



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 107735087 B

(45) 授权公告日 2021.09.03

(21) 申请号 201680040059.0

(22) 申请日 2016.05.06

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107735087 A

(43) 申请公布日 2018.02.23

(30) 优先权数据
62/158,379 2015.05.07 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.01.05

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/031329 2016.05.06

(87) PCT国际申请的公布数据
W02016/179550 EN 2016.11.10

(73) 专利权人 CHDI基金会股份有限公司
地址 美国纽约州

(72) 发明人 C·多明格斯 M·C·梅拉德

P·布萊斯亞 A·F·豪根

R·E·贾维斯 C·A·卢克赫斯特

E·A·萨维尔-斯冬斯

A·J·斯多特 A·范德波尔

M·沃尔 G·威沙特

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51) Int.Cl.

A61K 31/42 (2006.01)

A61K 31/425 (2006.01)

A61K 31/41 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 103764635 A, 2014.04.30

WO 2013008162 A1, 2013.01.17

CN 101115742 A, 2008.01.30

审查员 肖愿

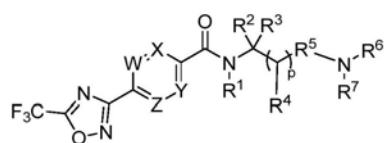
权利要求书6页 说明书48页

(54) 发明名称

组蛋白脱乙酰酶抑制剂及其组合物和使用
方法

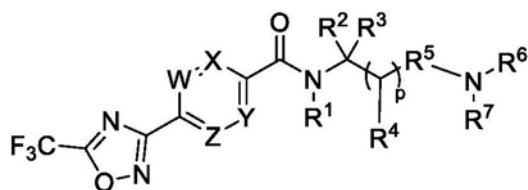
(57) 摘要

提供的是某些式I的组蛋白脱乙酰酶 (HDAC)
抑制剂、其组合物及其使用方法。



式(I)

1. 式I的化合物:



式 I

或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物;

其中:

R^1 选自:H和 C_1 - C_3 烷基;

p 是0;和 R^2 和 R^3 与它们所连接的碳一起形成任选地被1或2个 C_1 - C_2 烷基、 C_1 - C_2 卤代烷基或卤素取代的环丙基;或

p 是1; R^2 是H;和 R^3 和 R^4 与它们各自连接的碳原子一起形成环丙基,其中所述环丙基任选地被1或2个卤素基团取代;

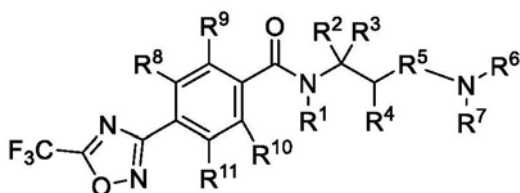
R^5 是 C_0 - C_3 亚烷基;

R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成5、6或7-元杂单环基团,或6、7、8、9或10-元杂双环基团,其各自任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代: C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷氧基、 C_1 - C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、 C_6 - C_{12} 芳基、氰基、卤素和具有一个或多个选自N、O和S的杂原子的5至10-元杂芳基,其中 C_6 - C_{12} 芳基、3或4-元环烷基和5至10-元杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1 - C_3 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷基、氰基和卤素;

W是 CR^8 ;X是 CR^9 ;Y是 CR^{10} ;和Z是 CR^{11} ;和

R^8 、 R^9 、 R^{10} 和 R^{11} 各自独立地选自:H、 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基和卤素。

2. 权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中式I的化合物是式II的化合物:

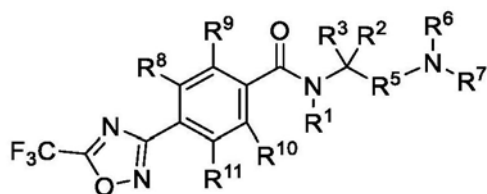


式 II。

3. 权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中 R^2 是H;和 R^3 和 R^4 与它们各自连接的碳原子一起形成环丙基,其中所述环丙基任选地被1个卤素基团取代。

4. 权利要求3的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中 R^3 和 R^4 与它们各自连接的碳原子一起形成环丙基。

5. 权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中式I的化合物是式III的化合物:



式 III。

6. 权利要求5的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中 R^2 和 R^3 与它们所连接的碳一起形成环丙基。

7. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中 R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代的5、6或7-元杂单环基团: C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷氧基、 C_1 - C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、 C_6 - C_{12} 芳基、氰基、卤素和具有一个或多个选自N、O和S的杂原子的5至10-元杂芳基,其中 C_6 - C_{12} 芳基、3或4-元环烷基和5至10-元杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1 - C_3 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

8. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中 R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代的选自吡咯烷-1-基和哌啶-1-基的5、6或7-元杂单环基团: C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷氧基、 C_1 - C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、 C_6 - C_{12} 芳基、氰基、卤素和具有一个或多个选自N、O和S的杂原子的5至10-元杂芳基,其中 C_6 - C_{12} 芳基、3或4-元环烷基和5至10-元杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1 - C_3 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

9. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中 R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代的选自吡咯烷-1-基和哌啶-1-基的5、6或7-元杂单环基团: C_1 - C_3 烷基和环丙基。

10. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中 R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成6、7、8、9或10-元杂双环基团,其各自任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代: C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷氧基、 C_1 - C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、 C_6 - C_{12} 芳基、氰基、卤素和具有一个或多个选自N、O和S的杂原子的5至10-元杂芳基,其中 C_6 - C_{12} 芳基、3或4-元环烷基和5至10-元杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1 - C_3 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

11. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物,其中 R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成选自下面的6、7、8、9或10-元杂双环基团:

- 5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基、
- 5-氮杂螺[2.5]辛烷-5-基、
- 2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-基、

- 2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基、
- 3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-5-基和
- 6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基，

其各自任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代： C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷氧基、 C_1 - C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、 C_6 - C_{12} 芳基、氰基、卤素和具有一个或多个选自N、O和S的杂原子的5至10-元杂芳基，其中 C_6 - C_{12} 芳基、3或4-元环烷基和5至10-元杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代： C_1 - C_3 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

12. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物，其中 R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成选自下面的6、7、8、9或10-元杂双环基团：

- 5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基、
- 5-氮杂螺[2.5]辛烷-5-基、
- 2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-基、
- 2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基、
- 3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-5-基和
- 6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基。

13. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物，其中 R^5 是 C_0 亚烷基。

14. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物，其中 R^5 是亚甲基。

15. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物，其中 R^8 是H。

16. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物，其中 R^9 是H。

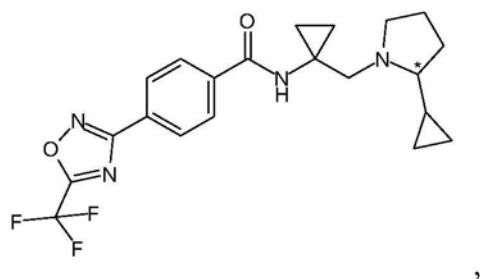
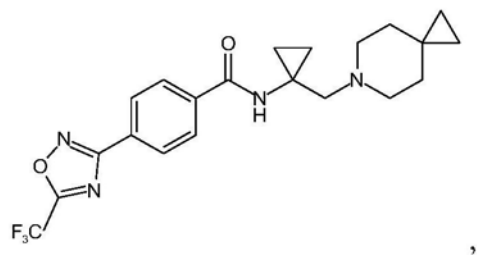
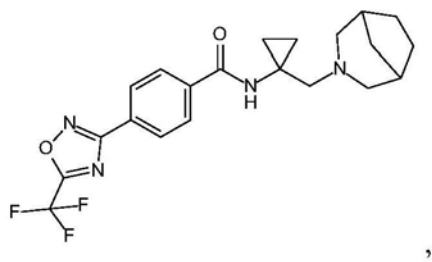
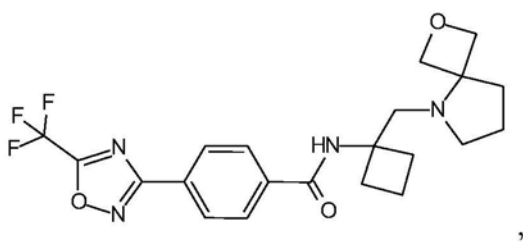
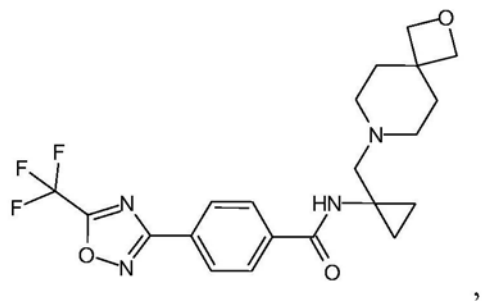
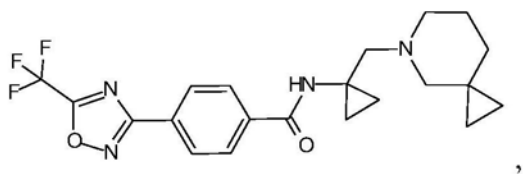
17. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物，其中 R^{10} 是H。

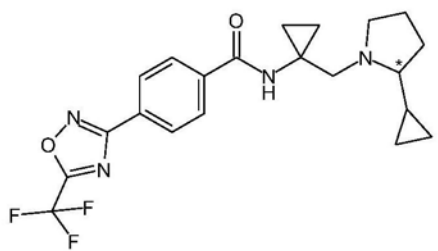
18. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物，其中 R^{11} 选自：H和卤素。

19. 权利要求18的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物，其中 R^{11} 是H。

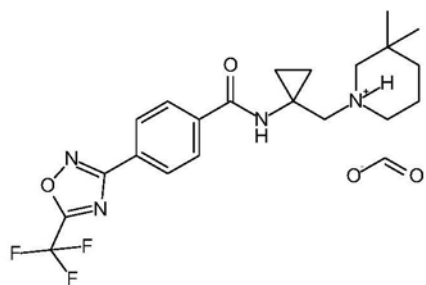
20. 权利要求1-6中的任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物，其中 R^1 是H。

21. 下式的化合物：

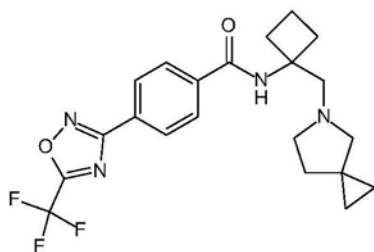




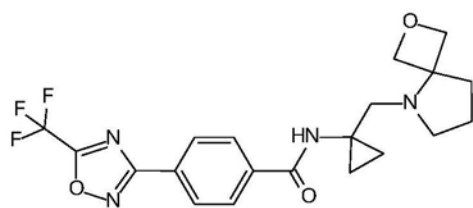
,



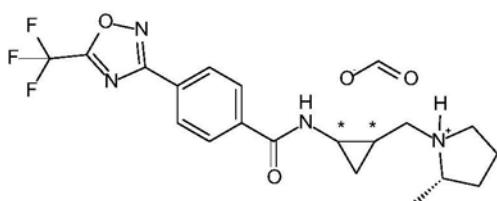
,



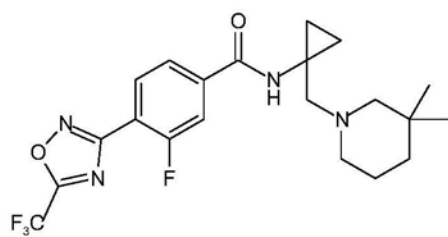
,



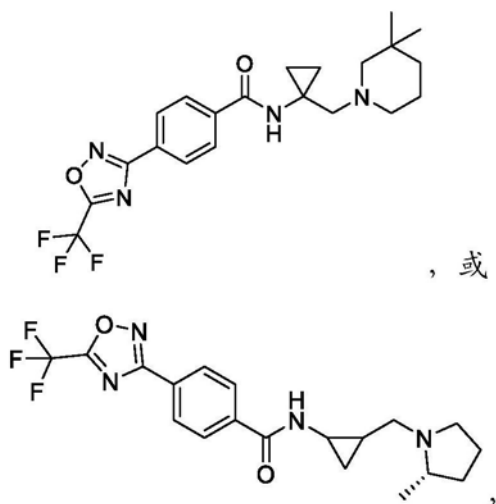
,



,



,



或其药学上可接受的盐。

22. 药物组合物,其包含权利要求1-21中任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物和药学上可接受的载体。

23. 用于制备药物组合物的方法,其包括混合权利要求1-21中任一项的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体混合物和药学上可接受的载体。

24. 权利要求1-21中任一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗亨廷顿病的药物中的用途。

烷基、 C_1-C_3 卤代烷氧基、 C_1-C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、芳基、氰基、卤素和杂芳基,其中芳基、3或4-元环烷基和杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1-C_3 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷基、氰基和卤素;

[0016] W是N或 CR^8 ;X是N或 CR^9 ;Y是N或 CR^{10} ;和Z是N或 CR^{11} ;条件是W、X、Y和Z中的不超过两个是N;和

[0017] R^8 、 R^9 、 R^{10} 和 R^{11} 各自独立地选自:H、 C_1-C_4 烷基、 C_1-C_4 卤代烷基和卤素。

[0018] 还提供一种药物组合物,其包含本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

[0019] 还提供了用于制备药物组合物的方法,其包括混合本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

[0020] 还提供在此需要的患者中治疗由至少一种组蛋白脱乙酰酶介导的病症或障碍的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐。

[0021] 详细描述

[0022] 在本发明说明书中使用时,下面的字、词和符号一般旨在具有下面陈述的意义,除非它们所用的上下文另有说明。

[0023] 不是在两个字母或符号之间的破折号(“-”)用于表示取代基的连接点。例如,- $CONH_2$ 通过碳原子来连接。

[0024] “任选的”或“任选地”是指随后描述的事件或情况可能发生或可能不发生且所述描述包括所述事件或情况发生的状态及所述事件或情况不发生的状态。例如,“任选取代的烷基”包括以下定义的“烷基”和“取代的烷基”。就含有一个或多个取代基的任意基团而言,本领域技术人员应该理解的是,所述基团没有预期引入在立体上不切实际的、在合成上不可行的和/或内在不稳定的任意取代或取代模式。

[0025] “烷基”包括具有所示碳原子数的直链和支链,通常为1-20个碳原子,例如1-8个碳原子,诸如1-6个碳原子。例如, C_1-C_6 烷基包括具有1-6个碳原子的直链和支链烷基。烷基的实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、2-戊基、异戊基、新戊基、己基、2-己基、3-己基、3-甲基戊基等。亚烷基是另一亚组烷基,其是指与烷基相同的残基,但是具有两个连接点。亚烷基通常将具有2-20个碳原子,例如2-8个碳原子,诸如2-6个碳原子。例如, C_0 亚烷基是指共价键且 C_1 亚烷基为亚甲基。当提到具有具体碳数的烷基残基时,旨在包括具有该碳数的所有几何异构体;因此,例如“丁基”旨在包括正丁基、仲丁基、异丁基和叔丁基;“丙基”包括正丙基和异丙基。

[0026] 术语“亚烷基”包括具有所示碳原子数的直链和支链双自由基,通常为1-20个碳原子,例如1-8个碳原子,诸如1-6个碳原子或1-4个碳原子。 C_1-C_4 亚烷基的实例包括亚甲基、1,1-亚乙基、1,2-亚乙基、1,1-亚丙基、1,2-亚丙基、1,3-亚丙基、1,1-亚丁基、1,2-亚丁基、1,3-亚丁基、1,4-亚丁基、2-甲基-1,2-亚丙基和2-甲基-1,3-亚丙基。

[0027] “烷氧基”是指通过氧桥连接的具有所示碳原子数的烷基,例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、戊氧基、2-戊基氧基、异戊氧基、新戊氧基、己氧基、2-己氧基、3-己氧基、3-甲基戊氧基等。烷氧基通常将具有通过氧桥连接的1-6个碳原子。

[0028] “烷基氨基”是指-NH-烷基,其中烷基如本申请所定义。

[0029] “二烷基氨基”是指-N(烷基)(烷基)基团,其中烷基如本申请所定义。

[0030] “氨基”是指基团-NH₂。

[0031] “芳基”是指具有所示碳原子数例如6-12个或6-10个碳原子的芳族碳环。芳基可为单环或多环的(例如双环的、三环的)。在一些情况下,多环芳基中的两个环为芳族的(例如萘基)。在其它情况下,多环芳基可包括与芳族环稠合的非芳族环(例如环烷基、环烯基、杂环烷基、杂环烯基),条件是所述多环芳基通过芳族环中的原子与母体结构连接。因此,1,2,3,4-四氢萘-5-基(其中所述部分通过芳族碳原子与母体结构连接)被认为是芳基,而1,2,3,4-四氢萘-1-基(其中所述部分通过非芳族碳原子与母体结构连接)不被认为是芳基。类似地,1,2,3,4-四氢喹啉-8-基(其中所述部分通过芳族碳原子与母体结构连接)被认为是芳基,而1,2,3,4-四氢喹啉-1-基(其中所述部分通过非芳族氮原子与母体结构连接)不被认为是芳基。然而,本申请定义的术语“芳基”不包括“杂芳基”或不与“杂芳基”重叠而不论连接点在哪里(例如喹啉-5-基和喹啉-2-基都是杂芳基)。在一些情况下,芳基为苯基或萘基。在一些情况下,芳基为苯基。

[0032] 由取代的苯衍生物形成的并在环原子处具有自由价的二价基团被命名为取代的亚苯基。由具有自由价的碳原子通过除去一个氢原子而衍生自其名称以“-基”结尾的单价多环烃基的二价基团通过向相应单价基团的名称中加入“-亚基”来命名,例如具有两个连接点的萘基被称为亚萘基。

[0033] “芳基-烷基”是指“芳基-烷基-”,其中芳基和烷基如本申请所定义。

[0034] “氰基”是指-CN。

[0035] “环烷基”表示具有所示碳原子数的非芳族的完全饱和的碳环,例如3-10个或3-8个或3-6个环碳原子。环烷基可为单环或多环的(例如双环的、三环的)。环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基和环己基及桥接、螺环和笼形环基团(例如降冰片烷、双环[2.2.2]辛烷)。另外,多环环烷基中的一个环可为芳族的,条件是所述多环环烷基通过非芳族碳与母体结构连接。例如,1,2,3,4-四氢萘-1-基(其中所述部分通过非芳族碳原子与母体结构连接)为环烷基,而1,2,3,4-四氢萘-5-基(其中所述部分通过芳族碳原子与母体结构连接)不被认为是环烷基,即其是芳基。

[0036] 术语“环烷氧基”是指“-O-环烷基”,其中环烷基如本申请所定义。

[0037] 术语“卤代”包括氟代、氯代、溴代和碘代且术语“卤素”包括氟、氯、溴和碘。

[0038] 术语“卤代烷基”表示其中烷基被一个卤素取代至完全取代的C₁₋₆烷基,并且完全取代的C₁₋₆卤代烷基可由式C_nL_{2n+1}表示,其中L是卤素并且“n”是1、2、3或4;当存在多于一个的卤素时,则它们可以相同或不同并且选自F、Cl、Br和I,例如F.C₁₋₄卤代烷基的实例包括但不限于氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、氯二氟甲基、2,2,2-三氟乙基、五氟乙基等。

[0039] 术语“卤代烷氧基”表示直接连接到氧原子上的卤代烷基。实例包括但不限于二氟甲氧基、三氟甲氧基、2,2,2-三氟乙氧基、五氟乙氧基等。

[0040] “杂芳基”是指含有所示原子数的芳族环(例如5-12元或5-10元杂芳基),其由一个或多个选自N、O和S的杂原子(例如1、2、3或4个杂原子)构成且其余环原子为碳。杂芳基不含有相邻的S和O原子。在一些实施方案中,杂芳基中S和O原子的总数不多于2个。在一些实施方案中,杂芳基中S和O原子的总数不多于1个。除非另有说明,在化合价允许的情况下,杂芳

基可通过碳或氮原子与母体结构连接。例如,“吡啶基”包括2-吡啶基、3-吡啶基和4-吡啶基且“吡咯基”包括1-吡咯基、2-吡咯基和3-吡咯基。当氮存在于杂芳基环中时,在相邻原子和基团的性质允许的情况下,所述氮可以氧化态(即 N^+-O^-)存在。另外,当硫存在于杂芳基环中时,在相邻原子和基团的性质允许的情况下,所述硫可以氧化态(即 S^+-O^- 或 SO_2)存在。杂芳基可为单环或多环的(例如双环的、三环的)。

[0041] 在一些情况下,杂芳基为单环的。实例包括吡咯、吡唑、咪唑、三唑(例如1,2,3-三唑、1,2,4-三唑)、四唑、呋喃、异噁唑、噁唑、噁二唑(例如1,2,3-噁二唑、1,2,4-噁二唑、1,3,4-噁二唑)、噻吩、异噻唑、噻唑、噻二唑(例如1,2,3-噻二唑、1,2,4-噻二唑、1,3,4-噻二唑)、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、三嗪(例如1,2,4-三嗪、1,3,5-三嗪)和四嗪。

[0042] 在一些情况下,多环杂芳基中的两个环为芳族的。实例包括吡啶、异吡啶、吡唑、苯并咪唑、苯并三唑、苯并呋喃、苯并噁唑、苯并异噁唑、苯并噁二唑、苯并噻吩、苯并噻唑、苯并异噻唑、苯并噻二唑、1H-吡咯并[2,3-b]吡啶、1H-吡唑并[3,4-b]吡啶、3H-咪唑并[4,5-b]吡啶、3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶、1H-吡咯并[3,2-b]吡啶、1H-吡唑并[4,3-b]吡啶、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶、1H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶、1H-吡咯并[2,3-c]吡啶、1H-吡唑并[3,4-c]吡啶、3H-咪唑并[4,5-c]吡啶、3H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶、1H-吡咯并[3,2-c]吡啶、1H-吡唑并[4,3-c]吡啶、1H-咪唑并[4,5-c]吡啶、1H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶、呋喃并[2,3-b]吡啶、噁唑并[5,4-b]吡啶、异噁唑并[5,4-b]吡啶、[1,2,3]噁二唑并[5,4-b]吡啶、呋喃并[3,2-b]吡啶、噁唑并[4,5-b]吡啶、异噁唑并[4,5-b]吡啶、[1,2,3]噁二唑并[4,5-b]吡啶、呋喃并[2,3-c]吡啶、噁唑并[5,4-c]吡啶、异噁唑并[5,4-c]吡啶、[1,2,3]噁二唑并[5,4-c]吡啶、呋喃并[3,2-c]吡啶、噁唑并[4,5-c]吡啶、异噁唑并[4,5-c]吡啶、[1,2,3]噁二唑并[4,5-c]吡啶、噻吩并[2,3-b]吡啶、噻唑并[5,4-b]吡啶、异噻唑并[5,4-b]吡啶、[1,2,3]噻二唑并[5,4-b]吡啶、噻吩并[3,2-b]吡啶、噻唑并[4,5-b]吡啶、异噻唑并[4,5-b]吡啶、[1,2,3]噻二唑并[4,5-b]吡啶、噻吩并[2,3-c]吡啶、噻唑并[5,4-c]吡啶、异噻唑并[5,4-c]吡啶、[1,2,3]噻二唑并[5,4-c]吡啶、喹啉、异喹啉、噌啉、喹唑啉、喹喔啉、酞嗪、二氮杂萘(例如1,8-二氮杂萘、1,7-二氮杂萘、1,6-二氮杂萘、1,5-二氮杂萘、2,7-二氮杂萘、2,6-二氮杂萘)、咪唑并[1,2-a]吡啶、1H-吡唑并[3,4-d]噻唑、1H-吡唑并[4,3-d]噻唑和咪唑并[2,1-b]噻唑。

[0043] 在其它情况下,多环杂芳基可包括与杂芳基环稠合的非芳族环(例如环烷基、环烯基、杂环烷基、杂环烯基),条件是所述多环杂芳基通过芳族环中的原子与母体结构连接。例如,4,5,6,7-四氢苯并[d]噻唑-2-基(其中所述部分通过芳族碳原子与母体结构连接)被认为是杂芳基,而4,5,6,7-四氢苯并[d]噻唑-5-基(其中所述部分通过非芳族碳原子与母体结构连接)不被认为是杂芳基。

[0044] “杂芳基-烷基”是指“杂芳基-烷基-”,其中杂芳基和烷基如本申请所定义。

[0045] “杂环烷基”是指具有所示原子数的非芳族的完全饱和的环(例如3-10元或3-7元杂环烷基),其由一个或多个选自N、O和S的杂原子(例如1、2、3或4个杂原子)构成且其余环原子为碳。杂环烷基可为单环(例如杂单环的)或多环的(例如双环的(即,杂双环的),包括螺环和桥接环系统)。也就是说,杂双环的定义包括被环烷基或杂单环基团1,1-二取代的杂单环,以及其中杂单环与另一个环烷基或杂单环1,2或1,3-稠合的环系统(其中碳或氮原子

可形成环接点(其中结构在化学上是可行的)),以及其中杂单环具有 C_1 - C_2 烷基桥的环系统,以及其中杂单环与芳族或杂芳族环1,2-耦合的环系统,条件是该部分通过非芳族碳或氮原子与母体结构结合。

[0046] 单环杂环烷基(即杂单环)基团的实例包括环氧乙烷基、氮丙啶基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基和硫代吗啉基。

[0047] C_6 杂双环基团的实例包括3-氮杂双环[3.1.0]己烷-3-基。

[0048] 具有芳环的 C_8 - C_{10} 杂双环基团的实例包括吡啶-1-基、异吡啶-2-基、1,2,3,4-四氢喹啉-2-基、3,4-二氢喹啉-1(2H)-基和7,8-二氢-1,6-二氮杂萘-6(5H)-基。

[0049] 杂双环系统(包括螺环)的实例包括:1-氧杂-5-氮杂螺[3.3]庚烷-5-基、1-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-基、6-氧杂-1-氮杂螺[3.3]庚烷-1-基、2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-基、1,5-二氮杂螺[3.3]庚烷-1-基、1,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-6-基、1,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-1-基、2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-基、1-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基、1-氧杂-6-氮杂螺[3.4]辛烷-6-基、2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基、2-氧杂-6-氮杂螺[3.4]辛烷-6-基、1,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-5-基、1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-6-基、2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-5-基、2,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-6-基、1-氧杂-5-氮杂螺[3.5]壬烷-5-基、1-氧杂-6-氮杂螺[3.5]壬烷-6-基、1-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-基、2-氧杂-5-氮杂螺[3.5]壬烷-5-基、2-氧杂-6-氮杂螺[3.5]壬烷-6-基、2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-基、1,5-二氮杂螺[3.5]壬烷-5-基、1,6-二氮杂螺[3.5]壬烷-6-基、1,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-基、2,5-二氮杂螺[3.5]壬烷-5-基、2,6-二氮杂螺[3.5]壬烷-6-基、2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-基、1-氧杂-5-氮杂螺[3.6]癸烷-5-基、1-氧杂-6-氮杂螺[3.6]癸烷-6-基、1-氧杂-7-氮杂螺[3.6]癸烷-7-基、2-氧杂-5-氮杂螺[3.6]癸烷-5-基、2-氧杂-6-氮杂螺[3.6]癸烷-6-基、2-氧杂-7-氮杂螺[3.6]癸烷-7-基、1,5-二氮杂螺[3.6]癸烷-5-基、1,6-二氮杂螺[3.6]癸烷-6-基、1,7-二氮杂螺[3.6]癸烷-7-基、2,5-二氮杂螺[3.6]癸烷-5-基、2,6-二氮杂螺[3.6]癸烷-6-基、2,7-二氮杂螺[3.6]癸烷-7-基。

[0050] 杂双环系统(具有 C_1 - C_4 桥接的-亚烷基)的实例包括2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-基、2-氮杂双环[3.2.1]辛烷-2-基、3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基和6-氮杂双环[3.2.1]辛烷-6-基。

[0051] 当氮存在于杂环烷基环中时,在相邻原子和基团允许的情况下,所述氮可以氧化态(即 N^+-O^-)存在。实例包括哌啶基N-氧化物和吗啉基N-氧化物。另外,当硫存在于杂环烷基环中时,在相邻原子和基团允许的情况下,所述硫可以氧化态(即 S^+-O^- 或 $-SO_2-$)存在。实例包括硫吗啉S-氧化物和硫吗啉S,S-二氧化物。

[0052] “羟基”是指基团-OH。

[0053] “氧代”是指(=O)或(O)。

[0054] “硝基”是指- NO_2 。

[0055] 本申请使用的术语“取代”是指所述原子或基团上的任意一个或多个氢用从指定组中选择的基团代替,条件是不超过所述原子的正常化合价。当取代基为氧代(即=O)时,原子上的2个氢被代替。仅当取代基和/或变量的组合得到稳定的化合物或有用的合成中间体时,这样的组合才是允许的。稳定的化合物或稳定的结构预示化合物足够稳定以经历从反应混合物中分离和随后配制成具有至少一种实际用途的药物。除非另有说明,将取代基

命名到核心结构中。例如,应该理解的是,当将(环烷基)烷基列为可能的取代基时,该取代基与核心结构的连接点在烷基部分中。除非另有明确定义,术语“取代的”烷基(包括但不限于 C_1 - C_4 烷基)、环烷基、芳基、杂环烷基和杂芳基分别是指其中一个或多个(例如最多5个且例如最多3个)氢原子被独立选自以下的取代基代替的烷基、环烷基、芳基、杂环烷基和杂芳基: C_1 - C_4 烷基、 $-NR^bR^c$ 、卤素、氰基、氧代(作为杂环烷基的取代基)、硝基、 $-COR^b$ 、 $-CO_2R^b$ 、 $-CONR^bR^c$ 、 $-OCOR^b$ 、 $-OCO_2R^a$ 、 $-OCONR^bR^c$ 、 $-NR^cCOR^b$ 、 $-NR^cCO_2R^a$ 、 $-NR^cCONR^bR^c$ 、 $-SOR^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^bR^c$ 和 $-NR^cSO_2R^a$,

[0056] 其中 R^a 选自 C_1 - C_6 烷基、环烷基、芳基、杂环烷基和杂芳基;

[0057] R^b 选自H、 C_1 - C_6 烷基、芳基和杂芳基;和

[0058] R^c 选自氢和 C_1 - C_4 烷基;或

[0059] R^b 和 R^c 与它们所连接的氮形成杂环烷基;和

[0060] 其中每个 C_1 - C_6 烷基、环烷基、芳基、杂环烷基和杂芳基任选地被一个或多个,诸如1、2或3个独立地选自以下的取代基取代: C_1 - C_4 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、芳基、杂芳基、芳基- C_1 - C_4 烷基、杂芳基- C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基、 $-OC_1$ - C_4 烷基、 $-OC_1$ - C_4 烷基苯基、 $-C_1$ - C_4 烷基-OH、 $-C_1$ - C_4 烷基-O- C_1 - C_4 烷基、 $-OC_1$ - C_4 卤代烷基、卤素、-OH、-NH₂、 $-C_1$ - C_4 烷基-NH₂、-N(C_1 - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基)、-NH(C_1 - C_4 烷基)、-N(C_1 - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基苯基)、-NH(C_1 - C_4 烷基苯基)、氰基、硝基、氧代(作为杂芳基的取代基)、 $-CO_2H$ 、 $-C(O)OC_1$ - C_4 烷基、 $-CON(C_1$ - C_4 烷基)(C_1 - C_4 烷基)、 $-CONH(C_1$ - C_4 烷基)、 $-CONH_2$ 、 $-NHC(O)(C_1$ - C_4 烷基)、 $-NHC(O)(苯基)$ 、 $-N(C_1$ - C_4 烷基) $C(O)(C_1$ - C_4 烷基)、 $-N(C_1$ - C_4 烷基) $C(O)(苯基)$ 、 $-C(O)C_1$ - C_4 烷基、 $-C(O)C_1$ - C_4 苯基、 $-C(O)C_1$ - C_4 卤代烷基、 $-OC(O)C_1$ - C_4 烷基、 $-SO_2(C_1$ - C_4 烷基)、 $-SO_2(苯基)$ 、 $-SO_2(C_1$ - C_4 卤代烷基)、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH(C_1$ - C_4 烷基)、 $-SO_2NH(苯基)$ 、 $-NHSO_2(C_1$ - C_4 烷基)、 $-NHSO_2(苯基)$ 和 $-NHSO_2(C_1$ - C_4 卤代烷基)。

[0061] 本申请所述化合物包括但不限于它们的光学异构体、外消旋体和它们的其它混合物。在这些情况下,单一的对映异构体或非对映异构体即光学活性形式可通过不对称合成或通过对外消旋体进行拆分来得到。外消旋体可例如通过常规方法(例如在拆分剂存在下进行结晶)或色谱法(例如使用手性高压液相色谱(HPLC)或超临界流体色谱(SFC)柱)来拆分。另外,上述化合物包括具有碳-碳双键的化合物的Z-形式和E-形式(或顺式形式和反式形式)。当本申请所述化合物以多种互变异构形式存在时,术语“化合物”旨在包括所述化合物的所有互变异构形式。上述化合物还包括晶体形式,包括多晶型物和包合物。类似地,术语“盐”旨在包括所述化合物的所有互变异构形式和晶体形式。

[0062] 在单个非对映异构体的构型未知的情况下,构型已经被指定为例如D1(非对映异构体1)和D2(非对映异构体2)并且未知手性中心用星号标记,例如,D1N-((R)-1-((abs)-3-(二氟甲氧基)哌啶-1-基)丙烷-2-基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺和D2N-((R)-1-((abs)-3-(二氟甲氧基)哌啶-1-基)丙烷-2-基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺是单一非对映异构体,其中一个手性中心处的构型是绝对已知的(其构型相应地绘制),并且第二个手性中心处的构型是绝对的但未知的(绘制为具有星号的键),即在D1vs.D2的未知中心处的相反构型。

[0063] 当已经分离出具有三个手性中心的化合物的单一异构体时,其中一个立体中心是已知的,另外两个中心的绝对构型是未知的,但是已知相对构型是顺式,例如纯手性的氮杂

双环庚基环系统,则在未知的手性中心用星号标记的情况下绘制该化合物,并相应地命名,即D1:N-(R)-1-((abs-1,5-顺式)-6-氮杂双环[3.2.0]庚烷-6-基)丙烷-2-基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;和D2:N-(R)-1-((abs-1,5-顺式)-6-氮杂双环[3.2.0]庚烷-6-基)丙烷-2-基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺。

[0064] “药学上可接受的盐”包括但不限于与无机酸的盐,例如盐酸盐、磷酸盐、磷酸氢盐、氢溴酸盐、硫酸盐、亚硫酸盐、硝酸盐等;及与有机酸的盐,例如苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、枸橼酸盐、乙酸盐、乳酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐、2-羟基乙基磺酸盐、苯甲酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、烷酸盐例如乙酸盐、 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_q-\text{COOH}$ (其中q为0-4)盐等。类似地,药学上可接受的阳离子包括但不限于钠、钾、钙、铝、锂和铵。

[0065] 另外,若以酸加成盐形式得到本申请所述化合物,则游离碱可通过对所述酸加成盐的溶液进行碱化来得到。相反地,若产物为游离碱,则加成盐特别是药学上可接受的加成盐可如下得到:按照由碱化合物制备酸加成盐的常规操作将所述游离碱溶解在适当的有机溶剂中并用酸对溶液进行处理。本领域技术人员将认识到可用于制备无毒游离碱或无毒药学上可接受的加成盐的各种合成方法学。

[0066] 本申请使用的术语“基团”、“残基”或“片段”为同义的并旨在表示分子中可与分子中的键或其它片段连接的官能团或片段。

[0067] 术语“活性剂”用于表示具有生物学活性的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,“活性剂”为具有药物用途的化合物或其药学上可接受的盐。例如,活性剂可为抗神经变性治疗剂。

[0068] 术语“治疗有效量”是指当施用给人类或非人类患者以有效提供治疗益处例如缓解症状、减缓疾病进展或预防疾病的量,例如治疗有效量可为以下量,其足以减少对抑制HDAC活性有响应的疾病的症状。

[0069] 本申请使用的术语“组蛋白脱乙酰酶”和“HDAC”旨在表示以下酶的家族中的任意一员,所述酶从蛋白质(例如组蛋白或微管蛋白)的赖氨酸残基的 ϵ -氨基中除去 N^ϵ -乙酰基。除非上下文另有说明,术语“组蛋白”旨在表示任意组蛋白蛋白质,包括来自任意物种的H1、H2A、H2B、H3、H4和H5。在一些实施方案中,所述组蛋白脱乙酰酶为人HDAC,包括但不限于HDAC-4、HDAC-5、HDAC-6、HDAC-7、HDAC-9和HDAC-10。在一些实施方案中,至少一种组蛋白脱乙酰酶选自HDAC-4、HDAC-5、HDAC-7和HDAC-9。在一些实施方案中,所述组蛋白脱乙酰酶为IIa类HDAC。在一些实施方案中,所述组蛋白脱乙酰酶为HDAC-4。在一些实施方案中,所述组蛋白脱乙酰酶为HDAC-5。在一些实施方案中,所述组蛋白脱乙酰酶来自原生动物来源或真菌来源。

[0070] 术语“组蛋白脱乙酰酶抑制剂”和“组蛋白脱乙酰酶的抑制剂”旨在表示本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物或其药学上可接受的盐能够与组蛋白脱乙酰酶相互作用并抑制其酶活性。

[0071] 本申请使用的术语“由HDAC介导的病症或障碍”或“由组蛋白脱乙酰酶介导的病症或障碍”是指以下病症或障碍,其中HDAC和/或HDAC的作用例如对于该病症的发作、进展、表达等是重要或必需的,或是指已知可通过HDAC抑制剂(例如曲古抑菌素A)来治疗的病症。

[0072] 术语“作用(effect)”描述了细胞表型或细胞增殖的变化或细胞表型或细胞增殖的不再变化。“作用”也可描述HDAC催化活性的变化或HDAC催化活性的不再变化。“作用”也

可描述HDAC和天然结合配偶体之间相互作用的变化或HDAC和天然结合配偶体之间相互作用的不再变化。

[0073] 术语“抑制组蛋白脱乙酰酶的酶活性”或“抑制组蛋白脱乙酰酶”旨在表示降低组蛋白脱乙酰酶从蛋白质(例如但不限于组蛋白或微管蛋白)中除去乙酰基的能力。抑制剂使组蛋白脱乙酰酶的活性降至未受抑制的所述酶的活性的50%的浓度被确定为 IC_{50} 值。在一些实施方案中,组蛋白脱乙酰酶活性的这种降低为至少50%,例如至少约75%,例如至少约90%。在一些实施方案中,组蛋白脱乙酰酶活性被降低至少95%,例如被降低至少99%。在一些实施方案中,本申请所述的化合物及其药学上可接受的盐具有小于100nM的 IC_{50} 值。在一些实施方案中,本申请所述的化合物及其药学上可接受的盐具有100nM至1 μ M的 IC_{50} 值。在一些实施方案中,本申请所述的化合物及其药学上可接受的盐具有1至25 μ M的 IC_{50} 值。

[0074] 在一些实施方案中,所述抑制为特异性的,即所述组蛋白脱乙酰酶抑制剂当浓度低于产生另一种不相关的生物作用所需要的抑制剂浓度时使组蛋白脱乙酰酶从蛋白质中除去乙酰基的能力得以降低。在一些实施方案中,与产生不相关的生物作用所需要的浓度相比,组蛋白脱乙酰酶抑制活性所需要的抑制剂浓度低至少2倍,例如低至少5倍,例如低至少10倍,例如低至少20倍。

[0075] “治疗”是指在患者中对疾病进行的任意治疗,包括:

[0076] a) 预防所述疾病,也就是说,使所述疾病的临床症状不再发展;

[0077] b) 抑制所述疾病;

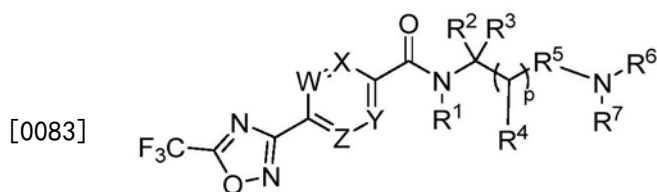
[0078] c) 减缓或阻止临床症状的发展;和/或

[0079] d) 缓解所述疾病,也就是说,使临床症状消退。

[0080] “对象”或“患者”是指动物,例如哺乳动物,其已为或将为治疗、观察或实验对象。本申请所述的方法可用于人类疗法和兽医应用。在一些实施方案中,所述对象为哺乳动物;且在一些实施方案中,所述对象为人类。

[0081] 应该理解的是,为了清楚起见,在单独实施方案的上下文中描述的本申请所述的某些特征也可以在单个实施方案中的组合中提供。相反地,为了简洁起见,在单个实施方案的上下文中描述的本申请所述的各种特征也可以单独提供或以任何合适的子组合提供。与由式I所包含的变量所代表的化学基团有关的实施方案的所有组合在本申请中被具体包含,就如同每个和每一组合被单独地和明确地叙述的一样,达到这样的组合包括导致稳定的化合物的化合物(即,可以分离,表征和测试生物活性的化合物)的程度。另外,描述这些变量的实施方案中列出的化学基团的所有子组合以及本申请所述的用途和医学适应症的所有子组合,例如由HDAC介导的那些病症或障碍也在本申请中被具体包含,就如同每个和每一化学基团的子组合以及用途和医学适应症的子组合被单独地和明确地列举在本申请中那样。另外,一些实施方案包括本申请公开的一种或多种另外的药剂的每种组合,正如每个和每一组合被单独地和明确地叙述一样。

[0082] 提供的是式I的化合物:



式 I

[0084] 或其药学上可接受的盐；

[0085] 其中：

[0086] R^1 选自：H和 C_1 - C_3 烷基；

[0087] p 是0；和 R^2 和 R^3 与它们所连接的碳一起形成任选地被1或2个 C_1 - C_2 烷基、 C_1 - C_2 卤代烷基或卤素取代的3至6-元环烷基；或

[0088] p 是1； R^2 是H；和 R^3 和 R^4 与它们各自连接的碳一起形成环丙基，其中所述环丙基任选地被1或2个卤素基团取代；

[0089] R^5 是 C_0 - C_3 亚烷基；

[0090] R^6 选自：H、 C_1 - C_3 烷基和 C_1 - C_3 卤代烷基；和

[0091] R^7 选自：芳基、芳基- C_1 - C_4 -烷基、杂芳基和杂芳基- C_1 - C_4 -烷基，其各自任选地在芳族部分上被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代： C_1 - C_4 烷基氨基、 C_2 - C_8 二烷基氨基、 C_1 - C_4 烷氧基、氨基、氰基、卤素和羟基；或

[0092] R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成5、6或7-元杂单环基团，或6、7、8、9或10-元杂双环基团，其各自任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代： C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷氧基、 C_1 - C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、芳基、氰基、卤素和杂芳基，其中芳基、3或4-元环烷基和杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代： C_1 - C_3 烷氧基、 C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 卤代烷基、氰基和卤素；

[0093] W 是N或 CR^8 ； X 是N或 CR^9 ； Y 是N或 CR^{10} ；和 Z 是N或 CR^{11} ；条件是 W 、 X 、 Y 和 Z 中的不超过两个是N；和

[0094] R^8 、 R^9 、 R^{10} 和 R^{11} 各自独立地选自：H、 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基和卤素。

[0095] 在一些实施方案中， R^1 是H。

[0096] 在一些实施方案中， p 是1， R^2 是H；和 R^3 和 R^4 与它们各自连接的碳一起形成环丙基，其中所述环丙基任选地被1或2个卤素基团取代。

[0097] 在一些实施方案中， p 是1， R^3 和 R^4 与它们各自连接的碳一起形成环丙基。

[0098] 在一些实施方案中， p 是0， R^2 和 R^3 与它们所连接的碳一起形成任选地被1或2个 C_1 - C_2 烷基、 C_1 - C_2 卤代烷基或卤素取代的3至6-元环烷基。

[0099] 在一些实施方案中， p 是0， R^2 和 R^3 与它们所连接的碳一起形成任选地被1或2个 C_1 - C_2 烷基、 C_1 - C_2 卤代烷基或卤素取代的3或4-元环烷基。

[0100] 在一些实施方案中， p 是0， R^2 和 R^3 与它们所连接的碳一起形成3或4-元环烷基。

[0101] 在一些实施方案中， p 是0， R^2 和 R^3 与它们所连接的碳一起形成环丙基。

[0102] 在一些实施方案中， p 是0， R^2 和 R^3 与它们所连接的碳一起形成环丁基。

[0103] 在一些实施方案中， R^5 是 C_0 亚烷基（即，键）。

[0104] 在一些实施方案中， R^5 是亚甲基。

[0105] 在一些实施方案中, R^6 选自: H、 C_1-C_3 烷基和 C_1-C_3 卤代烷基; 和 R^7 选自: 芳基、芳基- C_1-C_4 -烷基、杂芳基和杂芳基- C_1-C_4 -烷基, 其各自任选地在芳族部分上被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代: C_1-C_4 烷基氨基、 C_2-C_8 二烷基氨基、 C_1-C_4 烷氧基、氨基、氰基、卤素和羟基。在一些实施方案中, R^6 选自: H和 C_1-C_3 烷基。在一些实施方案中, R^7 选自: 芳基、芳基- C_1-C_4 -烷基、杂芳基和杂芳基- C_1-C_4 -烷基。

[0106] 在一些实施方案中, R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代的4至7-元杂单环基团: C_1-C_4 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷氧基、 C_1-C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、芳基、氰基、卤素和杂芳基, 其中芳基、3或4-元环烷基和杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1-C_3 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

[0107] 在一些实施方案中, R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代的选自氮杂环庚烷-1-基、吡咯烷-1-基和哌啶-1-基的4至7-元杂单环基团: C_1-C_4 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷氧基、 C_1-C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、芳基、氰基、卤素和杂芳基, 其中芳基、3或4-元环烷基和杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1-C_3 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

[0108] 在一些实施方案中, R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代的选自吡咯烷-1-基和哌啶-1-基的4至7-元杂单环基团: C_1-C_3 烷基和环丙基。

[0109] 在一些实施方案中, R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代的5、6或7-元杂单环基团: C_1-C_4 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷氧基、 C_1-C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、芳基、氰基、卤素和杂芳基, 其中芳基、3或4-元环烷基和杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1-C_3 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

[0110] 在一些实施方案中, R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代的选自吡咯烷-1-基和哌啶-1-基的5、6或7-元杂单环基团: C_1-C_4 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷氧基、 C_1-C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、芳基、氰基、卤素和杂芳基, 其中芳基、3或4-元环烷基和杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1-C_3 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

[0111] 在一些实施方案中, R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代的选自吡咯烷-1-基和哌啶-1-基的5、6或7-元杂单环基团: C_1-C_3 烷基和环丙基。

[0112] 在一些实施方案中, R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成6、7、8、9或10-元杂双环基团, 其各自任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代: C_1-C_4 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷氧基、 C_1-C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、芳基、氰基、卤素和杂芳基, 其中芳基、3或4-元环烷基和杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1-C_3 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

[0113] 在一些实施方案中, R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成选自下面的6、7、8、9或

10-元杂双环基团:

[0114] 5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基、

[0115] 5-氮杂螺[2.5]辛烷-5-基、

[0116] 2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-基、

[0117] 2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷(oxtan)-5-基、

[0118] 3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-5-基和

[0119] 6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基、

[0120] 其各自任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基取代: C_1-C_4 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷氧基、 C_1-C_3 卤代烷基、3或4-元环烷氧基、3或4-元环烷基、3或4-元杂环烷基、芳基、氰基、卤素和杂芳基,其中芳基、3或4-元环烷基和杂芳基任选地被1-5个各自独立地选自下面的取代基进一步取代: C_1-C_3 烷氧基、 C_1-C_3 烷基、 C_1-C_3 卤代烷基、氰基和卤素。

[0121] 在一些实施方案中, R^6 和 R^7 与它们都连接的氮原子一起形成选自下面的6、7、8、9或10-元杂双环基团:

[0122] 5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基、

[0123] 5-氮杂螺[2.5]辛烷-5-基、

[0124] 2-氧杂-7-氮杂螺[3.5.]壬烷-7-基、

[0125] 2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基、

[0126] 3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-5-基和

[0127] 6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基。

[0128] 在一些实施方案中, R^8 是H。

[0129] 在一些实施方案中, R^9 是H。

[0130] 在一些实施方案中, R^{10} 是H。

[0131] 在一些实施方案中, R^{11} 选自:H和卤素。在一些实施方案中, R^{11} 是H。

[0132] 在一些实施方案中,W是N。在一些实施方案中,X是N。在一些实施方案中,Y是N。在一些实施方案中,Z是N。

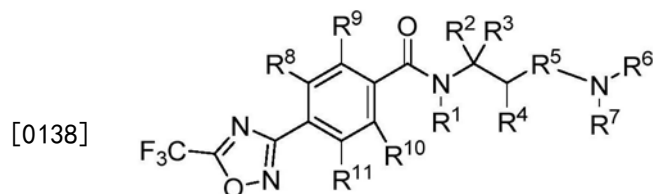
[0133] 在一些实施方案中,W是 CR^8 ,X是 CR^9 ,Y是 CR^{10} ,并且Z是 CR^{11} 。

[0134] 在一些实施方案中,W和X是N。在一些实施方案中,W和Y是N。在一些实施方案中,W和Z是N。

[0135] 在一些实施方案中,X和Y是N。在一些实施方案中,X和Z是N。

[0136] 在一些实施方案中,Y和W是N。在一些实施方案中,Y和X是N。

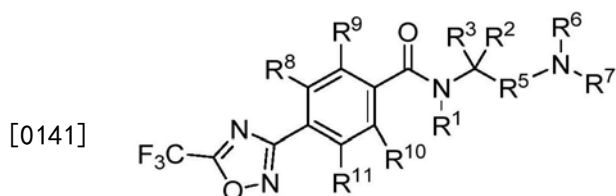
[0137] 还提供了式II的化合物:



式 II

[0139] 或其药学上可接受的盐,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 和 R^{11} 如本申请所述。

[0140] 还提供了式III的化合物:



式 III

[0142] 或其药学上可接受的盐,其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 和 R^{11} 如本申请所述。

[0143] 还提供了选自下面的化合物:

[0144] N-(1-(5-氮杂螺[2.5]辛烷-5-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0145] N-(1-(2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0146] N-(1-(2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0147] N-(1-(3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0148] N-(1-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0149] E1-(abs)-N-(1-((2-环丙基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0150] E2-(abs)-N-(1-((2-环丙基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0151] N-(1-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺甲酸盐;

[0152] N-(1-(5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0153] N-(1-(2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0154] (2S)-2-甲基-1-(((abs-1,2-反式)-2-(4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰氨基)环丙基)甲基)吡咯烷-1-鎓甲酸盐(单一异构体);和

[0155] N-(1-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-3-氟-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺,和

[0156] 或其药学上可接受的盐。

[0157] 还提供了选自下面的化合物:

[0158] N-(1-(5-氮杂螺[2.5]辛烷-5-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0159] N-(1-(2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;

[0160] N-(1-(2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,

4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;

[0161] N-(1-(3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;

[0162] N-(1-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;

[0163] E1-(abs)-N-(1-((2-环丙基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;

[0164] E2-(abs)-N-(1-((2-环丙基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;

[0165] N-(1-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺甲酸盐;

[0166] N-(1-(5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;

[0167] N-(1-(2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;

[0168] (2S)-2-甲基-1-(((abs-1,2-反式)-2-(4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰氨基)环丙基)甲基)吡咯烷-1-鎓甲酸盐;和

[0169] N-(1-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-3-氟-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;

[0170] N-(1-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;

[0171] N-(2-(((S)-2-甲基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯甲酰胺;和

[0172] 或其药学上可接受的盐。

[0173] 得到本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐的方法对于本领域技术人员将是显而易见的,其中适当的操作参见例如以下实施例和本申请引用的参考文献。

[0174] 还提供了用于抑制至少一种组蛋白脱乙酰酶的方法。还提供了本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐在制造用于抑制至少一种组蛋白脱乙酰酶的药物中的用途。还提供了用于抑制至少一种组蛋白脱乙酰酶的方法中的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述至少一种组蛋白脱乙酰酶为IIa类HDAC。在一些实施方案中,所述至少一种组蛋白脱乙酰酶与酵母HDA1具有同源性。在一些实施方案中,所述至少一种组蛋白脱乙酰酶选自HDAC-4、HDAC-5、HDAC-7和HDAC-9。在一些实施方案中,所述抑制是在细胞中。在一些实施方案中,本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐就抑制至少一种II类组蛋白脱乙酰酶而言为选择性的。在一些实施方案中,本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐为HDAC-4和/或HDAC-5的选择性抑制剂。

[0175] 还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的病症或障碍的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。还提供在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的病症或障碍的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。还提

供了本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗由HDAC介导的病症或障碍的药物中的用途。还提供了用于通过疗法治疗人体或动物体的方法中的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。还提供了用于治疗病症或障碍的方法中的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0176] 还提供了在有此需要的患者中治疗对抑制至少一种组蛋白脱乙酰酶有响应的病症或障碍的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述至少一种组蛋白脱乙酰酶是HDAC-4。在一些实施方案中,病症或障碍牵涉神经变性病理。在一些实施方案中,所述病症或障碍是亨廷顿病。

[0177] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括神经变性病理。因此,还提供在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的神经变性病理的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0178] 在一些实施方案中,在一些实施方案中,所述神经变性病理选自阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、帕金森病(Parkinson's disease)、神经元核内包涵体病(NIID)、齿状核红核苍白球丘脑下核萎缩(DRPLA)、弗里德赖希共济失调(Friedreich's ataxia)、Rubenstein-Taubi综合征和聚谷氨酰胺病例如亨廷顿病、脊髓小脑共济失调1(SCA 1)、脊髓小脑共济失调7(SCA 7)、癫痫发作、纹状体黑质变性、进行性核上性麻痹、变形性肌张力不全、痉挛性斜颈、运动障碍、家族性震颤、抽动秽语综合征(Gilles de la Tourette syndrome)、弥散性路易体病、进行性核上性麻痹、匹克病(Pick's disease)、原发性侧索硬化、进行性神经性肌萎缩、脊髓性肌萎缩、肥大性间质性多神经病、视网膜色素变性、遗传性视神经萎缩、遗传性痉挛性截瘫、夏-德综合征(Shy-Drager syndrome)、肯尼迪病(Kennedy's disease)、与蛋白质聚集相关的神经变性、马-约病(Machado-Joseph's disease)、海绵状脑病、与朊病毒相关的疾病、多发性硬化症(MS)、进行性核上性麻痹(斯-理-奥病(Steel-Richardson-Olszewski disease))、哈-施病(Hallervorden-Spatz disease)、进行性家族性肌阵挛性癫痫、小脑变性、运动神经元病、韦-霍病(Werdnig-Hoffman disease)、沃-库-韦病(Wohlfart-Kugelberg-Welander disease)、沙-马-图病(Charcot-Marie-Tooth disease)、德-索病(Dejerine-Sottas disease)、色素性视网膜炎(retinitis pigmentosa)、莱伯病(Leber's disease)、进行性全身性硬化症、皮炎和混合型结缔组织病。

[0179] 在一些实施方案中,所述神经变性病理为眼部急性或慢性变性疾病。眼部急性或慢性变性疾病包括青光眼、干性年龄相关黄斑变性、视网膜色素变性和其它形式的遗传性变性视网膜病、视网膜脱落、黄斑皱褶、影响外部视网膜的缺血、与糖尿病性视网膜病和视网膜缺血相关的细胞损伤、与激光疗法相关的损伤、眼部新生血管、糖尿病性视网膜病、虹膜红变、葡萄膜炎、富克斯异色性虹膜睫状体炎(Fuch's heterochromatic iridocyclitis)、新生血管性青光眼、角膜新血管形成、视网膜缺血、脉络膜血管功能不全、脉络膜性血栓症、颈动脉缺血、挫伤性眼外伤、早产儿视网膜病、视网膜静脉闭塞、增殖性玻璃体视网膜病、角膜血管发生、视网膜微血管病和视网膜水肿。

[0180] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括纤维化疾病例如肝纤维化、囊性纤维化、肝硬化和纤维化皮肤病例如肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩和杜普伊特挛缩(Dupuytren's contracture)。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的

纤维化疾病的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0181] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括心理障碍,例如抑郁症、双相性精神障碍和痴呆。在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括抑郁症。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的心理障碍例如抑郁症的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述抑郁症选自重症抑郁性障碍(major depressive disorder)和双相性精神障碍。

[0182] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括焦虑症。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的焦虑症的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0183] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括精神分裂症。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的精神分裂症的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0184] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括运动神经元病、肌萎缩(muscle atrophy)/肌肉萎缩症(muscle wasting disorder)或肌萎缩性侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis)(ALS)。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的运动神经元病、肌萎缩/肌肉萎缩症或肌萎缩性侧索硬化(ALS)的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0185] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括心血管病症。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的心血管病症的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述心血管病症选自心肌病、心脏肥大、心肌缺血、心力衰竭、心脏再狭窄(cardiac restenosis)和动脉硬化。

[0186] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括癌症。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的癌症的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述癌症选自淋巴瘤、胰腺癌、结肠直肠癌、肝细胞癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(Waldenstrom macroglobulinemia)、激素难治性前列腺癌(hormone refractory cancer of the prostate)和白血病、乳腺癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈癌、肾癌、胃癌、脑癌、B-细胞淋巴瘤、外周T-细胞淋巴瘤和皮肤T-细胞淋巴瘤。在一些进一步的实施方案中,所述癌症选自以下癌症类型。心脏:肉瘤(血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤)、粘液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤;肺:支气管癌(鳞状细胞癌、未分化小细胞癌、未分化大细胞癌、腺癌)、肺泡(细支气管)癌、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软骨瘤性错构瘤(chondromatous hamartoma)、间皮瘤;胃肠:食道(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰腺(导管腺癌、胰岛素瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤、舒血管肠肽瘤(vipoma))、小肠(腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波西肉瘤(Karposi's sarcoma)、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤);泌尿生殖道:肾脏(腺癌、威尔姆斯瘤(Wilm's tumor)[肾胚细胞瘤(nephroblastoma)]、淋

巴瘤、白血病)、膀胱和尿道(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤)、睾丸(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎性癌、畸胎癌、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样瘤、脂肪瘤);肝脏:肝癌、胆管癌、肝母细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤;骨:成骨肉瘤(osteogenic sarcoma)(骨肉瘤(osteosarcoma))、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因瘤(Ewing's sarcoma)、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤(malignant giant cell tumor)、脊索瘤(chordoma)、成软骨细胞瘤(osteochondroma)(骨软骨外生骨疣(osteochondroma exostose))、良性软骨瘤、成软骨细胞瘤、软骨黏液样纤维瘤(chondromyxofibroma)、骨样骨瘤和巨细胞瘤;神经系统:颅骨(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄色瘤、畸形性骨炎(osteitis deformans))、脑膜(脑膜瘤、脑膜肉瘤(meningiosarcoma)、神经胶质瘤)、脑(星形细胞瘤、髓母细胞瘤、神经胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤[松果体瘤]、多型性胶质母细胞瘤、少突神经胶质瘤、神经鞘瘤、视网膜母细胞瘤、先天性肿瘤)、脊髓神经纤维瘤、脑膜瘤、神经胶质瘤、肉瘤);妇科:子宫(子宫内膜癌)、宫颈(宫颈癌、瘤前宫颈非典型增生(pre-tumor cervical dysplasia))、卵巢(卵巢癌[浆液性囊腺癌(serous cystadenocarcinoma)、粘液性囊腺癌(mucinous cystadenocarcinoma)、未分类癌(unclassified carcinoma)]、粒层-泡膜细胞瘤(granulosa-thecal cell tumor)、Sertoli-Leydig细胞瘤、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、外阴(鳞状上皮细胞癌、上皮内癌(intraepithelial carcinoma)、腺癌、纤维肉瘤、黑素瘤)、阴道(透明细胞癌、鳞状上皮细胞癌、葡萄状肉瘤(胚胎横纹肌肉瘤)、输卵管(癌);血液:血(髓细胞性白血病[急性髓细胞性白血病和慢性髓细胞性白血病]、急性成淋巴细胞性白血病、慢性成淋巴细胞性白血病、骨髓增生性疾病、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征)、霍奇金病(Hodgkin's disease)、非霍奇金淋巴瘤[恶性淋巴瘤];皮肤:恶性黑素瘤、基底细胞癌、鳞状上皮细胞癌、卡波西肉瘤、发育不良性痣(moles dysplastic nevi)、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤、瘢痕疙瘩、银屑病;和肾上腺:成神经细胞瘤。也提供了通过对所述肿瘤进行照射来治疗癌症之前、过程中或之后施用根据本申请的化合物来使肿瘤对放射疗法增敏的方法。

[0187] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括可通过免疫调节治疗的病症或障碍。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗可通过免疫调节来治疗的由HDAC介导的病症或障碍的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,可通过免疫调节来治疗的病症或障碍选自哮喘、肠易激综合征、克罗恩病(Crohn's disease)、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)、肠运动障碍(bowel motility disorder)、高血压、类风湿性关节炎、骨关节炎、青少年慢性关节炎、移植物抗宿主病、银屑病、脊椎关节病、炎症性肠病、酒精性肝炎、斯耶格伦氏综合征(Sjogren's syndrome)、强直性脊柱炎、膜性肾小球病、椎间盘性疼痛(discogenic pain)、系统性红斑狼疮、过敏性肠病、腹部疾病、支气管炎、囊性纤维化、类风湿性脊椎炎、骨关节炎、葡萄膜炎、虹膜炎和结膜炎、缺血性肠病、银屑病、湿疹、皮炎、脓毒性关节炎、痛风、假痛风、幼年型关节炎、斯蒂尔病(Still's disease)、亨-舍紫癜(Henoch-Schonlein purpura)、银屑病关节炎、肌痛、反应性关节炎(莱特氏综合征(Reiter's syndrome))、血色素沉着病(hemochromatosis)、韦格肉芽肿病(Wegener's granulomatosis)、家族性地中海热(familial Mediterranean fever)(FMF)、HBDS(高免疫球蛋白血症D(hyperimmunoglobulinemia D)和周期性发热综合征(periodic fever

syndrome))、TRAPS (TNF- α 受体相关的周期性发热综合征)、慢性阻塞性肺病 (chronic obstructive pulmonary disease)、新生儿期发病的多系统炎症性疾病 (neonatal-onset multisystem inflammatory disease) (NOMID)、冷吡啉相关周期性综合征 (cryopyrin-associated periodic syndrome) (CAPS) 和家族性寒冷性自身炎症性综合征 (familial cold autoinflammatory syndrome) (FCAS)。

[0188] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括过敏性疾病。因此,本发明提供在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的过敏性疾病的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。过敏性疾病包括但不限于呼吸性过敏性疾病例如过敏性鼻炎、超敏性肺病 (hypersensitivity lung disease)、超敏性肺炎 (hypersensitivity pneumonitis)、嗜酸性粒细胞性肺炎 (eosinophilic pneumonias)、吕弗勒氏综合征 (Loeffler's syndrome)、慢性嗜酸性粒细胞性肺炎、迟发型超敏反应、间质性肺病 (ILD)、特发性肺纤维化、多肌炎、皮肌炎、全身性过敏反应 (systemic anaphylaxis)、药物过敏 (例如对青霉素或头孢菌素过敏) 和昆虫叮咬性过敏。

[0189] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括传染性疾病例如真菌感染、细菌感染、病毒感染和原虫感染,例如,疟疾、贾第虫病、利什曼病、查加斯病 (Chaga's disease)、痢疾、弓形体病和球虫病。在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括疟疾。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的传染性疾病例如疟疾的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0190] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括自闭症或雷特综合征 (Rett syndrome)。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的自闭症或雷特综合征的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0191] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括血液障碍例如地中海贫血、贫血和镰状细胞贫血。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的血液障碍的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0192] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括代谢性疾病例如前驱糖尿病或糖尿病 (I型或II型)。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的代谢性疾病例如前驱糖尿病或糖尿病 (I型或II型) 的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0193] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括也可通过基于祖细胞/干细胞的疗法治疗的障碍,例如:与糖尿病有关的障碍 (器官衰竭、肝硬化和肝炎);与脑中的祖细胞失调相关的中枢神经系统 (CNS) 障碍 (例如创伤后应激障碍 (PTSD));肿瘤 (例如视网膜母细胞瘤);影响少突胶质细胞 (oligodendrocyte) 祖细胞的障碍 (例如星形细胞瘤和室管膜细胞瘤);多发性硬化症;脱髓鞘障碍例如脑白质营养不良;与白质丢失相关的神经病;和小脑障碍例如共济失调;和嗅觉祖细胞障碍 (olfactory progenitor disorder) (例如嗅觉缺失症 (anosmic condition))。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的

障碍的方法,所述方法包括在用基于祖细胞/干细胞的疗法治疗前、治疗过程中或治疗后向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0194] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括与上皮和间充质细胞的增殖有关的障碍(例如肿瘤、伤口愈合和外科手术)。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的与上皮和间充质细胞的增生有关的障碍的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0195] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括与骨祖细胞(例如成骨细胞和破骨细胞)的增殖有关的障碍、与毛发祖细胞和表皮祖细胞有关的障碍(例如脱发、皮肤肿瘤、皮肤再生、烧伤和整形手术);和与绝经期间的骨丢失有关的障碍。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的与骨祖细胞增殖、与毛发祖细胞和表皮祖细胞有关的障碍或与骨丢失有关的障碍的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0196] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍为病毒性障碍,对于所述病毒性障碍,在向对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐后,血液细胞在HDAC抑制后变得对其它处理敏感。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的病毒性障碍的方法,其中血液细胞在HDAC抑制后变得对其它处理敏感,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0197] 在一些实施方案中,由HDAC介导的所述病症或障碍为免疫障碍,在向对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐后,所述免疫障碍可用TNF α 或其它免疫调节剂共治疗。因此,还提供了在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的免疫障碍的方法,所述方法包括在用TNF α 或其它免疫调节剂治疗前、治疗过程中或治疗后向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0198] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括移植物排斥(graft rejection)或移植排斥(transplant rejection)。因此,本申请还提供在需要所述治疗的对象中治疗由HDAC介导的与移植物排斥或移植排斥有关的障碍的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0199] 在一些实施方案中,由HDAC介导的病症或障碍包括与一氧化氮(NO)的调节有关的血压障碍(例如高血压、勃起机能障碍、哮喘;和眼部障碍如青光眼)。因此,本申请还提供在需要所述治疗的对象中治疗与由HDAC介导的与一氧化氮(NO)调节有关的血压障碍的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述病症或障碍为心脏肥大障碍。因此,本申请还提供在需要所述治疗的对象中治疗与由HDAC介导的心脏肥大障碍的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0200] 还提供了治疗方法,其中将本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐作为唯一的活性剂施用给对象,以及治疗方法,其中将本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐与一种或多种其它活性剂联合施用给对象。

[0201] 通常,本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐将以治疗有效量通过就具有类似效用的药物而言的任意公认施用模式来施用。化合物即活性成分的实际量将取

决于多种因素例如待治疗的疾病的严重程度、对象的年龄和相对健康状况、所使用的化合物的效力、施用途和形式及本领域技术人员公知的其它因素。药物可每天施用至少一次，例如每天施用一次或两次。

[0202] 在一些实施方案中，本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐以药物组合物形式来施用。因此，提供了药物组合物，其包含本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐及至少一种选自载体、辅料和赋形剂的药学上可接受的媒介物。使用本领域技术人员公知的技术可以将本申请的化合物配制成药物组合物。

[0203] 药学上可接受的媒介物必须具有足够高的纯度和足够低的毒性以使它们适于施用给待治疗的动物。媒介物可为惰性的或其可具有药学益处。为了在每个单位剂量中施用所述化合物或其药学上可接受的盐，与所述化合物或其药学上可接受的盐一起使用的媒介物的量足以提供实用量的物质。

[0204] 示例性的药学上可接受的载体或其组分为糖，例如乳糖、葡萄糖和蔗糖；淀粉，例如玉米淀粉和马铃薯淀粉；纤维素及其衍生物，例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和甲基纤维素；西黄蓍胶粉；麦芽；明胶；滑石；固体润滑剂，例如硬脂酸和硬脂酸镁；硫酸钙；合成油；植物油，例如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油和玉米油；多元醇，例如丙二醇、甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；海藻酸；磷酸盐缓冲溶液；乳化剂，例如吐温®；润湿剂，例如月桂基硫酸钠；着色剂；矫味剂；压片剂；稳定剂；抗氧化剂；防腐剂；无热原水；等渗盐水；和磷酸盐缓冲溶液。

[0205] 任选的活性剂可包含在药物组合物中，所述任选的活性剂基本不干扰本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐的活性。

[0206] 将有效浓度的本申请所述至少一种化合物或其药学上可接受的盐与适当的药学上可接受的媒介物混合。当所述化合物或其药学上可接受的盐表现出不足的溶解度时，可使用使化合物增溶的方法。上述方法为本领域技术人员已知的且包括但不限于使用共溶剂例如二甲基亚砜(DMSO)、使用表面活性剂例如吐温®或溶解在碳酸氢钠水溶液中。

[0207] 当对本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐进行混合时或当加入本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐时，所得混合物可为溶液、混悬液、乳液等。所得混合物的形式取决于多种因素，包括所预期的施用模式和所述化合物或其药学上可接受的盐在所选媒介物中的溶解度。足以缓解所治疗的疾病的症状的有效浓度可凭经验来确定。

[0208] 本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐可如下以剂量单位制剂形式来施用：口服、局部、胃肠外、静脉内、肌肉注射、吸入或喷雾、舌下、透皮、含服、直肠、眼用溶液剂或其它方式。

[0209] 可将药物组合物配制成用于口服，例如片剂、糖锭剂、锭剂、水性或油性混悬剂、可分散的粉末剂或颗粒剂、乳剂、硬胶囊剂或软胶囊剂、糖浆剂或酏剂。旨在用于口服的药物组合物可根据本领域已知的用于制备药物组合物的任意方法来制备且上述组合物可含有一种或多种试剂例如甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂以提供药学上美观和适口的制剂。在一些实施方案中，口服药物组合物含有0.1%至99%的本申请所述至少一种化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中，口服药物组合物含有至少5% (重量%)的本申请所述至少一种化合物或其药学上可接受的盐。一些实施方案含有25%至50%或5%至75%的本申请所述至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0210] 口服施用的药物组合物还包括液体溶液剂、乳剂、混悬剂、粉末剂、颗粒剂、酞剂、酞剂、糖浆剂等。适于制备上述组合物的药学上可接受的载体为本领域公知的。口服药物组合物可含有防腐剂、矫味剂、甜味剂(例如蔗糖或糖精)、掩味剂和着色剂。

[0211] 用于糖浆剂、酞剂、乳剂和混悬剂的常见载体组分包括乙醇、甘油、丙二醇、聚乙二醇、液体蔗糖、山梨醇和水。糖浆剂和酞剂可用甜味剂例如甘油、丙二醇、山梨醇或蔗糖配制。上述药物组合物还可含有缓和剂。

[0212] 例如,可将本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐引入到口服液体制剂例如水性或油性混悬剂、溶液剂、乳剂、糖浆剂或酞剂中。另外,含有本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物可按干燥产品形式来提供,其在使用前用水或其它适当的媒介物复溶。上述液体制剂可含有常规添加剂,例如助悬剂(例如山梨醇糖浆、甲基纤维素、葡萄糖/糖、糖浆、明胶、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶和氢化食用脂)、乳化剂(例如卵磷脂、脱水山梨醇单油酸酯或阿拉伯胶)、非水性媒介物[其可包括食用油(例如杏仁油、分级椰子油、硅酯、丙二醇和乙醇)]和防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯和山梨酸)。

[0213] 对于混悬剂,常见的助悬剂包括甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、AVICEL®RC-591、西黄蓍胶和海藻酸钠;常见的润湿剂包括卵磷脂和聚山梨酯80;且常见的防腐剂包括对羟基苯甲酸甲酯和苯甲酸钠。

[0214] 水性混悬剂含有活性物质(一种或多种)及适于制备水性混悬剂的赋形剂。上述赋形剂为助悬剂,例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯基吡咯烷酮、西黄蓍胶和阿拉伯胶;分散剂或润湿剂;上述赋形剂可为天然存在的磷脂例如卵磷脂或氧化烯与脂肪酸的缩合产物例如聚氧乙烯硬脂酸酯或氧化乙烯与长链脂肪醇的缩合产物例如十七乙烯氧基鲸蜡醇或氧化乙烯与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物例如聚氧乙烯山梨醇代替物或氧化乙烯与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物例如聚氧乙烯脱水山梨醇代替物。水性混悬剂还可含有一种或多种防腐剂,例如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯。

[0215] 油性混悬剂可如下制备:将活性成分混悬在植物油例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油中或混悬在矿物油例如液体石蜡中。油性混悬剂可含有增稠剂,例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可加入甜味剂例如上述那些甜味剂和矫味剂以提供适口的口服制剂。这些药物组合物可通过加入抗氧化剂例如抗坏血酸来防腐。

[0216] 药物组合物还可呈水包油型乳剂形式。油相可为植物油例如橄榄油或花生油或矿物油例如液体石蜡或这些油的混合物。适当的乳化剂可为天然存在的胶类例如阿拉伯胶或西黄蓍胶、天然存在的磷脂例如大豆磷脂、卵磷脂、衍生自脂肪酸和己糖醇或己糖醇酐的酯或偏酯例如脱水山梨醇单油酸酯和所述偏酯与氧化乙烯的缩合产物例如聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯。

[0217] 适于通过加入水来制备水性混悬剂的可分散的粉末剂和颗粒剂为活性成分与分散剂或润湿剂、助悬剂和一种或多种防腐剂的混合物。分散剂或润湿剂和助悬剂的适当实例如上所述。

[0218] 片剂通常包含常规药学上可接受的辅料,例如惰性稀释剂,例如碳酸钙、碳酸钠、甘露醇、乳糖和纤维素;粘合剂,例如淀粉、明胶和蔗糖;崩解剂,例如淀粉、海藻酸和交联羧

甲纤维素;润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸和滑石。助流剂例如二氧化硅可用于改善粉末混合物的流动性。为了美观,可加入着色剂例如FD&C染料。甜味剂和矫味剂例如阿司帕坦、糖精、薄荷醇、薄荷和水果香料可为用于咀嚼片的有用辅料。胶囊剂(包括定时释放和持续释放制剂)通常包含一种或多种上述固体稀释剂。对载体组分的选择通常取决于次级考虑因素例如味道、成本和贮存稳定性。

[0219] 上述药物组合物还可通过常规方法通常用pH依赖性包衣或时间依赖性包衣来包衣,从而使所述化合物或其药学上可接受的盐在胃肠道中在所期望的局部施用部位附近释放或使所述化合物或其药学上可接受的盐在不同的时间释放以延长所期望的作用。上述剂型通常包含但不限于一种或多种乙酸邻苯二甲酸纤维素、聚乙烯基乙酸邻苯二甲酸酯、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素、丙烯酸树脂(Eudragit®)包衣、蜡和虫胶。

[0220] 口服药物组合物还可按硬明胶胶囊剂(其中将活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合)或软明胶胶囊剂(其中将活性成分与水或油性介质例如花生油、液体石蜡或橄榄油混合)形式来提供。

[0221] 药物组合物可呈无菌注射用水性或油性混悬剂形式。该混悬剂可根据已知技术使用上述那些适当的分散剂或润湿剂和助悬剂来配制。无菌注射剂还可为在胃肠外可接受的无毒媒介物中的无菌注射用溶液剂或混悬剂,例如在1,3-丁二醇中的溶液剂。可使用且可接受的媒介物包括水、林格溶液和等渗氯化钠溶液。另外,通常使用无菌不挥发性油作为溶剂或混悬介质。出于该目的,可使用任意温和的不挥发性油,包括合成性甘油一酯或甘油二酯。另外,脂肪酸例如油酸可用于制备注射剂。

[0222] 本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐可在无菌介质中来胃肠外施用。胃肠外施用包括皮下注射、静脉内注射、肌肉注射、鞘内注射或输注技术。可将本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐混悬或溶解在媒介物中,这取决于所使用的媒介物和浓度。有利地,可将辅料例如局部麻醉剂、防腐剂和缓冲剂溶解在媒介物中。在用于胃肠外施用的多种药物组合物中,载体占组合物总重量的至少90%。在一些实施方案中,用于胃肠外施用的载体选自丙二醇、油酸乙酯、吡咯烷酮、乙醇和芝麻油。

[0223] 本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐还可按用于药物直肠施用的栓剂形式来施用。这些药物组合物可如下制备:将药物与适当的非刺激性赋形剂混合,所述赋形剂在常温为固体,但在直肠温度为液体,因此将在直肠中融化以释放药物。上述物质包括可可脂和聚乙二醇。

[0224] 可将本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐配制成用于局部施用,例如局部施用给皮肤和粘膜,例如局部施用在眼中,呈凝胶剂、乳膏剂和洗剂形式及用于施用给眼。局部用药物组合物可呈任意形式,包括例如溶液剂、乳膏剂、软膏剂、凝胶剂、洗剂、乳剂、清洁剂、增湿剂、喷雾剂、皮肤贴剂等。

[0225] 可将上述溶液剂与适当的盐一起配制成浓度为0.01%-10%的等渗溶液(pH 5-7)。还可将本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐配制成透皮贴剂以供透皮施用。

[0226] 可将包含本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐的局部用药物组合物与本领域公知的多种载体物质混合,所述载体物质例如水、醇、芦荟凝胶、尿囊素、甘油、维生素A和E油、矿物油、丙二醇、PPG-2丙酸肉豆蔻酯等。

[0227] 适于用在局部用载体中的其它物质包括例如润肤剂、溶剂、保湿剂、增稠剂和粉末

物质。这些类型的物质可单独使用或以一种或多种物质的混合物形式来使用,所述物质的实例各自如下所述。

[0228] 代表性的润肤剂包括硬脂醇、单蓖麻油酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯、丙烷-1,2-二醇、丁烷-1,3-二醇、貂油、鲸蜡醇、异硬脂酸异丙酯、硬脂酸、棕榈酸异丁酯、硬脂酸异鲸蜡酯、油醇、月桂酸异丙酯、月桂酸己酯、油酸癸酯、十八烷-2-醇、异鲸蜡醇、棕榈酸鲸蜡酯、二甲基聚硅氧烷、癸二酸二正丁酯、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、硬脂酸异丙酯、硬脂酸丁酯、聚乙二醇、三甘醇、羊毛脂、芝麻油、椰子油、花生油、蓖麻油、乙酰化羊毛脂醇、石油、矿物油、肉豆蔻酸丁酯、异硬脂酸、棕榈酸、亚油酸异丙酯、乳酸月桂酯、乳酸肉豆蔻酯、油酸癸酯和肉豆蔻酸肉豆蔻酯;抛射剂,例如丙烷、丁烷、异丁烷、二甲醚、二氧化碳和一氧化二氮;溶剂,例如乙醇、二氯甲烷、异丙醇、蓖麻油、乙二醇单乙醚、二甘醇单丁醚、二甘醇单乙醚、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺和四氢呋喃;保湿剂,例如甘油、山梨醇、吡咯烷-2-酮-5-甲酸钠、可溶性胶原、邻苯二甲酸二丁酯和明胶;和粉末物质,例如白垩、滑石、漂白土、高岭土、淀粉、胶类、胶体二氧化硅、聚丙烯酸钠、蒙脱石四烷基铵、蒙脱石三烷基芳基铵、经化学改性的硅酸镁铝、经有机改性的蒙脱石粘土、水合硅酸铝、烟雾硅胶、羧基乙烯基聚合物、羧甲基纤维素钠和乙二醇单硬脂酸酯。

[0229] 本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐还可按脂质体递送系统形式来局部施用,所述脂质体递送系统为例如小单层囊泡、大单层囊泡和多层囊泡。脂质体可由多种磷脂例如胆固醇、硬脂胺或磷脂酰胆碱来形成。

[0230] 可用于实现全身递送所述化合物或其药学上可接受的盐的其它药物组合物包括舌下、含服和经鼻剂型。上述药物组合物通常包含一种或多种可溶性填充剂物质(例如蔗糖、山梨醇和甘露醇)和粘合剂(例如阿拉伯胶、微晶纤维素、羧甲基纤维素和羟丙基甲基纤维素)。还可包含上述助流剂、润滑剂、甜味剂、着色剂、抗氧化剂和矫味剂。

[0231] 用于吸入的药物组合物通常可按溶液剂、混悬剂或乳剂形式来提供,其可按干粉或气雾剂形式来施用,其中使用常规抛射剂(例如二氯二氟甲烷或三氯氟甲烷)。

[0232] 药物组合物还可任选含有活性增强剂。活性增强剂可选自很多种分子,所述分子以不同方式发挥作用以提高本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐的治疗作用或独立于本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐的治疗作用。具体类型的活性增强剂包括透皮增强剂和吸收增强剂。

[0233] 药物组合物还可含有其它活性剂,所述其它活性剂可选自很多种分子,所述分子以不同方式发挥作用以提高本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐的治疗作用。这些任选的其它活性剂当存在时通常以范围为0.01%至15%的水平用在药物组合物中。一些实施方案按组合物的重量计含有0.1%至10%的其它活性剂。其它实施方案按组合物的重量计含有0.5%至5%的其它活性剂。

[0234] 本申请还提供经包装的药物组合物。上述经包装的组合物含有包含本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物和使用所述组合物对对象(通常为人类患者)进行治疗的说明书。在一些实施方案中,所述说明书指出使用所述药物组合物对患有由HDAC介导的病症或障碍的对象进行治疗。经包装的药物组合物可提供处方信息,例如,向患者或护理人员,或以经包装的药物组合物中的标签形式。处方信息可包括例如与所述药物组合物相关的效力、剂量、施用、禁忌症和不良反应信息。

[0235] 在所有上述内容中,所述化合物或其药学上可接受的盐可单独施用或以与其它活性剂的混合物形式施用或与其它活性剂联合施用。

[0236] 本申请所述的方法包括治疗亨廷顿病的方法,包括治疗与亨廷顿病相关的记忆和/或认知缺损的方法,所述方法包括向对象同时或先后施用本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐和一种或多种用于治疗亨廷顿病的其它药物,所述其它药物为例如但不限于阿米替林、丙咪嗪、地昔帕明、去甲替林、帕罗西汀、氟西汀、舍曲林、丁苯那嗪、氟哌啶醇、氯丙嗪、硫利达嗪、舒必利、喹硫平、氯氮平和利培酮。在使用同时施用的方法中,所述药物可存在于所组合的组合物中或可分开施用。因此,本申请还提供药物组合物,其包含本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐和一种或多种用于治疗亨廷顿病的其它药物,所述其它药物为例如但不限于阿米替林、丙咪嗪、地昔帕明、去甲替林、帕罗西汀、氟西汀、舍曲林、丁苯那嗪、氟哌啶醇、氯丙嗪、硫利达嗪、舒必利、喹硫平、氯氮平和利培酮。类似地,本申请还提供经包装的药物组合物,其含有包含本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物和包含一种或多种用于治疗亨廷顿病的其它药物的另一种组合物,所述其它药物为例如但不限于阿米替林、丙咪嗪、地昔帕明、去甲替林、帕罗西汀、氟西汀、舍曲林、丁苯那嗪、氟哌啶醇、氯丙嗪、硫利达嗪、舒必利、喹硫平、氯氮平和利培酮。

[0237] 还提供了治疗阿尔茨海默病(包括治疗与阿尔茨海默病相关的记忆和/或认知缺损)的方法,所述方法包括向对象同时或先后施用本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐和一种或多种用于治疗阿尔茨海默病的其它药物,所述其它药物为例如但不限于 Reminyl®、Cognex®、Aricept®、Exelon®、Akatinol®、Neotropin™、Eldepryl®、雌激素和氯碘羟喹。在使用同时施用的方法中,所述药物可存在于所组合的组合物中或可分开施用。本申请还提供药物组合物,其包含本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐和一种或多种用于治疗阿尔茨海默病的其它药物,所述其它药物为例如但不限于 Reminyl®、Cognex®、Aricept®、Exelon®、Akatinol®、Neotropin™、Eldepryl®、雌激素和氯碘羟喹。类似地,本申请还提供经包装的药物组合物,其含有包含本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物和包含一种或多种用于治疗阿尔茨海默病的其它药物的另一种组合物,所述其它药物为例如但不限于 Reminyl®、Cognex®、Aricept®、Exelon®、Akatinol®、Neotropin™、Eldepryl®、雌激素和氯碘羟喹。

[0238] 本申请还提供治疗癌症的方法,所述方法包括向对象同时或先后施用本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐和一种或多种用于治疗癌症的其它药物,所述其它药物为例如但不限于以下种类的抗肿瘤药:

[0239] (i) 通过与本申请上述那些机理相同或不同的机理来发挥作用的其它细胞周期抑制剂,例如细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶(CDK)抑制剂,特别是CDK2抑制剂;

[0240] (ii) 细胞生长抑制剂,例如抗雌激素药(例如他莫昔芬、托瑞米芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬、碘多昔芬)、孕激素(例如醋酸甲地孕酮)、芳香酶抑制剂(例如阿那曲唑、来曲唑、氟氯唑、依西美坦)、抗孕激素药、抗雄激素药(例如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、醋酸环丙孕酮)、LHRH激动剂和拮抗剂(例如醋酸戈舍瑞林、亮丙瑞林)、睾酮5 α -二氢还原酶抑制剂(例如非那雄胺)、抗侵袭药(例如金属蛋白酶抑制剂例如马立马司他和尿激酶纤维蛋白溶解酶

原激活剂受体功能抑制剂)和生长因子功能抑制剂(所述生长因子包括例如血管内皮生长因子、上皮生长因子、血小板源性生长因子和肝细胞生长因子且所述抑制剂包括生长因子抗体、生长因子受体抗体、酪氨酸激酶抑制剂和丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂);

[0241] (iii) 用在医学肿瘤学中的抗增殖/抗肿瘤药及其组合,例如抗代谢药(例如抗叶酸剂例如甲氨蝶呤、氟嘧啶例如5-氟尿嘧啶、嘌呤和腺苷类似物、阿糖胞苷);抗肿瘤抗生素(例如蒽环类抗生素例如多柔比星、柔红霉素、表柔比星和伊达比星、丝裂霉素C、放线菌素D、光辉霉素);铂衍生物(例如顺铂、卡铂);烷化剂(例如氮芥、美法仑、苯丁酸氮芥、白消安、环磷酰胺、异环磷酰胺、亚硝基脲、塞替派);抗有丝分裂药(例如长春花生物碱类例如长春新碱和紫杉烷类例如紫杉醇、多西紫杉醇);拓扑异构酶抑制剂(例如表鬼臼毒素类例如依托泊苷和替尼泊苷、安吡啶、托泊替康);

[0242] (iv) 通过与本申请上述那些机理不同的机理来发挥作用的抗血管生成剂(例如受体酪氨酸激酶例如Tie-2、整合素 $\alpha_v\beta_3$ 功能抑制剂、血管紧张素、雷佐生、沙利度胺)且包括血管靶向药物;和

[0243] (v) 分化剂(例如维A酸和维生素D)。

[0244] 在使用同时施用的方法中,所述药物可存在于所组合的组合物中或可分开施用。因此,本申请还提供药物组合物,其包含本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐和一种或多种本申请所述的抗肿瘤药。类似地,本申请还提供经包装的药物组合物,其含有包含本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物和包含一种或多种本申请所述的抗肿瘤药的另一种组合物。当与一种或多种其它药物联用时,可在施用所述其它药物(一种或多种)前、与所述其它药物(一种或多种)同时或在施用所述其它药物(一种或多种)后施用本申请所述的化合物。

[0245] 在一些实施方案中,本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐可与外科手术或放射疗法联用,任选与一种或多种用于治疗癌症的其它药物联用。

[0246] 本申请所述的化合物的剂量取决于多种因素,包括待治疗的具体症状、所述症状的严重程度、施用途径、剂量间隔频率、所使用的具体化合物、所述化合物的效力、毒理学分布和药物代谢动力学分布及是否存在任意有害副作用等。

[0247] 本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐通常以就HDAC抑制剂而言常用的剂量水平和方式来施用。例如,所述化合物或其药学上可接受的盐可按一次或多次剂量来口服施用,其中剂量水平通常为0.001-100mg/kg/日,例如0.01-100mg/kg/日,例如0.1-70mg/kg/日,例如0.5-10mg/kg/日。单位剂量形式通常可含有0.01-1000mg本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐,例如0.1-50mg本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。所述化合物可按一次或多次剂量来静脉内施用,其中剂量水平为例如0.001-50mg/kg/日,例如0.001-10mg/kg/日,例如0.01-1mg/kg/日。单位剂量形式可含有例如0.1-10mg本申请所述的至少一种化合物或其药学上可接受的盐。

[0248] 呈标记形式的本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐可用作诊断剂以鉴别和/或得到具有本申请所述功能即调节HDAC活性的化合物。本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐还可用于对生物学测定进行验证、优化和归一化。

[0249] 本申请使用的“标记”是指化合物用能够提供可检测的信号标记物进行直接或间接标记,所述标记物为例如放射性同位素、荧光标签、酶、抗体、粒子例如磁性粒子、化学

发光标签或特异性结合分子等。特异性结合分子包括配对体,例如生物素和链霉亲和素、地高辛和抗地高辛等。对于特异性结合成员,互补成员通常可按照已知操作上述用于检测的分子进行标记。标记物可直接或间接提供可检测的信号。

[0250] 本申请包括在本申请所述的化合物及其药学上可接受的盐中出现的原子的所有同位素。同位素包括具有相同的原子数但具有不同的质量数的那些原子。本申请也包括被具有相同的原子数但具有不同的质量数的原子代替的本申请所述的化合物及其药学上可接受的盐中的一种或多种原子的每种组合。一个这样的实例是本申请所述的化合物及其药学上可接受的盐之一中的最天然富集的同位素(诸如 ^1H 或 ^{12}C)被非最天然富集的同位素(诸如 ^2H 或 ^3H (代替 ^1H),或 ^{11}C 、 ^{13}C 或 ^{12}C (代替 ^{12}C))的不同原子的代替。其中发生这样的代替的化合物被通常称为同位素标记的。本申请所述的化合物及其药学上可接受的盐的同位素标记可以使用本领域技术人员已知的各种不同的合成方法中的任一种来完成,并且这是在理解需要进行这样的同位素标记的合成方法和可获得试剂的情况下容易进行的。作为一般实例而非限制,氢的同位素包括 ^2H (氘)和 ^3H (氚)。碳的同位素包括 ^{11}C 、 ^{13}C 和 ^{14}C 。氮的同位素包括 ^{13}N 和 ^{15}N 。氧的同位素包括 ^{15}O 、 ^{17}O 和 ^{18}O 。氟的同位素包括 ^{18}F 。硫的同位素包括 ^{35}S 。氯的同位素包括 ^{36}Cl 。溴的同位素包括 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 和 ^{82}Br 。碘的同位素包括 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 和 ^{131}I 。还提供了包含本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物,其中所述药物组合物中天然存在的同位素分布受到干扰。还提供了包含本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物,所述化合物或其药学上可接受的盐在一个或多个位置上富含非最天然富集的同位素的同位素。用来测量这种同位素干扰或富集的方法很容易获得,例如质谱,并且对于是放射性同位素的同位素,可以获得附加方法,例如与HPLC或气相色谱(GC)关联使用的放射性检测器。本申请所述的某些同位素标记的化合物及其药学上可接受的盐可用于化合物和/或底物组织分布测定。在一些实施方案中,放射性核素 ^3H 和/或 ^{14}C 同位素在这些研究中是有用的。此外,用更重的同位素例如氘(即 ^2H)取代可以提供由更高的代谢稳定性(例如增加的体内半衰期或降低的剂量需求)导致的某些治疗优势,因此在某些情况下可能是优选的。本申请所述的同位素标记的化合物及其药学上可接受的盐通常可通过遵循与以下与实施例中公开的操作类似的操作,通过用同位素标记的试剂取代非同位素标记的试剂来制备。此外,应该理解的是,本申请所述的化合物及其药学上可接受的盐中所代表的所有原子可以是这种原子最常见的同位素,或是稀有放射性同位素或非放射性同位素。

[0251] 在实施本申请所述方法的过程中,应该理解的是,当提到具体的缓冲剂、介质、试剂、细胞、培养条件等时,不是旨在进行限制,而是使其能够被阅读以包括所有相关物质,本领域技术人员可认识到的是,这些相关物质在进行上述讨论的具体背景下是重要的或是有价值的。例如,一种缓冲剂系统或培养基通常可用另一种缓冲剂系统或培养基代替并仍实现类似(若不相同)的结果。本领域技术人员将具有就上述系统和方法学而言足够的知识以在不进行过度实验的情况下就能够进行上述代替,在使用本申请所述的方法和操作中,这样的代替将最佳地用于其目的。

实施例

[0252] 通过以下非限制性实施例来进一步说明本申请所述的化合物或其药学上可接受的盐、组合物和方法。

- [0253] 本申请使用的以下缩写具有以下含义。若缩写未定义,则其具有其公认的含义。
- [0254] 缩写
- [0255] aq.: 含水的
- [0256] AcOH: 乙酸
- [0257] Boc或BOC: 叔丁氧基羰基
- [0258] DCM: 二氯甲烷
- [0259] DEA: 二乙醇胺
- [0260] DIPEA: 二异丙基乙基胺
- [0261] DMAP: 二甲基氨基吡啶
- [0262] DMSO: 二甲基亚砷
- [0263] EDC: 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺
- [0264] ES+: 电喷雾正离子化
- [0265] Et: 乙基
- [0266] Et₃N: 三乙基胺
- [0267] EtOAc: 乙酸乙酯
- [0268] EtOH: 乙醇
- [0269] FBS: 胎牛血清
- [0270] h: 小时
- [0271] HATU: (1-[双(二甲基氨基) 亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐)
- [0272] HOP0: 2-羟基吡啶-N-氧化物
- [0273] HPLC: 高效液相色谱(法)
- [0274] i-hex: 异己烷
- [0275] LCMS: 液相色谱-质谱(法)
- [0276] M: 质量
- [0277] MeCN: 乙腈
- [0278] MeOH: 甲醇
- [0279] min: 分钟
- [0280] Ms: 甲磺酰基
- [0281] NMR: 核磁共振
- [0282] OAc: 乙酰氧基
- [0283] sat.: 饱和
- [0284] R_f: 保留因子
- [0285] RT: 保留时间
- [0286] r. t.: 室温
- [0287] SFC: 超临界流体色谱(法)
- [0288] TFAA: 三氟乙酸酐
- [0289] THF: 四氢呋喃
- [0290] v/v: 体积/体积

[0291] 借助Cambridgesoft Chemistry Cartridge(v.9.0.0.182) 软件对化合物进行命名。

[0292] 牵涉空气-或湿气-敏感性试剂的所有反应在氮气气氛中使用干燥溶剂和玻璃器皿来进行。

[0293] 当单一对映异构体的绝对构型未知时,手性中心已经用星号进行标记。

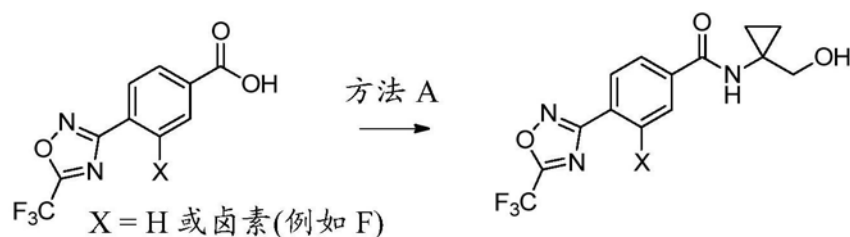
[0294] 分析条件

[0295]

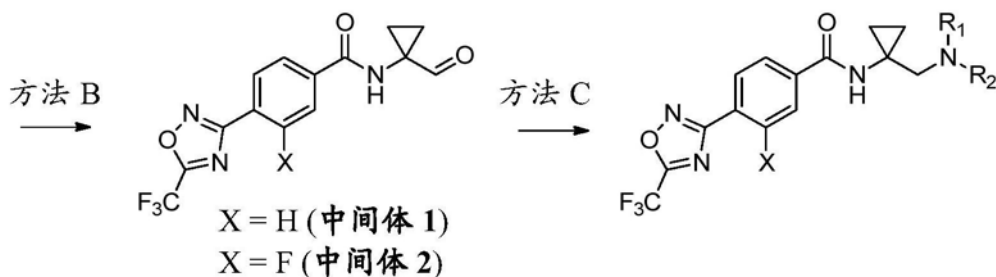
分析方法#	描述																					
分析方法 1	<p>溶剂: 含有 0.1%(v/v) 甲酸的乙腈(远紫外级(far UV grade))。含有 0.1%甲酸的水(通过 PureLab Option unit 处理后为高纯度的)</p> <p>柱: Phenomenex Luna 5 μm C18 (2),100 x 4.6 mm (+保护柱)</p> <p>流速: 2 mL/min</p> <p>梯度: A: 水/甲酸</p> <p>B: MeCN/甲酸</p> <table><tr><td>时间</td><td>A%</td><td>B%</td></tr><tr><td>0.00</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>3.50</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>5.50</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>5.60</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>6.50</td><td>95</td><td>5</td></tr></table> <p>常规注射量 2-7 μL (浓度~0.2-1.0 mg/mL)</p>	时间	A%	B%	0.00	95	5	3.50	5	95	5.50	5	95	5.60	95	5	6.50	95	5			
时间	A%	B%																				
0.00	95	5																				
3.50	5	95																				
5.50	5	95																				
5.60	95	5																				
6.50	95	5																				
分析方法 2	<p>溶剂: - 乙腈(远紫外级)</p> <p>含有 10mM 碳酸氢铵的水(通过 PureLab Option unit 处理后为高纯度的)</p> <p>柱: - Waters Xterra MS 5μ C18, 100 x 4.6 mm (+保护柱)</p> <p>流速: - 2 mL/min</p> <p>梯度: - A: 水/Bicarb B: MeCN</p> <table><tr><td>时间</td><td>A%</td><td>B%</td></tr><tr><td>0.00</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>0.50</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>4.00</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>5.50</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>5.60</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>6.50</td><td>95</td><td>5</td></tr></table> <p>常规注射量 2-7 μL (浓度~0.2 -1 mg/mL)</p>	时间	A%	B%	0.00	95	5	0.50	95	5	4.00	5	95	5.50	5	95	5.60	95	5	6.50	95	5
时间	A%	B%																				
0.00	95	5																				
0.50	95	5																				
4.00	5	95																				
5.50	5	95																				
5.60	95	5																				
6.50	95	5																				

[0296] 通用合成方法

[0297] 方案1-还原胺化路线



[0298]



[0299] 方法A(酰胺偶联)

[0300] 在室温向羧酸(1.50mmol)于DCM(10mL)中的溶液中加入EDC(351mg, 1.83mmol)和HOP0(203mg, 1.83mmol)。将混合物搅拌30min,得到完全溶液,然后加入胺(游离碱或盐酸盐)(1.65mmol)和DIPEA(1.3mL, 7.5mmol)并将混合物在室温搅拌18h。将混合物用水洗涤,通过相分离柱并浓缩。

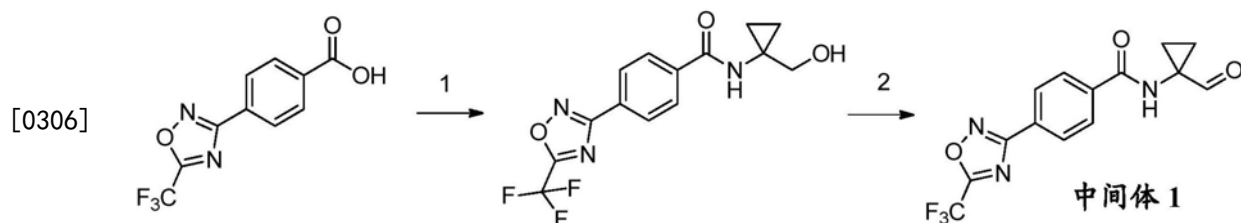
[0301] 方法B(氧化)

[0302] 在室温将Dess-Martin高碘烷(3.69g, 8.7mmol)加入至醇(1.9g, 5.8mmol)于DCM(90mL)中的混悬液中,并将混合物搅拌18h。加入H₂O(50mL)并分离各层。将水层用DCM(3x 30mL)洗涤,并将合并的有机物通过相分离器并浓缩。

[0303] 方法C(还原胺化)

[0304] 向醛(0.3mmol)于溶剂(10mL)中的溶液中加入胺(0.36mmol)和4Å分子筛。将混合物搅拌1-17h,然后分批加入NaBH(OAc)₃或NaCNBH₃(0.45mmol),然后搅拌18h。将混合物通过硅藻土(Celite)过滤并蒸发,溶解于DCM,用水洗涤,通过相分离柱并浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化。

[0305] N-(1-甲酰基环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺(中间体1)



[0307] 步骤1:N-(1-(羟基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺

[0308] 遵循方法A,从4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酸(2.96g, 11.5mmol)

和1-氨基环丙烷甲醇(1.0g, 11.48mmol)得到。通过柱色谱法纯化(梯度洗脱0-60%EtOAc/异己烷)得到标题化合物,为白色固体(2.11g, 56%)。

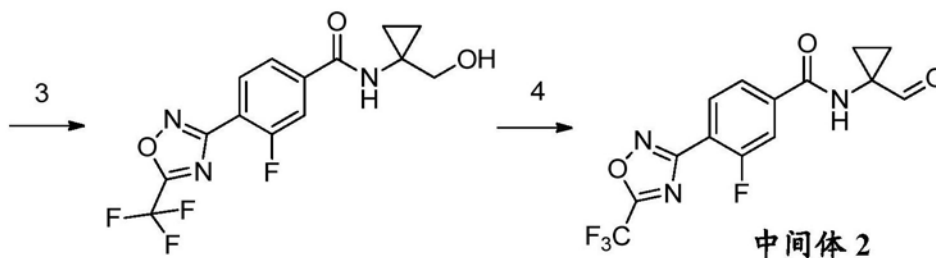
[0309] 步骤2:N-(1-甲酰基环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺(中间体1)

[0310] 遵循方法B,从N-(1-(羟基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺(1.9g, 5.8mmol)得到。通过柱色谱法纯化(梯度洗脱0-45%EtOAc/异己烷)得到标题化合物,为白色固体(319mg, 17%)。

[0311] 3-氟-N-(1-甲酰基环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺(中间体2)



[0312]



[0313] 步骤1:(Z)-3-氟-4-(N'-羟基脒基)苯甲酸

[0314] 向4-氰基-3-氟苯甲酸(2.00g, 12.1mmol)于EtOH(30mL)中的搅拌的溶液中加入NH₂OH·HCl(1.18g, 17.0mmol)和KOH(2.03g, 36.3mmol)。将混合物在室温搅拌17h,然后用1M HCl_(aq)中和并萃取进EtOAc(3x 25mL)中。将合并的有机物干燥(MgSO₄)并浓缩,得到标题化合物,为黄色油,其未经进一步纯化地使用。

[0315] 步骤2:3-氟-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酸

[0316] 向(Z)-3-氟-4-(N'-羟基脒基)苯甲酸(12.1mmol)于THF(30mL)中的搅拌的溶液中加入TFAA(2.50mL, 18.2mmol)。将混合物搅拌3h,然后倒在冰-水上并用1M HCl_(aq)酸化至pH 4,然后萃取进EtOAc(3x 30mL)中。将合并的有机物干燥(MgSO₄)并浓缩。通过快速柱色谱法纯化(梯度洗脱异己烷[+3%AcOH]至4:1异己烷:EtOAc[+3%AcOH])得到标题化合物,为灰白色固体(150mg, 4%(2步))。LCMS(ES⁺) 277(M+H)⁺。

[0317] 步骤3:3-氟-N-(1-(羟基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺

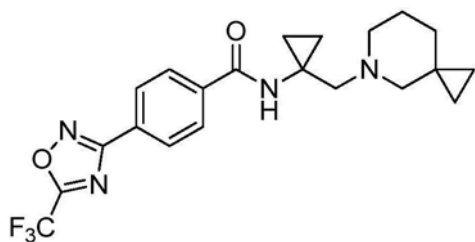
[0318] 遵循方法A,从3-氟-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酸(75mg, 0.27mmol)和1-氨基环丙烷甲醇(35mg, 0.41mmol)得到。通过柱色谱法纯化(EtOAc:异己烷, 1:1)得到标题化合物,为白色固体(200mg, >100%)。

[0319] 步骤4:3-氟-N-(1-甲酰基环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺(中间体2)

[0320] 遵循方法B,从3-氟-N-(1-(羟基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺(0.27mmol)得到标题化合物,为黄色油(150mg),其未经进一步纯化地使用。

[0321] 实施例1:N-(1-(5-氮杂螺[2.5]辛烷-5-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺

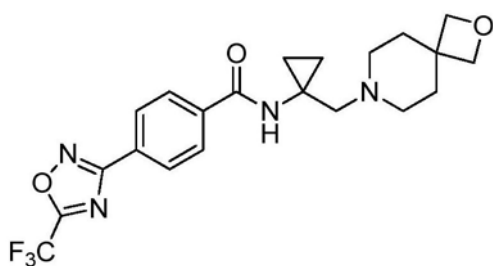
[0322]



[0323] 遵循方法C,从中间体1(300mg,0.92mmol)、5-氮杂螺[2.5]辛烷盐酸盐(250mg,1.7mmol)和NaCNBH₃于DCM/EtOH中的溶液(6mL,1:1)得到。通过制备型HPLC纯化得到标题化合物,为灰白色固体(2mg)。LCMS(ES⁺)421(M+H)⁺,RT 2.81min(分析方法1);¹H NMR(400MHz,DMSO)δ(ppm);8.72(1H,s),8.19(2H,d,J=8.5Hz),8.07(2H,d,J=8.5Hz),2.50(4H,m),2.29(2H,s),1.63-1.56(2H,m),1.27(2H,m),0.85-0.80(2H,m),0.72-0.67(2H,m),0.39-0.35(2H,m),0.26-0.22(2H,m)。

[0324] 实施例2:N-(1-(2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺

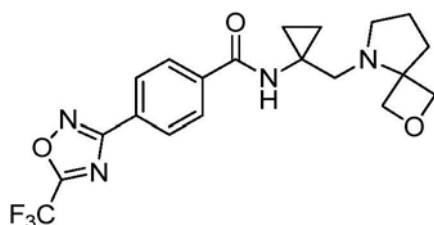
[0325]



[0326] 遵循方法C,从中间体1(300mg,0.92mmol)、2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷草酸盐(185mg,1.1mmol)和NaCNBH₃于DCM/MeOH中的溶液(6mL,1:1)得到。通过制备型HPLC纯化得到标题化合物,为无色固体(10mg)。LCMS(ES⁺)437(M+H)⁺,RT 2.65min(分析方法1);¹H NMR(400MHz,DMSO)δ(ppm);8.16(2H,d,J=8.4Hz),8.04(2H,d,J=8.3Hz),4.25(2H,d,J=5.5Hz),4.17(2H,d,J=5.5Hz),2.68-2.65(2H,m),2.58-2.55(3H,m),2.33(2H,m),1.60-1.60(2H,m),1.40(2H,m),0.84(2H,dd,J=5.5,5.5Hz),0.68(2H,dd,J=5.7,5.7Hz)。

[0327] 实施例3:N-(1-(2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺

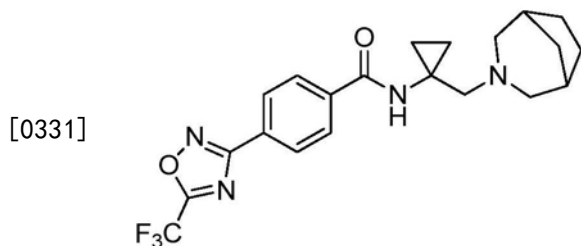
[0328]



[0329] 遵循方法C,从中间体1(300mg,0.92mmol)、2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷(166mg,1.1mmol)和NaCNBH₃于DCM/MeOH中的溶液(6mL,1:1)得到。通过制备型HPLC纯化得到标题化合物,为白色固体(30mg)。LCMS(ES⁺)423(M+H)⁺,RT 2.64min(分析方法1);¹H NMR(400MHz,

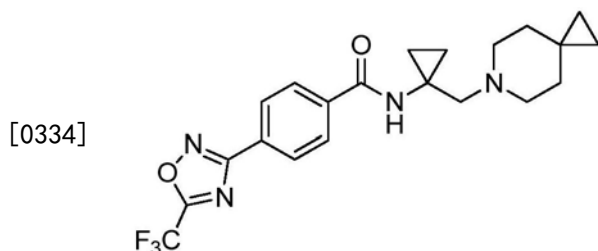
DMSO) δ (ppm) ; 8.79 (1H, s) , 8.14 (2H, d, $J=8.7\text{Hz}$) , 8.02 (2H, d, $J=8.5\text{Hz}$) , 4.52 (2H, d, $J=6.4\text{Hz}$) , 4.31 (2H, d, $J=6.4\text{Hz}$) , 3.08 (2H, s) , 2.83 (2H, dd, $J=7.0, 7.0\text{Hz}$) , 2.00 (2H, dd, $J=7.7, 7.7\text{Hz}$) , 1.70-1.61 (2H, m) , 0.83-0.69 (4H, m) 。

[0330] 实施例4:N-(1-(3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺



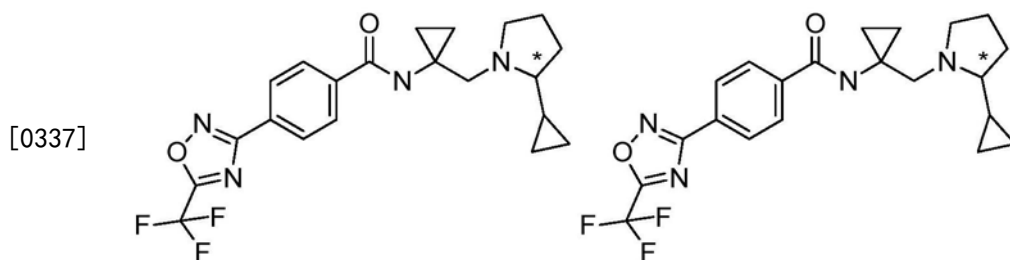
[0332] 遵循方法C,从中间体1 (300mg, 0.92mmol)、3-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐 (148mg, 1.1mmol) 和 NaCNBH_3 于DCM/AcOH中的溶液 (6mL, 10:1) 得到。通过制备型HPLC纯化得到标题化合物,为白色固体 (30mg)。LCMS (ES+) 423 (M+H)⁺, RT 2.64min (分析方法1); ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ (ppm) ; 8.70 (1H, s) , 8.23-8.18 (2H, m) , 8.10 (2H, d, $J=8.6\text{Hz}$) , 2.86-2.81 (2H, m) , 2.09 (4H, d, $J=10.1\text{Hz}$) , 1.61 (2H, d, $J=6.6\text{Hz}$) , 1.48-1.43 (4H, m) , 1.4 (1H, m) , 0.88-0.83 (2H, m) , 0.68-0.64 (2H, m) ; 1H被DMSO掩盖。

[0333] 实施例5:N-(1-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺



[0335] 遵循方法C,从中间体1 (250mg, 0.77mmol)、6-氮杂螺[2.5]辛烷 (130 μL , 0.92mmol) 和 NaCNBH_3 于DCM/AcOH中的溶液 (25mL, 10:1) 得到。通过制备型HPLC纯化得到标题化合物,为淡棕色固体 (21mg)。LCMS (ES+) 421 (M+H)⁺, RT 2.79min (分析方法1); ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ (ppm) ; 8.70 (1H, s) , 8.23-8.18 (2H, m) , 8.11-8.07 (2H, m) , 2.61 (4H, s) , 1.36-1.36 (4H, m) , 0.86 (2H, s) , 0.75 (2H, s) , 0.27 (4H, s) ; 2H被DMSO掩盖。

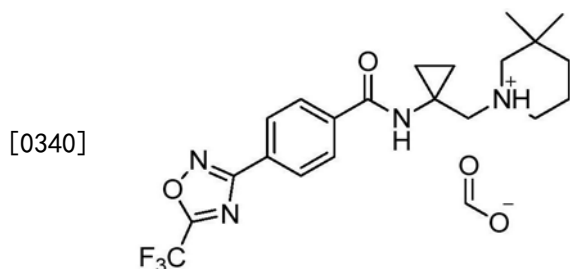
[0336] 实施例6和实施例7:E1:(abs)-N-(1-((2-环丙基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺;和E2:(abs)-N-(1-((2-环丙基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺



[0338] 遵循方法C,从中间体1 (464mg, 1.4mmol)、(rac)-2-环丙基吡咯烷 (210mg,

1.4mmol) 和 NaCNBH_3 于 DCM/EtOH/AcOH 中的溶液 (25mL, 10:10:1) 得到。通过制备型 HPLC 和手性 SFC 纯化 (Lux Cellulose-4 15/85MeOH (0.1%DEA) / CO_2 , 5.0mL/min, 120巴, 40℃, 在 2.4 和 3.0min 观察到对映异构体) 得到标题化合物, 为白色固体。E1- (abs) - 对映异构体 (17mg)。LCMS (ES+) 421 (M+H)⁺, RT 2.77min (分析方法1); ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ (ppm); 8.80 (1H, s), 8.18 (2H, d, J=8.3Hz), 8.07 (2H, d, J=8.3Hz), 3.67 (1H, d, J=12.6Hz), 3.46-3.40 (1H, m), 2.17 (1H, q, J=8.7Hz), 1.97 (1H, d, J=12.9Hz), 1.89-1.79 (1H, m), 1.75-1.61 (3H, m), 1.54-1.43 (1H, m), 0.91-0.81 (1H, m), 0.80-0.71 (3H, m), 0.61-0.42 (2H, m), 0.32-0.15 (2H, m); 0.04-0.01 (1H, m)。E2- (abs) - 对映异构体 (18mg)。LCMS (ES+) 421 (M+H)⁺, RT 2.77min (分析方法1); ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ (ppm); 8.80 (1H, s), 8.18 (2H, d, J=8.3Hz), 8.07 (2H, d, J=8.3Hz), 3.67 (1H, d, J=12.9Hz), 3.47-3.40 (1H, m), 2.17 (1H, q, J=8.6Hz), 1.97 (1H, d, J=12.6Hz), 1.89-1.78 (1H, m), 1.74-1.61 (3H, m), 1.54-1.43 (1H, m), 0.90-0.71 (4H, m), 0.61-0.42 (2H, m), 0.31-0.15 (2H, m), 0.04-0.01 (1H, m)。

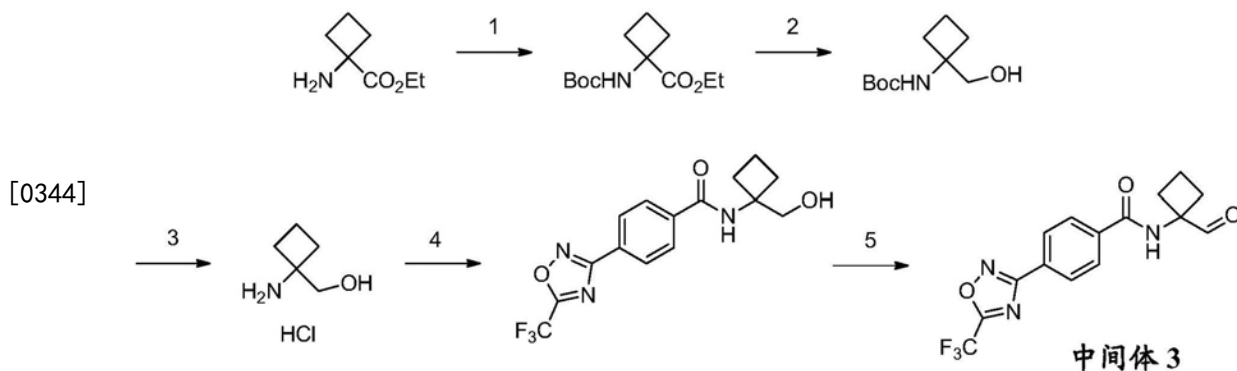
[0339] 实施例8: N-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺甲酸盐



[0341] 在室温将 PS-三乙基氰基硼氢化铵 (250mg, 1.0mmol) 加入至中间体1 (104mg, 0.32mmol) 和 3,3-二甲基哌啶于 DCM (5mL) 中的混悬液中并振摇 2h。将反应混合物通过硅藻土过滤并浓缩滤液。通过制备型 HPLC 纯化得到标题化合物, 为白色固体 (2mg)。LCMS (ES+) 423 (M+H)⁺, RT 2.83min (分析方法1); ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ (ppm); 8.35 (1H, d, J=8.2Hz), 8.17 (2H, d, J=8.7Hz), 8.05 (2H, d, J=8.5Hz), 4.17-4.09 (1H, m), 2.68-2.59 (5H, m), 2.45 (1H, dd, J=7.0, 12.4Hz), 1.58-1.51 (8H, m), 1.16 (3H, d, J=6.7Hz)

[0342] N-(1-甲酰基环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺 (中间体 3)

[0343] 方案2



[0345] 步骤1: 1-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁烷甲酸乙酯

[0346] 经 15min 向 1-氨基环丁烷甲酸乙酯 (2.27g, 12.5mmol) 于 DCM (50mL) 中的溶液分

批加入三乙基胺 (5.2mL, 37.6mmol), 随后加入一缩二碳酸二叔丁酯 (3.0g, 13.8mmol)。将该溶液在室温搅拌18h。将混合物用水洗涤, 通过相分离柱并浓缩, 得到标题化合物, 为白色固体 (2.97g, 97%)。

[0347] 步骤2: (1-(羟基甲基)环丁基)氨基甲酸叔丁酯

[0348] 在-15℃在氮气下经40min向1-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁烷甲酸乙酯 (2.97g, 12.2mmol) 于乙醚 (50mL) 中的溶液中滴加氢化铝锂 (12.8mL, 25.6mmol, 2.0M于THF中)。将反应在-10℃维持1.5h, 然后用水 (4mL)、2N NaOH (5.4mL) 淬灭, 然后用更多的水 (11mL) 淬灭。将反应温热至室温并搅拌30min, 然后加入MgSO₄并将反应通过硅藻土过滤, 用乙酸乙酯彻底洗涤。将滤液浓缩, 得到标题化合物, 为灰白色固体 (2.34g, 95%)。

[0349] 步骤3: (1-氨基环丁基)甲醇盐酸盐

[0350] 在0℃在氮气下向 (1-(羟基甲基)环丁基)氨基甲酸叔丁酯 (2.43g, 12.07mmol) 于DCM (5mL) 中的溶液中滴加4N HCl/二噁烷 (0.8mL, 3.0mmol)。将溶液温热至室温并搅拌1h, 然后浓缩, 得到标题化合物, 为不透明粘性固体 (1.92g, 91%)。

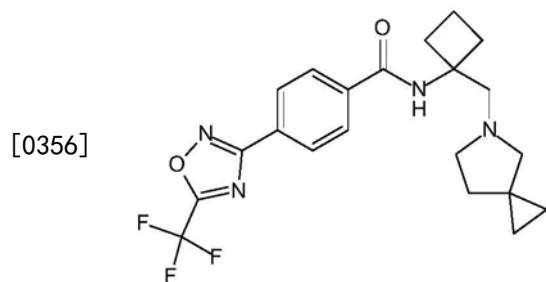
[0351] 步骤4: N-(1-(羟基甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺

[0352] 遵循方法A, 从4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酸 (2.56g, 9.92mmol) 和 (1-氨基环丁基)甲醇盐酸盐 (1.92g, 10.9mmol) 得到。通过柱色谱法纯化 (梯度洗脱, 0-100%乙酸乙酯/异己烷) 得到标题化合物, 为白色固体 (2.11g, 62%)。

[0353] 步骤5: N-(1-甲酰基环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺 (中间体2)

[0354] 遵循方法B, 从N-(1-(羟基甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺 (2.11g, 6.18mmol) 得到。通过柱色谱法纯化 (梯度洗脱, 5-100%乙酸乙酯/异己烷) 得到标题化合物, 为灰白色固体 (1.56g, 74%)。

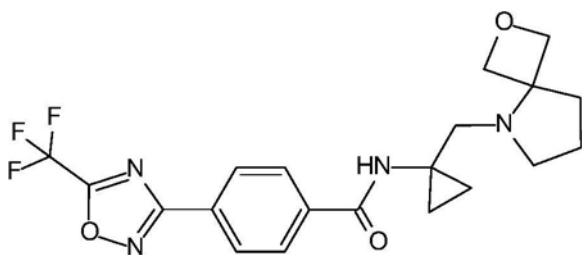
[0355] 实施例9: N-(1-(5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺



[0357] 遵循方法C, 从中间体3 (0.3mmol)、5-氮杂螺[2.4]庚烷 (0.36mmol) 和Na(OAc)₃BH于THF中的溶液 (5mL) 得到。得到标题化合物, 为灰白色固体 (55mg, 43%)。LCMS (ES+) 421 (M+H)⁺, RT 2.81min (分析方法1); ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ (ppm): 8.57 (1H, s), 8.18-8.14 (2H, m), 8.06 (2H, d, J=8.5Hz), 2.94 (2H, s), 2.76 (2H, dd, J=6.8, 6.8Hz), 2.56 (2H, s), 2.34-2.25 (2H, m), 2.20-2.11 (2H, m), 1.93-1.75 (2H, m), 1.68 (2H, dd, J=6.8, 6.8Hz), 0.47 (4H, d, J=3.6Hz)。

[0358] 实施例10: N-(1-(2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺

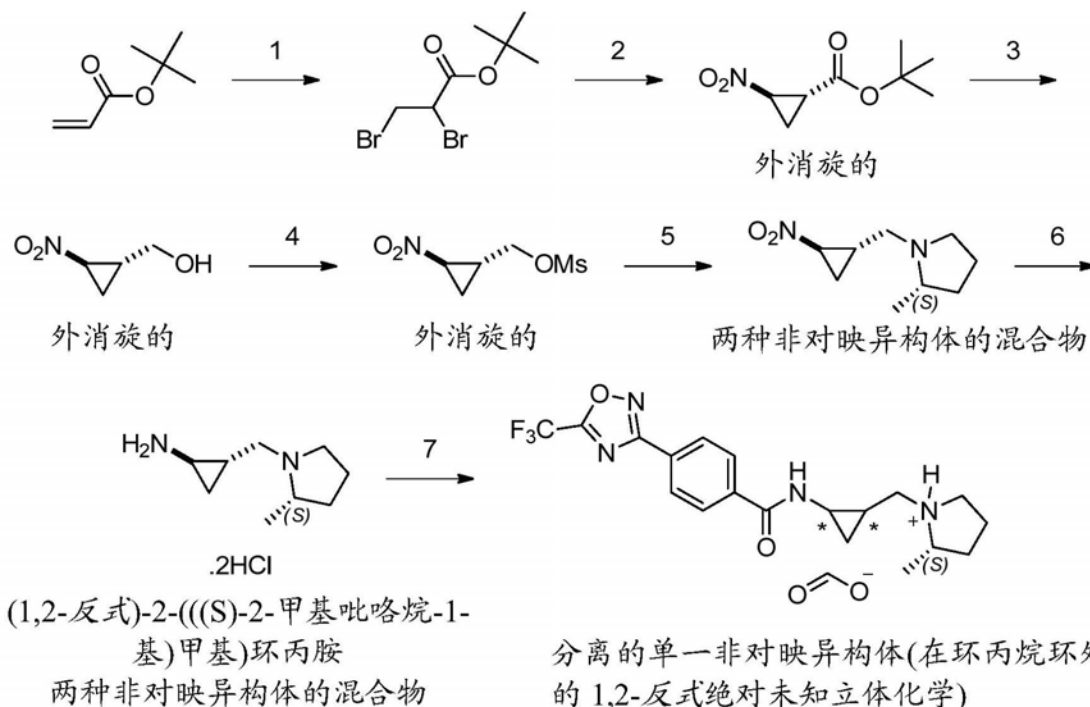
[0359]



[0360] 遵循方法C,从中间体3,2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷(0.36mmol)得到。得到标题化合物,为灰白色固体(23.9mg,18%)。LCMS (ES⁺) 437 (M+H)⁺, RT 2.76min (分析方法1); ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ (ppm): 8.58 (1H, s), 8.15 (2H, d, J=8.6Hz), 8.05 (2H, d, J=8.6Hz), 4.61 (2H, d, J=6.4Hz), 4.34 (2H, d, J=6.4Hz), 3.30 (2H, s), 2.75 (2H, dd, J=7.2, 7.2Hz), 2.34-2.15 (4H, m), 2.00-1.81 (4H, m), 1.67-1.58 (2H, m)。

[0361] 实施例11: (2S)-2-甲基-1-(((abs-1,2-反式)-2-(4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰氨基)环丙基)甲基)吡咯烷-1-鎓甲酸盐

[0362]



[0363] 步骤1: 2,3-二溴丙酸叔丁酯

[0364] 在N₂下将丙烯酸叔丁酯(5.7mL, 39.3mmol)于DCM(15mL)中的溶液冷却至0℃并用经5min加入的溴(2.00mL, 38.9mmol)于DCM(3mL)中的溶液处理。将棕色溶液在0℃搅拌25min并在室温搅拌25h。将反应用水(30mL)稀释并将混合物剧烈搅拌5min。将有机层浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(洗脱剂: 10% EtOAc/异己烷)纯化, 得到标题化合物, 为无色液体(5.42g, 18.8mmol, 48%)。

[0365] 步骤2: 反式-2-硝基环丙烷甲酸叔丁酯

[0366] 使用冷水浴将K₂CO₃(7.86g, 56.9mmol)和硝基甲烷(1.12mL, 20.7mmol)于DMSO(10mL)中的混悬液在N₂下冷却并用经8min滴加的2,3-二溴丙酸叔丁酯(5.42g, 18.8mmol)于DMSO(10mL)中的溶液处理。将反应在室温搅拌27h, 然后用水(200mL)稀释并用乙醚(3x 200mL)萃取。将合并的萃取物用水(200mL)洗涤, 干燥(MgSO₄)并浓缩。将残余物通过硅胶色

谱法纯化(梯度洗脱,0-20%EtOAc/异己烷),得到不纯的标题化合物,为无色液体(1.39g),其未经进一步纯化地用于下一步。

[0367] 步骤3:(反式-2-硝基环丙基)甲醇

[0368] 在N₂下将反式-2-硝基环丙烷甲酸叔丁酯(1.39g来自先前步骤的混合物,7.4mmol)于无水乙醚(19mL)中的溶液冷却至-10℃。经25min滴加LiAlH₄的溶液(2M于THF中,2.0mL,4.0mmol)。在室温搅拌1.25h后,将反应冷却至0℃并用饱和Na₂SO₄水溶液(3mL)淬灭。小心:泡腾现象。分离各层并将水层用乙醚(3x 50mL)萃取;将合并的有机物干燥(Na₂SO₄)并浓缩,留下黄色浆。通过硅胶色谱法纯化(洗脱剂:20%EtOAc/异己烷)得到标题化合物,为淡黄色油,Rf 0.10(20%EtOAc/异己烷)(183mg,3%经两步)。

[0369] 步骤4:甲磺酸(反式-2-硝基环丙基)甲酯

[0370] 在N₂下将(反式-2-硝基环丙基)甲醇(183mg,1.56mmol)于无水DCM(15mL)中的溶液冷却至0℃并用DMAP(38.9mg,0.32mmol)、Et₃N(0.33mL,2.37mmol)和甲磺酸酐(397mg,2.28mmol)处理。将反应在0℃搅拌1.75h并在室温搅拌1h,然后用饱和NaHCO₃水溶液(20mL)淬灭。分离各层并将水层用DCM(2x 20mL)萃取;将合并的有机物干燥(相分离器)并浓缩,得到标题化合物(283mg),为淡黄色油(与DMAP的混合物),其未经进一步纯化地使用。

[0371] 步骤5:反式-(S)-2-甲基-1-((2-硝基环丙基)甲基)吡咯烷:两种非对映异构体(S)-2-甲基-1-(((1S,2R)-2-硝基环丙基)甲基)吡咯烷和(S)-2-甲基-1-(((1R,2S)-2-硝基环丙基)甲基)吡咯烷的混合物

[0372] 将甲磺酸(反式-2-硝基环丙基)甲酯(283mg来自先前步骤的混合物,1.45mmol)于无水DMF(4mL)中的溶液用DIPEA(1.8mL,10.3mmol)和(S)-2-甲基吡咯烷(533mg,6.26mmol)于无水DMF(2mL)中的溶液处理。将混合物在70℃在密封管中搅拌16h。将反应通过倒入1M NaOH(20mL)中淬灭并用EtOAc(4x 20mL)萃取。将合并的萃取物用水(2x 20mL)洗涤,干燥(Na₂SO₄)并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(梯度洗脱,0-100%EtOAc/异己烷)纯化,得到标题化合物的非对映异构体混合物,为黄色液体(94mg,33%经两步)。

[0373] 步骤6:反式-2-(((S)-2-甲基吡咯烷-1-基)甲基)环丙烷胺二盐酸盐:两种非对映异构体(1S,2R)-2-(((S)-2-甲基吡咯烷-1-基)甲基)环丙烷胺和(1R,2S)-2-(((S)-2-甲基吡咯烷-1-基)甲基)环丙烷胺的混合物

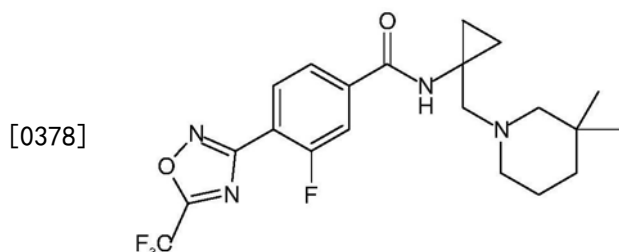
[0374] 将反式-(S)-2-甲基-1-((2-硝基环丙基)甲基)吡咯烷(94mg,0.55mmol)和铁粉(187mg,3.35mmol)于AcOH(0.28mL,4.39mmol)和异丙醇(1mL)中的混悬液在N₂下在密闭管中在50℃搅拌6.5h。将反应混合物用异丙醇(10mL)稀释并使用1M HCl酸化至pH 0。将混合物用DCM(20mL)洗涤。使用2M NaOH将酸性溶液碱化至pH 14并用DCM(2x 20mL)萃取;将合并的萃取物干燥(相分离器)并浓缩。将残余物用4M HCl/二噁烷(1mL)处理并再次浓缩,得到标题化合物的非对映异构体混合物,为黄色油(65mg,52%)。

[0375] 步骤7:(2S)-2-甲基-1-(((abs-1,2-反式)-2-(4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰氨基)环丙基)甲基)吡咯烷-1-鎓甲酸盐(单一异构体)

[0376] 将4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酸(111mg,0.43mmol)、反式-2-(((S)-2-甲基吡咯烷-1-基)甲基)环丙烷胺二盐酸盐(65mg来自先前步骤的异构体的混合物,0.29mmol)、HATU(0.72mmol)和DIPEA(0.33mL,1.89mmol)于DMF(2mL)中的溶液在室温搅拌17h。通过制备型HPLC纯化得到标题化合物的单一异构体,为白色固体(5mg,4%)。LCMS

(ES+) 395 (M+H)⁺, RT 2.64min (分析方法1); ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ (ppm): 8.75 (1H, d, J=4.5Hz), 8.46 (2H, s), 8.18 (2H, d, J=8.5Hz), 8.08 (2H, d, J=8.5Hz), 3.27-3.20 (1H, m), 2.86 (1H, dd, J=6.1, 12.4Hz), 2.78-2.71 (1H, m), 2.37-2.28 (1H, m), 2.19 (1H, q, J=8.8Hz), 1.99-1.85 (2H, m), 1.74-1.62 (2H, m), 1.38-1.21 (2H, m), 1.06 (3H, d, J=6.0Hz), 0.88-0.81 (1H, m), 0.72-0.66 (1H, m)。

[0377] 实施例12: N-(1-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-3-氟-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺



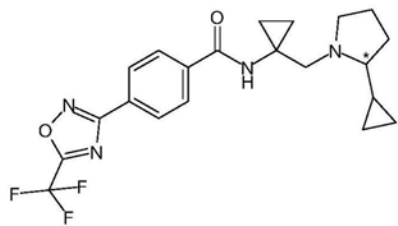
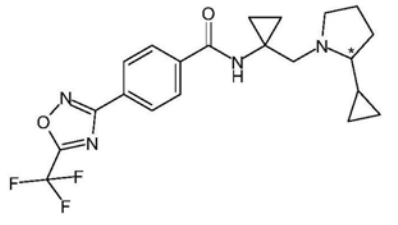
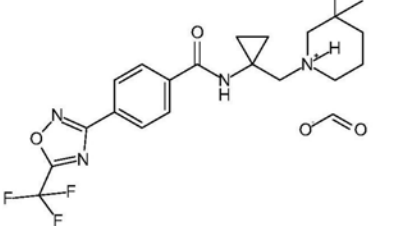
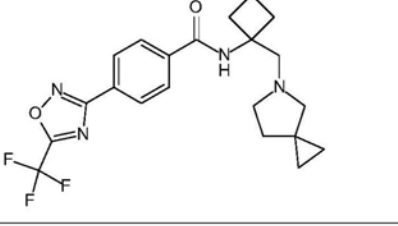
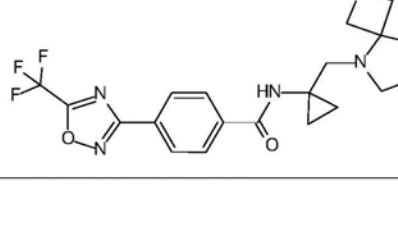
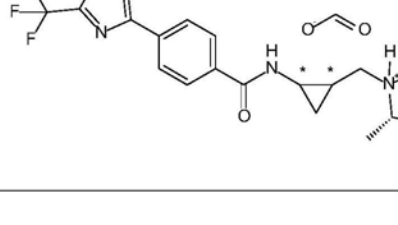
[0379] 遵循方法C,从中间体2 (150mg, 0.46mmol)、3,3-二甲基哌啶 (156mg, 1.38mmol) 和 Na(OAc)₃BH于THF/AcOH中的溶液 (2mL, 20:1) 得到。通过制备型HPLC和反相色谱法纯化(梯度洗脱, 5-95% MeCN/0.1% 甲酸) 得到标题化合物, 为灰白色固体 (5mg, 2%)。LCMS (ES+) 441 (M+H)⁺, RT 3.82min (分析方法2); ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ (ppm): 8.76 (1H, s), 8.16 (1H, d, J=14Hz), 8.16 (0.5H, s), 7.87 (2H, d, 14Hz), 2.49 (2H, s), 2.40 (2H, br s), 2.10 (2H, br s), 1.49-1.41 (2H, m), 1.17-1.1 (2H, m), 0.87 (6H, s), 0.85-0.76 (2H, m), 0.71-0.63 (2H, m)。

[0380] 实施列表

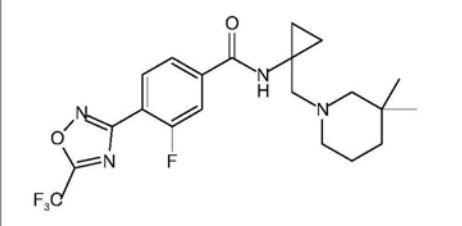
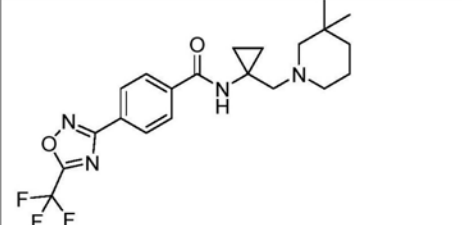
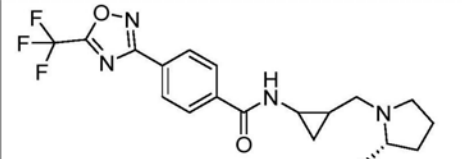
[0381]

实施例	结构	IUPAC 名称
1		<i>N</i> -(1-(5-氮杂螺[2.5]辛烷-5-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
2		<i>N</i> -(1-(2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
3		<i>N</i> -(1-(2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
4		<i>N</i> -(1-(3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
5		<i>N</i> -(1-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺

[0382]

实施例	结构	IUPAC 名称
6		E1-(<i>abs</i>)-N-(1-((2-环丙基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
7		E2-(<i>abs</i>)-N-(1-((2-环丙基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
8		N-(1-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺 甲酸盐
9		N-(1-(5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基)甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
10		N-(1-(2-氧杂-5-氮杂螺[3.4]辛烷-5-基)甲基)环丁基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
11		(2 <i>S</i>)-2-甲基-1-(((<i>abs</i> -1,2-反式)-2-(4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰氨基)环丙基)甲基)吡咯烷-1-鎧甲酸盐(单一异构体)

[0383]

实施例	结构	IUPAC 名称
12		N-(1-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-3-氟-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
13		N-(1-((3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺
14		N-(2-(((S)-2-甲基吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)-4-(5-(三氟甲基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苯甲酰胺

[0384] 实施例13:分析IIa类组蛋白脱乙酰酶 (HDAC) 抑制剂对HDAC4的抑制。

[0385] 通过使用荧光底物即Boc-Lys (TFA) -AMC对组蛋白脱乙酰酶4 (HDAC4) 的催化域酶活性进行测量来量化IIa类组蛋白脱乙酰酶 (HDAC) 抑制剂的效力。所述底物被HDAC4脱乙酰化为Boc-Lys-AMC。通过胰蛋白酶进行的裂解使荧光团AMC从脱乙酰化的底物中释放。样品的荧光与样品中组蛋白脱乙酰酶的活性直接相关。

[0386] 连续稀释HDAC抑制剂化合物。HDAC抑制剂和参照化合物(1-(5-(3-((4-(1,3,4-噁二唑-2-基)苯氧基)甲基)-1,2,4-噁二唑-5-基)噻吩-2-基)-2,2,2-三氟乙酮)的连续稀释液通过首先将冻干的化合物在100%二甲基亚砜(DMSO)中重新混悬至最终浓度为10mM来制备。制备原液即10mM化合物/DMSO的60μL等分液并贮存在-20℃。根据表1,使用125μL 16通道Matrix多通道移液管(Matrix Technologies Ltd)由每种测试的化合物的一份原液等分液和参照化合物的一份原液等分液来制备16点连续稀释液。

[0387] 表1:化合物的连续稀释

[0388]

稀释的溶液	孔	浓度(μM)	稀释率	体积
浓度 1	A	10000	-	60 μL 10mM 测试化合物/ 参考对照物

[0389]

稀释的溶液	孔	浓度(μM)	稀释率	体积
浓度 2	B	5000	1:2	30 μL A + 30 μL DMSO
浓度 3	C	2500	1:2	30 μL B + 30 μL DMSO
浓度 4	D	1000	1:2.5	30 μL C + 45 μL DMSO
浓度 5	E	500	1:2	30 μL D + 30 μL DMSO
浓度 6	F	250	1:2	30 μL E + 30 μL DMSO
浓度 7	G	125	1:2	30 μL F + 30 μL DMSO
浓度 8	H	62.5	1:2	30 μL G + 30 μL DMSO
浓度 9	I	31.25	1:2	30 μL H + 30 μL DMSO
浓度 10	J	15.63	1:2	30 μL I + 30 μL DMSO
浓度 11	K	7.81	1:2	30 μL J + 30 μL DMSO
浓度 12	L	3.91	1:2	30 μL K + 30 μL DMSO
浓度 13	M	1.95	1:2	30 μL L + 30 μL DMSO
浓度 14	N	0.98	1:2	30 μL M + 30 μL DMSO
浓度 15	O	0.49	1:2	30 μL N + 30 μL DMSO
浓度 16	P	0.24	1:2	30 μL O + 30 μL DMSO

[0390] 使用Bravo (384孔头, Agilent) 或12.5 μL 16通道Matrix多通道移液管 (Matrix Technologies Ltd) 将2 μL (200 \times) 每种稀释液和每种对照品 (完全活性为单独的100% DMSO 或完全抑制为1mM) 按压到V形底聚丙烯384孔化合物板中。通过添加38 μL 测定缓冲液+DMSO (10.5% DMSO、45mM Tris-HCl、123mM NaCl、2.4mM KCl和0.9mM MgCl₂ (pH 8.0) 并平衡至室温) 将具有200 \times 化合物溶液的每个孔以1:20稀释。

[0391] 制备HDAC4催化域酶 (0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。HDAC4催化域酶是由BioFocus生产的具有C-末端6x组氨酸标签的人催化域HDAC4蛋白 (氨基酸648-1057)。酶的工作溶液由HDAC4催化域的500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 原液等分液 (在冰上解冻) 来制备, 在即将将所述酶加到测定中前用测定缓冲液 (50mM Tris-HCl、137mM NaCl、2.7mM KCl和1mM MgCl₂ (pH 8) 并平衡至室温) 将所述原液等分液稀释至0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0392] 制备5x (50 μM) Boc-Lys (TFA) -AMC底物。在即将加到测定中前制备5 \times (50 μM) 底物。1mM底物原液如下制备: 通过将100mM Boc-Lys (TFA) -AMC在DMSO中的溶液滴加到测定缓冲液 (平衡至室温) 中同时低速涡动以防止析出, 以1:100对100mM Boc-Lys (Tfa) -AMC在DMSO中的溶液进行稀释。5 \times 底物如下制备: 通过将1mM底物溶液滴加到测定缓冲液 (平衡至室温) 中同时低速涡动以防止析出, 以1:20对1mM底物溶液进行稀释。

[0393] 制备3x (30 μM) 显色剂/终止溶液。3 \times (30 μM) 显色剂/终止溶液在即将加到板中前如下制备: 在25mg/mL胰蛋白酶 (PAA Laboratories Ltd.) (平衡至室温) 中以1:333对10mM参照化合物的原液溶液进行稀释。

[0394] 测定。使用Bravo或Janus (384孔MDT头, Perkin Elmer) 将5 μL 上述每种以1:20稀释

的化合物的溶液转移到透明底黑色384孔测定板中。使用16通道Matrix多通道移液管将HDAC4催化域酶的35 μ L工作溶液(0.2 μ g/mL于测定缓冲液中)转移到测定板中。然后测定如下开始:使用Bravo、Janus或16通道Matrix多通道移液管将10 μ L 5 \times (50 μ M)底物加到测定板中。然后将测定板在定轨震摇器上以900rpm(每分钟转数)震摇2分钟。然后将板在37 $^{\circ}$ C温育15分钟。反应如下终止:使用Bravo、Janus或16通道Matrix多通道移液管向测定板中添加25 μ L 3 \times (30 μ M)显色剂/终止溶液。然后将测定板在定轨震摇器上以1200rpm震摇5分钟。然后将测定板在组织培养箱中在37 $^{\circ}$ C温育1小时。最后使用PerkinElmer EnVision以顶端读数模式对荧光进行测量(激发波长为355nm且发射波长为460nm)。

[0395] 实施例14:分析IIa类组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂对HDAC5的抑制。

[0396] 通过使用荧光底物即Boc-Lys (TFA) -AMC对组蛋白脱乙酰酶5(HDAC5)的酶活性进行测量来量化IIa类组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂的效力。所述底物被HDAC5脱乙酰化为Boc-Lys-AMC。通过胰蛋白酶进行的裂解使荧光团AMC从脱乙酰化的底物中释放。样品的荧光与样品中组蛋白脱乙酰酶的活性直接相关。

[0397] 连续稀释HDAC抑制剂化合物。HDAC抑制剂和参照化合物(1-(5-(3-((4-(1,3,4-噁二唑-2-基)苯氧基)甲基)-1,2,4-噁二唑-5-基)噻吩-2-基)-2,2,2-三氟乙酮)的连续稀释液通过首先将冻干的化合物在100%DMSO中重新混悬至最终浓度为10mM来制备。制备原液即10mM化合物/DMSO的60 μ L等分液并贮存在-20 $^{\circ}$ C。根据表1,使用125 μ L 16通道Matrix多通道移液管由待测试的每种化合物的一份原液等分液和参照化合物的一份原液等分液来制备16点连续稀释液。

[0398] 使用Bravo、Janus或12.5 μ L 16通道Matrix多通道移液管将2 μ L(200 \times)每种稀释液和每种对照品(完全活性为单独的100%DMSO或完全抑制为1mM)按压到V形底聚丙烯384孔化合物板中。通过添加38 μ L测定缓冲液+DMSO(10.5%DMSO、45mM Tris-HCl、123mM NaCl、2.4mM KCl和0.9mM MgCl₂(pH 8.0)并平衡至37 $^{\circ}$ C)将具有所按压的2 μ L 200 \times 化合物溶液的每个孔以1:20稀释。

[0399] 制备HDAC5催化域酶(0.57 μ g/mL)。HDAC5催化域酶为人HDAC5催化域(GenBank登记号为NM_001015053)即具有C末端His标签的氨基酸657-1123且可得自BPS BioScience。所述蛋白质为51kDa且在杆状病毒表达系统中表达。酶的工作溶液由HDAC5催化域的1.65mg/mL原液等分液(在冰上解冻)来制备,在即将将所述酶加到测定中前用测定缓冲液(50mM Tris-HCl、137mM NaCl、2.7mM KCl和1mM MgCl₂(pH 8)并平衡至37 $^{\circ}$ C)将所述原液等分液稀释至0.57 μ g/mL。

[0400] 制备5 \times (40 μ M) Boc-Lys (TFA) -AMC底物。在即将加到测定中前制备5 \times (40 μ M)底物。5 \times 底物如下制备:通过将100mM Boc-Lys (TFA) -AMC在DMSO中的溶液滴加到测定缓冲液(平衡至37 $^{\circ}$ C)中同时低速涡动以防止析出,以1:2500对100mM Boc-Lys (TFA) -AMC在DMSO中的溶液进行稀释。

[0401] 制备3 \times (30 μ M)显色剂/终止溶液。3 \times (30 μ M)显色剂/终止溶液在即将加到板中前如下制备:在25mg/mL胰蛋白酶(平衡至37 $^{\circ}$ C)中以1:333对10mM参照化合物的原液溶液进行稀释。

[0402] 测定。使用Bravo或Janus将5 μ L上述每种以1:20稀释的抑制剂化合物和对照物的溶液转移到透明底黑色384孔测定板中。使用16通道Matrix多通道移液管将35 μ L HDAC7催

化域酶的工作溶液(0.57 μ g/mL于测定缓冲液中)转移到测定板中。然后测定如下开始:使用Bravo、Janus或16通道Matrix多通道移液管将10 μ L 5 \times (40 μ M)底物加到测定板中。然后将测定板在定轨震摇器上以900rpm震摇1分钟。然后将板在37 $^{\circ}$ C温育15分钟。反应如下终止:使用Bravo、Janus或16通道Matrix多通道移液管向测定板中添加25 μ L 3 \times (30 μ M)显色剂/终止溶液。然后将测定板在定轨震摇器上以900rpm震摇2分钟。然后将测定板在组织培养箱中在37 $^{\circ}$ C温育1小时,然后在定轨震摇器上以最大rpm震摇1分钟,然后在EnVision上读取。最后使用PerkinElmer EnVision以顶端读数模式对荧光进行测量(激发波长为355nm且发射波长为460nm)。

[0403] 实施例15:分析IIa类组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂对HDAC7的抑制。

[0404] 通过使用荧光底物即Boc-Lys (TFA) -AMC对组蛋白脱乙酰酶7(HDAC7)的酶活性进行测量来量化IIa类组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂的效力。所述底物被HDAC7脱乙酰化为Boc-Lys-AMC。通过胰蛋白酶进行的裂解使荧光团AMC从脱乙酰化的底物中释放。样品的荧光与样品中组蛋白脱乙酰酶的活性直接相关。

[0405] 连续稀释HDAC抑制剂化合物。HDAC抑制剂和参照化合物(1-(5-(3-((4-(1,3,4-噁二唑-2-基)苯氧基)甲基)-1,2,4-噁二唑-5-基)噻吩-2-基)-2,2,2-三氟乙酮)的连续稀释液通过首先将冻干的化合物在100%DMSO中重新混悬至最终浓度为10mM来制备。制备原液即10mM化合物/DMSO的60 μ L等分液并贮存在-20 $^{\circ}$ C。根据表1,使用125 μ L 16通道Matrix多通道移液管由待测试的每种化合物的一份原液等分液和参照化合物的一份原液等分液来制备16点连续稀释液。

[0406] 使用Bravo、Janus或12.5 μ L 16通道Matrix多通道移液管将2 μ L (200 \times)每种稀释液和每种对照品(完全活性为单独的100%DMSO或完全抑制为1mM)按压到V形底聚丙烯384孔化合物板中。通过添加38 μ L测定缓冲液+DMSO(10.5%DMSO、45mM Tris-HCl、123mM NaCl、2.4mM KCl和0.9mM MgCl₂ (pH 8.0)并平衡至37 $^{\circ}$ C)将具有200 \times 化合物溶液的每个孔以1:20稀释。

[0407] 制备HDAC7酶(71ng/mL)。HDAC7酶为人HDAC7(GenBank登记号为AY302468)即具有N末端谷胱甘肽S-转移酶(GST)标签的氨基酸518-端且可得自BPS BioScience。所述蛋白质为78kDa且在杆状病毒表达系统中表达。酶的工作溶液由HDAC7的0.5mg/mL原液等分液(在冰上解冻)来制备,在即将将所述酶加到测定中前用测定缓冲液(50mM Tris-HCl、137mM NaCl、2.7mM KCl和1mM MgCl₂ (pH 8)并平衡至37 $^{\circ}$ C)将所述原液等分液稀释至71ng/mL。

[0408] 制备5x (50 μ M) Boc-Lys (TFA) -AMC底物。在即将加到测定中前制备5 \times (50 μ M)底物。5 \times 底物如下制备:通过将100mM Boc-Lys (TFA) -AMC在DMSO中的溶液滴加到测定缓冲液(平衡至37 $^{\circ}$ C)中同时低速涡动以防止析出,以1:2000对100mM Boc-Lys (TFA) -AMC在DMSO中的溶液进行稀释。

[0409] 制备3x (30 μ M)显色剂/终止溶液。3 \times (30 μ M)显色剂/终止溶液在即将加到板中前如下制备:在25mg/mL胰蛋白酶(平衡至37 $^{\circ}$ C)中以1:333对10mM参照化合物的原液溶液进行稀释。

[0410] 测定。使用Bravo或Janus将5 μ L上述每种以1:20稀释的化合物的溶液转移到透明底黑色384孔测定板中。使用16通道Matrix多通道移液管将HDAC7酶的35 μ L工作溶液(71ng/mL于测定缓冲液中)转移到测定板中。然后测定如下开始:使用Bravo、Janus或16通道

Matrix多通道移液管将10 μ L 5 \times (50 μ M) 底物加到测定板中。然后将测定板在定轨震摇器上以900rpm震摇1分钟。然后将板在37 $^{\circ}$ C温育15分钟。反应如下终止：使用Bravo、Janus或16通道Matrix多通道移液管向测定板中添加25 μ L 3 \times (30 μ M) 显色剂/终止溶液。然后将测定板在定轨震摇器上以900rpm震摇2分钟。然后将测定板在组织培养箱中在37 $^{\circ}$ C温育1小时，然后在定轨震摇器上以最大rpm震摇1分钟，然后用EnVision读数。最后使用PerkinElmer EnVision以顶端读数模式对荧光进行测量（激发波长为355nm且发射波长为460nm）。

[0411] 实施例16：分析IIa类组蛋白脱乙酰酶 (HDAC) 抑制剂对HDAC9的抑制。

[0412] 通过使用荧光底物即Boc-Lys (TFA) -AMC对组蛋白脱乙酰酶9 (HDAC9) 的酶活性进行测量来量化IIa类组蛋白脱乙酰酶 (HDAC) 抑制剂的效力。所述底物被HDAC9脱乙酰化为Boc-Lys-AMC。通过胰蛋白酶进行的裂解使荧光团AMC从脱乙酰化的底物中释放。样品的荧光与样品中组蛋白脱乙酰酶的活性直接相关。

[0413] 连续稀释HDAC抑制剂化合物。HDAC抑制剂和参照化合物 (1- (5- (3- ((4- (1,3,4-噁二唑-2-基) 苯氧基) 甲基) -1,2,4-噁二唑-5-基) 噻吩-2-基) -2,2,2-三氟乙酮) 的连续稀释液通过首先将冻干的化合物在100% DMSO中重新混悬至最终浓度为10mM来制备。制备原液即10mM化合物/DMSO的60 μ L等分液并贮存在-20 $^{\circ}$ C。根据表1, 使用125 μ L 16通道Matrix多通道移液管由待测试的每种化合物的一份原液等分液和参照化合物的一份原液等分液来制备16点连续稀释液。

[0414] 使用Bravo、Janus或12.5 μ L 16通道Matrix多通道移液管将2 μ L (200 \times) 每种稀释液和每种对照品 (完全活性为单独的100% DMSO或完全抑制为1mM) 按压到V形底聚丙烯384孔化合物板中。通过添加38 μ L测定缓冲液+DMSO (10.5% DMSO、45mM Tris-HCl、123mM NaCl、2.4mM KCl和0.9mM MgCl₂ (pH 8.0) 并平衡至37 $^{\circ}$ C) 将具有所按压的200 \times 化合物溶液的每个孔以1:20稀释。

[0415] 制备HDAC9酶 (0.57 μ g/mL)。HDAC9酶为人HDAC9 (GenBank登记号为NM_178423) 即具有C末端His标签的氨基酸604-1066且可得自BPS BioScience。所述蛋白质为50.7kDa且在杆状病毒表达系统中表达。酶的工作溶液由HDAC9的0.5mg/mL原液等分液 (在冰上解冻) 来制备, 在即将将所述酶加到测定中前用测定缓冲液 (50mM Tris-HCl、137mM NaCl、2.7mM KCl和1mM MgCl₂ (pH 8) 并平衡至37 $^{\circ}$ C) 将所述原液等分液稀释至0.57 μ g/mL。

[0416] 制备5x (125 μ M) Boc-Lys (TFA) -AMC底物。在即将加到测定中前制备5 \times (125 μ M) 底物。5 \times 底物如下制备：通过将100mM Boc-Lys (TFA) -AMC在DMSO中的溶液滴加到测定缓冲液 (平衡至37 $^{\circ}$ C) 中同时低速涡动以防止析出, 以1:800对100mM Boc-Lys (TFA) -AMC在DMSO中的溶液进行稀释。

[0417] 制备3x (30 μ M) 显色剂/终止溶液。3 \times (30 μ M) 显色剂/终止溶液在即将加到板中前如下制备：在25mg/mL胰蛋白酶 (平衡至37 $^{\circ}$ C) 中以1:333对10mM参照化合物的原液溶液进行稀释。

[0418] 测定。使用Bravo或Janus将5 μ L上述每种以1:20稀释的化合物的溶液转移到透明底黑色384孔测定板中。使用16通道Matrix多通道移液管将HDAC9酶的35 μ L工作溶液 (0.57 μ g/mL于测定缓冲液中) 转移到测定板中。然后测定如下开始：使用Bravo、Janus或16通道Matrix多通道移液管将10 μ L 5 \times (125 μ M) 底物加到测定板中。然后将测定板在定轨震摇器上以900rpm震摇1分钟。然后将板在37 $^{\circ}$ C温育15分钟。反应如下终止：使用Bravo、Janus或16通

道Matrix多通道移液管向测定板中添加25 μ L 3 \times 显色剂/终止溶液。然后将测定板在定轨震摇器上以900rpm震摇2分钟。然后将测定板在组织培养箱中在37 $^{\circ}$ C温育1小时,然后在定轨震摇器上以最大rpm震摇1分钟,然后用EnVision读数。最后使用PerkinElmer EnVision以顶端读数模式对荧光进行测量(激发波长为355nm且发射波长为460nm)。

[0419] 实施例17:分析IIa类组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂:细胞(Lys-TFA)底物对细胞IIa类HDAC活性的抑制。

[0420] 通过使用荧光底物即Boc-Lys (TFA) -AMC对细胞组蛋白脱乙酰酶的酶活性进行测量来量化IIa类组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂的效力。所述底物在渗入到Jurkat E6-1细胞中后被脱乙酰化为Boc-Lys-AMC。使细胞溶解且通过胰蛋白酶进行裂解后,荧光团AMC仅从脱乙酰化的底物中释放。样品的荧光与样品中组蛋白脱乙酰酶的活性直接相关。

[0421] Jurkat E6.1细胞培养和铺板。按照标准细胞培养方案在Jurkat E6.1生长培养基(不含有酚红的RPMI、10%FBS、10mM HEPES和1mM丙酮酸钠)中培养Jurkat E6.1细胞。使用Coulter计数器对Jurkat E6.1细胞进行计数并以75,000个细胞/35 μ L的浓度重新混悬在Jurkat E6.1生长培养基中。将35 μ L或75,000个细胞接种到Greiner微滴定测定板中。然后将板在37 $^{\circ}$ C和5%CO₂温育同时准备其它测定组分。

[0422] 连续稀释HDAC抑制剂化合物。HDAC抑制剂和参照化合物(1-(5-(3-((4-(1,3,4-噁二唑-2-基)苯氧基)甲基)-1,2,4-噁二唑-5-基)噻吩-2-基)-2,2,2-三氟乙酮)的连续稀释液通过首先将冻干的化合物在100%DMSO中重新混悬至最终浓度为10mM来制备。制备原液即10mM化合物/DMSO的70 μ L等分液并贮存在-20 $^{\circ}$ C。根据表1,使用125 μ L 16通道Matrix多通道移液管由测试的每种化合物的一份原液等分液和参照化合物的一份原液等分液来制备16点连续稀释液。

[0423] 使用Bravo、Janus或12.5 μ L 16通道Matrix多通道移液管将2 μ L (200 \times)每种稀释液和每种对照品(完全活性为单独的100%DMSO或完全抑制为1mM)按压到V形底聚丙烯384孔化合物板中。通过添加38 μ L Jurkat测定缓冲液+DMSO(9.5%DMSO、不含有酚红的RPMI、0.09%FBS、9mM Hepes和0.9mM丙酮酸钠(平衡至室温))将具有200 \times 化合物溶液的每个孔以1:20稀释。

[0424] 制备5 \times (500 μ M) Boc-Lys (TFA) -AMC底物。在即将加到测定中前制备5 \times (500 μ M)底物。5 \times 底物如下制备:通过将100mM Boc-Lys (TFA) -AMC在DMSO中的溶液滴加到Jurkat测定培养基(不含有酚红的RPMI、0.1%FBS、10mM Hepes和1mM丙酮酸钠(平衡至37 $^{\circ}$ C))中同时低速涡动以防止析出,以1:200对100mM Boc-Lys (TFA) -AMC在DMSO中的溶液进行稀释。

[0425] 制备3 \times 裂解缓冲液。10mL 3 \times 裂解缓冲液用8.8mL 3 \times 原液溶胞缓冲液(50mM Tris-HCl (pH 8.0)、137mM NaCl、2.7mM KCl、1mM MgCl₂和1%Nonidet P40代替物(平衡至室温))和1.2mL 3mg/mL胰蛋白酶(平衡至室温)制备。

[0426] 测定。使用Bravo将5 μ L上述每种以1:20稀释的化合物的溶液转移到含有75,000个细胞/孔的Greiner微滴定测定板中。然后将细胞在37 $^{\circ}$ C和5%CO₂温育2小时。然后测定如下开始:使用Bravo或16通道Matrix多通道移液管将10 μ L 5 \times (500 μ M)底物加到测定板中。然后将细胞在37 $^{\circ}$ C和5%CO₂温育3小时。然后使用125 μ L 16通道移液管或Bravo向每个孔中加入25 μ L 3 \times 溶胞缓冲液。然后将测定板在37 $^{\circ}$ C和5%CO₂的条件下温育过夜(15-16小时)。第二天将板在定轨震摇器上以900rpm震摇1分钟。最后使用PerkinElmer EnVision对顶部读

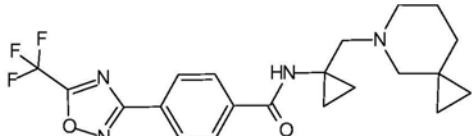
数的荧光进行测量(激发波长为355nm且发射波长为460nm)。

[0427] 实施例18:分析IIa类组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂:细胞(Lys-Ac)底物对于细胞I类HDAC活性的抑制。

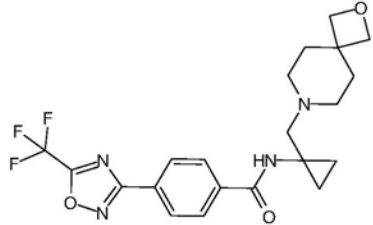
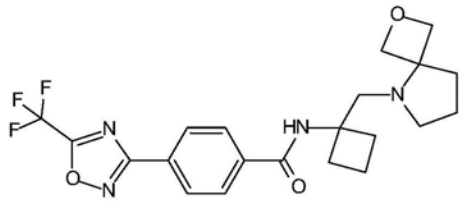
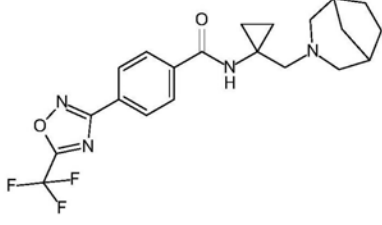
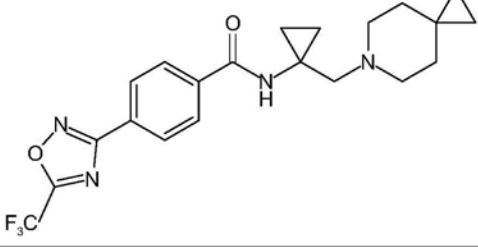
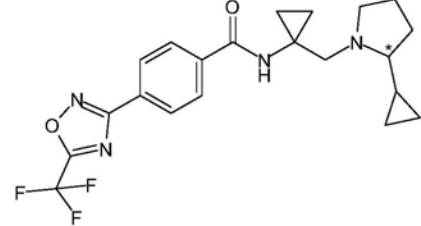
[0428] 通过使用荧光底物即Boc-Lys(Ac)-AMC对细胞组蛋白脱乙酰酶的酶活性进行测量来量化IIa类组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂的I类HDAC活性。这是使用Boc-Lys(Ac)-AMC底物代替Boc-Lys(TFA)-AMC,按照实施例17中的操作来进行的。

[0429] 使用类似于上述的合成方法和上述的测定方案,合成并测试下面的化合物。下表中的实施例8和11被显示为甲酸盐,但认为游离碱将在测定中以等同的方式表现。

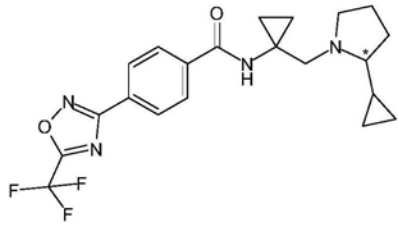
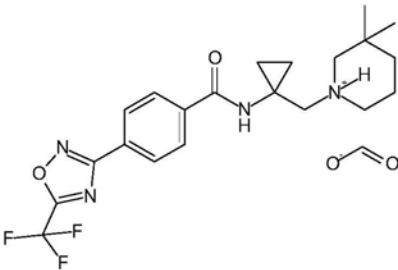
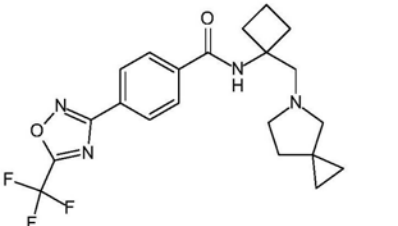
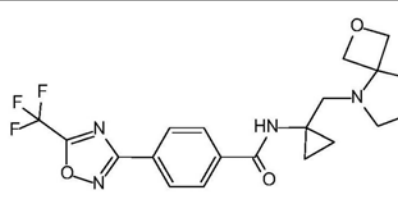
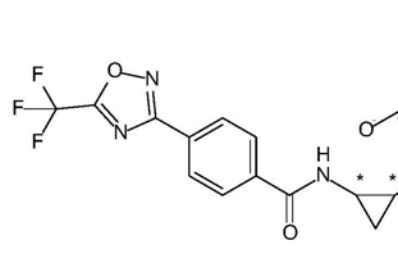
[0430]

实 施 例	结 构	HDAC4 生物化 学 IC ₅₀ (μM)	细胞 (Lys-TFA) IC ₅₀ (μM)	细胞 (Lys-Ac) IC ₅₀ (μM)
1		0.050	0.14	2.6

[0431]

实 施 例	结 构	HDAC4 生物化 学 IC ₅₀ (μM)	细胞 (Lys-TFA) IC ₅₀ (μM)	细胞 (Lys-Ac) IC ₅₀ (μM)
2		0.11	0.24	4.9
3		0.75	0.39	8.6
4		0.33	0.69	7.8
5		0.089	0.37	2.0
6		0.008	0.028	1.5

[0432]

实 施 例	结 构	HDAC4 生物化 学 IC ₅₀ (μM)	细胞 (Lys-TFA) IC ₅₀ (μM)	细胞 (Lys-Ac) IC ₅₀ (μM)
7		0.003	0.014	0.54
8		0.030	0.045	2.5
9		0.058	0.10	0.70
10		0.75	0.39	8.6
11		0.23	1.0	36.6

[0433]	实施 例	结构	HDAC4 生物化 学 IC ₅₀ (μM)	细胞 (Lys-TFA) IC ₅₀ (μM)	细胞 (Lys-Ac) IC ₅₀ (μM)
			0.076	0.312	15.1

[0434] 尽管已显示和描述了一些实施方案,但可对这些实施方案进行各种修改和代替而不背离本申请主旨和范围。例如,出于构建权利要求的目的,本申请所述权利要求不应该被理解为比其字面语言窄,因此并非旨在将说明书中的示例性实施方案读入权利要求中。因此,应该理解的是,已说明性地描述了本申请,但不限制权利要求的范围。