

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480019606.4

A61K 31/513 (2006.01)

C07D 239/54 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

A61P 5/02 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008年3月26日

[11] 授权公告号 CN 100376246C

[22] 申请日 2004.7.6

[21] 申请号 200480019606.4

[30] 优先权

[32] 2003.7.7 [33] US [31] 60/485,436

[86] 国际申请 PCT/US2004/021569 2004.7.6

[87] 国际公布 WO2005/007164 英 2005.1.27

[85] 进入国家阶段日期 2006.1.9

[73] 专利权人 纽罗克里生物科学有限公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 朱云飞 科林·里根

贾米·K·吕特尔 郭志强 陈永胜

查尔斯·Q·黄

[56] 参考文献

US5859014 1999.1.12

审查员 翟羽

[74] 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理有限公司

代理人 王达佐 韩克飞

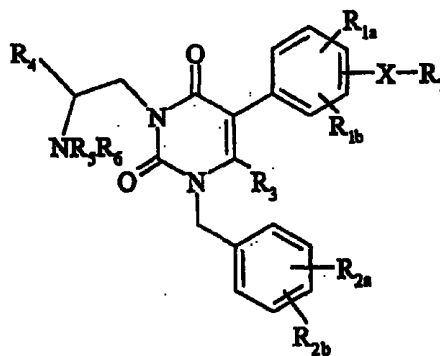
权利要求书6页 说明书51页

[54] 发明名称

作为促性激素释放激素受体拮抗剂的嘧啶-2,4-二酮衍生物

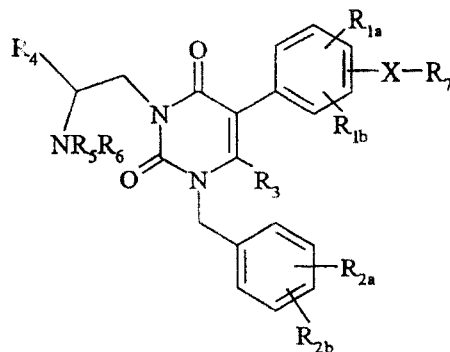
[57] 摘要

本发明公开了 GnRH 受体拮抗剂，其具有治疗男性与女性的性激素相关疾病状态的用途。本发明化合物具有以下通式结构(I)，并包括其立体异构体、前药和药物可接受的盐：其中 R_{1a}、R_{1b}、R_{1c}、R_{2a}、R_{2b}、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇与 X 如本发明所定义。本发明还公开了包含与药物可接受的载体组合的本发明化合物的组合物，以及使用该组合物来拮抗个体内的促性腺激素释放激素的方法，该个体需要此拮抗。



(I)

1. 具有以下结构式的化合物，或其立体异构体、前药或药物可接受的盐：



其中：

R_{1a} 与 R_{1b} 相同或不同，并独立地为氢、卤素、 C_{1-4} 烷基或烃氧基；

R_{2a} 与 R_{2b} 相同或不同，并独立地为氢、卤素、三氟甲基、氰基或 $-SO_2CH_3$ ；

R_3 为氢或甲基；

R_4 为苯或 C_{3-7} 烷基；

R_5 与 R_6 相同或不同，并独立地为氢或 C_{1-4} 烷基；或

R_5 及其相连的氮与 R_4 及其相连的碳一起共同形成 1,2,3,4-四氢异喹啉或 2,3-二氢-1H-异吲哚；

R_7 为 $-COOH$ 或酸同电子排列体；及

X 为 $-O-(C_{1-6}$ 亚烷基)或 $-O-(C_{1-6}$ 亚烷基)- $O-(C_{1-6}$ 亚烷基)，其中每一 C_{1-6} 亚烷基任意地被 1 至 3 个 C_{1-4} 烷基取代。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中 R_{1a} 为卤素。

3. 如权利要求 2 所述的化合物，其中 R_{1a} 为氟或氯。

4. 如权利要求 1 所述的化合物，其中 R_{1a} 为氢。

5. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_{2a} 为卤素。
6. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_{2b} 为三氟甲基、卤素或 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 。
7. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_3 为氢。
8. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_3 为甲基。
9. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_4 为苯基。
10. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_4 为 C_{3-7} 烃基。
11. 如权利要求 10 所述的化合物, 其中 C_{3-7} 烃基为环戊基或环己基。
12. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_5 为 H 或甲基。
13. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_7 为 $-\text{COOH}$ 。
14. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 R_7 为酸同电子排列体。
15. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 X 为直链 C_{1-6} 亚烷基。
16. 如权利要求 15 所述的化合物, 其中所述的直链 C_{1-6} 亚烷基为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。
17. 如权利要求 15 所述的化合物, 其中所述的直链 C_{1-6} 亚烷基为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。

18. 如权利要求 15 所述的化合物, 其中所述的直链 C₁₋₆ 亚烷基为 -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-。

19. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中 X 为支链 C₁₋₆ 亚烷基。

20. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中所述的化合物为:

3-[2(R)-氨基-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮,

3-[2(R)-氨基-2-苯基乙基]-5-(3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-氯苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮,

3-[2(R)-氨基-2-苯基乙基]-5-(3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮,

3-[2(R)-甲基氨基-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮,

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮,

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮,

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([3-羟基羰基]-1-丙氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮,

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氯-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮, 或

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氯-3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮。

21. 药物组合物, 包括权利要求 1 所述的化合物和药物可接受的载体或稀释剂。

22. 权利要求 1 所述化合物在拮抗个体中促性腺激素释放激素的

药物制备中的用途，其中所述个体需要此种拮抗。

23. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_{1a} 为卤素。

24. 如权利要求 23 所述的用途，其中 R_{1a} 为氟或氯。

25. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_{1a} 为氢。

26. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_{2a} 为卤素。

27. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_{2b} 为三氟甲基、卤素或 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 。

28. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_3 为氢。

29. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_3 为甲基。

30. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_4 为苯基。

31. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_4 为 C_{3-7} 烷基。

32. 如权利要求 31 所述的用途，其中 C_{3-7} 烷基为环戊基或环己基。

33. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_5 为 H 或甲基。

34. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_7 为 $-\text{COOH}$ 。

35. 如权利要求 22 所述的用途，其中 R_7 为酸同电子排列体。

36. 如权利要求 22 所述的用途，其中 X 为直链 C_{1-6} 亚烷基。

37. 如权利要求 36 所述的用途, 其中所述的直链 C_{1-6} 亚烷基为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。

38. 如权利要求 36 所述的用途, 其中所述的直链 C_{1-6} 亚烷基为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。

39. 如权利要求 36 所述的用途, 其中所述的直链 C_{1-6} 亚烷基为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。

40. 如权利要求 22 所述的用途, 其中 X 为支链 C_{1-6} 亚烷基。

41. 如权利要求 22 所述的用途, 其中所述的化合物为:

3-[2(R)-氨基-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮,

3-[2(R)-氨基-2-苯基乙基]-5-(3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-氯苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮,

3-[2(R)-氨基-2-苯基乙基]-5-(3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮,

3-[2(R)-甲基氨基-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮,

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮,

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮,

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([3-羟基羰基]-1-丙氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮,

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮, 或

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基

基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮。

作为促性激素释放激素受体拮抗剂的嘧啶-2,4-二酮衍生物

政府利益声明

本发明工作的部分基金是由美国政府提供的，是由国立健康研究所资助的批准号为 1-R43-HD38625 与 2R44-HD38625-02 的课题。因此政府对本发明拥有一定的权利。

发明背景

发明领域

总体而言，本发明涉及促性腺激素释放激素(GnRH)受体拮抗剂，以及治疗病症的方法，该方法通过将这种拮抗剂对需要此治疗的恒温动物给药来实施。

相关技术领域的描述

促性腺激素释放激素(GnRH)也称为黄体生成素释放激素(LHRH)，为十肽(pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂)，其在人类的繁殖中发挥重要作用。GnRH 从下丘脑释放并作用于垂体来刺激黄体生成素(LH)和卵泡刺激素(FSH)的生物合成与释放。从垂体释放的 LH 负责男性与女性中性类固醇产生的调节，而 FSH 调节男性精子发生以及女性的卵泡发育。

由于其生物学重要性，GnRH 的合成拮抗剂与激动剂受到相当的关注，特别是在前列腺癌、乳腺癌、子宫内膜异位症、子宫平滑肌瘤(纤维瘤)、卵巢癌、前列腺肥大、辅助的生殖治疗和性早熟领域(The Lancet 358: 1793-1803,2001; Mol. Cell. Endo. 166: 9-14,2000)。例如，肽类 GnRH 激动剂，如亮丙瑞林(leuprorelin) (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-d-Leu-Leu-Arg-Pro-NHEt)，已经被用于治疗这些疾病状态。这种激动剂通过对垂体促性腺激素中的 GnRH 受体的结合来发挥功能，从而诱导促性腺激素的合成与释放。长期给予 GnRH 激

动剂可耗尽促性腺激素并随后下调该受体，一段时间后导致类固醇激素的抑制(例如，长期给药起始后 2-3 周)。

相比之下，认为 GnRH 拮抗剂能够抑制促性腺激素的作用，并因此在过去的二十年来受到极大的关注。目前，这种拮抗剂临床应用的主要障碍是其相对较低的生物利用度与组织胺释放产生的副作用。然而，已报道了一些具有低组织胺释放特性的肽拮抗剂，尽管由于其有限的生物利用度，它们仍需要通过缓释途径来进行传输(诸如皮下注射和鼻内喷雾)。

由于考虑到肽 GnRH 拮抗剂相关的限制，一些非肽的化合物已被提出。例如，仇(Cho)等(J. Med. Chem. 41:4190-4195,1998)公开了用作 GnRH 受体拮抗剂的噻吩并[2,3-b]吡啶-4-酮；美国专利第 5,780,437 号与第 5,849,764 号教导了用作 GnRH 受体拮抗剂的取代吲哚(也参见公开号为 WO97/21704、98/55479、98/55470、98/55116、98/55119、97/21707、97/21703 与 97/21435 的 PCT 国际申请)；公开号为 WO 96/38438 的 PCT 国际申请公开了作为 GnRH 受体拮抗剂的三环三氮杂草(diazepine)；公开号为 WO97/14682、97/14697、99/09033 号的 PCT 国际申请公开了作为 GnRH 拮抗剂的喹啉和噻吩并吡啶衍生物；公开号为 WO97/44037、97/44041、97/44321 与 97/44339 的 PCT 申请国际教导了作为 GnRH 受体拮抗剂的取代的喹啉-2-酮；以及公开号为 WO99/33831 的 PCT 国际申请公开了作为 GnRH 受体拮抗剂的某些苯基取代的稠合含氮双环化合物。最近公开的公开号为 WO02/066459 和 WO02/11732 号的 PCT 国际申请分别公开了吲哚衍生物和新的双环和三环吡咯烷衍生物作为 GnRH 拮抗剂的应用。

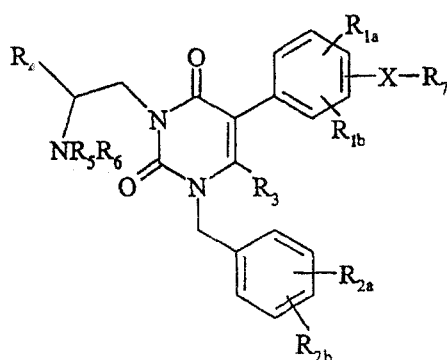
其它最近公布的公开了化合物及其作为 GnRH 拮抗剂的用途的 PCT 申请的公开号包括 WO 00/69859、WO 01/29044、WO 01/55119、WO 03/013528、WO 03/011870、WO 03/011841、WO 03/011839 及 WO 03/011293。

虽然在该领域中进行了有意义的研究，但该领域仍需要有效的小分子 GnRH 受体拮抗剂。同时也需要含有此 GnRH 受体拮抗剂的药物组合物，以及利用其来治疗诸如性激素相关的疾病状态的方法。本发

明满足了这些需要，并提供了其它相关的优点。

发明概述

简而言之，本发明总体上涉及促性腺激素释放激素(GnRH)受体拮抗剂，同时还涉及它们的制备方法和用途，以及含有其的药物组合物。更特别地，本发明所述 GnRH 受体拮抗剂是具有以下通式结构(I)的化合物，并包括其立体异构体、前药和药物可接受的盐：



(I)

其中 R_{1a} 、 R_{1b} 、 R_{2a} 、 R_{2b} 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 与 X 的定义如下文所述。

本发明的 GnRH 受体拮抗剂可应用于广泛的治疗用途，并可用来治疗男性和女性以及一般哺乳动物(本发明也称为“个体”)的各种性激素相关的疾病状态。例如，这种疾病状态包括，子宫内膜异位症、子宫平滑肌瘤、多囊性卵巢病、多毛症、性早熟，诸如前列腺、乳腺和卵巢的性腺类固醇依赖的肿瘤形成、垂体促性腺细胞腺瘤、睡眠失调、肠易激综合征、月经前期综合征、良性前列腺肥大、避孕和不育症(例如，诸如体外受精的辅助生殖治疗)。本发明的化合物也可用于生长激素缺乏和身材矮小的辅助治疗，并可用于治疗系统性红斑狼疮。所述化合物还可与雄激素、雌激素、黄体酮和抗雌激素与抗黄体酮组合用于治疗子宫内膜异位症、纤维瘤以及用于避孕，同时还可与血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II-受体拮抗剂或血管紧张肽原酶

(renin)抑制剂组合用于治疗子宫平滑肌瘤。此外,所述化合物还可与二磷酸脂以及其它试剂组合用于治疗 and/或预防钙、磷和骨代谢失调,以及与雌激素、黄体酮和/或雄激素组合用于预防或治疗 GnRH 拮抗剂治疗中出现的骨遗失(bone loss)或诸如热潮红的性机能减退症状。

本发明的化合物,除具有 GnRH 受体拮抗剂活性外,其与肝脏中主要的代谢酶即细胞色素 P450 酶的相互作用较低。包括 CYP2D6 与 CYP3A4 亚型的这类酶家族负责药物与毒素的代谢,使其从体内排出。抑制这些酶会使其不能发挥功能,因而导致威胁生命的疾病状态。

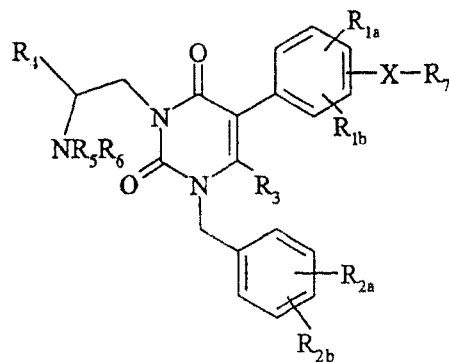
本发明方法包括将有效剂量的 GnRH 受体拮抗剂对需要其的哺乳动物给药,优选以药物组合物的形式给药。因此,在进一步的实施方案中,公开了含有一种或多种与药物可接受的载体和/或稀释剂组合的本发明 GnRH 受体拮抗剂的药物组合物。

参考以下详细描述,本发明的这些以及其它方面是显而易见的。为此,本发明给出了各种参考文献,其更详细地描述某些背景信息、方法、化合物和/或组合物,本发明将其中每一篇都全部引入作为参考。

发明详述

如上所述,本发明总体涉及用作促性腺激素释放激素(GnRH)受体拮抗剂的化合物。

本发明化合物具有以下通式结构(I),或其立体异构体、前药或药物可接受的盐:



(I)

其中:

R_{1a} 与 R_{1b} 相同或不同, 并独立地为氢、卤素、 C_{1-4} 烷基或烃氧基;

R_{2a} 与 R_{2b} 相同或不同, 并独立地为氢、卤素、三氟甲基、氰基或 $-SO_2CH_3$;

R_3 为氢或甲基;

R_4 为苯基或 C_{3-7} 烷基;

R_5 与 R_6 相同或不同, 并独立地为氢或 C_{1-4} 烷基; 或

R_5 及其相连的氮与 R_4 及其相连的碳一起共同形成 1,2,3,4-四氢异喹啉或 2,3-二氢-1H-异吲哚;

R_7 为 $-COOH$ 或酸同电子排列体; 及

X 为 $-O-(C_{1-6}$ 亚烷基)或 $-O-(C_{1-6}$ 亚烷基)- $O-(C_{1-6}$ 亚烷基), 其中每一 C_{1-6} 亚烷基任意地被 1 至 3 个 C_{1-4} 烷基取代。

本发明中所用术语具有以下的含义:

“ C_{1-6} 烷基”指含 1-6 个碳原子的直链或支链、非环状或环状、饱和或饱和脂肪烃。代表性的饱和直链烷基包括甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基等等; 而饱和的支链烷基包括异丙基、仲丁基、异丁基、叔丁基、异戊基等等。代表性的饱和环烷基包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基等等; 而不饱和的环烷基包括环戊烯基和环己烯基等等。

不饱和烷基在相邻的碳原子之间含有至少一个双键或三键(分别称为“烯基”和“炔基”)。代表性的直链和支链烯基包括乙烯基、丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、异丁烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-甲基-1-丁烯基、2-甲基-2-丁烯基、2,3-二甲基-2-丁烯基等等; 而代表性的直链和支链炔基包括乙炔基、丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-甲基-1-丁炔基等等。

“ C_{1-4} 烷基”指含 1-4 个碳原子的、直链或支链的非环烃或环烃。代表性的直链烷基包括甲基、乙基、正丙基、正丁基等等; 支链烷基包括异丙基、仲丁基、异丁基、叔丁基等等; 而环烷基包括环丙基等等。

“ C_{3-7} 烷基”指含 3-7 个碳原子的直链或支链的非环烃或环烃。代

代表性的直链烷基包括正丙基、正丁基、正己基等等；而支链烷基包括异丙基、仲丁基、异丁基、叔丁基、异戊基等等。代表性的环烷基包括环丙基、环戊基、环己基等等。

“C₁₋₆ 亚烷基”指从相同或不同的碳原子上脱除了两个氢原子的二价 C₁₋₆ 烷基，例如 -CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂-、-CH(CH₃)CH₂CH₂-、-CH₂C(CH₃)₂CH₂-等等。

“卤素”指氟、氯、溴或碘，通常指氟和氯。

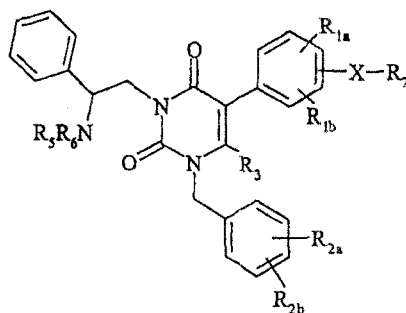
“羟基”指-OH。

“烷氧基”指-O-(C₁₋₆ 烷基)。

“氰基”指-CN。

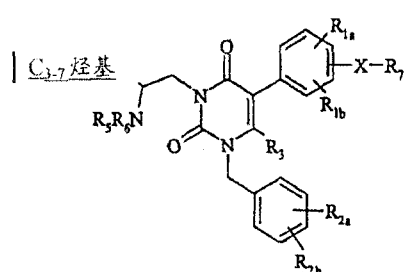
“酸同电子排列体(Acid isostere)”指表现出与羧酸相似的特性，且其 pKa 低于 8，并优选低于 7 的部分。代表性的酸同电子排列体包括四唑、3H-[1,3,4]噁二唑-2-酮、[1,2,4]噁二唑-3-酮、1,2-二氢-[1,2,4]三唑-3-酮、2H-[1,2,4]噁二唑-5-酮、被磺酰或亚砷基团取代的三唑、被磺酰或亚砷基团取代的咪唑、[1,2,4]-噁二唑烷(oxadiazolidine)-3,5-二酮、[1,2,4]-噻唑烷-3,5-二酮、咪唑烷-2,4-二酮、咪唑烷-2,4,5-三酮、吡咯烷-2,5-二酮以及吡咯烷-2,3,5-三酮。酸同电子排列体还包括 -C(=O)NHSO₂NR_aR_b、-C(=O)NHSO₂R_b、-C(=O)NHC(=O)NR_aR_b 和 -C(=O)NHC(=O)R_b，其中 R_a 为氢或 C₁₋₄ 烷基，且 R_b 为 C₁₋₄ 烷基。

在一个实施方案中，R₄ 为苯基，且本发明代表性的 GnRH 拮抗剂包括具有以下结构式(II)的化合物。

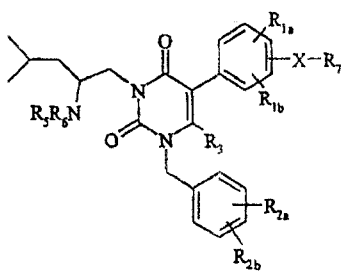


(II)

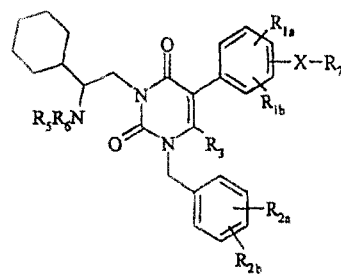
在另一实施方案中, R_4 为 C_{3-7} 烷基, 且如以下结构式(III)中所示。 C_{3-7} 烷基可为例如结构式(IV)中所示的异丁基的直链或支链烷基, 或者为例如结构式(V)中所示的环己基的环烷基:



(III)

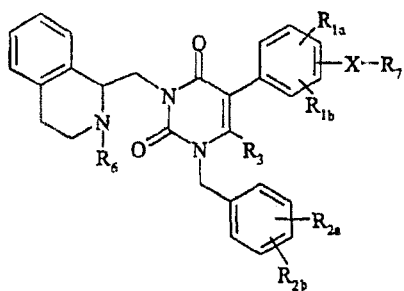


(IV)

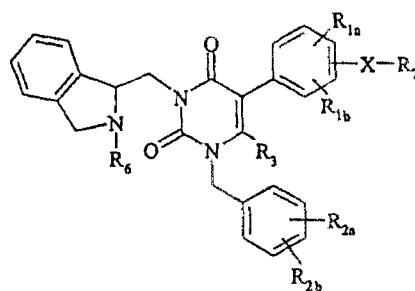


(V)

在另一实施方案中, R_5 及其相连的氮与 R_4 及其相连的碳一起共同形成分别如结构式(VI)和(VII)中所示的 1,2,3,4-四氢异喹啉或 2,3-二氢-1H-异吲哚。



(VI)



(VII)

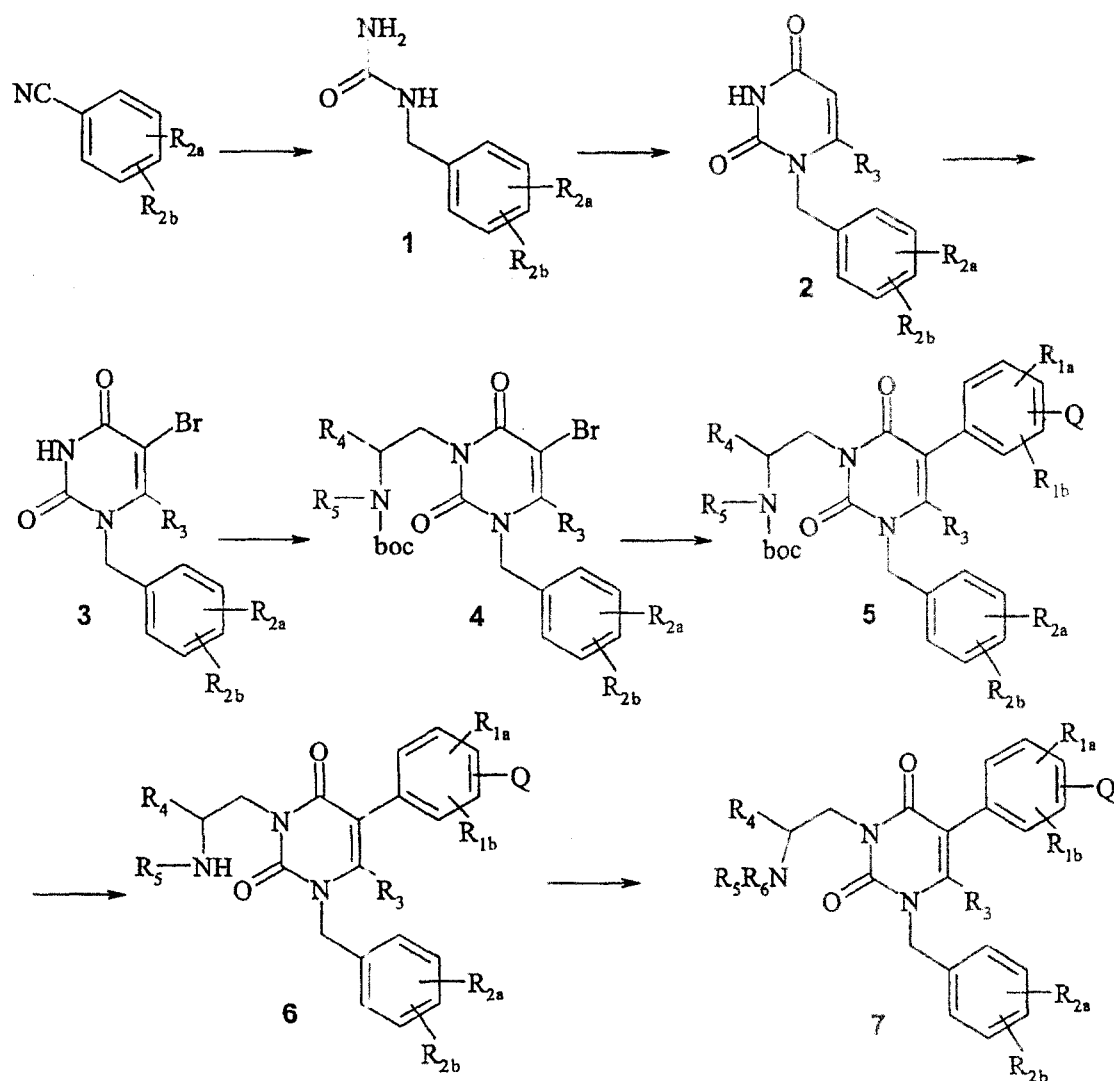
在另一实施方案中, R_{1a} 与 R_{1b} 为氢、烷氧基或卤素。代表性的烷氧基可以是甲氧基或乙氧基, 而代表性的卤素通常为氟或氯。

在另一实施方案中, R_{2a} 与 R_{2b} 为氢、三氟甲基、卤素(通常为氟或氯)或 $-SO_2CH_3$ 。

进一步的实施方案中, X 为 $-OCH_2CH_2-$ 、 $-OCH_2CH_2CH_2-$ 或 $-OCH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。

通过公知的有机合成技术可制备本发明的化合物，这些技术包括实施例中有更详细描述的方法。总体来讲，上述结构式(I)的化合物可通过以下的反应方案制备，其中除非另有说明，所有取代基如上述所定义。

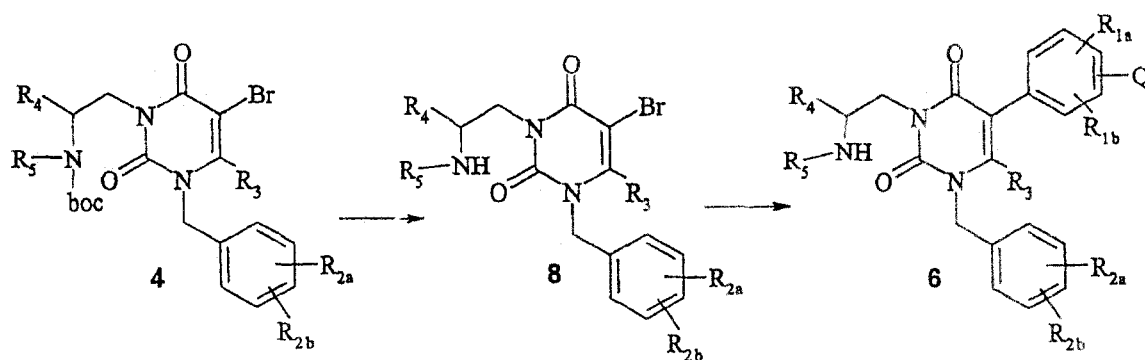
反应方案 1



利用适合的反应试剂如溶于 THF 的硼烷可以使适当取代的苯甲腈还原为相应的胺，并随后形成脲 1。与诸如双烯酮的反应试剂环化可形成化合物 2，其可用溶于乙酸的溴、N-溴代琥珀酰亚胺或其它溴化剂来溴化，以得到化合物 3。烷基化得到化合物 4，及与硼酸或硼酸酯进行 Suzuki 缩合可得到化合物 5。利用常规反应试剂(例如在 BOC

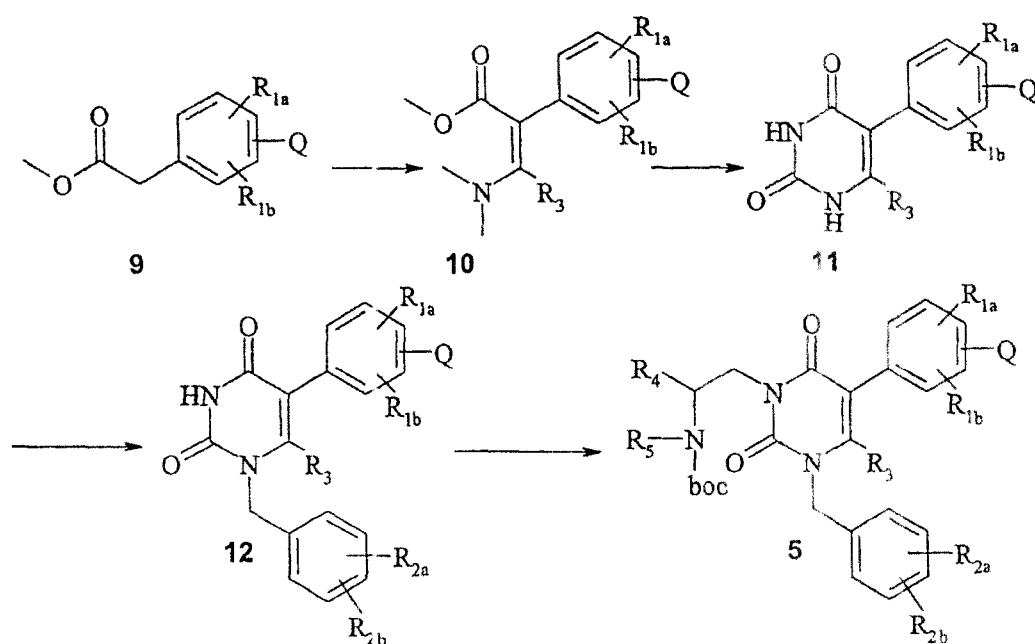
基的情况下用溶于二氯甲烷的三氟乙酸)对所保护的胺进行脱保护,可得到化合物 6, 将其烷基化或在还原胺化作用条件下与醛缩合可得到通式 7 化合物。可以调整各还原胺化、烷基化、溴化以及 Suzuki 缩合步骤的顺序来制备本发明化合物。

反应方案 2



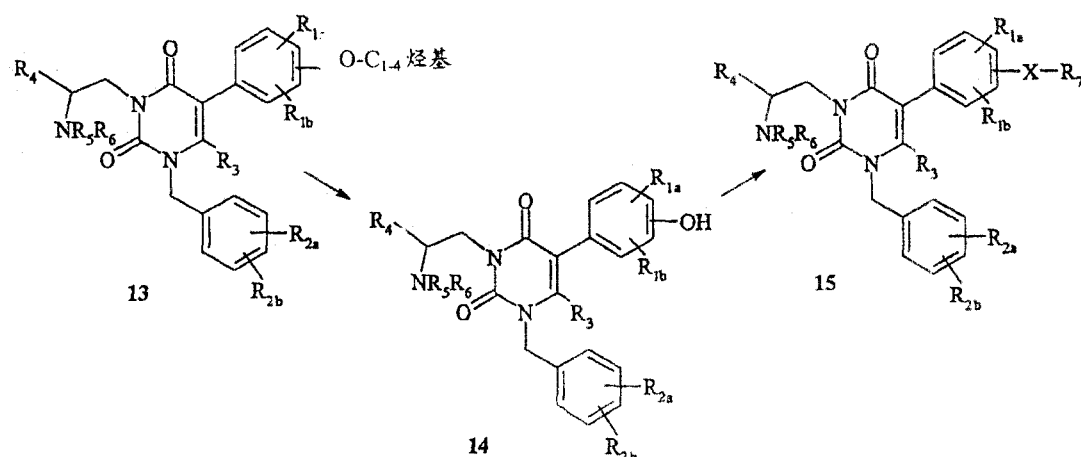
在方案 1 的变体中, 对化合物 4 脱保护得到化合物 8, 其在 Suzuki 条件下与适合的硼酸缩合得到化合物 6。

反应方案 3



使取代的苯乙酸酯 9(制备自对应的酸或购买)与诸如二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛的试剂缩合得到化合物 10。与尿素环化得到通式 11 的化合物。用例如取代的苄基溴进行烷基化得到化合物 12, 其可用适合的卤代烷、甲磺酸酯或、甲苯磺酸酯烷基化得到化合物 5。

反应方案 4



用诸如 HBr 或 BBr₃ 的适合的酸对化合物 13 或化合物 13 的适当保护的叔丁氧羰基 (Boc) 或羧苄氧基 (CBZ) 形式进行脱烷基化得到化合物 14。在用含有酸、酯和酸同电子排列体官能团的卤代烷烷基化之前, 需要对胺官能团进行再次保护, 以直接产生化合物 15, 或如果存在酯基, 将酯基水解后产生化合物 15。

本发明的化合物通常以游离酸或游离碱的形式使用。可选择地, 本发明化合物可以酸或碱加合盐的形式使用。可用本领域公知的方法制备本发明的游离氨基化合物的酸加合盐, 并可从有机酸和无机酸制备。适合的有机酸包括马来酸、反丁烯二酸、安息香酸、抗坏血酸、琥珀酸、甲磺酸、乙酸、三氟乙酸、草酸、丙酸、酒石酸、水杨酸、柠檬酸、葡萄糖酸、乳酸、扁桃酸、苯乙酸、天冬氨酸、硬脂酸、棕榈酸、乙二醇酸、谷氨酸和苯磺酸。适合的无机酸包括盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸和硝酸。碱加合盐包括与羧酸根阴离子形成的盐, 并包括与诸如选自碱金属离子、碱土金属离子(例如, 锂、钠、钾、镁、钡、钙)以及铵离子的有机和无机阳离子形成的盐, 及其取代的衍生物(例

如，二苄基铵、苄基铵、2-羟基乙基铵等等)。因此，术语结构式(I)的“药物可接受的盐”应包括任何和所有可接受的盐形式。

此外，前药也包括在本发明的范围之内。前药是任何共价结合载体，当将该前药对患者进行给药时其在体内释放出接受式(I)的化合物。通常通过以某种方式修饰官能团来制备前药，该方式使所述的修饰能够通过常规的变换或在体内分解，得到母体化合物。

前药包括，例如羟基、氨基或巯基与任何基团结合的本发明化合物，其中当对患者给药时所述基团脱离从而得到羟基、氨基或巯基。因此，前药的代表性的例子包括(但不限于)结构式(I)化合物的醇和胺官能团的乙酸盐(酯)、甲酸盐(酯)和安息香酸盐(酯)衍生物。此外，在羧酸(-COOH)的情况下，可以包括诸如甲酯、乙酯等等的酯类。

对于立体异构体，结构式(I)的化合物可具有手性中心，并能以消旋体、消旋混合物，以及单独的对映异构体或非对映异构体的形式存在。所有同分异构的形式均包括在本发明之内，包括其混合物。此外，结构式(I)的化合物的某些晶形可以多晶体的形式存在，其也包括在本发明中。此外，一些所述结构式(I)的化合物也可与水或其它有机溶剂形成溶剂化物。这种溶剂化物也类似地包括在本发明的范围之内。

通过多种分析技术可测定作为 GnRH 受体拮抗剂的化合物的效力。如下所述，本领域公知的分析技术包括使用培养的垂体细胞来检测 GnRH 的活性(维乐(Vale)等, *Endocrinology* 91 : 562-572,1972)，以及与大鼠垂体膜(佩兰(Perrin) et al., *Mol. Pharmacol.* 23: 44-51,1983)，或者与来自表达克隆受体的细胞的膜结合的放射性配体的检测。其它的分析技术包括(但不限于)检测 GnRH 受体拮抗剂对 GnRH-刺激的钙通量的抑制、磷酸肌醇水解的调节，以及去势动物中促性腺激素的循环浓度的作用的检测。以下对这些技术，放射性标记的配体的合成、放射性标记的配体在放射免疫分析中的应用，以及化合物作为 GnRH 受体拮抗剂的效力的检测进行了描述。

GnRH 刺激的 LH 释放的抑制

适合的 GnRH 拮抗剂能够抑制 GnRH 对其受体的特异结合并拮

抗与 GnRH 有关的活性。例如,根据 Vilchez-Martinez (Endocrinology 96 : 1130-1134,1975)的方法,可检测在未成熟大鼠中 GnRH 刺激的 LH 释放的抑制。简而言之,通过口服强饲法,皮下注射或静脉注射对 25 天大的雄性 Sprague-Dawley 大鼠进行盐水中的 GnRH 拮抗剂或其它适合制剂的给药。随后皮下注射位于 0.2 ml 盐水中的 200ng 的 GnRH。最后一次注射的 30 分钟后,将所述动物断头,收集大动脉血液。离心后,分离的血浆保存在-20°C 直到通过放免分析检测 LH 和/或 FSH 浓度(参见下文)。

GnRH 拮抗剂的大鼠垂体前叶细胞培养分析

从 7 周大的雌性 Sprague-Dawley 大鼠中收集垂体前叶腺体并将所收集的腺体用胶原酶在分散烧瓶中在 37°C 消化 1.5 小时。胶原酶消化后,用神经氨(糖)酸苷酶进一步在 37°C 消化 9 分钟。随后用 0.1% BSA/McCoy's 5A 培养液洗涤该消化的组织,洗涤的细胞重悬在 3% FBS/0.1 BSA/McCoy's 5A 培养液中,并在 200 μ l 培养液中以每孔 40,000 个细胞的密度接种在 96 孔组织培养板中。将所述细胞在 37°C 孵育 3 天。对于 GnRH 拮抗剂分析,首先用 0.1 % BSA/McCoy's 5A 培养液洗涤所述的孵育细胞一次,随后在三个孔中加入检测样品与溶在 200 μ l 0.1 % BSA/McCoy's 5A 培养液中的 1nM GnRH。在 5 个剂量水平分析每个样品来产生用于测定对 GnRH 刺激的 LH 和/或 FSH 释放的抑制效力的剂量反应曲线。在 37°C 孵育 4 小时后,收集培养液,通过 RIA 测定分泌到所述培养液中的 LH 和/或 FSH 水平。

膜结合分析 1

收集用 GnRH 受体表达载体稳定或瞬时转染的细胞,重悬在 5% 蔗糖中,并用 polytron 匀浆器匀浆(2 \times 15 秒)。通过离心去除核(nucleii) (3000 \times g, 共 5 分钟),并将上清离心(20,000 \times g, 共 30 分钟, 4°C)来收集胞膜组分。将最终胞膜的制剂重悬在结合缓冲液(10mM HEPES (pH 7.5),150mM NaCl,和 0.1% BSA)并储存在-70°C。在 Millipore MultiScreen 96-孔过滤培养板中进行结合反应,该培养板组合有包被的

聚氮丙啶 GF/C 膜。通过将胞膜(130 μ l 结合缓冲液中的 40 μ g 蛋白)加入到 50 μ l [125 I]-标记的 GnRH 肽(约 100,000cpm)和 20 μ l 不同浓度的竞争剂中来起始所述反应。90 分钟后,通过真空或用磷酸缓冲液洗涤(2 \times)来终止反应。利用 96 孔闪烁计数器(Packard Topcount)或将滤膜从所述板中移出并直接进行伽马计数来检测结合的放射性。利用 Prism 软件包(GraphPad Software)用非线性最小平方回归(non-linear least squares regression)由竞争结合数据计算 K_i 值。

膜结合分析 2

对于其它膜结合分析,通过在坚硬的表面上吹打组织培养瓶来收获稳定转染的 HEK293 细胞,并通过 1000 \times g 离心 5 分钟来收集细胞。将细胞沉淀重悬在 5%蔗糖中,并用 polytron 研磨器进行两次 15 秒的研磨步骤来研磨。在 3000 \times g 离心 5 分钟来去除细胞匀浆中的胞核,随后将该上清液 44,000 \times g 离心 30 分钟来收集胞膜组分。将该胞膜沉淀重悬于 GnRH 结合缓冲液中(10mM HEPES, pH 7.5, 150mM NaCl 和 0.1% BSA)并将等分立即在液氮中速冻并保存在 -80 $^{\circ}$ C。利用 Bio-Rad 蛋白分析试剂盒(Bio-Rad, Hercules, CA)来测定所述胞膜悬浊液的蛋白含量。

在有滤膜的 Millipore 96 孔过滤培养板中用胞膜制剂进行竞争放射配体结合分析,其中所述滤膜用 200 μ l 的 0.1%聚氮丙啶预包被(Sigma, St. Louis, MO)。使用前,用磷酸盐缓冲液洗涤该培养板 3 次。将 GnRH 结合缓冲液中的胞膜组分(对于人和猕猴受体, 130 μ l 中含 25 μ g 蛋白,对于大鼠受体含 12 μ g)与不同浓度的 20 μ l 竞争配体一同加入到孔中。通过加入放射性配体(在 50 μ l GnRH 结合缓冲液中 0.1 nM)来起始所述的结合反应。使所述反应在室温下在平台振荡器上进行 90 分钟,并通过将分析板放在 Millipore 真空歧管(manifold)(Millipore, Bedford, MA)上,吸出溶剂,并用 200 μ l 冷磷酸缓冲液(PBS)洗涤 2 次来终止反应。移出孔中的滤膜并在伽马计数器中计数。假定放射性配体亲和性为 0.5nM,用非线性最小平方回归由每一竞争结合曲线计算 K_i 值,并用 Cheng-Prusoff 方程(Prism, GraphPad Software, San Diego,

CA)修正放射配体浓度。从每一受体配体对的平均 pKi 值的反对数来计算平均的 Ki 值。

膜结合分析 3

将稳定转染人 GNRH 受体的 RBL 细胞生长为融合单层。移出培养液，并用 DPBS 洗涤细胞单层一次。在所述的培养板中加入 0.5 mM EDTA/PBS (不含 Ca^{++} 、 Mg^{++})溶液，然后将其在 37°C 孵育 10 分钟。通过柔和刮该培养瓶，来移走细胞。通过在 4°C、800g 离心 10 分钟收集和沉淀细胞。

随后将该细胞沉淀重悬于缓冲液[添加有 10mM MgCl_2 ，2mM EGTA 的 DPBS (1.5 mM KH_2PO_4 ，8.1mM Na_2HPO_4 ，2.7mM KCl 以及 138mM NaCl) 用 NaOH 调 pH=7.4]。随后通过在 4°C 加压细胞或应用压力 900psi 的 N_2 30 分钟来对细胞进行裂解。通过在 4°C，1200g 离心 10 分钟去除未破裂的细胞和大的碎片。随后在 45,000g 离心细胞膜上清，并将所得到的胞膜沉淀重悬在分析缓冲液中，并在冰中用组织研磨器来研磨。

利用牛血清白蛋白作为标准，用 Coomassie Plus Protein 反应试剂盒(Pierce, Rockford, IL)来测定蛋白浓度。将沉淀(pellet)等分并保存在 -80°C 直到使用。利用蛋白浓度范围的滴定分析测定理想的蛋白浓度为 15 μg 每孔的最终浓度。

利用蒸馏水中的 0.5%聚乙烯亚胺溶液预处理 UniFilter GF/C 滤膜培养板(Perkin Elmer, Boston MA)30 分钟。用 200 μl 每孔的 PBS, 1% BSA (Fraction V)和 0.01% Tween-20, pH=7.4)借助细胞收集器(UniFilter-96 Filtermate; Packard)来预清洗滤膜。用快速真空过滤收集胞膜，并用冰冷的 250 μl 缓冲液(PBS, 0.01% Tween-20, pH=7.4)洗涤 3 次。培养板用空气干燥。加入 50 μl 闪烁液(Microscint 20; Packard)，随后利用 TopCount NXT (Packard Instruments, IL)监测培养板的放射性活性。

在缓冲液中实施结合实验，该缓冲液中含 10mM HEPES、150mM NaCl 和 0.1% BSA, pH=7.5。将胞膜与 50 μl [^{125}I] His⁵、D-Tyr⁶ GnRH (终

浓度为 0.2nM)以及 50 μ l 浓度范围为 30pM-10 μ M 的小分子竞争剂孵育, 每孔总容积 200 μ l。在室温下孵育 2 小时。如前述, 用 GF/C 滤膜的快速过滤来终止所述反应。利用 Excel Fit 软件(IDBS, Emeryville, CA)来进行曲线的拟合。利用程与普鲁少夫 (Cheng and Prusoff, 1973)的方法, 设所述放射性配体的 K_d 值为 0.7nM, 计算 K_i 值, 该 K_d 值预先在饱和的结合实验中测定。

Ca⁺⁺流测定

为测定表达人 GnRH 受体的细胞中 GnRH 刺激钙流的抑制, 在 96 孔培养板中接种稳定转染人 GnRH 受体的密度为 50,000 细胞/孔的 RBL 细胞, 并使该细胞附着过夜。在 37°C 将细胞加载在以下培养液中 1 小时: 含 20 mM HEPES、10% FBS、2 MFluo-4、0.02% pluronic acid(聚丙二醇与环氧乙烷的加聚物酸)2.5mM 丙磺舒(probenecid)的 DMEM。加载后用洗涤缓冲液(Hanks 平衡盐, 20mM HEPES, 2.5mM 丙磺舒)洗涤细胞 4 次, 最后一次洗涤后, 每孔保留 150 μ l。在含 0.1% BSA 的 FLIPR 缓冲液(Hanks 平衡盐, 20mM HEPES)中稀释 GnRH 至 20nM 的浓度, 并分配入 96 孔培养板(低蛋白结合)。在第三 96 孔培养板中用 0.1% BSA/FLIPR 缓冲液制备不同浓度的拮抗剂。根据 FLIPR 系统(Molecular Devices, FLIPR384 system, Sunnyvale, CA)的厂商说明书, 进行由 GnRH 刺激(50 μ l 20nM 或 4nM 的终浓度)产生的 Ca⁺⁺流的荧光检测, 随后与不同浓度的 50 μ l 的拮抗剂孵育 1 分钟。

磷酸肌醇水解分析

该方法改进自发表的方案(W. 周(Zhou)等; J. Biol. Chem. 270 (32), ppl8853-18857, 1995)。简而言之, 将稳定转染人 GnRH 受体的 RBL 细胞以 200,000 细胞/孔的密度接种入 24 孔培养板中, 孵育 24 小时。用无肌醇的含 10%透析的 FBS 的培养液洗涤细胞一次, 随后加入标记的 1 μ Ci/mL 的 [myo-³H]肌醇。20-24 小时后, 用缓冲液(140nM NaCl, 4mM KCl, 20mM HEPES, 8.3mM 葡萄糖, 1 mM MgCl₂, 1mM CaCl₂ 和 0.1%

BSA)洗涤细胞,并在 37°C,用含或不含各种浓度的拮抗剂和 10mM LiCl的相同缓冲液中的天然 GnRH 肽处理细胞 1 小时。在 4°C 用 10 mM 甲酸提取细胞 30 分钟并加载在 Dowex AG1-X8 柱上,用 1 M 甲酸铵和 0.1 M 甲酸洗涤和洗脱。在闪烁计数器中计数洗脱物。通过 Prism 程序(Graphpad, GraphPad Software, San Diego, CA)利用非线性最小二乘回归将 PI 水解分析的数据作图,从中计算剂量比值。通过线性回归,在 4 个独立的实验中获得的剂量比值中,产生 Schild 线性图,并且利用 X-截取(intercept)来确定所述拮抗剂的亲和性。

去势动物研究

去势(castrate)动物的研究提供了敏感的 GnRH 拮抗剂作用的体内分析(Andrology 25 : 141-147,1993)。垂体腺体中的 GnRH 受体介导 GnRH-刺激的 LH 释放入血。因生殖腺类固醇的负反馈降低导致 GnRH 刺激的 LH 释放的增加,因此去势导致循环 LH 水平升高。由此,在去势猕猴中循环 LH 水平抑制的检测能够用作 GnRH 拮抗作用的敏感的体内分析。因此,将雄性猕猴外科去势,并使其恢复 4 周,此时其 LH 水平升高。随后以口服或 i. v.剂量对动物进行实验化合物的给药,采集一系列的血样用于 LH 分析。通过免疫分析或生物分析技术来测定这些动物血清中 LH 浓度(Endocrinology 107 : 902-907,1980)。

GnRH 放射性配体的制备

通过氯阿明 T(chloramine-T)方法来标记 GnRH 类似物。向 pH 7.6 的含 10 μ g 肽的 20 μ l 0.5M 硫酸钠缓冲液中加入 1mCi 的 Na¹²⁵I,然后加入含 22.5 μ g 氯阿明 T 的 15 μ l 0.05M 硫酸钠缓冲液,将混合物涡旋 20 秒。通过加入含 60 μ g 偏亚硫酸氢钠的 30 μ l 0.05M 硫酸钠缓冲液来终止反应,将所述反应混合物通过 C-8 Sep-Pak 柱(Millipore Corp., Milford, MA)来去除游离的碘。用少量 80%乙腈/水洗脱所述的肽。通过 Beckman 334 梯度 HPLC 系统中的反相 HPLC 上的 Vydac C-18 分析柱(The Separations Group, Hesperia, CA)利用含梯度乙腈的 0.1%TFA 进一步回收标记的肽。纯化的放射性肽保存在-80°C、0.1% BSA/20%乙腈/0.1%

TFA 中使用前最多保存 4 周。

LH 和 FSH 的 RIA

为测定 LH 的水平，每一样品平行检测，并用 RIA 缓冲液(0.01M 硫酸钠缓冲液/0.15M NaCl/1% BSA/0.01% NaN₃, pH 7.5)来稀释并从 NIDDK 资助的国家激素和垂体计划获得分析试剂盒。向 12×75mm 的聚乙烯检测管中加入 1:5 稀释的 100μl 样品培养液或 RIA 缓冲液中的 rLH 标准，以及 100μl 的 [¹²⁵I]-标记的 rLH(约 30,000 cpm)加上 100μl 的 1:187,500 稀释的兔抗-rLH 抗体和 100μl RIA 缓冲液。将所述混合物在室温孵育过夜。在第二天，加入 1:20 稀释的 100μl 山羊抗兔 IgG 和 100μl 的 1:1000 稀释的正常兔血清。在室温再孵育所述混合物 3 小时。随后将孵育后的小管在 3,000 rpm 离心 30 分钟，通过抽吸移去上清。通过伽马计数器计数所述小管中保留的沉淀。以与 LH 相似的方式来检测 FSH 的 RIA，用 1:30,000 稀释的 FSH 抗体替代 LH 抗体并用标记的 rFSH 替代标记的 rLH。

GnRH 受体拮抗剂活性

通常由从 GnRH 受体上替代 50%的放射性标记配体所需的化合物浓度 IC₅₀ 来计算 GnRH 受体拮抗剂活性，并用通过以下方程计算得到的“K_i”值表示：

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + L/K_D}$$

其中 L=放射性配体，且 K_D=放射性配体对受体的亲和性(程合普鲁少夫, Biochem. Pharmacol. 22: 3099,1973)。本发明的 GnRH 受体拮抗剂具有 100μM 或更低的 K_i 值。在本发明的优选实施方案中，所述 GnRH 受体拮抗剂的 K_i 低于 10μM，更优选低于 1μM，还更优选低于 0.1μM (例如，100 nM)。因此，所有实施例中具体公开的化合物的 K_i 值在所述膜结合分析 1 至 3 之中的一个或多个分析中低于 100 nM。

根据科瑞斯培(Crespi)等(Anal. Biochem. 248: 188-190; 1997)所述

的基于微滴定板荧光计方法体外评价 GnRH 拮抗剂对人肝脏内主要的药物代谢酶即 CYP2D6 和 CYP3A4 的抑制能力。使用 K_m 浓度(即产生最大速度的一半的底物浓度)的 AMMC (即 3-[2-(N,N-二乙基-N-甲基铵)乙基]-7-甲氧基-4-甲基香豆素)和 BFC(即 7-苄氧基-4-(三氟甲基)香豆素)分别作为 CYP2D6 和 CYP3A4 的标志底物。简而言之,在有或无 0.03、0.09、0.27、0.82、2.5、7.4、22、67 和 $200\mu\text{M}$ 的 GnRH 拮抗剂样品的情况下,在 37°C 将重组 CYP2D6 或 CYP3A4 与标志底物和 NADPH 产生系统(由 1mM NADP⁺, 46mM 葡萄糖-6-磷酸酯和 3 单位/mL 葡萄糖-6-磷酸酯脱氢酶组成)孵育。通过加入定量的乙腈来终止反应。通过离心来去除沉淀的蛋白,并利用微滴定板荧光仪来分析澄清的上清。本发明的 GnRH 拮抗剂优选具有高于 250 nM 的 K_i 值,更优选高于 $1\mu\text{M}$, 最优选高于 $5\mu\text{M}$ 。

如上所述,本发明的 GnRH 受体拮抗剂在各种治疗应用具有广泛的用途,并可被使用来治疗男性和女性以及一般哺乳动物的多种性激素相关的疾病状态,这种疾病状态包括子宫内膜异位症、子宫平滑肌瘤、多囊性卵巢病、多毛症、性早熟、诸如前列腺癌、子宫癌、乳腺癌的性腺类固醇依赖肿瘤形成、垂体促性腺细胞腺瘤、睡眠失调、红斑狼疮、肠易激综合征、月经前期综合征、良性前列腺肥大、避孕和不育症(例如,诸如体外受精的生殖治疗)。

本发明化合物还用于生长激素缺乏和身材矮小症的辅助治疗,并用于支链系统性红斑狼疮。

所述化合物还可与雄激素、雌激素、黄体酮和抗雌激素与抗黄体酮组合用于治疗子宫内膜异位症、纤维瘤以及用于避孕,同时还可与血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II-受体拮抗剂或血管紧张素原酶抑制剂组合用于治疗子宫平滑肌瘤。此外,所述化合物还可与二膦酸酯(bisphosphonate)以及其它试剂组合用于治疗 and/或预防钙、磷和骨代谢失调,以及与雌激素、黄体酮和/或雄激素组合用于预防或治疗 GnRH 拮抗剂治疗中出现的骨丢失或诸如热潮红的性机能减退症状。

在另一实施方案中,公开了含有一种或多种 GnRH 受体拮抗剂的药物组合物。为了给药的目的,本发明的化合物可组方成药物组合物。

本发明的药物组合物包括本发明的 GnRH 受体拮抗剂和药物可接受的载体和/或稀释剂。所述组合物中的 GnRH 受体拮抗剂的含量能够有效治疗特异病症，即足以达到 GnRH 受体拮抗剂活性的含量，且优选只有所述患者可接受毒性。典型的，根据给药途径本发明的药物组合物可包括每剂量 0.1mg-250mg 的 GnRH 受体拮抗剂，更典型的为 1mg-60mg。本领域所属技术人员可容易地确定适合的浓度和剂量。

本领域所属技术人员熟悉药物可接受的载体和/或稀释剂。对组方成液态溶液的组合物，适合的载体和/或稀释剂包括盐和无菌水，并可选包括抗氧化剂、缓冲液、抑菌剂和其它常用添加剂。所述组合物还可组方成药丸、胶囊、颗粒和片剂，其除含 GnRH 受体拮抗剂外，还含有稀释剂、分散剂和表面活性剂、结合剂以及润滑剂。本领域所属技术人员根据适合的方式，和诸如雷明顿制药学 (Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA 1990) 中公开的已有实践。可进一步将 GnRH 受体拮抗剂组方成适当的形式。

在另一实施方案中，本发明还提供治疗如上述的性激素相关的疾病状态的方法。这种方法包括对恒温动物给予足以治疗所述疾病状态的本发明化合物。本文中，“治疗”包括预防性给药。这种方法包括本发明 GnRH 受体拮抗剂的系统给药，优选以如上述公开的药物组合物形式给药。本发明所用的系统给药包括口服和肠道外给药方法。对于口服给药，适合的 GnRH 受体拮抗剂药物组合物包括粉剂、颗粒、丸剂、片剂和胶囊，以及液体剂、糖浆剂、悬浮剂和乳剂。这些组合物也可包括调味剂、防腐剂、悬浮剂、增稠剂和赋形剂，以及其它药物可接受的添加剂。对于肠道外给药，本发明化合物可制备为水性注射液，其除 GnRH 受体拮抗剂外，还含有缓冲液、抗氧化剂、抑菌剂和其它常在此溶液中加入的添加剂。

以下给出的实施例仅为说明目的，而不是对本发明的限制。总之，本发明的 GnRH 受体拮抗剂可通过以上公开的通用方法来分析，而以下实施例公开了本发明代表性化合物的合成。

实施例

A. 分析所述样品的 HPLC 方法

t_R 保留时间, 单位分钟

方法 1—超临界流体色谱质谱(SFC-MS)

谱柱: 来自 Thermo-Hypersil-Keystone 的 4.6×150 mm Deltabond Cyano 5 μ M。

流动相: SFC 级二氧化碳和 1mM 二乙基丙二酸二钠调节剂的最优级 (optima grade) 的甲醇。

温度: 50 °C

压力: 120 巴(bar)

流速: 4.8 mL/min

梯度: 5%至 55%甲醇 1.7 分钟, 在 55%停留 0.8 分钟, 随后 0.1 分钟内返回至 5%, 总用时 2.6 分钟

方法 2 (HPLC-MS)

谱柱: 水 ODS-AQ, 2.0×50 mm

流动相: A=含 0.05%三氟乙酸的水; B=含 0.05%三氟乙酸的乙腈

梯度: 95% A/5% B 至 5% A/95% B 13.25 分钟, 并在 5% A/95% B 停留 2 分钟, 随后用 0.25 分钟返回至 95% A/5% B。

流速: 1 mL/min

UV 波长: 220 与 254 nm

方法 3 (HPLC-MS)

谱柱: BHK Lab ODS-O/B, 4.6 x 50 mm, 5 μ M

流动相: A=含 0.05%三氟乙酸的水; B=含 0.05%三氟乙酸的乙腈

梯度: 95% A/5% B 0.5 分钟, 随后至 90% A/10% B 0.05 分钟, 从 90% A/10% B 至 5% A/95% B 共 18.94 分钟, 随后至 1% A/99% B 共 0.05 分钟, 并保持在 1% A/99% B 共 2.16 分钟。随后返回至 95%/5% B 0.50 分钟。

流速: 2.5 mL/min.

UV 波长: 220 和 254 nm

方法 4 (HPLC-MS)

谱柱: 水 ODS-AQ, 2.0 x 50 mm

流动相: A=含 0.05%三氟乙酸的水; B=含 0.05%三氟乙酸的乙腈

梯度: 95% A/5% B 到 10% A/90% B 2.25 分钟, 并在 10% A/90% B 保持 1.0 分钟, 然后返回至 95% A/5% B 0.1 分钟。

流速: 1 mL/min

UV 波长: 220 和 254 nm

方法 5 (HPLC)

谱柱: Agilent, Zorbax SB-C18, 5 μ M, 4.6x250 mm.

流动相: A=含 0.05%三氟乙酸的水; B=含 0.05%三氟乙酸的乙腈

梯度: 95% A/5% B 至 5% A/95% B 共 50 分钟, 随后 5% A/95% B 至 1% A/99% B 共 0.1 分钟, 在 1% A/99%保持 0.8 分钟, 并返回至 95% A/5% 0.2 分钟, 保持此梯度 4 分钟。

流速 2.0 mL/min.

UV 波长: 220 和 254 nm

方法 6 (HPLC-MS)

谱柱: Phenomenex Synergi 4 Max-RP 80A, 50.0x2.0 mm

流动相: A=含 0.025%三氟乙酸的水; B=含 0.025%三氟乙酸的乙腈

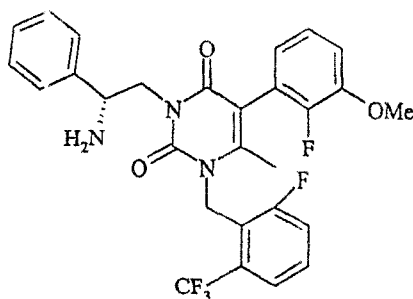
梯度: 95% A/5% B 0.25 分钟, 随后 95% A/5% B 至 95% B/5% A 共 13 分钟, 维持 95% A/5% B 至 95% B/5% A 共 2 分钟, 随后返回至 95% A/5% B 共 0.25 分钟。

流速: 1 mL/min

UV 波长: 220 nm 和 254 nm

实施例 1

3-[2(R)-氨基-2-苯乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮



1-1

步骤 1A: 2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基胺 **1a** 的制备

在 60°C 向含 2-氟-6-(三氟甲基)苄腈(45g, 0.238mmol)的 60mL THF 中缓慢加入 1M BH₃:THF, 产生的溶液回流过夜。将该反应混合物冷却至室温。缓慢加入甲醇(420mL)并搅拌好。随后蒸发溶剂, 并将残留物在 EtOAc 与水之间分配。用 Na₂SO₄ 干燥有机层。蒸发得到黄色油状的 **1a**(46 g, 0.238 mmol)。MS (CI) *m/z* 194.0 (MH⁺)。

步骤 1B: *N*-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]脲 **1b** 的制备

向烧瓶中的 2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基胺 **1a**(51.5g, 0.267mmol)加入尿素(64g, 1.07mmol)、HCl(浓度, 30.9mmol, 0.374mmol)和水(111 mL)。将混合物回流 6 小时。将混合物冷却至室温, 用冰进一步冷却并过滤得到黄色固体。400 mL EtOAc 重结晶得到白色固体 **1b** (46.2 g, 0.196 mmol)。MS (CI) *m/z* 237.0 (MH⁺)。

步骤 1C: 1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基嘧啶-2,4(1*H*, 3*H*)-二酮 **1c** 的制备

将 NaI (43.9g, 293mmol)加入到含 *N*-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]脲 **1b** (46.2 g, 19.6 mmol)的 365 mL 乙腈中。用冰域冷却产生的混合物。通过滴液漏斗将双烯酮(22.5mL, 293mmol)缓慢加入, 并随后以相同的方式加入 TMSCl(37.2mL,293mmol)。将所产生黄色悬浮液缓慢加热至

室温并搅拌 20 小时。LC-MS 显示，起始材料消失。将 525 mL 水加入所述的黄色混合物中，并搅拌过夜。继续搅拌 20 小时后，通过 Buchner(布式)漏斗过滤沉淀，并用水和 EtOAc 来洗涤沉淀，得到白色固体 **1c**(48.5 g, 16 mmol)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.152 (s, 3H), 5.365 (s, 2H), 5.593(s, 1H), 7.226-7.560(m, 3H), 9.015 (s, 1H); MS (CI) m/z 303.0 (MH^+)。

步骤 1D: 5-溴-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基嘧啶-2,4(1H, 3H)-二酮 **1d** 的制备

溴(16.5mL, 0.32mmol)加入到含 1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **1c** (48.5 g, 0.16 mol)的 145mL 乙酸中。所产生的混合液在 1 小时内变得清澈并形成沉淀。搅拌 2 小时后，过滤黄色固体，并用冷 EtOAc 洗涤产生几乎白色的固体。用饱和的 NaHCO_3 洗涤滤液并用 Na_2SO_4 干燥。蒸发得到黄色固体并用 EtOAc 洗涤得到浅黄色固体。将两种固体合并得到总量 59.4g 的 **1d** (0.156 mol)。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.422 (s, 3H), 5.478 (s, 2H), 7.246-7.582 (m, 3H), 8.611 (s, 1H); MS (CI) m/z 380.9 (MH^+)。

用相同的方法制备 5-溴-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **1d.1**。

步骤 1E: 5-溴-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-3-[2(R)-叔丁氧基羰基氨基-2-苯乙基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **1e** 的制备

向含 5-溴-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **1d** (15g, 39.4mmol)的 225mL THF 中加入 N-叔丁氧基-D-苯基甘氨酸(glycinol)(11.7g, 49.2mmol)和三苯基膦(15.5g, 59.1mmol)，随后加入二-叔丁基偶氮二甲酸酯(azodicarboxylate) (13.6g, 59.1mmol)。搅拌所得到的黄色溶液过夜。蒸发挥发物并借助硅胶用 3:7 的 EtOAc/己烷对残余物进行纯化，得到白色固体的 **1e**(23.6g, 39.4mmol)。MS(CI) m/z 500.0 (MH^+ -Boc)。

步骤 1F: 3-[2(R)-氨基-2-苄乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 1f 的制备

向压力管中的含 5-溴-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-3-[2(R)-叔丁氧基羰基氨基-2-苄乙基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **1e** (15g, 25mmol) 的 30 mL/90 mL H₂O/二噁烷中加入 2-氟-3-甲氧苯基硼酸 (4.25g, 25mmol) 和碳酸钠 (15.75g, 150mmol)。鼓泡通入 N₂ 气 10 分钟。加入四(三苯膦)钯 (2.9g, 2.5mmol)，将所述小管封口，并将所产生的混合物 90°C 加热过夜。冷却至室温，通过过滤去除沉淀。通过蒸发去除蒸发物，并将所产生的残余物在 EtOAc/饱和 NaHCO₃ 间分配。将有机溶剂蒸发，并用 2:3 EtOAc/己烷层析分离所述的残余物得到 13.4g (20.8mmol, 83%) 黄色固体。

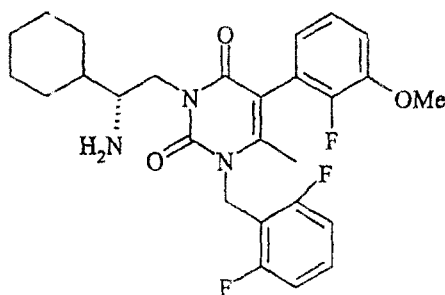
将此黄色固体 (6.9g, 10.7mmol) 溶解在 20mL/20mL 的 CH₂Cl₂/TFA 中。在室温将所产生的黄色溶液搅拌 2 小时。蒸发挥发物并将残余物在 EtOAc/饱和 NaHCO₃ 间分配。用 Na₂SO₄ 干燥有机相。蒸发得到 **1f** 的黄色油 (4.3g, 7.9mmol, 74%)。

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.03 (s, 3H), 3.72-4.59 (m, 6H), 5.32-5.61 (m, 2H), 6.74-7.56 (m, 11H); MS (CI) *m/z* 546.0 (MH⁺)。

根据此实施例相同的方法制备 3-[2(R)-氨基-2-苄乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **1f.l**。

实施例 2

3-[2(R)-氨基-2-环己基乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮



步骤 2A: 叔-丁基 1-环己基-2-羧基乙基氨基甲酸酯 2a 的制备

将含 N-(叔丁氧羰基)环己基氨基乙酸(2.0g, 7.77mmol)的无水 THF (10 mL)溶液冷却至 0°C。缓慢加入硼烷溶液(1 M 在 THF 中, 15.5 mL, 15.5mmol), 然后将所述的反应混合物加热至室温, 并搅拌 2 小时。用 MeOH (5 mL)终止所述反应, 蒸发挥发物, 将残余物在水与之间分配。用饱和的 NaHCO₃/水、盐水洗涤有机层, 干燥(硫酸钠), 蒸发得到叔-丁基 1-环己基-2-羧基乙基氨基甲酸酯 **2a** (1.26g, 66.7%), MS (CI) *m/z* 144.20 (MH⁺-Boc)。

步骤 2B: 5-溴-3-[2(R)-叔丁氧基羧基氨基-2-环己基乙基]-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 2b 的制备

室温下用 5-溴-1-(2,6-二氟苯甲基)-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **1d.1** (869mg, 2.62mmol)和三苯膦(1.03g, 3.93mmol)处理含叔丁基 1-环己基-2-羧基乙基氨基甲酸酯 **4a** (638 mg, 2.62 mmol)的 THF (10 mL)溶液, 随后加入二-叔丁基偶氮二甲酸酯(906mg, 3.93mmol)。在室温将反应混合物搅拌 16 小时, 并蒸发挥发物。将残余物在 NaHCO₃/H₂O 与 EtOAc 之间分配。干燥所述有机层(硫酸钠), 蒸发, 用快速层析(二氧化硅, 25% EtOAc/己烷)得到化合物 **2b** (1.39 g, 95.4 %)。MS (CI) *m/z* 456.10, 458.10 (MH⁺-Boc)。

步骤 2C: 3-[2(R)-叔丁氧基羧基氨基-2-环己基乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 2c 的制备

向含 5-溴-3-[2(R)-叔丁氧基羧基氨基-2-环己基乙基]-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **2b** (1.0g, 1.79mmol)的苯/EtOH/乙二醇二甲醚(20/2/22mL)中加入 2-氟-3-甲氧苯基硼酸(382mg, 2.24mmol)和饱和的 Ba(OH)₂/水(约-0.5M, 15mL)。用 N₂对所述的反应混合物脱氧 10 分钟, 加入四(三苯膦)钯(0)(208mg, 0.18mmol), 然后将所述的反应混合物在 N₂存在下, 80°C 加热过夜。将所述的反应混合物在盐水与 EtOAc 之间分配。干燥有机层(硫酸钠), 蒸发, 用快速层析(二氧化硅, 30% EtOAc/己烷)得到化合物 **2c** (348 mg, 32.3 %)

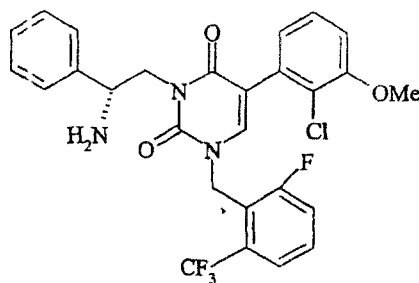
MS (CI) m/z 502.20 (MH^+ -Boc)。

步骤 2D: 3-[2(R)-氨基-2-环己基乙基]-5-(2-氟-3-甲氧基苯基)-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 2d 的制备

向含化合物 2c (300mg, 0.5mmol)的二氯甲烷(2mL)溶液中加入 TFA(2mL), 并将反应混合物在室温搅拌 1 小时。蒸发挥发物, 然后将残余物在 $NaHCO_3$ /水和 EtOAc 之间分配。干燥有机层(硫酸钠), 蒸发, 用反相 HPLC (C-18 柱, 15-75% ACN/水)纯化得到化合物 2d。MS (CI) m/z 502.20 (MH^+)。

实施例 3

3-[2(R)-氨基-2-苯乙基]-5-(2-氯-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮



步骤 3A: 2-氯-3-甲氧基苯甲醛 3a 的制备

在搅拌下向含 3-羟基苯甲醛(20.12g, 160mmol)的 HOAc (40 mL) 中小心加入 tBuOCl (20mL, 176 mmol)。反应物变成清澈的溶液并产生得到强热。冷却并搅拌 16 小时, 得到白色的沉淀。过滤该固体, 用水洗涤并干燥得到 2-氯-3-羟基苯甲醛(13.77g, 55%), GCMS (EI) m/z 156,158 (M^+)。

向含 2-氯-3-羟基苯甲醛(4.55g, 29mmol)的 DMF(30mL)中加入 K_2CO_3 (4.8g, 34.9mmol), 然后加入 MeI (2.7mL, 43.6mmol), 并将该混合物在室温搅拌 16 小时。真空浓缩后, 将残余物加入乙酸乙酯, 用水、

盐水洗涤,用 Na_2SO_4 干燥,浓缩。用 1/5 的乙酸乙酯/己烷通过硅胶柱层析来纯化,得到无色油状的静置会凝固的 2-氯-3-甲氧基苯甲醛 **3a** (4.68 g, 94 %)。GCMS (EI) m/z 170, 172 (M^+)。

步骤 3B: 2-氯-1-甲氧基-3-[2-(甲基硫烷基)-2-(甲基亚磺酰基)乙烯基]苯 **3b** 的制备

向含 2-氯-3-甲氧基苯甲醛 **3a** (4.65g, 27.3mmol) 和甲基(甲基硫)甲基亚砷 (4.3mL, 43.9mmol) 的 THF (25 mL) 中加入 40% Triton B 的甲醇 (methanolic) 溶液 (6.2mL, 13.6mmol), 然后将得到的溶液回流 16 小时。去除 THF 后, 将残余物加入乙酸乙酯, 用 1N HCl、 H_2O 和盐水洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥, 随后浓缩, 用二氯甲烷进行硅胶柱层析来纯化该残余物, 得到黄色油状的 2-氯-1-甲氧基-3-[2-(甲基硫烷基)-2-(甲基亚磺酰基)乙烯基]苯 **3b** (3.61 g, 48 %)。GCMS (EI) m/z 225 ($\text{M}^+\text{-Cl-16}$), 210 ($\text{M}^+\text{-Cl-OMe}$)。

步骤 3C: (2-氯-3-甲氧基苯基)乙酸乙酯 **7c** 的制备

向含 2-氯-1-甲氧基-3-[2-(甲基硫烷基)-2-(甲基亚磺酰基)乙烯基]苯 **3b** (3.58g, 12.9mmol) 的乙醇 (20mL) 溶液加入 5M HCl 的乙醇溶液 (5.2mL) 并将得到的溶液回流 3 小时。蒸发后, 用二氯甲烷进行硅胶柱层析来纯化该残余物, 得到黄色油状的 (2-氯-3-甲氧基苯基)乙酸乙酯 **3c** (2.78 g, 94%)。GCMS (EI) m/z 228, 230 (M^+)。

步骤 3D: 2-(2-氯-3-甲氧基苯基)-3-(二甲基氨基)丙烯酸乙酯 **3d** 的制备

将含 (2-氯-3-甲氧基苯基)乙酸乙酯 **3c** (2.78 g, 12 mmol) 的 DMFDMA (16 mL, 120 mmol) 溶液回流 16 小时。蒸发后, 用 1/2 至 1/1 的乙酸乙酯/己烷进行硅胶柱层析来纯化该残余物, 首先得到未反应的 (2-氯-3-甲氧基苯基)乙酸乙酯 **3c** (1.8 g, 65%), 随后得到黄色糖浆状的 2-(2-氯-3-甲氧基苯基)-3-(二甲基氨基)丙烯酸乙酯 **3d** (1.1g, 32%; 90% 基于回收的起始材料)。MS (CI) m/z 284.0, 286.0 (MH^+)。

步骤 3E: 5-(2-氯-3-甲氧基苯基)咪啉-2,4(1H,3H)-二酮 3e 的制备

向含(2-氯-3-甲氧基苯基)-3-(二甲基氨基)丙烯酸乙酯 **3d** (1.7g, 6 mmol)、尿素(1.08g, 18mmol)和 NaI(2.7g, 18mmol)混合物的乙腈(20mL)中加入 TMSCl (2.3mL, 18mmol)。将所得到的混合物回流 16 小时, 冷却至室温, 并加入 1.0M NaOH (30 mL)。将所得到的溶液搅拌 20 小时, 随后真空去除乙腈。用乙醚洗涤该水溶液, 用冰浴冷却, 用 1 N HCl (30 mL)中和。过滤沉淀, 再用水洗涤, 干燥得到浅黄色固体的 5-(2-氯-3-甲氧基苯基)咪啉-2,4(1H,3H)-二酮 **3e** (1.24 g, 82%)。MS (CI) m/z 253.1, 255.1 (MH⁺)。

步骤 3F: 5-(2-氯-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]咪啉-2,4(1H,3H)-二酮 3f 的制备

向含 5-(2-氯-3-甲氧基苯基)咪啉-2,4(1H,3H)-二酮 **3e** (2.2g, 8.7mmol) 的乙腈(25 mL)悬浮液中加入双(三甲基甲硅烷基)乙酰胺(4.3 mL, 17.4mmol), 然后回流所得到的溶液 1.5 小时。将混合物冷却至室温, 加入 2-氟-3-三氟甲基苯甲基溴化物(2.7g, 10.5mmol), 再回流 16 小时。加入 MeOH (25mL)终止该反应, 随后搅拌 2 小时。浓缩后, 用含乙酸乙酯/己烷 1/1 的硅胶柱层析纯化该残余物得到白色固体的 5-(2-氯-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]咪啉-2,4 (1H, 3H)-二酮 **3f** (3.3 g, 88%)。MS (CI) m/z 429.0, 431.0 (MH⁺)。

步骤 3G: 3-[2(R)-(叔丁氧基羰基氨基)-2-苯乙基]-5-(2-氯-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]咪啉 2,4(1H,3H)-二酮 3g 的制备

将含 5-(2-氯-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]咪啉-2,4 (1H, 3H)-二酮 **3f** (75 mg, 0.175 mmol)、K₂CO₃(72mg, 0.525mmol)和 *N*-(叔丁氧基羰基)-*D*- α -苯基苄基醇甲磺酸酯(0.11g, 0.35mmol, (制备自 THF 中的 *N*-(叔丁氧基羰基)-*D*- α -苯基苄基醇, 随后加入甲烷磺酰氯和三乙胺)混合物的 DMF (2 mL)在 75°C 加热 16 小时。用乙酸乙酯稀释该反应物, 用水和盐水洗涤, 用 Na₂SO₄干燥, 并浓缩。用 2/3 的乙酸

乙酯/己烷进行硅胶柱层析来纯化该残余物，得到白色固体化合物 **3g** (82 mg, 72%)。MS (CI) m/z 548.0, 550.0 (MH^+ -Boc)。

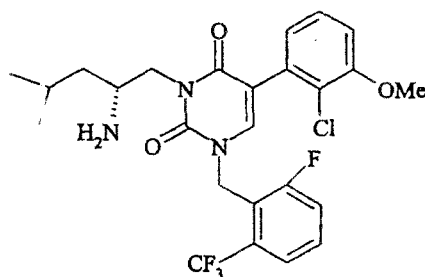
步骤 3H: 3-[2(R)-氨基-2-苯乙基]-5-(2-氯-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **3h** 的制备

将化合物 **3g** (2.7g, 4.2mmol)溶解在二氯甲烷(10 mL)中，加入 TFA (14 mL, 175 mmol)，然后将该混合物在室温搅拌 4.5 小时。浓缩后，将该残余物用 DCM 提取，并加入饱和 $NaHCO_3$ 水溶液。用 DCM 萃取水层。合并有机萃取物，用 Na_2SO_4 干燥，浓缩得到化合物 **3h** (2.2g, 96%)。MS (CI) m/z 548.0, 550.0 (MH^+)。

采用上述步骤通过适合的起始材料的替代制备 3-[2(R)-氨基-2-苯乙基]-5-(2-氯-3-甲氧苯基)-1-[2,6-二氟苯甲基]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **3h.1**。

实施例 4

3-[2(R)-氨基-2-(异丁基)乙基]-5-(2-氯-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮



步骤 4A: 3-[2(R)-{叔丁氧基羰基-氨基}-2-(异丁基)乙基]-5-(2-氯-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **4a** 的制备

向含 *N*-(叔丁氧基羰基)-*D*- α -亮氨酸(1.21g, 5.57mmol)的嘧啶(6 mL)中加入甲苯磺酰氯(1.6g, 8.35 mmol)。在室温将该反应混合物搅拌 3 小时，用 EtOAc 稀释，随后用 1N HCl、 H_2O 、饱和 $NaHCO_3$ 水溶液和盐水洗涤。用 Na_2SO_4 干燥有机层，用 1/3 的乙酸乙酯/己烷进行硅胶柱层

析来纯化,得到[3-甲基-1-[[[(4-甲基苯基)磺酰基]氧基]甲基]丁基]-1,1-二甲基乙基氨基甲酸酯(1.66g, 80%), MS (CI) m/z 272.2 (MH^+ -Boc)。

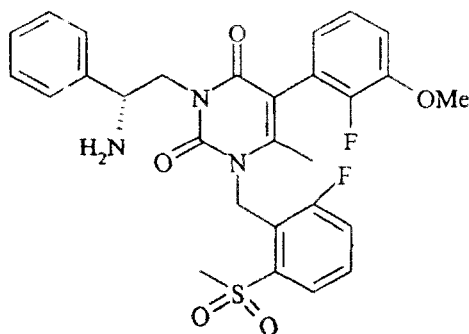
将含 5-(2-氯-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮 **3f** (56mg, 0.13mmol)、 K_2CO_3 (754mg, 0.39mmol)和 [3-甲基-1-[[[(4-甲基苯基)磺酰基]氧基]甲基]丁基]-1,1-二甲基乙基氨基甲酸酯 (97mg, 0.26mmol)混合物的 DMF (2mL)在 95°C 加热 16 小时。用乙酸乙酯稀释反应混合物,用水和盐水洗涤,用 Na_2SO_4 干燥,并浓缩。用 1/1 的乙酸乙酯/己烷进行硅胶柱层析来纯化残余物,得到回收的[3-甲基-1-[[[(4-甲基苯基)磺酰基]氧基]甲基]丁基]-1,1-二甲基乙基氨基甲酸酯(30 mg, 54 %)和化合物 **4a** (30 mg, 37%), MS (CI) m/z 528.0, 530.0 (MH^+ -Boc)。

步骤 4B : 3-[2(R)-氨基-2-(异丁基)乙基]-5-(2-氯-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮 **4b** 的制备

向含化合物 **4a** (30mg, 0.048mmol)的 DCM(1mL)溶液加入 TFA (0.1mL, 1.3mmol)并在室温搅拌 1.5 小时。浓缩后,将残余物加入 DCM,随后加入饱和 $NaHCO_3$ 水溶液。用 DCM 萃取该水层。合并有机提取物并用 Na_2SO_4 干燥,浓缩得到化合物 **4b**。MS (CI) m/z 528.0, 530.0 (MH^+)。

实施例 5

3-[2(R)-氨基-2-苯乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-甲基磺酰基苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮



步骤 5A: 3-[2(R)-叔丁氧基羰基氨基-2-苯乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 5a 的制备

向含化合物 **1f. 1** (28g, 56mmol)的二氯甲烷(200mL)中通过漏斗逐滴加入含二-叔丁基重碳酸酯(di-tert-butylidicarbonate) (12g, 56mmol)的二氯甲烷(100mL)溶液。将该反应混合物在室温搅拌 2 小时, LC-MS 起始材料耗尽。通过真空浓缩该反应混合物得到浅黄色固体的所需产物 **5a**。

步骤 5B: 3-[2(R)-叔丁氧基羰基氨基-2-苯乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-甲硫基苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 5b 的制备

向含化合物 **5a**(33g, 56mmol)的干燥 DMSO(100mL)溶液中在氮气下加入硫代甲醇钠(4.0g, 56mmol)。在氮气下将该反应混合物加热至 100°C, 1 小时。再加入 0.28 当量的硫代甲醇钠(1.1g, 16mmol), 并在氮气下该反应混合物加热至 100°C, 1 小时。冷却该反应混合物, 并在乙醚和水之间分配。用饱和的碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。用硅胶快速层析通过含 50%乙酸乙酯的己烷洗脱来纯化粗产物, 得到浅黄色固体的化合物 **5b** (27g, 44mmol, 78%)。

步骤 5C: 3-[2(R)-叔丁氧基羰基氨基-2-苯乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-甲硫基苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 5c 的制备

向含化合物 **5b** (27g, 44mmol)的二氯甲烷(400mL)水溶液中加入 3-氯过氧化安息香酸(mCPBA, 30g, 180mmol)。将该反应混合物在室温下

搅拌过夜。将该反应混合物在二氯甲烷与水之间分配。用饱和的碳酸氢钠和盐水洗涤该有机层，用硫酸钠干燥，过滤并浓缩。用硅胶快速层析通过含 50% 乙酸乙酯的己烷洗脱来纯化粗产物，得到所需的浅黄色固体的化合物 **5c** (15g, 24mmol, 53%)。

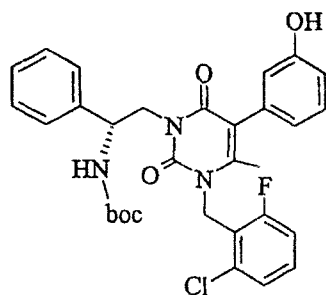
步骤 5D: 3-[2(R)-氨基-2-苯乙基]-5-(2-氟-3-甲氧苯基)-1-[2-氟-6-甲基磺酰基苯甲基]-6-甲基-咪啉-(1H,3H)-二酮 **5-1** 的制备

向含化合物 **5c** (10g, 15mmol) 的无水二氯甲烷溶液 (60 mL) 中加入三氟乙酸 (TFA, 16mL)。将该反应混合物在室温搅拌 4 小时。将该反应混合物浓缩，并在乙酸乙酯与稀 NaOH 水溶液之间分配。

用饱和的碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤该有机层，用硫酸钠干燥，过滤并浓缩，得到棕褐色的固体 **5-1** (8.0g, 14mmol, 94%)。

实施例 6

3-[2(R)-叔丁氧基羰基氨基-2-苯基乙基]-5-(3-羟基苯基)-1-[2-氯-6-氟苯甲基]-6-甲基-咪啉-2,4(1H,3H)-二酮



步骤 6A: 3-[2(R)-叔丁氧基羰基氨基-2-苯基乙基]-5-溴-1-[2-氯-6-氟苯甲基]-6-甲基-咪啉-2,4(1H,3H)-二酮

将含 N-Boc-D-苯基甘氨酸 (2.61 g, 11.0 mmol)、5-溴-1-[2-氯-6-(氟)苯甲基]-6-甲基咪啉-2,4(1H, 3H)-二酮 (3.48 g, 10.0 mmol)、PPh₃ (3.95 g, 15.0 mmol) 和二-叔丁基偶氮二甲酸酯 (3.45g, 15.0mmol) 的 40 mL 无水 THF 在氮气和室温条件下，搅拌 16 小时。真空去除溶剂，并用 EtOAc/

己烷(从10%至30% EtOAc 递增)作为洗脱剂通过硅胶(约300 g)纯化得到4.29g (76%产率)发泡固体形式的 **6a**。MS (M+H)⁺: 466.0/468.1。NMR (CDCl₃), δ, 7.41-7.25 (m, 7H), 7.03-6.97 (m, 1H), 5.60 (d, *J*=16.3 Hz, 1H), 5.55-5.40 (m, 1H), 5.31 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H), 5.18-4.78 (m, 1H), 4.24-4.34 (m, 1H), 4.09 (dd, *J* = 13.2 & 3.0 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H), 1.37 (s, 9H)。

步骤 6B: 3-[2(R)-叔-丁氧基羰基氨基-2-苯基乙基]-5-3-羟基苯基)-1-[2-氯-6-氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮

化合物 **6a** (4.00g, 7.06mmol)、3-羟基苯基硼酸频哪醇酯(pinacol ester)(2.33 g, 10.59mmol), K₂CO₃(7.8mL, 2N 溶液, 15.5 mmol), and Ba(OH)₂ (2.6 mL 饱和溶液)悬浮在管中的130 mL 甲苯和50mL EtOH 中。用 N₂ 将该混合物通气15分钟,加入 Pd(PPh₃)₄ (404mg, 0.35mmol), 封闭该小管, 并加热至100°C, 16小时。将该混合物冷却至室温后, 过滤固体, 并蒸发溶液。用硅胶(30-40%EtOAc/己烷)来纯化所得到的残余物得到浅棕色的发泡固体 **6b** (3.96g, 98%产率)。MS (M-Boc+H)⁺: 480.2/482.2。NMR (CDCl₃), δ, 7.38-7.17 (m, 8H), 7.05-6.96 (m, 1H), 6.74 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.68 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 5.85-4.86 (m, 4H), 4.40-4.23 (m, 1H), 4.15-3.95 (m, 1H), 1.22 (s, 3H)。

通过相同的方法制备化合物 3-[2(R)-叔丁氧基羰基氨基-2-苯基乙基]-5-(3-羟基苯基)-1-[2-氯-6-三氟甲基苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮 **6b.1**。

实施例 7

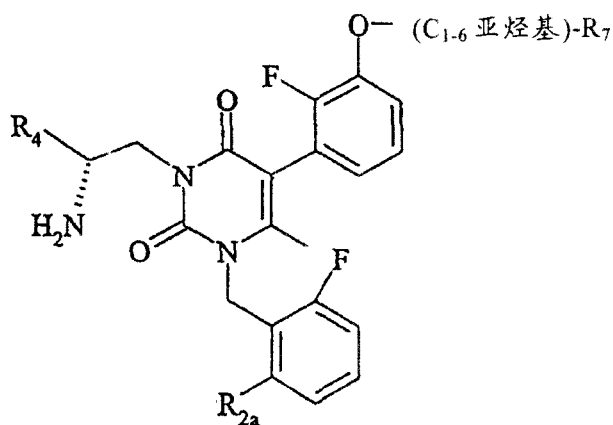
3-[2(R)-氨基-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*, 3*H*)-二酮

5Hz, 1H), 5.45 & 5.40 (2 m, 1H), 5.35- 4.87 9 (m, 2H), 4.41-4.28 (m, 1H), 4.10-4.5 (m, 3H), 2.46-2.42 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 1.88-1.80 (m, 4H), 1.38 (s, 9H).

步骤 7C: 3-[2(R)-氨基-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2,6-二氟苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的制备

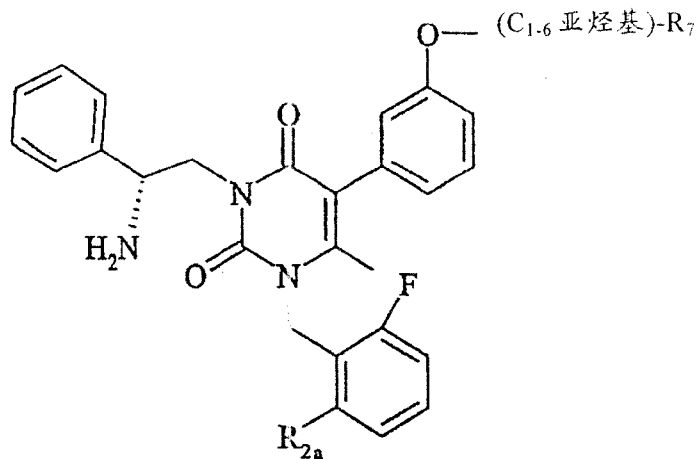
将化合物 **7b** (0.68g) 在含 4N HCl 的二噁烷 (5mL) 中处理 2 小时。用制备 HPLC 将反应混合物浓缩并纯化。所需的化合物 **7-1** 起初以 TFA 的盐形式获得，随后在 HPLC 上去盐得到游离的氨基酸产物。通过将 **7-1** 游离碱悬浮在 50 mL 水中制备钠盐，随后逐步加入 0.2NaOH 直到所有材料溶解。该溶液的 pH 约为 9。将该溶液冻干得到化合物 **7-1** 钠盐(395mg)。MS (M+1)⁺: 582.3。NMR (DMSO-d₆), δ: 7.47-7.37 (m, 1H), 7.27-7.03 (2 m, 9H), 6.75-6.71 (m, 0.5H), 6.61-6.57 (m, 0.5H), 5.22-5.20 (m, 2H), 4.15-4.04 (m, 1H), 4.06 (t, J = 5.7Hz, 2H), 3.96-3.82 (m, 2H), 2.30 (t, J = 7.5Hz, 2H), 2.13 (s, 3H), 1.78-1.63 (m, 4H)。

根据上述步骤制备以下化合物:



No.	R _{2a}	R ₄	(C ₁₋₆ 烷双基)-R ₇	质谱	M. W.	t _R (方法)
7-1	F	Ph		582.1	581.6	1.037(1)
7-2	Cl	Ph		598.2	598.0	8.570(3)
7-3	CF ₃	Ph		631.2	631.6	6.036(2)
7-4	CF ₃	环戊基		624.2	623.6	6.390(2)
7-5	SO ₂ Me	Ph		628.3	627.7	5.139(2)
7-6	SO ₂ Me	Ph		642.1	641.7	5.361(2)
7-7	CF ₃	Ph		646.3	645.6	6.320(2)
7-8	SO ₂ Me	Ph		656.3	655.7	5.655(2)
7-9	CF ₃	3- 异 丁基		626.2	625.6	1.157(1)
7-10	CF ₃	3- 异 丁基		612.2	611.6	1.160(1)
7-11	F	Ph		596.3	595.6	5.900(2)

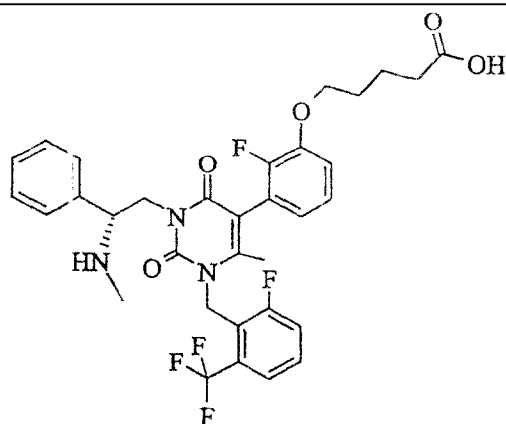
用诸如化合物 **6b** 和 **6b.1** 的羟基化合物作为起始, 随后实施步骤 7B 与 7C 的步骤, 制备以下化合物:



No.	R _{2a}	(C ₁₋₆ 亚烷基)-R ₇	质谱	M. W.	t _R (方法)
7-12	Cl		566.1	566.0	6.990(2)
7-13	Cl		580.1	580.0	1.300(1)
7-14	Cl		594.4	594.1	6.108(2)
7-15	CF ₃		628.0	627.6	1.341(1)
7-16	Cl		608.2	608.11	1.527(1)
7-17	CF ₃		614.2	613.6	4.963(2)

实施例 8

3-[2(R)-甲基氨基-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-咪啉-2,4(1H,3H)-二酮



步骤 8A: N-Boc-N-甲基-D-苯基甘氨酸

在氮气下向圆形烧瓶中加入 LAH (1.62g, 5.0 当量), 随后缓慢加入无水 THF (200mL)。加入 N-Boc-D-苯基甘氨酸 (10g, 42.7mmol), 在 N_2 下将该反应混合物回流过夜。将该混合物冷却至室温, 随后至 0°C 并加入 NaOH (10% 溶液) 直到没有气泡产生。在中和过程中再加入 200 mL THF, 随后加入 50g NaSO_4 。搅拌后, 过滤该混合物, 并用 THF 洗涤该固体。将该合并的溶液浓缩得到 6.2g 无色油状物。向该油状物加入二-叔-丁基重碳酸酯 (Boc_2O , 13.8g, 5mmol)。立刻形成气泡, 用甲苯 (10 mL) 稀释该混合物, 然后在 100°C 加热 0.5 小时。首先用己烷/乙酸乙酯 (8/2), 随后用己烷/乙酸乙酯 (2/8) 进行短柱层析来洗去 Boc_2O , 得到化合物 **8a** (9.0g, 产率=85%)。MS (M-Boc+H^+): 152.2。NMR (CDCl_3), δ , 7.38-7.22 (m, 5H), 5.25-5.15 (m, 1H), 4.05-4.00 (m, 2H), 2.70 (s, 3H), 1.66 (br, 1H), 1.48 (s, 9H)。

步骤 8B: 3-[2(R)-{N-叔丁氧基羰基-N-甲基氨基}-2-苯基乙基]-5-溴-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮

向干燥 THF 中的 Boc-N-甲基-D-苯基甘氨酸 **8a** (8.9 g, 35mmol) 和 5-溴-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **1d** (12 g, 31.5 mmol) 中加入三苯基膦 (12g, 45.6mmol), 随后加入二-叔-丁基偶氮二碳酸酯 (10.5 g, 45.6 mmol)。在室温将该混合物搅拌过夜。浓缩该混合物, 并用柱层析来纯化得到 21g 的白色泡沫 **8b**。NMR 显示其含 50% 的副产物 ($\text{t-BuC}_2\text{CNHNHCO}_2\text{-tBu}$)。MS (M-Boc+H^+): 512.2,

514.2. NMR (CDCl₃), δ , 7.55 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 1H), 7.45-7.20 (m, 7H), 5.90-5.18 (m, 3H), 4.95-4.80 (m, 1H), 4.28 (dd, $J = 17.1 \& 5.4 \text{ Hz}$, 1H), 2.56 (s, 1.5H), 2.50 (s, 3H), 2.41 (s, 1.5H), 1.42 (s, 9H).

步骤 8C: 3-[2(R)-{N-叔丁氧基羰基-N-甲基氨基}-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H, 3H)-二酮

向 30 mL 二噁烷和 6mL 水混合物中的溴化物 **8b**(2.7g, 4.4mmol) 中加入 2-氟-3-甲氧基苯基硼酸(1.48g, 2.0 当量)和 Na₂CO₃ (3.3g, 7 当量)。用 N₂ 气将该混合物净化 15 分钟, 随后加入 Pd(PPh₃)₄ (500mg)。利用剧烈搅拌在 100°C 搅拌 12 小时。并浓缩去除二噁烷。将该混合物在乙酸乙酯与水之间分配。分离有机层。用 Na₂SO₄ 干燥, 随后通过柱层析纯化得到 885mg 的 **8c**(33%)。MS(M-Boc+H)⁺: 560.3。

步骤 8D: 3-[2(R)-{N-叔丁氧基羰基-N-甲基氨基}-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-羟基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮

将化合物 **8c**(885mg, 1.34mmol)溶解在二氯甲烷(50mL)中, 随后在 N₂ 下冷却至 -78°C, 并缓慢加入 BBr₃ (1M 在二氯甲烷中, 5.2 mL, 4.0 当量)。通过搅拌过夜将该混合物缓慢升温至室温。用 N₂ 流浓缩该混合物, 用 MeOH (10 mL)处理, 再次浓缩来去除 HBr。加入 THF(50mL) 和三乙胺直到混合物为碱性。加入 Boc₂O(2.33 g, 0.8 当量) 搅拌该混合物直到在 TLC 和 HPLC 上没有观察到游离的胺。过滤该混合物, 浓缩并在 EtOAc/H₂O 之间分配。分离有机层并浓缩得到油状物, 其通过柱层析得到 64mg 的 **8d** (53%产率)。MS(M-Boc+H)⁺: 546.3。NMR (CDCl₃), δ , 7.55 (1H, d, $J = 7.8\text{Hz}$, 1H), 7.46-7.38 (m, 1H), 7.37-7.22 (m, 6H), 7.17-6.92 (m, 2H), 6.76-6.68 (m, 1H), 6.08-5.36 (m, 3H), 5.36-5.18 (m, 1H), 4.87-4.83 (m, 1H), 3.31-4.20 (m, 1H), 2.70 (s, 3H), 2.16-2.10 (m, 3H), 1.42 (s, 9H).

步骤 8E: 3-[2(R)-{N-叔丁氧基羰基-N-甲基氨基}-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮

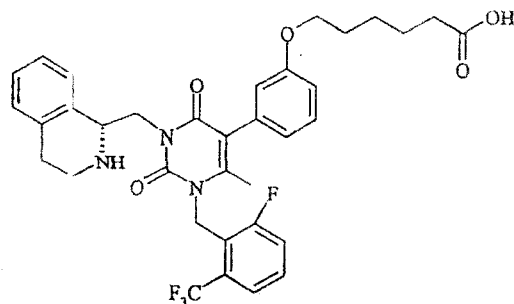
将化合物 **8d**(400mg, 0.6 2mmol)溶解在 DMF(5mL,无水), 随后加入 5-溴戊酸甲酯(107 微升, 1.2 当量), 随后加入粉状 K_2CO_3 (430 mg, 5.0 当量)。50°C 加热该混合物 3 小时。加入 MeOH (10mL)和水(10mL), 随后加入 LiOH(148mg, 10 当量)。将该混合物加热至 80°C, 几小时。将该混合物冷却至室温, 用无水 $NaHSO_4$ 酸化至 pH=3。将该粗产物在乙酸乙酯/ H_2O 之间分配, 分离有机层, 用柱层析纯化(己烷/乙酸乙酯 4/6) 得到 **7e** (300mg, 65%)。MS(M-Boc+H)⁺: 646 3。

步骤 8F: 3-[2(R)-甲基氨基-2-苯基乙基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮

将化合物 **8e** 溶解在 1.5mL 的二氯甲烷中, 并加入 1.5mL 的 TFA。在室温将该混合物搅拌该混合物 1 小时, 浓缩去除 TFA, 在 EtOAc/ H_2O 分配, 然后加入饱和的 $NaHCO_3$ 来得到中性水溶液。分离有机层, 浓缩, 并用层析来纯化(以二氯甲烷/MeOH 90/10 洗脱剂)。将所得到的化合物 **8-1** 悬浮在水(20mL), 然后逐步加入 0.1N NaOH 至 pH=9, 连续超声直至所有材料溶解。将该溶液冻干得到 120mg 钠盐形式的 **8-1**。MS (M+H)⁺: 646.4. NMR ($CDCl_3$), δ , 7.40 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.37-7.14 (m, 8H), 6.98-6.81(m, 2H), 6.69 (t, $J=7.5$ Hz, 0.5H), 6.58 (t, $J=6.0$ Hz, 0.5H), 5.38 (s, 2H), 4.32-4.20 (m, 1H), 4.10-3.81 (m, 2H), 3.81-3.75 (m, 2H), 2.65-2.35 (br, 2H), 2.18-2.04(m, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.78-1.50 (m, 4H)。 $t_R = 1.330$ (方法 1)

实施例 9

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮



步骤 9A: 5-溴-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-3-[N-(苯甲氧基羰基)-1(R)-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 9a

用 *N*-(苯甲氧基羰基)-*R*-1-羟基甲基-1,2,3,4-四氢-异喹啉(1.96g, 6.6mmol, 通步骤 2A 的硼烷还原制备自(R)-1,2,3,4-四氢-1-异喹啉羧酸)和三苯膦(2.36g, 9.0mmol)在室温处理含 5-溴-1-(2-氟-6-三氟甲基苯甲基)-6-甲基尿嘧啶 **1d** (2.29g, 6.0mmol)的 THF (20mL), 随后在 5 分钟内分几次加入二-叔丁基偶氮二甲酸酯(2.07 g, 9.0mmol)。在室温将混合物搅拌 16 小时, 浓缩, 利用 2/3 的乙酸乙酯/己烷进行硅胶柱层析来纯化, 得到化合物 **9a** (3.96g, 100%), MS (CI) *m/z* 660.2, 662.2 (MH⁺)。

步骤 9B: 5-(3-羟基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-3-[N-(苯甲氧基羰基)-1(R)-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 9b 的制备

向含化合物 **9a** (3.3g, 5.0mmol)的二噁烷/水(90/10mL)中加入 3-羟基苯基硼酸(1.38g, 10mmol)和 Na₂CO₃ (3.18 g, 30 mmol)。用氮气对该混合物脱氧 15 分钟, 加入四(三苯基膦)钯(0) (0.58g, 0.5mmol), 然后将该混合物在 90°C 加热 16 小时。蒸发该反应混合物, 并在 EtOAc 与水之间分配。用盐水洗涤该有机层, 用 Na₂SO₄ 干燥, 浓缩, 并用 2/3 的乙酸乙酯/己烷进行硅胶柱层析来纯化, 得到化合物 **9b** (3.12g, 93%)。MS (CI) *m/z* 674.0 (MH⁺)。

步骤 9C: 3-[N-(苯甲氧基羰基)-1(R)-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-

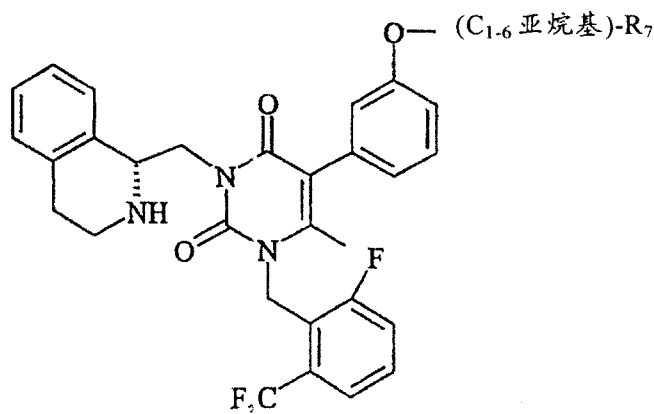
甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 9c

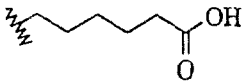
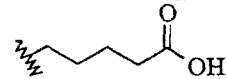
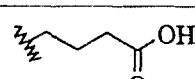
向含化合物 **9b** (168mg, 0.25mmol) 的 DMF (1mL) 中加入 6-溴几酸乙酯 (0.053mL, 0.3mmol) 和 K_2CO_3 (172mg, 1.25mmol)。将该混合物在 $80^\circ C$ 加热并剧烈搅拌 5 小时。随后加入 NaOH (0.1g, 2.5mmol) 和 MeOH/H₂O (1: 1, 4mL)，并在 $80^\circ C$ 加热 1 小时。蒸发反应混合物，并在 EtOAc 和 1N HCl (使水相的 pH 为 3) 之间分配。用盐水洗涤有机层，用 Na_2SO_4 干燥，浓缩，用 2/1 的乙酸乙酯/己烷进行硅胶柱层析来纯化，得到化合物 **9c** (0.14 g, 70%)。MS (CI) m/z 788.3 (MH^+)。

步骤 9D: 3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(3-([5-羟基羰基]-1-戊氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 9-1 的制备

将化合物 **9c** (0.14g, 0.18mmol) 溶解在 80% AcOH (10mL) 中，并在 1 个大气压下，在 Pd/C (14 mg) 存在下，用 H_2 在室温氢化 12 小时。经 Celite 过滤该混合物，蒸发，在 EtOAc 和饱和 $NaHCO_3$ 溶液之间分配 (使水相 pH 为 6-7)。用水和盐水来洗涤该有机层，用 Na_2SO_4 干燥，浓缩得到化合物 **4** (0.114g, 98%)。MS (CI) m/z 654.4 (MH^+)。

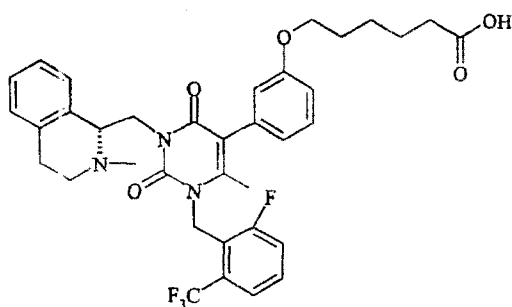
根据上述步骤制备以下化合物：



No.	(C ₁₋₆ 亚烷基)-R ₇	质谱	M. W.	t _R (方法)
9-1		654.0	653.67	6.827(6)
9-2		640.0	639.64	5.497(6)
9-3		626.3	625.62	4.962(6)

实施例 10

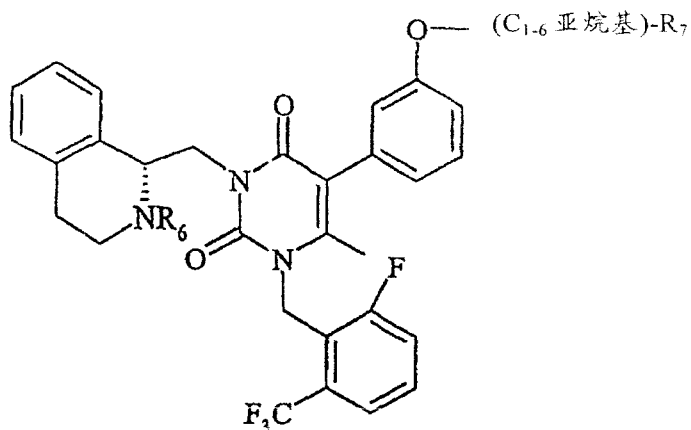
3-[(N-甲基-1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(3-[(5-羟基羰基)-1-戊氧基]苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮



步骤 10A: 3-[(N-甲基-1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-3-[(5-羟基羰基)-1-戊氧基]苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮 10-1 的制备

在室温下将含化合物 **9-1**(10mg, 0.015mmol)和甲醛(7.5M 水溶液; 4μL, 0.03mmol)的 THF 搅拌 5 分钟。加入硼烷吡啶混合物(8M; 7.5μL)并搅拌 1 小时。浓缩后,用制备的 LCMS 纯化残余物得到化合物 **10-1**。MS (CI) *m/z* 668.4 (MH⁺)。

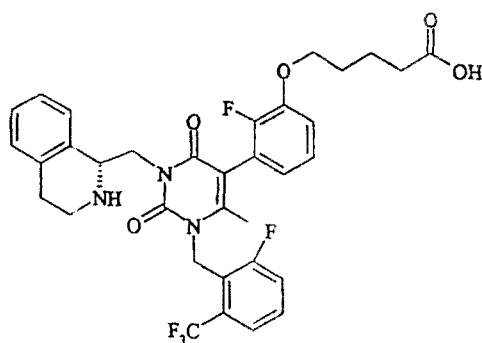
根据上述步骤制备以下化合物:



No.	(C ₁₋₆ 亚烷基)-R ₇	R ₆	质谱	M. W.	t _R (方法)
10-1		CH ₃	668.4	667.70	6.710(6)
10-2		CH ₃	654.4	653.67	5.469(6)
10-3		CH ₂ CH ₃	668.4	667.70	5.223(6)
10-4		CH ₃	640.4	639.64	4.958(6)

实施例 11

3-(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮



步骤 11A: 5-(2-氟-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-3-[N-(苯甲氧基羰基)-1(R)-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-嘧啶

-2,4(1H,3H)-二酮 11a

向含化合物 **9a** (0.66g, 1.0mmol)的二噁烷/水(18/2mL)中加入 2-氟-3-甲氧基苯基硼酸(0.34g, 2.0mmol)和 Na₂CO₃ (0.64g, 6.0mmol)。用氮将混合物脱氧 15 分钟, 加入四(三苯基膦)钯 (0) (0.12 g, 0.1 mmol), 将该反应混合物在 90°C 加热 16 小时。蒸发所述反应混合物, 并在 EtOAc 与 H₂O 之间分配, 用盐水洗涤该有机层, 干燥, 浓缩, 并用 2/3 至 1/1 的乙酸乙酯/己烷进行硅胶柱层析来纯化, 得到化合物 **11a** (0.57g, 81%)。MS (CI) *m/z* 705.9 (MH⁺)。

步骤 11B: 5-(2-氟-3-羟基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-3-[1(R)-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 11b 的制备

在-78°C 向含化合物 **11a** (1.51g, 2.14mmol)的干燥二氯甲烷(15mL)中加入 BBr₃ (1M 在二氯甲烷中, 10.7mL, 10.7mmol)。将该混合物搅拌 16 小时, 同时将温度逐步升高至室温。通过用氮净化将该反应混合物蒸发。加入 MeOH 并再次用氮蒸发。将该残余物加入二氯甲烷(5mL)中, 并加入己烷(100mL)。过滤所得到的黄色固体, 用己烷洗涤, 并干燥得到粗化合物 **11b**。MS (CI) *m/z* 558.0 (MH⁺)。

步骤 11C: 5-(2-氟-3-羟基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-3-[N-(叔丁氧基羰基)-1(R)-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 11c 的制备

向含化合物 **11b** 的二氯甲烷(15mL)中加入 Et₃N(约 1.2mL)直到 pH >8, 随后加入 Boc₂O(0.37g, 1.7mmol)。将该混合物搅拌 12 小时, 蒸发并在 EtOAc 与 H₂O 之间分配。用盐水洗涤该有机层, 用 Na₂SO₄ 干燥, 浓缩, 用 2/3 至 1/1 的乙酸乙酯/己烷进行硅胶柱层析来纯化, 得到化合物 **11c** (1.2g, 85%)。MS (CI) *m/z* 558.0 (MH⁺-Boc)。

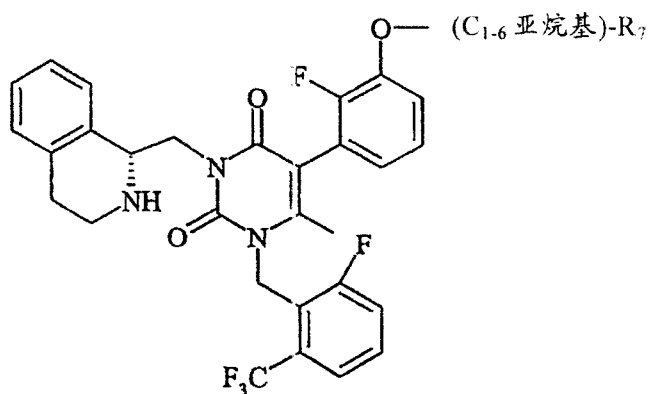
步骤 11D: 3-[N-(叔-丁氧基羰基)-1(R)-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 11-1 的制备

向含化合物 **11c**(0.17g, 0.26mmol)的 DMF (1mL)中加入 5-溴戊酸甲酯(0.044mL, 0.31mmol) 和 K_2CO_3 (0.18, 1.3mmol)。将该混合物在 $80^\circ C$ 加热并剧烈搅拌 5 小时。随后加入 NaOH(0.1g, 2.6mmol)和 MeOH/H₂O (1:1, 4mL), 并在 $80^\circ C$ 加热 1 小时。蒸发该反应混合物, 并在 EtOAc 和 1N HCl 之间分配(使水相 pH 为 3)。用盐水洗涤该有机层, 用 Na_2SO_4 干燥, 浓缩, 用 3/1 的乙酸乙酯/己烷进行硅胶柱层析来纯化, 得到化合物 **11d** (0.15g, 77%). MS (CI) m/z 658.0(MH^+ -Boc)

步骤 11E: 3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-[[4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的制备

向含 **11d**(0.15g, 0.2mmol)的 DCM(2mL)溶液中加入 TFA(0.4mL, 5.2mmol), 然后将该混合物在室温下搅拌 1.5 小时。浓缩后, 将该残余物加入 EtOAc 中, 然后加入饱和的 $NaHCO_3$ 水溶液。分离有机层, 用盐水洗涤该有机层, 用 Na_2SO_4 干燥, 浓缩得到化合物 **11-1**(0.11 g, 84%). MS (CI) m/z 658.0 (MH^+)。

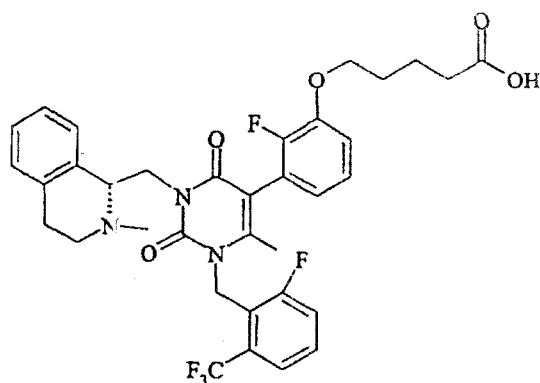
根据上述步骤制备以下化合物:



No.	(C ₁₋₆ 亚烷基)-R ₇	质谱	M. W.	t _R (方法)
11-1		657.9	657.63	5.490(6)
11-2		644.2	643.61	5.923(6)

实施例 12

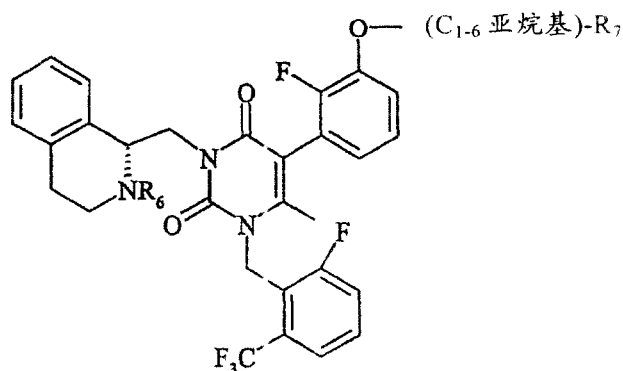
3-[N-甲基-1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮

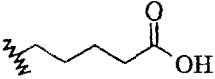
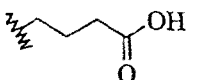
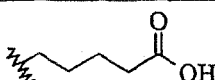


步骤 12A: 3-[(N-甲基-1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮 12-1 的制备

将含化合物 11-1(15mg, 0.023mmol)和甲醛(7.5 M 含水溶液; 6μL, 0.045mmol)的 THF 溶液在室温下搅拌 5 分钟。加入硼烷嘧啶复合物(8M; 12μL)并搅拌 1 小时。浓缩后,用制备 LCMS 纯化得到化合物 12-1。MS (CI) m/z 672.0 (MH⁺)。

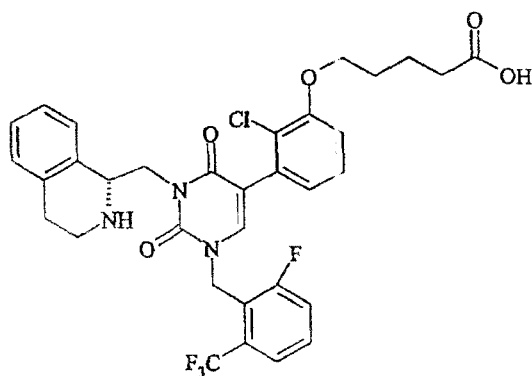
根据上述步骤制备以下化合物:



No.	(C ₁₋₆ 亚烷基)-R ₇	R ₆	质谱	M. W.	t _R (方法)
12-1		CH ₃	672.0	671.66	5.672 (6)
12-2		CH ₃	658.2	657.63	5.924 (6)
12-3		CH ₂ CH ₃	686.0	685.69	5.207 (6)

实施例 13

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氯-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-嘧啶-2,4(1*H*,3*H*)-二酮



步骤 13A: N-苯甲氧基羰基-1-羟基甲基-D-1,2,3,4-四氢异喹啉 13a 的制备

5分钟内向含N-苯甲氧基羰基-D-1,2,3,4-四氢异喹啉-1-羧酸(3.11g, 10 mmol, 制备自商业销售的D-1,2,3,4-四氢异喹啉-1-羧酸和O-苯甲氧基羰基-N-羟基琥珀酸胺)的THF(10 mL)中加入BH₃(THF中的1M溶液; 30mL, 30mmol), 随后将该反应混合物搅拌3小时。加入含乙酸(9mL)的MeOH(90mL)并将混合物搅拌30分钟。蒸发溶剂, 将残余物加入EtOAc并用饱和的NaHCO₃(90mL, 水相pH 7-8)溶液和盐水洗涤。用Na₂SO₄干燥有机层并浓缩得到化合物13a(2.97g, 100%)。MS (CI) *m/z* 253.9 (MH⁺-CO₂), 297.9 (MH⁺); t_R = 2.695 min (方法4)。

步骤 13B: N-苯甲氧基羰基-1-(甲烷磺酰氧基甲基)-D-1,2,3,4-四氢-异喹啉 13b 的制备

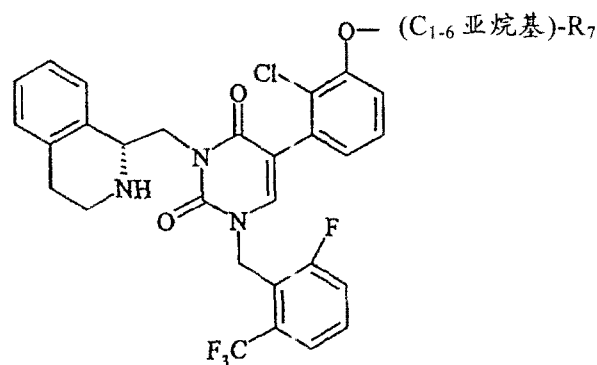
向含化合物 **13a**(6.15g, 20.7mmol)的二氯甲烷(69mL)溶液中加入 Et₃N (3.17mL, 22.8mmol), 然后加入甲烷磺酰氯(1.76 mL, 22.8 mmol)。在室温下搅拌该反应物过夜, 蒸发并在 EtOAc 和 H₂O 之间分配。用盐水洗涤有机层, 用 Na₂SO₄ 干燥, 浓缩得到化合物 **13b** (7.8 g, 100%)。MS (CI) *m/z* 376.0 (MH⁺): t_R = 2.666 分钟(方法 4)。

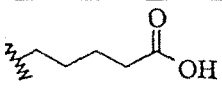
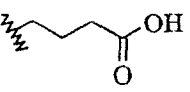
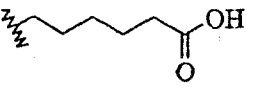
步骤 13C: 3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氯-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **13c** 的制备

根据步骤 3G 的程序, N-苯甲氧基羰基-1-(甲烷磺酰氧基甲基)-D-1,2,3,4-四氢-异喹啉 **13b** (6.57 g, 17.52 mmol)与 5-(2-氯-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **3f** (5.14 g, 12mmol)形成 3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氯-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **13c**(5.73g, 68%)。MS (CI) *m/z* 708.0, 710.0 (MH⁺)。

步骤 13D: 3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氯-3-([4-羟基羰基]-1-丁氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **13-1** 的制备

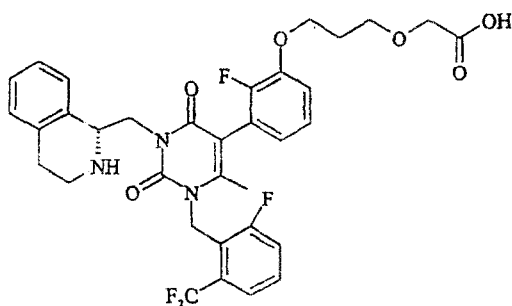
根据步骤 7A 至 7C 所列出的方法, 利用 3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氯-3-甲氧基苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **13c** 作为起始材料, 合成以下化合物。



No.	(C ₁₋₆ 亚烷基)-R ₇	质谱	M. W.	t _R (方法)
13-1		660.4	660.06	5.376 (6)
13-2		646.1	646.03	22.43 (5)
13-3		674.1	674.09	22.52 (5)

实施例 14

3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([羟基羰基]甲氧基-1-丙氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-咪啉-2,4(1*H*,3*H*)-二酮



步骤 14A: 3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([3-羟基-1-丙氧基]苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-咪啉-2,4(1*H*,3*H*)-二酮 14a 的制备

向含化合物 **11c**(170mg, 0.26mmol)的 DMF(1mL)中加入溴丙醇(43mg, 0.31mmol)和 K₂CO₃(180mg, 1.30mmol)。将该混合物在 80°C 加热过夜。蒸发该反应混合物,并在 EtOAc 和 H₂O 之间分配。用盐水洗涤该有机层,用 Na₂SO₄ 干燥,浓缩,并在制备 TLC 板上用 3/2 的乙酸乙酯/己烷来纯化,得到化合物 **14a** (0.13g, 70%)。MS (CI) *m/z* 616.0 (MH⁺-Boc)。

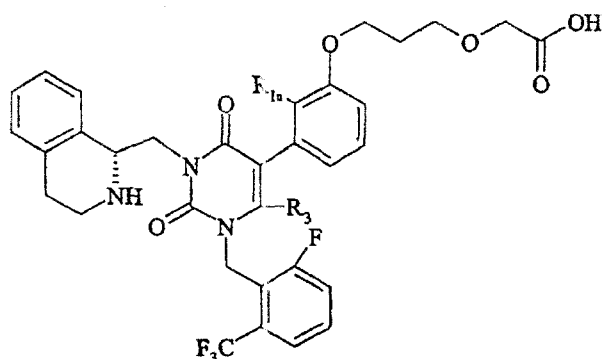
步骤 14B: 3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([叔丁氧基羰基]甲氧基-1-丙氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-咪啉-2,4(1*H*,3*H*)-二酮 14b 的制备

向含化合物 **14a**(130mg, 0.18mmol)的甲苯(1 mL)中加入叔丁基溴化乙酸酯 (0.04mL, 0.27mmol)、四丁基胺硫酸氢盐(hydrogensulfate) (3mg, 0.009 mmol)和粉末状 NaOH(32mg, 0.81mmol)。在室温将该混合物剧烈搅拌 24 小时并在 EtOAc 与 H₂O 之间分配。用盐水洗涤该有机层, 用 Na₂SO₄ 干燥, 浓缩得到粗化合物 **14b**。MS (CI) *m/z* 674.0 (MH⁺-Boc-tBu), 730.1 (MH⁺-Boc)。

步骤 14C : 3-[(1-R-1,2,3,4-四氢异喹啉)甲基]-5-(2-氟-3-([羟基羰基]甲氧基-1-丙氧基)苯基)-1-[2-氟-6-(三氟甲基)苯甲基]-6-甲基-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮 **14-1** 的制备

在室温下用 TFA (0.36 mL, 4.67 mmol)处理含化合物 **14b** 的二氯甲烷(3 mL)过夜, 浓缩, 并在制备 TLC 板上用含 10% MeOH 的 DCM 纯化, 得到化合物 **14-1**(60mg, 49%两步)。MS (CI) *m/z* 674.0 (MH⁺)。

根据上述步骤合成以下化合物:



No.	R _{1a}	R ₃	质谱	M. W.	t _R (方法)
14-1	F	CH ₃	674.0	673.63	6.033 (6)
14-2	Cl	H	676.1	676.06	22.40 (5)

应理解, 尽管为了说明目的, 本文描述了本发明的具体实施方案, 但在不偏离本发明精神和范围的前提下, 可对其作出多种修改。因此, 除所附的权利要求外, 本发明并不受到其它限制。