硫酸钠干燥, 减压浓缩, 并通过硅胶色谱纯化, 用二氯甲烷/甲醇 (95: 5) 作洗脱剂。

产量: 2.4 克羧酸 (理论值的 91.5 %)

熔点: 87 °C。

实施例 32:

R-2-(4-苯氧基苯磺酰基)-1, 2, 3, 4-四氢-9H-吡啶并-(3, 4-b)-吡啶-3-羧酸

按照实施例 31 的方法制备

熔点: 110 - 111 °C

实施例 33:

R-2-(4-吗啉代苯磺酰基)-1, 2, 3, 4-四氢-9H-吡啶并-(3, 4-b)-吡啶-3-羧酸

按照实施例 31 的方法制备

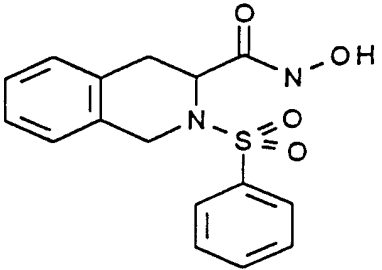
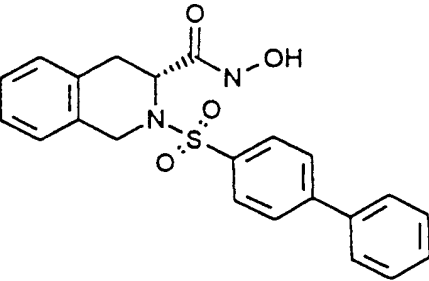
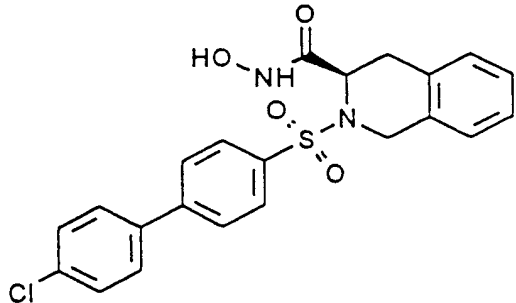
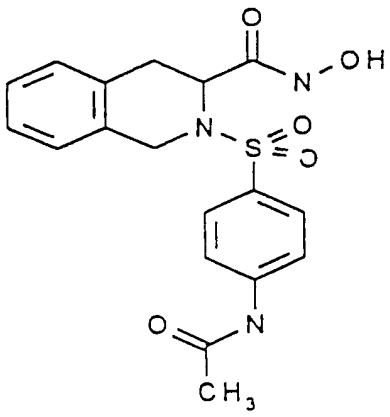
熔点: 125 °C (分解)

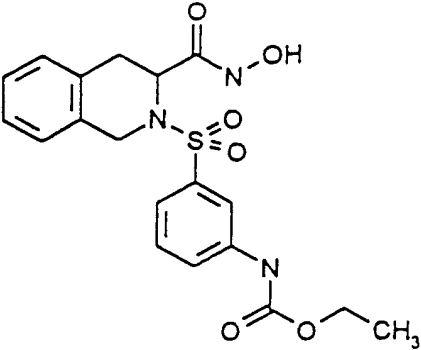
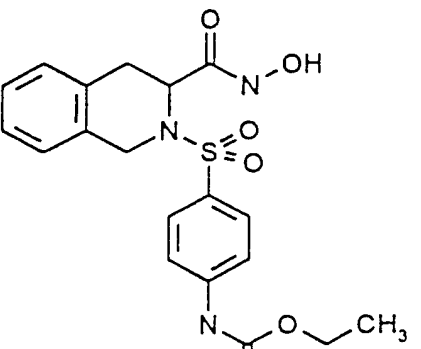
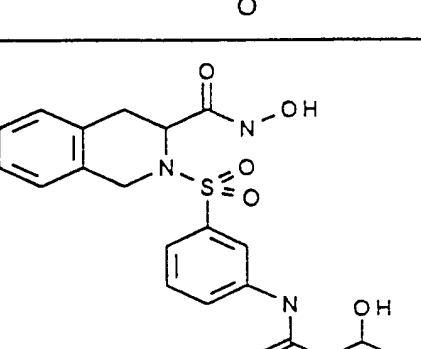
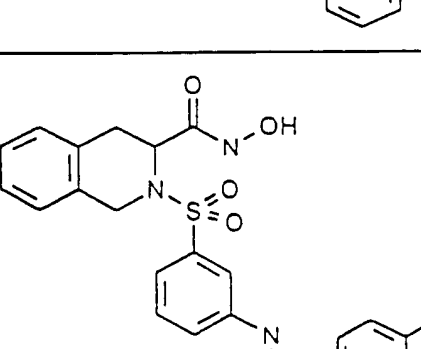
实施例 42：**R-2-[4-(4-氯苯氧基)苯磺酰基]-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸**

将 8.2 克 (46.4 毫摩尔) R - 1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸与 46.4 毫升 1N 氢氧化钠和 50 毫升丙酮混合, 并溶解在水中。在 -5 ℃ 和搅拌下, 滴加在 50 毫升 THF 中的 14.1 克 (46.4 毫摩尔) 4-(4-氯苯氧基)苯磺酰氯, 并在加入一半后, 将反应混合物与 6.0 克 (46.4 毫摩尔) 二异丙基乙胺混合。将该混合物搅拌过夜, 滤出沉淀, 用 2N 盐酸调节滤液至 pH = 3, 并用二氯甲烷反复萃取。合并的有机相用硫酸钠干燥, 过滤并减压蒸发至干。从甲苯中重结晶, 并减压干燥, 得到标题化合物。

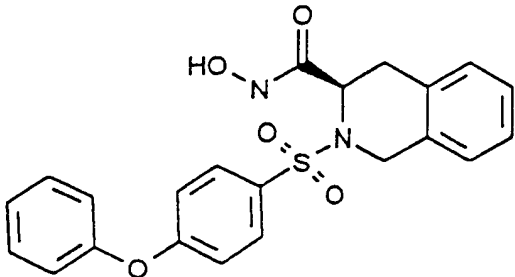
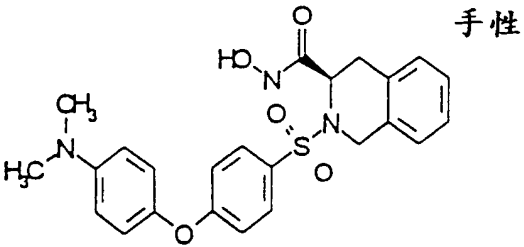
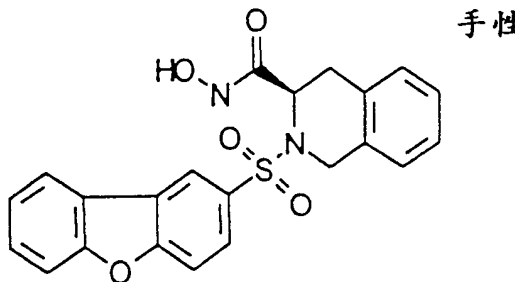
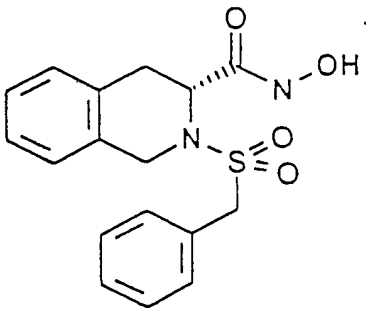
产量: 16.1 克 (理论值的 78 %), 熔点: 168 - 169 ℃。

表 1: 通式 I 的异羟肟酸

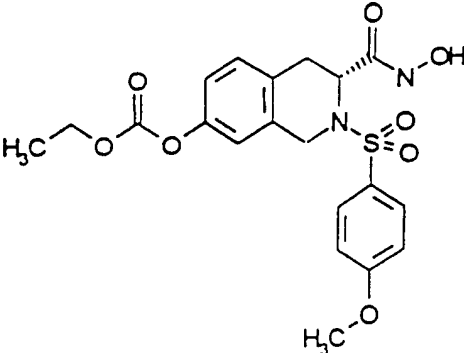
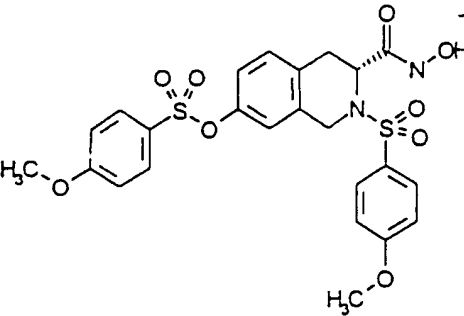
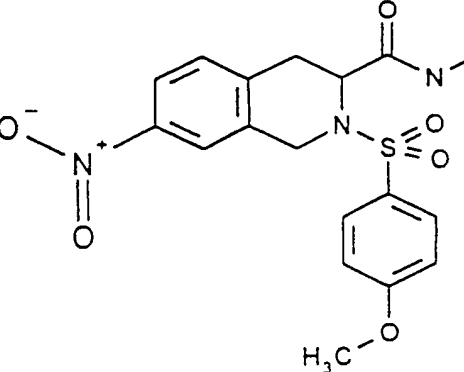
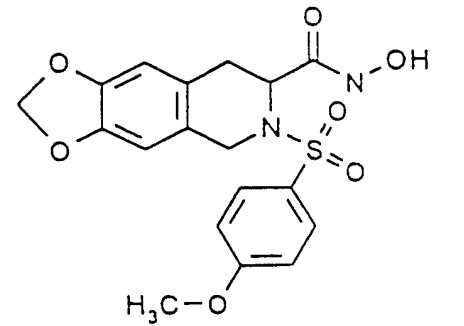
实施例号	结构	熔点 (°C)	溶剂	¹ H-NMR
1			DMSO-d6	2,7-3,1 (m, 2 H) 4-4,7 (2 m, 2 H) 7-7,8 (3 m, 9 H) 9,5; 10,6 (2 s, br, 2 H)
2		手性 94 分解	CDCl3	2,65-2,8 (m, 1H) ; 3,1-3,25 (m, 1H); 4,35-4,75 (m, 3H); 6,9-7,2 (m, 4H); 7,3-7,65 (m, 7H); 7,8 (d,2H)
3			DMSO-d6	2,9 (m,2H); 4,5 (t, 1H); 4,6(m,2H); 7,0-7,9(m12H); 9,9(s,1H);10,8 (s,1H)
4			DMSO-d6	2,1 (s, 3 H) 2,8-3,5 (2 m, 2 H), 4,3-4,6 (m, 3 H) 7,1; 7,7 (2 m, 8 H) 8,65; 8,85; 10,3; 10,8 (4 s, 2 h)

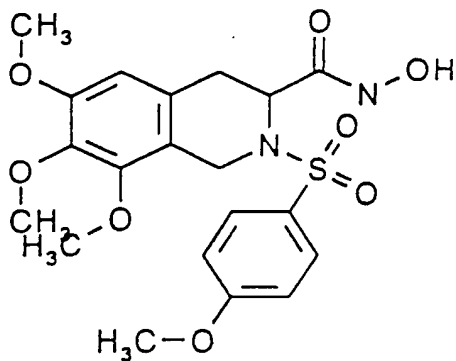
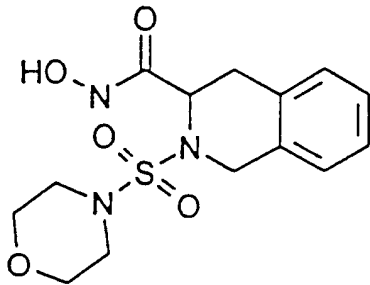
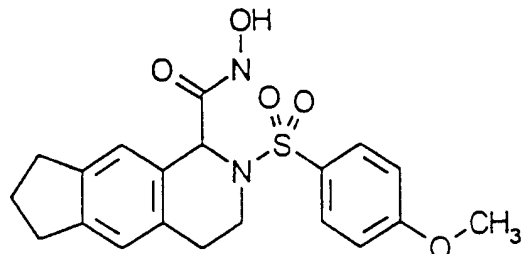
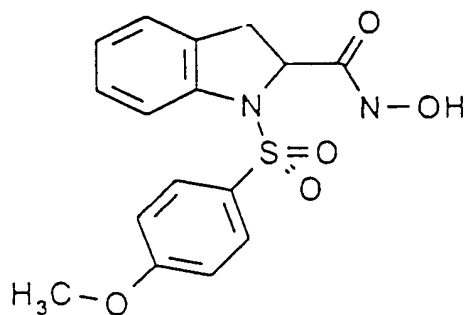
实施例号	结构	熔点 (°C)	溶剂	¹ H-NMR
5			DMSO-d6	1,2 (t, 3 H) 2,85 (m, br, 2 H) 4,15 (q, 2 H) 4,4-4,7 (m, 3 H) 7,1 (m, br, 4 H) 7,4 (m, 2 H) 7,6 (m, 2 H) 8; 9,9; 10,7 (3 s, 3 H)
6			DMSO-d6	1,2 (t, 3 H) 2,8 (m, br, 2 H) 4,15 (q, 2 H) 4,3-4,6 (m, 3 H) 7,1 (m, br, 4 H) 7,55; 7,7 (2 d, 4 H) 8,7; 9,5 (2 s, 3 H)
7			DMSO-d6	2 (s, 3 H) 2,9 (m, 2 H) 4,4-4,6 (2 m, 3 H) 7,1; 7,5; 7,9; 8,3 (4 m, 14 H)
8			DMSO-d6	2,85 (m, 2 H) 3,85 (s, 3 H) 4,4-4,7 (2 m, 3 H) 7,1; 7,4; 7,6; 8 (4 m, 13 H) 8,9; 10,8 (2 s, 2 H)

实施例号	结构	熔点 (°C)	溶剂	¹ H-NMR
9	手性		DMSO-d6	3 (m, 2 H) 4,4-4,8 (m, 3 H) 5,2 (s, 3 H) 7,1-7,5 (2 m, 9 H) 7,55; 7,8 (2 d, 4 H) 8,8; 10,7 (2 s, 2 H)
10	手性	175 分解	DMSO-d6	2,7-3,0(m,2H); 3,25(m,4H); 3,75(m,4H); 4,45(t,1H); 4,5(M,2H); 6,9-7,65(m,8H)
11	手性		DMSO-d6	2,7-3,1 (m, 2 H) 4,5-4,8 (m, 3 H) 6,8-7,2 (m, 4 H) 7,7 (m, 3 H) 7,9-8,2 (m, 3 H) 8,5 (s, 1 H)
12	手性		DMSO-d6	2,8 (s, 6 H) 2,95 (d, br, 2 H) 4,4-4,8 m, 3 H) 7,1 (m, 4 H) 7,25 (d, 1 H) 7,6 (dd, 2 H) 8,2 ("t", 2 H) 8,5 (d, 1 H) 8,9; 10,7 (2 s, 2 H)

实施例号	结构	熔点 (°C)	溶剂	¹ H-NMR
13c		170 分解	DMSO-d ₆	2,9(d,2H); 4,4(m,2H); 4,55(d,1H); 6,9-7,85(m,13H); 8,9(s,1H); 10,75(s,1H);
14			DMSO-d ₆	2,9(m,2H); 3,64(s6H); 4,38(t,1H); 4,5(m,2H); 6,75-7,75(m,12H);
15			DMSO-d ₆	2,85(m,2H); 4,45(t,1H); 4,63(m,2H); 6,9-8,7(m,11H); 9,9(s,1H); 10,8(s,1H);
16			DMSO-d ₆	2,9-3,1 (m, 2 H) 3,9-4,6 (2 m, 5 H) 7,15 (m, 4 H) 7,3 (m, 5 H) 8,85; 10,6 (2 s, 2 H)

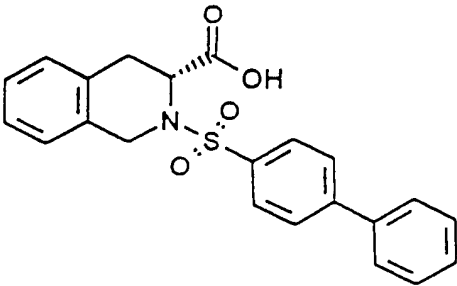
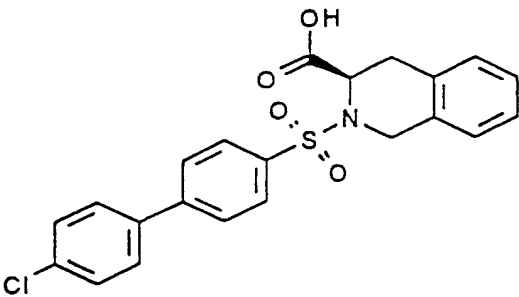
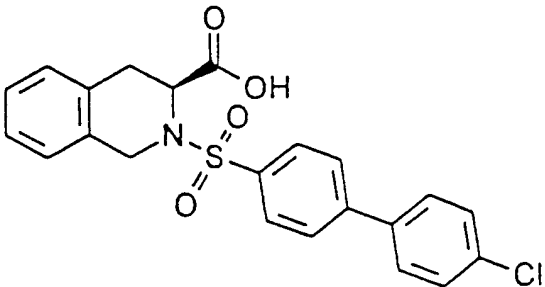
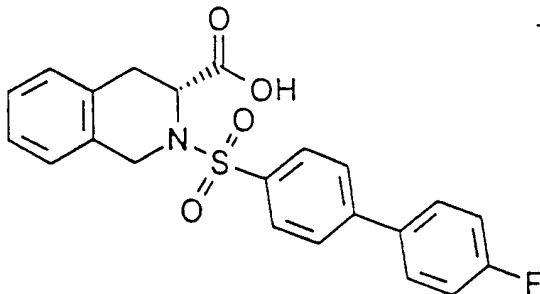
实施 例号	结构	熔点 (°C)	溶剂	¹ H-NMR
17			DMSO-d6	2,8-3,6 (m, 6 H) 4,5-4,7 (m, 3 H) 7,1-7,4 (m, 9 H) 8,7; 8,9; 9,5; 10,7 (4 s, 2 H)
18			DMSO-d6	2,95(m,2H); 4,5(t,1H); 4,62(m2H); 7,0-8,05(m,13H);
19			DMSO-d6	2,85(m,2H); 4,4(M,1H); 4,53(m,2H); 6,95-7,8(M;13H);
20			DMSO-d6	2,8 (m, 2 H) 3,8 (s, 3 H) 4,35-4,6 (m, 3 H) 6,9-7,2; 7,6-7,8 (2 m, 7 H) 8,9; 10,8 (2 s, 2 H)

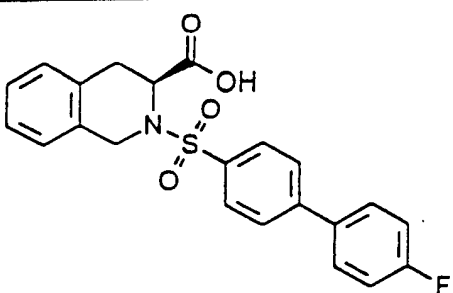
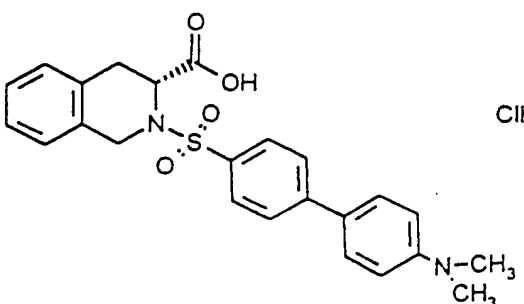
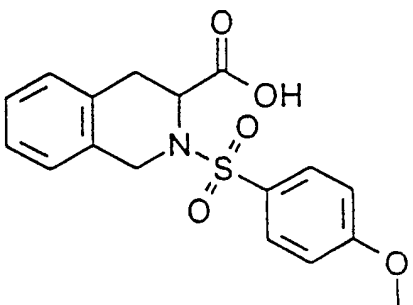
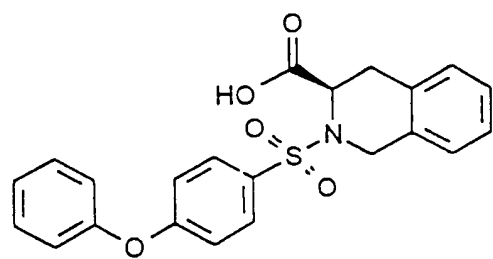
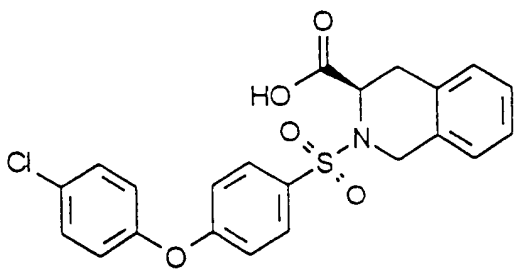
实施例号	结构	熔点 (°C)	溶剂	¹ H-NMR
21	 手性		DMSO-d ₆	1,3 (t, 3 H) 2,85 (m, 2 H) 3,8 (s, 3 H) 4,0-4,6 (m, 5 H) 6,9-7,1; 7,6-7,8 (2 m, 7 H) 8,8; 10,8 (2 s, 2 H)
22	 手性		DMSO-d ₆	2,8 (m, 2 H) 3,8 (s, 3 H) 3,9 (s, 3 H) 4,35-4,6 (m, 3 H) 6,9-7,2; 7,6-7,8 (2 m, 11 H) 8,9; 10,9 (2 s, 2 H)
23			DMSO-d ₅	3,0 (m, 2 H) 3,8 (s, 3 H) 4,4-4,8 (m, 3 H) 6,95; 7,7 (2 d, 4 H) 7,4 (d, 1 H) 7,95 (dd, 1 H) 8,05 (d, 1 H) 8,95; 10,8 (2 s, 2 H)
24		166	DMSO-d ₅	2,7 (m, 2 H) 3,8 (s, 3 H) 4,2-4,5 (m, 3 H) 5,9; 6,7; 7,0; 7,7 (4 d, 6 H) 8,85; 10,7 (2 s, 2 H)

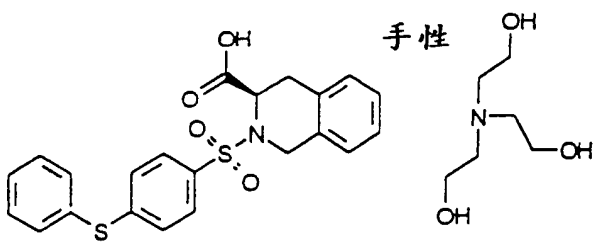
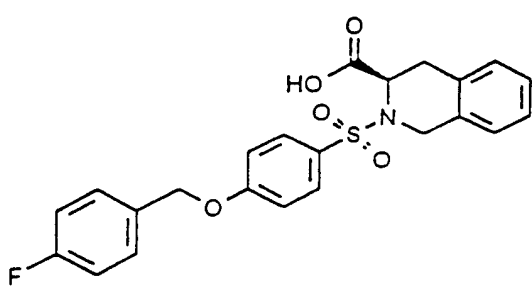
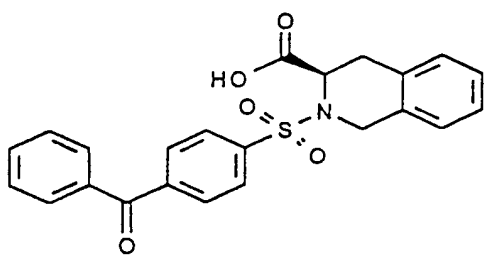
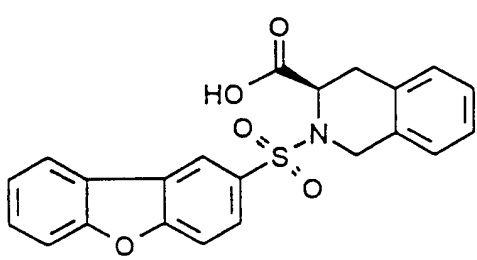
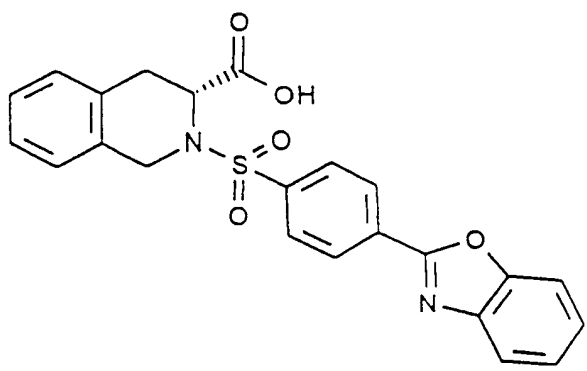
实施例号	结构	熔点 (°C)	溶剂	¹ H-NMR
25			DMSO-d6	2,8 (m, 2 H) 3,65-3,85 (4 s, 12 H) 4,3-4,5 (m, 3 H) 6,5 (s, 1 H) 7,0; 7,7 (2 d, 4 H) 8,8; 10,7 (2 s, 2 H)
26		165	DMSO-d6	2,9-3,35(m,6H); 3,45-3,65(m,4H); 4,38(m,1H);4,5; 4,65(AB,2H); 7,2 (s,4H); 8,9(s,1H); 10,65(s,1H)
27			DMSO-d6	1,95 (m, 2 H); 2,5- 2,95 m, 7 H); 3,4 (m,1H); 3,8 (s,3 H); 3,8-4,1(m, 1 H); 6,9- 7,1(m, 4H);7,7 (d, 2 H); 9,0-11,1 (2 s, 2 H);
28		142	DMSO-d6	2,8-3,2 (m, 2 H) 3,8 (s, 3 H) 4,6 (dd, 1 H) 7,0-7,8 (3 m, 8 H) 9,1; 10,9 (2 s, 2 H)

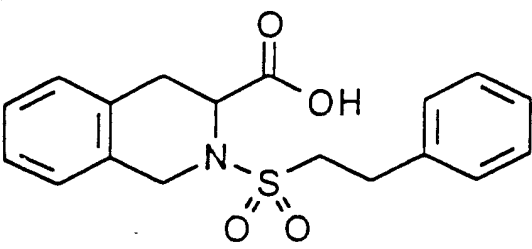
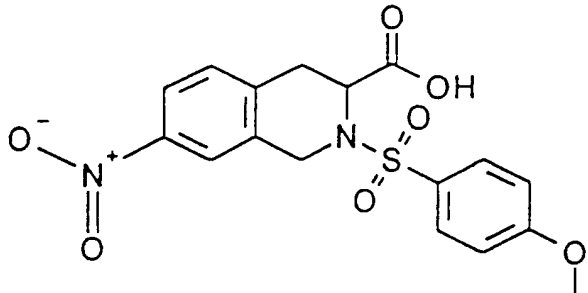
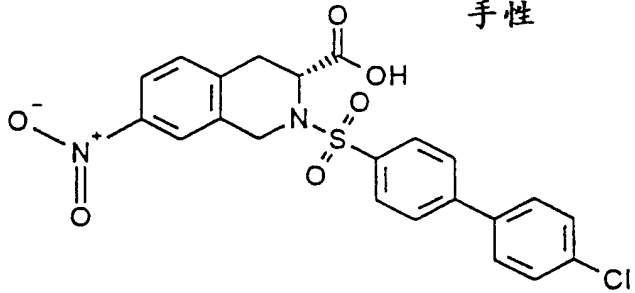
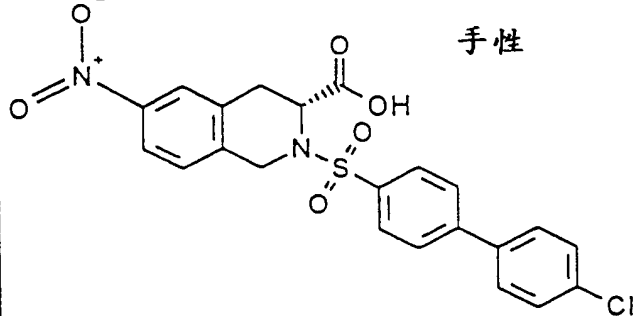
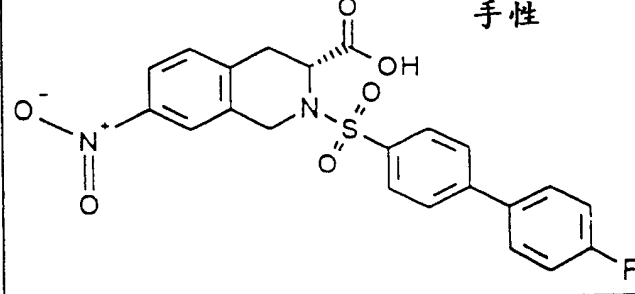
对于国际阶段不予以考虑（原文如此）

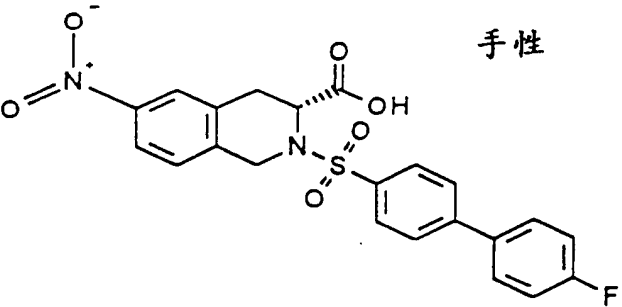
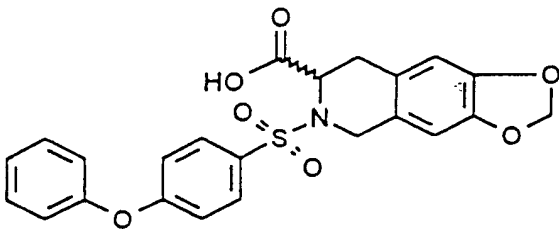
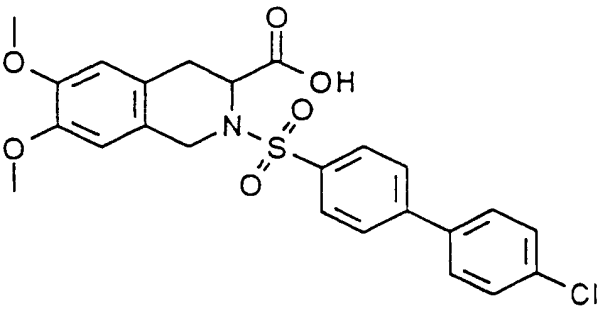
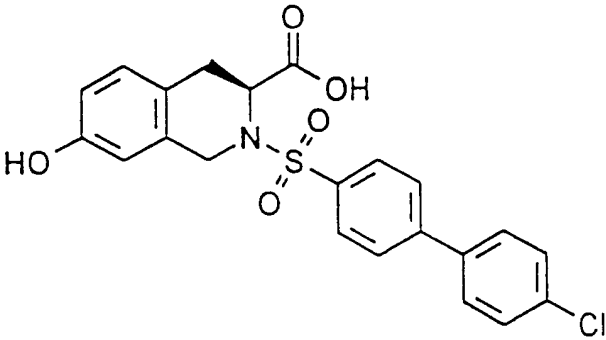
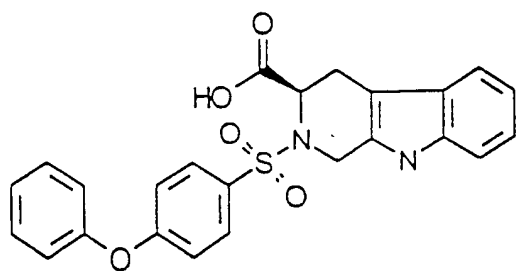
表 2: 通式 I 的羧酸

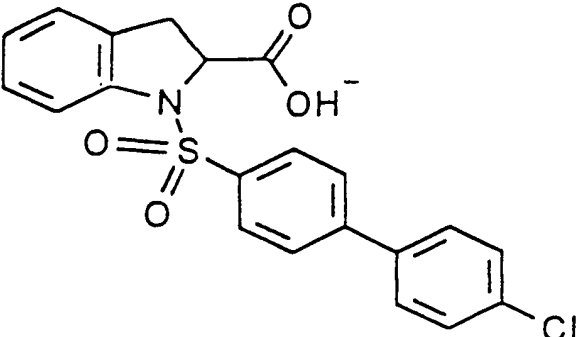
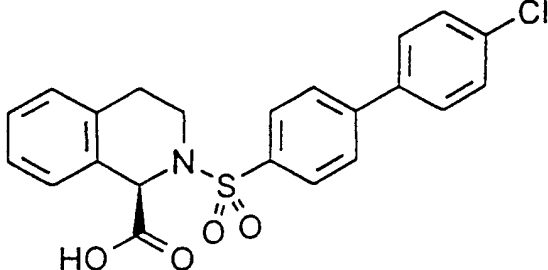
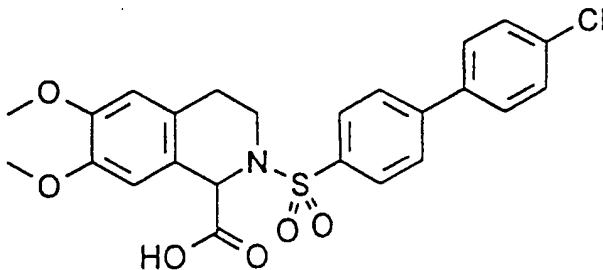
实施例号	结构	熔点 (°C)	¹ HMR
34	手性 	205	(in CDCl ₃): 3,0-3,25 (m, 2H); 4,48 (d, 1H); 4,65 (d, 1H); 4,9-5,0 (m, 1H); 6,97-7,18 (m, 4H); 7,38-7,7 (m, 7H); 7,85 (d, 2H)
35	手性 	207-209	(in DMSO-d ₆): 3,05-3,15(m,2H); 4,45-4,7(d,d,2H); 4,9(m,1H); 7,1-8,0 (m,12H); 12,8(s,1H);
36	手性 		3,1 (m, 2 H); 4,6 (m, 2 H); 4,90 (d, 1 H); 7,0-8,0 (2m, 12 H)
37	手性 		3,0-3,2 (m, 2 H); 4,55 (dd, 2 H); 4,90 (d,1H); 7,05-7,25 (m, 4 H); 7,1-8,0 (3 m, 12 H)

实施例号	结构	熔点 (°C)	¹ HMR
38	手性 		3,0-3,2 (m, 2 H); 4,55 (dd, 2 H); 4,90 (d, 1H); 7,05-7,25 (m, 4 H); 7,1-8,0 (3 m, 12 H)
39	手性 ClH 	122-135 无定形	(in MeOH-d4): 3,02-3,36 (m, 2H u. s, 6H); 4,57 (d, 1H); 4,72 (d, 1H); 4,85-5,01 (m, 1H); 7,03-7,19 (m, 4H); 7,54 (d, 2H); 7,7-7,98 (m, 6H)
40			2,9-3,2 (m, 2 H); 3,8 (s, 3 H); 4,3-4,6 (dd, 2 H); 4,8 (m, 1 H); 7,1 (m, 6 H); 7,8 (d, 2 H)
41 13b	手性 	147	(in DMSO-d6): 3,0-3,15(m,2H); 4,4-4,65(d,d,2H); 4,8-4,9 (m, 1H); 7,0-7,9 (m, 13H); 12,9(s, 1H);
42	手性 	167-168	(in DMSO-d6): 3,0-3,15(m2H); 4,4-4,65(m,2H); 4,85 (m, 1H); 7,0-7,9 (m, 12H); 12,9(s, 1H);

实施例号	结构	熔点 (°C)	¹ HMR
43	 手性	油	(in DMSO-d6): 2,4-2,7 (m, 6H) 2,8-3,0(m,2H); 3,3-3,5(m,6H); 4,4-4,6(m,2H); 4,7(m,1H); 7,0-7,9(m,13H)
44	 手性		in DMSO-d6): 2,9-3,2(m,2H); 4,4-4,65 (d,d,2H); 4,85(m,1H); 5,15(s,2H); 7,0-7,9 (m,12H); 12,9(s,1H);
45	 手性	油	(in DMSO-d6): 3,0-3,2 (m,2H); 4,4-4,75(d,d, 2H); 4,9(m,1H); 7,1-8,1(m,13H); 12,9(s,1H);
46	 手性	218-219	(in DMSO-d6): 3,0-3,1(m,2H); 4,45-4,8(d,d,2H); 4,9-5,0(m,1H); 7,0-8,8(m,11H); 12,8(s,1H);
47		211-213 无定形	3,0-3,2 (m, 2H); 4,5 (d, 1H); 4,72 (d, 1H); 4,9-5,05 (m, 1H); 7,05-7,25 (m, 4H); 7,6-7,75 (m, 3H); 7,85-8,05 (m, 2H); 8,2-8,4 (m; 3H); 12,9 (sb, 1H)

实施例号	结构	熔点 (°C)	¹ HMR
48			3,0; 3,2 (2m, 4 H); 3,3-3,6 (m, 2 H); 4,5-4,75 (dd, 2 H); 4,8 ("t", 1 H); 7,1-7,4 (m, 9 H)
49			3,0-3,3 (m, 2 H); 3,8 (s, 3 H); 4,45-4,85 (dd, 2 H); 4,85 (m, 1 H); 7,0; 7,4; 7,8 (3 d, 5 H); 8,0 (dd, 1 H); 8,1 (d, 1 H)
50	手性 		3,3 (m, 2 H); 4,5-4,85 (dd, 2 H); 5,05 (m, 1 H); 7,2-8,1 (mm, 11 H)
51	手性 		3,3 (m, 2 H); 4,5-4,8 (dd, 2 H); 5,05 (dd, 1 H); 7,2-8,0 (4m, 11 H)
52	手性 		3,1-3,4 (m, 2 H); 4,5-5,0 (dd, 2 H); 4,95 (m, 1 H); 7,2-8,1 (2m, 11 H)

实施例号	结构	熔点 (°C)	¹ HMR
53	 手性		3,1-3,4 (m, 2 H); 4,5-4,9 (dd, 2 H); 4,95 (m, 1 H); 7,2-8,15 (2m, 11 H)
54		226- 228	(in DMSO-d6): 2,8- 3,1(m,2H); 4,3-4,5 (d,d,2H); 4,75(m,1H); 5,95(s,2H); 6,7-7,9 (m,11H); 12,9(s,1H);
55			2,9-3,1 (m, 2H); 3,8 (s, 6 H); 4,35 -4,6 (dd, 2H); 4,90 (d, 1H); 6,7; 6,8 (2 s, 2 H); 7,55; 7,80 (2 d, 4H); 7,9 (m, 4 H)
56			2,8-3,1 (m, 2H); 4,3-4,6 (dd, 2H); 4,85 (m, 1H); 6,5 (m, 2 H); 6,95 (d, 1 H); 7,5-8,0 (m, 8 H); 8,5; 8,8 (2s, 1 H);
57	 手性	115	(in DMSO-d6): 3,3- 3,45(m,2H); 4,4-4,65 (m,2H); 5,8-5,9(m,1H); 6,85-7,9 (m,13H); 10,7(s,1H);

实施例号	结构	熔点 (°C)	¹ HMR
58			3,1; 3,4 (2 m, 2 H); 5,05 (m, 1 H); 7,0-8,0 (m, 12 H)
59			2,8-3,0 (m, 2H); 3,5-3,8 (m, 2 H); 4,3 (s, 1 H); 7,1-8,0 (mm, 12 H)
60			2,7-2,9 (m, 2H); 3,4-3,8 (m, 2 H); 3,8 (2 s, 6 H); 5,4 (s, 1 H); 6,7; 6,9 (2 s, 2 H); 7,55; 7,80 (2 d, 4 H); 7,9 (s, 4 H)

药理学实施例

人 stomelysine 和中性白细胞胶原酶催化结构域酶促活性的说明与测定。

按照 Ye 等所述 (生物化学 (Biochemistry) 31 (1992) 11231-5) 制备两种酶。为了测定酶的活性或酶的抑制作用, 将 70 微升缓冲溶液和 10 微升酶溶液与 10 微升浓度为 10 % (v/v) 的二甲基亚砷水溶液一起保温 15 分钟, 后者中任意含有酶抑制剂。加入含有 1 毫摩尔/升底物的 10 微升浓度为 10 % (v/v) 的二甲基亚砷水溶液之后, 通过荧光光谱 (328nm (ex) / 393 nm(em)) 监测酶的反应。酶的活性被描述成吸光度的增加/分钟。测定表 3 中所列出的 IC₅₀ 值, 该值表示导致 50 % 酶抑制的抑制剂浓度。该缓冲溶液含有 0.05 Brij (Sigma, Deisenhofen, 德国) 和 0.1 摩尔/升 tris/HCl、0.1 摩尔/升氯化钠、0.01 摩尔/升氯化钙 (pH=7.5) 以测定直至实施例 33 (包括实施例 33 在内) 的异羟肟酸, 或者为测定自实施例 34 的羧酸、包含 0.1 摩尔/升吡嗪-N, N'-二[2-乙磺酸] pH=6.5。

所述酶溶液含有 5 微克/毫升按照 Ye 等所述方法制备的一种酶结构域。底物溶液含有 1 毫摩尔/升荧光底物 (7-甲氧基香豆素-4-基) 乙酰基-Pro-Leu-Gly-Leu-3-(2', 4'-二硝基苯基)-L-2, 3-二氨基丙酰基-Ala-Arg-NH₂ (Bachem, Heidelberg, 德国))。

表 3

实施例编号	Stromelysine IC 50 [M]	中性白细胞胶原酶 IC 50 [M]
1	$3 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-8}$
2	$2 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-9}$
3	$3 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-9}$
4	$7 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-7}$
5	$6 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-7}$
6	$5 \cdot 10^{-7}$	$3 \cdot 10^{-8}$
8	$3 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-7}$
9	$4 \cdot 10^{-7}$	$8 \cdot 10^{-7}$
10	$3 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-7}$
11	$4 \cdot 10^{-7}$	$7 \cdot 10^{-8}$
12	$4 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-7}$
13c	$2 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-9}$
14	$3 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-9}$
15	$1 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-8}$
17	$1 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-8}$
18	$3 \cdot 10^{-8}$	$3 \cdot 10^{-9}$
19	$2 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-7}$
20	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-9}$
21	$2 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-9}$
22	$3 \cdot 10^{-8}$	$8 \cdot 10^{-9}$
23	$8 \cdot 10^{-8}$	$8 \cdot 10^{-9}$
24	$6 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-8}$
25	$4 \cdot 10^{-7}$	$3 \cdot 10^{-7}$
26	$6 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-7}$
27	$3 \cdot 10^{-8}$	$4 \cdot 10^{-9}$

实施例编号	Stromelysine IC 50 [M]	中性白细胞胶原酶 IC 50 [M]
28	2×10^{-6}	7×10^{-7}
29	2×10^{-8}	4×10^{-9}
31	2×10^{-8}	3×10^{-9}
32	6×10^{-8}	7×10^{-9}
33	3×10^{-7}	7×10^{-8}
34	5×10^{-7}	1×10^{-8}
35	1×10^{-7}	5×10^{-9}
36		3×10^{-6}
39	1×10^{-7}	1×10^{-9}
41(13b)	2×10^{-7}	9×10^{-9}
42	5×10^{-7}	2×10^{-8}
43	2×10^{-6}	2×10^{-7}
44	2×10^{-7}	3×10^{-8}
45	3×10^{-6}	3×10^{-7}
46	3×10^{-6}	3×10^{-7}
50	6×10^{-7}	3×10^{-8}
51	5×10^{-7}	2×10^{-8}
52	1×10^{-6}	4×10^{-8}
53	5×10^{-7}	2×10^{-8}
57	2×10^{-6}	1×10^{-7}

2. 蛋白多糖降解实验

实验原理:

在蛋白多糖降解实验中,测量天然牛聚集蛋白聚糖(Aggregan)(最重要的关节软骨蛋白多糖)的降解程度。用单克隆抗体 5-D-4 测定释放的蛋白多糖片段,该抗体可识别位于聚集蛋白聚糖 G2 结构域羧基末端的硫酸角质素侧链。因此,该实验主要用于测定发生于聚集蛋白聚糖球间结构域的病理学重要降解。

在加入式 I 化合物和 Stromelysine-1 催化结构域形式的酶之后,测定降解后剩余的透明质酸结合的聚集蛋白聚糖的量。测定出的聚集蛋白聚糖越多,酶的残留活性越小。在表 3 中以 IC50 值表示初始酶活性(= 100 % 残留活性)降低一半(= 50 % 残留活性)时式 I 化合物的浓度。

实验方案说明:

在室温,将各含 100 微升透明质酸溶液(25 微克/毫升透明质酸(Sigma)的 PBS 溶液)的 96 孔微滴板(Nunc, Maxisorp)的每孔培养 12 小时。吸滤除去透明质酸溶液,在室温,用各 100 毫升浓度为 5 % 的牛血清白蛋白(BSA)、0.05 % 吐温 20 的 PBS 溶液使各孔中剩余的游离蛋白结合位点饱和 1 小时。然后,在室温,通过用各 100 微升牛鼻蛋白多糖(ICI)(200 微克/毫升,在 1 × PBS 中,5 毫克/毫升 BSA,0.05 % 吐温 20)培养各孔 1 小时,用蛋白多糖涂覆各孔。每孔用 1 × PBS、0.1 % 吐温 20 洗涤两次以除去游离的蛋白多糖。然后为了进行分析,将加有相应浓度实验用抑制剂的、在 100 微升降解缓冲液(Verdaupuffer)(100mM MES pH 6.0, 100mM 氯化钠,10mM 氯化钙,0.05 % Brij)中的 60 ng 纯化的 Stromelysine-1 催化结构域(重组表达和纯化,参见 Ye 等(1992))移入每孔中,并在室温培养 3 小时。用 1 × PBS、0.1 % 吐温 20 洗涤每孔两次,然后将孔用 100 微升检测抗体溶液(单克隆抗体克隆 5-D-4 (ICI),能与蛋白多糖的硫酸角质素侧链免疫反应,在 1 × PBS、5 毫克/毫升 BSA、0.05 % 吐温 20 中稀释 1:1000)培养。每孔用 1 × PBS、0.1 % 吐温 20 洗涤两次,然后在

室温，用每孔 100 微升检测用抗体溶液（山羊抗鼠 IgG，用过氧化酶标记(Dianova)，在 $1 \times \text{PBS}$ 、5 毫克/毫升 BSA、0.05 % 吐温 20 中稀释 1:1000）进行结合检测抗体的免疫反应 1 小时。如上所述再洗涤每孔两次，然后用各 100 微升 2 毫克/毫升 ABTS 开始颜色反应，用双氧水活化。在 ELISA 读数器中，在 405nm 波长处对反应产物进行测量。结果示于表 4 中。

表 4

实施例编号	蛋白多糖降解
	IC50 [M]
2	$8,5 \cdot 10^{-8}$
9	$1,6 \cdot 10^{-6}$
13c	$5,1 \cdot 10^{-8}$
14	$6,7 \cdot 10^{-9}$
18	$4,1 \cdot 10^{-8}$
20	$1,3 \cdot 10^{-7}$
21	$6,5 \cdot 10^{-8}$
29	$2,5 \cdot 10^{-8}$