

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D309/14

C07D405/12 A61K 31/35

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99804956.5

[43] 公开日 2001 年 5 月 23 日

[11] 公开号 CN 1296481A

[22] 申请日 1999.3.24 [21] 申请号 99804956.5

[30] 优先权

[32] 1998.4.10 [33] US [31] 60/081,364

[86] 国际申请 PCT/IB99/00505 1999.3.24

[87] 国际公布 WO99/52889 英 1999.10.21

[85] 进入国家阶段日期 2000.10.10

[71] 申请人 辉瑞产品公司

地址 美国康涅狄格州

[72] 发明人 劳伦斯·A·赖特

[74] 专利代理机构 柳沈知识产权律师事务所

代理人 黄益芬

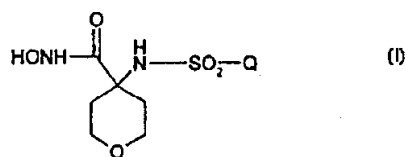
权利要求书 3 页 说明书 27 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 (4-芳基磺酰氨基)-四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺

[57] 摘要

式(I)化合物中,Q如说明书所定义的,该化合物用于治疗选自下组的疾病:关节炎(包括骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠疾病、克罗恩氏病、肺气肿、急性呼吸窘迫综合征、哮喘、慢性阻塞性肺部疾病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶痛质、变态反应、变应性接触过敏、癌症、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松、人造植入关节松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化性血小板破裂)、主动脉瘤(包括腹部主动脉瘤和脑主动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、中风、脑缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性疾病(急性和慢性)、自体免疫病症、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、脑淀粉样血管病、亲精神性或认识加强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼部血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常的伤口愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤发病、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、败血症和脓毒性休克。另外,本发明化合物可以与标准的非甾体抗炎药(NSAID)和止痛剂用在组合

疗法中。还可以与细胞毒性药物组合用于癌症的治疗,该细胞毒性药物例如阿霉素、柔红霉素、顺铂、依托泊甙、紫杉酚、taxotere 和其它生物碱例如长春新碱。

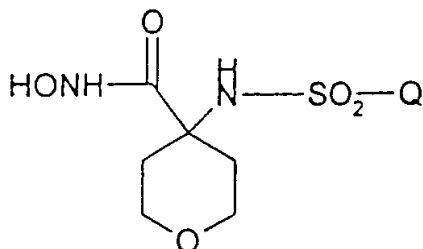


ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1、下式化合物

5



或其药学上可接受的盐，其中

- 10 Q是(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基或(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₂-C₉)杂芳基；

- 其中所述(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基或(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₂-C₉)杂芳基的各(C₆-C₁₀)芳

基或(C₂-C₉)杂芳基部分可选地在任意能够另外成键的环碳原子上被一个或多个取代基取代，每个环上的取代基独立地选自氟、氯、溴、(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷氧基、全氟代(C₁-C₃)烷基、全氟代(C₁-C₃)烷氧基和(C₆-C₁₀)芳氧基；

5 或其药学上可接受的盐。

2、根据权利要求1的化合物，其中Q是可选被取代的(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基或(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基。

3、根据权利要求1的化合物，其中Q是可被取代或不取代的(C₆-C₁₀)芳氧基(C₆-C₁₀)芳基。

4、根据权利要求3的化合物，其中所述(C₆-C₁₀)芳氧基(C₆-C₁₀)芳基的(C₆-C₁₀)芳氧基的环可在环的4-位被单取代或不取代。

5、根据权利要求1的化合物，其中所述化合物选自下组：

4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺；

4-[4-(4-氯苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺；

4-[4-(苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺；

4-[4-(4-吡啶氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺；

4-[4-(4-氟苯基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺；

4-[4-(4-氟苯基甲氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺；

4-[4-(苯基甲氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺；和

4-[4-(4-氟苯基乙氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺。

6、药物组合物，用于治疗包括人在内的哺乳动物的选自下组的症状：关节炎(包括骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠疾病、克罗恩氏病、肺气肿、急性呼吸窘迫综合征、哮喘、慢性阻塞性肺部疾病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶病质、变态反应、变应性接触过敏、癌症、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松、人造植入关节松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化性血小板破裂)、主动脉瘤(包括腹部主动脉瘤和脑主动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、中

风、脑缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性病症(急性和慢性)、自体免疫病症、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、脑淀粉样血管病、亲精神性或认识加强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼部血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常的伤口愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤发病、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、败血症和脓毒性休克，该药物组合物包含治疗有效量的权利要求1化合物和药学上可接受的载体。

7、治疗包括人在内的哺乳动物的选自下组症状的方法：关节炎(包括骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠疾病、克罗恩氏病、肺气肿、急性呼吸窘迫综合征、哮喘、慢性阻塞性肺部疾病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶病质、变态反应、变应性接触过敏、癌症、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松、人造植入关节松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化性血小板破裂)、主动脉瘤(包括腹部主动脉瘤和脑主动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、中风、脑缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性病症(急性和慢性)、自体免疫病症、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、脑淀粉样血管病、亲精神性或认识加强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼部血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常的伤口愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤发病、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、败血症和脓毒性休克，该方法包括将治疗有效量的权利要求1化合物对所述哺乳动物给药。

8、药物组合物，用于治疗包括人在内的哺乳动物的通过抑制基质金属蛋白酶而加以治疗的症状，该药物组合物包含治疗有效量的权利要求1化合物和药学上可接受的载体。

9、药物组合物，用于治疗包括人在内的哺乳动物的通过抑制哺乳动物瑞普溶素而加以治疗的症状，该药物组合物包含治疗有效量的权利要求1化合物和药学上可接受的载体。

10、用于抑制包括人在内的哺乳动物的基质金属蛋白酶的方法，该方法包括将有效量的权利要求1化合物对所述哺乳动物给药。

11、用于抑制包括人在内的哺乳动物中哺乳动物瑞普溶素的方法，该方法包括将有效量的权利要求1化合物对所述哺乳动物给药。

说明书

(4-芳基磺酰氨基)-四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺

5 发明背景

本发明涉及(4-芳基磺酰氨基)-四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺(hydroxamide)衍生物,还涉及药物组合物 and 治疗方法。

10 本发明的化合物是锌的金属内肽酶抑制剂,尤其是属于基质金属蛋白酶(也称之为 MMP 或 matrixin)和瑞普溶素(reprolysin)(也已知为 adamylsin)亚类金属锌蛋白(metzincin)的那些(Rawlings 等《酶学方法》248, 183-228 (1995)和 Stocker 等《蛋白质科学》4, 823-840 (1995))。

15 MMP 亚类的酶目前含有十七种成分(MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-18, MMP-19, MMP-20)。MMP 在调节细胞外基质蛋白转换中的作用是非常熟知的,本身在正常的生理学过程中也起到重要作用,例如繁殖、发育和分化。另外, MMP 在很多发生异常结缔组织转换的病理性情形中被表达。例如, MMP-13 是具有强大降解 II 型胶原(软骨中的主要胶原)活性的酶,已经证实它在骨关节炎软骨中被过度表达(Mitchell 等《临床研究杂志》97, 761 (1996))。其他 MMP
20 (MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-12)也在骨关节炎软骨中被过度表达,某些或者全部这些 MMP 的抑制预期可减缓或者阻断典型关节疾病中软骨的加速丢失,例如骨关节炎或类风湿性关节炎。

25 哺乳动物瑞普溶素是已知的 ADAM(一种解整蛋白和金属蛋白酶)(Wolfberg 等《细胞生物学杂志》131, 275-278 (1995)),除了金属蛋白酶样功能域以外还含有解整蛋白(disintegrin)功能域。迄今已经鉴别了二十三种不同的 ADAM。

ADAM-17 也已知为肿瘤坏死因子- α 转化酶(TACE),它是人们最所周知的 ADAM。ADAM-17 (TACE)负责结合肿瘤坏死 α -因子的细胞(TNF- α , 也已知为恶液质素)的裂解。TNF- α 被确认参与很多感染性和
30 自体免疫性疾病(W. Friers 《欧洲生化学会联合会通讯》285, 199 (1991))。而且, TNF- α 已经显示是见于败血症和脓毒性休克的炎症反应

的主要介质(Spooner 等《临床免疫学与免疫病理学》 62, S11 (1992))。TNF- α 有两种形式，一是相对分子量为 26000 (26kD)的 II 型膜蛋白，一是通过特异性蛋白分解的裂解作用从结合蛋白的细胞生成的可溶性 17kD 形式。TNF- α 的可溶性 17kD 形式是由细胞释放的，并且与 TNF- α 的有害作用有关。这种形式的 TNF- α 也能够作用于远离合成部位的一些位点。因此，TACE 抑制剂可防止可溶性 TNF- α 的产生，并避免可溶性因子的有害作用。

本发明的选择性化合物是强有力的聚集蛋白聚糖酶抑制剂，它是对软骨聚集蛋白聚糖的降解有重要意义的酶。聚集蛋白聚糖酶据信是一种 ADAM。聚集蛋白聚糖从软骨基质中的丢失是进行性关节疾病的一个重要的因素，例如骨关节炎和类风湿性关节炎，并且抑制聚集蛋白聚糖酶预期可减缓或阻断这些疾病中的软骨丢失。

在病理位置中已有表达的其它 ADAM 包括 ADAM TS-1(Kuno 等《生物化学杂志》 272, 556-562 (1997))和 ADAM 10、12 与 15(Wu 等《生物化学与生物物理学研究通讯》 235, 437-442 (1997))。关于表达，一般认为，ADAM 的生理学的底物和疾病联系提高了这类酶的抑制作用的重要性。

抑制 MMP 和或 ADAM 能得到治疗效果的疾病包括：关节炎(包括骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎症肠疾病、克罗恩氏病、肺气肿、急性呼吸窘迫综合征、哮喘、慢性阻塞性肺部疾病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶病质、变态反应、变应性接触过敏、癌症、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松、人造植入关节松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化性血小板破裂)、主动脉瘤(包括腹部主动脉瘤和脑主动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、中风、脑缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性病症(急性和慢性)、自体免疫病症、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、脑淀粉样血管病、亲精神性或认识加强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼部血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常的伤口愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤发病、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、败血症、脓毒性休克和其他以金属蛋白酶或 ADAM 表达为特征的疾病。

本发明也涉及在哺乳动物、尤其是人的上述疾病治疗中使用本发明

化合物的方法，因此还涉及有用的药物组合物。

不同组合的 MMP 和 ADAM 被认为是表达在不同的病理位置中。对各种疾病可优选各自的 ADAM 和/或 MMP 具有特异选择性的抑制剂。

5 例如，类风湿性关节炎是以过量 TNF 水平和关节基质成分丢失为特征的炎性关节疾病。在这种情况下，抑制 TACE 和聚集蛋白聚糖酶以及 MMP-13 等 MMP 的化合物可能是优选的疗法。相反，在弱炎性关节疾病中，例如骨关节炎，抑制基质降解 MMP-13 等 MMP 而非 TACE 的化合物可能是优选的。

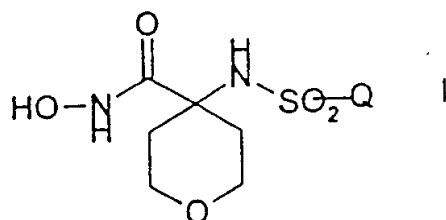
10 本发明人还发现，设计具有不同金属蛋白酶活性的抑制剂是可能的。具体来说，例如，发明人已经能够设计出几种能选择性地抑制基质金属蛋白酶-13 (MMP-13) 而优先于抑制 MMP-1 的分子。

基质金属蛋白酶和瑞普溶素是文献中熟知的。具体来说，1996 年 10 月 24 日公开的 PCT 公报 WO 96/33172 涉及可用作 MMP 抑制剂的环状芳基磺酰氨基异羟肟酸。美国专利 5672615、PCT 公报 WO 15 97/20824、PCT 公报 WO 98/08825、PCT 公报 WO 98/27069 和 1998 年 8 月 13 日公开的发明名称为“芳基磺酰氨基异羟肟酸衍生物”的 PCT 公报 WO 98/34918 都涉及可用作 MMP 抑制剂的环状异羟肟酸。分别于 1996 年 3 月 7 日和 1998 年 2 月 26 日公开的 PCT 公报 WO 96/27583 和 PCT 公报 WO 98/07697 涉及芳基磺酰氨基异羟肟酸。1998 年 1 月 29 日公开 20 的 PCT 公报 WO 98/03516 涉及具有 MMP 活性的膦酸盐(phosphinate)。1998 年 8 月 13 日公开的发明名称为“N-羟基-b-磺酰丙酰胺衍生物”的 PCT 公报 WO 98/34915 涉及可用作 MMP 抑制剂的丙酰羟基酰胺。1998 年 8 月 6 日公开的发明名称为“芳基磺酰氨基异羟肟酸衍生物”的 PCT 公报 WO 98/33768 涉及 N-未取代的芳基磺酰氨基异羟肟酸。1998 年 7 25 月 16 日公开的发明名称为“环状砜衍生物”的 PCT 公报 WO 98/30566 涉及可用作 MMP 抑制剂的环状砜异羟肟酸。1997 年 8 月 8 日提交的美国临时专利申请 60/55208 涉及可用作 MMP 抑制剂的二芳基异羟肟酸。1997 年 8 月 8 日提交的发明名称为“芳氧基芳基磺酰氨基异羟肟酸衍生物”的美国临时专利申请 60/55207 涉及可用作 MMP 抑制剂的芳氧基芳 30 基磺酰氨基异羟肟酸。1997 年 10 月 24 日提交的发明名称为“MMP-13 选择性抑制剂在骨关节炎和其他 MMP 介导的疾病治疗中的用途”的美国

临时专利申请 60/62766 涉及 MMP-13 选择性抑制剂在治疗炎症和其他病症中的用途。1997 年 12 月 19 日提交的美国临时专利申请 60/68261 涉及 MMP 抑制剂在治疗血管生成和其他病症中的用途。上述各公报和申请全文引用在此作为参考文献。

5 发明概述

本发明涉及下式化合物



或其药学上可接受的盐，其中

Q 是(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基或(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₂-C₉)杂芳基；

其中所述(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、

(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基或(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₂-C₉)杂芳基中的各(C₆-C₁₀)芳基或(C₂-C₉)杂芳基部分在任意能够另外成键的环碳原子上被一个或多个取代基取代或不取代，每个环上的取代基独立地选自氟、氯、溴、

5 (C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷氧基、全氟代(C₁-C₃)烷基、全氟代(C₁-C₃)烷氧基和(C₆-C₁₀)芳氧基；

或其药学上可接受的盐。

本文所用的术语“烷基”除非另有指示，包括具有直链、支链或环状部分或其组合的饱和一价烃基。

10 本文所用的术语“烷氧基”包括 O-烷基，其中“烷基”定义同上。

本文所用的术语“芳基”除非另有指示，包括苯基或萘基等芳族烃除去一个氢原子所得到的有机原子团，该芳族烃被 1 至 3 个取代基取代或不取代，取代基选自由氟、氯、溴、全氟代(C₁-C₆)烷基(包括三氟甲基)、(C₁-C₆)烷氧基、(C₆-C₁₀)芳氧基、全氟代(C₁-C₃)烷氧基(包括三氟甲氧基和

15 二氟甲氧基)和(C₁-C₆)烷基组成的组。

本文所用的术语“杂芳基”除非另有指示，包括芳族杂环化合物除去一个氢原子所得到的有机原子团，例如吡啶基、呋喃基、吡咯基、噻吩基、异噻唑基、咪唑基、苯并咪唑基、四唑基、吡嗪基、嘧啶基、喹啉基、异喹啉基、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并噻吩基、吡唑基、

20 吲哚基、异吲哚基、嘌呤基、呋唑基、异噁唑基、噻唑基、噁唑基、苯并噻唑基或苯并噁唑基，并可选地被 1 至 2 个取代基取代，取代基选自由氟、氯、三氟甲基、(C₁-C₆)烷氧基、(C₆-C₁₀)芳氧基、三氟甲氧基、二氟甲氧基和(C₁-C₆)烷基组成的组。优选的杂芳基包括吡啶基、呋喃基、噻吩基、异噻唑基、吡嗪基、嘧啶基、吡唑基、异噁唑基、噻唑基或噁

25 唑基。最优选的包括吡啶基、呋喃基或噻吩基。

优选的式 I 化合物中，Q 是取代或不取代的(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳氧基(C₆-C₁₀)芳基、

30 (C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基或(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₆-C₁₀)芳基。

其他优选的式 I 化合物中, Q 是取代或不取代的(C₆-C₁₀)芳氧基(C₆-C₁₀)芳基。

具体优选的式 I 化合物包括如下:

- 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺;
- 5 4-[4-(4-氯苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺;
- 4-[4-(苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺;
- 4-[4-(4-吡啶氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺;
- 4-[4-(4-氟苯基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺;
- 4-[4-(4-氟苯基甲氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺;
- 10 4-[4-(苯基甲氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺; 和
- 4-[4-(4-氟苯基乙氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺。

本发明也涉及药物组合物, 用于包括人在内的哺乳动物的选自下组症状的治疗: 关节炎(包括骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠疾病、克罗恩氏病、肺气肿、急性呼吸窘迫综合征、哮喘、慢性阻塞性肺部疾

15 病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶病质、变态反应、变应性接触过敏、癌症(例如, 固体肿瘤包括结肠癌、乳腺癌、肺癌和前列腺癌, 以及造血的恶性肿瘤包括白血病和淋巴瘤)、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松、人造植入关节松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化性血小板破裂)、主动脉瘤(包括腹部主动脉瘤和脑主动脉

20 瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、中风、脑缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性病症(急性和慢性)、自体免疫病症、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、脑淀粉样血管病、亲精神性或认识加强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼部血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常的伤口愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤发病、肿瘤生长、

25 肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、败血症、脓毒性休克和其他以哺乳动物瑞普溶素活性为特征的疾病, 该药物组合物包含治疗有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

本发明也涉及药物组合物, 用于抑制哺乳动物(包括人在内的)(a)基质金属蛋白酶或其他参与基质降解的金属蛋白酶, 或(b)哺乳动物瑞普溶素(例如聚集蛋白聚糖酶或 ADAM TS-1、10、12、15 和 17, 最优选为 ADAM-17), 该药物组合物包含有效量的式 I 化合物或其药学上可接

30

受的盐。

本发明也涉及用于治疗包括人在内的哺乳动物的选自下组症状的方法：关节炎(包括骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠疾病、克罗恩氏病、肺气肿、急性呼吸窘迫综合征、哮喘、慢性阻塞性肺部疾病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶病质、变态反应、变应性接触过敏、癌症、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松、人造植入关节松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化性血小板破裂)、主动脉瘤(包括腹部主动脉瘤和脑主动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、中风、脑缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性病症(急性和慢性)、自体免疫病症、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、脑淀粉样血管病、亲精神性或认识加强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼部血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常的伤口愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤发病、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、败血症、脓毒性休克和其他以金属蛋白酶活性为特征的疾病以及其他以哺乳动物瑞普溶素活性为特征的疾病，该方法包括将治疗有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐对所述哺乳动物给药。

本发明也涉及一种方法，用于抑制包括人在内的哺乳动物的(a)基质金属蛋白酶或其他参与基质降解的金属蛋白酶，或(b)哺乳动物瑞普溶素(例如聚集蛋白聚糖酶或 ADAM TS-1、10、12、15 和 17，最优选为 ADAM-17)，该方法包括将有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐对所述哺乳动物给药。

本发明也涵盖含有式 I 化合物前体药物的药物组合物。本发明也涵盖治疗或预防病症的方法，该病症是可以通过基质金属蛋白酶的抑制作用或哺乳动物瑞普溶素的抑制作用治疗或预防的，该方法包括使用式 I 化合物的前体药物。具有游离氨基、酰氨基、羟基或羧基的式 I 化合物可以转化为前体药物。前体药物包括这样的化合物，其中一个氨基酸残基、或者两个或多个(例如两个、三个或四个)氨基酸残基的多肽链通过肽键与式 I 化合物的游离氨基、羟基或羧基共价结合。氨基酸残基包括 20 种天然来源的氨基酸，常用三个字母的符号表示，也包括 4-羟基脯氨酸、羟基赖氨酸、demosine、isodemosine、3-甲基组氨酸、正缬氨酸、β-丙氨酸、γ-氨基丁酸、瓜氨酸、高半胱氨酸、高丝氨酸、鸟氨酸和甲

硫氨酸砒。前体药物也包括这样的化合物，其中碳酸酯、氨基甲酸酯、酰胺和烷基酯通过羰基碳前体药物侧链与上述式 I 的取代基共价键合。

本领域普通技术人员将认识到，本发明的化合物可用于治疗不同系列的疾病。本领域普通技术人员也将认识到，当在具体疾病的治疗中使用本发明的化合物时，本发明化合物可以与各种现有该疾病的治疗剂组合使用。

对类风湿性关节炎的治疗来说，可以与本发明化合物组合使用的有 TNF- α 抑制剂，例如抗 TNF 单克隆抗体与 TNF 受体免疫球蛋白分子(例如 Enbrel®)、小剂量的氨甲蝶呤、lefunimide、羟基氯喹、d-青霉胺、金诺芬或者肠胃外给药或口服的金。

本发明化合物也可以与现有用于骨关节炎治疗的治疗剂组合使用。适用于组合的治疗剂包括标准的非甾体抗炎剂(以下称之为 NSAID)、例如吡罗昔康、双氯芬酸，丙酸类、如萘普生、氟苯布洛芬、非诺洛芬、酮洛芬和布洛芬，芬那酸酯、例如甲芬那酸、吲哚美辛、舒林酸、阿扎丙宗，吡唑酮类、例如保泰松，水杨酸酯类、例如阿司匹林，COX-2 抑制剂、例如 celecoxib 和 rofecoxib，止痛剂和关节内疗法、例如皮质类固醇，和透明质酸类、例如透明蛋白原和 synvisc。

本发明化合物也可以与抗癌剂例如 endostatin 和制管张素，或细胞毒性药物例如阿霉素、柔红霉素、顺铂、依托泊甙、紫杉酚、taxotere 和生物碱例如长春新碱，和抗代谢药例如氨甲蝶呤组合使用。

本发明化合物也可以与心血管剂组合使用，例如钙通道阻滞剂，降脂剂、例如抑制素、fibrate， β -阻滞剂，Ace 抑制剂，血管紧张素-2 受体拮抗剂和血小板聚集抑制剂。

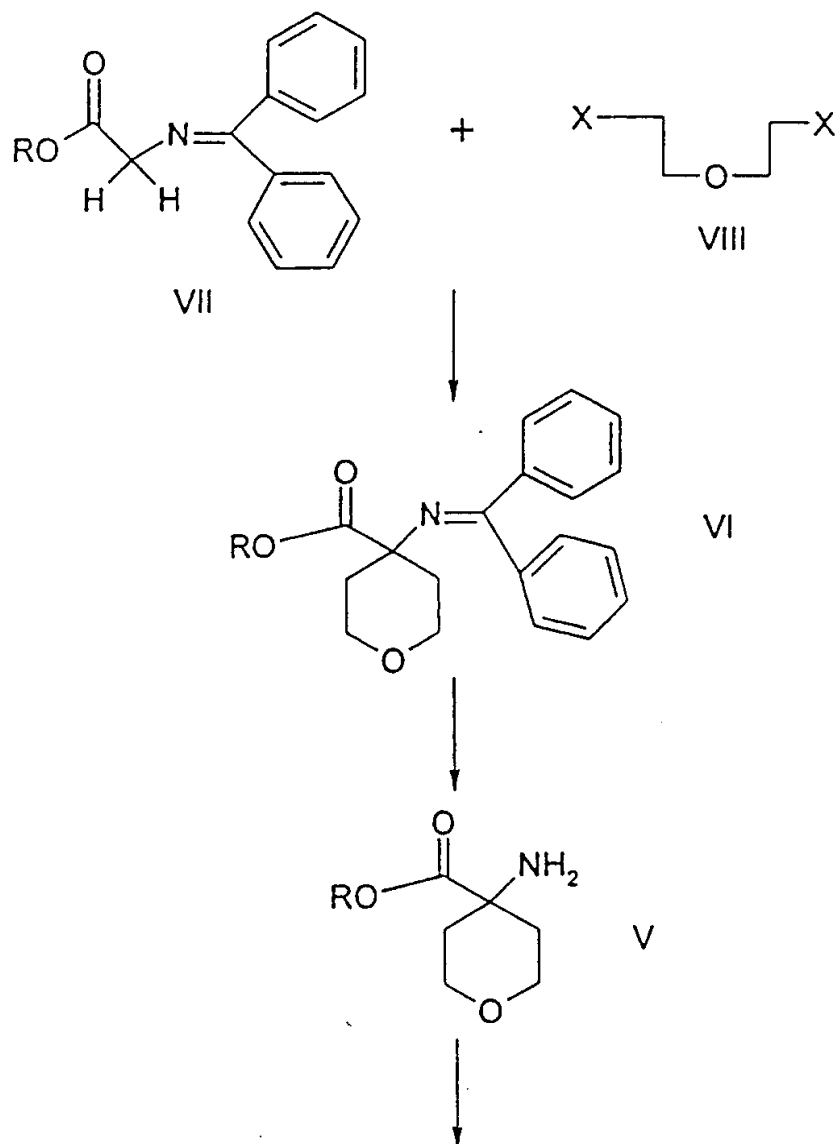
本发明化合物也可以与 CNS 剂组合使用，例如抗抑郁剂(例如舍曲林)，抗帕金森氏病药(例如苧甲炔胺、L-多巴、requip、miratex，MAOB 抑制剂、例如司来吉兰和雷沙吉兰，comP 抑制剂、例如 Tasmar，A-2 抑制剂，多巴胺再摄取抑制剂，NMDA 拮抗剂，烟碱激动剂，多巴胺激动剂和神经元一氧化氮合成酶抑制剂)，和抗阿耳茨海默氏病药、例如 Aricept、他克林、COX-2 抑制剂、丙戊茶碱或美曲膦酯。

本发明化合物也可以与骨质疏松剂组合使用，例如屈洛昔芬或 fosomax，和免疫抑制剂、例如 FK-506 和雷帕霉素。

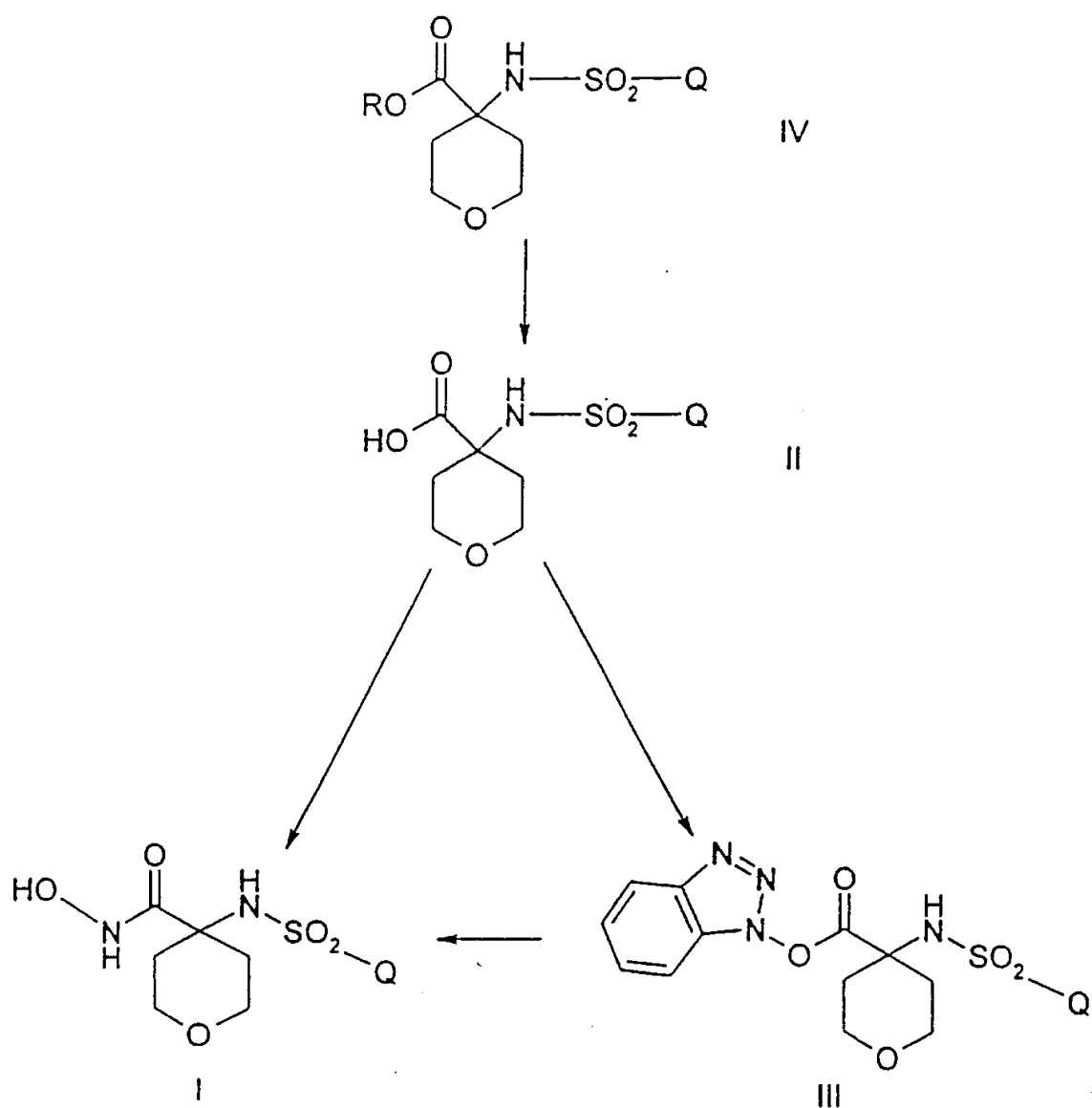
发明的详细说明

下列反应流程阐述本发明化合物的制备。除非另有指示，反应流程及其后面的讨论中的 Q 定义同上。

反应流程 1



反应流程 1 (续)



流程 1 涉及式 I 化合物的制备。

按照流程 1, 式 I 化合物是从式 II 的羧酸制备的, 在一种极性溶剂、例如 N,N-二甲基甲酰胺中, 将其用 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺和 1-羟基苯并三唑处理, 然后在约 15 分钟至约 1 小时、优选约 30 分钟
5 后, 向反应混合物中加入羟胺。羟胺优选是在一种碱例如三乙胺的存在下, 从盐的形式例如盐酸羟胺就地生成的。

或者, 式 I 化合物可以通过式 II 化合物与羟胺或其盐的被保护的衍生物的反应加以制备, 其中的羟基被保护为叔丁基、苄基、烯丙基或 2-三甲基甲硅烷基乙基醚。关于羟基保护基团的除去方法, 对苄基保护基
10 团进行水解(5%钨-硫酸钡是优选的催化剂), 对叔丁基保护基团则用一种强酸处理, 例如三氟乙酸。除去烯丙基保护基团的方法可以是在催化性的双(三苯膦)氯化钨(II)的存在下, 用三丁基氢化锡和乙酸处理。2-三甲基甲硅烷基乙基醚可以通过与一种强酸的反应除去, 例如三氟乙酸, 或者通过与一种氟化物源的反应除去, 例如三氟化硼醚合物。

15 II 与羟胺、羟胺的盐、羟胺的被保护的衍生物或羟胺的被保护的衍生物的盐的反应也可以在(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲氨基)磷六氟磷酸酯和三乙胺等一种碱的存在下、在二氯甲烷等一种惰性溶剂中进行。将反应混合物在约 0 °C 至约 50 °C 的温度下、优选在室温下搅拌约 1 小时至约 3 天的时间、优选约 1 天。

20 另一种用于转化式 II 化合物为式 I 化合物的操作是使用二氯甲烷作为溶剂, 在(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲氨基)磷六氟磷酸酯和三乙胺的存在下, 使式 II 化合物与盐酸 O-苄基羟胺反应。随后除去 O-苄基保护基团, 得到式 I 化合物, 方法是在 3 大气压氢、室温下, 使用 5%钨-硫酸钡作为催化剂, 进行氢解反应。优选的溶剂是甲醇。反应时间可以从
25 约 1 小时至约 2 天不等(8 小时是优选的)。

优选用于转化式 II 化合物为式 I 化合物的操作是在催化量的 DMF 的存在下, 使式 II 化合物与草酰氯在二氯甲烷中反应 16 小时。使所得酰氯在 0 °C 下与 N,O-双(三甲基甲硅烷基)羟胺反应, 后者是由盐酸羟胺与氯三甲基硅烷在吡啶中、在 0 °C 至室温下的反应生成的。在 0 °C 至室
30 温下反应几小时后得到式 I 产物, 然后用酸水处理, 以除去所有三甲基甲硅烷基残余。

在某些情况下，优选通过羟胺、羟胺的盐、羟胺的被保护的衍生物或羟胺的被保护的衍生物的盐与式 III 的活化酯的反应得到式 I 化合物。该反应是在一种惰性溶剂中进行的，例如 N,N-二甲基甲酰胺，反应温度从约室温至约 80 °C，优选约 60 °C，反应时间从约 1 小时至约 2 天。如果

5 使用羟胺的被保护的衍生物或羟胺的被保护的衍生物的盐，那么如上所述除去保护基团。式 III 的活化酯衍生物是这样得到的，将式 II 化合物用(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲氨基)磷六氟磷酸酯和三乙胺等一种碱在二氯甲烷等一种惰性溶剂中处理。将反应混合物在约 0 °C 至约 50 °C 的温度下、优选在室温下搅拌约 1 小时至约 3 天的时间、优选约 1 天。

10 式 II 的中间体化合物是通过式 IV 化合物的皂化作用制备的。该反应是在含水乙醇等溶剂中进行的，反应使用过量的一种金属氢氧化物，例如氢氧化钠或氢氧化锂，反应温度从约 20 °C 至约 100 °C (即室温至溶剂的回流温度)，优选约 80 °C。通常将反应混合物在室温下搅拌约 30 分钟至约 1 周的时间，优选约 16 小时。

15 式 IV 化合物的制备是在一种碱的存在下，使式 V 化合物与一种磺酸(QSO₂OH)的反应性官能衍生物反应，例如磺酰氯(QSO₂Cl)。适合的碱包括氢氧化钠、三乙胺或二异丙基乙胺，优选为三乙胺。适合的溶剂包括二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷、四氢呋喃、二噁烷、水或乙腈，优选为 DMF。将反应混合物在约 0 °C 至约 50 °C 的温度下、优选在约 20 °C 至约 25 °C (即室温)下搅拌约 10 分钟至约 2 天的时间、优选约 1 天。

25 式 V 化合物是通过式 VI 化合物的水解作用制备的。具体来说，将式 VI 化合物用含水酸处理，反应优选地在一种不可混合的有机溶剂的存在下进行，例如乙醚、二异丙醚或二氯甲烷。适合的酸包括氢氯酸和硫酸。将反应混合物在约 0 °C 至约 50 °C 的温度下、优选在约 20 °C 至约 25 °C (即室温)下搅拌约 10 分钟至约 2 天的时间、优选约 1 天。

30 式 VI 化合物的制备是在一种碱和一种溶剂的存在下，使式 VII 的氨基酸衍生物与式 VIII 化合物反应，其中 X 是 Cl、Br、I、甲苯磺酸酯或甲磺酸酯。适合的碱包括乙二醇、氯化钠、二异丙基酰胺锂或六甲基二硅叠氮化钠(disilazide)。适合的溶剂包括二甲醚、二甲基甲酰胺、四氢呋喃或二甲基亚砷。将反应混合物在约 -20 °C 至约 25 °C 的温度下、优选在约 0 °C 至约 20 °C (即室温)下搅拌约 10 分钟至约 2 天的时间、优

选约 1 天。

式 VII 和 VIII 化合物可以通过本领域普通技术人员熟知的方法制备。这样的化合物实例包括甲基甘氨酸二苯酮亚胺和乙基甘氨酸二苯酮亚胺。

- 5 本发明的酸性化合物的药学上可接受的盐是与碱所形成的盐，即阳离子盐，例如碱金属与碱土金属盐，如钠、锂、钾、钙、镁的盐，以及铵盐，如铵、三甲铵、二乙铵和三(羟甲基)甲铵盐。

同样，酸加成盐也是可能的，例如无机酸、有机羧酸和有机磺酸，如氢氯酸、甲磺酸、马来酸，只要碱性基团构成结构的一部分，例如吡啶基。

下列体外测定试验显示了式 I 化合物或其药学上可接受的盐(以下也称之为本发明化合物)抑制金属蛋白酶或哺乳动物瑞普溶素的能力、从而证明其治疗以金属蛋白酶为特征或以肿瘤坏死因子的产生为特征的疾病的功效。

15 生物学测定

人胶原酶(MMP-1)的抑制作用

将人重组胶原酶用胰蛋白酶活化。每批胶原酶-1 均对胰蛋白酶的量进行优化，不过典型的反应使用下列比例： 5 μ g 胰蛋白酶每 100 μ g 胶原酶。将胰蛋白酶和胶原酶在室温下培养 10 分钟，然后加入五倍量 (50mg/10mg 胰蛋白酶)大豆胰蛋白酶抑制剂。

在二甲基亚砷中制备抑制剂的储备溶液(10mM)，然后按下列方案稀释：

10mM $\rightarrow$ 120 μ M $\rightarrow$ 12 μ M $\rightarrow$ 1.2 μ M $\rightarrow$ 0.12 μ M

然后加入到 96 孔微量荧光(microfluor)板的适当孔中，每种浓度二十五微升，一式三份。在加入酶和底物后，抑制剂的最终浓度将被稀释为 1:4。在 D7-D12 孔中设置阳性对照(酶，无抑制剂)，在 D1-D6 孔中设置阴性对照(无酶，无抑制剂)。

将胶原酶-1 稀释至 240ng/ml，然后向微量荧光板的适当孔中加入 25 μ l。胶原酶在测定中的最终浓度是 60ng/ml。

30 将底物 (DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH₂) 制成 5mM 二甲基亚砷储备溶液，然后在测定缓冲液中稀释至 20 μ M。向微量

荧光板的每孔中加入 50μl 底物，最终浓度为 10μM，测定开始。

在 0 时间和每隔 20 分钟记录荧光读数(360nm 激发， 460nm 发射)。测定是在室温下进行的，典型的测定时间为 3 小时。

然后将空白和含胶原酶样本的荧光对时间作图(取三次测定数据的平均值)。选择产生良好信号(至少五倍于空白)并且在曲线的直线部分上的时间点(通常在 120 分钟左右)测定 IC_{50} 值。对每种浓度下的各化合物使用零时间作为空白，从 120 分钟数据中减去这些值。将抑制剂浓度数据对 % 对照(抑制剂的荧光度除以单独胶原酶的荧光度 $\times 100$)作图。将信号等于该对照值的 50% 的抑制剂浓度确定为 IC_{50} 。

10 如果所报告的 IC_{50} 小于 0.03mM，那么抑制剂在 0.3mM、0.03mM 和 0.003mM 的浓度下进行测定。

明胶酶(MMP-2)的抑制作用

15 将人重组 72kD 明胶酶(MMP-2，明胶酶 A)用 1mM 乙酸对氨基苯基汞(来自新鲜制备的 100mM 0.2N NaOH 储备溶液)在 4℃ 下轻轻地摇动活化 16 - 18 小时。

将抑制剂的 10mM 二甲基亚砜储备溶液在测定缓冲液(50mM TRIS, pH 7.5, 200mM NaCl, 5mM $CaCl_2$, 20μM $ZnCl_2$, 0.02% BRIJ-35 (vol./vol.)) 中按下列方案继续稀释：

10mM → 120μM → 12μM → 1.2μM → 0.12μM

20 必要时进一步按照相同方案进行稀释。在每项测定中，每种化合物最少使用四种抑制剂浓度。然后加入到黑色 96 孔 U 形底微量荧光板中，每种浓度 25μl，一式三份。由于最终的测定体积是 100μl，抑制剂的最终浓度进一步被 1:4 稀释了(即 30μM → 3μM → 0.3μM → 0.03 μM 等)。空白(无酶，无抑制剂)和阳性酶对照(酶，无抑制剂)也制备一式三份。

25 将活化后的酶在测定缓冲液中稀释至 100ng/ml，向微量板的适当孔中每孔加入 25μl。在测定中最终的酶浓度为 25ng/ml (0.34nM)。

30 将底物(Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂)的 5mM 二甲基亚砜储备溶液在测定缓冲液中稀释至 20μM。加入 50μl 稀释后的底物，所得底物的最终测定浓度为 10μM，测定开始。立即在零时间记录荧光读数(320 激发， 390 发射)，随后在室温下每十五分钟记录读数，测定使用 PerSeptive Biosystems 的细胞荧光多孔板读数器(CytoFluor Multi-Well

Plate Reader), 增益为 90 单位。

将酶和空白的荧光度平均值对时间作图。选择该曲线的直线部分上的早期时间点用于 IC_{50} 测定。从后面的时间点中减去每种稀释比下的各化合物的零时间点, 数据然后表示为酶对照的百分率(抑制剂的荧光度除以阳性酶对照的荧光度 $\times 100$)。将抑制剂浓度数据对酶对照的百分率作图。将 IC_{50} 定义为信号等于阳性酶对照的 50% 的抑制剂浓度。

溶基质素活性(MMP-3)的抑制作用

将人重组溶基质素(MMP-3, 溶基质素-1)用 2mM 乙酸对氨基苯基汞(来自新鲜制备的 100mM 0.2N NaOH 储备溶液)在 37 °C 下活化 20 - 22 小时。

将抑制剂的 10mM 二甲基亚砷储备溶液在测定缓冲液(50mM TRIS, pH 7.5, 150mM NaCl, 10mM $CaCl_2$, 0.05% BRIJ-35 (vol./vol.))中按下列方案络续稀释:

10mM $\rightarrow$ 120 μ M $\rightarrow$ 12 μ M $\rightarrow$ 1.2 μ M $\rightarrow$ 0.12 μ M

必要时进一步按照相同方案进行稀释。在每项测定中, 每种化合物最少使用四种抑制剂浓度。然后加入到黑色 96 孔 U 形底微量荧光板中, 每种浓度 25 μ l, 一式三份。由于最终的测定体积是 100 μ l, 抑制剂的最终浓度进一步被 1:4 稀释了(即 30 μ M $\rightarrow$ 3 μ M $\rightarrow$ 0.3 μ M $\rightarrow$ 0.03 μ M 等)。空白(无酶, 无抑制剂)和阳性酶对照(酶, 无抑制剂)也制备一式三份。

将活化后的酶在测定缓冲液中稀释至 200ng/ml, 向微量反应板的适当孔中加入 25 μ l 每孔。在测定中最终的酶浓度为 50ng/ml (0.875nM)。

将底物(Mca-Arg-Pro-Lys-Pro-Val-Glu-Nva-Trp-Arg-Lys(Dnp)-NH₂)的 10mM 二甲基亚砷储备溶液在测定缓冲液中稀释至 6 μ M。加入 50 μ l 稀释后的底物, 所得底物的最终测定浓度为 3 μ M, 测定开始。立即在零时间记录荧光读数(320 激发, 390 发射), 随后在室温下每十五分钟记录读数, 测定使用 PerSeptive Biosystems 的细胞荧光多孔板读数器, 增益为 90 单位。

将酶和空白的荧光度平均值对时间作图。选择该曲线的直线部分上的早期时间点用于 IC_{50} 测定。从后面的时间点中减去每种稀释比下的各化合物的零时间点, 数据然后表示为酶对照的百分率(抑制剂的荧光度除以阳性酶对照的荧光度 $\times 100$)。将抑制剂浓度数据对酶对照的百分率作

图。将 IC_{50} 定义为信号等于阳性酶对照的 50% 的抑制剂浓度。

MMP-13 的抑制作用

将人重组 MMP-13 用 2mM APMA(乙酸对氨基苯基汞)在 37 °C 下活化 2.0 小时, 在测定缓冲液(50mM Tris, pH 7.5, 200mM 氯化钠, 5mM 氯化钙, 20mM 氯化锌, 0.02% brij 35)中稀释至 240ng/ml。将稀释后的酶加入 5 到 96 孔微量荧光板中, 每孔二十五微升。然后在测定中, 加入抑制剂和底物, 使酶以 1:4 被稀释, 得到测定中的最终浓度微 60ng/ml。

在二甲基亚砷中制备抑制剂的储备溶液(10mM), 然后在测定缓冲液中按照人胶原酶-1 (MMP-1)的抑制作用中的抑制剂稀释方案进行稀释。10 加入到微量荧光板中, 每种浓度二十五微升, 一式三份。测定中的最终浓度为 30mM、 3mM、 0.3mM 和 0.03mM。

根据人胶原酶-1 (MMP-1)的抑制作用制备底物(DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH₂), 向每孔中加入 50μl, 得到最终测定浓度为 10μM。在 0 时间和每 5 分钟记录荧光读数(360nm 激发, 450nm 15 发射), 持续 1 小时。

如 MMP-1 测定所述, 设置阳性对照和阴性对照, 一式三份。

按照人胶原酶-1 (MMP-1)的抑制作用测定 IC_{50} 。如果所报告的 IC_{50} 小于 0.03mM, 那么抑制剂在 0.3mM、 0.03mM、 0.003mM 和 0.0003 mM 的最终浓度下进行测定。

20 TNF 产生的抑制作用

下列体外测定显示化合物或其药学上可接受的盐抑制 TNF 产生的能力, 从而证明了它们治疗涉及 TNF 产生的疾病的功效:

利用一步 Ficoll 海帕克分离技术, 从抗凝人血液中分离人单核细胞。单核细胞用含有二价阳离子的 Hanks 平衡盐溶液(HBSS)洗涤三次, 25 再在含有 1% BSA 的 HBSS 中悬浮至密度为 2×10^6 /ml。利用 Abbott Cell Dyn 3500 分析仪测定差别数, 结果表明在这些制剂中单核细胞占总细胞数的 17 至 24%。

向平底 96 孔板(Costar)中加入等量的 180μl 细胞悬浮液。加入化合物和 LPS (最终浓度为 100ng/ml), 得到最终体积为 200μl。所有条件重 30 复进行三次。在 37 °C 湿化 CO₂ 恒温箱中恒温四小时后, 除去平底板, 离心(10 分钟, 大约 250 x g), 除去上清液, 利用 R&D ELISA 试剂盒进

行 TNF- α 分析。

可溶性 TNF- α 产生的抑制作用

下列体外测定显示化合物或其药学上可接受的盐抑制细胞 TNF- α 释放的能力，从而证明了它们治疗涉及可溶性 TNF- α 失调的疾病的功
5 效：

重组 TNF- α 转化酶活性的评价方法

重组 TACE 的表达

编码 TACE 的信号序列、前原功能域(preprodomain)、原功能域
(prodomain)和催化功能域的 DNA 片段(氨基酸 1-473)通过聚合酶链反应
10 得以扩增，使用人肺 cDNA 文库作为模板。然后将扩增后的片段克隆到
pFastBac 载体中。确认所插入的两股 DNA 序列。将利用 pFastBac 在大
肠埃希氏杆菌 DH10Bac 中制备的杆粒转染到 SF9 昆虫细胞中。然后将
病毒颗粒扩增到 P1、P2、P3 阶段。使 P3 病毒感染 SF9 和 High Five
昆虫细胞，在 27 °C 下生长 48 小时。收集培养基，用于测定和进一步的
15 纯化。

荧光熄灭底物的制备

准备 TNF- α 底物(LY-亮氨酸丙氨酸谷酰胺丙氨酸缬氨酸精氨酸丝
氨酸-丝氨酸赖氨酸(CTMR)-精氨酸(LY=荧虾黄；CTMR=羧基四甲基-
碱性蒽香红))，用作模型肽，根据 560nm 下的吸光度(E_{560} , 60000 M-1CM-1)
20 估计浓度，其方法按照 Geoghegan KF “用于将未修饰的肽转化为蛋白
酶的能量转移底物的改进方法”《Bioconjugate Chem.》7, 385-391
(1995)。该肽围绕着原 TNF 上的裂解部位，原 TNF 是在体内被 TACE 裂
解的。

重组 TACE 的表达

25 编码 TACE 的信号序列、前原功能域、原功能域和催化功能域的
DNA 片段(氨基酸 1-473)通过聚合酶链反应加以扩增，使用人肺 cDNA
文库作为模板。然后将扩增后的片段克隆到 pFastBac 载体中。确认两股
所插入的 DNA 序列。将利用 pFastBac 在大肠埃希氏杆菌 DH10Bac 中制
备的杆粒转染到 SF9 昆虫细胞中。然后将病毒颗粒扩增到 P1、P2、P3
30 阶段。使 P3 病毒感染 SF9 和 High Five 昆虫细胞，在 27 °C 下生长 48 小
时。收集培养基，用于测定和进一步的纯化。

酶反应

反应在 96 孔板(Dynatech)中进行, 反应物包括 70 μ l 缓冲溶液(25mM Hepes-HCl, pH7.5, 加 20 μ M ZnCl₂)、 10 μ l 100 μ M 荧光熄灭底物、 10 μ l 供试化合物的 DMSO (5%)溶液和一定量的 r-TACE 酶, 其量将在 60 分钟内导致 50%裂解, 总体积为 100 μ l。 HPLC 和质谱法验证了酶裂解丙氨酸与缬氨酸之间的酰胺键这种特异性。通过测量 530nm 下荧光经过 30 分钟的增加速率来监测裂解的最初速率(在 409nm 下激发)。实验作如下对照: 1)底物的背景荧光; 2)完全裂解底物的荧光; 3)含有供试化合物的溶液的荧光熄灭或增加。

10 如下分析数据。不含供试化合物的“对照”反应的速率取平均, 作为 100%。比较在供试化合物的存在下的反应速率与没有化合物存在的反应速率, 制成不含供试化合物的对照百分比的表格。“对照%”对化合物浓度的对数标绘结果, 测定最大值的一半或 IC₅₀ 值。

15 所有本发明化合物的 IC₅₀ 都小于 1 μ M, 优选地小于 50nM。最优选的本发明化合物抗 r-MMP-1 的效力至少比在上述 TACE 测定中低 100 倍。

人单核细胞测定

20 利用一步 Ficoll 海帕克分离技术, 从抗凝人血液中分离人单核细胞。单核细胞用含有二价阳离子的 Hanks 平衡盐溶液(HBSS)洗涤三次, 再在含有 1% BSA 的 HBSS 中悬浮至密度为 2 x 10⁶/ml。利用 Abbott Cell Dyn 3500 分析仪测定差别数, 结果表明在这些制剂中单核细胞占总细胞数的 17 至 24%。

25 向平底 96 孔板(Costar)中加入等量的 180 μ l 细胞悬浮液。加入化合物和 LPS (最终浓度为 100ng/ml), 得到最终体积为 200 μ l。所有条件重复进行三次。在 37 °C 湿化 CO₂ 恒温箱中恒温四小时后, 除去平底板, 离心(10 分钟, 大约 250 x g), 除去上清液, 利用 R&D ELISA 试剂盒进行 TNF- α 分析。

聚集蛋白聚糖酶测定

30 通过连续的胰蛋白酶和胶原酶消化, 从关节软骨分离原生猪软骨细胞, 然后用胶原酶过夜, 加入到含有 5 μ Ci/ml ³⁵S (1000Ci/mmol)的 I 型涂有胶原的 48 孔板中, 每孔 2 x 10⁵ 个细胞。在 37 °C、 5% CO₂ 气氛下,

使标记物结合到细胞的蛋白聚糖基质中(大约 1 周)。

在开始测定的前夜, 软骨细胞单分子层用 DMEM/1% PSF/G 洗涤两次, 然后在新鲜的 DMEM/1% FBS 中恒温过夜。

第二天早上, 软骨细胞用 DMEM/1% PSF/G 洗涤一次。最后一次洗
5 涂是在进行稀释时, 洗涤恒温箱中的板子。

培养基和稀释液可以如下表所述进行制备。

对照培养 基	单用 DMEM(对照培养基)
IL-1 培养 基	DMEM + IL-1 (5ng/ml)
药物稀释 液	制备 10mM 所有化合物的 DMSO 储备溶液。 在 96 孔板中制备 100μM 每种化合物的 DMEM 储备溶液。 在冰箱中贮藏过夜。 第二天在 DMEM 中用 IL-1 连续稀释至 5μM、500nM 和 50nM。 从孔中吸出最后的洗液, 向 48 孔板的适当孔中的 450μl IL-1 培养基中加入 50μl 上述化合物稀释液。 最终的化合物浓度等于 500nM、50nM 和 5nM。 在每块板子上再用对照和单用 IL-1 样本测定, 因此所有样本都是一式三份。

对板子作标记, 仅使用板子的内 24 孔。在一块板子上指定几栏为 IL-1(没有药物)和对照(没有 IL-1, 没有药物)。定期计数这些对照栏, 以监测 ³⁵S-蛋白聚糖的释放。向孔中加入对照和 IL-1 培养基(450 μ l), 然
10 后加入化合物(50 μ l), 开始进行测定。将板子在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 气氛下恒温。

当用液体闪烁计数法(LSC)估计培养基样本达到 40-50%释放时(此时 IL-1 培养基的 CPM 是对照培养基的 4-5 倍), 终止测定(9-12 小时)。从所有孔中除去培养基, 放在闪烁试管内。加入闪烁剂, 获得放射性读
15 数(LSC)。为了固化细胞层, 向每孔中加入 500 μ l 木瓜蛋白酶消化缓冲液 (0.2M Tris, pH7.0, 5mM EDTA, 5mM DTT, 1mg/ml 木瓜蛋白酶)。将含有

消化溶液的板子在 60 °C 下恒温过夜。第二天从板子中除去细胞层，放在闪烁试管内。然后加入闪烁剂，计数样本(LSC)。

测定每孔中释放数占总量的百分比。从每孔中减去对照背景，取三次结果的平均值。化合物抑制百分比是基于 IL-1 样本为 0%抑制的(总量为 100%)。

在对包括人在内的哺乳动物给药、用于抑制基质金属蛋白酶或肿瘤坏死因子(TNF)的产生时，可以使用各种常规途径，包括口服、肠胃外和局部。一般来说，活性化合物口服或肠胃外给药的剂量将是约 0.1 至 25mg/kg 受治疗者体重每天，优选为约 0.3 至 5mg/kg。不过，根据受治疗者的具体情况，剂量的适当增减也是必要的。不论怎样，负责给药的人将决定适合于各受治疗者的剂量。

本发明化合物可以以多种不同的剂型给药，一般来说，本发明的治疗学上有效的化合物在该剂型中所含有的浓度水平是约 5.0 重量%至约 70 重量%。

对口服给药来说，可以使用片剂，其中含有各种赋形剂，例如微晶纤维素、柠檬酸钠、碳酸钙、磷酸二钙和甘氨酸，以及各种崩解剂，例如淀粉(优选为玉米、马铃薯或木薯淀粉)、海藻酸和某些复合硅酸盐，以及颗粒粘合剂，象聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖、明胶和阿拉伯胶。另外，润滑剂对压片来说通常是非常有用的，例如硬脂酸镁、月桂基硫酸钠和滑石。也可以使用相似类型的固体组合物作为胶囊中的填充剂；在这方面优选的物料也包括乳糖或奶糖，以及高分子聚乙二醇。当口服给药需要水悬液和/或酏剂时，可以将活性成分与各种甜味剂或矫味剂、着色剂或染料混合，如果需要的话，还包括乳化剂和/或悬浮剂以及稀释剂，例如水、乙醇、丙二醇、甘油及它们的不同组合。在对动物给药的情况下，将这些组分包含在动物饲料或饮用水中是有利的，浓度为 5-5000ppm，优选为 25 至 500ppm。

对肠胃外给药(肌内、腹膜内、皮下和静脉内用途)来说，通常制备活性成分的无菌注射液。可以使用本发明的治疗化合物在芝麻油或花生油或在含水丙二醇中的溶液。水溶液应当是适宜调节和缓冲的，如果必要的话优选为 pH 大于 8，并且首先赋予液体稀释剂以等渗性。这些水溶液适合于静脉内注射。油溶液适合于动脉内、肌内和皮下注射。所有

这些溶液都是在无菌条件下制备的，按照本领域技术人员熟知的标准药学技术是易于实现这一点的。在对动物给药的情况下，化合物可以肌肉或皮下给药，剂量水平为约 0.1 至 50mg/kg/天，有利的是 0.2 至 10mg/kg/天，分一次给药或最多 3 次给药。

5 对局部的眼部给药来说，可以以滴眼剂、气雾剂、凝胶或软膏的剂型直接施用在病变眼部，或者可以加入到胶原(例如聚-2-羟乙基甲基丙烯酸酯及其共聚物)或亲水性聚合罩中。该物质也可以作为接触透镜用药，或者通过局部药库用药，或者作为结膜下制剂用药。

10 对眼眶内给药来说，通常制备活性成分的无菌注射液。可以使用本发明的治疗化合物在水溶液或悬浮液(粒径小于 10 微米)中的溶液。水溶液应当是适宜调节和缓冲的，如果必要的话优选为 pH 在 5 与 8 之间，并且首先赋予液体稀释剂以等渗性。可以加入少量聚合物，以增加粘度或者用于缓释(例如纤维素类聚合物、葡聚糖、聚乙二醇或海藻酸)。这些溶液适合于眼眶内注射。所有这些溶液都是在无菌条件下制备的，按照本领域技术人员熟知的标准药学技术是易于实现这一点的。在对动物给药的条件下，化合物可以眼眶内给药，剂量水平为约 0.1 至 50mg/kg/天，有利的是 0.2 至 10mg/kg/天，分一次给药或最多 3 次给药。

本发明的活性化合物也可以配制成直肠组合物，例如栓剂或保留灌肠剂，例如含有常规的栓剂基质，如可可脂或其他甘油酯。

20 对鼻内给药或通过吸入法给药来说，本发明的活性化合物适宜通过患者的挤压或抽吸，以溶液或悬浮液的形式从泵式喷雾容器中释放出来，或者利用适当的助推剂，作为气雾剂从压力容器或喷雾器中喷出，助推剂例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他适当的气体。在压力气雾剂的情况下，剂量单位可以由计量释放的阀决定。压力容器或喷雾器可以含有活性化合物的溶液或悬浮液。可以配制用在吸入器或吹入器中的胶囊和药筒(例如由明胶制成)，其中含有本发明化合物与适当的粉末基质的混合物，例如乳糖或淀粉。

25 本发明通过下列制备例和实施例加以阐述，但不限于这些细节。

30 实施例 1

4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]-四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺

(A) 4-[N-(二苯基亚甲基)氨基]四氢吡喃-4-羧酸乙酯

在 0 °C 下, 向氢化钠(6.56g, 0.164mol)在乙二醇二甲醚(150ml)中的悬浮液中通过加液漏斗滴加 N-(二苯基亚甲基)甘氨酸乙酯(20.60g, 0.07398mol)的乙二醇二甲醚(50ml)溶液。然后以 10ml 为一批, 经过大约 5 5 分钟向该乙二醇二甲醚溶液中加入 2-溴乙醚(23.21g, 0.090mol)的乙二醇二甲醚(50ml)溶液。除去冰浴, 反应物在室温下搅拌 16 小时。混合物用二乙醚稀释, 用水洗涤。含水层用二乙醚萃取。合并后的有机萃取液用盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 浓缩, 得到黄色浑浊的油(28.692g)。硅胶色谱法纯化, 先用 4L 5%乙酸乙酯/己烷、再用 4L 10%乙酸乙酯/己烷洗脱, 得到 4-[N-(二苯基亚甲基)氨基]四氢吡喃-4-羧酸乙酯, 为黄色澄清的油(16.114g, 64%)。

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.58 (d, 2H), 7.36 (m, 4H), 7.28 (t, 2H), 7.08 (m, 2H), 3.99 (m, 2H), 3.70 (m, 2H), 3.66 (q, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.99 (m, 2H), 1.08 (t, 3H)。气压化学电离质谱: 338 ($\text{M}^+ + 1$)。

15

(B) 4-氨基四氢吡喃-4-羧酸乙酯

向 4-[N-(二苯基亚甲基)氨基]四氢吡喃-4-羧酸乙酯(16.0g, 0.047mol)的二乙醚(120ml)溶液中加入 1M 氢氯酸水溶液(100ml)。混合物在室温下剧烈搅拌 16 小时。分层, 含水层用二乙醚洗涤。含水层用稀氢氧化铵水溶液调 pH 10, 用二氯甲烷萃取。有机萃取液经硫酸钠干燥, 浓缩, 得到 4-氨基四氢吡喃-4-羧酸乙酯(7.128g, 71.7%), 为一种油。

^1H NMR (CDCl_3) δ 4.15 (q, 2H), 3.82 (m, 2H), 3.62 (m, 2H), 2.07 (m, 2H), 1.60 (s, 2H), 1.44 (m, 2H), 1.24 (t, 3H)。 ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 176.48, 63.70, 61.09, 54.78, 35.05, 14.15。气压化学电离质谱: 210 ($\text{M}^+ + 1$)。

25

(C) 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸乙酯

向 4-氨基四氢吡喃-4-羧酸乙酯(7.00g, 0.0404mol)的 N,N-二甲基甲酰胺(40ml)溶液中加入三乙胺(5.94ml, 0.043mol)。分批加入固体 4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氯(12.165g, 0.0424mol)。所得混合物在室温下搅拌 16 小时, 然后在真空下蒸发除去大部分溶剂。使残余物在饱和碳酸氢钠溶液与二氯甲烷之间分布。含水层用二氯甲烷萃取。合并后的有机层用盐水

30

洗涤，经硫酸钠干燥。在真空下蒸发溶剂，得到粗的 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸乙酯，为琥珀色油(21.05g)。硅胶快速色谱法纯化，先用 25%乙酸乙酯/己烷、再用 50%乙酸乙酯/己烷洗脱，得到 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸乙酯，为不完全白色的晶状固体(12.15g, 71%, mp 116-117 °C)。

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.79 (d, 2H), 7.09 (t, 2H), 7.02 (m, 2H), 6.97 (d, 2H), 5.10 (s, 1H), 4.01 (q, 2H), 3.60 (m, 4H), 2.08 (m, 2H), 1.84 (br d, 2H), 1.23 (t, 3H)。气压化学电离质谱: 424 ($\text{M}^+ + 1$)。

10 (D) 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸

方法 A

将 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸乙酯(12.1g, 0.0286mol)的四氢呋喃(190ml)溶液用 3M 氢氧化钠水溶液(95ml, 0.286mol)处理，在室温下搅拌 4 天。在真空下蒸发溶剂，使残余物在水与二乙醚之间分布。含水层用二乙醚洗涤，用 3N 氢氯酸水溶液酸化至 pH 1，用二氯甲烷萃取。用水洗涤后，有机萃取液经硫酸钠干燥，浓缩，得到 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸 (11.241g, 99%)，为淡黄色固体泡沫。

方法 B

20 将 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸乙酯(34.19g, 0.807mol)的乙醇(330ml)溶液用 3M 氢氧化钠水溶液(330ml, 0.990mol)处理，加热至回流过夜。在真空下蒸发溶剂，使残余物在水与二乙醚之间分布。含水层用二乙醚洗涤，用 3N 氢氯酸水溶液酸化至 pH 1，用乙酸乙酯萃取。用水洗涤后，有机萃取液经硫酸钠干燥，浓缩，得到 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸(31.26g, 98%)，为白色晶状固体。

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.73 (d, 2H), 7.03 (t, 2H), 6.96 (m, 2H), 6.91 (d, 2H), 3.56 (m, 2H), 3.43 (br m, 3H), 2.01 (m, 2H), 1.80 (br d, 2H)。气压化学电离质谱: 394 ($\text{M}^+ - 1$) (-ion)。

30

(E) 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸 N-苄氧基酰胺

按顺序向 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸(11.22g, 0.028mol)的无水 N,N-二甲基甲酰胺(140ml)溶液中加入二异丙基乙胺(3.89g, 0.030mol)和(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲氨基)磷六氟磷酸酯(13.27g, 0.030mol)。所得溶液在室温下搅拌 16 小时。然后加入另外的二
 5 异丙基乙胺(4.0ml, 0.051mol)和盐酸 O-苄基羟胺(5.46g, 0.034mol)，所得混合物在 60 °C 下搅拌 18 小时。在真空下浓缩后，残余物用 0.5N 氢氯酸水溶液处理，用乙酸乙酯萃取。有机萃取液用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤。溶液经硫酸镁干燥，过滤，浓缩至原来体积的四分之一。加入等体积的己烷，沉淀出 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧
 10 酸 N-苄氧基酰胺(11.595g, 81.6%)，为白色晶状固体(mp 175-176 °C)。

¹HNMR (CDCl₃) δ 7.76 (d, 2H), 7.35 (m, 5H), 7.05 (t, 2H), 6.96 (m, 4H), 5.38 (br s, 1H), 4.86 (s, 2H), 3.57 (m, 2H), 3.44 (m, 2H), 2.01 (m, 2H), 1.77 (br d, 2H), 1.54 (br s, 1H)。气压化学电离质谱：501 (M⁺+1)。

15 (F) 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺

方法 A

将 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸 N-苄氧基酰胺(11.28g, 0.0225mol)的乙酸乙酯(600ml)溶液用 5%钡-硫酸钡(5.0g)处理，在 3 大气压 Parr™ 摇动器中氢化 18 小时。通过尼龙(孔径 0.45mm)过滤除
 20 去催化剂，滤垫用甲醇清洗。蒸发合并后的滤液和洗液，将残余物溶于热甲醇。冷却，得到粗的 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺(5.941g, 64%, mp 176-177 °C)，为白色晶状固体。将母液蒸发，使残余物从 50%甲醇/二氯甲烷中结晶，另外得到 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺
 25 酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺(0.660g, mp 184-185 °C)，为白色针状物。将母液再次蒸发，使残余物从甲醇/二氯甲烷中结晶，得到另外的产物(1.861g, mp 176-177 °C)。使第一批产物从甲醇/二氯甲烷中重结晶，得到分析纯的 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟基酰胺(3.091g, mp 184-185 °C)。

方法 B

30 在室温下，向搅拌着的羧酸(33.25g, 0.0841mol)的无水二氯甲烷(300ml)悬浮液中加入草酰氯(11.83g, 0.0932mol, 1.1eq.)和 DMF

(0.13ml)。观察到有一些气泡产生。悬浮液在室温下搅拌过夜，缓慢变为淡黄色溶液。同时，将盐酸羟胺(7.65g, 0.110mol, 1.3eq.)的无水吡啶(51.4ml, 0.635mol, 7.5eq.)溶液在 0 °C 下用氯三甲基硅烷处理，生成白色沉淀。该悬浮液在室温下搅拌过夜。然后将两个烧瓶冷却至 0 °C，向甲

5 硅烷基化的羟胺悬浮液中加入酰氯溶液。所得混合物在 0 °C 下搅拌 1 小时，在室温下搅拌 2 小时。加入 1000ml 含水 2N HCl，在室温下搅拌 1 小时。分层，含水层用乙酸乙酯(500ml)萃取三次。合并后的有机层用水和盐水洗涤，经硫酸镁干燥，过滤，使滤液的体积减少到 300ml，这时沉淀出大量白色晶状固体。将其在冰箱中冷却过夜。真空过滤收集固

10 体，用冷 1:1 乙酸乙酯/己烷清洗，在高真空下干燥，得到 30.311 克所需的异羟肟酸(87.8%)，为白色晶状固体(mp 189-190 °C)。

¹HNMR (CDCl₃) δ 10.35 (br s, 1H), 8.68 (br s, 1H), 7.78 (br s, 1H), 7.74 (d, 2H), 7.26 (t, 2H), 7.16 (m, 2H), 7.04 (d, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.31 (m, 2H), 1.78 (m, 4H). ¹³CNMR (DMSO) δ 169.65, 160.66, 137.50, 129.39,

15 122.34, 122.25, 117.75, 117.44, 117.24, 62.94, 58.45, 33.34。气压化学电离质谱: 409 (M⁺-1) (-ion)。

制备例 A

4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氯

20 在机械搅拌下，向冰冷却的 4-氟苯氧基苯(36.9g, 0.196mol)中滴加氯磺酸(26ml, 0.392mol)。当加入完成后，混合物在室温下搅拌 4 小时。然后将混合物倒入冰水中。过滤收集产物 4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氯(18.6g, 33%)，风干。

制备例 B

4-(3-甲基丁氧基)苯磺酸钠

25 将 4-羟基苯磺酸(10.0g, 43.1mmol)和氢氧化钠(3.3g, 83mmol)的水(40ml)溶液与 1-碘-3-甲基丁烷(11.3ml, 86.4mmol)的异丙醇(60ml)溶液混合，所得混合物加热回流 2 天。在真空下蒸发除去异丙醇。过滤收集标题化合物，10 克(87%)，用异丙醇洗涤。

制备例 C

4-(3-甲基丁氧基)苯磺酰氯

将 4-(3-甲基丁氧基)苯磺酸钠(2.5g, 9.4mmol)、亚硫酸氯(10ml)与 5 滴 N,N-二甲基甲酰胺的混合物加热回流 5 小时。冷却后, 蒸发过量的亚硫酸氯, 将残余物溶于乙酸乙酯。溶液在冰浴中冷却, 加入水。分离有机相, 用水和盐水洗涤。经硫酸钠干燥后, 蒸发溶剂, 得到标题化合物, 5 为一种油, 2.34 克(95%)。

制备例 D

4-(2-环戊基乙氧基)苯磺酸钠

将 4-羟基苯磺酸(6.5g, 28.2mmol)和氢氧化钠(2.2g, 55mmol)的水 (15ml)溶液与 2-(溴甲基)环戊烷(15.0g, 84.7mmol)的异丙醇(40ml)溶液混
10 合, 所得混合物加热回流 2 天。在真空下蒸发除去异丙醇。过滤收集标题化合物, 4.7 克(57%), 用异丙醇洗涤。

制备例 E

4-(3-甲基丁氧基)苯磺酰氯

将 4-(2-环戊基乙氧基)苯磺酸钠(2.5g, 8.6mmol)、亚硫酸氯(15ml)与
15 几滴 N,N-二甲基甲酰胺的混合物加热回流 5 小时。冷却后, 蒸发过量的亚硫酸氯, 将残余物溶于乙酸乙酯。溶液在冰水中冷却, 加入水。分离有机相, 用水和盐水洗涤。经硫酸钠干燥后, 蒸发溶剂, 得到标题化合物, 为一种油, 2.24 克(90%)。

制备例 F

4-氟联苯磺酰氯

向 4-氟联苯(10.2g, 59mmol)中滴加氯磺酸(8.7ml, 0.13mol), 同时在冰浴中搅拌。在冰冷却下继续搅拌 0.5 小时, 然后将反应混合物倒在冰上。过滤收集所得白色沉淀, 溶于氯仿。氯仿溶液用水和盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 浓缩, 得到白色固体。分离所需产物 4-氟联苯磺酰氯(4.3g,
25 27%)与 4-氟联苯磺酸(不需要的副产物), 方法是使后者从乙酸乙酯中结晶, 其余物料从己烷中结晶。

制备例 G

4-(4-氟苄氧基)苯磺酸钠

向 4-羟基苯磺酸(5.13g, 22.1mmol)的 1N 氢氧化钠水溶液(23ml)中加
30 入 4-氟苄基溴(3.3ml, 26.5mmol)的乙醇(20ml)溶液。所得混合物加热回流 2 天。冷却和放置后, 沉淀出白色固体。过滤收集所沉淀出来的产物 4-

(4-氟苄氧基)苯磺酸钠 4.95 克(74%), 用乙酸乙酯和二乙醚洗涤。

制备例 H

4-(4-氟苄氧基)苯磺酰氯

5 向 4-(4-氟苄氧基)苯磺酸钠(0.5g, 1.64mmol)的二氯甲烷(5ml)悬浮液中加入五氯化磷(275mg, 1.31mmol)。所得混合物加热回流 7 小时。在冰浴中冷却并用水(15ml)终止反应后, 混合物用乙酸乙酯萃取。有机相用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥, 浓缩, 得到 4-(4-氟苄氧基)苯磺酰氯, 为白色固体(130mg, 26%)。

制备例 I

10 4-(4-氯苄氧基)苯磺酰氯

在室温和搅拌下, 向 4-氯苄氧基苯(12.6ml, 73.4mmol)中滴加氯磺酸(9.7ml, 0.147mol)。当加入完成后, 混合物在室温下搅拌 1 小时, 然后倒在冰水中。过滤收集固体, 风干, 从石油醚和乙酸乙酯中重结晶, 得到 4-(4-氯苄氧基)苯磺酰氯(7.43g, 33%)。