



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108658983 B

(45)授权公告日 2019.12.20

(21)申请号 201810661179.3

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2018.06.25

C07D 471/04(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61K 31/496(2006.01)

申请公布号 CN 108658983 A

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

(43)申请公布日 2018.10.16

C07B 59/00(2006.01)

(66)本国优先权数据

审查员 彭晓琦

201710493544.X 2017.06.26 CN

(73)专利权人 深圳市塔吉瑞生物医药有限公司

地址 518057 广东省深圳市南山区科苑路

15号科兴科学园A1栋301

(72)发明人 王义汉 刘志强

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 邹宗亮 牟科

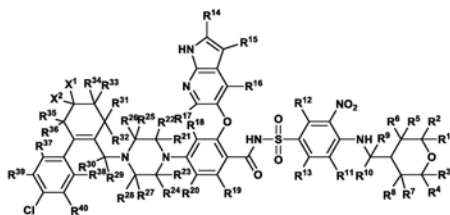
权利要求书1页 说明书30页

(54)发明名称

用于抑制Bcl-2蛋白的N-苯磺酰基苯甲酰胺类化合物及其组合物及应用

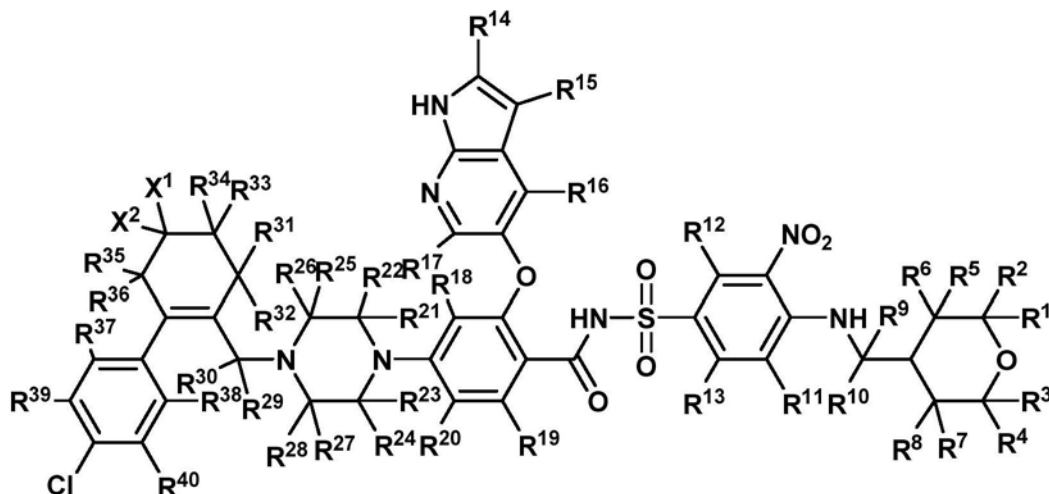
(57)摘要

本发明涉及抑制Bcl-2抗凋亡蛋白的活性的化合物,以及涉及它们的制备和用途。具体地,该发明公开了式(I)所示的N-苯磺酰基苯甲酰胺类化合物,或其晶型、前药、药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂合物或水合物的药物组合物。本发明化合物及包含该化合物的组合物对Bcl-2蛋白具有优异的抑制性,同时具有更好的药代动力学参数特性,能够提高化合物在动物体内的药物浓度,以及提高药物疗效和安全性。



式(I)

1. 式 (I) 所示的化合物、或其药学上可接受的盐：



式(I)

其中，

R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 为氢；

X^1 和 X^2 为甲基；

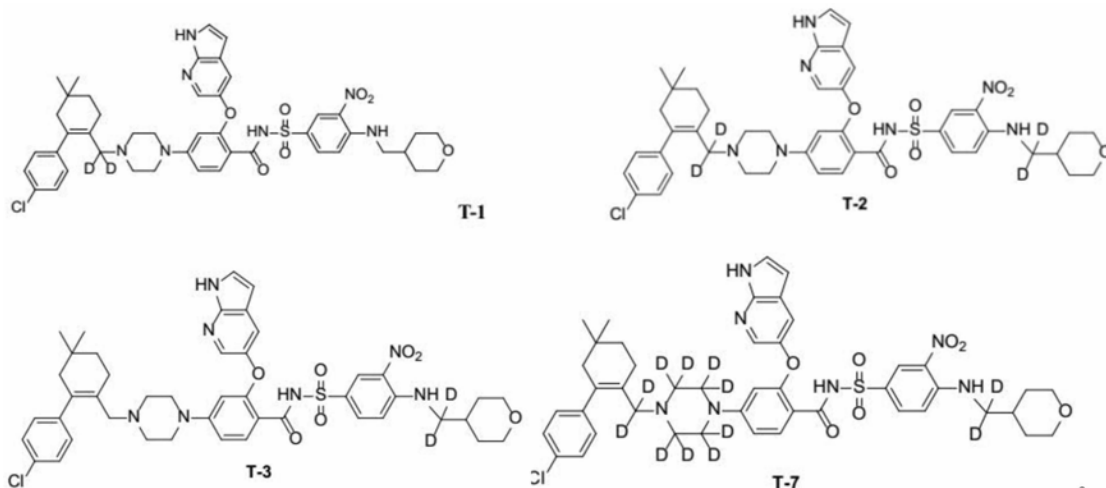
R^9 、 R^{10} 、 R^{29} 和 R^{30} 相互独立地选自氢或氟；

附加条件是， R^{29} 和 R^{30} 中至少一个是氟。

2. 根据权利要求1所述的化合物，其中， R^9 和 R^{10} 为氟。

3. 根据权利要求1或2所述的化合物，其中， R^{29} 和 R^{30} 为氟。

4. 化合物，其选自下式化合物：



5. 一种药物组合物，其含有药学上可接受的载体和如权利要求1-4任意一项所述的化合物，或其药学上可接受的盐。

6. 一种如权利要求1-4任意一项所述的化合物在制备用于治疗以下疾病的药物中的用途：膀胱癌、脑癌、乳腺癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞性白血病、结肠直肠癌、食道癌、肝细胞癌、原始淋巴细胞性白血病、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、粒细胞性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞癌或脾癌。

用于抑制Bcl-2蛋白的N-苯磺酰基苯甲酰胺类化合物及其组合物及应用

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,具体地,本发明涉及对Bcl-2蛋白具有优异的抑制作用的N-苯磺酰基苯甲酰胺类化合物,包含它们的药物组合物,以及它们的制备方法和用途。

背景技术

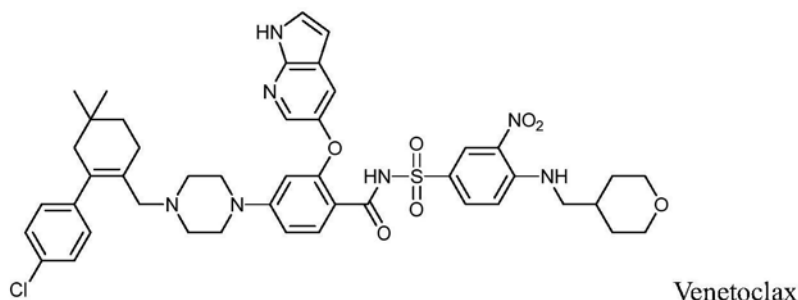
[0002] 针对肿瘤特异性靶点设计、合成全新的抗肿瘤药物已经成为靶向抗肿瘤治疗的重点。近年来的研究表明,细胞凋亡(程序化死亡)机制参与了肿瘤发生、发展与消退。细胞凋亡具有高度保守的特点,相似的细胞凋亡分子机制存在于不同种属的生物体内。已知的细胞凋亡信号通路包括内源和外源两条通路,线粒体凋亡通路是内源通路,死亡受体所介导的凋亡通路属外源通路。在内源通路有细胞凋亡中,线粒体的功能变化如线粒体膜电位的降低、线粒体膜通透性“空洞”的形成或“通道”的开放,导致细胞色素C的释放,这是细胞凋亡的核心特征。

[0003] Bcl-2家族蛋白(B-cell lymphoma 2family of proteins)是线粒体通路的顶点和核心因子。根据功能和结构特征将Bcl-2家族蛋白分为3个亚族:亚族1具有抗凋亡功能,主要包括Bcl-2(B-cell lymphoma 2)、Mcl-1(Myeloid cell leukemia 1)和Bcl-xL(B-cell lymphoma x long)等;亚族2具有促凋亡作用,主要是Bax(Bcl-2related protein X)和Bck(Bcl-2antagonist/killer);另外一类仅含有BH3区域(BH3-only)的促凋亡亚族3,包括Bad(Bcl-2antagonist of cell death)、Bim(Bcl-2interacting mediator)等。研究发现30%-60%的前列腺癌、70%的乳腺癌、90%的结直肠癌、100%小细胞癌、以及淋巴细胞性、粒细胞性白血病细胞等高表达这些具有抗凋亡作用的Bcl-2基因和/或蛋白。因此,在癌症治疗领域需要研发Bcl-2蛋白抑制剂。

[0004] Bcl-2蛋白抑制剂类抗癌先导化合物的研发已经历时10余年,发表的小分子达到几十个。但是,目前国际市场只有一个获批的Bcl-2类蛋白抑制剂——Venetoclax(维奈妥拉)。Venetoclax由艾伯维(AbbVie)和罗氏(Roche)合作开发的一款突破性抗癌药,于2016年4月11日获美国食品药品监督管理局批准上市,又于2016年12月5日获得欧洲药物管理局批准上市,用于治疗带有17p基因缺失突变并且曾接收过至少一种治疗慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia,CLL)患者。

[0005] Venetoclax是FDA批准的首个Bcl-2蛋白抑制剂(化学名称为4-(4-([2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基环己-1-烯-1-基]甲基)哌嗪-1-基)-N-({3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺,其具有以下结构式),是预后极差且治疗选择十分有限的17p基因缺失的CLL患者治疗的新选择。但是,也会发现中性粒细胞减少、腹泻、恶心、贫血、上呼吸道感染、血小板减少和疲乏等不良反应。

[0006]



[0007] 已知较差的吸收、分布、代谢和/或排泄 (ADME) 性质是导致许多候选药物临床试验失败的主要原因。当前上市的许多药物也由于较差的ADME性质限制了它们的应用范围。药物的快速代谢会导致许多本来可以高效治疗疾病的药物由于过快的从体内代谢清除掉而难以成药。频繁或高剂量服药虽然有可能解决药物快速清除的问题,但该方法会带来诸如病人依从性差、高剂量服药引起的副作用及治疗成本上升等问题。另外,快速代谢的药物也可能会使患者暴露于不良的毒性或反应性代谢物中。

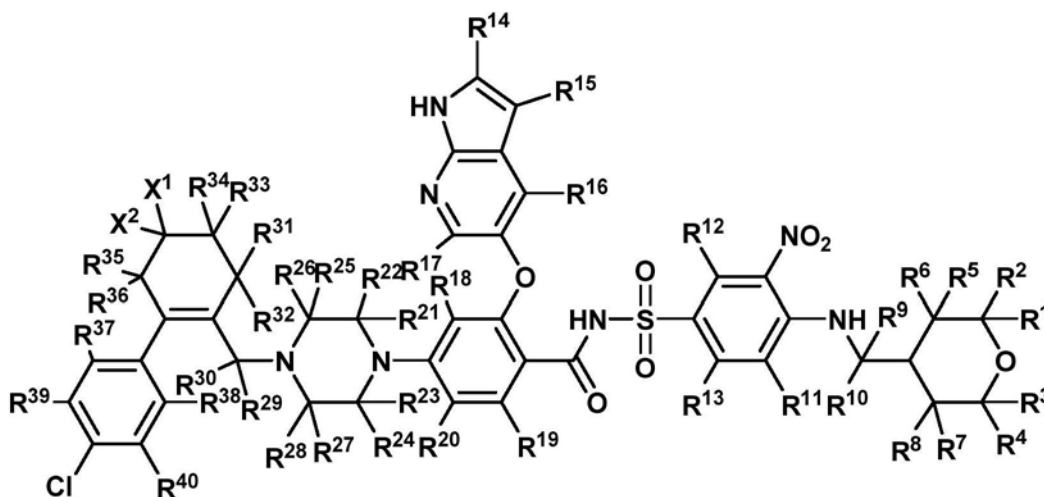
[0008] 因此,本领域仍需要开发具有高特异性或更好药效学/药代动力学性能的Bcl-2小分子抑制剂,能选择性地抑制Bcl-2蛋白,从而恢复细胞凋亡过程,达到治疗癌症的效果。

发明内容

[0009] 针对以上技术问题,本发明公开了一种新型N-苯磺酰基苯甲酰胺类Bcl-2蛋白抑制剂、药物组合物及其应用。更具体而言,本发明涉及某些取代的4-(4-([2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基环己-1-烯-1-基]甲基)哌嗪-1-基)-N-([3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基)氨基]苯基]磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺,这些取代的化合物具有更好的Bcl-2激酶抑制活性和/或具有更好药效学/药代动力学性能。对此,本发明采用的技术方案为:

[0010] 一种Bcl-2蛋白抑制剂,其特征在于:如式(I)所示的N-苯磺酰基苯甲酰胺化合物、或其药学上可接受的盐、前药、晶型、立体异构体、水合物或溶剂合物:

[0011]



式(I)

[0012] 其中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 相互独立地选自

氢、氘、卤素或三氟甲基；

[0013] X^1 、 X^2 相互独立地选自“氢(H)、氘(D)、甲基、 CH_2D 、 CHD_2 、 CD_3 、 CH_2CH_3 、 $CHDCH_3$ 、 $CHDCH_2D$ 、 $CHDCHD_2$ 、 $CHDCD_3$ 、 CD_2CH_3 、 CD_2CH_2D 、 CD_2CHD_2 、 CD_2CD_3 ”组成的组；

[0014] 附加条件是， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 、 R^{40} 、 X^1 和 X^2 中至少一个是氘代的或氘。

[0015] 采用此技术方案，氘在药物分子中的形状和体积与氢基本上相同，如果药物分子中氢被选择性替换为氘，氘代药物一般还会保留原来的生物活性和选择性。同时发明人经过实验证实，碳氘键的结合比碳氢键的结合更稳定，可直接影响一些药物的吸收、分布、代谢和排泄等属性，从而提高药物的疗效、安全性和耐受性。

[0016] 优选的，氘在氘代位置的氘同位素含量至少是大于天然氘同位素含量(0.015%)，较佳地大于30%，更佳地大于50%，更佳地大于75%，更佳地大于95%，更佳地大于99%。

[0017] 具体地说，在本发明中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 、 R^{40} 、 X^1 和 X^2 各氘代位置中氘同位素含量至少是5%，较佳地大于10%，更佳地大于15%，更佳地大于20%，更佳地大于25%，更佳地大于30%，更佳地大于35%，更佳地大于40%，更佳地大于45%，更佳地大于50%，更佳地大于55%，更佳地大于60%，更佳地大于65%，更佳地大于70%，更佳地大于75%，更佳地大于80%，更佳地大于85%，更佳地大于90%，更佳地大于95%，更佳地大于99%。

[0018] 优选的，式(I)中化合物的 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 、 R^{40} 、 X^1 和 X^2 中，至少其中一个R/X含氘，更佳地两个R/X含氘，更佳地三个R/X含氘，更佳地四个R/X含氘，更佳地五个R/X含氘，更佳地六个R/X含氘，更佳地七个R/X含氘，更佳地八个R/X含氘，更佳地九个R/X含氘，更佳地十个R/X含氘，更佳地十一个R/X含氘，更佳地十二个R/X含氘，更佳地十三个R/X含氘，更佳地十四个R/X含氘，更佳地十五个R/X含氘，更佳地十六个R/X含氘，更佳地十七个R/X含氘，更佳地十八个R/X含氘，更佳地十九个R/X含氘，更佳地二十个R/X含氘，更佳地二十一个R/X含氘，更佳地二十二个R/X含氘，更佳地二十三个R/X含氘，更佳地二十四个R/X含氘，更佳地二十五个R/X含氘，更佳地二十六个R/X含氘，更佳地二十七个R/X含氘，更佳地二十八个R/X含氘，更佳地二十九个R/X含氘，更佳地三十个R/X含氘，更佳地三十一個R/X含氘，更佳地三十二个R/X含氘，更佳地三十三个R/X含氘，更佳地三十四个R/X含氘，更佳地三十五个R/X含氘，更佳地三十六个R/X含氘，更佳地三十七个R/X含氘，更佳地三十八个R/X含氘，更佳地三十九个R/X含氘，更佳地四十个R/X含氘，更佳地四十一个R/X含氘，更佳地四十二个R/X含氘。

[0019] 作为本发明的进一步改进， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 各自独立地选自氘或氢。

[0020] 在另一优选例中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 是氘。

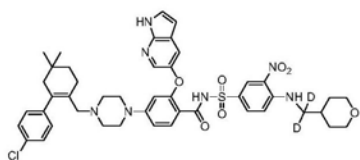
[0021] 作为本发明的进一步改进， R^9 、 R^{10} 各自独立地选自氘或氢。

[0022] 在另一优选例中， R^9 、 R^{10} 是氘。

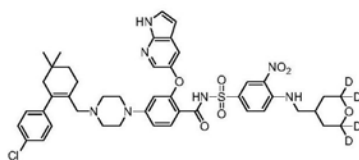
[0023] 作为本发明的进一步改进， R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 各自独立地选自氘或氢。

[0024] 在另一优选例中， R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 是氘。

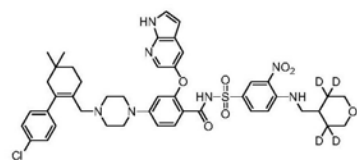
- [0025] 作为本发明的进一步改进, R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 各自独立地选自氘或氢。
- [0026] 在另一优选例中, R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 是氘。
- [0027] 作为本发明的进一步改进, R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 各自独立地选自氘或氢。
- [0028] 在另一优选例中, R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 是氘。
- [0029] 作为本发明的进一步改进, R^{29} 、 R^{30} 各自独立地选自氘或氢。
- [0030] 在另一优选例中, R^{29} 、 R^{30} 是氘。
- [0031] 作为本发明的进一步改进, R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 各自独立地选自氘或氢。
- [0032] 在另一优选例中, R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 是氘。
- [0033] 作为本发明的进一步改进, R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 、 R^{40} 各自独立地选自氘或氢。
- [0034] 在另一优选例中, R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 、 R^{40} 是氘。
- [0035] 作为本发明的进一步改进, R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 、 R^{40} 各自独立地选自氘或氢。
- [0036] 在另一优选例中, R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 、 R^{40} 是氘。
- [0037] 作为本发明的进一步改进, X^1 、 X^2 各自独立地选自选自一次或多次氘代的烷基。
- [0038] 在另一优选例中, X^1 、 X^2 是 CD_3 。
- [0039] 作为本发明的进一步改进, 所述化合物选自下述化合物或其药学上可接受的盐:



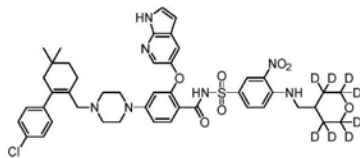
式 (1)



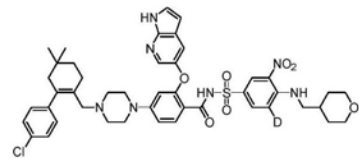
式 (2)



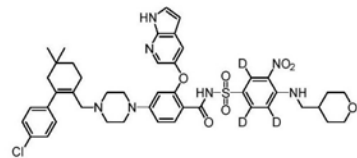
式 (3)



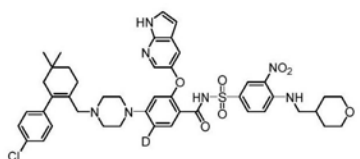
式 (4)



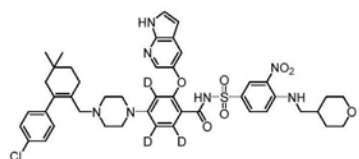
式 (5)



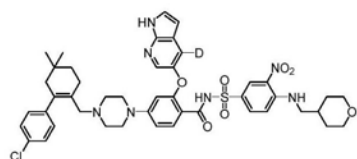
式 (6)



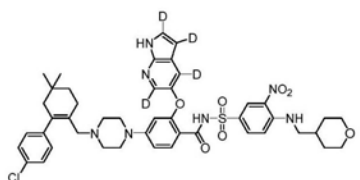
式 (7)



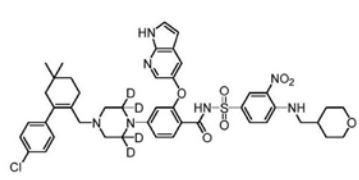
式 (8)



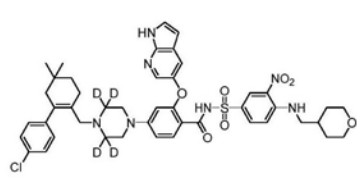
式 (9)



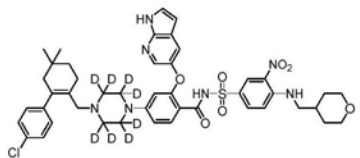
式 (10)



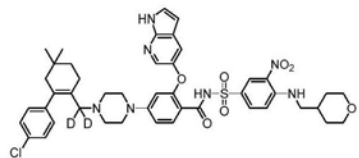
式 (11)



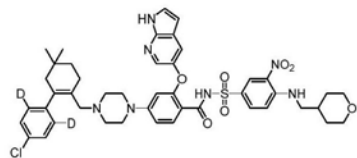
式 (12)



式 (13)

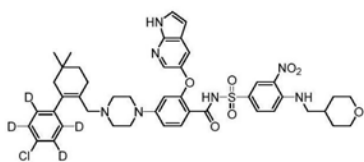


式 (14)

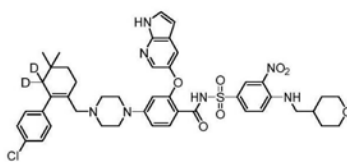


式 (15)

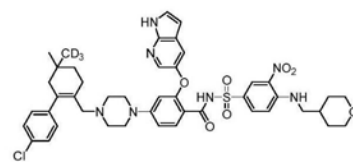
[0040]



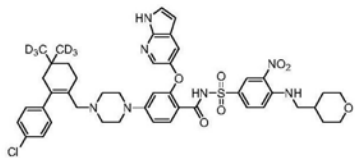
式 (16)



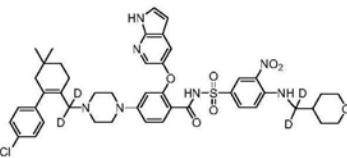
式 (17)



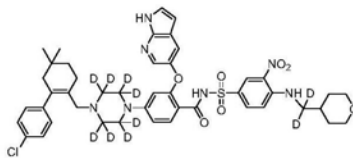
式 (18)



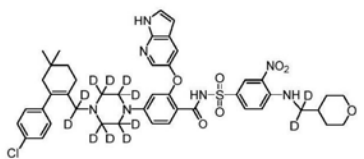
式 (19)



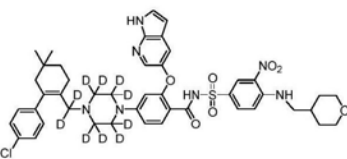
式 (20)



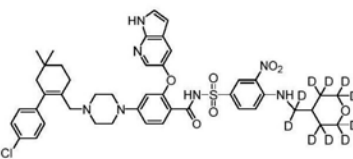
式 (21)



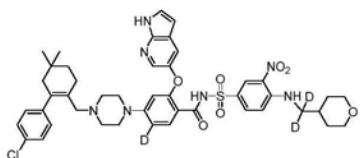
式 (22)



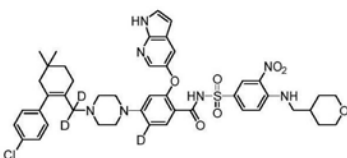
式 (23)



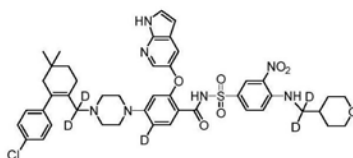
式 (24)



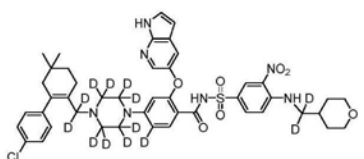
式 (25)



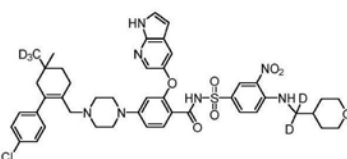
式 (26)



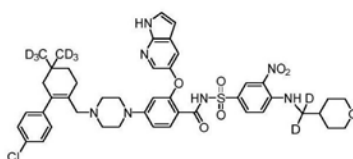
式 (27)



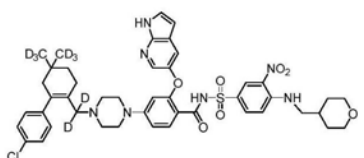
式 (28)



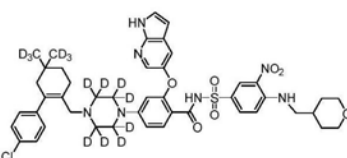
式 (29)



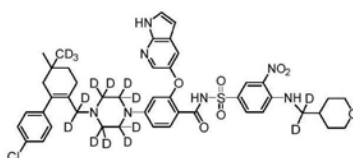
式 (30)



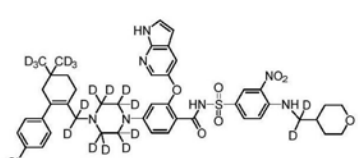
式 (31)



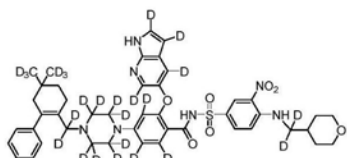
式 (32)



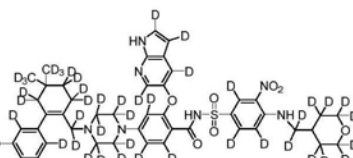
式 (33)



式 (34)



式 (35)



式 (36)。

[0041]

[0042] 在另一优选例中,所述化合物不包括非氘代化合物。

[0043] 本发明还公开了一种药物组合物,其含有药学上可接受的载体和如上述所述的 Bcl-2 蛋白抑制剂,或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物、立体异构体、前药或同位素变体的药物组合物。

[0044] 作为本发明的进一步改进,所述药学上可接受的载体包括封入胶囊的物质或添加剂、助流剂、增甜剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、矫味增强剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、崩解剂、助悬剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂中的至少一种。

[0045] 作为本发明的进一步改进,所述药物组合物为片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、膏剂、乳剂、悬浮剂、溶液剂、栓剂、注射剂、吸入剂、凝胶剂、微球或气溶胶。

[0046] 给予本发明药物组合物的典型途径包括但不限于口服、直肠、透黏膜、经肠给药,或者局部、经皮、吸入、肠胃外、舌下、阴道内、鼻内、眼内、腹膜内、肌内、皮下、静脉内给药。优选口服给药或注射给药。

[0047] 本发明的药物组合物可以采用本领域周知的方法制造,如常规的混合法、溶解法、制粒法、制糖衣药丸法、磨细法、乳化法、冷冻干燥法等。

[0048] 本发明还提供了一种制备药物组合物的方法,包括步骤:将药学上可接受的载体与如上所述的Bcl-2蛋白抑制剂,或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物、立体异构体、前药或同位素变体的药物组合物。

[0049] 作为本发明的进一步改进,其还包含其他活性化合物,所述活性化合物可选自:烷基化剂、血管生成抑制剂、抗体、代谢拮抗剂、抗有丝分裂剂、抗增殖剂、抗病毒剂、极光激酶抑制剂、其他细胞程序死亡促进剂(例如,Bcl-xL,Bcl-w和Bfl-1抑制剂)、死亡受体途径活化剂、Bcr-Abl激酶抑制剂、BiTE(Bi特异性T细胞接合器)抗体、抗体药物共轭物、生物反应改性剂、依赖细胞周期蛋白的激酶抑制剂、细胞周期抑制剂、环加氧酶-2抑制剂、DADs、白血病病毒癌基因同系物(ErbB2)受体抑制剂、生长因子抑制剂、热休克蛋白(HSP)-90抑制剂、组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)抑制剂、激素疗法、免疫、细胞程序死亡蛋白的抑制剂(IAPs)、插入抗生素、激酶抑制剂、驱动蛋白抑制剂、Jak2抑制剂、雷帕霉素抑制剂的温血动物靶向、微小RNA、分裂素-活化的细胞外信号调节激酶抑制剂、多价结合蛋白、NSAIDs、聚ADP(腺苷二磷酸)-核糖聚合酶(PARP)抑制剂、铂化学治疗、polo样激酶(Plk)抑制剂、磷酸肌醇-3激酶(PI3K)抑制剂、蛋白体抑制剂、嘌呤类似物、嘧啶类似物、受体酪氨酸激酶抑制剂、酒石酸麦角胺生物碱(etinoids)/三棱(deltoids)植物生物碱、小的抑制性核糖核酸(siRNAs)、局部异构酶抑制剂、泛素连接酶抑制剂、化疗剂等。

[0050] 本发明的活性成分也可与其他活性成分联合使用。这种组合的选择基于治疗的情况、成份的交叉反应性和联合的药学性质。还可能使本发明的任意化合物联合一种或多种其他活性成分,以单一剂型同时或连续对患者给药。联合治疗可以同时或连续给药方案给药。当连续给药时,联合可以两次或更多次给药施用。联合治疗可提供“增效作用”或“协同作用”,换言之,当活性成分一起使用获得的效果大于分开使用化合物所得效果之和。当活性成分:(1)被共同配制和给药或以组合制剂形式同时递送;(2)作为独立的制剂交替给药或平行给药;或(3)通过一些其他给药方案时,可获得协同作用。当以交替治疗递送时,当化合物序贯给药或释放,例如以独立的片剂、丸剂或胶囊剂,或通过单独注射器的不同注射,可获得协同作用。通常,在交替治疗期间,每种活性成分有效剂量被序贯,即连续地给予,而在联合治疗中,两种或更多种活性成分的有效剂量共同给予。

[0051] 本发明还公开了一种如上所述的所述的Bcl-2蛋白抑制剂或其药物组合物的用途,即可用于治疗膀胱癌、脑癌、乳腺癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞性白血病、结肠直肠癌、食道癌、肝细胞癌、原始淋巴细胞性白血病、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞源的淋巴恶性

肿瘤、黑色素瘤、粒细胞性白血病、骨髓瘤、口腔瘤、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞癌或脾癌。

[0052] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

[0053] 本文中,如无特别说明,“卤素”指F、Cl、Br、和I。更佳地,卤原子选自F、Cl和Br。

[0054] 本文中,如无特别说明,“氘代”指化合物或基团中的一个或多个氢被氘所取代;氘代可以是一取代、二取代、多取代或全取代。术语“一个或多个氘代的”与“一次或多次氘代”可互换使用。

[0055] 本文中,如无特别说明,“非氘代的化合物”是指含氘原子比例不高于天然氘同位素含量(0.015%)的化合物。

[0056] 本发明还包括同位素标记的化合物(也称为“同位素变体”),等同于原始化合物在此公开。可以列为本发明的化合物同位素的例子包括氢,碳,氮,氧,磷,硫,氟和氯同位素,分别如 ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F 以及 ^{36}Cl 。其中含有上述同位素或其他同位素原子的本发明的式(I)的化合物或其多晶型、药学上可接受的盐、前药、立体异构体、同位素变体、水合物或溶剂合物都在本发明的范围之内。本发明中某些同位素标记化合物,例如 ^3H 和 ^{14}C 的放射性同位素也在其中,在药物和底物的组织分布实验中是有用的。氚,即 ^3H 和碳-14,即 ^{14}C ,它们的制备和检测比较容易,是同位素中的首选。此外,较重同位素取代如氘,即 ^2H ,由于其很好的代谢稳定性在某些疗法中有优势,例如在体内增加半衰期或减少用量,因此,在某些情况下可以优先考虑。同位素标记的化合物可以用一般的方法,通过用易得的同位素标记试剂替换为非同位素的试剂,用示例中的方案可以制备。

[0057] 本发明具有式(I)的化合物可以以酸加成盐、碱加成盐或两性离子形态存在。化合物的盐是在化合物的分离期间或纯化之后制备的。化合物的酸加成盐是衍生自化合物与酸反应的那些盐。例如,本发明包括化合物和其前体药物的乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、碳酸氢盐、柠檬酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、二葡萄糖酸盐、甲酸盐、富马酸盐、甘油磷酸盐、谷氨酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、马来酸盐、均三甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐、果胶酯酸盐、过硫酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、三氯乙酸盐、对甲苯磺酸盐和十一烷酸盐。化合物的碱加成盐是衍生自化合物与锂、钠、钾、钙和镁等的阳离子的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐反应的那些盐。

[0058] 本发明化合物可包括一个或多个不对称中心,且因此可以存在多种“立体异构体”形式,例如,对映异构体和/或非对映异构体形式。例如,本发明化合物可为单独的对映异构体、非对映异构体或几何异构体(例如顺式和反式异构体),或者可为立体异构体的混合物的形式,包括外消旋混合物和富含一种或多种立体异构体的混合物。异构体可通过本领域技术人员已知的方法从混合物中分离,所述方法包括:手性高压液相色谱法(HPLC)以及手性盐的形成和结晶;或者优选的异构体可通过不对称合成来制备。

[0059] 在某些情况中,本发明化合物也可能以互变异构体的形式存在。尽管仅有一种非定域共振结构可能被描述,但设想所有的这类形式都落在本发明的保护范围内。例如,对于嘌呤、嘧啶、咪唑、胍、脒和四唑系统而言,烯-胺互变异构体可能存在,并且所有它们可能的

互变异构形式都落在本发明保护范围内。

[0060] 术语“多晶型”是指化学药物分子的不同排列方式,一般表现为药物原料在固体状态下的存在形式。一种药物可以多种晶型物质状态存在,同一种药物的不同晶型,在体内的溶解和吸收可能不同,从而会对制剂的溶出和释放产生影响。

[0061] 术语“前药”是指在体内通过例如在血液中水解转变成其具有医学效应的活性形式的化合物。前药为任何共价键合的载体,当将这种前药给予患者时,其在体内释放本发明化合物。通常通过修饰官能团来制备前药,该修饰使得前药在体内裂解产生母体化合物。前药包括,例如,其中羟基、氨基或巯基与任意基团键合的本发明化合物,当将其给予患者时,可以裂解形成羟基、氨基或巯基。因此,前药的代表性实例包括但不限于,本发明化合物通过其中的羟基、氨基或巯基官能团与乙酸、甲酸或苯甲酸形成的共价衍生物。另外,在羧酸(-COOH)的情况下,可以使用酯,例如甲酯、乙酯等。酯本身可以是有活性的和/或可以在人体体内条件下水解。合适的药学上可接受的体内可水解的酯包括容易在人体中分解而释放母体酸或其盐的那些。

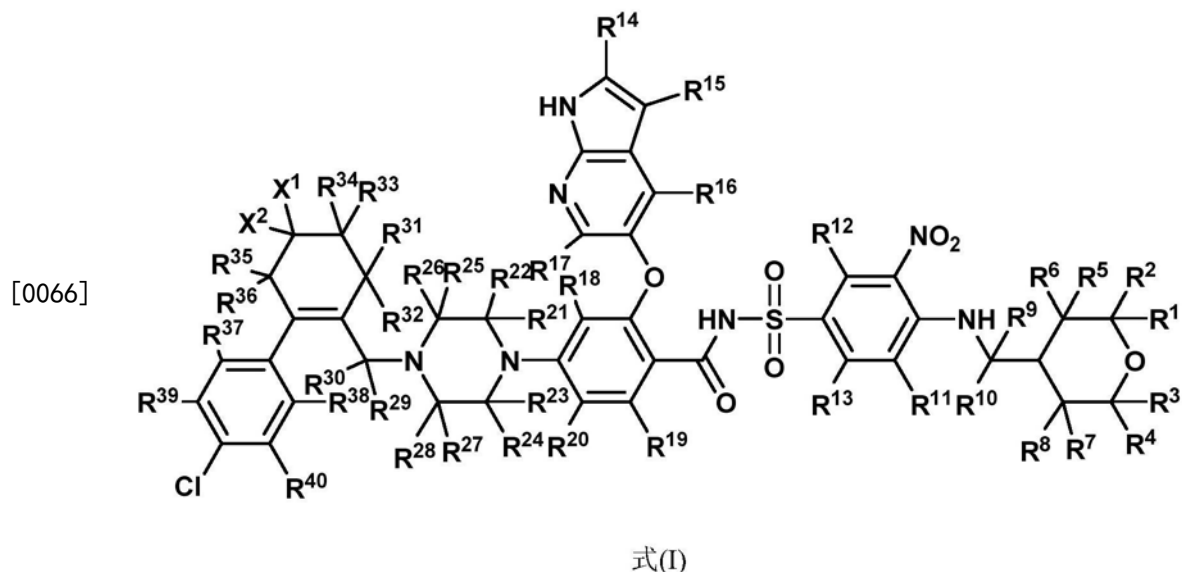
[0062] 术语“溶剂合物”指本发明化合物与溶剂分子配位形成特定比例的配合物。“水合物”是指本发明化合物与水进行配位形成的配合物。

[0063] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:本发明的化合物对Bcl-2蛋白激酶具有优异的抑制性;通过氘化这一技术改变化合物在生物体中的代谢,使化合物具有更好的药代动力学参数特性。在这种情况下,可以改变剂量并形成长效制剂,改善适用性;用氘取代化合物中的氢原子,由于其氘同位素效应,提高化合物在动物体内的药物浓度,提高了药物疗效;用氘取代化合物中的氢原子,可以抑制某些代谢产物,提高了化合物的安全性。

具体实施方式

[0064] 化合物

[0065] 本发明提供式(I)所示的N-苯磺酰基苯甲酰胺化合物、或其药学上可接受的盐、前药、晶型、立体异构体、水合物或溶剂合物:



[0067] 其中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 相互独立地选自

氢、氘、卤素或三氟甲基；

[0068] X^1 、 X^2 相互独立地选自“氢(H)、氘(D)、甲基、 CH_2D 、 CHD_2 、 CD_3 、 CH_2CH_3 、 $CHDCH_3$ 、 $CHDCH_2D$ 、 $CHDCHD_2$ 、 $CHDCD_3$ 、 CD_2CH_3 、 CD_2CH_2D 、 CD_2CHD_2 、 CD_2CD_3 ”组成的组；

[0069] 附加条件是， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 、 R^{40} 、 X^1 和 X^2 中至少一个是氘代的或氘。

[0070] 作为本发明的优选实施方案，氘在氘代位置的氘同位素含量至少是大于天然氘同位素含量0.015%，更佳地大于30%，更佳地大于50%，更佳地大于75%，更佳地大于95%，更佳地大于99%。

[0071] 在具体实施方案中，“ R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 和 R^{40} 相互独立地选自氢、氘、卤素或三氟甲基”包括 R^1 选自氢、氘、卤素或三氟甲基， R^2 选自氢、氘、卤素或三氟甲基， R^3 选自氢、氘、卤素或三氟甲基，以此类推，直至 R^{40} 选自氢、氘、卤素或三氟甲基的技术方案。更具体地，包括 R^1 为氢、 R^1 为氘、 R^1 为卤素(F、Cl、Br、I)、 R^1 为三氟甲基， R^2 为氢、 R^2 为氘、 R^2 为卤素(F、Cl、Br、I)、 R^2 为三氟甲基， R^3 为氢、 R^3 为氘、 R^3 为卤素(F、Cl、Br、I)、 R^3 为三氟甲基，以此类推，直至 R^{40} 为氢、 R^{40} 为氘、 R^{40} 为卤素(F、Cl、Br、I)、 R^{40} 为三氟甲基的技术方案。

[0072] 在另一具体实施方案中，“ X^1 、 X^2 相互独立地选自‘氢(H)、氘(D)、甲基、 CH_2D 、 CHD_2 、 CD_3 、 CH_2CH_3 、 $CHDCH_3$ 、 $CHDCH_2D$ 、 $CHDCHD_2$ 、 $CHDCD_3$ 、 CD_2CH_3 、 CD_2CH_2D 、 CD_2CHD_2 、 CD_2CD_3 ’组成的组”包括 X^1 选自氢(H)、氘(D)、甲基、 CH_2D 、 CHD_2 、 CD_3 、 CH_2CH_3 、 $CHDCH_3$ 、 $CHDCH_2D$ 、 $CHDCHD_2$ 、 $CHDCD_3$ 、 CD_2CH_3 、 CD_2CH_2D 、 CD_2CHD_2 、 CD_2CD_3 ， X^2 选自氢(H)、氘(D)、甲基、 CH_2D 、 CHD_2 、 CD_3 、 CH_2CH_3 、 $CHDCH_3$ 、 $CHDCH_2D$ 、 $CHDCHD_2$ 、 $CHDCD_3$ 、 CD_2CH_3 、 CD_2CH_2D 、 CD_2CHD_2 、 CD_2CD_3 的技术方案。更具体地，包括 X^1 为氢、 X^1 为氘、 X^1 为 CH_2D 、 X^1 为 CHD_2 、 X^1 为 CD_3 、 X^1 为 CH_2CH_3 、 X^1 为 $CHDCH_3$ 、 X^1 为 $CHDCH_2D$ 、 X^1 为 $CHDCHD_2$ 、 X^1 为 $CHDCD_3$ 、 X^1 为 CD_2CH_3 、 X^1 为 CD_2CH_2D 、 X^1 为 CD_2CHD_2 、 X^1 为 CD_2CD_3 ， X^2 为氢、 X^2 为氘、 X^2 为 CH_2D 、 X^2 为 CHD_2 、 X^2 为 CD_3 、 X^2 为 CH_2CH_3 、 X^2 为 $CHDCH_3$ 、 X^2 为 $CHDCH_2D$ 、 X^2 为 $CHDCHD_2$ 、 X^2 为 $CHDCD_3$ 、 X^2 为 CD_2CH_3 、 X^2 为 CD_2CH_2D 、 X^2 为 CD_2CHD_2 、 X^2 为 CD_2CD_3 的技术方案。

[0073] 在优选地实施方案中，本发明涉及一种式(I)的化合物，或其药学上可接受的盐、前药、水合物或溶剂化合物、晶型、立体异构体或同位素变体，其中， R^{11} – R^{20} 和 R^{37} – R^{40} 是氢， X^1 和 X^2 相互独立地选自甲基、 CH_2D 、 CHD_2 、 CD_3 ， R^1 – R^{10} 、 R^{21} – R^{30} 、 R^{31} – R^{36} 如上所定义，附加条件是，式(I)化合物至少含有一个氘原子。

[0074] 在优选地实施方案中，本发明涉及一种式(I)的化合物，或其药学上可接受的盐、前药、水合物或溶剂化合物、晶型、立体异构体或同位素变体，其中， R^{11} – R^{20} 和 R^{37} – R^{40} 是氢， X^1 和 X^2 相互独立地选自甲基、 CH_2D 、 CHD_2 、 CD_3 ， R^1 – R^{10} 、 R^{21} – R^{30} 和 R^{31} – R^{36} 相互独立地选自氢或氘，附加条件是，式(I)化合物至少含有一个氘原子。

[0075] 在优选地实施方案中，本发明涉及一种式(I)的化合物，或其药学上可接受的盐、前药、水合物或溶剂化合物、晶型、立体异构体或同位素变体，其中， R^{11} – R^{20} 和 R^{37} – R^{40} 是氢， X^1 和 X^2 相互独立地选自甲基或 CD_3 ， R^1 – R^8 和 R^{31} – R^{36} 为氢， R^9 – R^{10} 和 R^{21} – R^{30} 相互独立地选自氢或氘，附加条件是，式(I)化合物至少含有一个氘原子。

[0076] 在优选地实施方案中，本发明涉及一种式(I)的化合物，或其药学上可接受的盐、

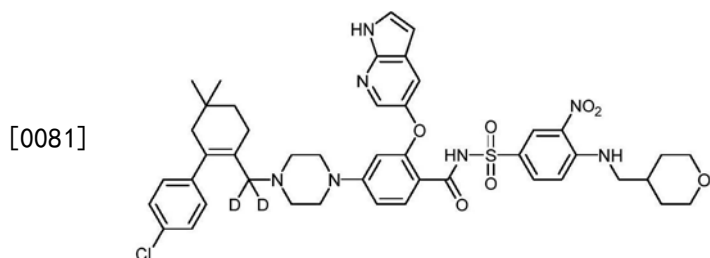
前药、水合物或溶剂化合物、晶型、立体异构体或同位素变体,其中, $R^{11}-R^{20}$ 和 $R^{37}-R^{40}$ 是氢, X^1 和 X^2 相互独立地选自甲基, R^1-R^8 和 $R^{31}-R^{36}$ 为氢, R^9-R^{10} 和 $R^{21}-R^{30}$ 相互独立地选自氢或氘,附加条件是,式(I)化合物至少含有一个氘原子。

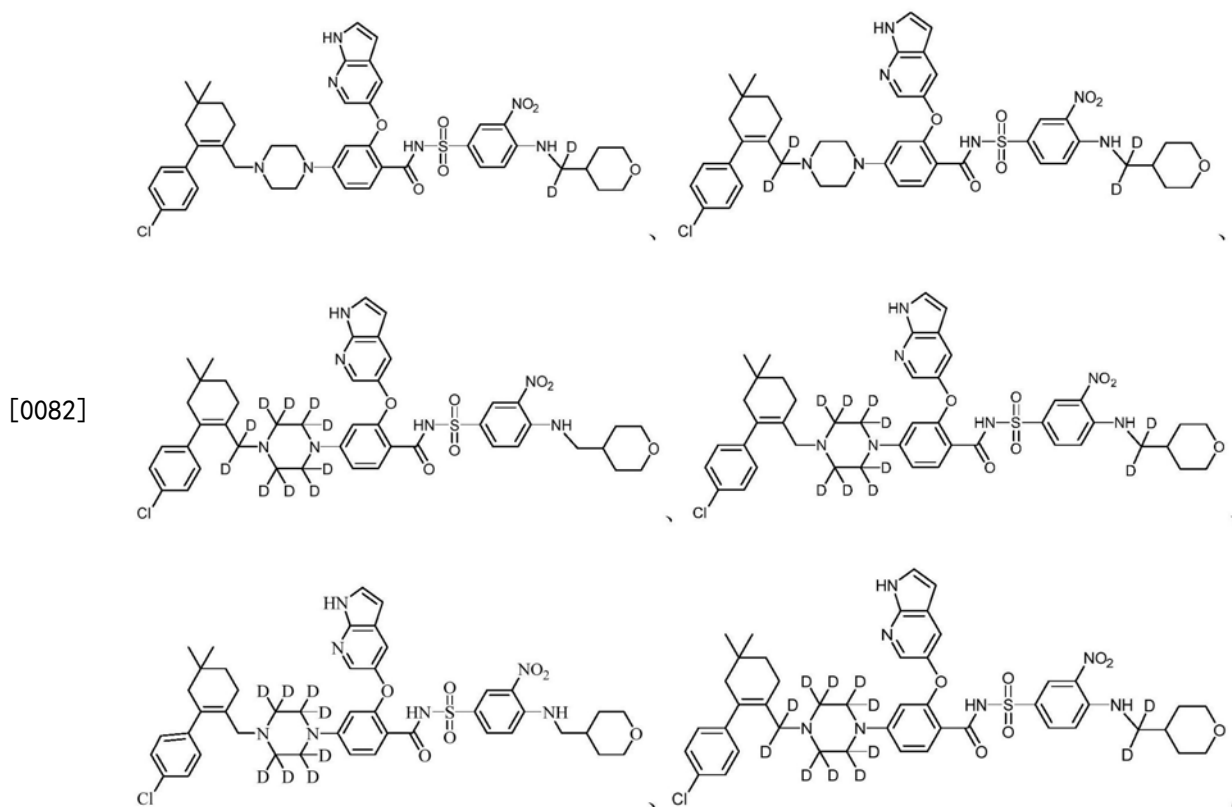
[0077] 在优选地实施方案中,本发明涉及一种式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐、前药、水合物或溶剂化合物、晶型、立体异构体或同位素变体,其中, $R^{11}-R^{20}$ 和 $R^{37}-R^{40}$ 是氢, X^1 和 X^2 相互独立地选自甲基, R^1-R^8 和 $R^{31}-R^{36}$ 为氢, R^9 和 R^{10} 为氘, $R^{21}-R^{30}$ 相互独立地选自氢或氘。在另一具体实施方案中, $R^{21}-R^{28}$ 为氘;在另一具体实施方案中, $R^{21}-R^{28}$ 为氢;在另一具体实施方案中, $R^{29}-R^{30}$ 为氘;在另一具体实施方案中, $R^{29}-R^{30}$ 为氢。

[0078] 在优选地实施方案中,本发明涉及一种式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐、前药、水合物或溶剂化合物、晶型、立体异构体或同位素变体,其中, $R^{11}-R^{20}$ 和 $R^{37}-R^{40}$ 是氢, X^1 和 X^2 相互独立地选自甲基, R^1-R^8 和 $R^{31}-R^{36}$ 为氢, $R^{21}-R^{28}$ 为氘, R^9 、 R^{10} 、 R^{29} 和 R^{30} 相互独立地选自氢或氘。在另一具体实施方案中, R^9 和 R^{10} 为氘;在另一具体实施方案中, R^{29} 和 R^{30} 为氢;在另一具体实施方案中, R^{29} 和 R^{30} 为氘。

[0079] 在优选地实施方案中,本发明涉及一种式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐、前药、水合物或溶剂化合物、晶型、立体异构体或同位素变体,其中, $R^{11}-R^{20}$ 和 $R^{37}-R^{40}$ 是氢, X^1 和 X^2 相互独立地选自甲基, R^1-R^8 和 $R^{31}-R^{36}$ 为氢, R^{29} 和 R^{30} 为氘, R^9-R^{10} 和 $R^{21}-R^{28}$ 相互独立地选自氢或氘。在另一具体实施方案中, R^9-R^{10} 为氘;在另一具体实施方案中, R^9-R^{10} 氢;在另一具体实施方案中, $R^{21}-R^{28}$ 为氘;在另一具体实施方案中, $R^{21}-R^{28}$ 为氢。

[0080] 在优选实施方案中,式(I)化合物选自下式结构的化合物:





[0083] 合成

[0084] 本发明化合物(包括其盐)可使用已知有机合成技术来制备,且可按照多种可能合成途径中的任一种(诸如下文方案中的那些)来合成。用于制备本发明化合物的反应可在合适的溶剂中进行,有机合成领域的技术人员可容易地选择溶剂。合适的溶剂可在进行反应的温度(例如,在溶剂结冻温度至溶剂沸点温度范围内的温度)下与起始物质(反应物)、中间体或产物实质上不反应。既定反应可在一种溶剂或一种以上溶剂的混合物中进行。技术人员可依据具体反应步骤来选择用于具体反应步骤的溶剂。

[0085] 本发明化合物的制备可涉及不同化学基团的保护和去除保护。本领域技术人员可容易地判定是否需要保护和去除保护以及适当保护基的选择。保护基的化学性质可参见例如Wuts和Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版, John Wiley&Sons: New Jersey, (2006), 其通过引用整体并入本文中。

[0086] 可按照本领域已知任何合适的方法来监测反应。例如,可通过光谱手段(诸如核磁共振(NMR)光谱法(例如 ^1H 或 ^{13}C)、红外(IR)光谱法、分光光度法(例如,UV-可见光)、质谱(MS))或通过色谱方法(诸如高效液相色谱法(HPLC)或薄层色谱法(TLC))来监测产物形成。

[0087] 药物组合物、制剂和试剂盒

[0088] 在另一方面,本发明提供了药物组合物,其包含本发明化合物(还称为“活性组分”)和药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,所述药物组合物包含有效量的活性组分。在一些实施方案中,所述药物组合物包含治疗有效量的活性组分。在一些实施方案中,所述药物组合物包含预防有效量的活性组分。

[0089] 用于本发明的药学上可接受的赋形剂是指不会破坏一起配制的化合物的药理学活性的无毒载剂、佐剂或媒剂。可以用于本发明组合物中的药学上可接受的载剂、佐剂或媒剂包括但不限于,离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(如人类血清白蛋白)、

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、硅胶、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、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、聚乙二醇以及羊毛脂。

[0090] 本发明还包括试剂盒(例如,药物包装)。所提供的试剂盒可以包括本发明化合物、其它治疗剂,以及含有本发明化合物、其它治疗剂的第一和第二容器(例如,小瓶、安瓿瓶、瓶、注射器和/或可分散包装或其它合适的容器)。在一些实施方案中,提供的试剂盒还可以任选包括第三容器,其含有用于稀释或悬浮本发明化合物和/或其它治疗剂的药用赋形剂。在一些实施方案中,提供在第一容器和第二容器中的本发明化合物和其它治疗剂组合形成一个单位剂型。

[0091] 本发明提供的药物组合物可以通过许多途径给药,包括但不限于:口服给药、肠胃外给药、吸入给药、局部给药、直肠给药、鼻腔给药、口腔给药、阴道给药、通过植入剂给药或其它给药方式。例如,本文使用的肠胃外给药包括皮下给药、皮内给药、静脉内给药、肌肉内给药、关节内给药、动脉内给药、滑膜腔内给药、胸骨内给药、脑脊髓膜内给药、病灶内给药、和颅内的注射或输液技术。

[0092] 通常,给予有效量的本文所提供的化合物。按照有关情况,包括所治疗的病症、选择的给药途径、实际给予的化合物、个体患者的年龄、体重和响应、患者症状的严重程度,等等,可以由医生确定实际上给予的化合物的量。

[0093] 当用于预防本发明所述病症时,给予处于形成所述病症危险之中的受试者本文所提供的化合物,典型地基于医生的建议并在医生监督下给药,剂量水平如上所述。处于形成具体病症的危险之中的受试者,通常包括具有所述病症的家族史的受试者,或通过遗传试验或筛选确定尤其对形成所述病症敏感的那些受试者。

[0094] 还可以长期给予本文所提供的药物组合物(“长期给药”)。长期给药是指在长时间内给予化合物或其药物组合物,例如,3个月、6个月、1年、2年、3年、5年等等,或者可无限期地持续给药,例如,受试者的余生。在一些实施方案中,长期给药意欲在长时间内在血液提供所述化合物的恒定水平,例如,在治疗窗内。

[0095] 可以使用各种给药方法,进一步递送本发明的药物组合物。例如,在一些实施方案中,可以推注给药药物组合物,例如,为了使化合物在血液中的浓度快速提高至有效水平。推注剂量取决于活性组分的目标全身性水平,例如,肌内或皮下的推注剂量使活性组分缓慢释放,而直接递送至静脉的推注(例如,通过IV静脉滴注)能够更加快速地递送,使得活性组分在血液中的浓度快速升高至有效水平。在其它实施方案中,可以以持续输液形式给予药物组合物,例如,通过IV静脉滴注,从而在受试者身体中提供稳态浓度的活性组分。此外,在其它实施方案中,可以首先给予推注剂量的药物组合物,而后持续输液。

[0096] 口服组合物可以采用散装液体溶液或混悬剂或散装粉剂形式。然而,更通常,为了便于精确地剂量给药,以单位剂量形式提供所述组合物。术语“单位剂型”是指适合作为人类患者及其它哺乳动物的单元剂量的物理离散单位,每个单位包含预定数量的、适于产生所需要的治疗效果的活性物质与合适药学赋形剂。典型的单位剂量形式包括液体组合物的预装填的、预先测量的安瓿或注射器,或者在固体组合物情况下的丸剂、片剂、胶囊剂等。在这种组合物中,所述化合物通常为较少的组分(约0.1至约50重量%,或优选约1至约40重

量%), 剩余部分为对于形成所需给药形式有用的各种载体或赋形剂以及加工助剂。

[0097] 对于口服剂量, 代表性的方案是, 每天一个至五个口服剂量, 尤其是两个至四个口服剂量, 典型地是三个口服剂量。使用这些剂量给药模式, 每个剂量提供大约0.01至大约20mg/kg的本发明化合物, 优选的剂量各自提供大约0.1至大约10mg/kg, 尤其是大约1至大约5mg/kg。

[0098] 为了提供与使用注射剂量类似的血液水平, 或比使用注射剂量更低的血液水平, 通常选择透皮剂量, 数量为大约0.01至大约20%重量, 优选大约0.1至大约20%重量, 优选大约0.1至大约10%重量, 且更优选大约0.5至大约15%重量。

[0099] 从大约1至大约120小时, 尤其是24至96小时, 注射剂量水平在大约0.1mg/kg/小时至至少10mg/kg/小时的范围。为了获得足够的稳定状态水平, 还可以给予大约0.1mg/kg至大约10mg/kg或更多的预载推注。对于40至80kg的人类患者来说, 最大总剂量不能超过大约2g/天。

[0100] 适于口服给药的液体形式可包括合适的水性或非水载体以及缓冲剂、悬浮剂和分散剂、着色剂、调味剂, 等等。固体形式可包括, 例如, 任何下列组份, 或具有类似性质的化合物: 粘合剂, 例如, 微晶纤维素、黄耆胶或明胶; 赋形剂, 例如, 淀粉或乳糖, 崩解剂, 例如, 褐藻酸、Primogel或玉米淀粉; 润滑剂, 例如, 硬脂酸镁; 助流剂, 例如, 胶体二氧化硅; 甜味剂, 例如, 蔗糖或糖精; 或调味剂, 例如, 薄荷、水杨酸甲酯或橙味调味剂。

[0101] 可注射的组合物典型地基于可注射用的无菌盐水或磷酸盐缓冲盐水, 或本领域中已知的其它可注射的赋形剂。如前所述, 在这种组合物中, 活性化合物典型地为较少的组分, 经常为约0.05至10%重量, 剩余部分为可注射的赋形剂等。

[0102] 典型地将透皮组合物配制为含有活性组分的局部软膏剂或乳膏剂。当配制为软膏剂时, 活性组分典型地与石蜡或可与水混溶的软膏基质组合。或者, 活性组分可与例如水包油型乳膏基质一起配制为乳膏剂。这种透皮制剂是本领域中公知的, 且通常包括用于提升活性组分或制剂的稳定的皮肤渗透的其它组份。所有这种已知的透皮制剂和组份包括在本发明提供的范围内。

[0103] 本发明化合物还可通过经皮装置给予。因此, 经皮给药可使用贮存器(reservoir)或多孔膜类型、或者多种固体基质的贴剂实现。

[0104] 用于口服给予、注射或局部给予的组合物的上述组份仅仅是代表性的。其它材料以及加工技术等阐述于Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition, 1985, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania的第8部分中, 本文以引用的方式引入该文献。

[0105] 本发明化合物还可以以持续释放形式给予, 或从持续释放给药系统中给予。代表性的持续释放材料的描述可在Remington's Pharmaceutical Sciences中找到。

[0106] 本发明还涉及本发明化合物的药学上可接受的制剂。在一个实施方案中, 所述制剂包含水。在另一个实施方案中, 所述制剂包含环糊精衍生物。最常见的环糊精为分别由6、7和8个 α -1,4-连接的葡萄糖单元组成的 α -、 β -和 γ -环糊精, 其在连接的糖部分上任选包括一个或多个取代基, 其包括但不限于: 甲基化的、羟基烷基化的、酰化的和磺烷基醚取代。在一些实施方案中, 所述环糊精为磺烷基醚 β -环糊精, 例如, 磺丁基醚 β -环糊精, 也称作Captisol。参见, 例如, U.S. 5,376,645。在一些实施方案中, 所述制剂包括六丙基- β -环糊精

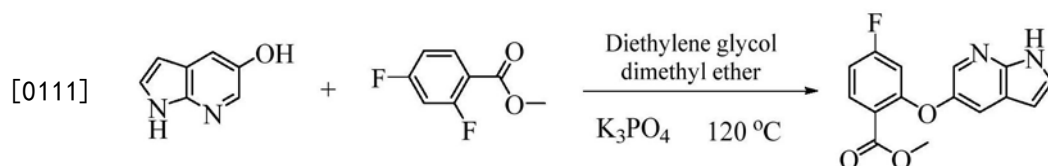
(例如,在水中,10-50%)。

[0107] 实施例

[0108] 下面更具体地描述本发明式(I)结构化合物的制备方法,但这些具体方法不对本发明构成任何限制。本发明化合物还可以任选将在本说明书中描述的或本领域已知的各种合成方法组合起来而方便地制得,这样的组合可由本发明所属领域的技术人员容易地进行。

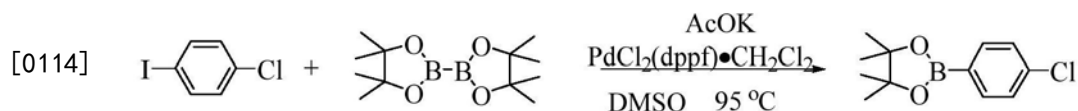
[0109] 通常,在制备流程中,各反应通常在惰性溶剂中,在室温至回流温度(如0℃~100℃,优选0℃~80℃)下进行。反应时间通常为0.1小时-60小时,较佳地为0.5-24小时。

[0110] 中间体化合物1:2-[(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)氧基]-4-氟苯甲酸甲酯的合成。



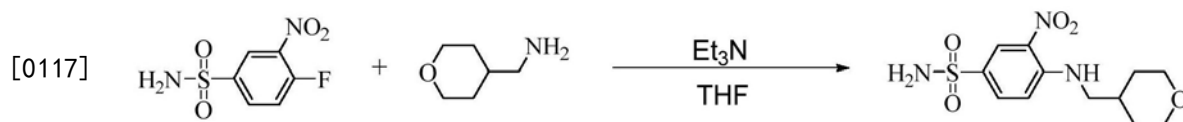
[0112] 氮气氛围下,依次将1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-醇(1.0g,7.45mmol)、2,4-二氟苯甲酸甲酯(1.6g,9.31mmol)、磷酸钾(2.05g,9.69mmol)加入到20mL二甘醇二甲醚溶液中,该反应液在115℃下搅拌约10h,点板分析,直到原料反应完全。反应液冷却至室温,加水淬灭反应,用乙酸乙酯萃取,收集有机相,通过柱色谱分离纯化得到白色固体产物1.3g,收率62%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 10.66 (s, 1H), 8.24 (d, J=2.5Hz, 1H), 7.99 (dd, J=8.8, 6.6Hz, 1H), 7.69 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.50-7.42 (m, 1H), 6.83 (ddd, J=8.8, 7.6, 2.4Hz, 1H), 6.57-6.49 (m, 2H), 3.93 (s, 3H)。

[0113] 中间体化合物2:4-氯苯硼酸频那醇酯的合成。



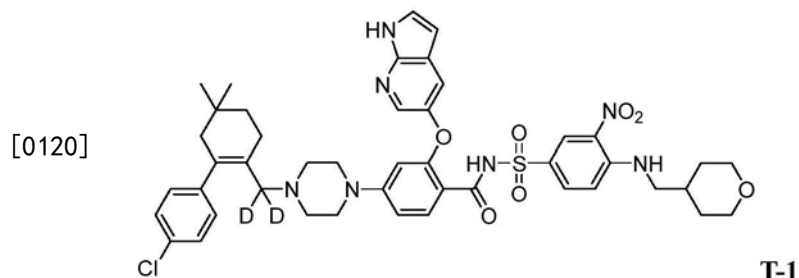
[0115] 氮气氛围下,依次将氯碘苯(6.0g,25.16mmol)、Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂(1.0g,1.26mmol)、醋酸钾(4.93g,50.3mmol)、联频哪醇硼酸酯(6.4g,26.4mmol)加入到50ml的DMSO溶液中,加热至95℃并反应10h。反应液冷却至室温,加水淬灭反应,用二氯甲烷萃取,收集有机相,通过柱色谱分离纯化得到黄色固体产物3.2g,收率50%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.73 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.35 (d, J=8.3Hz, 2H), 1.34 (s, 12H)。

[0116] 中间体化合物3:3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基)氨基]苯磺酰胺的合成。

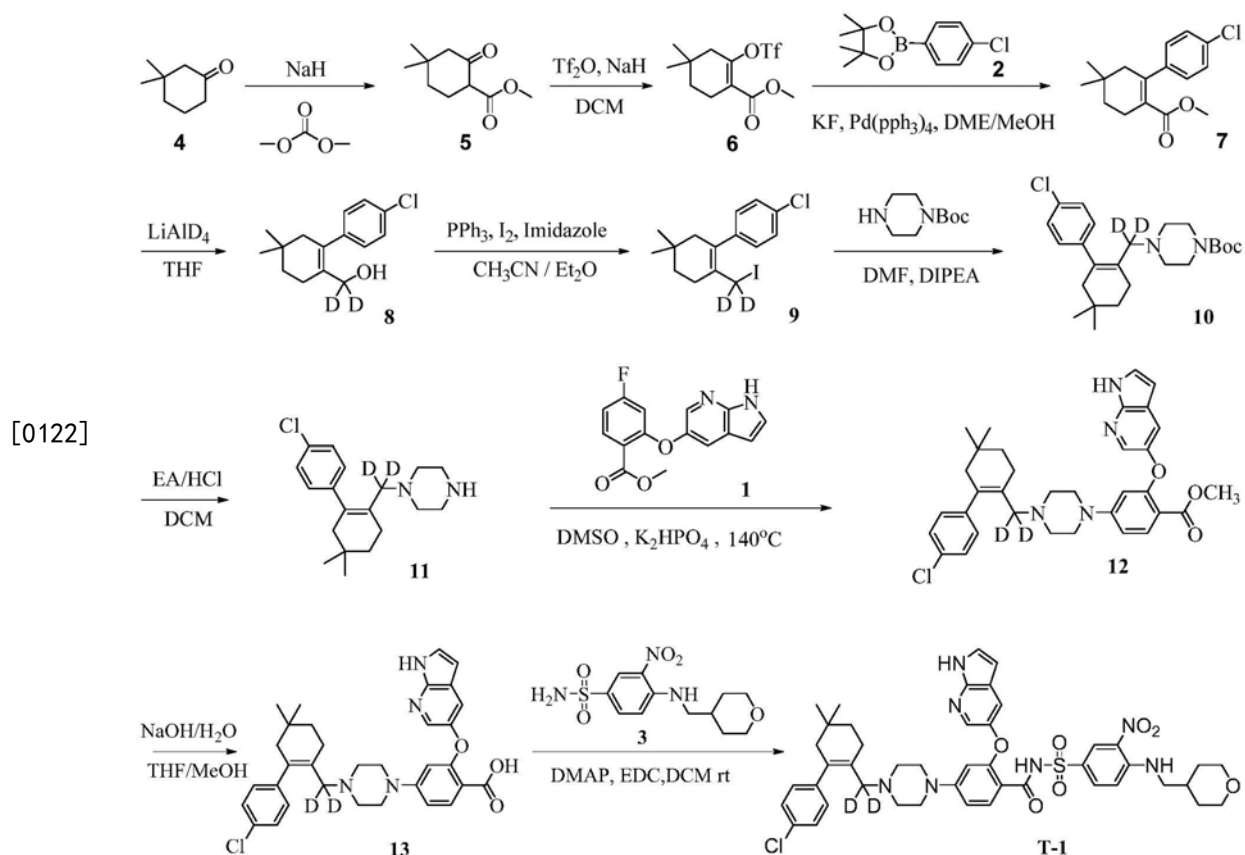


[0118] 依次将4-氟-3-硝基苯磺酰胺(1.0g,4.54mmol)、(四氢-2H-吡喃-4-基)甲氨(0.6g,4.49mmol)、三乙胺(1.3g,6.81mmol)加入到10ml的四氢呋喃溶液中,室温搅拌5h后,移除溶剂,加入20ml甲醇打浆,干燥后得到产物1.4g,收率97%。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.59 (s, 1H), 8.47 (d, J=2.2Hz, 1H), 7.83 (dd, J=9.2, 2.1Hz, 1H), 7.35 (s, 2H), 7.30 (d, J=9.3Hz, 1H), 3.85 (dd, J=11.0, 3.3Hz, 2H), 3.37 (s, 2H), 3.26 (t, J=11.6Hz, 2H), 1.91 (ddd, J=11.2, 7.6, 4.0Hz, 1H), 1.61 (d, J=12.7Hz, 2H), 1.33-1.21 (m, 2H)。

[0119] 实施例1制备4-(4-{[2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基环己-1-烯-1-基]甲基-d₂}哌嗪-1-基)-N-({3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺,即化合物T-1,分子式如下:



[0121] 采用以下路线进行合成:



[0123] 步骤1化合物5的合成。

[0124] 氮气保护下将氢化钠(1.9g, 79.3mmol)和碳酸二甲酯(14.3g, 158.6mmol)加入到无水THF(15ml)溶液中加热,回流时滴加3,3-二甲基环己酮(5.0g, 39.6mmol)的THF溶液,滴加完毕后,继续回流4h。冷却至室温,加入甲醇淬灭反应,再加入水和二氯甲烷萃取,收集有机相,通过柱色谱分离纯化得到无色液体产品4.2g,收率70%。

[0125] 步骤2化合物6的合成。

[0126] 在0℃下,将化合物5(4.2g, 22.8mmol)缓慢滴加到氢化钠(1.0g, 45.6mmol)的二氯甲烷(80mL)溶液中,反应0.5h,降温至-25℃,再缓慢滴加三氟甲磺酸酐(Tf₂O, 7.7g, 27.4mmol),滴加完毕后,反应液在室温下反应过夜。加入2M的氯化铵(50ml)溶液萃取,收集有机相,水(60ml×2)洗涤,无水硫酸钠干燥,除去溶剂,浓缩液进行柱分离(洗脱剂:石油

醚/乙酸乙酯 (v/v) = 100:1), 得到淡黄色液体产品 5.0g, 收率 69%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 3.81 (s, 3H), 2.55-2.47 (m, 2H), 2.18 (t, J = 2.4Hz, 2H), 1.44 (t, J = 6.4Hz, 2H), 1.01 (s, 6H)。

[0127] 步骤3化合物7的合成。

[0128] 氮气保护下依次将化合物2 (0.70g, 2.93mmol)、化合物6 (0.928g, 2.93mmol)、四三苯基磷钼 (0.300g, 0.29mmol) 和氟化钾 (0.42g, 7.33mmol) 加入到二氯甲烷 (20ml) 和甲醇 (10ml) 的混合液中, 加热至 65℃ 反应 6h。冷却至室温, 加入水 (20ml) 淬灭反应, 二氯甲烷 (30ml \times 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 (v/v) = 40:1), 得到无色液体产品 0.54g, 收率 67%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.33-7.27 (m, 2H), 7.06 (d, J = 8.5Hz, 2H), 3.49 (s, 3H), 2.53-2.45 (m, 2H), 2.15 (t, J = 2.3Hz, 2H), 1.51 (t, J = 6.5Hz, 2H), 1.02 (s, 6H)。

[0129] 步骤4化合物8的合成。

[0130] 在 0℃ 条件下, 将 LiAlD₄ (0.2g, 5.02mmol) 缓慢滴加到化合物 7 (0.7g, 2.51mmol) 的四氢呋喃 (20ml) 溶液中, 滴加完毕后继续反应 1h。加入 1M 的盐酸 (10ml) 淬灭反应, 二氯甲烷 (40ml \times 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂得到淡黄色液体产品 0.6g, 收率 96%。

[0131] 步骤5化合物9的合成。

[0132] 将含有化合物 8 (1.2g, 4.78mmol) 的乙腈 (15ml) 和乙醚 (15ml) 的混合溶液中, 冷却至 -5℃, 加入咪唑 (0.72g, 10.53mmol) 和三苯基磷 (2.5g, 9.57mmol), 待完全溶解后再缓慢地加入碘 (2.92g, 11.51mmol), 继续反应 1h, 加水 (20ml) 淬灭反应, 乙酸乙酯 (40ml \times 2) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 (v/v) = 50:1), 得到无色液体产品 1.3g, 收率 77%。

[0133] 步骤6化合物10的合成。

[0134] 依次将化合物 9 (1.2g, 3.33mmol), N-叔丁氧羰基-哌嗪 (0.74g, 4.00mmol), N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA, 0.86g, 6.66mmol) 加入至 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF, 10ml) 溶液中, 加热至 80℃ 反应 1h, 冷却至室温, 加水 (20ml) 淬灭反应, 乙酸乙酯 (20ml \times 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 (v/v) = 30:1), 得到产品 1.1g, 收率 79%。

[0135] 步骤7化合物11的合成。

[0136] 在 0℃ 下, 缓慢地将 4M 盐酸的乙酸乙酯 (6ml) 溶液加入至化合物 10 (1.0g, 2.40mmol) 的二氯甲烷 (15ml) 溶液中, 升至室温继续反应 3h。抽滤, 用水溶解滤饼, 用磷酸钾调至中性, 乙酸乙酯 (30ml \times 2) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂得到产品 0.7g, 收率 92%。LC-MS (APCI): m/z = 322.13 (M+1)⁺。

[0137] 步骤8化合物12的合成。

[0138] 氮气保护下, 依次将化合物 11 (0.9g, 2.83mmol)、化合物 1 (0.8g, 2.83mmol) 和磷酸氢二钾 (0.98g, 5.66mmol) 加入至二甲亚砜 (DMSO, 25ml) 溶液中, 该反应液在 140℃ 反应 12h, 冷却至室温, 加水 (50ml) 淬灭反应, 乙酸乙酯 (40ml \times 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 (v/v) = 3:1), 得到等黄色油状物 1.3g, 收率 78%。LC-MS (APCI): m/z = 588.16 (M+1)⁺。

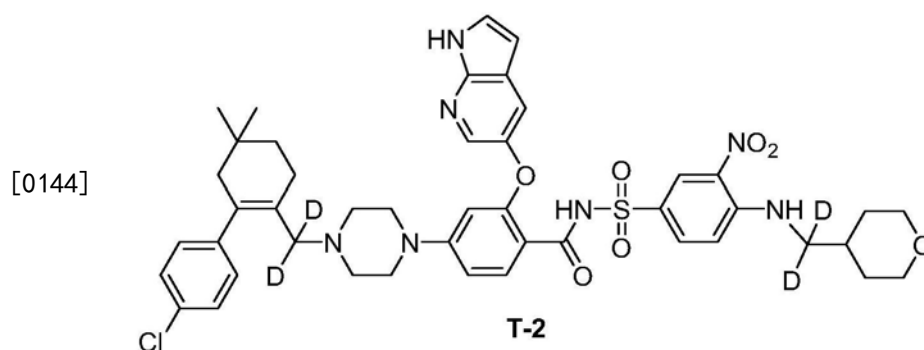
[0139] 步骤9化合物13的合成。

[0140] 依次将氢氧化钠(0.27g, 6.85mmol)、水(2ml)加入至化合物12(0.8g, 1.37mmol)的四氢呋喃(10ml)和甲醇(3ml)的混合溶液中, 反应液在45℃搅拌10h后, 冷却至室温, 移除大部分溶剂, 残留液用2M盐酸调至PH值为2, 用二氯甲烷(30ml×3)萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂得到白色固体0.65g, 收率83%。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ11.72 (s, 1H), 10.87 (s, 1H), 8.00 (d, J=2.6Hz, 1H), 7.78 (d, J=8.9Hz, 1H), 7.51-7.47 (m, 1H), 7.45 (d, J=2.5Hz, 1H), 7.40 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.11 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.77 (dd, J=9.0, 2.4Hz, 1H), 6.45-6.37 (m, 2H), 3.69 (d, J=13.2Hz, 2H), 3.55 (d, J=4.1Hz, 2H), 3.28 (d, J=12.3Hz, 2H), 2.72 (d, J=11.6Hz, 2H), 2.38 (s, 2H), 2.02 (s, 2H), 1.44 (t, J=6.1Hz, 2H), 0.94 (s, 6H)。

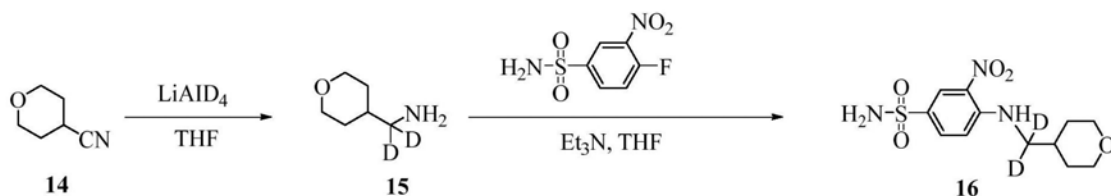
[0141] 步骤10化合物T-1的合成。

[0142] 依次将化合物13(0.10g, 0.18mmol)、化合物3(0.055g, 0.18mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC, 0.052g, 0.27mmol)和4-二甲氨基吡啶(DMAP, 0.044mg, 0.36mmol)加入至二氯甲烷(20ml)溶液中, 室温搅拌10h。加水(10ml)淬灭反应, 二氯甲烷(15ml×3)萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离(洗脱剂: 乙酸乙酯/甲醇(v/v)=30:1), 得到等黄色固体80mg, 收率53%。LC-MS (APCI): m/z=871.36 (M+1)⁺。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ11.71 (s, 1H), 11.48 (s, 1H), 8.60-8.50 (m, 2H), 8.00 (dd, J=15.2, 5.6Hz, 2H), 7.76 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.50 (t, J=6.1Hz, 3H), 7.34 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.26 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.04 (d, J=8.3Hz, 3H), 6.66 (d, J=8.9Hz, 1H), 3.84 (dd, J=11.2, 2.9Hz, 2H), 3.26 (dd, J=14.6, 8.7Hz, 4H), 3.10 (s, 4H), 2.81 (s, 2H), 2.21 (d, J=34.6Hz, 6H), 1.61 (d, J=11.5Hz, 2H), 1.38 (t, J=6.2Hz, 2H), 1.23 (s, 3H), 0.92 (s, 6H)。

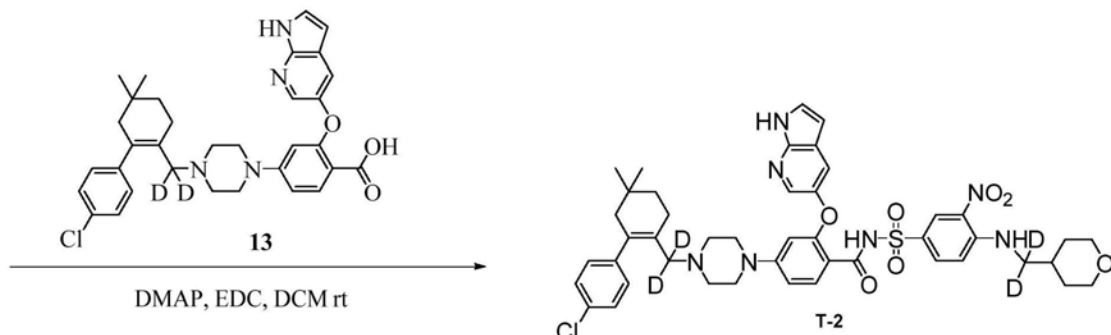
[0143] 实施例2制备4-(4-{[2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基环己-1-烯-1-基]甲基-d₂}哌嗪-1-基)-N-({3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基-d₂)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺, 即化合物T-2, 分子式如下:



[0145] 采用以下合成路线:



[0146]



[0147] 步骤1化合物15的合成。

[0148] 在0℃条件下,将LiAlD₄ (0.4g, 10.08mmol) 缓慢滴加至化合物14 (1.0g, 9.00mmol) 的四氢呋喃 (20ml) 溶液中,滴加完毕后继续反应1h。加入1M的盐酸 (10ml) 淬灭反应,二氯甲烷 (40ml × 3) 萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,除去溶剂得到淡黄色固体0.72g,收率68.6%。LC-MS (APCI) :m/z=118.29 (M+1)⁺。

[0149] 步骤2化合物16的合成。

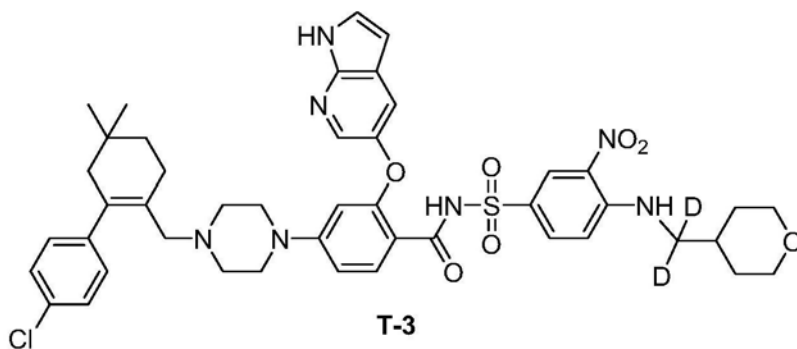
[0150] 依次将4-氟-3-硝基磺酰胺 (1.12g, 5.12mmol)、化合物15 (0.6g, 5.12mmol)、三乙胺 (0.78g, 7.68mmol) 加入至四氢呋喃 (10ml) 溶液中,反应液室温搅拌5h,移除溶剂,加入甲醇 (10ml) 打浆,干燥后得到产物0.8g,收率50%。LC-MS (APCI) :m/z=318.20 (M+1)⁺。

[0151] 步骤3化合物T-2的合成。

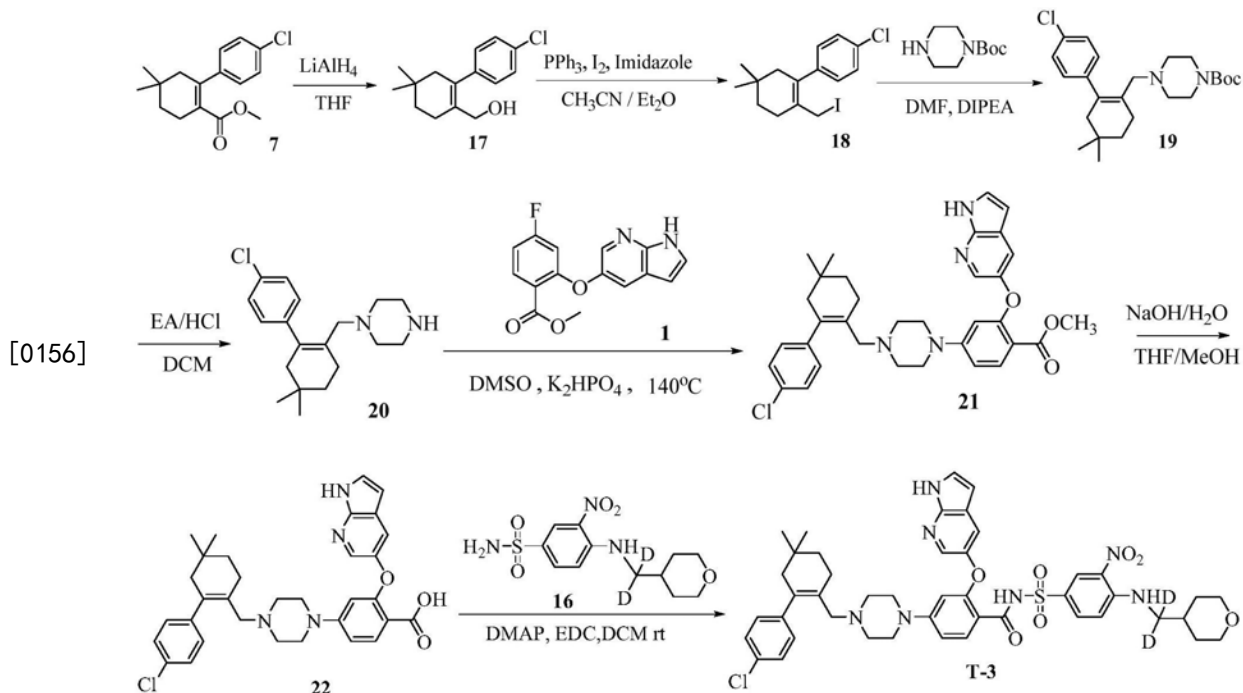
[0152] 依次将化合物16 (0.056g, 0.18mmol)、化合物13 (0.10g, 0.18mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC, 0.052g, 0.27mmol) 和4-二甲氨基吡啶 (DMAP, 0.044mg, 0.36mmol) 加入至二氯甲烷 (20ml) 溶液中,室温下搅拌10h。加水 (10ml) 淬灭反应,二氯甲烷 (15ml × 3) 萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,除去溶剂,浓缩液进行柱分离 (洗脱剂:乙酸乙酯/甲醇 (v/v)=30:1),得到等黄色固体45mg,收率30%。LC-MS (APCI) :m/z=873.47 (M+1)⁺。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 11.71 (s, 1H), 11.49 (s, 1H), 8.56 (m, 2H), 8.00 (dd, J=5.2Hz, 2H), 7.76 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.51 (t, J=6.1Hz, 3H), 7.36 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.26 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.14 (d, J=8.3Hz, 3H), 6.60 (d, J=8.9Hz, 1H), 3.45-3.26 (dd, 4H), 3.10 (s, 4H), 2.81 (s, 2H), 2.56-2.21 (d, J=4.6Hz, 6H), 1.61 (d, J=11.5Hz, 2H), 1.38 (t, J=6.2Hz, 2H), 1.23 (s, 3H), 0.92 (s, 6H)。

[0153] 实施例3制备4-(4-{[2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基环己-1-烯-1-基]甲基}哌嗪-1-基)-N-({3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基-d₂)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺,即化合物T-3,分子式如下:

[0154]



[0155] 采用以下合成路线:



[0157] 步骤1化合物17的合成。

[0158] 在0℃条件下,将LiAlH₄ (0.14g, 3.59mmol) 缓慢滴加到化合物7 (1.0g, 3.59mmol) 的四氢呋喃 (20ml) 溶液中,滴加完毕后继续反应1h。加入1M的盐酸 (10ml) 淬灭反应,二氯甲烷 (40ml×3) 萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,除去溶剂得到淡黄色液体产品0.8g,收率89%。

[0159] 步骤2化合物18的合成。

[0160] 将化合物17 (0.8g, 3.19mmol) 加入乙腈 (15ml) 和乙醚 (15ml) 的混合溶液中,冷却至-5℃,加入咪唑 (0.48g, 7.01mmol) 和三苯基磷 (1.67g, 6.38mmol),待完全溶解后再缓慢地加入碘 (1.95g, 7.65mmol),继续反应1h,加水 (20ml) 淬灭反应,乙酸乙酯 (40ml×2) 萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,除去溶剂,浓缩液进行柱分离 (洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯 (v/v) = 50:1),得到无色液体产品0.9g,收率78%。

[0161] 步骤3化合物19的合成。

[0162] 依次将化合物18 (0.6g, 1.67mmol), N-叔丁氧羰基-哌嗪 (0.37g, 2.00mmol), N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA, 0.43g, 3.33mmol) 加入至N,N-二甲基甲酰胺 (DMF, 10ml) 溶液中,加热至80℃反应1h,冷却至室温,加水 (20ml) 淬灭反应,乙酸乙酯 (20ml×3) 萃取,合并有机相,

无水硫酸钠干燥,除去溶剂,浓缩液进行柱分离(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯(v/v)=30:1),得到产品0.6g,收率85%。

[0163] 步骤4化合物20的合成。

[0164] 在0℃下,缓慢地将4M盐酸的乙酸乙酯(4ml)溶液加入至化合物19(0.6g, 1.44mmol)的二氯甲烷(15ml)溶液中,升至室温继续反应3h。抽滤,用水溶解滤饼,用磷酸钾调至中性,乙酸乙酯(30ml×2)萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,除去溶剂得到产品0.4g,收率87%。LC-MS (APCI):m/z=319.87 (M+1)⁺。

[0165] 步骤5化合物21的合成。

[0166] 氮气保护下,依次将化合物20(1.0g,3.13mmol)、化合物1(0.9g,3.13mmol)和磷酸氢二钾(1.10g,6.26mmol)加入至二甲亚砜(DMSO,25ml)溶液中,该反应液在140℃反应12h,冷却至室温,加水(50ml)淬灭反应,乙酸乙酯(50ml×3)萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,除去溶剂,浓缩液进行柱分离(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯(v/v)=3:1),得到等黄色油状物1.4g,收率76%。LC-MS (APCI):m/z=585.91 (M+1)⁺。

[0167] 步骤6化合物22的合成。

[0168] 依次将氢氧化钠(0.20g,5.12mmol)、水(2ml)加入至化合物21(0.6g,1.03mmol)的四氢呋喃(10ml)和甲醇(3ml)的混合溶液中,反应液在45℃搅拌10h后,冷却至室温,移除大部分溶剂,残留液用2M盐酸调至PH值为2,用二氯甲烷(30ml×3)萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,除去溶剂得到白色固体0.45g,收率85%。LC-MS (APCI):m/z=572.11 (M+1)⁺。

[0169] 步骤8化合物T-3的合成。

[0170] 依次将化合物22(0.10g,0.18mmol)、化合物16(0.055g,0.18mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC,0.052g,0.27mmol)和4-二甲氨基吡啶(DMAP,0.044mg,0.36mmol)加入至二氯甲烷(20ml)溶液中,室温搅拌10h。加水(10ml)淬灭反应,二氯甲烷(15ml×3)萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,除去溶剂,浓缩液进行柱分离(洗脱剂:乙酸乙酯/甲醇(v/v)=30:1),得到等黄色固体50mg,收率33%。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ11.70(s,1H),11.45(s,1H),8.62-8.51(m,2H),8.00(dd,J=18.9,5.6Hz,2H),7.78(d,J=9.4Hz,1H),7.54-7.45(m,3H),7.34(d,J=8.4Hz,2H),7.26(d,J=8.6Hz,1H),7.06(dd,J=17.2,8.7Hz,3H),6.67(d,J=7.2Hz,1H),6.38(dd,J=3.2,1.8Hz,1H),6.20(s,1H),3.84(dd,J=11.2,3.2Hz,2H),3.09(s,4H),2.79(s,2H),2.20(d,J=3.7Hz,5H),1.95(s,2H),1.61(d,J=12.3Hz,2H),1.38(t,J=6.2Hz,2H),1.23(s,2H),0.92(s,6H)。

[0171] 实施例4制备4-(4-{[2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基环己-1-烯-1-基]-甲基-d₂}哌嗪-1-基2,2,3,3,5,5,6,6-d₈)-N-({3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺,即化合物T-4,分子式如下:

12h, 冷却至室温, 加水 (30ml) 淬灭反应, 乙酸乙酯 (40ml \times 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 (v/v) = 3:1), 得到等黄色油状物 0.62g, 收率 69%。LC-MS (APCI) : m/z = 596.39 (M+1)⁺。

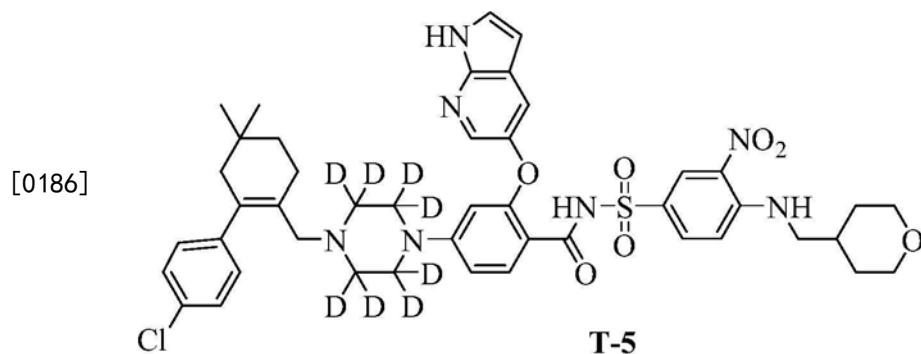
[0181] 步骤4化合物26的合成。

[0182] 依次将氢氧化钠 (0.21g, 5.04mmol)、水 (2ml) 加入至化合物25 (0.6g, 1.01mmol) 的四氢呋喃 (10ml) 和甲醇 (3ml) 的混合溶液中, 反应液在45℃搅拌10h后, 冷却至室温, 移除大部分溶剂, 残留液用2M盐酸调至PH值为2, 用二氯甲烷 (30ml × 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂得到白色固体0.48g, 收率82%。

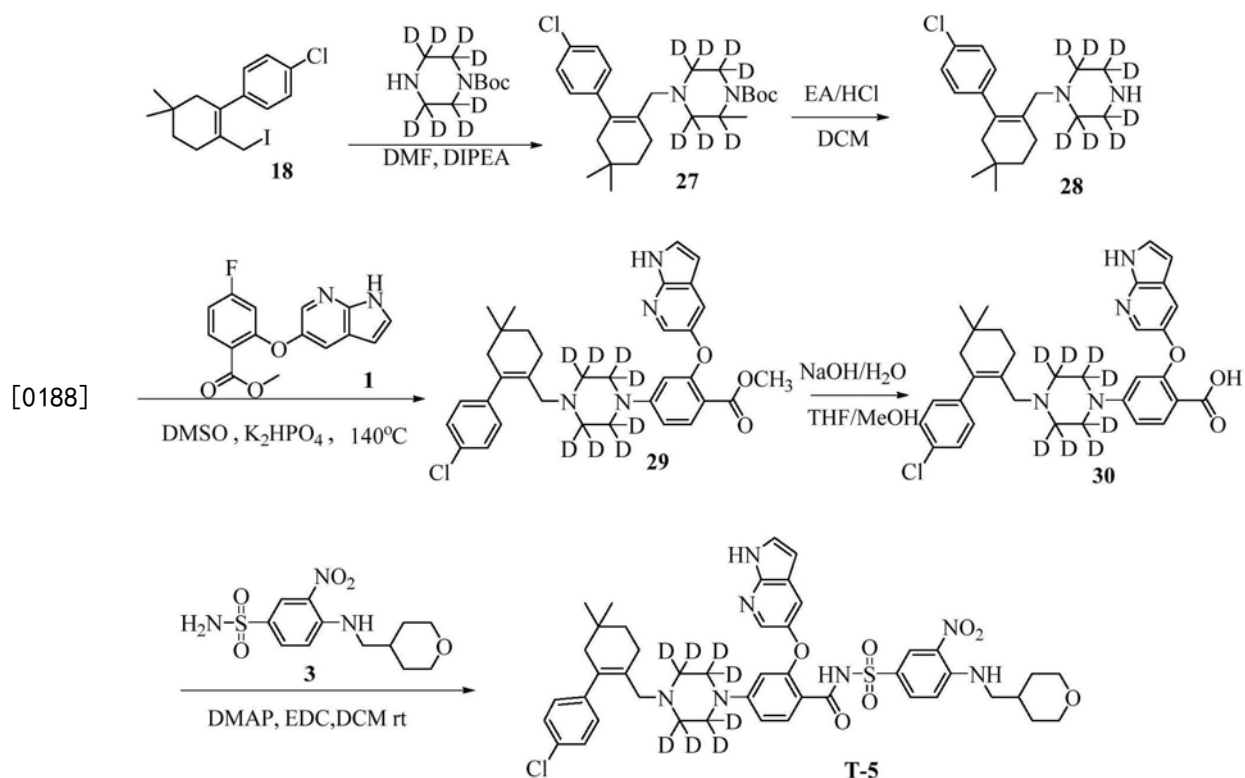
[0183] 步骤5化合物T-4的合成。

[0184] 依次将化合物26 (0.10g, 0.18mmol)、化合物3 (0.055g, 0.18mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC, 0.052g, 0.27mmol) 和4-二甲氨基吡啶 (DMAP, 0.044mg, 0.36mmol) 加入至二氯甲烷 (20ml) 溶液中, 室温搅拌10h。加水 (10ml) 淬灭反应, 二氯甲烷 (15ml \times 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯/甲醇 (v/v) = 30:1), 得到等黄色固体90mg, 收率59%。LC-MS (APCI): m/z = 878.92 ($M+1$)⁺。¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 11.72 (s, 1H), 11.43 (s, 1H), 8.71-8.50 (m, 2H), 8.10 (dd, J = 15.6, 5.6Hz, 2H), 7.76 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.60 (t, J = 6.1Hz, 3H), 7.34 (d, J = 8.4Hz, 2H), 7.16 (d, J = 8.6Hz, 1H), 7.04 (d, J = 8.3Hz, 3H), 6.51 (d, J = 8.9Hz, 2H), 3.84 (dd, 2H), 3.26 (dd, J = 8.7Hz, 2H), 3.10 (s, 2), 2.81 (s, 2H), 2.35 (d, 2H), 1.61 (d, J = 11.5Hz, 2H), 1.38 (t, J = 6.2Hz, 2H), 1.21 (s, 2H), 0.94 (s, 6H)。

[0185] 实施例5制备4-(4-{[2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基环己-1-烯-1-基]甲基}哌嗪-1-基-2,2,3,3,5,5,6,6-d₈)-N-({3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺,即化合物T-5,分子式如下:



[0187] 采用以下合成路线:



[0189] 步骤1化合物27的合成。

[0190] 依次将化合物18 (1.3g, 3.60mmol), N-叔丁氧羰基哌嗪-2,2,3,3,5,5,6,6- d_8 (0.70g, 3.60mmol), N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA, 0.70g, 5.40mmol) 加入至N,N-二甲基甲酰胺 (DMF, 10ml) 溶液中, 加热至 $80^\circ C$ 反应1h, 冷却至室温, 加水 (20ml) 淬灭反应, 乙酸乙酯 (30ml \times 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 (v/v) = 30:1), 得到产品1.2g, 收率78%。

[0191] 步骤2化合物28的合成。

[0192] 在 $0^\circ C$ 下, 缓慢地将4M盐酸的乙酸乙酯 (6ml) 溶液加入至化合物27 (1.2g, 2.81mmol) 的二氯甲烷 (15ml) 溶液中, 升至室温继续反应3h。抽滤, 用水溶解滤饼, 用磷酸钾调至中性, 乙酸乙酯 (30ml \times 2) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂得到产品0.8g, 收率87%。LC-MS (APCI) : m/z = 327.26 ($M+1$)⁺。

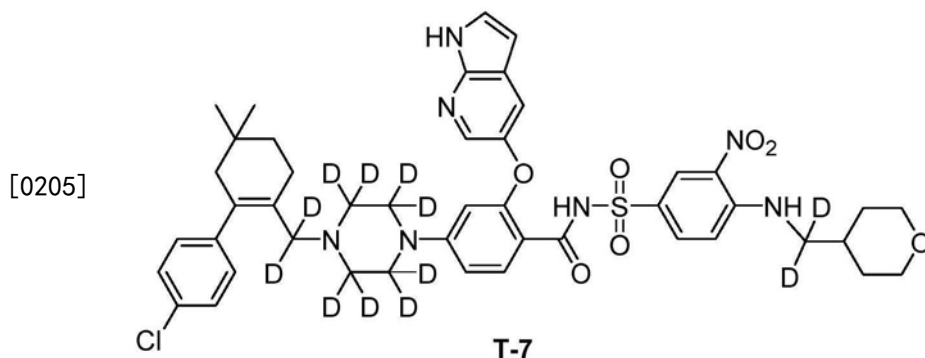
[0193] 步骤3化合物29的合成。

[0194] 氮气保护下, 依次将化合物28 (0.8g, 2.45mmol)、化合物1 (0.70g, 2.45mmol) 和磷酸氢二钾 (0.64g, 3.67mmol) 加入至二甲亚砜 (DMSO, 15ml) 溶液中, 该反应液在 $140^\circ C$ 反应12h, 冷却至室温, 加水 (30ml) 淬灭反应, 乙酸乙酯 (50ml \times 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 (v/v) = 3:1), 得到等黄色油状物1.21g, 收率83%。LC-MS (APCI) : m/z = 594.09 ($M+1$)⁺。

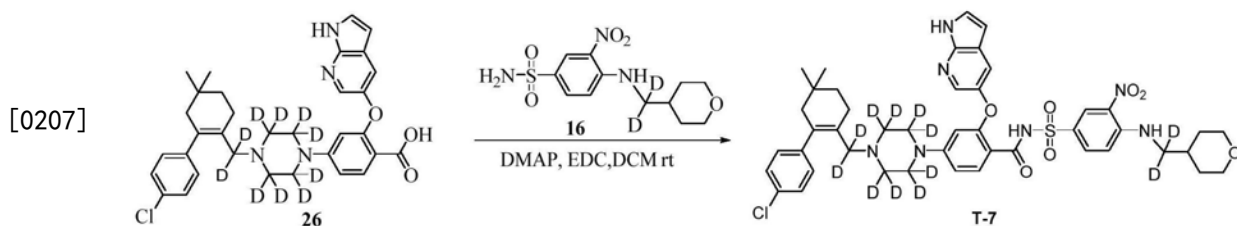
[0195] 步骤4化合物30的合成。

[0196] 依次将氢氧化钠 (0.34g, 8.43mmol)、水 (2ml) 加入至化合物29 (1.0g, 1.69mmol) 的四氢呋喃 (10ml) 和甲醇 (3ml) 的混合溶液中, 反应液在 $45^\circ C$ 搅拌10h后, 冷却至室温, 移除大部分溶剂, 残留液用2M盐酸调至PH值为2, 用二氯甲烷 (30ml \times 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂得到白色固体0.70g, 收率71%。

1-基-2,2,3,3,5,5,6,6-d₈))-N-({3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基-d₂)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺,即化合物T-7,分子式如下:



[0206] 采用以下合成路线:



[0208] 依次将化合物26 (0.10g, 0.18mmol)、化合物16 (0.055g, 0.18mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC, 0.052g, 0.27mmol) 和4-二甲氨基吡啶 (DMAP, 0.044mg, 0.36mmol) 加入至二氯甲烷 (20ml) 溶液中, 室温搅拌10h。加水 (10ml) 淬灭反应, 二氯甲烷 (15ml × 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 除去溶剂, 浓缩液进行柱分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯/甲醇 (v/v) = 30:1), 得到等黄色固体40mg, 收率26%。LC-MS (APCI): m/z = 880.52 (M+1)⁺。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 11.73 (s, 1H), 11.42 (s, 1H), 8.76-8.63 (m, 2H), 8.17 (dd, J = 5.8Hz, 2H), 7.82 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.60 (t, J = 6.1Hz, 3H), 7.34 (d, J = 8.4Hz, 2H), 7.16 (d, J = 8.6Hz, 2H), 7.04 (d, J = 8.3Hz, 2H), 3.87 (m, 2H), 3.57 (dd, 2H), 3.10 (s, 2), 2.81 (s, 2H), 2.35 (m, 4H), 1.63 (m, 2H), 1.38-1.16 (m, 2H), 0.95 (s, 6H)。

[0209] 生物活性测试

[0210] (1) Bcl-2蛋白活力测试

[0211] 蛋白: Bcl-2 (Cisbio 63ADK000CB01PEG); Bcl-xL (Cisbio 63ADK000CB04PEG);

[0212] 实验步骤: a) DMSO中稀释化合物: 待测化合物 (10mM储液) 用DMSO稀释500倍, 作为第一个浓度进行3倍的梯度稀释, 共10个浓度梯度, 第11个浓度为DMSO对照。b) 用ECHO向384反应板 (6008280, PerkinElmer) 中加入100nL/孔的化合物 (在步骤a中制备), 1000rpm离心1分钟备用。c) 向上述加有化合物的384反应板中分别加入5μL/孔BCL-2溶液 (2nM)、BCL-XL (5nM)、制备, 1000rpm离心1分钟, 加入5μL/孔BAK (80nM) 制备, 1000rpm离心1分钟, 25℃孵育15分钟。化合物的浓度依次为100nM起始浓度, 3倍稀释共10+0个点。DMSO终浓度为0.5%。d) 向上述384反应板中加入10μL/孔Anti-Tag1-Eu3+&Anti-Tag2-XL665溶液 (cisbio) 中制备, 1000rpm离心1分钟, 25℃孵育180分钟。e) 使用Envision多功能读板机读取665/615nm比值。按此方法测定本发明化合物的抑制常数 (K_i), 其中化合物的K_i作为“<” (小于) 特定数值来表现的, 是指结合亲和力值低于所使用试验的检测限。使用Wang's Competitive Binding of Two Different Ligands to a Protein Molecule. FEBS Lett. 1995, 360:

111-4)。

[0213] 抑制常数 (K_i) 是酶-抑制剂复合物或蛋白/小分子复合物的离解常数,其中小分子抑制一种蛋白与另一种蛋白或肽的结合。因此 K_i 值大表明低的结合亲和性, K_i 值小表明高的结合亲和性。

[0214] 通过上述实验步骤测试了本发明化合物和Venetoclax。与非氘代的Venetoclax相比,本发明化合物对于抗凋亡Bcl-2蛋白具有更好地结合亲和性,且对Bcl-xL蛋白的结合亲和性差,表现出对Bcl-2蛋白的高选择性。具体实验结果见下表1。

[0215] 表1:

实施例化合物	Bcl-2 (K_{inM})	Bcl-xL (K_{inM})
Venetoclax	0.90	>100
T-1	1.20	>100
T-2	1.03	>100
T-3	0.86	>100
T-4	0.88	>100
T-5	0.18	>100
T-6	1.71	>100
T-7	0.64	>100

[0217] (2) 细胞活力检测

[0218] 急性淋巴细胞白血病 (ALL) 细胞系RS4;11被用作初代人细胞系,以评价Bcl-2选择剂在体外的细胞活性,以及它们在体内的功效。

[0219] RS4;11在添加有2mM L-谷酰胺,10%FBS,1mM丙酮酸钠,2mM HEPES,1%青霉素/链霉素,4.5g/L葡萄糖的RPMI-1640中培养,并在含有5%二氧化碳的环境于37℃保持。为了实验在体外化合物的细胞活性,在具有5%二氧化碳的潮湿的室内,将细胞在96-孔微量滴定板中以每孔50000细胞、在10%人血清的存在下处理48小时。细胞毒性 EC_{50} 值按照生产商的推荐使用CellTier Glo (Promega) 进行评价。该 EC_{50} 值由处理之后有活力的细胞相对于未处理的对照细胞的百分比来确定。

[0220] 通过实验结果表明,本发明的化合物在抑制RS4;11细胞方面是非常有效的,具体实验结果见下表2。

[0221] 表2

实施例化合物	RS4;11 (K_{inM})
Venetoclax	3.07
T-1	4.13
T-2	4.29
T-3	3.66
T-4	2.93
T-5	2.86
T-6	6.74
T-7	3.15

[0223] (3) 肝微粒代谢实验

[0224] 微粒体实验:小鼠肝微粒体:0.5mg/mL,Xenotech;辅酶(NADPH/NADH):1mM,Sigma Life Science;氯化镁:5mM,100mM磷酸盐缓冲剂(pH为7.4)。

[0225] 储备液的配制:精密称取一定量的化合物的粉末,并用DMSO分别溶解至5mM。

[0226] 磷酸盐缓冲液(100mM,pH7.4)的配制:取预先配好的0.5M磷酸二氢钾150mL和700mL的0.5M磷酸氢二钾溶液混合,再用0.5M磷酸氢二钾溶液调节混合液pH值至7.4,使用前用超纯水稀释5倍,加入氯化镁,得到磷酸盐缓冲液(100mM),其中含100mM磷酸钾,3.3mM氯化镁,pH为7.4。

[0227] 配制NADPH再生系统溶液(含有6.5mM NADP,16.5mM G-6-P,3U/mL G-6-P D,3.3mM氯化镁),使用前置于湿冰上。

[0228] 配制终止液:含有50ng/mL盐酸普萘洛尔和200ng/mL甲苯磺丁脲(内标)的乙腈溶液。取25057.5μL磷酸盐缓冲液(pH7.4)至50mL离心管中,分别加入812.5μL小鼠肝微粒体,混匀,得到蛋白浓度为0.625mg/mL的肝微粒体稀释液。样品的孵育:用含70%乙腈的水溶液将相应化合物的储备液分别稀释至0.25mM,作为工作液,备用。分别取398μL的人肝微粒体或者大鼠肝微粒体稀释液加入96孔孵育板中(N=2),分别加入2μL 0.25mM的工作液中,混匀。

[0229] 代谢稳定性的测定:在96孔深孔板的每孔中加入300μL预冷的终止液,并置于冰上,作为终止板。将96孔孵育板和NADPH再生系统置于37℃水浴箱中,100转/分钟震荡,预孵5min。从孵育板每孔取出80μL孵育液加入终止板,混匀,补充20μL NADPH再生系统溶液,作为0min样品。再向孵育板每孔加入80μL的NADPH再生系统溶液,启动反应,开始计时。相应化合物的反应浓度为1μM,蛋白浓度为0.5mg/mL。分别于反应10、30、90min时,各取100μL反应液,加入终止板中,涡旋3min终止反应。将终止板于5000×g,4℃条件下离心10min。取100μL上清液至预先加入100μL蒸馏水的96孔板中,混匀,采用LC-MS/MS进行样品分析。

[0230] 数据分析:通过LC-MS/MS系统检测相应化合物及内标的峰面积,计算化合物与内标峰面积比值。通过化合物剩余量的百分率的自然对数与时间作图测得斜率,并根据以下公式计算 $t_{1/2}$ 和 CL_{int} ,其中V/M即等于1/蛋白浓度。

$$[0231] \quad t_{1/2} = -\frac{0.693}{\text{斜率}}, \quad CL_{int} = \frac{0.693}{t_{1/2}} \cdot \frac{V}{M}$$

[0232] 对本发明化合物及其没有氘代的化合物同时测验比较,评价其在人和大鼠肝微粒体的代谢稳定性。作为代谢稳定性的指标的半衰期及肝固有清除率如表3所示。表3中采用未经氘代的化合物Venetoclaxr作为对样品。如表3所示,通过与未经氘代的化合物Venetoclax对照,本发明化合物可以显著改善代谢稳定性。

[0233] 表3实施例1-7(即化合物T-1至T-7)与Venetoclaxr对照样品的代谢稳定性对比表

实施例化合物	小鼠肝微粒体实验	
	$t_{1/2}(\text{min})$	$CL_{\text{int}} (\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg})$
Venetoclax	81.1	17.1
T-1	244.3	5.7
T-2	142.7	9.7
T-3	75.3	18.4
T-4	67.1	20.7
T-5	91.1	15.2
T-6	77.8	17.8
T-7	306.9	4.5

[0235] (4) 大鼠药代动力学实验

[0236] 实验目的:研究大鼠给予实验的化合物后,考察本发明化合物的药代动力学行为。

[0237] 实验动物:

[0238] 种类及品系:SD大鼠等级:SPF级

[0239] 性别及数量:雄性,6只

[0240] 体重范围:180~220g (实际体重范围为187~197g)

[0241] 来源:上海西普尔必凯实验动物有限公司

[0242] 实验及动物合格证号:SCXK (沪) 2013-0016

[0243] 实验过程:

[0244] 在血样采集之前,预先在EDTA-K2抗凝管中加入20L的2M氟化钠溶液(酯酶抑制剂),于80度烘箱内烘干后,置于4度冰箱存放。

[0245] 大鼠,雄性,体重187~197g,随机分为2组,于实验前一天下午开始禁食过夜但可自由饮水,给药后4h给食物。A组给予Venetoclaxr (3mg/kg),B组给予实施例1-7化合物 (3mg/kg),分别于给药后15min、30min、1、2、3、5、8、10h从大鼠眼眶静脉取血100~200L左右,置于经EDTA-K2抗凝的0.5mL的Eppendorf管中,立即混匀,抗凝后,尽快将试管轻轻颠倒混匀5~6次后,血取好后放置在冰盒中,30min内把血样本在4000rpm,10min,4℃条件下离心分离血浆,收集全部血浆后立即于-20℃保存。所有时间点样品采集后测定每个时间点的血浆中的血药浓度。

[0246] 根据上述所得的给药后平均血药浓度-时间数据,采用Winnonin软件,按非房室统计矩理论求算雄性SD大鼠分别i.g给予Venetoclax、代表性实施例化合物 (3mg/kg) 后的药代动力学相关参数。

[0247] 实验表明,与未氘代的化合物相比,本发明化合物具有更优异的药代动力学性质。具体实验结果如下:

[0248]

化合物编号	T _{max} (h)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{last} (h*ng/mL)	MRT (h)	Cl _{pred} (L/h/kg)	F(%)
Venetoclax	3.33	477.9	3060.7	5.22	3.28	3.47
T-3	3.33	680.0	4425.2	5.07	2.41	7.10

[0249] 应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不用于限制本发明的范围,实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则份数和百分比为重量份和重量百分比。

[0250] 以上内容是结合具体的优选实施方式对本发明所作的进一步详细说明,不能认定本发明的具体实施只局限于这些说明。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干简单推演或替换,都应当视为属于本发明的保护范围。