



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 104902898 B

(45)授权公告日 2018.02.23

(21)申请号 201380064138.1

(22)申请日 2013.12.06

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104902898 A

(43)申请公布日 2015.09.09

(30)优先权数据

61/734,705 2012.12.07 US

61/831,700 2013.06.06 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.06.08

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/073692 2013.12.06

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/089495 EN 2014.06.12

(73)专利权人 凯莫森特里斯克斯股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 陈曦 樊平臣 李延东

J·P·鲍尔斯 V·马拉索恩

S·普那 田中裕子 张朋烈

D·德拉戈利

(74)专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266

代理人 崔佳佳 马莉华

(51)Int.Cl.

A61K 31/497(2006.01)

(56)对比文件

US 2010/0240618 A1,2010.09.23,

WO 2007/026834 A1,2007.03.08,

CN 101743238 A,2010.06.16,

审查员 崔义文

权利要求书7页 说明书73页

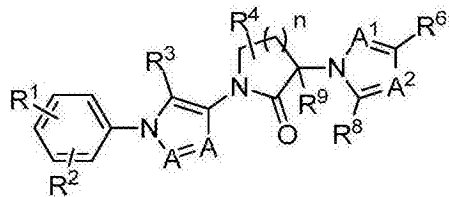
(54)发明名称

二唑内酰胺

(57)摘要

本发明提供的化合物作为CCR1受体的强效拮抗剂,具有体内抗炎活性。化合物为二唑内酰胺衍生物,在用于治疗CCR1介导的疾病的药物组合和方法中 useful,且可在鉴定竞争性CCR1拮抗剂的试验中用作对照。

1. 一种由以下结构表示的化合物,或其药学上可接受的盐或旋转异构体:



其中,

n 为1、2或3;

各A独立选自N或CH;

A^1 为N或C(R^5);

A^2 为N或C(R^7);

R^1 和 R^2 各自独立选自下组:H、卤素和 $-OR^a$;

R^3 选自下组:H、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{1-8} 卤代烷基、 $-OR^a$ 、 $-NR^aR^b$ 、芳基和5-或6-元杂芳基;

R^4 选自下组:H和 C_{1-8} 烷基;

R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 各自独立选自下组:H、卤素、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{1-8} 羟烷基、和5-或6-元杂芳基;

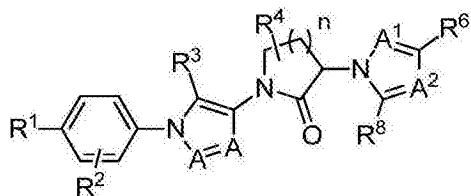
R^9 选自下组:H和 C_{1-8} 烷基;

各 R^a 和 R^b 独立选自下组:氢和 C_{1-8} 烷基。

2. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,各 R^1 和 R^2 独立为H或卤素。

3. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于, R^9 为H或 CH_3 。

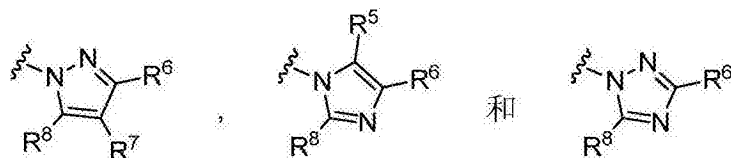
4. 如权利要求1所述的化合物,由以下结构表示:



其中 n 为1、2或3。

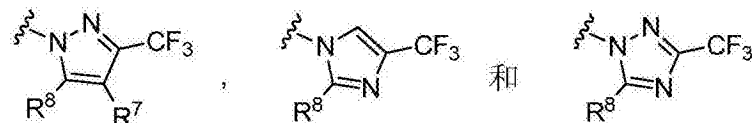
5. 如权利要求4所述的化合物,其特征在于, n 为1。

6. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,具有N、 A^1 和 A^2 作为环顶点的环部分选自:



其中波浪线表示与化合物剩余部分的连接点。

7. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,具有N、 A^1 和 A^2 作为环顶点的环部分选自:

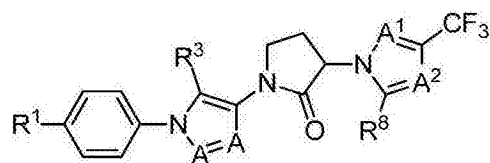


其中,

R^7 为H或Cl, R^8 为 C_{1-8} 烷基;和

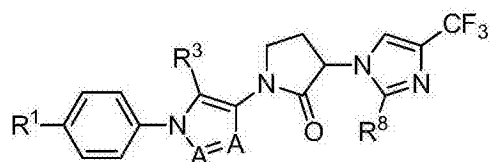
其中波浪线表示与化合物剩余部分的连接点。

8. 如权利要求5所述的化合物,由以下结构表示:

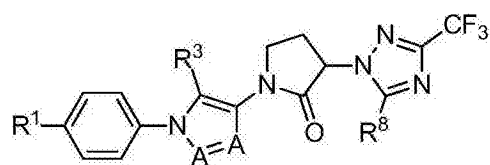


其中 R^1 为Cl或F。

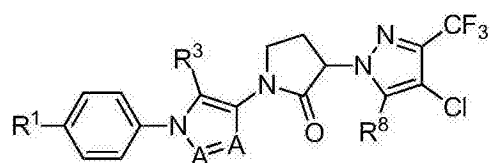
9. 如权利要求8所述的化合物,由以下结构表示:



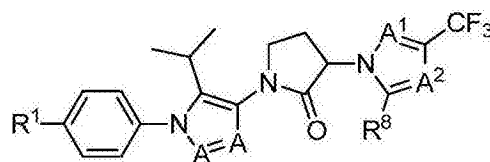
10. 如权利要求8所述的化合物,由以下结构表示:



11. 如权利要求8所述的化合物,由以下结构表示:

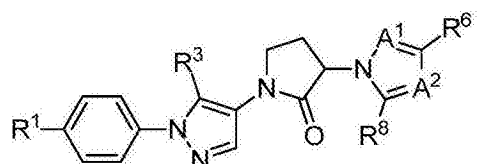


12. 如权利要求5所述的化合物,由以下结构表示:

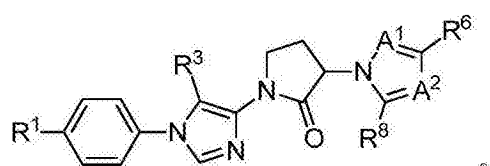


其中 R^1 为Cl或F。

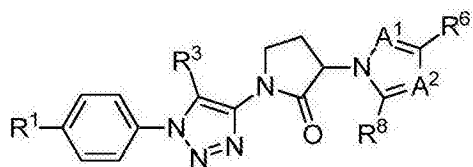
13. 如权利要求5所述的化合物,由以下结构表示:



14. 如权利要求5所述的化合物,由以下结构表示:



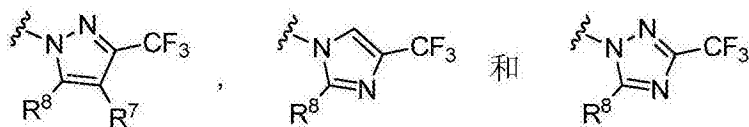
15. 如权利要求5所述的化合物,由以下结构表示:



16. 如权利要求7、8、9、10、13、14或15任一项所述的化合物,其特征在于, R^3 选自下组:H、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基和 C_{2-8} 烯基。

17. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于, n 为1;

具有N、 A^1 和 A^2 作为环顶点的环部分选自:



R^3 选自下组:H、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基和 C_{2-8} 烯基;

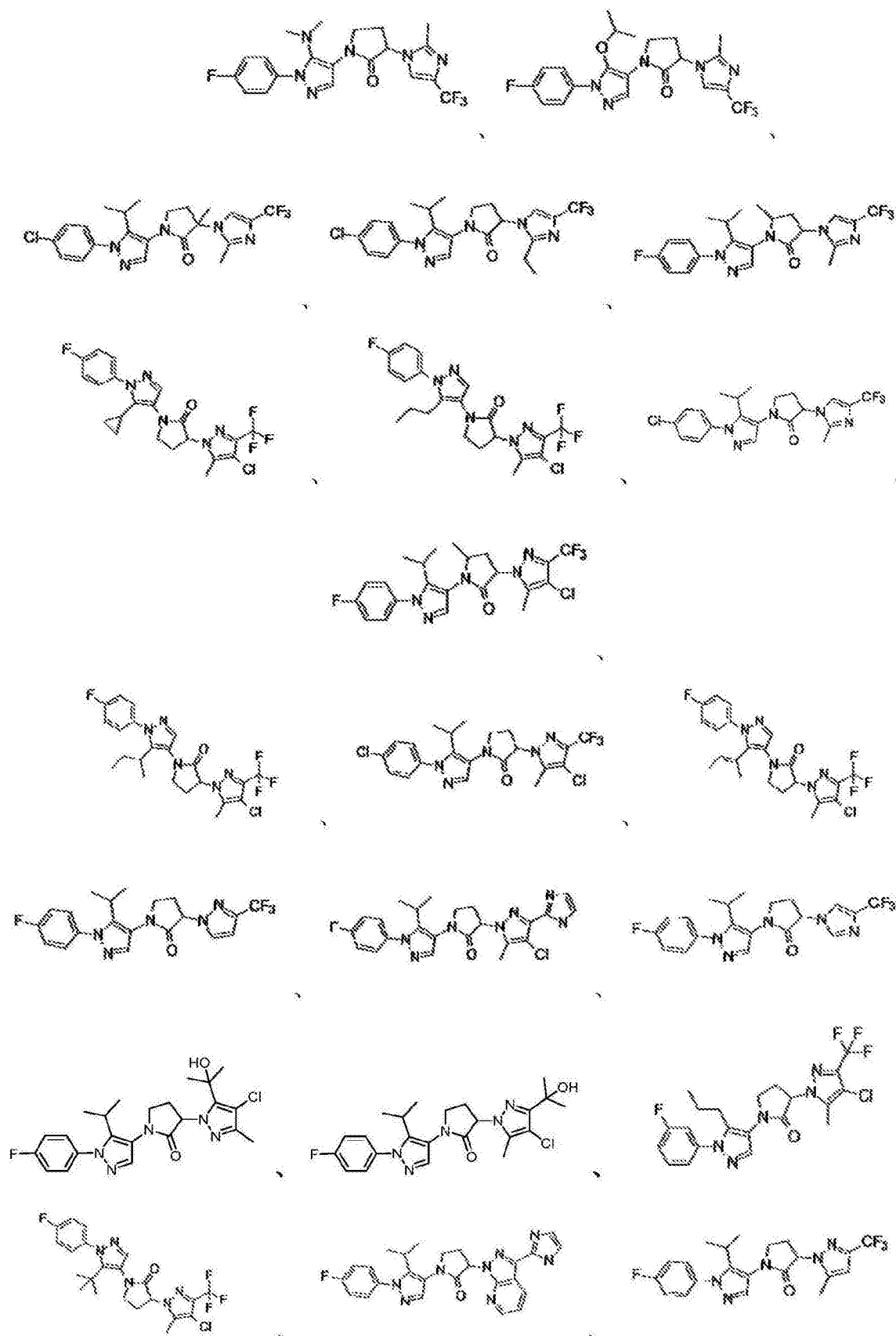
R^7 为H或Cl;

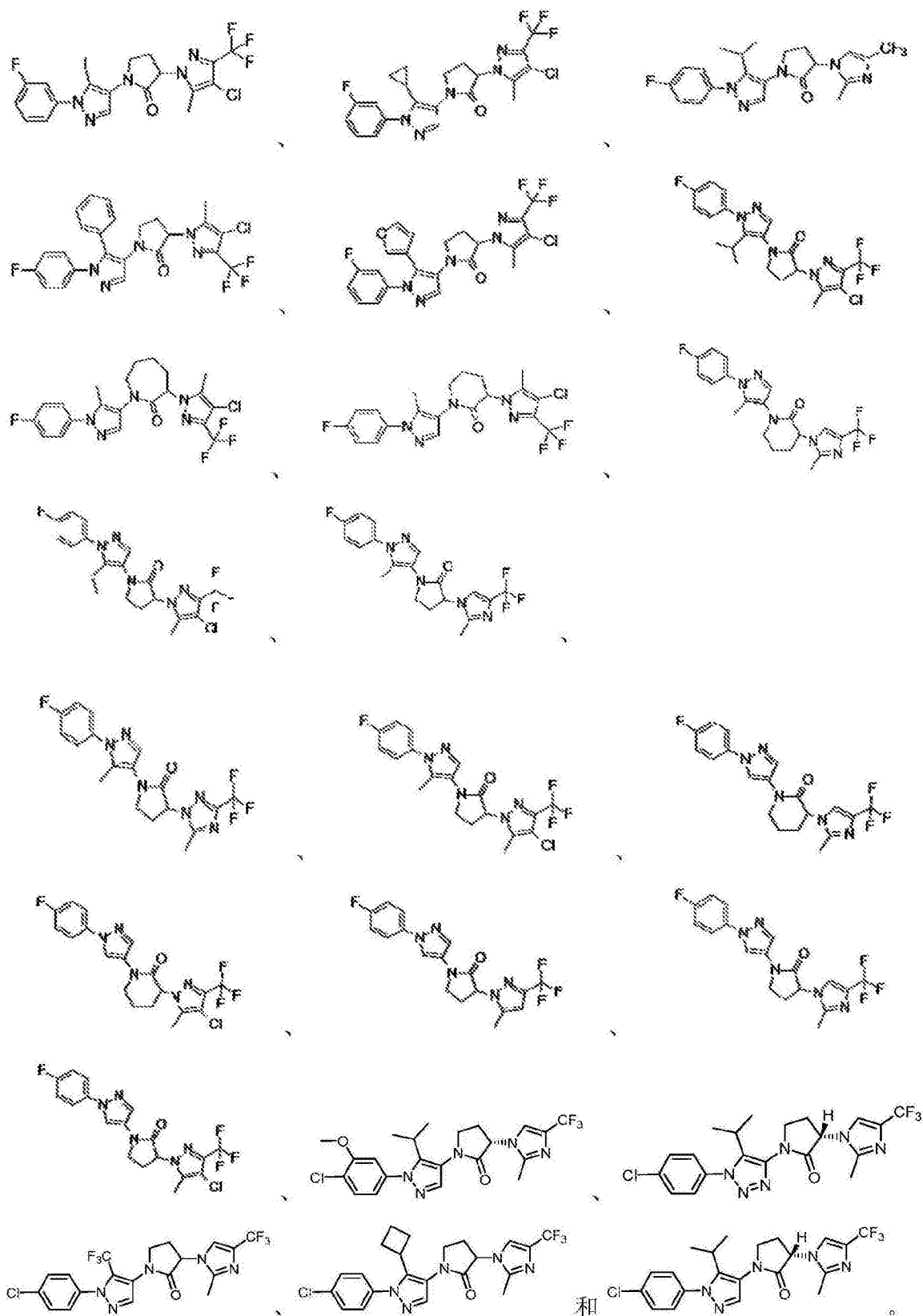
R^8 为 C_{1-8} 烷基;

R^9 为H或 CH_3 ;和

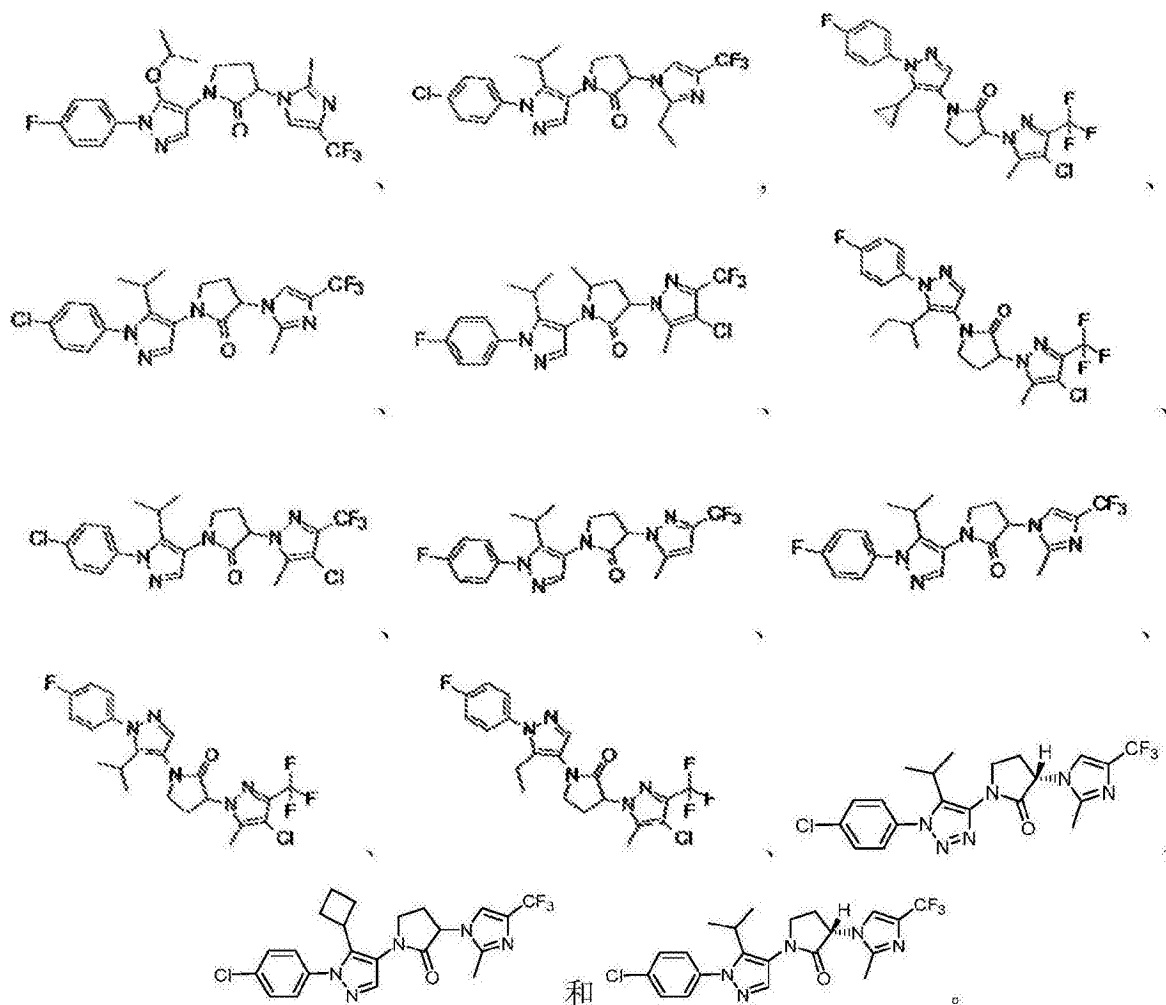
其中波浪线表示与化合物剩余部分的连接点。

18. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述化合物选自下组:

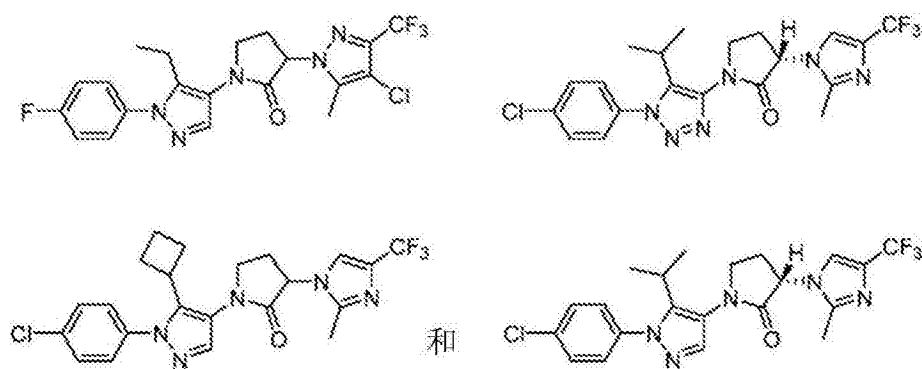




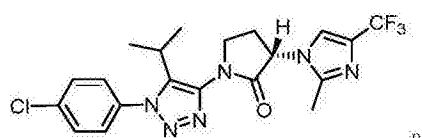
19. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述化合物选自下组:



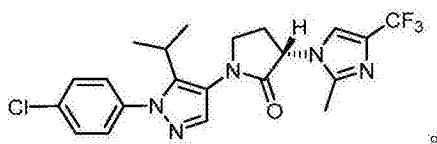
20. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述化合物选自下组:



21. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述化合物具有式:



22. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述化合物具有式:



23. 一种药物组合物,包括权利要求1-22任一项所述的化合物和药学上可接受的赋形剂或载体。

24. 权利要求1-22任一项所述的化合物在制备治疗CCR1介导的疾病或病症的药物中的用途,包括给予有此需要的对象治疗有效量的权利要求1-22任一项所述的化合物。

25. 如权利要求24所述的用途,其特征在于,所述CCR1介导的疾病或病症是炎性病症。

26. 如权利要求24所述的用途,其特征在于,所述CCR1介导的疾病或病症是免疫调节紊乱。

27. 如权利要求24所述的用途,其特征在于,所述CCR1介导的疾病或病症选自下组:移植排斥、皮炎、湿疹、荨麻疹、血管炎、炎性肠病、食物过敏、哮喘、阿尔茨海默病、帕金森病、牛皮癣、红斑狼疮、中风、再狭窄和脑脊髓炎。

28. 如权利要求24所述的用途,其特征在于,所述CCR1介导的疾病或病症选自下组:类风湿性关节炎、多发性硬化症、骨关节炎、多发性骨髓瘤和骨质疏松症。

29. 如权利要求24所述的用途,其特征在于,所述给予是口服、肠胃外、直肠、经皮、舌下或鼻给予。

30. 如权利要求24所述的用途,其特征在于,所述化合物是联合抗炎剂、止痛剂、抗增殖剂、代谢抑制剂、白细胞迁移抑制剂或免疫调节剂给予。

31. 如权利要求24所述的用途,其特征在于,所述给予是局部给予。

二唑内酰胺

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2013年6月6日提交的系列号为61/831,700以及2012年12月7日提交的系列号为61/734,705的美国临时申请的优先权,各申请通过引用整体并入本文。

[0003] 关于对在联邦政府资助的研发下作出的发明的权利的声明

[0004] 不适用。

[0005] 发明背景

[0006] 本发明提供化合物,包含一种或多种这些化合物或它们的药学上可接受的盐的药物组合物,它们有效抑制各种不同的趋化因子如MIP-1 α 、白细胞诱素(leukotactin)、MPIF-1和RANTES与CCR1受体的结合。作为CCR1受体的拮抗剂或调节剂,化合物或组合物在治疗炎症和免疫性紊乱、症状和疾病中具有效用。

[0007] 人类健康取决于人体检测和破坏外来病原体的能力,否则可能从个体消耗宝贵资源和/或诱发疾病。免疫系统是人体的防御系统,其包括白细胞(白血细胞(WBC):T和B淋巴细胞,单核细胞,巨噬细胞粒细胞,NK细胞,肥大细胞,树突状细胞,以及衍生免疫细胞(例如,破骨细胞)),淋巴组织和淋巴血管。为抵抗感染,白血细胞在身体各部分循环以检测病原体。一旦检测到病原体,天生免疫细胞和细胞毒素T细胞特别聚集到感染部位从而消灭病原体。趋化因子作为分子信标用于募集和活化免疫细胞,如淋巴细胞,单核细胞和粒细胞,确定病原体存在位置。

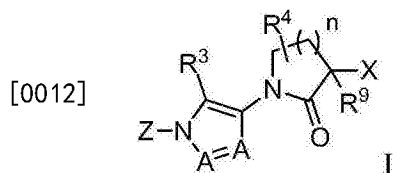
[0008] 尽管免疫系统有病原体调节作用,但某种不合适的趋化因子信号转导仍可以发生且认为会触发或维持炎症性疾病,如类风湿关节炎,多发性硬化症等。例如,在类风湿关节炎中,骨关节内不受调控的趋化因子积累引起和激活浸润的巨噬细胞和T细胞。这些细胞的活化导致滑膜细胞增殖,至少部分导致炎症和最终的骨和软骨损失(参见DeVries、M.E.等, Semin Immunol 11(2):95-104(1999))。某些脱髓鞘疾病,如多发性硬化症的特点是趋化因子介导的单核细胞/巨噬细胞和T细胞募集至中枢神经系统(参见Kennedy等, J.Clin.Immunol.19(5):273-279(1999))。破坏性WBC的趋化因子募集到移植物参与它们的后续排异反应。参见DeVries、M.E.等,同上。因为趋化因子在炎症和淋巴细胞发育中发挥关键作用,特异操控它们活性的能力对目前没有满意治疗方法的疾病的改善和终止有很大影响。此外,可以尽可能降低移植物排异反应,而无需昂贵的免疫抑制药物的全身和复杂影响。

[0009] 趋化因子是一组多于40种的小肽(7-10kD),其结合主要在WBC或免疫来源细胞上表达的受体,并经G-蛋白偶联信号转导级联反应进行信号转导从而介导它们的化学引诱和化学刺激功能。受体可能结合不止一种配体,例如,受体CCR1结合RANTES(正常T细胞表达的活化调节)、MIP-1 α (巨噬细胞炎症蛋白)、MPIF-1/CKB8和白细胞诱素趋化因子(及较低亲和力的其它)。至今已知24种趋化因子。趋化因子的绝对数量,多种配体结合受体,以及免疫细胞上不同的受体分布能够进行严格受控的和特异性的免疫反应。参见Rossi等, Ann.Rev.Immunol.18(1):217-242(2000)。趋化因子活性可以通过调节它们相应的受体进行得到控制,治疗相关炎症和免疫疾病并能进行组织和器官移植。

[0010] 受体CCR1和它的趋化因子配体,包括,例如MIP-1 α 、MIP1-1/CKB8、白细胞诱素和RANTES代表有效的治疗靶点(参见Saeki等,Current Pharmaceutical Design 9:1201-1208 (2003)),因为它们参与类风湿性关节炎、移植物排异反应(参见DeVries、M.E.等,同上)以及多发性硬化症(参见Fischer等,J Neuroimmunol.110 (1-2):195-208 (2000); Izikson等,J.Exp.Med.192 (7):1075-1080 (2000);和Rottman等,Eur.J.Immunol.30 (8):2372-2377 (2000))。事实上,已经发现了功能阻断抗体,改性趋化因子受体配体和小的有机化合物,其中一些已成功证明能预防或治疗某些趋化因子介导的疾病(在Rossi等,同上中综述)。值得注意的是,在类风湿性关节炎的实验模型中,当施用信号转导阻断、改性RANTES配体时,疾病发展减弱(参见Plater-Zyberk等,Immunol Lett.57 (1-3):117-120 (1997))。虽然功能阻断抗体和小肽治疗是有希望的,但它们有降解的风险,一旦施用半衰期极短,高昂的费用阻碍了开发和制造,这些是大多数蛋白的特征。小的有机化合物是优选的,因为它们常常在体内具有较长的半衰期,需要较小的剂量获得效果,通常可以口服,且因此比较便宜。先前已描述CCR1的某些有机拮抗剂(参见Hesselgesser等,J.Biol.Chem.273 (25):15687-15692 (1998); Ng等,J.Med.Chem.42 (22):4680-4694 (1999); Liang等,J.Biol.Chem.275 (25):19000-19008 (2000)和Liang等,Eur.J.Pharmacol.389 (1):41-49 (2000))。鉴于在动物模型中证明的治疗疾病的有效性(参见Liang等,J.Biol.Chem.275 (25):19000-19008 (2000)),已经继续研究从而识别可以用于治疗CCR1信号转导介导的疾病的其他化合物。

发明概要

[0011] 本发明涉及式I所示的化合物:



[0013] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、N-氧化物或旋转异构体。在式I中,字母n为0-3的整数;

[0014] 各A独立选自N或CH;

[0015] X和Z各自独立选自下组:

[0016] (i) 单环或稠合双环芳基和杂芳基,其中杂芳基具有选自N、O和S的1-4个杂原子作为环成员;

[0017] (ii) 选自环烷或杂环烷的单环四-、五-、六-或七-元环,其中杂环烷环具有选自N、O和S的1-3个杂原子作为环成员;

[0018] 其中(i)和(ii)中的各环任选被选自下组的1-5个取代基取代:卤素、CN、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、C₁₋₈卤代烷基、C₁₋₈羟烷基、-OR^a、-CO₂R^a、-SO₂R^a、-NR^aR^b、-CONR^aR^b、芳基、5-或6-元杂芳基和3-、4-、5-或6-元杂环烷,其中作为杂芳基和杂环烷环的环顶点的杂原子选自N、O和S,其中取代基的烷基、环烷基、芳基、杂芳基和杂环烷部分任选进一步被1-3个R^a取代,且任选地,相邻环顶点上的两取代基相连从而形成额外的5-或6-元环,其是饱和的、不饱和的或芳香的,且具有选自C、O、N和S的环顶点;

[0019] R^3 选自下组：H、卤素、CN、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{2-8} 炔基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{1-8} 羟烷基、 $-OR^a$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-NR^aR^b$ 、 $-CONR^aR^b$ 、芳基、5-或6-元杂芳基和3-、4-、5-或6-元杂环基，其中作为杂芳基和杂环的环顶点的杂原子选自N、O和S，且其中 R^3 的烷基、环烷基、芳基、杂芳基和杂环基部分任选进一步被1-3个 R^a 取代；

[0020] R^4 选自下组：H、 $-OR^a$ 和任选被 $-OR^a$ 取代的 C_{1-8} 烷基；

[0021] R^9 选自下组：H和任选被 $-OR^a$ 取代的 C_{1-8} 烷基；

[0022] 各 R^a 和 R^b 独立选自下组：氢、羟基、卤素、氰基、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{3-6} 环烷基烷基、氨基、 C_{1-8} 烷基氨基、二 C_{1-8} 烷基氨基、氨甲酰基(carboxamide)、羧基 C_{1-4} 烷基酯、羧酸和 $-SO_2-C_{1-8}$ 烷基。

[0023] 除了本文提供的化合物，本发明还提供包含一种或多种这些化合物的药物组合物，以及这些化合物的使用方法，主要治疗与CCR1信号转导活性相关的疾病。

附图说明

[0024] 无

[0025] 发明详述

[0026] I. 缩写和定义

[0027] 除非另作说明，术语“烷基”本身或作为另一取代基的部分是指具有指定碳原子数（即 C_{1-8} 指1-8个碳）的直链或支链烃基。烷基的实例包括甲基、乙基、n-丙基、异丙基、n-丁基、t-丁基、异丁基、仲丁基、n-戊基、n-己基、n-庚基、n-辛基等。术语“烯基”指具有一个或多个双键的不饱和烷基。同样，术语“炔基”指具有一个或多个三键的不饱和烷基。该不饱和烷基的实例包括乙烯基、2-丙烯基、巴豆基、2-异戊烯基、2-（丁二烯基）、2,4-戊二烯基、3-（1,4-戊二烯基）、乙炔基、1-和3-丙炔基、3-丁炔基和更高级同系物和同分异构体。术语“环烷基”指具有指定环原子数的烃环（例如 C_{3-6} 环烷基），是完全饱和或在环顶点之间具有不多于一个双键。“环烷基”也指双环和多环烃环，例如，二环[2.2.1]庚烷、二环[2.2.2]辛烷等。术语“杂环烷”或“杂环烷基”指包含选自N、O或S的一至五个杂原子的环烷基，其中，氮和硫原子任选被氧化，并且氮原子任选地被季铵化。杂环烷可以是单环、双环或多环系统。杂环烷非限制实例包括吡咯烷、咪唑烷、吡啶烷、丁内酰胺、戊内酰胺、咪唑烷酮、乙内酰脲、二氧戊环、苯邻二甲酰亚胺、哌啶、1,4-二氧六环、吗啉、硫代吗啉、硫代吗啉-S-氧化物、硫代吗啉-S、S-氧化物、哌嗪、吡喃、吡啶酮、3-吡咯啉、噻喃、吡喃酮、四氢呋喃、四氢噻吩、奎宁环等。杂环烷基可以通过环碳或杂原子连接到分子的其余部分。

[0028] 术语“亚烷基”本身或作为另一取代基的部分，指衍生自链烷的二价基团，例如 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。通常，烷基（或亚烷基）具有1-24个碳原子，本发明优选具有10个或更少碳原子的这些基团。“低级烷基”或“低级亚烷基”是较短链烷基或亚烷基，通常具有4个或更少碳原子。同样地，“亚烯基”和“亚炔基”分别指具有双键或三键的不饱和形式的“亚烷基”

[0029] 如本文所用，与本发明描述的任何化学结构中单键、双键或三键相交的波浪线，“”，表示单键、双键或三键到分子剩余部分的连接点。

[0030] 术语“烷氧基”、“烷基氨基”和“烷硫基”（或硫代烷氧基）以它们常规含义使用，分别指通过氧原子、氨基或硫原子连接到分子的其余部分的那些烷基。另外，对于二烷基氨基，烷基部分可以相同或不同，也可以与各自连接的氮原子结合从而形成3-7元环。因此，二

烷基氨基或 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 所示的基团是包括哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、氮杂环丁基等。

[0031] 术语“二- $(\text{C}_{1-4}$ 烷基)氨基- C_{1-4} 烷基”是指带有可以相同或不同的两个 C_{1-4} 烷基(如甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基和叔丁基)的氨基,并通过 C_{1-4} 烷基(1-4个碳的亚烷基连接基团)连接到分子的剩余部分。二- $(\text{C}_{1-4}$ 烷基)氨基- C_{1-4} 烷基的实例包括二甲基氨基甲基、2-(乙基(甲基)氨基)乙基、3-(二甲基氨基)丁基等。

[0032] 除非另作说明,术语“卤代”或“卤素”本身或作为另一取代基的部分是指氟、氯、溴或碘原子。此外,术语如“卤代烷基”是指包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如,术语“ C_{1-4} 卤代烷基”是指包括三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基等。

[0033] 除非另作说明,术语“芳基”是指多不饱和的,通常是芳香的烃基,可以是单环或稠合在一起或共价连接的多环(至多三环)。术语“杂芳基”是指包含选自N、O或S的1-5个杂原子的芳基(或环),其中氮和硫原子任选被氧化,并且氮原子任选地被季铵化。杂芳基可以通过杂原子连接到分子的其余部分。芳基非限制实例包括苯基、萘基和联苯基,而杂芳基非限制实例包括吡啶基、哒嗪基、吡嗪基、嘧啶基、三嗪基、喹啉基、喹喔啉基、喹唑啉基、噌啉基、酞嗪基、苯并三嗪基、嘌呤基、苯并咪唑基、苯并吡唑基、苯并三唑基、苯并异噁唑基、异苯并呋喃基、异吡啶基、中氮茛基、苯并三嗪基、噻吩并吡啶基、噻吩并嘧啶基、吡唑并嘧啶基、咪唑并吡啶、苯并噻唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、吡啶基、喹啉基、异喹啉基、异噻唑基、吡唑基、吡啶基、蝶啶基、咪唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、吡咯基、噻唑基、呋喃基、噻吩基等。上述各芳基和杂芳基环系统各自的取代基选自下述的可接受取代基的组

[0034] 术语“芳基烷基”是指包括其中的芳基连接到烷基的那些基团(如苄基、苯乙基等)。类似地,术语“杂芳基-烷基”是指包括其中的杂芳基连接到烷基的那些基团(如吡啶甲基、噻唑乙基等)。

[0035] 在一些实施方式中,以上术语(如“烷基”、“芳基”和“杂芳基”)将包括所指基团的取代和未取代形式。以下提供各类型基团的优选取代基。

[0036] 烷基(包括通常称为亚烷基、烯基、炔基和环烷基的那些基团)上的取代基可以是选自下组的各种不同的基团: $-\text{卤素}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{SiR}'\text{R}''\text{R}'''$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{CONR}'\text{R}''$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'-\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'''$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NH}$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NH}$ 、 $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NR}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{S}(\text{O})_2\text{R}''$ 、 $-\text{CN}$ 和 $-\text{NO}_2$,数量从0到 $(2m'+1)$,其中 m' 是该烷基(包括通常称为亚烷基、烯基、炔基和环烷基的那些基团)内的碳原子总数。 R' 、 R'' 和 R''' 各自独立为氢、未取代的 C_{1-8} 烷基、未取代的芳基、1-3个卤素取代的芳基、未取代的 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8} 硫代烷氧基或未取代的芳基- C_{1-4} 烷基。当 R' 和 R'' 连接到同一氮原子时,它们可以与氮原子组合从而形成3-、4-、5-、6-或7-元环。例如, $-\text{NR}'\text{R}''$ 是指包括1-吡咯烷基和4-吗啉基。

[0037] 类似地,芳基和杂芳基上的取代基是各种各样的,通常选自下组: $-\text{卤素}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{R}'$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{CONR}'\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'-\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'''$ 、 $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NH}$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NH}$ 、 $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NR}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{S}(\text{O})_2\text{R}''$ 、 $-\text{N}_3$ 、全氟(C_{1-4})烷氧基和全氟(C_{1-4})烷基,数量从0到芳香环系统上开放化学价的总数,其中, R' 、 R'' 和 R''' 独立选自氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{2-8} 炔基、未取代的芳基和杂芳基、(未取代的芳基)- C_{1-4} 烷基

和未取代的芳氧基-C₁₋₄烷基。其他合适的取代基包括以上各芳基取代基通过1-4个碳原子的亚烷基链连接到环原子。

[0038] 芳基或杂芳基环相邻原子上的取代基中的两个可以任选被式-T-C(O)-(CH₂)_q-U-的取代基替代,其中T和U独立为-NH-、-O-、-CH₂-或单键,且q是0-2的整数。或者,芳基或杂芳基环相邻原子上的取代基中的两个可以任选被式-A-(CH₂)_r-B-取代基替代,其中A和B独立为-CH₂-、-O-、-NH-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂NR'-或单键,且r是1-3的整数。这样形成的新环的单键之一可以任选被双键替代。或者,芳基或杂芳基环相邻原子上的取代基中的两个可以任选被式-(CH₂)_s-X-(CH₂)_t-取代基替代,其中s和t独立为0-3的整数,且X是-O-、-NR'-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-或-S(O)₂NR'-。-NR'-和-S(O)₂NR'-中的取代基R'选自氢或未取代的C₁₋₆烷基。

[0039] 如本文所用,术语“杂原子”是指包括氧(O)、氮(N)、硫(S)和硅(Si)。

[0040] 术语“药学上可接受的盐”是指包括活性化合物的盐,根据本文描述的化合物上特定的取代基,采用相对无毒的酸或碱制备。当本发明的化合物包含相对酸性的官能团,可以通过将中性形式的该化合物与足量的所需碱或直接或在合适的惰性溶剂中接触以获得碱加成盐。衍生自药学上可接受的无机碱的盐的实例包括铝,铵,钙,铜,铁,亚铁,锂,镁,锰,亚锰,钾,钠,锌等。衍生自药学上可接受的有机碱的盐包括伯、仲和叔胺的盐,包括取代的胺、环胺、天然存在的胺等,如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙氨基乙醇、2-二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡糖胺、氨基葡萄糖、组氨酸、哈胺(hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、甲基葡糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨丁三醇等。当本发明的化合物包含相对碱性的官能团,可以通过将中性形式的该化合物与足量所需酸或直接或在合适的惰性溶剂中接触以获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括衍生自无机酸的那些,如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等,和衍生自相对无毒的有机酸的盐,像乙酸、丙酸、异丁酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对-甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲基磺酸等。还包括氨基酸如精氨酸等的盐,和有机酸像葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸等的盐(参见例如,Berge,S.M.等,“药用盐”,Journal of Pharmaceutical Science,1977,66,1-19)。本发明的某些特定化合物同时包含碱性和酸性官能团,使得化合物能够转化成碱或酸加成盐。

[0041] 通过盐与碱或酸接触并以常规方法分离母体化合物可以再生中性形式的化合物。化合物的母体形式在某些物理性质上不同于各种盐形式,如在极性溶剂中的溶解度,但除此之外,对于本发明的目的,盐等同于母体形式的化合物

[0042] 除了盐形式,本发明提供前药形式的化合物。本文描述的化合物的前药是在生理条件下易经历化学变化以提供本发明化合物的那些。此外,前药在离体环境中可通过化学或生化方法转化为本发明化合物。例如,当与合适的酶或化学试剂一起放置在透皮贴剂内时,前药可以缓慢转化为本发明化合物。

[0043] 本发明的某些化合物可以以非溶剂化形式和包括水合形式在内的溶剂化形式存在。通常,溶剂化形式等同于非溶剂化形式,且包含在本发明范围内。本发明的某些化合物可以存在多晶型或无定形形式。通常,对于本发明预期的应用来说,所有的物理形式是等同的,且包含在本发明范围内。

[0044] 本发明的某些化合物具有不对称碳原子(光学中心)或双键;外消旋体,非对映体,几何异构体,区域异构体和单个异构体(例如,不同的对映体)都包含在本发明范围内。本发明的化合物还可以在构成这些化合物的一个或多个原子处含有非天然比例的原子同位素。非天然比例的同位素可以定义为自然界中发现的量到构成100%所讨论原子的量。例如,该化合物可以掺入放射性同位素,例如氚(^3H),碘-125(^{125}I)或碳-14(^{14}C)或非放射性同位素,如氘(^2H)或碳-13(^{13}C)。这种同位素的变化可以为本申请别处描述的那些提供其他效用。例如,本发明化合物的同位素变体可以发现额外的用途,包括但不限于,作为诊断剂和/或成像剂,或作为细胞毒性剂/放射毒性治疗剂。另外,本发明化合物的同位素变体可以具有在治疗期间可以增强安全性、耐受性或功效的改变的药动学和药效学特征。本发明化合物的所有同位素变体,无论是否是放射性的,旨在包含于本发明范围内。

[0045] 除非另作说明,术语“和酸的等排体(isosteres)”是指能够替代羧酸的基团,具有酸的官能以及提供类似羧酸的活性水平的空间和电子特征(或其他化合物特征如溶解度)。代表性的酸的等排体包括:异羟肟酸、磺酸、亚磺酸、磺酰胺、酰基-磺酰胺、膦酸、次膦酸、磷酸、四唑和氧-噁二唑。

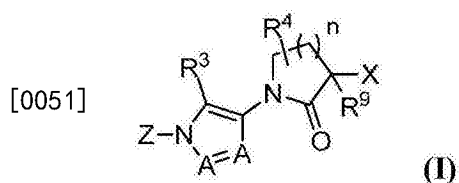
[0046] 本发明式I所述的化合物可以不同的同分异构体形式存在。如本文所使用,术语顺式或反式以化学领域常规含义被使用,即指相对于参考平面,如双键或环系统,如萘烷型环系统或氢喹诺酮(hydroquinolone)环系统,取代基彼此的位置:在顺式异构体中,取代基在参考平面的同侧,在反式异构体中,取代基在相对侧。此外,不同的构象异构体以及不同的旋转异构体涵盖在本发明中。构象异构体是能够通过旋转相差约一个或多个 σ 键的构象异构体。旋转异构体是过旋转相差约仅仅单个 σ 键的构象异构体。

[0047] I. 概括

[0048] 本发明源于发现式I所示的化合物作为CCR1受体的强效拮抗剂。所述化合物具有体内抗炎活性和优异的药代动力学性质。因此,本文提供的化合物在用于治疗CCR1介导的疾病的药物组合物和方法中是有用的,且可在鉴定竞争性CCR1拮抗剂的试验中用作对照。

[0049] III. 化合物

[0050] 在一个方面,本发明提供式I所示的化合物:



[0052] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、N-氧化物或旋转异构体。在式I中,字母n为0-3的整数;

[0053] 各A独立选自N或CH;

[0054] X和Z各自独立选自下组:

[0055] (i) 单环或稠合双环芳基和杂芳基,其中杂芳基具有选自N、O和S的1-4个杂原子作为环成员;

[0056] (ii) 选自环烷或杂环烷的单环四-、五-、六-或七-元环,其中杂环烷环具有选自N、O和S的1-3个杂原子作为环成员;

[0057] 其中(i)和(ii)中的各环任选被选自下组的1-5个取代基取代:卤素、CN、C₁₋₈烷基、

C₃₋₈环烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、C₁₋₈卤代烷基、C₁₋₈羟烷基、-OR^a、-CO₂R^a、-SO₂R^a、-NR^aR^b、-CONR^aR^b、芳基、5-或6-元杂芳基和3-、4-、5-或6-元杂环烷,其中作为杂芳基和杂环烷环的环顶点的杂原子选自N、O和S,其中取代基的烷基、环烷基、芳基、杂芳基和杂环烷部分任选进一步被1-3个R^a取代,且任选地,相邻环顶点上的两取代基相连从而形成额外的5-或6-元环,其是饱和的、不饱和的或芳香的,且具有选自C、O、N和S的环顶点;

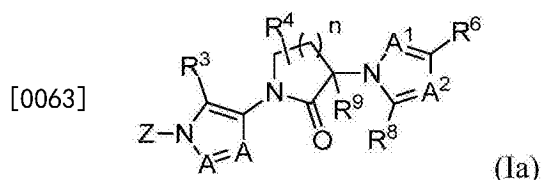
[0058] R³选自下组:H、卤素、CN、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、C₁₋₈卤代烷基、C₁₋₈羟烷基、-OR^a、-CO₂R^a、-NR^aR^b、-CONR^aR^b、芳基、5-或6-元杂芳基和3-、4-、5-或6-元杂环基,其中作为杂芳基和杂环的环顶点的杂原子选自N、O和S,且其中R³的烷基、环烷基、芳基、杂芳基和杂环基部分任选进一步被1-3个R^a取代;

[0059] R⁴选自下组:H、-OR^a和任选被-OR^a取代的C₁₋₈烷基;

[0060] R⁹选自下组:H和任选被-OR^a取代的C₁₋₈烷基;

[0061] 各R^a和R^b独立选自下组:氢、羟基、卤素、氰基、C₁₋₈烷基、C₁₋₈烷氧基、C₁₋₈卤代烷基、C₃₋₆环烷基、C₃₋₆环烷基烷基、氨基、C₁₋₈烷基氨基、二C₁₋₈烷基氨基、氨甲酰基、羧基C₁₋₄烷基酯、羧酸和-SO₂-C₁₋₈烷基。

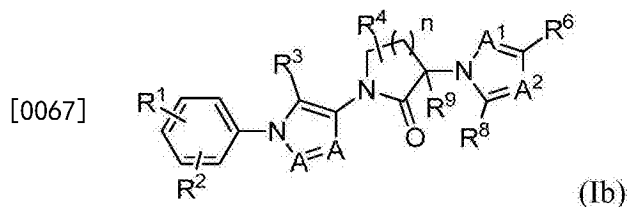
[0062] 在一些选择的实施方式中,式I的化合物由式Ia所示或是其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、旋转异构体或N-氧化物:



[0064] 其中A¹为N或C(R⁵);A²为N或C(R⁷);R⁵、R⁶、R⁷和R⁸各自独立选自下组:H、卤素、CN、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、C₁₋₈卤代烷基、C₁₋₈羟烷基、-OR^a、-CO₂R^a、-NR^aR^b、-CONR^aR^b、芳基、5-或6-元杂芳基和3-、4-、5-或6-元杂环烷,其中作为杂芳基和杂环烷环的环顶点的杂原子选自N、O和S,其中R⁵、R⁶、R⁷和R⁸的烷基、环烷基、芳基、杂芳基和杂环烷部分任选进一步被1-3个R^a取代;且任选地,R⁵、R⁶、R⁷和R⁸的相邻成员相连从而形成额外的5-或6-元环,其是饱和的、不饱和的或芳香的且具有选自C、O、N和S的环顶点。

[0065] 在其他选择的实施方式中,式I的化合物为R⁸不是H的那些。

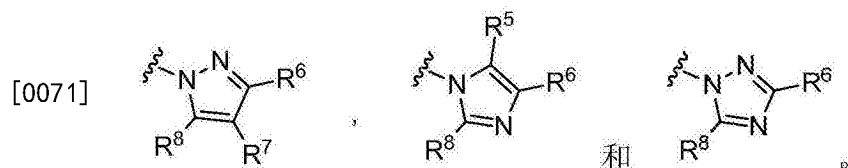
[0066] 在其他选择的实施方式中,式I的化合物由式Ib所示:



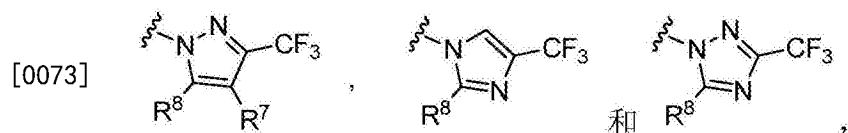
[0068] 其中R¹和R²各自独立选自下组:H、卤素、CN、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、C₁₋₈卤代烷基、C₁₋₈羟烷基、-OR^a、-CO₂R^a、-SO₂R^a、-NR^aR^b、-CONR^aR^b和3-、4-、5-或6-元杂环烷,其中作为杂环烷环的环顶点的杂原子选自N、O和S,且其中R¹和R²的烷基、环烷基和杂环烷部分任选进一步被1-3个R^a取代。

[0069] 在式Ib选择的实施方式中,各R¹和R²独立选自下组:H、卤素、CN、C₁₋₈烷基、C₁₋₈卤代烷基、-CO₂R^a和-SO₂R^a。

[0070] 在式Ib所示的化合物的其他选择的实施方式中,N、A¹和A²作为环顶点的环部分选自:



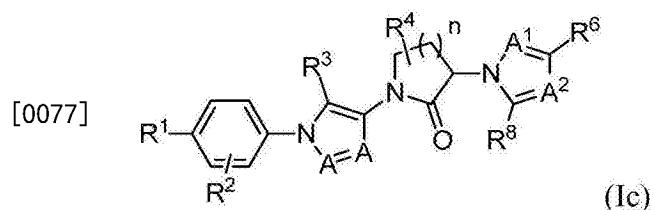
[0072] 在还有的式Ib所示的化合物的其他选择的实施方式中,N、A¹和A²作为环顶点的环部分选自:



[0074] 其中R⁷为H或Cl, R⁸为任选被1或2个R^a取代的C₁₋₈烷基。

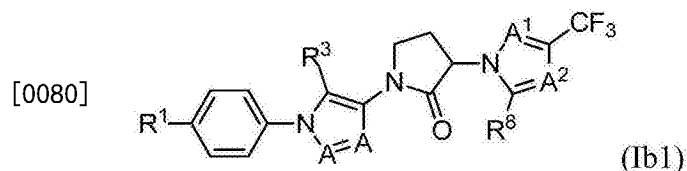
[0075] 在还有的式Ib的其他选择的实施方式中,R⁹为H或CH₃。

[0076] 回到式I,一些选择的实施方式是由式Ic表示的那些化合物:



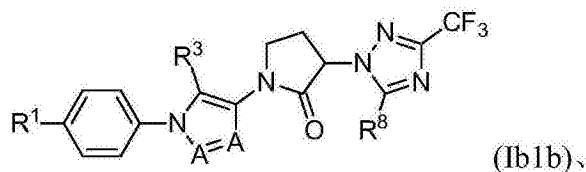
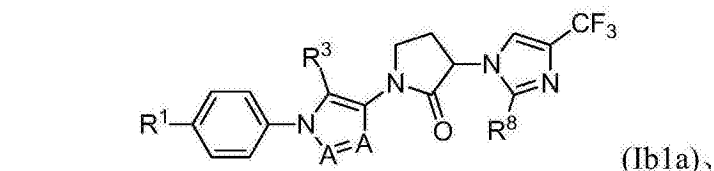
[0078] 其中字母n为1、2或3。其他选择的实施方式是n为1的那些。

[0079] 在还有的其他选择的实施方式中,式Ib所示的化合物是由式Ib1表示的那些:

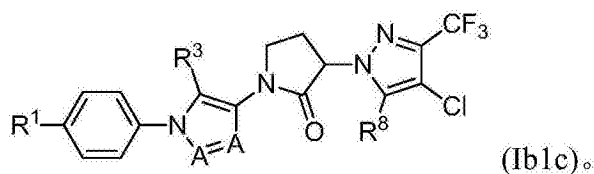


[0081] 其中R¹为Cl或F。

[0082] 在还有的其他选择的实施方式中,式Ib1所示的化合物由式Ib1a、Ib1b和Ib1c所示:

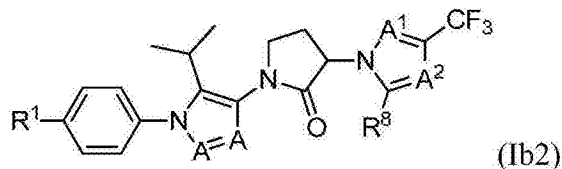


[0084]

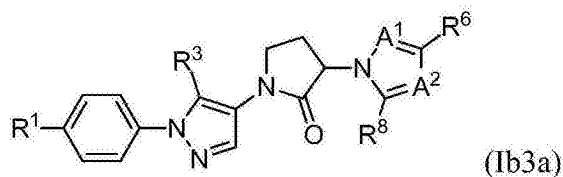


[0085] 在式Ib的一些选择的实施方式中,化合物由式Ib2所示:

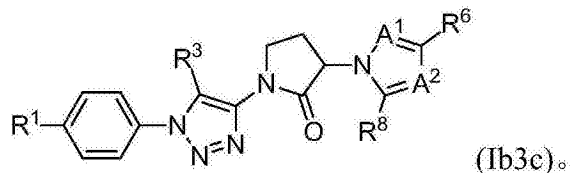
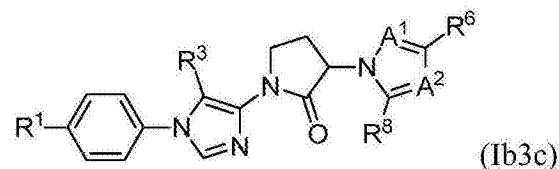
[0086]

[0087] 其中R¹为Cl或F。

[0088] 在式Ib的一些选择的实施方式中,化合物由式Ib3a、Ib3b和Ib3c所示:



[0089]

[0090] 在式I、Ia、Ib、Ic、Ib1、Ib1a、Ib1b、Ib1c、Ib2、Ib3a、Ib3b和Ib3c任何一个的选择的实施方式中,R³选自下组:H、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基和C₂₋₈烯基。

[0091] 化合物制备

[0092] 以下实施例的方案提供可按其获得本发明某些化合物的某些合成途径。其它途径或下述途径的修改对本领域技术人员来说将是显而易见的,并且在本发明的范围之内。

[0093] IV. 药物组合物

[0094] 除了以上提供的化合物,用于调节人类和动物CCR1、CCR2和CCR3活性的组合物通常包含药用载体或稀释剂。

[0095] 如本文所用,术语“组合物”意在包括包含特定含量的特定成分的产品,和直接或间接由特定含量的特定成分的组合构成的任何产品。“药学上可接受”是指载体、稀释剂或赋形剂必须与制剂的其他组分相容并且对其接受者无害。

[0096] 为施用本发明化合物药物组合物可以方便地以单位剂型存在,并可以通过药剂学和药物传递领域任何已知方法制备。所有方法包括使活性成分与构成一种或多种辅助成分的载体结合的步骤。通常,通过均匀地和紧密地将活性成分与液体载体或细碎的固体载体

或两者结合制备药物组合物,然后,如果需要的话,使产物成形为所需制剂。活性目标化合物可以根据疾病的进展或病症获得所需效果的足够的量包含在药物组合物内。

[0097] 含有活性成分的药物组合物可以是适于口服使用的形式,例如作为片剂,糖锭剂,锭剂,水性或油性悬浮液,可分散粉末或颗粒,美国专利号6,451,339中所描述的乳剂和自乳化剂,硬或软胶囊,糖浆剂,酏剂,溶液,口腔贴剂,口服凝胶剂,口香糖,咀嚼片剂,泡腾粉末和泡腾片剂。可以根据本领域已知的制备药物组合物的任何方法制备用于口服使用的组合物,为提供药学上美观和可口的制剂,该组合物可以包含一种或多种选自下组的药剂:甜味剂,调味剂,着色剂,抗氧化剂和防腐剂。片剂包含活性成分,与适合片剂制备的无毒药学上可接受的赋形剂混合。这些赋形剂可以是,例如,惰性稀释剂,如纤维素,二氧化硅,氧化铝,碳酸钙,碳酸钠,葡萄糖,甘露醇,山梨醇,乳糖,磷酸钙或磷酸钠;造粒剂和崩解剂,例如,玉米淀粉或海藻酸;结合剂,例如PVP,纤维素,PEG,淀粉,明胶或阿拉伯胶;和润滑剂,例如硬脂酸镁,硬脂酸或滑石。片剂可以是未包衣或它们可以通过已知技术被包衣,肠溶或以其它方式,以延迟在胃肠道中崩解和吸收,从而提供较长时期的持续作用。例如,可以使用时间延迟材料如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。它们也可以通过美国专利号为4,256,108、4,166,452和4,265,874中描述的方法进行包衣从而形成用于控制释放的渗透治疗片剂。

[0098] 口服使用的制剂还可以呈现为硬明胶胶囊,其中活性成分与惰性固体稀释剂混合,例如,碳酸钙,磷酸钙或高岭土,或者呈现为软明胶胶囊,其中活性成分与水混合或油介质,例如花生油,液体石蜡或橄榄油。另外,乳剂可以用非水可混溶的成分如油来制备,并采用表面活性剂如单-二甘油酯,聚乙二醇酯等进行稳定。

[0099] 水性悬浮液含有活性物质,混合有适于制备水性悬浮液的赋形剂。这样的赋形剂是悬浮剂,例如羧甲基纤维素钠,甲基纤维素,羟丙基纤维素,海藻酸钠,聚乙烯吡咯烷酮,黄蓍树胶和阿拉伯树胶;分散剂或湿润剂可以是天然存在的磷脂,例如卵磷脂,或环氧烷与脂肪酸的缩合产物,例如聚氧乙烯硬脂酸酯,或环氧乙烷与长链脂族醇的缩合产物,例如十七乙烯氧基十六醇,或环氧乙烷与由脂肪酸和己糖醇衍生的偏酯的缩合产物,如聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯,或环氧乙烷与由脂肪酸和己糖醇酐衍生的偏酯的缩合产物,例如聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯。水性悬浮液也可含有一种或多种防腐剂,例如对羟基苯甲酸乙酯或正丙酯,一种或多种着色剂,一种或多种调味剂,和一种或多种甜味剂,如蔗糖或糖精。

[0100] 油性悬浮液可通过将活性成分悬浮在植物油,例如花生油,橄榄油,芝麻油或椰子油,或在矿物油如液体石蜡来配制。油性悬浮液可含有增稠剂,例如蜂蜡,硬石蜡或鲸蜡醇。可加入甜味剂,如上面列出的那些,和调味剂以提供可口的口服制剂。这些组合物可以通过加入抗氧化剂,例如抗坏血酸来保存。

[0101] 适合通过加入水制备水性悬浮液的分散粉末和颗粒提供活性成分与分散剂或润湿剂,悬浮剂和一种或多种防腐剂的混合。合适的分散或润湿剂和悬浮剂由上文已提及的举例说明。也可以存在另外的赋形剂,例如甜味剂,调味剂和着色剂。

[0102] 本发明的药物组合物也可以是水包油乳剂形式。油相可以是植物油,例如橄榄油或花生油,或矿物油,例如液体石蜡或这些的混合物。合适的乳化剂可以是天然存在的树胶,例如阿拉伯树胶或黄蓍树胶,天然存在的磷脂,例如大豆,卵磷脂和由脂肪酸和己糖醇酐衍生的酯或偏酯,例如一油酸山梨糖醇酐酯,所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物,例如聚氧

乙烯山梨糖醇酐单油酸酯。乳剂也可含有甜味剂和调味剂。

[0103] 糖浆剂和酞剂可以用甜味剂配制,例如甘油,丙二醇,山梨醇或蔗糖。这样的制剂还可以含有缓和剂,防腐剂 and 调味剂和着色剂。口服溶液可与例如,环糊精,PEG和表面活性剂组合来制备。

[0104] 药物组合物可以是无菌可注射水性或油性悬浮液的形式。这种悬浮液可以根据已知技术使用那些适宜的如上所述的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。无菌注射制剂还可以是在无毒的胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如在1,3-丁二醇中的溶液。可以使用的可接受的媒介物和溶剂是水,林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。此外,无菌不挥发性油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的,任何温和的固定油都可以使用,包括合成的单-或双酞酯。此外,脂肪酸如油酸也可用于注射剂的制备。

[0105] 本发明的化合物也可以栓剂形式用于直肠给药。这些组合物可以通过将药物与合适的无刺激性的赋形剂混合进行制备,该赋形剂在常温下是固体,但在直肠温度下是液体,因此将在直肠中融化以释放药物。这样的材料包括可可脂和聚乙二醇。此外,该化合物可以溶液或软膏方式通过眼递送给药。更进一步地,可通过离子电渗贴剂等来实现本发明化合物的经皮递送。对于局部使用,使用含有本发明的化合物的霜剂,软膏剂,凝胶剂,溶液或悬浮液等。如本文所使用的,局部应用还意在包括使用漱口剂和含漱剂。

[0106] 本发明的化合物可以配制用于沉积到医疗装置中,医疗装置可包括任何的各种常规移植物,支架,包括支架移植物,导管,气球,篮或可以布置或永久植入在体腔内的其他装置。作为特别的例子,可能希望有能够将本发明的化合物递送至已经经过介入技术治疗的身体区域的装置和方法。

[0107] 在示例性实施方式中,本发明的抑制剂可以沉积在医疗装置如支架内,并递送到治疗部位用于身体部分的治疗。

[0108] 支架已被用作治疗剂(即药物)的递送载体。血管内的支架通常是永久植入冠状或周围血管内。支架设计包括U.S.专利号4,733,655 (Palmaz)、4,800,882 (Gianturco) 或4,886,062 (Wiktor) 中的那些。这些设计包括金属和聚合物支架,以及自膨胀和气囊膨胀支架。支架也可用于在与脉管系统接触的位点递送药物,如以下文献公开的那些:U.S.专利号5,102,417 (Palmaz)、国际专利申请号W0 91/12779 (美敦力公司 (Medtronic, Inc.)) 和W0 90/13332 (Cedars-Sinai医疗中心)、U.S.专利号5,419,760 (Narciso, Jr.) 和U.S.专利号5,429,634 (Narciso, Jr.)。支架还已用于递送病毒至内腔的壁以递送基因,如美国专利申请系列号5,833,651 (Donovan等) 所公开的。

[0109] 术语“沉积”是指通过本领域已知的方法将抑制剂涂布、吸附、放置、或以其它方式结合到装置。例如,抑制剂可以包埋在聚合物材料中并从其内部释放(“基质型”),或者可被聚合物材料包围并通过聚合物材料释放(“贮库型”),所述聚合物材料涂覆或跨越(span)医疗装置。在后一实例中,可使用一种或多种用于产生本领域中公知的这类材料的技术,将抑制剂捕获在聚合物材料内或结合(couple)到聚合物材料。在其它制剂中,抑制剂可以不需要涂层而通过可去除的键连接到医疗装置的表面并随时间释放,可通过主动的机械或化学过程除去,或者是使抑制剂处于移植位点的永久固定的形式。

[0110] 在一实施方式中,在医疗装置如支架形成生物相容性涂层期间,抑制剂可与聚合物组分结合。由这些组分形成的涂层通常是均匀的,可用于涂覆设计用于移植的多种装置。

[0111] 聚合物可以是生物稳定的或可生物吸收的聚合物,取决于所需的释放速率或所需的聚合物稳定程度,但可生物吸收的聚合物对本实施方式是优选的,因为,不同于生物稳定聚合物,它在移植后不会长时间存在从而造成任何不良的、慢性局部反应。可用的可生物吸收的聚合物包括,但不限于,聚(L-乳酸)、聚己内酯、聚乙交酯(PGA)、(丙交酯-乙交酯)共聚物(PLLA/PGA)、聚(羟基丁酸酯)、(羟基丁酸酯-戊酸酯)共聚物、聚二噁烷酮、聚原酸酯、聚酞、聚(乙醇酸)、聚(D-乳酸)、聚(L-乳酸)、聚(D,L-乳酸)、聚(D,L-丙交酯)(PLA)、聚(L-丙交酯)(PLLA)、(乙醇酸-碳酸三亚甲酯)共聚物(PGA/PTMC)、聚环氧乙烷(PEO)、聚二噁烷酮(PDS)、聚磷酸酯、聚磷酸酯尿烷、聚(氨基酸)、氰基丙烯酸酯、聚(碳酸三亚甲酯)、聚(亚氨基碳酸酯)、共聚(醚-酯)(例如,PEO/PLA)、聚草酸亚烷酯、聚磷腈和生物分子,如纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维素、淀粉、胶原和透明质酸、聚ε己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸酯、交联水凝胶或水凝胶两亲嵌段共聚物,或本领域所知的其他合适的可生物吸收的聚合物。此外,具有相对低的慢性组织响应的生物稳定聚合物,例如聚氨酯,硅酮和聚酯也可以使用,且其它聚合物也可使用,如果它们可以溶解并固化或聚合在医疗器械上,例如聚烯烃,聚异丁烯和乙烯-α-烯烃共聚物;丙烯酸聚合物和共聚物,乙烯基卤化物聚合物和共聚物,如聚氯乙烯、聚乙烯吡咯烷酮;聚乙烯醚,如聚乙烯基甲基醚;聚二烯卤化物(polyvinylidene halides),如聚偏二氟乙烯和聚偏二氯乙烯;聚丙烯腈,聚乙烯酮;聚乙烯芳烃,例如聚苯乙烯,聚乙烯酯,如聚醋酸乙烯;乙烯基单体彼此以及烯烃的共聚物,如乙烯-甲基丙烯酸甲酯共聚物,丙烯腈-苯乙烯共聚物,ABS树脂,以及乙烯-乙酸乙烯酯共聚物;吡喃共聚物;聚羟基-丙基-甲基丙烯酸酰胺-苯酚;聚羟基乙基-天冬酰胺-苯酚;棕榈酰残基取代的聚环氧乙烷-聚赖氨酸(polyethyleneoxide-polylysine substituted with palmitoyl residues);聚酰胺,如尼龙66和聚己内酰胺;醇酸树脂,聚碳酸酯;聚甲醛;聚酰亚胺;聚醚;环氧树脂,聚氨酯;人造丝;人造丝-三醋酸酯;纤维素,醋酸纤维素,丁酸纤维素;丁酸乙酸纤维素;赛璐玢;硝酸纤维素;丙酸纤维素;纤维素醚;和羧甲基纤维素。

[0112] 聚合物和半透性聚合物基质可以加工成成型制品,如瓣膜,支架,管,假体等。

[0113] 在本发明的一个实施方式中,本发明的抑制剂结合到形成为支架或支架-移植植物装置的聚合物或半透性聚合物基质。

[0114] 典型地,通过旋涂、浸渍或喷涂将聚合物施加在可植入装置的表面。本领域中已知的其它方法也可用于这一目的。喷涂方法包括传统的方法,以及带喷墨型分配器的微沉积技术。此外,可使用光刻将聚合物沉积在可植入装置上从而将聚合物仅置于装置的特定部分。装置的这一涂层提供围绕装置的均匀层,其使得各种分析物通过装置涂层的扩散得到改善。

[0115] 在本发明优选的实施方式中,配制抑制剂用于从聚合物涂层释放入医疗装置放置的环境中。优选地,使用涉及聚合物载体或层的几种已知技术中的至少一种,以可控的方式经延长的时间范围(如,月)释放抑制剂,从而控制洗脱。一些此类技术先前描述于美国专利申请20040243225A1。

[0116] 此外,如在美国专利号6770729中描述,可以操纵聚合物组分的试剂和反应条件以使抑制剂从聚合物涂层的释放可以被控制。例如,可以调节一种或多种聚合物涂层的扩散系数从而控制抑制剂从聚合物涂层释放。在此方案的变化形式中,可以控制一种或多种聚合物涂层的扩散系数从而调节医疗装置放置的环境中的分析物(例如促进聚合物的一

些部分的分解或水解的分析物)接近聚合物组分中的一种或多种组分的能力(并例如,从而调节抑制剂从聚合物涂层的释放)。本发明还有的另一实施方式包括具有多个聚合物涂层的装置,各涂层具有多个扩散系数。在本发明的这些实施方式中,可以通过多个聚合物涂层调节抑制剂从聚合物涂层释放。

[0117] 在本发明还有的其他实施方式中,通过调节聚合物组分的一种或多种性能控制抑制剂从聚合物涂层的释放,所述一种或多种性能如一种或多种内源或外源化合物的存在,或可选地,聚合物组分的pH。例如,可以设计一些聚合物组分响应聚合物组分的pH下降从而释放抑制剂。或者,可以设计一些聚合物组分响应过氧化氢的存在从而释放抑制剂。

[0118] III. 治疗CCR1调节的疾病的方法

[0119] 在还有的另一方面,本发明提供治疗CCR1介导的病症或疾病的治疗方法,所述方法将治疗有效量的上述式I化合物施用给患有该疾病或病症的对象。本文定义的“对象”包括动物,如哺乳动物,包括但不限于,灵长类(例如,人)、牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠、小鼠等。

[0120] CCR1提供干扰或促进免疫细胞功能特定方面的靶标,或更一般地,干扰与哺乳动物如人的多种细胞类型中与CCR1表达相关的功能。抑制CCR1的化合物特别用于为治疗目的调节单核细胞,巨噬细胞,淋巴细胞,粒细胞,NK细胞,肥大细胞,树突细胞,和某些免疫衍生细胞(例如,破骨细胞)功能。因此,本发明涉及可用于预防和/或治疗各种炎性和免疫调节病症和疾病的化合物(参见Saeki等,Current Pharmaceutical Design 9:1201-1208 (2003))。

[0121] 例如,可以施用抑制CCR1的一个或多个功能的所述化合物从而抑制(即减轻或预防)免疫病症相关的炎症或细胞浸润。结果是,可以抑制一个或多个炎性过程,如白细胞渗出或浸润,趋化性,胞吐作用(例如,酶,组胺的)或炎症介质的释放。例如,可以按照本发明方法抑制单核细胞浸润到炎症部位(例如,关节炎中受影响的关节,或进入MS中的CNS)。

[0122] 类似地,施用促进CCR1的一个或多个功能的所述化合物从而刺激(诱导或增强)炎症反应,如白细胞渗出,趋化性,胞吐作用(例如,酶,组胺的)或炎症介质的释放,从而导致炎症过程的有利刺激。例如,可以募集单核细胞以对抗细菌感染。

[0123] 可以采用本发明方法治疗与炎症,免疫疾病和感染相关的疾病和病症。在一个优选的实施方式中,疾病或病症是为了调节炎症或自体免疫反应,需要抑制或促进免疫细胞,例如单核细胞,巨噬细胞,淋巴细胞,粒细胞,NK细胞,肥大细胞,树突细胞,或某些免疫衍生细胞(例如,破骨细胞)的作用的疾病或病症。

[0124] 在一组实施方式中,人或物种的疾病或病症,包括慢性疾病,可以采用CCR1功能调节剂治疗。这些疾病或病症包括:(1)过敏性疾病,如全身性过敏反应或超敏反应,药物过敏,昆虫叮咬过敏和食物过敏;(2)炎性肠疾病,如节段性回肠炎,溃疡性结肠炎,回肠炎和肠炎;(3)阴道炎;(4)银屑病和炎性皮肤病如皮炎,湿疹,过敏性皮炎,过敏性接触性皮炎,荨麻疹和瘙痒;(5)血管炎;(6)脊椎关节病;(7)硬皮病;(8)哮喘和呼吸道过敏性疾病如哮喘,敏性气喘,过敏性鼻炎,超敏反应肺病等;(9)自体免疫疾病,如纤维组织肌痛,硬皮病,强直性脊柱炎,幼年型类风湿性关节炎,斯蒂尔病,多关节幼年类风湿性关节炎,少关节幼年类风湿性关节炎,风湿性多肌痛,高安关节炎(Takuyasu arthritis),类风湿性关节炎,牛皮癣关节炎,骨关节炎,多发性关节炎,多发性硬化症,系统性红斑狼疮,I型糖尿病,

II型糖尿病, I型糖尿病(近期发作), 视神经炎, 肾小球性肾炎等; (10) 移植排斥反应, 包括同种异体移植排斥以及急性和慢性移植物抗宿主疾病; (11) 纤维化(如肺纤维化(即特发性肺纤维化)、间质性肺纤维化), 与晚期肾脏疾病相关的纤维化, 由辐射引起的纤维化, 肾小管间质纤维化, 上皮下(subepithelial)纤维化, 硬皮病(进行性系统性硬化症), 肝纤维化(包括由酒精或病毒性肝炎导致的), 原发性和继发性肝硬化; (12) 急性和慢性肺部炎症(慢性阻塞性肺病, 慢性支气管炎, 成人呼吸窘迫综合症, 婴儿呼吸窘迫综合征, 免疫复合物肺炎)和(13)其他疾病, 其中不期望的炎性反应或免疫病症将得到抑制, 如心血管疾病, 包括动脉粥样硬化, 组织移植或再狭窄(包括但不限于伴随血管成形术和/或支架插入的再狭窄)期间导致的血管炎症, 其他急性和慢性炎症病症, 如肌炎, 神经变性疾病(例如, 阿尔茨海默病), 脑炎, 脑膜炎, 肝炎, 肾炎, 脓毒症, 肉芽肿病, 变应性结膜炎, 耳炎, 鼻窦炎, 关节镜检查导致的滑膜炎, 高尿酸血, 创伤, 局部贫血再灌注损伤, 鼻息肉, 子痫前期, 口腔扁平苔藓, 吉利娜-巴利(Guillina-Barre)综合征, 肉芽肿性疾病, 与瘦蛋白(leptin)产生相关的病症, 白塞氏(Behcet's)综合征和痛风以及在伤口愈合中的应用; (14) 免疫介导的食物过敏, 如乳糜泻和(15)破骨细胞失调疾病, 包括骨质疏松症, 和与癌症如多发性骨髓瘤有关的溶骨性疾病。

[0125] 在另一组实施方式中, 可以采用CCR1功能调节剂治疗疾病或病症。待采用CCR1功能调节剂治疗的疾病的实例包括癌症(原发性和转移性)(如, 多发性骨髓瘤; Hata, H., 白血病和淋巴瘤(Leukemia&Lymphoma), 2005, 46(7):967-972), 心血管疾病, 血管生成或新血管形成在其中起作用的疾病(肿瘤性疾病, 视网膜病变和黄斑变性), 感染性疾病(病毒感染, 例如, HIV感染和细菌感染)和免疫抑制性疾病如器官移植病症和皮肤移植病症。术语“器官移植病症”是指包括骨髓移植病症和实体器官(例如, 肾, 肝, 肺, 心脏, 胰腺或其组合)移植病症。

[0126] 本发明的药物组合物也可以抑制炎症部位产生金属蛋白酶和细胞因子, 无论是直接或间接地(作为减少细胞浸润的结果), 从而为关联到这些细胞因子的疾病或病症提供益处。

[0127] 因此本发明的化合物用于预防和治疗多种炎症和免疫调节紊乱和疾病。

[0128] 取决于待治疗的疾病和对象的状况, 本发明的化合物可通过口服, 肠胃外(例如, 肌内, 腹膜内, 静脉内, ICV, 脑池内注射或输注, 皮下注射, 或植入)给药, 通过吸入喷雾, 鼻, 阴道, 直肠, 舌下或局部途径给药, 并且可以单独或一起配制在合适的剂量单位制剂内, 所述剂量单位制剂含有适合于各给药途径的常规无毒的药理学上可接受的载体、佐剂和媒介物。

[0129] 本领域技术人员将理解调节CCR1活性的试剂可以在治疗方案中与其他治疗剂和/或化疗剂或辐射联用。在一些情况下, 如果不与本发明组合物联用, 化疗剂或辐射的量是亚治疗的。本领域技术人员将理解“联用”可以涉及治疗中的联用(即两种或多种药物可以作为混合物给药, 或至少同时或至少在不同时间引入对象但是使两者同时在对象的血流中)。此外, 本发明的组合物可以在第二治疗方案之前或之后给药, 例如在一剂化疗或辐射之前或之后。

[0130] 在治疗或预防需要趋化因子受体调节的病症中, 适当的剂量水平通常为约0.001至100毫克每千克患者体重每天, 其可以以单剂量或多剂量给药。优选地, 剂量水平将是每

天约0.01到约25mg/kg/天;更优选地,每天约0.05到约10mg/kg/天。合适的剂量水平可以为每天约0.01到约25mg/kg/天,每天约0.05到约10mg/kg/天,或约0.1到约5mg/kg/天。在该范围内,剂量可是每天0.005-0.05、0.05-0.5或0.5-5.0mg/kg。对于口服给药,优选以包含1.0-1000毫克活性成分的片剂形式提供组合物,特别是1.0、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、75.0、100.0、150.0、200.0、250.0、300.0、400.0、500.0、600.0、750.0、800.0、900.0和1000.0毫克的活性成分,以对待治疗的患者进行剂量的症状调节(symptomatic adjustment)。化合物可以每天1至4次的方案给药,优选每天一次或两次。

[0131] 然而,应该理解的是,对于任何特定患者具体的剂量水平和剂量频率可以改变,并将取决于多种因素,包括使用的具体化合物的活性,该化合物的代谢稳定性和起作用的时长,对象的年龄,体重,遗传特性,总体健康状况,性别和饮食,以及给药方式和时间,排泄速率,药物联用,以及正接受治疗的对象的特定疾病的严重程度。

[0132] 可以采用本发明化合物、组合物和方法治疗或预防与炎症、免疫疾病、感染和癌症相关的疾病和病症。

[0133] 本发明的化合物和组合物可以与具有相关用途的化合物和组合物联用从而预防和治疗目的病症或疾病,如炎症或自身免疫性疾病,病症和疾病,包括炎性肠病,类风湿性关节炎,骨关节炎,牛皮癣关节炎,多发性关节炎,多发性硬化症,过敏性疾病,银屑病,过敏性皮炎和哮喘,以及如上所述那些病状。

[0134] 例如,在治疗或预防炎症或自体免疫或例如关节炎有关的骨损失中,本发明化合物和组合物可与抗炎或止痛剂联用,诸如阿片激动剂、脂氧合酶抑制剂,如5-脂氧合酶、环氧酶抑制剂,如环氧合酶-2抑制剂、白细胞介素抑制剂,如白介素-1抑制剂,NMDA拮抗剂、一氧化氮抑制剂或一氧化氮合成抑制剂、非载体抗炎剂或细胞因子抑制抗炎剂,例如与诸如对乙酰氨基酚,阿司匹林,可待因,芬太尼,布洛芬,吲哚美辛,酮咯酸,吗啡,萘普生,非那西丁,吡罗昔康,甾族镇痛剂,舒芬太尼,苏林酸,替尼达普等的化合物联用。同样地,本发明的化合物和组合物可以与上面列出的镇痛剂;增效剂如咖啡因,H₂拮抗剂(例如,雷尼替丁),二甲硅油,氢氧化铝或镁;减充血剂,如苯肾上腺素,苯丙醇胺,伪麻黄碱,羟甲唑啉,肾上腺素,萘甲唑啉,丁苄唑啉,六氢脱氧麻黄碱,或左旋脱氧麻黄碱;镇咳药剂如可待因,二氢可待因酮,咳美芬,咳必清,或右美沙芬;利尿剂;和镇静或非镇静抗组胺剂一起施用。

[0135] 同样地,本发明的化合物和组合物可以与用于疾病或病症的治疗,预防,抑制或改善的其他药物联用,对于上述疾病或病症,本发明的化合物和组合物是有用的。这些其他药物可以以常规使用量通过某种途径,与本发明的化合物或组合物同时或顺序地施用。当本发明的化合物或组合物与一种或多种其它药物同时使用时,除了本发明的化合物或组合物外还包含该其他药物的药物组合物是优选的。因此,本发明的药物组合物包括除了本发明的化合物或组合物,还包含一种或多种其他活性成分或治疗剂的那些。可以与本发明的化合物或组合物或分别给药或在同一药物组合物内联用的其他治疗剂的实例包括,但不限于:(a) VLA-4拮抗剂;(b) 皮质类固醇,诸如倍氯米松,甲基强的松龙,倍他米松,强的松,强的松龙(prenisolone),地塞米松,氟替卡松,氢化可的松,布地奈德,曲安西龙,沙美特罗,沙美特罗,沙丁胺醇,福美雷司;(c) 免疫抑制剂如环孢素(环孢素A, Sandimmune®, Neoral®),他克莫司(FK-506, Prograf®),雷帕霉素(西罗莫司, Rapamune®),托法替尼(Xeljanz®)和其

他FK-506型免疫抑制剂,和霉酚酸酯,例如,霉酚酸酯(CellCept®); (d) 抗组胺药 (H1-组胺拮抗剂),如溴苯吡胺,扑尔敏,二氯苯吡胺,曲普利啶,氯马斯汀,苯海拉明,二苯拉林,曲吡那敏,羟嗪,甲地嗪,异丙嗪,异丁嗪,阿扎他定,赛庚啶,安他唑啉,非尼拉敏,噻啶胺,阿司咪唑,特非那定,氯雷他定,西替利嗪,非索非那定,脱羧氯雷他定等; (e) 非甾体抗哮喘药 (例如,特布他林,奥西那林,非诺特罗,异他林,沙丁胺醇,比托特罗和吡布特罗),茶碱,色甘酸钠,阿托品,异丙托溴铵,白三烯拮抗剂 (例如,扎鲁司特,孟鲁司特,普仑司特,伊拉司特,泊比司特和SKB-106,203),白三烯生物合成抑制剂 (齐留通,Bay-1005); (f) 非甾体抗炎药 (NSAIDS),诸如丙酸衍生物 (例如阿明洛芬,苯恶洛芬,布氯酸,卡洛芬,芬布芬,非诺洛芬,氟洛芬,氟比洛芬,布洛芬,吲哚洛芬,酮洛芬,咪洛芬,萘普生,奥沙普秦,吡洛芬,普拉洛芬,舒洛芬,噻洛芬酸和疏恶洛芬),乙酸衍生物 (例如,吲哚美辛,阿西美辛,阿氯芬酸,环氯茛酸,双氯芬酸,芬氯酸,芬克洛酸,芬替酸,呋罗芬酸,异丁芬酸,伊索克酸,奥品酸 (oxpinac),舒林酸,硫平酸,甲苯酰吡啶乙酸,齐多美辛和佐美酸),芬那酸衍生物 (如氟灭酸,甲氯芬那酸,甲芬那酸,尼氟酸和托芬那酸),联苯羧酸衍生物 (例如,二氟尼柳和氟苯柳),昔康类 (例如,异恶噻酰胺,吡罗昔康,舒多昔康和替诺昔康),水杨酸酯 (例如,乙酰水杨酸和柳氮磺吡啶) 和吡唑啉酮 (例如,阿扎丙宗,苯派龙 (bezpiperylon),非普拉宗,莫非保松,羟布宗和保泰松); (g) 环氧合酶-2 (COX-2) 抑制剂如塞来考昔 (Celebrex®) 和罗非昔布 (Vioxx®); (h) 磷酸二酯酶IV型 (PDE IV) 抑制剂; (i) 金化合物如金诺芬和金硫葡萄糖; (j) 依那西普 (Enbrel®); (k) 抗体疗法,如奥索科龙 (orthoclone) (OKT3),达利珠单抗 (Zenapax®),巴利昔单抗 (Simullect®) 和英夫利昔单抗 (Remicade®),阿达木单抗 (Humira®),高利单抗 (Simponi®),利妥昔单抗 (Rituxan®),塔西单抗 (Actemra®); (l) 趋化因子受体,尤其是CCR5,CXCR2,CXCR3,CCR2,CCR3,CCR4,CCR7,CX₃CR1和CXCR6的其它拮抗剂; (m) 润滑剂或软化剂,如凡士林和羊毛脂; (n) 角质层分离剂 (例如,他扎罗汀); (o) 维生素D₃衍生物,如:卡泊三烯或卡泊三醇 (Dovonex®); (p) PUVA; (q) 地蒽酚 (Drithrocreme®); (r) 阿维A酯 (Tegison®) 和异维A酸和 (s) 多发性硬化症治疗剂,如干扰素 β -1 β (Betaseron®),干扰素 β -1 α (Aonex®),硫唑嘌呤 (Imurek®, Imuran®),醋酸格拉替雷 (Capoxone®),糖皮质激素 (例如,泼尼松龙) 和环磷酰胺; (t) DMARDS如甲氨蝶呤; (u) 其它化合物,例如5-氨基水杨酸及其前药;羟氯喹;D-青霉胺;抗代谢物,如硫唑嘌呤,6-巯基嘌呤和甲氨蝶呤;DNA合成抑制剂,如羟基脲和微管干扰物如秋水仙碱和蛋白酶体抑制剂如硼替佐米 (Velcade®)。本发明化合物与第二活性成分的重量比可以变化,取决于各成分的有效剂量。通常,采用各自的有效剂量。因此,例如,当本发明的化合物与NSAID联用时,本发明的化合物与NSAID的重量比通常为约1000:1到约1:1000,优选约200:1到约1:200。本发明的化合物与其他活性成分的组合通常也在上述范围内,但在每种情况下,应使用有效剂量的各活性成分

[0136] I. 实施例

[0137] 提供以下实施例为举例说明,但不用于限制要求保护的发明。

[0138] 以下使用的试剂和溶剂可以获自商业途径,如奥德里奇化学公司 (Aldrich Chemical Co.,密尔沃基,威斯康星州,USA)。采用瓦里安墨丘利 (Varian Mercury) 400MHz

NMR光谱仪记录¹H-NMR谱。相对TMS提供重要峰,且按顺序制表:多重性(s,单峰;d,双峰;t,三峰;q,四峰;m,多重峰)和质子数。质谱结果报告为质荷比,随后为各离子的相对丰度(括号内)。在表中,为包含最常见原子同位素的M+H(或如所述M-H)离子报告单一m/e值。所有情况下同位素模式对应于期望的结构式。在惠普MSD电喷雾质谱上实施电喷雾电离(ESI)质谱分析,采用配有安捷伦Zorbax SB-C18,2.1X50毫米,5μ柱的HP1100HPLC用于样本递送。通常,分析物溶于甲醇,浓度为0.1毫克/毫升,取1微升与传递溶剂一同注入质谱,质谱从100到1500道尔顿扫描。所有化合物可以正ESI模式进行分析,采用乙腈/水和1%甲酸作为传递溶剂。以下提供的化合物也可以以负ESI模式进行分析,采用乙腈/水中的2mM NH₄OAc作为传递系统。

[0139] 以下缩写用于实施例中和整个发明说明书:HPLC高压液相色谱;DMF,二甲基甲酰胺;TFA,三氟乙酸;THF,四氢呋喃;EtOAc,乙酸乙酯;BOC₂O,二碳酸二叔丁酯或BOC酐;HPLC,高压液相色谱;DIPEA,二异丙基乙胺;HBTU,0-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐;dppf,1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁;Pd₂(dba)₃,三(二亚苄基丙酮)二钯(0);DIPEA,二异丙基乙胺;DMP,邻苯二甲酸二甲酯;Me,甲基;Et乙基;DCM,二氯甲烷。

[0140] 本发明范围内的化合物可以按如下所述合成,使用本领域技术人员公知的各种反应。本领域技术人员还将认识到,其它方法可用于合成本发明目标化合物,且本文主体中所描述的方法尽管并不是穷尽性的,但的确为感兴趣的化合物提供了广泛适用和实用的路线。

[0141] 本专利要求保护的某些分子可以不同的对映异构体和非对映异构体形式存在,这些化合物的全部这样的变体都被要求保护。

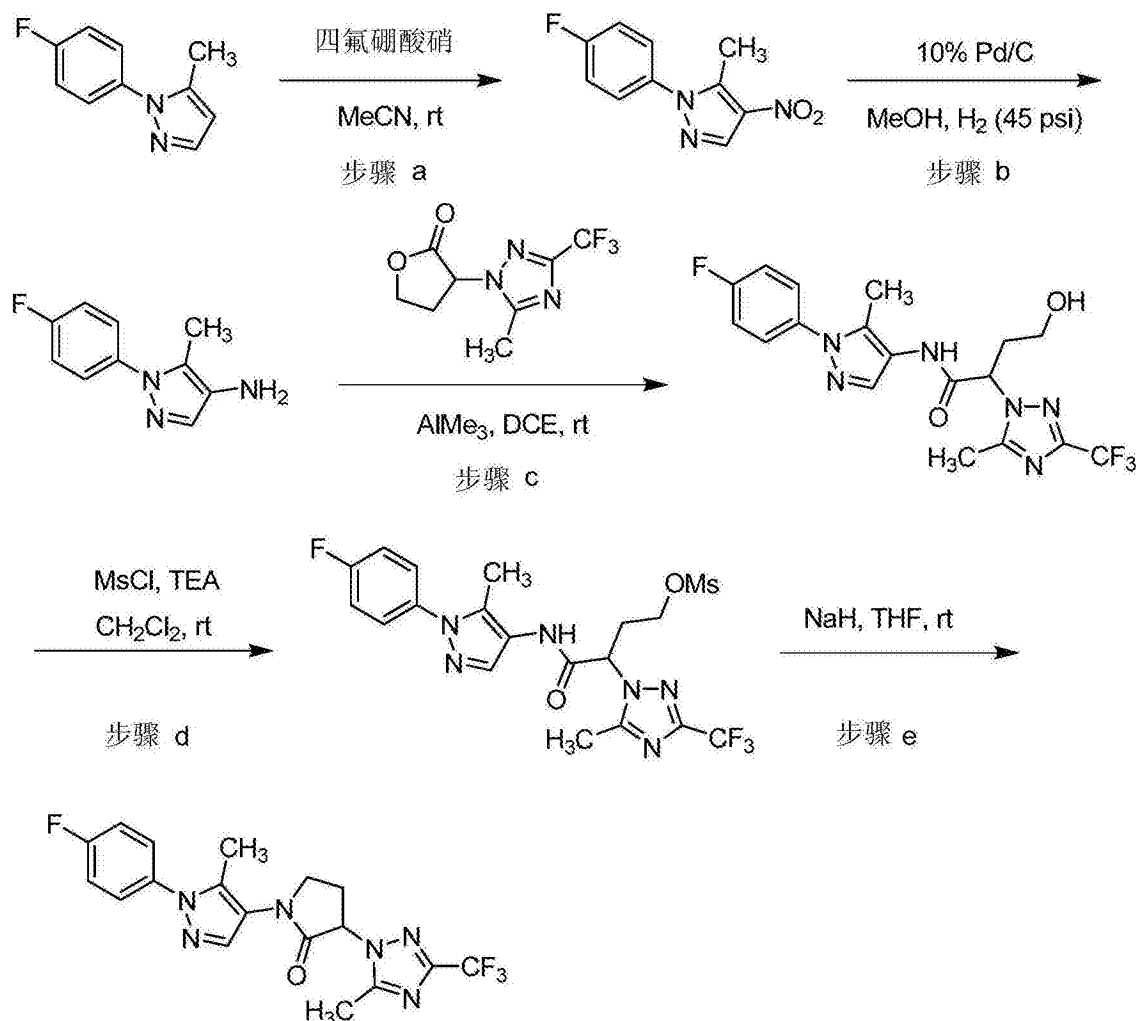
[0142] 本文用于合成关键化合物的实验程序的详细说明导致获得由表征它们的物理数据和与它们相关的结构叙述描述的分子。

[0143] 本领域技术人员也将认识到,在有机化学的标准实验(work up)程序中,经常使用酸和碱。在本专利内描述的实验程序中,有时产生母体化合物的盐,如果它们具有必要的固有酸度或碱度。

[0144] 实施例1

[0145] 1-[1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-基]-3-[5-甲基-3-(三氟甲基)-1,2,4-三唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0146]



[0147] a) 室温氮气下,将四氟硼酸硝(Nitronium tetrafluoroborate) (110mg, 0.84mmol) 加入到1-(4-氟苯基)-5-甲基-1H-吡唑(120mg, 0.70mmol) 的无水乙腈(5.0mL) 的溶液中。搅拌12小时后,真空浓缩混合物并通过快速色谱(SiO₂, 20%EtOAc/己烷) 纯化从而获得产物(53mg, 0.24mmol, 34%), 为无色油。

[0148] b) 含MeOH(5mL) 中的步骤a得到的1-(4-氟苯基)-5-甲基-4-硝基-吡唑(50mg, 0.23mmol) 和10%Pd/C(10mg, 20wt%) 的厚壁玻璃烧瓶安装到帕尔(Parr) 仪器,并在45psi 氢气下搅拌。1h后,通过硅藻土垫过滤反应混合物并真空浓缩滤液从而得到产物(240mg, 1.2mmol, 99%), 为橙色油。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0149] c) 氮气下,将三甲基铝(0.25mL, 2M, 甲苯中, 0.50mmol) 缓慢加入到步骤b得到的1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-胺(47mg, 0.25mmol) 和3-[5-甲基-3-(三氟甲基)-1,2,4-三唑-1-基]四氢呋喃-2-酮(58mg, 0.25mmol) 在1,2-二氯乙烷(5mL) 中的溶液中。室温搅拌混合物20分钟,之后通过加入1-2滴1N HCl小心淬灭反应。鼓泡平息后,用另外的1N HCl稀释粘稠混合物并用CH₂Cl₂ (3×20mL) 萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机萃取物,过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0150] d) 向步骤c获得的粗醇中间体(假定0.25mmol) 和三乙胺(0.14mL, 1.0mmol) 在CH₂Cl₂ (3mL) 中的溶液中缓慢加入甲磺酰氯(0.040mL, 0.50mmol) 。室温搅拌反应混合物15分

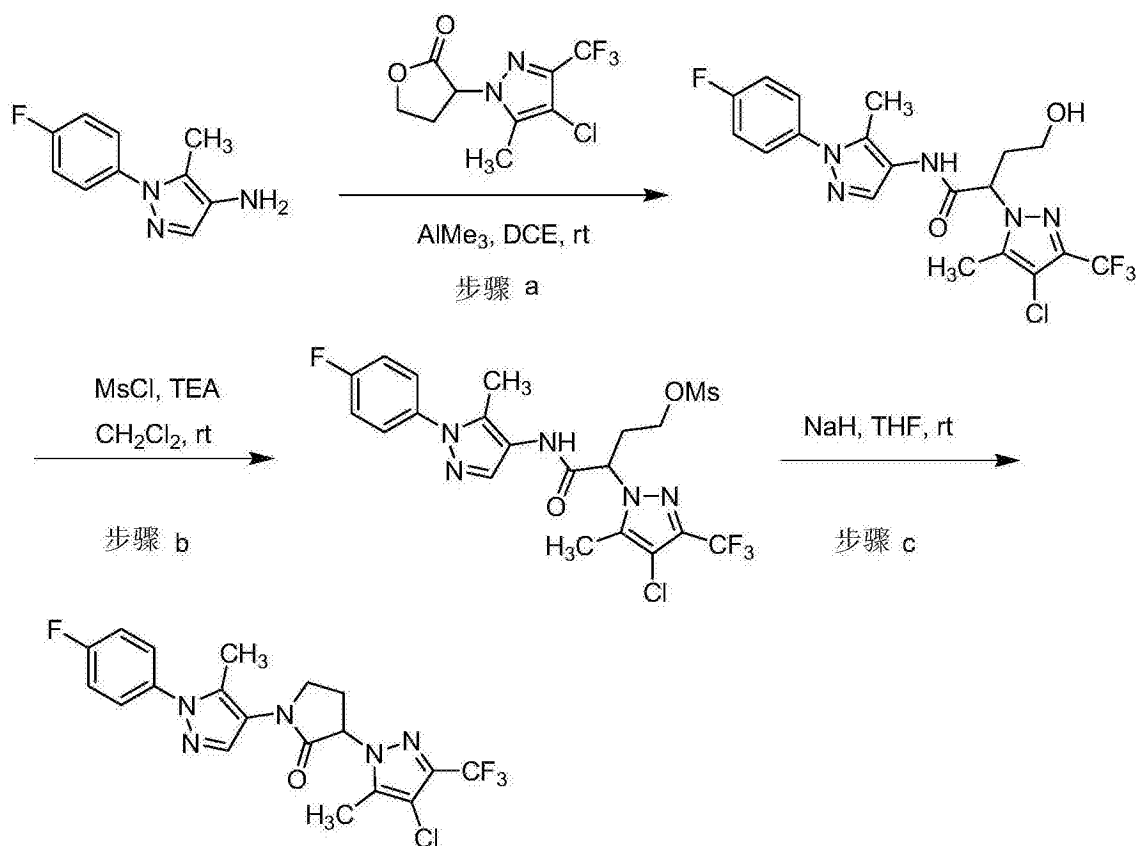
钟,之后用 CH_2Cl_2 稀释并用水洗涤。分离有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。粗黄色油不需进一步纯化用于下一步骤。

[0151] e) 室温下,向四氢呋喃(2mL)中的步骤d获得的粗甲磺酸酯中间体(假定0.25mmol)中一次加入氢化钠(40mg,60%,矿物油中,1.0mmol)。搅拌30分钟后,通过加入饱和 NH_4Cl 水溶液淬灭反应并用 CH_2Cl_2 ($2 \times 20\text{mL}$)萃取。合并有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。通过反相HPLC(C18柱,含0.1%TFA的乙腈-水作为洗脱液)纯化粗残留物从而获得标题化合物(35mg,0.086mmol,34%,经三步骤),为白色固体。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 7.65(s,1H) 7.42(dd, $J=9.0,5.1\text{Hz}$,2H), 7.18(dd, $J=8.8,8.0\text{Hz}$,2H), 5.11(dd, $J=8.6,6.4\text{Hz}$,1H), 4.07(ddd, $J=9.8,8.6,5.8\text{Hz}$,1H), 3.92(ddd, $J=9.8,7.8,5.8\text{Hz}$,1H), 2.80-2.88(m,2H), 2.66(s,3H), 2.22(s,3H) MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{F}_4\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 409.1, 实测409.1。

[0152] 实施例2

[0153] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0154]



[0155] a) 室温氮气下,将三甲基铝(0.16mL,2M,甲苯中,0.32mmol)缓慢加入到1,2-二氯乙烷(2mL)中的1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-胺(40mg,0.21mmol)和3-[5-甲基-3-(三氟甲基)-1,2,4-三唑-1-基]四氢呋喃-2-酮(58mg,0.25mmol)的溶液中。搅拌混合物30分钟,之后通过加入几滴1N HCl 小心淬灭反应。鼓泡平息后,用另外的1N HCl 稀释粘稠混合物并用 CH_2Cl_2 ($2 \times 20\text{mL}$)萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机萃取物,过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0156] b) 向步骤a获得的粗醇中间体(假定0.21mmol)和三乙胺(0.10mL,0.63mmol)在

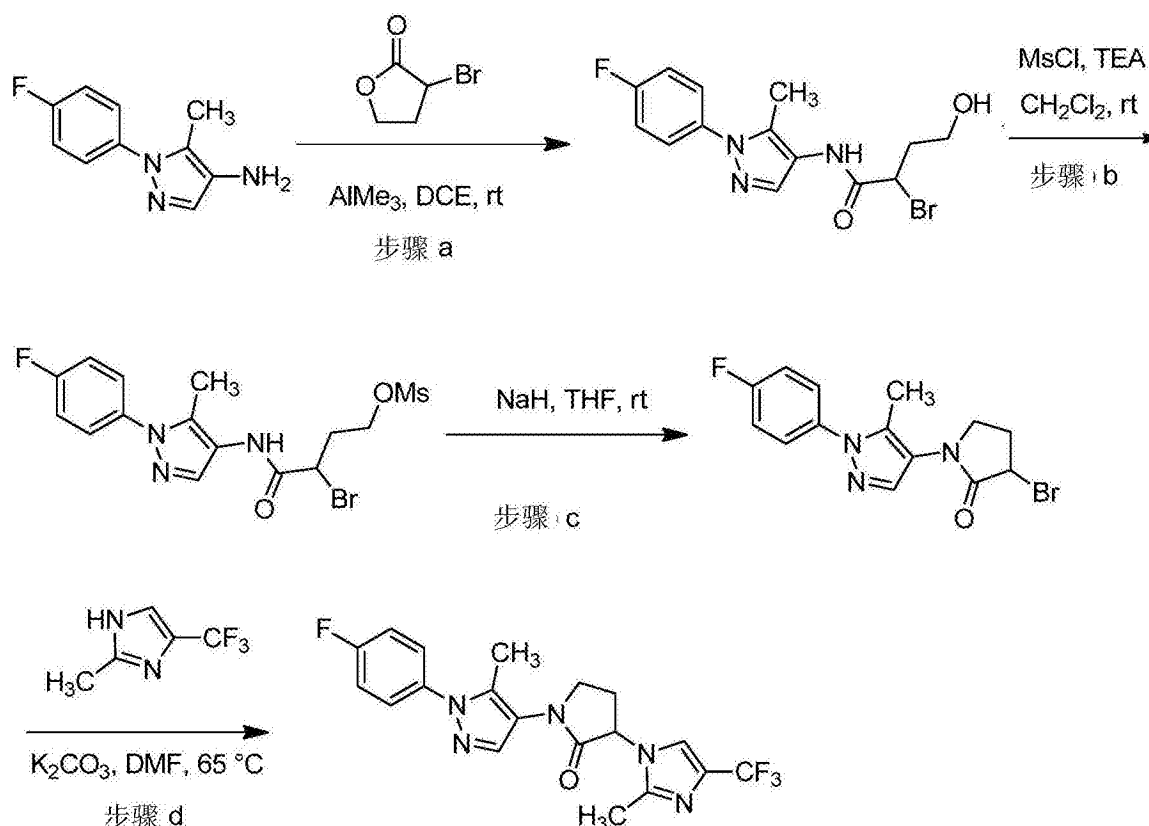
CH_2Cl_2 (3mL) 中的溶液中缓慢加入甲磺酰氯 (0.025mL, 0.32mmol)。室温搅拌反应混合物15分钟, 之后用 CH_2Cl_2 稀释并用水洗涤。分离有机层, 在硫酸镁上干燥, 过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0157] c) 室温下, 向四氢呋喃 (2mL) 中的步骤b获得的粗甲磺酸酯中间体 (假定0.21mmol) 中一次加入氢化钠 (40mg, 60%, 矿物油中, 1.0mmol)。搅拌30分钟后, 通过加入饱和 NH_4Cl 水溶液淬灭反应并用 CH_2Cl_2 (2×20mL) 萃取。合并有机层, 在硫酸镁上干燥, 过滤并真空浓缩。通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水作为洗脱液) 纯化粗残留物从而获得标题化合物 (20mg, 0.045mmol, 22%, 经三步骤), 为白色固体。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.66 (s, 1H), 7.42 (dd, $J=8.8, 4.8\text{Hz}$, 2H), 7.18 (dd, $J=8.4, 8.4\text{Hz}$, 2H), 5.06 (dd, $J=9.1, 6.0\text{Hz}$, 1H), 4.05 (ddd, $J=9.6, 8.4, 5.3\text{Hz}$, 1H), 3.90 (ddd, $J=9.6, 8.0, 5.5\text{Hz}$, 1H), 2.85 (dddd, $J=13.6, 8.0, 5.6, 5.6\text{Hz}$, 1H), 2.75 (dddd, $J=13.6, 8.0, 8.0, 5.2\text{Hz}$, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.21 (s, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClF}_4\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 442.1, 实测442.1。

[0158] 实施例3

[0159] 1-[1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0160]



[0161] a) 室温氮气下, 将三甲基铝 (0.26mL, 2M, 甲苯中, 0.52mmol) 缓慢加入到1,2-二氯乙烷 (2mL) 中的1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-胺 (50mg, 0.26mmol) 和 α -溴- γ -丁内酯 (85mg, 0.52mmol) 的溶液中。搅拌混合物1小时, 之后通过加入几滴1N HCl小心淬灭反应。鼓泡平息后, 用另外的1N HCl稀释粘稠混合物并用 CH_2Cl_2 (2×20mL) 萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机萃取物, 过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

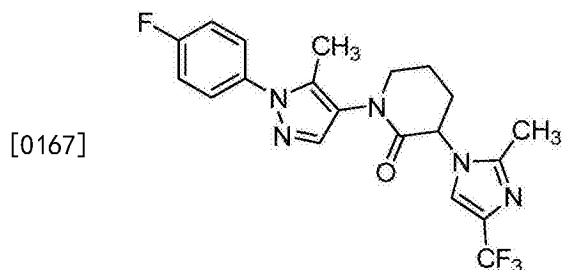
[0162] b) 向步骤a获得的粗醇中间体(假定0.26mmol)和三乙胺(0.11mL, 0.78mmol)在CH₂Cl₂(3mL)中的溶液中缓慢加入甲磺酰氯(0.030mL, 0.39mmol)。室温搅拌反应混合物15分钟,之后用CH₂Cl₂稀释并用水洗涤。分离有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0163] c) 室温下,向四氢呋喃(2mL)中的步骤b获得的粗甲磺酸酯中间体(假定0.61mmol)中一次加入氢化钠(40mg, 60%, 矿物油中, 1.0mmol)。搅拌30分钟后,通过加入饱和NH₄Cl水溶液淬灭反应并用CH₂Cl₂(2×20mL)萃取。合并有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0164] d) 将步骤c获得的粗溴化物中间体(假定0.26mmol)、2-甲基-4-三氟甲基咪唑(40mg, 0.26mmol)和碳酸钾(40mg, 0.29mmol)在DMF(2mL)中的混合物在65℃搅拌12小时。混合物冷却至室温,用EtOAc(20mL)稀释并用水洗涤。用EtOAc(1×10mL)和CH₂Cl₂(1×10mL)反提水层。合并有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。通过反相HPLC(C18柱,含0.1%TFA的乙腈-水作为洗脱液)纯化粗材料得到标题化合物的三氟乙酸盐(28mg, 0.0054mmol, 21%, 经四步骤),为白色固体。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.69(s, 1H), 7.43(dd, J=8.8, 4.8Hz, 2H), 7.30-7.28(m, 1H), 7.21(dd, J=8.0, 8.0Hz, 2H), 5.07(dd, J=10.4, 8.8Hz, 1H), 3.98(ddd, J=10.0, 10.0, 6.8Hz, 1H), 3.89(ddd, J=10.8, 9.2, 2.0Hz, 1H), 2.94-2.88(m, 1H), 2.61(s, 3H), 2.48-2.39(m, 1H), 2.27(s, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₁₉H₁₇F₄N₅O[M+H]⁺408.1, 实测408.1。

[0165] 实施例4

[0166] 1-[1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]哌啶-2-酮的合成

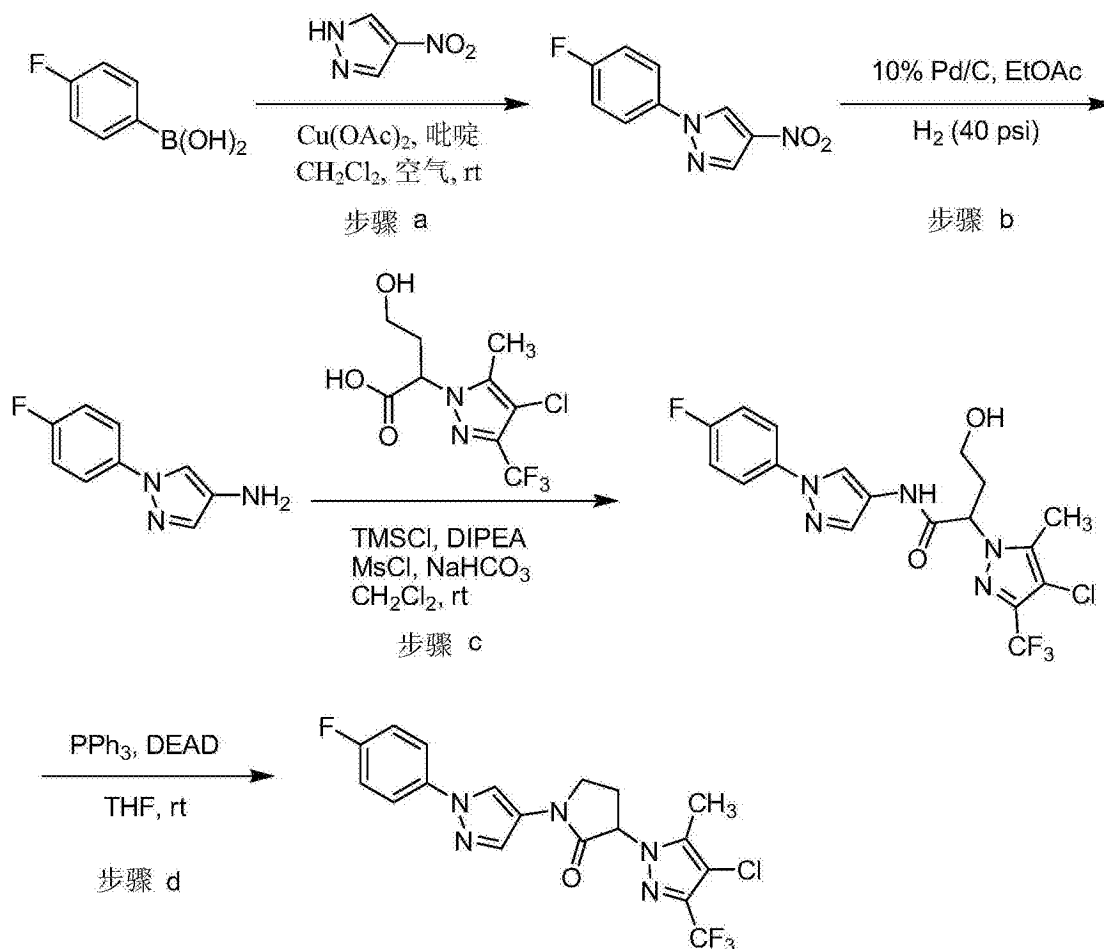


[0168] 采用如实施例3描述的过程制备标题化合物,在步骤3a用3-溴四氢吡喃-2-酮代替α-溴-γ-丁内酯。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.66(s, 1H), 7.40(dd, J=9.2, 4.8Hz, 2H), 7.29-7.26(m, 1H), 7.19(t, J=8.0Hz, 2H), 4.89(dd, J=11.2, 5.6Hz, 1H), 3.88(J=12.4, 10.4, 4.8Hz, 1H), 3.80-3.73(m, 1H), 2.60(s, 3H), 2.60-2.53(m, 1H), 2.40-2.23(m, 3H), 2.15(s, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₀H₁₉F₄N₅O[M+H]⁺422.2, 实测422.1。

[0169] 实施例5

[0170] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0171]



[0172] a) 室温空气下, 搅拌 CH_2Cl_2 (100mL) 中的4-氟苯基硼酸 (5.02g, 35.4mmol)、4-硝基-1H-吡唑 (2.00g, 17.7mmol)、乙酸铜 (3.50g, 19.5mmol) 和吡啶 (7.00mL, 88.5mmol) 的溶液12小时。然后通过硅藻土垫过滤混合物, 真空浓缩滤液。通过快速色谱 (SiO_2 , 30% EtOAc/己烷) 纯化粗残留物从而得到产物, 为白色固体。

[0173] b) 含EtOH (50mL) 和EtOAc (10mL) 中的步骤a得到的1-(4-氟苯基)-4-硝基-吡唑 (假定17.7mmol) 和10% Pd/C (0.30g) 的厚壁玻璃烧瓶安装到帕尔 (Parr) 仪器, 并在40psi氢气下搅拌。1h后, 通过硅藻土垫过滤反应混合物并真空浓缩滤液从而得到产物, 为红色固体 (4.0g, 22.6mmol, 63%, 经两步骤), 为橙色油。产物不需进一步纯化被使用。

[0174] c) 室温下, 向 CH_2Cl_2 (30mL) 中的2-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-4-羟基-丁酸 (0.77g, 2.7mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (1.9mL, 11mmol) 的溶液中加入三甲基氯硅烷 (0.85mL, 6.8mmol)。搅拌混合物5分钟, 之后加入甲磺酰氯 (0.52mL, 6.8mmol)。再搅拌10分钟后, 加入各为固体的碳酸氢钠 (0.45g, 5.4mmol) 和步骤a获得的1-(4-氟苯基)吡唑-4-胺 (0.32g, 1.8mmol)。室温搅拌混合物12h。通过加入1N HCl (30mL) 淬灭反应并用 CH_2Cl_2 (1 × 50mL) 萃取。合并有机层, 在硫酸镁上干燥, 过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (SiO_2 , 20% - 50% EtOAc/己烷) 纯化粗材料得到产物, 为橙色油 (140mg, 0.31mmol, 18%)。

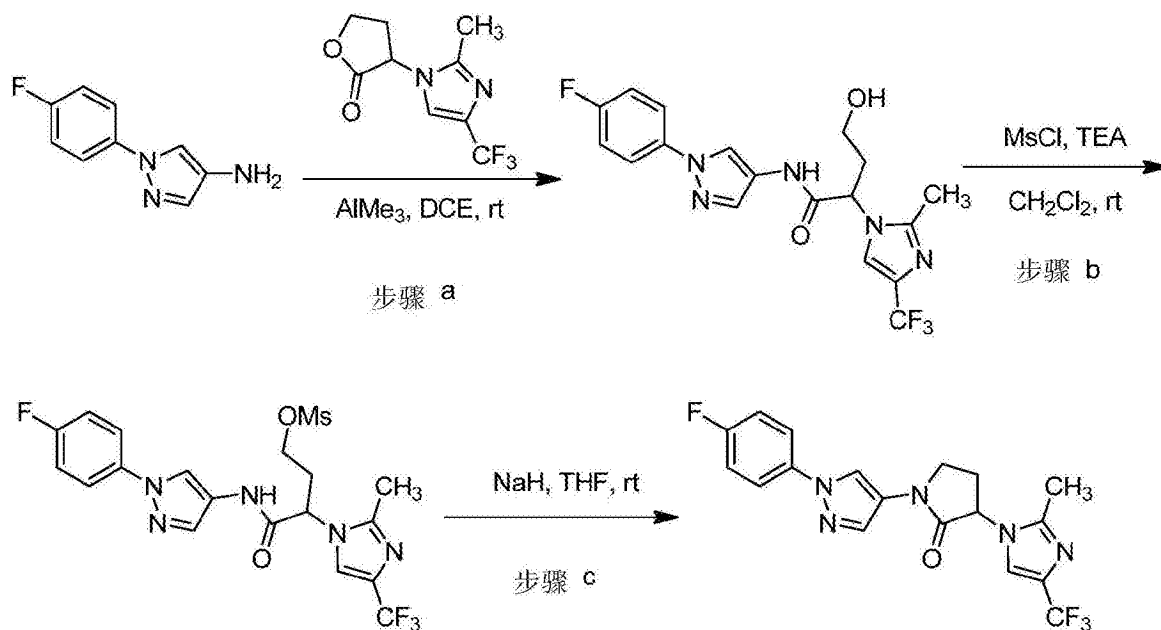
[0175] d) 在氮气下将偶氮二羧酸二乙酯 (75 μL , 0.47mmol) 缓慢加入到四氢呋喃 (2mL) 中的三苯基膦 (124mg, 0.47mmol) 中。室温搅拌黄色溶液, 之后加入步骤c获得的醇中间体 (140mg, 0.30mmol) 的四氢呋喃 (3mL) 溶液。室温搅拌过夜后, 通过加入饱和碳酸氢钠水溶液

淬灭反应并用 CH_2Cl_2 (2×20mL) 萃取混合物。合并有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。通过快速色谱(SiO_2 , 20-50%EtOAc/己烷)和反相HPLC(C18柱,含0.1%TFA的乙腈-水作为洗脱液)纯化粗材料从而获得标题化合物(10mg, 0.023mmol, 8%),为白色固体。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8.46 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.64 (dd, $J=9.2, 4.8\text{Hz}$, 2H), 7.15 (dd, $J=8.8, 8.0\text{Hz}$, 2H), 5.12 (dd, $J=9.3, 7.5\text{Hz}$, 1H), 4.12 (ddd, $J=9.2, 9.2, 3.9\text{Hz}$, 1H), 3.97-3.86 (m, 1H), 3.10 (dddd, $J=14.0, 8.8, 6.8, 0.4\text{Hz}$, 1H), 2.77 (dddd, $J=13.2, 9.6, 7.6, 3.6\text{Hz}$, 1H), 2.44 (s, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClF}_4\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 428.1, 实测428.1。

[0176] 实施例6

[0177] 1-[1-(4-氟苯基)吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0178]



[0179] a) 室温氮气下,将三甲基铝(1.4mL, 2M, 甲苯中, 2.8mmol)缓慢加入到1,2-二氯乙烷(2mL)中的1-(4-氟苯基)吡唑-4-胺(0.24g, 1.4mmol)和3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢呋喃-2-酮(0.32g, 1.4mmol)的溶液中。搅拌混合物30分钟,之后通过加入几滴1N HCl小心淬灭反应。鼓泡平息后,用另外的1N HCl稀释粘稠混合物并用 CH_2Cl_2 (3×20mL) 萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机萃取物,过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

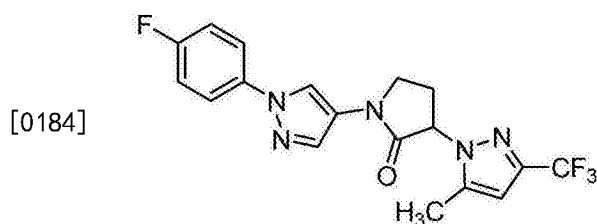
[0180] b) 向步骤a获得的粗醇中间体(89mg 0.21mmol)和三乙胺(90 μL , 0.65mmol)在 CH_2Cl_2 (2mL) 中的溶液中缓慢加入甲磺酰氯(25 μL , 0.31mmol)。室温搅拌反应混合物1小时,之后用 CH_2Cl_2 稀释并用水洗涤。分离有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0181] c) 室温下,向四氢呋喃(2mL)中的步骤b获得的粗甲磺酸酯中间体(假定0.21mmol)中一次加入氢化钠(30mg, 60%, 矿物油中, 0.65mmol)。搅拌30分钟后,通过加入饱和 NH_4Cl 水溶液淬灭反应并用 CH_2Cl_2 (2×20mL) 萃取。合并有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。通过反相HPLC(C18柱,含0.1%TFA的乙腈-水作为洗脱液)纯化粗材料从而得到标题化

合物的三氟乙酸盐 (24mg, 0.047mmol, 20%, 经两步骤), 为白色固体。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.53 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.66 (dd, J=9.0, 4.5Hz, 2H), 7.27-7.25 (m, 2H), 7.15 (dd, J=9.2, 8.4Hz, 2H), 5.07 (dd, J=9.5, 9.5Hz, 1H), 4.05-3.91 (m, 1H), 2.97 (dddd, J=13.6, 8.4, 6.8, 2.0Hz, 1H), 2.59 (s, 3H), 2.42 (dddd, J=13.6, 9.6, 3.6, 3.6Hz, 1H); MS: (ES) m/z 计算 C₁₈H₁₅ClF₄N₅O [M+H]⁺ 394.1, 实测 394.1.

[0182] 实施例7

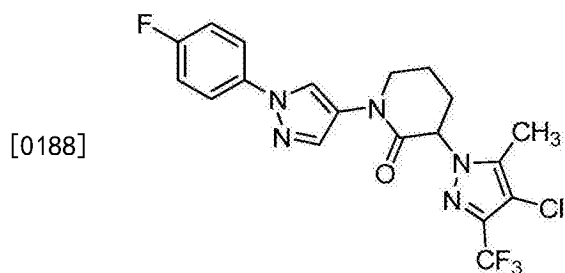
[0183] 1-[1-(4-氟苯基)吡唑-4-基]-3-[5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成



[0185] 采用如实施例6描述的过程制备标题化合物, 在步骤6a中用3-[5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]四氢呋喃-2-酮代替3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢呋喃-2-酮。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.46 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.64 (dd, J=8.8, 4.4Hz, 2H), 7.14 (dd, J=9.2, 8.4Hz, 2H), 6.35 (s, 1H), 5.119 (dd, J=8.8, 4.4Hz, 1H), 4.13 (ddd, J=9.2, 9.2, 4.0Hz, 1H), 3.90 (ddd, J=9.6, 8.0, 6.8Hz, 1H), 3.10 (dddd, J=13.2, 8.8, 7.2, 7.2Hz, 1H), 2.78 (dddd, J=13.2, 9.2, 8.0, 3.6Hz, 1H), 2.46 (s, 3H); MS: (ES) m/z 计算 C₁₉H₁₅F₄N₅O [M+H]⁺ 394.1, 实测 394.1.

[0186] 实施例8

[0187] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)吡唑-4-基]哌啶-2-酮的合成

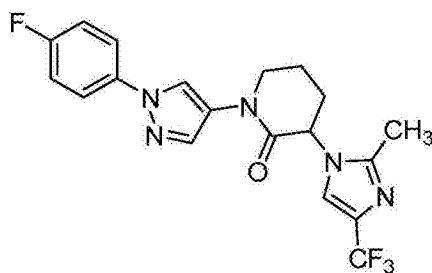


[0189] 采用如实施例6描述的过程制备标题化合物, 在步骤6a中用3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]四氢吡喃-2-酮代替3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢呋喃-2-酮。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.40 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.61 (dd, J=9.0, 4.5Hz, 2H), 7.12 (dd, J=8.0, 8.0Hz, 2H), 4.92 (dd, J=11.2, 5.8Hz, 1H), 3.98-3.85 (m, 2H), 2.88-2.72 (m, 1H), 2.46-2.35 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.23-2.10 (m, 2H); MS: (ES) m/z 计算 C₁₉H₁₆ClF₄N₅O [M+H]⁺ 442.1, 实测 442.1.

[0190] 实施例9

[0191] 1-[1-(4-氟苯基)吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]哌啶-2-酮的合成

[0192]

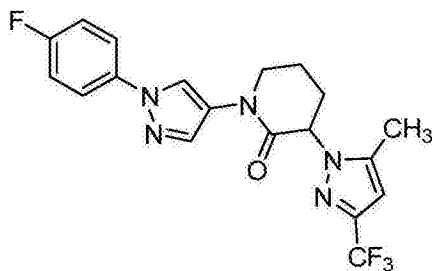


[0193] 采用如实施例6描述的过程制备标题化合物,在步骤6a中用3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢吡喃-2-酮代替3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢呋喃-2-酮。¹HNMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.54 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.63 (dd, J=8.8, 4.8Hz, 2H), 7.25-7.22 (m, 1H), 7.15 (dd, J=8.0, 8.0Hz, 2H), 4.87 (dd, J=11.5, 5.7Hz, 1H), 4.00-3.88 (m, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.56-2.50 (m, 1H), 2.46-2.37 (m, 1H), 2.37-2.20 (m, 2H); MS: (ES) m/z 计算 C₁₉H₁₇F₄N₅O [M+H]⁺ 408.1, 实测 408.1.

[0194] 实施例10

[0195] 1-[1-(4-氟苯基)吡唑-4-基]-3-[5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]哌啶-2-酮的合成

[0196]

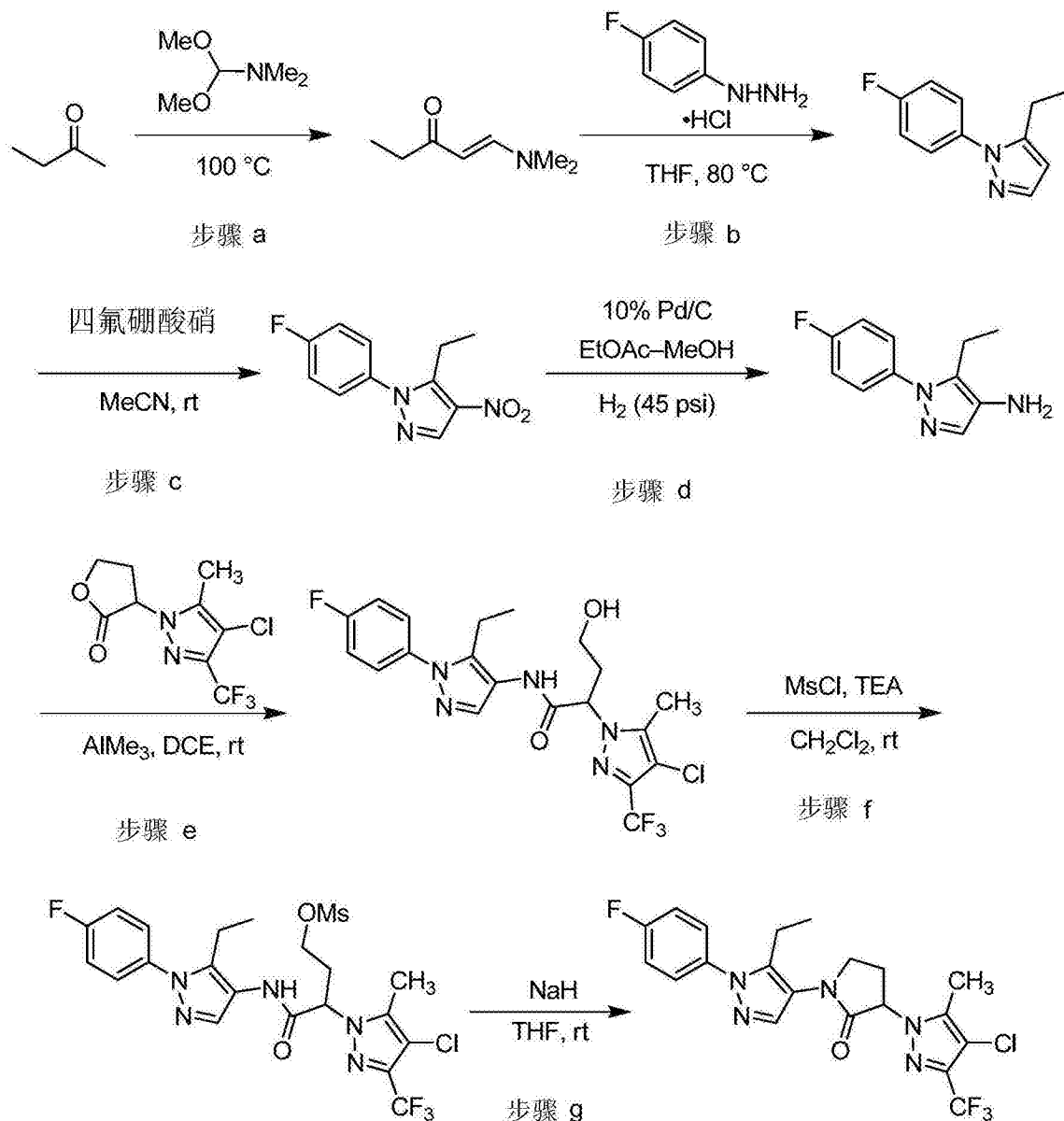


[0197] 采用如实施例6描述的过程制备标题化合物,在步骤6a中用3-[5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]四氢吡喃-2-酮代替3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢呋喃-2-酮。¹HNMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.55 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.61 (ddd, J=9.2, 4.8, 2.0Hz, 2H), 7.12 (dd, J=9.2, 8.0Hz, 2H), 6.34 (s, 1H), 4.93 (dd, J=11.2, 5.7Hz, 1H), 3.99-3.84 (m, 2H), 2.81 (dddd, J=13.6, 11.6, 10.4, 2.8Hz, 1H), 2.46-2.35 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.17 (dddd, J=13.6, 10.4, 6.8, 2.8Hz, 1H); MS: (ES) m/z 计算 C₁₉H₁₇F₄N₅O [M+H]⁺ 408.1, 实测 408.1.

[0198] 实施例11

[0199] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[5-乙基-1-(4-氟苯基)吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0200]



[0201] a) 在110℃加热2-丁酮(1.10g, 15.3mmol)和N,N-二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛(2.20g, 18.3mmol)的混合物1天。冷却后,粗的反应混合物直接用于下一步骤。

[0202] b) 在85℃,加热四氢呋喃(5mL)中的4-氟苯基肼盐酸盐(2.50g, 15.3mmol)和步骤a获得的1-(二甲基氨基)戊-1-烯-3-酮的溶液1天。冷却到室温后,CH₂Cl₂(50mL)稀释混合物并用水洗涤。在硫酸镁上干燥有机层,过滤并真空浓缩。通过快速色谱(SiO₂, 0-20%EtOAc/己烷)纯化粗材料得到产物(1.1g, 5.8mmol, 37%),为红色油。

[0203] c) 室温氮气下,将四氟硼酸硝(500mg, 2.3mmol)加入到步骤b获得的5-乙基-1-(4-氟苯基)吡唑(420mg, 3.2mmol)的无水乙腈(10mL)的溶液中。搅拌12小时后,真空浓缩混合物并通过快速色谱(SiO₂, 50%EtOAc/己烷)纯化从而获得产物(53mg, 0.023mmol, 9%),为黄色油。

[0204] d) 含MeOH(1mL)和EtOAc(2mL)中的步骤c得到的产物(53mg, 0.023mmol)和10%Pd/C(11mg, 20wt%)的厚壁玻璃烧瓶安装到帕尔(Parr)仪器,并在45psi氢气下搅拌。1.5h后,

通过硅藻土垫过滤反应混合物并真空浓缩滤液从而得到产物(45mg, 0.023mmol, 99%), 为黄色油。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

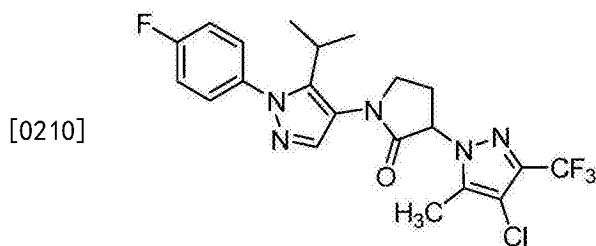
[0205] e) 室温氮气下, 将三甲基铝(0.2mL, 2M, 甲苯中, 0.39mmol) 缓慢加入到步骤d得到的5-乙基-1-(4-氟苯基)吡唑-4-胺(45mg, 0.023mmol) 和3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]四氢呋喃-2-酮(76mg, 0.28mmol) 在1,2-二氯乙烷(3mL) 中的溶液中。室温搅拌混合物30分钟, 之后通过加入几滴1N HCl 小心淬灭反应。鼓泡平息后, 用更多1N HCl 稀释粘稠混合物并用CH₂Cl₂ (3×10mL) 萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机萃取物, 过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0206] f) 向步骤e获得的粗醇中间体(假定0.23mmol) 和三乙胺(110μL, 0.78mmol) 在CH₂Cl₂ (2mL) 中的溶液中缓慢加入甲磺酰氯(25μL, 0.31mmol)。室温搅拌反应混合物1小时, 之后用CH₂Cl₂ 稀释并用水洗涤。分离有机层, 在硫酸镁上干燥, 过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0207] g) 室温下, 向四氢呋喃(2mL) 中的步骤f获得的粗甲磺酸酯中间体(假定0.23mmol) 中一次加入氢化钠(30mg, 60%, 矿物油中, 0.65mmol)。搅拌30分钟后, 通过加入饱和NH₄Cl 水溶液淬灭反应并用CH₂Cl₂ (2×20mL) 萃取。合并有机层, 在硫酸镁上干燥, 过滤并真空浓缩。通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水作为洗脱液) 纯化粗材料从而获得标题化合物(51mg, 0.11mmol, 48%, 经三步骤), 为白色固体。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.60 (s, 1H), 7.40 (dd, J=8.9, 4.8Hz, 2H), 7.17 (dd, J=8.4, 8.4Hz, 2H), 5.04 (dd, J=9.1, 5.8Hz, 1H), 4.06 (ddd, J=9.8, 8.4, 5.4Hz, 1H), 3.87 (ddd, J=9.7, 8.2, 5.3Hz, 1H), 2.86 (dddd, J=14.0, 8.4, 6.0Hz, 1H), 2.74 (dddd, J=14.4, 9.2, 8.8, 5.6Hz, 1H), 2.65 (dddd, J=15.2, 7.6, 7.6, 1.2Hz, 2H), 2.43 (s, 3H), 0.97 (t, J=7.6Hz, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₀H₁₈ClF₄N₅O [M+H]⁺456.1, 实测456.1。

[0208] 实施例12

[0209] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成



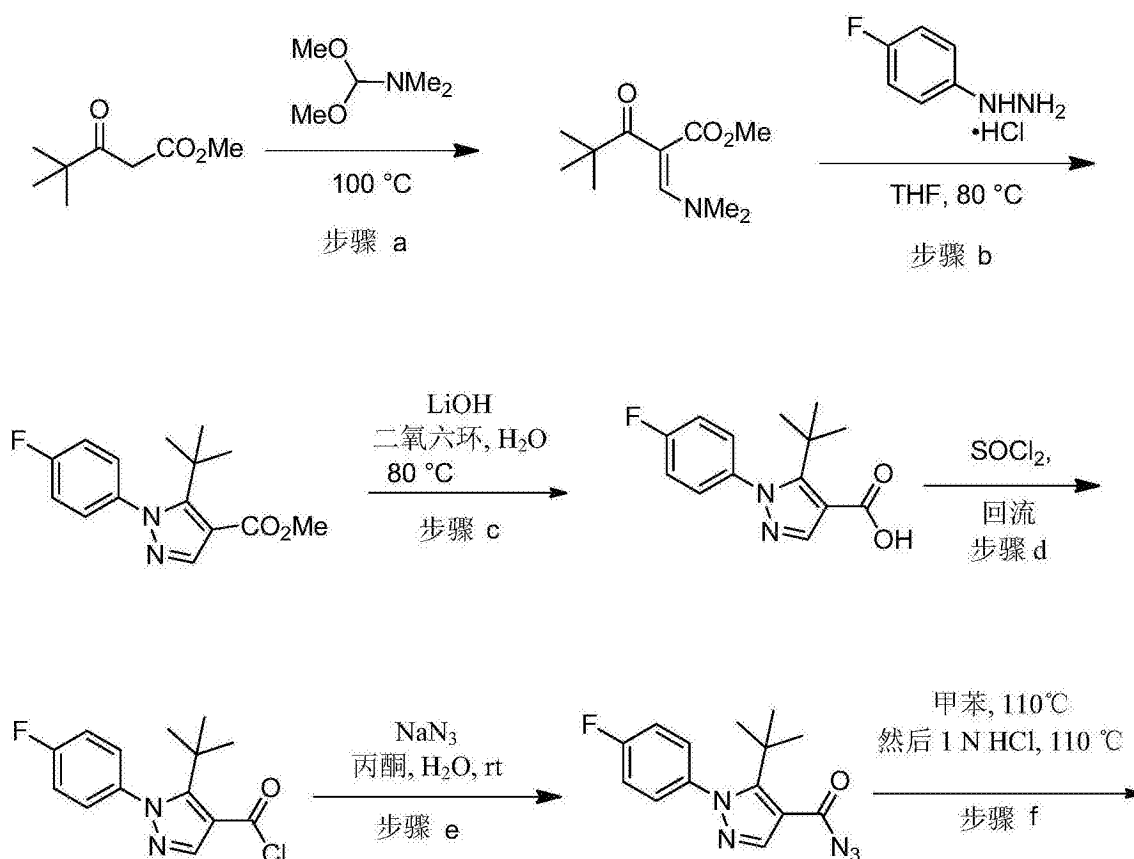
[0211] 采用如实施例2描述的过程制备标题化合物, 在步骤2a中用1-(4-氟苯基)-5-异丙基-吡唑-4-胺代替1-(4-氟苯基)-5-甲基-吡唑-4-胺。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.55 (s, 1H), 7.38 (dd, J=8.9, 4.8Hz, 2H), 7.18 (dd, J=8.5, 8.5Hz, 2H), 5.04 (dd, J=9.3, 5.9Hz, 1H), 4.04 (ddd, J=10.0, 8.8, 5.2Hz, 1H), 3.82 (ddd, J=10.0, 8.4, 5.6Hz, 1H), 3.01-2.92 (m, 1H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.80-2.69 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 1.21 (d, J=6.8, 3H), 1.11 (d, J=6.8, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₁H₂₀ClF₄N₅O [M+H]⁺470.1, 实测470.1。

[0212] 实施例13

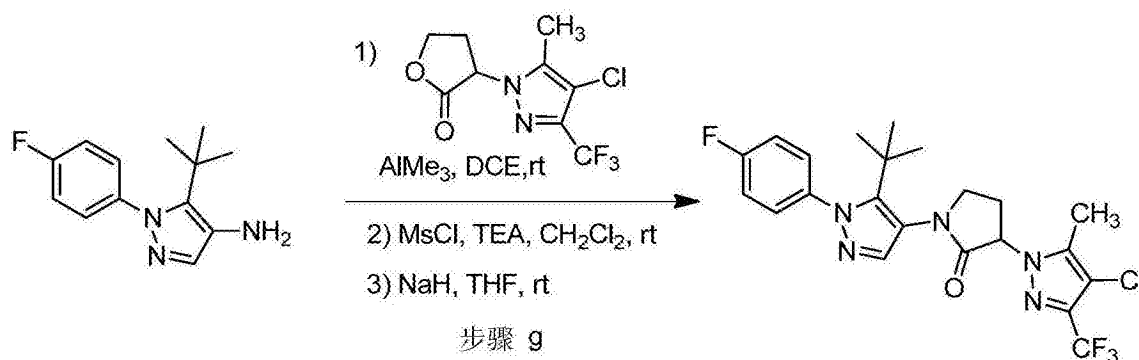
[0213] 1-[5-叔丁基-1-(4-氟苯基)吡唑-4-基]-3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-

基]吡咯烷-2-酮的合成

[0214]



[0215]



[0216] a) 在110℃将新戊酰乙酸甲酯(5.80g, 36.7mmol)和N,N-二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛(5.24g, 44.0mmol)的混合物加热1天。冷却后,真空浓缩反应混合物从而去除挥发物,粗材料直接用于下一步骤。

[0217] b) 在85℃加热四氢呋喃(15mL)中的4-氟苯肼盐酸盐(5.97g, 36.7mmol)和步骤a获得的2-(二甲基氨基甲基)-4,4-二甲基-3-氧代戊酸甲酯(假定36.7mmol)的溶液1小时。冷却到室温后,用CH₂Cl₂(50mL)稀释混合物并用水洗涤。在硫酸镁上干燥有机层,过滤并真空浓缩。通过快速色谱(SiO₂, 0-20% EtOAc/己烷)纯化粗材料得到产物(5.0g, 18.1mmol, 50%经两步骤),为红色油。

[0218] c) 在80℃,加热搅拌二氧六环(20mL)和水(20mL)中的步骤b获得的5-叔丁基-1-(4-氟苯基)吡唑-4-羧酸甲酯(5.00g, 18.1mmol)和氢氧化锂一水合物(2.77g, 66.0mmol)的

双相溶液1.5h。冷却后,用1N HCl稀释混合物并用CH₂Cl₂ (1×100mL) 萃取。在硫酸镁上干燥有机层,过滤并真空浓缩。粗棕色固体不需进一步纯化被使用。

[0219] d) 搅拌下,加热亚硫酸氯 (2.0mL) 中的步骤c获得的5-叔丁基-1-(4-氟苯基)吡唑-4-羧酸 (0.67g, 2.6mmol) 的溶液至回流20分钟。反应混合物冷却至室温并真空浓缩。粗材料与甲苯 (2×10mL) 共沸并放置在高真空下几小时,之后用于下一步骤。

[0220] e) 向步骤d获得的5-叔丁基-1-(4-氟苯基)吡唑-4-甲酰氯 (假定2.6mmol) 的丙酮 (15mL) 溶液中快速加入叠氮化钠 (0.50g, 7.7mmol) 的水 (2mL) 溶液。室温剧烈搅拌混合物5分钟,由此出现沉淀物。过滤混合物得到产物 (0.49g, 1.7mmol), 为灰色固体。

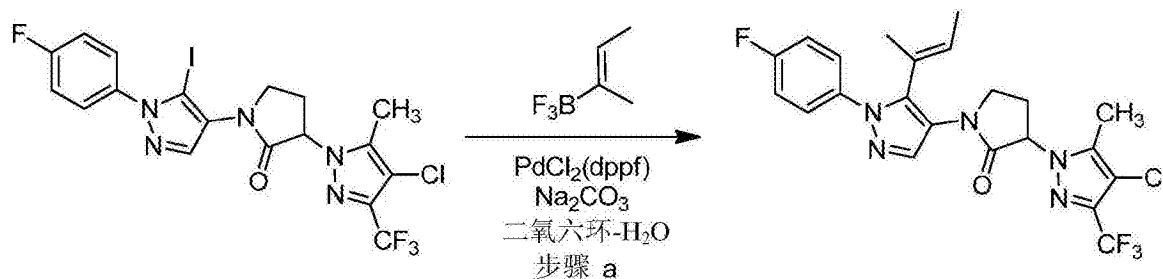
[0221] f) 在110℃加热步骤e获得的酰基叠氮中间体 (86mg, 0.030mmol) 的甲苯 (0.5mL) 溶液10分钟,然后加入1N HCl (0.7mL), 在110℃加热双相混合物过夜。冷却后,用氯仿 (2×10mL) 萃取混合物。在硫酸镁上干燥合并的有机层,过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (SiO₂, 5% MeOH/CH₂Cl₂) 纯化粗材料得到产物 (40mg, 0.017mmol, 57%), 为棕色半固体。

[0222] g) 步骤f获得的材料用于与实施例2相似的过程,在步骤2a中采用5-叔丁基-1-(4-氟苯基)吡唑-4-胺代替1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-胺,从而得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.54 (s, 1H), 7.38 (dd, J=9.2, 4.8Hz, 2H), 7.16 (dd, J=8.4, 8.4Hz, 2H), 5.09-5.00 (m, 1H), 4.08-3.99 (m, 1H), 3.83 (dq, J=8.0, 8.0, 6.0Hz, 1H), 3.04-2.87 (m, 1H), 2.80-2.67 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 1.17 (s, 9H); MS: (ES) m/z 计算C₂₂H₂₂ClF₄N₅O [M+H]⁺484.1, 实测484.1。

[0223] 实施例14

[0224] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-[(E)-1-甲基丙-1-烯基]吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0225]



[0226] a) 由类似实施例2的过程制备原料3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-碘-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮,在步骤2a采用1-(4-氟苯基)-5-碘-吡唑-4-胺代替1-(4-氟苯基)-5-甲基-吡唑-4-胺。将包含二氧六环 (5mL) 中3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-碘-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (90mg, 0.16mmol)、(2Z)-2-丁烯-2-基三氟硼酸钾 (32mg, 0.20mmol)、PdCl₂(dppf) (6.0mg, 0.0080mmol) 和水性2M碳酸钠 (0.25mL, 0.49mmol) 的溶液加热至80℃2小时。冷却到室温后,用水稀释反应混合物并用CH₂Cl₂ (2×10mL) 萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机层,过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (SiO₂, 20-50% EtOAc/己烷) 纯化粗材料得到标题化合物 (33mg, 0.070mmol), 为灰白色固体。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.69 (s, 1H), 7.45 (dd, J=8.9, 4.8Hz, 2H), 7.11 (dd, J=8.0, 8.0Hz, 2H), 5.73 (dddd, J=8.4, 6.8, 6.8, 1.6Hz, 1H), 5.02 (dd, J=9.2, 6.9Hz, 1H), 3.94 (ddd, J=9.6, 8.8, 4.8Hz, 1H), 3.76 (ddd, J=9.6, 7.9, 6.2Hz, 1H),

2.92 (dddd, $J=13.6, 13.6, 8.8, 6.4\text{Hz}$, 1H), 2.67 (dddd, $J=13.6, 9.2, 8.0, 4.4\text{Hz}$, 1H), 2.41 (s, 3H), 1.69 (dd, $J=6.8, 1.2\text{Hz}$, 3H), 1.60 (dd, $J=1.2, 1.2\text{Hz}$, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{ClF}_4\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 482.1, 实测 482.1.

[0227] 实施例15

[0228] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[5-环丙基-1-(4-氟苯基)吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0229]



[0230] a) 将包含甲苯 (1.5mL) 中的-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-碘-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (34mg, 0.061mmol)、环丙基硼酸 (7mg, 0.08mmol)、乙酸钯 (1.0mg, 0.003mmol)、三环己基膦 (2.0mg, 0.006mmol) 和磷酸钾 (45mg, 0.21mmol) 的溶液加热至 100°C 1天。冷却到室温后,用水稀释反应混合物并用 CH_2Cl_2 ($2 \times 10\text{mL}$) 萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机层,过滤并真空浓缩。通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水作为洗脱液) 纯化粗材料从而得到标题化合物 (1.0mg, 0.002mmol, 3%), 为无色残留物。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.61 (s, 1H), 7.54 (dd, $J=9.0, 4.8\text{Hz}$, 2H), 7.16 (dd, $J=9.0, 8.2\text{Hz}$, 2H), 5.06 (dd, $J=9.2, 6.3\text{Hz}$, 1H), 4.11 (ddd, $J=9.6, 8.4, 4.8\text{Hz}$, 1H), 3.91 (ddd, $J=9.6, 8.0, 4.8\text{Hz}$, 1H), 2.98 (dddd, $J=12.0, 9.6, 8.4, 6.4, 6.0\text{Hz}$, 1H), 2.74 (dddd, $J=13.2, 9.2, 8.0, 4.8\text{Hz}$, 1H), 2.45 (s, 3H), 1.77 (dddd, $J=8.4, 8.4, 5.6, 5.6\text{Hz}$, 1H), 0.78-0.64 (m, 2H), 0.43-0.30 (m, 2H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{ClF}_4\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 468.1, 实测 468.1.

[0231] 实施例16

[0232] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-仲丁基-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0233]



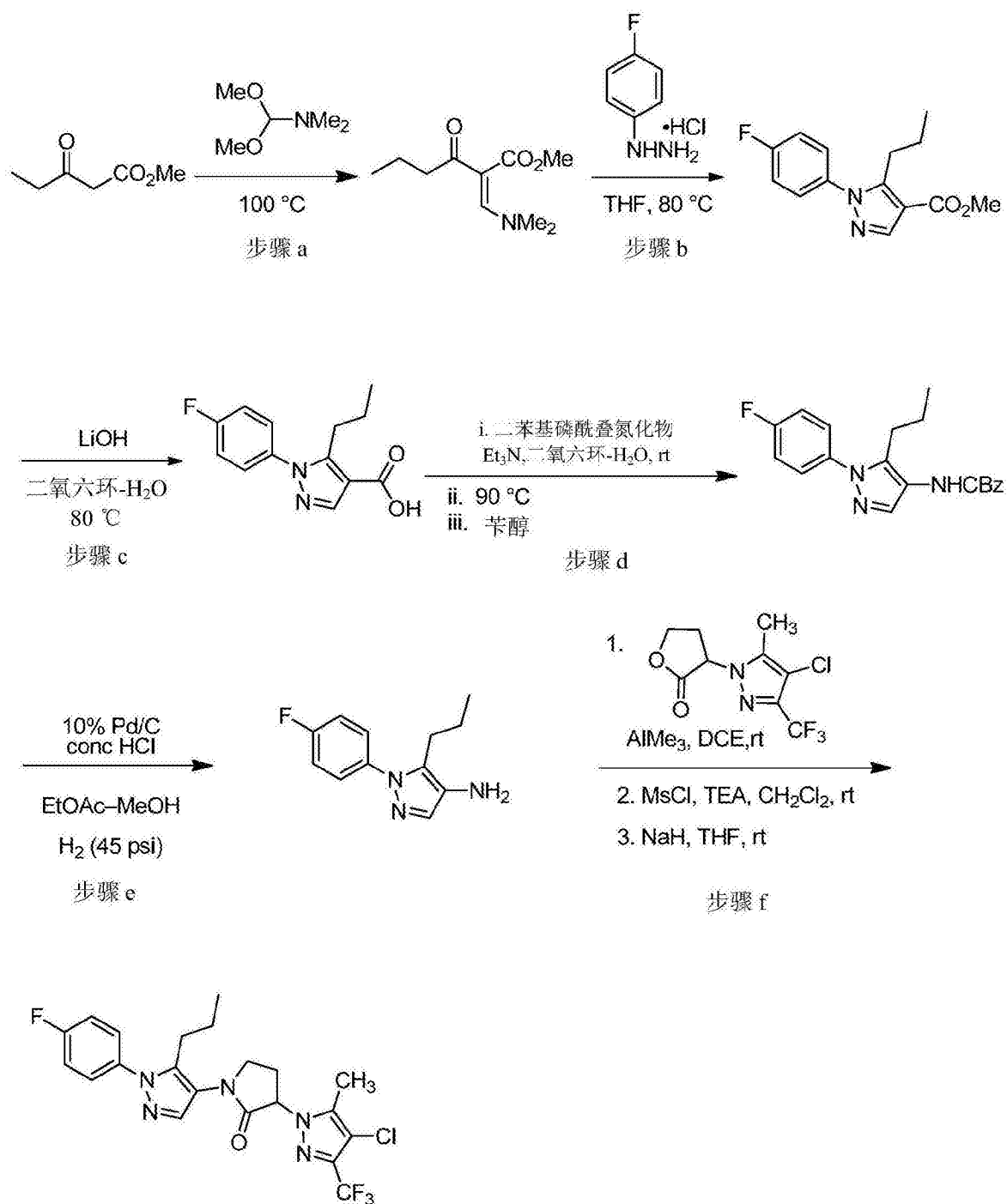
[0234] a) 将包含MeOH (5mL) 中的实施例14的产物 (27mg, 0.056mmol)、氧化铂 (25mg, 0.11mmol) 和浓盐酸 (3滴) 的厚壁玻璃烧瓶安装到帕尔仪器并在45psi氢气下搅拌。2h后,通过硅藻土垫过滤反应混合物并真空浓缩滤液。通过快速色谱 (SiO_2 , 20-50% EtOAc/己烷) 纯化粗材料得到标题化合物 (6mg, 0.012mmol, 22%), 为非对映异构体的混合物。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.53 (s, 1H), 7.35 (dd, $J=8.9, 4.8\text{Hz}$, 2H), 7.17 (dd, $J=8.8, 8.2\text{Hz}$, 2H),

5.02 (dd, $J=9.2, 5.8\text{Hz}$, 1H), 4.02 (dddd, $J=10.0, 9.2, 6.0, 5.6\text{Hz}$, 1H), 3.79 (dddd, $J=10.0, 8.8, 5.6\text{Hz}$, 1H), 2.93-2.92 (m, 1H), 2.79-2.60 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 1.56-1.42 (m, 1H), 1.20 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 1.10 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 0.77 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{ClF}_4\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 484.1, 实测 484.1.

[0235] 实施例17

[0236] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0237]



[0238] a) 在 110°C 加热丁酰乙酸甲酯 (5.00g, 34.7mmol) 和 N,N -二甲基甲酰胺二甲基乙缩

醛 (5.00g, 41.6mmol) 的混合物1天。冷却后, 真空浓缩反应混合物从而去除任何挥发物, 粗材料直接用于下一步骤。

[0239] b) 在85℃加热四氢呋喃 (25mL) 中的4-氟苯肼盐酸盐 (5.64g, 34.7mmol) 和步骤a获得的2-(二甲基氨基甲基)-4,4-二甲基-3-氧代-己酸甲酯 (假定34.7mmol) 的溶液1小时。冷却到室温后, 用CH₂Cl₂ (50mL) 稀释混合物并用1N HCl (1×50mL) 和饱和NaHCO₃水溶液 (1×50mL) 洗涤。在硫酸镁上干燥有机层, 过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下一步骤。

[0240] c) 在搅拌下于80℃加热二氧六环 (40mL) 和水 (20mL) 中步骤b获得的1-(4-氟苯基)-5-丙基吡唑-4-羧酸甲酯 (假定34.7mmol) 和氢氧化锂一水合物 (7.3g, 173mmol) 的双相溶液3小时。冷却后, 采用1N HCl酸化混合物并用CH₂Cl₂ (2×40mL) 和EtOAc (2×40mL) 萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机层, 过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (SiO₂, 20-50% EtOAc/己烷) 纯化粗材料从而得到产物 (6.65g, 26.5mmol, 76%), 为红色油。

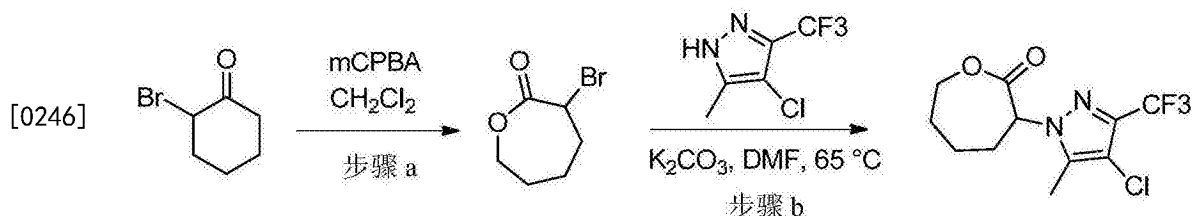
[0241] d) 向步骤c获得的1-(4-氟苯基)-5-丙基吡唑-4-羧酸 (0.76g, 3.1mmol) 的二氧六环 (8mL) 溶液中加入三乙胺 (0.47mmol, 3.4mmol) 和二苯基磷酰叠氮化物 (0.65mL, 3.1mmol)。室温搅拌混合物2h然后加热至90℃并搅拌30分钟。反应冷却至室温, 加入苄醇 (0.63mL, 6.1mmol)。在加热混合物至90℃并在该温度搅拌过夜。冷却后, 用二乙醚 (50mL) 稀释混合物并用水洗涤。在硫酸镁上干燥有机层, 过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (SiO₂, 20-50% EtOAc/己烷) 纯化粗材料得到产物 (0.91g, 2.6mmol, 84%), 为棕色油。

[0242] e) 将包含MeOH (2mL) 和EtOAc (20mL) 中的步骤d获得的苄氧羰基保护的胺 (0.91g, 2.6mmol)、浓盐酸 (5滴) 和10% Pd/C (90mg, 10wt%) 的厚壁玻璃烧瓶安装到帕尔仪器并在45psi氢气下搅拌。3h后, 通过硅藻土垫过滤反应混合物并真空浓缩滤液。用EtOAc (40mL) 稀释粗材料并用饱和NaHCO₃水溶液 (1×30mL) 洗涤从而得到产物, 为黑色油 (0.34g, 1.5mmol, 60%)。

[0243] f) 步骤e获得的产物用于类似实施例2的过程, 在步骤2a采用1-(4-氟苯基)-5-丙基吡唑-4-胺代替1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-胺, 从而得到标题化合物。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.61 (s, 1H), 7.39 (dd, J=8.9, 4.8Hz, 2H), 7.18 (dd, J=8.5, 8.5Hz, 2H), 5.05 (dd, J=9.2, 5.9Hz, 1H), 4.04 (dddd, J=9.2, 8.8, 4.8Hz, 1.2, 1H), 3.89 (ddd, J=9.6, 8.0, 5.2Hz, 1H), 2.90 (dddd, J=11.6, 8.8, 6.0, 6.0Hz, 1H), 2.76 (dddd, J=13.6, 9.6, 8.4, 5.2Hz, 1H), 2.66-2.51 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 1.35 (dddd, J=14.8, 8.8, 6.8, 6.8Hz, 2H), 0.75 (t, J=7.4Hz, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₁H₂₀ClF₄N₅O [M+H]⁺ 470.1, 实测470.1。

[0244] 实施例18

[0245] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]氧杂环庚烷-2-酮的合成



[0247] a) 向2-溴代环己酮 (4g, 22.6mmol) 的二氯甲烷 (38mL) 溶液中加入m-CPBA (5.10g, 29.5mmol)。室温搅拌14h后, 在冰箱中冷却反应6小时。过滤掉固体并用二氯甲烷 (15mL) 清洗两次。然后用饱和硫代硫酸钠水溶液 (40mL) 淬灭滤液。用水和盐水洗涤有机层, 干燥

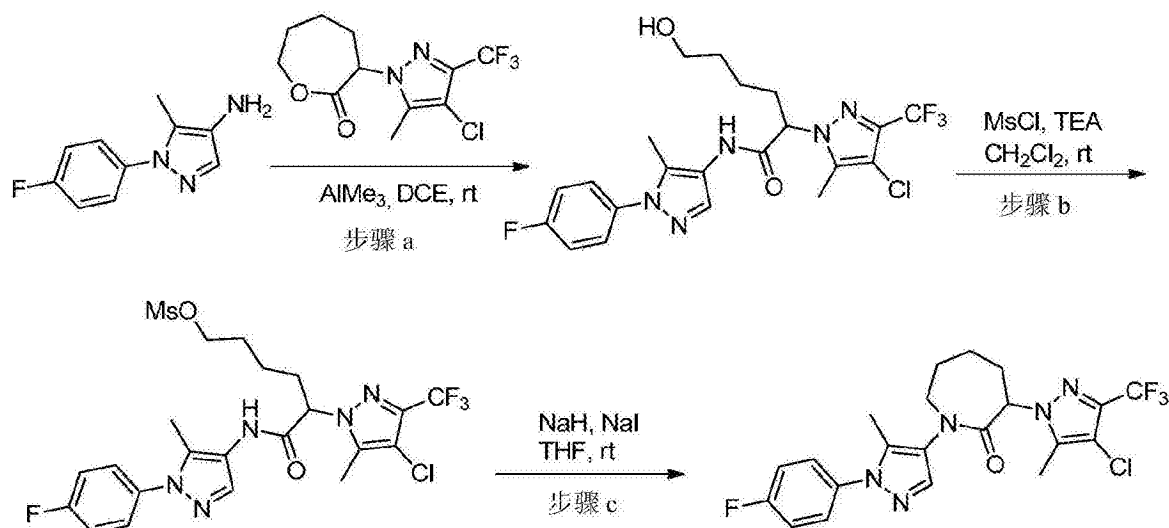
(Na_2SO_4), 过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (SiO_2 , 20% EtOAc/己烷) 纯化得到产物, 为白色固体 (3g, 15.5mmol, 69%)。

[0248] b) 向3-溴-2-己内酯 (1g, 5.18mmol) 的DMF (10mL) 溶液中加入4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑 (0.956g, 5.18mmol), 随后加入碳酸钾 (1.07g, 7.74mmol)。然后在65℃加热反应混合物8h。冷却到室温后, 在水 (20mL) 和乙酸乙酯 (30mL) 之间分配反应混合物。用水和盐水洗涤有机层, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (SiO_2 , 25% EtOAc/己烷) 纯化得到标题产物, 为白色固体 (0.3g, 1.01mmol, 20%)。

[0249] 实施例19

[0250] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-基]氮杂环庚烷-2-酮的合成

[0251]



[0252] a) 氮气下, 向3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]氧杂环庚烷-2-酮 (0.05g, 0.168mmol) 的二氯乙烷 (1.0mL) 溶液中加入三甲基铝 (126L, 2.0M, 0.25mmol), 随后加入二氯乙烷 (0.7mL) 中的1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-胺 (0.032g, 0.168mmol)。搅拌反应混合物1小时, 然后用1N HCl (2mL) 小心淬灭它。采用饱和碳酸氢钠水溶液 (2mL) 碱化水层并用二氯甲烷 (2×5mL) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 在硫酸钠上干燥, 过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下面的步骤。

[0253] b) 室温下将甲磺酰氯 (0.029g, 0.25mmol) 加入到二氯甲烷 (1mL) 中的步骤a的粗残留物和三乙胺 (0.034g, 0.34mmol) 的溶液。室温搅拌1小时后, 用水淬灭反应。用乙酸乙酯 (2×5mL) 萃取水层。用盐水洗涤合并的有机层, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下面的步骤。

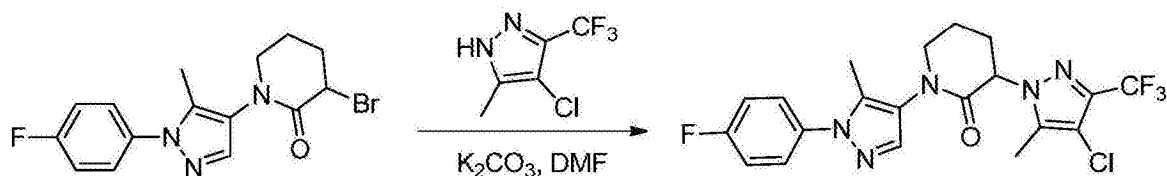
[0254] c) 室温下向步骤b获得的粗残留物的四氢呋喃 (1mL) 溶液中加入氢化钠 (0.01g, 60%, 0.25mmol), 随后加入碘化钠 (0.003g, 0.02mmol)。加热反应混合物至60℃并在该温度搅拌30分钟。冷却到室温后, 用水淬灭反应混合物并用乙酸乙酯 (2×25mL) 萃取水层, 用盐水洗涤合并的有机层, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤并真空浓缩。通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化得到的粗产物从而得到标题化合物, 为白色固体 (0.011g, 0.025mmol, 15%, 对于3个步骤)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.55 (s, 1H), 7.49-7.39 (m, 2H),

7.22-7.13 (m, 2H), 4.5-4.40 (m, 1H), 4.16-4.01 (m, 1H), 3.68-3.51 (m, 2H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.45-2.38 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.26-2.18 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 1.98-1.85 (m, 1H), 0.95-0.77 (m, 1H); MS: (ES) m/z 计算 $C_{21}H_{20}ClF_4N_5O$ $[M+H]^+$ 470.1, 实测 470.1.

[0255] 实施例20

[0256] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-基]哌啶-2-酮的合成

[0257]

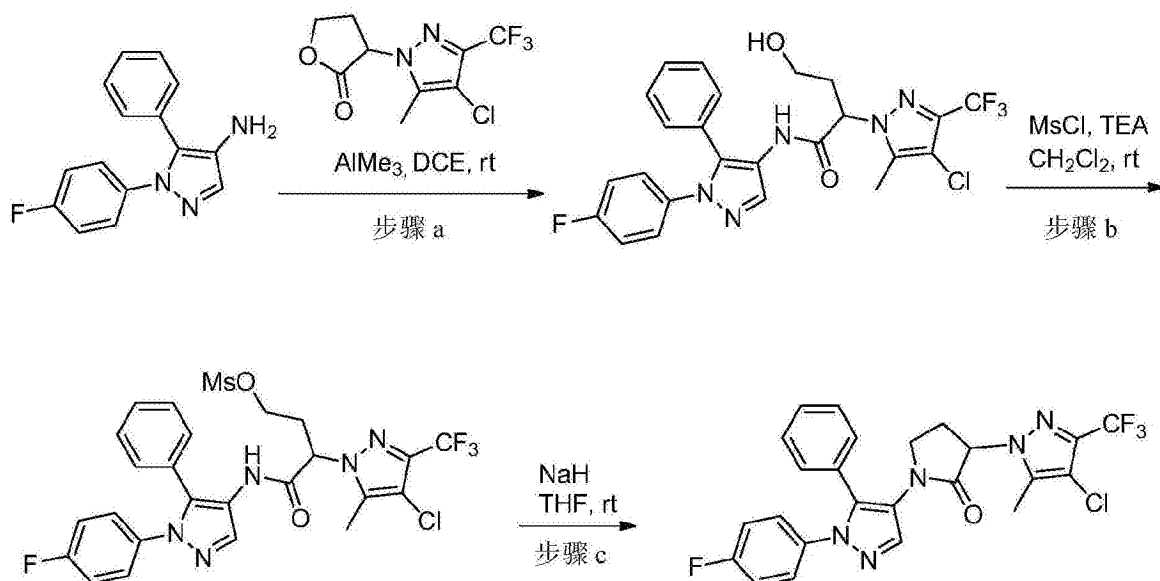


[0258] 向3-溴-1-[1-(4-氟苯基)-5-甲基吡唑-4-基]哌啶-2-酮 (0.05g, 0.14mmol) 的DMF (1.0mL) 溶液中加入4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑 (0.031g, 0.17mmol), 随后加入碳酸钾 (0.029g, 0.21mmol)。室温搅拌1h后, 用水淬灭反应。然后用乙酸乙酯 (2×25mL) 萃取水层。用盐水洗涤合并的有机层, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤并真空浓缩。通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化得到的粗产物从而得到标题化合物, 为白色固体 (0.015g, 0.025mmol, 23%)。 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.65 (s, 1H), 7.44-7.35 (m, 2H), 7.22-7.13 (m, 2H), 4.94 (dd, $J=9.9, 6.3$ Hz, 1H), 3.90-3.70 (m, 2H), 2.73 (dddd, $J=13.2, 11.5, 9.8, 3.3$ Hz, 1H), 2.47-2.38 (m, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.31 (ddd, $J=10.6, 5.4, 2.4$ Hz, 1H), 2.17-2.12 (m, 1H), 2.13 (s, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $C_{20}H_{18}ClF_4N_5O$ $[M+H]^+$ 456.1, 实测 456.1.

[0259] 实施例21

[0260] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-苯基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0261]



[0262] a) 氮气下, 向3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]四氢呋喃-2-酮 (0.063g, 0.236mmol) 的二氯乙烷 (1.0mL) 溶液中加入三甲基铝 (177 μ L, 2.0M, 0.354mmol), 随后加入

二氯乙烷 (0.7mL) 中的-(4-氟苯基)-5-苯基-吡唑-4-胺 (0.06g, 0.236mmol)。搅拌反应混合物1小时后采用1N HCl (2mL) 小心淬灭它。然后用饱和碳酸氢钠水溶液 (2mL) 碱化水层并用二氯甲烷 (5mL×2) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 在硫酸钠上干燥, 过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下面的步骤。

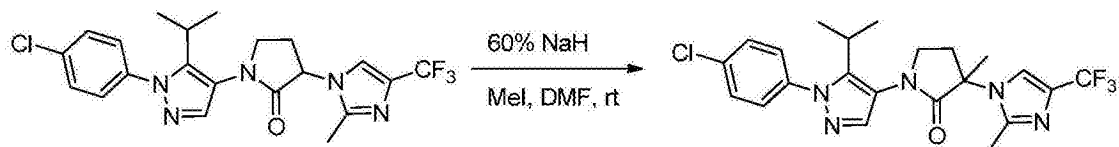
[0263] b) 室温下, 将甲磺酰氯 (0.041g, 0.36mmol) 加入到二氯甲烷 (1mL) 中的步骤a得到的粗残留物和三乙胺 (0.049g, 0.49mmol) 的溶液中。室温搅拌1小时后, 用水淬灭反应。用乙酸乙酯 (2×5mL) 萃取水层。用盐水洗涤合并的有机层, 干燥 (Na₂SO₄), 过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下面的步骤。

[0264] c) 室温下, 将氢化钠 (0.014g, 60%, 0.35mmol) 加热到步骤b得到的粗残留物的四氢呋喃 (1mL) 溶液中。加热反应混合物至60℃并在该温度搅拌30分钟。冷却到室温后, 用水淬灭反应混合物并用乙酸乙酯 (2×5mL) 萃取水层及用盐水洗涤合并的有机层, 干燥 (Na₂SO₄), 过滤并真空浓缩。通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化得到的粗产物从而得到标题化合物, 为白色固体 (0.025g, 0.050mmol, 21%, 对于3个步骤)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.89 (d, J=0.6Hz, 1H), 7.42-7.28 (m, 3H), 7.25-7.14 (m, 4H), 7.04-6.94 (m, 2H), 4.99 (dd, J=9.2, 6.8Hz, 1H), 3.74-3.63 (m, 1H), 3.56-3.45 (m, 1H), 2.78 (ddt, J=13.2, 8.7, 6.6Hz, 1H), 2.55 (tq, J=13.4, 4.5Hz, 1H), 2.38 (d, J=0.7Hz, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₄H₁₈ClF₄N₅O [M+H]⁺ 504.1, 实测503.9。

[0265] 实施例22

[0266] 1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-3-甲基-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0267]

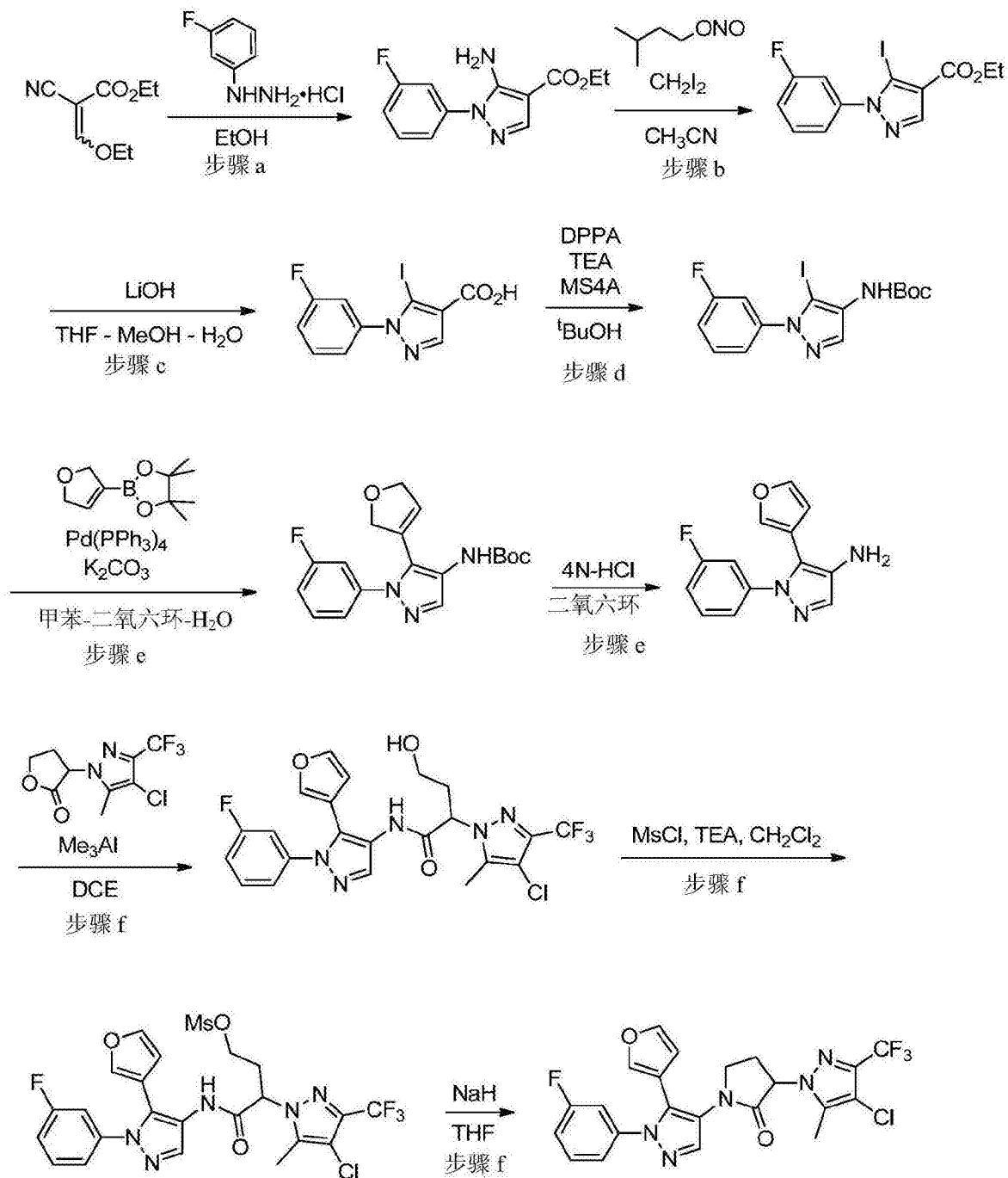


[0268] 室温在氮气气氛下向1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮 (50mg, 0.11mmol) 的溶液中缓慢加入DMF (2mL) 和NaH (60%, 矿物油中, 16mg, 0.33mmol)。室温搅拌10分钟后, 加入MeI (34μL, 0.55mmol), 再搅拌2小时。然后在0℃缓慢将饱和NH₄Cl溶液 (10mL) 加入到反应混合物, 随后用EtOAc (2×25mL) 萃取。干燥 (MgSO₄) 合并的EtOAc层, 真空浓缩, 通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化从而得到1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基-吡唑-4-基]-3-甲基-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮 (17mg, 0.029mmol, 27% 产率), 为TFA盐。¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ 7.88 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.59 (d, J=11.76Hz, 2H), 7.42 (d, J=11.76Hz, 2H), 3.86-3.95 (m, 2H), 2.99-3.08 (m, 1H), 2.58-2.80 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.22 (d, J=23.4Hz, 3H), 1.20 (d, J=23.4Hz, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₂H₂₃ClF₃N₅O [M+H]⁺ 466.9, 实测466.1。

[0269] 实施例23

[0270] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-1-[1-(3-氟苯基)-5-(呋喃-3-基)-1H-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0271]



[0272] a) (乙氧基乙烯基) 氰基乙酸乙酯 (2.37g, 14.0mmol) 和3-氟苯肼盐酸盐 (2.28g, 14.0mmol) 悬浮于乙醇 (50mL)。在80℃加热反应混合物3天, 然后减压去除EtOH。粗反应混合物悬浮于二氯甲烷, 通过过滤去除不溶材料。减压浓缩滤液并通过硅胶柱色谱 (5-20% 乙酸乙酯, 己烷中) 纯化从而得到5-氨基-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯 (930mg, 3.73mmol, 27% 产率)。

[0273] b) 在环境温度5-氨基-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯 (518mg, 2.08mmol) 悬浮于乙腈 (5mL)。加入二碘甲烷 (675μL, 8.38mmol), 然后加入亚硝酸异戊酯 (565μL, 4.21mmol)。在50℃加热反应1小时然后在水和乙酸乙酯之间分配。再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层, 减压去除溶剂后, 采用硅胶柱色谱 (10-25% 乙酸

乙酯,己烷中)纯化粗材料从而得到5-碘-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(589mg, 1.64mmol, 79%产率)。

[0274] c) 5-碘-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(589mg, 1.64mmol)溶于四氢呋喃(5mL)、1.5N LiOH(1.6mL)和甲醇(1.5mL)的混合物,搅拌混合物过夜。通过轻轻吹扫氮气流经过反应混合物去除大多数四氢呋喃。加入水和1N HCl(2.4mL),充分超声混合物从而沉淀出羧酸。过滤羧酸并用水清洗。真空干燥后,获得5-碘-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-羧酸(488mg, 1.47mmol, 90%产率)。该材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0275] d) 先在4A分子筛存在下在50℃通过过夜搅拌干燥叔丁醇(3.5mL)。在环境温度向该溶剂中加入5-碘-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-羧酸(488mg, 1.47mmol),随后加入三乙胺(204μL, 1.46mmol)和二苯基磷酰叠氮化物(334μL, 1.54mmol)。加热反应混合物至60℃并搅拌过夜。然后用乙酸乙酯稀释反应。将硅胶加入到反应混合物并减压去除溶剂从而在硅胶上预吸收粗材料。然后采用硅胶柱色谱(6-20%乙酸乙酯,己烷中)纯化材料从而得到5-碘-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-基-氨基甲酸1,1-二甲基乙基酯(482mg, 1.20mmol, 81%产率)。

[0276] e) 向包含5-碘-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-基-氨基甲酸1,1-二甲基乙基酯(150mg, 0.372mmol)的小瓶内加入甲苯(2.5mL)中的2-(2,5-二氢-3-咪唑基)-4,4,5,5-四甲基-1,3-二氧杂环戊硼烷(100mg, 0.512mmol)。加入二氧六环(0.56mL),随后加入碳酸钾水溶液(2M, 560μL, 1.12mmol)。充氮气过小瓶,随后加入四(三苯基膦)钯(20.1mg, 0.0174mmol)。在100℃搅拌反应过夜。冷却到室温后,用乙酸乙酯和水稀释反应。分离层并再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后,采用硅胶柱色谱(5-33%乙酸乙酯,己烷中)纯化粗材料从而得到Suzuki反应产物(55.4mg, 0.160mmol, 43%产率)。在环境温度用二氧六环(4N, 1mL)中的盐酸处理该材料2小时。减压去除过量盐酸和二氧六环后,粗材料溶于乙酸乙酯并用饱和碳酸氢钠溶液洗涤。再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂从而获得粗产物,其主要成分是5-(3-咪唑基)-1-(3-氟苯基)-4-氨基-1H-吡唑(48.4mg)。

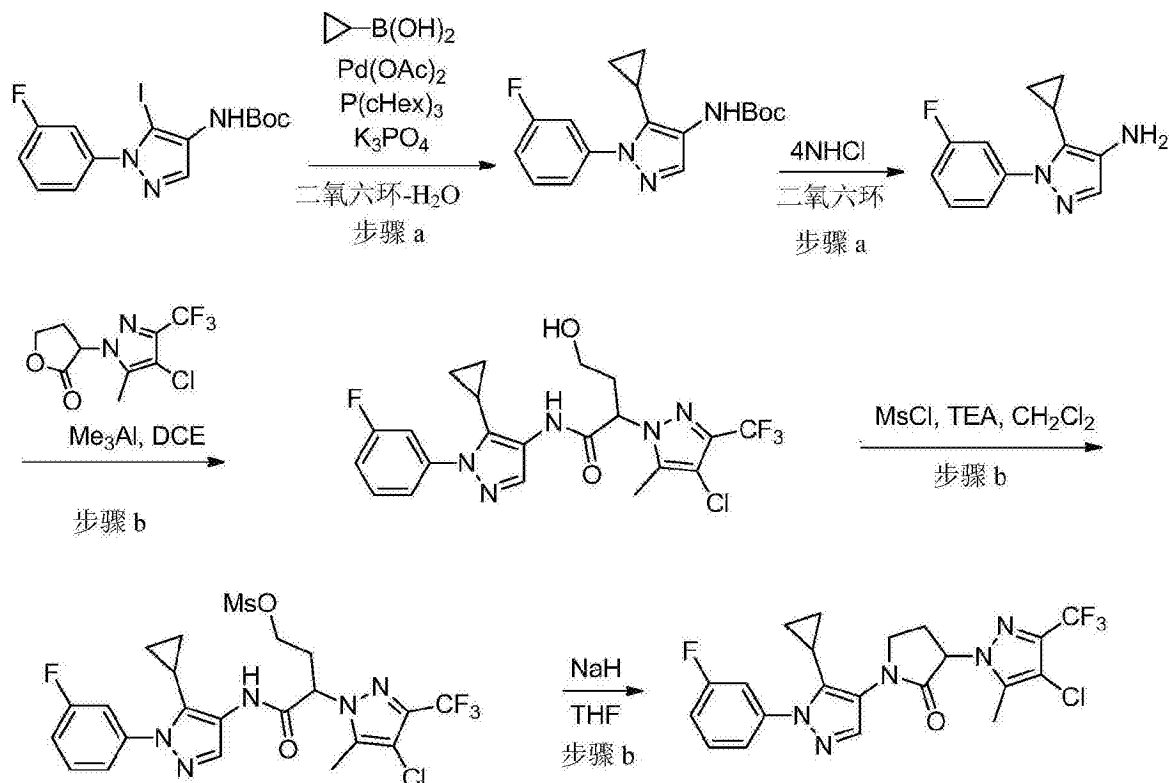
[0277] f) 从前面步骤获得的粗材料(48.4mg)和3-(3-三氟甲基-4-氯-5-甲基-1H-吡唑-1-基)二氢-2(3H)-咪唑酮(47mg, 0.18mmol)溶于二氯乙烷(0.5mL)。室温下向该混合物中加入三甲基铝(2M, 甲苯中, 0.12mL, 0.24mmol)。室温搅拌反应两小时。加入盐酸(1N)和二氯甲烷并分离层。再用二氯甲烷萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂从而得到粗产物(62.0mg),其溶于二氯甲烷(1mL)。在环境温度加入三乙胺(84μL, 0.60mmol),随后滴加甲磺酰氯(19μL, 0.24mmol)。在相同温度搅拌反应三十分钟。加入饱和碳酸氢钠溶液并用二氯甲烷萃取产物三次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后,在环境温度粗产物溶于四氢呋喃(1mL)。以小份量加入氢化钠(60%,分散在油中)直到观察不到更多的冒泡。在该温度搅拌反应过夜。将水和乙酸乙酯加入到反应混合物并分离层。再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。该溶液通过硅胶垫并用乙酸乙酯充分洗涤从而去除基线杂质。然后减压浓缩该材料并通过反相HPLC(C18柱, 20-95%乙腈/水, 含0.1%三氟乙酸)进一步纯化从而得到3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-1-[1-(3-氟苯基)-5-(咪唑-3-基)-1H-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮(2.7mg, 0.0055mmol, 3%产率, 经4个步骤)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.80(s, 1H), 7.31-7.47(m, 3H), 7.33(dd, J=8.0, 6.4Hz, 1H), 7.14(d, J=7.2Hz, 1H), 7.04-7.10(m, 1H), 6.45(s,

1H), 5.03 (dd, J=9.6, 6.8Hz, 1H), 3.88 (ddd, J=9.4, 9.4, 5.1Hz, 1H), 3.67 (ddd, J=10.0, 8.4, 6.4Hz, 1H), 2.78-2.87 (m, 1H), 2.66 (dddd, J=17.2, 8.2, 4.3, 4.3Hz, 1H), 2.40 (s, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $C_{22}H_{16}N_5O_2ClF_4$ [M+H]⁺ 494.1, 实测 494.0.

[0278] 实施例24

[0279] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-1-[5-环丙基-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0280]



[0281] a) 向反应小瓶内装入5-碘-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-基-氨基甲酸1,1-二甲基乙基酯 (150mg, 0.372mmol)、环丙基硼酸 (43.0mg, 0.504mmol)、三环己基膦 (10.0mg, 0.0357mmol) 和磷酸钾 (276mg, 1.30mmol)。加入甲苯 (1.7mL) 和水 (85 μ L)。用氮气吹扫反应, 随后加入乙酸钡 (4.2mg, 0.019mmol)。在100℃加热反应混合物两小时。加入更多三环己基膦 (10.3mg, 0.0367mmol) 和乙酸钡 (4.5mg, 0.020mmol), 在100℃搅拌5小时以上。加入 BrettPhos (2-(二环己基)3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-二苯基膦, 10.7mg, 0.0199mmol) 和乙酸钡 (3.9mg, 0.0174mmol) 并在100℃进一步搅拌反应混合物过夜。冷却到室温后, 加入水和乙酸乙酯并分离层。再用乙酸乙酯萃取水层两次, 在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后, 采用硅胶柱色谱 (7-80% 乙酸乙酯, 己烷中) 纯化粗材料从而得到 Suzuki 反应产物 (41.4mg, 0.130mmol, 35% 产率)。向该产物中加入二氧六环 (4N, 1mL) 中的盐酸并在环境温度搅拌反应4小时。减压去除溶剂后, 在乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠溶液之间分配反应混合物。分离层并再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂得到 5-(3-环丙基)-1-(3-氟苯基)-4-氨基-1H-吡唑 (25.6mg, 0.118mmol, 91% 产率), 其不需进一步纯化用于下一步骤。

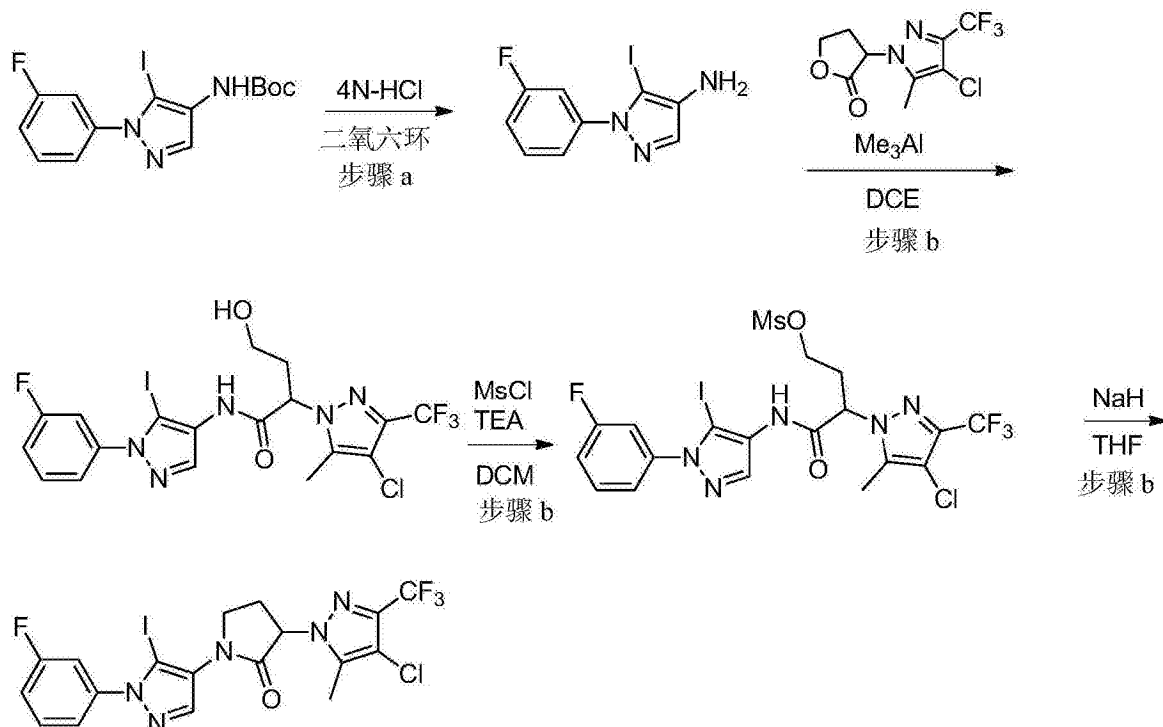
[0282] b) 前面步骤获得的产物 (25.6mg, 0.118mmol) 和 3-(3-三氟甲基-4-氯-5-甲基-1H-

吡唑-1-基)二氢-2(3H)-呋喃酮(49.0mg,0.182mmol)溶于二氯乙烷(0.5mL)。室温向该混合物中加入三甲基铝(2M,甲苯中,0.12mL,0.24mmol)。室温搅拌反应2小时。加入更多三甲基铝(2M,甲苯中,0.7mL,1.4mmol),在室温下进一步搅拌反应两小时。然后加入盐酸(1N)和二氯甲烷并分离层。再用二氯甲烷萃取水层两次。用饱和碳酸氢钠溶液洗涤合并的有机层一次并在无水硫酸钠上干燥。减压去除溶剂从而得到粗产物(73.2mg),其溶于二氯甲烷(1mL)。在环境温度加入甲磺酰氯(23μL,0.30mmol)和三乙胺(105μL,0.753mmol)。在相同温度搅拌反应2小时。加入饱和碳酸氢钠溶液并用二氯甲烷萃取产物三次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后,粗产物在环境温度溶于四氢呋喃(1mL)。以小份量加入氢化钠(60%油内分散)直到观察不到更多的冒泡。在该温度搅拌反应1小时。饱和氯化铵溶液和乙酸乙酯加入到反应混合物并分离层。然后再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后,在55℃采用二甲基甲酰胺(0.5mL)中的2-甲基-4-三氟甲基-1H-咪唑(16.7mg,0.111mmol)和碳酸钾(90.2mg,0.653mmol)处理粗产物3小时。然后将乙酸乙酯和水加入到反应混合物。分离层并再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后,采用硅胶柱色谱(50-60%乙酸乙酯,己烷中)纯化粗材料从而得到3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-1-[1-(3-氟苯基)-5-(环丙-3-基)-1H-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮,其通过采用反相HPLC(C18柱,20-95%乙腈/水,含0.1%三氟乙酸)进一步纯化(15.0mg,0.0346mmol,29%产率,经三步骤)。¹H NMR(400MHz,CDC1₃) δ7.61(s,1H),7.37-7.44(m,2H),7.33(ddd,J=9.6,2.0,2.0Hz,1H),7.04-7.09(m,1H),5.04(dd,J=9.6,6.8Hz,1H),4.10(ddd,J=9.6,9.6,4.8Hz,1H),3.89(ddd,J=9.0,8.0,5.6Hz,1H),2.97(dddd,J=14.8,8.4,8.4,5.6Hz,1H),2.73(dddd,J=17.2,8.4,5.2,5.2Hz,1H),2.42(s,3H),1.79(tt,J=10.4,5.6Hz,1H),0.71-0.82(m,2H),0.36-0.40(m,2H);MS:(ES)m/z计算C₂₁H₁₈N₅OC1F₄[M+H]⁺468.2,实测468.1。

[0283] 实施例25

[0284] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-1-[1-(3-氟苯基)-5-碘-1H-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0285]



[0286] a) 在环境温度将二氧六环 (4N, 3mL) 中的盐酸加入到5-碘-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-基-氨基甲酸1,1-二甲基乙基酯 (348mg, 0.864mmol)。在相同温度搅拌反应过夜。减压去除溶剂。粗材料溶于乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠溶液。分离层并再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后, 采用硅胶柱色谱 (20-60% 乙酸乙酯, 己烷中) 纯化粗材料从而得到5-碘-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑 (210mg, 0.695mmol, 80% 产率)。

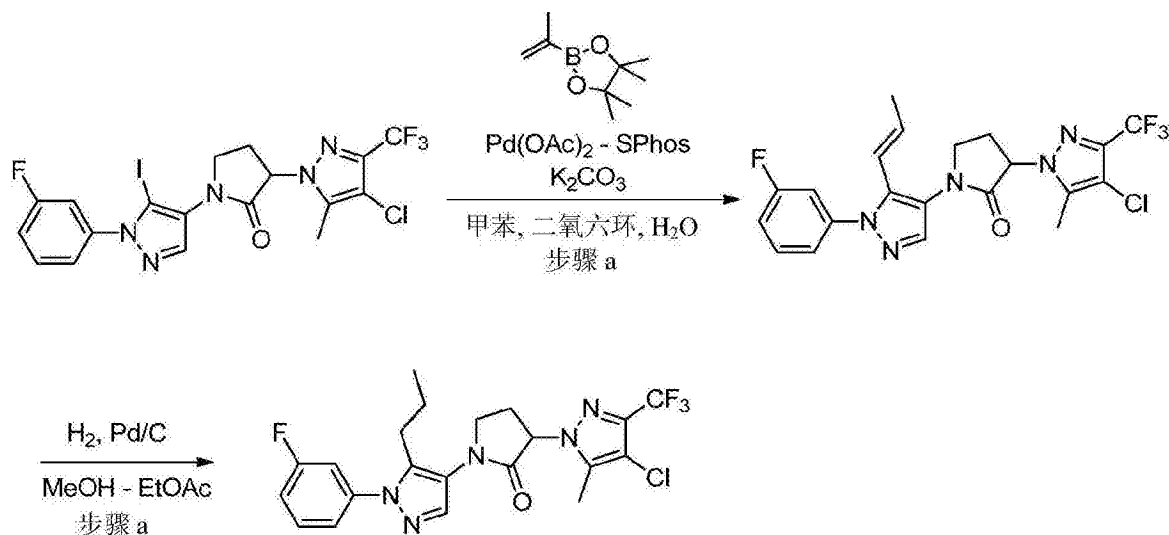
[0287] b) 前面步骤获得的游离胺 (211mg, 0.695mmol) 和3-(3-三氟甲基-4-氯-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 二氢-2 (3H)-呋喃酮 (229mg, 0.853mmol) 溶于二氯乙烷 (2.3mL)。室温下向该混合物中加入三甲基铝 (2M, 甲苯中, 0.7mL, 1.4mmol)。室温搅拌反应两小时。加入更多三甲基铝 (2M, 甲苯中, 0.3mL, 0.6mmol) 并在室温进一步搅拌反应两小时。加入盐酸 (1N) 和二氯甲烷, 混合物通过硅藻土垫。分离层, 再用二氯甲烷萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂从而得到粗产物, 其溶于二氯甲烷 (2mL)。在环境温度加入甲磺酰氯 (81 μ L, 1.04mmol) 和三乙胺 (483 μ L, 3.47mmol)。在相同温度搅拌反应三十分钟。加入饱和碳酸氢钠溶液并用二氯甲烷萃取产物三次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后, 粗产物在环境温度溶于四氢呋喃 (7.5mL)。以小份量加入氢化钠 (60% 油内分散) 直到观察不到更多的冒泡。在该温度搅拌反应1小时。将饱和氯化铵溶液和乙酸乙酯加入到反应混合物并分离层。再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后, 采用硅胶柱色谱 (20-40% 乙酸乙酯, 己烷中) 纯化粗材料从而得到3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-1-[1-(3-氟苯基)-5-碘-1H-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (126mg, 0.227mmol, 33% 产率, 经3步骤)。采用甲醇研磨该材料以进一步纯化 (产量 42.5mg)。¹H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.80 (s, 1H), 7.45 (ddd, $J=8.2, 8.2, 5.9\text{Hz}$, 1H), 7.34 (dd, $J=8.2, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.28 (ddd, $J=9.4, 2.0, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.16 (ddd, $J=8.2, 8.2, 2.4\text{Hz}$, 1H),

5.06 (dd, $J=9.6, 6.8\text{Hz}$, 1H), 4.08 (ddd, $J=9.6, 9.6, 4.8\text{Hz}$, 1H), 3.94 (ddd, $J=9.6, 8.0, 6.4\text{Hz}$, 1H), 3.00 (dddd, $J=15.6, 8.4, 8.4, 6.4\text{Hz}$, 1H), 2.73 (dddd, $J=17.2, 8.0, 4.8, 4.8\text{Hz}$, 1H), 2.42 (s, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{OClF}_4\text{I}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 554.0, 实测 554.0.

[0288] 实施例26

[0289] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-1-[5-丙基-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0290]



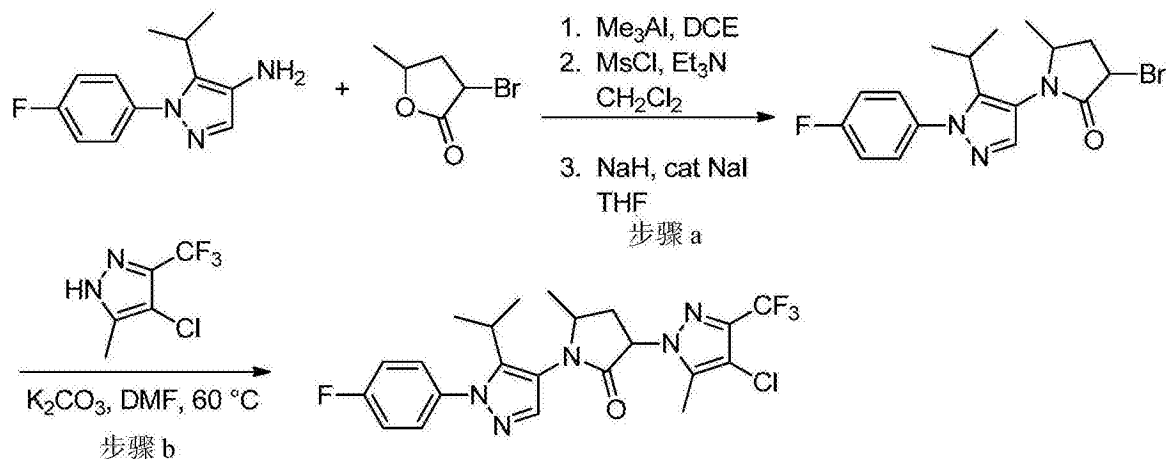
[0291] a) 将碳酸钾 (43.1mg, 0.312mmol) 加入到包含 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-1-[1-(3-氟苯基)-5-碘-1H-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (83.0mg, 0.150mmol) 的烧瓶内, 随后加入甲苯 (0.5mL) 和二氧六环 (0.1mL)。向该混合物中加入 4,4,5,5-四甲基-2-(1-甲基乙烯基)-1,3,2-二氧杂环戊硼烷 (56 μL , 0.30mmol), 随后加入水 (25 μL)、2-二环己基膦-2',6'-二甲氧基二苯基 (SPhos, 6.2mg, 0.015mmol) 和乙酸钯 (3.3mg, 0.015mmol)。采用氮气吹扫反应混合物并在 100°C 搅拌过夜。冷却后, 加入水和乙酸乙酯。分离层并再用乙酸乙酯萃取水层两次。在无水硫酸钠上干燥合并的有机层。减压去除溶剂后, 采用硅胶柱色谱 (30-100% 乙酸乙酯, 己烷中) 纯化粗材料从而得到 Suzuki 产物 (24.4mg, 0.0522mmol, 35% 产率)。回收一些碘化合物原料和一些脱碘副产物。Suzuki 产物溶于乙酸乙酯 (5mL) 和甲醇 (5mL) 的混合物。加入钯/碳 (10%, 湿, 9.7mg)。采用帕尔仪器在 35psi 氢气下氢化混合物 1 小时, 然后在 45psi 氢气下氢化 1 小时。采用氮气净化反应混合物后, 加入更多钯/碳 (10%, 湿, 10.3mg) 和溶剂 (乙酸乙酯: 甲醇 = 1:1, 8mL), 在 45psi 氢气下反应混合物进一步被氢化 1 小时。通过硅藻土垫过滤反应混合物并采用乙酸乙酯: 甲醇 (1:1, 10mL) 混合物彻底清洗。减压去除溶剂后, 采用反相 HPLC (C18 柱, 20-95% 乙腈-水, 含 0.1% 三氟乙酸) 纯化粗材料从而得到 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-1-[5-丙基-1-(3-氟苯基)-1H-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (14.4mg, 0.0306mmol, 59% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.60 (s, 1H), 7.43 (ddd, $J=8.0, 8.0, 6.0\text{Hz}$, 1H), 7.14-7.22 (m, 3H), 5.02 (dd, $J=9.2, 5.6\text{Hz}$, 1H), 4.02 (ddd, $J=9.2, 5.2, 5.2\text{Hz}$, 1H), 3.86 (ddd, $J=9.6, 8.0, 5.6\text{Hz}$, 1H), 2.88 (dddd, $J=14.4, 8.8, 8.8, 6.0\text{Hz}$, 1H), 2.73 (dddd, $J=17.2, 8.4, 5.6, 5.6\text{Hz}$, 1H), 2.57-2.68 (m, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.35 (qt, $J=9.6, 9.6\text{Hz}$, 2H), 0.74 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 3H); MS: (ES) m/z 计算

$C_{21}H_{20}N_5OClF_4 [M+H]^+ 470.1$, 实测470.1.

[0292] 实施例27

[0293] 3-(4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)-1-(1-(4-氟苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-4-基)-5-甲基吡咯烷-2-酮的合成

[0294]



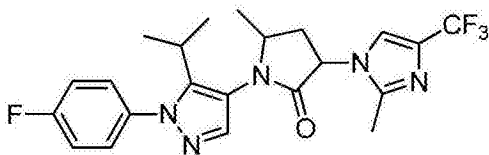
[0295] a) 室温氮气下将三甲基铝(1.0mL, 2mmol, 2M溶液, 甲苯中)分批添加到无水二氯乙烷(5mL)中的1-(4-氟苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-4-胺(219mg, 1mmol)和顺/反- α -溴- γ -戊内酯。搅拌2小时后,用水淬灭反应并用10mL EtOAc和0.5mL 6N HCl稀释混合物。用水和盐水洗涤有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。残留物溶于 CH_2Cl_2 (6mL),加入 Et_3N (0.25mL, 1.8mmol)和甲磺酰氯(0.13mL, 1.65mmol)。搅拌1小时后,用1M $NaHSO_4$ 洗涤反应混合物并在硫酸镁上干燥有机层,过滤并真空浓缩从而得到黄色油。残留物溶于THF(10mL)并加入NaI(30-40mg)。然后将氢化钠(90mg, 2.3mmol)加入到反应浆液。搅拌16小时后,用饱和 NH_4Cl 淬灭反应并减压浓缩从而去除THF。用水(10mL)稀释混合物并用EtOAc(3 $\times$ 5mL)萃取。在硫酸镁上干燥有机层,过滤,浓缩并通过快速色谱(SiO_2 , 5-90%EtOAc/己烷)纯化从而得到产物(219mg, 0.38mmol, 38%),为无色油。

[0296] b) 向DMF(1mL)中的步骤a获得的产物(57mg, 0.15mmol)和4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑(138mg, 0.75mmol)的溶液中加入 K_2CO_3 (104mg, 0.75mmol)。将浆液加热至60 $^{\circ}C$ 1h然后采用EtOAc(4mL)稀释。用水和盐水洗涤混合物并真空浓缩。通过反相HPLC(C18柱, 含0.1%TFA的乙腈-水, 作为洗脱液)纯化粗残留物从而得到标题化合物的顺/反式混合物(40mg, 0.083mmol), 为白色固体。顺/反式混合物的 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.46(s, 0.54H), 7.43(s, 0.46H), 7.42-7.36(m, 2H), 7.20-7.15(m, 2H), 5.11(m, 1H), 4.35-4.27(m, 0.46H), 4.10-4.01(m, 0.54H), 3.06-2.84(m, 2H), 2.68-2.60(m, 0.46H), 2.43(s, 1.38H), 2.40(s, 1.62H), 2.34-2.25(m, 0.54H), 1.40(d, $J=6.3Hz$, 1.62H), 1.37(d, $J=6.6Hz$, 1.38H), 1.17(d, $J=7.1Hz$, 1.38H), 1.16(d, $J=7.0Hz$, 1.62H), 1.12(d, $J=7.1Hz$, 1.62H), 1.04(d, $J=7.4Hz$, 1.38H); MS: (ES) m/z 计算 $C_{22}H_{23}ClF_4N_6O [M+H]^+ 484.1$, 实测483.9.

[0297] 实施例28

[0298] 1-(1-(4-氟苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-4-基)-5-甲基-3-(2-甲基-4-(三氟甲基)-1H-咪唑-1-基)吡咯烷-2-酮盐酸盐的合成

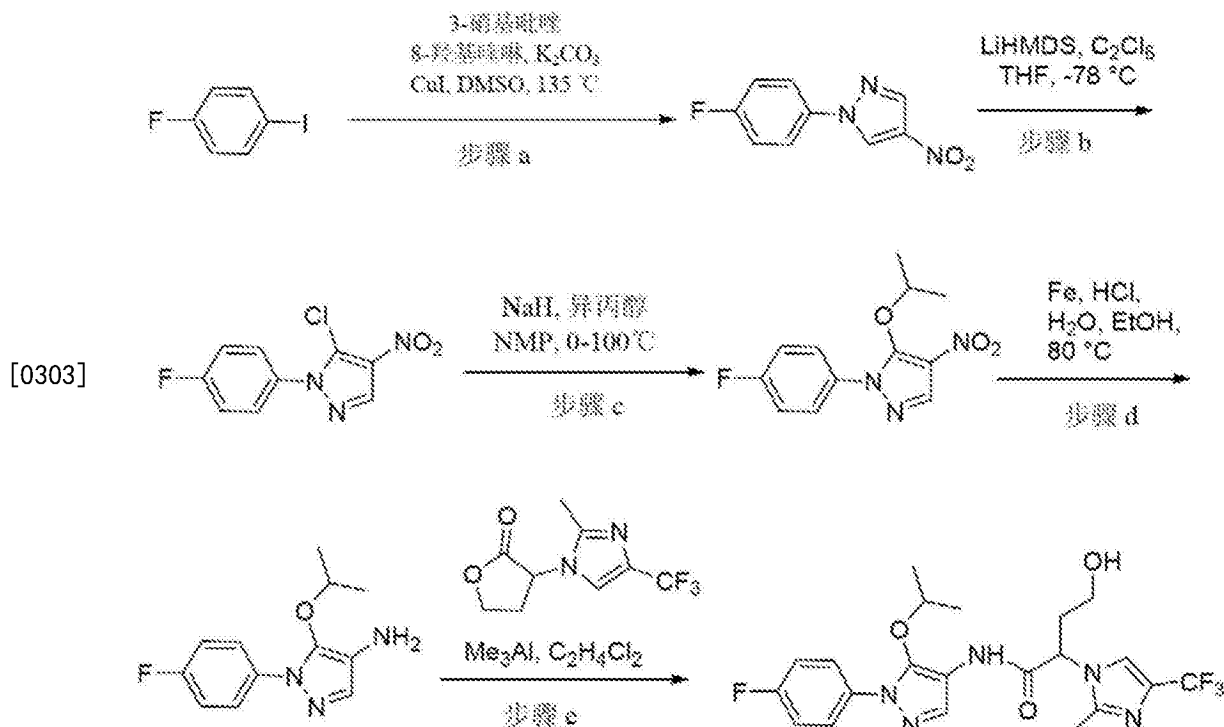
[0299]

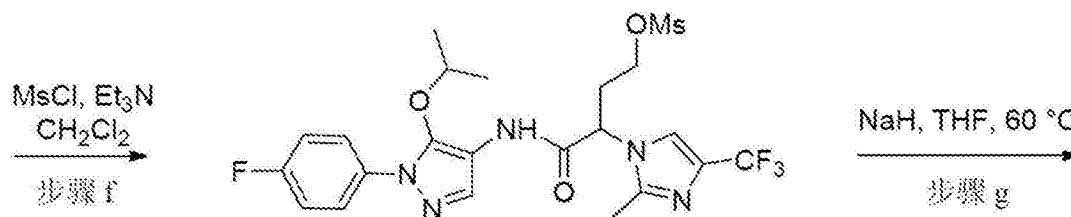


[0300] 采用实施例27描述的过程制备标题化合物,在步骤b用2-甲基-4-(三氟甲基)-1H-咪唑代替4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑。顺/反式混合物的¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 8.50 (s, 0.64H), 8.43 (s, 0.36H), 7.64 (s, 1H), 7.52-7.49 (m, 2H), 7.32 (t, J=8.2Hz, 2H), 5.82-5.76 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 1H), 3.16-2.96 (m, 2H), 2.82-2.79 (m, 3H), 1.48 (m, 1H), 2.29 (m, 1H), 1.37 (m, 2H), 1.19-1.15 (m, 6H); MS: (ES) m/z 计算C₂₂H₂₃F₄N₅O [M+H]⁺ 450.2, 实测450.0.

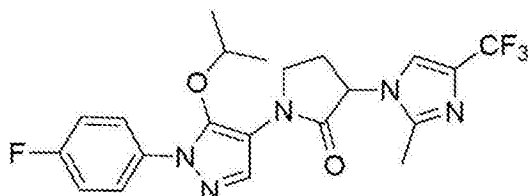
[0301] 实施例29

[0302] 1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙氧基吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成





[0304]



[0305] a) 将DMSO (20mL) 中的4-碘-氟苯 (2.42g, 11mmol)、4-硝基-1H-吡唑 (1.00g, 10mmol)、8-羟基喹啉 (0.15g, 1mmol)、CuI (0.192g, 1mmol) 和碳酸钾 (2.78g, 20mmol) 的混合物在135℃加热过夜。冷却到室温后, 采用30mL水稀释反应混合物并用乙酸乙酯萃取。随后用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤有机层, 干燥 (Na₂SO₄), 过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (SiO₂, 10%-20% EtOAc, 己烷中) 纯化得到1.02g所需产物 (4.9mmol, 49%)。

[0306] b) 在-78℃, 在氮气下向10mL THF中的1-(4-氟苯基)-4-硝基-吡唑 (1.02g, 4.9mmol) 的溶液中加入LiHMDS (1M, THF中, 5.8mL, 5.8mmol)。30分钟后, 滴加6mL THF中的1, 1, 1, 2, 2, 2-六氟乙烷 (1.31g, 5.5mmol)。再搅拌反应混合物1小时, 随后用20mL饱和氯化铵水溶液淬灭。回温到室温后, 用EtOAc萃取混合物。干燥 (Na₂SO₄) 有机层, 过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (SiO₂, 5%-15% EtOAc, 己烷中) 纯化得到的粗材料从而获得0.61g产物 (2.5mmol, 52%)。

[0307] c) 在0℃, 在氮气下向1mL NMP中的异丙醇 (0.12g, 2mmol) 的溶液中加入NaH (0.085g, 2mmol)。回温到室温后, 加入5-氯-1-(4-氟苯基)-4-硝基-吡唑 (0.24g, 1mmol)。在100℃加热得到的混合物3小时。冷却到室温后, 用饱和碳酸氢钠水溶液淬灭反应并用EtOAc萃取。随后干燥 (Na₂SO₄) 有机层, 过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下一步骤。

[0308] d) 将2mL EtOH中的步骤c得到的粗残留物、铁粉 (0.23g, 4mmol) 和100μL 6N HCl水溶液的混合物在80℃加热20分钟。冷却到室温后, 用20mL饱和碳酸氢钠水溶液和40mL EtOAc稀释反应混合物。搅拌得到的悬浮液10分钟, 然后通过硅藻土过滤。分离有机层, 用盐水洗涤, 干燥 (Na₂SO₄), 过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下一步骤。

[0309] e) 在0℃向1mL二氯乙烷中的步骤d得到的粗残留物 (0.042g, 0.17mmol) 和2, 5-二[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]环戊酮 (0.053g, 0.22mmol) 的混合物中加入Me₃Al (2N, 甲苯中, 180μL, 0.36mmol)。室温搅拌2小时后, 用30mL水稀释反应混合物并用萃取EtOAc萃取。随后用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤有机层, 干燥 (Na₂SO₄), 过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下一步骤。

[0310] f) 向1mL CH₂Cl₂中的步骤e得到的粗残留物和Et₃N (0.1mL) 的溶液中加入MsCl (28μL, 0.36mmol)。室温搅拌2小时后, 用20mL饱和碳酸氢钠水溶液和40mL EtOAc稀释反应混合物。随后分离有机层, 用盐水洗涤, 干燥 (Na₂SO₄), 过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下一步

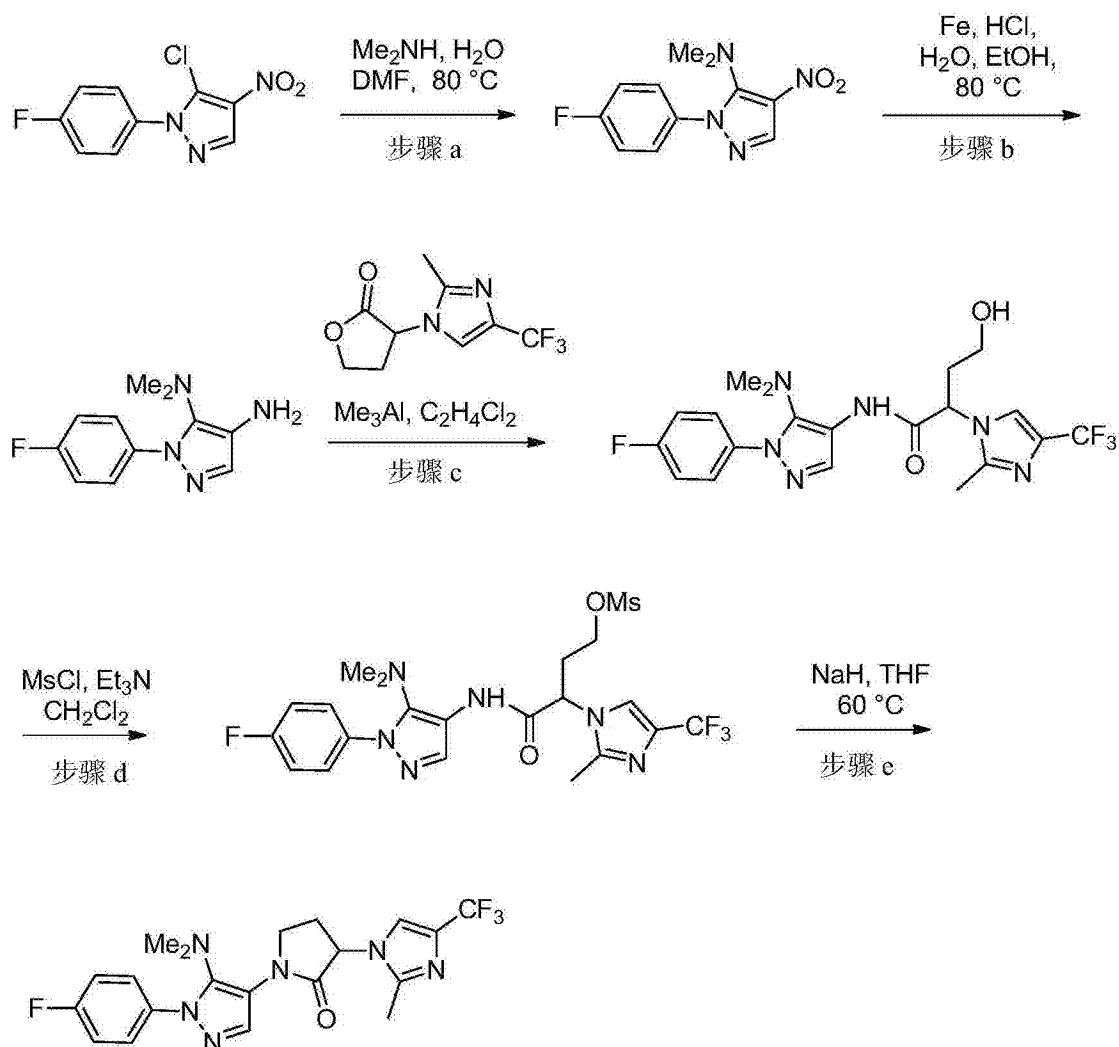
骤。

[0311] g) 在0℃,向1mL THF中的步骤f获得的粗残留物的溶液中加入NaH(0.019g, 0.46mmol)。室温5分钟后,在60℃加热混合物2小时。冷却到室温后,用20mL饱和碳酸氢钠水溶液和40mL EtOAc稀释反应混合物。随后分离有机层,用盐水洗涤,干燥(Na₂SO₄),过滤并真空浓缩。通过快速色谱(SiO₂,60%-100%EtOAc,己烷中)纯化得到标题化合物,为白色固体(0.026g,0.056mmol,8.4%,7个步骤)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.81(s,1H),7.70-7.61(m, 2H),7.20-7.14(m,2H),4.96(t,J=9.3Hz,1H),4.15(p,J=8.0Hz,1H),3.98(t,J=7.8Hz, 1H),3.89(q,J=7.8Hz,1H),2.93-2.80(m,1H),2.51(s,3H),2.41-2.26(m,1H),1.20(m, 6H)。MS:(ES)m/z计算C₁₉H₂₀F₄N₆O₁[M+H]⁺452.1,实测452.3。

[0312] 实施例30

[0313] 1-[1-(4-氟苯基)-5-二甲基氨基吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0314]



[0315] a) 将1mL DMF中的5-氯-1-(4-氟苯基)-4-硝基-吡唑(0.20g,0.8mmol)和二甲基胺(2M,水中,0.80mL,1.6mmol)的混合物在80℃加热2小时。冷却到室温后,用20mL水稀释反应混合物并用EtOAc萃取。随后用盐水洗涤有机层,干燥(Na₂SO₄),过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下一步骤。

[0316] b) 将1mL EtOH中的步骤a得到的粗产物、铁粉(0.14g, 2.5mmol)和100μL 6N HCl水溶液的混合物在80℃加热20分钟。冷却到室温后,用20mL饱和碳酸氢钠水溶液和40mL EtOAc稀释反应混合物。搅拌得到的悬浮液10分钟然后通过硅藻土过滤。分离有机层,用盐水洗涤,干燥(Na_2SO_4),过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下一步骤。

[0317] c) 在0℃,向1mL二氯乙烷中的步骤b得到的粗残留物(0.053g, 0.23mmol)和2,5-二[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]环戊酮(0.064g, 0.27mmol)的溶液中加入 Me_3Al (2N, 甲苯中, 130μL, 0.27mmol)。室温搅拌2小时后,用30mL饱和碳酸氢钠水溶液稀释反应混合物并用EtOAc萃取。随后用盐水洗涤有机层,干燥(Na_2SO_4),过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下一步骤。

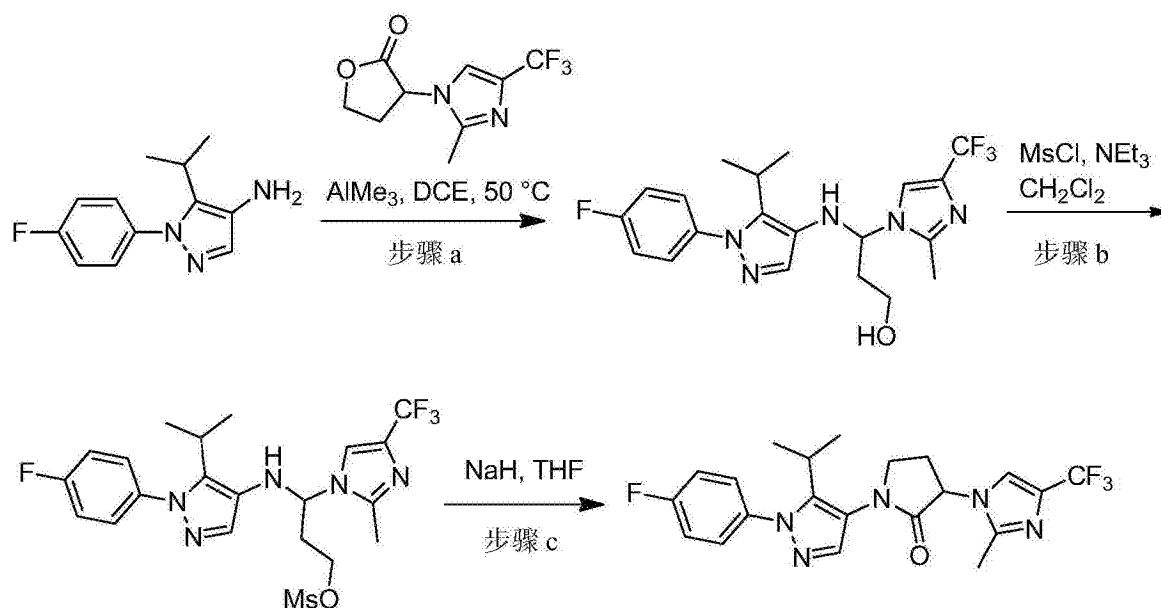
[0318] d) 向1mL CH_2Cl_2 中的步骤c得到的粗残留物和 Et_3N 的溶液中加入 MsCl (36μL, 0.46mmol)。室温搅拌2小时后,用20mL饱和碳酸氢钠水溶液和40mL EtOAc稀释反应混合物。随后分离有机层,用盐水洗涤,干燥(Na_2SO_4),过滤并真空浓缩。粗材料直接用于下一步骤。

[0319] e) 在0℃,向1mL THF中的步骤d得到的粗残留物的溶液中加入 NaH (0.019g, 0.46mmol)。室温5分钟后,在60℃加热混合物2小时。冷却到室温后,用20mL饱和碳酸氢钠水溶液和40mL EtOAc稀释反应混合物。随后分离有机层,用盐水洗涤,干燥(Na_2SO_4),过滤并真空浓缩。通过快速色谱(SiO_2 , 60%-100% EtOAc, 己烷中)纯化得到标题化合物,为白色固体(0.015g, 0.034mmol, 15%, 3个步骤)。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 7.62-7.58(m, 2H), 7.53(s, 1H), 7.23(s, 1H), 7.18-7.11(m, 2H), 4.98(t, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 4.12(q, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 3.94-3.78(m, 1H), 2.90-2.83(m, 1H), 2.66(s, 6H), 2.51(s, 1H), 2.39-2.33(m, 1H)。MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{F}_4\text{N}_6\text{O}_1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 437.2, 实测437.2。

[0320] 实施例31

[0321] 1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0322]



[0323] a) 在55℃加热1-(4-氟苯基)-5-异丙基-吡唑-4-胺(0.070g, 0.32mmol)、3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢呋喃-2-酮(0.070g, 0.30mmol)和 AlMe_3 (0.50mL,

1.0mmol, 2M/甲苯)的混合物1.5小时。然后将混合物冷却至室温,用氢氧化铵水溶液稀释并用EtOAc萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥,真空浓缩,并通过快速色谱(SiO_2 , 0~20%MeOH/ CH_2Cl_2 梯度洗脱)纯化从而得到3-[[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]氨基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]丙-1-醇(0.030g, 24%)。

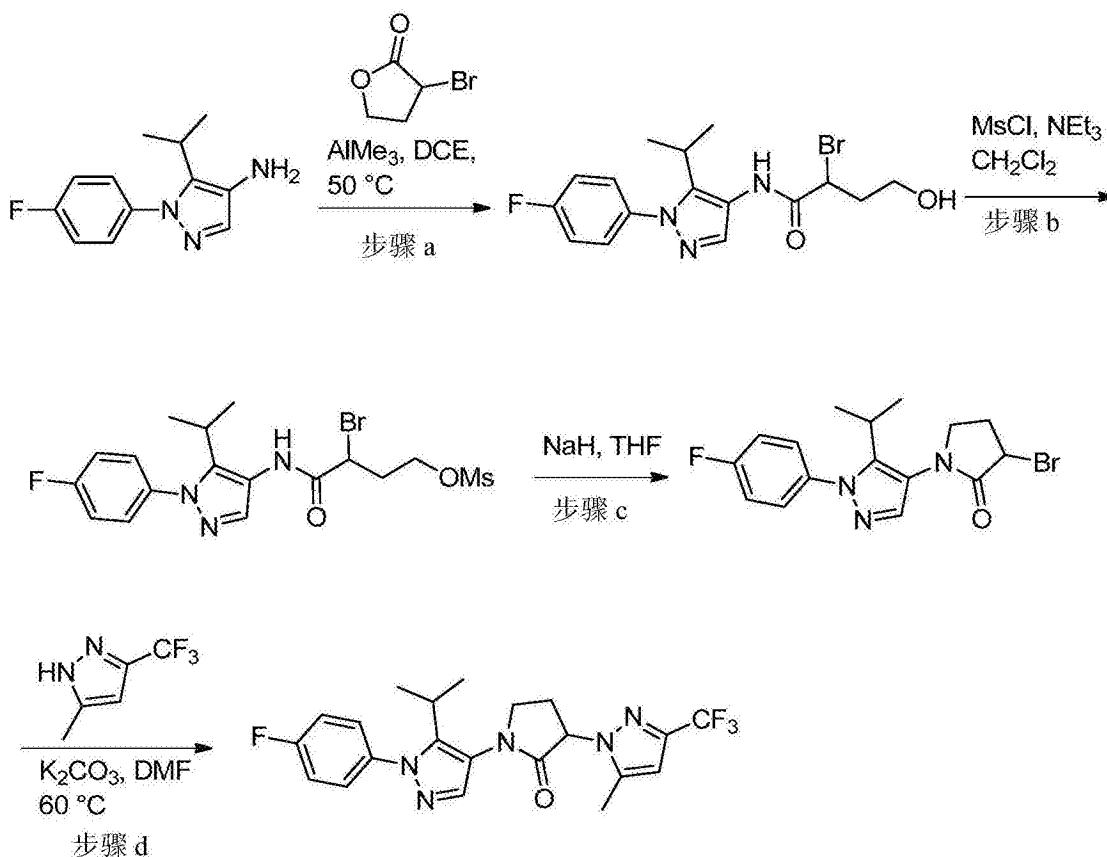
[0324] b) 室温搅拌 CH_2Cl_2 (2mL) 中的3-[[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]氨基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]丙-1-醇(0.030g, 0.070mmol)、甲磺酰氯(0.040mL, 0.51mmol)和 NEt_3 (0.10mL, 0.71mmol)的混合物10分钟。然后真空浓缩从而得到所需甲磺酸酯。

[0325] c) 室温搅拌上述甲磺酸酯(~0.070mmol)与NaH(0.050g, 1.25mmol, 60%矿物油中)在THF(4mL)的混合物10分钟。然后用 H_2O (20mL)淬灭并用EtOAc(50mL)萃取。在无水硫酸钠上干燥有机层,真空浓缩并通过反相HPLC(C18柱,含0.1%TFA的乙腈-水,作为洗脱液)纯化从而得到标题化合物(0.022g, 57%, TFA盐),为白色固体。 ^1H NMR(TFA盐)(400MHz, CDCl_3) δ 7.58(s, 1H), 7.39(dd, $J=8.4, 4.8\text{Hz}$, 2H), 7.28(s, 1H), 7.20(dd, $J=8.4, 8.4\text{Hz}$, 2H), 5.05(dd, $J=10.6, 9.0\text{Hz}$, 1H), 3.90(m, 1H), 3.82(dd, $J=9.0, 9.0\text{Hz}$, 1H), 3.01(七重峰, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 2.90(m, 1H), 2.60(s, 3H), 2.41(m, 1H), 1.222(d, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 1.218(d, $J=7.2\text{Hz}$, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{F}_4\text{N}_5\text{O}$ (游离形式) $[\text{M}+\text{H}]^+436.2$, 实测436.2。

[0326] 实施例32

[0327] 1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-3-[5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0328]



[0329] a) 在室温下搅拌DCE(50mL)中1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-胺(1.0g,

4.54mmol)、3-溴四氢呋喃-2-酮(0.462mL,5.0mmol)和AlMe₃(3.4mL,6.8mmol,2M,甲苯中)的混合物2小时,随后在50℃搅拌45分钟。然后将混合物冷却到室温,采用1N HCl(50mL)淬灭并用EtOAc(100mL)萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥,真空浓缩并通过快速色谱(SiO₂,0~100%EtOAc/CH₂Cl₂梯度洗脱)纯化从而得到2-溴-N-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-4-羟基-丁酰胺(1.38g,79%)。

[0330] b) 在0℃搅拌CH₂Cl₂(50mL)中的2-溴-N-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基-吡唑-4-基]-4-羟基-丁酰胺(1.38g,3.59mmol)、甲磺酰氯(0.36mL,4.65mmol)和NEt₃(0.75mL,5.35mmol)的混合物40分钟。然后用水(50mL)淬灭混合物,并用EtOAc(100mL)萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥并真空浓缩从而得到所需甲磺酸酯(1.65g,99%)。

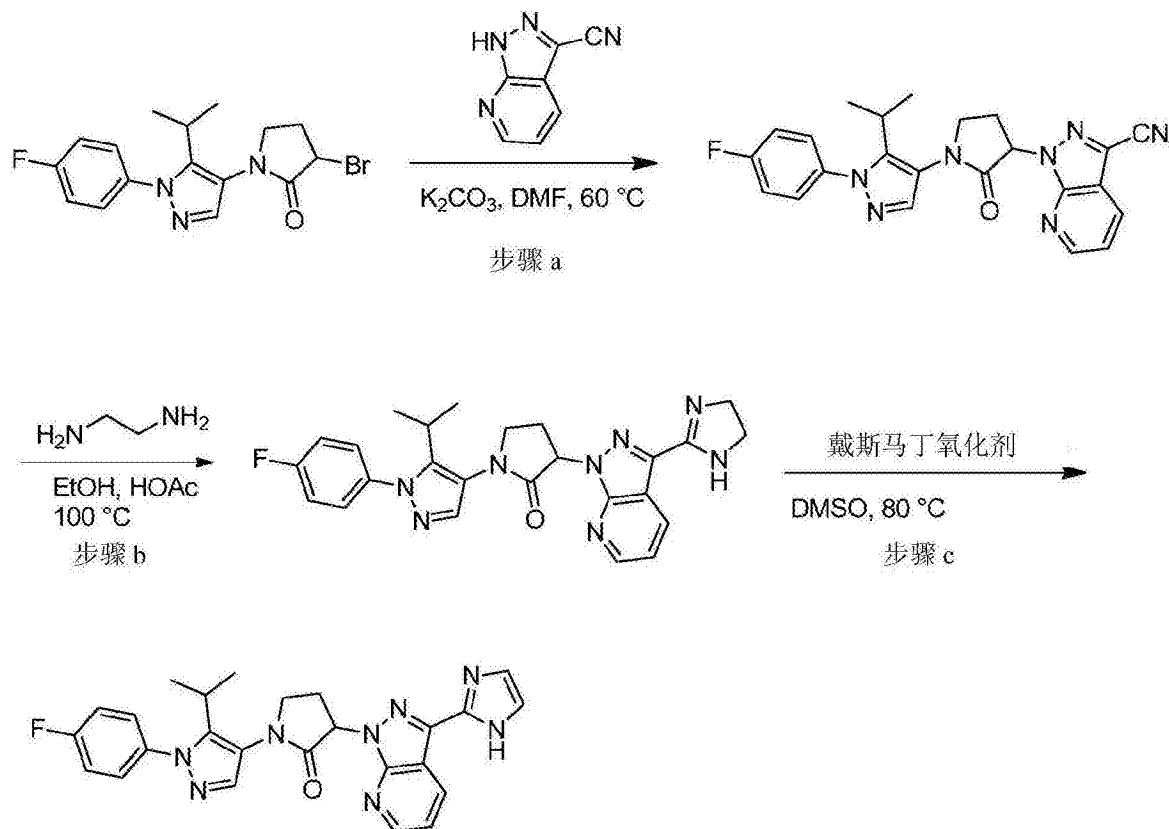
[0331] c) 在50℃搅拌THF(7mL)中的上述甲磺酸酯(0.350g,0.75mmol)和NaH(0.200g,5.0mmol,60%矿物油中)的混合物30分钟。然后冷却至室温,采用饱和NH₄Cl水溶液(50mL)淬灭并用EtOAc(50mL)萃取。在无水硫酸钠上干燥有机层,真空浓缩并通过快速色谱(SiO₂,0~80%EtOAc/CH₂Cl₂梯度洗脱)纯化从而得到3-溴-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮(0.160g,58%)

[0332] d) 在60℃搅拌DMF(1mL)中的3-溴-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮(0.023g,0.063mmol)、5-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑(0.040g,0.27mmol)和K₂CO₃(0.060g,0.43mmol)的混合物1小时。然后冷却到室温,用水(30mL)淬灭并用EtOAc(100mL)萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥,真空浓缩并通过快速色谱(SiO₂,0~100%EtOAc/己烷梯度洗脱)纯化从而得到标题化合物(0.022g,80%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.52(s,1H),7.37(dd,J=9.2,4.8Hz,2H),7.17(dd,J=8.6,8.6Hz,2H),6.32(s,1H),5.05(dd,J=9.2,5.6Hz,1H),4.07(m,1H),3.80(m,1H),2.84-3.02(m,2H),2.74(m,1H),2.45(s,3H),1.21(d,J=7.6Hz,3H),1.11(d,J=6.8Hz,3H);MS:(ES)m/z计算C₂₁H₂₁F₄N₅O[M+H]⁺436.1,实测436.1。

[0333] 实施例33

[0334] 1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-3-[3-(1H-咪唑-2-基)吡唑并[3,4-b]吡啶-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0335]



[0336] a) 在60℃搅拌DMF (2.5mL) 中的3-溴-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.080g, 0.22mmol), 1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-3-甲腈 (0.045g, 0.31mmol) 和K₂CO₃ (0.070g, 0.50mmol) 的混合物1小时。然后冷却到室温, 用水 (30mL) 淬灭并用EtOAc (100mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩并通过快速色谱 (SiO₂, 0~100% EtOAc/己烷梯度洗脱) 从而得到1-[1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基-吡唑-4-基]-2-氧代-吡咯烷-3-基]吡唑并[3,4-b]吡啶-3-甲腈 (0.085g, 88%)。

[0337] b) 在100℃搅拌乙烷-1,2-二胺 (1mL)、HOAc (0.1mL) 和EtOH中的1-[1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基-吡唑-4-基]-2-氧代-吡咯烷-3-基]吡唑并[3,4-b]吡啶-3-甲腈 (0.082g, 0.19mmol) (2.5mL) 的混合物1小时。然后将混合物冷却到室温, 用饱和NaHCO₃水溶液 (50mL) 淬灭并用EtOAc (100mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩从而得到3-[3-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)吡唑并[3,4-b]吡啶-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.085g, 94%)。

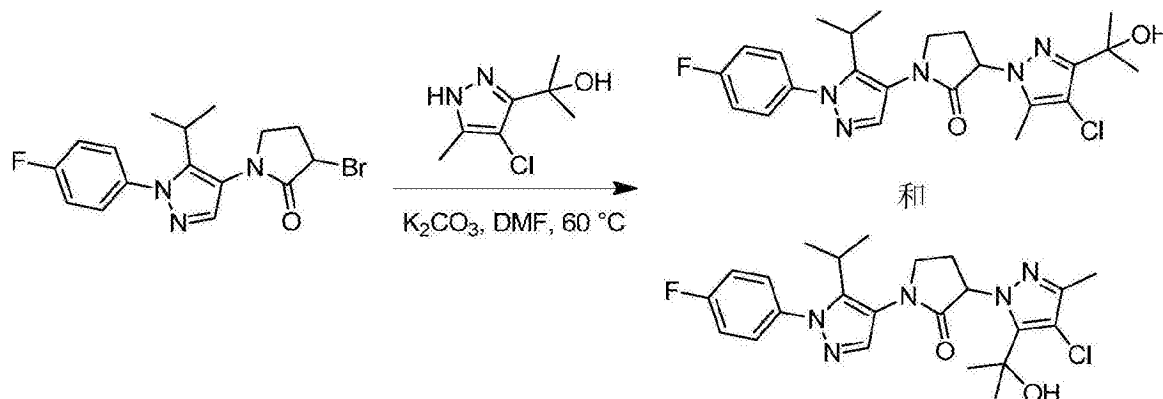
[0338] c) 在80℃搅拌DMSO (2.5mL) 中的3-[3-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)吡唑并[3,4-b]吡啶-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.085g, 0.18mmol) 和戴斯马丁氧化剂 (0.153g, 0.36mmol) 的混合物1小时。然后冷却到室温, 用饱和NaHCO₃水溶液 (50mL) 淬灭并用EtOAc (50mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩并通过快速色谱 (SiO₂, 0~7% MeOH/EtOAc梯度洗脱) 纯化从而得到标题化合物 (0.070g, 82%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 10.42 (s, 1H, br), 8.74 (dd, J=8.4, 1.6Hz, 1H), 8.54 (dd, J=4.8, 1.6Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.40 (dd, J=6.8, 4.6Hz, 2H), 7.23 (m, 1H), 7.18 (dd, J=8.6Hz, 2H), 6.94 (s, 1H, br), 5.94 (dd, J=9.2, 9.2Hz, 1H), 3.94 (m, 3H), 3.07 (七重峰, J=6.8, 1H),

2.75-2.95 (m, 2H), 1.33 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 3H), 1.28 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{FN}_8\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 471.2, 实测471.2.

[0339] 实施例34

[0340] 3-[4-氯-3-(1-羟基-1-甲基乙基)-5-甲基-吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮和3-[4-氯-5-(1-羟基-1-甲基乙基)-3-甲基-吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0341]

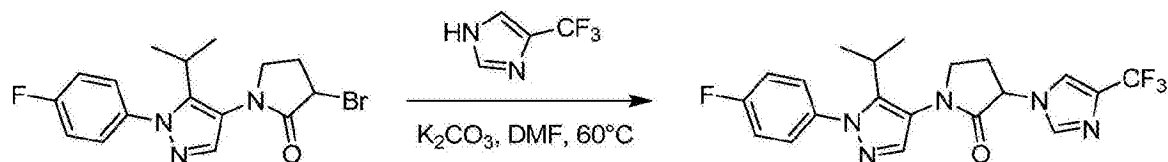


[0342] 在60℃搅拌DMF (1.5mL) 中的3-溴-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.045g, 0.20mmol)、2-(4-氯-5-甲基-1H-吡唑-3-基) 异丙-2-醇 (0.070g, 0.40mmol) 和 K_2CO_3 (0.05g, 0.40mmol) 的混合物1小时。然后冷却到室温, 用水 (30mL) 淬灭并用 EtOAc (50mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩并通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化从而获得两个纯馏分。第一馏分对应3-[4-氯-3-(1-羟基-1-甲基乙基)-5-甲基吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.012g, 13%)。第二馏分对应3-[4-氯-5-(1-羟基-1-甲基乙基)-3-甲基吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.012g, 13%)。3-[4-氯-3-(1-羟基-1-甲基乙基)-5-甲基吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 7.59 (s, 1H), 7.38 (dd, $J=9.0, 4.8\text{Hz}$, 2H), 7.19 (dd, $J=8.4, 8.4\text{Hz}$, 2H), 5.02 (dd, $J=9.6, 7.2\text{Hz}$, 1H), 4.68 (s, 1H, br), 3.98 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 2.97 (七重峰, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 2.85 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.59 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 6H), 1.24 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 1.16 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 3H); 3-[4-氯-5-(1-羟基-1-甲基乙基)-3-甲基吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 7.54 (s, 1H), 7.36 (dd, $J=8.8, 4.4\text{Hz}$, 2H), 7.17 (dd, $J=8.6, 8.6\text{Hz}$, 2H), 6.13 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 2.91 (七重峰, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 2.88 (s, 1H, br), 2.65 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 1.79 (s, 3H), 1.62 (s, 3H), 1.14 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 3H), 1.03 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 3H); MS (两化合物等值): (ES) m/z 计算 $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{ClFN}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 460.2, 实测460.2.

[0343] 实施例35

[0344] 1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-3-[4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

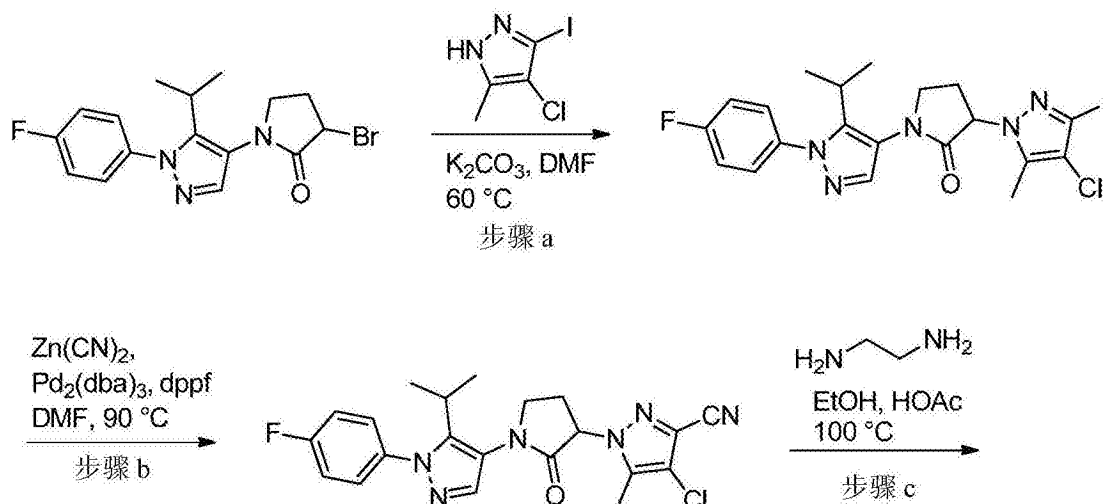
[0345]



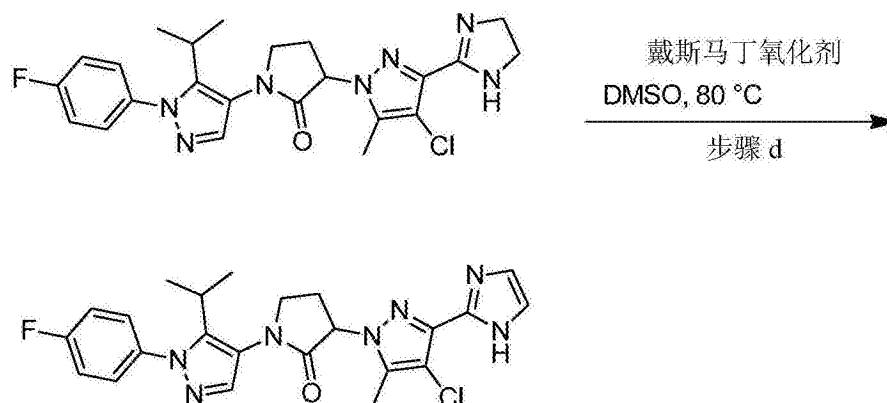
[0346] 在 $60^\circ C$ 搅拌DMF (0.6mL) 中的3-溴-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基-吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.020g, 0.055mmol)、4-(三氟甲基)-1H-咪唑 (0.024g, 0.17mmol) 和 K_2CO_3 (0.030g, 0.22mmol) 的混合物1小时。然后将混合物冷却到室温, 用水 (30mL) 淬灭并用EtOAc (50mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩并通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化从而获得标题化合物 (0.022g, TFA盐, 75%); 1H NMR (TFA盐) (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.98 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.39 (dd, $J=8.4, 4.8$ Hz, 2H), 7.20 (dd, $J=8.6, 8.6$ Hz, 2H), 5.06 (dd, $J=10.8, 8.8$ Hz, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 2.98 (m, 2H), 2.54 (m, 1H), 1.21 (d, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.20 (d, $J=7.2$ Hz, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $C_{20}H_{19}F_4N_5O$ (游离形式) $[M+H]^+$ 422.1, 实测422.1.

[0347] 实施例36

[0348] 3-[4-氯-3-(1H-咪唑-2-基)-5-甲基吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成



[0349]



[0350] a) 在60℃搅拌DMF (1.5mL) 中的3-溴-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.055g, 0.15mmol), (0.055g, 0.23mmol) 和K₂CO₃ (0.042g, 0.30mmol) 的混合物1小时。然后将混合物冷却到室温, 用水 (30mL) 淬灭并用EtOAc (50mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩并通过快速色谱 (SiO₂, 0~100% EtOAc/CH₂Cl₂ 梯度洗脱) 纯化从而得到3-(4-氯-3-碘-5-甲基吡唑-1-基)-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.057g, 72%)。

[0351] b) 在氮气气氛下, 在85℃加热DMF (2mL) 中的3-(4-氯-3-碘-5-甲基吡唑-1-基)-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.057g, 0.11mmol)、Zn(CN)₂ (0.025g, 0.21mmol)、Pd₂(dba)₃ (0.010g, 0.011mmol) 和dppf (0.009g, 0.016mmol) 的混合物1小时。然后将混合物冷却到室温, 用饱和NaHCO₃ (30mL) 淬灭并用EtOAc (50mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩并通过快速色谱 (SiO₂, 0~100% EtOAc/CH₂Cl₂ 梯度洗脱) 纯化从而得到4-氯-1-[1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-2-氧代-吡咯烷-3-基]-5-甲基吡唑-3-甲腈 (0.042g, 92%)。

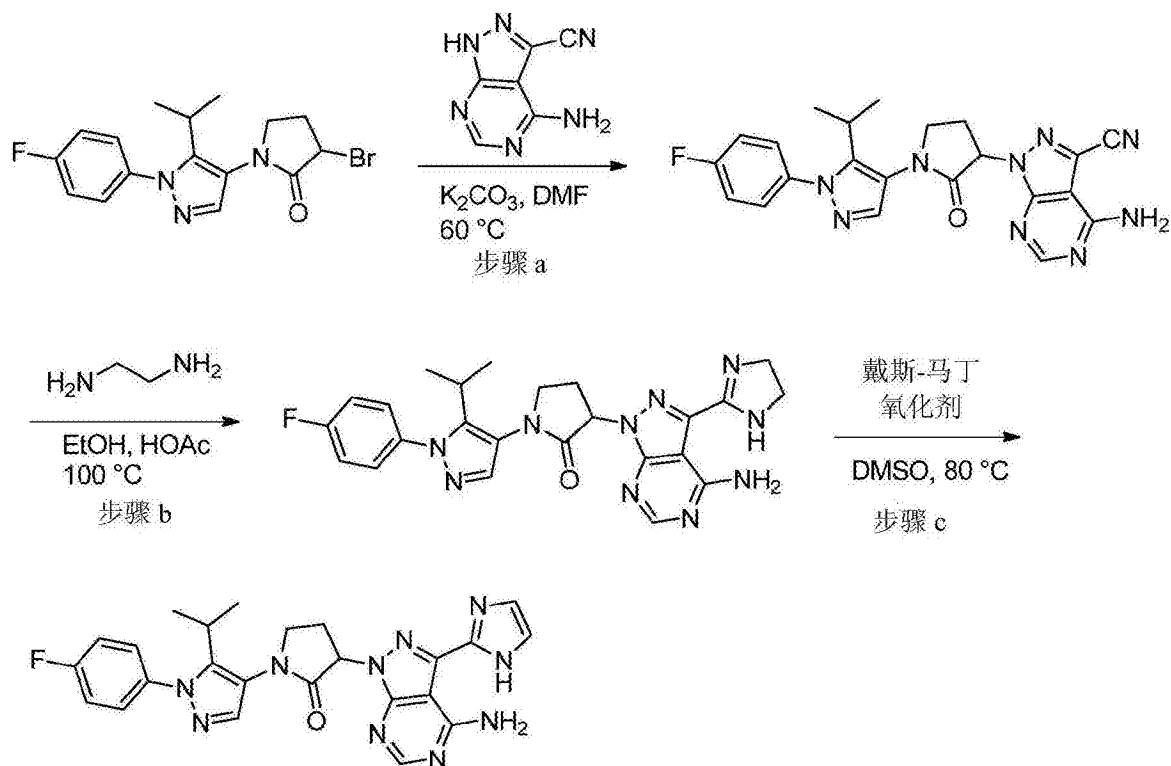
[0352] c) 在100℃搅拌乙烷-1,2-二胺 (1.5mL) 中的4-氯-1-[1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-2-氧代-吡咯烷-3-基]-5-甲基吡唑-3-甲腈 (0.042g, 0.10mmol)、HOAc (0.23mL) 和EtOH (1.25mL) 的混合物2.5小时。然后将混合物冷却到室温, 用饱和NaHCO₃水溶液 (50mL) 淬灭并用EtOAc (100mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩从而得到3-[4-氯-3-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)-5-甲基吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.041g, 87%)。

[0353] d) 在80℃搅拌DMSO (2.0mL) 中的3-[4-氯-3-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)-5-甲基吡唑-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.041g, 0.087mmol) 和戴斯-马丁氧化剂 (0.150g, 0.35mmol) 的混合物1.5小时。然后将混合物冷却到室温, 用饱和NaHCO₃水溶液 (50mL) 淬灭并用EtOAc (50mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩并通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化从而获得标题化合物 (0.025g, TFA盐, 50%)。 ¹H NMR (TFA盐) (400MHz, CDCl₃) δ 7.62 (s, 1H), 7.35 (dd, J=8.4, 4.8Hz, 2H), 7.16 (m, 4H), 5.15 (dd, J=8.6, 8.6Hz, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.97 (七重峰, J=7.0Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.70 (m, 1H), 1.18 (d, J=6.8Hz, 3H), 1.14 (d, J=6.8Hz, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₃H₂₃ClFN₇O (游离形式) [M+H]⁺ 468.1, 实测468.1。

[0354] 实施例37

[0355] 3-[4-氨基-3-(1H-咪唑-2-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0356]



[0357] a) 在60℃搅拌DMF (2.0mL) 中的3-溴-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.055g, 0.15mmol)、4-氨基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-甲腈 (0.050g, 0.31mmol) 和K₂CO₃ (0.050g, 0.36mmol) 的混合物1小时。然后将混合物冷却到室温,用水 (30mL) 淬灭并用IPA:CHCl₃ (1:2v/v, 100mL) 萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥,真空浓缩并通过快速色谱 (SiO₂, 0~10% MeOH/EtOAc 梯度洗脱) 纯化从而得到4-氨基-1-[1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-2-氧代-吡咯烷-3-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-甲腈 (0.055g, 82%)。

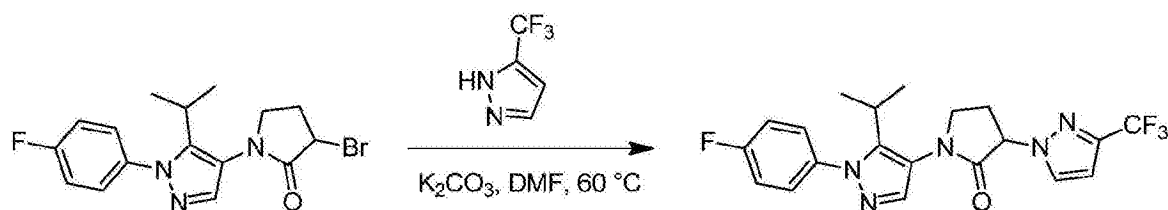
[0358] b) 在100℃搅拌乙烷-1,2-二胺 (1.5mL)、HOAc (0.23mL) 和EtOH (2.0mL) 中的4-氨基-1-[1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-2-氧代-吡咯烷-3-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-3-甲腈 (0.055g, 0.12mmol) 的混合物45分钟。然后将混合物冷却到室温,用饱和NaHCO₃水溶液 (50mL) 淬灭并用IPA:CHCl₃ (1:2v/v, 100mL) 萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥,真空浓缩从而得到3-[4-氨基-3-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.057g, 97%)。

[0359] c) 在80℃搅拌DMSO (3mL) 中的3-[4-氨基-3-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.057g, 0.12mmol) 和戴斯-马丁氧化剂 (0.100g, 0.23mmol) 的混合物45分钟。然后将混合物冷却到室温,用饱和NaHCO₃水溶液 (50mL) 淬灭并用EtOAc (50mL) 萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥,真空浓缩并通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化从而获得标题化合物 (0.035g, TFA盐, 48%)。¹H NMR (TFA盐) (400MHz, CDCl₃) δ 11.96 (s, 1H), 11.12 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.40 (dd, J=8.8, 4.4Hz, 2H), 7.20 (dd, J=8.6, 8.6Hz, 1H), 7.05 (s, 2H, br), 5.74 (dd, J=9.2, 9.2Hz, 1H), 3.94 (dd, J=8.4, 4.4Hz, 2H), 3.05 (m, 1H), 3.07 (七重峰, J=7.0Hz, 1H), 2.87 (m, 2H), 1.31 (d, J=6.8Hz, 3H), 1.27 (d, J=6.8Hz, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₄H₂₃FN₁₀O (游离形式) [M+H]⁺ 487.2, 实测487.2。

[0360] 实施例38

[0361] 1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-3-[3-(三氟甲基)吡唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0362]

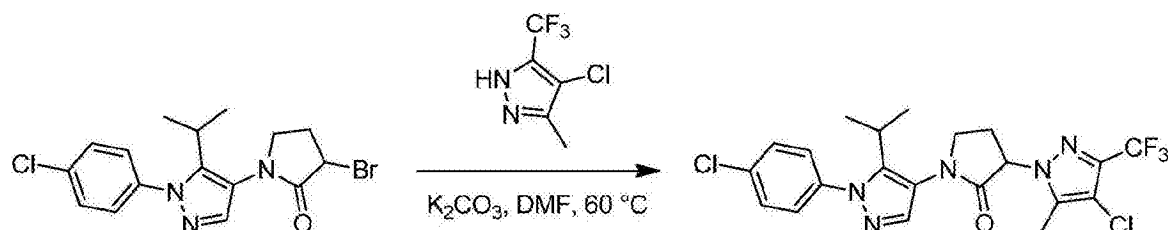


[0363] 在60℃搅拌DMF (0.5mL) 中的3-溴-1-[1-(4-氟苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.015g, 0.041mmol)、5-(三氟甲基)-1H-吡唑 (0.030g, 0.22mmol) 和K₂CO₃ (0.030g, 0.22mmol) 的混合物40分钟。然后将混合物冷却到室温,用水 (30mL) 淬灭并用EtOAc (50mL) 萃取,通过反相HPLC (C18柱,含0.1%TFA的乙腈-水,作为洗脱液) 纯化从而获得标题化合物 (0.014g, 81%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.70 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.38 (dd, J=8.8, 4.8Hz, 2H), 7.18 (dd, J=8.4, 8.4Hz, 2H), 6.58 (d, J=2.4Hz, 1H), 5.07 (dd, J=8.8, 7.2Hz, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 2.97 (七重峰, J=7.6Hz, 1H), 2.84 (m, 2H), 1.20 (d, J=7.2Hz, 3H), 1.12 (d, J=7.2Hz, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₀H₁₉F₄N₅O [M+H]⁺ 422.1, 实测422.1。

[0364] 实施例39

[0365] 3-[4-氯-5-甲基-3-(三氟甲基)吡唑-1-基]-1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0366]

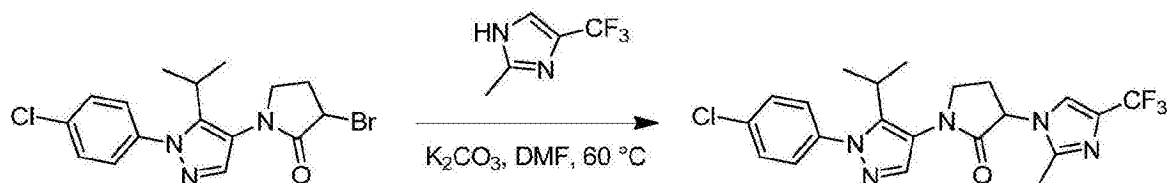


[0367] 在60℃搅拌DMF (0.8mL) 中的3-溴-1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.035g, 0.095mmol)、4-氯-3-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡唑 (0.050g, 0.27mmol) 和K₂CO₃ (0.050g, 0.36mmol) 的混合物40分钟。然后将混合物冷却到室温,用水 (30mL) 淬灭并用EtOAc (50mL) 萃取,通过反相HPLC (C18柱,含0.1%TFA的乙腈-水,作为洗脱液) 纯化从而获得标题化合物 (0.036g, 78%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.57 (s, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.34 (m, 2H), 5.05 (dd, J=9.2, 6.0Hz, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 2.99 (七重峰, J=6.8Hz, 1H), 2.87 (m, 1H), 2.76 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 1.22 (d, J=7.2Hz, 3H), 1.12 (d, J=7.2Hz, 3H); MS: (ES) m/z 计算C₂₁H₂₀Cl₂F₃N₅O [M+H]⁺ 486.1, 实测486.1。

[0368] 实施例40

[0369] 1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0370]

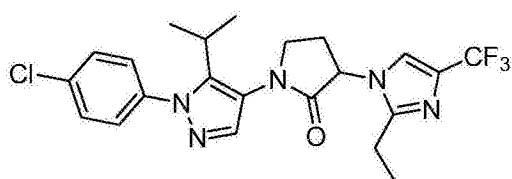
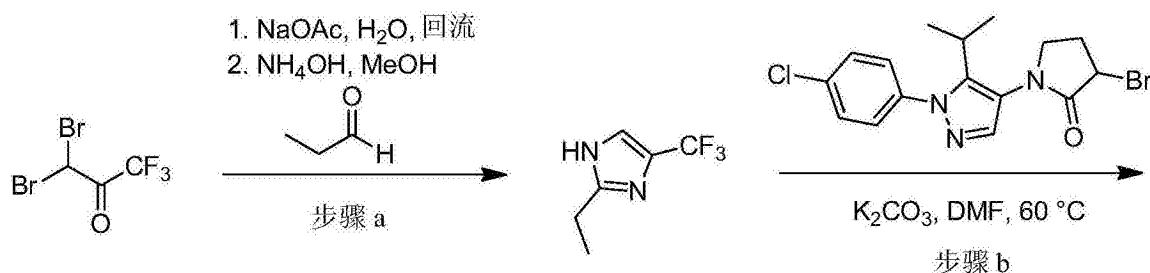


[0371] 在65℃搅拌DMF (1.8mL) 中的3-溴-1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.110g, 0.29mmol)、2-甲基-4-(三氟甲基)-1H-咪唑 (0.080g, 0.53mmol) 和 K_2CO_3 (0.080g, 0.58mmol) 的混合物2小时。然后将混合物冷却到室温, 用水 (30mL) 淬灭并用EtOAc (50mL) 萃取, 通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化从而获得标题化合物 (0.035g, TFA盐, 21%)。 1H NMR (TFA盐) (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.58 (s, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.35 (m, 2H), 7.27 (s, 1H), 5.03 (dd, $J=10.4, 8.8$ Hz, 1H), 3.89 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.04 (七重峰, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.88 (m, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.40 (m, 1H), 1.23 (m, 6H); MS: (ES) m/z 计算 $C_{21}H_{21}ClF_3N_5O$ $[M+H]^+$ 452.1, 实测452.1。

[0372] 实施例41

[0373] 1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]-3-[2-乙基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0374]



[0375] a) 3,3-二溴-1,1,1-三氟-丙-2-酮 (5.40g, 20mmol) 和乙酸钠三水合物 (5.44g, 40mmol) 在水 (40mL) 中的混合物回流30分钟, 然后冷却到室温。将丙醛 (1.04g, 18mmol) 和浓氢氧化铵 (1.2mL) 在MeOH (100mL) 中的溶液缓慢加入到上述混合物。室温搅拌得到的混合物3天, 然后真空浓缩混合物并用IPA: $CHCl_3$ (1:2v/v, 200mL) 萃取。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩并通过快速色谱 (SiO_2 , 0~6% MeOH/EtOAc 和 0~0.6% NH_4OH 梯度洗脱) 纯化从而得到2-乙基-4-(三氟甲基)-1H-咪唑 (0.070g, 2.3%)。

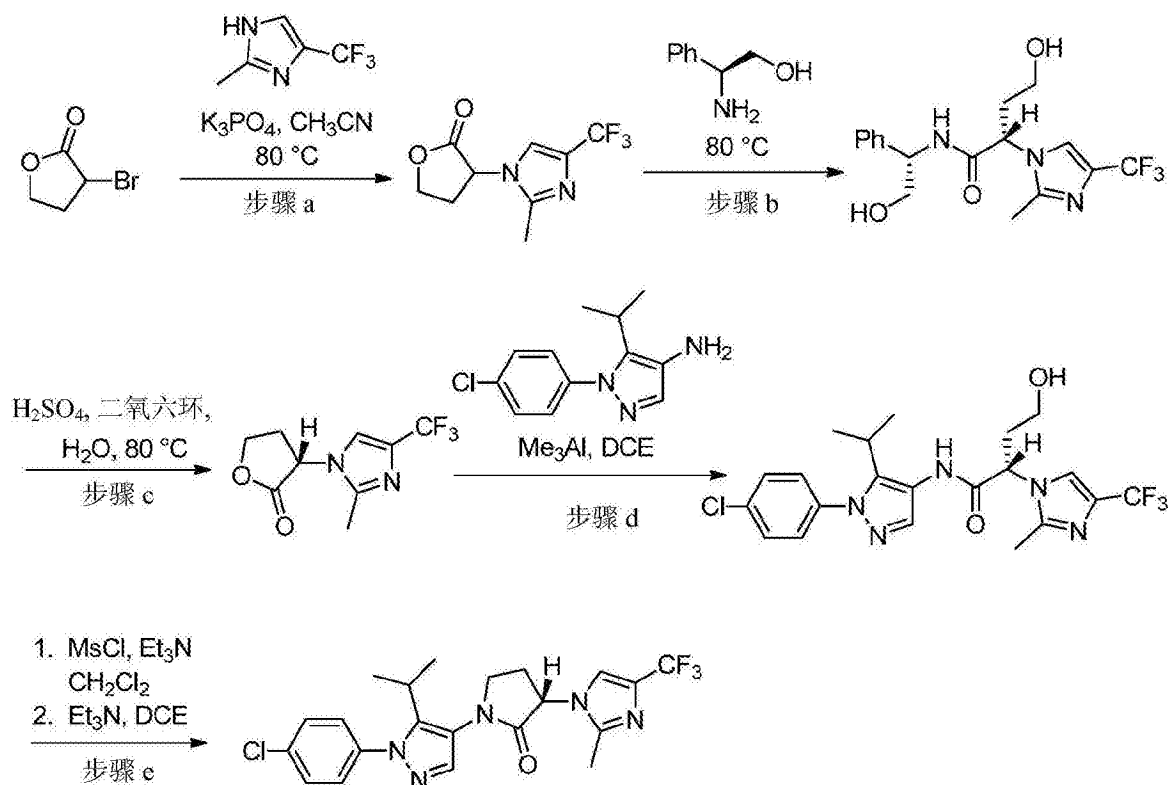
[0376] b) 在65℃搅拌DMF (1.5mL) 中的3-溴-1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基吡唑-4-基]吡咯烷-2-酮 (0.200g, 0.52mmol)、2-乙基-4-(三氟甲基)-1H-咪唑 (0.060g, 0.36mmol) 和 K_2CO_3 (0.080g, 0.58mmol) 的混合物1.5小时。然后将混合物冷却到室温, 用水 (30mL) 淬灭并用

EtOAc (50mL) 萃取, 并通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化从而获得标题化合物 (0.0022g, TFA盐, 1.0%)。 ^1H NMR (TFA盐) (400MHz, CDCl_3) δ 7.58 (s, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.35 (m, 2H), 7.21 (s, 1H), 5.03 (dd, $J=10.4, 8.8\text{Hz}$, 1H), 3.88 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.03 (七重峰, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 2.88 (m, 2H), 2.30 (m, 2H), 1.40 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H), 1.23 (m, 6H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 466.1, 实测 466.1。

[0377] 实施例42

[0378] (S)-1-(1-(4-氯苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-4-基)-3-(2-甲基-4-(三氟甲基)-1H-咪唑-1-基)吡咯烷-2-酮和(R)-1-(1-(4-氯苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-4-基)-3-(2-甲基-4-(三氟甲基)-1H-咪唑-1-基)吡咯烷-2-酮的合成

[0379]



[0380] a) 向乙腈 (60mL) 中的 α -溴- γ -戊内酯 (19.8g, 120mmol) 和 2-甲基-4-(三氟甲基)-1H-咪唑 (4.50g, 30mmol) 的溶液中加入 K_3PO_4 (19.1g, 90mmol)。将浆液加热至 80°C 2天, 然后冷却到室温, 用 EtOAc (200mL) 稀释, 通过硅藻土过滤并浓缩。通过快速色谱 (SiO_2 , 0-3.5% 甲醇/ CH_2Cl_2) 纯化残留物从而得到产物, 为糊状无色固体。

[0381] b) 在 80°C 搅拌步骤a得到的内酯中间体 (700mg, 5.1mmol) 和 (S)-苯基乙醇胺 (1.09g, 4.64mmol) 的混合物18小时, 冷却到室温, 通过快速色谱 (SiO_2 , 0.5-2% 甲醇/EtOAc) 纯化从而得到两非对映异构产物, 为无色泡沫。以非对映异构比例 (diastereomeric ratio) 99:1 (^1H NMR) 获得第一洗脱异构体 (310mg) 并以非对映异构比例 11:1 (^1H NMR) 获得第二洗脱异构体 (200mg)。各非对映异构体独立进行步骤c和d。

[0382] c) 向二氧六环 (2mL) 中的步骤b获得的产物 (186mg, 0.5mmol) 的混合物中加入 6M H_2SO_4 (1.25mL, 7.5mmol)。在 80°C 加热得到的浆液1小时, 冷却到室温并通过反相HPLC (C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化, 中和得到的内酯·TFA盐从而获得无色固体。

(53mg, 0.23mmol), 不需进一步纯化被使用。

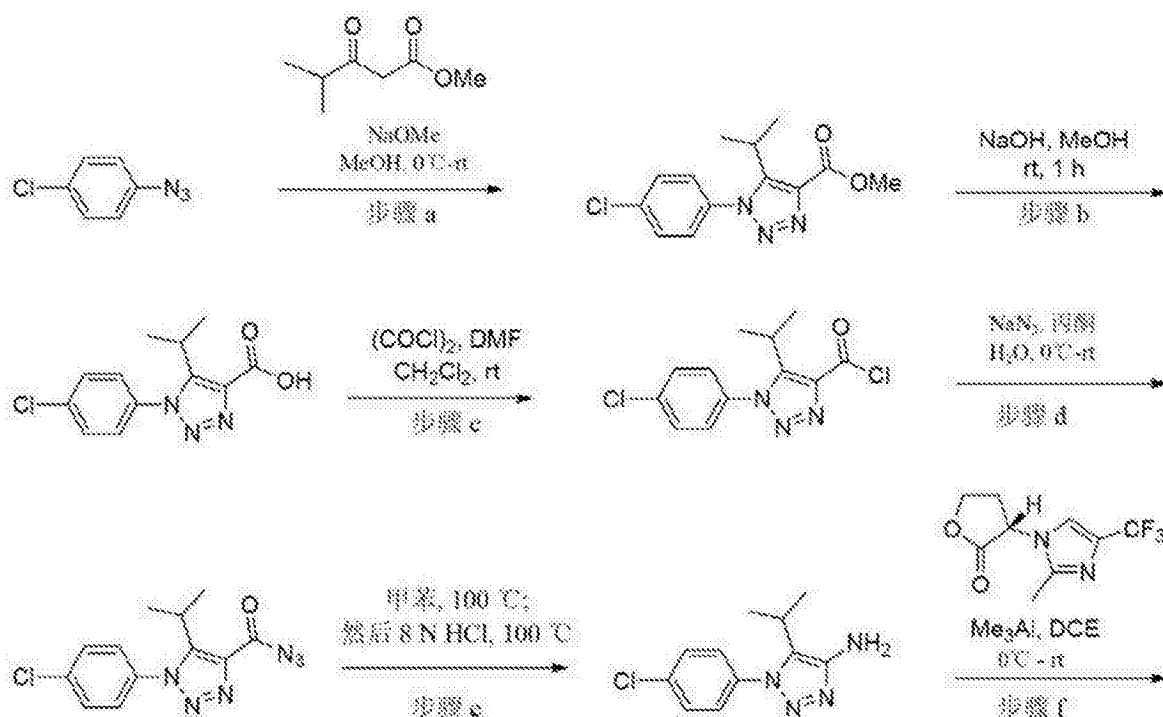
[0383] d) 室温采用 AlMe_3 (2M 溶液, 甲苯中, 210 μL , 0.42mmol) 处理 1, 2-二氯乙烷 (1mL) 中的步骤 c 获得的内酯产物和 1-(4-氯苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-4-胺 (50mg, 0.21mmol) 的混合物 30 分钟。采用饱和 NH_4Cl (5mL) 淬灭反应并用 EtOAc ($3 \times 3\text{mL}$) 萃取。在硫酸镁上干燥有机层, 过滤, 浓缩并通过快速色谱 (SiO_2 , 0-100% $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) 纯化从而得到所需产物 (50mg, 0.1mmol, 50% 产率)。

[0384] e) 室温采用 Et_3N (40 μL , 0.29mmol) 和甲磺酰氯 (20 μL , 0.23mmol) 处理二氯甲烷 (0.5mL) 中的步骤 d 的产物 (50mg, 0.1mmol) 30 分钟。然后用 1, 2-二氯乙烷 (1mL) 稀释混合物并用水洗涤 (1mL)。在硫酸钠上干燥有机层并过滤。向滤液中加入三乙胺 (100 μL , 0.7mmol), 然后在 65 $^\circ\text{C}$ 搅拌混合物 90 分钟, 浓缩并通过反相 HPLC (C_{18} 柱, 含 0.1% TFA 的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化。中和得到的 TFA 盐从而获得标题化合物 (19mg, 0.041mmol), 为白色固体。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.55 (s, 1H), 7.48 (d, $J=8.6$, 2H), 7.36 (d, $J=8.6$, 2H), 7.22 (d, $J=0.8\text{Hz}$, 1H), 5.07 (dd, $J=10.5, 8.9\text{Hz}$, 1H), 3.91-3.77 (m, 2H), 3.05 (七重峰, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 2.90-2.82 (m, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.42-2.31 (m, 1H), 1.24 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 3H), 1.23 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 3H); MS: (ES) m/z 计算 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 452.1, 实测 451.9。通过手性正相色谱分析标题化合物 (Regis Cell cat#784104, 25cm $\times$ 4.6mm, 5微米; 洗脱液: 0.1% 二乙基胺/IPA, 0.6ml/min)。由步骤 b 第一洗脱非对映体生成的 (S)-对映异构体的保留时间为 6.8min (以 8:1 分离)。由步骤 b 第二洗脱非对映体生成的 (R)-对映异构体的保留时间为 7.3min (以 78:1 分离)。

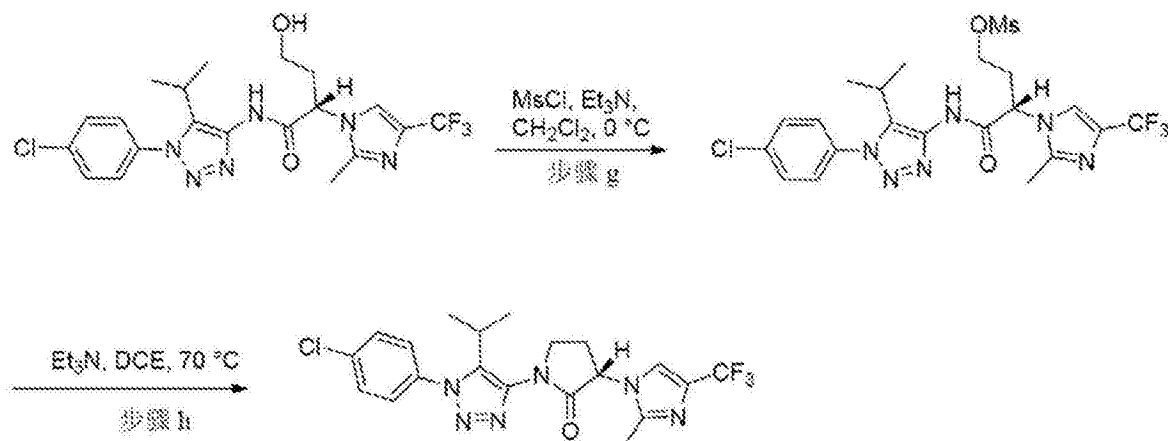
[0385] 实施例 43

[0386] (3S)-1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮和 (3R)-1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0387]



[0388]



[0389] a) 在氮气气氛下向MeOH (10mL) 中的4-甲基-3-氧代-戊酸甲酯 (1.72g, 12mmol) 的冷却溶液 (0℃) 中加入NaOMe (2.6g, 25wt% 溶液, MeOH中, 12mmol) 和1-叠氮-4-氯-苯 (0.5M, MTBE中, 20mL, 10mmol)。室温搅拌混合物过夜, 真空去除MTBE从而得到粗的酯。

[0390] b) 室温向粗的酯中加入MeOH (5mL) 和5N NaOH (5mL), 搅拌得到的反应混合物一小时。真空去除MeOH后, 在冰浴中冷却水性残留物, 缓慢加入12N HCl水溶液直到pH为2, 此时产生黄色固体。然后过滤收集黄色固体并溶于EtOAc (50mL)。然后真空缓慢去除EtOAc, 将结束时, 白色自由流动固体开始形成。在该点, 用Et₂O (100mL) 稀释从而进一步沉淀出白色晶体, 通过过滤收集从而得到1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-羧酸 (830mg, 3.13mmol, 31% 产率)。

[0391] c) 向二氯甲烷 (3mL) 中的1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-羧酸 (830mg, 3.13mmol) 的冷却的溶液 (0℃) 中加入DMF (50μL), 随后滴加草酰氯 (546μL, 6.26mmol)。5分钟后, 去除冰浴, 室温搅拌混合物1小时。真空去除CH₂Cl₂从而得到1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-甲酰氯, 为白色固体, 其不需进一步纯化用于下一步骤。

[0392] d) 将叠氮化钠 (610mg, 在2.5mL水中, 9.39mmol) 加入到冷却 (0℃) 的1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-甲酰氯的丙酮 (7.5mL) 溶液中。室温搅拌得到的混合物30分钟, 用CH₂Cl₂ (100mL) 稀释, 用水 (50mL) 和盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 真空浓缩从而得到粗1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-羰基叠氮化物 (777mg), 其不需进一步纯化用于下一步骤。

[0393] e) 在100℃搅拌1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-羰基叠氮化物 (777mg, 2.67mmol) 的甲苯 (12mL) 溶液1.5小时。然后加入HCl水溶液 (8M, 2.5mL), 在100℃搅拌混合物1小时, 冷却到室温, 用EtOAc (75mL) 稀释。然后缓慢加入饱和碳酸氢钠水溶液直到pH为8。干燥 (MgSO₄) 有机层, 真空浓缩, 用Et₂O (50mL) 处理从而破坏不期望的“脲副产物”, 该副产物通过过去去除。真空浓缩滤液从而得到1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-胺 (497mg), 其不需进一步纯化用于下一步骤。

[0394] f) 在0℃, 向(3S)-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢呋喃-2-酮 (460mg, 2.1mmol) 和1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-胺 (497mg, 2.1mmol) 的1,2-二氯乙烷 (15mL) 溶液中加入Me₃Al (2M, 甲苯中, 1.6mL, 3.15mmol)。然后室温搅拌混合物过夜, 再冷却至0℃, 采用2N HCl (3mL) 淬灭并用饱和NaHCO₃水溶液 (25mL) 中和。加入EtOAc (100mL), 轻轻搅拌混合物。收集有机层并用盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄) 并真空浓缩。通过自动快速色谱 (SiO₂,

25%MeOH,CH₂Cl₂中)纯化获得粗产物从而得到(2S)-N-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-基]-4-羟基-2-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]丁酰胺(274mg,28%产率)。

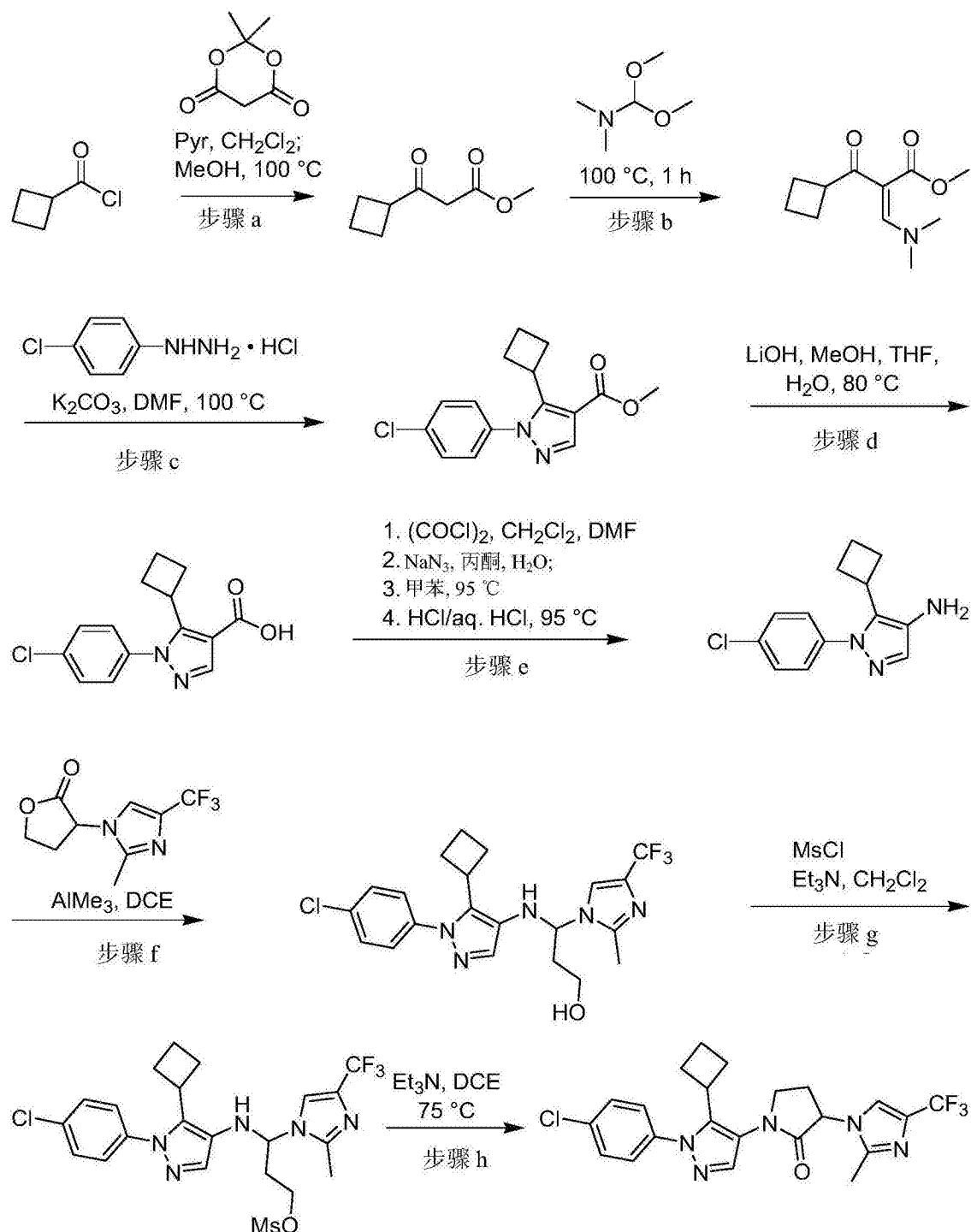
[0395] g)向冷却的(0℃)(2S)-N-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-基]-4-羟基-2-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]丁酰胺(274mg,0.583mmol)的二氯甲烷(5mL)的溶液中加入Et₃N(162μL,1.17mmol),随后滴加MsCl(60μL,0.728mmol)。在<10℃搅拌得到的溶液30分钟,然后用CH₂Cl₂(50mL)稀释,用饱和NH₄Cl水溶液(30mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并真空浓缩从而得到350mg粗的[(3S)-4-[[1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-基]氨基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]-4-氧代-丁基]甲磺酸酯,为黄色泡沫,其不需任何进一步纯化用于下一步骤。

[0396] h)在70℃用Et₃N(500μL,3.6mmol)处理1,2-二氯乙烷(7mL)中的[(3S)-4-[[1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-基]氨基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]-4-氧代-丁基]甲磺酸酯(350mg,0.607mmol)3小时。冷却到室温后,直接通过快速色谱(SiO₂,EtOAc,CH₂Cl₂中)然后通过制备反相HPLC(C18柱,含0.1%TFA的乙腈-水,作为洗脱液)纯化混合物从而得到(3S)-1-[1-(4-氯苯基)-5-异丙基-三唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮,为白色粉末,为TFA盐(135mg,49%产率)。¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ 7.71(s,1H),7.67(d,2H,J=8Hz),7.55(d,2H,J=8Hz),5.51(t,J=19,9Hz,1H),4.11-3.90(m,2H),3.18-3.02(m,1H),2.92(dddd,J=12.7,8.6,6.7,1.5Hz,1H),2.74-2.59(m,1H),2.50(s,3H),1.21(ddd,J=7.0,2.1,0.6Hz,6H);MS:(ES)m/z计算C₂₂H₂₃ClF₃N₅O[M+H]⁺+453.9,实测453.1。通过手性正相色谱分析标题化合物和它的对映异构体。Regis Pirkle Covalent(R,R)Whelk-01(目录1-786201-300),25cm x 4.6mm,5微米;洗脱液:100%异丙醇,0.6mL/min,13.2min(R)-同分异构体和15.7min(S)-同分异构体。以类似方式制备R-对映异构体。

[0397] 实施例44

[0398] 1-[1-(4-氯苯基)-5-环丁基-吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成

[0399]



[0400] a) 在0 °C将吡啶 (20.46 mL, 253 mmol) 加入到环丁基甲酰氯和丙二酸亚异丙酯 (12.16 g, 84.3 mmol) 的CH₂Cl₂ (100 mL) 的溶液中, 室温搅拌混合物1.5小时。然后加入甲醇 (100 mL), 回流下搅拌得到的混合物3小时, 冷却到室温, 在HCl水溶液 (1 M, 200 mL) 和EtOAc (500 mL) 之间分配。分离有机层, 在无水硫酸钠上干燥, 真空浓缩并通过快速色谱 (SiO₂, 0-20% EtOAc/己烷梯度洗脱) 纯化从而得到3-环丁基-3-氧代-丙酸甲酯 (11.6 g, 88% 产率)。

[0401] b) 在100 °C搅拌3-环丁基-3-氧代-丙酸甲酯 (5.8 g, 37.2 mmol) 和N,N-二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛 (25 g, 210 mmol) 的混合物1小时。冷却到室温后, 真空浓缩混合物从而得到

油状残留物,直接用于下一步骤。

[0402] c) 在100℃搅拌DMF (50mL) 中的步骤b获得的中间体(~37.2mmol)、4-氯苯基胍盐酸盐(6.67g, 37.2mmol) 和K₂CO₃ (10.3g, 74.4mmol) 的混合物1小时。冷却到室温后,用HCl水溶液稀释混合物(200mL) 并用EtOAc (500mL) 萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥,真空浓缩并通过快速色谱(SiO₂, 0-10%EtOAc/CH₂Cl₂梯度洗脱) 纯化从而得到1-(4-氯苯基)-5-环丁基-吡唑-4-羧酸甲酯(8.3g, 76%产率)。

[0403] d) 在80℃搅拌MeOH (25mL)、THF (25mL) 和H₂O (12mL) 中的1-(4-氯苯基)-5-环丁基-吡唑-4-羧酸甲酯(8.3g, 28.5mmol) 和氢氧化锂一水合物(3.6g, 85.6mmol) 的混合物1小时。冷却到室温后,用1M HCl水溶液酸化混合物,并用EtOAc (400mL) 萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥并真空浓缩从而得到1-(4-氯苯基)-5-环丁基-吡唑-4-羧酸(6.92g, 87%产率)。

[0404] e) 向CH₂Cl₂ (100mL) 中的1-(4-氯苯基)-5-环丁基-吡唑-4-羧酸(4.0g, 14.4mmol) 的混合物中加入草酰氯(3.78mL, 43.4mmol) 和DMF (0.06mL)。室温2小时后,真空浓缩反应混合物,再溶于40mL丙酮,加入到0℃NaN₃ (3.75g, 57.8mmol) 的H₂O (40mL) 溶液中。然后加入盐水(150mL) 和EtOAc (350mL)。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥并真空浓缩。在95℃于100mL甲苯中搅拌残留物1小时,冷却到室温,然后在110℃用150mL 6M HCl水溶液处理1小时。冷却到室温后,用稀NH₄OH碱化混合物并用EtOAc (500mL) 萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥,真空浓缩,通过快速色谱(SiO₂, 0-100%EtOAc/CH₂Cl₂梯度洗脱) 纯化从而获得1-(4-氯苯基)-5-环丁基-吡唑-4-胺(2.9g, 81%产率)。

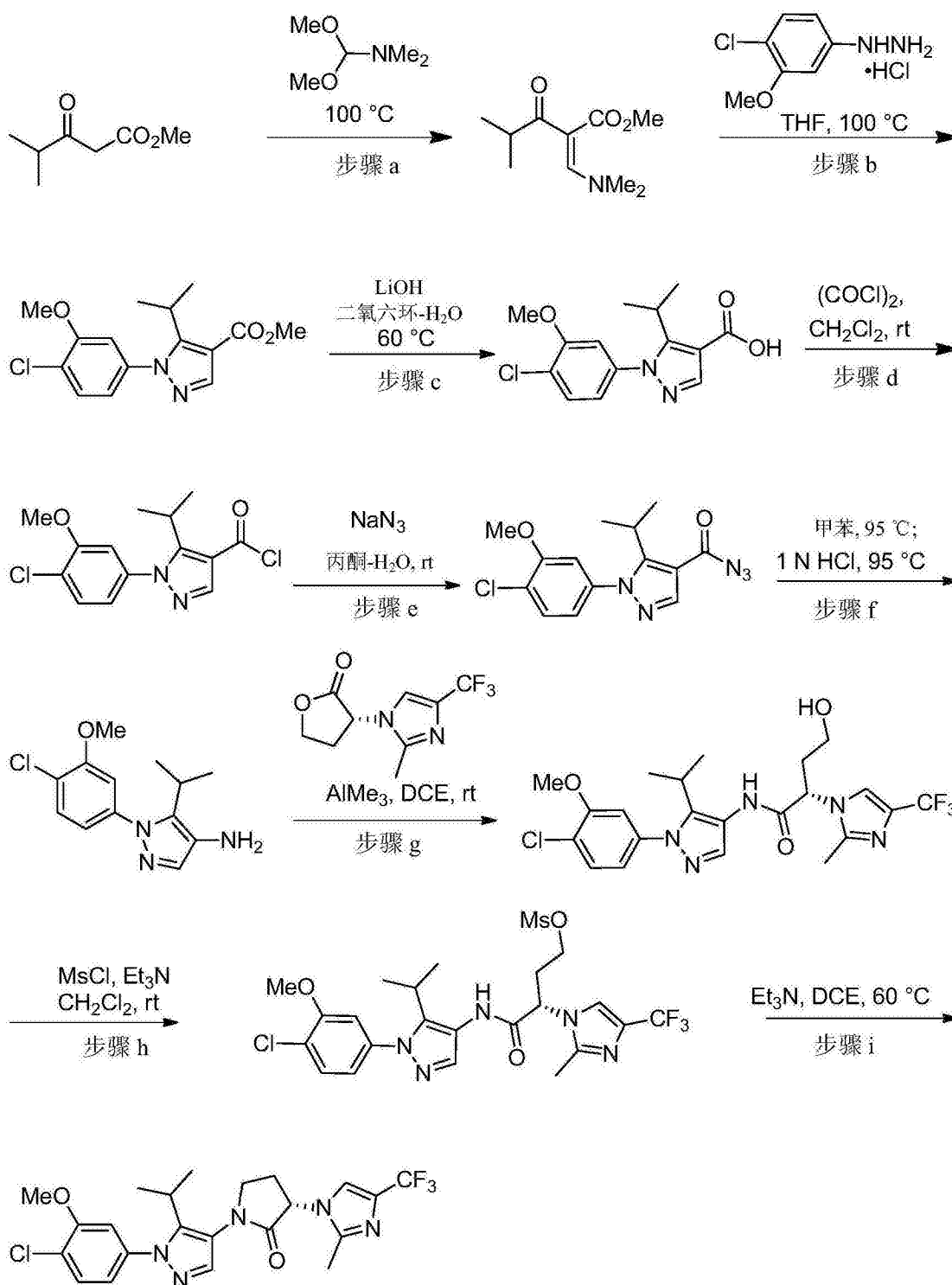
[0405] f) 室温采用Me₃Al (0.32mL, 0.64mmol, 2M/甲苯) 处理1,2-二氯乙烷(2mL) 中的1-(4-氯苯基)-5-环丁基-吡唑-4-胺(0.080g, 0.32mmol) 和3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢呋喃-2-酮(0.080g, 0.34mmol) 的混合物1.5小时。然后采用饱和碳酸氢钠水溶液淬灭反应混合物并用EtOAc (100mL) 萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥并真空浓缩从而获得所需醇中间体。

[0406] g) 采用甲磺酰氯(0.027mL, 0.35mmol) 处理CH₂Cl₂ (1.5mL) 中的步骤f获得的醇中间体(~0.32mmol) 和Et₃N (0.067mL, 0.48mmol) 的0℃溶液10分钟。然后用饱和碳酸氢钠水溶液碱化混合物并用EtOAc (500mL) 萃取。分离有机层,在无水硫酸钠上干燥并真空浓缩从而得到所述甲磺酸酯。

[0407] h) 在75℃搅拌1,2-二氯乙烷(3mL) 中的步骤g获得的甲磺酸酯(~0.032mmol) 和Et₃N (0.15mL, 1.07mmol) 的混合物3小时。冷却到室温后,反应混合物直接通过快速色谱(SiO₂, 0-100%EtOAc/CH₂Cl₂), 随后通过反相HPLC (C18柱, 含0.1%TFA的乙腈-水, 作为洗脱液) 纯化从而得到标题化合物(0.060g, 40%产率, 游离形式)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.57 (s, 1H), 7.43 (m, 2H), 7.36 (m, 2H), 7.23 (d, J=1.2Hz, 1H), 4.95 (dd, J=9.2, 8.4Hz, 1H), 3.86 (m, 2H), 3.71 (m, 1H), 2.84 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.36 (m, 1H), 1.99 (m, 6H); MS: (ES) m/z 计算C₂₂H₂₁ClF₃N₅O [M+H]⁺ 464.1, 实测464.1

[0408] 实施例45

[0409] (3S)-1-[1-(4-氯-3-甲氧基-苯基)-5-异丙基-吡唑-4-基]-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]吡咯烷-2-酮的合成



[0410]

[0411] a) 在100℃搅拌4-甲基-3-氧代-戊酸甲酯(1.98g, 13.7mmol)和N,N-二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛(1.95g, 16.4mmol)的混合物1天。冷却到室温后,真空浓缩反应混合物从而去除挥发物,粗材料直接用于下一步骤。

[0412] b) 在100℃搅拌DMF(15mL)中的4-氯-3-甲氧基苯基肼盐酸盐(3.0g, 14.4mmol)和步骤a获得的(2Z)-2-(二甲基氨基亚甲基)-4-甲基-3-氧代-戊酸甲酯(假定13.7mmol)的溶液8小时。冷却到室温后,采用冰(10g)处理混合物并搅拌5小时。过滤混合物并用水洗涤(15mL)。收集固体,用高真空泵干燥并直接用于下一步骤。

[0413] c) 在搅拌下在60℃加热四氢呋喃(20mL)和水(16mL)中的步骤b获得的1-(4-氯-3-甲氧基-苯基)-5-异丙基-吡唑-4-羧酸甲酯(假定13.7mmol)和氢氧化锂一水合物(1.2g, 22.6mmol)的双相溶液1.5小时。冷却后,蒸发混合物并用1N HCl稀释,用EtOAc(2×60mL)萃取。在硫酸镁上干燥有机层,过滤并真空浓缩。采用氯仿和己烷(1:4)的混合物研磨粗的棕色固体从而得到产物(2.83g, 9.60mmol, 70%产率),为白色固体。

[0414] d) 向步骤c获得的1-(4-氯-3-甲氧基-苯基)-5-异丙基-吡唑-4-羧酸甲酯(0.8g, 2.71mmol)的二氯甲烷(8.0mL)的溶液中加入草酰氯(0.27mL)和5滴DMF。搅拌混合物3小时并真空浓缩。高真空干燥粗材料数小时,然后将其用于下一步骤。

[0415] e) 向步骤d获得的甲基1-(4-氯-3-甲氧基-苯基)-5-异丙基-吡唑-4-甲酰氯(假定2.71mmol)的丙酮(7mL)溶液中快速加入叠氮化钠(0.50g, 7.7mmol)的水(3mL)溶液。室温剧烈搅拌混合物1小时。加入二氯甲烷(12mL)并分离层。用盐水洗涤有机层,在硫酸钠上干燥,浓缩并不需进一步纯化被使用。

[0416] f) 在95℃加热步骤e获得的酰基叠氮化物中间体(假定2.71mmol)的甲苯(20mL)溶液30分钟,加入1N HCl(5mL)并在95℃加热双相混合物过夜。冷却后,采用氢氧化钠溶液(2N)处理混合物并用氯仿(2×20mL)萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机层,过滤并真空浓缩。通过快速色谱(SiO₂, 5% MeOH/CH₂Cl₂)纯化粗材料得到产物(504mg, 1.90mmol, 70%产率),为浅棕色固体。

[0417] g) 室温氮气下将三甲基铝(0.16mL, 2M, 甲苯中, 0.32mmol)加入到1-(4-氯-3-甲氧基-苯基)-5-异丙基-吡唑-4-胺(57mg, 0.21mmol)和(3R)-3-[2-甲基-4-(三氟甲基)咪唑-1-基]四氢呋喃-2-酮(50mg, 0.21mmol)的1,2-二氯乙烷(2mL)溶液中。搅拌混合物30分钟。通过加入几滴1N HCl小心淬灭反应。冒泡平息后,采用更多1N HCl稀释粘稠混合物并用CH₂Cl₂(2×20mL)萃取。在硫酸镁上干燥合并的有机萃取物,过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0418] h) 向步骤g获得的粗的醇中间体(假定0.21mmol)和三乙胺(0.10mL, 0.63mmol)的二氯甲烷(3mL)溶液中缓慢加入甲磺酰氯(0.025mL, 0.32mmol)。室温搅拌反应混合物15分钟,然后用二氯甲烷稀释并用水洗涤。分离有机层,在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。粗材料不需进一步纯化用于下一步骤。

[0419] i) 向1,2-二氯乙烷(2mL)中的步骤h获得的粗甲磺酸酯中间体(假定0.21mmol)中加入三乙胺(0.059mL, 0.42mmol)。在60℃搅拌2小时后,通过加入饱和碳酸氢钠水溶液淬灭反应并用CH₂Cl₂(2×20mL)萃取。合并有机层。在硫酸镁上干燥,过滤并真空浓缩。通过反相HPLC(C18柱, 含0.1% TFA的乙腈-水, 作为洗脱液)纯化粗残留物从而得到标题化合物(20mg, 0.042mmol, 20%产率, 经3步骤),为白色固体。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.63(d, J=0.6Hz, 1H), 7.49(d, J=8.3Hz, 1H), 7.29(s, 1H), 7.02-6.90(m, 2H), 5.06(dd, J=9.1, 6.0Hz, 1H), 3.98-3.79(m, 5H), 3.08(dt, J=14.1, 7.4Hz, 1H), 2.93(dt, J=14.3, 7.5Hz, 1H), 2.63(s, 3H), 2.47-2.35(m, 1H), 1.25(dd, J=7.1, 2.7Hz, 6H); MS: (ES) m/z 计算C₂₂H₂₃ClF₃N₅O₂[M+H]⁺482.1, 实测481.9。

[0420] 实施例46

[0421] 本实施例说明与本发明感兴趣的化合物相关的生物活性的评价。

[0422] 材料和方法

[0423] A. 细胞

[0424] 1. CCR1表达细胞

[0425] a) THP-1细胞

[0426] THP-1细胞获自ATCC (TIB-202), 悬浮培养在RPMI-1640培养液中, 其添加2mM L-谷氨酰胺、1.5g/L碳酸氢钠、4.5g/L葡萄糖、10mM HEPES、1mM丙酮酸钠、0.05% 2-巯基乙醇和10%FBS。细胞在5%CO₂/95%空气、100%湿度和37℃条件下生长, 以1:5每周传代培养两次(以密度为2x 10⁵-2x 10⁶细胞/毫升培养细胞), 并在1x 10⁶细胞/毫升时收集细胞。THP-1细胞表达CCR1, 可以用于CCR1结合和功能试验。

[0427] 2. 趋化性试验

[0428] 在96孔趋化室(神经探针公司(Neuroprobe); 盖瑟斯堡, 马里兰州)内, 使用5微米孔聚碳酸酯、聚乙烯吡咯烷酮涂覆的过滤器, 使用趋化缓冲液(Hank's平衡盐溶液(HBSS)和1%FBS)实施趋化性试验。使用CCR1趋化因子配体(即MIP-1 α , CCL15/白细胞诱素; R&D系统公司; 明尼阿波利斯, 明尼苏达州)评价化合物介导的对由CCR1介导的迁移的抑制。其他趋化因子(即SDF-1 α ; R&D系统公司; 明尼阿波利斯, 明尼苏达州)用作特异性对照。下室载有29微升趋化因子(即0.1nM CCL15/白细胞诱素)和不同量的化合物, 上室在20微升内包含100, 000个THP-1或单核细胞。在37℃孵育室1-2小时, 采用以每孔5个高倍视野中的直接细胞计数或通过CyQuant试验(分子探针公司)(检测核酸含量和显微观察的一种荧光染料方法)对下室的细胞数量进行定量。

[0429] B. CCR1抑制剂的鉴定

[0430] 趋化因子的主要功能之一是它们介导趋化因子受体表达细胞如白血细胞迁移的能力。为了证实感兴趣的化合物不仅抑制CCR1特异性结合和信号转导(至少如通过钙动员测定法测定), 而且还抑制CCR1介导的迁移, 采用了趋化性试验。THP-1髓单核细胞白血病细胞(类似于单核细胞), 和新鲜分离的单核细胞, 用作通过CCR1趋化因子配体(即MIP-1 α 、CCL15/白细胞诱素)的趋化作用的靶标。细胞置于微孔迁移室的顶部隔室, 而MIP-1 α (或其他强效CCR1趋化因子配体)和浓度增加的感兴趣的化合物载于下部腔室。在不存在抑制剂时, 细胞响应趋化因子激动剂迁移到下部腔室; 如果化合物抑制CCR1功能, 则大部分细胞将保持在上部腔室。为确定感兴趣化合物对CCR1的亲合力以及确认其抑制CCR1介导的细胞迁移的能力, 在趋化实验中在1 $\times$ 10⁻¹⁰-1 $\times$ 10⁻⁴M化合物浓度范围测定抑制活性。在该试验中, 化合物的量是变化的; 而细胞数目和趋化因子激动剂浓度保持不变。在37℃温育趋化腔室1-2小时后, 通过用CyQuant试验(Molecular Probes)(一种检测核酸含量的荧光染料方法)标记, 和通过用Spectrafluor Plus(Tecan)检测, 对下部腔室的响应细胞进行定量。GraphPad公司(San Diego, Ca)的计算机程序Prism用于计算IC₅₀值。IC₅₀值是响应CCR1激动剂的细胞数量被抑制50%所需的那些化合物浓度。

[0431] 1. 体内效果

[0432] a) 破坏性关节炎的兔模型

[0433] 基本上如Podolin等J. Immunol. 169 (11): 6435-6444 (2002)中描述的进行兔LPS研究。在两膝盖处采用LPS(10纳克)关节内注射处理雌性新西兰兔(约2千克)。感兴趣的化合物, 如1.016(在1%甲基纤维素中配制)或载体(1%甲基纤维素)以5ml/kg剂量体积口服两次(关节内LPS注射前2小时和关节内LPS注射后4小时)。注射LPS 16小时后, 灌洗膝盖, 进行

细胞计数。通过募集到膝关节的发炎滑液的炎症细胞数量的减少确定治疗的有效效果。采用感兴趣的化合物进行治疗导致募集的细胞显著减少。

[0434] b) 在胶原蛋白诱导关节炎大鼠模型中评价感兴趣的化合物

[0435] 为评价感兴趣的化合物在关节炎诱导临床踝肿胀中的效果,进行为期17天II型胶原蛋白关节炎研究。大鼠胶原蛋白关节炎是多发性关节炎的实验模型,已经广泛用于很多抗关节炎试剂的临床前测试(参见Trentham等,J.Exp.Med.146(3):857-868(1977),Bendele等,Toxicologic Pathol.27:134-142(1999),Bendele等,Arthritis Rheum.42:498-506(1999))。这种模式的特点是发病可靠和发展强劲,易于检测多关节炎症的进展,与血管翳形成相关的显著软骨破坏,以及轻度至中度的骨吸收和骨膜骨增生。

[0436] 采用异氟烷麻醉雌性Lewis大鼠(约0.2千克),并在该17天研究的第0天和第6天采用包含2mg/mL牛II型胶原蛋白的弗氏不完全佐剂在尾巴底部和背部两处进行注射。从第0天直到第17天以皮下方式每日以有效剂量施用感兴趣的化合物。采用卡尺测量踝关节直径,减少关节肿胀作为功效的量度。

[0437] 皮肤疾病的鼠模型

[0438] 可在噤唑酮诱导的皮肤迟发型过敏反应鼠模型中评估本发明的化合物。简单地,在第0天,采用溶于乙醇的1%噤唑酮溶液在8-10周龄BALB/c小鼠的剃毛腹部局部敏化。敏化后第6天,恰在右耳局部施用0.5%噤唑酮的乙醇溶液之前以及4小时后,口服给予小鼠载体或剂量渐增的本发明化合物。翌日(第7天),使用卡尺检测耳厚度。与载体处理的对照相比,采用化合物处理的动物的耳肿胀显著减小,表明化合物减轻噤唑酮诱导的皮肤过敏

[0439] 哮喘的鼠模型

[0440] 可以在变应性哮喘的鼠模型中评价本发明化合物。通过在第0天和第10天采用明矾佐剂配制的OVA敏化8-10周龄BALB/c小鼠以诱导鼠哮喘。在第20天,小鼠鼻内施用PBS配制的OVA,从而引起气道炎症。从第20天开始持续到第23天,采用载体或剂量渐增的本发明化合物处理各组小鼠。在鼻内施用OVA后的第23天分析动物的支气管肺泡灌洗(BAL)中的细胞浸润物。相对于载体处理的小鼠,BAL白细胞数量显著降低表明化合物在该模型中是有效的。

[0441] 系统性红斑狼疮的鼠模型

[0442] 本实施例描述了评价CCR1拮抗剂用于治疗系统性红斑狼疮(SLE)功效的过程。雌性NZB/W FI小鼠在6个月自发开始发展SLE样病理,其由蛋白尿、血清自身抗体、肾小球肾炎和最终死亡表征。如下测试三个系列NZB/W FI小鼠组(每组包括20只小鼠)中CCR1拮抗剂的功效:第一系列的小鼠在断奶后不久以及之后以不同的剂量方案腹膜内注射接受磷酸缓冲盐(PBS)和吐温0.5%。第二系列的小鼠组在断奶后不久以及之后以不同的剂量方案通过腹膜内、静脉内、皮下、肌内、口服或通过任何其他给药模式接受不同剂量的CCR1拮抗剂。第三系列小鼠组,作为阳性对照,在断奶后不久以及之后以不同的剂量方案采用抗IL-10抗体处理。根据最终死亡、肾组织学、血清自身抗体水平和蛋白尿监测疾病发展。

[0443] 癌症的鼠模型

[0444] 本实施例描述评价CCR1拮抗剂对治疗恶性肿瘤效力的过程。正常小鼠品系可以移植良好表征的各种不同的小鼠肿瘤系,包括小鼠胸腺瘤EL4,其已转染有OVA从而能够容易评价接种OVA后肿瘤特异抗原响应。如下测试任何这些肿瘤模型的三个系列的小鼠组的

CCR1拮抗剂效力：在肿瘤移植后对一个系列的小鼠立刻腹膜内注射额外的PBS和吐温0.5%，然后以不同给药时间表给药。第二系列由在肿瘤移植后立即经腹膜内、静脉内、皮下、肌内、口服或通过任何其他给药模式施用不同剂量的CCR1拮抗剂，然后以不同给药时间表给药的小鼠组构成。第三系列的小鼠，作为阳性对照，由在肿瘤移植后立即腹膜内施用抗IL4抗体，抗IFN γ 抗体，IL4或TNF，然后以不同给药时间表给药的组构成。通过肿瘤生长与消退监控效力。在OVA转染EL4胸腺瘤模型中，可以通过体外用OVA刺激引流淋巴结细胞并在72小时检测抗原特异细胞毒性来检测溶细胞OVA特异性应答。

[0445] 牛皮癣的鼠模型

[0446] 本实施例描述了评价CCR1拮抗剂在牛皮癣中的功效的过程。可以通过将获自BALB/c小鼠脾脏的纯化T细胞（称为CD45Rbhi T细胞）静脉内转移到免疫缺陷受体CB.17scid/scid小鼠来获得牛皮癣啮齿动物模型。转入后8周，小鼠在它们的耳、脚和尾部出现类似那些人类牛皮癣的发红、肿胀和皮肤损伤的迹象。三个系列的小鼠组，包括每组10-15个CB.17scid/scid小鼠，注射纯化的CD45Rbhi T细胞。此外，第一系列小鼠在初始细胞转入时和其后以不同剂量方案腹膜内注射接收磷酸缓冲盐（PBS）和吐温0.5%。第二系列包括在初始细胞转入时和其后以不同剂量方案通过腹膜内、静脉内、皮下、肌肉内、口服或通过任何其他给药模式接受不同剂量CCR1拮抗剂的小鼠组。第三系列的小鼠，作为阳性对照，包括在初始细胞转入时和其后以不同剂量方案采用IL-12、IL-4、IFN γ 或TNF的抗体或采用细胞因子IL-10处理的组。细胞转入后为牛皮癣样病变发展监测动物3个月。

[0447] 炎症肠病的鼠模型

[0448] 缺乏P-糖蛋白基因的MDR1a-敲除小鼠在无特异病原体条件下自发形成结肠炎。在这些动物中病理学特征已被鉴定为Th1型T细胞介导的炎症，与人溃疡性结肠炎类似。疾病通常在出生后大约8-10周开始产生。但是在疾病出现的年龄和最终的外显率水平往往在不同动物设施之间差异很大。在使用MDR1a-敲除小鼠的研究中，可以根据给药时间对CCR1拮抗剂作预防性或治疗性评价。将感兴趣的化合物以对化合物合适的方式施用给雌性小鼠（n=34），例如每日以皮下方式施用有效剂量。这项研究评估IBD相关生长迟缓，并为肛门排出物和刺激进行评分。减少肛门排出物和刺激或抑制IBD相关生长迟缓的化合物表明化合物在该适应症中的效力。

[0449] 实体肿瘤的鼠模型

[0450] 小鼠RENCA肿瘤模型精确模拟成人肾细胞癌的进展（尤其是自发转移到肺的）并作为实体瘤模型。Balb/c 6-8周龄雌性小鼠在肾囊下接种约5e5RENCA细胞（小鼠肾腺癌；ATCC cat#CRL-2947），经22天观察肾肿瘤生长，早在第15天观察肺转移。从肿瘤植入时给予动物载体或本发明化合物，例如每日皮下施用，从而监测对原发性生长的影响，或在稍后的时间（例如7天）施用，以监测化合物对转移的效果。用机械卡尺每周两次测量原发性肿瘤区域。通过式 $v = \frac{\pi a^2 b}{6}$ 计算肿瘤体积，其中a是最长直径，b是与a垂直的次最长直径。肿瘤体积或转移发病率的降低表明化合物在该病症中的效力。

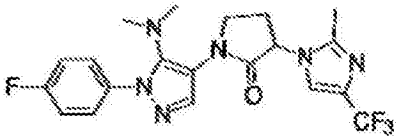
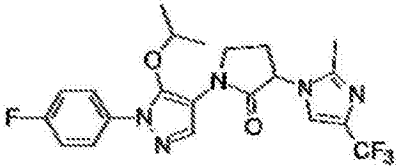
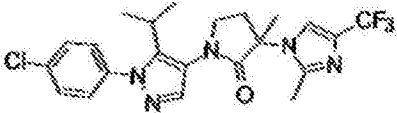
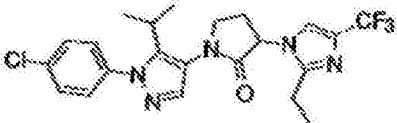
[0451] 炎症的鼠模型

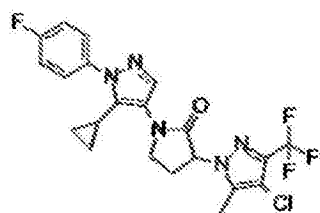
[0452] 通过引入3%巯基乙酸盐到腹膜诱导腹腔炎症的方法是本领域公知的。在引入巯基乙酸盐后，免疫细胞迅速涌入位点，主要是带有CCR1的嗜中性粒细胞，在24小时导致局部炎症。腹膜渗出液进行采样，可以评估细胞数目和组成以确定在巯基乙酸盐诱导之前、期间

或之后给予的感兴趣化合物的抗炎特性。当在该测定中使用时,本发明的化合物1.042导致总细胞和嗜中性粒细胞数显著降低,表明靶受体的有效性和生物学覆盖范围(biological coverage)。

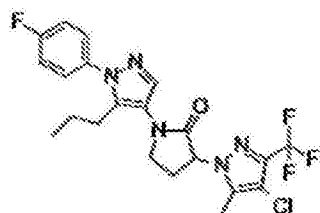
[0453] 在表2(以下)中,给出本文描述的代表性化合物的结构和活性。对于上述的趋化性试验提供如下所示的活性:+, $20\mu\text{M} > \text{IC}_{50} > 100\text{nM}$; ++, $\text{IC}_{50} < 100\text{nM}$ 。

[0454] 表2

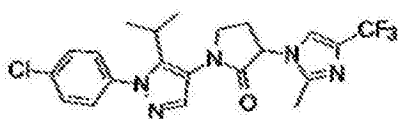
	Avg Mig IC ₅₀ (nM)
化合物数	
	+ 1.001
	++ 1.002
[0455] 	+ 1.003
	++ 1.004
	+ 1.005



++
1.006

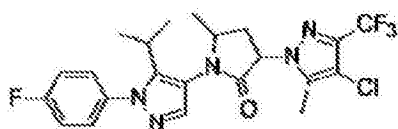


+
1.007

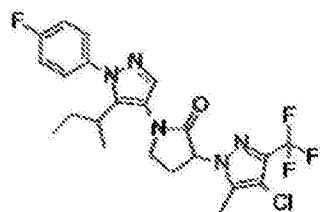


++
1.008

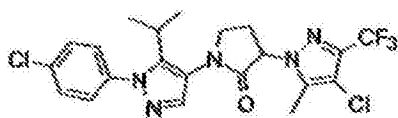
[0456]



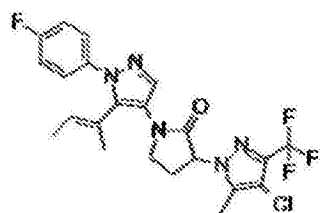
++
1.009



++
1.010



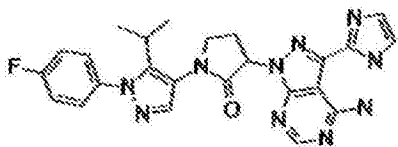
++
1.011



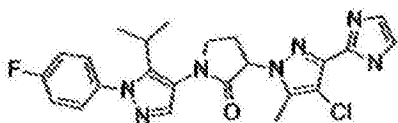
+
1.012



+
1.013



+
1.014

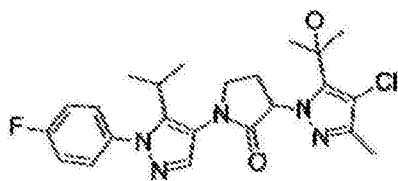


+
1.015

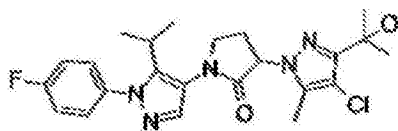
[0457]



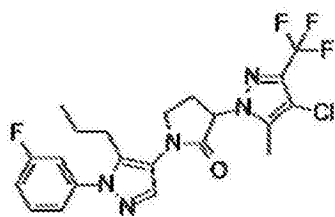
+
1.016



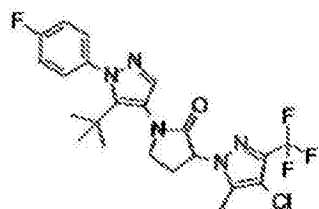
+
1.017



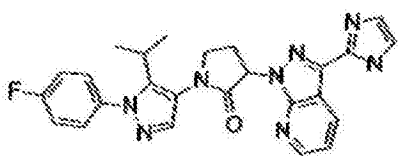
+
1.018



+
1.019

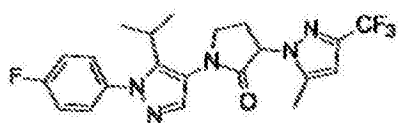


+
1.020

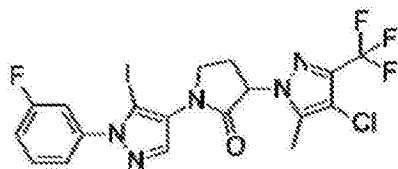


+
1.021

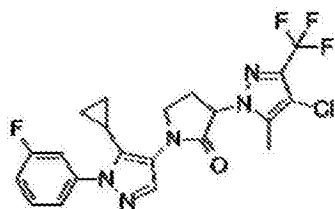
[0458]



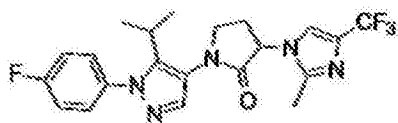
++
1.022



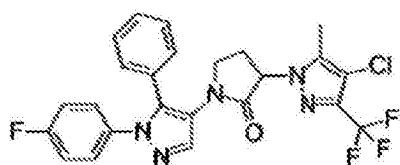
+
1.023



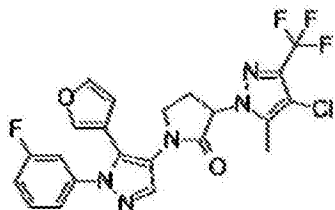
+
1.024



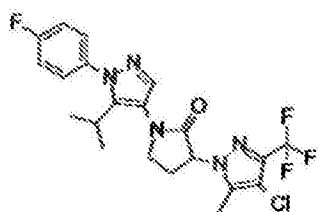
++
1.025



+
1.026

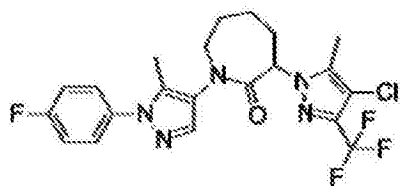


+
1.027

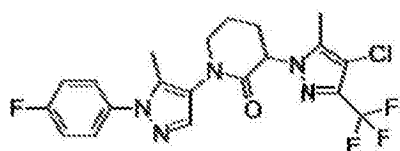


++
1.028

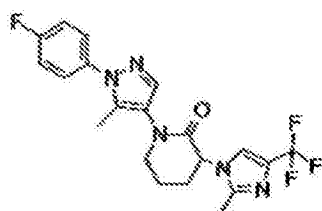
[0459]



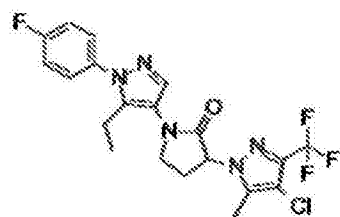
+
1.029



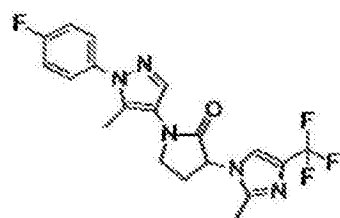
+
1.030



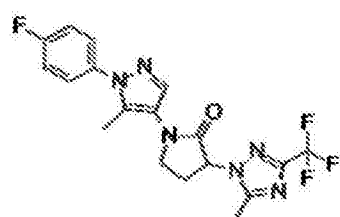
+
1.031



++
1.032

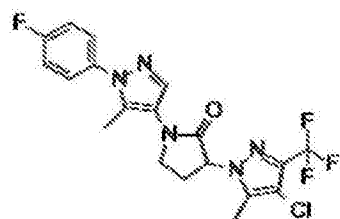


+
1.033

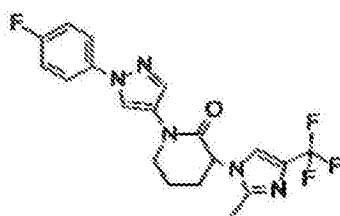


+
1.034

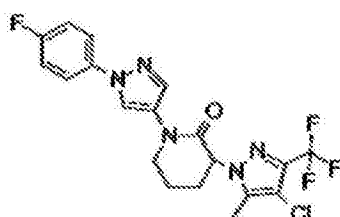
[0460]



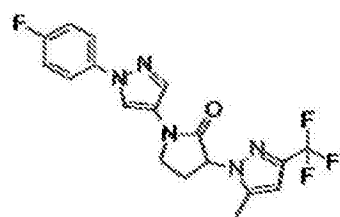
+
1.035



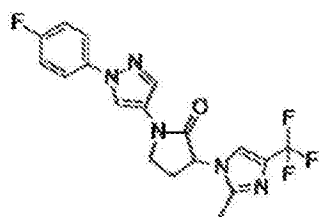
+
1.036



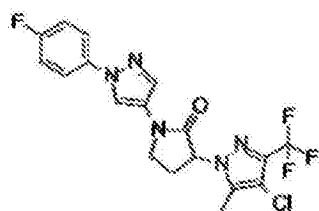
+
1.037



+
1.038

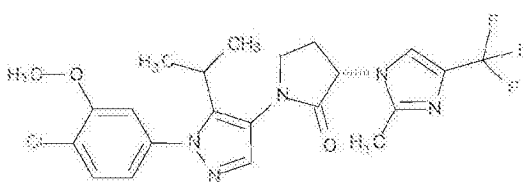


+
1.039

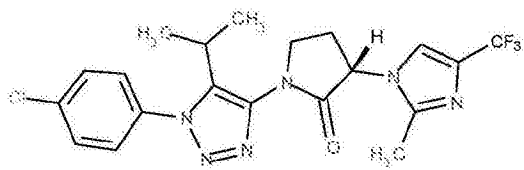


+
1.040

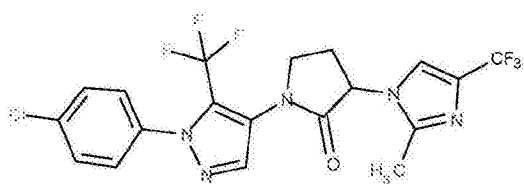
[0461]



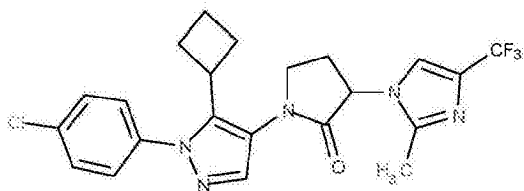
+
1.041



++
1.042

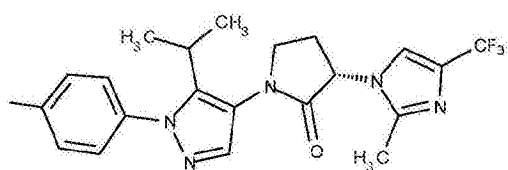


+
1.043



++
1.044

[0462]



++
1.045