

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D493/08

A61K 31/35

/(C07D493/08,31

1: 00,307: 00)

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99804959. X

[43] 公开日 2001 年 5 月 23 日

[11] 公开号 CN 1296488A

[22] 申请日 1999.3.24 [21] 申请号 99804959. X

[30] 优先权

[32] 1998.4.10 [33] US [31] 60/081,309

[86] 国际申请 PCT/IB99/00503 1999.3.24

[87] 国际公布 WO99/52910 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

[72] 发明人 R·P·罗宾逊

[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

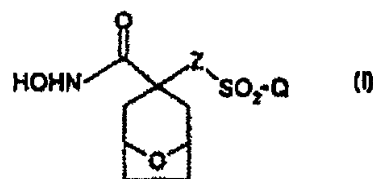
代理人 周中琦

权利要求书 8 页 说明书 44 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 双环异羟肟酸类衍生物

[57] 摘要

本发明涉及式(I)的化合物,其中 Z 和 Q 如说明书所述定义,还涉及含有这些化合物的药物组合物及其药物应用。



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

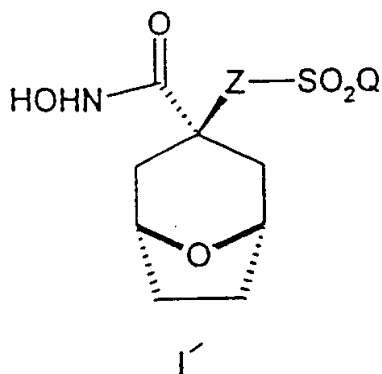
O=C(O)C1(C(CO1)S(=O)(=O)Q)Z
$$\sim(\text{CH}_2)_n\text{C}(=\text{O})\text{OR}^2$$

基 ($C_1 - C_6$) 烷基、($C_2 - C_9$) 杂芳基氧基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基氧基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基 ($C_1 - C_6$) 烷氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基、($C_2 - C_9$) 杂芳基 ($C_1 - C_6$) 烷氧基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基 ($C_1 - C_6$) 烷氧基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基或 ($C_2 - C_9$) 杂芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基;

其中, 所述 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基、($C_6 - C_{10}$) 芳基氧基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基氧基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_1 - C_6$) 烷基、($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_1 - C_6$) 烷基、($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基 ($C_1 - C_6$) 烷基、($C_2 - C_9$) 杂芳基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_1 - C_6$) 烷氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基、($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_1 - C_6$) 烷氧基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基 ($C_1 - C_6$) 烷氧基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基、($C_2 - C_9$) 杂芳基氧基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基氧基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基 ($C_1 - C_6$) 烷氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基、($C_2 - C_9$) 杂芳基 ($C_1 - C_6$) 烷氧基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基 ($C_1 - C_6$) 烷氧基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基、($C_6 - C_{10}$) 芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基、($C_2 - C_9$) 杂芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基 ($C_6 - C_{10}$) 芳基或 ($C_2 - C_9$) 杂芳基氧基 ($C_1 - C_6$) 烷基 ($C_2 - C_9$) 杂芳基的各个 ($C_6 - C_{10}$) 芳基或 ($C_2 - C_9$) 杂芳基部分在各个环的能够形成附加键的任何环碳原子上可以被一个或多个取代基任选地取代, 所述取代基独立选自氟、氯、溴、($C_1 - C_6$) 烷基、($C_1 - C_6$) 烷氧基、全氟 ($C_1 - C_3$) 烷基、全氟 ($C_1 - C_3$) 烷氧基和 ($C_6 - C_{10}$) 芳基氧基;

或它们的药学上可接受的盐。

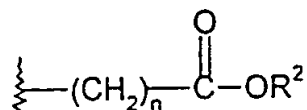
2. 按照权利要求 1 所述的化合物, 具有如下式所示的立体化学:



3. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中 Z 是 CH_2 。

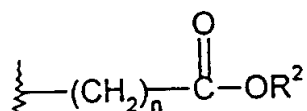
4. 按照权利要求 2 所述的化合物, 其中 Z 是 CH_2 。

5. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中 Z 是 $>\text{NR}^1$ 和 R^1 是下式的基团:



和其中 n 是 2。

6. 按照权利要求 2 所述的化合物, 其中 Z 是 $>\text{NR}^1$ 和 R^1 是下式的基团:



和其中 n 是 2。

7. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中 Z 是 $>\text{NR}^1$ 和 R^1 是氢。

8. 按照权利要求 2 所述的化合物, 其中 Z 是 $>NR^1$ 和 R^1 是氢。

9. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中 Q 是 $(C_6 - C_{10})$ 芳基、 $(C_2 - C_9)$ 杂芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基或 $(C_6 - C_{10})$ 芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基, 其中所述 $(C_6 - C_{10})$ 芳基、 $(C_2 - C_9)$ 杂芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基或 $(C_6 - C_{10})$ 芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基中的各个芳基或杂芳基部分可以被一个或多个取代基任选取代, 所述取代基独立地选自氟、氯、溴、 $(C_1 - C_6)$ 烷基、 $(C_1 - C_6)$ 烷氧基或全氟 $(C_1 - C_3)$ 烷基。

10. 按照权利要求 2 所述的化合物, 其中 Q 是 $(C_6 - C_{10})$ 芳基、 $(C_2 - C_9)$ 杂芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基或 $(C_6 - C_{10})$ 芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基, 其中所述 $(C_6 - C_{10})$ 芳基、 $(C_2 - C_9)$ 杂芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基或 $(C_6 - C_{10})$ 芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基中的各个芳基或杂芳基部分可以被一个或多个取代基任选取代, 所述取代基独立地选自氟、氯、溴、 $(C_1 - C_6)$ 烷基、 $(C_1 - C_6)$ 烷氧基或全氟 $(C_1 - C_3)$ 烷基。

11. 按照权利要求 3 所述的化合物, 其中 Q 是 $(C_6 - C_{10})$ 芳基、 $(C_2 - C_9)$ 杂芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基或 $(C_6 - C_{10})$ 芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基, 其中所述 $(C_6 - C_{10})$ 芳基、 $(C_2 - C_9)$ 杂芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基或 $(C_6 - C_{10})$ 芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基中的各个芳基或杂芳基部分可以被一个或多个取代基任选取代, 所述取代基独立地选自氟、氯、溴、 $(C_1 - C_6)$ 烷基、 $(C_1 - C_6)$ 烷氧基或全氟 $(C_1 - C_3)$ 烷基。

12. 按照权利要求 5 所述的化合物, 其中 Q 是 $(C_6 - C_{10})$ 芳基、 $(C_2 - C_9)$ 杂芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基或 $(C_6 - C_{10})$ 芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基, 其中所述 $(C_6 - C_{10})$ 芳基、 $(C_2 - C_9)$ 杂芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基或 $(C_6 - C_{10})$ 芳基氧基 $(C_6 - C_{10})$ 芳基中的各个芳基或杂芳基部分可以被一个或多个取代基任选取代, 所述取代基独立地选自氟、氯、溴、 $(C_1 - C_6)$ 烷基、 $(C_1 - C_6)$ 烷氧基或全氟 $(C_1 - C_3)$ 烷基。

- C₆) 烷氧基或全氟 (C₁ - C₃) 烷基。

13. 按照权利要求 7 所述的化合物, 其中 Q 是 (C₆ - C₁₀) 芳基、(C₂ - C₉) 杂芳基氧基 (C₆ - C₁₀) 芳基或 (C₆ - C₁₀) 芳基氧基 (C₆ - C₁₀) 芳基, 其中所述 (C₆ - C₁₀) 芳基、(C₂ - C₉) 杂芳基氧基 (C₆ - C₁₀) 芳基或 (C₆ - C₁₀) 芳基氧基 (C₆ - C₁₀) 芳基中的各个芳基或杂芳基部分可以被一个或多个取代基任选取代, 所述取代基独立地选自氟、氯、溴、(C₁ - C₆) 烷基、(C₁ - C₆) 烷氧基或全氟 (C₁ - C₃) 烷基。

14. 按照权利要求 8 所述的化合物, 其中 Q 是 (C₆ - C₁₀) 芳基、(C₂ - C₉) 杂芳基氧基 (C₆ - C₁₀) 芳基或 (C₆ - C₁₀) 芳基氧基 (C₆ - C₁₀) 芳基, 其中所述 (C₆ - C₁₀) 芳基、(C₂ - C₉) 杂芳基氧基 (C₆ - C₁₀) 芳基或 (C₆ - C₁₀) 芳基氧基 (C₆ - C₁₀) 芳基中的各个芳基或杂芳基部分可以被一个或多个取代基任选取代, 所述取代基独立地选自氟、氯、溴、(C₁ - C₆) 烷基、(C₁ - C₆) 烷氧基或全氟 (C₁ - C₃) 烷基。

15. 按照权利要求 1 所述的化合物, 其中 Q 是被一个或多个取代基任选取代的苯基、吡啶基氧基苯基或苯氧基苯基, 所述取代基独立地选自氟、氯、溴、(C₁ - C₆) 烷基、(C₁ - C₆) 烷氧基或全氟 (C₁ - C₃) 烷基。

16. 按照权利要求 2 所述的化合物, 其中 Q 是被一个或多个取代基任选取代的苯基、吡啶基氧基苯基或苯氧基苯基, 所述取代基独立地选自氟、氯、溴、(C₁ - C₆) 烷基、(C₁ - C₆) 烷氧基或全氟 (C₁ - C₃) 烷基。

17. 按照权利要求 3 所述的化合物, 其中 Q 是被一个或多个取代基任选取代的苯基、吡啶基氧基苯基或苯氧基苯基, 所述取代基独立地选自氟、氯、溴、(C₁ - C₆) 烷基、(C₁ - C₆) 烷氧基或全氟 (C₁ - C₃) 烷基。

18. 按照权利要求 5 所述的化合物, 其中 Q 是被一个或多个取代基

任选取代的苯基、吡啶基氧基苯基或苯氧基苯基，所述取代基独立地选自氟、氯、溴、 $(C_1 - C_6)$ 烷基、 $(C_1 - C_6)$ 烷氧基或全氟 $(C_1 - C_3)$ 烷基。

19. 按照权利要求 7 所述的化合物，其中 Q 是被一个或多个取代基任选取代的苯基、吡啶基氧基苯基或苯氧基苯基，所述取代基独立地选自氟、氯、溴、 $(C_1 - C_6)$ 烷基、 $(C_1 - C_6)$ 烷氧基或全氟 $(C_1 - C_3)$ 烷基。

20. 按照权利要求 8 所述的化合物，其中 Q 是被一个或多个取代基任选取代的苯基、吡啶基氧基苯基或苯氧基苯基，所述取代基独立地选自氟、氯、溴、 $(C_1 - C_6)$ 烷基、 $(C_1 - C_6)$ 烷氧基或全氟 $(C_1 - C_3)$ 烷基。

21. 按照权利要求 1 所述的化合物，其中该化合物选自：

3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]-8-氧杂双环[3.2.1]-辛烷-3-甲酸羟酰胺；

3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基甲基]-8-氧杂双环-[3.2.1]-辛烷-3-甲酸羟酰胺；

3-(4-苯氧基苯磺酰基甲基)-8-氧杂双环[3.2.1]-辛烷-3-甲酸羟酰胺；

3-外型-(4'-氟联苯基-4-磺酰基甲基)-8-氧杂双环-[3.2.1]-辛烷-3-甲酸羟酰胺；和

3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基甲基]-8-氧杂双环[3.2.1]-辛烷-3-甲酸羟酰胺。

22. 用于治疗哺乳动物，包括人体中选自下列疾病的药物组合物，所述疾病选自关节炎(包括骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠病、局限性回肠炎、肺气肿、慢性阻塞性肺病、阿耳茨海默氏病、器官移植体毒性、恶病质、变态反应、变态接触性过敏、癌症、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松症、人造关节植入物的松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化斑破裂)、主动脉动脉瘤(包括

腹主动脉动脉瘤和脑主动脉动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、休克、大脑局部缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性疾病(急性和慢性)、自身免疫性疾病、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、大脑淀粉样血管病、亲精神的或认知增强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常损伤愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤侵入、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、脓毒病和脓毒性休克,该组合物含有在治疗中有效量的权利要求1的化合物和药学上可接受的载体。

23. 用于治疗哺乳动物,包括人体中的选自下列疾病的方法,所述疾病选自关节炎(包括骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠病、局限性回肠炎、肺气肿、慢性阻塞性肺病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶病质、变态反应、变态接触性过敏、癌症、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松症、人造关节植入物的松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化斑破裂)、主动脉动脉瘤(包括腹主动脉动脉瘤和脑主动脉动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、休克、大脑局部缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性疾病(急性和慢性)、自身免疫性疾病、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、大脑淀粉样血管病、亲精神的或认知增强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常损伤愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤侵入、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、脓毒病和脓毒性休克,该方法包括给该哺乳动物施用在该疾病治疗中有效量的权利要求1的化合物。

24. 一种用于治疗哺乳动物包括人体中疾病的药物组合物,所述疾病可以通过抑制基质金属蛋白酶来治疗,该药物组合物含有在治疗中有效量的权利要求1的化合物和药学上可接受的载体。

25. 一种用于治疗哺乳动物包括人体中的疾病的药物组合物,所述

疾病可以通过抑制哺乳动物 reprotolysin 来治疗, 该药物组合物含有在治疗中有效量的权利要求 1 的化合物和药学上可接受的载体。

26. 一种用于抑制哺乳动物包括人体中的基质金属蛋白酶的方法, 该方法包括给该哺乳动物施用有效量的权利要求 1 的化合物。

27. 一种用于哺乳动物包括人体中的哺乳动物 reprotolysin 的方法, 该方法包括给该哺乳动物施用有效量的权利要求 1 的化合物。

说明书

双环异羟肟酸类衍生物

发明背景

本发明涉及双环异羟肟酸类衍生物, 和药物组合物以及治疗方法。

本发明的化合物是锌金属内肽酶, 尤其是那些属于 metzincin 的基质金属蛋白酶(也称作 MMP 和 matrixin)和 reprolysin 亚族(也称作 adamylsin)的抑制剂(Rawlins 等人, 酶学方法, 248, 183-228(1995) 和 Stocker 等人, 蛋白质科学, 4, 823-840(1995))。MMP 亚族的酶中目前包括 17 种成员(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 类酶的最为人所熟知的是其在调节胞外基质蛋白更新中的作用以及在正常生理过程如繁殖、发育和分化中的重要作用。此外, MMP 类表达在多种其中正出现异常结缔组织转换的病理性情况中。譬如, 现已证明 MMP-13, 一种对降解 II 型胶原(软骨中的基本胶原)具有有效作用的酶, 在骨关节炎软骨中过度表达(Mitchell 等人, 临床研究杂志 (J. Clin. Invest.) 97, 761(1996))。其它 MMP(MMP-2、MMP-3、MMP-8、MMP-9、MMP-12)也在骨关节炎软骨中过度表达, 因此人们推断抑制某些或所有这些 MMP 酶能够减缓或阻断关节性疾病如骨关节炎或类风湿关节炎中典型的软骨快速损失。

哺乳动物的 reprolysin 被称作 ADAM(分解素(disintegrin)和金属蛋白酶)(Wolfberg 等人, 细胞生物学杂志, 131, 275-278(1995)), 它除了含有金属蛋白酶样结构域以外还具有分解素结构域。迄今为止已鉴定出 23 种不同的 ADAM。

ADAM-17 也称作肿瘤坏死因子- α 转化酶(TACE), 它是一种最公知的 ADAM。ADAM-17(TACE)可以引起细胞结合的 α -肿瘤坏死因子(TNF- α , 也称作恶液质素)裂解。TNF- α 被认为参与多种感染性和自

身免疫性疾病(W.Friers, FEBS Letters, 285, 199(1991))。此外, 现已显示 $\text{TNF} - \alpha$ 在脓毒病和脓毒症休克中是炎性反应的基本介质(Spooner 等人, 临床免疫性和免疫病理学, 62 S11(1992))。 $\text{TNF} - \alpha$ 存在两种形式: 相对分子量为 26,000(26KD)的 II 型膜蛋白; 和一类 17kD 的可溶性形式, 其得自于通过特异性蛋白水解裂解的细胞结合蛋白。 $\text{TNF} - \alpha$ 的 17KD 可溶性形式是由细胞释放并且和 $\text{TNF} - \alpha$ 的有害作用密切相关。这种形式的 $\text{TNF} - \alpha$ 还能够在远离合成位点的位点处起作用。因此, TACE 的抑制剂可以阻止可溶性 $\text{TNF} - \alpha$ 的形成并且防止该可溶性因子的有害作用。

本发明所选的化合物是聚集蛋白聚糖酶(aggreacanase)的有效抑制剂, 这种酶在软骨聚集蛋白聚糖的降解中发挥重要作用。聚集蛋白聚糖酶也被认为是一种 ADAM。软骨基质中聚集蛋白聚糖的丧失是关节疾病(例如骨关节炎和类风湿性关节炎)进程中的一个重要因素, 人们期望抑制聚集蛋白聚糖酶可以减缓或阻断这些疾病中的软骨损失。

在病理情况中表达的其它 ADAM 包括 ADAM TS-1(Kuno 等人生物化学杂志, 272, 556-562(1997))和 ADAM 10、12 和 15(Wu 等人, Biochem. Biophys Res. Comm., 235, 437-442(1997))。鉴于对 ADAM 的表达生理底物和疾病相关性的了解, 提高了全面抑制此类酶的作用重要性。

其中通过 MMP 类酶和/或 ADAM 类酶的抑制将产生治疗性有益效果的疾病包括: 关节炎(包括骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠病、局限性回肠炎、肺气肿、急性呼吸窘迫综合征、哮喘性慢性阻塞性肺病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶病质、变态反应、变态接触性过敏、癌症、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松症、人造关节植入物的松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化斑破裂)、主动脉动脉瘤(包括腹主动脉动脉瘤和脑主动脉动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、休克、大脑局部缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性疾病(急性和慢性)、自身免疫性疾病、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、大脑淀粉样血管病、亲精神的(nootropic)或认知增强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、

眼血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常损伤愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤侵入、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、脓毒病、脓毒性休克和其它以金属蛋白酶或 ADAM 表达为特征的疾病。

本发明还涉及应用本发明化合物治疗上述哺乳动物尤其是人体疾病的方法，和其有效的药物组合物。

已知 MMP 类和 ADAM 类在不同的病理情况中是以不同的组合来表达。因此，对于各个 ADAM 和/或 MMP 具有特异选择性的抑制剂是各个疾病所优选的。例如，类风湿性关节炎是一种炎性关节病，其特征是 TNF 水平过高和关节基质组成丧失。在这种情况下，可以抑制 TACE 和聚集蛋白聚糖以及 MMP（如 MMP-13）的化合物可是优选的治疗剂。相反地，在非炎性关节病如骨关节炎中，可优选可以抑制基质降解性 MMP（如 MMP-13）而不是 TACE 的化合物。

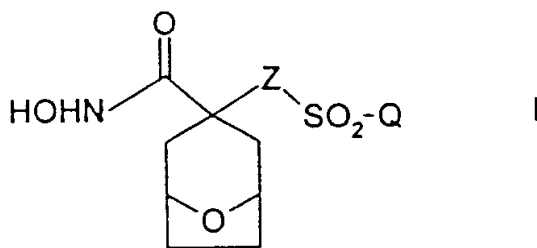
本发明人还发现可以设计具有不同金属蛋白酶活性的抑制剂。具体而言，譬如，本发明人业已能够设计出优先选择性抑制基质金属蛋白酶-13 (MMP-13) 而不是 MMP-1 的分子。

文献中已经公开了基质金属蛋白酶抑制剂。具体地说，PCT 公开 W096/3317 (公开于 1996. 10. 24) 涉及了用作 MMP 抑制剂的环状芳基磺酰基氨基异羟肟酸类化合物。美国专利 5672615、PCT 公开 W097/20824、PCT 公开 W098/08825、PCT 公开 W098/27069 和 PCT 公开 W098/34918 (公开于 1998. 8. 13，标题是“芳基磺酰基氨基异羟肟酸衍生物”) 均描述了用作 MMP 抑制剂的环状异羟肟酸类化合物。PCT 公开 W096/27583 和 PCT 公开 98/07697 (分别公开于 1996. 3. 7 和 1998. 2. 26) 公开了芳基磺酰基氨基异羟肟酸类化合物。PCT 公开 W098/03516 (公开于 1998. 1. 29) 描述了具有 MMP 活性的次膦酸盐。PCT 公开 W098/34915 (公开于 1998. 8. 13)，其标题为“N-羟基-b-磺酰基丙酰胺衍生物”；该文献描述了用作 MMP 抑制剂的丙酰基羟胺类化合物。PCT 公开 W098/33768 (公开于 1998. 8. 3)，其标题为“芳基磺酰基氨基氨基异羟肟酸类衍生物”；该文献描述了 N-未取代的芳基磺酰基氨基氨基异羟肟酸类化合物。题目为“环砜类衍生物”的 PCT 公开 W098/30556 (公开于

1998.7.16)描述了用作 MMP 抑制剂的环砜异羟肟酸类化合物。美国临时专利申请 60/55208(提交于 1997.8.8)描述了作为 MMP 抑制剂的双芳基异羟肟酸类化合物。标题为“芳氧基芳基磺酰基氨基异羟肟酸类衍生物”的美国临时专利申请系列号 60/55207(提交于 1997.8.8)描述了作为 MMP 抑制剂的芳氧基芳基磺酰基异羟肟酸类化合物。标题为“MMP-13 选择性抑制剂在治疗骨关节炎和其它 MMP 介导性疾病中的应用”的美国临时专利申请 60/82766(提交于 1997.10.24)描述了 MMP-13 选择性抑制剂在治疗炎症和其它疾病中的应用。美国临时专利申请系列号 60/68261(提交于 1997.12.19)描述了 MMP 抑制剂在治疗血管生成和其它疾病中的应用。上述公开文献在此全文引入作为参考。

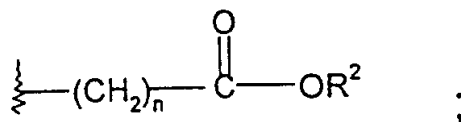
发明概述

本发明涉及式 I 的化合物



其中 Z 是 $>\text{CH}_2$ 或 $>\text{NR}^1$;

R^1 是氢、 $(\text{C}_1 - \text{C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_6 - \text{C}_{10})$ 芳基、 $(\text{C}_1 - \text{C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_2 - \text{C}_9)$ 杂芳基、 $(\text{C}_1 - \text{C}_6)$ 烷基或下式的基团:



n 是 1 - 6 的整数;

R^2 是氢或 $(\text{C}_1 - \text{C}_6)$ 烷基;

Q 是 $(\text{C}_1 - \text{C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_6 - \text{C}_{10})$ 芳基、 $(\text{C}_2 - \text{C}_9)$ 杂芳基、 $(\text{C}_6 - \text{C}_{10})$ 芳基氧基、 $(\text{C}_1 - \text{C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_6 - \text{C}_{10})$ 芳基氧基、 $(\text{C}_6 - \text{C}_{10})$ 芳基、 $(\text{C}_6 - \text{C}_{10})$ 芳基氧基、 $(\text{C}_2 - \text{C}_9)$ 杂芳基、 $(\text{C}_6 - \text{C}_{10})$ 芳基、 $(\text{C}_1 - \text{C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_6 - \text{C}_{10})$ 芳基、 $(\text{C}_6 - \text{C}_{10})$ 芳基

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

其中，所述(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基氧基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基氧基(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)杂芳基氧基(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₉)杂芳基氧基(C₆-C₁₀)芳基、(C₂-C₉)杂芳基氧基(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、(C₂-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷氧基(C₂-C₉)杂芳基、(C₆-C₁₀)芳基氧基(C₁-C₆)烷基(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基氧基(C₁-C₆)烷基(C₂-C₉)杂芳基、(C₂-C₉)杂芳基氧基(C₁-C₆)烷基(C₆-C₁₀)芳基或(C₂-C₉)杂芳基氧基(C₁-C₆)烷基(C₂-C₉)杂芳基的各个(C₆-C₁₀)芳基或(C₂-C₉)杂芳基在各个环的能够形成附加键的任何环碳原子上可以被一个或多个取代基任选地取代，所述取代基独立选自

氟、氯、溴、 $(C_1 - C_6)$ 烷基、 $(C_1 - C_6)$ 烷氧基、全氟 $(C_1 - C_3)$ 烷基、全氟 $(C_1 - C_3)$ 烷氧基和 $(C_6 - C_{10})$ 芳基氧基；

或它们的药学上可接受的盐。

本发明还涉及式 I 化合物的药学上可接受的酸加成盐。适用于制备本发明上述碱性化合物的药学上可接受酸加成盐的酸是可以形成无毒酸加成盐，即含有药学上可接受阴离子的盐的那些酸。所述酸加成盐可例如盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、醋酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、酒石酸氢盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、糖质酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对-甲磺酸盐和扑酸盐[1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐)]。

本发明还涉及式 I 的碱加成盐。可以在制备酸性式 I 化合物的药学上可接受碱性盐中用作试剂的化学碱是那些可以和所述化合物形成无毒碱盐的碱。所述无毒碱盐例如但不限于衍生自药学上可接受阳离子的那些，例如碱金属阳离子(如钾和钠)和碱土金属阳离子(如钙和镁)；铵或水溶性胺加成盐，如 N-甲基葡萄糖胺-(葡甲胺)，三甲基铵或二乙基铵；和低级烷醇铵盐，如三-(羟甲基)-甲基铵和其它药学上可接受有机胺的碱盐。

在此所用的术语“烷基”包括具有直链、支链或环状基团或其组合基团的饱和一价烃基，除非另外说明。

在此所用的术语“烷氧基”包括 O-烷基，其中“烷基”定义如上。

在此所用的术语“芳基”包括通过脱除一个氢的衍生自芳烃的有机基团，如苯基或萘基，除非另外说明。

在此所用的术语“杂芳基”包括衍生自通过脱除一个氢的芳香杂环化合物的有机基团，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、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，除非另外说明。优选的杂芳基包括吡啶基、呋喃基、

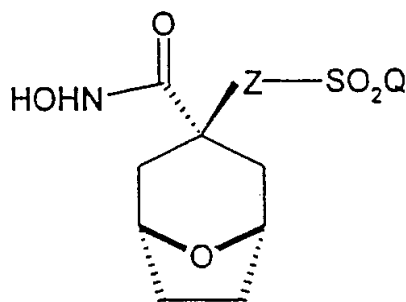
噻吩基、异噻唑基、吡嗪基、嘧啶基、吡唑基、异噁唑基、噻唑基或噁唑基。首选的杂芳基包括吡啶基、呋喃基或噻吩基。

在此所用术语“酰基”包括通式 $R-(C=O)-$ 的基团，除非另外说明。其中 R 是烷基、烷氧基、芳基、芳烷基或芳基烷氧基和术语“烷基”或“芳基”定义如上。

在此所用的术语“酰氧基”包括 O-酰基，其中“酰基”定义如上。

式 I 的化合物可以具有手性中心，所以存在不同的非对映异构体或对映异构体。本发明涉及式 I 化合物的所有旋光异构体、互变异构体和立体异构体和它们的混合物。

优选式 I 化合物作为下式的外型异构体存在：



式 I 的其它优选化合物是那些其中 Q 是 (C_6-C_{10}) 芳基、 (C_2-C_9) 杂芳基氧基 (C_6-C_{10}) 芳基或 (C_6-C_{10}) 芳基氧基 (C_6-C_{10}) 芳基的化合物，其中所述 (C_6-C_{10}) 芳基、 (C_2-C_9) 杂芳基氧基 (C_6-C_{10}) 芳基或 (C_6-C_{10}) 芳基氧基 (C_6-C_{10}) 芳基中的各个芳基或杂芳基可以被一个或多个取代基任选取代，所述取代基独立地选自氟、氯、溴、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_1-C_6) 烷氧基或全氟 (C_1-C_3) 烷基。

更优选的式 I 化合物包括那些其中 Q 是被一个或多个取代基任选取代的苯基、吡啶基氧基苯基(更优选 4-吡啶基)或苯氧基苯基的化合物，所述取代基独立地选自氟、氯、溴、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_1-C_6) 烷氧基或全氟 (C_1-C_3) 烷基，更优选的取代基选自氟、氯、 (C_1-C_6) 烷氧基或 (C_1-C_6) 烷基，首选取代基在 4-位取代。

特别优选的式 I 化合物包括下列化合物：

3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]-8-氧杂双环

[3.2.1] - 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - [4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基甲基] - 8 - 氧杂双环 -

[3.2.1] - 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺;

3 - (4 - 苯氧基苯磺酰基甲基) - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] - 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - (4' - 氯联苯基 - 4 - 苯磺酰基甲基) - 8 - 氧杂双环 -

[3.2.1] - 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺; 和

3 - 外型 - [4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基甲基] - 8 - 氧杂双环

[3.2.1] - 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺;

本发明式 I 的其它化合物包括下列化合物:

3 - 外型 - (4 - 苯氧基苯磺酰基氨基) - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - [4 - (吡啶 - 4 - 基氧基) 苯磺酰基氨基] - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - [4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基氨基] - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺;

3 - [[4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基] - (3 - 内型 - 羟基氨基甲酰基 - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] 辛 - 3 - 基) 氨基] 丙酸;

3 - [[4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基] - (3 - 内型 - 羟基氨基甲酰基 - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] 辛 - 3 - 基) 氨基] 丙酸乙酯;

3 - [[4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基] - (3 - 内型 - 羟基氨基甲酰基 - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] 辛 - 3 - 基) 氨基] 丙酸;

3 - [[4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基] - (3 - 内型 - 羟基氨基甲酰基 - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] 辛 - 3 - 基) 氨基] 丙酸乙酯;

3 - 外型 - {[4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基] 甲氨基} - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺;

3 - 内型 - [4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基氨基] - 8 - 氧杂双环 [3.2.1] - 辛烷 - 3 - 甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - {[4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基] 吡啶 - 3 - 基甲基氨基}

- 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - [4 - (4 - 氟苄氧基)苯磺酰基氨基] - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - (4 - 苄氧基苯磺酰基氨基) - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - (4 - 苄氧基苯磺酰基甲基) - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - {甲基 - [4 - (吡啶-4-基氧基)苯磺酰基]氨基} - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - (4 - 甲氧基苯磺酰基氨基) - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - (4 - 甲氧基苯磺酰基甲基) - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - 5 - 吡啶-2-基噻吩-2-磺酰基氨基) - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - (4 - 苯氧基苯磺酰基氨基) - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - [4 - (吡啶-4-基氧基)苯磺酰基甲基] - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - [4 - (吡啶-4-基氧基)苯磺酰基氨基] - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - [4 - (4 - 氯苄氧基)苯磺酰基甲基] - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - 外型 - [4 - (4 - 氯苄氧基)苯磺酰基氨基] - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟酰胺;

3 - [[4 - (4 - 氟苄氧基)苯磺酰基] - (3 - 内型 - 羟基氨基甲酰基 - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛-3-基)氨基]丙酸;

3 - [(3 - 内型 - 羟基氨基甲酰基 - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛-3-基) - (4 - 苯氧基苯磺酰基) - 氨基]丙酸;

3-外型 - {[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基]吡啶-3-基甲基氨基} - 8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羧酰胺;

3-外型 - [(4-苯氧基苯磺酰基)吡啶-3-基甲基氨基] - 8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羧酰胺;

3-外型 - {甲基[4-(吡啶-4-基氧基)苯磺酰基]氨基} - 8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羧酰胺;

3-外型 - (5-异噻唑-3-基-噻吩-2-磺酰基氨基) - 8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羧酰胺; 和

3-外型 - (5-苯基噻吩-2-苯磺酰基氨基) - 8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羧酰胺。

本发明还涉及用于治疗选自以下疾病的药物组合物, 所述疾病选自关节炎(骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠病、局限性回肠炎、肺气肿、慢性阻塞性肺病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶病质、变态反应、变态接触性过敏、癌症(例如实体瘤, 包括结肠癌、乳腺癌、肺癌和前列腺癌; 以及造血恶性肿瘤, 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、骨质疏松症、人造关节植入物的松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化斑破裂)、主动脉瘤(包括腹主动脉瘤和脑主动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、休克、大脑局部缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性疾病(急性和慢性)、自身免疫性疾病、杭廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、大脑淀粉样血管病、亲精神的或认知增强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常损伤愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤侵入、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、脓毒病、脓毒性休克以及哺乳动物(包括人体)中其它以哺乳动物金属蛋白酶活性或 reprotin 活性为特征的疾病, 该组合物含有在治疗中有效的一定量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体。

本发明还涉及用于抑制哺乳动物(包括人体)中的(a)基质金属蛋白酶或其它参与基质降解的金属蛋白酶, 或(b)哺乳动物

reprolysin(例如聚集蛋白聚糖酶或 ADAM 类的 TS-1、10、12、15 和 17, 首选 ADAM-17)的药物组合物, 该组合物含有有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐。

本发明还涉及治疗选自下列疾病的方法, 所述疾病选自: 关节炎(骨关节炎和类风湿性关节炎)、炎性肠病、局限性回肠炎、肺气肿、慢性阻塞性肺病、阿耳茨海默氏病、器官移植毒性、恶病质、变态反应、变态接触性过敏、癌症、组织溃疡、再狭窄、牙周病、大疱性表皮松解、骨质疏松症、人造关节植入物的松弛、动脉粥样硬化(包括动脉粥样硬化斑破裂)、主动脉动脉瘤(包括腹主动脉动脉瘤和脑主动脉动脉瘤)、充血性心力衰竭、心肌梗塞、休克、大脑局部缺血、头部创伤、脊髓损伤、神经变性疾病(急性和慢性)、自身免疫性疾病、抗廷顿氏舞蹈病、帕金森氏病、偏头痛、抑郁、外周神经病、疼痛、大脑淀粉样血管病、亲精神的或认知增强、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化、眼血管生成、角膜损伤、黄斑变性、异常损伤愈合、烧伤、糖尿病、肿瘤侵入、肿瘤生长、肿瘤转移、角膜瘢痕形成、巩膜炎、AIDS、脓毒病、脓毒性休克以及哺乳动物(包括人体)中其它以哺乳动物金属蛋白酶活性或 reprolysin 活性为特征的疾病, 该方法包括给该哺乳动物施用在这种治疗中有效的一定量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐。

本发明还涉及用于抑制哺乳动物(包括人体)中的(a)基质金属蛋白酶或其它参与基质降解的金属蛋白酶, 或(b)哺乳动物 reprolysin(例如聚集蛋白聚糖酶或 ADAM 类的 TS-1、10、12、15 和 17, 首选 ADAM-17), 的方法, 该方法包括给该动物施用有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐。

本发明还涉及含有式 I 化合物的前药的药物组合物。本发明也涉及可以通过抑制基质金属蛋白酶或抑制哺乳动物 reprolysin 来治疗或预防疾病的方法, 该方法包括施用式 I 化合物的前药。带有游离氨基、酰氨基、羟基或羧基的式 I 化合物可以转化为前药。前药包括其中氨基酸残基、两个或多个(例如 2、3 或 4 个)氨基酸残基的多肽链通

过肽键和式 I 化合物的游离氨基、羟基或羧基共价连接的化合物。氨基酸残基包括 20 种天然氨基酸, 这 20 种氨基酸一般用 3 个字母表示, 并且包括 4-羟基脯氨酸, 羟赖氨酸、地莫辛(demosine)、异地莫辛(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。前药还包括其中碳酸酯、氨基甲酸酯、酰胺和烷基酯通过羰基碳前药侧链与式 I 的上述取代基共价键合的化合物。

所属技术领域的普通技术人员应理解, 本发明的化合物适用于治疗不同系列的疾病。所属技术领域的普通技术人员还应理解, 当在治疗具体疾病中应用本发明的化合物时, 本发明的化合物可以和多种现有用于疾病治疗的治疗剂联合应用。

为了治疗类风湿性关节炎, 本发明的化合物可以与药物如 TNF- α 抑制剂(如抗 TNF 单克隆抗体)和 TNF 受体免疫球蛋白分子(例如 Enbrel®)、低剂量甲氨蝶呤、立福尼米(lefunimide)、羟氯喹、d-青霉胺、金诺芬或非肠道给药或口服给药的金联合使用。

本发明的化合物也可以与现有用于治疗骨关节炎的治疗剂联合应用。适合联合给药的药物包括标准非甾类抗炎剂(在此称作 NSAID 类药物), 如吡罗昔康、双氯芬酸; 丙酸类, 例如萘普生、氟苯布洛芬、非诺洛芬、酮洛芬和布洛芬; 灭酸类, 例如甲灭酸、消炎痛、舒林酸和阿扎丙宗; 吡唑啉酮类, 例如保泰松; 水杨酸类, 例如阿斯匹林; COX-2 抑制剂, 例如塞立西伯(celecoxib)和洛福西伯(rofecoxib); 镇痛剂和关节内治疗剂, 例如皮质类固醇和透明质酸, 如希格安(hyalgan)和希维斯(synvisc)。

本发明的化合物也可以与抗癌药, 例如内抑制素(endostatin)和制管张素或细胞毒药物, 具体如阿霉素、柔红霉素、顺铂、依托泊甙、紫杉醇、taxotere 和生物碱, 如长春新碱; 和抗代谢药如甲氨蝶呤, 联合使用。

本发明的化合物还可以和心血管药(如钙通道阻断剂)、降脂药(如抑制素)、fibrate、 β -阻断剂、ACE 抑制剂、血管紧张素-2 受体拮

抗剂和血小板凝集抑制剂联合应用,

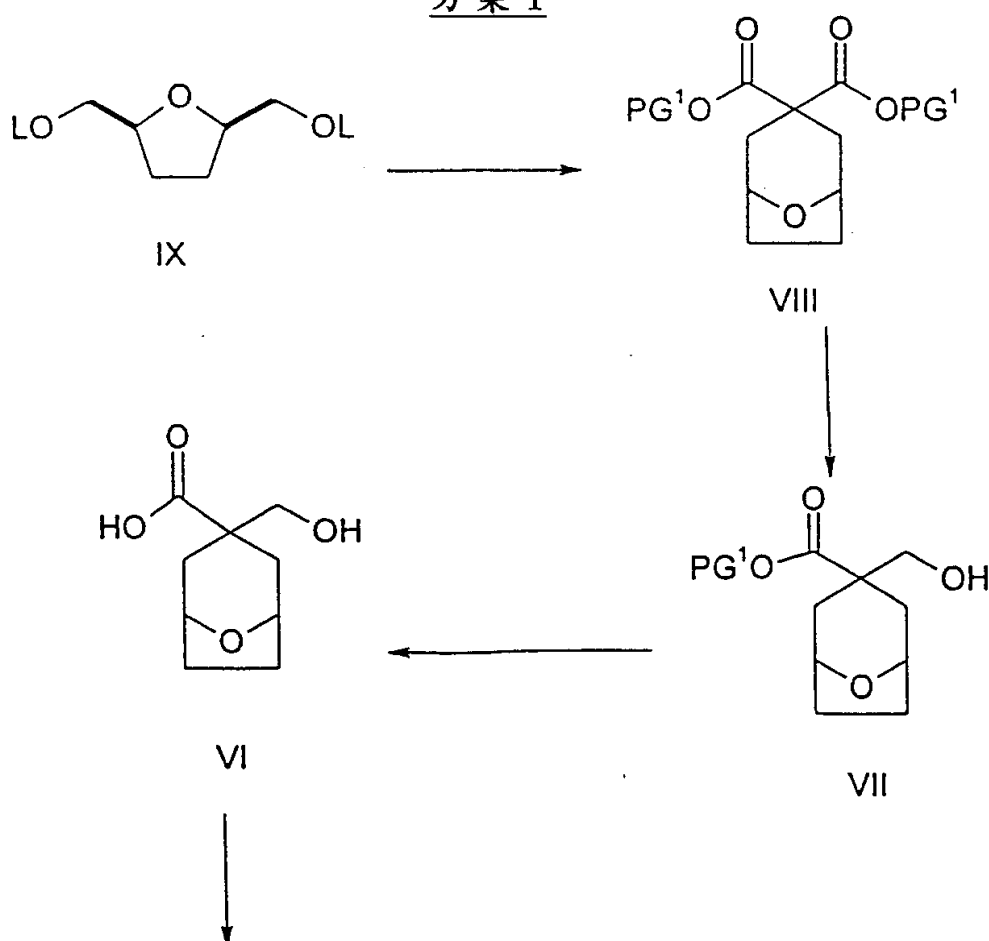
本发明的化合物也可以和 CNS 药物(例如抗抑郁药, 如舍曲林 (sertraline))、帕金森氏病治疗药(例如苄甲炔胺、多巴、瑞奎伯 (requip)、, 米拉特斯 (miratex)、MAOB 抑制剂如司立吉林和雷沙吉兰、comP 抑制剂如他斯玛 (Tasmar)、A-2 抑制剂、多巴胺摄取抑制剂、NMDA 拮抗剂、烟碱激动剂、多巴胺激动剂和神经一氧化氮合成酶抑制剂), 和阿耳茨海默氏病治疗剂如阿赛特 (Aricept)、他克林, COX-2 抑制剂, 丙戊茶碱或美福茶 (metryfonate), 联合应用。

本发明的化合物还可以和骨质疏松症治疗药如屈洛昔芬或福索克斯 (fosomax) 和免疫抑制剂如 FK-506 和雷帕霉素联合应用。

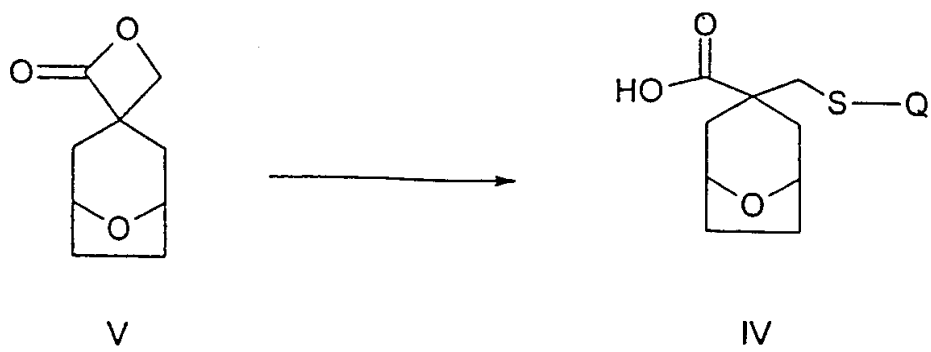
发明详述

下列反应路线举例说明本发明化合物的制备。除非另外指出, 反应路线和下列讨论中的 n 、 R^1 、 R^2 、 Q 和 Z 定义如上。

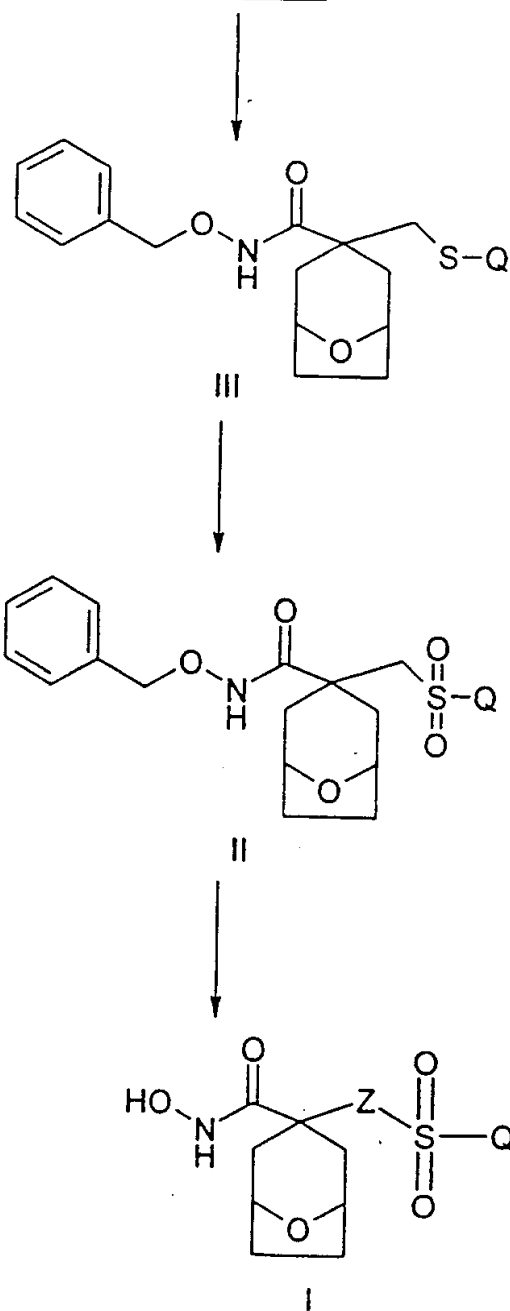
方案 1

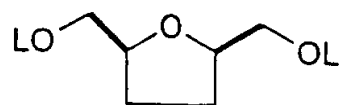


00.10.10

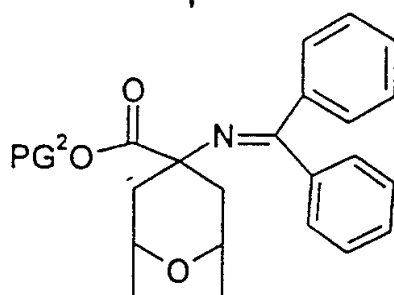


方案 1 续

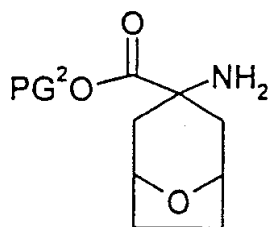


方案 2

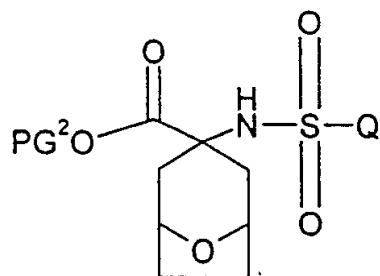
IX



XIV



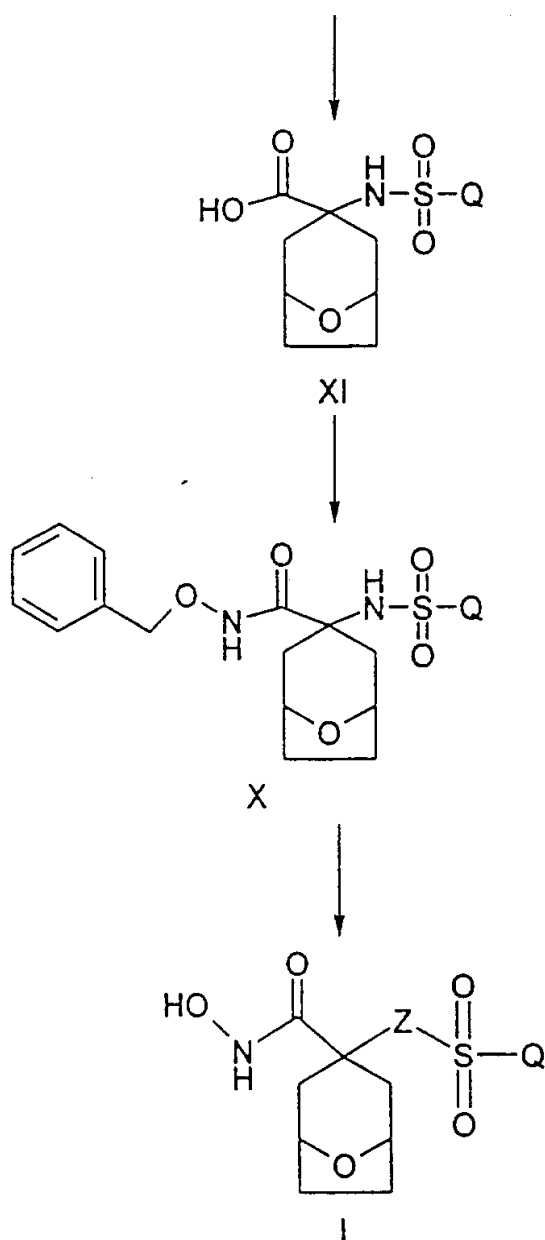
XIII



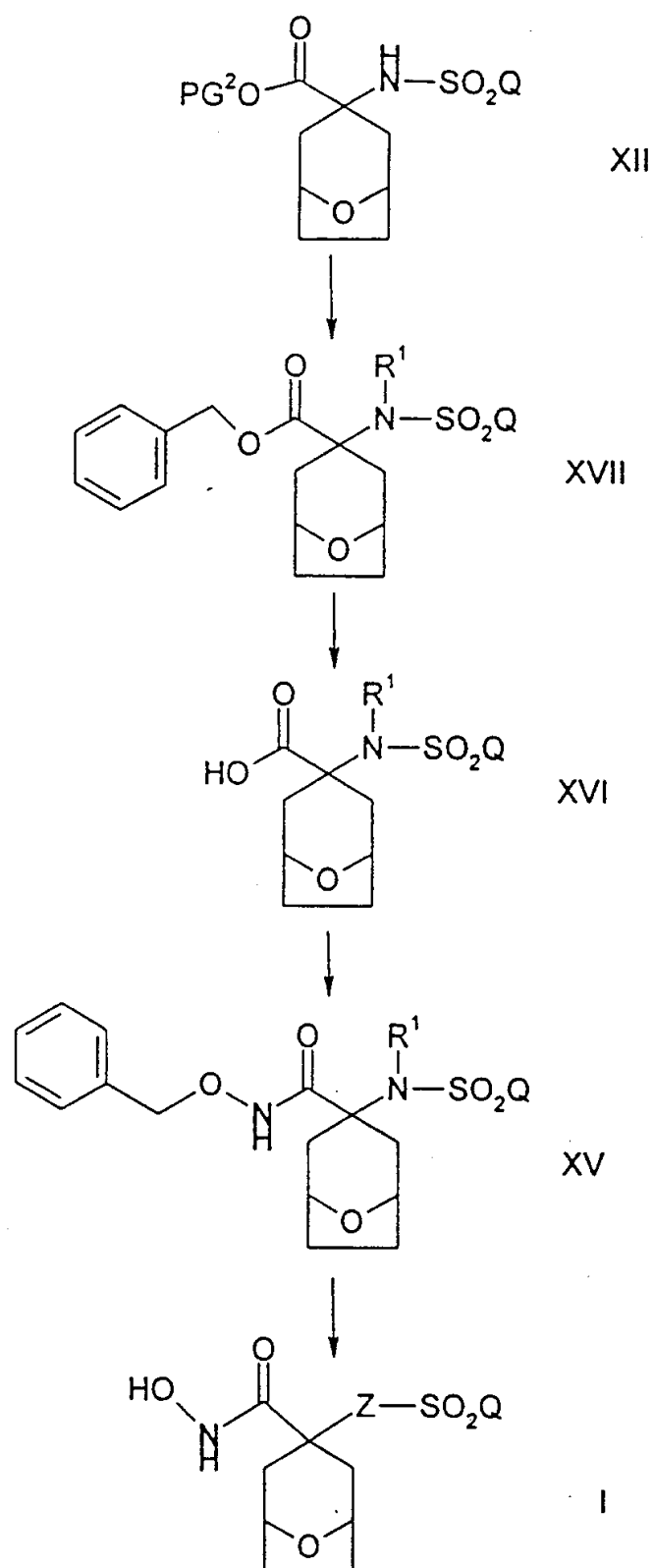
XII

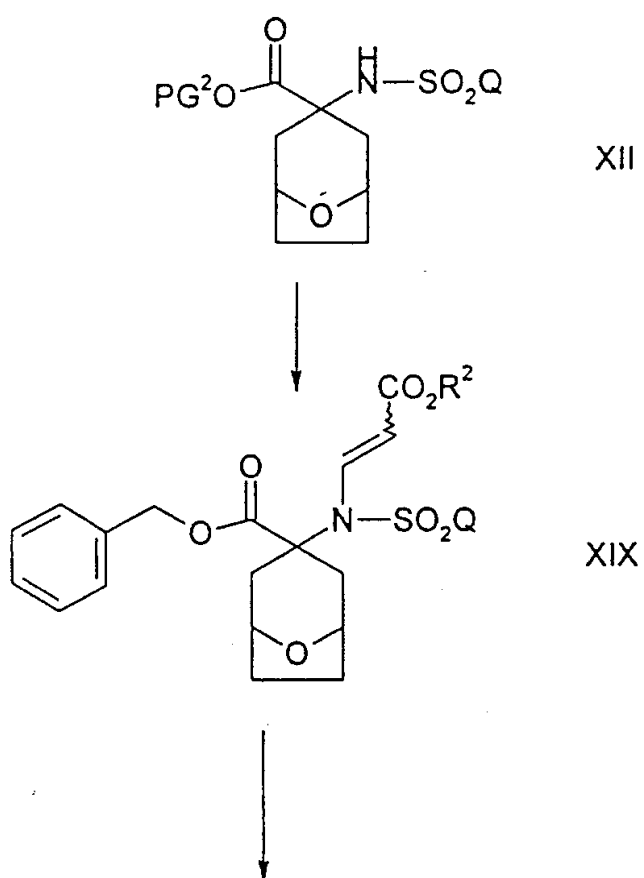
00.10.10

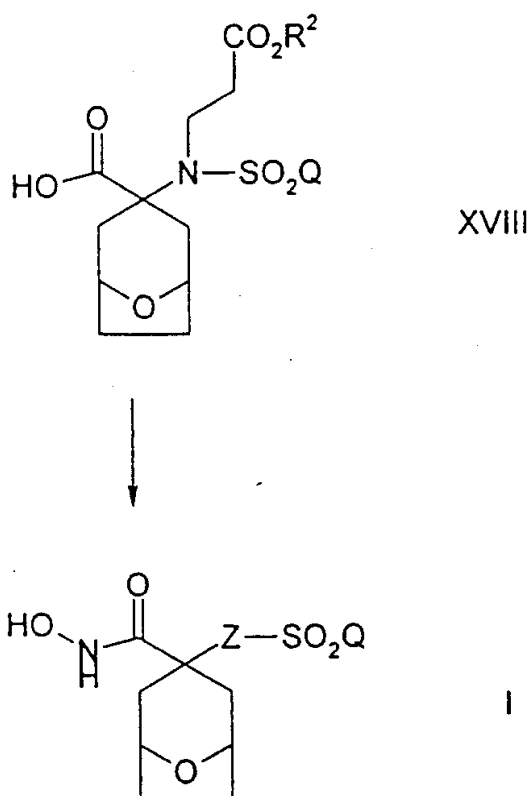
方案 2 续



方案 3



方案 4



合成路线 1 给出了其中 Z 是 CH_2 的式 I 化合物的制备路线。如合成路线 1 所示，式 I 的化合物是由式 II 的化合物通过在氢气氛下、于催化剂的存在下和反应惰性溶剂中氢解来制备的。适用的催化剂包括 5% 的硫酸钡载钨或 5% 的碳载钨，优选 5% 的硫酸钡载钨。适用的溶剂包括醇，例如乙醇、甲醇或异丙醇，优选甲醇。上述反应可以在约 1 - 约 5 个大气压下，优选在 3 个大气压下进行。适合上述反应的温度是约 20°C (室温) 至约 60°C ，优选温度介于 20°C 至约 25°C (即室温) 内。该反应是在约 0.5 小时至约 5 小时内，优选约 3 小时内达到完全。

式 II 的化合物可以由式 III 的化合物通过与氧化剂在反应惰性溶剂中反应来制备的。适用的氧化剂包括间 - 氯过苯甲酸、过氧化氢或过硼酸钠，优选间 - 氯过苯甲酸。适用的溶剂包括卤代溶剂，例如二氯甲烷或氯仿，优选二氯甲烷。适宜上述反应的温度范围是约 0°C 至约 60°C ，优选温度介于约 20°C 至约 25°C (即室温) 的范围内。该反应在约 0.5 小时至约 24 小时内，优选约 16 小时完成。

式 III 的化合物是由式 IV 的化合物通过与 O-苄基羟胺盐酸盐、活化剂和碱在反应惰性溶剂中反应来制备的。适用的活化剂包括(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐或 1-(3-(二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐, 优选(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐。适用的碱包括叔胺类, 例如三乙胺、二异丙基乙基胺或 4-N,N-二甲基氨基吡啶, 优选二异丙基乙基胺。上述反应的温度可以在约 0℃ 至约 60℃ 内, 优选约 50℃。适用的溶剂包括 N,N-二甲基甲酰胺, 卤代溶剂如二氯甲烷或氯仿, 或醚如 THF 或乙醚; 优选的溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺。该反应是在约 4 小时至约 48 小时内, 优选约 16 小时完成。

式 IV 的化合物可以由式 V 的化合物通过与式 QSH 的化合物在强碱的存在下于非质子极性溶剂中反应来制备, 其中 Q 定义如上。适用的碱包括氢化钠、二异丙基氨基锂、叔丁醇钾、氨基钠或氢化钾, 优选氢化钠。适用的溶剂包括醚(例如 THF、乙醚或 1,2-二甲氧基乙烷), 或 N,N-二甲基甲酰胺, 优选的溶剂是 THF。上述反应是在约 -78℃ 至约 0℃ 内进行, 优选在约 22℃ (即室温) 下进行 30 分钟至约 24 小时, 优选约 2 小时。

式 V 的化合物是由 VI 的化合物在叔胺碱(优选三乙胺)的存在下, 任选地在 4-二甲基氨基吡啶的存在下和脱水剂在惰性溶剂中通过脱水反应来制备。适用的脱水剂包括三氟甲磺酸酐、甲磺酸酐、甲磺酰氯、对-甲苯磺酰氯或苯磺酰氯, 优选苯磺酰氯。适用的溶剂包括乙醚或二氯甲烷。该反应是在约 -80℃ 至约 0℃ 内, 优选约 0℃ 下进行约 10 分钟至 4 小时, 优选约 1 小时。

式 VI 的化合物是由式 VII 的化合物通过用碱(例如氢氧化锂)在混合溶剂中皂化来制备的。适用的混合溶剂包括水和甲醇的混合物, 或水、甲醇和 THF 的混合物。该反应是在约 60℃ 至约 120℃ 的温度内, 优选约在所用混合溶剂的回流温度下进行。该反应需要约 30 分钟至 24 小时, 优选约 16 小时。

式 VII 化合物的外型羟甲基异构体是由式 VIII 的化合物制备的。

通常，将式 VIII 化合物的溶液溶解在惰性芳香溶剂，优选苯或甲苯中冷却至约 -40°C 至 -20°C ，优选约 -40°C 。向该冷却溶液中加入存在于惰性芳香溶剂中的受阻还原剂，优选氢化二异丁基铝，温度维持在 -25°C 以下。当加料完毕后，将反应在 0°C 以下保持约 3 小时。在约 -15°C 下，加入质子溶剂，优选乙醇。在 -15°C 搅拌约 1 小时后，加入硼氢化钠且令该反应在搅拌下于 2 至 24 小时内，优选 16 小时内升至室温。

式 VII 化合物的内型 - 羟甲基异构体可以由式 VI 的外型羟甲基化合物通过一系列步骤来制备，这些步骤可以反转带有羟甲基和羧基的碳原子的立体化学。具体而言，式 VI 化合物的外型羟甲基异构体首先被转化为相应的苄酯。随后，醇通过 Jones 氧化作用成为羧酸并且形成烷基酯（甲酯或乙酯），由此提供了中间体混合苄基烷基酯（即外型酯是甲酯或乙酯且内型酯是苄基酯）。随后通过氢解除去苄基酯并通过乙硼烷还原将所得羧酸还原为醇，得到式 VII 化合物的内型 - 羟甲基异构体。

其中 PG^1 是乙基或甲基的化合物式 VIII 是由其中 L 是甲磺酰基、苯磺酰基或甲苯磺酰基的式 IX 的化合物通过与丙二酸二甲酯或二乙酯反应来制备的，该反应是在强碱如氢氧化钠的存在下、于极性溶剂如 N,N-二甲基甲酰胺中反应约 4 小时至约 24 小时，优选约 16 小时。上述反应的温度是约 70°C 至约 150°C ，优选约 140°C 。

式 IX 的化合物是已知化合物或可以通过所属领域普通技术人员熟知的方法来制备。

式 QSH 的化合物可以通过烷基或芳基卤化物与氢硫化钠的反应来制备，如 Jerry March, 在 高级有机化学 360 和 589 (第 3 版, 1985) 中所述。另外，式 QSH 的化合物也可以 March 在上述文献第 601 页所述的通过芳基重氮盐和氢硫化钠的反应来制备。而且，式 QSH 的化合物也可以 March 在上述文献第 550 页中所述通过 Grignard 试剂和硫的反应来制备。此外，式 QSH 的化合物也可以 March 在上述文献第 1107 和 1110 页中所述通过还原磺酰氯、磺酸或二硫化物来制备。

合成路线 2 给出了其中 Z 是 $>NR^1$ 和 R^1 是氢的式 I 化合物的制备路线。如合成路线 2 所示, 式 I 的化合物可以由式 X 的化合物通过在氢气气氛下在催化剂的存在下于反应惰性溶剂中氢解来制备。适用的催化剂包括 5% 的硫酸钡载钨或 5% 的碳载钨, 优选 5% 的硫酸钡载钨。适用的溶剂包括醇如乙醇、甲醇或异丙醇, 优选甲醇。上述反应是在约 1 至约 5 个大气压下, 优选约 3 个大气压下进行。适合于上述反应的温度是约 20℃ (室温) 至约 60℃, 优选的温度范围是约 20℃ 至约 25℃ (即室温)。反应在约 0.5 小时至约 5 小时内, 优选约 3 小时内完成。

式 X 的化合物是由式 XI 的化合物通过与 O-苄基羟胺盐酸盐在催化剂和碱的存在下于反应惰性溶剂中反应来制备。适用的催化剂包括 (苯并三唑-1-基氧基) 三(二甲基氨基) 磷六氟磷酸盐或 1-(3-(二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐, 优选 (苯并三唑-1-基氧基) 三(二甲基氨基) 磷六氟磷酸盐。适用的碱包括叔胺类, 例如三乙胺、二异丙基乙基胺或 4-N,N-二甲基氨基吡啶, 优选二异丙基乙基胺。上述反应的温度是在约 0℃ 至约 60℃ 范围内, 优选约 50℃。适用的溶剂包括 N,N-二甲基甲酰胺或卤代溶剂, 如二氯甲烷或氯仿, 优选的溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺。该反应是在约 4 小时至约 48 小时内, 优选约 16 小时完成。

式 XI 的化合物是由其中 PG^2 是甲基或乙基的式 XII 的化合物通过使用碱如氢氧化钠在混合溶剂中的皂化反应来制备, 所述混合溶剂是水和乙醇。该反应是在约 60℃ 至约 100℃ 的温度内, 优选约在所用混合溶剂的回流温度下进行。该反应需约 1 天至 10 天, 优选约 6 天完成。

其中 PG^2 是甲基或乙基的式 XII 的化合物是由其中 PG^2 是甲基或乙基的式 XIII 的化合物通过与式 QSO_2Cl 的化合物在碱(如三乙胺)的存在下和极性溶剂中反应来制备的。适用的溶剂包括 N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、1,2-二甲氧基乙烷、二噁烷、水或乙腈, 优选 N,N-二甲基甲酰胺。该反应化合物是在室温下搅拌约 1 小时至约 24 小时, 优选约 16 小时。

其中 PG^2 是甲基或乙基的式 XIII 的化合物是由其中 PG^2 是甲基或

乙基的式 XIV 的化合物通过无机酸水溶液的存在下在溶剂如乙醚中水解来制备的。适用的无机酸包括盐酸和硫酸。该反应是在约 0℃ 至约 50℃ 的温度下进行；优选的反应温度是在约 20℃ 至约 25℃（即室温）内。该反应是在约 2 小时至约 28 小时，优选约 16 小时内完成。

其中 PG¹ 是甲基、乙基或苄基的式 XIV 的化合物是由其中 L 是甲磺酰基、苯磺酰基或甲苯磺酰基的式 IX 的化合物通过与 N-二苯基亚甲基甘氨酸、其甲酯、乙酯或苄酯在强碱如氢氧化钠的存在下于极性溶剂如 N,N-二甲基甲酰胺中反应约 4 小时至约 24 小时，优选约 16 小时来制备的。上述反应的温度是约 70℃ 至约 150℃，优选约 100℃。得到的是其中 PG² 是甲基、乙基或苄基的式 XIV 的化合物的非对映异构体混合物，通过色谱法可以分离这些非对映体异构体。

式 QSO₂Cl 和式 IX 的化合物是已知化合物或市售产品，或可以通过所属技术领域普通技术人员熟知的方法来制备。

合成路线 3 给出了式 I 化合物的制备路线，其中 Z 是 NR¹ 和 R¹ 是 (C₁-C₆) 烷基、(C₆-C₁₀) 芳基 (C₁-C₆) 烷基、(C₂-C₉) 杂芳基 (C₁-C₆) 烷基或式 -(CH₂)_nCO₂R² 的基团，其中 n 是 1、3、4、5 或 6 和 R² 是 (C₁-C₆) 烷基。

如合成路线 3 所示，其中 Z 是 NR¹ 和 R¹ 是 (C₁-C₆) 烷基、(C₆-C₁₀) 芳基 (C₁-C₆) 烷基、(C₂-C₉) 杂芳基 (C₁-C₆) 烷基或式 -(CH₂)_nCO₂R² 基团，其中 n 是 1、3、4、5 或 6 和 R² 是 (C₁-C₆) 烷基的式 I 化合物可以由式 XV 的化合物在氢气氛下在催化剂的存在下于反应惰性溶剂中氢解来制备。适用的催化剂包括 5% 的硫酸钡载钨或 5% 的碳载钨，优选 5% 的硫酸钡载钨。适用的溶剂包括醇如乙醇、甲醇或异丙醇，优选甲醇。上述反应是在约 1 至约 5 个大气压下，优选约 3 个大气压下进行。适合于上述反应的温度是约 20℃（室温）至约 60℃，优选的温度范围是约 20℃ 至约 25℃（即室温）。反应在约 0.5 小时至约 5 小时内，优选约 3 小时内完成。

式 XV 的化合物是由 XVI 的化合物通过与 O-苄基羟胺盐酸盐在催化剂和碱的存在下、于反应惰性溶剂中反应来制备。适用的催化剂包

括(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐或 1-(3-(二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐, 优选(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐。适用的碱包括叔胺类, 例如三乙胺、二异丙基乙基胺或 4-N,N-二甲基氨基吡啶, 优选二异丙基乙基胺。上述反应的温度是在约 0℃ 至约 60℃ 内, 优选约 50℃。适用的溶剂包括 N,N-二甲基甲酰胺或卤代溶剂, 如二氯甲烷或氯仿, 优选的溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺。该反应是在约 4 小时至约 48 小时内, 优选约 16 小时完成。

式 XVI 的化合物是由式 XVII 的化合物通过脱除苄基保护基来制备的。具体而言, 通过用钯或碳载钯在溶剂如甲醇或乙醇中在约 20℃ 至 25℃ (即室温) 下氢解约 30 分钟至约 48 小时, 优选 16 小时可以脱除苄基保护基。

式 XVII 的化合物是由其中 PG^2 是苄基的式 XII 的化合物通过与式 R^1OH 所示醇的反应性衍生物的反应来制备, 所述 R^1OH 的反应性衍生物例如甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、氯、溴或碘的衍生物, 优选碘衍生物, 该反应是在碱如碳酸钾或氢化钠, 优选氢氧化钠的存在下和极性溶剂如 N,N-二甲基甲酰胺中进行。反应化合物在室温下搅拌约 60 分钟至约 48 小时, 优选约 16 小时。

其中 PG^2 是苄基的式 XII 的化合物按照合成路线 2 的方法制备。

合成路线 4 给出了其中 Z 是 $>NR^1$ 、 R^1 是式 $-(CH_2)_2CO_2R^2$ (即 n 是 2) 和 R^2 是 $(C_1 - C_6)$ 烷基的式 I 化合物的合成路线。

如合成路线 4 所示, 式 I 的化合物是由其中 R^2 是 $(C_1 - C_6)$ 烷基的式 XVIII 的化合物通过与草酰氯或亚硫酸氯, 优选草酰氯和催化剂, 优选约 2% 的 N,N-二甲基甲酰胺, 在惰性溶剂如二氯甲烷中反应, 就地生成酰氯, 所得酰氯随后与 O-羧甲基硅烷基羟基胺在碱如吡啶、4-N,N-二甲基氨基吡啶或三乙胺, 优选吡啶的存在下反应。该反应是在约 22℃ (即室温) 下进行约 1 至约 12 小时, 优选约 1 小时。

其中 R^2 是 $(C_1 - C_6)$ 烷基的式 XVIII 的化合物可以由其中 R^2 是 $(C_1 - C_6)$ 烷基的式 XIX 的化合物通过在极性溶剂中还原来制备。适用的还原

剂是钡下的氢和碳载钡下的氢，优选碳载钡下的氢。适用的溶剂包括甲醇、乙醇和异丙醇，优选乙醇。上述反应是在约 22℃ (即室温) 下进行 1 至 7 天，优选约 2 天。

其中 R^2 是 $(C_1 - C_6)$ 烷基的式 XIX 的化合物可以由其中 PG^2 是苄基的式 XII 的化合物通过和丙炔酸酯和碱在极性溶剂中的 Michael 加成反应来制备。适用的丙炔酸酯是式 $H - C \equiv C - CO_2R^2$ ，其中 R^2 是 $(C_1 - C_6)$ 烷基。适用的碱包括氟化四丁基铵、碳酸钾和碳酸铯，优选氟化四丁基铵。适用的溶剂包括四氢呋喃、乙腈、叔丁醇和 N,N -二甲基甲酰胺，优选四氢呋喃。上述反应是在约 $-10^\circ C$ 至约 $60^\circ C$ 下，优选在 $0^\circ C$ 至约 $22^\circ C$ (即室温) 下进行。获得的式 XIX 的化合物是在烯属双键的几乎异构体的混合物；不是必须分离这些异构体。

其中 PG^2 是苄基的式 XII 的化合物可以按照合成路线 2 的方法来制备。

其中 Z 是 $>NR^1$ 、 R^1 是式 $-(CH_2)_nCO_2R^2$ 的基团、其中 n 是 1-6 和 R^2 是氢的式 I 的化合物是由其中 Z 是 $>NR^1$ 、 R^1 是 $-(CH_2)_nCO_2R^2$ 的基团、 n 是 1 至 6 和 R^2 是 $(C_1 - C_6)$ 烷基的式 I 的化合物通过用碱如氢氧化钠在质子溶剂如乙醇、甲醇或水或混合物 (如水和乙醇、水和甲苯，或水和 THF) 中皂化来制备。优选的溶剂体系是水和乙醇。该反应是在 30 分钟至 24 小时，优选约 2 小时内完成。

碱性的式 I 化合物能够与多种无机酸或有机酸形成多种不同的盐。虽然所述盐在动物给药中是药学上可接受的，实际中常常希望首先从反应混合物中分离出药学上不可接受盐形式的式 I 化合物，并且随后通过用碱性试剂处理直接将后者转化为游离碱化合物，进而将该游离碱转化为药学上可接受的酸加成盐。通过用基本等量的选定无机酸或有机酸在水溶剂介质中或在适当有机溶剂 (如甲醇或乙醇) 中处理该碱性化合物很容易制备本发明的碱性化合物的酸加成盐。在小心地蒸除溶剂后，得到所需固体盐。

用于制备本发明的碱性化合物的药学上可接受酸加成盐的酸是可以形成无毒酸加成盐，即含有药学上可接受阴离子的盐的那些酸。例

如盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸盐或硫酸氢盐、磷酸盐或酸式磷酸盐、醋酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐或酸式柠檬酸盐、酒石酸盐或酒石酸氢盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、糖质酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐和扑酸盐[即 1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐)]。

酸性的式 I 的化合物能够与多种药学上可接受阳离子形成碱盐。这些盐的实例包括碱金属或碱土金属盐，特别是钠盐和钾盐。这些盐均通过常规技术制备。用作制备本发明药学上可接受碱盐的试剂的化学碱是那些与在此所述的酸性式 I 化合物形成无毒盐的化学碱。这些无毒碱盐包括那些衍生自例如药学上可接受阳离子的盐，如钠、钾、钙和镁盐等。通过用含有预定药学上可接受阳离子的水溶液处理相应的酸性化合物可以很容易地制备上述盐，并且随后将所得容易蒸发至干，优选在减压条件下蒸发。此外，它们还可以通过将酸性化合物的低级烷醇溶液和所需碱金属醇化物混合在一起来制备，并且随后以如上所述的相同方式将所得溶液蒸发至干。在上述两种情况中，适宜采用化学计量量的试剂，目的是确保反应完全和产物收率最高。

下文的体外分析实验显示出式 I 的化合物或其药学上可接受盐(此后称作本发明的化合物)抑制金属蛋白酶或哺乳动物 reprolysin 的能力，并且由此证实其在治疗以金属蛋白酶或肿瘤坏死因子的产生为特征的疾病中的有效性。

生物实验

人体胶原酶(MMP-1)的抑制作用

用胰蛋白酶激活人重组胶原酶。对于各个批次的胶原酶-1 需选择最佳的胰蛋白酶量，但典型反应采用下列配比：每 100 μ g 胶原酶 5 μ g 胰蛋白酶。将胰蛋白酶和胶原酶在室温下培养 10 分钟，随后加入 5 倍过量(50mg/10mg 胰蛋白酶)的大豆胰蛋白酶抑制剂。

用二甲基亚砷制备抑制剂的储备液(10mM)且随后按照下列顺序稀释：

$$10\text{mM} \rightarrow 120\mu\text{M} \rightarrow 12\mu\text{M} \rightarrow 1.2\mu\text{M} \rightarrow 0.12\mu\text{M}$$

随后, 将 25 μ l 各个浓度的溶液一式三份地加入 96 孔显微荧光平板的适当孔中。抑制剂的终浓度在加入酶和动物后为 1:4 的稀释液。阳性对照(酶, 无抑制剂)被设定在 D7 - D12 孔, 同时阴性对照(无酶, 无抑制剂)被设定在 D1 - D6 孔。

将胶原酶 - 1 稀释至 240ng/ml 并随后向显微荧光平板的适当孔中加入 25 μ l。实验中胶原酶的终浓度为 60ng/ml。

在二甲基亚砷中制备底物 (DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH₂) 的 5mM 储备液且随后在实验缓冲液中稀释至 20 μ M。通过向显微荧光平板的各个孔中加入 50 μ l 底物来引发试验, 终浓度为 10mM。

在 0 时刻和此后每隔 20 分钟采集荧光读数(360nm 激发光, 460nm 发射光)。实验是在室温下以 3 小时的典型试验时间进行。

将对照物和含样本胶原酶的荧光相对于时间绘制曲线(取 3 份试验数据的平均值)。选择提供良好信号(至少是空白品的 5 倍)和位于曲线线性部分(通常在 120 分钟左右)上的时间点用来测定 IC₅₀ 值。用零时间作为各个化合物在各种浓度下的空白值, 并且从 120 分钟所得的数据中减去该数值。将数据绘制成抑制剂浓度相对于空白的百分比(将抑制剂的荧光除以单独胶原酶的荧光 $\times 100$)。由信号是空白对照的 50 % 的抑制剂浓度测定出 IC₅₀。

如果记录的 IC₅₀ 小于 0.03mM, 则以 0.3mM、0.03mM 和 0.003mM 的浓度试验抑制剂。

明胶酶 (MMP - 2) 的抑制作用

在 4℃ 和轻微摇动下, 用 1mM 对 - 氨基苯基 - 醋酸汞(得自于在 0.2N NaOH 中新制备的 100mM 储备液)将人体重组 72KD 明胶酶 (MMP - 2, 明胶酶 A) 活化 16 - 18 小时。

按照下列顺序在试验缓冲液 (50mM TRIS, pH 7.5, 200mM NaCl, 5mM CaCl₂, 20 μ M ZnCl₂ 和 0.02% BRIJ-35 (v/v)) 中连续稀释抑制剂的 10mM 二甲基亚砷储备液。

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

如果必要可以按照相同顺序进一步稀释。在各试验中每种化合物最少测试 4 种抑制浓度。随后将 25 μ l 各个浓度的抑制剂加入黑色 96 孔 U 形底显微荧光平板的 3 份孔中。由于最后的试验体积为 100 μ L, 因此抑制剂的终浓度是进一步的 1:4 稀释液(即 30 μ M $\rightarrow$ 3 μ M $\rightarrow$ 0.3 μ M $\rightarrow$ 0.3 μ M)。另外一式三份制备空白物(无酶, 无抑制剂)和阳性酶对照物(含酶, 无抑制剂)。

在试验缓冲液中将活化酶稀释至 100ng/ml, 将 25 μ l/孔加入至微量平板的适当孔中。试验中酶的终浓度是 25ng/ml (0.34nM)。

在试验缓冲液中将底物 (Mca-Pro-leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂) 的 5mM 二甲基亚砷储备液稀释至 20 μ M。通过加入 50 μ L 的稀释底物使底物试验终浓度为 10 μ M 以便引发试验。在零时刻, 立刻记录荧光读数 (320 激发光; 390 发射光) 且随后每隔 15 分钟在室温下读取数据, 读数采用增益为 90 单位的 Perseptive Biosystems CytoFluor 多孔平板读数器。

将酶和空白对照的荧光平均值相对于时间绘制曲线。选择位于该曲线线性部分上在前的时间点来测定 IC₅₀。从后面的时间点减去各种化合物在各个稀释度下的零时间点, 随后将数据表示为酶对照物的百分比(抑制剂的荧光除以阳性酶对照的荧光 $\times$ 100)。将数据绘制成抑制剂浓度相对于酶对照的百分比。IC₅₀ 被定义为所得信号是阳性酶对照的 50% 的抑制剂浓度。

溶基质素 (MMP - 3) 的抑制作用

在 37 $^{\circ}$ C 下用 2mM 对 - 氨基苯基 - 醋酸汞(得自于在 0.2N NaOH 中新制备的 100mM 储备液)将人体重组溶基质素 (MMP - 3, 溶基质素 - 1) 活化 20 - 22 小时。

按照下列顺序在试验缓冲液 (50mM TRIS, pH 7.5, 150mM NaCl, 10mM CaCl₂ 和 0.05% BRIJ-35 (v/v)) 中连续稀释抑制剂的 10mM 二甲基亚砷储备液。

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

如果必要, 按照相同顺序进一步稀释。在各试验中每种化合物最

少测试 4 种抑制浓度。随后将 25 μ l 各个浓度的抑制剂加入黑色 96 孔 U 形底显微荧光平板的 3 份孔中。由于最终的实验体积是 100 μ L, 因此抑制剂的终浓度是 1:4 的稀释液(即 30 μ M $\rightarrow$ 3 μ M $\rightarrow$ 0.3 μ M $\rightarrow$ 0.3 μ M)。另外一式三份制备空白品(无酶, 无抑制剂)和阳性酶对照品(含酶, 无抑制剂)。

在试验缓冲液中将活化酶稀释至 200ng/ml, 将 25 μ l/孔加至微量平板的适当孔中。试验中酶的终浓度是 50ng/ml (0.875nM)。

在试验缓冲液中将底物 (Mca-Arg-Pro-lys-Pro-Val-Glu-Nva-Trp-Arg-lys(Dnp)-NH₂) 的 10mM 二甲基亚砷储备液稀释至 6 μ M。通过加入 50 μ L 的稀释底物使底物试验终浓度为 3 μ M 来引发试验。在零时刻, 立刻记录荧光读数(320 激发光; 390 发射光)且随后每隔 15 分钟在室温下读取数据, 读数采用增益为 90 单位的 Perseptive Biosystems CytoFluor 多孔平板读数器。

将酶和空白对照的荧光平均值相对于时间绘制曲线。选择位于该曲线线性部分上在前的时间点用来测定 IC₅₀。从后面的时间点减去各种化合物在各个浓度下的零时间点, 随后将数据表示为酶对照的百分比(抑制剂的荧光除以阳性酶对照的荧光 $\times$ 100)。将数据绘制成抑制剂浓度相对于酶对照的百分比。IC₅₀ 被定义为所得信号是阳性酶对照的 50% 的抑制剂浓度。

此外, 可以利用 Mca-Arg-Pro-lys-Pro-Val-Glu-Nva-Trp-Arg-lys(Dnp)-NH₂ (3 μ M) 在类似于抑制人体胶原酶(MMP-1)的条件下分析对溶基质素活性的抑制作用。

在 37 $^{\circ}$ C 下用 2mM APMA(对-氨基苯基醋酸汞)活化人体溶基质素 20-24 小时并且稀释为 50ng/ml 的试验终浓度。将抑制剂稀释以便用于人体胶原酶(MMP-1), 所得试验终浓度为 30 μ M、3 μ M、0.3 μ M 和 0.03 μ M。各个浓度一式三份。

在零时刻和随后 3 小时内每隔 15 分钟采集荧光读数(320nm 激发光, 390 发射光)。

测定对每种人体胶原酶(MMP-1)抑制作用的 IC₅₀。如果记录的

IC_{50} 小于 $0.03\mu M$, 则以 $0.3mM$ 、 $0.03mM$ 和 $0.003mM$ 的终浓度试验抑制剂。

按照与测定胶原酶相同的方式测定 IC_{50} 值。

MMP-13 的抑制作用

在 $37^{\circ}C$ 下用 $2mM$ MAPMA (对-氨基苯基醋酸汞) 活化人体 MMP-13 2.0 小时, 在试验缓冲液中稀释至 $240ng/ml$ ($50mM$ TRIS, $pH 7.5$, $200mM$ NaCl, $5mM$ $CaCl_2$, $20\mu M$ $ZnCl_2$ 和 0.02% BRIJ-35 (v/v))。随后将 $25\mu l$ 的稀释酶溶液加入黑色 96 孔 U 形底显微荧光平板的各孔中。通过加入抑制剂和底物将酶 1:4 稀释, 试验中的终浓度为 $60ng/ml$ 。

用二甲基亚砷制备抑制剂的储备液 ($10mM$) 且随后在试验缓冲液中按照用于测定人体胶原酶-1 的抑制剂稀释路线来稀释各个抑制剂 (MMP-1); 将 $25\mu L$ 的各个浓度一式三份加入显微荧光平板中。试验中的终浓度为 $30\mu M$ 、 $3\mu M$ 、 $0.3\mu M$ 和 $0.03\mu M$ 。

按照用于抑制人体胶原酶 (MMP-1) 的方法制备底物 (Dnp-Pro-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)- NH_2) 且在各孔中加入 $50\mu L$, 使试验终浓度为 $10\mu M$ 。在零时刻和随后 1 小时内每隔 5 分钟采集荧光读数 ($360nm$ 激发光, 450 发射光)。

按照 MMP-1 所述方式一式三份设定阳性对照物和阴性对照物。

测定对每种人体胶原酶 (MMP-1) 的抑制作用的 IC_{50} 。如果记录的 IC_{50} 小于 $0.03\mu M$, 则在 $0.3mM$ 、 $0.03mM$ 、 $0.003mM$ 和 $0.0003mM$ 的终浓度下试验抑制剂。

对 TNF 产生的抑制作用

下列体外试验显示出化合物或其药学上可接受盐抑制 TNF 生产的能力, 并且由此证明其在治疗与 TNF 生产有关的疾病中的有效性:

利用一步式 Ficoll-hypaque 分离技术由抗凝人血中分离出人体单核细胞。(2) 用含有二价阳离子的 Hanks 平衡盐溶液 (HBSS) 将该单核细胞洗涤 3 次, 和重新悬浮在含 1% BSA 的 HBSS 中使密度为 $2 \times 10^6/ml$ 。利用 Abbott Cell Dyn 3500 分析仪测定的微分计数显示, 这些制剂中该单核细胞占细胞总数的 $17-24\%$ 。

将 180 μ L 的细胞悬浮液等份地加样至平底 96 孔平板 (Costar) 中。加入化合物和 LPS (100ng/ml, 终浓度) 至终体积为 200 μ L。所有情况均一式三份。在 37 $^{\circ}$ C 的加湿 CO₂ 恒温箱中培养 4 小时后, 取出平板和离心 (10 分钟, 约 250 $\times$ g), 除去上清液, 用 R&D ELISA 试剂盒测定 TNFa。

可溶性 TNF- α 生产的抑制

下列体外试验显示出化合物或其药理学上可接受盐抑制细胞释放 TNF- α 的能力, 并且由此证明其治疗与可溶性 TNF- α 失调有关的疾病中的有效性:

用于评估重组 TNF- α 转化酶活性的方法

重组 TACE 的表达

通过聚合酶链式反应、用人体肺 cDNA 文库作为模板可以扩增 DNA 片段, 该 DNA 片段用于编码 TACE (氨基酸 1-473) 的信号序列、前原结构域 (preprodomain)、原结构域 (prodomain) 和催化结构域。随后将扩增片段克隆在 pFastbac 载体中。插入体的 DNA 序列在两条 DNA 链都得以证实。将在 E. coli DH10Bac 中用 pFastBac 制备杆粒转染至 Sf9 昆虫细胞中。最后使病毒颗粒扩增至 P1、P2、P3 阶段。将 P3 病毒感染至 Sf9 和 High Five 昆虫细胞内且在 27 $^{\circ}$ C 下生长 48 小时。收集培养基, 用于试验和进一步的纯化。

荧光猝灭底物的制备

制备模型肽 TNF- α 底物 (LY-亮氨酸丙氨酸谷氨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=荧光黄; CTMR=羧基四甲基-罗丹明)), 并且按照 Geoghegan, KF, 在 “用于将未改性肽转化成为蛋白酶的能量传递底物的改进方法” Bioconjugate Chem. 7, 385-391 (1995) 中所述的方法根据在 560nm (E_{560} , 60,000M⁻¹CM⁻¹) 下的吸光度评估浓度。这种肽在原 TNF 上带有裂解位点, 该位点在体内由 TACE 裂解。

重组 TACE 的表达

通过聚合酶链式反应、用人体肺 cDNA 文库作为模板可以扩增 DNA

片段, 该 DNA 片段用于编码 TACE(氨基酸 1 - 473)的信号序列、前原结构域(preprodomain)、原结构域(prodomain)和催化结构域。随后将扩增片段克隆在 pFastbac 载体中。插入的 DNA 序列在两条 DNA 链中都得以证实。将在 E. coli DH10Bac 中用 pFastBac 制备的杆粒转染至 Sf 9 昆虫细胞中。令病毒颗粒扩增至 P1、P2、P3 阶段。将 P3 病毒感染至 Sf 9 和 High Five 昆虫细胞内且在 27℃ 下生长 48 小时。收集培养基, 用于试验和进一步的纯化。

酶反应

反应是在 96 孔平板(Dynatech)中进行, 孔中含有 70μL 的缓冲液(25mM Hepes-HCl, pH 7.5, 加 20μM ZnCl₂)、10μL 的 100μM 荧光猝灭底物、10μL 试验化合物的 DMSO(5%)溶液, 和在 60 分钟内引发 50% 裂解的量的 r-TACE—总体积为 100μL。通过 HPLC 和质谱证实酶在丙氨酸和缬氨酸之间的酰胺键处发生特异性酶裂解。通过在 530nm(409nm 激发光)下测定 30 分钟内荧光的提高速率来监测裂解的初始速率。该试验控制如下: 1)底物的背景荧光; 2)完全裂解的底物的荧光; 3)含有试验化合物的溶液中荧光的猝灭或增益。

数据分析如下。将得自含非试验化合物的“对照物”的速率取平均值, 令其为 100% 值。对比由试验化合物存在下的反应获得的速率和由试验化合物不存在下反应获得的速率对比, 并且将其制成“含非试验化合物对照试验的百分比”的表格。结果绘制为“对照物的 %”相对于化合物浓度的 log 值的曲线, 测数半数最大点或 IC₅₀。

本发明的所有化合物具有小于 1μM, 优选小于 50nM 的 IC₅₀。和上述 TACE 试验中的对比, 本发明首选化合物对抗 r-MMP-1 的效能至少小 100 倍。

人体单核细胞试验

利用一步式 Ficoll-hypaque 分离技术由抗凝人血中分离出人体单核细胞。(2)用具有二价阳离子的 Hanks 平衡盐溶液(HBSS)将该单核细胞洗涤 3 次, 和重新悬浮在含有 1% BSA 的 HBSS 中以使密度为 $2 \times 10^6/\text{ml}$ 。用 Abbott Cell Dyn 3500 分析仪测定的微分计数显示, 这些

制剂中该单核细胞占细胞总数的 17 - 24 %。

将 180m 的细胞悬浮液等份地加样至平底 96 孔平板 (Costar) 中。加入化合物和 LPS (100ng/ml, 终浓度), 终体积为 200 μ L。所有条件均一式三份。在 37 $^{\circ}$ C 下和加湿 CO₂ 恒温箱中培养 4 小时后, 取出平板和离心 (10 分钟, 约 250 $\times$ g), 除去上清液, 用 R&DElISA 试剂盒测定 TNFa。

聚集蛋白聚糖酶试验

由关节软骨依次通过胰蛋白酶和胶原酶消化, 随后胶原酶消化过夜分离出初级猪软骨细胞, 将其以 2×10^5 细胞/孔置于 48 孔平板中, 在 I 型胶原涂层平板中含有 5 μ Ci/ml ³⁵S (1000Ci/mmol) 的硫。在 37 $^{\circ}$ C 和 5% CO₂ 的气氛下, 将细胞的蛋白聚糖基质混合标记 (约 1 周)。

在开始试验的前夜间, 在 DMEM 1% PSF/G 中将软骨细胞单层洗涤 2 次, 并且在新鲜 DMEM/1% FBS 中培养过夜。

次日清晨在 DMEM 1% PSF/G 中将软骨细胞单层洗涤 1 次。最后一次洗涤是在位于恒温箱中的平板中进行, 同时稀释。

按照下表制备培养基和稀释液。

对照培养基	DMEM 单独 (对照培养基)
IL - 1 培养基	DEME + IL - 1 (5ng/ml)
药物稀释	在 DMSO 中制备所有化合物的储备液 10mM 在 96 孔中, 在 DMEM 中制备各个化合物的 100μM 储备液 在冰箱中保藏过夜 第 2 天在 DMEM 中连续稀释, 令 IL - 1 为 5μM, 500nM 和 50nM 由孔中抽吸出最后的洗涤液并且向在 48 孔平板适当孔中的 450uL 的 IL - 1 中加入 50uL 的上述化合物稀释液 化合物的终浓度等于 500nM、50nM 和 5nM 在各个平板中所有样本和对照和只含有 IL - 1 的样本均一式三份

标记平板且选用平板内部的 24 个孔。在一个平板中，若干列被指定为 IL-1 (无药物) 孔和对照 (无 IL-1, 无药物) 孔。定期将这些对照列计数以监测 35S 蛋白聚糖的释放。将对照物和 IL-1 培养基加入孔 (450uL) 中，随后加入化合物 (50uL)，由此引发试验。将平板在 37℃ 和 5% CO₂ 的气氛下培养。

当通过液体闪烁计数法 (LSC) 测定的释放率为 40 - 50 % (当 IL-1 培养基中的 CPM 是对照培养基的 4 - 5 倍时) 时，终止该试验 (9 - 12 小时)。取出所有孔中的培养基且置于闪烁管内。加入闪烁质并获取放射性计数 (LSC)。为了溶解细胞层，向各孔中加入木瓜蛋白酶消化缓冲液 (0.2 Tris, pH 7.0, 5mM EDTA, 5mM DTT, 和 1mg/ml 木瓜蛋白酶)。将含有消化液的平板在 60℃ 下培养过夜。次日取出平板中的细胞层且置于闪烁管中。加入闪烁质，并且将样本计数 (LSC)。

测定出各个孔中释放数量相对于总数的百分比。从各孔中减去对照背景值，计算出一式三份结果的平均值。化合物抑制的百分比是基于 IL-1 样本，该样本被视作抑制率为 0 % (总计数的 100 %)。

为了对哺乳动物 (包括人体) 给药用于抑制基质金属蛋白酶或肿瘤坏死因子 (TNF) 的生产，可以采用多种常规途径，其中包括口服、非肠道 (例如静脉内、肌肉内或皮下)、经颊、经肛门和局部的途径。通常，活性化合物应以约 0.1 至 25mg/kg 被处理对象的体重/天，优选 0.3 至 5mg/kg 的剂量给药。优选活性化合物通过口服或非肠道途径给药。然而，剂量应根据被处理对象的情况做某些改变。在任何情况中，负责用药的人员决定适合个体对象的适当剂量。

本发明的化合物可以以多种不同的剂型给药，通常，本发明的治疗上有效的化合物是以浓度约 5.0 % (重量) 至约 70 % (重量) 的剂型存在。

为了口服给药，含有多种赋形剂如微晶纤维素、柠檬酸钠、碳酸钙、磷酸二钠盐和甘氨酸的片剂可以与多种崩解剂如淀粉 (且优选玉米、土豆或木薯淀粉)、藻酸和某些复合硅酸盐，以及制粒粘合剂如聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖、明胶和阿拉伯胶联合使用。此外，在制片中极

其常用的是乳化剂如硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠和滑石。相似类型的固体组合物还可以用作明胶胶囊的填充物；在此优选的材料还包括乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇。当希望用水悬浮液和/或酞剂口服给药时，活性组分可以和多种甜味剂或矫味剂、着色剂或染料混合，并且如果必要，采用乳化剂和/或助悬剂，以及稀释剂如水、乙醇、丙二醇、甘油和它们的多种混合物。在动物的情况中，它们适宜以 5 - 5000ppm，优选 25 - 500ppm 的浓度含在动物饲料或饮水中。

为了非肠道给药（肌肉内、腹膜内、皮下和静脉内应用），通常制备活性组分的明胶可注射溶液。可以采用溶于芝麻油或花生油或溶于函数丙二醇中的本发明治疗化合物的溶液。应对水溶液作适当调节和缓冲，优选 pH 大于 8，如果必要，首先用液体稀释剂调至等渗。这些水溶液适合静脉内注射的目的。油溶液适合关节内、肌肉内和皮下注射给药。所属技术领域的普通技术人员通过标准制药技术可以很容易地在灭菌条件下制备所有上述溶液。在动物的情况中，化合物可以通过肌肉内或皮下以约 0.1 至 50mg/kg/天，优选 0.2 至 10mg/kg/天的剂量水平给药，给药可以采取单剂量或至多分 3 次给药。

为了局部眼给药，直接涂敷在感染眼部可以采用滴眼液、气溶胶、凝胶或软膏的剂型，或可以混合在胶原（例如聚-2-羟乙基甲基丙烯酸酯及其共聚物）中，或亲水聚合物防护屏中。还可以将所述材料应用于隐形眼镜片，或经局部储库给药，或制成结膜下制剂。

为了眼眶内给药，通常制备活性组分的灭菌可注射溶液。可以采用本发明的治疗化合物在水溶液或悬浮液（粒度小于 10 微米）中的溶液。应对水溶液作适当调节和缓冲，优选 pH 为 5 至 8，如果必要，首先用液体稀释剂调至等渗。可以加入少量聚合物以提高粘度或用于缓释（例如纤维素聚合物、葡聚糖、聚乙二醇，或藻酸）。这些溶液适合于眼眶注射的给药。所属技术领域的普通技术人员通过标准制药技术可以很容易地在灭菌条件下制备所有上述溶液。在动物的情况中，化合物可以通过眼眶以约 0.1 至 50mg/kg/天，优选 0.2 至 10mg/kg/天的剂量水平给药，给药可以采取单剂量或至多分 3 次给药。

本发明的活性化合物也可以制备成为直肠用组合物，例如栓剂或保留型灌肠剂，例如含有常规栓剂基质，例如椰油或其他甘油酯。

为了鼻内给药或通过吸入给药，本发明的活性组分一般以溶液或混悬液的形式由泵式喷雾容器给药，患者可以挤压或泵压该容器，或作为气溶胶喷雾剂由加压容器或雾化器给药，同时应用适当的抛射剂，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气体。在加压气溶胶的情况中，剂量单位是由释放计量量的阀门来决定。加压阀门或雾化器可以含有活性化合物的溶液或混悬液。适用于吸入器或吹入器中的胶囊和药筒（例如，由明胶制得）可以配制为含有本发明化合物和适当粉末基质（例如乳糖或淀粉）的粉状混合物。

下列制备例和实施例举例说明本发明化合物的制备。熔点未经校正。将 NMR 数据记录为 ppm(δ)并且与样本溶剂的氘锁峰信号（氘代氯仿，除非另外说明）进行参比。化学试剂在使用时无需进一步纯化。THF 是指四氢呋喃。DMF 是指 N,N-二甲基甲酰胺。色谱是指使用 32-63mm 硅胶和在氮气压（闪式色谱）条件下的柱色谱。室温或常温是指 20-25 °C。所有非水反应为了方便是在氮气氛下进行以提高收率。减压下的浓缩是指采用旋转蒸发器。

制备例 1:

4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氯

将氢化锂铝 (0.95g, 0.26mol) 分次加入 4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氯 (30g, 0.105mol) 在四氢呋喃 (700mL) 中的搅拌溶液内。将所得混合物加热回流 1.5 小时，在冰浴中冷却，通过加入 10% 的硫酸水溶液 (100ml) 终止反应。搅拌 30 分钟后，混合物经 Celite™ 过滤并且在真空下除去四氢呋喃。将残余物用水稀释且用乙醚提取。有机层用水和盐水洗涤，硫酸镁干燥和在真空下浓缩，得到标题化合物，该化合物为白色固体 (23g, 100%)。

制备例 2

4'-氟联苯基-4-磺醇

将氢化锂铝 (0.95g, 0.26mol) 分次加入 4'-氟联苯基-4-磺酰氯

酰氯(2.7g, 10mol)在四氢呋喃(75mL)中的搅拌溶液内。将所得混合物加热回流4小时,在冰浴中冷却,通过加入10%的硫酸水溶液(100ml)终止该反应。搅拌30分钟后,混合物经 Celite™过滤并且在真空下除去四氢呋喃。将残余物用水稀释且用乙醚提取。有机层用水和盐水洗涤,硫酸镁干燥和在真空下浓缩得到固体。用乙醚研制该固体,通过过滤除去不溶性物质,将滤液浓缩,得到标题化合物,该化合物为黄色固体(.14g, 69%)。

制备例 3:

4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酚

保持轻微回流的条件下,将氢化锂铝(6.5g, 0.17mol)分次加入4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰氯(20.5g, 68mol)在四氢呋喃(400mL)中的搅拌溶液内。将所得混合物加热回流2小时,在冰浴中冷却,通过加入10%的硫酸水溶液(100ml)终止反应。搅拌30分钟后,将混合物用水稀释且用乙醚提取。有机层用水和盐水洗涤,硫酸镁干燥和在真空下浓缩,得到标题化合物,该化合物为白色固体(15.9g, 99%)。

实施例 1

3 - 外型 - [4 - (4 - 氯苯氧基) 苯磺酰基氨基] - 8 - 氧杂 - 双环

[3.2.1] - 辛烷 - 3 - 甲酸羟基酰胺

A) 3 - (二苯亚甲基氨基) - 8 - 氧杂双环[3.2.1]辛烷 - 3 - 甲酸乙酯

在 0℃下,向氢化钠(0.41g, 17.1mmol)在 N,N - 二甲基甲酰胺(50ml)中的悬浮液内滴加 N - 联苯基亚甲基甘氨酸乙酯(2.07g, 7.8mmol)在 N,N - 二甲基甲酰胺(50ml)中的溶液。室温下搅拌30分钟后,滴加溶于 N,N - 二甲基甲酰胺(50ml)中的顺 - 2,5 - 二(羟甲基) - 四氢呋喃二甲苯磺酸盐(4.1g, 9.3mmol)的溶液。在油浴中将反应混合物逐渐加热至 100℃,在此温度下搅拌过夜。真空下蒸发溶剂且将残余物溶解在水中,用乙醚提取2次。合并的有机提取液用盐水洗涤,硫酸钠干燥和浓缩,得到棕色油状物,通过硅胶色谱(含 20% 乙酸乙酯的己烷作为洗脱剂)由该油状物中分离出标题化合物(1.42g, 51%,

3:1 的外型/内型非对映异构体的混合物)。

B) 3-氨基-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸乙酯盐酸盐

将 3-(二苯亚甲基氨基)-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸乙酯(1.4g, 3.9mmole)在 1N 盐酸水溶液(100ml)和乙醚(100ml)中的两相混合物在室温下搅拌过夜。浓缩水层得到标题化合物(0.70g, 78%, 3:1 的外型/内型非对映异构体的混合物), 该化合物为浅黄色固体。

C) 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸乙酯

将 3-氨基-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸乙酯盐酸盐(690mg, 6.5mmole)、4-(4-氟苯氧基)苯磺酰氯(923mg, 3.2mmol)和三乙胺(0.9mL, 6.5mmol)在 N,N-二甲基甲酰胺(45ml)中的溶液在室温下搅拌过夜。真空下除去溶剂, 将残余物溶解在饱和碳酸氢钠水溶液中。用二氯甲烷提取 2 次后, 合并的有机层用盐水洗涤, 硫酸镁干燥, 浓缩, 得到棕色油状物。用含 1% 甲醇的二氯甲烷作为洗脱剂在硅胶上通过色谱分离出标题化合物(492mg, 38%)。

D) 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸

将氢氧化钠(1.5g, 38mmol)加入 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸乙酯(492mg, 1.09mmol)在乙醇(10ml)和水(10ml)的混合液中的溶液内。将混合物加热回流 6 天, 冷却和用 1N 盐酸水溶液酸化。用乙酸乙酯提取该混合物, 有机层用盐水洗涤, 硫酸镁干燥, 浓缩, 得到标题混合物(411mg, 89%), 该化合物为黄褐色泡沫。

E) 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸苄氧基酰胺

向 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸(411mg, 0.98mmol)和三乙胺(0.19ml, 1.36mmol)在 N,N-二甲基甲酰胺(30ml)中的溶液内加入(苄并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐(474mg, 1.07mmol)。在室温

下搅拌 1 小时后, 再加入三乙胺(0.22ml, 1.58mmol)和 0-苄基羧基胺盐酸盐(187mg, 1.17mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 1 天, 随后在 50℃下搅拌 1 天。真空下浓缩后, 将残余物溶解在乙酸乙酯, 顺序用 1N 盐酸水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。将溶液用硫酸镁干燥, 浓缩, 得到油状物, 通过色谱(含 50% 乙酸乙酯的己烷作为洗脱剂)分离出标题化合物, 该产物为白色固体(237mg, 46%)。

F) 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羧基酰胺

用 5% 硫酸钡载钯(150mg)处理 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸苄氧基酰胺(237mg, 0.45mmol)在甲醇(25ml)中的溶液且在 3 个大气压下在 Parr™ 震动器中氢化 4 小时。经 0.45μm 尼龙膜过滤除去催化剂, 浓缩滤液, 得到白色泡沫。由二氯甲烷中结晶, 得到标题化合物, 该产物为白色固体(62mg, 32%)。通过在乙酸乙酯/己烷中结晶得到第 2 批(62mg, 32%)。

M.p. 138-141°C. ¹H NMR (d₆-DMSO): δ 10.50 (br s, 1 H), 8.56 (br s, 1 H), 7.67 (d, J = 8.7 Hz, 2 H), 7.66 (br s, 1 H, 重叠的), 7.26-7.22 (m, 2 H), 7.16-7.12 (m, 2 H), 7.01 (d, J = 8.5 Hz, 2 H), 4.09 (br s, 2 H), 2.32 (d, J = 14.1 Hz, 2 H), 1.68-1.63 (m, 4 H), 1.51-1.48 (m, 2 H). MS: 435 m/e (M-H).

用单晶 X 射线结晶学进一步确定结构和立体化学。

实施例 2

3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基甲基]-8-氧杂双环-[3.2.1]-辛烷-3-甲酸羧基酰胺

A) 8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3,3-二甲酸二乙酯

将氢氧化钠(2.28g, 95mmol)分次加入丙二酸二乙酯(15ml, 99mmol)在 N,N-二甲基甲酰胺(400ml)中的搅拌溶液内。将混合物搅拌 45 分钟, 直至氢气的放出达到完全。随后滴加溶于 N,N-二甲基甲酰胺(400ml)中的顺-2,5-二(羟甲基)-四氢呋喃二甲苯磺酸盐(19.0g, 43mmol)

的溶液。将混合物在油浴中在 140℃ 下加热过夜。冷却至室温后，通过加入饱和氯化铵水溶液来终止混合物，真空下浓缩。将残余物溶解在水中且用乙醚提取。有机提取液用水和盐水洗涤，硫酸镁干燥和浓缩，得到油状物。真空下蒸馏，得到标题化合物 (7.8g, 71%)，该产物为澄清油状物。

B) 3-外型-羟甲基-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸乙酯

-40℃ 下，将二异丙基氢化铝在甲苯 (62.5ml, 75mmol) 中的 1.2M 溶液滴加至 8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3,3-二甲酸二乙酯 (7.8g, 30mmol) 在甲苯中的溶液内。搅拌的同时在 3 小时内将混合物加热至 0℃。随后冷却至 -15℃，在维持该温度的条件下缓慢加入乙醇 (8ml)。在 -15℃ 下搅拌 1 小时后，加入硼氢化钠 (1.1g, 30mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜，滴加饱和硫酸钠水溶液终止。加入乙酸乙酯，搅拌 20 分钟后，经 Celite™ 过滤除去不溶性原料。滤液用盐水洗涤，硫酸镁干燥，浓缩，得到标题化合物 (5.1g, 80%)，该产物为澄清油状物。

C) 3-外型-羟甲基-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸

将氢氧化锂水合物 (2.5g, 59.5mmol) 加入 3-外型-羟甲基-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸乙酯 (5.1g, 23.8mmol) 在甲醇 (25ml)、四氢呋喃 (23ml) 和水 (2.5ml) 的混合液中的溶液内。将混合物加热回流过夜，冷却，通过加入安伯来特 IR 120™ 离子交换树脂来终止。搅拌 20 分钟后，通过过滤除去树脂，用四氢呋喃洗涤。蒸发溶剂，用乙醚研制残余物，得到标题化合物 (2.35g, 53%)，该产物为白色固体。

D) 3',8-二氧杂螺[双环[3.2.1]辛烷-3,1'-环丁烷]-2'-酮

在 0℃ 下，将苯磺酰氯 (1.7mL, 13.5mmol) 滴加至 3-外型-羟甲基-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸 (2.3g, 12.3mmol)、三乙胺 (3.4mL, 24.7mmol) 和 4-二甲基氨基吡啶 (300mg, 2.5mmol) 在二氯甲烷 (50ml) 中的溶液内。将混合物该 0℃ 下搅拌 1 小时，用二氯甲烷稀释且用 1N 盐酸水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。硫酸镁干燥后，蒸发溶剂，得到标题化合物，该产物为白色固体 (1.8g, 90%)。

E) 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯硫烷基(sulfanyl)甲基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸

-10℃下, 将4-(4-氟苯氧基)苯硫酚(2.2g, 10mmol)在四氢呋喃(10ml)中的溶液滴加至氢化钠(270mg, 11.3mmol)在四氢呋喃(20ml)中的浆液内。在搅拌的30分钟内将混合物加热至室温。重新冷却至-10℃, 滴加3',8-二氧杂螺[双环[3.2.1]辛烷-3,1'-环丁烷]-2'-酮(1.8g, 10mmol)在四氢呋喃(20ml)中的溶液。撤去冷却浴, 室温下连续搅拌2小时, 混合物用1N盐酸水溶液终止, 用二氯甲烷提取2次。合并的有机提取液用水和盐水洗涤, 硫酸镁干燥, 浓缩得到固体。自乙醚/己烷重结晶, 得到标题化合物(1.8g, 47%), 该化合物为白色固体。通过在硅胶上层析(含2%甲醇的氯仿作为洗脱剂)母液的浓缩物, 得到更多的标题化合物(500mg, 13%)。

F) 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯硫烷基甲基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸苄氧基酰胺

向3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯硫烷基甲基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸(1.0g, 2.6mmol)和二异丙基乙基胺(0.5ml, 2.9mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(20ml)中的溶液内加入(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐(1.2g, 2.7mmol)。在室温下搅拌2.5小时后, 再加入二异丙基乙基胺(0.86ml, 4.9mmol)和O-苄基羟基胺盐酸盐(525mg, 3.3mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌16天。真空下浓缩后, 将残余物溶解在乙酸乙酯中, 顺序用1N盐酸水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。将溶液用硫酸镁干燥, 浓缩, 得到油状物, 通过色谱(含30%乙酸乙酯的己烷作为洗脱剂)由该油状物分离出标题化合物, 该产物为白色固体(405mg, 32%)。

G) 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基甲基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸苄氧基酰胺

将固体57-85%间-氯过苯甲酸(283mg)加入3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯硫烷基甲基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸苄氧基酰胺在二氯甲烷(15ml)中的溶液内。所得混合物在室温下搅拌过

夜，随后通过加入饱和亚硫酸氢钠水溶液终止。用二氯甲烷稀释后，分离有机层，用饱和碳酸氢钠水溶液、水和盐水洗涤。有机层用硫酸镁干燥，浓缩，得到标题化合物，该产物为白色泡沫(390mg, 90%)。

H) 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基甲基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟基酰胺

用 5% 硫酸钡载钨(195mg)处理 3-外型-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基甲基]-8-氧杂双环[3.2.1]辛烷-3-甲酸苄氧基酰胺(390mg, 0.74mmol)在甲醇(20ml)中的溶液且在 3 个大气压下在 Parr™ 震动器中氢化 3.5 小时。经 0.45μm 尼龙膜过滤除去催化剂，浓缩滤液，得到白色泡沫。由二氯甲烷和己烷的混合物中结晶，得到标题化合物，该产物为白色固体(230mg, 71%)。

M.p. 134-139°C. ¹H NMR (d₆-DMSO): δ 8.55 (br s, 1 H), 7.76 (d, J = 7.5 Hz, 2 H), 7.30-7.26 (m, 2 H), 7.20-7.16 (m, 2 H), 7.09 (d, J = 7.5 Hz, 2 H), 4.13 (br s, 2 H), 3.40 (s, 2 H), 2.24 (d, J = 14.3 Hz, 2 H), 1.78-1.73 (m, 4 H), 1.57-1.55 (m, 2 H). MS m/e 434 (M-H).

用单晶 X 射线结晶学进一步确定结构和立体化学。

实施例 3

3-(4-苯氧基苯磺酰基甲基)-8-氧杂双环-[3.2.1]-辛烷-3-甲酸羟基酰胺

按照和实施例 2 相同的方法、在步骤 E 中用 4-苯氧基苯基苯磺酰基制备。

¹H NMR (d₆-DMSO): δ 8.54 (br s, 1 H), 7.75 (d, J = 8.9 Hz, 2 H), 7.44-7.40 (m, 2 H), 7.23-7.21 (m, 1 H), 7.11-7.07 (m, 4 H), 4.11 (br s, 2 H), 3.38 (s, 2 H), 2.22 (d, J = 14.3 Hz, 2 H), 1.80-1.70 (m, 4 H), 1.60-1.50 (m, 2 H). MS m/e 416 (M-H).

实施例 4

3-外型-(4'-氟联苯基-4-磺酰基甲基)-8-氧杂双环-[3.2.1]辛烷-3-甲酸羟基酰胺

按照和实施例 2 相同的方法、在步骤 E 中用 4'-氟联苯基-4-硫醇制备。

^1H NMR (d_6 -DMSO): δ 10.60 (br s, 1 H), 8.58 (br s, 1 H), 7.88-7.85 (m, 4 H), 7.81-7.78 (m, 2 H), 7.36-7.31 (m, 2 H), 4.13 (br s, 2 H), 3.47 (s, 2 H), 2.25 (d, $J = 14.5$ Hz, 2 H), 1.80-1.76 (m, 4 H), 1.60-1.55 (m, 2 H). MS m/e 418 (M-H).

实施例 5

3-外型-[4-(4-氯苯氧基)苯磺酰基甲基]-8-氧杂双环-[3.2.1]-辛烷-3-甲酸羟基酰胺

A) 3-外型-[4-(4-氯苯氧基)苯磺烷基甲基]-8-氧杂双环-[3.2.1]-辛烷-3-甲酸

室温下, 将 4-(4-氯苯氧基)苯磺酰基甲基(2.07g, 6.8mmol)加入氢氧化钠(180mg, 7.5mmol)在四氢呋喃(50ml)中的浆液内。将混合物在室温下搅拌 45 分钟。加入固体 3',8-二氧杂螺[双环[3.2.1]辛烷-3,1'-环丁烷]-2'-酮(1.04g, 6.2mmol)并且在室温下搅拌过夜。混合物用 1N 盐酸水溶液终止, 用二氯甲烷提取 2 次。合并的有机提取液用盐水洗涤, 硫酸镁干燥, 浓缩得到固体。用乙醚研制, 过滤后, 得到标题化合物(1.47g, 59%)。

B) 3-外型-[4-(4-氯苯氧基)苯磺烷基甲基]-8-氧杂双环-[3.2.1]-辛烷-3-甲酸羟基酰胺

室温下, 向 3-外型-[4-(4-氯苯氧基)苯磺烷基甲基]-8-氧杂双环-[3.2.1]-辛烷-3-甲酸(1.47g, 3.63mmol)在二氯甲烷(20ml)中的浆液内滴加草酰氯(0.8ml, 9.2mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(1 滴)。将混合物室温下搅拌过夜。真空下蒸发掉挥发物后, 将残余物溶解在二氯甲烷(20ml)中, 冷却至 0℃, 滴加 O-三甲基硅烷基羟胺(1.35ml, 11.0mmol)。所得混合物在室温下搅拌 3.5 小时, 在冰浴中冷却, 加入 1N 盐酸水溶液终止, 在 0℃下继续搅拌 30 分钟。用乙酸乙酯稀释, 分离有机层, 用水和盐水洗涤。硫酸镁干燥, 浓缩, 得到标题化合物, 该化合物为白色泡沫(1.52g, 100%)。

c) 3-外型-[4-(4-氯苯氧基)苯磺酰基甲基]-8-氧杂双环-

[3.2.1] - 辛烷 - 3 - 甲酸羟基酰胺

将 Oxone™ (4.2g, 8.63mmol) 加入 3 - 外型 - [4 - (4 - 氯苯氧基) 苯硫烷基甲基] - 8 - 氧杂双环 - [3.2.1] - 辛烷 - 3 - 甲酸羟基酰胺 (1.52g, 3.63mmol) 在水 (30ml)、甲醇 (40ml) 和四氢呋喃 (12ml) 的混合物中的溶液内。所得混合物在室温下搅拌过夜，用水稀释，用乙醚提取 2 次。合并的有机提取液用盐水洗涤，硫酸镁干燥，浓缩得到泡沫，由此在硅胶上通过色谱 (含 4% 甲醇的氯仿作为洗脱剂) 分离出标题化合物 (846mg, 52%)。

^1H NMR (d_6 -DMSO): δ 10.58 (br s, 1 H), 8.53 (br s, 1 H), 7.76 (d, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 7.46 (d, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 7.15-7.11 (m, 4 H), 4.11 (br s, 2 H), 3.40 (s, 2 H), 2.22 (d, $J = 14.3$ Hz, 2 H), 1.76-1.71 (m, 4 H), 1.57-1.55 (m, 2 H). MS m/e 450 (M-H).