

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680044150.6

[51] Int. Cl.

C07D 271/06 (2006.01)

C07D 413/04 (2006.01)

A61K 31/4245 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008年12月3日

[11] 公开号 CN 101316829A

[22] 申请日 2006.11.22

[21] 申请号 200680044150.6

[30] 优先权

[32] 2005.11.30 [33] GB [31] 0524428.0

[86] 国际申请 PCT/EP2006/011216 2006.11.22

[87] 国际公布 WO2007/062773 英 2007.6.7

[85] 进入国家阶段日期 2008.5.26

[71] 申请人 7TM 制药联合股份有限公司

地址 丹麦霍尔肖姆

[72] 发明人 J·-M·雷塞维尔

A·克里斯腾森 M·格里姆斯楚普

T·霍格博格

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 张宜红

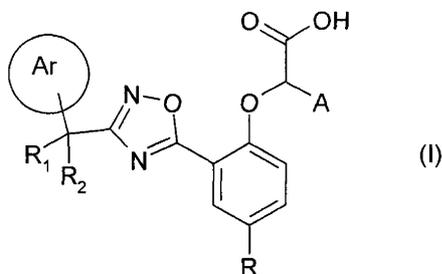
权利要求书 4 页 说明书 30 页

[54] 发明名称

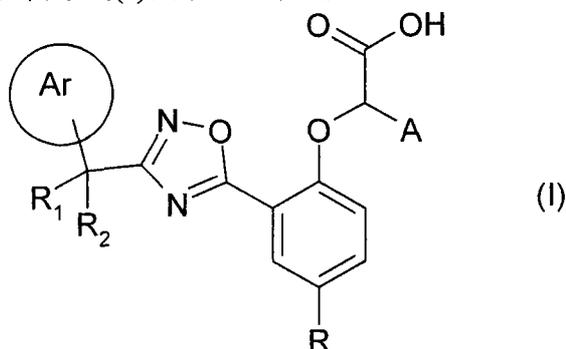
具有 CRTH2 受体活性的噁二唑衍生物

[57] 摘要

式(I)的化合物为 CRTH2 配体, 用于治疗炎症性疾病、自身免疫性疾病、呼吸道疾病或过敏性疾病: 式中, R_1 是氢或甲基, R_2 是任选取代的环烷基, 或任选取代的具有 4-6 个环原子的非芳香杂环基; 或 R_1 和 R_2 与它们所结合的碳原子一起形成任选取代的环烷基, 或任选取代的具有 4-6 个环原子的非芳香杂环基环; R 是氢或任选的取代基; 含有取代基 R 的苯环任选被 1、2 或 3 个任选取代基取代; A 是氢或 C_1-C_3 烷基; 环 Ar 是任选取代的苯基或者 5-元或 6-元单环杂芳基环。



1. 除 {4-溴-2-[3-(1-苯基环丙基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]苯氧基} 乙酸或其盐、水合物或溶剂合物之外的式(I)的化合物或其盐、水合物或溶剂合物:



式中:

R_1 是氢或甲基, R_2 是任选取代的环烷基, 或任选取代的具有 4-6 个环原子的非芳香杂环基; 或 R_1 和 R_2 与它们所结合的碳原子一起形成任选取代的环烷基, 或任选取代的具有 4-6 个环原子的非芳香杂环基;

R 是氢或任选的取代基;

含有取代基 R 的苯环任选被 1、2 或 3 个任选取代基取代;

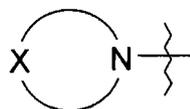
A 是氢或 C_1 - C_3 烷基;

环 Ar 是任选取代的苯基或者 5-元或 6-元单环杂芳基环。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, R_1 是氢或甲基, R_2 是任选取代的环丙基、环丁基、环戊基、或环己基。

3. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, R_1 是氢或甲基, R_2 是环丙基。

4. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, R_1 是氢或甲基, R_2 是下式所示的基团



其中, 该环含有 4-6 个环原子, X 选自 $-CH_2-$ 、 $-CH(C_1-C_3 \text{ 烷基})-$ 、 $-C(C_1-C_3 \text{ 烷基})_2-$ 、 $-CH(\text{环烷基})-$ 、 $-CH(NH_2)-$ 、 $-C(CH_3)(NH_2)-$ 、 $-CH(NH(C_1-C_3 \text{ 烷基}))-$ 、 $-CH(N(C_1-C_3 \text{ 烷基})_2)-$ 、 $-CH(NH(\text{环烷基}))-$ 、 $-CH(NHCO(C_1-C_3 \text{ 烷基}))-$ 、

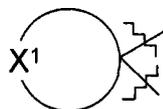
-CH(NHCO(环烷基))-、-CH(NHSO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-CH(NHSO₂(环烷基))-、
-CH(OH)-、-CH(C₁-C₃ 烷氧基)-、-CH(环烷基氧基)-、-CO-、-SO₂-、-O-、-NH-、
-N(C₁-C₃ 烷基)-、-N(环烷基)-、-CONH-、-CON(C₁-C₃ 烷基)-、-CON(环烷基)-、
-N(CO(OC₁-C₃ 烷基))-、-N(CO(O-环烷基))-、-N(CO(CH₂OH))-、-SO₂NH-、
-SO₂N(C₁-C₆ 烷基)-、-SO₂N(环烷基)-、-N(SO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-N(SO₂(环烷基))-、
-N(CO(C₁-C₃ 烷基))-或-N(CO(环烷基))-。

5. 如权利要求 4 所述的化合物, 其特征在于, X 是-CH₂-、-SO₂-、-CO- (当与 N 相邻时)、-O-、-N(SO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-N(SO₂(环烷基))-、-N(CO(C₁-C₃ 烷基))-、-N(CO(环烷基))-、-CONH-、-CON(C₁-C₃ 烷基)-或-CON(环烷基)-。

6. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, R₁ 和 R₂ 与它们所结合的碳原子一起形成任选取代的环丙基、环丁基、环戊基、或环己基环。

7. 如权利要求 6 所述的化合物, 其特征在于, R₁ 和 R₂ 与它们所结合的碳原子一起形成环丙基环。

8. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, R₁ 和 R₂ 与它们所结合的碳原子一起形成下式所示的二价环



其中, 该环含有 4-6 个环原子, X¹ 选自-CH₂-、-CH(C₁-C₃ 烷基)-、-C(C₁-C₃ 烷基)₂-、-CH(环烷基)、-CH(NH₂)-、-CMe(NH₂)-、-CH(NH(C₁-C₃ 烷基))-、-CH(N(C₁-C₃ 烷基)₂)-、-CH(NH(环烷基))-、-CH(NHCO(C₁-C₃ 烷基))-、-CH(NHCO(环烷基))-、-CH(NHSO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-CH(NHSO₂(环烷基))-、-CH(OH)-、-CH(C₁-C₃ 烷氧基)-、-CH(环烷基氧基)-、-SO₂-、-O-、-NH-、-N(C₁-C₃ 烷基)-、-N(环烷基)-、-CONH-、-CON(C₁-C₃ 烷基)-、-CON(环烷基)-、-SO₂NH-、-SO₂N(C₁-C₆ 烷基)-、-SO₂N(环烷基)-、-N(SO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-N(SO₂(环烷基))-、-N(CO(OC₁-C₃ 烷基))-、-N(CO(O-环烷基))-、-N(CO(CH₂OH))-、-N(CO(C₁-C₃ 烷基))-或-N(CO(环烷基))-。

9. 如权利要求 8 所述的化合物, 其特征在于, X¹ 是-CH₂-、-SO₂-、-O-、-CONH-、-CON(C₁-C₃ 烷基)-、-CON(环烷基)-、-N(SO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-N(SO₂(环烷基))-、-N(CO(C₁-C₃ 烷基))-或-N(CO(环烷基))-。

10. 如上述权利要求中任一项所述的化合物,其特征在於,A 是氢或甲基。
11. 如上述权利要求中任一项所述的化合物,其特征在於,R 是氟、氯、溴、(C₁-C₃)烷基、环烷基、三氟甲基、(C₁-C₃)烷氧基、(C₁-C₃)烷基巯基、三氟甲氧基、三氟甲硫基、氰基、(C₁-C₃ 烷基)SO₂-、NH₂SO₂-、(C₁-C₃ 烷基)NHSO₂-、(C₁-C₃ 烷基)₂NSO₂-、(环烷基)NHSO₂-、NH₂CO-、(C₁-C₃ 烷基)NHCO-、(C₁-C₃ 烷基)₂NHCO-或(环烷基)NHCO-。
12. 如上述权利要求中任一项所述的化合物,其特征在於,环 Ar 是任选取代的苯基、吡啶基、嘧啶基、二唑基、噁唑基、三嗪基、喹啉基、吡咯基、咪喃基、或噻唑基。
13. 如上述权利要求中任一项所述的化合物,其特征在於,Ar 中的任选取代基选自:氟、氯、溴、(C₁-C₃)烷基、环烷基、三氟甲基、(C₁-C₃)烷氧基、三氟甲氧基、三氟甲硫基、氰基、NH₂CO-、(C₁-C₃ 烷基)NHCO-、(C₁-C₃ 烷基)₂NHCO-、(环烷基)NHCO-、(C₁-C₃ 烷基)SO₂-、NH₂SO₂-、(C₁-C₃ 烷基)NHSO₂-、(环烷基)NHSO₂-和(C₁-C₃ 烷基)₂NSO₂-。
14. 如权利要求 1-11 中任一项所述的化合物,其特征在於,Ar 是吡啶酮环或吡啶 N-氧化物环。
15. 如上述权利要求中任一项所述的化合物,其特征在於,含 R 苯环中的任何任选取代基选自:氟、氯、溴、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、三氟甲硫基、(C₁-C₃ 烷基)SO₂-、NH₂SO₂-、(C₁-C₃ 烷基)NHSO₂-、(C₁-C₃ 烷基)₂NSO₂-、C₁-C₃ 烷基、氟 C₁-C₂ 烷基、二氟 C₁-C₂ 烷基、C₁-C₃ 烷氧基、环烷基、芳基、芳氧基、芳基(C₁-C₃)-或芳基(C₁-C₃ 烷氧基)-。
16. 一种含有如上述权利要求中任一项所述的化合物以及药学上可接受的载体的药物组合物。
17. 如上述权利要求中任一项所述的化合物在制造用于治疗对调节 CRTH2 受体活性有反应的疾病的组合物中的用途。
18. 一种治疗对调节 CRTH2 受体活性有反应的疾病的方法,该方法包括给予患有这种疾病的对象有效量的如上述权利要求中任一项所述的化合物。
19. 如权利要求 17 所述的用途或如权利要求 18 所述的方法,其特征在於,所述疾病是与前列腺素 D2 (PGD₂)或一种或多种其活性代谢物的水平升高有关

的疾病。

20. 如权利要求 17 所述的用途或如权利要求 18 所述的方法,其特征在於,所述疾病是炎性疾病、自身免疫性疾病、呼吸道疾病或过敏性疾病。

21. 如权利要求 17 所述的用途或如权利要求 18 所述的方法,其特征在於,所述疾病选自哮喘、鼻炎、过敏性气道综合征、过敏性鼻支气管炎、支气管炎、慢性阻塞性肺病(COPD)、鼻息肉病、结节病、农民肺、纤维化肺、囊性纤维化病、久咳、结膜炎、特应性皮炎、阿尔茨海默病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、艾滋病痴呆综合征、亨廷顿舞蹈病、额颞叶性痴呆症、路易体痴呆症、血管性痴呆、格-巴综合征、慢性脱髓鞘性多神经根神经瘤、多灶性运动神经病、丛病、多发性硬化、脑脊髓炎、全脑炎、小脑变性和脑脊髓炎、中枢神经系统损伤、偏头痛、中风、类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、贝切特病、粘液囊炎、腕管综合征、炎性肠病、克罗恩病、溃疡性结肠炎、皮炎、埃-当综合征(EDS)、纤维肌痛、肌盘膜痛、骨关节炎(OA)、骨坏死、银屑病关节炎、莱特尔综合征(反应性关节炎)、结节病、硬皮病、斯耶格伦综合征、软组织疾病、斯蒂尔病、腱炎、结节性多动脉炎、韦格纳肉芽肿病、肌炎(多肌炎皮肌炎)、痛风、动脉粥样硬化、红斑狼疮、系统性红斑狼疮(SLE)、I型糖尿病、肾炎综合征、肾小球肾炎、急性和慢性肾功能衰竭、嗜曙红性筋膜炎、高免疫球蛋白 E 综合征、脓毒症、脓毒性休克、心内局部缺血再灌注损伤、移植术后同种异体移植物排斥、或移植物抗宿主病。

22. 如权利要求 17 所述的用途或如权利要求 18 所述的方法,其特征在於,所述疾病选自哮喘、鼻炎、过敏性气道综合征、或过敏性鼻支气管炎。

具有 CRTH2 受体活性的噁二唑衍生物

本发明涉及作为 CRTH2(在 2 型 T 辅助细胞上表达的化学引诱物受体同源分子)受体配体的一类化合物在治疗对于对调节 CRTH2 受体活性有反应的疾病,尤其是具有明显炎性成分的疾病中的应用。本发明还涉及这类配体的新成员以及含有它们的药物组合物。

已知多类抗炎药物,包括称为 NSAID 的非类固醇抗炎化合物和环加氧酶(COX-1 和 COX-2)的抑制剂。在其中的一个环中具有羧基甲氧基取代基的苯甲酰基苯乙酸和一些二苯甲酮衍生物已被鉴定为抗炎药物(参见,例如 Khanum 等, *Bioorganic Chemistry*, 第 32 卷, 第 4 号, 2004, 第 211-222 页和其中所引用的参考文献)。有报导说一些邻苯基氨基甲酰基-苯氧基乙酸和邻-苯甲酰胺基-苯氧基甲基四唑是可能的抗炎药物,参见例如 Drain 等, *J. Pharm. Pharmac.*, 1971, 23, 857-864 和如上, 1970, 22, 684-693。WO 99/15520 公开了一些在一个环中具有羧基甲氧基或四唑基甲氧基取代基的二苯甲酮衍生物,据说所合成的这组化合物的成员具有作为过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)抑制剂的活性,并可用于各种疾病,包括糖尿病、心脏病和循环系统病。

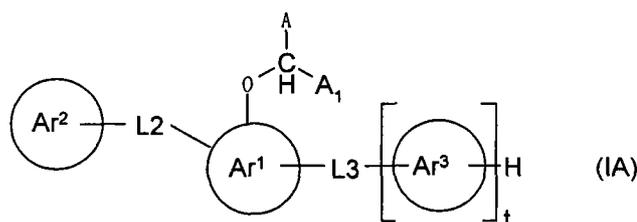
G 蛋白偶联受体 CRTH2 的天然配体是前列腺素 D₂。如其名字所暗示的, CRTH2 表达在 2 型 T 辅助细胞上(Th₂ 细胞),但也已知它可表达在嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞上。PGD₂ 与 CRTH2 受体相结合从而激活细胞进而导致复杂的生物学应答,包括炎性介质释放。因此,PGD₂ 水平升高与许多具有强烈炎性成分的疾病有关,例如哮喘、鼻炎和变态反应。所以,阻断 PGD₂ 与 CRTH2 受体的结合可以是治疗这种疾病的有用治疗方案。

一些明显用作 PGD₂ 拮抗剂的小分子 CRTH2 配体是已知的,例如,在以下专利公开中所提出的:WO 03/097042、WO 03/097598、WO 03/066046、WO 03/066047、WO 03/101961、WO 03/101981、GB 2388540、WO 04/089885 和 WO 05/018529。

在上述一些专利公开中所提及的 PGD₂ 拮抗剂化合物的结构具有与吲哚美

辛的吲哚核相关的二环或三环核心环体系，吲哚美辛是目前已知的与 CRTH2 结合的抗炎剂。本发明的出发点在于确认一类化合物，该类化合物具有单环核，该单环核的取代基部分是通过单环核来选择和定位，以与 CRTH2 相互作用和结合。因此，本发明涉及的化合物类型能够调节 CRTH2 活性，可用于治疗能够得益于这种调节的疾病，例如哮喘、变态反应和鼻炎。

我们的待批国际申请 PCT/EP2005/005884 涉及式(IA)的化合物或其盐、水合物或溶剂合物在制造用于治疗对调节 CRTH2 受体活性有反应的疾病的组合物中的应用：



式中：

A 代表羧基-COOH，或羧基生物电子等排体；

A₁ 是氢或甲基；

环 **Ar¹** 是任选取代的苯环或者 5-元或 6-元的单环杂芳基环，其中 **AA₁CHO-** 和 **L2** 连接于相邻的环原子；

环 **Ar²**、**Ar³** 各自独立代表苯环，或 5-元或 6-元的单环杂芳环，或由 5-元或 6-元碳环或杂环苯并稠合或与 5-或 6-元单环杂芳环稠合组成的二环体系，所述环或环系统可任选被取代；

t 是 0 或 1；

L2 和 **L3** 各自独立代表式 $-(Alk^1)_m-(Z)_n-(Alk^2)_p$ 的二价基，其中

m、**n** 和 **p** 独立地是 0 或 1，

Alk¹ 和 **Alk²** 独立地是任选取代的直链或支链 C₁-C₃ 亚烷基或 C₂-C₃ 亚烯基(alkenylene)，可以含有相容的-O-、-S-或-NR-键，其中 R 是氢或 C₁-C₃ 烷基，以及

Z 是-O-、-S-、-C(=O)-、-SO₂-、-SO-、-NR-、-NRSO₂-、-SO₂NR-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-NRCONH-、-NHCONR-、-NRC(=NR)NH-、-NHC(=NR)NR-、-C(R)=N-NR-或-NR-N=C(R)-，其中 R 是氢或 C₁-C₃ 烷基；或二价的 5-元或 6-元单环碳环或杂环基，

前提是：

(A) L2 和 L3 的总长度不超过 10 个碳原子的未支化的饱和链的长度；

(B) 当 Ar^2 是任选取代的苯基时，L2 不是 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 或 $-NRC(=O)-$ ；

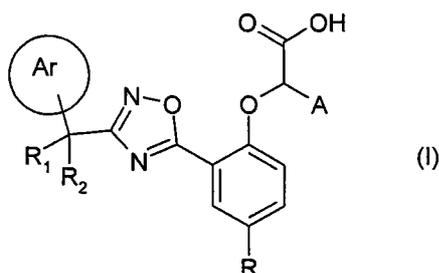
(C) (a) L2 不是键，(b) 当 n 是 1， Z 是芳基或杂芳基时，L2 中的 p 不是 0，

(D) (a) L2 不是 $-O-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NR-$ 、 $-CHR^X R^Y-$ 或 $-CH(R^X)(OR^Y)-$ ，其中 R^X 和 R^Y 独立地是氢、卤素、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或 C_3-C_7 环烷基、或者连接形成环，(b) 当 p 是 1， n 是 1， Z 是芳基或杂芳基时， Alk^2 不是 $-CHR^X R^Y-$ 或 $-CH(R^X)(OR^Y)-$ ，其中 R^X 和 R^Y 独立地是氢、卤素、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或 C_3-C_7 环烷基、或者连接形成环。

尽管还未公开，将上述文件 PCT/EP2005/005884 的描述部分的复本作为附件附于本文。

本发明所涉及的化合物与 PCT/EP2005/005884 中的那些化合物有关，在与 PCT/EP2005/005884 所述化合物的环 Ar^1 相对应的苯环上连接有芳基甲基噁二唑基，所述基团在芳基和噁二唑环之间的碳原子上具有如下所述的特定取代。

根据本发明，提供了除 {4-溴-2-[3-(1-苯基环丙基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]苯氧基} 乙酸或其盐、水合物或溶剂合物之外的式(I)的化合物或其盐、水合物或溶剂合物：



式中

R_1 是氢或甲基， R_2 是任选取代的环烷基，或任选取代的具有 4-6 个环原子的非芳香杂环基；或 R_1 和 R_2 与它们所结合的碳原子一起形成任选取代的环烷基，或任选取代的具有 4-6 个环原子的非芳香杂环基环；

R 是氢或任选的取代基；

含有取代基 R 的苯环任选被 1、2 或 3 个任选取代基取代；

A 是氢或 C₁-C₃ 烷基;

环 Ar 是任选取代的苯基或者 5-元或 6-元单环杂芳基环。

具有上述式(I)的化合物{4-溴-2-[3-(1-苯基环丙基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]苯氧基}乙酸(及其盐、水合物和溶剂合物), 式中 A 是氢, Ar 是苯基, R 是溴, 且 R₁ 和 R₂ 与它们所结合的碳原子一起形成环丙基环。由于该化合物已在 PCT/EP2005/005884 中具体描述, 因此被排除在本发明的所有方面之外。

在另一方面, 本发明提供了治疗患有对调节 CRTH2 受体活性有反应的疾病的对象的方法, 所述方法包括给予该对象一定量的如上文所定义和描述的可有效缓解该疾病的化合物(I)。

具体地说, 本发明所涉及的化合物可用于治疗与前列腺素 D2 (PGD₂)或一种或多种其活性代谢物水平升高有关的疾病。

这种疾病的例子包括哮喘、鼻炎、过敏性气道综合征、过敏性鼻炎、支气管炎、慢性阻塞性肺病(COPD)、鼻息肉病、结节病、农民肺、纤维化肺、囊性纤维化病、久咳、结膜炎、特应性皮炎、阿尔茨海默病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、艾滋病痴呆综合征、亨廷顿舞蹈病、额颞叶性痴呆症、路易体痴呆症、血管性痴呆、格-巴综合征、慢性脱髓鞘性多神经根神经瘤、多灶性运动神经病、丛病、多发性硬化、脑脊髓炎、全脑炎、小脑变性和脑脊髓炎、中枢神经系统损伤、偏头痛、中风、类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、贝切特病、粘液囊炎、腕管综合征、炎性肠病、克罗恩病、溃疡性结肠炎、皮炎、埃-当综合征(EDS)、纤维肌痛、肌盘膜痛、骨关节炎(OA)、骨坏死、银屑病关节炎、莱特尔综合征(反应性关节炎)、结节病、硬皮病、斯耶格伦综合征、软组织疾病、斯蒂尔病、腱炎、结节性多动脉炎、韦格纳肉芽肿病、肌炎(多肌炎皮炎)、痛风、动脉粥样硬化、红斑狼疮、系统性红斑狼疮(SLE)、I 型糖尿病、肾炎综合征、肾小球肾炎、急性和慢性肾功能衰竭、嗜曙红性筋膜炎、高免疫球蛋白 E 综合征、脓毒症、脓毒性休克、心内局部缺血再灌注损伤、移植术后同种异体移植物排斥、或移植物抗宿主病。

然而, 本发明所涉及的化合物主要用于治疗哮喘、鼻炎、过敏性气道综合征和过敏性鼻炎。

文中所用的术语“(C_a-C_b)烷基”指具有 a 至 b 个碳原子的直链或支链烷基,

其中 a 和 b 是整数。因此，例如，当 a 是 1 而 b 是 6 时，该术语包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基和正己基。

文中所用的术语“环烷基”是指具有 3-8 个碳原子的单环饱和碳环基，包括，例如，环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。

文中所用的非限制性的术语“芳基”是指单环、二环或三环碳环芳基，包括具有两个通过共价键直接连接的单环碳环芳环的基。这类基的示例是苯基、联苯基和萘基。

文中所用的非限制性术语“杂芳基”是指含有一个或多个选自 S、N 和 O 的杂原子的单环、二环或三环芳基，包括具有通过共价键直接相连的两个这类单环或通过共价键直接相连的一个这类单环和一个单环芳环的基。这类基的示例是噻吩基、苯并噻吩基、呋喃基、苯并呋喃基、吡咯基、咪唑基、苯并咪唑基、噻唑基、苯并噻唑基、异噻唑基、苯并异噻唑基、吡唑基、噁唑基、苯并噁唑基、异噁唑基、苯并异噁唑基、异噁唑基、三唑基、苯并三唑基、噻二唑基、噁二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、哒嗪基、三嗪基、吲哚基和吲唑基。

文中所用的非限制性术语“杂环基”或“杂环的”包括如上所定义的“杂芳基”，还指含有一个或多个选自 S、N 和 O 的杂原子的单环、二环或三环非芳族基，以及由含有一个或多个这种杂原子的单环非芳族基与另一个这种基或与单环碳环基共价连接所组成的基团。这类基的示例是吡咯基、呋喃基、噻吩基、哌啶基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、噻二唑基、吡唑基、吡啶基、吡咯烷基、嘧啶基、吗啉基、哌嗪基、吲哚基、吗啉基、苯并呋喃基、吡喃基、异噁唑基、苯并咪唑基、亚甲基二氧苯基、亚乙基二氧苯基、马来酰亚胺基和琥珀酰亚胺基。

除非在文中出现的地方另有说明，应用于文中任何部分的术语“取代”是指最多被四个相容的取代基取代，各取代基独立地为，例如，(C₁-C₆)烷基、环烷基、(C₁-C₆)烷氧基、羟基、羧基(C₁-C₆)烷基、巯基、巯基(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷硫基、卤素(包括氟、溴和氯)、全氟化或部分氟化的(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基或(C₁-C₃)烷硫基如三氟甲基、三氟甲氧基和三氟甲硫基、硝基、腈基(-CN)、氧代、苯基、苯氧基、-COOR^A、-COR^A、-OCOR^A、-SO₂R^A、-CONR^AR^B、

$-\text{SO}_2\text{NR}^{\text{A}}\text{R}^{\text{B}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{A}}\text{R}^{\text{B}}$ 、 $-\text{OCONR}^{\text{A}}\text{R}^{\text{B}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{B}}\text{COR}^{\text{A}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{B}}\text{COOR}^{\text{A}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{B}}\text{SO}_2\text{OR}^{\text{A}}$ 或 $-\text{NR}^{\text{A}}\text{CONR}^{\text{A}}\text{R}^{\text{B}}$ ，其中 R^{A} 和 R^{B} 独立地是氢或 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基，或者在 R^{A} 和 R^{B} 与同一个 N 原子相连时， R^{A} 和 R^{B} 一起与该氮原子形成环氨基环。当取代基是苯基或苯氧基时，其苯环本身可以被上述除苯基或苯氧基以外的任何取代基取代。“任选的取代基”可以是上述取代基中的一种。

文中所用的术语“盐”包括碱加成盐、酸加成盐和季铵盐。本发明的酸性化合物可与以下所列的碱形成盐(包括药学上可接受的盐)：例如，氢氧化铵；碱金属氢氧化物，诸如氢氧化钠和氢氧化钾；碱土金属氢氧化物，诸如氢氧化钙、氢氧化钡和氢氧化镁；有机碱，诸如 N-甲基-D-葡萄糖胺、胆碱三(羟基甲基)氨基-甲烷、L-精氨酸、L-赖氨酸、N-乙基哌啶、二苄胺等。那些为碱性的化合物(I)可与以下所列的酸形成盐(包括药学上可接受的盐)：无机酸，例如，氢卤酸如盐酸或氢溴酸、硫酸、硝酸或磷酸等；有机酸，例如乙酸、酒石酸、丁二酸、富马酸、马来酸、苹果酸、水杨酸、柠檬酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、苯甲酸、苯磺酸、谷氨酸、乳酸和扁桃酸等。

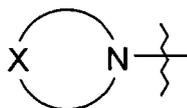
因为存在不对称原子或旋转限制，本发明所涉及的化合物可以一种或多种立体异构体的形式存在，可作为在各手性中心具有 R 或 S 立体化学的多个立体异构体存在，或作为在各手性轴具有 R 或 S 立体化学的阻转异构体存在。本发明包括所有这类对映异构体和非对映异构体和它们的混合物。

本发明涉及的化合物(I)的药物前体如酯的应用也是本发明的一部分。

对于依据本发明上述方面的应用，化合物(I)中可以存在以任何相容组合形式的以下结构特征：

当 R_1 是氢或甲基，且 R_2 是任选取代的环烷基时， R_2 可以是，例如，任选取代的环丙基、环丁基、环戊基、或环己基；

当 R_1 是氢或甲基，且 R_2 是任选取代的具有 4-6 个环原子的非芳香杂环基时， R_2 环基团可以是，例如，下式所示



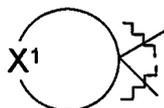
式中，该环含有 4-6 个环原子，X 选自 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{C}_1\text{-C}_3 \text{ 烷基})-$ 、 $-\text{C}(\text{C}_1\text{-C}_3 \text{ 烷基})_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{环烷基})-$ 、 $-\text{CH}(\text{NH}_2)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)-$ 、 $-\text{CH}(\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_3 \text{ 烷基}))-$ 、

-CH(N(C₁-C₃ 烷基)₂)-、-CH(NH(环烷基))-、-CH(NHCO(C₁-C₃ 烷基))-、
 -CH(NHCO(环烷基))-、-CH(NHSO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-CH(NHSO₂(环烷基))-、
 -CH(OH)-、-CH(C₁-C₃ 烷氧基)-、-CH(环烷基氧基)-、-CO-、-SO₂-、-O-、-NH-、
 -N(C₁-C₃ 烷基)-、-N(环烷基)-、-CONH-、-CON(C₁-C₃ 烷基)-、-CON(环烷基)-、
 -N(CO(OC₁-C₃ 烷基))-、-N(CO(O-环烷基))-、-N(CO(CH₂OH))-、-SO₂NH-、
 -SO₂N(C₁-C₆ 烷基)-、-SO₂N(环烷基)-、-N(SO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-N(SO₂(环烷基))-、
 -N(CO(C₁-C₃ 烷基))-、或-N(CO(环烷基))-。在 X 的上述选择中，以下是本发明
 优选的：-CH₂-、-SO₂-、-CO-、-O-、-N(SO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-N(SO₂(环烷基))-、
 -N(CO(C₁-C₃ 烷基))-、-N(CO(环烷基))-、-CONH-、-CON(C₁-C₃ 烷基)-和-CON(环
 烷基)-。其中，在 X 的上述选择中，如果存在 C₁-C₃ 烷基，则甲基通常是优选
 的，而如果存在环烷基，则环丙基通常是优选的。

在本发明的化合物中，当 R₁ 是氢或甲基时，R₂ 基团的具体实例包括本文
 实施例中的化合物中的那些基团。

当 R₁ 和 R₂ 与它们所结合的碳原子一起形成任选取代的环烷基环时，该环
 可以是，例如，任选取代的环丙基、环丁基、环戊基、或环己基。

当 R₁ 和 R₂ 与它们所结合的碳原子一起形成任选取代的具有 4-6 个环原子
 的非芳香杂环基环时，该环可以是，例如，下式所示的基团



其中，该环含有 4-6 个环原子，X¹ 选自 -CH₂-、-CH(C₁-C₃ 烷基)-、-C(C₁-C₃
 烷基)₂-、-CH(环烷基)、-CH(NH₂)-、-CMe(NH₂)-、-CH(NH(C₁-C₃ 烷基))-、
 -CH(N(C₁-C₃ 烷基)₂)-、-CH(NH(环烷基))-、-CH(NHCO(C₁-C₃ 烷基))-、
 -CH(NHCO(环烷基))-、-CH(NHSO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-CH(NHSO₂(环烷基))-、
 -CH(OH)-、-CH(C₁-C₃ 烷氧基)-、-CH(环烷基氧基)-、-SO₂-、-O-、-NH-、-N(C₁-C₃
 烷基)-、-N(环烷基)-、-CONH-、-CON(C₁-C₃ 烷基)-、-CON(环烷基)-、-SO₂NH-、
 -SO₂N(C₁-C₆ 烷基)-、-SO₂N(环烷基)-、-N(SO₂(C₁-C₃ 烷基))-、-N(SO₂(环烷基))-、
 -N(CO(OC₁-C₃ 烷基))-、-N(CO(O-环烷基))-、-N(CO(CH₂OH))-、-N(CO(C₁-C₃
 烷基))-、或-N(CO(环烷基))-。在 X¹ 的上述选择中，以下是本发明优选的：-CH₂-、
 -SO₂-、-O-、-CONH-、-CON(C₁-C₃ 烷基)-、-CON(环烷基)-、-N(SO₂(C₁-C₃ 烷

基))-、-N(SO₂(环烷基))-、-N(CO(C₁-C₃ 烷基))-和-N(CO(环烷基))-。其中，在 X¹ 的上述选择中，如果存在 C₁-C₃ 烷基，则甲基通常是优选的，而如果存在环烷基，则环丙基通常是优选的。

在本发明的化合物中，当 R₁ 和 R₂ 与它们所结合的碳原子一起形成环时，这种环的具体例子包括本文实施例中的化合物中的那些环。

A 可以是氢、甲基、乙基、正丙基或异丙基。本发明优选其中 A 是氢或甲基的化合物。

R 可以是，例如，选自以下的取代基：氟、氯、溴、(C₁-C₃)烷基、环烷基、三氟甲基、(C₁-C₃)烷氧基、(C₁-C₃)烷基硫基、三氟甲氧基、三氟甲硫基、氰基、(C₁-C₃ 烷基)SO₂-、NH₂SO₂-、(C₁-C₃ 烷基)NHSO₂-、(C₁-C₃ 烷基)₂NSO₂-、(环烷基)NHSO₂-、NH₂CO-、(C₁-C₃ 烷基)NHCO-、(C₁-C₃ 烷基)₂NHCO-和(环烷基)NHCO-。

与附录 1 中化合物的环 Ar² 相对应的环 Ar 可以是，例如，附录 1 的示例性化合物中提到的或存在的任何 Ar² 基团。因此，该 Ar 基团可以是，例如，任选取代的苯基、吡啶基、嘧啶基、二唑基、噁唑基、三嗪基、喹啉基、吡咯基、呋喃基或噻唑基。

同样，Ar 中的任选取代基可以是，例如，附录 1 的示例性化合物中提到的或存在的任何任选 Ar² 取代基。因此，该环 Ar 中的任选取代基可选自：氟、氯、溴、(C₁-C₃)烷基、三氟甲基、(C₁-C₃)烷氧基、三氟甲氧基、三氟甲硫基、二甲基氨基、氰基、(C₁-C₃ 烷基)SO₂-、NH₂SO₂-、(C₁-C₃ 烷基)NHSO₂-和(C₁-C₃ 烷基)₂NSO₂-。

本发明的式(I)的化合物中的含 R 苯环对应于附录 1 的化合物中的环 Ar¹，因此附录 1 的示例性化合物中提到的或存在的任选 Ar¹ 取代基也可存在于本发明化合物的含 R 苯环中。因此，这种任选的取代基可选自：氟、氯、溴、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、三氟甲硫基、(C₁-C₃ 烷基)SO₂-、NH₂SO₂-、(C₁-C₃ 烷基)NHSO₂-、(C₁-C₃ 烷基)₂NSO₂-、NH₂CO-、(C₁-C₃ 烷基)NHCO-、(C₁-C₃ 烷基)₂NHCO-、(环烷基)NHCO-、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、环烷基、芳基、芳氧基、芳基(C₁-C₆)-或芳基(C₁-C₆ 烷氧基)-。

本发明还包括含有属于上述式(I)的化合物的化合物以及药学上可接受的

载体的药物组合物。

组合物

如上所述，本发明涉及的化合物能够调节 CRTH2 活性，可用于治疗能够得益于这种调节的疾病。这类疾病的例子如上所述，包括哮喘、变态反应和鼻炎。

应理解，对任何具体病患的具体剂量水平取决于许多因素，包括所用的具体化合物的活性、年龄、体重、大致健康状况、性别、饮食、给药时间、给药途径、排泄速率、联合用药和进行治疗的具体疾病的严重性。如药学领域中所需要的，根据临床试验来确定最佳的剂量水平和定量给药的频率。

可制备本发明涉及的化合物，用于通过与它们的药物动力学性质相容的任何途径给药。可口服给药的组合物的形式可以是片剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、锭剂、液体制剂和凝胶制剂，诸如口服、局部或无菌的胃肠外溶液或悬浮液。用于口服给药的片剂和胶囊剂可以是单位剂型，可含有常规的赋形剂，例如粘合剂，诸如糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨糖醇、黄耆胶或聚乙烯吡咯烷酮；填料，诸如乳糖、糖、玉米淀粉、磷酸钙、山梨糖醇或甘氨酸；压片润滑剂，诸如硬脂酸镁、滑石、聚乙二醇或二氧化硅；崩解剂，诸如马铃薯淀粉，或可接受的润湿剂如十二烷基硫酸钠。可根据通常制药行业中熟知的方法对药片进行包衣。口服液体制剂的形式可以是例如水性或油性悬浮液、溶液、乳液、糖浆或酏剂，或者可以表现为干燥产品，该产品在使用前与水或其它合适的载体重新构建。这类液体制剂可含有常规的添加剂，例如悬浮剂，诸如山梨糖醇、糖浆、甲基纤维素、葡萄糖浆、明胶氢化的食用脂肪；乳化剂，诸如卵磷脂、失水山梨糖醇单油酸酯或阿拉伯胶；非水性载体(可包括食用油)，诸如杏仁油、分馏的椰子油、油酯如丙三醇、丙二醇或乙醇；防腐剂，诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯，或山梨酸，以及如果需要的话，常规的增香剂或着色剂。

对于局部施用于皮肤，将药物制成乳膏、洗剂或软膏。可用于所述药物的乳膏或软膏制剂是本领域众所周知的常规制剂，例如标准药物手册如英国药典(British Pharmacopoeia)中所描述的。

对于局部施用于眼睛，将药物制成在合适的无菌水性或非水性载体中的溶液或悬浮液。该溶液或悬浮液中还可以含有：添加剂，例如缓冲剂，诸如偏亚硫酸氢钠或乙二胺四乙酸二钠(disodium edeate)；防腐剂，包括杀细菌剂和杀真菌剂，诸如乙酸苯汞或硝酸苯汞、苯扎氯铵或氯己定；和增稠剂，诸如羟丙甲纤维素。

也可以将该药物配制成用于吸入，例如作为鼻腔喷雾剂、或干粉或气溶胶吸入剂。

活性成分也可以在无菌介质中通过胃肠外给药。根据使用的载体和浓度，药物可以悬浮或溶解在载体中。有利的是，将如局部麻醉剂、防腐剂和缓冲剂之类的佐剂溶解在载体中。

本发明涉及的化合物可以单独给药，或者作为与其它用于治疗具有主要炎症成分的疾病的药物的联合治疗的一部分。在治疗哮喘、鼻炎和过敏性气道综合症的情况下，这类药物包括皮质类固醇、长效吸入性 β 激动剂、色甘酸、奈多罗米、茶碱、白细胞三烯受体拮抗剂、抗组胺剂和抗胆碱能药(例如，异丙托铵)且这些药物通常作为鼻腔喷雾剂、干粉或气溶胶吸入剂给药。

在治疗关节炎和相关炎症性疾病中，其它已知的药物包括糖皮质激素类、NSAID (非类固醇抗炎药物 - 常规的前列腺素合成抑制剂、COX-2 抑制剂、水杨酸盐)和 DMARD (缓解疾病的抗风湿性药物，诸如甲氨蝶呤、柳氮磺吡啶、金、环孢霉素)。

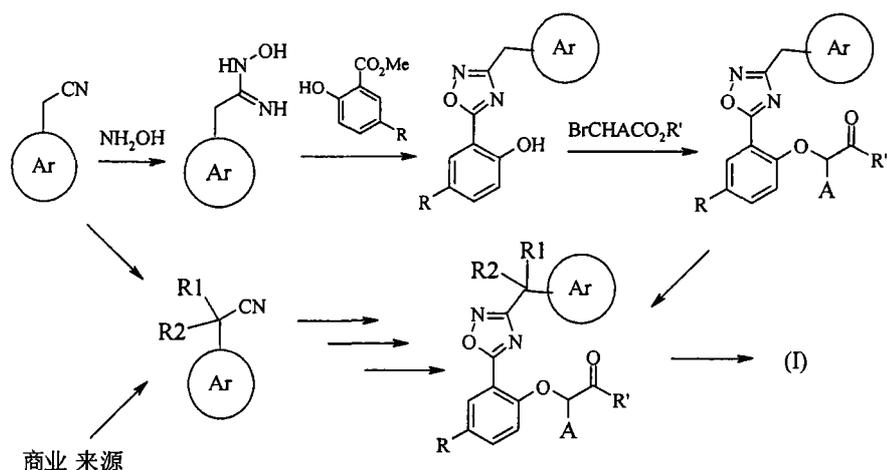
合成途径

本发明所涉及的化合物(I)的合成有多种合成方案，但是所有的方案都依赖于合成有机化学家已知的化学。因此，可根据标准文献中描述的且本领域技术人员所熟知的步骤来合成式 I 的化合物。典型的文献来源是：“高等有机化学 (*Advanced organic chemistry*)”，第 4 版(Wiley)，J March；“综合的有机转化 (*Comprehensive Organic Transformation*)”，第 2 版(Wiley)，R.C. Larock；“杂环化学手册 (*Handbook of Heterocyclic Chemistry*)”，第 2 版(Pergamon)，A.R. Katritzky)；例如在“*Synthesis*”、“*Acc. Chem. Res.*”、“*Chem. Rev.*”中找到的综述文章；或者可以通过在线标准文献搜索识别的主要文献资源，或如“*Chemical*

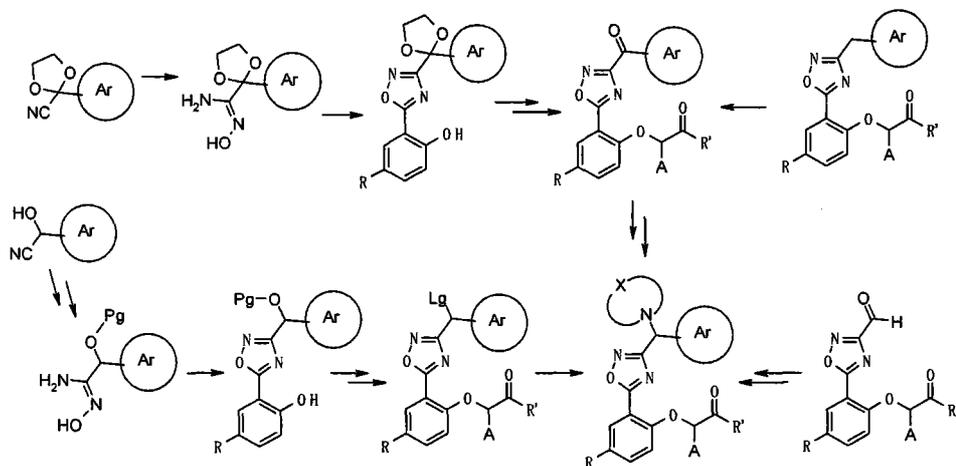
Abstracts(化学文摘)或“*Beilstein*”之类的次要资源。

具体地说,本发明的化合物可通过以下三段以及下面的实施例中总结的常规途径中描述的方法或通过一般有关附录 1 的化合物描述的方法来合成。

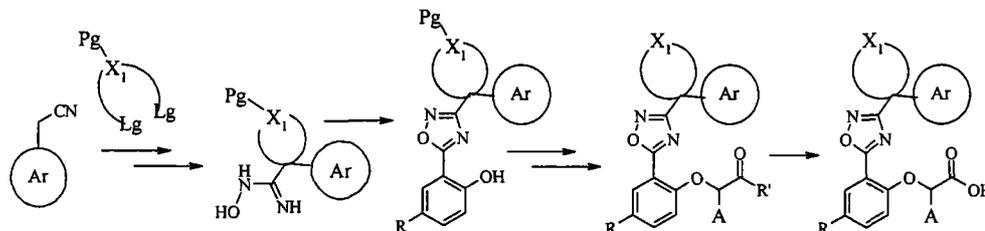
式 I 的核心噁二唑通常是将偕胺肟与任选取代的苯甲酸甲酯缩合形成的。通过碱催化的用例如溴乙酸酯或 2-溴丙酸酯对酚的取代然后将酯碱水解,来引入酸性侧链。R1 和 R2 基团可从商业原料中获得或者可在腈阶段利用碱催化的亲核取代引入,或者可在装配噁二唑系统之后引入 R₁ 和 R₂。



含有环氮环的 R₂ 基可从相应的酮引入,所述酮可通过标准氧化条件例如通过还原性烷基化获得。任选地,该酮可在合成的早期阶段以受保护的形式如缩酮引入。或者, R₂ 基可通过含离去基团 Lg 的相应化合物的亲核置换来引入,所述离去基团的例子如氯、溴、甲磺酰基或甲苯磺酰基。任选地,所述离去基团可在合成的早期阶段以受保护的形式引入,例如从羟腈引入,在将腈转化成噁二唑之前将羟腈作为缩醛保护。另一种方法利用噁二唑的醛功能,通过合适的含 Ar 部分的有机金属物质将噁二唑官能化,然后将所得羟基转化成含氮环。



例如，可通过以下策略引入具有在同一环上相毗邻的 R_1 和 R_2 的化合物，其中， Lg 代表离去基团，如氯、溴、甲磺酰基或甲苯磺酰基，当需要时 Pg 代表保护基，如对氮原子的 t -Boc。去保护之后，可通过标准反应进一步处理 X_1 基团，例如，如果 X_1 为仲胺，可用磺酰氯或乙酰氯将其烷基化或酰基化，以分别产生烷基化的胺、磺胺或羧酰胺。

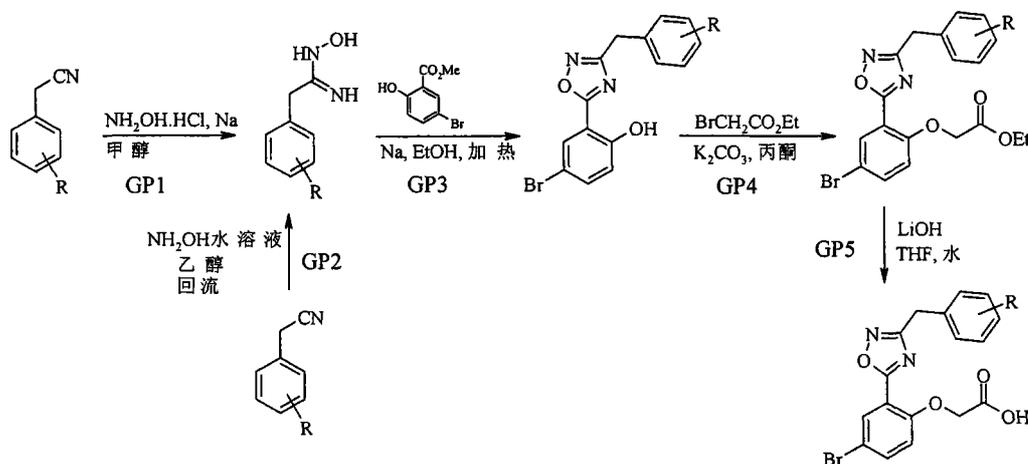


以下实施例说明了制备本发明所涉及的化合物。

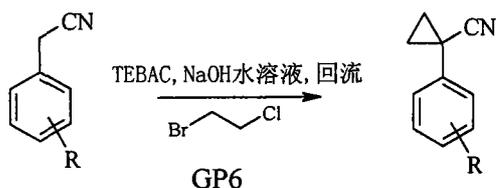
一般注释：

在 Personal Chemistry Emrys Optimizer 中进行微波化学。在 Bruker Avance AMX 300 MHz 仪器上得到 NMR 光谱。在 Agilent 1100 系列的仪器上进行 LC/MS。LC/MS 方法如下：An10p8：柱：XTerra MS C18；流速：1.0 毫升/分钟；梯度：0-5 分钟：15-100% MeCN(在水中)，5-7.5 分钟：100% MeCN；改性剂：5 mM 甲酸铵；MS-离子化模式：API-ES (正)。An10n8：柱：XTerra MS C18；流速：1.0 毫升/分钟；梯度：0-5 分钟：15-100% MeCN(在水中)，5-7.5 分钟：100% MeCN；改性剂：5 mM 甲酸铵；MS-离子化模式：API-ES (负)。TFA20p5：柱：Gemini 5 μ C18 50x2.00mm；流速：1.2 毫升/分钟；梯度：0-3.5 分钟：10-95% MeCN(在水中)，3.5-4.5 $\frac{1}{2}$ 分钟：95% MeCN；改性剂：0.1% TFA；MS-离子化模式：API-ES (正)。

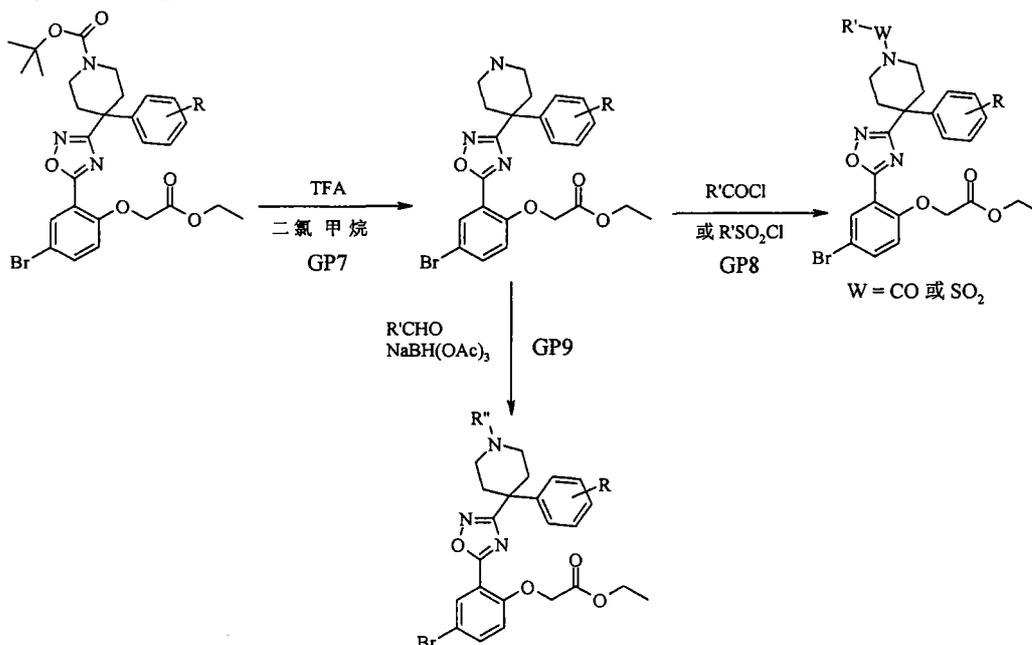
一般合成途径 I



一般合成途径 II



一般合成途径 III



一般过程 1 (GP1)

合成偕胺脒

将钠(1.25 mmol)加入无水甲醇(1ml)中以得到溶液 A。将盐酸羟胺(1.2 mmol)溶于无水甲醇(1mL)中以得到溶液 B。将溶液 A 和 B 混合，在冰浴中冷却并过滤。然后在此滤液中加入脒(1 mmol)并将反应混合物室温搅拌过夜。真空除去溶剂以得到相应的偕胺脒。该化合物通过硅胶层析(EtOAc/庚烷: 1/2)纯化，或者无需进一步纯化便可使用。

一般过程 2 (GP2)

合成偕胺脒

在 50 ml 96%乙醇中加入脒(10 mmol)和 50%羟胺(40mmol)的水溶液。将混合物加热回流 2 小时。冷却后，真空除去溶剂，加水并搅拌该混合物直到出现沉淀。将沉淀过滤并真空干燥。

一般过程 3 (GP3)

合成噁二唑

在钠(3.3 mmol)的无水乙醇(10 mL)溶液中依次加入偕胺肟(1.15 mmol)、分子筛(1g)和苯甲酸甲酯(1 mmol)。回流条件下搅拌 12 小时之后将反应混合物冷却, 并通过硅藻土垫过滤。硅藻土垫用甲醇和 CH_2Cl_2 洗涤。真空除去溶剂并将残余物和水一起搅拌。将沉淀滤出并干燥以得到相应的噁二唑。该化合物通过硅胶层析(EtOAc:庚烷, 1: 2)纯化, 或者无需进一步纯化即可使用。

一般过程 4 (GP4):

酚的烷基化

在苯酚(0.5 mmol)的丙酮(1 mL)溶液中加入溴乙酸乙酯(85 mg, 0.5 mmol)或 2-溴丙酸乙酯(91 mg, 0.5 mmol)或 2-(三氟甲基磺酰基)丙酸乙酯(125 mg, 0.5 mmol)和 K_2CO_3 (75 mg, 0.54 mmol), 将反应混合物室温搅拌 12 小时。然后真空浓缩反应混合物, 将残余物在水和乙酸乙酯之间分配。有机相用盐水洗涤, 干燥(MgSO_4)并浓缩。产物可直接使用, 或通过从 MeOH 重结晶或通过快速层析进行纯化。

一般过程 5 (GP5):

酯的水解

在酯(0.10 mmol)的 THF (0.5 mL)溶液中加入 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (6.3 mg, 0.15 mmol) 在水(0.5 mL)中的溶液。将反应物室温搅拌 2 小时以上, 加入 3% HCl 直到 pH 小于 1, 并用 CH_2Cl_2 萃取混合物。将有机相干燥(MgSO_4)并浓缩, 以得到产物。

一般过程 6 (GP6):

合成环丙基

在 50%氢氧化钠水溶液(10 ml)中的苯乙腈(phenylacetonitrile)(20 mmol)和三甲基苄基氯化铵(2 mmol)的混合物中缓慢加入 1-溴-2-氯乙烷(30 mmol)。将混合物回流 12 小时。冷却之后, 将混合物在水和乙酸乙酯之间分配。将有机相

干燥(Na_2SO_4), 真空浓缩并通过快速层析(EtOAc:庚烷, 1:4)纯化。

一般过程 7 (GP7):

除去 Boc 保护基

室温, 将 Boc 保护的化合物(2.6 mmol)在 10% TFA 的二氯甲烷(15ml)溶液中搅拌 12 小时。加入饱和碳酸钠水溶液并真空除去二氯甲烷。将残余物在水和乙酸乙酯之间分配。将有机相干燥(Na_2SO_4), 真空浓缩并通过快速层析(EtOAc, 然后 EtOAc: MeOH, 1:1)进行纯化。

一般过程 8 (GP8):

用 RCOCl 或 RSO_2Cl 将哌啶氮烷基化

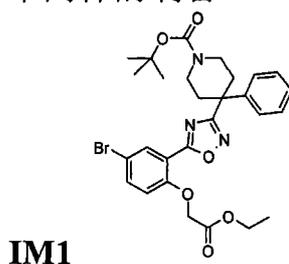
在二氯甲烷(5 ml)中的“哌啶”(0.3 mmol)和三乙胺(0.33mmol)的冷却(0°C)混合物中加入酰基氯或磺酰氯(0.33mmol)。将反应混合物室温搅拌 2 小时。在真空下除去溶剂。将残余物在水和二氯甲烷之间分配。将有机相干燥(Na_2SO_4), 真空浓缩并通过快速层析(EtOAc: 庚烷, 1:1)纯化, 或者无需进一步纯化即可使用。

一般过程 9 (GP9):

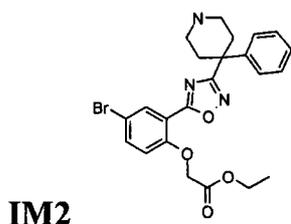
哌啶氮的还原性烷基化

在二氯甲烷(8 ml)中“哌啶”(0.2 mmol)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.9 mmol)的混合物中加入 37%甲醛(0.9 mmol)。将反应混合物室温搅拌过夜。加入饱和碳酸氢钠水溶液, 并用二氯甲烷萃取该化合物。将有机相干燥(Na_2SO_4), 真空浓缩, 并且无需进一步纯化即可使用。

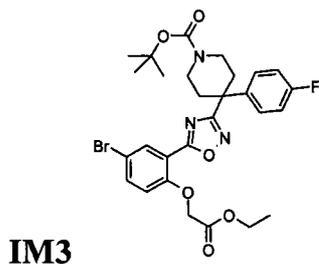
中间体的制备



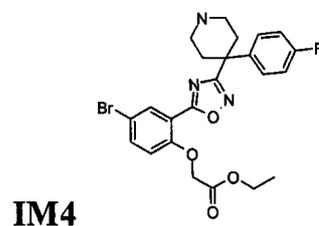
4-[5-(5-溴-2-乙氧基羰基甲氧基-苯基)-[1,2,4]噁二唑-3-基]-4-苯基-哌啶-1-羧酸叔丁酯。标题化合物是根据 GP2、GP3 和 GP4，从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯和 4-氰基-4-苯基-哌啶-1-羧酸叔丁酯制备的：LC/MS (tfa20p5.m) Rt 3.22 分钟， m/z 566 [M+H]⁺；



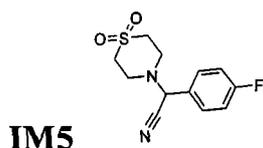
{4-溴-2-[3-(4-苯基-哌啶-4-基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸乙酯。标题化合物是根据 GP7，从中间体 IM1 制备的：LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.194 分钟， m/z 502 [M+H]⁺；



4-[5-(5-溴-2-乙氧基羰基甲氧基-苯基)-[1,2,4]噁二唑-3-基]-4-(4-氟-苯基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯。标题化合物是根据 GP2、GP3 和 GP4，从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯和 4-氰基-4-(4-氟-苯基)-哌啶-1-羧酸叔丁酯制备的：LC/MS (tfa20p5.m) Rt 3.75 分钟， m/z 628[M+Na]。



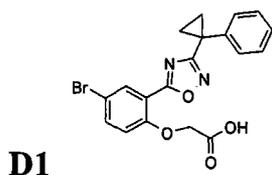
(4-溴-2-[3-[4-(4-氟-苯基)-哌啶-4-基]-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基)-乙酸乙酯。标题化合物是根据 GP7 从中间体 IM3 制备的：LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.3 分钟， m/z 506 [M+H]⁺；



(1,1-二氧化-1λ*6*-硫代吗啉-4-基)-(4-氟-苯基)-乙腈。标题化合物是从 4-氟-苯甲醛和硫代吗啉 1,1-二氧化物制备的，如下所述：

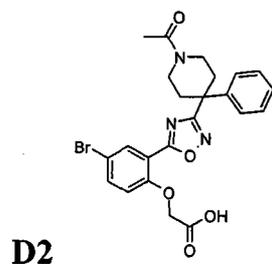
在 1N HCl 水溶液(18.64 ml, 18.64 mmol)中的硫代吗啉 1,1-二氧化物(2.52g, 18.64 mmol)溶液中加入氰化钠 (0.822g, 16.78 mmol)。在氰化钠溶解之后逐滴加入 4-氟-苯甲醛(1ml, 9.32 mmol)的乙腈(38 ml)溶液。反应混合物室温搅拌 3 天。在真空下除去溶剂并加入水。将混合物搅拌约 10 分钟，将白色沉淀滤出，用水洗涤并真空干燥，得到标题化合物(1.74g, 6.48mmol, 70%)。LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.01 分钟， m/z 269 [M+H]⁺；¹H NMR (CDCl₃): δ 3.12 (m, 8H), 4.94 (s, 1H), 7.16 (t, 2H), 7.53 (dd, 2H)。

实施例



{4-溴-2-[3-(1-苯基环丙基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]苯氧基}乙酸。

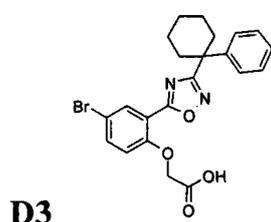
标题化合物是根据 GP1、GP3、GP4 和 GP5，从 5-溴-2-羟基-苯甲酸甲酯和 1-苯基-1-环丙基腈(cyclopropanecarbonitrile)制备的：LC/MS (an10n8) Rt.2.756 m/z 413.4 [M -H]⁻；¹H NMR (DMSO-d₆): δ 0.92 (m, 2H), 1.11 (m, 2H), 4.38 (s, 2H), 6.63-6.66 (d, 1H), 6.79-6.88 (m, 3H), 6.93-6.95 (m, 2H), 7.25-7.29 (dd, 1H), 7.50-7.51 (d, 1H)。



{2-[3-(1-乙酰基-4-苯基-哌啶-4-基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-4-溴-苯氧基}-乙酸。

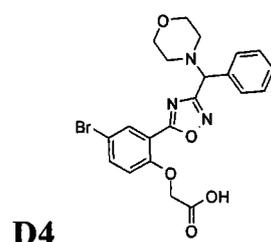
标题化合物是从实施例 **D5** 和乙酸酐制备的，如下所述：

将实施例 **D5** (0.04mmol)的乙酸酐(0.5ml)悬浮液在 50℃加热 1 小时。在真空下除去溶剂以得到无色胶状物。加水并剧烈搅拌混合物直到形成细小沉淀。将沉淀滤出，用水洗涤和真空干燥，得到标题化合物：LC/MS (an10p8.n) Rt 2.507 分钟， m/z 500 [M-H]⁻；¹H NMR (DMSO): δ 2.0 (s, 3H), 1.95-2.3 (m, 2H), 2.6-2.7 (m, 2H), 2.8-2.9 (m, 1H), 3.2-3.3 (m, 1H), 3.75-3.85 (m, 1H), 4.15-4.3 (m, 1H), 4.9 (s, 3H), 7.15-7.19 (d, 1H), 7.21-7.28 (1H), 7.31-7.43 (m, 4H), 7.75-7.81 (dd, 1H), 8.05-8.07 (d, 1H)。



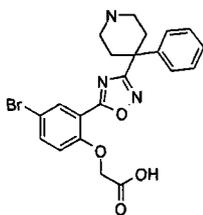
{4-溴-2-[3-(1-苯基-环己基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是根据 GP1、GP3、GP4 和 GP5，从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯和 1-苯基-环己基腈(cyclohexanecarbonitrile)制备的：LC/MS (an10p8.m) Rt 3.21 分钟， m/z 457 [M+H]⁺；¹H NMR (DMSO): δ 1.3-1.7 (m, 6H), 2.0-2.1 (m, 2H), 2.5-2.6 (m, 2H), 4.9 (m, 2H), 7.13-7.25 (m, 2H), 7.28-7.41 (m, 4H), 7.74-7.80 (dd, 1H), 8.00-8.03 (d, 1H)



{4-溴-2-[3-(吗啉-4-基-苯基-甲基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是根据 GP1、GP3、GP4 和 GP5，从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯和吗啉-4-基-苯基-乙腈制备的：LC/MS (an10n8.m) Rt 2.39 分钟， m/z 474 [M-H]⁻；¹H NMR (DMSO): δ 1.9 (s, 1H), 2.3-2.5 (m, 3H), 3.6 (s, 4H), 4.85 (s, 1H), 4.9 (s, 2H), 7.13-7.2 (d, 1H), 7.27-7.45 (m, 4H), 7.5-7.6 (m, 2H), 7.75-7.83 (d, 1H), 8.05-8.1 (s, 1H)。

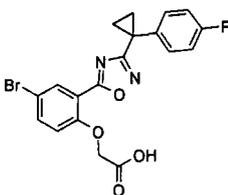
**D5**

{4-溴-2-[3-(4-苯基-哌啶-4-基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是从中间体 **IM2** 和氢氧化锂制备的，如下所述：

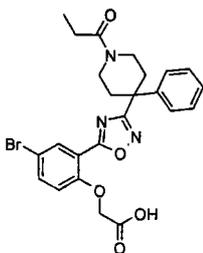
在酯(0.10 mmol)的 THF (0.5 mL)溶液中加入 LiOH \cdot H₂O (6.3 mg, 0.15 mmol) 在水(0.5 mL)中溶液。将反应物室温搅拌 2 小时以上，加入 HCl 水溶液直到出现沉淀。将沉淀滤出并真空干燥，得到标题化合物。

LC/MS (an10n8.m) Rt 2.33 分钟，*m/z* 458 [M-H]⁻；¹H NMR (DMSO): δ 2.3 (m, 2H), 2.8 (m, 2H), 2.95 (m, 2H), 3.2 (m, 2H), 4.4 (s, 2H), 6.9 (s, 1H), 7.3 (m, 1H), 7.4 (m, 4H), 7.65 (d, 1H), 8.0(s, 1H)。

**D6**

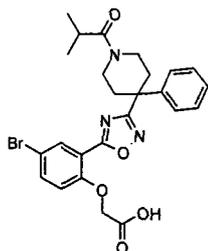
(4-溴-2-{3-[1-(4-氟-苯基)-环丙基]-[1,2,4]噁二唑-5-基}-苯氧基)-乙酸。

标题化合物是根据 GP6、GP2、GP3、GP4 和 GP5，从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯和 1-(4-氟-苯基)-环丙基胺制备的。LC/MS (tfa20p5.m) Rt 3.09 分钟，*m/z* 436 [M+H]⁺；¹H NMR (DMSO): δ 1.45 (m, 2H), 1.65 (m, 2H), 4.9 (s, 2H), 7.1-7.2 (m, 3H), 7.4-7.55 (m, 2H), 7.8 (dd, 1H), 8.0 (d, 1H)。

**D7**

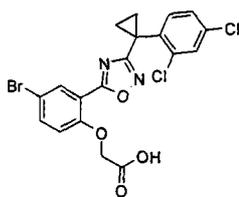
{4-溴-2-[3-(4-苯基-1-丙酰基-哌啶-4-基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是根据 GP8 和 GP5 从中间体 **IM2** 和丙酰氯制备的: LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.78 分钟, m/z 514 [M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO): δ 0.95-1.0 (t, 3H), 2.0-2.2 (m, 2H), 2.3-2.4 (m, 2H), 2.55-2.70 (m, 2H), 2.8-2.95(m, 1H), 3.15-3.3(m, 1H), 3.75-3.9 (m, 1H), 4.15-4.3 (m, 1H), 4.85 (s, 2H), 7.13-7.18 (d, 1H), 7.2-7.28 (m, 1H), 7.31-7.43 (m, 4H), 7.74-7.80 (dd, 1H), 8.03-8.06 (d, 1H)。

**D8**

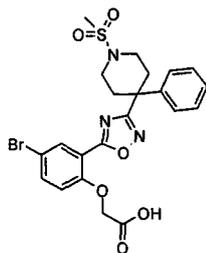
{4-溴-2-[3-(1-异丁酰基-4-苯基-哌啶-4-基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是根据 GP8 和 GP5, 从中间体 **IM2** 和异丁酰氯制备的: LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.947min, m/z 528 [M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO): δ 0.95 1.05(m, 6H), 1.95-2.02 (m, 2H), 2.6-2.75 (m, 2H), 2.8-2.95 (m, 2H), 3.2-3.3 (m, 1H), 3.85-3.95 (m, 1H), 4.2-4.3 (m, 1H), 4.85 (s, 2H), 7.1-7.17 (d, 1H), 7.2-7.28 (m, 1H), 7.31-7.44 (m, 4H), 7.73-7.78 (dd, 1H), 8.5(d, 1H)。

**D9**

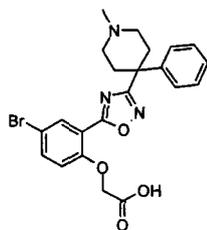
(4-溴-2-[3-[1-(2,4-二氯-苯基)-环丙基]-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基)-乙酸。

标题化合物是根据 GP6、GP2、GP3、GP4 和 GP5, 从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯和 1-(2,4-二氯-苯基)-环丙基脒制备的: LC/MS (tfa20p5.m) Rt 3.483 分钟, m/z 485 [M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO): δ 1.4-1.5 (m, 2H), 1.7-1.8(m, 2H), 4.6 (s, 2H), 7.0-7.04 (d, 1H), 7.44-7.49 (dd, 1H), 7.58-7.62 (d, 1H), 7.66-7.68 (d, 1H), 7.69-7.75 (dd, 1H), 7.96-7.99 (d, 1H)。

**D10**

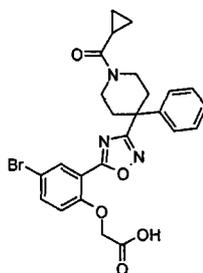
{4-溴-2-[3-(1-甲磺酰基-4-苯基-哌啶-4-基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是根据 GP8 和 GP5, 从中间体 **IM2** 和甲磺酰氯制备的: LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.725 分钟, m/z 538 $[M+H]^+$; 1H NMR (DMSO): δ 2.2-2.3 (m, 2H), 2.7-3.0(m, 7H), 3.5-3.6 (m, 2H), 4.9(s, 2H), 7.14-7.19 (d, 1H), 7.21-7.29 (m, 1H), 7.32-7.44 (m, 4H), 7.75-7.80 (dd, 1H), 8.05-8.08 (d, 1H)。

**D11**

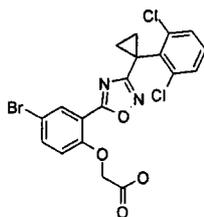
{4-溴-2-[3-(1-甲基-4-苯基-哌啶-4-基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是根据 GP9 和 GP5, 从中间体 **IM2** 和甲醛制备的: LC/MS (tfa20p5.m) Rt 1.849 分钟, m/z 474 $[M+H]^+$; 1H NMR (DMSO): δ 2.25-2.4 (m, 5H), 2.5 (m, 2H), 2.65-2.75 (m, 2H), 2.95-3.05(m, 2H), 4.7 (s, 2H), 7.03-7.1 (d, 1H), 7.2-7.29 (m, 1H), 7.3-7.45(m, 4H), 7.67-7.73 (dd, 1H), 8.01-8.04(d, 1H)。

**D12**

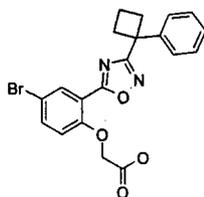
{4-溴-2-[3-(1-环丙烷羰基-4-苯基-哌啶-4-基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是根据 GP8 和 GP5, 从中间体 **IM2** 和环丙烷碳酰氯制备的:
 LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.82min, m/z 528 [M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO): δ 0.68-0.70 (m,4H), 2.00-2.27 (m, 2H), 2.72 (m, 2H), 3.1 (m,1H), 4.08 (m, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.91 (s, 2H), 7.15-7.18 (d, 1H), 7.25-7.27(m, 1H), 7.32-7.42 (m, 4H), X (7.76-7.80(dd, 1H), 8.05-8.06 (d, 1H),

**D13**

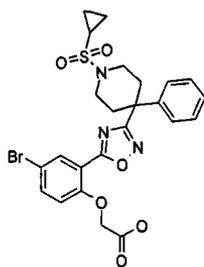
(4-溴-2-{3-[1-(2,6-二氯-苯基)-环丙基]-[1,2,4]噁二唑-5-基}-苯氧基)-乙酸。

标题化合物是根据 GP6、GP2、GP3、GP4 和 GP5, 从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯和 1-(2,6-二氯-苯基)-环丙基脒制备的: LC/MS (tfa20p5.m) Rt 3.313 分钟, m/z 485 [M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO): δ 1.54-1.58 (m, 2H), 1.93-1.98 (m, 2H), 4.89 (s, 2H), 7.15-7.19 (d, 1H), 7.39-7.55 (m, 2H), 7.77-7.81 (dd, 1H), 8.04-8.05 (d, 1H)。

**D14**

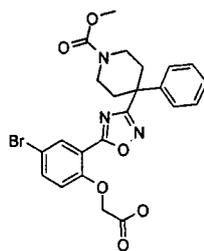
{4-溴-2-[3-(1-苯基-环丁基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是根据 GP6、GP2、GP3、GP4 和 GP5, 从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯和 1-苯基-环丁基脒制备的: LC/MS (an10p.8.m) Rt 2.90 分钟, m/z 429 [M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO): δ 1.97 (m, 1H), 2.08 (m, 1H), 2.68-2.72 (m, 2H), 2.87 (m, 2H), 4.90 (s,2H), 7.14-7.17 (d, 1H), 7.22-7.26 (m, 1H), 7.35-7.36 (m, 4H), 7.75-7.79 (dd, 1H), 8.00-8.02 (d, 1H), 13.17 (s, 1H)。

**D15**

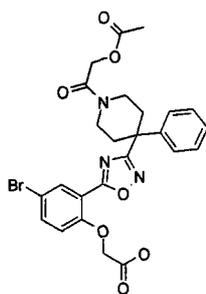
{4-溴-2-[3-(1-环丙烷磺酰基-4-苯基-哌啶-4-基)-[1,2,4]噁二唑-5-基]-苯氧基}-乙酸。

标题化合物是根据 GP8 和 GP5, 从中间体 **IM2** 和环丙烷磺酰氯制备的:
LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.9 分钟, m/z 564 [M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO): δ 0.98 (m,4H), 2.2 (m,2H), 2.56 (m,1H), 2.75 (m,2H), 3.04 (m,2H), 3.58 (m,2H), 4.9 (s,2H), 7.15-7.18 (d,1H), 7.25-7.28 (m,1H), 7.33-7.42 (m,4H), 7.77-7.78 (dd,1H), 8.06-8.07 (d,1H), 13.2 (s,1H)。

**D16**

4-[5-(5-溴-2-羧基甲氧基-苯基)-[1,2,4]噁二唑-3-基]-4-苯基-哌啶-1-羧酸甲酯。

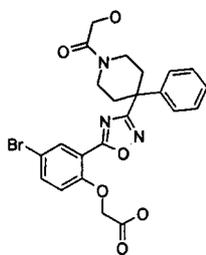
标题化合物是根据 GP8 和 GP5, 从中间体 **IM2** 和氯甲酸甲酯制备的:
LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.8 分钟, m/z 516 [M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO): δ 2.1 (m,2H), 2.65 (m,2H), 3.08 (m,2H), 3.6 (s,3H), 3.9 (m,2H), 4.9 (s,2H), 7.15-7.19 (d,1H), 7.21-7.28 (m,1H), 7.3-7.42 (m,4H), 7.76-7.81 (dd,1H), 8.30-8.50 (d,1H)。

**D17**

(2-{3-[1-(2-乙酰基-乙酰基)-4-苯基-哌啶-4-基]-[1,2,4]噁二唑-5-基]-4-溴-苯

氧基)-乙酸。标题化合物是从 **D5** 和乙酰基乙酰氯制备的，如下所述：

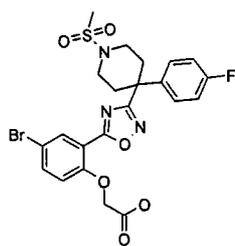
0℃氩气下，将 **D5** (230mg, 0.5 mmol)、乙酰基乙酰氯(120μl, 1.1 mmol)和三乙胺(160μl, 1.1 mmol)的混合物在四氢呋喃(10ml)中搅拌 2 小时。真空浓缩反应混合物。将残余物在二氯甲烷和水之间分配。分离各相，有机相用 MgSO_4 干燥并真空浓缩。残余物通过硅胶层析(洗脱液： $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 10/1)纯化，得到标题化合物(41mg, 0.07 mmol, 15%)。LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.5 分钟， m/z 560[M+H]⁺；¹H NMR (DMSO): δ 2.0 (m,4H), 2.25 (m,1H), 2.65 (m,2H), 2.9 (m,1H), 3.3 (m,1H), 3.7 (m,1H), 4.15 (m,1H), 4.42 (s,2H), 4.8 (d,2H), 6.95-6.99 (d,1H), 7.12-7.28 (m,1H), 7.31-7.41 (m,4H), 7.65-7.71 (dd,1H), 7.98-8.00 (d,1H)。



D18

(4-溴-2-{3-[1-(2-羟基-乙酰基)-4-苯基-哌啶-4-基]-[1,2,4]噁二唑-5-基}-苯氧基)-乙酸。

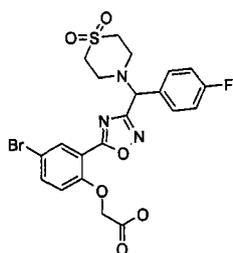
标题化合物是根据 **GP8** 和 **GP5**，从中间体 **IM2** 和乙酰基乙酰氯制备的：LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.4 分钟， m/z 516 [M+H]⁺；



D19

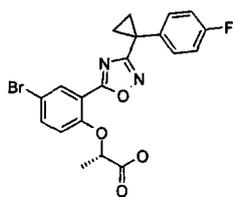
(4-溴-2-{3-[4-(4-氟-苯基)-1-甲磺酰基-哌啶-4-基]-[1,2,4]噁二唑-5-基}-苯氧基)-乙酸。

标题化合物是根据 **GP8** 和 **GP5**，从中间体 **IM4** 和甲磺酰氯制备的：LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.8 分钟， m/z 556 [M+H]⁺；¹H NMR (DMSO): δ 2.35 (m,2H), 2.7-3.0 (m,7H), 3.55 (m,2H), 4.9 (s,2H), 7.14-7.22 (m,3H), 7.42-7.50 (m,2H), 7.77-7.82 (dd,1H), 8.08-8.09 (d,1H)。

**D20**

(4-溴-2-{3-[(1,1-二氧化-1λ*6*-硫代吗啉-4-基)-(4-氟-苯基)-甲基]-[1,2,4]噁二唑-5-基}-苯氧基)-乙酸。

标题化合物是根据 GP1、GP3、GP4 和 GP5，从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯和中间体 **IM5** 制备的：LC/MS (tfa20p5.m) Rt 2.62 分钟， m/z 540 [M+H]⁺；¹H NMR (CDCl₃): δ 3.12 (m, 8H), 4.78 (s, 2H), 5.14 (s, 1H), 6.97 (d, 1H), 7.10 (t, 2H), 7.48 (dd, 2H), 7.74 (dd, 1H), 8.23 (s, 1H)。

**D21**

(S)-2-(4-溴-2-{3-[1-(4-氟-苯基)-环丙基]-[1,2,4]噁二唑-5-基}-苯氧基)-丙酸。

标题化合物是根据 GP6、GP2、GP3、GP4 和 GP5，从 5-溴-2-羟基苯甲酸甲酯、1-(4-氟-苯基)-环丙基胺和(R)-2-(三氟甲基磺酰基)丙酸乙酯制备的：LC/MS (tfa20p5.m) Rt 3.20 分钟， m/z 447[M+H]⁺；¹H NMR (CDCl₃): δ 1.36-1.38 (m,2H), 1.61-1.65 (m,2H),1.69-1.72 (d,3H), 3.65-3.67 (m,1H), 6.88-6.91 (d,1H), 6.96-7.01 (m,2H), 7.37-7.41 (m,2H), 7.60-7.63 (dd,1H), 8.06-8.07 (d,1H)。

生物学试验

材料与amp;方法

cDNA 构建物的产生/来源。 通过 PCR 扩增人海马 cDNA 文库的人 CRTH2 受体的编码序列(genbank 登录号 NM_004778)，利用 5' HindIII 和 3' EcoRI 将其插入 pcDNA3.1(+) 表达载体 (因维曲根公司 (Invitrogen))。为产生 CRTH2-Renilla 萤光素酶(CRTH2-Rluc)融合蛋白，通过 PCR 扩增不具有终止密码子的 CRTH2 编码序列和 Rluc，融合在读码框中并亚克隆入 pcDNA3.1(+)/Zeo

表达载体(因维曲根公司)。N-末端带有 GFP² 标签的人 β -视紫红质抑制蛋白 2 (β -arr2) (β arr2-GFP²)和 Renilla 萤光素酶购自加拿大蒙特利尔的生物信号派卡德公司(BioSignal Packard Inc)。通过限制性内切酶消化并在 ABI Prism (加州福斯特城应用生物系统公司(Applied Biosystems, Foster City, CA))的两个方向上测序证实了构建物的序列相同性。

细胞培养和转染. COS-7 细胞在添加了 10%胎牛血清、100 单位/ml 青霉素、1000 μ g/ml 链霉素的 Dulbecco 改进的 Eagle 培养基(DMEM) 1885 中生长并保持在 37°C, 10% CO₂ 气氛中。HEK293 细胞维持在补加了 10% (v/v)热灭活胎牛血清(HIFCS)、2mM GlutamaxTM-I、1%非必需氨基酸(NEAA)、1%丙酮酸钠和 10 μ g/ml 庆大霉素的极限必需培养基(MEM)中。对于结合实验, 采用磷酸钙-DNA 共沉淀法用 CRTH2 受体并加入氯喹来瞬时转染 COS7 细胞 (如 Holst 等, 2001, 所述)。为进行功能性生物发光共振能量转移(BRET)试验, 制备了稳定表达 β arr2-GFP² 和 CRTH2-Rluc 的 HEK293 细胞克隆 (CRTH2-HEK293 细胞)。

结合试验. 转染 24 小时后, 将 COS-7 细胞以 30,000 个细胞/孔的密度接种入 96 孔板。然后在约 18-24 小时后利用 0.1 nM [³H]PGD₂ (NEN, 172 Ci/mmol) 在由 HBSS (GIBCO)和 10 mM HEPES 构成的结合缓冲液中对全细胞上进行竞争性结合实验。用 DMSO 稀释竞争性配体, 所述 DMSO 恒定维持于最终温育体积的 1% (v/v)。在没有和有 10 μ M PGD₂ 存在时测定总的和非特异性结合情况。在 4°C 按常规进行结合反应 3 小时, 用冰冷却的结合缓冲液洗涤两次(每次 100 μ l)以终止该反应。在 Microscint 20 中温育过夜后, 用 TOPCOUNTER(派卡德公司)进行液体闪烁计数来测定放射性。以 30,000 个细胞/孔的密度接种稳定的 HEK293 细胞, 18-24 小时后基本如以上 COS7 细胞的所述进行结合试验。测定按一式两份进行。

BRET 试验. 对稳定表达人 CRTH2-Rluc 和 GFP²- β -arr2 的 HEK293 细胞进行功能性 BRET 试验。使细胞分离并以 2×10^6 个细胞/孔的密度重悬于含有 1000 mg/L L-葡萄糖的 D-PBS 中, 然后用于 BRET 试验中。用含 1000 mg/L L-葡萄糖的 D-PBS 将 DeepBlueCTM稀释至 50 μ M (光敏感)。将 100 μ L 细胞悬浮液转移至 96-孔微板(白色 OptiPlate)的孔中并置于 Mithras LB 940 仪器(德国拜德韦

德拜德的伯特赫德技术公司(BERTHOLD TECHNOLOGIES, Bad Wildbad, Germany))中。然后使用注射器 1 注射 12 μL /孔的激动剂,同时利用注射器 2 注射 10 μL /孔的 DeepBlueC™。注射 5 秒后,连续测定 400 nm 和 515 nm 处各孔的光输出值,通过 GFP²- β -arr2 (515 nm)所发出的荧光与受体-Rluc (400 nm)所发出光的比例来计算 BRET 信号(mBRET 比)。加入拮抗剂,然后将微板置于 Mithras LB 940 中,温育 15 分钟,然后加入激动剂和 DeepBlueC™。将化合物溶于 DMSO,使试验中最终 DMSO 的浓度恒定维持于 1%。

人嗜酸性粒细胞形状改变试验. 根据 Graz 大学伦理委员会批准的方案从健康志愿者采集血样并如以前所述(Bohm 等, 2004)进行处理。通过枸橼酸化人全血的葡聚糖沉淀和 Histopaque 梯度来制备多形核白细胞(含有嗜酸性粒细胞和中性粒细胞)制备物。用试验缓冲液(包括含有 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, 添加了 0.1% BSA、10 mM HEPES 和 10 mM 葡萄糖的 PBS, pH 7.4)洗涤得到的细胞,以 5×10^6 个细胞/mL 再悬浮。细胞在 37°C 与拮抗剂或载体(PBS 或 DMSO)一起温育 10 分钟,然后用各种浓度的激动剂(PGD2 或嗜伊红粒细胞趋化蛋白)在 37°C 刺激 4 分钟。将样品转移至冰上并与 250 μL 固定剂溶液混合以终止反应。立即用 FACSCalibu 流式细胞仪(BD 公司(Becton Dickinson))分析样品并根据它们在 FL-1 和 FL-2 信道中的自身荧光鉴定嗜酸性粒细胞。形状改变应答量化为在没有拮抗剂时对 PGD2 最大应答的百分比。

材料

组织培养培养基与试剂购自荷兰布莱达的因维曲根公司(Gibco invitrogen corporation, Breda, Netherlands)。PGD2 得自鳄鱼公司(Cayman), [3H]PGD2 得自 NEN 公司(NEN)。

数据分析

利用 GraphPadPrism 软件 3.0 (美国圣地亚哥 GP 公司(Graphpad Prism Inc., San Diego, USA))进行曲线分析, IC_{50} 值计算为拮抗性效力的量度。

参考文献

Holst B, Hastrup H, Raffetseder U, Martini L, Schwartz TW, “G 蛋白融合与诱变所揭示的速激肽 NK1 受体的两种活性分子表型”(Two active molecular

phenotypes of the tachykinin NK1 receptor revealed by G-protein fusions and mutagenesis), J Biol Chem., 2001年6月8日; 276(23):19793-9。Epub, 2001年2月22日。

生物学数据

在下述受体结合试验和功能性拮抗剂试验中测试了化合物, 评估了它们的 IC_{50} 值。这些化合物分为三类:

A: IC_{50} 低于 $0.5 \mu M$ 。

B: IC_{50} 值在 $0.5 \mu M$ 和 $5 \mu M$ 之间。

C: IC_{50} 值高于 $5 \mu M$ 。

表 1 给出了上述合成的化合物的生物学测试结果。

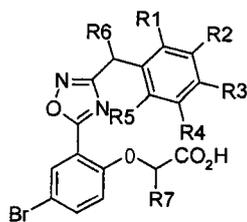
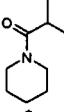
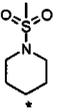
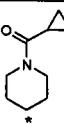
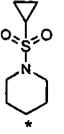
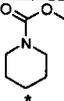
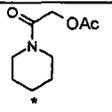
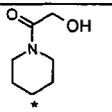
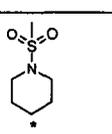
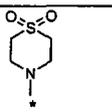
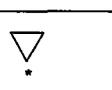


表 1

	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	结合 IC ₅₀	拮抗 IC ₅₀
D1	H	H	H	H	H		H	A	A
D2	H	H	H	H	H		H	A	A
D3	H	H	H	H	H		H	A	A
D4	H	H	H	H	H		H	A	A
D5	H	H	H	H	H		H	A	B
D6	H	H	F	H	H		H	A	A
D7	H	H	H	H	H		H	A	A
D8	H	H	H	H	H		H	A	A
D9	Cl	H	Cl	H	H		H	A	A
D10	H	H	H	H	H		H	A	A
D11	H	H	H	H	H		H	A	A
D12	H	H	H	H	H		H	A	A
D13	Cl	H	H	H	Cl		H	A	A
D14	H	H	H	H	H		H	A	A
D15	H	H	H	H	H		H	A	A
D16	H	H	H	H	H		H	A	A

D17	H	H	H	H	H		H	A	A
D18	H	H	H	H	H		H	A	A
D19	H	H	F	H	H		H	A	A
D20	H	H	F	H	H		H	A	A
D21	H	H	F	H	H		(S)CH ₃	A	A