

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780005891.8

[51] Int. Cl.

C07D 271/06 (2006.01)

C07C 255/50 (2006.01)

C07C 251/32 (2006.01)

C07F 9/02 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 3 月 11 日

[11] 公开号 CN 101384566A

[22] 申请日 2007.2.21

[21] 申请号 200780005891.8

[30] 优先权

[32] 2006.2.21 [33] US [31] 60/775,309

[86] 国际申请 PCT/US2007/062513 2007.2.21

[87] 国际公布 WO2007/098474 英 2007.8.30

[85] 进入国家阶段日期 2008.8.18

[71] 申请人 弗吉尼亚大学专利基金会

地址 美国弗吉尼亚

[72] 发明人 凯文·R·林奇

蒂莫西·L·麦克唐纳

[74] 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司

代理人 杨淑媛 郑霞

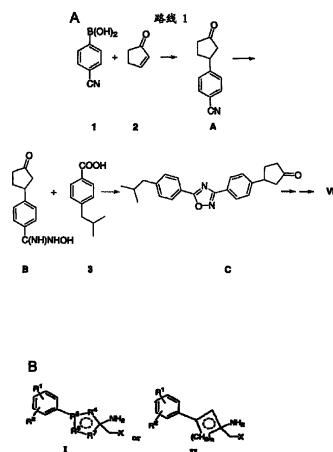
权利要求书 6 页 说明书 30 页 附图 2 页

[54] 发明名称

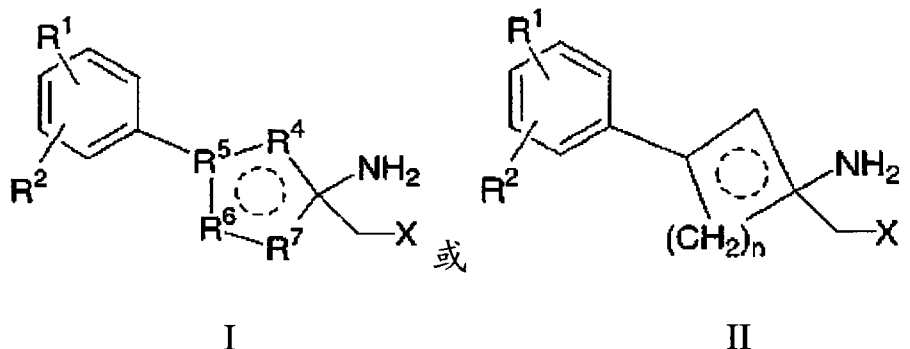
作为 S1P 受体激动剂的苯基 - 环烷基和苯基 - 杂环衍生物

[57] 摘要

提供了对一种或多种 S1P 受体具有激动剂活性的化合物 I 和 II。所述化合物是鞘氨醇类似物，其在磷酸化后可以用作 S1P 受体的激动剂。



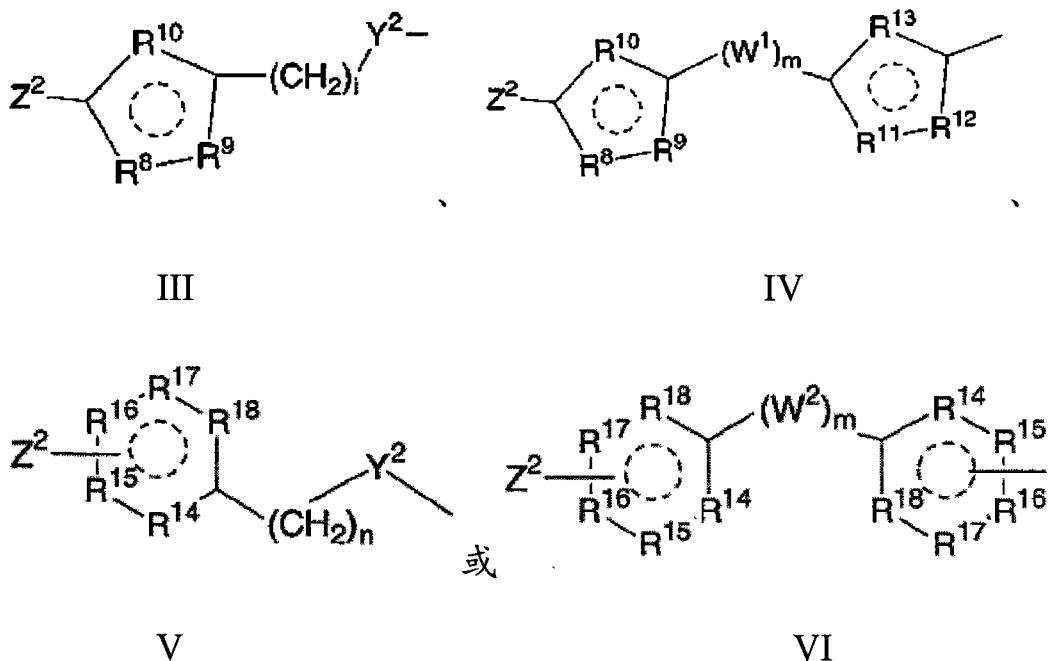
1. 一种下式 I 或下式 II 的化合物或其药学上可接受的盐或酯:



其中 R^4 和 R^7 独立地是 CH 或 CH_2 ; R^5 是 C、CH 或 N, R^6 是 CH、 CH_2 、O、S 或 NR^3 ; R^3 是氢或 (C_1-C_{10}) 烷基; X 是羟基(-OH)、磷酸酯($-OPO_3H_2$)、磷酸酯($-CH_2PO_3H_2$)或 α -取代的磷酸酯;

R^1 是氢、卤素、 (C_1-C_{10}) 烷基、 (C_1-C_{10}) 卤代烷基或 (C_1-C_{10}) 烷氧基;

R^2 是具有下式 III、IV、V 或 VI 的基团:



其中 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 和 R^{18} 独立地是 O、S、C、 CR^{19} 、 $CR^{20}R^{21}$ 、C=O、N 或 NR^{22} ; R^{19} 、 R^{20} 和 R^{21} 独立地是

氢、卤素、 (C_1-C_{10}) 烷基、被卤素、羟基取代的 (C_1-C_{10}) 烷基、 (C_1-C_{10}) 烷氧基或氰基； R^{22} 是氢或 (C_1-C_{10}) 烷基；且式 III、IV、V 或 VI 基团的至少一个环包括杂原子(O、S 或 N)； Z^2 是 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_8) 环烷基、 (C_2-C_6) 烯基、 (C_2-C_6) 炔基、 (C_6-C_{10}) 芳基、 (C_7-C_{16}) 烷芳基或 (C_7-C_{16}) 芳烷基；其中 Z^2 的烷基是任选地被1、2、3或4个取代基取代，其中所述取代基独立地是卤素、 (C_1-C_{10}) 烷氧基或氰基； $\bigcirc$ 表示一个或多个任选的双键； Y^2 是键、 $-O-$ 、或 $>C=O$ ； W^1 和 W^2 是 $-CH_2-$ ，其中 m 是0、1、2或3；或 W^2 是 $-(C=O)(CH_2)_{1-5}-$ ，其中 m 是1； n 是0、1、2、3或4； i 是0、1、2、3或4；且 q 是0、1、2或3；

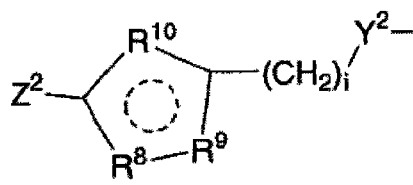
其中所述 R^1 的烷基可以是任选地被1、2、3或4个取代基取代，其中所述取代基独立地是芳基、 (C_1-C_{10}) 烷氧基或氰基；且所述 R^2 的烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环或杂芳基任选地被1、2、3或4个取代基取代，其中所述取代基独立地是氧代($=O$)、亚氨基($=NR^d$)、 (C_1-C_{10}) 烷基、 (C_1-C_{10}) 烷氧基或 C_6 -芳基、或其中所述 R^2 烷基中的一个或多个碳原子可以独立地被非过氧化物的氧、硫或 NR^c 替代；所述 R^3 的烷基任选地被1个或2个羟基取代；且 R^d 是氢和 (C_1-C_{10}) 烷基。

2. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R^1 是氢、氟、氯、溴、三氟甲基、甲氧基、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_1-C_6) 卤代烷基或被烷氧基、氰基或芳基取代的 (C_1-C_6) 烷基。

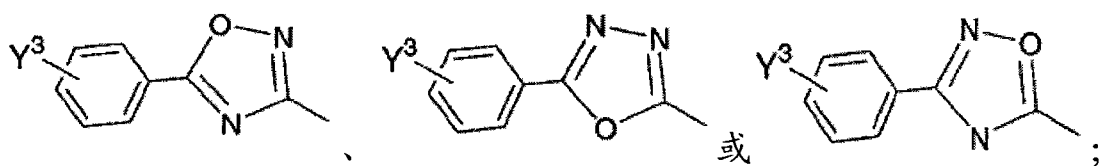
3. 根据权利要求2所述的化合物，其中 R^1 是氢、三氟甲基或 $-CH_2CF_3$ 。

4. 根据权利要求2所述的化合物，其中 R^1 是苄基、苯乙基或甲基苄基。

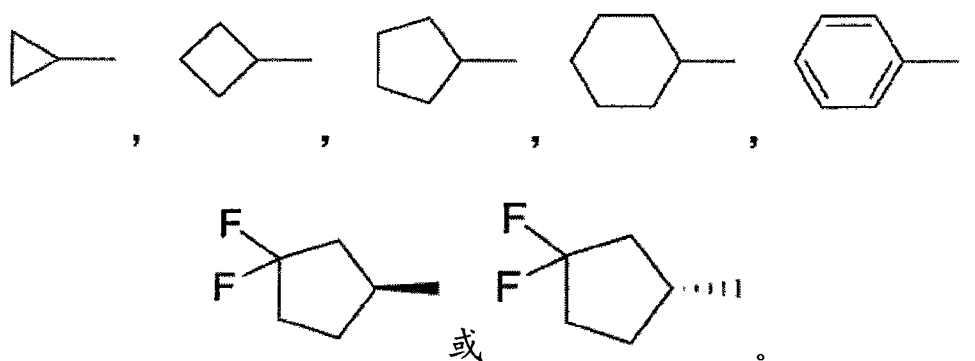
5. 根据权利要求1-4任一项所述的化合物，其中 R^2 是下式：



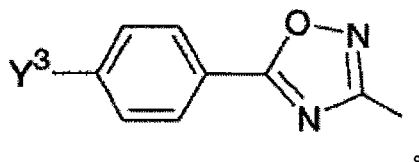
6. 根据权利要求5所述的化合物，其中 R^2 是下式：



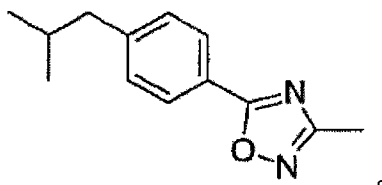
其中 Y^3 是 $(CH_3)_3C-$ 、 $CH_3CH_2(CH_3)_2C-$ 、 $CH_3CH_2CH_2-$ 、 $CH_3(CH_2)_2CH_2-$ 、 $CH_3(CH_2)_4CH_2-$ 、 $(CH_3)_2CHCH_2-$ 、 $(CH_3)_3CCH_2-$ 、 CH_3CH_2O- 、 $(CH_3)_2CHO-$ 或 $CF_3CH_2CH_2-$ 或具有下式的基团:



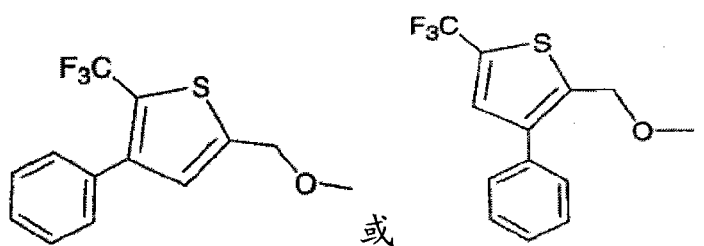
7. 根据权利要求 6 所述的化合物, 其中 R^2 是下式:



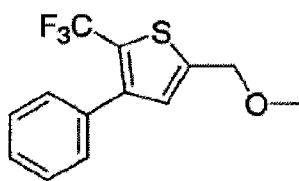
8. 根据权利要求 7 所述的化合物, 其中 R^2 是下式:



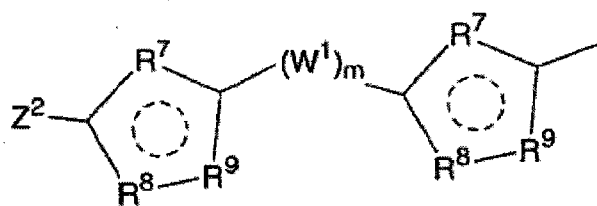
9. 根据权利要求 5 所述的化合物, 其中 R^2 是下式:



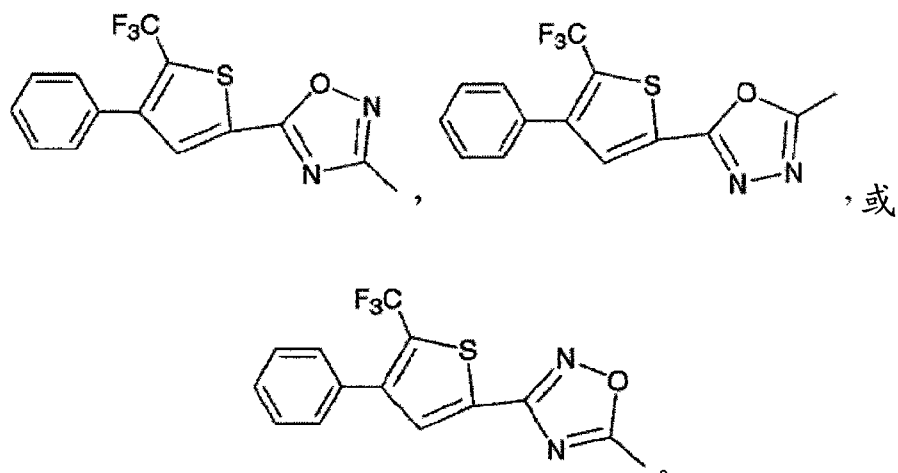
10. 根据权利要求 9 所述的化合物, 其中 R^2 是下式:



11. 根据权利要求 1-4 任一项所述的化合物, 其中 R^2 具有下式 IV:



12. 根据权利要求 11 所述的化合物, 其中 R^2 是下式:

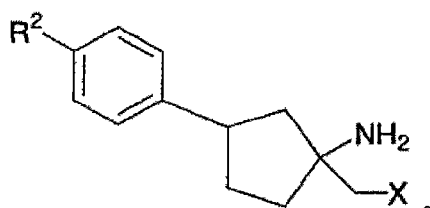


13. 根据权利要求 1-12 任一项所述的化合物, 其中每个 X^1 、 Y^1 和 Z^1 是 C 或 CH_2 。

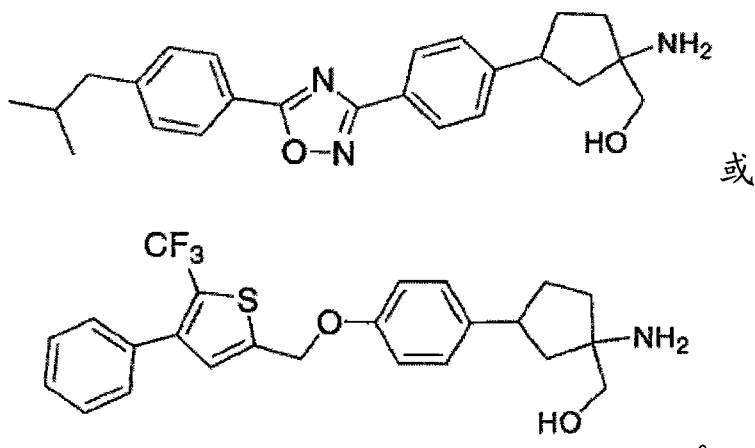
14. 根据权利要求 1-13 任一项所述的化合物, 其中 R^3 是氢、甲基、羟甲基、乙基、羟乙基、丙基或异丙基。

15. 根据权利要求 14 所述的化合物, 其中 R^3 是氢、甲基、羟甲基、乙基或羟乙基。

16. 根据权利要求 1-15 任一项所述的化合物, 其具有下式:



17. 根据权利要求 16 所述的化合物, 其具有下式:



18. 一种预防或治疗哺乳动物的病理学病症或症状的方法, 其中涉及鞘氨醇 1-磷酸酯受体的活性并且此活性的激动作用是期望的, 所述方法包括对所述哺乳动物施用有效量的权利要求 1-17 任一项所述的化合物。

19. 根据权利要求 18 所述的方法, 其中所述病理学病症是自身免疫性疾病。

20. 根据权利要求 19 所述的方法, 其中所述自身免疫性疾病是葡萄膜炎、I 型糖尿病、类风湿性关节炎、炎性肠疾病或多发性硬化症。

21. 根据权利要求 20 所述的方法, 其中所述自身免疫性疾病是多发性硬化症。

22. 根据权利要求 21 所述的方法, 其中所述病理学病症是改变淋巴细胞迁移。

23. 根据权利要求 22 所述的方法, 其中所述治疗是淋巴细胞迁移的改变。

24. 根据权利要求 23 所述的方法, 其中所述淋巴细胞迁移提供了延长的同种移植物存活。

25. 根据权利要求 24 所述的方法, 其中所述同种移植物是用于移植。

26. 一种预防或治疗哺乳动物的病理学病症或症状的方法, 其中涉及活性 S1P 裂解酶并且 S1P 裂解酶的抑制作用是期望的, 所述方法包括对所述哺乳动物施用有效量的权利要求 1-17 任一项所述的化合物。

作为 S1P 受体激动剂的苯基-环烷基和苯基-杂环衍生物

相关申请的交叉引用

本申请要求于 2006 年 2 月 21 日提交的序列号为 60/775,309 的临时申请的优先权, 所述公开物全部内容通过引用并入本文。

美国政府权利

本发明在美国国立卫生研究院颁发的第 R01 GM067958 号的资助下与美国政府的支持下进行的。美国政府具有本发明的某些权利。

背景技术

鞘氨醇-1-磷酸酯(S1P)是溶血磷脂介体, 其通过刺激内皮细胞分化基因(EDG)受体家族的五個成员而诱发多种细胞反应。EDG 受体是 G-蛋白偶联受体(GPCR), 且在刺激后, 通过激活异源三聚 G-蛋白 $\alpha(G_\alpha)$ 亚基和 $\beta\text{-}\gamma(G_{\beta\gamma})$ 二聚物来传送第二信使信号。最终, S1P 驱使的信号转导导致细胞存活、增加的细胞迁移以及经常有丝分裂发生。靶向 S1P 受体的激动剂的最新进展已提供关于该信号转导系统在生理学体内稳态中的作用的理解决。例如, 免疫调节剂 FTY720(2-氨基-2-[2-(4-辛基苯基)乙基]丙烷 1,3-二醇)在磷酸化后是 5 个 S1P 受体中 4 个的激动剂, 并显示了增加 S1P 趋势(tone)影响了淋巴细胞迁移(lymphocyte trafficking)。而且, S1P 类型 1 受体(S1P₁)拮抗剂导致肺毛细血管内皮的渗漏, 这显示 S1P 可以涉及保持内皮细胞屏障在一些组织床(tissue bed)中的完整性。

鞘氨醇-1-磷酸酯(S1P)是溶血磷脂介体, 其通过刺激内皮细胞分化基因(EDG)受体家族的五個成员而诱发多种细胞反应。

已经证实鞘氨醇-1-磷酸酯(S1P)诱导很多细胞过程(cellular process), 其包括导致血小板聚集、细胞增殖、细胞形态学、肿瘤细胞侵袭、内皮细胞趋化性和血管生成。因此, S1P 受体是用于治疗应用例如创伤愈合和肿瘤生长抑制的靶。

鞘氨醇-1-磷酸酯部分地通过一组命名为 S1P₁、S1P₂、S1P₃、S1P₄、和 S1P₅ (以前为 EDG1、EDG5、EDG3、EDG6 和 EDG8)的 G 蛋白偶联受体向细胞发信号。EDG 受体是 G-蛋白偶联受体(GPCR), 且在刺激后, 通过激活异源三聚 G-蛋白 $\alpha(G_\alpha)$ 亚基和 β - $\gamma(G_{\beta\gamma})$ 二聚物来传送第二信使信号。这些受体共用 50-55%相同的氨基酸, 并与三种结构上相关的溶血磷脂酸(LPA)的三种其他受体(LPA₁、LPA₂和 LPA₃(以前为 EDG2、EDG4 和 EDG7)) 聚类。

当配体与受体结合时, 构象转换在 G-蛋白偶联受体(GPCR)中被诱发, 导致在缔合的 G-蛋白的 α -亚基上 GDP 被 GTP 替代, 随后释放 G-蛋白进入细胞质。然后 α -亚基从 $\beta\gamma$ -亚基解离, 继而每个亚基可以与效应物蛋白质缔合, 所述效应物蛋白质激活导致细胞反应的第二信使。最终, 在 G-蛋白上的 GTP 被水解为 GDP, 且 G-蛋白的亚基相互重新缔合, 然后与所述受体缔合。放大(amplification)在一般的 GPCR 途径中起着主要的作用。一个配体与一个受体的结合导致很多 G-蛋白的激活, 每个能与很多导致放大的细胞反应的效应物蛋白质缔合。

S1P 受体成为良好的药物靶, 因为单个受体是组织且反应特异性的。S1P 受体的组织特异性是期望的, 因为对一个受体有选择性的激动剂或拮抗剂的发展使细胞反应局限于含有所述受体的组织, 限制了不必要的副作用。S1P 受体的反应特异性也是重要的, 因为其允许开发能引发或抑制某些细胞反应而不影响其他反应的激动剂或拮抗剂。例如, S1P 受体的反应特异性可以实现能引发血小板聚集而不影响细胞形态学的 S1P 模拟物。

鞘氨醇-1-磷酸酯作为鞘氨醇的代谢产物在其与鞘氨醇激酶的反应中形成, 且在存在高水平的鞘氨醇激酶且缺乏 S1P 裂解酶的血小板中储存。S1P 在血小板聚集期间释放, 在血清中蓄积, 并且还在恶性的腹水中存在。通过被外磷酸水解酶(ectophosphohydrolase)、特别是鞘氨醇-1-磷酸酯磷酸

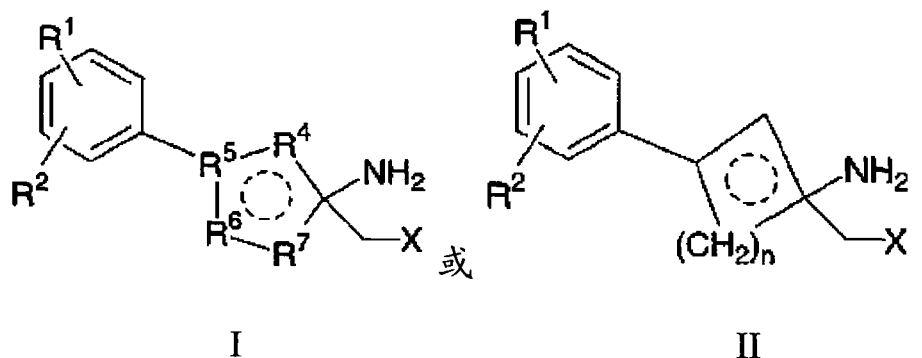
水解酶水解, S1P 的可逆的生物降解最有可能发生。S1P 的不可逆的降解被 S1P 裂解酶催化, 获得乙醇胺磷酸酯和十六碳烯醛。

目前, 需要为 S1P 受体激动剂的有效和选择性的试剂(agent)。也需要进一步研究与 S1P 受体的激动相关的生理过程的药理学工具。

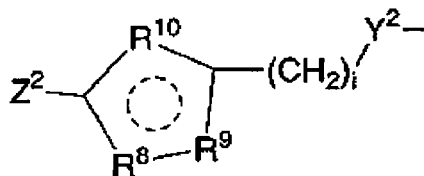
发明内容

在一个方面中, 本发明提供了鞘氨醇-1-磷酸酯类似物, 其对一种或多种 S1P 受体是有效和选择性的激动剂, 特别是 S1P₁ 受体类型。在另一个方面, 所述化合物可以具有磷酸酯部分和抵抗水解的磷酸酯代用品, 所述磷酸酯代用品如膦酸酯、 α -取代的膦酸酯(特别是 α -取代基是卤素)和硫代膦酸酯(phosphothionate)。此外, 本发明提供前体药物, 如含有伯醇的可以例如通过鞘氨醇激酶(尤其是鞘氨醇激酶 2 型(SPHK2))体外被激活或转化(例如磷酸化)的化合物。

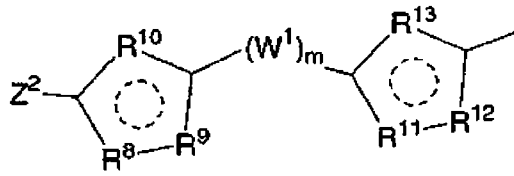
在一个方面中, 本发明提供具有下式 I 或下式 II 的鞘氨醇-1-磷酸酯类似物:



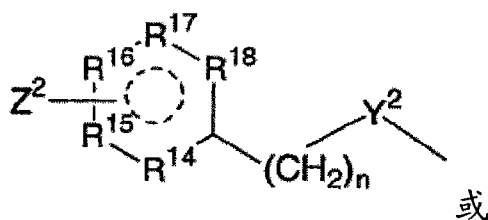
其中 R^4 和 R^7 独立地是 CH 或 CH_2 ; R^5 是 C、CH 或 N, R^6 是 CH、 CH_2 、O、S 或 NR^3 ; R^3 是氢或 (C_1-C_{10}) 烷基; X 是羟基(-OH)、磷酸酯($-OPO_3H_2$)、膦酸酯($-CH_2PO_3H_2$)或 α -取代的膦酸酯; R^1 是氢、卤代 (C_1-C_{10}) 烷基或 (C_1-C_{10}) 烷氧基, R^2 是具有下式 III、IV、V 或 VI 的基团:



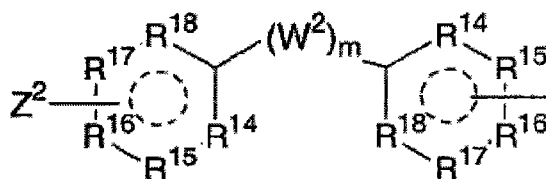
III



IV



V



VI

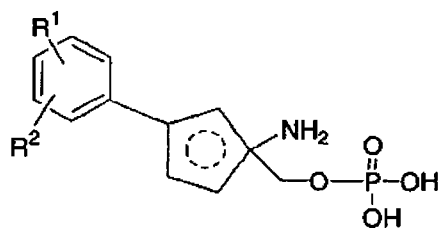
其中 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 和 R^{18} 独立地是 O、S、C、 CR^{19} 、 $CR^{20}R^{21}$ 、C=O、N 或 NR^{22} ； R^{19} 、 R^{20} 和 R^{21} 独立的是氢、卤素、 (C_1-C_{10}) 烷基、被卤素、羟基取代的 (C_1-C_{10}) 烷基、 (C_1-C_{10}) 烷氧基或氰基； R^{22} 是氢或 (C_1-C_{10}) 烷基；且式 III、IV、V 或 VI 基团的至少一个环包括杂原子(O、S 或 N)； Z^2 是 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_8) 环烷基、 (C_2-C_6) 烯基、 (C_2-C_6) 炔基、 (C_6-C_{10}) 芳基、 (C_7-C_{16}) 烷芳基或 (C_7-C_{16}) 芳烷基；其中 Z^2 的烷基是任选地被 1、2、3 或 4 个取代基取代，其中所述取代基独立地是卤素、 (C_1-C_{10}) 烷氧基或氰基； $\bigcirc$ 表示一个或多个任选的双键； Y^2 是键、-O-、或 $>C=O$ ； W^1 和 W^2 是 $-CH_2-$ ，其中 m 是 0、1、2 或 3；或 W^2 是 $-(C=O)(CH_2)_{1-5}-$ ，其中 m 是 1； n 是 0、1、2、3 或 4； i 是 0、1、2、3 或 4；且 q 是 0、1、2 或 3。

所述 R^1 的烷基可以任选地被 1、2、3 或 4 个取代基取代，其中所述取代基独立地是芳基、 (C_1-C_{10}) 烷氧基或氰基。所述 R^2 的任何烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环或杂芳基任选地被 1、2、3 或 4 个取代基取代，其中所述取代基独立地是氧代($=O$)、亚氨基($=NR^d$)、 (C_1-C_{10}) 烷基、 (C_1-C_{10}) 烷氧基或 C_6 -芳基、或其中所述 R^2 烷基的一个或多个碳原子可以独立地被非过氧化物的氧、硫或 NR^c 替代；所述 R^3 的烷基任选地被 1 个或 2 个羟基

取代；且 R^c 和 R^d 独立地是氢和 (C_1-C_{10}) 烷基。本发明包括式 I 或式 II 的化合物的药学上可接受的盐或酯。

在另一个方面中，本发明还提供了式 I 或式 II 的任何化合物的酯，例如磷酸酯或膦酸酯。

在另一个方面中，本发明提供了具有式 VII 的，式 I 或式 II 的化合物的磷酸酯。



VII

在另一个方面中，本发明提供了式 I 或式 II 的化合物的前体药物。在另一个方面，本发明还提供了在医学治疗中使用的式 I 或式 II 的化合物。

在另一个方面中，本发明提供了抑制肿瘤的血管生成的方法，所述方法包括将癌细胞与有效量的式 I 或式 II 的化合物接触。

在另一个方面中，本发明提供通过改变淋巴细胞迁移调节免疫系统用于治疗自身免疫性疾病或延长同种移植物存活率的方法，所述方法包括对有相应需要的受治疗者施用有效量的式 I 或式 II 的至少一种化合物。

在另一个方面中，本发明提供了预防、抑制或治疗神经性疼痛的方法，其中所述方法包括对有相应需要的受治疗者施用有效量的式 I、式 II 的至少一种化合物、或式 I 或式 II 的化合物与药学上可接受的载体。疼痛本质上可以是痛感的或神经性的。神经性疼痛特征在于：慢性的特性、缺乏明显的直接原因(如组织损伤)、痛觉过敏或异常性疼痛。痛觉过敏是对痛苦的刺激物反应过度。异常性疼痛是对正常刺激物感觉为疼痛(例子包括衣服的触觉、热或冷空气等)。神经性疼痛可以是肢体(如手臂、或更经常是腿)的神经损伤的后遗症。诱发事件可以包括创伤，例如机动车辆事故或截肢(如幻肢痛)。神经性疼痛可以由于药物治疗的副作用而发生，例如长春新

碱或紫杉醇(Taxol™), 或可以作为疾病病理学的组成部分而发生, 如 1 型或 2 型糖尿病、带状疱疹、HIV-1 感染等。通常, 神经性疼痛不会对类阿片或非类固醇类抗炎药物如阿司匹林作出反应。

在另一个方面中, 本发明提供了血管插入术后修复血管损伤的方法, 所述方法包括将受影响的血管的腔与有效量的式 I 或式 II 的化合物接触。在另一个方面中, 本发明包括将留置支架(indwelling stent)以式 I 或式 II 的化合物包衣。

在另一个方面中, 本发明提供了使用 S1P 类似物预防和抑制血管损伤后的血管再狭窄的组合物和方法。例如, 所述损伤可以是由于球囊血管成形术(balloon angioplasty)。在另一个方面中, 本发明包括治疗受治疗者以预防血管再狭窄的方法。

在另一个方面中, 本发明提供了使用鞘氨醇类似物(包括 S1P 前体药物)预防哮喘发作的组合物和方法。在一个方面中, 所述哮喘可以是由于过多产生半胱氨酰白细胞三烯。在另一个方面中, 本发明包括治疗哮喘的方法。

在另一个方面中, 本发明提供了使用式 I 或式 II 的鞘氨醇类似物(包括 S1P 前体药物)治疗肥胖症的组合物和方法。

在另一个方面中, 本发明提供了使用式 I 或式 II 的鞘氨醇类似物(包括 S1P 前体药物)使血液脂质组成正常化的组合物和方法。在一个方面中, 血液低密度脂蛋白(LDL 或‘坏胆固醇’)水平可以被降低。在另一个方面中, 血液甘油三酯水平可以通过施用有效量的具有式 I 或式 II 的化合物来降低。

在另一个方面中, 本发明提供了使用 S1P 类似物与 S1P 前体药物预防和/或治疗动脉硬化症的组合物和方法。

在另一个方面中, 本发明提供了使用 S1P 类似物与 S1P 前体药物治疗肿瘤疾病的组合物和方法。在一个方面中, 通过由于其抗血管生成的性质而有效的具有式 I 或式 II 的 S1P 受体拮抗剂的应用, 实现所述治疗。在另一个方面中, 通过施用抑制多重底物脂质激酶的式 I 或式 II 的鞘氨醇类似物, 实现所述治疗。

在另一个方面中，本发明提供了使用 S1P 类似物与 S1P 前体药物治疗神经退行性疾病的组合物和方法。在一个方面中，所述治疗是用于阿尔茨海默型的老年性痴呆。

在另一个方面中，本发明提供了在医学治疗(例如，治疗肿瘤疾病、治疗神经性疼痛、治疗自身免疫性疾病、延长同种移植物存活率)中使用的式 I 或式 II 的化合物及其药学上可接受的盐。

在另一个方面中，本发明提供了式 I 或式 II 的化合物制备用于抑制哺乳动物物种(例如人类)的肿瘤生长、转移或肿瘤血管生成的药物的用途。

在另一个方面中，本发明提供了式 I 或式 II 的化合物制备用于治疗哺乳动物物种(例如人类)的自身免疫性疾病或延长同种移植物存活率的药物的用途。

在另一个方面中，本发明提供了式 I 或式 II 的化合物制备用于治疗哺乳动物物种(例如人类)的神经性疼痛的药物的用途。

在另一个方面中，本发明提供了体外和体内评价式 I 或式 II 的化合物(例如 S1P 受体前体药物)作为鞘氨醇 1 型或 2 型的底物的方法。在另一个方面中，本发明包括以一定量的有效地结合受体的式 I 或式 II 的化合物，评价式 I 或式 II 的化合物体外或体内结合至指定的所述受体部位的方法。包含结合指定 S1P 受体部位的配体的组织可以用于测量试验化合物对特异性受体亚型的选择性，或可以用作通过将试剂与配体-受体络合物接触鉴定用于治疗疾病的潜在的治疗剂、以及测量配体的置换或结合所述试剂的程度的工具。

在另一个方面中，本发明提供了本文公开的用于制备式 I 或式 II 的化合物的新型中间体和方法(process)，包括本文所述的通用的和特定的中间体以及合成方法。

在另一个方面中，本发明提供了使用具有式 I、式 II、及其类似物或衍生物的化合物的合成方案和方法。在另一个方面中，本发明提供了用于制备式 I 或式 II 的化合物的类似物和衍生物的合成和改性方案以及使用这些类似物和衍生物的组合物和方法。

本发明的上述概述不是用来描述本发明每个公开的实施方案或每个实施。追求更加具体的说明书示例了说明性的实施方案。在贯穿本发明的一些地方中，通过实施例的列表提供指导，所述实施例可以在各种组合中使用。在每种情况下，所述引用的列表仅用作代表性的组，并不应该解释为排他的列表。

本发明的一个或多个实施方案的细节在下述附图中阐述。本发明的其他特征、目标和优点从说明书和附图、以及权利要求是显而易见的。

附图简述

图 1-3 示例了公开的化合物的合成。

发明详述

下述缩写在本文使用：S1P，鞘氨醇-1-磷酸酯；S1P₁₋₅ S1P 受体类型；GPCR，G-蛋白偶联受体；SAR，构效关系；EDG，内皮细胞分化基因；EAE，实验性自身免疫性脑脊髓炎；NOD，非肥胖性糖尿病；TNF α ，肿瘤坏死因子 α ；HDL，高密度脂蛋白；和 RT-PCR，逆转录酶多聚酶链反应。

在说明和要求保护本发明时，除非另有定义，本文所用的所有技术和科学的术语具有由本发明所属领域普通技术人员通常理解的相同的含义。尽管与在本文描述的那些类似或等同的任何方法和材料可以在本发明的实践或试验中使用，但是在本文描述了优选的方法和材料。下面列举的基团、取代基和范围的具体和优选的值仅用于示例；它们不排除基团和取代基的其他定义的值或其他在定义范围内的值。

术语“一个”、“一种”、“所述”、“至少一个”和“一个或多个”可互换地使用。因而，例如，包括“一种”要素的组合物表示一种要素或多于一种要素。

术语“受体激动剂”是模拟 S1P 对一个或多个其受体的作用但可以具有不同的效能或效力的化合物。

术语“受体拮抗剂”是经常以完全可克服的和可逆(竞争性拮抗剂)的方式 1)缺乏内在的激动剂活性以及 2)阻断 S1P 受体的激动剂(例如 S1P)激活的化合物。

术语“受影响的细胞”是指患有疾病或病症的受治疗者的细胞,所述受影响的细胞相对于未患有疾病或病症的受治疗者具有改变的表型。

如果细胞或组织相对于未患有疾病或病症的受治疗者中相同细胞或组织具有改变的表型,则所述细胞或组织是受疾病或病症“影响的”。

如果疾病或病症的症状的严重性、患者经历此类症状的频率或两者被降低,则所述疾病或病症被“缓解”。

化合物的“类似物”是例如在结构上与另一个相似但并不必要是异构体的化合物(例如,5-氟尿嘧啶是胸腺嘧啶的类似物)。

术语“细胞”、“细胞系”、和“细胞培养物”可以可互换地使用。

“对照”细胞、组织、样品或受治疗者是与试验细胞、组织、样品或受治疗者相同类型的细胞、组织、样品或受治疗者。所述对照可以例如在与检测试验细胞、组织、样品或受治疗者精确或接近相同的时间被检测。所述对照还可以例如在与试验细胞、组织、样品或受治疗者被检测的时间相隔遥远的时间被检测,并且检测所述对照的结果可以被记录,以使所记录的结果可以与通过检测试验细胞、组织、样品或受治疗者获得的结果相比较。所述对照还可以从另一种源和相似的源而不是所述试验组和试验受治疗者获得,其中所述试验样品从疑似患有为其进行试验的疾病和病症的受治疗者获得。

“试验”细胞、组织、样品或受治疗者是待检测或处理的细胞、组织、样品或受治疗者。

“病理指示性(pathoindicative)”细胞、组织或样品是:当其存在时,则指示所述细胞、组织或样品所处的动物(或从其获得组织的动物)患有疾病

或病症。例如，在动物的肺组织中存在一个或多个乳腺细胞则指示所述动物患有转移性乳腺癌。

如果一个或多个细胞存在于未患有疾病或病症的动物的组织中，组织“正常地包括”所述细胞。

词语“检测”及其语法的变体的使用意味着是指物质的非定量测量，而词语“确定”或“测量”及其语法的变体的使用意味着是指物质的定量测量。术语“检测”和“鉴定”在本文可互换地使用。

“可检测的标记物”或“报告分子”是允许在不含标记物的类似化合物存在下特异性检测包括所述标记物的化合物的原子或分子。可检测的标记物或报告分子的例子包括，例如放射性同位素、抗原决定簇、酶、可用于杂交的核酸、发色团、荧光团、化学发光分子、光化学可检测的分子和提供改变的荧光偏振或改变的光散射的分子。

“疾病”是其中动物不能保持体内稳态(homeostasis)的动物健康状态，并且其中如果所述疾病没有得到改善，则所述动物的健康将继续变坏。

动物的“病症”是其中所述动物能保持体内稳态但其中所述动物的健康状态比缺乏病症时更差的健康状态。如果未治疗，病症不会必然地引起所述动物的健康状态的进一步下降。

术语“有效量”表示足以产生所选的效应的量。例如，S1P 受体拮抗剂的有效量是使 S1P 受体的细胞信号转导活性下降的量。

“功能”分子是显示其特征性质的形式的分子。例如，功能酶是显示所述酶的特征催化活性的酶。

术语“抑制”是指公开的化合物减少或阻止所述的功能的能力。优选地，抑制至少 10%，更优选至少 25%，甚至更优选至少 50%，以及最优选，功能被抑制至少 75%。

术语“指导性材料”包括出版物、记录、图表、或任何其他表达的媒介，其可以用以传达所述公开的化合物在实现缓解本文引用的各种疾病或病症的试剂盒中的有效性。任选地，或可选地，指导性材料可以描述一种或

多种缓解哺乳动物的细胞或组织的疾病或病症的方法。试剂盒的指导性材料可以例如被附于包括公开的活性化合物的容器或与包含经鉴定化合物的容器一起装载。可选地，指导性材料可以与容器分开装载，目的是所述指导性材料和化合物被接受者协作地使用。

术语“胃肠外”表示不通过消化道而是通过一些其他途径，如皮下、肌肉、脊髓内或静脉内。

术语“药学上可接受的载体”包括任何标准的药学载体，例如磷酸盐缓冲盐水溶液、水和乳剂(如油/水或水/油乳剂)及各种类型的润湿剂。该术语还包括由美国联邦政府的监管机构批准的或在美国药典中列出的用于动物(包括人类)的任何试剂。

术语“纯化”及相似的术语是指分子或化合物以一种形式的分离，所述形式是基本不含(至少不含 75%、优选不含 90%、最优选至少不含 95%)通常与天然环境中的所述分子或化合物结合的其他组分。该术语“纯化”并不必然表示在所述方法期间实现具体分子的完全纯化。“很纯”的化合物是指高于 90%纯度的化合物。“高度纯化”的化合物是指高于 95%纯度的化合物。

“样品”优选是指来自受治疗者的生物样品，包括但不限于正常组织样品、疾病组织样品、活组织检查样品、血液、唾液、粪便、精液、眼泪和尿。样品还可以是从包含目标细胞、组织或液体的受治疗者获得的任何其他来源的材料。样品还可以从细胞或组织培养物获得。

术语“标准”是指用于比较的事项。例如，标准可以是已知的标准试剂或化合物，其被施用或加入至对照样品并在测量试验样品中的所述化合物时用于比较结果。标准还可以是指“内标准”，如以已知量加入至样品的试剂或化合物，并且当在测量目标标记物前样品被加工或进行纯化或萃取程序时，用于测定如纯化率或回收率等事项。

分析、诊断或治疗的“受治疗者”是动物。此动物包括哺乳动物，优选人类。

“治疗性”治疗是为了减少或消除受治疗者表现的病变体征而施用至所述受治疗者的治疗。

化合物的“治疗有效量”是足以对被施用所述化合物的受治疗者提供有益效果的化合物的量。

术语“治疗”包括预防特定的病症或病状、或缓解与特定病症或病状相关的症状、和/或预防或消除所述症状。

所述公开的化合物通常根据 IUPAC 或 CAS 命名系统命名。可使用本领域普通技术人员众所周知的缩写(例如“Ph”为苯基,“Me”为甲基,“Et”为乙基,“h”为小时,“rt”为室温以及“rac”为外消旋混合物)。

下面列举的基团、取代基及范围的值仅用于示例;它们不排除基团和取代基的其他定义的值或其他在定义范围内的值。所述公开的化合物包括具有本文所述的值、具体值、更具体值和优选值的任何组合的式 I 或式 II 的化合物。

术语“卤素”或“卤代”包括溴、氯、氟和碘。术语“卤代烷基”是指任何含有至少一个卤素取代基的烷基,非限定性例子包括但不限于氯甲基、氟乙基或三氟甲基等。术语“(C₁-C₁₀)烷基”是指具有 1 至 10 个碳原子的支链或直链烷基。非限定性例子包括但不限于:甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基、辛基等。术语“(C₂-C₆)烯基”是指具有 2 至 6 个碳原子和至少一个双键的烯属不饱和支链或直链基团。通常,(C₂-C₆)烯基包括但不限于:1-丙烯基、2-丙烯基、1,3-丁二烯基、1-丁烯基、己烯基、戊烯基、己烯基等。术语 C₂-C₁₀ 炔基可以是乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、4-戊炔基、1-己炔基、2-己炔基、3-己炔基、4-己炔基或 5-己炔基等。不是多重键合的所述烯基或炔基的碳原子被认为是用于取代或替代的烷基碳原子。术语“(C₁-C₁₀)烷氧基”是指任何通过氧原子连接的烷基。(C₁-C₁₀)烷氧基的例子可以是甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、戊氧基、3-戊氧基或己氧基等。术语“C₃-C₈ 环烷基”可以是环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基等。

术语“任选地取代”是指 0、1、2、3 至 4 个取代基,其中独立地选择每个所述取代基。每个独立选择的取代基可以与其他取代基相同或不同。

术语“(C₆-C₁₀)芳基”是指含有一个或两个芳环的单或双环的碳环系统,包括但不限于:苯基、苄基、萘基、四氢萘基、茚满基、茚基等。

术语“(C₇-C₁₆)芳烷基”或“(C₇-C₁₆)芳烷基”是指用含有一个或两个芳环的单或双环的碳环系统(包括苯基、苄基、萘基、四氢萘基、茚满基、茚基等)取代的任何烷基。芳烷基的非限定性例子包括苄基、苯乙基等。

术语“任选取代的芳基”包括含有 0、1、2、3 至 4 个取代基的芳基化合物,且取代的芳基包括具有 1、2、3 和 4 个取代基的芳基化合物,其中所述取代基包括如烷基、卤素或氨基取代基的基团。

术语“(C₂-C₁₀)杂环基”是指任选取代的包含一、二或三个杂原子(任选在每个环)的单或双环的碳环系统,其中所述杂原子是氧、硫或氮。

在本文所用的术语“(C₄-C₁₀)杂芳基”是指任选取代的包含一、二或三个杂原子(任选在每个环)的单或双环的碳环系统,其中所述杂原子是氧、硫或氮。杂芳基的非限定性例子包括呋喃基、噻吩基、吡啶基等。

术语“磷酸酯类似物”或“磷酸酯类似物”包括其中磷原子处于+5 氧化态且一个或多个氧原子被非氧部分替代的磷酸酯和磷酸酯的类似物,包括例如,磷酸酯类似物硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯(phosphoroselenoate)、二硒代磷酸酯(phosphorodiselenoate)、phosphoroanilothioate、苯胺磷酸酯(phosphoranilidate)、氨基磷酸酯、硼烷基磷酸酯(boronophosphates)等,包括相关的抗衡离子,例如 H、NH₄、Na、K 等,如果此类抗衡离子存在。

化合物的“衍生物”是指可以以一个或多个步骤从有类似结构的另一个化合物产生的化学化合物,如氢被烷基、酰基或氨基替代。

术语“药学上可接受的载体”包括任何标准的药学载体,如磷酸盐缓冲盐水溶液、羟丙基 β-环糊精(HO-丙基 β 环糊精)、水、乳剂(如油/水或水/油乳剂)和各种类型的润湿剂。该术语也包括任何由美国联邦政府的管理机构批准或在美国药典中列出的用于动物(包括人类)的试剂。

术语“药学上可接受的盐”是指保留了本公开的化合物的生物有效性和性质并且不是在生物学上或其他方面不希望的盐。在很多情况下,借助于氨基或羧基或类似基团的存在,本公开的化合物能形成酸或碱盐。

“有效量”表示足以产生所选的效果的量。例如, S1P 受体激动剂的有效量是减少 S1P 受体的细胞信号转导活性的量。

本公开的化合物可以包含分子中的一个或多个非对称中心。根据本公开,不指定立体化学的任何结构应被理解为包括所述各种旋光异构体及其外消旋混合物。

本公开的化合物可以以互变异构的形式存在,并且本发明包括混合物和分离的单个互变异构体。例如,下述的结构:



应被理解为表示下面结构的混合物:



和



。

术语 16:0、18:0、18:1、20:4 或 22:6 烃是指支链或直链烷基或烯基,其中第一个整数表示基团中碳的总数,而第二个整数表示基团中双键的数目。

“S1P 调节剂”是指能在体内或体外诱导可检测的 S1P 受体活性变化的化合物或组合物(例如,通过给定的分析法如在实施例 1 中描述和本领域已知的生物分析法测量的 S1P 活性增加或减少至少 10%)。除非指明具体的亚型,“S1P 受体”是指所有 S1P 受体亚型(例如, S1P 受体 S1P₁、S1P₂、S1P₃、S1P₄ 和 S1P₅)。

本领域技术人员应理解,具有手性中心的本公开的化合物可以以旋光体和外消旋体存在和被分离。应理解,本公开的化合物包括所述化合物的任何外消旋体、旋光体或立体异构体,及其混合物,其具有本文描述的有用的性质,如 *S,R*; *S,S*; *R,R*; 或 *R,S* 非对映异构体。如何制备此旋光体(例

如通过重结晶技术拆分外消旋体、从旋光性起始材料合成、通过手性合成、或使用手性固定相色谱分离)和如何使用本文描述的标准试验或使用本领域众所周知的其他类似试验来确定 S1P 激动剂活性在本领域中是众所周知的。

S1P 受体激动剂前体药物(优选 S1P₁ 受体类型选择性激动剂)的潜在用途包括但不限于改变淋巴细胞迁移,来作为治疗自身免疫性病理学如葡萄膜炎、I 型糖尿病、类风湿性关节炎、炎性肠疾病和更特定的多发性硬化症的方法。多发性硬化症的“治疗”包括所述疾病的各种形式,其包括复发缓解型、慢性进行型等,并且 S1P 受体激动剂可以单独使用或与其他缓解及预防所述疾病的体征和症状的试剂结合使用。

此外,本公开的化合物可以用于改变淋巴细胞迁移,来作为延长同种移植物存活率的方法例如实体器官移植、治疗移植物抗宿主病、骨髓移植等。

此外,本公开的化合物可以用于抑制自分泌运动因子(autotaxin)。已证实自分泌运动因子(一种血浆磷酸二酯酶)经受最终产物抑制。自分泌运动因子水解几种底物来获得溶血磷脂酸和鞘氨醇 1-磷酸酯,并且已涉及癌症进展和血管生成。因此,本公开的化合物的 S1P 受体激动剂前体药物可以用于抑制自分泌运动因子。该活性可以与在 S1P 受体的激动作用组合,或可以与此作用无关。

此外,公开的化合物可以用于抑制 S1P 裂解酶。S1P 裂解酶是不可逆地降解 S1P 的细胞内酶。抑制 S1P 裂解酶则中断了淋巴细胞迁移和伴随的淋巴细胞减少症。因而, S1P 裂解酶抑制剂可以用于调节免疫系统功能。因此,本公开的化合物可以用于抑制 S1P 裂解酶。该抑制作用可以与 S1P 受体活性一致,或与在任何 S1P 受体的活性无关。

此外,公开的化合物可以用作大麻素 CB₁ 受体的拮抗剂。CB₁ 拮抗作用与体重的减少和血液脂质特征的改善相关。所述 CB₁ 拮抗作用可以与 S1P 受体活性一致,或与在任何 S1P 受体的活性无关。

此外，公开的化合物可以用于 IVA 组细胞溶质 PLA_2 (cPLA_2) 的抑制。 CPLA_2 催化花生酸的释放(例如花生四烯酸)。所述花生酸转化为促炎性类花生酸如前列腺素和白细胞三烯。因此，公开的化合物可以用作抗炎症药。该抑制作用可以与 S1P 受体活性一致，或与在任何 S1P 受体的活性无关。

此外，公开的化合物可以用于抑制多重底物脂质激酶(MuLK)。MuLK 在很多人类肿瘤细胞中高度表达，因而其抑制作用可能减慢肿瘤的生长或扩散。

多发性硬化症的“治疗”包括所述疾病的各种形式，其包括复发缓解型、慢性进行型等，且 S1P 受体激动剂可以单独使用或与其他缓解及预防所述疾病的体征和症状的试剂结合使用。

本发明还包括含有式 I 或式 II 的化合物的药物组合物。尤其是，可以使用本领域技术人员已知的标准的药学上可接受的载体、填充剂、增溶剂和稳定剂将此化合物配制成药物组合物。例如，包含本文所述的式 I 或式 II 的化合物、或其类似物、衍生物或变体的药物组合物用于对受治疗者施用适当的化合物。

式 I 或式 II 的化合物用于治疗疾病或病症，包括对有相应需要的受治疗者施用治疗上可接受的量的式 I 或式 II 的化合物、或包含治疗有效量的式 I 或式 II 的化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。

本公开的化合物和方法涉及鞘氨醇 1-磷酸酯(S1P)类似物，所述类似物具有作为对一种或多种 S1P 受体、特别是 S1P_1 、 S1P_4 和 S1P_5 受体类型的受体激动剂的活性。本公开的化合物和方法包括具有磷酸酯部分的化合物和具有抗水解的磷酸酯代用品的化合物，所述磷酸酯代用品如膦酸酯、 α -取代的膦酸酯(特别是其中 α 取代基是卤素)和硫代磷酸酯。

下面列举的基团、取代基及范围的值仅用于示例；它们不排除基团和取代基的其他定义的值或其他在定义范围内的值。

优选 n 的值是 0、1、2 或 3。

优选 R^6 的值是 CH 、 CH_2 、 O 、 N 或 NH 。

优选 R^4 、 R^5 、 R^6 和 R^7 的值是 CH 或 CH_2 。

优选低级烷基的值是甲基、乙基或丙基。

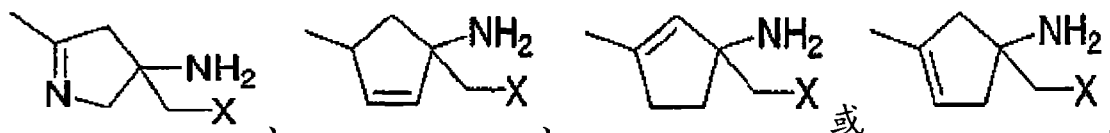
优选卤素的值是氟或氯。

优选 X 的值是羟基或 OPO_3H_2 。

α -取代的磷酸酯包括 $-CHFPO_3H_2$ 、 $-CF_2PO_3H_2$ 、 $-CHOHPO_3H_2$ 、 $-C=OPO_3H_2$ 或硫代磷酸酯(OPO_2SH_2)。

优选 R 的值是氢。

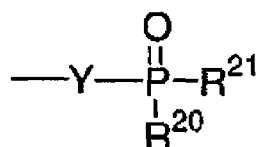
优选包含双键的环基包括：



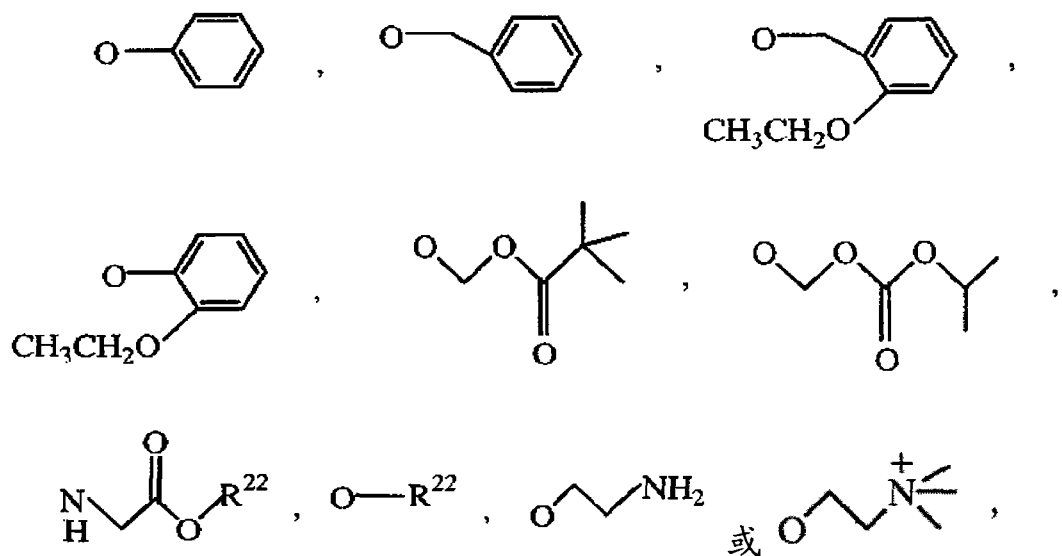
优选本发明的化合物具有位于 R^2 的邻位或间位的 R^1 基团。

其他优选的化合物具有位于环基的对位的 R^2 基团（如 1,4）。

本化合物的酯的非限定性例子包括其中 X 基团是下述基团的化合物：

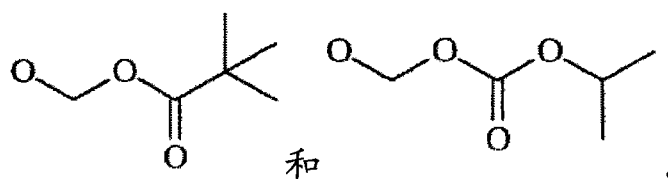


其中 Y 是 O、 CH_2 、 $CHOH$ 、 CHF 、 CF_2 或 $-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-$ ；且 R^{20} 和 R^{21} 是烷氧基、烯氧基、炔氧基、芳氧基、

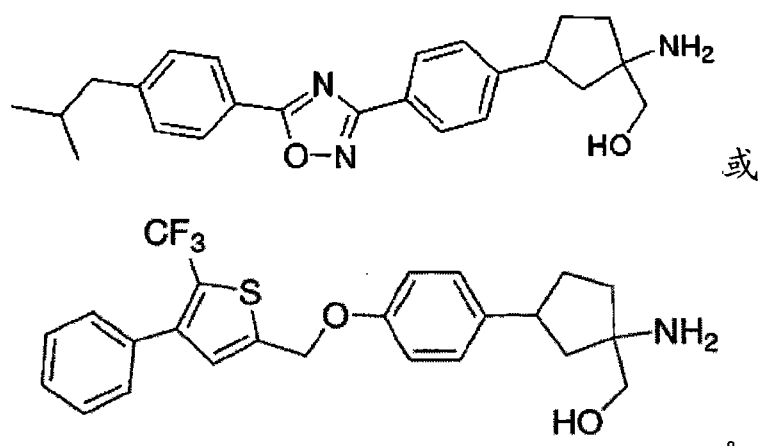


其中 R^{22} 是 C_1 - C_4 烷基、 C_2 - C_4 烯基、 C_2 - C_4 炔基或任选取代的芳基。

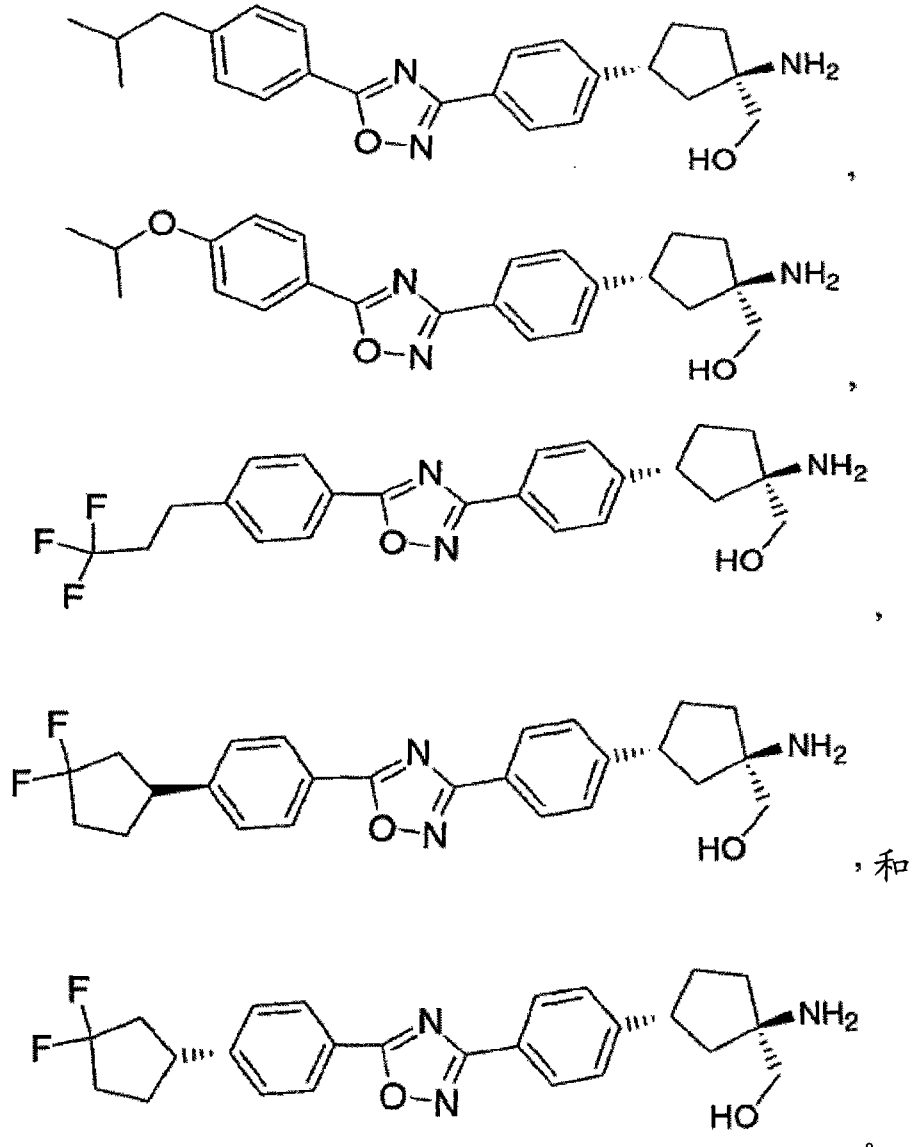
优选 R^{20} 和 R^{21} 基团是烷氧基,



优选式 I 的化合物包括:

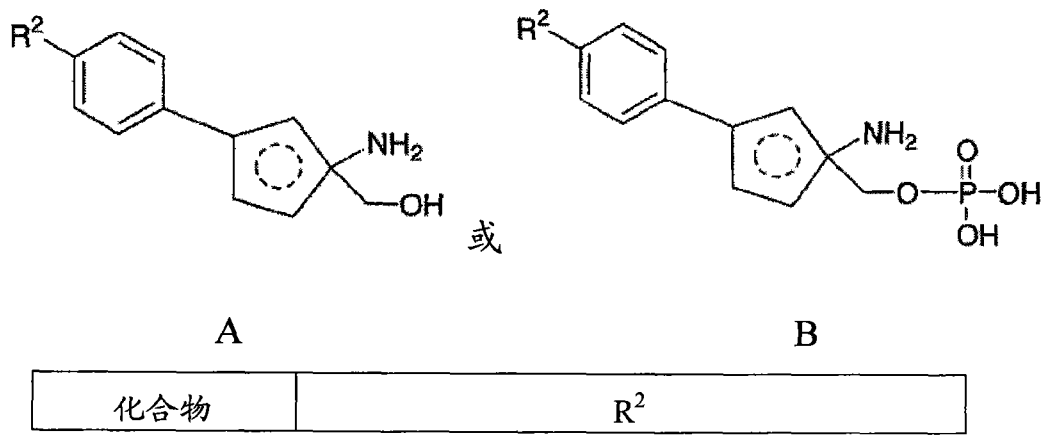


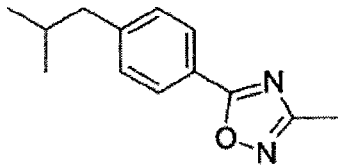
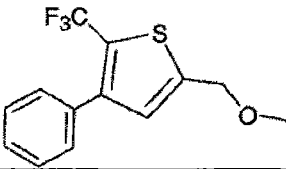
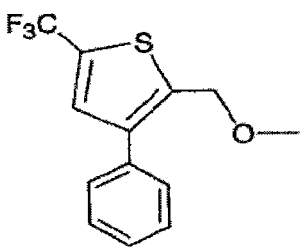
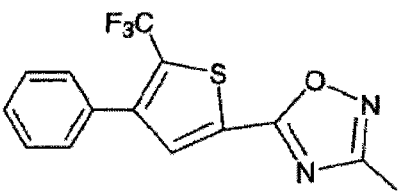
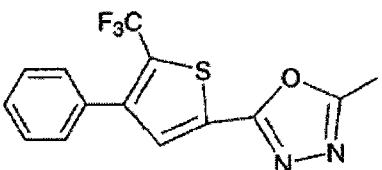
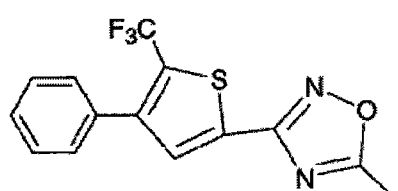
其他优选的式 I 的化合物包括:



其他式 I 的化合物在下面表 1 中示例。

表 1



VIII	
IX	
X	
XI	
XII	
XIII	

不受限于任何具体的理论，希望本文所述的化合物是前体药物，例如由伯醇的磷酸化激活以形成单磷酸化的类似物。此外，希望所述活性药物是 1 型 SIP 受体的激动剂。

在式 I 的化合物足够碱性或酸性以形成稳定的非毒性酸盐或碱盐的情况下，以药学上可接受的盐的形式制备和施用所述化合物可能是适当的。药学上可接受的盐的例子是与形成生理学上可接受的阴离子的酸生成的有机酸加成盐，例如甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、丙二酸盐、酒石酸盐(tartarate)、琥珀酸盐、苯甲酸盐、抗坏血酸盐、 α -酮戊二酸

盐、和 α -甘油磷酸盐。还可以形成无机盐，包括盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、碳酸氢盐和碳酸盐。

药学上可接受的盐可以使用本领域众所周知的标准试验步骤来获得，例如通过将足够碱性的化合物(如胺)与适合的酸的反应可以提供生理上可接受的阴离子。还可以制备羧酸的碱金属(例如钠、钾或锂)或碱土金属(例如钙)盐。

药学上可接受的碱加成盐可以从无机碱和有机碱制备。从无机碱的盐包括但不限于：钠、钾、锂、铵、钙和镁盐。从有机碱获得的盐包括但不限于：伯胺、仲胺和叔胺的盐，如烷基胺、二烷基胺、三烷基胺、取代的烷基胺、二(取代的烷基)胺、三(取代的烷基)胺、烯基胺、二烯基胺、三烯基胺、取代的烯基胺、二(取代的烯基)胺、三(取代的烯基)胺、环烷基胺、二(环烷基)胺、三(环烷基)胺、取代的环烷基胺、二取代的环烷基胺、三取代的环烷基胺、环烯基胺、二(环烯基)胺、三(环烯基)胺、取代的环烯基胺、二取代的环烯基胺、三取代的环烯基胺、芳基胺、二芳基胺、三芳基胺、杂芳基胺、二杂芳基胺、三杂芳基胺、杂环胺、二杂环胺、三杂环胺、混合的二胺和三胺(其中所述胺的至少两个取代基是不同的并且是烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、杂芳基或杂环等)。还包括其中两个或三个取代基与氨基氮一起形成杂环或杂芳基的胺。胺的非限定性例子包括异丙胺、三甲胺、二乙胺、三(异丙基)胺、三(正丙基)胺、乙醇胺、2-二甲氨基乙醇、氨基丁三醇、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、哈胺(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、1,2-乙二胺、葡糖胺、N-烷基葡糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、吗啉、N-乙基哌啶等。还应理解，其他羧酸衍生物是有用的，例如羧酸酰胺，包括碳酰胺、低级烷基碳酰胺、二烷基碳酰胺等。

式 I 的化合物可以被配制成药物组合物，且以多种适合于所选的施用途径的形式被施用至哺乳动物(如人类患者)，例如口服或胃肠外，通过静脉内，肌内，局部或皮下途径。

因此，本化合物可以与药学上可接受的媒介物(如惰性的稀释剂或可同化的可食用的载体)组合被全身施用，例如口服。它们可以被封装在硬或软

壳明胶胶囊，可以被压制成片剂，或可以直接与患者饮食的食物掺合。对于口服治疗施用，所述活性化合物可以与一种或多种赋形剂组合，并以可摄取的片剂、口含片、锭剂、胶囊、酏剂、悬浮剂、糖浆、糯米纸(wafer)等形式使用。此组合物和制剂应包含至少约 0.1%活性化合物。当然，所述组合物和制剂的百分比可以是不同的，且可以适宜地是在给定的单位剂型的重量的约 2%至约 60%之间。在此治疗有用的组合物中活性化合物的量是以使获得有效剂量水平的量。

所述片剂、锭剂、丸剂、胶囊等还可以包含下述：粘合剂如西黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；赋形剂如磷酸氢钙，崩解剂如玉米淀粉、马铃薯淀粉、海藻酸等；润滑剂如硬脂酸镁；和甜味剂如蔗糖、果糖、乳糖或阿斯巴甜、或调味剂如薄荷、冬青油、樱桃香料可以被添加。当单位剂型是胶囊时，则它可以包含除上述类型的材料之外的液体载体，如植物油或聚乙二醇。各种其他的材料可以以包衣存在，或另外地调整所述固体单位剂量的物理形式。例如，片剂、丸剂或胶囊可以用明胶、蜡、虫胶和糖等来包衣。糖浆和酏剂可以包含活性化合物、作为调味剂的蔗糖或果糖、作为防腐剂的尼泊金甲酯和尼泊金丙酯、染料和如樱桃或桔子香料的调味剂。当然，在制备任何单位剂型中使用的任何材料应该是药学上可接受的且以使用的量基本上是无毒的。此外，所述活性化合物可以被掺合至持续释放制剂和装置。

活性化合物还可以通过输注或注射被静脉内或腹膜内施用。所述活性化合物或其盐的溶液可以在水中任选地与无毒的表面活性剂混合来制备。悬浮剂还可以在甘油、液体聚乙二醇、三醋精及其混合物和油中制备。在普通的贮存和使用条件下，这些制剂包含预防微生物生长的防腐剂。

示例性的用于注射或输注的药物剂型可以包括无菌的水溶液或分散体或无菌的粉末，其包含适合于无菌可注射的或可输注的溶液或分散体、任选地包封于脂质体中的临时制剂的活性成分。在所有情况中，在制备和贮存条件下最终的剂型应该是无菌的、流体的和稳定的。初期的液体或媒介物可以是溶剂或液体分散体介质，其包括水、乙醇或多元醇(例如甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、植物油、无毒的甘油酯及其混合物。合适的流

动性可以例如通过脂质体的形成、通过在分散体的情况下保持所需的粒度或使用表面活性剂来保持。微生物的预防作用可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂例如尼泊金类、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等而产生。在很多例子中，优选包括等渗剂(isotonic agent)，例如糖、缓冲剂或氯化钠。可注射的组合物的延长吸收可以通过在延迟吸收的试剂组合物(例如单硬脂酸铝和明胶)中的使用而产生。

通过将活性化合物在适当的溶剂中以必需的量与各种其他上文列举的成分(如必需)掺合、然后过滤灭菌，制备无菌的可注射的溶液。在用于制备无菌可注射的溶液的无菌粉末的情况下，优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术，这得到活性成分加上任何其他在之前无菌过滤的溶液中存在的所需的成分的粉末。

对于局部施用，例如当它们是液体时，本化合物可以以纯化的形式应用。然而，通常希望以与皮肤病学上可接受的载体组合的组合物或制剂的形式(可以是固体或液体)施用它们至皮肤。

示例性的固体载体包括细分的固体，如滑石、黏土、微晶纤维素、二氧化硅、氧化铝等。有用的液体载体包括水、醇或二醇或水-醇/二醇混合物，其中本化合物可以任选地借助于无毒的表面活性剂以有效的浓度溶解或分散。可以添加佐剂如香料和其他的抗微生物剂以优化给定的用途的性质。所得的液体组合物可以由吸收垫(pad)应用、用于浸渍绷带和其他敷料、或使用泵类型或气溶胶喷雾器在受影响的区域上喷雾。

增稠剂如合成聚合物、脂肪酸、脂肪酸盐及酯、脂肪醇、改性纤维素和改性矿物材料还可以与液体载体使用，以形成直接应用至使用者的皮肤的可分散的糊剂、凝胶、软膏、肥皂等。

可以使用递送式 I 的化合物至皮肤的有用的皮肤病学组合物的例子是本领域已知的；例如，参见 Jacquet 等(美国专利第 4,608,392 号)、Geria (美国专利第 4,992,478 号)、Smith 等(美国专利第 4,559,157 号)和 Wortzman (美国专利第 4,820,508 号)。

式 I 的化合物的有用的剂量可以通过比较其体外活性和动物模型中的体内活性来检测。用在小鼠和其他动物中的有效剂量对人类的外推(extrapolation)的方法是本领域已知的；例如参见美国专利第 4,938,949 号。

通常，式 I 的化合物在液体组合物(洗剂)中的浓度为从约 0.1 至约 25 重量百分比，优选从约 0.5-10 重量百分比。在半固体和固体组合物(如凝胶和粉末)中的浓度基于组合物的总重为约 0.1-5wt%，优选约 0.5-25 重量百分比。

所述化合物或其活性盐或衍生物在治疗中使用必需的量不仅随所选的具体盐、而且随施用的途径、所治疗病症的性质和患者的年龄与情况而改变，并且最终在于巡视医生或临床医生的判断。但是，通常来说，剂量是在每天约 0.1 至约 10 mg/kg 体重的范围内。

所述化合物适宜以单位剂型施用；例如每单位剂型包含 5 至 1000 mg、适宜 10 至 750 mg、最适宜 50 至 500 mg 的活性成分。

理想地，应该施用从约 1.0 至约 1000 纳摩尔、优选约 10 至 500 纳摩尔、最优选约 25 至 200 纳摩尔的所述活性成分以实现活性化合物的峰血浆浓度。这可以实现，例如通过静脉内注射活性成分的 0.05 至 5% 溶液(任选地在盐水中)或口服施用包含约 1-100 mg 的活性化合物的大丸剂。可以通过提供约 0.01-5.0 mg/kg/小时活性成分连续输注或通过包含约 0.4-15 mg/kg 活性成分的间隔输注，来保持期望的血液浓度。

期望的剂量可以适宜地以单剂量存在或在适当的间隔以分开的剂量施用，例如每天两次、三次、四次或更多次亚剂量。所述亚剂量本身可以进一步分开，例如分开至许多次分离的间隔宽松的施用；如从吸入器多次吸入或通过应用很多次点滴至眼睛。

本公开方法包括试剂盒，其包含式 I 的抑制剂化合物和描述将所述抑制剂化合物或包含所述抑制剂化合物的组合物施用至细胞或受治疗者的指导性材料。应理解，这包括本领域技术人员已知的其他的试剂盒实施方案，如包含在将该化合物或组合物施用至细胞或受治疗者前、溶解或悬浮

该抑制剂化合物或组合物的(优选无菌的)溶剂的试剂盒。优选,所述受治疗者是人。

根据在上文所述或在下面实施例中所讨论的公开化合物和方法,可以使用本领域技术人员已知的常规的化学、细胞、组织化学、生物化学、分子生物学、微生物学和体内技术。在文献中完全地解释这些技术。

如没有进一步的描述,应认为,本领域普通技术人员可以使用前述的说明和下述示例性的实施例,制备和利用本公开化合物。

制备式 I 的化合物和制备用于治疗式 I 的化合物的中间体的方法以更多的实施方案提供。用于制备式 I 的化合物的中间体也以更多的实施方案提供。该方法以更多的实施方案提供,并在路线中示例,其中通用基团的含义按上文给定,除非另有限定。

现在参考下述的实施例和实施方案描述本发明。如没有进一步说明,应认为,一个本领域普通技术人员可以使用前述的说明和下述示例性的实施例,制备和利用本公开化合物。因而,这些操作的实施例仅出于示例的目的而提供,并特别指出优选的实施方案,且不应被解释为以任何方式限制本公开物的剩余部分。因此,该实施例应被解释为包括由于本说明书的教导而变得明显的任何和所有变化。

在表 1 中上文提出的公开化合物可以通过在路线 1(图 1)和路线 2(图 2)中说明的途径来合成。在路线 1 中,合成的关键步骤涉及 4-氰基苯基硼酸,1 与环戊酮,2 的初始偶合与随后转化以化合物 C 显示的化合物 A 的腈。化合物 C 可以转化成化合物 VIII。

以类似的方式,可以制备 XI 的环戊酮中间体。此顺序的变化可以产生 XII 和 XIII 的前体。使用从对上文所述的合成方案的改进获得的苯酚,可以合成适当的 IX 和 X 的中间体环戊酮化合物。

在路线 2 中关键的步骤涉及使用 4-叔丁基二甲基硅氧基苯基(tertbutyldimethylsilyloxyphenyl)硼酸制备酚式环戊酮。在生成期望的环戊酮中间体后,羰基官能度被加工成下面所述的 1-氨基-1-羟甲基单位。

实施例

实施例 1: 3-(4'-氰基苯基)环戊酮(化合物 A).

在氮气下将乙酸钪(II)(0.23 g, 0.1 当量)和氯化铈(III)(0.23 g, 0.1 当量)加至 80 mL 含有 2-环戊-1-酮,2(0.82 g, 10 mmol)、乙酸钠(1.6 g, 20 mmol)和 4-氰基苯基硼酸,1(1.46 g, 10 mmol)的乙酸溶液。在 25℃下搅拌 24 小时后,滤除黑色沉淀,滤液用 250 mL 盐水稀释,然后用 50 mL 二氯甲烷萃取两次。用饱和碳酸氢盐溶液搅拌有机层 30 分钟,然后用盐水洗涤, MgSO_4 干燥。去除溶剂并色谱分析,提供化合物 A。

实施例 2: 3-(4'-羟基苯基)环戊酮.

在氮气下将乙酸钪(II) (0.23 g, 0.1 当量)和氯化铈(III) (0.23 g, 0.1 当量) 80 mL 含有 2-环戊-1-酮,2(0.82 g, 10 mmol)、乙酸钠(1.6 g, 20 mmol)和 4-叔丁基二甲基硅氧基苯基硼酸,4(2.54 g, 10 mmol)的乙酸溶液。在 25℃下搅拌 24 小时后,滤除黑色沉淀,滤液用 250 mL 盐水稀释,然后用 50 mL 二氯甲烷萃取两次。用饱和碳酸氢盐溶液搅拌有机层 30 分钟,然后用盐水洗涤, MgSO_4 干燥。去除溶剂并色谱分析,提供 3-(4'-羟基苯基)环戊酮。

实施例 3: 3-(4'-醛肟基苯基(Aldoximinophenyl))环戊酮(化合物 B).

将化合物 A(1.0 mmol)溶解于 95%乙醇(1.5 mL)中。加入三乙胺(2.3 mmol)和盐酸羟胺(2.2 mmol),然后将所述反应混合物加热至约 75℃,保温 3 小时。可以通过 TLC 监控反应进程。通常,约 3 小时后,没有起始腈残留,将溶液浓缩至浆,并从水或有机溶剂。过滤固体,用冷水洗涤,并真空干燥,提供粗产物,其可以不作进一步纯化而用于下一步骤。

实施例 4: 3- {4-[5-(4-异丁基-苯基)-[1,2,4]噁二唑-3-基]-苯基}-环戊酮(化合物 C).

将六氟磷酸(苯并三唑-1-基氧基)三吡咯烷基磷(PyBOP)(0.150 mmol)和二异丙基乙胺(0.150 mmol)加至 4-异丁基苯甲酸,3(0.150 mmol)在干燥的二氯甲烷(4 mL)中的溶液,然后再加入醛肟基苯基衍生物(化合物 B)(0.150 mmol)。在室温下搅拌反应 12-16 小时。混合物用二乙醚(15 mL)稀释,用

饱和氯化铵水溶液(2 X 5 mL)、盐水(5 mL)洗涤,并真空浓缩。通过柱色谱法纯化目标化合物。

实施例 5: 3-(4'-取代的苯基)环戊酮中间体至化合物 VIII-XIII 的转化.

通过在国际专利申请 WO2006/088944 A1 第 37-39 页中所述的 3 步操作,按路线 1 描述的顺序合成的环戊酮中间体可以转化至 1-氨基-1-羟甲基-3-(4'-取代的苯基)环戊烷(化合物 VIII-XIII)。图 3 中化合物 VIII 的合成示例了此操作。通过类似的方法,可以转化环戊酮前体至 IX-XIII。

步骤 1: 1-氨基-3-(4'-取代的苯基)环戊烷腈(路线 3: 化合物 D).

将环戊酮中间体(11.8 mmol)、氰化钠(15 g, 23.5 mmol)和氯化铵(1.25 g, 23.5 mmol)加至 20 mL 氢氧化铵水溶液。剧烈搅拌混合物过夜。完成后,反应混合物用 10 mL 二氯甲烷萃取两次。硫酸镁干燥有机萃取液,浓缩,提供氨基腈 D。粗产物不作进一步纯化而用于下一步骤。(参见例如 *J. Med. Chem.*, **1986**, 29, 1988-1995.)

以类似的方式,可以制备 XI 的环戊酮中间体。此顺序的变化可以产生 XII 和 XIII 的前体。使用从对上文所述的合成方案的改进获得的苯酚,可以合成适当的 IX 和 X 的中间体环戊酮化合物。

步骤 2: 1-氨基-3-(4'-取代的苯基)环戊烷羧酸(路线 3: 化合物 E).

将步骤 1 的粗产物(~11.2 mmol)和 50 mL 浓盐酸加热至约 70°C,并在氩或氮气气氛下搅拌过夜。将所得的水溶液蒸发至干。加入 10 mL 水,再干燥溶液。此过程重复两次。用冷水和丙酮洗涤粗产物,提供化合物 E。

步骤 3: [1-氨基-3-(4'-苯基)环戊基]甲醇(路线 3: 化合物 F).

将步骤 2 的产物(0.20 mmol)和硼氢化钠(27 mg, 0.6 mmol)溶解于 3 mL 四氢呋喃中。在溶液冷却至约 0°C 后,逐滴添加溶解于 1 mL THF 的 51 mg (0.2 mmol)碘。反应容器配有冷凝器,在氩气下加热反应混合物回流 5 小时。过量的硼氢化钠用甲醇淬灭。通过真空蒸发去除溶剂,加入 2 mL 水和 5 mL 二氯甲烷,并搅拌混合物约 1 小时。收集有机层,水层用二氯甲

烷萃取两次。干燥合并的有机萃取液，并浓缩，提供粗产物。通过柱色谱法进一步纯化提供纯化的化合物。

步骤 4: 转化至磷酸酯(路线 3: 化合物 G)

通过下列操作可以将醇 VIII-XIII 转化至相应的磷酸酯。将 1 mL 85% 磷酸水溶液缓慢地加至 0.5 g 五氧化二磷，在氮气下于 100°C 加热 1 小时。将另一份 0.5 g 五氧化二磷和 30 mg 醇 VIII(或 IX-XIII)加至混合物，再加热反应 5 小时。冷却至室温后，将 10 mL 冰水加至反应混合物。以沉淀物的形式收集产物，并用水洗涤，然后真空干燥。

下面的测定是本领域已知的标准文献报道的测定，用于确证和定量本公开化合物的活性。

实施例 6: 鞘氨醇激酶测定

通过将有关的质粒 DNA 转染至 HEK293T 或 CHO K1 细胞而促成小鼠或人重组酶的表达，制备重组的鞘氨醇激酶 2 型(SPHK2)。约 60 小时后，收获并破裂细胞，保留非微粒体(例如可溶的)部分。将含有重组酶的破裂细胞的上清液与试验化合物(FTY720, AA151, VIII 和 XVIII)(5-50 微摩尔)和 γ -³²P-ATP 混合，并在 37°C 下孵化 0.5-2.0 小时。将反应混合物中的脂质萃取至有机溶剂，并通过正相薄层层析法显示。通过放射自显影术检测放射标记的带(band)，从板中刮落(scrape)，并通过闪烁计数法定量。试验化合物以约 50 μ M 的浓度使用，孵化时间为约 20 分钟。

实施例 7: GTP γ S-35 结合测定

此测定法示例了分离的 G 蛋白偶联受体(GPCR)的激动剂活化作用。通过将所述细胞与四个编码各自蛋白质的质粒 DNA 转染，此测定法促成重组的 GPCR(例如 S1P1-5 受体)与 HEK293T 细胞中异源三聚 G 蛋白的 3 个亚基(通常 α -i2、 β -1 和 γ -2)的每个的同时表达。转染约 60 小时后，收获并破裂细胞，清除细胞核，粗微粒体从剩余物制备。受体 G 蛋白络合物在微粒体上的激动剂(例如 S1P)刺激导致以剂量依赖的方式在 α -亚基上 GTP 对于 GDP 的交换。使用 GTP 类似物(GTP γ S-35)，检测 GTP-结合的 α -亚基，所述 GTP 类似物是不水解成 GDP 的放射性核素(硫-35)标记的硫代磷酸酯。

通过过滤收集微粒体与附着的 G 蛋白，且结合的 GTP γ S-35 在闪烁计数器中定量。该测定法获得相对功效(EC₅₀ 值)和最大的效应(效能 E_{max})。在固定量的拮抗剂的存在下，拮抗剂活性被检测为激动剂剂量-响应曲线中的向右转移。如果所述拮抗剂竞争性地表现，那么可以确定受体/拮抗剂对(K_i)的亲和力。在 Davis, M.D., JJ. Clemens, T.L. Macdonald 和 K.R Lynch (2005) "S1P Analogs as Receptor Antagonists(S1P 类似物作为受体拮抗剂)" Journal of Biological Chemistry, 第 280 卷,第 9833-9841 页中描述所述测定法。

实施例 8: 淋巴细胞减少症测定

将化合物(例如伯醇试验化合物)溶解于 2%羟丙基 β -环糊精，并通过口服管饲法以 0.01、1.0 和 10 mg/kg 体重的剂量引入小鼠组。间隔一段时间，例如 24 小时、48 小时或 96 小时，轻微地麻醉小鼠，从眶窦中抽取约 0.1 mL 血液。使用 Hemavet 血液分析仪，检测淋巴细胞的数目(以每微升血液千数计，正常是 4-11)。

实施例 9: 心率测定

用试验化合物(静脉内，3 mg/kg)或媒介物(2%羟丙基 β -环糊精)对小鼠给药，给药后 1 小时测量心率。使用 ECGenie™系统在无限制的有意识的动物中捕获心率。

本发明不应该解释为仅限于上文描述的测定和方法，但应该解释为也包括其他方法和测定。使用的但上文未描述的其他方法是众所周知的，并在一个化学、生物化学、分子生物学和临床医学领域普通技术人员的能力之内。一个本领域普通的技术人员将理解，其他测定和方法可用于执行上文描述的操作。

上文使用的缩写具有它们在临床、化学和生物学领域常规的含义。在任何不一致的情况下，其中包括任何定义的本发明公开物将占优势。

在本说明书引用的每个专利、专利申请和出版物的公开物在此将其全部内容通过引用明确并入本公开物。讨论了本公开物的示例性实施方案，并且提及了在本公开范围内的可能变化。不背离本公开范围的这些和其他

的变化和调整对本领域技术人员是显而易见的，并且应理解，本说明书和下面所述的权利要求并不限于本文列出的示例性实施方案。

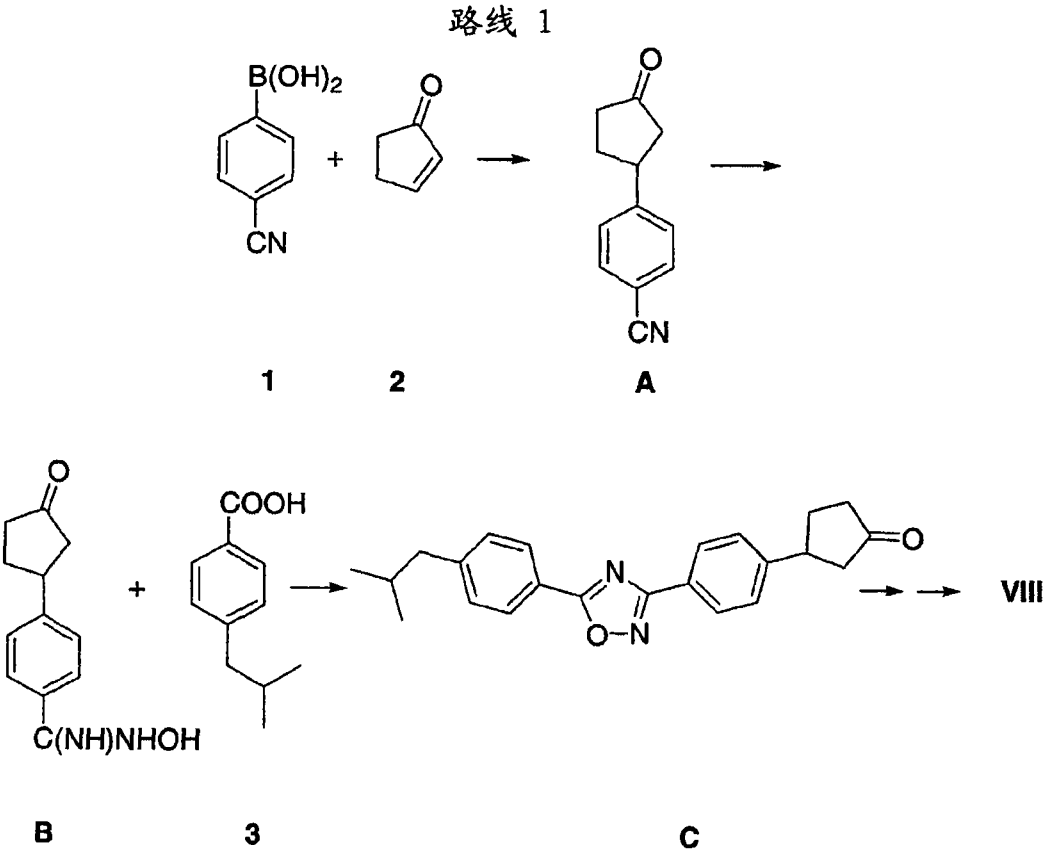


图1

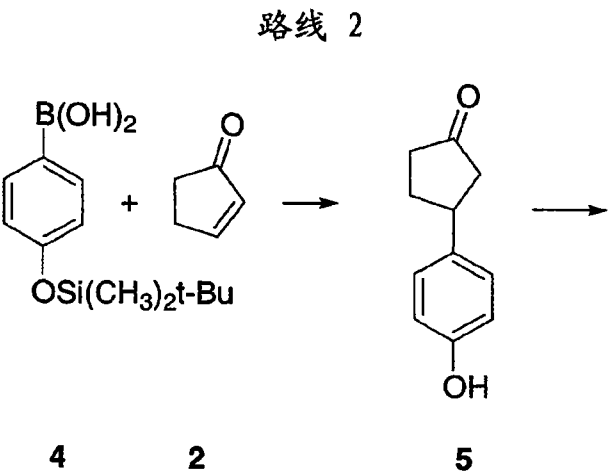


图2

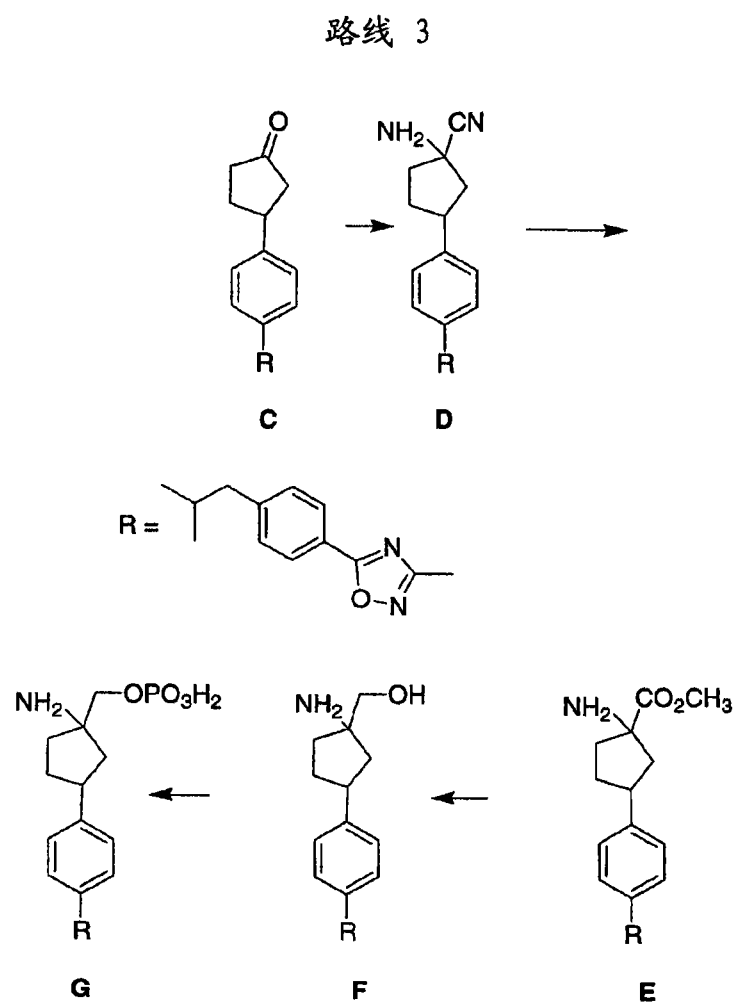


图 3