



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116217543 A

(43) 申请公布日 2023.06.06

(21) 申请号 202111478922.X	A61P 25/16 (2006.01)
(22) 申请日 2021.12.03	A61P 1/00 (2006.01)
(71) 申请人 成都康弘药业集团股份有限公司	A61P 7/00 (2006.01)
地址 610036 四川省成都市金牛区蜀西路	A61P 11/00 (2006.01)
108号	A61P 19/02 (2006.01)
(72) 发明人 柯潇 孙启正	A61P 9/10 (2006.01)
(51) Int. Cl.	A61P 25/28 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)	A61P 27/02 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)	A61P 9/14 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)	
C07D 471/04 (2006.01)	
C07D 491/048 (2006.01)	
A61K 31/454 (2006.01)	
A61K 31/4545 (2006.01)	
A61P 37/08 (2006.01)	
A61P 11/06 (2006.01)	

权利要求书2页 说明书27页

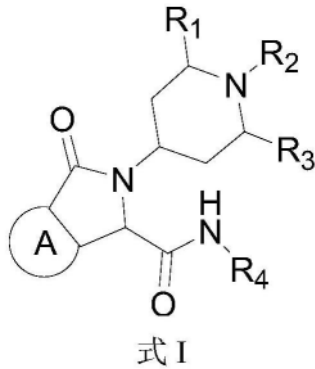
(54) 发明名称

一种新的CCR3抑制剂化合物及其用途

(57) 摘要

本发明提供一种CCR3抑制剂化合物及其制备方法和用途,本发明的化合物表现出CCR3优异的拮抗活性,并且具有较好的渗透性以及口服生物利用度。

1. 一种式Ia的化合物、其药学上可接受的盐或前药，



其中：

A选自C₆₋₁₀芳基或C₅₋₁₀杂芳基，所述芳基和杂芳基任选被C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、-OC₁₋₆烷基、-OC₁₋₆卤代烷基或卤素取代；

R₁、R₃选自氢、卤素或C₁₋₆的烷基；

R₂选自C₁₋₆亚烷基-苯基、C₁₋₆亚烷基-萘基及C₁₋₆亚烷基-杂芳基，所述苯基、萘基或杂芳基任选地被C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、-OC₁₋₆烷基、-OC₁₋₆卤代烷基或卤素取代；

R₄选自C₆₋₁₀环烷基或杂环基、C₆₋₁₀芳基或C₅₋₁₀杂芳基，所述杂环基或杂芳基含有1-4个选自N、O和S的杂原子，且所述环烷基、杂环基、芳基或芳杂基任选被C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₁₋₆卤代烷基、-C₁₋₆亚烷基-OH、-C₂₋₆亚烯基-OH、-C₂₋₆亚炔基-OH、C₃₋₆环烷基、-COC₁₋₆烷基、-CON(C₁₋₆烷基)₂、-CONHC₁₋₆烷基、-COOC₁₋₆烷基、-OC₁₋₆烷基、-SO₂C₁₋₆烷基、-SO₂C₁₋₆亚烷基-OH、-SO₂NHC₁₋₆烷基、SO₂N(C₁₋₆烷基)₂、卤素、CN或C₆₋₁₀芳基或C₅₋₁₀杂芳基取代，所述杂芳基含有1-4个选自N、O和S的杂原子，且所述芳基或杂芳基任选地被C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、-OC₁₋₆烷基、-OC₁₋₆卤代烷基或卤素取代。

2. 根据权利要求1所述的化合物、其药学上可接受的盐或前药，其特征在于：A选自苯基。

3. 根据权利要求1所述的化合物、其药学上可接受的盐或前药，其特征在于：R₁、R₃选自氢。

4. 根据权利要求1所述的化合物、其药学上可接受的盐或前药，其特征在于：R₂选自C₁₋₆亚烷基-苯基，所述苯基任选地被C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、-OC₁₋₆烷基、-OC₁₋₆卤代烷基或卤素取代。

5. 根据权利要求4所述的化合物、其药学上可接受的盐或前药，其特征在于：R₂选自C₁₋₆亚烷基-苯基，所述苯基被C₁₋₆烷基或卤素取代。

6. 根据权利要求1所述的化合物、其药学上可接受的盐或前药，其特征在于：R₄选自苯基或C₅₋₆元杂芳基，所述杂芳基含有1-4个选自N、O和S的杂原子，且所述芳基或芳杂基任选被C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、-COC₁₋₆烷基、-CON(C₁₋₆烷基)₂、-CONHC₁₋₆烷基或四氮唑取代，所述四氮唑任选地被C₁₋₆烷基取代。

7. 根据权利要求1所述的化合物、其药学上可接受的盐或前药，其中化合物选自：

一种新的CCR3抑制剂化合物及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗CCR3介导的疾病的新化合物及其制备方法和用途。

背景技术

[0002] CCR3是一种趋化因子受体,属于G蛋白偶联受体家族。其主要表达于嗜酸性粒细胞,也表达于肥大细胞、Th2淋巴细胞、嗜碱性粒细胞等。CCR3可与多种配体结合,结合后激活瞬时钙离子流、蛋白激酶C等信号转导和转录蛋白、丝裂原活化蛋白激酶的活化等一系列生化效应,对嗜酸性粒细胞、Th2细胞、肥大细胞等产生趋化作用。

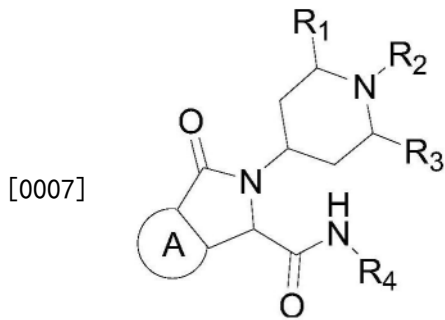
[0003] CCR3最早被认为在过敏性疾病中发挥重要作用,但大量化合物由于成药性和药效不足而临床失败。随后,CCR3在介导血管内皮生成、神经源性炎症中的作用逐渐也引起了人们的重视。Alkahest公司已经展开了广泛的临床试验,探索CCR3拮抗剂AKST4290在湿性年龄相关性黄斑变性、帕金森、皮肤炎症三种疾病上的治疗潜力。其中,AKST4290在湿性年龄相关性黄斑变性上已取得积极的IIa期临床结果。最近,美国Chemomab公司又发现,CCR3的一种内源性配体CCL24在临床前的动物模型中显示了强力地促纤维化作用。Chemomab开发的抗CCL24抗体已顺利进入临床I/II期,正开展包括NASH在内的三种纤维化相关疾病的探索。鉴于CCL24的主要受体是CCR3,同时,基础研究提示CCL24可能是通过CCR3激动发挥促纤维化作用,有理由相信,CCR3拮抗剂未来还可能在包括NASH在内的纤维化疾病中具有潜在的重大价值。

[0004] 以前研发的CCR3拮抗剂,或多或少存在成药性方面的缺陷,比如临床化合物AKST4290,其每日口服剂量达到800mg,与良好的细胞活性数据完全不匹配。经过我们测试发现,该化合物的渗透性非常差(表观渗透系数 $P_{app} < 0.2 \text{ nm/s}$,远小于低渗标准 5 nm/s),低口服生物利用度导致给药剂量偏大,高剂量给药则提升了药物整体风险水平。因此对于提供一种兼具活性和口服生物利用度的新化合物仍在存在广泛需求。

发明内容

[0005] 针对现有报道存在的问题,本发明提供了一类活性优异,生物利用度改善的新的CCR3抑制剂。

[0006] 本发明的一方面在于提供一种如式I所示的CCR3抑制剂化合物、其药学上可接受的盐或前药:



式 I

[0008] 其中：

[0009] A选自 C_{6-10} 芳基或 C_{5-10} 元杂芳基，所述芳基和杂芳基任选被 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 $-OC_{1-6}$ 烷基、 $-OC_{1-6}$ 卤代烷基或卤素取代；

[0010] R_1 、 R_3 选自氢、卤素或 C_{1-6} 的烷基；

[0011] R_2 选自 C_{1-6} 亚烷基-苯基、 C_{1-6} 亚烷基-萘基及 C_{1-6} 亚烷基-杂芳基，所述苯基、萘基或杂芳基任选地被 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 $-OC_{1-6}$ 烷基、 $-OC_{1-6}$ 卤代烷基或卤素取代；

[0012] R_4 选自 C_{6-10} 环烷基或杂环基、 C_{6-10} 芳基或 C_{5-10} 元杂芳基，所述杂环基或杂芳基含有1-4个选自N、O和S的杂原子，且所述环烷基、杂环基、芳基或芳杂基任选被 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、 $-C_{1-6}$ 亚烷基-OH、 $-C_{2-6}$ 亚烯基-OH、 $-C_{2-6}$ 亚炔基-OH、 C_{3-6} 环烷基、 $-COC_{1-6}$ 烷基、 $-CON(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-CONHC_{1-6}烷基$ 、 $-COOC_{1-6}烷基$ 、 $-OC_{1-6}烷基$ 、 $-SO_2C_{1-6}烷基$ 、 $-SO_2C_{1-6}亚烷基-OH$ 、 $-SO_2NHC_{1-6}烷基$ 、 $SO_2N(C_{1-6}烷基)_2$ 、卤素、CN或 C_{6-10} 芳基或 C_{5-10} 杂芳基，所述杂芳基含有1-4个选自N、O和S的杂原子，且所述芳基或杂芳基任选地被 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 $-OC_{1-6}$ 烷基、 $-OC_{1-6}$ 卤代烷基或卤素取代。

[0013] 在另一个实施方案中，A选自苯基。

[0014] 在另一个实施方案中， R_1 、 R_3 选自氢。

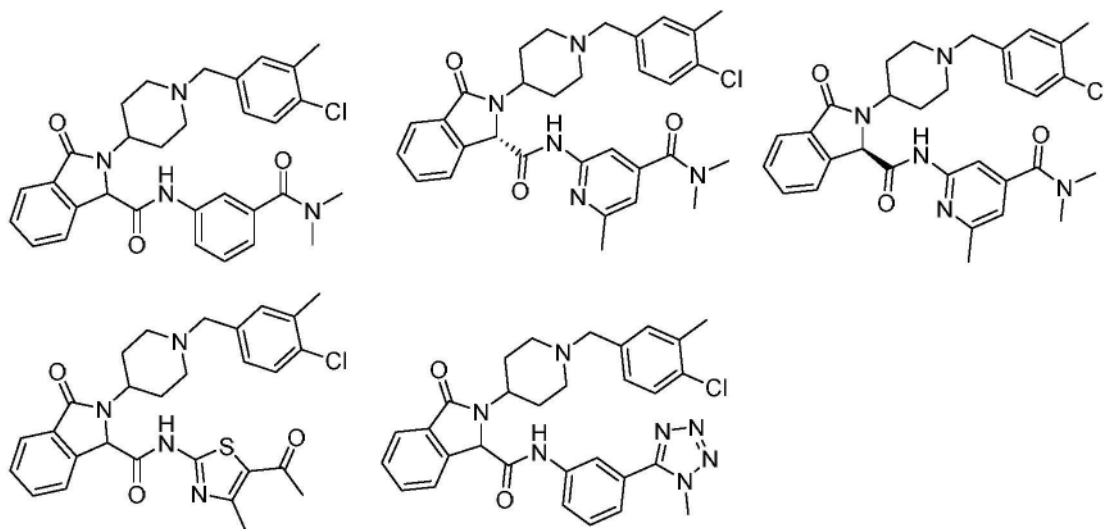
[0015] 在另一个实施方案中， R_2 选自 C_{1-6} 亚烷基-苯基，所述苯基任选地被 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 $-OC_{1-6}$ 烷基、 $-OC_{1-6}$ 卤代烷基或卤素取代。

[0016] 在另一个优选的实施方案中， R_2 选自 C_{1-6} 亚烷基-苯基，所述苯基被 C_{1-6} 烷基或卤素取代。

[0017] 在另一个实施方案中， R_4 选自苯基或 C_{5-6} 元杂芳基，所述杂芳基含有1-4个选自N、O和S的杂原子，且所述芳基或芳杂基任选被 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 $-COC_{1-6}烷基$ 、 $-CON(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $-CONHC_{1-6}烷基$ 或四氮唑，且所述四氮唑任选地被 C_{1-6} 烷基取代。

[0018] 在另一个具体的实施方案中，本发明式I化合物选自：

[0019]



[0020] 本发明的第二方面在于提供一种药物组合物,所述药物组合物包含本发明第一方面所述的化合物、其药学上可接受的盐或前药,和药学上可接受的赋形剂。

[0021] 本发明的第三方面在于提供本发明第一方面所述的化合物、其药学上可接受的盐或前药在制备用于预防或治疗CCR3相关的紊乱或疾病的药物中的用途。

[0022] 在一些具体的实施方案中,所述CCR3相关的紊乱或疾病包括哮喘与变应性疾病、帕金森、胃肠炎性疾病、嗜酸性粒细胞性疾病、慢性阻塞性肺病、类风湿性关节炎及动脉粥样硬化、神经退行性疾病或视网膜新生血管病变。

[0023] 定义

[0024] 除非在下文中另有定义,本文中所有的技术术语和科学术语的含义意图与本领域技术人员通常所理解的相同。提及本文中使用的技术意图指在本领域中通常所理解的技术,包括那些对本领域技术人员显而易见的技术的变化或等效技术的替换。虽然相信以下术语对于本领域技术人员很好理解,但仍然阐述以下定义以更好地解释本发明。

[0025] 如本文中所使用,术语“包括”、“包含”、“具有”、“含有”或“涉及”及其在本文中的其它变体形式为包含性的(inclusive)或开放式的,且不排除其它未列举的元素或方法步骤。

[0026] 如本文中所使用,术语“氢”及各基团中的氢是指气(H)、氘(D)或氚(T)。

[0027] 如本文中所使用,术语“烷基”定义为直链或支链的单价饱和脂肪族烃基。C1-12烷基是指具有1至12个碳原子的烷基,例如1至6个碳原子(C1-6烷基)或1至4个碳原子(C1-4烷基)。例如,如本文中所使用,术语“C1-6烷基”指1至6个碳原子的线性或支化的基团(例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基或正己基),其任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基如卤素取代(此时该基团被称作“卤代烷基”) (例如CH₂F、CHF₂、CF₃、CCl₃、C₂F₅、C₂C₁₅、CH₂CF₃、CH₂C₁或-CH₂CH₂CF₃等)。术语“C1-4烷基”指1至4个碳原子的线性或支化的脂肪族烃链(即甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基)。

[0028] 如本文中所使用,术语“烯基”意指直链或支链的单价烃基,其包含一个或多个双键,且具有2-6个碳原子(“C2-6烯基”)。所述烯基包括但不限于乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、4-戊烯基、2-己烯基、3-己烯基、4-己烯基、5-

己烯基、2-甲基-2-丙烯基和4-甲基-3-戊烯基。当本发明的化合物含有烯基时,所述化合物可以纯E(异侧(entgegen))构型、纯Z(同侧(zusammen))构型或其任意比例混合物形式存在。

[0029] 如本文中所使用,术语“炔基”表示包含一个或多个三键的单价烃基,可为直链也可带有支链,包括但不限于乙炔基、1-丙炔基、3-丙炔基等。

[0030] 如本文中所使用,术语“环烷基”指饱和的单环或多环(诸如双环)烃环(例如单环,诸如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基,或双环,包括但不限于螺环、稠合或桥连系统(诸如双环[1.1.1]戊基、双环[2.2.1]庚基、双环[3.2.1]辛基或双环[5.2.0]壬基、十氢化萘基等),其任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基取代。所述环烷基具有3至15个碳原子。例如,术语“C₃₋₆环烷基”指3至6个成环碳原子的饱和的单环或多环(诸如双环)烃环(例如环丙基、环丁基、环戊基或环己基),其任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基取代,例如甲基取代的环丙基。

[0031] 如本文中所使用,术语“杂环基”指饱和或部分不饱和的一价单环或双环基团,其在环中具有2、3、4、5、6、7、8或9个碳原子和一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)选自C(=O)、O、S、S(=O)、S(=O)₂和NRa的含杂原子的基团,其中Ra表示氢原子或C₁₋₆烷基或C₁₋₆卤代烷基;所述杂环基可以通过所述碳原子中的任一个或氮原子(如果存在的话)与分子的其余部分连接。特别地,3-10元杂环基为在环中具有3-10个碳原子及杂原子的基团,包括但不限于环氧乙烷基、氮丙啶基、氮杂环丁烷基(azetidiny)、氧杂环丁烷基(oxetanyl)、四氢呋喃基、二氧杂环戊烯基(dioxolinyl)、吡咯烷基、吡咯烷酮基、咪唑烷基、吡唑烷基、吡咯啉基、四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、二噻烷基(dithianyl)、硫吗啉基、哌嗪基或三噻烷基(trithianyl)。

[0032] 如本文中所使用,术语“芳基”指具有共轭 π 电子系统的全碳单环或稠合环多环芳族基团。例如,如本文中所使用,术语“C₆₋₁₄芳基”意指含有6至14个碳原子的芳族基团,诸如苯基或萘基。芳基任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基(例如卤素、-OH、-CN、-NO₂、C₁₋₆烷基等)取代。

[0033] 如本文中所使用,术语“杂芳基”是指含有5-14个环成员的芳基,且所述环成员中包含至少1个(例如1、2、3或4个)选自N、O和S的杂原子,可为单环结构或稠合双环结构,其具体实例包括但不限于呋喃基、噻吩基、吡咯基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、噁唑基、异噁唑基、咪唑基、吡唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、吡啶基、2-吡啶酮基、4-吡啶酮基、嘧啶基、2H-1,2-噁嗪基、4H-1,2-噁嗪基、6H-1,2-噁嗪基、4H-1,3-噁嗪基、6H-1,3-噁嗪基、4H-1,4-噁嗪基、哒嗪基、吡嗪基、1,2,3-三嗪基、1,3,5-三嗪基、1,2,4,5-四嗪基、吡啶基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹啉基、异喹啉基、喹唑啉基等。

[0034] 如本文所用,术语“卤素”自身或作为另一取代基的部分,意指(除非另外说明)氟、氯、溴或碘原子。另外,术语“卤代烷基”意在包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如,术语“C₁₋₄卤代烷基”意在包括三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基、二氟甲基等。

[0035] 如本文中所使用,术语“取代”指所指定的原子上一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)氢被从所指出的基团的选择代替,条件是未超过所指定的原子在当前情况下的正常原子价并且所述取代形成稳定的化合物。取代基和/或变量的组合仅仅当这种组合

形成稳定的化合物时才是允许的。

[0036] 如果取代基被描述为“任选地被...取代”，则取代基可(1)未被取代或(2)被取代。如果取代基的碳被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代，则碳上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可单独和/或一起被独立地选择的取代基任选地替代。如果取代基的氮被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代，则氮上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可各自被独立地选择的取代基任选地替代。

[0037] 除非另外指明，否则如本文中所使用，取代基的连接点可来自取代基的任意适宜位置。

[0038] 本发明还包括所有药学上可接受的同位素标记的化合物，其与本发明的化合物相同，除了一个或多个原子被具有相同原子序数但原子质量或质量数不同于在自然界中占优势的原子质量或质量数的原子替代。适合包含入本发明的化合物中的同位素的实例包括(但不限于)氢的同位素(例如氘(^2H)、氚(^3H))；碳的同位素(例如 ^{11}C 、 ^{13}C 及 ^{14}C)；氯的同位素(例如 ^{36}Cl)；氟的同位素(例如 ^{18}F)；碘的同位素(例如 ^{123}I 及 ^{125}I)；氮的同位素(例如 ^{13}N 及 ^{15}N)；氧的同位素(例如 ^{15}O 、 ^{17}O 及 ^{18}O)；磷的同位素(例如 ^{32}P)；及硫的同位素(例如 ^{35}S)。某些同位素标记的本发明的化合物(例如掺入放射性同位素的那些)可用于药物和/或底物组织分布研究(例如分析)中。放射性同位素氚(即 ^3H)及碳-14(即 ^{14}C)因易于掺入且容易检测而特别可用于该目的。用正电子发射同位素(例如 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O 及 ^{13}N)进行取代可在正电子发射断层显像术(PET)研究中用于检验底物受体占据情况。被同位素标记的本发明的化合物可通过描述于随附路线和/或制备实施例中的那些类似的方法并使用适当的被同位素标记的试剂代替之前采用的非标记的试剂来制备。本发明的药学上可接受的溶剂合物包括其中结晶溶剂全部或部分被同位素取代的那些，例如， D_2O 、丙酮- d_6 或 DMSO-d_6 。同位素标记的本发明的化合物可通过描述于随附路线和/或制备实施例中的那些类似的方法并使用适当的被同位素标记的试剂代替之前采用的非标记的试剂来制备。本发明的药学上可接受的溶剂合物包括其中结晶溶剂全部或部分被同位素取代的那些，例如， D_2O 、丙酮- d_6 或 DMSO-d_6 。

[0039] 术语“立体异构体”包括构象异构体、旋光异构体和顺反异构体。当本发明化合物含有一个或多个不对称中心时，所述化合物可以外消旋混合物、单一对映异构体、非对映异构体混合物或单一非对映异构体的形式存在。本文中可使用实线(-)、实楔形(—)或虚楔形(.....)描绘本发明的化合物的化学键。使用实线以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明，包括该碳原子处的所有可能的立体异构体(例如，特定的对映异构体、外消旋混合物等)。使用实或虚楔形以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明，存在所示的立体异构体。当存在于外消旋混合物中时，使用实及虚楔形以定义相对立体化学，而非绝对立体化学。本发明的化合物若含有烯烃双键，除非特别说明，所述化合物包括顺式异构体和反式异构体。本发明的化合物可以以互变异构体形式存在，所述化合物通过一个或多个双键位移而具有不同的氢的连接点，代表性实例包括酰胺-亚胺酸互变异构体、酮-烯醇互变异构体、亚硝基-肟互变异构体、亚胺-烯胺互变异构体等。

[0040] 本发明涵盖本发明的化合物的所有可能的结晶形式或多晶型物，其可为单一晶型或多于一种的多晶型物的任意比例的混合物。

[0041] 还应当理解，本发明的某些化合物可以游离形式存在用于治疗，或适当时，以其药学上可接受的衍生物形式存在。在本发明中，药学上可接受的衍生物包括但不限于，药学上

可接受的盐、溶剂合物、N-氧化物、代谢物或前药,在将它们向需要其的患者给药后,能够直接或间接提供本发明的化合物或其代谢物或残余物。因此,当在本文中提及“本发明的化合物”时,也意在涵盖化合物的上述各种衍生物形式。

[0042] 本发明的化合物的药学上可接受的盐包括其酸加成盐及碱加成盐。适合的酸加成盐由形成药学可接受盐的酸来形成。实例包括盐酸盐、硫酸盐、醋酸盐、苹果酸盐、天冬氨酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、乳清酸盐、棕榈酸盐及其它类似的盐。适合的碱加成盐由形成药学可接受盐的碱来形成。实例包括钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铝盐、精氨酸盐、胆碱盐及其它类似的盐。用于制备本发明的化合物的药学上可接受的盐的方法为本领域技术人员已知的。

[0043] 本发明的化合物可以溶剂合物(优选水合物)的形式存在,其中本发明的化合物包含作为所述化合物晶格的结构要素的极性溶剂,特别是例如水、甲醇或乙醇。极性溶剂特别是水的量可以化学计量比或非化学计量比存在。

[0044] 在本发明的范围内还包括本发明的化合物的代谢物,即在给药本发明的化合物时体内形成的物质。这样的产物可由例如被给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、酶解等产生。因此,本发明包括本发明的化合物的代谢物,包括通过使本发明的化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的时间的方法制得的化合物。

[0045] 本发明在其范围内进一步包括本发明的化合物的前药,其为自身可具有较小药理学活性或无药理学活性的本发明的化合物的某些衍生物当被给药至身体中或其上时可通过例如水解裂解转化成具有期望活性的本发明的化合物。通常这样的前药会是所述化合物的官能团衍生物,其易于在体内转化成期望的治疗活性化合物。

[0046] 本发明还涵盖含有保护基的本发明的化合物。在制备本发明的化合物的任何过程中,保护在任何有关分子上的敏感基团或反应基团可能是必需的和/或期望的,由此形成本发明的化合物的化学保护的形式。

[0047] 如本文所用,术语“组合物”意欲涵盖包含规定量的规定成分的产品,以及直接或间接源于规定量的规定成分的组合的任何产品。短语“药学上可接受的”意指载体、稀释剂或赋形剂必须与制剂中的其它成分相容并且对其药物接受者无害。

[0048] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”意在包括用相对无毒的酸或碱制备活性化合物的盐。当本发明化合物含有相对酸性官能团时,可通过将此类化合物的中性形式与足量的纯的或在合适的惰性溶剂中的所需碱接触获得碱加成盐。衍生自药学上可接受的无机碱的盐的实例包括铝、铵、钙、铜、铁、亚铁、锂、镁、锰盐、亚锰、钾、钠、锌等。衍生自药学上可接受的有机碱的盐包括伯胺、仲胺和叔胺(包括取代的胺、环胺、天然存在的胺等)的盐,诸如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙基氨基乙醇、2-二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡糖胺、葡萄糖胺、组氨酸、异丙基胺、赖氨酸、甲基葡糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨丁三醇等。当本发明化合物含有相对碱性官能团时,可通过将此类化合物的中性形式与足量的纯的或在合适的惰性溶剂中的所需酸接触获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括衍生自无机酸如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等,以及衍生自相对无毒的有机酸如乙酸、丙酸、异丁酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲烷磺酸等的盐。还包括氨基酸诸如精氨酸等的盐以及有机酸如

葡糖醛酸或半乳糖醛酸。

[0049] 术语“药学上可接受的载体”是指能够递送本发明有效量活性物质、不干扰活性物质的生物活性并且对宿主或者患者无毒副作用的任何制剂或载体介质代表性的载体包括水、油、蔬菜和矿物质、膏基、洗剂基质、软膏基质等。这些基质包括悬浮剂、增粘剂、透皮促进剂等。它们的制剂为化妆品领域或局部药物领域的技术人员所周知。

[0050] 包含式I化合物的组合物通常根据作为药物组合物的标准药学实践配制。典型的制剂通过将本发明化合物与稀释剂、载体或赋形剂混合制备。制剂还可以包括缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、湿润剂、润滑剂、乳化剂、悬浮剂、防腐剂、抗氧化剂、不透明剂、助流剂、加工助剂、着色剂、增甜剂、芳香剂、调味剂、稀释剂和其它已知的添加剂中的一种或多种。

[0051] 本发明化合物可以以任何便利的使用形式被施用,如片剂、粉末、胶囊、溶液、分散体、悬浮液、糖浆剂、喷雾剂、栓剂、凝胶剂、乳剂、贴剂等。此类组合物可以包含药物制剂中常规的组分,如稀释剂、载体、pH调节剂、增甜剂、填充剂和另外的活性剂。

[0052] 本发明化合物可以通过任何合适的方式施用,包括口服、局部(包括颊部和舌下)、直肠、阴道、透皮、肠胃外、皮下、腹膜内、肺内、皮肤内、鞘内和硬膜外以及鼻内,并且,如果需要用于局部治疗,病灶内施用。肠胃外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内、大脑内、眼内、病灶内或皮下施用。

[0053] 本发明所述与CCR3相关的紊乱或疾病包括哮喘与变应性疾病、胃肠炎性疾病、嗜酸性粒细胞性疾病、慢性阻塞性肺病、类风湿性关节炎及动脉粥样硬化、神经退行性疾病或视网膜新生血管病变。

[0054] 术语“变应性疾病”包括例如变应性哮喘、运动引起的哮喘、过敏性鼻炎、常年性变应性鼻炎、季节性变态反应性鼻炎、特异性皮炎、接触性超敏、接触性皮炎、结膜炎、变应性结膜炎、食物过敏等。

[0055] 术语“神经退行性疾病”包括例如阿兹海默氏症、帕金森、额颞叶型痴呆、肌萎缩性侧索硬化症、多发性硬化症、青光眼、肌强直性营养不良、血管性痴呆、进行性核上性麻痹症等。

[0056] 术语“视网膜新生血管病变”包括例如早产儿视网膜病、年龄相关性黄斑变性、视网膜中央静脉阻塞、糖尿病性视网膜病变等。

[0057] 本发明的化合物经人工或者Chemdraw软件命名,市售化合物采用供应商目录名称。

[0058] 与现有技术相比,本发明的主要优点在于:

[0059] 本发明通过结构的设计和优化,提供了一种具有优异的活性,并且渗透性以及口服生物利用度改善的CCR3抑制剂新化合物。

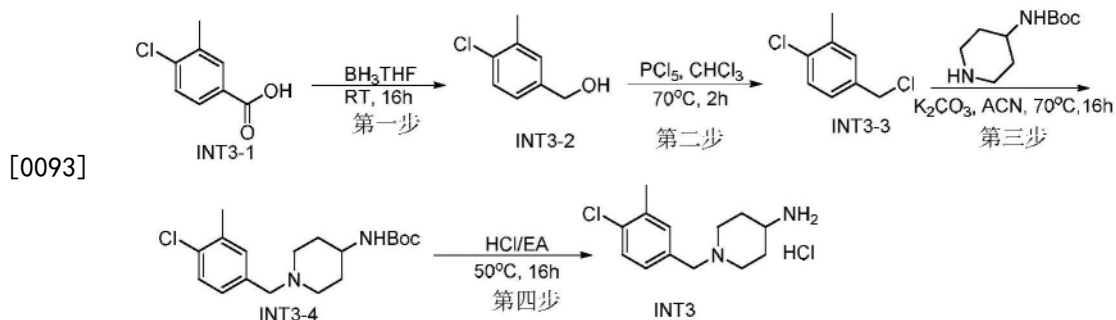
具体实施方式

[0060] 为了使本发明的目的和技术方案更加清楚,以下结合具体实施例进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。并且,下列实施例中未提及的具体实验方法,均按照常规实验方法进行。

[0061] 本文中的缩写具有以下含义:

[0062] 缩写含义

- [0063] TLC 薄层色谱法
- [0064] LC-MS 液相色谱-质谱联用
- [0065] DMF N,N-二甲基甲酰胺
- [0066] DCM 二氯甲烷
- [0067] DMSO 二甲基亚砜
- [0068] EA 乙酸乙酯
- [0069] PE 石油醚
- [0070] THF 四氢呋喃
- [0071] EDCI 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐
- [0072] HOBT 1-羟基苯并三唑
- [0073] Pd(dppf)Cl₂[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯
- [0074] SFC 超临界流体色谱
- [0075] 以下实施例中记载的化合物的结构通过核磁共振波谱 (¹H-NMR) 或质谱 (MS) 来确证。
- [0076] ¹H-NMR的测定仪器为Bruker 400MHz核磁共振仪,测定溶剂为氘代甲醇 (CD₃OD)、氘代氯仿 (CDCl₃) 或六氘代二甲基亚砜 (DMSO-d₆),内标为四甲基硅烷 (TMS)。化学位移 (δ) 以百万分之一 (ppm) 为单位给出。
- [0077] 质谱 (MS) 的测定仪器为Agilent (ESI) 质谱仪,型号为Agilent 6120B。
- [0078] 薄层色谱法 (TLC) 使用Merck产的铝板 (20×20cm) 进行,薄层制备色谱法采用GF254 (0.4~0.5mm) 硅胶板进行。
- [0079] 反应的监测采用薄层色谱法 (TLC) 或液相色谱-质谱联用 (LC-MS),使用的展开剂体系包括二氯甲烷和甲醇体系、正己烷和乙酸乙酯体系以及石油醚和乙酸乙酯体系。根据要分离的化合物的极性不同对展开剂体系进行调节 (通过调节溶剂的体积比或者加入三乙胺等进行)。
- [0080] 制备高效液相色谱法所使用的仪器型号:Agilent 1260,色谱柱:Waters XBridge Prep C180BD (19mm×150mm×5.0μm);色谱柱温:25℃;流速:20.0mL/min;检测波长:214nm;洗脱梯度:(0min:10%A,90%B;16.0min:90%A,10%B);流动相A:100%乙腈;流动相B:0.05%碳酸氢铵水溶液。
- [0081] 除非特别指出,反应温度为室温 (20℃~30℃)。
- [0082] “”表示单一手性异构体的单键。
- [0083] 实施例中所使用的试剂购自Acros Organics、Aldrich Chemical Company、上海特伯化学科技有限公司等。
- [0084] 中间体1 (INT1) 的合成:



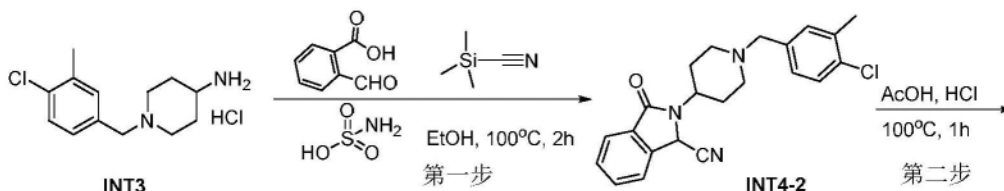
[0094] 第一步:在0℃和氮气保护下,向INT3-1 (50g,294.12mmol) 的四氢呋喃(200mL) 溶液中逐滴加入硼烷四氢呋喃络合物(347mL,160mmol),该体系升至室温,反应搅拌过夜。反应完全后,在0℃下,向反应体系中加入甲醇淬灭,减压除去溶剂得到黄色油状粗品54g。¹H NMR (400MHz,CDCl₃) δ7.31 (d,J=8.0Hz,1H),7.23 (s,1H),7.11 (d,J=7.7Hz,1H),4.63 (s,2H),2.37 (s,3H)。

[0095] 第二步:在0℃下,向INT3-2 (50g,320mmol) 的氯仿(500mL) 中加入五氯化磷(130g,640mmol),该体系升至70℃反应搅拌2小时。反应完全后,在0℃下,向反应体系中加入冰水淬灭,乙酸乙酯萃取后,水洗两次,有机相经无水硫酸钠干燥、过滤,减压蒸发溶剂得到黄色油状化合物(53g,粗品)。¹H NMR (400MHz,CDCl₃) δ7.32 (d,J=8.2Hz,1H),7.25 (s,1H),7.17-7.13 (m,1H),4.53 (s,2H),2.38 (s,3H)。

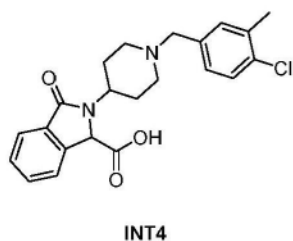
[0096] 第三步:向INT3-3 (30g,172.4mmol) 的乙腈(600mL) 溶液中加入4-叔丁氧羰基氨基哌啶(37.93g,189.65mmol) 和无水碳酸钾(47.59g,344.82mmol),70℃反应搅拌过夜。反应完全后,乙酸乙酯和水萃取,有机相经水洗(X2)、无水硫酸钠干燥、过滤,减压蒸发溶剂后,石油醚打浆,过滤,减压除去溶剂后,得黄色固体化合物(53.6g,粗品)。¹H NMR (400MHz,CDCl₃) δ7.29-7.23 (m,2H),7.16 (s,1H),7.06 (dd,J=8.0,1.7Hz,1H),3.40 (s,2H),2.77 (d,J=11.4Hz,2H),2.35 (s,3H),2.07 (t,J=9.9Hz,2H),1.90 (d,J=11.6Hz,2H),1.44 (s,9H)。ESI-MS m/z 399.1[M+H]⁺。

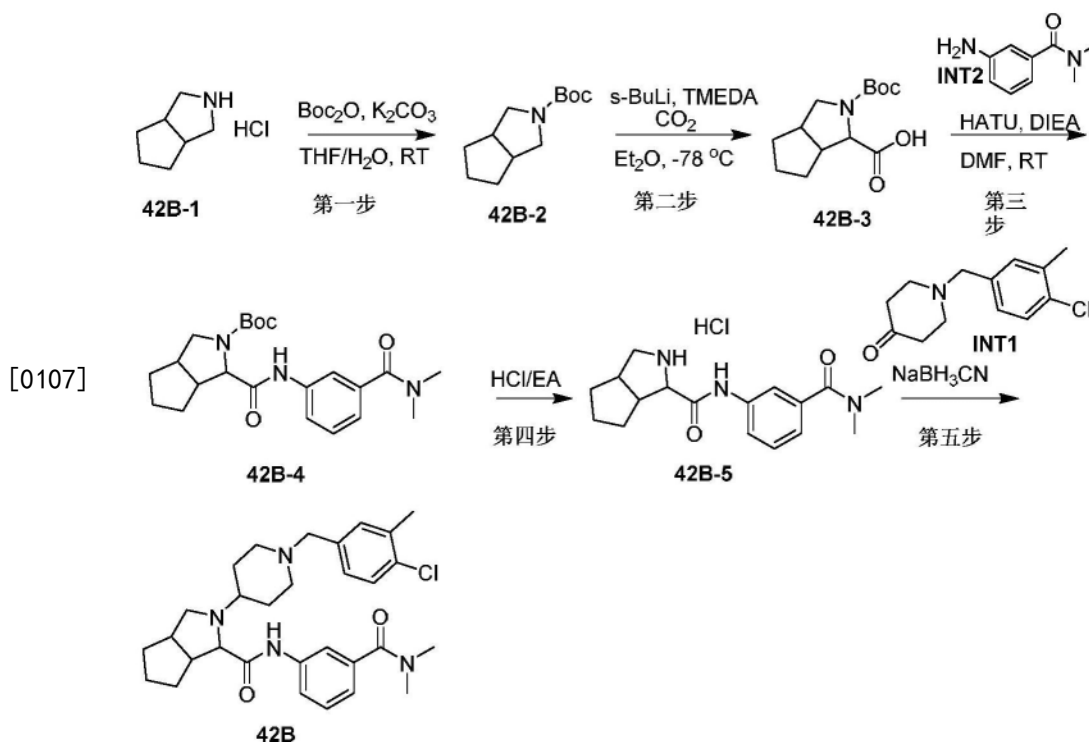
[0097] 第四步:向INT3-4 (50g) 的乙酸乙酯(200mL) 溶液中加入氯化氢的乙酸乙酯溶液(200mL),加热至50℃,搅拌过夜。反应完成后,过滤除去溶剂,得白色固体化合物(47g,粗品)。ESI-MS m/z 239.0[M+H]⁺。

[0098] 中间体4 (INT4) 的合成:



[0099]





[0108] 第一步:将42B-1 (3.0g, 20.32mmol) 和 K_2CO_3 (3.09g, 22.35mmol) 加入四氢呋喃 (15mL) 和水 (15mL) 的混合溶剂中,缓慢滴入 Boc_2O (3.89g, 22.35mmol), 室温反应16h, 反应结束后,用乙酸乙酯 (50mL x 2) 萃取,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤旋干,粗品经硅胶柱层析方法纯化 (PE:EA=10:1), 得到无色油状物 (2.0g, 46% 收率)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 3.56-3.46 (m, 2H), 3.13-3.03 (m, 2H), 2.64-2.52 (m, 2H), 1.83-1.67 (m, 3H), 1.61-1.51 (m, 1H), 1.49-1.35 (m, 11H)。

[0109] 第二步:将42B-2 (2.0g, 9.46mmol) 和TMEDA (1.21g, 10.41mmol) 溶解在无水乙醚 (30mL) 中,冷至 -78°C ,滴入1.3M的s-BuLi (8mL, 10.41mmol), -78°C 反应0.5h,持续通入干燥的二氧化碳气体, -78°C 反应1h。反应结束后,加入1M盐酸 (30mL) 淬灭反应,乙酸乙酯 (50mL x 2) 萃取,有机相用食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤旋干,得到黄色油状物 (500mg, 20%)。ESI-MS m/z 156.2[M-Boc+1] $^+$ 。

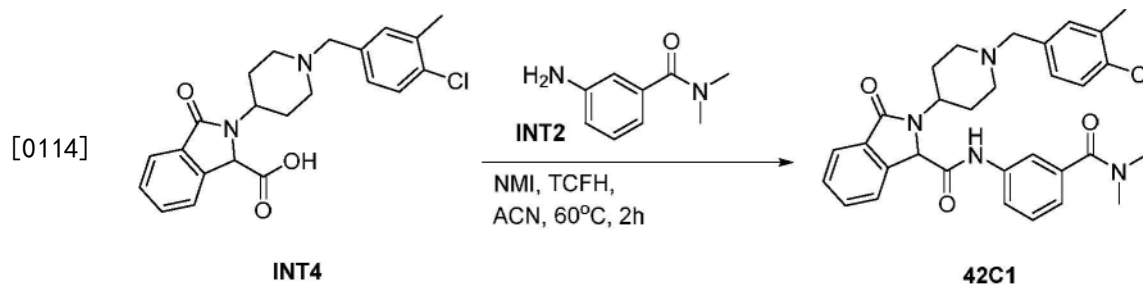
[0110] 第三步:将42B-3 (450mg, 1.76mmol), INT2 (290mg, 1.76mmol), HATU (804mg, 2.12mmol) 和DIEA (683mg, 5.29mmol) 溶解在DMF (5mL) 中,室温反应16h。反应结束后,加水 (50mL) 淬灭反应,乙酸乙酯 (20mL x 2) 萃取,有机相用食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤旋干,粗品经硅胶柱层析纯化 (DCM:MeOH=20:1-10:1), 得到无色油状物 (300mg, 50% 纯度)。ESI-MS m/z 402.3[M+H] $^+$ 。

[0111] 第四步:将42B-4 (270mg, 0.672mmol) 溶解在乙酸乙酯 (10mL) 中,加入1M盐酸乙酸乙酯溶液 (10mL, 10mmol), 室温反应2h, 反应结束后,减压浓缩,得到180mg黄色粗品。 ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7.77 (t, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 7.69-7.65 (m, 1H), 7.45 (t, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 7.23-7.19 (m, 1H), 4.00 (d, $J=6.2\text{Hz}$, 1H), 3.78-3.67 (m, 1H), 3.11 (s, 3H), 3.03-2.93 (m, 6H), 1.97-1.75 (m, 5H), 1.66-1.58 (m, 1H)。ESI-MS m/z 302.1[M+H] $^+$ 。

[0112] 第五步:将42B-5 (180mg, 0.533mmol), INT1 (174mg, 1.06mmol) 溶于甲醇 (9mL) 和乙酸 (0.9mL) 中,室温反应0.5h。分批加入 NaBH_3CN (101mg, 1.60mmol), 室温反应16h。反应结

束后,用酸性反向制备色谱纯化,得到白色固体(17.4mg,6.2%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.73(s,1H),7.75-7.63(m,2H),7.38-7.28(m,2H),7.22(s,1H),7.12-7.02(m,2H),3.39-3.35(m,2H),3.10-2.86(m,8H),2.84-2.56(m,4H),2.35-2.27(m,4H),2.21-2.11(m,1H),2.00-1.85(m,2H),1.81-1.75(m,1H),1.71-1.63(m,2H),1.62-1.52(m,4H),1.49-1.37(m,3H)。ESI-MS m/z 523.4[M+H]⁺。

[0113] 实施例3:2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(3-(二甲基羰基)苯基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺(42C1)的合成

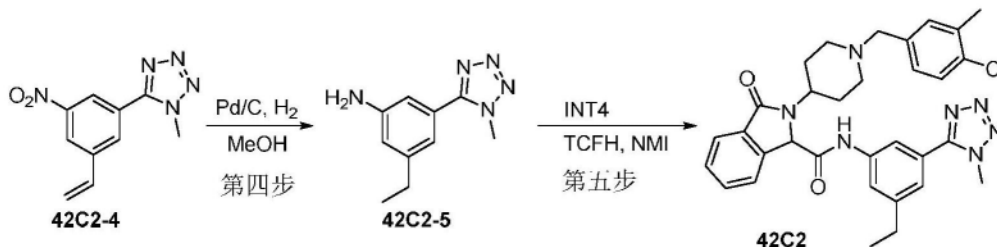


[0115] 在氮气保护条件下,向化合物INT4(90mg,0.23mmol)的无水乙腈(2mL)溶液中加入3-氨基-N,N-二甲基苯甲酰胺(75mg,0.46mmol)和NMI(94mg,1.15mmol),室温条件下搅拌10分钟后,加入TCFH(129mg,0.46mmol),升至60°C搅拌2小时。反应结束后,反应液经反相制备纯化得到目标产物,白色固体化合物(10mg,收率8.13%)。¹H NMR(400MHz,MeOD-d₆) δ 7.80(d,J=7.5Hz,1H),7.72(d,J=1.7Hz,1H),7.67-7.53(m,4H),7.43(d,J=7.9Hz,1H),7.27(d,J=8.1Hz,1H),7.24(d,J=1.5Hz,1H),7.21-7.18(m,1H),7.11(dd,J=8.1,1.9Hz,1H),5.43(s,1H),4.15-4.10(m,1H),3.52-3.42(m,2H),3.08(s,3H),2.96-2.93(m,5H),2.34(s,3H),2.20-2.10(m,2H),2.05-1.86(m,4H)。ESI-MS m/z 545.2[M+H]⁺。

[0116] 实施例4:2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(3-乙基-5-(1-甲基-1H-四氮唑-5-基)苯基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺(42C2)的制备



[0117]



[0118] 第一步:在室温下,向化合物42C2-1(5g,20mmol)的DCM(100mL)溶液中加入草酰氯(12.7g,100mmol)、室温搅拌3h后旋干,加THF(100mL)溶清,冰浴下加入DIEA(5.2g,40.6mmol),缓慢滴加甲胺的THF溶液(15mL,30mmol)。滴完后升至室温搅拌2h,反应液中加入水(100mL),加EA(100mL*2)萃取两次,有机层加无水硫酸钠干燥,旋干得到淡黄色固体(4.5g,收率:85.5%)。ESI-MS m/z 258.9[M+H]⁺。

[0119] 第二步:冰浴下,向化合物42C2-2 (5g, 19.3mmol) 中加入乙腈(100mL)、NaN₃ (1.25g, 19.3mmol)、缓慢滴加三氟甲磺酸酐(5.45g, 19.3mmol),滴完后升至室温搅拌过夜。LCMS监测反应完成后,反应液中加入饱和碳酸氢钠(100mL),EA(100mL*2)萃取两次,无水硫酸钠干燥有机相,旋干得黄色固体3.1g(收率:56.6%)。¹H NMR(400MHz, DMSO) δ8.65 (dt, J=9.8, 2.0Hz, 2H), 8.48 (t, J=1.6Hz, 1H), 4.20 (s, 3H)。ESI-MS m/z 284.1 [M+H]⁺。

[0120] 第三步:在室温条件下,向40mL二氧六环中加入42C2-3 (1.9g, 6.7mmol)、乙烯基硼酸频哪醇酯(1.03g, 6.7mmol)、Pd(dppf)Cl₂(0.49g, 0.67mmol)、碳酸铯(4.4g, 13.4mmol)和水(5mL),升温至100℃,搅拌16h。LCMS监测反应完成后,将反应液加水(50mL)和EA(50mL*3)萃取,有机层经饱和硫代硫酸钠(50mL)、饱和氯化钠(50mL)洗,无水硫酸钠干燥,减压蒸干得棕色油状物1.3g(收率57.2%)。ESI-MS m/z 232.2 [M+H]⁺。

[0121] 第四步:在室温条件下,向化合物42C2-4 (3g, 13.0mmol) 中加入MeOH(50mL)、DCM(50mL)、Pd/C(0.5g),升温至40℃搅拌16h,LCMS确认反应完全后过滤,滤液旋干得黄色固体2.6g(收率98.6%)。ESI-MS m/z 204.1 [M+H]⁺。

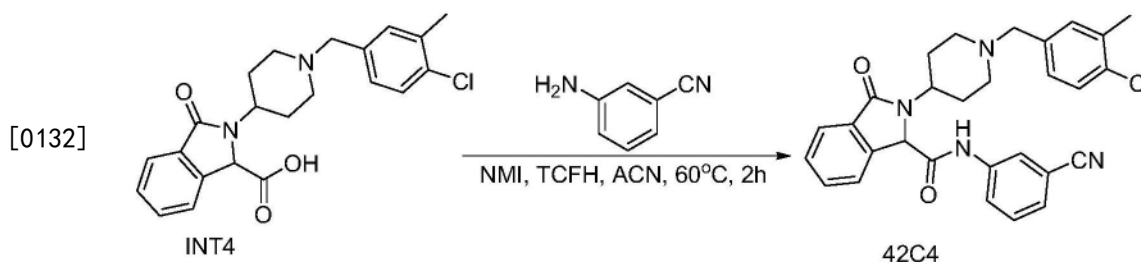
[0122] 第五步:在室温下,向42C2-5 (230mg, 1.13mmol) 的乙腈(10mL)溶液中加入INT3 (150mg, 0.38mmol)、N-甲基咪唑(93mg, 1.13mmol),升温至70℃搅拌15min,向体系中加入TCFH(317mg, 1.13mmol),保持70℃搅拌过夜。LCMS监测反应完成,减压浓缩后,经高压液相制备色谱(0.1%FA)纯化后得白色固体51.6mg(收率23.5%)。¹H NMR(400MHz, DMSO) δ10.89 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.79-7.67 (m, 2H), 7.60 (dd, J=7.0, 5.1Hz, 2H), 7.57-7.50 (m, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.32 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.11 (d, J=8.2Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 4.16 (s, 3H), 3.98 (t, J=11.7Hz, 1H), 3.46-3.36 (m, 2H), 2.85 (t, J=10.8Hz, 2H), 2.71 (q, J=7.5Hz, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.03 (t, J=11.9Hz, 2H), 1.89-1.69 (m, 4H), 1.23 (t, J=7.6Hz, 3H)。ESI-MS m/z 584.4 [M+H]⁺。

[0123] 实施例5:2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(3-(二甲基胺酰基)-5-(1-甲基-1H-四氮唑-5-基)苯基)-3-氧代异吲哚啉1-甲酰胺(42C3)的合成

ESI-MS m/z 247.1 $[M+H]^+$ 。

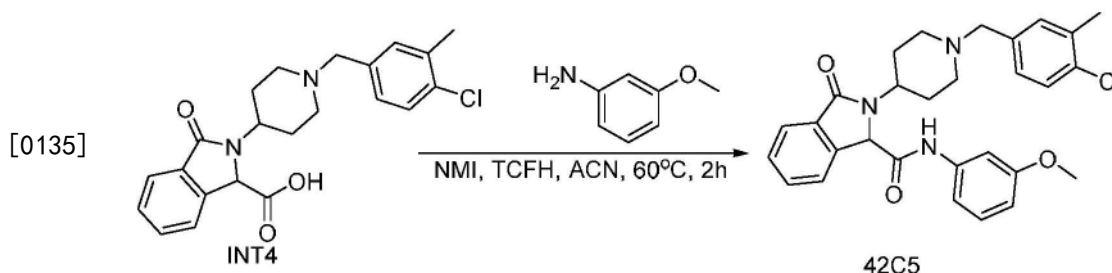
[0130] 第六步:在室温下,向42C3-5 (615mg, 2.5mmol) 的乙腈 (10mL) 溶液中加入INT3 (500mg, 1.25mmol)、N-甲基咪唑 (616mg, 7.5mmol), 升温至70℃搅拌15min, 向体系中加入TCFH (1.05g, 3.75mmol), 保持70℃搅拌过夜。LCMS监测反应完成, 旋干送高压液相制备色谱 (0.1%FA) 进行纯化, 冻干后得白色固体50.3mg (收率6.4%)。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 11.02 (s, 1H), 8.15 (t, $J=1.7$ Hz, 1H), 7.94-7.89 (m, 1H), 7.73 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.66-7.58 (m, 3H), 7.55 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.12 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 4.18 (s, 3H), 4.02-3.93 (m, 1H), 3.40 (s, 2H), 2.98 (d, $J=18.8$ Hz, 6H), 2.85 (s, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.03 (t, $J=11.2$ Hz, 2H), 1.90-1.72 (m, 4H)。ESI-MS m/z 627.4 $[M+H]^+$ 。

[0131] 实施例6:2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(3-氰基苯基)-3-氧代异吲哚啉1-甲酰胺 (42C4) 的合成



[0133] 在氮气保护条件下,向化合物INT4 (20mg, 0.05mmol) 的无水乙腈 (2mL) 中加入间氨基苯甲腈 (12mg, 0.1mmol) 和NMI (21mg, 0.25mmol) 该体系室温条件下搅拌10分钟, 加入TCFH (28mg, 0.1mmol)。该体系升至60℃反应搅拌2小时。反应结束后, 反应液经反相制备纯化得到目标产物, 白色固体化合物 (3.5mg, 收率13.99%)。¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10.99 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.91-7.86 (m, 1H), 7.72 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.62-7.52 (m, 5H), 7.33 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.12 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 3.96 (br s, 1H), 3.40 (s, 2H), 2.85 (br s, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.02-2.00 (m, 2H), 1.88-1.69 (m, 4H)。ESI-MS m/z 499.2 $[M+H]^+$ 。

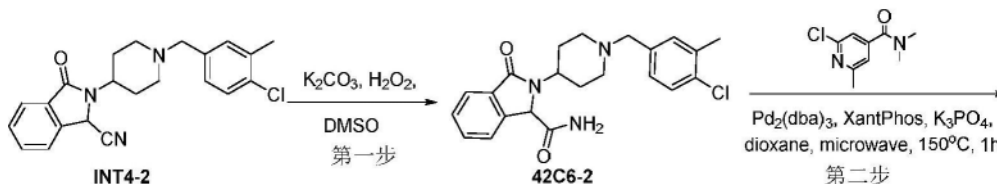
[0134] 实施例7:2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(3-甲氧基苯基)-3-氧代异吲哚啉1-甲酰胺 (42C5) 的合成



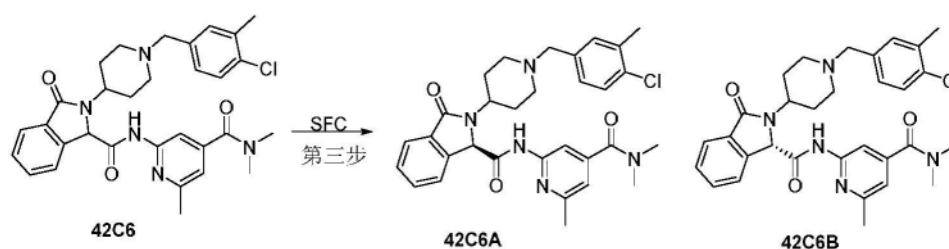
[0136] 在氮气保护条件下,向化合物INT4 (300mg, 0.8mmol) 的无水乙腈 (5mL) 中加入间氨基苯甲醚 (190mg, 1.66mmol) 和NMI (330mg, 4mmol) 该体系室温条件下搅拌10分钟, 加入TCFH (450mg, 1.6mmol), 该体系升至60℃反应搅拌2小时。反应结束后, 反应液经反相制备纯化得到目标产物, 白色固体化合物 (15.9mg, 收率: 4.19%)。¹H NMR (400MHz, MeOD) δ 7.80 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.65-7.52 (m, 3H), 7.30-7.20 (m, 4H), 7.15-7.08 (m, 2H), 6.72 (dd, $J=7.9, 2.1$ Hz, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.14 (td, $J=11.6, 5.7$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.48 (q, $J=12.9$ Hz,

2H), 2.98 (d, $J=9.0\text{Hz}$, 2H), 2.33 (s, 3H), 2.19-2.13 (m, 2H), 2.07-1.85 (m, 4H)。ESI-MS m/z 504.2 $[M+H]^+$ 。

[0137] 实施例8: 2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(4-(二甲基氨基)-6-甲基吡啶-2-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺 (42C6)、(R)-2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(4-(二甲基氨基)-6-甲基吡啶-2-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺 (42C6A) 和 (S)-2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(4-(二甲基氨基)-6-甲基吡啶-2-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺 (42C6B) 的合成



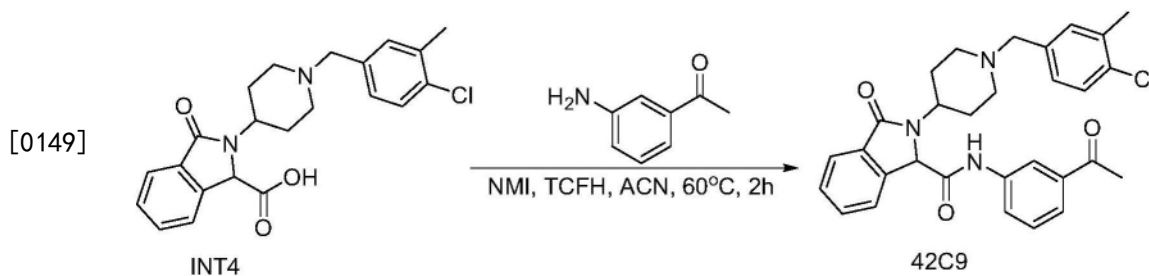
[0138]



[0139] 第一步: 在 0°C 下, 向化合物INT4-2 (2g, 5.28mmol) 的DMSO溶液 (10mL) 中加入无水碳酸钾 (3.1g, 15.84mmol) 和过氧化氢 (2mL), 该体系升至室温反应搅拌1小时。反应结束后, 加入饱和硫代硫酸钠淬灭, 乙酸乙酯萃取, 水洗两次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去溶剂得到黄色油状化合物 (700mg, 粗品)。ESI-MS m/z 398.1 $[M+H]^+$ 。

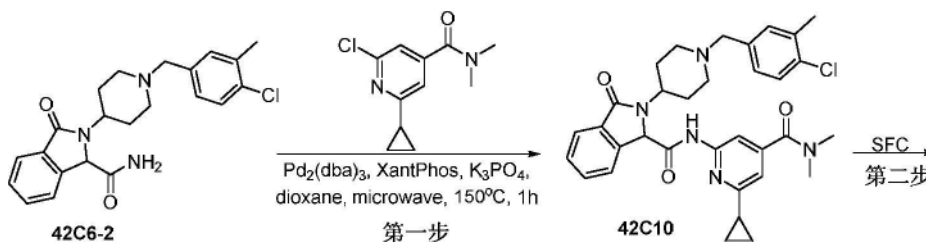
[0140] 第二步: 在氮气保护条件下, 向化合物42C6-2 (120mg, 0.3mmol) 的无水二氧六环 (5mL) 溶液中加入2-氯-N,N-6-三甲基-4-吡啶羧酰胺 (119mg, 0.6mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (55mg, 0.06mmol), XantPhos (104mg, 0.18mmol) 和无水磷酸三钾 (76mg, 0.36mmol), 该体系升至 150°C 微波反应1小时。反应结束后, 反应液过滤后经反相制备纯化得到目标产物, 白色固体化合物 (35.2mg, 收率: 20.84%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 11.59 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.70 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 2H), 7.62-7.50 (m, 3H), 7.33 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.12 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.68 (s, 1H), 3.97-3.95 (m, 1H), 3.42 (s, 2H), 2.94 (s, 3H), 2.83-2.80 (m, 5H), 2.49 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.04-2.02 (m, 2H), 1.75-1.72 (m, 4H)。ESI-MS m/z 560.2 $[M+H]^+$ 。

[0141] 第三步: 将化合物42C6-3 (30mg) 经手性色谱柱拆分纯化得到目标产物42C6A和42C6B, 手性柱型号: CHIRALPAK AD-H 10um 2.5*25cm; 流速: 70g/min; 流动相: 超临界二氧化碳: 甲醇=60:40; 检测波长: 214nm。其中, 产物42C6A, 白色固体化合物 (11.8mg), 保留时间2.626分钟。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 11.59 (s, 1H), 7.70 (d, $J=4.3\text{Hz}$, 2H), 7.61-7.50 (m, 3H), 7.33 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.12 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.68 (s, 1H), 3.97-3.96 (m, 1H), 3.40 (s, 2H), 2.94 (s, 3H), 2.83-2.80 (m, 5H), 2.49 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.02-2.00 (m, 2H), 1.76-1.72 (m, 4H)。ESI-MS m/z 560.3 $[M+H]^+$ 。产物42C6B, 白色固体化合物 (12.1mg), 保留时间0.969分钟。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 11.59 (s, 1H), 7.70 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 2H), 7.62-7.50 (m, 3H), 7.33 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.12 (d, $J=8.0\text{Hz}$,

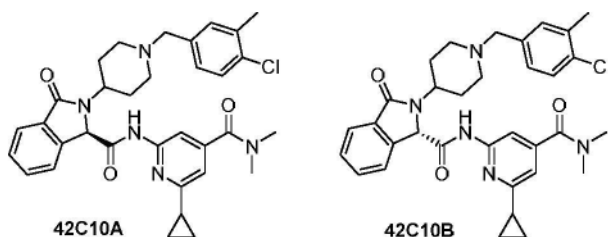


[0150] 在氮气保护条件下,向化合物INT4 (300mg, 0.8mmol) 的无水乙腈 (5mL) 溶液中加入间氨基苯乙酮 (220mg, 1.6mmol) 和NMI (330mg, 4mmol) 该体系室温条件下搅拌10分钟,加入TCFH (450mg, 1.6mmol), 该体系升至60°C反应搅拌2小时。反应结束后,反应液经反相制备纯化得到目标产物,白色固体化合物 (30.8mg, 收率:7.94%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 10.87 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.91 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.72 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.60 (d, J=3.8Hz, 2H), 7.56-7.48 (m, 2H), 7.32 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.11 (d, J=8.0Hz, 1H), 5.47 (s, 1H), 3.97-3.95 (m, 1H), 3.40 (s, 2H), 2.85 (t, J=11.1Hz, 2H), 2.56 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.03 (t, J=11.6Hz, 2H), 1.89-1.71 (m, 4H)。ESI-MS m/z 516.2 [M+H]⁺。

[0151] 实施例12:2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(4-(二甲基氨基)-6-环丙基吡啶-2-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺 (42C10)、(R)-2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(4-(二甲基氨基)-6-环丙基吡啶-2-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺 (42C10A) 和 (S)-2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(4-(二甲基氨基)-6-环丙基吡啶-2-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺 (42C10B) 的合成



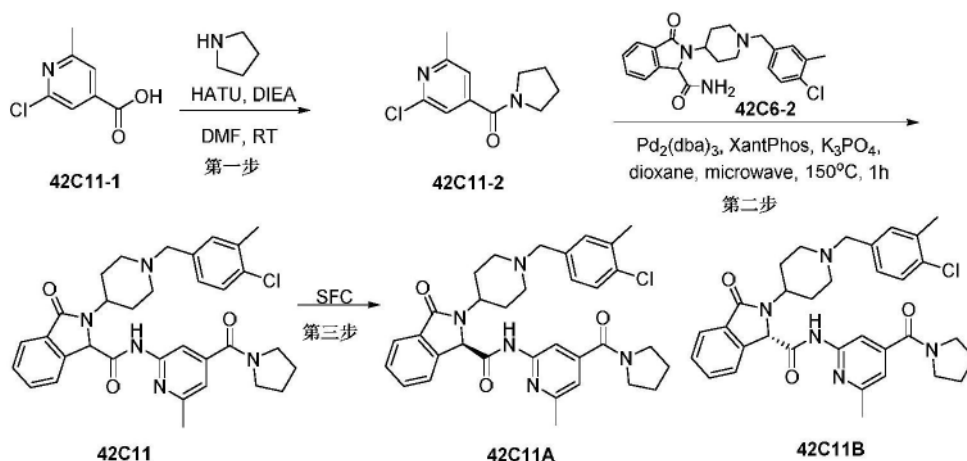
[0152]



[0153] 第一步:在氮气保护条件下,向化合物42C6-2 (300mg, 0.75mmol) 的无水二氧六环 (5mL) 溶液中加入2-氯-6-环丙基-N,N-二甲基异烟酰胺 (300mg, 1.5mmol), Pd₂(dba)₃ (140mg, 0.15mmol), XantPhos (260mg, 0.45mmol) 和无水磷酸三钾 (190mg, 0.9mmol), 该体系升至150°C微波反应1小时。反应结束后,反应液过滤,滤液浓缩后经反相制备纯化得到目标产物,白固体化合物 (120mg, 收率:27.15%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 11.35 (s, 1H), 7.70 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.62-7.49 (m, 3H), 7.33 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.11 (dd, J=8.1, 1.8Hz, 1H), 7.07 (d, J=1.1Hz, 1H), 5.72 (s, 1H), 4.02-3.90 (m, 1H), 3.40 (d, J=5.3Hz, 2H), 2.94 (s, 3H), 2.83 (s, 5H), 2.30 (d, J=5.2Hz, 3H), 2.20-2.11 (m, 1H), 2.02 (t, J=11.8Hz, 2H), 1.87-1.65 (m, 4H), 1.06-0.99 (m, 4H)。ESI-MS m/z 586.4 [M+H]⁺。

[0154] 第二步:将化合物42C10(100mg)经手性拆分纯化得到目标产物42C10A和42C10B,手性柱型号:CHIRALPAK AD-H 10um 2.5*25cm;流速:70g/min;流动相:超临界二氧化碳:甲醇=60:40;检测波长:214nm。其中,42C10A白色固体化合物(40.2mg),保留时间3.725分钟。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ11.36(s,1H),7.70(d,J=7.4Hz,1H),7.64(s,1H),7.62-7.49(m,3H),7.33(d,J=8.1Hz,1H),7.24(s,1H),7.12(d,J=8.0Hz,1H),7.07(s,1H),5.72(s,1H),3.96(t,J=11.5Hz,1H),3.40(d,J=4.8Hz,2H),2.94(s,3H),2.83(s,5H),2.30(s,3H),2.15(t,J=6.0Hz,1H),2.00(d,J=11.8Hz,2H),1.88-1.68(m,4H),1.03(d,J=9.9Hz,4H)。ESI-MS m/z 586.2[M+H]⁺。产物42C10B,白色固体化合物(41.8mg),保留时间2.875分钟。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ11.36(s,1H),7.70(d,J=7.4Hz,1H),7.64(s,1H),7.62-7.49(m,3H),7.33(d,J=8.1Hz,1H),7.25(s,1H),7.12(d,J=7.5Hz,1H),7.07(d,J=1.1Hz,1H),5.72(s,1H),3.97(s,1H),3.41(s,2H),2.94(s,3H),2.83(s,5H),2.30(s,3H),2.19-2.11(m,1H),2.02(d,J=7.6Hz,2H),1.77(s,4H),1.09-0.96(m,4H)。ESI-MS m/z 586.2[M+H]⁺。

[0155] 实施例13:2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(6-甲基-4-(四氢吡咯-1-基-羰基)吡啶-2-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺(42C11)、(R)-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(6-甲基-4-(四氢吡咯-1-基-羰基)吡啶-2-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺(42C11A)和(S)-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(6-甲基-4-(四氢吡咯-1-基-羰基)吡啶-2-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺(42C11B)的合成



[0156]

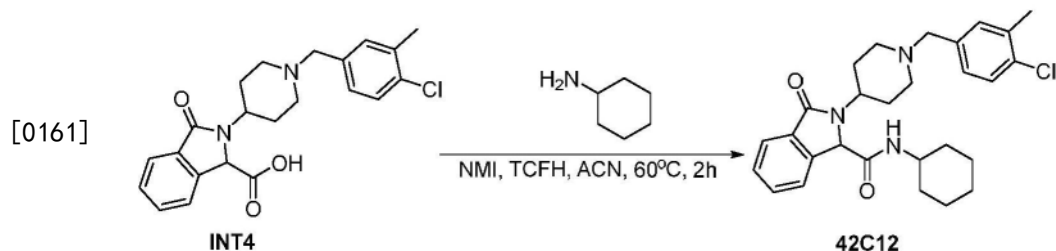
[0157] 第一步:向化合物INT3(3g,17.48mmol)的DMF(5mL)溶液中加入四氢吡咯(1.24g,17.48mmol)和DIEA(4.5g,34.96mmol),该体系室温搅拌2h。反应结束后,乙酸乙酯萃取,水洗两次,无水硫酸钠干燥,过滤。有机相浓缩残留物经硅胶负载后柱层析(石油醚/乙酸乙酯:2:1)提纯,得到黄色油状物(2.5g,收率:63.64%)。ESI-MS m/z 225.1[M+H]⁺。

[0158] 第二步:在氮气保护条件下,向化合物42C6-2(300mg,0.75mmol)的无水二氧六环(5mL)溶液中加入42C11-2(300mg,1.5mmol),Pd₂(dba)₃(140mg,0.15mmol),XantPhos(260mg,0.45mmol)和无水磷酸三钾(190mg,0.9mmol),该体系升至150°C微波反应1小时。反应结束后,反应液过滤,滤饼经乙酸乙酯洗涤,滤液浓缩后经反相制备纯化得到目标产物,白固体化合物(130mg,收率:29.42%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ11.59(s,1H),7.80(s,1H),7.71(d,J=7.4Hz,1H),7.62-7.50(m,3H),7.32(d,J=8.1Hz,1H),7.24(s,1H),7.15(s,1H),7.11(d,J=8.1Hz,1H),5.68(s,1H),4.02-3.92(m,1H),3.46-3.36(m,4H),3.28(t,J=6.2Hz,2H),2.84(t,J=11.0Hz,2H),2.51(s,3H),2.29(s,3H),2.00(d,J=10.7Hz,2H),

1.85-1.68 (m, 8H)。ESI-MS m/z 586.2 $[M+H]^+$ 。

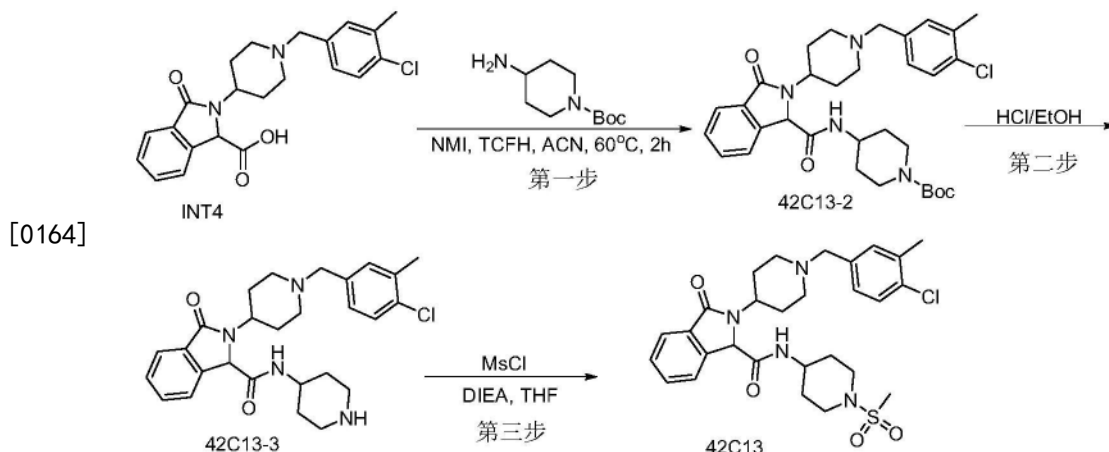
[0159] 第三步:将化合物42C11 (60mg) 经手性色谱柱拆分纯化得到目标产物42C11A和42C11B,手性柱型号:CHIRALPAK AD-H 10 μ m 2.5*25cm;流速:70g/min;流动相:超临界二氧化碳:甲醇=60:40;检测波长:214nm。其中,42C11A,白色固体化合物 (20.3mg),保留时间5.425分钟。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 11.59 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.71 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 1H), 7.63-7.49 (m, 3H), 7.33 (d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.12 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 5.68 (s, 1H), 3.98 (s, 1H), 3.46-3.35 (m, 4H), 3.28 (t, $J=6.3\text{Hz}$, 2H), 2.84 (s, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.00 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 1.87-1.67 (m, 8H); ESI-MS m/z 586.2 $[M+H]^+$ 。产物42C11B,白色固体化合物 (27.0mg),保留时间4.086分钟。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 11.59 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.71 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 1H), 7.59-7.56 (m, 3H), 7.33 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.12 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H), 5.68 (s, 1H), 3.98 (s, 1H), 3.47-3.35 (m, 4H), 3.28 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 2H), 2.85 (s, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.00 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 2H), 1.88-1.67 (m, 8H)。ESI-MS m/z 586.2 $[M+H]^+$ 。

[0160] 实施例14:2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-环己基-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺 (42C12) 的合成



[0162] 在氮气保护条件下,向化合物INT4 (300mg, 0.8mmol) 的无水乙腈 (5mL) 溶液中加入环己胺 (160mg, 1.6mmol) 和NMI (330mg, 4mmol) 该体系室温条件下搅拌10分钟,加入TCFH (450mg, 1.6mmol),该体系升至60°C反应搅拌2小时。反应结束后,反应液过滤后经反相制备纯化得到目标产物,白色固体化合物 (45.2mg, 收率:12.52%)。 ^1H NMR (400MHz, MeOD) δ 8.61 (s, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.62 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.57-7.43 (m, 4H), 7.32 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H), 5.23 (s, 1H), 4.28 (s, 2H), 4.10 (br s, 1H), 3.65-3.56 (dm, 3H), 3.20-3.09 (m, 2H), 2.43-2.40 (m, 5H), 2.23-2.20 (m, 2H), 1.93-1.61 (m, 5H), 1.41-1.20 (m, 5H)。ESI-MS m/z 480.4 $[M+H]^+$ 。

[0163] 实施例15:2-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(1-甲磺酰基哌啶-4-基)-3-氧代异吲哚啉-1-甲酰胺 (42C13) 的合成

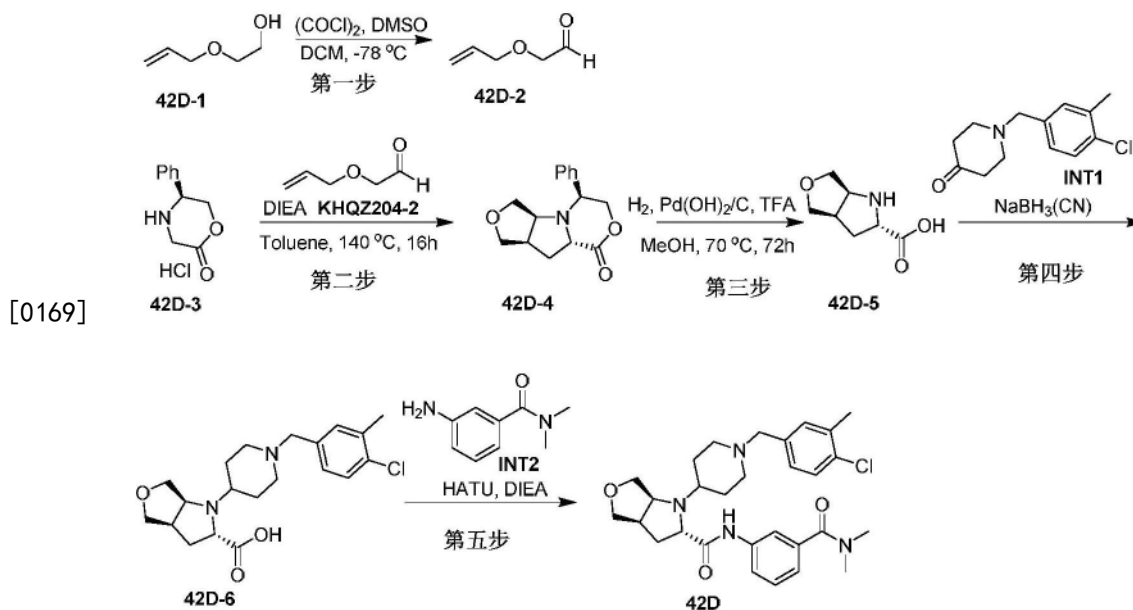


[0165] 第一步:在氮气保护条件下,向化合物INT3 (300mg, 0.8mmol) 的无水乙腈 (5mL) 溶液中加入1-Boc-4-氨基哌啶 (320mg, 1.6mmol) 和NMI (330mg, 4mmol) 该体系室温条件下搅拌10分钟,加入TCFH (450mg, 1.6mmol), 该体系升至60℃反应搅拌2小时。反应结束后,减压除去溶剂,得到黄色油状化合物 (560mg, 粗品)。ESI-MS m/z 581.1 $[M+H]^+$ 。

[0166] 第二步:向化合物42C13-2 (560mg) 的乙酸乙酯 (5mL) 中加盐酸乙酸乙酯 (5mL), 该体系室温条件下反应搅拌过夜。反应结束后,反应液经反相制备纯化得到黄色固体化合物 (80mg, 收率:17.26%)。ESI-MS m/z 481.1 $[M+H]^+$ 。

[0167] 第三步:向化合物42C13-3 (80mg, 0.17mmol) 的无水四氢呋喃 (10mL) 中加入DIEA (66mg, 0.51mmol) 和MSCl (21mg, 0.18mmol), 该体系升至50℃反应搅拌4小时。反应结束后,反应液经反相制备纯化得到目标产物,白固体化合物 (21.1mg, 收率:22.69%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.69 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.67 (d, J=7.4Hz, 1H), 7.59 (t, J=7.0Hz, 1H), 7.54-7.46 (m, 2H), 7.35 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.14 (d, J=7.6Hz, 1H), 5.23 (s, 1H), 3.90-3.87 (m, 1H), 3.71-3.69 (m, 1H), 3.53 (d, J=12.6Hz, 2H), 3.42 (s, 2H), 2.85-2.80 (m, 7H), 2.32 (s, 3H), 2.02-2.00 (m, 2H), 1.90-1.67 (m, 6H), 1.59-1.47 (m, 2H)。ESI-MS m/z 559.2 $[M+H]^+$ 。

[0168] 实施例16: (2S, 3aR, 6aS) -1- (1- (4-氯-3-甲基苯基) 哌啶-4-基) -N- (3- (N', N'-二甲基氨酰基) 苯基) 六氢呋喃并[3, 4-b]吡咯-2-甲酰胺 (42D) 的合成



[0170] 第一步：-78℃下，向草酰氯 (9.96g, 78.32mmol) 的二氯甲烷溶液 (100mL) 中，缓慢滴入二甲亚砜 (6.12g, 78.32mmol)，-78℃反应0.5h，继续滴入42D-1 (4.0g, 39.16mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 溶液，-78℃反应1h，滴入三乙胺 (19.8g, 195.8mmol)，慢慢恢复室温，搅拌2h。反应完全后，加水淬灭反应，有机相用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，得到黄色油状物 (3.5g, 粗品)，直接用于下一步反应。

[0171] 第二步：将42D-2 (1.12g, 11.23mmol)，42D-3 (0.8g, 3.74mmol) 和DIEA (0.484g, 3.74mmol) 溶于甲苯 (20mL) 中，使用油水分离器，氮气保护下140℃反应16h。反应完全后，减压浓缩，将粗品用硅胶柱层析纯化 (石油醚：乙酸乙酯=10:1-4:1) 后得无色油状物 (350mg, 36%收率)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.48-7.29 (m, 5H), 4.28-4.12 (m, 3H), 3.95-3.87 (m, 1H), 3.75-3.68 (m, 1H), 3.67-3.60 (m, 1H), 3.56-3.46 (m, 2H), 3.38-3.30 (m, 1H), 2.94-2.84 (m, 1H), 2.70-2.55 (m, 1H), 2.12-2.02 (m, 1H)。ESI-MS m/z 260.1 [M+H]⁺。

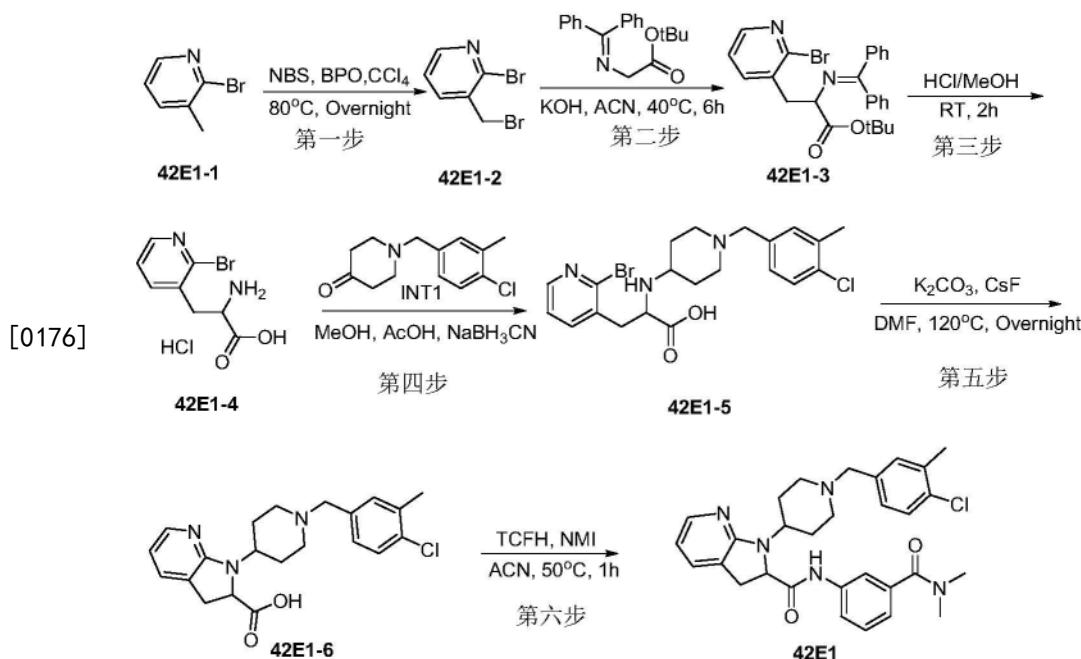
[0172] 第三步：将42d-4 (350mg, 1.35mmol)，Pd(OH)₂/C (190mg, 0.267mmol) 溶于甲醇 (100mL) 和三氟乙酸 (3.5mL) 中，氢气条件下70℃反应16h。反应完全后，过滤减压浓缩，得到无色油状物 (200mg, 粗品)。

[0173] 第四步：将42D-5 (200mg, 1.27mmol)，INT1 (605mg, 2.55mmol) 溶于甲醇 (5mL) 和乙酸 (0.5mL) 中，室温搅拌1h。加入NaBH₃(CN) (240mg, 3.82mmol)，室温搅拌16h。反应完全后，减压浓缩，粗品用反相制备色谱纯化得无色油状物 (60mg, 12%收率)。ESI-MS m/z 379.2 [M+H]⁺。

[0174] 第五步：将42D-6 (60mg, 0.158mmol)，INT2 (39mg, 0.237mmol) 的DMF (3mL) 溶液中加入HATU (90mg, 0.237mmol) 和DIEA (61.4mg, 0.475mmol)，室温搅拌16h。反应完全后，用反相制备色谱纯化得白色固体化合物 (9.6mg, 11%收率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 10.04 (s, 1H), 7.73-7.65 (m, 1H), 7.58-7.50 (m, 1H), 7.38-7.28 (m, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.12-7.02 (m, 2H), 3.95 (d, J=7.3Hz, 1H), 3.81-3.75 (m, 1H), 3.57-3.47 (s, 2H), 3.45-3.36 (m, 5H), 3.02-2.85 (m, 7H), 2.78-2.58 (m, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.03-1.94 (m, 1H), 1.83-1.75 (m, 3H), 1.65-1.56 (m, 1H), 1.42-1.32 (m, 2H)。ESI-MS m/z 525.4 [M+H]⁺。

[0175] 实施例17:1-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(3-(二甲基氨酰基)苯基)-2,

3-二氢-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺(42E1)化合物的合成



[0177] 第一步:在250mL单口瓶中,向化合物42E1-1(10g,58.1mmol)的 CCl_4 (100mL)溶液中加入BPO(1.4g,5.8mmol)、NBS(10.3g,58.1mmol),体系升温至 80°C ,反应过夜。反应完全后,浓缩残留物硅胶负载后柱层析(石油醚/乙酸乙酯:30:1)提纯,得到类白色固体(7.9g,收率:54.1%);ESI-MS m/z 251.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.35(dd, $J=4.7, 1.9\text{Hz}$, 1H), 8.05(dd, $J=7.6, 1.9\text{Hz}$, 1H), 7.49(dd, $J=7.6, 4.7\text{Hz}$, 1H), 4.72(s, 2H)。

[0178] 第二步:在250mL单口瓶中,加入化合物42E1-2(3.8g,15.1mmol)、乙腈(100mL)、N-二苯亚甲基-甘氨酸叔丁酯(4.46g,15.1mmol),KOH(1.7g,30.2mmol),升温至 40°C 搅拌6h。反应完全后,过滤,保留滤液,浓缩残留物硅胶负载后柱层析(石油醚/乙酸乙酯:20:1)提纯,得到浅黄色固体(5.7g,收率:80.9%)。ESI-MS m/z 465.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.22(dd, $J=4.6, 1.9\text{Hz}$, 1H), 7.65(dd, $J=7.5, 1.9\text{Hz}$, 1H), 7.50-7.35(m, 8H), 7.32(dd, $J=7.5, 4.7\text{Hz}$, 1H), 6.61(d, $J=5.9\text{Hz}$, 2H), 4.25(dd, $J=9.3, 4.5\text{Hz}$, 1H), 3.30-3.12(m, 2H), 1.38(s, 9H)。

[0179] 第三步:在室温下,向化合物42E1-3(2g,4.3mmol)中加入氯化氢甲醇溶液(30mL, 4mol/L),搅拌2h。反应完全后,用PE(50mL*5)将体系萃取5次,保留甲醇层,将甲醇层旋干得黄色固体(1.3g,粗品)。ESI-MS m/z 245.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

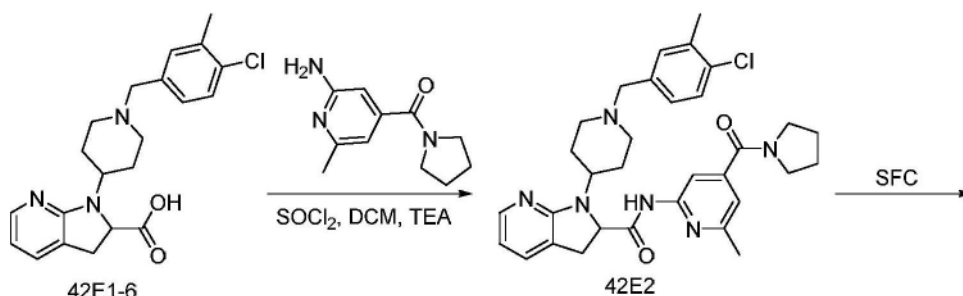
[0180] 第四步:在100mL单口瓶中,向化合物42E1-4(1.3g,4.6mmol)中加入1-(4-氯-3-甲基苯基)哌啶-4-酮(1.1g,4.6mmol),MeOH(20mL),乙酸(2mL),该体系室温搅拌过夜,然后加入氰基硼氢化钠(0.58g,9.2mmol),室温搅拌2h。反应结束后,通过反相制备纯化(0.1% FA),旋干后得到白色固体(1.5g,收率67.6%)。ESI-MS m/z 468.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0181] 第五步:在100mL单口瓶中,向化合物42E1-5(1.5g,3.1mmol)中加入DMF(50mL), K_2CO_3 (857mg,6.2mmol),氟化铯(471mg,3.1mmol),升温至 120°C ,搅拌过夜。反应结束后,通过反相制备纯化(0.1% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$),旋干后得到白色油状物(530mg,收率:44.2%)。ESI-MS m/z 386.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

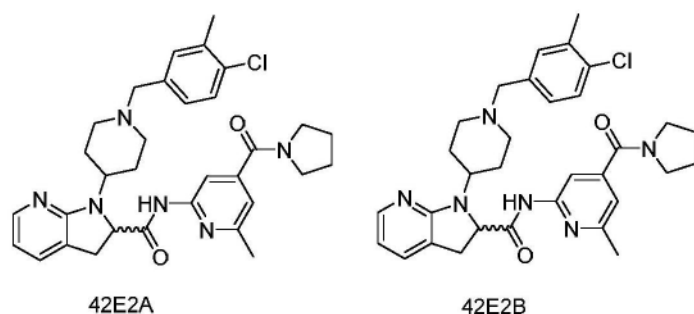
[0182] 第六步:在50mL单口瓶中,加入乙腈(5mL),TCFH(547mg,2.0mmol),NMI(164mg,

2.0mmol), 3-氨基-N,N-二甲基苯甲酰胺 (320mg, 2.0mmol), 该体系升温至50℃搅拌30min, 然后加入化合物KHQZ205-6 (500mg, 1.3mmol), 50℃继续搅拌30min。反应结束后, 通过反相制备纯化 (0.1% HCl), 冻干后得到淡黄色固体 (88.5mg, 收率: 12.8%)。¹H NMR (400MHz, Methanol-d₄) δ 7.80 (s, 1H), 7.73 (d, J=6.1Hz, 1H), 7.69 (d, J=7.3Hz, 2H), 7.51-7.40 (m, 3H), 7.35 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.19 (d, J=7.5Hz, 1H), 6.90 (t, J=6.3Hz, 1H), 5.05 (br s, 1H), 4.31-4.28 (m, 3H), 3.65-3.55 (m, 3H), 3.24 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 3.09 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.35-2.11 (m, 4H)。ESI-MS m/z 532.3[M+H]⁺。

[0183] 实施例18: 1-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(4-(四氢吡咯-1-基-甲酰基)-6-甲基吡啶-2-基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺 (42E2)、(R/S)-1-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(4-(四氢吡咯-1-基-甲酰基)-6-甲基吡啶-2-基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺 (42E2A) 和 (R/S)-1-(1-(4-氯-3-甲基苄基)哌啶-4-基)-N-(4-(四氢吡咯-1-基-甲酰基)-6-甲基吡啶-2-基)-2,3-二氢-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺 (42E2B) 的合成



[0184]



[0185] 在室温条件下, 将化合物42E1-6 (100mg, 0.52mmol) 溶于SOCl₂ (3mL), 该体系室温反应搅拌1小时。反应结束后, 减压蒸干溶剂后, 加入DCM (3mL) 溶解, 再加入(2-氨基-6-甲基吡啶-4-基)(四氢吡咯-1-基)甲酮 (159.3mg, 1.04mmol), 搅拌下缓慢滴加TEA (157.6mg, 1.56mmol), 室温搅拌3h。反应完成后, 加入饱和碳酸氢钠淬灭, 乙酸乙酯萃取, 有机相水洗两次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 经反相制备色谱纯化得到目标产物42E2, 白色固体化合物 (60mg, 收率: 20.20%)。ESI-MS m/z 573.3[M+H]⁺。

[0186] 将化合物42E2 (60mg) 经手性色谱柱拆分纯化得到目标产物42E1A和42E1B, 手性柱型号: CHIRALPAK AD-H 10um 2.5*25cm; 流速: 70g/min; 流动相: 超临界二氧化碳: 甲醇 = 60:40; 检测波长: 214nm。化合物42E1A, 白色固体化合物 (14.1mg), 保留时间2.484分钟。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 10.84 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.78 (d, J=4.2Hz, 1H), 7.32 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.19 (d, J=5.8Hz, 1H), 7.10 (d, J=8.1Hz, 2H), 6.47-6.41 (m, 1H), 4.70 (dd, J=10.6, 6.2Hz, 1H), 3.83 (t, J=11.8Hz, 1H), 3.44 (t, J=6.7Hz, 2H), 3.40-3.33 (m, 3H), 3.30 (s, 1H), 2.93-2.75 (m, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 1.95 (d, J=10.7Hz, 2H),

1.91-1.54 (m, 9H) ;ESI-MS m/z 573.3[M+H]⁺。化合物42E2B,白色固体化合物(16.4mg),保留时间3.836分钟。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 10.84 (s, 1H) , 7.94 (s, 1H) , 7.78 (d, J=4.2Hz, 1H) , 7.32 (d, J=8.0Hz, 1H) , 7.23 (s, 1H) , 7.19 (d, J=7.0Hz, 1H) , 7.10 (d, J=7.9Hz, 2H) , 6.47-6.41 (m, 1H) , 4.70 (dd, J=10.5, 5.8Hz, 1H) , 3.83 (s, 1H) , 3.44 (t, J=6.6Hz, 2H) , 3.40-3.33 (m, 3H) , 3.30 (s, 1H) , 2.92-2.77 (m, 3H) , 2.46 (s, 3H) , 2.29 (s, 3H) , 1.95 (d, J=10.7Hz, 2H) , 1.91-1.54 (m, 9H) ;ESI-MS m/z 573.3[M+H]⁺。

[0187] 生物学评价

[0188] 实施例19:荧光法测量化合物对人源化细胞趋化因子CCR3受体的拮抗效应

[0189] 实验方法:将表达人源CCR3受体的RBL-1细胞(大鼠白血病细胞)悬浮在含有20mM HEPES的Hank's平衡盐溶液(HBSS缓冲液, Invitrogen)中,按照 3.418×10^4 细胞/孔的密度添加到微孔板中。然后将预混合了丙磺舒的荧光探针(Fluo8 Direct, AAT Bioquest)的含有20mM HEPES的HBSS缓冲液(Invitrogen)添加到每个孔中,并在30°C下与细胞平衡60分钟。此后,将分析板放置在微孔板读取器(FlipR-Tetra, 分子装置)上,添加不同浓度的试验化合物或HBSS缓冲液(基础对照),5分钟后,再添加10nM CCL11/Eotaxin启动分析。测量每个孔在CCL11/Eotaxin添加前后的荧光强度瞬时改变(该改变与胞浆游离钙离子浓度成正比)。以几种化合物浓度分别进行测试,以产生浓度响应曲线,通过拟合,荧光抑制50%所需的拮抗剂浓度即是化合物对CCR3受体的IC₅₀。

[0190] 实验结果:以10nM CCL11/Eotaxin的对照反应的抑制百分比表示。实验结果见表1。本发明的化合物对CCR3受体具有强的拮抗作用。

[0191] 表1化合物对CCR3的拮抗活性

化合物	IC ₅₀ (nM)	化合物	IC ₅₀ (nM)	化合物	IC ₅₀ (nM)
AKST4290	6.23	42C1	78.8	42C7	9.1
42A	542	42C6A	5.1	42C8	100
42B	1010	42C6B	120	42C9	450
42D	4050				

[0193] 实施例20:化合物的细胞渗透性测试

[0194] 实验方法:研究中的转运缓冲液为含有10.0mM HEPES的HBSS, pH值为 7.40 ± 0.05 。试验化合物在2.00 μ M浓度下双向测试,各重复一次,最终二甲基亚砜浓度调整到1%以下。细胞培养板在 37 ± 1 °C、饱和湿度、5%浓度CO₂培养箱中培养2小时,无需摇动。所有样品与含内标的乙腈混合后,在3200xg下离心10分钟。试验化合物,用200 μ L超纯水稀释200 μ L上清液以进行LC-MS/MS分析。使用分析物/内标物的峰面积比,通过LC-MS/MS方法对起始溶液、供体溶液和接收溶液中试验和对照化合物的浓度进行定量。

[0195] 表观渗透率系数Papp (cm/s)采用以下公式计算:

$$[0196] \quad Papp = (dCr/dt) \times Vr / (A \times C_0)$$

[0197] 其中, dCr/dt是接收室中化合物的累积浓度随时间的变化(μ M/s); Vr为接收室中的溶液体积(顶端0.075mL, 基底外侧0.25mL); A是转运的表面积,比如,单层面积为0.0804cm²; C₀是供液室中的初始浓度(μ M)。

[0198] 实验结果:如表2所示,本发明的化合物42C6A相对于AKST4290的细胞渗透性提升显著。

[0199] 表2Caco-2细胞渗透性实验结果

[0200]	化合物	AKST4290	42C6A
	Papp ($\times 10^{-6}$ cm/S)	0.164	1.43

[0201] 实验例21:小鼠药代动力学研究

[0202] 实验方法:分别通过静脉(IV)和灌胃(PO)给予小鼠本发明的化合物,考察药代动力学特点。IV和PO的给药剂量分别是1mg/kg和10mg/kg,溶媒均为5%DMSO:20%Solutol:75%生理盐水。IV和PO给药后在不同时间点收集血液,血液采用EDTAK2抗凝,离心后得到血浆样品,保存于-80℃。血浆样品经沉淀蛋白处理后进行LC-MS/MS分析。应用Phoenix WinNonlin 6.3软件,采用非房室模型计算药代动力学参数,结果见表3。

[0203] 实验结果:如表3所示,本发明的化合物42C6A相对于AKST4290的口服生物利用度提升较显著。

[0204] 表3小鼠体内药代动力学实验结果

[0205]	化合物	AKST4290	42C6A
	F (%)	11.1	21.3%