

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680009318.X

[51] Int. Cl.

C07C 233/00 (2006.01)

A61K 31/185 (2006.01)

C07D 213/74 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

C07D 211/14 (2006.01)

[43] 公开日 2008年3月19日

[11] 公开号 CN 101146764A

[22] 申请日 2006.1.24

[21] 申请号 200680009318.X

[30] 优先权

[32] 2005.1.25 [33] EP [31] 05001399.4

[86] 国际申请 PCT/EP2006/050407 2006.1.24

[87] 国际公布 WO2006/079624 英 2006.8.3

[85] 进入国家阶段日期 2007.9.21

[71] 申请人 冬姆佩制药股份公司

地址 意大利阿奎拉

[72] 发明人 R·贝尔蒂尼 C·比萨里

M·莫斯卡 M·阿莱格蒂

F·科洛塔

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 余颖

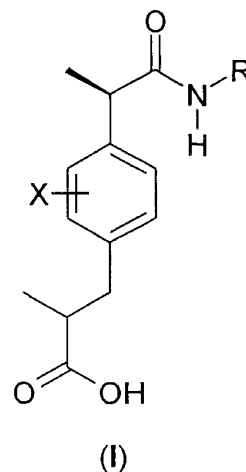
权利要求书3页 说明书17页

[54] 发明名称

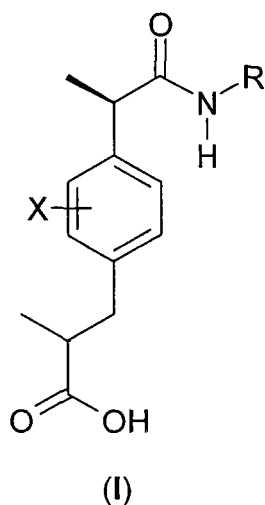
2-芳基丙酸衍生物的代谢产物及包含它们的
药物组合物

[57] 摘要

2-(R)-4-异丁基芳基丙酰胺代谢物及含此类化合物的药物组合物,可用于抑制白细胞介素-8(IL-8)与CXCR1和CXCR2膜受体相互作用诱导的中性粒细胞(PMN白细胞)和单核细胞趋化性的激活。本发明化合物用于预防和治疗因所述趋化性激活而产生的病理学变化。值得注意的是,这些代谢物无环氧化酶抑制活性,在治疗中性粒细胞依赖性病理变化如银屑病、溃疡性结肠炎、黑色素瘤、慢性阻塞性肺病(COPD)、大疱性天疱疮、类风湿性关节炎、特发性纤维化、肾小球肾炎及预防和治疗由局部缺血和再灌注所致损伤上特别有用。



1. 式(I)所示的 2-(R)-芳基丙酸衍生物化合物及其药学上可接受的盐:



其中

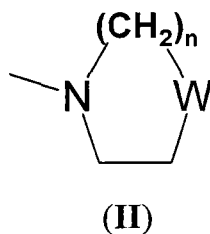
X 选自 H、卤素、C₁-C₄-烷基、C₁-C₄-烷氧基、羟基、氰基、硝基、氨基;

R 基团选自

- H、OH、C₁-C₅-烷基、C₁-C₅-环烷基、C₁-C₅-烯基、C₁-C₅-烷氧基;
- 选自吡啶、嘧啶、吡咯、噻吩、呋喃、咪唑的杂芳基;
- 由直链或支链 C₁-C₆-烷基、C₁-C₆-环烷基、C₁-C₆-烯基、C₁-C₆-苯基烷基组成的被另一个羧基 (COOH) 任选取代的氨基酸残基;

- 式-CH₂-CH₂-Z-(CH₂-CH₂O)_nR'所示残基, 其中 R'是氢或 C₁-C₅-烷基, n 是 0-2 的整数并且 Z 是氧或硫;

- 式-(CH₂)_n-NRaRb 所示残基, 其中 n 是 0-5 的整数, 并且各 Ra 和 Rb 可以相同或不同地为 C₁-C₆-烷基、C₁-C₆-烯基, 或者 Ra 和 Rb 和与它们相连接的氮原子一起形成式 (II) 所示 3-7 元杂环



其中 W 代表一单键、O、S、N-Rc, Rc 是 H、C₁-C₆-烷基或 C₁-C₆-烷基苯基, n 是 0-4 的整数;

- 式 SO₂Rd 所示残基, 其中 Rd 是 C₁-C₆-烷基、C₁-C₆-环烷基、C₁-C₆-烯基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物及其(R)单一对映体和(S)单一对映体
其中

X 基团为 H;

R 基团为选自

- H、OH、C₁-C₅-烷基、C₁-C₅-烷氧基、C₁-C₂-羧基烷基;

- 吡啶、嘧啶;

- 式-CH₂-CH₂-O-(CH₂-CH₂O)_nR'所示残基, 其中 R'是氢或 C₁-C₅-烷基, n 是整数 0 或 1;

- 式-(CH₂)_n-NRaRb 所示残基, 其中 n 是整数 2 或 3, 更佳为 3, 并且 NraRb 基团为 N,N-二甲基胺、N,N-二乙基胺、1-哌啶基、4-吗啉基、1-吡咯烷基、1-哌嗪基、1-(4-甲基)哌嗪基;

- 式 SO₂Rd 所示残基, 其中 Rd 为 C₁-C₂-烷基。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 选自:

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰胺

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(4'''-吡啶基)丙酰胺

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-羧基甲基)丙酰胺

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-甲氧基乙基)丙酰胺

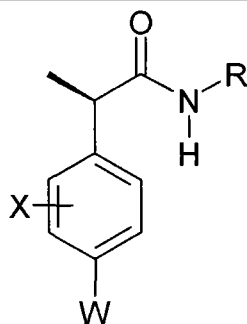
(2R) (2''R,S)2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-[3''-N'-哌啶子基丙基]丙酰胺

(2R) (2''R,S)2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-[3'''-N',N'-二甲基氨基丙基]丙

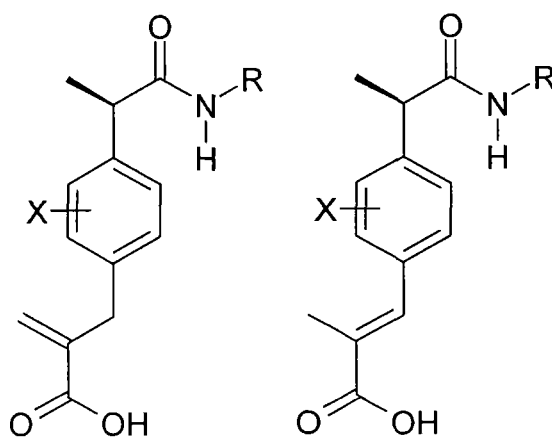
酰胺

及它们的(R)单一对映体和(S)单一对映体。

4. 权利要求 1 所述式(I)化合物的制备方法, 包括在合适的催化剂存在下, 用 2-甲基丙烯酸对相应的式(IV)所示 2-(4'-芳基)丙酰胺衍生物进行处理, 其中 W 是 Br 或 OSO₂CF₃, 得到式(V)和(VI)所示产物的混合物,



(IV)



(V)

(VI)

然后在合适的催化剂进行氢化。

5. 权利要求 1 所述式(I)化合物的制备方法，其中 R 是如权利要求 1 定义的基团，但不是 OH 或 C₁-C₅-烷氧基或 SO₂Rd 残基，所述方法包括用两当量合适的式 NH₂R 胺处理权利要求 1 所述式(I)中 R 是 SO₂Rd 的酰基甲磺酰胺衍生物，于约 100-140°C 加热所得的盐。

6. 用作药物的权利要求 1 所述化合物。

7. 如权利要求 6 所述的化合物，用于抑制多形核细胞和单核细胞的趋化性。

8. 权利要求 1 所述化合物在制备用于治疗银屑病、溃疡性结肠炎、黑色素瘤、慢性阻塞性肺病 (COPD)、大疱性天疱疮、类风湿性关节炎、特发性纤维化、肾小球肾炎及用于预防和治疗由局部缺血和再灌注所致损伤的药物上的应用。

9. 药物组合物，包含权利要求 1 所述化合物及其合适的载体。

2-芳基丙酸衍生物的代谢产物及包含它们的药物组合物

发明概述

本发明涉及新颖的 2-(R)-芳基丙酸衍生物的活性代谢产物以及包含它们的药物组合物，它们可用作多形核与单核细胞趋化性的抑制剂，尤其可用于治疗中性粒细胞依赖性疾病。

背景技术

特定血细胞（巨噬细胞，粒细胞，中性粒细胞，多形核细胞）对化学刺激物的应答反应（受称为趋化因子的物质刺激时）是沿着刺激物的浓度梯度方向移行，此过程称为趋化。目前已知的主要刺激因子或趋化因子的代表是补体 C5a 的分解产物，细菌表面溶解或合成来源的肽所产生的某些 N-甲酰基肽，例如甲酰-甲硫氨酰-亮氨酰-苯丙氨酸 (f-MLP)，主要是各种细胞因子，包括白细胞介素-8 (IL-8，也称为 CXCL8)。白介素-8 是一种内源性趋化因子，它由大多数有核细胞，比如成纤维细胞和巨噬细胞产生。

在某些病理学状况下，中性粒细胞的不良募集标志着中性粒细胞浸润的相关部位发生了更严重的组织损伤。近年来，中性粒细胞活化在决定局部缺血后再灌注和肺部高含氧量相关损伤中的作用已被广泛得到证明。

IL-8 的生物学活性是通过白介素与属于七大跨膜受体家族的 CXCR1 和 CXCR2 膜受体相互作用而介导的，这些受体表达在人中性粒细胞和某些类型 T 细胞的表面上(L. Xu 等人, *J. Leukocyte Biol.*, 57, 335, 1995)。已知可以区分 CXCR1 与 CXCR2 的选择性配体是 GRO- α ，它是 CXCR2 选择性趋化因子的一个例子。

IL-8 通过 CXCR2 受体途径在肺部疾病（肺损伤、急性呼吸窘迫综合征、哮喘、慢性肺炎和囊性纤维化）、特别在 COPD（慢性阻塞性肺病）发病机制中有潜在致病作用已有广泛描述 (D. WP Hay 和 H.M. Sarau., *Current Opinion in Pharmacology* 2001, 1:242-247)。

补体系统对免疫和感染事件的应答是通过直接膜作用与通过释放一系列

由补体片段 C3、C4 和 C5 经酶裂解产生的肽片段（通称为过敏毒素），来活化补体系统介导的炎症反应的放大。这些肽包括由 77 个氨基酸组成的 C3a、C4a；而 C5 转化酶使 C5 补体片段裂解，生成 74 个氨基酸的糖蛋白 C5a。

补体的 C5a 肽片段被定义为“完全”促炎介质。相反，其它炎症介质如选定的细胞因子（例如 IL-8、MCP-1 和 RNATES）对自身可被吸引细胞（self-attracted cell）具有高度选择性，而其他如组胺和缓激肽只是很弱的趋化剂。

有一些令人信服的证据支持数种病理状况在体内涉及 C5a，这些病理状况包括缺血 /再灌注、自身免疫性皮炎、膜增生性自发性肾小球肾炎、气道不反应性（airway irresponsiveness）、慢性炎症性疾病、ARDS 和 COPD、阿尔茨海默病、幼年型类风湿关节炎（N.P. Gerard, *Ann. Rev. Immunol.*, 12, 755, 1994）。

考虑到由局部补体的产生和淀粉样蛋白活化，加上星形细胞和小胶质细胞趋化以及 C5a 直接诱导的活化可能引起的 C5a/C5a-desArg 神经炎，有人提出用补体抑制剂治疗神经疾病，如阿尔茨海默病（McGeer & McGeer P.L., *Drugs*, 55, 738, 1998）。

因此，控制补体片段的合成被认为对于治疗休克和预防器官移植排斥（多种器官衰竭和超急性移植排斥）有很好的治疗前景（Issekutz A.C.等人, *Int. J. Immunopharmacol*, 12, 1, 1990; Inagi R. 等人, *Immunol. Lett.*, 27, 49, 1991）。最近据报导，补体片段抑制与预防原发性和移植肾损伤有关，这是考虑到慢性间质性和急性肾小球性肾损伤与补体有关（Sheerin N.S. & Sacks S.H., *Curr. Opinion Nephrol. Hypert.*, 7, 395, 1998）。

在急性和慢性病理状况下，例如银屑病皮损的严重发炎和难治部位，可观察到中性粒细胞的特征性积聚。受到刺激的角化细胞释放出来的趋化因子、IL-8 和 Gro-a 以及通过另一条补体途径途径活化而产生的片段 C5a/C5a-desArg 的协同作用都可以使中性粒细胞趋化吸引和活化（T. Terui 等, *Exp. Dermatol.*, 9, 1, 2000）。因此，在许多情况下，非常需要在一种单一药物中将 C5a 刺激的细胞活化、细胞因子受体的调控和趋化性的抑制偶联起来。

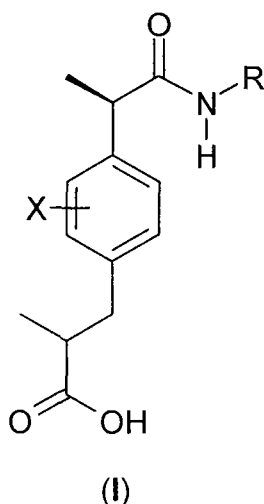
我们最近描述了新型的“*r*-2-芳基-丙酸的 ω -氨基烷基酰胺”作为多形核细胞和单核细胞趋化性的抑制剂（WO 02/068377）。这新一类化合物的范围包括从选择性 C5a 抑制剂到 C5a/IL-8 双重抑制剂。

而且，这类新颖的 IL-8 生物活性强效和选择性的抑制剂 (R-2-芳基丙酸酰胺和 N-酰基磺酰胺) 已经被描述成为是 IL-8 诱导的嗜中性白细胞趋化和脱粒的有效抑制剂 (WO 01/58852; WO 00/24710)。

发明详述

我们发现一类新的 2-(R)-芳基丙酸衍生物，可作为多形核及单核细胞趋化性的抑制剂。具体地说，本发明的化合物是 IL-8 诱导的中性粒细胞趋化性和 C5a 诱导的中性粒细胞和单核细胞趋化性的强效抑制剂，具有改善的药物动力学特性和药理学活性谱。

因此，本发明提供式(I)所示的 2-(R)-芳基丙酸衍生物化合物及其药学上可接受的盐：



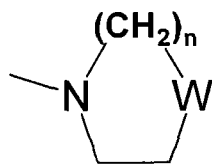
其中

X 选自 H、卤素、C₁-C₄-烷基、C₁-C₄-烷氧基、羟基、氰基、硝基、氨基；

R 基团选自

- H、OH、C₁-C₅-烷基、C₁-C₅-环烷基、C₁-C₅-烯基、C₁-C₅-烷氧基；
- 选自吡啶、嘧啶、吡咯、噻吩、呋喃、咪唑的杂芳基；
- 由直链或支链 C₁-C₆-烷基、C₁-C₆-环烷基、C₁-C₆-烯基、C₁-C₆-苯基烷基组成的被另一个羧基 (COOH) 任选取代的氨基酸残基；
- 式-CH₂-CH₂-Z-(CH₂-CH₂O)_nR'所示残基，其中 R'是氢或 C₁-C₅-烷基，n 是 0-2 的整数并且 Z 是氧或硫；

- 式 $-(CH_2)_n-NRaRb$ 所示残基, 其中 n 是 0-5 的整数, 并且各 Ra 和 Rb 可以相同或不同地为 C_1-C_6 -烷基、 C_1-C_6 -烯基, 或者 Ra 和 Rb 和与它们相连接的氮原子一起形成式(II)所示 3-7 元杂环



(II)

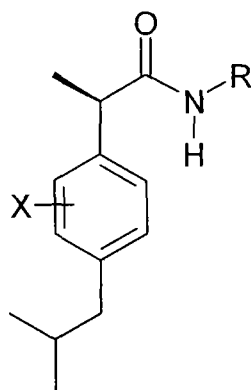
其中 W 代表一单键、 O 、 S 、 $N-Rc$, Rc 是 H 、 C_1-C_6 -烷基或 C_1-C_6 -烷基苯基, n 是 0-4 的整数;

- 式 SO_2Rd 所示残基, 其中 Rd 是 C_1-C_6 -烷基、 C_1-C_6 -环烷基、 C_1-C_6 -烯基。

式(I)化合物是手性化合物, 本发明提供(2R, 2''R,S)混合物和(2R,2''S)、(2R,2''R)单一对映体。

本发明进一步提供式(I)化合物用作药物。具体地说, 这些药物是多形核及单核细胞趋化性的抑制剂。

式(III)化合物, 其中 R 和 X 如上定义, 之前在 WO 01/58852、WO 00/24710 和 WO 02/068377 中被描述为多形核及单核细胞趋化性的特别优选的抑制剂。



(III)

“体内”给予式(III)化合物有助于说明药物的代谢过程。细胞色素介导的异丁基基团的氧化在链的 1、2 和 3 位生成三羟基化异构体; C-末端位置的彻底氧化导致式(I)化合物的生成。

所有已检出的代谢产物已在实验室规模被独立地合成出来并在趋化试验中进行测试。

上述代谢产物中，我们发现只有式 I 的化合物具有抑制多形核及单核细胞趋化性的活性。

这个发现与 2-(4-异丁基苯基)丙酸(布洛芬)的相应代谢产物缺乏生物活性形成对照，事实上，2-(4-异丁基苯基)丙酸(布洛芬)的相应代谢产物被报导为没有任何抗炎活性(“Ibuprofen. A critical bibliographic review” KD Rainsford 编辑, Sheffield Hallam University 1999, pag. 42), (American Society of Health-System Pharmacists, AHFS Drug Information 2001, pag. 1918)。

与式(III)化合物相比，式(I)化合物表现出显著的优点。

本发明化合物抑制 IL-8 和/或 C5a 诱导的 PMN 趋化，其 IC₅₀ 与优选的式(III)化合物的 IC₅₀ 相当，但意外地发现本发明化合物是比式(III)化合物更强效的抑制 GRO- α 诱导的 PMN 趋化的抑制剂，因此显示其对 CXCR2 所介导途径的特异性作用。

而且，式(I)化合物的药物动力学性质特别有利于治疗使用。实际上，与式(III)化合物相比，本发明化合物通过 i.v. 途径“体内”给药，表现出更长的 T_{1/2}，与之相关的是清除时间的缩短。

这些特征与较低的血浆蛋白结合有关，使这些药物在整体上具有更好的药理学性质。

优选的 X 基团是 H；

优选的 R 基团是：

H、OH、C₁-C₅ 烷基、C₁-C₅ 烷氧基、C₁-C₂-羧基烷基；

吡啶、嘧啶；

式-CH₂-CH₂-O-(CH₂-CH₂O)_nR' 所示残基，其中 R' 是 H 或 C₁-C₅-烷基，n 是 0 或 1 的整数；

式-(CH₂)_n-NRaRb 所示残基，其中 n 是 2 或 3 的整数，更优选 3，并且 NRaRb 基团是 N,N-二甲基胺、N,N-二乙基胺、1-哌啶基、4-吗啉基、1-吡咯烷基、1-哌嗪基、1-(4-甲基)哌嗪基；

式 SO₂Rd 所示残基，其中 Rd 是 C₁-C₂-烷基。

优选的式(I)化合物是其单一的(R)对映体和(S)对映体。

本发明特别优选的化合物是：

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰胺

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(4'''-吡啶基)丙酰胺

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-羧基甲基)丙酰胺

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-甲氧基乙基)丙酰胺

(2R)(2''R,S)2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-[3'''-N'-哌啶子基丙基]丙酰胺

(2R)(2''R,S)2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-[3'''-N',N'-二甲基氨基丙基]

丙酰胺及它们的(R)单一对映体和(S)单一对映体。

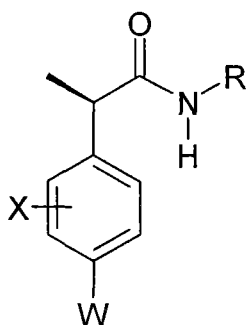
本发明化合物是 IL-8 诱导的人 PMNs 趋化性的强效选择性抑制剂。当 R 是式 $-(CH_2)_n-NRaRb$ 所示残基时，本发明化合物是 C5a 诱导的和 IL-8 诱导的 PMNs 趋化性的双效抑制剂。

通常，分离得到的本发明式(I)化合物是其与药学上可接受的有机和无机酸或碱的加成盐形式。

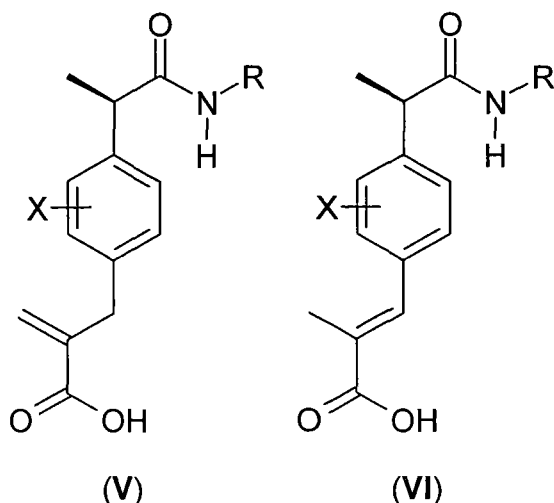
所述的酸的例子选自盐酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、富马酸、柠檬酸。

所述碱的例子有氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、(D, L)-赖氨酸、L-赖氨酸、氨基丁三醇。

式(I)化合物是这样获得的：在合适的催化剂（例如钯）存在下，用 2-甲基丙烯酸对相应的式(IV)所示 2-(4'-芳基)丙酰胺衍生物进行处理，其中 W 是 Br 或 OSO_2CF_3 ，得到对偶的式(V)和(VI)所示化合物。



(IV)



然后在合适的催化剂（例如 Pd/C）存在下，将式(V)和(VI)的混合物氢化，得到本发明的式(I)化合物。

根据另一条新的合成路线，从式(I)中 R 是 SO_2Rd 的酰基甲磺酰胺衍生物开始，用两当量合适的式 NH_2R 胺处理所述衍生物，所获得的盐在约 $100\text{-}140^\circ\text{C}$ ，优选真空条件下，简单加热即可获得式(I)化合物，其中 R 如前所述，但不是 OH 或 $\text{C}_1\text{-C}_5\text{-}$ 烷氧基或 SO_2Rd 残基。

“体外”评估通式(1)化合物抑制由 IL-8、GRO- α 和补体 C5a 诱导的多形核白细胞(下文用 PMNs 表示)和单核细胞趋化性的能力，并直接与相应的式(III)所示 4-异丁基母体化合物进行比较。为此，从健康成年志愿者获得的肝素化血液中分离多形核白细胞，通过葡萄糖沉降分出单核细胞(按照 W. J. Ming 等人公开的方法, *J. Immunol.*, 138, 1469, 1987), 通过低渗溶液处理分出红血细胞。以台盼蓝(Trypan blue)染色排除法计算细胞活度，Diff Quinck 染色后细胞离心，用细胞离心沉淀物估算循环多形核白细胞的比例。

IL-8 诱导的趋化试验中，趋化试验采用人重组 IL-8(Pepro Tech)作为刺激剂：将冻干的蛋白溶解于一定体积含有 0.2%牛血清白蛋白(BSA)的 HBSS 中，配成浓度 10^{-5}M 的储备液，以 HBSS 稀释至浓度 10^{-9}M ，用于趋化试验。

采用类似的试验评估对 GRO- α 诱导趋化的抑制。

在 C5a 诱导的趋化试验中，趋化试验采用人重组 C5a 和 C5a-desArg(Sigma)作为趋化实验刺激剂，得到实际同样的结果。将冻干 C5a 溶解于一定体积含有 0.2%BSA 的 HBSS 中，配成浓度 10^{-5}M 的储备液，以 HBSS 稀释至浓度 10^{-9}M ，用于趋化试验。

在趋化试验中, 将多形核白细胞与本发明的式(I)化合物于 37°C 在含 5% CO₂ 的氛围中培养 15 分钟。

以每毫升 1.5×10^6 PMNs 的浓度将人循环多形核细胞(PMNs)悬浮于 HBSS 中, 以该悬浮液测定 C5a 的趋化活性。

趋化试验(按照 W.Falket 等人, *J. Immunol. Methods*, 33, 239, 1980)采用孔隙度为 5 μ m 的不含 PVP 滤膜和适合复制的微室(microchamber)。

本发明的通式(I)化合物的评估浓度范围在 10^{-6} 和 10^{-10} M 之间; 为此, 在微室下层孔和上层孔加入相同浓度的本发明式(I)化合物。按照 Van Damme J. 等人公开的方法 (*Eur. J. Immunol.*, 19, 2367, 1989), 评估本发明的式 (I)化合物抑制人单核细胞趋化性的能力。

例如, 实施例 1 化合物, (2R) (2''R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺, 显示出对 IL-8 诱导的 PMN 迁移的抑制, 在浓度 10^{-8} M 时的抑制率为 49 \pm 9%, 在浓度 10^{-6} M 时为 66 \pm 8%。

本发明特别优选的化合物是:

(2R) (2''S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺

(2R) (2''R) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺

(2R) (2''R) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-[3'''-N'-哌啶基丙基]丙酰胺

(2R) (2''S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-[3'''-N'-哌啶基丙基]丙酰胺.

和式(III)所示 2-(4-异丁基苯基)丙酰胺相比, 本发明化合物另具有有效抑制 GRO α 诱导的 PMN 趋化的特性; 此活性使这些化合物可用于治疗特别涉及 CXCR2 途径或者与 CXCR1 信号传递相联的 IL-8 相关性疾病。

就感兴趣的治疗应用而言, 特别优选 IL-8 和 GRO- α 所诱导生物活性的双重抑制剂。

根据完全按照 Patrignani 等人在 *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 271, 1705, 1994 中所公开的步骤进行的体外血中测评, 本发明的式(I)化合物不是环氧化酶 (COX)的有效抑制剂。

多数情况下, 式(I)化合物在 10^{-5} 至 10^{-7} M 浓度范围内不干扰小鼠巨噬细胞中脂多糖刺激(LPS, 1 μ g/mL)诱导的 PGE₂ 产生。可能有 PGE₂ 生产抑制的记录, 但通常界于统计学显著性临界值, 更多情况下, 在基数值的 15-20%以下。抑制 CO 的效率降低对本发明化合物的治疗应用来说是一个优点, 因为抑制前列

腺素合成可刺激巨噬细胞增强 TNF- α 合成(由 LPS 或过氧化氢诱导的), TNF- α 是中粒细胞活化的重要介质, 也是细胞因子 IL-8 产生的重要刺激物。

如上文详述, CXCR1 和 CXCR2 活化的抑制剂被发现可用于特别是慢性炎症疾病(如银屑病)的治疗, 其中 IL-8 两种受体的活化被认为在疾病发展上起着重要的病理生理作用。

事实上, 已知 CXCR1 的活化是 IL-8 介导的 PMN 趋化性所必须的(Hammond M 等, *J Immunol*, 155, 1428, 1995)。另一方面, CXCR2 的活化被认为是 IL-8 介导银屑病患者表皮细胞增殖和血管生成所必须的(Kulke R 等, *J Invest Dermatol*, 110, 90, 1998)。

此外, CXCR2 拮抗剂特别适用于治疗重要肺部疾病, 例如慢性阻塞性肺病 COPD(D. WP Hay and H.M. Sarau., *Current Opinion in Pharmacology* 2001, 1:242-247)。

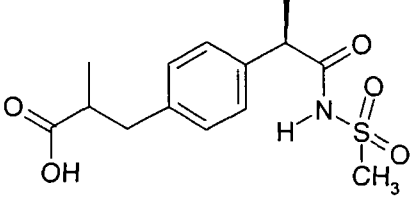
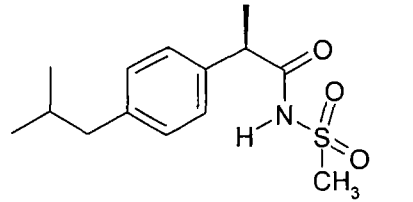
鉴于上面讨论的实验结果和白介素-8(IL-8)及其同源物在涉及中性粒细胞激活和浸润过程中的作用, 本发明的化合物特别适用于治疗某些疾病, 例如银屑病(R. J. Nicholoff 等, *Am. J. Pathol.*, 138, 129, 1991)、慢性肠道炎症性病理如溃疡性结肠炎(Y. R. Mahida 等, *Clin. Sci.*, 82, 273, 1992)和黑色素瘤、慢性阻塞性肺病(COPD)、大疱性天疱疮、类风湿性关节炎(M. Selz 等, *J. Clin. Invest.*, 87, 463, 1981)、特发性纤维化(前面引用的 E. J. Millerand 和 P. C. Carré 等, *J. Clin. Invest.*, 88, 1882, 1991)、肾小球肾炎 (T. Wada 等, *J. Exp. Med.*, 180, 1135, 1994), 以及预防和治疗局部缺血和再灌注引起的损伤。

因此本发明的另一个目的是提供用于治疗银屑病、溃疡性结肠炎、黑色素瘤、血管生成、慢性阻塞性肺病(COPD)、大疱性天疱疮、类风湿性关节炎、特发性纤维化、肾小球肾炎及预防和治疗由局部缺血和再灌注所致损伤的化合物, 以及所述化合物在制备治疗上述疾病的药物中的应用。

本发明化合物肾清除率降低对于治疗诸如银屑病和溃疡性结肠炎等慢性病理性疾病是至关重要的, 由此, 在每日给药次数减少, 甚至减至每日一次的最适情况下, 治疗仍然有效。而且, 药物与血浆蛋白(主要是白蛋白)结合的减少关系到有效剂量的降低。

例如, 表 I 和表 II 显示: 式(I)代谢产物和相应的式(III)亲本化合物之间在 $T_{1/2}$ 和蛋白结合(%)方面的显著区别。

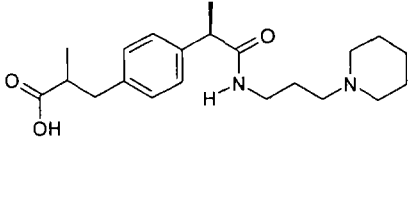
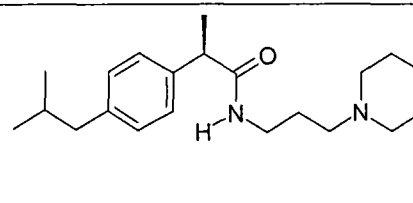
表 I

化合物	结构式	T _{1/2} (h)*	蛋白 结合 (%)**
代谢物 (2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺		2	72
亲本化合物 (R)-2-[(4-异丁基)苯基]丙酰基甲磺酰胺		0.5	>99

*大鼠单次推注 i.v.给药 (15mg/Kg) 后。

**大鼠血浆蛋白体外结合 (化合物浓度 10 μg/mL)。

表 II

化合物	结构式	T _{1/2} (h)*	蛋白 结合 (%)**
代谢物 (2R)(2''R,S)-[(4'-(2''-羧基丙基)苯基]-N-[3''-N'-哌啶基丙基]丙酰胺		2	70
母体化合物 (R)-2-[(4-异丁基)苯基]-N-[3''-(N'-哌啶基)丙基]丙酰胺		1	80

*大鼠单次推注 i.v.给药 (15mg/Kg) 后。

**大鼠血浆蛋白体外结合 (化合物浓度 10 μg/mL)。

包含本发明化合物及其合适载体的药物组合物也在本发明的范围内。

本发明化合物可与常规使用的佐剂、载体、稀释剂或赋形剂一起构成药物组合物及其单位剂量的形式，其剂型可以是口服用的固体(如片剂或填充胶囊)或者液体(如溶液、悬浮液、乳浊液，酞剂或装有所述液体的胶囊)，或是供胃肠道外(包括皮下)应用的无菌注射溶液。这些药物组合物及其单位剂型可包含配制成常规比例的诸成分，包括或不包括其它活性化合物或要素物质，所述单位剂型可包含与预期日剂量相适应的各种合适的活性成分有效量。

当用作药物时，本发明的化合物通常以药物组合物的形式给药。所述药物组合物可用制药行业熟知的方法制备，包含至少一种活性化合物。通常，本发明化合物以药学有效量给药。实际给予的化合物的量一般根据相关的情况决定，包括要治疗的疾病、选择的给药途径、实际给予的化合物、每个病人的年龄、体重和反应、病人症状的严重程度等等。

本发明的药物组合物可通过多种途径给予，包括口服、直肠、透皮、皮下、静脉内、肌肉内和鼻内给予。较好的是，根据预期的给药途径将化合物配制成可注射组合物或者口服组合物。口服给药的组合物可采用整装溶液或悬浮液的形式，或整装粉剂的形式。但是更为通常的是提供单位剂型的组合物以利于精确给药。术语“单位剂型”指物理上分离的多个单位，适合各自作为单独剂量为人或其它哺乳动物所用，每单位含有计算好了能产生所需治疗效果的预定量的活性物质以及合适的药物赋形剂。典型的单位剂型包括液体组合物的预充填、预计量的安瓿瓶或注射器，或固体组合物的丸剂、片剂、胶囊等。在这样的组合物中，酸化合物通常是少量组分(约 0.1-50%重量或优选约 1-40%重量)，其余的是有助于形成所需剂型的各种赋形剂或载体以及加工助剂。

适合于口服的液体形式可包括合适的水性或非水性载体，含有缓冲剂、悬浮和分散剂、着色剂、调味剂等。液体形式，包括下述可注射的组合物，通常应避光保存，以避免各种光催化效应，如氢过氧化物和过氧化物的生成。固体形式可包括例如以下各种成分或类似性质的化合物：粘合剂，如微晶纤维素、黄芪胶或明胶；赋形剂，如淀粉或乳糖，崩解剂(如海藻酸、Primogel，或玉米淀粉)；润滑剂，如硬脂酸镁；助流剂，如胶体二氧化硅；甜味剂，如蔗糖或糖精；或调味剂，如薄荷、水杨酸甲酯或橙味剂。

可注射组合物通常以无菌可注射盐水或磷酸盐缓冲液或本领域已知的其它注射用载体来配制。如上所述，此类组合物中，式(I)酸衍生物通常是少量成

分，通常为 0.05-10%重量，其余为注射用载体等。每日平均剂量取决于多种因素，如疾病的严重性和病人的情况(年龄、性别和体重)。每日剂量一般为 1mg 或几毫克至多达 1500mg 的式(I)化合物，可将该日剂量分成多次给药。也可以更高剂量给药，这得益于本发明化合物长期毒性低。

上述用于口服给药或可注射组合物的组分只是代表性的。更多材料包括加工技术等见“Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook” (第 18 版，1990，Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania) 的第八部分有阐述，本说明书引述其内容作为参考。

本发明化合物也可以缓释形式给药或由缓释药物输送系统给药。代表性的持续释放材料的叙述也可见上述 Remington's Handbook。

下面将结合实施例对本发明作进一步阐述，但这些实施例不构成对本发明范围的限制。

缩写：THF：四氢呋喃；DMF：二甲基甲酰胺；AcOEt：乙酸乙酯。

实施例

实施例 1

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺

将(R) 2-(4-溴苯基)丙酸 (1g, 4,4 mmol) 溶解于无水 CH_2Cl_2 (10 mL) 中。加入二甲基氨基吡啶 (0,45 g, 4,8 mmol)、甲磺酰胺 (0,46 g, 4,8 mmol) 和二环己基碳二亚胺 (0,99 g 4.8 mmol)，反应混合物搅拌 4 小时。溶液倒入 1N HCl (10 mL) 中，分离有机相；水相用二氯甲烷萃取(2×10mL)。合并后的有机相经 Na_2SO_4 干燥。滤除 Na_2SO_4 后真空除去溶剂得油状残留物，再经过硅胶柱纯化，获得纯的固体(R) 2-(4-溴-苯基)丙酰基甲磺酰胺，产率 70%。将 (R) 2-(4-溴-苯基)丙酰基甲磺酰胺溶解于三丁基胺 (2.4 mL) 中，加入三苯基膦。5 分钟后再加入 2-甲基-丙烯酸 (0.54 g, 6.64 mmol) 和 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (8 mg, 0,033 mmol)，反应混合物于 $T=130^\circ\text{C}$ 加热 6 小时。冷却后，将有机溶液倒入 1N HCl 中，水相用 EtOAc 萃取 (3×15 mL)。合并后的有机层经 Na_2SO_4 干燥并减压蒸干，得油状残留物，经色谱纯化后获得式 (V) 和 (VI) 所示两种对应的异构不饱和酸的混合物，产率 30%。

将两种异构体的混合物溶解于无水 MeOH 中,加入催化量的 Pd/C 10% (50 mg)。混合物于室温氢化过夜。经硅藻土层(Celite)过滤除去催化剂后,将滤液蒸干,残留物经色谱柱纯化获得 (2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺,产率 90%,呈白色固体。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO): δ 11.95 (bs, 1H, COOH); 11.65 (bs, 1H, SO₂NHCO); 7.18 (m, 4H); 3.70 (q, 1H, J=7Hz); 3.18 (s, 3H); 2.85 (m, 1H); 2.58 (m, 2H); 1.32 (d, 3H, J=7Hz); 1.02 (d, 3H, J=7Hz)。

$[\alpha]_{\text{D}} = -12.1$ (c=1%, MeOH)

非对映异构混合物(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺(10 mg) 经半制备 HPLC 色谱纯化,采用 Bondapak C18 125Å 15-20 μm (7.8 \times 300mm)柱 (pH=4.5 磷酸盐缓冲液/CH₃CN 90:10 至 60:40 梯度,运行时间=50 min.) 获得呈无色油状物的实施例 1a 化合物(2 mg)和实施例 1b 化合物(3 mg)。

实施例 1a

(2R) (2'' R) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO): δ 11.95 (bs, 1H, COOH); 11.65 (bs, 1H, SO₂NHCO); 7.18 (m, 4H); 3.70 (q, 1H, J=7Hz); 3.18 (s, 3H); 2.85 (m, 1H); 2.58 (d, 2H, J=7Hz); 1.32 (d, 3H, J=7Hz); 1.02 (d, 3H, J=7Hz)。

实施例 1b

(2R) (2'' S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO): δ 11.95 (bs, 1H, COOH); 11.65 (bs, 1H, SO₂NHCO); 7.18 (m, 4H); 3.70 (q, 1H, J=7Hz); 3.18 (s, 3H); 2.85 (m, 1H); 2.60 (d, 2H, J=7Hz); 1.32 (d, 3H, J=7Hz); 1.02 (d, 3H, J=7Hz)。

实施例 2

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰胺

将(R) 2-(4-溴苯基)丙酸 (1g, 4.4 mmol) 溶解于无水 CH₂Cl₂ (10 mL)中。加入二甲基氨基吡啶 (0.45 g, 4.8 mmol) 和二环己基碳二亚胺 (0.99 g 4.8 mmol), 向反应混合物中通氨气鼓泡 4 小时。溶液倒入 1N HCl (10 mL) 中, 分离有机相; 水相用二氯甲烷萃取(2 \times 10mL)。合并后的有机相经 Na₂SO₄ 干燥。

滤除 Na_2SO_4 后真空除去溶剂，得油状残留物，再经过硅胶柱纯化，获得纯的固体(R)2-(4-溴-苯基)丙酰胺，产率 70%。

按照实施例 1 中描述的步骤，将(R) 2-(4-溴-苯基)丙酰胺 (0.70 g, 3.1 mmol) 和 2-甲基-丙烯酸反应，获得式(V)和(VI)所示两种对应的异构不饱和酸的混合物，产率 30%。

混合物于室温氢化过夜。经硅藻土层过滤除去催化剂后，将滤液蒸干，残留物经色谱柱纯化，获得(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰胺，产率 90%，呈白色固体。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 11.90 (bs, 1H, COOH); 7.20 (d, 2H, $J=7\text{Hz}$); 7.10 (d, 2H, $J=7\text{Hz}$); 5.25 (bs, 2H, CONH2); 3.58 (q, 1H, $J=7\text{Hz}$); 2.70 (m, 1H); 2.42 (m, 2H); 1.18 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$); 0.86 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$)。

$[\alpha]_{\text{D}} = -26.1$ ($c=1\%$, MeOH)。

实施例 3

(2R) (2''R,S)-[(4'-(2''-羧基丙基)苯基]-N-[3''-N',N'-二甲基氨基丙基]丙酰胺

将(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺 (0.59 g, 1.8 mmol) 溶解于 CH_2Cl_2 中；随后加入 3-N,N-二甲基氨基丙胺 (0.37 g, 3.6 mmol)，溶液于室温下搅拌 15 分钟。将溶剂蒸干，固体残留物真空条件下于 $T=120^\circ\text{C}$ 加热过夜。油状残留物冷却，溶解于水中，向混合物中加入强碱性 Amberlite 树脂。除去水溶液后，用 0.1N HCl 洗涤树脂以回收所需要的产物。酸性溶液冻干后获得(2R)-[(4'-(2''-羧基丙基)苯基]-N-[3''-N',N'-二甲基氨基丙基] 丙酰胺 (0.35 g, 1.0 mmol, 产率= 55%)。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 11.85 (bs, 1H, COOH); 7.10 (s, 4H); 6.00 (bs, 1H, CONH); (3.75 (q, 1H, $J=7\text{Hz}$); 3.30 (m, 2H); 2.75 (m, 1H); 2.50 (m, 2H); 2.20 (m, 8H); 1.85 (m, 2H); 1.38 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$); 0.90 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$)。

$[\alpha]_{\text{D}} = -24.4$ ($c=0.5\%$, MeOH)。

实施例 4

(2R)(2''R,S)-[(4'-(2''-羧基丙基)苯基]-N-[3''-N'-哌啶子基丙基]丙酰胺

按照实施例 3 中描述的步骤, 采用 3-N-哌啶子基丙胺 (0.5 g, 3.6 mmol), 制得(2R)-[(4'-(2''-羧基丙基)苯基)]-N-[3''-N'-哌啶子基丙基] 丙酰胺 (0.3 g, 0.83 mmol, 产率= 46%)。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO): δ 11.95 (bs, 1H, COOH); 7.25 (d, 2H, $J=7\text{Hz}$); 7.12 (d, 2H, $J=7\text{Hz}$); 5.85 (bs, 1H, CONH); 3.58 (q, 1H, $J=7\text{ Hz}$); 3.08 (m, 3H); 2.60 (m, 6H); 2.57 (m, 2H); 1.55 (m, 6H); 1.50 (m, 2H); 1.30 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$); 1.02 (d, 3H $J=7\text{Hz}$)。

$[\alpha]_{\text{D}} = -30.4$ (c=0.5%, EtOH)。

实施例 5

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(4'''-吡啶基)丙酰胺

按照实施例 3 中描述的步骤, 采用 4-氨基吡啶 (0.34 g, 3.6 mmol), 制得(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(4'''-吡啶基)丙酰胺 (0.38 g, 1.2 mmol, 产率= 67%)。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃): δ 11.95 (bs, 1H, COOH); 8.45 (m, 2H); 7.45 (m, 4H); 7.25 (m, 2H); 3.75 (q, 1H, $J=7\text{Hz}$); 3.68 (bs, 1H, CONH); 2.75 (m, 1H); 2.50 (d, 2H, $J=7\text{Hz}$); 1.60 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$); 1.00 (d, 3H $J=7\text{Hz}$)。

$[\alpha]_{\text{D}} = -14.4$ (c=0.5%, MeOH)。

实施例 6

(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-甲氧基乙基)丙酰胺

将(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]丙酰基甲磺酰胺 (0.59 g, 1.8 mmol)溶解于 CH₂Cl₂ 中; 随后加入 2-甲氧基乙胺 (0.27 g, 3.6 mmol), 溶液于室温下搅拌 15 分钟。蒸干溶剂, 固体残留物真空条件下于 T=120°C 加热过夜。将油状残留物冷却, 溶解于 CH₂Cl₂ (20 mL) 中, 盐水洗涤(2× 10 mL)。有机相经 Na₂SO₄ 干燥。滤除 Na₂SO₄ 后真空除去溶剂, 得(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-甲氧基乙基)丙酰胺, 呈油状残留物 (0.37 g, 1.26 mmol, 产率 = 70%)。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 11.90 (bs, 1H, COOH); 7.18 (d, 2H, $J=7$ Hz); 7.08 (d, 2H, $J=7$ Hz); 5.85 (bs, 1H, CONH); 3.60 (q, 1H, $J=7$ Hz); 3.45 (m, 4H); 3.30 (s, 3H); 2.70 (m, 1H); 2.45 (d, 2H, $J=7$ Hz); 1.52 (d, 3H $J=7$ Hz); 0.90 (d, 3H, $J=7$ Hz)。

$[\alpha]_D = -32.4$ ($c=0.5\%$, EtOH)。

实施例 7

(2R)(2''R,S)-2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-羧基甲基)丙酰胺

按照实施例 6 中描述的那样步骤, 采用氨基乙酸甲酯 (0.32 g, 3.6 mmol), 获得(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-羧基甲基)丙酰胺甲基酯, 为油状残留物 (0.30 g, 0.97 mmol, 产率 = 54%)。随后将 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-羧基甲基) 丙酰胺甲基酯溶解于二噁烷(7 mL) 中, 加入 1N NaOH (1 mL)。溶液于室温下搅拌过夜。

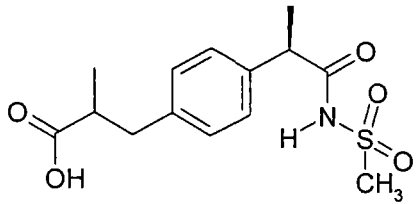
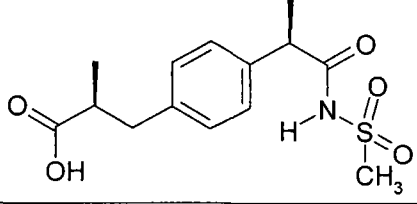
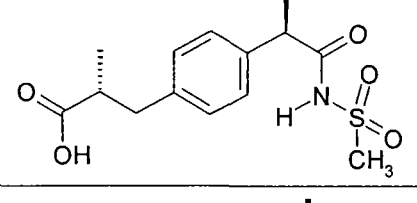
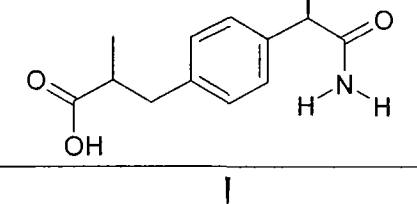
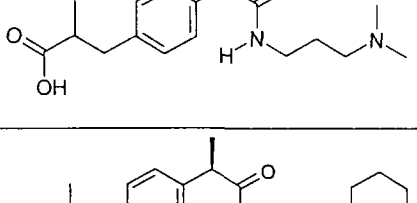
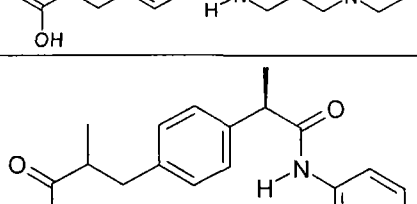
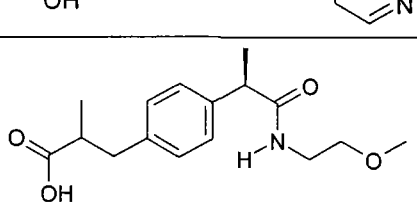
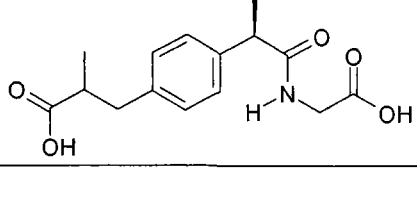
蒸除二噁烷, 水溶液用 5% NaH_2PO_4 缓冲液 (10 mL) 稀释。水相用 CH_2Cl_2 萃取(3×20 mL), 合并后的有机相经 Na_2SO_4 干燥。滤除 Na_2SO_4 后真空除去溶剂, 得(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-羧基甲基)丙酰胺, 呈油状残留物 (0.23 g, 0.78 mmol, 产率 = 85%)。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 11.85 (bs, 2H, COOH); 7.20 (d, 2H, $J=7$ Hz); 7.10 (d, 2H, $J=7$ Hz); 5.95 (bs, 1H, CONH); 4.00 (m, 2H); 3.60 (q, 1H, $J=7$ Hz); 2.75 (m, 1H); 2.50 (m, 2H); 1.50 (d, 3H $J=7$ Hz); 0.85 (d, 3H, $J=7$ Hz)。

$[\alpha]_D = -24.0$ ($c=0.5\%$, EtOH)。

表 III 报告了实施例 1-7 化合物的化学命名和结构式。

表 III

实施例	化学命名	结构式
1	(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基] 丙酰基 甲磺酰胺	
1a	(2R) (2'' R) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基] 丙酰基甲磺酰胺	
1b	(2R) (2'' S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基] 丙酰基甲磺酰胺	
2	(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基] 丙酰胺	
3	(2R)(2''R,S)-[(4'-(2''-羧基丙基)苯基)-N-[3''-N',N'-二甲基氨基丙基]丙酰胺	
4	(2R)(2''R,S)-[(4'-(2''-羧基丙基)苯基)-N-[3''-N'-哌啶子基丙基]丙酰胺	
5	(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(4''-吡啶基)丙酰胺	
6	(2R) (2'' R,S) 2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2'''-甲氧基乙基)丙酰胺	
7	(2R)(2''R,S)-2-[4'-(2''-羧基丙-1-基)苯基]-N-(2''''-羧基甲基)丙酰胺	