



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102361869 A

(43) 申请公布日 2012. 02. 22

(21) 申请号 201080013294. 1

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

(22) 申请日 2010. 01. 22

11105

代理人 陈桢

(30) 优先权数据

61/146, 837 2009. 01. 23 US

(51) Int. Cl.

C07D 413/14 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

A61K 31/4402 (2006. 01)

2011. 09. 23

A61P 29/00 (2006. 01)

(86) PCT申请的申请数据

A61P 37/00 (2006. 01)

PCT/US2010/021694 2010. 01. 22

(87) PCT申请的公布数据

W02010/085582 EN 2010. 07. 29

(71) 申请人 百时美施贵宝公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 W. J. 皮茨 A. J. 戴克曼

S. H. 斯珀格尔 S. H. 沃特森

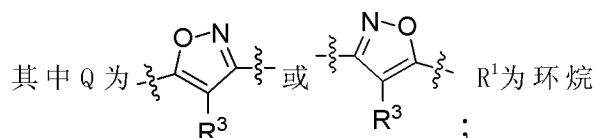
权利要求书 2 页 说明书 53 页

(54) 发明名称

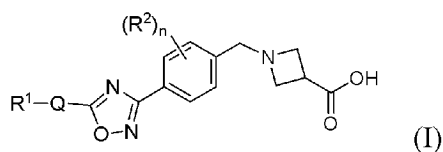
在治疗自身免疫性疾病和炎性疾病中作为
S1P 激动剂的取代的噁二唑衍生物

(57) 摘要

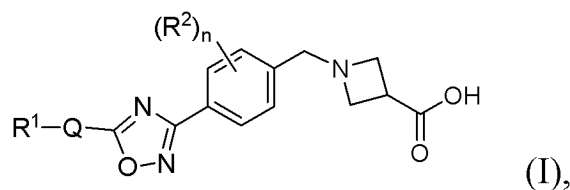
本发明披露了式 (I) 的化合物或其药用盐,



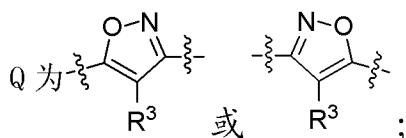
基、杂芳基或杂环基,各自任选取代有独立选自
下述的一至五个取代基: C₁-C₆烷基、C₁-C₄卤代
烷基、-OR⁴和 / 或卤素;且 R²、R³、R⁴和 n 如本申
请所定义。本发明也披露了使用所述化合物作
为 G 蛋白偶联受体 S1P₁ 的选择性激动剂的方法,
以及包含所述化合物的药物组合物。这些化合物
用于治疗、预防或减慢各种治疗领域中的疾病或
病症的进程,诸如血管疾病和自身免疫性疾病。



1. 式 (I) 的化合物或其药用盐：



其中：



n 为零或选自 1 至 4 的整数；

R¹ 为环烷基、杂芳基或杂环基，各自任选取代有独立选自下述的一至五个取代基：C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、-OR⁴ 和 / 或卤素；

每个 R² 独立选自氢、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、-OR⁴ 和 / 或卤素；

R³ 为氢、烷基、环烷基、卤代烷基、-C(O)OR⁵ 或 -C(O)NR_aR_b；

每个 R⁴ 独立选自 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基和 / 或苄基；

R⁵ 为烷基或苄基；且

R_a 和 R_b 独立选自氢、烷基、卤代烷基和 / 或苄基。

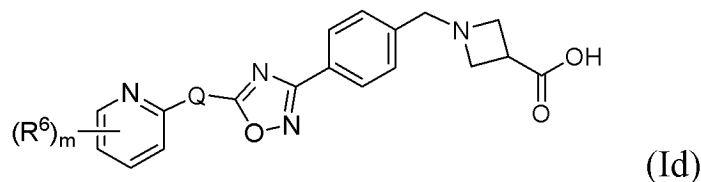
2. 权利要求 1 的化合物或其药用盐，其中 R¹ 为 C₃-C₈ 环烷基，其任选取代有独立选自下述的一至五个取代基：C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、-OR⁴ 和 / 或卤素。

3. 权利要求 1 的化合物或其药用盐，其中 R¹ 为具有 1 至 4 个独立选自 O、N 和 / 或 S 的杂原子的单环或二环杂环基，其任选取代有独立选自下述的一至五个取代基：C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、-OR⁴ 和 / 或卤素。

4. 权利要求 1 的化合物或其药用盐，其中 R¹ 为具有 1 至 4 个独立选自 O、N 和 / 或 S 的杂原子的单环或二环杂芳基，其任选取代有独立选自下述的一至五个取代基：C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、-OR⁴ 和 / 或卤素。

5. 权利要求 4 的化合物，其中所述杂芳基为单环杂芳基，其任选取代有独立选自下述的一至五个取代基：C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、-OR⁴ 和 / 或卤素。

6. 权利要求 5 的化合物或其药用盐，其具有式 (Id)：



其中：

m 为零或选自 1 至 4 的整数；

每个 R⁶ 独立选自 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、卤素和 / 或 -OR⁴，

每个 R⁴ 独立为 C₁-C₄ 烷基；

R³ 为 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基或 -C(O)OR⁵；且

R⁵ 为 C₁-C₄ 烷基。

7. 权利要求 6 的化合物或其药用盐，其中：

m 为 0 ;且

R³ 为氢、乙基、1- 丙基、2- 丙基、-CF₃ 或 -C(0)OCH₃。

8. 权利要求 1 的化合物或其药用盐选自：

1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

1-(4-(5-(5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

1-(4-(5-(4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

1-(4-(5-(4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

1-(4-(5-(4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

1-(4-(5-(4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

1-(4-(5-(4-(甲氧基羰基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；和

1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸。

9. 权利要求 1 的化合物，其中所述药用盐为 2,2,2- 三氟乙酸盐。

10. 一种组合物，其包含权利要求 1 的化合物或其药用盐以及药用载体。

11. 权利要求 1 的化合物或其药用盐在制备用于治疗自身免疫性疾病或慢性炎症性疾病的药物中的用途。

12. 权利要求 1 的化合物或其药用盐，其用于治疗自身免疫性疾病或慢性炎症性疾病的疗法中。

在治疗自身免疫性疾病和炎性疾病中作为 S1P 激动剂的取代的噁二唑衍生物

技术领域

[0001] 本发明大体上涉及用作 S1P₁ 激动剂的杂环化合物。本申请提供了杂环化合物、包含所述化合物的组合物以及它们的使用方法。本发明还涉及包含至少一种本发明化合物的药物组合物,其用于治疗 S1P₁ 激动相关的病症,诸如自身免疫性疾病和血管疾病。

背景技术

[0002] 已经证实鞘氨醇-1-磷酸盐(S1P)引起许多细胞效应,包括导致血小板聚集、细胞增殖、细胞形态学、肿瘤细胞侵入、内皮细胞和白细胞趋化作用、内皮细胞体外血管发生以及淋巴细胞运输的细胞效应。因此 S1P 受体为针对各种治疗应用诸如肿瘤生长抑制、血管疾病和自身免疫疾病的有效靶标。经一组 G 蛋白偶联受体名为 S1P₁ 或 S1P₁、S1P₂ 或 S1P₂、S1P₃ 或 S1P₃、S1P₄ 或 S1P₄ 以及 S1P₅ 和 S1P₅(以前分别称为 EDG-1、EDG-5、EDG-3、EDG-6 和 EDG-8)将 S1P 部分信号传导至细胞。

[0003] S1P 对整个个体来说是重要的,因为其也是血管和免疫系统的主要调节剂。在血管系统中,S1P 调节血管发生、血管稳定性和渗透性。在免疫系统中,认为 S1P 是 T 细胞和 B 细胞运输的主要调节剂。免疫细胞由淋巴样器官(诸如胸腺和淋巴结)中流出而进入淋巴管的过程需要 S1P 与其受体 S1P₁ 的相互作用。因此,显示出 S1P 受体的调节对免疫调节来说是重要的,且 S1P 受体调节剂是新的免疫抑制剂。

[0004] S1P₁ 受体在许多组织中表达。S1P₁ 受体为在淋巴细胞中表达的主要家族成员且在淋巴细胞运输中发挥重要作用。S1P₁ 受体的下调扰乱淋巴细胞迁移及向许多组织的归巢(homing)。这导致淋巴器官内的淋巴细胞的隔离并由此减少了能够迁移至受影响的组织的循环中的淋巴细胞的数目。因此,开发一种抑制淋巴细胞向与自身免疫和异常炎症过程相关的靶部位迁移的 S1P₁ 受体药物能够在许多自身免疫和炎性疾病状态中有效。

[0005] 在五种 S1P 受体中,S1P₁ 具有广泛的分布且在内皮细胞中非常丰富,在所述内皮细胞中其与 S1P₃ 共同调节细胞迁移、分化和屏障作用。通过非选择性 S1P 受体调节来抑制淋巴细胞的再循环会产生防止移植排斥的临床免疫抑制,但所述调节也导致短暂的心动过缓。研究显示 S1P₁ 活性显著地与循环中的淋巴细胞的缺失相关。相反,S1P₃ 受体激动作用对有效性来说不是必须的。取而代之的是,S1P₃ 活性在观察到的非选择性 S1P 受体激动剂的急性毒性中发挥重要作用,导致不必要的心血管效应,诸如心动过缓和高血压(参见例如 Hale et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 14:3501(2004); Sanna et al., J. Biol. Chem., 279:13839(2004); Anliker et al., J. Biol. Chem., 279:20555(2004); Mandala et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 309:758(2004))。

[0006] S1P₁ 激动剂的一个实例是 FTY720。该免疫抑制化合物 FTY720(JPI1080026-A)已经显示减少人和动物的循环中的淋巴细胞,并在器官排斥和免疫病症的动物模型中具有疾病调节活性。FTY720 在人类中的使用能够有效地减少人肾移植的器官排斥的速率并增加复发性延迟性多发性硬化症的缓解速率(参见 Brinkman et al., J. Biol. Chem., 277:

21453(2002);Mandala et al., Science, 296:346(2002);Fujino et al., J. Pharmacol. and Exp. Ther., 305:45658(2003);Brinkman et al., Am. J. Transplant., 4:1019(2004);Webb et al., J. Neuroimmunol., 153:108(2004);Morris et al., Eur. J. Immunol., 35:3570(2005);Chiba, Pharmacology & Therapeutics, 108:308(2005);Kahan et al., Transplantation, 76:1079(2003);和Kappos et al., N. Engl. J. Med., 335:1124(2006))。在上述发现之后,已经证实FTY720为一种前药,其在体内经鞘氨醇激酶磷酸化成为对S1P₁、S1P₃、S1P₄和S1P₅受体有激动剂活性的更具生物活性的药物。FTY720在动物和人体内的药理作用在很大程度上取决于其对S1P受体家族的活性。

[0007] 临床研究已经显示用FTY720进行治疗在最初的24小时治疗中导致心动过缓(Kappos et al., N. Engl. J. Med., 335:1124(2006))。普遍认为观察到的心动过缓是由于S1P₃受体的激动作用。上述结论基于很多基于细胞和动物的实验得出。这包括使用S1P₃敲除动物,这些动物不同于野生型小鼠,在给予FTY720以及使用S1P₁选择性化合物之后不能显示心动过缓(Hale et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 14:3501(2004);Sanna et al., J. Biol. Chem., 279:13839(2004);和Koyrakh et al., Am. J. Transplant., 5:529(2005))。

[0008] 下述申请已经描述了作为S1P₁激动剂的化合物:WO 03/061567(美国公开2005/0070506)、WO 03/062248(美国专利7,351,725)、WO 03/062252(美国公开2005/0033055)、WO 03/073986(美国专利7,309,721)、WO 03/105771、WO 05/058848、WO 06/047195、WO 06/100633、WO 06/115188、WO 06/131336、WO 2007/024922、WO 07/116866、WO 08/023783(美国公开2008/0200535)和WO 08/074820。也参见Hale et al., J. Med. Chem., 47:6662(2004)。

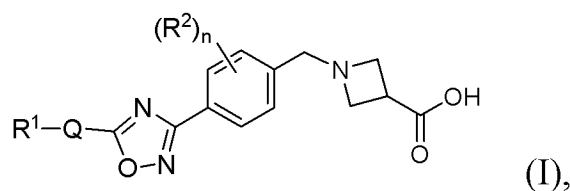
[0009] 仍然需要用作S1P₁激动剂而具有优于S1P₃的选择性的化合物。

[0010] 申请人已经发现具有S1P₁激动剂活性的有效化合物。此外,申请人已经发现具有S1P₁激动剂活性并优于S1P₃选择的化合物。提供这些化合物以用作具有对它们药物性(drugability)来说重要的期望稳定性、生物利用度、治疗指数和毒性值的药物。

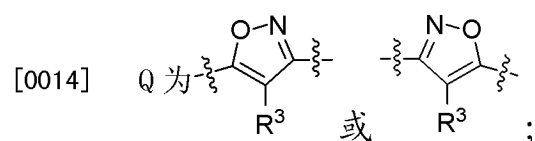
发明内容

[0011] 本发明通过提供式(I)的化合物或其药用盐来满足上述需求:

[0012]



[0013] 其中:



[0015] n 为零或选自1至4的整数;

[0016] R¹ 为环烷基、杂芳基或杂环基,各自任选取代有独立选自下述的一至五个取代基: C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、-OR⁴ 和 / 或卤素;

[0017] 每个 R^2 独立选自氢、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_4 卤代烷基、 $-OR^4$ 和 / 或卤素；

[0018] R^3 为氢、烷基、环烷基、卤代烷基、 $-C(O)OR^5$ 或 $-C(O)NR_aR_b$ ；

[0019] 每个 R^4 独立选自 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_4 卤代烷基和 / 或苄基；

[0020] R^5 为烷基或苄基；且

[0021] R_a 和 R_b 独立选自氢、烷基、卤代烷基和 / 或苄基。

[0022] 本发明也描述了药物组合物，其包含式 (I) 的化合物或其药用盐以及药用载体。

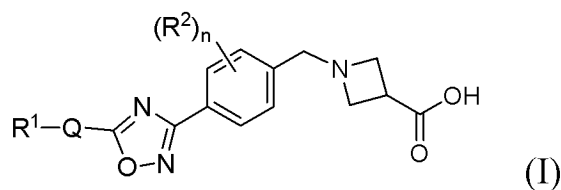
[0023] 本发明还描述了治疗与 G 蛋白偶联受体 $S1P_1$ 活性相关的疾病或病症的方法，所述方法包括对哺乳动物患者给予式 (I) 的化合物或其药用盐。

[0024] 所述式 (I) 的化合物以及包含所述化合物的组合物为 $S1P_1$ 激动剂，其相对于 $S1P_3$ 活性而言对 $S1P_1$ 活性是优先选择的。所述式 (I) 的化合物以及包含所述化合物的组合物可用于治疗、预防或治愈各种 $S1P_1$ 受体相关的病症，同时降低或最小化由于 $S1P_3$ 活性导致的副作用。包含这些化合物的药物组合物用于治疗、预防或减慢各种治疗领域中的疾病或病症的进程，诸如自身免疫性疾病和血管疾病。

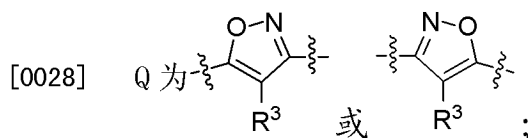
具体实施方式

[0025] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐

[0026]



[0027] 其中：



[0029] n 为零或选自 1 至 4 的整数； R^1 为 C_3-C_8 环烷基、杂芳基或杂环基，各自任选取代有独立选自下述的一至五个取代基： C_1-C_6 烷基、 C_1-C_4 卤代烷基、 $-OR^4$ 和 / 或卤素；

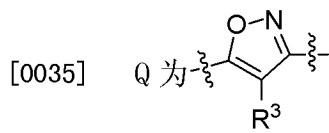
[0030] 每个 R^2 独立选自氢、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_4 卤代烷基、 $-OR^4$ 和 / 或卤素；

[0031] R^3 为氢、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、 C_1-C_4 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$ ；

[0032] 每个 R^4 独立选自 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_4 卤代烷基和 / 或苄基；且

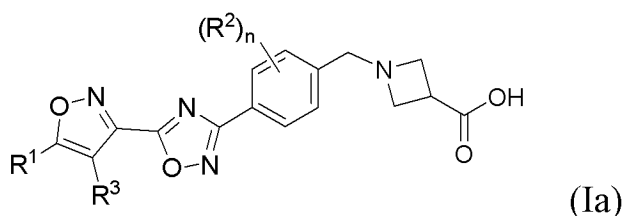
[0033] R^5 为 C_1-C_6 烷基或苄基。

[0034] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐，其中：



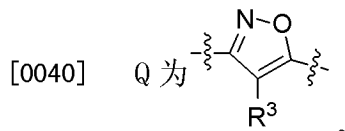
[0036] 该实施方案的化合物或其药用盐具有式 (Ia) 表示的结构：

[0037]



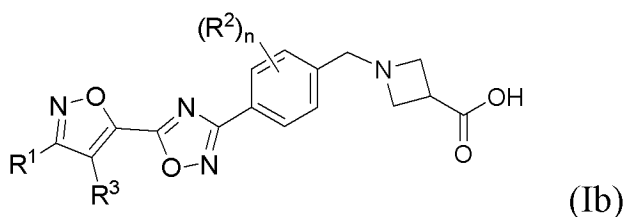
[0038] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 n 如在上文中所定义。

[0039] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐, 其中:



[0041] 该实施方案的化合物或其药用盐具有式 (Ib) 表示的结构:

[0042]



[0043] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 n 如在上文中所定义。

[0044] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐, 其中 n 为零或 1。

[0045] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐, 其中 n 为零。

[0046] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物的 2,2,2-三氟乙酸盐。

[0047] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐, 其中 R^1 为 C_3 - C_8 环烷基, 其任选取代有独立选自下述的一至五个取代基: C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基、 $-OR^4$ 和 / 或卤素。适当的环烷基包括 C_3 至 C_6 环烷基。例如, 该实施方案提供了式 (I) 的化合物, 其中 R^1 为 C_3 至 C_6 环烷基且 n 为零或 1。优选地, R^3 为 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$ 。

[0048] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐, 其中 R^1 为杂环基, 其任选取代有独立选自下述的一至五个取代基: C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基、 $-OR^4$ 和 / 或卤素。适当的杂环基包括具有 1 至 4 个独立选自 O、N 和 / 或 S 的杂原子的单环或二环杂环基。其它适当的杂环基包括具有独立选自 O、N 和 / 或 S 的 1 至 2 个杂原子的 1- 环杂环基。适当的杂环基的实例包括饱和杂环基, 诸如氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、氮杂环丁烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、四氢吡喃基、四氢硫吡喃基、哌啶基、吗啉基、哌嗪基。适当的杂环基的其它实例包括部分不饱和的杂环基, 包括 3,4-二氢-2H-吡喃基、5,6-二氢-2H-吡喃基、2H-吡喃基、1,2,3,4-四氢吡啶基和 1,2,5,6-四氢吡啶基。例如, 该实施方案提供了式 (I) 的化合物, 其中 n 为零或 1。优选地, R^3 为 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$; 且更优选地, R^3 为 C_1 - C_4 烷基、 C_1 至 C_2 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$, 其中 R^5 为甲基或乙基。

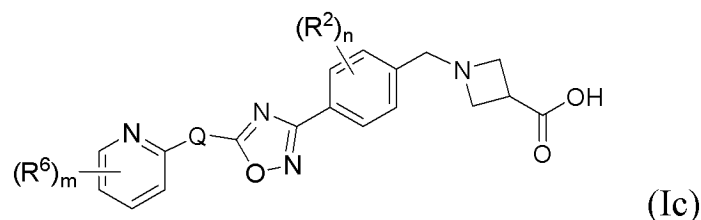
[0049] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐, 其中 R^1 为杂芳基, 其任选取代有独立选自下述的一至五个取代基: C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基、 $-OR^4$ 和 / 或卤素。适当的杂芳基包括具有 1 至 4 个独立选自 O、N 和 / 或 S 的杂原子的单环或二环杂芳基。其它适当的杂芳基包括具有 1 至 4 个独立选自 O、N 和 / 或 S 的杂原子的单环杂芳基。适当的杂芳基的实例包括单环杂芳基, 诸如吡咯基、呋喃基、噻吩基、吡啶基、咪唑基、异噻唑基、噻唑基、异噻唑

基、噻唑基、三唑基、噁二唑基、噻二唑基、四唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基和吡嗪基。适当的杂芳基的其它实例包括 2- 环杂芳基, 诸如苯并呋喃基、苯并噻吩基、吲哚基、苯并咪唑基、吡咯基、苯并三唑基、吡咯并吡啶基、咪唑并吡啶基、吡唑并吡啶基、异吲哚基、吡唑基、嘌呤基、二氢吲哚基、咪唑并吡啶基、吡唑并吡啶基和咪唑并嘧啶基 (imidazolylpyrimidinyl)。例如, 该实施方案提供了式 (I) 的化合物, 其中 n 为零或 1。优选地, R^3 为 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$; 且更优选地, R^3 为 C_1 - C_4 烷基、 C_1 至 C_2 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$, 其中 R^5 为甲基或乙基。

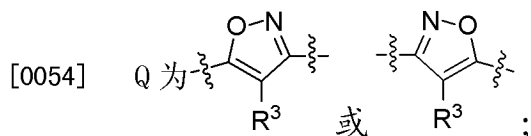
[0050] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐, 其中 R^3 为单环杂芳基, 其任选取代有独立选自下述的一至五个取代基: C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_4 卤代烷基、 $-OR^4$ 和 / 或卤素。例如, 该实施方案提供了式 (I) 的化合物, 其中 R^3 任选取代有一至三个取代基。该实施方案还提供了式 (I) 的化合物, 其中 R^3 取代有零或一个取代基。

[0051] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐, 其中 R^3 为吡啶基, 其任选取代有独立选自下述的一至五个取代基: C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基、 $-OR^4$ 和 / 或卤素。该实施方案的化合物包括式 (Ic) 的化合物:

[0052]



[0053] 其中:



[0055] n 为零或选自 1 至 4 的整数;

[0056] 每个 R^2 独立选自氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基、 $-OR^4$ 和 / 或卤素;

[0057] R^3 为氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$;

[0058] 每个 R^4 独立选自 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基和 / 或苄基;

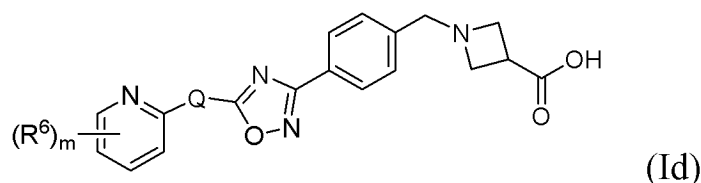
[0059] R^5 为 C_1 - C_6 烷基或苄基; m 为零或选自 1 至 4 的整数; 且

[0060] 每个 R^6 独立选自 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_4 卤代烷基、卤素和 / 或 $-OR^4$ 。

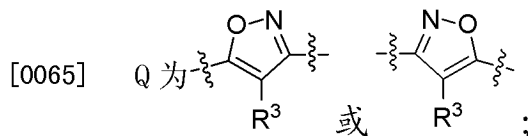
[0061] 优选地, R^3 为 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$ 。例如, 该实施方案提供了式 (I) 的化合物, 其中 n 为零或 1。优选地, R^3 为 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$; 且更优选地, R^3 为 C_1 - C_4 烷基、 C_1 至 C_2 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$, 其中 R^5 为甲基或乙基。

[0062] 一个实施方案提供了式 (Ic) 的化合物或其药用盐, 其中 n 为零。该实施方案的化合物包括式 (Id) 的化合物:

[0063]



[0064] 其中：



[0066] m 为零或选自 1 至 4 的整数；

[0067] 每个 R^6 独立选自 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_4 卤代烷基、卤素和 / 或 $-OR^4$ ；

[0068] 每个 R^4 独立为 C_1-C_4 烷基； R^3 为 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_4 卤代烷基或 $-C(O)OR^5$ ；且

[0069] R^5 为 C_1-C_4 烷基。

[0070] 在该实施方案的一个实例中，m 为 0；且 R^3 为氢、乙基、1-丙基、2-丙基、 $-CF_3$ 或 $-C(O)OCH_3$ 。

[0071] 一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐，其选自：

[0072] 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

[0073] 1-(4-(5-(5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

[0074] 1-(4-(5-(4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

[0075] 1-(4-(5-(4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

[0076] 1-(4-(5-(4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

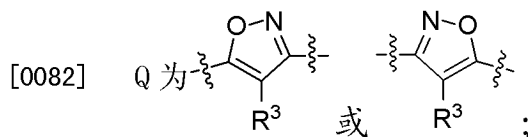
[0077] 1-(4-(5-(4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；

[0078] 1-(4-(5-(4-(甲氧基羰基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸；和

[0079] 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸。该实施方案的化合物可提供作为 2,2,2-三氟乙酸盐。

[0080] 一个实施方案提供了组合物，其包含式 (I) 的化合物或其药用盐以及药用载体。

[0081] 一个实施方案提供了用于治疗与 G 蛋白偶联受体 $S1P_1$ 的活性相关的疾病或病症的方法，所述方法包括对哺乳动物患者给予式 (I) 的化合物或其药用盐，其中：



[0083] n 为零或选自 1 至 4 的整数；

[0084] R^1 为环烷基、杂芳基或杂环基，各自任选取代有独立选自下述的一至五个取代基：

C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、-OR⁴ 和 / 或卤素；

[0085] 每个 R² 独立选自氢、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基、-OR⁴ 和 / 或卤素；

[0086] R³ 为氢、烷基、环烷基、卤代烷基或 -C(O)OR⁵；

[0087] 每个 R⁴ 独立选自 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₄ 卤代烷基和 / 或苄基；且

[0088] R⁵ 为烷基或苄基。

[0089] 定义

[0090] 本领域的普通技术人员在阅读了下述详细描述后,可更容易地理解本发明的特征和优点。应当理解的是,本发明的一些特征,为清楚起见,具体实施方案上下文中描述的一些特征也可以组合形成单个的实施方案。相反地,本发明的各特征,为简洁起见,单个实施方案中描述的特征,也可组合形成亚组合。本申请鉴别的作为示例性或优选的实施方案意在示例说明而不进行限制。

[0091] 除非在本申请中另作具体说明,提及单数形式时,也可包括复数形式。例如,“一个”和“一种”可指一个或一种,也可指一个或多个,或一种或多种。

[0092] 除非另作说明,认为化合价未被满足的任何杂原子具有足以满足所述化合价的氢原子。

[0093] 在本申请中阐述的定义优先于在通过引用方式并入本申请的任何专利、专利申请和 / 或专利申请出版物中阐述的定义。

[0094] 下面所列的是用于描述本发明的各种术语的定义。这些定义应用到的术语是在整个说明中个别地或作为较大基团的部分使用的(除非它们另外限制在特殊实例中)。

[0095] 在整个说明书中,基团及其取代基可由本领域的技术人员进行选择以提供稳定的部分和化合物。

[0096] 根据本领域的常规使用,  在本申请的结构式中使用以描述作为部分或取代基与核心或骨架结构的连接点的化学键。

[0097] 本申请使用的术语“卤素(halo)”和“卤素”是指 F、Cl、Br 或 I。

[0098] 本申请使用的术语“烷基”是指支链和直链的饱和脂族烃基,其含有例如 1 至 12 个碳原子、1 至 6 个碳原子以及 1 至 4 个碳原子。烷基的实例包括但不限于甲基(Me)、乙基(Et)、丙基(例如正丙基和异丙基)、丁基(例如正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基)以及戊基(例如正戊基、异戊基、新戊基)、正己基、2-甲基戊基、2-乙基丁基、3-甲基戊基和 4-甲基戊基。当数字出现在符号“C”后的下标位置时,所述下标更具体地定义特定基团可含有的碳原子的数目。例如,“C₁-C₆ 烷基”表示具有一至六个碳原子的直链和支链烷基。

[0099] 本申请使用的术语“卤代烷基”是指其中一个或多个氢原子被一个或多个卤素原子取代的烷基,所述卤素原子的数目可在一至多达可存在于母体烷基上的氢原子的总数的范围内。卤代烷基的代表性实例包括但不限于氯甲基(-CH₂Cl)、三氟甲基(-CF₃)和 2,2,2-三氟乙基(-CH₂CF₃)。当数字出现在符号“C”后的下标位置时,所述下标更具体地定义特定的卤代烷基可含有的碳原子的数目。例如,“C₁-C₄ 卤代烷基”表示具有一至四个碳原子的直链和支链卤代烷基。

[0100] 本申请使用的术语“环烷基”是指通过由饱和环碳原子移去一个氢原子由非芳族单环或多环烃分子衍生得到的基团。环烷基的代表性实例包括但不限于环丙基、环戊基和

环己基。当数字出现在符号“C”后的下标位置时,所述下标更具体地定义特定的环烷基可含有的碳原子的数目。例如,“C₃-C₆ 环烷基”表示具有三至六个碳原子的环烷基。

[0101] 本申请使用的术语“烷氧基”是指经氧原子连接于母体分子部分的烷基,例如,甲氧基(-OCH₃)。

[0102] 本申请使用的术语“芳基”是指通过移去结合于一个或多个芳环的一个氢由含有所述一个或多个芳环的分子衍生得到的原子的基团。芳基的代表性实例包括但不限于苯基、萘基、二氢化茛基、茛基和 1,2,3,4- 四氢萘-5- 基。

[0103] 本申请使用的术语“苄基”是指其中氢原子中的一个被苯基取代的甲基。

[0104] 本申请使用的术语“杂原子”是指氧、硫和氮。

[0105] 本申请使用的术语“杂环基”是指非芳族 3- 至 7- 元单环基团、7- 至 11- 元二环基团和 10- 至 15- 元三环基团,其中至少一个环具有至少一个杂原子(O、S 或 N),所述含有杂原子的环优选具有独立选自 O、S 和 / 或 N 的 1、2 或 3 个杂原子。所述含有杂原子的基团中的每个环可含有一个或两个氧或硫原子和 / 或一至四个氮原子,条件是每个环中的杂原子总数为四或更少,且进一步的条件是所述环含有至少一个碳原子。氮和硫原子可任选被氧化且氮原子可任选被季铵化。完整成为二环和三环基团的稠合环可仅含有碳原子且可为饱和的、部分饱和的或不饱和的。杂环基团可连接在任意可用的氮或碳原子上。

[0106] 示例性单环杂环基包括氧杂环丁烷基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基、咪唑啉基、噁唑烷基、异噁唑烷基、噻唑烷基、异噻唑烷基、四氢呋喃基、哌啶基、哌嗪基、2- 氧代哌嗪基、2- 氧代哌啶基、2- 氧代吡咯烷基、2- 氧代氮杂茛基、氮杂茛基、4- 哌啶酮基、四氢吡喃基、吗啉基、硫吗啉基、硫吗啉基亚砷、硫吗啉基砷、1,3- 二氧戊烷和四氢-1,1- 二氧代噻吩基。示例性二环杂环基团包括奎宁环基。

[0107] 本申请使用的术语“杂芳基”是指芳族 5- 或 6- 元单环基团、9- 或 10- 元二环基团以及 11- 至 14- 元三环基团,其在至少一个环中具有至少一个杂原子(O、S 或 N),所述含有杂原子的环优选具有独立选自 O、S 和 / 或 N 的 1、2 或 3 个杂原子。所述含有杂原子的杂芳基中的每个环可含有一个或两个氧或硫原子和 / 或一至四个氮原子,条件是每个环中的杂原子总数为四或更少,且每个环具有至少一个碳原子。完整成为二环和三环基团的稠合环可仅含有碳原子且可为饱和的、部分饱和的或不饱和的。氮和硫原子可任选被氧化且氮原子可任选被季铵化。二环或三环的杂芳基必须包括至少一个全芳族环而其它稠合环或环可为芳族的或非芳族的。杂芳基可连接在任意环的任意可用的氮或碳原子上。

[0108] 示例性单环杂芳基包括吡咯基、吡唑基、吡唑啉基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、噻二唑基、异噻唑基、呋喃基、噻吩基、噁二唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基和三嗪基。

[0109] 示例性二环杂芳基包括吡啶基、苯并噻唑基、苯并二氧戊烷基、苯并噁唑基、苯并噻吩基、喹啉基、四氢异喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、苯并吡喃基、吲哚基、苯并呋喃基、色酮基、香豆素基、苯并吡喃基、噌啉基、喹啉基、吲唑基、吡咯并吡啶基、呋喃并吡啶基、二氢异吡啶基和四氢喹啉基。

[0110] 示例性三环杂芳基包括咪唑基、苯并咪唑基、菲咯啉基、吡啶基、菲啶基和咕吨基。

[0111] 本申请采用的短语“药用的”是指这样的化合物、物质、组合物和 / 或剂型,其在合理的医药判断范围内适用于与患者和动物的组织接触而不引起过度的毒性、刺激性、变态

反应或其它问题或并发症,这与合理的益处/风险比例相称。

[0112] 如本申请使用,“药用盐”是指披露的化合物的衍生物,其中将母体化合物通过制备其酸或碱盐来修饰。药用盐的实例包括但不限于碱性残基诸如胺的无机或有机酸盐;以及酸性残基诸如羧酸的碱盐或有机盐。药用盐包括由例如无毒无机酸或有机酸形成的母体化合物的常规无毒盐或季铵盐。本发明的药用盐可由含有碱性或酸性部分的母体化合物通过常规化学方法合成。一般地,所述盐可通过使这些化合物的游离酸或碱形式与化学量的适当碱或酸在水中或在有机溶剂中或在两者的混合物中反应来制备;一般地,非水介质如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈为优选的。适当盐的名单出现在 Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, p. 1418 (1985) 中,将其公开的内容通过引用的方式并入本申请。

[0113] 式 (I) 的化合物的一种或多种盐可通过例如使式 (I) 的化合物与例如一当量的酸或碱在介质中反应来形成,所述介质允许新形成的盐例如沉淀析出或经低压冻干分离。式 (I) 的化合物可与无机酸和/或有机酸形成的示例性酸性盐包括但不限于例如乙酸盐、抗坏血酸、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、酒石酸氢盐、酸性枸橼酸盐、枸橼酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、龙胆酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖二酸盐、谷氨酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、异烟酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐 (mesylate)、甲磺酸盐 (methanesulfonate)、硝酸盐、泛酸盐、磷酸盐、酸性磷酸盐、糖二酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、对甲苯磺酸盐、三氟乙酸盐、乳酸盐和扑酸盐 [即 1,1'-亚甲基-二-(2-羟基-3-萘甲酸酯)] 盐。所述盐可根据本领域技术人员已知的方法形成。

[0114] 式 (I) 的化合物可与无机碱和/或有机碱形成的示例性碱性盐包括但不限于例如铵盐;碱金属盐,例如,钠盐、锂盐和钾盐;碱土金属盐,例如,钙盐和镁盐;与有机碱形成的盐,例如,苺星 (benzathine) 盐、二环己基胺、2-氨基-2-(羟基甲基)丙-1,3-二醇 (氨基丁三醇 (trisamine 或 Tris))、哈胺 (hydrabamine) (例如 N, N-二(脱氢松香基)乙二胺)、N-甲基-D-葡萄糖胺 (N-methyl-D-glucamine)、N-甲基-D-甘氨酸酰胺 (N-methyl-D-glycamide) 和叔丁基胺;与氨基酸 (例如精氨酸和赖氨酸) 形成的盐;和通过使用以下试剂以对碱性含氮基团进行季铵化而形成的盐,所述试剂为例如低级烷基卤化物 (例如甲基氯、甲基溴、甲基碘、乙基氯、乙基溴、乙基碘、丙基氯、丙基溴、丙基碘、丁基氯、丁基溴和丁基碘)、硫酸二烷基酯 (例如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯、硫酸二丁酯和硫酸二戊酯)、长链卤化物 (例如癸基氯、癸基溴、癸基碘、月桂基氯、月桂基溴、月桂基碘、肉豆蔻基氯、肉豆蔻基溴、肉豆蔻基碘、硬脂基氯、硬脂基溴和硬脂基碘) 和芳烷基卤化物 (例如苺基溴和苺基碘)。这样的盐可按照本领域技术人员已知的方法来形成。

[0115] 此外,式 (I) 的化合物在它们的制备后优选地进行分离和纯化以得到含有按重量计的量等于或大于 99% 的式 (I) 的化合物 (“基本纯的”) 的组合物,然后将其如本申请所述使用或配制。所述“基本纯的”式 (I) 的化合物也构成本发明的一部分。

[0116] 体内可转化得到生物活性药物 (即式 (I) 的化合物) 的任意化合物为本发明范围和主旨内的前药。

[0117] 本申请采用的术语“前药”包括通过如下形成的酯和碳酸盐:采用本领域技术人员已知的方法使式 (I) 的化合物的一个或多个羟基与烷基、烷氧基或芳基取代的酰化剂反应产生乙酸酯、特戊酸酯、甲基碳酸酯、苯甲酸酯等。

[0118] 前药的各种形式在本领域中已知且在如下有述：

[0119] a) Wermuth, C. G. et al., *The Practice of Medicinal Chemistry*, Chapter 31, Academic Press (1996) ;

[0120] b) *Design of Prodrugs*, Bundgaard, H. ed., Elsevier (1985) ;

[0121] c) Bundgaard, H., Chapter 5, “Design and Application of Prodrugs,” *A Textbook of Drug Design and Development*, pp. 113-191, Krosgaard-Larsen, P. et al., eds., Harwood Academic Publishers (1991) ;和

[0122] d) Testa, B. et al., *Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism*, Wiley-VCH (2003)。

[0123] 此外,式(I)的化合物在它们的制备后优选地进行分离和纯化以得到含有按重量计的量等于或大于99%的式(I)的化合物(“基本纯的”化合物I)的组合物,然后将其如本申请所述使用或配制。所述“基本纯的”式(I)的化合物也构成本发明的一部分。

[0124] “治疗有效量”意在包括单独使用的本发明化合物的量或要求保护的化合物的组合的量或本发明化合物与有效用作为S1P₁激动剂或用于治疗或预防血管疾病或自身免疫性疾病的其它活性成分的组合的量。

[0125] 如本申请使用,“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”涵盖在哺乳动物特别是人类中对病症进行治疗,并包括:(a)在哺乳动物中预防所述病症发生,特别是当所述哺乳动物易患所述病症但尚未确诊患上所述病症时;(b)抑制所述病症,即阻止其发展;和/或(c)减轻所述病症,即令所述病症消退。

[0126] 本发明化合物可含有一个或多个额外的不对称碳原子,因此可按两种或更多种立体异构形式存在。本发明包括所有可能的单一立体异构体、它们的单一互变异构形式及它们的混合物。非对映异构体的分离可通过常规技术来实现,例如通过对本发明化合物或其合适的盐或衍生物的立体异构混合物进行分级结晶、色谱或HPLC。视情况而定,所述化合物的单一对映异构体也可由相应的光学纯的中间体来制备,或如下制备:使用合适的手性载体(support)对外消旋体进行拆分(诸如通过HPLC),或对非对映异构盐进行分级结晶,所述非对映异构盐通过使相应的外消旋体与合适的光学活性酸或碱反应来制备。

[0127] 本发明化合物意在包括存在于本发明化合物中的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子数而不同质量数的原子。作为一般实例而非限制,氢的同位素包括氕与氘。碳的同位素包括¹³C与¹⁴C。同位素标记的本发明化合物通常可通过本领域技术人员已知的常规技术或通过类似于本申请所述的方法使用适当的同位素标记的试剂替代在其它情况下所采用的未经标记的试剂来制备。

[0128] 本发明还包括一类药物组合物,所述药物组合物包含式(I)的化合物或其药用盐及一种或多种无毒药用载体和/或稀释剂和/或辅料(在本申请中统称为“载体”材料),且当期望时,所述药物组合物包含其它活性成分。式(I)的化合物可通过任何合适的途径优选以适于所述途径的药物组合物的形式且以就所期望的治疗而言有效的剂量来给药。例如,本发明化合物和组合物可按含常规药用载体、辅料和媒介物的剂量单位制剂的形式来口服给药、粘膜给药或肠胃外(包括血管内、静脉内、腹膜内、皮下、肌内、胸骨内和输注技术)给药。例如,所述药物载体可含有甘露醇或乳糖和微晶纤维素的混合物。所述混合物可含有其它组分,例如润滑剂如硬脂酸镁和崩解剂如交聚维酮。可将所述载体混合物填充

到明胶胶囊中或压制成片剂。

[0129] 本发明药物活性化合物可按照常规药学方法来加工以生产用于向患者（包括人类和其它哺乳动物）给药的药剂。

[0130] 对于口服给药，所述药物组合物可呈以下形式：例如片剂、胶囊剂、混悬剂或液体制剂。优选将所述药物组合物制备成含特定量活性成分的剂量单位形式。所述剂量单位的实例为片剂或胶囊剂。例如，这些片剂或胶囊剂所含的活性成分量可以是约 1 至 2000mg，优选为约 1 至 500mg，且更优选为约 5 至 150mg。适于人类或其它哺乳动物的日剂量可基于患者的病症和其它因素而变化很大，但同样可使用常规方法来确定。

[0131] 所给药的化合物量和用本发明化合物和 / 或组合物对病症进行治疗的给药方案取决于各种因素，包括受试者的年龄、体重、性别和医学状态、疾病的类型、疾病的严重性、给药的途径和频率及所使用的具体化合物。因此，所述给药方案可变化很大，但可使用标准方法来常规确定。约 0.01 至 1500mg/kg 体重、优选为约 0.5 至约 50mg/kg 体重且最优选为约 0.1 至 20mg/kg 体重的日剂量可以是合适的。所述日剂量可按 1-4 次 / 日来给药。

[0132] 出于治疗目的，通常将本发明活性化合物与一种或多种适于所期望给药途径的辅料组合。如果口服给药，则可将所述化合物与乳糖、蔗糖、淀粉粉末、烷酸的纤维素酯、纤维素烷基酯、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、氧化镁、磷酸和硫酸的钠盐和钙盐、明胶、阿拉伯胶、海藻酸钠、聚乙烯基吡咯烷酮和 / 或聚乙烯基醇混合，然后压片或包囊以方便给药。这样的胶囊剂或片剂可包括控释制剂，所述控释制剂可按活性化合物在羟丙基甲基纤维素中的分散体形式来提供。

[0133] 含式 (I) 的化合物的乳剂的油相可由已知成分以已知方式来构成。尽管所述相可仅包含乳化剂，但它可包含至少一种乳化剂与脂肪或油或与脂肪和油的混合物。优选地，亲水性乳化剂与作为稳定剂的亲脂性乳化剂包含在一起。同时包含油和脂肪也是优选的。另外，乳化剂（带有或不带有稳定剂）构成所谓的乳化蜡，且所述蜡与油和脂肪一起构成所谓的乳化软膏基质，所述乳化软膏基质形成乳膏制剂的油分散相。适于在本发明制剂中使用的乳化剂和乳剂稳定剂包括 Tween 60、Span 80、鲸蜡硬脂醇、肉豆蔻醇、单硬脂酸甘油酯、月桂基硫酸钠或二硬脂酸甘油酯，这些物质单独使用或与蜡或本领域公知的其它材料一起使用。

[0134] 为所述制剂选择合适的油或脂肪是基于实现所期望的化妆品性质 (cosmetic property) 来进行的，这是因为所述活性化合物在可能用于药物乳剂的大多数油中的溶解度是非常低的。因此，所述乳膏剂应该优选为非油腻的、非沾污的且可洗涤的产品，并具有合适的稠度以避免从管或其它容器中泄漏。可使用直链或支链的且一元或二元的烷基酯，例如二异己二酸酯 (di-isoadipate)、硬脂酸异鲸蜡酯、椰油脂肪酸丙二醇二酯、肉豆蔻酸异丙酯、油酸癸酯、棕榈酸异丙酯、硬脂酸丁酯、棕榈酸 2-乙基己酯或支链酯的共混物。基于所需要的性质，这些物质可单独使用或组合使用。可选择地，可使用高熔点的脂质如白软石蜡和 / 或液体石蜡或其它矿物油。

[0135] 用于肠胃外给药的制剂可呈含水或非含水等渗无菌注射溶液剂或混悬剂的形式。这些溶液剂和混悬剂可由无菌粉末或颗粒使用就用于口服给药制剂所述的一种或多种载体或稀释剂或使用其它合适的分散剂或湿润剂和助悬剂来制备。可将所述化合物溶解在水、聚乙二醇、丙二醇、乙醇、玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、苯甲醇、氯化钠、黄蓍胶和 /

或各种缓冲液中。其它辅料和给药模式在药物领域中是充分且广泛已知的。所述活性成分也可按与合适的载体（包括盐水、右旋糖或水）或与环糊精（即CAPTISOL®）、共溶剂增溶物质（即丙二醇）或胶束增溶物质（即 Tween 80）在一起的组合物形式通过注射来给药。

[0136] 所述无菌注射剂也可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液剂或混悬剂，例如在 1,3- 丁二醇中的溶液剂。所述可接受的可使用的媒介物和溶剂是水、林格溶液和等渗氯化钠溶液。另外，无菌的不挥发油通常用作溶剂或混悬介质。就该目的而言，可使用任何温和的不挥发油，包括合成的甘油一酯或甘油二酯。另外，脂肪酸如油酸可用于制备注射剂。

[0137] 所述药物组合物可经历常规制药操作，例如灭菌，和 / 或可含有常规辅料，例如防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、缓冲剂等。片剂和丸剂可额外地制备有肠溶衣。所述组合物还可包含辅料，例如湿润剂、甜味剂、矫味剂和芳香剂。

[0138] 本发明药物组合物包含式 (I) 的化合物或其药用盐以及任选包含其它物质，所述其它物质选自任何药用载体、辅料或媒介物。可选择的本发明组合物包含本申请所述的式 (I) 的化合物或其药用盐以及药用载体、辅料或媒介物。

[0139] 可在本发明药物组合物中使用的药用载体、辅料和媒介物包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、自乳化药物递送系统 (SEDDS) 如琥珀酸 D- α -生育酚聚乙二醇 1000 酯 (d- α -tocopherol polyethyleneglycol1000 succinate)、在药物剂型中使用的表面活性剂如 Tween 或其它类似的聚合物递送基质、血清蛋白质如人血清白蛋白、缓冲物质如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯基吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。也可有利地使用环糊精如 α -、 β - 和 γ -环糊精或化学改性衍生物如羟基烷基环糊精（包括 2- 和 3- 羟基丙基-环糊精）或其它可溶性衍生物以促进本申请所述制剂中的化合物递送。

[0140] 用途

[0141] 人类免疫系统已经进化以防御机体免受可引起感染、疾病或死亡的微生物、病毒和寄生虫的侵害。复杂的调节机制确保了免疫系统的各种细胞成分以外来物质或有机体为靶点，而不引起个体的永久性 or 显著性损伤。尽管在目前初始事件并未被很好地了解，处于自身免疫疾病状态的免疫系统引发了患病个体中的靶器官中发生炎性应答。不同的自身免疫疾病典型地通过主要的或初始的受影响的靶器官或组织来表征；诸如类风湿性关节炎所牵涉的关节、桥本甲状腺炎所牵涉的甲状腺、多发性硬化症所牵涉的中枢神经系统、I 型糖尿病所牵涉的胰腺以及炎性肠病所牵涉的肠。因此已观察到作用于免疫系统或某些细胞类型的免疫系统（诸如 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞，T 细胞）的治疗剂可能对多于一种自身免疫疾病有效。

[0142] 本领域（包括本申请所引用的参考文献）普遍认为 S1P 受体是包括自身免疫疾病在内的宽范围的一类治疗应用的好的靶点。S1P 受体成为好的药物靶点，这是因为单个受体既是组织特异性的又是应答特异性的。S1P 受体的组织特异性是重要的，这是因为开发针对一种受体选择的激动剂或拮抗剂使细胞应答集中于含有该受体的组织，从而限制了不想要的副作用。S1P 受体的应答特异性同样也是重要的，这是因为它允许开发启动或抑制某些细

胞应答而不影响其它过程的激动剂或拮抗剂。因此,作用于一些 S1P 受体家族成员而对于其它家族成员具有减弱的或无活性的化合物是期望的且期望能够提供具有改善的副作用分布(即,减弱或消除不想要的副作用)的治疗作用。

[0143] 本申请所使用的涉及 S1P₁ 的术语“激动剂”是指发挥药理活性诸如减弱的 T 细胞的活动力、减弱的 T 细胞的运输或减弱的 T 细胞由淋巴样组织的流出的试剂(Rosen et al., Trends in Immunology, 28:102(2007))。

[0144] 由于它们作为激动剂的 S1P₁ 活性,本发明化合物为用于治疗或预防自身免疫疾病或慢性炎症性疾病的免疫调节剂。本发明化合物可在处于免疫抑制诸如骨髓、器官或移植排斥、自身免疫疾病和慢性炎症性疾病包括系统性红斑狼疮、慢性类风湿性关节炎、I 型糖尿病、炎性肠病、胆汁性肝硬化、眼葡萄膜炎、多发性硬化症、克罗恩病、溃疡性结肠炎、大疱性类天疱疮、结节病、牛皮癣、自身免疫性肌炎、韦格纳肉芽肿病、鱼鳞病、格雷夫斯眼病和哮喘的情况下用于抑制免疫系统。

[0145] 更具体地,本发明化合物用于治疗或预防选自下述的疾病或病症:器官或组织移植、由移植导致的移植物抗宿主病、包括类风湿性关节炎的自身免疫综合征、系统性红斑狼疮、桥本甲状腺炎、多发性硬化症、重症肌无力、I 型糖尿病、眼葡萄膜炎、后色素层葡萄膜炎、变应性脑脊髓炎、肾小球肾炎、包括风湿热和感染后的肾小球肾炎的感染后的自身免疫疾病、炎性和过度增殖性皮肤疾病、牛皮癣、特应性皮炎、接触性皮炎、湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、扁平苔癣、天疱疮、大疱性类天疱疮、大疱性表皮松解、荨麻疹、血管性水肿、血管炎、红斑、表皮嗜酸粒细胞增多、红斑狼疮、痤疮、局限性脱发、角膜结膜炎、春季结膜炎、与贝赫切特病相关的眼葡萄膜炎、角膜炎、疱疹性角膜炎、圆锥形角膜、角膜上皮营养不良、角膜白斑、眼天疱疮、莫伦溃疡、巩膜炎、格雷夫斯眼病、伏格特-小柳-原田三氏综合征、结节病、花粉变态反应、可逆阻塞性气道疾病、支气管哮喘、过敏性哮喘、内源性哮喘、外源性哮喘、尘埃性哮喘、慢性或顽固性哮喘(chronic or inveterate asthma)、晚期哮喘(late asthma)和气道高反应性、支气管炎、胃溃疡、局部缺血性疾病和血栓形成引起的血管损伤、局部缺血性肠疾病、炎性肠病、坏死性小肠结肠炎、与热灼伤相关的肠损伤、腹部疾病、直肠炎、嗜酸细胞性胃肠炎、肥大细胞增生症、克罗恩病、溃疡性结肠炎、偏头痛、鼻炎、湿疹、间质性肾炎、古德帕斯丘综合征、溶血性尿毒性综合征、糖尿病肾病、多发性肌炎、格-巴二氏综合征、梅尼埃病、多发性神经炎、多神经炎、单神经炎、神经根病、甲状腺功能亢进、巴泽多病、纯红细胞再生障碍、再生障碍性贫血、再生不良性贫血、特发性血小板减少性紫癜、自身免疫性溶血性贫血、粒细胞缺乏症、恶性贫血、巨幼红细胞性贫血、红细胞发生不能、骨质疏松症、结节病、纤维化肺、特发性间质性肺炎、皮炎、寻常性白斑病、寻常性鱼鳞病、光过敏性敏感(photoallergic sensitivity)、皮肤 T 细胞淋巴瘤、动脉硬化、动脉粥样硬化、主动脉炎综合征、结节性多动脉炎、非炎性心肌病、硬皮病、韦格纳肉芽肿、舍格伦综合征、肥胖症、嗜酸细胞性筋膜炎、牙龈、牙周组织、牙槽骨、牙骨质损伤、肾小球肾炎、通过预防脱发或提供毛发萌发和/或促进毛发产生和毛发生长的男性型脱发或老年性脱发、肌肉萎缩症、脓皮病和塞扎里综合征、艾迪生病、保藏时发生的器官缺血-再灌注损伤、移植或局部缺血性疾病、内毒素休克、假膜性结肠炎、药物或辐射引起的结肠炎、局部缺血性急性肾功能不全、慢性肾功能不全、肺部氧气或药物引起的中毒、肺癌、肺气肿、白内障、铁沉着病、视网膜色素变性、老年性黄斑变性、玻璃体瘢痕化(vitreous scarring)、角膜碱烧伤、皮炎、多形

性红斑、线性 IgA 大疱性皮炎 (linear IgA bullous dermatitis) 和牙骨质皮炎 (cement dermatitis)、龈炎、牙周炎、败血病、胰腺炎、环境污染引起的疾病、衰老、致癌作用、癌和低气压病的转移、组胺或白三烯 $-C_4$ 释放引起的疾病、贝赫切特病、自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、硬化性胆管炎、部分肝切除、急性肝坏死、毒素引起的坏死、病毒性肝炎、休克或缺氧、B- 病毒肝炎、非 -A/ 非 -B 型肝炎、肝硬化、酒精性肝硬化、肝衰竭、暴发性肝功能衰竭、迟发性肝衰竭、慢加急性肝衰竭、化疗效果强化、巨细胞病毒感染、人巨细胞病毒感染、艾滋病、癌症、老年性痴呆、外伤以及慢性细菌性感染。

[0146] 本发明也包括在有必要需要的哺乳动物患者中预防或治疗器官或组织的移植抵抗或移植排斥的方法, 包括给予式 (I) 的化合物或其药用盐。可给予对于预防或治疗移植抵抗或移植排斥的治疗有效量。

[0147] 在另一个实施方案中也包括在有必要需要的哺乳动物患者中抑制免疫系统的方法, 包括给予患者式 (I) 的化合物或其药用盐。可给予对于抑制免疫系统的治疗有效量。

[0148] 最具体地, 本申请所述的方法涵盖治疗或预防骨髓或器官移植排斥的方法, 包括向需要所述治疗或预防的哺乳动物患者给予式 (I) 的化合物或其药用盐。可给予对于治疗或预防骨髓或器官移植排斥的治疗有效量。

[0149] 一个实施方案提供了用于治疗自身免疫疾病和 / 或炎性疾病的方法, 包括向有此需要的哺乳动物给予至少一种式 (I) 的化合物或其药用盐。另一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐在治疗自身免疫疾病和 / 或炎性疾病中的疗法中的用途。在另一个实施方案中, 提供了式 (I) 的化合物或其药用盐在制备用于治疗或预防自身免疫疾病和 / 或炎性疾病的药物中的用途。可在这些实施方案中采用治疗有效量。优选地, 在这些实施方案中, 自身免疫疾病和炎性疾病选自多发性硬化症、类风湿性关节炎、炎性肠病 (包括克罗恩病和溃疡性结肠炎)、牛皮癣, 并且作为预防移植器官排斥的药物。

[0150] 在另一个实施方案中, 提供了用于治疗血管疾病的方法, 包括向有此需要的哺乳动物给予至少一种式 (I) 的化合物或其药用盐。另一个实施方案提供了式 (I) 的化合物或其药用盐在治疗血管疾病的疗法中的用途。在另一个实施方案中, 提供了式 (I) 的化合物或其药用盐在制备用于治疗血管疾病的药物中的用途。可在这些实施方案中采用治疗有效量。优选地, 在这些实施方案中, 血管疾病选自动脉粥样硬化和局部缺血再灌注损伤。

[0151] 治疗与 $5P_1$ - 相关的病症的方法可包括单独给予式 (I) 的化合物或相互组合给予和 / 或其它合适的用于治疗所述病症的治疗剂组合给予式 (I) 的化合物。因此, “治疗有效量也意在包括有效作为 $5P_1$ 受体激动剂的要求保护的化合物的组合的量。所述化合物的组合优选为协同作用的组合。协同作用, 如例如 Chou et al., Adv. Enzyme Regul. 22 : 27-55 (1984) 所述, 发生于当组合给药的化合物的作用大于作为单一药物的单独给药的化合物的累加作用时。协同作用通常为在化合物的亚适浓度时被最清楚地显示出来。协同作用可以体现在与单个组分相比, 组合的较低毒性、增强的效果或一些其它的有益效果。

[0152] 所述其它治疗剂的示例性实例包括皮质激素或糖皮质激素诸如地塞米松、甲基泼尼松龙、泼尼松龙和泼尼松; PDE4 抑制剂诸如咯利普兰、西洛司特、罗氟司特和欧格米拉 (oglemilast); 细胞因子抑制性抗炎药 (CSAIDs) 和 p38 激酶抑制剂、美国专利 4, 200, 750 公开的 4- 取代的咪唑并 [1, 2-a] 喹啉; 靶向细胞表面分子诸如 CD2、CD3、CD4、CD8、CD20 诸如 RITUXAN®、CD25、CD30、CD40、CD69、CD80 (B7. 1)、CD86 (B7. 2)、CD90、CTLA 例如阿巴

西普 (abatacept, ORENCIA®) 或它们的配体包括 CD154 (GP39 或 CD40L) 的抗体或融合蛋白;人细胞因子或生长因子的抗体、融合蛋白或可溶性受体,例如,肿瘤坏死因子 (TNF) 诸如英夫利昔单抗(REMICADE®)、依那西普(ENBREL®)、阿达木单抗(HUMIRA®)、LT、白细胞介素 (IL)-1 诸如阿那白滞素(KINERET®) (IL-1 受体拮抗剂)、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6, 诸如 CNT0328 (嵌合体的抗 IL-6 抗体)、IL-7、IL-8、IL-12、IL-15、IL-16、IL-17、IL-21、IL-23 诸如伏特克单抗 (Ustekinumab, 人抗 IL-12/23 单克隆抗体) 以及干扰素类诸如干扰素 β 1a (AVOREX®、REBIF®)、干扰素 β 1b (BETASERON®);整合素受体拮抗剂诸如TYSABRI®;多聚体药物诸如格拉默乙酸盐(COPAXONE®);柳氮磺吡啶、5-氨基水杨酸、羟氯喹、非甾体抗炎药 (NSAIDs) 诸如水杨酸盐包括阿司匹林、双水杨酯和水杨酸镁,以及非水杨酸盐诸如布洛芬、萘普生、美洛昔康、塞来考昔和罗非考昔;抗病毒剂诸如阿巴卡韦;抗增殖剂诸如甲氨喋呤、巯嘌呤、来氟米特、环孢霉素 A、霉酚酸吗啉乙酯 (mycophenololate)、FK506 (他克莫司, PROGRAF®);细胞毒类药物诸如硫唑嘌呤和环磷酰胺;核转位抑制剂, 诸如脱氧精胍菌素 (DSG);含金产品诸如金兰诺芬;青霉胺和雷帕霉素 (西罗莫司或RAPAMUNE®) 或其衍生物。

[0153] 当与本发明的化合物组合使用时,上述其它治疗剂可例如以 Physicians' Desk Reference (PDR) 指示的或其它情况下由本领域技术人员确定的那些量来使用。在本发明的方法中,所述其它治疗剂可以在本发明的化合物给药之前、同时或之后给予。

[0154] 制备方法

[0155] 本发明的化合物可以有机合成领域技术人员已知的众多方式来制备。本发明的化合物可使用如下所述的方法与合成有机化学领域已知的合成方法或本领域技术人员理解的其变化形式一起来合成。优选的方法包括但不限于如下所述的那些。将本申请引用的所有参考的全部内容通过引用的方式并入本申请。

[0156] 本发明的化合物可使用本部分所述的反应和技术来制备。反应在适于所采用的试剂和材料的溶剂中进行,并且反应适于起进行的转化。同样,在描述如下所述的合成方法的过程中,应该理解的是对所有提出的反应条件 (包括溶剂、反应气氛、反应温度、试验的持续时间和操作方法的选择) 进行选择对所述反应而言标准的条件,其应该容易地被本领域技术人员所认识的。

[0157] 有机合成领域技术人员应该理解的是存在于分子各部分的官能团必须与所建议的试剂和反应相容。对与反应条件相容的取代基进行这样的限制,这对于本领域技术人员来说应该是显而易见的,由此必须使用替代方法。这有时需要对修改合成步骤的顺序或选择相对于其它方案的一种特定操作方案进行判断以得到期望的本发明化合物。还将认识到对本领域任意合成途径设计的另一个主要考虑是正确选择用于保护本发明所述的化合物中存在的反应官能团的保护基团。对受训的从业者描述许多替代方法的权威解释参见 Greene et al. (Protective Groups in Organic Synthesis, Third Edition, Wiley and Sons (1999))。

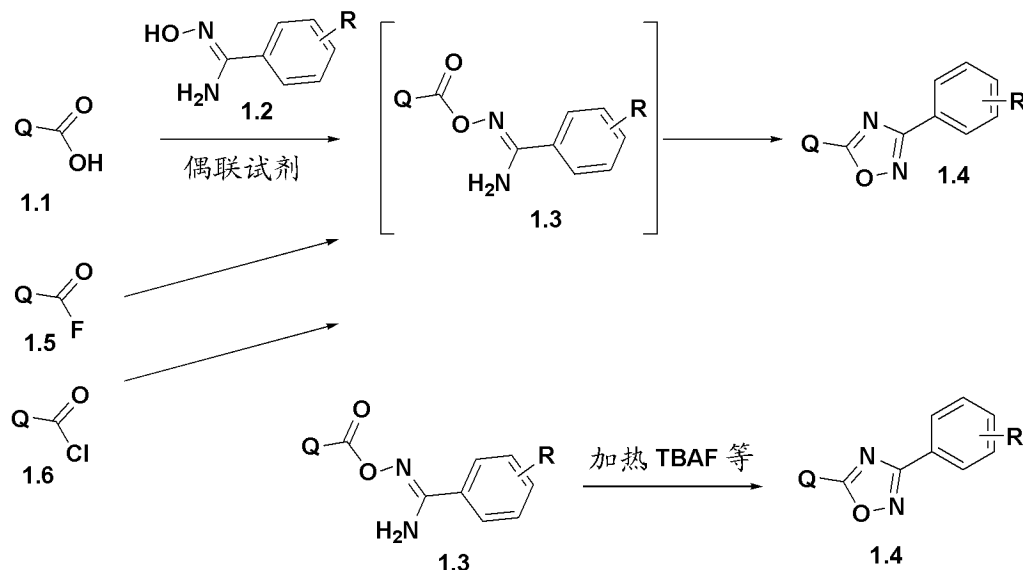
[0158] 式 (I) 的化合物可通过参考下述方案中示例说明的方法来制备。如本申请所示,终产物为具有与式 (I) 的化合物相同的结构式的化合物。应该理解的是任意式 (I) 的化合物可通过适当选择具有适当取代的试剂的方案来产生。溶剂、温度、压力和其它反应条件可由本领域技术人员容易地选择。起始物质为可商购得到的或由本领域技术人员容易地制

备。化合物的构成如本申请或说明书中某处所定义。

[0159] 如方案 1 所示,本发明的噁二唑化合物 (1.4) 可通过羧酸 (1.1) 与 N'-羟基苯甲脒 (1.2) 在多种偶联试剂 (例如 EDC、HOBt、BOP、BOP-Cl) 中反应来制备。可替换地, N'-羟基苯甲脒可与酰基氟 (1.5) 或酰基氯化物 (1.6) 反应。在每种情况下,最初形成的 N'-酰氧基苯甲脒 (1.3) 可在反应条件下自发地转化为噁二唑。在 N'-酰氧基苯甲脒 (1.3) 不能自发环化的情况下,其可被分离且经历反应条件以进行环化脱水形成 1.4。这些条件可包括加热 (常规加热或微波加热) 或用氟化物来源 (诸如四丁基氟化铵) 处理。

[0160] 方案 1

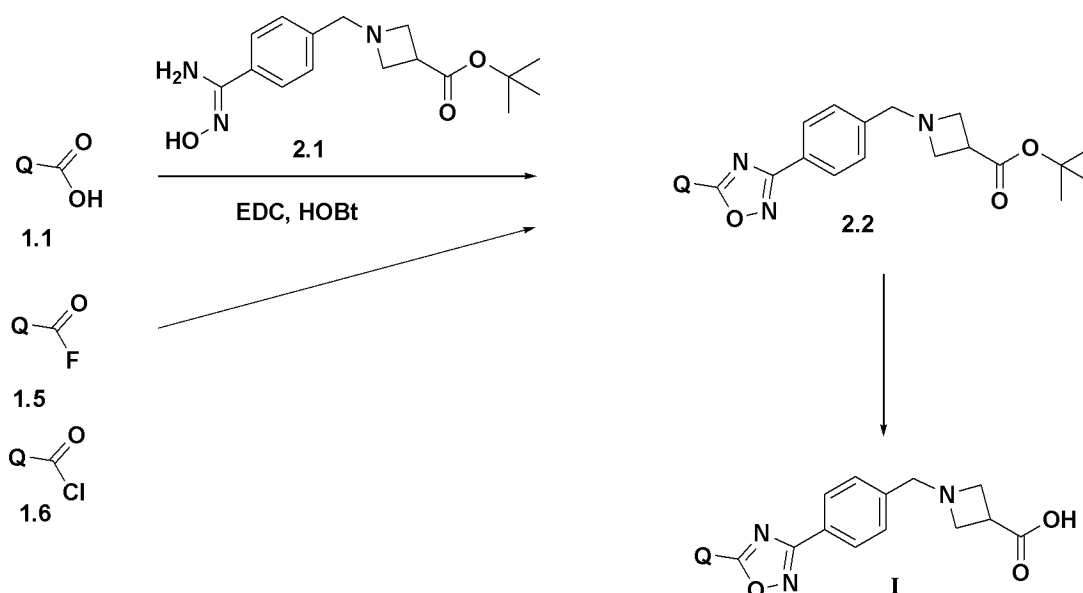
[0161]



[0162] 式 (I) 的化合物可通过酸 (1.1)、酰基氟 (1.5) 或酰基氯 (1.6) 与 (Z)-1-(4-(N'-羟基甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯 (2.1) 经如上所述的方法反应来制备得到结构 2.2 的化合物。用酸 (例如三氟乙酸) 处理,对叔丁酯衍生物 (2.2) 进行脱保护,得到式 (I) 的化合物。

[0163] 方案 2

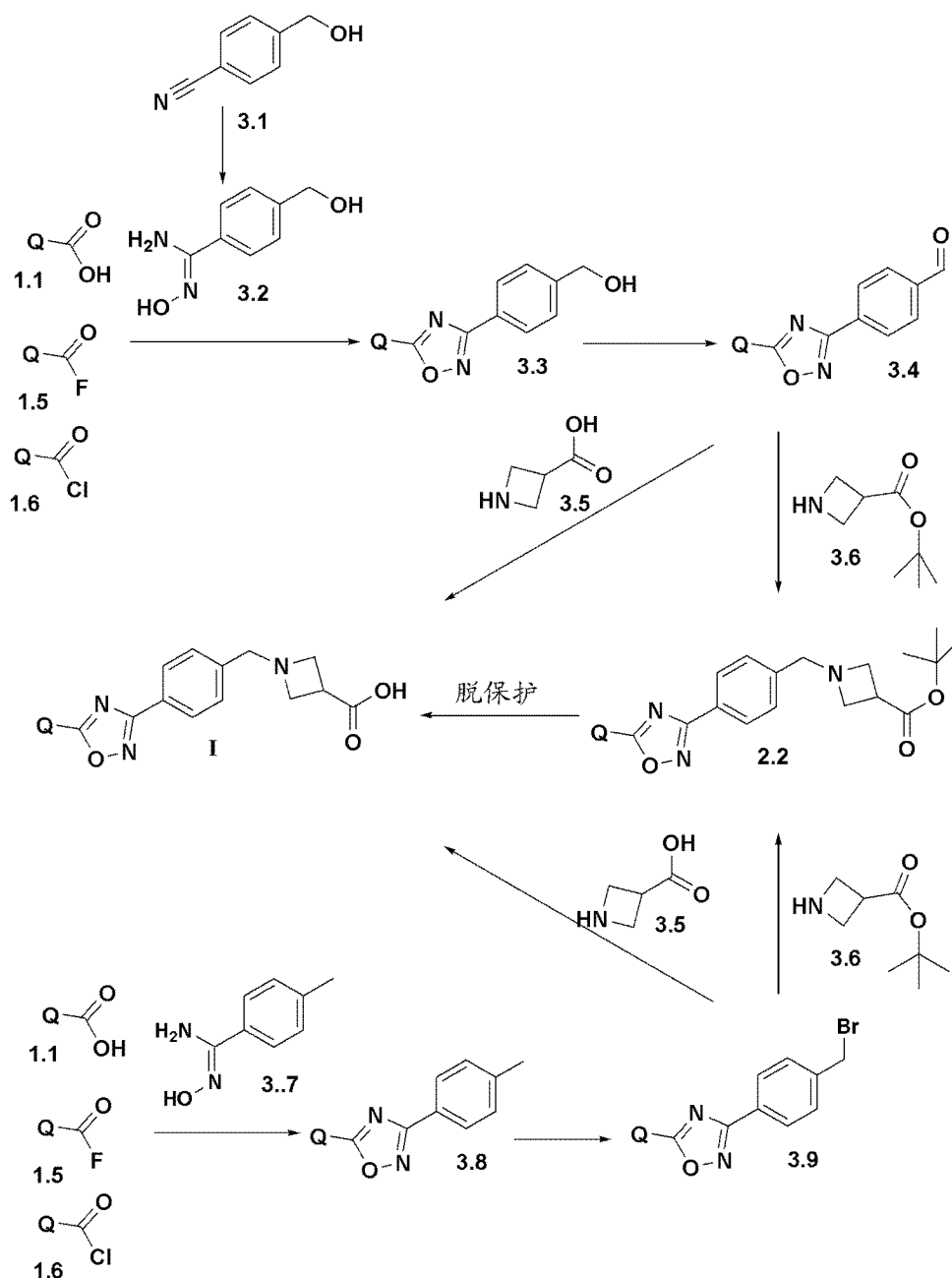
[0164]



[0165] 可替换地,式(I)的化合物也可如在方案3中所述的制备。酸(1.1)、酰基氟(1.5)或酰基氯(1.6)与(Z)-N'-羟基-4-(羟基甲基)苯甲脒(3.2)经如上所述的方法反应可产生结构3.3的化合物,其在氧化为相应的醛(3.4)之后,可与氮杂环丁烷-3-羧酸(3.5)或氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯(3.6)进行还原胺化分别得到式(I)的化合物或2.2。化合物2.2可如上所述转化为式(I)的化合物。酸(1.1)、酰基氟(1.5)或酰基氯(1.6)与(Z)-N'-羟基-4-(甲基)苯甲脒(3.7)经如上所述的方法反应可产生结构3.8的化合物,其可在苄基位置卤化(例如用N-溴代琥珀酰亚胺),得到3.9。3.9与氮杂环丁烷-3-羧酸(3.5)或氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯(3.6)的反应分别得到式(I)的化合物或2.2。

[0166] 方案3

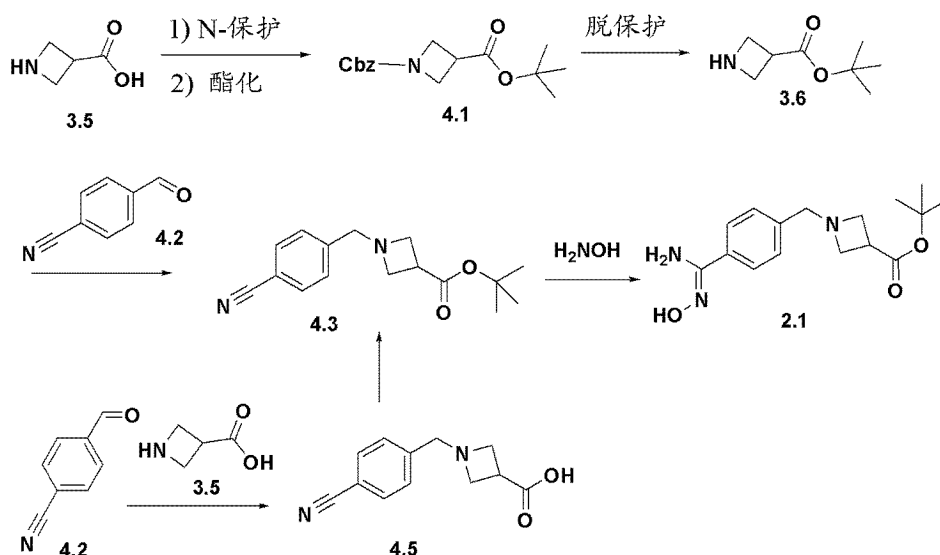
[0167]



[0168] 氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯 (3.6) 可由氮杂环丁烷-3-羧酸 (3.5) 如下制备: 经胺的保护 (例如用 CBZ 基团), 接着经酸与叔丁醇在偶联试剂 (例如 CDI) 的存在下酯化, 然后除去胺保护基团。 (Z)-1-(4-(N'-羟基甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯 (2.1) 可如下得到: 氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯 (3.6) 与 4-甲酰基苄腈 (4.2) 在还原条件下反应, 然后与羟基胺反应, 得到 4.3。可替换地, 化合物 4.3 可通过 4.5 的酯化来制备, 所述 4.5 由氮杂环丁烷-3-羧酸 (3.5) 与 4-甲酰基苄腈 (4.2) 在还原条件下反应来得到。

[0169] 方案 4

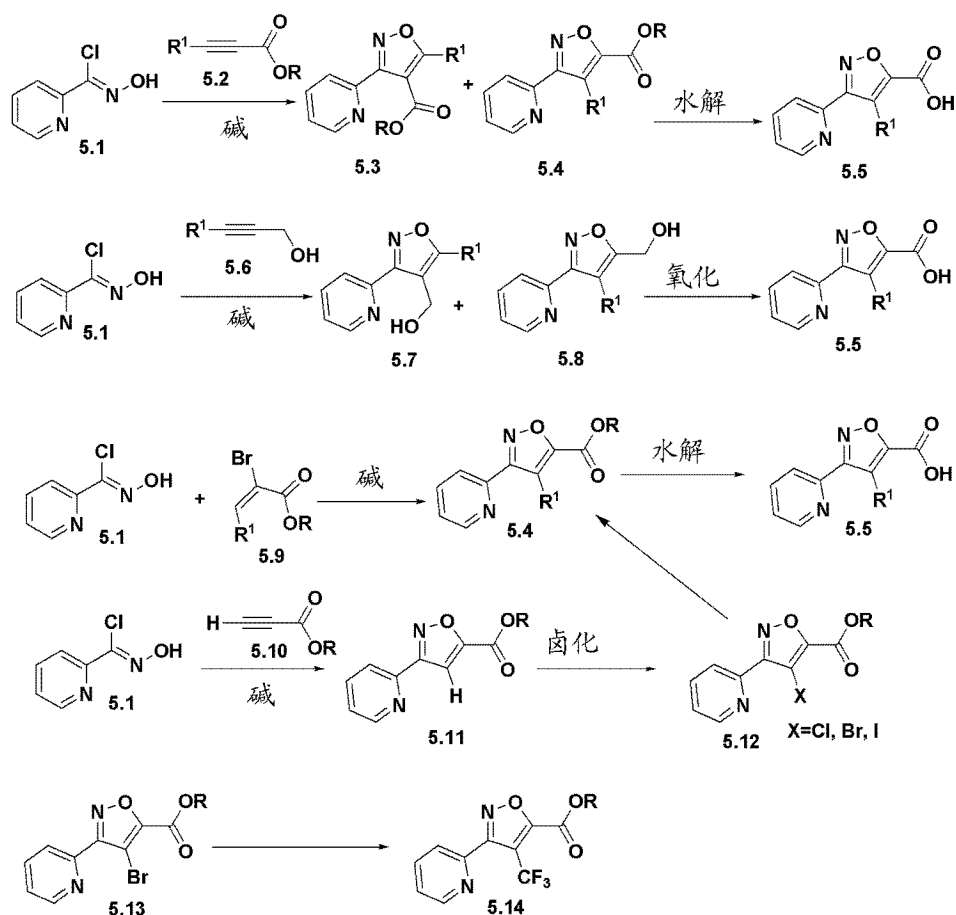
[0170]



[0171] 本发明的羧酸片段 (1.1) 可通过各种方法制备, 包括在方案 5 中示例说明的对于在 5- 位带有羧酸基团的异噁唑的方法。氯代- 肟 5.1 与取代的丙炔酸酯 (5.2) 在碱性条件下向下反应, 得到异噁唑羧酸酯 (5.3/5.4) 的混合物 (通常以异构体 5.3 为主)。异构体分离 (诸如经硅胶色谱法或反相制备性 HPLC 分离) 后, 可对 5.4 水解, 得到所需的异噁唑羧酸 (5.5)。氯代- 肟 5.1 与取代的丙炔醇 (5.6) 在碱性条件下反应, 得到异噁唑羧酸酯 (5.7/5.8) 的混合物 (通常以异构体 5.8 为主)。异构体分离 (诸如经硅胶色谱法或反相制备性 HPLC 分离) 后, 5.8 可氧化得到 5.5。酯 5.4 也可经 5.1 与取代的 2- 溴- 丙烯酸酯 (5.9) 反应区域选择性地得到。当氯代- 肟 5.1 与未取代的丙炔酸酯 (5.10) 反应时, 区域选择性地生成异噁唑 5.12。然后未取代的异噁唑位置可被转化为卤代衍生物 (5.13), 然后其可用于进一步的转化包括但不限于过渡金属交叉偶联反应或插入反应。在这种方式中, 4- 三氟甲基异噁唑 (5.14) 可经 4- 溴异噁唑 5.13 与各种三氟甲基化剂 (例如 2,2- 二氟-2-(氟磺酰基) 乙酸甲酯 / 碘化亚铜 (I) 或 2- 氯-2,2- 二氟乙酸甲酯 / 氟化钾 / 碘化亚铜 (I) 或三甲基 (三氟甲基) 甲硅烷 / 氟化钾 / 碘化亚铜 (I)) 反应来得到。

[0172] 方案 5

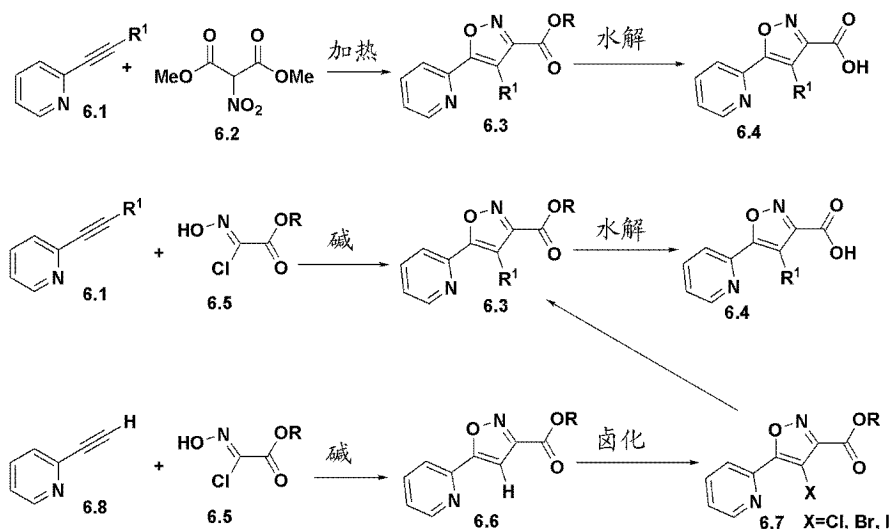
[0173]



[0174] 方案 6 示例说明了制备在 3-位带有羧酸基团的异噁唑的方法。异噁唑-3-羧酸酯 (6.3) 可由内炔 (6.1) 与 2-硝基丙二酸二甲酯 (6.2) 在热解条件 (在惰性溶剂中加热) 下反应或与氯代-肟 6.5 在碱性条件下反应来制备。然后酯 (6.3) 水解得到酸 (6.4)。末端炔 (6.8) 与氯代-肟 6.5 反应, 得到在 4-位缺少取代的异噁唑酯。然后所述未取代的异噁唑位置可转化为卤代衍生物 (6.7), 然后其可经进一步转化包括但不限于过渡金属交叉偶联反应或插入反应, 得到化合物 6.3。

[0175] 方案 6

[0176]



[0177]	缩写	
[0178]	Ac	乙酰基
[0179]	AcOH	乙酸
[0180]	aq.	含水的
[0181]	CDI	羰基二咪唑
[0182]	Bn	苄基
[0183]	Bu	丁基
[0184]	Boc	叔丁氧基羰基
[0185]	DMAP	二甲基氨基吡啶
[0186]	DMA	N,N-二甲基乙酰胺
[0187]	DMF	二甲基甲酰胺
[0188]	DMSO	二甲基亚砷
[0189]	EDC	1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐
[0190]	EtOAc	乙酸乙酯
[0191]	Et	乙基
[0192]	EtOH	乙醇
[0193]	H	氢
[0194]	h	小时
[0195]	i	异
[0196]	HPLC	高效液相色谱
[0197]	HOAc	乙酸
[0198]	LC	液相色谱
[0199]	Me	甲基
[0200]	MeOH	甲醇
[0201]	min.	分钟
[0202]	M ⁺	(M+H) ⁺
[0203]	MS	质谱法
[0204]	n	正
[0205]	PhCONCS	苯甲酰基异硫氰酸酯
[0206]	Pd/C	钯 / 炭
[0207]	Ph	苯基
[0208]	Pr	丙基
[0209]	PSI	磅 / 平方英寸
[0210]	Ret Time	保留时间
[0211]	Rt 或 RT	室温
[0212]	sat.	饱和的
[0213]	t	叔
[0214]	TFA	三氟乙酸
[0215]	THF	四氢呋喃

[0216] Phenomenex Phenomenex, Macclesfield, Cheshire, UK

[0217] YMC YMC, Inc, Wilmington, NC 20403

[0218] 实施例

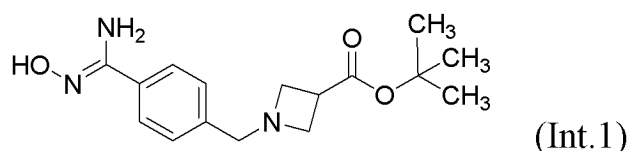
[0219] 下述实施例示例说明了本发明具体且优选的实施方案,而非限制本发明的范围。化学缩写和符号以及科学缩写和符号具有它们通常且惯用的含义,除非另作说明。在实施例以及本申请其它部分所采用的额外缩写如上定义。常规中间体通常用于制备多于一种实施例且连续编号(例如中间体 1、中间体 2 等缩写为 Int. 1、Int. 2 等)。在一些情况下,常规中间体的制备需要多个步骤来制备。每个步骤由常规中间体和步骤来编号(例如 Int. 1-A、Int. 1-B 等)。实施例的化合物通过实施例和制备它们的步骤来编号(例如“1-A”表示实施例 1、步骤 A)或当化合物为实施例的标题化合物时仅通过实施例来编号(例如,“1”表示实施例 1 的标题化合物)。在一些情况下,描述了中间体或实施例的替代制备方法。通常合成领域的化学家可设计替代制备方法,所述方法可期望地基于一种或多种考虑,诸如缩短保留时间、减少昂贵的起始物质、减少操作、易于催化、避免毒性试剂、专门仪器操作的可获得性(accessibility)以及减少线性步骤的数目等。描述替代制备方法的目的是进一步实现本发明实施例的制备。

[0220] 详细说明在微波烘箱中进行的那些试验在 Personal Chemistry 制造的 SmithSynthesizer 烘箱中或 CEM 公司制造的 Discover 微波烘箱中进行。所述微波烘箱产生可在 60-250°C 之间选择的温度。所述微波烘箱自动监测压力在 0-300PSI 之间。报告了反应保持时间和温度设定点。

[0221] 中间体 1(Int. 1) 的制备

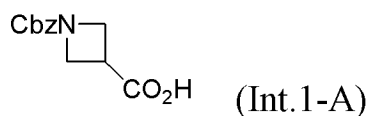
[0222] 1-(4-(N'-羟基甲脒基)-苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯

[0223]



[0224] Int. 1-A. 1-(苄基氧基羰基)氮杂环丁烷-3-羧酸

[0225]

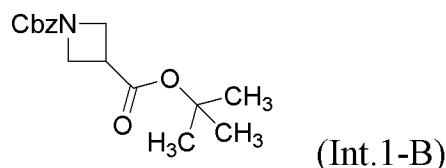


[0226] 在室温向氮杂环丁烷-3-羧酸(88g, 0.871mol)和碳酸氢钠(161g, 1.92mol)在水(1.75L)中的溶液中加入 2,5-二氧化吡咯烷-1-基碳酸苄酯(239g, 0.959mol)在四氢呋喃(3.5L)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌过夜。减压除去溶剂,并将水层用乙酸乙酯(2x500mL)洗涤。将水层用 1.0N 盐酸水溶液酸化并用乙酸乙酯(3x750mL)萃取。将有机层用水洗涤,用盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩,得到 1-(苄基氧基羰基)氮杂环丁烷-3-羧酸,其为无色油状物(202g, 99%的收率)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 2.27 分钟 - 柱: YMC COMBISCREEN® ODS-A 4.6x50mm(4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 236.15。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ ppm 3.39-3.49(m, 1H), 4.22(d, J = 7.28Hz, 4H), 5.11(s, 2H) 和

7. 29-7. 39 (m, 5H)。

[0227] Int. 1-B. 氮杂环丁烷 -1,3- 二羧酸 1- 苄酯 • 3- 叔丁酯

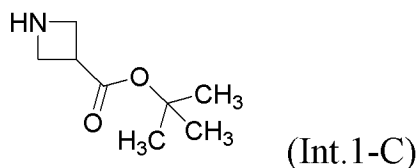
[0228]



[0229] 在 0 °C 向 1-(苄基氧基羰基)氮杂环丁烷 -3- 羧酸 (200g, 0.851mol) 在二氯甲烷 (6.0L) 中的溶液中, 加入叔丁醇 (158g, 2.13mol)、DMAP (52.0g, 0.425mol) 和 EDCI (163g, 0.853mol)。将反应混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物浓缩, 并将残留物在乙酸乙酯中溶解, 用 10% 枸橼酸水溶液洗涤, 用 10% 碳酸氢钠水溶液洗涤, 用盐水洗涤, 并经无水碳酸氢钠干燥。减压浓缩, 得到氮杂环丁烷 -1,3- 二羧酸 1- 苄酯 • 3- 叔丁酯 (200g, 81% 的收率), 其为无色油状物。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.27 分钟 - 柱: YMC COMBISCREEN® ODS-A 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 292.15。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 1.46 (s, 9H), 3.24-3.33 (m, 1H), 4.14 (d, J = 7.53Hz, 4H), 5.10 (s, 2H) 和 7.30-7.39 (m, 5H)。

[0230] Int. 1-C. 氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯

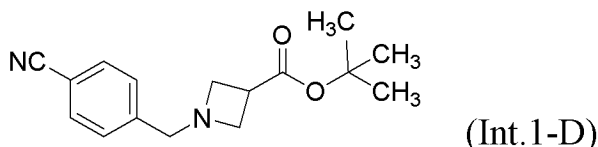
[0231]



[0232] 将氮杂环丁烷 -1,3- 二羧酸 1- 苄酯 • 3- 叔丁酯 (140g, 0.480mol) 和 10% 钯 / 炭 (28.0g) 在乙酸乙酯 (1.40L) 中的混合物置于在 3.0kg/cm² 氢气压力的高压器中过夜。将反应混合物经 CELITE® 滤过, 并将 CELITE® 填料用乙酸乙酯洗涤。将乙酸 (28.9g, 0.480mol) 加入至滤液中, 并将其在保持温度低于 50 °C 的同时减压浓缩, 得到氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯乙酸盐 (96g, 92% 的收率), 其为无色油状物。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 1.47 (s, 9H), 2.02 (s, 3H), 3.52-3.63 (m, 1H) 和 4.00-4.10 (m, 4H)。

[0233] Int. 1-D. 1-(4-氰基苄基)氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯

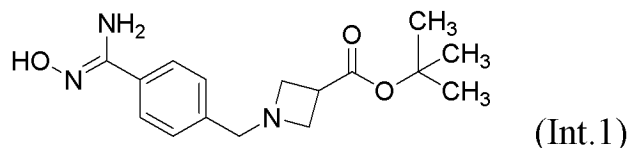
[0234]



[0235] 在室温向氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯乙酸盐 (92.0g, 0.423mol) 在甲醇 (1.0L) 中的溶液中加入 4- 甲酰基苄腈 (50.8g, 0.381mol)。将反应混合物冷却至 0 °C, 并分批加入氰基硼氢化钠 (28.8g, 0.458mol) (注意: 可能有氰化物产生)。将反应混合物温热至室温并搅拌过夜。将反应混合物减压浓缩, 并将残留物用 10% 碳酸氢钠水溶液稀释并用乙酸乙酯萃取。收集有机层, 用盐水洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩, 接着经硅胶色谱法纯化 (使用 20% 乙酸乙酯在石油醚中的混合物), 得到 1-(4-氰基苄基)氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔

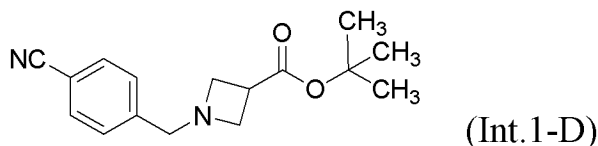
丁酯 (89%) (色谱法纯化后, Int. 1-D 含有少量的 4- 羟基甲基苄腈, 但其没有进一步纯化即可在下一步中使用)。LC/MS $M^+ = 273.18$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm 1.46 (s, 9H), 3.22-3.31 (m, 3H), 3.48-3.56 (m, 2H), 3.66 (s, 2H), 7.39 (d, $J = 8.28\text{Hz}$, 2H) 和 7.60 (d, $J = 8.28\text{Hz}$, 2H)。

[0236] Int. 1. 1-(4-(N' - 羟基甲脒基) 苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯的制备
[0237]

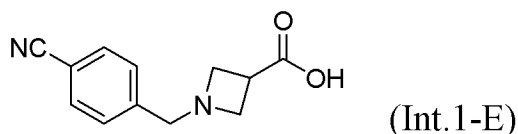


[0238] 向 1-(4- 氰基苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯 (89.0g, 0.326mol) 在叔丁醇 (1.30L) 中的溶液中加入碳酸氢钠 (109.8g, 1.31mol) 和羟基胺盐酸盐 (45.5g, 0.654mol)。将反应混合物回流加热 7 小时然后冷却至室温并搅拌过夜。将反应混合物用水稀释并用乙酸乙酯萃取。收集有机层, 用水洗涤, 用盐水洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着经硅胶色谱法纯化 (使用含有 0.2% 三乙胺的 2.5% 甲醇在氯仿中的溶液作为洗脱剂), 得到 1-(4-(N' - 羟基甲脒基) 苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯 (64g, 0.210mol, 两步的总收率为 55%)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 7.03 分钟 - 柱: XBridge Phenyl 150x4.6mm 3.5u, SC/749.1mL/min。溶剂 A = 5% MeCN, 95% H_2O , 0.05% TFA; 溶剂 B = 95% MeCN, 5% H_2O , 0.05% TFA。时间 / % B: 0 分钟 / 0%, 15 分钟 / 50%, 18 分钟 / 100%, 20 分钟 / 100%。LC/MS $M^+ = 306.2$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm 1.45 (s, 9H), 3.23-3.30 (m, 3H), 3.49-3.57 (m, 2H), 3.63 (s, 2H), 4.85 (s, 2H), 7.31 (d, $J = 8.28\text{Hz}$, 2H) 和 7.57 (d, $J = 8.28\text{Hz}$, 2H)。

[0239] Int. 1-D. 1-(4- 氰基苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯的替代制备方法
[0240]



[0241] Int. 1-E. 1-(4- 氰基苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸
[0242]

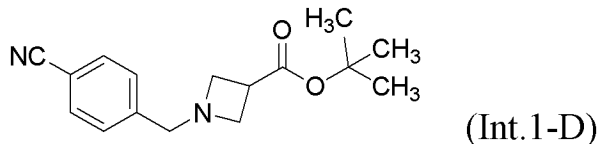


[0243] 将 4- 甲酰基苄腈 (2.88g, 22.0mmol)、氮杂环丁烷 -3- 羧酸 (2.02g, 20mmol) 和乙酸 (1.15mL, 20.0mmol) 在二氯甲烷 (20mL) 和甲醇 (80mL) 中的混合物在室温搅拌 1 小时。加入三乙酰氧基硼氢化钠 (6.78g, 32.0mmol) 并继续在室温搅拌 18 小时。将挥发物减压除去, 并将残留物在水 (50mL) 和乙醚 (50mL) 之间分配。收集水层, 用乙醚 (50mL) 洗涤, 并浓缩。将残留物在水 (20mL) 中溶解并载入至 2.5x20cm HP-20 柱 [HP-20 凝胶的制备: 将 ~400ml 的干燥、未使用的 MCI CHP-20 凝胶 (75-150 微米) 在甲醇中溶胀 24 小时。过滤出凝胶并用 1 升的甲醇淋洗。然后将其转移至用于在甲醇中储存的瓶中。在使用前, 将期望量的凝胶立即用 20 倍体积的水彻底淋洗]。将柱用 240mL 水和 400mL 甲醇洗脱。将含有馏分的产物浓缩并由乙醇和乙酸乙酯 / 庚烷共蒸发, 得到 1-(4- 氰基苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧

酸 (3.25g, 15.0mmol, 75% 的收率), 其为白色固体。MS: (M+H) = 217.18。¹H NMR (400MHz, MeOD) δ ppm 3.39 (m, 1H), 4.08 (m, 4H), 4.32 (s, 2H), 7.63 (d, J = 8.3Hz, 2H) 和 7.82 (d, J = 8.3Hz, 2H)。

[0244] Int. 1-Alt. D2. 1-(4-氰基苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯

[0245]

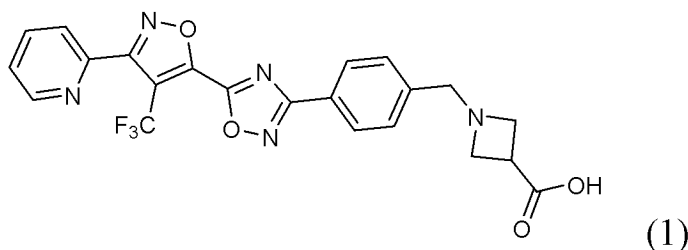


[0246] 向 1-(4-氰基苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 (3.25g, 15.0mmol)、DMAP (1.84g, 15.0mmol) 和叔丁醇 (14.1mL, 150mmol) 在二氯乙烷 (150mL) 中的混合物中加入 EDC (4.32g, 22.5mmol), 并将反应混合物搅拌过周末。将挥发物减压除去, 并将残留物在乙酸乙酯 (250mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (250mL) 之间分配。将有机层用水 (250mL) 洗涤, 用盐水 (100mL) 洗涤, 并经无水硫酸镁干燥。减压浓缩, 得到浅黄色油状物, 将其在 5x15cm 硅胶柱上进行色谱法纯化 (用 0-40% 乙酸乙酯 / 庚烷梯度洗脱), 得到 1-(4-氰基苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯 (3.5g, 12.9mmol, 86% 的收率), 其为无色液体。HPLC 保留时间 = 1.38 分钟 - 柱: YMC-Combi 4.6x50mm S-50DS 柱, 用 10-90% 甲醇水溶液 + 0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS: (M+H) = 273.18。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 1.46 (s, 9H), 3.26 (m, 3H), 3.52 (m, 2H), 3.66 (s, 2H), 7.39 (d, J = 8.3Hz, 2H) 和 7.60 (d, J = 8.3Hz, 2H)。

[0247] 实施例 1

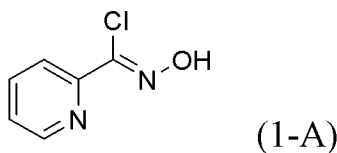
[0248] 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸

[0249]



[0250] 1-A. N-羟基-吡啶甲基亚氨基氯 (picolinimidoyl chloride)

[0251]

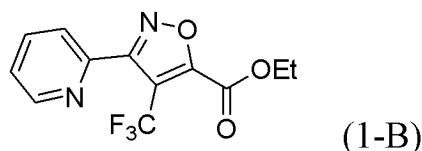


[0252] 在室温向 (E)-吡啶甲醛肟 (picolinaldehyde oxime) (6.75g, 55.3mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (55mL) 中的无色均匀的溶液中分批加入 N-氯琥珀酰亚胺 (7.38g, 55.3mmol)。加入 ~ 1/5 的 NCS 后, 将反应混合物浸入 60°C 油浴中, 并历时 1.5 小时分批加入剩余的 NCS。加入完成后, 将均匀反应混合物在 60°C 搅拌 60 分钟然后冷却至室温。加入水 (400mL), 并将含水混合物用乙醚 (3x200mL) 萃取。收集有机层, 用水 (2x200mL) 洗涤, 用饱和盐水水溶液 (100mL) 洗涤, 并经无水硫酸镁干燥。减压浓缩, 得到 N-羟基-吡

啉甲基亚氨基氯 (6.45g, 41.2mmol, 75% 的收率), 其为褐色固体。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 0.515 分钟 - 柱: CHROMOLITH® SpeedROD 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 156.8。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 7.37-7.43 (m, 1H), 7.80 (td, J = 7.78, 1.76Hz, 1H), 7.91-7.97 (m, 1H), 8.72 (d, J = 4.02Hz, 1H) 和 9.85 (宽单峰, 1H)。

[0253] 1-B. 3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-羧酸乙酯

[0254]

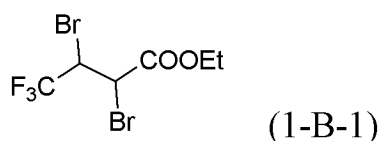


[0255] 历时 30 分钟在室温向 N-羟基-吡啶甲基亚氨基氯 (4.67g, 29.8mmol) 和 4,4,4-三氟丁-2-炔酸乙酯 (4.50g, 27.1mmol) 在二氯甲烷 (90mL) 中的黄色均匀的混合物中缓慢加入三乙胺 (7.93mL, 56.9mmol)。加入过程中, 反应混合物缓慢变为深色。将反应混合物在室温搅拌过夜。减压除去溶剂, 并将残留物用乙醚 (100mL) 稀释并用水 (100mL) 洗涤。收集有机层, 并将水层用乙醚 (2x100mL) 萃取。将合并的有机层经无水硫酸镁干燥并减压浓缩。经 HPLC 显示, 产物混合物含有期望的异构体及其区域异构体的 ~ 15 : 85 混合物。将混合物经制备性 HPLC 纯化, 并将期望的馏分减压浓缩。将残留物用乙酸乙酯 (100mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (100mL) 洗涤, 用盐水 (50mL) 洗涤, 并经无水硫酸镁干燥。减压浓缩, 得到 3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-羧酸乙酯 (0.518g, 1.81mmol, 6.7% 的收率), 其为淡黄色粘稠油状物。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 2.18 分钟 - 柱: CHROMOLITH® SpeedROD 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 286.9。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 1.46 (t, J = 7.15Hz, 3H), 4.54 (q, J = 7.03Hz, 2H), 7.46 (ddd, J = 7.53, 4.77, 1.25Hz, 1H), 7.76-7.81 (m, 1H), 7.83-7.89 (m, 1H) 和 8.78 (d, J = 4.77Hz, 1H)。

[0256] 3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-羧酸乙酯 (1B) 的替代制备

[0257] 1-B-1. 2,3-二溴-4,4,4-三氟丁酸乙酯:

[0258]



[0259] 历时 30 分钟在室温在氮气下将溴 (18.4mL, 357mmol) 逐滴加入至 (E)-4,4,4-三氟丁-2-烯酸乙酯 (50g, 297mmol) 在四氯化碳 (50mL) 中的溶液中。将所得的深红色溶液回流 4 小时。加入额外的溴 (2mL) 并继续加热直到 HPLC 分析显示起始物质已经消耗。将反应混合物减压浓缩, 得到浅棕色油状物, 其无需纯化即可在下一步中使用。HPLC (XBridge 5μ C18 4.6x50mm, 4mL/min, 溶剂 A: 含有 0.2% H₃PO₄ 的 10% MeOH/水, 溶剂 B: 含有 0.2% H₃PO₄ 的 90% MeOH/水, 0-100% B 梯度洗脱, 历时 4 分钟): 2.96 和 3.19 分钟。

[0260] 1-B-2. (Z/E)-2-溴-4,4,4-三氟丁-2-烯酸乙酯

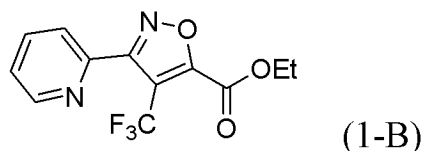
[0261]



[0262] 历时 35 分钟向冷却至 0℃ 的 2,3-二溴-4,4,4-三氟丁酸乙酯 (1-B-1) 在己烷 (200mL) 中的溶液中逐滴加入三乙胺 (49.7mL, 357mmol), 在此过程中形成白色沉淀。将反应混合物搅拌额外的 2 小时直到 LC 显示完全转化。将固体滤过并用己烷 (3x50mL) 淋洗, 并将滤液浓缩并经短硅胶填料纯化 (用 10% 乙酸乙酯 / 己烷洗脱), 得到 (Z/E)-2-溴-4,4,4-三氟丁-2-烯酸乙酯 (65.5g, 265mmol, 两步的总收率为 89%), 其为无色油状物。可替换地, 粗产物可经蒸馏纯化 (85℃ / ~60mmHg)。¹H NMR(CDCl₃, 400MHz) δ 7.41(q, 1H, J = 7.28Hz), 4.35(q, 2H, J = 7.11Hz), 1.38(t, 3H, J = 7.15Hz); HPLC(XBridge 5 μ C18 4.6x50mm, 4mL/min, 溶剂 A: 含有 0.2% H₃PO₄ 的 10% MeOH/ 水, 溶剂 B: 含有 0.2% H₃PO₄ 的 90% MeOH/ 水, 0-100% B 梯度洗脱, 历时 4 分钟): 3.09 分钟。

[0263] 1-B. 3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-羧酸乙酯的替代制备

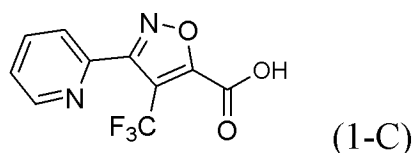
[0264]



[0265] 向 (Z)-2-溴-4,4,4-三氟丁-2-烯酸乙酯 (1.58g, 6.39mmol) 和 (E, Z)-N-羟基-吡啶甲基亚氨基氯 (2.0g, 12.8mmol) 在乙酸乙酯 (10mL) 中的溶液中加入三氯化钨 (0.283g, 1.28mmol)。将所得的混合物在氮气下搅拌 30 分钟, 然后加入碳酸氢钾 (0.959g, 9.58mmol)。将反应混合物搅拌 14 小时。将混合物滤过, 并将固体用乙酸乙酯 (10mL) 淋洗。将滤液用饱和氯化铵水溶液 (10mL) 洗涤, 用洗涤盐水 (10mL), 并浓缩。将残留物经快速硅胶色谱法纯化 (使用 EtOAc/ 己烷作为洗脱剂)。将含有产物的馏分汇集并浓缩, 得到产物, 其为油状物 (1.15g, 63% 的收率), 其为期望的异构体 3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-羧酸乙酯和不期望的异构体 3-(吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)异噁唑-4-羧酸乙酯以约 30 : 1 比例的混合物。MS m/e 287.02 (M+H⁺); ¹H NMR(DMSO, 400MHz) δ 8.73(d, J = 4.0Hz, 1H), 8.01(m, 1H), 7.87(d, J = 8.0Hz, 1H), 7.65(m, 1H), 4.53(q, J = 8.0Hz, 2H), 1.46(t, J = 8.0Hz, 3H); HPLC(XBridge 5 μ C18 4.6x50mm, 4mL/min; 溶剂 A: 含有 0.2% H₃PO₄ 的 10% MeOH/ 水; 溶剂 B: 含有 0.2% H₃PO₄ 的 90% MeOH/ 水, 0-100% B 梯度洗脱, 历时 4 分钟): 3.57 分钟。

[0266] 1-C. 3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-羧酸

[0267]

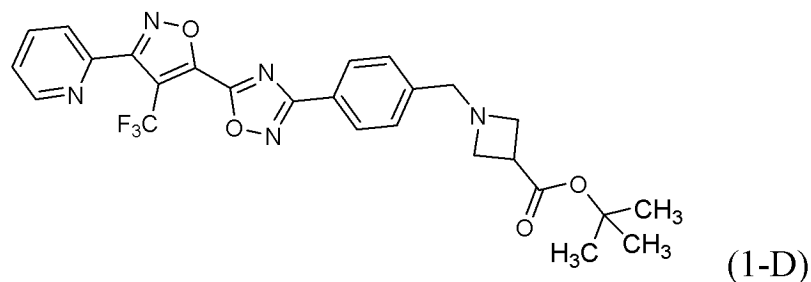


[0268] 在室温向 3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-羧酸乙酯 (511mg, 1.79mmol) 在甲醇 (12mL) 和水 (3mL) 中的溶液中加入氢氧化锂水合物 (74.9mg, 1.79mmol)。将反应混合物搅拌 1 小时。加入 1N 盐酸水溶液 (1.8mL), 并减压除去溶剂, 得到 3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-羧酸 + 1LiCl (531mg, 1.767mmol, 99% 的收

率), 其为白色固体。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 0.725 分钟 - 柱: CHROMOLITH® SpeedROD 4.6x50mm(4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M^+ = 258.8。¹H NMR(400MHz, CD₃OD) δ ppm 7.59(dd, J = 7.03, 5.02Hz, 1H), 7.82(d, J = 7.78Hz, 1H), 8.01(td, J = 7.78, 1.76Hz, 1H) 和 8.73(d, 1H)。

[0269] 1-D. 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯

[0270]

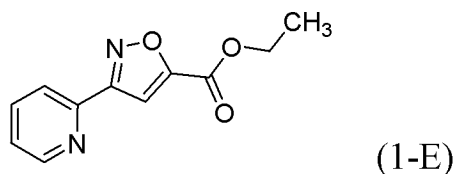


[0271] 将 3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-羧酸、1xLiCl(0.030g, 0.100mmol)、1-(4-(N'-羟基甲基脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯, Int. 1(0.037g, 0.120mmol)、BOP-Cl(0.031g, 0.120mmol) 和三乙胺(0.042mL, 0.300mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL) 中的混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物用二氯甲烷稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着经快速硅胶色谱法纯化(使用 1% 甲醇在二氯甲烷中的混合物), 得到 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯(0.032g, 0.061mmol, 61% 的收率), 其为白色固体。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 2.74 分钟 - 柱: CHROMOLITH® SpeedROD 4.6x50mm(4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M^+ = 528.3。¹H NMR(500MHz, CD₃OD) δ ppm 3.23-3.30(m, 1H), 3.40(t, J = 7.56Hz, 2H), 3.55(t, J = 8.25Hz, 2H), 3.74(s, 2H), 7.53(d, J = 8.25Hz, 2H), 7.62(ddd, J = 7.56, 4.81, 1.10Hz, 1H), 7.95(d, J = 7.70Hz, 1H), 8.02-8.07(m, 1H), 8.16(d, J = 8.25Hz, 2H) 和 8.78(d, J = 4.95Hz, 1H)。

[0272] 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯(1-D) 的替代制备

[0273] 1-E. 3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸乙酯

[0274]

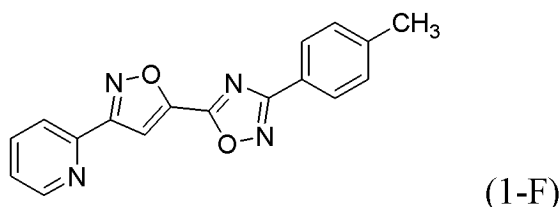


[0275] 在配备有加入漏斗和温度计的三口 1000mL 烧瓶(其浸在水中)中向 (Z)-N-羟基-吡啶甲基亚氨基氯(29.7g, 190mmol) 在二氯甲烷(311mL) 中的混悬液中加入丙炔酸乙酯(19.3mL, 190mmol)。向加入漏斗中加入三乙胺(31.7mL, 228mmol) 在二氯甲烷(20mL) 中的溶液, 并将该溶液缓慢逐滴加入至反应混合物中, 同时保持温度在 20°C 和 28°C 之间(通过将冰加入至水浴中)。完全加入三乙胺后, 移去水浴, 并将反应混合物在室温搅拌 30 分

钟。然后将混合物在乙酸乙酯 (350mL) 和水之间分配。收集有机层并用盐水洗涤, 将合并的水层用乙酸乙酯洗涤。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥。部分减压浓缩, 得到褐色结晶, 将其经真空滤过收集并用己烷洗涤得到产物 (14.4g)。将滤液减压浓缩, 并将残留物经快速硅胶色谱法纯化 (使用 20% 乙酸乙酯在己烷中的混合物)。将全部产物分两批收集 (一批具有痕量的较慢洗脱斑点的产物) 并浓缩。将己烷加入至残留物中, 并将产物结晶, 其为无色棱状结晶 (20.1g)。总产物收率: 34.5g, 158mmol, 83% 的收率。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 1.82 分钟 - 柱: CHROMOLITH® SpeedROD 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 218.9。 ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.35 (t, J = 7.15Hz, 3H), 4.41 (q, J = 7.15Hz, 2H), 7.55-7.60 (m, 1H), 7.68 (s, 1H), 8.01 (t, J = 7.70Hz, 1H), 8.10 (d, J = 8.25Hz, 1H) 和 8.75 (d, J = 4.40Hz, 1H)。

[0276] 1-F. 5-(3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑

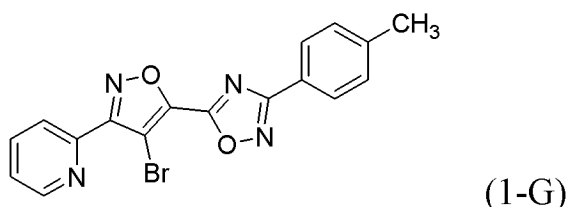
[0277]



[0278] 向在冰浴中冷却的 3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸乙酯 (13.6g, 62.5mmol) 和 (Z)-N'-羟基-4-甲基苯甲脒 (9.68g, 62.5mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (210mL) 中的溶液中分批加入 60% 氢化钠 (6.25g, 156mmol)。加入后, 将反应混合物温热至室温并搅拌 1 小时。将反应混合物浓缩, 加入水 (500mL), 并将混合物在室温搅拌 30 分钟。将固体经真空滤过收集, 用甲醇研磨, 并重新收集得到 5-(3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (17.8g, 93% 的收率), 其为固体。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.86 分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS: (M+H) = 305⁺。 ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 2.46 (s, 3H), 7.35 (d, J = 8.28Hz, 2H), 7.41-7.47 (m, 1H), 7.83-7.91 (m, 2H), 8.09 (d, J = 8.28Hz, 2H), 8.20 (d, J = 8.03Hz, 1H) 和 8.76 (d, J = 5.02Hz, 1H)。

[0279] 1-G. 5-(4-溴-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑

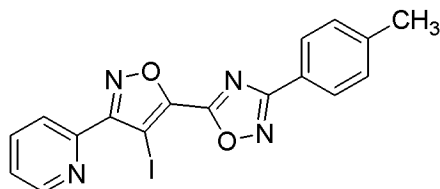
[0280]



[0281] 将 5-(3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (655mg, 2.15mmol)、N-溴琥珀酰亚胺 (536mg, 3.01mmol) 和 PdOAc₂ (97mg, 0.430mmol) 在乙腈 (12mL) 中的溶液经微波加热至 120°C 且保持 30 分钟。以相似的规模重复进行三次额外的反应, 并将每个反应管的内容物合并并滤过。将固体收集, 用甲醇 (10mL) 研磨, 并经真空滤过收集得到 5-(4-溴-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (3.24g,

87%的收率)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.96 分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS : (M+H) = 385⁺。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 2.46 (s, 3H), 7.35 (d, J = 8.03Hz, 2H), 7.49 (ddd, J = 7.65, 4.89, 1.00Hz, 1H), 7.91 (td, J = 7.78, 1.76Hz, 1H), 8.03 (d, J = 7.78Hz, 1H), 8.12 (d, J = 8.28Hz, 2H) 和 8.86 (d, J = 4.77Hz, 1H)。

[0282] 1-H. 5-(4-碘-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑
[0283]

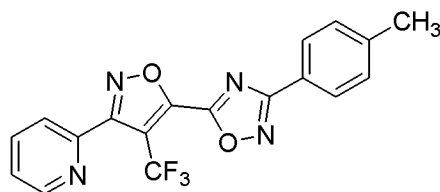


(1-H)

[0284] 将 5-(3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (1.0g, 3.29mmol)、1-碘吡咯烷-2,5-二酮 (1.11g, 4.76mmol) 和 PdOAc₂ (0.148g, 0.657mmol) 在乙腈 (14mL) 中的溶液经微波加热至 120℃ 且保持 40 分钟。以相似的规模重复进行四次额外的反应, 并将每个反应管的内容物合并, 浓缩, 并经快速硅胶色谱法纯化 (用己烷/EtOAc-4/1 洗脱), 得到 5-(4-碘-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (5.35g, 76% 的收率)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.81 分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS : (M+H) = 431⁺。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 2.46 (s, 3H), 7.36 (d, J = 8.03Hz, 2H), 7.46-7.52 (m, 1H), 7.90 (td, J = 7.72, 1.63Hz, 1H), 8.01 (d, J = 7.78Hz, 1H), 8.12 (d, J = 8.28Hz, 2H) 和 8.86 (d, J = 4.27Hz, 1H)。

[0285] 1-I. 5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑

[0286]



(1-I)

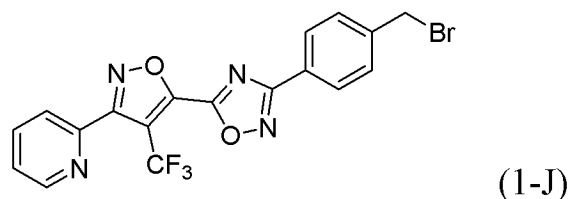
[0287] 方法 A: 将 5-(4-溴-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (600mg, 1.39mmol)、碘化亚铜 (I) (80mg, 0.418mmol) 和 2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸甲酯 (0.82mL, 6.41mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (12mL) 和 HMPA (1.33mL) 中的溶液经微波在 85℃ 加热 25 分钟。以基本相同的规模重复进行三次额外的反应, 并将每个反应管的内容物合并, 用乙酸乙酯 (150mL) 稀释, 用 10% 氯化锂水溶液 (50mL) 洗涤, 用饱和氯化铵水溶液 (50mL) 洗涤, 用盐水洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着经硅胶色谱法纯化 (用己烷/EtOAc-4/1 洗脱), 得到 5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (992mg, 48%)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.98 分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS : (M+H) = 373⁺。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ ppm 2.46 (s, 3H), 7.36 (d,

$J = 7.97\text{Hz}$, 2H), 7.50 (td, $J = 5.29, 2.89\text{Hz}$, 1H), 7.89–7.94 (m, 2H), 8.10 (d, $J = 8.25\text{Hz}$, 2H) 和 8.83 (d, $J = 4.67\text{Hz}$, 1H)。

[0288] 方法 B: 将 5-(4-碘-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (1.07g, 2.49mmol)、碘化亚铜(I) (0.142g, 0.746mmol) 和 2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸甲酯 (1.49mL, 11.7mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (13mL) 和 HMPA (1.444mL) 中的溶液经微波在 75℃ 加热 33 分钟。以基本相同的规模重复进行四次额外的反应, 并将每个反应管的内容物合并, 用乙酸乙酯 (800mL) 稀释, 用 10% 氯化锂水溶液 (2x200mL) 洗涤, 用饱和氯化铵水溶液 (200mL) 洗涤, 用盐水 (200mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着经硅胶色谱法纯化 (用己烷/EtOAc-4/1 洗脱), 得到 5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (1.88g, 41% 的收率)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.98 分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10–90% 甲醇水溶液 + 0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS: (M+H) = 373⁺。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ ppm 2.46 (s, 3H), 7.36 (d, $J = 7.97\text{Hz}$, 2H), 7.50 (td, $J = 5.29, 2.89\text{Hz}$, 1H), 7.89–7.94 (m, 2H), 8.10 (d, $J = 8.25\text{Hz}$, 2H) 和 8.83 (d, $J = 4.67\text{Hz}$, 1H)。

[0289] 1-J. 3-(4-(溴甲基)苯基)-5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑

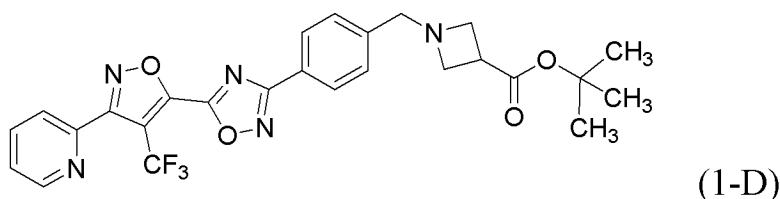
[0290]



[0291] 在 75℃ 向 5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-3-对甲苯基-1,2,4-噁二唑 (2.69g, 7.22mmol) 在乙腈 (50mL) 中的溶液中加入 N-溴琥珀酰亚胺 (2.70g, 15.2mmol), 接着加入 AIBN (0.320g, 1.949mmol)。将反应混合物在 75℃ 搅拌 2.5 小时。将反应混合物浓缩, 并将粗产物用乙酸乙酯 (200mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (50mL) 洗涤, 用水 (50mL) 洗涤, 用盐水 (50mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩, 得到粗产物, 将其用甲醇研磨。将所得的固体收集, 其为 3-(4-(溴甲基)苯基)-5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑 (2.524g, 77% 的收率)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.86 分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10–90% 甲醇水溶液 + 0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS: (M+H) = 453⁺。¹H NMR (400MHz, MeOD) δ ppm 4.66 (s, 2H), 7.62 (dd, $J = 7.03, 5.27\text{Hz}$, 1H), 7.66 (d, $J = 8.03\text{Hz}$, 2H), 7.93–7.98 (m, 1H), 8.01–8.08 (m, 1H), 8.18 (d, $J = 8.03\text{Hz}$, 2H) 和 8.79 (d, $J = 4.77\text{Hz}$, 1H)。

[0292] 1-D. 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯的替代制备

[0293]



[0294] 向用冰-水浴冷却的 3-(4-(溴甲基)苯基)-5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)-异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑 (2.52g, 5.59mmol) 和氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯乙酸盐 (1.82g, 8.39mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (40mL) 中的溶液中逐滴加入三乙胺 (2.34mL, 16.8mmol)。将反应混合物搅拌 30 分钟, 用乙酸乙酯 (350mL) 稀释, 用 10% 氯化锂水溶液 (2x100mL) 洗涤, 用水 (100mL) 洗涤, 用盐水 (100mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 得到粗产物, 将其用甲醇研磨。将所得的固体经真空滤过收集。将滤液浓缩并经硅胶色谱法纯化 (用己烷/乙酸乙酯-4/1 洗脱), 得到额外的产物。合并物质得到 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯 (2.46g, 83% 的收率)。

[0295] 1. 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸的制备

[0296] 将 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯 (0.450g, 0.853mmol) 和三氟乙酸 (10.19mL, 132mmol) 的混合物在室温搅拌 60 分钟。将三氟乙酸减压除去, 并将残留物在水 (15mL) 中悬浮。将 pH 用 1N 氢氧化钠水溶液调节至约 4.5, 并将所得的混悬液搅拌 2 小时, 减压滤过, 用水洗涤, 并充分减压干燥过夜得到 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 (0.306g, 0.641mmol, 75% 的收率), 其为白色固体。产物具有 HPLC 保留时间 = 2.27 分钟 - 柱: CHROMOLITH® SpeedROD 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 472.4。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3.21-3.27 (m, 3H), 3.40-3.46 (m, 2H), 3.66 (s, 2H) 7.53 (d, J = 8.25Hz, 2H), 7.66-7.70 (m, 1H), 7.98 (d, J = 7.70Hz, 1H), 8.04-8.12 (m, 3H) 和 8.83 (d, 1H)。

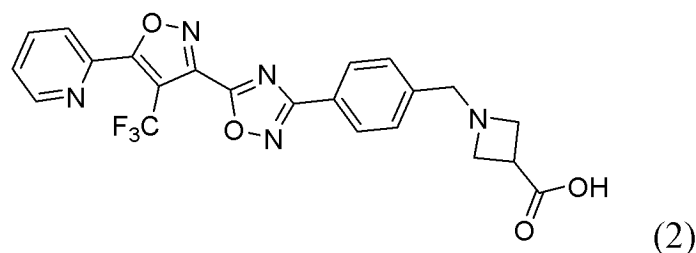
[0297] HPLC 纯度 99.1/98.8%, 保留时间 = 6.80 分钟 (线性梯度洗脱, 使用 5% 乙腈, 95% 水和 0.05% TFA (溶剂 A) 以及 95% 乙腈, 5% 水和 0.05% TFA (溶剂 B); t = 0 分钟, 10% B, t = 12 分钟, 100% B (15 分钟), 在 SunFire C18 3.5u 4.6x150mm 柱上采用。流速为 2ml/min 且 UV 检测设定在 220/254nm。)

[0298] HPLC 纯度 98.7/98.7%, 保留时间 = 7.55 分钟 (线性梯度洗脱, 使用 5% 乙腈, 95% 水和 0.05% TFA (溶剂 A) 以及 95% 乙腈, 5% 水和 0.05% TFA (溶剂 B); t = 0 分钟, 10% B, t = 12 分钟, 100% B (15 分钟), 在 XBridge Ph 3.5u 4.6x150mm 柱上采用。流速为 2ml/min 且 UV 检测设定在 220/254nm。)

[0299] 实施例 2

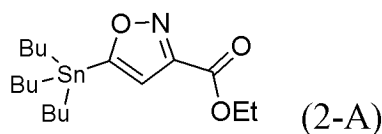
[0300] 1-(4-(5-(5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸

[0301]



[0302] 2-A. 5-(三丁基甲锡烷基)异噁唑-3-羧酸乙酯

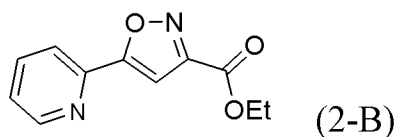
[0303]



[0304] 将烘箱干燥的配备有搅拌棒的500mL圆底烧瓶在干燥氮气流下冷却。加入氯膦基乙酸乙酯(4.95g, 32.7mmol)、乙醚(100mL)和三丁基(乙炔基)锡(9.45mL, 32.7mmol), 得到澄清的淡黄色溶液。经注射器逐滴加入三乙胺(6.83mL, 49.0mmol)。已经加入~500 μ L后, 溶液变浑浊。加入~2mL后, 溶液开始沸腾, 由此引入冷水浴并减慢加入速率。历时10分钟缓慢加入三乙胺得到淡黄色混悬液, 将其在室温搅拌过夜。将溶液使用干冰浴冷却, 冷却中滤过, 并用冷的乙醚淋洗。将滤液蒸发并置于高真空下得到淡琥珀油(15g)。将该油状物经快速色谱法纯化(Isco, 330g 硅胶, 用5%至20%乙酸乙酯在己烷中的溶液洗脱)。将产物馏分蒸发并置于高真空下得到5-(三丁基甲锡烷基)异噁唑-3-羧酸乙酯(11g, 25.3mmol, 78%的收率), 其为澄清无色油状物。产物具有HPLC保留时间=4.47分钟-柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6x50mm(4分钟); 溶剂A=10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂B=90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M^{+1} =432.12。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ ppm 0.90(t, J=7.28Hz, 9H), 1.17-1.62(m, 21H), 4.45(q, J=7.03Hz, 2H) 和 6.81(s, 1H)。

[0305] 2-B. 5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯

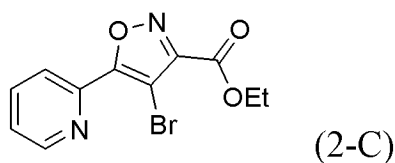
[0306]



[0307] 将20mL BIOTAGE®微波小瓶和搅拌棒在烘箱中干燥并在干燥氮气流下冷却。将小瓶用氩气冲洗并装入二氯二(三苯基膦)-钼(II)(96mg, 0.137mmol)和二噁烷(12mL), 接着用氩气鼓泡几分钟。加入2-溴吡啶(0.217mL, 2.28mmol)、5-(三丁基甲锡烷基)异噁唑-3-羧酸乙酯(980mg, 2.28mmol)和1-丁基-3-甲基咪唑鎓六氟磷酸盐(0.047mL, 0.228mmol)并继续鼓泡几分钟。将小瓶密封并在BIOTAGE®微波在150℃处理60分钟。将溶液冷却, 蒸发, 并将残留物载入至用己烷预先平衡的120g Isco 硅胶柱上, 然后用0-50% EtOAc/己烷洗脱。将产物馏分蒸发得到淡黄色油状物, 其在置于高真空后固化得到5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯(212mg, 0.972mmol, 43%的收率)。产物具有HPLC保留时间=2.48分钟-柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6x50mm(4分钟); 溶剂A=10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂B=90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M^{+1} =219.1。¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.42-1.48(m, 3H), 4.49(q, J=7.28Hz, 2H), 7.31(s, 1H), 7.39(ddd, J=7.53, 4.89, 1.13Hz, 1H), 7.87(td, J=7.78, 1.76Hz, 1H), 7.96(d, J=7.78Hz, 1H) 和 8.73(d, 1H)。

[0308] 2-C. 4-溴-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯

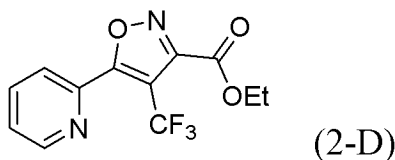
[0309]



[0310] 将 5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯 (212mg, 0.972mmol) 和 N-溴琥珀酰亚胺 (432mg, 2.43mmol) 在三氟乙酸 (6mL) 中的溶液经微波加热至 150℃ 且保持 30 分钟。减压浓缩, 得到黄色油状物, 将其用乙酸乙酯 (80mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 洗涤, 用盐水 (20mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩, 接着经快速硅胶色谱法纯化 (使用乙酸乙酯和己烷的 1 : 3 混合物), 得到 4-溴-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯 (0.217g, 0.672mmol, 69% 的收率)。产物具有 HPLC 保留时间 = 2.65 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 299.02。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 1.48 (t, J = 7.15Hz, 3H), 4.52 (q, J = 7.28Hz, 2H), 7.43-7.48 (m, 1H), 7.90 (td, J = 7.78, 1.76Hz, 1H), 8.11 (d, J = 8.03Hz, 1H) 和 8.84 (d, 1H)。

[0311] 2-D. 5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-羧酸乙酯

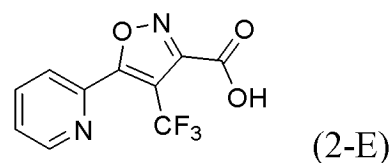
[0312]



[0313] 将 4-溴-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯 (190mg, 0.640mmol)、碘化亚铜 (I) (36.5mg, 0.192mmol) 和 2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸甲酯 (0.325mL, 2.56mmol) 在 N,N'-二甲基甲酰胺 (4mL) 和 HMPA (0.444mL) 中的溶液在 75℃ 搅拌 7 小时。将反应混合物与之前较小规模的反应混合物 (0.084mmol) 合并, 用乙酸乙酯 (80mL) 稀释, 用 10% 氯化锂水溶液 (2x20mL) 洗涤, 用饱和氯化铵水溶液 (20mL) 洗涤, 用盐水 (20mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩, 接着经快速硅胶色谱法纯化 (使用乙酸乙酯和己烷的 1 : 4 混合物), 得到 5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-羧酸乙酯 (0.138g, 99% 的收率)。产物具有 HPLC 保留时间 = 2.84 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 287.12。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ ppm 1.45 (t, J = 7.15Hz, 3H), 4.52 (q, J = 7.15Hz, 2H), 7.51 (ddd, J = 7.63, 4.88, 1.24Hz, 1H), 7.83 (d, J = 7.70Hz, 1H), 7.88-7.94 (m, 1H) 和 8.83 (d, J = 4.67Hz, 1H)。

[0314] 2-E. 5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-羧酸

[0315]

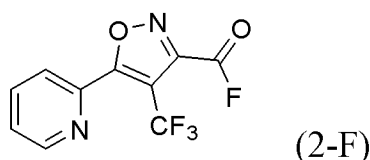


[0316] 将 5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-羧酸乙酯 (138mg, 0.482mmol) 和 1N 氢氧化钠水溶液 (579 μL, 0.579mmol) 在乙醇 (4.5mL) 中的溶液在室温搅拌 30 分钟。将反应混合物减压浓缩, 并将残留物用水稀释 (0.5mL) 并用 1N 盐酸水溶液酸化至 ~

3.0 的 pH。将溶液用乙酸乙酯 (3x2mL) 萃取。将有机层用水 (1mL) 洗涤, 用盐水 (1mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩, 得到 5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基) 异噁唑-3-羧酸 (0.093, 0.361mmol, 75% 的收率)。产物具有 HPLC 保留时间 = 1.57 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 259.0。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ ppm 7.60-7.65 (m, 2H), 7.92 (d, J = 8.03Hz, 2H), 8.02-8.09 (m, 2H) 和 8.78 (d, 2H)。

[0317] 2-F. 5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基) 异噁唑-3-碳酰氟

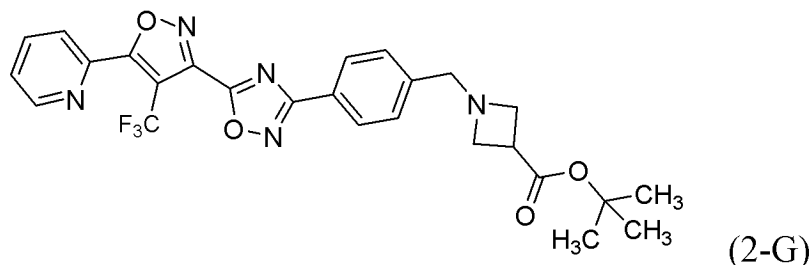
[0318]



[0319] 向 5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基) 异噁唑-3-羧酸 (54.3mg, 0.210mmol) 和吡啶 (0.037mL, 0.463mmol) 在二氯甲烷 (2mL) 中的溶液中加入氰尿酰氟 (0.021mL, 0.252mmol)。将反应混合物在室温搅拌 2 小时, 用二氯甲烷 (2mL) 稀释, 并用冰水 (1mL) 洗涤。将水层用二氯甲烷 (2x1mL) 萃取, 并将合并的有机层用盐水 (1mL) 洗涤并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩, 得到 5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基) 异噁唑-3-碳酰氟 (0.048g, 0.185mmol, 88% 的收率)。产物具有 HPLC 保留时间 = 2.50 分钟 (产物易于与甲醇反应且小部分产物表征为甲酯) - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。

[0320] 2-G. 1-(4-(5-(5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基) 异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苄基) 氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯

[0321]



[0322] 向 5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基) 异噁唑-3-碳酰氟 (48mg, 0.185mmol) 和 1-(4-(N'-羟基甲脒基) 苄基) 氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯, Int. 1 (56.3mg, 0.185mmol) 在二氯甲烷 (2mL) 中的溶液中加入吡啶 (37.3 μ L, 0.461mmol)。将反应混合物在室温搅拌 16 小时。然后将反应混合物减压浓缩, 并将残留物用乙酸乙酯 (3mL) 稀释, 用水 (1mL) 洗涤, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (1mL) 洗涤, 用盐水 (1mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩, 得到粗混合物, 将其在乙腈 (2mL) 中溶解。加入 1.0M 四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液 (369 μ L, 0.369mmol), 并将溶液在室温搅拌 30 分钟。将反应混合物用乙酸乙酯 (30mL) 稀释, 用水 (10mL) 洗涤, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (10mL) 洗涤, 用盐水 (10mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩, 接着经制备性 HPLC 纯化, 得到 1-(4-(5-(5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基) 异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基) 苄基) 氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯, 其没有进行任何进一步纯化即可在下一步中使用。产物具有 HPLC 保留时间 = 2.97 分钟 - 柱:

YMC S5 COMBISCREEN® 4.6x50mm(4 分钟);溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 528.3。

[0323] 2. 1-(4-(5-(5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸的制备

[0324] 向 1-(4-(5-(5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯(前述反应产物)在二氯甲烷(0.5mL)中的溶液中加入三氟乙酸(0.5mL),并将混合物在室温搅拌 30 分钟。将反应混合物减压浓缩,并将残留物用三乙胺处理并重新浓缩。将产物混合物经快速硅胶色谱法纯化(使用甲醇、二氯甲烷和氢氧化铵的混合物(10:90:0-10:90:1-15:85:1-20:80:1)),得到 1-(4-(5-(5-(吡啶-2-基)-4-(三氟甲基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸(0.007g, 0.015mmol),其为灰白色固体。产物具有 HPLC 保留时间 = 2.33 分钟 - 柱:CHROMOLITH® SpeedROD 4.6x50mm(4 分钟);溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS M⁺ = 472.0。¹H NMR(500MHz, 甲醇-d₃) δ ppm 3.50(五重峰, J = 8.25Hz, 1H), 4.21-4.29(m, 4H), 4.46(s, 2H), 7.66-7.71(m, 3H), 8.02-8.05(m, 1H), 8.08-8.13(m, 1H), 8.28(d, J = 8.25Hz, 2H) 和 8.83-8.85(m, 1H)。

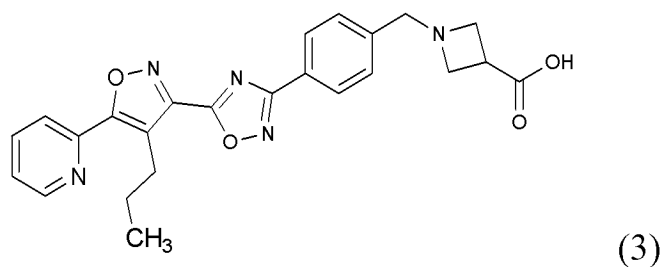
[0325] HPLC 纯度 99.5/99.6%, 保留时间 = 6.56 分钟(线性梯度洗脱, 使用 5% 乙腈, 95% 水和 0.05% TFA(溶剂 A) 以及 95% 乙腈, 5% 水和 0.05% TFA(溶剂 B); t = 0 分钟, 10% B, t = 12 分钟, 100% B(15 分钟), 在 SunFire C18 3.5u 4.6x150mm 柱上采用。流速为 2ml/min 且 UV 检测设定在 220/254nm.)。

[0326] HPLC 纯度 99.5/99.7%, 保留时间 = 7.23 分钟(线性梯度洗脱, 使用 5% 乙腈, 95% 水和 0.05% TFA(溶剂 A) 以及 95% 乙腈, 5% 水和 0.05% TFA(溶剂 B); t = 0 分钟, 10% B, t = 12 分钟, 100% B(15 分钟), 在 XBridge Ph 3.5u 4.6x150mm 柱上采用。流速为 2ml/min 且 UV 检测设定在 220/254nm.)。

[0327] 实施例 3

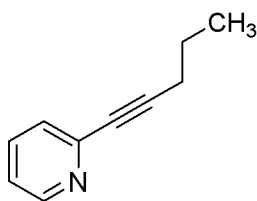
[0328] 1-(4-(5-(4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 2,2,2-三氟乙酸盐

[0329]



[0330] 3-A. 2-(戊-1-炔基)吡啶

[0331]

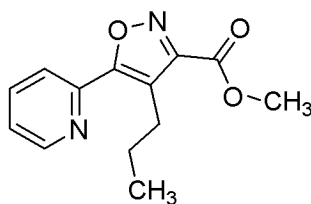


(3-A)

[0332] 向 2-碘吡啶 (0.519mL, 4.88mmol)、二(三苯基膦)氯化钯(II) (0.205g, 0.293mmol)、碘化亚铜(I) (0.046g, 0.244mmol) 和二异丙基胺 (2.78mL, 19.5mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (20mL) 中的脱气溶液中加入 1-戊炔 (0.721mL, 7.32mmol)。将反应混合物加热至 85°C 且保持 3 小时。将反应混合物冷却至室温, 用乙酸乙酯 (150mL) 稀释, 用 10% 氯化锂水溶液 (2x100mL) 洗涤, 用 2M 氢氧化铵水溶液 (100mL) 洗涤, 用盐水 (100mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着经硅胶色谱法纯化 (用己烷 / 乙酸乙酯 (3/2) 洗脱), 得到 2-(戊-1-炔基)吡啶 (636mg, 4.31mmol)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 0.982 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6X50mm; 梯度时间: 4 分钟; 流速 = 4ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.2% H₃PO₄; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.2% H₃PO₄; 起始 % B = 0; 最终 % B = 100。LC-MS: M⁺ = 146.3。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 1.06 (t, 3H), 1.67 (dt, J = 7.23Hz, 2H), 2.43 (t, J = 7.15Hz, 2H), 7.18 (ddd, J = 7.65, 4.89, 1.00Hz, 1H), 7.38 (d, J = 7.78Hz, 1H), 7.62 (td, J = 7.72, 1.88Hz, 1H) 和 8.55 (d, J = 4.27Hz, 1H)。

[0333] 3-B. 4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸甲酯

[0334]

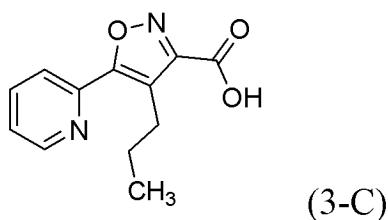


(3-B)

[0335] 将 2-(戊-1-炔基)吡啶 (150mg, 1.03mmol)、硝基丙二酸二甲酯 (0.35mL, 2.58mmol) 和 1-丁基-3-甲基咪唑鎓六氟磷酸盐 (0.021mL, 0.103mmol) 在甲苯 (3mL) 中的溶液在微波下加热至 170°C 且保持 120 分钟。将反应混合物浓缩, 得到粗产物, 将其经硅胶色谱法纯化 (用己烷 / 乙酸乙酯 (10/1) 洗脱), 得到 4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸甲酯 (14.3mg, 0.052mmol)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.05 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6X50mm; 梯度时间: 4 分钟; 流速 = 4ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.2% H₃PO₄; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.2% H₃PO₄; 起始 % B = 0; 最终 % B = 100。LC-MS: M⁺ = 247.1。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ ppm 0.97 (t, 3H), 1.66 (sxt, J = 7.48Hz, 2H), 3.15-3.20 (m, 2H), 4.01 (s, 3H), 7.33 (ddd, J = 7.56, 4.81, 1.10Hz, 1H), 7.83 (td, J = 7.77, 1.79Hz, 1H), 7.91 (d, J = 7.97Hz, 1H) 和 8.72 (d, J = 4.12Hz, 1H)。

[0336] 3-C. 4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸

[0337]



[0338] 将 4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸甲酯 (14.3mg, 0.058mmol) 和 1N 氢氧化钠水溶液 (87 μ L, 0.087mmol) 在甲醇 (1mL) 中的溶液在微波下在 100℃ 加热 10 分钟。将反应混合物浓缩, 得到 4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸钠盐 (16mg)。该物质没有进一步纯化即可使用。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 2.60 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6X50mm; 梯度时间: 4 分钟; 流速 = 4ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.2% H_3PO_4 ; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.2% H_3PO_4 ; 起始% B = 0; 最终% B = 100。LC-MS: $M^{+1} = 233.1$ 。

[0339] 3. 1-(4-(5-(4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 2,2,2-三氟乙酸盐的制备

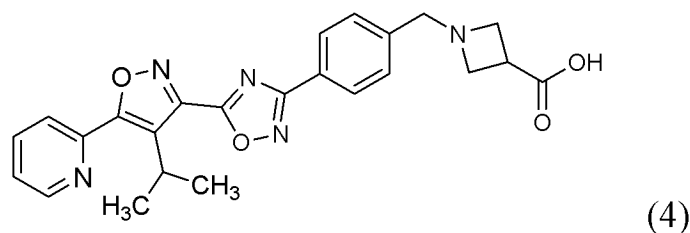
[0340] 向 4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸钠盐 (13.5mg, 约 0.053mmol)、HOBt (16.0mg, 0.105mmol) 和二异丙基乙基胺 (0.041mL, 0.233mmol) 在乙腈 (1mL) 中的溶液中加入 EDC (26.1mg, 0.136mmol) 和 1-(4-(N'-羟基甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯, Int. 1 (17.8mg, 0.058mmol)。将反应混合物在 80℃ 搅拌 2 小时, 冷却至室温, 并浓缩, 得到粗产物。将残留物在乙酸乙酯 (3mL) 中溶解, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (1mL) 洗涤, 用水 (1mL) 洗涤, 用盐水 (1mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着经制备性 HPLC 纯化, 得到 1-(4-(5-(4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯。[制备性 HPLC: 柱: PHENOMENEX® S10 30X100mm; 梯度时间: 10 分钟; 流速 = 40ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.1% TFA; 起始% B = 20; 最终% B = 100.]。

[0341] 将 1-(4-(5-(4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯在二氯甲烷 (0.5mL) 和三氟乙酸 (0.5mL) 中的溶液在室温搅拌 30 分钟。将反应混合物浓缩, 得到 1-(4-(5-(4-丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸三氟乙酸盐 (17.4mg)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 7.75 分钟 - 柱: Xbridge Ph 3.5u 4.6X150mm; 梯度时间: 12 分钟, 保持 3 分钟; 流速 = 2ml/min; 溶剂 A = 5% MeCN-95% 水 -0.05% TFA; 溶剂 B = 95% MeCN-5% 水 -0.05% TFA; 起始% B = 10; 最终% B = 100。LC-MS: $M^{+1} = 446^{+}$ 。1H NMR (500MHz, MeOD) δ ppm 1.04 (t, 3H), 1.73-1.83 (m, 2H), 3.34-3.40 (m, 2H), 3.73 (t, J = 8.25Hz, 1H), 4.39 (d, J = 7.42Hz, 4H), 4.54 (s, 2H), 7.51 (ddd, J = 6.74, 4.67, 2.06Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.25Hz, 2H), 7.98-8.06 (m, 2H), 8.30 (d, J = 8.25Hz, 2H) 和 8.78 (d, J = 4.40Hz, 1H)。

[0342] 实施例 4

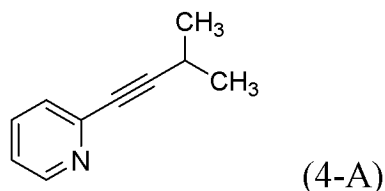
[0343] 1-(4-(5-(4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 2,2,2-三氟乙酸盐

[0344]



[0345] 4-A. 2-(3-甲基丁-1-炔基)吡啶

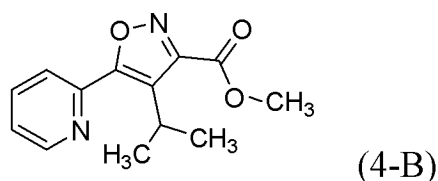
[0346]



[0347] 向 2-溴吡啶 (0.604mL, 6.33mmol)、二(三苯基膦)氯化钯(II) (0.267g, 0.380mmol)、碘化亚铜(I) (0.060g, 0.316mmol) 和二异丙基二乙基胺 (3.61mL, 25.3mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (20mL) 中的脱气溶液中加入 3-甲基丁-1-炔 (0.647g, 9.49mmol)。将反应混合物加热至 85℃ 且保持 16 小时, 冷却至室温, 并用乙酸乙酯 (150mL) 稀释。将混合物用 10% 氯化锂水溶液 (2x100mL) 洗涤, 用 2M 氢氧化铵水溶液 (100mL) 洗涤, 用盐水洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着经硅胶色谱法纯化 (用己烷/乙酸乙酯 (3/2) 洗脱), 得到 (3-甲基丁-1-炔基) 吡啶 (696mg, 4.65mmol, 73% 的收率)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 1.02 分钟 - 柱: YMC COMBISCREEN® ODS-A 4.6X50mm S-5; 梯度时间: 4 分钟; 流速 = 4ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.1% TFA. LC-MS: M^+ = 146.32. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm 1.29 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 2.82 (dt, J = 13.80, 6.90Hz, 1H), 7.18 (dd, J = 7.65, 4.89Hz, 1H), 7.37 (d, J = 7.78Hz, 1H), 7.61 (td, J = 7.72, 1.13Hz, 1H) 和 8.55 (d, J = 4.77Hz, 1H)。

[0348] 4-B. 4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸甲酯

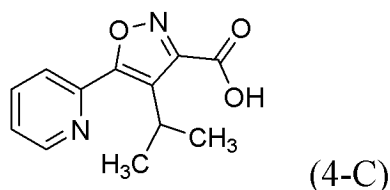
[0349]



[0350] 将 (3-甲基丁-1-炔基) 吡啶 (170mg, 1.17mmol)、硝基丙二酸二甲酯 (0.395mL, 2.93mmol) 和 1-丁基-3-甲基咪唑鎓六氟磷酸盐 (0.024mL, 0.117mmol) 在甲苯 (7mL) 中的溶液在微波下加热至 170℃ 且保持 120 分钟。将反应混合物浓缩并经硅胶色谱法纯化 (用己烷/乙酸乙酯 (10/1) 洗脱), 得到 4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸甲酯 (11mg, 0.033mmol, 2.8% 的收率)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 2.96 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6X50mm; 梯度时间: 4 分钟; 流速 = 4ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.2% H_3PO_4 ; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.2% H_3PO_4 ; 起始% B = 0; 最终% B = 100. LC-MS: M^+ = 247.15. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm 1.36 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 4.03-4.10 (m, 1H), 7.33-7.38 (m, 1H), 7.80-7.90 (m, 2H) 和 8.72-8.76 (m, 1H)。

[0351] 4-C. 4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸

[0352]



[0353] 将 4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸甲酯 (11mg, 0.045mmol) 和 1N 氢氧化钠水溶液 (67 μ L, 0.067mmol) 在甲醇 (1mL) 中的溶液在微波下在 80℃ 加热 30 分钟。将反应混合物浓缩, 得到 4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸钠盐 (10.4mg)。该物质没有进一步纯化即可使用。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 2.96 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6X50mm; 梯度时间: 4 分钟; 流速 = 4ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.2% H_3PO_4 ; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.2% H_3PO_4 ; 起始% B = 0; 最终% B = 100.%)。LC-MS: $M^{+1} = 233.1$ 。

[0354] 4. 1-(4-(5-(4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 2,2,2-三氟乙酸盐的制备

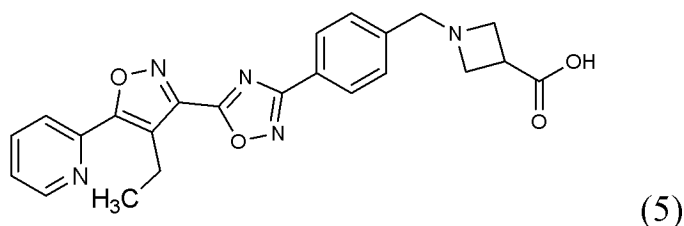
[0355] 向 4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸钠盐 (10.4mg, 约 0.045mmol)、HOBt (12.34mg, 0.081mmol) 和二异丙基乙基胺 (0.031mL, 0.179mmol) 在乙腈 (1mL) 中的溶液中加入 EDC (20.2mg, 0.105mmol) 和 1-(4-(N'-羟基甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯, Int. 1 (13.68mg, 0.045mmol)。将反应混合物在 80℃ 搅拌 5 小时。将反应混合物浓缩, 并将残留物用乙酸乙酯 (3mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (1mL) 洗涤, 用水 (1mL) 洗涤, 用盐水 (1mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着在制备性 TLC 板上纯化 (用乙酸乙酯洗脱), 得到 1-(4-(5-(4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯。

[0356] 向 1-(4-(5-(4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯在二氯甲烷 (0.5mL) 中的溶液中加入三氟乙酸 (0.5mL), 并将反应混合物在室温搅拌 30 分钟。将反应混合物浓缩并经制备性 HPLC 纯化 [制备性 HPLC: 柱: PHENOMENEX® S1030X100mm; 梯度时间: 10 分钟; 流速 = 40ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.1% TFA; 起始% B = 20; 最终% B = 100.] 得到 1-(4-(5-(4-异丙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸三氟乙酸盐 (2.03mg, 3.47mmol, 7.8%)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 7.58 分钟 - 柱: Xbridge Ph 3.5u 4.6X150mm; 梯度时间: 12 分钟, 保持 3 分钟; 流速 = 2ml/min; 溶剂 A = 5% MeCN-95% 水 -0.05% TFA; 溶剂 B = 95% MeCN-5% 水 -0.05% TFA; 起始% B = 10; 最终% B = 100。LC-MS: $M^{+1} = 446.3$ 。¹H NMR (500MHz, MeOD) δ ppm 1.44(s, 3H), 1.46(s, 3H), 3.68-3.76(m, 1H), 4.19(五重峰, $J = 7.15$ Hz, 1H), 4.37-4.42(m, 4H), 4.54(s, 2H), 7.53(ddd, $J = 7.49, 4.74, 1.24$ Hz, 1H), 7.70(d, $J = 8.25$ Hz, 2H), 7.96-8.00(m, 1H), 8.00-8.05(m, 1H), 8.30(d, $J = 8.25$ Hz, 2H) 和 8.79(d, $J = 4.67$ Hz, 1H)。

[0357] 实施例 5

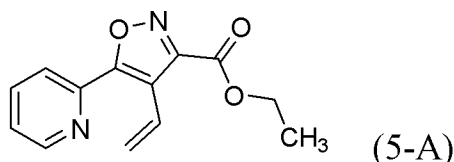
[0358] 1-(4-(5-(4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 2,2,2-三氟乙酸盐

[0359]



[0360] 5-A. 5-(吡啶-2-基)-4-乙烯基异噁唑-3-羧酸乙酯

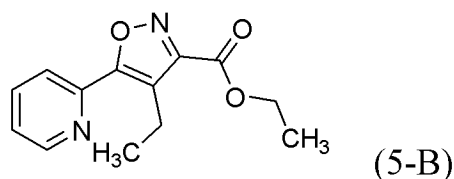
[0361]



[0362] 将 4-溴-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯 (2-C) (170mg, 0.572mmol)、三丁基(乙烯基)锡 (0.504mL, 1.72mmol)、二氯二(三苯基膦)-钯 (II) (24.1mg, 0.034mmol) 和 1-丁基-3-甲基咪唑鎓六氟磷酸盐 (0.012mL, 0.057mmol) 在二噁烷 (3mL) 中的溶液经微波加热至 170℃ 且保持 120 分钟。将反应混合物用乙酸乙酯 (50mL) 稀释, 用水 (10mL) 洗涤, 用盐水 (10mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 得到粗产物, 将其经硅胶色谱法纯化 (用己烷/乙酸乙酯 (4/1) 洗脱), 得到 5-(吡啶-2-基)-4-乙烯基异噁唑-3-羧酸乙酯 (60mg, 2.37mmol, 41% 的收率)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 2.80 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6X50mm; 梯度时间: 4 分钟; 流速 = 4ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.2% H₃PO₄; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.2% H₃PO₄; 起始% B = 0; 最终% B = 100。LC-MS: M⁺ = 245.2。¹H NMR (400MHz, MeOD) δ ppm 1.42 (t, 3H), 4.47 (q, J = 7.19Hz, 2H), 5.49 (dd, J = 11.80, 1.25Hz, 1H), 5.85 (dd, J = 18.07, 1.51Hz, 1H), 7.26 (dd, J = 18.07, 11.80Hz, 1H), 7.51 (ddd, J = 7.03, 5.02, 1.76Hz, 1H), 7.93-8.02 (m, 2H) 和 8.72-8.75 (m, 1H)。

[0363] 5-B. 4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯

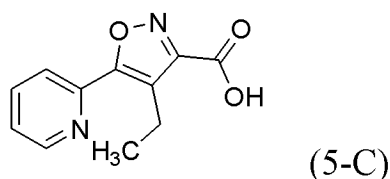
[0364]



[0365] 将 5-(吡啶-2-基)-4-乙烯基异噁唑-3-羧酸乙酯 (40mg, 0.164mmol) 和 Pd/C (3.49mg, 0.033mmol) 在乙醇 (3mL) 中的溶液在氢气 (45psi) 下置于帕尔振荡器 (Parr Shaker) 5 小时。滤过以除去催化剂, 接着减压浓缩, 得到 4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯 (36.1mg, 0.147mmol, 90% 的收率)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.13 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6X50mm; 梯度时间: 4 分钟; 流速 = 4ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.2% H₃PO₄; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.2% H₃PO₄; 起始% B = 0; 最终% B = 100。LC-MS: M⁺ 247⁺。 ¹H NMR (400MHz, MeOD) δ ppm 1.23 (t, 3H), 1.43 (t, J = 7.15Hz, 3H), 3.17 (q, J = 7.53Hz, 2H), 4.46 (q, J = 7.28Hz, 2H), 7.46 (ddd, J = 7.03, 5.14, 1.63Hz, 1H), 7.90-8.01 (m, 2H) 和 8.73 (dt, J = 4.77, 1.38Hz, 1H)。

[0366] 5-C. 4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸

[0367]



[0368] 将 4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸乙酯 (24.6mg, 0.100mmol) 和 1N 氢氧化钠水溶液 (150 μ L, 0.150mmol) 在甲醇 (1mL) 中的溶液在 80°C 加热 20 分钟。将反应混合物浓缩, 得到 4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸钠盐 (26mg)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 3.13 分钟 - 柱: YMC S5 COMBISCREEN® 4.6X50mm; 梯度时间: 4 分钟; 流速 = 4ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.2% H_3PO_4 ; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.2% H_3PO_4 ; 起始% B = 0; 最终% B = 100。LC-MS: $\text{M}^+ = 219.25$ 。

[0369] 5. 1-(4-(5-(4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 2,2,2-三氟乙酸盐的制备

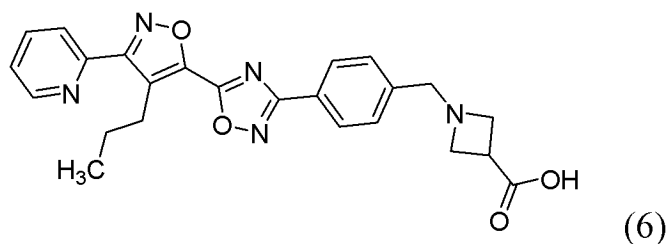
[0370] 向 4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-羧酸钠盐 (22mg)、HOBt (27.8mg, 0.181mmol) 和二异丙基乙基胺 (0.070mL, 0.403mmol) 在乙腈 (1mL) 中的溶液中加入 EDC (45.4mg, 0.237mmol) 和 1-(4-(N'-羟基甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯, Int. 1 (30.8mg, 0.101mmol)。将反应混合物在 80°C 搅拌 4 小时, 然后减压浓缩。将残留物用乙酸乙酯 (3mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤, 用水 (1mL) 洗涤, 用盐水 (1mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着经制备性 HPLC 纯化 [制备性 HPLC: 柱: PHENOMENEX® S10 30X100mm; 梯度时间: 10 分钟; 流速 = 40ml/min; 溶剂 A = 10% MeOH-90% 水 -0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH-10% 水 -0.1% TFA; 起始% B = 20; 最终% B = 100。] 得到 1-(4-(5-(4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯。

[0371] 将 1-(4-(5-(4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯在二氯甲烷 (0.5mL) 和三氟乙酸 (0.5mL) 中的溶液在室温搅拌 30 分钟。将反应混合物浓缩, 得到 1-(4-(5-(4-乙基-5-(吡啶-2-基)异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸三氟乙酸盐 (22.9mg, 0.042mmol)。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 7.33 分钟 - 柱: Xbridge Ph 3.5u4.6X150mm; 梯度时间: 12 分钟, 保持 3 分钟; 流速 = 2ml/min; 溶剂 A = 5% MeCN-95% 水 -0.05% TFA; 溶剂 B = 95% MeCN-5% 水 -0.05% TFA; 起始% B = 10; 最终% B = 100。LC-MS: $\text{M}^+ = 432.3$ 。 ^1H NMR (400MHz, MeOD) δ ppm 1.36 (t, 3H), 3.41 (q, $J = 7.53\text{Hz}$, 2H), 3.72 (五重峰, $J = 8.34\text{Hz}$, 1H), 4.35-4.45 (m, 4H), 4.54 (s, 2H), 7.51 (ddd, $J = 6.15, 4.77, 2.64\text{Hz}$, 1H), 7.70 (d, $J = 8.53\text{Hz}$, 2H), 7.99-8.06 (m, 2H), 8.31 (d, $J = 8.28\text{Hz}$, 2H) 和 8.78 (ddd, $J = 4.64, 1.51, 1.38\text{Hz}$, 1H)。

[0372] 实施例 6

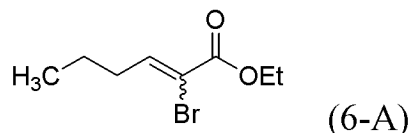
[0373] 1-(4-(5-(4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 2,2,2-三氟乙酸盐

[0374]



[0375] 6-A. (E, Z)-2-溴己-2-烯酸乙酯

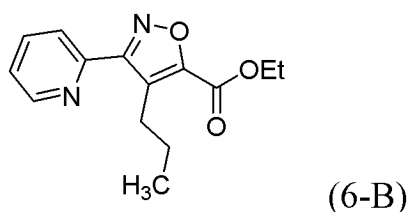
[0376]



[0377] 历时 15 分钟向在绝热冷却浴中冷却的 60% 氢化钠 (0.800g, 20.0mmol) 在四氢呋喃 (40mL) 中的混悬液中分批加入膦酰基乙酸三乙酯 (4.00mL, 20mmol)。将反应混合物在室温搅拌 45 分钟。此时, 历时 15 分钟逐滴加入溴 (1.03mL, 20.0mmol)。每滴滴入反应混合物中后橙色立即褪去; 然而, 当加入完成时, 保持有浅橙色且反应混合物为浅橙色混悬液。将该混悬液温热至 40℃ 且保持 10 分钟, 然后在室温搅拌 1 小时。将反应混合物冷却至 10℃。加入一份 60% 氢化钠 (0.800g, 20.0mmol), 并将反应混合物温热至室温并搅拌 45 分钟。观察到气体溢出。然后历时 2 分钟加入丁醛 (1.80mL, 20.0mmol), 并将反应混合物在室温搅拌 18 小时。将反应混合物在乙醚 (200mL) 和水 (100mL) 之间分配。将有机层用饱和碳酸氢钠水溶液 (150mL) 洗涤, 用水 (100mL) 洗涤, 用盐水 (100mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 得到浅黄色液体, 将其在 5x20cm 硅胶柱上进行色谱法纯化 (用 0-5% EtOAc/ 己烷梯度洗脱)。将纯馏分浓缩, 得到 (E, Z)-2-溴己-2-烯酸乙酯 (3.61g, 16.3mmol, 82% 的收率), 其为无色液体。HPLC 保留时间 = 1.81 分钟 (PHENOMENEX® Luna 4.6x30mm S-5 ODS 柱), 用 10-90% 甲醇水溶液 +0.1% TFA 洗脱, 历时 2 分钟梯度洗脱。MS: (M+H) = 221/223.08。[注意: 产物为 E/Z 异构体的约 3 : 1 混合物, 且其没有进一步纯化即可在下一步中使用]。

[0378] 6-B. 4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸乙酯

[0379]

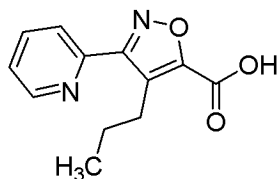


[0380] 历时 5 分钟在室温向 (Z)-N-羟基-吡啶甲基亚氨基氯 (0.637g, 4.07mmol) 和 2-溴己-2-烯酸乙酯 (0.900g, 4.07mmol) 在二氯甲烷 (17mL) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (1mL) 中的浅橙色均匀混合物中缓慢加入三乙胺 (1.70mL, 12.2mmol)。将均匀反应混合物在室温搅拌过周末。减压除去溶剂, 并将残留物用乙醚 (100mL) 稀释, 用水 (3x75mL) 洗涤, 用饱和氯化锂水溶液 (1x75mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。减压浓缩, 接着用己烷超声研磨, 得到淡红色固体, 且己烷滤液含有期望产物和残留的 2-溴己-2-烯酸乙酯。减压浓缩, 接着经快速硅胶色谱法纯化 (使用乙酸乙酯和己烷的混合物 (0 : 100-0.5 : 99.5-1 : 99)), 得

到 4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸乙酯 (0.015g, 0.058mmol, 1.5% 的收率), 其为白色固体。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 2.61 分钟 - 柱: CHROMOLITH® SpeedROD 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS $M^{+1} = 261.0$ 。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ ppm 0.92 (t, J = 7.42Hz, 3H), 1.45 (t, J = 7.15Hz, 3H), 1.55-1.64 (m, 2H), 3.11-3.17 (m, 2H), 4.47 (q, J = 7.15Hz, 2H), 7.37 (dd, J = 7.70, 4.95Hz, 1H), 7.81 (td, J = 7.70, 2.20Hz, 1H), 7.98 (d, J = 7.70Hz, 1H) 和 8.72 (d, 1H)。

[0381] 6-C. 4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸

[0382]



(6-C)

[0383] 将 4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸乙酯 (0.015g, 0.058mmol) 和氢氧化锂一水合物 (2.418mg, 0.058mmol) 在甲醇 (1.0mL) 和水 (0.5mL) 中的混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物浓缩至干燥得到 4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸锂盐 (0.014g, 0.059mmol, 102% 的收率), 其为淡黄色固体。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 1.70 分钟 - 柱: CHROMOLITH® SpeedROD 4.6x50mm (4 分钟); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA。LC/MS $M^{+1} = 232.8$ 。

[0384] 6. 1-(4-(5-(4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸的制备

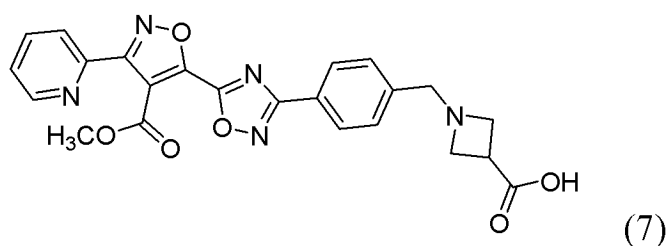
[0385] 将 4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸锂盐 (13.5mg, 0.058mmol)、1-(4-(N'-羟基甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯, Int. 1 (7.8mg, 0.058mmol)、HOBt (16.02mg, 0.105mmol)、N1-((乙基亚氨基)亚甲基)-N3, N3-二甲基丙-1,3-二胺盐酸盐 (26.1mg, 0.136mmol) 和二异丙基乙基胺 (0.041mL, 0.233mmol) 在乙腈 (1mL) 中的混合物在 80℃ 搅拌 2 小时。将反应混合物浓缩, 并将残留物用乙酸乙酯 (3mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (1mL) 洗涤, 用水 (1mL) 洗涤, 用盐水 (1mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。浓缩, 接着经制备性 HPLC 纯化, 得到 1-(4-(5-(4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯。

[0386] 向 1-(4-(5-(4-丙基-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯在二氯甲烷 (0.5mL) 中的溶液中加入三氟乙酸 (0.5mL)。将反应混合物在室温搅拌 30 分钟然后浓缩, 得到 1-(4-(5-(4-丙基-5-苄基异噁唑-3-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 2,2,2-三氟乙酸盐。该化合物具有 HPLC 保留时间 = 7.35 分钟 - 柱: Xbridge Ph 3.5u 4.6x150mm; 梯度时间: 12 分钟, 保持 3 分钟; 流速 = 2ml/min; 溶剂 A = 5% MeCN-95% 水 -0.05% TFA; 溶剂 B = 95% MeCN-5% 水 -0.05% TFA; 起始 % B = 10; 最终 % B = 100。LC-MS: $M^{+1} = 446^{+}$ 。¹H NMR (500MHz, MeOD) δ ppm 1.04 (t, 3H), 1.73-1.83 (m, 2H), 3.34-3.40 (m, 2H), 3.73 (t, J = 8.25Hz, 1H), 4.39 (d, J = 7.42Hz, 4H), 4.54 (s, 2H), 7.51 (ddd, J = 6.74, 4.67, 2.06Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.25Hz, 2H), 7.98-8.05 (m, 2H), 8.30 (d, J = 8.25Hz, 2H) 和 8.78 (d, J = 4.40Hz, 1H)。

[0387] 实施例 7

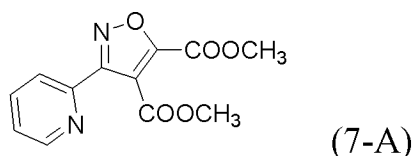
[0388] 1-(4-(5-(4-(甲氧基羰基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸

[0389]



[0390] 7-A. 3-(吡啶-2-基)异噁唑-4,5-二羧酸二甲酯

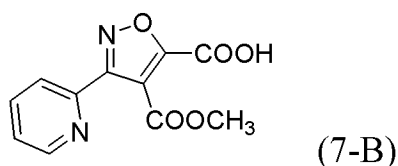
[0391]



[0392] 历时 5 分钟在室温向 (E, Z)-N-羟基-吡啶甲基亚氨基氯 (313mg, 2mmol) 和丁-2-炔二酸二甲酯 (0.249mL, 2.000mmol) 在乙醚 (8mL) 中的溶液中逐滴加入三乙胺 (0.307mL, 2.200mmol)。将反应混合物在室温搅拌 2 小时。将反应混合物浓缩为油状物, 将其在 24gm Isco 硅胶柱上进行色谱法纯化 (用 0-20% EtOAc/ 己烷梯度洗脱)。将纯的馏分浓缩, 得到 3-(吡啶-2-基)异噁唑-4,5-二羧酸二甲酯 (416mg, 1.59mmol, 79% 的收率), 其为无色油状物。HPLC 保留时间 = 2.35 分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS: (M+H) = 263.18。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 3.98 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 7.38 (ddd, J = 7.6, 4.8, 1.1Hz, 1H), 7.83 (td, J = 7.8, 1.8Hz, 1H), 8.08 (d, J = 7.8Hz, 1H) 和 8.65 (d, J = 4.8Hz, 1H)。[如经 HPLC、LCMS 和 NMR 数据分析评估, 产物被未知的约 17% 的杂质所污染。该物质没有进一步纯化即可在下一步中使用]。

[0393] 7-B. 4-(甲氧基羰基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸

[0394]

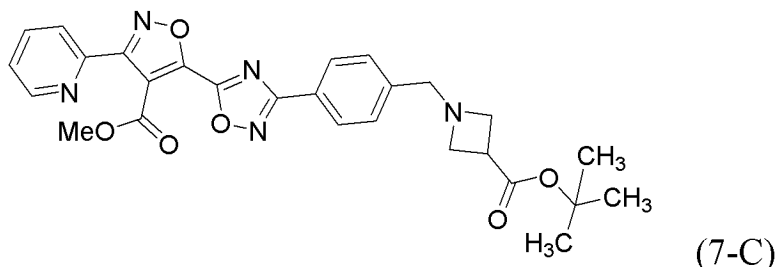


[0395] 在室温向 3-(吡啶-2-基)异噁唑-4,5-二羧酸二甲酯 (410mg, 1.56mmol) 在甲醇 (12mL) 和水 (3mL) 中的溶液中加入氢氧化锂一水合物 (49.2mg, 1.17mmol), 并将反应混合物在室温搅拌 1.5 小时。此时, 将甲醇减压除去, 并将残留的含水残留物用水稀释至 ~10mL。将水层用乙酸乙酯 (20mL) 洗涤。然后将水相的 pH 用 1N 盐酸水溶液调节为 ~3-4, 并将水层用乙酸乙酯 (2x30mL) 萃取。将合并的有机层干燥 (硫酸钠 / 硫酸镁) 并浓缩, 得到 60mg 产物。将水层用无水硫酸钠饱和然后用乙酸乙酯 (3x30mL) 萃取。干燥 (硫酸镁) 并浓缩后, 得到额外的 20mg 产物。将所有物质合并得到 4-(甲氧基羰基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸 (80mg, 0.322mmol, 21% 的收率), 其为浅褐色固体。HPLC 保留时间 = 1.17

分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS: (M+H) = 249.12。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 3.79 (s, 3H), 7.33 (brs, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.81 (m, 1H) 和 8.63 (brs, 1H)。

[0396] 7-C. 5-(3-(4-((3-(叔丁氧基羰基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)苯基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-4-羧酸甲酯

[0397]



[0398] 在室温向 4-(甲氧基羰基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-羧酸 (79mg, 0.318mmol)、1-(4-(N'-羟基甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯, Int. 1 (97mg, 0.318mmol) 和 BOP-Cl (97mg, 0.382mmol) 在二甲基甲酰胺 (1.5mL) 中的混合物中加入三乙胺 (0.133mL, 0.955mmol)。将反应混合物在室温搅拌过夜。残留有一些未成环的物质, 由此继续搅拌额外的 24 小时。此时, 将反应混合物在乙酸乙酯 (30mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (30mL) 之间分配。将有机层用水 (2x30mL) 洗涤, 用盐水 (30mL) 洗涤, 并经无水硫酸镁干燥。浓缩, 得到棕色油状物, 将其在 4gm Isco 硅胶柱上进行色谱法纯化 (用 0-70% EtOAc/己烷梯度洗脱)。将含有产物的基本纯的馏分浓缩, 得到 5-(3-(4-((3-(叔丁氧基羰基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)苯基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-4-羧酸甲酯 (80mg, 0.155mmol, 48.6% 的收率), 其为浅紫色固体。HPLC 保留时间 = 2.91 分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS: (M+H) = 518.20。

[0399] 7. 1-(4-(5-(4-(甲氧基羰基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸的制备

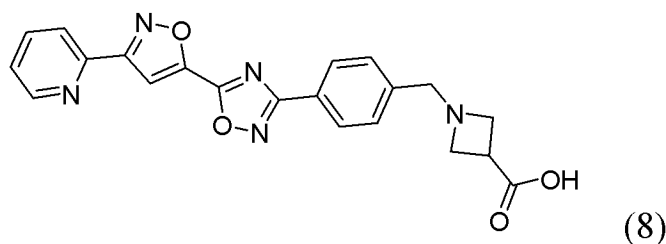
[0400] 将 5-(3-(4-((3-(叔丁氧基羰基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)苯基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-4-羧酸甲酯 (79mg, 0.153mmol) 在三氟乙酸 (2mL) 中的溶液在室温静置 1 小时。将挥发物减压除去, 并将残留物在水中悬浮。将 pH 用 1N 氢氧化钠水溶液调节至 ~4, 并将所得的混悬液剧烈搅拌过夜。滤过并干燥得到 1-(4-(5-(4-(甲氧基羰基)-3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸 (65mg, 0.141mmol, 92% 的收率), 其为微灰白色粉末状物。HPLC 保留时间 = 2.51 分钟 (YMC-Combi 4.6x50mm S-5 ODS 柱), 用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱, 历时 4 分钟梯度洗脱。MS: (M+H) = 462.18。¹H NMR (500MHz, MeOD) δ ppm 3.61-3.68 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 4.30-4.37 (m, 4H), 4.50 (s, 2H), 7.53-7.56 (m, 1H), 7.68 (d, J = 8.3Hz, 2H), 7.98-8.02 (m, 1H), 8.09 (d, J = 7.7Hz, 1H), 8.26 (d, J = 8.8Hz, 2H) 和 8.69 (d, J = 4.4Hz, 1H)。

[0401] 实施例 8

[0402] 1-(4-(5-(3-(吡啶-2-基)异噁唑-5-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂

环丁烷-3-羧酸

[0403]



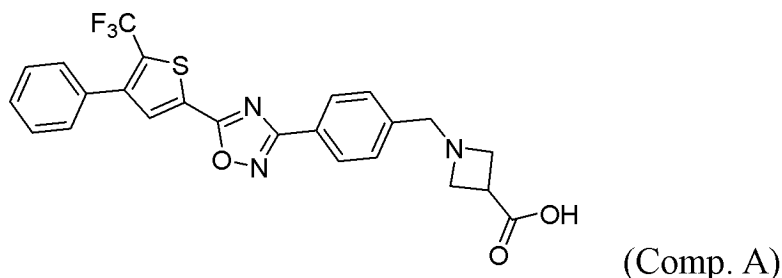
[0404] 实施例 8 使用如上所述的一般方法来制备。实施例 8 由 2-B 开始制备。HPLC 保留时间 = 2.33 分钟 (YMC S5 COMBISCREEN® 4.6x50mm 柱, 历时 4 分钟梯度洗脱); 溶剂 A = 10% MeOH, 90% H₂O, 0.1% TFA; 溶剂 B = 90% MeOH, 10% H₂O, 0.1% TFA; MW 403.4; MS (M⁺) = 404.1。

[0405] 比较化合物 A (Comp. A)

[0406] 1-(4-(5-(4-苯基-5-(三氟甲基)噻吩-2-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸

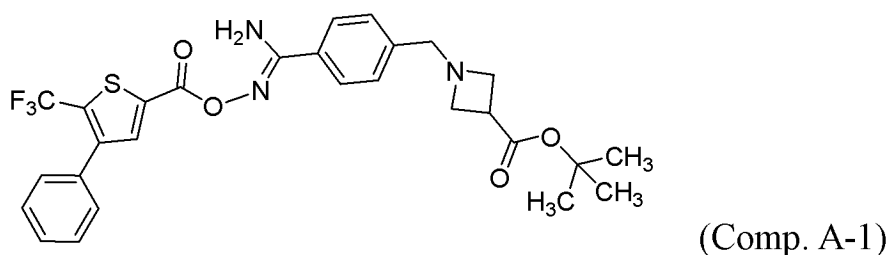
[0407] 制备比较化合物 (Comp. A) 以用于评价。该化合物为 WO 2003/062252 的实施例 54, 其也已经在 Hale et al., J. Med. Chem., 6662 (2004) 中有述。

[0408]



[0409] Comp. A-1. (Z)-1-(4-(N'-(4-苯基-5-(三氟甲基)噻吩-2-羧基氧基)-甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯

[0410]

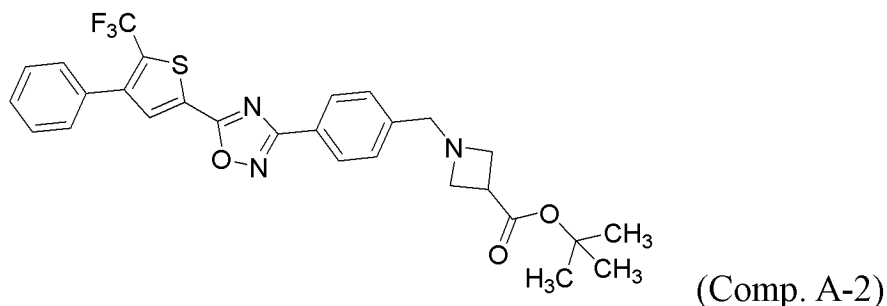


[0411] 将 4-苯基-5-(三氟甲基)噻吩-2-羧酸 (408mg, 1.50mmol)、(Z)-1-(4-(N'-羟基甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯, Int. 1 (458mg, 1.50mmol)、HOBT (345mg, 2.250mmol)、许尼希碱 (1.05mL, 6.00mmol) 和 EDC (431mg, 2.25mmol) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (7.5mL) 中的混合物在室温搅拌 18 小时。将反应混合物在乙酸乙酯 (120mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (60mL) 之间分配。将有机层用水 (2x120mL) 洗涤, 用盐水 (120mL) 洗涤, 并经无水硫酸镁干燥。减压浓缩, 得到 1-(4-(N'-(4-苯基-5-(三氟甲基)噻吩-2-羧基氧基)甲脒基)苄基)氮杂环丁烷-3-羧酸叔丁酯 (744mg, 1.33mmol, 89% 的收率), 其为浅粉红色固体, 其没有进一步纯化即可在下一步中使用。HPLC: 保留时间 = 3.26 分钟 (YMCCombi

S-5 4.6x50mm ODS 柱),用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱,历时 4 分钟梯度洗脱。MS : (M+H) = 560.25。

[0412] Comp. A-2. 1-(4-(5-(4- 苄基 -5-(三氟甲基) 噻吩 -2- 基)-1,2,4- 噁二唑 -3- 基) 苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯

[0413]



[0414] 向 1-(4-(N' -(4- 苄基 -5-(三氟甲基) 噻吩 -2- 羧基氧基) 甲脒基) 苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯 (744mg, 1.33mmol) 在乙腈 (30mL) 中的溶液中加入 1MTBAF 在四氢呋喃 (3.99mL, 3.99mmol) 中的溶液,并将反应混合物在室温搅拌 3 天。将挥发物减压除去,并将残留物在 5x12cm 硅胶柱上进行色谱法纯化(用 0-50% EtOAc/ 己烷梯度洗脱)。将含有产物的基本纯的馏分浓缩,得到 1-(4-(5-(4- 苄基 -5-(三氟甲基) 噻吩 -2- 基)-1,2,4- 噁二唑 -3- 基) 苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯 (521mg, 0.962mmol, 72.4% 的收率),其为无色固体。HPLC 保留时间 = 3.63 分钟 (YMC Combi S-5 4.6x50mm ODS 柱),用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱,历时 4 分钟梯度洗脱。MS : (M+H) = 542.22。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ ppm 1.46 (s, 9H), 3.25-3.31 (m, 3H), 3.52-3.58 (m, 2H), 3.69 (s, 2H), 7.43 (d, J = 8.25Hz, 2H), 7.47 (m, 5H), 7.91 (s, d, J = 1.65Hz, 1H) 和 8.09 (d, J = 8.25Hz, 2H)。

[0415] Comp. A. 1-(4-(5-(4- 苄基 -5-(三氟甲基) 噻吩 -2- 基)-1,2,4- 噁二唑 -3- 基) 苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸的制备

[0416] 将 1-(4-(5-(4- 苄基 -5-(三氟甲基) 噻吩 -2- 基)-1,2,4- 噁二唑 -3- 基) 苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸叔丁酯 (518mg, 0.956mmol) 在三氟乙酸 (15mL) 中的溶液在室温静置 1.5 小时。将挥发物减压除去,并将残留物由乙酸乙酯 / 己烷 (2x10mL) 共蒸发。将残留物在水 (10mL) 中悬浮并将 pH 用 1N 氢氧化钠水溶液调节至 ~ 11。向该溶液中加入足量的 1N 盐酸水溶液以调节 pH ~ 4.5。将所得的混悬液在室温搅拌过夜。将白色混悬液经中性孔隙率烧结玻璃滤器滤过,并将滤饼用水完全洗涤。将固体干燥,将白色粉末状物在甲醇中悬浮,并将混悬液超声直到其为均匀的。将甲醇减压除去,并再重复两次该操作得到白色固体,将其作为在甲醇 (~ 30mL) 中的混悬液搅拌过夜。真空滤过并干燥得到 1-4-(5-(4- 苄基 -5-(三氟甲基) 噻吩 -2- 基)-1,2,4- 噁二唑 -3- 基) 苄基) 氮杂环丁烷 -3- 羧酸 (345mg, 0.707mmol, 74% 的收率),其为白色粉末状物。HPLC 保留时间 = 3.45 分钟 (YMC Combi S-5 4.6x50mm ODS 柱),用 10-90% 甲醇水溶液 +0.2% 磷酸洗脱,历时 4 分钟梯度洗脱。MS : (M+H) = 486.12。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3.23 (s, 3H), 3.39-3.45 (m, 2H), 3.64 (s, 2H), 7.50 (d, J = 8.28Hz, 2H), 7.58 (m, 5H), 8.02 (d, J = 8.28Hz, 2H) 和 8.26 (d, J = 1.25Hz, 1H)。元素分析 : C₂₄H₁₈N₃O₃SF₃ • 0.1H₂O 的计算值 : C 59.22, H 3.76, N 8.63, S 6.59, F 11.71; 实测值 : C₂₄H₁₈N₃O₃SF₃ • 0.1H₂O : C 59.06, H 3.45, N 8.60, S 6.61, F 11.42; KF (实测值) = 0.25% 水。

[0417] 生物测定

[0418] S1P₁ 结合测定

[0419] 膜由表达人 S1P₁ 的 CHO 细胞制备。将细胞在缓冲液（含有 20mM HEPES, pH7.5, 50mM NaCl, 2mM EDTA 和蛋白酶抑制剂混合物 (Roche)）中解离, 并在冰上使用 Polytron 匀浆器分裂。将匀浆在 20,000rpm (48,000g) 离心并弃去上清液。将膜沉淀物重新在缓冲液（含有 50mM HEPES, pH7.5, 100mM NaCl, 1mM MgCl₂, 2mM EDTA）中悬浮并在蛋白浓度确定后以等分的形式在 -80℃ 储存。

[0420] 将膜 (2 μg/孔) 和 0.03nM 终浓度的 ³³P-S1P 配体 (1mCi/ml, 美国放射标记化学药品) 加入至化合物板中。在室温进行结合 60 分钟, 通过在 GF/B 滤板上收集膜来终止, 并通过 TOPCOUNT® 测量放射性。一定浓度范围内的测试化合物的竞争性数据作为放射性配体特异性结合的抑制百分数来绘图。IC₅₀ 定义为需要减少 50% 特异性结合的竞争性配体的浓度。

[0421] 本发明的化合物和比较化合物 A 在如上所述的 S1P₁ 结合测定中测试且结果四舍五入为两位有效数字, 如在表 A 中显示得到。在一些情况下, 所述值为多个试验的平均值, 其中 N 为实施的提供满意的剂量响应曲线的试验数目。当测试了多于一批的实施例时, 出现的值来自在方法 A 中允许比较 GTP γ SS1P₁ 和 GTP γ S S1P₃ 的批次 (数据在表 B 中显示)。数据未在不同批次的实施例化合物间取平均值。

[0422] 表 A

实施例编号	S1P ₁ 结合 IC ₅₀ (nM)	N
1	0.21	1
2	0.39	1
3	0.021	2
4	0.18	3
5	0.051	1
6	0.019	1
7	0.53	1
8	6.5	1
Comp. A	2.5	1

[0423]

[0424] 方法 A : 受体 [35S]GTP γ S 结合测定

[0425] 将化合物载入至 384 Falcon v- 底部板 (0.5 μl/孔, 3 倍稀释) 中。将由 S1P₁/CHO 细胞或 EDG3-Ga15-bla HEK293T 细胞制备的膜加入至具有 MULTIDROP® 的化合物的板 (40 μl/孔, 最终蛋白 3 μg/孔) 中。将 [³⁵S]GTP (1250 Ci/mmol, Perkin Elmer) 在测定缓冲液 (含有 20mM HEPES, pH7.5, 10mM MgCl₂, 150mM NaCl, 1mM EGTA, 1mM DTT, 10 μM GDP, 0.1% 无脂肪酸的 BSA 和 10 μg/ml 皂苷) 中稀释至 0.4nM。将 40 μl 的 [³⁵S]GTP 溶液加入至终浓度为 0.2nM 的化合物板中。将反应混合物在室温保持 45 分钟。在培养结束时,

将在化合物板中的所有混合物经 GPCR 机器人系统转移至 384 孔 FB 滤板中。通过使用改进的复合 Embla 板洗涤器将滤板用水洗涤 4 次并在 60°C 干燥 45 分钟。将 30 μ l MicroScint 20 闪烁液加入至每孔中以便在 Packard TOPCOUNT® 中计数。EC₅₀ 定义为相应于针对每个单独测试化合物得到的 50% 的 Y_{max} (最大效应) 的激动剂浓度。

[0426] 方法 B : 受体 [35S]GTP γ S SPA 结合测定

[0427] 将由 S1P₁ 或 S1P₃ 转染的 CHO 细胞制备的膜 (2 μ g 蛋白) 在 96-孔白板 (CORNING® 3693) 中在 50 μ l 反应混合物 (含有 7.5 μ l WGA-PVT 珠子 (20mg/ml) 和 5 μ M GDP, 20mM HEPES pH7.4, 100mM NaCl, 1mM EDTA, 5mM MgCl₂, 10 μ g/ml 皂苷, 0.1% BSA 和 1 μ M 亮肽素) 中培养, 其中测试化合物在 DMSO 中稀释。测定开始于将 25 μ l 0.2nM [³⁵S]-GTP γ S (1250Ci/mmol; NEN) 加入至测定缓冲液中。在室温培养 90 分钟后, 将板以 1000rpm 旋转 5 分钟。将结合的放射性核素在 TOPCOUNT® 中测量, 表示为相对于 S1P (1 μ M) 激活的效应百分数。使用 Excel 中的四参数逻辑方程分析数据。在等式 $Y = A + ((B-A) / (1 + ((EC_{50}/X)^D)))$ 中的四个参数如下所述: A 为在底部坪的 Y 值 (激动活性); B 为在顶部坪的 Y 值; EC₅₀ 为当效应为底部和顶部之间的中间位置时的 X 值 (激动剂浓度); D 为希尔系数。曲线不针对具有低于 50% 的 Y_{max} 值的化合物来产生。

[0428] 本发明的化合物和比较化合物 A 在如上所述的受体 [35S]GTP γ S 结合测定 (方法 A) 和受体 [35S]GTP γ S SPA 结合测定 (方法 B) 中测试且结果四舍五入为两位有效数字, 如在表 B 中显示得到。在一些情况下, 所述值为多个试验的平均值, 其中 N 为实施的提供满意的剂量响应曲线的试验数目。当测试了多于一批的实施例时, 出现的值来自允许比较 GTP γ S S1P₁ 和 GTP γ S S1P₃ 的批次 (其中进行了最多次数的试验)。优选地, 相同批次在方法 A 和方法 B 中检测。数据未在不同批次的实施例化合物间取平均值。

[0429] 表 B

实施例 编号	方法 A				方法 B			
	GTP γ S S1P ₁	N	GTP γ S S1P ₃	N	GTP γ S S1P ₁	N	GTP γ S S1P ₃	N
	EC ₅₀ (nM)		EC ₅₀ (nM)		EC ₅₀ (nM)		EC ₅₀ (nM)	
1	1.4	1	NC	0	0.17	11	6,200	8
2	4.5	1	ND	0	0.34	10	4,400	5
3	0.82	1	2,100	1	0.65	3	280	3
4	39	2	7,000	1	1.0	1	ND	0
5	3.7	1	1,900	1	0.61	6	ND	0
6	ND	0	ND	0	0.082	9	430	3
7	3.3	1	19,000	2	ND	0	ND	0
8	450	2	2,300	1	68	1	ND	0
Comp. A	84	1	97	1	0.25	10	20	3

[0431] ND = 未确定

[0432] NC = 未得到满意的剂量响应曲线

[0433] 由表 B 中的数据计算得到的 $\text{GTP} \gamma \text{S S1P}_3\text{EC}_{50}$ 值与 $\text{GTP} \gamma \text{S S1P}_1\text{EC}_{50}$ 值的比例在表 C 中显示。

[0434]

表 C

实施例 编号	$\text{GTP} \gamma \text{S S1P}_3/\text{S1P}_1$ (方法 A)	$\text{GTP} \gamma \text{S S1P}_3/\text{S1P}_1$ (方法 B)
1	ND	37,000
2	ND	13,000
3	2,600	430
4	179	ND
5	513	ND
6	ND	5,200
7	5,800	ND
8	5.1	ND
Comp. A	1.2	78

[0435] 在表 C 中,对于 $\text{GTP} \gamma \text{S S1P}_3\text{EC}_{50}$ 值与 $\text{GTP} \gamma \text{S S1P}_1\text{EC}_{50}$ 值的比例的较大值表明优于 S1P_3 活性对 S1P_1 活性更大的选择性。

[0436] 由实施例 1 至 8 示例说明的本发明的化合物相比于比较化合物 A 显示了令人惊讶的作为 S1P_1 激动剂的优势以及优于 S1P_3 的选择性。如经方法 A 所测量,在表 C 中报道的本发明的示例性化合物具有在 179 至 5,800 范围内的选择性比例,而作为比较,比较化合物 A 具有 1.2 的选择性比例。如经方法 B 所测量,在表 C 中报道的本发明的示例性化合物具有在 430 至 37,000 范围内的选择性比例,而作为比较,比较化合物 A 具有 78 的选择性比例。

[0437] 本发明的化合物具有作为 S1P_1 激动剂的活性以及优于 S1P_3 的选择性,且因此可用于治疗、预防或治愈各种 S1P_1 受体相关的病症,同时降低或最小化由于 S1P_3 活性导致的副作用。本发明化合物的令人惊讶的选择性表明它们如下的潜在用途:治疗、预防或治愈自身免疫疾病和炎症疾病诸如多发性硬化、类风湿性关节炎、炎症肠病或牛皮癣,同时降低或最小化可能的心血管副作用诸如心动过缓和高血压。本发明化合物的其它潜在用途包括最小化或降低移植器官的排斥,同时降低或最小化由于 S1P_3 活性导致的副作用。

[0438] 啮齿动物的血液淋巴细胞降低 (BLR) 测定

[0439] 对路易斯大鼠或 BALB/c 小鼠口服给予测试物质(作为在媒介物中的溶液或混悬液)或单独的媒介物(聚乙二醇 300,“PEG300”)。通过眶后出血(retro-orbital bleeding)在 4 小时和 24 小时抽取血液。血液淋巴细胞计数在 ADVIA® 120 血液学分析器(Siemens Healthcare Diagnostics)上确定。结果作为如下测量:在 4 小时和 24 小时测量中相比于媒介物处理组的循环淋巴细胞百分数的降低。结果表示在每个处理组(n = 3-4)内的所有动物的平均结果。

[0440] 本发明的化合物在如上所述的血液淋巴细胞降低 (BLR) 测定中测试且结果在针对大鼠的表 D 中以及针对小鼠的表 E 中显示。

[0441] 表 D

[0442]

剂量 (mg/kg)	实施例 1 在 4 小时的淋巴细胞降低百分数	实施例 1 在 24 小时的淋巴细胞降低百分数
0.3	82%	48%
1.0	85%	80%

[0443] 表 E

[0444]

剂量 (mg/kg)	实施例 1 在 4 小时的淋巴细胞降低百分数	实施例 1 在 24 小时的淋巴细胞降低百分数
0.008	13%	8%
0.04	67%	39%
0.2	82%	74%
1.0	83%	77%

[0445] 大鼠辅料诱导的关节炎 (AA) 测定

[0446] 对雄性路易斯大鼠 (150-175g ;Harlan, n = 8 处理组) 在尾部底侧用 100 μ l 于不完全 Freund' s 辅料 (sigma) 中的 10mg/ml 新鲜研磨的乳酪分枝杆菌 (*Mycobacterium butyricum*) (Difco Laboratories) 进行免疫。由免疫当天开始对动物每日一次给予测试物质 (作为在媒介物中的溶液或混悬液) 或单独的媒介物 (聚乙二醇 300, "PEG300")。它们后爪的大小在水移动容积测量器 (water displacement plethysmometer) (Ugo Basile, Italy) 中测量。在疾病发作之前 (第 7 天和第 10 天之间) 进行基线爪部测量。然后一周进行三次该爪部测量直到在第 20 天研究结束。所有涉及动物的操作由机构动物管理及使用委员会 (Institutional Animal Care Use Committee) 检查并认可。

[0447] 本发明的化合物在如上所述的大鼠辅料诱导的关节炎测定中测试且结果在表 F 中显示。

[0448]

表 F

组	第 20 天的爪部肿胀(mL)	
媒介物	平均值	1.11
	SD	0.67
实施例 1 (0.03 mg/kg)	平均值	1.48
	SD	0.92
实施例 1 (0.1 mg/kg)	平均值	1.41
	SD	0.50
实施例 1 (0.5 mg/kg)	平均值	0.72
	SD	0.79
实施例 1 (3.0 mg/kg)	平均值	0.07
	SD	0.12

[0449] 在针对类风湿性关节炎的动物模型 - 大鼠辅料诱导的关节炎模型中, 如通过路易斯大鼠的爪部肿胀所测量, 使用预防性口服给药方案的实施例 1 抑制疾病进展。