

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99809101.4

[43] 公开日 2001 年 10 月 17 日

[11] 公开号 CN 1317965A

[22] 申请日 1999.5.21 [21] 申请号 99809101.4
[30] 优先权
[32] 1998.5.22 [33] US [31] 60/086494
[86] 国际申请 PCT/US99/11490 1999.5.21
[87] 国际公布 WO99/61020 英 1999.12.2
[85] 进入国家阶段日期 2001.1.22
[71] 申请人 阿文尼尔药品公司
地址 美国加利福尼亚州
[72] 发明人 J·西尔卡 M·L·里查兹
M·G·坎贝尔 M·W·马约尔

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 张元忠 谭明胜

权利要求书 12 页 说明书 38 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 作为 IgE 下调剂的苯并咪唑类似物

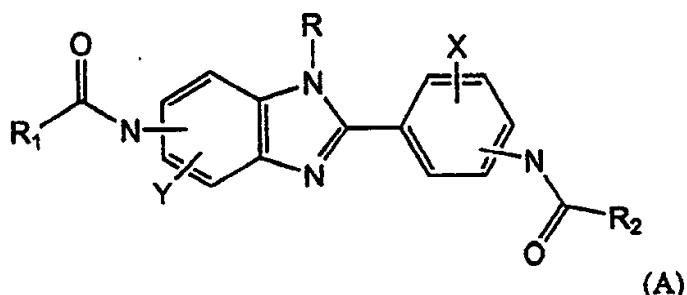
[57] 摘要

本发明涉及二酰基苯并咪唑类似物,它们是对变应原反应的 IgE 的抑制剂。这些化合物适用于治疗变态反应和/或气喘或其中 IgE 为致病原的其他疾病。

ISSN 1000-4274

权 利 要 求 书

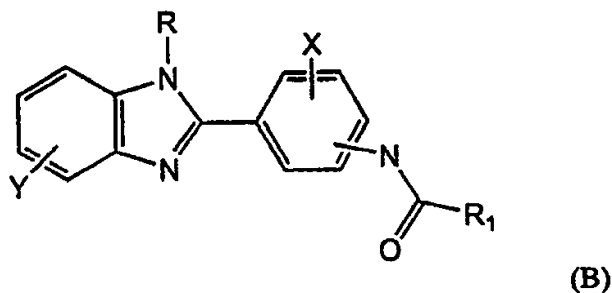
1. 药物组合物, 含有一种或多种下列化合物:



其中X和Y独立地选自H、烷基、烷氧基、芳基、取代芳基、羟基、卤素、氨基、烷氨基、硝基、氰基、 CF_3 、 OCF_3 、 CONH_2 、 CONHR 和 NHCOR_1 ;

5 其中R选自H、 CH_3 、 C_2H_5 、 C_3H_7 、 C_4H_9 、 CH_2Ph 和 $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-F(p-)}$; 并且

其中 R_1 和 R_2 独立地选自烷基、环烷基取代的环烷基、多环环烷基、稠环脂族基、环丙基、取代的环丙基、环丁基、取代的环丁基、环戊基、取代的环戊基、环己基、取代的环己基、环庚基、取代的环庚基、
10 双环庚基、双环辛基、双环壬基、取代的双环炔基、金刚烷基和取代的金刚烷基。



其中X选自H、烷基、烷氧基、芳基、取代芳基、羟基、卤素、氨基、烷氨基、硝基、氰基、 CF_3 、 OCF_3 、 CONH_2 、 CONHR 和 NHCOR_1 ;

15 其中R选自H、 CH_3 、 C_2H_5 、 C_3H_7 、 C_4H_9 、 CH_2Ph 和 $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-F(p-)}$; 并且

Y选自一、二和三取代的H、烷基、烷氧基、芳基、取代芳基、羟基、卤素、氨基、烷氨基、硝基、氰基、 CF_3 、 OCF_3 、 CONH_2 、 CONHR 和 NHCOR_1 ;

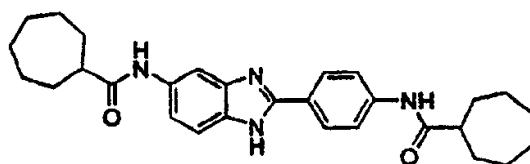
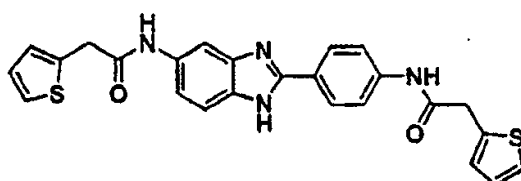
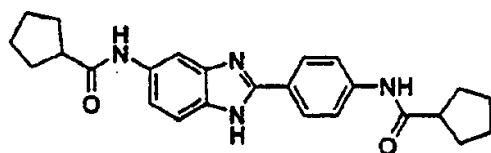
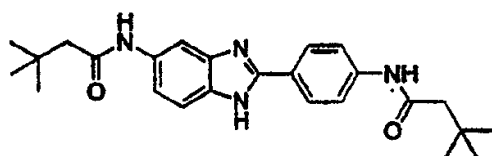
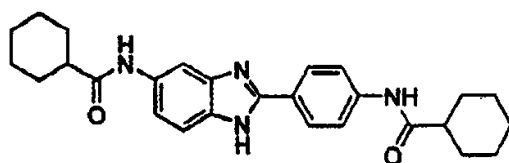
其中 R_1 选自烷基、环烷基取代的环烷基、多环环烷基、稠环脂族基、环丙基、取代的环丙基、环丁基、取代的环丁基、环戊基、取代的环戊基、环己基、取代的环己基、环庚基、取代的环庚基、双环庚
20 基、双环辛基、双环壬基、取代的双环炔基、金刚烷基和取代的金刚烷基。

基、双环辛基、双环壬基、取代的双环炔基、金刚烷基和取代的金刚烷基等。

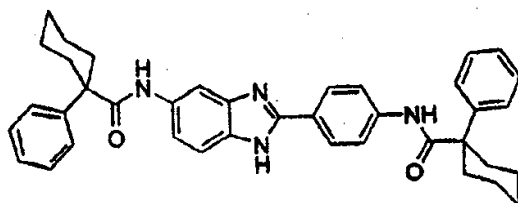
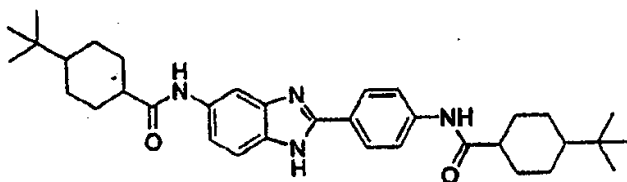
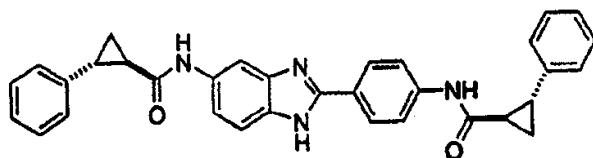
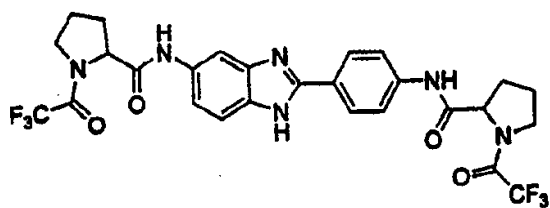
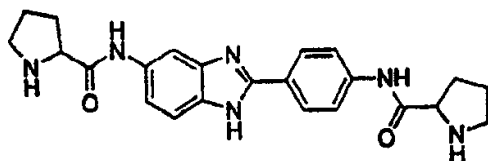
2. 权利要求1的药物组合物，其中 R_1 和 R_2 取代基选自烷基、芳基、 CF_3 、 CH_3 、 OCH_3 、 OH 、 CN 、 $COOR$ 和 $COOH$ 。

5 3. 权利要求1的药物组合物，其中所述化合物是式A化合物。

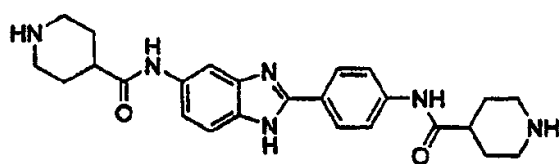
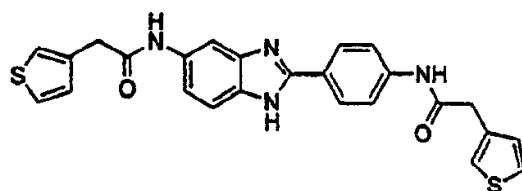
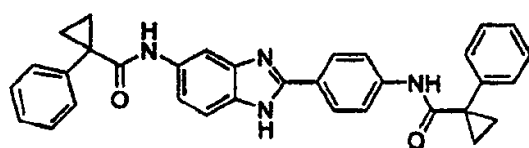
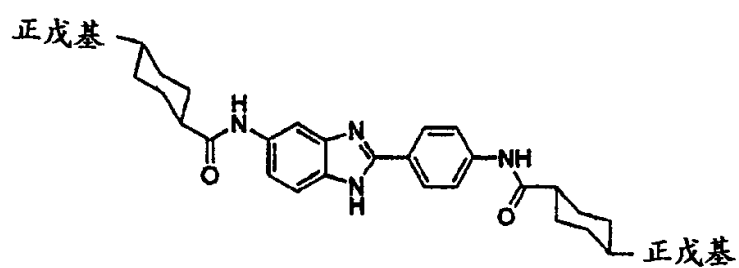
4. 权利要求3的药物组合物，其中所述化合物选自：

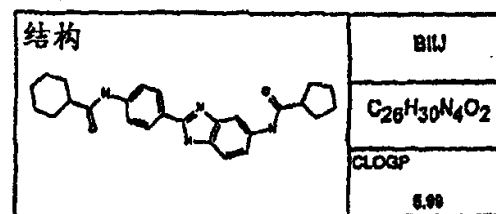
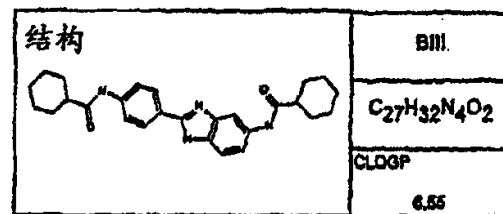
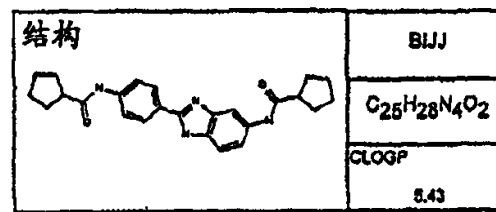
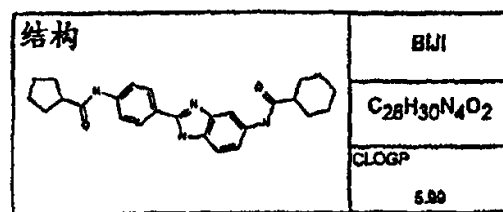
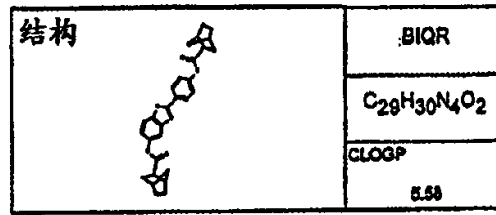
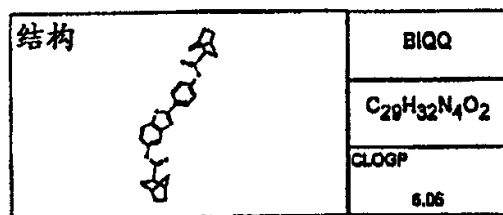
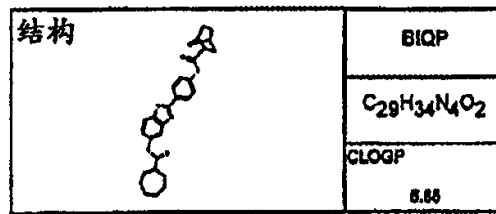
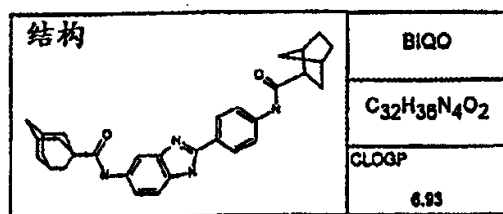
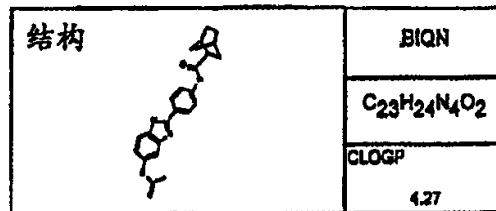
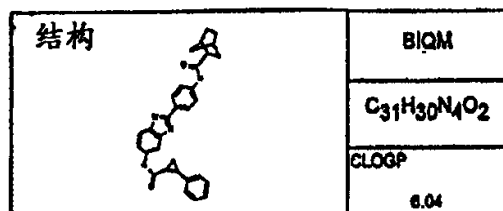


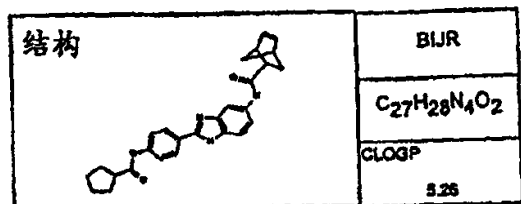
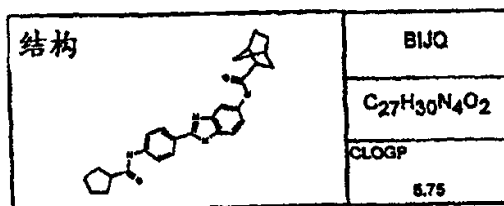
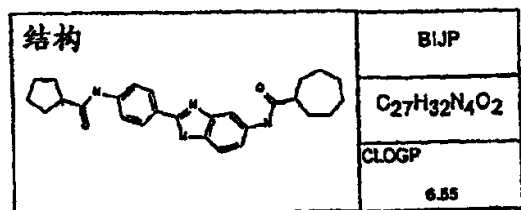
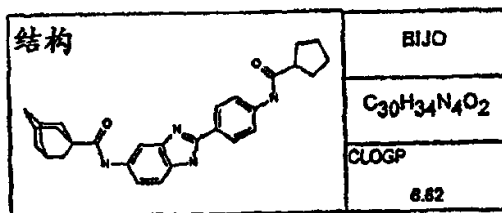
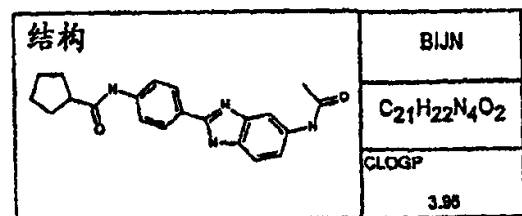
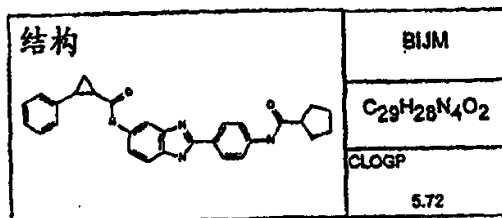
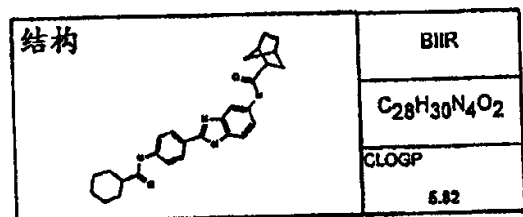
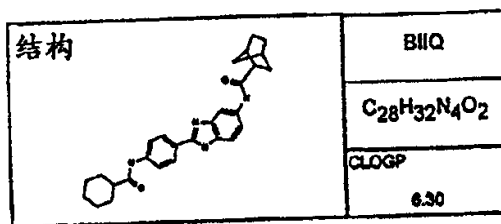
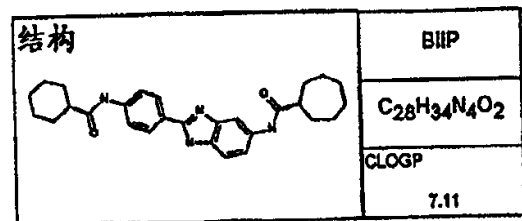
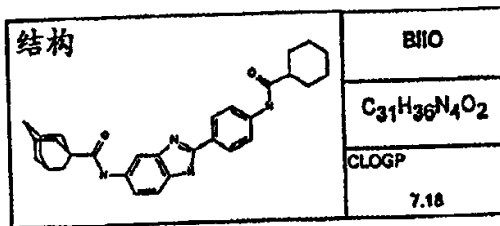
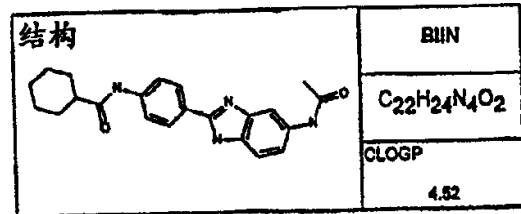
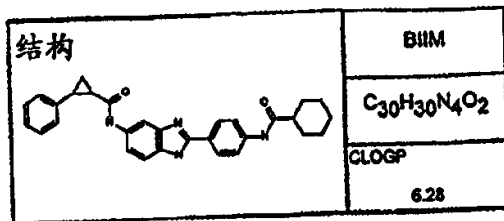
010122

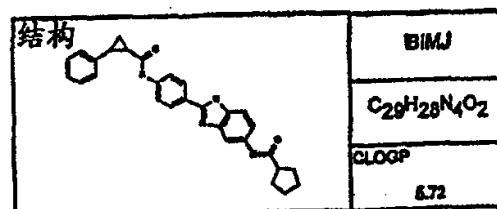
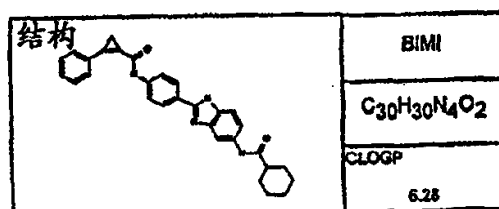
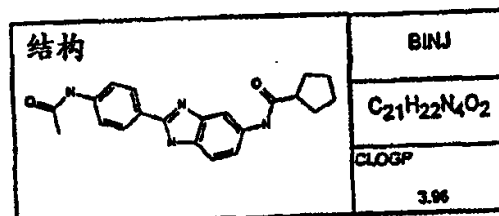
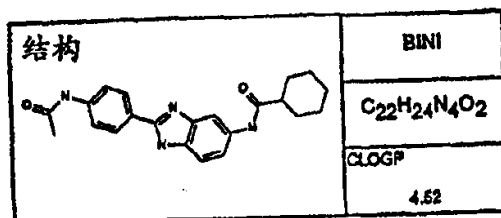
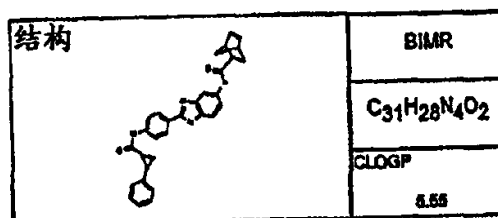
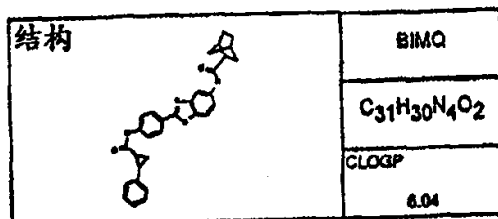
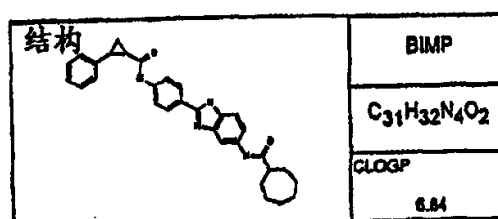
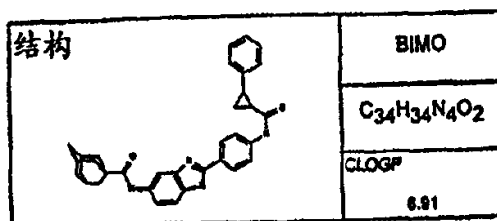
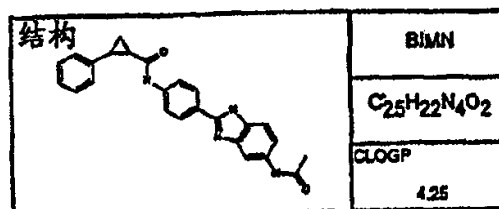
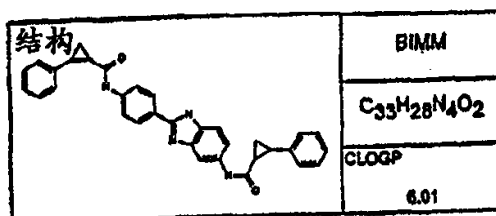


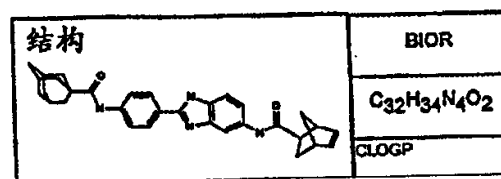
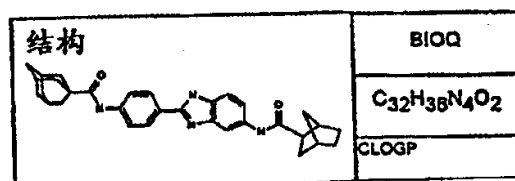
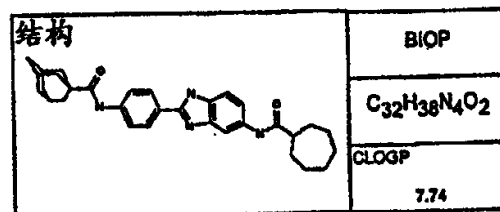
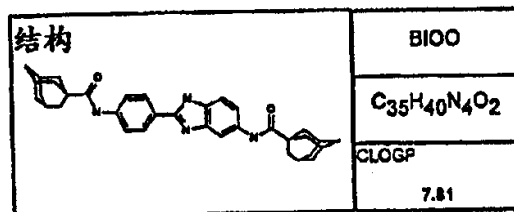
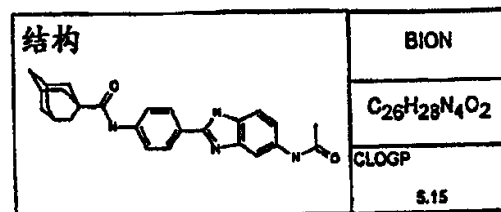
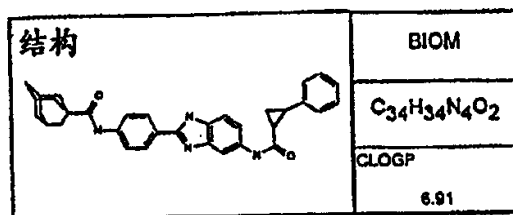
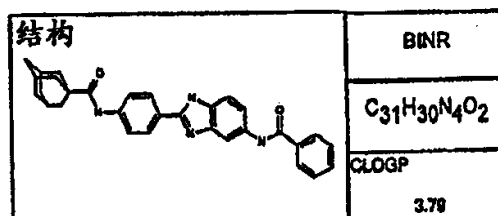
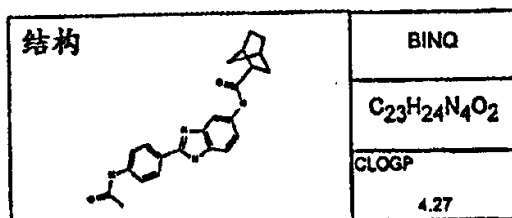
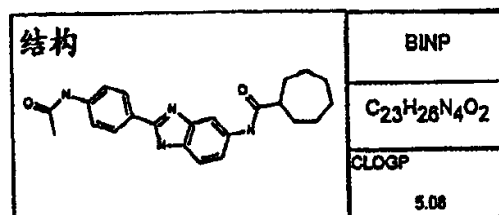
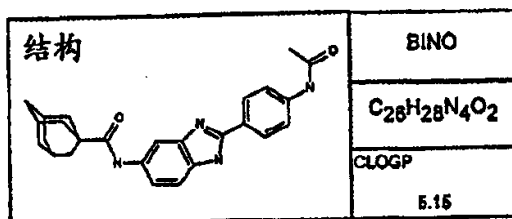
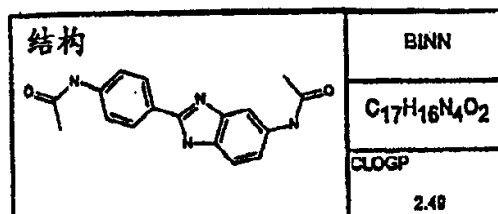
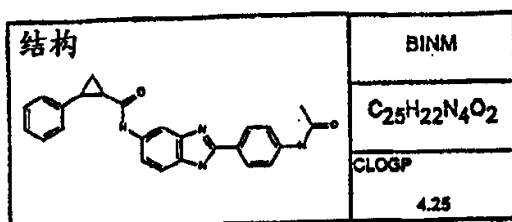
01-01-22











结构	BIP1
	$C_{28}H_{34}N_4O_2$
	CLOGP 7.11

结构	BIP
	$C_{27}H_{32}N_4O_2$
	CLOGP 6.55

结构	BIPM
	$C_{31}H_{32}N_4O_2$
	CLOGP 6.84

结构	BIPN
	$C_{23}H_{26}N_4O_2$
	CLOGP 5.08

结构	BIP0
	$C_{32}H_{38}N_4O_2$
	CLOGP 7.74

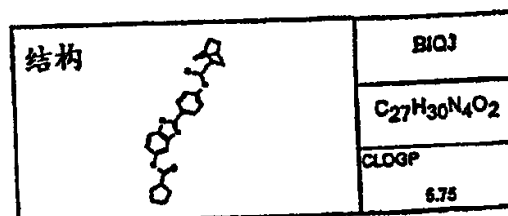
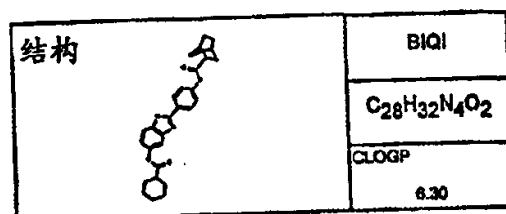
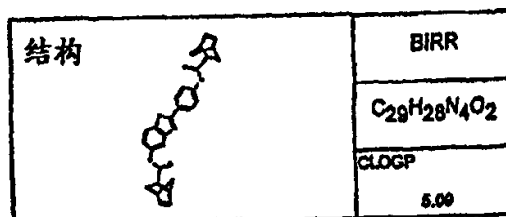
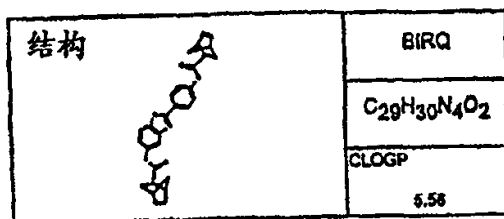
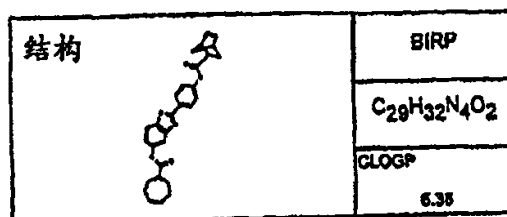
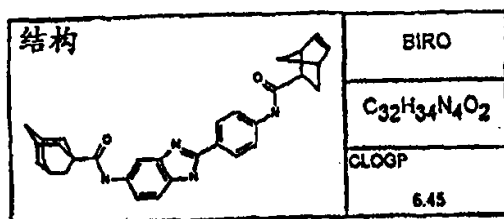
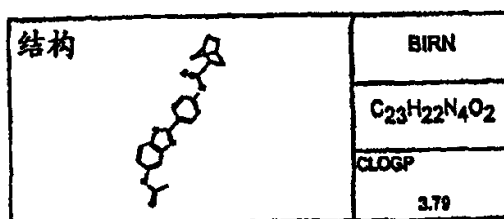
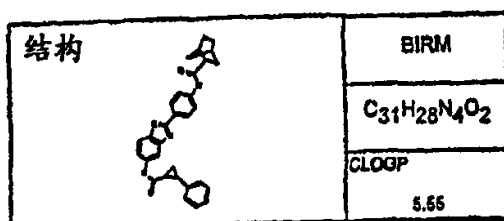
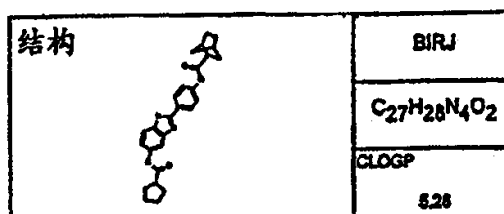
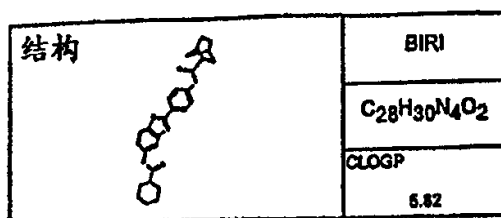
结构	BIPP
	$C_{29}H_{36}N_4O_2$
	CLOGP 7.67

结构	BIPQ
	$C_{29}H_{34}N_4O_2$
	CLOGP 6.86

结构	BIPR
	$C_{29}H_{32}N_4O_2$
	CLOGP 6.38

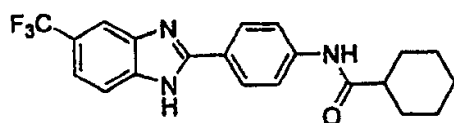
结构	BIOI
	$C_{31}H_{38}N_4O_2$
	CLOGP 7.18

结构	BIOJ
	$C_{30}H_{34}N_4O_2$
	CLOGP 6.82

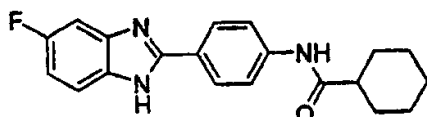


5. 权利要求1的药物组合物, 其中所述化合物是式B化合物。

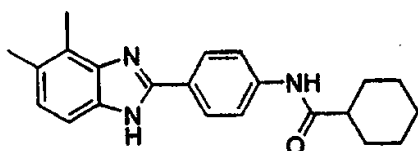
6. 权利要求5的药物组合物, 其中所述化合物选自:



(1)



(2)



(3)

7. 权利要求1-6中任一项的药物组合物, 用于治疗与IgE过多有关的疾病。

5 8. 权利要求7的药物组合物, 还含有至少一种其他的具有减轻至少一种与IgE过多有关的疾病症状的成分。

9. 权利要求8的药物组合物, 其中所述至少一种其他成分选自短效 β_2 -肾上腺素能兴奋剂、长效 β_2 -肾上腺素能兴奋剂、抗组胺药、磷酸二酯酶抑制剂、抗胆碱能药、皮质类固醇、炎性介质释放抑制剂和白三烯受体拮抗剂。

10

10. 权利要求1-6中任一项的药物组合物在制备治疗与IgE过多有关疾病的药物中的应用。

说明书

作为 IgE 下调剂的苯并咪唑类似物

发明背景

5 本发明涉及对变应原反应的 IgE 的小分子抑制剂，该抑制剂适用于治疗变态反应和/或气喘或其中 IgE 为致病原的其他疾病。

在美国估计有一千万人患有气喘，占人口总数的约 5%。气喘在美国估计的花费超过六十亿美元。约 25% 的请求急救的气喘患者需要住院治疗，气喘的最大单项直接医疗开支是住院病人医院服务（急救），
10 其花费大于 160 亿美元。处方药物治疗的花费从 1985 年至 1990 年增加了 54%，接近 11 亿美元 (Kelly, Pharmacotherapy 12:13S-21S (1997))。

根据国家流动医疗保护调查 (National Ambulatory Medical Care Survey)，气喘占有所有流动保护随访的 1%，并且该疾病一直是儿童误学的主要原因。尽管改进了对该疾病过程的理解并且有了更好的药物，但是在这个国家和世界上气喘的发病和死亡率持续升高（美国健康和人类服务部 (U.S. Department of Health and Human Services); 1991, 出版号 91-3042）。因此，气喘成为严重的公共健康问题。

20 气喘发作发生的病理生理学过程基本上可以分为两个阶段，每个阶段均有支气管收缩现象，这引起喘鸣、胸部紧迫感和呼吸困难。首先，早期气喘反应是由变应原、刺激物或运动引起的。变应原交联的免疫球蛋白 E (IgE) 分子与肥大细胞上的受体结合，使它们释放许多预先形成的炎性调节剂、包括组胺。其他的引发剂包括运动或吸入冷
25 空气、干空气后呼吸道组织的渗透性改变。第二，晚期反应的特征在于活化的嗜曙红细胞和其他炎性细胞浸润到呼吸道组织中、上皮剥落 (desquamation) 以及在呼吸道中有非常粘稠的粘液。炎性反应引起的损伤使呼吸道有易感性 ("primed") 或敏感，因此需要较小的引发剂引起随后的气喘症状。

30 有许多缓解性治疗气喘的药物；但是，它们的功效变化很大。短效 β_2 -肾上腺素能兴奋剂，特布他林和舒喘宁，长期以来是气喘治疗的支柱，主要在早期气喘中作为支气管扩张药发挥作用。较新的长效 β_2 -

兴奋剂，沙美特罗和福莫特罗，可以减少晚期反应的支气管收缩成分。但是，由于 β_2 -兴奋剂不具有显著的抗炎活性，它们对于支气管的过度反应性没有影响。

许多其他的药物针对早期或晚期气喘反应的各个具体方面。例如，抗组胺药氯雷他定抑制早期组胺介导的炎性反应。一些较新的抗组胺药，例如氮卓斯汀和酮替芬，都具有抗炎和减弱支气管扩张作用，但是它们目前尚没有确定的疗效用于气喘治疗。磷酸二酯酶抑制剂，例如茶碱/黄嘌呤，可以减弱晚期炎性反应，但是没有证据表明这些化合物降低支气管的过度反应性。抗胆碱能药，例如用于急性气喘以抑制严重支气管收缩的溴化异丙托铵，对早期或晚期炎症没有作用，对支气管过度反应性没有作用，因此在慢性治疗中基本上没有作用。

皮质类固醇药物，例如布地奈德，是最有效的抗炎剂。炎性介质释放抑制剂，例如色甘酸和奈多罗米，通过稳定肥大细胞发挥作用，从而抑制晚期炎性对变应原的反应。因此，色甘酸和奈多罗米以及皮质类固醇，均通过使炎性损伤对呼吸道的致敏作用减至最低、降低支气管的过度反应性。不幸的是，这些抗炎剂不能产生支气管扩张作用。

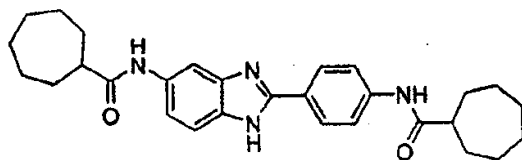
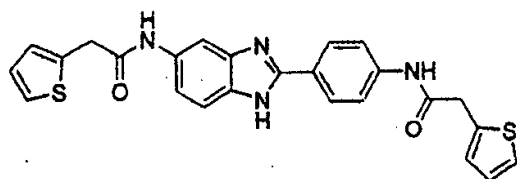
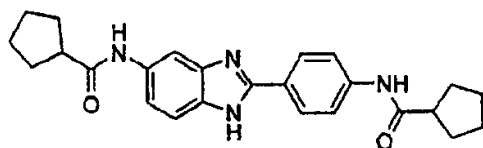
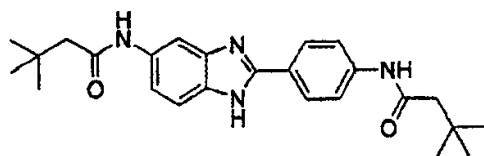
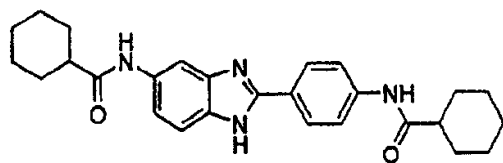
目前正开发几种新的特别是抑制气喘炎症具体方面的药物。例如，白三烯受体拮抗剂 (ICI-204, 219, accolate) 专门抑制白三烯介导的作用。白三烯与呼吸道炎症和支气管收缩的发生有关。

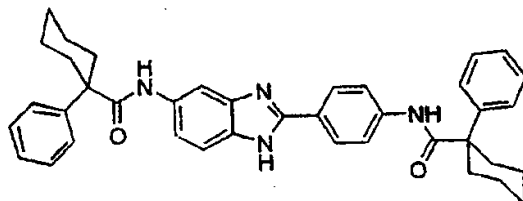
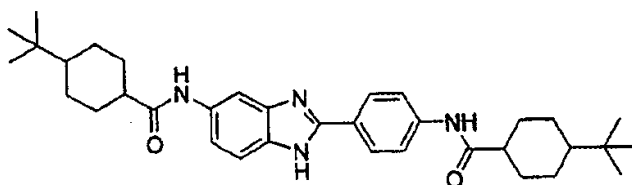
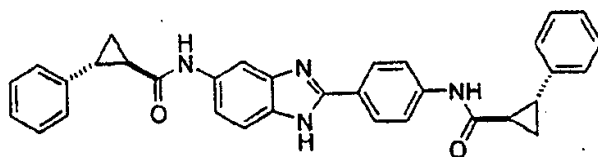
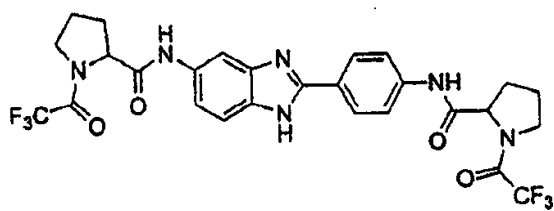
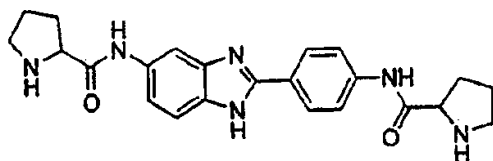
因此，尽管目前有许多药物可用治疗气喘，这些化合物主要是缓解症状和/或具有明显的副作用。因此，非常需要针对起因、而不是各级症状的新的治疗途径。气喘和变态反应同样依赖于IgE介导的结果。事实上，已知过量IgE的产生通常是变态反应、特别是变应性气喘的诱因 (Duplantier and Cheng, Ann. Rep. Med. Chem. 29:73-81 (1994))。因此，降低IgE水平的化合物可以有效地治疗气喘和变态反应的基础起因。

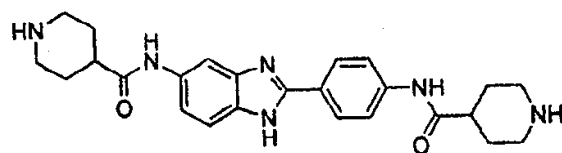
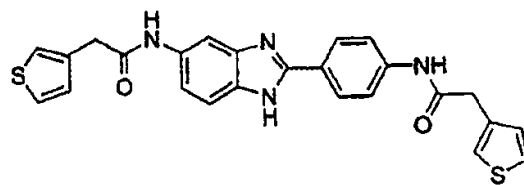
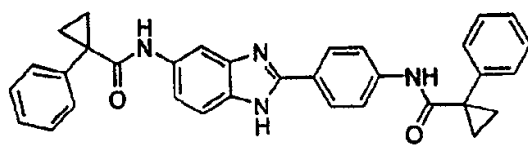
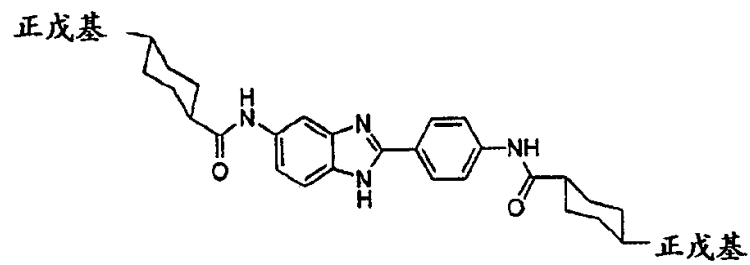
目前没有一种治疗可以消除过量的循环IgE。假设降低血浆IgE可以减少变应性反应，这一假设近来已经由chimeric 抗IgE抗体、CGP-51901和重组人源化单克隆抗体rhuMAB-E25的临床试验结果得以证实。实际上，三家公司，Tanox Biosystems, Inc., Genentech Inc.

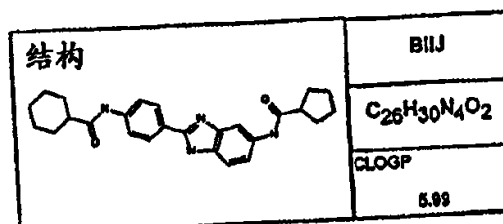
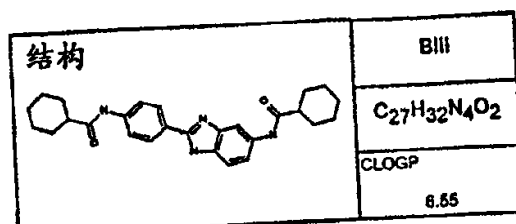
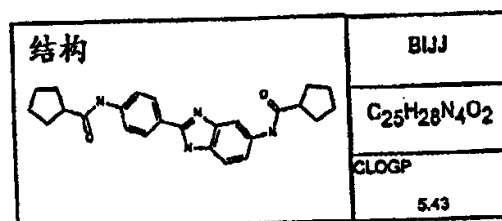
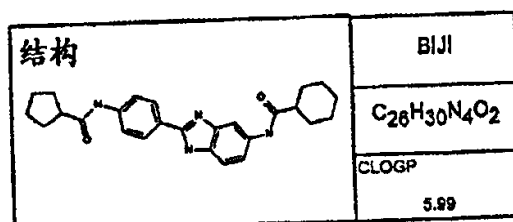
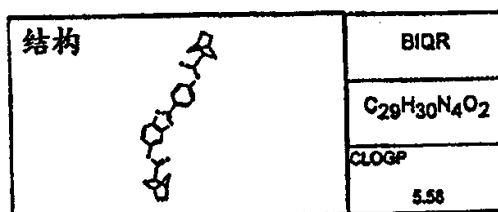
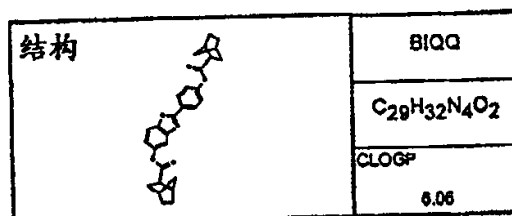
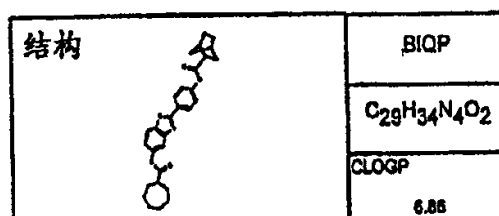
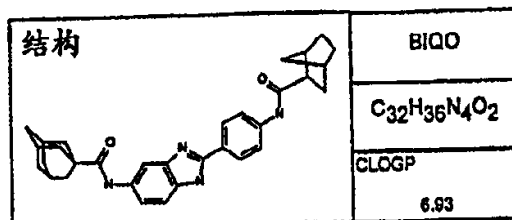
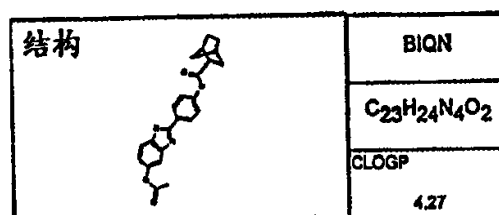
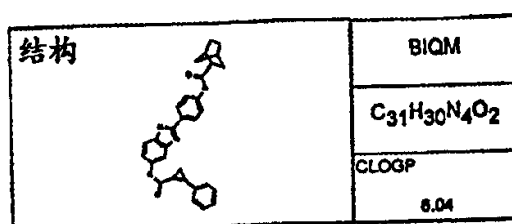
罗和福莫特罗，抗组胺药例如氯雷他定、氮卓斯汀和酮替芬，磷酸二酯酶抑制剂，抗胆碱能药、皮质类固醇、炎性介质释放抑制剂和白三烯受体拮抗剂。

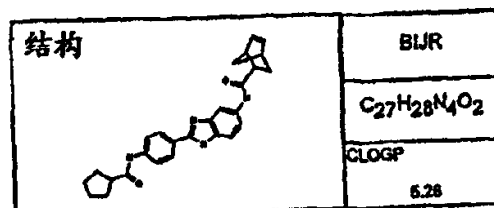
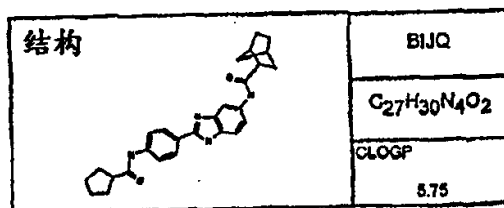
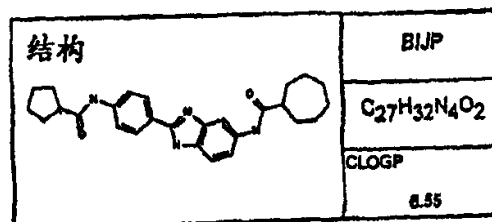
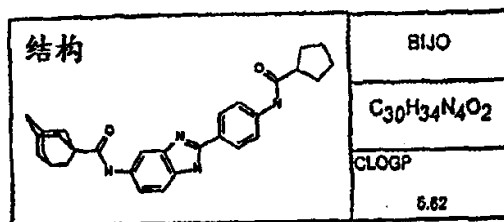
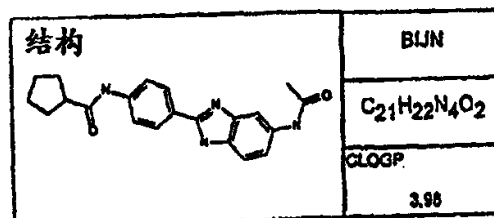
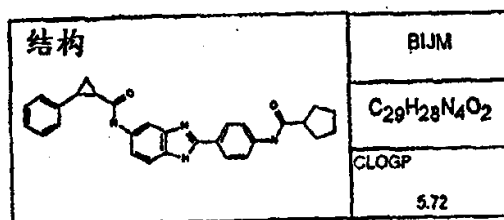
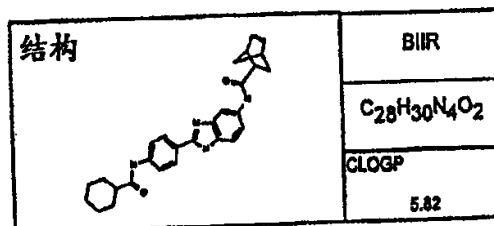
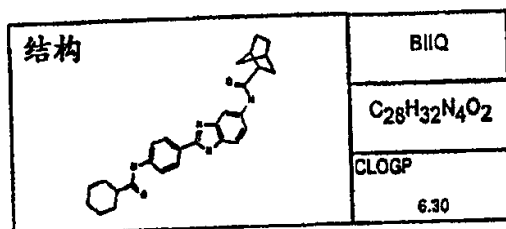
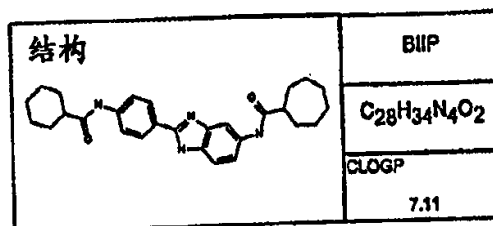
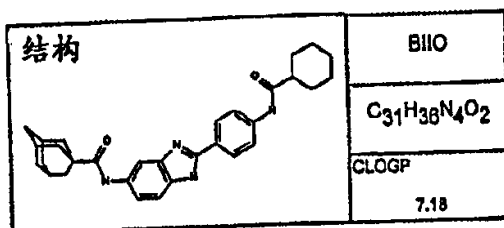
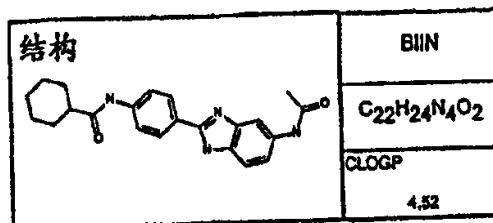
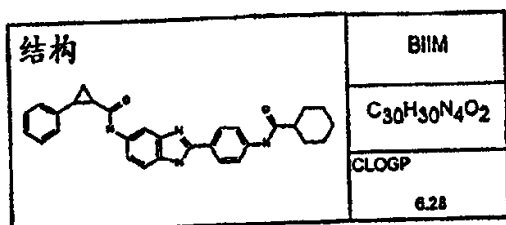
本发明另一方面提公开了用于治疗变应性疾病的二酰基苯并咪唑化合物，包括以下化合物：

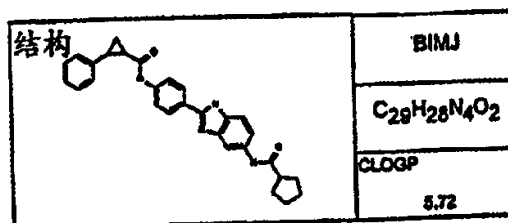
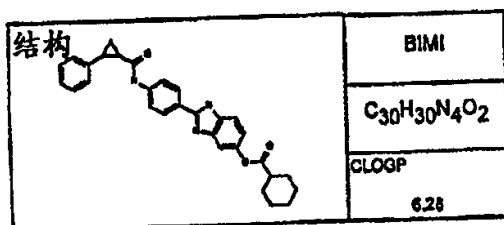
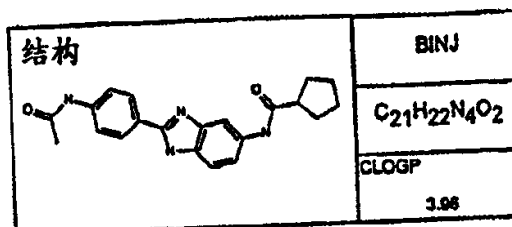
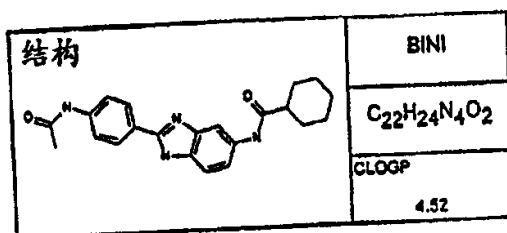
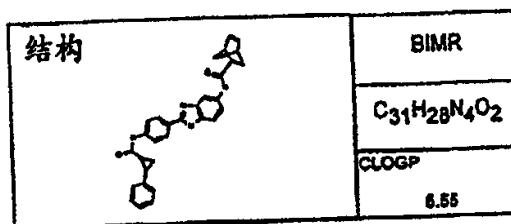
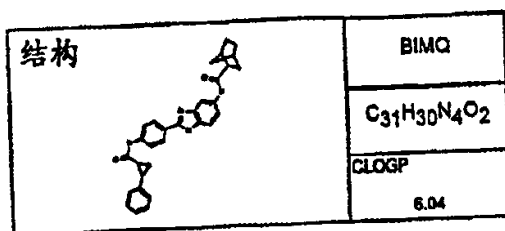
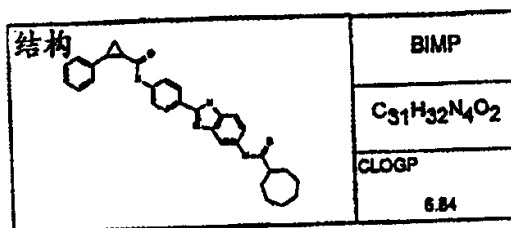
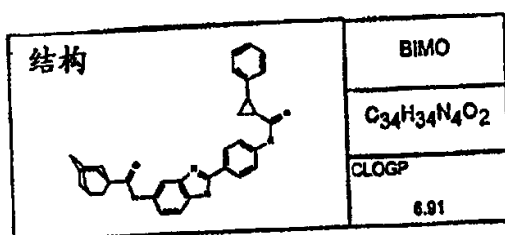
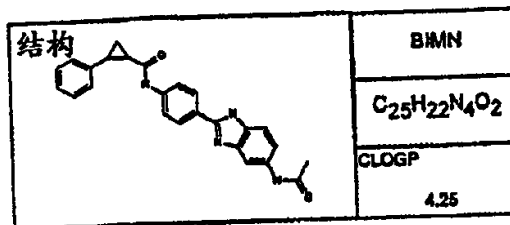
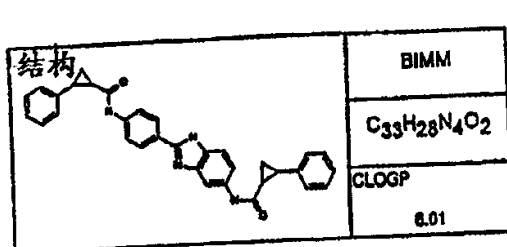












结构	BINM
	$C_{25}H_{22}N_4O_2$
	CLOGP 4.25

结构	BINN
	$C_{17}H_{16}N_4O_2$
	CLOGP 2.49

结构	BINO
	$C_{26}H_{28}N_4O_2$
	CLOGP 5.15

结构	BINP
	$C_{23}H_{26}N_4O_2$
	CLOGP 6.08

结构	BINQ
	$C_{23}H_{24}N_4O_2$
	CLOGP 4.27

结构	BINR
	$C_{31}H_{30}N_4O_2$
	CLOGP 3.79

结构	BIOM
	$C_{34}H_{34}N_4O_2$
	CLOGP 6.91

结构	BION
	$C_{26}H_{28}N_4O_2$
	CLOGP 5.15

结构	BIOO
	$C_{35}H_{40}N_4O_2$
	CLOGP 7.81

结构	BIOP
	$C_{32}H_{38}N_4O_2$
	CLOGP 7.74

结构	BIOQ
	$C_{32}H_{36}N_4O_2$
	CLOGP

结构	BIOR
	$C_{32}H_{34}N_4O_2$
	CLOGP

结构	BIP1	12
	<chem>C28H34N4O2</chem>	
	CLOGP	
	7.11	

结构	BIPJ	
	<chem>C27H32N4O2</chem>	
	CLOGP	
	6.55	

结构	BIPM	
	<chem>C31H32N4O2</chem>	
	CLOGP	
	6.84	

结构	BIPN	
	<chem>C23H26N4O2</chem>	
	CLOGP	
	5.08	

结构	BIPO	
	<chem>C32H38N4O2</chem>	
	CLOGP	
	7.74	

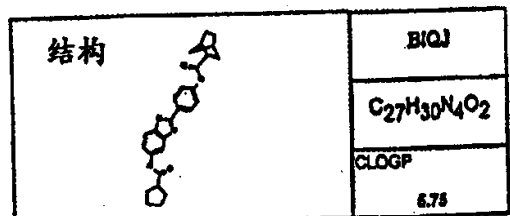
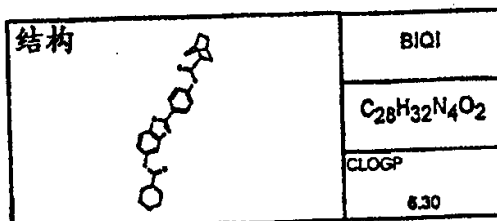
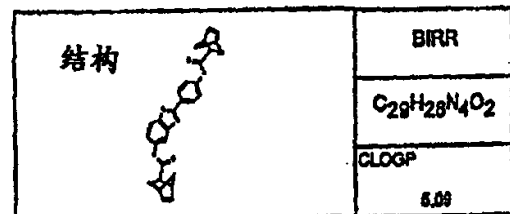
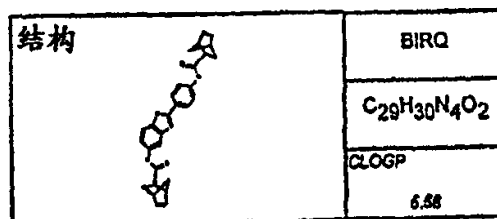
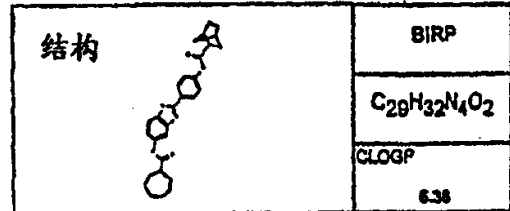
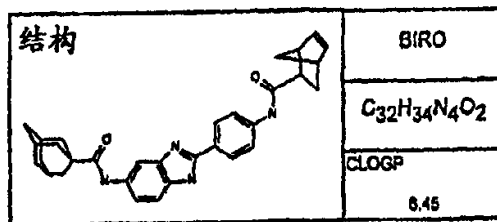
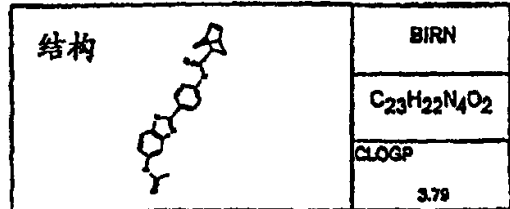
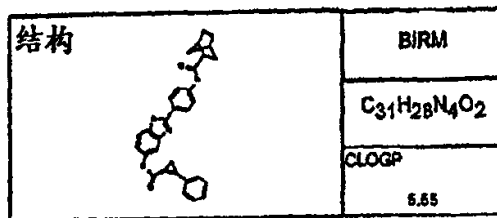
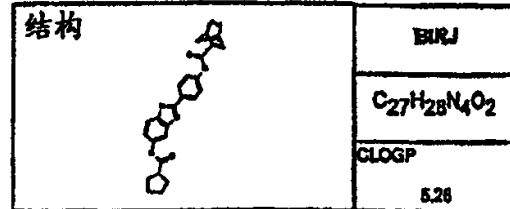
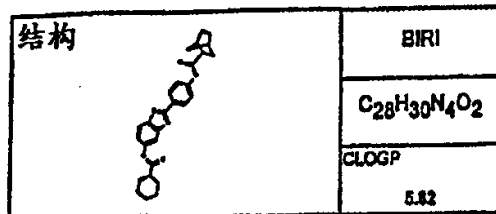
结构	BIPP	
	<chem>C29H36N4O2</chem>	
	CLOGP	
	7.67	

结构	BIPQ	
	<chem>C29H34N4O2</chem>	
	CLOGP	
	6.86	

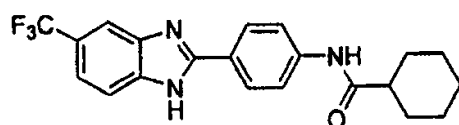
结构	BIPR	
	<chem>C29H32N4O2</chem>	
	CLOGP	
	6.34	

结构	BIOI	
	<chem>C31H36N4O2</chem>	
	CLOGP	
	7.18	

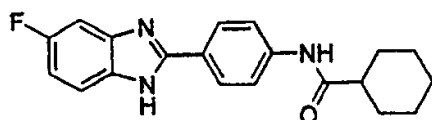
结构	BIOJ	
	<chem>C30H34N4O2</chem>	
	CLOGP	
	6.82	



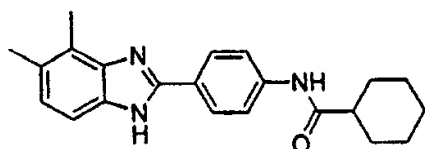
本发明另一方面公开了所公开化合物的一酰基化变体。公开了几种不对称一酰基苯并咪唑化合物。这些化合物包括以下结构式：



(1)

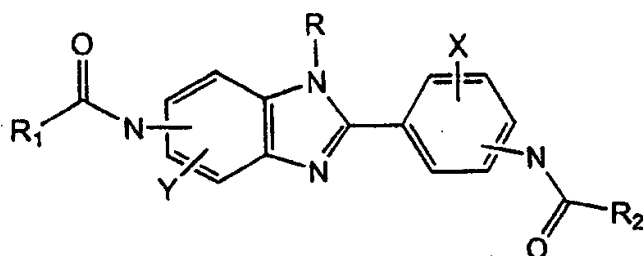


(2)



(3)

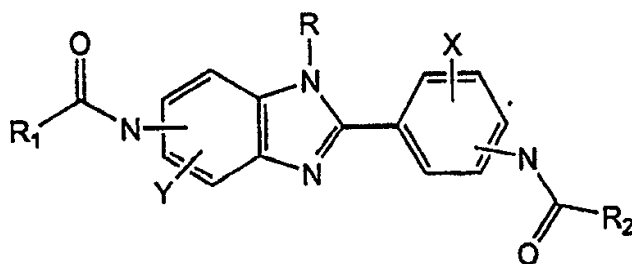
本发明另一方面公开了制备治疗与IgE含量过多有关疾病的药物的方法。所述化合物具有以下结构式：



- 5 X和Y独立地选自H、烷基、烷氧基、芳基、取代芳基、羟基、卤素、氨基、烷氨基、硝基、氰基、CF₃、OCF₃、CONH₂、CONHR和NHCOR₁。R选自H、CH₃、C₂H₅、C₃H₇、C₄H₉、CH₂Ph和CH₂C₆H₄-F(p-)。R₁和R₂独立地选自烷基、环烷基取代的环烷基、多环环烷基、稠环脂族基、环丙基、取代的环丙基、环丁基、取代的环丁基、环戊基、取代的环戊基、环己基、取代的环己基、环庚基、取代的环庚基、双环庚基、双环辛基、双环壬基、取代的双环炔基、金刚烷基和取代的金刚烷基，其中取代基选自烷基、芳基、CF₃、CH₃、OCH₃、OH、CN、COOR、COOH等。
- 10

本发明另一方面公开了治疗患有与IgE含量过多有关疾病的哺乳动物的方法。该方法包括给哺乳动物施用足以减少哺乳动物中IgE含量的化合物。所述化合物具有以下结构式：

15



X和Y独立地选自H、烷基、烷氧基、芳基、取代芳基、羟基、卤素、氨基、烷氨基、硝基、氰基、 CF_3 、 OCF_3 、 CONH_2 、 CONHR 和 NHCOR_1 。R选自H、 CH_3 、 C_2H_5 、 C_3H_7 、 C_4H_9 、 CH_2Ph 和 $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-F(p-)}$ 。R₁和R₂独立地选自烷基、环烷基取代的环烷基、多环环烷基、稠环脂族基、环丙基、取代的环丙基、环丁基、取代的环丁基、环戊基、取代的环戊基、环己基、取代的环己基、环庚基、取代的环庚基、双环庚基、双环辛基、双环壬基、取代的双环炔基、金刚烷基和取代的金刚烷基，其中取代基选自烷基、芳基、 CF_3 、 CH_3 、 OCH_3 、OH、CN、 COOR 、 COOH 等。

在上述方法的变化形式中，可以将至少一种其他活性成分与本发明化合物联合给药。其他活性成分可以在可药用稀释剂中与所述化合物结合并共同对哺乳动物给药。其他活性成分可以是选自特布他林和舒喘宁的短效 β_2 -肾上腺素能兴奋剂。在变化的方法中，其他活性成分可以是选自沙美特罗和福莫特罗的长效 β_2 -肾上腺素能兴奋剂，或是选自氯雷他定、氮卓斯汀和酮替芬的抗组胺药。在另一变化的方法中，其他活性成分可以是磷酸二酯酶抑制剂、抗胆碱能药、皮质类固醇、炎性介质释放抑制剂或白三烯受体拮抗剂。

本发明化合物优选以每公斤体重、每天约0.01mg至约100mg的剂量分多次剂量给药，给药时间是以规定的时间间隔至少连续2天。

参照以下的详细说明可以更充分地理解本发明范围内的其他变化形式。

优选实施方案的详细描述

本发明涉及适用于治疗变态反应和/或气喘或任何其他其中IgE为致病原的疾病的小分子IgE抑制剂（合成和/或释放）。通过在体外和体内分析中抑制IgE水平的能力确定本文公开的具体化合物。通过参照下述体外和体内分析，本领域专业人员可以了解临床治疗方案的演变和最佳化。

体外分析

该分析是从用体内抗原引发开始，在体外测量继发的抗体反应。基本的方案已有文献记载，并且下列参数范围已经最佳化，这些参数包括：引发的抗原剂量和引发的时间长度、体外培养的细胞数目，引起继发性IgE(以及其他Ig的)体外应答的抗原浓度、使IgE体外应答最佳化的胎牛血清(FBS)批料、引发CD4+T细胞和半抗原特异性B细胞的重要性以及ELISA分析对IgE的特异性(Marcelletti和Katz Cellular Immunology 135:471-489 (1991); 该文献结合在本文中作为参考)。

为此目的采用更高通过量分析的实际方案。腹膜内注射吸附在4mg明矾上的10 μ g DNP-KLH使BALB/cByj小鼠免疫，并在15天后处死。切除脾，并用组织研磨机匀浆化，洗涤两次，保持在补充有10% FBS、100 U/ml青霉素、100 μ g/ml链霉素和0.0005% 2-巯基乙醇的DEME中。在有或无DNP-KLH (10ng/ml)存在下对脾细胞进行培养(2-3百万个细胞/ml, 0.2ml/孔, 一式四份, 96孔板)。向含有抗原的脾细胞培养物中加入试验化合物(2 μ g/ml和50ng/ml)，并在37℃和10% CO₂气氛下孵育8天。

8天后收集培养物上清液，并采用Marcelletti和Katz(见上文)所述修饰的特异性同位型选择性ELISA分析法测量Ig。对该分析进行修饰以便于达到高通过率。通过用DNP-KLH涂覆过夜制备ELISA板。用牛血清白蛋白(BSA)阻断后，将等分量的各培养基上清液稀释(用含有BSA、叠氮化钠和Tween 20的磷酸盐缓冲的盐水(PBS)稀释为1:4)，加入ELISA板中，并在4℃于加湿盒中孵育过夜。在用生物素标记的山羊抗鼠IgE (b-GAME)、AP-抗生蛋白链霉素和底物连续培养后，对IgE的含量进行定量。

类似地测定抗原特异性IgG1，不同的是将培养物上清液稀释20倍，并用生物素标记的山羊抗鼠IgG1 (b-GAMG1)代替b-GAME。在将培养物上清液稀释20倍并用生物素标记的山羊抗鼠IgG2a (b-GAMG2a)孵育后，在涂覆有DNP-KLH的板上测量IgG2a。通过与标准曲线进行比较，测定各同位型的量。所有抗体的可检测水平是约200-400pg/ml，并且在IgE的ELISA中，与其他Ig同位型的交叉活性小于0.001%。

体内分析

对体外分析(如上所述)中发现具有活性的化合物进行进一步的

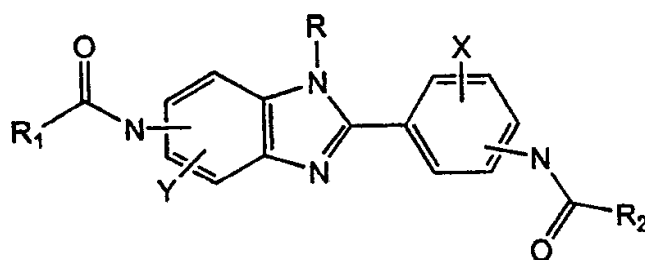
试验,以测定其在体内的抑制 IgE 反应的活性。使小鼠接受低剂量的辐射,然后用载体免疫,用抗原致敏 7 天后,小鼠具有加强的 IgE 反应。在抗原致敏之前和之后立即施用试验化合物,测量药物抑制 IgE 反应的能力。对血清中 IgE、IgG1 和 IgG2a 的含量进行比较。

- 5 经过一昼夜引发后,用 250rad 照射雌性 BLAB/cByj 小鼠 7 天。两小时后,腹膜内注射吸附在 4mg 明矾上的 2 μ g KLH 使小鼠免疫。6 天后连续 2-7 天注射药物,每天一次后两次。通常,以在含有 10% 乙醇和 0.25% 甲基纤维素的盐水中的悬浮液形式经腹膜内注射和口服管饲法给药 (150 μ l/注射)。每一治疗组由 5-6 只小鼠组成。给药
- 10 的第二天,腹膜内注射吸附在 4mg 明矾上的 2 μ g DNP-KLH,然后在早晨立即注射药物。用 DNP-KLH 激发后的 7-21 天取小鼠的血。

- 通过 ELISA 测定抗原特异性 IgE、IgG1 和 IgG2a 抗体。以 14,000 rpm 的转速离心眶骨膜的榨取物 10 分钟,上清液用盐水稀释 5 倍,并再次离心。通过 4 种稀释液 (一式三份) 的 ELISA 测定每一榨取物的
- 15 抗体浓度,并与标准曲线、抗 DNP IgE (1:100 至 1:800)、抗 DNP IgG1 (1:100 至 1:800) 和抗 DNP IgG2a (1:1600 至 1:12800) 进行比较。

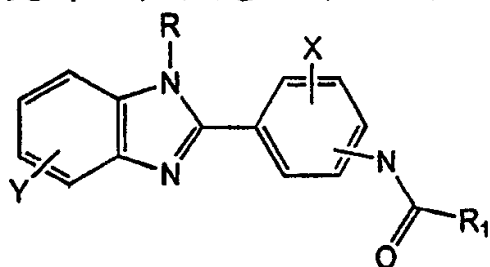
IgE 的二酰基苯并咪唑抑制剂

合成以下通式所包括的几种化合物,并在体外和体内分析中评价其下调 IgE 的有效性。



- 20 X和Y独立地选自H、烷基、烷氧基、芳基、取代芳基、羟基、卤素、氨基、烷氨基、硝基、氰基、CF₃、OCF₃、CONH₂、CONHR和NHCOR₁。R选自H、CH₃、C₂H₅、C₃H₇、C₄H₉、CH₂Ph和CH₂C₆H₄-F(p-)。R₁和R₂独立地选自烷基、环烷基取代的环烷基、多环环烷基、稠环脂族基、环丙基、取代的环丙基、环丁基、取代的环丁基、环戊基、取代的环戊基、环
- 25 己基、取代的环己基、环庚基、取代的环庚基、双环庚基、双环辛基、双环壬基、取代的双环炔基、金刚烷基和取代的金刚烷基等。取代基是烷基、芳基、CF₃、CH₃、OCH₃、OH、CN、COOR、COOH等。

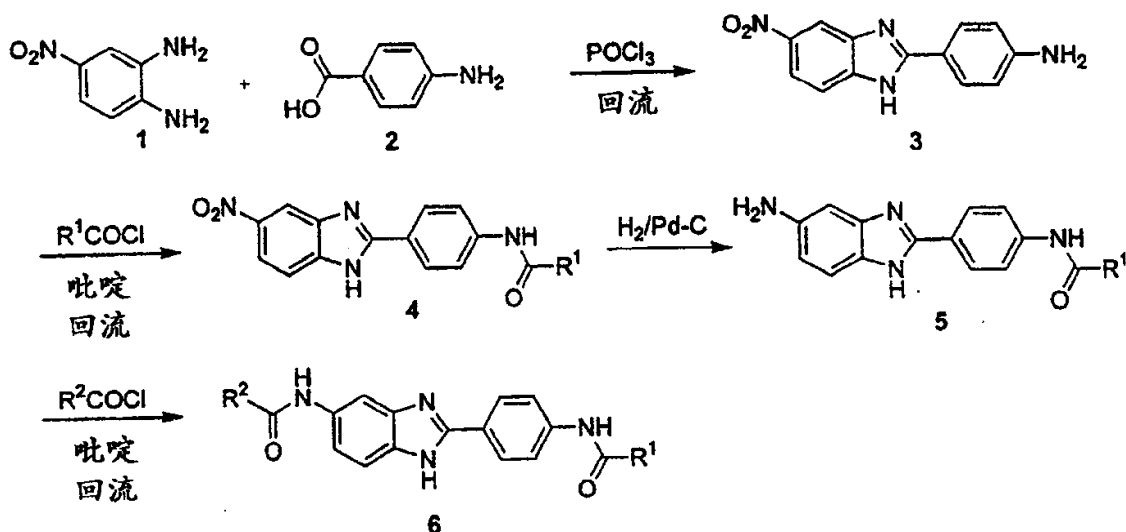
另一类相关的化合物是下列一酰基化的衍生物:



- X选自H、烷基、烷氧基、芳基、取代芳基、羟基、卤素、氨基、烷氨基、硝基、氰基、 CF_3 、 OCF_3 、 CONH_2 、 CONHR 和 NHCOR_1 。Y选自一、二和三取代的H、烷基、烷氧基、芳基、取代芳基、羟基、卤素、氨基、烷氨基、硝基、氰基、 CF_3 、 OCF_3 、 CONH_2 、 CONHR 和 NHCOR_1 。R选自H、 CH_3 、 C_2H_5 、 C_3H_7 、 C_4H_9 、 CH_2Ph 和 $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-F(p-)}$ 。R₁选自烷基、环烷基取代的环烷基、多环环烷基、稠环脂族基、环丙基、取代的环丙基、环丁基、取代的环丁基、环戊基、取代的环戊基、环己基、取代的环己基、环庚基、取代的环庚基、双环庚基、双环辛基、双环壬基、取代的双环炔基、金刚烷基和取代的金刚烷基等。取代基是烷基、芳基、 CF_3 、 CH_3 、 OCH_3 、 OH 、 CN 、 COOR 、 COOH 等。

组合库的合成

- 采用下列合成反应制备本发明的二酰基苯并咪唑化合物，其中所需酰氯选择下表中提供的 R₁ 和 R₂ 基团。



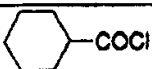
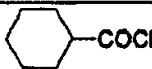
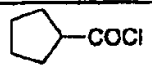
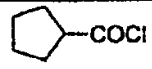
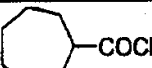
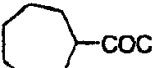
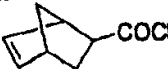
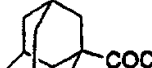
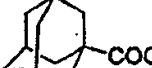
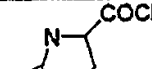
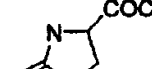
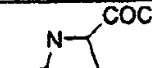
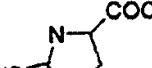
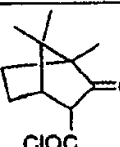
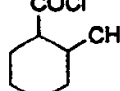
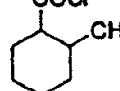
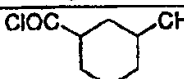
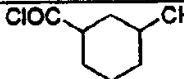
3 的合成: 将 4-硝基-1,2-亚苯基二胺(10g, 65.3mmol)和 4-氨基苯甲酸(8.95g, 65.3mmol)置于圆底烧瓶中, 缓缓加入磷酰氯(95ml)。在回流下搅拌反应混合物。18 小时后, 使反应物冷却, 并在

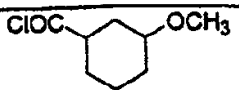
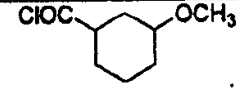
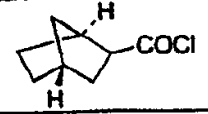
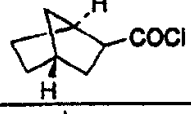
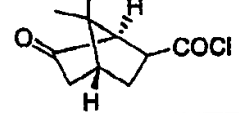
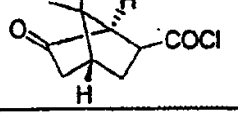
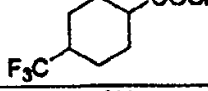
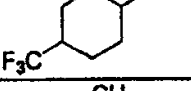
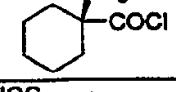
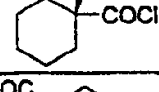
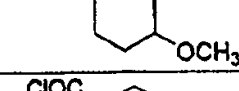
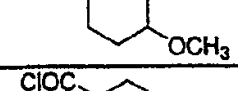
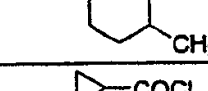
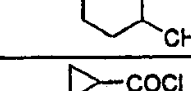
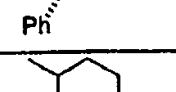
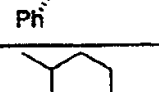
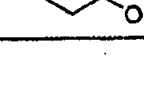
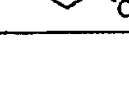
剧烈搅拌下，缓缓倒入锥形瓶中的冰水混合物中。绿黄色的沉淀形成，然后将其过滤，并用大量的水洗涤。将残余物干燥，得到 16.9g 所需的粗产物。质谱分析（正离子）表明存在产物 3。

4 的合成：在闪烁管中，将苯并咪唑 3 (800mg, 3.14mmol) 溶于无水吡啶 (5ml) 中，缓缓加入所需的酰氯 (1.1 当量)。反应在 60℃ 炉中进行。16 小时后，将反应物冷却至室温，并加入去离子 (DI) 水。沉淀形成，滤出沉淀，用水洗涤并空气干燥。水层用乙酸乙酯 (6 × 50ml) 萃取，用无水硫酸钠干燥，真空除去溶剂，得到有色固体。通过正离子质谱，发现在最初的沉淀和有机层中存在所需的一酰化产物。因此，合并所得固体残余物，并就这样用于还原步骤中。

4 的还原：将粗产物一酰化硝基苯并咪唑 4 (1.22g, 3.40mmol) 溶于 MeOH (20ml) 中，加入最小量的 THF 使其完全溶解。加入催化量的 10% Pd/C，使溶液脱气，并在 3.4 atm 的氢气压力下搅拌 4 小时。一旦经 TLC 监测反应完全，即将反应混合物经硅藻土过滤，减压除去溶剂，得到 979mg 粗残余物。

表

	R1		R2
A		A	
B		B	
C		C	
D		D	
E		E	
F		F	
H		H	
I		I	
J		J	
K		K	
L		L	

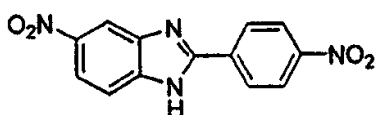
M		M	
N		N	
O		O	
P		P	
Q		Q	
R		R	
S		S	
T		T	
U		U	

一般的有机分析

使用带有 Gilson 170 Diode Array UV 检测仪和以 PE Sciex API 100LC MS 为基础的检测仪的 Gilson semi-prep HPLC 得到 HPLC/MS 数据。用带有 Waters 490E UV 检测仪的 Waters 600E 记录 HPLC 数据。化合物用 CH_3CN (含 0.0035% TFA) 和水 (含有 0.01TFA) 洗脱。所有的 HPLC 均使用 Thomson Instrument Company 的 Advantage C18 60A 5μ $50\text{mm} \times 4.6\text{mm}$ 柱。通过在以 PE Sciex API 100LC MS 为基础的检测仪上直接注射并电喷雾离子化得到质谱数据。用 Merck 60F-254 背面预涂铝的板进行薄层色谱。在购自 EM Scientific 的 Merck 硅胶 60 (230-400 目) 上进行闪式色谱。

对称二酰胺的合成

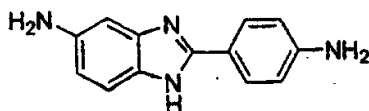
通常由 2-(4-氨基苯基)-5-氨基苯并咪唑制备本发明的对称二酰基苯并咪唑化合物, 其中 2-(4-氨基苯基)-5-氨基苯并咪唑是通过使 2-(4-硝基苯基)-6-硝基苯并咪唑得到的。



2-(4-硝基苯基)-6-硝基苯并咪唑

如下制备二硝基苯并咪唑：将 4-硝基亚苯基二胺 (6.4g, 41.83mmol) 和 4-硝基苯甲酸 (7.86g, 47mmol) 溶于 POCl_3 (250ml) 中，并加热回流 2 小时。将反应混合物冷却，倒入冰中，搅拌 30 分钟。将所得固体过滤，用甲醇和碳酸氢钠洗涤以除去未反应的酸，干燥过夜，得到所需产物，为棕色固体 (5.8g)。通过电喷质谱测定产物的性质 (熔点 $>300^\circ\text{C}$)。

如下制备 2-(4-氨基苯基)-5-氨基苯并咪唑：将上述固体 (75g) 悬浮在 THF (75ml) 中，向其中加入 Pd-C (Pd 重量为 10%)。用氢气吹扫反应瓶，并在氢气氛 (用球胆加气) 下搅拌过夜。TLC 和 MS 显示仍然存在原料，因此使反应继续进行过周末。TLC 表明反应完全，反应物经硅藻土过滤，用甲醇洗涤。减压除去溶剂，得到深棕色固体 (0.37g)，该产物无需纯化即可使用。



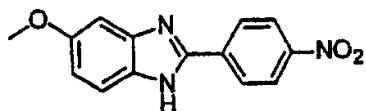
2-(4-氨基苯基)-5-氨基苯并咪唑

15

或者，通过下述还原制备 2-(4-氨基苯基)-5-氨基苯并咪唑：将 2-(4-硝基苯基)-6-硝基苯并咪唑 (8.9g, 31mmol) 悬浮在浓盐酸 (100ml) 中，向其中加入氯化亚锡 (42.3g, 180mmol)。将反应混合物加热回流 5 小时。使该混合物冷却至室温，加入乙醇使所需产物的盐酸盐沉淀。将所得固体过滤，再溶于水中，并通过加入浓氢氧化铵使溶液碱化。将所得沉淀过滤，并真空干燥过夜，得到所需产物，为灰色固体 (6.023g, 26.9mmol, 87%)。通过电喷质谱和 HPLC 测定产物的性质 (熔点 $222 - 227^\circ\text{C}$)。

由 2-(4-硝基苯基)-5-甲氧基苯并咪唑合成 2-(4-氨基苯基)-5-甲氧基苯并咪唑，2-(4-硝基苯基)-5-甲氧基苯并咪唑的制备方法如下：将 1,2-二氨基-4-甲氧基苯 (1.26g, 10.0mmol) 与 4-硝基苯甲酸

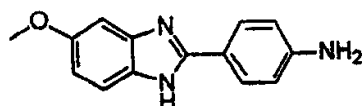
(1.67g, 9.8mmol)混合, 并溶于 POCl_3 (10ml)中, 加热回流 2.5 小时。使反应混合物冷却并小心地倒入冰中。滤出所得固体, 用碳酸氢钠洗涤, 无需进一步纯化即可使用。



2-(4-硝基苯基)-5-甲氧基苯并咪唑

5

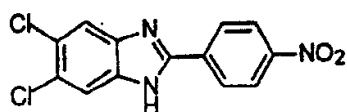
如下制备 2-(4-氨基苯基)-5-甲氧基苯并咪唑: 在室温下搅拌 21 小时, 将 1g 上述硝基苯并咪唑溶于 30% $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (20ml)中。反应混合物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并的有机提取液用硫酸钠干燥并真空浓缩。通过质谱测定产物的性质。



2-(4-氨基苯基)-5-甲氧基苯并咪唑

10

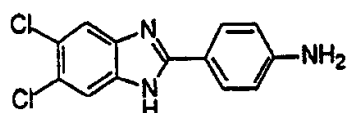
由 2-(4-硝基苯基)-5,6-二氯苯并咪唑合成 2-(4-氨基苯基)-5,6-二氯苯并咪唑, 2-(4-硝基苯基)-5,6-二氯苯并咪唑的制备方法如下: 1,2-二氨基-4,5-二氯苯 (1.68g, 10.0mmol)与 4-硝基苯甲酸 (1.58g, 9.3mmol)混合, 溶于 POCl_3 (10ml)中, 加热回流 2.5 小时。使反应混合物冷却并小心地倒入冰中。滤出所得固体, 用碳酸氢钠洗涤, 无需进一步纯化即可使用。



2-(4-硝基苯基)-5,6-二氯苯并咪唑

20

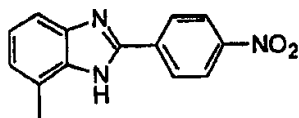
如下制备 2-(4-氨基苯基)-5,6-二氯苯并咪唑: 在室温下搅拌 21 小时, 将 1g 上述硝基苯并咪唑溶于 30% $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (20ml)中。反应混合物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并的有机提取液用硫酸钠干燥并真空浓缩。通过质谱测定产物的性质。



2-(4-氨基苯基)-5,6-二氯苯并咪唑

由 2-(4-硝基苯基)-7-甲基苯并咪唑合成 2-(4-氨基苯基)-7-甲基苯并咪唑，2-(4-硝基苯基)-7-甲基苯并咪唑的制备方法如下：

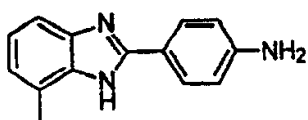
- 5 1,2-二氨基-3-甲基苯 (1.24g, 10.0mmol) 与 4-硝基苯甲酸 (1.69g, 9.8mmol) 混合，溶于 POCl_3 (10ml) 中，加热回流 2.5 小时。使反应混合物冷却并小心地倒入冰中。滤出所得固体，用碳酸氢钠洗涤，无需进一步纯化即可使用。



2-(4-硝基苯基)-7-甲基苯并咪唑

10

如下合成 2-(4-氨基苯基)-7-甲基苯并咪唑：在室温下搅拌 4.5 小时，将 1g 上述硝基苯并咪唑溶于 30% $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (20ml) 中。反应混合物用水稀释，用乙酸乙酯萃取。合并的有机提取液用硫酸钠干燥并真空浓缩。通过质谱测定产物的性质。

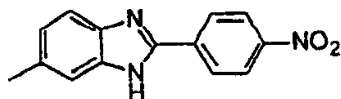


15

2-(4-氨基苯基)-7-甲基苯并咪唑

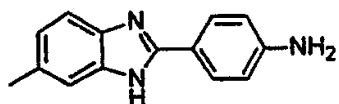
由 2-(4-硝基苯基)-6-甲基苯并咪唑合成 2-(4-氨基苯基)-6-甲基苯并咪唑，2-(4-硝基苯基)-6-甲基苯并咪唑的制备方法如下：

- 20 1,2-二氨基-4-甲基苯 (1.24g, 9.8mmol) 与 4-硝基苯甲酸 (1.6g, 9.9mmol) 混合，并溶于 POCl_3 (10ml) 中，加热回流 2.5 小时。使反应混合物冷却并小心地倒入冰中。滤出所得固体，用碳酸氢钠洗涤，无需进一步纯化即可使用。



2-(4-硝基苯基)-6-甲基苯并咪唑

如下合成 2-(4-氨基苯基)-6-甲基苯并咪唑：在室温下搅拌 4.5 小时，将 1g 上述硝基苯并咪唑溶于 30% $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (20ml) 中。反应混合物用水稀释，用乙酸乙酯萃取。合并的有机提取液用硫酸钠干燥并真空浓缩。通过质谱测定产物的性质。

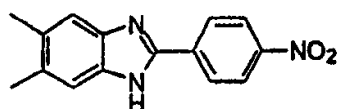


5

2-(4-氨基苯基)-6-甲基苯并咪唑

由 2-(4-硝基苯基)-5,6-二甲基苯并咪唑合成 2-(4-氨基苯基)-5,6-二甲基苯并咪唑，2-(4-硝基苯基)-5,6-二甲基苯并咪唑的制备方法如下：1,2-二氨基-4,5-二甲基苯 (1.38g, 10.1mmol) 与 4-硝基苯甲酸 (1.69g, 9.9mmol) 混合，并溶于 POCl_3 (10ml) 中，加热回流 2.5 小时。使反应混合物冷却并小心地倒入冰中。滤出所得固体，用碳酸氢钠洗涤，无需进一步纯化即可使用。

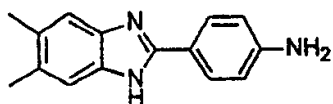
10



2-(4-硝基苯基)-5,6-二甲基苯并咪唑

15

如下制备 2-(4-氨基苯基)-5,6-二甲基苯并咪唑：在室温下搅拌 4.5 小时，将 1g 上述硝基苯并咪唑 (31.1) 溶于 30% $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (20ml) 中。反应混合物用水稀释，用乙酸乙酯萃取。合并的有机提取液用硫酸钠干燥并真空浓缩。通过质谱测定产物的性质。



2-(4-氨基苯基)-5,6-二甲基苯并咪唑

20

接下来通过下列一种方法完成对称二酰胺的制备：

方法 A: 将 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (1mmol) 悬浮于 THF (5ml) 中，向其中加入 DIEA (2.5mmol)，并将混合物冷却至 -78°C 。向上述冷却的混合物中加入酰氯 (2.5mmol)，并使其温热至室温过夜。向反应物中加入水 (2ml)，并用乙酸乙酯萃取。合并的有机提取

25

液用碳酸氢钠水溶液洗涤，并减压浓缩。所得残余物经硅胶（己烷/乙酸乙酯或甲醇/二氯甲烷）或反相 HPLC（乙腈/水）纯化。

方法 B: 将 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑(1mmol)和 DMAP(催化量的 (cat.)) 溶于吡啶(5ml)中。向上述溶液中加入酰氯(2.5mmol)，并将反应物在 60℃ 搅拌过夜。使反应物冷却至室温，加入水使产物沉淀。过滤收集所得固体，用己烷和水以及碳酸氢钠水溶液洗涤。所得残余物经硅胶（己烷/乙酸乙酯或甲醇/二氯甲烷）或反相 HPLC（乙腈/水）纯化。

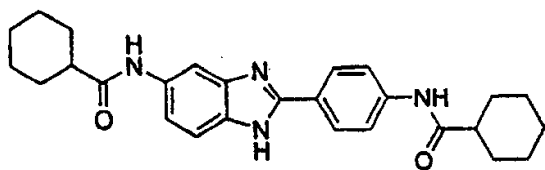
方法 C: 将 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑(1mmol)悬浮于 THF(10ml)中，向其中加入在 0.5ml 水中的碳酸钾(2.5mmol)，并将混合物冷却至-78℃。向上述冷却的混合物中加入酰氯(2.5mmol)，并使其温热至室温过夜。向反应物中加入水(10ml)，并用乙酸乙酯萃取。合并的有机提取液用碳酸氢钠水溶液洗涤，并减压浓缩。所得残余物经硅胶（己烷/乙酸乙酯或甲醇/二氯甲烷）或反相 HPLC（乙腈/水）纯化。

方法 D: 将羧酸(2.2mmol)、EDC (2.2mmol)和 DMAP（催化量的 (cat.)) 溶于热吡啶中。向上述溶液中加入 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑(1mmol)，并加热至 60℃ 过夜。使冷却的反应混合物在水和乙酸乙酯之间分配。有机层用碳酸氢钠洗涤，用硫酸钠干燥并真空浓缩。所得残余物经硅胶（己烷/乙酸乙酯或甲醇/二氯甲烷）或反相 HPLC（乙腈/水）纯化。

二酰基苯并咪唑类化合物

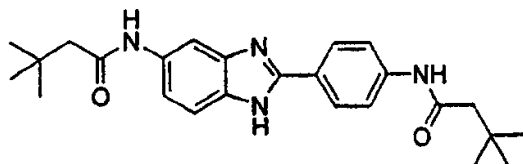
合成包括在所公开通式中的下列化合物，并对其抑制 IgE 的能力进行试验。这些化合物如下所述。

(1) 按照方法 A，由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑(0.195g, 0.87mmol)和环己基羰基氯(0.291ml, 0.319g, 2.175mmol)制备 2-(N-环己基甲酰基-4'-氨基苯基)-6-(环己基甲酰氨基)苯并咪唑。所得固体(76.7 mg)经制备 HPLC 纯化。



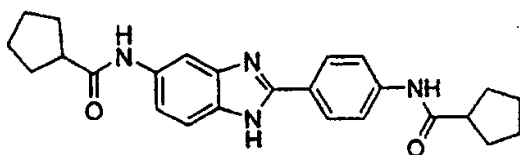
(1)

(2) 按照方法 A, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.195g, 0.87mmol) 和叔丁基乙酰氯 (0.302ml, 0.292g, 2.175mmol) 制备双叔丁基乙酰基苯并咪唑。所得固体 (42.3 mg) 经制备 HPLC 纯化。



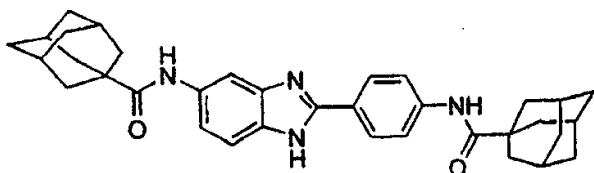
(2)

5 (3) 按照方法 A, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.195g, 0.87mmol) 和环戊基羧基氯 (0.227ml, 0.228g, 2.175mmol) 制备双环戊基羧基苯并咪唑。所得固体 (42.3 mg) 经制备 HPLC 纯化。



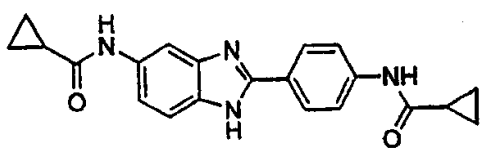
(3)

10 (4) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.500g, 2.23mmol) 和金刚烷基羧基氯 (1.063g, 5.35mmol) 制备双金刚烷基羧基苯并咪唑。所得固体经制备 HPLC 纯化, 得到约 100mg 纯度为 97% 的产物。



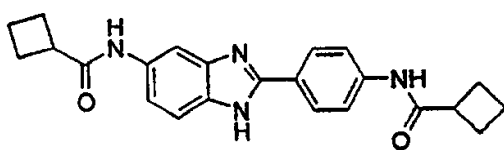
(4)

15 (5) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.500g, 2.23mmol) 和环丙基羧基氯 (0.485ml, 0.559g, 5.35mmol) 制备双环丙基羧基苯并咪唑。所得固体经硅胶 (在二氯甲烷中的 5% 甲醇) 纯化。HPLC 显示产物纯度为 94%。



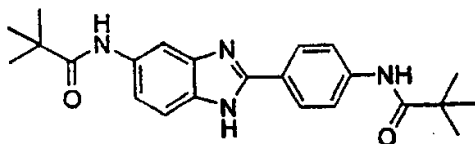
(5)

(6) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.500g, 2.23mmol) 和环丁基羧基氯 (0.610ml, 0.634g, 5.35mmol) 制备双环丁基羧基苯并咪唑。所得固体经硅胶 (在二氯甲烷中的 5% 甲醇) 纯化。HPLC 显示产物纯度为 97.4%。



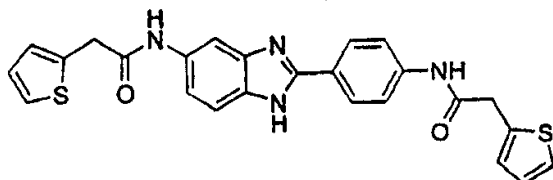
(6)

5 (7) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.500g, 2.23mmol) 和三甲基乙酰基氯 (0.610ml, 0.634g, 5.35mmol) 制备双-三甲基乙酰基苯并咪唑。所得固体经重结晶 (丙酮/己烷) 纯化, HPLC 显示纯度为 95%。



(7)

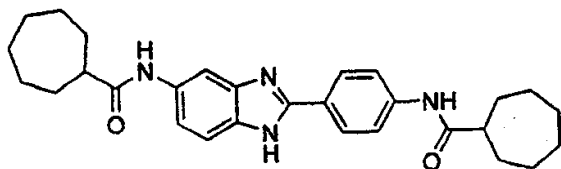
10 (8) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.500g, 2.23mmol) 和噻吩乙酰基氯 (0.660ml, 0.860g, 5.35mmol) 制备双-2-噻吩乙酰基苯并咪唑。所得固体经硅胶 (在二氯甲烷中的 5% 甲醇) 纯化。HPLC 显示产物纯度为 92%。



(8)

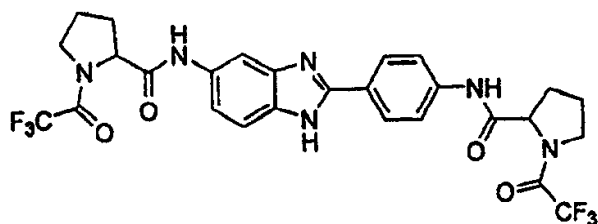
15 (9) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.500g, 2.23mmol) 和环庚基羧基氯 (0.610ml, 0.634g, 5.35mmol) 制备双环庚基羧基苯并咪唑。所得固体经制备 HPLC 纯化, 得到纯度为 98.8% 的固体。如下合成环庚基羧基氯: 向干燥的 25ml 圆底烧瓶中加入环庚甲酸

(1.37ml, 1.42g, 10mmol), 并用氮气吹扫。用注射器向反应瓶中加入草酰氯(7.5ml, 在二氯甲烷中的 2M 溶液), 然后加入 1 滴 DMF。在室温搅拌反应物过夜, 并使反应物真空浓缩。加入二氯甲烷(5ml)并真空浓缩以除去残余的草酰氯(重复 5 次)。



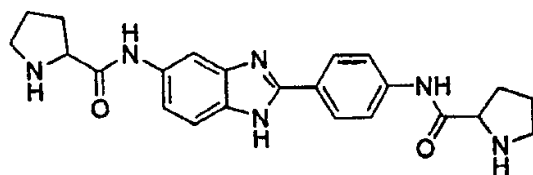
(9)

- 5 (10) 按照方法 A 制备双-(N-三氟乙酰基脯氨酸)苯并咪唑, 不同的是用二氯甲烷作溶剂、由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑(0.448g, 2.0mmol)和 (s)-(-)-N-三氟乙酰基脯氨酸(42.0ml, 0.1M 二氯甲烷溶液)进行制备。所得固体经硅胶(在二氯甲烷中的 5% 甲醇)纯化。HPLC 表明产物纯度为 98.5%。



(10)

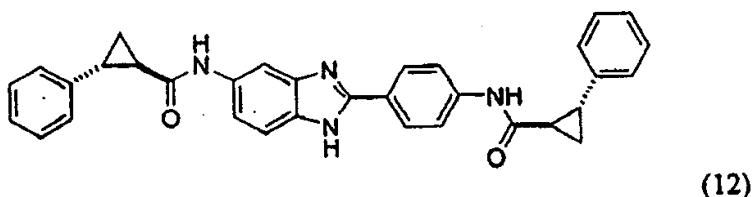
- 10 (11) 如下合成双脯氨酸苯并咪唑: 将双-三氟乙酰基衍生物溶于甲醇(5ml)中, 向其中加入氢氧化锂溶液(0.210g, 在 5ml 水中)。将上述混合物加热至 42℃ 保持 2 小时。反应混合物用二氯甲烷(5 × 15ml)萃取。将合并的有机提取液真空浓缩, 得到固体, 经 HPLC 分析表明纯度为 95.6%。



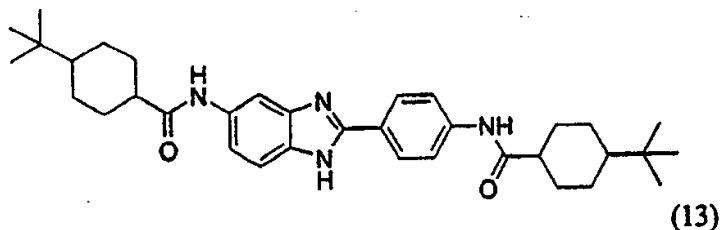
(11)

- 15 (12) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑(0.500g, 2.23mmol)和反式-2-苯基-1-环丙甲酰氯(0.831ml, 0.966g, 5.35mmol)制备双-反式-2-苯基-环丙羧基苯并咪唑。所得固体经硅胶

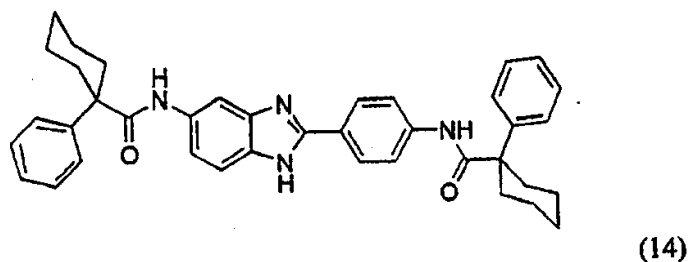
(在二氯甲烷中的 5% 甲醇) 纯化。HPLC 显示产物纯度为 95.5%。



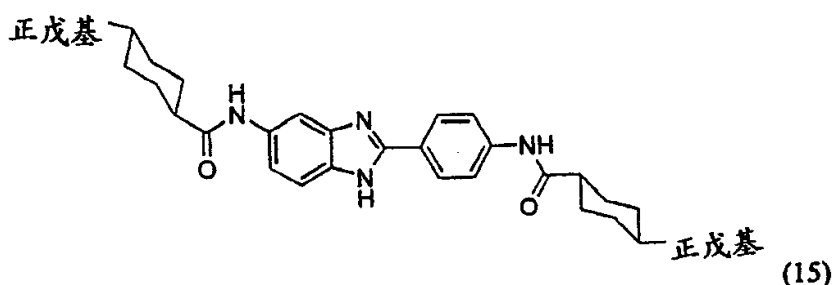
(13) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.425g, 1.89mmol) 和 4-叔丁基环己基羧基氯 (0.814g, 4.25mmol) 制备双-4-叔丁基环己基羧基苯并咪唑。所得固体经硅胶 (在二氯甲烷中的 5% 甲醇) 纯化。HPLC 显示产物纯度为 90%。



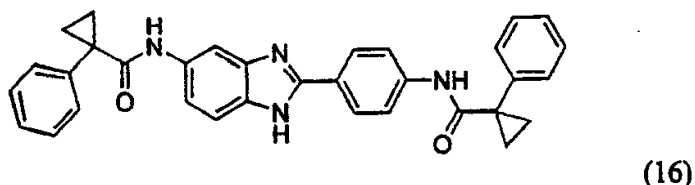
(14) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.467g, 2.08mmol) 和 1-苯基环己基羧基氯 (1.046g) 制备双-1-苯基环己基羧基苯并咪唑。所得固体经硅胶 (在二氯甲烷中的 5% 甲醇) 纯化。HPLC 显示产物纯度为 93.3%。



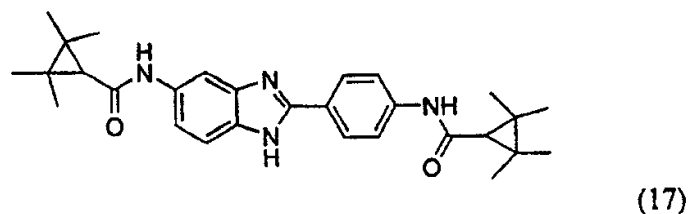
10 (15) 如下合成双-反式-4-戊基环己基羧基苯并咪唑: 向反式-4-戊基环己基甲酸 (0.424g, 2.14mmol) 中加入草酰氯 (1.07ml, 2M 二氯甲烷溶液), 然后加入 1 滴 DMF。使该混合物在室温反应 1 小时。向上述溶液中加入在吡啶 (2ml) 中的 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.200g, 0.89mmol)。将反应物加热至 60℃ 过夜。将反应物冷却, 15 滤出沉淀, 并用碳酸氢钠和己烷洗涤。所得固体经制备 HPLC 纯化, 得到纯度 >99% 的固体。



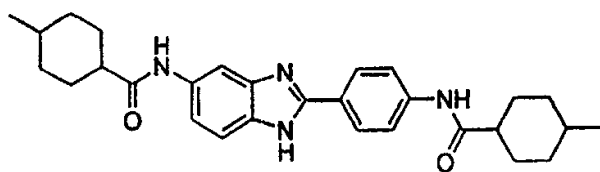
(16) 按照方法 C, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.530g, 2.36mmol) 和 1-苯基环丙羧基氯 (0.9625g, 5.3mmol) 制备双-1-苯基环丙羧基苯并咪唑。所得固体经硅胶 (在二氯甲烷中的 5% 甲醇) 纯化。HPLC 显示产物纯度为 93.4%。



- 5 (17) 如下合成双-(2,2,3,3-四甲基环丙烷)羧基苯并咪唑: 向 2,2,3,3-四甲基环丙烷甲酸 (0.305g, 2.14mmol) 中加入草酰氯 (1.07ml, 2M 二氯甲烷溶液), 然后加入 1 滴 DMF。使该混合物在室温反应 1 小时。向上述溶液中加入在吡啶 (2ml) 中的 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.200g, 0.89mmol)。将反应物加热至 60℃ 过夜。
- 10 使反应物冷却, 滤出沉淀, 并用碳酸氢钠和己烷洗涤。所得固体经制备 HPLC 纯化, 得到纯度 >99% 的固体。

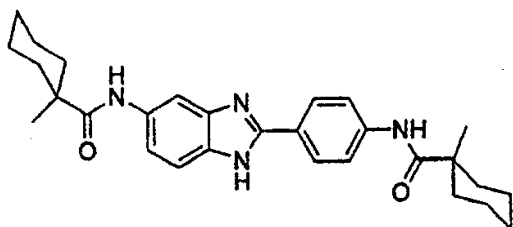


- (18) 按照方法 D, 由 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.100g, 0.44mmol) 和 4-甲基环己基甲酸 (0.138g, 0.96mmol) 制备双-4-甲基环己基羧基苯并咪唑。所得固体经硅胶 (在二氯甲烷中的 5% 甲醇) 纯化。HPLC 显示产物纯度为 94.5%。
- 15



(18)

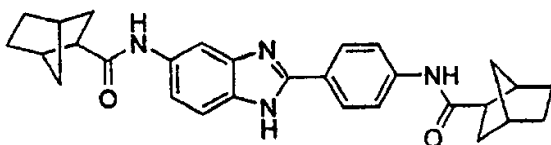
(19) 如下合成双-1-苯基环己基羧基苯并咪唑：向 1-甲基环己烷甲酸 (0.305g, 2.14mmol) 中加入草酰氯 (1.07ml, 2M 二氯甲烷溶液)，然后加入 1 滴 DMF。使该混合物在室温反应 1 小时。向上述溶液中加入在吡啶 (2ml) 中的 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.200g, 0.89mmol)。将反应物加热至 60℃ 过夜。



(19)

使反应物冷却并滤出沉淀，用碳酸氢钠和己烷洗涤。所得固体经制备 HPLC 纯化，得到纯度>99%的固体。

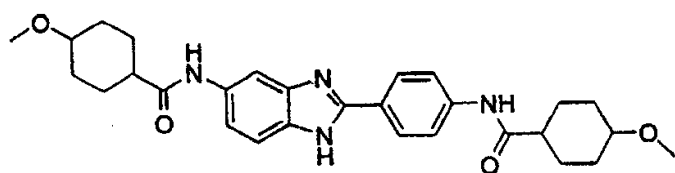
(20) 如下制备双-二环[2.2.1]庚-2-羧基苯并咪唑：向二环[2.2.1]庚烷甲酸 (0.305g, 2.14mmol) 中加入草酰氯 (1.07ml, 2M 二氯甲烷溶液)，然后加入 1 滴 DMF。使该混合物在室温反应 1 小时。向上述溶液中加入在吡啶 (2ml) 中的 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.200g, 0.89mmol)。将反应物加热至 60℃ 过夜。使反应物冷却并滤出沉淀，用碳酸氢钠和己烷洗涤。所得固体经制备 HPLC 纯化，得到纯度>68%的固体。



(20)

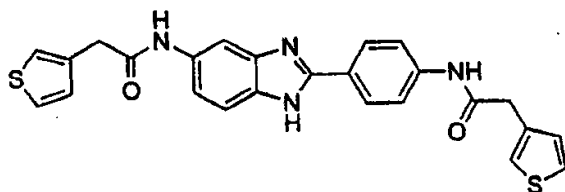
(21) 如下制备双-4-甲氧基环己基羧基苯并咪唑：向 4-甲氧基-1-环己烷甲酸 (0.338g, 2.14mmol) 中加入草酰氯 (1.07ml, 2M 二氯甲烷溶液)，然后加入 1 滴 DMF。使该混合物在室温反应 1 小时。向上述溶液中加入在吡啶 (2ml) 中的 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑

(0.200g, 0.89mmol). 将反应物加热至 60℃ 过夜。使反应物冷却并滤出沉淀, 用碳酸氢钠和己烷洗涤。



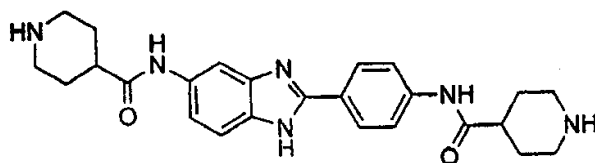
(21)

(22) 如下制备双-3-噻吩乙酰基苯并咪唑: 向 3-噻吩乙酸 (0.338g, 2.14mmol) 中加入草酰氯 (1.07ml, 2M 二氯甲烷溶液), 然后加入 1 滴 DMF。使该混合物在室温反应 1 小时。向上述溶液中加入在吡啶 (2ml) 中的 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.200g, 0.89mmol)。将反应物加热至 60℃ 过夜。使反应物冷却并滤出沉淀, 用碳酸氢钠和己烷洗涤。



(22)

(23) 如下制备双-4-哌啶甲酰氨基苯并咪唑: 在 -20℃, 将双-N-boc-4-哌啶甲酰氨基苯并咪唑 (0.400g) 溶于 1:1 的 TFA : CH₂Cl₂ (4ml) 中过夜。真空除去溶剂并加入水, 在干冰上冷冻并冻干。如下合成 Boc-保护的苯并咪唑: 向 N-Boc-哌啶甲酸 (1.293g, 5.64mmol) 中加入草酰氯 (2.82ml, 2M 二氯甲烷溶液), 然后加入 1 滴 DMF。使该混合物在室温反应 1 小时。向上述溶液中加入在吡啶 (5ml) 中的 2-(4-氨基苯基)-6-氨基苯并咪唑 (0.500g, 2.24mmol)。将反应物加热至 60℃ 过夜。使反应物冷却并滤出沉淀, 用碳酸氢钠和己烷洗涤。HPLC 分析表明所得固体的纯度 >99%。



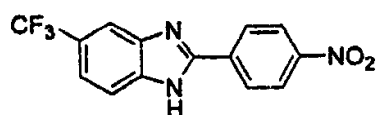
(23)

IgE 的一酰基苯并咪唑抑制剂

与上述二酰基化合物有关的一类 IgE 抑制剂是不对称一酰基化苯并咪唑化合物。如下所述合成几种一酰基化合物：

- (1) 由一系列苯并咪唑中间体合成 2-(N-环己烷基-4-氨基苯基)-5-三氟甲基苯并咪唑：1) 2-(4-硝基苯基)-5-三氟甲基苯并咪唑 (指定为 1.1) 和 2) 2-(4-氨基苯基)-5-三氟甲基苯并咪唑 (指定为 1.2)。

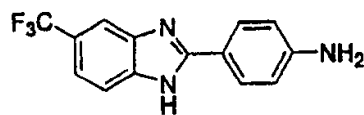
(1.1) 如下合成 2-(4-硝基苯基)-5-三氟甲基苯并咪唑：将 1,2-二氨基-4-三氟甲基苯 (1.76g, 10.0mmol) 与 4-硝基苯甲酸 (1.67g, 9.8mmol) 混合，溶于 POCl_3 (12ml) 中，并加热回流 2.5 小时。使反应混合物冷却并小心地倒入冰中。滤出所得固体，用碳酸氢钠洗涤，无需进一步纯化即可使用。



(1.1)

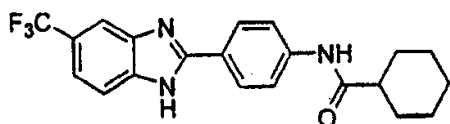
(1.2) 由 2-(4-硝基苯基)-5-三氟甲基苯并咪唑 (1.1; 如上) 制备 2-(4-氨基苯基)-5-三氟甲基苯并咪唑。将 2-(4-硝基苯基)-5-三氟甲基苯并咪唑粗产物滤液溶于浓盐酸 (15ml) 中，向其中加入 $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (13.5g, 59mmol) 并加热回流 16 小时。使反应物冷却，并通过加入乙醇 (75ml) 使盐酸盐沉淀。

滤出固体，用乙醇洗涤，并溶于水中。通过加入浓氢氧化铵使该盐中和，并过滤分离游离碱。通过质谱确定该产物的性质。



(1.2)

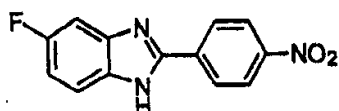
(1) 由胺，2-(4-氨基苯基)-5-三氟甲基苯并咪唑 (1.2; 如上) 制备 2-(N-环己烷基-4-氨基苯基)-5-三氟甲基苯并咪唑。将上述胺 (0.239g, 0.86mmol) 溶于 $\text{THF}:\text{H}_2\text{O}$ (5ml, 1:1) 中，然后加入碳酸钾 (0.1213g, 0.88mmol) 和环己基羧基氯 (130 μl , 0.95mmol)。将反应混合物在室温振摇 23 小时。向反应物中加入氯化钠，并用乙酸乙酯萃取该混合物。合并的有机提取液用水洗涤，用硫酸钠干燥并真空浓缩。所得固体经制备 TLC 纯化 (在二氯甲烷中的 10% 甲醇)。



(1)

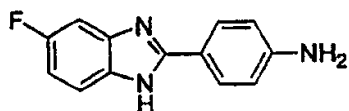
由一系列苯并咪唑中间体合成下一个化合物(2), 即 2-(N-环己羧基-4-氨基苯基)-5-氟苯并咪唑: 1) 2-(4-硝基苯基)-5-氟苯并咪唑 (指定为 2.1) 和 2) 2-(4-氨基苯基)-5-氟苯并咪唑 (指定为 2.2)。

(2.1) 如下合成 2-(4-硝基苯基)-5-氟苯并咪唑: 将 1,2-二氨基-4-氟苯 (1.26g, 10.0mmol) 与 4-硝基苯甲酸 (1.67g, 9.8mmol) 混合, 溶于 POCl_3 (10ml) 中, 并加热回流 2.5 小时。使反应混合物冷却并小心地倒入冰中。滤出所得固体, 用碳酸氢钠洗涤, 无需进一步纯化即可使用。



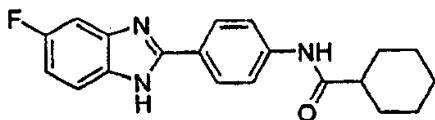
(2.1)

(2.2) 如下制备 2-(4-氨基苯基)-5-氟苯并咪唑。在室温和搅拌下, 将 1g 上述硝基苯并咪唑 (2.1) 溶于 30% $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (20ml) 中 24 小时。反应混合物用水稀释, 并用乙酸乙酯萃取。合并的有机提取液用硫酸钠干燥并真空浓缩。通过质谱确定该产物的性质。



(2.2)

(2) 如下制备 2-(N-环己羧基-4-氨基苯基)-5-氟苯并咪唑: 将 0.100g (0.44mmol) 上述胺 (2.2) 溶于吡啶 (1ml) 中, 然后加入环己烷羧基氯 (63.2 μ l), 并加热至 60 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。反应物用水 (8ml) 稀释, 并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机馏分合并, 用硫酸钠干燥并真空浓缩。所得固体经闪式色谱纯化 (在二氯甲烷中的 5% 甲醇)。

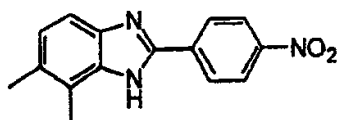


(2)

由一系列苯并咪唑中间体合成下一个化合物(3), 即 2-(N-3',4'-二氯苯甲酰基-4-氨基苯基)-3,4-二甲基苯并咪唑: 1) 2-(4-硝基苯基)-4,5-二甲基苯并咪唑 (指定为 3.1) 和 2) 2-(4-氨基苯基)-4,5-

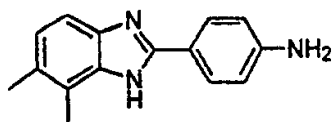
二甲基苯并咪唑（指定为 3.2）。

- (3.1) 如下合成 2-(4-硝基苯基)-4,5-二甲基苯并咪唑：将 1,2-二氨基-3,4-二甲基苯 (1.36g, 9.8mmol) 与 4-硝基苯甲酸 (1.67g, 9.8mmol) 混合，溶于 POCl_3 (10ml) 中，并加热回流 2.5 小时。使反应混合物冷却并小心地倒入冰中。滤出所得固体，用碳酸氢钠洗涤，无需进一步纯化即可使用。



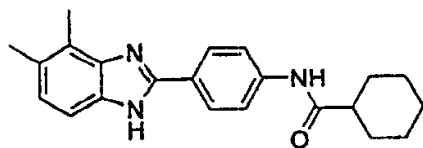
(3.1)

- (3.2) 如下合成 2-(4-氨基苯基)-4,5-二甲基苯并咪唑：在室温和搅拌下，将 1g 上述硝基苯并咪唑 (3.1) 溶于 30% $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (20ml) 中 2.5 小时。反应混合物用水稀释，并用乙酸乙酯萃取。合并的有机提取液用硫酸钠干燥并真空浓缩。通过质谱确定该产物的性质。



(3.2)

- (3) 如下制备 2-(N-环己烷基-4-氨基苯基)-3,4-二甲基苯并咪唑：将 0.0954g (0.402mmol) 上述胺 (3.2) 溶于吡啶 (1ml) 中，然后加入环己烷羧基氯 (57.6 μ l)，并加热至 60 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。反应物用水 (8ml) 稀释，并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机馏分合并，用硫酸钠干燥并真空浓缩。所得固体经闪式色谱纯化（在二氯甲烷中的 5% 甲醇）。



(3)

IgE 下调活性

- 在体外和体内分析中，对所有公开的化合物抑制 IgE 的能力进行试验。在体外和体内试验中它们均具有上述活性。化合物在体外试验中的活性 (IC_{50}) 在约 100pM 至 1nM 的范围内。在体内分析中， IC_{50} 的范围是约 100 $\mu\text{g/kg}$ 体重/天至约 10mg/kg 体重/天。总的来说，二酰基苯并咪唑化合物比一酰基苯并咪唑化合物更为有效。

IgE 反应的抑制

采用上述体外和体内分析测定本发明小分子的抑制活性。上述所

有化合物均具有抑制 IgE 反应的活性。在体外分析中，I-XI 种化合物的 50%抑制浓度为 1pM 至 10 μ M。在体内分析中，当分多次剂量（如每天 2-4 次）、以至少连续 2-7 天给药时，各化合物的有效浓度范围是从小于约 0.01mg/kg/天至约 25mg/kg/天。因此，本发明的小分子抑制剂适用于降低抗原引起的 IgE 浓度增加，因此可用于治疗 IgE 依赖过程、例如变态反应和尤其是变应性气喘。

治疗方案

有效治疗具体的变态反应或疾病的 IgE 抑制剂化合物的量取决于疾病的性质，并且可以通过标准临床技术确定。在给定状态所用的准确剂量还将取决于所选择的化合物以及疾病的严重程度，并且应该根据医师的判断和每个患者的情况决定。医师根据患者 IgE 的水平与肺的标准指数和血液动力学的变化之间的剂量反应关系确定和调整合适的剂量。此外，本领域专业人员可以理解，按照本文所公开的体外和体内筛选方案、无需进行过多的实验即可确定剂量范围（参见例如，Hasegawa 等，J. Med. Chem. 40: 395-407 (1997)和 Ohmori 等，Int. J. Immunopharmacol. 15:573-579 (1993)；采用类似的体外和体内分析通过萘衍生物确定抑制 IgE 的剂量-反应关系；该文献结合在本文中作为参考）。

最初，化合物的合适剂量通常为约 0.001mg 至约 300mg/kg 体重/天，分多次剂量给药，更有效的是约 0.01mg 至约 100mg/kg 体重/天，分多次剂量给药。所述化合物优选以适合于下列途径的药物制剂形式系统给药，所述途径是例如口服、气溶胶、静脉内、皮下或任何其他可有效提供系统剂量活性化合物的途径。药物制剂的组合物是本领域公知的。优选的治疗方案包括定期给药。此外，对于连续接触变应原引发的变应性反应可以进行长期治疗。对于单一变应原激发的动物，连续 2-7 天，每天一次或每天两次给药可以有效地抑制 IgE 反应。因此，优选的方案是，以规定的时间间隔、至少连续 2 天施用该化合物。当然，治疗方案、包括给药频率和治疗时间可以由专业医师根据变应原的性质、剂量、频率和接触变应原的时间以及标准临床指数决定，并且可以根据需要进行调整，以最佳地下调 IgE。

在本发明的一个具体实施方案中，可以将 IgE 抑制化合物与所公开的一种或多种其他小分子抑制剂联合给药，以产生最佳的患者 IgE

反应下调作用。再者，可以预见，一种或多种本发明化合物可以与已知的或以后发现的治疗变态反应或气喘的基础起因以及急性症状的其他药物联合给药。预期包括在本发明范围内这种联合治疗包括将一种或多种小分子 IgE 抑制剂与一种或多种其他已知有效减轻至少一种所述疾病症状的成分混合。在变化的方式中，本文所公开的小分子 IgE 抑制剂可以与其他药物分别给药，但是应在同样的病程中分别给药，其中 IgE 抑制剂和缓解化合物根据其独立的有效治疗方案给药。

尽管已经详细描述了许多本发明的优选具体实施方案及其变化形式，但是其他的改进和方法的使用对于本领域的专业人员来说是显而易见的。因此，应该理解，不背离本发明精神和权利要求范围的各种应用、改进和替代方式是等价的。