



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106232182 B

(45)授权公告日 2019.11.01

(21)申请号 201480074769.6

A61K 31/427(2006.01)

(22)申请日 2014.11.28

A61K 31/422(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61K 31/4439(2006.01)

申请公布号 CN 106232182 A

A61K 31/497(2006.01)

(43)申请公布日 2016.12.14

A61K 31/4402(2006.01)

(30)优先权数据

A61P 25/28(2006.01)

13195372.1 2013.12.02 EP

A61P 29/00(2006.01)

(续)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(56)对比文件

2016.08.02

WO 2011019681 A1, 2011.02.17,

(86)PCT国际申请的申请数据

CN 103119038 A, 2013.05.22,

PCT/EP2014/075986 2014.11.28

WO 2013158939 A1, 2013.10.24,

(87)PCT国际申请的公布数据

WO 03020313 A1, 2003.03.13,

W02015/082357 EN 2015.06.11

WO 2005058295 A2, 2005.06.30,

(73)专利权人 梯瓦制药工业有限公司

WO 2008141013 A1, 2008.11.20,

地址 以色列佩塔提克瓦市

WO 2011008475 A1, 2011.01.20,

(72)发明人 奇亚拉·卡拉梅丽

CN 1658871 A, 2005.08.24,

切萨雷·费德里科

Miguel Guerrero等. Discovery, design
and synthesis of a selective S1P agonist.
《Bioorg. Med. Chem. Lett.》.2013, 第23卷(第
23期), 第6346-6349页.

(续)

(74)专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限

孙翠梅等.S1P信号通路及其在神经系统疾
病中的作用.《山东省2013年神经内科学术会
议暨中国神经免疫大会2013论文汇编》.2013, 第
264页.

公司 11002

AnthonyDon等.Regiospecific loss of
essential lipids sphingosine 1-phosphate
and galactosylceramide early in
Alzheimer's disease pathogenesis.
《Alzheimer's & Dementia》.2013, 第9卷(第4
期), 第712-713页.

代理人 张晶 王朋飞

审查员 赵鹏

(51)Int.Cl.

权利要求书5页 说明书60页 附图4页

C07D 213/75(2006.01)

C07D 401/12(2006.01)

C07D 403/12(2006.01)

C07D 413/12(2006.01)

C07D 413/14(2006.01)

C07D 417/12(2006.01)

C07D 417/14(2006.01)

C07D 405/14(2006.01)

A61K 31/444(2006.01)

A61K 31/4245(2006.01)

体的拮抗剂及其药物组合物。式(A)的化合物用
于制备药物,特别是治疗阿尔兹海默病的药物。

(54)发明名称

S1P3拮抗剂

B

(57)摘要

本发明涉及如本文所描述的式(A)的S1P3受

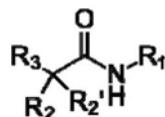
[转续页]

CN 106232182 B

[接上页]

(72)发明人 埃马努埃莱·加白里艾瑞	A61P 9/00(2006.01)
马泰奥·马尼亚尼 约兰达·米科	A61P 9/06(2006.01)
格奥尔格·C·泰斯塔潘	A61P 9/10(2006.01)
(51)Int.Cl.	A61P 11/00(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)	A61P 11/06(2006.01)
	A61P 13/12(2006.01)

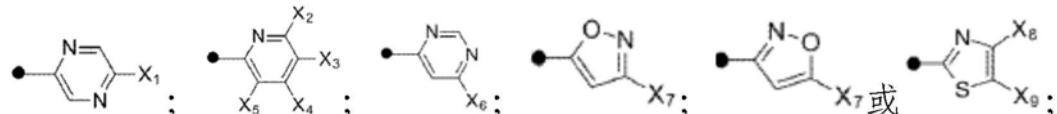
1. 式(A)的化合物或其药学上可接受的盐，



(A)

其中，

●—R₁为



X_1, X_6, X_7, X_9 为卤素，可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₄直链、支链或环状烷基；

X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 和 X_8 为氢,卤素,可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₄直链、支链或环状烷基;

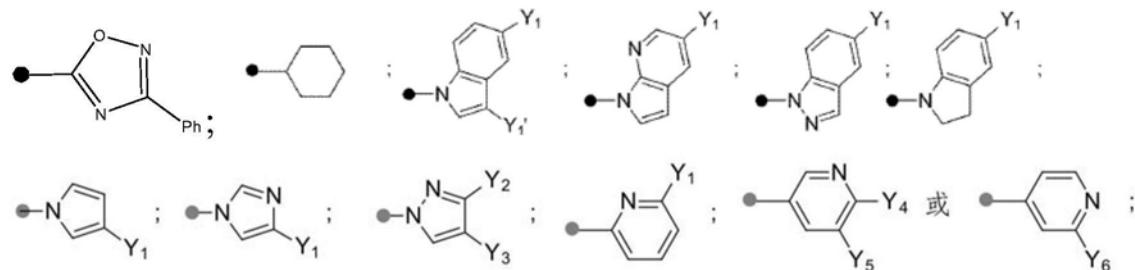
条件是 X_2 、 X_3 、 X_4 和 X_5 中的至少一个不为氢；

R₂为可选地被一个或多个氟原子取代的C₃-C₆直链、支链或环状烷基；

R₂'为氢、F、可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链或支链烷基；

或者R₂和R₂'连同与其连接的碳原子形成C₃-C₆环烷基环；

●—R₃为



Y_1 为卤素；

γ_1' 为可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基；

Y_2 为氟基或甲氧基苯基,可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基;

Y_3 为氢、卤素或甲氧基苯基；

Y_4 为氢, 卤素, N-甲基吡唑基, 或者可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷氨基;

Y_5 为氢，卤素，氰基，或者可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基；

条件是 Y_4 和 Y_5 中的至少一个不为氢；

Y_6 为卤素,可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基,或者可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷氧基。

2. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中，

X_1 为卤素；

X_2 为氢、卤素或甲基；

X₃为氢、卤素或三氟甲基；

X₄为氢或甲基；

X₅为氢或卤素；

X₆为卤素；

条件是X₂、X₃、X₄和X₅中的至少一个不为氢；

X₇为叔丁基或三氟甲基；

X₈为氢、甲基或叔丁基；

X₉为卤素；

R₂为正丙基、异丙基、正丁基或环己基；

R_{2'}为氢、F或甲基；

或者R₂和R_{2'}连同与其连接的碳原子形成环丁基或环戊基；

Y₁为卤素；

Y_{1'}为甲基；

Y₂为甲基、正丙基、氰基、三氟甲基或4-甲氧基苯基；

Y₃为氢、卤素或4-甲氧基苯基；

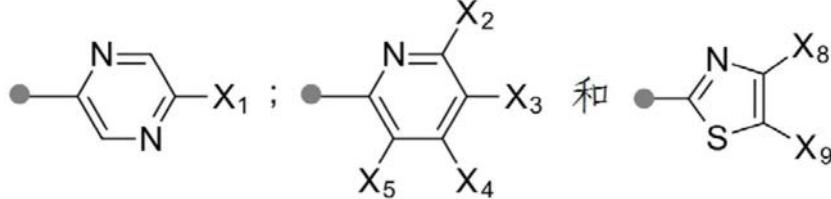
Y₄为氢、卤素、甲氧基或1-甲基-吡唑-4-基；

Y₅为氢、卤素、氰基或甲基；

条件是Y₄和Y₅中的至少一个不为氢；

Y₆为卤素、甲氧基或二氟甲氧基。

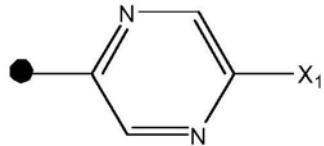
3. 根据权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中●—R₁选自



。

4. 根据权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中

●—R₁为



X₁为卤素，C₁-C₄直链、支链或环状烷基，或被一个或多个氟原子取代的C₁-C₄直链、支链或环状烷基。

5. 根据权利要求4所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中X₁为卤素。

6. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐，其选自以下化合物：

1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺；

2-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺；

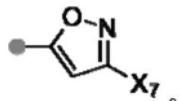
2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；

2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；

2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺；

2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(2-二氟甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-[6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-噻唑-2-基)-酰胺；
 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-3-甲基-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-6-氟-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-氟-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-氟-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺；
 2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-(4-溴-3-氰基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(4-[4-甲氧基-苯基]-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(4-溴-3-甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(4-溴-咪唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺；
 2-[3-(4-甲氧基-苯基)-吡唑-1-基]-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(4-溴-3-氰基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-[5-氟-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-[5-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-溴-吡嗪-2-基)3-甲基-丁酰胺；
 N-(5-溴-3-氟-吡啶-2-基)-2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-甲基-丁酰胺；
 N-(5-溴-吡嗪-2-基)-2,2-二环己基-乙酰胺；
 1-(5-溴-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(5-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(5-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺；
 2-(6-氯-5-甲基-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺；
 以及2-(2-氯-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺。

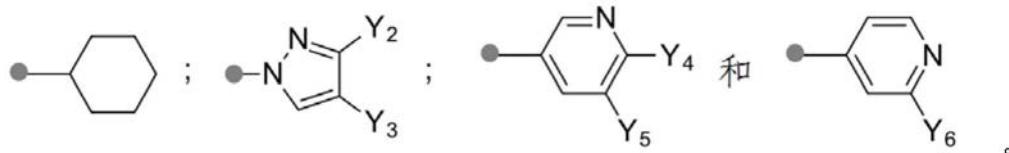
7. 根据权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中●—R₁为



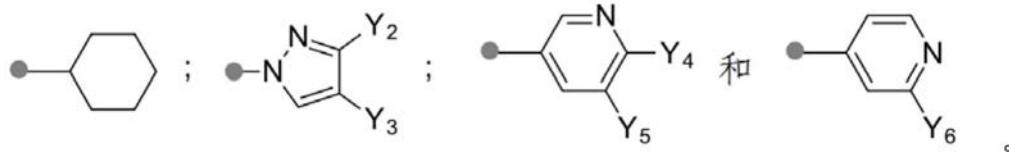
8. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其选自2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺和2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺。

9. 根据权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中R₂为C₃-C₆直链烷基, R₂'为氢。

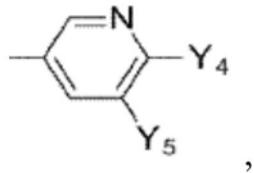
10. 根据权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中●—R₃选自



11. 根据权利要求3或5所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中●—R₃选自



12. 根据权利要求10所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中
●—R₃为



Y₄为氢、卤素、甲氧基或1-甲基-吡唑-4-基,

Y₅为氢、卤素、氰基或甲基,

条件是Y₄和Y₅中的至少一个不为氢。

13. 根据权利要求12所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中

Y₄为氢,

Y₅为卤素。

14. 根据权利要求12所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中

Y₄为卤素,

Y₅为氰基。

15. 根据权利要求6所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物为2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺。

16. 根据权利要求6所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物为2-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺。

17. 药物组合物, 其含有权利要求1、2、6、8、15和16中任一项所述的化合物和药学上可接受的载体。

18. 权利要求1、2、6、8、15和16中任一项所述的化合物在制备用于治疗患有选自关节炎、纤维化、炎症综合征、动脉粥样硬化、血管疾病、哮喘、心动过缓、急性肺损伤、肺部炎症、癌症、高眼压症、青光眼、神经炎性疾病、神经退行性疾病、山德霍夫氏病、肾缺血再灌注损伤、疼痛和糖尿病性心脏病中的疾病的个体的药物中的应用。

19. 权利要求1、2、6、8、15和16中任一项所述的化合物在制备用于治疗患有选自阿尔兹海默症、帕金森病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、亨廷顿舞蹈症和多发性硬化症中的疾病的个体的药物中的应用。

20. 权利要求1、2、6、8、15和16中任一项所述的化合物在制备用于治疗患有阿尔兹海默症的个体的药物中的应用。

21. 权利要求1、2、6、8、15和16中任一项所述的化合物在制备用于抑制个体细胞中S1P3受体的药物中的应用。

S1P3拮抗剂

技术领域

[0001] 本发明涉及如本文所描述的式(A)的S1P3受体的新拮抗剂及其药物用途。
[0002] 这样的拮抗剂可用于治疗炎症相关疾病例如关节炎、纤维化、炎症综合征、动脉粥样硬化、血管疾病、哮喘、心动过缓、急性肺损伤、肺部炎症、癌症、高眼压症、青光眼、神经炎性疾病、山德霍夫氏病、肾缺血再灌注损伤、疼痛、糖尿病性心脏病和神经退行性疾病例如阿尔兹海默症、帕金森病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、亨廷顿舞蹈症或多发性硬化症。

背景技术

[0003] S1P3受体基因编码广泛存在于中央和周围人体组织中的受体的内皮细胞分化基因(EDG)的家族成员(Rosen et al., 2009; Ishii et al., 2001)。S1P₃受体(也称为:EDG3、LPB3、S1PR3、EDG-3)属于G蛋白偶联受体(GPCR)类中五类(S1P₁₋₅)七次跨膜蛋白的一类,其天然配体是生物活性脂质鞘氨醇-1-磷酸酯(S1P)(Chun et al., 2002)。S1P参与调节多种生理过程的大量细胞应答,所述多种生理过程例如先天免疫、伤口愈合、血管内皮细胞功能、炎性反应及其他(Ishii et al., 2004; Brinkmann, 2007; Rosen et al., 2009; Maceyka et al., 2012)。在第二信使(Spiegel and Milstien, 2003)的直接作用下,S1P在细胞内产生,并输出到细胞外作为内源性配体作用于S1P细胞膜受体。

[0004] 在许多器官中表达的S1P受体能够通过各种异三聚体G蛋白,包括G_{i/o}、G_{12/13}和G_q,来触发信号转导。S1P₁₋₅受体家族中,已证明S1P₃在多种生理过程例如心率调节、血管生成和血管收缩(Forrest et al., 2004; Sanna et al., 2004; Marsolais and Rosen, 2009; Means and Brown, 2009; Murakami et al., 2010),在胚胎血管生成发育中(Kono et al., 2004)或作为自噬调节剂(Taniguchi et al., 2012)是功能相关的。S1P₃受体还深入地参与免疫过程(Brinkmann V. (2009))。重要的是,缺失S1P₃受体的小鼠没有显示出明显的异常,表明受体对正常动物发育的作用不是必需的(Ishii et al., 2001)。如前所述,S1P作为先天免疫的必要调节剂和炎症诱导物发挥重要的作用。一旦由广泛类型的细胞甚至是无核细胞(例如血小板)(Pyne and Pyne, 2000)产生并作为信号分子释放,S1P就能在炎症中发挥重要作用。如上所述,连同整个S1P受体家族,主要研究了S1P₃受体系统在疾病中的作用,并证明其参与大量的病症。根据文献,S1P₃作为涉及具有炎性成分的病症的重要目标,在这种情况下,受体的药物抑制可能会抵消疾病演变。S1P₃受体对其他治疗领域似乎也是有吸引力的目标,这些领域中S1P₃拮抗作用的潜在治疗作用已得到证实。

[0005] 周围疾病中S1P₃的拮抗作用

[0006] 已证明,S1P₃活性涉及炎症相关疾病例如关节炎(Lai et al., 2010),多种类型的纤维化(Shea and Tager, 2012)如心脏纤维化(Takuwa et al., 2010)、肺纤维化(Kono et al., 2007)、肌肉纤维化(Cencetti et al., 2008)和肝纤维化(Li et al., 2009)或其他更普通的炎症综合征(Niessen et al., 2008),在这些情况下S1P₃受体拮抗作用可能会限制病理过程。

[0007] 心血管系统中S1P₃受体活化可发挥多种病理相关效果。血液中,由活化血小板释

放的S1P刺激血管内皮中的S1P₃(和S1P₁)受体,降低血管细胞旁通透性(para-cellular permeability) (Mehta et al. 2005; Sun et al. 2009)。此外,已证明,S1P₃反式激活破坏血管屏障调节(Singleton et al., 2006)。而且,巨噬细胞中S1P的趋化作用(体外和体内已证明)也由S1P₃调节,因此通过促进炎性单核细胞/巨噬细胞的募集和改变血管平滑肌细胞行为从而在动脉粥样硬化中发挥因果作用(Keul et al., 2011)。最后,Takakura小组已通过特异性拮抗剂证明,S1P-诱导的冠脉流量降低取决于S1P₃受体,因此可调节这样的拮抗作用从而消减S1P相关的血管疾病和血管痉挛综合征(Murakami et al., 2010)。有趣的是,在S1P₃敲除小鼠或S1P₃药物抑制后的大鼠的心脏中没有出现由S1P受体非选择性激动剂诱导的持续心动过缓(Sanna et al., 2004; Murakami et al., 2010)。此外,在糖尿病心脏血管微循环细胞中,体内和体外均证明,激动剂FTY720通过刺激S1P3从膜到核的转运发挥功能性拮抗作用。可论证地,药物调节S1P₃受体可有利于缓解糖尿病心脏微血管病(Yin et al., 2012)。

[0008] Ba jwa等人(2012)证明,S1P在肾缺血再灌注损伤(IRI)中发挥关键作用。S1P₃受体-缺损的小鼠受IRI保护。这种保护作用,至少部分是由于S1P₃-缺损的树突细胞之间的差异。从而推定药物治疗能够限制S1P₃活性或用缺少S1P₃受体的树突细胞能够有助于抵抗IRI进展。

[0009] 另外,呼吸系统的几个生理参数受S1P₃活性影响。最近证明,S1P途径活化在体内和体外诱导广义的气道高反应性,这是由S1P₃受体介导的。然后,除了或根据上下文的对肺纤维化的上述假定的治疗效果,S1P₃拮抗作用可代表旨在阻止哮喘相关的气道高反应性的新治疗策略(Trifilieff and Fozard, 2012)。还证明了S1P₃完全地参与急性肺损伤,在这种情况下它促进趋化性并增加内皮细胞和上皮细胞的渗透性(Uhlig and Yang, 2013)。在Chen等人(2008)的出版物中,提出在肺上皮细胞中,通过S1P₃作用、增加钙内流和Rho激酶,S1P活化cPLA(2) α 并释放花生四烯酸。然后,理解到在上皮细胞中该机制可以提供潜在目标从而控制肺中的炎性过程。

[0010] S1P₃受体在其他非炎性疾病中发挥重要作用。在癌症中,已证明S1P₃活化促进乳腺癌细胞的侵袭性(Kim et al., 2011),该作用可由能够阻断受体的特异性抗体减弱(Harris et al., 2012)。在甲状腺癌细胞(Balthasar et al., 2006)和胶质瘤细胞(Young et al., 2007)中获得了相似结果,这些细胞中S1P₃活化显示增强细胞迁移和侵袭。Yamashita(2006)也证明了,S1P₃-介导的信号在确定胃癌细胞对S1P的转移性反应中可能是至关重要的。

[0011] 在眼中,考虑到S1P组成型存在于眼房水中(Liliom et al., 1998),以及表达S1P₁和S1P₃受体的小梁网内皮细胞(Mettu et al., 2004)响应于增加流出阻力的S1P刺激,在治疗涉及高眼内压的病症例如高眼压症、青光眼、青光眼视网膜病变中,S1P₃受体药物抑制代表了潜在的治疗策略(Stamer et al., 2009)。

[0012] PNS疾病中的S1P₃拮抗作用

[0013] 组织损伤炎症与对伤害性刺激增加的敏感性相关,这表明由伤害性刺激活化的感觉神经元与免疫细胞的活性之间可能存在重要的相互作用。单独的感觉神经元直接暴露于S1P(连同由血小板或肥大细胞释放的其他炎性信号)增加了其通过离子通道的动作电位发放(action potential firing)(Zhang et al., 2006)。在单独的感觉神经元的实验条件

下,所有S1P受体组中S1P₃受体的表达是最高的。此外,Kress的实验室证明,在所有人类和小鼠的背根节神经元中检测到S1P₃受体,且S1P通过兴奋性氯离子电导的G-蛋白-依赖性活化引起明显的伤害感受(Camprubí-Robles et al.,2013)。考虑到S1P₃-敲除(S1P₃-null)小鼠中体内的S1P-诱导的神经元反应和自发疼痛行为大大地减少,S1P₃受体可能表示创伤后疼痛的重要的治疗目标(Camprubí-Robles et al.,2013)。

[0014] CNS疾病中的S1P₃拮抗作用

[0015] 在CNS中,神经元、星形胶质细胞、寡树突胶质细胞和小胶质细胞具有产生和分泌S1P的能力以及根据细胞类型不同程度地表达S1P₁₋₃受体和S1P₅受体的能力(Anelli et al.,2005;Foster et al.,2007)。关于S1P₃受体,在星形胶质细胞和神经元中均看到固有的高表达(Foster et al.,2007)。据记载,S1P₃可以在促炎条件下诱导神经胶质活化(Fisher et al.,2011;Wu et al.,2008)以及在海马苔状纤维中增加自发的谷氨酸释放(Kanno and Nishizaki,2011)。特别是,凋亡的神经元自诱导鞘氨醇-激酶的超表达,并进一步释放S1P。由Gude(Gude et al.,2008)很好地证明并定义为“来找我(come-and-get-me)”信号的这种方法,以化学吸引(chemo-attract)的小胶质细胞并消除濒临死亡的神经元为目标。此外,通过重塑肌动蛋白细胞骨架通过G12/13蛋白的S1P可以抑制星形胶质细胞紧密连接,从而赋予它们能动性并产生穿过脑组织的缝隙(gap)(Rouach et al.,2006)。然后,S1P对星形胶质细胞的作用可以帮助活化的小胶质细胞更好地在大脑中移动,并因此表现出它们的吞噬作用。与G12/13蛋白偶联的S1P₃受体与星形胶质细胞中高S1P₃受体表达相关,高S1P₃受体表达在能动性中的作用(Fischer et al.,2011)导致这样的考虑,即可通过S1P₃-活化的信号转导进行所述的方法。有趣的是,一旦被活化,小胶质细胞即可增强它们的S1P₃表达(Foster et al.,2007)。在这些证据下,可令人信服地假设S1P₃受体系统的活化完全地参与神经炎性状态,S1P₃抑制可能会限制其进展。从山德霍夫氏病(Sandhoff disease)小鼠模型中给出支持S1P₃拮抗作用在神经炎症中具有保护作用的证据,该模型中,编码S1P₃受体的基因的切除大大地限制了星形胶质细胞增殖,从而延长了小鼠的生存并提高小鼠的运动机能(Wu et al.,2008)。

[0016] 在神经退行性疾病中,神经炎症在阿尔兹海默症、帕金森病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、亨廷顿舞蹈症和多发性硬化症的病理演变期间发挥明显有害的作用(Bradl and Hohlfeld,2003;Maragakis and Rothstein,2006;Davies et al.,2013)。在阿尔兹海默症(AD)中,β-淀粉样蛋白斑的积累与炎症进展和CNS免疫系统的活化相关(Meraz-Rios et al.,2013)。Takasugi等人(2011)和Takasugi等人(2013)中也显示了S1P受体活性和AD的调节的关联。

[0017] 现有技术

[0018] EP81756公开了用于治疗炎症的化合物。

[0019] Wang等人(Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters (2010),20 (2),493-498)公开了作为用于治疗糖尿病的FFA2抑制剂的化合物。

[0020] WO2000026202公开了用于治疗癌症的抗增殖化合物。

[0021] WO2003063797公开了用于治疗心律失常的钾通道抑制剂。

[0022] JP2002155065公开了用作杀虫剂或杀螨剂的化合物。

[0023] WO2001036415公开了用于控制家畜和牲畜害虫的化合物。

[0024] 在W02005075435、W02007087066、W02008141119、W02008147797、W02009006315、W02009123896和W02010054138中,Vertex公开了作为CFTR调节剂用于治疗囊性纤维化的化合物或这样的化合物的中间体。

[0025] Ingyong Huaxue (1990) , 7 (6) , 54-7公开了杀虫剂和杀菌剂。

[0026] 以下文件公开了用于治疗糖尿病的葡糖激酶的活化剂:Journal of Medicinal Chemistry (医药化学杂志) (2012) , 55 (3) , 1318-1333,W02009140624,US-20100063063, Journal of Medicinal Chemistry (医药化学杂志) (2012) , 55 (16) , 7021-7036,Medicinal Chemistry Letters (药物化学快报) (2013) , 4 (4) , 414-418,US-20010039344, W02001083465,W02003095438,W02004052869,W02006058923,W02007026761, W02007041365,W02008005914,W02008078674,W02008119734,W02009091014,US6610846; Journal of Medicinal Chemistry (医药化学杂志) (2010) , 53 (9) , 3618-3625, W02002046173,US20070281942,US2010063063。

[0027] 附图的简要说明

[0028] 图1:本发明的化合物对使君子酸损伤的大鼠的神经保护作用。实施例33在30mg/Kg/天和60mg/Kg/天下显示强的神经保护作用。大鼠NBM ChAT-阳性神经元使用 APERIO® (左)计数,实施例33以30mg/kg和60mg/kg的剂量一天一次口服施用,以10mg/kg的剂量一天两次口服施用。在显微照片(右侧)中,在使君子酸(QUIS)或Sham(SHAM)-注射的、以口服30mg/kg的量用载体或实施例33处理的大鼠NBM中显示了ChAT-定性分析。*p<0.05对SHAM(Dunnet测试)。

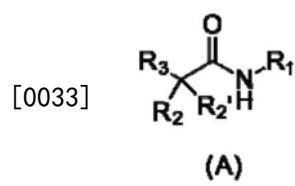
[0029] 图2:化合物对使君子酸损伤的大鼠的抗神经炎性作用。在30mg/Kg/天和60mg/Kg/天下,实施例33对GFAP反应性具有强烈的活性。A)对小胶质细胞的作用,OX42分析;B)对星形胶质细胞的作用,GFAP分析。这些证据与文献中一致,文献中认为S1P3在小胶质细胞中的表达低且不相关(S1P2是主要的),而受体在星形胶质细胞中得到高度表达。

[0030] 图3:本发明的化合物对β淀粉样蛋白(Abeta)(25-35)损伤的大鼠的作用。显微镜扫描(GFAP染色)A) β淀粉样蛋白(23-35)(右半球)+载体;B) β淀粉样蛋白(25-35)(右半球)-30mg/kg下的实施例33(Sham-处理左半球)。C)通过视觉评分定量分析GFAP-阳性细胞(*p<0.05对载体组,Kruskall-Wallis)。

[0031] 图4:物体识别测试(Object Recognition Test)中,本发明的化合物对使君子酸损伤的大鼠的作用。使君子酸损伤的大鼠中,用实施例33处理显著改善了ORT测量情景记忆中的认知功能,如ANOVA表中所报道(右侧)。要注意的是常见物体和新物体之间的探索时间差(F=常见物体;N=新物体)。

具体实施方式

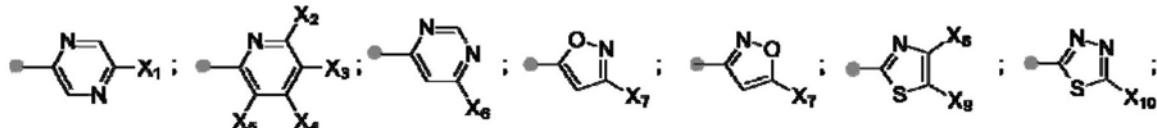
[0032] 在本发明的第一个方面(实施方案A)中,提供了式(A)的化合物,其对映体、对映体富集的混合物,以及药学上可接受的盐,



[0034] 其中，

[0035] ●—R₁为

[0036]



[0037] X₁、X₆、X₇、X₉和X₁₀为卤素,可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₄直链、支链或环状烷基;

[0038] X₂、X₃、X₄、X₅和X₈为氢,卤素,可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₄直链、支链或环状烷基;

[0039] 条件是X₂、X₃、X₄和X₅中的至少一个不为氢;

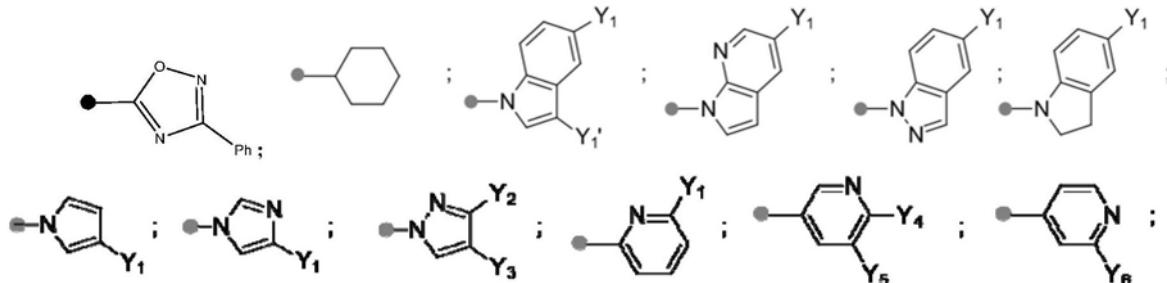
[0040] R₂为可选地被苯基、一个或多个氟原子或者三氟甲基呋喃基取代的C₃-C₆直链、支链或环状烷基;

[0041] R₂'为氢、F、可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链或支链烷基;

[0042] 或者,R₂和R₂'连同与其连接的碳原子形成C₃-C₆环烷基环;

[0043] ●—R₃为

[0044]



[0045] Y₁为卤素;

[0046] Y₁'为可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基;

[0047] Y₂为氰基或甲氧基苯基,可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基;

[0048] Y₃为氢、卤素或甲氧基苯基;

[0049] Y₄为氢,卤素,N-甲基吡唑基或者可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷氧基;

[0050] Y₅为氢,卤素,氰基,或者可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基;

[0051] 条件是Y₄和Y₅中的至少一个不为氢;

[0052] Y₆为卤素,可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基,或者可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷氧基。

[0053] 在实施方案A的一个方面下(实施方案A1),提供式(A)的化合物,其中卤素选自Cl、Br和F;可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₄直链、支链或环状烷基选自甲基、三氟甲基、正丙基和叔丁基;可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基选自甲基、三氟甲基和正丙基;可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷氧基选自

甲氧基和二氟甲氧基；可选地被苯基、一个或多个氟原子、或者被三氟甲基-呋喃基取代的C₃-C₆直链、支链或环状烷基选自正丙基、3-苯基-正丙基、异丙基、正丁基、环己基和(5-三氟甲基-呋喃-2基)-甲基；C₃-C₆环烷基选自环丁基和环戊基。

[0054] 在实施方案A的另一个方面下(实施方案A2)，提供式(A)的化合物，其中卤素选自Cl、Br和F；可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₄直链、支链或环状烷基选自甲基、三氟甲基和叔丁基；可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷基选自甲基和三氟甲基；可选地被一个或多个氟原子取代的C₁-C₃直链、支链或环状烷氧基选自甲氧基和二氟甲氧基；可选地被苯基、一个或多个氟原子或者被三氟甲基-呋喃基取代的C₃-C₆直链、支链或环状烷基选自正丙基、3-苯基-正丙基、异丙基、正丁基、环己基和(5-三氟甲基-呋喃-2基)-甲基；C₃-C₆环烷基选自环丁基和环戊基。

[0055] 在实施方案A的另一个方面下(实施方案A3)，提供式(A)的化合物，其中R₁和R₃如实施方案A所述，其中

[0056] X₁为卤素；

[0057] X₂为氢、卤素或甲基；

[0058] X₃为氢、卤素或三氟甲基；

[0059] X₄为氢或甲基；

[0060] X₅为氢或卤素；

[0061] 条件是X₂、X₃、X₄和X₅中的至少一个不为氢；

[0062] X₆为卤素；

[0063] X₇为叔丁基或三氟甲基，优选叔丁基；

[0064] X₈为氢，甲基或叔丁基；

[0065] X₉为卤素；

[0066] X₁₀为叔丁基；

[0067] R₂为正丙基，3-苯基-正丙基，异丙基，正丁基，环己基或(5-三氟甲基-呋喃-2基)-甲基；

[0068] R₂'为氢、F、甲基；

[0069] 或者R₂和R₂'连同其连接的碳原子形成环丁基环或环戊基环；

[0070] Y₁为卤素；

[0071] Y₁'为甲基；

[0072] Y₂为甲基、正丙基、氰基、三氟甲基或4-甲氧基苯基；

[0073] Y₃为氢、卤素或4-甲氧基苯基；

[0074] Y₄为氢、卤素、甲氧基或1-甲基-吡唑-4-基；

[0075] Y₅为氢、卤素、氰基或甲基；

[0076] 条件是Y₄和Y₅中的至少一个不为氢；

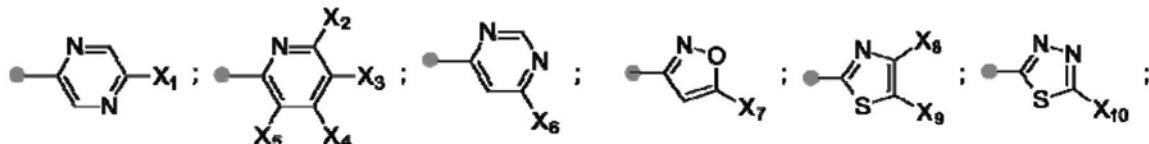
[0077] Y₆为卤素、甲氧基或二氟甲氧基。

[0078] 在实施方案A的另一个方面(实施方案A4)下，提供式(A)的化合物，其中R₁和R₃如实施方案A中所述，其中

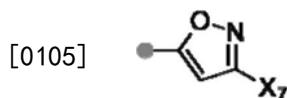
[0079] X₁为Cl或Br；

[0080] X₂为氢、甲基、Br或F；

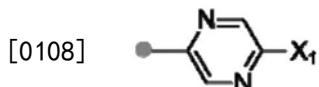
- [0081] X_3 为氢、Br、Cl、F或三氟甲基；
 [0082] X_4 为氢或甲基；
 [0083] X_5 为氢或F；
 [0084] 条件是 X_2 、 X_3 、 X_4 和 X_5 中的至少一个不为氢；
 [0085] X_6 为Cl；
 [0086] X_7 为叔丁基或三氟甲基，优选叔丁基；
 [0087] X_8 为氢、甲基或叔丁基；
 [0088] X_9 为Br、Cl或F；
 [0089] X_{10} 为叔丁基；
 [0090] R_2 为正丙基、3-苯基-正丙基、异丙基、正丁基、环己基或(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-甲基；
 [0091] R_2' 为氢、F、甲基；
 [0092] 或者 R_2 和 R_2' 连同其连接的碳原子形成环丁基环或环戊基环；
 [0093] Y_1 为Br；
 [0094] Y_1' 为甲基；
 [0095] Y_2 为甲基、正丙基、氰基、三氟甲基和4-甲氧基苯基；
 [0096] Y_3 为氢、Br、Cl和4-甲氧基苯基；
 [0097] Y_4 为氢、Br、Cl、甲氧基或1-甲基-吡唑-4-基；
 [0098] Y_5 为氢、Br、Cl、F、氰基或甲基；
 [0099] 条件是 Y_4 和 Y_5 中的至少一个不为氢；
 [0100] Y_6 为Br、Cl、F、甲氧基或二氟甲氧基。
 [0101] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的具体方面下(实施方案B1)，提供式(A)的化合物，其中●— R_1 选自
 [0102]



- [0103] 其中 R_2 、 R_2' 、 R_3 、 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 、 X_7 、 X_8 、 X_9 、 X_{10} 、 Y_1 、 Y_1' 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 、 Y_5 和 Y_6 ，根据具体情况，如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。
 [0104] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的具体方面下(实施方案B2)，提供式(A)的化合物，其中●— R_1 选自

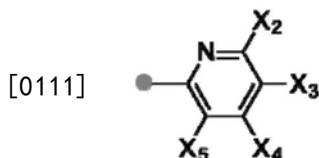


- [0106] 其中 R_2 、 R_2' 、 R_3 、 X_7 、 Y_1 、 Y_1' 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 、 Y_5 和 Y_6 ，根据具体情况，如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。
 [0107] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的具体方面下(实施方案B3)，提供式(A)的化合物，其中●— R_1 选自



[0109] 其中R₂、R_{2'}、R₃、X₁、Y₁、Y_{1'}、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。

[0110] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的具体方面下(实施方案B4),提供式(A)的化合物,其中●—R₁选自



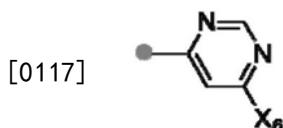
[0112] 其中R₂、R_{2'}、R₃、X₂、X₃、X₄、X₅、Y₁、Y_{1'}、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。

[0113] 在实施方案B4的特定方面下(实施方案B4a),提供式(A)的化合物,其中X₂和X₄为氢;

[0114] 其中R₁、R₂、R_{2'}、R₃、X₃、X₅、Y₁、Y_{1'}、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案B4所定义。

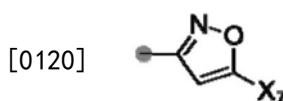
[0115] 在实施方案B4的另一个特定方面下(实施方案B4b),提供式(A)的化合物,其中X₂、X₄和X₅为氢,其中R₁、R₂、R_{2'}、R₃、Y₁、Y_{1'}、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案B4所定义。

[0116] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的具体方面下(实施方案B5),提供式(A)的化合物,其中●—R₁选自



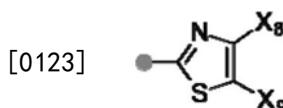
[0118] 其中R₂、R_{2'}、R₃、X₆、Y₁、Y_{1'}、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。

[0119] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的具体方面下(实施方案B6),提供式(A)的化合物,其中●—R₁选自



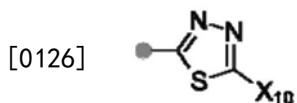
[0121] 其中R₂、R_{2'}、R₃、X₇、Y₁、Y_{1'}、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。

[0122] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的具体方面下(实施方案B7),提供式(A)的化合物,其中●—R₁选自



[0124] 其中R₂、R_{2'}、R₃、X₈、X₉、Y₁、Y_{1'}、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。

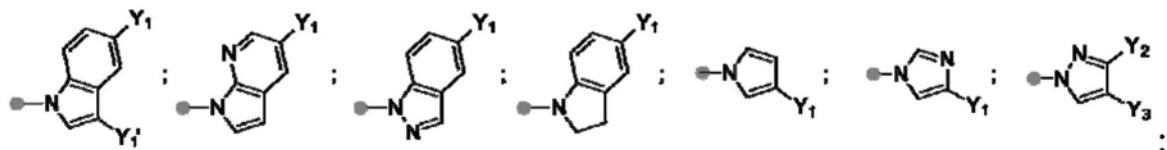
[0125] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的具体方面下(实施方案B8),提供式(A)的化合物,其中●—R₁选自



[0127] 其中R₂、R₂'、R₃、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。

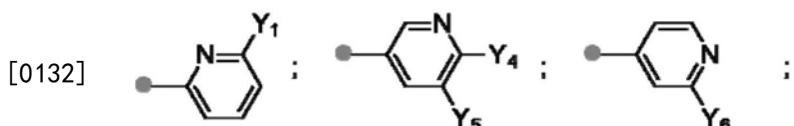
[0128] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C1),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自

[0129]



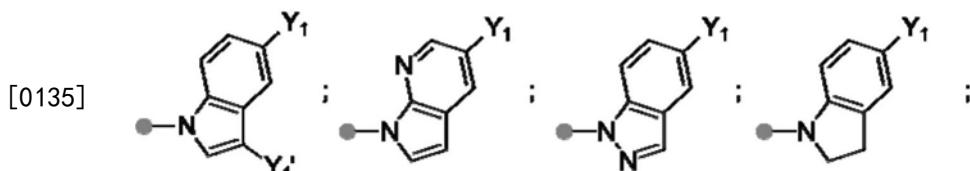
[0130] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₂和Y₃,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

[0131] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C2),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



[0133] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

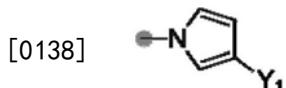
[0134] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C3),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



[0136] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,

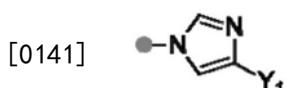
如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

[0137] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C4),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



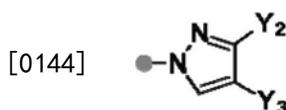
[0139] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀和Y₁,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

[0140] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C5),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



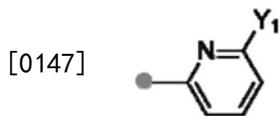
[0142] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀和Y₁,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

[0143] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C6),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



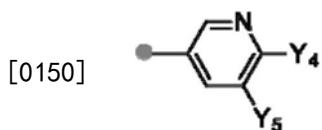
[0145] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₂和Y₃,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

[0146] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C7),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



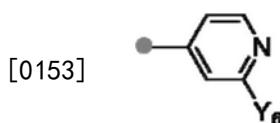
[0148] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀和Y₁,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

[0149] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C8),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



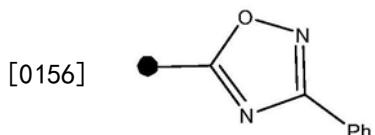
[0151] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀以及Y₄和Y₅,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

[0152] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C9),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



[0154] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

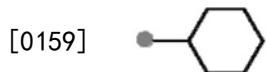
[0155] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的具体方面下(实施方案C10),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



[0157] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉和X₁₀,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8

所定义。

[0158] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7和实施方案B8的具体方面下(实施方案C11),提供式(A)的化合物,其中●—R₃选自



[0160] 其中R₁、R₂、R₂'、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉和X₁₀,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

[0161] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7、实施方案B8、实施方案C1、实施方案C2、实施方案C3、实施方案C4、实施方案C5、实施方案C6、实施方案C7、实施方案C8、实施方案C9、实施方案C10和实施方案C11的具体方面下(实施方案D1),提供式(A)的化合物,其中R₂和R₂'以及与其连接的碳原子不能形成环烷基环;

[0162] 其中R₁、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7、实施方案B8、实施方案C1、实施方案C2、实施方案C3、实施方案C4、实施方案C5、实施方案C6、实施方案C7、实施方案C8、实施方案C9、实施方案C10或实施方案C11所定义。

[0163] 在实施方案D1的特定方面下(实施方案D1a),提供式(A)的化合物,其中R₂'为氢,其中R₁、R₂、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案D1所定义。

[0164] 在实施方案D1的其他特定方面下(实施方案D1b),提供式(A)的化合物,其中R₂'为F,其中R₁、R₂、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案D1所定义。

[0165] 在实施方案D1的另一个特定方面下(实施方案D1c),提供式(A)的化合物,其中R₂'不同于氢或F,其中R₁、R₂、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案D所定义。

[0166] 在实施方案D1a、实施方案D1b和实施方案D1c的具体方面下(实施方案D1d),提供式(A)的化合物,其中R₂为正丙基,其中R₁、R₂'、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案D1a、实施方案D1b和实施方案D1c所定义。

[0167] 在实施方案D1a、实施方案D1b和实施方案D1c的具体方面下(实施方案D1e),提供式(A)的化合物,其中R₂为异丙基,其中R₁、R₂'、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案D1a、实施方案D1b和实施方案D1c所定义。

[0168] 在实施方案D1a、实施方案D1b和实施方案D1c的具体方面下(实施方案D1f),提供式(A)的化合物,其中R₂为正丁基,其中R₁、R₂'、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、

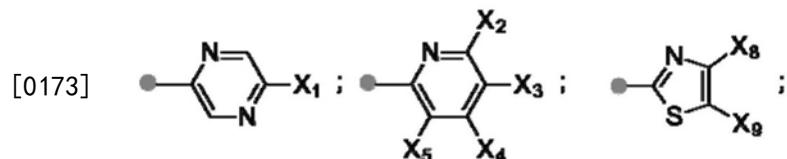
Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案D1a、实施方案D1b和实施方案D1c所定义。

[0169] 在实施方案D1a、实施方案D1b和实施方案D1c的具体方面下(实施方案D1f),提供式(A)的化合物,其中R₂为环己基,其中R₁、R₂'、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案D1a、实施方案D1b和实施方案D1c所定义。

[0170] 在实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7、实施方案B8、实施方案C1、实施方案C2、实施方案C3、实施方案C4、实施方案C5、实施方案C6、实施方案C7、实施方案C8、实施方案C9、实施方案C10和实施方案C11的具体方面下(实施方案D2),提供式(A)的化合物,其中R₂和R₂'连同与其连接的碳原子形成环烷基环;其中R₁、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7、实施方案B8、实施方案C1、实施方案C2、实施方案C3、实施方案C4、实施方案C5、实施方案C6、实施方案C7、实施方案C8、实施方案C9、实施方案C10和实施方案C11所定义。

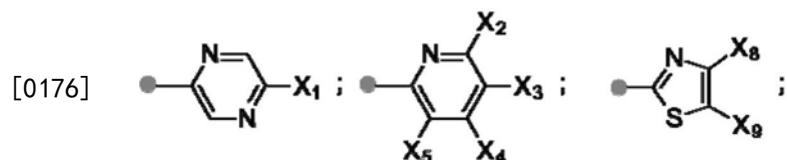
[0171] 根据本发明,任意上述实施方案的组合产生新的实施方案。

[0172] 例如,根据实施方案B3、实施方案B4和实施方案B7的组合,提供实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的其他具体方面(实施方案E1),式(A)的化合物,其中●—R₁选自



[0174] 其中R₂、R₂'、R₃、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₈、X₉、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。

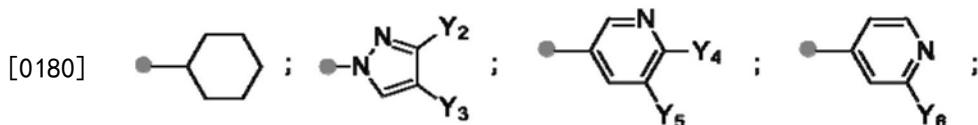
[0175] 同样地,根据实施方案B3、实施方案B4a和实施方案B7的组合,提供实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4的其他具体方面(实施方案E1a),式(A)的化合物,其中●—R₁选自



[0177] X₂和X₄为氢;

[0178] 其中R₂、R₂'、R₃、X₁、X₃、X₅、X₈、X₉、Y₁、Y₁'、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3或实施方案A4所定义。

[0179] 另外,根据实施方案C6、实施方案C8、实施方案C9和实施方案C11的组合,提供实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8的其他具体方面(实施方案E2),式(A)的化合物,其中●—R₃选自



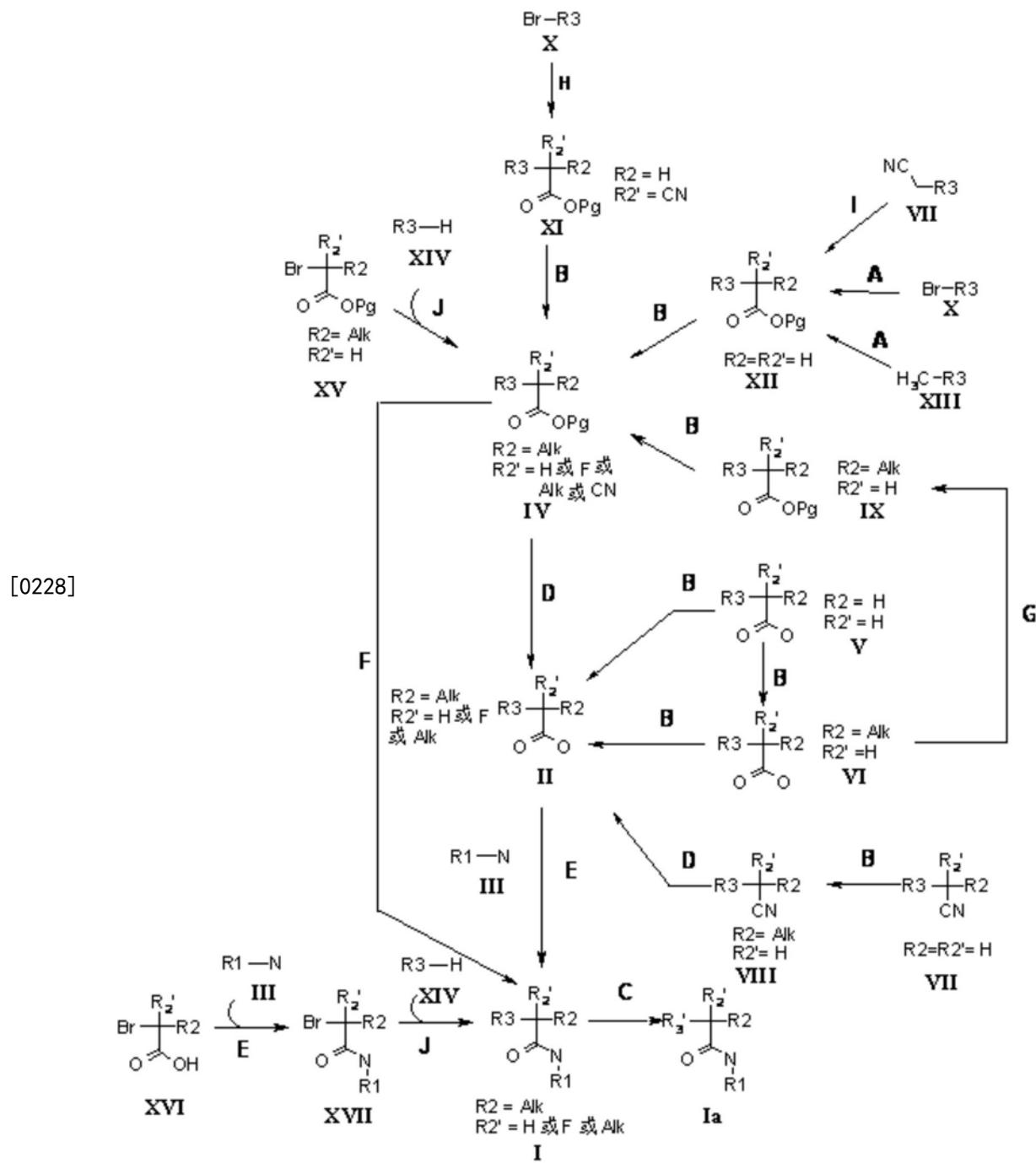
[0181] 其中R₁、R₂、R_{2'}、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆,根据具体情况,如实施方案A、实施方案A1、实施方案A2、实施方案A3、实施方案A4、实施方案B1、实施方案B2、实施方案B3、实施方案B4、实施方案B4a、实施方案B4b、实施方案B5、实施方案B6、实施方案B7或实施方案B8所定义。

[0182] 以下描述的实施例1-151均构成了本发明其他的独特的实施方案,组合任意实施例的任意列表都是本发明的另一个其他实施方案。

[0183] 例如,在进一步的实施方案(实施方案F1)中,提供选自以下的化合物:

- [0184] 1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0185] 2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0186] 2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0187] 2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0188] 2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0189] 2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0190] 2-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0191] 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0192] 2-(2-二氟甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0193] 2-[6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-噻唑-2-基)-酰胺;
- [0194] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0195] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-3-甲基-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0196] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-6-氟-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0197] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0198] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-氟-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0199] 2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0200] 2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0201] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-氟-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0202] 2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺;
- [0203] 2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0204] 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0205] 2-(4-溴-3-氟基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0206] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0207] 2-(4-[4-甲氧基-苯基]-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0208] 2-(4-溴-3-甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0209] 2-(4-溴-咪唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺;
- [0210] 2-[3-(4-甲氧基-苯基)-吡唑-1-基]-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0211] 2-(4-溴-3-氟基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺;
- [0212] 2-[5-氟-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺;

- [0213] 2-[5-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺；
[0214] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-溴-吡嗪-2-基)3-甲基-丁酰胺；
[0215] N-(5-溴-3-氟-吡啶-2-基)-2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-甲基-丁酰胺；
[0216] N-(5-溴-吡嗪-2-基)-2,2-二环己基-乙酰胺；
[0217] 1-(5-溴-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
[0218] 1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
[0219] 2-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺；
[0220] 2-(5-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)酰胺；
[0221] 2-(5-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺；
[0222] 2-(6-氯-5-甲基-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺；
[0223] 以及2-(2-氯-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺。
[0224] 同样地，在其他实施方案中(实施方案F2)，提供选自2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺和2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺的化合物。
[0225] 本发明化合物的总路线
[0226] 根据化合物的确切性质，可根据总体方案1-5获得本发明的化合物。
[0227] 方案1



[0229] A: 羧化反应或Reformatsky-Negishi (瑞福马斯基-根岸) 偶联反应; B: 烷基化; C: 对最终化合物的其他修饰; D: 水解反应; E: 酸和胺之间的酰胺偶联反应; F: 酯和胺之间的酰胺偶联反应; G: 酯化反应; H: 二羰基化合物的烷基化; I: 醇解; J: N-烷基化

[0230] 如方案1所示,可制备一般结构I的化合物。合成的关键步骤是使用文献中已知的偶联剂使一般结构II的酸和一般结构III的适合的胺偶联。或者,可由R2为烷基和R2' 可为氟或氢的酯IV直接获得结构I的酰胺。当一般结构II的酸不能商购获得时,可根据不同途径制备得到。

[0231] 使用适合的卤代烷,在例如LiHMDS、正丁基锂、氢化钠和文献中其他已知的强碱的存在下,商购获得的一般结构V的杂芳基乙酸的烷基化得到一般结构II的酸。

[0232] 当R2和R2' 是不同的烷基时,可两步制备一般结构II的酸。可烷基化一般结构V的

杂芳基乙酸从而得到一般结构VI的中间体,其经过第二次烷基化得到一般结构II的酸。

[0233] 或者,可烷基化商购获得的一般结构VII的杂芳基乙腈,从而提供一般结构VIII的中间体,其可水解为酸II。

[0234] 如方案1所报道的,一般结构II的酸可由一般结构IV的酯水解得到,其中Pg可为甲基、乙基或叔丁基。如果R2'为氰基,则水解反应和单脱羧反应同时发生。

[0235] 当一般结构IV的酯不能商购获得时,可根据方案1所示的不同合成途径制备它们。

[0236] R2为烷基和R2'为氟的一般结构IV的酯可由酸VI制备,如Tenge iji等人在Molecules (分子) 2012, 17, 7356–7378中所报道,其转化为相应的酯IX并最终在强碱和亲电子来源的氟的存在下氟化。

[0237] 可由结构X的杂芳基溴化物制备酯IV,杂芳基溴化物与丙二腈通过钯催化反应转化为中间体XI,例如参见Xiang Wang等人J.Org.Chem. (有机化学杂质), 2008, 73, 1643–1645。可烷基化衍生物XI从而得到酯IV,其中R2'为氰基。

[0238] 可直接从一般结构XII的杂芳基乙酸酯的烷基化制备酯IV。

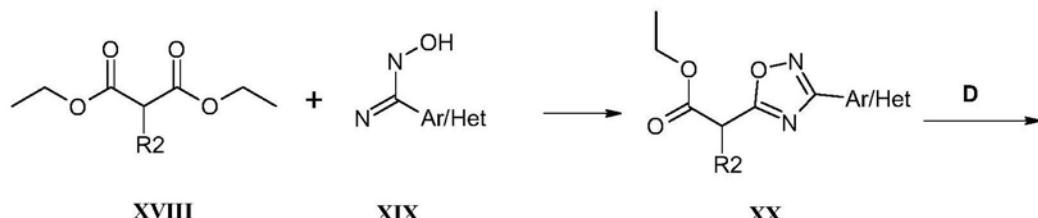
[0239] 当酯XII不能商购获得时,可用三种不同的方法合成它们:通过一般结构VII的杂芳基乙腈的醇解反应;如Hartwig, J.F.等人JACS (美国化学会志), 2003, 125, 11176–11177所描述的,通过结构X的杂芳基溴化物和溴乙酸的叔丁基酯的Negishi-Reformatsky偶联反应;或在强碱例如LDA的存在下,通过一般结构XIII的化合物的甲基的羧化反应(参见W09815278)。

[0240] 一般结构IV的酯可由用一般结构XV的 α -溴烷酸的酯对含氮杂环XIV(吡唑类、吡咯类、吲哚类)进行N-烷基化来制备。

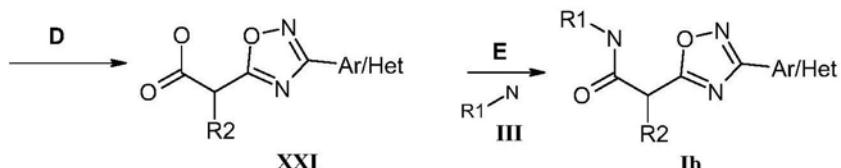
[0241] 如方案1中所描述,合成一般结构I的化合物的另一种方法包括使用适当的偶联剂使一般结构III的适合的胺与一般结构XVI的 α -溴酸偶联,从而得到一般结构XVII的中间体。用中间体XVII对含氮杂环XIV(吡唑类、吡咯类、吲哚类)进行N-烷基化来提供一般结构I的化合物。

[0242] 当R3含有可通过较少合成步骤修饰的基团时,一般结构I的化合物可进一步地被修饰为衍生物Ia。例如当R3含有甲氨基时,其可脱甲基并可用不同烷基O-烷基化;或者存在伯氨基时,其可被烷基化为相应的三级胺或用适合的羧酸酰化。

[0243] 方案2

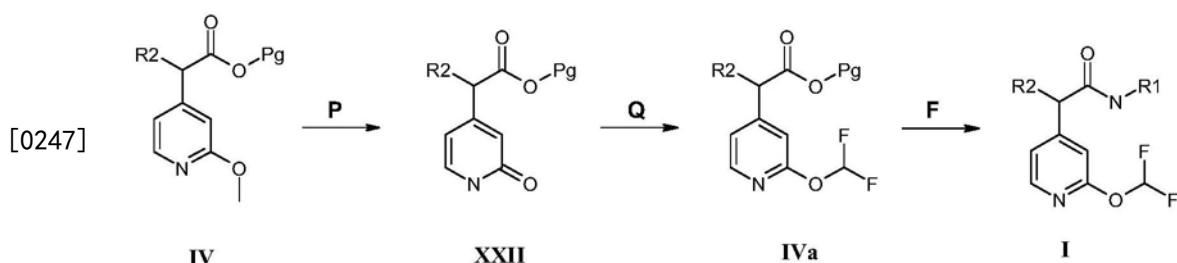


[0244]



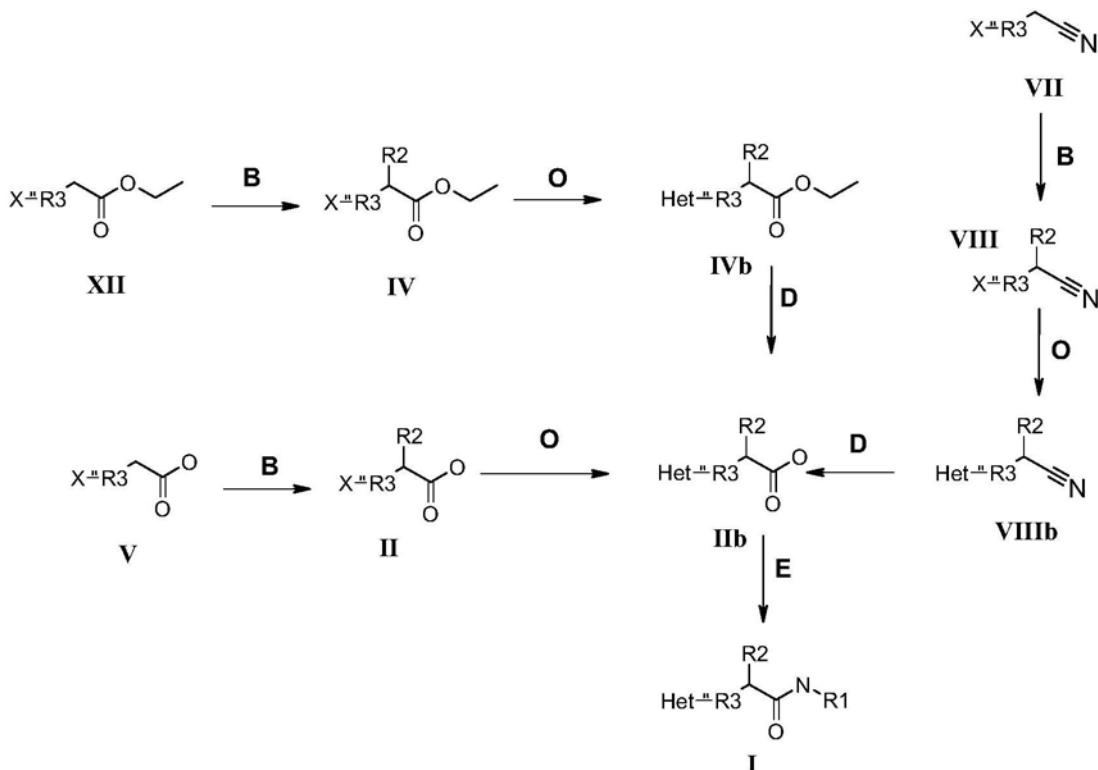
[0245] 方案2描述了制备一般结构Ib的化合物的合成方法,其中R3为位置3被芳基或杂芳基取代的1,2,4-恶二唑。二乙基烷基丙二酸酯XVIII和偕胺肟(XIX)之间的缩合得到恶二唑XX,其可水解为相应的酸XXI并使用适合的偶联剂与一般结构III的适合的胺偶联,从而得到一般结构Ib的化合物。

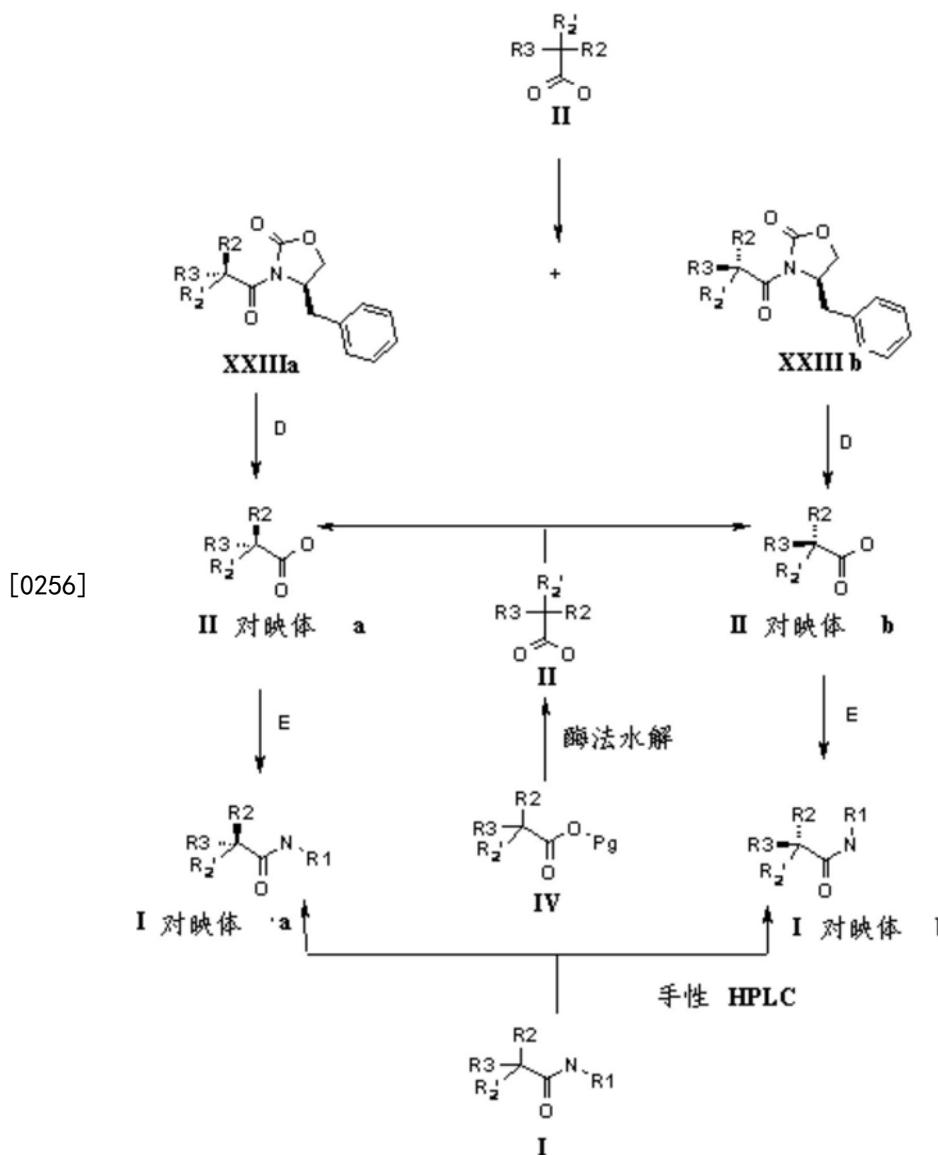
[0246] 方案3



[0247] 方案4中描述了一般结构IV的中间体的单点修饰(single point modification)的合成方法,其中甲氧基被二氟甲氧基部分取代。一般结构IV的甲氧基吡啶酯转化为相应的吡啶酮XXII,然后进行氧的二氟甲基化(Makoto et al. Organic Letters, 2006, 8, 3805-3808),从而得到一般结构IVa的酯。与一般结构III的适合胺的直接偶联提供最终化合物I。

[0249] 方案4





[0257] 也可以使用光学活性的起始材料获得对映体或对映体富集的组合物。

[0258] 生物学评价

[0259] 抗S1P活性的体外细胞试验

[0260] 通过用pcDNA6.2/cLumioDEST-hS1P3稳定转染野生型CHO-K1细胞生成CHO-S1P3 R1细胞，并将该细胞在用6g/ml杀稻瘟菌素的抗生素选择下维持。也可通过稳定转染野生型CHO-K1细胞生成CHO-S1P1MG12细胞，并用1mg/ml潮霉素筛选该细胞。

[0261] 用CHO-S1P3 R1细胞检测化合物作为鞘氨醇诱导的细胞内Ca²⁺-流量(Ca-flux)的拮抗剂的能力，其在Molecular Devices FLIPR3仪器上通过荧光钙指示剂Fluo-4AM进行测量。

[0262] 100μl培养基中，在96-孔板(黑色，清底，TC涂覆)以30K细胞每孔接种细胞。培养24小时之后，用含有20mM HEPES缓冲液、5mM丙磺舒、4μM FLUO-4AM和普郎尼克酸(pluronic acid)0.02%的100μl HBSS负载(load)细胞，并将细胞在37℃、5%CO₂下保持30分钟。然后用HBSS-20mM Hepes缓冲液彻底洗涤负载溶液。

[0263] 在初步筛选的最终浓度为10μM和最终DMSO浓度为0.3%的8个点的浓度响应(30μ

M-0.001μM) 处,将化合物分配给细胞作为第一次添加。以等于EC80的最终浓度添加鞘氨醇作为第二次添加。用氩离子激光器在488nm处刺激细胞,在荧光成像酶标仪(microplate reader) (FLIPR3,Molecular Devices) 上读取钙响应。使用带光谱滤波器(510-570nm,发射峰Fluo-4/Ca²⁺=516nm)记录发射。

[0264] 还评价了化合物的活性,即针对Gαi途径的抗S1P1受体和S1P3受体的活性。

[0265] 根据制造商的实验方案,使用HTRF®分析(cAMP Dynamic 2 Kit,Cisbio Bioassays,Codolet,法国)测量细胞内cAMP浓度的变化。

[0266] 将CHO-S1P1 MG12或CHO-S1P3 R1随时即用的冷冻细胞解冻,在具有1mM IBMX的DPBS(Lonza,Basel,瑞士)中重悬,分配在384-孔的低容量微孔板中(Greiner Bio-One GmbH,Frickenhausen,德国),每个孔5μl、10000个细胞。在含有PBS 0.2%BSA的试验缓冲液中进行细胞处理。室温下用2.5μl的4倍浓缩的化合物溶液预培养细胞15分钟,化合物溶液为单一浓度或浓度响应滴定(concentration response titration)(0.6%最终DMSO浓度)。随后,除阳性对照孔之外,以各自EC80浓度的4倍向每个孔中加入2.5μl鞘氨醇/弗斯可林(forskolin)溶液,阳性对照孔只加入弗斯可林。45分钟之后,根据试剂盒说明,向细胞中加入5μl的HTRF®检测试剂(抗cAMP-穴状化合物和cAMP-d2)。室温下培养1小时之后,用AnalystGT酶标仪(Molecular Devices,Sunnyvale,CA,美国)读取时间分辨荧光(the time resolved fluorescence),其中在337nm处激发,665nm和620nm处发射(分别用于受体信号和供体信号)。

[0267] 体外表型分析:原代皮质的星形胶质细胞中进行S1P增殖试验

[0268] 通过酶法分离从E17胚胎(Sprague-Dawley)大鼠新皮质中制备原代皮质的星形胶质细胞。用无菌刀片将分离的皮质切碎成小片,用分离培养基洗涤三次,在37℃的水浴中用胰蛋白酶(0.25%)培养10分钟。将沉淀物放在含有FBS(10%)的MEM培养基中,用移液器吸打(stroke)20次;室温下以1050rpm离心细胞悬浮液10分钟,将沉淀物在生长培养基(BME,10%FBS,2mM谷氨酰胺,1mM丙酮酸盐,盘尼西林/链霉素1000U/ml)中重悬。37℃、5%CO₂和95%湿度下,将细胞接种在聚-D-赖氨酸(70K-150K kD)预包被的75cm²烧瓶中。培养成熟的培养物,直至星形胶质细胞达到细胞覆盖(12-15天)。然后,将培养物放在定轨振荡器中并在37℃、5%CO₂和95%湿度下振荡(200RPM)过夜。然后除去培养基,通过在37℃下胰蛋白酶消化(0.25%)15分钟除去主要含有星形胶质细胞的细胞层。此外,用MEM 10%FBS封阻胰蛋白酶后,通过在1200RPM下离心除去培养基。将细胞接种在黑壁、清底的96孔板(30K细胞/孔)的10%FBS/BME中(第1天)。24小时之后,第2天,用无血清的BME替换培养基。第3天,在加入S1P(S1P最终浓度:1μM)之前用拮抗剂处理细胞1小时。最终DMSO浓度为0.1%v/v。第5天(用S1P刺激48小时),将细胞固定在4%多聚甲醛/4%蔗糖中,在0.2%Triton-X 100中渗透,在0.1%BSA中封阻。室温下用原代抗体Rb-anti-Ki67(1:500,Abcam)培养3小时,然后用Alexa Fluor 546缀合的第二抗体培养。用BD Pathway 435捕获(acquire)板,用BD Attovision软件测量Ki67染色的核强度。增殖表示为Ki67-阳性核/总核的百分比。

[0269] 神经变性、神经炎症和行为的体内试验。

[0270] 可用旨在重现阿尔兹海默症的一些病理特征的两种不同方法评价本发明的化合物对神经变性和神经炎症的疗效:

[0271] 1) 基底核大细胞(NBM)中兴奋毒性损伤(excitotoxic insult) (使君子酸-QUIS),

其特征在于，胆碱能神经元的严重神经变性和明显的神经炎症。

[0272] 2) β -淀粉样蛋白肽25-35 (A β 25-35) 注射入大鼠的NBM中，在A β 25-35沉积物周围引起明显的神经胶质反应，对胆碱能神经元的毒性适中。

[0273] 示值读数基于免疫化学分析，为：胆碱能神经元 (ChAT-阳性)、星形胶质细胞 (GFAP-阳性) 和小胶质细胞 (OX-42或Iba-1阳性) 的计数。通过两种不同的方法进行分析：视觉评分(盲法)和数字平台 APERIO®。

[0274] QUIS-处理的动物也经历了物体识别测试 (ORT, 测量情景记忆) 或其他的行为测试，以测量用本发明的化合物处理后的认知功能的改善。

[0275] 动物

[0276] 使用体重为230-250g的三月龄的雄性Wistar大鼠 (Harlan, Milan, 意大利)。将大鼠安置在具有随意饮食和饮水的模克隆笼 (macrolon cage) 中，并在23°C的室温 (RT) 下维持12小时的光照/黑暗周期。所有实验均根据欧洲共同体委员会 (European Community's Council) 的动物实验指南 (86/609/EEC) 进行。尽量努力减少使用动物的数量和它们的痛苦。

[0277] 使君子酸和A β (25-35) 肽注射入基底核和药物治疗

[0278] 水合氯醛麻醉下，使用Hamilton微量注射器将使君子酸 (Sigma Chemical Co., Milan, 意大利；以0.12M的浓度溶解于磷酸盐缓冲液中，体积为0.5 μ l) 或10 μ g的A β (25-35) 肽 (Bachem, 注射前以10 μ g/ μ l的浓度溶解于PBS中并在37°C下聚合2小时，体积为1 μ l) 注射至右侧基底核，立体定位坐标如下：前囱：AP=-0.2, L=-2.8；硬脑膜：H=7 (Paxinos and Watson, 1982, Casamenti et al., 1998)。用PBS溶液注射对侧NBM。手术后进行研究7天。用本发明的化合物或载体经口 (ip) 施用给大鼠，手术前24小时和1小时施用两次，损伤后一天一次施用7天。在处死之前1小时进行末次施用。

[0279] 物体识别测试

[0280] 根据Ennanceur和Delacour (1988) 以及Scali等人 (1997) 评价物体识别。简单来说，将大鼠放在50W灯照亮的灰色聚氯乙烯活动场所 (60×60×40hcm) 中，灯悬挂在活动场所上方50cm处。待识别的物体为塑料制成的棱镜、棱锥和圆柱体。测试前一天，允许大鼠探索活动场所2分钟。测试当天，根据东莨菪碱试验方案，进行试验间隔为240分钟的2次试验的会话 (a session of 2 trials)。第一次试验 (采集试验, T1) 中，两个相同的物体出现在活动场所的两个对角。将大鼠留在活动场所，直至达到物体的总探索时间为20秒的标准。将探索定义为鼻子指向物体的距离<2cm和/或用鼻子接触物体。第二次试验 (保留试验 retention trial), T2 中，用新的 (形状不同) 物体替换T1中的物体之一，将大鼠留在活动场所5分钟。分别记录探索熟悉物体 (F) 和新物体 (N) 花费的时间，获得两次探索时间之差。T2期间，从一只大鼠到另一只大鼠，小心地通过随机地改变物体的作用 (熟悉的物体或新的物体) 和它们在盒子中两个对角的位置从而避免物体和位置偏好。此外，为了避免嗅觉刺激，要仔细清洗待识别的物体。在延时过程中，当对照组大鼠出现记忆自发减弱时，在T1之后24小时进行T2。在采集试验T1前30分钟进行药物施用。

[0281] 免疫组织化学

[0282] 在深度水合氯醛麻醉下，用冰冷的多聚甲醛溶液 (磷酸盐缓冲液中为4%，pH为7.4) 心脏灌注大鼠。将大脑后固定4小时，在18%蔗糖溶液中冷冻保护至少48小时。根据以

下时间表,在低温恒温器中将大脑整个注射区域切成30微米厚的冠状切片,放在抗冻剂溶液中(含有30%乙二醇和30%丙三醇的磷酸盐缓冲的盐水),并储存在-20℃,直至用于免疫组织化学。

[0283] 第一天,ChAT(胆碱能神经元标记,山羊抗血清,Millipore,1:200)用作神经变性标记,GFAP(星形胶质细胞的标记,兔多克隆抗体DAKO,1:1000)和Iba-1(小胶质细胞的标记,兔抗体,Wako,11:500)或OX-42(CD11b/c,活化小胶质细胞的标记,小鼠抗体,BD Biosciences Pharmingen,1:400)分别用作星形胶质细胞和小胶质细胞的神经炎症标记。

[0284] 第二抗体:生物素化的IgG(Vector Laboratories,Burlingame,CA),以1:1000稀释。

[0285] 免疫组织化学过程

[0286] 将切片处理为自由浮动的部分,简单地说,以适当的稀释度(dilution)加入第一抗体(封阻缓冲液中:含有0.5%BSA的PBST)并在室温下轻度搅拌过夜。然后将相应的生物素化的第二抗体(在封阻缓冲液中:含有0.1%BSA的PBST)加入到切片中,在室温下放置90分钟,轻度搅拌,然后取出并用PBS洗涤。使用Vectastain ABC试剂盒(Vector Laboratories,Burlingame,加拿大)视化结合抗体,DAB(Vector Laboratories,Burlingame,加拿大)作为色原。放置切片,用Ematossilin(Carlo Erba Reagents,意大利)复染,脱水并用封片剂(Leica)盖片。

[0287] 免疫组织化学标记量化

[0288] 通过Aperio®数字化病理平台量化在NMB区域中的所有的免疫组化标记;简单地说,使用扫描器Scanscope CS(Aperio®)使每只动物的4-6片切片数字化,然后对于产生感兴趣区(ROI)的每片切片手动确认右侧NMB区域和左侧NMB区域,其感兴趣区中应用分析的特定宏(specific macro of analysis)以量化信号。将每个右侧纹状体(用AAV9-Ex1-AcGFP-Q138注射)与对侧(左侧)纹状体(用AAV9-Ex1-AcGFP-Q17注射)进行比较。在每个动物的基础上,平均每片切片的数据,得到的值用于统计分析。

[0289] 量化ChAT作为每个区域的细胞数量,作为单个细胞群。评价GFAP和Iba-1作为感兴趣区(ROI)中每个区域的阳性像素数(positive pixel count)。

[0290] 制剂和施用

[0291] 优选将式(A)的化合物与药学上可接受的载体、赋形剂等混合配制。一般而言,优选的是以可口服给药的形式施用药物组合物,但某些制剂可通过肠胃外、静脉内、肌肉内、透皮、口腔、皮下、栓剂、鼻或其他途径施用。本领域普通技术人员可以在本说明书的教导范围内改良制剂以提供用于特定施用途径的多种制剂,而不会使本发明的组合物不稳定或者损害它们的治疗活性。

[0292] 特别是,使本发明化合物更溶于水或其他介质中的修饰,例如,可以通过本领域普通技术人员已知的较小修饰(形成盐、酯化等)容易地完成。为了管理用于患者最大有益效果的本发明化合物的药代动力学,改良特定化合物的施用途径和给药方案也是按常规操作的技术人员已知的。

[0293] 某些药物剂型中,优选的是化合物的前药形式,特别是包含酯衍生物和醚衍生物,以及本发明化合物的各种盐形式。

[0294] 本领域普通技术人员将认识到如何容易地将本发明的化合物修饰为前药形式,以

促进活性化合物递送至宿主生物或患者体内的靶向位点。

[0295] 在将本发明的化合物递送到宿主生物或患者体内的靶向位点时,如适用,按常规操作的人员也将采取前药形式的有利的药代动力学参数以最大化该化合物的预期效果。

[0296] 制备这类剂型的实际方法对于本领域技术人员而言是已知的,或将是显而易见的;例如,参见1975年第15版的Remington's Pharmaceutical Sciences(药物科学),Mack Publishing Company,Easton,Pennsylvania。

[0297] 在任何情况下,待施用的组合物或制剂以有效地缓解待治疗的个体的症状的量含有一定量的活性化合物。

[0298] 虽然还没有优化人类对本发明化合物的剂量水平,但通常来说,以体重计,每日剂量为约0.05mg/kg至约100mg/kg。

[0299] 当然,施用的活性化合物的量将取决于个体和所治疗的疾病状态,痛苦的严重程度,施用方式和时间,以及处方医师的判断。

[0300] 对于本发明的目的,根据本发明,组合物的预防性或预防有效量(即,大大降低患者屈服于疾病状态或条件风险的量或疾病状态或病症恶化风险的量),落入与如上所述的治疗有效量相同的浓度范围内,通常与治疗有效量相同。

[0301] 在本发明的一些实施方案中,式(A)的一种或多种化合物与一种或多种其他药学活性剂组合施用。如本文所用的词“组合”,是指同时施用给个体的药剂。可以理解,当个体同时暴露于两种(或更多种)试剂时,认为两种或更多种药剂“组合”施用。

[0302] 可以根据不同的时间表施用两种或更多种药剂中的每一种;不要求同时或在同一组合物中施用不同药剂的单独剂量。而是,只要两种(或更多种)药剂留在个体体内,即可认为它们是“组合”施用。

[0303] 实施例

[0304] 实验部分

[0305] 所有的试剂和溶剂均可商购获得。通过注射器转移空气和水分敏感的液体溶液。反应过程之后进行薄层色谱法(TLC)和/或液相色谱-质谱法(HPLC-MS或UPLC-MS)。在二氧化硅(Merck 60 F254)上进行TLC分析,通过254nm处的UV可视化和KMnO₄或茚三酮染色来显示斑点。

[0306] 使用硅墨盒(silica cartridge) Isolute flash Si或二氧化硅(Merck 60)或者用快速色谱纯化仪器(Biotage)进行柱层析纯化。化合物纯度为90%以上。

[0307] 使用配备有BBI探针的Bruker Avance AV400系统(¹H, 400.13MHz)记录所有核磁共振谱。

[0308] 缩写

[0309] THF:四氢呋喃

[0310] NH₄Cl:氯化铵

[0311] AcOEt:乙酸乙酯

[0312] Na₂SO₄:硫酸钠

[0313] HCl:盐酸

[0314] DMF:N,N-二甲基甲酰胺

[0315] NaH:氢化钠

- [0316] H₂O:水
- [0317] DCM:二氯甲烷
- [0318] NaOH:氢氧化钠
- [0319] K₂CO₃:碳酸钾
- [0320] NaHCO₃:碳酸氢钠
- [0321] MeOH:甲醇
- [0322] EDC:1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐
- [0323] DCE:1,2-二氯乙烷
- [0324] DIPEA:N,N-二异丙基-N-乙胺
- [0325] NaCl:氯化钠
- [0326] K₃PO₄:磷酸三钾
- [0327] Pd₂(dba)₃:三(二苯叉丙酮)二钯(0)
- [0328] Qphos:1,2,3,4,5-五苯基-1'--(二-叔丁基膦)二茂铁
- [0329] T₃P:丙基磷酸酐
- [0330] EtOH:乙醇
- [0331] Cs₂CO₃:碳酸铯
- [0332] LiHMDS:二(三甲基硅基)氨基锂
- [0333] H₂SO₄:硫酸
- [0334] LDA:二异丙基氨基锂
- [0335] cHex:环己烷
- [0336] NH₄OH:氢氧化铵
- [0337] H₂:氢气
- [0338] Pd/C:负载在活性炭上的钯
- [0339] CDI:1,1'-羰二咪唑
- [0340] CH₃CN:乙腈
- [0341] 分析方法
- [0342] 方法c:使用装备有Waters Micromass ZQ(ES电离)和Waters PDA 2996的Waters 2795分离模块运行分析的HPLC-MS,使用X-Bridge C18 3.5μm,2.10×50mm柱。梯度:0.1%氨/水和具有85/15-5/95梯度的乙腈以0.8ml/分钟的量流动5/10分钟。温度:40℃。在215nm和254nm处进行UV检测。在80-1000m/z范围内进行ESI+检测。
- [0343] 方法d:使用装备有Waters SQD(ES电离)和Waters Acquity PDA检测器的Acquity Waters UPLC运行分析的UPLC-MS,使用柱BEH C18 1.7μm,2.1×5.00。温度:40℃。在215nm和254nm处进行UV检测。在80-1000m/z范围内进行ESI+检测。梯度:0.1%碳酸氢铵/水和具有95/5-15/85梯度的乙腈,流速:0.8ml/分钟流动4分钟。
- [0344] 方法e:使用装备有Waters SQD(ES电离)和Waters Acquity PDA检测器的Acquity Waters UPLC运行分析的UPLC-MS,使用柱BEH C18 1.7μm,2.1×5.00。温度:40℃。在215nm和254nm处进行UV检测。在80-1000m/z范围内进行ESI+检测。梯度:0.04%甲酸/95%水/5%乙腈和具有95/5-0/100梯度的CH₃CN,流速:0.8ml/分钟流动4分钟。
- [0345] 方法f:使用装备有Waters SQD(ES电离)和Waters Acquity PDA检测器的Acquity

Waters UPLC运行分析的UPLC-MS,使用柱BEH C18 1.7 μ m,2.1×5.00。温度:40℃。在215nm和254nm处进行UV检测。在80-1000m/z范围内进行ESI+检测。梯度:0.1%甲酸/水和0.1%甲酸/具有95/5-5/95梯度的CH₃CN,流速:以0.6ml/分钟流动3分钟。

[0346] 制备型HPLC方法

[0347] 方法a:使用与Waters Micromass ZQ25 (ES) 或Waters 2487 DAD连接且具有二元梯度模块Waters 2525泵的Waters 2767系统运行制备型HPLC,使用X-Bridge C18 5 μ m 19×150。梯度:0.1%氨/水和甲醇,流速:17ml/分钟。

[0348] 方法b:使用与Waters MS3100 SQ或Waters 2487 DAD连接且具有二元梯度模块Waters 2525泵的Waters 2767系统运行制备型HPLC,使用X-Bridge C18 5 μ m 19×150。梯度:0.1%甲酸/水和0.1%甲酸/甲醇,流速:17ml/分钟。

[0349] 一般合成过程

[0350] 羧化反应的一般过程A1

[0351] 在惰性气氛下,向冷却至-78℃的N,N-二异丙胺(2.1当量)于无水THF(0.4ml×mmol)的溶液中滴加正丁基锂溶液(己烷中2.5M,2当量)。在-78℃下搅拌该混合物一小时,然后加入所需的甲基吡啶(1当量)。在-78℃下搅拌反应混合物一小时,加入碳酸二乙酯(1.2当量)于THF(0.3ml×mmol)的溶液。将反应混合物升温至室温并搅拌过夜。用H₂O淬灭混合物,并用AcOEt萃取两次。收集有机层,用饱和氯化钠溶液洗涤,用Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。粗产物通过硅胶色谱纯化。

[0352] Reformatsky-Negishi偶联反应的一般过程A2

[0353] 为了制备Reformatsky试剂,N₂下将锌粉(1.2当量)悬浮于无水THF中,滴加三甲基氯硅烷0.1当量,将所得的悬浮液回流1小时。然后滴加溴乙酸叔丁基酯(1.2当量),将所得的反应混合物回流2小时。将所得的Reformatsky试剂加入溴芳基或杂芳基化合物(1当量)、Q-phos(0.05当量)和钯源(0.05当量)于无水THF中的脱气悬浮液中。将所得的反应混合物在75℃下加热过夜。加入NH₄C1饱和溶液和AcOEt使反应进行。用AcOEt再次萃取水层,合并所得的有机层,用Na₂SO₄干燥并真空浓缩。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0354] 酸烷基化的一般过程B1

[0355] 向冷却至-78℃的杂芳基乙酸(1当量)于无水THF的溶液中加入LiHMDS(1M,2.2当量)于THF的溶液中。在-78℃搅拌所得的混合物1小时。然后分批加入1-碘丙烷(1.1当量),将反应混合物升温至室温,并搅拌过夜。用H₂O淬灭反应混合物,并用AcOEt萃取。分离水层;用6N的HCl将溶液酸化至pH为3,用AcOEt萃取三次。收集有机相,用Na₂SO₄干燥并减压浓缩。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0356] 烷基化-环化的一般过程B2

[0357] 将乙基2-(5-溴吡啶-3-基)乙酸酯(1当量)溶解于DMF中(5ml×mmol);加入18-冠-6醚(0.05当量)和NaH 60%于矿物油(2.5当量)的分散体中,将该混合物在室温下搅拌30分钟;滴加二溴烷烃(1.1当量),反应混合物在室温下搅拌5小时。加入NaOH 15%于H₂O(1.5ml×mmol)的溶液,将该混合物在室温下搅拌16小时。加入H₂O并用6N HCl调节pH为3。用DCM萃取水溶液;收集有机相、用Na₂SO₄干燥、过滤并蒸发。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0358] 烷基化的一般过程B3

[0359] -78℃下,将酸(1当量)于无水THF(1.4ml×mmol)的溶液滴加到正丁基锂1.6M于

THF ($0.3\text{ml} \times \text{mmol}$) 的正己烷 (2.2当量) 的溶液中。在惰性气氛下将反应在-78°C 搅拌2小时；然后滴加卤代烷 (1.1当量) 于THF ($0.6\text{ml} \times \text{mmol}$) 的溶液。将溶液升温至室温并搅拌16小时。小心加入H₂O 并用AcOEt稀释混合物。收集水相, 用6N HCl酸化至pH=1, 并用AcOEt萃取；收集有机层、经Na₂SO₄干燥、过滤并在真空下蒸发。

[0360] 插入氟的一般过程B4

[0361] 用THF ($4.0\text{ml} \times \text{mmol}$) 稀释LiHMDS 1M于THF (1.1当量) 的溶液, 并冷却至-78°C；逐滴加入乙酯 (1.0当量) 于相同溶剂 ($2.0\text{ml} \times \text{mmol}$) 的溶液。将混合物在0°C下搅拌30分钟, 然后再次冷却至-78°C。滴加N-氟苯磺酰亚胺 (1.3当量) 于THF ($4.0\text{ml} \times \text{mmol}$) 的溶液；然后将混合物升温至室温并搅拌12小时。用NH₄Cl饱和水溶液猝灭反应, 用AcOEt萃取, 并用H₂O洗涤。收集有机层, 并在减压下除去溶剂。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0362] 酸和酯烷基化的一般过程B5

[0363] 将杂芳基乙酸乙酯 (1当量) 溶解于DMF ($2\text{ml} \times \text{mmol}$) 中, 加入碳酸铯 (1.2当量) 和碘代烷烃 (1.1当量), 并将该混合物在室温下搅拌过夜。加入H₂O 并用AcOEt粗萃取三次。将有机相合并、用Na₂SO₄干燥并真空浓缩。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0364] 苯酚烷基化的一般过程C1

[0365] 向所需的苯酚 (1当量) 和K₂CO₃ (2当量) 于DMF的悬浮液中加入所需的烷基溴 (4当量), 将混合物在70°C加热18小时。加入H₂O 并用AcOEt萃取该混合物。收集有机相, 并且在减压下浓缩。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0366] 酸水解的一般过程D1

[0367] 将所需酯于浓HCl (0.37mmol/ml) 的溶液在100°C下搅拌两小时。将混合物减压浓缩, 粗产物不需要进一步纯化即可用于下一步骤中。

[0368] 酸水解的一般过程D2

[0369] 向叔丁基酯 (1当量) 于DCM ($10\text{ml} \times \text{mmol}$) 的溶液中加入三氟乙酸 ($1\text{ml} \times \text{mmol}$), 将混合物在室温下搅拌三天。将混合物减压浓缩, 然后用DCM稀释, 并用NaHCO₃饱和溶液萃取。分离水层, 用1N HCl酸化至pH为3, 并用DCM萃取。分离有机相, 用Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩, 得到标题化合物。

[0370] 碱水解的一般过程D3

[0371] 向酯 (1当量) 于MeOH ($7.5\text{ml} \times \text{mmol}$) 的溶液中加入2N氢氧化钠溶液 ($7.5\text{ml} \times \text{mmol}$), 并将混合物在室温下搅拌3小时。减压下除去溶剂, 将残余物悬浮在H₂O中, 并将该混合物用1N HCl酸化至pH为3。用DCM萃取水相, 收集有机层并用Na₂SO₄干燥。不需要进一步纯化即得到标题化合物。

[0372] 酰胺与亚硫酰氯偶联的一般过程E1

[0373] 向羧酸 (1当量) 于1,2-二氯乙烷 ($4.3\text{ml} \times \text{mmol}$) 的溶液中加入亚硫酰氯 (1.2当量) 和催化量的DMF, 并将混合物在60°C搅拌4小时。然后使混合物冷却至室温, 加入所需的胺 (1.2当量) 和DIPEA (3当量)。将混合物在室温下过夜搅拌, 然后用饱和NaHCO₃溶液洗涤, 收集有机层并在减压下除去溶剂。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0374] 酰胺与EDC和1-羟基苯并三唑水合物偶联反应的一般过程E2

[0375] 向酸 (1当量) 于DMF ($3\text{ml} \times \text{mmol}$) 的溶液中加入胺 (1.1当量)、1-羟基苯并三唑水合物 (0.36当量) 和EDC (1.5当量)。将混合物在室温下搅拌一小时。加入NaHCO₃饱和溶液, 并用

DCM萃取该混合物。将合并的有机萃取液用饱和NaCl溶液洗涤,用Na₂SO₄干燥并蒸发。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0376] 酰胺与N-溴代丁二酰亚胺三苯基膦偶联反应的一般过程E3

[0377] 向冷却至0℃的三苯基膦(1.6当量)于DCM(1ml×mmol的羧酸)的溶液中加入N-溴代丁二酰亚胺(1.6当量),将混合物在0℃下放置30分钟。加入所需的羧酸(1当量),将反应升温至室温并搅拌45分钟。加入胺(2.5当量),将混合物在室温下搅拌18小时。用1N HCl溶液和NaHCO₃饱和溶液洗涤混合物。收集有机相,并在减压下除去溶剂。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0378] 酰胺与T3P偶联反应的一般过程E4

[0379] 向羧酸(1当量)和胺(1当量)于AcOEt的溶液中加入DIPEA(2当量),将溶液冷却至0℃。加入T3P 50%于AcOEt(1.5当量)的溶液,并将反应搅拌在室温下12小时。加入NaHCO₃饱和溶液,分离有机层,用Na₂SO₄干燥,过滤并蒸发。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0380] 酰胺与酯偶联反应的一般过程F1

[0381] 向酸(1当量,0.12g,0.47mmol)于DMF(3ml×mmol)的溶液中加入胺(1.1当量)、1-羟基苯并三唑水合物(0.36当量)和EDC(1.5当量)。将混合物在室温下搅拌一小时。加入NaHCO₃饱和溶液,并用DCM萃取该混合物。将合并的有机萃取液用饱和NaCl溶液洗涤,用Na₂SO₄干燥并蒸发。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0382] 脂醇解的一般过程I

[0383] 向EtOH(2ml×mmol的脂)的溶液中滴加浓H₂SO₄(0.76ml×mmol的脂),分批加入所需的脂(1当量)。将溶液在100℃下搅拌三小时。将混合物滴加到NaHCO₃(3.00g×mmol的脂)于H₂O(7.5ml×mmol的脂)的溶液中,用DCM萃取两次。将有机层收集、干燥并蒸发,得到所需的化合物。

[0384] 苯酚烷基化的一般过程C1

[0385] 向所需的苯酚(1当量)和K₂CO₃(2当量)于DMF的悬浮液中加入所需的烷基溴(4当量),将混合物在70℃加热18小时。加入H₂O并用AcOEt萃取该混合物。收集有机相,并且在减压下浓缩。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0386] 烷基化的一般过程J1

[0387] 向N-杂环(1当量)于DMF(2ml×mmol)的溶液中加入NaH(60%于矿物油中,1.2当量),将该混合物在室温下搅拌30分钟。加入2-溴-链烷酸乙酯(1.1当量),并将反应在室温下搅拌过夜。加入饱和的NaCl溶液并用DCM萃取该混合物。收集有机相,用Na₂SO₄干燥并减压浓缩。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0388] 烷基化的一般过程J2

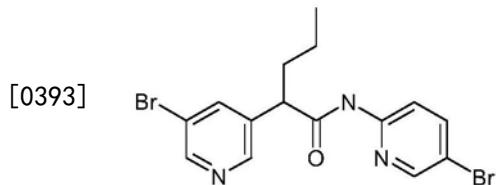
[0389] 将N-杂环(1当量)和K₂CO₃(2当量)于丙酮(4ml×mmol)的悬浮液在55℃下加热10分钟,然后使其冷却到室温。加入2-溴-链烷酸乙酯(1.1当量),将混合物在55℃加热18小时。减压下除去溶剂,将粗产物悬浮在DCM中并用H₂O洗涤。收集有机相、用Na₂SO₄干燥并减压浓缩。

[0390] Suzuki偶联反应的一般过程O

[0391] 将酯/酸(1当量)溶解于脱气的二恶烷(4ml×mmol)中,加入硼酸或酯(1当量)、K₃PO₄(1.7当量)、膦(0.02当量)、Pd₂(dba)₃(0.01当量),然后加入脱气的H₂O(0.5ml×mmol),

在压力管中将反应混合物在100℃下加热16小时。加入AcOEt和NaCl饱和溶液。收集有机相并蒸发。通过硅胶色谱纯化粗产物。

[0392] 实施例1:2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺



[0394] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸

[0395] 向冷却至-78℃的(5-溴-吡啶-3-基)-乙酸(2.00g,9.2mmol)于无水THF(20ml)的溶液中加入LiHMDS(1M,20mmol)于THF的溶液。将所得混合物在-78℃下搅拌1小时。然后分批加入1-碘-丙烷(1.70g,10.2mmol),将反应混合物升温至室温,并保持搅拌过夜。用H₂O淬灭反应混合物,并用AcOEt萃取。分离水层;用6N HCl将溶液酸化至pH为3,用AcOEt萃取三次。收集有机相,用Na₂SO₄干燥并减压浓缩。通过硅胶色谱(环己烷/乙酸乙酯1/1)纯化粗产物,得到标题化合物(1.2g,50%)。

[0396] C₁₀H₁₂BrNO₂质量(计算的)[258.12];(获得)[M+H]⁺=269。

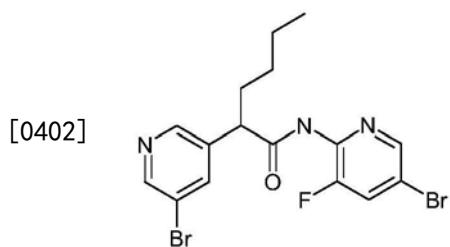
[0397] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺

[0398] 向2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(0.12g,0.47mmol)于DCE(2ml)的溶液中加入亚硫酰氯(0.08g,0.56mmol)和催化量的DMF,将混合物在60℃下搅拌四小时。然后使混合物冷却至室温,加入5-溴-吡啶-2-基胺(0.10g,0.59mmol)和DIPEA(0.18g,1.395mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜,然后用碳酸氢钠饱和溶液洗涤,收集有机层,减压下除去溶剂。通过硅胶色谱(环己烷/乙酸乙酯1/1)纯化粗产物,得到标题化合物(0.05g,25%)。

[0399] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d3)δ8.62(d,J=2.1Hz,1H),8.49(d,J=2.1Hz,1H),8.31(d,J=2.4Hz,1H),8.14(d,J=8.8Hz,1H),7.98-7.91(m,2H),7.81(dd,J=8.8,2.4Hz,1H),3.47(t,J=7.5Hz,1H),2.23-2.12(m,1H),1.87-1.75(m,1H),1.44-1.24(m,2H),0.96(t,J=7.3Hz,3H)。

[0400] C₁₅H₁₅Br₂N₃O,计算的[413.11],获得[M+H⁺]414,RT=1.74(方法f)。

[0401] 实施例2:2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(5-溴-3-氟-吡啶-2-基)-酰胺



[0403] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸

[0404] 根据烷基化一般过程B1,由(5-溴-吡啶-3-基)-乙酸和1-碘-丁烷得到标题化合物(1.82g,51%)。

[0405] C₁₁H₁₄BrNO₂质量(计算的)[272];(获得)[M+H]⁺=274。

[0406] 5-溴-3-氟-吡啶-2-基胺

[0407] 在惰性气氛下,向3-氟-吡啶-2-基胺(0.30g,2.68mmol)于乙腈(15ml)的溶液中加

入N-溴代丁二酰亚胺(0.48g, 2.68mmol)。搅拌该混合物4小时。减压下除去溶剂,通过硅胶色谱(环己烷/乙酸乙酯66/34)纯化粗产物,得到标题化合物(0.46g, 89%)。

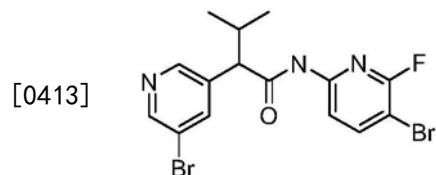
[0408] $C_5H_4BrFN_2$ 质量(计算的)[191];(获得) $[M+H]^+=193$ 。

[0409] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(5-溴-3-氟-吡啶-2-基)-酰胺

[0410] 根据酰胺偶联反应的一般过程E1,由2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸和5-溴-3-氟-吡啶-2-基胺得到标题化合物(0.10g, 34%)。

[0411] 1H NMR(400MHz, 氯仿-d3) δ 8.60(d, $J=2.2Hz$, 1H), 8.49(d, $J=2.2Hz$, 1H), 8.27(d, $J=2.0Hz$, 1H), 7.97(t, $J=2.2Hz$, 1H), 7.78(s, 1H), 7.64(dd, $J=9.0, 2.0Hz$, 1H), 3.90(bs, 1H), 2.28-2.14(m, 1H), 1.88-1.74(m, 1H), 1.46-1.18(m, 4H), 0.89(t, $J=7.1Hz$, 3H). $C_{16}H_{16}Br_2FN_3O$, 计算的[445.12], 获得 $[M+H^+]$, 2Br模式446, RT=1.64(方法f)。

[0412] 实施例3:N-(5-溴-6-氟-吡啶-2-基)-2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-甲基-丁酰胺



[0414] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-甲基-丁酸

[0415] 根据酸的烷基化反应的一般过程B1制备标题化合物(1.80g, 61%)。

[0416] 质量(计算的) $C_{10}H_{12}BrNO_2$ [258], 获得 $[M+1]=258-260$ 溴模式。

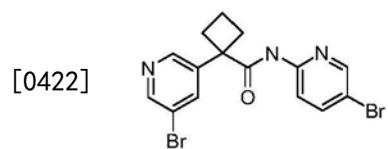
[0417] N-(5-溴-6-氟-吡啶-2-基)-2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-甲基-丁酰胺

[0418] 根据过程E4用亚硫酰氯进行酰胺偶联反应。通过硅胶色谱洗脱(环己烷/乙酸乙酯0-40%)纯化粗产物,得到标题化合物(0.09g, 36%)。

[0419] 1H NMR(400MHz, 氯仿-d3) δ 8.62(d, $J=2.2Hz$, 1H), 8.46(d, $J=1.9Hz$, 1H), 8.05-7.97(m, 2H), 7.93(t, $J=8.5Hz$, 1H), 7.84(bs, 1H), 2.98(d, $J=10.2Hz$, 1H), 2.52-2.38(m, 1H), 1.12(d, $J=6.5Hz$, 3H), 0.79(d, $J=6.6Hz$, 3H)。

[0420] $C_{15}H_{14}N_3OFBr_2$, 计算的[431.10], 获得 $[M+H^+]$, 432, RT=1.79(方法f)。

[0421] 实施例4:1-(5-溴-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺

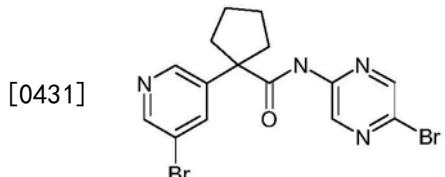


[0423] 1-(5-溴-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸

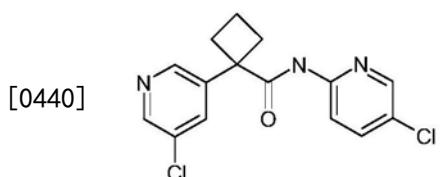
[0424] 将2-(5-溴吡啶-3-基)乙酸乙酯(1.0g, 4.09mmol, 1当量)溶解于DMF(20ml);加入18-冠-6醚(0.054g, 0.205mmol, 0.05当量)和NaH 60%于矿物油的分散体(0.41g, 10.2mmol, 2.5当量),室温下搅拌混合物30分钟;滴加1,3-二溴丙烷(0.46ml, 4.50mmol, 1.1当量),室温下搅拌反应5小时。加入NaOH 15%于H₂O(10ml)的溶液,室温下搅拌混合物16小时。加入H₂O,用6N HCl将调pH节为pH=3。用DCM(2×20ml)萃取水溶液,收集有机相,用Na₂SO₄干燥,过滤并蒸发。通过硅胶色谱(环己烷/乙酸乙酯5%-60%)纯化粗产物,得到标题化合物(两个步骤0.38g, 37%)。

[0425] $C_{10}H_{10}BrNO_2$ 质量(计算的)[256], 获得 $[M+1]=256-258$, 溴模式。

- [0426] 1-(5-溴-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺
- [0427] 使用一般过程对1-(5-溴-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸和5-溴-吡啶-2-基胺进行酰胺偶联反应,得到标题化合物(0.015g,11%)。
- [0428] ^1H NMR (400MHz,氯仿-d3) δ 8.66-8.56 (m, 2H), 8.29-8.24 (m, 1H), 8.19-8.12 (m, 1H), 7.88-7.76 (m, 2H), 7.58 (s, 1H), 3.01-2.89 (m, 2H), 2.63-2.51 (m, 2H), 2.24-1.93 (m, 2H)。
- [0429] $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OBr}_2$,计算的[411.09],获得 $[\text{M}+\text{H}^+]$,2Br模式412,RT=1.61(方法f)。
- [0430] 实施例5:1-(5-溴-吡啶-3-基)-环戊烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺



- [0432] 1-(5-溴-吡啶-3-基)-环戊烷甲酸
- [0433] 由1-(5-溴-吡啶-3-基)-乙酸乙酯起始,使用环化反应的一般过程B2合成标题化合物,然后进行碱水解(D3)(0.66g,59%,两个步骤)。
- [0434] 质量(计算的) $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{BrNO}_2$ [270];获得 $[\text{M}-1]=270-272$ 溴模式。
- [0435] 1-(5-溴-吡啶-3-基)-环戊烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺
- [0436] 根据过程E1,用亚硫酰氯与酰胺进行偶联反应,得到标题化合物(0.021g,9%)。
- [0437] ^1H NMR (400MHz,氯仿-d) δ 9.31 (d, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 8.62 (dd, $J=10.7, 2.1\text{Hz}$, 2H), 8.28 (d, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 7.86 (t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 7.53 (s, 1H), 2.71-2.55 (m, 2H), 2.17-2.03 (m, 2H), 1.99-1.73 (m, 4H)。
- [0438] $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OBr}_2$,计算的[426.11],获得 $[\text{M}+\text{H}^+]$,2Br模式,427,RT=1.61(方法f)。
- [0439] 实施例6:1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺



- [0441] (5-氯-吡啶-3-基)-乙酸叔丁酯
- [0442] 使用烷基化的一般过程A2由3-溴-5-氯吡啶合成标题化合物(8.20g,77%)。
- [0443] $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{ClNO}_2$ 质量(计算的)[227];获得 $[\text{M}+1]=228-230$ 氯模式。
- [0444] 1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸叔丁酯
- [0445] 使用环化的一般过程B2由(5-氯-吡啶-3-基)-乙酸叔丁基酯和1,3-二碘丙烷起始制备标题化合物(0.47g,37%)。
- [0446] $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{ClNO}_2$ 质量(计算的)[267];获得 $[\text{M}+1]=268-270$ 氯模式。
- [0447] 1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸
- [0448] 使用酸水解的一般过程D2由1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸叔丁酯得到酸(0.33g,定量)。
- [0449] $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{ClNO}_2$ 质量(计算的)[211];获得 $[\text{M}+1]=268-270$ 氯模式。

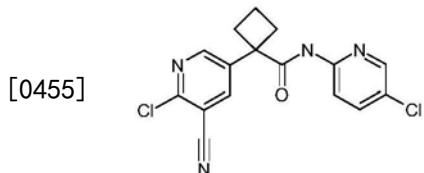
[0450] 1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺

[0451] 根据过程E1用亚硫酰氯进行1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸和5-溴-吡啶-2-基胺的酰胺偶联反应,从而得到标题化合物(0.05g,4%)。

[0452] ^1H NMR (400MHz,氯仿-d3) δ 8.56 (d, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 8.53 (d, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 8.20 (d, $J=8.9\text{Hz}$, 1H), 8.17 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.70 (t, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 7.67 (dd, $J=8.9, 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.58 (s, 1H), 3.03-2.90 (m, 2H), 2.64-2.51 (m, 2H), 2.25-2.09 (m, 1H), 2.09-1.94 (m, 1H)。

[0453] C₁₅H₁₃N₃OCl₂,计算的[322.19],获得[M+H⁺],322,RT=1.53(方法f)。

[0454] 实施例7:1-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺



[0456] (6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-乙酸叔丁酯

[0457] 使用烷基化的一般过程A2由5-溴-2-氯烟腈合成标题化合物(1.60g,35%)。

[0458] 质量(计算的)C₁₂H₁₃C1N₂O₂[252];获得[M+1]=253。

[0459] 1-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸

[0460] 使用环化的一般过程B2制备标题化合物,随后使用一般过程D2酸水解(0.18g,30%)。

[0461] 质量(计算的)C₁₁H₉C1N₂O₂[236];获得[M+1]=237。

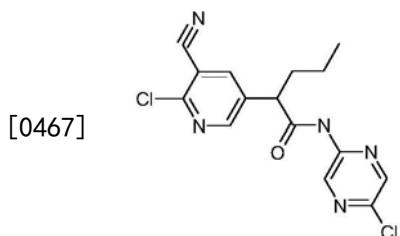
[0462] 1-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺

[0463] 根据过程E1进行酰胺偶联反应,由1-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸和酸(5-氯-吡啶-2-基)-胺起始得到标题化合物(0.066g,50%)。

[0464] ^1H NMR (400MHz,氯仿-d3) δ 8.64 (d, $J=2.5\text{Hz}$, 2H), 8.24-8.07 (m, 2H), 8.03 (d, $J=2.5\text{Hz}$, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.69 (dd, $J=9.0, 2.5\text{Hz}$, 1H), 3.17-2.71 (m, 2H), 2.64-2.29 (m, 2H), 2.36-1.92 (m, 2H)。

[0465] C₁₆H₁₂N₄ZCl₂,计算的[347.20],获得[M+H⁺],347,RT=1.59(方法f)。

[0466] 实施例8:2-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺



[0468] (6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-乙酸叔丁酯

[0469] 根据一般过程A2由5-溴-2-氯-烟腈起始合成标题化合物。通过硅胶色谱(环己烷/乙酸乙酯梯度)纯化粗产物以得到标题化合物(0.85g,75%y)。

[0470] ^1H NMR (400MHz,CDCl₃) δ 8.47 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 3.58 (s, 2H), 1.46 (s, 9H)。

[0471] 2-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-戊酸叔丁酯

[0472] 根据一般过程B1由(6-氯-5-氟基-吡啶-3-基)-乙酸叔丁酯起始进行烷基化,从而得到标题化合物(0.60g,60% y)。

[0473] C₁₅H₁₉C1N₂O₂质量(计算的)[294];(获得)[M+H]⁺=295。

[0474] 2-(6-氯-5-氟基-吡啶-3-基)-戊酸

[0475] 根据一般过程D2由2-(6-氯-5-氟基-吡啶-3-基)-戊酸叔丁酯起始合成标题化合物;(0.12g,98% y)。

[0476] C₁₁H₁₁C1N₂O₂质量(计算的)[238];(获得)[M+H]⁺=239。

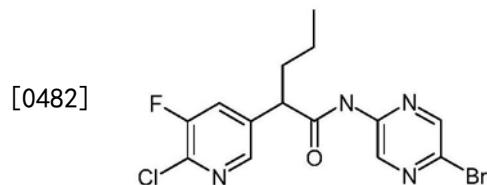
[0477] 2-(6-氯-5-氟基-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺

[0478] 根据一般过程E2由2-(6-氯-5-氟基-吡啶-3-基)-戊酸和5-氯-吡嗪-2-基胺起始合成标题化合物(0.10g,53%)。

[0479] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d3) δ9.30(s,1H),8.56(d,J=2.3Hz,1H),8.27(s,1H),8.18(d,J=2.3Hz,1H),7.92(s,1H),3.59(t,J=7.6Hz,1H),2.27-2.12(m,1H),1.90-1.80(m,1H),1.46-1.19(m,2H),0.98(t,J=7.3Hz,3H)。

[0480] C₁₅H₁₃N₅OCl₂,计算的[350.20],获得[M+H⁺],2C1模式,350-352,RT=1.60(方法f)。

[0481] 实施例9:2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺



[0483] (6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-乙酸叔丁酯

[0484] 根据一般过程A2由5-溴-2-氯-3-氟-吡啶起始合成标题化合物。通过硅胶色谱(环己烷/乙酸乙酯梯度)纯化粗产物以得到(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-乙酸叔丁酯(0.36g,30%)。

[0485] C₁₁H₁₃C1FN₂O₂质量(计算的)[245];(获得)[M+H]⁺=246。

[0486] 2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸叔丁酯

[0487] 根据一般过程B1由(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-乙酸叔丁酯起始合成标题化合物。通过硅胶色谱(环己烷/乙酸乙酯梯度)纯化粗产物以得到2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸叔丁酯(0.17g,56%)。

[0488] C₁₄H₁₉C1FN₂O₂质量(计算的)[287];(获得)[M+H]⁺=288。

[0489] 2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸

[0490] 根据一般过程D2由2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸叔丁酯起始合成标题化合物(0.16g,定量)。

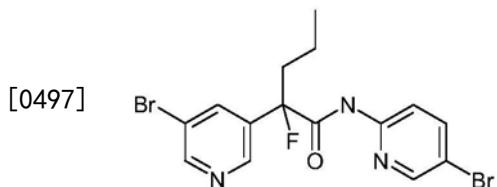
[0491] C₁₀H₁₁C1FN₂O₂质量(计算的)[231];(获得)[M+H]⁺=232。

[0492] 2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺

[0493] 根据一般过程E1由2-(6-氯-5-氟-吡啶-3-基)-戊酸和5-溴-吡嗪-2-基胺起始合成标题化合物(0.03g,33%)。

[0494] ¹H NMR(400MHz,甲醇-d4) δ9.20(d,J=1.5Hz,1H),8.45(d,J=1.5Hz,1H),8.23(d,J=1.9Hz,1H),7.84(dd,J=9.4,1.9Hz,1H),3.90(dd,J=8.3,7.0,Hz,1H),2.20-2.06(m,1H),1.86-1.72(m,1H),1.47-1.19(m,2H),0.96(t,J=7.4Hz,3H)。

- [0495] $C_{14}H_{13}N_4OFC_1Br$, 计算的 [387.63], 获得 $[M+H]^+$, C1-Br模式389, RT=1.77 (方法f)。
- [0496] 实施例10: 2-(5-溴-吡啶-3-基) 2-氟-戊酸 (5-溴-吡啶-2-基) 酰胺



- [0498] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸

[0499] 向冷却至-78℃的(5-溴-吡啶-3-基)乙酸(2.0g, 9.3mmol, 1当量)于无水THF的溶液中加入LiHMDS(20.4mL, 20.4mmol, 2.2当量)于THF的溶液。将得到的混合物在-78℃下搅拌1小时。然后分批加入1-碘丙烷(1.0mL, 10.2mmol, 1.1当量), 使反应混合物升温至室温, 并搅拌过夜。用H₂O淬灭反应混合物, 并用AcOEt萃取。分离水层; 用6N HCl将溶液酸化至pH=3, 并用AcOEt萃取。收集有机层, 用Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。通过硅胶色谱(环己烷:乙酸乙酯92:8-34:66)纯化粗产物以得到标题化合物(1.2g, 50%)。

- [0500] $C_{10}H_{12}BrNO_2$ 质量(计算的)[258]; (获得) $[M+H]^+=259m/z$ 。

- [0501] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸乙酯

[0502] 向2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(1.50g, 5.8mmol, 1当量)于EtOH(10ml)的溶液中加入H₂SO₄(0.5ml, 2.6当量, 15.2mmol), 在85℃下搅拌混合物12小时。然后使混合物冷却至室温。将混合物在减压下浓缩, 溶解于DCM并用碳酸氢钠饱和溶液洗涤。收集有机层, 减压下除去溶剂得到在接下来的步骤中使用的所需产物, 不需要进一步纯化(1.5g, 88%)。

- [0503] $C_{12}H_{16}BrNO_2$ 质量(计算的)[286]; (获得) $[M+H]^+=287m/z$ 。

- [0504] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-氟-戊酸乙酯

[0505] 将LiHMDS(THF中1M, 0.58ml, 1.1当量)的溶液用THF(2.0ml)稀释并冷却至-78℃; 滴加2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸乙酯(0.15g, 0.52mmol, 1.0当量)于相同溶剂(1.0ml)的溶液。在0℃下搅拌混合物30分钟, 然后再次冷却至-78℃。滴加N-氟苯磺酰亚胺(N-fluorobenzene sulfonamide)(0.22g, 0.68mmol, 1.3当量)于THF(2.0ml)的溶液; 然后将混合物升温至室温, 并搅拌12小时。用NH₄Cl饱和水溶液淬灭反应, 用AcOEt萃取并用H₂O洗涤。收集有机层, 在减压下除去溶剂。通过硅胶色谱(cHex:AcOEt 100:0-80:20)纯化粗产物得到作为橘色油的所需产物(0.10g, 63%)。

- [0506] $C_{12}H_{15}BrFN_2O_2$ 质量(计算的)[304]; (获得) $[M+H]^+=305m/z$ 。

- [0507] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-氟-戊基甲酸

[0508] 向2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-氟-戊酸乙酯(0.48g, 1.6mmol, 1当量)于MeOH(3ml)的溶液中加入2N NaOH(3ml, 6mmol, 4当量), 在室温下搅拌混合物3小时。在减压下除去溶剂, 将残余物悬浮在H₂O中, 用1N HCl将混合物酸化至pH=3。水相用DCM萃取, 收集有机层, 用Na₂SO₄干燥。分离标题化合物, 不需要进一步纯化(0.41g, 95%)。

- [0509] $C_{10}H_{11}BrFN_2O_2$ 质量(计算的)[276]; (获得) $[M+H]^+=277m/z$ 。

- [0510] 2-(5-溴-吡啶-3-基) 2-氟-戊酸 (5-溴-吡啶-2-基)-酰胺

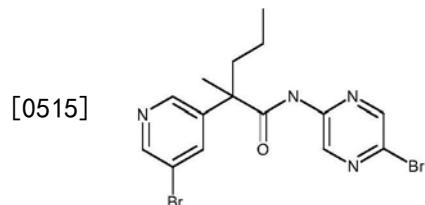
[0511] 向2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-氟-戊基甲酸(0.12g, 0.44mmol, 1当量)于DMF(1.5ml)的溶液中加入5-溴-2-氨基吡啶(0.08g, 0.48mmol, 1.1当量)、1-羟基苯并三唑水合物(0.02g, 0.13mmol, 0.3当量)和EDC(0.10g, 0.52mmol, 1.2eq)。在室温下搅拌混合物1小时。

加入NaHCO₃饱和溶液,混合物用DCM萃取。将合并的有机萃取物用饱和NaCl溶液洗涤,用Na₂SO₄干燥,蒸发。通过硅胶色谱(cHex:AcOEt 100:0-77:23)纯化粗产物,得到标题化合物(0.07g,38%)。

[0512] ¹H NMR (400MHz, 氯仿-d3) δ 8.76-8.68 (m, 2H), 8.61 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.29 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.05 (d, J=8.8Hz, 1H), 8.01 (t, J=2.3Hz, 1H), 7.76 (dd, J=8.8, 2.4Hz, 1H), 2.42-2.21 (m, 1H), 2.18-1.99 (m, 1H), 1.47-1.31 (m, 2H), 0.89 (t, J=7.4Hz, 3H)。

[0513] C₁₅H₁₄Br₂FN₃O,计算的[431.10],获得[M+H⁺],432,RT=2.35(方法e)。

[0514] 实施例11:2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-甲基-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺



[0516] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸

[0517] 使用酸烷基化的一般过程B1用碘甲烷使(5-溴-吡啶-3-基)-乙酸烷基化,得到标题产物(0.6g,61%)。

[0518] C₈H₈BrNO₂质量(计算的)[230];获得[M+1]=230-232溴模式。

[0519] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-甲基-戊酸

[0520] 使用烷基化的一般过程B1使(5-溴-吡啶-3-基)-丙酸烷基化,在50℃下加热得到标题产物(0.1g,28%)。

[0521] C₁₁H₁₄BrNO₂质量(计算的)[272];获得[M+1]=272-274溴模式。

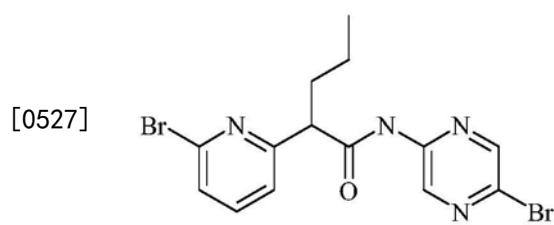
[0522] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-甲基-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺

[0523] 根据过程E1,用亚硫酰胺进行酰胺偶联反应,由2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-甲基-戊酸和5-溴-吡嗪-2-基胺,经过碱性条件下的制备型HPLC之后得到标题化合物(0.02g,10%)。

[0524] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d6) δ 10.45 (s, 1H), 9.10 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.61-8.53 (m, 2H), 8.44 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.91 (t, J=2.1Hz, 1H), 2.16-2.03 (m, 1H), 2.01-1.83 (m, 1H), 1.57 (s, 3H), 1.20-1.02 (m, 2H), 0.85 (t, J=7.1Hz, 3H)。

[0525] C₁₅H₁₆N₄OBr₂,计算的[428.1],获得[M+H⁺],2Br模式429,RT=1.66(方法f)。

[0526] 实施例12:2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺



[0528] (6-溴-吡啶-2-基)-乙酸乙酯

[0529] 在惰性气氛下,向冷却至-78℃的N,N-二异丙胺(1.85g,18.31mmol)于无水THF(7ml)的溶液中滴加正丁基锂(己烷中2.5M,17.44mmol)的溶液。在-78℃下搅拌混合物1小时,然后加入2-溴-6-甲基吡啶(1.5g,8.7mmol)。在-78℃下搅拌反应混合物1小时,然后加

入碳酸二乙酯(1.23g, 10.46mmol)于THF(3ml)的溶液。将反应混合物加热至室温，并搅拌过夜。用H₂O淬灭混合物，并用AcOEt萃取两次。收集有机层，用饱和氯化钠溶液洗涤，用Na₂SO₄干燥，并在减压下浓缩。通过硅胶色谱(cHex/AcOEt 70/30)纯化粗品，得到为黄色油的标题化合物(1.16g, 55%)。

[0530] C₉H₁₀BrN₀₂质量(计算的)[244];(获得)[M+H]⁺=246。

[0531] 2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸乙酯

[0532] 根据一般过程B1由(6-溴-吡啶-2-基)-乙酸乙酯起始得到标题化合物(0.85g, 63%)。

[0533] C₁₂H₁₆BrN₀₂质量(计算的)[286];(获得)[M+H]⁺=288。

[0534] 2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸

[0535] 向2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸乙酯(0.40g, 1.4mmol)于MeOH(3ml)的溶液中加入2N NaOH(3ml)，室温下搅拌混合物3小时。减压下除去溶剂，将粗产物悬浮在H₂O中，用1N HCl将混合物酸化至pH为3。用DCM萃取水层，收集有机层，用Na₂SO₄干燥。以定量产量得到标题化合物，不需要进一步纯化。

[0536] C₁₀H₁₂BrN₀₂质量(计算的)[258];(获得)[M+H]⁺=260。

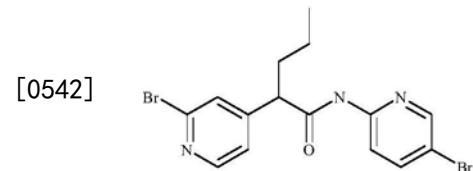
[0537] 2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺

[0538] 向2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(0.12g, 0.47mmol)于DMF(1.5mL)的溶液中加入5-溴-吡嗪-2-基胺(0.09g, 0.51mmol)、1-羟基苯并三唑水合物(0.02g, 0.17mmol)和EDC(0.13g, 0.70mmol)。室温下搅拌混合物1小时。加入NaHCO₃饱和溶液，用DCM萃取混合物。用饱和NaCl溶液洗涤合并的有机萃取液，用Na₂SO₄干燥并蒸发。通过硅胶色谱(cHex/AcOEt 75/25)纯化粗产物得到标题化合物(0.02g, 8%)。

[0539] ¹H NMR(400MHz, 氯仿-d3) δ 9.59(s, 1H), 9.29(d, J=1.4Hz, 1H), 8.37(d, J=1.4Hz, 1H), 7.57(t, J=7.7Hz, 1H), 7.45(d, J=7.7Hz, 1H), 7.27(d, J=7.7Hz, 1H), 3.75(t, J=7.7Hz, 1H), 2.21-2.16(m, 1H), 2.08-1.92(m, 1H), 1.45-1.21(m, 2H), 0.95(t, J=7.3Hz, 3H)。

[0540] C₁₅H₁₅Br₂N₃O, 计算的[414.09], 获得[M+H⁺] 415, RT=1.71(方法f)。

[0541] 实施例13:2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺



[0543] (2-溴-吡啶-4-基)-乙酸叔丁酯

[0544] 氮气下，向冷却至-78℃的二异丙胺(2.1g, 20.93mmol)于无水THF(30ml)的溶液中滴加正丁基锂(2.5M, 19.18mmol)于己烷的溶液。使混合物升温至-30℃，搅拌30分钟。然后将反应再次冷却至-78℃，加入2-溴-4-甲基吡啶(3.0g, 17.44mmol)于THF(10ml)的溶液。反应变为深橘色，在-30℃下搅拌30分钟。然后将反应冷却至-78℃，加入二碳酸二叔丁酯(0.18g, 19.18mmol)于THF(10ml)的溶液。然后使反应混合物升温至室温，搅拌下过夜。用H₂O淬灭混合物，用AcOEt萃取两次。分离有机层，用NaCl饱和溶液洗涤，用Na₂SO₄干燥，并在减压下浓缩。使用硅胶色谱(cHex/AcOEt 80/20)纯化粗品，得到标题化合物(0.81g, 13%)。

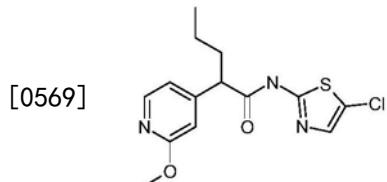
- [0545] $C_{11}H_{14}BrNO_2$ 质量(计算的)[272];(获得) $[M+H]^+=274$ 。
- [0546] 2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸叔丁酯
- [0547] 根据烷基化的一般过程B1并由(2-溴-吡啶-4-基)-乙酸叔丁酯(0.83g,3.05mmol)起始得到标题化合物(0.68g,71%)。
- [0548] $C_{14}H_{20}BrNO_2$ 质量(计算的)[314];(获得) $[M+H]^+=316$ 。
- [0549] 2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸
- [0550] 向2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸叔丁酯(0.68g,2.16mmol)于DCM(20mL)的溶液中加入三氟乙酸(2mL),在室温下搅拌混合物3天。在减压下浓缩混合物,然后用DCM稀释,用饱和NaHCO₃溶液萃取。分离水层,用1N HCl酸化至pH为3,并用DCM萃取。分离有机层,用Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩,得到标题化合物(0.44g,72%)。
- [0551] $C_{10}H_{12}BrNO_2$ 质量(计算的)[258];(获得) $[M+H]^+=260$ 。
- [0552] 2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺
- [0553] 根据与EDC偶联的一般过程E2并由2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸和5-溴-吡啶-2-基胺起始得到标题化合物(0.05g,30%)。
- [0554] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d3) δ 8.34(d,J=5.1Hz,1H), 8.31(d,J=2.5Hz,1H), 8.13(d,J=8.8Hz,1H), 7.89(s,1H), 7.81(dd,J=8.8,2.5Hz,1H), 7.52(s,1H), 7.28(m,1H), 3.42(t,J=7.5Hz,1H), 2.23-2.09(m,1H), 1.88-1.74(m,1H), 1.34(m,2H), 0.96(t,J=7.3Hz,3H)。
- [0555] $C_{15}H_{15}Br_2N_3O$,计算的[413.11],获得 $[M+H]^+$ 414, RT=1.75(方法f)。
- [0556] 实施例14:2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺

- [0557]
-
- [0558] 2-(甲氧基-吡啶-4-基)-乙酸乙酯
- [0559] 根据一般过程A1由2-甲氧基-4-甲基-吡啶起始合成标题化合物(4.63g,73%)。
- [0560] $C_{10}H_{13}NO_3$ 质量(计算的)[195];(获得) $[M+H]^+=196$ 。
- [0561] 2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸乙酯
- [0562] 根据一般过程B1由2-(甲氧基-吡啶-4-基)-乙酸乙酯起始合成标题化合物。以(0.75g,75%)得到标题化合物。
- [0563] $C_{13}H_{19}NO_3$ 质量(计算的)[237];(获得) $[M+H]^+=238$ 。
- [0564] 2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺
- [0565] 在隔膜密封的并置于微波室中的容器中,向2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸乙酯(0.150g,0.6mmol,1当量)中加入1,5,7-三叠氮双环[440]癸-5-烯(0.03g,0.2mmol,0.3当量)和2-氨基-5-溴吡啶(0.44g,2.5mmol,4当量)。使用微波辐射(最大发射功率230W)使温度升高至130℃。然后将反应混合物在此温度下保持30分钟。然后将残余物用DCM稀释并用NaHCO₃饱和溶液洗涤。分离有机相,用Na₂SO₄干燥并真空浓缩。通过硅胶色谱(cHex/AcOEt梯度)纯化粗品,得到标题化合物(0.03g,15%)。
- [0566] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d3) δ 8.29-8.23(m,1H), 8.18-8.09(m,2H), 7.98(s,1H),

7.83-7.74 (m, 1H) , 6.90-6.82 (m, 1H) , 6.72 (s, 1H) , 3.93 (s, 3H) , 3.43 (t, J=7.5Hz, 1H) , 2.22-2.07 (m, 1H) , 1.88-1.74 (m, 1H) , 1.41-1.21 (m, 2H) , 0.93 (t, J=7.3, 1.5Hz, 3H)。

[0567] C₁₆H₁₈BrN₃O₂, 计算的 [364.24], 获得 [M+H⁺] , Br 模式, 364-366, RT=1.65 (方法f)。

[0568] 实施例15:2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-氯-噻唑-2-基)-酰胺



[0570] 2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸

[0571] 根据一般过程D3由2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸乙酯起始合成标题化合物 (1.50g, 79%)。

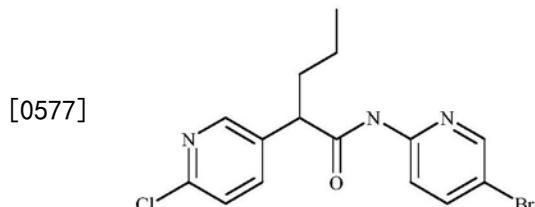
[0572] 质量 (计算的) C₁₁H₁₅N₀₃ [209]; (获得) [M+H⁺] = 210。

[0573] 合成2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-氯-噻唑-2-基)-酰胺

[0574] 根据一般过程E1由2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸和5-氯-噻唑-2-基胺起始合成标题化合物 (0.04g, 16%)。

[0575] ¹H NMR (400MHz, 氯仿-d3) δ 10.11 (bp, 1H) , 8.14 (d, J=5.4Hz, 1H) , 7.23 (s, 1H) , 6.86 (dd, J=5.4, 1.4Hz, 1H) , 6.72 (d, J=1.4Hz, 1H) , 3.94 (s, 3H) , 3.56 (t, J=7.5Hz, 1H) , 2.29-2.04 (m, 1H) , 1.95-1.66 (m, 1H) , 1.43-1.19 (m, 2H) , 0.94 (t, J=7.3Hz, 3H) . C₁₄H₁₆N₃O₂SCl, 计算的 [325.81]; 获得 [M+H⁺] , 326, RT=2.01 (方法e)。

[0576] 实施例16:2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺



[0578] (6-氯-吡啶-3-基)-乙酸乙酯

[0579] 向EtOH (27ml) 的溶液中滴加浓H₂S0₄ (10ml), 分批加入2-氯吡啶-5-乙腈 (2.00g, 13.1mmol)。在100℃下搅拌溶液3小时。将混合物滴加至NaHC0₃ (30.00g) 的H₂O (100ml) 溶液中, 用DCM萃取两次。收集有机层, 干燥并蒸发得到标题化合物 (2.60g, 定量)。

[0580] C₉H₁₀C1N0₂质量 (计算的) [199]; (获得) [M+H]⁺ = 200。

[0581] 2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊酸乙酯

[0582] 根据烷基化的一般过程B1由 (6-氯-吡啶-3-基)-乙酸乙酯起始得到标题化合物 (0.72g, 45%)。

[0583] C₁₂H₁₆C1N0₂质量 (计算的) [241]; (获得) [M+H]⁺ = 242。

[0584] 2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊酸

[0585] 将2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊酸乙酯 (0.72g, 2.96mmol) 溶解在浓HCl (8ml) 中, 在100℃下搅拌溶液2小时。减压下浓缩混合物, 在接下来的步骤中直接使用粗产物而不需要进一步纯化 (1.00g, 定量)。

[0586] C₁₀H₁₂C1N0₂质量 (计算的) [213]; (获得) [M+H]⁺ = 214。

[0587] 2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺

[0588] 根据酰胺偶联反应的一般过程E1并由2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊酸和5-溴-吡啶-2-基胺起始得到标题化合物(0.12g,65%)。

[0589] C₁₅H₁₅BrClN₃O质量(计算的)[368];(获得的[M+H]⁺=370。

[0590] 实施例17:2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-溴-吡啶-2-基)-3-(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-丙酰胺



[0592] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-丙酸乙酯

[0593] 根据烷基化的一般过程B1由(5-溴-吡啶-3-基)-乙酸乙酯和2-溴甲基-5-甲基-呋喃起始得到标题化合物(0.33g,72%)。

[0594] C₁₅H₁₃BrF₃N₃O₃质量(计算的)[392];获得[M+1]392-394溴模式。

[0595] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-丙酸

[0596] 使用酯水解的一般过程D3并由2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-丙酸乙酯起始得到标题化合物(0.30g,定量)。

[0597] C₁₃H₉BrF₃N₃O₃质量(计算的)[364];获得[M+1]364-366溴模式。

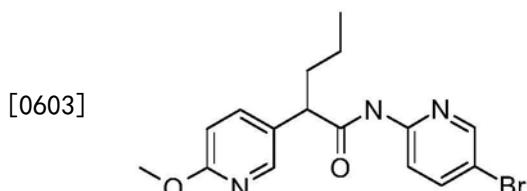
[0598] 2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-溴-吡啶-2-基)-3-(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-丙酰胺

[0599] 将酸(0.06g,0.165mmol,1当量)和5-溴-2-氨基吡啶(0.029g,0.165mmol,1当量)溶解在AcOEt(2ml)中,加入DIPEA(0.057ml,0.33mmol,2当量),并将溶液冷却至0℃。加入AcOEt中T3P 50%溶液(0.127ml,0.33mmol,1.5当量),反应在室温下搅拌12小时。加入NaHCO₃饱和溶液(2ml);分离有机层,用Na₂SO₄干燥,过滤并蒸发。通过硅胶色谱(cHex/0-35%AcOEt)纯化粗产物,得到标题化合物(0.08g,78%)。

[0600] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d3)δ8.63(d,J=2.2Hz,1H),8.45(d,J=2.0Hz,1H),8.30(d,J=2.4Hz,1H),8.12(d,J=8.9Hz,1H),7.97(bs,1H),7.92(t,J=2.0Hz,1H),7.82(dd,J=8.8,2.4Hz,1H),6.63(d,J=3.3,1H),6.09(d,J=3.3Hz,1H),3.95(t,J=7.7Hz,1H),3.59(m,1H),3.17(m,1H)。

[0601] C₁₈H₁₂N₃O₂F₃Br₂,计算的[519.11],获得[M+H⁺],520,RT=1.81(方法f)。

[0602] 实施例18:2-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺



[0604] 氰基-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-乙酸乙酯

[0605] N₂氛围下,将氰乙酸乙酯(0.938ml,8.8mmol,1当量)和5-溴-2-甲氧基-吡啶(1.3ml,10mmol,1.2当量)加入叔丁醇钾(2.4g,21.4mmol,2.5当量)于干1,4-二恶烷(25ml)的悬浮液中。向反应混合物中滴加乙酸钯(0.039g,0.17mmol,0.02当量)和Qphos(0.198g,

0.39mmol, 0.04当量)于干1,4-二恶烷(10ml)的溶液。将反应在70℃下加热2小时,然后冷却至室温;加入1N乙酸溶液(15ml)和AcOEt(20ml),收集有机层,用Na₂SO₄干燥并蒸发。通过硅胶色谱(cHex-10%AcOEt)纯化粗产物,得到标题化合物(1.13g,60%)。

[0606] C₁₁H₁₂N₂O₃质量(计算的)[220];(获得)[M+H]⁺=221。

[0607] 2-氰基-2-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-戊酸乙酯

[0608] 将氰基-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-乙酸乙酯(1.13g,5.1mmol,1当量)溶解在二甲基甲酰胺(10ml)中,加入碳酸铯(2g,6.12mmol,1.2当量)和1-碘-丙烷(0.55ml,5.6mmol,1.1当量),将混合物在室温下搅拌过夜。加入水H₂O(500ml),用AcOEt(3×100ml)萃取粗品三次。合并有机相,用Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。通过硅胶色谱(cHex-10%AcOEt)纯化粗产物,得到标题化合物(1g,74%)。

[0609] C₁₄H₁₈N₂O₃质量(计算的)[262];(获得)[M+H]⁺=263。

[0610] 2-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-戊酸

[0611] 将2-氰基-2-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-戊酸乙酯(1g,3.8mmol,1当量)溶解在甲醇(7.5ml)中,加入2N NaOH溶液(7.5ml,15mmol,4当量),将混合物在室温下搅拌1小时,在60℃下搅拌2小时。用1N HCl将反应混合物酸化至pH=5,用AcOEt(3×20ml)萃取。收集有机层,用Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。通过硅胶色谱(cHex-33%AcOEt)纯化粗产物,得到标题化合物(0.65g,82%)。

[0612] C₁₁H₁₅N₂O₃质量(计算的)[209];(获得)[M+H]⁺=210。

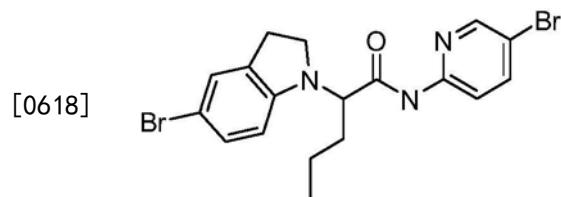
[0613] 2-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺

[0614] 使用一般过程E1进行酰胺偶联反应,得到标题化合物(0.01g,5%)。

[0615] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 8.42(s,1H), 8.26(d,J=2.5Hz,1H), 8.22-8.11(m,2H), 7.79(dd,J=8.9,2.5Hz,1H), 7.72(dd,J=8.7,2.6Hz,1H), 6.80(d,J=8.7Hz,1H), 3.97(s,3H), 3.58(t,J=7.7Hz,1H), 2.21-2.10(m,1H), 1.92-1.65(m,1H), 1.49-1.15(m,2H), 0.93(t,J=7.3Hz,3H)。

[0616] C₁₆H₁₈N₃O₂Br,计算的[364.24],获得[M+H⁺],Br模式364-366,RT=1.67(方法f)。

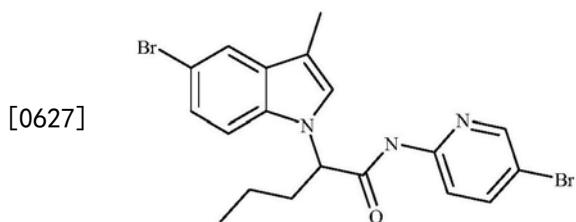
[0617] 实施例19:2-(5-溴-2,3-二氢-吲哚-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺



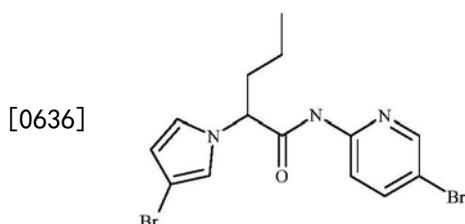
[0619] 2-溴-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺

[0620] 将2-溴戊酸(2.17ml,16.57mmol,1当量)溶解在达到0℃的二氯乙烷(15ml)溶液中。加入乙二酰氯(2.90ml,33.15mmol,2当量),然后加入1滴DMF,反应在室温下搅拌5小时。将溶液蒸发至干燥。将酰氯溶解在二氯乙烷(15ml)中,并在10分钟内缓慢加入到5-溴-2-氨基吡啶(3.1g,18.23mmol,1.1当量)和DIPEA(5.78ml,33.15mmol,2当量)的二氯乙烷溶液中;将反应在室温下搅拌1小时。加入NaHCO₃饱和溶液,收集有机层,用NaCl饱和溶液洗涤,用Na₂SO₄干燥,过滤并蒸发。通过硅胶色谱(cHex-5%AcOEt)纯化粗产物,得到标题化合物(3.3g,65%)。

- [0621] $C_{10}H_{12}Br_2N_2O$ 质量 (计算的) [336] ; 获得 $[M+1] = 336-338$ 溴模式
- [0622] 2-(5-溴-2,3-二氢-吲哚-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺
- [0623] 将2-溴-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺(0.13g, 0.39mmol, 1当量)溶解在CH₃CN(2mL)中, 加入DIPEA(0.081mL, 0.46mmol, 1.2当量)和5-溴吲哚(0.087mL, 0.46mmol, 1.2当量)。将反应在70°C下加热16小时。蒸发乙腈, 将粗残余物分配在AcOEt(2mL)和H₂O(2mL)中, 收集有机相, 用Na₂SO₄干燥, 过滤并蒸发。通过反相层析纯化粗产物, 得到标题化合物(0.021g, 12%)。
- [0624] ¹H NMR (400MHz, 氯仿-d3) δ 8.97 (s, 1H), 8.29 (d, $J = 2.5\text{Hz}$, 1H), 8.21 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.81 (dd, $J = 8.8, 2.5\text{Hz}$, 1H), 7.22 (d, $J = 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.14 (dd, $J = 8.4, 2.0\text{Hz}$, 1H), 6.33 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 3.95 (dd, $J = 7.5, 6.4\text{Hz}$, 1H), 3.62-3.43 (m, 2H), 3.16-2.97 (m, 2H), 2.23-2.00 (m, 1H), 1.79 (m, 1H), 1.55-1.29 (m, 2H), 0.96 (t, $J = 7.3\text{Hz}$, 3H)。
- [0625] $C_{18}H_{19}N_3OBr_2$, 计算的[453.17], 获得 $[M+H^+]$, 2Br模式454, RT=2.12(方法f)。
- [0626] 实施例20: 2-(5-溴-3-甲基-吲哚-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺



- [0628] 2-(5-溴-3-甲基-吲哚-1-基)-戊酸乙酯
- [0629] 向5-溴-3-甲基-1H-吲哚(0.50g, 2.38mmol)的DMF(4mL)溶液中加入NaH(矿物油中60%, 0.11g, 2.85mmol), 将混合物在室温下搅拌30分钟。加入2-溴-戊酸乙酯(0.45mL, 2.62mmol), 将反应在室温下搅拌过夜。加入饱和NaCl溶液, 用DCM萃取混合物。收集有机相, 用Na₂SO₄干燥, 在减压下浓缩。通过硅胶色谱(cHex/AcOEt 80/20)纯化粗产物, 得到标题化合物(0.35g, 46%)。
- [0630] $C_{16}H_{20}BrNO_2$ 质量 (计算的) [338]; (获得) $[M+H]^+ = 340$ 。
- [0631] 2-(5-溴-3-甲基-吲哚-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺
- [0632] 根据酰胺偶联反应的一般过程F1并由2-(5-溴-3-甲基-吲哚-1-基)-戊酸乙酯和5-溴-吡啶-2-基胺起始得到标题化合物(0.08g, 34%)。
- [0633] ¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 8.20 (d, $J = 2.4\text{Hz}$, 1H), 8.15 (d, $J = 8.9\text{Hz}$, 1H), 7.79 (dd, $J = 8.9, 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.76-7.71 (m, 2H), 7.32 (dd, $J = 8.7, 1.9\text{Hz}$, 1H), 7.16 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 7.01 (s, 1H), 4.90 (dd, $J = 10.7, 4.7\text{Hz}$, 1H), 2.48-2.36 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.23-2.07 (m, 1H), 1.33-1.12 (m, 2H), 0.93 (t, $J = 7.3\text{Hz}$, 3H)。
- [0634] $C_{19}H_{19}Br_2N_3O$, 计算的[465.18], 获得 $[M+H^+]$, 2Br模式, 466, RT=5.38(方法c)。
- [0635] 实施例21: 2-(3-溴-吡咯-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺



[0637] 2-(3-溴-吡咯-1-基)-戊酸乙酯

[0638] 向3-溴-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯(1.10g, 3.64mmol)于THF(11ml)的溶液中加入四丁基氯化铵(1M, 3.82ml, 3.82mmol)于THF的溶液, 在室温下搅拌反应10分钟。加入5ml乙醚, 用10ml H₂O洗涤混合物。收集有机相, 用Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩, 得到直接使用不需要进一步纯化的3-溴-1H-吡咯。在氮气氛围下, 向NaH(矿物油中60%, 0.10g, 4.11ml)于THF(9ml)的悬浮液中加入3-溴-1H-吡咯(0.50g, 3.46mmol)的溶液, 使混合物在室温下搅拌1小时。然后将反应冷却至0℃, 加入2-溴-戊酸乙酯(0.86g, 4.11mmol)于DMF(9ml)的溶液。使反应升温至室温, 并搅拌3小时。然后加入H₂O(10ml), 用AcOEt(10ml)萃取, 收集有机相, 用Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩。通过硅胶色谱(cHex/AcOEt 95/5)纯化粗产物, 提供标题化合物(0.45g, 60%)。

[0639] C₁₁H₁₆BrNO₂质量(计算的)[274]; (获得) [M+H]⁺=276。

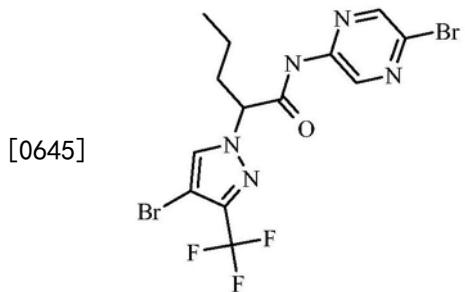
[0640] 2-(3-溴-吡咯-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺

[0641] 根据酰胺偶联反应的一般过程F1并由2-(3-溴-吡咯-1-基)-戊酸乙酯和5-溴-吡啶-2-基胺起始得到标题化合物(0.06g, 32%)。

[0642] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d6) δ11.00(s, 1H), 8.45(t, J=1.5Hz, 1H), 8.04-7.98(m, 2H), 6.97(t, J=2.0Hz, 1H), 6.86(t, J=2.7Hz, 1H), 6.08(dd, J=2.7, 2.0Hz, 1H), 4.91(dd, J=8.9, 6.5Hz, 1H), 2.06-1.85(m, 2H), 1.22-1.08(m, 2H), 0.87(t, J=7.4Hz, 3H)。

[0643] C₁₄H₁₅Br₂N₃O, 计算的[401.10], 获得[M+H⁺], 2Br模式, 402, RT=1.87(方法f)。

[0644] 实施例22: 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺



[0646] 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸乙酯

[0647] 将4-溴-3-三氟甲基-1H-吡唑(0.74g, 3.44mmol)和K₂CO₃(0.95g, 6.88mmol)于丙酮(16ml)的悬浮液在55℃下加热10分钟, 然后冷却至室温。加入2-溴-戊酸乙酯(0.79g, 3.78mmol), 并将混合物在55℃下加热18小时。在减压下除去溶剂, 将残余物悬浮在DCM中, 并用H₂O洗涤。收集有机相, 用Na₂SO₄干燥, 并在减压下浓缩, 得到标题化合物(1.38g, 定量)。

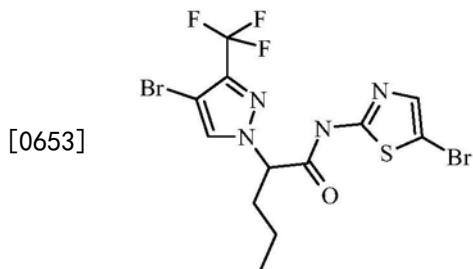
[0648] C₁₁H₁₄BrF₃N₂O₂质量(计算的)[343]; (获得) [M+H]⁺=345。

[0649] 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺

[0650] 根据酰胺偶联反应的一般过程F1并由2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸乙酯和5-溴-吡嗪-2-基胺起始制备标题化合物(0.02g, 15%)。

[0651] ¹H NMR(400MHz, 氯仿-d3) δ9.26(s, 1H), 8.79(s, 1H), 8.38(s, 1H), 7.71(s, 1H), 4.92(t, J=7.7Hz, 1H), 2.25(q, J=7.7Hz, 2H), 1.43-1.23(m, 2H), 0.99(t, J=7.5Hz, 3H)。C₁₃H₁₂Br₂F₃N₅O, 计算的[471.07], 获得[M+H⁺], 2Br模式, 472, RT=1.81(方法f)。

[0652] 实施例23: 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺



[0654] 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸

[0655] 根据酯水解的一般过程D3并由2-[4-(4-甲氧基-苯基)-3-三氟甲基-吡唑-1-基]-戊酸乙酯起始制备标题化合物(0.50g,定量)。

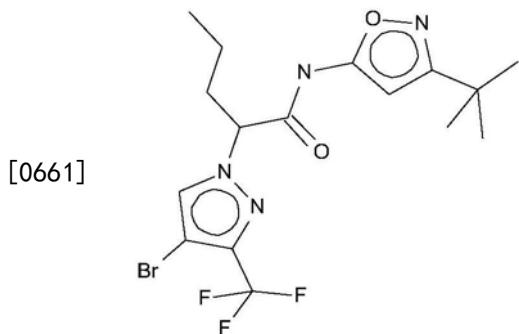
[0656] $C_9H_{10}BrF_3N_2O_2$ 质量(计算的)[316];(获得) $[M+H]^+=318$ 。

[0657] 2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺

[0658] 向三苯基膦(0.20g,0.76mmol)于冷却至0℃的DCM(2mL)的溶液中加入N-溴代丁二酰亚胺(0.14g,0.76mmol),使混合物在0℃下放置30分钟。加入2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(0.15g,0.48mmol),并使反应升温至室温,搅拌45分钟。加入5-溴-噻唑-2-基胺(0.31g,1.19mmol),使混合物在室温下搅拌18小时。用1N HCl溶液和饱和NaHCO₃溶液洗涤混合物。收集有机层,在减压下除去溶剂。通过硅胶色谱(cHex/AcOEt 3/1)纯化粗产物,得到标题化合物(0.07g,40%)。

[0659] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d3) 810.41(s,1H), 7.72(s,1H), 7.49(s,1H), 4.98(dd,J=8.7,6.8Hz,1H), 2.32-2.14(m,2H), 1.46-1.20(m,2H), 0.98(t,J=7.3Hz,3H)。 $C_{12}H_{11}Br_2F_3N_4OS$,计算的[476.11],获得 $[M+H^+]$,2Br模式,477RT=1.90(方法f)。

[0660] 实施例24:2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺

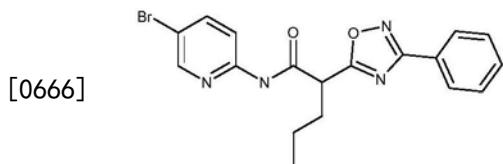


[0662] 根据酰胺偶联反应的一般过程E1并由2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸和3-叔丁基-异恶唑-5-基胺起始得到标题化合物(0.02g,15%)。

[0663] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d3) 89.15(s,1H), 7.68(s,1H), 6.29(s,1H), 4.94-4.85(m,1H), 2.29-2.14(m,2H), 1.42-1.23(m,11H), 0.98(t,J=7.3Hz,3H)。

[0664] $C_{16}H_{20}N_4O_2F_3Br$,计算的[437.25],获得 $[M+H^+]$,Br模式,437-439,RT=1.90(方法f)。

[0665] 实施例25:2-(3-苯基-[1,2,4]恶二唑-5-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺



[0667] 2-(3-苯基-[1,2,4]恶二唑-5-基)-戊酸乙酯

[0668] 将丙基丙二酸二乙酯(1.0g, 4.95mmol, 1当量)和N-羟基-苯甲脒(0.337g, 2.48mmol, 0.5当量)在压力管中混合, 并在140℃下加热24小时。反应冷却后, 将粗残余物溶解在AcOEt(5ml)中, 通过硅胶色谱(cHex-50%AcOEt)纯化得到标题化合物(0.35g, 50%)。

[0669] C₁₅H₁₈N₂O₃质量(计算的)[274.32]; (获得)[M+H]⁺=275.25。

[0670] 2-(3-苯基-[1,2,4]恶二唑-5-基)-戊酸

[0671] 根据酯水解的一般过程D3并由2-(3-苯基-[1,2,4]恶二唑-5-基)-戊酸乙酯起始得到标题化合物, 通过硅胶色谱(cHex 20%AcOEt)纯化粗产物, 得到标题化合物(0.11g, 30%)。

[0672] C₁₃H₁₄N₂O₃质量(计算的)[246.27]; (获得)[M-H]⁻=245.3。

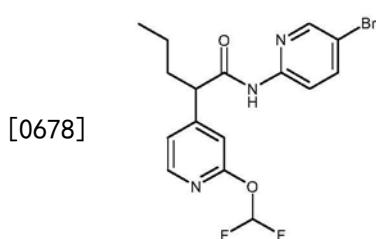
[0673] 2-(3-苯基-[1,2,4]恶二唑-5-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺

[0674] 将2-(3-苯基-[1,2,4]恶二唑-5-基)-戊酸(0.11g, 0.44mmol, 1当量)溶解在DCM(2ml)中, 加入CDI(0.798g, 0.49mmol, 1.1当量), 将反应搅拌16小时。加入1N NaOH的H₂O(2ml)溶液; 收集有机相, 用Na₂S0₄干燥并真空浓缩。通过制备型HPLC纯化粗产物, 得到标题化合物(0.031g, 20%)。

[0675] ¹H NMR(400MHz, 氯仿-d3) δ9.35(s, 1H), 8.37(d, J=2.4Hz, 1H), 8.20-8.06(m, 3H), 7.82(dd, J=8.9, 2.4Hz, 1H), 7.60-7.48(m, 3H), 4.13(t, J=7.4Hz, 1H), 2.35-2.16(m, 2H), 1.52-1.38(m, 2H), 0.99(t, J=7.3Hz, 3H)。

[0676] C₁₈H₁₇N₄O₂Br, 计算的[401.26], 获得[M+H⁺], Br模式401-403, RT=1.88(方法f)。

[0677] 实施例26: 2-(2-二氟甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺



[0679] 2-(2-氧-1,2-二氢-吡啶-4-基)-戊酸乙酯

[0680] 20℃下, 将2-(2-甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸乙酯(1.0g, 4.2mmol, 1.0当量)溶解在乙腈(12ml)中, 滴加碘-三甲基硅烷(1.26ml, 8.8mmol, 2.1当量)。将混合物在80℃下加热12小时, 然后在室温下冷却。在减压下浓缩溶剂, 通过硅胶色谱(AcOEt:cHex 1:9)纯化粗产物, 得到标题化合物(0.6g, 58%)。

[0681] C₁₂H₁₇N₂O₃质量(计算的)[222]; (获得)[M+H]⁺=223m/z。

[0682] 2-(2-二氟甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸乙酯

[0683] 20℃下, 将2-(2-氧-1,2-二氢-吡啶-4-基)-戊酸乙酯(0.50g, 2.2mmol, 1.0当量)溶解在CH₃CN(10ml)中, 分批加入氯二氟乙酸钠(0.41g, 2.7mmol, 1.2当量)。将反应在100℃下加热12小时, 然后冷却至室温。在减压下蒸馏溶剂, 通过硅胶色谱(AcOEt:cHex 1:9)纯化

粗产物,得到标题化合物(0.26g,42%)。

[0684] $C_{13}H_{17}F_2N_0O_3$ 质量(计算的)[273];(获得) $[M+H]^+=274m/z$ 。

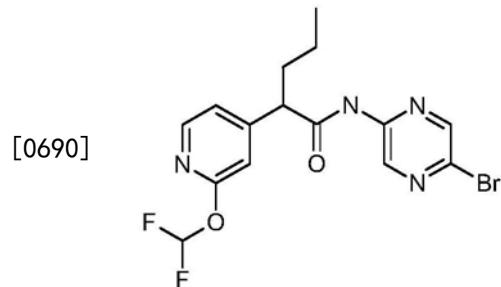
[0685] 2-(2-二氟甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸5-(2-Br-吡啶-2-基)-酰胺

[0686] 将2-(2-二氟甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸乙酯(190mg,0.70mmol,1当量)、1,5,7-三叠氮双环[4.4.0]癸-5-烯(30mg,0.22mmol,0.3当量)和5-溴-吡啶-2-基胺(691mg,4mmol,5.7当量)分别转移至微波管中,并进行2个微波循环($T=130^{\circ}C$;功率=230W;t=30分钟)。然后将反应在室温下冷却,用二氯甲烷冲洗。用碳酸氢钠饱和溶液和 H_2O 洗涤有机溶液。在减压下浓缩有机层,用硅胶色谱(AcOEt:cHex 1:5)纯化粗产物得到标题化合物(0.036g,13%)。

[0687] 1H NMR (400MHz,氯仿-d3) δ 8.29 (d, $J=2.5Hz$, 1H), 8.18-8.11 (m, 2H), 8.04 (s, 1H), 7.81 (dd, $J=8.9, 2.5Hz$, 1H), 7.46 (t, $J=73.0Hz$, 1H), 7.11 (dd, $J=5.3, 1.5Hz$, 1H), 6.90 (d, $J=1.5Hz$, 1H), 3.48 (t, $J=7.5Hz$, 1H), 2.23-2.09 (m, 1H), 1.89-1.75 (m, 1H), 1.45-1.19 (m, 2H), 0.95 (t, $J=7.3Hz$, 3H)。

[0688] $C_{16}H_{16}BrF_2N_3O_2$,计算的[400.2],获得 $[M+H^+]$,Br模式,400-402,RT=2.06(方法d)。

[0689] 实施例27:2-(2-二氟甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺

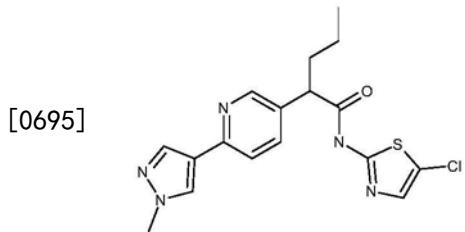


[0691] 将2-(2-二氟甲氧基-吡啶-4-基)-戊酸乙酯(200mg,0.73mmol,1当量)、1,5,7-三叠氮双环[4.4.0]癸-5-烯(30mg,0.22mmol,0.3当量)和5-溴-吡嗪-2-基胺(690mg,4mmol,5.7当量)分别转移至微波管中,并进行2个微波循环($T=130^{\circ}C$;功率=230W;t=30分钟)。然后将反应在室温下冷却,用二氯甲烷冲洗。用碳酸氢钠饱和溶液和 H_2O 洗涤有机溶液。在减压下浓缩有机层,用硅胶色谱(AcOEt:cHex 1:5)纯化粗产物得到标题化合物(0.016g,7%)。

[0692] 1H NMR (400MHz,氯仿-d3) δ 9.32 (d, $J=1.4Hz$, 1H), 8.32 (d, $J=1.6Hz$, 1H), 8.18 (d, $J=5.3Hz$, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.38 (t, $J=72.8Hz$, 1H), 7.13 (dd, $J=5.3, 1.6Hz$, 1H), 6.91 (d, $J=1.4Hz$, 1H), 3.54 (t, $J=7.5Hz$, 1H), 2.25-2.11 (m, 1H), 1.92-1.78 (m, 1H), 1.46-1.23 (m, 2H), 0.96 (t, $J=7.3Hz$, 3H)。

[0693] $C_{15}H_{15}N_4O_2F_2Br$,计算的[401.21],获得 $[M+H^+]$,Br模式,401-403,RT=2.17(方法e)。

[0694] 实施例28:22-[6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-噻唑-2-基)-酰胺



[0696] 2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊腈

[0697] 由在与烷基化的一般过程B1相同的条件下处理的2-氯吡啶-5-乙腈起始得到标题化合物(3.80g,58%)。

[0698] 2-[6-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-吡啶-3-基]-戊腈

[0699] 根据Suzuki偶联反应的一般过程0由2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊腈和1-甲基吡唑-4-硼酸频哪醇酯起始合成标题化合物(3.80g,83%)。

[0700] C₁₄H₁₆N₄质量(计算的)[240];获得[M+H⁺]=241。

[0701] 2-[6-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-吡啶-3-基]-戊酸

[0702] 将起始腈(3.8g,15.6mmol,1当量)溶解在6N HCl水溶液(40ml)中,将溶液在100℃下加热12小时。蒸发H₂O;将固体粗产物与乙醚磨碎,过滤并干燥,得到标题化合物(3.7g,97%)。

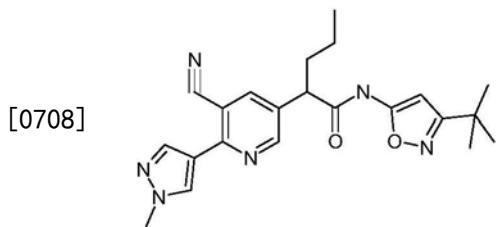
[0703] C₁₄H₁₇N₃O₂质量(计算的)[259];获得[M+H]⁺=260。

[0704] 2-[6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺

[0705] 根据酰胺与亚硫酰氯的偶联反应的一般过程E1,在制备型HPLC纯化后得到标题化合物(0.05g,37%)。

[0706] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ12.65(s,1H),8.44(d,J=2.3Hz,1H),8.23(s,1H),7.94(s,1H),7.71(dd,J=8.3,2.3Hz,1H),7.60(d,J=8.2Hz,1H),7.50(s,1H),3.90-3.81(m,4H),2.11-1.97(m,1H),1.80-1.66(m,1H),1.28-1.13(m,2H),0.87(t,J=7.3Hz,3H)。C₁₇H₁₈N₅OSCl,计算的[375.88],获得[M+H⁺],376,RT=1.28(方法f)。

[0707] 实施例29:2-[5-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺



[0709] 2-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-戊酸叔丁酯

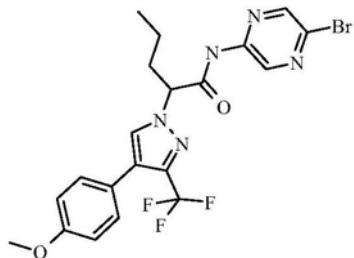
[0710] 通过根据一般过程B1进行的(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-乙酸叔丁酯的烷基化得到标题化合物(0.60g,60%)。C₁₅H₁₉C₁N₂O₂质量(计算的)[294];(获得)[M+H⁺]=295。

[0711] 2-[5-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸叔丁酯

[0712] 根据Suzuki偶联反应0的一般过程,由2-(6-氯-5-氰基-吡啶-3-基)-戊酸叔丁酯和1-甲基吡唑-4-硼酸频哪醇酯起始合成标题化合物。通过硅胶色谱(cHex/AcOEt梯度)纯化粗产物,得到标题化合物(0.25g,77%)。

- [0713] $C_{19}H_{24}N_4O_2$ 质量(计算的)[340];(获得) $[M+H^+]=341$ 。
- [0714] 2-[5-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸
- [0715] 根据一般过程D2,由2-[5-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸叔丁酯起始合成标题化合物(0.20g,定量)。
- [0716] $C_{15}H_{16}N_4O_2$ 质量(计算的) $= [284]$;获得 $[M+H^+]=285$ 。
- [0717] 2-[5-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺
- [0718] 根据一般过程E1,由2-[5-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸和3-叔丁基-异恶唑-5-基胺起始合成标题化合物(0.01g,26%)。
- [0719] 1H NMR (400MHz, DMSO-d6) δ 11.86 (s, 1H), 8.72 (d, $J=2.4Hz$, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.20 (d, $J=2.4Hz$, 1H), 8.11 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.89-3.78 (m, 1H), 2.11-1.97 (m, 1H), 1.83-1.69 (m, 1H), 1.28-1.14 (m, 11H), 0.87 (t, $J=7.3Hz$, 3H)。
- [0720] $C_{22}H_{26}N_6O_2$,计算的[406.48],获得 $[M+H^+]$,407,RT=1.58(方法f)。
- [0721] 实施例30:2-[4-(4-甲氧基-苯基)-3-三氟甲基-吡唑-1-基]-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺

[0722]



[0723] 2-[4-(4-甲氧基-苯基)-3-三氟甲基-吡唑-1-基]-戊酸乙酯

[0724] 根据Suzuki偶联反应的一般过程0,由4-溴-3-三氟甲基-1H-吡唑和4-甲氧基苯基硼酸起始合成标题化合物,然后通过硅胶色谱(cHex/AcOEt 3/1)纯化粗产物(0.09g,28%)。

[0725] $C_{18}H_{21}F_3N_2O_3$ 质量(计算的)[370];(获得) $[M+H]^+=372$ 。

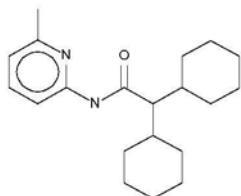
[0726] 2-[4-(4-甲氧基-苯基)-3-三氟甲基-吡唑-1-基]-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺

[0727] 根据酰胺偶联反应的一般过程F1,由2-[4-(4-甲氧基-苯基)-3-三氟甲基-吡唑-1-基]-戊酸乙酯和5-溴-吡嗪-2-基胺起始合成标题化合物(0.01g,6%)。

[0728] 1H NMR (400MHz, 氯仿-d3) δ 9.29 (d, $J=1.5Hz$, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.38 (d, $J=1.5Hz$, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.35 (d, $J=8.7Hz$, 2H), 6.95 (d, $J=8.7Hz$, 2H), 4.93 (dd, $J=8.6$, 6.7Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.38-2.23 (m, 2H), 1.42-1.28 (m, 2H), 1.00 (t, $J=7.4Hz$, 3H)。
 $C_{20}H_{19}BrF_3N_5O_2$,计算的[498.30],获得 $[M-H^+]$,Br模式,496-498,RT=1.87(方法f)。

[0729] 实施例31:2,2-二环己基-N-(6-甲基-吡啶-2-基)-乙酰胺

[0730]



[0731] 根据酰胺偶联反应的一般过程E1,由商购获得的二环己基乙酸和N-(3-甲基-吡啶-2-基)-胺起始制备标题化合物(0.031g,8%)。

[0732] ^1H NMR (400MHz, cdc13) 88.08 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.63-7.52 (m, 1H), 6.88 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 2.44 (s, 3H), 1.93-1.56 (m, 12H), 1.37-1.08 (m, 9H), 1.07-0.90 (m, 2H)。

[0733] $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}$, 计算的[314, 465], 获得 [$\text{M}+\text{H}^+$] 315, RT=5.2 (方法c)。

[0734] 根据第3栏的方法制备下表1所列的实施例32-151, 由NMR (数据未显示) 和HPLC-MS (第5、6、7和8栏) 表征。

[0735] 表

实施例	名称	合成方法	预期 MW	保留时间(min)	获得 MW (M+1)	纯度	分析方法
32	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例1所示	368.66	1.71	370	96	f
33	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例1所示	414.10	1.63	415	100	f
34	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-6-甲基-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例1所示	427.13	1.87	428	90	f
35	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例1所示	374.68	1.73	376	97	f
36	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(6-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例1所示	352.20	1.95	354	97	e
37	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(6-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例1所示	413.11	2.16	413	93	e
38	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺	如实施例1所示	380.28	2.19	382	100	e
39	2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例1所示	397.33	2.09	399	100	e
40	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-氟-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例1所示	358.23	1.58	359	98	f
41	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-4-叔丁基-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例1所示	475.24	2.6	476	98	e
42	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-4-甲基-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例1所示	433.16	1.82	434	98	f
43	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-3-甲基-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例1所示	427.13	1.86	428	98	e
44	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例1所示	419.14	2.15	420	95	e
45	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-6-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例1所示	431.10	1.82	432	97	f
46	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-叔丁基-异恶唑-3-基)-酰胺	如实施例1所示	380.28	1.8	382	100	f
47	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-三氟甲基-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例1所示	402.21	1.77	404	97	f
48	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-4,6-二甲基-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例1所示	441.16	1.94	442	100	f
49	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-4-甲基-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例1所示	427.13	1.82	428	100	f
50	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例1所示	369.64	1.59	371	100	f
51	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(3-三氟甲基-异恶唑-5-基)-酰胺	如实施例1所示	392.17	1.76	394	95	f
52	2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-氟-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例10所示	386.65	2.07	387	100	d

[0736]

[0737]

实施例	名称	合成方法	预期 MW	保留时间(min)	获得 MW (M+1)	纯度	分析方法
53	2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-氟-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例10所示	432.09	1.93	433	100	d
54	2-(5-溴-吡啶-3-基)-2-氟-戊酸(5-溴-6-甲基-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例10所示	445.12	2.51	446	95	e
55	2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例12所示	413.11	1.81	414	95	f
56	2-(6-溴-吡啶-2-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例12所示	419.14	1.76	420	95	f
57	2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例13所示	414.10	1.64	415	95	f
58	2-(2-溴-吡啶-4-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例13所示	368.66	1.69	370	100	f
59	2-(5-溴-吡啶-3-基)-戊酸(5-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例13所示	352.20	1.55	354	100	f
60	2-(2-甲氨基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例15所示	370.27	1.66	372	100	f
61	2-(2-甲氨基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例15所示	365.23	1.88	365	97	e
62	2-(2-甲氨基-吡啶-4-基)-戊酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺	如实施例15所示	331.41	2.07	332	94	e
63	2-(2-甲氨基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-6-甲基-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例15所示	378.26	2.23	378	95	e
64	2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例16所示	324.20	1.68	324	95	f
65	2-(6-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例16所示	325.19	1.85	325	95	e
66	2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-溴-吡嗪-2-基)-3-(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-丙酰胺	如实施例17所示	520.10	1.73	521	100	f
67	2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-氟-吡啶-2-基)-3-(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-丙酰胺	如实施例17所示	458.20	1.67	458	100	f
68	2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-氯-吡啶-2-基)-3-(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-丙酰胺	如实施例17所示	474.66	1.78	474	100	f
69	2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-氯-吡嗪-2-基)-3-(5-三氟甲基-呋喃-2-基)-丙酰胺	如实施例17所示	475.65	1.7	475	100	f
70	2-(6-甲氨基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例18所示	370.27	1.67	372	100	f
71	2-(2-甲基-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-噻唑-2-基)-酰胺	如实施例18所示	354.27	1.07	356	95	f
72	2-(3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例19所示	391.19	1.77	393	100	f

[0738]

实施例	名称	合成方法	预期 MW	保留时间(min)	获得 MW (M+1)	纯度	分析方法
73	2-(4-溴-5-甲基-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 19 所示	484.11	2	485	100	f
74	2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 19 所示	470.08	1.91	471	95	f
75	2-(4-溴-3-氟基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 19 所示	427.09	1.74	428	100	f
76	2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 2 所示	427.13	1.85	428	100	f
77	2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 2 所示	382.68	1.81	384	100	f
78	2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 2 所示	428.12	1.2	429	100	f
79	2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺	如实施例 2 所示	394.31	1.86	396	100	f
80	2-(5-溴-吡啶-3-基)-己酸(5-溴-6-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 2 所示	445.12	1.92	446	100	f
81	2-(5-溴-吡啶-3-基)-5-苯基-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 2 所示	445.74	1.81	446	98	f
82	2-(5-溴-吡啶-3-基)-5-苯基-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 2 所示	489.20	1.91	489	90	f
83	2-(5-溴-3-甲基-吲哚-1-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 20 所示	420.73	5.28	421	95	c
84	2-(5-溴-3-甲基-吲哚-1-基)-戊酸(5-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 20 所示	404.28	4.95	406	100	c
85	2-(5-溴-吲哚-1-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 20 所示	407.69	4.73	409	95	c
86	2-(5-溴-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 20 所示	407.69	4.81	409	97	c
87	2-(5-溴-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)-戊酸(5-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 20 所示	391.24	4.35	393	100	c
88	2-(3-溴-吡咯-1-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 21 所示	356.65	1.84	358	100	f
89	2-(3-溴-吡咯-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 21 所示	402.08	1.78	403	100	f
90	2-(4-[4-甲氧基-苯基]-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	371.66	1.81	373	93	f
91	2-(4-溴-3-甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	417.10	1.74	418	100	f
92	2-(4-溴-咪唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	402.08	1.79	402	100	f
93	2-(4-溴-咪唑-1-基)-戊酸(5-溴-6-甲基-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	416.11	1.93	417	100	e

说 明 书

51/60 页

CN 106232182 B

实施例	名称	合成方法	预期 MW	保留时间(min)	获得 MW (M+1)	纯度	分析方法
94	2-[3-(4-甲氧基-苯基)-吡唑-1-基]-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	430.30	1.79	432	100	f
95	2-(4-溴-3-叔丁基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	459.18	2.09	460	91	f
96	2-(4-溴-3-氟基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	428.08	1.67	427	100	f
97	2-(4-溴-3-丙基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	445.15	1.97	444	98	f
98	2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(6-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	409.18	1.79	409	100	f
99	2-(4-氯-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	426.62	1.8	428	92	f
100	2-(4-氯-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	382.17	1.78	382	97	f
101	2-(4-氯-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	425.63	1.88	427	98	f
102	2-(4-氯-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 22 所示	381.18	1.85	381	95	f
103	2-(3-溴-吡咯-1-基)-戊酸(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-酰胺	如实施例 23 所示	368.27	1.83	370	100	f
104	2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	426.62	1.82	428	100	f
105	2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	409.18	1.76	411	100	f
106	1-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	468.07	1.87	469	98	f
107	1-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	423.62	1.84	425	100	f
108	1-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	424.60	1.75	426	100	f
109	1-(4-氯-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	424.60	1.77	424	95	f
110	1-(4-氯-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	423.62	1.86	425	98	f
111	1-(4-氯-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	379.16	1.83	379	98	f
112	1-(4-溴-3-氟基-吡唑-1-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	425.08	1.69	424	95	f

[0739]

实施例	名称	合成方法	预期 MW	保留时间(min)	获得 MW (M+1)	纯度	分析方法
113	2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	425.63	1.86	427	100	f
114	2-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-戊酸(6-氯-噻啶-4-基)-酰胺	如实施例 23 所示	426.62	1.78	428	98	f
115	1-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	469.05	1.78	468	95	f
116	1-(4-溴-3-三氟甲基-吡唑-1-基)-环丁烷甲酸(5-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 23 所示	407.16	1.73	409	95	f
117	2-[6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-溴-6-甲基-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 28 所示	428.33	1.4	430	99	f
118	2-[5-氟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 29 所示	440.30	1.48	442	90	f
119	2-[5-氟-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 29 所示	388.83	1.46	389	95	f
120	2-[5-氟-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 29 所示	387.84	1.54	388	98	f
121	2-[5-氟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)-酰胺	如实施例 29 所示	395.85	1.44	396	90	f
122	2-[5-氟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-吡啶-3-基]-戊酸(5-氟-吡啶-2-基)-酰胺	如实施例 29 所示	378.40	1.4	379	95	f
123	2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-溴-吡啶-2-基)-3-甲基-丁酰胺	如实施例 3 所示	413.11	1.9	414	100	d
124	2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-氯-吡啶-2-基)-3-甲基-丁酰胺	如实施例 3 所示	368.66	1.85	369	95	d
125	2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-溴-吡嗪-2-基)-3-甲基-丁酰胺	如实施例 3 所示	414.10	1.77	415	100	d
126	N-(5-溴-3-甲基-吡啶-2-基)-2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-甲基-丁酰胺	如实施例 3 所示	427.13	1.83	428	96	e
127	2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(5-氯-噻唑-2-基)-3-甲基-丁酰胺	如实施例 3 所示	374.68	1.7	376	100	f
128	N-(5-溴-3-氟-吡啶-2-基)-2-(5-溴-吡啶-3-基)-3-甲基-丁酰胺	如实施例 3 所示	431.10	1.5	432	97	f
129	2-(5-溴-吡啶-3-基)-N-(3-叔丁基-异恶唑-5-基)-3-甲基-丁酰胺	如实施例 3 所示	380.28	1.78	382	100	f
130	N-(5-溴-吡嗪-2-基)-2,2-二环己基-乙酰胺	如实施例 31 所示	380.32	2.52	380-382	97	d

[0740]

实施例	名称	合成方法	预期 MW	保留时间(min)	获得 MW (M+1)	纯度	分析方法
131	N-(5-溴-噻唑-2-基)-2,2-二环己基-乙酰胺	如实施例31所示	385.36	2.6	385-387	96	d
132	2,2-二环己基-N-(5-氟-吡啶-2-基)-乙酰胺	如实施例31所示	318.43	2.42	319	100	d
133	1-(5-溴-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)酰胺	如实施例4所示	412.08	1.5	413	93	f
134	1-(5-溴-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-氯-吡啶-2-基)酰胺	如实施例4所示	366.64	1.57	366	100	f
135	1-(5-溴-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡啶-2-基)酰胺	如实施例5所示	425.12	1.71	426	90	f
136	1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡嗪-2-基)酰胺	如实施例6所示	367.63	1.46	367	100	f
137	1-(5-氯-吡啶-3-基)-环丁烷甲酸(5-溴-吡啶-2-基)酰胺	如实施例6所示	366.64	1.57	364	95	f
138	2-(6-溴-5-氟基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)酰胺	如实施例8所示	394.65	1.63	394	100	f
139	2-(6-氯-5-氟基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)酰胺	如实施例8所示	393.67	1.72	393	100	f
140	2-(6-氯-5-氟基-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)酰胺	如实施例8所示	349.21	1.69	349	100	f
141	2-(5-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)酰胺	如实施例9所示	369.64	1.83	369	95	f
142	2-(5-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)酰胺	如实施例9所示	325.19	1.58	323	95	f
143	2-(5-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)酰胺	如实施例9所示	368.66	1.68	368	100	f
144	2-(5-氯-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)酰胺	如实施例9所示	324.20	1.65	324	100	f
145	2-(6-氯-5-甲基-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡嗪-2-基)酰胺	如实施例9所示	339.22	1.65	339	95	f
146	2-(6-氯-5-甲基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)酰胺	如实施例9所示	383.67	1.68	383	100	f
147	2-(6-氯-5-甲基-吡啶-3-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)酰胺	如实施例9所示	338.23	1.72	338	100	f
148	2-(6-氯-5-甲基-吡啶-3-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)酰胺	如实施例9所示	382.68	1.76	383	100	f
149	2-(2-氯-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡嗪-2-基)酰胺	如实施例9所示	369.64	1.58	371	100	f
150	2-(2-氯-吡啶-4-基)-戊酸(5-氯-吡啶-2-基)酰胺	如实施例9所示	324.20	1.64	324	100	f
151	2-(2-氯-吡啶-4-基)-戊酸(5-溴-吡啶-2-基)酰胺	如实施例9所示	368.66	1.67	368	100	f

[0742] 生物活性

[0743] 在针对CHO-S1P3 R1细胞的上述细胞中测试实施例1-151，显示IC50值的范围为19nM-590nM。

[0744] 在如上所述的体内试验中测试实施例33，剂量范围为10-60mg/kg，显示了抗神经炎性和神经保护活性(如图1-3所示)以及改善的认知功能(如图4所示)。

[0745] 参考文献

[0746] Anelli, V., Bassi, R., Tettamanti, G., Viani, P. and Riboni, L. (2005) Extracellular release of newly synthesized sphingosine-1-phosphate by cerebellar granule cells and astrocytes (由小脑颗粒细胞和星形胶质细胞新合成的

鞘氨醇-1-磷酸盐的细胞外释放) .J.Neurochem.,92,1204-1215.Bajwa A,Huang L,Ye H, Dondeti K,Song S,Rosin DL,Lynch KR,Lobo PI,Li L,Okusa MD. (2012) .Dendritic cell sphingosine 1-phosphate receptor-3 regulates Th1-Th2 polarity in kidney ischemia-reperfusion injury(树突细胞鞘氨醇1-磷酸盐受体-3调节肾缺血再灌注损伤中Th1-Th2极性) .J Immunol.189 (5) :2584-96.

[0747] Balthasar S,Samulin J,Ahlgren H,Bergelin N,Lundqvist M,Toescu EC,Eggo MC, Törnquist K. (2006) .Sphingosine 1-phosphate receptor expression profile and regulation of migration in human thyroid cancer cells(人甲状腺癌细胞中鞘氨醇1-磷酸盐受体表达谱和迁移的调节) .Biochem J.398 (3) :547-56.

[0748] Brinkmann V. (2009) .FTY720 (fingolimod) in Multiple Sclerosis: therapeutic effects in the immune and the central nervous system(多发性硬化中 FTY720 (芬戈莫德) :在免疫系统和中枢神经系统中的疗效) .Br J Pharmacol.158 (5) :1173-82.

[0749] Brinkmann V. (2007) .Sphingosine 1-phosphate receptors in health and disease:mechanistic insights from gene deletion studies and reverse pharmacology(健康与疾病中鞘氨醇1-磷酸盐受体:从基因缺失研究和反向药理学的机理见解) .Pharmacol Ther.115 (1) :84-105.

[0750] Bradl M,Hohlfeld R. (2003) .Molecular pathogenesis of neuroinflammation (神经炎症的分子病理机制) .J Neurol Neurosurg Psychiatry.74 (10) :1364-70.

[0751] Camprubí-Robles M,Mair N,Andratsch M,Benetti C,Beroukas D,Rukwied R, Langeslag M,Proia RL,Schmelz M,Ferrer Montiel AV,Haberberger RV,Kress M. (2013) .Sphingosine-1-phosphate-induced nociceptor excitation and ongoing pain behavior in mice and humans is largely mediated by S1P3 receptor(小鼠和人类中,鞘氨醇-1-磷酸盐-诱导的伤害感受器兴奋和持续疼痛行为很大程度上由S1P3受体介导) .J Neurosci.33 (6) :2582-92.

[0752] Casamenti F,Prosperi C,Scali C,Giovannelli L,Pepeu G. (1998) .Morphological,biochemical and behavioural changes induced by neurotoxic and inflammatory insults to the nucleus basalis(由神经毒性诱发的形态学改变、生化改变和行为改变以及炎症损害基底核) .

[0753] Int J Dev Neurosci(国际发育神经科学杂志) .16 (7-8) :705-14.

[0754] Cencetti F,Bernacchioni C,Nincheri P,Donati C,Bruni P. (2010) .Transforming growth factor-beta1 induces transdifferentiation of myoblasts into myofibroblasts via up-regulation of sphingosine kinase-1/S1P3 axis(转变生长因子-β1通过上调鞘氨醇激酶-1/S1P3轴诱导成肌细胞转分化为肌成纤维细胞) .Mol Biol Cell.21 (6) :1111-24.

[0755] Chen LY,Woszczeck G,Nagineni S,Logun C,Shelhamer JH. (2008) .Cytosolic phospholipase A2alpha activation induced by is mediated by the S1P3 receptor in lung epithelial cells(肺上皮细胞中由S1P诱导的细胞溶质磷脂酶A2α活化由S1P3受体介导) .Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.295 (2) :L326-35.

- [0756] Chun J, Goetzl EJ, Hla T, Igarashi Y, Lynch KR, Moolenaar W. (2002) . International Union of Pharmacology. XXXIV. Lysophospholipid receptor nomenclature(溶血磷脂受体命名法) . Pharmacol Rev 54:265-269.
- [0757] Davies L, Fassbender K, Walter S. 2013. Sphingolipids in neuroinflammation(神经炎症中的鞘脂类) . Handb Exp Pharmacol. (216) :421-30.
- [0758] Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats(大鼠中对记忆的神经生物学研究的一项新的试验测试) . 1: Behavioral data. (1988) . Behav Brain Res. 31 (1) :47-59.
- [0759] Forrest M, Sun SY, Hajdu R, Bergstrom J, Card D, Doherty G, Hale J, Keohane C, Meyers C, Milligan J, Mills S, Nomura N, Rosen H, Rosenbach M, Shei GJ, Singer II, Tian M, West S, White V, Xie J, Proia RL, Mandala S. (2004) . Immune cell regulation and cardiovascular effects of sphingosine 1-phosphate receptor agonists in rodents are mediated via distinct receptor subtypes(啮齿动物中鞘氨醇1-磷酸盐受体激动剂的免疫细胞调节和心血管作用由不同的受体亚型介导) . J Pharmacol Exp Ther. 309 (2) :758-68.
- [0760] Fischer I, Alliod C, Martinier N, Newcombe J, Brana C, Pouly S. (2011) . Sphingosine kinase 1 and sphingosine 1-phosphate receptor 3 are functionally upregulated on astrocytes under pro-inflammatory conditions(在促炎性条件下鞘氨醇激酶1和鞘氨醇1-磷酸盐受体3在星形胶质细胞中功能性上调) . PLoS One. 6 (8) : e23905.
- [0761] Foster CA, Howard LM, Schweitzer A, Persohn E, Hiestand PC, Balatoni B, Reuschel R, Beerli C, Schwartz M, Billich A. (2007) . Brain penetration of the oral immunomodulatory drug FTY720 and its phosphorylation in the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis: consequences for mode of action in multiple sclerosis(实验性自身免疫性脑脊髓炎中, 口服免疫调节药物FTY720的脑渗透及其在中枢神经系统中的磷酸化作用:多发性硬化中作用模式的后果) . J Pharmacol Exp Ther. 323 (2) :469-75.
- [0762] Gude DR, Alvarez SE, Paugh SW, Mitra P, Yu J, Griffiths R, Barbour SE, Milstien S, Spiegel S. (2008) . Apoptosis induces expression of sphingosine kinase 1 to release sphingosine-1-phosphate as a "come-and-get-me" signal(细胞凋亡诱导鞘氨醇激酶1表达以释放鞘氨醇-1-磷酸盐作为“来找我”信号) . FASEB J. 22 (8) : 2629-38.
- [0763] Harris GL, Creason MB, Brulte GB, Herr DR. (2012) . In vitro and in vivo antagonism of a G protein-coupled receptor (S1P3) with a novel blocking monoclonal antibody(G蛋白偶联受体(S1P3)与新型阻断单克隆抗体的体外和体内拮抗作用) . PLoS One. 7 (4) :e35129.
- [0764] Ishii I, Friedman B, Ye X, Kawamura S, McGiffert C, Contos JJ, Kingsbury MA, Zhang G, Brown JH, Chun J. (2001) . Selective Loss of Sphingosine 1-Phosphate Signaling with No Obvious Phenotypic Abnormality in Mice Lacking Its G

- Protein coupled Receptor,LPB3/EDG-3(缺失G蛋白偶联受体LPB3/EDG-3的小鼠中,鞘氨醇1-磷酸盐信号的选择性缺失和无明显表型异常).J Biol Chem.276 (36) :33697-704.
- [0765] Ishii I,Fukushima N,Ye X,Chun J.(2004).Lysophospholipid Receptors: Signaling and Biology(溶血磷脂受体:信号和生物).Annu Rev Biochem.73:321-54.
- [0766] Kanno T,Nishizaki T.(2011).Endogenous sphingosine 1-phosphate regulates spontaneous glutamate release from mossy fiber terminals via S1P(3)
- [0767] receptors(内源性鞘氨醇1-磷酸盐通过S1P(3)受体调节自然谷氨酸从苔藓纤维末端释放).Life Sci.18;89 (3-4) :137-40.
- [0768] Keul P,Lucke S,von Wnuck Lipinski K,Bode C,**Gräler M**,Heusch G,Levkau B.(2011).Sphingosine-1-phosphate receptor 3 promotes recruitment of monocyte/macrophages in inflammation and atherosclerosis(鞘氨醇-1-磷酸盐受体3促进炎症和动脉粥样硬化中单核细胞/巨噬细胞的补充).Circ Res.108 (3) :314-23.
- [0769] Kim ES,Kim JS,Kim SG,Hwang S,Lee CH,Moon A.(2011).Sphingosine 1-phosphate regulates matrix metalloproteinase-9 expression and breast cell invasion through S1P3-G_aq coupling(鞘氨醇-1-磷酸盐通过S1P3-G_aq偶联调节基质金属蛋白酶-9的表达和乳腺癌细胞入侵).J Cell Sci.1;124 (Pt 13) :2220-30.
- [0770] Kono M,Mi Y,Liu Y,Sasaki T,Allende ML,Wu YP,Yamashita T,Proia RL.(2004).The sphingosine-1-phosphate receptors S1P1,S1P2, and S1P3 function coordinately during embryonic angiogenesis(在胚胎血管生成期间鞘氨醇-1-磷酸盐受体S1P1、S1P2和S1P3协调运行).J Biol Chem.279 (28) :29367-73.
- [0771] Kono Y,Nishiuma T,Nishimura Y,Kotani Y,Okada T,Nakamura S,Yokoyama M.(2007).Sphingosine kinase 1 regulates differentiation of human and mouse lung fibroblasts mediated by TGF-beta1(鞘氨醇激酶1调节人类和小鼠由TGF-β1介导的肺成纤维细胞).Am J Respir Cell Mol Biol.37 (4) :395-404.
- [0772] Lai WQ,Melendez AJ,Leung BP.(2010).Role of sphingosine kinase and sphingosine-1-phosphate in inflammatory arthritis(鞘氨醇激酶和鞘氨醇-1-磷酸盐在炎性关节炎中的作用).World J Biol Chem.1 (11) :321-326.
- [0773] Li C,Jiang X,Yang L,Liu X,Yue S,Li L.2009.Involvement of sphingosine 1-phosphate (SIP)/S1P3signaling in cholestasis induced liver fibrosis(鞘氨醇1-磷酸盐(SIP)/S1P3信号参与肝纤维化引起的胆汁阻塞).Am J Pathol;175 (4) :1464-72.
- [0774] Liliom K,Guan Z,Tseng JL,Desiderio DM,Tigyi G,Watsky MA.Growth factor-like phospholipids generated after corneal injury(角膜损伤后生成的生长因子类磷脂质).(1998).Am J Physiol.274:C1065-C1074.
- [0775] Maceyka M,Harikumar KB,Milstien S,Spiegel S.(2012).Sphingosine-1-phosphate signaling and its role in disease(鞘氨醇-1-磷酸盐信号及其在疾病中的作用).Trends Cell Biol.22 (1) :50-60.
- [0776] Maragakis NJ,Rothstein JD.(2006).Mechanisms of Disease:astrocytes in neurodegenerative disease(疾病机制:神经退行性疾病中的星形胶质细胞).Nat Clin Pract Neurol.2 (12) :679-89.

- [0777] Marsolais D, Rosen H. (2009) .Chemical modulators of sphingosine-1-phosphate receptors as barrier-oriented therapeutic molecules(鞘氨醇-1-磷酸盐受体的化学调节剂作为障碍导向性治疗分子).Nat Rev Drug Discov.8 (4) :297-307.
- [0778] Means KL,Brown JH. (2009) .Cardiov Res_Sphingosine-1-phosphate receptor signalling in the heart(心血管研究_心脏中鞘氨醇-1-磷酸盐受体信号).82,193-200.
- [0779] Mehta D,Konstantoulaki M,Ahmmmed GU,Malik AB. (2005) .Sphingosine 1-phosphate-induced mobilization of intracellular mediates Rac activation and adherents junction assembly in endothelial cells(鞘氨醇1-磷酸盐诱导的细胞内Ca²⁺调动调节内皮细胞中Rac活化和粘合连接组装).J Biol Chem.280:17320-17328.
- [0780] Meraz-Rios MA.Toral-Rios D,Franco-Bocanegra D,Villeda-Hernandez J, Campos-Pena V. (2013) .Inflammatory process in Alzheimer's Disease(阿尔兹海默症中的炎性过程).Front Integr Neurosci.7 (59) :1-15.
- [0781] Mettu P,Deng P,Misra U,Gawdi G,Epstein D,Rao P. (2004) .Role of lysophospholipid growth factors in the modulation of aqueous humor outflow facility(溶血磷脂生长因子在调控房水外流设施中的作用).Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.45:2263-2271.
- [0782] Murakami A,Takasugi H,Ohnuma S,Koide Y,Sakurai A,Takeda S,Hasegawa T,Sasamori J,Konno T,Hayashi K,Watanabe Y,Mori K,Sato Y,Takahashi A,Mochizuki N,Takakura N. (2010) .Sphingosine 1-phosphate (S1P) regulates vascular contraction via S1P3 receptor:investigation based on a new S1P3 receptor antagonist(鞘氨醇1-磷酸盐(S1P)通过S1P3受体调节血管收缩:基于新S1P3受体拮抗剂的调查).Mol Pharmacol.77 (4) :704-13.Niessen F,Schaffner F,Furlan-Freguia C,Pawlinski R,Battacharjee G,Chun J,Derian CK,Andrade-Gordon P,Rosen H,Ruf W.2008.Dendritic cell PAR1-S1P3 signalling couples coagulation and inflammation(树突细胞PAR1-S1P3信号连接凝结和炎症).Nature.452 (7187) :654-8.
- [0783] Paxinos,G.,Watson,C.,Pennisi,M.,Topple,A.,1985.Bregma,lambda and the interaural midpoint in stereotaxic surgery with rats of different sex,strain and weight(不同性别、应变和体重的老鼠的立体定向手术中的前囟、拉姆达和耳间中点).J.Neurosci.Methods 13,139-143.
- [0784] Pyne S and Pyne JN. (2000) .Sphingosine 1-phosphate signalling in mammalian cells(哺乳动物细胞中鞘氨醇1-磷酸盐信号).Biochem J.349,385-402.
- [0785] Rosen H,Gonzalez-Cabrera PJ,Sanna MG,Brown S. (2009) .Sphingosine 1-phosphate receptor signaling(鞘氨醇1-磷酸盐受体信号).Annu Rev Biochem.78:743-68.
- [0786] Rouach N,Pébay A,Même W,Cordier J,Ezan P,Etienne E,Giaume C,Tencé M. (2006) .S1P inhibits gap junctions in astrocytes:involvement of G and Rho GTPase/ROCK (S1P抑制星形胶质细胞中的间缝连接:G和Rho GTPase/ROCK参与).Eur J Neurosci.23 (6) :1453-1464.
- [0787] Scali C,Giovannini MG,Prosperi C,Bartolini L, and Pepeu G (1997)

.Tacrine administration enhances extracellular acetylcholine in vivo and restores the cognitive impairment in aged rats(塔克林施用增强体内细胞外乙酰胆碱并恢复老年大鼠的认知损伤).Pharmacol Res 36:463-469.

[0788] Sanna MG,Liao J,Jo E,Alfonso C,Ahn MY,Peterson MS,Webb B,Lefebvre S,Chun J,Gray N,Rosen H. (2004) .Sphingosine 1-Phosphate (S1P) Receptor Subtypes S1P1 and S1P3,Respectively,Regulate Lymphocyte Recirculation and Heart Rate (鞘氨醇1-磷酸盐(S1P)受体亚型S1P1和S1P3分别调节淋巴细胞再循环和心率).J Biol Chem.279 (14) :13839-48.

[0789] Shea BS,Tager AM. (2012) .Open Rheumat J.6 (Suppl 1:M8) 123-129.

[0790] Singleton PA,Dudek SM,Ma SF,Garcia JG. (2006) .Transactivation of sphingosine 1-phosphate receptors is essential for vascular barrier regulation (鞘氨醇1-磷酸盐受体的反式激活对血管屏障调节是必需的).Novel role for hyaluronan and CD44 receptor family(对透明质酸和CD44受体家族的新作用).J Biol Chem.281 (45) :34381-93.

[0791] Spiegel S,Milstien S. (2003) .Exogenous and intracellularly generated sphingosine 1-phosphate can regulate cellular processes by divergent pathways (外源性和细胞内产生的鞘氨醇1-磷酸盐可通过不同途径调节细胞进程).Biochem Soc Trans.31 (Pt 6) :1216-9.

[0792] Stamer WD,Read AT,Sumida GM,Ethier CR. (2009) .Sphingosine-1-phosphate effects on the inner wall of Schlemm's canal and outflow facility in perfused human eyes(鞘氨醇-1-磷酸盐对施莱姆氏管的内壁和灌注人眼中房水流畅的作用).Exp Eye Res.89 (6) :980-8.

[0793] Sun X,Shikata Y,Wang L,Ohmori K,Watanabe N,Wada J,Shikata K,Birukov KG,Makino H,Jacobson JR,Dudek SM,Garcia JG. (2009) .Enhanced interaction between focal adhesion and adherens junction proteins:involvement in sphingosine 1-phosphate-induced endothelial barrier enhancement(强化相互作用焦点粘结和粘着连接蛋白:参与鞘氨醇1-磷酸盐诱导的内皮屏障增强).Microvasc Res.77:304-313.

[0794] Takasugi N,Sasaki T,Suzuki K,Osawa S,Isshiki H,Hori Y,Shimada N,Higo T,Yokoshima S,Fukuyama T,Lee VM,Trojanowski JQ,Tomita T,Iwatsubo T. (2011) .BACE1activity is modulated by cell-associated sphingosine-1-phosphate (BACE1活性由细胞相关的鞘氨醇-1-磷酸盐介导).J Neurosci.31 (18) :6850-7.

[0795] Takasugi N,Sasaki T,Ebinuma I,Osawa S,Isshiki H,Takeo K,Tomita T,Iwatsubo T. (2013) .

[0796] FTY720/fingolimod,a sphingosine analogue,reduces amyloid- β production in neurons(鞘氨醇类似物FTY720/芬戈莫德减少神经元中淀粉样蛋白- β 的生产量).PLoS One.8 (5) :e64050.

[0797] Takuwa N,Ohkura S,Takashima S,Ohtani K,Okamoto Y,Tanaka T,Hirano K,Usui S,Wang F,Du W,Yoshioka K,Banno Y,Sasaki M,Ichi I,Okamura M,Sugimoto N,

Mizugishi K,Nakanuma Y,Ishii I,Takamura M,Kaneko S,Kojo S,Satouchi K,Mitumori K,Chun J,Takuwa Y.(2010).S1P3-mediated cardiac fibrosis in sphingosine kinase 1 transgenic mice involves reactive oxygen species(鞘氨醇激酶1转基因小鼠中S1P3-介导的心肌纤维化涉及活性氧类).Cardiovasc Res.85 (3) :484-93.

[0798] Taniguchi M,Kitatani K,Kondo T,Hashimoto-Nishimura M,Asano S,Hayashi A,Mitsutake S,Igarashi Y,Umehara H,Takeya H,Kigawa J,Okazaki T.(2012).Regulation of autophagy and its associated cell death by "sphingolipid rheostat":reciprocal role of ceramide and sphingosine 1-phosphate in the mammalian target of rapamycin pathway("鞘脂类变阻器"调节自噬及其相关细胞的死亡:雷帕霉素途径的哺乳动物目标中神经酰胺和鞘氨醇1-磷酸盐的相对作用).J Biol Chem.287 (47) :39898-910.

[0799] Trifilieff A,Fozard JR.(2012).Sphingosine-1-phosphate-induced airway hyper-reactivity in rodents is mediated by the sphingosine-1-phosphate type 3 receptor(啮齿动物中鞘氨醇-1-磷酸盐-诱导的气道过度反应由鞘氨醇-1-磷酸盐3型受体调节).J Pharmacol Exp Ther.342 (2) :399-406.

[0800] Uhlig S,Yang Y.(2013).Sphingolipids in Disease(疾病中的鞘脂类).Handbook of Experimental Pharmacology,Sphingolipids in Acute Lung Injury.Vol.216,pp 227-246.

[0801] Welch SP,Sim-Selley LJ,Selley DE.(2012).Sphingosine-1-phosphate receptors as emerging targets for treatment of pain(鞘氨醇-1-磷酸盐受体作为治疗疼痛的新兴目标).Biochem Pharmacol.84 (12) :1551-62.

[0802] Wu YP,Mizugishi K,Bektas M,Sandhoff R,Proia RL.(2008).Sphingosine kinase 1/S1P receptor signaling axis controls glial proliferation in mice with Sandhoff disease(鞘氨醇激酶1/S1P受体信号轴控制小鼠的神经胶质增生和山德霍夫氏病).Hum Mol Genet.17 (15) :2257-64.

[0803] Yamashita H,Kitayama J,Shida D,Yamaguchi H,Mori K,Osada M,Aoki S,Yatomi Y,Takuwa Y,Nagawa H.(2006).Sphingosine 1-phosphate receptor expression profile in human gastric cancer cells:differential regulation on the migration and proliferation(人胃癌细胞中鞘氨醇1-磷酸盐受体的表达谱:对迁移和增殖的差异性调节).J Surg Res.130 (1) :80-7.

[0804] Yin Z,Fan L,Wei L,Gao H,Zhang R,Tao L,Cao F,Wang H.(2012).FTY720protects cardiac microvessels of diabetes:a critical role of S1P1/3 in diabetic heart disease(FTY720糖尿病的心脏微血管:S1P1/3在糖尿病心脏病中的关键作用).PLoS One.7 (8) :e42900.

[0805] Young N and Van Brocklyn JR.(2007).Roles of Sphingosine-1-Phosphate (S1P) Receptors in Malignant behavior of Glioma Cells.Differential Effects of S1P2 on Cell Migration and Invasiveness(鞘氨醇-1-磷酸盐(S1P)受体对神经胶质瘤细胞的恶性行为的作用).Exp Cell Res.1;313 (8) :1615-1627.Zhang YH,Fehrenbacher JC,Vasko MR,Nicoll GD.(2006).Sphingosine-1-Phosphate Via Activation of a G-

Protein-Coupled Receptor(s) Enhances the Excitability of Rat Sensory Neurons
(鞘氨醇-1-磷酸盐通过G-蛋白偶联受体提高大鼠感觉神经元的应激性). J Neurophysiol. 96:1042-1052.

[0806] Brinkmann V. (2007). Sphingosine 1-phosphate receptors in health and disease: mechanistic insights from gene deletion studies and reverse pharmacology (健康和疾病中的鞘氨醇1-磷酸盐受体:从基因缺失研究和反向药理学的机理见解). Pharmacol Ther. 115 (1) :84-105.

[0807] Spiegel S, Milstien S. (2003). Exogenous and intracellularly generated sphingosine 1-phosphate can regulate cellular processes by divergent pathways (外源性和细胞内产生的鞘氨醇1-磷酸盐可通过不同途径调节细胞进程). Biochem Soc Trans. 31 (Pt 6) :1216-9.

[0808] Forrest M, Sun SY, Hajdu R, Bergstrom J, Card D, Doherty G, Hale J, Keohane C, Meyers C, Milligan J, Mills S, Nomura N, Rosen H, Rosenbach M, Shei GJ, Singer II, Tian M, West S, White V, Xie J, Proia RL, Mandala S. (2004). Immune cell regulation and cardiovascular effects of sphingosine 1-phosphate receptor agonists in rodents are mediated via distinct receptor subtypes (啮齿动物中鞘氨醇1-磷酸盐受体激动剂的免疫细胞调节和心血管作用由不同的受体亚型介导). J Pharmacol Exp Ther. 309 (2) :758-68.

[0809] Liliom K, Guan Z, Tseng JL, Desiderio DM, Tigyi G, Watsky MA. Growth factor-like phospholipids generated after corneal injury (角膜损伤后产生的生长因子类磷脂质). (1998). Am J Physiol. 274:C1065-C1074.

[0810] Mettu P, Deng P, Misra U, Gawdi G, Epstein D, Rao P. (2004). Role of lysophospholipid growth factors in the modulation of aqueous humor outflow facility (溶血磷脂生长因子在调控房水外流设施中的作用). Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 45:2263-2271.

[0811] Rouach N, Pébay A, Même W, Cordier J, Ezan P, Etienne E, Giaume C, Tencé M. (2006). S1P inhibits gap junctions in astrocytes: involvement of G and Rho GTPase/ROCK (S1P抑制星形胶质细胞中的间缝连接:G和Rho GTPase/ROCK参与). Eur J Neurosci. 23 (6) :1453-1464.

[0812] Casamenti F, Prosperi C, Scali C, Giovannelli L, Pepeu G. (1998). Morphological, biochemical and behavioural changes induced by neurotoxic and inflammatory insults to the nucleus basalis (由神经毒性诱发的形态学改变、生化改变和行为改变以及炎症损害基底核).

[0813] Int J Dev Neurosci (国际发育神经科学杂志). 16 (7-8) :705-14.

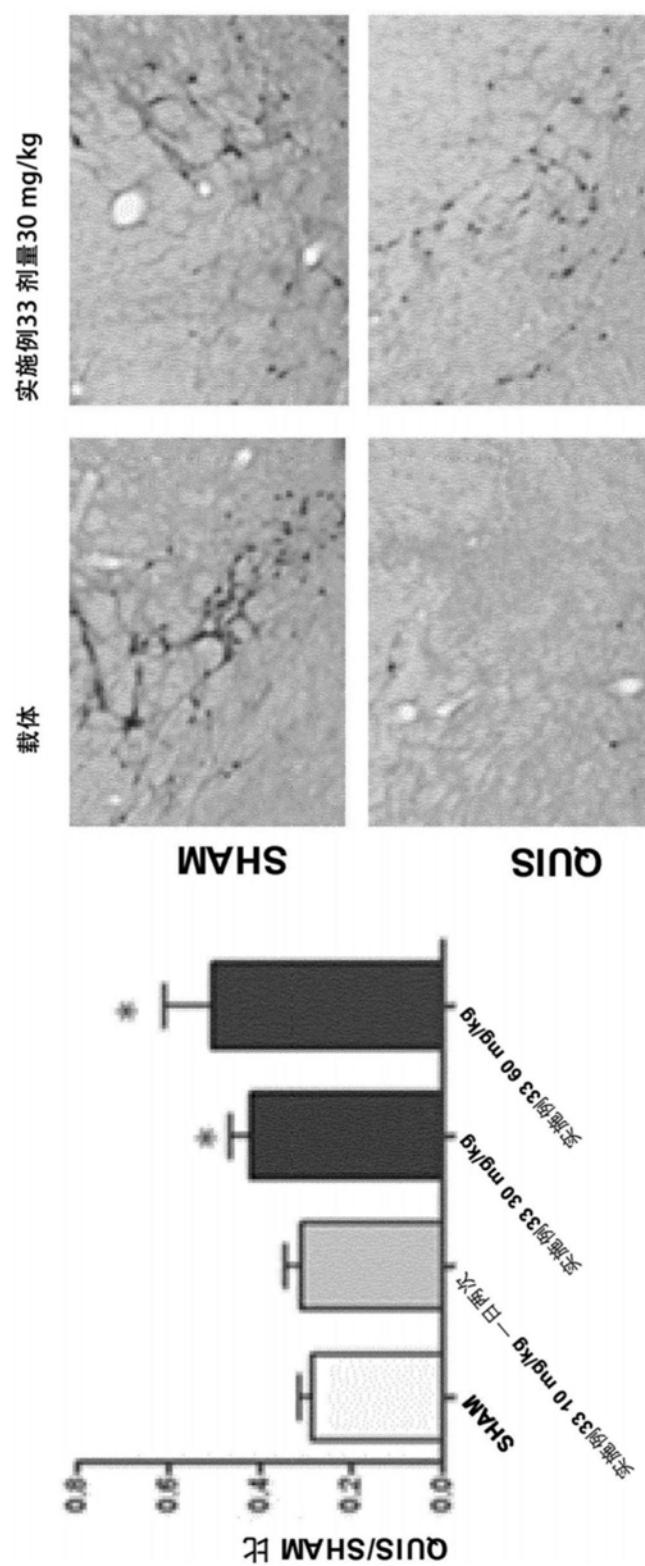
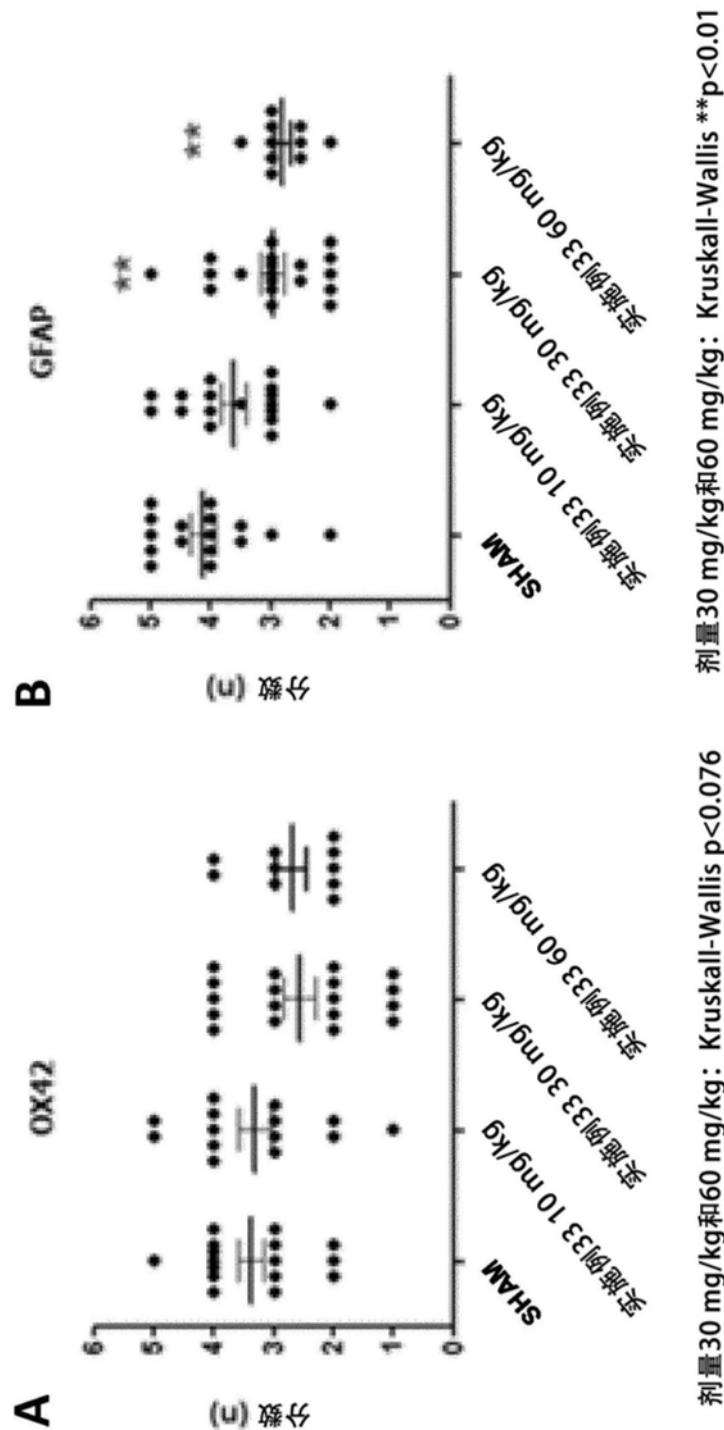


图1



剂量30 mg/kg和60 mg/kg： Kruskall-Wallis p<0.076
剂量30 mg/kg和60 mg/kg： Kruskall-Wallis **p<0.01

图2

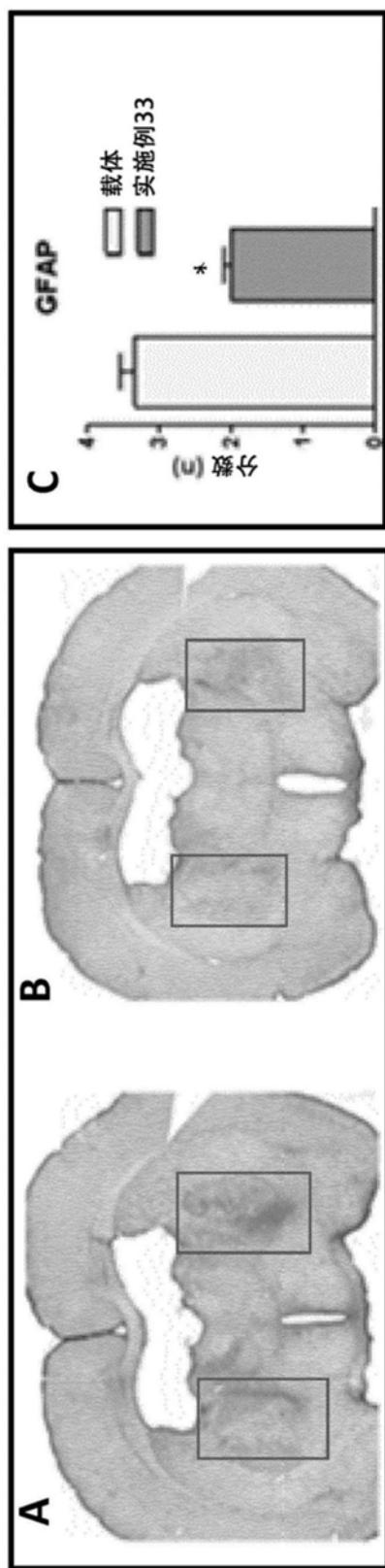


图3

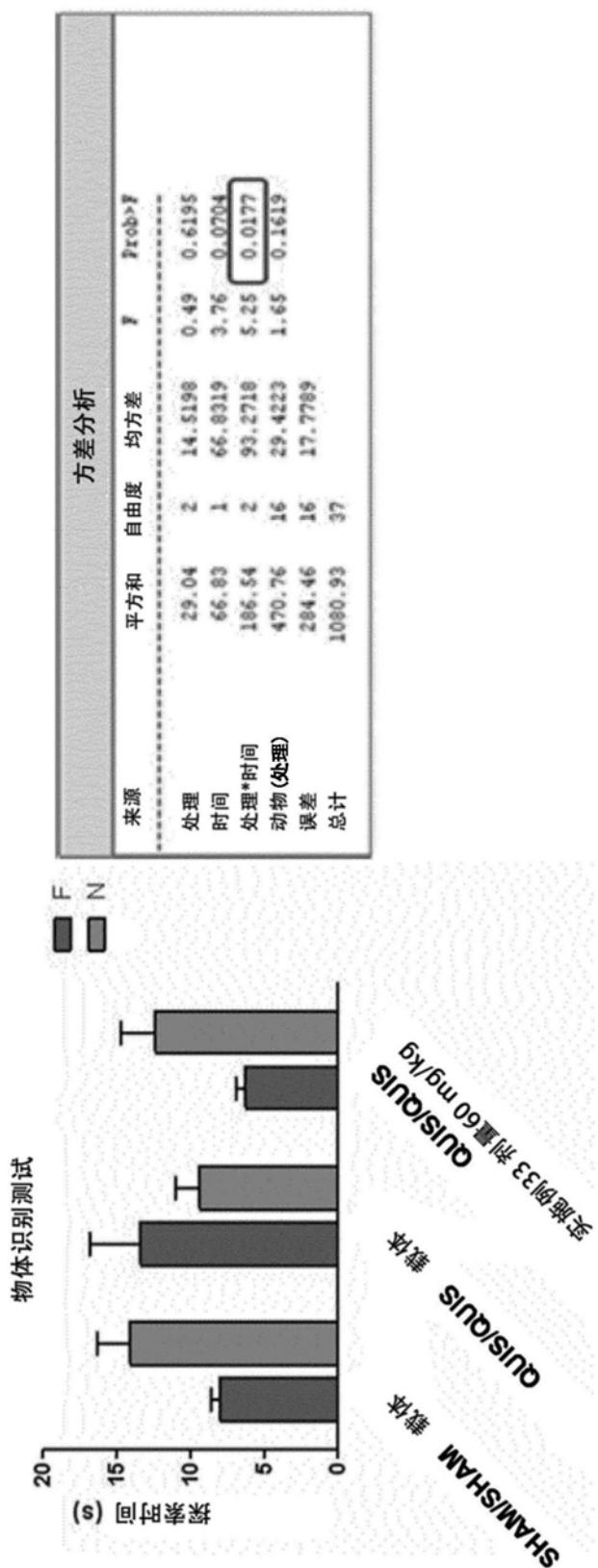


图4