



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105683153 B

(45)授权公告日 2018.07.13

(21)申请号 201480050947.1

C07D 215/02(2006.01)

(22)申请日 2014.09.17

C07D 231/56(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

C07D 213/74(2006.01)

申请公布号 CN 105683153 A

C07D 235/04(2006.01)

(43)申请公布日 2016.06.15

C07D 249/18(2006.01)

(30)优先权数据

C07D 263/54(2006.01)

2013903571 2013.09.17 AU

C07D 277/62(2006.01)

2013903572 2013.09.17 AU

A61K 31/165(2006.01)

A61K 31/17(2006.01)

A61K 31/18(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 31/277(2006.01)

2016.03.16

A61K 31/404(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

A61K 31/416(2006.01)

PCT/AU2014/000922 2014.09.17

A61K 31/4184(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

A61K 31/428(2006.01)

W02015/039172 EN 2015.03.26

A61K 31/47(2006.01)

A61P 9/12(2006.01)

(73)专利权人 维克图斯生物系统有限公司

A61P 13/12(2006.01)

地址 澳大利亚新南威尔士州

(72)发明人 凯伦·安妮特·达根

(56)对比文件

CN 102574801 A,2012.07.11,

(74)专利代理机构 北京清亦华知识产权代理事

CN 1518542 A,2004.08.04,

务所(普通合伙) 11201

CN 1630709 A,2005.06.22,

代理人 宋融冰

US 2011082109 A1,2011.04.07,

(51)Int.Cl.

WO 2006018325 A1,2006.02.23,

C07C 235/34(2006.01)

Rolf Breinbauer 等.A Modular

C07C 233/11(2006.01)

Synthesis of Teraryl-Based α -Helix

C07C 233/07(2006.01)

Mimetics, Part 1: Synthesis of Core

C07C 237/20(2006.01)

Fragments with Two

C07C 255/00(2006.01)

Electron

C07C 271/28(2006.01)

y Differentiated Leaving Groups.《Chem.

C07C 275/28(2006.01)

Eur. J.》.2013,第19卷第2442-2449页.

C07C 307/10(2006.01)

审查员 吴俊威

C07C 311/03(2006.01)

权利要求书6页 说明书48页 附图16页

C07D 209/18(2006.01)

(54)发明名称

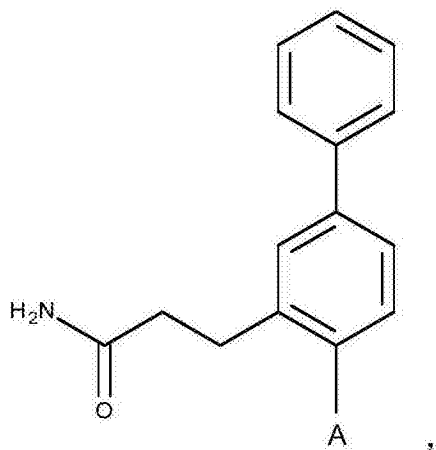
治疗性治疗高血压和/或纤维化中的用途。

用于治疗高血压和/或纤维化的组合物

(57)摘要

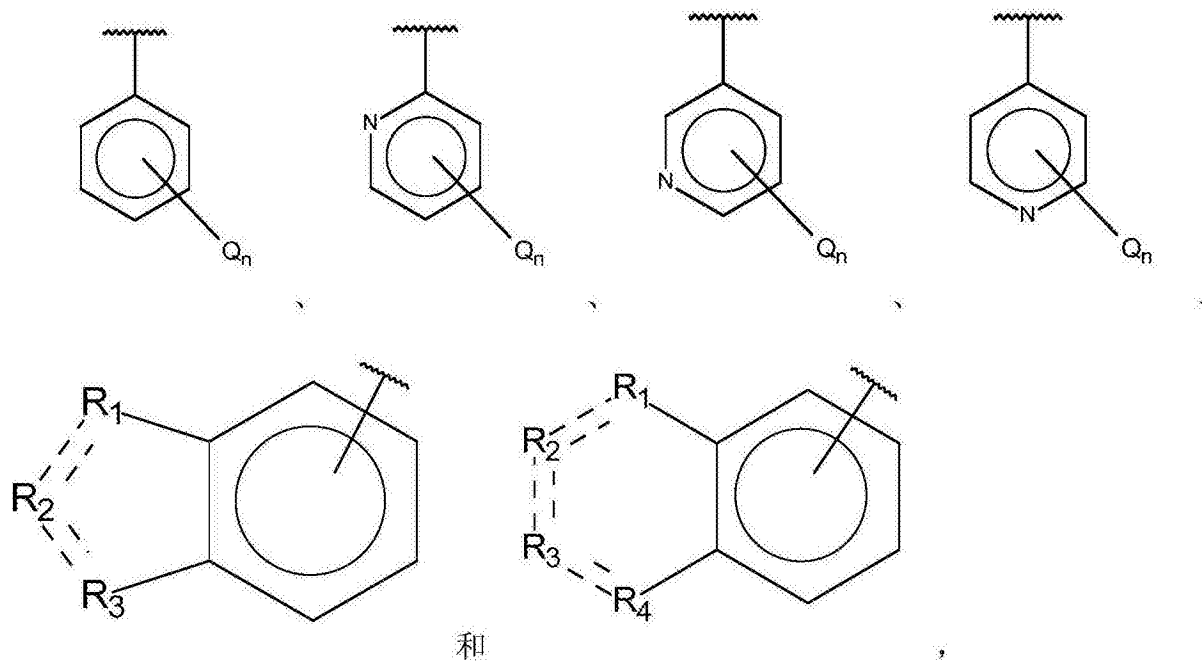
本发明涉及新型化合物及其在预防性和/或

1. 一种下式的化合物或其药学上可接受的盐



其中：

A选自由以下各项组成的组：



Q独立地选自卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基；

n为0、1、2、3、4或5；

R₁、R₃和R₄独立地是C、CH、CH₂、O、N、NH或S,并且

R₂是C、CH、CH₂、N、NH、C-CF₃、CH-CF₃或C=O,

其中当n为1时,Q不能够是羟基。

2. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中Q是选自由F、Cl、Br和I组成的组中的卤素。

3. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中Q是式-NHW的取代氨基并且其中:

W选自 $-\text{CN}$ 、 $-\text{SO}_2(\text{X})_a\text{Y}$ 和 $-\text{CO}(\text{X})_a\text{Y}$,

a是0或1,

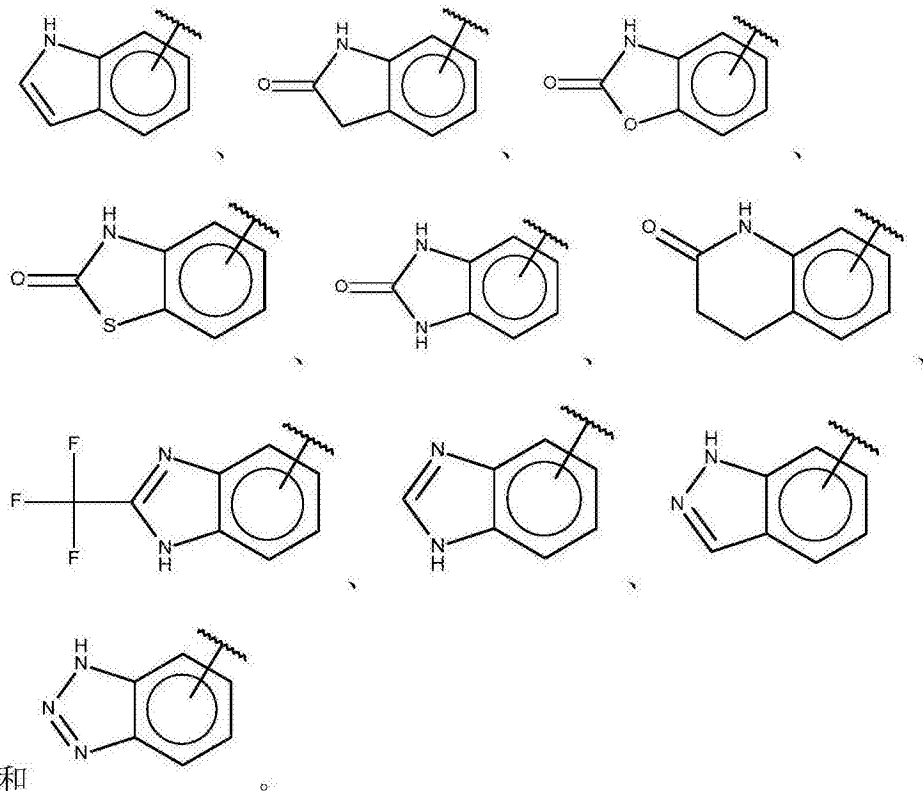
X选自-NH-和-O-,并且

Y选自-H、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH₂OH和-CH₂CH₂OH。

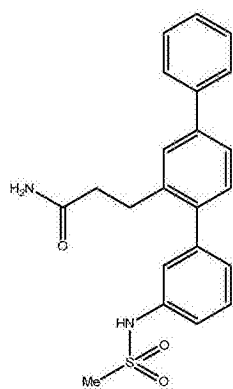
4. 根据权利要求1或权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中Q是选自由以下各项组成的组中的取代氨基:-NHSO₂CH₃、-NHCOH、-NHCONHCH₃、-NHCONHCH₂CH₃、-NHSO₂NHCH₃、-NHSO₂NHCH₂CH₃、-NHCOC₂H₅、-NHCOC₂H₅CH₂CH₂OH、-NHCONH₂和-NHCN。

5. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中Q是选自由甲基、乙基、丙基、丁基和戊基组成的组中的烷基。

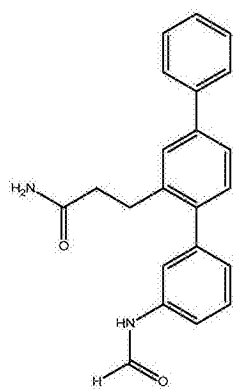
6. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中A选自:



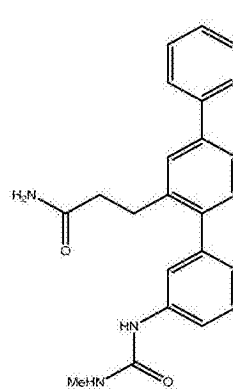
7. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物选自由以下各项组成的组:



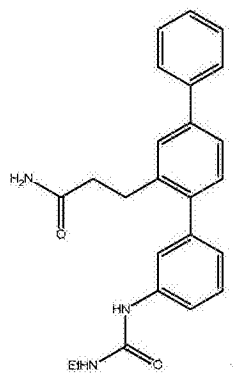
(T1)、



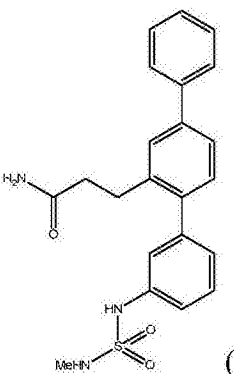
(T2)、



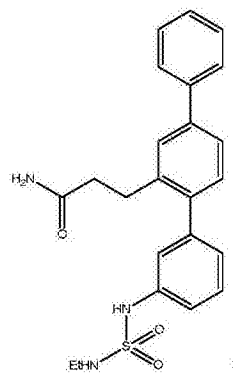
(T3)、



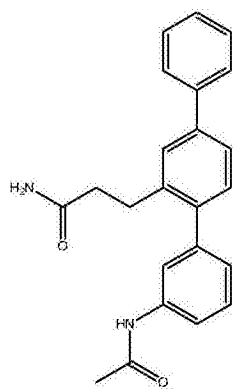
(T4)、



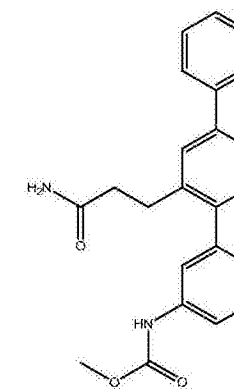
(T5)、



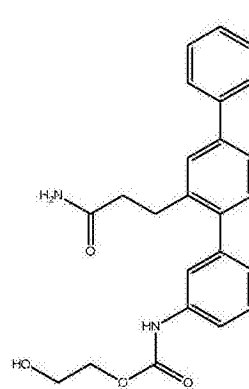
(T6)、



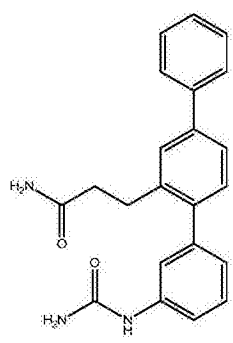
(T10)、



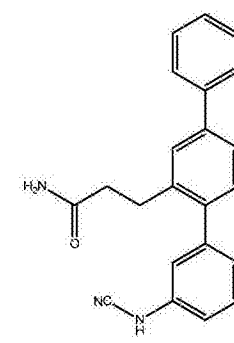
(T11)、



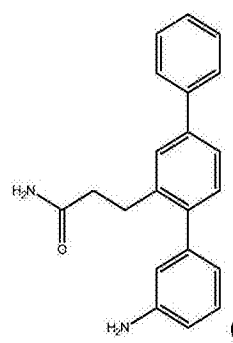
(T12)、



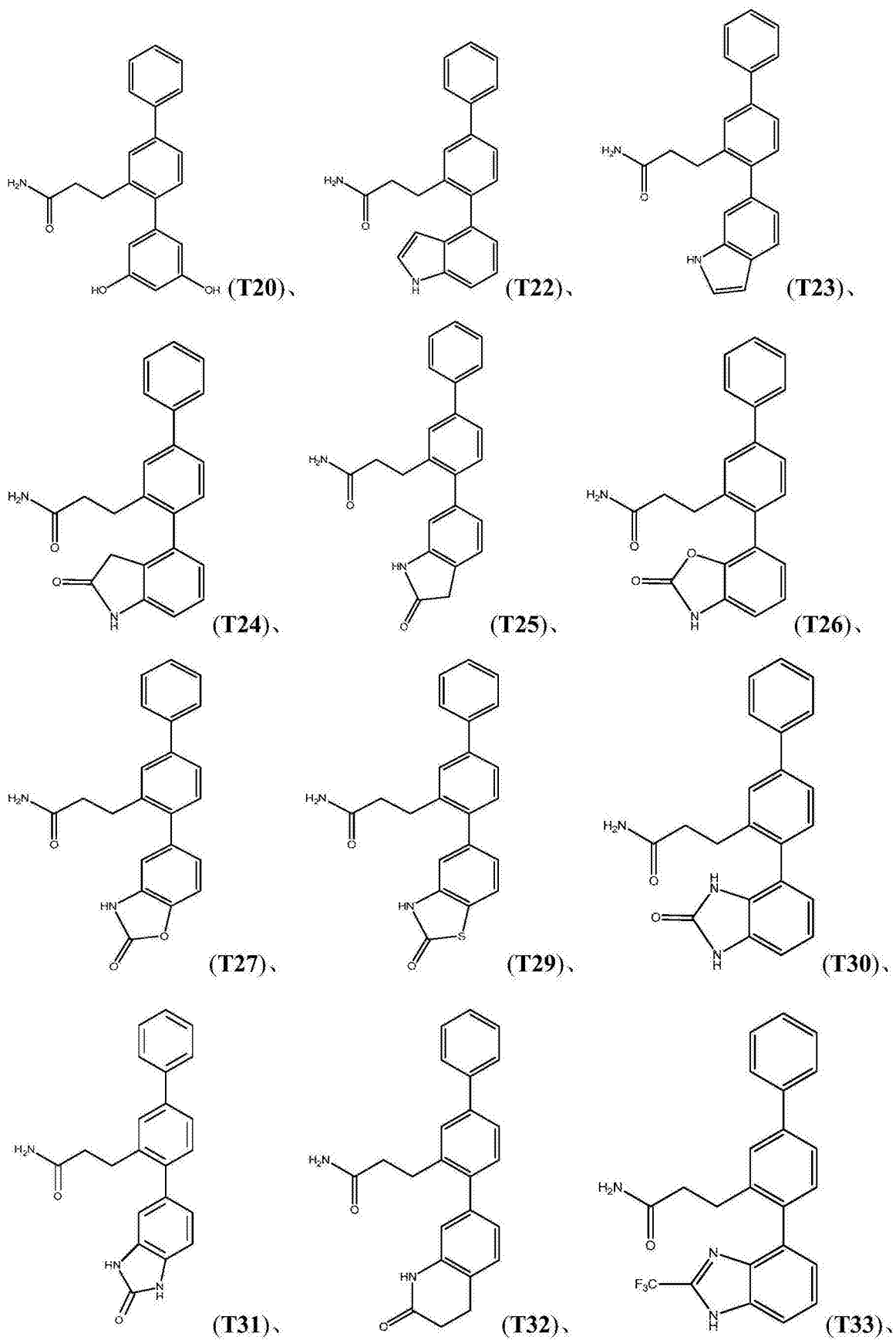
(T15)、

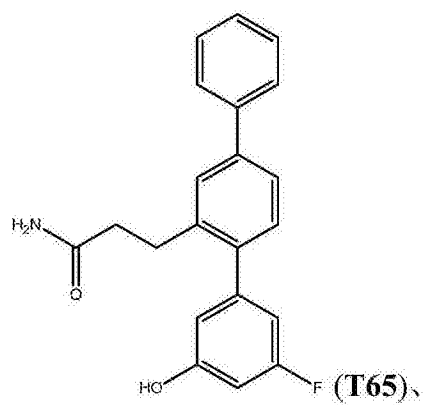
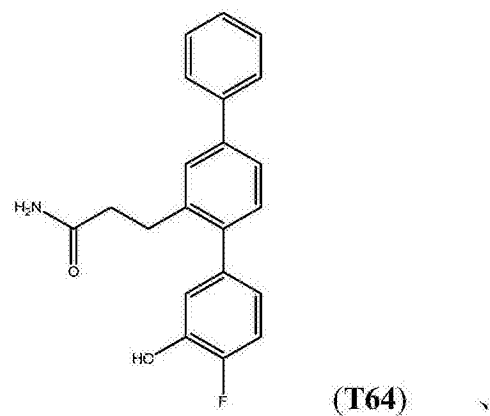
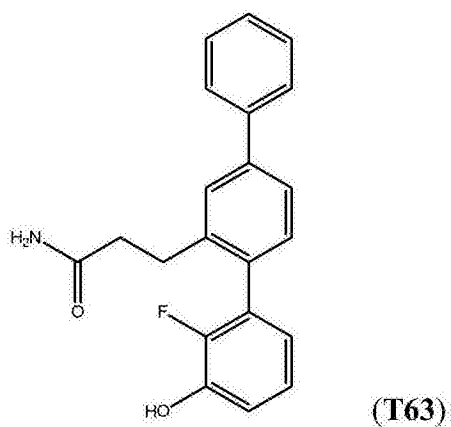
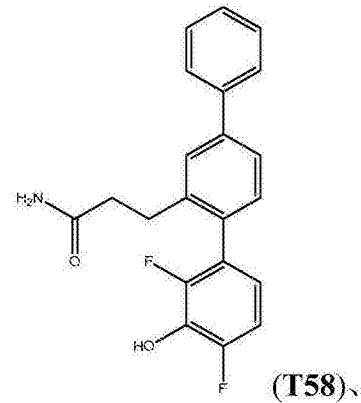
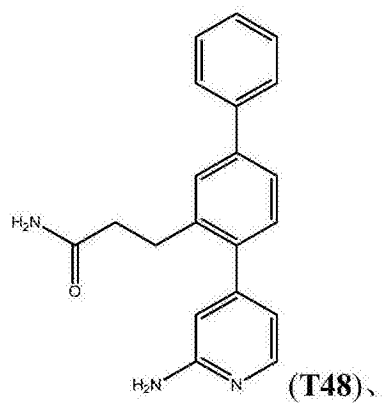
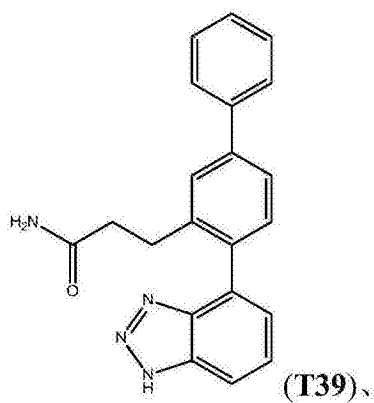
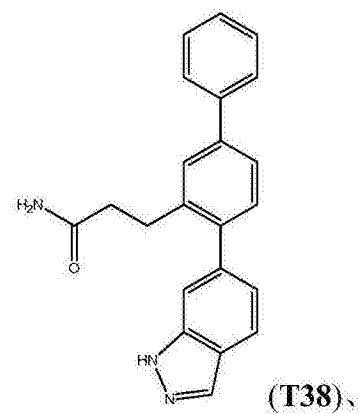
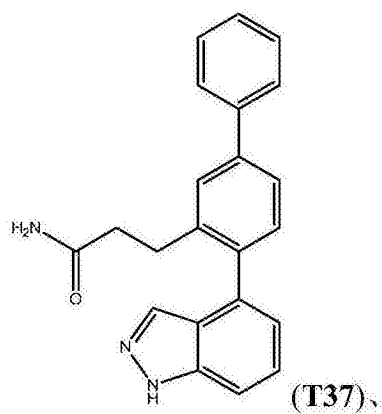
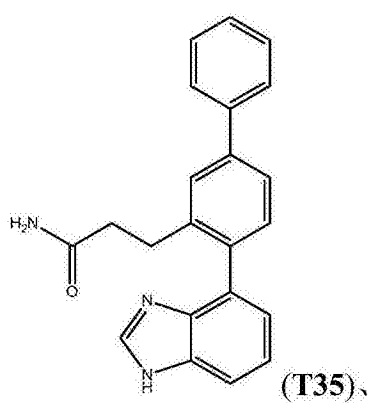


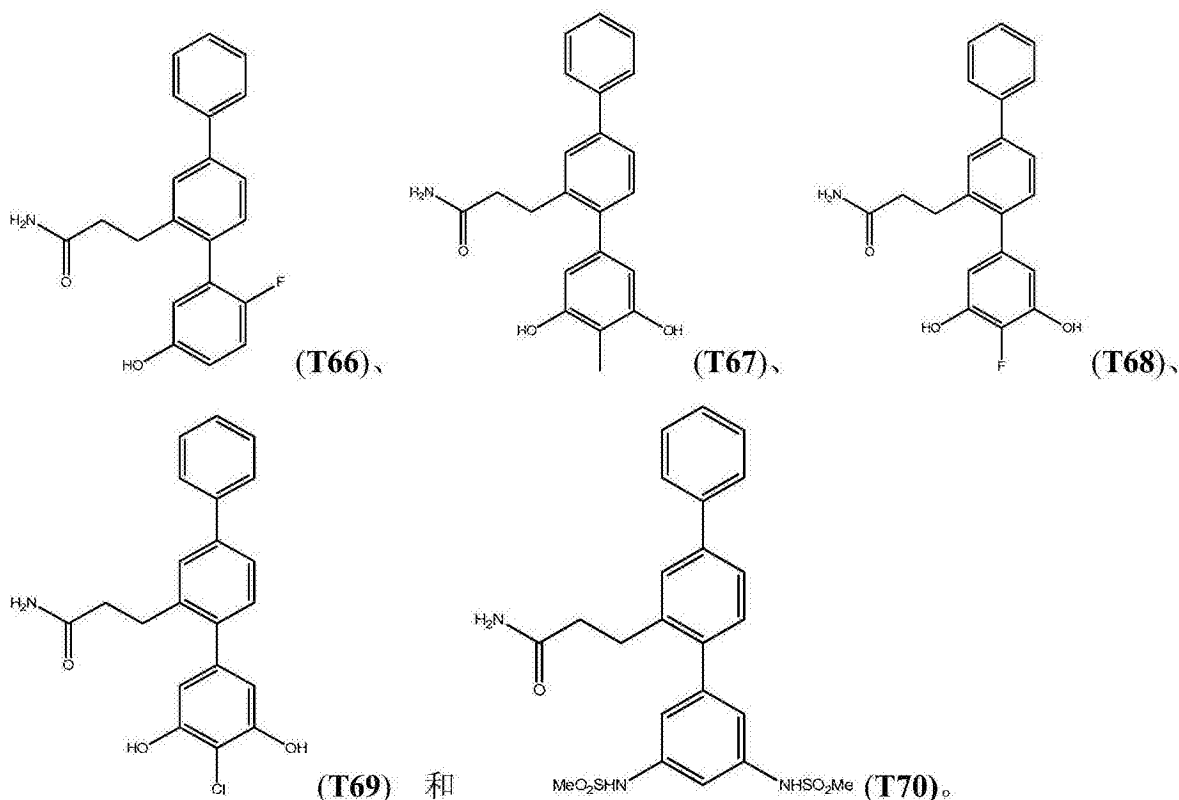
(T16)、



(T18)、







8. 一种药物组合物,所述药物组合物包含根据权利要求1至7中任一项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。

9. 根据权利要求1至7中任一项的化合物或其药学上可接受的盐用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性治疗高血压或高血压前期。

10. 根据权利要求1至7中任一项的化合物或其药学上可接受的盐用于制备药物的用途,所述药物用于预防性治疗纤维化。

11. 根据权利要求1至7中任一项的化合物或其药学上可接受的盐用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性治疗纤维化。

12. 根据权利要求1至7中任一项的化合物或其药学上可接受的盐用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性治疗高血压和纤维化。

13. 根据权利要求1至7中任一项的化合物或其药学上可接受的盐用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性治疗高血压前期和纤维化。

14. 根据权利要求10至13中的任一项所述的用途,其中所述纤维化是心肌纤维化或肾纤维化。

15. 根据权利要求10至13中的任一项所述的用途,其中所述纤维化是心肌纤维化和肾纤维化。

用于治疗高血压和/或纤维化的组合物

发明领域

[0001] 本发明涉及新型化合物及其在预防性和/或治疗性治疗心血管疾病,并且尤其是治疗高血压前期、高血压和/或纤维化病症中的用途。

[0002] 本发明最初开发用于预防性和/或治疗性治疗心血管疾病并且在下文将参考这种应用进行描述。然而,将理解本发明不局限于这种特定的使用领域。

[0003] 发明背景

[0004] 在本说明书通篇中的任何现有技术的讨论决不应被认为是承认这样的现有技术是广泛已知的或形成本领域常识的一部分。

[0005] 高血压影响全世界成年人口的26%,其中在西方国家中的发病率为30-33%。由于印度和中国的西化,高血压的世界范围发病率预期到2025年达到29%。当前的研究表明少于20%的患有高血压的患者达到他们的推荐血压(BP)目标并且为了实现这些目标,>75%的患者需要利用多种抗高血压药治疗。高血压前期(轻微升高的血压)影响美国31%的成人并且如果没有被治疗,则可能会发展成高血压。

[0006] 所有当前可利用的疗法具有副作用:

[0007] • 血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)-咳嗽、血管神经性水肿、高钾血症(hyperkalaemia);

[0008] • 血管紧张素受体阻滞剂(ARB's)-血管神经性水肿、高钾血症;

[0009] • 钙通道阻滞剂(CCB)-脸红、腿/踝水肿、便秘;

[0010] • 噻嗪类利尿药-新发糖尿病、痛风、低钠血症;

[0011] • β 受体阻滞剂-新发糖尿病、不能锻炼、心搏过缓、糖尿病患者低血糖的掩蔽;和

[0012] • 醛固酮拮抗剂-男性乳房发育、月经过多、高钾血症。

[0013] 对于使用联合疗法的需要增大了患者将经历副作用并且因此不会达到他们的BP目标的可能性。

[0014] 高血压和高血压前期是发展心脏、肾和血管损伤中的主要因素,导致正常功能组织被伤疤组织或纤维化替代。当前的抗高血压药中的一些-ACE抑制剂、ARB's肾素抑制剂和醛固酮拮抗剂能够减缓功能组织被纤维化替代的进展,都还没有显示反转已有的纤维化并且恢复正常组织结构。因此对于对显著降低BP具有效力并由此利用单一药剂疗法使得更大比例的患者能够达到BP目标和/或反转已有的纤维化和/或恢复正常组织结构的药剂存在需要。

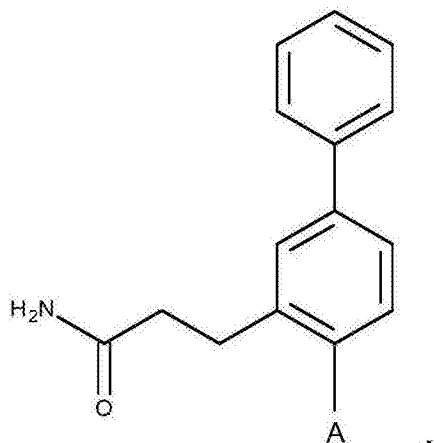
[0015] 本发明的一个目的是克服或改善现有技术的缺点中的至少一个或提供有用的替代方案。

[0016] 发明概述

[0017] 令人惊讶地,本发明的发明人已发现,某些新型三联苯化合物具有血压降低和/或抗纤维化作用。这些作用可以在静脉内和/或口服剂量研究中看到。

[0018] 根据一个方面,本发明提供一种下式的化合物或其立体异构体或药学上可接受的盐

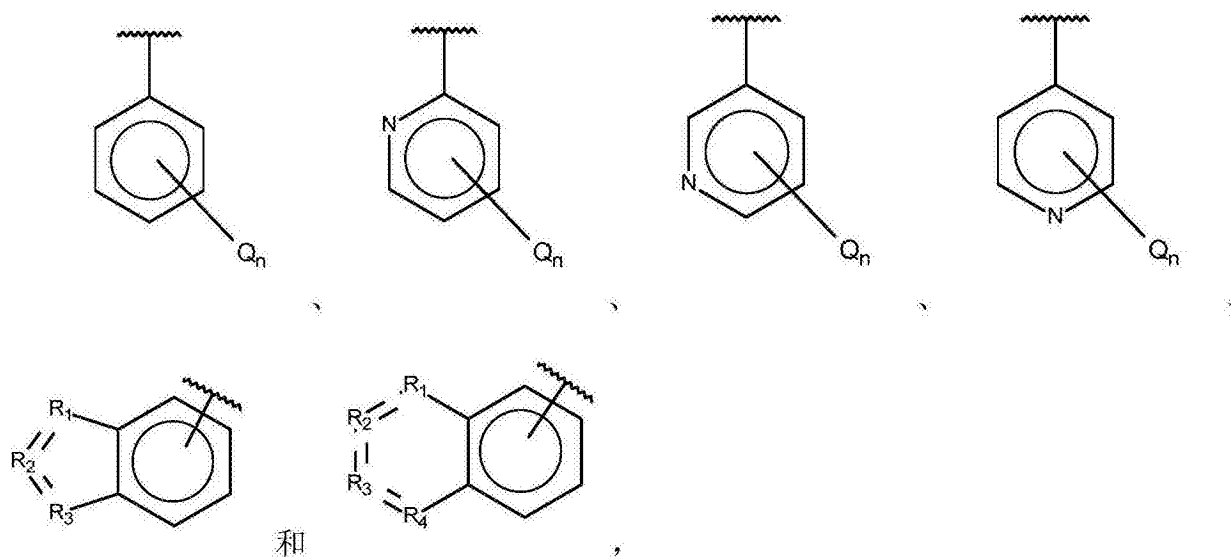
[0019]



[0020] 其中：

[0021] A选自由以下各项组成的组：

[0022]



[0023] Q独立地选自卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基；

[0024] n为0、1、2、3、4或5；

[0025] R₁、R₃和R₄独立地是C、CH、CH₂、O、N、NH或S，并且[0026] R₂是C、CH、CH₂、N、NH、C-CF₃、CH-CF₃或C=O，

[0027] 其中当n为1时，Q不能够是羟基。

[0028] 在一个实施方案中，Q是选自由F、Cl、Br和I组成的组中的卤素。

[0029] 在一个实施方案中，Q是式-NHW的取代氨基并且其中：

[0030] W选自-CN、-SO₂(X)_aY和-CO(X)_aY，

[0031] a是0或1，

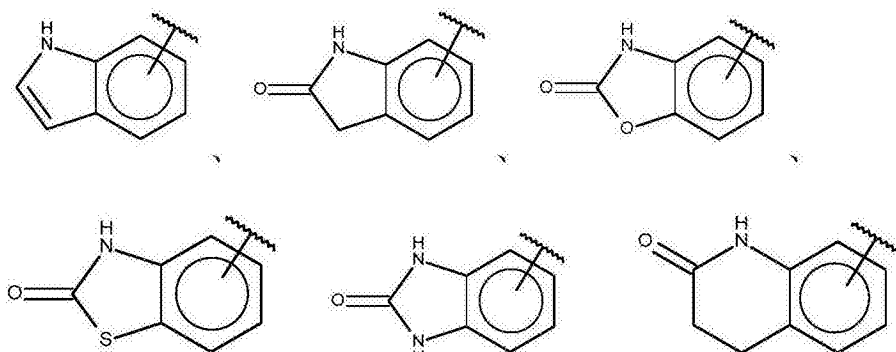
[0032] X选自-NH-和-O-，并且

[0033] Y选自-H、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH₂OH和-CH₂CH₂OH。

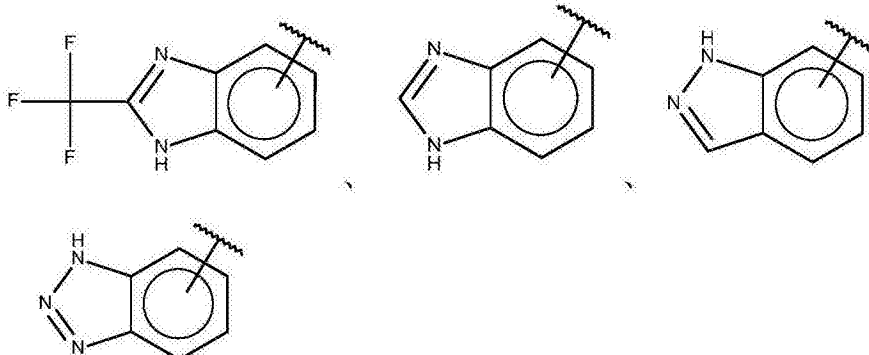
[0034] 在一个实施方案中，Q是选自由以下各项组成的组中的取代氨基：-NHSO₂CH₃、-NHCOH、-NHCONHCH₃、-NHCONHCH₂CH₃、-NHSO₂NHCH₃、-NHSO₂NHCH₂CH₃、-NHCOCH₃、-NHC(=O)OCH₃、-NHC(=O)OCH₂CH₂OH、-NHCONH₂和-NHCN。

[0035] 在一个实施方案中,Q是选自由甲基、乙基、丙基、丁基和戊基组成的组中的烷基。

[0036] 在一个实施方案中,A选自:

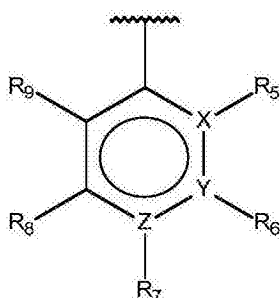


[0037]



和

[0038] 在一个实施方案中,A是



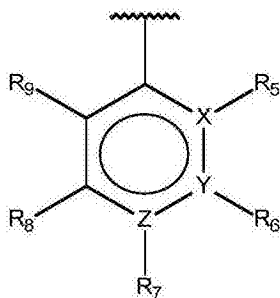
[0039]

[0040] 其中:

[0041] X、Y或Z是C或N,其中仅X、Y或Z中的一个可以是N,

[0042] R₅至R₉独立地选自氢、卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基,条件是当R₅至R₉中的一个为卤素时,那么剩余的R₅至R₉中的至少一个不能是氢。

[0043] 在一个实施方案中,A是



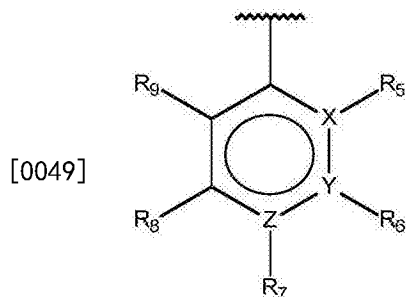
[0044]

[0045] 其中：

[0046] X、Y或Z是C或N，其中仅X、Y或Z中的一个可以是N，

[0047] R₅至R₉独立地选自氢、卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基，条件是当R₅至R₉中的一个为卤素时，那么剩余的R₅至R₉中的至少一个必须是卤素、烷基、羟基、氨基或取代氨基。

[0048] 在一个实施方案中，A是

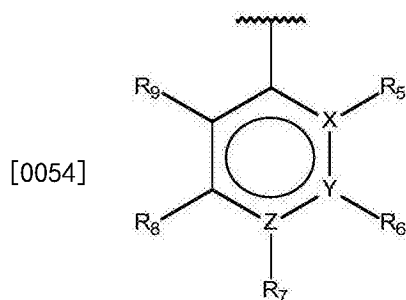


[0050] 其中：

[0051] X、Y或Z是C或N，其中仅X、Y或Z中的一个可以是N，

[0052] R₅至R₉独立地选自氢、卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基，条件是当R₅至R₉中的一个为卤素时，那么剩余的R₅至R₉中的至少一个必须是烷基、羟基、氨基或取代氨基。

[0053] 在一个实施方案中，A是

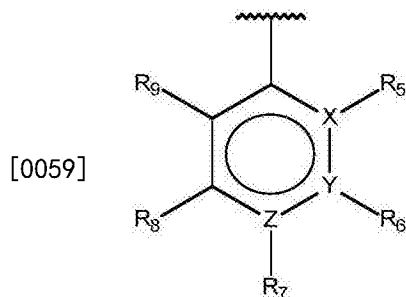


[0055] 其中：

[0056] X、Y或Z是C或N，其中仅X、Y或Z中的一个可以是N，

[0057] R₅至R₉独立地选自氢、卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基，条件是当R₅至R₉中的一个为烷基时，那么剩余的R₅至R₉中的至少一个不能是氢。

[0058] 在一个实施方案中，A是

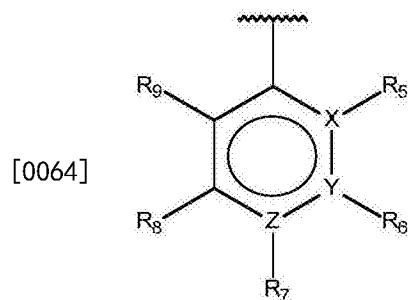


[0060] 其中：

[0061] X、Y或Z是C或N，其中仅X、Y或Z中的一个可以是N，

[0062] R₅至R₉独立地选自氢、卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基,条件是当R₅至R₉中的一个为烷基时,那么剩余的R₅至R₉中的至少一个必须是卤素、烷基、羟基、氨基或取代氨基。

[0063] 在一个实施方案中,A是

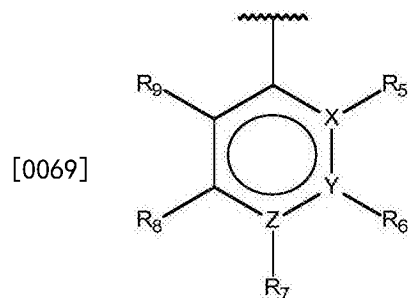


[0065] 其中:

[0066] X、Y或Z是C或N,其中仅X、Y或Z中的一个可以是N,

[0067] R₅至R₉独立地选自氢、卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基,条件是当R₅至R₉中的一个为烷基时,那么剩余的R₅至R₉中的至少一个必须是卤素、羟基、氨基或取代氨基。

[0068] 在一个实施方案中,A是

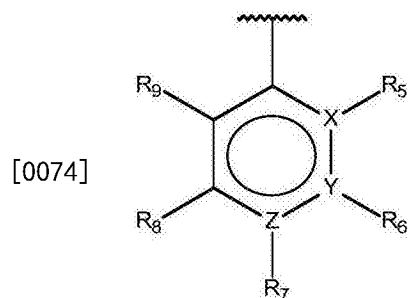


[0070] 其中:

[0071] X、Y或Z是C或N,其中仅X、Y或Z中的一个可以是N,

[0072] R₅至R₉独立地选自氢、卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基,条件是当R₅至R₉中的一个为羟基时,那么剩余的R₅至R₉中的至少一个不能是氢。

[0073] 在一个实施方案中,A是



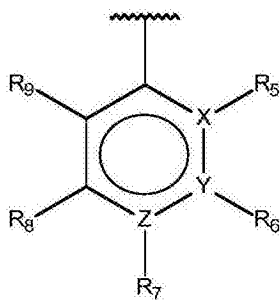
[0075] 其中:

[0076] X、Y或Z是C或N,其中仅X、Y或Z中的一个可以是N,

[0077] R₅至R₉独立地选自氢、卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基,条件是当R₅至R₉中的一个为羟基时,那么剩余的R₅至R₉中的至少一个必须是卤素、羟基、氨基或取代氨基。

[0078] 在一个实施方案中,A是

[0079]



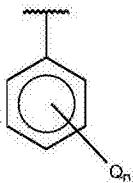
[0080] 其中：

[0081] X、Y或Z是C或N，其中仅X、Y或Z中的一个可以是N，

[0082] R₅至R₉独立地选自氢、卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基，条件是当R₅至R₉中的一个为羟基时，那么剩余的R₅至R₉中的至少一个必须是卤素、氨基或取代氨基。

[0083]

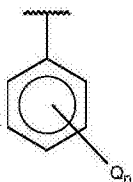
在一个实施方案中，A是



Q是取代氨基并且n是1。

[0084]

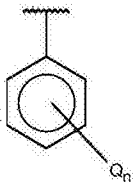
在一个实施方案中，A是



Q是取代氨基并且n是2。

[0085]

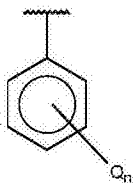
在一个实施方案中，A是



Q是氨基并且n是1。

[0086]

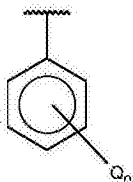
在一个实施方案中，A是



Q是氨基并且n是2。

[0087]

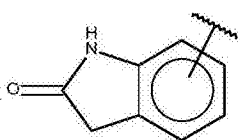
在一个实施方案中，A是

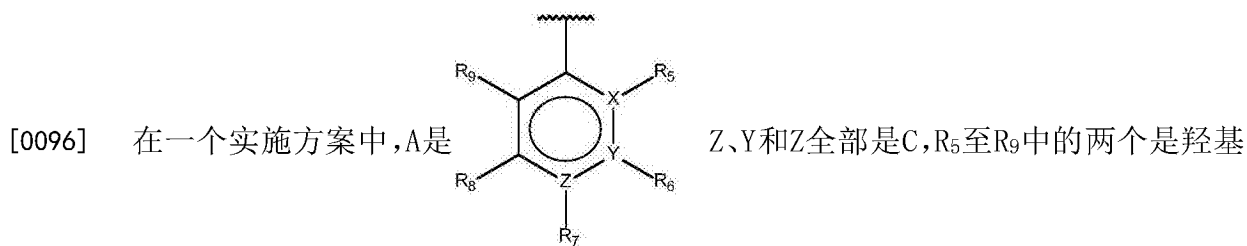
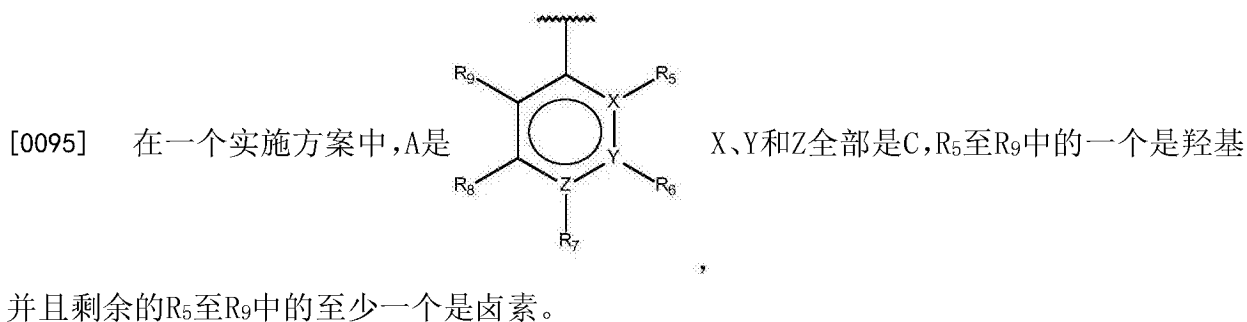
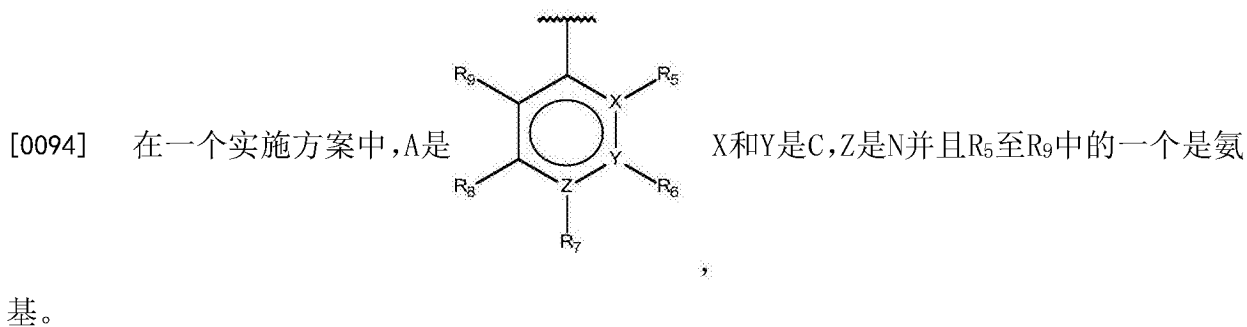
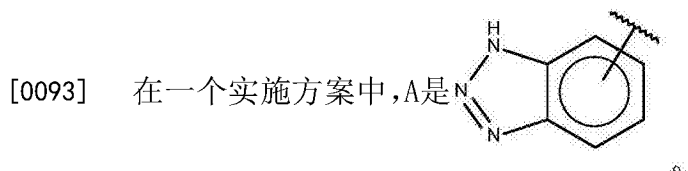
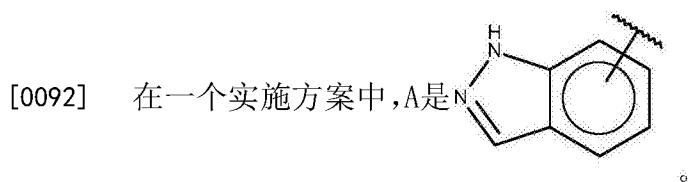
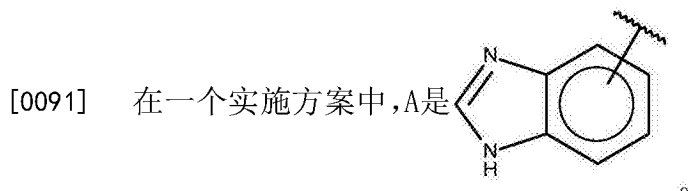
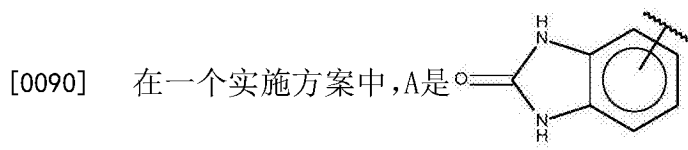
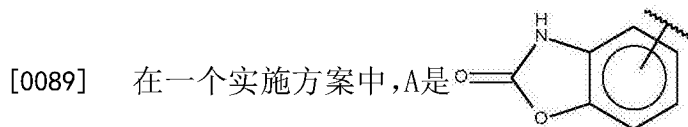


Q是羟基并且n是2。

[0088]

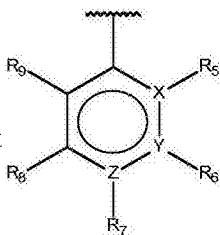
在一个实施方案中，A是





并且剩余的R₅至R₉中的至少一个是卤素。

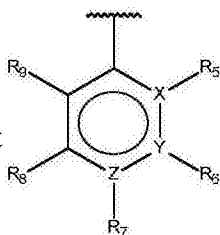
[0097] 在一个实施方案中,A是



Z、Y和Z全部是C,R₅至R₉中的两个是羟基

并且剩余的R₅至R₉中的至少一个是烷基。

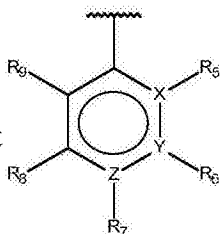
[0098] 在一个实施方案中,A是



Z、Y和Z全部是C,R₅至R₉中的一个为烷基

并且剩余的R₅至R₉中的至少一个是羟基。

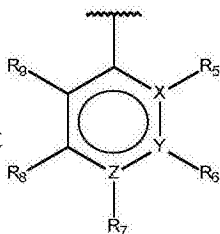
[0099] 在一个实施方案中,A是



Z、Y和Z全部是C,R₅至R₉中的一个为卤素

并且剩余的R₅至R₉中的至少一个是羟基。

[0100] 在一个实施方案中,A是

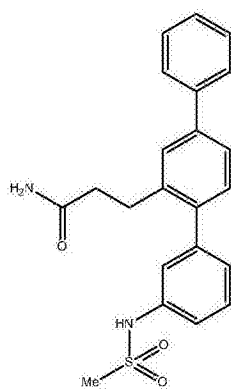


Z、Y和Z全部是C,R₅至R₉中的两个为卤素

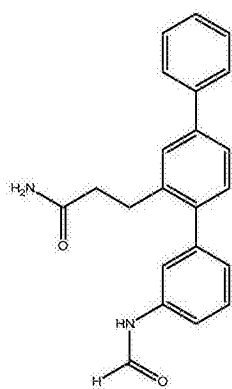
并且剩余的R₅至R₉中的至少一个是羟基。

[0101] 在一个实施方案中,所述化合物选自由以下各项组成的组:

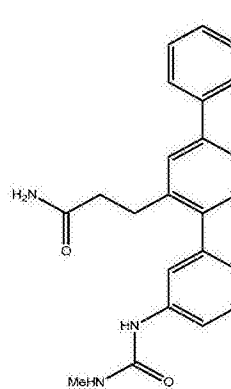
[0102]



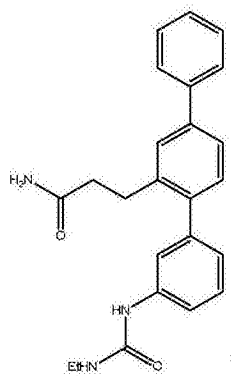
(T1)、



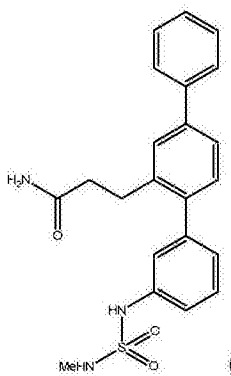
(T2)、



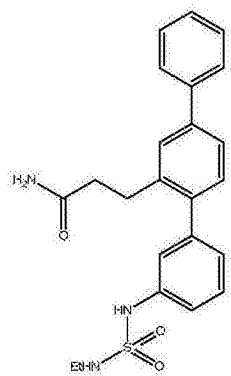
(T3)、



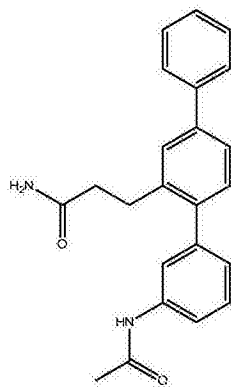
(T4)、



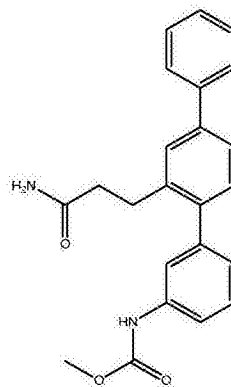
(T5)、



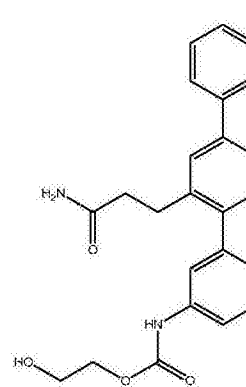
(T6)、



(T10)、

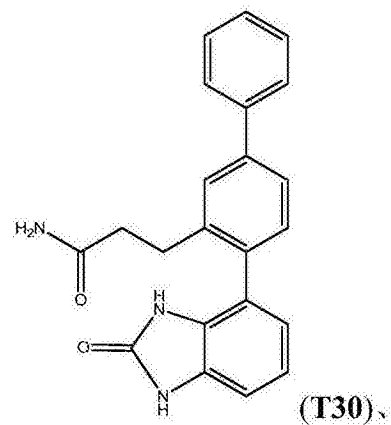
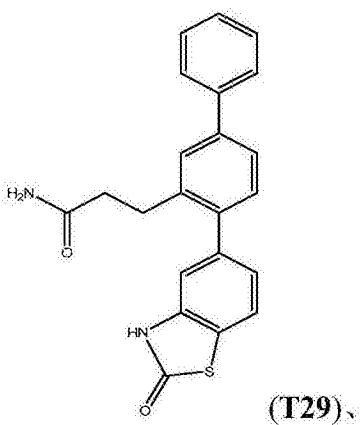
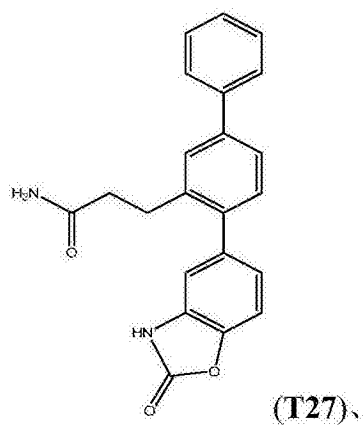
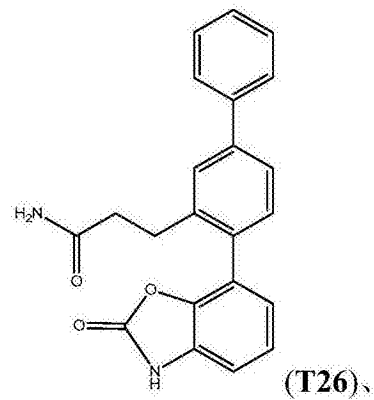
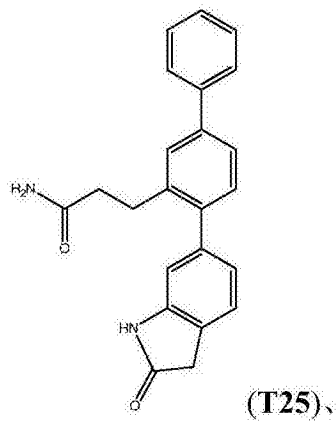
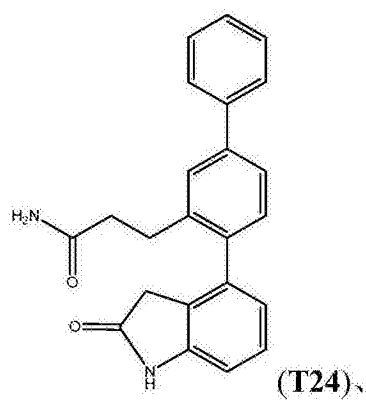
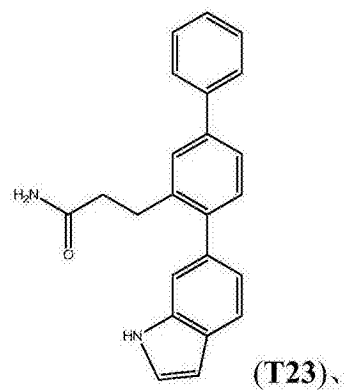
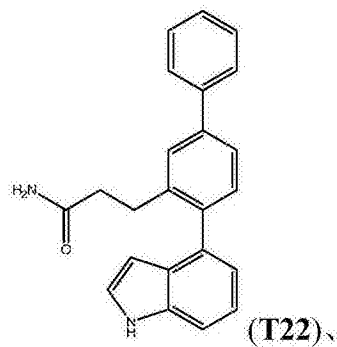
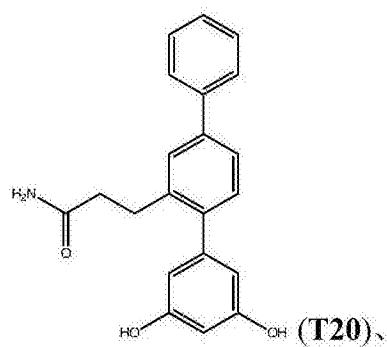
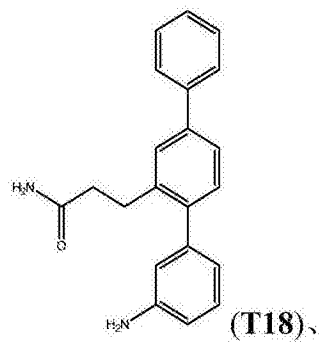
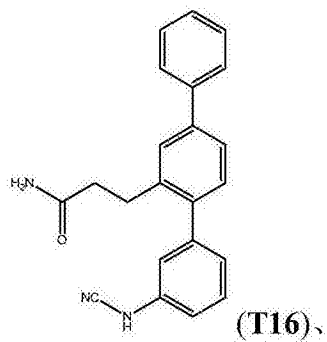
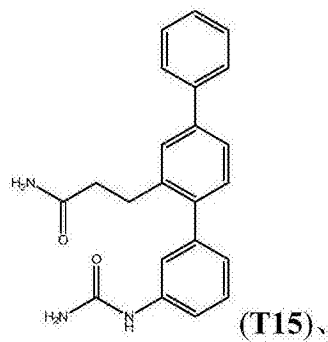


(T11)、

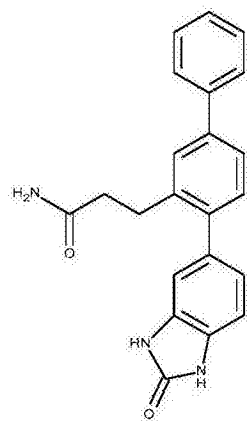


(T12)、

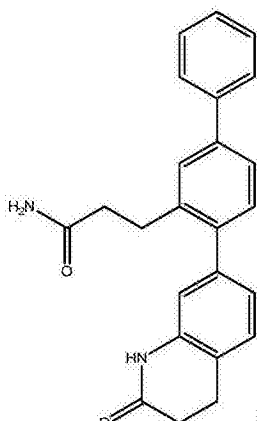
[0103]



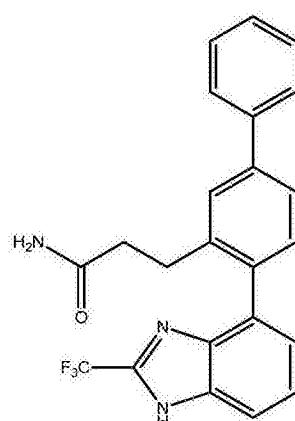
[0104]



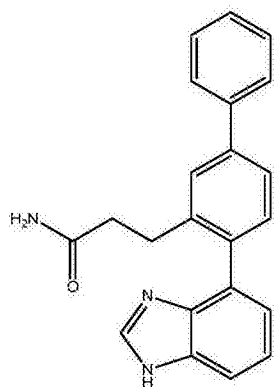
(T31)、



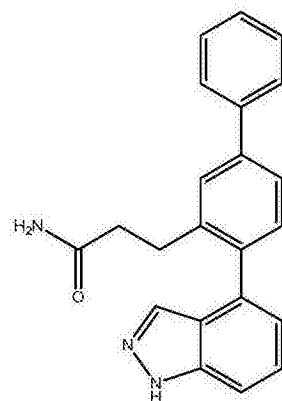
(T32)、



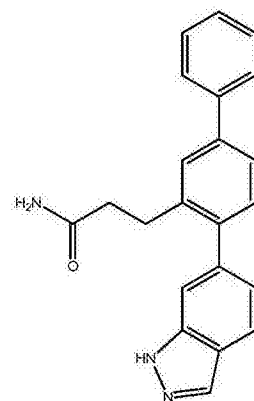
(T33)、



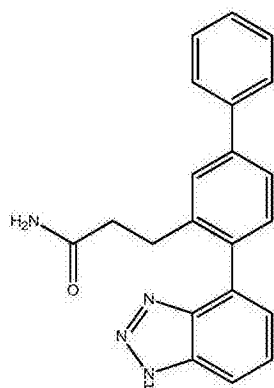
(T35)、



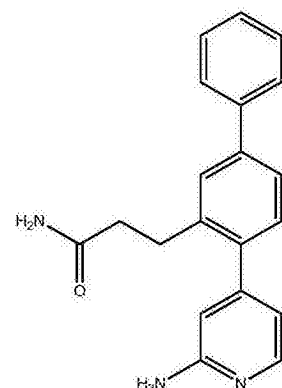
(T37)、



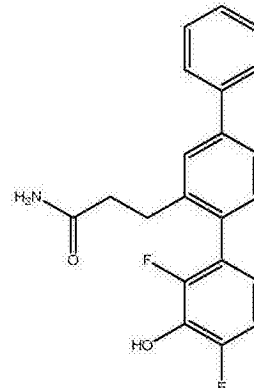
(T38)、



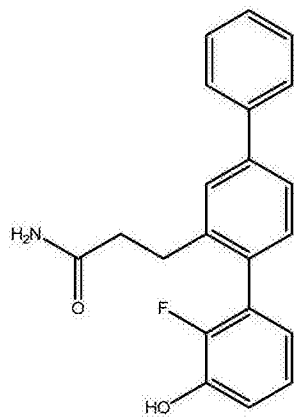
(T39)、



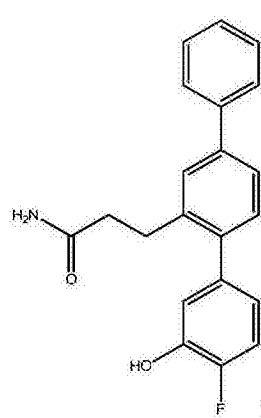
(T48)、



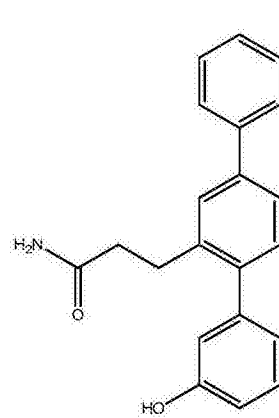
(T58)、



(T63)、

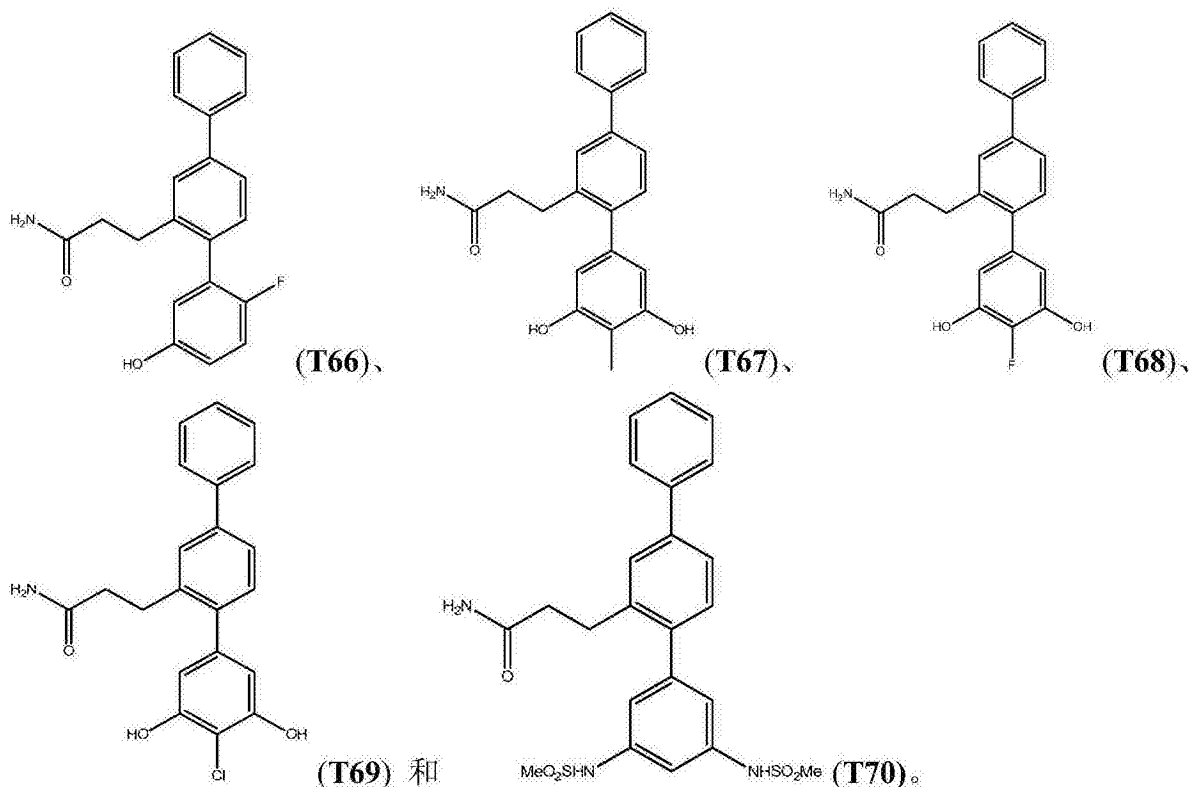


(T64)、



(T65)、

[0105]



[0106] 根据另一个方面,本发明涉及一种药物组合物,其包含本发明的化合物和药学上可接受的赋形剂。

[0107] 根据另一个方面,本发明涉及一种用于治疗性治疗受试者的高血压或高血压前期的方法,包括向所述受试者施用根据本发明的化合物。

[0108] 根据另一个方面,本发明涉及一种用于治疗性治疗受试者的纤维化的方法,包括向所述受试者施用根据本发明的化合物。

[0109] 根据另一个方面,本发明涉及一种用于预防性治疗受试者的纤维化的方法,包括向所述受试者施用根据本发明的化合物。

[0110] 根据另一个方面,本发明涉及一种用于治疗性治疗受试者的高血压和纤维化的方法,包括向所述受试者施用根据本发明的化合物。

[0111] 根据另一个方面,本发明涉及一种用于治疗性治疗受试者的高血压前期和纤维化的方法,包括向所述受试者施用根据本发明的化合物。

[0112] 在一个实施方案中,所述纤维化是心肌纤维化或肾纤维化。

[0113] 在另一个实施方案中,所述纤维化是心肌纤维化和肾纤维化。

[0114] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物,其用于治疗性治疗高血压或高血压前期。

[0115] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物,其用于治疗性治疗纤维化。

[0116] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物,其用于预防性治疗纤维化。

[0117] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物,其用于治疗性治疗高血压和纤维化。

[0118] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物,其用于治疗性治疗高血压前期和

纤维化。

[0119] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性治疗高血压或高血压前期。

[0120] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性治疗纤维化。

[0121] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于预防性治疗纤维化。

[0122] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性治疗高血压和纤维化。

[0123] 根据另一个方面,本发明涉及本发明的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性治疗高血压前期和纤维化。

[0124] 除非上下文明确地另有要求,在本说明书和权利要求书通篇中,术语“包含”、“包括”等以与排他性或穷举性意义相反的包容性意义进行解释,也就是说,以“包括,但不限于”的意义进行解释。

[0125] 附图简述

[0126] 图1:三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯的合成。

[0127] 图2:T1、T2、T10和T18的合成。

[0128] 图3:(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯的合成。

[0129] 图4:T20的合成。

[0130] 图5:T70的合成。

[0131] 图6:T48的合成。

[0132] 图7:三氟甲磺酸3-(3-氨基-3-氧代丙基)联苯-4-基酯的合成。

[0133] 图8:T25的合成。

[0134] 图9:吡啶酮频哪醇硼酸酯的合成。

[0135] 图10:T31的合成。

[0136] 图11:处于三种浓度62.5 μ M(空心条)、125 μ M(阴影条)和250 μ M(实心条)的多种化合物在大鼠A10血管平滑肌细胞上的基线归一化细胞指数,如使用xCELLigence RTCA仪器确定的。

[0137] 图12:处于三种浓度62.5 μ M(空心条)、125 μ M(阴影条)和250 μ M(实心条)的多种化合物在牛主动脉内皮细胞上的基线归一化细胞指数,如使用xCELLigence RTCA仪器确定的。

[0138] 图13:在4周治疗后在2.2%含盐饮食上,在对照和所治疗的自发性高血压大鼠(SHR)的收缩期(阴影条)和舒张期(空心条)血压。T1、T2、T20、T31和T48以在饮用溶液(5%乙醇)中的500pmol/kg/min施用达4周,T70以在饮用溶液中的100pmol/kg/min施用。 $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.005$ 和 $****p<0.0005$,所治疗的收缩期相对于对照收缩期; $\#p<0.05$, $\#\#p<0.025$ 和 $\#\#\#p<0.005$,所治疗的舒张期相对于对照的舒张期。

[0139] 图14:多种化合物的A10血管平滑肌细胞的基线归一化细胞指数和收缩期血压之间的关系。

[0140] 图15:多种化合物的牛主动脉内皮细胞的基线归一化细胞指数和收缩期血压之间

的关系。

[0141] 图16:在14周在2.2%含盐饮食上和在利用在饮用溶液中的药物或赋形剂对照治疗4周之后,在SHR中的Masson三色染色组织切片上通过计算机化组织形态测定术定量的心肌纤维化。 $*p<0.005$, $**p<0.001$ 和 $***p<0.0005$,相对于18周赋形剂治疗的对照。 $\#p<0.05$, $\##p<0.01$, $\###p<0.005$ 和 $####p<0.0005$,相对于14周对照。后一种比较表明反转已有病理学的能力。

[0142] 图17:在14周在2.2%含盐饮食上和在利用在饮用溶液中的药物或赋形剂对照治疗4周之后,在SHR中的Masson三色染色组织切片上通过计算机化组织形态测定术定量的肾中的间质性纤维化。 $*p<0.005$, $**p<0.001$ 和 $***p<0.0005$,相对于18周赋形剂治疗对照。 $\#p<0.05$,相对于14周对照。后一种比较表明反转已有病理学的能力。

[0143] 图18:多种化合物的牛主动脉内皮细胞的基线归一化细胞指数和心肌纤维化之间的关系。

[0144] 图19:多种化合物的牛主动脉内皮细胞的基线归一化细胞指数和肾间质性纤维化之间的关系。

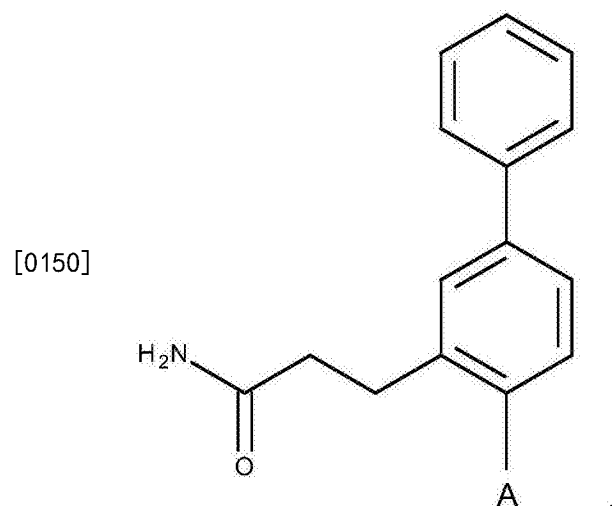
[0145] 图20:对照大鼠(A)和利用500pmol/kg/min的T1(B)、T2(C)、T20(D)或T31(E)治疗四周的大鼠的心脏的显微照片。

[0146] 图21:对照大鼠(A)和利用500pmol/kg/min的T1(B)、T2(C)、T20(D)或T31(E)治疗四周的大鼠的肾脏的显微照片。

[0147] 发明详述

[0148] 本发明涉及某些新型三联苯化合物,其在实验动物模型中在口服剂量研究中显示血压降低和抗纤维化作用。关于抗纤维化活性,本发明的化合物在防止纤维化、减慢已形成纤维化的进展和/或降低已建立纤维化的程度(反转)方面是有效的。对于可以利用本发明的化合物进行治疗的病症的范围和严重程度来说,这些是重要的发现。

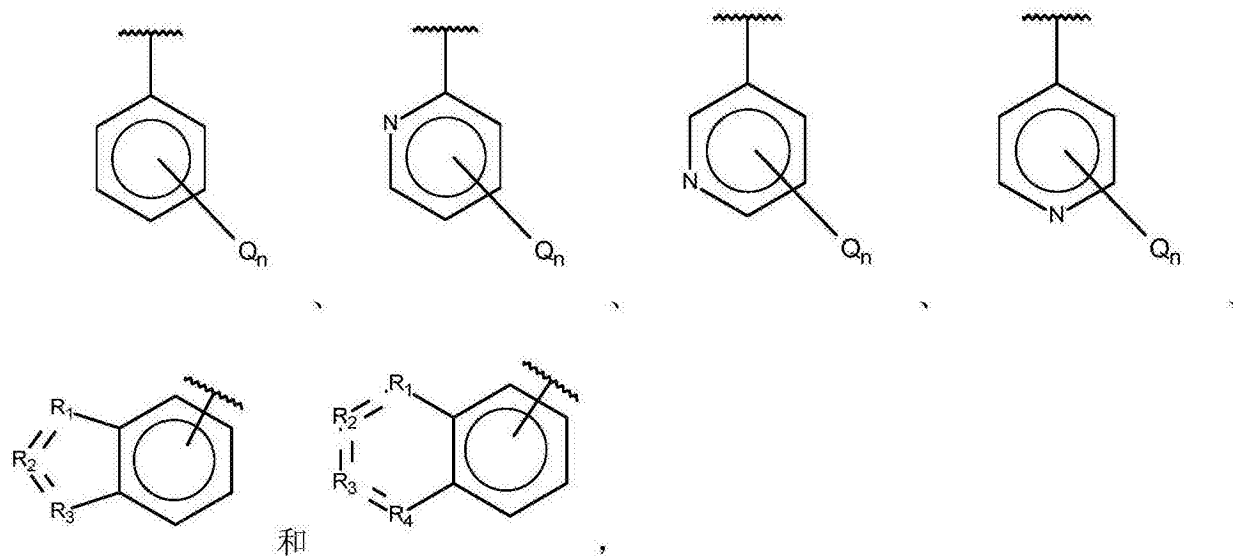
[0149] 本发明的化合物由下式表示:



[0151] 其中:

[0152] A选自由以下各项组成的组:

[0153]



[0154] Q独立地选自卤素、烷基、羟基、氨基和取代氨基；

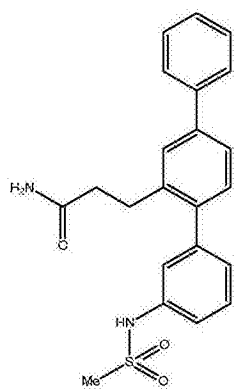
[0155] n为0、1、2、3、4或5；

[0156] R_1 、 R_3 和 R_4 独立地是C、CH、CH₂O、N、NH或S，并且[0157] R_2 是C、CH、CH₂、N、NH、C-CF₃、CH-CF₃或C=O，

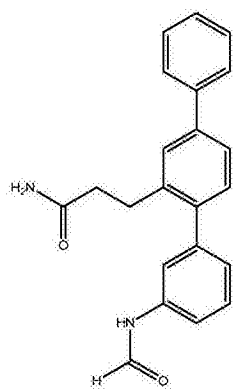
[0158] 或其立体异构体或药学上可接受的盐，

[0159] 其中当n为1时，Q不能够是羟基。

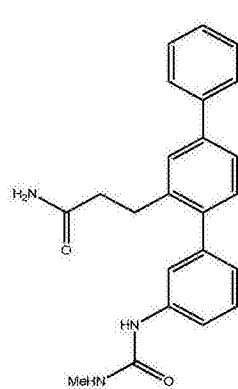
[0160] 以下化合物是本发明化合物的具体但非限制性实例：



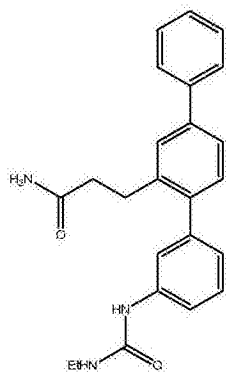
(T1)、



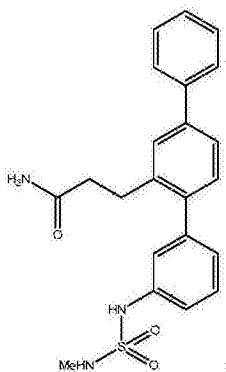
(T2)、



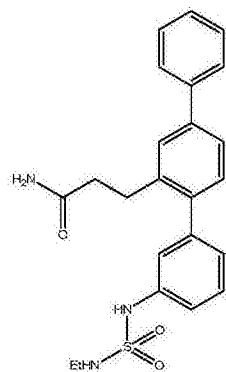
(T3)、



(T4)、

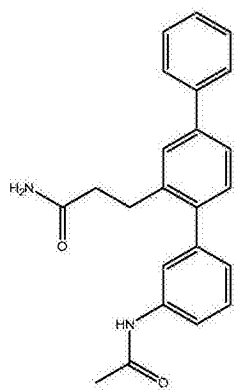


(T5)、

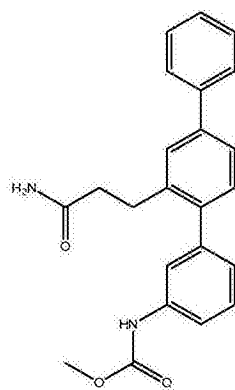


(T6)、

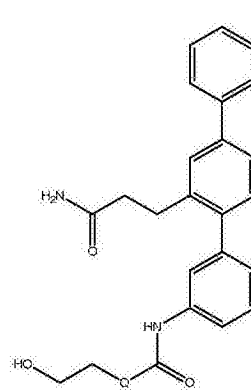
[0161]



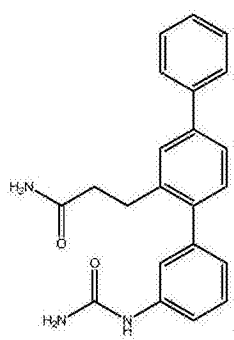
(T10)、



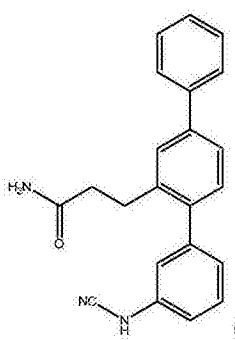
(T11)、



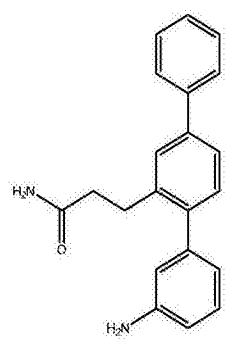
(T12)、



(T15)、

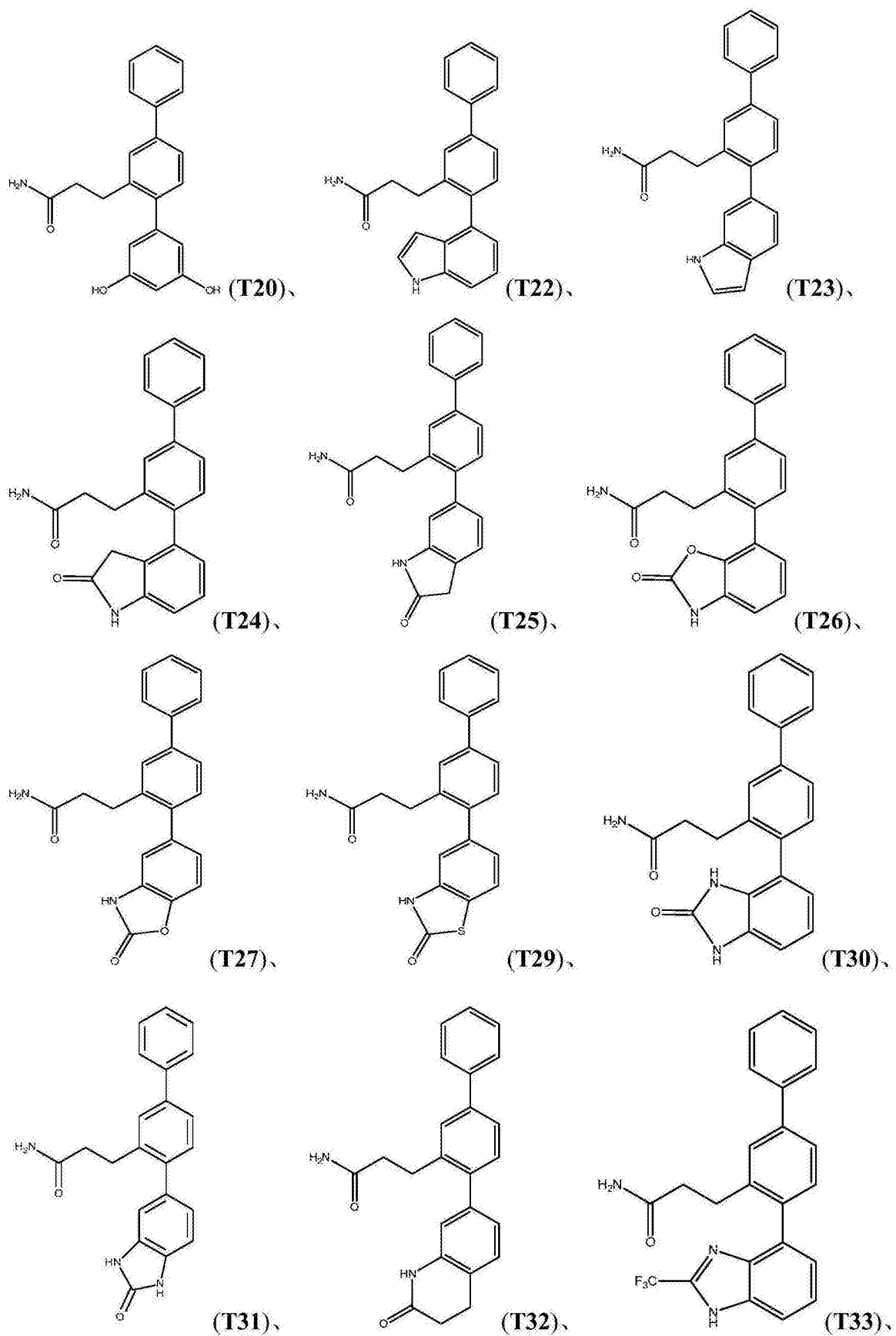


(T16)、

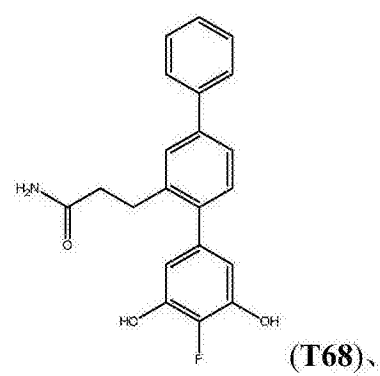
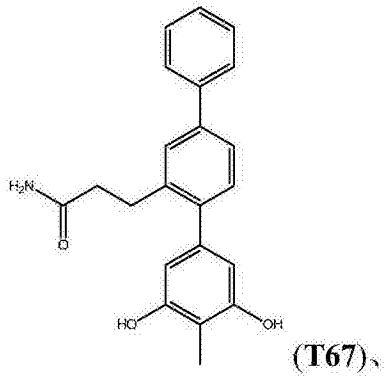
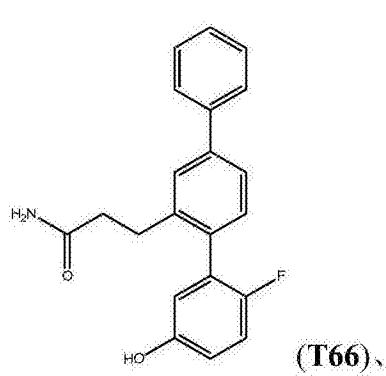
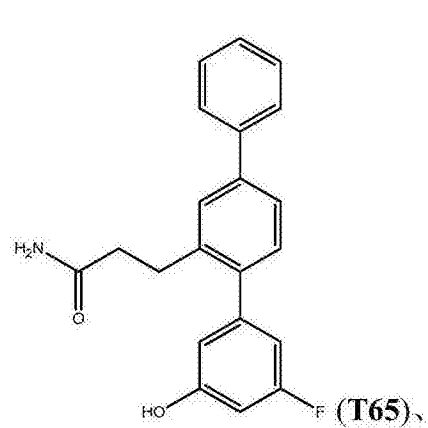
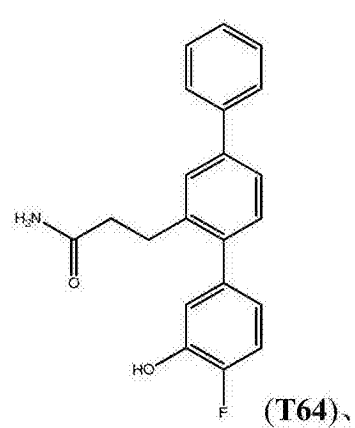
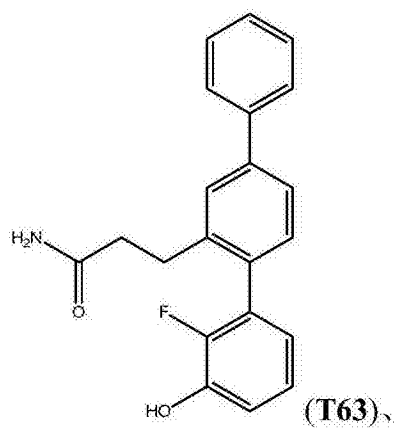
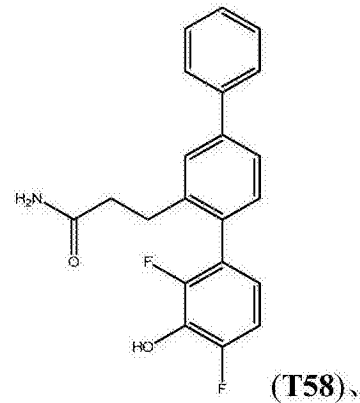
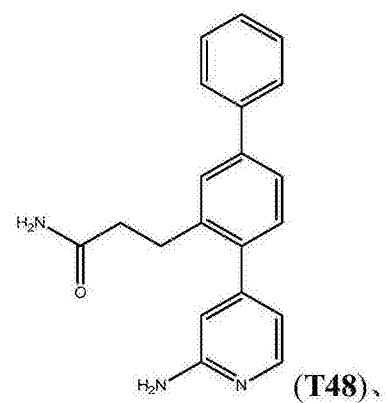
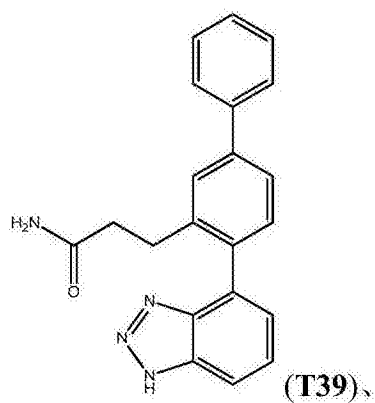
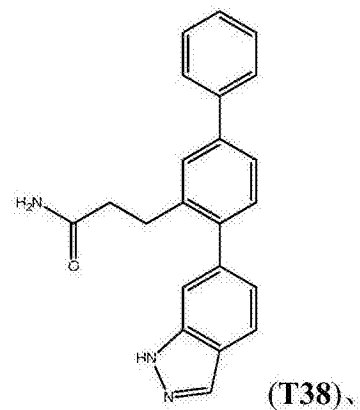
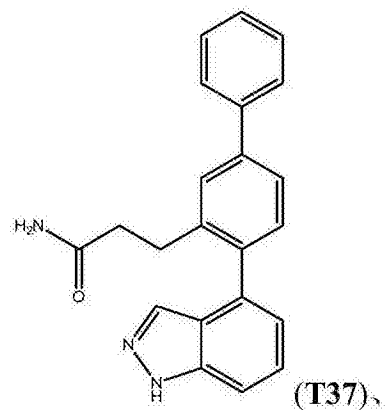
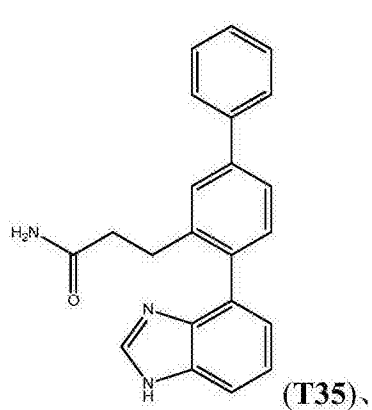


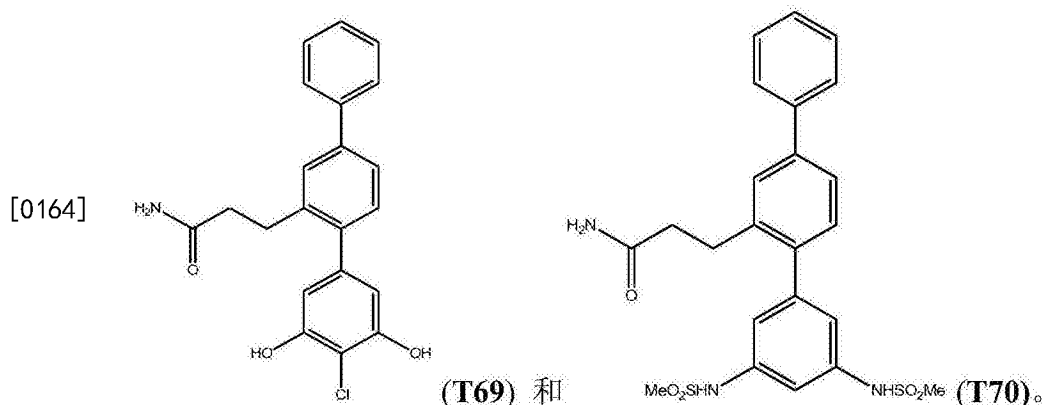
(T18)、

[0162]



[0163]





[0165] 如本文使用的,术语“卤素”是指-F、-Cl、-Br或-I;术语“羟基”是指-OH;术语“氨基”是指-NH₂;并且术语“取代氨基”包括-NHW,其中W选自-CN、-SO₂(X)_aY和-CO(X)_aY,a是0或1,X选自-NH-和-O-,并且Y选自-H、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH₂OH和-CH₂CH₂OH。

[0166] 如本文使用的,缩写Me、Et、Ph、Ms分别表示甲基、乙基、苯基和甲磺酰基。由本领域普通技术人员的有机化学家利用的缩写的更全面列表出现在有机化学杂志每一卷的第一期中;此列表典型地在标题为标准缩写列表的表格中呈现。所述列表中包含的缩写、以及由本领域普通技术人员的有机化学家利用的全部缩写通过引用结合于此。

[0167] 本发明的化合物可以以特定几何或立体异构形式存在。本发明考虑了所有这样的化合物,包括顺式-和反式-异构体、(R)-和(S)-对映异构体、非对映异构体、(d)-异构体、(l)-异构体、其外消旋混合物、以及它们的其他混合物,如落入本发明的范围内。所有这样的异构体、以及它们的混合物意图包括在本发明中。

[0168] 例如,如果本发明的化合物的特定对映异构体是所需的,则它可以通过非对称合成或通过利用手性助剂衍生化制备,其中将所得的非对映异构体混合物分离并且辅助基团被裂开以提供纯的所需对映异构体。备选地,非对映异构体盐可以利用适当光学活性酸或碱形成,然后拆分非对映异构体,由此通过本领域已知的分级结晶或色谱手段形成,以及随后回收该纯的对映异构体。

[0169] 通常,本发明的化合物可以通过例如在下文描述的通用反应方案中例举的方法或通过其变形,使用易于获得的起始材料、试剂和常规合成程序制备。在这些反应中,还可以利用本身是已知的但在这里没有提及的变形。

[0170] 本发明还考虑了化合物的药学上可接受的盐。术语“药学上可接受的盐”包括酸和碱加成盐二者并且是指这样的盐,其保持游离碱或酸的生物学有效性和性质,并且其在生物学或其他方面不是非所需的。药学上可接受的盐利用无机或有机酸或碱形成,并且可在化合物的最终分离和纯化期间原位制备,或通过单独地使其游离碱或酸形式的纯化的化合物与合适的有机或无机酸或碱反应,并且分离由此形成的盐而制备。

[0171] 如在本发明的上下文中使用的,术语“纤维化”包括但不限于心肌纤维化和/或肾纤维化。

[0172] 除了治疗已形成的纤维化之外,本发明的化合物可以在处于发展纤维化的风险的受试者中预防性地使用。作为处于发展纤维化的风险类别的受试者的实例是具有高血压、糖尿病、心肌炎、缺血性心肌病、Conn综合征、嗜铬细胞瘤、遗传易感性高盐饮食和/或接受癌症化疗中使用的药物(如道诺霉素)的那些。如在本发明的上下文中使用的,术语“预防

性”尤其意图涵盖用来防止或减缓在风险组中的纤维化的发展的治疗。可以给予预防性治疗的受试者可能在超声心动图上已具有早期心脏衰竭的征兆。

[0173] 如在本发明的上下文中使用的,术语“高血压”表明高于约139mmHg收缩期和/或高于约89mmHg舒张期的成人血压。

[0174] 如在本发明的上下文中使用的,术语“高血压前期”表明在约120-139mmHg收缩期和/或约80-89mmHg舒张期范围内的成人血压。

[0175] 本发明还考虑了药物组合物,其包括本发明的化合物,连同药学上可接受的赋形剂。如在本发明的上下文中使用的,术语“药学上可接受的赋形剂”是指组合物的任何药学上可接受的非活性化合物。如本领域熟知的,赋形剂包括稀释剂、缓冲剂、粘合剂、润滑剂、崩解剂、着色剂、抗氧化剂/防腐剂、pH-调节剂等。赋形剂基于所需的最终形式的物理方面进行选择:例如,获得具有所需硬度和易碎性且快速可分散和易于吞咽等的片剂。在吞入后活性物质从组合物的所需释放速率在赋形剂选择方面中也起作用。药物组合物可以包括任何类型的剂型,如片剂、胶囊、粉剂、液体制剂、延迟或持续释放、贴剂、鼻烟、鼻喷雾剂等。考虑的药物组合物的物理形式和含量是可以由药物制剂领域的技术人员配制的常规制剂并且基于例如在雷明顿:药剂科学与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy),第19版,1995;British Pharmacopoeia 2000和类似制剂教材和手册中描述的良好建立的原则和组合物。

[0176] 例如,在化合物或组合物要经口施用的情况下,它们可以配制为片剂、胶囊、颗粒剂、粉剂或糖浆;或者用于肠胃外施用的情况下,它们可以配制为注射剂(静脉内、肌肉内或皮下)、滴注制剂或栓剂。对于通过眼粘膜途径的应用,它们可以配制为滴眼液或眼膏。这些制剂可以通过常规手段制备,并且如果需要,活性成分可以与任何常规添加剂(如赋形剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、矫味剂、增溶剂、悬浮助剂、乳化剂或包衣剂)混合。

[0177] 当本发明的化合物作为药物施用至人和动物时,它们可以以本身给予或者作为含有例如0.1至99.5%(更优选地,0.5至90%)的活性成分联合药学上可接受的赋形剂的药物组合物给予。

[0178] 应该使用的化合物的剂量和施用频率也可以容易地通过实践医师确定以产生所需响应。

[0179] 尽管剂量将取决于患者的症状、年龄和体重、待治疗或预防的病症的性质和严重程度、施用途径和药物形式变化,通常,0.0001mg至200mg的本发明的化合物的每日剂量对于成年人患者可以是合适的有效量,并且这可以以单个剂量或分开的剂量施用。

[0180] 要通过主题方法治疗的“患者”或“受试者”可以是指人或非人受试者。

[0181] 关于治疗的方法,主题化合物的“有效量”是指当作为所需剂量方案的一部分应用时其提供根据用于治疗或预防的特定病症的临床可接受标准的益处的制剂中的治疗剂的量。

[0182] 本发明现在将参考描述使用的具体组合物和方法的具体但非限制性实例更详细地进行描述。然而,应当理解具体程序、组合物和方法的详细描述被单独地包括用于例举本发明的目的。不应以任何方式理解为对以上提出的发明构思的宽泛描述的限制。

实施例

[0183] 实施例1-三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯的合成

[0184] 用于制备三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14)的合成路线示于图1。简言之,利用5-溴-2-羟基苯甲醛和苯基硼酸之间的Suzuki交叉偶联反应来生成2-羟基-5-苯基苯甲醛(13),其随后与N-苯基三氟甲磺酰胺反应以制备三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14)。

[0185] 2-羟基-5-苯基苯甲醛(13)的制备

[0186] 在氩气氛下,将5-溴水杨醛(2.49g,12.4mmol)、苯基硼酸(1.51g,12.4mmol)、醋酸钯(II)(14mg,0.5mol%)和碳酸钾(5.14g,37.2mmol)在环境温度在脱气的水(75mL)中搅拌2h。反应通过TLC(1:1二氯甲烷/戊烷)监控。加入水(75mL)并将反应混合物用10%HCl酸化(pH 6),然后用乙酸乙酯萃取(3x)。合并的有机萃取物用盐水洗涤,然后干燥并浓缩。使粗制材料通过短的二氧化硅柱,用1:1二氯甲烷/戊烷洗脱,然后从乙酸乙酯/戊烷重结晶,得到2-羟基-5-苯基苯甲醛(1.89g,77%),为深黄色晶体(如果需要,可以用戊烷研磨代替重结晶);mp100-101°C。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ10.99(s,1H);9.97(s,1H);7.78-7.73(m,2H);7.56-7.52(m,2H);7.47-7.41(m,2H);7.37-7.32(m,1H);7.09-7.04(m,1H)。¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ196.9,161.2,139.6,136.0,133.6,132.1,129.2,127.6,126.8,121.0,118.4。EIMS:m/z 198[M]⁺。HRMS对于C₁₃H₁₀O₂计算值198.0675,实验值198.0677。

[0187] 三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14)的制备

[0188] 将2-羟基-5-苯基苯甲醛(13)(100mg,0.50mmol)、N-苯基三氟甲磺酰亚胺(180.0mg,0.51mmol)和碳酸钾(209mg,1.51mmol)在密封管中在干燥THF中搅拌,并且使用微波照射在120°C加热6min。在减压下除去溶剂;加入水和二氯甲烷,并分离各层。水层进一步用二氯甲烷(2x)萃取。合并的有机萃取物用盐水(1x)洗涤,然后干燥并浓缩。通过径向色谱法纯化,用1:1二氯甲烷/戊烷洗脱,得到三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基-酯(143mg,86%),为透明、无色油状物。¹H NMR(200MHz,CDCl₃) δ10.32(s,1H);8.17(d,1H,J=2.4Hz);7.89(dd,1H,J=8.6,2.5Hz);7.63-7.36(m,6H)。¹³C NMR(125MHz,CDCl₃) δ186.5,149.1,142.3,138.0,134.1,129.2,129.1,128.8,128.6,127.2,122.9,118.7(q,J_{CF}=320.9Hz)。¹⁹F NMR(188MHz,CDCl₃) δ-73.2。EIMS:m/z 330[M]⁺。HRMS对于C₁₄H₉F₃O₂S计算值330.0168,实验值330.0163。

[0189] 实施例2-T1、T2、T10和T18的合成

[0190] 用来制备T1、T2、T10和T18的合成路线示于图2。简言之,将三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14)与3-硝基苯基硼酸交叉偶联以制备硝基三联苯(17),然后使其与(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯(18)经过Horner-Wadsworth-Emmons反应以制备三联苯丙烯酰胺(19)。化合物19的氢解同时地还原烯烃和硝基基团以制备3-(3-氨基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T18),然后将其用来通过与甲磺酰氯反应制备3-(3-(甲磺酰胺基)-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T1)、通过与甲酸反应制备3-(3-甲酰胺基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T2)和通过与乙酸酐反应制备3-(3-乙酰胺基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T10)。

[0191] (氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯(18)从2-二氯乙酰胺和亚磷酸三乙酯之间的Arbuzov反应产生(如图3所述制备)。

[0192] 3-硝基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-甲酯(17)的制备

[0193] 在氩气氛下,将在二噁烷(50mL)中的三氟甲磺酸3-甲酰基-[1,1'-联苯]-4-基酯

(14) (4.15g, 12.60mmol)、3-硝基苯基硼酸(2.52g, 15.10mmol)、磷酸钾(4.01g, 18.90mmol)和四(三苯基膦)钯(0) (0.33g, 0.28mmol) 放置在Schlenk烧瓶中。加入脱气的1,4-二噁烷(2mL) 并将混合物用氩气吹洗。反应混合物在85℃加热直至观察到完全转化(通过GCMS监测); 通常需要过夜反应时间。粗制材料通过色谱法(DCVC) 纯化, 用在庚烷中的乙酸乙酯(0-25%乙酸乙酯) 的梯度洗脱, 在回收未反应的三氟甲磺酸酯(0.83g) 之后, 得到3-硝基-[1, 1':4', 1''-三联苯]-2-甲醛(17), 为浅黄褐色固体(2.05g, 67%); mp 113.6-116.3℃ (NB: 产物被通过¹H NMR的~25%的3,3'-二硝基-1,1'-联苯污染)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ10.02 (s, 1H), 8.29 (m, 3H), 7.92 (dd, 1H, J 8.0, 2.1Hz), 7.72 (m, 1H), 7.66 (m, 3H), 7.50 (m, 3H), 7.42 (m, 1H)。¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆) δ191.7, 147.8, 140.8, 140.5, 139.1, 138.4, 136.4, 133.8, 132.0, 131.9, 130.6, 129.9, 128.3, 127.0, 126.8, 124.2, 122.8。EIMS:m/z实验值:M⁺ 303.0880, C₁₉H₁₃NO₃需要303.0890。EIMS:m/z 303 (M⁺, 100%), 256 (52)。

[0194] (E)-3-(3-硝基-[1,1':4', 1''-三联苯]-2'-基) 丙烯酰胺(19)的制备

[0195] 将3-硝基-[1,1':4', 1''-三联苯]-2-甲醛(17) (2.35g, 7.77mmol) 和(氨基甲酰基甲基) 磷酸二乙酯(18) (1.51g, 7.75mmol) 溶解在干燥THF(100mL) 中, 并且缓慢加入粉末氢氧化钾(0.86g, 15.40mmol) 的剧烈搅拌悬浮液中。在室温搅拌1h之后, 通过加入水和乙醚将材料从反应混合物沉淀, 得到(E)-3-(3-硝基-[1,1':4', 1''-三联苯]-2'-基) 丙烯酰胺(19) (1.8g, 82%), 为浅柠檬色固体。小部分通过色谱法(DCVC) 纯化, 利用在DCM中的乙酸乙酯的梯度(0-20%乙酸乙酯) 洗脱以进行表征, 得到(E)-3-(3-硝基-[1,1':4', 1''-三联苯]-2'-基) 丙烯酰胺(19), 为无色固体; mp 206-210℃。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ8.35-8.28 (m, 1H), 8.18-8.15 (m, 1H), 8.02-7.98 (m, 1H), 7.85-7.76 (m, 5H), 7.56-7.41 (m, 4H), 7.49 (br s, 1H), 7.33 (d, 1H, J 15.7Hz), 7.15 (br s, 1H), 6.78 (d, 1H, J 15.7Hz)。¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆) δ166.2, 147.8, 140.9, 140.6, 139.1, 138.3, 136.5, 136.2, 133.4, 131.1, 130.0, 129.0, 128.0, 127.8, 126.8, 125.0, 124.8, 123.8, 122.5。EIMS:m/z实验值:M⁺ 344.1153, C₂₁H₁₆N₂O₃需要344.1155。EIMS:m/z 344 (M⁺, 37%), 326 (50), 252 (100)。

[0196] 3-(3-氨基-[1,1':4', 1''-三联苯]-2'-基) 丙酰胺(T18)的制备

[0197] 向(E)-3-(3-硝基-[1,1':4', 1''-三联苯]-2'-基) 丙烯酰胺(19) (1.70g, 4.94mmol) 在甲醇(50mL) 和乙酸乙酯(25mL) 的溶液中加入10%钯碳(50重量%水)。反应混合物在高压釜中在氢气下以140psi剧烈搅拌2小时。反应混合物通过Celite过滤, 用甲醇和乙酸乙酯良好洗涤。将滤液浓缩, 然后预先吸附到Celite上并进行色谱法(DCVC), 利用在DCM中的甲醇的梯度(0-3%甲醇) 洗脱。将在TLC上含有单个斑点的级分合并, 得到3-(3-氨基-[1,1':4', 1''-三联苯]-2'-基) 丙酰胺(T18), 为无色固体(0.92g, 59%); mp 157.3-157.9℃。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ7.69 (d, 2H, J 7.4Hz), 7.59 (s, 1H), 7.51-7.46 (m, 3H), 7.37 (m, 1H), 7.23 (br s, 1H), 7.19 (d, 1H, J 7.9Hz), 7.08 (m, 1H), 6.74 (br s, 1H), 6.57 (d, 1H, J 8.4Hz), 6.52 (s, 1H), 6.46 (d, 1H, J 7.5Hz), 5.13 (br s, 2H), 2.84 (m, 2H), 2.31 (m, 2H)。¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆) δ173.5, 148.5, 141.5, 141.3, 140.1, 139.1, 128.8, 130.1, 128.9, 128.7, 127.3, 127.1, 126.6, 124.0, 116.5, 114.4, 112.6, 36.4, 28.3。EIMS:m/z实验值:M⁺ 316.1566, C₂₁H₂₀N₂O需要316.1570。EIMS:m/z 316 (M⁺, 100%)。HPLC纯度(40%ACN/H₂O, 258nm): 100.0%。

[0198] 3-(3-(甲基磺酰胺基)-[1,1':4', 1''-三联苯]-2'-基) 丙酰胺(T1)的制备

[0199] 向冷却至-5℃的3-(3-氨基-[1,1':4,1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T18)(0.50g, 1.57mmol)在DCM(7mL)中的悬浮液中,加入三乙胺(0.33mL, 2.36mmol),接着以将温度维持在低于0℃下的速率逐滴加入甲磺酰氯(0.21g, 1.83mmol)(~20分钟)。将反应混合物分配在2M盐酸和乙酸乙酯之间,并分离各个层。有机相再次用2M盐酸、饱和碳酸氢盐溶液和盐水洗涤。将粗制材料预吸附到Celite上并进行色谱法(DCVC),利用在DCM中的甲醇的梯度(0-3%甲醇)洗脱。合并同样的级分,得到3-(3-(甲基磺酰胺基){1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T1),为无色细针状体(0.25g, 41%);mp 166.7-168.4℃。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 8.12(br s, 1H), 7.58(m, 2H), 7.53(m, 1H), 7.47-7.31(m, 5H), 7.27-7.24(m, 2H), 7.19(m, 1H), 7.12(m, 1H), 5.87(br s, 1H), 5.78(br s, 1H), 2.99(s, 3H), 2.94(m, 2H), 2.43(m, 2H)。¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆) δ 173.3, 141.8, 139.9(两个信号重合), 139.5, 139.1, 138.4, 130.3, 129.3, 128.9, 127.5, 127.4, 126.7, 124.4, 124.3, 119.9, 118.2, 39.3, 36.2, 28.3。EIMS:m/z实验值:M⁺ 394.1341, C₂₂H₂₂N₂O₃S需要394.1346。EIMS:m/z 394(M⁺, 12%), 376(22), 256(100)。HPLC纯度(40%ACN/H₂O, 256nm):99.84%。

[0200] 3-(3-甲酰胺基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T2)的制备

[0201] 将3-(3-氨基-[1,1':4,1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T18)(0.41g, 1.30mmol)在甲酸(5mL)中的溶液在回流下加热5小时,然后浓缩至干。将粗制材料预吸附到Celite上,然后进行色谱法(DCVC),利用在DCM中的甲醇的梯度(0-5%甲醇)洗脱。合并同样的级分,得到3-(3-甲酰胺基-[1,1':4,1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T2),为无色固体(0.21g, 47%);mp 213℃。作为E和Z酰胺异构体的混合物存在。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 10.30(s)和10.22(d, J 11.0Hz; 1H), 8.88(d, J 11.0Hz)和8.31(d, J 1.8Hz; 1H), 7.70(m, 2H), 7.63-7.19(m, 10H), 7.08(m, 1H), 6.76(br s, 1H), 2.83(m, 2H), 2.32(m, 2H)。¹³C NMR(50MHz, DMSO-d₆) δ 173.4, 162.7, 159.7, 142.0, 141.4, 140.2, 140.0, 139.9, 139.4, 139.3, 139.1, 138.3, 138.2, 130.2, 129.3, 128.9, 128.8, 127.5, 127.3, 126.7, 124.3, 124.2, 119.6, 117.8, 117.7, 116.0, 36.2, 28.2(许多信号重合)。EIMS:m/z实验值:M⁺ 344.1518, C₂₂H₂₀N₂O₂需要344.1519。EIMS:m/z 344(M⁺, 20%), 299(34), 254(100)。HPLC纯度(50%ACN/H₂O, 255nm):99.53%。

[0202] 3-(3-乙酰胺基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T10)的制备

[0203] 将3-(3-氨基-[1,1':4,1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T18)(0.42g, 1.33mmol)和N,N-二甲基氨基吡啶(0.04g, 催化剂)在乙酸酐(7mL)中的溶液在环境温度搅拌20小时。将反应混合物分配在水和乙酸乙酯之间。分离各个层并且有机相用水(2x)和盐水洗涤并且通过硅胶60的塞过滤,用乙酸乙酯良好洗涤。将滤液浓缩至干并且从甲醇和1,2-二氯乙烷重结晶,得到3-(3-乙酰胺基-[1,1':4,1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T10),为米黄色固体(0.36g, 75%);mp 208-209℃。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 10.03(br s, 1H), 7.70(m, 2H), 7.62(m, 2H), 7.58-7.47(m, 4H), 7.40-7.35(m, 2H), 7.23(m, 2H), 7.02(d, 1H, 7.7Hz), 6.75(br s, 1H), 2.83(m, 2H), 2.31(m, 2H), 2.06(s, 3H)。¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆) δ 173.4, 168.4, 141.2, 140.4, 139.9, 139.3, 139.2, 139.1, 130.2, 128.9, 128.6, 127.4, 127.3, 126.7, 124.2, 123.6, 119.4, 117.5, 36.2, 28.2, 24.1。EIMS:m/z实验值:M⁺ 358.1666, C₂₃H₂₂N₂O₂需要358.1676。EIMS:m/z 358(M⁺, 8%), 299(33), 254(100)。HPLC纯度(50%ACN/H₂O, 255nm):99.53%。

[0204] 实施例3-T20的合成

[0205] 用来制备T20的合成路线示于图4。简言之,三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14)与3,5-二甲氧基苯基硼酸交叉偶联以制备二甲氧基三联苯(20),然后使其经过与(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯(18)的Horner-Wadsworth-Emmons反应,得到三联苯丙烯酰胺(21)。化合物21的氢解生成丙酰胺(22),其随后使用三溴化硼脱甲基化得到T20。

[0206] 3,5-二甲氧基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-甲醛(20)的制备

[0207] 向3,5-二甲氧基苯基硼酸(4.0g,22.0mmol)、三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14)(6.6g,20.0mmol)和碳酸钠(47.2g,40.0mmol)在脱气的二噁烷/乙醇/H₂O(5:1:1,165mL)中的溶液中加入四(三苯基膦)钯(0)(1.16g,1.0mmol)。在密封管中将反应在110℃加热2小时。通过TLC(1:2DCM/PE)的分析表明三氟甲磺酸酯已被消耗。将反应浓缩,然后放入水中并用乙酸乙酯(3x)萃取。将合并的有机萃取物用水和盐水洗涤,然后干燥(MgSO₄)并浓缩。将粗制材料通过短的二氧化硅柱过滤,利用1:1DCM:PE洗脱,得到3,5-二甲氧基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-甲醛(20)(6.1g,96%),为浅黄色固体。¹H NMR(200MHz,CDCl₃) δ 10.09(s,1H),8.26(d,1H,J 1.8Hz),7.87(dd,1H,J 2.1,8.0Hz),7.68(m,2H),7.58-7.35(m,4H),6.56(s,重合,3H),3.84(s,6H)。¹³C NMR(50MHz,CDCl₃) δ 192.4,160.9,144.8,140.9,139.6,134.2,132.0,131.1,129.1,128.1,127.2,125.8,108.6,100.2,55.6(一个信号没有观察到)。EIMS:m/z实验值:M⁺ 318.1255,C₂₁H₁₈O₃需要318.1250。EIMS:m/z 318(M⁺,55%)。

[0208] (E/Z)-3-(3,5-二甲氧基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙烯酰胺(21)的制备

[0209] 将3,5-二甲氧基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-甲醛(20)(6.1g,19.1mmol)和(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯(18)(3.7g,19.1mmol)溶解在干燥THF(180mL)中,并缓慢地加入到粉末KOH(2.1g,38.2mmol)在THF(70mL)中的剧烈搅拌的悬浮液中。在氩气氛下将反应在室温搅拌1h。通过TLC(1:2DCM:PE)的分析表明所述甲醛已被消耗。将THF在减压下除去,并将残留物放入水中并用DCM(x3)萃取。将合并的有机萃取物用盐水(x1)洗涤,然后干燥(MgSO₄)并浓缩至~50mL。将溶液通过短的二氧化硅柱过滤,利用DCM洗脱,得到(E/Z)-3-(3,5-二甲氧基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙烯酰胺(21)(2.5g,36%),为橙色泡沫。¹H NMR(200MHz,CDCl₃) δ 7.85(d,1H,J 1.7Hz);7.78-7.56(m,4H);7.53-7.32(m,4H);6.54-6.38(m,4H);5.70(brs,2H);3.81(s,6H)。¹³C NMR(50MHz,CDCl₃) δ 167.9,160.8,141.8,141.7,141.4,140.9,140.5,133.4,130.9,129.1,128.4,127.9,127.3,125.7,121.5,108.3,100.1,55.7。EIMS:m/z实验值:M⁺ 359.1504,C₂₃H₂₁O₃N需要359.1516。EIMS:m/z 359(M⁺,3%)。

[0210] 3-(3,5-二甲氧基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(22)的制备

[0211] 将(E/Z)-3-(3,5-二甲氧基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙烯酰胺(21)(2.5g,6.9mmol)和10%钯碳(在H₂O中的50重量%,1.0g)在甲醇(100mL)中在氢气气氛下在室温以50psi搅拌2h。将反应混合物通过GF纸重力过滤,用甲醇充分洗涤,然后浓缩。然后将残留物放入DCM中并通过GF纸重力过滤,利用DCM充分洗涤,然后浓缩。然后将粗制材料通过短的二氧化硅柱过滤,利用DCM充分洗涤,然后利用1:49甲醇:DCM洗脱所需的化合物,得到3-(3,5-二甲氧基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(22)(2.2g,90%),为白色固体。¹H NMR(200MHz,CDCl₃) δ 7.70-7.24(m,8H);6.50(m,3H);5.78(br s,1H);5.34(br s,1H);3.82(s,

6H); 3.05 (m, 2H); 2.39 (m, 2H)。¹³C NMR (50MHz, CDCl₃) δ 174.8, 160.8, 143.3, 141.0, 140.8, 140.8, 138.6, 130.6, 129.0, 128.1, 127.6, 127.2, 125.1, 107.6, 99.2, 55.5, 37.2, 29.2。EIMS:m/z 实验值:M⁺•361.1672, C₂₃H₂₃O₃N 需要361.1672。EIMS:m/z 361 (M⁺•, 100%)。

[0212] 3-(3,5-二羟基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T20)的制备

[0213] 在氩气氛下,将3-(3,5-二甲氧基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(22)(500mg, 1.4mmol)的溶液溶解在干燥DCM(5mL)中并冷却至-78℃。加入三溴化硼(2.9mL, 2.9mmol, 1.0M在己烷中的溶液),并允许反应温热至室温过夜。将溶液冷却(冰/水浴)并缓慢加入水(5mL)和甲醇(2mL)。分离各个层并将水相进一步用DCM(x2)萃取。合并的有机萃取物用1.0M硫代硫酸钠(x1)、水(x1)和盐水(x1)洗涤,然后干燥(MgSO₄)和浓缩。通过使用梯度洗脱液(DCM→4:96甲醇:DCM→6:94甲醇:DCM→8:92甲醇:DCM)的径向色谱法纯化,得到3-(3,5-二羟基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基)丙酰胺(T20)(122mg, 26%),为白色固体;mp 232-233℃。¹H NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ 9.32 (brs, 2H); 7.72-7.64 (m, 2H); 7.58 (d, 1H, J 1.8Hz); 7.53-7.33 (m, 4H); 7.24 (重叠, brs, 1H); 7.18 (重叠, d, 1H, J 7.9Hz); 6.75 (brs, 1H); 6.23 (t, 1H, J 2.1); 6.15 (d, 2H, J 2.1Hz); 2.84 (m, 2H); 2.31 (m, 2H)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ 173.5, 158.1, 142.6, 140.9, 140.0, 139.0, 138.9, 129.9, 128.9, 127.3, 127.1, 126.6, 124.1, 107.1, 101.2, 36.3, 28.2。EIMS:m/z 实验值:M⁺•333.1344, C₂₁H₁₉O₃N 需要333.1359。EIMS:m/z 333 (M⁺•, 94%)。HPLC纯度(40%ACN/H₂O, 264nm):95.97%。

[0214] 实施例4-T70的合成

[0215] 用来制备T70的合成路线示于图5。简言之,将三氟甲磺酸3-甲酰基-[1,1'-联苯]-4-基酯(14)与3,5-二硝基苯基频哪醇硼酸酯(34)[由1-碘-3,5-二硝基苯和双(频哪醇合)二硼烷之间的反应制备]交叉偶联,得到3,5-二硝基三联苯(35)。随后与(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯(18)的Horner-Wadsworth-Emmons反应,得到3,5-二硝基三联苯丙烯酰胺(36)。然后化合物36进行氢化,得到丙酰胺(37),将其与甲磺酰氯反应,制得T70。

[0216] 2-(3,5-二硝基苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊烷(34)的制备。

[0217] 将1-碘-3,5-二硝基苯(5.00g, 17.00mmol)、双频哪醇合二硼(4.75g, 18.7mmol)、乙酸钾(5.00g, 51.00mmol)和二氯[1,1'-二(二苯基膦)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加合物(0.35g, 0.48mmol)在DMSO(80mL)中在70℃搅拌17小时。将反应混合物冷却至环境温度,用乙酸乙酯稀释,然后用饱和碳酸氢钠溶液和盐水洗涤。将粗制材料预吸附到Celite上,然后进行色谱法(DCVC),用在庚烷中的乙酸乙酯的梯度(0-100%乙酸乙酯)洗脱。合并同样的级分,得到2-(3,5-二硝基苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊烷(34),为浅黄色固体(2.10g, 40%);mp 144.0-148.0℃。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.08 (t, 1H, J 2.2Hz), 8.90 (d, 2H, J 2.2Hz), 1.37, (s, 12H)。

[0218] 3,5-二硝基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-甲醛(35)的制备。

[0219] 根据P5的方法制备;自三氟甲磺酸3-甲酰基-[1,1'-联苯]-4-基酯(14)(1.77g, 5.36mmol)、2-(3,5-二硝基苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊烷(34)(1.81g, 6.16mmol)、四(三苯基膦)钯(0)(0.44g, 0.38mmol)和碳酸钠水溶液(1M)(11.0mL, 11.0mmol)在甲苯(36mL)和乙醇(7mL)中。在萃取期间将固体从界面过滤,发现其是所需产物(0.86g, 46%)。乙酸乙酯萃取物通过色谱法(DCVC)纯化,利用在庚烷中的二氯甲烷的梯度(10-50%DCM)洗脱,得到另外的量的3,5-二硝基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-甲醛(35),

为浅黄褐色固体 (0.62g, 33%) (总收率: 79%); mp 209-212°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 10.04 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.74 (s, 2H), 8.33 (s, 1H), 8.14 (d, 1H, J 8.0Hz), 7.83 (d, 2H, J 7.3Hz), 7.72 (d, 1H, J 8.0Hz), 7.56 (m, 2H), 7.47 (m, 1H)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ 192.0, 147.9, 141.2, 138.2, 138.1, 134.0, 132.3, 131.8, 130.0, 129.3, 128.5 (两个信号重合), 126.9, 117.7 (一个信号没有观察到)。EIMS: m/z 实验值: M⁺ 348.0731, C₁₉H₁₂N₂O₅ 需要 348.0741。EIMS: m/z 348 (M⁺, 100%)。

[0220] (E)-3-(3,5-二硝基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基) 丙烯酰胺 (36) 的制备。

[0221] 根据用来产生化合物19的方法制备; 自3,5-二硝基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-甲醛 (35) (1.75g, 5.03mmol)、(氨基甲酰基甲基) 磷酸二乙酯 (18) (1.09g, 5.59mmol) 和氢氧化钠 (0.50g, 12.50mmol) 在 THF (70mL) 中。粗制固体从丙酮重结晶, 得到 (E)-3-(3,5-二硝基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基) 丙烯酰胺 (36), 为浅黄褐色固体 (1.40g, 72%); mp 221-223°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.90 (s, 1H), 8.58 (s, 2H), 8.02 (s, 1H), 7.85 (d, 1H, J 8.0Hz), 7.80 (d, 2H, J 7.6Hz), 7.64 (d, 1H, J 8.0Hz), 7.56-7.43 (m, 4H), 7.32 (d, 1H, ³J_{反式} 15.7Hz), 7.16 (br s, 1H), 6.76 (d, 1H, ³J_{反式} 15.7Hz)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ 166.1, 148.0, 142.4, 141.3, 138.9, 136.2, 135.9, 133.8, 131.3, 129.7, 129.1, 128.2, 127.8, 126.9, 126.1, 125.3, 117.6。EIMS: m/z 实验值: M⁺ 389.1000, C₂₁H₁₅N₃O₅ 需要 389.1006。EIMS: m/z 389 (M⁺, 42%), 252 (100)。

[0222] 3-(3,5-二氨基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基) 丙酰胺 (37) 的制备。

[0223] 根据用来产生T18的方法制备; 自 (E)-3-(3,5-二硝基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基) 丙烯酰胺 (36) (1.40g, 3.60mmol) 和 10% 钨碳 (50重量%水) (0.28g) 在甲醇 (40mL) 中。催化剂通过过滤除去并将滤液浓缩至干, 得到 3-(3,5-二氨基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基) 丙酰胺 (37), 为黄褐色固体 (1.07g, 90%); mp 87.4-90.6°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.68 (m, 2H), 7.65 (m, 1H), 7.49-7.45 (m, 3H), 7.36 (m, 1H), 7.22 (br s, 1H), 7.15 (d, 1H, J 7.9Hz), 6.76 (br s, 1H), 5.83 (m, 1H), 5.75 (m, 2H), 4.79 (br s, 4H), 2.86 (m, 2H), 2.31 (m, 2H)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ 173.7, 148.9, 142.2, 141.9, 140.2, 139.0, 138.4, 129.9, 128.9, 127.2, 127.0, 126.6, 123.8, 104.0, 98.7, 36.6, 28.4。EIMS: m/z 实验值: M⁺ 331.1678, C₂₁H₂₁N₃O 需要 331.1679。EIMS: m/z 331 (M⁺, 67%), 287 (100), 273 (72)。

[0224] 3-(3,5-二(甲基磺酰胺基)-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基) 丙酰胺 (T70) 的制备

[0225] 根据用来生成T1的方法制备; 自 3-(3,5-二氨基-[1,1':4',1''-三联苯]-2'-基) 丙酰胺 (37) (0.46g, 1.38mmol)、甲磺酰氯 (2.56mL, 3.30mmol) 和三乙胺 (0.58mL, 4.14mmol) 在 DCM (15mL) 中。粗制材料通过色谱法 (DCVC) 纯化, 利用在 DCM 中的甲醇的梯度 (0-5% 甲醇) 洗脱, 然后进行径向色谱法, 利用在 DCM 中的 3% 甲醇洗脱, 得到 3-(3,5-二甲基磺酰胺基)-[1,1':4',1''-三联苯] 丙酰胺 (T70), 为米黄色固体 (0.15g, 22%); mp 227-230°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.96 (s, 2H), 7.73-7.66 (m, 2H), 7.63 (d, 1H, J 1.9Hz), 7.55 (dd, 1H, J 1.9, 7.9Hz), 7.52-7.45 (m, 2H), 7.42-7.36 (m, 1H), 7.26 (d, 1H, J 7.9Hz), 7.24 (br s, 1H), 7.19-7.15 (m, 1H), 6.91 (d, 2H, J 1.9Hz), 6.77 (br s, 1H), 3.06 (s, 6H), 2.83 (t, 2H, J 8.0Hz), 2.32 (t, 2H, J 8.0Hz)。¹³C NMR (50MHz, DMSO-d₆) δ 173.3, 142.6, 139.8, 139.6, 139.5, 139.3, 139.1, 130.1, 128.9, 127.5 (两个信号重合), 126.7, 124.4, 114.8, 108.8, 39.3, 36.3, 28.3。EIMS: m/z 实验值: M⁺ 487.1226, C₂₃H₂₅N₃O₅³²S₂ 需要 487.1230。EIMS: m/z

487 (M^{+} , 4%), 408 (75), 349 (100), 271 (78)。HPLC纯度 (40% ACN/ H_2O , 264nm): 94.72%。

[0226] 实施例5-T48的合成

[0227] 用来制备T48的合成路线示于图6。简言之, 将三氟甲磺酸3-甲酰基-[1,1'-联苯]-4-基酯 (14) 与吡啶基频哪醇硼酸酯 (30-Ihle, N.C.; Krause, A.E. J. Org. Chem. 1996, 61, 4810) 进行交叉偶联以制备三联芳基 (teraryl) (31), 然后使其经过与(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯 (18) 的Horner-Wadsworth-Emmons反应, 得到三联芳基丙烯酰胺 (32)。化合物32的氢化得到丙酰胺 (33), 其随后脱保护, 得到T48。

[0228] (4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊烷-2-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (30) 的制备。

[0229] 在氩气氛下, 将2-氨基吡啶-4-硼酸频哪醇酯 (2.0g, 9.1mmol) 作为在叔丁醇 (30mL) 中的悬浮液搅拌。缓慢地加入在叔丁醇 (20mL) 中的Boc酸酐 (2.20g, 10.0mmol), 并将反应在35°C搅拌18小时。通过 1H NMR的分析显示, 频哪醇酯起始材料已被消耗。将反应混合物在减压下浓缩, 并将粗制材料在水中搅拌5分钟。固体通过过滤收集并在真空在50°C干燥, 得到(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊烷-2-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (31), 为白色固体 (2.9g, 98%); mp 172-178.0°C. (文献报道值188-193°C)。 1H NMR (200MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.75 (br s, 1H), 8.26 (dd, 1H, J 0.9, 4.8Hz), 8.08 (m, 1H), 7.18 (dd, 1H, J 0.7, 4.8Hz), 1.47 (s, 9H), 1.31 (s, 12H)。

[0230] (4-(3-甲酰基-[1,1'-联苯]-4-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (31) 的制备

[0231] 向(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊烷-2-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (30) (2.9g, 8.9mmol)、三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯 (14) (2.7g, 8.1mmol) 和碳酸钠 (1.7g, 16.2mmol) 在脱气的二噁烷/乙醇/ H_2O 混合物 (5:1:1, 75mL) 中的溶液中加入四(三苯基膦)钯 (0) (467mg, 0.40mmol)。在密封管中将反应在110°C加热2小时。通过 1H NMR的分析表明, 三氟甲磺酸酯已被消耗。将反应浓缩, 然后放入DCM并倒入水中。分离各个层并将水相进一步用DCM (2x) 萃取。将合并的有机萃取物用水 (x1) 和盐水洗涤, 然后干燥并浓缩至大约20-30mL体积。将溶液通过短的二氧化硅柱过滤, 利用DCM洗脱, 得到(4-(3-甲酰基-[1,1'-联苯]-4-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (31), 为黄色固体 (1.5g, 48%); mp 168.8-171.5°C。 1H NMR (200MHz, $DMSO-d_6$) δ 10.00 (重叠s, 1H), 9.98 (重叠, br s, 1H), 8.35 (dd, 1H, J 0.7, 5.1Hz), 8.20 (d, 1H, J 1.9Hz), 8.10 (dd, 1H, J 2.1, 8.0Hz), 7.88 (m, 1H), 7.79 (m, 2H), 7.63 (d, 1H, J 8.0Hz), 7.59-7.40 (m, 3H), 7.16 (dd, 1H, J 1.6, 5.1Hz), 1.47 (s, 9H)。 ^{13}C NMR (50MHz, $DMSO-d_6$) δ 191.4, 152.8, 152.6, 147.8, 146.8, 141.2, 140.7, 138.4, 133.6, 132.0, 131.2, 129.2, 128.3, 126.8, 126.1, 119.4, 112.8, 79.7, 28.0。EIMS: m/z 实验值: M^{+} 374.1611, $C_{23}H_{22}O_3N_2$ 需要374.1625。EIMS: m/z 374 (M^{+} , 7%), 57 (100)。

[0232] (E)-(4-(3-(3-氨基-3-氧代丙-1-烯-1-基)-[1,1'-联苯]-4-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (32) 的制备

[0233] 根据用来生成化合物19的方法制备; 自(4-(3-甲酰基-[1,1'-联苯]-4-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (31) (1.44g, 3.85mmol)、(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯 (18) (0.75g, 3.85mmol) 和氢氧化钠 (0.31g, 7.70mmol) 在THF (40mL) 中。将(E)-(4-(3-(3-氨基-3-氧代丙-1-烯-1-基)-[1,1'-联苯]-4-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (32) 在加入水和乙醚时从反应混合物沉淀, 为无色固体 (1.32g, 83%); mp 179.5-182.2°C。 1H NMR (200MHz, $DMSO-d_6$) δ

9.95 (s, 1H); 8.33 (m, 1H); 7.99 (d, 1H, J 1.6Hz); 7.82-7.73 (m, 4H); 7.58-7.42 (m, 5H); 7.34 (d, 1H, J 15.8Hz); 7.14 (br s, 1H); 6.99 (dd, 1H, J 1.5, 5.1Hz); 6.77 (d, 1H, J 15.7Hz); 1.46 (s, 9H)。¹³C NMR (50MHz, DMSO-d₆) δ 166.3, 152.7, 149.0, 147.7, 140.6, 139.2, 138.7, 136.4, 133.1, 130.4, 129.0, 128.0, 127.7, 126.8, 124.6, 124.6, 119.2, 112.5, 79.7, 28.0。EIMS:m/z 实验值:M⁺ 415.1873, C₂₂H₂₅O₃N₃需要415.1890。EIMS:m/z 415 (M⁺, 5%), 315 (58), 297 (64), 271 (100)。

[0234] (4-(3-(3-氨基-3-氧代丙基)-[1,1'-联苯]-4-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(33)的制备。

[0235] 根据用来制备T18的方法制备;自(E)-(4-(3-(3-氨基-3-氧代丙-1-烯-1-基)-[1,1'-联苯]-4-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(32) (1.17g, 2.80mmol) 和10%钨碳(50重量%水) (0.50g) 在甲醇(75mL) 中。将滤液浓缩, 得到(4-(3-(3-氨基-3-氧代丙基)-[1,1'-联苯]-4-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(33), 为无色固体(1.05g, 89%); mp 161.5-164.5 °C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.90 (s, 1H), 8.32-8.29 (m, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.73-7.69 (m, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.61-7.56 (m, 1H), 7.53-7.47 (m, 2H), 7.43-7.37 (m, 1H), 7.30-7.26 (m, 1H), 7.25 (br s, 1H), 7.09-7.05 (m, 1H), 6.76 (br s, 1H), 2.88-2.81 (m, 2H), 2.36-2.29 (m, 2H), 1.47 (s, 9H)。¹³C NMR (50MHz, DMSO-d₆) δ 173.2, 152.8, 152.6, 150.3, 147.6, 140.1, 139.7, 138.9, 138.2, 129.8, 128.9, 127.6, 127.5, 126.7, 124.5, 118.8, 112.4, 79.6, 36.1, 28.04, 28.00。EIMS:m/z 实验值:M⁺ 417.2028, C₂₅H₂₇N₃O₃需要417.2047。EIMS:m/z 417 (M⁺, 5%), 317 (15), 284 (89), 258 (100)。

[0236] 3-(4-(2-氨基吡啶-4-基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙酰胺(T48)的制备

[0237] 将(4-(3-(3-氨基-3-氧代丙基)-[1,1'-联苯]-4-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(33) (0.94g, 2.26mmol) 和TFA (7.0mL) 在DCM (10mL) 中的混合物在环境温度搅拌3小时。将反应混合物用冰水和乙酸乙酯分配, 然后用氢氧化钠中和(~pH 6), 然后利用1M碳酸钠溶液碱化至pH 10。粗制材料通过过滤收集, 然后从甲醇重结晶, 得到3-(4-(2-氨基吡啶-4-基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙酰胺(T48), 为无色固体(0.48g, 67%); mp 248-249 °C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.95 (d, 1H, J 5.2Hz), 7.73-7.66 (m, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.57-7.52 (m, 1H), 7.52-7.45 (m, 2H), 7.42-7.35 (m, 1H), 7.27 (br s, 1H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.78 (br s, 1H), 6.48 (d, 1H, J 5.2Hz), 6.39 (s, 1H), 5.99 (s, 2H), 2.84 (t, 2H, J 7.9Hz), 2.33 (t, 2H, J 7.9Hz)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ 173.3, 159.9, 149.4, 147.7, 139.8, 139.7, 139.0, 138.9, 129.6, 128.9, 127.5, 127.4, 126.7, 124.4, 112.7, 107.8, 36.2, 28.1。EIMS:m/z 实验值:M⁺ 317.1516, C₂₀H₁₉N₃O需要317.1523。EIMS:m/z 317 (M⁺, 12%), 273 (53), 258 (100)。HPLC纯度(35%ACN/0.1%TFA, 291nm): 98.76%。

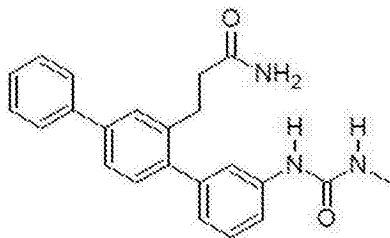
[0238] 实施例6-T3、T11、T12和T15自T18的合成

[0239] 将3-(3-氨基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺(T18-在实施例2中制备) (1当量) 在二氯甲烷中的溶液(12.5mL/mmol) 添加到三光气(0.3当量) 在二氯甲烷中的溶液(6.25mL/mmol) 中。加入三乙胺(0.3mL/mmol) 并将混合物在室温在氮气下搅拌30min。加入胺或醇(2-5当量) 并将混合物在室温在氮气下搅拌。净反应混合物通过急骤色谱法(甲醇/二氯甲烷) 纯化。将产物悬浮在1:1二氯甲烷/己烷中并通过过滤分离。

[0240] 以下化合物通过此方法制备:

[0241] 3-[3-[(甲基氨基甲酰基)氨基]-1,1':4',1''-三联苯-2'-基]丙酰胺 (T3)

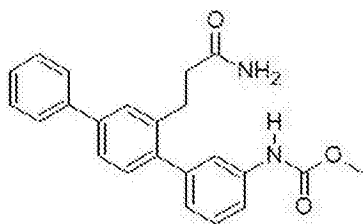
[0242]



[0243] 白色粉末 (82mg, 27%)。1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 8.59 (s, 1H), 7.70 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.61 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.43-7.56 (m, 4H), 7.26-7.42 (m, 3H), 7.23 (d, J=7.8Hz, 2H), 6.87 (d, J=7.2Hz, 1H), 6.72 (br. s., 1H), 6.06 (br. q, J=4.5Hz, 1H), 2.79-2.87 (m, 2H), 2.64 (d, J=4.7Hz, 3H), 2.27-2.35 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=374.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 100%, 在 220nm。

[0244] [2'-(3-氨基-3-氧代丙基)-1,1':4',1''-三联苯-3-基]氨基甲酸甲酯 (T11)

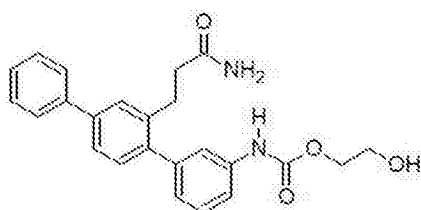
[0245]



[0246] 白色粉末 (131mg, 55%)。1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 9.74 (s, 1H), 7.70 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.62 (d, J=1.4Hz, 1H), 7.42-7.58 (m, 5H), 7.32-7.41 (m, 2H), 7.23 (s, 2H), 6.99 (d, J=7.4Hz, 1H), 6.73 (br. s., 1H), 3.68 (s, 3H), 2.78-2.87 (m, 2H), 2.26-2.35 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=375.3; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 99.4%, 在 220nm。

[0247] [2'-(3-氨基-3-氧代丙基)-1,1':4',1''-三联苯-2'-基]氨基甲酸2-羟基乙酯 (T12)

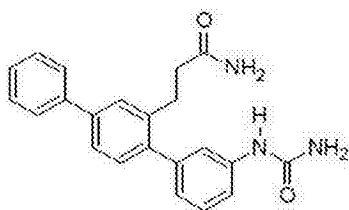
[0248]



[0249] 白色粉末 (129mg, 50%)。1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 9.79 (s, 1H), 7.70 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.62 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.42-7.58 (m, 5H), 7.31-7.41 (m, 2H), 7.15-7.27 (m, 2H), 6.98 (d, J=7.6Hz, 1H), 6.73 (br. s., 1H), 4.81 (t, J=5.3Hz, 1H), 4.11 (t, J=5.1Hz, 2H), 3.63 (q, J=5.3Hz, 2H), 2.76-2.88 (m, 2H), 2.25-2.37 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=405.1; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 99.4%, 在 220nm。

[0250] 3-[3-(氨基甲酰基氨基)-1,1':4',1''-三联苯-2'-基]丙酰胺 (T15)

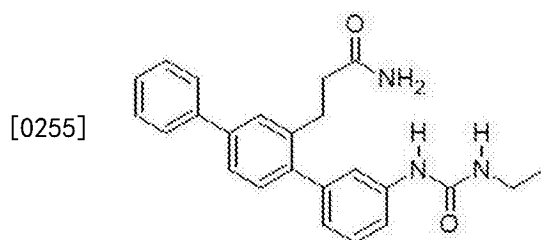
[0251]



[0252] 白色粉末 (74mg, 32%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 8.62 (s, 1H), 7.70 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.61 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.43-7.56 (m, 4H), 7.26-7.42 (m, 3H), 7.18-7.26 (m, 2H), 6.88 (d, J=7.0Hz, 1H), 6.72 (br. s., 1H), 5.87 (s, 2H), 2.78-2.87 (m, 2H), 2.27-2.36 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=360.3; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 97.2%, 在 220nm。

[0253] 实施例7-T4自T18的合成

[0254] 将异氰酸乙酯 (50μL, 0.63mmol) 加入到 3-(3-氨基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基) 丙酰胺 (155mg, 0.49mmol) (T18-在实施例2中制备的) 在二氯甲烷 (10mL) 中的溶液中。将混合物在室温在氮气下搅拌3天。将反应混合物蒸发至干。将残留物溶解在二氯甲烷 (10mL) 和甲醇 (2mL) 的混合物中, 吸附到硅胶60上, 并通过急骤色谱法 (甲醇/二氯甲烷) 纯化。将产物悬浮在1:1二氯甲烷/己烷中并通过过滤分离, 得到 3-{3-[(乙基氨基甲酰基) 氨基]-1,1':4',1''-三联苯-2'-基} 丙酰胺 (T4):



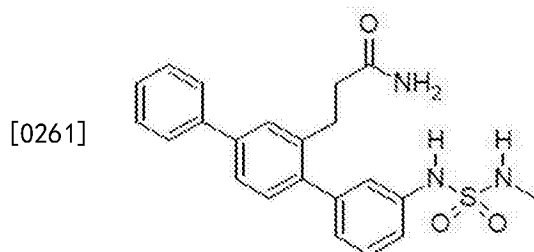
[0256] 白色粉末 (115mg, 60%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 8.50 (s, 1H), 7.70 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.61 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.42-7.57 (m, 4H), 7.25-7.42 (m, 3H), 7.18-7.26 (m, 2H), 6.87 (d, J=7.2Hz, 1H), 6.72 (br. s., 1H), 6.14 (t, J=5.5Hz, 1H), 3.03-3.18 (m, 2H), 2.77-2.90 (m, 2H), 2.24-2.38 (m, 2H), 1.05 (t, J=7.1Hz, 3H); LCMS [M+H]⁺=388.3; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 98.5%, 在 220nm。

[0257] 实施例8-T5和T6自T18的合成

[0258] 将 3-(3-氨基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基) 丙酰胺 (T18-在实施例2中制备) (1当量) 和三乙胺 (1.3-2.0当量) 溶解在二氯甲烷 (18mL/mmol) 中。逐滴加入烷基氨基磺酰氯 (1.3-2.0当量) 在二氯甲烷 (4mL/mmol) 中的溶液。将混合物在室温在氮气下搅拌1h。净反应混合物通过急骤色谱法 (甲醇/二氯甲烷) 纯化。将产物悬浮在1:1二氯甲烷/己烷中并通过过滤分离。

[0259] 以下化合物通过此方法制备:

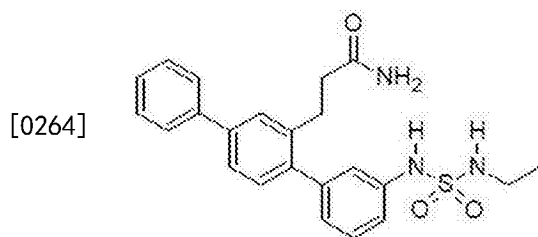
[0260] 3-{3-[(甲基氨基磺酰基) 氨基]-1,1':4',1''-三联苯-2'-基} 丙酰胺 (T5)



[0262] 白色粉末 (60mg, 30%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 9.77 (br. s., 1H), 7.70 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.62 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.54 (dd, J=7.9, 1.7Hz, 1H), 7.49 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.31-7.42 (m, 3H), 7.22-7.29 (m, 2H), 7.13-7.21 (m, 2H), 6.99 (d, J=7.6Hz, 1H), 6.78 (br. s., 1H), 2.75-2.88 (m, 2H), 2.48 (被 DMSO-d₆ 遮蔽), 2.27-2.36 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=

410.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 97.4%, 在 220nm。

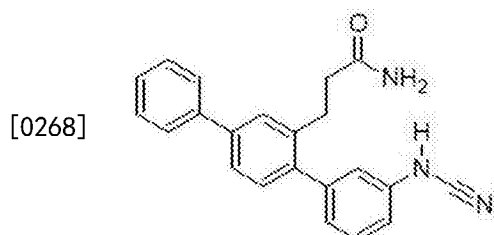
[0263] 3-[3-[(乙基氨磺酰基)氨基]-1,1':4',1''-三联苯-2'-基]丙酰胺 (T6)



[0265] 白色粉末 (69mg, 34%)。1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 9.72 (br. s., 1H), 7.70 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.62 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.43-7.58 (m, 4H), 7.31-7.42 (m, 2H), 7.20-7.29 (m, 2H), 7.11-7.20 (m, 2H), 6.97 (d, J=7.6Hz, 1H), 6.77 (br. s., 1H), 2.76-2.97 (m, 4H), 2.26-2.37 (m, 2H), 0.98 (t, J=7.2Hz, 3H); LCMS [M+H]⁺=424.3; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 99.6%, 在 220nm。

[0266] 实施例9-T16自T18的合成

[0267] 在温和加热的情况下, 将3-(3-氨基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺 (T18-在实施例2中制备) (181mg, 0.57mmol) 溶解在甲醇 (3.8mL) 中。加入乙酸钾 (170mg, 1.73mmol) 并将混合物在冰-水浴中冷却。逐滴加入溴化氰 (61mg, 0.58mmol) 在甲醇 (1.1mL) 中的溶液。将混合物在氮气下在冰-水浴中搅拌1小时, 然后在室温在氮气下搅拌过夜。将反应混合物蒸发至干。将残留物溶解在10% 甲醇/二氯甲烷 (60mL) 中。有机相用水 (3×20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 并过滤。将滤液蒸发至干。将残留物通过急骤色谱法 (甲醇/二氯甲烷) 纯化。将产物溶解在乙酸乙酯 (20mL) 中并将有机相用盐酸 (1M, 3×20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 并过滤。将滤液蒸发至干。将残留物悬浮在1:1 二氯甲烷/己烷中并通过过滤分离。将所得产物通过急骤色谱法 (甲醇/二氯甲烷) 纯化。将产物悬浮在1:1 二氯甲烷/己烷中并通过过滤分离, 得到3-[3-(氰基氨基)-1,1':4',1''-三联苯-2'-基]丙酰胺 (T16):



[0269] 白色粉末 (68mg, 35%)。1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 10.30 (br. s., 1H), 7.70 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.63 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.55 (dd, J=7.8, 1.8Hz, 1H), 7.35-7.52 (m, 4H), 7.20-7.30 (m, 2H), 7.04 (d, J=7.6Hz, 1H), 6.99 (dd, J=8.0, 1.8Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.75 (br. s., 1H), 2.82 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.25-2.35 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=342.3; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 97.6%, 在 220nm。

[0270] 实施例10-三氟甲磺酸3-(3-氨基-3-氧代丙基)联苯-4-基酯的合成

[0271] 三氟甲磺酸3-(3-氨基-3-氧代丙基)联苯-4-基酯 (7) 的合成示于图7。

[0272] 4-羟基联苯-3-甲醛 (2) 的制备

[0273] 将5-溴水杨醛 (1) (50.00g, 0.249mol)、K₂CO₃ (103.13g, 0.746mol)、苯基硼酸 (30.33g, 0.249mmol) 和 Pd(OAc)₂ (0.28g, 1.2mmol) 加入到含有新鲜脱气的 H₂O (1.5L, 通过

用N₂ (4x 2.5L气球)吹洗脱气)的磁力搅拌的2L圆底烧瓶中。将反应混合物在N₂下搅拌过夜并通过TLC分析(2观察到但1仍然存在)。将反应混合物搅拌另外的24h,然后在几小时内小心地倒入HCl(水溶液,0.2M,3L)中,通过加入少量HCl(水溶液,33%)维持该混合物的pH(~pH 2)。然后将混合物与EtOAc(500mL)搅拌1h并通过Celite过滤到分离漏斗中。收集有机层并将水层用EtOAc(500mL,通过Celite洗涤滤液)萃取并将两个有机层合并,用MgSO₄干燥并浓缩,得到黄色固体残留物(64g)。将残留物放入热EtOH(200mL)中并在剧烈搅拌下缓慢地加入H₂O(200mL),并允许在48h内冷却至室温。所得的沉淀通过真空过滤收集并用H₂O/EtOH(1:1,200mL)洗涤并进行空气干燥,得到粗制联苯2(41.97g,含有25mol%1,作为杂质),为浅黄色固体。在磁力搅拌下,将粗制联苯2(39.8g,含有大约0.050mol的1)、苯基硼酸(6.02g,0.050mol)和K₂CO₃(40.76g,0.295mol)加入到在2L圆底烧瓶中的H₂O(1.0L)中。将反应混合物利用N₂(2x 2.5L气球,在15min内)吹洗,然后添加Pd(OAc)₂(223mg,1.0mmol)并在N₂下缓慢地加热至回流达3h。加入另外的苯基硼酸(1.2g,9.84mmol)并在回流下继续搅拌4h,然后冷却至室温并静置过周末。在1min内将混合物倒入HCl(水溶液,3.3M,1.5L)并良好搅拌10min,然后通过真空过滤收集固体并抽吸至干达30min。将固体转移至真空干燥器并干燥过夜,得到39.7g的联苯2(质量当量36.6g,74%) 和1(当量,至8mol%杂质)的12:1混合物。¹H NMR(400MHz,CDC13) 7.08(d,J=8.61Hz,1H),7.32-7.39(m,1H),7.45(t,J=7.43Hz,2H),7.55(d,J=7.43Hz,2H),7.72-7.80(m,2H),9.93-10.00(m,1H),11.01(s,1H)。

[0274] 4-(苄氧基)联苯-3-甲醛(3)的制备

[0275] 在500mL圆底烧瓶中,将苯酚2(38.10g,0.192mol)、K₂CO₃(33.78g,0.250mol)和苄基溴(29.7mL,0.250mol)在CH₃CN(370mL)的磁力搅拌混合物缓慢加热至70℃达3h并通过TLC(二氧化硅,10%EtOAc/己烷,通过UV可视化)分析。TLC显示反应进行但是剩余一些苯酚2。将反应混合物加热至回流达2h,然后通过TLC分析(反应完成,没有观察到苯酚2)。将反应混合物冷却至室温并转移至1L锥形烧瓶并且利用HCl小心地酸化(水溶液,2M,200mL,观察到一些泡腾,持续直至pH<2)。加入水(200mL)并用EtOAc萃取(3x 500mL)。萃取物用MgSO₄干燥并浓缩,得到浅棕色固体。将该固体悬浮在己烷(150mL)中并剧烈搅拌10min,然后通过真空过滤收集产物并用己烷(2x 60mL)洗涤,得到化合物3,为浅棕色粉末(44.50g,80%)。¹H NMR(400MHz,CDC13) 5.25(s,2H),7.13(d,J=9.00Hz,1H),7.29-7.39(m,2H),7.39-7.49(m,6H),7.57(d,J=7.43Hz,2H),7.77(dd,J=8.61,2.35Hz,1H),8.10(d,J=2.35Hz,1H),10.60(s,1H)。

[0276] (2E)-3-[4-(苄氧基)联苯-3-基]丙-2-烯酸(4)的制备

[0277] 将哌啶(2.2mL,0.022mol)加入到醛(3)(44.5g,0.154mol)和丙二酸(19.25g,0.185mol)在吡啶(250mL)中的磁力搅拌混合物中并缓慢加热至温和回流达5h。随着反应温度达到90℃,注意到泡腾。混合物的TLC(二氧化硅,10%EtOAc/己烷,通过UV可视化)显示仅对应于起始醛3的假象点和对应于产物(4)的在基线上的荧光材料的强烈点。将反应冷却至室温并在旋转蒸发器(60℃)上浓缩。加入EtOAc(200mL)和HCl(水溶液,2M,200mL),得到白色糊状物的粘稠浆液。固体(化合物4)通过真空过滤收集并将双相滤液转移至分离漏斗。收集有机相,用HCl(水溶液,2M,1x 100mL)、H₂O(2x 200mL)和盐水(1x 75mL)洗涤,用MgSO₄干燥并浓缩,得到另外的化合物4,为浅黄棕色固体。合并两批化合物4,并在真空干燥器中干燥,得到化合物4(48.5g,95%)。¹H NMR(400MHz,CDC13) 5.23(s,2H),6.64(d,J=16.04Hz,

1H), 7.03 (d, J=8.61Hz, 1H), 7.34 (d, J=5.48Hz, 2H), 7.38-7.49 (m, 6H), 7.55 (d, J=7.43Hz, 3H), 7.68-7.85 (m, 1H), 8.22 (d, J=16.04Hz, 1H)。

[0278] (2E)-3-[4-(苄氧基)联苯-3-基]丙-2-烯酰胺(5)的制备

[0279] 将草酰氯(25mL, 0.29mol)经由滴液漏斗在30min内缓慢加入到在装配有滴液漏斗、瓶塞和油鼓泡器的1L 3颈圆底烧瓶中的羧酸4(48.2g, 0.146mol)和DMF(0.8mL)在CH₂Cl₂(500mL)中的磁力搅拌混合物中。通过将容器置于水浴中达添加的持续时间而维持反应的温度。在加入大约2/3的草酰氯之后,随着悬浮固体消失,反应混合物变得均一。允许反应混合物搅拌另外的1h,然后在旋转蒸发器(60℃)上浓缩反应混合物,得到作为黄色固体的中间体酰基氯。将该黄色中间体酰基氯悬浮在1,4-二噁烷(200mL)的磁力搅拌溶液中并在15min内加入NH₃(31mL, 28%, 在H₂O中, 0.438mol)在1,4-二噁烷(200mL)中的溶液。通过将容器放置在水浴中达添加的持续时间维持反应的温度。得到稠的浆液。将该浆液在室温搅拌另外的30min,然后将混合物倒入1L锥形烧瓶中,然后加入H₂O,得到1L的最终体积。将浆液搅拌5min并且固体通过真空过滤收集,利用H₂O(2x 300mL)洗涤该固体。将固体在真空干燥器中干燥过夜,然后在旋转蒸发器(60℃, 大约1-5mmHg)干燥,得到第一批的化合物5(41.6g, 86%),为灰白色粉末。将含水滤液浓缩至干,加入H₂O(200mL)并且固体通过真空过滤收集,得到第二批的化合物5(8.12g),为灰白色粉末。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) 5.23 (s, 2H), 6.61-6.67 (m, 1H), 7.04 (d, J=8.61Hz, 1H), 7.31-7.38 (m, 3H), 7.44 (m, 7H), 7.55 (m, 2H), 7.78 (d, J=1.57Hz, 1H), 8.22 (d, J=16.04Hz, 1H)。

[0280] 3-(4-羟基联苯-3-基)丙酰胺(6)的制备

[0281] 将化合物5(41.55g, 0.126mol)悬浮在EtOAc(1L)和NEt₃(1.5mL)的磁力搅拌混合物中。将N₂(3x 1L气球)鼓泡通过混合物,然后加入Pd/C(10%w/w, 4.15g)并将烧瓶短暂地置于真空下,然后用来自气球的H₂回填气氛。将气球再装填新鲜H₂并对反应混合物打开并且搅拌6h,大约每1-2h用H₂再装填气球(3次),然后搅拌过夜。将气球再次用H₂再装填并将反应混合物缓慢加热至回流达3h,然后冷却至室温并在H₂下搅拌4天。将气球再次用H₂再装填并且将反应混合物缓慢地加热至回流达3h,然后冷却且将N₂(2x 1L气球)鼓泡通过反应混合物。将反应混合物通过Celite过滤,用EtOAc(2x 150mL)洗涤Celite垫并将滤液在旋转蒸发器(60℃)上浓缩,得到黄色油状物。向该黄色油状物中加入Et₂O,然后在旋转蒸发器上除去,得到浅黄色粉末(粗制6)。该浅黄色粉末的TLC(二氧化硅, 70%EtOAc/己烷)显示几种产物。将黄色粉末在己烷(150mL)中剧烈搅拌30min并将固体通过真空过滤收集,用己烷(2x 30mL)洗涤,得到化合物6(30.22g, 含有大约15mol%未知杂质),为浅黄色粉末。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) 2.69-2.75 (m, 2H), 2.94-3.01 (m, 2H), 5.57 (br. s., 2H), 6.99 (d, J=8.22Hz, 1H), 7.29 (d, J=2.35Hz, 2H), 7.33-7.43 (m, 4H), 7.53 (d, J=7.43Hz, 2H)。

[0282] 三氟甲磺酸3-(3-氨基-3-氧代丙基)联苯-4-基酯(7)的制备

[0283] 将1,1,1-三氟-N-苯基-N-[(三氟甲基)磺酰基]甲磺酰胺(PhNTf₂)(42.5g, 0.119mol)加入到6(24.0g, 0.0995mol)和NEt₃(15.3mL, 0.109mol)在CH₃CN(480mL)的溶液中,并将反应混合物搅拌1.5h。加入另外的PhN(Tf)₂(2.25g, 6.30mmol)和NEt₃(1.5mL, 10.7mmol)并将反应混合物再搅拌30min。反应显示仅有微量的剩余6。将反应混合物在旋转蒸发器(60℃)上浓缩,得到橙色油状物。将该油状物的小等分试样放入EtOAc(15mL)中并用Na₂CO₃(水溶液, 2M, 2x 20mL)和NaOH(水溶液, 0.5M, 2x 20mL)洗涤,用MgSO₄干燥并浓缩,得

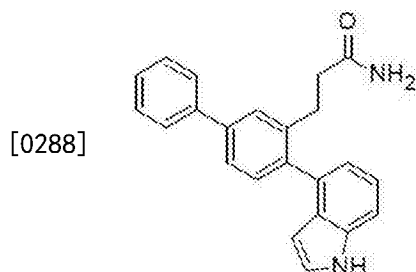
到一批粗制7 (422mg)。后续的HPLC分析表明所需的产物在有机相。将此第一批的粗制7与橙色油状物重新组合并放入EtOAc (300mL) 中, 用Na₂CO₃ (水溶液, 2M, 2x 250mL) 洗涤, 用MgSO₄ 干燥并在旋转蒸发器 (60℃) 上浓缩, 得到橙色油状物 (65g, ¹H NMR显示大量杂质, 包括NEt₃)。将此油状物再溶解在EtOAc (300mL) 中并用柠檬酸 (水溶液, 10% w/w, 2x 250mL) 和水 (2x 350mL) 洗涤, 用MgSO₄干燥并在旋转蒸发器 (60℃) 上浓缩, 得到橙色油状物 (59g)。将此油状物再次放入EtOAc (300mL) 中并用NaOH (水溶液, 0.5M, 3x 200mL)、HCl (2M, 2x 200mL) 和H₂O (1x 300mL) 洗涤, 用MgSO₄干燥并在旋转蒸发器 (60℃) 上浓缩, 得到在静置时固化的橙色油状物。将此固体悬浮在Et₂O (150mL) 中并剧烈搅拌30min, 通过真空过滤收集并用Et₂O (2x 30mL) 洗涤, 得到化合物7, 为白色粉末 (12.3g, 37%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) 2.60 (t, J=7.63Hz, 2H), 3.13 (t, J=7.83Hz, 2H), 5.48 (br. s., 2H), 7.32 (d, J=8.61Hz, 1H), 7.36-7.42 (m, 1H), 7.45 (t, J=7.43Hz, 2H), 7.50 (dd, J=8.61, 1.96Hz, 1H), 7.54 (d, J=7.43Hz, 2H), 7.59 (d, J=1.96Hz, 1H)。

[0284] 实施例11-T22和T23的合成

[0285] T22和T23制备自三氟甲磺酸3-(3-氨基-3-氧代丙基) 联苯-4-基酯 (7-在实施例10中制备)。将7 (1当量)、杂环硼酸 (1.2当量) 和碳酸钾 (2当量) 的混合物悬浮在1,4-二噁烷 (4mL/mmol) 和水 (5滴/mmol)。将氮气鼓泡通过该混合物达15min。加入四(三苯基膦) 钯 (0) (0.1当量) 并将混合物在氮气下在85℃加热20h。混合物用乙酸乙酯稀释并过滤。残留物用乙酸乙酯 (2x) 洗涤。将合并的滤液蒸发至干并通过急骤色谱法 (甲醇/二氯甲烷) 纯化。将产物悬浮在己烷 (4mL) 中并通过过滤分离。

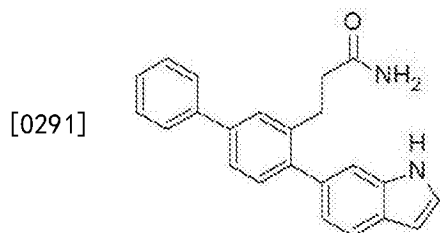
[0286] 以下化合物通过此方法制备:

[0287] 3-[4-(1H-吡啶-4-基) 联苯-3-基] 丙酰胺 (T22)



[0289] 浅米黄色粉末 (58mg, 32%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) 8.27 (br. s., 1H), 7.64-7.71 (m, 2H), 7.58-7.63 (m, 1H), 7.54 (dd, J=7.8, 1.8Hz, 1H), 7.40-7.50 (m, 4H), 7.36 (br. t, J=7.5Hz, 1H), 7.28 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.22 (t, J=2.7Hz, 1H), 7.03-7.09 (m, 1H), 6.27-6.33 (m, 1H), 4.96 (br. s., 1H), 4.88 (br. s., 1H), 2.99 (br. s., 2H), 2.23 (t, J=7.9Hz, 2H); LCMS [M+H]⁺=341.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA梯度) 97.1%, 在220nm

[0290] 3-[4-(1H-吡啶-6-基) 联苯-3-基] 丙酰胺 (T23)



[0292] 浅棕色粉末 (13mg, 7%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) 8.27 (br. s., 1H), 7.69 (d, J=

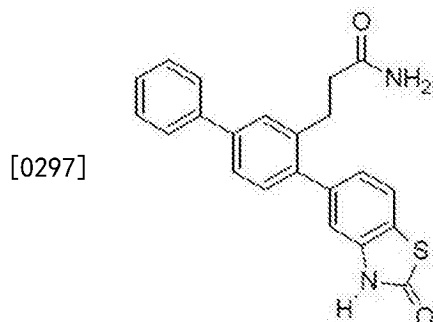
8.0Hz, 1H), 7.64 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.56 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.47-7.53 (m, 1H), 7.42-7.46 (m, 2H), 7.32-7.41 (m, 3H), 7.12 (dd, J=8.1, 1.3Hz, 1H), 6.60 (br.s., 1H), 5.06 (br.s., 2H), 3.04-3.16 (m, 2H), 2.29-2.40 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=341.3; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 99.5%, 在220nm。

[0293] 实施例12-T29、T38、T63、T64、T65和T66的合成

[0294] T29、T38、T63、T64、T65和T66制备自三氟甲磺酸3-(3-氨基-3-氧代丙基)联苯-4-基酯(7-在实施例10中制备)。将7 (1当量)、芳族硼酸或杂环硼酸频哪醇酯(1.1当量)和碳酸钾(2-3当量)的混合物溶解在1,4-二噁烷(3.1mL/mmol)、乙醇(0.65mL/mmol)和水(0.65mL/mmol)的混合物中。将氮气鼓泡通过该混合物达10min。加入四(三苯基膦)钯(0)(0.1当量)并将混合物在氮气下在85℃加热20h。将混合物分配在乙酸乙酯和水之间。水相用乙酸乙酯萃取。将合并的乙酸乙酯萃取物用水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,并过滤。将滤液蒸发至干并通过急骤色谱法(甲醇/二氯甲烷)纯化。将产物悬浮在1:1二氯甲烷/己烷中并通过过滤分离。

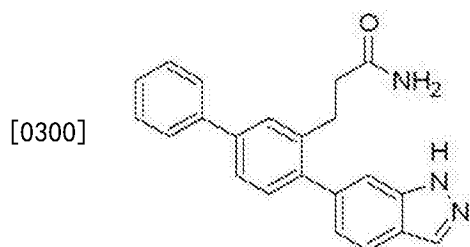
[0295] 以下化合物通过此方法制备:

[0296] 3-[4-(2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-5-基)联苯-3-基]丙酰胺(T29)



[0298] 浅棕色粉末(39mg, 11%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 11.96 (br.s., 1H), 7.70 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.60-7.67 (m, 2H), 7.55 (dd, J=7.9, 1.7Hz, 1H), 7.49 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.35-7.43 (m, 1H), 7.20-7.31 (m, 2H), 7.09-7.16 (m, 1H), 7.05 (d, J=1.2Hz, 1H), 6.75 (br.s., 1H), 2.84 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.25-2.37 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=375.1; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 98.6%, 在220nm。

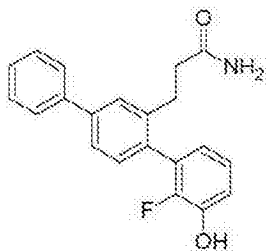
[0299] 3-[4-(1H-吡唑-6-基)联苯-3-基]丙酰胺(T38)



[0301] 浅黄色粉末(72mg, 44%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 13.09 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.82 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.71 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.65 (d, J=1.4Hz, 1H), 7.56 (dd, J=8.0, 1.8Hz, 1H), 7.43-7.53 (m, 3H), 7.35-7.43 (m, 1H), 7.32 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.21 (br.s., 1H), 7.11 (dd, J=8.3, 0.9Hz, 1H), 6.70 (br.s., 1H), 2.77-2.93 (m, 2H), 2.25-2.38 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=342.1; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 98.5%, 在220nm。

[0302] 3-(2-氟-3-羟基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺(T63)。

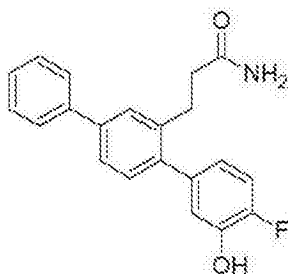
[0303]



[0304] 白色粉末(87mg,53%)。1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) 9.92(br.s.,1H),7.70(d,J=7.2Hz,2H),7.64(d,J=1.6Hz,1H),7.54(dd,J=7.9,1.7Hz,1H),7.49(t,J=7.6Hz,2H),7.35-7.42(m,1H),7.16-7.29(m,2H),7.03-7.10(m,1H),6.94-7.02(m,1H),6.65-6.78(m,2H),2.72(t,J=7.8Hz,2H),2.28(t,J=7.9Hz,2H);LCMS[M+H]⁺=336.2;HPLC(水/ACN+0.1%TFA梯度)99.3%,在220nm。

[0305] 3-(4-氟-3-羟基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺(T64)

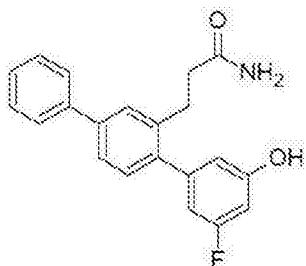
[0306]



[0307] 白色粉末(98mg,61%)。1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) 9.95(br.s.,1H),7.69(d,J=7.2Hz,2H),7.60(d,J=1.6Hz,1H),7.43-7.55(m,3H),7.33-7.42(m,1H),7.12-7.28(m,3H),6.90(dd,J=8.5,2.1Hz,1H),6.65-6.80(m,2H),2.76-2.87(m,2H),2.25-2.36(m,2H);LCMS[M+H]⁺=336.2;HPLC(水/ACN+0.1%TFA梯度)99.6%,在220nm。

[0308] 3-(3-氟-5-羟基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺(T65)

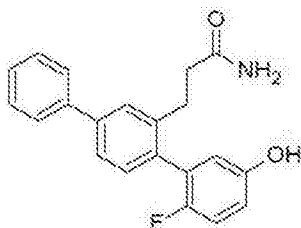
[0309]



[0310] 白色粉末(89mg,55%)。1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) 10.05(br.s.,1H),7.69(d,J=7.4Hz,2H),7.61(d,J=1.6Hz,1H),7.44-7.56(m,3H),7.34-7.42(m,1H),7.20-7.31(m,2H),6.76(br.s.,1H),6.54-6.64(m,3H),2.83(t,J=7.8Hz,2H),2.32(t,J=7.8Hz,2H);LCMS[M+H]⁺=336.2;HPLC(水/ACN+0.1%TFA梯度)99.6%,在220nm。

[0311] 3-(2-氟-5-羟基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺(T66)

[0312]

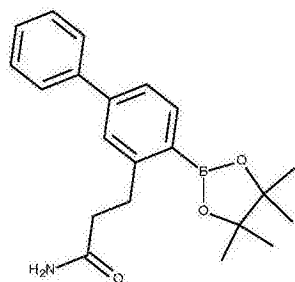


[0313] 白色粉末 (75mg, 45%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 9.51 (s, 1H), 7.70 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.63 (d, J=1.4Hz, 1H), 7.54 (dd, J=7.9, 1.7Hz, 1H), 7.49 (t, J=7.5Hz, 2H), 7.35-7.42 (m, 1H), 7.19-7.29 (m, 2H), 7.10 (t, J=9.1Hz, 1H), 6.79 (dt, J=8.6, 3.6Hz, 1H), 6.74 (br. s., 1H), 6.66 (dd, J=6.3, 2.9Hz, 1H), 2.68-2.78 (m, 2H), 2.24-2.34 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=336.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 97.6%, 在 220nm。

[0314] 实施例13-3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧代硼戊烷(dioxaborolan)-2-基)联苯-3-基]丙酰胺

[0315] 3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧代硼戊烷-2-基)联苯-3-基]丙酰胺(8)制备自三氟甲磺酸3-(3-氨基-3-氧代丙基)联苯-4-基酯(7-在实施例10中制备)。在氮气下,将7 (1.81g, 4.84mmol)、双(频哪醇合)二硼(1.35g, 5.31mmol)、1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁二氯化钯(II)二氯甲烷络合物(790mg, 0.97mmol)和乙酸钾(1.43g, 14.5mmol)的混合物悬浮在无水二甲亚砜(31mL)中。将混合物在氮气下在85℃加热4h。将混合物用乙酸乙酯(90mL)稀释并通过硅胶柱利用乙酸乙酯洗脱。包含主带的级分用水(2×200mL)和盐水(200mL)洗涤,用无水硫酸钠干燥,并过滤。将滤液蒸发至干。残留物通过急骤色谱法(乙酸乙酯/二氯甲烷)纯化,得到化合物8:

[0316]



[0317] 在静置时固化的浅棕色油状物(1.02g, 59%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) 7.91 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.60 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.40-7.50 (m, 4H), 7.32-7.39 (m, 1H), 5.82 (br. s., 1H), 5.33 (br. s., 1H), 3.22-3.31 (m, 2H), 2.51-2.59 (m, 2H), 1.38 (s, 12H)。

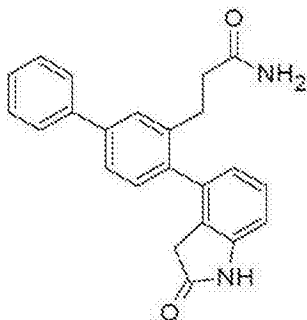
[0318] 实施例14-T24、T26、T27、T30、T32、T33、T35、T37、T39和T58的合成

[0319] T24、T26、T27、T30、T32、T33、T35、T37、T39和T58制备自3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧代硼戊烷-2-基)联苯-3-基]丙酰胺(8-在实施例13中制备)。在氮气下,将8(1当量)、溴-芳族或溴-杂环(1.1当量)和1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁二氯化钯(II)二氯甲烷络合物(0.1当量)的混合物溶解在无水N,N-二甲基甲酰胺(10.6mL/mmol)。加入脱气的碳酸钠溶液(2M, 5.3mL/mmol)。将混合物在氮气下在80℃加热。将混合物分配在乙酸乙酯和水之间。水相用乙酸乙酯萃取。合并的乙酸乙酯萃取物用水(3×)和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,并过滤。将滤液蒸发至干并通过急骤色谱法(甲醇/二氯甲烷)纯化。将产物悬浮在1:1二氯甲烷/己烷中并通过过滤分离。

[0320] 以下化合物通过此方法制备:

[0321] 3-[4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-吡啶-4-基)联苯-3-基]丙酰胺 (T24)

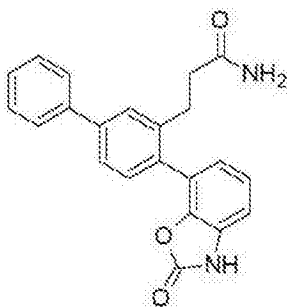
[0322]



[0323] 浅黄色粉末 (72mg, 58%)。1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 10.46 (s, 1H), 7.70 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.63 (d, J=1.4Hz, 1H), 7.43-7.56 (m, 3H), 7.34-7.42 (m, 1H), 7.16-7.30 (m, 3H), 6.83 (t, J=7.3Hz, 2H), 6.67 (br. s., 1H), 3.26 (br. s., 2H), 2.72 (br. t, J=7.0Hz, 2H), 2.25 (t, J=7.7Hz, 2H); LCMS [M+H]⁺=357.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA梯度) 100.0%, 在 220nm。

[0324] 3-[4-(2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噁唑-7-基)联苯-3-基]丙酰胺 (T26)

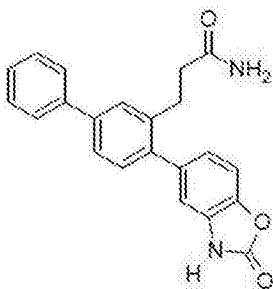
[0325]



[0326] 浅橙色粉末 (30mg, 23%)。1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 11.72 (br. s., 1H), 7.70 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.56 (dd, J=7.8, 1.2Hz, 1H), 7.48 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.34-7.42 (m, 1H), 7.31 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.15-7.26 (m, 2H), 7.10 (d, J=7.0Hz, 1H), 7.02 (d, J=7.4Hz, 1H), 6.69 (br. s., 1H), 2.75 (t, J=8.0Hz, 2H), 2.26 (t, J=8.0Hz, 2H); LCMS [M+H]⁺=359.1; HPLC (水/ACN+0.1% TFA梯度) 98.9%, 在 220nm。

[0327] 3-[4-(2-氧代-2,3-二氢-1,3-苯并噁唑-5-基)联苯-3-基]丙酰胺 (T27)

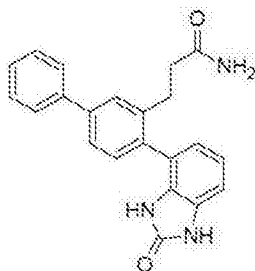
[0328]



[0329] 浅橙色粉末 (49mg, 28%)。1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 11.69 (br. s., 1H), 7.70 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.62 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.45-7.57 (m, 3H), 7.31-7.43 (m, 2H), 7.17-7.30 (m, 2H), 7.00-7.09 (m, 2H), 6.72 (br. s., 1H), 2.83 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.25-2.35 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=359.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA梯度) 97.0%, 在 220nm。

[0330] 3-[4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并咪唑-4-基)联苯-3-基]丙酰胺 (T30)

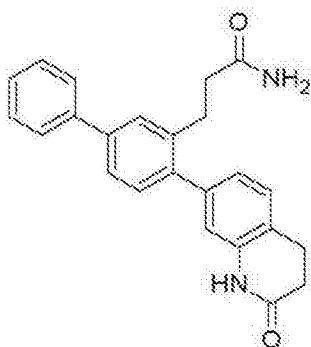
[0331]



[0332] 浅米黄色粉末 (110mg, 63%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 10.69 (s, 1H), 10.48 (s, 1H), 7.71 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.63 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.55 (dd, J=7.8, 1.8Hz, 1H), 7.50 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.35-7.43 (m, 1H), 7.19-7.30 (m, 2H), 6.97-7.05 (m, 1H), 6.91-6.97 (m, 1H), 6.78-6.82 (m, 1H), 6.75 (br. s., 1H), 2.60-2.86 (m, 2H), 2.29 (br. s., 2H); LCMS [M+H]⁺=358.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 96.4%, 在 220nm。

[0333] 3-[4-(2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)联苯-3-基]丙酰胺 (T32)

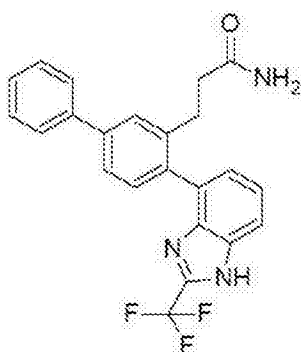
[0334]



[0335] 浅米黄色粉末 (118mg, 66% 收率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 10.13 (s, 1H), 7.69 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.61 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.44-7.56 (m, 3H), 7.34-7.41 (m, 1H), 7.18-7.28 (m, 3H), 6.90 (dd, J=7.5, 1.5Hz, 1H), 6.82 (d, J=1.2Hz, 1H), 6.74 (br. s., 1H), 2.94 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.77-2.87 (m, 2H), 2.53 (被 DMSO-d₆ 遮蔽), 2.28-2.37 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=371.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 97.9%, 在 220nm。

[0336] 3-{4-[2-(三氟甲基)-1H-苯并咪唑-4-基]联苯-3-基}丙酰胺 (T33)

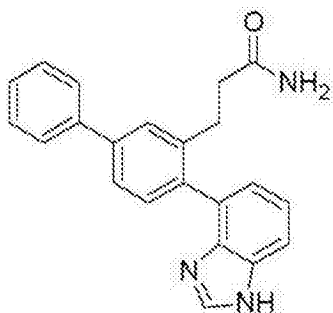
[0337]



[0338] 白色粉末 (107mg, 53%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 13.81-14.10 (m, 1H), 7.08-7.88 (m, 12H), 6.59-6.81 (m, 1H), 2.71 (br. t, J=7.3Hz, 2H), 2.28 (m, 2H), 由于苯并咪唑部分上的氢交换所致而将谱图分成两个种类; LCMS [M+H]⁺=410.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA 梯度) 100%, 在 220nm。

[0339] 3-[4-(1H-苯并咪唑-4-基)联苯-3-基]丙酰胺 (T35)

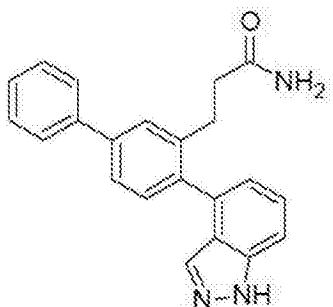
[0340]



[0341] 浅棕色粉末 (54mg, 32%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 12.32-12.57 (m, 1H), 8.16 (d, J=13.3Hz, 1H), 7.03-7.79 (m, 12H), 6.54-6.75 (m, 1H), 2.67-2.81 (m, 2H), 2.20-2.33 (m, 2H), 由于苯并咪唑部分上的氢交换所致而将谱图分成两个种类; LCMS [M+H]⁺=342.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA梯度) 96.9%, 在220nm。

[0342] 3-[4-(1H-吡唑-4-基)联苯-3-基]丙酰胺 (T37)

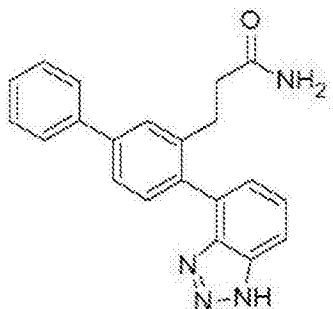
[0343]



[0344] 浅棕色粉末 (69mg, 42%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 13.20 (s, 1H), 7.68-7.79 (m, 4H), 7.54-7.63 (m, 2H), 7.50 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.32-7.47 (m, 3H), 7.17 (br. s., 1H), 7.03 (d, J=6.8Hz, 1H), 6.67 (br. s., 1H), 2.77 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.21-2.29 (m, 2H); LCMS [M+H]⁺=342.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA梯度) 99.7%, 在220nm。

[0345] 3-[4-(1H-苯并三唑-4-基)联苯-3-基]丙酰胺 (T39)

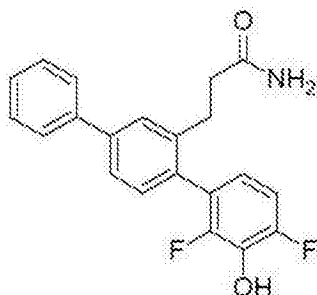
[0346]



[0347] 浅黄色粉末 (10mg, 6%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 15.79 (br. s., 1H), 7.81-8.05 (m, 1H), 7.68-7.79 (m, 3H), 7.62 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.52 (t, J=7.7Hz, 3H), 7.29-7.45 (m, 3H), 7.21 (br. s., 1H), 6.71 (br. s., 1H), 2.68-2.80 (m, 2H), 2.27 (t, J=7.8Hz, 2H); LCMS [M+H]⁺=343.2; HPLC (水/ACN+0.1% TFA梯度) 98.2%, 在220nm。

[0348] 3-(2,4-二氟-3-羟基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺 (T58)

[0349]



[0350] 在第一次乙酸乙酯/水萃取之后,通过加入1M盐酸将水层调节至pH 6并且根据通用方法继续后处理。作为浅棕色粉末获得(106mg,62%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 10.24 (br.s., 1H), 7.70 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.64 (d, J=1.4Hz, 1H), 7.55 (dd, J=7.9, 1.7Hz, 1H), 7.49 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.35-7.43 (m, 1H), 7.17-7.27 (m, 2H), 7.11 (t, J=9.2Hz, 1H), 6.65-6.81 (m, 2H), 2.71 (t, J=7.7Hz, 2H), 2.28 (t, J=7.9Hz, 2H); LCMS[M+H]⁺=354.3; HPLC (水/ACN+0.1% TFA梯度) 99.5%, 在220nm。

[0351] 实施例15-用于制备T67的5-碘-2-甲基苯-1,3-二醇的合成

[0352] 在氮气下,将4-氯-3,5-二甲氧基苯胺(3.0g, 16.0mmol)、乙酸钡(II) (180mg, 0.80mmol)、2-二环己基膦基-2,4,6-三异丙基联苯(XPhos) (381mg, 0.80mmol)、碳酸钾(6.73g, 48.7mmol)和甲基硼酸(1.15g, 19.2mmol)在水(100mL)和二噁烷(100mL)中的混合物加热至100℃(油浴温度)达18h。反应不完全并且加热至回流达另外的3h,冷却至室温,用水(200mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 150mL)萃取,用硫酸镁干燥,浓缩并通过急骤色谱法(乙酸乙酯/己烷)纯化,得到3,5-二甲氧基-4-甲基苯胺(720mg, 27%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) 5.93 (s, 2H), 3.77 (s, 6H), 3.58 (bs, 2H), 1.98 (s, 3H)。在0℃,将亚硝酸钠(340mg, 4.93mmol)加入到3,5-二甲氧基-4-甲基苯胺(720mg, 4.31mmol)在硫酸(1.1mL)和水(13mL)的混合物并搅拌30min。在80℃,将产生的混合物加入到碘化钠(2.58g, 17.2mmol)和碘(555mg, 2.19mmol)在硫酸(1.1mL)和水(13mL)的预热混合物中,并将混合物加热至回流达30min。将反应混合物冷却至室温并用亚硫酸钠(20% w/w, 100mL)和水(100mL)的溶液稀释,并用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。合并有机物,用硫酸镁干燥,浓缩并通过急骤色谱法(乙酸乙酯/己烷)纯化,得到5-碘-1,3-二甲氧基-2-甲基苯,为白色粉末(388mg, 32%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) 6.84 (s, 2H), 3.79 (s, 6H), 2.02 (s, 3H)。将在二氯甲烷(8mL)中的5-碘-1,3-二甲氧基-2-甲基苯(388mg, 1.39mmol)冷却至0℃,然后在氮气下在1min内缓慢加入净三溴化硼(0.8mL, 8mmol)。允许反应混合物在3h内缓慢温热至室温并搅拌18h。将反应混合物缓慢且谨慎地倒入冰水(100mL)中并用乙酸乙酯(3x 60mL)萃取,并将合并的有机物用盐水(1x 50mL)洗涤,用硫酸镁干燥,浓缩并通过急骤色谱法(乙酸乙酯/己烷)纯化,得到5-碘-2-甲基苯-1,3-二醇,为白色粉末(260mg, 74%)。¹H NMR (400MHz, d₆-DMSO) 9.44 (s, 2H), 6.63 (s, 2H), 1.87 (s, 3H)。

[0353] 实施例16-用于制备T68的5-溴-2-氟苯-1,3-二醇的合成

[0354] 将Oxone (1.44g)在水(2mL)中的混合物在1min内加入到5-溴-2-氟-1,3-亚苯基二硼酸,频哪醇酯(500mg, 1.17mmol)在丙酮(1.5mL)中的溶液并在室温搅拌15min。加入另外的Oxone (0.512g)和丙酮(1mL)并再搅拌20min。加入亚硫酸氢钠溶液(10% w/w, 10mL),接着加入水(10mL)并用二氯甲烷(3x 20mL)萃取,用硫酸镁干燥并通过急骤色谱法(乙酸乙酯/

己烷)纯化,得到5-溴-2-氟苯-1,3-二醇,为白色粉末(159mg,66%)。¹H NMR(400MHz, CDC13) 6.73(d, J=6.8Hz, 2H), 5.29(bs, 2H)。

[0355] 实施例17-用于制备T69的2-氯-5-碘苯-1,3-二醇的合成

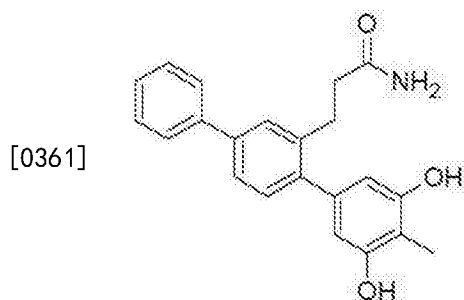
[0356] 根据W0 2011/027106A1,2-氯-5-碘苯-1,3-二醇在3个步骤中合成自3,5-二甲氧基苯胺,其中对第一步骤的改变是制备4-氯-3,5-二甲氧基苯胺,其中在0℃,作为在乙酸(50mL)中的悬浮液分批加入试剂N氯代琥珀酰亚胺至3,5-二甲氧基苯胺(10.01g, 65.35mmol)在乙酸(50mL)中的溶液并在30min之后温热至室温。

[0357] 实施例18-T67、T68和T69的合成

[0358] T67、T68和T69制备自3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧代硼戊烷-2-基)联苯-3-基]丙酰胺(8-在实施例13中制备)。将8(1当量)、取代的苯-1,3-二醇(在实施例15-17中制备)(1.1当量)、Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂(0.1当量)和碳酸钠(2M,5mL/mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(10mL/mmol)的混合物利用氮气鼓泡通过达5min,然后在氮气下加热至80℃达18h。将反应混合物冷却至室温并分配在1M盐酸和乙酸乙酯之间。合并的有机物用盐水洗涤,用硫酸镁干燥,浓缩并通过急骤色谱法(乙酸乙酯/己烷)纯化。

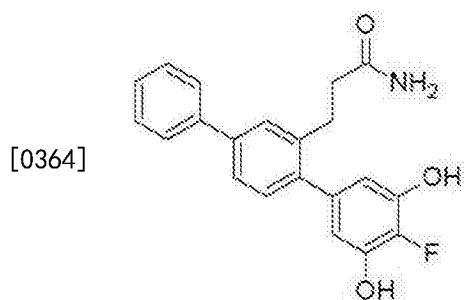
[0359] 以下化合物通过此方法制备:

[0360] 3-(3,5-二羟基-4-甲基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺(T67)



[0362] 白色粉末(121mg,59%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) 9.17(s,2H),7.68(d,J=7.43Hz,2H),7.58(br.s,1H),7.48(t,J=7.80Hz,3H),7.37(s,1H),7.23(br.s.,1H),7.17(d,J=7.83Hz,1H),6.76(br.s,1H),6.25(s,2H),3.33(s,3H),2.85(t,J=7.83Hz,2H),2.30(t,J=7.83Hz,2H)。LCMS[M+H]⁺=348。HPLC(水/ACN+0.1%TFA梯度)100%,在220nm。

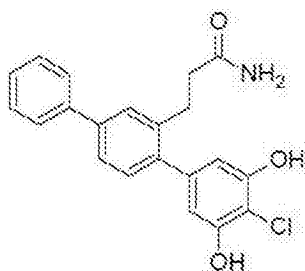
[0363] 3-(4-氟-3,5-二羟基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺(T68)



[0365] 浅黄色固体(82mg,41%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):9.70(br.s,2H),7.68(d,J=7.43Hz,2H),7.58(s,1H),7.43-7.53(m,3H),7.32-7.42(m,1H),7.25(br.s,1H),7.18(d,J=7.83Hz,1H),6.75(br.s,1H),6.33(d,J=7.43Hz,2H),2.83(t,J=7.80Hz,2H),2.30(t,J=8.20Hz,2H)。LCMS[M+H]⁺=352。HPLC(水/ACN+0.1%TFA梯度)96.1%,在220nm。

[0366] 3-(4-氯-3,5-二羟基-1,1':4',1''-三联苯-2'-基)丙酰胺(T69)

[0367]



[0368] 白色粉末 (26mg, 12%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) 9.93–10.12 (m, 2H), 7.69 (d, J = 7.43Hz, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.43–7.54 (m, 3H), 7.34–7.42 (m, 1H), 7.25 (br. s., 1H), 7.19 (d, J = 7.83Hz, 1H), 6.76 (br. s., 1H), 6.38 (s, 2H), 2.84 (t, J = 7.40Hz, 2H), 2.30 (t, J = 8.20Hz, 2H)。LCMS $[M+H]^+ = 368$ 。HPLC (水/ACN+0.1% TFA梯度) 100%, 在254nm。

[0369] 实施例19-T25的合成

[0370] 用来制备T25的合成路线示于图8。简言之,使三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14)经过与(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯(18)的Horner-Wadsworth-Emmons反应以得到联苯丙烯酰胺(23),其与吡啶酮频哪醇硼酸酯(24)交叉偶联以制备吡啶酮丙烯酰胺(25)。随后化合物25的氢解得到T25。

[0371] 为了合成T25,需要必要的吡啶酮频哪醇硼酸酯(24)。因此,1,4-二溴-2-硝基苯用丙二酸二甲酯烷基化以得到丙二酸芳基酯(26),将其脱羧化并环化以形成溴吡啶酮(27);这又与双(频哪醇合)二硼烷反应以形成吡啶酮频哪醇硼酸酯(24)(图9)。

[0372] 2-(4-溴-2-硝基苯基)丙二酸二甲酯(26)的制备

[0373] 向叔丁醇钾(21.6g, 193.00mmol)在DMF(75mL)中的混合物中加入丙二酸二甲酯(22.40mL, 196.00mmol)。该反应放热并且固体沉淀出来。将反应混合物加热至90℃达10分钟,然后冷却至环境温度。将2,5-二溴硝基苯(25.50g, 91mmol)作为固体加入。反应混合物变紫色并在90℃搅拌2小时。在冷却至环境温度之后,将其倒到冰冷5%盐酸溶液上并转移至分离漏斗。粗制材料用乙酸乙酯(2x)萃取出来。合并的乙酸乙酯萃取物用水和盐水洗涤,得到亮黄色油状物。粗制油预吸附到Celite上,然后经过色谱法(DCVC),利用在庚烷中的乙酸乙酯(0–10%乙酸乙酯)的梯度洗脱。合并同样的级分并从DCM和庚烷重结晶,得到2-(4-溴-2-硝基苯基)丙二酸二甲酯(26),为浅黄色针状体(26.78g, 87%); mp 85.8–87.1℃。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8.18 (d, 1H, J 2.1Hz), 7.75 (dd, 1H, J 2.1, 8.4Hz), 7.40 (d, 1H, J 8.4Hz), 5.26 (s, 1H), 3.78 (s, 6H)。

[0374] 6-溴吡啶啉-2-酮(27)的制备

[0375] 将氯化锂(6.36g, 156.0mmol)加入到2-(4-溴-2-硝基苯基)丙二酸二甲酯(26)(26.0g, 78.30mmol)在二甲亚砜(100mL)中的溶液并在100℃加热20小时。一旦冷却至环境温度,将反应混合物分配在乙酸乙酯和盐水之间。分离各个层,然后再用盐水洗涤并浓缩。将深黄褐色油状物溶解在乙酸(100mL)中并加入铁粉(17.50g, 313.0mmol)(放热)。然后将反应在110℃加热1小时。将乙酸通过旋转蒸发除去并且将残留物溶解在乙酸乙酯中并且通过Celite过滤除去铁粉。滤液利用1M盐酸和水洗涤,然后过滤通过相分离纸(1PS)。将粗制材料预吸附到Celite上,然后进行色谱法(DCVC),用氯仿洗脱。将含有所需材料的级分合并,预吸附到Celite上并再次进行色谱法(DCVC),利用在庚烷中的乙酸乙酯的梯度(20–80%乙酸乙酯)洗脱。合并洁净级分并从DCM和甲醇中重结晶,得到6-溴吡啶啉-2-酮(27),

为黄色针状体(4.32g, 26%); mp 208–214 °C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.47 (br s, 1H), 7.14 (d, 1H, J 7.9Hz), 7.09 (dd, 1H, J 1.8, 7.9Hz), 6.94 (d, 1H, J 1.8Hz), 3.44 (s, 2H)。

[0376] 6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊烷-2-基)吡啶-2-酮(24)的制备

[0377] 将6-溴吡啶-2-酮(27) (2.00g, 9.40mmol)、双频哪醇合二硼(6.00g, 23.60mmol)、乙酸钾(2.76g, 28.2mmol)和二氯[1,1'-二(二苯基膦)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加合物(0.40g, 0.55mmol)在DMSO (30mL)中在90 °C搅拌18小时。将反应混合物冷却至环境温度,然后分配在水和乙酸乙酯之间。分离各个层并将水层再次利用乙酸乙酯(2x)萃取。合并的有机层用水和盐水洗涤并浓缩,得到紫色固体。将粗制材料预吸附到Celite上并进行色谱法(DCVC),利用在庚烷中的乙酸乙酯的梯度(0–50%乙酸乙酯)洗脱。合并同样的级分并从DCM和PE重结晶,得到6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊烷-2-基)吡啶-2-酮(24),为无色固体,在2批(1.33g, 55%); mp 178.5–181.4 °C。¹H NMR (200MHz, CDCl₃) δ8.61 (br s, 1H), 7.46 (d, 1H, J 7.4Hz), 7.30 (s, 1H), 7.21 (d, 1H, J 7.4Hz), 3.53 (s, 2H), 1.32 (s, 12H)。

[0378] 三氟甲磺酸(E)-3-(3-氨基-3-氧代丙-1-烯-1-基)-[1,1'-联苯]-4-基酯(23)的制备

[0379] 将三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14) (3.80g, 11.50mmol)和(2-氨基-2-氧代乙基)磷酸二乙酯(18) (2.25g, 11.50mmol)溶解在干燥THF (100mL)中,并缓慢加入到粉末氢氧化钠(0.92g, 23.00mmol)的剧烈搅拌的悬浮液中。在室温搅拌1h后,将反应混合物分配在盐水和乙酸乙酯之间。黄色副产物通过过滤除去并分离各个层。将有机层浓缩,然后通过色谱法(DCVC)纯化,利用在庚烷中的乙酸乙酯的梯度(0–20%乙酸乙酯)洗脱,然后从DCM和PE重结晶,得到三氟甲磺酸(E)-3-(3-氨基-3-氧代丙-1-烯-1-基)-[1,1'-联苯]-4-基酯(23),为米黄色固体(0.82g, 19%); mp 130.6–132.3 °C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.09–8.04 (m, 1H), 7.88–7.82 (m, 1H), 7.79–7.73 (m, 2H), 7.65–7.41 (m, 6H), 7.33 (br s, 1H), 6.93 (d, 1H, ³J_{反式}16Hz)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ165.6, 146.4, 141.1, 138.0, 130.0, 129.5, 129.1, 128.6, 128.4, 127.7, 127.1, 126.4, 122.8, 118.1 (q, J 321Hz)。EIMS:m/z实验值:M⁺ 371.0420, C₁₆H₁₂F₃NO₄³²S需要371.0434。EIMS:m/z 371 (M⁺, 62%), 195 (100), 167 (100)。

[0380] (E)-3-(4-(2-氧代吡啶-6-基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙烯酰胺(25)的制备

[0381] 根据用来生成P5的方法制备;自三氟甲磺酸(E)-3-(3-氨基-3-氧代丙-1-烯-1-基)-[1,1'-联苯]-4-基酯(23) (0.50g, 1.35mmol)、6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊烷-2-基)吡啶-2-酮(24) (0.43g, 1.68mmol)、四(三苯基膦)钯(0) (0.100g, 0.09mmol)和含水碳酸钠(1M) (3.0mL, 3.00mmol)在甲苯(10mL)和乙醇(2mL)中。粗制材料通过从含水后处理过滤收集,然后通过DCM和甲醇中研磨进行纯化,得到(E)-3-(4-(2-氧代吡啶-6-基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙烯酰胺(25),为浅柠檬色针状体(0.36g, 75%); mp 263–267 °C (Dec.)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ10.47 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.80–7.70 (m, 3H), 7.57–7.37 (m, 5H), 7.46 (br s, 1H), 7.32 (d, 1H, J 7.6Hz), 7.12 (br s, 1H), 6.89 (d, 1H, J 7.6Hz), 6.80–6.72 (m, 2H), 3.55 (s, 2H)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ177.4, 166.5, 143.9, 141.1, 139.6, 139.4, 138.8, 137.4, 133.1, 130.9, 129.0, 127.8, 127.6, 126.8, 125.3, 124.4, 124.3, 123.7, 122.6, 110.1, 35.6。EIMS:m/z实验值:M⁺ 354.1356, C₂₃H₁₈N₂O₂需要354.1363。

EIMS:m/z 354 (M^+ , 13%), 310 (100), 309 (43)。

[0382] 3-(4-(2-氧代咪唑啉-6-基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙酰胺 (T25) 的制备

[0383] 根据用来生成T18的方法制备;自(E)-3-(4-(2-氧代咪唑啉-6-基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙烯酰胺(25) (0.11g, 0.30mmol) 和10%钨碳(50重量%水)在甲醇(30mL)中。将滤液浓缩,得到3-(4-(2-氧代咪唑啉-6-基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙酰胺(T25),为浅黄色固体(0.96g, 89%);mp 219-222°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 10.44 (s, 1H), 7.74-7.65 (m, 2H), 7.65-7.58 (m, 1H), 7.56-7.43 (m, 3H), 7.42-7.34 (m, 1H), 7.31-7.19 (m, 3H), 6.94-6.87 (m, 1H), 6.80-6.71 (m, 2H), 3.53 (s, 2H), 2.84 (t, 2H, J 7.9Hz), 2.31 (t, 2H, J 7.9Hz)。¹³C NMR (50MHz, DMSO-d₆) δ 176.5, 173.4, 143.8, 140.6, 140.2, 140.0, 139.2, 139.1, 130.3, 128.9, 127.4, 127.3, 126.7, 124.6, 124.2 (两个信号重合), 121.9, 109.7, 36.2, 35.6, 28.2。EIMS:m/z 实验值: M^+ 356.1531, C₂₃H₂₀N₂O₂N 需要356.1531。EIMS:m/z 356 (M^+ , 100%), 297 (70)。HPLC纯度(35%ACN/0.1%TFA, 256nm):97.57%。

[0384] 实施例20-T31的合成

[0385] 用来制备T31的合成路线示于图10。简言之,将三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14)与苯并咪唑酮频哪醇硼酸酯(24)交叉偶联以制备苯并咪唑酮(28),然后其经过与(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯(18)的Horner-Wadsworth-Emmons反应,得到苯并咪唑酮丙烯酰胺(29)。随后的化合物29的氢化得到T31。

[0386] 4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-[1,1'-联苯]-3-甲醛(28)的制备

[0387] 向2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并咪唑-5-硼酸频哪醇酯(24) (574mg, 2.2mmol)、三氟甲磺酸3-甲酰基联苯-4-基酯(14) (663mg, 2.0mmol) 和碳酸钠(426mg, 4.0mmol)在脱气的二噁烷/乙醇/H₂O (5:1:1, 20mL) 中的悬浮液中加入四(三苯基膦)钯(0) (116mg, 0.1mmol)。将反应在密封管中在110°C加热2h。通过TLC (1:2DCM;PE) 的分析表明三氟甲磺酸酯已被消耗。将反应浓缩至干,然后放入等体积的DCM和水中并剧烈搅拌20分钟,确保所有块状物破碎并获得细沉淀。在Buchner漏斗上通过硬化的无灰纸(540)过滤收集固体,并用DCM和水充分洗涤。将固体在真空在40°C干燥,得到4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-[1,1'-联苯]-3-甲醛(28) (365mg, 58%),为浅黄色固体。¹H NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ 10.82 (brs, 2H), 9.95 (s, 1H), 8.15-7.96 (m, 2H), 7.76 (m, 2H), 7.68-7.36 (m, 4H), 7.12-6.95 (m, 3H)。¹³C NMR (50MHz, DMSO-d₆) δ 192.1, 155.4, 144.6, 139.1, 138.7, 133.7, 131.8, 131.7, 130.1, 130.0, 129.2, 128.0, 126.7, 125.1, 122.9, 109.7, 108.4 (一个信号没有观察到)。EIMS:m/z 实验值: M^+ 314.1050, C₂₀H₁₄O₂N₂需要314.1055。EIMS:m/z 314 (M^+ , 100%)。

[0388] (E/Z)-3-(4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙烯酰胺(29)的制备

[0389] 将4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-[1,1'-联苯]-3-甲醛(28) (350mg, 1.1mmol) 和(氨基甲酰基甲基)磷酸二乙酯(18) (217mg, 1.1mmol) 溶解在干燥THF (15mL) 中,并缓慢加入到粉末KOH(125mg, 2.2mmol) 在THF (10mL) 中的剧烈搅拌悬浮液中。将反应在氩气氛下在室温搅拌1h。通过TLC (1:99甲醇:DCM) 的分析表明,甲醛已被消耗。THF在减压下除去,并将残留物放入等体积的DCM和水中并剧烈搅拌30分钟;确保所有块状物破碎并且获得细沉淀。在Buchner漏斗上通过硬化的无灰纸(540)过滤收集固体,并利用DCM和水充分洗涤。将固体在真空在40°C干燥,得到(E/Z)-3-(4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪

唑-5-基)-[1,1'-联苯]-3-基) 丙烯酰胺 (29) (247mg, 56%), 为黄色/棕色固体。¹H NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ10.74 (brs, 1H), 10.70 (brs, 1H), 7.93 (d, 1H, J 1.8), 7.80-7.67 (m, 3H), 7.58-7.34 (m, 6H), 7.14-6.98 (m, 2H), 6.94-6.83 (m, 2H), 6.74 (d, 1H, J 15.8Hz)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ166.6, 155.4, 141.5, 139.5, 139.1, 137.8, 133.1, 131.7, 131.2, 129.8, 129.3, 129.0, 127.7, 127.5, 126.7, 124.4, 123.4, 122.4, 109.5, 108.3。EIMS:m/z 实验值:M⁺ 355.1315, C₂₂H₁₇O₂F₃需要355.1315。EIMS:m/z 355 (M⁺, 31%)。

[0390] 3-(4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-[1,1'-联苯]-3-基) 丙酰胺 (T31) 的制备

[0391] 将(E/Z)-3-(4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-[1,1'-联苯]-3-基) 丙烯酰胺 (29) (240mg, 0.7mmol) 和10% 钯碳 (50重量%, 在H₂O中, 100mg) 在甲醇 (20mL) 中在室温在氢气氛下以50psi 搅拌2h。将反应混合物通过GF纸重力过滤, 用甲醇充分洗涤, 然后浓缩。通过制备型HPLC (55% 甲醇/H₂O, 70mL/min, 280nm, 300x 40mm Deltaprep C₁₈柱) 纯化, 得到3-(4-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-[1,1'-联苯]-3-基) 丙酰胺 (T31) (177mg, 73%), 为粉红色固体; mp 250-251°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ10.67 (d, 2H, J 7.8Hz), 7.69 (m, 2H), 7.60 (d, 1H, J 1.9Hz), 7.53-7.45 (m, 3H), 7.37 (m, 1H), 7.28-7.21 (m, 2H), 6.99 (d, 1H, J 7.8Hz), 6.90 (dd, 1H, J 1.6, 7.9Hz), 6.89-6.86 (m, 1H), 6.74 (brs, 1H), 2.84 (m, 2H), 2.30 (m, 2H)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ173.4, 155.4, 140.9, 140.0, 139.3, 138.8, 133.1, 130.6, 129.7, 128.9, 128.8, 127.3, 127.2, 126.6, 124.1, 121.3, 109.0, 108.1, 36.1, 28.3。EIMS:m/z 实验值:M⁺ 357.1469, C₂₂H₁₉N₃O₂需要357.1472。EIMS:m/z 357 (M⁺, 30%)。HPLC纯度 (40% ACN/H₂O, 282nm): 94.51%。

[0392] 实施例21-体外筛选

[0393] 在A10胚胎血管平滑肌细胞 (ATCC, CRL-1476) 利用试验化合物治疗后, 使用 xCELLigence SP系统 (Roche) 来测量细胞阻抗 (细胞指数) 的变化。此体外测定与在以下实施例22中描述的动物模型中获得的血压数据相关联, 使得它可以用于更快速筛选更大量的化合物。在此基于体外细胞的实验系统中, 负阻抗分布与小鼠中的血压下降相关联-阻抗下降与血管舒张相关并且阻抗升高与血管收缩相关 (Stallaert W, Dorn JF, van der Westhuizen E, Audet M & Bouvier M. 阻抗响应揭示β-肾上腺能信号传导多密度计并允许利用不同信号传导分布对配体分类 (Impedance responses reveal β-adrenergic signaling pluridensitometry and allow classification of ligands with distinct signalling profiles) PLoS ONE 2012; 7 (1): e29420, doi:10.1371/journal.pone.0029420)。

[0394] 简言之, 将50μl 的细胞培养基 (DMEM低葡萄糖, 补充有10% 胎牛血清, 在37°C) 添加到E-Plate 96 (Roche) 的每个孔中, 并且测量每个孔中的背景阻抗。然后将50μl 的A-10细胞悬浮液 (10,000细胞/孔) 加入到E-Plate 96的恰当孔。在细胞培养孵化器内, 在RTCA SP Station中对E-Plate 96的每个孔监测细胞指数。在5% CO₂和95% 湿度, 在过夜孵化16-20小时之后, 将100μl 的试验化合物溶液 (试验化合物在DMSO中制备并且利用细胞培养基稀释至最终的0.25%的DMSO浓度) 加入到E-Plate 96的恰当孔, 并在化合物治疗后每20秒立即测量细胞指数值, 持续3小时。通过减去赋形剂-治疗的细胞的细胞指数对细胞指数值进行基线校正并通过除以直接在化合物添加前的时间点的细胞指数归一化。作为时间的函数的

基线归一化细胞指数使用Roche RTCA软件绘图。

[0395] 通过与血管平滑肌细胞相互作用,化合物可以实现血压降低,其引起这些细胞松弛,导致血管舒张和血压降低。这些称为直接血管扩张剂。对于A10血管平滑肌细胞的负阻抗响应表明试验化合物是直接血管扩张剂(图11)。

[0396] 在利用试验化合物治疗牛主动脉内皮细胞(欧洲细胞培养物保藏中心(European Collection of Cell Cultures))后,还使用xCELLigence SP系统(Roche)来测量细胞阻抗(细胞指数)的变化。采用的方法与以上描述的用于A10胚胎血管平滑肌细胞的相同,但利用补充有15%胎牛血清代替10%的细胞培养基。

[0397] 化合物可以与血管内皮细胞相互作用,引起物质(如一氧化氮和内皮来源超极化因子)的释放,这又作用于血管平滑肌细胞,引起血管舒张并且降低血压。这样的化合物称为间接血管扩张剂。对于牛主动脉内皮细胞的负阻抗响应表明试验化合物是间接血管扩张剂(图12)。

[0398] 实施例22-体内筛选

[0399] 口服研究

[0400] 将十四周龄SHR(在2.2%含盐饮食上;Glen Forrest Stockfeeders)随机分配到零时间对照、在饮用溶液或对照饮用溶液(5%乙醇,在去离子蒸馏水中)的试验化合物治疗(100或500pmol/kg/min) (n=5只每组)。使分配到零时间对照组的大鼠麻醉并收获它们的心脏和肾,同时使分配到对照和试验化合物治疗的大鼠每周称重两次并且监测它们的饮用溶液摄入量以允许调节在饮用溶液中的试验化合物浓度从而在4-周研究期内维持恒定剂量。通过尾套体积描记法(PowerLab,ADInstruments, Castle Hill, NSW, Australia)对血压每周测量两次。在4周后,使大鼠麻醉,并收获它们的心脏和肾用于量化纤维化。

[0401] 纤维化量化

[0402] 为了量化组织纤维化,将 ≤ 3 mm厚的组织切片固定在10%缓冲的福尔马林中达24小时,加工并嵌入石蜡。将三微米横切片使用Masson三色染色进行染色。将来自横切片的放大率 $\times 20$ 的最少20个随机视野(在2个水平的每一个处为5个)数字化并使用Image-Pro Plus V.7(Media Cybernetics, Bethesda, MD, USA)将纤维化的程度确定为每个数字化图像的视野面积的百分比,然后求平均值以确定每只大鼠的组织的纤维化水平。

[0403] 结果

[0404] 相比于对照,在利用经口服的100或500pmol/kg/min T1、T2、T20、T31、T48或T70的4周治疗之后,对在2.2%含盐饮食上的动物观察到的平均收缩期血压结果显示降低的血压(图13)。对于T1、T2、T31和T70,相比于对照,平均舒张期血压也下降。

[0405] 将对于T1、T2、T20、T31、T48和T70的平均收缩期血压结果与所述化合物对于A10血管平滑肌细胞(图14)和牛主动脉内皮细胞(图15)的基线归一化细胞指数进行比较,并且显示在体内和体内结果之间的关联性。

[0406] 相比于对照,在2.2%含盐饮食上的18周龄SHR中利用经口服的500pmol/kg/min T1、T2、T20、T31、T48或T70的4周治疗后,心脏中的纤维化降低(图16)。

[0407] 相比于对照,在2.2%含盐饮食上的18周龄SHR中利用经口服的500pmol/kg/min T1、T2、T20、T31、T48或T70的4周治疗后,在肾中的纤维化降低(图17)。

[0408] 将T1、T2、T20、T31、T48和T70对于牛主动脉内皮细胞的基线归一化细胞指数与这

些化合物的心肌纤维化结果(图18)和肾纤维化结果(图19)进行比较,并且显示在体内和体外结果之间的关联性。

[0409] 来自对照大鼠(A)或在2.2%含盐饮食上利用500pmol/kg/min T1(B)、T2(C)、T20(D)或T31(e)治疗四周的大鼠的心脏(图20)的组织切片显示,对照具有广泛的纤维化(见箭头),在右下区域中呈现为亮灰色带,对角地向上和外部延伸,包围大血管以及大量肌纤维,其中在整个显微照片中存在很少量(肌纤维呈现为离散的更深灰色区域)。在来自T1、T2、T20和T31治疗的大鼠的切片中,不存在离散的纤维化区域,随着深灰色变阴影,肌纤维在截面中出现。

[0410] 来自对照大鼠(A)或在2.2%含盐饮食上利用500pmol/kg/min T1(B)、T2(C)、T20(D)或T31(e)治疗四周的大鼠的肾(图21)的组织切片显示,对照具有广泛的纤维化,呈现为厚较浅灰色带,完全包围所有的肾小管,而在中部2个肾小管已被擦去(箭头)。在来自T1、T2、T20和T31治疗的大鼠的切片中,纤维化已被减少至薄的带,不完全地包围一些但不是所有的肾小管。

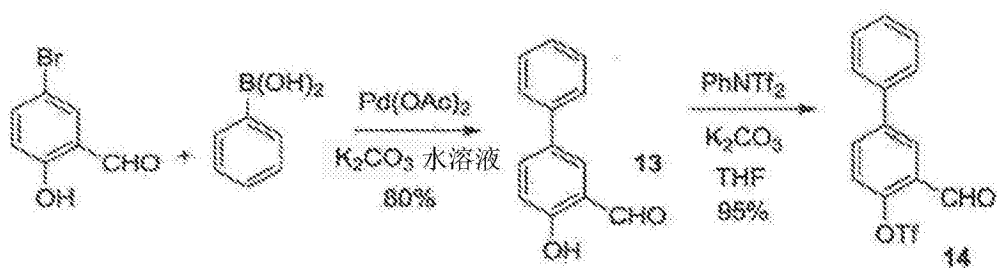


图1

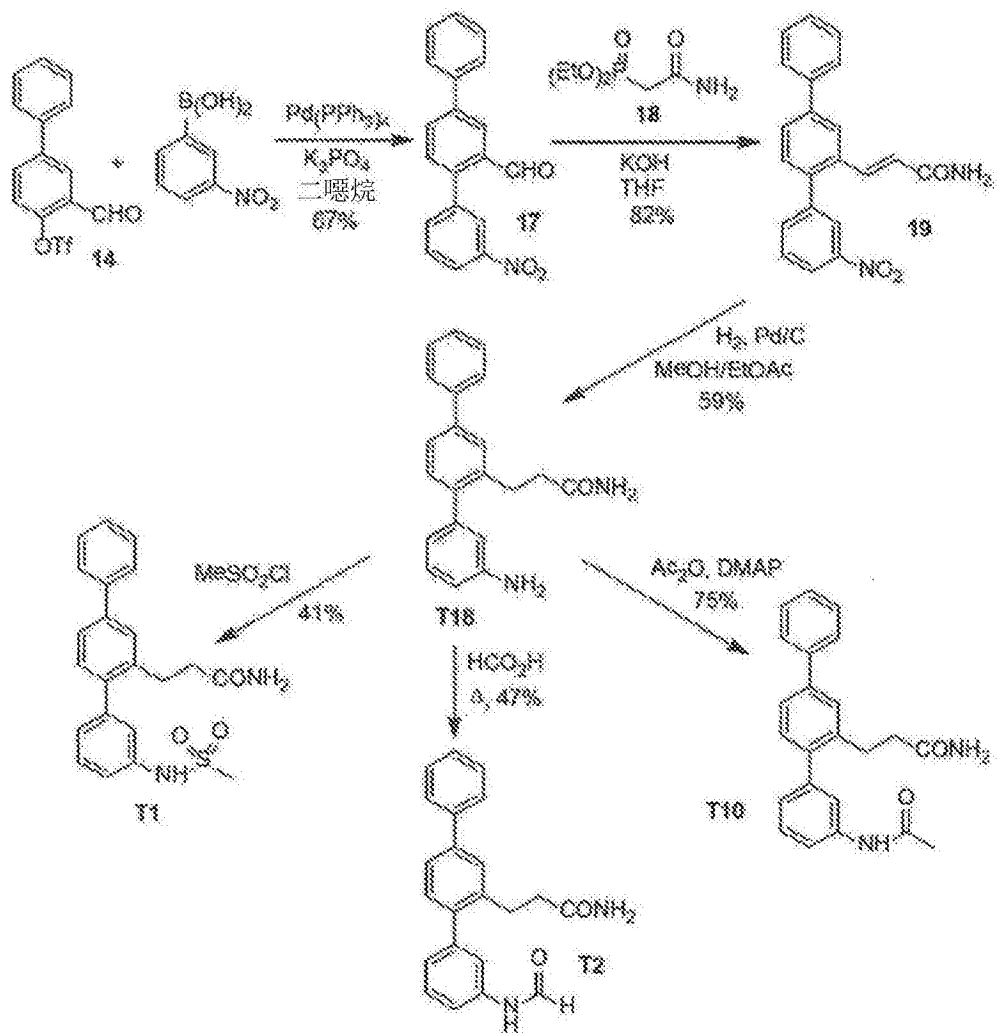


图2



图3

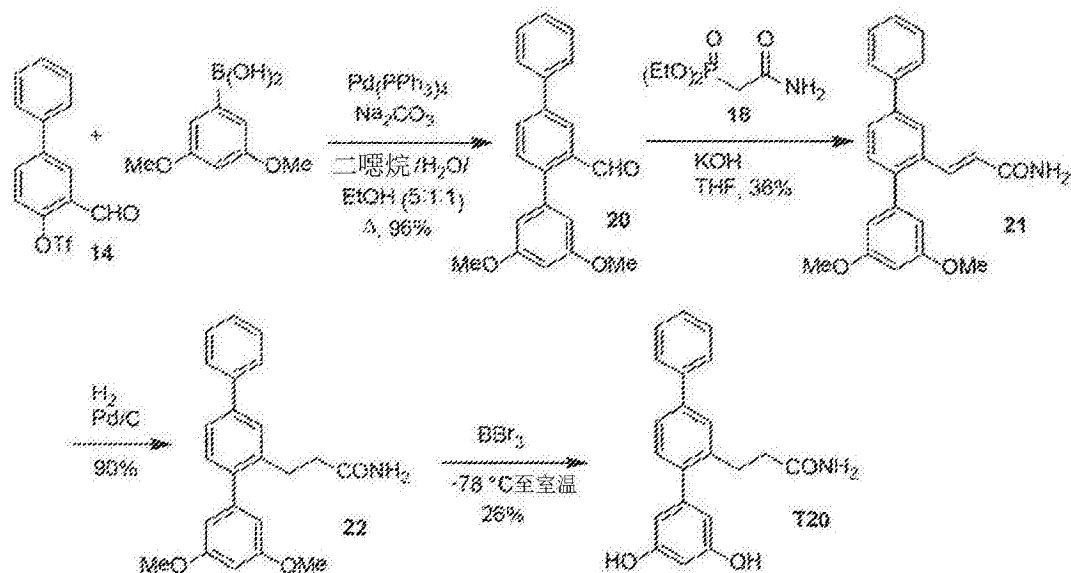


图4

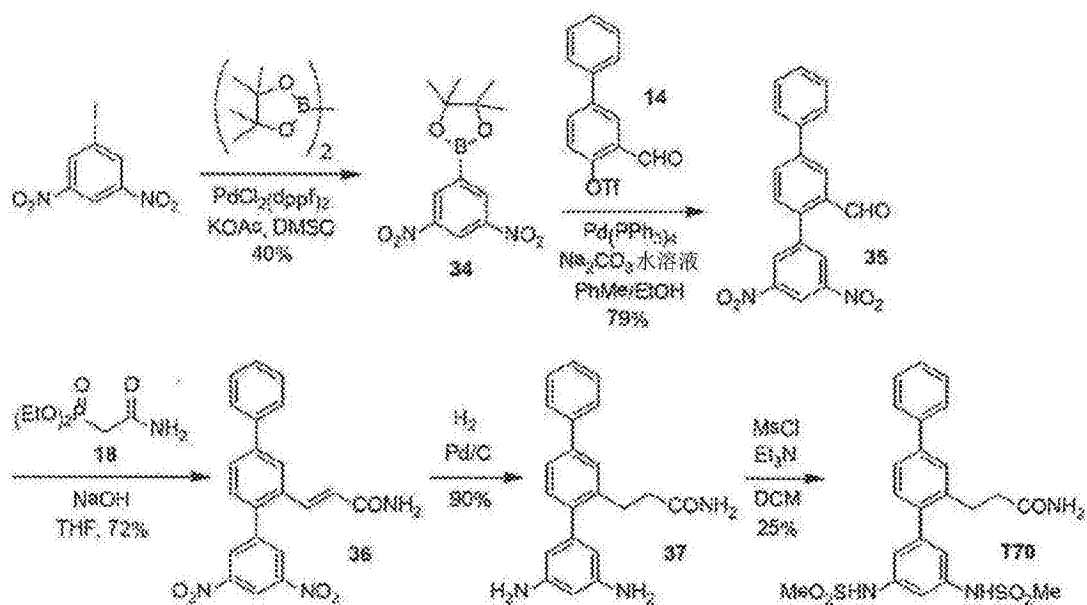


图5

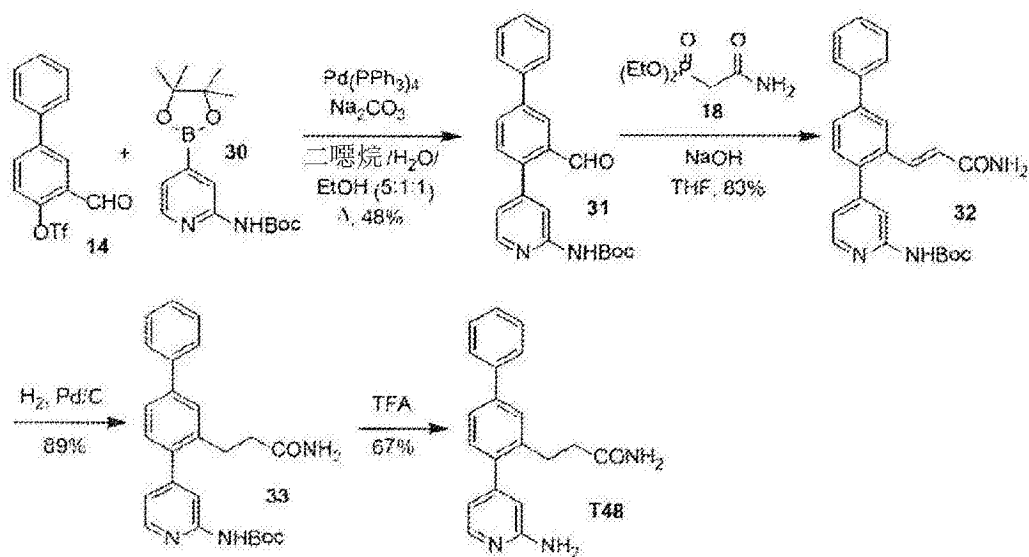


图6

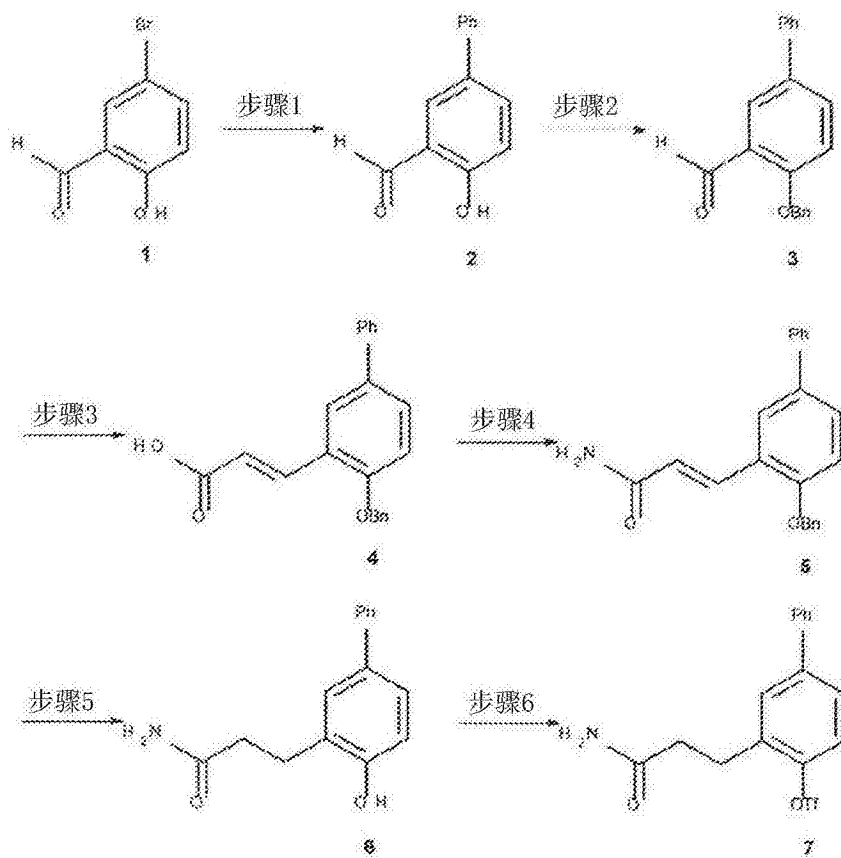


图7

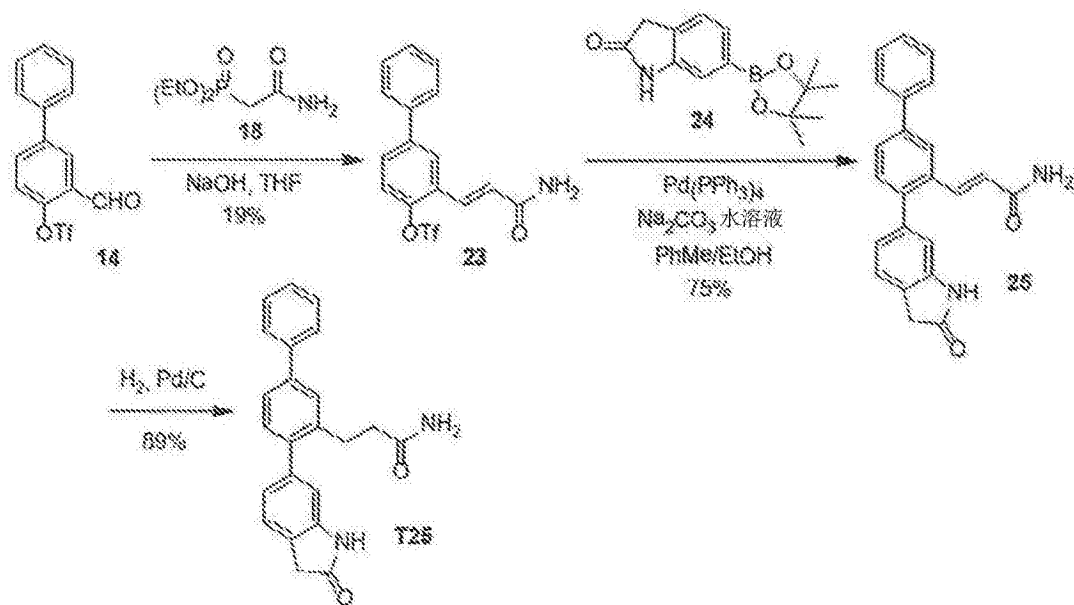


图8

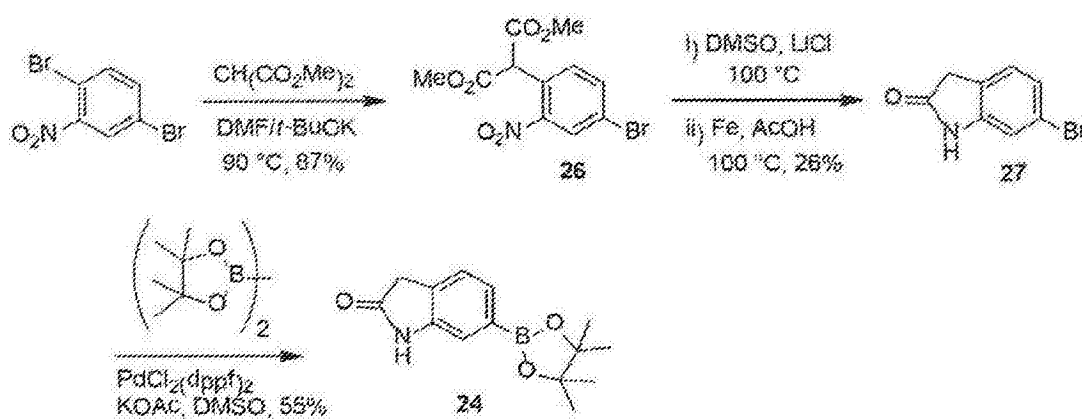


图9

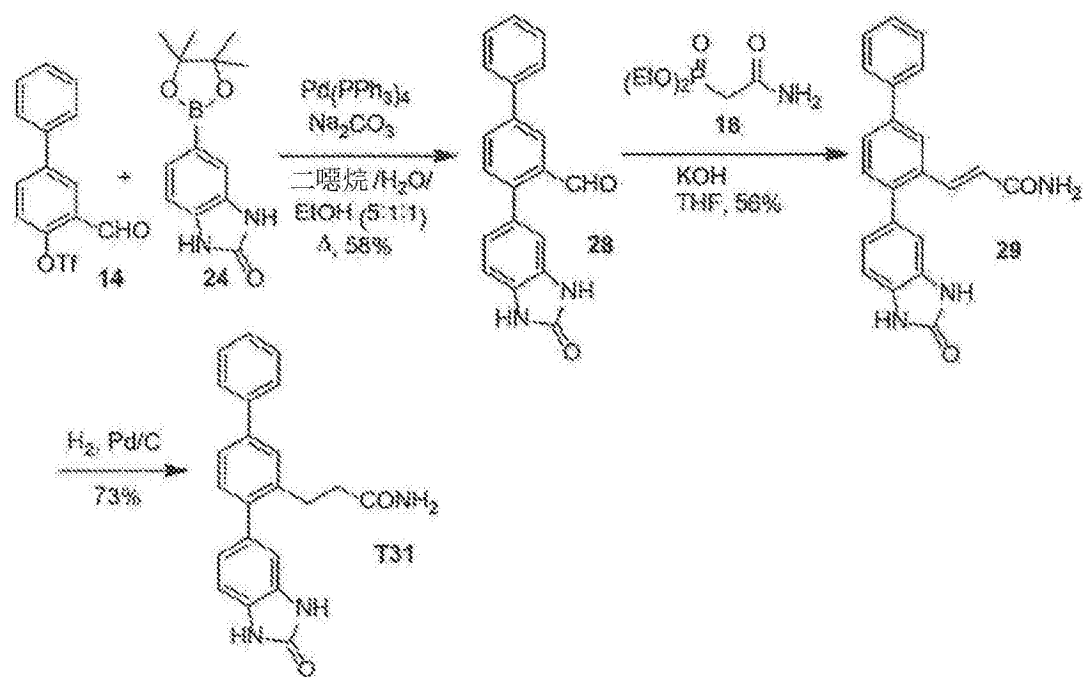


图10

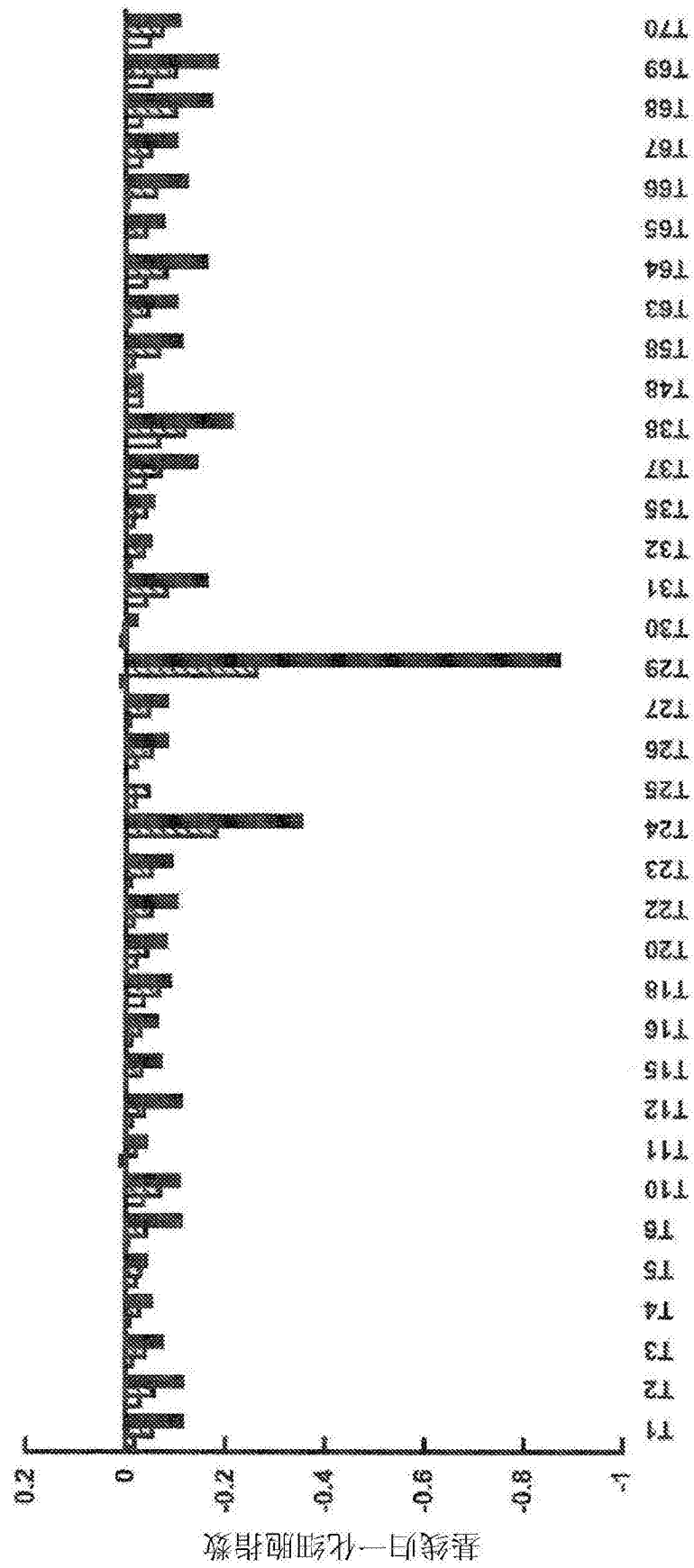


图11

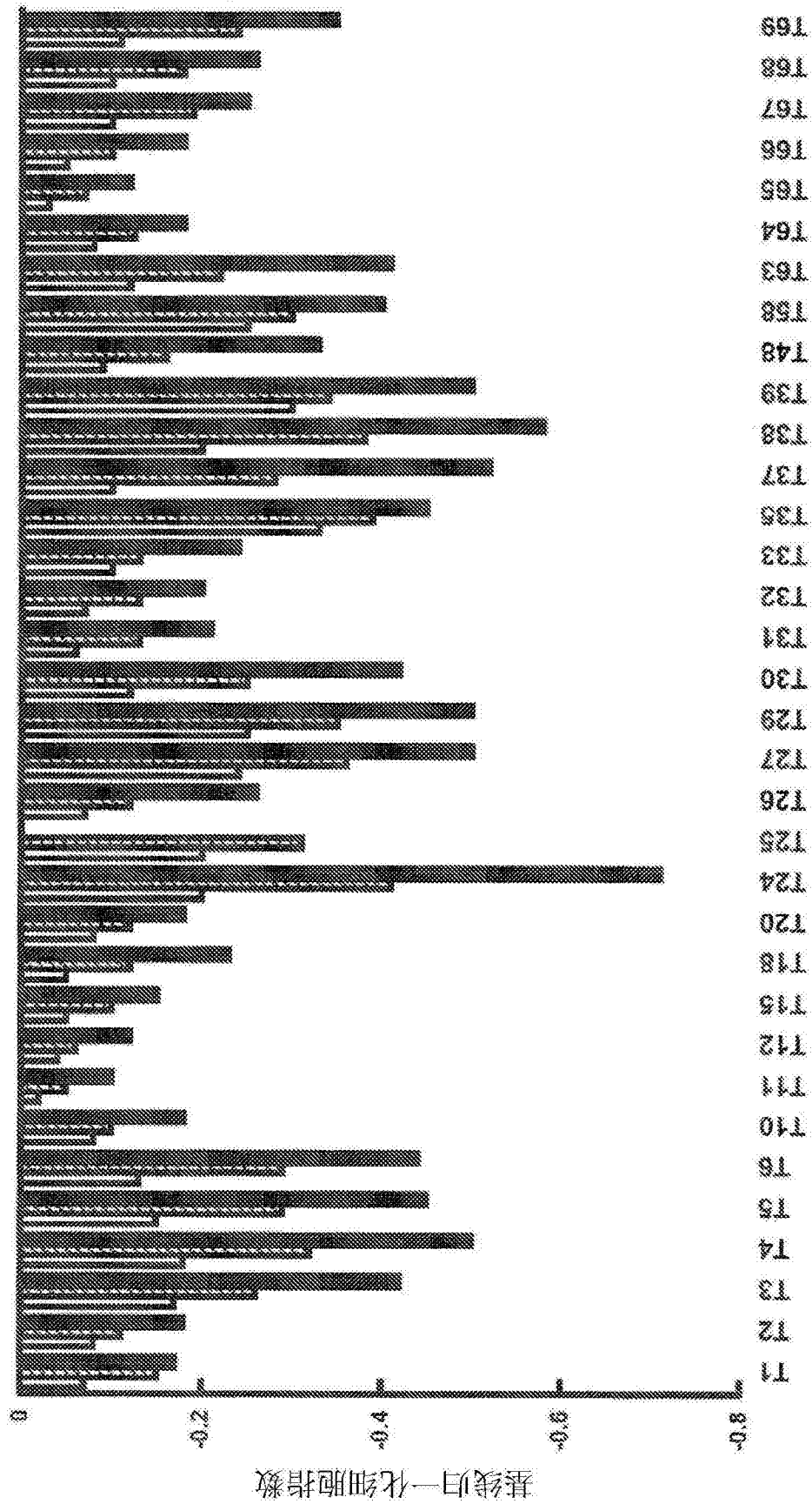


图12

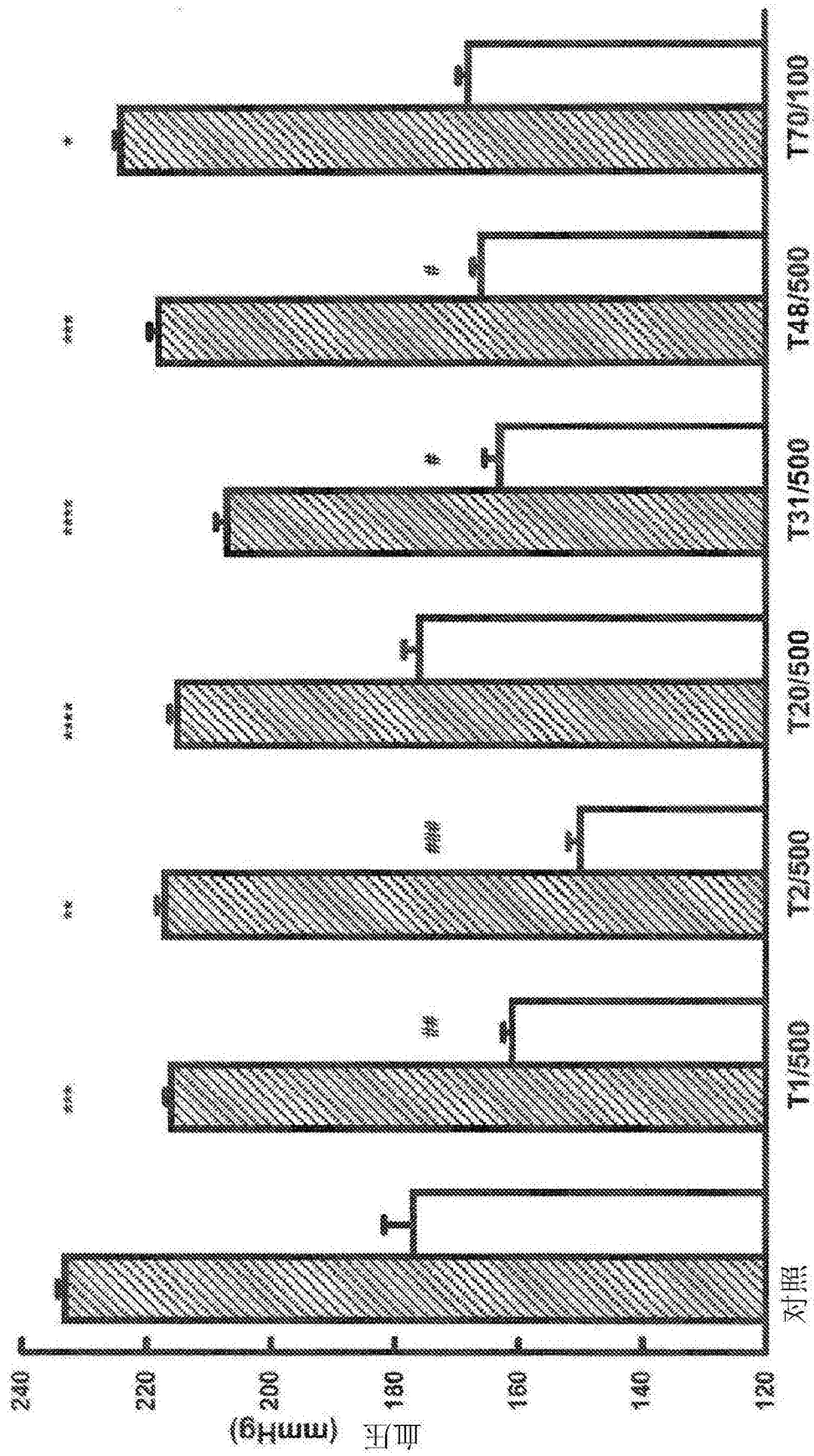


图13

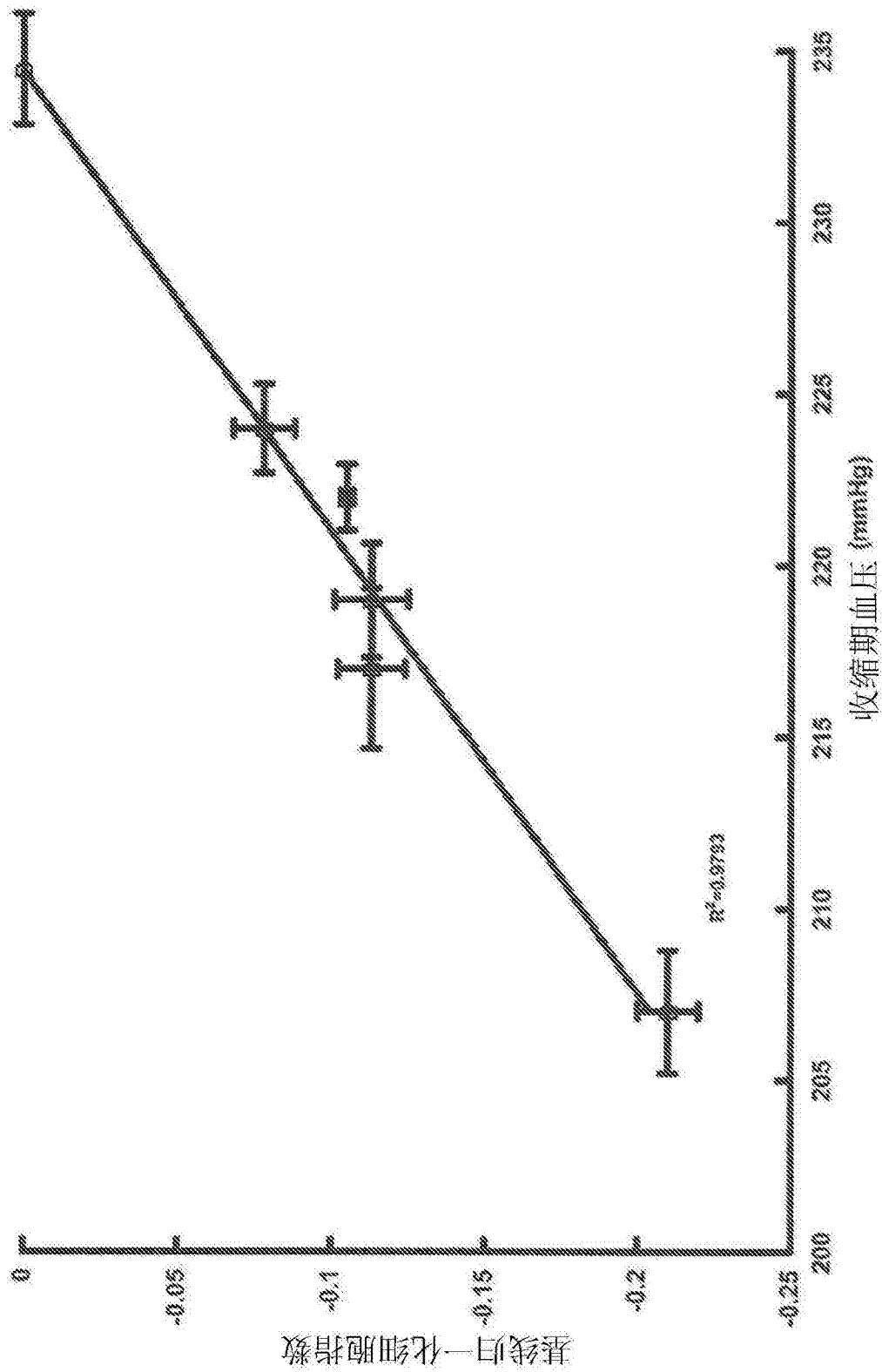


图14

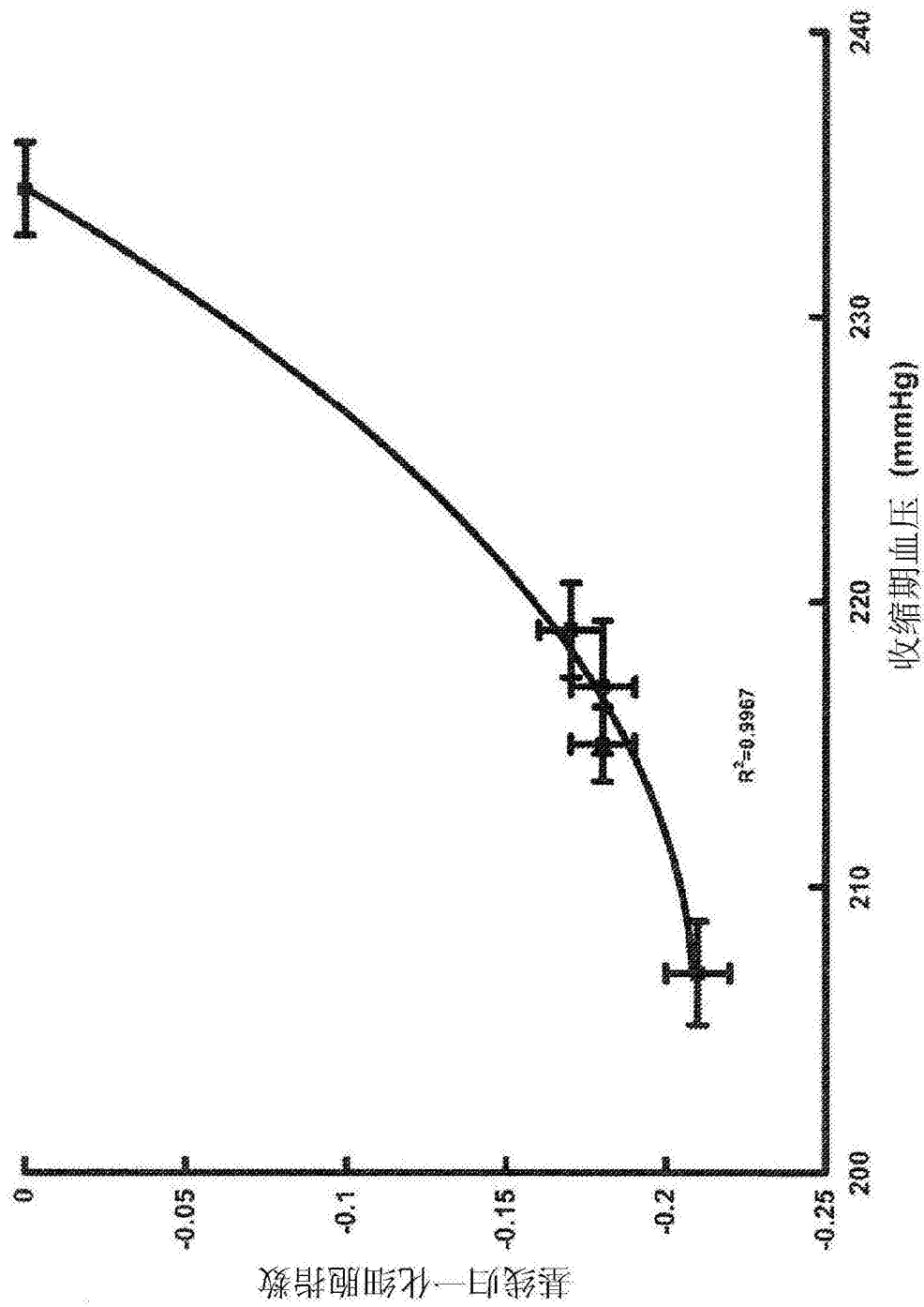


图15

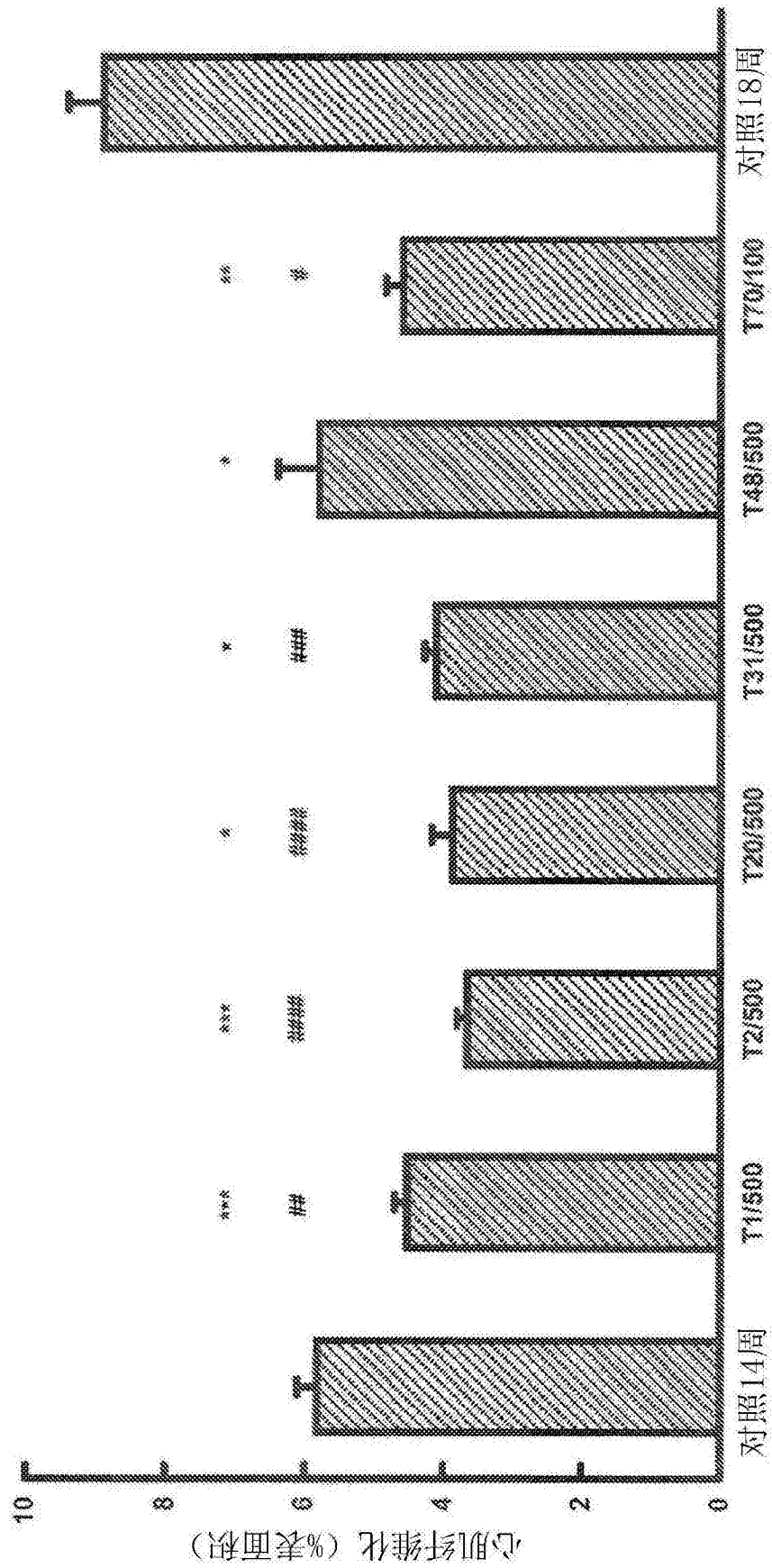


图16

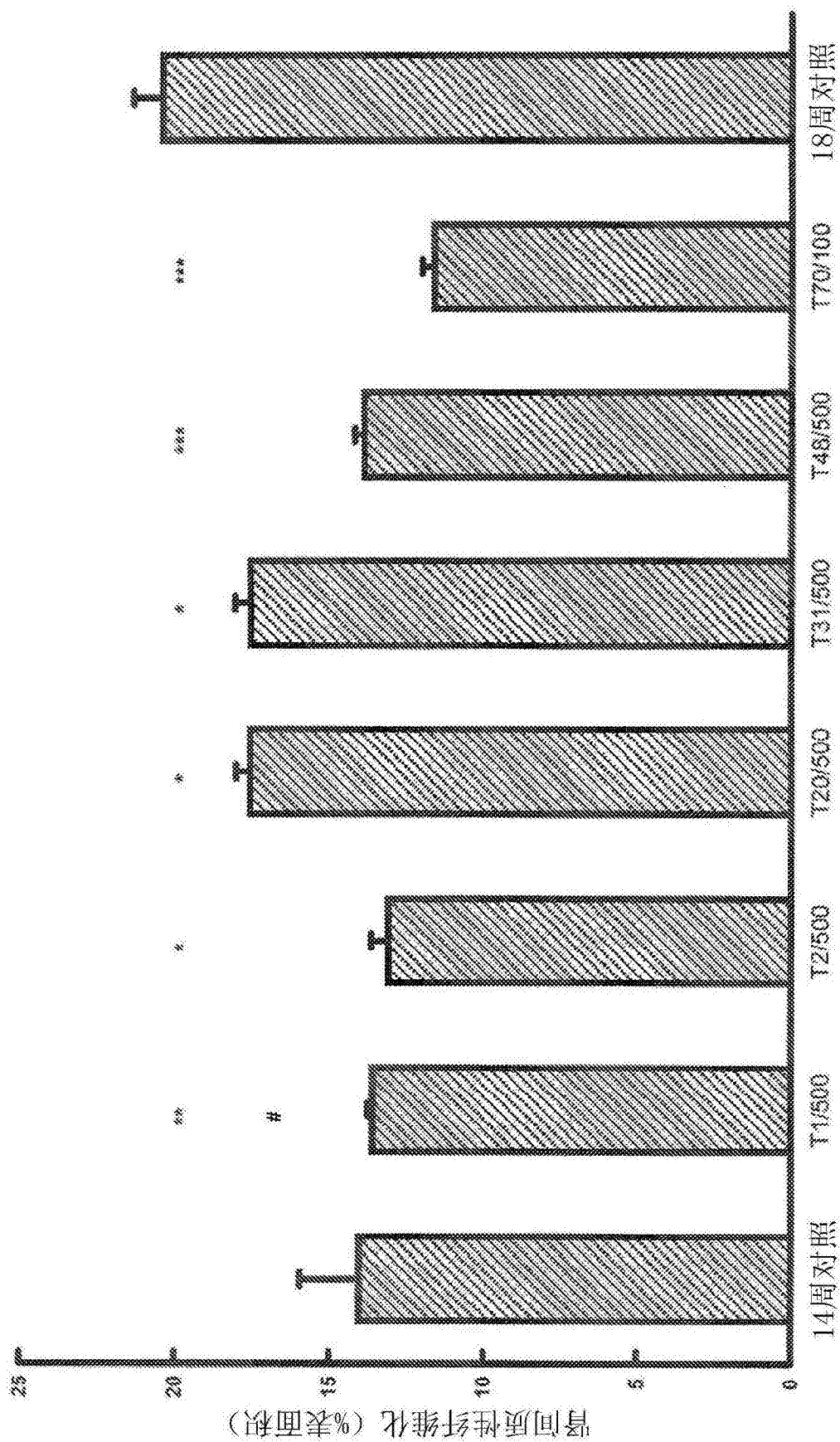


图17

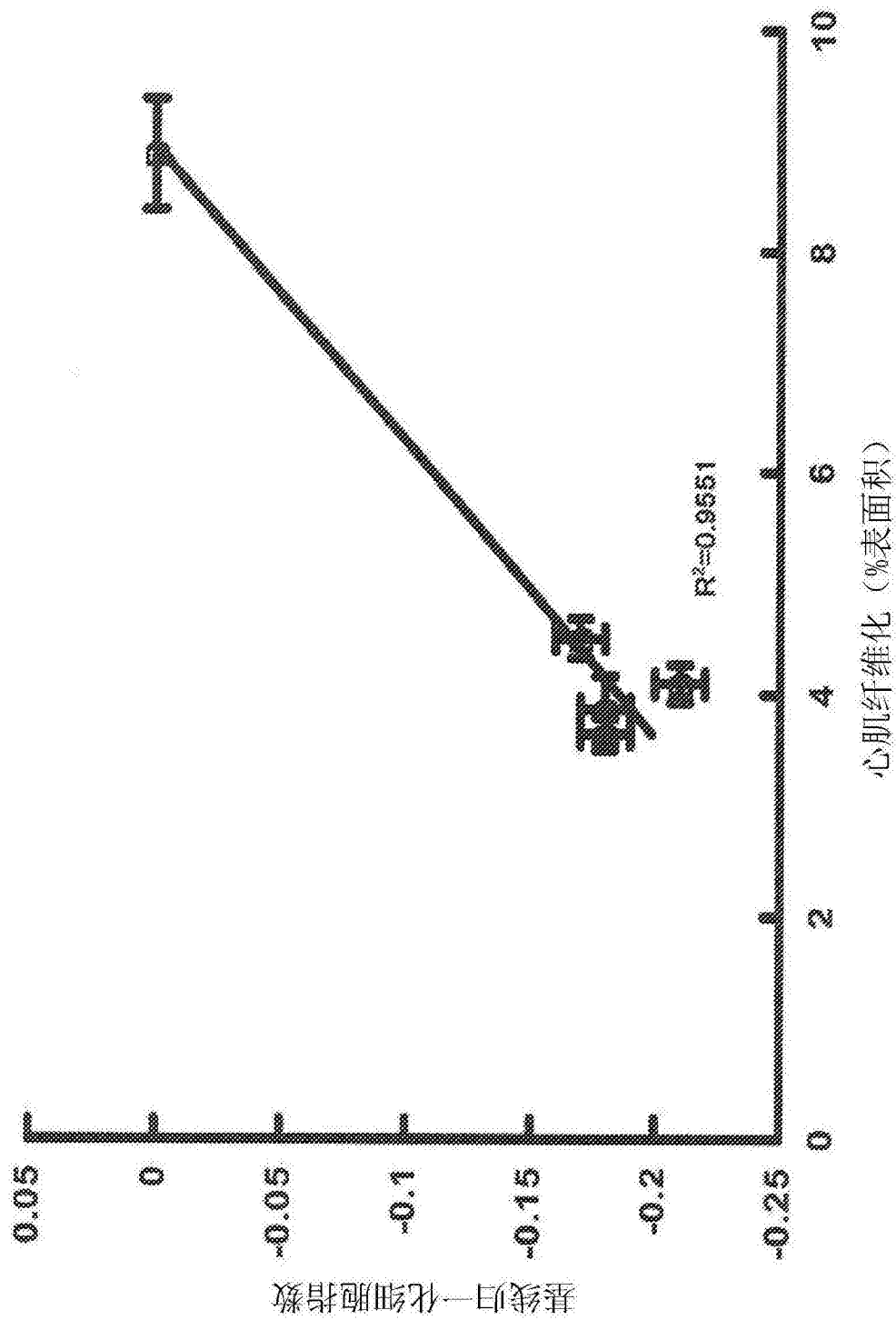


图18

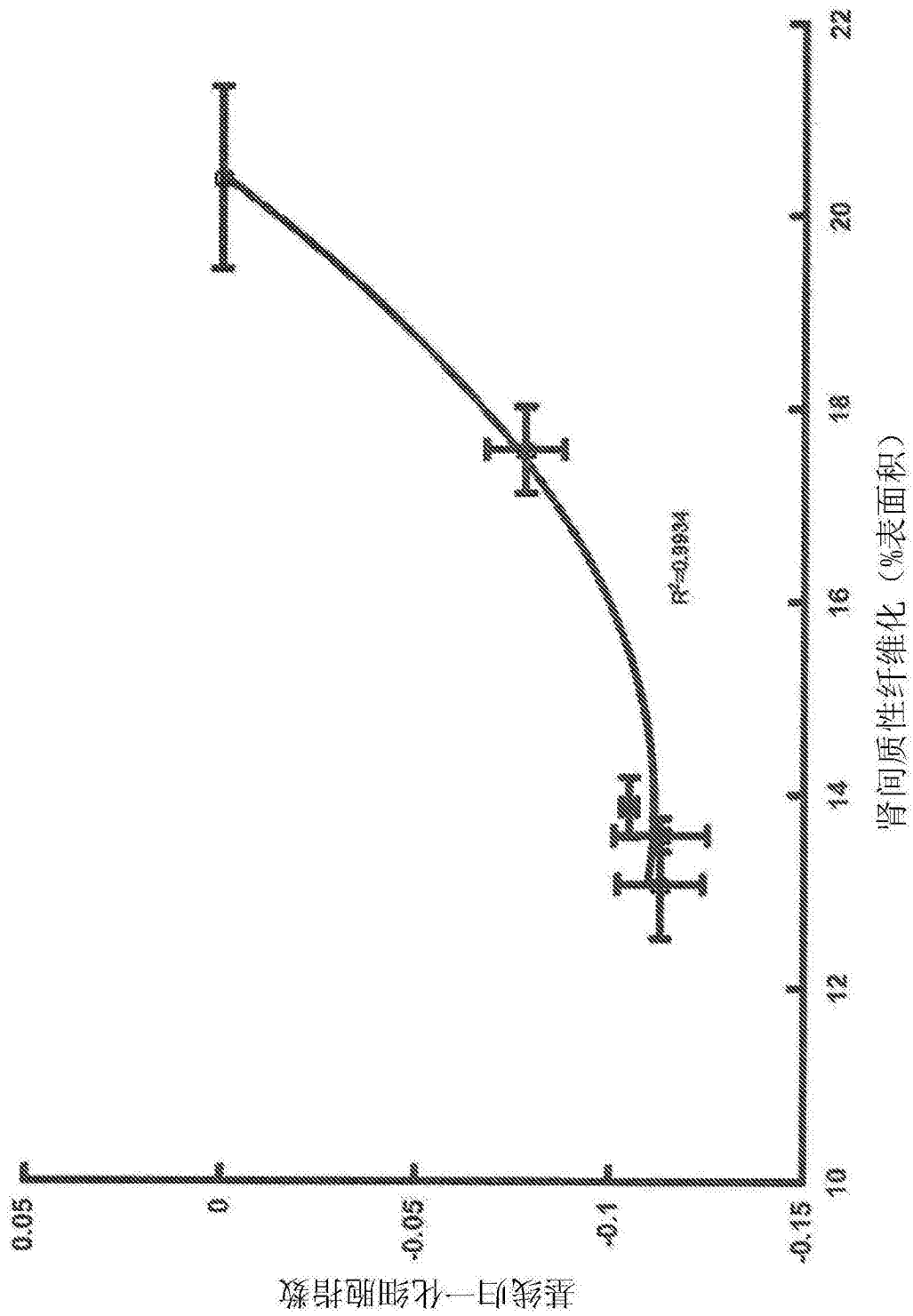


图19

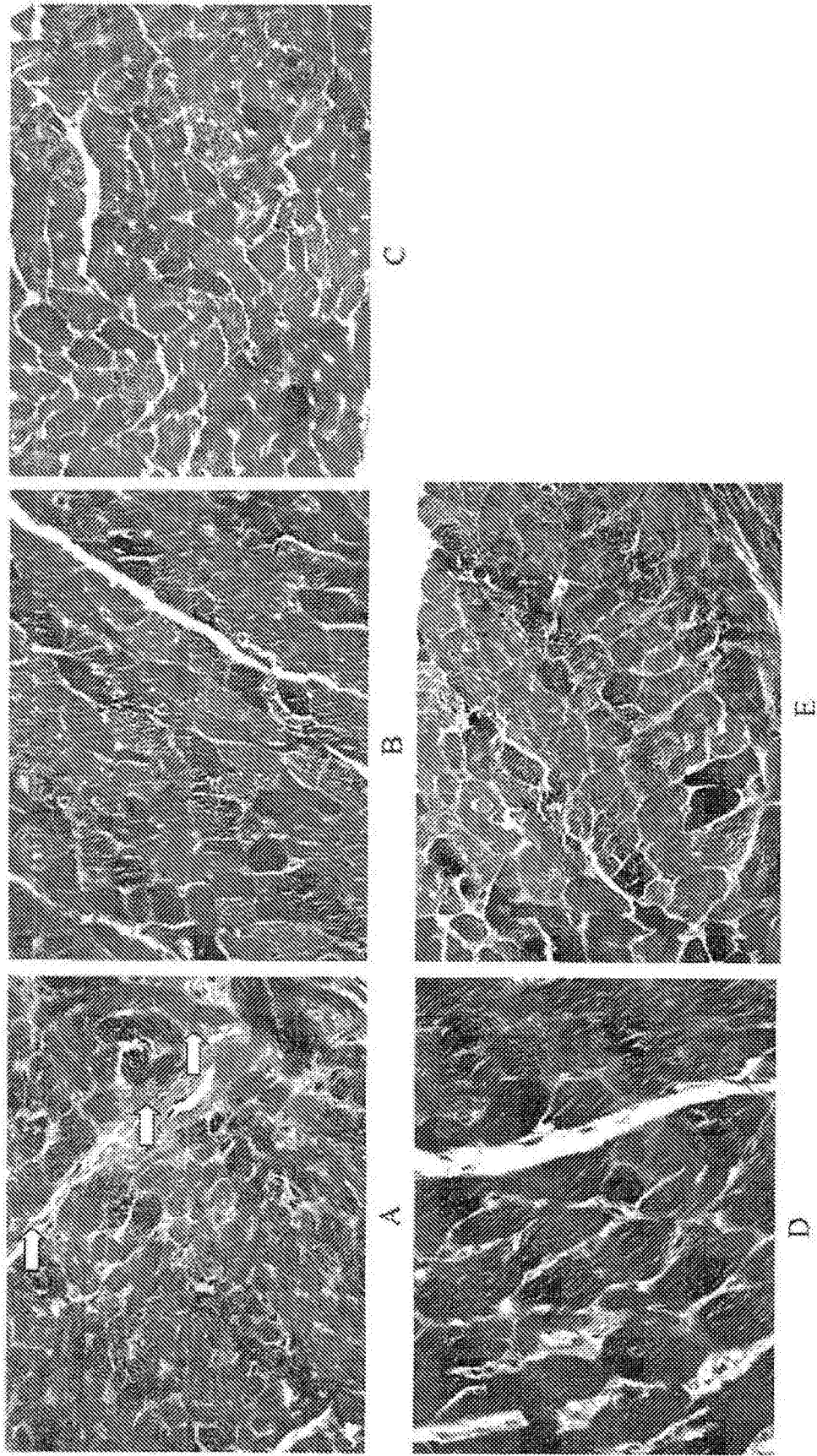


图20

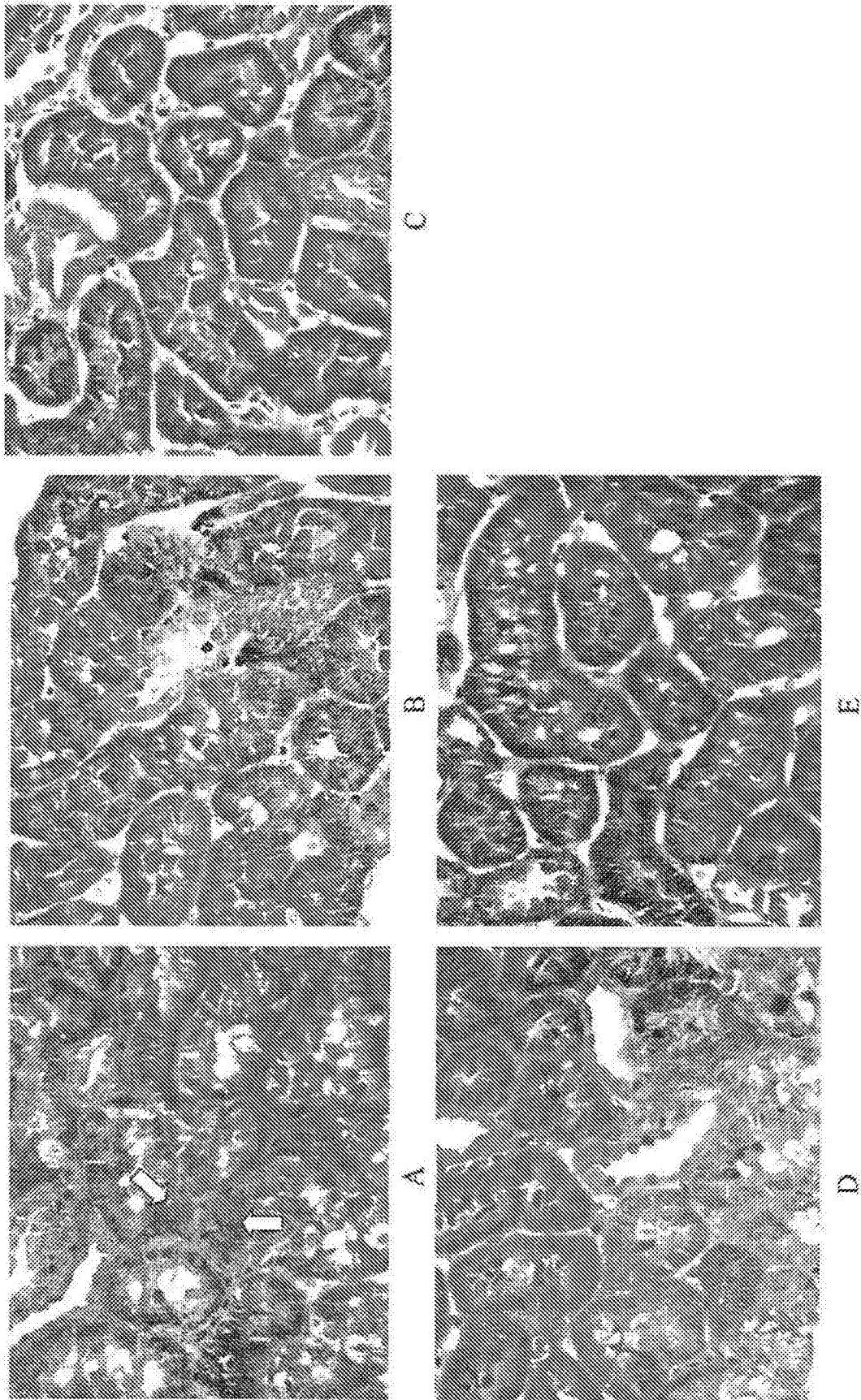


图21