



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104507906 B

(45)授权公告日 2017.04.12

(21)申请号 201380023227.1

(22)申请日 2013.04.30

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104507906 A

(43)申请公布日 2015.04.08

(30)优先权数据

12172673.1 2012.06.20 EP

1379/MUM/2012 2012.05.03 IN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2014.11.03

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2013/058947 2013.04.30

(87)PCT国际申请的公布数据

W02013/164326 EN 2013.11.07

(73)专利权人 塔科达有限责任公司

地址 德国康斯坦茨

(72)发明人 A.霍夫迈尔 R.伯尔 M.赫斯曼

A.帕尔 T.邓克恩 S.哈通

C.齐特 J.福尔茨 C.普雷希特

M.马克希雅 H.贾因 S.加瓦德

A.普拉布 M.蒂瓦里 A.克切

S.帕特尔

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 初明明 庞立志

(51)Int.Cl.

C07C 233/64(2006.01)

C07C 233/75(2006.01)

(56)对比文件

WO 2007017687 A2, 2007.02.15,

CN 101495452 A, 2009.07.29,

WO 2005080367 A1, 2005.09.01,

审查员 杨莹

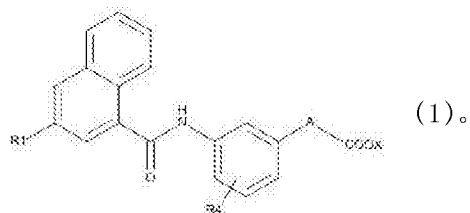
权利要求书4页 说明书50页

(54)发明名称

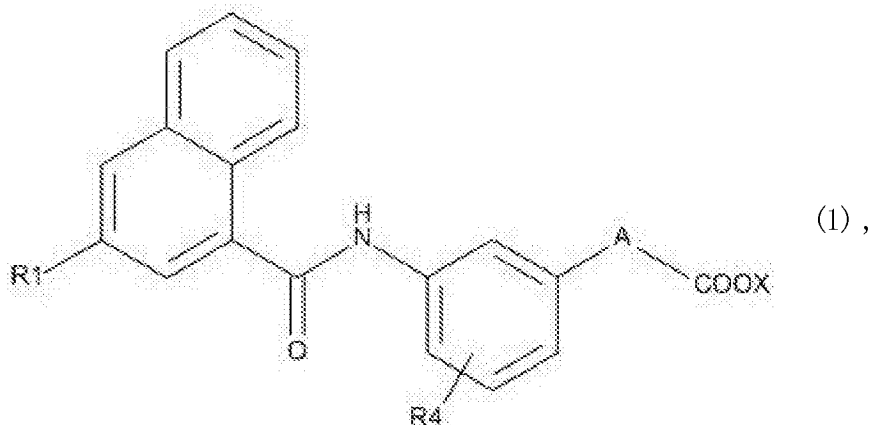
新的EP2受体激动剂

(57)摘要

式(1)化合物,其中R1、R4、A和X具有在说明书中给出的含义,为新的有效的EP2拮抗剂。



1. 一种式 (1) 化合物, 或所述化合物的盐



其中

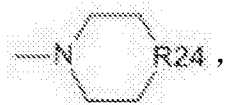
A 是 $-O-CH_2-$ 、 $-HC=CH-$ 或 $-CH_2-CH_2-$,

X 是氢或 1-4C-烷基,

R1 是未取代的苯基、由 R2 取代的苯基或由 R2 和 R3 取代的苯基, 其中

R2 是 $-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_q-NH_2$ 、卤素、 $-CH_2-NH(CO)R_{21}$ 、 $-O-(CO)-N(R_{22})(R_{23})$

或



其中

n 是 0-4 的整数,

q 是 1-4 的整数,

R21 是 1-4C-烷基,

R22 是氢或 1-2C-烷基,

R23 是氢或 1-2C-烷基,

R24 是 NR_{25} 、 CH_2 、O 或 S

其中

R25 是氢或 1-2C-烷基,

R3 是 $-(CH_2)_p-OH$,

其中

p 是 0-2 的整数,

R4 是氢或卤素。

2. 权利要求 1 的式 (1) 化合物, 或所述化合物的盐

其中

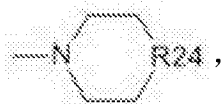
A 是 $-O-CH_2-$ 、 $-HC=CH-$ 或 $-CH_2-CH_2-$,

X 是氢或 1-2C-烷基,

R1 是未取代的苯基、由 R2 取代的苯基或由 R2 和 R3 取代的苯基, 其中

R2 是 $-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_q-NH_2$ 、卤素、 $-CH_2-NH(CO)R_{21}$ 、 $-O-(CO)-N(R_{22})(R_{23})$

或



其中

n是0-2的整数，

q是1或2，

R21是1-2C-烷基，

R22是氢或1-2C-烷基，

R23是氢或1-2C-烷基，

R24是NR25、CH₂、O或S，

其中

R25是氢，

R3是-(CH₂)_p-OH，

其中

p是0或1，

R4是氢或卤素。

3. 权利要求1或2的式(1)化合物,或所述化合物的盐

其中

A是-O-CH₂-、-HC=CH-或-CH₂-CH₂-，

X是氢或1-2C-烷基，

R1是未取代的苯基、由R2取代的苯基或由R2和R3取代的苯基,其中

R2是-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_qNH₂、卤素、-CH₂-NH(CO)R21、-O-(CO)-N(R22)(R23)

或



其中

n是0-2的整数，

q是1，

R21是1-2C-烷基，

R22是1-2C-烷基，

R23是1-2C-烷基，

R24是NR25、CH₂、O或S

其中

R25是氢，

R3是-(CH₂)_p-OH，

其中

p是0，

R4是氢、氟、氯或溴。

4. 权利要求3的式(1)化合物,或所述化合物的盐

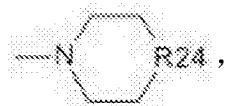
其中

A是 $-O-CH_2-$ 、 $-HC=CH-$ 或 $-CH_2-CH_2-$,

X是氢或1-2C-烷基,

R1是未取代的苯基、由R2取代的苯基或由R2和R3取代的苯基,其中

R2是 $-(CH_2)_n-OH$ 、氟、 $-CH_2-NH(CO)R_{21}$ 、 $-O-(CO)-N(R_{22})(R_{23})$ 或



其中

n是0或1,

R21是甲基,

R22是甲基,

R23是甲基,

R24是NR25、 CH_2 或0,

其中

R25是氢,

R3是 $-(CH_2)_p-OH$,

其中

p是0,

R4是氢、氟或氯。

5. 权利要求4的式(1)化合物,其选自

(2E)-3-(3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸,

(2E)-3-(4-氟-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸,

(2E)-3-(4-氯-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸,

(3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯氧基)乙酸,

(4-氟-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯氧基)乙酸,

(4-氯-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯氧基)乙酸,

3-(3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙酸,

3-(4-氟-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙酸,

(2E)-3-[3-[(3-[2-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基]-4-氟苯基]丙-2-烯酸,

(2E)-3-[3-[(3-[3-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基]-4-氟苯基]丙-2-烯酸,

(2E)-3-[3-[(3-[4-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基]-4-氟苯基]丙-2-烯酸,

(2E)-3-[3-[(3-[3-(氨基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基]-4-氟苯基]丙-2-烯酸,

(2E)-3-[4-氟-3-[(3-[2-(羟基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基]苯基]丙-2-烯酸,

(2E)-3-[4-氟-3-[(3-[3-(羟基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基]苯基]丙-2-烯酸,

(2E)-3-[4-氟-3-[(3-[3-(3-氟-5-羟基苯基)萘-1-基)羰基]氨基]苯基]丙-2-烯酸,

3-[4-氟-3-[(3-[2-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基]苯基]丙酸,

3-[4-氟-3-[(3-[3-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基]苯基]丙酸,

(2E)-3-(3-[(3-[3-[(乙酰基氨基)甲基]苯基]萘-1-基)羰基]氨基)-4-氟苯基)丙-

2-烯酸,

(2E)-3-[3-({[3-(3-羟基苯基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸,

(2E)-3-[3-({[3-(3-呋喃-1-基)苯基]萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸,

(2E)-3-[3-({[3-(吗啉-4-基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸,

(2E)-3-[4-氟-3-({[3-(哌啶-1-基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸和

(2E)-3-(3-{{[3-3-[(二甲基氨基甲酰基)氧基]苯基]萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸。

6. 权利要求1的式(1)化合物,其中所述化合物是(2E)-3-(3-{{[3-苯基萘-1-基]羰基}氨基}苯基)丙-2-烯酸或其盐。

7. 权利要求1的式(1)化合物,其中所述化合物是(2E)-3-(4-氟-3-{{[3-苯基萘-1-基]羰基}氨基}苯基)丙-2-烯酸或其盐。

8. 权利要求1的式(1)化合物,其中所述化合物是(2E)-3-[3-({[3-[2-氟苯基]萘-1-基]羰基}氨基)-4-氟苯基]丙-2-烯酸或其盐。

9. 权利要求1的式(1)化合物,其中所述化合物是(2E)-3-[3-({[3-[3-氟苯基]萘-1-基]羰基}氨基)-4-氟苯基]丙-2-烯酸或其盐。

10. 权利要求1-9中任一项的式(1)化合物,其用于治疗或预防人类疾病。

11. 药物组合物,其包含至少一种依据权利要求1-9中任一项的式(1)化合物或所述化合物的盐以及至少一种药学上可接受的辅助剂。

12. 权利要求1-9中任一项的式(1)化合物或所述化合物的盐在制备用于治疗或预防急性或慢性气道疾病的药物组合物中的用途,所述急性或慢性气道疾病选自支气管哮喘、具有减少的肺功能和气道高反应性的慢性哮喘性病症、支气管急性恶化、慢性支气管炎、急性呼吸窘迫综合征、慢性阻塞性肺病、肺纤维化、囊性纤维化和肺动脉高血压。

13. 权利要求12的用途,其中所述急性或慢性气道疾病选自慢性阻塞性肺病和肺纤维化。

新的EP2受体激动剂

[0001] 本发明的应用领域

[0002] 本发明涉及依据式(1)的新的EP2受体激动剂,其用于制备药物组合物的制药工业。

[0003] 已知技术背景

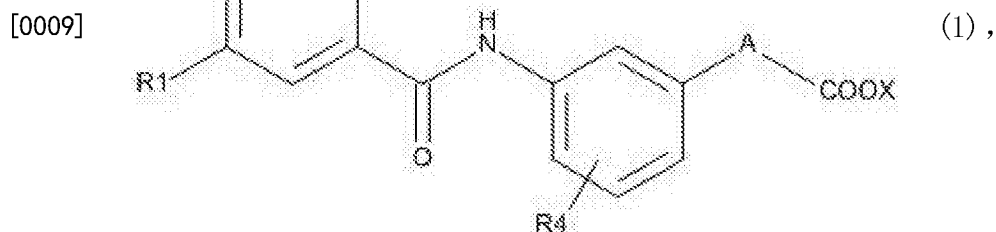
[0004] 前列腺素(PG)为前列腺素类家族的部分,它们的受体基于其分别对5种天然存在的前列腺素类PGD₂、PGE₂、PGF_{2α}、PGI₂和TxA₂的敏感性而分成5种不同的类型:DP、EP、FP、IP和TP (Coleman, R.A., 前列腺素类受体、受体特征鉴定和分类的IUPHAR纲要(Prostanoid Receptors, IUPHAR compendium of receptor characterization and classification), 第2版, 338-353, ISBN 0-9533510-3-3, 2000)。EP受体(对该受体内源性配体是PGE₂)再细分为4种类型,称为EP1、EP2、EP3和EP4。

[0005] 国际专利申请W02005080367和W0 2007017687描述各种EP2受体激动剂及其治疗病况像炎性病况、哮喘和慢性阻塞性肺病的用途。

[0006] 发明描述

[0007] 现在已发现,依据式(1)的化合物,其在下文更详细地描述,具有令人惊奇的和特别有利的特性。

[0008] 本发明涉及式(1)化合物



[0010] 其中

[0011] A是-O-CH₂-、-HC=CH-或-CH₂-CH₂-,

[0012] X是氢或1-4C-烷基,

[0013] R1是未取代的苯基,由R2取代的苯基或由R2和R3取代的苯基,其中

[0014] R2是-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_qNH₂、卤素、-CH₂-NH(CO)R21、-O-(CO)-N(R22)(R23)

[0015] 或



[0017] 其中

[0018] n是0-4的整数,

- [0019] q是1-4的整数，
- [0020] R21是1-4C-烷基，
- [0021] R22是氢或1-2C-烷基，
- [0022] R23是氢或1-2C-烷基，
- [0023] R24是NR25、CH₂、O或S
- [0024] 其中
- [0025] R25是氢或1-2C-烷基，
- [0026] R3是-(CH₂)_p-OH，
- [0027] 其中
- [0028] p是0-2的整数，
- [0029] R4是氢或卤素，
- [0030] 或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物。
- [0031] 1-4C-烷基是具有1-4个碳原子的直链或支链烷基。实例是丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、丙基、异丙基、乙基和甲基。
- [0032] 1-2C-烷基是具有1-2个碳原子的直链烷基。实例是乙基和甲基。
- [0033] 卤素表示氟、氯、溴或碘，以氟、氯或溴为优选的且以氟和氯为更优选的。
- [0034] 应该理解，取代基R4可在2-位、3-位或4-位连接于苯环，优选在4-位连接于苯环。
- [0035] 可被提及的由R4取代的示例性苯环是4-氟-苯基和4-氯-苯基，或R4表示氢，产生未取代的苯基。
- [0036] 还应理解的是，取代基R2可在2-位、3-位或4-位连接于苯环，优选地，R2可在2-位或3-位连接于苯环。
- [0037] 此外，如果苯环被R2和R3取代，则这些取代基可在2-和3-位，在2-和4-位，在2-和5-位，在2-和6-位、3-和4-位，在3-和5-位和在3-和6-位连接于苯环。优选地，R2和R3可在3-和5-位连接于苯环。
- [0038] 可以列出的由R2取代的或由R2和R3取代的示例性苯环有2-氟-苯基、3-氟-苯基、3-氨基甲基-苯基、2-羟基甲基-苯基、3-羟基甲基-苯基、3-乙酰基氨基甲基-苯基、3-羟基-苯基、3-哌嗪-1-基-苯基、3-吗啉-4-基-苯基、3-哌啶-1-基-苯基、3-(二甲基氨基甲酰基)氧基-苯基或3-氟-5-羟基-苯基。
- [0039] 本发明化合物的盐包括所有的酸加成盐，包括常规使用的药学上可接受的无机和有机酸。这样的合适的盐是与酸所成的盐，所述酸有例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硝酸、硫酸、乙酸、柠檬酸、D-葡萄糖酸、苯甲酸、2-(4-羟基-苯甲酰基)苯甲酸、丁酸、磺基水杨酸、马来酸、月桂酸、苹果酸、富马酸、琥珀酸、草酸、酒石酸、扑酸、硬脂酸、甲苯磺酸、甲烷磺酸或3-羟基-2-萘甲酸。这些酸以等摩尔量比率使用，或取决于是否涉及单元酸或多元酸而在盐的制备中彼此有所不同。
- [0040] 本发明化合物的盐也可表示与碱所成的盐，包括，但不限于，锂、钠、钾、钙、铝、镁、钛、铵、葡甲胺和胍盐。
- [0041] 上述盐包括水-不溶性和水-可溶性盐，其中水-可溶性盐是优选使用的。此外，优选药学上可接受的盐。
- [0042] 药学上不可接受的盐，其可在工业规模上制备本发明的化合物期间例如作为过程

产物而获得,可通过本领域技术人员已知的方法转化为药学上可接受的盐。

[0043] 术语“溶剂合物”在本文以传统意义使用,以指溶质(例如本发明的化合物或本发明的化合物的盐)和溶剂的复合物。如果溶剂是水,溶剂合物可以适宜地称为水合物,例如,单水合物、二水合物、三水合物等。

[0044] 在一优选的实施方案中,本发明涉及式(1)化合物,其中

[0045] A是 $-O-CH_2-$ 、 $-HC=CH-$ 或 $-CH_2-CH_2-$,

[0046] X是氢或1-2C-烷基,

[0047] R1是未取代的苯基,由R2取代的苯基或由R2和R3取代的苯基,其中

[0048] R2是 $-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_q-NH_2$ 、卤素、 $-CH_2-NH(CO)R_{21}$ 、 $-O-(CO)-N(R_{22})(R_{23})$

[0049] 或



[0051] 其中

[0052] n是0-2的整数,

[0053] q是1或2,

[0054] R21是1-2C-烷基,

[0055] R22是氢或1-2C-烷基,

[0056] R23是氢或1-2C-烷基,

[0057] R24是NR25、 CH_2 、O或S,

[0058] 其中

[0059] R25是氢,

[0060] R3是 $-(CH_2)_p-OH$,

[0061] 其中

[0062] p是0或1,

[0063] R4是氢或卤素,

[0064] 或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物。

[0065] 在本发明的另一个优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物,其中

[0066] A是 $-O-CH_2-$ 、 $-HC=CH-$ 或 $-CH_2-CH_2-$,

[0067] X是氢或1-2C-烷基,

[0068] R1是未取代的苯基,由R2取代的苯基或由R2和R3取代的苯基,其中

[0069] R2是 $-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_q-NH_2$ 、卤素、 $-CH_2-NH(CO)R_{21}$ 、 $-O-(CO)-N(R_{22})(R_{23})$ 或



[0071] 其中

[0072] n是0-2的整数,

[0073] q是1

[0074] R21是1-2C-烷基,

[0075] R22是1-2C-烷基,

- [0076] R23是1-2C-烷基，
[0077] R24是-NR25、CH₂、O或S
[0078] 其中
[0079] R25是氢，
[0080] R3是-(CH₂)_p-OH，
[0081] 其中
[0082] p是0，
[0083] R4是氢、氟、氯或溴，
[0084] 或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物。
[0085] 在又一个优选的实施方案中，本发明涉及式(1)化合物，其中
[0086] A是-O-CH₂-、-HC=CH-或-CH₂-CH₂-，
[0087] X是氢或1-2C-烷基，
[0088] R1是未取代的苯基，由R2取代的苯基或由R2和R3取代的苯基，
[0089] 其中
[0090] R2是-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_qNH₂、卤素、-CH₂-NH(CO)R21、-O-(CO)-N(R22)(R23)或



- [0092] 其中
[0093] n是0-2的整数，
[0094] q是1，
[0095] R21是1-2C-烷基，
[0096] R22是1-2C-烷基，
[0097] R23是1-2C-烷基，
[0098] R24是NR25、CH₂、O或S
[0099] 其中
[0100] R25是氢，
[0101] R3是-(CH₂)_p-OH，
[0102] 其中
[0103] p是0，
[0104] R4是氢、氟、氯或溴，
[0105] 或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物。
[0106] 在仍另一个优选的实施方案中，本发明涉及式(1)化合物，其中
[0107] A是-O-CH₂-、-HC=CH-或-CH₂-CH₂-，
[0108] X是氢或1-2C-烷基，
[0109] R1是未取代的苯基，由R2取代的苯基或由R2和R3取代的苯基，
[0110] 其中
[0111] R2是-(CH₂)_n-OH、氟、-CH₂-NH(CO)R21、-O-(CO)-N(R22)(R23)或



[0113] 其中

[0114] n是0或1,

[0115] R21是甲基,

[0116] R22是甲基,

[0117] R23是甲基,

[0118] R24是NR25、CH₂或O,

[0119] 其中

[0120] R25是氢,

[0121] R3是-(CH₂)_p-OH,

[0122] 其中

[0123] p是0,

[0124] R4是氢、氟或氯,

[0125] 或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物。

[0126] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是-HC=CH-,X、R1和R4如上所定义。

[0127] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是-HC=CH-,X和R4如上所定义和R1表示未取代的苯基。

[0128] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是-HC=CH-,R1表示未取代的苯基,R4是氢、氟或氯并优选在4-位连接于苯环,和X优选地是氢。

[0129] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是-HC=CH-,X和R4如上所定义和R1表示被R2或者被R2和R3取代的苯基,其中R2和R3如上所定义。

[0130] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是-HC=CH-,R4是氢、氟或氯,优选氟,并优选在4-位连接于苯环,X优选地是氢,R1表示被R2或者被R2和R3取代的苯基,其中R2和R3如上所定义。如果R1是由R2取代的苯基,则R2表示氟或氯,优选氟,氨基甲基、羟基甲基、(二甲基氨基甲酰基)氧基、乙酰基氨基甲基、哌嗪-1-基、吗啉-4-基或哌啶-1-基。R2在2-、在3-或在4-位连接于苯环,优选地在2-或在3-位连接于苯环。如果R1是由R2和R3取代的苯基,则R2是羟基和R3表示氟或氯,优选氟。在这种情况下,R2和R3在3-和5-位连接于苯环。

[0131] 在又另外的优选实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是-O-CH₂-,X、R1和R4如上所定义。

[0132] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是-O-CH₂-,X和R4如上所定义和R1表示未取代的苯基。

[0133] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是 $-O-CH_2-$,R1表示未取代的苯基、R4是氢、氟或氯并优选在4-位连接于苯环,和X优选地是氢。

[0134] 在又另外的优选实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是 $-CH_2-CH_2-$,X、R1和R4如上所定义。

[0135] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是 $-CH_2-CH_2-$,X和R4如上所定义和R1表示未取代的苯基。

[0136] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是 $-CH_2-CH_2-$,R1表示未取代的苯基,R4是氢、氟或氯,优选氟,并优选在4-位连接于苯环,和X优选地是氢。

[0137] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是 $-CH_2-CH_2-$,X和R4如上所定义和R1表示由R2取代的苯基,其中R2如上所定义。

[0138] 在进一步优选的实施方案中,本发明涉及式(1)的化合物或所述化合物的盐、溶剂合物或所述化合物的盐的溶剂合物,其中A是 $-CH_2-CH_2-$,R4是氢、氟或氯,优选氟,并优选在4-位连接于苯环,X优选地是氢,R1表示由R2取代的苯基,其中R2表示氟或氯,优选氟和其中R2在2-、在3-或在4-位连接于苯环,优选地在2-或在3-位连接于苯环。

[0139] 如本领域技术人员应该理解的,本发明不限于本文描述的具体实施方案,但覆盖如所附权利要求书限定的本发明的精神和范围内的所有改变。

[0140] 以下实施例更详细地说明本发明,但不限制本发明。依据本发明的其它化合物(其制备没有明确地描述)可以类似的方式制备。

[0141] 在实施例中提及的化合物,表示本发明的优选实施方案。

实施例

[0142] 所有的试剂从商业来源获得并无须进一步纯化而使用,除非另外说明。四氢呋喃(THF)从二苯酮钠中蒸馏。快速柱色谱用Rankem硅胶(Rankem Silica Gel) (大小100-200目)进行。薄层色谱(TLC)用硅胶(Silica Gel) 60 F254在Merck预包被的TLC铝片上进行。¹H NMR谱在Bruker Avance 300 MHz分光计上记录,和化学位移(δ)以ppm给出并参照对应的溶剂残留峰。光谱分裂模式如下指示:s,单峰;d,双峰;t,三重峰;q,四重峰;dd,双重双峰;dt,双重三峰;m,多重峰;br,宽峰。液相色谱/电喷雾质谱(LC/ES-MS)分析使用Thermo Finnigan LCQ Advantage Max分光计进行。气相色谱-质谱(GC-MS)分析在Thermo Focus GC分光计上进行。高分辨率质谱使用电喷雾电离(ESI)技术在Agilent的液相色谱-质谱检测器/飞行时间(LC-MSD/TOF)系统上获得。

[0143] 方法1:

[0144] 反应混合物和产物通过反相高效液相色谱(HPLC)在Waters Acquity设备上,使用2.1 X 50 mm Waters BEH C18柱分析。溶剂组成由0.1%氨水和乙腈组成,按照梯度模式,流速0.613 mL/min。

[0145] 方法2:

[0146] 反应混合物和产物通过反相HPLC在Thermo Accela设备上使用2.1 X 50 mm Agilent Zorbax Eclipse XDB C18柱分析。溶剂组成0.1%乙酸和乙腈,按照梯度模式,流速0.6 mL/min。

[0147] 制备型HPLC在Waters 2767自动纯化设备中,使用50 X 100 mm Waters XTerra Prep MS C18 OBD柱进行。溶剂组成是0.1%氨水和乙腈,按照梯度模式,流速117 mL/min或;溶剂组成由0.1%乙酸和乙腈组成,按照梯度模式,流速117 mL/min。

[0148] 化学名已使用软件ISIS,版本2.5 SP4生成。

[0149] 以下实施例更详细地说明本发明,但不限制本发明。依据本发明的其它化合物(其制备没有明确地描述)可以类似的方式制备。

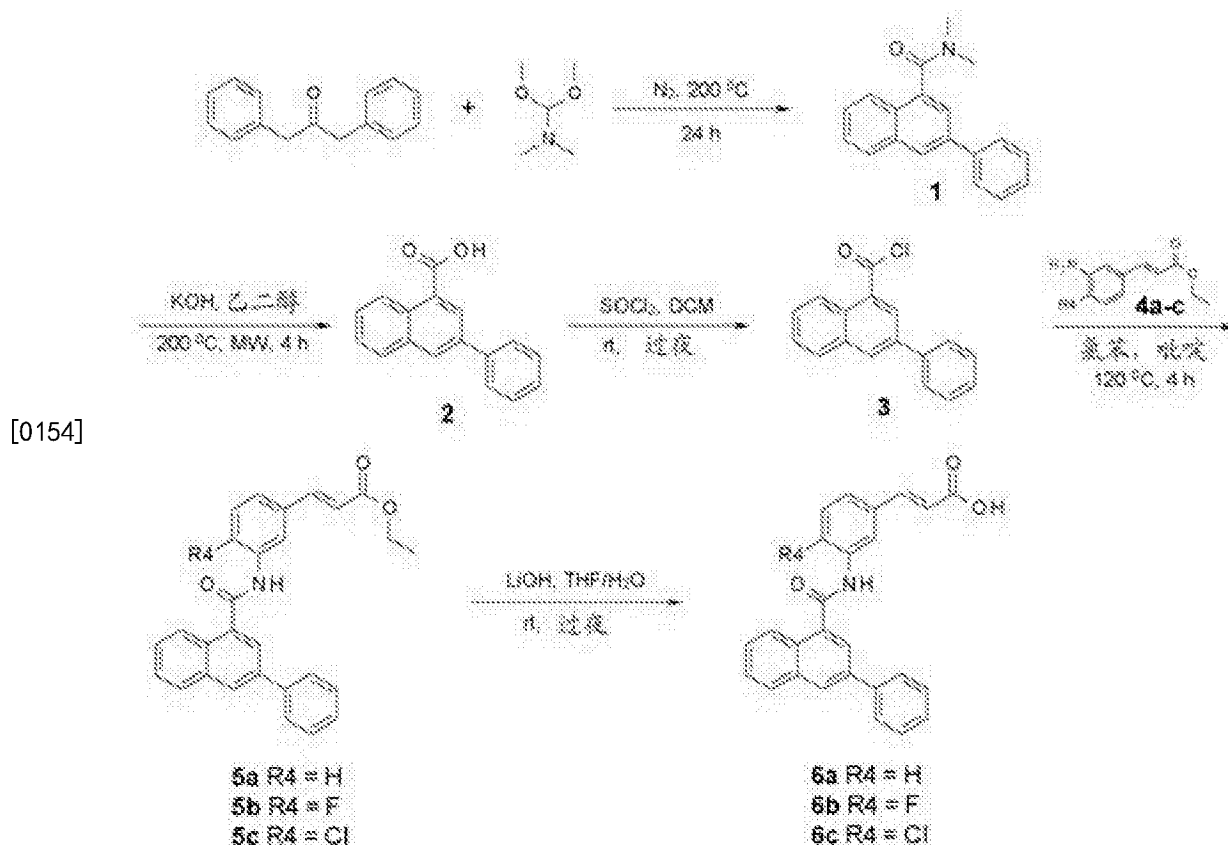
[0150] 用于反应流程的实施例号、化合物编号和依据式(1)的对应实施例的取代基的具体定义列于下表1中。

表1:

实施 例号	化合 物号	R1	R2	R3	R4	A	X
1	6a	未取代的苯基	-	-	H	-CH=CH-	H
2	6b	未取代的苯基	-	-	4-F	-CH=CH-	H
3	6c	未取代的苯基	-	-	4-Cl	-CH=CH-	H
4	9a	未取代的苯基	-	-	H	-O-CH ₂ -	H
5	9b	未取代的苯基	-	-	4-F	-O-CH ₂ -	H
6	9c	未取代的苯基	-	-	4-Cl	-O-CH ₂ -	H
7	11a	未取代的苯基	-	-	H	-CH ₂ -CH ₂ -	H
8	11b	未取代的苯基	-	-	4-F	-CH ₂ -CH ₂ -	H
[0151] 9	17a	取代的苯基	2'-F	-	4-F	-CH=CH-	H
10	17b	取代的苯基	3'-F	-	4-F	-CH=CH-	H
11	17c	取代的苯基	4'-F	-	4-F	-CH=CH-	H
12	17d	取代的苯基	3'-CH ₂ NH ₂	-	4-F	-CH=CH-	H
13	17e	取代的苯基	2'-CH ₂ OH	-	4-F	-CH=CH-	H
14	17f	取代的苯基	3'-CH ₂ OH	-	4-F	-CH=CH-	H
15	17g	取代的苯基	3'-OH	5'-F	4-F	-CH=CH-	H
16	18	取代的苯基	2'-F	-	4-F	-CH ₂ -CH ₂ -	H
17	20	取代的苯基	3'-F	-	4-F	-CH ₂ -CH ₂ -	H
18	22	取代的苯基	3'-CH ₂ NH(CO)C H ₃	-	4-F	-CH=CH-	H
19	25a	取代的苯基	3'-OH	-	H	-CH=CH-	H
20	25b	取代的苯基	3'- 	-	H	-CH=CH-	H
21	28	取代的苯基	3'- 	-	H	-CH=CH-	H
22	29	取代的苯基	3'- 	-	4-F	-CH=CH-	H
23	27	取代的苯基	3'- -O-(CO)N(CH ₃) ₂	-	H	-CH=CH-	H

[0152] 依据本发明的实施例号1-3 (对应的化合物号6a-6c)可依据如在反应流程1中所述的程序合成。

[0153] 反应流程1:



[0155] 合成化合物5a-c的通用程序

[0156] 使化合物2 (1当量)溶于SOCl₂ (10-15 mL)并将生成的悬浮液回流4-6小时(h)。过量的SOCl₂在真空下除去,将甲苯(20-30 mL)加入到残留物中,并再次在真空下蒸发至干。将氯苯(10-20 mL)在N₂气氛下加入到生成的残留物中,接着加入适宜的肉桂酸酯(cinnamate)衍生物4a-c (0.8-1当量)和0.5-1 mL吡啶。将反应混合物于110-130℃加热4-6 h。将反应混合物蒸发至干并用EtOAc萃取;有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并将溶剂蒸发至干,硅胶柱色谱后得到5a-c。

[0157] 合成化合物6a-c的通用程序

[0158] 使化合物5a-c (1当量)溶于THF/H₂O (1:1)混合物。将LiOH●H₂O (3-5当量)加入到反应混合物中并于室温下搅拌过夜。在这一点上,经TLC分析表明起始原料已经耗尽。将反应混合物真空浓缩至干。用稀HCl将生成的残留物调节至pH 4-5并将生成的悬浮液搅拌一段时间,此后过滤形成的固体并用50-60%乙酸乙酯/石油醚混合物洗涤。将残留物在真空下干燥3-6 h,得到6a-c,为白色固体。

[0159] 实施例1 (化合物6a):

[0160] (2E)-3-(3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸

[0161] i) N-(二甲基氨基)-2-苯基-4-萘甲酰胺(1):

[0162] 方法A:在氮气氛下,将二苯基丙酮(0.173 mol)和N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛(4.28 mol)在钢制高压釜中于200℃加热24 h (小时);然后将反应混合物用Et₂O/己烷(1:5)的混合物稀释并搅拌1 h。过滤沉淀物,用己烷洗涤并干燥,得到1,为白色固体。

[0163] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.25 (s, 1H), 7.98 - 8.07 (m, 1H), 7.64 - 7.84 (m, 4H), 7.34 - 7.58 (m, 5H), 3.02 - 3.23 (m, 3H), 2.68 - 2.77 (m, 3H)。

[0164] LC-ESMS m/z 276.25 $(M+1)^+$; HPLC 99.75%; 产率= 52%。

[0165] ii) 2-苯基-4-萘甲酸(2) :

[0166] 方法B:将 N -(二甲基氨基)-2-苯基-4-萘甲酰胺1 (0.18 mol) 和85% KOH颗粒 (0.54 mol) 在乙二醇 (750 mL) 中于200℃加热4 h;然后用冰水小心地稀释该混合物,用浓HCl中和并用EtOAc萃取;有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并将溶剂蒸发至干,得到2,为白色固体,

[0167] ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ :13.30 (br. s., 1H), 8.81 – 8.88 (m, 1H), 8.41 – 8.50 (m, 2H), 8.07 – 8.15 (m, 1H), 7.82 – 7.89 (m, 2H), 7.51 – 7.68 (m, 4H), 7.40 – 7.47 (m, 1H) .

[0168] LC-ESMS m/z 247.08 $[M-1]^-$; HPLC; 99%; 产率= 84%。

[0169] iii) (2E)-3-(3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸乙酯(5a) :

[0170] 方法D:使化合物2 (1当量)溶于SOCl₂ (10mL) 并将生成的悬浮液回流4-6 h。过量的SOCl₂在真空下除去,将甲苯 (20 mL) 加入到残留物中并再次在真空下蒸发至干。将氯苯 (10mL) 在N₂气氛下加入到生成的残留物中,接着加入(2E)-3-(3-氨基苯基)丙-2-烯酸乙酯(4a) (0.8当量) 和0.5 mL吡啶。将该反应混合物于110℃加热4-6 h。将反应混合物蒸发至干并用EtOAc萃取;有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并将溶剂蒸发至干,硅胶柱色谱后得到5a-c。

[0171] 5a: ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ :10.76 (s, 1H), 8.36 – 8.48 (m, 1H), 8.18 – 8.32 (m, 1H), 8.07 – 8.18 (m, 3H), 7.77 – 7.98 (m, 3H), 7.50 – 7.71 (m, 6H), 7.25 – 7.50 (m, 2H), 6.57 (d, J = 15 Hz, 1H), 4.20 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.42 (br. s., 1H), 3.29 (br. s., 1H), 3.17 (s, 1H), 2.57 (br. s., 1H), 1.27 (t, J = 7.0 Hz, 3H) .

[0172] LC-ESMS m/z 422.40 $[M+1]^+$; HPLC; 99.58%; 产率= 43.29%。

[0173] iv) (2E)-3-(3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸(6a)

[0174] 方法E:使化合物5a (1当量)溶于THF/H₂O (1:1) 混合物。将LiOH●H₂O (3当量) 加入到反应混合物中并于室温(rt)下搅拌过夜。将反应混合物真空浓缩至干。用稀HCl将生成的残留物调节至pH 5并将生成的悬浮液搅拌一段时间,此后过滤形成的固体并用50%乙酸乙酯/石油醚混合物洗涤。将残留物在真空下干燥3 h,得到6a,为白色固体。

[0175] 6a: ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ :10.74 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.22 – 8.28 (m, 1H), 8.07 – 8.14 (m, 3H), 7.83 – 7.94 (m, 3H), 7.41 – 7.65 (m, 8H), 6.47 (d, J = 18 Hz, 1H) .

[0176] LC-ESMS m/z 394.17 $[M+1]^+$; HPLC; 99.2%; 产率= 77.69 %。

[0177] 实施例2 (化合物6b) :

[0178] (2E)-3-(4-氟-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸

[0179] i) (2E)-3-(4-氟-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸乙酯(5b) :

[0180] 使用依据以上方法D的程序,从2 (0.86 mmol) 和(2E)-3-(3-氨基-4-氟苯基)丙-2-烯酸乙酯(4b) (0.71 mmol) 合成化合物5b。

[0181] 5b: ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ :10.55 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.29 – 8.35 (m, 1H), 8.08 – 8.21 (m, 3H), 7.92 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.53 – 7.73 (m, 6H), 7.36

- 7.48 (m, 2H), 6.63 (d, $J = 15$ Hz, 1H), 4.20 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.26 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H)。

[0182] LC-ESMS m/z 437.87 $[M-1]^-$; HPLC; 99.77%; 产率 = 32.44%。

[0183] ii) (2E)-3-(4-氟-3-[(3-苯基萆-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸 (6b) :

[0184] 使用依据以上方法E的程序,从5b (0.27 mmol) 和LiOH.H₂O (0.81 mmol) 合成化合物6b。

[0185] 6b: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 10.56 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.29 - 8.36 (m, 1H), 8.08 - 8.19 (m, 3H), 7.93 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.37 - 7.69 (m, 8H), 6.53 (d, $J = 15$ Hz, 1H)。

[0186] LC-ESMS m/z 410 $[M-1]^-$; HPLC; 100%; 产率 = 53.40 %。

[0187] 实施例3 (化合物6c) :

[0188] (2E)-3-(4-氯-3-[(3-苯基萆-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸

[0189] i) (2E)-3-(4-氯-3-[(3-苯基萆-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸乙酯 (5c) :

[0190] 使用依据以上方法D的程序,从3 (0.86 mmol) 和(2E)-3-(3-氨基-4-氯苯基)丙-2-烯酸乙酯 (4c) (0.71 mmol) 合成化合物5b。

[0191] 5c: LC-ESMS m/z 455.87 $[M+1]^+$; HPLC; 100%; 产率 = 32.44%。

[0192] ii) (2E)-3-(4-氯-3-[(3-苯基萆-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸 (6c)

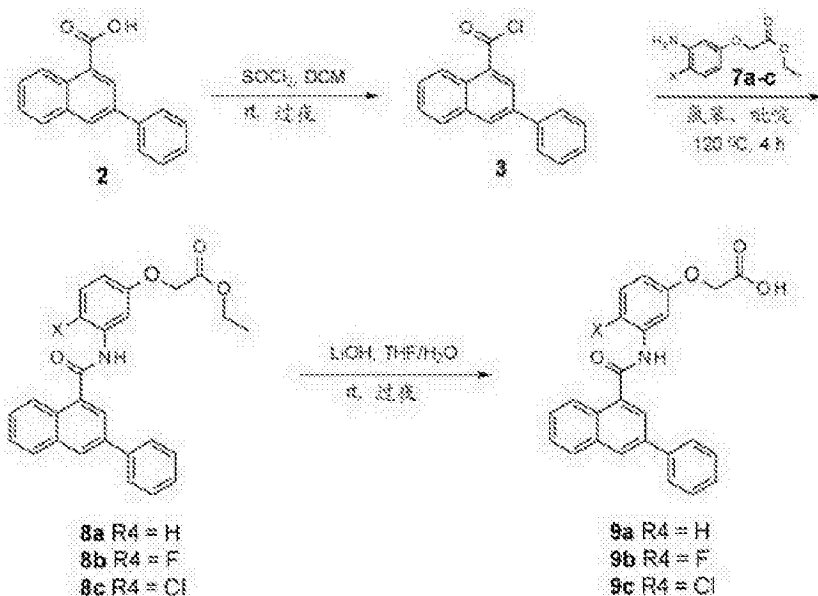
[0193] 使用依据以上方法E的程序,从5c (0.63 mmol) 和LiOH.H₂O (1.9 mmol) 合成化合物6c。

[0194] 6c: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 10.49 (s, 1H), 8.35 - 8.43 (m, 2H), 8.05 - 8.21 (m, 3H), 7.92 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.42 - 7.69 (m, 8H), 6.63 (d, $J = 15$ Hz, 1H)。

[0195] LC-ESMS m/z 425.80 $[M-1]^-$; HPLC; 99.3%; 产率 = 55.84 %。

[0196] 依据本发明的实施例号4-6 (对应于化合物号9a-9c) 可依据在反应流程2中描述的程序合成。

[0197] 反应流程2:



[0199] 合成化合物8a-c的通用程序

[0200] 使化合物2 (1当量)溶于SOCl₂ (10-20 mL)并将生成的悬浮液回流4-7 h。过量的SOCl₂在真空下除去,将甲苯(20-40 mL)加入到残留物中并再次在真空下蒸发至干。将氯苯(10-25 mL)在N₂气氛下加入到生成的残留物中,接着加入适宜的肉桂酸酯衍生物7a-c (0.8-1.1当量)和0.5-1 mL吡啶。将反应混合物于110-135℃加热3-7 h。将反应混合物蒸发至干并用EtOAc萃取;有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并将溶剂蒸发至干,在硅胶柱色谱后得到8a-c。

[0201] 合成化合物9a-c的通用程序

[0202] 使化合物8a-c (1当量)溶于THF/H₂O (1:1)混合物。将LiOH●H₂O (3-5当量)加入到反应混合物中并于室温下搅拌过夜。在这一点上,经TLC分析表明起始原料已经耗尽。将反应混合物真空浓缩至干。用稀HCl将生成的残留物调节至pH 4-5并将生成的悬浮液搅拌一段时间,此后过滤形成的固体并用50-70%乙酸乙酯/石油醚混合物洗涤。将残留物在真空下干燥3-6 h,得到9a-c,为白色固体。

[0203] 实施例4 (化合物9a):

[0204] (3- {[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯氧基)乙酸:

[0205] i) (3- {[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯氧基)乙酸乙酯(8a):

[0206] 使用依据以上方法D的程序,从3 (0.65 mmol)和(3-氨基苯氧基)乙酸乙酯(7a) (0.78 mmol)合成化合物8a。

[0207] 8a:LC-ESMS *m/z* 426.4 [M+1]⁺;HPLC;99%;产率= 29.36%。

[0208] ii) (3- {[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯氧基)乙酸(9a):

[0209] 使用依据以上方法E的程序,从8a (0.21 mmol)和LiOH·H₂O (0.63 mmol)合成化合物9a。

[0210] 9a:¹H NMR (DMSO-d₆) δ:10.65 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.04 - 8.23 (m, 3H), 7.91 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.40 - 7.65 (m, 7H), 7.27 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 6.68 (dd, J = 7.9, 2.3 Hz, 1H), 4.64 (s, 2H)。

[0211] LC-ESMS *m/z* 396.4 [M-1]⁻;HPLC;100%;产率= 76.13 %。

[0212] 实施例5 (化合物9b):

[0213] (4-氟-3- {[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯氧基)乙酸:

[0214] i) (4-氟-3- {[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯氧基)乙酸乙酯(8b):

[0215] 使用依据以上方法D的程序,从3 (1.30 mmol)和(3-氨基-4-氟苯氧基)乙酸乙酯(7b) (1.04 mmol)合成化合物8b。

[0216] 8b:LC-ESMS *m/z* 444.17 [M+1]⁺;HPLC;93%;产率= 48.12%。

[0217] ii) (4-氟-3- {[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯氧基)乙酸(9b):

[0218] 使用依据上述方法E的程序,从8b (0.60 mmol)和LiOH·H₂O (1.80 mmol)合成化合物9b。

[0219] 9b:¹H NMR (DMSO-d₆) δ:10.41 (br. s., 1H), 8.39 (s, 1H), 8.25 - 8.31 (m, 1H), 8.07 - 8.13 (m, 2H), 7.91 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.52 - 7.64 (m, 4H), 7.40 - 7.47 (m, 1H), 7.13 - 7.35 (m, 2H), 6.71 (dt, J = 8.9, 3.7 Hz, 1H), 4.29 (s, 2H);

[0220] LC-ESMS m/z 414.17 $[M-1]^-$; HPLC; 99.40%; 产率= 90.94 %。

[0221] 实施例6 (化合物9c):

[0222] (4-氯-3-{[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯氧基)乙酸:

[0223] i) (4-氯-3-{[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯氧基)乙酸乙酯(8c):

[0224] 使用依据以上方法D的程序,从3 (0.65 mmol)和(3-氨基-4-氯苯氧基)乙酸乙酯(7c) (0.78 mmol)合成化合物8c。

[0225] 8c: LC-ESMS m/z 460.1 $[M+1]^+$; HPLC; 92%; 产率= 43.08%。

[0226] ii) (4-氯-3-{[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯氧基)乙酸(9c):

[0227] 使用依据上述方法E的程序,从8c (0.23 mmol)和LiOH·H₂O (0.71 mmol)合成化合物9c。

[0228] 9c: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 10.32 (s, 1H), 8.32 - 8.43 (m, 2H), 8.07 - 8.19 (m, 2H), 7.91 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.37 - 7.65 (m, 7H), 6.90 (dd, J = 8.9, 2.8 Hz, 1H), 4.74 (s, 2H)。

[0229] LC-ESMS m/z 430.25 $[M-1]^-$; HPLC; 98.7%; 产率= 80.34 %。

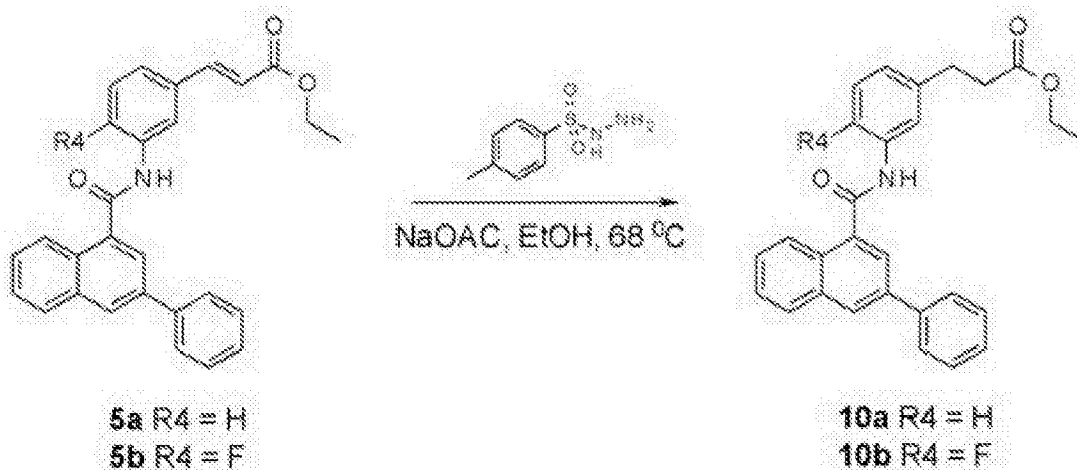
[0230] 依据如在反应流程3中所述的程序可合成依据本发明的实施例号7和8 (对应于化合物号11a和11b)。

[0231] 合成化合物10a-b的通用程序

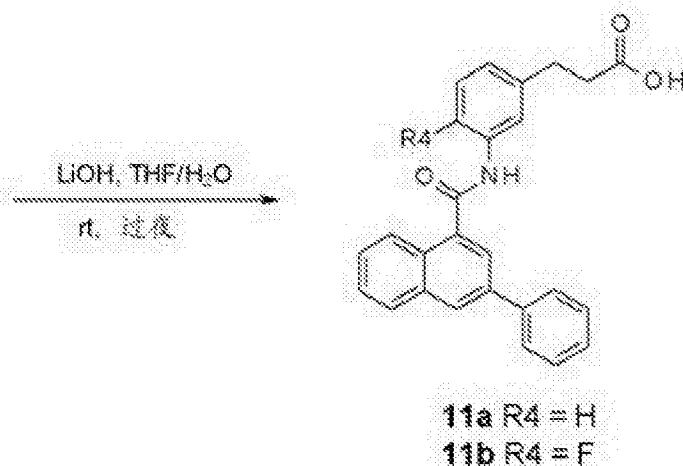
[0232] 使化合物5a-b (1当量)悬浮于乙醇中,接着加入

p-甲苯磺酰基酰肼(3-7当量)和NaOAc (9-15当量)。将该反应混合物于60-80℃加热过夜。在这一点上,经LC-MS分析表明起始原料耗尽并形成所需产物。将该反应混合物真空蒸发至干,将水加入到残留物中,用EtOAc萃取并用水和盐水洗涤。有机层经Na₂SO₄干燥,过滤,并真空除去溶剂。生成的固体使用硅胶柱色谱,使用EtOAc/石油醚作为洗脱液纯化。

[0233] 反应流程3:



[0234]



[0235] 合成化合物11a-b的通用程序

[0236] 使化合物10a-b (1当量)溶于THF/H₂O (1:1)混合物。将LiOH●H₂O (3-6当量)加入到反应混合物中并于室温下搅拌过夜。在这一点上,经TLC分析表明起始原料已经耗尽。将反应混合物真空浓缩至干。用稀HCl将生成的残留物调节至pH 4-5并将生成的悬浮液搅拌一段时间,此后过滤形成的固体并用50%乙酸乙酯/石油醚混合物洗涤。将残留物在真空下干燥3-6 h,得到11a-b,为白色固体。

[0237] 实施例7 (化合物11a):

[0238] 3-(3-{[(3-苯基萆-1-基)羰基]氨基}苯基)丙酸:

[0239] i) 3-(3-{[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基}苯基)丙酸乙酯(10a):

[0240] 方法F:

[0241] 使化合物5a (1当量) 悬浮于乙醇中,接着加入

-甲苯磺酰基酰肼(3当量)和NaOAc (9当量)。将该反应混合物于68℃加热过夜。将反应混合物真空蒸发至干并将水加入到残留物中,用EtOAc萃取并用水和盐水洗涤。有机层经Na₂SO₄干燥,过滤,并真空除去溶剂。生成的固体使用硅胶柱色谱,使用EtOAc/石油醚作为洗脱液纯化。

[0242] ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 10.60 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.19 – 8.26 (m, 1H), 8.05 – 8.14 (m, 2H), 7.91 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.51 – 7.73 (m, 6H), 7.44 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.28 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.05 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.86 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.62 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.16 (t,

J = 7.0Hz, 3H) .

[0243] LC-ESMS m/z 424.17 $[M+1]^+$; HPLC; 99.6%; 产率= 90%。

[0244] ii) 3-(3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙酸(11a):

[0245] 使用依据上述方法E的程序,从10a (1.41 mmol)和LiOH.H₂O (4.25 mmol)合成化合物11a。

[0246] 11a: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 12.17 (br. s., 1H), 10.61 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.20 - 8.27 (m, 1H), 8.03 - 8.14 (m, 2H), 7.92 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.41 - 7.73 (m, 7H), 7.29 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 2.61 - 2.89 (m, 4H) .

[0247] LC-ESMS m/z 394.33 $[M-1]^-$; HPLC; 100%; 产率= 66.35 %。

[0248] 实施例8 (化合物11b):

[0249] 3-(4-氟-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙酸:

[0250] i) 3-(4-氟-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙酸乙酯(10b):

[0251] 使用依据上述方法F的程序,从5b (1.36 mmol)、*p*-甲苯磺酰基酰肼(839 mg, 4.50 mmol)和NaOAc (14.86 mmol)合成化合物10b。

[0252] ¹H NMR (氯仿-d) δ : 8.36 - 8.41 (m, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.93 - 8.04 (m, 3H), 7.74 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.49 - 7.62 (m, 4H), 7.27 - 7.45 (m, 1H), 6.95 - 7.09 (m, 2H), 4.17 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.17 (d, J = 21.5 Hz, 1H), 3.01 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.69 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 1.27 (t, J = 7.0 Hz, 3H) .

[0253] LC-ESMS m/z 442.17 $[M+1]^+$; HPLC; 99.77%; 产率= 56%。

[0254] ii) 3-(4-氟-3-[(3-苯基萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙酸(11b):

[0255] 使用依据上述方法E的程序,从11a (1.36 mmol)和LiOH.H₂O (6.11 mmol)合成化合物11b。

[0256] 11a: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 10.42 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.29 - 8.33 (m, 1H), 8.09 - 8.14 (m, 2H), 7.93 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.53 - 7.68 (m, 5H), 7.42 - 7.48 (m, 1H), 7.12 - 7.26 (m, 2H), 2.81 - 2.88 (t, 2H), 1.99 (t, 2H) .

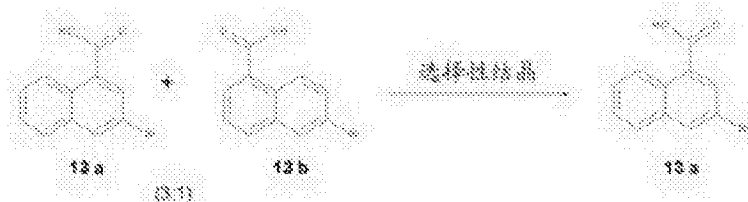
[0257] LC-ESMS m/z 414.08 $[M+1]^+$; HPLC; 99.82%; 产率= 23.74 %。

[0258] 依据如在反应流程5中所述的程序,可合成依据本发明的实施例号9-15 (对应于化合物号17a-17g)。

[0259] 反应流程4:



[0260]



[0261] i) 制备3-溴代萘二甲酸酐(12):

[0262] 方法G:

[0263] 于20℃,向萘二甲酸酐(0.5 mol)中加入0.5 L的95-98%硫酸。将该混合物于室温下(rt)搅拌30 min(分钟)以获得完全溶解并冷却至-5至-10℃。经30分钟向该溶液中分批加入二溴代二甲基乙内酰脲(0.27 mol),同时维持内部反应温度在-10至-5℃之间,并将混合物于该温度下搅拌1 h和允许缓慢升温至室温过夜。在伴有搅拌下,经30分钟将上述反应混合物加入到1 L冷水中,同时维持内部温度低于75℃。使生成的浆状物冷却至30℃并过滤。反应烧瓶用1 L水冲洗,并用500 mL水和500 mL含10%水的N,N-二甲基甲酰胺(DMF)洗涤滤饼。将湿滤饼真空干燥过夜。向粗产物中加入1 L DMF,并将浆状物温热至90℃,得到均匀的溶液。使溶液冷却至70℃并用1.00 g纯12接种。使浆状物冷却至室温过夜。经30分钟向浆状物中加入100 mL水,并将浆状物老化1 h并过滤。湿饼用200 mL含10%水的DMF洗涤,然后用200 mL MeOH洗涤。于70℃真空干燥粗产物3-4 h,得到12,为奶酪状固体(产率 = 68%)。

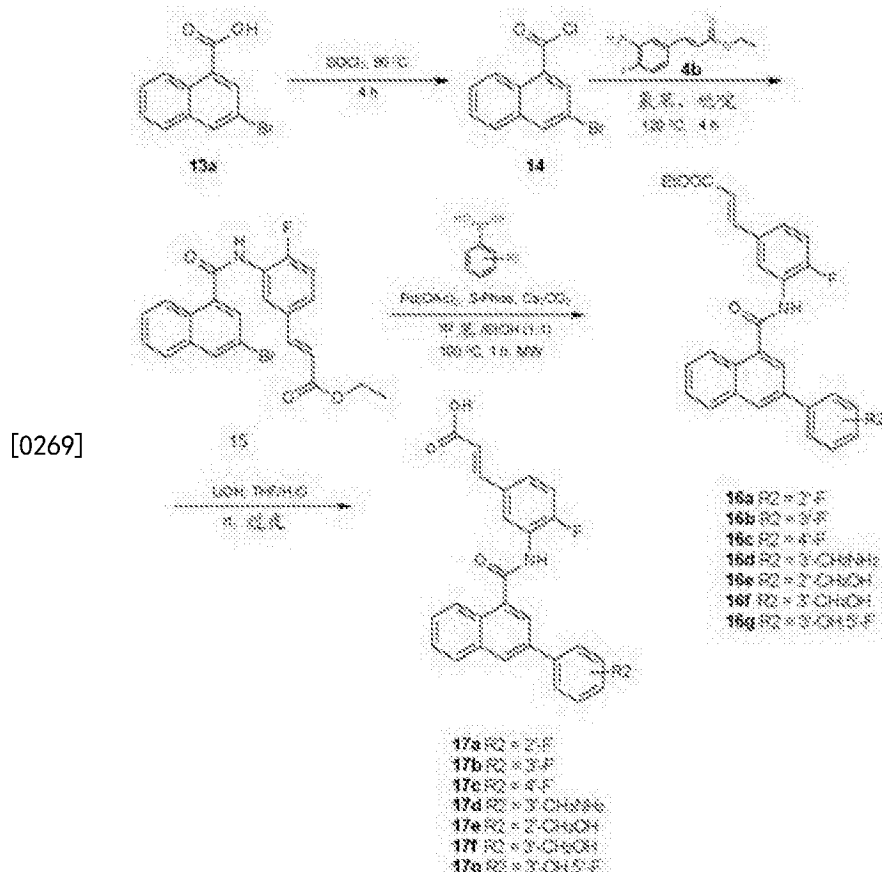
[0264] ii) 制备3-溴代萘二甲酸(13a):

[0265] 方法H:

[0266] 向95g 12(3-溴代萘二甲酸酐)中加入0.8 L 1 N NaOH溶液并使生成的浆状物升温至60℃。向单独的500 mL圆底烧瓶中加入78 g黄色固体HgO、228 mL水和80 mL AcOH,并使混合物升温至50℃,得到均匀的无色溶液。然后将新鲜制备的乙酸汞溶液加入到含12的NaOH浆状物中,并将反应混合物加热至96-98℃达36 h。然后向反应混合物加入300 mL浓HCl,并将该混合物加热至96-98℃达5 h,冷却至室温,并于室温下老化过夜。过滤生成的固体,和湿饼浆状物用水(3 × 350 mL)洗涤,然后真空干燥,得到80 g粗制溴酸13a:13b(6-溴代萘二甲酸),为区域异构体的1:3混合物。在一个1-L圆底烧瓶中加入72 g溴酸13a:13b和0.6 L AcOH的粗制混合物,并将浆状物加热至回流,得到均匀的溶液。使该溶液缓慢冷却至65℃,用1 g纯13a接种,使缓慢冷却至室温,并老化过夜。然后通过过滤收集产物,用庚烷洗涤,并真空干燥3 h,得到所需区域异构体产物13a,为无色固体。¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 8.79 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.46 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.15 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.97 - 8.06 (m, 1H), 7.60 - 7.72 (m, 2H)。

[0267] LC-ESMS *m/z* 248.87 [M-1]⁻; HPLC纯度:100%;产率 = 25%。

[0268] 反应流程5:



[0270] 制备 (2E)-3-(3-((3-溴萘-1-基)羰基)氨基)-4-氟-苯基)丙-2-烯酸乙酯 (15) :

[0271] 使化合物 13a (1 g, 3.98 mmol) 溶于 SOCl₂ (20-30 mL) 并将生成的悬浮液回流 4-6 h。过量的 SOCl₂ 在真空下除去, 将甲苯 (2 × 10 mL) 加入到残留物中并再次在真空下蒸发至干。将氯苯 (10-20 mL) 在 N₂ 气氛下加入到生成的残留物中, 接着加入肉桂酸酯衍生物 4b (618 mg, 3.18 mmol) 和 0.9 mL 吡啶。将该反应混合物于 120-130°C 加热 4-6 h。将反应混合物蒸发至干并用 EtOAc 萃取; 有机层用盐水洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并将溶剂蒸发至干, 得到粗品 15。使粗品物质悬浮于甲醇中, 经超声处理和过滤, 得到 792 mg (45%) 纯 15, 为白色固体。

[0272] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 10.60 (s, 1H), 8.39 - 8.53 (m, 1H), 8.15 - 8.26 (m, 2H), 7.89 - 8.05 (m, 2H), 7.62 - 7.73 (m, 4H), 7.35 - 7.44 (m, 1H), 6.63 (d, J = 18 Hz, 1H), 4.20 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.14 - 1.29 (t, 3H); LC-ESMS m/z 442.00 [M-1]⁻, HPLC 纯度-96.69%。

[0273] 钯催化的合成 (2E)-3-[4-氟-3-((3-(取代的苯基)萘-1-基)羰基)氨基)苯基]丙-2-烯酸乙酯 16a-g 的通用程序:

[0274] 在 Biotage 工艺瓶 (Biotage Process Vial) (5-20 mL) 中加入 4-7 mol% 的 S-Phos、3-6 mol% Pd(OAc)₂、化合物 15 (1 当量)、苯基硼酸 (1.5-2.5 当量) 和 Cs₂CO₃ (3-5 当量)。在小瓶中加入甲苯/乙醇 (1:1), 于室温下搅拌 10 min, 然后使用微波反应器 Smith 合成仪 (Smith Synthesizer), 于 100-130°C 照射 1 h。照射后, 冷却样品并蒸发溶剂至干。生成的残留物用 EtOAc 萃取; 有机层用盐水洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并将溶剂蒸发至干, 得到粗品 16a-g。经硅胶柱色谱, 使用 EtOAc/石油醚作为洗脱液, 获得纯化的物质。

[0275] 合成化合物17a-g的通用程序

[0276] 使化合物16a-g (1当量)溶于THF/H₂O (1:1)混合物。将LiOH·H₂O (2-6当量)加入到反应混合物中并于室温下搅拌过夜。在这一点上,经TLC分析,表明起始原料已经耗尽。将反应混合物真空浓缩至干。用稀HCl将生成的残留物调节至pH 4-5并将生成的悬浮液搅拌一段时间,此后过滤形成的固体并用50%乙酸乙酯/石油醚混合物洗涤。将残留物在真空下干燥3-6 h,得到17a-g,为白色固体。

[0277] 实施例9 (化合物17a):

[0278] (2E)-3-{3-[(3-[2-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基}-4-氟苯基}丙-2-烯酸:

[0279] i) (2E)-3-[4-氟-3-({[3-(2-氟苯基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸乙酯 (16a):

[0280] 方法J:

[0281] 向5 mol%的S-Phos、5 mol%的Pd(OAc)₂、化合物15 (1当量)、2-氟-苯基硼酸 (1.5当量)和Cs₂CO₃ (3当量)的混合物中加入甲苯/乙醇(1:1)的混合物并于室温下搅拌10 min,然后使用微波反应器,于110℃照射1 h。照射后,冷却样品并蒸发溶剂至干。生成的残留物用EtOAc萃取;有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并将溶剂蒸发至干,得到粗品16a。经硅胶柱色谱,使用EtOAc/石油醚作为洗脱液,获得纯化的物质。

[0282] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ:10.53 (s, 1H), 8.35 (s, 2H), 8.15 (m, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.65 (m, 4H), 7.45 (m, 1H), 7.40 (m, 3H), 6.63 (d, J = 15Hz, 1H), 4.19 (q, J = 6.9Hz, 2H), 1.26 (t, J = 6.9 Hz, 3H)。

[0283] LC-ESMS *m/z* 458.32 [M+1]⁺;HPLC纯度-98.18%;产率=45%。

[0284] ii) (2E)-3-{3-[(3-[2-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基}-4-氟苯基}丙-2-烯酸 (17a):

[0285] 使用依据上述方法E的程序,从16a (0.5 mmol)和LiOH·H₂O (5 mmol)合成化合物17a。

[0286] 17a:¹H NMR (DMSO-d₆) δ:10.53 (s, 1H), 8.30 (s, 2H), 8.15 (m, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.65 (m, 4H), 7.45 (m, 1H), 7.40 (m, 3H), 6.53 (d, J = 15Hz, 1H)。

[0287] LC-ESMS *m/z* 428.53 [M-1]⁻;HPLC纯度-98%;产率= 37%。

[0288] 实施例10 (化合物17b):

[0289] (2E)-3-{3-[(3-[3-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基}-4-氟苯基}丙-2-烯酸

[0290] i) (2E)-3-[4-氟-3-({[3-(3-氟苯基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸乙酯 (16b):

[0291] 通过使用依据以上方法J的程序,使用S-Phos (0.03 mmol)、Pd(OAc)₂ (0.03 mmol)和Cs₂CO₃ (1.7 mmol),经15 (0.57)与3-氟苯基硼酸(0.85 mmol)偶联,获得化合物16b。

[0292] ¹H NMR (氯仿-d) δ:8.86 - 8.92 (m, 1H), 8.36 - 8.42 (m, 1H), 8.18 - 8.20 (m, 1H), 7.96 - 8.05 (m, 3H), 7.42 - 7.75 (m, 5H), 7.27 - 7.35 (m, 1H), 7.09 - 7.21 (m, 2H), 6.50 (q, 2H), 4.29 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.24 - 1.39 (t, 3H)。

[0293] LC-ESMS m/z 458.32 $[M+1]^+$; HPLC纯度-94.03%; 产率=88.97%。

[0294] ii) (2E)-3-{3-[(3-[3-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基}-4-氟苯基}丙-2-烯酸 (17b):

[0295] 使用依据上述方法E的程序,从16b (0.5 mmol)和LiOH.H₂O (5 mmol)合成化合物17b。

[0296] 17b: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 10.55 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.30 - 8.36 (m, 1H), 8.08 - 8.19 (m, 3H), 7.76 - 7.83 (m, 2H), 7.56 - 7.68 (m, 5H), 7.24 - 7.43 (m, 2H), 6.50 (d, 1H)。

[0297] LC-ESMS m/z 428.53 $[M-1]^-$; HPLC纯度-94.09%; 产率= 81%。

[0298] 实施例11 (化合物17c):

[0299] (2E)-3-{3-[(3-[4-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基}-4-氟苯基}丙-2-烯酸

[0300] i) (2E)-3-[4-氟-3-({3-(4-氟苯基)萘-1-基)羰基}氨基]苯基}丙-2-烯酸乙酯 (16c):

[0301] 通过使用依据以上方法J的程序,使用S-Phos (0.03 mmol)、Pd(OAc)₂ (0.03 mmol)和Cs₂CO₃ (1.7 mmol),使15 (0.57 mmol)与4-氟苯基硼酸(0.85 mmol)偶联,获得化合物16c。

[0302] LC-ESMS m/z 458.32 $[M+1]^+$; 产率 = 88.97%。

[0303] ii) (2E)-3-{3-[(3-[4-氟苯基]萘-1-基)羰基]氨基}-4-氟苯基}丙-2-烯酸 (17c):

[0304] 使用依据上述方法E的程序,从16c (0.5 mmol)和LiOH.H₂O (5 mmol)合成化合物17c。

[0305] 17c: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 10.54 (br. s., 1H), 8.40 (br. s., 2H), 8.32 (br. s., 1H), 8.14 (br. s., 3H), 7.97 (br. s., 2H), 7.64 (br. s., 2H), 7.60 (br. s., 1H), 7.34 - 7.51 (m, 3H), 6.53 (d, J = 18Hz, 1H)。

[0306] LC-ESMS m/z 439.50 $[M-1]^-$; HPLC纯度-92.10%; 产率 = 82%。

[0307] 实施例12 (化合物17d):

[0308] (2E)-3-{3-[(3-[3-(氨基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}-4-氟苯基}丙-2-烯酸:

[0309] i) (2E)-3-{3-[(3-[3-(氨基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}-4-氟苯基}丙-2-烯酸乙酯 (16d):

[0310] 通过使用依据上述方法J的程序,使用S-Phos (0.58 mmol)、Pd(OAc)₂ (0.16 mmol)和CS₂CO₃ (4.74 mmol),使15 (1.58 mmol)与3-氨基甲基苯基硼酸(2.37 mmol)偶联,获得化合物16d。

[0311] 产率= 600 mg粗品;该物质无需鉴定而直接用于下一步骤。

[0312] ii) (2E)-3-{3-[(3-[3-(氨基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}-4-氟苯基}丙-2-烯酸 (17d):

[0313] 使用依据上述方法E的程序,从16d (1 g粗品)和LiOH.H₂O (8.94 mmol)合成化合物17d。

[0314] 17d: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 10.70 (br. s., 1H), 8.18 - 8.43 (m, 3H), 7.98

- 8.14 (m, 3H), 7.82 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.30 - 7.64 (m, 7H), 6.51 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 3.98 (br. s., 2H).

[0315] LC-ESMS m/z 439.50 $[M-1]^-$; HPLC纯度-100%;产率= 27.86 %。

[0316] 实施例13 (化合物17e):

[0317] (2E)-3-{4-氟-3-[(3-[2-(羟基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}苯基}丙-2-烯酸:

[0318] i) (2E)-3-{4-氟-3-[(3-[2-(羟基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}苯基}丙-2-烯酸乙酯(16e):

[0319] 通过使用依据上述方法J的程序,使用S-Phos (0.11 mmol)、Pd(OAc)₂ (0.05 mmol)和Cs₂CO₃ (2.2 mmol),使15 (1.1 mmol)与2-羟基甲基苯基硼酸(1.6 mmol)偶联,获得化合物16e。

[0320] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ :10.48 (s, 1H), 8.28 - 8.35 (m, 1H), 8.03 - 8.14 (m, 3H), 7.83 (s, 1H), 7.57 - 7.67 (m, 5H), 7.33 - 7.48 (m, 4H), 6.50 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 4.52 (br. s., 2H), 4.02 (q, 2H), 1.98 (s, 1H), 1.03 - 1.30 (t, 3H).

[0321] LC-ESMS m/z 468.20 $[M-1]^-$; HPLC纯度-99.34%;产率 = 58%。

[0322] ii) (2E)-3-{4-氟-3-[(3-[2-(羟基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}苯基}丙-2-烯酸(17e):

[0323] 使用依据上述方法E的程序,从16e (0.6 mmol)和LiOH·H₂O (1.8 mmol)合成化合物17e。

[0324] 17e:¹H NMR (DMSO-d₆) δ :10.58 (br. s., 1H), 8.23 - 8.46 (m, 2H), 8.14 (br. s., 3H), 7.73 - 7.92 (m, 2H), 7.36 - 7.72 (m, 7H), 6.53 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 4.63 (br. s., 2H), 1.98 (s, 1H).

[0325] LC-ESMS m/z 440.27 $[M-1]^-$; HPLC纯度-98.47%;产率 = 83%。

[0326] 实施例14 (化合物17f):

[0327] (2E)-3-{4-氟-3-[(3-[3-(羟基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}苯基}丙-2-烯酸(17f):

[0328] i) (2E)-3-{4-氟-3-[(3-[3-(羟基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}苯基}丙-2-烯酸乙酯(16f):

[0329] 通过使用依据上述方法J的程序,使用S-Phos (0.08 mmol)、Pd(OAc)₂ (0.08 mmol)和Cs₂CO₃ (4.74 mmol),使15 (700 mg, 1.58 mmol)与3-羟基甲基苯基硼酸(1.74 mmol)偶联,获得化合物16f。

[0330] LC-ESMS m/z 468.42 $[M-1]^-$

[0331] 产率= 58%;该物质无需鉴定而直接用于下一步骤。

[0332] ii) (2E)-3-{4-氟-3-[(3-[3-(羟基甲基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}苯基}丙-2-烯酸(17f):

[0333] 使用依据上述方法E的程序,从16f (0.89 mmol)和LiOH·H₂O (8.94 mmol)合成化合物17f (27.86%)。

[0334] 17f:¹H NMR (DMSO-d₆) δ :12.43 (br. s., 1H), 10.56 (s, 1H), 8.40 (s,

1H), 8.27 - 8.34 (m, 1H), 8.09 - 8.19 (m, 3H), 7.86 (s, 1H), 7.78 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.58 - 7.70 (m, 3H), 7.51 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.35 - 7.44 (m, 2H), 6.55 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 5.31 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.62 (d, J = 5.7 Hz, 2H).

[0335] LC-ESMS m/z 440.33 $[M-1]^-$; HPLC纯度-98.47%; 产率= 27.86%。

[0336] 实施例15 (化合物17g):

[0337] (2E)-3-[4-氟-3-({[3-(3-氟-5-羟基苯基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸 (17g):

[0338] i) (2E)-3-[4-氟-3-({[3-(3-氟-5-羟基苯基)萘-1-基]羰基}氨基)-苯基]丙-2-烯酸乙酯 (16g):

[0339] 通过使用依据上述方法J的程序, 使用S-Phos (0.14 mmol)、Pd(OAc)₂ (0.14 mmol) 和Cs₂CO₃ (3.42 mmol), 使15 (1.14 mmol) 与3-氟5-羟基苯基硼酸 (1.71 mmol) 偶联, 获得化合物16g。

[0340] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 10.55 (s, 1H), 10.08 - 10.16 (m, 1H), 8.29 - 8.42 (m, 2H), 8.07 - 8.21 (m, 3H), 7.60 - 7.74 (m, 4H), 7.37 - 7.45 (m, 1H), 7.13 - 7.24 (m, 2H), 6.56 - 6.68 (m, 2H), 4.21 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.08 - 1.32 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

[0341] LC-ESMS m/z 474.56 $[M+1]^+$; HPLC纯度-99.88%; 产率 = 46%。

[0342] ii) (2E)-3-[4-氟-3-({[3-(3-氟-5-羟基苯基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸 (17g):

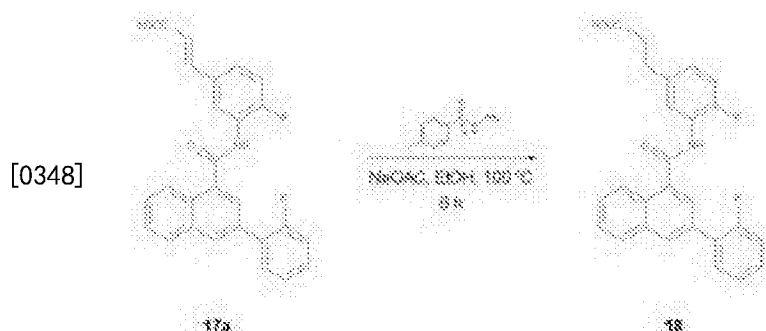
[0343] 使用依据上述方法E的程序, 从16g (0.42 mmol) 和LiOH·H₂O (4.2 mmol) 合成化合物17g。

[0344] 17g: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 10.54 (s, 1H), 8.29 - 8.41 (m, 2H), 8.05 - 8.17 (m, 3H), 7.57 - 7.69 (m, 4H), 7.39 (t, J = 9.3 Hz, 1H), 7.12 - 7.23 (m, 2H), 6.64 (t, J = 2.1 Hz, 1H), 6.53 (d, J = 15 Hz, 1H).

[0345] LC-ESMS m/z 444.62 $[M-1]^-$; HPLC纯度-99.88%; 产率 = 42%。

[0346] 依据如在反应流程6中所述的程序, 可合成依据本发明的实施例号16 (对应于化合物号18)。

[0347] 反应流程6:



[0349] 实施例16 (化合物18):

[0350] 3-[4-氟-3-({[3-(2-氟苯基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]-丙酸:

[0351] 使用依据上述方法F的程序, 从17a (0.58 mmol)、*p*-甲苯磺酰基酰肼 (1.75 mmol)

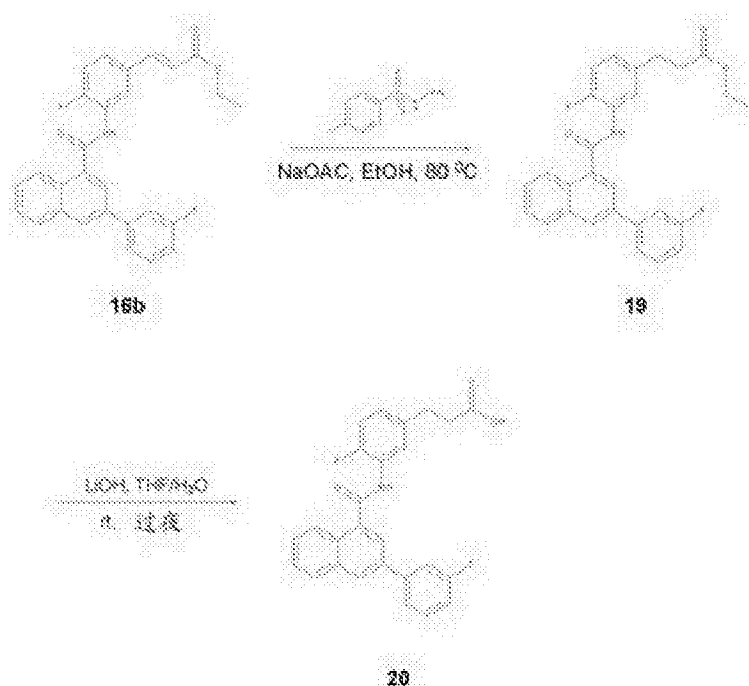
和NaOAc (5.25 mmol)合成化合物18。

[0352] ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 10.40 (s, 1H), 8.25 – 8.34 (m, 2H), 8.08 – 8.14 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.60 – 7.81 (m, 4H), 7.36 – 7.55 (m, 3H), 7.08 – 7.28 (m, 2H), 2.80 – 2.90 (t, 2H), 2.60 (t, 2H).

[0353] LC-ESMS m/z 430.20 $[\text{M}-1]^-$; HPLC纯度-99.88%; 产率 = 39%。

[0354] 依据如在反应流程7中所述的程序,可合成依据本发明的实施例号17 (对应于化合物号20)。

[0355] 反应流程7:



[0356]

[0357] 实施例17 (化合物20):

[0358] 3-[4-氟-3-({[3-(3-氟苯基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙酸:

[0359] i) 3-[4-氟-3-({[3-(3-氟苯基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙酸乙酯 (19):

[0360] 使用依据上述方法F的程序,从16b (4.37 mmol)、*p*-甲苯磺酰基酰肼 (13.1 mmol) 和NaOAc (39.3 mmol)合成化合物19。

[0361] LC-ESMS m/z 458.25 $[\text{M}-1]^-$; HPLC纯度-85.73%。

[0362] 产率 = 80%;该物质无须纯化而直接用于下一步骤。

[0363] ii) 3-[4-氟-3-({[3-(3-氟苯基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙酸 (20):

[0364] 使用依据上述方法E的程序,从19 (3.26 mmol)和LiOH·H₂O (32.6 mmol)合成化合物20。

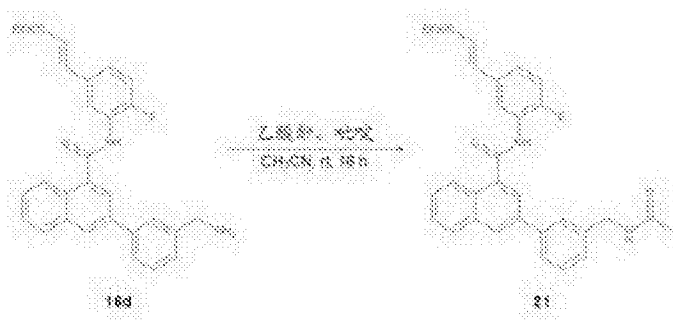
[0365] ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 10.38 (br. s., 1H), 8.46 (s, 1H), 8.28 – 8.34 (m, 1H), 8.07 – 8.16 (m, 2H), 7.74 – 7.83 (m, 2H), 7.55 – 7.69 (m, 4H), 7.21 – 7.30 (m, 2H), 7.11 – 7.20 (m, 1H), 2.78 – 2.88 (t, 2H), 2.72 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 2.52 – 2.56 (m, 1H).

[0366] LC-ESMS m/z 430.20 $[\text{M}-1]^-$; HPLC 99.1%; 产率 = 41.57 %。

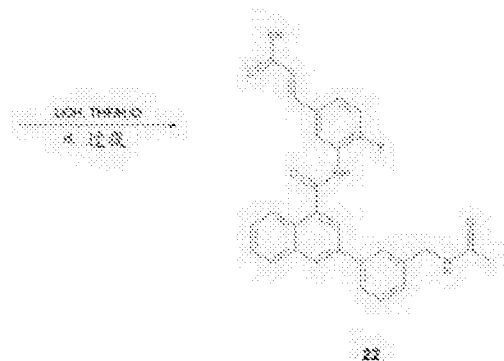
[0367] 依据如在反应流程8中所述的程序,可合成依据本发明的实施例号18 (对应于化

合物号22)。

[0368] 反应流程8:



[0369]



[0370] 实施例18 (化合物22):

[0371] (2E)-3-(3-([3-(3-[(乙酰基氨基)甲基]苯基)萘-1-基)羰基]氨基)-4-氟苯基)丙-2-烯酸 (22):

[0372] 使化合物16d (600 mg粗品)溶于乙腈 (15 mL),将乙酸酐 (1mL) 和吡啶 (1 mL) 加入到反应混合物中并于室温下搅拌16 h。将反应混合物蒸发至干。向粗品中加入THF/水 (1:1, 50 mL),接着加入氢氧化锂1.5 g并于室温下搅拌反应物16 h。将反应混合物真空浓缩至干。用稀HCl将生成的残留物调节至pH 5并将生成的悬浮液搅拌一段时间,此后过滤形成的固体,在真空下干燥并通过反相HPLC纯化。

[0373] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 10.57 (s, 1H), 8.27 - 8.48 (m, 3H), 8.03 - 8.14 (m, 3H), 7.75 - 7.81 (m, 2H), 7.30 - 7.64 (m, 7H), 6.50 (d, J = 18 Hz, 1H), 4.37 (d, J = 6 Hz, 1H), 1.89 (s, 3H)。

[0374] LC-ESMS m/z 481.60 [M-H]⁻; HPLC 95.2%。

[0375] 依据如在反应流程9中所述的程序,可合成依据本发明的实施例号19和20 (对应于化合物号25a和25b)。

[0376] 实施例19 (化合物25a):

[0377] (2E)-3-[3-([3-(3-羟基苯基)萘-1-基]羰基]氨基)苯基]丙-2-烯酸:

[0378] i) (2E)-3-(3-([3-(3-溴代萘-1-基)羰基]氨基)-苯基)丙-2-烯酸乙酯 (23)

[0379] 使化合物13a (3.98 mmol)溶于SOCl₂ (15 mL)并将生成的悬浮液回流4 h。在真空下除去过量的SOCl₂并将甲苯 (2 × 10 mL)加入到残留物中并再次在真空下蒸发至干。将氯苯 (15 mL)在N₂气氛下加入到生成的残留物中,接着加入 (2E)-3-(3-氨基苯基)丙-2-烯酸乙酯 (3.9 mmol)和1.0 mL吡啶。将反应混合物于120℃加热4 h。将反应混合物蒸发至干并用EtOAc萃取;有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并将溶剂蒸发至干,得到粗品23。使粗

品物质悬浮于甲醇,经超声处理和过滤,得到纯23,为白色固体。

[0380] MS; m/z 426.00 $[M+1]^+$;产率 = 47%。

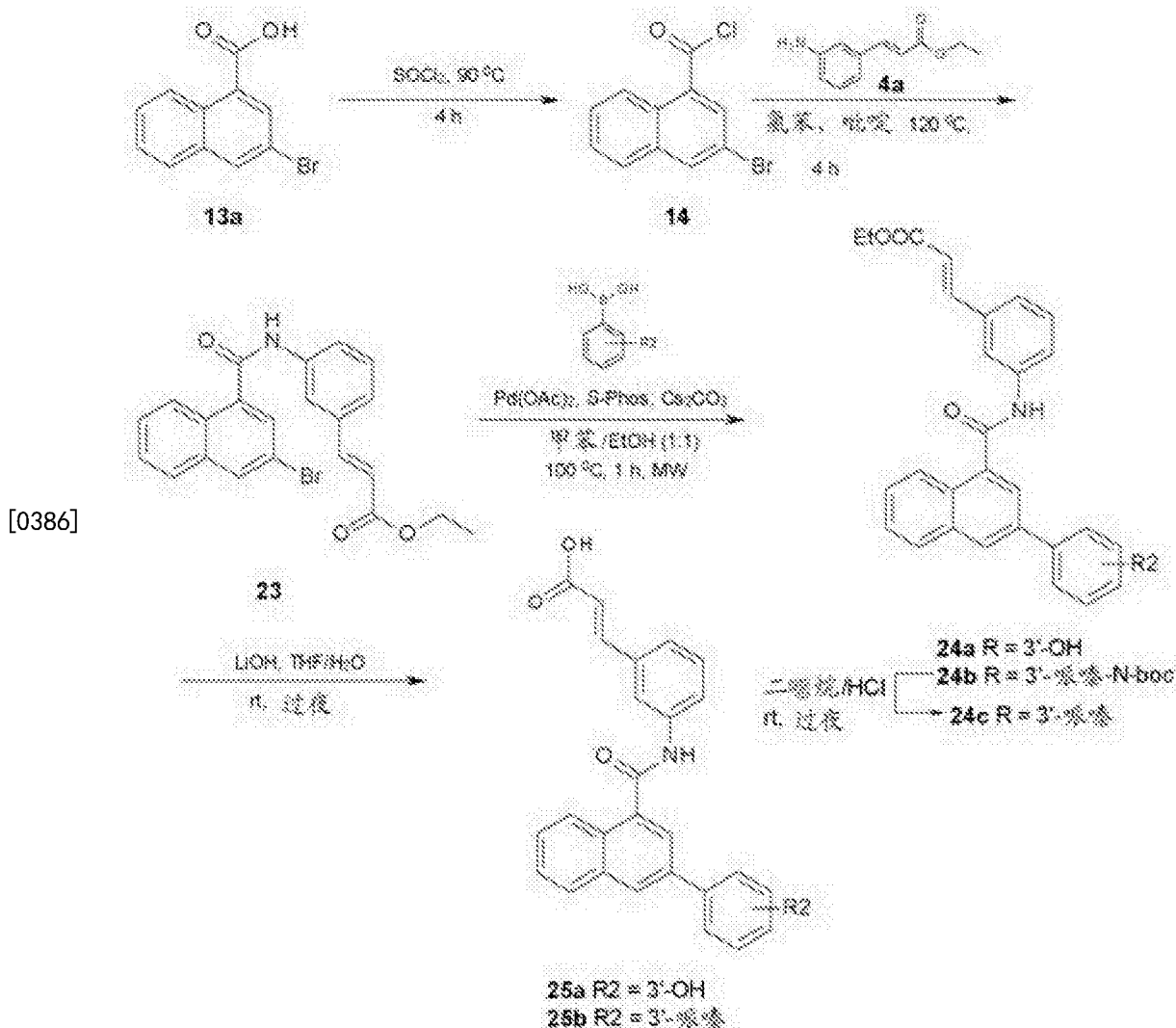
[0381] ii) (2E)-3-[3-([3-(3-羟基苯基)萘-1-基]羰基)氨基]苯基]丙-2-烯酸乙酯 (24a):

[0382] 使用依据上述方法J的程序,使用S-Phos (0.094 mmol)、Pd(OAc)₂ (0.094 mmol)和Cs₂CO₃ (5.64 mmol),使23 (1.88 mmol)与3-羟基苯基硼酸(2.82 mmol)偶联,获得化合物24a。

[0383] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ :10.74 (s, 1H), 9.61 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.21 - 8.27 (m, 1H), 8.08 - 8.15 (m, 2H), 8.02 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.42 - 7.68 (m, 4H), 7.25 - 7.36 (m, 3H), 6.81 - 6.87 (m, 1H), 6.59 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.19 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.07 - 1.30 (t, 3H)。

[0384] LC-ESMS m/z 438.17 $[M+H]^+$;HPLC 97.7%;产率 = 67%。

[0385] 反应流程9:



[0387] iii) (2E)-3-[3-([3-(3-羟基苯基)萘-1-基]羰基)氨基]苯基]丙-2-烯酸 (25a):

[0388] 使用依据上述方法E的程序,从24a (1.02 mmol)和LiOH·H₂O (10.3 mmol)合成化

合物25a。

[0389] ^1H NMR (DMSO- d_6) δ :12.46 (br. s., 1H), 10.74 (s, 1H), 9.61 (s, 1H), 8.20 - 8.37 (m, 2H), 8.03 (s, 1H), 8.11 (s, 2H), 7.85 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.54 - 7.64 (m, 3H), 7.40 - 7.50 (m, 2H), 7.23 - 7.37 (m, 3H), 6.83 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.47 (d, J =15Hz, 1H)。

[0390] LC-ESMS m/z 408.33 $[\text{M}-\text{H}]^-$, HPLC 97.32%, 产率= 44%。

[0391] 实施例20 (化合物25b):

[0392] (2E)-3-{3-[(3-[3-(哌嗪-1-基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}苯基}丙-2-烯酸:

[0393] i) 4-{3-[4-[(3-[1E)-3-乙氧基-3-氧代丙-1-烯-1-基]苯基]氨基甲酰基]萘-2-基}苯基}哌嗪-1-甲酸叔丁酯(24b):

[0394] 使用以上对16a-g描述的通用程序,使用S-Phos (15.0 mg, 0.036 mmol)、Pd(OAc) $_2$ (4.1 mg, 0.018 mmol)和Cs $_2$ CO $_3$ (601 mg, 1.84 mmol),使23 (400 mg, 0.92 mmol)与3-[4-(叔丁氧基羰基)哌嗪-1-基]苯基}硼酸酯(439.3 mg, 1.13 mmol)偶联,获得化合物24b (302 mg, 53%)。该物质直接用于下一步骤。

[0395] LC-ESMS m/z 606.08 $[\text{M}+1]^+$;HPLC;95.7%;产率= 53%。

[0396] ii) (2E)-3-{3-[(3-[3-(哌嗪-1-基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}苯基}丙-2-烯酸乙酯(24c):

[0397] 向24 b (292 mg, 0.48 mmol)中加入HCl/二噁烷溶液(20 mL)并将反应混合物于室温下搅拌过夜。真空除去挥发物,干燥,接着加入NaHCO $_3$ 并用5% EtOAc/MeOH (3 $\times$ 20 mL)溶液萃取。有机层经Na $_2$ SO $_4$ 干燥,过滤,和真空除去溶剂。生成的固体使用硅胶柱色谱纯化,使用含2% MeOH的二氯甲烷(DCM)作为洗脱液,得到24c,为白色固体。

[0398] ^1H NMR (DMSO- d_6) δ :10.73 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.07 - 8.26 (m, 4H), 7.84 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.28 - 7.63 (m, 8H), 6.99 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 18 Hz, 1H), 4.19 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.12 - 3.27 (m, 4H), 2.82 - 2.93 (m, 4H), 1.04 - 1.29 (m, 3H);

[0399] LC-ESMS m/z 505.62 $[\text{M}+1]^+$;HPLC= 96.8%;产率 = 77.14%。

[0400] iii) (2E)-3-{3-[(3-[3-(哌嗪-1-基)苯基]萘-1-基)羰基]氨基}苯基}丙-2-烯酸(25b):

[0401] 使用依据上述方法E的程序,从24c (150 mg, 0.3 mmol)和LiOH.H $_2$ O (38 mg, 0.89 mmol),合成化合物25b (107 mg, 75%)。

[0402] ^1H NMR (DMSO- d_6) δ :10.66 (br. s., 1H), 8.32 (br. s., 1H), 8.02 (br. s., 4H), 7.78 (br. s., 1H), 7.22 - 7.57 (m, 9H), 6.94 (br. s., 1H), 6.38 (d, J = 18 Hz, 1H), 3.18 (br. s., 4H), 2.90 (br. s., 4H);

[0403] LC-ESMS m/z 476.25 $[\text{M}-1]^-$;HPLC;98.5%, 产率= 75%。

[0404] 依据在反应流程10中所述的程序,可合成依据本发明的实施例号21和22 (对应于化合物号28和29)。

[0405] 合成化合物28和29的通用程序:在Biotage工艺瓶(5-20 mL)中加入4-7 mol%的(2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联萘) BINAP、1-2 mol%的Pd $_2$ (dba) $_3$ 、化合物15或23 (1当量)、吗啉或哌啶(2-5当量)、和叔丁醇钾(2-4当量)。在小瓶中加入DMF (5-10 mL)并使用微

波反应器Smith合成仪于100-130℃照射1 h。照射后,冷却样品,用水洗涤并用乙酸乙酯(3× 50 mL)萃取。有机层用水、盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并将溶剂蒸发至干,得到粗品28或29。纯化的物质经制备型HPLC获得。

[0406] 反应流程10



[0407]



[0408] 实施例21 (化合物28):

[0409] (2E)-3-[3-({[3-(吗啉-4-基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸:

[0410] 在Biotage工艺瓶(5-20 mL)中加入(BINAP) (0.47 mmol)、Pd₂(dba)₃ (0.11 mmol)、(E)-3-[3-[(3-溴代萘-1-羰基)氨基]苯基]丙-2-烯酸乙酯(23) (1.17 mmol)、吗啉(3.53 mmol)和叔丁醇钾(2.35 mmol)。在小瓶中加入DMF (5mL)并使用微波反应器Smith合成仪于100-130℃照射1 h。照射后,冷却样品,用水洗涤并用乙酸乙酯(3× 50 mL)萃取。有机层用水、盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并将溶剂蒸发至干,得到粗品28,其经制备型HPLC纯化。

[0411] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 8.01 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.81 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.40 - 7.45 (m, 2H), 7.32 - 7.35 (m, 2H), 6.44 (d, J = 15 Hz, 1H), 3.76 - 3.80 (m, 4H), 3.25 - 3.29 (m, 4H); MS; m/z 401.27 [M-1]⁻; HPLC纯度- 98.30%; 产率= 16%。

[0412] 实施例22 (化合物29):

[0413] (2E)-3-[4-氟-3-({[3-(哌啶-1-基)萘-1-基]羰基}氨基)苯基]丙-2-烯酸:

[0414] 在Biotage工艺瓶(5-20 mL)中加入BINAP(0.36 mmol)、Pd₂(dba)₃ (0.18 mmol)、(E)-3-[3-[(3-溴代萘-1-羰基)氨基]-4-氟-苯基]丙-2-烯酸乙酯(15) (1.81 mmol)、哌啶(5.44 mmol)和叔丁醇钾(3.62 mmol)。在小瓶中加入DMF (5mL)并使用微波反应器Smith合成仪于100-130℃照射1 h。照射后,冷却样品,用水稀释并用乙酸乙酯(3× 50 mL)萃取。有机层用水、盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并将溶剂蒸发至干,得到粗品29,其经制备型HPLC纯化。

[0415] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 10.33 (s, 1H), 8.01 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.52 - 7.60 (m, 3H), 7.15 - 7.40 (m, 4H), 6.45 (d, J = 18 Hz, 1H), 2.47 (s, 2H), 2.37 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 1.56 - 1.75 (m, 5H), 1.50 (br. s., 2H); MS; m/z 417.33 [M-1]⁻; HPLC纯度- 100%; 产率= 5%。

[0416] 依据如在反应流程11中所述的程序,可合成依据本发明的实施例号23 (对应于化合物号27)。

[0417] 实施例23 (化合物27):

[0418] (2E)-3-(3-[(3-{3-[(二甲基氨基甲酰基)氧基]苯基}萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸:

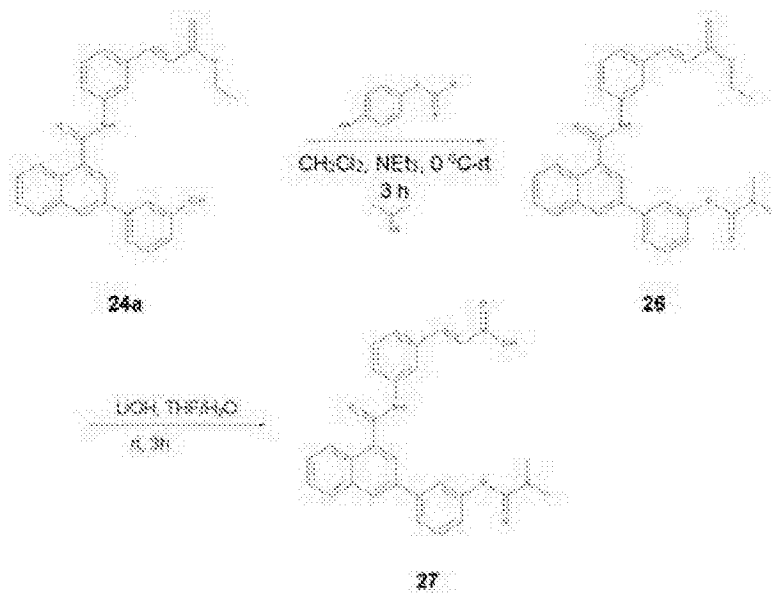
[0419] i) (2E)-3-(3-[(3-{3-[(二甲基氨基甲酰基)氧基]苯基}萘-1-基)羰基]氨基)苯基)丙-2-烯酸乙酯(26)

[0420] 向含有在10 mL无水CH₂Cl₂中的24a (0.9 mmol, 1.0当量)的烧瓶中加入NEt₃ (4.57 mmol, 5.0当量)。于0℃,将氯代甲酸4-硝基苯酯(1.37 mmol, 1.5当量)缓慢加入到反应烧瓶中,并搅拌该溶液直至反应完成(3 h),如通过TLC所测定的。加入N,N-二甲胺盐酸盐(2.74 mmol, 3当量)并将反应混合物于室温下搅拌2 h。然后用DCM稀释该溶液,并用水、K₂CO₃水溶液和盐水洗涤。有机层经Na₂SO₄干燥,过滤和真空除去溶剂。生成的固体使用硅胶柱色谱,使用EtOAc/石油醚作为洗脱液纯化,得到26,为白色固体。

[0421] ¹H NMR (氯仿-d) δ:8.30 - 8.35 (m, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.89 - 7.95 (m, 3H), 7.67 - 7.75 (m, 1H), 7.29 - 7.63 (m, 8H), 7.07 - 7.25 (m, 1H), 6.48 (d, J = 18, Hz 1H), 4.24 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 3.11 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 1.33 (t, J = 7.0 Hz, 3H)。

[0422] LC-ESMS *m/z* 509.00 [M+1];HPLC纯度-99.91%;产率= 36%。

[0423] 反应流程11:



[0425] ii) (2E)-3-(3-[(3-{3-[(二甲基氨基甲酰基)氧基]苯基}萘-1-基)羰基]氨基)苯基)-丙-2-烯酸(27):

[0426] 使化合物26 (0.23mmol,)溶于THF/H₂O (1:1, 20 mL)的混合物中。将LiOH·H₂O (0.35 mmol)加入到反应混合物中并于室温下搅拌3 h。将反应混合物真空浓缩至干。用稀HCl将生成的残留物调节至pH 5并用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取,用水和盐水洗涤。有机层经Na₂SO₄干燥,过滤和真空除去溶剂。生成的固体使用反相柱色谱纯化,得到纯27,为白色固体。

[0427] ¹H NMR (DMSO-d₆) δ:10.76 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.23 - 8.29 (m, 1H), 8.07 - 8.16 (m, 3H), 7.78 - 7.88 (m, 2H), 7.41 - 7.72 (m, 8H), 7.16 - 7.22 (m, 1H), 6.44 (d, J = 15, Hz 1H), 3.09 (s, 3H), 2.93 (s, 3H)。

[0428] LC-ESMS m/z 479.04 $[M-1]^-$; HPLC纯度-97.51%; 产率= 66%。

[0429] 商业应用

[0430] 本发明的化合物(作为EP2激动剂)具有有价值的药理学性质,这使得它们是商业上可利用的。EP2激动剂被认为可用于治疗或预防各种疾病和病症。

[0431] 本发明的化合物激活表达EP2受体的细胞上的EP2受体活性,所述细胞包括肥大细胞、巨噬细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞、成骨细胞、上皮细胞和各种白细胞例如嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、单核细胞、树突状细胞、淋巴细胞和天然杀伤细胞。EP2激动剂被描述为抑制嗜酸性粒细胞脱颗粒、中性粒细胞的氧化破裂、T细胞分化为Th2细胞、单核细胞和巨噬细胞的细胞因子和TNF α 释放、白细胞的白三烯释放和白细胞浸润到发炎组织(Takahashi等2009, J. Pharmacol. Exp. Ther. 331, 656-670; C. Vancheri等2004, Trends Immunol. 25:40-46的综述)。此外,已知EP2激动剂抑制成纤维细胞的增殖和TGF- β 诱导的肌成纤维细胞转化(White等2008, J. Immunol. 180:637-646; Kolodnick等2003, Am. J. Resp. Cell Mol. Biol. 29:537-544)。另外,已知EP2激动剂诱导支气管扩张(Gauvreau等1999, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 159:31-36; Forselles等2011, Br. J. Pharmacol. 164:1847-1856; Buckley等2011, Thorax 66:1029-1035)。描述了EP2激动剂在肾、眼、骨和胃肠道中的进一步作用。

[0432] 相应地,本发明还涉及用于治疗或预防疾病的本发明的化合物,所述疾病尤其是通过EP2受体的激动作用而减轻的疾病,特别是下文举例说明的疾病。

[0433] 本发明的化合物通过一个或多个有价值的和需要的特性来鉴定,例如,高疗效、高选择性、低毒性、大体上优越的生物利用度(例如良好的肠吸收性)、优越的治疗窗、优越的药代动力学(例如半寿期)、缺乏明显的副作用和与它们的治疗和药物适用性有关的其它有益作用。

[0434] 因此,本发明还涉及用于治疗或预防人类疾病、病症或症状的化合物。特别是,本发明涉及用于治疗或预防以下疾病的本发明的化合物:

[0435] ● 急性或慢性气道疾病,包括支气管哮喘、具有减少的肺功能和气道高反应性的慢性哮喘性病症、支气管急性恶化、慢性支气管炎、急性呼吸窘迫综合征、慢性阻塞性肺病(COPD)、肺动脉高血压(PAH)和肺纤维化、囊性纤维化;

[0436] ● 炎性或过敏性疾病,包括过敏性或慢性鼻炎和鼻息肉病;

[0437] ● 与炎性或过敏性病症有关的皮肤疾病,包括瘙痒、特应性皮炎、湿疹、银屑病、皮炎、多形性红斑、硬皮病、过敏性血管炎、过敏性脉管炎、荨麻疹、大疱性类天疱疮、红斑狼疮和天疱疮、寻常型天疱疮和高IgE综合征;

[0438] ● 与炎性或过敏性病症有关的眼疾病,包括结膜炎;

[0439] ● 与非-炎性病症有关的眼疾病,包括青光眼;

[0440] ● 与炎性或过敏性病症有关的肠道疾病,包括炎性肠道疾病、便秘为主型肠易激惹综合征、克罗恩氏病、嗜酸性粒细胞相关的病症(包括嗜酸性粒细胞性食管炎、嗜酸性粒细胞性胃肠炎和嗜酸性粒细胞性胰腺炎);

[0441] ● 系统性嗜酸性粒细胞性疾病包括嗜酸性粒细胞增多症(hypereosinophilia)和丘-施二氏综合征(Churg-Strauss-Syndrome);

[0442] ● 基于TNF和白三烯的过量释放的疾病,例如,关节炎型疾病像类风湿性关节炎、

类风湿性脊椎炎、骨关节炎和其它关节炎性病况；

[0443] ● 具有进行中的纤维化的疾病有例如，但不限于，囊性纤维化、肺纤维化、肝纤维化、肾纤维化、骨髓纤维化、腹膜后纤维化、心内膜心肌纤维化、纵隔纤维化、肾源性系统性纤维化、肥厚性瘢痕或毒性肝损害；

[0444] ● 骨病症包括骨质疏松症和骨折；

[0445] ● 肾病症包括急性和慢性肾衰竭；

[0446] ● 移植排斥，包括心脏同种异体移植、皮肤同种异体移植、肺移植、肝移植、角膜同种异体移植、肾同种异体移植和冠状动脉旁路移植术后的排斥；

[0447] ● 代谢性病症例如糖尿病、肾源性尿崩症、移植术后糖尿病、非酒精性脂肪性肝病如非酒精性脂肪性肝炎；

[0448] ● 其它病况，例如高血压，或症状例如便秘、预防早产、在病况例如脑局部缺血中的神经保护作用。

[0449] 本发明还涉及本发明化合物在制备激动EP2受体的药物组合物中的用途，所述药物组合物特别是用于治疗或预防通过EP2受体的激动作用而减轻的疾病的药物组合物，优选是用于治疗或预防上文例举的疾病的药物组合物。

[0450] 特别地，本发明涉及本发明化合物在制备用于治疗或预防急性或慢性气道疾病的药物组合物中的用途，所述气道疾病有例如但不限于，支气管哮喘、具有减少的肺功能和气道高反应性的慢性哮喘性病症、支气管急性恶化、慢性支气管炎、急性呼吸窘迫综合征、慢性阻塞性肺病(COPD)、肺动脉高血压(PAH)和肺纤维化或囊性纤维化。

[0451] 在本发明的特别优选的实施方案中，在上述用途中，本发明化合物是依据本发明的实施例的化合物。

[0452] 优选地，本发明涉及治疗或预防一或多种以下病症的方法：支气管哮喘、具有减少的肺功能和气道高反应性的慢性哮喘性病症、支气管急性恶化、慢性支气管炎、急性呼吸窘迫综合征、慢性阻塞性肺病(COPD)和特发性肺纤维化、囊性纤维化和肺动脉高血压，该方法包括给予有需要的患者治疗有效量的至少一种本发明的化合物。

[0453] 在以上的方法中，患者优选为哺乳动物，更优选为人。此外，在以上的方法中，可使用至少一种本发明的化合物。优选地，使用一种或两种本发明的化合物；更优选地，使用一种本发明的化合物。

[0454] 在本发明的特别优选的实施方案中，治疗或预防以上提及的疾病之一的所述方法包括给予有需要的患者治疗有效量的一种依据本发明的实施例的化合物。

[0455] 优选地，药物组合物包含一种或两种本发明的化合物。更优选地，药物组合物包含一种本发明的化合物。

[0456] 本发明进一步涉及药物组合物，其包含至少一种本发明的化合物以及至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0457] 取决于要治疗或预防的具体疾病，另外的治疗剂(通常给予其以治疗或预防所述疾病)可任选地与本发明的化合物共同给予。

[0458] 在一优选的实施方案中，至少一种本发明的化合物与至少一种选自以下的治疗剂共同给予：皮质类固醇、抗胆碱能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、

茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素。

[0459] 在这个方面,“治疗剂”包括皮质类固醇、抗胆碱能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素,它们呈以下形式:游离化合物、其药学上可接受的盐、其药学上可接受的衍生物(例如,但不限于,酯衍生物、N-氧化物等)、其溶剂合物(水合物)和所述化合物、盐、衍生物和溶剂合物的立体异构体。

[0460] 至少一种本发明的化合物与至少一种选自以下的治疗剂的共同给予可以固定组合、非-固定组合或各部分的药剂盒的形式发生:皮质类固醇、抗胆碱能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素。

[0461] “固定组合”被定义为一种组合,其中意欲共同给予的本发明化合物和治疗剂存在于一个剂量单位或在单一实体中。固定组合的一个实例是药物组合物,其中本发明化合物和治疗剂以供同时给药的混合物存在。固定组合的另一个实例是药物组合物,其中本发明化合物和治疗化合物存在于一个剂量单位中而不直接混合(例如以,以小丸粒的形式,其被填充到胶囊中,由此一部分的颗粒含有本发明化合物和另一部分的颗粒含有治疗剂)。

[0462] “非-固定组合”或“各部分的药剂盒”被定义为一种组合,其中本发明化合物和治疗剂存在于一个以上的剂量单位中。在一个非-固定组合或各部分的药剂盒中,本发明化合物和治疗化合物作为分开的制剂提供。它们可被包装和呈现在一起作为组合包装的分开的组分供在组合疗法中同时、序贯或分开使用。本发明化合物和治疗剂的同时或序贯给药是优选的。在本发明化合物和治疗剂序贯或分开的给药的情况下,本发明化合物可在治疗剂给予之前或之后给予。

[0463] 序贯给药包括在给予本发明化合物和治疗剂之间或相反顺序给予之间的短的时间段(例如,吞下一片后再吞下另一片所需的时间)。

[0464] 分开的给药包括在给予本发明化合物和治疗剂之间的较长的时间段。在本发明的优选的实施方案中,在治疗剂(或反之亦然)对要治疗的患者仍具有治疗效果时,给予本发明的化合物。

[0465] 在本发明的特别优选的实施方案中,共同给予至少一种本发明的化合物与至少一种选自以下的治疗剂导致治疗效果大于本发明化合物与另外的治疗剂分别地单独给予时将达到的治疗效果的总和:皮质类固醇、抗胆碱能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素。

[0466] 非-固定组合或各部分的药剂盒的本发明化合物和治疗剂的制剂类型可以是相同的、类似的,即本发明化合物和治疗剂二者以分开的片剂或胶囊配制,或可以是不同的,即适合于不同的给药形式,例如本发明化合物被配制为片剂或胶囊而治疗剂被配制为粉末剂、溶液或混悬液。

[0467] 因此,本发明另外地涉及固定组合、非-固定组合或各部分的药剂盒,其包含至少一种本发明的化合物;至少一种选自皮质类固醇、抗胆碱能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素的治疗剂;和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0468] 在一优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别地本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、皮质类固醇和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含:

[0469] 本发明化合物和布地奈德,

[0470] 本发明化合物和氟替卡松,

[0471] 本发明化合物和倍氯米松,

[0472] 本发明化合物和莫米松,

[0473] 本发明化合物和曲安奈德,或

[0474] 本发明化合物和环索奈德,

[0475] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0476] 在一优选的实施方案中,氟替卡松的药学上可接受的衍生物是氟替卡松-17-丙酸酯。在另一个优选的实施方案中,倍氯米松的药学上可接受的衍生物是倍氯米松17,21-二丙酸酯。在一优选的实施方案中,莫米松的药学上可接受的衍生物是莫米松糠酸酯。

[0477] 包含本发明化合物和皮质类固醇的组合优选地用于治疗 and 预防支气管哮喘、COPD、过敏性鼻炎、嗜酸性粒细胞性食道炎或皮肤病,例如特应性皮炎。优选地皮质类固醇用于鼻内、吸入或(在皮肤病的情况下)经皮给药;在严重的病例中,皮质类固醇也可口服使用。

[0478] 在一优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、抗胆碱能药和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含:

[0479] 本发明化合物和格隆溴铵(glycopyrronium bromide),

[0480] 本发明化合物和阿地溴铵(aclidinium bromide),

[0481] 本发明化合物和噻托溴铵,或

[0482] 本发明化合物和溴化异丙基阿托品,

[0483] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0484] 在一优选的实施方案中,格隆溴铵的立体异构体是(R,R)-格隆溴铵。在一优选的实施方案中,噻托溴铵以其一水合物的形式使用。

[0485] 优选地,抗胆碱能药供吸入给药。包含本发明化合物和抗胆碱能药的组合优选地用于治疗或预防COPD。

[0486] 在一优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、

β_2 -肾上腺素受体激动剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0487] 本发明化合物和沙丁胺醇，

[0488] 本发明化合物和米维特罗 (milveterol)，

[0489] 本发明化合物和茚达特罗，

[0490] 本发明化合物和卡莫特罗 (carmoterol)，

[0491] 本发明化合物和沙美特罗，

[0492] 本发明化合物和福莫特罗，

[0493] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0494] 在一优选的实施方案中，沙丁胺醇的药学上可接受的盐是硫酸沙丁胺醇。在一优选的实施方案中，米维特罗的药学上可接受的盐是盐酸米维特罗。在一优选的实施方案中，卡莫特罗的药学上可接受的盐是盐酸卡莫特罗。在一优选的实施方案中，沙美特罗的药学上可接受的盐是昔萘酸沙美特罗。在另一个优选的实施方案中，福莫特罗的药学上可接受的盐是半富马酸福莫特罗一水合物。在另一个优选的实施方案中，福莫特罗的立体异构体是R,R-福莫特罗。在另一个优选的实施方案中，R,R-福莫特罗的药学上可接受的盐是L-酒石酸R,R-福莫特罗。

[0495] 优选地 β_2 -肾上腺素受体激动剂是长效 β_2 -肾上腺素受体激动剂；在这个方面特别优选的是具有12-24小时期间的治疗效果的那些 β_2 -肾上腺素受体激动剂。

[0496] 优选地，包含本发明化合物和 β_2 -肾上腺素受体激动剂的组合用于治疗或预防支气管哮喘和COPD。

[0497] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一)、H1受体拮抗剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0498] 本发明化合物和氮卓斯汀 (azelastine)，

[0499] 本发明化合物和奥洛他定，

[0500] 本发明化合物和氯雷他定，

[0501] 本发明化合物和地氯雷他定，或

[0502] 本发明化合物和西替利嗪，

[0503] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0504] 在一优选的实施方案中，氮卓斯汀的药学上可接受的盐是盐酸氮卓斯汀。在一优选的实施方案中，奥洛他定的药学上可接受的盐是盐酸奥洛他定。在一优选的实施方案中，西替利嗪的药学上可接受的盐是二盐酸西替利嗪。在一优选的实施方案中，西替利嗪的立体异构体是左西替利嗪。在另一个优选的实施方案中，左西替利嗪的药学上可接受的盐是二盐酸左西替利嗪。

[0505] 包含本发明化合物和H1受体激动剂的组合优选地用于治疗或预防过敏性鼻炎。

[0506] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一)、白三烯受体拮抗剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组

合或各部分的药剂盒包含：

[0507] 本发明化合物和孟鲁司特，

[0508] 本发明化合物和普仑司特，或

[0509] 本发明化合物和扎鲁司特，

[0510] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0511] 在一优选的实施方案中，孟鲁司特的药学上可接受的盐是孟鲁司特钠。在另一个优选的实施方案中，普仑司特以其一水合物形式使用。

[0512] 包含本发明化合物和白三烯受体拮抗剂的组合优选地用于治疗或预防支气管哮喘或过敏性鼻炎。

[0513] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、5-脂氧合酶抑制剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0514] 本发明化合物和齐留通，

[0515] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0516] 包含本发明化合物和5-脂氧合酶抑制剂的组合优选地用于治疗或预防支气管哮喘。

[0517] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、内皮素拮抗剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0518] 本发明化合物和波生坦，

[0519] 本发明化合物和安立生坦，

[0520] 本发明化合物和阿曲生坦，

[0521] 本发明化合物和达卢生坦，

[0522] 本发明化合物和克拉生坦，或

[0523] 本发明化合物和阿伏生坦，

[0524] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0525] 在另一个优选的实施方案中，波生坦以其一水合物的形式使用。在另一个优选的实施方案中，克拉生坦的药学上可接受的盐是克拉生坦的二钠盐。在另一个优选的实施方案中，阿曲生坦的药学上可接受的盐是盐酸阿曲生坦或阿曲生坦的钠盐。在另一个优选的实施方案中，使用阿曲生坦的R-对映体。在另一个优选的实施方案中，使用达卢生坦的S-对映体。

[0526] 包含本发明化合物和内皮素拮抗剂的组合优选地用于治疗或预防支气管哮喘。

[0527] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、4型磷酸二酯酶抑制剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0528] 本发明化合物和罗氟司特，

[0529] 本发明化合物和罗氟司特-N-氧化物，

[0530] 本发明化合物和oglemilast，

[0531] 本发明化合物和tipelukast，

[0532] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0533] 包含本发明化合物和4型磷酸二酯酶抑制剂的组合优选地用于治疗或预防支气管哮喘和COPD。

[0534] 在特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：本发明化合物（特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐）、4型磷酸二酯酶抑制剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含

[0535] 本发明化合物和西地那非，

[0536] 本发明化合物和伐地那非，

[0537] 本发明化合物和他达那非(tadalafil)，

[0538] 本发明化合物和乌地那非(udenafil)，

[0539] 本发明化合物和阿伐那非(avanafil)，

[0540] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0541] 在另一个优选的实施方案中，西地那非的药学上可接受的盐是半柠檬酸西地那非、柠檬酸西地那非和甲磺酸西地那非；特别优选的是西地那非的柠檬酸盐。在另一个优选的实施方案中，伐地那非的药学上可接受的盐是盐酸伐地那非或二盐酸伐地那非。在另一个优选的实施方案中，阿伐那非的药学上可接受的盐是苯磺酸阿伐那非。

[0542] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物（特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐）、茶碱和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0543] 本发明化合物和茶碱，

[0544] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0545] 包含本发明化合物和茶碱的组合优选地用于治疗或预防支气管哮喘和COPD。

[0546] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物（特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐）、免疫调节剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0547] 本发明化合物和奥马珠单抗(omalizumab)，或

[0548] 本发明化合物和鲁昔单抗(lumiliximab)，

[0549] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0550] 包含本发明化合物和以上提及的免疫调节剂之一的组合优选地用于治疗或预防支气管哮喘或嗜酸性粒细胞性食道炎。

[0551] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物（特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐）、细胞因子抑制剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及

的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0552] 本发明化合物和suplatast，

[0553] 本发明化合物和美泊利单抗，

[0554] 本发明化合物和依那西普，或

[0555] 本发明化合物和马拉韦罗 (maraviroc)，

[0556] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0557] 在一优选的实施方案中，suplatast以其甲苯磺酸盐的形式使用。

[0558] 包含本发明化合物和以上提及的细胞因子抑制剂之一的组合可优选地用于治疗或预防支气管哮喘、过敏性鼻炎或嗜酸性粒细胞性食道炎。

[0559] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、HMG-CoA还原酶抑制剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0560] 本发明化合物和洛伐他汀，

[0561] 本发明化合物和普伐他汀，

[0562] 本发明化合物和辛伐他汀，

[0563] 本发明化合物和阿托伐他汀，

[0564] 本发明化合物和氟伐他汀，

[0565] 本发明化合物和罗苏伐他汀，

[0566] 本发明化合物和匹伐他汀，

[0567] 本发明化合物和柏伐他汀，

[0568] 本发明化合物和达伐他汀，或

[0569] 本发明化合物和格仑伐他汀 (glenvastatin)，

[0570] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0571] 在一优选的实施方案中，普伐他汀的药学上可接受的盐是普伐他汀钾、锂、钠和半-钙盐。特别优选的普伐他汀的药学上可接受的盐是普伐他汀的钠盐。在一优选的实施方案中，辛伐他汀的药学上可接受的盐是辛伐他汀的钠盐。在一优选的实施方案中，阿托伐他汀的药学上可接受的盐是阿托伐他汀的钾、钠和半-钙盐。特别优选的阿托伐他汀的药学上可接受的盐是阿托伐他汀的半-钙盐。作为阿托伐他汀的水合物的实例，可被提及的有阿托伐他汀的半-钙盐的三水合物和一倍半-水合物。在一优选的实施方案中，氟伐他汀的药学上可接受的盐是氟伐他汀的钠盐。在一优选的实施方案中，罗苏伐他汀的药学上可接受的盐是罗苏伐他汀的钾、锂、钠、半-镁和半-钙盐。特别优选的罗苏伐他汀的药学上可接受的盐是罗苏伐他汀的半-钙盐。另一个特别优选的罗苏伐他汀的药学上可接受的盐是罗苏伐他汀的钠盐。在一优选的实施方案中，匹伐他汀的药学上可接受的盐是匹伐他汀的钾、钠和半-钙盐。特别优选的匹伐他汀的药学上可接受的盐是匹伐他汀的半-钙盐。

[0572] 包含本发明化合物和HMG-CoA还原酶抑制剂的组合优选地用于治疗或预防COPD。

[0573] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一)、肺表面活性剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或

各部分的药剂盒包含：

[0574] 本发明化合物和卢舒普肽，

[0575] 本发明化合物和poracant alfa，

[0576] 本发明化合物和西那普肽，

[0577] 本发明化合物和贝拉坦 (beracant) ，

[0578] 本发明化合物和勃法克坦 (bovacant) ，

[0579] 本发明化合物和棕榈胆磷，

[0580] 本发明化合物和表面活性剂-TA,或

[0581] 本发明化合物和calfacant，

[0582] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0583] 包含本发明化合物和肺表面活性剂的组合优选地用于治疗或预防支气管哮喘或COPD。

[0584] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、抗生素和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0585] 本发明化合物和阿莫西林，

[0586] 本发明化合物和氨比西林，

[0587] 本发明化合物和左氧氟沙星，

[0588] 本发明化合物和克拉霉素，

[0589] 本发明化合物和环丙沙星，

[0590] 本发明化合物和泰利霉素，或

[0591] 本发明化合物和阿奇霉素，

[0592] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0593] 在一优选的实施方案中，阿莫西林以其三水合物的形式使用。在另一个优选的实施方案中，氨比西林以其三水合物的形式使用。在另一个优选的实施方案中，氨比西林的药学上可接受的盐是氨比西林钠。在另一个优选的实施方案中，左氧氟沙星以其半水合物的形式使用。在另一个优选的实施方案中，环丙沙星的药学上可接受的盐是盐酸环丙沙星一水合物。在另一个优选的实施方案中，阿奇霉素以其一水合物的形式使用。

[0594] 包含本发明化合物和抗生素的组合优选地用于治疗或预防与支气管哮喘和COPD有关的恶化。

[0595] 在一优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、皮质类固醇， β_2 -肾上腺素受体激动剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中，以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含：

[0596] 本发明化合物，布地奈德和沙丁胺醇，

[0597] 本发明化合物，布地奈德和米维特罗，

[0598] 本发明化合物，布地奈德和茚达特罗，

[0599] 本发明化合物，布地奈德和卡莫特罗，

- [0600] 本发明化合物,布地奈德和沙美特罗,
- [0601] 本发明化合物,布地奈德和福莫特罗,
- [0602] 本发明化合物,氟替卡松和沙丁胺醇,
- [0603] 本发明化合物,氟替卡松和米维特罗,
- [0604] 本发明化合物,氟替卡松和茚达特罗,
- [0605] 本发明化合物,氟替卡松和卡莫特罗,
- [0606] 本发明化合物,氟替卡松和沙美特罗,
- [0607] 本发明化合物,氟替卡松和福莫特罗,
- [0608] 本发明化合物,倍氯米松和沙丁胺醇,
- [0609] 本发明化合物,倍氯米松和米维特罗,
- [0610] 本发明化合物,倍氯米松和茚达特罗,
- [0611] 本发明化合物,倍氯米松和卡莫特罗,
- [0612] 本发明化合物,倍氯米松和沙美特罗,
- [0613] 本发明化合物,倍氯米松和福莫特罗,
- [0614] 本发明化合物,莫米松和沙丁胺醇,
- [0615] 本发明化合物,莫米松和米维特罗,
- [0616] 本发明化合物,莫米松和茚达特罗,
- [0617] 本发明化合物,莫米松和卡莫特罗,
- [0618] 本发明化合物,莫米松和沙美特罗,
- [0619] 本发明化合物,莫米松和福莫特罗,
- [0620] 本发明化合物,曲安奈德和沙丁胺醇,
- [0621] 本发明化合物,曲安奈德和米维特罗,
- [0622] 本发明化合物,曲安奈德和茚达特罗,
- [0623] 本发明化合物,曲安奈德和卡莫特罗,
- [0624] 本发明化合物,曲安奈德和沙美特罗,
- [0625] 本发明化合物,曲安奈德和福莫特罗,
- [0626] 本发明化合物,环索奈德和沙丁胺醇,
- [0627] 本发明化合物,环索奈德和米维特罗,
- [0628] 本发明化合物,环索奈德和茚达特罗,
- [0629] 本发明化合物,环索奈德和卡莫特罗,
- [0630] 本发明化合物,环索奈德和沙美特罗,或
- [0631] 本发明化合物,环索奈德和福莫特罗,
- [0632] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0633] 在一优选的实施方案中,沙丁胺醇的药学上可接受的盐是硫酸沙丁胺醇。在一优选的实施方案中,米维特罗的药学上可接受的盐是盐酸米维特罗。在一优选的实施方案中,卡莫特罗的药学上可接受的盐是盐酸卡莫特罗。在一优选的实施方案中,沙美特罗的药学上可接受的盐是昔萘酸沙美特罗。在另一个优选的实施方案中,福莫特罗的药学上可接受的盐是半富马酸福莫特罗一水合物。在另一个优选的实施方案中,福莫特罗的立体异构体是R,R-福莫特罗。在另一个优选的实施方案中,R,R-福莫特罗的药学上可接受的盐是L-酒

石酸R,R-福莫特罗。在一优选的实施方案中,氟替卡松的药学上可接受的盐是氟替卡松-17-丙酸盐。在另一个优选的实施方案中,倍氯米松的药学上可接受的盐是二丙酸倍氯米松。在一优选的实施方案中,莫米松的药学上可接受的盐是糠酸莫米松。

[0634] 在一优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、 β_2 -肾上腺素受体激动剂、抗胆碱能药和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含:

[0635] 本发明化合物,沙丁胺醇和格隆溴铵,

[0636] 本发明化合物,沙丁胺醇和阿地溴铵,

[0637] 本发明化合物,沙丁胺醇和噻托溴铵,

[0638] 本发明化合物,沙丁胺醇和溴化异丙基阿托品,

[0639] 本发明化合物,米维特罗和格隆溴铵,

[0640] 本发明化合物,米维特罗和阿地溴铵,

[0641] 本发明化合物,米维特罗和噻托溴铵,

[0642] 本发明化合物,米维特罗和溴化异丙基阿托品,

[0643] 本发明化合物,沙美特罗和格隆溴铵,

[0644] 本发明化合物,沙美特罗和阿地溴铵,

[0645] 本发明化合物,沙美特罗和噻托溴铵,

[0646] 本发明化合物,沙美特罗和溴化异丙基阿托品,

[0647] 本发明化合物,福莫特罗和格隆溴铵,

[0648] 本发明化合物,福莫特罗和阿地溴铵,

[0649] 本发明化合物,福莫特罗和噻托溴铵,

[0650] 本发明化合物,福莫特罗和溴化异丙基阿托品,

[0651] 本发明化合物,茚达特罗和格隆溴铵,

[0652] 本发明化合物,茚达特罗和阿地溴铵,

[0653] 本发明化合物,茚达特罗和噻托溴铵,

[0654] 本发明化合物,茚达特罗和溴化异丙基阿托品,

[0655] 本发明化合物,卡莫特罗和格隆溴铵,

[0656] 本发明化合物,卡莫特罗和阿地溴铵,

[0657] 本发明化合物,卡莫特罗和噻托溴铵,或

[0658] 本发明化合物,卡莫特罗和溴化异丙基阿托品,

[0659] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0660] 在一优选的实施方案中,沙丁胺醇的药学上可接受的盐是硫酸沙丁胺醇。在一优选的实施方案中,米维特罗的药学上可接受的盐是盐酸米维特罗。在一优选的实施方案中,卡莫特罗的药学上可接受的盐是盐酸卡莫特罗。在一优选的实施方案中,沙美特罗的药学上可接受的盐是昔萘酸沙美特罗。在另一个优选的实施方案中,福莫特罗的药学上可接受的盐是半富马酸福莫特罗一水合物。在另一个优选的实施方案中,福莫特罗的立体异构体是R,R-福莫特罗。在另一个优选的实施方案中,R,R-福莫特罗的药学上可接受的盐是L-酒石酸R,R-福莫特罗。在一优选的实施方案中,格隆溴铵的立体异构体是(R,R)-格隆溴铵。在

一优选的实施方案中,噻托溴铵以其一水合物的形式使用。

[0661] 在一优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、皮质类固醇、抗胆碱能药和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含:

[0662] 本发明化合物,布地奈德和格隆溴铵,

[0663] 本发明化合物,布地奈德和阿地溴铵,

[0664] 本发明化合物,布地奈德和噻托溴铵,

[0665] 本发明化合物,布地奈德和溴化异丙基阿托品,

[0666] 本发明化合物,氟替卡松和格隆溴铵,

[0667] 本发明化合物,氟替卡松和阿地溴铵,

[0668] 本发明化合物,氟替卡松和噻托溴铵,

[0669] 本发明化合物,氟替卡松和溴化异丙基阿托品,

[0670] 本发明化合物,倍氯米松和格隆溴铵,

[0671] 本发明化合物,倍氯米松和阿地溴铵,

[0672] 本发明化合物,倍氯米松和噻托溴铵,

[0673] 本发明化合物,倍氯米松和溴化异丙基阿托品,

[0674] 本发明化合物,莫米松和格隆溴铵,

[0675] 本发明化合物,莫米松和阿地溴铵,

[0676] 本发明化合物,莫米松和噻托溴铵,

[0677] 本发明化合物,莫米松和溴化异丙基阿托品,

[0678] 本发明化合物,曲安奈德和格隆溴铵,

[0679] 本发明化合物,曲安奈德和阿地溴铵,

[0680] 本发明化合物,曲安奈德和噻托溴铵,

[0681] 本发明化合物,曲安奈德和溴化异丙基阿托品,

[0682] 本发明化合物,环索奈德和格隆溴铵,

[0683] 本发明化合物,环索奈德和阿地溴铵,

[0684] 本发明化合物,环索奈德和噻托溴铵,或

[0685] 本发明化合物,环索奈德和溴化异丙基阿托品,

[0686] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0687] 在一优选的实施方案中,氟替卡松的药学上可接受的盐是氟替卡松-17-丙酸盐。在另一个优选的实施方案中,倍氯米松的药学上可接受的盐是二丙酸倍氯米松。在一优选的实施方案中,莫米松的药学上可接受的盐是糠酸莫米松。在一优选的实施方案中,格隆溴铵的立体异构体是(R,R)-格隆溴铵。在一优选的实施方案中,噻托溴铵以其一水合物的形式使用。

[0688] 以上提及的三联组合可优选地用于治疗或预防支气管哮喘或COPD。

[0689] 示例性组合,特别是用于经皮给药(例如针对特应性皮炎或银屑病),可包含本发明化合物和免疫抑制剂,例如钙调神经磷酸酶抑制剂,例如吡美莫司或他克莫司。

[0690] 因此,在另一个优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的

药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、免疫抑制剂和至少一种药学上可接受的辅助剂。在一特别优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含:

[0691] 本发明化合物和吡美莫司,

[0692] 本发明化合物和他克莫司,

[0693] 本发明化合物和氨甲喋呤,

[0694] 本发明化合物和子囊霉素,或

[0695] 本发明化合物和环孢菌素A,

[0696] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0697] 可局部外用(经皮)给予的免疫抑制剂可以在与本发明化合物分开的局部外用组合物中给予(非-固定组合或各部分的药剂盒),或它可与本发明化合物一起包含在一个合并的可局部外用给予的组合物中(固定组合)。在一优选的实施方案中,可局部外用给予的组合物是含有约1% w/w浓度的吡美莫司的霜剂。在另一个优选的实施方案中,可局部外用给予的组合物是含有从约0.03%至约0.1% w/w浓度的他克莫司的软膏剂。

[0698] 用于局部外用给予的,特别是用于治疗或预防特应性皮炎和银屑病的其它组合,可包括本发明化合物和皮质类固醇。除了以上提及的皮质类固醇组合外,以下皮质类固醇组合也可以是有用的。

[0699] 在另一个优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、皮质类固醇和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0700] 在特别优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含:

[0701] 本发明化合物和泼尼松龙,

[0702] 本发明化合物和地塞米松,

[0703] 本发明化合物和氯倍他索,

[0704] 本发明化合物和倍他米松,或

[0705] 本发明化合物和氢化可的松,

[0706] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0707] 在另一个优选的实施方案中,以上提及的皮质类固醇可以酯的形式使用,例如,泼尼松龙戊酸酯乙酸酯(prednisolone valerate acetate)、氢化可的松丁酸酯、氢化可的松乙酸酯、地塞米松戊酸酯、地塞米松丙酸酯、地塞米松二丙酸酯、倍他米松丁酸酯丙酸酯或泼尼松龙戊酸酯乙酸酯。在另一个优选的实施方案中,氯倍他索的药学上可接受的衍生物是氯倍他索丙酸酯。

[0708] 用于局部外用(经皮)给药,特别是用于治疗银屑病的其它组合,可包括本发明化合物和维生素D类似物。

[0709] 因此,在另一个优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒包含本发明化合物(特别是本发明化合物是本发明的实施例之一或其药学上可接受的盐)、维生素D类似物和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0710] 在特别优选的实施方案中,以上提及的固定组合、非固定组合或各部分的药剂盒

包含：

[0711] 本发明化合物和骨化三醇，

[0712] 本发明化合物和卡泊三醇，或

[0713] 本发明化合物和他卡西醇，

[0714] 和至少一种药学上可接受的辅助剂。

[0715] 依据本发明的药物组合物(如果没有另外明确指出)优选地含有总量为0.1-99.9 wt%、更优选5-95 wt%、特别是20-80 wt%的一种或多种本发明的化合物。在至少一种选自皮质类固醇、抗胆碱能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素的治疗剂存在于本发明的药物组合物中的情况下，所述一种或多种治疗剂在药物组合物中的总量是(如果没有另外明确指出)优选地在0.1-99.9 wt%、更优选5-95 wt%、特别是20-80 wt%的范围内，条件是一种或多种本发明的化合物和一种或多种治疗剂的总量少于100 wt%。

[0716] 作为药学上可接受的辅助剂，可使用已知适合于制备药物组合物/制剂的任何辅助剂。其实例包括，但不限于，溶剂、赋形剂、分散剂、乳化剂、增溶剂、凝胶形成剂、软膏剂基质、抗氧化剂、防腐剂、稳定剂、载体、填充剂、粘合剂、增稠剂、络合剂、崩解剂、缓冲剂、渗透促进剂、聚合物、润滑剂、包衣剂、抛射剂、张力调节剂、表面活性剂、着色剂、矫味剂、甜味剂和染料。特别是，使用适宜于所需制剂和所需给药方式的类型的辅助剂。

[0717] 可将药物组合物/制剂配制为例如片剂、包衣片剂(糖锭剂)、丸剂、扁囊剂(cachet)、胶囊剂、颗粒剂、粉末剂、栓剂、溶液(例如，但不限于，无菌溶液)、乳剂、混悬液、软膏剂、霜剂、洗剂、糊剂、油剂、凝胶剂、喷雾剂和贴剂(例如，但不限于，经皮治疗系统)。此外，可将药物组合物制备为例如脂质体传递系统、其中本发明化合物偶联于单克隆抗体的系统和其中本发明化合物偶联于聚合物(例如，但不限于，可溶性的或可生物降解的聚合物)的系统。

[0718] 药物组合物/制剂可以本领域技术人员已知的方式，例如通过溶解、混合、制粒、制锭、研粉、乳化、包胶、截留或冻干方法来制备。

[0719] 所选择的制剂尤其取决于给予药物组合物的途径。本发明的药物组合物/制剂可通过任何合适的途径，例如，通过口服、舌下、含服、静脉内、动脉内、肌肉内、皮下、皮内、局部、经皮、鼻内、眼内、腹膜内、胸骨内、冠状动脉内、经尿道、直肠或阴道途径，通过吸入或通过吹入给药。本发明化合物的口服给药是优选的。

[0720] 在非-固定组合或各部分的药剂盒包含至少一种本发明的化合物和至少一种选自皮质类固醇、抗胆碱能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素的治疗剂的情况下，本发明化合物和治疗剂可通过相同的途径给予，例如，并不限于口服，或通过不同的途径，例如并不限于，本发明化合物可以口服给予和治疗剂可以例如，皮下或经吸入给予。

[0721] 在药物组合物包含至少一种本发明的化合物和至少一种选自皮质类固醇、抗胆碱

能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素的治疗剂的情况下,本发明化合物和治疗剂可一起配制成相同的剂型(例如,但不限于,片剂),分别配制成相同的剂型(例如,但不限于,片剂),或配制成不同的剂型(并不限于例如本发明化合物可配制为片剂,而治疗剂可配制为粉末剂、溶液或混悬液)。

[0722] 片剂、包衣片剂(糖锭剂)、丸剂、扁囊剂、胶囊剂、颗粒剂、溶液、乳剂和混悬液例如可适合于口服给药。特别是,可修改所述制剂以提供例如,肠溶形式、即刻释放形式、延迟释放形式、重复剂量释放形式、延长释放形式或持续释放形式。所述形式可例如,通过包衣片剂,通过将片剂分成由在不同的条件下(例如pH条件)崩解的层分割开的几个隔室,或通过使本发明化合物偶联于可生物降解的聚合物而获得。

[0723] 通过吸入或吹入给药优选地通过使用气溶胶进行。气溶胶是液体-气体的分散物、固体-气体的分散物或混合的液体/固体-气体的分散物。气溶胶可通过产生气溶胶的装置例如干粉剂吸入器(DPI)、加压的计量剂量吸入器(PMDI)和喷雾器生成。取决于要给予的本发明化合物的种类,产生气溶胶的装置可含有呈粉末、溶液或分散液形式的化合物。粉末可含有,例如,一或多种以下的辅助剂:载体、稳定剂和填充剂。除溶剂外,溶液还可含有例如,一或多种以下的辅助剂:抛射剂、增溶剂(共溶剂)、表面活性剂、稳定剂、缓冲剂、张力调节剂、防腐剂 and 矫味剂。除了分散剂外,分散液还可含有例如,一或多种以下的辅助剂:抛射剂、表面活性剂、稳定剂、缓冲剂、防腐剂和矫味剂。载体的实例包括,但不限于,糖,例如乳糖和葡萄糖。抛射剂的实例包括,但不限于,氟化烃例如1,1,1,2-四氟乙烷和1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷。

[0724] 气溶胶颗粒(固体,液体或固体/液体颗粒)的粒径优选地少于100 μm ,更优选地其在0.5-10 μm 的范围内,特别是在2-6 μm 的范围内(D50值,通过激光衍射法测量)。

[0725] 可用于吸入给药的特定产生气溶胶的装置包括,但不限于,Cyclohaler[®]、Diskhaler[®]、Rotadisk[®]、Turbohaler[®]、Autohaler[®]、Novolizer[®]、Easyhaler[®]、Aerolizer[®]、Jethaler[®]、Diskus[®]、Ultrahaler[®]和Mystic[®]吸入器。产生气溶胶的装置可以与间隔器(spacer)或扩张器(expander)例如Aerochamber[®]、Nebulator[®]、Volumatic[®]和Rondo[®]组合,用于改进吸入效率。

[0726] 在局部给药的情况下,合适的药物制剂为,例如,软膏剂、霜剂、洗剂、糊剂、凝胶剂、粉末剂、溶液、乳剂、混悬液、油剂、喷雾剂和贴剂(例如,但不限于,经皮治疗系统)。

[0727] 对于胃肠外给药模式,可使用例如,静脉内、动脉内、肌内、皮下、皮内、腹膜内和胸骨内给药,优选使用溶液(例如,但不限于,无菌溶液、等渗溶液)。它们优选地通过注射或输注技术给药。

[0728] 在鼻内给药的情况下,例如,喷雾剂和以滴剂形式应用的溶液是优选的制剂。

[0729] 对于眼内给药,以滴剂形式应用的溶液、凝胶和软膏剂是示例性制剂。

[0730] 在至少一种本发明化合物与至少一种选自皮质类固醇、抗胆碱能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素的治疗剂以固定组合、

非固定组合或各部分的药剂盒的形式共同给予的情况下,本发明化合物的剂量以及治疗剂的剂量将在通常用于单一疗法的范围内,更可能的是,考虑到个体的作用(其相互的积极影响和加强作用)时,在共同给予本发明的一种或多种化合物和治疗剂的情况下有可能减少各自的剂量。

[0731] 一般来说,可给予依据本发明的药物组合物,以使本发明化合物的剂量在通常对EP2激动剂的范围内。特别是,每天在0.05-500 mg、优选0.1-200 mg范围内剂量的本发明化合物对于具有体重70 kg的一般成人患者是优选的。在这个方面,应该注意剂量取决于,例如,所用的特定化合物;治疗的物种;受治疗者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食;给药方式和次数;排泄率;待治疗疾病的严重性;和药物组合。

[0732] 药物组合物可以每天单一剂量或以每天多个亚剂量(例如2-4个剂量)给予。药物组合物的单一剂量单位可含有例如0.05 mg-500 mg、优选0.1 mg-200 mg、更优选0.1-100 mg、最优选0.1-10 mg的本发明化合物。

[0733] 在以固定组合、非-固定组合或各部分的药剂盒的形式共同给予至少一种本发明化合物和至少一种选自皮质类固醇、抗胆碱能药物、 β_2 肾上腺素受体激动剂、H1受体拮抗剂、白三烯受体拮抗剂、5-脂氧合酶抑制剂、内皮素拮抗剂、4型磷酸二酯酶抑制剂、5型磷酸二酯酶抑制剂、茶碱、免疫抑制剂、免疫调节剂、细胞因子抑制剂、维生素D类似物、HMG-CoA还原酶-抑制剂、肺表面活性剂和抗生素的治疗化合物的情况下,各个药物组合物/制剂的单一剂量单位可含有例如0.05 mg-500 mg、优选0.1 mg-200 mg、更优选0.1-100 mg的本发明化合物和/或例如0.01 mg-4000 mg、优选0.1 mg-2000 mg、更优选0.5 mg-1000 mg、最优选1 mg-500 mg的治疗剂,这取决于所用的治疗剂、待治疗的疾病和选择的给药途径。优选地,所述至少一种本发明化合物和至少一种治疗剂以1000:1-1:1000的重量比、更优选以100:1-1:100的重量比、甚至更优选以25:1-1:25的重量比存在于药物组合物/制剂中。

[0734] 此外,可使药物组合物适合于每周、每月或甚至更少频率的给药,例如通过使用植入物(例如皮下或肌肉植入物),通过使用难溶盐形式的本发明化合物或通过使用与聚合物偶联的本发明化合物。

[0735] 生物学研究

[0736] 用于测量PGE₂结合人前列腺素类受体EP2的抑制的方法:

[0737] 依据Abramovitz等(M. Abramovitz等2000, *Biochimica et Biophysica Acta* 1483:285-293),以在50mM Bis-Tris (pH6.0)中100 μ L的最终孵育体积,在96-孔板上进行人EP2受体平衡竞争结合测定。将放射性同位素标记的前列腺素E₂ (PGE₂) (1 nM [³H]-PGE₂,购自Perkin Elmer)加入到测定中作为竞争配体。将作为二甲亚砜(DMSO)储备液储存的试验化合物以在测定缓冲液中的系列稀释加入到测定中,同时保持各个样品的最终DMSO浓度相等。通过加入含有人EP2受体的膜蛋白(ChemiSCREEN™膜制备重组人EP2前列腺素类受体,其购自Millipore)启动反应。总结合在试验化合物或PGE₂的不存在下测定,和非-特异性结合在1 μ M PGE₂的存在下测定。于室温下进行孵育60分钟直至达到平衡并通过用0.3% PEI溶液预湿的GF/B滤器(Perkin Elmer)过滤终止。通过在冰冷却的条件下,用相同的缓冲液洗涤8个循环来除去未结合的放射性同位素标记的PGE₂并将含有残留的放射性的滤器于60°C干燥60分钟。为了测量滤器结合的放射性,将40 μ L microscint (闪烁液)加入到各滤器中并经TopCount-NTXTM测定化学发光。特异性结合通过从各个样品减去非-特异性的结

合来计算。试验化合物的百分率抑制基于无试验化合物的特异性结合来计算。各个样品按每次实验一式三份来测定并且为了计算 pIC_{50} ，进行至少2次独立的实验。半数最大抑制浓度(IC_{50})的测定用GraphPad Prism软件进行。

[0738] 对于以下化合物，已测定5.7和6.7之间、7和7.9之间和8和8.9之间的EP2结合值[测定为 $-\log IC_{50} = pIC_{50}$]。化合物号对应于实施例号。

[0739] EP2结合测定(PGE₂置换): pIC_{50} 值

	5.7 ~ 6.9	7 ~ 7.9	8 ~ 8.9
[0740]	实施例23, 20, 21	实施例6, 8, 7, 16, 22	实施例5, 10, 3, 1, 19, 2, 9, 15, 13, 14, 4, 11, 17

[0741] 用于测量在人EP2稳定转染细胞中cAMP释放的方法:

[0742] EP2激动剂的效力和效果已通过测量cAMP在稳定转染CHO-K1细胞(其表达人前列腺素类受体EP2)中的释放和通过6次含有转录启动子的CRE (cAMP反应元件)调节的荧光素酶来测定。在实验前24小时,将CHO-p6CreLuc-huEP2细胞接种于384-孔板(每孔1000个细胞)中的DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F12)细胞培养基,该培养基含有2% FCS (胎牛血清)和500 μ g/ml G418。试验化合物按系列稀释加入,同时保持每孔的最终DMSO浓度恒定。使用作为阳性对照的布他前列素,其给出与PGE₂的最大效果相比相同的最大效果。将细胞与试验化合物或布他前列素一起于37 $^{\circ}$ C培养4小时。cAMP释放通过荧光素酶活性间接地测定,荧光素酶活性与响应cAMP调节的启动子活性而表达的荧光素酶的量直接相关。通过加入含有缓冲液的荧光素和随后定量所产生的发光,来测定荧光素酶活性。每个样品按每次实验一式四份测量,与布他前列素比较的半数-最大有效浓度(EC_{50})和相对最大效果用GraphPad Prism软件,从3次独立的实验测定。获得超过布他前列素的最大效果的80%的化合物被认为是完全激动剂。

[0743] 对于以下化合物,以应用人EP2转染CHO-p6CreLuc-huEP2细胞的cAMP释放测定法来测定效力。在表中列出所有的化合物在该测定中显示完全激动活性。所述表显示 $-\log EC_{50} = pEC_{50}$ 在7.9和8.9、9.0和9.9以及10.0和11.2范围内。化合物号对应于实施例号。

[0744] EP2 cAMP释放测定: pEC_{50}

	7.9 ~ 8.9	9.0 ~ 9.9	10.0 ~ 11.2
[0745]	实施例16, 23, 20, 18, 21	实施例 13, 14, 4, 11, 17, 8, 7, 22	实施例 5, 10, 3, 1, 19, 2, 6, 9, 15

[0746] 用于测量在用LPS刺激的人全血中的TNF α 释放的抑制作用的方法:

[0747] 用由Hatzelmann和Schudt (Hatzelmann和Schudt (2001) JPET 297:267-279)和在斯图加特(Stuttgart)的Landesärztekammer Baden Württemberg的伦理委员会批准的方案“从健康志愿者抽取静脉血供体外研究(drawing of venous blood from healthy volunteers for in vitro studies)”描述的经某些修改的方法进行测定。

[0748] 在抽血后,于室温下使肝素化的静脉血平衡至测定条件达1小时。此后立即,将每份样品200 μ L全血与25 μ L的系列稀释的试验化合物或作为阳性对照的吡拉米司特一起于37 $^{\circ}$ C预孵育30 min。预孵育后,通过每个样品加入25 μ L脂多糖(LPS) (Sigma, Aldrich)刺激血样,产生1 μ g/mL LPS的最终浓度和250 μ L的最终体积。于37 $^{\circ}$ C,将细胞孵育4小时。从由离心步骤并将上清液转移至一个新的96-孔板而获得的血浆测定TNF α 水平,将其再次离心并依

据制备方案(Perkin Elmer),通过 α LISA技术,使用澄清的血浆上清液测量TNF α 。

[0749] 将未用LPS刺激的全血样品用作对照并设定为100%抑制作用。将用LPS刺激的并用溶剂替代试验化合物的全血样品设定为0%抑制作用。基于这些对照品,对每个样品计算百分率抑制,并且由于大多数化合物达到饱和最大抑制作用的60%,其pIC₃₀值用GraphPad Prism软件计算。

[0750] 对于以下化合物,在人全血测定法中已测定TNF α 释放的抑制值[测定为 $-\log IC_{30} = pIC_{30}$]在4.5和4.9之间、5.0和5.9之间和6.0和6.9之间。化合物号对应于实施例号。

[0751] 在人全血中测定LPS诱导的TNF α 释放的抑制作用:pIC₃₀

	4.5-4.9	5.0-5.9	6.0-6.9
[0752]	实施例3, 4	实施例15, 22	实施例10, 1, 19, 2, 9, 13

[0753] 用于测量在用LPS刺激的人外周血单核细胞(PBMC)中TNF α 释放的抑制作用的方法:

[0754] 采用由Hatzelmann和Schudt (Hatzelmann和Schudt 2001, J. Pharmacol. Exp. Therapeutics 297:267-279)和在斯图加特(Stuttgart)的Landesärztekammer Baden Württemberg的伦理委员会批准的方案“从健康志愿者抽取静脉血供体外研究(drawing of venous blood from healthy volunteers for in vitro studies)”描述的经某些修改的方法进行测定。依据标准方案,使用Ficoll,从来自健康供血者的含有抗凝血剂柠檬酸盐的静脉血分离外周血单核细胞(PBMC)。用磷酸盐缓冲溶液洗涤PBMC的细胞层两次并于室温下平衡60分钟。将在180 μ L RPMI1640细胞培养基(补充有10% FCS、NEAA (非-必需氨基酸)、L-谷氨酸和丙酮酸钠)中的500,000个PBMC/样品与10 μ L系列稀释的试验化合物或作为阳性对照的吡拉米司特于37 $^{\circ}$ C预孵育60 min.。预培养后,通过每个样品加入10 μ L LPS (Sigma, Aldrich)刺激血样,产生1 ng/mL LPS的最终浓度和200 μ L的最终体积。将细胞于37 $^{\circ}$ C培养24小时。从离心步骤并将上清液转移至一个新的96-孔板而获得的细胞上清液测定TNF α 水平。依据制备方案(Perkin Elmer),通过 α LISA技术,测定TNF α 的含量。

[0755] 将未用LPS刺激的PBMC样品用作对照并设定为100%抑制作用。将用LPS刺激的并用溶剂替代试验化合物的PBMC样品设定为0%抑制作用。基于这些对照品,对每个样品计算百分率抑制,并且由于大多数化合物达到饱和最大抑制作用的60%,其pIC₃₀值用GraphPad Prism软件计算。

[0756] 对于以下化合物,在人PBMC中已测定TNF α 释放的抑制值[测定为 $-\log IC_{30} = pIC_{30}$]在5.0和5.9之间、6.0和6.9之间、7.0和7.9之间和8.0和9.0之间。化合物号对应于实施例号。

[0757] 在人PBMC中测定LPS诱导的TNF α 释放的抑制作用:pIC₃₀

	5.0-5.9	6.0-6.9	7.0-7.9	8.0-9.0
[0758]	实施例18	实施例13, 14, 4, 17, 8, 7, 16, 23, 21	实施例19, 9, 22	实施例10, 1, 2, 15

[0759] 用于测定正常人肺成纤维细胞(NHLE)增殖的抑制作用的方法

[0760] 将16,500个NHLF-细胞接种在24-孔细胞培养板的每孔中并接着培养3.5天。此后细胞培养基用不含血清的培养基替换并使细胞饥饿24 h。随后加入系列稀释的试验化合物并用IL1 β (白介素1 β) (50 pg/mL)和bFGF (基础成纤维细胞生长因子) (10 ng/mL)刺激细胞36小时。对于DNA-合成(脱氧核糖核酸-合成)测量,36 h孵育期的最后7 h,将甲基-³H胸苷加入到细胞中。此后处理放射性标记的细胞,以测量作为DNA-合成并因此为增殖的标记物的结合放射性。为此目的,除去细胞培养物上清液,用冰冷的PBS洗涤贴壁细胞一次并以冰冷的10% (w/v)三氯乙酸(TCA)固定30 min。此后弃去TCA并通过给予0.2 N NaOH水解固定细胞的DNA。然后将含有放射性的NaOH转移到闪烁瓶中,加入闪烁液并对放射性计数(LS6500, Beckman Counter)。使试验化合物溶于DMSO至10 mM的储备浓度。在将化合物给予细胞培养物后,最终的DMSO浓度是0.1%。将各种浓度的试验化合物对增殖的抑制作用相对于0.1% DMSO-处理的对照细胞进行计算。

[0761] 已测定化合物1、2、9和10的pIC₅₀值(-logIC₅₀) 在7.8和8.8之间。化合物号对应于实施例号。

[0762] 用于测定正常人肺成纤维细胞(NHLF)的肌成纤维细胞转化的抑制作用的方法

[0763] 将200,000个NHLF-细胞接种于6-孔细胞培养板的每孔的全-培养基中并于37℃、5%CO₂和95%湿度下初始24 h孵育后饥饿24 h。在通过加入1 ng/mL人TGF β 诱导成纤维细胞向肌成纤维细胞转化之前,给予系列稀释的试验化合物。24小时后,收集细胞并如后文所述处理成溶胞产物。

[0764] 将细胞在PBS中洗涤两次,经胰蛋白酶化并以500 x g离心10 min。此后使细胞沉淀再次悬浮于150 μ L的新鲜制备的溶胞缓冲液(50 mM Hepes,pH 7.5,150 mM NaCl,1.5 mM MgCl₂,10%甘氨酸,1% Triton X-100,0.5%脱氧胆酸,0.2% SDS,1mM EGTA (乙二醇四乙酸),100 mM NaF,10 mM Na₄P₂O₇,1 mM钒酸钠,1 mM PMSF和50U/mL Benzonase (Merck KGaA,Darmstadt,Germany)中,每10 ml缓冲液含一片磷酸酶抑制剂复方(Cocktail)片剂(得自Roche Diagnostics,Mannheim,Germany的Complete Mini)并于-80℃储存以备进一步的使用。蛋白浓度按照BCA蛋白测定(Pierce Biotechnology,Rockford,Illinois,USA)的指示测定。光度测量用得自Tecan Group Ltd.,(Männedorf,Switzerland)的微量滴定板读出仪Sunrise进行。

[0765] 将6 μ g不同样品的蛋白在10% SDS (十二烷基硫酸钠)的不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳上分离。此后,在一个潮湿的印迹室中,以400 mA将蛋白质从凝胶印迹到硝基纤维素转印膜上2 h。此后在含有0.1% Tween 20的PBS (磷酸盐缓冲盐水)中,于4℃以5%的奶粉封闭该膜过夜。随后用第一抗- α -平滑肌肌动蛋白抗体(1:2,000在含5%奶粉的PBS中)杂交膜4 h,以含有0.1% Tween 20的PBS洗涤3次。随后用第二辣根偶联的山羊抗-小鼠IgG检测-抗体(1:10,000在含5%奶粉的PBS中)孵育2 h。在用含有0.1% Tween 20的PBS最终洗涤(3次,每次10 min)后,通过依据制造商的指示使用化学发光检测系统和发光图像分析仪(Fuji LAS 1000 Pro)使印迹显像。

[0766] 对于化合物1、2、9和10,已测定其pIC₅₀值(-logIC₅₀) 在8.5和9.5之间。化合物号对应于实施例号。

[0767] 体内试验:大鼠中LPS-诱导的TNF α 释放

[0768] 引言

[0769] 静脉内给予脂多糖 (LPS) 引起特征在于促炎细胞因子例如肿瘤坏死因子 α (TNF α) 释放的系统炎症。在静脉内LPS攻击大鼠之前1小时,经口服给予选择性EP2激动剂。在LPS暴露后1小时,基于血浆中的TNF α 水平评价选择性EP2激动剂的抗-炎活性。

[0770] 物质和方法

[0771] 动物

[0772] 使用体重250 - 300 g的雄性Sprague Dawley大鼠。在实验前一周大鼠被送达,并自由接近水和食物。

[0773] 化合物给予

[0774] 化合物制备

[0775] 使用混合装置 (ULTRA-TURRAX T8 basic,VDI12,VWR International GmbH),使试验化合物与1.33%聚乙二醇400 (PEG400,Merck,Darmstadt,Germany) 混合并随后悬浮在含有消泡剂C乳液 (Antifoam C Emulsion) (Sigma,Steinheim,Germany,0.1 mL/15 mL) 的2%甲基纤维素溶液 (羟丙甲基纤维素,Sigma,Steinheim,Germany) 中。通过自储备混悬液系列稀释,制备目标剂量,储备混悬液被制备为在每次实验中给予的最高剂量。

[0776] 化合物给予

[0777] 给予的化合物悬浮液的量是10 mL/kg。在实验的当天,记录鼠体重以计算要给予的体积。LPS攻击的对照动物接受作为安慰剂的无药物的媒介溶液。在LPS攻击前1小时,经口服强饲给予试验化合物和媒介。

[0778] LPS攻击

[0779] 使LPS (得自大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 055:B5,Sigma,Steinheim,Germany) 溶于含有0.1%羟胺 (Sigma,Steinheim,Germany) 的0.9%无菌NaCl溶液 (B. Braun Melsungen AG,Melsungen,Germany)。在化合物或媒介给予后1小时,按20 μ g/kg (1 mL/kg b.w.) 的剂量静脉内 (i.v.) 注射LPS。

[0780] TNF α 浓度的测定

[0781] 在LPS-攻击后1小时,经吸入异氟烷麻醉剂和随后颈椎错位处死动物。经心脏穿刺获得经肝素化的血。将血离心 (21,000 x g,4 $^{\circ}$ C,10 min),并使血浆样品保持冷冻于-20 $^{\circ}$ C,直至经ELISA测定TNF α 水平。用市售可获得的ELISA-试剂盒 (Quantikine $^{\circ}$,大鼠TNF α /TNFSF1A,R&D Systems,Minneapolis,USA) 测定TNF α 。

[0782] 数据分析

[0783] 对每个化合物治疗的动物而言,化合物对TNF α 释放的效果以相对于媒介处理的LPS-攻击的对照组的平均TNF α 水平的百分率 (%) 分别计算:

[0784] %效果 = (Y-K) /K*100

[0785] 其定义为:

[0786] Y = 化合物治疗的动物的血浆TNF α 浓度

[0787] K= 媒介处理组的平均血浆TNF α 浓度

[0788] 0以下的值 (负值) 反映TNF α 水平的抑制,0以上的值 (正值) 显示了TNF α 水平的增加。根据初次TNF α 浓度,通过单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和Dunnett's多重比较检验 (Dunnett's Multiple Comparison test) (与媒介处理的对照组对比),进行统计学分析。

[0789] 化合物1、2、3、9和10显示出ED₅₀值在0.1和3 mg/kg p.o.之间。化合物号对应于实

施例号。

[0790] 体内测定：小鼠中LPS-诱导的TNF α 释放

[0791] 引言

[0792] 静脉内给予脂多糖 (LPS) 引起特征在于促炎细胞因子例如肿瘤坏死因子 α (TNF α) 释放的系统炎症。在静脉内LPS攻击小鼠之前1小时,经口服给予选择性EP2激动剂。在LPS攻击后1小时,基于血浆中的TNF α 水平评价选择性EP2激动剂的抗-炎活性。

[0793] 物质和方法

[0794] 动物

[0795] 使用体重20 - 25 g的雌性C57BL/6小鼠。在实验前一周小鼠被送达,并自由接近水和食物。

[0796] 化合物给予

[0797] 化合物制备

[0798] 使用Covaris S2X系统 (K Biosciences Ltd.;Hoddesdon;United Kingdom),使试验化合物与1.33%聚乙二醇400 (PEG400,Merck,Darmstadt,Germany) 混合并随后悬浮在2%甲基纤维素溶液(羟丙甲基纤维素,Sigma,Steinheim,Germany) 中。通过自储备混悬液系列稀释,制备目标剂量,储备混悬液被制备为在每次实验中给予的最高剂量。

[0799] 化合物给予

[0800] 给予的化合物悬浮液的量是10 mL/kg。在实验的当天,记录小鼠体重以计算要给予的体积。LPS攻击的对照动物接受作为安慰剂的无药物的媒介溶液。在LPS攻击前1小时,经口服强饲给予试验化合物和媒介。

[0801] LPS攻击

[0802] 使LPS (得自大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 055:B5,Sigma,Steinheim,Germany) 溶于含有0.1%羟胺 (Sigma,Steinheim,Germany) 的0.9%无菌NaCl溶液 (B. Braun Melsungen AG,Melsungen,Germany)。在化合物或媒介给予后1小时,按100 μ g/kg (5 mL/kg b.w.) 的剂量静脉内 (i.v.) 注射LPS。

[0803] TNF α 浓度的测定

[0804] 在LPS-攻击后1小时,经吸入异氟烷麻醉剂处死动物,并经眶后区放血获得经肝素化的血。将血离心 (21,000 $\times$ g,4 $^{\circ}$ C,10 min),并使血浆样品保持冷冻于- 20 $^{\circ}$ C,直至经ELISA测定TNF α 水平。用市售可获得的ELISA-试剂盒 (Quantikine $^{\circ}$ 免疫测定小鼠TNF α , R&D Systems, Minneapolis, USA) 测定TNF α 。

[0805] 数据分析

[0806] 对于每个化合物处理的动物,化合物对TNF α 释放的效果以相对于媒介处理的LPS-攻击的对照组的平均TNF α 水平的百分率 (%) 分别计算:

[0807] %效果 = (Y-K) /K*100

[0808] 其定义为:

[0809] Y = 化合物治疗的动物的血浆TNF α 浓度

[0810] K= 媒介处理组的平均血浆TNF α 浓度

[0811] 0以下的值 (负值) 反映TNF α 水平的抑制,0以上的值 (正值) 显示了TNF α 水平的增加。根据初次TNF α 浓度,通过单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和Dunnett's多重比较检验

(Dunnett's Multiple Comparison test) (与媒介处理的对照组对比), 进行统计学分析。

[0812] 化合物1、2、3、9和10显示出ED₅₀值在0.1和3 mg/kg p.o.之间。化合物号对应于实施例号。

[0813] 体内试验:LPS-诱导的大鼠肺部炎症模型

[0814] 引言

[0815] 使大鼠暴露于气雾化的脂多糖 (LPS) 引起主要是肺部中性粒细胞炎症, 其可通过支气管肺泡灌洗 (BAL) 评价。LPS-诱导的肺部炎症模型是稳健的, 并通常用于评价调节直接免疫应答的试验化合物。在仅鼻LPS攻击大鼠之前1小时, 经口服给予选择性EP2激动剂。选择性EP2激动剂的抗-炎活性基于LPS暴露后4小时的支气管肺泡灌洗液中的肺总白细胞和嗜中性粒细胞计数进行评价。

[0816] 物质和方法

[0817] 动物

[0818] 使用体重250 - 300 g的雄性Sprague Dawley大鼠。在实验前一周大鼠被送达, 并自由接近水和食物。

[0819] 化合物给予

[0820] 化合物制备

[0821] 使用混合装置 (ULTRA-TURRAX T8 basic, VDI12, VWR International GmbH), 使试验化合物与1.33%聚乙二醇400 (PEG400, Merck, Darmstadt, Germany) 混合并随后悬浮在含有消泡剂C乳液 (Antifoam C Emulsion) (Sigma, Steinheim, Germany, 0.1 mL/15 mL) 的2%甲基纤维素溶液 (羟丙甲基纤维素, Sigma, Steinheim, Germany) 中。通过自储备混悬液系列稀释, 制备目标剂量, 储备混悬液被制备为在每次实验中给予的最高剂量。

[0822] 化合物给予

[0823] 给予的化合物悬浮液的量是10 mL/kg。在实验的当天, 记录大鼠体重以计算要给予的体积。LPS攻击的和未攻击的对照动物接受作为安慰剂的无所述化合物的媒介溶液。在LPS攻击前1小时, 经口服强饲给予试验化合物和媒介。

[0824] LPS攻击

[0825] 将有意识的和受限制的动物连接到仅鼻暴露的系统 (CR equipment SA, Tannay, Switzerland) 并暴露于LPS气溶胶30 min。使用压缩空气驱动的药物喷雾器装置 (Pari LC Sprint Star, Pari GmbH, Starnberg, Germany) 生成含有LPS的气溶胶。提前30分钟制备LPS溶液 (大肠杆菌, 血清型055B5, Sigma-Aldrich, 1 mg/ml在PBS中稀释)。通过600l/h的鞘空气流 (sheath air flow) 分散气溶胶并将其转运至暴露塔 (exposure tower)。除了阴性对照外, 所有的大鼠均暴露于LPS。

[0826] 支气管肺泡灌洗

[0827] 在LPS攻击后4小时, 动物经异氟烷麻醉和颈椎错位处死。进行BAL。为进行BAL, 使气管暴露并插入导管, 接着当场用补充有0.5%牛血清白蛋白 (Serva, Darmstadt, Germany) 的4 mL PBS缓冲液轻轻灌洗肺两次。

[0828] 总细胞计数和细胞分类计数

[0829] BALF中的总白细胞和嗜中性粒细胞计数的测定用自动白细胞分类系统 (XT-2000iV, Sysmex, Norderstedt, Germany) 进行。

[0830] 数据分析

[0831] 对每个样品依据下式进行基线校正：

[0832] $\text{基线-校正的细胞计数值} = \text{细胞计数} - \text{中值 (阴性对照组)}$

[0833] 所有的进一步的计算用基线-校正的值进行。

[0834] LPS-诱导的总细胞和嗜中性粒细胞流入肺部的抑制，使用每个治疗组的细胞计数的中值，依据下式以相对于对照组的%计算：

[0835] $\% \text{效果} = (Y-K) / K * 100$

[0836] 其中的定义为：

[0837] $Y = \text{基线-校正的化合物治疗组的中值}$

[0838] $K = \text{基线-校正的媒介处理组的中值}$

[0839] 0以下的值(负值)反映BAL中嗜中性粒细胞的抑制，0以上的值(正值)显示了BAL中嗜中性粒细胞的增加。根据初级细胞计数数据，使用单因素方差分析(One-Way ANOVA)和Dunnett's多重比较检验(与阳性对照对比)，进行统计学分析。

[0840] 化合物1、2、3、9和10显示出ED₅₀值在0.1和2 mg/kg p.o.之间。化合物号对应于实施例号。