



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104151200 B

(45)授权公告日 2017.06.20

(21)申请号 201410312767.8

C07D 213/56(2006.01)

(22)申请日 2007.09.14

A61K 31/44(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61K 31/223(2006.01)

申请公布号 CN 104151200 A

A61P 35/00(2006.01)

(43)申请公布日 2014.11.19

A61P 37/02(2006.01)

(30)优先权数据

A61P 25/28(2006.01)

0619753.7 2006.10.06 GB

A61P 29/00(2006.01)

(62)分案原申请数据

A61P 37/06(2006.01)

200780037335.9 2007.09.14

A61P 3/10(2006.01)

(73)专利权人 葛兰素史克知识产权发展有限公
司

A61P 7/00(2006.01)

地址 英国米德尔塞克斯郡

A61P 31/00(2006.01)

(72)发明人 A·H·戴维森 D·F·C·莫法特
F·A·戴 A·D·G·唐纳德

A61P 25/14(2006.01)

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
司 72001

A61P 19/02(2006.01)

代理人 杜艳玲 李炳爱

(56)对比文件

(51)Int.Cl.

CN 1450991 A, 2003.10.22,

C07C 259/06(2006.01)

WO 2004063169 A1, 2004.07.29,

WO 2006016680 A1, 2006.02.16,

审查员 梁清刚

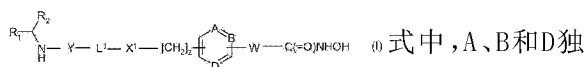
权利要求书2页 说明书73页

(54)发明名称

HDAC抑制剂

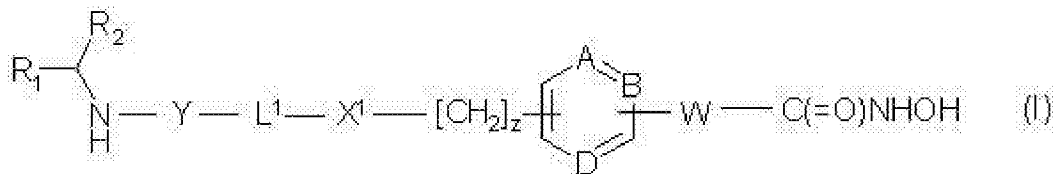
(57)摘要

抑制HDAC活性的式(I)的化合物:



立代表= C-或= N-; W是二价基团-CH=CH-或CH₂CH₂-; R₁是羧酸基(-COOH),或可被一种或多种胞内羧酸酯酶水解成羧酸基的酯基; R₂是天然或非天然α氨基酸的侧链; z是0或1; Y、L¹和X¹如权利要求中所定义。

1. 式 (I) 的化合物或其盐:



其中

A、B和D中的一个为=N-,其余各自为=C-;

W是-CH₂CH₂-;

R₁是羧酸基(-COOH),或可被一种或多种胞内羧酸酯酶水解成羧酸基的酯基;其中,所述酯基为式-(C=O)OR₉的基团,其中R₉是R₂₀R₂₁R₂₂C,其中

(i) R₂₀是氢或(C₁-C₃)烷基-[(C₁-C₃)烷基]_b-或(C₂-C₃)烯基-[(C₁-C₃)烷基]_b-,其中b为0或1;且R₂₁和R₂₂独立为氢或(C₁-C₃)烷基-;

(ii) R₂₀是氢或R₁₂R₁₃N-(C₁-C₃)烷基-,其中R₁₂是氢或(C₁-C₃)烷基和R₁₃是氢或(C₁-C₃)烷基;或R₁₂和R₁₃与它们所结合的氮一起形成吗啉基,且R₂₁和R₂₂独立为氢或(C₁-C₃)烷基-;或

(iii) R₂₀和R₂₁与它们所结合的碳一起形成3-7个环原子的单环碳环或8-10个环原子的二环碳环系统,且R₂₂是氢;

R₂是苄基、苯基、环己基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、叔丁氧基甲基、异丁基、仲丁基、叔丁基、1-苄硫基-1-甲基乙基、1-甲硫基-1-甲基乙基、1-硫基-1-甲基乙基或苯乙基;

Y是键、-C(=O)-、-S(=O)₂-、-C(=O)O-、-C(=O)NR₃-、-C(=S)-NR₃-、-C(=NH)NR₃或-S(=O)₂NR₃-,其中R₃是氢或C₁-C₆烷基;

L¹是式-(Alk¹)_m(Q)_n(Alk²)_p-的二价基团,其中
m、n和p独立为0或1,

Q是:(i) 具有5-13个环成员的二价单环或双环碳环或杂环基团,或(ii) 当m和p都是0时是式-X²-Q¹-或-Q¹-X²-的二价基团,其中X²是-O-、S-或NR^A-,其中R^A是氢或C₁-C₃烷基,Q¹是具有5-13个环成员的二价单环或双环碳环或杂环基团,

Alk¹和Alk²独立代表二价C₃-C₇环烷基,或直链或支链的C₁-C₆亚烷基、C₂-C₆亚烯基或C₂-C₆亚炔基,所述基团可任选含有或终止于醚(-O-)、硫醚(-S-)或氨基(-NR^A-)连接,其中R^A是氢或C₁-C₃烷基;

X¹代表键;-C(=O)-;或-S(=O)₂-;-NR₄C(=O)-;-C(=O)NR₄-;-NR₄C(=O)NR₅-;-NR₄S(=O)₂-或-S(=O)₂NR₄-,其中R₄和R₅独立为氢或C₁-C₆烷基;和

z是0或1。

2. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,所述基团R₁CH(R₂)NH-中的N不直接与羰基(-C(=O)-)相连。

3. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于,R₁是可被一种或多种胞内羧酸酯酶水解成羧酸基的酯基;其中,所述酯基为式-(C=O)OR₉的基团,其中R₉是R₂₀R₂₁R₂₂C,其中R₂₀和R₂₁与它们所结合的碳一起形成3-7个环原子的单环碳环或8-10个环原子的二环碳环系统,和R₂₂是氢。

4. 如权利要求3所述的化合物,其特征在于,R₉是环戊基。

5. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于,所述基团-YL¹X¹[CH₂]_z-是-CH₂-。

6. 如权利要求3所述的化合物,其特征在于,所述基团 $-YL^1X^1[CH_2]_z-$ 是 $-CH_2-$ 。
7. 如权利要求4所述的化合物,其特征在于,所述基团 $-YL^1X^1[CH_2]_z-$ 是 $-CH_2-$ 。
8. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,所述基团 $R_1CH(R_2)NH-$ 中的N不直接与羰基($-C(=O)-$)相连; R_1 是可被一种或多种胞内羧酸酯酶水解成羧酸基的酯基;其中,所述酯基为式 $-(C=O)OR_9$ 的基团,其中 R_9 是环戊基;所述基团 $-YL^1X^1[CH_2]_z-$ 是 $-CH_2-$ 。
9. 如权利要求1-8中任一项所述的化合物在制备用于治疗细胞增殖疾病、亨廷顿病、神经变性疾病、自身免疫性疾病、炎性疾病、器官移植排斥、糖尿病、血液学疾病或感染的药物中的应用。
10. 如权利要求9所述的应用,其特征在于,所述治疗为癌细胞增殖、亨廷顿病或阿耳茨海默病的治疗。
11. 如权利要求9所述的应用,其特征在于,所述治疗为类风湿性关节炎的治疗。

HDAC抑制剂

[0001] 本发明专利申请是国际申请号为PCT/GB2007/003504,国际申请日为2007年9月14日,进入中国国家阶段的申请号为200780037335.9,名称为“HDAC抑制剂”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及抑制组蛋白脱乙酰酶家族成员的化合物以及该化合物在治疗包括癌症在内的细胞增殖疾病、聚谷氨酰胺病如亨廷顿病、神经变性疾病如阿耳茨海默病、自身免疫性疾病如类风湿性关节炎和器官移植排斥、糖尿病、血液学疾病、炎症疾病、心血管疾病、动脉粥样硬化以及感染的炎性后遗症中的应用。

背景技术

[0003] 在真核细胞中,DNA被组蛋白包裹以形成染色质。大约150个DNA碱基对在组蛋白八聚体(组蛋白2A、2B、3和4各两个)周围被包裹两次从而形成染色质的基本单位—核小体。染色质的有序结构需要被修饰以转录相关基因。转录调节是分化、增殖和凋亡的关键,因此被密切控制。对染色质结构改变的控制(以及因此对转录的控制)受组蛋白的共价修饰调节,最显著的是N-末端尾巴。对氨基酸侧链的共价修饰(例如甲基化、乙酰化、磷酸化和泛素化)是由酶介导的(有关组蛋白的修饰以及它们在转录调节中的作用的综述可在S.L.Berger, *Oncogene*, 2001, 20, 3007-3013中找到。对于组蛋白的乙酰化和转录的综述,参见M.Grunstein, *Nature*, 1997, 389, 349-352; A.P.Wolffe, *Science*, 1996, 272, 371-372; 以及P.A.Wade等, *Trends Biochem Sci*, 1997, 22, 128-132)。

[0004] 组蛋白的乙酰化与具有转录活性的染色质区域有关,而具有低乙酰化水平的核小体通常是转录沉默的。组蛋白的乙酰化状态受两类活性相对的酶控制:组蛋白乙酰转移酶(HAT)和组蛋白脱乙酰酶(HDAC)。在转化的细胞中,据信HDAC的不适当的表达导致肿瘤抑制因子沉默(关于HDAC在肿瘤发生中的作用的综述,可参见S.G.Gray和B.T.The, *Curr Mol Med*, 2001, 1, 401-429)。该文献中已经描述了HDAC酶抑制剂并显示它可诱导某些基因的转录再激活,从而导致抑制癌细胞增殖、诱导凋亡和抑制肿瘤在动物中生长(相关综述,可参见W.K.Kelly等, *Expert Opin Investig Drugs*, 2002, 11, 1695-1713)。这种发现提示,HDAC抑制剂有治疗癌症等增殖性疾病的治疗潜能(O.H.Kramer等, *Trends Endocrinol*, 2001, 12, 294-300, D.M.Vigushin和R.C.Coombes, *Anticancer Drugs*, 2002, 13, 1-13)。

[0005] 此外,其他人还提到异常的HDAC活性或组蛋白乙酰化与以下疾病和紊乱有关:聚谷氨酰胺病如亨廷顿病(R.E.Hughes, *Curr Biol*, 2002, 12, R141-R143; A.McCampbell等, *Proc Soc Natl Acad Sci*, 2001, 98, 15179-15184; E.Hockly等, *Proc Soc Natl Acad Sci*, 2003, 100, 2041-2046),其它神经变性疾病如阿耳茨海默病(B.Hempen和J.P.Brion, *J Neuropathol Exp Neurol*, 1996, 55, 964-972),自身免疫性疾病和器官移植排斥(S.Skov等, *Blood*, 2003, 101, 1430-1438; N.Mishra等, *J Clin Invest*, 2003, 111, 539-552),糖尿病(A.L.Mosley和S.Ozcan, *J Biol Chem*, 2003, 278, 19660-19666)和糖尿病并发症,感染

(包括原生动物感染(S.J.Darkin-Rattray等,Proc Soc Natl Acad Sci,1996,93,13143-13147))和血液学疾病包括地中海贫血(O.Witt等,Blood,2003,101,2001-2007)。这些文献中的观察结果提示,抑制HDAC对于这些疾病以及其它相关疾病应具有治疗益处。

[0006] 已经提出过许多类型的HDAC抑制剂化合物,这些化合物中的一些目前正在接受关于治疗癌症的临床评价。例如,以下专利公开揭示了这种化合物:

US 5, 369, 108	WO 01/70675	WO 02/30879
WO 01/18171	WO 01/38322	WO 02/26703
US 4, 254, 220	WO 02/069947	WO 02/26696
WO 03/082288	WO 02/22577	WO 03/075929
WO 03/076395	WO 03/076400	WO 03/076401
WO 03/076421	WO 03/076430	WO 03/076422
[0007] WO 03/082288	WO 03/087057	WO 03/092686
WO 03/066579	WO 03/011851	WO 04/013130
WO 04/110989	WO 04/092115	WO 04/224991
WO 04/076386	WO 05/014588	WO 05/018578
WO 05/019174	WO 05/004861	WO 05/007091
WO 05/030704	WO 05/013958	WO 05/028447
WO 05/026907	WO 06/0166	

[0008] 本领域已知的HDAC抑制剂中有许多具有式(A)所示的结构模板:



[0010] 其中,环A是具有任选的取代基R的碳环或杂环系统,[连接基(linker)]是各种类型的连接基。异羟肟酸(hydroxamate)基团作为金属结合基团(metal binding group),与HDAC酶活性位点上的金属离子相互作用,所述金属离子位于折叠的酶结构内的袋的基部。环或环系统A位于含有金属离子的袋内或入口处,而-[连接基]-基团深入到该袋中以使A与结合金属的异羟肟酸基相连。在本领域中,环或环系统A有时被非正式地称为抑制剂的“头部基团(head group)”,在本文中有时也这样。

[0011] 使用前药来增强到靶器官和组织的递送或克服母体药物较差的药代动力学特性是一种熟知的药物化学方法。给予酯类前药,例如可在体内被血清羧酸酯酶(carboxyesterase)水解成活性母体酸的酯,能使母体酸的血清水平高于给予酸本身。

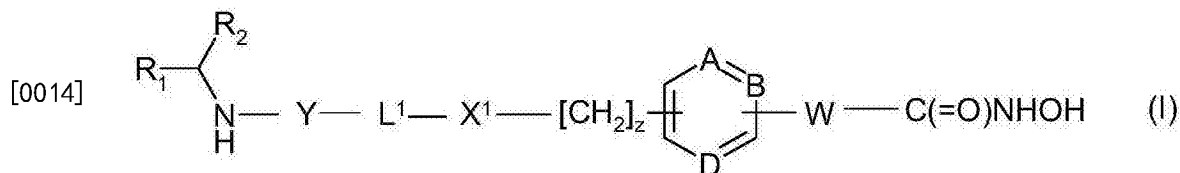
发明内容

[0012] 本发明发现了一类新的具有药用功效的HDAC抑制剂,它可用于治疗诸如癌症或炎症之类受益于HDAC胞内抑制作用的疾病,其中的一个亚类具有 α 氨基酸酯,其有助于药剂透过细胞壁从而使细胞内羧酸酯酶活性水解酯以释放母体酸。酸在带有电荷时不容易被转运

出细胞,从而会累积而提高活性HDAC抑制剂的细胞内浓度。这导致作用潜能提高且持续时间增加。因此,本发明化合物的这一亚类以具有 α 氨基酸酯部分为特征,该部分是共价连接到母体分子模板的细胞内羧酸酯酶(文中也称为“酯酶基序”)的底物,并提供了相应的去酯化的母体酸。

具体实施方式

[0013] 根据本发明,提供了一种式(I)的化合物,或其盐、N-氧化物,水合物或溶剂合物:



[0015] 其中

[0016] A、B和D独立代表=C-或=N-;

[0017] W是二价基团-CH=CH-或-CH₂CH₂-;

[0018] R₁是羧基(-COOH),或可被一种或多种胞内羧酸酯酶水解成羧基的酯基;

[0019] R₂是天然或非天然 α 氨基酸的侧链;

[0020] Y是键、-C(=O)-、-S(=O)₂-、-C(=O)O-、-C(=O)NR₃-、-C(=S)-NR₃-、-C(=NH)NR₃-或-S(=O)₂NR₃-,其中R₃是氢或任选取代的C₁-C₆烷基;

[0021] L¹是式-(Alk¹)_m(Q)_n(Alk²)_p-的二价基团,其中

[0022] m、n和p独立为0或1,

[0023] Q是:(i)具有5-13个环成员的任选取代的二价单环或双环碳环或杂环基团,或(ii),当m和p都是0时是式-X²-Q¹-或-Q¹-X²-的二价基团,其中X²是-O-、S-或NR^A-,其中R^A是氢或任选取代的C₁-C₃烷基,Q¹是具有5-13个环成员的任选取代的二价单环或双环碳环或杂环基团,

[0024] Alk¹和Alk²独立代表任选取代的二价C₃-C₇环烷基,或任选取代的直链或支链的C₁-C₆亚烷基、C₂-C₆亚烯基(alkenylene)或C₂-C₆亚炔基(alkynylene),所述基团可任选含有或终止于醚(-O-)、硫醚(-S-)或氨基(-NR^A-)连接,其中R^A是氢或任选取代的C₁-C₃烷基;

[0025] X¹代表键;-C(=O)-;或-S(=O)₂-;-NR₄C(=O)-;-C(=O)NR₄-;-NR₄C(=O)NR₅-;-NR₄S(=O)₂-或-S(=O)₂NR₄-,其中R₄和R₅独立为氢或任选取代的C₁-C₆烷基;和

[0026] z是0或1;

[0027] 前提是,当A、B和D各自为=C-,且W是-CH=CH-,R₁是羧基或其甲酯或叔丁酯时,R₂不是色氨酸的侧链,即不是吲哚-3-基甲基。

[0028] 尽管上面的定义可能包括高分子量的分子,但根据药物化学实践的一般原则,优选本发明涉及的化合物的分子量应不超过600。

[0029] 在另一个广义方面,本发明提供了本发明化合物在制备用于抑制组蛋白脱乙酰酶(deacetylase)活性的组合物中的应用。

[0030] 本发明涉及的化合物可用于在体外或体内抑制组蛋白脱乙酰酶活性。

[0031] 在本发明的一个方面,本发明的化合物可用于制备用来治疗细胞增殖疾病、聚谷氨酰胺病、神经变性疾病、自身免疫性疾病、炎症疾病、器官移植排斥、糖尿病、血液学疾病

或感染的组合物。

[0032] 另一方面,本发明提供了一种治疗上述疾病类型的方法,所述方法包括给予患有这种疾病的对象有效量的本发明化合物。

[0033] 术语

[0034] 术语“酯”或“酯化的羧基”表示基团 $R_9O(C=O)-$,其中 R_9 是从理论上说衍生自醇 R_9OH 的酯的特征性基团。

[0035] 文中,术语“(C_a-C_b)烷基”,其中a和b是整数,表示含有a-b个碳原子的直链和支链烷基。因此,例如当a是1而b是6时,该术语包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基和正己基。

[0036] 文中,术语“二价(C_a-C_b)亚烷基”,其中a和b是整数,表示含有a-b个碳原子和两个不饱和和化学价的饱和烃链。

[0037] 文中,术语“(C_a-C_b)烯基”,其中a和b是整数,表示含有a-b个碳原子并具有至少一个合适的E或Z立体化学的双键的直链和支链烯基部分。该术语包括,例如,乙烯基、烯丙基、1-和2-丁烯基和2-甲基-2-丙烯基。

[0038] 文中,术语“二价(C_a-C_b)亚烯基”表示含有a-b个碳原子、至少一个双键和两个不饱和和化学价的烃链。

[0039] 文中,术语“(C_a-C_b)炔基”,其中a和b是整数,表示含有a-b个碳原子且还含有一个三键的直链和支链烃基。当a=2、b=6时该术语将包括,例如,乙炔基、1-丙炔基、1-和2-丁炔基、2-甲基-2-丙炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、4-戊炔基、2-己炔基、3-己炔基、4-己炔基和5-己炔基。

[0040] 文中,术语“二价(C_a-C_b)亚炔基”,其中a和b是整数,表示含有a-b个碳原子和至少一个三键的二价烃链。

[0041] 文中,术语“碳环”指含有最多达16个环原子且所有环原子均为碳原子的单环、二环或三环基团,并包括芳基和环烷基。

[0042] 文中,术语“环烷基”指含有3-8个碳原子的单环的饱和碳环基团,该术语包括,例如,环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。

[0043] 文中,非限制性术语“芳基”指单环、二环或三环的碳环芳香基团,并包括含有两个通过共价键直接相连的单环碳环芳香环的基团。这种基团的例子有苯基、联苯基和萘基。

[0044] 文中,非限制性术语“杂芳基”指含有一个或多个选自S、N或O的杂原子的单环、二环或三环芳香基团,并包括含有通过共价键直接相连的两个此类单环或者一个此类单环和一个单环芳基环的基团。这种基团的例子有噻吩基、苯并噻吩基、呋喃基、苯并呋喃基、吡咯基、咪唑基、苯并咪唑基、噻唑基、苯并噻唑基、异噻唑基、苯并异噻唑基、吡唑基、噁唑基、苯并噁唑基、异噁唑基、苯并异噁唑基、异噻唑基、三唑基、苯并三唑基、噻二唑基、噁二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基、吡啶基和吡嗪基。

[0045] 文中,非限制性术语“杂环基”或“杂环”包括上面定义的“杂芳基”,其非芳香含义包括含有一个或多个选自S、N或O的杂原子的单环、二环或三环非芳香基团,并包括由含有一个或多个这种杂原子的单环非芳香基团构成的基团,所述单环非芳香基团共价连接到另一个此类基团或连接到单环碳环基团。这种基团的例子有吡咯基、呋喃基、噻吩基、嘧啶基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、噻二唑基、吡唑基、吡啶基、吡咯烷基、嘧啶基、吗啉基、

哌嗪基、吡啶基、苯并呋喃基、吡喃基、异噁唑基、苯并咪唑基、亚甲二氧基苯基、亚乙二氧基苯基、马来酰亚胺基 (maleimido) 和琥珀酰亚胺基。

[0046] 除非当其出现时文中另有说明, 术语“取代的”用于本文所述的任何部分时表示被最多4个相容的取代基取代, 各取代基独立为, 例如, (C₁-C₆) 烷基, (C₁-C₆) 烷氧基, 羟基, 羧基 (C₁-C₆) 烷基, 巯基, 巯基 (C₁-C₆) 烷基, (C₁-C₆) 烷硫基, 苯基, 卤素 (包括氟、溴和氯), 三氟甲基, 三氟甲氧基, 硝基, 腈 (-CN), 氧代, -COOH, -COOR^A, -COR^A, -SO₂R^A, -CONH₂, -SO₂NH₂, -CONHR^A, -SO₂NHR^A, -CONR^AR^B, -SO₂NR^AR^B, -NH₂, -NHR^A, -NR^AR^B, -OCONH₂, -OCONHR^A, -OCONR^AR^B, -NHCOR^A, -NHCOR^A, -NR^BCOOR^A, -NHSO₂OR^A, -NR^BSO₂OH, -NR^BSO₂OR^A, -NHCONH₂, -NR^ACONH₂, -NHCONHR^B, -NR^ACONHR^B, -NHCONR^AR^B或-NR^ACONR^AR^B, 其中, R^A和R^B独立为 (C₁-C₆) 烷基, (C₃-C₆) 环烷基, 苯基或含有5或6个环原子的单环杂芳基, 或者当RA和RB连接到相同氮原子时形成环状氨基 (例如吗啉代, 哌啶基, 哌嗪基或四氢吡咯基)。“任选的取代基”可以是上述取代基之一。

[0047] 文中, 术语“氮取代基”表示选自下组的氮原子上的取代基:

[0048] 氨基 (C₁-C₆) 烷基如氨基乙基, (C₁-C₃) 烷基氨基- (C₁-C₆) 烷基-, (C₁-C₃) 二烷基氨基- (C₁-C₆) 烷基, 羟基 (C₁-C₆) 烷基如羟基乙基, (C₁-C₃) 烷氧基- (C₁-C₆) 烷基-如甲氧基乙基, 巯基 (C₁-C₃) 烷基, (C₁-C₃) 烷基巯基- (C₁-C₆) 烷基-, 酰胺基 (C₁-C₆) 烷基 (carboxamido (C₁-C₆) alkyl) 例如-CH₂CONH₂, 氨基磺酰基 (C₁-C₆) 烷基-如-CH₂SO₂NH₂, (C₁-C₃) 烷基氨基磺酰基- (C₁-C₆) 烷基-如-CH₂SO₂NHMe, (C₁-C₃) 二烷基氨基磺酰基- (C₁-C₆) 烷基例如-CH₂SO₂NMe₂, (C₁-C₆) 烷酰基, (C₁-C₆) 烷基磺酰基, 氨基磺酰基 (-SO₂NH₂), (C₁-C₆) 烷基氨基磺酰基如-SO₂NHMe, (C₁-C₆) 二烷基氨基磺酰基如-SO₂NMe₂, 任选取代的苯基氨基磺酰基, 酰胺基 (-CONH₂), (C₁-C₆) 烷基氨基羰基, (C₁-C₆) 二烷基氨基羰基, 吗啉基 (C₁-C₆) 烷基, 咪唑基 (C₁-C₆) 烷基, 三唑基 (C₁-C₆) 烷基, 或单环杂环烷基 (C₁-C₆) 烷基, 所述咪唑基、三唑基或杂环基环可任选被取代, 例如哌啶基 (C₁-C₆) 烷基, 哌嗪基 (C₁-C₆) 烷基或4-((C₁-C₆) 烷基) 哌嗪基 (C₁-C₆) 烷基。

[0049] 术语“天然或非天然α-氨基酸的侧链”表示式NH₂-CH(R₂)-COOH所示天然或非天然氨基酸的R₂基团。

[0050] 天然α氨基酸的侧链的例子包括丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、谷氨酸、组氨酸、5-羟基赖氨酸、4-羟基脯氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、α-氨基己二酸、α-氨基-正丁酸、3,4-二羟基苯丙氨酸、高丝氨酸、β-甲基丝氨酸、鸟氨酸、2-哌啶酸和甲状腺素的侧链。

[0051] 在其特征性侧链中含有功能性取代基如氨基、羧基、羟基、巯基、胍基、咪唑基或吡啶基的天然α-氨基酸包括精氨酸、赖氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、色氨酸、组氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸和半胱氨酸。在本发明的化合物中, 当R₂是上述侧链之一时, 则所述功能性取代基可任选被保护。

[0052] 术语“保护的”当用于天然α-氨基酸侧链中的功能性取代基时表示衍生这种取代基使其基本失去功能。例如, 羧基可被酯化 (例如酯化为C₁-C₆烷基酯), 氨基可被转化成酰胺 (例如作为NHCOC₁-C₆烷基酰胺) 或氨基甲酸酯 (例如作为NHC(=O)OC₁-C₆烷基或NHC(=O)OCH₂Ph氨基甲酸酯), 羟基可被转化成醚 (例如OC₁-C₆烷基或O(C₁-C₆烷基) 苯基醚) 或酯 (例如OC(=O)C₁-C₆烷基酯), 硫醇基团可被转化成硫醚 (例如叔丁基或苄基硫醚) 或硫代酸酯

(thioester) (例如 $\text{SC}(=\text{O})\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基硫代酸酯)。

[0053] 非天然 α 氨基酸的侧链的例子包括下文在讨论用于本发明化合物的合适的 R_2 基团时提到的那些。

[0054] 文中,术语“盐”包括碱加成盐、酸加成盐和季盐(quaternary salt)。酸性的本发明的化合物可与碱、有机碱形成盐,包括药学上可接受的盐,所述碱例如碱金属的氢氧化物如氢氧化钠和氢氧化钾;碱土金属的氢氧化物如氢氧化钙、氢氧化钡和氢氧化镁;所述有机碱例如N-甲基-D-葡萄糖胺、胆碱三(羟甲基)氨基-甲烷、L-精氨酸、L-赖氨酸、N-乙基哌啶、二甲苄基胺等。那些碱性的化合物(I)可与无机酸和有机酸形成盐,包括药学上可接受的盐,所述无机酸例如氢卤酸如盐酸或氢溴酸、硫酸、硝酸或磷酸等,所述有机酸例如乙酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、苹果酸、水杨酸、柠檬酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、苯甲酸、苯磺酸、谷氨酸、乳酸和扁桃酸等。

[0055] 预计本发明化合物可以水合物或溶剂合物形式回收。术语‘溶剂合物’在文中用来描述包含本发明化合物和化学计量量的一种或多种药学上可接受的溶剂分子如乙醇的分子复合物。当所述溶剂是水时采用术语‘水合物’。

[0056] 由于存在不对称碳原子,含有一个或多个实际的或潜在的手性中心的本发明的化合物可作为许多在各手性中心上具有R或S立体化学的非对映异构体存在。本发明包括所有这些非对映异构体和它们的混合物。

[0057] 进一步的讨论

[0058] 如上所述,本发明的酯是它们将被细胞内羧酸酯酶转化成的相应羧酸的主要前药。然而,只要它们还未被水解,所述酯本身就具有HDAC抑制活性。本发明的化合物不仅包括酯,还包括相应的羧酸水解产物。

[0059] 异羟肟酸基团 $-\text{C}(=\text{O})\text{NHOH}$

[0060] 在本发明的化合物中,异羟肟酸基团作为金属结合基团,与HDAC酶活性位点上的金属离子相互作用,所述金属离子位于折叠的酶结构内的袋的基部。

[0061] 含有A、B和D的环

[0062] A、B和D各自可以是 $-\text{C}=\text{}$,或者A、B和D中的至少一个可以是 $-\text{N}=\text{}$,或者A可以是 $-\text{C}=\text{}$ 而B和D各自可以是 $-\text{N}=\text{}$;

[0063] 基团 $-\text{Y}-\text{L}^1-\text{X}^1-[\text{CH}_2]_z-$

[0064] L^1 可选自:

[0065] (i) 键;

[0066] (ii) $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2-$ 、 $-\text{NR}^1-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^1-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^1-$ 、 $-\text{NR}^1\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})_2-$ 、 $-\text{NR}^1(\text{CH}_2)_m-$ 、 $-\text{NR}^1\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$ 、 $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})_2(\text{CH}_2)_m-$ 、 $-\text{NR}^2\text{C}(=\text{O})\text{NR}^1-$ 、 $-\text{NR}^1\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{Ar}-$ 或 $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})_2(\text{CH}_2)_m\text{Ar}-$,其中 R^1 和 R^2 独立为氢、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基或氮取代基,m是0、1、2或3,而Ar是二价苯基或含有5-13个环成员的二价单环或二环杂芳基;和

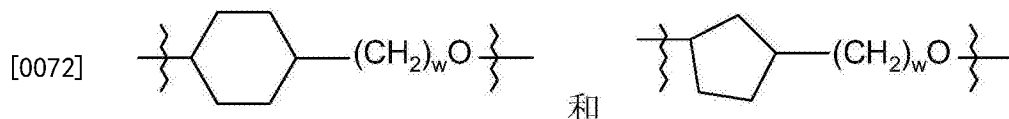
[0067] (iii) 任选取代的直链或支链的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 亚烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 亚烯基或 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 亚炔基,所述基团任选含有或终止于醚($-\text{O}-$)、硫醚($-\text{S}-$)或氨基($-\text{NR}^A-$)连接,其中 R^A 是氢、 $\text{C}_1\text{-C}_3$ 烷基或氮取代基;

[0068] 在基团 L^1 中, $\text{A}1\text{k}^1$ 和 $\text{A}1\text{k}^2$ 当存在时可选自,例如, $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 以及二价环丙基、环戊基和环己基。

[0069] 同样在基团 L^1 中, Q^1 可以是,例如,1,4-亚苯基。

[0070] 同样在基团 L^1 中,m和p可以都是0,或者n和p可以是0而m是1,或者m、n和p可以都是0。

[0071] 基团 $-Y-L^1-X^1-[CH_2]_z-$ 的具体例子是 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NH-$ 、 $-(CH_2)_v-$ 、 $-(CH_2)_vO-$ 、 $-C(=O)-(CH_2)_v-$ 、 $-C(=O)(CH_2)_vO-$ 、 $-C(=O)NH(CH_2)_w-$ 、 $-C(=O)NH(CH_2)_wO-$ 、



[0073] 其中v是1、2、3或4,w是1、2或3。

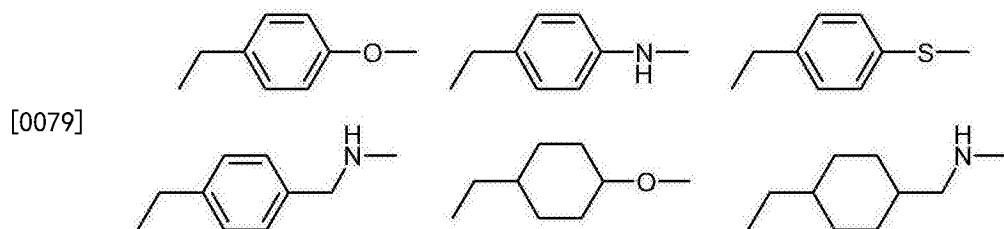
[0074] 优选的 $-Y-L^1-X^1-[CH_2]_z-$ 基团是 $-CH_2-$ 、 $-CH_2O-$ 、 $-C(=O)-CH_2-$ 、 $-C(=O)-CH_2O-$ 、 $-C(=O)-NH-CH_2-$ 或 $-C(=O)-NH-CH_2O-$ 。

[0075] X^1 可以是,例如, $-NR_3-$ 、 $-S-$ 、 $-O-$ 、 $-C(=O)NR_3-$ 、 $-NR_3C(=O)-$ 或 $-C(=O)O-$,其中 R_3 是氢、 C_1-C_6 烷基或氮取代基,或者在其他情况下是键。

[0076] 在基团 L^1 中, $A1k^1$ 和 $A1k^2$ 当存在时可选自 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 以及二价环丙基、环戊基和环己基。

[0077] 在基团 L^1 中, Q^1 可以是,例如,二价苯基或含有5-13个环成员的单环或二环杂芳基,如1,4-亚苯基。

[0078] 基团 $-L^1-X^1-[CH_2]_z-$ 的具体例子是: $-(CH_2)_3NH-$ 、 $-CH_2C(=O)NH-$ 、 $-CH_2CH_2C(=O)NH-$ 、 $-CH_2C(=O)O-$ 、 $-CH_2S-$ 、 $-CH_2CH_2C(=O)O-$ 、 $-(CH_2)_4NH-$ 、 $-CH_2CH_2S-$ 、 $-CH_2O-$ 、 $-CH_2CH_2O-$



[0080] 在本发明化合物的一个简单亚类中,基团 $-YL^1X^1[CH_2]_z-$ 是 $-CH_2-$ 。

[0081] 酯基 R_1

[0082] 酯基 R_1 必须是本发明化合物中被一种或多种细胞内羧酸酯酶水解成羧酸基的基团。能够将本发明化合物的酯基水解成相应的酸的细胞内羧酸酯酶包括三种已知的人类的酶的同种型hCE-1、hCE-2和hCE-3。尽管这些酶被认为是主要的酶,但其它的酶如联苯基水解酶(BPH)也具有水解酯的作用。通常,如果羧酸酯酶将游离的氨基酸酯水解成母体酸,由于下述hCE-2和hCE-3针对的是N-羰基,则当共价结合到HDAC抑制剂时羧酸酯酶也会水解酯基序(ester motif)。因此,破细胞测定法(broken cell assay)提供了一种直接、快速且简便的首次筛选具有所需水解曲线的酯的方法。当将用这种方法选出的酯基序通过选择性结合化学结合到抑制剂时可采用相同的羧酸酯酶测定法再次测定,以证实它仍旧是该背景下的羧酸酯酶底物。

[0083] 为被细胞内羧酸酯酶水解,特定的酯基 R_1 的例子包括式 $-(C=O)OR_9$ 的基团,其中, R_9 是 $R_{20}R_{21}R_{22}C-$,其中:

[0084] (i) R_{20} 是氢或任选取代的 (C_1-C_3) 烷基 $-(Z^1)_a-[(C_1-C_3)$ 烷基] $_b-$ 或 (C_2-C_3) 烯基 $-(Z^1)_a-[(C_1-C_3)$ 烷基] $_b-$,其中a和b独立为0或1, Z^1 是 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-NR_c-$,其中 R_c 是氢或 (C_1-C_3)

烷基;且R₂₁和R₂₂独立为氢或(C₁-C₃)烷基-;

[0085] (ii) R₂₀是氢或任选取代的R₁₂R₁₃N-(C₁-C₃)烷基-,其中R₁₂是氢或(C₁-C₃)烷基和R₁₃是氢或(C₁-C₃)烷基;或R₁₂和R₁₃与它们所结合的氮一起形成任选取代的5-或6-个环原子的单环杂环或8-10个环原子的二环杂环系统,且R₂₁和R₂₂独立为氢或(C₁-C₃)烷基-;或

[0086] (iii) R₂₀和R₂₁与它们所结合的碳一起形成任选取代的3-7个环原子的单环碳环或8-10个环原子的二环碳环系统,且R₂₂是氢。

[0087] 在这些种类中,R₉可以是,例如,甲基,乙基,正或异丙基,正、仲或叔丁基,环己基,烯丙基,苯基,苄基,2-、3-或4-吡啶基甲基,N-甲基哌啶-4-基,四氢呋喃-3-基,甲氧基乙基,茚满酮基(indonyl),降冰片基(norbonyl),二甲基氨基乙基,吗啉代乙基。目前优选R₉是环戊基。

[0088] 已知巨噬细胞通过释放细胞因子,尤其是TNF α 和IL-1而在炎症性疾病中发挥关键作用(van Roon等,Arthritis and Rheumatism,2003,1229-1238)。在类风湿性关节炎中,它们是维持关节炎症和关节破坏的主要贡献者。巨噬细胞也参与肿瘤的生长和发展(Naldini和Carraro,Curr Drug Targets Inflamm Allergy,2005,3-8)。因此,选择性靶向巨噬细胞增殖的试剂对于治疗癌症和自身免疫性疾病很有价值。预计靶向特定细胞类型能降低副作用。发明人已经发现了将抑制剂靶向表达hCE-1的细胞尤其是巨噬细胞以及其他衍生自骨髓-单核细胞谱系的细胞如单核细胞、破骨细胞和树突细胞的方法。该方法基于以下发现,即酯酶基序连接抑制剂的方式决定了它是否被所有三种人羧酸酯酶水解或仅被hCE-1水解,因此是否在不同细胞类型中累积。具体地说,已经发现巨噬细胞以及其他衍生自骨髓-单核细胞谱系的细胞,所述细胞可以是正常或癌性的,含有人羧酸酯酶hCE-1而其它细胞类型不含有。在通式(I)中,当酯酶基序R₁CH(R₂)NH-的氮不直接连接到羰基(-C(=O)-)时,即当Y不是-C(=O)-、-C(=O)O-或-C(=O)NR₃-基团时,该酯将仅被hCE-1水解,因此该抑制剂选择性累积于与巨噬细胞相关的细胞内。

[0089] 氨基酸侧链R₂

[0090] 因为需要使酯基R₁被细胞内羧酸酯酶水解,侧链基团R₂的种类对于非巨噬细胞选择性化合物并不关键。

[0091] 氨基酸侧链的例子包括:

[0092] C₁-C₆烷基,苯基,2-、3-或4-羟基苯基,2-、3-或4-甲氧基苯基,2-、3-或4-吡啶基甲基、苄基、苄乙基,2-、3-或4-羟基苄基,2-、3-或4-苄氧基苄基,2-、3-或4-C₁-C₆烷氧基苄基,以及苄氧基(C₁-C₆烷基)-基团;

[0093] 天然 α 氨基酸的特征性基团,其中的任何官能团可被保护;

[0094] 基团-[A1k]_nR₆,其中,A1k是任选被一个或多个-O-或-S-原子或-N(R₇)-基团[其中,R₇是氢原子或(C₁-C₆)烷基]打断的(C₁-C₆)烷基或(C₂-C₆)烯基或,n是0或1,R₆是任选取代的环烷基或环烯基;

[0095] 在苯环中被式-OCH₂COR₈的基团取代的苄基,其中R₈是羟基、氨基、(C₁-C₆)烷氧基、苯基(C₁-C₆)烷氧基、(C₁-C₆)烷基氨基、二((C₁-C₆)烷基)氨基、苯基(C₁-C₆)烷基氨基、氨基酸或酰基卤的残基、酯或其酰胺衍生物,所述残基通过酰胺键连接,所述氨基酸选自甘氨酸、 α 或 β 丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸、组氨酸、精氨酸、谷氨酸或天冬氨酸;

[0096] 在杂环中未被取代或被以下基团单-或二-取代的杂环(C₁-C₆)烷基:卤素、硝基、羧基、(C₁-C₆)烷氧基、氰基、(C₁-C₆)烷酰基、三氟甲基(C₁-C₆)烷基、羟基、甲酰基、氨基、(C₁-C₆)烷基氨基、二-(C₁-C₆)烷基氨基、巯基、(C₁-C₆)烷硫基、羟基(C₁-C₆)烷基、巯基(C₁-C₆)烷基或(C₁-C₆)烷基苯基甲基;和基团-CR_aR_bR_c,其中:

[0097] R_a、R_b和R_c各自独立为氢、(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₆)烯基、(C₂-C₆)炔基、苯基(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₈)环烷基;或

[0098] R_c是氢,R_a和R_b独立为苯基或杂芳基,如吡啶基;或

[0099] R_c是氢、(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₆)烯基、(C₂-C₆)炔基、苯基(C₁-C₆)烷基或(C₃-C₈)环烷基,R_a和R_b与它们所结合的碳原子一起形成3-8元环烷基或5-6元杂环;或

[0100] R_a、R_b和R_c与它们所结合的碳原子一起形成三环(例如金刚烷基);或

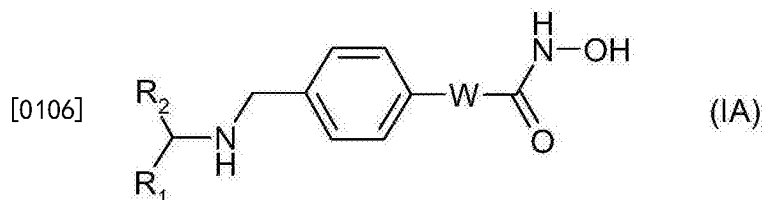
[0101] R_a和R_b各自独立为(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₆)烯基、(C₂-C₆)炔基、苯基(C₁-C₆)烷基、或是除氢之外的如下文对R_c定义的基团,或者R_a和R_b与它们所结合的碳原子一起形成环烷基或杂环,且R_c是氢、-OH、-SH、卤素、-CN、-CO₂H、(C₁-C₄)全氟烷基、-CH₂OH、-CO₂(C₁-C₆)烷基、-(C₁-C₆)烷基、-O(C₂-C₆)烯基、-S(C₁-C₆)烷基、-SO(C₁-C₆)烷基、-SO₂(C₁-C₆)烷基、-S(C₂-C₆)烯基、-SO(C₂-C₆)烯基、-SO₂(C₂-C₆)烯基或基团-Q-W,其中,Q代表键或-O-、-S-、-SO-或-SO₂-,W代表苯基、苯基烷基、(C₃-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基烷基、(C₄-C₈)环烯基、(C₄-C₈)环烯基烷基、杂芳基或杂芳基烷基,基团W可任选被一个或多个独立选自下组的取代基取代:羟基、卤素、-CN、-CO₂H、-CO₂(C₁-C₆)烷基、-CONH₂、-CONH(C₁-C₆)烷基、-CONH(C₁-C₆烷基)₂、-CHO、-CH₂OH、(C₁-C₄)全氟烷基、-O(C₁-C₆)烷基、-S(C₁-C₆)烷基、-SO(C₁-C₆)烷基、-SO₂(C₁-C₆)烷基、-NO₂、-NH₂、-NH(C₁-C₆)烷基、-N((C₁-C₆)烷基)₂、-NHCO(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷基、(C₂-C₆)烯基、(C₂-C₆)炔基、(C₃-C₈)环烷基、(C₄-C₈)环烯基、苯基或苄基。

[0102] 具体的R₂基团的例子包括氢(甘氨酸“侧链”)、苄基、苯基、环己基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、叔丁氧基甲基、异丁基、仲丁基、叔丁基、1-苄硫基-1-甲基乙基、1-甲硫基-1-甲基乙基、1-巯基-1-甲基乙基和苯乙基。目前优选的R₂基团包括苯基、苄基以及异丁基、环己基和叔丁氧基甲基。

[0103] 对于要全身给予的本发明的化合物,优选被羧酸酯酶断裂的速率慢的酯,因为这种酯不易于被系统前代谢。因此它们完整到达其靶组织的能力增强了,且所述酯可在靶组织的细胞内被转化成酸产物。然而,对于局部给药而言,此时酯被直接施加于靶组织或通过例如吸入直接到达靶组织,通常需要这种酯被酯酶快速断裂,以使全身暴露和随后不希望的副作用最小。在本发明的化合物中,如果邻近α氨基酸酯α碳原子的碳原子被单取代,即R₂是CH₂R^z(R^z为单取代基),则与上述碳原子如果被二取代或三取代(例如R₂是苯基或环己基的情况)相比,这种酯趋于更快被断裂。

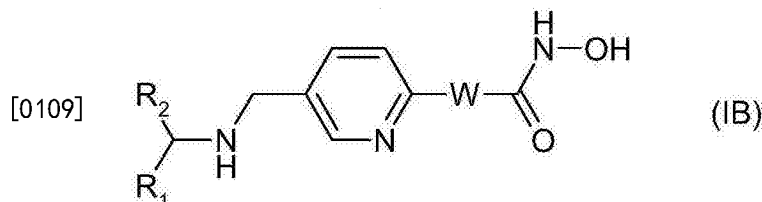
[0104] 对于巨噬细胞选择性化合物,侧链如缬氨酸的侧链(即-CH(CH₃)₂),环己基甘氨酸的侧链(即环己基),叔丁基丝氨酸的侧链(即-CH₂O(t-Bu)),叔丁基半胱氨酸的侧链(即-CH₂S(t-Bu)),以及苯基甘氨酸的侧链(即苯基)目前是优选的。

[0105] 本发明化合物的一个亚类具有式(IA):



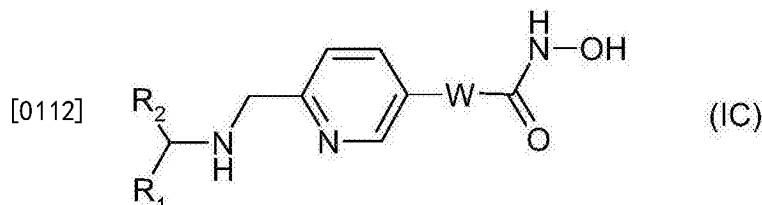
[0107] 其中W、R₁和R₂如上文的定义和进一步的讨论。

[0108] 本发明化合物的另一个亚类具有式 (IB)：



[0110] 其中W、R₁和R₂如上文的定义和进一步的讨论。

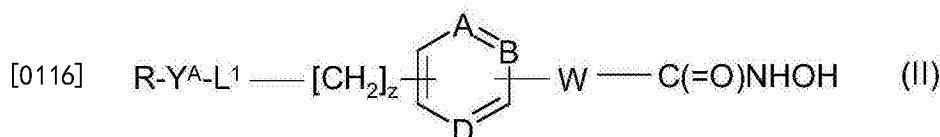
[0111] 本发明化合物的再另一个亚类具有式 (IC)：



[0113] 其中W、R₁和R₂如上文的定义和进一步的讨论。

[0114] 另一种实施方式

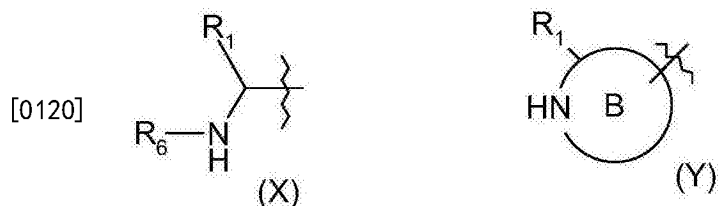
[0115] 本发明的式 (I) 的化合物的特征在于，α氨基酸或酯酶可水解的α氨基酸酯基序 R¹R²CHNH-通过连接基基团-YL¹X¹[CH₂]_z-连接于含有A、B和D的环。在这种方式中，除了N-连接，α氨基酸或酯酶可水解的α氨基酸酯基序可采取C-连接通过其α碳上连接的连接基连接到含有A、B和D的环。因此，本发明的另一种实施方式包括式 (II) 的化合物及其盐、N-氧化物、水合物和溶剂合物：



[0117] 其中A、B、D、W、L¹和z如上文对式 (I) 的化合物的定义和讨论。

[0118] Y^A是键、-(C=O)-、-S(O₂)-、-(C=O)NR₃-、-NR₃(C=O)-、-S(O₂)NR₃-、-NR₃S(O₂)-或-NR₃(C=O)NR₅-，其中R₃和R₅如上文对式 (I) 的化合物的定义和讨论；和

[0119] R是式 (X) 或 (Y) 的基团



[0121] 其中

[0122] R₁如上文对式 (I) 的化合物的定义和讨论，和

[0123] R_6 是氢;或任选取代的 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_7 环烷基、芳基或杂芳基、或者 $-(C=O)R_3$ 、 $-(C=O)OR_3$ 或 $-(C=O)NR_3$,其中 R_3 如上文对式(I)的化合物的定义和讨论。

[0124] 在化合物(II)中,当酯基序的氮被取代但未直接结合于羰基时,即在式X中 R_6 不是H或不是通过 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 或 $-C(=O)NR_3-$ 基团连接于氮的基团,或者在式Y中环系统不将 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 或 $-C(=O)NH-$ 基团直接连接酯酶基序的氮,则该酯将仅被hCE-1水解,因此该抑制剂将仅在巨噬细胞内累积。

[0125] R_6 可以是,例如,任选取代的 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_7 环烷基、芳基或杂芳基,例如甲基、乙基、正丙基或异丙基、环丙基、环戊基、环己基、苯基或吡啶基。当不要求巨噬细胞特异性时, R_6 可以是氢或 $-(C=O)R_7$,其中 R_7 是任选取代的 C_1 - C_6 烷基如甲基,乙基,正丙基或异丙基,或者正丁基、异丁基或仲丁基, C_3 - C_7 环烷基如环丙基,环戊基,环己基,苯基,吡啶基,噻吩基,苯基(C_1 - C_6 烷基)-,噻吩基(C_1 - C_6 烷基)-或吡啶基(C_1 - C_6 烷基)-,如苄基,4-甲氧基苯基甲基羰基,噻吩基甲基或吡啶基甲基。

[0126] R_6 可以是,例如, $-(C=O)OR_7$ 或 $-(C=O)NHR_7$,其中 R_7 是氢或任选取代的(C_1 - C_6)烷基如甲基、乙基、或者正丙基或异丙基。

[0127] 对于要全身给予的化合物(II),优选被酯酶断裂的速率慢的酯,因为这种酯不易于被系统前代谢。因此它们完整到达其靶组织的能力增强了,且所述酯可在靶组织的细胞内被转化成酸产物。然而,对于局部给药而言,此时酯被直接施加于靶组织或通过例如吸入直接到达靶组织,通常需要这种酯被酯酶快速断裂,以使全身暴露和随后不希望的副作用最小。如果式(II)中基团R所结合的碳原子是未取代的,即R结合于亚甲基 $-(CH_2)-$,那么与上述碳原子如果被取代或者是环系统如苯环或环己基环的一部分相比,这种酯趋于更快被断裂。

[0128] 对于要全身给予的本发明的化合物,优选被羧酸酯酶断裂的速率慢的酯,因为这种酯不易于被系统前代谢。因此它们完整到达其靶组织的能力增强了,且所述酯可在靶组织的细胞内被转化成酸产物。然而,对于局部给药而言,此时酯被直接施加于靶组织或通过例如吸入直接到达靶组织,通常需要这种酯被酯酶快速断裂,以使全身暴露和随后不希望的副作用最小。在本发明的化合物中,如果邻近 α 氨基酸酯 α 碳原子的碳原子被单取代,即 R_2 是 CH_2R^z (R^z 为单取代基),则与上述碳原子如果被二取代或三取代(例如 R_2 是苯基或环己基的情况)相比,这种酯趋于更快被断裂。

[0129] 效用

[0130] 如上所述,本发明所涉及的化合物是HDAC活性抑制剂,因此可用于治疗诸如癌症、银屑病、炎性肠病、克罗恩病、溃疡性结肠炎、慢性阻塞性肺病、哮喘、多发性硬化、糖尿病、特应性皮炎、移植物抗宿主病、系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎等疾病。

[0131] 应理解,用于任何特定患者的具体剂量水平将取决于各种因素,其中包括采用的具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康、性别、饮食、给药次数、给药途径、排泄率、药物组合以及接受治疗的特定疾病的严重性。最佳剂量水平和给药频率将由临床试验确定。然而,预计典型剂量范围为约0.001-50毫克每千克体重。

[0132] 本发明涉及的化合物可被制成通过任何与其药代动力学特性一致的任何途径给予。可口服给予的组合物的形式可以是片剂,胶囊,粉末,颗粒,锭剂,液体或凝胶制品如口服、局部或无菌肠胃外溶液或悬浮液。供口服给药的片剂或胶囊可采用单位剂型,并可含有

常规赋形剂,如粘合剂,例如糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨糖醇、黄蓍胶或聚乙烯吡咯烷酮;填料,例如乳糖、蔗糖、玉米淀粉、磷酸钙、山梨糖醇或甘氨酸;压片润滑剂,例如硬脂酸镁、滑石、聚乙二醇或二氧化硅;崩解剂,例如马铃薯淀粉,或可接受的润湿剂如月桂基硫酸钠。可按照常规制药实践中熟知的方法将片剂包衣。口服液体制剂的形式可以是,例如,水性或油性悬浮液、溶液、乳剂、糖浆剂或酞剂,或者可呈现为在使用前用水或其它合适载体重建的干燥产品。这种液体制剂可含有常规的添加剂,如悬浮剂,例如山梨糖醇、糖浆、甲基纤维素、葡萄糖浆、明胶、氢化食用脂肪;乳化剂,例如卵磷脂、去水山梨糖醇单油酸酯或阿拉伯胶;非水性载体(可包括食用油),例如杏仁油、分馏椰子油、油性酯如甘油、丙二醇或乙醇;防腐剂,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸,需要的话还可含有常规的调味剂或着色剂。

[0133] 当局部施用于皮肤时,可将药物制成霜剂、洗剂或软膏剂。可用于药物的霜剂或软膏剂配方是本领域熟知的常规配方,例如标准药物教科书如《英国药典》(British Pharmacopoeia)中描述的配方。

[0134] 为通过吸入局部施用,可将药物制成通过气雾剂递送,例如通过压力驱动的喷射雾化器或超声雾化器,或者优选通过推进剂驱动的计量式气雾剂或者不采用推进剂给予微粉化粉末,例如吸入剂胶囊或其它“干粉”递送系统。这种吸入配方中可含有赋形剂,例如推进剂(例如,在计量式气雾剂中为Frigen)、表面活性物质、乳化剂、稳定剂、防腐剂、调味剂和填料(例如,在干粉吸入器中为乳糖)。为了吸入,大量装置都是适用的,这些装置能产生最佳粒度的气溶胶并采用适合患者的吸入技术给予。除了采用适配器(间隔物(spacer)、扩展器)和梨形容器(例如 Nebulator®、Volumatic®)以及发射吹入喷雾的自动装置(Autohaler®),为给予经过计量的气溶胶,尤其是采用干粉吸入器时,许多技术方案是适用的(例如, Diskhaler®、Rotadisk®、Turbohaler®或者例如欧洲专利申请EP 0 505 321中描述的吸入器)。

[0135] 为局部施用于眼睛,可用合适的水性或非水性无菌载体将药物制成溶液或悬浮液。也可含有添加剂,例如,缓冲剂,如偏亚硫酸氢钠或依地酸二钠;防腐剂,包括杀菌剂和杀真菌剂如醋酸苯汞或硝酸苯汞、苯扎氯铵或氯己定;以及增稠剂,如羟丙甲纤维素。

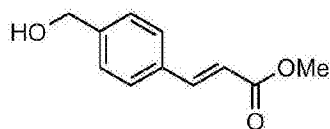
[0136] 也可采用无菌介质肠胃外给予活性成分。根据所用载体和浓度,药物可悬浮于或溶于载体中。有利地,佐剂如局部麻醉剂、防腐剂和缓冲剂也可溶于载体。

[0137] 合成

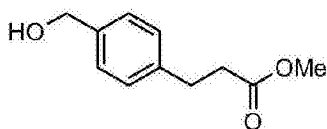
[0138] 有多种合成策略可用来合成本发明所涉及的化合物,但它们都依赖于已知的化学方法并为合成有机化学家所知晓。因此可按照标准文献中描述的并为精通本领域的技术人员熟知方法合成本发明的化合物。典型的文献来源有“高级有机化学(Advanced organic chemistry)”,第四版(威利出版社(Wiley)),J March,“综合有机转化(Comprehensive Organic Transformation)”,第二版(威利出版社),R.C.Larock,“杂环化学手册(Handbook of Heterocyclic Chemistry)”,第二版(帕加蒙出版社(Pergamon)),A.R.Katritzky,例如在“Synthesis”、“Acc.Chem.Res.”、“Chem.Rev”中找到的综述文章,或者通过标准在线文献检索找到的第一文献来源或来自诸如“Chemical Abstracts”或“Beilstein”等第二文献来源中找到的论文。用于制备以下实施例中所述化合物的合成途径也适合制备类似的化合物。

- [0139] 以下实施例例举了本发明的具体化合物的制备及其HDAC抑制特性：
- [0140] 缩写
- [0141] MeOH=甲醇
- [0142] EtOH=乙醇
- [0143] EtOAc=乙酸乙酯
- [0144] Boc=叔丁氧基羰基
- [0145] DCM=二氯甲烷
- [0146] DMF=二甲基甲酰胺
- [0147] DCE=1,2-二氯乙烷
- [0148] TMSOK=三甲基硅烷醇钾 (potassium trimethylsilanoside)
- [0149] DMSO=二甲亚砜
- [0150] TFA=三氟乙酸
- [0151] THF=四氢呋喃
- [0152] Na₂CO₃=碳酸钠
- [0153] K₂CO₃=碳酸钾
- [0154] HCl=盐酸
- [0155] aq=水溶液
- [0156] sat=饱和的
- [0157] DIPEA=二异丙基乙胺
- [0158] NaH=氢化钠
- [0159] NaOH=氢氧化钠
- [0160] STAB=三乙酰氧基硼氢化钠
- [0161] NaCNBH₃=氰基硼氢化钠
- [0162] NaHCO₃=碳酸氢钠
- [0163] Pd/C=碳载钯
- [0164] TBME=叔丁基甲基醚
- [0165] TPAP=四丙基过钨酸铵 (tetrapropyl ammonium perruthenate)
- [0166] (COCl)₂=草酰氯
- [0167] N₂=氮气
- [0168] PyBop=苯并三唑-1-基-氧-三-吡咯烷-磷鎓六氟磷酸盐
- [0169] Na₂SO₄=硫酸钠
- [0170] Et₃N=三乙胺
- [0171] NH₃=氨
- [0172] TMSCl=三甲基氯硅烷
- [0173] NH₄Cl=氯化铵
- [0174] LiAlH₄=氢化铝锂
- [0175] PyBrOP=溴代-三-吡咯烷磷鎓六氟磷酸盐
- [0176] MgSO₄=硫酸镁
- [0177] ⁿBuLi=正丁基锂

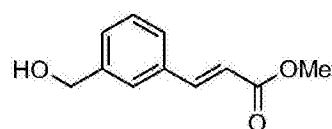
- [0178] CO₂=二氧化碳
[0179] EDCI=N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐
[0180] Et₂O=二乙醚
[0181] LiOH=氢氧化锂
[0182] HOBT=1-羟基苯并三唑
[0183] TLC=薄层层析
[0184] LCMS=液相色谱/质谱
[0185] mL=毫升
[0186] g=克
[0187] mg=毫克
[0188] mol=摩尔
[0189] mmol=毫摩尔
[0190] HPLC=高效液相色谱
[0191] NMR=核磁共振
[0192] RT=室温
[0193] h=小时
[0194] 支架中间体:
[0195]



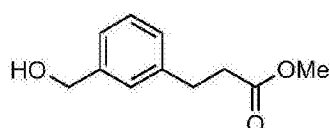
中间 体A



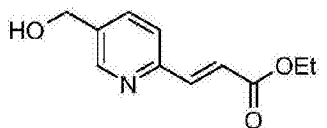
中间 体B



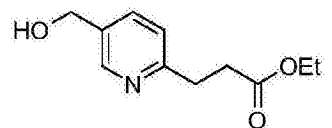
中间 体C



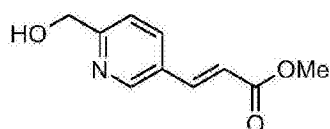
中间 体D



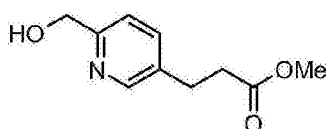
中间 体E



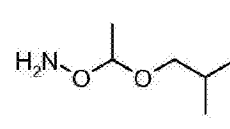
中间 体F



中间 体G

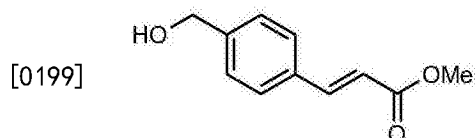


中间 体H

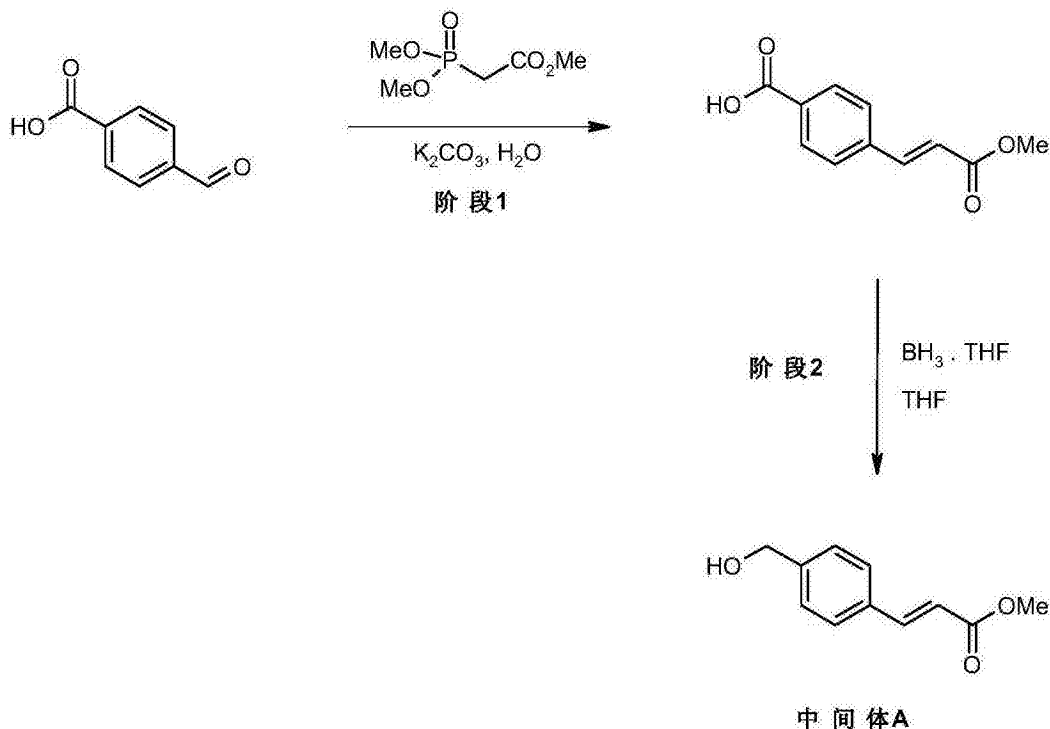


中间 体I

- [0196] 制备:
[0197] 中间体A:
[0198] (2E)-3-[4-(羟基甲基)苯基]丙烯酸甲酯



[0200] 标题化合物是通过以下方法制备的:



[0202] 阶段1-制备4-[(1E)-3-甲氧基-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯甲酸

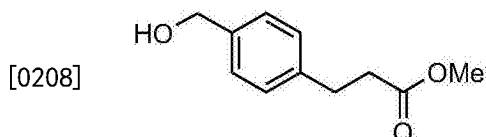
[0203] 将4-甲酰苯甲酸 (20g, 0.133mol) 和 K_2CO_3 (55g, 0.398mol) 加到水 (350mL) 中并冷却至 0-5℃。逐滴加入三甲基膦酰基乙酸酯 (Trimethyl phosphonoacetate) (26mL, 0.160mol) 维持反应温度低于 15℃。然后使反应物升温并室温搅拌 1.5 小时, 之后酸化至 pH 约 1。所得沉淀过滤并真空干燥以得到淡黄色固体状标题产物 (29.5g, 定量)。 1H NMR (300MHz, d_6 -DMSO) δ : 7.89-7.52 (5H, m), 6.59 (1H, d, $J=16.2$ Hz), 3.7 (3H, s)。

[0204] 阶段2-制备 (2E)-3-[4-(羟基甲基)苯基]丙烯酸甲酯 (中间体A)

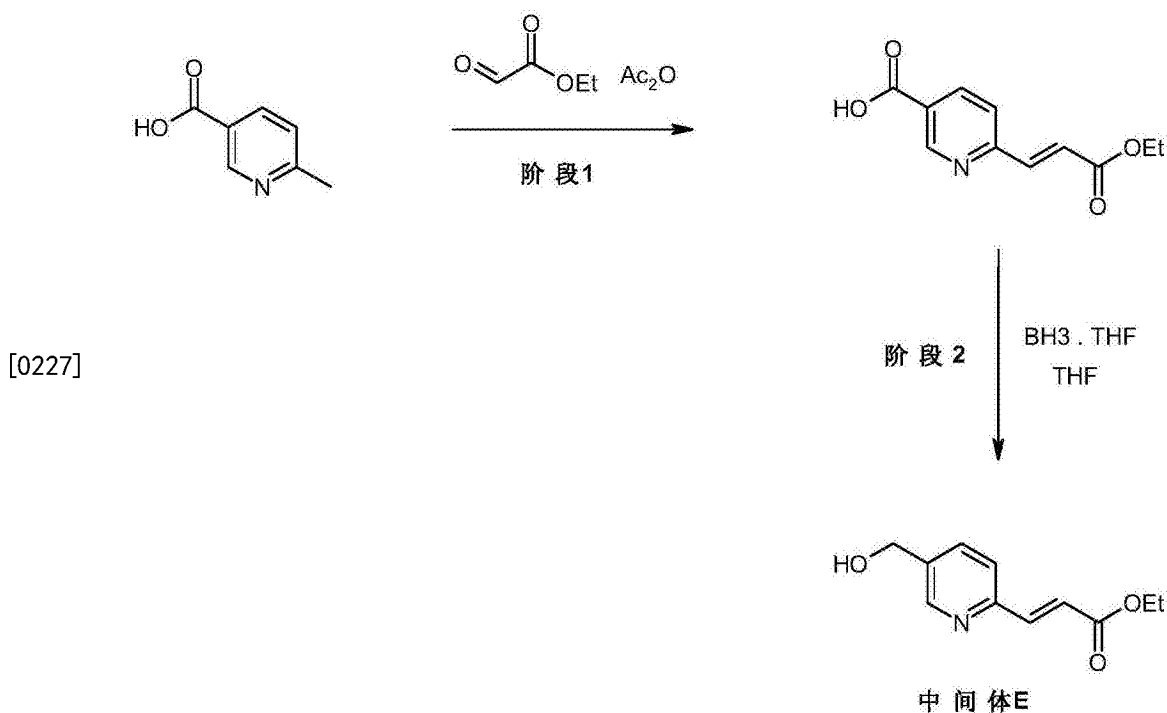
[0205] 将阶段1产物 (10g, 48mmol) 加入 THF (80mL) 并冷却至 0-5℃。逐滴加入 1M 硼烷-THF 复合物 (Borane-THF complex) 的 THF (97mL, 96mmol) 溶液, 使反应物升至室温并搅拌 2 小时。然后用 1:110% HCl_{aq} /THF 淬灭, 然后在真空下除去有机物。残余物用 EtOAc (2x50mL) 萃取, 合并的有机物用饱和 $NaHCO_3$ 溶液 (50mL) 洗涤, 然后用盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 ($MgSO_4$) 并真空浓缩以得到黄色油状标题产物 (2.75g, 30%)。 1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ : 7.75-7.70 (5H, m), 6.54 (1H, d, $J=16.2$ Hz), 4.64 (2H, s), 3.80 (3H, s)。

[0206] 中间体B:

[0207] 3-[4-(羟基甲基)苯基]丙酸甲酯



[0209] 标题化合物是通过以下方法制备的:



[0228] 阶段1-制备6-[(1E)-3-乙氧基-3-氧代丙-1-烯-1-基]烟酸

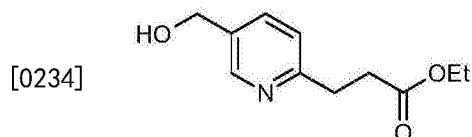
[0229] 在氮气气氛下将6-甲基烟酸 (5g, 36mmol) 和乙醛酸乙酯 (50% 甲苯溶液-8.7mL, 44mmol) 加入Ac₂O (25mL) 并搅拌。反应物在130℃加热3小时然后用17小时冷却至室温。反应物然后用水 (10mL) 淬灭并在真空下浓缩至干以得到棕色固体状产物 (11.6g, >100%)。m/z = 222 [M+H]⁺。

[0230] 阶段2-制备 (2E)-3-[5-(羟基甲基)吡啶-2-基]丙烯酸乙酯 (中间体E)

[0231] 在氮气气氛下将硼烷-THF复合物 (1M THF溶液-84mL, 0.084mol) 逐滴加入阶段1产物 (11.6g, 52mmol) 的THF (100mL) 浆液中。将反应物室温搅拌1.5小时h然后用2N HCl_{aq} (20mL) 淬灭。在真空下除去THF, 残余物用K₂CO₃碱化至pH约9, 然后用EtOAc (3x30mL) 萃取。将有机相合并、干燥 (MgSO₄), 然后真空浓缩以得到棕色油状粗产物。通过柱层析纯化得到黄色固体状所需产物 (1.86g, 25%)。¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ: 8.59 (1H, s), 7.91-7.63 (3H, m), 6.88 (1H, d, J=15.9Hz), 4.70 (2H, s), 4.28 (2H, q), 1.35 (3H, t)。

[0232] 中间体F:

[0233] 3-[5-(羟基甲基)吡啶-2-基]丙酸乙酯

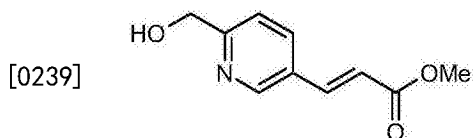


[0235] 标题化合物通过用来制造中间体B的相同方法从中间体E制备。

[0236] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 8.49 (1H, s), 7.65 (1H, d, J=5.7Hz), 7.21 (1H, d, J=7.8Hz), 4.68 (2H, s), 4.13 (2H, q, J=7.2Hz), 3.12 (2H, t, J=7.5Hz), 2.77 (2H, t, J=7.2Hz), 1.24 (3H, t, J=7.2Hz)。

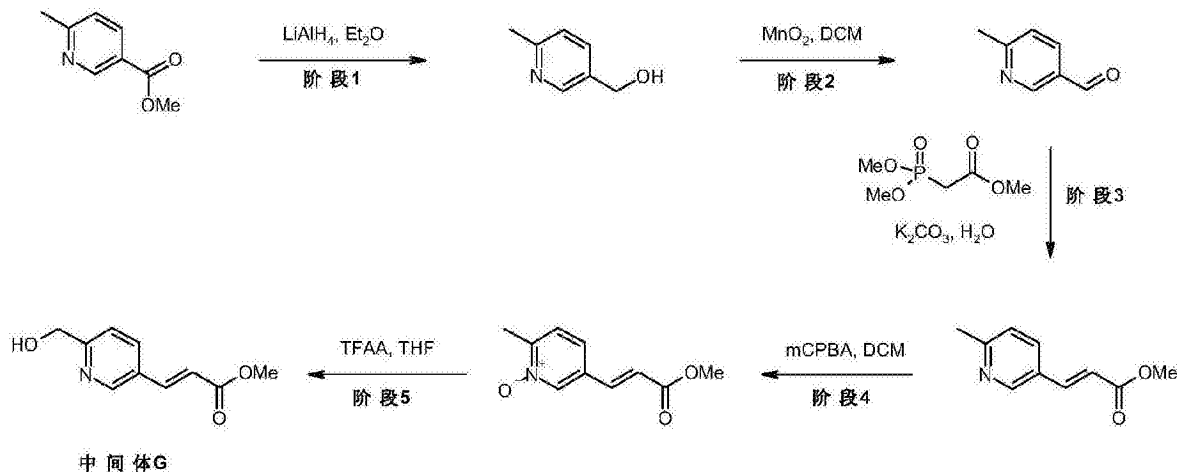
[0237] 中间体G:

[0238] (2E)-3-[6-(羟基甲基)吡啶-3-基]丙烯酸甲酯



[0240] 标题化合物是通过以下方法制备的：

[0241]



[0242] 阶段1-制备 (6-甲基吡啶-3-基) 甲醇

[0243] 在-78℃下通过套管向氢化铝锂 (7.24g, 191mmol) 的Et₂O (400mL) 悬浮液中历时1小时加入6-甲基烟酸甲酯 (19.62g, 130mmol) 的Et₂O (200mL) 溶液。一旦加完就将混合物再搅拌3小时。过量氢化铝锂通过逐滴加入EtOAc (40mL) 来淬灭。混合物然后用水-冰浴升温并再用饱和NH₄Cl (500mL) 淬灭。倾倒入含醚层并加入EtOAc (500mL)。剧烈搅拌混合物并再次倾倒入有机层。该萃取过程重复两次 (500mLEtOAc)。合并的有机萃取物被干燥 (MgSO₄) 并浓缩以得到所需产物 (13.6g, 85%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 8.39 (1H, s), 7.62 (1H, dd, J=2.1, 8.1Hz), 7.14 (1H, d, J=7.8Hz), 4.68 (2H, s), 2.54 (3H, s)。

[0244] 阶段2-制备6-甲基烟醛 (nicotinaldehyde)

[0245] 用30分钟向冷却 (冰浴) 的阶段1产物 (14.85g, 120.6mmol) 的DCM (1000mL) 溶液中分10份加入氧化镁 (100g)。使混合物升至室温并搅拌45分钟, 然后通过硅藻土过滤。残余物用DCM (500mL) 洗涤, 并将合并的DCM部分浓缩以得到所需产物。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 10.00 (1H, s), 8.88 (1H, d, J=1.8Hz), 8.00 (1H, dd, J=2.4, 8.1Hz), 7.26 (1H, d, J=8.1Hz), 2.60 (3H, s)。

[0246] 阶段3-制备 (2E)-3-(6-甲基吡啶-3-基) 丙烯酸甲酯

[0247] 阶段2产物 (14.60g, 120mmol) 的水 (600mL) 溶液中加入K₂CO₃ (55g, 398mmol)。将混合物冷却 (冰浴) 并历时10分钟逐滴加入三甲基膦酰基乙酸酯 (25mL, 154mmol)。将混合物搅拌5分钟, 然后升至室温并再搅拌1小时。产物通过过滤收集并用水 (250mL) 洗涤, 然后真空干燥以得到所需产物 (15.708g, 73% (两个步骤))。¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 8.74 (1H, d, J=2.1Hz), 8.08 (1H, dd, J=2.4, 8.1Hz), 7.66 (1H, d, J=16.2Hz), 7.32 (1H, d, J=8.1Hz), 6.74 (1H, d, J=16.2Hz), 3.73 (3H, s), 2.50 (3H, s)。

[0248] 阶段4-制备 (2E)-3-(6-甲基-1-氧化吡啶-3-基) 丙烯酸甲酯

[0249] 历时1小时在阶段3产物 (10.04g, 57mmol) 的DCM (250mL) 溶液中分三份加入mCPBA (10.1g, 10.7g, 4.7g, 147mmol)。加入无水硫酸镁将混合物干燥, 然后过滤, 再用DCM (200mL)

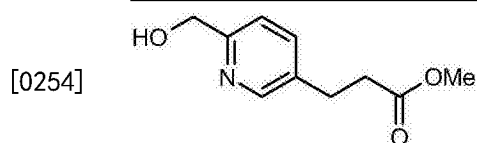
洗涤。将混合物浓缩,然后直接加到硅胶柱上并用10%甲醇-DCM以得到所需产物(10.35g, 94%)。¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ : 8.70 (1H, s), 7.68 (1H, dd, J=1.3, 7.9Hz), 7.59 (1H, d, J=16.2Hz), 7.52 (1H, d, J=8.1Hz), 3.74 (3H, s), 2.34 (3H, s)。

[0250] 阶段5-制备 (2E)-3-[6-(羟基甲基)吡啶-3-基]丙烯酸甲酯(中间体G)

[0251] 在冷却(冰浴)的阶段4产物(24.60g, 127mmol)的THF (500mL)的溶液中加入三氟乙酸酐(25mL, 180mmol)。将混合物搅拌15分钟,然后升至室温。搅拌1小时后将溶液冷却(冰浴)并小心加入饱和NaHCO₃ (1000mL) 将混合物淬灭。产物用DCM (3x500mL) 萃取,然后通过快速柱层析纯化(10% MeOH的DCM溶液)以得到所需产物(13.97g, 57%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 8.70 (1H, s), 7.87 (1H, dd, J=2.1, 8.1Hz), 7.71 (1H, d, J=16.2Hz), 7.32 (1H, d, J=8.1Hz), 8.52 (1H, d, J=15.9Hz), 4.81 (2H, s), 3.85 (3H, s)。

[0252] 中间体H:

[0253] 3-[6-(羟基甲基)吡啶-3-基]丙酸甲酯

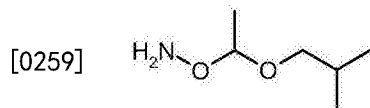


[0255] 标题化合物通过用来制造中间体B的相同方法从中间体G的酸制备。

[0256] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 8.44 (1H, s), 7.55 (1H, dd, J=2.1, 8.1Hz), 7.20 (1H, d, J=8.1Hz), 4.75 (2H, s), 3.69 (3H, s), 2.98 (2H, t, J=7.5Hz), 2.67 (2H, t, J=7.5Hz)。

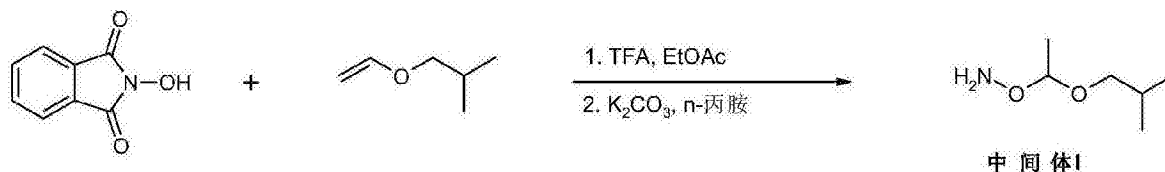
[0257] 中间体I:

[0258] O-(1-异丁氧基乙基)羟胺



[0260] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0261]

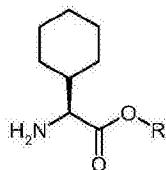


[0262] 中间体I是按照W001/60785描述的方法制备的。

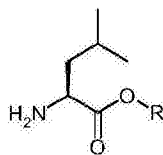
[0263] ¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ : 0.85 (6H, d), 1.15 (3H, d), 1.75 (1H, m), 3.18 (1H, dd), 3.42 (1H, dd), 4.53 (1H, q), 5.82 (2H, s)。

[0264] 氨基酸中间体:

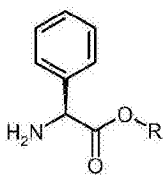
[0265]



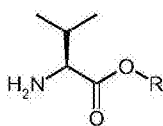
Int. J1 R = 环戊基
 Int. J2 R = 叔丁基
 Int. J3 R = 乙基
 Int. J4 R = 烯丙基
 Int. J5 R = 2-甲基环戊基
 Int. J6 R = 茛菪基
 Int. J7 R = 降冰片基
 Int. J8 R = 3-甲基环戊基
 Int. J9 R = 苄基
 Int. J10 R = 乙基吗啉代
 Int. J11 R = 乙基二甲基氨基
 Int. J12 R = (+)-薄荷基
 Int. J13 R = (-)-薄荷基



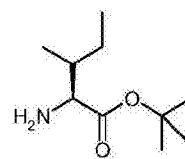
Int. K1 R = 环戊基
 Int. K2 R = 叔丁基
 Int. K3 R = 乙基吗啉代
 Int. K4 R = 降冰片基
 Int. K5 R = 茛菪基
 Int. K6 R = 乙基二甲基氨基
 Int. K7 R = (-)-薄荷基



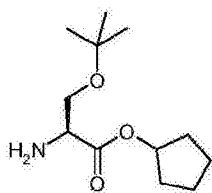
中间体L1 R = 环戊基
 中间体L2 R = 叔丁基



中间体M1 R = 环戊基
 中间体M2 R = 叔丁基



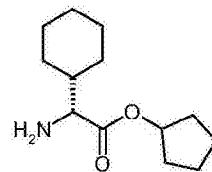
中间体N



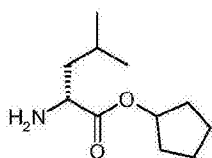
中间体O



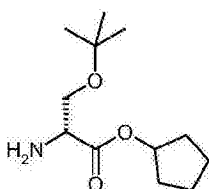
中间体P



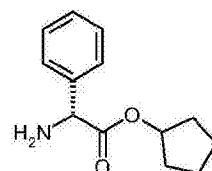
中间体Q



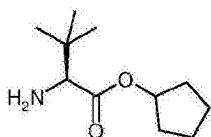
中间体R



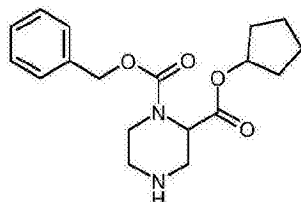
中间体S



中间体T



中间体U



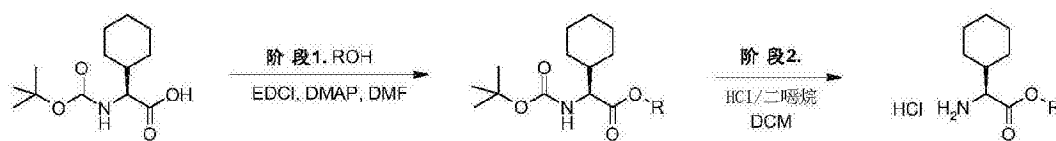
中间体V

[0266] 制备:

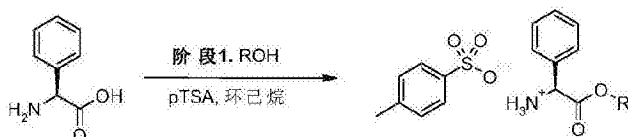
[0267] 上述中间体是按照下述方法从相应的氨基酸和醇制备的:

[0268]

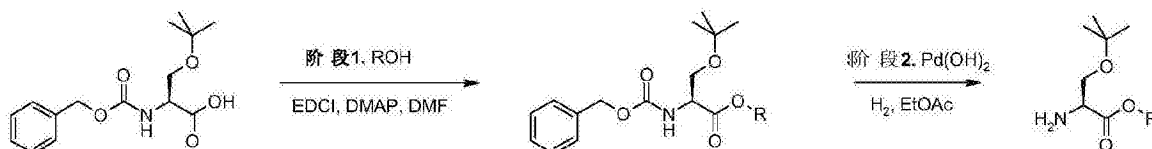
方法I.



方法II.



方法III.



[0269] 方法I (以中间体J1为例)

[0270] 阶段1-制备 (2S)-[(叔丁氧基羰基)氨基] (环己基) 乙酸环戊酯

[0271] 0℃下在 (S)-2-叔丁氧基羰基氨基-3-环己基-丙酸 (5g, 19.4mmol) 的DMF (50mL) 溶液中加入环戊醇 (8.8mL, 97.15mmol)、EDC (4.09g, 21.37mmol), 最后加入DMAP (237mg, 1.94mmol)。反应混合物被升温至室温并搅拌18小时。在真空下除去DMF以得到澄清油状物。该油状物在水和EtOAc之间分离。将有机相干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩。粗制萃取物通过柱层析纯化 (25%EtOAc庚烷溶液) 以得到所需澄清油状产物 (14.87g, 55%)。¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 7.09 (1H, d), 5.08 (1H, t), 3.76 (1H, t), 1.50-1.85 (10H, br m), 1.39 (9H, s), 1.00-1.25 (9H, br m)。

[0272] 阶段2-制备 (2S)-氨基 (环己基) 乙酸环戊酯盐酸盐 (中间体J1)

[0273] 将阶段1产物 (14.87g, 45.69mmol) 溶于DCM (100mL) 并用4M HCl/二噁烷 (22.8mL, 91.38mmol) 处理, 将反应混合物室温搅拌24小时。粗制混合物被减压浓缩以得到橙色油状物。将该油状物与Et₂O一起研磨以得到白色沉淀。所得沉淀进一步用Et₂O洗涤以得到所需白色粉末状产物 (7.78g, 65%)。¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 8.45 (3H, br s), 5.22 (1H, t), 3.28 (1H, d), 1.95-1.50 (10H, br m), 1.30-0.90 (9H, br m)。

[0274] 方法II (以中间体L1为例)

[0275] 阶段1-形成酯以得到 (2S)-氨基 (苯基) 乙酸环戊酯甲苯磺酸盐 (中间体L1)

[0276] 在 (S)-苯基甘氨酸 (5g, 33.1mmol) 的环己烷 (150mL) 浆液中加入环戊醇 (29.84mL, 331mmol) 和对甲苯磺酸 (6.92g, 36.4mmol)。该反应装有Dean-Stark接收器并加热至135℃以完全溶解。12小时后, 反应物被冷却至室温导致有白色固体沉淀。将该固体过滤并用EtOAc洗涤, 然后减压干燥以得到所需白色粉末状产物 (11.01g, 85%)。¹H NMR (300MHz, d₆-

DMSO) δ : 8.82 (2H, br s), 8.73 (1H, br s), 7.47 (7H, m), 7.11 (2H, d), 5.25 (1H, br s), 5.18 (1H, m), 2.29 (3H, s), 1.87-1.36 (8H, m)。

[0277] 方法III (以中间体0为例)

[0278] 阶段1-制备[(2S)-2-[(苄氧基)羰基]氨基]-3-叔丁氧基丙酰基(propanoyl)]氧

[0279] 0℃下在(S)-2-苄氧基羰基氨基-3-叔丁氧基-丙酸(25g, 84.65mmol)的DMF(250mL)溶液中加入环戊醇(15.36mL, 169.3mmol)、EDCI(17.85g, 93.11mmol), 最后加入DMAP(1.03g, 8.46mmol)。反应混合物被升温至室温并搅拌18小时。在真空下除去DMF以得到黄色油状物。该产物用水和EtOAc分配。将有机相干燥(MgSO₄)并真空浓缩。粗制萃取物通过柱层析纯化(25%EtOAc庚烷溶液)以得到所需澄清油状产物。产物未经表征直接用于下面的阶段。

[0280] 阶段2-制备O-叔丁基-L-丝氨酸环戊酯(中间体0)

[0281] 将阶段1产物溶于EtOAc(150mL), 用Pd(OH)₂(10mol%)处理并在氢气下搅拌32小时。反应完成后经硅藻土过滤除去催化剂并将滤液真空浓缩以得到所需澄清油状产物(15.96g, 82%(两个步骤))。¹H NMR(300MHz, d₆-DMSO) δ : 5.17 (1H, t), 3.45 (1H, m), 3.34 (2H, q), 1.90-1.50 (9H, br m), 1.08 (9H, s)。

[0282] 表征:

[0283]

中间体编号	化学名称	制备方法	分析数据
J1	(2S)-氨基(环己基)乙酸环戊酯	I	¹ H NMR(300MHz, d ₆ -DMSO) δ : 8.45(3H, br s), 5.22(1H, t), 3.28(1H, d), 1.95-1.50(10H, br m), 1.30-0.90(9H, br m)。
J2	(2S)-氨基(环己基)乙酸叔丁酯	I	m/z = 214 [M+H] ⁺ 。
J3	(2S)-氨基(环己基)乙酸乙酯	I	¹ H NMR(300MHz, d ₆ -DMSO) δ : 3.99-4.35(3H, m), 1.02-1.86(12H, m), 1.06(3H, t, J=7.2Hz)。

[0284]

中间体编号	化学名称	制备方法	分析数据
J4	(2S)-氨基(环己基)乙酸烯丙酯	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 5.92(1H, ddd, $J=5.4, 10.5, 17.4\text{Hz}$), 5.34(1H, dd, $J=1.8, 17.4\text{Hz}$), 5.22(1H, dd, $J=3.0, 10.5\text{Hz}$), 4.51-4.62(2H, m), 3.12(1H, d, $J=5.7\text{Hz}$), 0.95-1.70(11H, m)。
J5	(2S)-氨基(环己基)乙酸 2-甲基环戊酯	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 4.61(1H, d, $J=6.0\text{Hz}$), 3.06(1H, d, $J=2.4\text{Hz}$), 1.00-2.01(20H, m), 0.90(3H, d, $J=5.7\text{Hz}$)。
J6	2, 3-二氢-1 <i>H</i> -茚-2-基(2S)-氨基(环己基)乙酸酯	I	$m/z = 274.25$ $[\text{M}+\text{H}]^+$
J7	二环[2.2.1]庚-2-基(2S)-氨基(环己基)乙酸酯	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 4.86(1H, t, $J=3.6\text{Hz}$), 3.03(1H, d, $J=3.9\text{Hz}$), 2.22(2H, m), 0.93-1.70(21H, m)。
J8	(2S)-氨基(环己基)乙酸 3-甲基环戊酯	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 5.02-5.11(1H, m), 3.02-3.05(1H, m), 0.80-2.20(23H, m)。
J9	(2S)-氨基(环己基)乙酸苄酯	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 7.23-7.43(5H, m), 5.05-5.16(2H, m), 3.15(1H, t, $J=3.0\text{Hz}$), 1.42-1.80(7H, m), 0.92-1.27(5H, m)。
J10	2-吗啉-4-基乙基(2S)-氨基(环己基)乙酸酯	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 8.71(3H, br s), 4.47-4.62(1H, m), 3.85-4.00(6H, m), 3.42-3.55(4H, m), 3.15-3.20(2H, m), 1.60-1.85(6H, m), 1.01-1.25(5H, m)。
J11	2-(二甲基氨基)乙基(2S)-氨基(环己基)乙酸酯	I	^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ : 4.20-4.29(3H, m), 2.60(2H, t, $J=6.0\text{Hz}$), 2.30(6H, s), 1.52-1.80(6H, m), 1.05-1.25(5H, m)。
J12	(1 <i>S</i> , 2 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)-2-异丙基-5-甲基环己基(2S)-氨基(环己基)乙酸酯	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 8.24(3H, br s), 7.47(2H, d, $J=7.8\text{Hz}$), 7.12(2H, d, $J=7.8\text{Hz}$), 4.65-4.73(1H, m), 3.94(1H, br s), 2.29(3H, s), 1.00-2.00 0.89(6H, d, $J=6.3\text{Hz}$), 0.71(3H, d, $J=6.6\text{Hz}$)。
J13	(1 <i>R</i> , 2 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)-2-异丙基-5-甲基环己基(2S)-氨基(环己基)乙酸酯	I	$m/z = 296$ $[\text{M}+\text{H}]^+$
K1	L-亮氨酸环戊酯	I	$m/z = 200$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 0.90(6H, t, $J=6.4\text{ Hz}$), 1.23-1.94(11H, m), 3.38(1H, dd, $J=8.4, 5.9\text{ Hz}$), 5.11-5.22(1H, m)。
K2	L-亮氨酸叔丁酯	市售	n/a
K3	2-吗啉-4-基乙基 L-亮氨酸酯(leucinate)	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 8.96(2H, br s), 4.52(1H, m), 3.97(4H, br s), 3.59-3.41(6H, m), 3.18(2H, br s), 1.80-1.68(3H, m), 0.88(6H, br s)。
K4	二环[2.2.1]庚-2-基 L-亮氨酸酯	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 8.58(2H, br s), 4.64(1H, d, $J=7.6\text{Hz}$), 2.43(1H, br s), 2.28(2H, br s), 1.99(1H, m), 1.79-1.02(10H, m), 0.93-0.87(6H, m)。
K5	2, 3-二氢-1 <i>H</i> -茚-2-基 L-亮氨酸酯	I	^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 8.72(3H, br s), 7.25(2H, br s), 7.18(2H, br s), 5.55(1H, br s), 3.80(1H, br s), 3.33(2H, dd, $J=6.5, 16.3\text{Hz}$), 2.99(2H, t, $J=16.3\text{Hz}$), 1.72-1.55(3H, m), 0.82(6H, s)。

[0285]

中间体编号	化学名称	制备方法	分析数据
K6	2-(二甲基氨基)乙基 L-亮氨酸酯	I	¹ H NMR(300MHz, CDCl ₃) δ: 3.50-3.40(2H, m), 2.94(2H, s), 2.52(2H, t, J=5.4Hz), 1.48(1H, m), 1.35(1H, m), 0.93-0.82(12H, m)。
K7	(1R, 2S, 5R)-2-异丙基-5-甲基环己基 L-亮氨酸酯	I	¹ H NMR(300MHz, d ₆ -DMSO) δ: 8.58(2H, br s), 4.70(1H, dt, J=5.4, 10.9Hz), 3.91(1H, t, J=8.7Hz), 1.92-1.82(2H, m), 1.80-1.55(5H, m), 1.46-1.35(2H, m), 1.02(2H, t, J=10.9Hz), 0.93-0.82(13H, m), 0.70(3H, d, J=8.7Hz)。
L1	(2S)-氨基(苯基)乙酸环戊酯	II	¹ H NMR(300MHz, d ₆ -DMSO) δ: 8.82(2H, br s), 8.73(1H, br s), 7.47(7H, m), 7.11(2H, d), 5.25(1H, br s), 5.18(1H, m), 2.29(3H, s), 1.87-1.36(8H, m)。
L2	(2S)-氨基(苯基)乙酸叔丁酯	市售	n/a
M1	L-缬氨酸环戊酯	I	m/z = 186 [M+H] ⁺ ; ¹ H NMR(300MHz, d ₆ -DMSO) δ: 8.26(1H, br s), 7.49(2H, d, J=8.1Hz), 7.13(2H, d, J=8.1Hz), 5.21(1H, t, J=5.5Hz), 3.86(1H, br s), 3.42(1H, br s), 2.29(3H, s), 2.13(1H, td, J=6.9, 4.7Hz), 1.90-1.79(2H, m), 1.70-1.57(6H, m), 0.98(3H, d, J=7.0Hz), 0.94(3H, d, J=7.0Hz)。
M2	L-缬氨酸叔丁酯	市售	n/a
N	L-异亮氨酸叔丁酯	市售	n/a
O	O-叔丁基-L-丝氨酸环戊酯	III	¹ H NMR(300MHz, d ₆ -DMSO) δ: 5.17(1H, t), 3.45(1H, m), 3.34(2H, q), 1.90-1.50(9H, br m), 1.08(9H, s)。
P	L-色氨酸甲酯	市售	n/a
Q	(2R)-氨基(环己基)乙酸环戊酯	I	¹ H NMR(300MHz, CDCl ₃) δ: 8.63(3H, s), 5.22(1H, m), 5.16(1H, m), 2.08-0.90(19H, m)。
R	D-亮氨酸环戊酯	I	¹ H NMR(300MHz, CDCl ₃) δ: 8.90(3H, s), 5.28(1H, m), 3.97(1H, m), 2.10-1.50(11H, m), 1.01(6H, d, J=4.5Hz)。
S	O-叔丁基-D-丝氨酸环戊酯	III	¹ H NMR(300MHz, CDCl ₃) δ: 5.14(1H, m), 3.50(3H, m), 1.90-1.39(8H, m), 1.09(9H, s)。
T	(2R)-氨基(苯基)乙酸环戊酯	II	¹ H NMR(300MHz, d ₆ -DMSO) δ: 8.80(2H, br s), 8.74(1H, br s), 7.44(7H, m), 7.13(2H, d), 5.28(1H, br s), 5.21(1H, m), 2.26(3H, s), 1.85-1.30(8H, m)。
U	3-甲基-L-缬氨酸环戊酯	I	m/z = 200 [M+H] ⁺ ; ¹ H NMR(300MHz, d ₆ -DMSO) δ: 8.51(3H, br s), 5.20(1H, t, J=5.7Hz), 5.21-4.89(1H, m), 3.63(1H, s), 1.84(2H, t, J=5.6Hz), 1.75-1.55(6H, m), 1.00(9H, s)。
V	1-苄基 2-环戊基哌嗪-1, 2-二羧酸酯	I	¹ H NMR(300MHz, CDCl ₃) δ: 7.40-7.29(5H, m), 5.19(2H, br s), 4.64-4.97(2H, m), 4.07-3.85(2H, m), 3.31(1H, m), 3.08(1H, m), 2.84(1H, m), 2.06(1H, s), 1.92-1.56(8H, m), 1.27(1H, t, J=6.5Hz)。

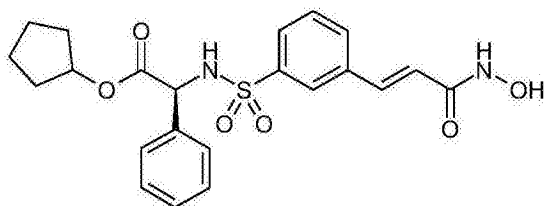
[0286] 所有上述中间体被作为游离碱用于氨基酸偶联反应。对于本领域技术人员显而易见的是,各游离碱可通过用合适的无机碱(如NaHCO₃)滴定上述盐来制备。

[0287] 实施例1:

[0288] (2S)-[(3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯基]磺酰基)氨基](苯基)

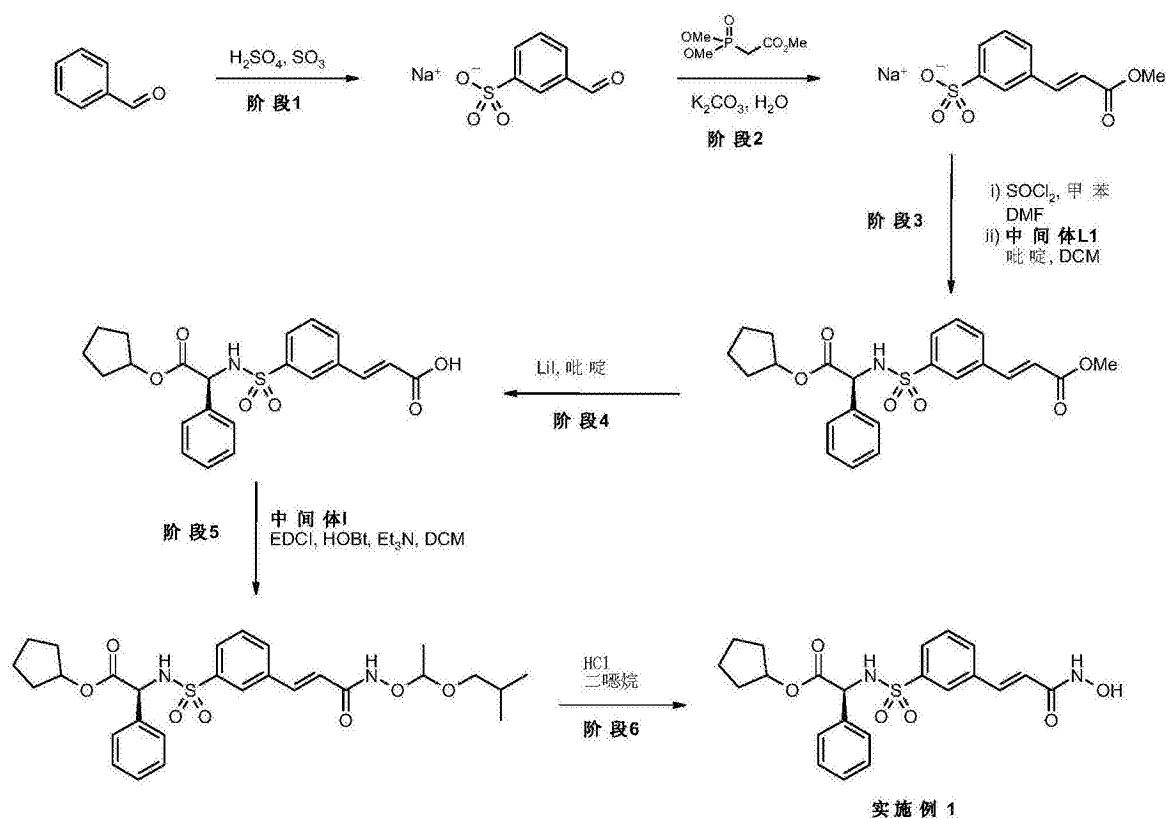
乙酸酯

[0289]



[0290] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0291]



实施例 1

[0292] 阶段1-制备3-甲酰苯磺酸钠

[0293] 在氮气气氛下将苯甲醛 (10g, 94mmol) 逐滴加入20%的三氧化硫发烟硫酸 (25mL) 溶液并搅拌, 维持反应温度低于40℃。反应物在40℃搅拌18小时。然后将反应物在冰 (60g) 上淬灭并用EtOAc (100mL) 萃取水溶液。水相用CaCO₃处理直到停止产生CO₂ (pH约6)。将所得沉淀过滤, 用水洗涤并用Na₂CO₃将滤液碱化至pH约8。通过过滤除去沉淀并将滤液在真空下蒸发至干。残余物用MeOH洗涤, 过滤, 浓缩洗液以得到所需白色固体状产物 (7.94g, 81%)。¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ: 9.88 (1H, s), 8.19 (1H, s), 7.99 (2H, dd), 7.63 (1H, t, J=7.8Hz)。

[0294] 阶段2-制备3-[(1E)-3-甲氧基-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯磺酸钠

[0295] 将阶段1产物 (13.8g, 66mmol) 和K₂CO₃ (18.3g, 132mmol) 溶于水 (70mL)。逐滴加入三甲基膦酰基乙酸酯 (14.51g, 80mmol) 并将反应物室温搅拌15小时。将所得沉淀过滤, 用MeOH洗涤并真空干燥以得到所需白色固体状产物 (5.75g, 33%)。¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 7.84 (1H, s), 7.65-7.70 (3H, m), 7.40 (1H, t, J=7.5Hz), 6.60 (1H, d, J=16.2Hz), 3.73 (1H, s)。

[0296] 阶段3-制备 (2E)-3-[3-([[(1S)-2-(环戊氧基)-2-氧代-1-苯乙基]氨基]磺酰基)苯基]丙烯酸甲酯

[0297] 在氮气气氛下将阶段2产物 (5.75g, 22mmol) 加入甲苯 (17.5mL) 和DMF (6滴)。逐滴加入亚硫酸氯 (4.75mL, 66mmol) 然后将反应物加热回流1小时。然后将其浓缩至干并将残余物溶于甲苯 (50mL), 过滤, 将滤液浓缩至干以得到黄色固体。将该固体溶于DCM (7mL) 并加入中间体L1 (1.91g, 4.9mmol) 的吡啶 (2.5mL) 和DCM (10mL) 溶液。反应物室温搅拌2小时, 然后在真空下浓缩至干, 将残余物在EtOAc (50mL) 和10% HCl_{aq} (50mL) 之间分配。有机相用水 (50mL)、饱和NaHCO₃ (50mL) 和盐水 (50mL) 洗涤, 然后干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩以得到黄色油状产物 (1.77g, 54%)。m/z = 442 [M-H]⁻。

[0298] 阶段4-制备 (2E)-3-[3-({[(1S)-2-(环戊氧基)-2-氧代-1-苯乙基]氨基}磺酰基)苯基]丙烯酸

[0299] 将阶段3产物 (1.77g, 4mmol) 和碘化锂 (2.67g, 20mmol) 加入吡啶 (17.7mL) 并加热回流24小时。将反应物冷却, 用10% HCl_{aq}淬灭至pH约1, 并用DCM (2x20mL) 萃取。将合并的有机物用10% HCl_{aq} (40mL) 洗涤, 然后用盐水 (40mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩以得到棕色油状物 (1.19g, 73%)。m/z = 428 [M-H]⁻。

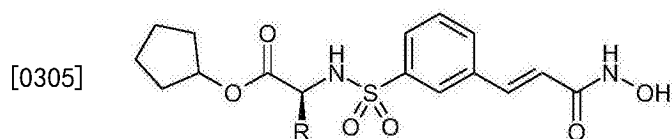
[0300] 阶段5-制备 (2S)-{[(3-{{(1E)-3-[(1-异丁氧基乙氧基)氨基]-3-氧代丙-1-烯-1-基}苯基}磺酰基]氨基}(苯基)乙酸环戊酯

[0301] 将阶段4产物 (1.19g, 2.8mmol), EDCI (0.64g, 3.3mmol) 和HOBt (0.45g, 3.3mmol) 加入DCM (10mL) 并室温搅拌30分钟。加入中间体I (2.0mL, 14mmol) 和三乙胺 (2.0mL, 14mmol) 并将反应物室温搅拌1.5小时。反应物用水分离, 水相用DCM (20mL) 萃取并将合并的有机物真空浓缩。粗物质通过柱层析纯化以得到棕色油状产物 (0.17g, 11%)。m/z = 543 [M-H]⁻。

[0302] 阶段6-制备 (2S)-{[(3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯基}磺酰基)氨基](苯基)乙酸环戊酯 (实施例1)

[0303] 将阶段5产物 (170mg, 0.31mmol) 溶于无水DCM (5mL)。加入4N HCl的二噁烷溶液 (0.16mL, 0.63mmol) 并将反应物室温搅拌1小时。将反应物在真空下浓缩至干以得到棕色固体。通过制备型HPLC纯化得到黄色固体 (9mg, 5%)。LCMS纯度>95%, m/z = 558.5 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 7.95 (1H, s), 7.89 (2H, m), 7.65 (1H, d, J = 15.9Hz), 7.52 (1H, t), 7.26 (5H, s), 6.54 (1H, d, J = 15.9Hz), 4.94 (1H, m), 1.22-1.70 (8H, m)。

[0304] 以下实施例采用相同方法制备:



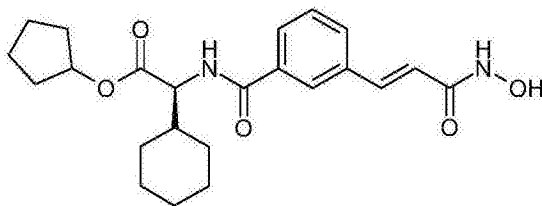
[0306]

实施例	R	化学名称	使用的中间体	分析数据
2		(2S)-环己基 [(3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯基} 磺酰基)氨基]乙酸环戊酯	J1	LCMS 纯度 98%, $m/z = 449$ $[M-H]^-$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 0.70-1.90(19H, m), 3.56(1H, m), 4.66(1H, s), 6.55(1H, d), 7.40-8.05(4H, m), 8.30(1H, d), 10.82(1H, s)。
3		N-({3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯基} 磺酰基)-L-亮氨酸环戊酯	K1	LCMS 纯度>95%, $m/z = 425$ $[M+H]^+$; 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 0.80(6H, dd), 1.20-1.71(11H, m), 3.74(1H, m), 4.69(1H, m), 6.56(1H, d, $J=15.9$ Hz), 7.48-7.84(4H, m), 7.90(1H, s), 8.39(1H, d, $J=9$ Hz), 9.13(1H, s), 10.82(1H, s)。
4		O-叔丁基 -N-({3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯基} 磺酰基)-L-丝氨酸环戊酯	O	LCMS 纯度>95%, $m/z = 455$ $[M+H]^+$; 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 1.01(9H, s), 1.33-1.75(8H, m), 3.32-3.48(2H, m), 6.56(1H, d, $J=15.9$ Hz), 7.49-7.63(2H, m), 7.79(2H, t), 8.36(1H, d, $J=9.3$ Hz), 9.13(1H, s), 10.83(1H, s)。

[0307] 实施例5:

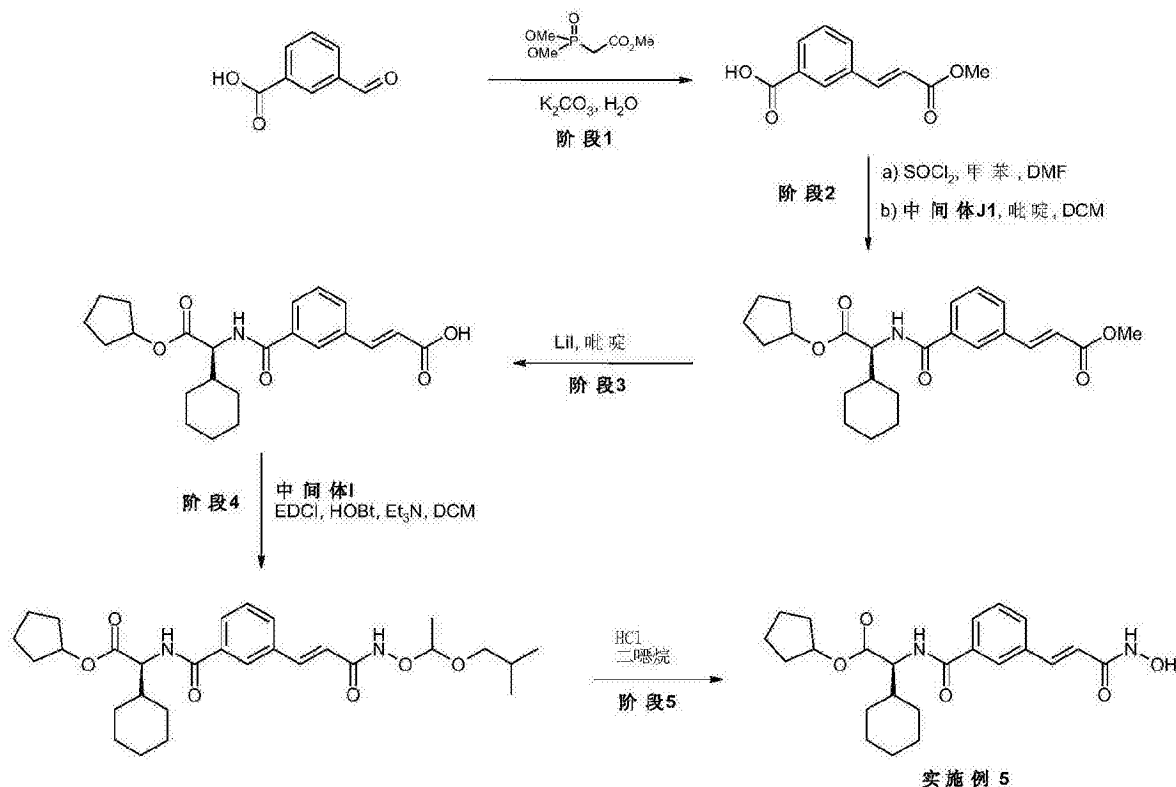
[0308] (2S)-环己基({3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯甲酰}氨基)乙酸环戊酯

[0309]



[0310] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0311]



[0312] 阶段1-制备3-[(1E)-3-甲氧基-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯甲酸

[0313] 将3-羧基苯甲醛(25g, 0.167mol)和 K_2CO_3 (69g, 0.499mol)加入水(250mL)并冷却至0-5℃。逐滴加入三甲基膦酰基乙酸酯(32.3mL, 0.2mol)维持反应温度低于15℃。反应物被升温并在室温并搅拌17小时。将混合物酸化至pH约1, 过滤并真空干燥以得到乳白色固体状产物(37.25g, >100%-略湿)。 1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ : 8.23 (1H, s), 8.06 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 7.86 (1H, d, $J=7.5$ Hz), 7.75 (1H, d, $J=15.9$ Hz), 6.61 (1H, d, $J=16.2$ Hz), 7.54 (1H, t), 3.81 (3H, s)。

[0314] 阶段2-制备(2E)-3-(3-{[(1S)-1-环己基-2-(环戊氧基)-2-氧代乙基]氨基酰基}苯基)丙烯酸甲酯

[0315] 在氮气气氛下将阶段1产物(5g, 24mmol)加入甲苯(20mL)和DMF(6滴)。在反应物中逐滴加入亚硫酸氯(5.3mL, 72mmol), 然后加热回流1小时。然后将反应物冷却并在真空下浓缩至干, 将残余物溶于甲苯(40mL), 过滤, 浓缩滤液以得到淡黄色固体状产物(6.1g, >100%-少许DMF)。将中间体J1(0.5g, 1.9mmol)加入吡啶(1mL)和DCM(10mL)。将该淡黄色固体(0.51g, 2.3mmol)溶于DCM(5mL)并加入反应物中, 将反应物室温搅拌18小时。然后在真空下浓缩至干并将残余物在EtOAc(20mL)和10% HCl_{aq} (20mL)之间分离。有机相用水(20mL)、饱和 $NaHCO_3$ 溶液(20mL)和盐水(20mL)洗涤, 然后真空浓缩以得到黄色油状产物(0.83g, 定量)。产物无需进一步纯化或表征便用于下一阶段。

[0316] 阶段3-制备(2E)-3-(3-{[(1S)-1-环己基-2-(环戊氧基)-2-氧代乙基]氨基酰基}苯基)丙烯酸

[0317] 将阶段2产物(0.83g, 2.0mmol)和碘化锂(1.34g, 10mmol)加入吡啶(8.3mL)并加热回流3天。反应物被冷却, 用10% HCl_{aq} 淬灭至pH约1并用DCM(2x20mL)萃取。将合并的有机物

用10% HCl_{aq} (20mL), 然后盐水 (20mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩以得到棕色油状物 (0.22g, 23% (三个步骤))。m/z = 400 [M+H]⁺。

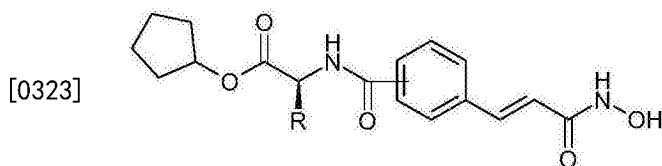
[0318] 阶段4-制备 (2S)-环己基 [(3-[(1E)-3-[(1-异丁氧基乙氧基)氨基]-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苯甲酰) 氨基] 乙酸环戊酯

[0319] 将阶段3产物 (0.22g, 0.55mmol)、EDCI (0.13g, 0.66mmol) 和HOBt (0.09g, 0.66mmol) 加入DCM (10mL) 并室温搅拌30分钟。加入中间体I (0.23mL, 1.65mmol) 和三乙胺 (0.23mL, 1.65mmol) 并将反应物室温搅拌3.5小时。反应物用水分离, 水相用DCM (20mL) 萃取并将合并的有机物真空浓缩。粗物质通过柱层析纯化以得到棕色油状产物 (0.14g, 50%)。m/z = 537 [M+Na]⁺。

[0320] 阶段5-制备 (2S)-环己基 [(3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苯甲酰) 氨基] 乙酸环戊酯 (实施例5)

[0321] 将阶段4产物 (140mg, 0.27mmol) 溶于无水DCM (5mL)。加入4N HCl的二噁烷溶液 (0.16mL, 0.54mol) 并将反应物室温搅拌1小时。将混合物在真空下浓缩至干以得到黄色油状物。通过制备型HPLC纯化得到粉色固体 (68mg, 61%)。LCMS纯度98%, m/z = 415 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 10.82 (1H, s), 9.08 (1H, s), 8.61 (1H, d, J = 7.5Hz), 8.06 (1H, s), 7.85 (1H, d, J = 8.4Hz), 7.72 (1H, d, J = 8.4Hz), 7.54-7.49 (2H, m), 6.55 (1H, d, J = 15.9Hz), 5.11 (1H, m), 4.25 (1H, t, J = 7.8Hz), 1.92-1.47 (13H, m), 1.35-1.00 (6H, m)。

[0322] 以下实施例采用相同方法制备:



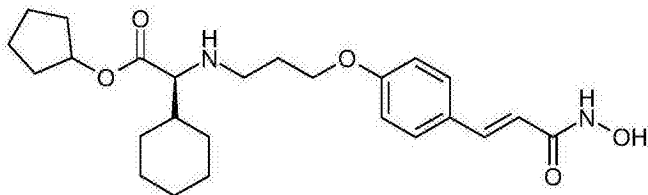
[0324]

实施例	R	化学名	使用的中间体	分析数据
6		(2S)-({3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯甲酰}氨基)(苯基)乙酸环戊酯	3-羧基苯甲醛和 L1	LCMS 纯度 95%, $m/z = 409 [M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 9.04(1H, m), 8.06(1H, s), 7.90-7.25(9H, m), 6.56(1H, d, $J=15.6Hz$), 5.64(1H, m), 5.24(1H, m), 3.68(1H, s), 1.97-0.82(8H, m)。
7		(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯甲酰}氨基)乙酸环戊酯	4-羧基苯甲醛和 J1	LCMS 纯度 96%, $m/z = 528.5 [M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.51(1H, d), 7.87(2H, d), 7.67(2H, d), 6.58(1H, d), 5.23(1H, m), 4.42(1H, t), 1.55-2.03(13H, m), 1.08-1.42(6H, m)。
8		<i>N</i> -{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯甲酰}-L-亮氨酸环戊酯	4-羧基苯甲醛和 K1	LCMS 纯度 98%, $m/z = 389 [M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 0.90(6H, dd), 1.45-1.90(11H, m), 4.40(1H, m), 5.09(1H, m), 6.55(1H, d, $J=15.9Hz$), 7.50(1H, d, $J=16.2Hz$), 7.67(2H, d, $J=8.1Hz$), 7.89(2H, d, $J=8.1Hz$), 8.71(1H, d, $J=7.5Hz$), 10.82(1H, s)。

[0325] 实施例9:

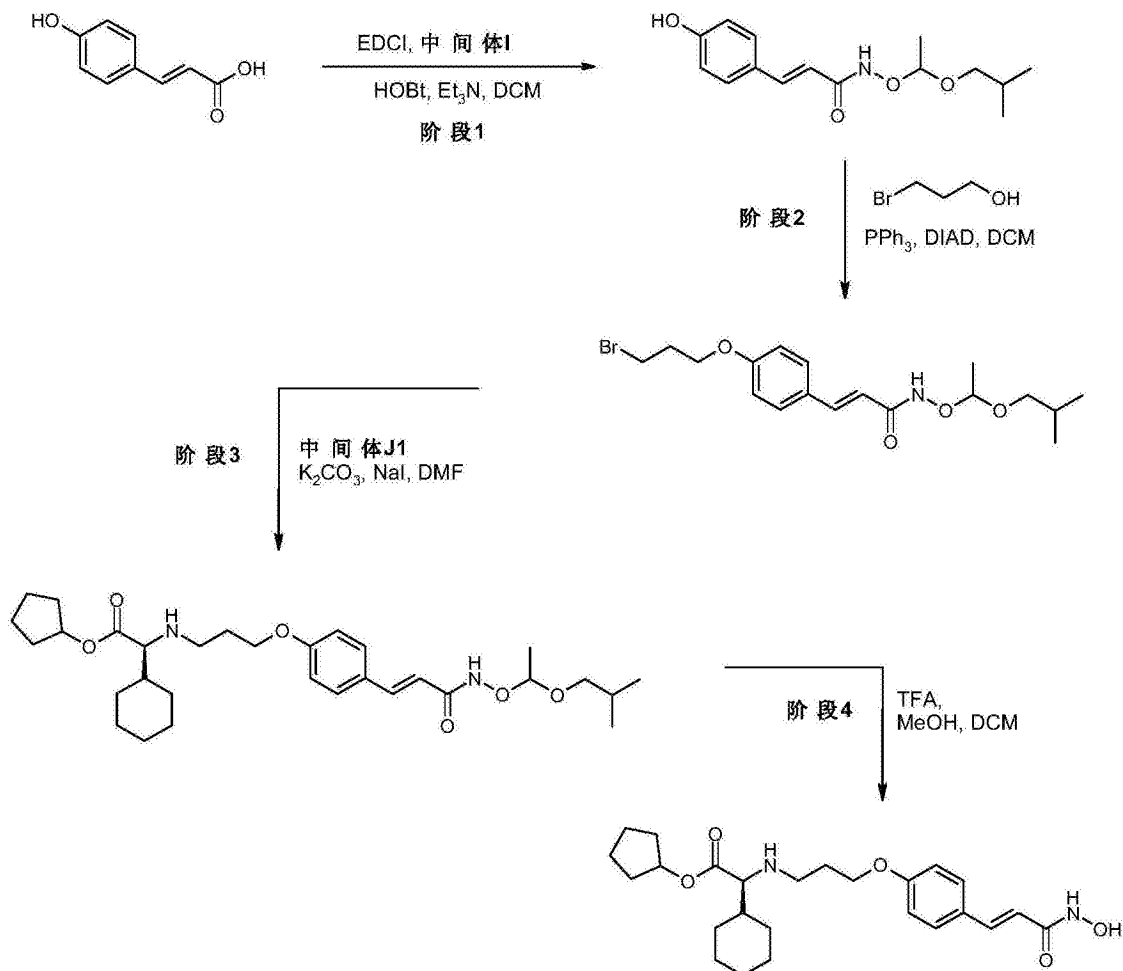
[0326] (2S)-环己基[(3-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯氧基}丙基)氨基]乙酸环戊酯

[0327]



[0328] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0329]



实施例 9

[0330] 阶段1-制备 (2E)-3-(4-羟基苯基)-N-(1-异丁氧基乙氧基) 丙烯酰胺

[0331] 将4-羟基肉桂酸 (1g, 6.1mmol)、EDCI (1.76g, 9.1mmol) 和HOBt (1.24g, 9.1mmol) 加入DCM (20mL) 并室温搅拌45分钟。加入中间体I (4.2mL, 30.5mmol) 和三乙胺 (4.1mL, 30.5mmol) 并将反应物室温搅拌1.5小时。反应物用水分离, 水相用DCM (20mL) 萃取, 将合并的有机物干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩。粗物质通过柱层析纯化以得到澄清油状产物 (1.39g, 82%)。m/z=278 [M-H]⁻。

[0332] 阶段2-制备 (2E)-3-[4-(3-溴丙氧基) 苯基]-N-(1-异丁氧基乙氧基) 丙烯酰胺

[0333] 将阶段1产物 (0.66g, 2.4mmol)、3-溴丙-1-醇 (0.24mL, 2.6mmol) 和三苯膦 (0.96g, 4.8mmol) 加入DCM (20mL) 并在氮气下搅拌10分钟。逐滴加入DIAD (0.56mL, 2.9mmol) 并将反应物室温搅拌1小时。将反应物在真空下浓缩至干以得到淡黄色油状物。通过柱层析纯化得到白色固体状产物 (0.68g, 72%)。m/z=398/400 [M-H]⁻。

[0334] 阶段3-制备 (2S)-环己基 {[3-(4-[(1E)-3-[(1-异丁氧基乙氧基) 氨基]-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苯氧基) 丙基] 氨基} 乙酸环戊酯

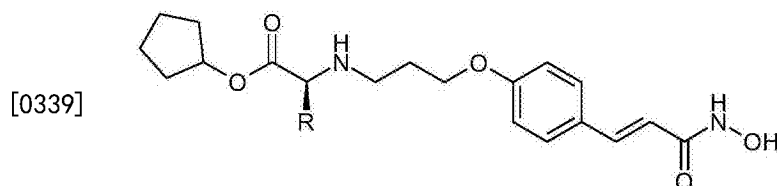
[0335] 将中间体J1 (0.14g, 0.54mmol)、K₂CO₃ (0.3g, 2.2mmol) 和碘化钠 (0.16g, 1.07mmol) 加入DMF (5mL) 并加热至70℃。将阶段2产物 (0.22g, 0.55mmol) 溶于DMF (2mL) 并加入反应物, 将反应物在氮气下70-80℃搅拌24小时。再加入阶段2产物 (0.1g, 0.25mmol) 并将反应物在

80℃搅拌4.5小时。然后将反应物在真空下浓缩至干,残余物用水(10mL)和EtOAc(10mL)分离,水相用EtOAc(10mL)萃取。将合并的有机物用盐水(10mL)洗涤,干燥(MgSO₄)并真空浓缩以得到黄色油状粗产物。通过柱层析纯化得到澄清油状产物(0.1g,34%)。m/z=546 [M+H]⁺。

[0336] 阶段4-制备(2S)-环己基[(3-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯氧基}丙基)氨基]乙酸环戊酯

[0337] 将阶段3产物(100mg,0.31mmol)溶于无水DCM(0.4mL)和MeOH(0.5mL)。加入TFA(0.1mL)并将反应物室温搅拌1小时。然后将其在真空下浓缩至干以得到黄色油状物。通过制备型HPLC纯化得到白色固体状产物(10mg,12%)。LCMS纯度100%,m/z=445 [M+H]⁺,¹H NMR(300MHz,CD₃OD) δ: 7.53(3H,m), 6.97(2H,d,J=8.4Hz), 6.35(1H,d,J=15.9Hz), 5.33(2H,m), 4.16(2H,m), 3.90(1H,m), 3.83(1H,d,J=4.5Hz), 2.23(2H,m), 2.09-1.57(12H,m), 1.45-0.98(6H,m), 0.92(2H,m)。

[0338] 以下实施例采用相同方法制备:



[0340]

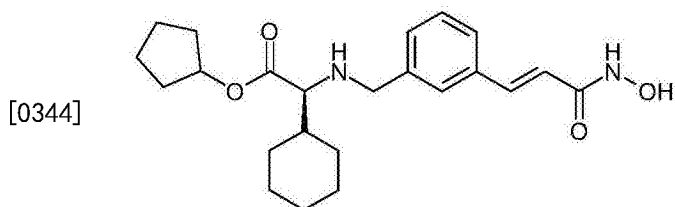
实施例	R	化学名称	使用的中间体	分析数据
10		O-叔丁基-N-(3-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯氧基}丙基)-L-丝氨酸环戊酯	O	LCMS 纯度 95%, m/z = 449 [M+H] ⁺ , ¹ H NMR(300MHz, CD ₃ OD) δ: 7.53(3H, m), 6.99(2H, m), 6.36(1H, m), 5.34(1H, m), 4.29(1H, m), 4.19(2H, m), 3.92(2H, m), 2.26(2H, m), 2.03-1.59(8H, m), 1.31(1H, m), 1.23(9H, s), 0.90(1H, m)。

[0341]

实施例	R	化学名称	使用的中间体	分析数据
11		N-(3-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯氧基}丙基)-L-亮氨酸环戊酯	K1	LCMS 纯度 100%, m/z = 419 [M+H] ⁺ , ¹ H NMR(300MHz, CD ₃ OD) δ: 7.53(3H, m), 6.98(2H, d, J=8.4Hz), 6.35(1H, d, J=15.6Hz), 5.36(1H, m), 4.18(2H, m), 4.05(1H, m), 2.23(2H, m), 2.07-1.58(10H, m), 1.31(1H, m), 1.11-0.78(8H, m)。

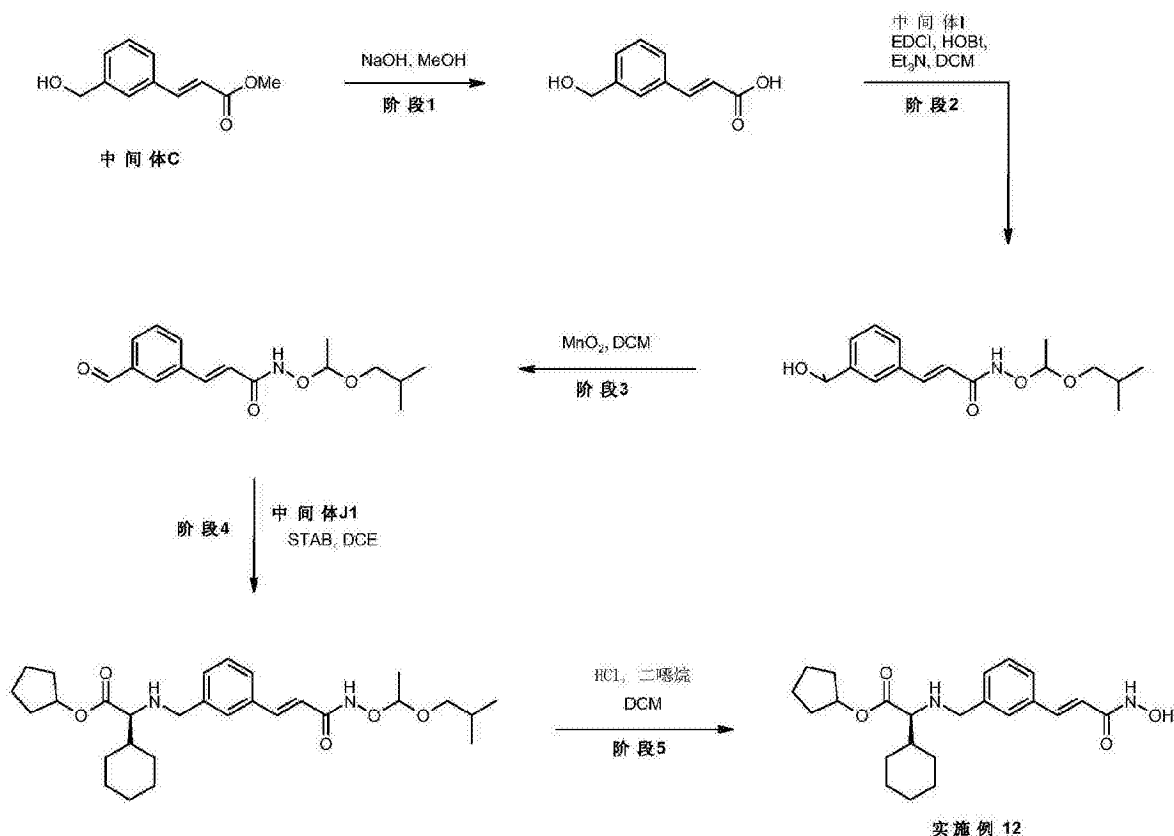
[0342] 实施例12:

[0343] (2S)-环己基[(3-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸环戊酯



[0345] 标题化合物是通过以下方法制备的：

[0346]



[0347] 阶段1-制备 (2E)-3-[3-(羟基甲基)苯基]丙烯酸

[0348] 将中间体C (16.04g, 83.5mmol) 加入1M NaOH_{aq} (28mL) 和MeOH (41mL) 并室温搅拌15.5小时。在真空下除去MeOH, 残余物用EtOAc洗涤。将水相酸化至pH约1, 所得沉淀过滤并真空干燥以得到白色固体状标题产物 (7.29g, 49%)。m/z = 179 [M+H]⁺。

[0349] 阶段2-制备 (2E)-3-[3-(1-羟基乙基)苯基]-N-(1-异丁氧基乙氧基)丙烯酰胺

[0350] 将阶段1产物 (7.29g, 41mmol), EDCI (9.4g, 49mmol) 和HOBT (6.6g, 49mmol) 加入DCM (100mL) 并室温搅拌30分钟。加入中间体I (17.3mL, 123mmol) 和三乙胺 (28.5mL, 205mmol) 并将反应物室温搅拌2.5小时。反应物用水分离, 水相用DCM (50mL) 萃取, 将合并的有机物干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩。粗物质通过柱层析纯化以得到淡黄色油状产物 (6.54g, 54%)。¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ: 7.71-7.33 (5H, m), 6.57 (2H, d, J = 15.6Hz), 5.01 (1H, m), 4.65 (2H, s), 3.32 (2H, m), 1.40 (3H, d, J = 5.4Hz), 0.93 (6H, m)。

[0351] 阶段3-制备 (2E)-3-(3-甲酰苯基)-N-(1-异丁氧基乙氧基)丙烯酰胺

[0352] 将阶段2产物 (6.5g, 22mmol) 和二氧化锰 (9.6g, 110mmol) 在DCM (100mL) 中室温搅拌16小时。反应物通过硅藻土过滤并将滤液浓缩至干以得到灰色固体状产物 (4.8g, 75%)

。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 10.05 (1H, s), 8.06 (1H, s), 7.97-7.52 (4H, m), 6.55 (1H, d), 5.05 (1H, m), 3.35 (2H, m), 1.47-1.44 (3H, m) 0.94 (6H, m)。

[0353] 阶段4-制备 (2S)-环己基 [(3-[(1E)-3-[(1-异丁氧基乙氧基)氨基]-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基) 氨基] 乙酸环戊酯

[0354] 将阶段3产物 (0.3g, 1.03mmol) 和中间体J1 (0.32g, 1.22mmol) 溶于1,2-二氯乙烷 (10mL)。加入STAB (0.33g, 1.56mmol) 并将反应物在氮气下搅拌1小时。然后用饱和NaHCO₃溶液 (10mL) 淬灭。水相用DCM (2x10mL) 萃取, 将合并的有机物干燥 (MgSO₄) 并在真空下浓缩至干以得到棕色油状产物 (0.59g, >100%)。m/z=501 [M+H]⁺。

[0355] 阶段5-制备 (2S)-环己基 [(3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基) 氨基] 乙酸环戊酯 (实施例12)

[0356] 将4N HCl的二噁烷溶液 (0.59mL, 2.4mmol) 加入阶段4产物 (0.59g, 1.2mmol) 的DCM溶液并将反应物搅拌3小时。将反应物在真空下浓缩至干以得到黄色油状物。通过制备型HPLC纯化得到白色固体状所需产物 (11.5mg, 2.4%)。LCMS纯度>95%, m/z=400.5 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 10.75 (1H, s), 9.03 (1H, s), 7.25-7.51 (5H, m), 6.45 (1H, d, J=15.6Hz), 5.09 (1H, m), 3.64 (2H, dd), 2.83 (1H, m), 1.42-1.93 (13H, m), 0.92-1.25 (6H, m)。

[0357] 以下实施例采用相同方法制备:

[0358]

实施例	化学名称	使用的 中间体	分析数据
13	(2S)-({3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)(苯基)乙酸环戊酯	C, L1	LCMS 纯度>95%, ^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 1.30-1.85(8H, m), 3.10(1H, m), 3.66(2H, d, $J=5.1\text{Hz}$), 4.28(1H, d, $J=8.7\text{Hz}$), 5.05(1H, m), 6.45(1H, d, $J=15.9\text{Hz}$), 7.22-7.57(10H, m), 9.03(1H, s), 10.74(1H, s)。
14	(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸环戊酯	A, J1	LCMS 纯度 98%, $m/z = 401$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 9.41(1H, s), 8.99(1H, s), 8.31(1H, s), 7.32-7.75(5H, m), 6.53(1H, d), 5.23(1H, m), 5.11(1H, s), 4.16(2H, m), 3.60-3.95(2H, m), 2.97(1H, m), 1.40-2.05(12H, m), 0.70-1.32(6H, m)。
15	N-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-L-亮氨酸环戊酯	A, K1	LCMS 纯度 99%, $m/z = 375$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 0.91(6H, d), 1.20(1H, t), 1.55-1.76(10H, m), 1.78-1.95(2H, m), 3.85-4.30(2H, m), 5.19(1H, m), 6.50(1H, d), 7.35-7.70(5H, m), 9.08(1H, s), 9.45(1H, s)。
16	O-叔丁基-N-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-L-丝氨酸环戊酯	A, O	LCMS 纯度 100%, $m/z = 405$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.72-7.50(5H, m), 6.58(1H, m), 5.33(1H, m), 4.32(2H, m), 4.22(1H, m), 3.99-3.80(3H, m), 3.14(1H, m), 2.03-1.60(8H, m), 1.24(9H, s), 0.92(1H, m)。
17	(2S)-({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)(苯基)乙酸环戊酯	A, L1	LCMS 纯度 100%, $m/z = 395$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 7.69-7.46(10H, m), 6.49(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$), 5.15(1H, m), 4.07(2H, m), 1.88-1.13(8H, m)。
18	N-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-D-亮氨酸环戊酯	A, R	LCMS 纯度 100%, $m/z = 375$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.67-7.45(3H, m), 7.37(2H, d, $J=7.8\text{Hz}$), 6.47(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$), 5.19(1H, m), 3.71(2H, q), 3.23(1H, t), 2.02-1.18(11H, m), 1.01-0.75(6H, m)。
19	(2R)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸环戊酯	A, Q	LCMS 纯度 100%, $m/z = 401$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.70-7.43(3H, m), 7.36(2H, d, $J=8.1\text{Hz}$), 6.47(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$), 5.18(1H, m), 3.72(2H, q), 2.96(1H, d, $J=6\text{Hz}$), 2.00-1.45(13H, m), 1.39-0.82(6H, m)。
20	O-叔丁基-N-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-D-丝氨酸环戊酯	A, S	LCMS 纯度 100%, $m/z = 405$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.63-7.48(3H, m), 7.39(2H, d, $J=7.8\text{Hz}$), 6.48(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$), 5.20(1H, m), 3.80(2H, q), 3.61(2H, m), 3.38(1H, t), 1.95-1.57(8H, m), 1.31(1H, m), 1.17(9H, s)。

[0359]

实施例	化学名称	使用的中间体	分析数据
21	(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸乙酯	A, J3	LCMS 纯度>98%, $m/z = 361$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 7.49(2H, d, $J=7.9$ Hz), 7.44(1H, d, $J=15.8$ Hz), 7.33(2H, d, $J=8.0$ Hz), 6.42(1H, d, $J=15.8$ Hz), 4.10(2H, q, $J=7.0$ Hz), 3.77(1H, d, $J=15.8$ Hz), 3.50(1H, d, $J=9.3$ Hz), 2.87(1H, m), 1.82(1H, d $J=11.4$ Hz), 1.35-1.65(5H, m), 1.19(3H, t, $J=7.1$ Hz), 0.9-1.25(5H, m)。
22	(2R)-({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)(苯基)乙酸环戊酯	A, L1	LCMS 纯度 100%, $m/z = 395$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 7.69-7.46(10H, m), 6.49(1H, d, $J=15.6$ Hz), 5.15(1H, m), 4.07(2H, m), 1.88-1.13(8H, m)。
23	2, 3-二氢-1H-茚-2-基 (2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸酯	A, J6	LCMS 纯度>98%, $m/z = 449$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.72(1H, br s), 9.00(1H, br s), 7.38-7.46(3H, m), 7.22-7.27(4H, m), 7.15-7.19(2H, m), 6.41(1H, d, $J=15.8$ Hz), 5.44-5.50(1H, m), 3.74(1H, d, $J=14$ Hz), 3.50(1H, d, $J=14$ Hz), 2.75-2.95(3H, m), 1.77(1H, d, $J=12.2$ Hz), 0.86-1.65(11H, m)。
24	(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸苄酯	A, J9	LCMS 纯度>98%, $m/z = 423$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.72(1H, br s), 9.00(1H, br s), 7.15-7.55(10H, m), 6.42(1H, d, $J=15.6$ Hz), 5.13(2H, s), 3.76(1H, d, $J=14.6$ Hz), 3.50(1H, d, $J=14.0$ Hz), 2.90-3.0(1H, m), 1.40-1.82(7H, m), 0.85-1.25(7H, m)。
25	(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸烯丙酯	A, J4	LCMS 纯度>98%, $m/z = 373$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.72(1H, br s), 9.00(1H, br s), 7.49(2H, $J=8.1$ Hz), 7.43(1H, d, $J=15.9$ Hz), 7.33(2H, d, $J=8.1$ Hz), 6.43(1H, d, $J=15.8$ Hz), 5.85-6.0(1H, m), 5.32(1H, dd, $J=1.7$, 17.2Hz), 5.22(1H, dd, $J=1.7$, 10.4Hz), 4.54-4.62(2H, m), 3.79(1H, d, $J=14$ Hz), 3.52(1H, d, $J=14$ Hz), 2.94(1H, br s), 0.9-1.9(10H, m)。
26	二环[2.2.1]庚-2-基(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸酯	A, J7	LCMS 纯度>95%, $m/z = 427$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 7.49(2H, $J=8.1$ Hz), 7.43(1H, d, $J=15.9$ Hz), 7.33(2H, d, $J=8.1$ Hz), 6.43(1H, d, $J=15.8$ Hz), 4.50-4.11(1H, m), 3.79(1H, d, $J=14$ Hz), 3.52(1H, d, $J=14$ Hz), 2.66(1H, m), 0.65-2.40(22H, m)。
27	(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸 2-甲基环戊酯	A, J5	LCMS 纯度>95%, $m/z = 415$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.72(1H, br s), 9.00(1H, br s), 7.49(2H, d, $J=8$ Hz), 7.43(1H, d, $J=15.8$ Hz), 7.32(2H, d, $J=8$ Hz), 6.43(1H, d, $J=15.8$ Hz), 4.63(1H, m), 3.76(1H, d, $J=14$ Hz), 3.50(1H, d, $J=14$ Hz), 2.85(1H, m), 0.95-2.04(18H, m), 0.94(3H, d, $J=6.2$ Hz)。

[0360]

实施例	化学名称	使用的中间体	分析数据
28	(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸 3-甲基环戊酯	A, J8	LCMS 纯度>95%, $m/z = 415$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.71(1H, br s), 9.00(1H, br s), 7.48(2H, d, $J=8$ Hz), 7.38(1H, d, $J=14$ Hz), 7.32(1H, d, $J=7.9$ Hz), 6.42(1H, d, $J=15.7$ Hz), 5.05(1H, m), 3.75(1H, d, $J=14$ Hz), 3.52(1H, d, $J=16.2$ Hz), 2.84(1H, m), 1.00-2.80(18H, m), 1.00(3H, d, $J=6.7$ Hz)。
29	N-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-L-色氨酸甲酯	A, P	LCMS 纯度 98%, $m/z = 393.4$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.81(1H, br s), 7.45(2H, d, $J=8.1$ Hz), 7.39(2H, d, $J=8.9$ Hz), 7.30(3H, m), 7.00-7.14(2H, m), 6.95-6.98(1H, m), 6.42(1H, d, $J=15.8$ Hz), 4.32(1H, m), 3.77(1H, d, $J=13.6$ Hz), 3.62(1H, d, $J=17.3$ Hz), 3.51(3H, s), 3.04(2H, d, $J=6.6$ Hz)。
30	2-吗啉-4-基乙基(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸酯	A, J10	LCMS 纯度>98%, $m/z = 446.2$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 7.48(2H, d, $J=7.2$ Hz), 7.38(1H, d, $J=14.7$ Hz), 7.32(2H, d, $J=7.5$ Hz), 6.43(1H, d, $J=13.4$ Hz), 4.10-4.28(2H, m), 3.78(1H, d, $J=13.9$ Hz), 3.45-3.62(5H, m), 3.16(1H, s), 2.87(1H, br s), 2.38(4H, m), 1.83(1H, d, $J=11.3$ Hz), 0.80-1.75(10H, m)。
31	2-(二甲基氨基)乙基(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸酯	A, J11	LCMS 纯度>98%, $m/z = 404.2$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.75(1H, br s), 9.06(1H, br s), 7.49(2H, d, $J=8.0$ Hz), 7.42(1H, d, $J=15.6$ Hz), 7.32(2H, d, $J=8.0$ Hz), 6.42(1H, d, $J=15.8$ Hz), 4.09-4.16(3H, m), 3.77(1H, d, $J=13.8$ Hz), 3.49(1H, d, $J=13.7$ Hz), 2.86(1H, m), 2.45(2H, t, $J=5.5$ Hz), 2.15(6H, s), 0.94-1.88(11H, m)。
32	(2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸叔丁酯	A, J2	LCMS 纯度 98%, $m/z = 389$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 0.88(1H, m), 1.18(4H, m), 1.42(9H, s), 1.67(5H, m), 1.73(1H, m), 3.75(1H, m), 4.13(2H, m), 6.50(1H, d, $J=15.9$ Hz), 7.49(3H, m), 7.63(2H, d, $J=7.8$ Hz), 9.08(1H, m), 9.28(1H, m), 10.81(1H, m)。
33	(2S)-环己基({4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)乙酸环戊酯	B, J1	LCMS 纯度 100%, $m/z = 403$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.35(1H, s), 8.68(1H, s), 7.15(4H, q), 5.11(1H, m), 3.70(1H, d), 3.44(1H, d), 2.78(2H, m), 2.39(2H, m), 1.90-0.91(19H, m)。
34	N-{4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}-L-亮氨酸环戊酯	B, K1	LCMS 纯度 100%, $m/z = 377$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.34(1H, s), 8.68(1H, s), 7.15(4H, q), 5.10(1H, m), 3.68(1H, d), 3.49(1H, d), 3.06(1H, m), 2.78(2H, t), 2.24(2H, t), 1.91-1.28(11H, m), 0.83(6H, dd)。

[0361]

实施例	化学名称	使用的中间体	分析数据
35	2-吗啉-4-基乙基 <i>N</i> -(4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基)- <i>L</i> -亮氨酸酯	B, K3	LCMS 纯度 90%, $m/z = 422$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.46(2H, d, $J=8.1Hz$), 7.32(2H, d, $J=7.9Hz$), 4.57(2H, m), 4.27(2H, dd, $J=12.9, 22.8Hz$), 4.14(1H, m), 3.97(4H, br s), 3.59(2H, t, $J=5.1Hz$), 3.42(3H, br s), 2.97(2H, t, $J=7.4Hz$), 2.45(2H, t, $J=7.4Hz$), 1.96-1.68(4H, m), 0.99(6H, t, $J=6.8Hz$)。
36	二环[2.2.1]庚-2-基 <i>N</i> -(4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基)- <i>L</i> -亮氨酸酯	B, K4	LCMS 纯度 98%, $m/z = 403$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.43(2H, d, $J=7.9Hz$), 7.33(2H, d, $J=7.9Hz$), 4.76(1H, t, $J=7.4Hz$), 4.21(2H, qd, $J=3.0, 12.9Hz$), 3.98(1H, m), 2.96(2H, t, $J=7.5Hz$), 2.41(2H, t, $J=7.6Hz$), 2.35(2H, m), 1.77(4H, m), 1.52(3H, m), 1.22(3H, m), 0.99(7H, m)。
37	2, 3-二氢-1 <i>H</i> -茚-2-基 <i>N</i> -(4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基)- <i>L</i> -亮氨酸酯	B, K5	LCMS 纯度 87%, $m/z = 425$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.35-7.16(8H, m), 5.65(1H, m), 5.48(1H, s), 4.17(1H, q, $J=12.8Hz$), 3.94(1H, m), 3.39(1H, d, $J=5.7Hz$), 3.39(1H, t, $J=5.7Hz$), 3.07(2H, m), 2.94(1H, t, $J=7.6Hz$), 2.39(1H, t, $J=8.6Hz$), 1.86-1.58(4H, m), 0.88(7H, m)。
38	2-(二甲基氨基)乙基 <i>N</i> -(4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基)- <i>L</i> -亮氨酸酯	B, K6	LCMS 纯度 90%, $m/z = 380$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.46(2H, d, $J=8.1Hz$), 7.34(2H, d, $J=8.1Hz$), 4.70-4.44(2H, m), 4.29(2H, m), 4.15(1H, m), 3.56(2H, t, $J=4.99Hz$), 2.96(6H, s), 2.93(1H, m), 2.43(2H, t, $J=7.44Hz$), 1.85(4H, m), 0.99(6H, t, $J=6.78Hz$)。
39	(2 <i>S</i>)-({4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)(苯基)乙酸环戊酯	B, L1	LCMS 纯度 95%, $m/z = 397$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 1.36-1.90(8H, m), 2.27(2H, t, $J=7.6Hz$), 2.83(2H, t, $J=7.6Hz$), 3.91(1H, m), 4.08(1H, m), 5.16(2H, m), 7.24(2H, d, $J=7.9Hz$), 7.37(2H, d, $J=7.9Hz$), 7.50(5H, m), 8.71(1H, br s), 10.01(1H, m), 10.42(1H, s)。
40	(2 <i>S</i>)-环己基({4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)乙酸叔丁酯	B, J2	LCMS 纯度 99%, $m/z = 391$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 0.87(1H, m), 1.15(4H, m), 1.43(9H, s), 1.71(4H, m), 1.91(1H, m), 2.26(2H, t, $J=8.1Hz$), 2.82(2H, t, $J=8.1Hz$), 3.73(1H, m), 4.07(2H, m), 7.26(2H, d, $J=7.8Hz$), 7.36(2H, d, $J=7.8Hz$), 8.74(1H, m), 9.18(2H, m), 10.40(1H, m)。
41	<i>N</i> -(4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基)- <i>L</i> -亮氨酸叔丁酯	B, K2	LCMS 纯度 95%, $m/z = 365$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.45-7.40(2H, m), 7.37-7.33(2H, m), 4.26-4.13(2H, m), 3.91(1H, t, $J=4.6Hz$), 2.97(2H, t, $J=7.5Hz$), 2.41(2H, t, $J=7.5Hz$), 1.89-1.63(3H, m), 1.56(9H, s), 1.01(6H, dd, $J=7.7, 6.2Hz$)。

[0362]

实施例	化学名称	使用的 中间体	分析数据
42	<i>N</i> -{4-[3-(羟基)-3-氧代丙基]苄基}- <i>L</i> -缬氨酸环戊酯	B, M1	LCMS 纯度 100%, $m/z = 363$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.38(1H, s), 9.23(2H, br s), 8.71(1H, br s), 7.38(2H, d, $J=7.7$ Hz), 7.27(2H, d, $J=7.7$ Hz), 5.13(1H, t, $J=5.4$ Hz), 4.17-4.08(2H, m), 3.86(1H, br s), 2.83(2H, t, $J=7.5$ Hz), 2.54-2.53(1H, m), 2.46-2.36(1H, m), 2.27(2H, t, $J=7.6$ Hz), 1.91-1.76(2H, m), 1.67-1.52(6H, m), 1.01(3H, d, $J=7.0$ Hz), 0.91(3H, d, $J=6.8$ Hz)。
43	<i>N</i> -{4-[3-(羟基)-3-氧代丙基]苄基}-3-甲基- <i>L</i> -缬氨酸环戊酯	B, U	LCMS 纯度 96%, $m/z = 377$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.44-7.32(4H, m), 5.14-5.05(1H, m), 4.32-4.17(2H, m), 3.53(1H, s), 2.98(2H, t, $J=7.6$ Hz), 2.41(2H, t, $J=7.5$ Hz), 1.94-1.61(8H, m), 1.08(9H, s)。
44	<i>N</i> -{4-[3-(羟基)-3-氧代丙基]苄基}异亮氨酸叔丁酯	B, N	LCMS 纯度 92%, $m/z = 365$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.46-7.32(4H, m), 4.22(2H, s), 3.86(1H, d, $J=3.2$ Hz), 2.97(2H, t, $J=7.5$ Hz), 2.41(2H, t, $J=7.5$ Hz), 2.04-1.97(1H, m), 1.52(9H, s), 1.65-1.38(2H, m), 1.03-0.98(6H, m)。
45	(1 <i>R</i> , 2 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)-2-异丙基-5-甲基环己基 <i>N</i> -{4-[3-(羟基)-3-氧代丙基]苄基}- <i>L</i> -亮氨酸酯	B, K7	LCMS 纯度 97%, $m/z = 447$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 0.94(3H, d, $J=5.1$ Hz), 0.98(14H, m), 1.51(2H, m), 1.72-1.92(6H, m), 2.04(1H, m), 2.41(2H, t, $J=7.5$ Hz), 2.97(2H, t, $J=7.5$ Hz), 4.02(1H, m), 4.18(2H, dd, $J=36.6$, 12.9Hz), 7.37(4H, m)。
46	(1 <i>R</i> , 2 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)-2-异丙基-5-甲基环己基 (2 <i>S</i>)-环己基 ({4-[3-(羟基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)乙酸酯	B, J13	LCMS 纯度 98%, $m/z = 473$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 0.72(3H, d, $J=7.2$ Hz), 0.8-1.9(26H, m), 2.29(2H, t, $J=7.8$ Hz), 2.85(2H, t, $J=7.8$ Hz), 3.54(1H, m), 4.01(2H, m), 4.89(1H, m), 7.25(1H, m)。
47	<i>N</i> -{4-[3-(羟基)-3-氧代丙基]苄基}- <i>L</i> -缬氨酸叔丁酯	B, M2	LCMS 纯度 100%, $m/z = 351$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.41(1H, s), 9.27(2H, br s), 7.39(2H, d, $J=8.1$ Hz), 7.27(2H, d, $J=7.9$ Hz), 4.18-4.03(2H, m), 3.74(1H, br s), 2.83(2H, t, $J=7.6$ Hz), 2.36-2.32(1H, m), 2.27(2H, t), 1.43(9H, s), 1.04(3H, d, $J=7.0$ Hz), 0.93(3H, d, $J=6.8$ Hz)。
48	(1 <i>S</i> , 2 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)-2-异丙基-5-甲基环己基 (2 <i>S</i>)-环己基 ({4-[3-(羟基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)乙酸酯	B, J12	LCMS 纯度 98%, $m/z = 473$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.37(1H, br s), 8.70(1H, br s), 7.15-7.43(4H, m), 4.61-4.74(1H, m), 4.00-4.23(1H, m), 3.22-3.45(2H, m), 2.82(2H, t, $J=6.6$ Hz), 2.26(2H, t, $J=7.7$ Hz), 1.33-2.01(15H, m), 0.94-1.30(14H, m), 0.90(3H, d, $J=6.6$ Hz), 0.88(3H, d, $J=4.2$ Hz), 0.71(3H, d, $J=6.9$ Hz)。

[0363]

实施例	化学名称	使用的 中间体	分析数据
49	(2S)-({3-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)(苯基)乙酸叔丁酯	D, L2	LCMS 纯度 98%, $m/z = 485$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.39(1H, br s), 7.48-7.55(5H, m), 7.23-7.39(4H, m), 5.13(1H, br s), 3.99(2H, ABq, $J=13.2$ Hz), 2.82(2H, t, $J=8.1$ Hz), 2.26(2H, t, $J=8.0$ Hz), 1.35(9H, s)。
50	(2S)-环己基({3-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)乙酸环戊酯	D, J1	LCMS 纯度 98%, $m/z = 403$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.40(1H, br s), 7.23-7.40(4H, m), 5.16(1H, m), 4.11(2H, m), 3.82(1H, br s), 2.83(2H, t, $J=8.3$ Hz), 2.27(2H, t, $J=7.5$ Hz), 0.73-2.00(19H, m)。
51	(2S)-({3-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)(苯基)乙酸环戊酯	D, L1	LCMS 纯度 98%, $m/z = 397$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.39(1H, br s), 7.51(4H, m), 7.23-7.38(5H, m), 5.15-5.23(2H, m), 4.00(2H, ABq, $J=12.3$ Hz), 2.82(2H, t, $J=8.1$ Hz), 2.27(2H, t, $J=7.4$ Hz), 1.27-1.90(8H, m)。
52	N-{3-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}-L-亮氨酸环戊酯	D, K1	LCMS 纯度 95%, $m/z = 377$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.41(1H, br s), 9.46(1H, br s), 7.24-7.41(4H, m), 5.21(1H, t, $J=5.5$ Hz), 4.13(1H, ABq, $J=12.2$ Hz), 3.93(1H, m), 2.83(2H, t, $J=7.2$ Hz), 2.27(2H, t, $J=8.0$ Hz), 1.53-1.95(11H, m), 0.90(6H, d, $J=5.8$ Hz)。
53	(2S)-环己基[({6-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸环戊酯	E, J1	LCMS 纯度 >95%, $m/z = 402$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.53(1H, s), 7.89-7.48(3H, m), 6.87(1H, d, $J=15.6$ Hz), 5.17(1H, m), 3.77(2H, q), 2.97(1H, d, $J=6$ Hz), 2.01-0.97(19H, m)。
54	N-({6-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)-L-亮氨酸环戊酯	E, K1	LCMS 纯度 100%, $m/z = 376$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.54(1H, s), 7.87-7.49(3H, m), 6.87(1H, d, $J=15.6$ Hz), 5.20(1H, m), 3.78(2H, q), 3.24(1H, t), 2.00-1.20(11H, m), 0.90(6H, dd)。
55	2, 3-二氧-1H-茚-2-基(2S)-环己基[({6-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸酯	E, J6	LCMS 纯度 99%, $m/z = 450$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.62(1H, s), 7.87(1H, d, $J=8.4$ Hz), 7.64(1H, d, $J=8.5$ Hz), 7.60(1H, s), 7.31-7.18(5H, m), 6.97(1H, d, $J=15.5$ Hz), 5.59(1H, m), 4.15(2H, s), 1.88-1.58(7H, m), 1.39-0.88(9H, m)。
56	2-吗啉-4-基乙基(2S)-环己基[({6-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸酯	E, J10	LCMS 纯度 96%, $m/z = 447$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.72(1H, s), 8.02(1H, dd, $J=7.9, 1.8$ Hz), 7.66(1H, d, $J=5.6$ Hz), 7.65(1H, d, $J=29.1$ Hz), 6.99(1H, d, $J=15.4$ Hz), 4.64(2H, m), 4.36(2H, s), 4.10(1H, d, $J=3.8$ Hz), 3.97(4H, br s), 3.60(2H, m), 3.40(3H, br s), 3.36(3H, s), 2.07(1H, m), 1.84(4H, br s), 1.73(1H, d, $J=11.1$ Hz), 1.42-1.02(5H, m)。

[0364]

实施例	化学名称	使用的 中间体	分析数据
57	2-(二甲基氨基)乙基(2S)-环己基[(6-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸酯	E, J11	LCMS 纯度 94%, $m/z = 405$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.74(1H, s), 8.07(1H, d, $J=7.63$), 7.70(1H, d, $J=7.82$ Hz), 7.58(1H, d, $J=15.35$ Hz), 4.65(2H, m), 4.41(2H, s), 3.01(6H, s), 2.12(1H, m), 1.84(4H, d, $J=7.91$ Hz), 1.71(1H, d, $J=11.87$ Hz), 1.41-1.04(5H, m)。
58	二环[2.2.1]庚-2-基(2S)-环己基[(6-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸酯	E, J7	LCMS 纯度 97%, $m/z = 428$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.73(1H, s), 8.05(1H, d, $J=7.25$ Hz), 7.68(1H, d, $J=7.82$ Hz), 7.56(1H, d, $J=15.54$ Hz), 6.97(1H, d, $J=15.45$ Hz), 4.67(1H, dd, $J=24.63, 6.55$ Hz), 4.36(2H, m), 4.02(1H, m), 2.40-0.94(22H, m)。
59	(2S)-环己基[(6-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸叔丁酯	E, J2	LCMS 纯度 98%, $m/z = 390$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 1.14(6H, m), 1.41(9H, s), 1.61(4H, m), 1.79(1H, m), 2.73(1H, m), 3.32(1H, m), 3.54(1H, d, $J=13.8$ Hz), 3.80(1H, d, $J=13.8$ Hz), 6.90(1H, d, $J=15.3$ Hz), 7.45(1H, d, $J=15.3$ Hz), 7.52(1H, d, $J=7.8$ Hz), 7.73(1H, dm, $J=7.8$ Hz), 8.51(1H, s), 9.12(1H, s), 10.90(1H, s)。
60	(2S)-[(6-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)氨基](苯基)乙酸环戊酯	E, L1	LCMS 纯度 98%, $m/z = 396$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.97(1H, br s), 8.59(1H, s), 7.88(1H, dd, $J=2.0, 7.9$ Hz), 7.64(1H, d, $J=8.0$ Hz), 7.43-7.57(6H, m), 6.96(1H, d, $J=15.4$ Hz), 5.31(1H, br s), 5.11-5.20(1H, m), 4.14(2H, ABq, $J=13.6$ Hz), 1.26-1.90(8H, m)。
61	(2S)-[(6-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)氨基](苯基)乙酸叔丁酯	E, L2	LCMS 纯度 98%, $m/z = 384$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 8.76(1H, br s), 7.88(1H, dd, $J=2.1, 8.2$ Hz), 7.64(1H, d, $J=8.1$ Hz), 7.41-7.70(6H, m), 6.95(1H, d, $J=15.4$ Hz), 5.12-5.31(2H, m), 4.02-4.21(2H, m), 1.34(9H, s)。
62	(2S)-环己基[(6-3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸环戊酯	F, J1	LCMS 纯度 93%, $m/z = 404$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.41(1H, s), 8.70(1H, s), 8.34(1H, s), 7.59(1H, d, $J=6$ Hz), 7.19(1H, d, $J=7.8$ Hz), 5.08(1H, m), 3.80-3.41(2H, q), 2.92(2H, t, $J=7.2$ Hz), 2.81(1H, m), 2.37(2H, t, $J=8.1$ Hz), 1.91-0.87(19H, m)。
63	(2S)-环己基[(6-3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸叔丁酯	F, J2	LCMS 纯度 92%, $m/z = 392$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.65(1H, d, $J=1.7$ Hz), 8.03(1H, dd, $J=8.1, 2.3$ Hz), 7.56(1H, d, $J=8.1$ Hz), 4.37-4.23(2H, m), 3.87(1H, d, $J=3.6$ Hz), 3.18(2H, t, $J=7.4$ Hz), 2.59(2H, t, $J=7.4$ Hz), 2.05-1.97(1H, m), 1.89-1.75(5H, m), 1.54(9H, s), 1.45-1.24(3H, m), 1.23-1.04(2H, m)。

[0365]

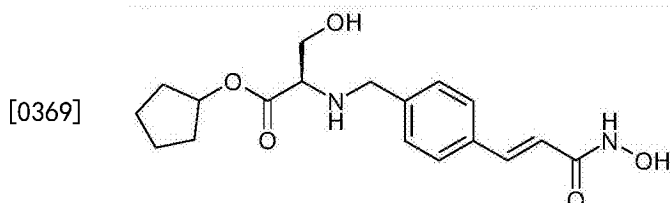
实施例	化学名称	使用的中间体	分析数据
64	(2S)-[({6-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-3-基}甲基)氨基][(苯基)乙酸叔丁酯	F, L2	LCMS 纯度 98%, $m/z = 386$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.43(1H, br s), 10.13(1H, br s), 8.49(1H, s), 7.80(1H, d, $J=7.2$ Hz), 7.51(5H, m), 7.38(1H, t, $J=6.3$ Hz), 5.21(1H, br s), 4.06(2H, ABq, $J=13.2$ Hz), 2.99(2H, t, $J=6.9$ Hz), 2.68(2H, t, $J=7.3$ Hz), 2.40(2H, t, $J=7.8$ Hz), 1.35(9H, s)。
65	(2S)-[({6-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-3-基}甲基)氨基][(苯基)乙酸环戊酯	F, L1	LCMS 纯度 95%, $m/z = 398$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.42(1H, br s), 10.10(1H, br s), 8.49(1H, s), 7.88(1H, d, $J=8.3$ Hz), 7.45-7.60(5H, m), 7.37(1H, t, $J=6.4$ Hz), 5.20(1H, br s), 5.16(1H, t, $J=5.7$ Hz), 4.08(2H, ABq, $J=15.4$ Hz), 3.00(2H, t, $J=7.6$ Hz), 2.42(2H, t, $J=7.6$ Hz), 1.27-1.87(8H, m)。
66	N-({6-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-3-基}甲基)-L-亮氨酸叔丁酯	F, K2	LCMS 纯度 97%, $m/z = 366$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.29(1H, dd, $J=1.8$, 0.7Hz), 7.63(1H, dt, $J=8.1$, 1.1Hz), 7.21(1H, d, $J=8.1$ Hz), 3.69(1H, d, $J=13.4$ Hz), 3.52(1H, d, $J=13.4$ Hz), 3.02(1H, t), 2.96(2H, dd, $J=8.1$, 7.5Hz), 2.34(2H, t, $J=7.8$ Hz), 1.69-1.56(1H, m), 1.38(9H, s), 0.82(3H, d, $J=6.6$ Hz), 0.76(3H, d, $J=6.6$ Hz)。
67	(1R, 2S, 5R)-2-异丙基-5-甲基环己基 N-({6-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-3-基}甲基)-L-亮氨酸酯	F, K7	LCMS 纯度 97%, $m/z = 448$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.44(1H, s), 9.60(1H, br s), 8.54(1H, d, $J=1.9$ Hz), 7.81(1H, dd, $J=8.1$, 2.1Hz), 7.43-7.35(1H, m), 4.82-4.71(1H, m), 4.03(3H, q, $J=7.2$ Hz), 2.99(1H, t, $J=7.6$ Hz), 2.71(1H, d, $J=13.6$ Hz), 2.41(1H, t, $J=7.6$ Hz), 1.93-1.76(2H, m), 1.74-1.62(6H, m), 1.43(2H, t, $J=12.4$ Hz), 1.18(6H, t, $J=7.2$ Hz), 1.06(2H, t, $J=11.5$ Hz), 0.91(8H, dd, $J=6.9$, 2.7Hz), 0.74(3H, d, $J=7.0$ Hz)。
68	(2S)-环己基[({5-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-2-基}甲基)氨基]乙酸环戊酯	G, J1	LCMS 纯度 95%, $m/z = 402$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.81(1H, s), 8.09(1H, d, $J=7.7$ Hz), 7.63(1H, d, $J=15.9$ Hz), 7.50(1H, d, $J=8.2$ Hz), 5.31-5.39(1H, m), 4.46(2H, ABq, $J=13$ Hz), 3.98(1H, d, $J=4.0$ Hz), 1.07-2.14(18H, m)。
69	N-({5-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-2-基}甲基)-L-亮氨酸叔丁酯	G, K2	LCMS 纯度 98%, $m/z = 364$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.87(1H, br s), 9.55(2H, br s), 9.14(1H, br s), 8.84(1H, s), 8.10(1H, d, $J=8.4$ Hz), 7.50-7.60(2H, m), 6.62(1H, d, $J=15.7$ Hz), 4.35(2H, ABq, $J=16.4$ Hz), 3.84-3.99(2H, m), 1.64-1.78(3H, m), 1.46(9H, s), 0.93(6H, d, $J=5.8$ Hz)。

[0366]

实施例	化学名称	使用的中间体	分析数据
70	(2S)-环己基[(5-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-2-基]甲基)氨基]乙酸环戊酯	H, J1	LCMS 纯度 95%, $m/z = 404$ [M+H] ⁺ , ¹ H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.41(1H, br s), 8.48(1H, d, J=1.6Hz), 7.73(1H, dd, J=2.1, 8.0Hz), 7.44(1H, d, J=8.0Hz), 5.19(1H, t, J=5.5Hz), 4.30(2H, br s), 3.88(2H, t, J=3.6 Hz), 2.87(2H, t, J=7.3Hz), 2.31(2H, t, J=7.4Hz), 1.53-2.07(14H, m), 0.79-1.31(5H, m)。
71	N-({5-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-2-基}甲基)-L-亮氨酸叔丁酯	H, K2	LCMS 纯度 99%, $m/z = 366$ [M+H] ⁺ , ¹ H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.37(1H, br s), 8.73(1H, br s), 8.31(1H, d, J=1.8Hz), 7.56(1H, dd, J=8.1, 2.2Hz), 7.31(1H, d, J=8.1Hz), 3.76(1H, d, J=13.6Hz), 3.62(1H, dd, J=2.9, 14.0Hz), 3.03-3.11(1H, m), 2.80(2H, t, J=7.5Hz), 2.30-2.45(1H, m), 2.26(2H, t, J=7.3Hz), 1.66-1.79(1H, m), 1.40(9H, s), 0.88(3H, d, J=7.0Hz), 0.82(3H, d, J=6.5Hz)。

[0367] 实施例72:

[0368] N-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-D-丝氨酸环戊酯



[0370] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0371]



制备实施例20的中间体

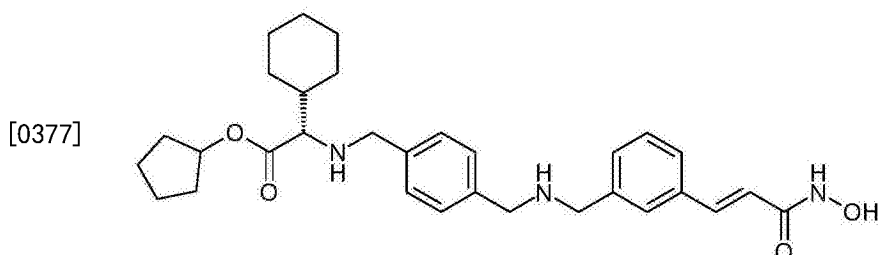
[0372] 阶段1-制备N-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-D-丝氨酸环戊酯

[0373] (实施例72)

[0374] 将制备实施例20的中间体 (100mg, 0.20mmol) 溶于DCM (10mL) 并加入4N HCl的二噁烷 (0.15mL, 0.60mmol) 溶液。反应物被浓缩至干, 残余物溶于THF (10mL), 加入1N HCl水溶液 (10mL) 并将反应物在50℃搅拌18小时。然后真空除去溶剂并通过制备型HPLC纯化残余物以得到所需产物 (12mg, 17%)。LCMS纯度100%, $m/z = 349$ [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ : 7.80-7.44 (5H, m), 6.55 (1H, d, J=15.3Hz), 5.33 (1H, s), 4.32 (2H, s), 4.06 (3H, s), 2.03-1.20 (8H, m)。

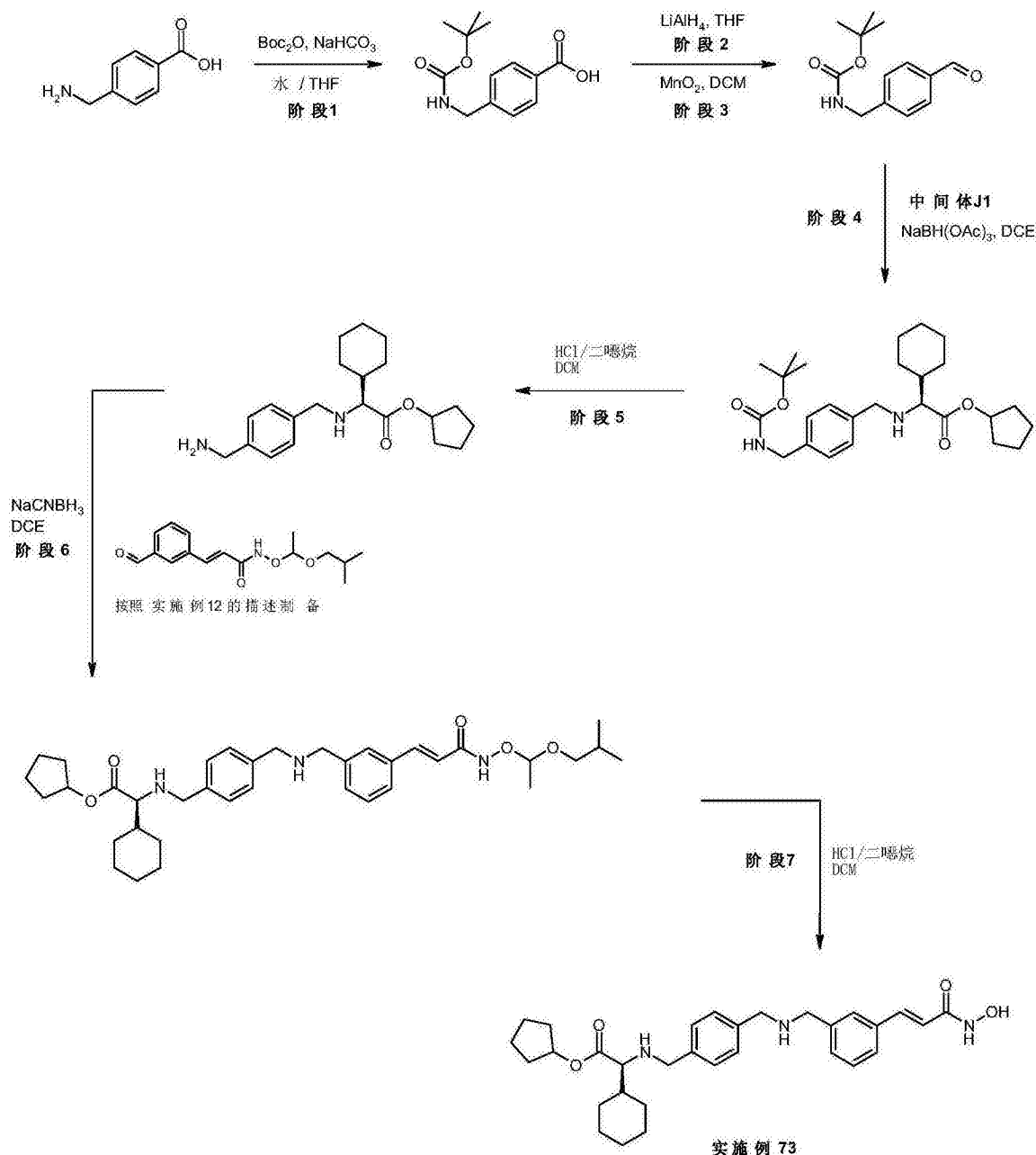
[0375] 实施例73:

[0376] (2S)-环己基({4-[(3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基)氨基]甲基}苄基)氨基)乙酸环戊酯



[0378] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0379]



[0380] 阶段1-制备4-[(叔丁氧基羰基)氨基]甲基}苯甲酸

[0381] 室温下将4-(氨基甲基)苯甲酸(10.00g, 65.36mmol)与 Boc_2O (28.00g,

130.72mmol) 一起在H₂O (100mL) 和THF (100mL) 中搅拌。加入饱和NaHCO₃溶液直到pH约6, 将反应物搅拌16小时。然后用1M HCl_{aq}将反应物小心酸化至pH约3, 造成有固体沉淀出来。将该固体过滤并干燥以得到白色固体状产物 (16.1g, 97%)。m/z = 274 [M+Na]⁺。

[0382] 阶段2-制备 [4-(羟基甲基) 苄基] 氨基甲酸叔丁酯

[0383] 在0℃氮气气氛下将阶段1产物 (16.1g, 64.14mmol) 在THF (300mL) 和二噁烷 (200mL) 中搅拌。然后加入LiAlH₄并使反应物升至室温, 同时搅拌16小时。然后冷却至0℃并用饱和NH₄Cl_{aq}淬灭。加入Na₂SO₄并将混合物搅拌30分钟。然后通过硅藻土过滤, 并将滤液真空浓缩以得到淡黄色固体状产物 (13.1g, 94%)。m/z = 260 [M+Na]⁺。

[0384] 阶段3-制备 (4-甲酰苄基) 氨基甲酸叔丁酯

[0385] 室温下将阶段2产物 (5.87g, 24.73mmol) 在DCM (200mL) 中与MnO₂ (16.71g, 192.2mmol) 一起搅拌16小时。反应物然后通过硅藻土过滤并真空除去溶剂以得到黄色油状产物 (4.63g, 80%)。m/z = 258 [M+Na]⁺。

[0386] 阶段4-制备 (2S)-[4-[(叔丁氧基羰基) 氨基] 甲基] 苄基] 氨基] (环己基) 乙酸环戊酯

[0387] 在室温氮气气氛下将阶段3产物 (650mg, 2.70mmol) 在DCE (20mL) 中与中间体J1 (707mg, 2.70mmol) 和STAB (918mg, 4.33mmol) 一起搅拌3小时。之后用H₂O (50mL) 稀释反应物并用Et₂O (2x100mL) 萃取。将合并的有机萃取物干燥 (MgSO₄) 并在真空下除去溶剂以得到棕色油状产物 (1.13g, 95%)。m/z = 445 [M+H]⁺。

[0388] 阶段5-制备 (2S)-{[4-(氨基甲基) 苄基] 氨基] (环己基) 乙酸环戊酯

[0389] 在室温氮气气氛下将阶段4产物 (1.13g, 2.56mmol) 在DCM (5mL) 中与4M HCl的二噁烷 (2mL) 溶液一起搅拌3小时。在真空下除去溶剂并将残余物干燥以得到棕色固体状产物, 其为HCl盐 (971mg, 99%)。m/z = 345 [M+H]⁺。

[0390] 阶段6-制备 (2S)-环己基[4-[(3-[(1E)-3-[(1-异丁氧基乙氧基) 氨基]-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基] 氨基] 甲基] 苄基] 氨基] 乙酸环戊酯

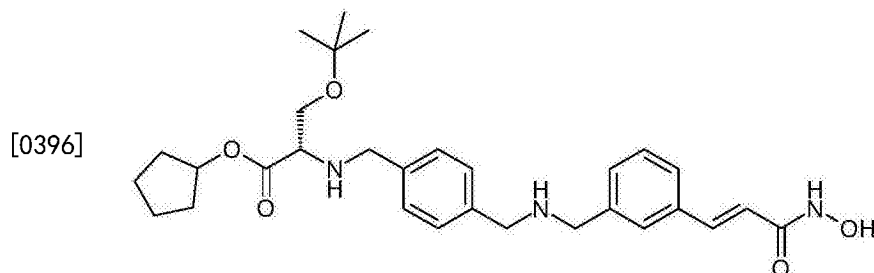
[0391] 将(2E)-3-(3-甲酰苄基)-N-(1-异丁氧基乙氧基) 丙烯酰胺 (按照实施例12的描述制备-0.2g, 0.69mmol) 和阶段5产物 (0.26g, 0.68mmol) 溶于DCE (10mL) 并在氮气下搅拌17小时。加入NaBH₃CN (0.087g, 1.4mmol) 并将反应物搅拌2小时。这之后反应物用水 (10mL) 淬灭然后分离。水相用DCM (2x10mL) 萃取, 将合并的有机物干燥 (MgSO₄) 并在真空下浓缩至干以得到黄色油状产物。通过柱层析纯化 (1:1EtOAc庚烷溶液) 得到淡黄色油状物 (0.07g, 16%)。m/z = 642 [M+Na]⁺。

[0392] 阶段7-制备 (2S)-环己基({4-[(3-[(1E)-3-(羟基氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基] 氨基] 甲基] 苄基] 氨基] 乙酸环戊酯 (实施例73)

[0393] 将4N HCl的二噁烷 (0.03mL, 0.12mmol) 溶液加入阶段6产物 (0.07g, 0.11mmol) 的DCM (10mL) 溶液并将反应物搅拌3小时。将反应物在真空下浓缩至干以得到黄色油状物。通过制备型HPLC纯化得到所需白色固体状产物 (15mg, 26%)。LCMS纯度>95%, m/z = 520 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ: 7.78-7.47 (9H, m), 6.54 (1H, d, J = 15.6Hz), 5.31 (1H, m), 4.38-4.20 (6H, m), 3.79 (1H, m), 2.04-1.18 (19H, m)。

[0394] 实施例74:

[0395] 0-叔丁基-N-[4-[(3-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基)氨基]甲基]苄基]-L-丝氨酸环戊酯

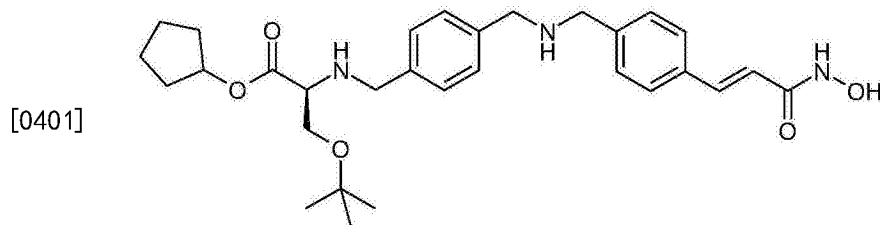


[0397] 标题化合物通过用来制造实施例73的相同方法从中间体0制备。

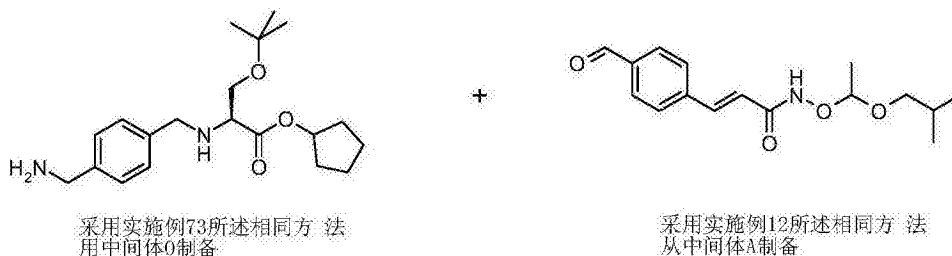
[0398] LCMS纯度100%, $m/z = 520$ $[M+H]^+$, 1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ : 7.78-7.47 (9H, m), 6.54 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 5.31 (1H, m), 4.38-4.20 (6H, m), 3.79 (1H, m), 2.04-1.18 (19H, m)。

[0399] 实施例75:

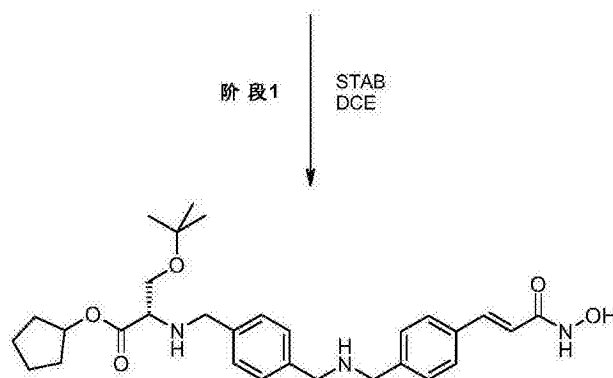
[0400] 0-叔丁基-N-[4-[(4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基)氨基]甲基]苄基]-L-丝氨酸环戊酯



[0402] 标题化合物是通过以下方法制备的:



[0403]



实施例 75

[0404] 阶段1-制备0-叔丁基-N-[4-[(4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基)氨基]甲基]苄基]-L-丝氨酸环戊酯(实施例75)

[0405] 在N-[4-(氨基甲基)苄基]-0-叔丁基-L-丝氨酸环戊酯(按照实施例73的描述制

备-0.282g, 0.67mmol) 和 (2E)-3-(4-甲酰苯基)-N-(1-异丁氧基乙氧基) 丙烯酰胺 (按照实施例12的描述制备-0.230g, 0.79mmol) 的DCE (25mL) 悬浮液中加入STAB (0.700g, 3.3mmol)。将混合物室温搅拌3小时, 然后用饱和NaHCO₃溶液 (75mL) 淬灭。产物然后用DCM (3x100mL) 萃取并将合并的有机萃取物干燥 (MgSO₄), 浓缩和通过制备型HPLC纯化以得到所需产物 (5mg, 2%)。LCMS纯度98%, $m/z = 524.25 [M+H]^+$, ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ : 7.41 (2H, d, $J = 7.9$ Hz), 7.24 (2H, d, $J = 7.7$ Hz), 7.20 (3H, br s), 6.37 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 5.09 (1H, t, $J = 5.7$ Hz), 3.44-3.75 (8H, m), 3.25 (1H, t, $J = 3$ Hz), 1.45-1.90 (8H, m), 1.04 (9H, s)。

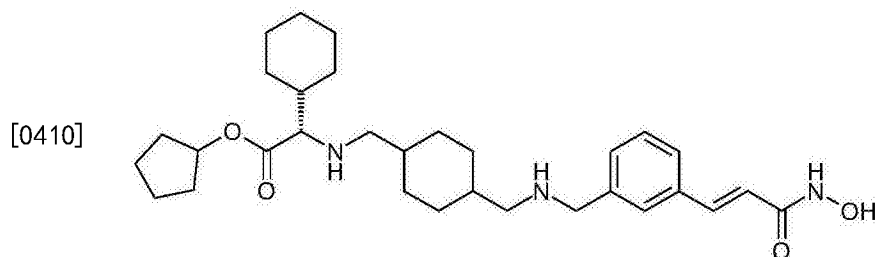
[0406] 以下实施例采用相同方法制备:

[0407]

实施例	化学名称	使用的中间体	分析数据
76	N-{4-[(4-{[(1E)-3-(羟基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)甲基]苄基}-L-亮氨酸叔丁酯	A, K2	LCMS 纯度 97%, $m/z = 482 [M+H]^+$, ¹ H NMR(300MHz, <i>d</i> ₆ -DMSO) δ : 0.91(6H, m), 1.47(9H, s), 1.71(3H, m), 3.81(1H, m), 4.15(6H, m), 6.52(1H, d, $J = 15.9$ Hz), 7.50(7H, m), 7.63(2H, d, $J = 8.4$ Hz), 9.51(3H, m), 10.85(1H, s)。
77	(2S)-环己基({4-[(4-{[(3-羟基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)甲基]苄基}氨基)乙酸环戊酯	B, J1	LCMS 纯度 98%, $m/z = 522 [M+H]^+$, ¹ H NMR(300MHz, CD ₃ OD) δ : 0.96-1.45(6H, m), 1.75-2.00(13H, m), 2.41(2H, t, $J = 7.2$ Hz), 2.96(2H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.82(1H, d, $J = 3.9$ Hz), 4.23(2H, s), 4.29(4H, s), 5.31(1H, t, $J = 5.7$ Hz), 7.33(2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.41(2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.59(4H, m)。
78	N-{4-[(4-{[(3-羟基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)甲基]苄基}-L-亮氨酸叔丁酯	B, K2	LCMS 纯度 97%, $m/z = 484 [M+H]^+$, ¹ H NMR(300MHz, CD ₃ OD) δ : 1.01(6H, t, $J = 6.0$ Hz), 1.57(9H, s), 1.80(3H, m), 2.41(2H, t, $J = 7.2$ Hz), 2.96(2H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.95(1H, m), 4.25(6H, m), 7.32(2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.42(2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.61(4H, s)。

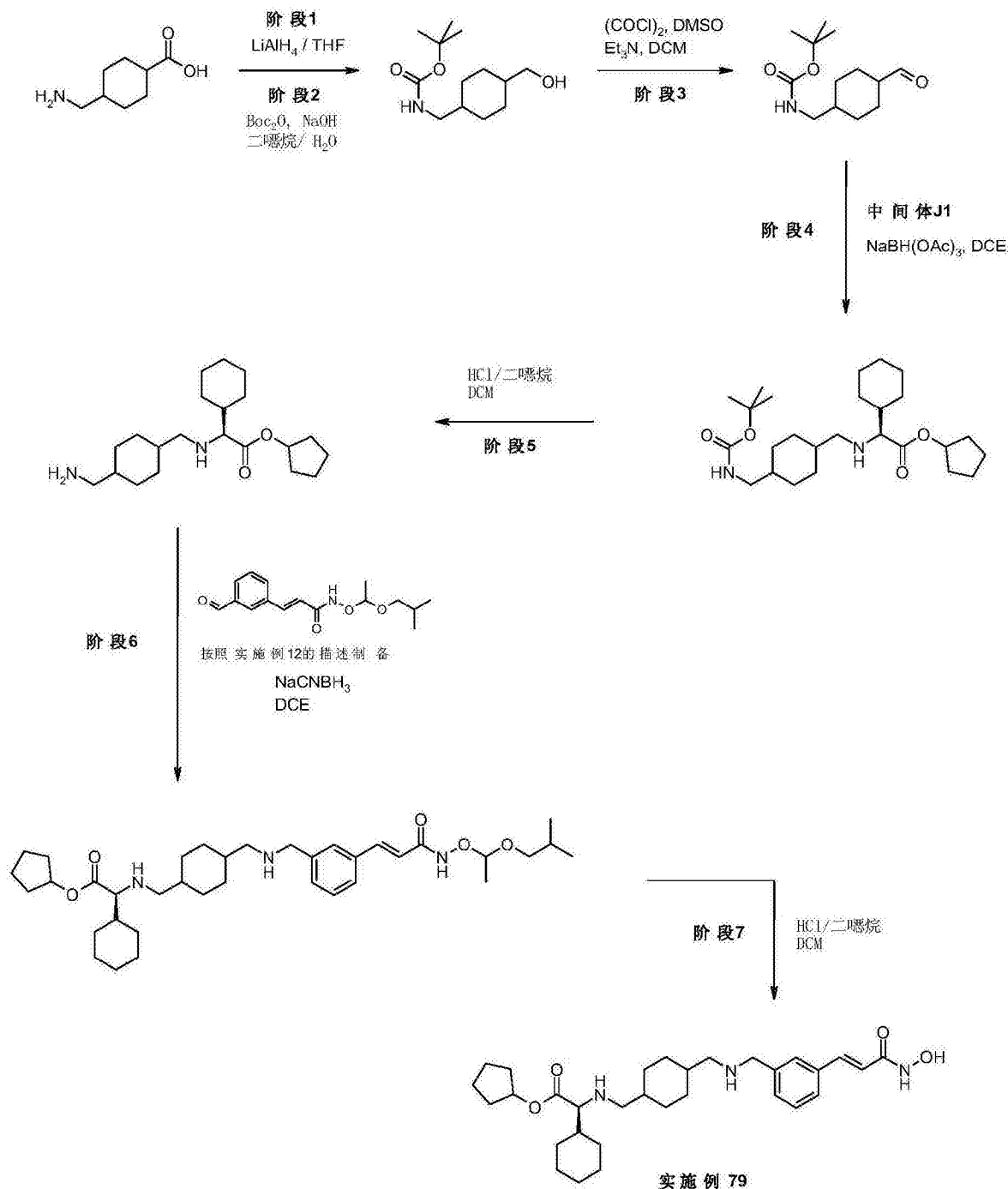
[0408] 实施例79:

[0409] (2S)-环己基[(4-[(3-[(1E)-3-(羟基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基)氨基)甲基]环己基]氨基)乙酸环戊酯



[0411] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0412]



[0413] 阶段1-制备[4-(氨基甲基)环己基]甲醇

[0414] 0℃氮气气氛下将4-(氨基甲基)环己烷羧酸(4.00g, 25.44mmol)在THF(100mL)中搅拌。然后加入LiAlH₄(2.90g, 76.33mmol), 使反应物升至室温并搅拌3小时。然后冷却至0℃并用H₂O淬灭。然后加入Na₂SO₄并将混合物搅拌10分钟。然后通过硅藻土过滤并将滤液真空浓缩以得到无色油状产物, 将产物静置固化以得到白色固体状产物(3.72g, 100%)。¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 0.95 (4H, m), 1.22-1.47 (5H, m), 1.86 (4H, m), 2.55 (2H, d, J=6.6Hz), 4.46 (2H, d, J=6.3Hz)。

[0415] 阶段2-制备{[4-(羟基甲基)环己基]甲基}氨基甲酸叔丁酯

[0416] 室温下将阶段1产物(3.72g, 26.01mmol)与NaOH(1.00g, 26.01mmol)以及二碳酸二

叔丁酯 (6.24g, 28.61mmol) 在H₂O (50mL) 和二噁烷 (50mL) 中搅拌16小时。然后真空浓缩反应物。大约蒸发50%时溶液中有固体沉淀出来, 将该固体收集并干燥以得到白色固体状产物 (5.5g, 87%)。m/z = 266 [M+Na]⁺, ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 0.82 (4H, m), 1.28 (2H, m), 1.37 (9H, s), 1.70 (4H, m), 2.76 (2H, t, J = 6.3Hz), 3.19 (2H, d, J = 6.3Hz), 4.32 (1H, br s), 6.75 (1H, m)。

[0417] 阶段3-制备 [(4-甲酰环己基) 甲基] 氨基甲酸叔丁酯

[0418] 在氮气气氛下搅拌DCM (100mL) 和 (COCl)₂ (1.58mL, 18.14mmol) 溶液并冷却至-78℃。然后加入DMSO (2.27mL, 32.02mmol) 同时维持温度低于-65℃。然后制备阶段2产物 (4.5g, 17.79mmol) 的DCM (50mL) 溶液并缓慢加入反应混合物, 再次维持温度低于-65℃。当加完时缓慢加入Et₃N (9.99mL, 71.69mmol), 再次维持温度低于-65℃。当加完时使反应物升至室温, 然后真空除去溶剂。残余物通过柱层析纯化 (0-10% MeOH的DCM溶液) 以得到淡黄色油状产物 (5g, >100%, 含有一些Et₃N)。m/z = 266 [M+Na]⁺, ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 1.02 (2H, m), 1.30 (2H, m), 1.45 (9H, s), 1.90 (2H, m), 2.03 (2H, m), 3.01 (2H, t, J = 6.3Hz), 4.57 (1H, br s), 9.63 (1H, s)。

[0419] 阶段4-制备 (2S)-{[(4-[(叔丁氧基羰基) 氨基] 甲基] 环己基) 甲基] 氨基} (环己基) 乙酸环戊酯

[0420] 室温下将阶段3产物 (1.00g, 4.14mmol) 与中间体J1 (1.08g, 4.14mmol) 以及STAB (1.33g, 6.21mmol) 一起在DCE (20mL) 中搅拌16小时。反应物然后用H₂O (100mL) 稀释并用DCM (2x100mL) 萃取。将合并的有机萃取物干燥 (MgSO₄) 并真空除去溶剂以得到灰色固体状产物, 该物质无需进一步纯化便可用于下面的步骤 (1.74g, 94%)。m/z = 451 [M+H]⁺。

[0421] 阶段5-制备 (2S)-{[(4-(氨基甲基) 环己基) 甲基] 氨基} (环己基) 乙酸环戊酯

[0422] 室温下将阶段4产物 (1.74g, 3.87mmol) 在DCM (10mL) 中与4M HCl的二噁烷 (3mL) 溶液一起搅拌16小时。然后真空除去溶剂并将残余物真空干燥以得到白色固体状产物 (1.36g, 98%)。m/z = 351 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 0.90-1.20 (9H, m), 1.50-2.00 (21H, m), 2.65 (4H, m), 3.85 (1H, m), 5.25 (1H, m), 7.83 (2H, m)。

[0423] 阶段6-制备 (2S)-环己基 {[(4-[(3-{(1E)-3-[(1-异丁氧基乙氧基) 氨基]-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基) 氨基] 甲基] 环己基) 甲基] 氨基} 乙酸环戊酯

[0424] 将 (2E)-3-(3-甲酰苄基)-N-(1-异丁氧基乙氧基) 丙烯酰胺 (按照实施例12的描述制备-0.3g, 1mmol) 和阶段5产物 (0.40g, 1mmol) 溶于DCE (10mL) 并搅拌2小时。加入NaBH₃CN (0.13g, 2.1mmol) 并将反应物搅拌15小时。这之后将反应物用水 (10mL) 淬灭然后分离。水相用DCM (2x10mL) 萃取, 将合并的有机物干燥 (MgSO₄) 并在真空下浓缩至干以得到黄色油状产物 (0.91g, 143%)。m/z = 626 [M+H]⁺。

[0425] 阶段7-制备 (2S)-环己基 {[(4-[(3-{(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基) 氨基] 甲基] 环己基) 甲基] 氨基} 乙酸环戊酯 (实施例79)

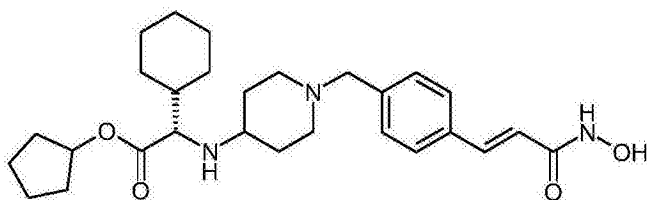
[0426] 将4NHCl的二噁烷 (0.52mL, 2mmol) 溶液加入阶段6产物 (0.65g, 1mmol) 的DCM (10mL) 溶液中并将反应物搅拌5分钟。将反应物在真空下浓缩至干以得到黄色油状物。通过制备型HPLC纯化得到所需白色固体状产物 (20mg, 4%)。LCMS纯度>95%, m/z = 526 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ: 7.80-7.42 (5H, m), 6.56 (1H, d, J = 15.6Hz), 5.36 (1H, m), 4.26 (1H,

s), 3.85 (1H, d), 3.12-2.75 (4H, m), 2.12-0.87 (29H, m)。

[0427] 实施例80:

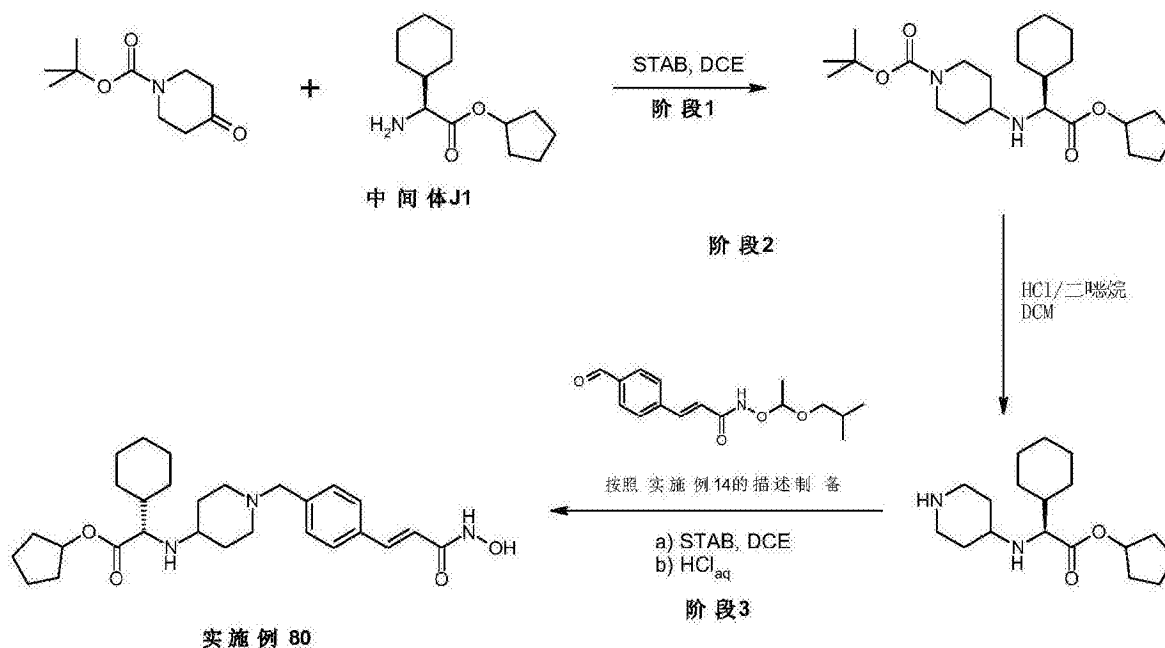
[0428] (2S)-环己基[(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}哌啶-4-基)氨基]乙酸环戊酯

[0429]



[0430] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0431]



[0432] 阶段1-制备4-[(1S)-1-环己基-2-(环戊氧基)-2-氧代乙基]氨基哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0433] 在中间体J1 (1.15g, 4.4mmol) 的DCE (20mL) 溶液中加入4-氧代哌啶-1-羧酸叔丁酯 (800mg, 4.01mmol) 和STAB (1.73g, 8.2mmol)。将混合物搅拌4h, 然后加入饱和NaHCO₃溶液 (50mL) 淬灭。产物用DCM (2x50mL) 萃取, 将合并的萃取物干燥 (MgSO₄) 并浓缩, 然后通过柱层析纯化 (1% MeOH 的 DCM 溶液) 以得到所需产物 (1.05g, 61%)。m/z = 409.25 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 5.32 (1H, s), 5.22-5.25 (1H, m), 3.87-4.00 (2H, m), 3.50 (1H, d, J = 4.3Hz), 3.06 (1H, t, J = 5.3Hz), 2.81-2.94 (2H, m), 2.46-2.57 (1H, m), 0.91-1.95 (23H, m), 1.46 (9H, s)。

[0434] 阶段2-制备(2S)-环己基(哌啶-4-基氨基)乙酸环戊酯二盐酸盐

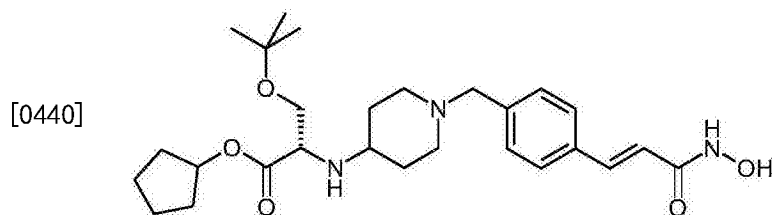
[0435] 在阶段1产物 (1.058g, 2.4mmol) 的DCM (2mL) 溶液中加入4M HCl 的二噁烷溶液 (5mL)。将混合物搅拌2小时, 然后加入Et₂O (50mL) 导致沉淀。产物通过过滤收集以得到乳白色固体状物 (952mg, 定量)。m/z = 309.25 [M+H]⁺。

[0436] 阶段3-制备(2S)-环己基[(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}哌啶-4-基)氨基]乙酸环戊酯 (实施例80)

[0437] 在阶段2产物 (0.396g, 1.03mmol) 的DCE (5mL) 溶液中加入 (2E)-3-(4-甲酰苯基)-N-(1-异丁氧基乙氧基) 丙烯酰胺 (按照实施例14的描述制备-0.324g, 1.11mmol) 的DCE (5mL) 溶液。然后加入STAB (0.325g, 1.53mmol) 并将混合物搅拌3小时。加入2M HCl (10mL) 淬灭反应物并搅拌30分钟。然后将混合物倒入饱和NaHCO₃溶液 (100mL), 产物用DCM (3x75mL) 萃取。然后将混合物干燥 (MgSO₄), 浓缩并通过制备型HPLC纯化以得到所需产物 (35mg, 7%)。LCMS纯度>98%, m/z = 488 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ : 7.48-7.65 (3H, m), 7.36 (2H, d, J=7.8Hz), 6.48 (1H, d, J=15.7Hz), 5.20 (1H, m), 3.45-3.65 (6H, m), 3.30-3.35 (2H, m), 2.87 (2H, d, J=11.5Hz), 2.50 (1H, m), 1.30-2.15 (12H, m), 1.16 (9H, s)。

[0438] 实施例81:

[0439] 0-叔丁基-N-(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基} 哌啶-4-基)-L-丝氨酸环戊酯

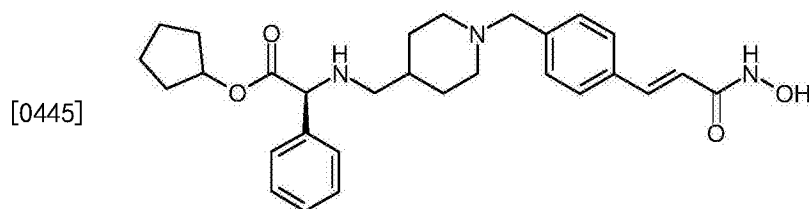


[0441] 标题化合物通过用来制造实施例80的相同方法从中间体0制备。

[0442] LCMS纯度>98%, m/z = 488.25 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ : 7.48-7.65 (3H, m), 7.36 (2H, d, J=7.8Hz), 6.48 (1H, d, J=15.7Hz), 5.20 (1H, m), 3.45-3.65 (6H, m), 3.30-3.35 (2H, m), 2.87 (2H, d, J=11.5Hz), 2.50 (1H, m), 1.30-2.15 (12H, m), 1.16 (9H, s)。

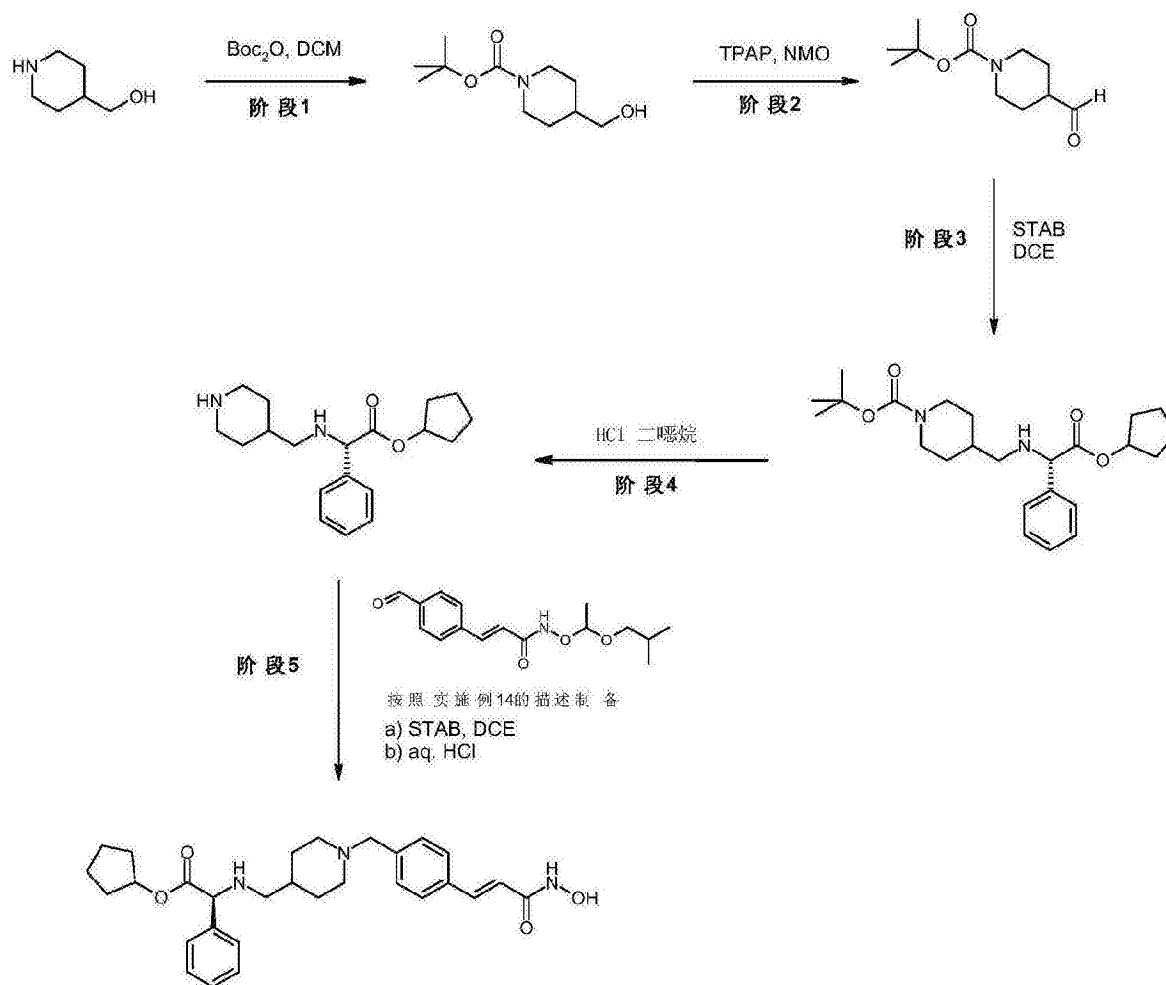
[0443] 实施例82:

[0444] (2S)-{[(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基} 哌啶-4-基) 甲基] 氨基} (苯基) 乙酸环戊酯



[0446] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0447]



实施例 82

[0448] 阶段1-制备4-(羟基甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0449] 在哌啶-4-基甲醇 (5.122g, 44.5mmol) 的DCM (70mL) 溶液中加入二碳酸二叔丁酯 (8.91g, 40.8mmol)。将该溶液室温搅拌3小时然后倒入Et₂O (250mL)。溶液然后用0.5M HCl_{aq} (3x75mL) 和盐水 (50mL) 洗涤, 然后干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩以得到所需产物 (9.78g, 定量)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 4.14 (2H, d, J=13.2Hz), 3.52 (2H, d, J=6.1Hz), 2.72 (2H, dt, J=2.2, 14.6Hz), 1.65-1.77 (2H, m), 1.47 (9H, s), 1.13-1.26 (3H, m)。

[0450] 阶段2-制备4-甲酰哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0451] 在阶段1产物 (9.78g, 44.5mmol) 的DCM (250mL) 溶液中加入N-甲基吗啉-N-氧化物 (6.60g, 55.3mmol) 和TPAP (260mg, 0.74mmol)。将混合物搅拌24小时, 然后再加入NMO (3.37g, 28.3mmol) 和TPAP (30mg, 0.08mmol)。混合物再搅拌48小时, 然后再加入NMO (2.60g, 21.8mmol)。再搅拌5小时后将混合物倒入Et₂O (500mL) 并用0.5M HCl_{aq} (4x100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤。然后将有机部分干燥 (MgSO₄)、浓缩并通过柱层析纯化以得到所需产物 (3.14g, 35%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 9.68 (1H, s), 3.97 (2H, d, J=17.1Hz), 2.95 (2H, dt, J=3.1, 11.0Hz), 2.41-2.46 (2H, m), 1.85-1.90 (2H, m), 1.53-1.59 (1H, m), 1.47 (9H, s)。

[0452] 阶段3-制备4-([[(1S)-2-(环戊氧基)-2-氧代-1-苯乙基]氨基]甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0453] 在阶段2产物(0.748g, 3.5mmol)的DCE(20mL)溶液中加入中间体L1(1.63g, 4.2mmol)和STAB(1.76g, 8.3mmol)。将混合物搅拌4小时然后加入饱和NaHCO₃溶液(50mL)淬灭。产物然后用DCM(2x50mL)萃取,将合并的萃取物干燥(MgSO₄)、真空浓缩并通过柱层析纯化(1%MeOH的DCM溶液)以得到所需产物。 $m/z=417.25$ [M+H]⁺, ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ : 7.28-7.39(5H, m), 5.20(1H, m), 4.08(2H, d, J=9.6Hz), 2.70(2H, t, J=12.5Hz), 2.50(1H, dd, J=6.6, 11.3Hz), 2.38(1H, dd, J=6.8, 11.5Hz), 1.47-1.88(14H, m), 1.47(9H, s)。

[0454] 阶段4-制备(2S)-苯基[(哌啶-4-基甲基)氨基]乙酸环戊酯二盐酸盐

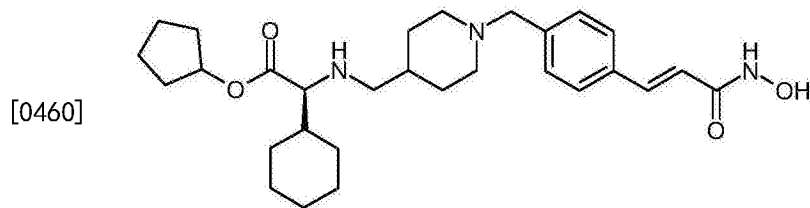
[0455] 在阶段3产物中加入4M HCl的二噁烷(5mL)溶液。将混合物搅拌3小时然后真空浓缩以得到所需产物(891mg, 80%(两个步骤))。¹H NMR(300MHz, d₆-DMSO) δ : 7.24-7.40(5H, m), 5.06(1H, m), 4.28(1H, s), 3.14(2H, d, J=11.7Hz), 2.70(2H, t, J=12.5Hz), 2.20-2.40(2H, m), 1.08-1.86(14H, m)。

[0456] 阶段5-制备(2S)-{[(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}哌啶-4-基)甲基]氨基}(苯基)乙酸环戊酯(实施例82)

[0457] 在阶段4产物(236mg, 0.74mmol)的DCE(5mL)溶液中加入(2E)-3-(4-甲酰苯基)-N-(1-异丁氧基乙氧基)丙烯酰胺(按照实施例14的描述制备-218mg, 0.75mmol)和STAB(157mg, 0.74mmol)。将混合物搅拌3小时然后用0.5M HCl_{aq}(20mL)淬灭30分钟。溶液用饱和NaHCO₃溶液中和,然后用DCM(3x100mL)萃取。将合并的萃取物干燥(MgSO₄)、真空浓缩并通过制备型HPLC纯化以得到所需产物(18mg, 5%)。LCMS纯度>95%, $m/z=492.25$ [M+H]⁺, ¹H NMR(300MHz, CD₃OD) δ : 7.45-7.65(3H, m), 7.25-7.45(7H, m), 6.47(1H, d, J=13.8Hz), 5.15(1H, m), 4.30(1H, s), 3.45-3.57(2H, m), 2.89(2H, d, J=9.5Hz), 2.30-2.50(2H, m), 1.13-2.11(15H, m)。

[0458] 实施例83:

[0459] (2S)-环己基{[(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}哌啶-4-基)甲基]氨基}乙酸环戊酯



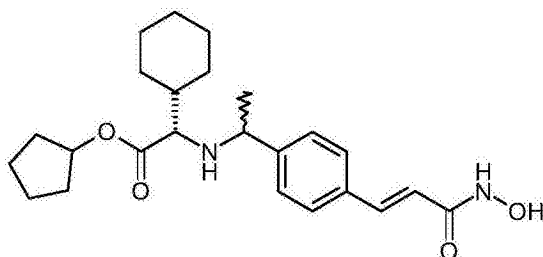
[0461] 标题化合物通过用来制造实施例82的相同方法从中间体J1制备。

[0462] LCMS纯度>98%, $m/z=498.25$ [M+H]⁺, ¹H NMR(300MHz, d₆-DMSO) δ : 7.48(2H, d, J=7.9Hz), 7.33(1H, d, J=10.8Hz), 7.30(2H, d, J=8.0Hz), 6.42(1H, d, J=13.5Hz), 5.10(1H, m), 4.07(2H, q, J=5.1Hz), 3.43(2H, br s), 3.17(6H, m), 2.70-2.85(3H, m), 2.10-2.42(2H, m), 0.96-1.94(18H, m)。

[0463] 实施例84:

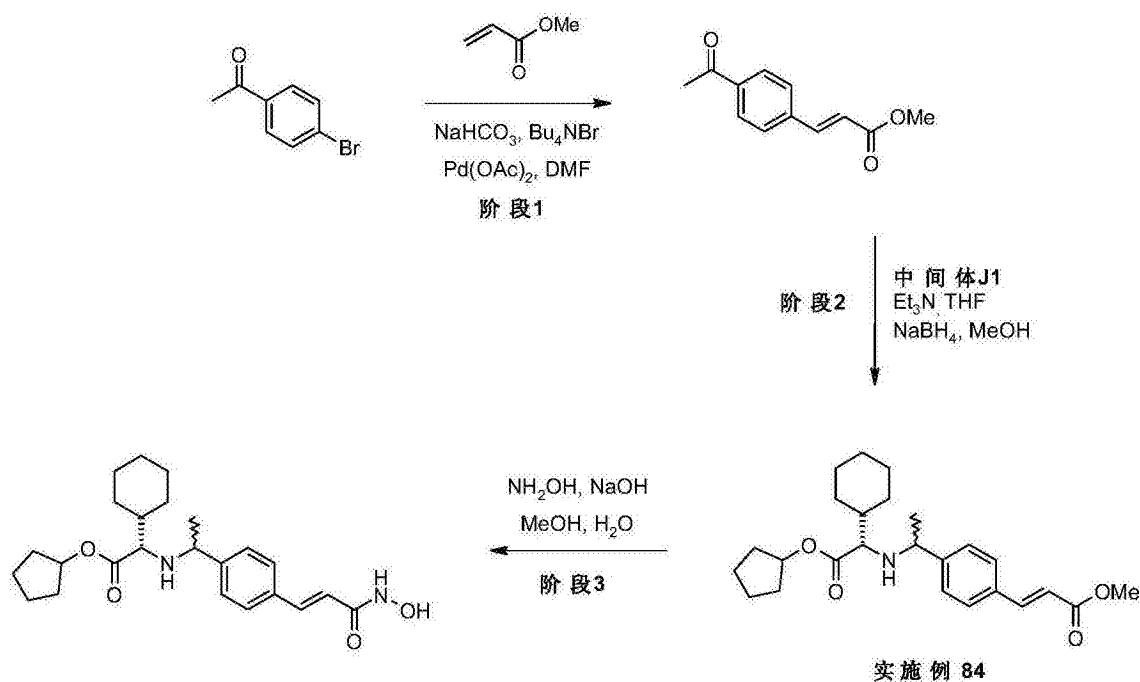
[0464] (2S)-环己基[(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}乙基)氨基]乙酸环戊酯

[0465]



[0466] 标题化合物是通过以下方法制备的：

[0467]



实施例 84

[0468] 阶段1-制备 (2E)-3-(4-乙酰基苯基) 丙烯酸甲酯

[0469] 在4-溴苯乙酮 (1g, 5mmol) 的无水DMF (30mL) 溶液中加入丙烯酸甲酯 (450 μ L, 5mmol)、碳酸氢钠 (420mg, 5mmol) 四丁基溴化铵 (1.61g, 5mmol) 和乙酸钯 (56mg, 0.25mmol) 并将反应混合物在130 $^{\circ}$ C加热2小时。通过减压浓缩除去DMF, 将粗物质溶于EtOAc (100mL) 并用水 (100mL) 然后盐水 (100mL) 洗涤。将有机层干燥 (MgSO₄), 过滤并真空浓缩以得到粗产物。该物质通过快速层析 (1:1庚烷/EtOAc) 纯化以得到所需产物 (784mg, 77%)。m/z = 205 [M+H]⁺; ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ : 7.99 (2H, d, J=8.3Hz), 7.73 (1H, d, J=16.2Hz), 7.63 (2H, d, J=8.3Hz), 6.55 (1H, d, J=16.0Hz), 3.85 (3H, s), 2.64 (3H, s)。

[0470] 阶段2-制备 (2E)-3-[4-(1-[(1S)-1-环己基-2-(环戊氧基)-2-氧代乙基]氨基)乙基]苯基] 丙烯酸甲酯

[0471] 在阶段1产物 (500mg, 2.45mmol) 的无水THF (10mL) 溶液中加入中间体J1 (946mg, 2.45mmol)、Et₃N (341 μ L, 2.45mmol)、AcOH (4滴) 和4 $\text{\AA}$ 分子筛并将反应混合物在50 $^{\circ}$ C、氮气气氛下加热18小时。将反应物冷却至室温并加入无水MeOH (5mL), 然后加入NaBH₄ (93mg, 2.45mmol)。在室温搅拌反应物直到反应结束, 之后真空除去溶剂。将粗物质倒入EtOAc (25mL), 用水 (25mL)、1M HCl (25mL), 然后盐水 (25mL) 洗涤。将有机层干燥 (MgSO₄), 过滤并真空浓缩以得到所需产物 (1g, 97%) m/z = 414 [M+H]⁺。

[0472] 阶段3-制备 (2S)-环己基 [(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苯基} 乙基) 氨基] 乙酸环戊酯 (实施例84)

[0473] 在阶段2产物 (60mg, 0.14mmol) 的 MeOH (1mL) 溶液中加入羟胺水溶液 (100μL) 和 NaOH (60mg) 并将反应混合物室温搅拌2小时。加入饱和NH₄Cl (2mL) 淬灭反应物, 浓缩溶剂并滤去不需要的盐之后产物通过制备型HPLC纯化 (21mg, 36%)。LCMS纯度>99%, m/z = 415 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ: 7.67 (2H, dd, J=11.4, 8.6Hz), 7.55 (2H, t, J=8.3Hz), 7.48 (2H, d, J=8.1Hz), 6.61-6.46 (1H, m), 5.30 (1H, t, J=5.9Hz), 4.58-4.45 (1H, m), 3.41-3.38 (1H, m), 1.99-1.78 (6H, m), 1.75 (3H, d, J=6.8Hz), 1.72-1.44 (4H, m), 1.38-0.92 (8H, m)。

[0474] 以下实施例采用相同方法制备:

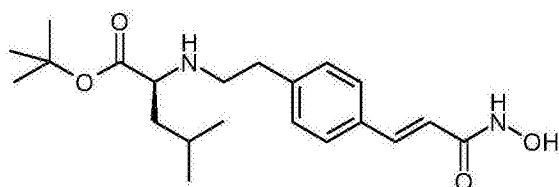
[0475]

实施例	化学名称	使用的中间体	分析数据
85	N-(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苯基} 乙基)-L-亮氨酸叔丁酯	A, K2	LCMS 纯度 93%, m/z = 377 [M+H] ⁺ , ¹ H NMR(300MHz, CD ₃ OD)δ: 7.74-7.69(2H, m), 7.68-7.56(1H, m), 7.49(2H, d, J=8.3Hz), 6.58(1H, d, J=16.0Hz), 4.51(1H, q, J=6.7Hz), 1.73(3H, d, J=6.8Hz), 1.69-1.61(1H, m), 1.55(9H, s), 1.06-0.98(2H, m), 0.95-0.91(1H, m), 0.88(3H, d, J=2.8Hz), 0.86(3H, d, J=2.6 Hz)。
86	N-(1-{4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基] 苯基} 乙基)-L-亮氨酸叔丁酯	B, K2	LCMS 纯度 100%, m/z = 379 [M+H] ⁺ , ¹ H NMR(300MHz, CD ₃ OD)δ: 7.41-7.33(4H, m), 4.43(1H, t, J=7.0Hz), 2.99(2H, t, J=7.5Hz), 2.42(2H, t, J=7.5Hz), 1.82-1.75(2H, m), 1.71(3H, d, J=7.0Hz), 1.64-1.56(2H, m), 1.55(9H, s), 0.86(6H, d, J=6.2Hz)。

[0476] 实施例87:

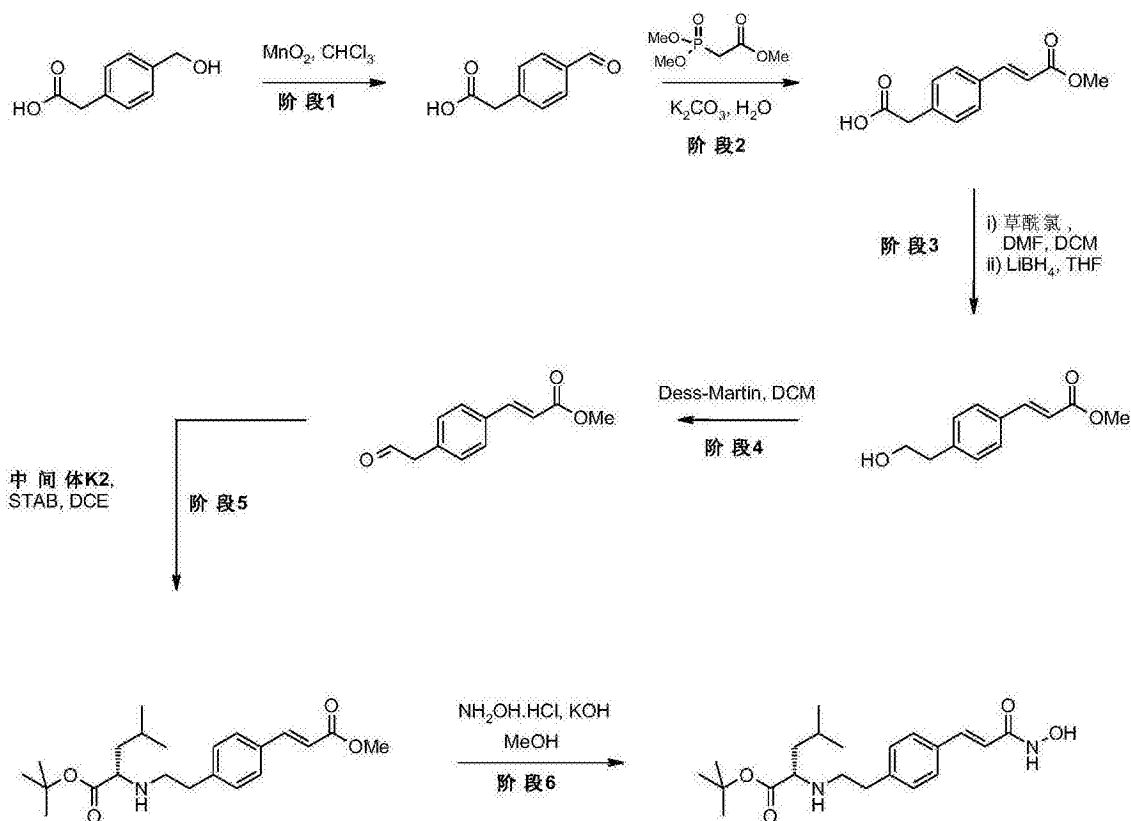
[0477] N-(2-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苯基} 乙基)-L-亮氨酸叔丁酯

[0478]



[0479] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0480]



实施例 87

[0481] 阶段1-制备 (4-甲酰苯基) 乙酸

[0482] 氮气下在 [4-(羟基甲基)苯基] 乙酸 (3g, 18mmol) 的 CHCl_3 (50mL) 溶液中加入二氧化锰 (7.7g, 90mmol) 并将反应混合物在 50°C 搅拌 18 小时。粗物质通过硅藻土垫过滤, 用 DCM (50mL) 洗涤并减压浓缩以得到所需产物 (1.76g, 59%)。 ^1H NMR (300MHz, d_6 -DMSO) δ : 12.49 (1H, br s), 9.99 (1H, s), 7.89–7.84 (2H, m), 7.50 (2H, d, $J=7.9\text{Hz}$), 3.72 (2H, s)。

[0483] 阶段2-制备 {4-[(1E)-3-甲氧基-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯基} 乙酸

[0484] 0°C 下在阶段1产物 (1.03g, 6.3mmol) 的水 (100mL) 溶液中加入 K_2CO_3 (2.61g, 18.9mmol), 然后加入三甲基磷酰基乙酸酯 (1.23mL, 7.6mmol)。加入历时 10 分钟以防止反应温度上升超过 15°C 。然后将反应混合物室温搅拌 72 小时。加入 1M HCl 溶液直到 pH 约 1。白色沉淀通过过滤分离, 用水 (100mL) 洗涤, 浓缩并在冷冻干燥机干燥以得到所需白色固体状产物 (784mg, 57%)。 ^1H NMR (300MHz, d_6 -DMSO) δ : 12.46 (1H, br s), 7.69–7.63 (2H, m), 7.31 (2H, d, $J=8.1\text{Hz}$), 6.74 (1H, d, $J=16.0\text{Hz}$), 6.63 (1H, d, $J=16.0\text{Hz}$), 3.72 (3H, s), 3.62 (2H, s)。

[0485] 阶段3-制备 (2E)-3-[4-(2-羟基乙基)苯基]丙烯酸甲酯

[0486] 氮气气氛下在阶段2产物 (784mg) 的 DCM (20mL) 溶液中加入草酰氯 (2mL) 和 DMF (3 滴)。将反应物室温搅拌 1 小时。粗物质被减压浓缩。然后在 0°C 下加入无水 THF (10mL), 再加入硼氢化锂的 THF 溶液 (3mL, 2M 的 THF 溶液)。将其搅拌 1 小时, 然后用饱和 NH_4Cl (15mL) 淬灭并用 EtOAc (50mL) 萃取。有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并减压浓缩。粗物质用 Biotage 自动纯化系统纯化以得到纯的产物 (250mg, 34%)。 ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ : 7.70 (1H, d, $J=16.0\text{Hz}$), 7.50 (2H, d, $J=8.3\text{Hz}$), 7.28 (2H, d, $J=8.1\text{Hz}$), 6.44 (1H, d, $J=$

16.0Hz), 3.90 (2H, t, J=6.5Hz), 3.82 (3H, s), 2.91 (2H, t)。

[0487] 阶段4-制备 (2E)-3-[4-(2-氧代乙基) 苄基] 丙烯酸甲酯

[0488] 0℃下在阶段3产物 (200mg, 0.97mmol) 的DCM (10mL) 溶液中加入Dess-Martin氧化剂 (Dess-Martin periodinane) (492mg, 1.16mmol) 并将反应混合物室温搅拌2小时。加入饱和NaHCO₃和连二亚硫酸钠 (sodium dithionite) 溶液的1/1混合物 (5mL) 并剧烈搅拌30分钟以淬灭反应。混合物用DCM (2x10mL) 萃取并用盐水 (10mL) 洗涤。将有机物干燥 (MgSO₄) 并减压浓缩以得到所需产物 (198mg, 定量)。m/z=205 [M+H]⁺。

[0489] 阶段5-制备N-(2-{4-[(1E)-3-甲氧基-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基} 乙基)-L-亮氨酸叔丁酯

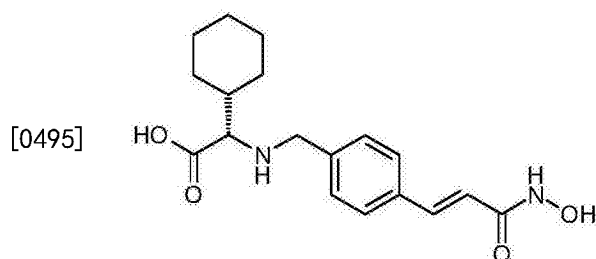
[0490] 在阶段4产物 (88mg, 0.43mmol) 的DCE (3mL) 溶液中加入中间体K2 (81mg, 0.43mmol), 然后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (109mg, 0.51mmol) 并将反应混合物在氮气气氛下室温搅拌72小时。加入DCM (10mL) 和水 (10mL)。将有机层分离, 用饱和NaHCO₃ (15mL) 和盐水 (15mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并减压浓缩以得到所需产物 (162mg, 定量)。该物质无需进一步纯化便可用于下一步骤。m/z=376 [M+H]⁺。

[0491] 阶段6-制备N-(2-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基} 乙基)-L-亮氨酸叔丁酯 (实施例87)

[0492] 在阶段5粗产物 (162mg, 0.43mmol) 的MeOH (2mL) 溶液中加入羟胺盐酸盐 (120mg, 1.72mmol) 并将反应混合物冷却至-5℃。制备KOH (193mg, 3.44mmol) 的水 (0.5mL) 溶液, 冷却并缓慢加入反应混合物。在-5℃搅拌30分钟后反应结束。加入1M HCl溶液来中和pH。粗物质通过制备型HPLC纯化以得到所需产物 (16mg, 9%)。LCMS纯度96%, m/z=377 [M+H]⁺。

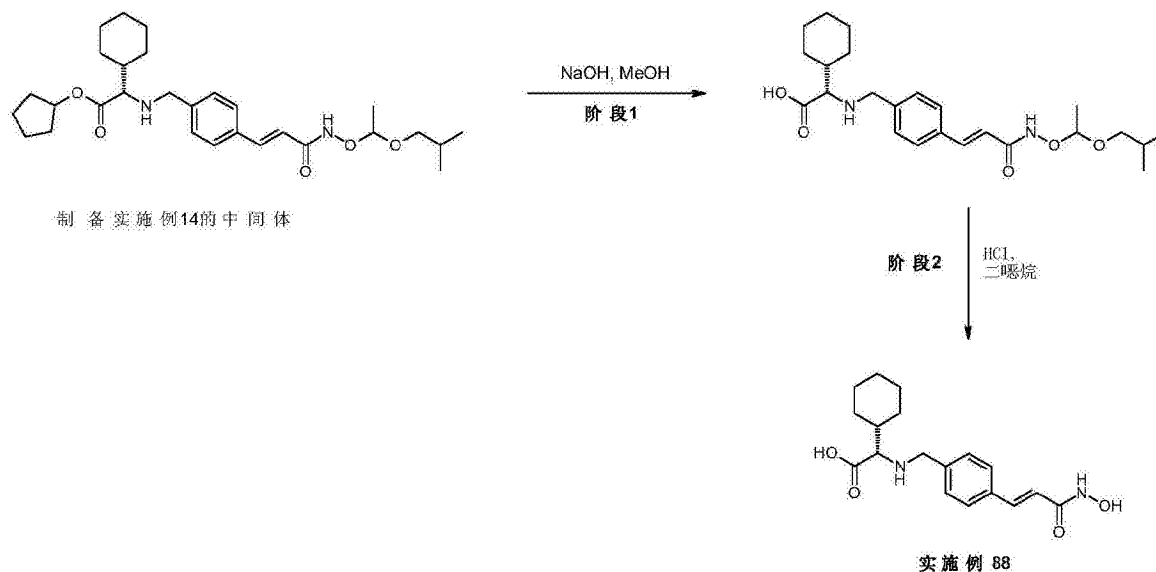
[0493] 实施例88:

[0494] (2S)-环己基({4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基} 氨基) 乙酸



[0496] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0497]



[0498] 阶段1-制备 (2S)-环己基 [4-[(1E)-3-[(1S)-1-异丁氧基乙氧基]氨基]-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基) 氨基] 乙酸

[0499] 将1N NaOH_{aq} (3mL) 加入 (2S)-环己基 [4-[(1E)-3-[(1S)-1-异丁氧基乙氧基]氨基]-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基) 氨基] 乙酸环戊酯 (按照实施例14的描述制备-0.3g, 0.6mmol) 的 MeOH (5mL) 溶液并在45℃搅拌4天。在真空下除去MeOH, 残余物用EtOAc (10mL) 洗涤。水相用饱和柠檬酸溶液酸化至pH约2, 用EtOAc (2x10mL) 萃取, 将有机相干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩以得到黄色油状产物 (0.14g, 53%)。m/z = 433 [M+H]⁺。

[0500] 阶段2-制备 (2S)-环己基 (4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基] 苄基) 氨基] 乙酸 (实施例88)

[0501] 将4N HCl的二噁烷溶液 (0.18mL, 0.72mmol) 加入阶段1产物 (0.14g, 0.32mmol) 的 DCM溶液并将反应物搅拌5分钟。然后将反应物在真空下浓缩至干以得到黄色固体。通过制备型HPLC纯化得到所需乳白色固体状产物 (4mg, 2%)。¹HNMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 10.80 (1H, s), 9.08 (1H, m), 7.73 (2H, d, J = 7.8Hz), 7.52-7.45 (3H, m), 6.50 (1H, d, J = 16.2Hz), 4.16 (2H, m), 3.70 (1H, m), 1.91 (1H, m), 1.81-1.50 (5H, m), 1.32-0.86 (5H, m)。

[0502] 以下实施例采用相同方法制备:

[0503]

实施例	化学名	获得中间体的实施例编号	分析数据
89	<i>N</i> -{4-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-L-亮氨酸	15	LCMS 纯度 97%, $m/z = 307$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.79-7.44(5H, m), 6.55(1H, d, $J=15.9$ Hz), 4.28(2H, s), 4.00(1H, m), 1.96-1.65(3H, m), 1.00(6H, m)。
90	<i>O</i> -叔丁基- <i>N</i> -{4-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-L-丝氨酸	16	LCMS 纯度 100%, $m/z = 337$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.77-7.50(5H, m), 6.55(1H, d, $J=15.9$ Hz), 4.32(1H, s), 3.88(2H, s), 1.31(2H, s), 1.25(9H, s)。
91	(2 <i>S</i>)-({4-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)(苯基)乙酸	17	LCMS 纯度 >95%, $m/z = 327$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.75-7.41(10H, m), 6.55(1H, d, $J=15.6$ Hz), 5.10(1H, s), 4.21(2H, q)。
92	<i>N</i> -{4-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-D-亮氨酸	18	LCMS 纯度 100%, $m/z = 307$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.76-7.48(5H, m), 6.54(1H, d, $J=15.6$ Hz), 4.16(2H, m), 3.62(1H, m), 1.91-0.74(9H, m)。
93	(2 <i>R</i>)-环己基({4-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)乙酸	19	LCMS 纯度 100%, $m/z = 333$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.78-7.43(5H, m), 6.54(1H, d, $J=15.9$ Hz), 4.24(2H, m), 3.57(1H, m), 2.03-1.01(11H, m)。
94	<i>O</i> -叔丁基- <i>N</i> -{4-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}-D-丝氨酸	20	LCMS 纯度 100%, $m/z = 337$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.72-7.51(5H, m), 6.55(1H, d, $J=15.6$ Hz), 4.33(2H, s), 4.12(1H, m), 3.93(2H, m), 1.25(9H, s)。
95	(2 <i>R</i>)-({4-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)(苯基)乙酸	22	LCMS 纯度 100%, $m/z = 327$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.75-7.34(10H, m), 6.54(1H, d, $J=15.9$ Hz), 4.53(1H, s), 4.18(2H, q)。
96	(2 <i>S</i>)-环己基({4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)乙酸	33	LCMS 纯度 100%, $m/z = 335$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.45-7.22(4H, m), 4.12(2H, q), 2.95(2H, t), 2.39(2H, t), 1.91-1.04(11H, m)。
97	<i>N</i> -{4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}-L-亮氨酸	34	LCMS 纯度 100%, $m/z = 309$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.50-7.15(4H, m), 4.57(1H, s), 4.12(2H, q), 2.94(2H, t), 2.39(2H, t), 1.80(2H, m), 1.59(1H, m), 0.93(6H, dd)。
98	(2 <i>S</i>)-({4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}氨基)(苯基)乙酸	39	LCMS 纯度 90%, $m/z = 329$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.38(1H, s), 9.83(1H, br s), 8.72(1H, br s), 7.6-7.4(5H, m), 7.29(4H, dd), 5.09(1H, s), 4.00(2H, dd), 2.84(2H, t), 2.27(2H, t)。

[0504]

实施例	化学名	获得中间体的实施例编号	分析数据
99	<i>N</i> -{4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}- <i>L</i> -缬氨酸	42	LCMS 纯度 90%, $m/z = 295$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.46-7.39(2H, m), 7.38-7.30(2H, m), 4.23(2H, d, $J=9.6$ Hz), 3.81(1H, d, $J=3.6$ Hz), 2.97(2H, t, $J=7.4$ Hz), 2.41(2H, t, $J=7.5$ Hz), 2.36-2.27(1H, m), 1.18-1.10(3H, m), 1.08-1.00(3H, m)。
100	<i>N</i> -{4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基}-3-甲基- <i>L</i> -缬氨酸	43	LCMS 纯度 90%, $m/z = 309$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.49-7.28(4H, m), 4.32(1H, d, $J=13.6$ Hz), 4.13(1H, d, $J=13.6$ Hz), 3.40(1H, s), 2.98(2H, t, $J=7.5$ Hz), 2.41(2H, t, $J=7.5$ Hz), 1.08(9H, s)。
101	(2 <i>S</i>)-环己基[(6-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸	53	LCMS 纯度 100%, $m/z = 334$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.65(1H, s), 7.93(1H, m), 7.60(2H, m), 6.92(1H, d, $J=15.6$ Hz), 4.02(2H, q), 1.90-1.09(11H, m)。
102	<i>N</i> -{(6-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]吡啶-3-基}甲基)- <i>L</i> -亮氨酸	54	LCMS 纯度 >95%, $m/z = 308$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.65(1H, s), 7.93(1H, dd), 7.59(2H, dd), 6.91(1H, d, $J=15.6$ Hz), 4.54(1H, s), 4.02(2H, q), 1.97-1.19(3H, m), 0.95(6H, dd)。
103	(2 <i>S</i>)-环己基[(6-[(3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-3-基}甲基)氨基]乙酸	62	LCMS 纯度 95%, $m/z = 336$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.72(1H, d, $J=2.1$ Hz), 8.19(1H, dd, $J=8.2, 2.2$ Hz), 7.70(1H, d, $J=8.1$ Hz), 4.37(2H, s), 3.94(1H, d), 3.22(2H, t, $J=7.2$ Hz), 2.85(2H, t, $J=7.2$ Hz), 2.07-1.96(1H, m), 1.88-1.80(4H, m), 1.75-1.69(1H, m), 1.47-1.17(5H, m)。
104	(2 <i>S</i>)-环己基[(5-[(3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-2-基}甲基)氨基]乙酸	70	LCMS 纯度 98%, $m/z = 336$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ : 10.39(1H, br s), 8.49(1H, s), 7.72(1H, dd, $J=2.2, 8.0$ Hz), 7.44(1H, d, $J=8.0$ Hz), 4.30(2H, s), 3.82(1H, d, $J=3.3$ Hz), 2.87(2H, t, $J=7.3$ Hz), 2.31(2H, t, $J=7.3$ Hz), 1.57-2.04(6H, m), 0.92-1.38(5H, m)。
105	(2 <i>S</i>)-环己基[(4-[(3-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}氨基)甲基]环己基}甲基)氨基]乙酸	79	LCMS 纯度 97%, $m/z = 458$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.78-7.47(5H, m), 6.57(1H, m), 4.26(2H, s), 3.59(1H, s), 3.04-2.75(4H, m), 2.06-0.78(19H, m)。
106	(2 <i>S</i>)-环己基[(1-{4-[(1 <i>E</i>)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}哌啶-4-基)氨基]乙酸	80	LCMS 纯度 98%, $m/z = 416$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.67(2H, d, $J=7.5$ Hz), 7.60(1H, obs d), 7.57(2H, d, $J=7.0$ Hz), 6.56(1H, d, $J=15.6$ Hz), 4.35(2H, s), 3.94(1H, d, $J=3.1$ Hz), 3.40-3.65(3H, m), 3.12(2H, br m), 2.39(2H, t, $J=15.4$ Hz), 1.90-2.22(3H, m), 1.60-1.80(5H, m), 1.05-1.50(5H, m)。

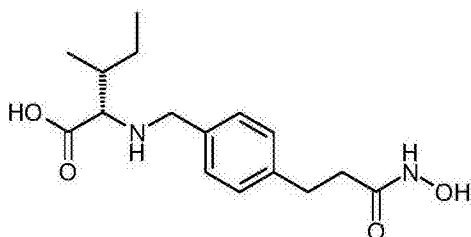
[0505]

实施例	化学名	获得中间体的实施例编号	分析数据
107	(2S)-{[(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}哌啶-4-基)甲基]氨基}(苯基)乙酸	82	LCMS 纯度 98%, $m/z = 424$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.68(2H, d, $J=7.8$ Hz), 7.46-7.64(8H, m), 6.58(1H, d, $J=16.0$ Hz), 5.02(1H, s), 4.35(2H, s), 3.44-3.55(2H, m), 2.80-3.15(3H, m), 2.00-2.25(3H, m), 1.47-1.65(2H, m)。
108	(2S)-环己基[(1-{4-[(1E)-3-(羟氨基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苄基}乙基)氨基]乙酸	84	LCMS 纯度 92%, $m/z = 347$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.69(2H, d, $J=7.8$ Hz), 7.61(1H, d, $J=15.9$ Hz), 7.52-7.37(2H, m), 6.55(1H, d, $J=15.6$ Hz), 4.52-4.50(1H, m), 3.26-3.23(1H, m), 1.76(3H, d, $J=6.6$ Hz), 1.60-1.43(4H, m), 1.38-0.92(6H, m)。

[0506] 实施例109:

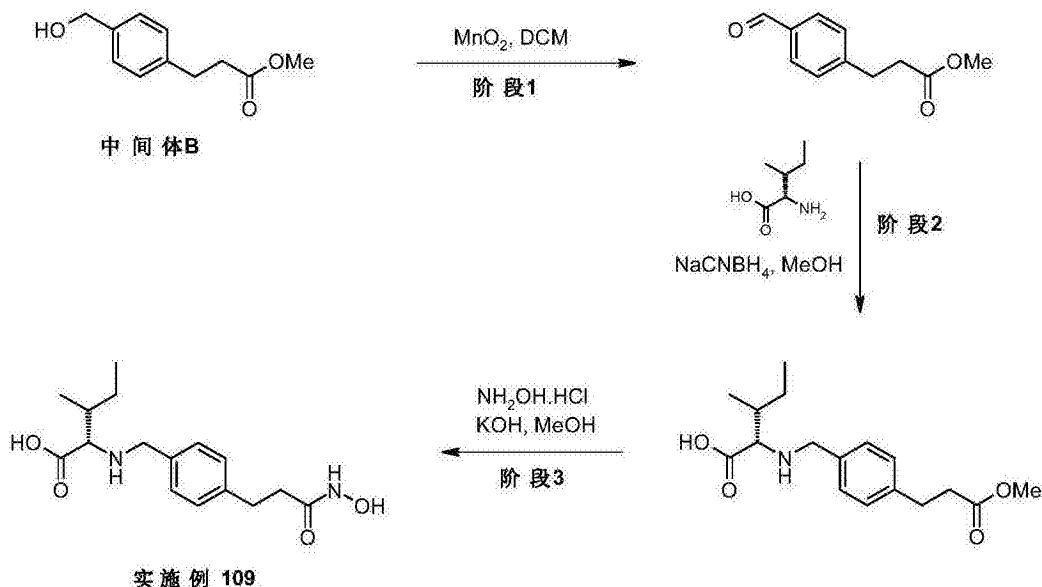
[0507] N- {4- [3-(羟氨基)-3-氧代丙基] 苄基} -L-异亮氨酸

[0508]



[0509] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0510]



[0511] 阶段1-制备3-(4-甲酰苯基) 丙酸甲酯

[0512] 在中间体B (300mg, 1.54mmol) 的DCM (25mL) 溶液中加入二氧化锰 (2.98g, 34mmol) 。将混合物搅拌15分钟, 然后通过硅藻土过滤并用额外的DCM (100mL) 洗涤。将滤液浓缩以得到所需产物。该产物无需进一步纯化或表征便可直接用于下一阶段。

[0513] 阶段2-制备N- {4- [(1E)-3-甲氧基-3-氧代丙基] 苄基} -L-异亮氨酸

[0514] 在阶段1产物 (150mg, 0.78mmol) 的无水MeOH (5mL) 溶液中加入L-异亮氨酸 (103mg,

0.78mmol) 和氰基硼氢化钠 (49mg, 0.78mmol)。所得混合物室温搅拌过夜。通过浓缩除去溶剂, 并将残余物在 DCM (20mL) 和水 (20mL) 之间分配。有机层用水 (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并减压浓缩以得到所需无色油状产物 (140mg, 58%)。m/z = 308 [M+H]⁺; ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ: 7.42–7.35 (1H, m), 7.28 (2H, d, J = 7.7Hz), 7.22–7.16 (1H, m), 4.57 (1H, s), 3.64 (3H, s), 3.33 (1H, dt, J = 3.3, 1.6Hz), 2.92 (2H, t, J = 7.5Hz), 2.64 (2H, t, J = 3.8Hz), 2.17 (2H, s), 1.41–1.27 (2H, m), 0.97 (3H, d, J = 6.6Hz), 0.91 (3H, t, J = 7.3Hz)。

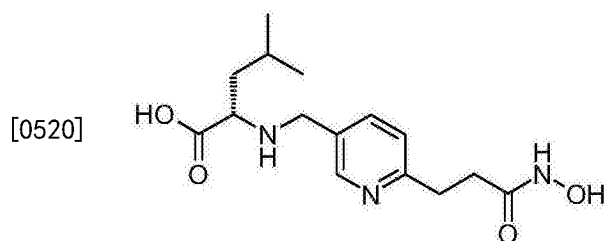
[0515] 阶段3-制备N-(4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基)-L-异亮氨酸(实施例109)

[0516] -5℃下在阶段2产物 (110mg, 0.36mmol) 的 MeOH (1mL) 溶液中加入羟胺盐酸盐。将 KOH 溶于最少量的水, 冷却并加入上述溶液。所得混合物在 -5℃ 搅拌 70 分钟。加入 1M HCl 溶液将 pH 调至 7。然后将溶液浓缩至干, 加入 MeOH 并过滤悬浮液以除去过量的盐。滤液通过制备型 HPLC 纯化以得到白色固体状标题化合物 (31mg, 28%)。

[0517] LCMS 纯度 93%, m/z = 309 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ: 7.46–7.32 (4H, m), 4.22 (2H, s), 3.86 (1H, d, J = 3.2Hz), 2.97 (2H, t, J = 7.5Hz), 2.41 (2H, t, J = 7.5Hz), 2.04–1.97 (1H, m), 1.52 (9H, s), 1.65–1.38 (2H, m), 1.03–0.98 (6H, m)。

[0518] 实施例110:

[0519] N-(6-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-3-基)甲基)-L-亮氨酸



[0521] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0522]



中间体来自实施例66

实施例 110

[0523] 阶段1-制备N-(6-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]吡啶-3-基)甲基)-L-亮氨酸(实施例110)

[0524] 实施例66的中间体 (50mg, 0.1mmol) 用 25% TFA 的 DCM 溶液 (3mL) 处理并室温搅拌 3 小时。在真空下除去溶剂, 使 TFA 与甲苯 (3x25mL) 共沸以得到白色固体状标题化合物 (30mg, 定量)。LCMS 纯度 80%, m/z = 310 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ: 8.64 (1H, d, J = 0.8Hz), 7.98 (1H, dd, J = 8.1, 2.4Hz), 7.51 (1H, d, J = 7.9Hz), 4.32 (2H, s), 4.04 (1H, dd, J = 8.6, 5.2Hz), 3.17 (2H, t, J = 7.3Hz), 2.57 (2H, t, J = 7.4Hz), 1.95–1.82 (2H, m), 1.81–1.69 (1H, m), 1.04 (3H, d, J = 6.2Hz), 1.02 (3H, d, J = 6.2Hz)。

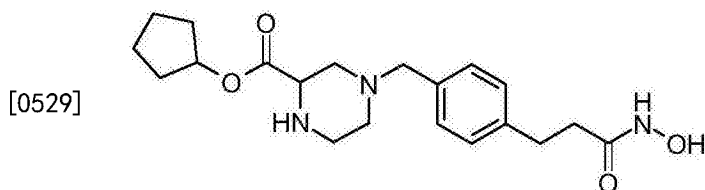
[0525] 以下实施例采用相同方法制备:

[0526]

实施例	化学名称	获得中间体的实施例编号	分析数据
111	<i>N</i> -(5-[3-(羟基)-3-氧代丙基]吡啶-2-基甲基)-L-亮氨酸	71	LCMS 纯度 98%, $m/z = 311$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 8.53(1H, s), 7.76(1H, d, $J=7.9$ Hz), 7.41(1H, d, $J=7.9$ Hz), 4.41(2H, s), 4.07(1H, t, $J=5.8$ Hz), 3.00(2H, t, $J=7.3$ Hz), 2.44(2H, t, $J=7.4$ Hz), 1.74-1.99(3H, m), 1.02(3H, d, $J=6.0$ Hz), 1.01 Hz(3H, d, $J=6.0$ Hz)。
112	<i>N</i> -(1-{4-[(1 <i>E</i>)-3-(羟基)-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯基}乙基)-L-亮氨酸	85	LCMS 纯度 100%, $m/z = 321$ $[M+H]^+$, 1H NMR(300MHz, CD_3OD) δ : 7.71(2H, d, $J=8.1$ Hz), 7.61(1H, d, $J=15.8$ Hz), 7.53(2H, d, $J=8.3$ Hz), 6.57(1H, d, $J=15.8$ Hz), 4.55(1H, q, $J=6.7$ Hz), 3.44(1H, d), 2.02(1H, d, $J=8.7$ Hz), 2.03-2.00(1H, m), 1.75(3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.71-1.60(2H, m), 1.26(1H, t, $J=7.2$ Hz), 0.87(3H, d, $J=6.2$ Hz), 0.84(3H, d, $J=6.2$ Hz)。

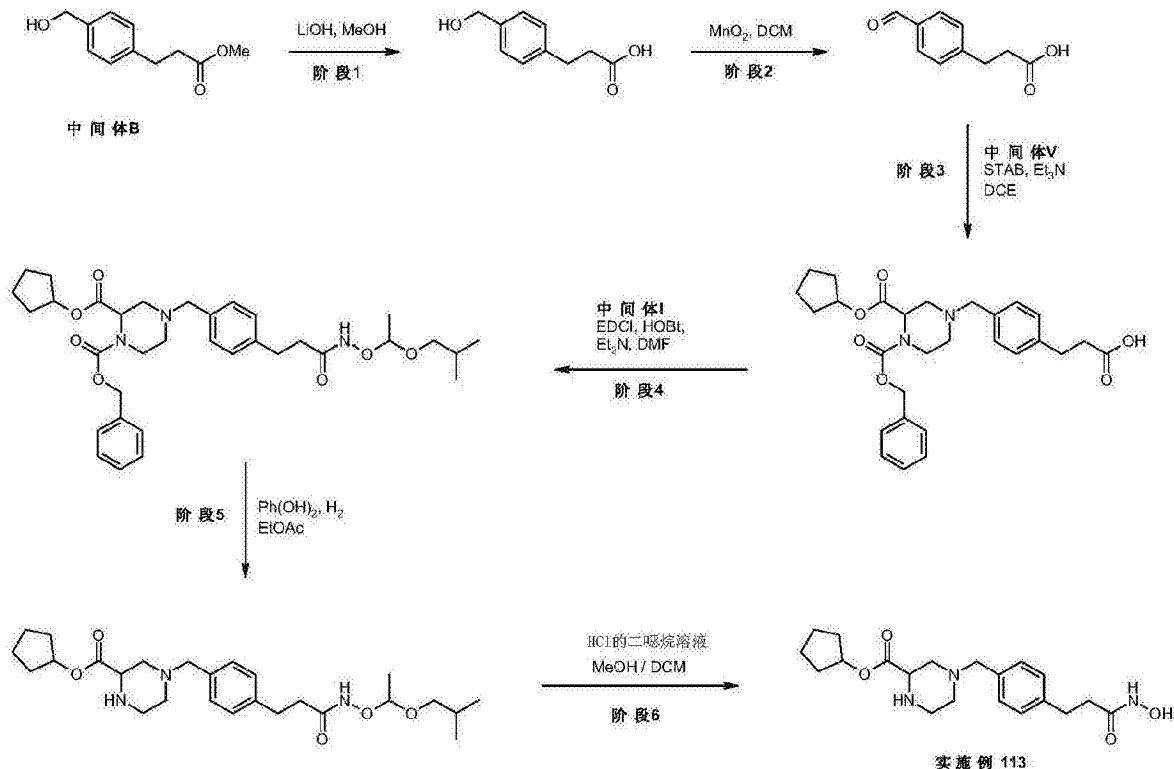
[0527] 实施例113:

[0528] 4-{4-[3-(羟基)-3-氧代丙基]苄基}哌嗪-2-羧酸环戊酯



[0530] 标题化合物是通过以下方法制备的:

[0531]



[0532] 阶段1-制备3-[4-(羟基甲基)苯基]丙酸

[0533] 将中间体B (5g, 25.7mmol) 溶于MeOH (50mL) 和水 (10mL)。加入LiOH (1.85g, 77.2mmol) 并将反应物室温搅拌18小时。反应混合物用1M HCl酸化至pH约3, 所得沉淀通过过滤分离以得到所需产物 (4.57g, 定量)。¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 7.18 (4H, q), 4.45 (2H, d), 2.81 (2H, t), 2.62 (2H, t)。

[0534] 阶段2-制备3-(4-甲酰苯基)丙酸

[0535] 将阶段1产物 (2g, 11mmol) 溶于无水DCM (100mL) 并用MnO₂ (10g, 115mmol) 处理。反应物在35℃搅拌18小时。所得悬浮液通过硅藻土过滤并将滤液减压浓缩以得到白色固体状标题化合物 (1.64g, 84%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 10.00 (1H, s), 7.84 (2H, d, J=8.7Hz), 7.41 (2H, d, J=8.7Hz), 3.08 (2H, t, J=7.6Hz), 2.25 (2H, t, J=7.6Hz)。

[0536] 阶段3-制备3-[4-({4-[(苄氧基)羰基]-3-[(环戊氧基)羰基]哌嗪-1-基}甲基)苯基]丙酸

[0537] 将阶段2产物 (137mg, 0.77mmol)、中间体V (256mg, 0.69mmol)、STAB (196mg, 0.92mmol) 和Et₃N (104μL, 0.77mmol) 加入无水DCE (4mL) 并室温搅拌18小时。反应混合物在DCM (50mL) 和水 (50mL) 之间分配。有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并减压浓缩以得到所需产物 (341mg, 90%)。m/z=495 [M+H]⁺。

[0538] 阶段4-制备1-苄基2-环戊基4-(4-{3-[(1-异丁氧基乙氧基)氨基]-3-氧代丙基}苄基)哌嗪-1,2-二羧酸酯

[0539] 在阶段3产物 (341mg, 0.69mmol) 的DMF (5mL) 溶液中加入EDCI (159mg, 0.83mmol)、HOBt (112mg, 0.83mmol)、Et₃N (480μL, 3.45mmol) 和中间体I (477μL, 3.45mmol)。反应物室温搅拌18h, 然后加热至50℃并再加热3小时。反应混合物然后用DCM (50mL) 稀释并用饱和NaHCO₃ (50mL) 和盐水 (50mL) 洗涤。将有机层干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩。所得残余物通过柱层析纯化 (庚烷/EtOAc 6:1) 以得到白色固体状标题化合物 (300mg, 72%)。m/z=610 [M+H]⁺。

[0540] 阶段5-制备4-(4-{3-[(1-异丁氧基乙氧基)氨基]-3-氧代丙基}苄基)哌嗪-2-羧酸环戊酯

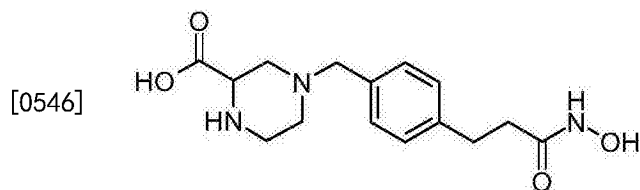
[0541] 将阶段4产物 (150mg, 0.24mmol) 溶于EtOAc (25mL) 并将溶液脱气。加入Pd(OH)₂ (50mg, 0.35mmol) 并将反应物在氮气气氛下搅拌1小时。通过硅藻土过滤除去催化剂并减压除去溶剂以得到所需产物。该产物无需进一步纯化或表征便可用于下一阶段。

[0542] 阶段6-制备4-{4-[3-(羟基氨基)-3-氧代丙基]苄基}哌嗪-2-羧酸环戊酯 (实施例113)

[0543] 将阶段5粗产物 (~0.24mmol) 溶于DCM (5mL) 和MeOH (1mL)。加入4M HCl的二噁烷溶液 (125μL, 0.25mmol) 并将反应物在氮气气氛下室温搅拌1小时。然后减压浓缩反应混合物并通过制备型HPLC纯化残余物以得到标题化合物 (11mg, 12% (两个步骤))。LCMS纯度99%, m/z=376 [M+H]⁺, ¹H NMR (300MHz, d₆-DMSO) δ: 10.39 (1H, br s), 9.22 (1H, br s), 7.26-7.14 (4H, m), 7.20 (2H, d, J=2.6Hz), 5.23-5.15 (1H, m), 4.34-4.28 (1H, m), 3.68 (1H, d, J=14.0Hz), 3.52 (1H, d, J=14.0Hz), 3.35-3.23 (1H, m), 3.12-3.01 (1H, m), 2.96-2.89 (1H, m), 2.80 (2H, t, J=7.7Hz), 2.75-2.62 (2H, m), 2.60-2.54 (1H, m), 2.48-2.41 (1H, m), 2.25 (2H, t, J=7.6Hz), 1.89-1.78 (2H, m), 1.68-1.48 (6H, m)。

[0544] 实施例114:

[0545] 4-[4-[3-(羟氨基)-3-氧代丙基]苄基]哌嗪-2-羧酸



[0547] 标题化合物通过用来制造实施例88的相同方法从实施例113制备。

[0548] LCMS纯度95%, $m/z = 308 [M+H]^+$, 1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ : 5.94 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 5.79 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 3.03 (1H, dd, $J = 11.1, 3.6$ Hz), 2.85-2.72 (2H, m), 2.31 (1H, d, $J = 11.9$ Hz), 2.16-2.09 (1H, m), 2.02-1.94 (2H, m), 1.85-1.79 (1H, m), 1.70-1.62 (1H, m), 1.40 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 0.84 (2H, t, $J = 7.5$ Hz)。

[0549] 测量生物学活性

[0550] 组蛋白脱乙酰基酶活性

[0551] 用购自Biomol的HDAC荧光活性试验测量化合物抑制组蛋白脱乙酰基酶活性的能力。简言之,在存在或不存在抑制剂时将Fluor de LysTM底物(一种 ϵ -氨基被乙酰化的赖氨酸)与具有组蛋白脱乙酰基酶活性的原料(HeLa细胞核提取物)一起孵育。底物的脱乙酰化使底物对Fluor de LysTM显影剂敏感从而产生荧光。因此,将底物与具有HDAC活性的原料一起孵育导致信号增强,而当存在HDAC抑制剂时信号减弱。

[0552] 数据表达为占不存在抑制剂时测得的对照的百分比,所有样品要减去背景信号,如下所示:

[0553] $\% \text{活性} = [(S^i - B) / (S^o - B)] \times 100$

[0554] 其中, S^i 是存在底物、酶和抑制剂时的信号, S^o 是存在底物、酶和抑制剂溶解于其中的载体时的信号,而B是不存在酶时测得的背景信号。

[0555] 确定 IC_{50} 值时采用Graphpad Prism软件,将8个数据点的结果拟合到具有可变斜率的S形剂量反应曲线方程(%活性与化合物浓度的对数),然后通过非线性回归分析确定 IC_{50} 值。

[0556] 利用来自于HeLa细胞粗制核提取物的组蛋白脱乙酰基酶活性进行筛选。购自4C (Seneffe,比利时)的制品是从收获自指数生长期的HeLa细胞制备的。按照J.D.Dignam, Nucl. Acid. Res., 1983, 11, 1475-1489描述的方法制备核提取物,在液氮中急冻并储存于-80°C。最终的缓冲液组成为20mM Hepes、100mM KCl、0.2mM EDTA、0.5mM DTT、0.2mM PMSF和20% (v/v) 甘油。

[0557] IC_{50} 结果被归入3个范围之一,如下:

[0558] 范围A: $IC_{50} < 100$ nM,

[0559] 范围B: IC_{50} 从101nM到1000nM;

[0560] 范围C: $IC_{50} > 1001$ nM;

[0561] nt = 未检测。

[0562] U937和HUT细胞抑制试验

[0563] 收获生长在对数期的癌细胞系(U937和HUT)并以1000-2000个细胞/孔(最终体积为100 μ l)接种到96孔组织培养板上。细胞生长24小时后用化合物处理细胞。然后再将平板孵育72-96小时,之后按照供应商(罗氏应用科学Roche Applied Science)的说明进行WST-

1细胞存活试验。

[0564] 数据表达为不存在抑制剂时测得的对照的抑制百分数,如下所示:

[0565] $\%抑制 = 100 - [(S^i/S^o) \times 100]$

[0566] 其中, S^i 是存在抑制剂时的信号, S^o 是存在DMSO时的信号。

[0567] 采用6复孔(replicate)由8个浓度(最高终浓度10 μ M,3倍稀释)生成剂量反应曲线。

[0568] 确定IC₅₀值时采用Graphpad Prism软件,将结果拟合到具有可变斜率的S形剂量反应曲线方程(%活性与化合物浓度的对数),然后通过非线性回归分析确定IC₅₀值。

[0569] IC₅₀结果被归入3个范围之一,如下:

[0570] 范围A: IC₅₀<330nM,

[0571] 范围B: IC₅₀从331nM到3300nM;

[0572] 范围C: IC₅₀>3301nM;

[0573] nt=未检测。

[0574] HeLa细胞抑制试验

[0575] 收获生长在对数期的HeLa细胞并以1000个细胞/孔(最终体积为200 μ l)接种到96孔组织培养板上。细胞生长24小时后用化合物(最终浓度为20 μ M)处理细胞。然后再将平板孵育72小时,之后按照Skehan等,J.Natl.Canc.Inst.,1990,82,1107-1112进行磺基罗丹明B(SRB)细胞存活试验。

[0576] 数据表达为不存在抑制剂时测得的对照的抑制百分数,如下所示:

[0577] $\%抑制 = 100 - [(S^i/S^o) \times 100]$

[0578] 其中, S^i 是存在抑制剂时的信号, S^o 是存在DMSO时的信号。

[0579] 确定IC₅₀值时采用Graphpad Prism软件,将8个数据点的结果拟合到具有可变斜率的S形剂量反应曲线方程(%活性与化合物浓度的对数),然后通过非线性回归分析确定IC₅₀值。

[0580] IC₅₀结果被归入3个范围之一,如下:

[0581] 范围A: IC₅₀<330nM,

[0582] 范围B: IC₅₀从331nM到3300nM;

[0583] 范围C: IC₅₀>3301nM;

[0584] nt=未检测。

[0585] 结果表格:

[0586]

实施例	HDAC活性	U937活性	HUT活性	HeLa活性
1	B	C	C	C
2	A	B	B	B
3	A	B	B	B
4	A	B	B	B
5	A	B	B	B
6	B	B	B	C
7	B	B	B	C

8	B	B	B	B
9	C	C	C	C
10	B	B	B	B
11	B	B	B	C
12	B	B	B	C
13	C	C	B	C
14	A	A	A	B
15	A	A	A	B
16	B	B	B	C
17	B	A	B	C
18	B	B	B	C
19	B	B	C	C
20	B	A	B	C
21	A	A	A	B
22	B	B	B	nt
23	B	A	B	nt
24	A	A	A	nt
25	A	A	B	B

[0587]

实施例	HDAC活性	U937活性	HUT活性	HeLa活性
26	B	A	B	B
27	B	A	B	B
28	B	A	B	B
29	B	B	B	B
30	B	A	A	nt
31	A	A	B	nt
32	A	B	B	nt
33	B	A	B	nt
34	B	A	A	nt
35	C	A	B	C
36	B	A	A	B
37	B	A	A	B
38	B	B	C	C
39	B	A	B	nt
40	A	B	B	nt
41	B	A	B	nt
42	C	A	B	nt
43	C	B	B	nt
44	B	B	B	nt

45	C	A	B	nt
46	C	C	C	nt
47	C	C	B	nt
48	C	B	B	nt
49	C	C	C	nt
50	B	B	B	nt
51	C	C	C	nt
52	C	B	C	nt
53	A	A	A	nt
54	A	A	B	nt
55	A	A	A	B
56	A	A	A	B
57	A	A	A	C
58	A	A	A	B
59	A	A	A	nt
60	A	A	A	nt
61	A	A	A	nt
62	A	A	A	nt
63	A	A	A	nt
64	B	B	B	nt
65	B	A	B	nt
66	A	A	B	nt
67	B	A	B	nt
68	A	A	B	nt
69	B	B	B	nt
70	B	A	B	nt
71	C	B	B	nt
72	B	B	B	nt
73	B	B	B	B
74	B	A	B	C
75	B	A	A	B

[0588]

实施例	HDAC活性	U937活性	HUT活性	HeLa活性
76	A	A	A	nt
77	B	A	B	nt
78	B	A	B	nt
79	C	B	B	B
80	B	A	A	B
81	B	A	A	B

82	A	B	B	B
83	B	B	A	B
84	C	C	C	nt
85	A	A	A	nt
86	B	A	B	nt
87	B	B	B	nt
88	A	nt	nt	nt
89	A	nt	nt	nt
90	B	nt	nt	nt
91	B	nt	nt	nt
92	B	nt	nt	nt
93	B	nt	nt	nt
94	B	nt	nt	nt
95	B	nt	nt	nt
96	B	nt	nt	nt
97	A	nt	nt	nt
98	C	nt	nt	nt
99	C	nt	nt	nt
100	C	nt	nt	nt
101	A	nt	nt	nt
102	A	nt	nt	nt
103	A	nt	nt	nt
104	B	nt	nt	nt
105	C	nt	nt	nt
106	B	nt	nt	nt
107	C	nt	nt	nt
108	A	nt	nt	nt
109	C	nt	nt	nt
110	B	nt	nt	nt
111	C	nt	nt	nt
112	A	nt	nt	nt
113	B	B	B	nt
114	C	nt	nt	nt

[0589] “nt”表示“到此刻为止未检测到”。

[0590] 巨噬细胞选择性：

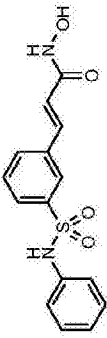
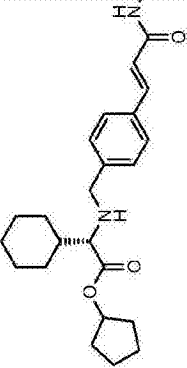
[0591] 表A显示了加入酯酶基序的方法能显著提高巨噬细胞(单核细胞)选择性。

[0592] 实施例14是一种比目前用于II期临床试验的已知HDAC抑制剂伯利诺斯特(belinostat)功效强30倍的单核细胞系U937的抗增殖剂(Glaser KB, Biochem.Pharmacol., 2007, 74, 659-671)。这种巨噬细胞(单核细胞)选择性的产生是由于

对酯的选择性切割,显示为所得到的酸在U937细胞系内累积但不在HUT细胞系内累积。仅U937细胞系表达HCE-1。此外,实施例14在非单核细胞系HUT中的功效可根据其酶活性加以预计,即实施例14和伯利诺斯特具有相同的酶与细胞效力的比率。

[0593]

表 A

化合物	结构	HDAC 抑制 (IC50-nM)	U937 细胞增殖 抑制 (IC50-nM)	U937/酶 之比	6h 时 U937 内的 酸累积 (ng/ml)	HUT78 细胞增殖 抑制 (IC50-nM)	HUT78/酶 之比	6h 时 HUT78 内的 酸累积 (ng/ml)
伯利诺斯 特		13	180	14	-	31	2.4	-
实施例 14		59	5	0.08	27	230	3.8	0

[0594] 破碎细胞羧酸酯酶试验

[0595] 可对任何给定的本发明的化合物 (其中R₁是酯基) 通过以下试验进行检测以确定

它是否能够满足被胞内酯酶水解的要求。

[0596] 制备细胞提取物

[0597] U937或Hut78肿瘤细胞(约 10^9),用4倍体积的Dulbeccos PBS (约1升)洗涤并在4℃以525g离心10分钟使其沉淀。重复两次,然后将最终的细胞沉淀物重悬于35ml冷的匀浆缓冲液(Trizma 10mM、NaCl 130mM、CaCl₂ 0.5mM PH7.0,25℃)。通过氮气气蚀制备匀浆(700psi,50分钟,4℃)。将匀浆保持在冰上并用抑制剂混合物补足以得到以下最终浓度

[0598] 亮肽素 1μM

[0599] 抑肽酶 0.1μM

[0600] E64 8μM

[0601] 胃酶抑素 1.5μM

[0602] 苯丁抑制素 162μM

[0603] 胰凝乳蛋白酶抑制剂 33μM

[0604] 将细胞匀浆在525g离心10分钟以使其澄清,所得上清液被用作酯酶活性来源并可储存于-80℃直至使用。

[0605] 测量酯的切除

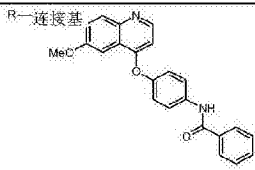
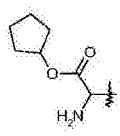
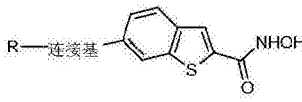
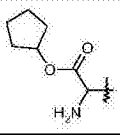
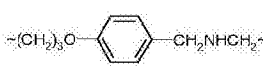
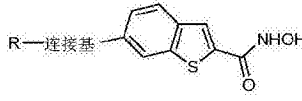
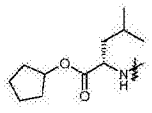
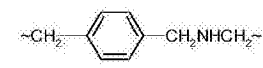
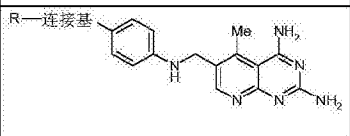
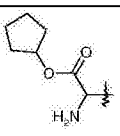
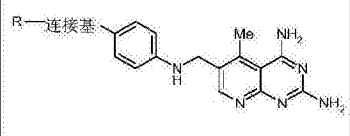
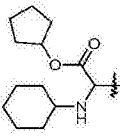
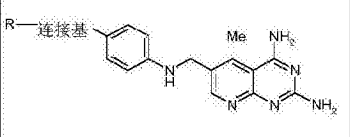
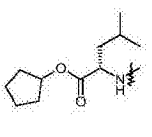
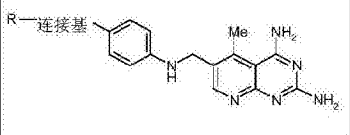
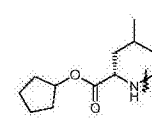
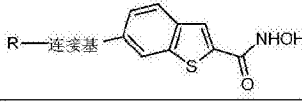
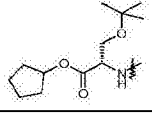
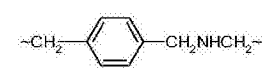
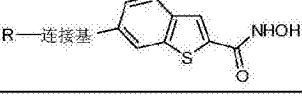
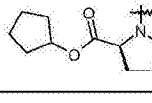
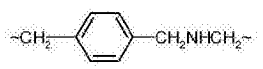
[0606] 用如上制备的这种细胞提取物测量酯变为相应的羧酸的水解作用。为达到这种效果,将细胞提取物(约30ug/0.5ml总测试体积)在Tris-HCl 25mM、125mM NaCl、缓冲液(25℃时PH为7.5)中于37℃孵育。在0时刻加入最终浓度为2.5μM的相应的酯(底物)并将样品在37℃孵育适当时间(通常为0或80分钟)。加入3倍体积的乙腈终止反应。对于0时刻样品,在加入酯化合物之前加入乙腈。12000g离心5分钟后,在室温下通过LCMS(Sciex API3000, HP1100二元泵,CTC PAL)分析样品中的酯及其相应的羧酸。采用的色谱条件基于AceCN(75×2.1mm)柱和流动相,流动相为5-95%乙腈水溶液/0.1%甲酸。

[0607] 水解速率用pg/mL/分钟表示。

[0608] HDAC是胞内酶。下表B列出了数据,这些数据显示了若干通过一些不同连接基化学部分与各种胞内酶抑制剂偶联的氨基酸酯基序都被胞内羧酸酯酶水解成相应的酸。

[0609] 表B

[0610]

氨基酸酯偶联物的结构	R	连接基	U937细胞内的水解速率 范围(pg/mL/min)	氨基酸酯偶联物的制 备
		~CH ₂ CH ₂ O~	100-1000	WO2006117552
		~(CH ₂) ₃ O~ 	1000-50000	WO2006117548
		~CH ₂ ~ 	>50000	WO2006117549
		~CH ₂ CH ₂ O~	>50000	WO2006117567
		~CH ₂ CH ₂ O~	1000-50000	WO2006117567
		~CH ₂ ~	1000-50000	WO2006117567
		~CO~	>50000	WO2006117567
		~CH ₂ ~ 	>50000	WO2006117549
		~CH ₂ ~ 	>50000	WO2006117549