

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07C323/60

A61K 31/18



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99117519.0

[45] 授权公告日 2004 年 9 月 15 日

[11] 授权公告号 CN 1166632C

[22] 申请日 1999. 8. 10 [21] 申请号 99117519.0

[30] 优先权

[32] 1998. 8. 10 [33] FR [31] 9810237

[71] 专利权人 阿瑟尔实验室

地址 法国库伯瓦

[72] 发明人 S·哈尼斯安 G·阿塔斯

G·图克 D-H·加格那德

P·兰那德

审查员 陈 矛

[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

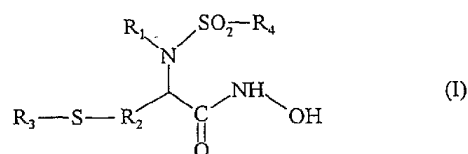
代理人 刘金辉

权利要求书 6 页 说明书 16 页

[54] 发明名称 新的异羟肟酸化合物及其制备方法和含有它们的药物组合物

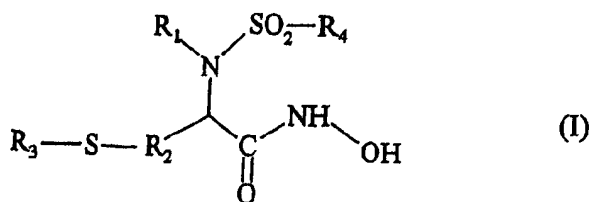
[57] 摘要

式(I)化合物及其异构体和其与可药用酸或碱的加成盐: 其中 R_1 表示可任意取代的烷基、酰基、环烷基、芳基、氨基羰基烷基或杂环基, R_2 表示亚烷基, R_3 表示如说明书定义的 X 或 Y 基团, 在 R_3 表示 Y 基团时, R_4 表示烷基、环烷基、芳基、芳烷基、环烷基烷基或杂环亚烷基或杂环基, 当 R_3 表示 X 或 Y 基团时, R_4 表示联芳基、芳基杂芳基或杂芳基芳基以及药物。



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

1、式(I)化合物及其异构体和其与可药用酸或碱的加成盐：



其中

R_1 表示：

- 直链或支链的 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基，该烷基可任选地被一个或多个相同或不同的取代基取代，所述取代基各自彼此独立地选自羟基、卤素、直链或支链的 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷氧基、巯基、直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷硫基、芳基、直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 酰基和氨基，氨基自身还可任选地被一个或两个相同或不同的直链或支链的 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基、环烷基或芳基取代，
- 环烷基，
- 芳基，
- 氨基羰基- $\text{C}_1\text{--C}_4$ 烷基，氨基部分可任选地被直链或支链的 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基所取代，所述 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基可任选地被一个或多个相同或不同的选自芳基、芳基-直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基、环烷基和直链或支链的 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基氨基羰基的基团所取代，

R_2 表示直链或支链的 $\text{C}_1\text{--C}_4$ 亚烷基，

R_3 表示 X 或 Y 基团，其中

- X 表示直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基；氨基-直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基，该氨基部分自身可任选地被一个或两个相同或不同的直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基取代；羟基-直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基；羧基-直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基；氨基羰基-直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基；巯基-直链或支链 $\text{C}_1\text{--C}_6$ 烷基；环烷基；或芳基，和

● Y表示式 T-U-V-的基团，V部分与硫原子键合，其中：

- T表示芳基或杂环基，该杂环基可任选地被一个或多个相同或不同的取代基取代，所述取代基选自卤素、羟基、直链或支链 C₁-C₆烷基、直链或支链 C₁-C₆三卤代烷基、直链或支链 C₁-C₆烷氧基和氨基，氨基本身可任选地被一个或多个相同或不同的直链或支链 C₁-C₆烷基取代，
- U表示单键、硫原子、氧原子、NH、C=O 或式 -R₈O-、-R₈S-、-R₈NH-、-R₈OR₉-、-R₈SR₉-、-R₈-NH-R₉-、-R₈-CO-R₉-或 -R₉-的基团，其中 R₈表示直链或支链 C₁-C₆亚烷基并且 R₉表示亚芳基或亚杂芳基，应该理解在这些基团中 R₈键于 Y 基团的 T 部分上并且 R₉或杂原子键于 Y 基团的 V 部分，
- V表示直链或支链 C₁-C₆亚烷基，

R₄表示：

- 当 R₃表示 Y 基团时，表示选自下述的基团：直链或支链 C₁-C₆烷基；环烷基；芳基，该芳基可任选地被一个或多个相同或不同的取代基取代，所述取代基选自卤素、羟基、氰基、硝基、直链或支链 C₁-C₆烷基、直链或支链 C₁-C₆三卤代烷基、直链或支链 C₁-C₆烷氧基、直链或支链 C₁-C₆酰基、羧基、直链或支链 C₁-C₆烷氧羰基和氨基，氨基本身可任选地被一个或两个相同或不同的直链或支链 C₁-C₆烷基取代；芳基-直链或支链 C₁-C₆烷基；环烷基-直链或支链 C₁-C₆烷基和被杂环基取代的直链或支链 C₁-C₆烷基，
- 或者当 R₃表示 X 或 Y 基团时，表示选自下述的基团：联芳基、芳基杂芳基和杂芳基芳基。

2、权利要求 1 的式 I 化合物及其异构体和其与可药用酸或碱的加成盐，其特征在于其中 R₃表示权利要求 1 中定义的基团 X 并且 R₄表示联芳基、芳基杂芳基或杂芳基芳基。

3、权利要求 1 的式 I 化合物及其异构体和其与可药用酸或碱的加成盐，其特征在于其中 R_3 表示权利要求 1 中定义的基团 Y 并且 R_4 表示直链或支链 C_1-C_6 烷基；环烷基；芳基，该芳基可任选地被一个或多个相同或不同的取代基取代，所述取代基选自卤素、羟基、氰基、硝基、直链或支链 C_1-C_6 烷基、直链或支链 C_1-C_6 三卤代烷基、直链或支链 C_1-C_6 烷氧基、直链或支链 C_1-C_6 酰基、羧基、直链或支链 C_1-C_6 烷氧羰基和氨基，氨基本身可任选地被一个或两个相同或不同的直链或支链 C_1-C_6 烷基取代；芳基-直链或支链 C_1-C_6 烷基；环烷基-直链或支链 C_1-C_6 烷基或被杂环基取代的直链或支链 C_1-C_6 烷基。

4、权利要求 1 的式 I 化合物及其异构体和其与可药用酸或碱的加成盐，其特征在于其中 R_3 表示基团 Y 并且 R_4 表示联芳基、芳基杂芳基或杂芳基芳基。

5、权利要求 1 的式 I 化合物及其异构体和其与可药用酸或碱的加成盐，其特征在于其中 R_1 表示直链或支链 C_1-C_6 烷基。

6、权利要求 1-5 任一项的式 I 化合物及其异构体和其与可药用酸或碱的加成盐，其特征在于 R_1 表示异丁基。

7、权利要求 1 的式 I 化合物，为 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸。

8、权利要求 1 的式 I 化合物，为 4-{[4-(苯基)苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸。

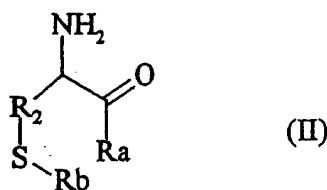
9、权利要求 1 的式 I 化合物，为 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸。

10、权利要求 1 的式 I 化合物, 为 4-{[4-(苄氧基)苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苄基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸。

11、权利要求 1 的式 I 化合物, 为 2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}-4-(甲硫基)丁异羟肟酸。

12、权利要求 1 的式 I 化合物, 为 2-{[2-(二苯甲基氨基)-2-氧代乙基]-[(4-甲氧基苄基)磺酰基]氨基}-4-(苄硫基)丁异羟肟酸。

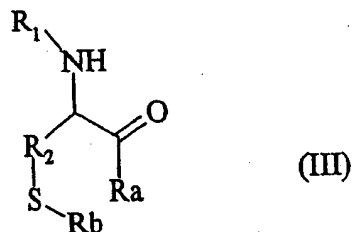
13、制备权利要求 1 的式(I)化合物的方法, 该方法的特征在于使用式(II)化合物作为原料:



其中 R_2 如式(I)中所定义, R_a 和 R_b 形成一个连接羰基与硫原子的单键, 或者 R_a 表示直链或支链的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基并且 R_b 表示直链或支链的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基, 在常规有机合成的条件下, 用式(II')化合物取代式(II)化合物的伯胺官能基:



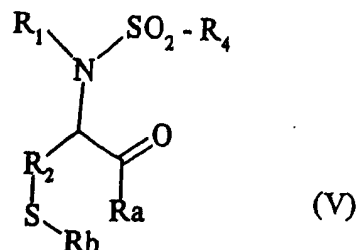
其中 R_1 如式(I)中所定义并且 Z 表示有机化学中的常见离去基团, 得到式(III)化合物



其中 R_1 和 R_2 如式(I)中所定义并且 R_a 和 R_b 如上文所定义, 式(III)化合物在碱性条件下用式(IV)化合物处理:



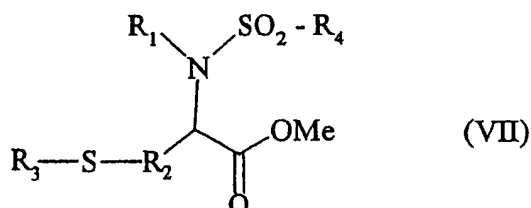
其中 R_4 如式(I)中所定义,
得到式(V)化合物,



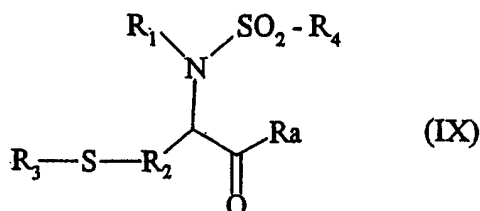
其中 R_1 、 R_2 和 R_4 如式 (I) 中所定义, R_a 和 R_b 定义如上,
当 R_a 和 R_b 形成一单键时, 式(V)化合物在甲醇和钠的存在下用式(VI)化合物处理:



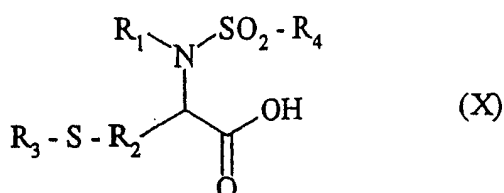
其中 R_3 如式(I)所定义并且 Hal 表示卤素原子,
得到式(VII)化合物:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如式(I)所定义, 式(VII)与式(V)化合物合起来构成式(IX)化合物:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如式 (I) 中所定义, R_a 如上文所定义,
式(IX)化合物的酯官能基在常规条件下水解, 得到式(X)化合物:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如式 (I) 中所定义，
式(X)化合物直接用羟胺盐酸盐处理或用 O-取代的羟胺处理，后者随后在常规操作条件下脱保护，得到上文定义的式(I)化合物，
如果需要，可采用常规纯化技术纯化式(I)化合物，可任选地采用常规分离技术将其分离为其异构体，并且如果需要，可用可药用酸或碱将其转化为加成盐。

14、一种药物组合物，含有至少一种权利要求 1~12 任一项的式(I)化合物作为活性成分，该药物组合物可以是所述的活性成分本身，也可以结合有一种或多种惰性的无毒可药用赋形剂或载体。

15、权利要求 14 的药物组合物，含有权利要求 1~12 任一项的活性成分，用作金属蛋白酶抑制剂。

新的异羟肟酸化合物 及其制备方法和含有它们的药物组合物

本发明涉及新的异羟肟酸化合物及其制备方法和含有它们的药物组合物。这些新化合物是一类新的金属蛋白酶抑制剂。

胞外基质的重建在众多生理和病理过程中涉及：例如胚胎发育、瘢痕形成、正常的和病理性的血管生成、结缔和关节组织的退化、癌症的入侵和转移。

胞外基质的金属蛋白酶(“基质金属蛋白酶”或 MMPs)，起初被描述为在调节胞外物质的形成和破坏中所涉及的酶，在这类过程期间被过度表达并与病症发展有关。锌蛋白酶家族拥有至少十四个成员。已知其底物的主要成员是：胶原酶(间质 MMP-1、嗜中性 MMP-8 和胶原酶-3 或 MMP-13)、明胶酶(IV 型胶原酶 MMP-2 和 MMP-9 或明胶酶 A 和 B)、金属弹性蛋白酶 MMP-12、基质溶素(包括基质溶素-1 或 MMP-3)和明胶酶 A 激活剂(MT-MMPs，具有跨膜结构域的唯一 MMPs)。

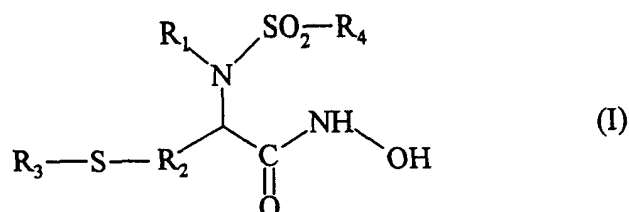
在肿瘤的病理中，癌细胞和肿瘤外周基质的正常细胞分泌的那些酶直接参与间质组织中内皮细胞和肿瘤细胞的开放性迁移途径，并间接参与胞外基质中膜因子或隔离因子(血管生成或生长因子，炎症介质，例如 α 肿瘤坏死因子或 α -TNF 等)的释放和成熟化，因而有助于所有阶段的肿瘤发展(初期肿瘤的生长、血管生成、局部入侵和转移的形成)。因此，MMP 抑制剂作为能够抑制许多病症，包括癌症发展的新药学物质是特别有效的。

文献中已记载有各种金属蛋白酶抑制剂，更具体地说，其中包括专利申请 EP 606046、WO 96/40101、WO 96/00214 和 WO 97/27174 以及在“药物化学杂志”(J. Med. Chem. 1998, 41, 640-649)中描述的化合物。

除了本发明化合物是新化合物的事实以外，据证明它们还是一类

比文献中所描述的那些金属蛋白酶抑制剂更强的金属蛋白酶抑制剂，因此使得它们具有治疗癌症、风湿性疾病，如关节病和类风湿性关节炎等的潜在价值。

更具体地说，本发明涉及式(I)化合物：



其中

R₁表示：

- 直链或支链的(C₁-C₆)烷基(可任意地被一个或多个相同或不同的取代基取代，所述取代基各自彼此独立地选自羟基、卤素、直链或支链的(C₁-C₆)烷氧基、巯基、直链或支链(C₁-C₆)烷硫基、芳基、直链或支链(C₁-C₆)酰基和氨基，氨基自身还可任意地被一个或两个相同或不同的直链或支链的(C₁-C₆)烷基、环烷基或芳基取代)，
- 直链或支链(C₁-C₆)酰基，
- 环烷基，
- 芳基，
- 杂环基，
- 氨基羰基-(C₁-C₄)烷基，氨基部分可任意地被一直链或支链的(C₁-C₆)烷基所取代，所述(C₁-C₆)烷基可任意地被一个或多个相同或不同的选自芳基、芳基-(C₁-C₆)烷基(其中的烷基部分可以是直链或支链的)、环烷基和直链或支链的(C₁-C₆)烷基氨基羰基的基团所取代，

R₂表示直链或支链的(C₁-C₄)亚烷基，

R₃表示X或Y基团，其中

- X表示直链或支链(C₁-C₆)烷基、直链或支链(C₁-C₆)酰基、直链或支链(C₁-C₆)烷氧羰基、氨基-直链或支链(C₁-C₆)烷基(该氨基部分自身可任意地被一个或两个相同或不同的直链或支链(C₁-C₆)烷基取代)、羟基-直链或支链(C₁-C₆)烷基、羧基-直链或支链(C₁-C₆)烷基、

氨基羰基-直链或支链(C_1-C_6)烷基、巯基-直链或支链(C_1-C_6)烷基、环烷基、芳基或杂环基, 和

• Y表示式 T-U-V- 的基团(V部分与硫原子键合), 其中:

-T表示芳基或杂环基,

-U表示一单键、硫原子、氧原子、NH、C=O或式 $-R_8O-$ 、 $-R_8S-$ 、 $-R_8NH-$ 、 $-R_8OR_9-$ 、 $-R_8SR_9-$ 、 $-R_8-NH-R_9-$ 、 $-R_8-CO-R_9-$ 或 $-R_9-$ 的基团, 其中 R_8 表示直链或支链(C_1-C_6)亚烷基并且 R_9 表示亚芳基或亚杂芳基, 应该理解在这些基团中 R_8 键于Y基团的T部分上并且 R_9 或杂原子键于Y基团的V部分,

-V表示直链或支链(C_1-C_6)亚烷基,

R_4 表示:

-当 R_3 表示Y基团时, 表示选自下述的基团: 直链或支链(C_1-C_6)烷基、环烷基、芳基、芳基-直链或支链(C_1-C_6)烷基、环烷基-直链或支链(C_1-C_6)烷基、被杂环基取代的直链或支链(C_1-C_6)烷基和杂环基,

-或者当 R_3 表示X或Y基团时, 表示选自下述的基团: 联芳基、芳基杂芳基和杂芳基芳基,

涉及其异构体和其与可药用酸或碱的加成盐。

应该理解:

-“环烷基”应理解为3-10个碳原子的单环或双环体系,

-“芳基”应理解为苯基、萘基、四氢萘基、二氢萘基、茚基或二氢茚基, 它们各自可任意地被一个或多个相同或不同的取代基取代, 所述取代基选自卤素、羟基、氰基、硝基、直链或支链(C_1-C_6)烷基、直链或支链(C_1-C_6)三卤代烷基、直链或支链(C_1-C_6)烷氧基、直链或支链(C_1-C_6)酰基、羧基、直链或支链(C_1-C_6)烷氧羰基和氨基, 氨基本身可任意地被一个或两个相同或不同的直链或支链(C_1-C_6)烷基取代,

-“联芳基”应理解为其中环碳原子之一被第二个芳基取代的芳基,

-“杂环基”应理解为具有4-12个环原子并且含有一、二或三个相同

或不同的杂原子的饱和或不饱和单环或双环基团，所述杂原子选自氧、氮和硫，应理解该杂环基可任意地被一个或多个相同或不同的取代基取代，所述取代基选自卤素、羟基、直链或支链(C₁-C₆)烷基、直链或支链(C₁-C₆)三卤代烷基、直链或支链(C₁-C₆)烷氧基和氨基，氨基本身可任意地被一个或多个相同或不同的直链或支链(C₁-C₆)烷基取代，

- “杂芳基”应理解为不饱和的芳香杂环。

有利的是，本发明的优选化合物是那些其中 R₁表示直链或支链的(C₁-C₆)烷基，更优选 R₁是异丁基的化合物。

根据本发明的一个有益变化，优选的化合物是那些其中 R₃表示上文定义的基团 X 并且 R₄表示联芳基、芳基杂芳基或杂芳基芳基的化合物。

根据本发明的另一个有益变化，优选的化合物是那些其中 R₃表示上文定义的基团 Y 并且 R₄表示直链或支链的(C₁-C₆)烷基、环烷基、芳基、芳基-直链或支链(C₁-C₆)烷基，环烷基-直链或支链(C₁-C₆)烷基、被杂环基取代的直链或支链(C₁-C₆)烷基或杂环基的化合物。

根据第三种尤为有益的变化，本发明的优选化合物是那些其中 R₃表示上文定义的基团 Y 并且 R₄表示联芳基、芳基杂芳基或杂芳基芳基的化合物。

本发明的优选化合物是：

- 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸；
- 4-{[4-(苯基)-苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸；
- 4-{[4-(苄氧基)-苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸；
- 2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}-4-(甲硫基)丁异羟肟酸；
- 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸； 和
- 2-{[2-(二苯甲基氨基)-2-氧代乙基]-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}

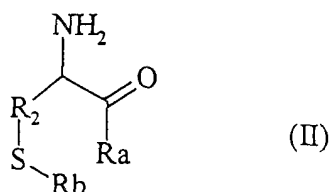
基}-4-(苄硫基)丁异羟肟酸。

本发明的优选化合物的异构体以及它们与可药用酸或碱的加成盐是本发明整体的一部分。

可药用酸可列举，但不限于盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、乙酸、三氟乙酸、乳酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、戊二酸、富马酸、酒石酸、马来酸、柠檬酸、抗坏血酸、草酸、甲磺酸、樟脑酸等。

可药用碱可举例，但不限于氢氧化钠、氢氧化钾、三乙胺、叔丁基胺等。

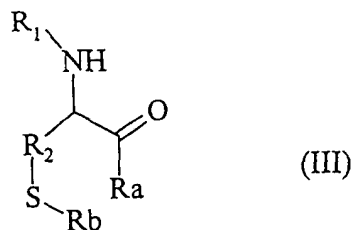
本发明还包括制备式(I)化合物的方法，该方法的特征在于使用式(II)化合物作为原料：



其中 R_2 如式(I)中所定义， R_a 和 R_b 形成一个连接羰基与硫原子的单键，或者 R_a 表示直链或支链的 (C_1-C_6) 烷氧基并且 R_b 表示直链或支链的 (C_1-C_6) 烷基，在常规有机合成的条件下，用式(II')化合物取代式(II)化合物的伯胺官能基：



其中 R_1 如式(I)所定义并且 Z 表示有机化学中的常见离去基团，得到式(III)化合物

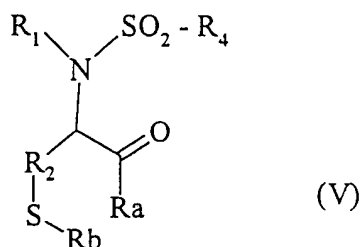


其中 R_1 和 R_2 如式(I)中所定义并且 R_a 和 R_b 如上文所定义，式(III)化合物在碱性条件下用式(IV)化合物处理：



其中 R_4 如式(I)所定义，

得到式(V)化合物,

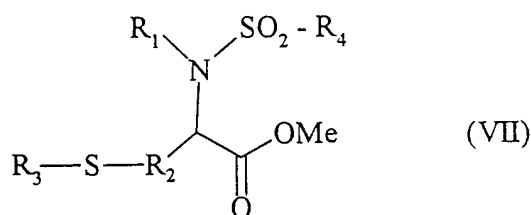


其中 R_1 、 R_2 、 R_4 、 R_a 和 R_b 定义如上,

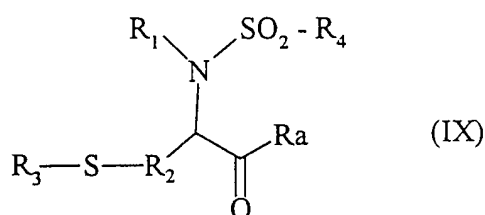
当 R_a 和 R_b 形成一单键时, 式(V)化合物在甲醇和钠的存在下用式(VI)化合物处理:



其中 R_3 如式(I)所定义并且 Hal 表示卤素原子, 得到式(VII)化合物:

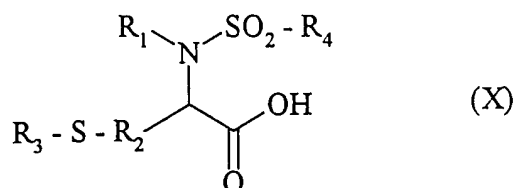


其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如式(I)所定义, 式(VII)与式(V)化合物合起来构成式(IX)化合物:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_a 如上文所定义,

式(IX)化合物的酯官能基在常规条件下水解, 得到式(X)化合物:



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如上文所定义,

式(X)化合物直接用羟胺盐酸盐处理或用 O-取代的羟胺处理, 后者随

后在常规操作条件下脱保护，得到上文定义的式(I)化合物，如果需要，可采用常规纯化技术纯化式(I)化合物，可任意地采用常规分离技术将其分离为其异构体，并且如果需要，可用可药用酸或碱将其转化为加成盐。

式(II)、(II')、(IV)和(VI)化合物均是市售化合物，或者它们可按照有机合成的常规方法得到。

本发明还涉及含有至少一种式(I)化合物、其旋光异构体或其与可药用酸或碱的加成盐作为活性成分的药物组合物，该药物组合物可以是所述的活性成分本身，也可以结合有一种或多种惰性的无毒可药用赋形剂或载体。

本发明的药物组合物中具体可提及适于口服、胃肠外(静脉内、肌肉或皮下)、经皮或透皮、经鼻、直肠、经舌、眼或呼吸道给药的组合物，尤其是片剂或糖锭剂，舌下片剂、软明胶胶囊、硬明胶胶囊、栓剂、霜剂、软膏剂、皮肤用凝胶、可注射或饮用制剂、气雾剂、滴眼剂或滴鼻剂等。

根据患者的年龄和体重，给药途径，疾病的性质和严重程度以及可能的相关治疗，给药的剂量有所变化，对于每日给药一次或多次，该剂量范围为 1-500mg。

下列实施例将进一步说明而非限制本发明。

使用的原料是已知的产物或可按照已知方法制备。各种合成步骤得到用于制备本发明化合物的合成中间体。

实施例和合成步骤中所述的化合物的结构已通过常规的分光光度技术测定(红外、NMR、质谱)。

实施例 1: 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

步骤 A: 3-(异丁基氨基)四氢-2-噻吩酮

在 0℃ 和惰性气氛下，将 4.6mmol 三乙胺加到 4.23mmol D-高半胱氨酸硫内酯(thiolactone)盐酸盐和 8.46mmol 异丁醛在 20ml 甲醇的溶液中。在室温搅拌 4 小时后，将该反应混合物冷却到 0℃，用 40 分

钟缓慢地加入 8.8mmol NaCNBH_3 。在 0℃ 搅拌 30 分钟后，将反应混合物水解，然后用乙醚萃取。合并的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤，经硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。经硅胶色谱(二氯甲烷/甲醇:99/1)分离，得到糖浆形式的目的产物。

步骤 B: N1-异丁基-N1-(2-氧代四氢-3-噻吩基)-4-甲氧基-1-苯磺酰胺

在 0℃ 下，将 5mmol N-甲基吗啉和 2.5mmol 4-甲氧基苯磺酰氯加到 2.5mmol 步骤 A 获得的化合物在 15ml 二氯甲烷中的溶液中。在室温搅拌 12 小时后，将该反应混合物倾入水中并用二氯甲烷萃取。合并的有机相用 2N 盐酸水溶液、再用 5%碳酸氢钠溶液和水洗涤，经硫酸钠干燥后，过滤并蒸发，经硅胶色谱分离(二氯甲烷/甲醇:20/1)，得到目的产物。

熔点: 92℃

步骤 C: 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁酸甲酯

在室温下，将 1.1mmol 步骤 B 获得的化合物加到 1.26mmol 钠的 3ml 甲醇溶液中。搅拌 15 分钟后，加入 1.1mmol 苄基溴并持续搅拌 2 小时。蒸发甲醇后，将所得固体在乙酸乙酯中研制并过滤。蒸发滤液，得到残余物，经硅胶色谱纯化(二氯甲烷/甲醇:20/1)，得到糖浆状预期产物。

质谱: $\text{FAB}^+ : [\text{M}^+ + 1] : m/z = 466$

步骤 D: 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁酸

将 1.77mmol 氢氧化钾加到 0.95mmol 步骤 C 获得的化合物在 3/1 二噁烷/水的混合液中。于 50℃ 搅拌 3 小时后，蒸除二噁烷，残余的水相用水稀释，加入 5% 盐酸溶液酸化到 pH 2，然后用乙酸乙酯萃取。合并的有机相经洗涤，干燥、过滤并减压蒸发。经硅胶色谱(二氯甲烷/甲醇:93/7)分离，得到糖浆状预期产物。

步骤 E: N-叔丁氧基-4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁酰胺

将 0.6mmol 步骤 D 得到的化合物、0.6mmol 1-羟基苯并三唑、3mmol N-甲基吗啉和 1.2mmol O-叔丁基羟胺盐酸盐溶于 9ml 二氯甲烷中。然后往该溶液中加入 0.78mmol N-[(二甲氨基)丙基]-N-乙基碳化二亚胺盐酸盐并将该反应混合物在室温搅拌 12 小时。加入水稀释该反应混合物后，用二氯甲烷萃取。合并的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤，经硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。经硅胶色谱分离(二氯甲烷/甲醇:99/1)，得到糖浆状的产物。

质谱: FAB^+ : $(\text{M}^+ + 1): m/z = 523$

步骤 F: 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}-丁异羟肟酸

将含有 0.31mmol 步骤 E 获得的化合物在 2ml 二氯甲烷和 2ml 三氟乙酸中的溶液在室温搅拌 6 小时，减压浓缩后，经硅胶色谱(二氯甲烷/甲醇:98/2)分离。获得糖浆状残余物，之后溶于乙酸乙酯。将该溶液滤过硅藻土后减压浓缩，分离得到糖浆状的预期产物。

质谱: FAB^+ : $(\text{M}^+ + 1): m/z = 467$ ($\text{M}^+ - \text{CONHOH}$): $m/z = 406$

实施例 2: 4-[[4-(苯基)苄基]硫基]-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

按照实施例 1 描述的方法，在步骤 C 使用 4-(苯基)苄基溴作为反应试剂得到该产物。

步骤 C: 4-[[4-(苯基)苄基]硫基]-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁酸甲酯

步骤 D: 4-[[4-(苯基)苄基]硫基]-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁酸

步骤 E: N-叔丁氧基-4-{[4-(苯基)苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁酰胺

步骤 F: 4-{[4-(苯基)苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}-丁异羟肟酸

实施例 3: 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

按照实施例 1 描述的方法, 在步骤 B 使用 4-联苯基磺酰氯作为反应试剂得到该产物。

步骤 B: N1-异丁基-N1-(2-氧代四氢-3-噻吩基)-4-苯基-1-苯磺酰胺

步骤 C: 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁酸甲酯

步骤 D: 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁酸

步骤 E: N-叔丁氧基-4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁酰胺

步骤 F: 4-(苄硫基)-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

实施例 4: 4-{[4-(苄氧基)苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

按照实施例 1 步骤 A~D 描述的方法, 在步骤 C 使用 4-(苄氧基)苄基溴作为反应试剂, 然后进行下述步骤 G 得到该产物。

步骤 C: 4-{[4-(苄氧基)苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁酸甲酯

步骤 D: 4-{[4-(苄氧基)苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁酸

步骤 G: 4-{[4-(苄氧基)苄基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

将 1mmol 步骤 D 获得的化合物、1mmol 1-羟基苯并三唑、5mmol N-甲基吗啉和 2mmol 羟胺盐酸盐溶于 15ml 二氯甲烷中。然后往该溶液中加入 1.2mmol N-[(二甲氨基)丙基]-N-乙基碳化二亚胺盐酸盐并将该反应混合物在室温搅拌 12 小时。该反应混合物加入水水解，水相随后用二氯甲烷萃取。合并的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤，经硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。经硅胶色谱分离(二氯甲烷/甲醇:98/2)，得到糖浆状的预期产物。

实施例 5: 2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}-4-(甲硫基)丁异羟肟酸

步骤 H: 2-氨基-4-(甲硫基)丁酸甲酯盐酸盐

在-10℃下，往 15ml 甲醇中加入 16.5mmol 亚硫酸氯，然后少量多次地加入 11mmol D-甲硫氨酸。添加完毕后，使反应混合物升至室温。12 小时后，将反应混合物减压浓缩，得到晶体，用乙醚/甲醇混合液重结晶，分离得到预期产物。

熔点: 143℃

步骤 I: 2-(异丁基氨基)-4-(甲硫基)丁酸甲酯

在 0℃和惰性气氛下，将 4.3mmol 三乙胺加到 3.9mmol 步骤 H 获得的化合物和 7.8mmol 异丁醛在 20ml 甲醇中的溶液中。在室温反应 6 小时后，将反应混合物冷却到 0℃并用 40 分钟加入 7.8mmol 硼氢化钠。添加完毕后，在 0℃继续搅拌 30 分钟，之后加入碳酸氢钠水溶液水解该反应混合物。用乙醚萃取后，合并的有机相用饱和氯化钠溶液

洗涤，经硫酸钠干燥并减压浓缩。经硅胶色谱(二氯甲烷/甲醇:99/1)分离，得到预期产物。

步骤 J: 2-{异丁基-[(4-苯基)苯基磺酰基]氨基}-4-(甲硫基)丁酸甲酯

在 0℃ 下，将 3.71mmol 三乙胺和 1.8mmol 4-联苯基磺酰氯加到 1.8mmol 步骤 I 获得的化合物在 15ml 二氯甲烷中的溶液中。使该反应混合物升至室温并搅拌 12 小时，之后倾入水中，用二氯甲烷萃取。合并的有机相用 2N 盐酸溶液洗涤，然后用碳酸氢钠溶液洗涤，干燥，过滤并减压浓缩。经硅胶色谱分离(二氯甲烷/甲醇:20/1)，得到糖浆状预期产物。

步骤 K: 2-{异丁基-[4-(联苯基)磺酰基]氨基}-4-(甲硫基)丁异羟肟酸

按照实施例 1 步骤 D~F 描述的方法处理步骤 J 得到的产物，获得预期产物。

质谱: FAB^+ : $(\text{M}^++1):m/z=437$; $[\text{M}^+-\text{CONHOH}]:m/z=376$

实施例 6: 2-{[2-(二苯甲基氨基)-2-氧代乙基]-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}-4-(甲硫基)丁异羟肟酸

制备 1: 2-[(2-氧代四氢-3-噻吩基)氨基]乙酸叔丁酯

在 0℃ 下，将 5.5mmol 二异丙基乙基胺，然后将 5.5mmol 溴乙酸叔丁酯加到 5mmol 硫内酯的 10ml 乙腈溶液中。搅拌 30 分钟后，将反应混合物升至室温并放置 12 小时。将其减压浓缩，随后经硅胶色谱分离(二氯甲烷/甲醇:97/3)，得到预期产物。

步骤 B: 2-{[(4-甲氧基苯基)磺酰基]-(2-氧代四氢-3-噻吩基)氨基}乙酸叔丁酯

按照实施例 1 步骤 B 的方法，使用制备例 1 得到的产物为反应物。

质谱: $\text{FAB}^+ : (\text{M}^+ + 1) : \text{m/z} = 402$

步骤 C: 4-(苄硫基)-2-{[2-(叔丁氧基)-2-氧代乙基]-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁酸甲酯

按照实施例 1 步骤 C 的方法, 使用上面步骤获得的产物。

质谱: $\text{FAB}^+ : (\text{M}^+ + 1) : \text{m/z} = 524$

步骤 L: 2-{[3-(苄硫基)-1-(甲氧羰基)丙基]-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}乙酸

将 0.8mmol 步骤 C 获得的化合物在 2ml 二氯甲烷和 3ml 三氟乙酸中的溶液在室温下搅拌 2 小时。将反应混合物减压浓缩后, 残余物经硅胶色谱分离(二氯甲烷/甲醇:95/5), 得到预期产物。

质谱: $\text{FAB}^+ : (\text{M}^+ + 1) : \text{m/z} = 468$

步骤 M: 2-{[2-(二苯甲基氨基)-2-氧代乙基]-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}-4-(苄硫基)丁酸甲酯

在 0℃ 下, 将 1.8mmol 苯并三唑-1-基三(二甲氨基)六氟磷酸锑, 然后将 3mmol 二异丙基乙基胺加到 1.5mmol 步骤 L 获得的化合物和 1.6mmol 氨基二苯甲烷在 20ml 乙腈中的溶液中。然后使该反应混合物缓慢地升至室温。反应 6 小时后, 蒸除乙腈, 残余物溶于乙酸乙酯中, 用饱和氯化钠溶液洗涤。有机相经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。经硅胶色谱分离(二氯甲烷/甲醇:20/1), 得到预期产物。

质谱: $\text{FAB}^+ : (\text{M}^+ + 1) : \text{m/z} = 633$

步骤 N: 2-{[2-(二苯甲基氨基)-2-氧代乙基]-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}-4-(苄硫基)丁异羟肟酸

按照实施例 1 步骤 D~F 的方法, 使用上面步骤 M 获得的产物作为反应物。

质谱: $\text{FAB}^+ : (\text{M}^+ + 1) : \text{m/z} = 634$

实施例 7: 2-{[2-(二苯甲基氨基)-2-氧代乙基]-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}-4-(苄硫基)丁异羟肟酸

按照实施例 6 描述的方法, 在步骤 B 中使用 4-联苯基磺酰氯作为反应试剂, 获得产物。

实施例 8: 4-{[(1-甲基-3-哌啶基)甲基]硫基}-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

按照实施例 1 步骤 A~F 描述的方法, 在步骤 B 中使用实施例 3 中使用的试剂, 在步骤 C 中使用 3-氯甲基-1-甲基哌啶作为反应试剂, 获得产物。

实施例 9: 4-[(1-萘甲基)硫基]-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

按照实施例 1 步骤 A~F 描述的方法, 在步骤 C 中使用 1-(氯甲基)萘作为反应试剂, 获得产物。

实施例 10: 4-{[(苯硫基)甲基]硫基}-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

按照实施例 1 步骤 A~F 描述的方法, 在步骤 B 中使用实施例 3 中使用的试剂, 在步骤 C 中使用甲硫基苯基氯作为反应试剂, 获得产物。

实施例 11: 4-[(3-吡啶甲基)硫基]-2-{异丁基-[(4-联苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

按照实施例 1 步骤 A~F 描述的方法, 在步骤 B 中使用实施例 3 中使用的试剂, 在步骤 C 中使用 3-氯甲基吡啶作为反应试剂, 获得产物。

实施例 12: 4-{[2-(四氢-2H-吡喃基)甲基]硫基}-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁异羟肟酸

按照实施例 1 步骤 A~F 描述的方法,在步骤 C 中使用 2-(氯甲基)-四氢-2H-吡喃作为反应试剂,获得产物。

实施例 13: 4-[(苯硫基乙基)硫基]-2-{异丁基-[(4-甲氧基苯基)磺酰基]氨基}丁羟脲酸

按照实施例 1 步骤 A~F 描述的方法,在步骤 C 中使用乙硫基苯基氯作为反应试剂,获得产物。

本发明化合物的药理学研究

实施例 14: 金属蛋白酶的酶抑制作用

对所有或某些下列四种纯化的人体酶在溶液中进行化合物的酶筛选试验: 间质胶原酶 MMP-1、明胶酶 MMP-2 和 MMP-9、基质溶素-1MMP-3。用适应 96 孔培养板模式的荧光测定法测定活性。

MMPs 的活化

该步骤可使金属酶的酶原形式转化为可裂解所用底物的活化形式。在 37℃ 和有 2mM APMA (4-氨基苯基醋酸汞) 的存在下,以等份量贮存于-80℃ 的市售酶在 50mM Tris 缓冲液、200mM NaCl、5mM CaCl₂、0.1%Brij 35 (pH7.7) 中经 30 分钟 (MMP-2 和 MMP-9) 或 1 小时 (MMP-1 和 MMP-3) 以 355μg/ml (MMP-1)、444μg/ml (MMP-2)、187μg/ml (MMP-3) 和 500μg/ml (MMP-9) 的酶浓度稀释。

荧光试验

该原理基于在活化酶的存在下,肽模拟底物裂解后出现荧光。在活化酶 MMP-1、MMP-2 和 MMP-9 的作用下,肽 Dnp-Pro-β-环己基-Ala-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(N-Me-Abz)-NH₂ (Bachem, 瑞士) 在甘氨酸和半胱氨酸之间裂解 (分析生物化学 (Anal. Biochem.) 1993, 212, 58-64)。在活化酶 MMP-3 的作用下,肽 (7-甲氧基香豆素-4-基)-Arg-Pro-Lys-Pro-Tyr-Ala-Nva-Trp-Met-Lys (Dnp)-NH₂ (Bachem) 在 Ala 和

Nva 之间裂解(分析生物化学, 1993, 212, 58-64)(生物化学, 1992, 31, 12618-12623)。该试验在含有稀释的纯化酶的 50mM Tris 缓冲液、200mM NaCl、5mM CaCl₂、0.1%Brij 35(pH 7.7)中进行(MMP-1、MMP-2、MMP-3 和 MMP-9 酶的终浓度分别为 1.25、2、1.25 和 1μg/ml)。将酶本身或酶与试验产物(10: 10 稀释 5 个剂量中最小者)一起预温育后, 以总终体积为 100μl(96 孔培养板模式)的量加入 20μM(终浓度)适宜肽的模拟底物以引发裂解反应。在潮湿环境下、37℃温育 6 小时后, 将含样品的培养板在安装有分别为 340nm 和 440nm 的激发滤器和发射滤器的细胞荧光计(Cytofluor 2350, Millipore PerSeptive Systems, 法国)中读数。在各种条件下的试验均重复三次。然后由作为试验量函数显示裂解产物的荧光强度的曲线测定抑制 50% 反应的浓度(IC₅₀)。每种试验至少进行两次。

在上面的试验中, 本发明的化合物对 MMP-1 酶表现出的 IC₅₀ 值为 100~200nM, 对 MMP-2、MMP-3 和 MMP-9 酶表现出的 IC₅₀ 值为 0.2~50nM。

实施例 15: 药物组合物: 片剂

制备每片含 20mg 活性成分的 1000 个片剂的配方:

实施例 2 的化合物	20g
羟丙基纤维素	2g
小麦淀粉	10g
乳糖	100g
硬脂酸镁	3g
滑石	3g