

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510009486.6

[51] Int. Cl.

A61K 31/4427 (2006.01)

A61K 31/52 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

A61K 31/555 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 9 月 26 日

[11] 授权公告号 CN 100339080C

[51] Int. Cl. (续)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

C07D 257/02 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

[22] 申请日 1999.7.8

[21] 申请号 200510009486.6

分案原申请号 99808260.0

[30] 优先权

[32] 1998.7.8 [33] US [31] 09/111,895

[73] 专利权人 阿诺麦德股份有限公司

地址 加拿大不列颠哥伦比亚

[72] 发明人 G·J·布里杰 E·M·伯林格

王忠仁 D·肖尔斯

R·T·斯基勒 D·E·博古茨基

[56] 参考文献

US5698546A 1997.12.16

EP0747368A1 1996.5.21

US 5583131A 1996.12.10

审查员 刘瑞华

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 徐 迅

权利要求书 1 页 说明书 36 页 附图 9 页

[54] 发明名称

抗病毒大环化合物

[57] 摘要

本发明涉及新的抗病毒化合物、药物组合物及其用途。具体地说,本发明涉及单环多胺,其在标准抗 HIV 或 FIV 感染细胞试验中具有活性,而且还具有其它关于结合调节若干哺乳动物胚胎发育过程的趋化因子受体配体的生物活性。

1. 1,1'-[1,4-(亚苯基二(亚甲基))]二-1,4,8,11-四氮杂环十四烷或其药学组合物的用途,其特征在于,用于制备治疗 CXCR4 受体介导的疾病的药剂,但 HIV 感染除外。

2. 如权利要求 1 所述的用途,其特征在于,所述疾病是关节炎。

3. 如权利要求 1 所述的用途,其特征在于,所述疾病是异常的钙离子转运。

4. 如权利要求 1 所述的用途,其特征在于,所述疾病是癌症。

5. 如权利要求 4 所述的用途,其特征在于,所述癌症是非小细胞肺癌或成胶质细胞瘤。

6. 如权利要求 4 所述的用途,其特征在于,所述癌症是实体瘤。

7. 如权利要求 4 所述的用途,其特征在于,所述癌症是肺癌、乳腺癌或前列腺癌。

8. 如权利要求 4 所述的用途,其特征在于,所述癌症是纤维瘤、星形细胞瘤或骨髓瘤。

9. 如权利要求 4 所述的用途,其特征在于,所述癌症是转移性肿瘤。

10. 如权利要求 4 所述的用途,其特征在于,所述癌症是恶性肿瘤。

11. 如权利要求 4 所述的用途,其特征在于,所述癌症是淋巴瘤。

12. 如权利要求 4 所述的用途,其特征在于,所述癌症是中枢神经系统的肿瘤。

抗病毒大环化合物

本申请是申请号为 99808260.0、题为“抗病毒大环化合物”的中国专利申请的分案申请。

技术领域

本发明涉及新的抗病毒化合物、药物组合物及其用途。具体地说，本发明涉及单环多胺，其在标准抗 HIV 感染细胞测试中具有活性，而且还具有其它关于配体结合到调节大量哺乳动物胚胎发育过程的趋化因子受体的生物活性。本发明还涉及治疗各种由趋化因子-配体结合调节的疾病的方法。

背景技术

已描述了约 40 种人趋化因子，其功能（至少部分）通过复合和交错的生物活性对淋巴细胞的活动和白血球的组织渗入和溢出（对刺激物的应答）很重要（见，如 P.Ponath, Exp. Opin. Invest. Drugs, 7:1-18,1998）。这些趋化细胞因子或趋化因子构成一类蛋白质，约 8-10kDa 大小。趋化因子看似具有共同的结构基序，由 4 个恒定的参与维持三级结构的半胱氨酸构成。有两种主要的趋化因子亚类：“CC”或 β -趋化因子和“CXC”或 α -趋化因子。按构成受体天然配体的趋化因子将这些趋化因子的受体分类。 β -趋化因子的受体命名为“CCR”；而 α -趋化因子的受体命名为“CXCR”。

据信趋化因子是引发和维持炎症的主要介体。具体地说，已发现趋化因子在调节内皮细胞功能中有重要的作用，包括增殖、迁移和血管生成中的分化和受伤后的内皮再生（Gupta 等人，Biolog. Chem., 7:4282-4287,1998）。已知在人免疫缺陷病毒（HIV）感染的病原学中涉及两种特殊的趋化因子。

在许多时候，HIV 最初通过其 gp120 包膜蛋白结合到靶细胞的 CD4 受体上。表现为在 gp120 中发生了构象改变，导致其随后结合于趋化因子受体（如 CCR-5）（Wyatt 等人，Science, 280:1884-1888(1998)）。感染后产生的 HIV-1 分离物结合到 CXCR-4 趋化因子受体上。事实上，猫科免疫缺陷病毒（另一种相关的逆转录病毒），无需先结合到 CD4 受体而结合到趋化因子受体上，这提示趋化因子受体可能是免疫缺陷逆转录病毒的原专性受体（Richardson 等人，J. Virol.

73:661(1999))。

HIV 和 CD4 最初的结合后,接着由趋化因子受体家族成员调节的病毒-细胞就发生融合,不同的成员充当导致 HIV-1 的巨噬细胞向性(M-向性)和 T-细胞向性(T-向性)分离物的融合因子(Carroll 等人, *Science*, 276:273-276, 1997)。在患者的感染过程中,表现为大部分 HIV 颗粒从 M-向性转变为更具攻击性的 T-向性表型(Miedema 等人, *Immune. Rev.*, 140:35(1994))。奇特地, M-向性病毒表型与结合到 CCR-5 受体后病毒进入细胞的能力有关,而 T-向性病毒表型与病毒结合到 CXCR-4 受体和与其膜融合后病毒进入细胞的能力有关。疗程过程表明具有 CCR-5 遗传突变的患者能抵抗 HIV 的感染或少受感染。

然而,趋化因子受体与它们天然配体的结合仅比作为 HIV 感染的中介调停剂更有演化或主导作用。已发现趋化因子受体即 CXCR-4,对肠胃道的血管生成(Tachibana 等人, *Nature*, 393:591-594(1998))以及造血和小脑发育(Zou 等人, *Nature*, 393:591-594(1998))是必需的。通过前一B 细胞生长刺激因子/基质衍生的因子(PBSF/SDF-1)结合于 CXCR-4 趋化因子受体所致的任何这些重要功能的干扰,将导致脉管发育、造血和心脏的致命缺陷。类似地,胎儿小脑发育依赖于 CXCR-4 在神经元细胞迁移和在中枢神经系统成型中的有效功能。这一 G-蛋白质偶联的趋化因子受体在确保小脑原基中粒细胞迁移的必需模式中起重要作用。同样 SDF-1 和 CXCR-4 间的反应对维持 B 细胞谱系和保留骨髓干细胞中也有重要作用(Peled 等人, *Science* 283:845(1999);Springer 等人, *Immunity* 10:463(1999))。

为了更好地了解趋化因子和它们受体间的关系,最近作的实验通过用单克隆抗体或小分子来阻断

与 CXCR-4 趋化因子受体的结合(其表现为具有有用的治疗性策略)(Schols 等人, *J. Exp. Med.* 186:1383-1388(1997); Schols 等人, *Antiviral Research* 35:147-156(1997))。小分子(如二环化合物(bicyclam))表现出对 CXCR-4 结合而非 CCR-5 结合有特异性的干扰(Donzella 等人, *Nature Medicine*, 4:72-77(1998))。这些实验证明干扰体外 HIV 进入和膜融合到靶细胞。其它监测钙流动或 Ca^{2+} 活动分析的实验证明,由于基质衍生的因子或 SDF-1 α (CXCR-4 的天然趋化因子)的结合的结果,二环化合物也具有信号转导拮抗剂的功能。

另外, Sehgal 等人, *J. of Surg. Oncolo.* 69:99-104(1998)("Sehgal I")和 Sehgal 等人, *J. of Surg. Oncolo.* 69:239-248(1998)("Sehgal")报道了在成胶质细胞瘤细胞增殖中趋化因子受体结合的病理学或联系性。CXCR-4 与其受体的结合在成胶质细胞瘤

形成和/或增殖中似乎起重要的作用。用本发明的化合物（如 AMD 3100）抑制 CXCR4 与其天然受体配体的结合，为中枢神经系统肿瘤（由趋化因子如 CXCR4 调节或与其相关）的治疗提供了一种新药。

另外，已发现 CXC 趋化因子调节非一小细胞肺癌中的血管生成或与其有关（见 Arenberg 等人，J. of Leukocyte biol; 62:554562(1997); 和 Moore 等人，TCM, vol 8(2): 51-58(1998)Elsevier Science, Inc.）。在非一小细胞肺癌的形成中 CXC 趋化因子和其分别与它们受体的结合起非常重要的作用。用本发明的化合物（如 AMD 3100）抑制这些 CXC 趋化因子与它们天然受体配体的结合，为非一小细胞肺癌（由趋化因子增大的水平来调节或与其相关）的治疗提供了一种新药。

美国专利 No.5,583,131、No.5,698,546 和 No.5,817,807 公开了在体外测试中具有抗 HIV-1 和 HIV-2 活性的环状化合物。我们现已发现由于这些化合物与在免疫系统的某些细胞表面表达的趋化因子受体 4（CXCR-4 或 Fusin 受体）结合，所以它们表现出抗 HIV（抗人免疫缺陷病毒）和抗 FIV（抗猫免疫缺陷病毒）活性(Este 等人，Mol. Pharmacol.55:67(1999); Egberink 等人,J. Virol in press (1999))。因此这种竞争性结合保护了靶细胞受 HIV 的感染，因为后者是用 CXCR-4 受体进入的。我们发现公开的化合物也抗 CXCR-4 天然 CXC-趋化因子（基质细胞衍生的因子 1 α (SDF-1 α))的结合、发信号和向化作用。本文进一步公开新的化合物，它们通过体外对 CC-5 受体（CCR-5）结合的抑制，具有保护靶细胞免受 HIV 感染的作用。

发明内容

本发明提供的新化合物，证明具有保护靶细胞免受 HIV 感染的作用，并证明这些化合物具有其它的涉及抑制天然配体与趋化因子受体结合的生物活性。

本发明提供具有分子式 I 的大环化合物：



其中 V 是 9-24 元环状多胺部分，而且包含 2-6，但较佳的是 3-6 个任选地被取代的、彼此被 2 个或多个任选地被取代的碳原子隔开的氮氮（amino nitrogen）原子，且 V 可任选地包括稠合芳环或杂环；

R^1-R^7 可以是相同的或不同的，分别选自氢或直链、支链或环状 C_{1-6} 烷基；

R^8 是杂环基团、被取代的芳环或巯基；

Ar 是芳环或杂环，可任选地由供电子基团或吸电子基团在单个或多个位置上取代；

x 是 1 或 2;

和其酸式盐和金属配合物。

较佳地, V 是 14—17 元稠合的或不稠合的环, 如环胺 (cyclam) 体系或 4, 7, 10, 17—四氮杂二环[13.3.1]十七碳—1 (17), 13, 15—三烯系或其衍生物, 优选的是环胺系或其衍生物。V 部分可在 C 或不与 N 相连的原子上被羟基、烷氧基、硫羟基、硫代烷基或任何其它对化合物的活性或毒性没有副作用, 但可减少胺的碱性的原子或基团, 如卤素、硝基、羧基、羧基氨基 (carboxyamido)、磺酸或磷酸根所取代。适合的稠合芳环或杂环是苯基、吡啶、嘧啶、吡嗪、咪唑或噻唑。较佳地, 稠合芳环或杂环是苯基或吡啶。

较佳地, R^1-R^7 都是氢。

较佳地 R^8 选自吡啶、嘧啶、吡嗪、咪唑、噻唑、噻吩、苯硫基、苄基、哌啶基、哌嗪基或巯基。

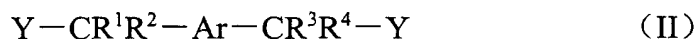
较佳地, Ar 是苯基。较佳的取代基是烷基、芳基、氨基、烷氧基、羟基、卤素、羧基和羧基氨基。

本发明也包括被称为“前体药物”的本化合物的被保护形式, 其在给予患者后释放化合物。例如, 化合物可携带保护基, 该基团在体液 (如血流中) 由水解除去, 从而释放活性化合物, 或在体液中氧化或还原而释放化合物。对前体药物的讨论可参见 “Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design”, H.J. Smith, Wright, Second Edition, London 1988。

分子式 I 化合物的酸式盐 (如盐酸盐) 和无毒不稳定金属配合物也可是本发明的活性化合物。本文中的无毒是以未接受治疗的受感染患者预后状况为对照的。优选的是铜和锌复合物, 当然也可考虑其它金属 (如镍), 较差稳定性的金属 (如钴和铈) 则较不理想, 因为它们的选择性差。

分子式 I 的化合物是新颖的。因此, 本发明的另一方面提供了分子式 I 化合物的制备方法, 包括以下步骤:

(i) 用带有一个未保护的胺氮 (amine nitrogen) (所有其它胺氮原子都被保护) 的环状多胺 V 与过量分子式 II 的化合物进行亲核反应。



其中 R^1 到 R^4 和 Ar 的定义如上, Y 都是活性取代基, 可被多胺 V 的未保护的氮取代, 较佳地选自 Br、Cl、I、甲磺酸盐、4—甲苯磺酸盐、三氟甲磺酸盐。

保护环状多胺的胺氮对本领域合成化学家而言是已知的, 较佳地用甲磺酰基和/或甲苯磺酰基和/或二乙氧基磷酰基 (见 Bridger 等人, J.Med. Chem., 38:366-

378(1995); Bridger 等人,美国专利 5,583,131 或 Bridger 等人, 美国专利 5,698,546) 和/或硝基苯磺酰基 (Fukuyama 等人, Tetrahedron Letters 1995,36,6373-6374)。

在溶剂中 (如乙腈或二甲基甲酰胺、四氢呋喃或二噁烷) 在碱 (如碳酸钠或碳酸钾) 存在下, 将保护的多胺 V 先与 5 到 10 倍过量的分子式 II 的化合物反应。反应通常在室温至提升的温度下进行, 使生成环状多胺 (其中所有的胺氮都被保护)。通常将得到产物的混合物, 我们发现易于用硅胶层析或重结晶法纯化产物。

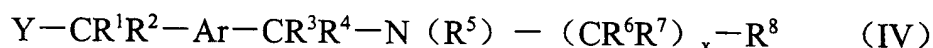
将分子式 III 的化合物的亲核反应



其中 R^5 到 R^8 和 x 的定义如 (I) 反应的产物所述, 然后将胺氮去保护。过量分子式 (III) 化合物反应进行的条件与用多胺 V 反应的条件类似。

去保护步骤宜通过在含水 HBr 和醋酸或浓硫酸的混合液中回流被保护的分子进行, 或当为二乙氧基磷酰基时, 可在醋酸中于气态氯化氢或气态溴化氢存在下进行; 当硝基苯磺酰基去保护时, 在溶剂 (如二甲基甲酰胺、乙腈、四氢呋喃或二噁烷) 中于适合的碱 (如碳酸钾、碳酸铯、氢氧化钠或氢氧化锂) 存在下使用硫醇 (如苯硫酚或巯基乙酸)。反应通常在室温至提升的温度下进行, 使生成环状多胺 (所有氮都被去保护)。另外相应地本发明另一方面提供了分子式 I 化合物的制备方法, 包括以下步骤:

(i) 用带有一个未保护胺氮 (所有其它胺氮原子都被保护) 的环状多胺 V 与过量分子式 IV 的化合物进行亲核反应。



其中 R^1 到 R^4 和 x 、 R^6 到 R^8 和 Ar 的定义如上, Y 是活性取代基, 可被环状多胺 V (如上定义) 的未保护氮取代。此时想要的取代基 R^5 是氢, 但出于方便, 将该氮用硝基苯磺酰基或二乙氧基磷酰基保护。

首先用与上述分子式 II 和 III 化合物反应条件类似的条件, 将多胺 V 与分子式 IV 的化合物反应, 并将该反应产物在多胺上的和在 R^5 上的胺氮去保护。

如上述进行该去保护步骤。出于方便, 当存在以下任一的混合物时: 甲磺酰基、甲苯磺酰基、二乙氧基磷酰基、或硝基苯磺酰基时, 可用这些去保护反应顺序的组合。

新化合物还包括通式 V 的大环化合物:



其中 V^2 是 9-24 元环状多胺部分, 而且包含 2-6, 但较佳的是 3-6 个任选地被取代的、彼此被 2 个或多个任选地被取代的碳原子隔开的胺氮原子, V^2 可任

选地包括稠合的芳环或杂环； R^9 或 R^{10} 可以是相同的或不同的，分别选自氢或直链、支链或环状 C_{1-6} 烷基；另外，当 Ar 是芳环、稠合的芳环、杂环或稠合的杂环时，它们均可任选地被供电子基团或吸电子基团和/或芳族基和杂环基和它们的烷基衍生物在单个或多个位置上取代；和其酸式盐和金属配合物。

这些新化合物已证明在体外筛选分析中具有抗 HIV 活性，如表 1 所示。也证明这些新化合物，通过 AMD 化合物抑制 CXCR-4 特异性单克隆抗体 (12G5) 结合到 SUP-T1 细胞上的 CXCR-4。表 2 显示的数据为 AMD 3100 (1, 1'-[1, 4-亚苯基二(亚甲基)]二-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷、AMD 3465 (N-[1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶) 和六种新化合物：AMD 7049、AMD 7050、AMD 7051、AMD 7058、AMD 7059、和 AMD 7063。

一些新化合物也抑制细胞系 U87.CD4.CCR 5 (被 M-1 向性 HIV-1 菌株 BaL, 它专用地用 CCR-5 共受体进入)。表 4 显示了这些数据。

本领域技术人员易于理解 mAb 结合分析的实验步骤、 Ca^{2+} 流动的抑制和在 U87.CD4.CCR5 细胞中对 HIV-1 BaL 菌株感染的抑制。例如，见 Schols 等人, J. Exp. Med 186:1383-1388 (1997); Schols 等人, Antiviral Research 35:147-156(1997); 和 Donzella 等人, Nature Medicine, 4:72-77(1998)。同样，CXCR-4 特异性单克隆抗体 12G5 的鉴定可见 Hoxie 等人, Cell, 87:745-756(1996)。

上述文献的引用并非确认任何以上所述的就是有关的现有领域。所有这些文献的陈述如日期或内容以及表达都来自申请者可能提到的信息，并不构成对这些文献日期的正确性或内容的任何承认。另外，本申请中将把这些文献全部纳入作为参考。

在描述了本发明之后，通过以下实施例的参考更易理解本发明，这些实施例仅起说明作用，并非旨在对本发明作任何限制，除非特别指出。

如上述，本发明的化合物具有抗病毒感染活性，尤其是抗逆转录病毒和 HIV 感染。因此，本发明的另一方面提供了用于药物的分子式 I 或分子式 V 的化合物。具体地说，本文提供了用分子式 I 或分子式 V 的化合物制造药物，用于治疗感染 HIV 的患者，包括给予所述的患者药学上有效剂量的分子式 I 或分子式 V 的化合物。虽然分子式 I 或分子式 V 的化合物可作为原料给药，但较佳地是使以分子式 I 或分子式 V 的化合物作为活性组分与药学上可接受的稀释剂或载体和任选地一种或多种有疗效的组分混合制成药物组合物，这种组合物成为本发明的又一方面。

应该理解，在本发明的各个方面中也包括分子式 I 或 V 化合物的内消旋形式、

对映体和拆分后的光学活性形式。同样，在本发明中要被考虑的是被无毒或其它活性物质稀释的分子式 I 或分子式 V 化合物。

附图说明

图 1, 显示了化合物 AMD 3465 的结构式。
图 2, 显示了化合物 AMD 3538 的结构式。
图 3, 显示了化合物 AMD 3500 的结构式。
图 4, 显示了化合物 AMD 3499 的结构式。
图 5, 显示了化合物 AMD 3498 的结构式。
图 6, 显示了化合物 AMD 3497 的结构式。
图 7, 显示了化合物 AMD 3516 的结构式。
图 8, 显示了化合物 AMD 3530 的结构式。
图 9, 显示了化合物 AMD 3517 的结构式。
图 10, 显示了化合物 AMD 3544 的结构式。
图 11, 显示了化合物 AMD 3543 的结构式。
图 12, 显示了化合物 AMD 3529 的结构式。
图 13, 显示了化合物 AMD 7049 的结构式。
图 14, 显示了化合物 AMD 7050 的结构式。
图 15, 显示了化合物 AMD 7051 的结构式。
图 16, 显示了化合物 AMD 7059 的结构式。
图 17, 显示了化合物 AMD 7063 的结构式。
图 18, 显示了化合物 AMD 7058 的结构式。
图 19, 显示了化合物 AMD 7032 的结构式。
图 20, 显示了化合物 AMD 7048 的结构式。
图 21, 显示了化合物 AMD 7060 的结构式。
图 22, 显示了化合物 AMD 7061 的结构式。
图 23, 显示了化合物 AMD 3451 的结构式。
图 24, 显示了化合物 AMD 3454 的结构式。
图 25, 显示了化合物 AMD 3472 的结构式。
图 26, 显示了化合物 AMD 3526 的结构式。
图 27, 显示了化合物 AMD 3100 的结构式。
图 28, 显示了化合物 AMD 3484 的结构式。

图 29, 显示了用化合物 AMD 3100 治疗或免疫接种后, 实验动物中胶原诱导的关节炎的累计发病率。

图 30, 显示了用化合物 AMD 3100 治疗后, 实验动物体重的变化。

图 31, 显示了化合物 AMD 8630 的结构式。

图 32, 显示了化合物 AMD 7097 的结构式。

图 33, 显示了化合物 AMD 8631 的结构式。

图 34, 显示了化合物 AMD AMD-Exp 1. 的结构式。

图 35, 显示了化合物 AMD 7450 的结构式。

图 36, 显示了化合物 AMD AMD-Exp 2. 的结构式。

图 37, 显示了化合物 AMD 7463 的结构式。

图 38, 显示了化合物 AMD AMD-Exp 3. 的结构式。

具体实施方式

本文所用的术语是依据该领域认可的含意(除非特别指出), 且对本领域的技术人员而言是易于理解的。现用以下制备实施例说明本发明。

一般流程 A

1-[1-亚甲基-4-(溴亚甲基)亚苯基]-4, 8, 11-三(二乙氧基磷酰基)-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷

将 α, α' -二溴-对-二甲苯(13.2g, 0.05mol)加入到搅拌的在 CH_3CN (150ml)中的 4,8,11-三(二乙氧基磷酰基)-1, 4, 8, 11-四-氮杂环十四烷(见 Bridger 等人, J. Med.Chem. 1995,38,366-378)(6.1g, 0.01mo)和 K_2CO_3 (1.89g, 0.013mol)中, 70℃搅拌反应液 1 小时。将溶液冷却到室温, 在减压下除去溶剂。残留物分配在盐水(50ml)和 CH_2Cl_2 (100ml)间。将有机相分开, 干燥(Na_2SO_4), 浓缩到最小体积。滤去固体, 在减压下蒸发溶剂, 得到浅黄色油状粗产物。硅胶柱层析纯化($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, 25:1), 得到浅黄色油状 1-[1-亚甲基-4-(溴亚甲基)亚苯基]-4, 8, 11-三(二乙氧基磷酰基)-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷(4.7g, 59%)。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.21-1.37 (m, 18H), 1.66-1.74 (m, 2H), 1.82-1.91 (m, 2H), 2.30-2.35 (m, 2H), 2.58-2.63 (m, 2H), 2.99-3.16 (m, 12H), 3.48 (s, 2H), 3.95-4.07 (m, 12H), 4.48 (s, 2H), 7.21-7.35 (4H).

一般流程 B

用胺将溴苄基环胺中间体第二次烷基化(例见 Bridger 等人, J. Med. Chem.1995,38, 366-378)

80°C, 在搅拌下将在 CH₃CN(10ml)中的 1-[1-亚甲基-4-(溴亚甲基)亚苯基]-4, 8, 11-三(二乙氧基磷酰基)-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷(0.6mmol)溶液, 历时 15-20 分钟, 逐滴加入到悬浮有 K₂CO₃(1.5 当量)的适当胺(5.0 当量)的干燥 CH₃CN(5ml)溶液中。80°C再搅拌 1 小时后, 将溶液浓缩至干, 残留物分配在 CH₂Cl₂ 和水间。分离出有机层, 用水洗涤(3x), 然后干燥(MgSO₄)和蒸发。粗制残留物在硅胶柱上进行层析纯化(以 5-15%MeOH/CH₂Cl₂ 为洗脱液), 得到粘稠的油。

一般流程 C

室温用 HBr/HOAc 将二乙氧基磷酰氨基的去保护(例见: Bridger 等人, J. Med. Chem. 1995. 38.366-378)

将在醋酸(Aldrich,5ml)中的 30%HBr(Aldrich, 5ml)加入到搅拌的在醋酸(3ml)中的流程 B 得到的保护的环胺衍生物(0.1-0.5mmol)的溶液中, 室温搅拌 14 小时。过滤收集得到的沉淀, 用醋酸然后用 Et₂O 洗涤。然后将固体溶解在水(3ml)中, 用活性炭(100mg)处理, 然后将混合物加热到 80°C, 30 分钟。用硅藻土过滤该热溶液, 将滤液浓缩到约 1ml, 然后加入醋酸, 迅速形成白色沉淀。过滤收集白色沉淀, 真空干燥。

以下为用这些方法制备的化合物:

实施例 1

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基-甲基)吡啶六氢溴酸盐(AMD 3465)

白色固体: Mp 200-205°C (dec); ¹H NMR (D₂O) δ 2.04 (m, 4H), 3.20-3.40 (m, 8H), 3.40-3.60 (m, 8H), 4.34 (s, 2H), 4.38 (s, 2H), 4.51 (s, 2H), 7.50 (m, 4H), 7.75 (t, 1H, J=6.6 Hz), 7.82 (d, 1H, J=7.9 Hz), 8.26 (t, 1H, J=7.9 Hz), 8.63 (d, 1H, J=5.3 Hz); ¹³C NMR (D₂O) δ 18.30, 18.96, 37.04, 37.28, 37.40, 40.92, 41.13, 41.49, 44.26, 47.61, 48.01, 51.29, 58.88, 127.46, 127.75, 130.40, 131.05, 131.23, 131.47, 132.10, 132.44, 144.95, 145.81, 146.01; FAB MS m/z 493 (M+H⁸¹Br, 7), 491 (M+H⁷⁹Br, 7), 411 (M+H, 100).

分析(C₂₄H₃₈N₆ • 6HBr); 计算值 C, 32.36; H, 4.98; N, 9.44; Br, 53.21. 实验值 C, 32.20; H, 5.00; N, 9.30; Br, 53.10.

实施例 2

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-甲基-2-(氨基甲基)吡啶六氢溴酸盐水合物(AMD 3538)

白色固体: Mp 220-225°C (dec); ^1H NMR (D_2O) d 2.06 (m, 4H), 2.76 (s, 3H), 3.20-3.65 (m, 16H), 4.47 (bs, 4H), 4.65 (s, 2H), 7.54 (bs, 4H), 7.80 (t, 1H), 7.87 (d, 1H), 8.28 (t, 1H), 8.68 (d, 1H); ^{13}C NMR (D_2O) d 18.14, 18.75, 18.89, 36.74, 37.04, 37.15, 37.62, 40.38, 40.72, 40.91, 41.28, 44.05, 47.50, 56.98, 58.88, 60.28, 127.60, 128.86, 130.78, 130.96, 132.16, 132.64, 144.91, 145.04, 146.12; FAB MS m/z 507 ($\text{M}+\text{H}^{81}\text{Br}$, 27), 507 ($\text{M}+\text{H}^{79}\text{Br}$, 22), 425 ($\text{M}+\text{H}$, 100).

分析($\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{N}_6 \cdot 6\text{HBr} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$); 计算值 C, 32.04; H, 5.27; N, 8.97; Br, 51.16. 实验值 C, 31.88; H, 5.30; N, 8.93; Br, 51.00.

实施例 3

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-4-(氨基-甲基)吡啶六氢溴酸盐(AMD 3500)

白色固体: mp 201-204°C (dec); ^1H NMR (D_2O) d 1.91-2.12 (m, 4H), 3.00-3.49 (m, 16H), 4.13 (s, 2H), 4.34 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 7.39-7.57 (m, 4H), 8.02 (d, 2H, $J=6.3$ Hz), 8.74 (d, 2H, $J=6.3$ Hz); ^{13}C NMR (D_2O) d 18.26, 18.88, 36.94, 37.29, 37.36, 40.89, 41.06, 41.44, 44.21, 47.61, 49.17, 51.43, 59.02, 127.84, 130.21, 131.64, 132.15, 132.45, 142.19, 151.67; FAB MS m/z 493 ($\text{M}+\text{H}^{81}\text{Br}$, 8), 491 ($\text{M}+\text{H}^{79}\text{Br}$, 10), 411 ($\text{M}+\text{H}$, 83), 320 (37), 247 (58), 201 (100).

分析($\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_6 \cdot 6\text{HBr}$); 计算值 C, 32.17; H, 4.95; N, 9.34; Br, 53.50. 实验值 C, 32.16; H, 5.03; N, 9.41; Br, 53.28.

实施例 4

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-3-(氨基-甲基)吡啶六氢溴酸盐(AMD 3499)

白色固体: mp 198-202°C (dec); ^1H NMR (D_2O) d 1.83-2.07 (m, 4H), 2.96-3.47 (m, 16H), 4.11 (s, 2H), 4.32 (s, 2H), 4.49 (s, 2H), 7.38-7.56 (m, 4H), 8.04 (t, 1H, $J=6.4$ Hz), 8.63 (d, 1H, $J=8.3$ Hz), 8.76 (d, 1H, $J=5.6$ Hz), 8.86 (s, 1H); ^{13}C NMR (D_2O) d 18.23, 18.87, 36.92, 37.29 (2C), 40.88, 41.05, 41.43, 44.17, 47.22, 47.60, 51.18, 59.04,

128.29, 130.01, 131.49, 132.14, 132.66 (2C), 142.55, 142.76, 148.98; FAB MS m/z 493 ($M+H^{81}Br$, 7), 491 ($M+H^{79}Br$, 6), 411 ($M+H$, 100), 320 (33), 247 (24).

分析($C_{24}H_{38}N_6 \cdot 6HBr$); 计算值 C, 32.17; H, 4.95; N, 9.34; Br, 53.50. 实验值 C, 32.08; H, 5.02; N, 9.25; Br, 53.28.

实施例 5

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基-甲基-5-甲基)吡嗪五氢溴酸盐(AMD 3498)

白色固体: mp 194-197°C (dec); 1H NMR (D_2O) δ 1.93-2.12 (m, 4H), 2.42 (s, 3H), 3.25 (s, 8H), 3.48 (s, 8H), 4.28 (s, 2H), 4.30 (s, 2H), 4.33 (s, 2H), 7.44 (s, 4H), 8.33 (s, 1H), 8.46 (s, 1H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 18.01, 18.72, 19.80, 36.66, 37.05, 37.13, 40.70, 40.89, 41.27, 43.99, 47.47, 48.14, 50.61, 59.06, 129.97, 131.43, 132.04, 132.99, 140.93, 144.98, 146.49, 153.51; FAB MS m/z 509 ($M+H^{81}Br$, 17), 507 ($M+H^{79}Br$, 15), 426 ($M+H$, 100), 320 (21), 247 (20).

分析($C_{24}H_{39}N_7 \cdot 5.5HBr$); 计算值 C, 33.10; H, 5.15; N, 11.26; Br, 50.47. 实验值 C, 32.80; H, 5.41; N, 11.00; Br, 50.58.

实施例 6

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基-乙基)吡啶六氢溴酸盐(AMD 3497)

白色固体: mp 195-198°C (dec); 1H NMR (D_2O) δ 1.98-2.17 (m, 4H), 3.20-3.38 (m, 8H), 3.38-3.63 (m, 12H), 4.27 (s, 2H), 4.39 (s, 2H), 7.50 (s, 4H), 7.80-7.89 (m, 2H), 8.42 (m, 1H), 8.58 (d, 1H, $J=5.8$ Hz); ^{13}C NMR (D_2O) δ 18.51, 19.14, 29.85, 37.56 (3C), 41.21, 41.41, 41.82, 44.57, 45.27, 47.83, 51.10, 58.74, 126.35, 127.93, 130.66, 131.27, 131.99, 132.69, 141.89, 147.79, 150.91; FAB MS m/z 507 ($M+H^{81}Br$, 40), 505 ($M+H^{79}Br$, 34), 425 ($M+H$, 100).

分析($C_{25}H_{40}N_6 \cdot 6HBr$); 计算值 C, 32.99; H, 5.09; N, 9.23; Br, 52.67. 实验值 C, 32.79; H, 5.34; N, 9.11; Br, 52.45.

实施例 7

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基-甲基)噻吩五氢溴酸盐(AMD 3516)

白色固体: mp 245-248°C (dec); ^1H NMR (D_2O) d 1.87-2.12 (m, 4H), 3.02-3.51 (m, 16H), 4.17 (s, 4H), 4.38 (s, 2H), 6.97 (t, 1H, $J=3.9$ Hz), 7.13 (d, 1H, $J=3.1$ Hz), 7.41 (s, 5H); ^{13}C NMR (D_2O) d 18.80, 19.52, 38.03, (3C), 41.59 (2C), 42.21, 44.89 (2C), 48.15, 49.83, 58.52, 128.13, 129.12, 131.15, 131.47, 131.50, 131.90, 132.42, 132.87; FAB MS m/z 498 ($\text{M}+\text{H}^{81}\text{Br}$, 11), 496 ($\text{M}+\text{H}^{79}\text{Br}$, 9), 416 ($\text{M}+\text{H}$, 53), 218 (100), 201 (64).

分析($\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{S} \cdot 5\text{HBr}$); 计算值 C, 33.68; H, 5.16; N, 8.54; Br, 48.71. 实验值 C, 33.85; H, 5.22; N, 8.50; Br, 48.52.

实施例 8

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基-乙基)硫醇五氢溴酸盐二水合物(AMD 3530)

白色固体: mp 234-236°C (dec); ^1H NMR (D_2O) d 1.75-2.05 (m, 4H), 2.75-3.45 (m, 20H), 4.05 (s, 2H), 4.15 (s, 2H), 7.35 (s, 4H); FAB MS m/z 462 ($\text{MH}+\text{H}^{81}\text{Br}$, 15), 460 ($\text{MH}+\text{H}^{79}\text{Br}$, 15), 380 ($\text{M}+\text{H}$, 100), 300 (64), 279 (47), 239 (49).

分析($\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{S} \cdot 5\text{HBr} \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 5\text{HOAc}$) 期望值 C, 29.67; H, 5.69; N, 8.24; Br, 46.99. 实验值 C, 29.31; H, 5.72; N, 8.25; Br, 46.64.

实施例 9

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-氨基-苄胺五氢溴酸盐(AMD 3517)

白色固体: mp 203-206°C (dec); ^1H NMR (D_2O) d 1.85-2.13 (m, 4H), 3.02-3.58 (m, 16H), 4.23 (s, 2H), 4.31 (s, 4H), 7.23-7.54 (m, 8H); ^{13}C NMR (D_2O) d 18.03, 19.29, 37.78 (3C), 41.37 (2C), 42.00, 44.82, 46.25, 47.96, 51.16, 58.68, 124.04, 124.40, 129.40, 130.75, 131.21 (2C), 131.88, 131.96, 132.46, 132.83; FAB MS m/z 507 ($\text{M}+\text{H}^{81}\text{Br}$, 15), 505 ($\text{M}+\text{H}^{79}\text{Br}$, 18), 425 ($\text{M}+\text{H}$, 100), 320 (30), 201 (51).

分析($\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{N}_6 \cdot 5.75\text{HBr} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$). 计算值 C, 33.42; H, 5.19; N, 9.35; Br, 51.14. 实验值 C, 33.69; H, 5.35; N, 9.00; Br, 51.13.

实施例 10

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-4-氨基-苄胺六氢溴酸盐(AMD 3544)

黄色固体: mp 120-125°C (dec); ^1H NMR (D_2O) d 1.8-2.0 (m, 4H), 2.9-3.4 (m, 16H), 4.1 (s, 2H), 4.18 (s, 4H), 7.2-7.5 (m, 8H); ^{13}C NMR (D_2O) d 18.86, 19.57, 38.14, 41.76, 43.74, 45.14, 48.24, 50.14, 50.42, 51.49, 58.38, 124.13, 131.13, 131.30, 131.83, 131.92, 131.96, 132.67; FAB MS m/z 507 ($\text{M}+\text{H}^{81}\text{Br}$, 5), 505 ($\text{M}+\text{H}^{79}\text{Br}$, 5), 425 ($\text{M}+\text{H}$, 45), 201 (47), 155 (75), 106 (100).

分析 ($\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{N}_6 \cdot 6\text{HBr} \cdot \text{HOAc}$) 期望值 C, 33.43; H, 5.19; N, 8.66; Br, 49.42; O, 3.30. 实验值 C, 33.42; H, 5.49; N, 8.62; Br, 49.23.

实施例 11

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-4-(氨基-乙基)咪唑六氢溴酸盐(AMD 3543)

灰白色固体: mp 135-140°C (dec); ^1H NMR (D_2O) d 1.75 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.70-3.27 (m, 20H), 3.77 (s, 2H), 4.14 (s, 2H), 7.18 (s, 1H), 7.25 (d, 2H, $J=7.97$ Hz), 7.37 (d, 2H, $J=7.97$ Hz), 8.48 (s, 1H); FAB MS m/z 496 ($\text{M}+\text{H}^{81}\text{Br}$, 5), 494 ($\text{M}+\text{H}^{79}\text{Br}$, 5), 414 ($\text{M}+\text{H}$, 17), 201 (15).

分析($\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{N}_7 \cdot 6\text{HBr}$) 期望值 C, 30.73; H, 5.04; N, 10.91; Br, 53.32. 实验值 C, 30.39; H, 5.41; N, 10.41; Br, 53.66.

实施例 12

N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-苄胺五氢溴酸盐(AMD 3529)

灰白色固体: mp 245-250°C (dec); ^1H NMR (D_2O) d 1.9-2.1 (m, 4H), 3.2-3.6 (m, 16H), 4.12 (s, 2H), 4.15 (s, 2H), 4.36 (s, 2H), 7.30 (s, 5H), 7.41 (d, 2H, $J=8.3$ Hz) 7.46 (d, 2H, $J=8.3$ Hz); ^{13}C NMR (D_2O) d 18.43, 19.06, 37.29, 37.46, 37.63, 41.09, 41.32, 41.68, 44.46, 47.74, 50.18, 51.00, 58.79, 129.53, 129.97, 130.18, 130.35, 130.68, 131.18, 131.92, 133.14; FAB MS m/z 492 ($\text{M}+\text{H}^{81}\text{Br}$, 13), 490 ($\text{M}+\text{H}^{79}\text{Br}$, 13), 410 ($\text{M}+\text{H}$, 100), 201 (36).

分析($\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{N}_5 \cdot 5\text{HBr}$); 期望值 C, 36.88; H, 5.45; N, 8.60; Br, 49.07. 实验值 C, 36.79; H, 5.56; N, 8.48; Br, 48.79.

用 MTT 方法(J. Virol. Methods 120:309-321(1988))在筛选中测试本发明的化合物。用浓度为 100 CCID₅₀ 的 HIV-1(HTLV-IIIB)或 HIV-2(LAV-2 ROD)攻击 MT-4 细胞(2.5×10^4 /孔), 并在各种浓度的待测化合物存在下进行培养, 这些化合物是在

用病毒攻击后迅速加入的。37℃在 CO₂ 培养箱培养 5 天后，用 MTT(四唑鎓)方法确定活细胞的数量。下表 1 中列出了这些化合物的抗病毒活性和细胞毒性，分别以 EC₅₀(μg/ml)和 CC₅₀(μg/ml)表示。用相应于 CC₅₀对 EC₅₀之比的计算选择性指数(SI)并确定潜在的治疗有效性。

表 1				
抗 HIV 活性数据				
化合物	CC ₅₀ (ug/mL)	EC ₅₀ (ug/mL)		SI
		HIV-1 (IIIB)	HIV-2	HIV-1
1 AMD3465	>250	0.008	0.032	3 x 10 ⁴
2 AMD3538	209	0.1	6.7	2.0 x 10 ³
3 AMD3500	>250	0.6	10.3	417
4 AMD3499	>250	1.8	28.5	138
5 AMD3498	>250	0.2	7.1	1.2 x 10 ³
6 AMD3497	>250	1.8	3.8	138
7 AMD3516	158	0.7	9.8	225
8 AMD3530	175	0.5	2.0	350
9 AMD3517	153	0.8	10.6	191
10 AMD3544	222	0.7	3.7	317
11 AMD3543	239	0.2	1.0	1 x 10 ³
12 AMD3529	130	0.4	2.6	325

在本研究领域，认为任何表现出选择性指数大于 100 的化合物具有进一步研究的潜力。HIV 是最具攻击性病毒中的一种，上述结果大体上显示了对其它逆转录病毒和其它病毒的活性。

实施例 13

N-[4-(1, 4, 7-三氮杂环十四烷基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)-2(氨基甲基)吡啶

(AMD 7049)

N, N'-二(2-硝基苯磺酰基)-1, 7-庚二胺

将在 CH_2Cl_2 (40ml) 中的 2-硝基苯磺酰氯(18.80g, 84.83mmol) 加入到在 CH_2Cl_2 (70ml) 中的 1, 7-庚二胺(5.01g, 38.5mmol) 和 Et_3N (13.5ml, 96.9mmol) 中。室温氮气中搅拌该混合液 72 小时, 然后真空浓缩。在二乙醚(100ml) 中搅拌残留物, 过滤收集沉淀, 用水(300ml) 洗后用二乙醚(300ml) 洗, 得到灰色固体(18.5g, 96%): ^1H NMR (DMF- d_7) δ 1.21 (m, 6H), 1.49 (m, 4H), 3.04 (m, 4H), 7.87 (m, 2H), 7.95 (m, 4H), 8.04 (m, 2H), 8.15 (m, 2H).

一般流程 D

4-二乙氧基磷酰基-1, 7-二(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷

将在 80℃ 的在 DMF(50ml) 中的 N-(二乙氧基磷酰基)-O, O'-二(2-甲磺酰基)二-乙醇胺(Bridger 等人, J. Med. Chem.1995,38,366-378)(7.95g, 20.0mmol) 溶液逐滴加入到在氮气氛下维持于 80℃ 的在 DMF(500ml) 中的 N, N'-二(2-硝基苯磺酰基)-1, 7-庚二胺(9.00g, 18.0mmol) 和 Cs_2CO_3 (17.8g, 54.6mmol) 的搅拌溶液中, 历时 8 小时。继续加热 17 小时, 然后冷却混合液, 真空浓缩。残留物分配在 CHCl_3 (140ml) 和 H_2O (80ml) 间, 分出水层并用 CHCl_3 (3×40ml) 提取。干燥(MgSO_4) 混合的有机提取物, 真空浓缩, 硅胶(乙酸乙酯) 柱层析纯化残留物, 得到所需的黄色结晶固体大环(2.85g, 带有 DMF 杂质)。

为了除去不希望的 DMF 杂质, 将残留物溶解在 EtOAc(75ml) 中, 依次用 5% NaHCO_3 (2×10ml) 和盐水(5×10ml) 洗涤该溶液, 干燥(MgSO_4), 蒸发, 得到黄色非晶态固体(2.52g, 20%): ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.32 (t, 6H, $J = 7.1$ Hz), 1.51 (m, 6H), 1.61 (m, 4H), 3.33 (m, 12H), 4.03 (m, 4H), 7.61 (m, 2H), 7.71 (m, 4H), 8.03 (m, 2H).

一般流程 E

1, 7-二(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷的合成

在搅拌下的在醋酸(5ml) 中的上述大环化合物(1.88g, 2.66mmol) 的悬浮液中加入新鲜的在醋酸(20ml) 中的饱和 HBr(g) 溶液, 将所得匀质溶液在室温搅拌 22 小时。在反应液中加入二乙醚(250ml) 后, 得到沉淀, 任其沉淀至烧瓶底部, 并滗去上清液。通过倾析法用醚洗涤沉淀(重复 3 次), 然后将残留物分配在 CH_2Cl_2 (40ml) 和 1N NaOH(25ml) 水溶液间。用 CH_2Cl_2 (2×20ml) 提取分出的水层, 用盐水(20ml) 洗涤混合的有机提取物, 然后干燥(MgSO_4), 真空浓缩, 得到黄色非晶态固体(1.23g, 81%):

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.46-1.67 (m, 10H), 2.90 (m, 4H), 3.34 (m, 8H), 7.61 (m, 2H), 7.70 (m, 4H), 7.97 (m, 2H).

4-溴甲基苯甲醇

氮气下搅拌冷却到 -78°C 的在干 CH_2Cl_2 (150ml)中的 4-溴甲基苯甲酸甲酯(5.73g, 25mmol), 在该溶液中逐滴加入 DIBAL-H(82.5ml, 在 THF 中的 1.0M 溶液)。 -78°C 继续搅拌 1.5 小时, 然后让反应液升温到 0°C , 用水淬灭反应。分出有机层, 用 CH_2Cl_2 ($2 \times 100\text{ml}$)提取水层。干燥(MgSO_4)混合的有机提取物, 蒸发, 得到所需的醇(5.0g, 100%)(白色固体): ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.84 (br, 1H), 4.49 (s, 2H), 4.67 (s, 2H), 7.33 (d, 2H, $J = 8.2\text{ Hz}$), 7.38 (d, 2H, $J = 8.2\text{ Hz}$).

N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

氮气下, 通过插管将在干 CH_2Cl_2 (120ml)中的 2-硝基苯磺酰氯(16.62g, 0.075mol)逐滴加入到搅拌的在干 CH_2Cl_2 (150ml)中的 2-(氨基甲基)吡啶(5.41g, 0.05mol)和 Et_3N (13.9ml, 0.10mol)的溶液中。室温搅拌反应混合液 3 小时, 然后用水(20ml)淬灭反应。分出水层, 用 EtOAc ($5 \times 80\text{ml}$)提取。干燥(MgSO_4)混合的有机提取物, 蒸发至小体积, 得到白色沉淀, 通过过滤收集, 用 CH_2Cl_2 洗涤, 得到所需的产物(11.37g, 78%), 白色固体: ^1H NMR (丙酮 d_6) δ 4.46 (s, 2H), 7.19 (dd, 1H, $J = 7.4, 4.5\text{ Hz}$), 7.25-7.35 (br s, 1H), 7.39 (d, 1H, $J = 7.7\text{ Hz}$), 7.68 (ddd, 1H, $J = 7.7, 7.5, 1.8\text{ Hz}$), 7.76-7.88 (m, 2H), 7.94 (dd, 1H, $J = 7.7, 1.5\text{ Hz}$), 8.04 (dd, 1H, $J = 7.5, 1.8\text{ Hz}$), 8.38 (d, 1H, $J = 4.5\text{ Hz}$).

N-[1-亚甲基-4(羟基亚甲基)-亚苯基]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

氮气下, 将在干 CH_3CN (150ml)中的 N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(5.87g, 20mmol)、4-溴甲基苯甲醇(4.02g, 20mmol)和 K_2CO_3 (5.53g, 40mmol)混合液搅拌并在 60°C 加热 4 小时。然后让混合液的温度降至室温, 蒸发溶剂, 残留物分配在水和 CH_2Cl_2 间。用 CH_2Cl_2 提取分出的水相, 干燥(MgSO_4)混合的有机提取物, 蒸发。将残留物悬浮于乙酸乙酯/己烷(1: 1)中, 过滤收集, 得到所需的产物(6.87g, 83%), 白色固体: ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.78 (t, 1H, $J = 5.8\text{ Hz}$), 4.58 (s, 2H), 4.60 (s, 2H), 4.64 (d, 2H, $J = 5.8\text{ Hz}$), 7.13-7.26 (m, 6H), 7.54-7.59 (m, 2H), 7.66-7.68 (m, 2H), 7.98 (d, 1H, $J = 7.4\text{ Hz}$), 8.40 (d, 1H, $J = 3.8\text{ Hz}$).

N-[1-亚甲基-4(氯亚甲基)亚苯基]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

氮气下，在冰浴中冷却的搅拌下的在 CH_2Cl_2 (20ml)中的上述醇(1.91g, 4.62mmol)和 Et_3N (2.0ml, 14mmol)溶液中，加入甲磺酰氯(0.73ml, 9.4mmol)，然后再回流加热该反应混合液 6 小时。用 CH_2Cl_2 (60ml)稀释该溶液，用 10% HCl 水溶液(2×20ml)、5% NaHCO_3 (20ml)水溶液和 H_2O (25ml)洗涤，然后干燥(MgSO_4)，真空浓缩，得到橙色油(1.95g, 98%)： ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.52 (s, 2H), 4.60 (s, 4H), 7.12-7.26 (m, 6H), 7.55 (m, 2H), 7.67 (d, 2H, $J = 4.0$ Hz), 7.94 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 8.41 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz). 此物无需进一步纯化即可用。

一般流程 F

N-[4-[1, 7-二(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

氮气下，将 1, 7-二(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷(1.1g, 1.9mmol)、以上所得的氯化物(0.98g, 2.3mmol)和 K_2CO_3 (0.85g, 6.2mmol)的混合物在 CH_3CN (30ml)中回流加热 62 小时。真空蒸发溶剂，残留物分配在 CH_2Cl_2 (100ml)和盐水(70ml)间。分出水相，用 CH_2Cl_2 (40ml)提取，干燥(MgSO_4)混合的有机提取物，真空浓缩。在硅胶柱上层析纯化(3% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$)残留物，蒸发，将含有所需产物的流分在硅胶柱上作第二次纯化(乙酸乙酯)，得到浅黄色非晶态固体(940mg, 49%)： ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.44 (br s, 6H), 1.60 (br s, 4H), 2.75 (m, 4H), 3.23-3.33 (m, 8H), 3.59 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 4.59 (s, 2H), 7.08-7.20 (m, 6H), 7.55-7.70 (m, 10H), 7.82 (dd, 2H, $J = 7.6, 1.6$ Hz), 7.99 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 8.40 (d, 1H, $J = 4.7$ Hz).

N-[4-(1, 4, 7-三氮杂环十四烷基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶五氢溴酸盐二水合物

室温，将从上所得的中间体(870mg, 0.90mmol)、 K_3CO_3 (1.15g, 8.32mmol)和苯硫酚(0.33ml, 3.2mmol)在 DMF(12ml)中搅拌 7.5 小时。真空浓缩混合液，残留物分配在 CH_2Cl_2 (30ml)和 H_2O (15ml)间。分出有机相，用 5% NaHCO_3 (10ml)、然后用 H_2O (10ml)洗涤，干燥(MgSO_4)，真空浓缩。通过在碱性氧化铝柱上的层析纯化黄色残留物(CH_2Cl_2 , 1% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 和 10% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$)，得到游离碱，黄色油(134mg, 36%)： ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.48 (br s, 6H), 1.60 (br s, 4H), 2.61 (m, 12H), 3.56 (s, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.92 (s, 2H), 7.16 (m, 1H), 7.24 (m, 2H), 7.32 (m, 3H), 7.79 (m, 1H), 8.56 (d, 1H, $J = 4.7$ Hz).

将该游离碱(134mg, 0.33mmol)溶解在 EtOH(4ml)中, 加入在 EtOH(9ml)中新鲜制备的饱和 HBr(g)溶液, 得到白色沉淀。搅拌混合液 5 分钟, 加入二乙醚(15ml)。让沉淀降至烧瓶底部, 滗去上清液。然后将固体溶解在 MeOH(5ml)中, 用大量的醚再次沉淀, 用醚倾滗冲洗(15×), 在减压下(室温)通过蒸发除去最后痕量的醚。40℃真空干燥固体 16 小时, 得到所需的产物, 白色固体(178mg, 63%): ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1.44 (br s, 6H), 1.75 (br s, 4H), 3.04 (br s, 8H), 3.37 (m, 4H), 4.06 (br s, 2H), 4.31 (s, 2H), 4.38 (s, 2H), 7.52-7.68 (m, 6H), 8.01 (m, 1H), 8.70 (d, 1H, J = 5.0 Hz); FAB-MS m/z 492 (MH + H⁸¹Br), 490 (MH + H⁷⁹Br), 410 (M + H). 分析计算 C₂₅H₃₉N₅·5HBr·0.1Et₂O·2.3H₂O: C, 35.35; H, 5.79; N, 8.11; Br, 46.29. 实验值: C, 35.55; H, 5.70; N, 8.18; Br, 46.17.

实施例 14

N-[7-(4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶(AMD 7050)

2, 6-二(2-氨基乙基)吡啶的制备见 Bridger 等人的美国专利 No.5,698,546, 该专利本文全部纳入作为参考。

2, 6-二[N-(2-硝基苯磺酰基)-2-氨基乙基]吡啶

将在 CH₂Cl₂(20ml)中的 2-硝基苯磺酰氯(8.01g, 36.1mmol)加入到搅拌的在 CH₂Cl₂(35ml)中的 2, 6-二(2-氨基乙基)吡啶(2.7g, 16mmol)和 Et₃N(5.7ml, 41mmol)的溶液中, 室温氮气下搅拌该混合液 42 小时。用盐水(25ml)洗涤混合液, 干燥(MgSO₄)有机相, 真空浓缩。在硅胶柱上层析纯化褐色残留物(50%, 然后 60%THF/己烷), 得到浅黄色固体(5.2g, 59%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 3.01 (m, 4H), 3.52 (m, 4H), 6.38 (m, 2H), 6.94 (d, 2H, J = 7.7, Hz), 7.47 (t, 1H, J = 7.7 Hz), 7.72 (m, 4H), 7.82 (m, 2H), 8.13 (m, 2H).

7-二乙氧基磷酰基-4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯

用一般流程 D: 将 2, 6-二[N-(2-硝基苯磺酰基)-2-氨基乙基]吡啶(5.2g, 9.7mmol)和 N-(二乙氧基磷酰基)-O, O'-二(2-甲基磺酰基)二-乙醇胺(4.25g, 10.7mmol)反应, 硅胶柱纯化(60%, 然后 90%THF/己烷)反应产物, 得到标题化合物, 黄色非晶态固体(1.48g, 21%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.23 (t, 6H, J = 7.1 Hz), 2.60 (m, 4H),

2.98-3.08 (m, 8H), 3.84-3.94 (m, 8H), 7.11 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz), 7.56-7.74 (m, 7H), 8.07 (m, 2H).

4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯

用一般流程 E: 将 7-二乙氧基磷酰基-4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯(1.04g, 1.4mmol)反应, 得到标题化合物, 黄色非晶态固体(744mg, 88%): ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.81 (m, 4H), 3.08 (m, 4H), 3.33 (m, 4H), 3.88 (m, 4H), 7.07 (d, 2H, $J = 7.7$ Hz), 7.54-7.71 (m, 7H), 8.02 (m, 2H).

N-[7-[4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

用一般流程 F: 将 4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯(740mg, 1.2mmol)和 N-[1-亚甲基-4-(氯亚甲基)亚苯基]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(610mg, 1.4mmol)反应, 硅胶柱纯化(50%, 然后 80%THF/己烷)反应产物, 得到标题化合物, 黄色非晶态固体(648mg, 54%): ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.26 (m, 4H), 3.03 (m, 8H), 3.37 (s, 2H), 3.94 (m, 4H), 4.56 (s, 2H), 4.57 (s, 2H), 6.95-7.17 (m, 8H), 7.52-7.72 (m, 11H), 7.85 (m, 2H), 7.98 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 8.39 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz).

一般流程 G

N-[7-(4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶六氢溴酸盐三水合物

将苯硫酚(0.24ml, 2.3mmol)加入到在含有 K_2CO_3 (806mg, 5.83mmol)的 DMF(9ml)中的 N-[7-[4, 10-双(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(640mg, 0.64mmol)中, 室温搅拌该混合液 2 小时。真空浓缩混合液, 残留物分配在乙酸乙酯(30ml)和水(10ml)间。分出有机相, 用 5% NaHCO_3 (3 $\times$ 5ml)、然后用盐水(5ml)洗涤。用 CH_2Cl_2 (3 $\times$ 10ml)提取混合水相。干燥(MgSO_4)混合的有机提取物, 在氧化铝柱上层析纯化残留物(CH_2Cl_2 , 然后 10%MeOH/ CH_2Cl_2), 得到标题化合物的游离碱, 黄色油(83mg, 29%): ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.57 (m, 8H), 3.01 (s, 8H), 3.36 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.92 (s, 2H), 6.64 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.07 (m, 4H),

7.18 (m, 1H), 7.33 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.67 (m, 2H), 8.58 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz).

将该游离碱(74mg, 0.17mmol)溶解在 MeOH(3ml)中, 加入在 MeOH(7ml)中新鲜配制的饱和 HBr(g)溶液, 得到白色沉淀。搅拌混合液 5 分钟, 加入二乙醚(10ml), 让沉淀降至烧瓶底部, 倾泻除去上清液。用 MeOH(5×5 ml)、然后用醚(10×5 ml)倾泻洗涤固体, 真空蒸发以除去最后痕量的醚, 40℃真空干燥 17.5 小时, 得到标题化合物, 白色固体(153mg, 93%): ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 2.81 (br s, 4H), 3.28 (m, 8H), 3.61 (br s, 4H), 3.85 (s, 2H), 4.27 (s, 2H), 4.36 (s, 2H), 7.29 (d, 2H, $J = 7.7$ Hz), 7.36 (d, 2H, $J = 7.7$ Hz), 7.53 (m, 3H), 7.63 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.80 (t, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.99 (m, 1H), 8.69 (d, 1H, $J = 5.3$ Hz); FAB-MS m/z 527 (MH + H^{81}Br), 525 (MH + H^{79}Br), 445 (M + H). 分析计算 $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_6 \cdot 6\text{HBr} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C, 32.95; H, 4.92; N, 8.54; Br, 48.72. 实验值: C, 32.75; H, 4.89; N, 8.39; Br, 48.61.

实施例 15

N-[7-(4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶(AMD 7051)

1, 3-亚苯基二(亚甲基)二胺

将 Raney 镍(约 20g, 先用 CH_3OH 洗涤若干次)加入到在 CH_3OH (用 NH_3 饱和的, 150ml)中的 1, 3-亚苯基二乙腈(9.37, 60mmol)的溶液中, 45psi 在 Parr 装置上将混合液氢化 48 小时。将反应液滤过硅藻土, 蒸发滤液得到粗产物(9.45g, 96%), 淡绿色油: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.80-1.50 (br s, 4H), 2.70-2.76 (m, 4H), 2.94-2.99 (m, 4H), 7.01-7.07 (m, 3H), 7.18-7.26 (m, 1H).

N, N'-二(2-硝基苯磺酰基)-1, 3-亚苯基二(亚甲基)二胺

氮气下, 通过插管将在干 CH_2Cl_2 (70ml)中的 2-硝基苯磺酰氯(19.94g, 0.090mol)的溶液逐滴加入到搅拌的在 CH_2Cl_2 (80ml)中的 1, 3-苯氧基二(亚乙基)二胺(4.92g, 0.030mol)和 Et_3N (16.7ml, 0.12mol)的溶液中。室温搅拌反应混合液过夜, 然后用水(20ml)淬灭反应。过滤收集沉淀, 用 H_2O 、 CH_3OH 和 Et_2O 洗涤, 得到所需的产物(9.22g, 58%), 白色固体: ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 2.66 (t, 4H, $J = 7.7$ Hz), 3.08-3.18 (br s, 4H), 6.94 (d, 2H, $J = 6.4$ Hz), 6.98 (s, 1H), 7.12 (dd, 1H, $J = 6.4, 6.4$ Hz), 7.78-7.84 (br m, 4H), 7.90-7.64 (br m, 4H), 8.16 (br s, 2H).

7-二乙氧基磺酰基-4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯

用一般流程 D: 将 N, N'-二(2-硝基苯磺酰基)-1, 3-亚苯基二(亚乙基)二胺(8.74g, 16.4mmol)与 N-(二乙氧基磷酰基)-O, O'-二(2-甲基磺酰基)二-乙醇胺(6.50g, 16.4mmol)反应, 然后用硅胶柱纯化(1: 15: 35 CH₃OH-Et₂O-CH₂Cl₂)反应产物, 得到标题化合物, 黄色泡沫状(4.03g, 33%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.21 (t, 6H, J = 6.4 Hz), 2.39-2.46 (br m, 4H), 2.83-2.97 (br m, 8H), 3.68-3.72 (m, 4H), 3.80-3.92 (m, 4H), 7.16 (d, 2H, J = 6.5 Hz), 7.18 (s, 1H), 7.24 (dd, 1H, J = 6.5, 6.5 Hz), 7.60-7.74 (m, 6H), 8.04-8.08 (m, 2H).

4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯

用一般流程 E: 将 7-二乙氧基磷酰基-4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯(1.27g, 1.72mmol)反应, 然后用硅胶柱纯化(1: 15: 25 CH₃OH-EtOAc-CH₂Cl₂, 然后用在 CH₂Cl₂ 中的 20%CH₃OH)反应产物, 得到标题化合物, 浅黄色泡沫状(574mg, 57%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.42-1.50 (br, 1H), 2.01 (t, 4H, J = 5.4 Hz), 2.90-3.10 (br m, 4H), 3.08 (t, 4H, J = 5.4 Hz), 3.56-3.60 (br m, 4H), 7.16 (d, 2H, J = 6.8 Hz), 7.31 (dd, 1H, J = 6.8, 6.8 Hz), 7.36 (s, 1H), 7.61-7.63 (m, 2H), 7.70-7.73 (m, 4H), 8.01-8.04 (m, 2H).

N-[7-[4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

用一般流程 F: 将 4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯(420mg, 0.7mmol)和 N-[1-亚甲基-4-(氯亚甲基)亚苯基]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(302mg, 0.7mmol)反应, 然后用硅胶柱纯化(1: 3 Et₂O-CH₂Cl₂)反应产物, 得到标题化合物, 苍黄色固体(491mg, 70%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.97-2.02 (br m, 4H), 2.73-2.78 (br m, 4H), 2.90-2.94 (br m, 4H), 3.32 (s, 2H), 3.64-3.67 (br m, 4H), 4.55 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 6.93 (d, 2H, J = 8.0 Hz), 7.04 (d, 2H, J = 8.0 Hz), 7.09-7.16 (br m, 4H), 7.23 (s, 1H), 7.29 (dd, 1H, J = 7.9, 7.9 Hz), 7.51-7.72 (m, 10H), 7.80-7.83 (m, 2H), 7.98 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 8.39 (m, 1H).

N-[7-(4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶五氢溴酸盐二水合物

用一般流程 G: 用 N-[7-[4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基

甲基)吡啶(380mg, 0.38mmol)反应, 然后用碱性氧化铝柱纯化反应产物(1:20 CH₃OH-CH₂Cl₂), 得到标题化合物的游离碱。

用在 CH₃OH 中的饱和 HBr(g)溶液将该游离碱转化成氢溴酸盐, 真空干燥过夜, 得到标题化合物(110mg, 34%全程产率), 白色固体: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2.80-2.88 (br s, 4H), 3.02-3.06 (br s, 4H), 3.10-3.16 (br s, 4H), 3.38-3.44 (br s, 4H), 3.80-3.86 (br s, 2H), 4.25-4.30 (br s, 2H), 4.33-4.37 (br s, 2H), 7.27-7.32 (br m, 4H), 7.42-7.63 (br m, 6H), 7.96 (dd, 1H, J = 7.7, 7.7 Hz), 8.10-8.30 (br s, 3H), 8.69 (d, 1H, J = 4.9 Hz), 9.45-9.62 (br s, 2H); FAB-MS m/z 526 (MH + H⁸¹Br), 524 (MH + H⁷⁹Br), 444 (M + H, 100); 分析计算 C₂₈H₄₂N₅Br₂•2H₂O: C, 38.03; H, 5.24; N, 7.92; Br, 45.18. 实验值: C, 38.37; H, 5.28; N, 7.76; Br, 45.36.

实施例 16

N-[1-(1, 4, 7-三氮杂环十四烷基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶 (AMD 7059)

一般流程 H

4-二乙氧基磷酰基-7-(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷

氮气下, 将在 DMF(8ml)中的苯硫酚(0.15ml, 1.46mmol)溶液逐滴加入到搅拌的在 DMF(11ml)中的 4-二乙氧基磷酰基-1, 7-二(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷(1.32g, 1.87mmol)和 K₂CO₃(654mg, 4.73mmol)溶液中, 历时 1 小时。再搅拌该混合物 3 小时, 然后真空浓缩。残留物分配在 CHCl₃(50ml)和 H₂O(25ml)间。分出水相, 用 CHCl₃(3×20ml)提取, 干燥(MgSO₄)混合的有机提取物, 真空浓缩。在碱性氧化铝柱上层析纯化残留物(CHCl₃, 然后 3%MeOH/CHCl₃), 得到标题化合物, 黄色油(178mg, 23%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.31 (t, 6H, J = 7.0 Hz), 1.40-1.67 (m, 10H), 2.65 (m, 2H), 2.78 (m, 2H), 3.12 (m, 2H), 3.26-3.37 (m, 4H), 3.48 (m, 2H), 3.97-4.09 (m, 4H), 7.61 (m, 1H), 7.68 (m, 2H), 8.06 (m, 1H).

N-[1-[4-二乙氧基磷酰基-7-(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

用一般流程 F: 将 4-二乙氧基磷酰基-7-(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷(236mg, 0.453mmol)和 N-[1-亚甲基-4-(氯亚甲基)亚苯基]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(238mg, 0.551mmol)反应, 然后硅胶柱纯化(50%, 然后 80%THF/己烷)反应产物, 得到标题化合物, 黄色非晶态固体(305mg, 73%): ¹H NMR

(CDCl₃) δ 1.27 (t, 6H, $J = 7.1$ Hz), 1.43 (br s, 8H), 1.63 (br s, 2H), 2.32 (br s, 2H), 2.55 (m, 2H), 3.13-3.41 (m, 8H), 3.49 (s, 2H), 3.85-4.02 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 7.07-7.22 (m, 6H), 7.51-7.71 (m, 7H), 7.98 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz), 8.04 (m, 1H), 8.41 (d, 1H, $J = 4.0$ Hz).

N-[1-[7-(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

用一般流程 E: 将 N-[1-[4-二乙氧基磷酰基-7-(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶 (300mg, 0.328mmol) 反应, 得到标题化合物, 黄色非晶态固体 (214mg, 84%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.34-1.44 (m, 8H), 1.69 (br s, 2H), 2.34 (m, 2H), 2.52 (m, 2H), 2.62 (m, 2H), 2.82 (m, 2H), 3.42 (m, 6H), 4.58 (s, 2H), 4.59 (s, 2H), 7.08-7.24 (m, 6H), 7.52-7.71 (m, 7H), 8.01 (m, 2H), 8.42 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz).

N-[1-(1, 4, 7-三氮杂环十四烷基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶五氢溴酸盐二水合物

将在乙腈(3ml)中的 N-[1-[7-(2-硝基苯磺酰基)-1, 4, 7-三氮杂环十四烷基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶 (209mg, 0.268mmol)、K₂CO₃ (298mg, 2.16mmol) 和苯硫酚 (0.17ml, 1.7mmol) 混合物加热到 50℃, 16.5 小时。用 CH₂Cl₂ (10ml) 稀释反应混合物, 用盐水 (10ml) 洗涤。用 CH₂Cl₂ (3×5ml) 提取分出的水相, 干燥 (MgSO₄) 混合的有机提取物, 蒸发。碱性氧化铝柱上层析纯化残留物 (CHCl₃, 然后 10% MeOH/CHCl₃), 得到标题化合物的游离碱, 黄色油 (92mg, 84%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.21-1.62 (m, 10H), 2.40-2.49 (m, 4H), 2.60 (m, 6H), 2.79 (m, 2H), 3.49 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.91 (s, 2H), 7.14 (m, 1H), 7.28 (m, 5H), 7.62 (m, 1H), 8.54 (d, 1H, $J = 4.4$ Hz).

用在 MeOH 中的饱和 HBr(g) 溶液将游离碱 (86mg, 0.21mmol) 转化成氢溴酸盐 (见一般流程 G), 40℃ 真空干燥 15.5 小时, 得到标题化合物, 白色固体 (128mg, 70%): ¹H NMR (D₂O) δ 1.48 (br s, 6H), 1.82 (m, 4H), 3.22-3.36 (m, 10H), 3.50 (br s, 2H), 4.48 (s, 4H), 4.64 (s, 2H), 7.62 (s, 4H), 7.88 (m, 1H), 7.94 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 8.38 (m, 1H), 8.77 (d, 1H, $J = 5.2$ Hz); FAB-MS m/z 492 (MH + H⁸¹Br), 490 (M + H⁷⁹Br), 410 (M + H). 分析计算 C₂₅H₃₉N₅·5HBr·2.5H₂O·0.1Et₂O: C, 35.20; H, 5.82; N, 8.08; Br, 46.10. 实验值: C, 35.48; H, 5.66; N, 8.10; Br, 46.05.

实施例 17

N-[4-[4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶(AMD 7063)

7-二乙氧基磷酰基-10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯

用一般流程 H: 将 7-二乙氧基磷酰基-4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯(1.48g, 2.00mmol)与苯硫酚反应(添加后, 将反应混合物再加热到 50℃, 1.5 小时), 硅胶柱纯化反应产物(8% MeOH/CHCl₃), 得到标题化合物, 浅黄色油(423mg, 52%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.23 (t, 6H, J = 7.0 Hz), 2.50 (br s, 2H), 2.79 (br s, 2H), 3.02-3.15 (m, 10H), 3.82-3.98 (m, 6H), 7.06 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 7.54-7.63 (m, 2H), 7.70 (m, 2H), 8.01 (br s, 1H).

N-[4-[7-二乙氧基磷酰基-10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

用一般流程 F: 将 7-二乙氧基磷酰基-10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯(410mg, 0.738mmol)和 N-[1-亚甲基-4-(氯亚甲基)亚苯基]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(397mg, 0.919mmol)反应, 然后硅胶柱纯化(50%, 80%, 然后 90%THF/己烷)反应产物, 得到标题化合物, 白色非晶态固体(441mg, 63%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.15 (t, 6H, J = 7.0 Hz), 2.42 (m, 4H), 2.77 (m, 2H), 2.92-3.02 (m, 6H), 3.10 (m, 2H), 3.59 (s, 2H), 3.66-3.91 (m, 6H), 4.58 (s, 2H), 4.59 (s, 2H), 6.94 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 7.07-7.14 (m, 6H), 7.22 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 7.51-7.72 (m, 8H), 8.00 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 8.04 (m, 1H), 8.42 (d, 1H, J = 4.0 Hz).

N-[4-[7-二乙氧基磷酰基-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-氨基甲基)吡啶

将在 CH₃CN(3.5ml)中的 N-[4-[7-二乙氧基磷酰基-10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(434mg, 0.456mmol)、K₂CO₃(508mg, 3.68mmol)和苯硫酚(0.28ml, 2.7mmol)混合物在氮气下加热到 50℃, 15 小时。冷却后, 反应液分配在 CHCl₃(15ml)和盐水(15ml)间, 分出水层, 用 CHCl₃(3×5ml)提

取。干燥(MgSO₄)混合的有机提取物，真空浓缩。碱性氧化铝柱上层析纯化残留物(CHCl₃，然后 10% MeOH/CHCl₃)，得到黄色油(218mg,82%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.16 (t, 6H, J = 7.1 Hz), 2.35 (m, 2H), 2.55 (m, 2H), 2.75 (m, 2H), 2.82 (m, 2H), 2.96-3.08 (m, 6H), 3.16 (m, 2H), 3.68 (s, 2H), 3.69-3.88 (m, 4H), 3.82 (s, 2H), 3.93 (s, 2H), 6.95 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 7.00 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.15-7.34 (m, 6H), 7.50 (m, 1H), 7.65 (m, 1H), 8.56 (d, 1H, J = 4.7 Hz).

N-[4-[4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶六氢溴酸盐水合物

在搅拌下的在醋酸(0.6ml)中的 N-[4-[7-二乙氧基磷酰基-4, 7, 10, 17-四氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-氨基甲基)吡啶(211mg, 0.36mmol)溶液中加入新鲜的在醋酸(6ml)中的饱和 HBr(g)溶液，室温搅拌反应混合物 4 小时。加入二乙醚(10ml)后得到沉淀，让沉淀降至烧瓶底部，倾滗除去上清液。通过倾滗用 MeOH(4×5ml)和醚(6×5ml)洗涤固体，减压下蒸发除去痕量残留的醚。40℃真空干燥产物 17 小时，得到标题化合物，苍黄色固体(223mg, 63%): ¹H NMR (D₂O) δ 3.14-3.36 (m, 10H), 3.55 (m, 4H), 3.75 (m, 2H), 4.45 (s, 2H), 4.50 (s, 2H), 4.64 (s, 2H), 7.22 (m, 2H), 7.53 (s, 4H), 7.70 (m, 1H), 7.95 (m, 1H), 8.00 (d, 1H, J = 7.9 Hz), 8.46 (m, 1H), 8.79 (d, 1H, J = 3.9 Hz); FAB-MS m/z 527 (MH + H⁸¹Br), 525 (MH + H⁷⁹Br), 445 (M + H). 分析计算 C₂₇H₃₆N₆·6HBr·1.5H₂O·0.2Et₂O: C, 34.35; H, 4.87; N, 8.65; Br, 49.33. 实验值: C, 34.57; H, 5.04; N, 8.68; Br, 49.09.

实施例 18

N-[4-[4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶(AMD 7058)

7-二乙氧基磷酰基-10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯

用一般流程 H: 用 7-二乙氧基磷酰基-4, 10-二(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯(1.11g, 1.5mmol)反应，然后硅胶柱纯化反应产物(2:5:20 CH₃OH-Et₂O-CH₂Cl₂，然后 1: 5 CH₃OH-CH₂Cl₂)，得到标题化合物，苍黄色油(300mg, 54%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.21 (t, 6H, J = 7.1 Hz), 1.78-

1.92 (br s, 1H), 2.31-2.38 (br m, 2H), 2.56-2.60 (br m, 2H), 2.81-2.98 (br m, 10H), 3.60-3.64 (br m, 2H), 3.75-3.91 (m, 4H), 7.05-7.12 (m, 2H), 7.24-7.29 (m, 2H), 7.60-7.63 (m, 1H), 7.68-7.71 (m, 2H), 8.02-8.06 (m, 1H).

N-[4-[7-二乙氧基磷酰基-10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

用一般流程 F: 将 7-二乙氧基磷酰基-10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯(290mg, 0.52mmol)和 N-[1-亚甲基-4-(氯亚甲基)亚苯基]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(271mg, 0.63mmol)反应, 然后硅胶柱纯化(1:12:12 CH₃OH-Et₂O-CH₂Cl₂)反应产物, 得到标题化合物, 苍黄色固体(298mg, 60%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.17 (t, 6H, J = 7.0 Hz), 2.29-2.45 (br m, 4H), 2.55-2.65 (br m, 2H), 2.71-2.75 (br s, 4H), 2.85-2.91 (br m, 2H), 2.96-2.98 (br m, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.67-3.84 (br m, 6H), 4.57-4.61 (br s, 4H), 7.07-7.28 (br m, 10H), 7.55-7.71 (br m, 7H), 7.99-8.02 (m, 2H), 8.42-8.46 (m, 1H).

N-[4-[10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶

用一般流程 E: 用 N-[4-[7-二乙氧基磷酰基-10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(290mg, 0.31mmol)反应, 得到标题化合物, 白色固体(240mg, 95%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.65-1.79 (br s, 1H, 与 H₂O 峰一致), 2.15-2.19 (br m, 4H), 2.44-2.48 (br m, 2H), 2.61-2.65 (br m, 2H), 2.67-2.71 (br m, 2H), 3.00-3.04 (br m, 2H), 3.10-3.14 (br m, 2H), 3.56-3.60 (br s, 4H), 4.55 (s, 2H), 4.61 (s, 2H), 6.96 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 7.02-7.10 (br m, 6H), 7.22-7.28 (br m, 3H), 7.52-7.72 (br m, 7H), 7.96-7.99 (m, 2H), 8.42-8.46 (m, 1H). 本化合物无需进一步纯化即可使用。

N-[4-[4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶五氢溴酸盐二水合物

用一般流程 G: 用 N-[4-[10-(2-硝基苯磺酰基)-4, 7, 10-三氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基]-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-(氨基甲基)吡啶(236mg, 0.29mmol)反应, 然后用氧化铝柱纯化反应产物(1:99 CH₃OH-

CH₂Cl₂, 然后 1:10 CH₃OH-CH₂Cl₂), 得到标题化合物的游离碱, 苍黄色油(111mg, 86%): ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.24-2.28 (br s, 3H), 2.43-2.50 (br m, 4H), 2.58-2.62 (br m, 2H), 2.73-2.79 (br m, 8H), 2.95-2.98 (br m, 2H), 3.50 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.90 (s, 2H), 6.83-6.87 (br m, 3H), 7.05-7.33 (br m, 7H), 7.63-7.67 (m, 1H), 8.54-8.56 (m, 1H).

用在 CH₃OH 中的饱和 HBr(g)溶液将该游离碱转化成氢溴酸盐, 真空干燥, 得到标题化合物(101mg, 52%), 白色固体: ¹H NMR (D₂O) δ 2.90-2.94 (br m, 2H), 2.97-3.01 (br m, 2H), 3.12-3.16 (br m, 2H), 3.17-3.21 (br m, 2H), 3.24-3.28 (br m, 4H), 3.47-3.51 (br m, 2H), 3.57-3.61 (br m, 2H), 4.38-4.42 (m, 6H), 7.34-7.40 (m, 2H), 7.46-7.60 (m, 8H), 7.90-7.94 (m, 1H), 8.58-8.62 (m, 1H); FAB-MS *m/z* 526 (MH + H⁸¹Br), 524 (MH + H⁷⁹Br), 444 (M + H, 100); 分析计算 C₂₈H₄₂N₅Br₃•2.5H₂O: C, 37.65; H, 5.30; N, 7.84; Br, 44.73. 实验值: C, 37.53; H, 5.26; N, 7.79; Br, 44.75.

表 2

化合物	对 mAb 12G5 结合的抑制 IC ₅₀ ^a (ng/ml)
AMD3100	27
AMD3465	3
AMD7049	52
AMD7050	1
AMD7051	7
AMD7058	>1000
AMD7059	>1000
AMD7063	9
SDF-1α ^b	270

^a在 SUP-T1 细胞中对 mAb 12G5 结合到 CXCR-4 的抑制

^bCXCR-4 的天然配体(Bleul 等人, Nature, 382:829-832(1996); Oberlin 等人, Nature, 382:833-835(1996))。

表 3

化合物	% 对 Ca^{2+} 流动(浓度)或 IC_{50}^a (ng/ml)的抑制
AMD3100	5
AMD3465	1
AMD7049	100% (1 $\mu\text{g/ml}$)
AMD7050	100% (1 $\mu\text{g/ml}$)
AMD7051	100% (1 $\mu\text{g/ml}$)
AMD7058	44% (1 $\mu\text{g/ml}$)
AMD7059	36% (1 $\mu\text{g/ml}$)
AMD7063	100% (1 $\mu\text{g/ml}$)

^a 对由 SDF-1 α 结合到 SUP-T1 细胞上的 CXCR-4 诱导的信号转导(增加细胞内 Ca^{2+} 流动)的抑制

以下所有的化合物(包括 AMD-3484, 见图 28)都是用以下方法合成的: Bridger 等人, J. Med. Chem. 1995, 38, 366-378; J. Med. Chem. 1996, 39, 109-119 和美国专利 No.5,583,131、美国专利 No.5,698,546 和美国专利 No.5,817,807, 这些文献本文全部纳入作为参考。

实施例 19

1-[2, 6-二甲氧基吡啶-4-基(亚甲基)]-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷四氢溴酸盐(AMD 7032)

^1H NMR (D_2O) δ 1.78 (m, 2H), 1.88-1.92 (m, 2H), 2.59-3.03 (m, 16H), 3.60 (s, 2H), 3.91 (s, 6H), 6.44 (s, 2H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 26.75, 27.91, 48.34, 49.21, 49.89, 50.96, 52.01, 52.86, 54.88, 57.15, 57.53, 59.42, 142.65, 157.42, 166.42; FAB MS m/z 352 (M+H); 分析($\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_2 \cdot 4.1 \text{ HBr} \cdot 0.25 \text{ H}_2\text{O}$); 计算值 C, 31.44; H, 5.51; N, 10.18; Br, 47.64. 实验值 C, 31.17; H, 5.61; N, 9.92; Br, 47.54.

实施例 20

1-[2-氯吡啶-4-基(亚甲基)]-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷四盐酸盐一水合物

(AMD 7048)

^1H NMR (D_2O) δ 1.92 (m, 2H), 2.12 (m, 2H), 2.77-2.80 (m, 4H), 2.96-3.39 (m, 12H), 3.85 (s, 2H), 7.33 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz), 7.44 (s, 1H), 8.40 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz); ^{13}C NMR (D_2O) δ 24.75, 27.59, 47.40, 47.55, 49.11, 49.23, 52.12, 52.40, 53.81, 54.42, 56.98, 126.97, 128.30, 151.90, 152.34, 153.78; FAB MS m/z 326 ($\text{M}+\text{H}$); 分析 ($\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{Cl}\cdot 4.2\text{HCl}\cdot 0.5\text{HOAc}\cdot 1.1\text{H}_2\text{O}$); 计算值 C, 38.61; H, 6.94; N, 13.24; Cl, 34.86. 实验值 C, 38.63; H, 6.94; N, 13.52; Cl, 34.61.

实施例 21

1-[2, 6-二甲基吡啶-4-基(亚甲基)]-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷五氢溴酸盐二水合物(AMD 7060)

^1H NMR (D_2O) δ 1.77 (m, 2H), 1.93 (m, 2H), 2.48 (s, 6H), 2.61-3.00 (m, 16H), 3.61 (s, 2H), 7.07 (s, 2H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 25.30, 26.22, 27.49, 47.75, 48.65, 49.43, 50.41, 51.58, 52.19, 54.09, 56.63, 58.46; FAB MS m/z 320 ($\text{M}+\text{H}$); 分析 ($\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{N}_5\cdot 5\text{HBr}\cdot 0.5\text{HOAc}\cdot 1.7\text{H}_2\text{O}$); 计算值 C, 29.08; H, 5.57; N, 8.92; Br, 50.91. 实验值 C, 29.04; H, 5.60; N, 8.73; Br, 50.87.

实施例 22

1-[2-甲基吡啶-4-基(亚甲基)]-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷五氢溴酸盐二水合物(AMD 7061)

^1H NMR (D_2O) δ 2.01-2.08 (m, 2H), 2.22 (m, 2H), 2.70-2.72 (m, 2H), 2.77 (s, 3H), 2.91-2.92 (m, 2H), 3.33-3.52 (m, 12H), 4.00 (s, 2H), 7.86-7.89 (m, 2H), 8.56 (d, 1H, $J = 5.7$ Hz); FAB MS m/z 306 ($\text{M}+\text{H}$); 分析 ($\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{N}_5\cdot 4.9\text{HBr}\cdot 0.3\text{HOAc}\cdot 2.1\text{H}_2\text{O}$); 计算值 C, 27.9; H, 5.49; N, 9.24; Br, 51.67. 实验值 C, 28.08; H, 5.50; N, 9.56; Br, 51.56.

实施例 23

1-[2, 6-二氯吡啶-4-基(亚甲基)]-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷三盐酸盐双水合物(AMD 3451)

^1H NMR (D_2O) δ 1.83-1.88 (m, 2H), 2.04-2.08 (m, 2H), 2.58-2.62 (m, 2H), 2.79-2.81 (m, 2H), 3.12-3.44 (m, 12H), 3.69 (s, 2H), 7.30 (s, 2H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 36.26, 37.69, 55.26, 56.18, 58.33, 58.56, 58.92, 59.23, 63.57, 65.44, 70.72, 140.37,

166.14, 167.37; FAB MS m/z 360 ($M+H$). 分析($C_{16}H_{34}N_5Cl_5O_2$): 计算值. C, 38.00; H, 6.78; N, 13.85; Cl, 35.05. 实验值: C, 38.33; H, 6.42; N, 13.88; Cl, 35.43.

实施例 24

1-[2-氯吡啶-5-基(亚甲基)]-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷四盐酸盐半水合物 (AMD 3454)

1H NMR (D_2O) δ 1.96-2.09 (br m, 4H), 3.02-3.17 (m, 4H), 3.19-3.28 (br m, 8H), 3.40 (s, 4H), 4.10 (s, 2H), 7.40 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz), 7.80 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz), 8.27 (s, 1H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 19.36, 19.47, 38.17, 38.64, 39.06, 41.74, 41.88, 42.18, 45.66, 48.29, 54.62, 125.59, 126.69, 142.79, 150.77, 151.75; FAB-MS m/z 326 ($M + H$). 分析计算 $C_{16}H_{28}N_5Cl_4HCl \cdot 0.5H_2O$: C, 39.98; H, 6.92; N, 14.57; Cl, 36.87. 实验值: C, 40.36; H, 7.06; N, 14.56; Cl, 36.92.

一般流程 A、B 和 C 用于制备以下化合物:

实施例 25

N-[1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-嘌呤五氢溴酸盐二水合物(AMD3472)

1H NMR (D_2O) δ 1.88-2.05 (br m, 4H), 3.06-3.22 (br m, 8H), 3.27-3.44 (br m, 8H), 4.22 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 7.29 (s, 4H), 8.80 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 9.28 (s, 1H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 18.39, 19.25, 37.24, 37.55, 37.71, 41.13, 41.37, 41.71, 44.41, 47.73, 54.87, 129.45, 131.81, 132.53, 136.67, 140.96, 147.88, 152.46, 154.37; FAB-MS m/z 423 ($M + H$). 分析计算 $C_{23}H_{34}N_8 \cdot 5HBr \cdot 2H_2O \cdot 0.5CH_3CO_2H$: C, 32.27; H, 5.07; N, 12.54; Br, 44.73. 实验值: C, 32.66; H, 4.81; N, 12.41; Br, 44.58.

实施例 26

1-[1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷基-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-4-苯基哌嗪五氢溴酸盐水合物(AMD3526)

1H NMR (D_2O) δ 1.88-2.06 (br m, 4H), 3.11-3.53 (br m, 24H), 4.30 (s, 2H), 4.32 (s, 2H), 6.89-6.97 (m, 3H), 7.19-7.24 (m, 2H), 7.49 (s, 4H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 18.74, 19.37, 37.34, 41.47, 41.76, 42.03, 44.31, 47.45, 48.26, 51.16, 58.48, 59.29, 118.18, 122.34, 129.99, 130.37, 131.53, 131.85, 132.62, 148.47; FAB-MS m/z 547 ($M + H^{81}Br$), 545 ($M + H^{79}Br$), 465 ($M + H$). 分析计算 $C_{28}H_{44}N_6 \cdot 5HBr \cdot H_2O$: C,

37.90; H, 5.79; N, 9.47; Br, 45.03. 实验值: C, 37.72; H, 5.98; N, 9.38; Br, 46.78.

表 4

化合物	IC ₅₀ ^a (μg/mL)
AMD3451	8.9
AMD3472	45.4
AMD3454	32.3
AMD3526	82
AMD3100	>100

^aAMD 化合物对抗 HIV-1 BaL 感染 U87.CD4.CCR5 的 50%抑制浓度 (IC₅₀)(μg/ml)

实施例 27

对胶原诱导的关节炎的抑制

证明本发明所用的一个化合物可抑制突变型小鼠模型中胶原诱导的关节炎 (CIA)。

方法

实验动物处理

如下所述将胶原注射到由十只小鼠组成的对照组。由八只小鼠组成的处理组也注射胶原,在胶原注射后的 14 天以 5mg/ml 的浓度,用渗透泵静脉注射化合物(1, 1'-[1, 4-亚苯基二(亚甲基)]二-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷)(AMD 3100, 见图 27)(200μl, Alga, 0.5μl/小时)。

突变型小鼠

Huang S 等人, Science 259: 1742,(1993)已描述了编码 IFN-γ受体(IFN-γRKO)α 链的基因被破坏的突变型小鼠品系(129/Sv/Ev)的传代和基本特征。将这些 IFN-γRKO 小鼠与 DBA/1 野生型小鼠回交 10 代,得到用于本研究的 DBA/1 IFN-γ RKO 小鼠。在 Leuven 大学的实验动物中心 IFN-γ RKO 小鼠和野生型小鼠交配。实验是在 8 到 12 周龄大的小鼠上进行的,但在每个实验中,突变型小鼠和野生型小鼠年龄匹配的限制为 5 天。每个实验组中雄性和雌性小鼠的比例保持在 0.8 和 1.3 之间。

诱导胶原诱导的关节炎和关节炎的临床确认

用以下方法实现胶原诱导的关节炎(见 Vermeire 等人, Int. J. Immunol. 158:5507-5513, (1997))。6°C, 以 2mg/ml 通过搅拌将天然鸡胶原 II(EPC. Owensville. MO)溶解在 0.05M 醋酸中过夜, 然后用等体积的含有 1.5mg/ml 热致死乳酪分枝杆菌(Difco, Detroit, MI)的不完全弗氏佐剂(IFA)或完全弗氏佐剂(CFA)乳化。通过在尾底部单次皮内注射 100 μ l 乳剂致敏小鼠。每天检查小鼠患关节炎的征兆。对每条肢用计分系统记录病重情况。计分 0: 正常; 计分 1: 一个关节红色和/或肿胀; 计分 2: 多于一个关节红色和/或肿胀; 计分 3: 整个爪子红色和/或肿胀; 计分 4: 畸形或僵硬。

组织学检查

在缓冲过的盐水-B5 固定剂(10%带汞的福尔马林)中固定脾和前肢及后肢。另外, 在 10%福尔马林或纯甲醇中固定组织(见:Vermeire 等人, J. Immunol.,158, 5507-5513, 1997)。然后用甲酸将四肢脱钙过夜。用苏木精和曙红染色 4 微米厚的石蜡切片。用以下三个参数评估关节炎的严重度: 单形和分叶核细胞的渗入、滑膜的增生和 *parvus* 的形成。每个参数都以 0-3 的计分(无; 弱、中等和严重)记录。

体内抗体处理

通过对姥蛟烷致敏的无胸腺裸鼠的腹腔内接种(nu/nu NMRI 背景)生长的杂交瘤产生单克隆抗体。通过在小鼠抗大鼠 κ 链单克隆抗体上的亲和层析纯化抗 MuIFN- γ (F₃, 率 IgG₂₄)的中和单克隆抗体(Billiau A 等人, J. Immunol. 140:1506,(1988))。中和滴度(终点稀释度, 相应于 30 单位/ml 小鼠 IFN- γ 对由门果病毒攻击的小鼠 I929 细胞的抗病毒作用中和的 50%)是 10⁵³U/ml(IgG 含量, 1.4mg/ml)。用杂交瘤 C17.8(由 Dr. G. Trinchieri, Wistar Institute, Philadelphia, PA, 友情提供)产生 IgG₂₄ 抗体对鼠科 IL-12 的中和率。在蛋白质 G(Pharmacia Uppsala, Sweden)上亲和层析抗体。从用 20F3(大鼠 x 小鼠)杂交瘤(美国典型培养物保藏中心, MD)接种的胸腺较少的裸鼠腹水制备抗鼠科 IL-6 抗体。在抗大鼠 κ 链单克隆抗体-琼脂糖凝胶柱上亲和层析大鼠 IgG 抗体。中和滴度(终点稀释度, 相应于 10U 鼠科 IL6/ml 对细胞生长作用中和的 50%)为 10⁵⁵(IgG 含量: 2.9mg/ml)。用无关的大鼠 IgG₂₄ 作为同位素对照, 它是从大鼠浆细胞瘤(经 Dr. H. Bazin, University of Louvain. Medical School. Brussels. Belgium 允许得到的)的腹水制备的。用在 Hiload Q 琼脂糖凝胶上的阴离子交换层析纯化 IgG, 并在 Superdex 200(Pharmacia)上作凝胶过滤。用显色鲎变形细胞裂解物测定法(LabiVitrum, Stockholm, Sweden)测试抗 IFN γ 、抗 IL-12、抗 IL-6 和不相关 IgG₂₄ 的内毒素含量, 发现内毒素均少于 2ng/ml。用 200 μ l 无热原盐水注射。

结果

处理 14 天后,对照组的 10 只大鼠中有七只证实患了关节炎,而接受处理的动物(8 只)中只有 1 只证明患有关节炎。见图 29。处理后 20 天,唯一的那只被处理的动物(患病的)不发展关节炎病理。另外,接受处理的动物与对照动物相比证明没有任何明显的体重减少。见图 30。另外,接受处理的动物维持了健康动物(没有注射胶原)的体重(没有显示曲线)。

实施例 28

成胶质细胞瘤的治疗

可将本发明的化合物(如 AMD 3100)用于治疗成胶质细胞瘤、纤维瘤、星形细胞瘤或骨髓瘤(侵袭中枢神经系统的)。这些化合物的用法可按照标准临床实践和流程,按上述实施例提供的剂量,并按照临床目的(如显影、免疫学或其它方法)。

例如, Sehgal 等人, *J. of Surg. Oncolo.* 69: 99-104(1998)("Sehgal I")和 Sehgal 等人, *J. of Surg. Oncolo.* 69: 239-248(1998)("Sehgal II")已报道了在成胶质细胞瘤肿瘤细胞增殖中趋化因子受体结合的病原学或与其相关的内容。CXCR4 与其受体的结合对成胶质细胞瘤细胞形成和/或增殖具有重要的作用。用本发明的化合物(如 AMD 3100)抑制 CXCR4 与其天然受体配体的结合,为中枢神经系统的肿瘤(由趋化因子如 CXCR4 调节或与其相关)的治疗提供了一种新药。

实施例 29

非小细胞肺癌的治疗

可将本发明的化合物(如 AMD 3100)用于治疗非小细胞肺癌。这些化合物的用法可按照标准临床实践和流程,按上述实施例提供的剂量,并按照临床目的(如显影、免疫学或其它方法)。

例如,已发现在非小细胞肺癌中 CXC 趋化因子调节血管生成或与其有关(见 Arengerg 等人, *J. of Leukocyte Biol.* 62:554-562(1997); 和 Moore 等人, *TCM*, vol8(2):51-58(1998) Elsevier Science. Inc.)。CXC 趋化因子与它们各自受体的结合对非小细胞肺癌形成和/或增殖(由增加的生成血管活性促进)具有重要的作用。用本发明的化合物(如 AMD 3100)抑制 CXC 趋化因子与它们天然受体配体的结合,为肿瘤如非小细胞肺癌(由趋化因子水平的增加调节或与其相关)的治疗提供了一种新药。

实施例 30

N-[4-(1, 7-二氮杂环十四烷基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶

本发明的化合物还包括分子式 I 的化合物，其中 V 带有 2-6 个任选地被取代的胺氮，它们彼此被 2 个或多个任选地被取代的碳原子所隔开。这种化合物的一个例子，包括：

N-[4-(1, 7-二氮杂环十四烷基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶 (AMD-Exp 1: 见图 34)。

AMD-Exp 1、Exp-2 和 Exp 3 可用我们以前公开的制备连碳的(carbon-linked)氮杂环的方法(Bridger 等人, J. Med. Chem.1995, 38, 366)改进后制得，简单总结如下：将上述中间体，N-[1-亚甲基-4-(氯亚甲基)亚苯基]-N-(2-硝基苯磺酰基)-2-氨基甲基)吡啶(或 Dep 保护的中间体)与丙二酸二乙酯钠盐反应，得到相应的二酯。

将二酯还原成相应的二醇，然后用甲磺酰氯衍生得到二甲磺酸酯。用氰化钠亲核取代二甲磺酸酯，得到所需的二腈，用硼烷、THF 将其还原成二胺，用 2-硝基苯磺酰氯衍生，用于后续的大环化反应。

用适当衍生的二醇(如 1, 7-庚二醇二-对-甲苯磺酸酯)大环化和进行后续的去保护(如上述实施例给出的)得到例如 AMD-Exp 1。类似地，用 1, 3-亚苯基二乙醇和 2, 6-吡啶二乙醇可分别得到 AMD-Exp 2 和 AMD-Exp 3。

另外，AMD-Exp 1、AMD-Exp 2 和 AMD-Exp 3，每种都可被制成药物组合物，即在药学上可接受的载体中含有治疗有效剂量的化合物的药物组合物。

另外，AMD-Exp 1、AMD-Exp 2 和 AMD-Exp 3，每种都可按上述方法用于治疗大量趋化因子调节的疾病和病症，包括：HIV 或 FIV 的感染；由内皮细胞功能调节的疾病；与肠胃道血管形成、造血、或小脑发育相关的疾病；与初级白血球流动或溢出和应答刺激剂的白血球组织侵入相关的疾病；有效结合于趋化因子受体的化合物；炎症；癌；中枢神经系统发育疾病；HIV；FIV；脉管发育疾病；心脏发育疾病；造血和其它趋化因子调节疾病或失调。

其它可用 AMD-Exp 1 治疗的疾病或病症的例子还包括：关节炎或多发性硬化症引起的炎症；与实体肿瘤、淋巴瘤、转移性肿瘤、成胶质细胞瘤和其它恶性肿瘤相关的癌症；非小细胞肺癌；肺癌；乳房癌；前列腺癌；和其它器官的癌症。另外，可用 AMD-Exp 1 治疗的失调或病症包括：用抑制或促进血管生成或诱导血管生成的停滞法治疗的失调。

实施例 31

N-[7-(4, 10-二氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶

本发明的化合物还包括分子式 I 的化合物，其中 V 带有 2-6 个任选地被取代的胺氮，它们彼此被 2 个或多个任选地被取代的碳原子所隔开。这种化合物的例子，包括：

N-[7-(4, 10-二氮杂二环[13.3.1]十七碳-1(17), 13, 15-三烯基)-1, 4-亚苯基二(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶(AMD-Exp 2:见图 36)。

AMD Exp-2 和 Exp 3 可用上述实施例 30 的方法制备。另外，AMD-Exp 2 可制成药物组合物，即在药学上可接受的载体中含有治疗有效剂量的化合物的药物组合物。

另外，AMD-Exp 2 可按上述方法用于治疗大量趋化因子调节的疾病和病症，包括：HIV 或 FIV 的感染；由内皮细胞功能调节的疾病；与肠胃道血管形成、造血、或小脑发育相关的疾病；与初级白血球流动或溢出和应答刺激剂的白血球组织侵入相关的疾病；有效结合于趋化因子受体的化合物；炎症；癌；中枢神经系统发育疾病；HIV；FIV；脉管发育疾病；心脏发育疾病；造血和其它趋化因子调节的疾病或失调。

其它可用 AMD-Exp 2 治疗的疾病或病症的例子还包括：关节炎或多发性硬化症引起的炎症；与实体肿瘤、淋巴瘤、转移性肿瘤、成胶质细胞瘤和其它恶性肿瘤相关的癌症；非小细胞肺癌；肺癌；乳房癌；前列腺癌；和其它器官的癌症。另外，可用 AMD-Exp 2 治疗的失调或病症包括：用抑制或促进血管生成或诱导血管生成的停滞法治疗的失调。

按熟知的原理，将这些活性化合物以配制好的药物组合物形式给予，并将化合物(较佳地以单元剂量形式)与药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂组合。这些组合物可以溶液或悬浮液的形式用于注射或冲洗，或以胶囊、片剂、糖衣丸或其它固态组合物或溶液或悬浮液用于口服，或制成阴道栓或栓剂，或上述任何药物的持续缓释形式以供植入。适合的稀释剂、载体、赋形剂和其它组分是熟知的。也可期望制成局部给药的组合物，如软膏或乳膏。本发明的化合物可以组合物的形式使用或单独使用。

本发明的药物组合物可用普通的制药方法确定制成单位剂量，适宜在人体或动物中提供剂量范围为 0.01-100mg/kg 体重/天的活性化合物，以单剂量或若干次较少的剂量给药。优选的剂量范围为 0.01-30mg/kg 体重/天(静脉(iv)或腹腔内

(ip))。其它活性化合物可用于组合物或这些活性化合物,或辅助治疗可包括在治疗疗程中。包括治疗有效剂量的新化合物(所述的化合物有效地结合于趋化因子受体)的药物组合物对患者是有用的。

本发明还企图用这些组合物制成药物以治疗受 HIV 或 FIV 感染的患者,和/或治疗受内皮细胞功能调节的疾病和/或治疗与肠胃道血管生成、造血或小脑发育相关的疾病。

在治疗受 HIV 或 FIV 感染的患者的方法中,以包含在药学上可接受的载体中的治疗有效剂量的药物组合物的形式,将药物组合物给予所述的患者。在治疗患有与内皮细胞功能调节相关的疾病的患者的方法中,以包含在药学上可接受的载体中的治疗有效剂量的药物组合物的形式,将药物组合物给予所述的患者。通过给予所述的患者以包含在药学上可接受载体中的治疗有效剂量的药物组合物,本发明还尝试了治疗与肠胃道血管生成、造血或小脑发育相关的疾病。

通过给予所述的患者以包含在药学上可接受载体中的治疗有效剂量的药物组合物,本发明还尝试了治疗与初级白血球流动或溢出和应答刺激剂的白血球组织侵入相关的疾病。通过给予一位患者以包含在药学上可接受载体中的治疗有效剂量的药物组合物,本发明的方法还尝试了治疗该患者,其中所述的化合物有效地结合于趋化因子受体。

本发明还进一步尝试了用于治疗人或动物的以下疾病的药物组合物和方法:肾异体移植排斥、炎症、癌、中枢神经系统发育疾病、HIV、脉管发育疾病、造血和其它受趋化因子调节的疾病或失调。本发明还提供对以下疾病(但不限制于)的治疗:关节炎、多发性硬化症、受 HIV 或 FIV 感染的痴呆、帕金森病、阿耳茨海默氏病和炎症。本发明的药物组合物和方法还可治疗癌症(但不限制于):实体瘤、淋巴瘤、转移性肿瘤、成胶质细胞瘤和其它恶性肿瘤。本发明的药物组合物还提供对以下癌症(但不限制于)的治疗:非小细胞肺癌、肺癌、乳房癌、前列腺癌和其它器官的癌。

用本发明的药物组合物还可完成对其它疾病或失调的治疗,包括(但不限制于):用抑制或促进血管生成或诱导血管生成的停滞法治疗的失调;由趋化因子调节的发育失调。

本发明还提供了预防患者得疾病或失调的方法,通过给予一位患者以治疗有效剂量的本发明的药物组合物足够的一段时间以有效预防疾病或失调。

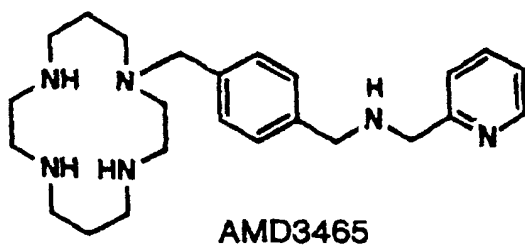


图 1

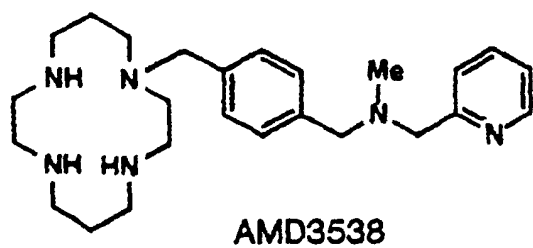


图 2

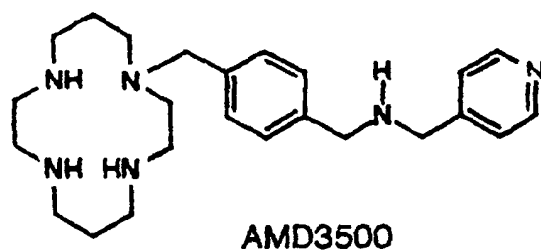


图 3

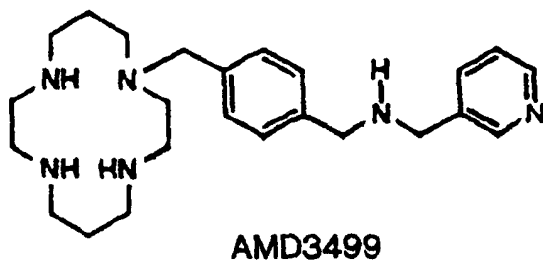
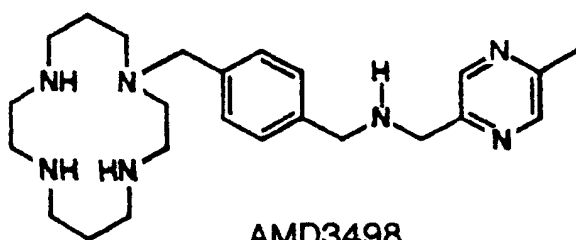
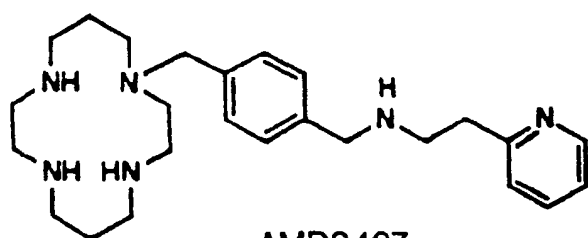


图 4



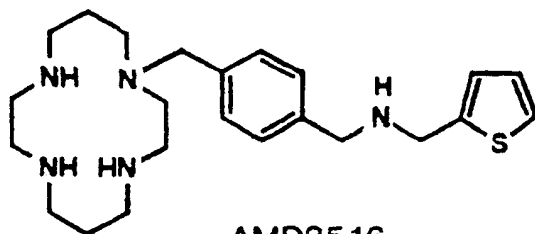
AMD3498

图 5



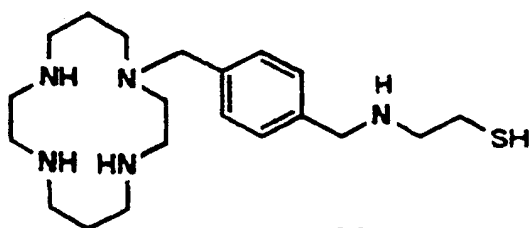
AMD3497

图 6



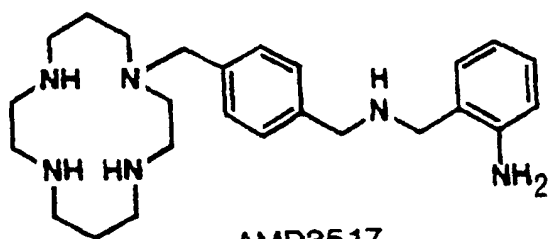
AMD3516

图 7



AMD3530

图 8



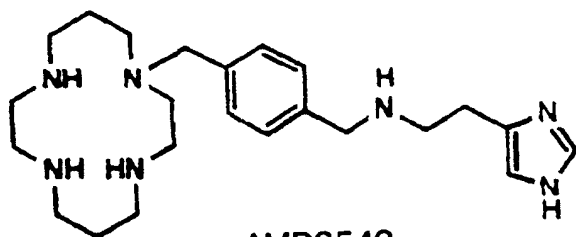
AMD3517

图 9



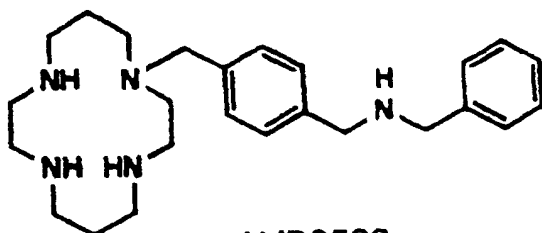
AMD3544

图 10



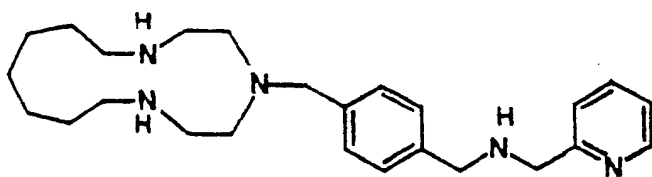
AMD3543

11



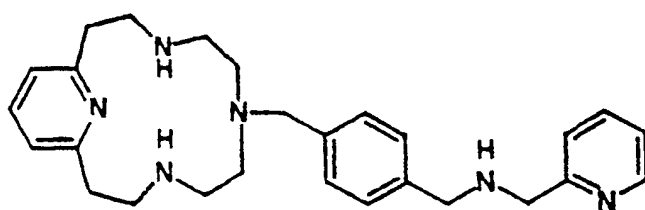
AMD3529

图 12



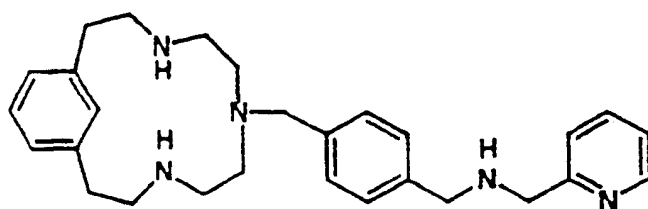
AMD7049

图 13



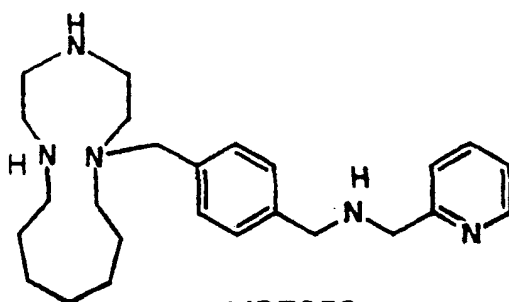
AMD7050

图 14



AMD7051

图 15



AMD7059

图 16

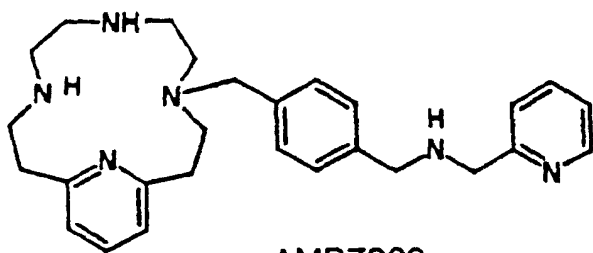


图 17

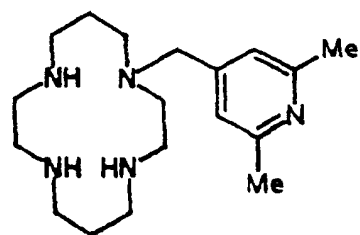


图 21

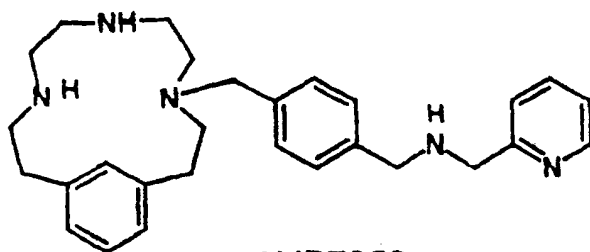


图 18

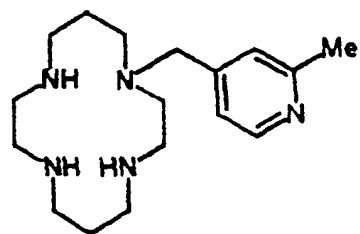


图 22

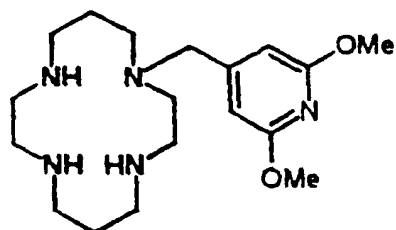


图 19

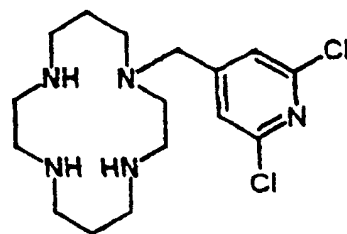


图 23

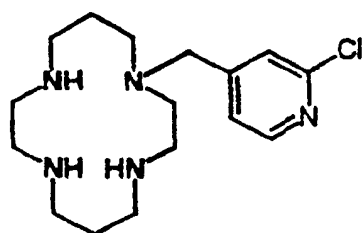


图 20

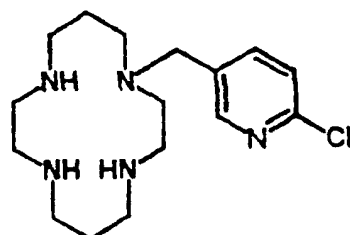
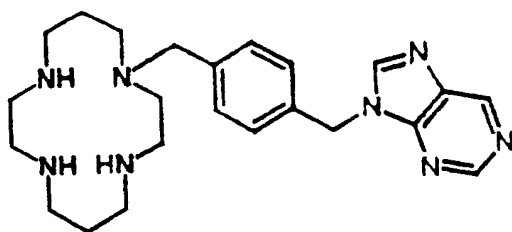
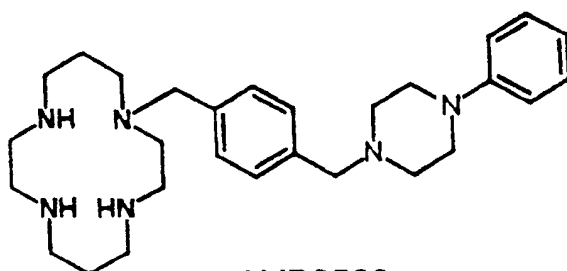


图 24



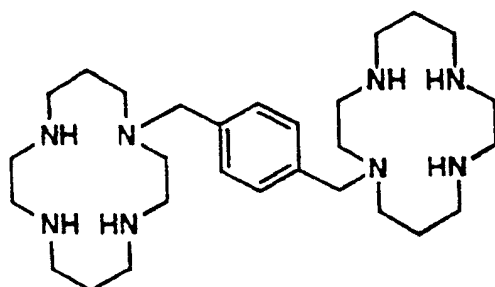
AMD3472

图 25



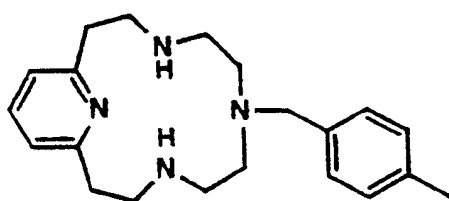
AMD3526

图 26



AMD3100

图 27



AMD3484

图 28

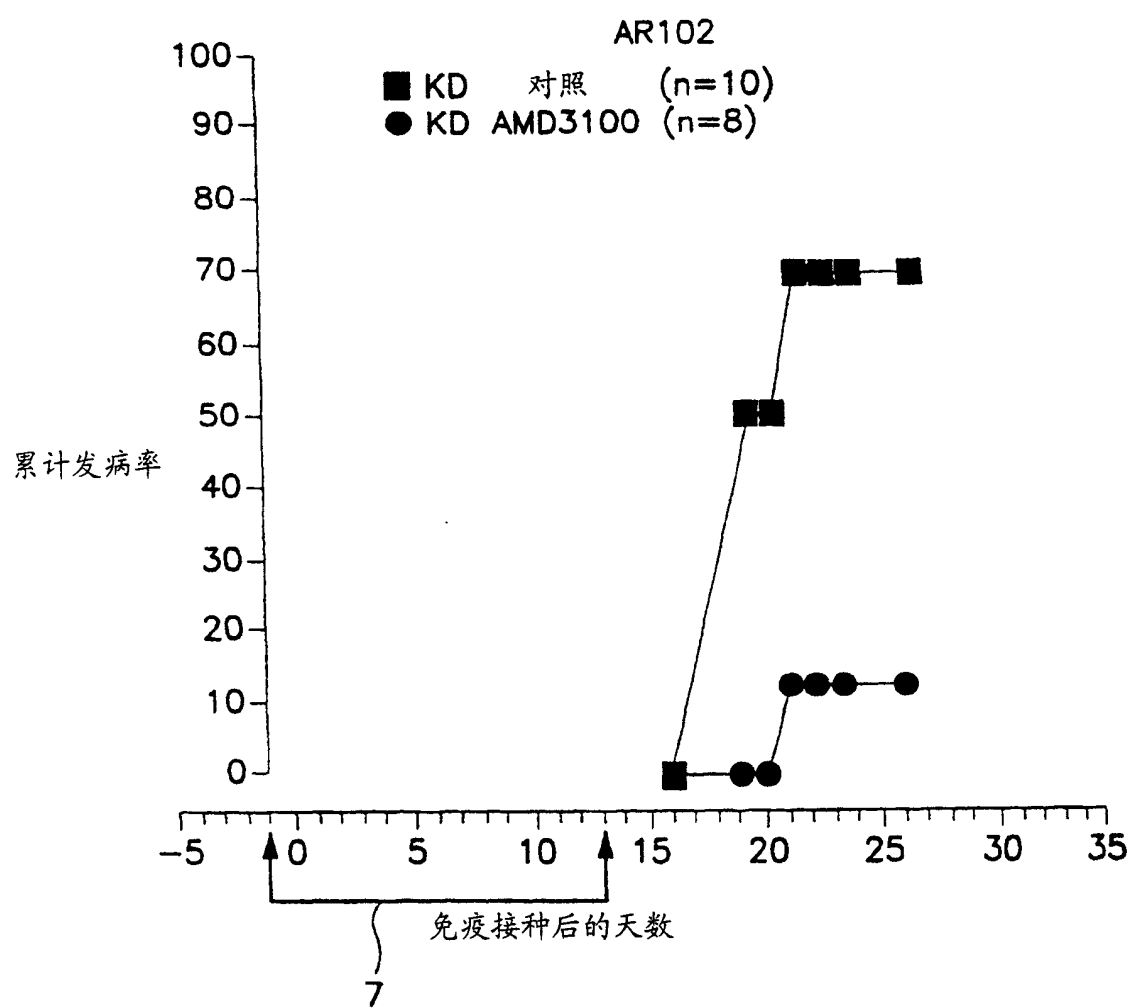
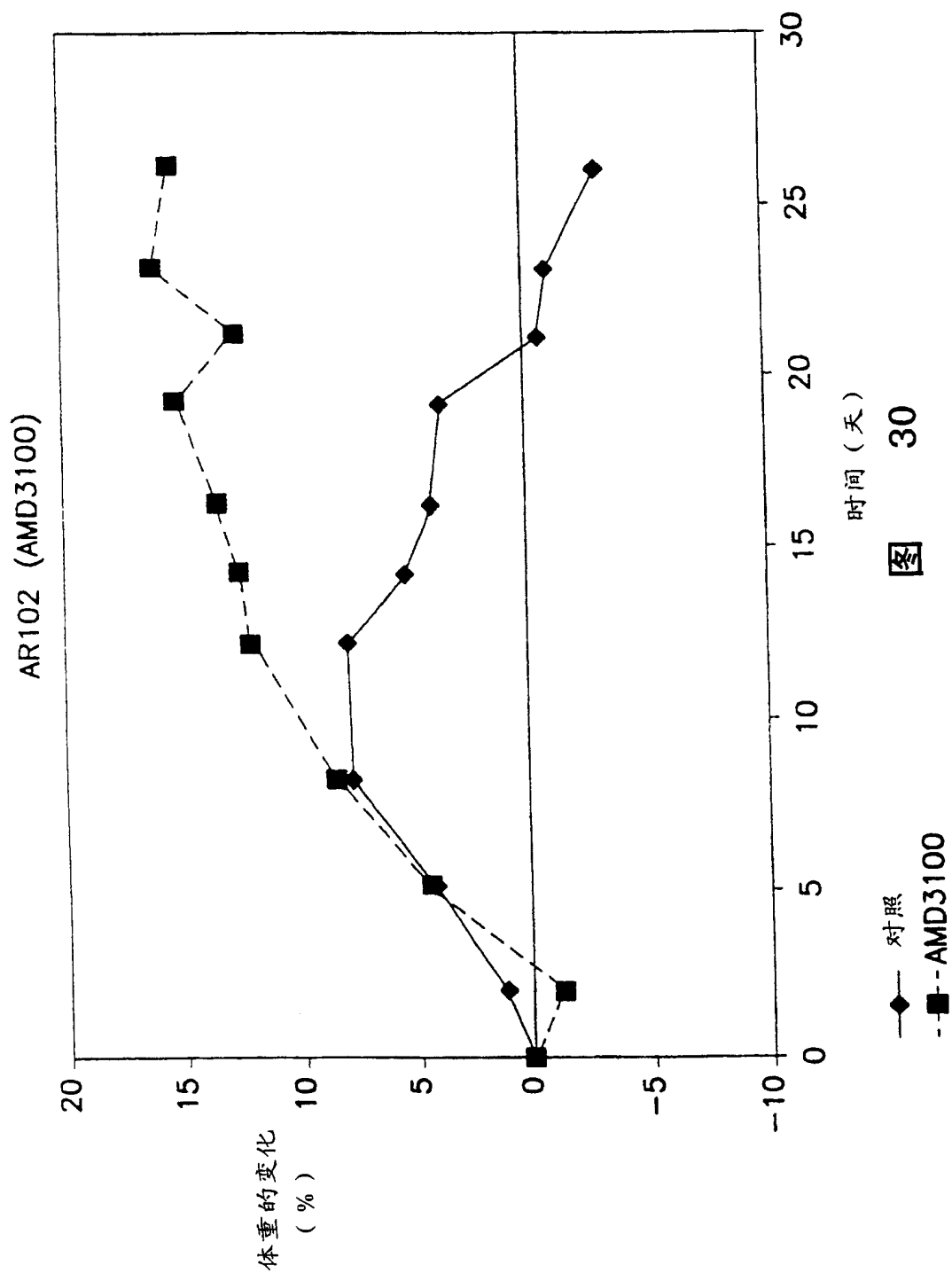
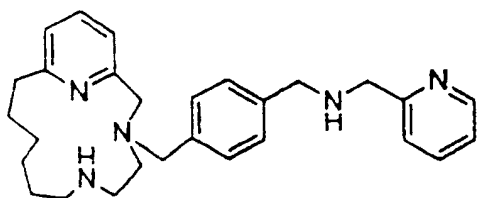


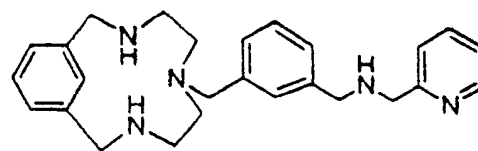
图 29





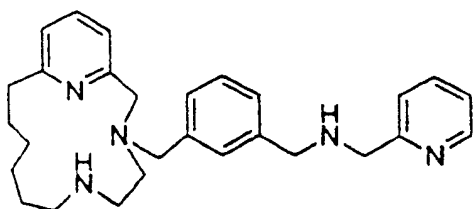
AMD8630

图 31



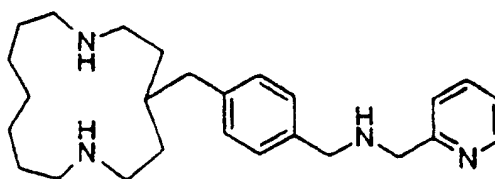
AMD7097

图 32



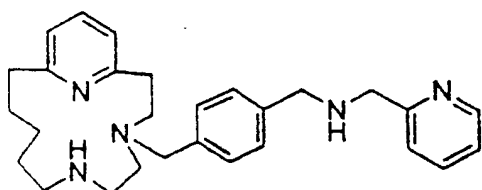
AMD8631

图 33



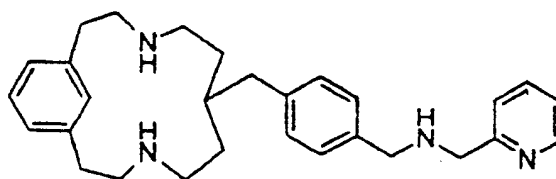
AMD-Exp 1

图 34



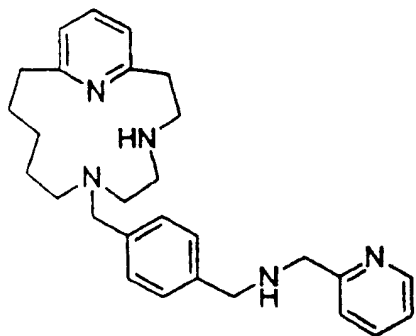
AMD7450

图 35



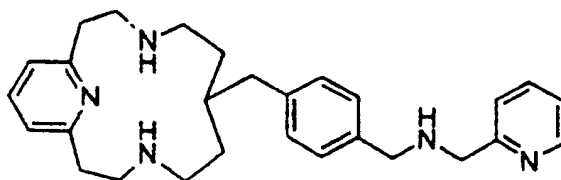
AMD-Exp 2

图 36



AMD7463

图 37



AMD-Exp 3

图 38