



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118908961 A

(43) 申请公布日 2024. 11. 08

(21) 申请号 202410783264.2

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2019.03.05

C07D 487/04 (2006.01)

(30) 优先权数据

C07D 487/14 (2006.01)

62/638448 2018.03.05 US

A61K 31/551 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

A61P 9/10 (2006.01)

201980030356.0 2019.03.05

A61P 3/10 (2006.01)

(71) 申请人 金翅雀生物公司

A61P 25/22 (2006.01)

地址 美国马萨诸塞州

A61P 25/24 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(72) 发明人 M·H·丹尼尔斯 M·余

J·C·P·哈曼奇 T·T·狄碧奇

M·W·勒德贝尔 N·A·卡斯尔

G·马罗琦琦

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

专利代理师 李进 彭昶

权利要求书6页 说明书64页

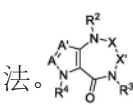
序列表(电子公布)

(54) 发明名称

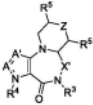
咪唑并二氮杂卓二酮和其使用方法

(57) 摘要

本发明涉及咪唑并二氮杂卓二酮和其使用方法。公开了根据式(I)或(II)的化合物,和包含所述化合物的药物组合物。还公开了例如使用所述式(I)或(II)的化合物来治疗肾病的治疗方法。

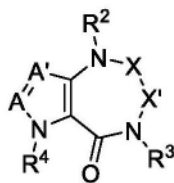


(I)

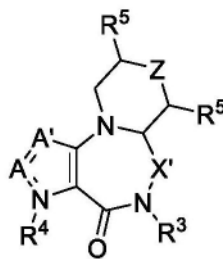


(II)

1. 一种式 (I) 或 (II) 的化合物, 或其互变异构体或药学上可接受的盐,



(I)



(II)

其中

A' 为 N 并且 A 为 CR; 或者 A 为 N 并且 A' 为 CR;

R 为 L-R¹;

L 为 O、CH₂、SO₂ 或 NR², 或不存在;

R¹ 选自任选地取代的烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基, 并且当 L 不存在时, R¹ 另外选自 H;

每个 R² 独立地为烷基或 H;

R³ 选自任选地取代的烷基、任选地取代的亚烷基-OR²、任选地取代的亚环烷基-OR²、任选地取代的亚烷基-N(R⁷)₂、任选地取代的亚环烷基-N(R⁷)₂、任选地取代的亚烷基-C(O)N(R²)₂、任选地取代的亚环烷基-C(O)N(R²)₂、任选地取代的亚烷基-S(O)₂N(R²)₂ 和任选地取代的亚环烷基-S(O)₂N(R²)₂;

R⁴ 选自任选地取代的亚烷基-芳基、烷基和任选地取代的亚烷基-杂芳基;

每个 R⁵ 独立地选自 H、N(R²)₂、OR²;

每个 R⁷ 独立地选自 H、烷基、(烷基)C(O)-、(芳基)C(O)-、(烷基)S(O)₂- 和 (芳基)S(O)₂-;

X 为 -C(O)-、CH₂、CHR⁶、C(R⁶)₂;

每个 R⁶ 独立地选自烷基和任选地取代的亚烷基-OH;

X' 为 -C(O)-、CH₂、CHR^{3'}、C(R^{3'})₂, 或 X' 连同 R³ 一起形成 5 元或 6 元环;

每个 R^{3'} 独立地选自任选地取代的烷基、任选地取代的亚烷基-OR²、任选地取代的亚环烷基-OR²、任选地取代的亚烷基-N(R⁷)₂、任选地取代的亚环烷基-N(R⁷)₂、任选地取代的亚烷基-C(O)N(R²)₂、任选地取代的亚环烷基-C(O)N(R²)₂、任选地取代的亚烷基-S(O)₂N(R²)₂ 和任选地取代的亚环烷基-S(O)₂N(R²)₂; 并且

Z 不存在, 为 CH₂、CHR⁵、O、-NR²- 或 -SO₂-;

条件是 X 和 X' 不都为 -C(O)-, 并且当 Z 为 O、NR 或 SO₂ 时, R⁵ 为 H。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 A 为 CR 并且 A' 为 N。

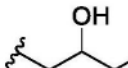
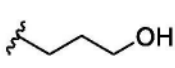
3. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 L 为 O。

4. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R¹ 为经一个或多个独立地选自以下的取代基取代的苯基: 卤素、-CF₃、-C(H)F₂ 和 -OCF₃。

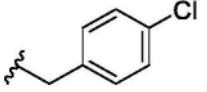
5. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R¹ 为任选地取代的烷基。

6. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中式 (I) 中所述的 R² 为烷基。

7. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R³ 为任选地取代的亚烷基-OH。

8. 如权利要求7所述的化合物, 其中 R^3 选自  和 。

9. 如权利要求1所述的化合物, 其中 R^4 为任选地取代的亚烷基-芳基, 其中亚烷基-芳基的芳基为经一个或多个出现的卤素取代的苯基。

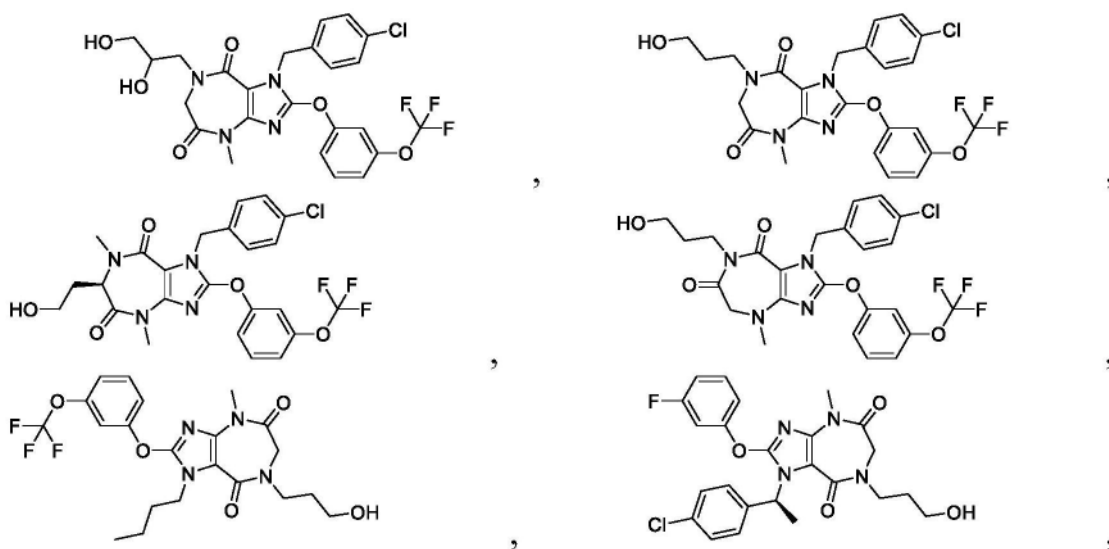
10. 如权利要求9所述的化合物, 其中 R^4 为 。

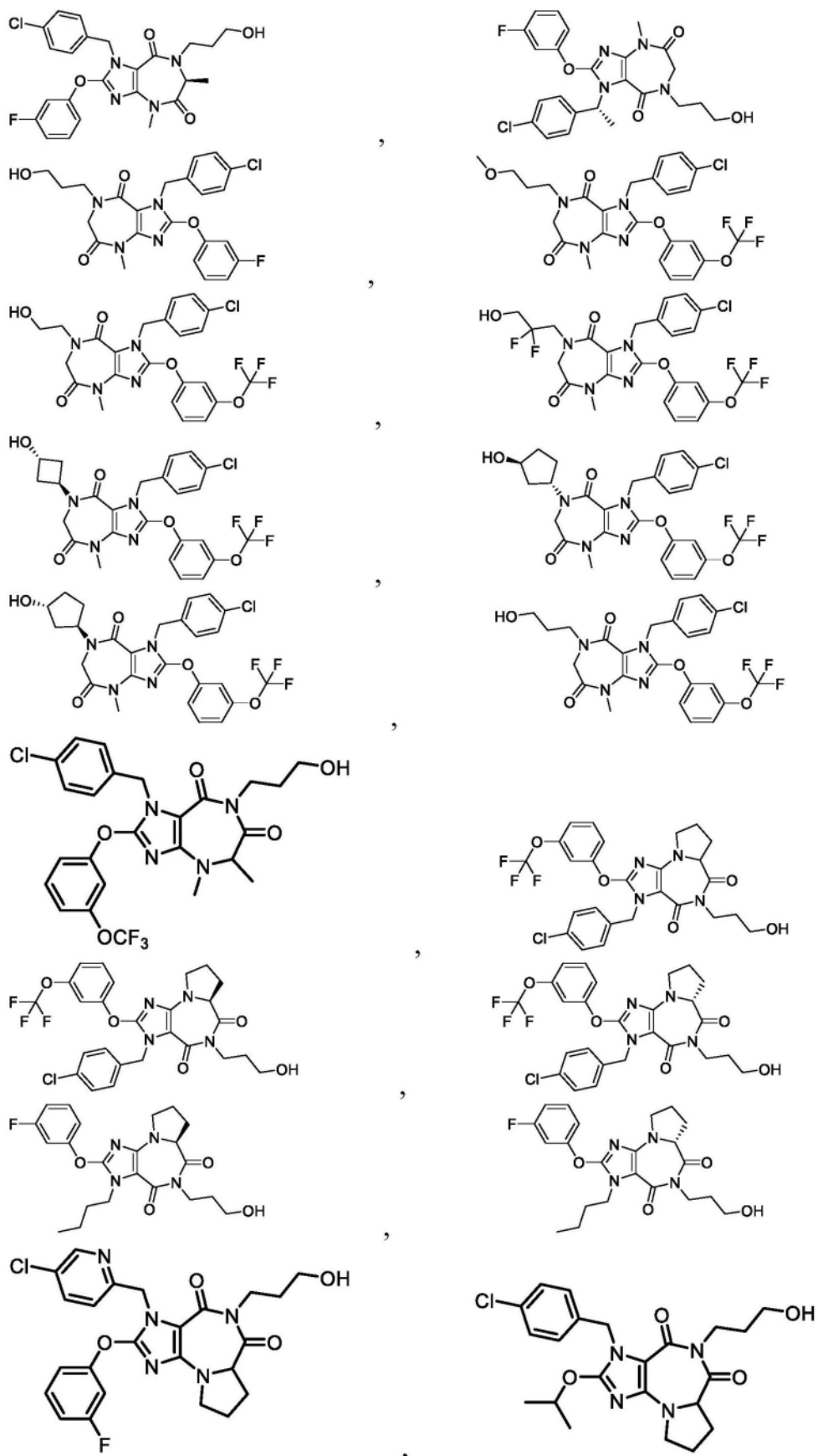
11. 如权利要求1所述的化合物, 其中每个 R^5 为H。

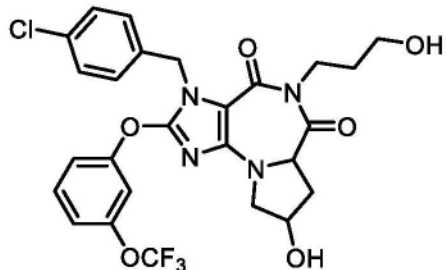
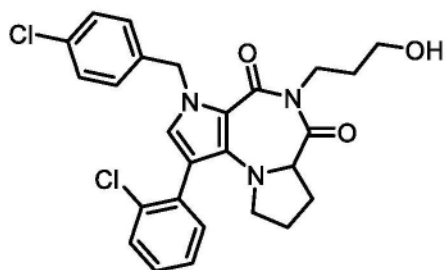
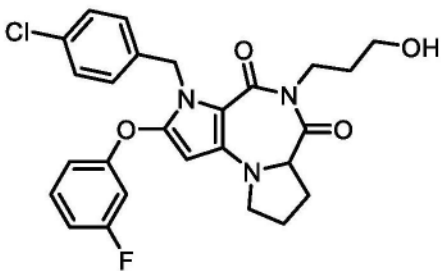
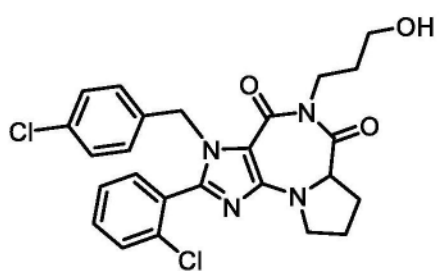
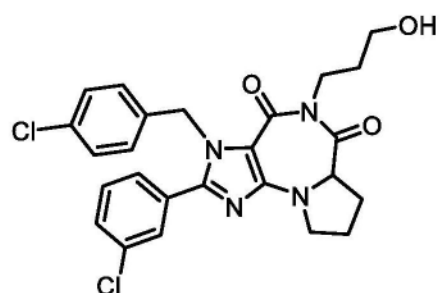
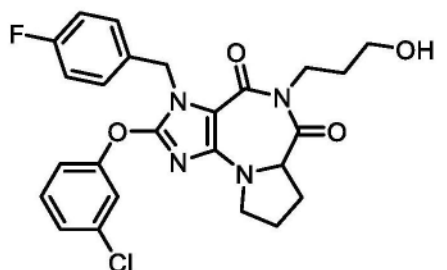
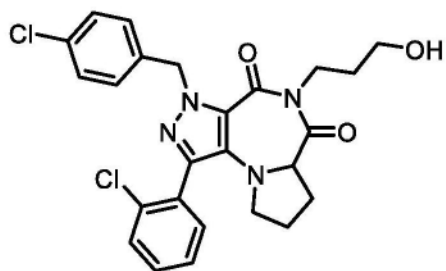
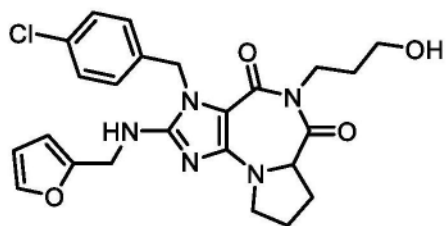
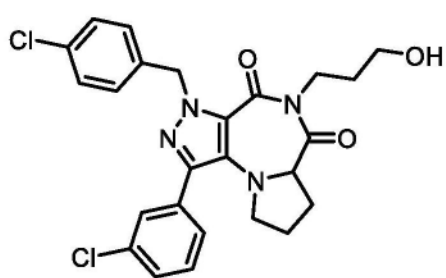
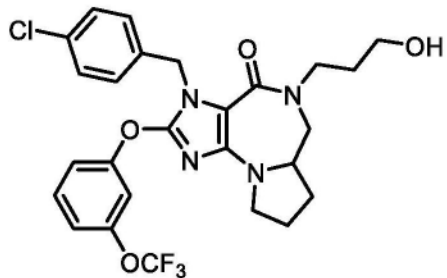
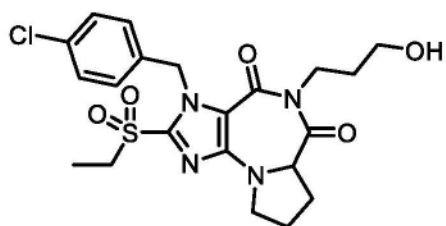
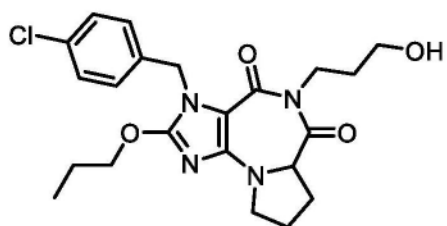
12. 如权利要求1所述的化合物, 其中X为-C(0)-并且X'为 CH_2 ; 或者X为 CH_2 并且X'为-C(0)-。

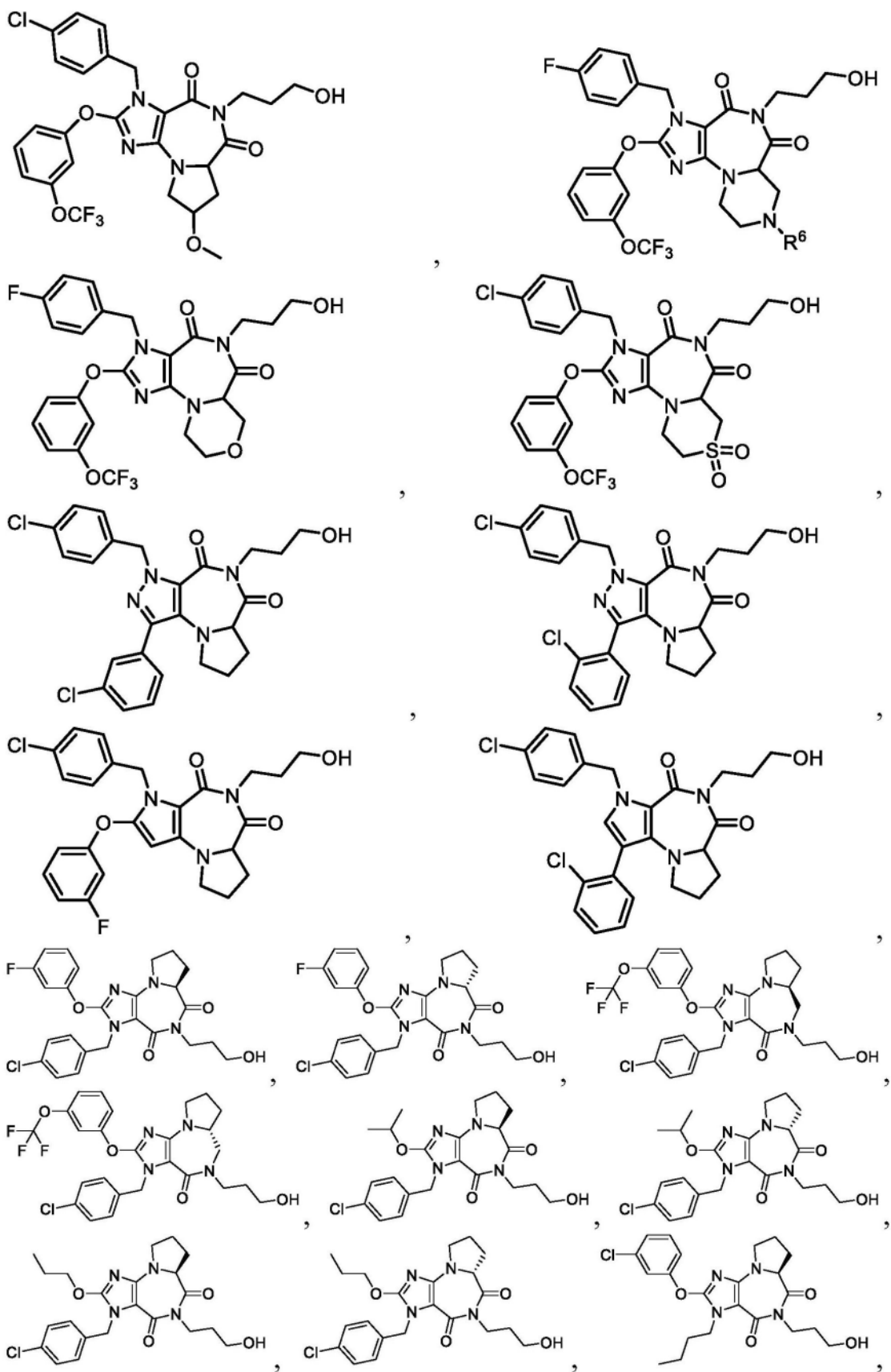
13. 如权利要求1所述的化合物, 其中Z不存在。

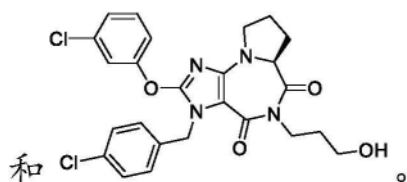
14. 如权利要求1所述的化合物, 其中所述化合物选自:











15. 一种组合物, 所述组合物包含如权利要求1-14中任一项所述的化合物或其互变异构体或药学上可接受的盐和药学上可接受的赋形剂。

16. 如权利要求1-14中任一项所述的化合物在制备用于治疗肾病、糖尿病性视网膜病、焦虑症、抑郁症或癌症的药物中的用途。

17. 如权利要求16所述的用途, 其中所述肾病是局灶节段性肾小球硬化 (FSGS)、糖尿病肾病、奥尔波特综合征、高血压肾病、肾病综合征、类固醇抵抗型肾病综合征、微小病变、膜性肾病、特发性膜性肾病、膜增生性肾小球肾炎 (MPGN)、免疫复合物介导的MPGN、补体介导的MPGN、狼疮性肾炎、感染后肾小球肾炎、薄基底膜病、系膜增生性肾小球肾炎、淀粉样变性 (原发性)、c1q肾病、快速进行性GN、抗GBM病、C3肾小球肾炎、高血压肾硬化、IgA肾病、蛋白尿性肾病、微量白蛋白尿或大量白蛋白尿肾病。

咪唑并二氮杂卓二酮和其使用方法

[0001] 本申请是申请日为2019年3月5日,申请号为201980030356.0,发明名称为“咪唑并二氮杂卓二酮和其使用方法”的发明专利申请的分案申请。

背景技术

[0002] 蛋白尿是血液中过量的蛋白质渗漏至尿中的一种疾患。蛋白尿可能从24小时时间段内尿中30mg蛋白质的损失(称为微量白蛋白尿)进展至>300毫克/天(称为大量白蛋白尿),然后在24小时时间段内达到3.5克蛋白质或更多的水平,或正常量的25倍。当肾小球中机能失调时发生蛋白尿,这引起流体堆积在体内(水肿)。已经显示长期蛋白质渗漏引起肾衰竭。肾病综合征(NS)占普遍终末期肾病病例的大约12%,在美国,每年的费用超过30亿美元。每年每100,000名儿童中大约5名经诊断患有NS,并且今天每100,000名儿童中有15名忍受着这种疾患。即使是对治疗积极反应的患者,复发的频率也极其高。患有肾病综合征的儿童中约90%将对治疗作出反应;然而,估计75%将复发。因此,需要更有效的治疗肾病、例如蛋白尿,或降低显现肾病、例如蛋白尿的风险的方法。

[0003] 哺乳动物TRP通道蛋白形成六次跨膜阳离子可渗透通道,根据氨基酸序列同源性,它们可以分成六个子族(TRPC、TRPV、TRPM、TRPA、TRPP和TRPML)。TRP通道的近来研究表明其与许多基本细胞功能有关,并且被认为在许多疾病的病理生理学中起重要作用。许多TRP在肾脏中沿着肾单位的不同部分表达,并且越来越多的证据表明这些通道与遗传性肾病以及后天性肾病有关。举例来说,TRPC6、TRPM6和TRPP2分别引起遗传性局灶节段性肾小球硬化(FSGS)、低镁血症伴继发性低钙血症(HSH)和多囊肾病(PKD)。还报告TRPC5促进作为调控先天恐惧反应基础的机制。(J Neurosci. 2014年3月5日;34(10):3653-3667)。

[0004] 因此,需要TRPC5的另外的抑制剂。

发明内容

[0005] 本发明至少部分地基于以下发现:瞬时受体电位阳离子通道亚家族C成员5(TRPC5)活性消除肌动蛋白应力纤维并减少粘附斑形成,提供活动的迁移足细胞表型。

[0006] 在一方面,本发明涉及小分子TRPC5调节剂。

[0007] 在一些实施方案中,本发明涉及小分子TRPC5抑制剂和这类抑制剂在治疗肾病(例如蛋白尿、微量白蛋白尿、大量白蛋白尿)、焦虑症、抑郁症或癌症或者降低显现所述疾病的风险的方法中的用途,所述方法包括向有需要的受试者施用。

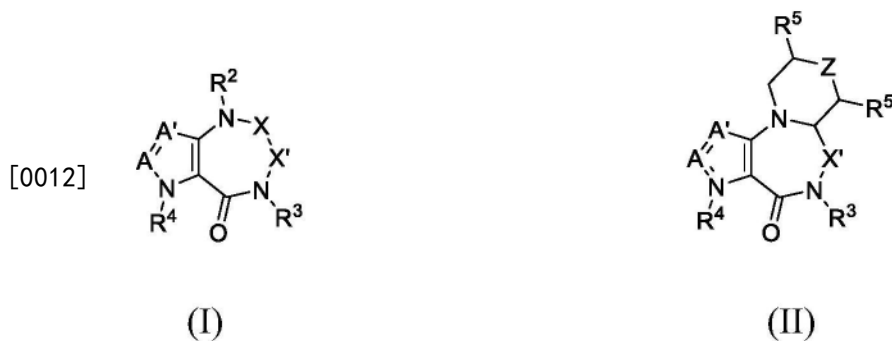
[0008] 在一些实施方案中,本发明涉及小分子TRPC5激动剂和这类激动剂在治疗肥胖症或降低显现肥胖症的风险的方法中的用途。

[0009] 小分子配体与蛋白质的相互作用可产生激动剂或拮抗剂(抑制)活性。产生激动或拮抗活性的结构决定因素常常没有充分了解清楚。在数十年研究期间,已经在多个病例中观察到密切相关的分子、甚至是对映异构体对其生物靶标的活性的相反作用。这在例如离子通道和GPCR的膜信号传导蛋白中尤其常见(X.Huang等人,ACS Med.Chem.Lett. 2018,9, 679-684;R.Recio等人,Eur J Med Chem 2017,138,644-660;Y.Kim等人,Eur J Med Chem

2016,123,180-190)。这种行为的实例包括调节钙通道,例如DHP受体(G.C.Rovnyak等人,J Med Chem.1995,38(1):119-29,来自Neil的电子邮件)、心脏细胞中的钙通道(RS Kass, Circ Res 1987,61(4Pt 2)、I1-5等等(R.P.Hof等人,JCardiovasc Pharmacol.1985,7(4):689-93)。这些参考文献突出小的结构特征如何控制化合物充当激动剂还是拮抗剂。最近,描述了TRPC1/4/5通道的这类现象(H.N.Rubaiy等人,Br J Pharmacol.2018,175(5):830-839.doi:10.1111/bph.14128.Epub 2018年1月25日)。根据这类文献的报告,发现本文所述的式I和式II包括激动剂和抑制剂两种。本领域的一般技术人员容易通过在本文所述的FLIPR测定或能够确定化合物是TRPC5抑制剂还是TRPC5激动剂的任何其它测定中测试化合物来确定式I或式II的化合物是TRPC5激动剂还是抑制剂。

[0010] 上述治疗方有效用于多个受试者,包括哺乳动物,例如人类和其它哺乳动物,例如小鼠、大鼠、兔和猴,以及家养和农场哺乳动物,例如猫、犬、山羊、绵羊、猪、母牛或马。

[0011] 在一些实施方案中,本发明的化合物为式(I)或(II)的化合物,或其药学上可接受的盐;



[0013] 其中

[0014] A和A'独立地选自CR和N;

[0015] R为L-R¹;

[0016] L不存在,为CH₂、O、SO₂或NR²;

[0017] R¹选自任选地取代的烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基;

[0018] 每个R²独立地为H或烷基;

[0019] R³选自任选地取代的烷基、任选地取代的亚烷基-OR²、任选地取代的亚环烷基-OR²、任选地取代的亚烷基-N(R⁷)₂、任选地取代的亚环烷基-N(R⁷)₂、任选地取代的亚烷基-C(O)N(R²)₂、任选地取代的亚环烷基-C(O)N(R²)₂、任选地取代的亚烷基-S(O)₂N(R²)₂和任选地取代的亚环烷基-S(O)₂N(R²)₂;

[0020] R⁴选自烷基、任选地取代的亚烷基-芳基和任选地取代的亚烷基-杂芳基;

[0021] 每个R⁵独立地选自H、N(R²)₂、OR²;

[0022] 每个R⁷独立地选自H、烷基、(烷基)C(O)-、(芳基)C(O)-、(烷基)S(O)₂-和(芳基)S(O)₂-;

[0023] X为-C(O)-、CH₂、CHR⁶、C(R⁶)₂;

[0024] 每个R⁶独立地选自H、烷基和任选地取代的亚烷基-OH;

[0025] X'为-C(O)-、CH₂、CHR^{3'}、C(R^{3'})₂,或X'连同R³一起形成5元或6元环;

[0026] 每个R^{3'}独立地选自任选地取代的烷基、任选地取代的亚烷基-OR²、任选地取代的

亚环烷基-OR²、任选地取代的亚烷基-N(R⁷)₂、任选地取代的亚环烷基-N(R⁷)₂、任选地取代的亚烷基-C(O)N(R²)₂、任选地取代的亚环烷基-C(O)N(R²)₂、任选地取代的亚烷基-S(O)₂N(R²)₂和任选地取代的亚环烷基-S(O)₂N(R²)₂;并且

[0027] Z不存在,为CH₂、CHR⁵、O、-NR²-或-SO₂-;

[0028] 条件是X和X'不皆为-C(O)-,并且当Z为O、NR或SO₂时R⁵为H。

[0029] 在一方面,本发明特征在于一种组合物,所述组合物包含式(I)或(II)中任一式的化合物或其药学上可接受的盐;和药学上可接受的赋形剂。

[0030] 在一方面,本发明特征在于治疗肾病、糖尿病性视网膜病、焦虑症、抑郁症或癌症或者降低显现所述疾病的风险的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的式(I)或(II)的化合物。在某些实施方案中,肾病得以治疗或显现肾病的风险得以降低。在某些实施方案中,肾病得以治疗。在某些实施方案中,肾病选自自由以下组成的组:局灶节段性肾小球硬化(FSGS)、糖尿病肾病、奥尔波特综合征(Alport syndrome)、高血压肾病、肾病综合征、类固醇抵抗型肾病综合征、微小病变、膜性肾病、特发性膜性肾病、膜增生性肾小球肾炎(MPGN)、免疫复合物介导的MPGN、补体介导的MPGN、狼疮性肾炎、感染后肾小球肾炎、薄基底膜病、系膜增生性肾小球肾炎、淀粉样变性病(原发性)、c1q肾病、快速进行性GN、抗GBM病、C3肾小球肾炎、高血压肾硬化和IgA肾病。在某些实施方案中,肾病是蛋白尿。在某些实施方案中,肾病为微量白蛋白尿或大量白蛋白尿肾病。

[0031] 在一些实施方案中,本发明特征在于治疗肥胖症或降低显现肥胖症的风险的方法。

[0032] 在某些实施方案中,受试者为哺乳动物。在某些实施方案中,哺乳动物为人。

[0033] 在一些实施方案中,本发明包括向哺乳动物施用式(I)或(II)的化合物并评估化合物对钙转运的作用,其中降低或抑制钙转运的化合物是治疗肾病、焦虑症、抑郁症或癌症或者降低显现所述疾病的风险的治疗剂。

[0034] 本发明提供几个优点。本文所述的预防性和治疗性方法有效治疗肾病,例如蛋白尿,并且具有最低的副作用(如果有的话)。此外,本文所述的方法有效鉴定治疗肾病、焦虑症、抑郁症或癌症或者降低显现所述疾病的风险的化合物。

[0035] 本发明的其它特征、对象和优点将从具体实施方式以及从权利要求书中显而易见。

具体实施方式

[0036] 定义

[0037] 术语“酰基”是本领域所公认的,并且是指由通式烃基C(O)-、优选烷基C(O)-表示的基团。

[0038] 术语“酰基氨基”是本领域所公认的,并且是指经酰基取代的氨基,且可例如由式烃基C(O)NH-表示。

[0039] 术语“酰氧基”是本领域所公认的,且是指由通式烃基C(O)O-、优选烷基C(O)O-表示的基团。

[0040] 术语“烷氧基”是指连接有氧的烷基、优选低级烷基。代表性烷氧基包括甲氧基、三氟甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等等。

[0041] 术语“烷氧基烷基”是指经烷氧基取代的烷基并且可由通式烷基-O-烷基表示。

[0042] 如本文所用,术语“烯基”是指含有至少一个双键的脂族基,并且意图包括“未取代的烯基”和“取代的烯基”,后者是指取代基置换烯基的一个或多个碳上的氢的烯基部分。这类取代基可以存在于包括或未包括在一个或多个双键中的一个或多个碳上。此外,除非稳定性不允许,否则这类取代基包括如以下论述,针对烷基所涵盖的所有取代基。举例来说,涵盖烯基被一个或多个烷基、碳环基、芳基、杂环基或杂芳基取代。

[0043] “烷基”或“烷烃”是完全饱和的直链或支链非芳香族烃。典型地,除非另外定义,否则直链或支链烷基具有1至约20个碳原子、优选1至约10个碳原子。直链和支链烷基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基、戊基和辛基。 C_1 - C_6 直链或支链烷基又称为“低级烷基”。

[0044] 此外,如本说明书、实施例和权利要求书中所用的术语“烷基”(或“低级烷基”)意图包括“未取代的烷基”和“取代的烷基”,后者是指取代基置换烃主链的一个或多个碳上的氢的烷基部分。如果没有另外说明,否则这类取代基可以包括例如卤素(例如氟基)、羟基、羰基(例如羧基、烷氧羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(例如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、亚膦酸酯、氨基、酰胺基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷基巯基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳香族或杂芳香族部分。在优选实施方案中,取代的烷基上的取代基选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、卤素、羰基、氰基或羟基。在更优选的实施方案中,取代的烷基上的取代基选自氟基、羰基、氰基或羟基。本领域的技术人员应了解,适当时,烃链上被取代的部分自身可以进行取代。举例来说,取代的烷基的取代基可以包括氨基、叠氮基、亚氨基、酰胺基、磷酰基(包括膦酸酯和亚膦酸酯)、磺酰基(包括硫酸酯、磺酰胺基、氨磺酰基和磺酸酯)和甲硅烷基以及醚、烷基巯基、羰基(包括酮、醛、羧酸酯和酯)、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等等的取代和未取代的形式。以下描述例示性的取代的烷基。环烷基可以进一步经烷基、烯基、烷氧基、烷基巯基、氨基烷基、被羰基取代的烷基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等等取代。

[0045] 除非另作说明,否则单独或作为另一取代基的一部分的术语“亚烷基”是指具有所述碳原子数目并通过从对应的烷烃去除两个氢原子而衍生的饱和直链或支链二价基团。直链和支链亚烷基的实例包括 $-CH_2-$ (亚甲基)、 $-CH_2-CH_2-$ (亚乙基)、 $-CH_2-CH_2-CH_2-$ (亚丙基)、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2-CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ (亚戊基)、 $-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$ 和 $-CH_2-C(CH_3)_2-CH_2-$ 。

[0046] 术语“ C_{x-y} ”在与例如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基的化学部分一起使用时意味着包括链中含有x至y个碳的基团。举例来说,术语“ C_{x-y} 烷基”是指取代的或未取代的饱和烃基,包括链中含有x至y个碳的直链烷基和支链烷基,包括卤烷基。优选的卤烷基包括三氟甲基、二氟甲基、2,2,2-三氟甲基和五氟乙基。 C_0 烷基指示其中基团处于末端位置的氢,如果在内部,那么是键。术语“ C_{2-y} 烯基”和“ C_{2-y} 炔基”是指长度和可能的取代与上述烷基类似,但分别含有至少一个双键或三键的取代或未取代的不饱和脂族基。

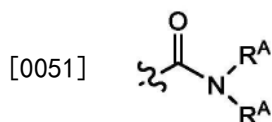
[0047] 如本文所用,术语“烷基氨基”是指经至少一个烷基取代的氨基。

[0048] 如本文所用,术语“烷基巯基”是指经烷基取代的硫醇基并且可由通式烷基S-表示。

[0049] 如本文所用,术语“炔基”是指含有至少一个三键的脂族基,并且意图包括“未取代

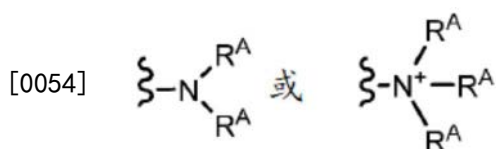
的炔基”和“取代的炔基”,后者是指取代基置换炔基的一个或多个碳上的氢的炔基部分。这类取代基可以存在于包括或未包括在一个或多个三键中的一个或多个碳上。此外,除非稳定性不允许,否则这类取代基包括如以下论述,针对烷基所涵盖的所有取代基。举例来说,涵盖炔基被一个或多个烷基、碳环基、芳基、杂环基或杂芳基取代。

[0050] 如本文所用,术语“酰胺”是指基团



[0052] 其中每个 R^A 独立地表示氢或烃基,或两个 R^A 连同其连接的N原子一起构成环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0053] 术语“胺”和“氨基”是本领域所公认的,并且是指未取代和取代的胺和它们的盐,例如可以由以下表示的部分



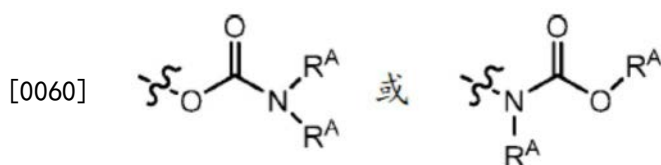
[0055] 其中每个 R^A 独立地表示氢或烃基,或两个 R^A 连同其连接的N原子一起构成环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0056] 如本文所用,术语“氨基烷基”是指经氨基取代的烷基。

[0057] 如本文所用,术语“芳烷基”是指经芳基取代的烷基。

[0058] 如本文所用,术语“芳基”包括取代或未取代的单环芳香族基,其中环的每个原子都是碳。环优选是6或10元环,更优选是6元环。术语“芳基”还包括具有两个或更多个环的多环系统,其中两个或更多个碳为两个邻接环所共有,其中至少一个环是芳香族,例如其它环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。芳基包括苯、萘、菲、苯酚、苯胺等。

[0059] 术语“氨基甲酸酯”是本领域所公认的,并且是指基团



[0061] 其中每个 R^A 独立地表示氢或烃基,例如烷基,或两个 R^A 连同插入原子一起构成环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0062] 如本文所用,术语“碳环(carbocycle)”和“碳环(carbocyclic)”是指其中每个环原子都是碳的饱和或不饱和环。术语碳环包括芳香族碳环与非芳香族碳环。非芳香族碳环包括其中所有碳原子都饱和的环烷环和含有至少一个双键的环烯环。“碳环”包括5-7元单环和8-12元双环。双环碳环的每个环可以选自饱和、不饱和和芳香族环。碳环包括其中两个环之间共享一个、两个或三个或更多个原子的双环分子。术语“稠合碳环”是指其中每个环与另一环共用两个相邻原子的双环碳环。稠合碳环的每个环可以选自饱和、不饱和和芳香族环。在一示例性实施方案中,芳香族环,例如苯基,可以与例如环己烷、环戊烷或环己烯的饱和或不饱和环稠合。在价数允许下,饱和、不饱和和芳香族双环的任何组合都包括在碳环

的定义中。示例性“碳环”包括环戊烷、环己烷、双环[2.2.1]庚烷、1,5-环辛二烯、1,2,3,4-四氢萘、双环、[4.2.0]辛-3-烯、萘和金刚烷。示例性稠合碳环包括萘烷、萘、1,2,3,4-四氢萘、双环[4.2.0]辛烷、4,5,6,7-四氢-1H-茚和双环[4.1.0]庚-3-烯。“碳环”可以在能够负载氢原子的任一个或多个位置处进行取代。

[0063] “环烷基”是完全饱和的环烃。“环烷基”包括单环和双环。除非另外定义,否则典型地,单环环烷基具有3至约10个碳原子,更典型地具有3至8个碳原子。双环环烷基的第二个环可以选自饱和、不饱和和芳香族环。环烷基包括其中两个环之间共享一个、两个或三个或更多个原子的双环分子。术语“稠合环烷基”是指其中每个环与另一环共用两个相邻原子的双环环烷基。稠合双环环烷基的第二个环可以选自饱和、不饱和和芳香族环。“环烯基”是含有一个或多个双键的环烃。

[0064] 如本文所用,术语“碳环基烷基”是指经碳环基取代的烷基。

[0065] 术语“碳酸酯”是本领域所公认的,并且是指基团-OC(=O)-R^A,其中R^A表示烷基。

[0066] 如本文所用,术语“羧基”是指由式-C(=O)OH表示的基团。

[0067] 如本文所用,术语“酯”是指基团-C(=O)OR^A,其中R^A表示烷基。

[0068] 如本文所用,术语“醚”是指通过氧连接至另一烷基的烷基。因此,烷基的醚取代基可以是烷基-O-。醚可以是对称或者不对称的。醚的实例包括(但不限于)杂环-O-杂环和芳基-O-杂环。醚包括“烷氧基烷基”,其可以由通式烷基-O-烷基表示。

[0069] 如本文所用,术语“卤基”和“卤素”意指卤素并且包括氯基、氟基、溴基和碘基。

[0070] 如本文所用,术语“杂芳烷基(hetaralkyl)”和“杂芳烷基(heteroaralkyl)”是指经杂芳基取代的烷基。

[0071] 如本文所用,术语“杂烷基”是指碳原子和至少一个杂原子的饱和或不饱和链,其中没有两个杂原子是相邻的。

[0072] 术语“杂芳基(heteroaryl)”和“杂芳基(hetaryl)”包括环结构包括至少一个杂原子、优选一个至四个杂原子、更优选一个或两个杂原子的取代的或未取代的芳香族单环结构,优选5至7元环、更优选5至6元环。术语“杂芳基”还包括具有两个或更多个环的多环系统,其中两个或更多个碳为两个邻接环所共有,其中至少一个环是杂芳族,例如其它环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂芳基包括例如吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶等等。

[0073] 如本文所用,术语“杂原子”意指除碳或氢以外的任何元素的原子。优选的杂原子是氮、氧和硫。

[0074] 术语“杂环基”、“杂环(heterocycle)”和“杂环(heterocyclic)”是指环结构包括至少一个杂原子、优选一个至四个杂原子、更优选一个或两个杂原子的取代的或未取代的非芳香族环结构,优选3至10元环、更优选3至7元环。术语“杂环基”和“杂环”还包括具有两个或更多个环的多环系统,其中两个或更多个碳为两个邻接环所共有,其中至少一个环是杂环,例如其它环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂环基包括例如哌啶、哌嗪、吡咯烷、四氢吡喃、四氢呋喃、吗啉、内酯、内酰胺等等。

[0075] 如本文所用,术语“杂环基烷基”或“杂环烷基”是指经杂环基取代的烷基。

[0076] 如本文所用,术语“烃基”是指通过不具有=O或=S取代基的碳原子键结的基团,并且典型地具有至少一个碳氢键和主要碳主链,但可以任选地包括杂原子。因此,出于本申

请的目的,如甲基、乙氧基乙基、2-吡啶基和三氟甲基的基团被认为是烃基,但例如乙酰基(在连接碳上具有=O取代基)和乙氧基(通过氧连接,而非通过碳连接)的取代基不是烃基。烃基包括(但不限于)芳基、杂芳基、碳环、杂环基、烷基、烯基、炔基和它们的组合。

[0077] 如本文所用,术语“羟基烷基”是指经羟基取代的烷基。

[0078] 术语“低级”在与例如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基的化学部分一起使用时意味着包括取代基中存在十个或更少、优选六个或更少的非氢原子的基团。“低级烷基”例如是指含有十个或更少、优选六个或更少的碳原子的烷基。在某些实施方案中,本文中定义的酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基取代基分别是低级酰基、低级酰氧基、低级烷基、低级烯基、低级炔基或低级烷氧基,无论它们单独与其它取代基组合出现,例如叙述羟基烷基和芳烷基中(在这种情况下,例如,当计数烷基取代基中的碳原子时芳基内的原子不计数)。

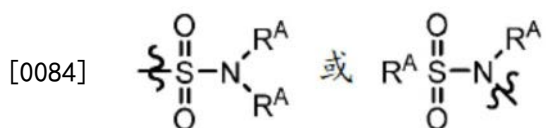
[0079] 术语“多环基”、“多环(polycycle)”和“多环(polycyclic)”是指其中两个或更多个原子为两个邻接环所共有的两个或更多个环(例如环烷基、环烯基、芳基、杂芳基和/或杂环基),例如环是“稠环”。多环的每个环可以被取代或未取代。在某些实施方案中,多环的每个环在环中含有3至10个原子,优选5至7个。

[0080] 术语“甲硅烷基”是指连接有三个烃基部分的硅部分。

[0081] 术语“取代”是指取代基置换主链的一个或多个碳上的氢的部分。应了解“取代”或“经……取代”包括隐含的附带条件,即这类取代是根据被取代的原子和取代基所允许的价数,并且取代产生稳定化合物,例如化合物不会例如通过重排、环化、消除等自发地进行转化。如本文所用,预期术语“取代”包括有机化合物的所有可允许的取代基。在广泛方面,可允许的取代基包括有机化合物的非环状和环状、分支和未分支、碳环和杂环、芳香族和非芳香族取代基。对于适当的有机化合物来说,可允许的取代基可以是一个或多个,并且是相同或不同的。对本发明来说,例如氮的杂原子可以具有氢取代基和/或满足杂原子价数的本文所述的有机化合物的任何可允许的取代基。取代基可以包括本文所述的任何取代基,例如卤素、羟基、羰基(例如羧基、烷氧羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(例如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、亚膦酸酯、氨基、酰胺基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷基硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳香族或杂芳香族部分。在优选实施方案中,取代的烷基上的取代基选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、卤素、羰基、氰基或羟基。在更优选的实施方案中,取代的烷基上的取代基选自氟基、羰基、氰基或羟基。本领域的技术人员应了解,适当时,取代基自身可以进行取代。除非特别陈述为“未取代”,应了解本文中对化学部分的提及包括取代的变体。举例来说,对“芳基”或部分的提及隐含取代和未取代的变体。

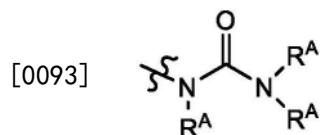
[0082] 术语“硫酸酯”是本领域所公认的,并且是指基团 $-OSO_3H$,或其药学上可接受的盐。

[0083] 术语“磺酰胺”是本领域所公认的,并且是指由以下通式表示的基团:



[0085] 其中每个 R^A 独立地表示氢或烃基,例如烷基,或两个 R^A 连同插入原子一起构成环结构中具有4至8个原子的杂环。

- [0086] 术语“亚砷”是本领域所公认的,并且是指基团-S(O)-R^A,其中R^A表示烃基。
- [0087] 术语“磺酸酯”是本领域所公认的,并且是指基团SO₃H,或其药学上可接受的盐。
- [0088] 术语“砷”是本领域所公认的,并且是指基团-S(O)₂-R^A,其中R^A表示烃基。
- [0089] 如本文所用,术语“硫烷基”是指经硫醇基取代的烷基。
- [0090] 如本文所用,术语“硫酯”是指基团-C(O)SR^A或-SC(O)R^A,其中R^A表示烃基。
- [0091] 如本文所用,术语“硫醚”相当于醚,其中氧经硫置换。
- [0092] 术语“脲”是本领域所公认的,并且可以由以下通式表示:



[0094] 其中每个R^A独立地表示氢或烃基,例如烷基,或任何出现的R^A连同另一个R^A和插入原子一起构成环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0095] “保护基”是指当连接于分子中的反应性官能团时掩蔽、减少或防止官能团的反应性的原子基团。典型地,保护基可以在合成过程中根据需要选择性地去除。保护基的实例可见于Greene和Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 第3版, 1999, John Wiley&Sons, NY以及Harrison等人, *Compendium of Synthetic Organic Methods*, 第1-8卷, 1971-1996, John Wiley&Sons, NY。代表性的氮保护基包括(但不限于)甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、苯甲基、苯甲氧羰基(“CBZ”)、叔丁氧羰基(“Boc”)、三甲基甲硅烷基(“TMS”)、2-三甲基甲硅烷基-乙烷磺酰基(“TES”)、三苯甲基和取代的三苯甲基、烯丙氧基羰基、9-苄基甲氧基羰基(“FMOC”)、硝基-羧基氧基羰基(“NVOC”)等等。代表性的羟基保护基包括(但不限于)其中羟基经酰化(酯化)或烷基化的基团,例如苯甲基和三苯甲基醚,以及烷基醚、四氢吡喃醚、三烷基甲硅烷基醚(例如TMS或TIPS基团)、乙二醇醚,例如乙二醇和丙二醇衍生物和烯丙基醚。

[0096] 如本文所用,“预防”病症或疾患的治疗剂是指在统计样本中,相对于未经治疗的对照样本,减少所治疗样本中病症或疾患的发生,或相对于未经治疗的对照样本,延迟病症或疾患发作或降低其一种或多种症状的严重度的化合物。

[0097] 术语“治疗”包括预防性和/或治疗性治疗。术语“预防性或治疗性”治疗是本领域所公认的,并且包括向宿主施用一种或多种主题组合物。如果在不希望有的疾患(例如疾病或宿主动物的其它不希望有的状态)的临床表现前施用,那么治疗是预防性的(即其保护宿主避免显现不必要的疾患),而如果在不希望有的疾患表现后施用,那么治疗是治疗性的(即其意图减少、改善或稳定所存在的不希望有的疾患或其副作用)。

[0098] 短语“联合施用”和“联合地施用”是指两种或更多种不同治疗性化合物的任何施用形式,使得在先施用的治疗性化合物在身体内仍然有效的同时施用第二种化合物(例如两种化合物在患者中同时有效,可包括两种化合物的协同效应)。举例来说,不同的治疗性化合物可以在相同制剂中施用或在分开的制剂中施用,伴随或者相继施用。在某些实施方案中,不同的治疗性化合物可以彼此在一小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或一周内施用。因此,接受这类治疗的个体可得益于不同的治疗性化合物的组合作用。

[0099] 术语“前药”意图涵盖在生理条件下转变成本发明的治疗活化剂的化合物。一种常见的制造前药的方法是包括一个或多个所选部分,这些部分在生理条件下水解,从而暴露

所需分子。在其它实施方案中,前药由宿主动物的酶活性来转变。举例来说,酯或碳酸酯(例如醇或羧酸的酯或碳酸酯)是本发明的优选的前药。在某些实施方案中,以上表示的制剂中的一些或所有本发明化合物可以替换为对应的合适的前药,例如其中母体化合物中的羟基呈现为酯或碳酸酯,或母体化合物中存在的羧酸呈现为酯。

[0100] 如本文所用,“小分子”是指分子量低于约3,000道尔顿(Dalton)的小的有机或无机的分子。一般说来,可用于本发明的小分子具有小于3,000道尔顿(Da)的分子量。小分子可为例如至少约100Da至约3,000Da(例如介于约100至约3,000Da、约100至约2500Da、约100至约2,000Da、约100至约1,750Da、约100至约1,500Da、约100至约1,250Da、约100至约1,000Da、约100至约750Da、约100至约500Da、约200至约1500、约500至约1000、约300至约1000Da或约100至约250Da之间)。

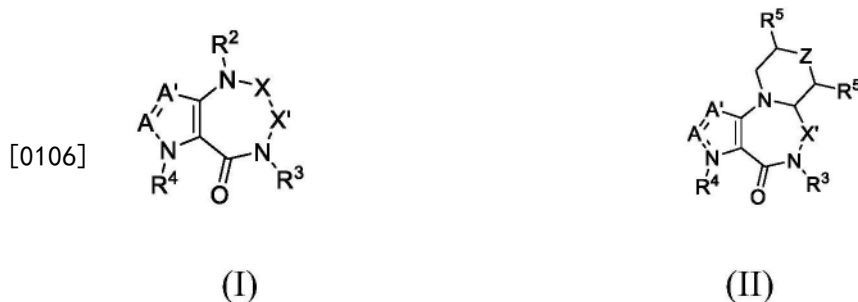
[0101] 在一些实施方案中,“小分子”是指分子量典型地小于约1000的有机、无机或有机金属化合物。在一些实施方案中,小分子是尺寸为约1nm的有机化合物。在一些实施方案中,本发明的小分子药物涵盖寡肽和分子量小于约1000的其它生物分子。

[0102] “有效量”是足够实现有益或所想要的结果的量。举例来说,治疗量是实现所想要的治疗作用的量。此量可以与预防有效量相同或不同,预防有效量是预防疾病或疾病症状发作所需的量。有效量可以分一次或多次施用、应用或剂量施用。组合物的治疗有效量取决于选择的组合物。组合物可以从每天施用一次或多次至每周施用一次或多次;包括每隔一天一次。熟练的技术人员将了解,某些因素会影响有效治疗受试者所需的剂量和时机,包括但不限于疾病或病症的严重度、先前治疗、受试者的整体健康和/或年龄以及存在的其它疾病。此外,用治疗有效量的本文所述的组合物治疗受试者可包括单次治疗或一系列治疗。

[0103] 本发明的化合物

[0104] 本发明的一方面提供了小分子TRPC5调节剂。在一些实施方案中,本发明提供了小分子TRPC5抑制剂。在一些实施方案中,本发明提供了小分子TRPC5激动剂。

[0105] 在一些实施方案中,本发明的化合物为式(I)或(II)的化合物,或其药学上可接受的盐;



[0107] 其中

[0108] A和A'独立地选自CR和N;

[0109] R为L-R¹;

[0110] L不存在,为CH₂O、SO₂或NR²;

[0111] R¹选自任选地取代的烷基、任选地取代的芳基和任选地取代的杂芳基,并且当L不存在时,R¹另外选自H;

[0112] 每个R²独立地为H或烷基;

[0113] R^3 选自任选地取代的烷基、任选地取代的亚烷基- OR^2 、任选地取代的亚环烷基- OR^2 、任选地取代的亚烷基- $N(R^7)_2$ 、任选地取代的亚环烷基- $N(R^7)_2$ 、任选地取代的亚烷基- $C(O)N(R^2)_2$ 、任选地取代的亚环烷基- $C(O)N(R^2)_2$ 、任选地取代的亚烷基- $S(O)_2N(R^2)_2$ 和任选地取代的亚环烷基- $S(O)_2N(R^2)_2$;

[0114] R^4 选自烷基、任选地取代的亚烷基-芳基和任选地取代的亚烷基-杂芳基;

[0115] 每个 R^5 独立地选自H、 $N(R^2)_2$ 、 OR^2 ;

[0116] 每个 R^7 独立地选自H、烷基、(烷基) $C(O)-$ 、(芳基) $C(O)-$ 、(烷基) $S(O)_2-$ 和(芳基) $S(O)_2-$;

[0117] X为 $-C(O)-$ 、 CH_2 、 CHR^6 、 $C(R^6)_2$;

[0118] 每个 R^6 独立地选自H、烷基和任选地取代的亚烷基-OH;

[0119] X' 为 $-C(O)-$ 、 CH_2 、 $CHR^{3'}$ 、 $C(R^{3'})_2$,或 X' 连同 R^3 一起形成5元或6元环;

[0120] 每个 $R^{3'}$ 独立地选自任选地取代的烷基、任选地取代的亚烷基- OR^2 、任选地取代的亚环烷基- OR^2 、任选地取代的亚烷基- $N(R^7)_2$ 、任选地取代的亚环烷基- $N(R^7)_2$ 、任选地取代的亚烷基- $C(O)N(R^2)_2$ 、任选地取代的亚环烷基- $C(O)N(R^2)_2$ 、任选地取代的亚烷基- $S(O)_2N(R^2)_2$ 和任选地取代的亚环烷基- $S(O)_2N(R^2)_2$;并且

[0121] Z不存在,为 CH_2 、 CHR^5 、O、 $-NR^2-$ 或 $-SO_2-$;

[0122] 条件是X和 X' 不皆为 $-C(O)-$,并且当Z为O、NR或 SO_2 时 R^5 为H。

[0123] 在一些实施方案中,化合物为式(I)化合物。在一些实施方案中,化合物为式(II)化合物。

[0124] 在一些实施方案中,A和A'中的至少一个为CR。

[0125] 在一些实施方案中,A为N。在一些实施方案中,A为CR。

[0126] 在一些实施方案中,A'为N。在一些实施方案中,A'为CR。

[0127] 在一些实施方案中,A'为N并且A为CR。

[0128] 在一些实施方案中,R为L- R^1 。

[0129] 在一些实施方案中,L不存在。在一些实施方案中,当L不存在时, R^1 另外选自H。在一些实施方案中,L为 CH_2 。在一些实施方案中,L为O。在一些实施方案中,L为 SO_2 。在一些实施方案中,L为 NR^2 。

[0130] 在一些实施方案中, R^1 为任选地取代的芳基。在一些实施方案中, R^1 为任选地取代的苯基。在一些实施方案中, R^1 为取代的苯基。在一些实施方案中,取代的苯基经一个或多个独立地选自以下的取代基取代:卤素、 $-CF_3$ 、 $-C(H)F_2$ 和 $-OCF_3$ 。

[0131] 在一些实施方案中, R^1 为任选地取代的烷基。在一些实施方案中,烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基和叔丁基。

[0132] 在一些实施方案中, R^1 为任选地取代的杂芳基。在一些实施方案中, R^1 为经一个或多个独立地选自以下的取代基取代的被取代的杂芳基:卤素、 $-CF_3$ 、 $-C(H)F_2$ 和 $-OCF_3$ 。

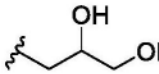
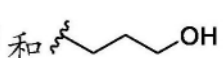
[0133] 在一些实施方案中,L为O并且 R^1 为3-氯苯基、3-氟苯基、3-三氟甲氧基苯基、异丙基或正丙基。

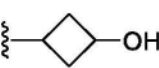
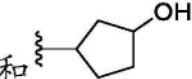
[0134] 在一些实施方案中, R^2 为H。在一些实施方案中, R^2 为烷基。在一些实施方案中, R^2 选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基和叔丁基。在一些实施方案中, R^2 为甲基。

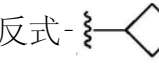
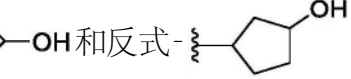
[0135] 在一些实施方案中, R^3 为任选地取代的烷基。在一些实施方案中, R^3 为任选地取代

的亚烷基-OR²。在一些实施方案中,R³为任选地取代的亚环烷基-OR²。在一些实施方案中,R³为任选地取代的亚烷基-N(R⁷)₂。在一些实施方案中,R³为任选地取代的亚环烷基-N(R⁷)₂。在一些实施方案中,R³为任选地取代的亚烷基-C(O)N(R²)₂。在一些实施方案中,R³为任选地取代的亚环烷基-C(O)N(R²)₂。在一些实施方案中,R³为任选地取代的亚烷基-S(O)₂N(R²)₂。在一些实施方案中,R³为任选地取代的亚环烷基-S(O)₂N(R²)₂。在一些实施方案中,R³为甲基、2-羟基乙基、2,3-二羟基丙基、2,2-二氟-3-羟基丙基、3-羟基丙基、3-甲氧基丙基、3-羟基环丁基或3-羟基环戊基。

[0136] 在一些实施方案中,一个出现的R⁷为H;并且第二个出现的R⁷为烷基、(烷基)C(O)-、(芳基)C(O)-、(烷基)S(O)₂-或(芳基)S(O)₂-。在一些实施方案中,一个出现的R⁷为烷基;并且第二个出现的R⁷为H、(烷基)C(O)-、(芳基)C(O)-、(烷基)S(O)₂-或(芳基)S(O)₂-。在一些实施方案中,两个出现的R⁷皆为H。在一些实施方案中,两个出现的R⁷皆为烷基。

[0137] 在一些实施方案中,R³选自  和 。在一些实施方案中,R³为 。

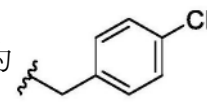
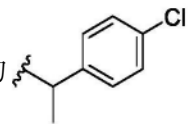
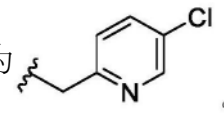
[0138] 在一些实施方案中,R³选自  和 。

[0139] 在一些实施方案中,R³选自反式- 和反式-。

[0140] 在一些实施方案中,R⁴为烷基。在一些实施方案中,R⁴选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基和叔丁基。在一些实施方案中,R⁴选自正丁基、异丁基和叔丁基。在一些实施方案中,R⁴为正丁基。

[0141] 在一些实施方案中,R⁴为任选地取代的亚烷基-芳基。在一些实施方案中,亚烷基-芳基的所述亚烷基是被取代的。在一些实施方案中,亚烷基-芳基的芳基是被取代的。在一些实施方案中,取代的芳基经卤素、-CF₃、-C(H)F₂或-OCF₃取代。在一些实施方案中,亚烷基-芳基的芳基为任选地取代的苯基。在一些实施方案中,苯基经一个或多个卤素取代。在一些实施方案中,亚烷基-芳基的亚烷基为亚甲基。在一些实施方案中,R⁴为任选地取代的亚烷基-杂芳基。

[0142] 在一些实施方案中,R⁴为正丁基、4-氯苯甲基或2-(4-氯苯基)乙-2-基。

[0143] 在一些实施方案中,R⁴为 。在一些实施方案中,R⁴为 。在一些实施方案中,R⁴为 。

[0144] 在一些实施方案中,每个R⁵为H。在一些实施方案中,一个R⁵为氢并且另一个R⁵为-O-烷基。在一些实施方案中,一个R⁵为氢并且另一个R⁵为-OMe。在一些实施方案中,一个R⁵为氢并且另一个R⁵为-OH。在一些实施方案中,一个R⁵为氢并且另一个R⁵为-NMe₂。在一些实施方案中,一个R⁵为氢并且另一个R⁵为-NH₂。

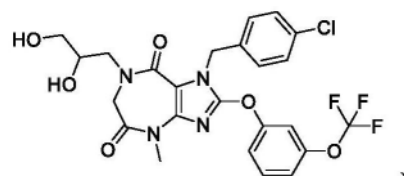
[0145] 在一些实施方案中, X为-C(O)-。在一些实施方案中, X为CH₂。在一些实施方案中, X为-CHR⁶-。在一些实施方案中, X为-C(R⁶)₂-。在一些实施方案中, R⁶为烷基。在一些实施方案中, R⁶选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基和叔丁基。在一些实施方案中, R⁶为甲基。在一些实施方案中, R⁶为任选地取代的亚烷基-OH。在一些实施方案中, R⁶为任选地取代的亚乙基-OH。在一些实施方案中, R⁶为取代的亚乙基-OH。在一些实施方案中, R⁶为H。

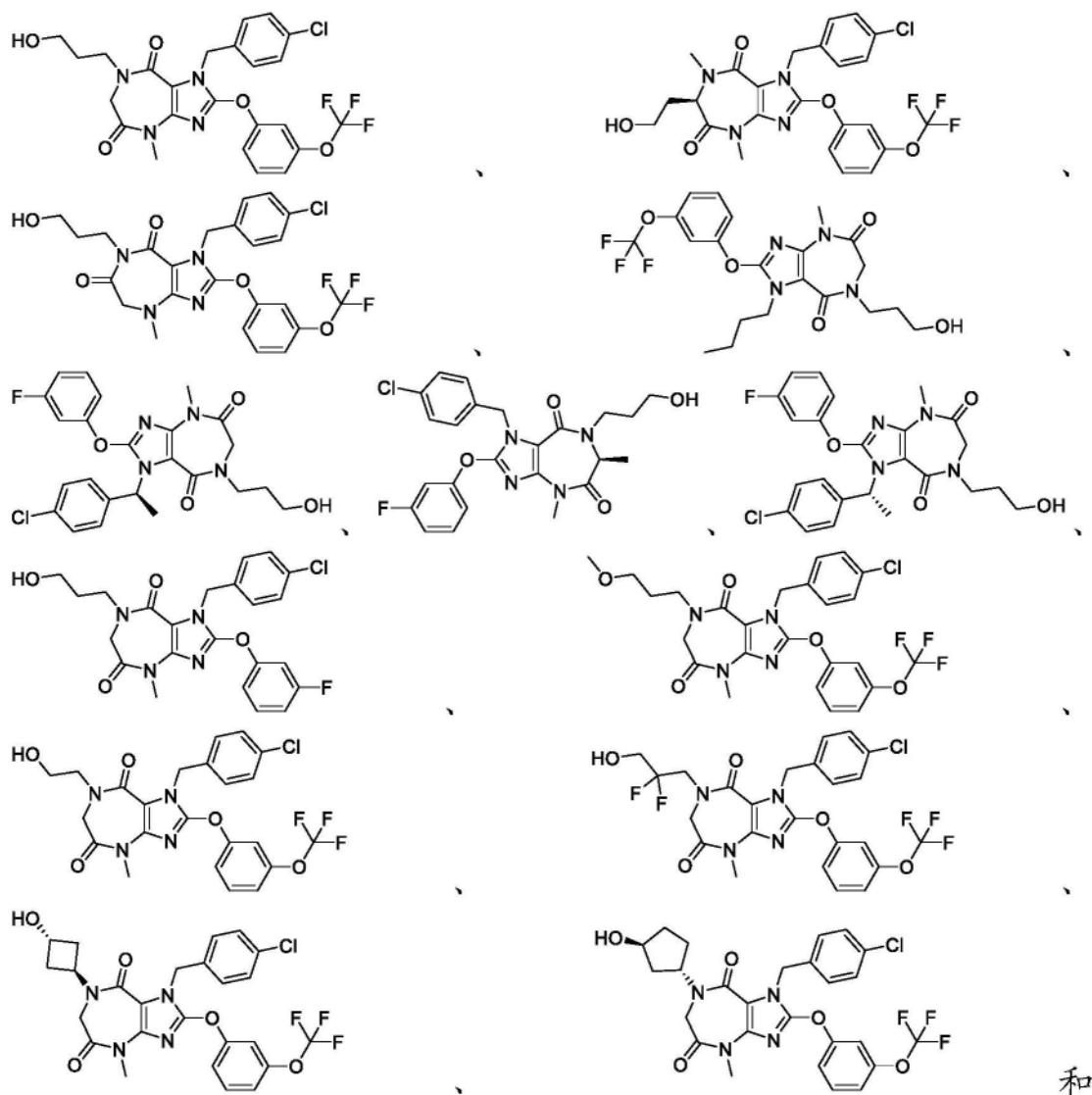
[0146] 在一些实施方案中, X'为-C(O)-。在一些实施方案中, X'为CH₂。

[0147] 在一些实施方案中, X'为-CHR^{3'}-。在一些实施方案中, X'为-C(R^{3'})₂-。在一些实施方案中, R^{3'}为烷基。在一些实施方案中, R^{3'}选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基和叔丁基。在一些实施方案中, R^{3'}为甲基。在一些实施方案中, R^{3'}为任选地取代的亚烷基-OH。在一些实施方案中, R^{3'}为任选地取代的亚乙基-OH。在一些实施方案中, R^{3'}为取代的亚乙基-OH。

[0148] 在一些实施方案中, Z不存在。在一些实施方案中, Z为CH₂。在一些实施方案中, Z为-N(烷基)-。在一些实施方案中, Z选自-N(正丁基)-、-N(异丁基)-和-N(叔丁基)-。在一些实施方案中, Z为-SO₂-。在一些实施方案中, Z不存在并且每个R⁵为氢。

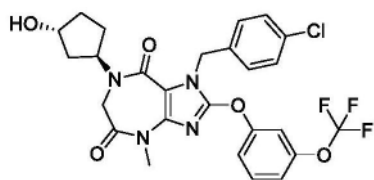
[0149] 在一些实施方案中, 化合物选自:



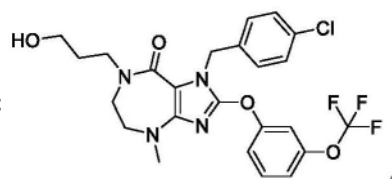


和

[0150]

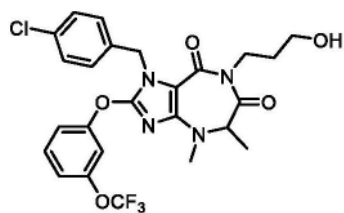


[0151] 在一些实施方案中,化合物为:

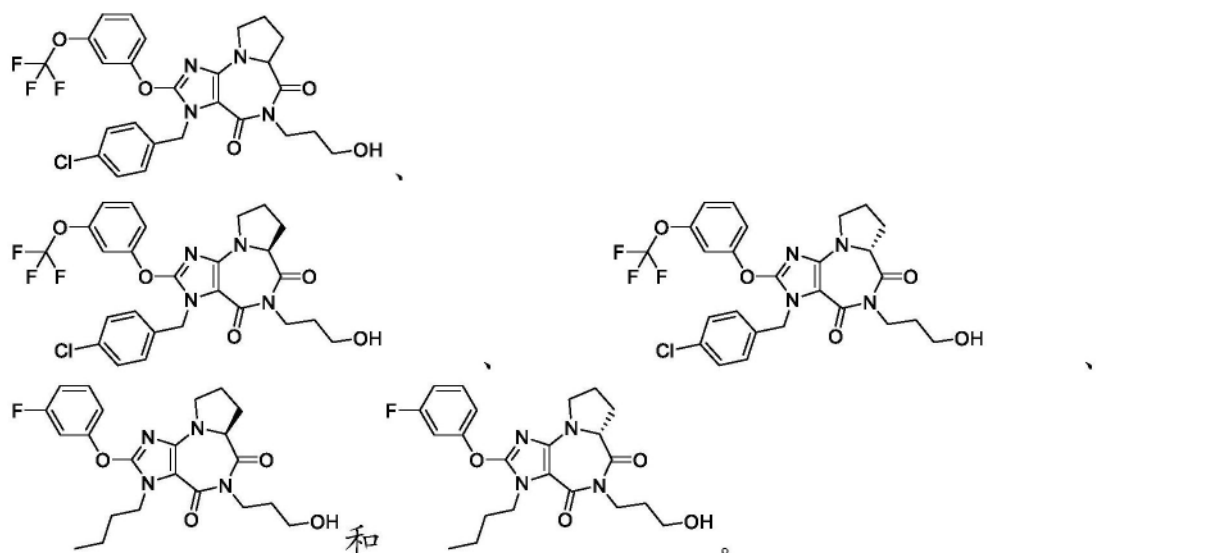


在一些实施方案中,

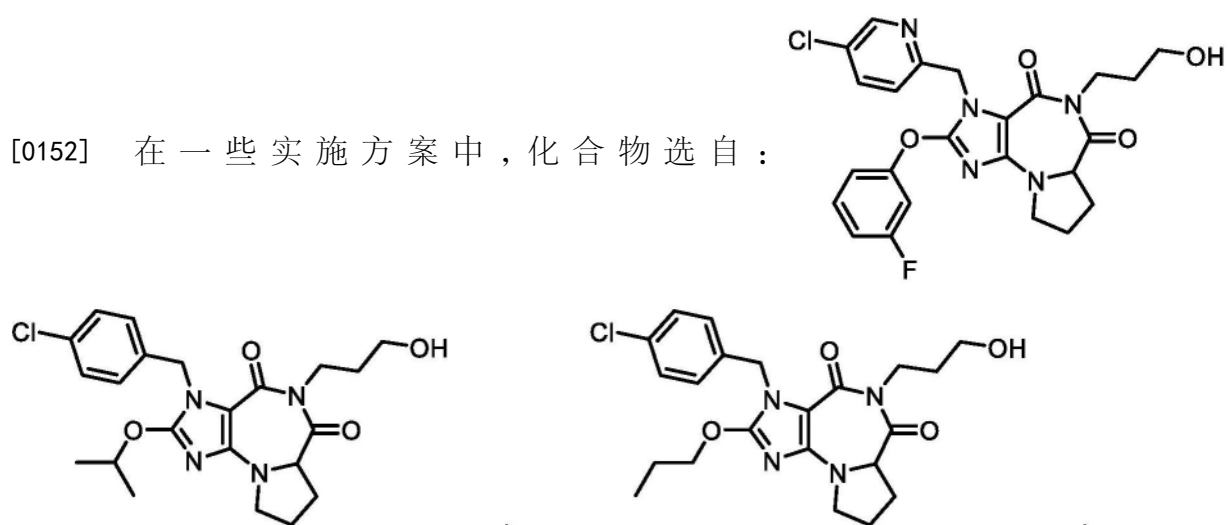
化合物为:

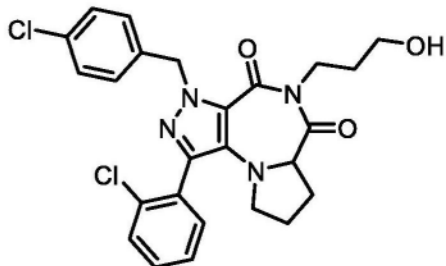
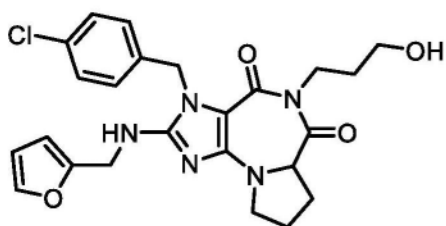
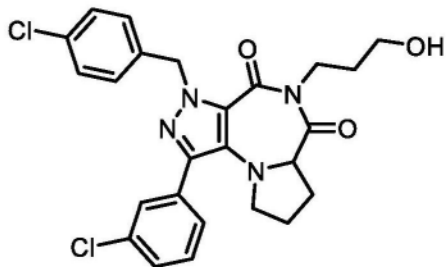
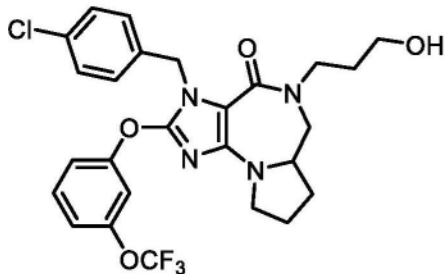
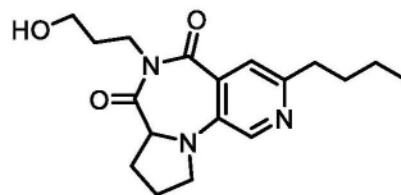
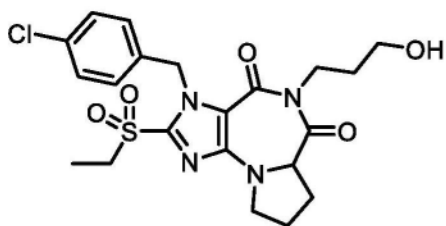


在一些实施方案中,化合物选自:

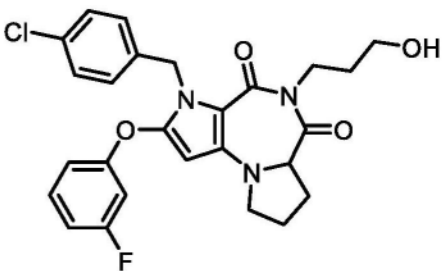
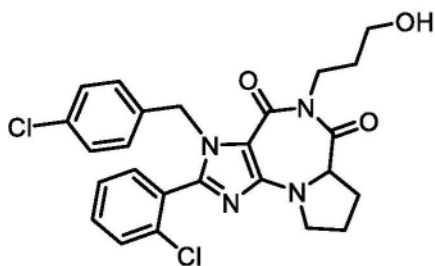
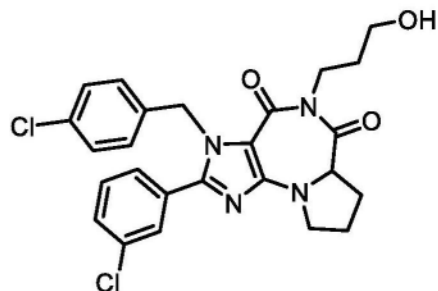
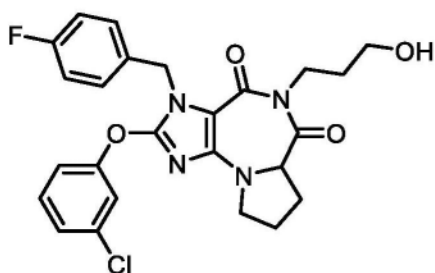


[0152] 在一些实施方案中,化合物选自:





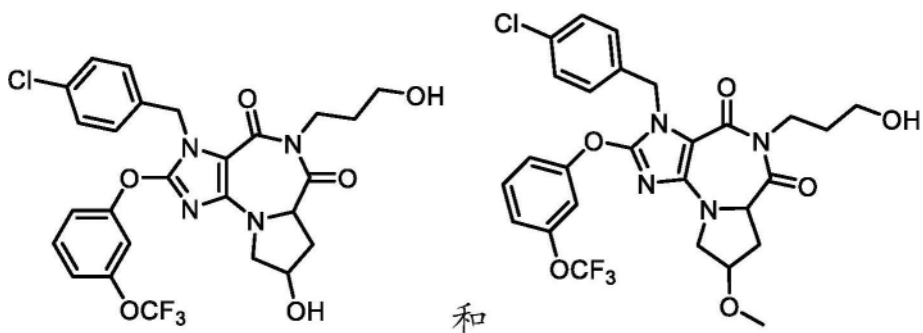
[0153]



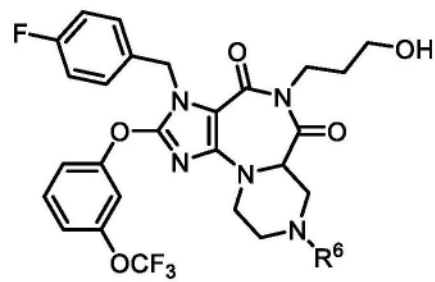
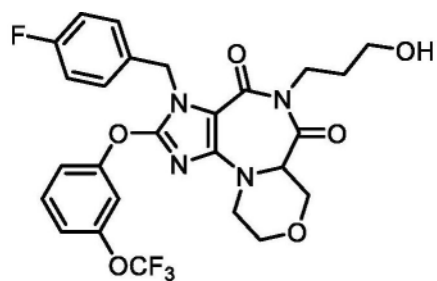
和

[0154] 在一些实施方案中,其中化合物选自:

[0155]

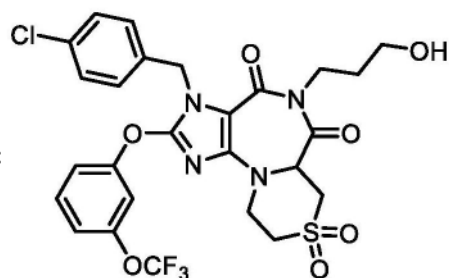


[0156] 在一些实施方案中,化合物为:



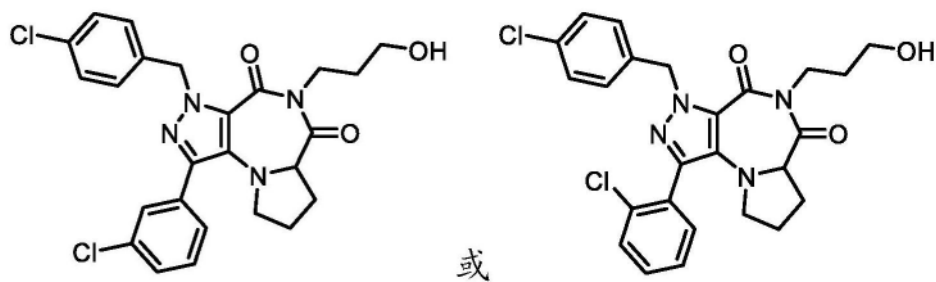
或

[0157] 在一些实施方案中,化合物为:

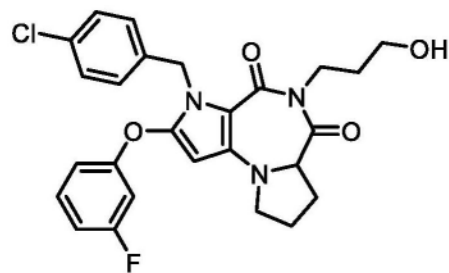


在一些实施方案

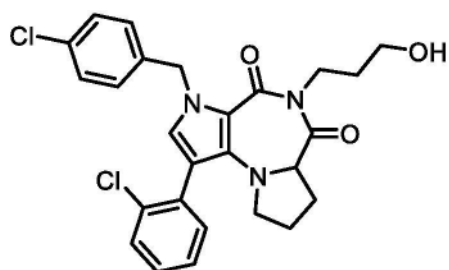
中,化合物为:



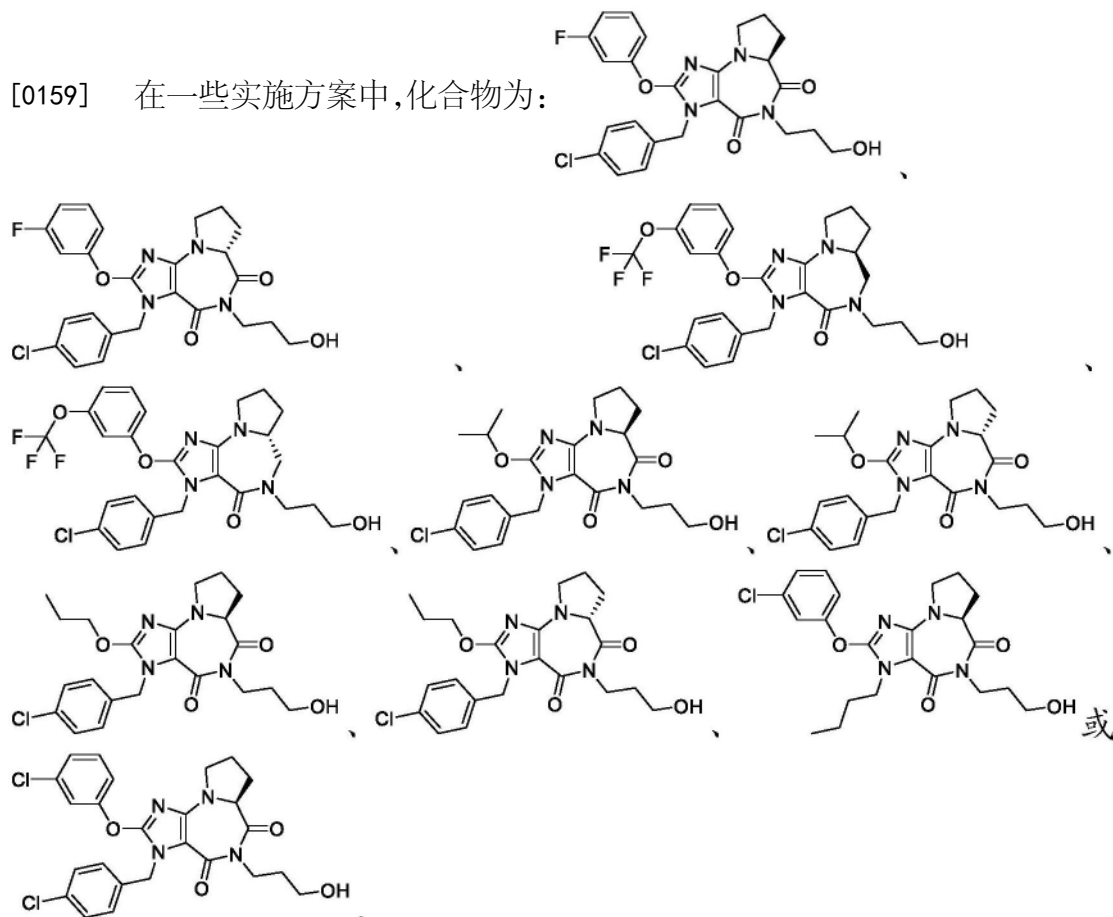
[0158] 在一些实施方案中,化合物为:



或



[0159] 在一些实施方案中,化合物为:



[0160] 在某些实施方案中,本发明的化合物可以是外消旋的。在某些实施方案中,本发明的化合物可以富集一种对映异构体。举例来说,本发明的化合物可以具有超过30% ee、40% ee、50% ee、60% ee、70% ee、80% ee、90% ee或甚至95%或更大的ee。

[0161] 本发明的化合物具有超过一个立构中心。因此,本发明的化合物可以富集一种或多种非对映异构体。举例来说,本发明的化合物可以具有超过30% de、40% de、50% de、60% de、70% de、80% de、90% de或甚至95%或更大的de。在某些实施方案中,本发明的化合物在一个或多个立体异构中心具有基本上一种异构体构型,并且在剩余立体异构中心具有多个异构体构型。

[0162] 在某些实施方案中,立构中心的对映异构体过量是至少40% ee、50% ee、60% ee、70% ee、80% ee、90% ee、92% ee、94% ee、95% ee、96% ee、98% ee或更大ee。

[0163] 如本文所用,在无立体化学下绘出单键不指示化合物的立体化学。

[0164] 如本文所用,切割键或粗体非楔形键指示相对的而不是绝对的立体化学构型(例如不区别所给定非对映异构体的对映异构体)。

[0165] 如本文所用,切割键或粗体楔形键指示绝对的立体化学构型。

[0166] 在某些实施方案中,本发明化合物的治疗性制剂可进行富集,以主要提供化合物的一种对映异构体。对映异构性富集的混合物可包含例如至少60摩尔百分比的一种对映异构体,或更优选至少75摩尔百分比、90摩尔百分比、95摩尔百分比乃至99摩尔百分比。在某些实施方案中,富集一种对映异构体的化合物基本上不含另一对映异构体,其中基本上不含意指例如在组合物或化合物混合物中,所讨论的物质与另一对映异构体的量相比占小于10%,或小于5%,或小于4%,或小于3%,或小于2%,或小于1%。举例来说,如果组合物或化合物混合物含有98克第一对映异构体和2克第二对映异构体,那么将认为含有98摩尔百分比的第一对映异构体和仅仅2%的第二对映异构体。

[0167] 在某些实施方案中,治疗性制剂可富集,以主要提供本发明化合物的一种非对映异构体。非对映异构性富集的混合物可包含例如至少60摩尔百分比的一种非对映异构体,或更优选至少75摩尔百分比、90摩尔百分比、95摩尔百分比乃至99摩尔百分比。

[0168] 治疗方法

[0169] 非选择性的 Ca^{2+} 可渗透瞬时受体电位 (TRP) 通道充当传感器,在包括肌动蛋白重塑和细胞迁移的不同的细胞过程中将胞外线索转导至胞内环境 (Greka等人, *Nat Neurosci* 6, 837-845, 2003; Ramsey等人, *Annu Rev Physiol* 68, 619-647, 2006; Montell, *Pflugers Arch* 451, 19-28, 2005; Clapham, *Nature* 426, 517-524, 2003)。肌动蛋白细胞骨架的动力学重排依赖于时空调控的 Ca^{2+} 流入 (Zheng和Poo, *Annu Rev Cell Dev Biol* 23, 375-404, 2007); Brandman和Meyer, *Science* 322, 390-395, 2008); Collins和Meyer, *Dev Cell* 16, 160-161, 2009) 并且小的GTP酶RhoA和Rac1用作这些变化的关键调节剂 (Etienne-Manneville和Hall, *Nature* 420, 629-635, 2002); Raftopoulou和Hall, *Dev Biol* 265, 23-32, 2004)。RhoA诱发应力纤维和粘附斑形成,而Rac1介导板状伪足形成 (Etienne-Manneville和Hall, *Nature* 420, 629-635, 2002)。瞬时受体电位阳离子通道亚家族C成员5 (TRPC5) 与TRPC6协力起作用,调控 Ca^{2+} 流入、肌动蛋白重塑和肾足状突细胞和纤维母细胞中的细胞移动。TRPC5介导的 Ca^{2+} 流入增加Rac1活性,而TRPC6介导的 Ca^{2+} 流入促进RhoA活性。TRPC6通道的基因沉默消除应力纤维并减少灶性接触,提供能动的移行细胞表型。相比之下,TRPC5通道的基因沉默拯救应力纤维形成,提供收缩的细胞表型。本文所述的结果揭露了一种保守的信号传导机制,其中TRPC5和TRPC6通道通过有差别地与Rac1和RhoA偶联来控制紧密调控的细胞骨架动力学平衡。

[0170] Ca^{2+} 依赖性的肌动蛋白细胞骨架的重塑是驱动细胞迁移的动力学过程 (Wei等人, *Nature* 457, 901-905, 2009)。RhoA和Rac1充当负责迁移细胞中细胞骨架重排的开关 (Etienne-Manneville和Hall, *Nature* 420, 629-635, 2002); Raftopoulou和Hall, *Dev Biol* 265, 23-32, 2004)。Rac1的活化介导游动细胞表型,而RhoA活性促进收缩表型 (Etienne-Manneville和Hall, *Nature* 420, 629-635, 2002)。 Ca^{2+} 在小的GTP酶调控中起着重要作用 (Aspenstrom等人, *Biochem J* 377, 327-337, 2004)。空间和时间上限制的 Ca^{2+} 闪烁富集在迁移细胞的前沿 (Wei等人, *Nature* 457, 901-905, 2009)。因此 Ca^{2+} 微结构域接合了Rac1活性的局部爆发 (Gardiner等人, *Curr Biol* 12, 2029-2034, 2002; Machacek等人, *Nature* 461, 99-103, 2009) 作为前沿关键事件。迄今为止,负责GTP酶调控的 Ca^{2+} 流入来源基本上仍然是难以捉摸的。TRP (瞬时受体电位) 通道产生与纤维母细胞和神经元生长锥中细胞迁移相关的在

时间和空间上受限制的 Ca^{2+} 信号⁰。具体地说,TRPC5通道是神经元生长锥引导的已知调控因子1且它们在神经元中的活性取决于PI3K和Rac1活性(Bezzerides等人,Nat Cell Biol 6, 709-720,2004)。

[0171] 足状突细胞是类神经元细胞,其来源于肾小球的后肾间充质并且对肾过滤器的形成来说是必不可少的(Somlo和Mundel,Nat Genet.24,333-335,2000;Fukasawa等人,J Am Soc Nephrol 20,1491-1503,2009)。足状突细胞对环境线索有着一系列极其精确的细胞骨架适应(Somlo和Mundel,Nat Genet 24,333-335,2000;Garg等人,Mol Cell Biol 27, 8698-8712,2007;Verma等人,J Clin Invest 116,1346-1359,2006;Verma等人,J Biol Chem 278,20716-20723,2003;Barletta等人,J Biol Chem 278,19266-19271,2003;Holzman等人,Kidney Int 56,1481-1491,1999;Ahola等人,Am J Pathol 155,907-913, 1999;Tryggvason和Wartiovaara,N Engl J Med 354,1387-1401,2006;Schnabel和Farquhar,J Cell Biol 111,1255-1263,1990;Kurihara等人,Proc Natl Acad Sci USA 89,7075-7079,1992)。足状突细胞损伤的早期事件特征为肌动蛋白细胞骨架的失调(Faul等人,Trends Cell Biol 17,428-437,2007;Takeda等人,J Clin Invest 108,289-301, 2001;Asanuma等人,Nat Cell Biol 8,485-491,2006)和 Ca^{2+} 体内平衡(Hunt等人,J Am Soc Nephrol 16,1593-1602,2005;Faul等人,Nat Med 14,931-938,2008)。这些变化引起蛋白尿的发作、白蛋白损失至肾小囊腔中和最终肾衰竭(Tryggvason和Wartiovaara,N Engl J Med 354,1387-1401,2006)。血管活性激素血管紧张素II诱发足状突细胞中的 Ca^{2+} 流入,并且长期治疗引起应力纤维的丧失(Hsu等人,J Mol Med 86,1379-1394,2008)。虽然公认 Ca^{2+} 流入与细胞骨架改组之间存在关联,但足状突细胞感知和转导调节细胞形状和活动性的胞外线索的机制仍然是难以捉摸的。TRP规范6 (TRPC6) 通道突变已经与足状突细胞损伤相关联(Winn等人,Science 308,1801-1804,2005;Reiser等人,Nat Genet 37,739-744,2005;Moller等人,J Am Soc Nephrol 18,29-36,2007;Hsu等人,Biochim Biophys Acta 1772, 928-936,2007),但几乎不知道调控这个过程的特定通路。此外,TRPC6与TRPC通道家族的六个其它成员共享密切同源性(Ramsey等人,Annu Rev Physiol 68,619-647,2006;Clapham, Nature 426,517-524,2003)。TRPC5通道对TRPC6通道活性具有拮抗作用以通过与不同的小的GTP酶的有差别的偶联,控制紧密调控的细胞骨架动力学平衡。

[0172] 蛋白尿

[0173] 蛋白尿是一种病理性疾患,其中蛋白质存在于尿中。白蛋白尿是一类蛋白尿。当肾漏了少量的白蛋白至尿中时发生微量白蛋白尿。在正常运转的体内,尿中通常不存在白蛋白,因为其被肾保持在血流中。在至少两个时刻,从24小时尿收集(20至200 $\mu\text{g}/\text{min}$)或者更通常从升高浓度(30至300 mg/L)诊断出微量白蛋白尿。微量白蛋白尿可能是糖尿病肾病的先兆。超过这些值的白蛋白水平被称为大量白蛋白尿。患有某些疾患,例如糖尿病肾病的受试者可能从微量白蛋白尿进展至大量白蛋白尿,并在肾病达到晚期时达到肾病范围(> 3.5g/24小时)。

[0174] 蛋白尿的病因

[0175] 蛋白尿可能与许多疾患有关,所述疾患包括局灶节段性肾小球硬化、IgA肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、进行性(新月体性)肾小球肾炎和膜性肾小球肾炎。

[0176] A.局灶节段性肾小球硬化 (FSGS)

[0177] 局灶节段性肾小球硬化 (FSGS) 是一种攻击肾的过滤系统 (肾小球), 引起严重疤痕的疾病。FSGS 是被称为肾病综合征的疾病的众多起因之一, 当血液中的蛋白质漏入尿中 (蛋白尿) 时发生肾病综合征。

[0178] 很少有治疗可用于 FSGS 患者。许多患者用类固醇方案治疗, 大部分的方案具有非常严重的副作用。一些患者已经显示对免疫抑制药物以及显示降低尿中的蛋白质水平的降压药反应积极。迄今为止, 不存在普遍接受的有效治疗或疗法, 并且 FDA 没有批准过治疗 FSGS 的药物。因此, 需要更有效的降低或抑制蛋白尿的方法。

[0179] B. IgA 肾病

[0180] IgA 肾病 (又名 IgA 肾炎、IgAN、伯杰病 (Berger's disease) 和并咽喉炎性肾小球肾炎 (synpharyngitic glomerulonephritis)) 是一种肾小球肾炎形式 (肾小球炎症)。IgA 肾病是全世界最常见的肾小球肾炎。原发性 IgA 肾病特征为 IgA 抗体沉积在肾小球中。存在其它与肾小球 IgA 沉积相关的疾病, 最常见的是亨-舍二氏紫癜 (Henoch-Schönlein purpura, HSP), 它被许多人视为 IgA 肾病的全身性形式。亨-舍二氏紫癜呈现出特征性的紫癜性皮疹、关节炎和腹痛并且更常发生在青年人 (16-35 岁) 中。HSP 的预后比 IgA 肾病更良好。在 20 年内, IgA 肾病中有 25-30% 的病例会缓慢发展为慢性肾衰竭。

[0181] C. 糖尿病肾病

[0182] 糖尿病肾病又名基-威二氏综合征 (Kimmelstiel-Wilson syndrome) 和毛细血管间肾小球肾炎, 是一种由肾小球中毛细管的血管病引起的进行性肾病。它的特征是肾病综合征和弥漫性肾小球硬化症。这是由长期存在的糖尿病引起并且是透析的主要理由。糖尿病肾病过程的最早可检测的变化是肾小球增厚。在这个阶段, 肾可能开始允许尿中血清白蛋白高于正常水平。随着糖尿病性肾病的进展, 结节性肾小球硬化破坏了越来越多的肾小球, 尿液中分泌的白蛋白量也增加了。

[0183] D. 狼疮性肾炎

[0184] 狼疮性肾炎是一种肾脏病症, 是系统性红斑狼疮的并发症。当抗体和补体在肾脏中积累并引起炎症时, 就会发生狼疮性肾炎。它经常引起蛋白尿, 并可能迅速发展为肾功能衰竭。氮废物在血液中积累。系统性红斑狼疮会引起肾脏内部结构的各种疾病, 包括间质性肾炎。狼疮性肾炎影响约 10,000 人中的 3 人。

[0185] E. 膜增生性肾小球肾炎 I/II/III

[0186] 膜增生性肾小球肾炎是一类肾小球肾炎, 由肾小球系膜中的沉积物和基底膜增厚, 活化补体和损伤肾小球引起。膜增生性肾小球肾炎有三种类型。I 型是由免疫复合物沉积在肾脏中引起的, 并被认为是经典的补体途径有关。II 型与 I 型相似, 但是据信与替代补体途径有关。III 型非常罕见, 其特征是上皮下沉积物和 I 型疾病的典型病理发现混合在一起。

[0187] F. 进行性 (新月体性) 肾小球肾炎

[0188] 进行性 (新月体性) 肾小球肾炎 (PG) 是肾脏的一种综合征, 如果不及时治疗, 会在数月内迅速发展为急性肾功能衰竭甚至死亡。在 50% 的病例中, PG 与例如古德帕斯彻氏综合征 (Goodpasture's syndrome)、系统性红斑狼疮或韦格纳氏肉芽肿 (Wegener granulomatosis) 的基础疾病有关; 其余病例是特发性的。不论潜在原因是什么, PG 都会严

重损害肾脏的肾小球,其中许多肾小球都含有特征性的新月形疤痕。PG患者有血尿、蛋白尿,偶尔还有高血压和水肿。尽管蛋白尿程度可能偶尔超过3g/24小时,即与肾病综合征相关的范围,但临床现象与肾脏综合征一致。未经治疗的疾病可能进展至尿体积减少(少尿症),引起不良肾脏功能。

[0189] G.膜性肾小球肾炎

[0190] 膜性肾小球肾炎(MGN)是一种进展缓慢的肾病,主要影响30岁与50岁之间的患者,通常是白种人。它可以发展为肾病综合征。MGN是由循环免疫复合物引起的。当前的研究表明,大多数免疫复合物是通过抗体与肾小球基底膜原位抗原结合形成的。所述抗原可为基底膜内源的,或从体循环沉积的。

[0191] H.肥胖症

[0192] 小鼠中实验诱发的TrpC5缺乏已经显示引起正能量平衡,导致过度的体重增加Y Gao等人,Cell Rep 2017,18(3),第583-92页。因此,TrpC5的激动作用可减少肥胖症。

[0193] 尿蛋白水平的测量

[0194] 尿中的蛋白水平可以使用本领域中已知的方法测量。直到最近,准确的蛋白质测量才要求24小时尿收集。在24小时的收集过程中,患者将小便排入一个容器,该容器在两次上洗之间要保持冷藏状态。指示患者在早晨第一次去洗手间后开始收集尿液。这天其余时间的每滴尿液都应收集在容器中。次日早晨,在睡醒后患者增加第一次排尿,收集工作结束。

[0195] 近年来,研究员已经发现单个尿液样品可以提供所需要的信息。在新技术中,尿样品中白蛋白的量与正常肌肉分解的废产物肌酐的量比较。测量结果称为尿白蛋白肌酐比(UACR)。每克肌酐含有超过30毫克白蛋白(30mg/g)的尿样品预警可能有问题。如果实验室测试超过30mg/g,那么另一UACR测试将在1至2周以后进行。如果第二测试也显示高水平的蛋白质,那么此人具有持久的蛋白尿,这是肾功能下降的征象,并且应进行评估肾脏功能的附加测试。

[0196] 测量血液中肌酐量的测试也显示受试者的肾脏是否有效地去除废弃物。血液中过多的肌酐是人具有肾脏损伤的征象。医师可以使用肌酐测量来估计肾如何有效地过滤血液。这个计算被称为估计肾小球滤过率或eGFR。当eGFR小于60毫升/分钟(mL/min)时存在慢性肾病。

[0197] TRPC5

[0198] TRPC是动物中的瞬时受体电位阳离子通道的一个家族。TRPC5是哺乳动物瞬时受体电位离子通道的TRPC家族的亚型。下表1突出显示了TRPC5的三个实例。

[0199] 表

来自三种不同物种的TRPC5直系同源物以及它们的
GenBank参考序列登记号。

[0200]	物种	核酸	氨基酸	基因ID
	智人	NM_012471.2	NP_036603.1	7224
	小家鼠	NM_009428.2	NP_033454.1	22067
	褐家鼠	NM_080898.2	NP_543174.1	140933

[0201] 因此,在某些实施方案中,本发明提供了肾病得以治疗或显现肾病的风险得以降低的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的TRPC5抑制化合物(例如式I或II的TRPC5抑制化合物)或包含所述化合物的药物组合物。

[0202] 在一些实施方案中,肾病选自由以下组成的组:局灶节段性肾小球硬化(FSGS)、糖尿病肾病、奥尔波特综合征、高血压肾病、肾病综合征、类固醇抵抗型肾病综合征、微小病变、膜性肾病、特发性膜性肾病、膜增生性肾小球肾炎(MPGN)、免疫复合物介导的MPGN、补体介导的MPGN、狼疮性肾炎、感染后肾小球肾炎、薄基底膜病、系膜增生性肾小球肾炎、淀粉样变性病(原发性)、c1q肾病、快速进行性GN、抗GBM病、C3肾小球肾炎、高血压肾硬化和IgA肾病。在一些实施方案中,肾病是蛋白尿。在一些实施方案中,肾病为微量白蛋白尿或大量白蛋白尿肾病。

[0203] 本发明还提供了治疗焦虑症或抑郁症或癌症或者降低所述疾病的风险的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的TRPC5抑制化合物(例如式I或II的TRPC5抑制化合物)或包含所述化合物的药物组合物。

[0204] 在某些实施方案中,本发明提供了治疗肥胖症或降低显现肥胖症的风险的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的TRPC5激动剂化合物(例如式I或II的TRPC5激动剂化合物)或包含所述化合物的药物组合物。

[0205] 待治疗的受试者

[0206] 在本发明的一个方面中,受试者基于其患有肾病、焦虑症、抑郁症或癌症或处于显现所述疾病的风险下而选择。

[0207] 患有蛋白尿或处于显现蛋白尿的风险下的受试者包括患有糖尿病、高血压或某些家庭背景的受试者。在美国,糖尿病是晚期肾病(ESRD)的主要原因。在1型和2型糖尿病中,尿中的白蛋白是肾功能退化的第一征象之一。当肾脏功能下降时,尿中的白蛋白量增加。显现蛋白尿的另一个风险因子是高血压。具有高血压的人中的蛋白尿是肾脏功能下降的指标。如果不控制高血压,那么此人可进展至完全肾衰竭。非裔美国人比白种人更可能具有高血压和从中显现肾脏问题,即使当其血压仅仅轻微升高时。处于蛋白尿风险下的其它组是美国印第安人、拉丁美洲人/拉丁美洲人、太平洋岛民美国人、老年人和超重受试者。

[0208] 在本发明的一个方面中,受试者基于其具有蛋白尿或处于显现蛋白尿的风险下而选择。具有蛋白尿或处于显现蛋白尿的风险下的受试者是具有所述疾患的一种或多种症状的受试者。蛋白尿的症状是本领域的技术人员已知的并且包括不限于尿中大量蛋白质,这可能引起卫生间中看起来多泡沫。大量蛋白质的流失可能引起水肿,其中可能存在手、足、腹部或面部的肿胀。这些是大量蛋白质损失的征象并指示肾病已经进展。实验室测试是在

广泛的肾脏损害发生之前找出受试者尿液中是否存在蛋白质的唯一方法。

[0209] 所述治疗有效用于多个受试者,包括哺乳动物,例如人类和其它动物,例如实验动物,例如小鼠、大鼠、兔或猴,以及家养和农场动物,例如猫、犬、山羊、绵羊、猪、母牛或马。在一些实施方案中,受试者为哺乳动物。在一些实施方案中,受试者为人。

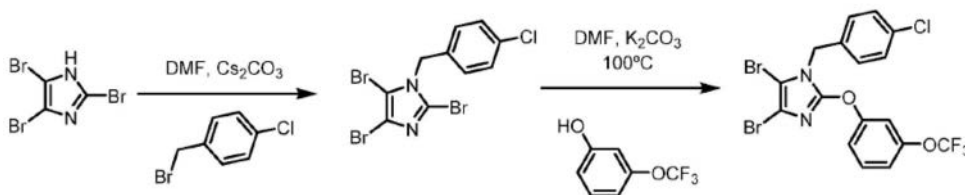
[0210] 实施例

[0211] 将在以下实施例中进一步描述本发明,所述实施例不限制权利要求书中描述的本发明的范围。

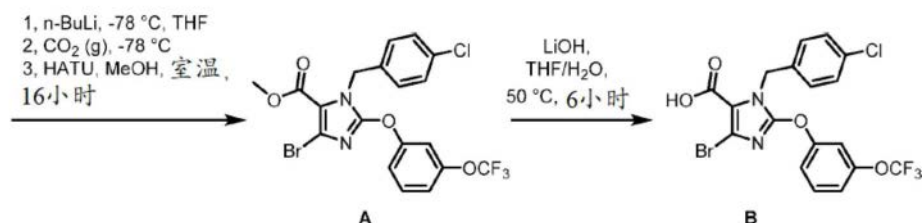
[0212] 实施例1:合成方法

[0213] 以下说明本发明的示例性化合物的合成途径。

[0214] 制备中间体A



[0215]



[0216] 2,4,5-三溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-1H-咪唑

[0217] 将2,4,5-三溴-1H-咪唑(120g, 393.75mmol, 1当量)、1-(溴甲基)-4-氯苯(100g, 486.67mmol, 1.236当量)和 Cs_2CO_3 (200g, 613.84mmol, 1.559当量)于DMF(1000mL)中的混合物在室温下搅拌16小时。向反应混合物中加入EtOAc(500mL)和 H_2O (300mL)。将有机层用 H_2O (2×300mL)和盐水(300mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤。浓缩滤液,得到呈淡黄色固体状的2,4,5-三溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-1H-咪唑(170g,粗)。

[0218] 4,5-二溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑

[0219] 将2,4,5-三溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-1H-咪唑(175g, 407.61mmol, 1当量)、3-(三氟甲氧基)苯酚(87.5g, 491.27mmol, 1.205当量)和DMF(1000mL) K_2CO_3 (175g, 1266.23mmol, 3.106当量)于DMF(1000mL)中的混合物在100°C下搅拌16小时。使反应混合物冷却至室温并加入EtOAc(750mL)和 H_2O (500mL)。将有机层用 H_2O (2×300mL)和盐水(150mL)洗涤,接着经无水 Na_2SO_4 干燥并过滤。浓缩滤液,得到粗产物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EtOAc(20:1至10:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色固体状的4,5-二溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑(200g, 93.19%)。

[0220] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(中间体A)

[0221] 在-78°C下向搅拌的4,5-二溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑(10.52g, 19.98mmol, 1当量)于THF(100mL)中的溶液中逐滴加入n-BuLi(25.8mL, 64.57mmol, 1当量)。将所得混合物在-78°C下搅拌30分钟,然后在-78°C下 CO_2 (g)

鼓泡通过以上混合物,历时50分钟。将反应混合物在-78℃下搅拌30分钟。向以上溶液中加入HATU(36.8g,96.86mmol,1.5当量)、MeOH(180mL)和TEA(70mL),然后将所得混合物在室温下搅拌12小时。过滤反应混合物并浓缩滤液,得到粗产物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(20:1至5:1)洗提来纯化,得到呈白色固体状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(26g,79.63%)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 7.46-7.40(m,1H), 7.36-7.30(m,2H), 7.22(dd, J=8.4,2.4Hz,3H), 7.13(dtd, J=9.9,2.1,1.1Hz,2H), 5.52(s,2H), 3.89(s,3H)。

[0222] 下表中所示的中间体C、E、G、I、J、K、L、M和N的制备遵循如针对合成中间体A所述的方法和方案,以适当卤化物和苯酚为起始物:

[0223]

中间体	卤化物	苯酚	结构	表征
C	1-溴丁烷	3-(三氟甲氧基)苯酚		¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ 7.44 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 7.25 (ddd, J = 8.3, 2.4, 0.9 Hz, 1H), 7.19 - 7.09 (m, 2H), 4.30 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 1.81 - 1.70 (m, 2H), 1.45 - 1.34 (m, 2H), 0.97 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
E	1-(溴甲基)-4-氯苯	3-氟苯酚		¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ 7.41 - 7.30 (m, 3H), 7.25 - 7.20 (m, 2H), 7.07 - 6.94 (m, 3H), 5.51 (s, 2H), 3.89 (s, 3H)
G	1-(1-溴乙基)-4-氯苯	3-氟苯酚		¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ 7.30 (s, 2H), 7.17 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.91 (tdd, J = 8.8, 5.2, 2.8 Hz, 2H), 6.78 - 6.69 (m, 2H), 6.62 (q, J = 7.2 Hz, 1H), 5.45 (q, J = 7.2 Hz, 0H), 4.14(q, J = 7.0 Hz, 0H), 3.94 (s, 3H), 1.95 (d, J = 7.2 Hz, 3H)
I	1-溴丁烷	3-氟苯酚		¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ 7.42 - 7.27 (m, 1H), 7.11 - 7.01 (m, 2H), 6.96 (ddd, J = 9.9, 8.1, 2.2 Hz, 1H), 4.30 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 1.75 (p, J = 7.4 Hz, 2H), 1.39 (h, J = 7.3 Hz, 2H), 0.97 (t, J = 7.3 Hz, 3H)。

[0224]

中间体	卤化物	苯酚	结构	表征
J	1-(溴甲基)-4-氯苯	3-氟苯酚		¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ 7.39 - 7.31 (m, 3H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.04 (dt, J = 9.6, 3.8 Hz, 2H), 6.97 (td, J = 8.3, 2.3 Hz, 1H), 5.51 (s, 2H), 3.89 (s, 3H)
K	1-(溴甲基)-4-氯苯	异丙醇		
L	1-(溴甲基)-4-氯苯	正丙醇		
M	1-溴丁烷	3-氯苯酚		¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ 7.34 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.24 - 7.16 (m, 2H), 4.29 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 1.75 (p, J = 7.6 Hz, 2H), 1.39 (h, J = 7.4 Hz, 2H), 0.97 (t, J = 7.3 Hz, 3H)
N	1-(溴甲基)-4-氯苯	3-氯苯酚		

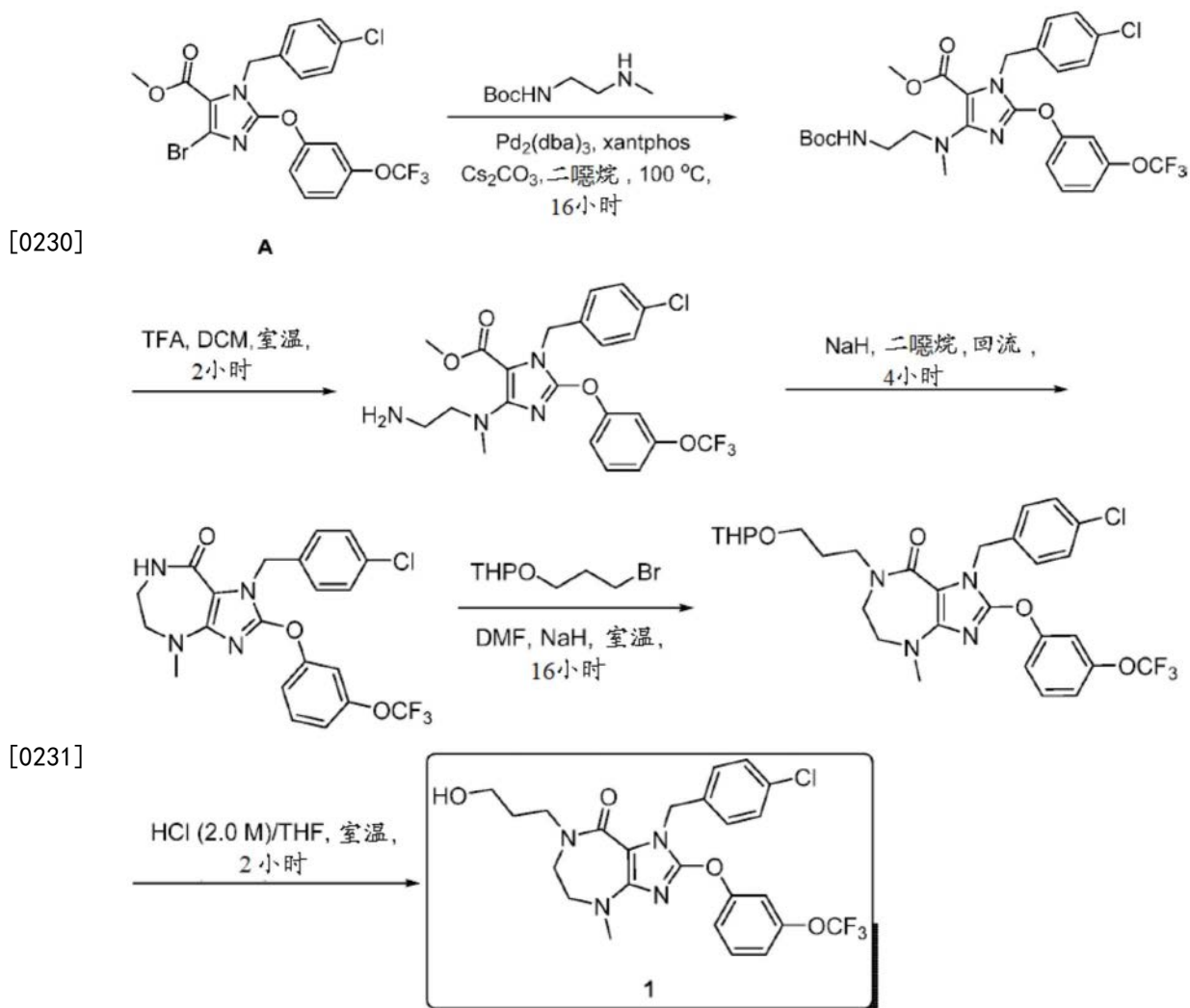
[0225] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸(中间体B)

[0226] 向4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(8g, 15.82mmol, 1当量)于THF(50mL)和H₂O(50mL)中的混合物加入LiOH(3.8g, 158.21mmol, 10当量)并在室温下搅拌10小时。将所得混合物用EA(4×200mL)萃取。将合并的有机层用水(1×100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后,减压浓缩滤液。残余物/粗产物通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱, 20-40um, 120g。流动相A:水(0.1% AcOH), 流动相B:ACN, 流速:60mL/min, 梯度:15分钟内80-90% B, 254nm)来纯化,得到呈白色固体状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸(7.5g, 96.42%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 13.41 (s, 1H), 7.59 (t, J = 8.3Hz, 1H), 7.42 (dd, J = 8.7, 2.1Hz, 3H), 7.37 (dt, J = 8.2, 1.5Hz, 1H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.29-7.24 (m, 2H), 5.51 (s, 2H)

[0227] 下表中所示的中间体D、F和H的制备遵循如针对合成中间体B所述的方法和方案,以适当中间体为起始物:

中间体	起始物	结构	表征
D	C		^1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ 7.46 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 7.29 - 7.25 (m, 1H), 7.21 - 7.12 (m, 2H), 4.34 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.85 - 1.73 (m, 2H), 1.41 (h, J = 7.4 Hz, 2H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
F	E		
H	G		

[0229] 化合物1的制备



[0232] 4-[(2-[[叔丁氧基]氨基]乙基)(甲基氨基)-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯

[0233] 将4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(2g, 3.96mmol, 1当量)、N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯(1.4g, 7.91mmol, 2.00当量)、XantPhos(686.6mg, 1.19mmol, 0.3当量)、Pd₂(dba)₃(362.2mg, 0.40mmol, 0.1当量)和Cs₂CO₃(3.9g, 11.87mmol, 3当量)于二噁烷(30mL, 89.53当量)中的混合物在100℃下搅拌14小时。过滤反应混合物并浓缩滤液,得到粗产物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(10:1至3:2)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的4-[(2-[(叔丁氧基)羰基]氨基)乙基](甲基)氨基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(630mg, 26.59%)。

[0234] ¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ7.41(t, J=8.2Hz, 1H), 7.34-7.26(m, 3H), 7.18(t, J=8.7Hz, 2H), 7.09(d, J=8.4Hz, 1H), 5.39(s, 2H), 5.28(s, 1H), 3.78(s, 3H), 3.38(dd, J=18.5, 5.7Hz, 4H), 2.94(s, 3H), 1.43(s, 9H)

[0235] 4-[(2-氨基乙基)(甲基)氨基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯

[0236] 在室温下向搅拌的4-[(2-[(叔丁氧基)羰基]氨基)乙基](甲基)氨基)-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(700mg, 1.17mmol, 1当量)于DCM(30mL)中的溶液中逐滴加入TFA(10mL)。然后将所得混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物用K₂CO₃碱化至pH 10并用乙酸乙酯(5×50mL)萃取,然后将有机层用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并过滤。浓缩滤液,得到呈淡黄色油状的4-[(2-氨基乙基)(甲基)氨基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(500mg, 粗)。

[0237] 1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-8-酮

[0238] 在0℃下在氮气气氛下向搅拌的4-[(2-氨基乙基)(甲基)氨基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(370mg, 0.74mmol, 1当量)于二噁烷(15mL)中的混合物中加入NaH(59.3mg, 1.48mmol, 2.00当量, 60%),历时0.5小时。将所得混合物在100℃下再搅拌4小时。向所得混合物中加入乙酸乙酯(100mL)和盐水(50mL),然后将水层用乙酸乙酯(100mL)萃取。合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥并过滤。浓缩滤液,得到粗产物,通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱, 20-40um, 120g;流动相A:水(0.1% HOAc), 流动相B:ACN;流速:60mL/min;梯度:30分钟内40% B至70% B, 254nm)来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-8-酮(23mg, 6.64%)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ7.37(q, J=10.5, 9.4Hz, 1H), 7.27(d, J=11.1Hz, 5H), 7.19(d, J=8.5Hz, 1H), 7.07(d, J=8.3Hz, 1H), 5.80(s, 1H), 5.53(s, 2H), 3.54-3.33(m, 4H), 3.03(s, 3H)

[0239] 1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-8-酮

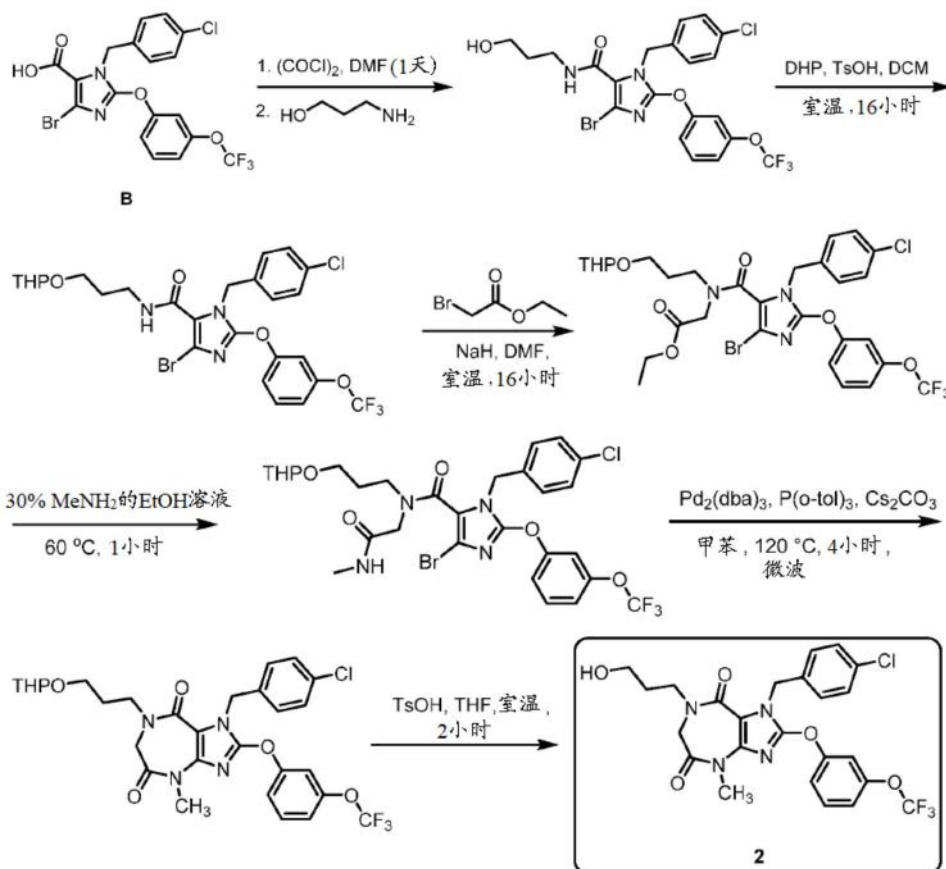
[0240] 将1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-8-酮(23mg, 0.05mmol, 1当量)、2-(3-溴丙氧基)噁烷(22.0mg, 0.10mmol, 2当量)和K₂CO₃(20.4mg, 0.15mmol, 3当量)于DMF(5mL)中的混合物在室温下搅拌8小时。向反应中加入EtOAc(50mL)和H₂O(50mL)。将有机层用盐水(2×30mL)洗涤并浓缩,得到残余物,通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱, 20-40um,

40g;流动相A:水(0.1% HOAc),流动相B:ACN;流速:40mL/min;梯度:30分钟内50% B至70% B,254nm)来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-8-酮(10mg,33.33%)。

[0241] 1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-8-酮(化合物1)

[0242] 在室温下向搅拌的1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-8-酮(10mg)于THF(5mL)中的溶液中逐滴加入2M HCl(5mL)。然后将所得混合物在室温下搅拌1小时。将反应混合物用K₂CO₃碱化至pH 10并用乙酸乙酯(3×50mL)萃取,然后将有机层用盐水(2×20mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并过滤。浓缩滤液,得到粗产物,通过制备型手性HPLC(柱:XBridge Prep C18 OBD柱,5μm,19×150mm;流动相A:水(0.1%FA),流动相B:ACN;流速:20mL/min;梯度:7分钟内50% B至85% B;254和220nm;RT:6.5min)来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-8-酮(2.2mg,25.53%)。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄)δ7.50(t,J=8.2Hz,1H),7.33-7.26(m,2H),7.23-7.15(m,5H),5.47(s,2H),3.59-3.54(m,2H),3.53-3.41(m,6H),3.01(s,3H),1.79-1.70(m,2H)。分子式C₂₄H₂₄ClF₃N₄O₄的[M+H]⁺计算值:525,实验值:525。

[0243] 化合物2的制备



[0245] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-(3-羟基丙基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪

唑-5-甲酰胺

[0246] 将3-氨基丙-1-醇(77.3mg, 1.03mmol, 1.5当量)、4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-羧基氯(350mg, 0.69mmol, 1当量)于DCM(20mL)和TEA(0.5mL, 4.71mmol, 5.0当量)中的混合物在室温下搅拌16小时。将反应混合物减压浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE:EtOAc(1:1至1:2)洗提来纯化,得到呈淡黄色固体状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-(3-羟基丙基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(220mg, 58.43%)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ 7.43(td, J=8.0, 7.5, 1.0Hz, 1H), 7.34-7.28(m, 4H), 7.26(d, J=2.4Hz, 2H), 7.24(s, 1H), 7.22-7.18(m, 1H), 7.16-7.08(m, 2H), 5.58(s, 2H), 3.61(dt, J=9.8, 6.0Hz, 4H), 1.78(p, J=5.8Hz, 2H)。

[0247] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0248] 向4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-(3-羟基丙基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(1.00g, 1.82mmol, 1当量)于DCM(30mL)中的混合物加入3,4-二氢-2H-吡喃(306.6mg, 3.64mmol, 2.0当量)和对甲苯磺酸(15.7mg, 0.09mmol, 0.05当量)。将所得混合物在室温下搅拌16小时。浓缩反应混合物,得到粗物质,通过硅胶柱色谱法,用PE:EtOAc(5:1至3:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(1.00g, 86.71%)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ 7.52-7.05(m, 8H), 6.92(s, 1H), 5.56(s, 2H), 4.58(dd, J=4.7, 2.6Hz, 1H), 4.12-3.30(m, 9H), 2.01-1.33(m, 5H)。

[0249] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)乙酸乙酯

[0250] 在0℃下向4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(1000mg, 1.58mmol, 1当量)于DMF(20mL)和NaH(126.4mg, 3.16mmol, 2.0当量, 60%)中的混合物中逐滴加入2-溴乙酸乙酯(527.8mg, 3.16mmol, 2.0当量)。使所得混合物升温至室温并在室温下搅拌16小时。向反应混合物中加入H₂O(100mL),将所得混合物用乙酸乙酯(3×100mL)萃取,将有机层用盐水(100mL)洗涤,经无水干燥并过滤。浓缩滤液,得到残余物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EtOAc(5:1至3:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)乙酸乙酯(970mg, 87.08%)。¹H NMR(300MHz, 氯仿-d) δ 7.45-7.35(m, 4H), 7.34-7.30(m, 8H), 7.09(d, J=15.8Hz, 8H), 6.93(s, 1H), 5.57(d, J=5.3Hz, 2H), 5.17(s, 6H), 4.53(d, J=27.3Hz, 1H), 4.25(q, J=7.7, 6.9Hz, 2H), 3.96-3.18(m, 9H), 1.96-1.70(m, 3H), 1.31(d, J=3.1Hz, 4H)。

[0251] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)-N-甲基乙酰胺

[0252] 将2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)乙酸乙酯(970mg, 1.35mmol, 1当量)于2M甲胺的甲醇溶液(3.00mL)中的混合物在60℃下用微波辐射照射1小时。使反应混合物冷却至室温并减压浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE:EtOAc(1:6至1:9)洗提来纯化,得到呈无色油状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-

[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)-N-甲基乙酰胺(600mg,63.17%)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ8.07-7.88(m,1H),7.61-7.47(m,1H),7.38(d,J=1.6Hz,6H),7.24(dd,J=27.9,9.7Hz,5H),5.12(s,2H),4.49(d,J=30.7Hz,2H),4.15(s,1H),3.79-3.55(m,1H),3.39(s,6H),3.27(d,J=4.1Hz,0H),2.60(dd,J=13.1,4.4Hz,5H),1.87-1.26(m,14H)。

[0253] 1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

[0254] 将2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)-N-甲基乙酰胺(500mg,0.71mmol,1当量)、Pd₂(dba)₃•CHCl₃(73.5mg,0.07mmol,0.1当量)、P(o-Tol)3(43.2mg,0.14mmol,0.2当量)和Cs₂CO₃(462.9mg,1.42mmol,2.0当量)于甲苯(10.0mL)中的混合物在120℃下用微波辐射照射4小时。使反应混合物冷却至室温并减压浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE:EtOAc(3:1至1:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(300mg,67.79%)。

[0255] 1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(化合物2)

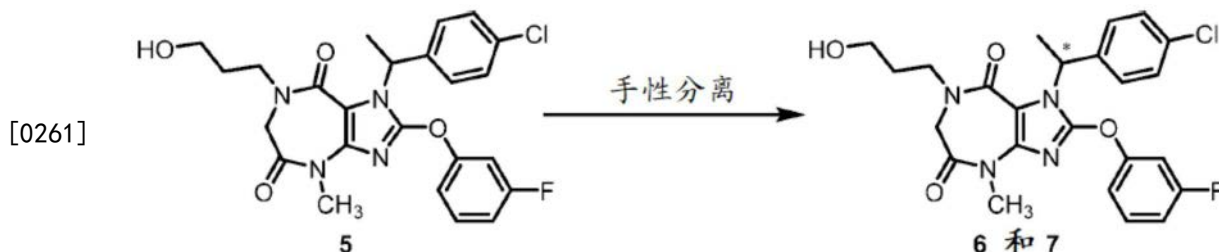
[0256] 将1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(300mg,0.48mmol,1当量)于THF(10mL)和HCl(6M)(20mL)中的混合物在室温下搅拌2小时。浓缩反应混合物,得到残余物。将残余物用饱和K₂CO₃(水溶液)碱化至pH 9,然后将混合物用乙酸乙酯(3×100mL)萃取。将有机层用盐水(50mL)洗涤并浓缩,得到粗产物,通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱,20-40um,120g;流动相A:水(0.1% HOAc),流动相B:ACN;流速:60mL/min;梯度:15分钟内50% B至60% B,254nm)来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(220mg,84.78%)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ7.59-7.54(m,1H),7.42-7.26(m,7H),5.44(s,2H),4.48(t,J=5.1Hz,1H),4.05(s,2H),3.51(t,J=7.1Hz,2H),3.39-3.33(m,2H),3.20(s,3H),1.69-1.60(m,2H)。分子式C₂₄H₂₂ClF₃N₄O₅的[M+H]⁺计算值:539,实验值:539。

[0257] 下表中所示的化合物3-5的制备遵循如针对合成化合物2所述的方法和方案,以适当中间体E为起始物:

化合物	起始物	NMR	LCMS
[0258] 3	D	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ 7.56 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 7.42-7.32 (m, 2H), 7.24 - 7.20 (m, 1H), 4.30 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 4.13 (s, 2H), 3.68 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.59 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.33	分子式 C ₂₁ H ₂₅ F ₃ N ₄ O ₅ 的[M+H] ⁺ 计算值: 471,

[0259]			(s, 3H), 1.90-1.83 (m, 2H), 1.81-1.74 (m, 2H), 1.42-1.33 (m, 2H), 0.97 (t, J = 7.4 Hz, 3H)	实验值: 471
	4	F	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ 7.45-7.39 (m, 1H), 7.37-7.26 (m, 4H), 7.18-7.06 (m, 2H), 7.04 - 6.99 (m, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.03 (s, 2H), 3.64 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.50 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 3.31 (s, 3H), 1.81 (p, J = 6.6 Hz, 2H)	分子式 C ₂₃ H ₂₂ ClFN ₄ O ₄ 的[M+H] ⁺ 计算值: 473, 实验值: 473
	5	H		

[0260] 化合物6和7的制备



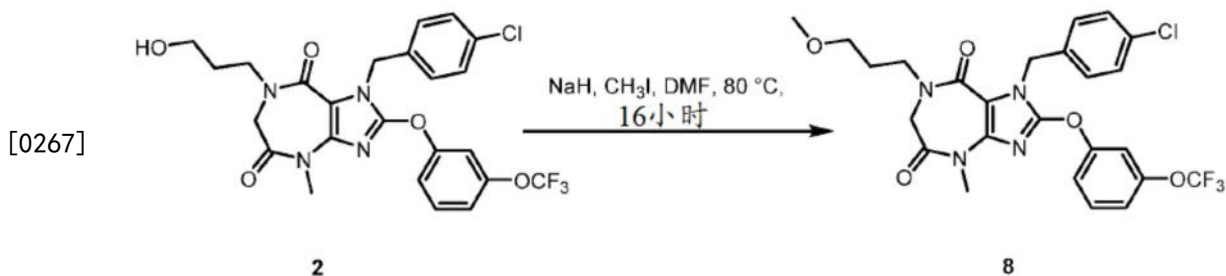
[0262] 1-[(1R)-1-(4-氯苯基)乙基]-2-(3-氟苯氧基)-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮和1-[(1S)-1-(4-氯苯基)乙基]-2-(3-氟苯氧基)-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

[0263] 粗1-(1-(4-氯苯基)乙基)-2-(3-氟苯氧基)-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-1,4,6,7-四氢咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(200mg)通过手性HPLC利用以下条件(柱: CHIRALPAK IE, 2×25cm, 5μm; 流动相A: 己烷0.1%DEA-HPLC, 流动相B: EtOH-HPLC; 流速: 17mL/min; 梯度: 11分钟内50B至50B; 220/254nm; RT1: 7.423; RT2: 9.034)来纯化, 得到分开的对映异构体化合物6(RT 7.423min, 73mg, 23.14%)和化合物7(RT 9.034min, 77mg, 24.41%)。

[0264] 化合物6的表征: ¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ 7.44-7.41 (m, 2H), 7.38-7.31 (m, 3H), 6.98-6.93 (m, 1H), 6.87-6.82 (m, 2H), 6.25 (q, J=7.2Hz, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.73-3.63 (m, 2H), 3.56 (t, J=6.1Hz, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.00 (d, J=7.2Hz, 3H), 1.85 (p, J=6.6Hz, 2H)。分子式C₂₄H₂₄ClFN₄O₄的[M+H]⁺计算值: 487, 实验值: 487。

[0265] 化合物7的表征: ¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ 7.43-7.41 (m, 2H), 7.40-7.30 (m, 3H), 6.98-6.95 (m, 1H), 6.87-6.82 (m, 2H), 6.25 (q, J=7.2Hz, 1H), 4.17 (s, 2H), 3.68 (t, J=6.8, 2H), 3.56 (t, J=6.1Hz, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.00 (d, J=7.2Hz, 3H), 1.85 (p, J=6.7Hz, 2H)。分子式C₂₄H₂₄ClFN₄O₄的[M+H]⁺计算值: 487, 实验值: 487。

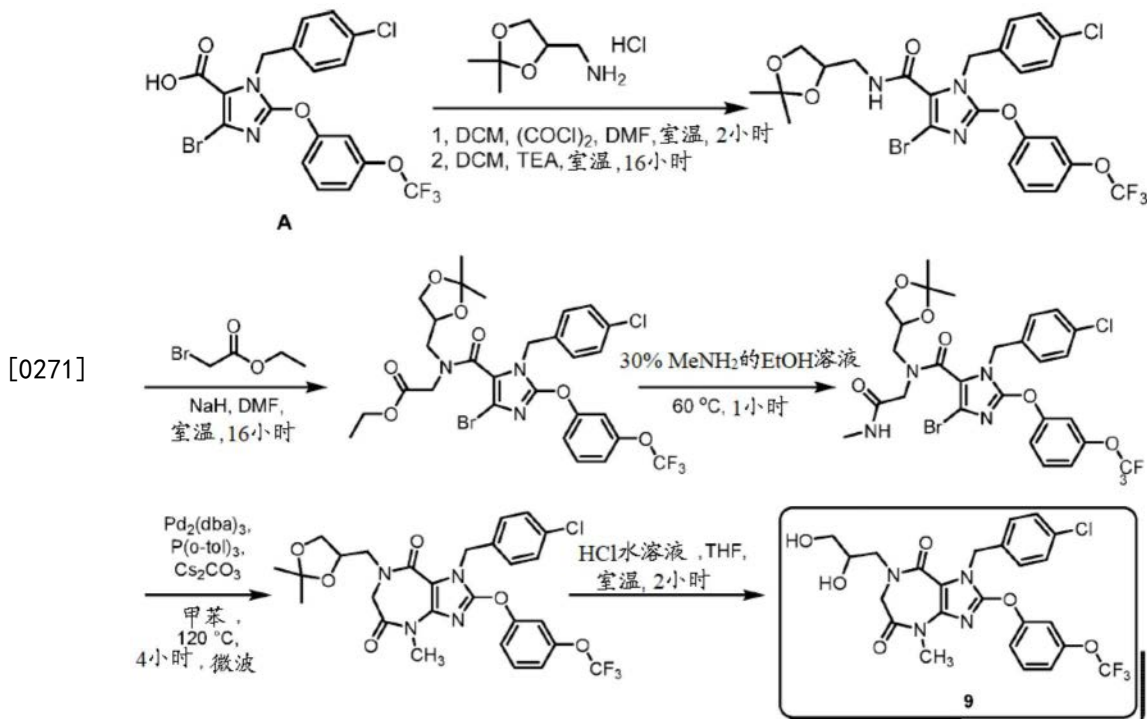
[0266] 化合物8的制备



[0268] 1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(3-甲氧基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(化合物8)

[0269] 在0℃下在氮气气氛下向1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(120mg,0.22mmol,1当量)于DMF(20mL)中的混合物中加入NaH(44.5mg,1.11mmol,5当量,60wt%),历时0.5小时。在0℃下向以上混合物中加入CH₃I(94.8mg,0.67mmol,3当量)。在80℃下将所得混合物再搅拌16小时。将混合物用K₂CO₃(水溶液)碱化至pH 10并用乙酸乙酯(5×50mL)萃取,然后将有机层用盐水(2×50mL)洗涤并减压浓缩。残余物通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱30×150mm 5μm;流动相A:水(0.05%TFA),流动相B:ACN;流速:60mL/min;梯度:7分钟内45% B至80% B;220nm;RT:6.55min)来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(3-甲氧基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(34.1mg,27.70%)。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄)δ7.52(t,J=8.2Hz,1H),7.36-7.28(m,6H),7.20(d,J=8.1Hz,1H),5.50(s,2H),4.05(s,2H),3.63(t,J=6.9Hz,2H),3.37-3.32(m,5H),3.29(s,3H),1.89-1.82(m,2H)。分子式C₂₅H₂₄ClF₃N₄O₅的[M+H]⁺计算值:553,实验值:553。

[0270] 化合物9的制备



[0272] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]-2-

[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0273] 在0℃下向(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲胺(617.2mg,4.71mmol,2.0当量)于DCM(30mL)和TEA(1.0mL,9.69mmol,3.0当量)中的混合物逐滴加入含4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-羧基氯(1.2g,2.35mmol,1当量)的DCM(20mL)。使所得混合物升温至室温并在室温下搅拌16小时。减压浓缩反应混合物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EtOAc(3:1至2:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(1.30g,91.37%)。¹H NMR(300MHz,氯仿-d) δ 7.46-7.38(m,1H),7.35-7.29(m,2H),7.27-7.16(m,3H),7.15-7.08(m,2H),7.01(t,J=5.6Hz,1H),5.59(s,2H),4.32(qd,J=6.2,3.8Hz,1H),4.07(dd,J=8.4,6.4Hz,1H),3.71-3.62(m,2H),3.57(dt,J=14.1,5.8Hz,1H),1.47(s,3H),1.38(s,3H)。

[0274] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]甲酰胺基)乙酸乙酯

[0275] 在0℃下在氮气气氛下向4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(1g,1.65mmol,1当量)于DMF(20mL)中的混合物加入NaH(99.2mg,2.48mmol,1.5当量,60wt%),历时0.5小时。在0℃下向以上混合物中加入2-溴乙酸乙酯(0.3mL,1.80mmol,1.636当量)。将所得混合物在室温下再搅拌16小时。向所得混合物中加入乙酸乙酯(300mL)和盐水(100mL),然后将水层用乙酸乙酯(100mL)萃取。合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥并过滤。浓缩滤液,得到粗产物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(20:1至4:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]甲酰胺基)乙酸乙酯(1.1g,96.3%)。

[0276] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]甲酰胺基)-N-甲基乙酰胺

[0277] 将2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]甲酰胺基)乙酸乙酯(1.2g,1.74mmol,1当量)于2M甲胺的甲醇溶液(5mL)中的混合物在60℃下用微波辐射照射1小时。使混合物冷却至室温。浓缩反应混合物,得到粗产物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(1:1至1:8)洗提来纯化,得到呈白色固体状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]甲酰胺基)-N-甲基乙酰胺(0.92g,78.37%)。

[0278] 1-[(4-氯苯基)甲基]-7-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

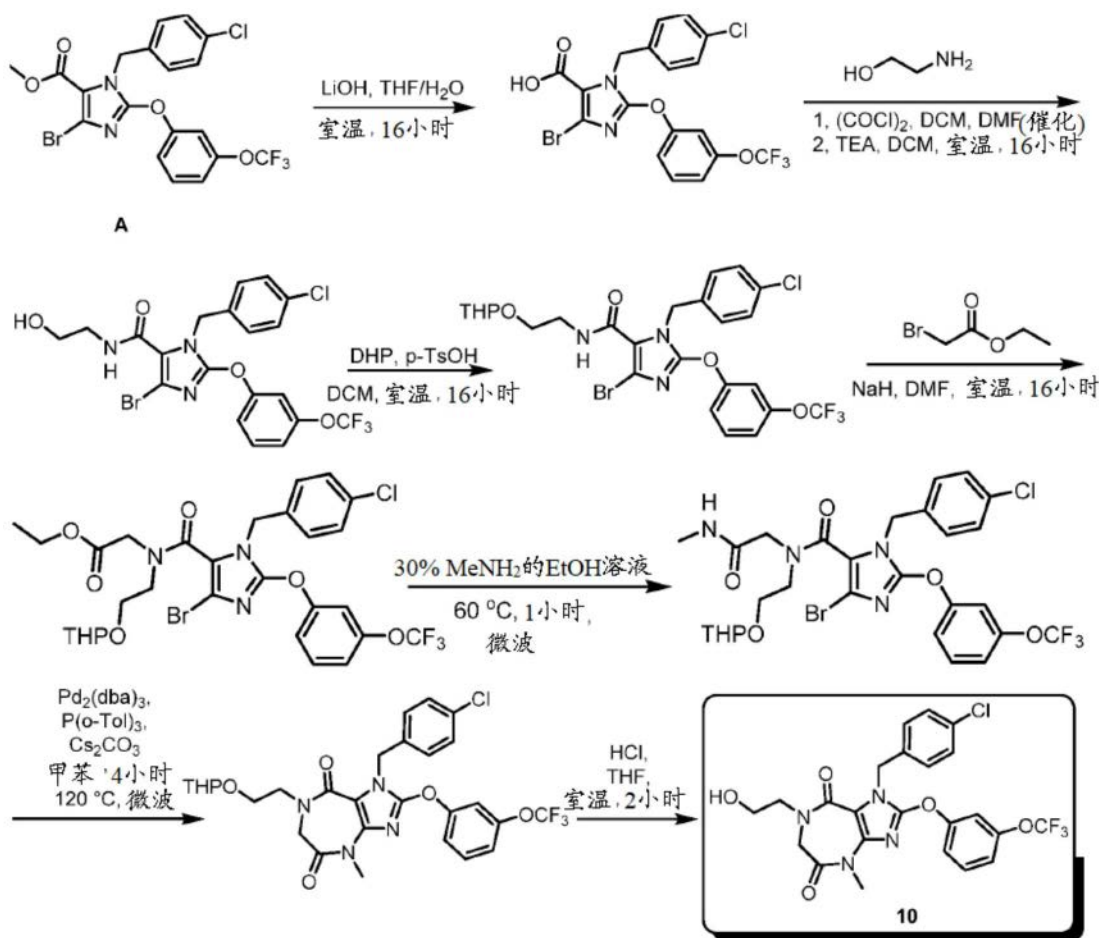
[0279] 将2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]甲酰胺基)-N-甲基乙酰胺(1g,1.48mmol,1当量)、Pd₂(dba)₃·CHCl₃(150mg,0.14mmol,0.098当量)、P(o-Tol)₃(90mg,0.30mmol,0.200当量)和Cs₂CO₃(1g,3.07mmol,2.074当量)于甲苯(15mL)中的混合物在120℃下用微波辐射照射4小时。使混合物冷却至室温。过滤反应混合物并浓缩滤液,得到粗产

物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(4:1至2:3)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-7-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(470mg,53.39%)。

[0280] 1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(2,3-二羟基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(化合物9)

[0281] 在室温下向搅拌的1-[(4-氯苯基)甲基]-7-[(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(600mg,1.01mol,1当量)于THF(15mL)中的溶液中逐滴加入含HCl(15mL)的H₂O(15.0mL)。然后将所得混合物在室温下搅拌2小时。将混合物用K₂CO₃(水溶液)碱化至pH 10并用乙酸乙酯(5×50mL)萃取,然后将有机层用盐水(2×50mL)洗涤并减压浓缩。残余物通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱,20-40um,330g;流动相A:水(0.1% HOAc),流动相B:ACN;流速:80mL/min;梯度:35分钟内60% B至95% B,254nm)来纯化,得到呈白色固体状的1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(2,3-二羟基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(520mg,92.92%)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ7.57(t,J=8.3Hz,1H),7.41-7.35(m,7H),5.44(d,J=1.8Hz,2H),4.81(d,J=5.3Hz,1H),4.63(t,J=5.7Hz,1H),4.25-4.01(m,2H),3.83-3.62(m,1H),3.55-3.48(m,1H),3.43-3.40(m,1H),3.32-3.24(m,2H),3.19(s,3H)。分子式C₂₄H₂₂ClF₃N₄O₆的[M+H]⁺计算值:555,实验值:555

[0282] 化合物10的制备



[0284] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸

[0285] 将4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(2.5g, 4.94mmol, 1当量)和LiOH(1.2g, 49.44mmol, 10当量)于THF(50mL)和H₂O(50mL)中的混合物在室温下搅拌10小时。将所得混合物用EA(4×200mL)萃取。将合并的有机层用水(1×100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后,减压浓缩滤液。残余物/粗产物通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱, 20-40um, 120g。流动相A:水(0.1% AcOH), 流动相B:ACN, 流速:60mL/min, 梯度:15分钟内80-90% B, 254nm)来纯化,得到呈白色固体状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸(2.1g, 86.40%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ13.41(s, 1H), 7.59(t, J=8.3Hz, 1H), 7.42(dd, J=8.7, 2.1Hz, 3H), 7.37(dt, J=8.2, 1.5Hz, 1H), 7.33-7.29(m, 1H), 7.29-7.24(m, 2H), 5.51(s, 2H)。

[0286] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-(2-羟基乙基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0287] 在0℃下向4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸(1.1g, 2.24mmol, 1当量)和1滴DMF于DCM(20mL)中的混合物逐滴加入乙二酰氯(0.9g, 6.71mmol, 3当量)。将混合物在室温下搅拌3小时。真空浓缩所得混合物。将固体用DCM(30mL)溶解,得到溶液A用于下一反应。使2-氨基乙-1-醇(0.4g, 6.71mmol, 3当量)和三乙胺(0.7g, 6.71mmol, 3当量)于DCM(10mL)中的混合物冷却至0℃,在0℃下在氮气气氛下逐滴加入溶液A。将混合物在室温下搅拌3小时。减压浓缩所得混合物。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE/EA(2/1至1/1)洗提来纯化,得到呈白色固体状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-(2-羟基乙基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(0.91g, 76.06%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ7.99(t, J=5.6Hz, 1H), 7.58(t, J=8.3Hz, 1H), 7.45-7.37(m, 2H), 7.38-7.26(m, 5H), 5.39(s, 2H), 4.77(t, J=5.4Hz, 1H), 3.47(q, J=6.1Hz, 2H), 3.35-3.27(m, 2H)。

[0288] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0289] 在室温下在氮气气氛下向搅拌的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-(2-羟基乙基)-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(0.9g, 1.68mmol, 1当量)和4-甲基苯-1-磺酸(0.0g, 0.17mmol, 0.1当量)于DCM(50mL)中的混合物中加入3,4-二氢-2H-吡喃(0.0g, 0.34mmol, 0.2当量)。使混合物在室温下反应10小时。将所得混合物用水(100mL)淬灭并用DCM(4×100mL)萃取。将合并的有机层用水(1×100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后,减压浓缩滤液。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE/EA(4/1)洗提来纯化,得到呈黄色油状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(0.8g, 76.81%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ8.09(d, J=5.6Hz, 1H), 7.60-7.55(m, 1H), 7.43-7.38(m, 2H), 7.36-7.25(m, 5H), 5.38(s, 2H), 4.59(d, J=4.0Hz, 1H), 3.76-3.66(m, 2H), 3.42(dq, J=10.2, 5.9, 5.4Hz, 4H), 1.50-1.41(m, 6H)。

[0290] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]甲酰胺基)乙酸乙酯

[0291] 在0℃下在氮气气氛下向搅拌的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-N-[2-(噁烷-2-基氧

基)乙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(0.64g,1.03mmol,1当量)于DMF(15mL)中的溶液中分部分加入NaH(0.1g,4.14mmol,4当量)。将混合物在0℃下搅拌30分钟并加入2-溴乙酸乙酯(0.7g,4.14mmol,4当量)。将混合物在室温下搅拌16小时。将所得混合物用水(100mL)淬灭并用EA(3×100mL)萃取。将合并的有机层用水(1×100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后,减压浓缩滤液,获得粗化合物。粗产物通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱,20-40um,120g。流动相A:水(0.1% AcOH),流动相B:ACN,流速:60mL/min,梯度:35分钟内60-80% B,254nm)来纯化,得到呈黄色油状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]甲酰胺基)乙酸乙酯(400mg,54.87%)。

[0292] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]甲酰胺基)-N-甲基乙酰胺

[0293] 在室温下向20mL容器中加入2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]甲酰胺基)乙酸乙酯(0.4g,0.57mmol,1当量)和CH₃NH₂·MeOH(6mL,30%)。混合物在微波辐射下在60℃下反应1小时。使所得混合物冷却至室温并真空浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE/EA(1/1)洗提来纯化,得到呈黄色油状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]甲酰胺基)-N-甲基乙酰胺(0.28g,71.52%)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ7.42(d,J=8.5Hz,1H),7.33(d,J=8.6Hz,3H),7.14(dd,J=31.1,7.5Hz,4H),5.17(s,2H),4.41(s,1H),4.17(s,2H),3.75(d,J=53.6Hz,4H),3.51(s,2H),2.82(s,3H),1.73(d,J=36.0Hz,6H)。

[0294] 1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

[0295] 在室温下向20mL容器中加入2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]甲酰胺基)-N-甲基乙酰胺(280mg,0.41mmol,1当量)、Pd₂(dba)₃(55.9mg,0.06mmol,0.150当量)、Cs₂CO₃(397.7mg,1.22mmol,3.008当量)和三(2-甲基苯基)磷烷(37.23mg,0.12mmol,0.301当量)。将混合物在微波条件下在120℃下加热4小时。使混合物冷却至室温。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE/EA(1/1)洗提来纯化,得到呈黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(110mg,44.51%)。

[0296] 1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(2-羟基乙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(化合物10)

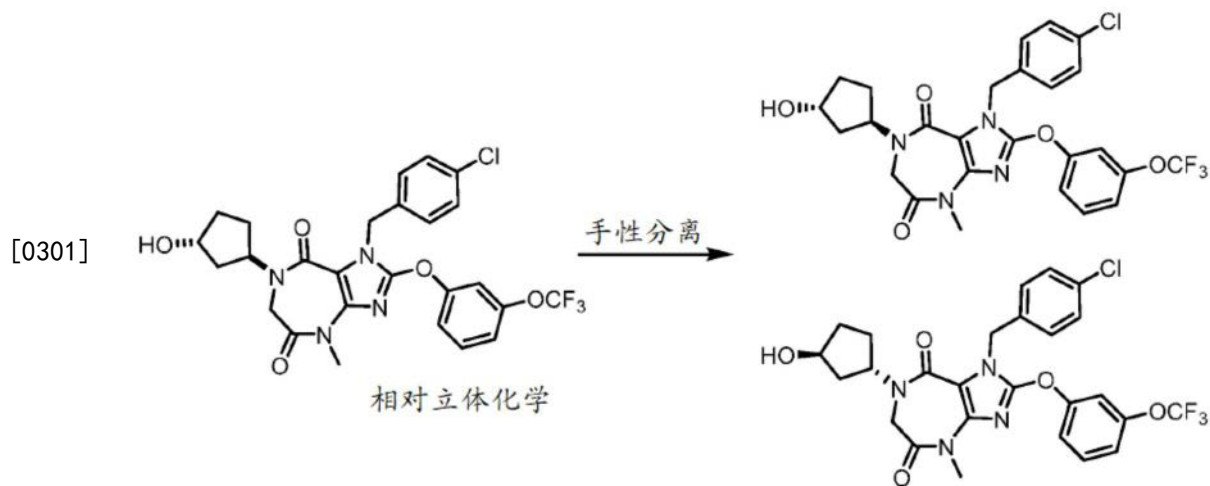
[0297] 将1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[2-(噁烷-2-基氧基)乙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(120mg,200mmol,1当量)和2M HCl(20mL)于THF(20mL)中的混合物在室温下搅拌1小时。反应通过LCMS监测。将所得混合物用EA(3×200mL)萃取。将合并的有机层用水(1×200mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后,减压浓缩滤液。粗产物(88mg)通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep C18 OBD柱,5um,19×150mm;流动相A:水(0.05% TFA),流动相B:ACN;流速:20mL/min;梯度:12分钟内35% B至60% B;254nm;RT:11.70min.)来纯化,得到呈黄色半固

体状的1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(2-羟基乙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(60mg, 73.28%)。¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ 7.52 (t, J=8.3Hz, 1H), 7.34-7.27 (m, 6H), 7.20 (d, J=8.3Hz, 1H), 5.51 (s, 2H), 4.14 (s, 2H), 3.74 (t, J=5.5Hz, 2H), 3.67 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.33 (s, 3H)。分子式 C₂₃H₂₀ClF₃N₄O₅的[M+H]⁺计算值:525,实验值:525

[0298] 下表中所示的化合物11-14的制备遵循如针对合成化合物10所述的方法和方案, 以适当胺为起始物:

化合物	胺	NMR
11	3-氨基-2,2-二氟丙酸乙酯盐酸盐	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ 7.53 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 7.39-7.23 (m, 6H), 7.21 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.51 (s, 2H), 4.17 (s, 2H), 4.05 (t, J = 13.8 Hz, 2H), 3.64 (t, J = 13.1 Hz, 2H), 3.33 (s, 3H)。
12	3-氨基环丁-1-醇	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ 7.52 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.38-7.24 (m, 6H), 7.20 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 5.51 (s, 2H), 5.20 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 4.41 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 4.08 (s, 2H), 3.33 (s, 3H), 2.60-2.53 (m, 2H), 2.28-2.23 (m, 2H)。
13	3-氨基环丁-1-醇	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ 7.51 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.38-7.24 (m, 6H), 7.24-7.16 (m, 1H), 5.51 (s, 2H), 4.41 (tt, J = 9.8, 7.5 Hz, 1H), 4.11 (s, 2H), 4.01 (p, J = 7.2 Hz, 1H), 3.33 (s, 3H), 2.62 (m, 2H), 2.16 (m, 2H)
14	rac-反式-3-氨基环戊-1-醇	

[0300] 化合物15和16的制备:



[0302] 1-[(4-氯苯基)甲基]-7-[(1R,3R)-3-羟基环戊基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮和1-[(4-氯苯基)甲基]-7-[(1S,3S)-3-羟基环戊基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

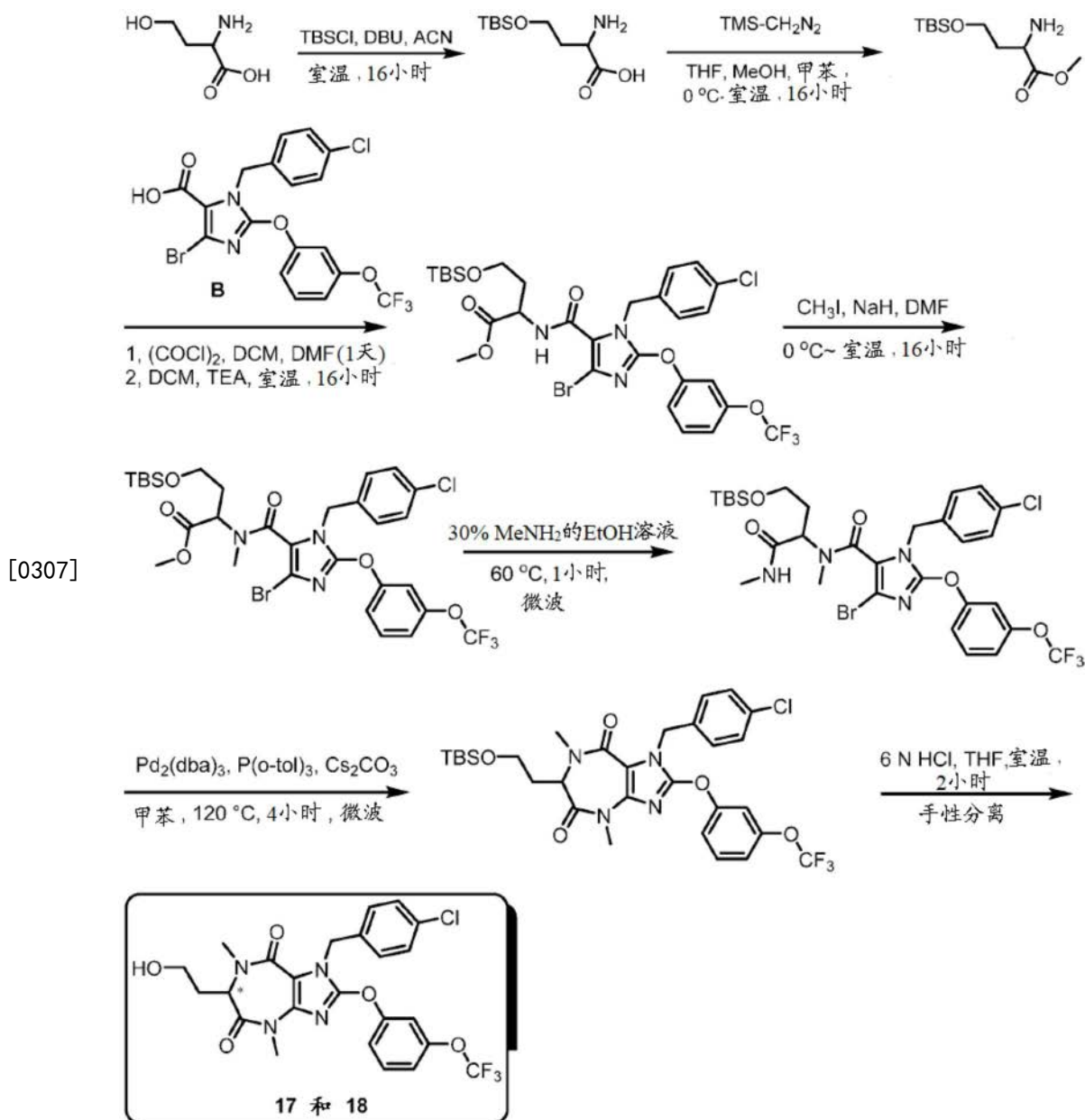
[0303] 粗1-(4-氯苯基)-7-((反式-3-羟基环戊基)-4-甲基-2-(3-(三氟甲氧基)苯氧基)-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

基)-1,4,6,7-四氢咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮通过手性制备型HPLC利用以下条件(柱:CHIRALPAK IC, $2 \times 25\text{cm}$, $5\mu\text{m}$;流动相A:己烷0.1% DEA--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20mL/min;梯度:18分钟内20B至20A;220/254nm;RT1:12.901;RT2:15.068)来纯化,得到化合物15(RT 12.901min, 23.8mg, 16.08%)和化合物16(RT 15.068min, 22.0mg, 14.87%)。

[0304] 化合物15表征: ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ 7.52 (t, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 7.43-7.24 (m, 6H), 7.20 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 5.51 (s, 2H), 5.17 (p, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 4.40 (s, 1H), 3.93 (s, 2H), 3.33 (s, 3H), 2.10-2.09 (m, 2H), 1.99-1.97 (m, 2H), 1.68-1.59 (m, 2H)。分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}_5$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值:565, 实验值:565。

[0305] 化合物16表征: ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ 7.52 (t, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 7.36-7.27 (m, 6H), 7.20 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 5.51 (s, 2H), 5.18 (p, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 4.40 (s, 1H), 3.93 (s, 2H), 3.33 (s, 3H), 2.10-2.08 (m, 2H), 1.87-1.77 (m, 2H), 1.68-1.59 (m, 2H)。分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}_5$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值:565, 实验值:565。

[0306] 化合物17和18的制备:



[0308] 2-氨基-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸

[0309] 在0°C下向搅拌的2-氨基-4-羟基丁酸(5.0g, 41.97mmol, 1当量)于MeCN(150mL)和DBU(6.6mL, 43.25mmol, 1.05当量)中的溶液中缓慢加入TBSCl(6.6g, 44.07mmol, 1.05当量)。使所得混合物升温至室温并在室温下搅拌16小时。将反应混合物过滤, 将滤饼用MeCN(3×50mL)洗涤。将合并的滤液浓缩, 得到2-氨基-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸(8.5g, 粗)。¹H NMR(300MHz, 甲醇-d₄) δ3.89(t, J=6.1Hz, 2H), 3.79(t, J=5.9Hz, 1H), 3.74-3.55(m, 2H), 0.95(s, 9H), 0.14(s, 6H)。

[0310] 2-氨基-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸甲酯

[0311] 在室温下向2-氨基-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸(5g, 21.42mmol, 1当量)于甲苯(200mL)和MeOH(50mL)中的混合物加入三甲基甲硅烷基重氮甲烷(60mL, 0.53mmol, 0.025当量)。将所得混合物在室温下搅拌16小时。浓缩反应混合物, 得到呈淡黄色油状的2-氨基-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸甲酯(5g, 粗)。

[0312] 2-([4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]甲酰胺基)-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸甲酯

[0313] 将4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸(1.1g, 2.24mmol, 1当量)和(COCl)₂(0.6mL, 4.73mmol, 3.148当量)于DCM(20.0mL)和DMF(5滴)中的混合物在室温下搅拌1小时。浓缩所得混合物,得到粗产物。向以上粗产物加入基2-氨基-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸甲酯(1.1g, 4.45mmol, 1.987当量)、TEA(1.6mL, 15.37mmol, 5当量)和DCM(25.0mL),然后将所得混合物在室温下搅拌4小时。反应混合物通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(20:1至5:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的2-([4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]甲酰胺基)-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸甲酯(1.2g, 74.38%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ8.51(d, J=7.6Hz, 1H), 7.68-7.53(m, 1H), 7.44-7.23(m, 7H), 5.47-5.26(m, 2H), 4.55(ddd, J=9.5, 7.5, 4.3Hz, 1H), 3.70(dd, J=7.1, 4.7Hz, 2H), 3.34(s, 3H), 2.08-1.89(m, 2H), 0.85(s, 9H), 0.01(d, J=5.2Hz, 7H)。

[0314] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-甲基甲酰胺基)-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸甲酯

[0315] 在0℃下在氮气气氛下向2-([4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]甲酰胺基)-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸甲酯(1.2g, 1.66mmol, 1当量)于DMF(20mL)中的混合物加入NaH(100mg, 2.50mmol, 1.502当量, 60wt%),历时0.5小时。在0℃下向以上混合物中加入CH₃I(0.2mL, 3.21mmol, 1.930当量)。将所得混合物在室温下再搅拌16小时。向所得混合物中加入乙酸乙酯(300mL)和盐水(300mL),然后将水层用乙酸乙酯(200mL)萃取。合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥并过滤。滤液通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(20:1至6:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-甲基甲酰胺基)-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸甲酯(880mg, 71.93%)。

[0316] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-甲基甲酰胺基)-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-N-甲基丁酰胺

[0317] 将2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-甲基甲酰胺基)-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丁酸甲酯(1.1g, 1.50mmol, 1当量)于2M甲胺的甲醇溶液(5mL)中的混合物在60℃下用微波辐射照射1小时。反应混合物通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(1:1至1:8)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-基]-N-甲基甲酰胺基)-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-N-甲基丁酰胺(550mg, 50.07%)。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ7.70(s, 1H), 7.58(t, J=8.2Hz, 1H), 7.46-7.21(m, 6H), 5.16(s, 2H), 4.94(s, 1H), 3.60(s, 3H), 2.88(s, 3H), 2.60(d, J=4.5Hz, 3H), 2.03(d, J=8.7Hz, 1H), 1.90(d, J=12.3Hz, 1H), 0.86(s, 9H), 0.02(d, J=2.7Hz, 6H)。

[0318] 6-[2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-4,7-二甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

[0319] 将2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-

基]-N-甲基甲酰胺基)-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-N-甲基丁酰胺(450mg, 610mmol, 1当量)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \cdot \text{CHCl}_3$ (63.45mg, 0.06mmol, 0.100当量)、 $\text{P}(\text{o-Tol})_3$ (37.35mg, 0.12mmol, 0.200当量)和 Cs_2CO_3 (400mg, 1.23mmol, 2.003当量)于甲苯(8mL)中的混合物在120℃下用微波辐射照射4小时。使混合物冷却至室温。过滤反应混合物并浓缩滤液,得到粗产物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(2:1至2:3)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的6-[2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-4,7-二甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(220mg, 54.95%)。

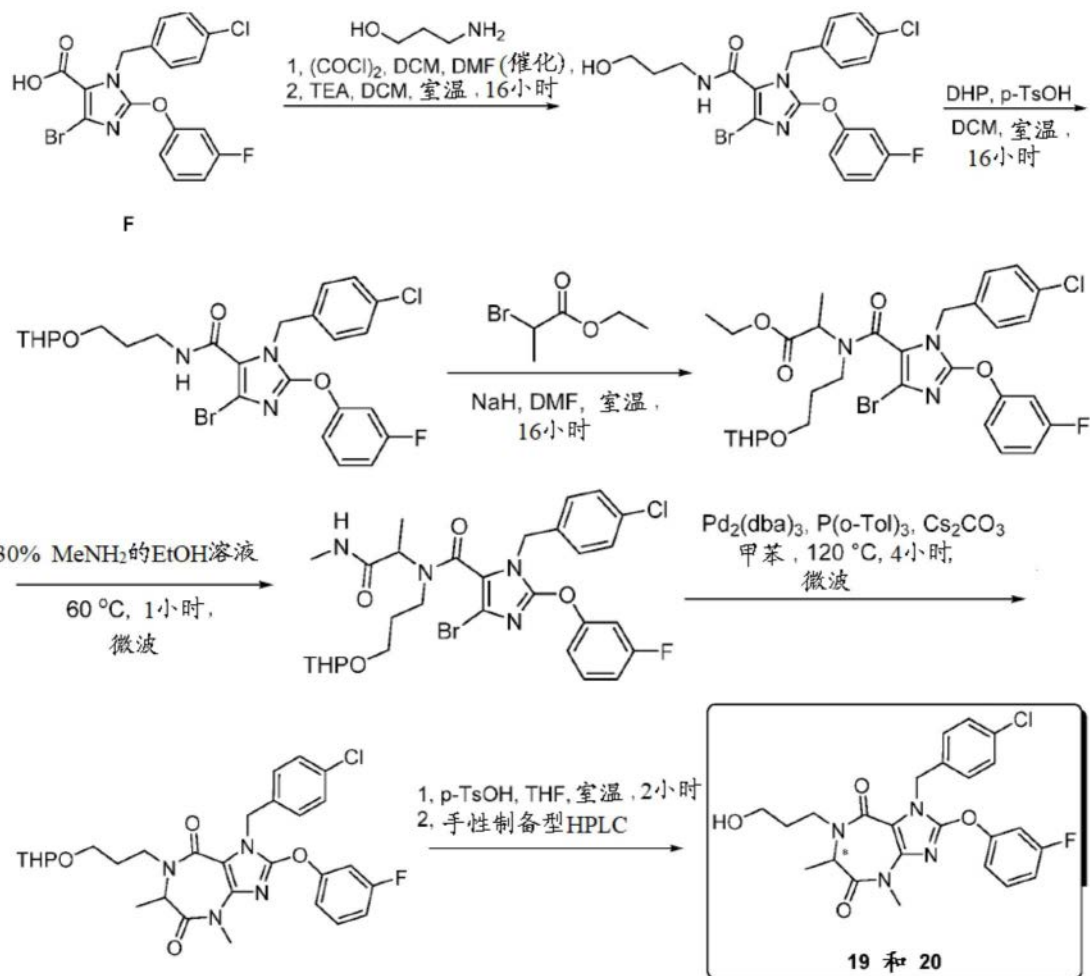
[0320] (6S)-1-[(4-氯苯基)甲基]-6-(2-羟基乙基)-4,7-二甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮和(6R)-1-[(4-氯苯基)甲基]-6-(2-羟基乙基)-4,7-二甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

[0321] 在室温下向搅拌的6-[2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-4,7-二甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(200mg, 310mmol, 1当量)于THF(10mL)中的溶液中逐滴加入6M HCl(10mL)。将所得混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物用 K_2CO_3 碱化至pH 10并用乙酸乙酯(3×100mL)萃取,然后将有机层用盐水(2×50mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥并过滤。浓缩滤液,得到粗产物,通过制备型手性HPLC(柱:CHIRALPAK IG, 20×250mm, 5μm;流动相A:己烷0.1%DEA--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:20mL/min;梯度:18分钟内20B至20B;220/254nm;RT1:10.297;RT2:13.612)来纯化,得到呈淡黄色油状的化合物17(RT 10.297min, 20.2mg, 12.24%)和化合物18(RT 13.612min, 18.2mg, 11.03%)。

[0322] 化合物17表征: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 7.63-7.50 (m, 1H), 7.46-7.24 (m, 7H), 5.65-5.32 (m, 2H), 4.72-4.59 (m, 1H), 4.41-4.30 (m, 1H), 3.55-3.43 (m, 0.8H), 3.42-3.36 (m, 0.7H), 3.23 (s, 3H), 3.08-3.01 (m, 1H), 3.00-2.90 (m, 0.3H), 2.84 (s, 2.2H), 2.25-2.14 (m, 0.7H), 2.07-1.93 (m, 0.7H), 1.61-1.49 (m, 0.7H)。分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}_5$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值: 539, 实验值: 539。

[0323] 化合物18表征: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 7.63-7.53 (m, 1H), 7.47-7.23 (m, 7H), 5.64-5.32 (m, 2H), 4.72-4.59 (m, 1H), 4.39-4.27 (m, 1H), 3.55-3.42 (m, 0.8H), 3.42-3.36 (m, 0.8H), 3.23 (s, 3H), 3.08-3.01 (m, 1H), 3.00-2.89 (m, 0.5H), 2.84 (s, 2.2H), 2.27-2.13 (m, 0.7H), 2.08-1.94 (m, 0.7H), 1.62-1.49 (m, 0.5H)。分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}_5$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值: 539, 实验值: 539。

[0324] 化合物19和20的制备:



[0326] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-N-(3-羟基丙基)-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0327] 在0℃下向4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-1H-咪唑-5-甲酸(2g, 4.70mmol, 1当量)和1滴DMF于DCM(30mL)中的混合物逐滴加入乙二酰氯(1.8g, 14.10mmol, 3当量)。将混合物在室温下搅拌3小时。所得混合物真空浓缩。固体用DCM(30mL)溶解,得到溶液A。使3-氨基丙-1-醇(1.8g, 23.49mmol, 5当量)和三乙胺(2.4g, 23.49mmol, 5当量)于DCM(5mL)中的混合物冷却至0℃,在0℃下在氮气气氛下逐滴加入溶液A。将混合物在室温下搅拌3小时。减压浓缩所得混合物。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE/EA(2/1至1/1)洗提来纯化,得到呈白色固体状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-N-(3-羟基丙基)-1H-咪唑-5-甲酰胺(1.65g, 72.74%)。

[0328] 4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0329] 在室温下向搅拌的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-N-(3-羟基丙基)-1H-咪唑-5-甲酰胺(1.65g, 3.42mmol, 1当量)和3,4-二氢-2H-吡喃(1.4427g, 17.15mmol, 5.018当量)于DCM(50mL)中的混合物中加入4-甲基苯-1-磺酸(0.059g, 0.34mmol, 0.100当量)。将混合物在室温下搅拌16小时。将所得混合物用饱和NaHCO₃水溶液洗涤。减压浓缩DCM层。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE/EA(6/1至3/1)洗提来纯化,得到呈白色固体状的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-

1H-咪唑-5-甲酰胺(1.65g,85.16%)。

[0330] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)丙酸乙酯

[0331] 在0℃下在氮气气氛下向搅拌的4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-1H-咪唑-5-甲酰胺(2.5g,4.41mmol,1当量)于DMF(15mL)中的溶液中分部分加入NaH(0.7g,17.64mmol,4当量,60%)。将混合物在0℃下搅拌30分钟并加入2-溴丙酸乙酯(3.1936g,17.64mmol,4.000当量)。将混合物在室温下搅拌16小时。将所得混合物用水(100mL)淬灭并用EA(3×100mL)萃取。将合并的有机层用水(1×100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后,减压浓缩滤液,获得粗化合物。粗产物通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱,20-40um,120g。流动相A:水(0.1% AcOH),流动相B:ACN,流速:60mL/min,梯度:35分钟内60-80% B,254nm)来纯化,得到呈黄色油状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)丙酸乙酯(1.38g,46.91%)。

[0332] 2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)-N-甲基丙酰胺

[0333] 在室温下向20mL容器中加入含2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)丙酸乙酯(1.3g,1当量)和甲胺的甲醇(6mL,30%)。混合物在微波条件下在60℃下反应1小时。使所得混合物冷却至室温并真空浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE/EA(1/1)洗提来纯化,得到呈黄色油状的2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)-N-甲基丙酰胺(1.2g,94.43%)。

[0334] 1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-4,6-二甲基-7-[3-[(2R)-噁烷-2-基氧基]丙基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

[0335] 在室温下向20mL容器中加入2-(1-[4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-1H-咪唑-5-基]-N-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]甲酰胺基)-N-甲基丙酰胺(1.1936g,1.83mol,1当量)、Pd₂(dba)₃(0.2g,0.18mmol,0.1当量)、Cs₂CO₃(1.1966g,3.67mmol,2.006当量)和三(2-甲基苯基)磷烷(0.1g,0.37mmol,0.2当量)。将混合物在微波条件下在120℃下加热5小时。使混合物冷却至室温。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE/EA(1/1)洗提来纯化,得到呈黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-4,6-二甲基-7-[3-[(2R)-噁烷-2-基氧基]丙基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(340mg,32.52%)。

[0336] (6S)-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-7-(3-羟基丙基)-4,6-二甲基-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮和(6R)-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-7-(3-羟基丙基)-4,6-二甲基-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮

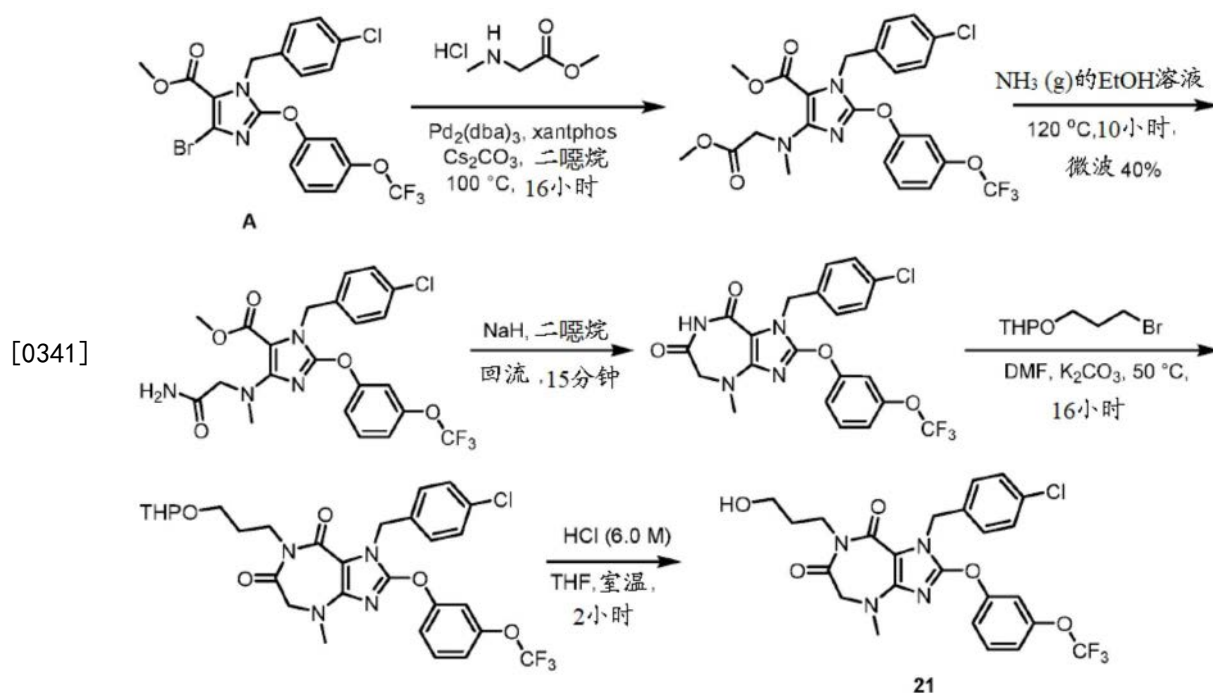
[0337] 将1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-4,6-二甲基-7-[3-[(2R)-噁烷-2-基氧基]丙基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(200mg,0.35mmol,1当量)和HCl(2M;20mL)于THF(20mL)中的混合物在室温下搅拌1小时。将所得混合物用EA(3×200mL)萃取。将合并的有机层用水(1×200mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。在过

滤后,减压浓缩滤液。粗产物(170mg)通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep C18 OBD柱,5 μ m,19 $\times$ 150mm;流动相A:水(0.05%TFA),流动相B:ACN;流速:20mL/min;梯度:7分钟内40% B至70% B;254nm;RT:6.32min.)来纯化,得到1-[(4-氯苯基)甲基]-2-(3-氟苯氧基)-7-(3-羟基丙基)-4,6-二甲基-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-5,8-二酮(140mg)。外消旋物通过手性HPLC利用以下条件(柱:CHIRALPAK IF,2 $\times$ 25cm,5 μ m;流动相A:己烷0.1%DEA--HPLC,流动相B:EtOH--HPLC;流速:15mL/min;梯度:13分钟内50B至50B;220/254nm;RT1:8.349;RT2:9.504)来分离,得到化合物19(RT 8.349min,20mg,11.73%)和化合物20(RT 9.504min,20mg,11.73%)。

[0338] 化合物19表征:¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 7.45(dd,J=13.8,6.2Hz,1H),7.41-7.29(m,4H),7.23-6.99(m,3H),5.63-5.53(m,1H),5.45-5.38(m,1H),4.38(dd,J=16.4,8.3Hz,1H),3.96(dt,J=14.8,7.7Hz,1H),3.64(t,J=7.0Hz,1H),3.49(t,J=6.3Hz,2H),3.35(s,3H),1.85-1.73(m,1H),1.69-1.62(dt,J=13.5,6.9Hz,1H),1.56(d,J=7.0Hz,2H),1.10(d,J=7.5Hz,1H)。分子式C₂₄H₂₄ClFN₄O₄的[M+H]⁺计算值:487,实验值:487。

[0339] 化合物20表征:¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 7.49-7.40(m,1H),7.37-7.29(m,4H),7.22-7.00(m,3H),5.62-5.53(m,1H),5.42-5.39(m,1H),4.43-4.33(m,1H),3.99-3.92(dt,J=14.9,7.7Hz,1H),3.64(t,J=8.0Hz,1H),3.49(t,J=8.0Hz,2H),3.35(s,3H),1.82-1.75(m,1H),1.69-1.62(dt,J=13.7,6.9Hz,1H),1.56(d,J=8.0Hz,2H),1.10(d,J=8.0Hz,1H)。分子式C₂₄H₂₄ClFN₄O₄的[M+H]⁺计算值:487,实验值:487。

[0340] 化合物21的制备:



[0342] 1-[(4-氯苯基)甲基]-4-[(2-甲氧基-2-氧代基乙基)(甲基)氨基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯

[0343] 将4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(1.00g,1.98mmol,1当量)、2-(甲基氨基)乙酸甲酯(1019.6mg,9.89mmol,5.0当量)、Pd₂(dba)₃(452.7mg,0.49mmol,0.25当量)、XantPhos(572.1mg,0.99mmol,0.50当量)和Cs₂CO₃(6.4g,

19.78mmol, 10.0当量)于二噁烷(100.0mL)中的混合物在氮气气氛下在100℃下搅拌16小时。使反应混合物冷却至室温并加入乙酸乙酯(200mL)和H₂O(200mL)。将有机层用盐水(3×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并过滤。减压浓缩滤液。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE:EtOAc(6:1至4:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-4-[(2-甲氧基-2-氧代基乙基)(甲基)氨基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(150mg, 14.37%)。

[0344] 4-[(氨甲酰基甲基)(甲基)氨基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯

[0345] 将1-[(4-氯苯基)甲基]-4-[(2-甲氧基-2-氧代基乙基)(甲基)氨基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(300mg, 570mmol, 1当量)于氨水溶液(10mL)中的混合物在120℃下用微波辐射照射4小时。将反应混合物减压浓缩。残余物通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱, 20-40um, 120g; 流动相A:水(0.1% HOAc), 流动相B:ACN; 流速:60mL/min; 梯度:10分钟内60% B至70% B, 254nm)来纯化,得到呈灰白色固体状的4-[(氨甲酰基甲基)(甲基)氨基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(230mg, 39.46%)。

[0346] 1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-6,8-二酮

[0347] 使4-[(氨甲酰基甲基)(甲基)氨基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(120mg, 0.23mmol, 1当量)于二噁烷(20mL)和NaH(18.7mg, 0.47mmol, 2.0当量, 60wt%)中的混合物回流15分钟。将HOAc(0.5mL)加入至反应混合物中并将所得混合物在室温下搅拌16小时。将反应混合物减压浓缩。残余物通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱, 20-40um, 120g; 流动相A:水(0.1% HOAc), 流动相B:ACN; 流速:60mL/min; 梯度:15分钟内60% B至70% B, 254nm)来纯化,得到呈灰白色固体状的1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-6,8-二酮(45mg, 40.00%)。

[0348] 1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-6,8-二酮

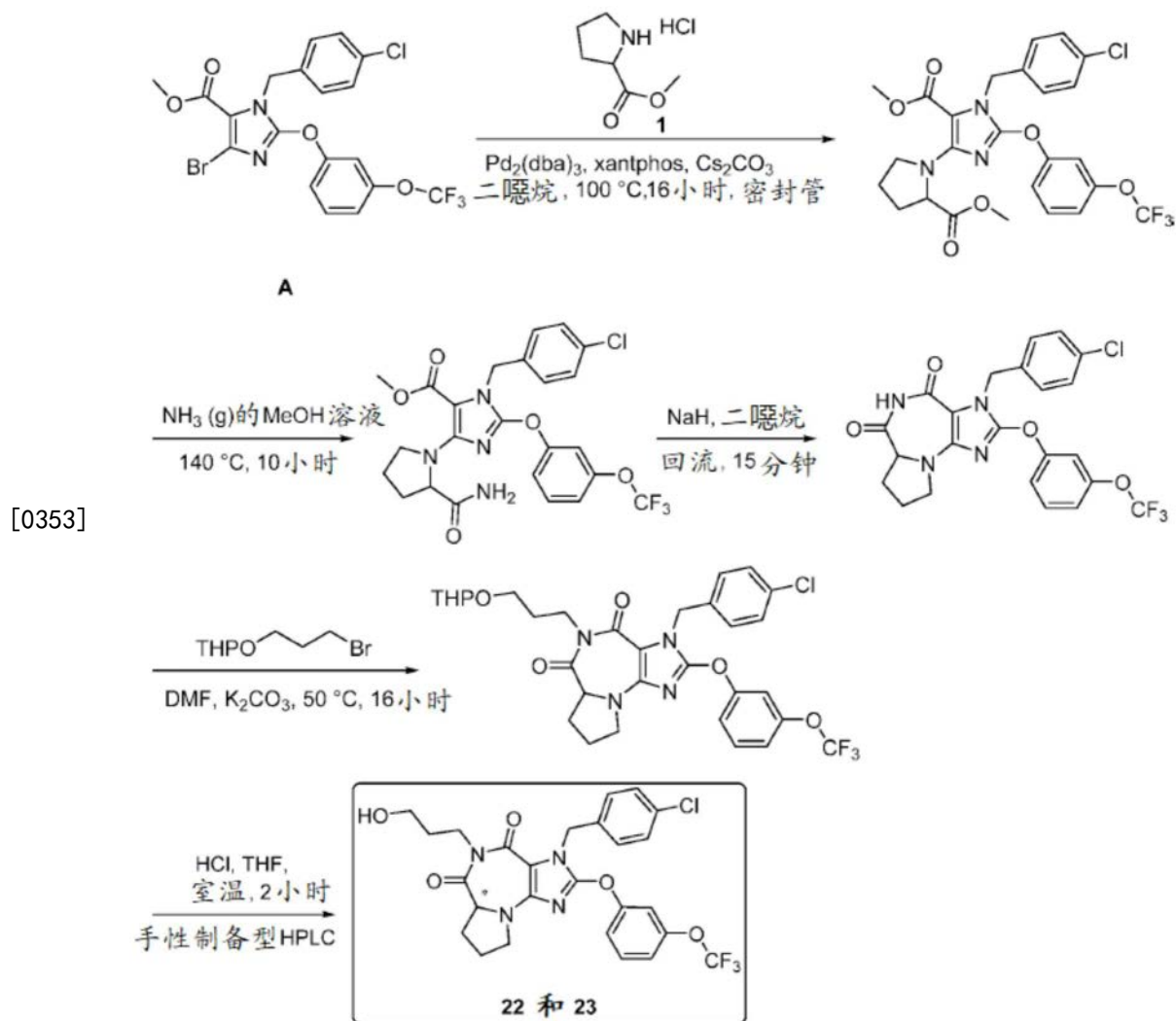
[0349] 将1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-6,8-二酮(100mg, 0.21mmol, 1当量)、2-(3-溴丙氧基)噁烷(139.2mg, 0.62mmol, 3.0当量)和K₂CO₃(86.2mg, 0.62mmol, 3.0当量)于DMF(15.0mL)中的混合物在50℃下搅拌16小时。使反应混合物冷却至室温并加入H₂O(100mL)。将所得混合物用EtOAc(3×50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后,减压浓缩滤液。残余物通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(6:1至3:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H, 4H, 5H, 6H, 7H, 8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-6,8-二酮(120mg, 92.6:1%)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ7.43(t, J=8.3Hz, 1H), 7.27(d, J=8.7Hz, 5H), 7.17(dd, J=33.5, 8.4Hz, 2H), 5.58(s, 2H), 4.60(d, J=14.8Hz, 2H), 3.88(s, 2H), 3.85-3.72(m, 2H), 3.63(dt, J=10.4, 5.6Hz, 1H), 3.58-3.47(m, 2H), 3.13(s, 3H), 2.04-1.58(m, 8H)。

[0350] 1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,

4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-6,8-二酮

[0351] 将1-[(4-氯苯基)甲基]-4-甲基-7-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-6,8-二酮(45mg, 0.07mmol, 1当量)于THF(10mL)和6M HCl(10mL)中的混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物减压浓缩。将残余物用饱和K₂CO₃(水溶液)碱化至pH 9。将所得混合物用乙酸乙酯(3×50mL)萃取,并且将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤并浓缩,得到粗产物,通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XSelect CSH Prep C18 OBD柱,5μm,19×150mm;流动相A:水(0.1%FA),流动相B:ACN;流速:20mL/min;梯度:7分钟内50% B至87% B;254nm;RT:6.58min)来纯化,得到呈灰白色固体状的1-[(4-氯苯基)甲基]-7-(3-羟基丙基)-4-甲基-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H,4H,5H,6H,7H,8H-咪唑并[4,5-e][1,4]二氮杂卓-6,8-二酮(3.9mg, 9.52%)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ7.54-7.45(m, 1H), 7.43-7.28(m, 2H), 7.24-7.02(m, 5H), 5.57(s, 2H), 4.04(t, J=6.0Hz, 2H), 3.90(s, 2H), 3.50(t, J=5.5Hz, 2H), 3.15(s, 3H), 1.80(p, J=5.7Hz, 2H)。分子式C₂₄H₂₂ClF₃N₄O₅的[M+H]⁺计算值:539,实验值:539。

[0352] 化合物22和23的制备:



[0354] 1-[(4-氯苯基)甲基]-4-[2-(甲氧基羰基)吡咯烷-1-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯

[0355] 将4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(1.5g, 2.97mmol, 1当量)、Pd₂(dba)₃(280mg, 0.31mmol, 0.103当量)、XantPhos(520mg, 0.90mmol, 0.303当量)、吡咯烷-2-甲酸甲酯(800.0mg, 6.19mmol, 2.088当量)和Cs₂CO₃(4.9g, 15.04mmol, 5.070当量)于二噁烷(40mL)中的混合物在100℃下搅拌14小时。过滤反应混合物并浓缩滤液,得到粗产物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(20:1至4:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的1-[(4-氯苯基)甲基]-4-[2-(甲氧基羰基)吡咯烷-1-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(830mg, 50.51%)。

[0356] 4-(2-氨甲酰基吡咯烷-1-基)-1-(4-氯苯基)-2-(3-(三氟甲氧基)苯氧基)-1H-咪唑-5-甲酸甲酯

[0357] 将1-[(4-氯苯基)甲基]-4-[2-(甲氧基羰基)吡咯烷-1-基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(1.65g, 2.98mmol, 1当量)于氨水溶液(7.0M的甲醇溶液)(10mL)中的混合物在140℃下用微波辐射照射10小时。反应混合物冷却至室温并浓缩,得到残余物,通过硅胶柱快速色谱法,用石油醚中70%乙酸乙酯洗提来纯化,得到呈淡黄色半固体状的4-(2-氨甲酰基吡咯烷-1-基)-1-(4-氯苯基)-2-(3-(三氟甲氧基)苯氧基)-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(300mg, 24%产率)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ7.41(t, J=8.3Hz, 1H), 7.34-7.24(m, 4H), 7.23-7.18(m, 3H), 7.12-7.07(m, 1H), 6.52(s, 1H), 5.41(q, J=15.4Hz, 2H), 4.53(dd, J=8.2, 5.2Hz, 1H), 3.87-3.69(m, 4H), 3.32(dt, J=10.5, 7.1Hz, 1H), 2.28-2.09(m, 2H), 2.05-1.83(m, 2H)。

[0358] 5-[(4-氯苯基)甲基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮

[0359] 在0℃下向4-(2-氨甲酰基吡咯烷-1-基)-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(185mg, 340mmol, 1当量)于二噁烷(40mL)中的混合物加入NaH(96.1mg, 2.40mmol, 7.0当量, 60wt%)并且然后使反应混合物回流15分钟。使反应混合物冷却至室温并减压浓缩。残余物产物通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱, 20-40um, 120g; 流动相A:水(0.1% HOAc), 流动相B:ACN; 流速:60mL/min; 梯度:15分钟内65% B至85% B, 254nm)来纯化,得到呈灰白色固体状的5-[(4-氯苯基)甲基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮(115mg, 66.09%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ10.52(s, 1H), 7.58(t, J=8.3Hz, 1H), 7.47(d, J=2.7Hz, 1H), 7.44-7.36(m, 3H), 7.36-7.27(m, 3H), 5.52(dd, J=91.6, 15.5Hz, 2H), 3.81(dd, J=8.3, 5.2Hz, 1H), 3.51(dt, J=10.1, 7.3Hz, 1H), 3.32(d, J=7.1Hz, 1H), 2.50(s, 1H), 2.12-1.96(m, 1H), 1.81(qt, J=12.3, 6.6Hz, 2H)。

[0360] 5-[(4-氯苯基)甲基]-8-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮

[0361] 将5-[(4-氯苯基)甲基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮(150mg, 300mmol, 1当量)、2-(3-溴丙氧基)噁烷(198.1mg, 890mmol, 3.000当量)和K₂CO₃(122.7mg, 0.89mmol, 3.0当量)于DMF(15.0mL)中的混合物在50℃下搅拌16小时。使反应冷却至室温并加入EtOAc(100mL)和H₂O(100mL)。将有机层用盐水(2×30mL)洗涤并减压浓缩,通过逆相快速色谱法利用以下条件(柱:Spherical C18柱, 20-40um, 120g; 流动相A:水(0.1% HOAc), 流动相B:ACN; 流速:

60mL/min;梯度:10分钟内90% B至98% B,254nm)来纯化,得到呈淡黄色油状的5-[(4-氯苯基)甲基]-8-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮(185mg,96.31%)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ 7.43(t, J=8.3Hz, 1H), 7.30(s, 4H), 7.27-7.19(m, 2H), 7.13(d, J=8.3Hz, 1H), 5.73(d, J=14.9Hz, 1H), 5.43(d, J=15.1Hz, 1H), 4.65-4.49(m, 1H), 4.15(ddt, J=19.0, 13.7, 7.1Hz, 1H), 3.98-3.61(m, 4H), 3.46(tt, J=16.5, 7.6Hz, 4H), 2.85(dt, J=12.2, 6.3Hz, 1H), 2.18-2.02(m, 2H), 1.99-1.77(m, 3H), 1.76-1.48(m, 6H)。

[0362] (10R)-5-[(4-氯苯基)甲基]-8-(3-羟基丙基)-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮和(10S)-5-[(4-氯苯基)甲基]-8-(3-羟基丙基)-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮

[0363] 将5-[(4-氯苯基)甲基]-8-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮(160mg, 250mmol, 1当量)于THF(5mL)和2M HCl(5mL)中的混合物在室温下搅拌2小时。向反应混合物中加入饱和NaHCO₃(水溶液)以将pH调至9并加入EtOAc(100mL),然后将有机层用盐水(2×50mL)洗涤并减压浓缩。残余物通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Shield RP18 OBD柱30×150mm, 5μm;流动相A:水(0.1%FA), 流动相B:ACN;流速:60mL/min;梯度:7分钟内50%B至80% B;254nm;RT:6.45min)来纯化,得到呈无色油状的外消旋5-[(4-氯苯基)甲基]-8-(3-羟基丙基)-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮(110mg, 78.99%)。然后90mg此物质进行手性制备型HPLC(柱:CHIRALPAK AD-H, 2.0cm I.D.×25cm L;流动相A:己烷0.1%DEA--HPLC, 流动相B:EtOH--HPLC;流速:20mL/min;梯度:15分钟内15B至15B;220/254nm;RT1:9.279;RT2:10.54),得到化合物22(RT 9.279min, 17.7mg, 19.67%)和化合物23(RT 10.54min, 19.11%)。

[0364] 化合物22表征:¹H NMR(400MHz, 甲醇-d₄) δ 7.55-7.51(m, 1H), 7.36-7.27(m, 6H), 7.23-7.20(m, 1H), 5.70(d, J=16.0Hz, 1H), 5.52(d, J=16.0Hz, 1H), 4.13-4.05(m, 1H), 3.90-3.83(m, 1H), 3.75-3.73(m, 1H), 3.69-3.62(m, 1H), 3.58-3.51(m, 2H), 3.45-3.41(m, 1H), 2.80-2.72(m, 1H), 2.19-2.10(m, 1H), 2.05-1.92(m, 2H), 1.91-1.68(m, 2H)。分子式C₂₆H₂₄ClF₃N₄O₅的[M+H]⁺计算值:565, 实验值:565

[0365] 化合物23表征:¹H NMR(400MHz, 甲醇-d₄) δ 7.55-7.51(m, 1H), 7.35-7.28(m, 6H), 7.23-7.21(m, 1H), 5.70(d, J=16.0Hz, 1H), 5.52(d, J=16.0Hz, 1H), 4.13-4.06(m, 1H), 3.90-3.82(m, 1H), 3.77-3.73(m, 1H), 3.69-3.62(m, 1H), 3.55-3.51(m, 2H), 3.46-3.41(m, 1H), 2.79-2.70(m, 1H), 2.19-2.10(m, 1H), 2.04-1.94(m, 2H), 1.79-1.70(m, 2H)。分子式C₂₆H₂₄ClF₃N₄O₅的[M+H]⁺计算值:565, 实验值:565。

[0366] 化合物24和25的制备:

[0367] 化合物24和25的外消旋物的制备遵循如针对合成化合物22和23所述的方法和方案,以中间体I为起始物。

[0368]



[0369] (10R)-5-丁基-4-(3-氟苯氧基)-8-(3-羟基丙基)-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮和(10S)-5-丁基-4-(3-氟苯氧基)-8-(3-羟基丙基)-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮

[0370] 粗5-丁基-4-(3-氟苯氧基)-8-(3-羟基丙基)-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三碳-2(6),3-二烯-7,9-二酮通过手性HPLC(柱:XBridge Shield RP18 OBD柱,5 μ m,19 $\times$ 150mm;流动相A:水(10MMOL/LNH₄HCO₃),流动相B:ACN;流速:20mL/min;梯度:7分钟内45% B至70% B;220nm;RT1:15.00min,RT2:17.33min)来纯化,得到化合物24(RT=15.00min,20.3mg,8.09%)和化合物25(RT=17.33min,18.9mg,7.53%)。

[0371] 化合物24表征:¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 7.51-7.40(m,1H),7.19-7.08(m,2H),7.09-6.99(m,1H),4.41(dt,J=13.5,6.8Hz,1H),4.26(dt,J=13.7,7.4Hz,1H),4.13(ddd,J=13.4,7.7,5.8Hz,1H),3.88(dt,J=13.6,7.3Hz,1H),3.75(dd,J=8.2,4.7Hz,1H),3.70-3.50(m,3H),3.42(dd,J=10.7,5.8Hz,1H),2.77(dq,J=12.2,6.0Hz,1H),2.16(dq,J=12.7,7.8Hz,1H),1.98(h,J=6.1Hz,2H),1.79(dq,J=14.5,7.1Hz,4H),1.38(p,J=7.4Hz,2H),0.98(t,J=7.4Hz,3H)。分子式C₂₂H₂₇FN₄O₄的[M+H]⁺计算值:431,实验值:431。

[0372] 化合物25表征:¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 7.49-7.38(m,1H),7.19-7.10(m,2H),7.03(d,J=7.8Hz,1H),4.41(dt,J=13.6,6.8Hz,1H),4.26(dt,J=13.9,7.4Hz,1H),4.17-4.08(m,1H),3.88(dt,J=13.5,7.2Hz,1H),3.75(dd,J=8.2,4.7Hz,1H),3.70-3.52(m,3H),3.43(dt,J=11.0,5.8Hz,1H),2.77(dq,J=12.3,6.1Hz,1H),2.16(dq,J=12.6,7.8Hz,1H),1.99(hept,J=6.1Hz,2H),1.80(dp,J=14.6,7.1Hz,4H),1.35(dd,J=17.2,9.9Hz,2H),0.98(t,J=7.4Hz,3H)。分子式C₂₂H₂₇FN₄O₄的[M+H]⁺计算值:431,实验值:431。

[0373] 以下化合物通过类似于制备化合物22和23的程序的程序制备。

[0374]

化合物	起始物	NMR	LCMS
26	J	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) 化学位移 7.44 (q, J = 7.8 Hz, 1H), 7.38 - 7.28 (m, 4H), 7.18 - 7.01 (m, 3H), 5.69 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 5.50 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 4.10 (dt, J = 13.3, 6.8 Hz, 1H), 3.87 (dt, J = 13.7, 7.3 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 8.2, 4.9 Hz, 1H), 3.67 (q, J = 7.8 Hz, 1H), 3.53 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.44 (dt, J = 11.1, 6.0 Hz, 1H), 2.76 (dq, J = 12.1, 6.2 Hz, 1H), 2.15 (dd, J = 13.2, 7.4 Hz, 1H), 1.99 (dp, J = 12.8, 6.2 Hz, 2H), 1.85 - 1.65 (m, J = 6.8 Hz, 2H)。	分子式 C ₂₅ H ₂₄ Cl FN ₄ O ₄ 的 [M+H] ⁺ 计算值: 499, 实 验值:499
27	J	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) 化学位移 7.44 (q, J = 7.8 Hz, 1H), 7.37 - 7.30 (m, 4H), 7.18 - 7.01 (m, 3H), 5.69 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 5.50 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 4.10 (dt, J = 13.4, 6.8 Hz, 1H), 3.86 (dt, J = 13.8, 7.3 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 8.2, 5.0 Hz, 1H), 3.67 (q, J = 7.6 Hz, 1H), 3.53 (t,	分子式 C ₂₅ H ₂₄ Cl FN ₄ O ₄ 的 [M+H] ⁺ 计算值: 499, 实

[0375]

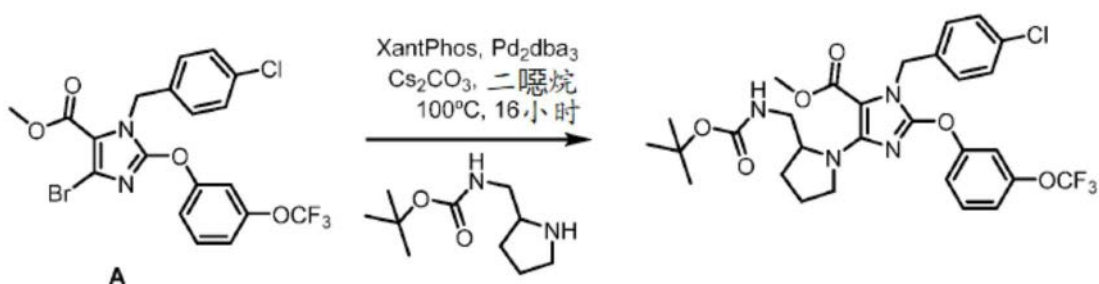
		J = 6.5 Hz, 2H), 3.44 (dt, J = 10.9, 5.9 Hz, 1H), 2.76 (dq, J = 12.2, 6.0 Hz, 1H), 2.15 (dq, J = 15.1, 7.8 Hz, 1H), 2.00 (tq, J = 12.9, 6.7, 6.3 Hz, 2H), 1.86 - 1.66 (m, J = 6.7 Hz, 2H)。	验值:499
28	K	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) 化学位移 7.31 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 5.47 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 5.26 (td, J = 13.6, 12.5, 7.1 Hz, 2H), 4.06 (dt, J = 13.4, 6.8 Hz, 1H), 3.93-3.75 (m, 2H), 3.71-3.64 (m, 1H), 3.50 (q, J = 5.6, 5.1 Hz, 3H), 2.76 (dq, J = 12.1, 6.0 Hz, 1H), 2.15 (dq, J = 14.6, 7.6 Hz, 1H), 2.01 (dp, J = 13.2, 6.1 Hz, 2H), 1.82-1.61 (m, J = 6.7 Hz, 2H), 1.47-1.25 (m, 6H)。	分子式 C ₂₂ H ₂₇ Cl N ₄ O ₄ 的 [M+H] ⁺ 计算值: 447, 实 验值:447
29	K	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) 化学位移 7.31 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 5.47 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 5.26 (td, J = 13.6, 12.4, 7.2 Hz, 2H), 4.06 (dt, J = 13.3, 6.8 Hz, 1H), 3.93-3.74 (m, 2H), 3.70 (dd, J = 8.1, 5.0 Hz, 1H), 3.50 (t, J = 6.2 Hz, 3H), 2.76 (dd, J = 12.6, 6.2 Hz, 1H), 2.15 (dq, J = 14.6, 7.6 Hz, 1H), 2.01 (dq, J = 13.3, 6.4 Hz, 2H), 1.73 (dp, J = 14.2, 6.8 Hz, 2H), 1.39 (dd, J = 6.3, 2.0 Hz, 6H)。	分子式 C ₂₂ H ₂₇ Cl N ₄ O ₄ 的 [M+H] ⁺ 计算值: 447, 实 验值:447
30	L	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) 化学位移 7.32 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 5.50 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 5.32 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 4.43 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 4.06 (dt, J = 13.4, 6.7 Hz, 1H), 3.90-3.75 (m, 2H), 3.71 (dd, J = 8.2, 5.0 Hz, 1H), 3.51 (q, J = 6.9 Hz, 3H), 2.76 (dd, J = 12.4, 6.3 Hz, 1H), 2.15 (dq, J = 14.5, 7.5 Hz, 1H), 2.01 (dq, J = 13.3, 6.3 Hz, 2H), 1.76 (m, 4H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3H)。	分子式 C ₂₂ H ₂₇ Cl N ₄ O ₄ 的 [M+H] ⁺ 计算值: 447, 实 验值:447
31	L	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) 化学位移 7.32 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 5.50 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 5.32 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 4.43 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 4.06 (dt, J = 13.4, 6.9 Hz, 1H), 3.91-3.74 (m, 2H), 3.72-3.67 (m, 1H), 3.50 (t, J = 6.9 Hz, 3H), 2.76 (dd, J = 12.5, 6.3 Hz, 1H), 2.14 (dt, J = 14.9, 7.6 Hz, 1H), 2.00 (dt, J = 13.3, 6.9 Hz, 2H), 1.76 (m, 4H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3H)。	分子式 C ₂₂ H ₂₇ Cl N ₄ O ₄ 的 [M+H] ⁺ 计算值: 447, 实 验值:447
32	M	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) 化学位移 7.44 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 2.2	分子式 C ₂₂ H ₂₇ Cl

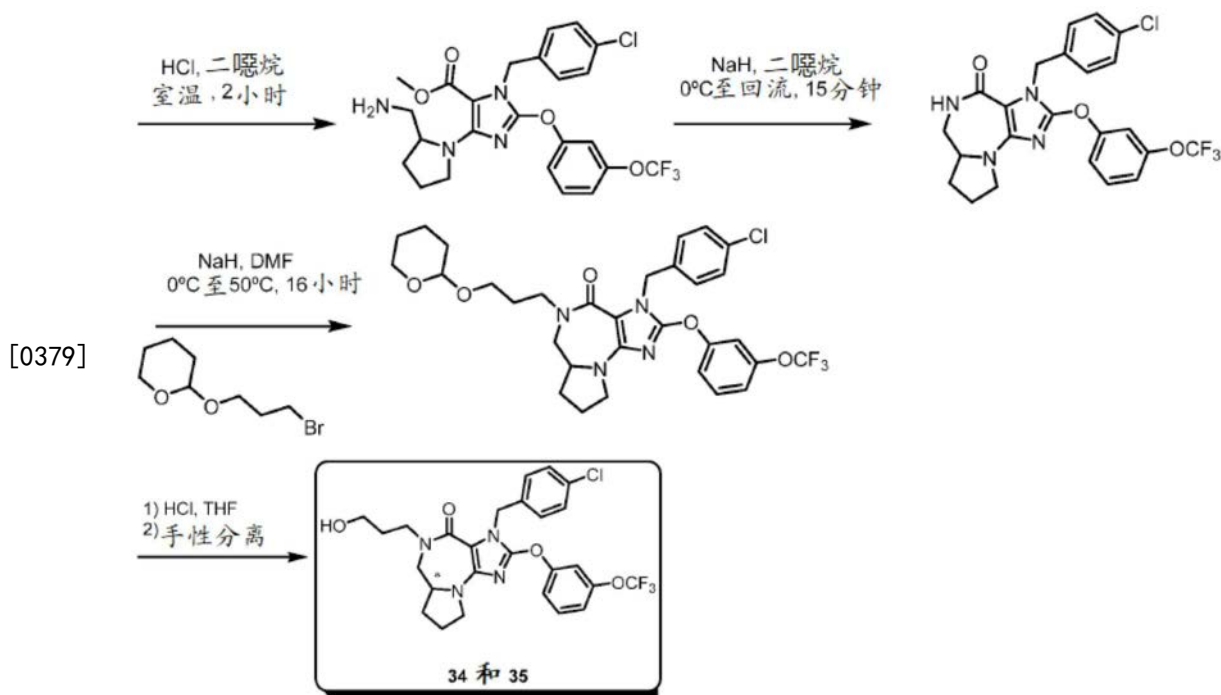
[0376]

		Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.24 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 4.42 (dt, J = 13.5, 6.8 Hz, 1H), 4.26 (dt, J = 13.9, 7.4 Hz, 1H), 4.13 (ddd, J = 13.4, 7.7, 5.8 Hz, 1H), 3.88 (dt, J = 13.6, 7.3 Hz, 1H), 3.76 (dd, J = 8.2, 4.7 Hz, 1H), 3.64 (dt, J = 10.2, 7.4 Hz, 1H), 3.59-3.51 (m, 2H), 3.43 (dt, J = 10.8, 5.7 Hz, 1H), 2.77 (dq, J = 12.1, 5.9 Hz, 1H), 2.15 (dt, J = 12.9, 7.9 Hz, 1H), 1.98 (dp, J = 12.1, 6.4, 5.6 Hz, 2H), 1.86-1.70 (m, 4H), 1.40 (h, J = 7.3 Hz, 2H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3H)。	N ₄ O ₄ 的 [M+H] ⁺ 计算值: 447, 实 验值:447
33	N	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) 化学位移 7.42 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.37-7.30 (m, 6H), 7.25-7.18 (m, 1H), 5.70 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 5.50 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 4.10 (dt, J = 13.4, 6.4 Hz, 1H), 3.86 (dt, J = 13.7, 7.3 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 8.1, 4.9 Hz, 1H), 3.70-3.58 (m, 1H), 3.58-3.49 (m, 2H), 3.44 (dt, J = 10.9, 6.0 Hz, 1H), 2.76 (dq, J = 12.1, 5.9 Hz, 1H), 2.19-2.09 (m, 1H), 2.00 (tq, J = 12.7, 6.6, 6.2 Hz, 2H), 1.76 (dp, J = 14.3, 7.0 Hz, 2H)。	分子式 C ₂₅ H ₂₄ Cl N ₄ O ₄ 的 [M+H] ⁺ 计算值: 515, 实 验值:515

[0377] 化合物34和35的制备:

[0378]





[0380] 4-[2-([[(叔丁氧基)羰基]氨基]甲基)吡咯烷-1-基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯

[0381] 将4-溴-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(中间体A, 6g, 11.87mmol, 1当量)、N-[(吡咯烷-2-基)甲基]氨基甲酸叔丁酯(4.8g, 23.73mmol, 2.00当量)、XantPhos(2.1g, 3.56mmol, 0.3当量)、Pd₂(dba)₃(1.1g, 1.19mmol, 0.1当量)和Cs₂CO₃(19.3g, 59.33mmol, 5当量)于二噁烷(100mL)中的混合物在100°C下搅拌16小时。过滤反应混合物并浓缩滤液,得到粗产物,通过硅胶柱色谱法,用PE:EA(20:1至1:1)洗提来纯化,得到呈淡黄色油状的4-[2-([[(叔丁氧基)羰基]氨基]甲基)吡咯烷-1-基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(3.4g, 45.84%)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ7.42(t, J=8.2Hz, 1H), 7.31(d, J=8.2Hz, 2H), 7.23(q, J=9.0, 8.4Hz, 4H), 7.10(d, J=8.3Hz, 1H), 5.45(d, J=15.8Hz, 1H), 5.33(d, J=15.4Hz, 1H), 5.02(s, 1H), 4.16(dt, J=23.2, 6.8Hz, 1H), 3.76(s, 4H), 3.30(s, 2H), 3.11(s, 1H), 1.97(d, J=41.7Hz, 2H), 1.75(d, J=6.8Hz, 2H), 1.43(s, 9H)。

[0382] 4-[2-(氨基甲基)吡咯烷-1-基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯

[0383] 将搅拌的4-[2-([[(叔丁氧基)羰基]氨基]甲基)吡咯烷-1-基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(3.4g, 5.44mmol, 1当量)于HCl(4M)(30mL, 987.36mmol, 181.51当量)中的溶液在室温下搅拌2小时。将反应混合物用K₂CO₃碱化至pH 10并用乙酸乙酯(5×150mL)萃取,然后将有机层用盐水(2×150mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并过滤。浓缩滤液,得到呈淡黄色油状的4-[2-(氨基甲基)吡咯烷-1-基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(2.85g, 粗)。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ7.39(t, J=8.3Hz, 1H), 7.34-7.28(m, 3H), 7.19(t, J=7.6Hz, 3H), 7.07(d, J=8.3Hz, 1H), 5.44(d, J=15.5Hz, 1H), 5.32(d, J=15.4Hz, 1H), 4.25-4.08(m, 2H), 3.92-3.66(m, 5H), 3.11(ddd, J=10.9, 6.8, 3.2Hz, 1H), 2.81(d, J=4.9Hz, 2H), 2.04-1.86

(m, 2H), 1.75 (td, J=12.2, 7.8Hz, 2H)。

[0384] 5-[(4-氯苯基)甲基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三-2(6),3-二烯-7-酮

[0385] 在0℃下向4-[2-(氨基甲基)吡咯烷-1-基]-1-[(4-氯苯基)甲基]-2-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1H-咪唑-5-甲酸甲酯(2.75g, 5.24mmol, 1当量)于二噁烷(50mL)中的混合物加入NaH(1.5g, 36.67mmol, 7.00当量, 60%)并且然后使反应混合物回流15分钟。使反应混合物冷却至室温并浓缩, 得到残余物。残余物产物通过硅胶柱色谱法, 用PE:EA(1:2至0:1)洗提来纯化, 得到呈白色固体状的5-[(4-氯苯基)甲基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三-2(6),3-二烯-7-酮(1.5g, 58.09%)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ7.38 (t, J=8.3Hz, 1H), 7.26 (s, 5H), 7.18 (dd, J=8.4, 2.3Hz, 1H), 7.06 (d, J=8.3Hz, 1H), 5.67 (d, J=14.9Hz, 2H), 5.40 (d, J=14.9Hz, 1H), 3.68-3.38 (m, 4H), 3.22-3.09 (m, 1H), 2.18 (dt, J=12.8, 6.4Hz, 1H), 1.93 (tdd, J=21.4, 11.8, 6.7Hz, 2H), 1.61 (qd, J=11.5, 7.9Hz, 1H),

[0386] 5-[(4-氯苯基)甲基]-8-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三-2(6),3-二烯-7-酮

[0387] 在氮气气氛下在0℃下向5-[(4-氯苯基)甲基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三-2(6),3-二烯-7-酮(350mg, 0.71mmol, 1当量)于DMF(40mL)中的混合物加入NaH(85.2mg, 2.13mmol, 3当量, 60%), 历时0.5小时。在0℃下向以上混合物中加入2-(3-溴丙氧基)噁烷(475.3mg, 2.13mmol, 3.00当量)。在50℃下将所得混合物再搅拌16小时。向所得混合物加入乙酸乙酯(300mL)和盐水(100mL), 然后将水层用乙酸乙酯(200mL)萃取。合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥并过滤。浓缩滤液, 得到粗产物, 通过硅胶柱色谱法, 用PE:EA(10:1至1:1)洗提来纯化, 得到呈淡黄色油状的5-[(4-氯苯基)甲基]-8-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三-2(6),3-二烯-7-酮(300mg, 66.52%)。

[0388] (10R)-5-[(4-氯苯基)甲基]-8-(3-羟基丙基)-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三-2(6),3-二烯-7-酮和(10S)-5-[(4-氯苯基)甲基]-8-(3-羟基丙基)-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三-2(6),3-二烯-7-酮

[0389] 在室温下向搅拌的5-[(4-氯苯基)甲基]-8-[3-(噁烷-2-基氧基)丙基]-4-[3-(三氟甲氧基)苯氧基]-1,3,5,8-四氮杂三环[8.3.0.0[^][2,6]]十三-2(6),3-二烯-7-酮(300mg, 0.47mmol, 1当量)于THF(15mL)中的溶液中逐滴加入HCl(2M)(15mL)。然后将所得混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物用K₂CO₃碱化至pH 10并用乙酸乙酯(3×100mL)萃取, 然后将有机层用盐水(2×50mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并过滤。浓缩滤液, 得到粗产物, 通过制备型手性HPLC(柱: (R,R)WheIk-01, 21.1×250mm, 5μm; 流动相A:Hex--HPLC, 流动相B:EtOH--HPLC; 流速:20mL/min; 梯度:14分钟内50B至50B; 220/254nm; RT1:8.638; RT2:11.063)来纯化, 得到化合物34(37.8mg, 14.52%)和化合物35(51.9mg, 19.94%)。

[0390] 化合物34表征:¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) 化学位移7.49 (t, J=8.2Hz, 1H), 7.29 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.26-7.18 (m, 4H), 7.15 (d, J=8.3Hz, 1H), 5.64 (d, J=15.3Hz, 1H), 5.34 (d, J=15.3Hz, 1H), 3.80 (dt, J=14.3, 7.4Hz, 1H), 3.65-3.38 (m, 6H), 3.25 (dd, J=13.4,

6.5Hz, 1H), 3.15 (dd, J=14.8, 7.6Hz, 1H), 2.24 (dt, J=12.0, 6.0Hz, 1H), 2.02-1.85 (m, 2H), 1.76 (p, J=6.5Hz, 2H), 1.69-1.56 (m, 1H)。分子式 $C_{26}H_{26}ClF_3N_4O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:551, 实验值:551。

[0391] 化合物35表征: ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) 化学位移7.49 (t, J=8.2Hz, 1H), 7.29 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.26-7.18 (m, 4H), 7.15 (d, J=8.3Hz, 1H), 5.64 (d, J=15.2Hz, 1H), 5.34 (d, J=15.3Hz, 1H), 3.80 (dt, J=14.3, 7.4Hz, 1H), 3.66-3.38 (m, 6H), 3.25 (dd, J=13.5, 6.4Hz, 1H), 3.15 (dd, J=14.8, 7.6Hz, 1H), 2.24 (dt, J=12.3, 6.2Hz, 1H), 2.11-1.85 (m, 2H), 1.76 (p, J=6.4Hz, 2H), 1.70-1.58 (m, 1H)。分子式 $C_{26}H_{26}ClF_3N_4O_4$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:551, 实验值:551。

[0392] 实施例2:测定方案

[0393] I. 表达人类TRPC5的细胞。

[0394] 表达TRPC5的ICLN-1633细胞 (HEK-TREx hTRPC5) 如下产生。在转染前24小时, 使用2mL不含抗生素的细胞生长培养基 (1xDMEM/高葡萄糖 (Hyclone#SH30022.02); 10%胎牛血清 (Sigma) 2mM丙酮酸钠、10mM HEPES) 将市售HekTrex-293细胞以 0.7×10^6 个细胞/孔接种于1×6孔板中。根据制造商指导, 使用潮霉素作为抗性基因将人TRPC5编码序列 (具有沉默T478C突变的NM_012471) 选殖至pcDNA5/T0 (Invitrogen; 目录号V103320) 中并使用T-Rex-293细胞 (Invitrogen; 目录号R71007) 增殖质粒 (SEQ ID NO:1)。在第2天, 制备含2μg质粒DNA加6μl Xtreme-GENE HP试剂的Optimem (200μl总体积) 并在室温下孵育15分钟。接着此质粒溶液轻轻地逐滴覆盖至每个孔上并轻轻旋动板以将复合物与培养基混合大约30秒。将转染的细胞在10% CO_2 孵育箱中在37°C下孵育24小时。收获转染的细胞并转移至含有细胞生长培养基而无抗生素的2×150mm器皿中37°C下

[0395] 次日, 通过加入含有150μg/mL潮霉素和5μg/mL杀稻瘟菌素的细胞生长培养基, 开始选择, 产生稳定池, 并使细胞生长。按需要每1-2天改变具有选择剂的培养基以去除死细胞。在7天后, 潮霉素浓度降低至75μg/mL并使细胞生长继续。

[0396] 如下选择单个克隆。稳定池稀释至10个细胞/毫升并在细胞生长培养基中接种 (100μl/孔) 至24×96孔板 (约1个细胞/孔) 并使之生长7天。加入新鲜培养基 (100μl) 并使细胞再生长1-2周, 接着冷冻存储或立即使用。

[0397] II. 自动化膜片钳测定 (Qpatch)

[0398] 在室温下进行自动化电生理学测定。实验当天, 依据我们的标准操作程序培养TRPC5细胞。简单地说, 使用TrypLETM Express收获细胞, 再悬浮在无血清培养基中, 加入自动化平台并在0.5-3小时内使用。在测定前新鲜制备内部和外部生理溶液。外部溶液含有: 145mM NaCl、4mM KCl、2mM $CaCl_2$ 、1mM $MgCl_2$ 、10mM HEPES、10mM葡萄糖、利用NaOH pH 7.4和310mOsm/L。内部溶液含有120mM L-天冬氨酸、120mM CsOH·H₂O、20mM CsCl、2mM $MgCl_2$ 、8.8mM $CaCl_2$ 、10mM EGTA、10mM HEPES和2mM Na_2ATP ; 利用CsOH pH 7.2和330mOsm/L。根据WCabuf软件, 游离内部 Ca^{2+} 浓度缓冲至1μM。来自Sophion (Denmark) 的自动化电生理学平台QPatch 16用于进行化合物概况分析。在实验期间不断地监测封条的串联电阻和品质。使用Sophion QPatch测定软件5.6 (Odense) 分析数据。使用在预先化合物激动剂施加期间获得的最大活化作为顶部值 (1.0) 和由ML-204诱发的最大抑制作为底部值 (0.0) 将数据归一化。使用最小二乘回归算法 (希尔方程 (Hill equation)) 计算IC₅₀值。

[0399] 为了监测离子电流,从-60mV的保持电位,每10秒经300ms施加-100mV至+100mV的电压斜线上升。拮抗剂-模式:在记录最少60秒对照期后,施加EC60浓度的TRPC5激动剂罗格列酮(Rosiglitazone,30 μ M)以活化通道。在达到稳态后,共同施加递增浓度的测试化合物,接着施加载罗格列酮EC60和饱和浓度的特定阻断剂ML-204(100 μ M)两者。

[0400] III.FLIPR方案:

[0401] 一般使用DMSO作为媒介物,化合物构成10mM原液或作为10mM原液供应。使用Echo-550声学分配器产生10点剂量反应曲线。通过在DMSO中连续稀释化合物原液,建立10mM、1mM和0.1mM溶液至Echo证实的LDV板中来制备化合物来源板。接着Echo将100% DMSO原液连续点样至来源剂量反应板中以产生4倍稀释方案。将100% DMSO加入至点样的剂量反应板中,以使最终体积至5 μ l。接着将300nL剂量反应原液板点样至预孵育和刺激测定板中。接着将50 μ l预孵育缓冲液和100 μ l刺激缓冲液加入至板中,产生30 μ M至0.0001 μ M的最终测定测试浓度范围,最终DMSO浓度为0.3%。

[0402] 将表达的人类ICLN-1633细胞涂铺至384孔黑色聚D-赖氨酸涂布的微量培养板上并且当天维持在TRPC5生长培养基中,然后用于实验。通过在涂铺时施加1 μ g/mL四环素诱发TRPC5表达。从板除去培养基并将10 μ l含4 μ M Fluo-4 AM(与等体积的Pluronic F-127混合)的伊格尔平衡盐溶液(Earls' s Balanced Salt Solution,EBSS)加入至细胞中。细胞在室温下孵育60-90分钟,避光保存。在孵育期后,去除染料并替换为10 μ l EBSS。将细胞、预孵育和刺激板装载至FLIPR-II上并开始测定。FLIPR测量10秒基线,接着加入10 μ l 2X化合物(或对照)。再监测荧光变化5分钟。在预孵育5分钟后,将20 μ l 2X利鲁唑(riluzole)(与1X化合物或对照一起)加入至细胞板中。测定中最终利鲁唑刺激浓度是30 μ M。在加入利鲁唑后,再监测荧光变化5分钟。相对于对照孔,利鲁唑活化的钙反应的减少报告为抑制。化合物介导的利鲁唑反应相对于对照利鲁唑反应(不存在测试剂)的增加并且在预孵育阶段期间钙进入没有增强报告为激动剂反应。

[0403] 如下测定TRPC5钙反应的化合物抑制。在加入利鲁唑后,再监测荧光5分钟时间段。对于抑制,捕捉最大相对荧光反应(减去已知最大限度地阻断TRPC5钙反应的1 μ M内部对照化合物的对照反应,以下式中“REF INHIB”)并从FLIPR输出。

[0404] 使用下式计算化合物抑制:

$$[0405] \quad \text{抑制}\% = \frac{\text{RFU 测试剂} - \text{板平均 RFU 参考抑制}}{\text{板平均 RFU 对照} - \text{板平均 RFU 参考抑制}} \times 100$$

[0406] 其中“RFU”是相对荧光单位。

[0407] 如下测定TRPC5钙反应的化合物活化(激动作用)。在加入初始化合物后,监测荧光5分钟。捕捉最大相对荧光反应(减去单独EBSS缓冲液的对照反应)并从FLIPR输出。使用下式计算化合物活化:

$$[0408] \quad \text{活化}\% = \frac{\text{RFU 测试剂} - \text{板平均 RFU 缓冲液}}{\text{板平均 RFU 利鲁唑对照} - \text{板平均 RFU 缓冲液}} \times 100$$

[0409] 实施例3:示例性生物测定数据

[0410] 表2:本公开的代表性化合物的QPatch、FLIPR抑制剂和FLIPR激动剂效力范围

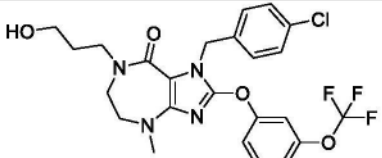
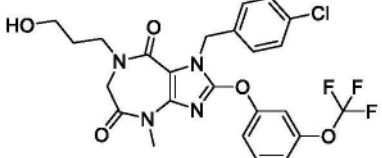
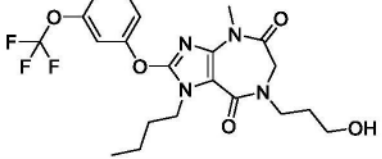
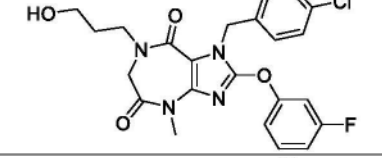
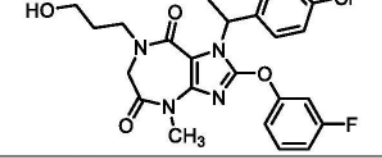
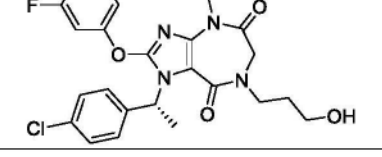
[0411] 效力范围:

[0412] QPatch测定: A=0.001-1 μ M; B=1-30 μ M; C=>30 μ M; ND=未测试。

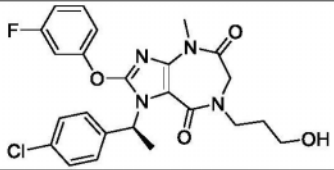
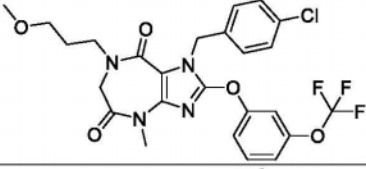
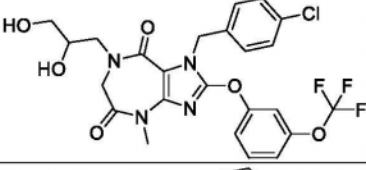
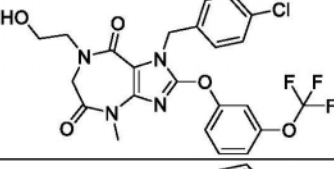
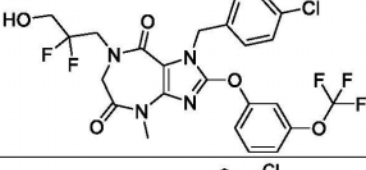
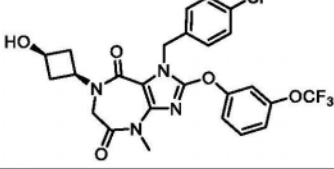
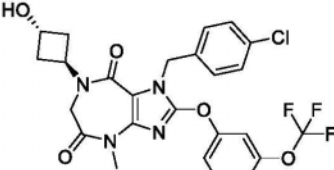
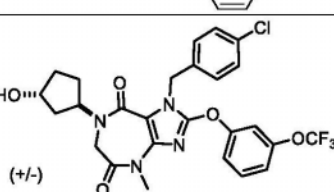
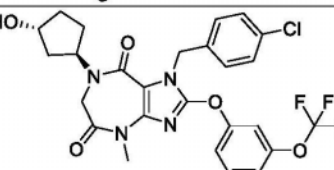
[0413] FLIPR测定 (抑制剂和激动剂活性): A=0.001-1 μ M; B=1-10 μ M; C=>10 μ M; D=用激动作用的正结果测试, 但不计算EC₅₀; ND=未测试。

[0414] 表2中指示的对映异构体对 (参见例如化合物6和7; 化合物12和13; 化合物15和16等) 彼此具有相对立体化学。换句话说, 两种对映异构体从外消旋混合物分离, 但未测定每种对映异构体的绝对立体化学。

[0415]

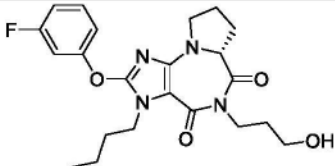
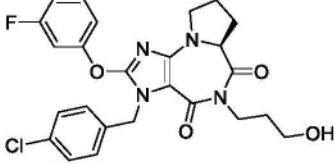
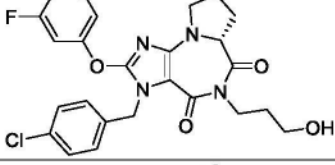
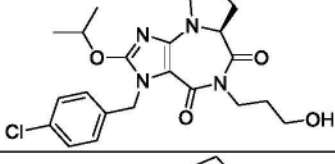
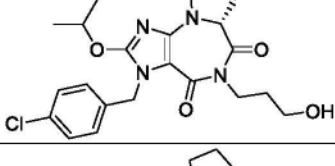
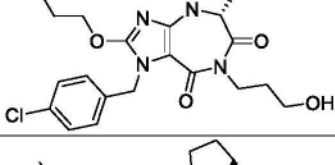
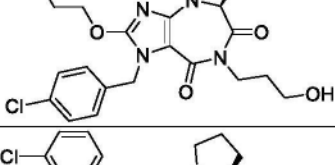
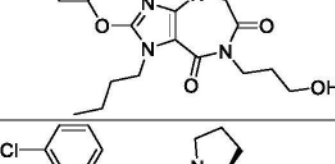
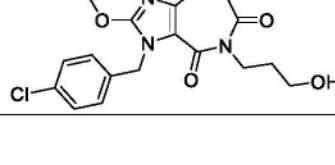
化合物	结构	Qpatch 效力范 围	抑制剂 效力范 围	激动剂 效力范 围
1		B	ND	ND
2		B	B	ND
3		ND	B	ND
4		ND	B	ND
5		ND	ND	ND
6		C	C	ND

[0416]

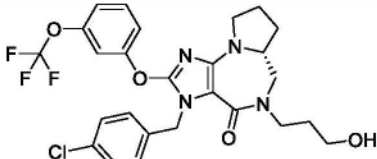
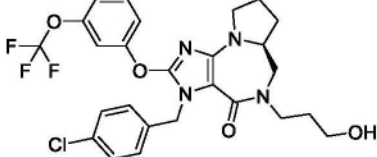
化合物	结构	Qpatch 效力范 围	抑制剂 效力范 围	激动剂 效力范 围
7		B	C	ND
8		ND	B	ND
9		B	ND	ND
10		ND	B	ND
11		C	B	ND
12		ND	ND	ND
13		B	ND	ND
14		ND	ND	ND
15		ND	A	ND

化合物	结构	Qpatch 效力范 围	抑制剂 效力范 围	激动剂 效力范 围
16		ND	B	ND
17		C	ND	ND
18		A	C	ND
19		C	C	D
20		B	A	ND
21		B	A	C
22		C	C	B
23		B	A	C
24		A	A	ND

[0417]

化合物	结构	Qpatch 效力范 围	抑制剂 效力范 围	激动剂 效力范 围
25		ND	C	D
26		ND	A	ND
27		ND	C	A
28		ND	C	A
29		ND	C	B
30		ND	C	B
31		ND	C	A
32		ND	A	ND
33		ND	A	ND

[0418]

化合物	结构	Qpatch 效力范 围	抑制剂 效力范 围	激动剂 效力范 围
[0419] 34		ND	A	ND
35		ND	B	ND

[0420] SEQ ID NO:1TRPC5质粒序列

[0421] 以下包括用于实施例2中的TRPC5质粒的DNA序列。加下划线的核酸代表编码人类TRPC5的核酸。

[0422] GACGGATCGGGAGATCTCCCGATCCCTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGT
TAAGCCAGTATCTGCTCCCTGCTTGTGTGTTGGAGGTCGCTGAGTAGTGC GCGAGCAAAATTTAAGCTACAACAAGG
CAAGGCTTGACCGACAATTGCATGAAGAATCTGCTTAGGGTTAGGCGTTTTGCGCTGCTTCGCGATGTACGGGCCAG
ATATACGCGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATA
TGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCA
ATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAAC
TGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCG
CCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATT
ACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCA
CCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTGTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACTCCGCCC
CATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCTCCCTATCAGTGATAGAGAT
CTCCCTATCAGTGATAGAGATCGTCGACGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTG
TTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGGACTCTAGCGTTTAACTTAAGCCCAAGCTGGCTA
GACCGCCATGGCCCAACTGTACTACAAAAAGGTCAACTACTCACCGTACAGAGACCGCATCCCCCTGCAAATTGTGA
GGGCTGAGACAGAGCTCTCTGCAGAGGAGAAGGCCCTTCCTCAATGCTGTGGAGAAGGGGGACTATGCCACTGTGAAG
CAGGCCCTTCAGGAGGCTGAGATCTACTATAATGTTAACATCAACTGCATGGACCCCTTGGGCCGGAGTGCCCTGCT
CATTGCCATTGAGAACGAGAACCTGGAGATCATGGAGCTACTGCTGAACCACAGCGTGTATGTGGGTGATGCATTGC
TCTATGCCATACGCAAGGAAGTGGTGGGCGCTGTGGAGCTTCTGCTCAGCTACAGGCGGCCAGCGGAGAGAAGCAG
GTCCCCACTCTGATGATGGACACGCAGTTCTCTGAATTCACACCGGACATCACTCCCATCATGCTGGCTGCCACAC
CAACAACCTACGAAATCATCAAACCTGCTTGCCAAAAACGGGTCACTATCCACGGCCCCACCAGATCCGCTGCAACT
GTGTGGAGTGTGTGTCTAGTTCAGAGGTAGACAGCCTGCGCCACTCTCGCTCCCGACTGAACATCTATAAGGCTCTG
GCAAGCCCCTCACTCATTGCCTTATCAAGTGAGGACCCCATCCTAACTGCCTTCCGTCTGGGCTGGGAGCTCAAGGA
GCTCAGCAAGGTGGAGAATGAGTTCAAGGCCGAGTATGAGGAGCTCTCTCAGCAGTGCAAGCTCTTTGCCAAAGACC
TGCTGGACCAAGCTCGGAGCTCCAGGGAAGTGGAGATCATCTCAACCATCGAGATGACCACAGTGAAGAGCTTGAC
CCTCAGAAGTACCATGACCTGGCCAAGTTGAAGGTGGCAATCAAATACCACCAGAAAGAGTTTGTTGCTCAGCCCAA

CTGCCAACAGTTGCTTGCCACCCTGTGGTATGATGGCTTCCCTGGATGGCGGCGGAAACACTGGGTAGTCAAGCTTC
TAACCTGCATGACCATTGGGTTCCCTGTTTCCCATGCTGTCTATAGCCTACCTGATCTCAGCCAGGAGCAACCTTGGG
CTGTTTCATCAAGAAACCCCTTTATCAAGTTTATCTGCCACACAGCATCCTATTTGACCTTCCTCTTTATGCTTCTCCT
GGCTTCTCAGCACATTGTCAGGACAGACCTTCATGTACAGGGGCCTCCCCAACTGTCGTGGAATGGATGATATTGC
CTTGGGTTCTAGGTTTCATTTGGGGTGAGATTAAGGAAATGTGGGATGGTGGATTTACTGAATACATCCATGACTGG
TGGAACCTGATGGATTTTGCAATGAACTCCCTCTACCTGGCAACTATTTCCCTGAAGATTGTGGCCTATGTCAAGTA
TAATGGTTCTCGTCCAAGGGAGGAATGGGAAATGTGGCACCCGACTCTGATTGCGGAAGCACTCTTCGCAATATCCA
ACATTTTAAGTTTCGTTGCGTCTCATATCCCTGTTTACAGCCAACTCCCCTTAGGACCTCTGCAGATCTCTTTGGGA
CGCATGCTGCTTGATATCCTCAAATTCCTCTTTATCTACTGCCTGGTACTACTAGCTTTTGCCAATGGACTGAACCA
GCTTTACTTCTATTATGAAACCAGAGCTATCGATGAGCCTAACAACTGCAAGGGGATCCGATGTGAGAAACAGAACA
ATGCCTTCTCCACGCTCTTTGAGACTCTTCAGTCACTCTTCTGGTCTGTATTTGGCCTTTTAAATCTATATGTCACC
AATGTGAAAGCCAGACACGAATTCACCGAGTTTGTAGGAGCTACCATGTTTGGAACATACAATGTCATCTCCCTGGT
AGTGCTGCTGAACATGCTGATTGCTATGATGAACAACTCCTATCAGCTTATTGCCGATCATGCTGATATCGAGTGGA
AGTTTGCAAGGACGAAGCTCTGGATGAGTTACTTTGATGAAGGTGGCACCTTGCCACCTCCTTTCAACATCATCCCC
AGCCCCAAGTCATTTCTATACCTTGGAACCTGGTTCAACAACACCTTCTGCCCCAAAAGAGACCCTGACGGTAGACG
GAGAAGGCGCAACTTGAGAAGTTTCACAGAACGCAATGCTGACAGCCTGATACAAAATCAACATTATCAGGAAGTTA
TCAGGAATTTAGTCAAAAAGATATGTGGCTGCTATGATAAGAAATTCAAAACACATGAGGGACTTACAGAAGAAAAT
TTTAAGGAATTAAGCAAGACATCTCCAGCTTTCGGTATGAAGTGCTTGACCTCTTGGGAAATAGAAAACATCCAAG
GAGCTTTTCCACTAGCAGCACTGAACTGTCTCAGAGAGACGATAATAATGATGGCAGTGGTGGGGCTCGGGCCAAAT
CCAAGAGTGTCTCTTTTAATTTAGGCTGCAAGAAAAAGACTTGCCATGGGCCACCTCTCATCAGAACCATGCCAAGG
TCCAGTGGTGCCCAAGGAAAGTCAAAAGCTGAGTCATCAAGCAAACGCTCCTTCATGGGTCTTCTCTCAAGAACT
GGGTCTCCTATTCTCCAAATTTAATGGTCATATGTCTGAACCCAGTTCAGAGCCAATGTACACAATTTCTGATGGAA
TTGTTTCAGCAGCACTGTATGTGGCAGGACATCAGATATTCTCAGATGGAGAAAGGAAAGCAGAGGCCTGTTCTCAA
AGTGAAATTAACCTCAGTGAGGTAGAATTAGGTGAAGTCCAGGGCGCTGCTCAGAGCAGTGAATGCCCTCTAGCCTG
TTCCAGCTCTCTTCACTGTGCATCCAGCATCTGCTCCTCAAATTTCTAACTTTTAGACTCCTCAGAGGATGTATTTG
AACTTGGGGAGAGGCTTGTGACTTGCTCATGCACAAATGGGGTGATGGACAGGAAGAACAAGTTACAACCTCGCCTC
TAATGACTCGAGTCTAGAGGGCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGT
TGTTTGCCCCCTCCCCCGTGCTTCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTTCTAATAAAATGAGGAAA
TTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGG
GAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGAAAGAACCAGCTGGGGCTCTAG
GGGGTATCCCCACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACAC
TTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTTCCCCGTCAA
GCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGG
TGATGGTTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATA
GTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCG
ATTTGCGCCTATTGGTTAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTAATTCTGTGGAATGTGTGTCAG
TTAGGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAAGTATGCAAAGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCAG
GTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAAGTATGCAAAGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCC
CGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTT

TTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCTGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCT
AGGCTTTTGAAAAAGCTCCCGGAGCTTGTATATCCATTTTCGGATCTGATCAGCACGTGATGAAAAAGCCTGAAC
TCACCGCGACGTCTGTGAGAAGTTTCTGATCGAAAAAGTTCGACAGCGTCTCCGACCTGATGCAGCTCTCGGAGGGC
GAAGAATCTCGTGCTTTCAGCTTCGATGTAGGAGGGCGTGGATATGTCCTGCGGGTAAATAGCTGCGCCGATGGTTT
CTACAAAGATCGTTATGTTTATCGGCACCTTTCATCGGCCGCGCTCCCGATTCCGGAAGTGCTTGACATTGGGGAAT
TCAGCGAGAGCCTGACCTATTGCATCTCCCGCCGTGCACAGGGTGTACGTTGCAAGACCTGCCTGAAACCGAACTG
CCCCTGTTCTGCAGCCGGTTCGCGAGGCCATGGATGCGATCGCTGCGGCCGATCTTAGCCAGACGAGCGGGTTCGG
CCCATTTCGGACCGCAAGGAATCGGTCAATACACTACATGGCGTGATTTTCATATGCGCGATTGCTGATCCCCATGTGT
ATCACTGGCAAACGTGTATGGACGACACCGTCAGTGCGTCCGTGCGCGAGGCTCTCGATGAGCTGATGCTTTGGGCC
GAGGACTGCCCCGAAGTCCGGCACCTCGTGACGCGGATTTTCGGCTCCAACAATGTCCTGACGGACAATGGCCGCAT
AACAGCGGTCAATTGACTGGAGCGAGGCGATGTTGCGGGATTCCCAATACGAGGTCGCCAACATCTTCTTCTGGAGGC
CGTGGTTGGCTTGTATGGAGCAGCAGACGCGCTACTTCGAGCGGAGGCATCCGGAGCTTGCAGGATCGCCGCGGCTC
CGGGCGTATATGCTCCGATTGGTCTTGACCAACTCTATCAGAGCTTGGTTGACGGCAATTTTCGATGATGCAGCTTG
GGCGCAGGGTCGATGCGACGCAATCGTCCGATCCGGAGCCGGGACTGTCGGGCGTACACAAATCGCCCGCAGAAGCG
CGGCCGTCTGGACCGATGGCTGTGTAGAAGTACTCGCCGATAGTGGAACCGACGCCCCAGCACTCGTCCGAGGGCA
AAGGAATAGCACGTGCTACGAGATTTTCGATTCCACCGCCGCCTTCTATGAAAGGTTGGGCTTCGGAATCGTTTTCCG
GGACGCCGGCTGGATGATCCTCCAGCGCGGGGATCTCATGCTGGAGTTCTTCGCCCACCCCAACTTGTTTATTGCAG
CTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTCACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGT
GGTTTGTCCAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGTATACCGTCGACCTCTAGCTAGAGCTTGGCGTAATCATG
GTCATAGCTGTTTCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTA
AAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCCGCTTTCAGTCGGGAAAC
CTGTCTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTTCGCTATTGGGCGCTCTTCCGCTTC
CTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTTCGGTTCGCGGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGT
TATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAG
GCCGCTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTG
GCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCTGTTCCGACCC
TGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTAT
CTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTACGCCCCGACCGCTGCGCCTT
ATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGA
TTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACA
GTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAAC
CACCCTGGTAGCGGTTGGTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTT
TGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAA
AGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAATAATGAAGTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTC
TGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATCCATAGTTGCCTGAC
TCCCCGTCTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCA
CGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTT
ATCCGCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCCGCGATTAATAGTTTGCGCAACG
TTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGTTTCCAACGA

TCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAGAAG
TAAGTTGGCCGCGAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGAT
GCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCG
GCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCG
AAAACCTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCAT
CTTTTACTTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACA
CGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGG
ATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACG
TC

[0423] 以引用的方式并入

[0424] 本文中引用的所有美国专利和美国和PCT公布专利申请都以引用的方式并入本文中。

[0425] 等效方案

[0426] 以上书面说明书足够使本领域的技术人员能够实施本发明。本发明不限于举例提供的范围,因为实施例意图作为本发明的一方面的单个例示并且其它功能等效实施方案在本发明的范围内。本领域的技术人员从上述描述将显而易见除本文所示和所述外的本发明的多种修改,并且所述修改在随附权利要求书的范围内。本发明的每个实施方案不一定涵盖本发明的优点和目标。