



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108047240 B

(45)授权公告日 2020.08.04

(21)申请号 201810030066.3

(22)申请日 2015.09.08

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108047240 A

(43)申请公布日 2018.05.18

(30)优先权数据
14184613.9 2014.09.12 EP

(62)分案原申请数据
201580048467.6 2015.09.08

(73)专利权人 勃林格殷格翰国际有限公司
地址 德国殷格翰

(72)发明人 V·文顿亚克 M·格劳尔特
M·格伦德尔 A·波奇

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
C07D 491/20(2006.01)
C07D 401/12(2006.01)
C07D 491/10(2006.01)
C07D 491/107(2006.01)
C07D 471/08(2006.01)
C07D 519/00(2006.01)
C07D 471/10(2006.01)
C07D 487/10(2006.01)

(56)对比文件
CN 103814028 A,2014.05.21,

审查员 李莎莎

权利要求书1页 说明书72页 附图1页

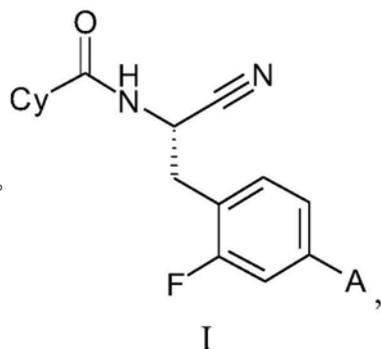
(54)发明名称

组织蛋白酶C的螺环化合物抑制剂

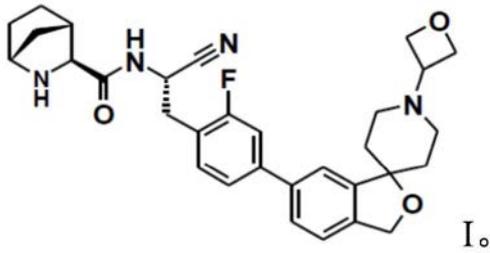
(57)摘要

本发明涉及组织蛋白酶C的螺环化合物抑制剂。具体地,本发明涉及一种式I化合物,其中A及Cy具有如本说明书中所指示的含义之一,及其作为组织蛋白酶C的抑制剂的用途;含有其的药物组合物及使用其作为用于治疗及/或预防与二肽基肽酶I活性有关的疾病,例如呼吸道疾病的药

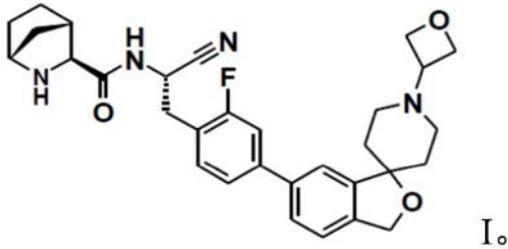
剂的方法。



1. 式I的化合物或其药学上可接受的盐，



2. 式I的化合物，



3. 根据权利要求1的式I的化合物或其药学上可接受的盐，其用作药物。

4. 根据权利要求1的式I的化合物或其药学上可接受的盐，其用作治疗慢性阻塞性肺疾病和肺气肿的药物。

5. 药物组合物，其特征在于包含根据权利要求1的式I的化合物或其药学上可接受的盐。

6. 根据权利要求1的式I的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗或预防其中DDPI活性抑制剂具有治疗益处的疾病的药物中的用途，其中所述预防或治疗包括施用治疗或预防有效量的根据权利要求1的式I的化合物或其药学上可接受的盐至有需要的患者。

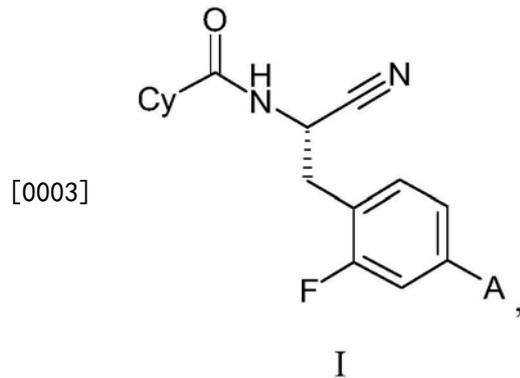
7. 一种药物组合物，其包含根据权利要求1的式I的化合物或其药学上可接受的盐以及药学活性化合物，所述药学活性化合物选自由β-模拟剂、抗胆碱能类、皮质类固醇、PDE4-抑制剂、LTD4-拮抗剂、EGFR抑制剂、CRTH2抑制剂、5-L0-抑制剂、组胺受体拮抗剂、CCR9拮抗剂和SYK-抑制剂、NE-抑制剂、MMP9抑制剂、MMP12抑制剂以及两种或三种活性物质的组合物组成的组。

组织蛋白酶C的螺环化合物抑制剂

[0001] 本发明申请是基于申请日为2015年9月8日、申请号为201580048467.6(国际申请号为PCT/EP2015/070449)、名称为“组织蛋白酶C的螺环化合物抑制剂”的发明专利申请的分案申请。

发明领域

[0002] 本发明涉及一种式I化合物



[0004] 其中A及Cy具有如本说明书中所指示的含义之一；涉及其作为组织蛋白酶C的抑制剂的用途；含有其的药物组合物及使用其作为用于治疗及/或预防与二肽基肽酶I活性有关的疾病，例如呼吸道疾病的药剂的方法。

[0005] 背景信息

[0006] • W02004110988公开用于治疗一系列疾病的作为二肽基肽酶I (DPPI) 抑制剂的肽基脒抑制剂。

[0007] • W02009074829及W02010142985亦公开用于治疗哮喘、COPD或过敏性鼻炎的作为二肽基肽酶I (DPPI) 抑制剂的肽基脒抑制剂。

[0008] • W02013041497公开用于治疗例如呼吸道疾病的作为二肽基肽酶I (DPPI) 抑制剂的经取代的N-[1-氰基-2-(苯基)乙基]-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-甲酰胺。

[0009] 发明简述

[0010] 二肽基氨基肽酶I (DPPI或组织蛋白酶C; EC3.4.141) 为能够自蛋白质底物的氨基末端移除二肽的溶酶体半胱氨酸蛋白酶。DPPI系由Gutman及Fruton于1948年首次发现(J. Biol. Chem. 174:851-858, 1948)。已于1995年描述人类酶的cDNA (Paris等人; FEBS Lett 369:326-330, 1995)。DPPI蛋白质加工成成熟蛋白分解活性酶，其由重链、轻链及与活性酶保持相关的前肽组成 (Wolters等人; J. Biol. Chem. 273:15514-15520, 1998)。尽管其他半胱氨酸组织蛋白酶 (例如B、H、K、L及S) 为单体，DPPI为具有4个相同次单元 (各由3种不同多肽链构成) 的200-kD四聚体。DPPI在许多组织中组成型表达，在肺脏、肾脏、肝脏及脾脏中具有最高水平 (Kominami等人; Biol. Chem. Hoppe Seyler 373:367-373, 1992)。与其在来自造血细胞的丝氨酸蛋白酶的活化方面的作用一致，DPPI亦在嗜中性粒细胞、细胞毒性淋巴细胞、自然杀灭细胞、肺泡巨噬细胞及肥大细胞中相对高度表达。来自DPPI缺陷型小鼠的近期数据表明，DPPI除了为溶酶体蛋白质降解方面的至关重要的酶以外，DPPI亦充当细胞毒性T淋

巴细胞及自然杀灭细胞(颗粒酶A及B;Pham等人;Proc.Nat.Acad.Sci 96:8627-8632, 1999)、肥大细胞(凝乳酶及类胰蛋白酶;Wolter等人;J Biol.Chem.276:18551-18556, 2001)及嗜中性粒细胞(组织蛋白酶G、弹性蛋白酶及蛋白酶3;Adkison等人;J Clin.Invest.109:363.371,2002)中的颗粒丝氨酸蛋白酶的活化方面的关键酶。一旦经活化,这些蛋白酶能够使可导致组织损坏及慢性发炎的各种细胞外基质组分降解。

[0011] 因此,组织蛋白酶C的抑制剂可潜在地为治疗嗜中性粒细胞主导炎性疾病适用的治疗剂,所述发炎疾病诸如慢性阻塞性肺病(COPD)、肺气肿、哮喘、多发性硬化症及囊性纤维化(Guay等人;Curr.Topics Med.Chem.10:708-716,2010;Laine及Busch-Petersen;Expert Opin.Ther.Patents 20:497-506,2010)。类风湿性关节炎亦为DPPI似乎起作用的另一慢性炎性疾病。嗜中性粒细胞募集至关节发炎部位且释放组织蛋白酶G、弹性蛋白酶及蛋白酶3,其被认为是负责与类风湿性关节炎相关的软骨损坏的蛋白酶。实际上,DPPI缺陷型小鼠受保护而免于单株抗体抗II型胶原蛋白的被动转移诱导的急性关节炎(Adkison等人;J Clin.Invest.109:363.371,2002)。

[0012] 鉴于DPPI在活化某些促炎性丝氨酸蛋白酶方面发挥的作用,本发明的问题为制备抑制其活性,从而抑制下游丝氨酸蛋白酶活性的化合物。

[0013] 已出人意料地发现,本发明的螺环化合物具有

[0014] • 有效组织蛋白酶C(DPPI)活性,优选展现DPPI $IC_{50}[\mu M] < 0.0050$,尤其优选 < 0.0030 的抑制,

[0015] 此外,本发明的化合物展现以下对其药理学功效而言有利的能力:

[0016] • 较高细胞活性,例如抑制U937细胞株中的嗜中性粒细胞弹性蛋白酶处理,优选展现 $IC_{50}[\mu M] < 0.5$,尤其优选 < 0.003 。

[0017] • 针对其他组织蛋白酶,例如组织蛋白酶K的较高选择率,及

[0018] • 一般合乎需要的药物动力学特性,例如代谢稳定性,优选展现人类肝脏微粒体培育 $t_{1/2}[\text{min}] > 110$,尤其优选 ≥ 120 的活体外稳定性。

[0019] 亦出人意料地发现,本发明的化合物展示目标参与小鼠模型中BALF(支气管肺泡灌洗液)细胞裂解物中的嗜中性粒细胞弹性蛋白酶活性的较高抑制。

[0020] 此外,已出人意料地发现,本发明的螺环化合物与组织蛋白酶C的Glu275形成额外盐桥,其导致此化合物类别的较高酶及细胞活性。螺环胺(例如实施例11中的螺氮杂环丁烷及实施例16中的螺吡咯烷)的此额外相互作用已通过组织蛋白酶C蛋白质与实施例11及实施例16的共结晶实验得到验证。在两种情况下,碱性氮原子均与Glu275形成盐桥。

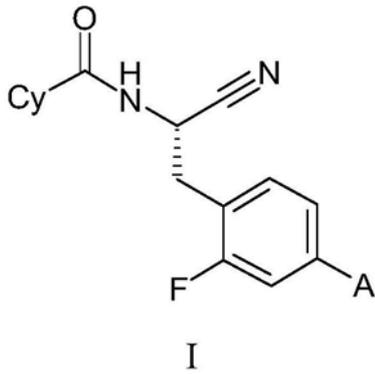
附图说明

[0021] 图1:组织蛋白酶C配位体复合物的结构。(A) 实施例11; (B) 实施例16。该蛋白质以带状图形式展示,所选残基展示为杆。配位体展示为杆状图,氢键展示为虚线。

[0022] 发明详述

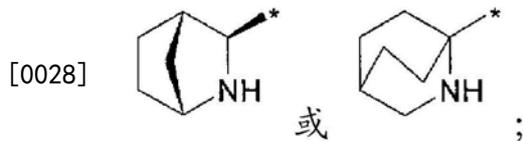
[0023] 已出人意料地发现,上文所提及的问题可通过本发明的式I化合物得到解决。

[0024] 因此,本发明涉及一种式I化合物或其药学上可接受的盐,

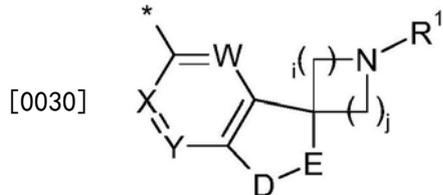


[0026] 其中

[0027] Cy为



[0029] A为



[0031] 其中

[0032] W选自由CH及N组成的群；

[0033] X选自由CH及N组成的群；

[0034] Y选自由CH及N组成的群；

[0035] 其限制条件为W、X及Y中最多一者可为N；

[0036] D-E选自由N(R²)-C(O)、CH₂CH₂、C(O)-O及CH₂-O组成的群；

[0037] R²选自由H及C₁₋₃烷基组成的群；

[0038] R¹选自由H、C₁₋₃烷基、CH₃OCH₂CH₂-、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、4-四氢吡喃基及3-四氢吡喃基组成的群；

[0039] i为1、2或3；

[0040] j为1、2或3；

[0041] 其限制条件为i+j的总和为2、3或4。

[0042] 优选实施方式

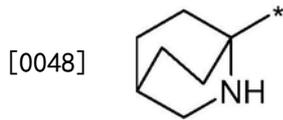
[0043] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐，其中

[0044] Cy为



[0046] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐，其中

[0047] Cy为



[0049] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0050] R^1 选自自由H、 CH_3 -及氧杂环丁烷基组成的群;

[0051] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0052] R^2 选自自由H及 CH_3 组成的群;

[0053] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0054] R^2 为H。

[0055] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0056] R^2 为 CH_3 ;

[0057] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0058] D-E为 CH_2-O

[0059] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0060] R^1 选自自由H、 CH_3 及氧杂环丁烷基组成的群;

[0061] R^2 为 CH_3 ;

[0062] W选自自由CH及N组成的群;

[0063] X选自自由CH及N组成的群;

[0064] Y选自自由CH组成的群;

[0065] 其限制条件为W、X及Y中最多一者可为N;

[0066] D-E选自自由N(R^2)-C(O)、 CH_2CH_2 、C(O)-O及 CH_2-O 组成的群;

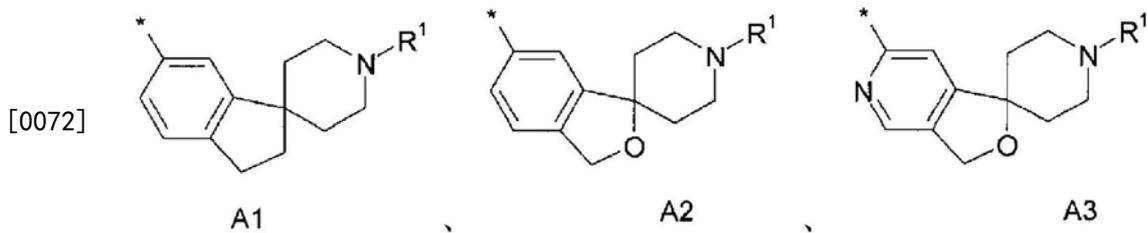
[0067] i为1或2;

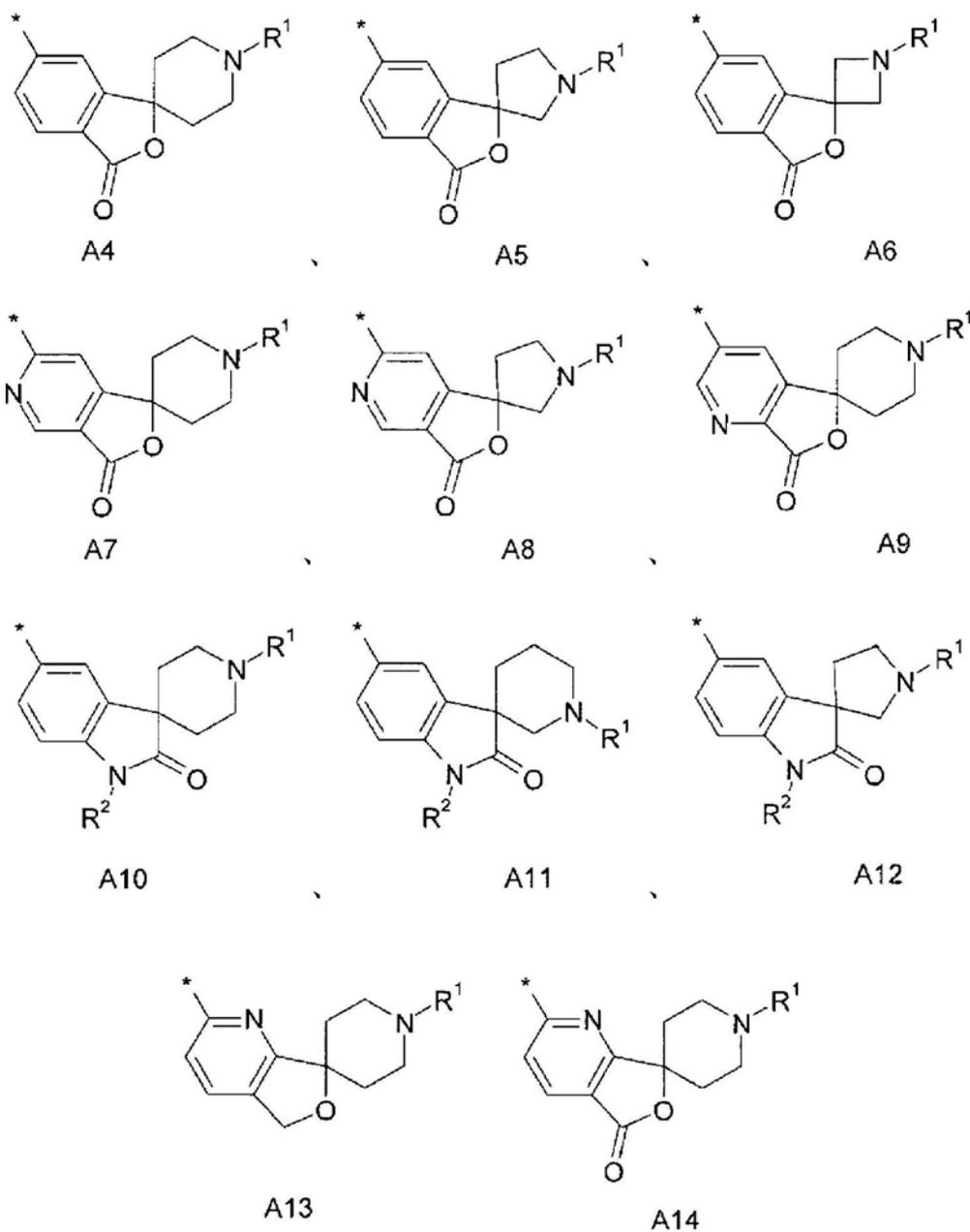
[0068] j为1或2;

[0069] 其限制条件为i+j的总和为2、3或4。

[0070] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

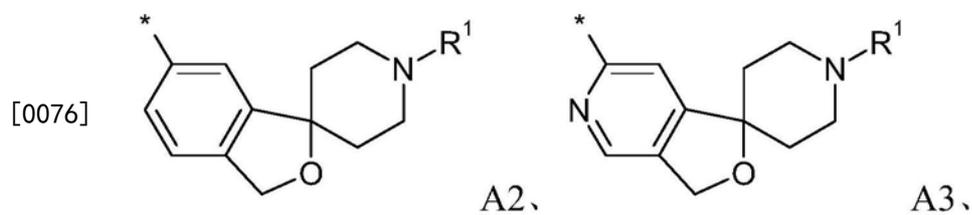
[0071] A选自自由式A1至A14组成的群:

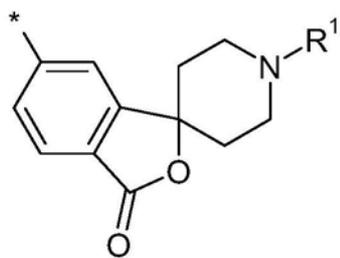




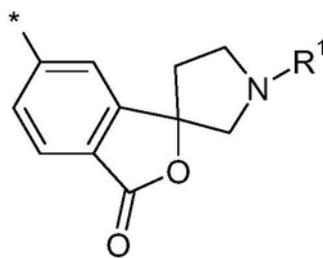
[0074] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0075] A选自由A2、A3、A4、A5、A6、A7、A10、A13及A14组成的群。

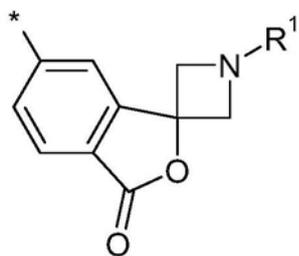




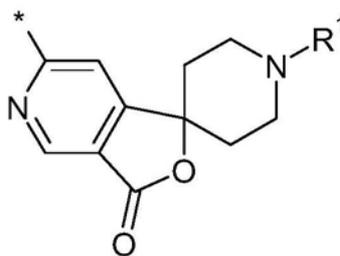
A4、



A5、

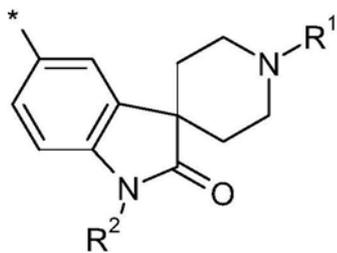


A6、

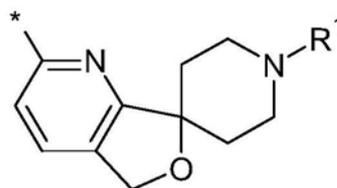


A7、

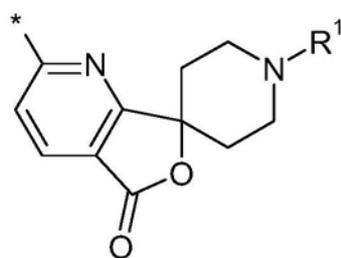
[0077]



A10、



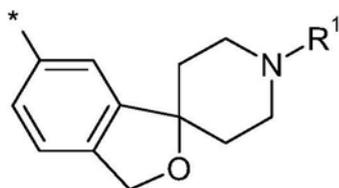
A13、



A14。

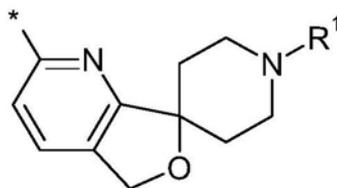
[0078] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0079] A选自由A2及A13组成的群



A2、

[0080]

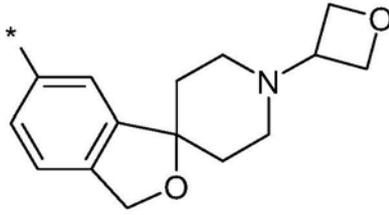


A13。

[0081] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0082] A为式A2.1的基团。

[0083]

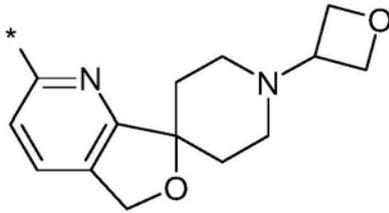


A2.1。

[0084] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0085] A为式A13.1的基团

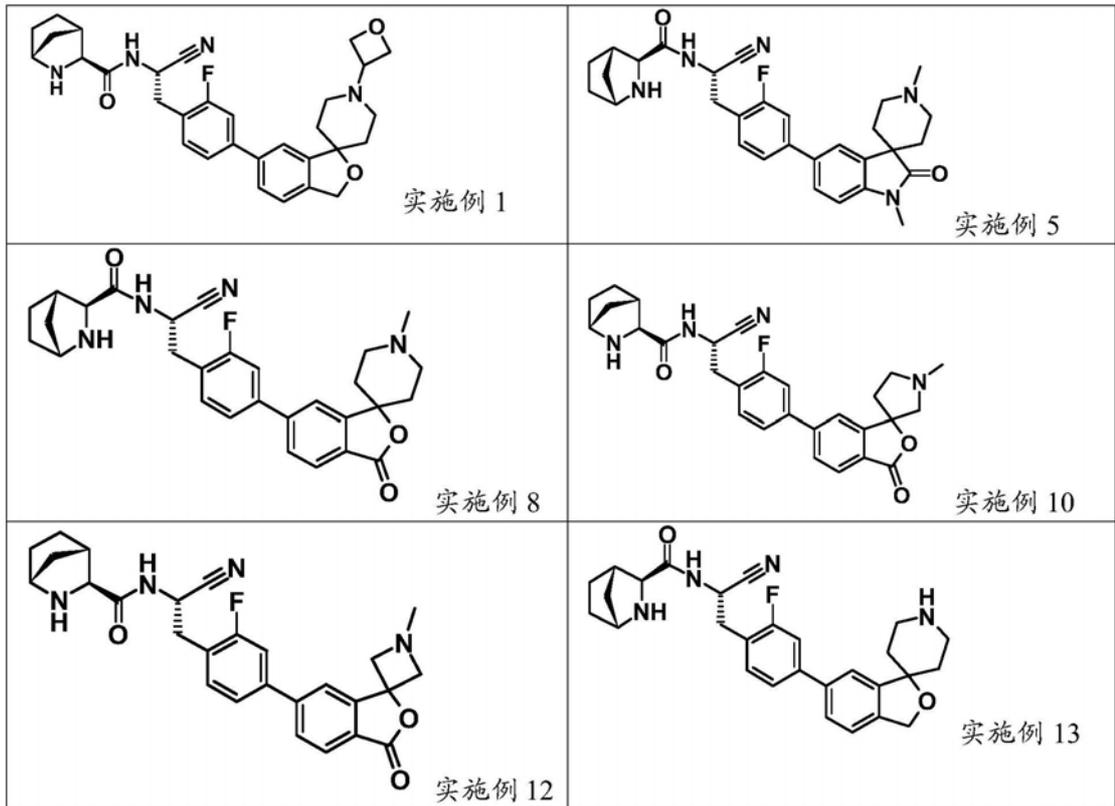
[0086]

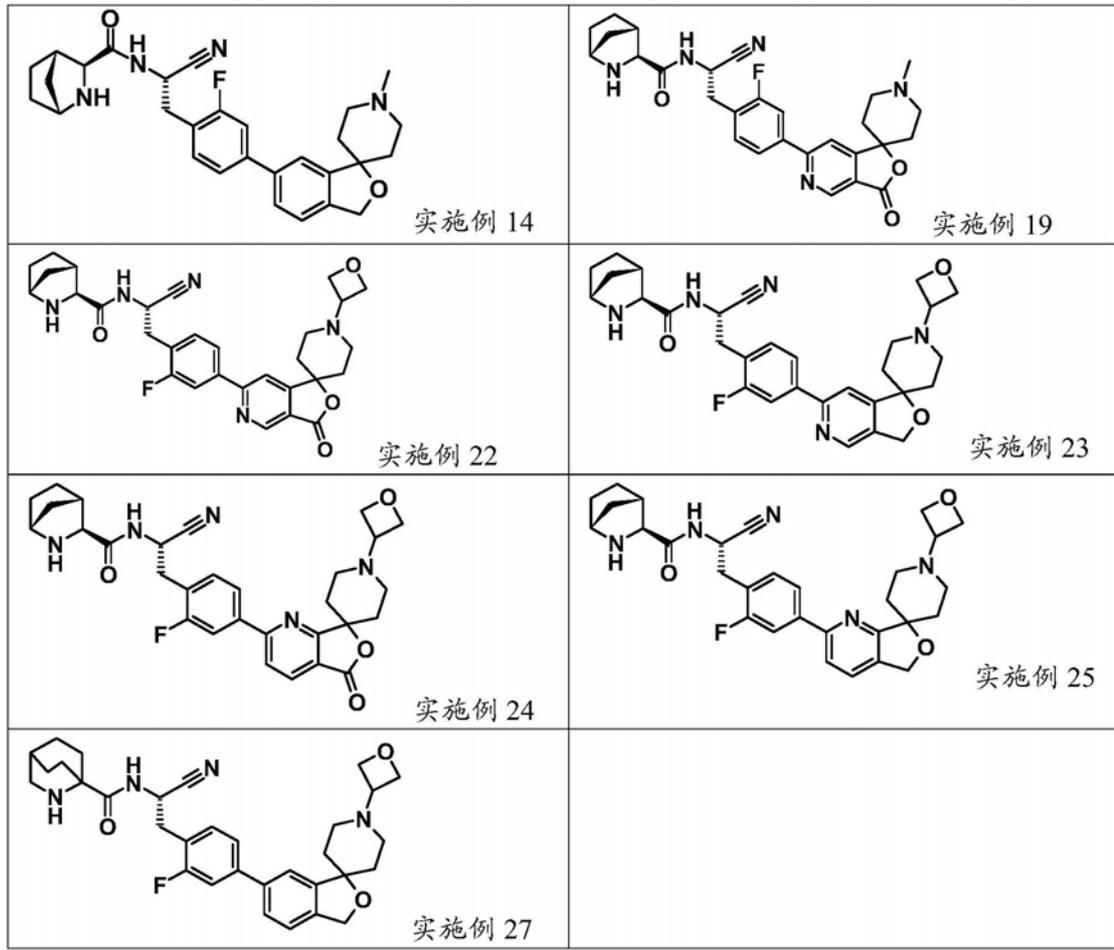


A13.1。

[0087] 优选为选自由实施例1、实施例5、实施例8、实施例10、实施例12、实施例13、实施例14、实施例19、实施例22、实施例23、实施例24、实施例25及实施例27组成的群的上述式I化合物。

[0088]





[0089]

[0090] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0091] R^1 选自自由H及 CH_3 组成的群。

[0092] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0093] R^1 为氧杂环丁烷基。

[0094] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0095] R^1 选自自由H、 CH_3 及氧杂环丁烷基组成的群;

[0096] R^2 选自自由H及 CH_3 组成的群。

[0097] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0098] R^1 选自自由H及 CH_3 组成的群;

[0099] R^2 选自自由H及 CH_3 组成的群。

[0100] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0101] D-E选自自由 CH_2-O 、 $C(O)-O$ 及 $N(R^2)-C(O)$ 组成的群。

[0102] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0103] D-E选自自由 CH_2-O 及 $C(O)-O$ 组成的群。

[0104] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0105] R^1 选自自由H、 CH_3 及氧杂环丁烷基组成的群;

[0106] R^2 选自自由H及 CH_3 组成的群。

[0107] D-E选自自由 CH_2-O 、 $C(O)-O$ 及 $N(R^2)-C(O)$ 组成的群。

- [0108] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0109] R^1 选自由H、 CH_3 、氧杂环丁烷基组成的群;
- [0110] D-E选自由 CH_2-O 及C(O)-O组成的群。
- [0111] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0112] R^1 选自由氧杂环丁烷基组成的群;
- [0113] D-E选自由 CH_2-O 及C(O)-O组成的群。
- [0114] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0115] W为CH;
- [0116] X为CH;
- [0117] Y为CH。
- [0118] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0119] W为CH;
- [0120] X为N;
- [0121] Y为CH。
- [0122] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0123] W为N;
- [0124] X为CH;
- [0125] Y为CH。
- [0126] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0127] W为CH;
- [0128] X为CH;
- [0129] Y为N。
- [0130] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0131] R^1 选自由H、 CH_3 -及氧杂环丁烷基组成的群;
- [0132] R^2 选自由H及 CH_3 -组成的群;
- [0133] D-E选自由 CH_2-O 、C(O)-O及N(R_2)-C(O)组成的群;
- [0134] W为CH;
- [0135] X为CH;
- [0136] Y为CH。
- [0137] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0138] R^1 选自由H、 CH_3 -及氧杂环丁烷基组成的群;
- [0139] D-E选自由 CH_2-O 及C(O)-O组成的群;
- [0140] W为CH;
- [0141] X为CH;
- [0142] Y为CH。
- [0143] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0144] R^1 选自由H、 CH_3 -及氧杂环丁烷基组成的群;
- [0145] R^2 选自由H及 CH_3 -组成的群;
- [0146] D-E选自由 CH_2-O 、C(O)-O及N(R_2)-C(O)组成的群;

- [0147] W为N;
- [0148] X为CH;
- [0149] Y为CH。
- [0150] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0151] R¹选自自由H、CH₃-及氧杂环丁烷基组成的群;
- [0152] D-E选自自由CH₂-O及C(O)-O组成的群;
- [0153] W为N;
- [0154] X为CH;
- [0155] Y为CH。
- [0156] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0157] R¹选自自由H、CH₃-及氧杂环丁烷基组成的群;
- [0158] R²选自自由H及CH₃-组成的群;
- [0159] D-E选自自由CH₂-O、C(O)-O及N(R₂)-C(O)组成的群;
- [0160] W为CH;
- [0161] X为N;
- [0162] Y为CH。
- [0163] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0164] R¹选自自由H、CH₃-及氧杂环丁烷基组成的群;
- [0165] D-E选自自由CH₂-O及C(O)-O组成的群;
- [0166] W为CH;
- [0167] X为N;
- [0168] Y为CH。
- [0169] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0170] R¹选自自由H、CH₃-及氧杂环丁烷基组成的群;
- [0171] R²选自自由H及CH₃-组成的群;
- [0172] D-E选自自由CH₂-O、C(O)-O及N(R₂)-C(O)组成的群;
- [0173] W为CH;
- [0174] X为CH;
- [0175] Y为N。
- [0176] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中
- [0177] R¹选自自由H、CH₃-及氧杂环丁烷基组成的群;
- [0178] D-E选自自由CH₂-O及C(O)-O组成的群;
- [0179] W为CH;
- [0180] X为CH;
- [0181] Y为N。
- [0182] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中A选自自由A₂、A₃、A₄、A₅、A₆、A₇、A₈、A₉、A₁₀、A₁₁、A₁₂、A₁₃及A₁₄组成的群。
- [0183] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中A选自自由A₁、A₂、A₃、A₄、A₆、A₇、A₉、A₁₀、A₁₃及A₁₄组成的群。

[0184] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中A选自A4、A5、A6、A7、A8、A9及A14。

[0185] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中A选自由A10、A11及A12组成的群。

[0186] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中A选自由A2、A3、A9、A13及A14组成的群。

[0187] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中A选自由A2、A3及A13组成的群。

[0188] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中A为A2。

[0189] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中A为A13。

[0190] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中i为2且j为1。

[0191] 优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中i为1且j为1。

[0192] 尤其优选为上述式I化合物或其药学上可接受的盐,其中i为2且j为2。

[0193] 优选为式I化合物,其中所述化合物选自由实施例1、实施例3、实施例4、实施例5、实施例6、实施例7、实施例8、实施例10、实施例12、实施例13、实施例14、实施例16、实施例17、实施例18、实施例19、实施例20、实施例22、实施例23、实施例24、实施例25、实施例26及实施例27组成的群。

[0194] R^1 、 R^2 、Cy、A、D、E、W、X、Y、i及j的定义中任何及每一者可彼此组合。

[0195] 本发明的另一实施方式为适用作药物的式I化合物或其药学上可接受的盐。

[0196] 本发明的另一实施方式为适用作药物的式I化合物或其药学上可接受的盐,该药物用于治疗哮喘及过敏性疾病、胃肠炎性疾病、肾小球肾炎、嗜酸性粒细胞疾病、慢性阻塞性肺病、病原性微生物感染、类风湿性关节炎、嗜中性粒细胞疾病、囊性纤维化(CF)、非囊性纤维化、特发性肺部纤维化、支气管扩张、ANCA相关脉管炎、肺癌、气肿、慢性支气管炎、急性肺损伤(ALI)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、肺高血压、肺部动脉高血压(PAH)及 α -1-抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)、肥胖症及相关炎症、胰岛素抗性、糖尿病、脂肪肝及肝脂肪变性。

[0197] 优选为适用作治疗哮喘及过敏性疾病、胃肠炎性疾病、嗜酸性粒细胞疾病、慢性阻塞性肺病、气肿、病原性微生物感染、类风湿性关节炎及动脉粥样硬化的药物的式I化合物或其药学上可接受的盐。

[0198] 尤其优选为适用作治疗慢性阻塞性肺病及气肿的药物的式I化合物或其药学上可接受的盐。

[0199] 本发明的另一实施方式为药物组合物,其含有一或多种式I化合物或其药学活性盐。

[0200] 本发明的另一实施方式为一种治疗或预防其中DPPI活性抑制剂具有治疗效益的疾病的方法,该方法包含向有需要的患者给予治疗或预防有效量的式I化合物。

[0201] 本发明的另一实施方式为除式I化合物外,亦包含选自由以下组成的群的药学活性化合物的药物组合物: β 模拟剂、抗胆碱能药物、皮质类固醇、PDE4抑制剂、LTD4拮抗剂、EGFR抑制剂、CRTH2抑制剂、5LO抑制剂、组织胺受体拮抗剂、CCR9拮抗剂及SYK抑制剂、NE抑制剂、MMP9抑制剂及MMP12抑制剂以及两种或三种活性物质的组合。

[0202] 所用术语及定义

[0203] 在本文中未特定定义的术语应由本领域技术人员根据本发明及上下文来赋予其应具有的含义。然而,除非相反说明,否则如本说明书中所使用,以下术语具有指定的含义且将遵守以下约定。

[0204] 在下文定义的基团 (group、radical) 或部分中,通常在基团之前指出碳原子数目,例如C₁₋₆烷基指具有1至6个碳原子的烷基。

[0205] 一般而言,在如HO、H₂N、S(O)、S(O)₂、NC(氰基)、H₂CO、F₃C或其类似物的单一基团中,本领域技术人员可自基团本身的自由价看出基团与分子的连接点。对包含两种或两种以上亚基的经组合的基团而言,最后提及的亚基为基团连接点,例如取代基“芳基-C₁₋₄-烷基-”指芳基结合至C₁₋₄-烷基-基团,而后者结合至核心或结合至取代基所连接的基团。或者,“*”在化学实体内指示连接点。

[0206] 在本发明的化合物以化学名称及化学式形式描述的情况下,若有任何不一致的情况,则应以化学式为准。星号可用于在子式中指示连接至如所定义的核心分子的键。

[0207] 许多以下术语可反复用于定义化学式或基团,且在各情况下彼此独立地具有上文所给出的含义之一。

[0208] 如本文所使用,术语“经取代的”指指定原子上的任一或多个氢经选定指示基团置换,其限制条件是不超过指定原子的正常价且取代产生稳定化合物。

[0209] 本文所使用的表述“预防 (prevention)”、“预防 (prophylaxis)”、“预防性治疗 (prophylactic treatment)”或“预防性治疗 (preventive treatment)”应理解为同义且指上文所提及的病况发生的风险降低,尤其在所述病况风险较高或具有相应病史,例如罹患代谢病症 (诸如糖尿病或肥胖症) 或本文提及的另一种病症的风险较高的患者中。因此,如本文所使用的表述“预防疾病”指在疾病临床发作之前管理及护理处于罹患该疾病的风险下的个体。预防的目的在于对抗疾病、病况或病症的发展且包括给予活性化合物以预防或延迟症状或并发症发作且预防或延迟相关疾病、病况或病症发展。在统计学上,与未经预防性治疗的同等患者群体相比,通过在处于此病况风险的患者群体中降低该病况的发生率,反映该预防性治疗成功。

[0210] 表述“治疗”或“疗法”指对已罹患一或多种显性、急性或慢性形式的所述病况的患者的治疗性治疗,视病况及其严重程度而定,包括对症治疗 (以减轻特定适应症的症状) 或病因治疗 (以逆转或部分逆转病况或延缓适应症进展,直到可能发生此病况逆转或部分逆转)。因此,如本文所使用的表述“治疗疾病”指管理及护理已罹患疾病、病况或病症的患者。治疗的目的是为对抗疾病、病况或病症。治疗包括给予活性化合物以消除或控制疾病、病况或病症以及缓解与疾病、病况或病症有关的症状或并发症。

[0211] 除非特定说明,否则在整篇本说明书及随附申请专利范围中,指定化学式或名称应涵盖互变异构体及所有立体、光学及几何异构体 (例如对映异构体、非对映异构体、E/Z异构体等) 及其外消旋体,以及不同比例的各别对映异构体的混合物、非对映异构体的混合物、或所述异构体及对映异构体存在的任何前述形式的混合物、以及其盐 (包括其药学上可接受的盐) 及其溶剂合物 (诸如水合物),包括游离化合物的溶剂合物或化合物的盐的溶剂合物。

[0212] 词组“药学上可接受”在本文中用于指合理医学判断范畴内的那些化合物、物质、组合物及/或剂型,其适用于与人类及动物组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其他

问题或并发症,且与合理益处/风险比率相匹配。

[0213] 如本文所使用,“药学上可接受的盐”是指所公开的化合物的衍生物,其中母体化合物通过制得其酸盐或碱盐而改质。药学上可接受的盐的实施例包括(但不限于)碱性残基(诸如胺)的无机酸盐或有机酸盐;酸性残基(诸如羧酸)的碱盐或有机盐;及其类似物。举例而言,此类盐包括来自以下各者的盐:氨、L-精氨酸、甜菜碱、苄苯乙胺(benethamine)、苄星青霉素(benzathine)、氢氧化钙、胆碱、二甲胺乙醇(deanol)、二乙醇胺(2,2'-亚胺双(乙醇))、二乙胺、2-(二乙氨基)-乙醇、2-氨基乙醇、乙二胺、N-乙基-葡糖胺、海卓胺(hydrabamine)、1H-咪唑、赖氨酸、氢氧化镁、4-(2-羟基乙基)-吗啉、哌嗪、氢氧化钾、1-(2-羟基乙基)-吡咯烷、氢氧化钠、三乙醇胺(2,2',2"-氮基叁-(乙醇))、氨丁三醇(tromethamine)、氢氧化锌、乙酸、2,2-二氯-乙酸、己二酸、褐藻酸、抗坏血酸、L-天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、2,5-二羟基苯甲酸、4-乙酰氨基-苯甲酸、(+)-樟脑酸、(+)-樟脑-10-磺酸、碳酸、桂皮酸、柠檬酸、环己胺磺酸、癸酸、十二基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基-乙磺酸、乙二胺四乙酸、甲酸、富马酸、半乳糖二酸、龙胆酸、D-葡糖庚酸、D-葡萄糖酸、D-葡萄糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、2-氧代基-戊二酸、甘油磷酸、甘氨酸、乙醇酸、己酸、马尿酸、氢溴酸、氢氯酸、异丁酸、DL-乳酸、乳糖酸、月桂酸、赖氨酸、马来酸、(-)-L-苹果酸、丙二酸、DL-杏仁酸、甲磺酸、半乳糖二酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟碱酸、硝酸、辛酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羧萘酸(恩波酸(embonic acid))、磷酸、丙酸、(-)-L-焦谷氨酸、柳酸、4-氨基-柳酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、鞣酸、(+)-L-酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸及十一碳烯酸。其他药学上可接受的盐可由来自如铝、钙、锂、镁、钾、钠、锌及其类似物的金属的阳离子形成。(亦参见Pharmaceutical salts, Berge, S.M. 等人, J.Pharm.Sci., (1977), 66, 1-19)。

[0214] 本发明的药学上可接受的盐可通过常规化学方法自含有碱性或酸性部分的母体化合物合成。一般而言,可通过使这些化合物的游离酸或游离碱形式与足量适当碱或酸的水溶液或有机稀释剂溶液(如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈)或其混合物反应来制备此类盐。

[0215] 除上文所提及的那些盐外,例如适用于纯化或分离本发明的化合物的其他酸的盐(例如三氟乙酸盐)亦构成本发明的一部分。

[0216] 术语卤素一般表示氟、氯、溴及碘。

[0217] 其中n为选自2、3、4、5或6的整数的术语“C_{1-n}-烷基”单独或与另一个基团组合指示具有1至n个C原子的非环状饱和的分支链或直链烷基。举例而言,术语C₁₋₅-烷基包涵基团H₃C-、H₃C-CH₂-、H₃C-CH₂-CH₂-、H₃C-CH(CH₃)-、H₃C-CH₂-CH₂-CH₂-、H₃C-CH₂-CH(CH₃)-、H₃C-CH(CH₃)-CH₂-、H₃C-C(CH₃)₂-、H₃C-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-、H₃C-CH₂-CH₂-CH(CH₃)-、H₃C-CH₂-CH(CH₃)-CH₂-、H₃C-CH(CH₃)-CH₂-CH₂-、H₃C-CH₂-C(CH₃)₂-、H₃C-C(CH₃)₂-CH₂-、H₃C-CH(CH₃)-CH(CH₃)-及H₃C-CH₂-CH(CH₂CH₃)-。

[0218] 术语“氧杂环丁烷基”指示在关于连接点的3位置中含有氧原子的4元环状饱和环。

[0219] 制备

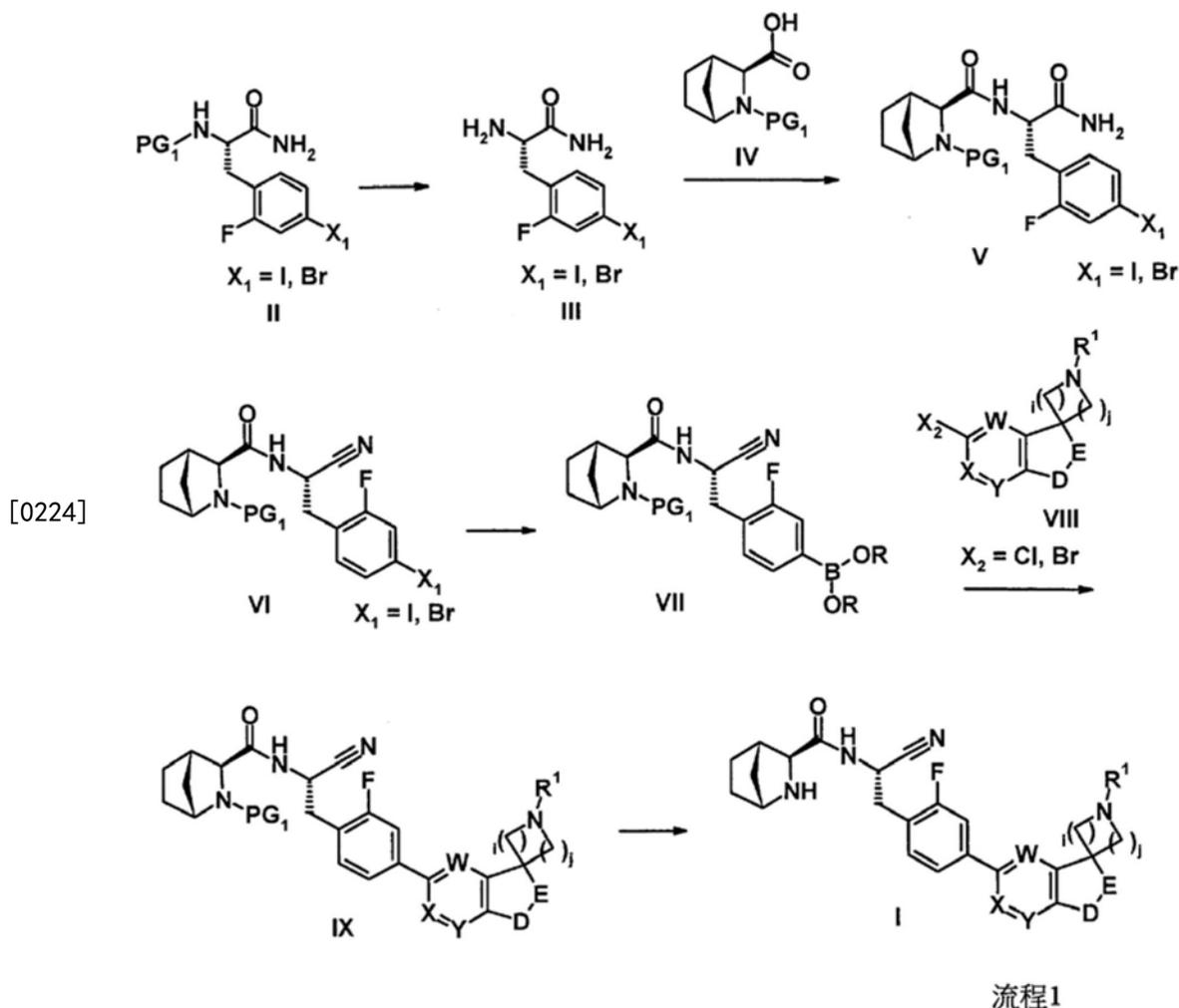
[0220] 一般合成方法

[0221] 本发明亦提供用于制得式I化合物的工艺。

[0222] 最佳反应条件及反应时间可视所用特定反应物而改变。除非另外说明,否则一般

本领域技术人员可轻易地选择溶剂、温度、压力及其他反应条件。特定程序提供于合成实施例部分中。典型地,必要时,反应进展可通过薄层色谱(TLC)或LC-MS加以监测,且中间体及产物可通过在硅胶上色谱、HPLC及/或再结晶加以纯化。以下实施例为说明性的且如本领域技术人员所认识到,可在无过度实验的情况下针对个别化合物按需要修改特定试剂或条件。以下方法中所使用的起始物质及中间体为市售的或易于由本领域技术人员自市售材料制备得到。

[0223] 式I化合物可通过流程1、2、3或4中所概述的方法制得:



[0225] 如流程1所说明,官能基的保护及去保护描述于『Protective Groups in Organic Synthesis』,T.W.Greene及P.G.M.Wuts,Wiley-Interscience中。举例而言,对于叔丁氧基羰基的去除保护基,可在诸如水、DCM或二噁烷的适合的溶剂中使用诸如甲酸、三氟乙酸、对甲苯磺酸或HCl的酸以提供式III化合物。

[0226] 使用用于形成酰胺的标准文献程序,例如在诸如N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)的碱及诸如HATU或TBTU的活化剂存在下,在适合的溶剂中使式IV(其中PG₁表示保护基(例如叔丁氧基羰基))的酸与式III的胺反应提供式V化合物。可在这些合成中采用此项技术中已知的标准肽偶合反应(参见例如M.Bodanszky,1984,The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag)。

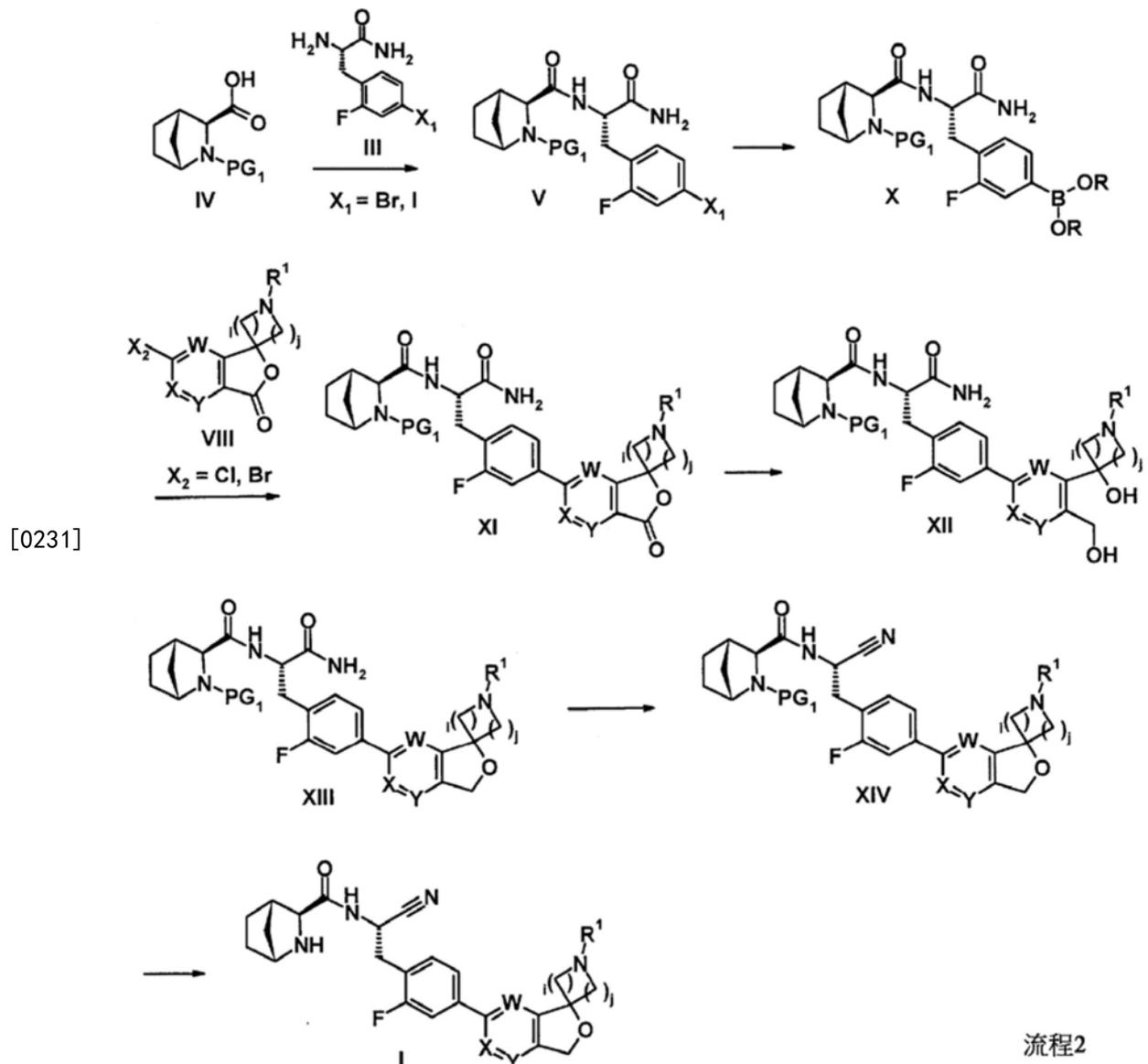
[0227] 将诸如式V化合物中的酰胺脱水成式VI的对应腈可通过使用诸如(甲氧羰基胺磺

酰基)三乙基氢氧化铵的脱水剂,在诸如二氯甲烷(DCM)的适合的溶剂中进行。

[0228] 式VI ($X_1 = \text{I}, \text{Br}$) 化合物可转化成对应硼酸衍生物VII,其中R可独立地为H或低碳烷基,且残基R可形成环。举例而言,VI可在诸如[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)的适合的催化剂及诸如乙酸钾或碳酸钠、碳酸钾或碳酸铯或磷酸钠、磷酸钾或磷酸铯的适合的碱存在下,在诸如二噁烷、二甲基甲酰胺(DMF)或二氯甲烷(DCM)的适合的溶剂中与双(新戊基乙醇酸根)二硼反应,得到硼酸衍生物VII。

[0229] 这些可在式VIII ($X_2 = \text{Cl}, \text{Br}$) 化合物的(过渡)金属催化反应中反应。这些卤化物VIII的偶合提供式IX化合物。举例而言,在诸如二噁烷的适合的溶剂中,在诸如1,1'-双(二叔丁基膦基)二茂铁二氯化钯的适合的催化剂及诸如碳酸钠、碳酸钾或碳酸铯的适合的碱存在下,这些卤化物与硼酸或对应硼酸酯VII的反应提供式IX化合物。

[0230] 官能基的保护及去保护描述于『Protective Groups in Organic Synthesis』, T.W.Greene及P.G.M.Wuts, Wiley-Interscience中。举例而言,对于叔丁氧基羰基的去保护,可在诸如乙腈的适合的溶剂中使用诸如对甲苯磺酸单水合物的酸以提供式I化合物。



[0232] 如流程2中所说明,使用用于形成酰胺的标准文献程序,例如在诸如N,N-二异丙基

乙胺 (DIPEA) 的碱及诸如HATU或TBTU的活化剂存在下,在适合的溶剂中使式IV(其中PG₁表示保护基(例如叔丁氧基羰基))的酸与式III的胺反应提供式V化合物。可在这些合成中采用此项技术中已知的标准肽偶合反应(参见例如M.Bodanszky,1984,The Practice of Peptide Synthesis,Springer-Verlag)。

[0233] 类似于流程1中所描述的反应程序,式V化合物可转化成对应硼酸衍生物X。

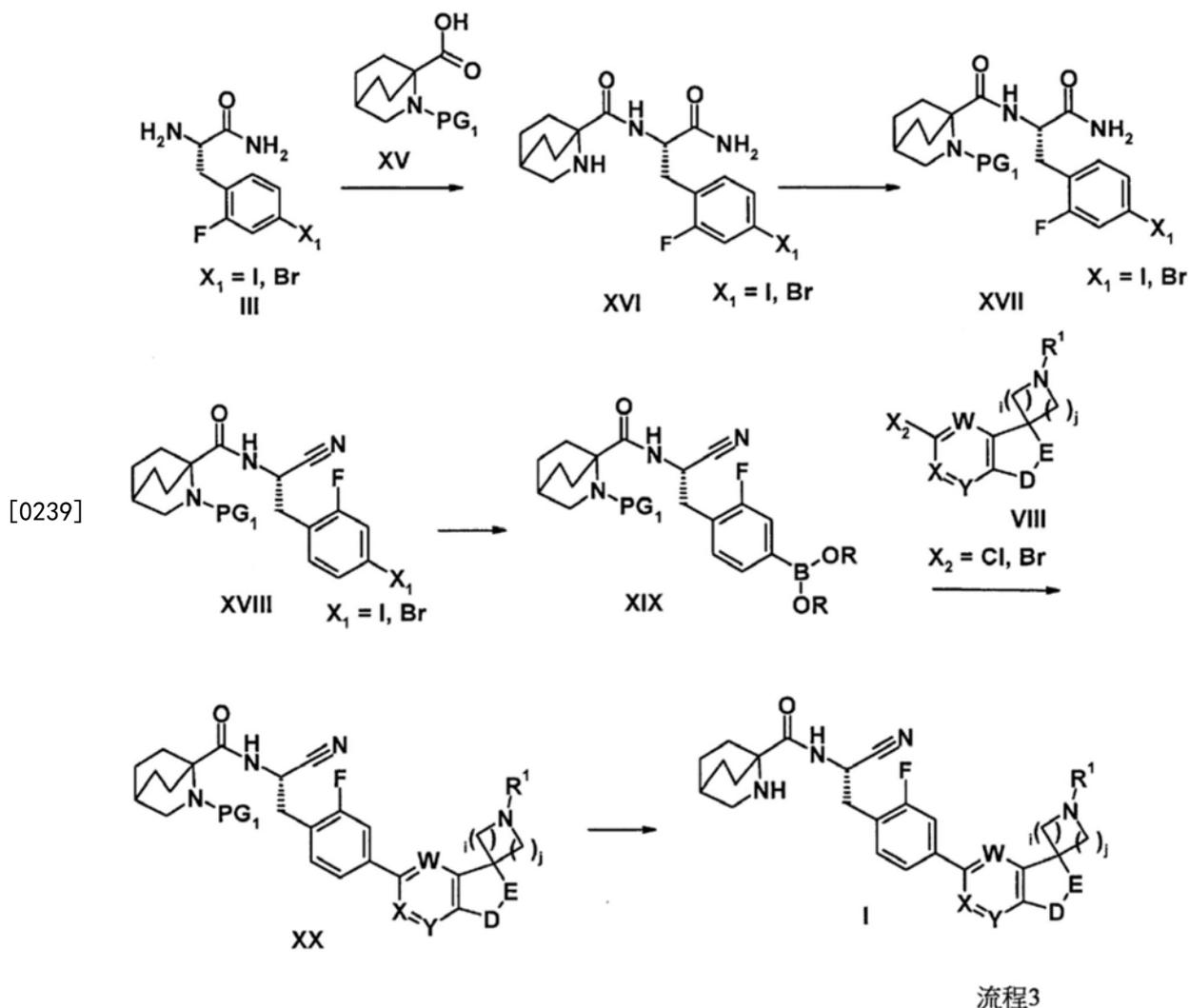
[0234] 类似于流程1中所描述的反应程序,这些可在式VIII (X₂=Cl、Br) 化合物的(过渡)金属催化反应中反应,得到式XI化合物。

[0235] 可使用诸如硼氢化锂或硼氢化钠的还原剂,在诸如四氢呋喃的适合的溶剂中,将式XI化合物转化成式XII化合物。

[0236] 可使用诸如对甲苯磺酸酐或甲磺酰氯的试剂,在诸如三乙胺或N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)的碱存在下,在诸如四氢呋喃的适合的溶剂中将式XII化合物转化成式XIII化合物。

[0237] 将诸如式XIII化合物中的酰胺脱水成式XIV的对应腈可通过使用诸如(甲氧羰基胺磺酰基)三乙基氢氧化铵的脱水剂,在诸如二氯甲烷(DCM)的适合的溶剂中进行。

[0238] 官能基的保护及去保护描述于『Protective Groups in Organic Synthesis』,T.W.Greene及P.G.M.Wuts,Wiley-Interscience中。举例而言,对于叔丁氧基羰基的去保护,可在诸如乙腈的适合的溶剂中使用诸如对甲苯磺酸单水合物的酸以提供式I化合物。



[0240] 如流程3中所说明,使用用于形成酰胺的标准文献程序,例如在诸如N-甲基吗啉的碱及诸如1-丙烷磷酸环酐(PPA)的活化剂存在下,在适合的溶剂中使式XV(其中PG₁表示保护基(例如叔丁氧基羰基))的酸与式III的胺反应提供式XVI化合物。可在这些合成中采用此项技术中已知的标准肽偶合反应(参见例如M.Bodanszky,1984,The Practice of Peptide Synthesis,Springer-Verlag)。

[0241] 官能基的保护及去保护描述于『Protective Groups in Organic Synthesis』,T.W.Greene及P.G.M.Wuts,Wiley-Interscience中。举例而言,对于式XVI的胺的保护,可在诸如二氯甲烷的适合的溶剂中使用焦碳酸二叔丁酯以提供式XVII化合物。

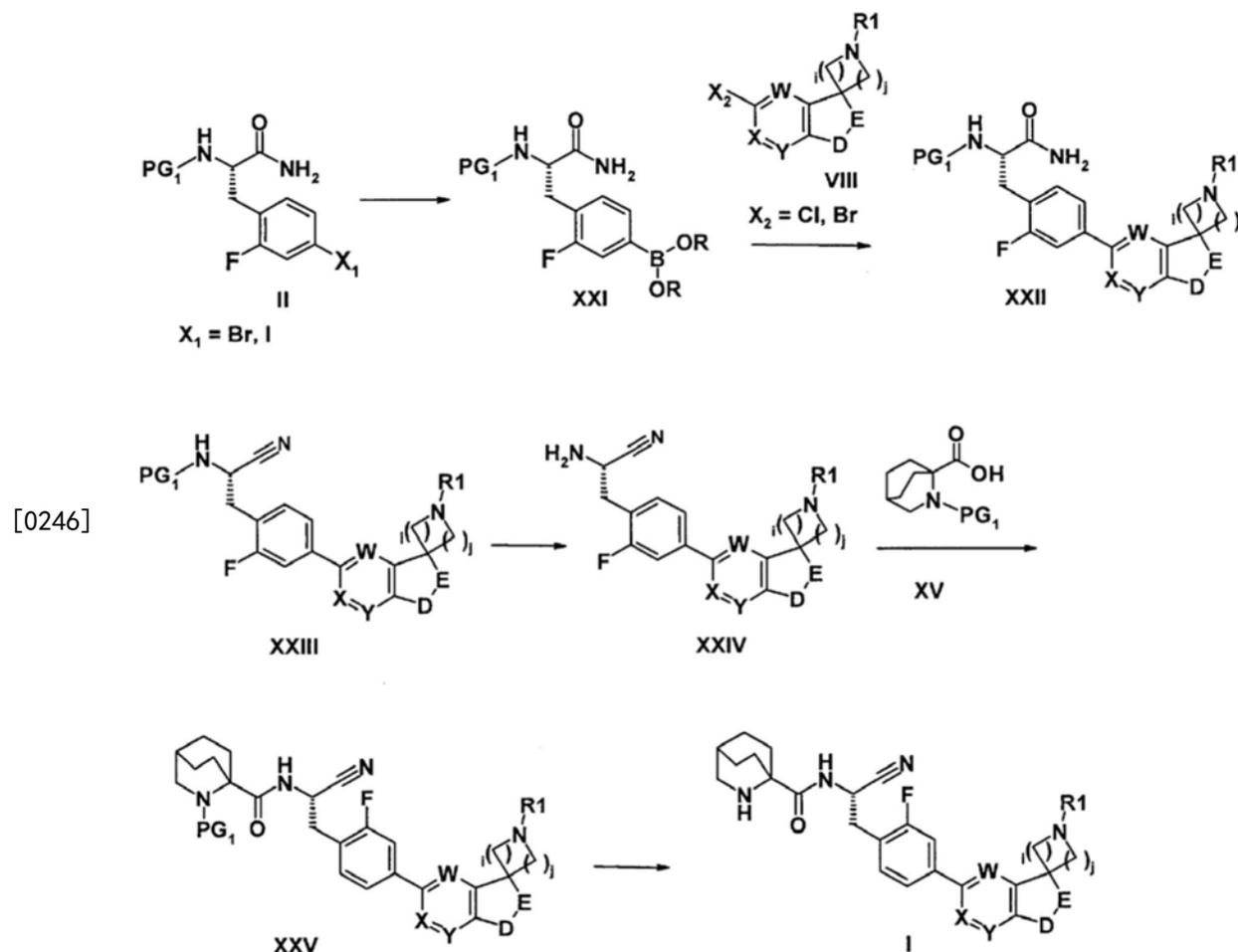
[0242] 将诸如式XVII化合物中的酰胺脱水成式XVIII的对应腈可通过使用诸如(甲氧羰基胺磺酰基)三乙基氢氧化铵的脱水剂,在诸如二氯甲烷(DCM)的适合的溶剂中进行。

[0243] 式XVIII(X₁=I、Br)化合物可转化成对应硼酸衍生物XIX,其中R可独立地为H或低碳烷基,且残基R可形成环。举例而言,XVIII可在诸如[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钪(II)的适合的催化剂及诸如乙酸钾或碳酸钠、碳酸钾或碳酸铯或磷酸钠、磷酸钾或磷酸铯的适合的碱存在下,在诸如二噁烷、二甲基甲酰胺(DMF)或二氯甲烷(DCM)的适合的溶剂中与双(频哪醇根基)二硼反应,得到硼酸衍生物XIX。

[0244] 这些可在式VIII(X₂=Cl、Br)化合物的(过渡)金属催化反应中反应。这些卤化物

VIII的偶合提供式XX化合物。举例而言,在诸如二噁烷的适合的溶剂中,在诸如1,1'-双(二叔丁基膦基)二茂铁二氯化钯的适合的催化剂及诸如碳酸钠、碳酸钾或碳酸铯的适合的碱存在下,这些卤化物与硼酸或对应硼酸酯XIX的反应提供式XX化合物。

[0245] 官能基的保护及去保护描述于『Protective Groups in Organic Synthesis』, T.W.Greene及P.G.M.Wuts,Wiley-Interscience中。举例而言,对于叔丁氧基羰基的去保护,可在诸如乙腈的适合的溶剂中使用诸如对甲苯磺酸单水合物的酸以提供式I化合物。



流程4

[0247] 如流程4中所说明,式II化合物可转化成对应硼酸衍生物XXI,其中R可独立地为H或低碳烷基,且残基R可形成环。举例而言,II可在诸如[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)的适合的催化剂及诸如乙酸钾或碳酸钠、碳酸钾或碳酸铯或磷酸钠、磷酸钾或磷酸铯的适合的碱存在下,在诸如二噁烷、二甲基甲酰胺(DMF)或二氯甲烷(DCM)的适合的溶剂中与双(新戊基乙醇酸根)二硼反应,得到硼酸衍生物XXI。

[0248] 类似于流程1中所描述的反应程序,这些可在式VIII化合物的(过渡)金属催化反应中反应,得到式XXII化合物。

[0249] 将诸如式XXII化合物的酰胺脱水成式XXIII的对应腈可通过使用诸如(甲氧羰基胺磺酰基)三乙基氢氧化铵的脱水剂,在诸如二氯甲烷(DCM)的适合的溶剂中进行。

[0250] 官能基的保护及去保护描述于『Protective Groups in Organic Synthesis』, T.W.Greene及P.G.M.Wuts,Wiley-Interscience中。举例而言,对于叔丁氧基羰基的去保

护,可在诸如乙腈的适合的溶剂中使用诸如对甲苯磺酸单水合物的酸以提供式XXIV化合物。

[0251] 使用用于形成酰胺的标准文献程序,例如在诸如N-甲基吗啉的碱及诸如1-丙烷磷酸环酐(PPA)的活化剂存在下,在适合的溶剂中使式XV(其中PG₁表示保护基(例如叔丁氧基羰基))的酸与式XXIV的胺反应提供式XXV化合物。可在这些合成中采用此项技术中已知的标准肽偶合反应(参见例如M.Bodanszky,1984,The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag)。

[0252] 官能基的保护及去保护描述于『Protective Groups in Organic Synthesis』, T.W.Greene及P.G.M.Wuts,Wiley-Interscience中。举例而言,对于叔丁氧基羰基的去保护,可在诸如乙腈的适合的溶剂中使用诸如对甲苯磺酸单水合物的酸以提供式I化合物。

[0253] 通过此项技术中已知且以下实施例中所说明的方法的式I化合物的进一步修饰可用于制备其他本发明化合物。

[0254] 合成实施例

[0255] 以下为代表性本发明化合物,其可通过此项技术中的一般合成流程、例示性且已知的方法制得。起始物质及中间体为市售的且购自ABCRC、ACROS、ABLOCK PHARMATECH、ACTIVATE、ALDRICH、APOLLO SCIENTIFIC、ARK PHARM INC、ATLANTIC SCIENTIFIC TECHNOLOGY、BETAPHARM、BEFARM、CHEMBRIDGE CORPORATION、CNH-TECH、ENAMINE LTD、GOLDENBRIDGE PHARMA INC、GVK BIO、MERCACHEM、MOLBRIDGE、WUXI APPTTEC、ZERENEX的目录,或根据文献或如以下“合成起始物质/离析物(Synthesis of starting materials/educts)”中所描述合成。

[0256] 通过以下方法之一获得液相色谱-质谱分析(LCMS)保留时间及针对以下化合物所观测到的m/z数据:

[0257] LC-MS方法V001_007

装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Waters Alliance			
管柱		Waters XBridge C18			
管柱尺寸		4.6 × 30 mm			
粒子尺寸		3.5 μm			
[0258]	梯度/溶剂时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% TFA]	溶解% [甲醇]	流速[ml/min]	温度[°C]
	0.0	95	5	4	60
	1.6	0	100	4	60
	1.85	0	100	4	60
	1.9	95	5	4	60

[0259] LC-MS方法V003_003

[0260]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Waters Alliance		
	管柱		Waters XBridge C18		
	管柱尺寸		4.6 × 30 mm		
	粒子尺寸		3.5 μm		
	梯度/溶剂时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% NH ₃]	溶解% [甲 醇]	流速[ml/min]	温度[°C]
0.0	95	5	4	60	
0.2	95	5	4	60	
1.5	0	100	4	60	
1.75	0	100	4	60	

[0261] LC-MS方法V011_S01

[0262]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Waters Alliance		
	管柱		Waters XBridge C18		
	管柱尺寸		4.6 × 30 mm		
	粒子尺寸		3.5 μm		
	溶剂梯度时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% NH ₃]	溶解% [乙 腈]	流速[ml/min]	温度[°C]
0.0	97	3	5	60	
0.2	97	3	5	60	
1.6	0	100	5	60	
1.7	0	100	5	60	

[0263] LC-MS方法V012_S01

[0264]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Waters Alliance		
	管柱		Waters XBridge C18		
	管柱尺寸		4.6 × 30 mm		
	粒子尺寸		3.5 μm		
	溶剂梯度时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% TFA]	溶解% [乙 腈]	流速[ml/min]	温度[°C]
0.0	97	3	5	60	
0.2	97	3	5	60	
1.6	0	100	5	60	
1.7	0	100	5	60	

[0265] LC-MS方法X001_004

[0266]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Waters Acquity		
	管柱		Waters XBridge C18		
	管柱尺寸		2.1 × 20 mm		
	粒子尺寸		2.5 μm		
	梯度/溶剂时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.10% TFA]	溶解% [甲 醇]	流速[ml/min]	温度[°C]
0.0	95	5	1.4	60	
0.05	95	5	1.4	60	
1.00	0	100	1.4	60	
1.1	0	100	1.4	60	

[0267] LC-MS方法X011_S03

[0268]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Waters Acquity		
	管柱		Waters Xbridge BEH C18		
	管柱尺寸		2.1 × 30 mm		
	粒子尺寸		1.7 μm		
	溶剂梯度时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% NH ₃]	溶解% [乙腈]	流速[ml/min]	温度[°C]
	0.00	95	5	1.3	60
0.02	95	5	1.3	60	
1.00	0	100	1.3	60	
1.10	0	100	1.3	60	

[0269] LC-MS方法X012_S02

[0270]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Waters Acquity		
	管柱		Waters XBridge BEH C18		
	管柱尺寸		2.1 × 30 mm		
	粒子尺寸		1.7 μm		
	溶剂梯度时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% TFA]	溶解% [乙腈]	流速[ml/min]	温度[°C]
	0.0	99	1	1.3	60
0.02	99	1	1.3	60	
1.00	0	100	1.3	60	
1.10	0	100	1.3	60	

[0271] LC-MS方法Z011_S03

[0272]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Agilent 1200		
	管柱		Waters XBridge C18		
	管柱尺寸		3 × 30 mm		
	粒子尺寸		2.5 μm		
	梯度/溶剂时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% NH ₃]	溶解% [乙 腈]	流速[ml/min]	温度[°C]
	0.00	97	3	2.2	60
0.20	97	3	2.2	60	
1.20	0	100	2.2	60	
1.25	0	100	3	60	
1.40	0	100	3	60	

[0273] LC-MS方法Z012_S04

[0274]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Agilent 1200		
	管柱		Waters XBridge C18		
	管柱尺寸		3 × 30 mm		
	粒子尺寸		2.5 μm		
	梯度/溶剂时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% NH ₃]	溶解% [乙 腈]	流速[ml/min]	温度[°C]
	0.00	97	3	2.2	60
0.20	97	3	2.2	60	
1.20	0	100	2.2	60	
1.25	0	100	3	60	
1.40	0	100	3	60	

[0275] LC-MS方法Z018_S04

[0276]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Agilent 1200		
	管柱		Waters Sunfire C18		
	管柱尺寸		3 × 30 mm		
	粒子尺寸		2.5 μm		
	溶剂梯度时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% TFA]	溶解% [乙腈]	流速[ml/min]	温度[°C]
	0.00	97	3	2.2	60
0.20	97	3	2.2	60	
1.20	0	100	2.2	60	
1.25	0	100	3	60	
1.40	0	100	3	60	

[0277] LC-MS方法Z020_S01

[0278]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Agilent 1200		
	管柱		Waters Sunfire C18		
	管柱尺寸		3 × 30 mm		
	粒子尺寸		2.5 μm		
	溶剂梯度时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% FA]	溶解% [乙腈]	流速[ml/min]	温度[°C]
	0.00	97	3	2.2	60
0.20	97	3	2.2	60	
1.20	0	100	2.2	60	
1.25	0	100	3	60	
1.40	0	100	3	60	

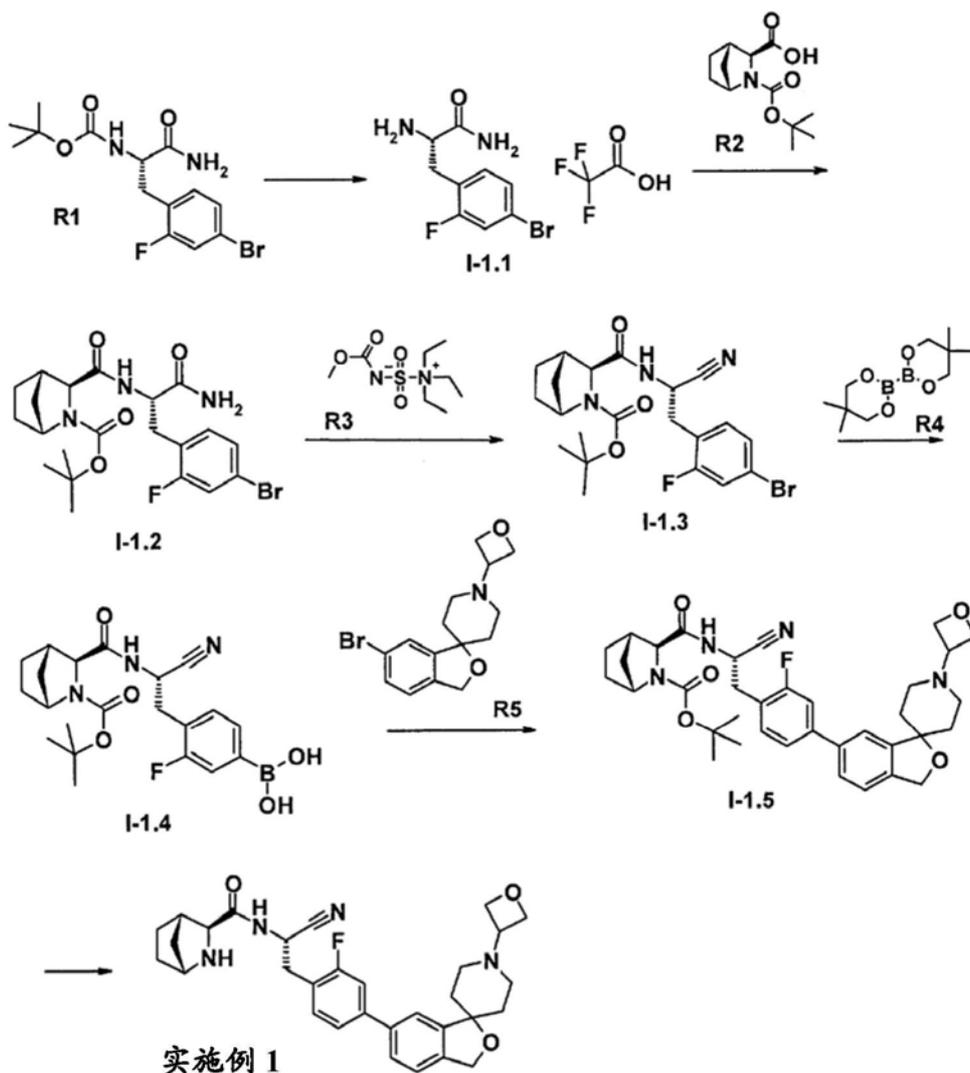
[0279] LC-MS方法Z021_S01

[0280]	装置描述		具有 DAD 及 MSD 的 Agilent 1200		
	管柱		XBridge C18		
	管柱尺寸		3 × 30 mm		
	粒子尺寸		2.5 μm		
	溶剂梯度时间 [min]	溶解% [H ₂ O, 0.1% FA]	溶解% [乙腈]	流速[ml/min]	温度[°C]
	0.00	97	3	2.2	60
0.20	97	3	2.2	60	
1.20	0	100	2.2	60	
1.25	0	100	3	60	
1.40	0	100	3	60	

[0282] 合成方法:

[0283] 方法A

[0284] 合成 (1S, 2S, 4R) -N-[(1S)-1-氰基-2-[2-氟-4-[1'-(氧杂环丁-3-基)螺[1H-异苯并呋喃-3,4'-哌啶]-5-基]苯基]乙基]-3-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酰胺 (实施例1)



[0286] 步骤1:合成中间体I-1.1

[0287] 向含R1 (20.00g, 55.37mmol) 的二氯甲烷 (50mL) 中添加三氟乙酸 (17.09mL, 221.48mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。浓缩反应混合物, 使残余物溶解于二氯甲烷 (15mL) 及二异丙基醚 (140mL) 中。滤出沉淀物, 用二异丙基醚洗涤且干燥, 得到呈TFA盐形式的I-1.1。

[0288] 产率99%, m/z 261 [M+H]⁺, rt 0.50min, LC-MS方法Z018_S04。

[0289] 步骤2:合成中间体I-1.2

[0290] 向含R2 (13.86g, 55.72mmol) 的DMF (65mL) 中添加DIPEA (9.02mL, 50.67mmol) 且冷却至5℃。添加TBTU (17.89g, 55.72mmol) 且搅拌反应混合物15分钟。然后, 添加I-1.1 (TFA盐) (19.0g, 50.65mmol)、DMF (65mL) 及DIPEA (13.52mL, 75.98mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。反应混合物用乙酸乙酯稀释且用水萃取。用乙酸乙酯萃取水层。经合并的有机层用水、1mol/L盐酸水溶液、水、碳酸氢钠水溶液 (5%) 且再次用水洗涤。有机层经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过快速色谱 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇95:5) 纯化粗残余物。

[0291] 产率82%, m/z 484 [M+H]⁺, rt 0.91min, LC-MS方法Z018_S04。

[0292] 步骤3:合成中间体I-1.3

[0293] 向含I-1.2 (20.0g, 41.29mmol) 的二氯甲烷 (200mL) 中添加R3 (19.68g,

82.58mmol),且在室温下搅拌反应混合物隔夜。真空浓缩反应混合物,使残余物溶解于乙酸乙酯中且用水、1mol/L乙酸水溶液及水萃取。有机层经MgSO₄干燥,过滤且真空浓缩。残余物由乙腈再结晶且滤出。

[0294] 产率71%,m/z 466[M+H]⁺,rt 0.98min,LC-MS方法Z018_S04。

[0295] 步骤4:合成中间体I-1.4

[0296] 向含I-1.3(1.5g,3.22mmol)的二噁烷(20mL)中添加R4(799.22mg,3.54mmol)、乙酸钾(0.947g,9.65mmol)及[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(与二氯甲烷的络合物(1:1)(52.54mg,0.064mmol))。反应混合物用氮气净化且加热至70℃持续1.5小时。用二氯甲烷及水稀释反应混合物。分离有机层且真空浓缩。通过反相HPLC纯化残余物。

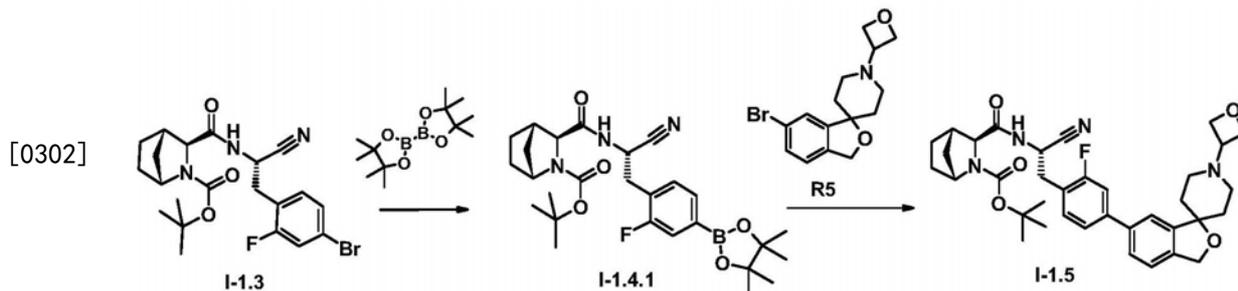
[0297] 产率94%,m/z 332[M+H-Boc]⁺,rt 0.96min,LC-MS方法Z020_S01。

[0298] 步骤5:合成中间体I-1.5

[0299] 向含I-1.4(400.0mg,0.93mmol)的乙腈(18mL)中添加R5(301.0mg,0.93mmol),且用氩气净化混合物。添加2mol/L碳酸钠水溶液(928μL,1.86mmol)及1,1'-双(二叔丁基膦基)二茂铁二氯化钯(60.5mg,0.09mmol),再次用氩气净化反应混合物且在80℃下于微波反应器中搅拌45分钟。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释,且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤且真空浓缩。通过硅胶管柱色谱(DCM:MeOH=98:2至92:8)纯化粗残余物以得到I-1.5。

[0300] 产率79%,m/z 631[M+H]⁺,rt 1.09min,LC-MS方法Z011_S03。

[0301] 中间体I-1.5的替代合成



[0303] 合成中间体I-1.4.1

[0304] 向含I-1.3(20g,42.89mmol)的二噁烷(255mL)中添加双(频哪醇根基)二硼(13.07g,51.46mmol)、乙酸钾(12.63g,128.66mmol)及[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(与二氯甲烷的络合物(1:1)(1.75g,2.14mmol))。混合物用氮气净化5分钟,加热至70℃且在此温度下搅拌隔夜。用二氯甲烷及水稀释反应混合物。分离有机层且真空浓缩。通过硅胶管柱色谱(石油醚:EtOAc=92:8至34:66)纯化残余物。

[0305] 产率64%,m/z 332[M+H-Boc-((CH₃)₂CH)₂]⁺,rt 0.73min,LC-MS方法Z011_S03。

[0306] 合成中间体I-1.5

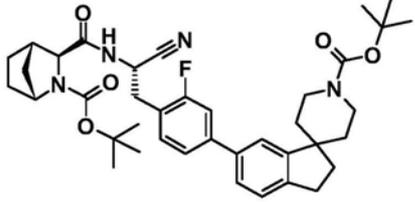
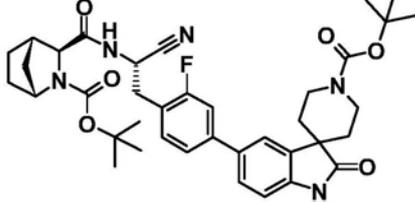
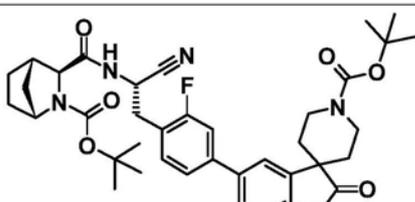
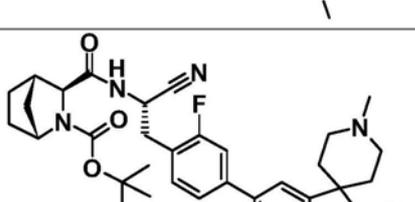
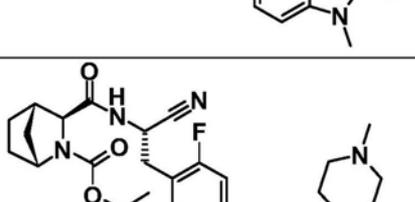
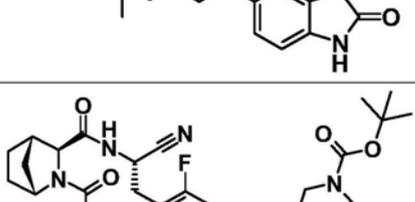
[0307] 向含I-1.4.1(3.96g,7.71mmol)的乙腈(60mL)中添加R5(2.50g,7.71mmol),且用氩气净化混合物。添加2mol/L碳酸钠水溶液(7.71mL,15.42mmol)及1,1'-双(二叔丁基膦基)二茂铁二氯化钯(502.6mg,0.77mmol),再次用氩气净化反应混合物且在80℃下搅拌90分钟。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释,且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤且真空浓缩。通过硅胶管柱色谱(DCM:MeOH=99:1至94:6)纯化粗残

余物以得到I-1.5。

[0308] 产率75%, m/z 631 [M+H]⁺, rt 1.09min, LC-MS方法Z011_S03。

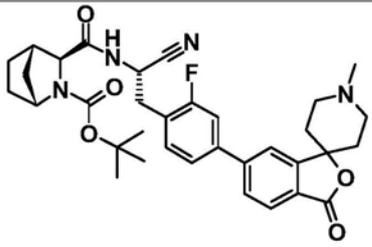
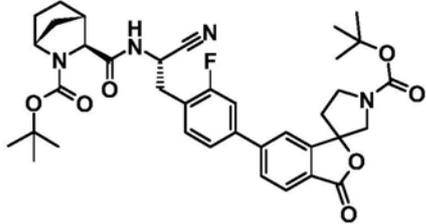
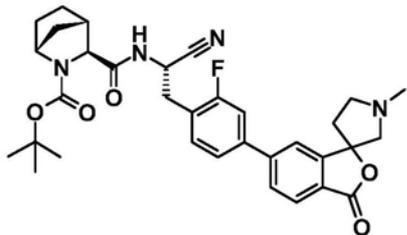
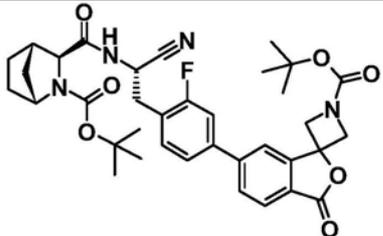
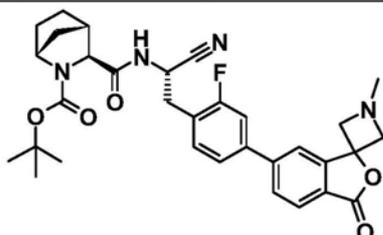
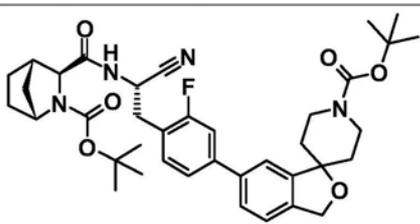
[0309] 以类似方式由中间体I-1.4及适当的离析物合成如表1中所展示的以下中间体:

[0310] 表1

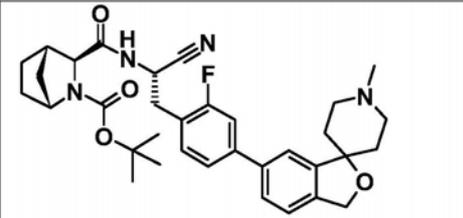
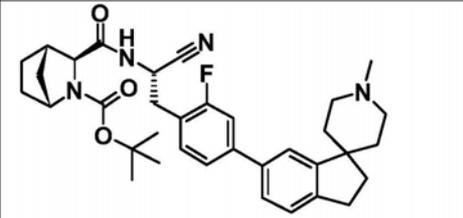
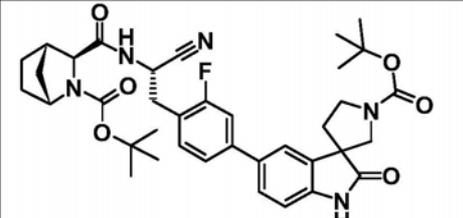
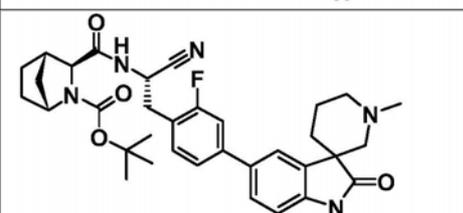
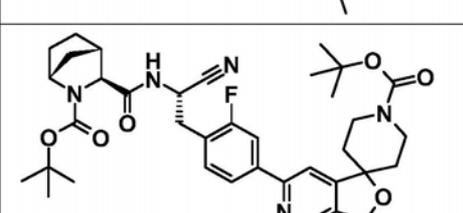
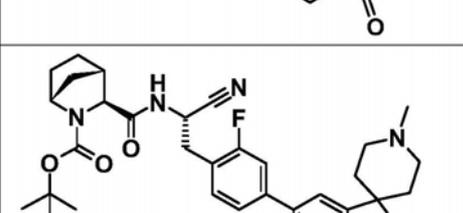
中间体	离析物	中间体结构	m/z [M+H] ⁺	rt (min)	LC-MS 方 法
I-1.5.1	R6		517 [M-Boc-t. but +H] ⁺	1.29	Z012_S04
I-1.5.2	R8		532 [M-Boc-t. but +H] ⁺	1.14	Z012_S04
I-1.5.3	R9		546 [M-Boc-t. but +H] ⁺	1.19	Z012_S04
I-1.5.4	R10		616	0.95	Z012_S04
I-1.5.5	R10.1		602	0.91	Z012_S04
I-1.5.6	I-7.2		589 [M-Boc +H] ⁺	1.19	Z012_S04

[0311]

[0312]

I-1.5.7	R10.2		603	0.94	Z012_S04
I-1.5.8	I-7.2.1		575 [M-Boc+ H] ⁺	1.15	Z011_S03
I-1.5.9	R10.3		589	0.95	Z012_S04
I-1.5.10	I-7.2.2		561 [M-Boc +H] ⁺	1.17	Z012_S04
I-1.5.11	R10.4		575	1.04	Z011_S03
I-1.5.12	I-7.4		575 [M-Boc +H] ⁺	1.24	Z011_S03

[0313]

I-1.5.13	R10.5		589	1.12	Z011_S03
I-1.5.14	R7		587	1.19	Z011_S03
I-1.5.15	R12		574 [M-Boc +H] ⁺	1.10	Z011_S03
I-1.5.16	R10.6		615	0.80	Z020_S01
I-1.5.17	R14		590 [M-Boc +H] ⁺	1.16	Z011_S03
I-1.5.18	R10.7		604	1.04	Z011_S03

[0314]

I-1.5.19	I-11.1.1		590	1.02	Z011_S03
I-1.5.20	R15		604	1.03	Z011_S03
I-1.5.21	R16		546 [M-Boc +H] ⁺	1.00	Z011_S03
I-1.5.22	R17		632	1.03	Z011_S03
I-1.5.23	R18		646	0.90	Z011_S03
I-1.5.24	R19		632	1.04	Z011_S03

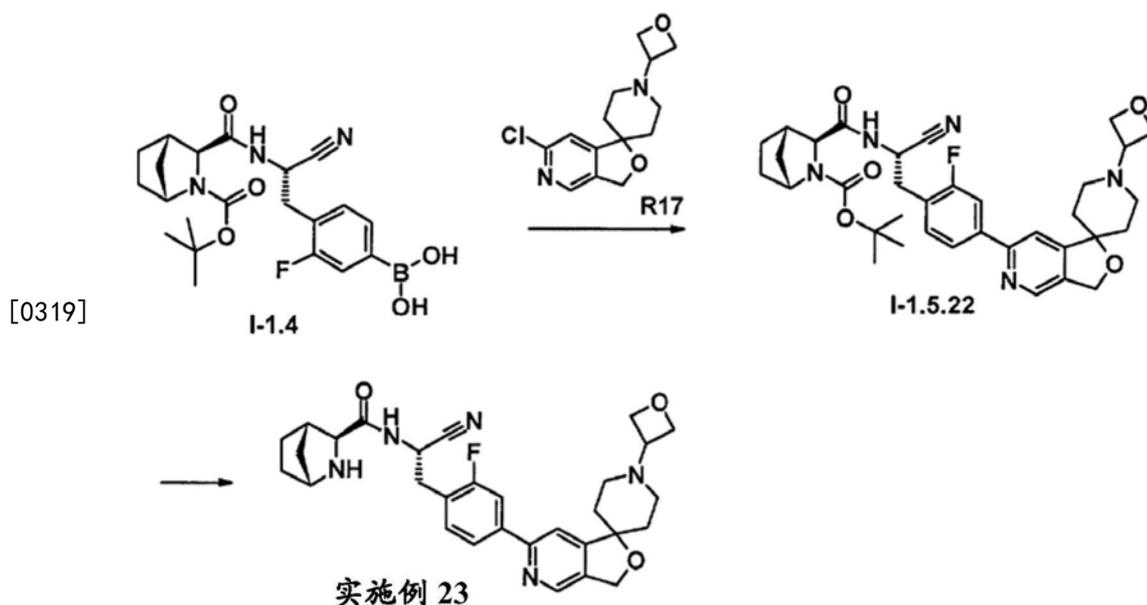
[0315] 步骤6:合成实施例1

[0316] 向含I-1.5 (3.64g, 5.78mmol) 的乙腈 (60mL) 中添加对甲苯磺酸单水合物 (5.49g, 28.88mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化粗残余物。

[0317] 产率84%, m/z 531 [M+H]⁺, rt 1.00min, LC-MS方法Z011_S03.

[0318] 合成 (1S, 2S, 4R) -N-[(1S) -1-氰基-2-[2-氟-4-[1'-(氧杂环丁-3-基) 螺[3H-呋喃

并[3,4-c]吡啶-1,4'-哌啶]-6-基]苯基]乙基]-3-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酰胺(实施例23)



[0320] 步骤1:合成中间体I-1.5.22

[0321] 向含I-1.4 (92.2mg, 0.17mmol) 的乙腈(3mL)中添加R17 (48.0mg, 0.17mmol), 且用氩气净化混合物。添加2mol/L碳酸铯水溶液(171 μ L, 0.34mmol)及1,1'-双(二叔丁基膦基)二茂铁二氯化钡(11.1mg, 0.02mmol), 再次用氩气净化反应混合物且在80 $^{\circ}$ C下于微波反应器中搅拌45分钟。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化粗残余物以得到I-1.5.22。

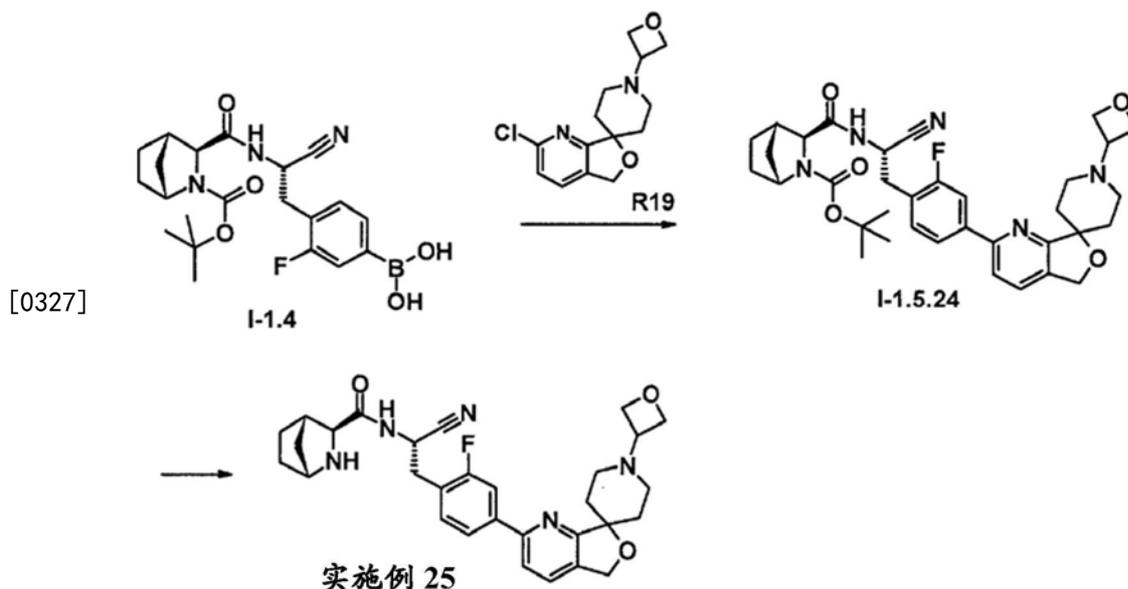
[0322] 产率52%, m/z 632 [M+H]⁺, rt 1.04min, LC-MS方法Z011_S03。

[0323] 步骤2:合成实施例23

[0324] 向含I-1.5.22 (56.0mg, 0.09mmol) 的乙腈(2mL)中添加对甲苯磺酸单水合物(84.3mg, 0.44mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。反应混合物用TEA碱化, 经由过滤膜过滤且通过反相HPLC纯化。

[0325] 产率83%, m/z 532 [M+H]⁺, rt 0.96min, LC-MS方法Z011_S03。

[0326] 合成(1S, 2S, 4R)-N-[(1S)-1-氰基-2-[2-氟-4-[1'-(氧杂环丁-3-基)螺[5H-咪喃并[3,4-b]吡啶-7,4'-哌啶]-2-基]苯基]乙基]-3-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酰胺(实施例25)



[0328] 步骤1:合成中间体I-1.5.24

[0329] 向含I-1.4 (2.304g, 5.34mmol) 的乙腈 (50mL) 中添加R19 (1.50g, 5.34mmol), 且用氩气净化混合物。添加2mol/L碳酸钠水溶液 (5.343mL, 10.69mmol) 及1,1'-双(二叔丁基基)二茂铁二氯化钪 (348.2mg, 0.53mmol), 再次用氩气净化反应混合物且在70°C下于微波反应器中搅拌45分钟。添加额外量的I-1.4 (150mg, 0.35mmol) 且在70°C下搅拌反应混合物25分钟。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过硅胶管柱色谱 (DCM:MeOH=99:1至9:1) 纯化粗残余物以得到I-1.5.24。

[0330] 产率55%, m/z 632 [M+H]⁺, rt 1.05min, LC-MS方法Z011_S03。

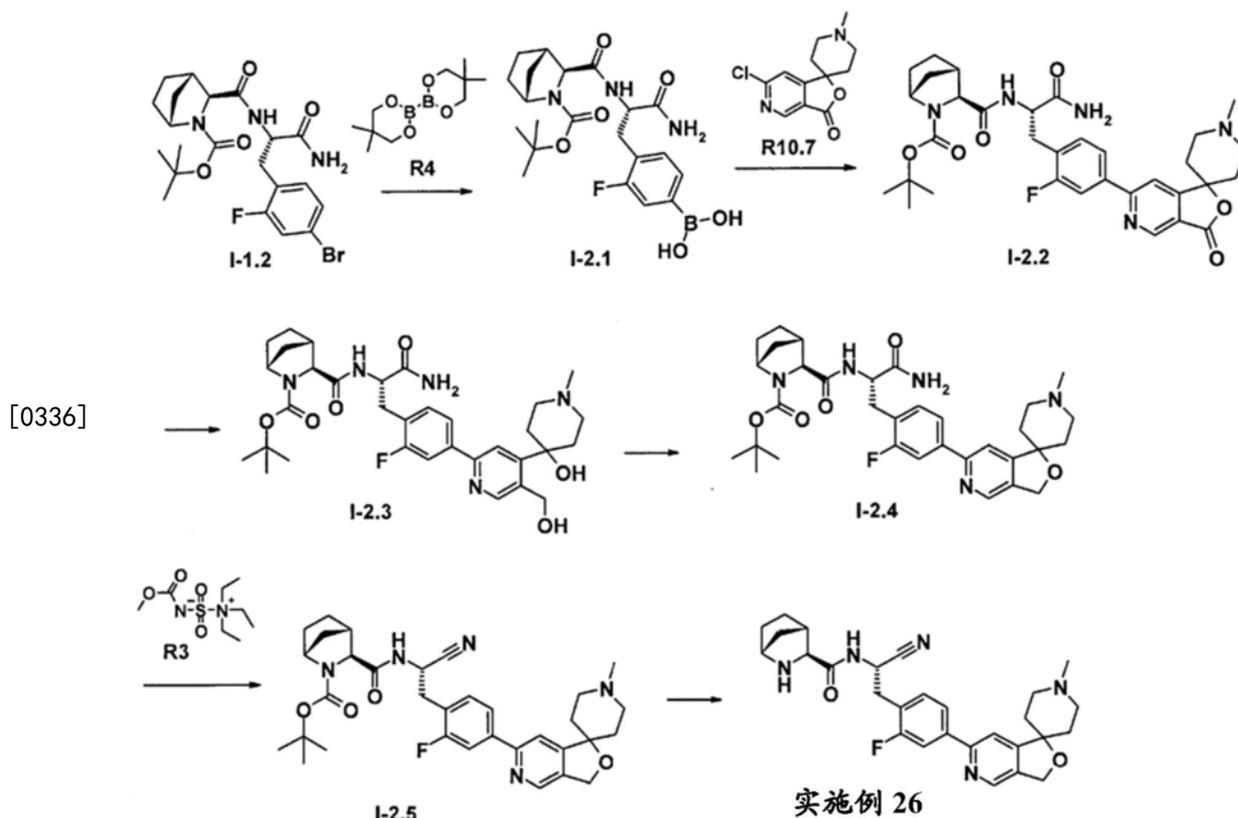
[0331] 步骤2:合成实施例25

[0332] 向含I-1.5.24 (1.85g, 2.93mmol) 的乙腈 (50mL) 中添加对甲苯磺酸单水合物 (2.78g, 14.64mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化粗残余物。

[0333] 产率88%, m/z 532 [M+H]⁺, rt 0.97min, LC-MS方法Z011_S03。

[0334] 方法B

[0335] 合成 (1S, 2S, 4R) -N-[(1S)-1-氰基-2-[2-氟-4-(1'-甲基螺[3H-咪喃并[3,4-c]吡啶-1,4'-哌啶]-6-基) 苯基] 乙基]-3-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酰胺 (实施例26)



[0337] 步骤1:合成中间体I-2.1

[0338] 向含I-1.2 (1.0g, 2.07mmol) 的二噁烷 (10mL) 中添加R4 (512.99mg, 2.27mmol)、乙酸钾 (607.92mg, 9.65mmol) 及[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II) (与二氯甲烷的络合物 (1:1) (33.72mg, 0.041mmol))。反应混合物用氮气净化且加热至70℃隔夜。再次添加R4 (100mg, 0.44mmol) 及[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II) (与二氯甲烷的络合物 (1:1) (10mg, 0.01mmol))，且在70℃下搅拌反应混合物2小时。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤，经MgSO₄干燥，过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化残余物。

[0339] 产率50%，m/z 450 [M+H]⁺。

[0340] 步骤2:合成中间体I-2.2

[0341] 向含I-2.1 (204.46mg, 0.46mmol) 的乙腈 (4mL) 中添加R10.7 (115mg, 0.46mmol)，且用氩气净化混合物。添加2mol/L碳酸铯水溶液 (455.09μL, 0.91mmol) 及1,1'-双(二叔丁基膦基)二茂铁二氯化钯 (29.66mg, 0.046mmol)，再次用氩气净化反应混合物且在80℃下于微波反应器中搅拌45分钟。反应混合物用水稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤，经MgSO₄干燥，过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化残余物。

[0342] 产率75%。

[0343] 步骤3:合成中间体I-2.3

[0344] 向含I-2.2 (212mg, 0.34mmol) 的THF (5mL) 中添加硼氢化锂 (2mol/L, 0.26mL, 0.51mmol)，且在室温下搅拌反应混合物3小时。反应混合物用甲醇淬灭，用水及乙酸乙酯稀释。有机层用碳酸氢钠溶液及盐水洗涤，经Na₂SO₄干燥，过滤且真空浓缩。

[0345] 产率91%。

[0346] 步骤4:合成中间体I-2.4

[0347] 在0℃下向含I-2.3 (194mg, 0.31mmol) 的THF (5mL) 中添加TEA (0.22mL, 1.55mmol) 及对甲苯磺酸酐 (121.43mg, 0.37mmol)。使反应混合物达到室温且搅拌隔夜。反应混合物用水淬灭且真空浓缩。残余物用碳酸氢钠溶液稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化残余物。

[0348] 产率34%, m/z 608 [M+H]⁺。

[0349] 步骤5:合成中间体I-2.5

[0350] 向含I-2.4 (65mg, 0.11mmol) 的二氯甲烷 (2.5mL) 中添加R3 (63.72mg, 0.27mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。反应混合物用乙酸乙酯稀释且用水萃取。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。

[0351] 产率>95%。

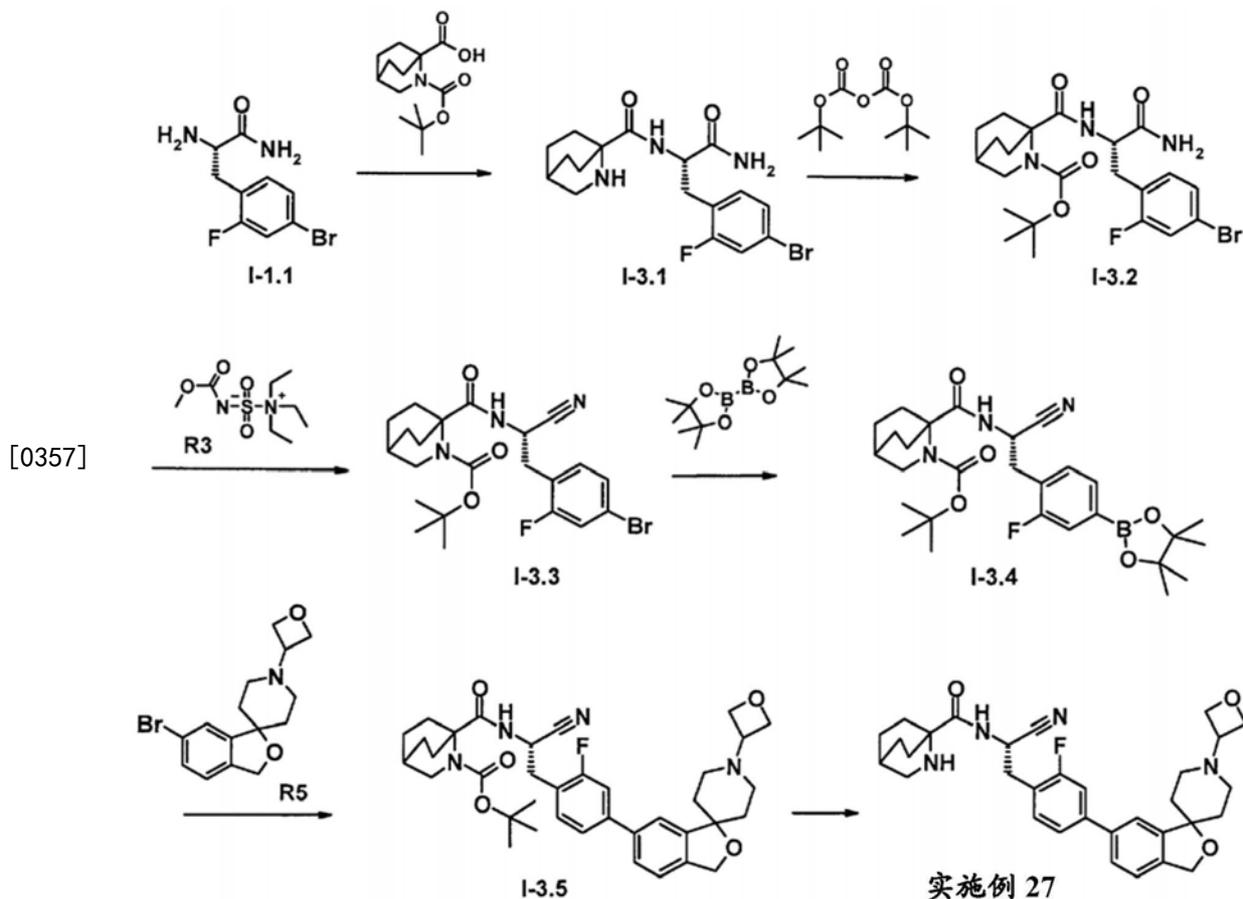
[0352] 步骤6:合成实施例26

[0353] 向含I-2.5 (68mg, 0.10mmol) 的乙腈 (2mL) 中添加对甲苯磺酸单水合物 (98.70mg, 0.52mmol), 且在室温下搅拌反应混合物1小时。反应混合物用TEA碱化且通过反相HPLC纯化。

[0354] 产率28%, m/z 490 [M+H]⁺, rt 0.96min, LC-MS方法Z011_S03。

[0355] 方法C

[0356] 合成N-[(1S)-1-氰基-2-[2-氟-4-[1'-(氧杂环丁-3-基)螺[1H-异苯并呋喃-3, 4'-哌啶]-5-基]苯基]乙基]-3-氮杂双环[2.2.2]辛烷-4-甲酰胺 (实施例27)



[0358] 步骤1:合成中间体I-3.1

[0359] 向冷却至0℃的I-1.1 (5.80g, 22.2mmol)、3-叔丁氧基羰基-3-氮杂双环[2.2.2]辛烷-4-甲酸(根据Radchenko等人J.Org.Chem.2009制备)、5541-5544 (5.67g, 22.2mmol) 及N-甲基-吗啉 (12.2mL, 111.0mmol) 于无水二氯甲烷 (67mL) 的溶液中添加PPA (13.08mL (50%于乙酸乙酯中), 22.2mmol)。使反应混合物达到室温且搅拌隔夜。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用二氯甲烷萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩, 得到I-3.1, 其不经进一步纯化即用于下一步骤中。

[0360] 产率73%, m/z 398/400 [M+H]⁺, rt 0.87min, LC-MS方法Z011_S03。

[0361] 步骤2: 合成中间体I-3.2

[0362] 向冷却至0℃的I-3.1 (8.625g, 21.66mmol) 于300mL无水二氯甲烷的溶液中逐滴添加焦碳酸二叔丁酯 (6.26g, 28.70mmol) 于20mL无水二氯甲烷的溶液。在0℃下搅拌反应混合物2小时, 使其达到室温且搅拌2天。真空浓缩反应混合物, 得到I-3.2, 其不经进一步纯化即用于下一步骤中。

[0363] 产率98%, m/z 398/400 [M+H-Boc]⁺, rt 1.04min, LC-MS方法Z011_S03。

[0364] 步骤3: 合成中间体I-3.3

[0365] 向I-3.2 (5.52g, 11.07mmol) 于无水二氯甲烷 (70mL) 的悬浮液中分四份添加R3 (3.96g, 16.60mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。添加额外量的R3 (791.0mg, 3.32mmol), 且在室温下搅拌反应混合物6小时。反应混合物用二氯甲烷稀释, 用10%酒石酸水溶液、碳酸氢钠饱和溶液、盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过硅胶管柱色谱 (石油醚:EtOAc=94:6至69:31) 纯化所获得的残余物以得到I-3.3。

[0366] 产率77%, m/z 380/382 [M+H-Boc]⁺, rt 1.10min, LC-MS方法Z011_S03。

[0367] 步骤4: 合成中间体I-3.4

[0368] 向含I-3.3 (3.61g, 7.52mmol) 的二噁烷 (45mL) 中添加双(频哪醇根基)二硼 (3.24g, 12.78mmol)、乙酸钾 (2.21g, 22.55mmol) 及[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钡(II) (与二氯甲烷的络合物 (1:1) (61.4mg, 0.08mmol))。用氦气净化混合物5分钟且在70℃下加热3小时。反应混合物用水稀释且用二氯甲烷萃取。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过硅胶管柱色谱 (石油醚:EtOAc=100:0至91:9) 纯化残余物以得到I-3.4。

[0369] 产率68%, m/z 346 [M+H-Boc-((CH₃)₂CH)₂]⁺, rt 0.77min, LC-MS方法Z011_S03。

[0370] 步骤5: 合成中间体I-3.5

[0371] 向含I-3.4 (1.14g, 2.16mmol) 的乙腈 (30mL) 中添加R5 (0.70g, 2.16mmol), 且用氦气净化混合物。添加2mol/L碳酸钠水溶液 (2.16mL, 4.32mmol) 及1,1'-双(二叔丁基膦基)二茂铁二氯化钡 (141.0mg, 0.22mmol), 再次用氦气净化反应混合物5分钟且在80℃下于微波反应器中搅拌70分钟。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过硅胶管柱色谱 (DCM:MeOH=99:1至9:1) 纯化粗残余物以得到I-3.5。

[0372] 产率81%, m/z 645 [M+H]⁺, rt 1.11min, LC-MS方法Z011_S03。

[0373] 步骤6: 合成实施例27

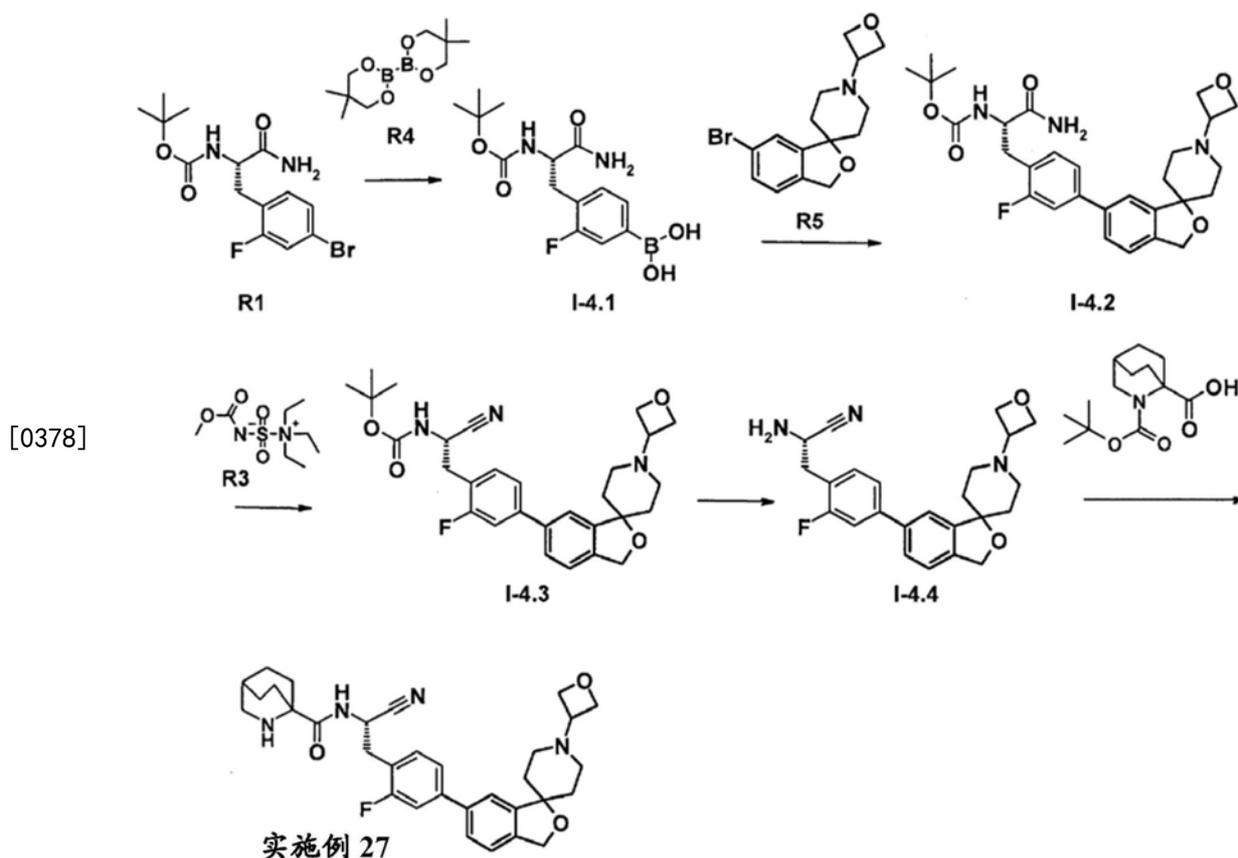
[0374] 向含I-3.5 (923.0mg, 1.43mmol) 的乙腈 (40mL) 中添加对甲苯磺酸单水合物 (681.0mg, 3.58mmol), 且在室温下搅拌反应混合物3天。反应混合物用TEA中和且真空浓缩。

添加水,且用乙酸乙酯萃取反应混合物若干次。有机层用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化粗残余物。

[0375] 产率61%,m/z 545[M+H]⁺,rt 1.02min,LC-MS方法Z011_S03。

[0376] 方法D

[0377] 替代合成N-[(1S)-1-氰基-2-[2-氟-4-[1'-(氧杂环丁-3-基)螺[1H-异苯并呋喃-3,4'-哌啶]-5-基]苯基]乙基]-3-氮杂双环[2.2.2]辛烷-4-甲酰胺(实施例27)



[0379] 步骤1:合成中间体I-4.1

[0380] 向含R1(340mg,0.94mmol)的二噁烷(7mL)中添加R4(288mg,1.28mmol)、乙酸钾(277mg,2.82mmol)及[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钡(II)(与二氯甲烷的络合物(1:1)(15.3mg,0.02mmol))。用氮气净化混合物且加热至70℃持续2小时。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化残余物以得到I-4.1。

[0381] 产率90%,m/z 325[M-H]⁻,rt 0.94min,LC-MS方法Z020_S01。

[0382] 步骤2:合成中间体I-4.2

[0383] 向含I-4.1(228mg,0.70mmol)的乙腈(10mL)中添加R5(239mg,0.70mmol),且用氩气净化混合物。添加2mol/L碳酸钾水溶液(700μL,1.4mmol)及1,1'-双(二叔丁基膦基)二茂铁二氯化钡(46mg,0.07mmol),再次用氩气净化反应混合物且在80℃下于微波反应器中搅拌45分钟。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化残余物以得到I-4.2。

[0384] 产率80%,m/z 526[M+H]⁺,rt 0.83min,LC-MS方法Z011_S03。

[0385] 步骤3:合成中间体I-4.3

[0386] 向含I-4.2 (294mg, 0.56mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 中添加R3 (333mg, 1.4mmol), 且在室温下搅拌反应混合物40分钟。真空移除DCM, 将所获得的残余物分配于乙酸乙酯与10%酒石酸水溶液之间, 分离各相, 且用乙酸乙酯萃取水相。经合并的有机层用碳酸氢钠饱和溶液、盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩, 得到I-4.3。

[0387] 产率95%, m/z 508 [M+H]⁺, rt 1.06min, LC-MS方法Z011_S03。

[0388] 步骤4:合成中间体I-4.4

[0389] 向含I-4.3 (320mg, 0.63mmol) 的乙腈 (8mL) 中添加对甲苯磺酸单水合物 (600mg, 3.15mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取三次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。

[0390] 产率80%, m/z 408 [M+H]⁺, rt 0.90min, LC-MS方法Z011_S03。

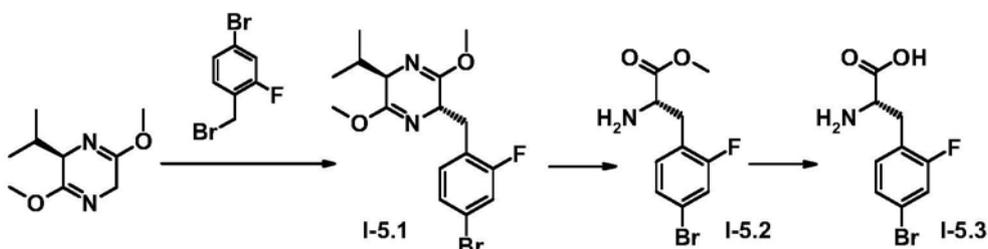
[0391] 步骤5:合成实施例27

[0392] 在室温下向含I-4.4 (30mg, 0.07mmol) 的DMF (1mL) 中添加3-叔丁氧基羰基-3-氮杂双环[2.2.2]辛烷-4-甲酸(根据Radchenko等人J.Org.Chem.2009制备)、5541-5544 (19mg, 0.07mmol)、N-甲基-吗啉 (16μL, 0.15mmol) 及PPA (43μL, 50%于DMF中)。在室温下搅拌反应混合物2.5小时, 用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化残余物以得到实施例27(在处理及/或纯化期间发生Boc基团的去保护)。

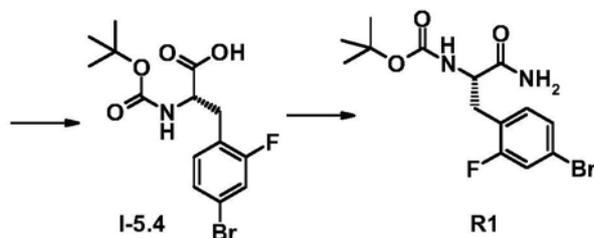
[0393] 产率32%, m/z 545 [M+H]⁺, rt 1.02min, LC-MS方法Z011_S03。

[0394] 合成起始物质/离析物

[0395] 合成N-[(1S)-2-氨基-1-[(4-溴-2-氟-苯基)甲基]-2-氧代基-乙基]氨基甲酸叔丁酯(R1)



[0396]



[0397] 步骤1:合成中间体I-5.1

[0398] 将含(2R)-(-)-2,5-二氢-3,6-二甲氧基-2-异丙基吡嗪 (212g, 1151mmol) 的无水四氢呋喃 (600mL) 冷却至-78℃。随后逐滴添加正丁基锂 (2.5M于己烷中, 552mL, 1381mmol), 使温度保持在-78℃以下。30分钟后, 逐滴添加含4-溴-2-氟苯甲基溴 (324g, 1209mmol) 的无水四氢呋喃 (120mL)。在-78℃下搅拌反应混合物1小时。混合物用NH₄Cl饱和溶液淬灭且用

乙酸乙酯萃取三次。有机层用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤且真空蒸发。通过快速色谱(庚烷/乙酸乙酯=80/20)纯化残余物。产率60%。

[0399] 步骤2:合成中间体I-5.2

[0400] 向含I-5.1 (104g, 265mmol) 的乙腈 (600mL) 中添加0.2M HCl水溶液 (2788mL, 558mmol)。在室温下搅拌混合物12小时。用乙醚萃取混合物,且用 NaHCO_3 饱和溶液将水层的pH调节至约8。随后其用乙酸乙酯萃取三次。有机层用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤且浓缩。产率80%。

[0401] 步骤3:合成中间体I-5.3

[0402] 在60°C下于3M HCl水溶液 (3mol/L, 1000mL) 中搅拌I-5.2 (62.4g, 211mmol) 16小时。冷却混合物且用6M NaOH水溶液将pH调节至约7。随后过滤反应混合物,用水洗涤三次,且在40°C下在真空烘箱中干燥12小时。产率74%。

[0403] 步骤4:合成中间体I-5.4

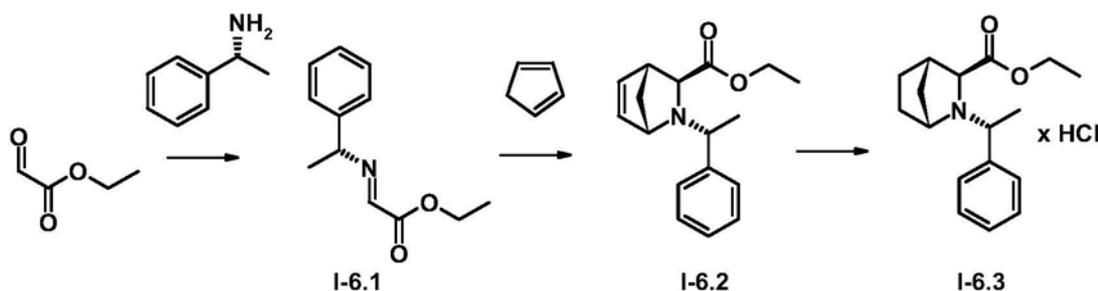
[0404] 向含I-5.3 (151g, 546mmol) 的1,4-二噁烷 (2.2L) 中添加2M碳酸钠水溶液 (301mL, 602mmol) 及焦碳酸二叔丁酯 (138g, 632mmol)。搅拌混合物4小时。随后添加水且用柠檬酸将pH调节至约4至5。用乙酸乙酯萃取混合物三次。有机层用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤且浓缩。于庚烷中搅拌残余物15分钟且滤出产物。产率87%。

[0405] 步骤5:合成R1

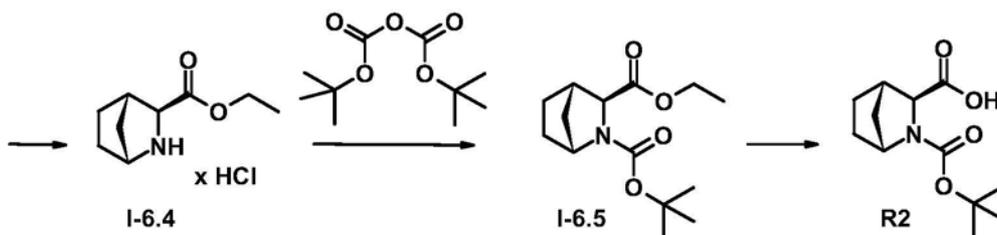
[0406] 向含I-5.4 (181g, 476mmol) 的无水DMF (1200mL) 中添加N-甲基吗啉 (72g, 713mmol) 及TBTU (153g, 476mmol), 且搅拌反应混合物30分钟。随后将反应混合物冷却至0°C, 且添加35%氯化铵水溶液 (47mL, 856mmol), 且在室温下搅拌混合物12小时。添加水且滤出所形成的产物,且用水洗涤三次。在40°C下在真空烘箱中干燥产物72小时。产率64%。

[0407] 合成(1S, 2S, 4R)-3-[(叔丁氧基)羰基]-3-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸酯(R2)

[0408] 化合物为市售的且可以类似于Tararov等人, *Tetrahedron Asymmetry* 13 (2002), 25-28的方式合成。



[0409]



[0410] 步骤1:合成中间体I-6.1

[0411] 在-10℃下冷却氧代基乙酸乙酯(44.9g,0.44mol) (由含市售溶液的甲苯(在50毫巴下,55℃)新蒸馏)于乙醚(300mL)的溶液,继而逐滴添加(R)-(+) -1-苯基乙胺(53g,440mmol),使温度保持在0℃以下。完成添加后,添加MgSO₄·H₂O(91g,660mmol),且在室温下搅拌所得混合物隔夜。过滤混合物,真空浓缩母液且减压蒸馏残余物,得到I-6.1(47g,m/z 206[M+H]⁺,rt 1.29min,LC-MS方法V003_003)。产物不经进一步纯化即使用。

[0412] 步骤2:合成中间体I-6.2

[0413] 将I-6.1(47g,229mmol)及1,3-环戊二烯(30g,458mmol) (由二环戊二烯新蒸馏)于DMF(150mL)及120μl水的溶液冷却至0℃,之后逐滴添加TFA(18ml,234mmol)。混合物在室温下搅拌隔夜,随后添加至40g NaHCO₃于1200ml水的溶液中,且用乙醚萃取。分离有机层,随后用NaHCO₃水溶液及水洗涤,经MgSO₄干燥,且真空浓缩。通过硅胶管柱色谱(环己烷/乙酸乙酯=9:1)纯化残余物,得到I-6.2(产率52%,m/z 272[M+H]⁺,rt 0.42min,LC-MS方法X001_004)。

[0414] 步骤3:合成中间体I-6.3

[0415] 向I-6.2(24.8g,91mmol)于乙醇(250ml)的溶液中添加阮尼镍(Raney-nickel)(2.5g),且在50psi下在氢气氛围下在室温下反应。滤出催化剂,真空浓缩溶液且通过硅胶管柱色谱(环己烷/乙酸乙酯9:1)纯化残余物。在有机溶剂蒸发之后,使所得产物再溶解于乙醚中且用HCl于二噁烷的溶液湿磨,真空浓缩,再溶解于200ml乙醇中且真空浓缩,得到I-6.3(产率78%,m/z 274[M+H]⁺,rt 0.42min,LC-MS方法X001_004)。

[0416] 步骤4:合成中间体I-6.4

[0417] 向I-6.3(22g,71mmol)于乙醇(250ml)的溶液中添加10%Pd/C(2.5g),且在15巴下在氢气氛围下在室温下反应。滤出催化剂,真空浓缩溶液。用二异丙基醚洗涤残余物得到I-6.4(产率98%,m/z 170[M+H]⁺,rt 0.48min,LC-MS方法V001_007)。

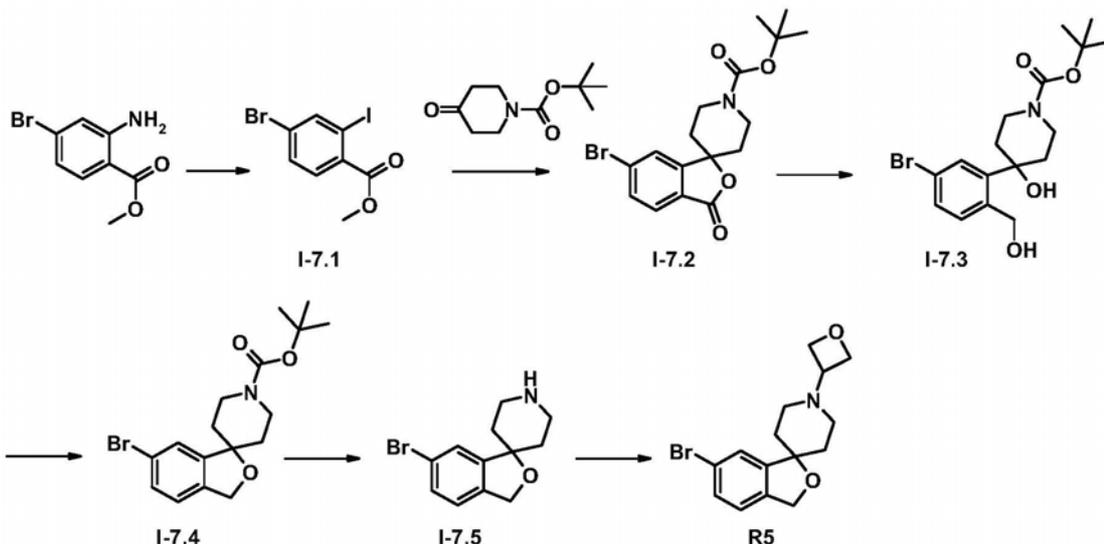
[0418] 步骤5:合成中间体I-6.5

[0419] 向I-6.4(14.3g,69.3mmol)于三乙基胺(24.6ml,175.3mmol)、THF(150mL)及水(2mL)的溶液中添加焦碳酸二叔丁酯(15.9g,73mmol),且在室温下搅拌所得混合物40小时,随后真空浓缩。将乙酸乙酯添加至残余物中,随后用水、1N乙酸水溶液及水萃取,之后有机层经MgSO₄干燥,过滤且真空浓缩,得到I-6.5(产率95%,m/z 270[M+H]⁺,rt 1.33min,LC-MS方法V003_003)。

[0420] 步骤6:合成R2

[0421] 在室温下搅拌I-6.5(16.9g;63mmol)于丙酮(152ml)、水(50ml)及氢氧化锂(3g,126mmol)的混合物隔夜。添加水(100ml),在真空中减少体积然后冷却至0℃,继而添加1N HCl水溶液以使其酸化至2-3的pH,紧接着用乙酸乙酯萃取。有机层用水洗涤,干燥(MgSO₄)且浓缩。向残余物中添加二氯甲烷(100ml)及环己烷(100ml),体积在真空中减少一半且在15℃下加温混合物。滤出沉淀物,用环己烷洗涤,得到R2(产率66%,m/z 242[M+H]⁺)。

[0422] 合成5-溴-1'-(氧杂环丁-3-基)螺[1H-异苯并呋喃-3,4'-吡啶](R5)



[0424] 步骤1:合成中间体I-7.1

[0425] 使2-氨基-4-溴苯甲酸甲酯(10g, 43.47mmol)悬浮于20%硫酸(200mL)中,且使所获得的溶液冷却至0℃。在0℃至5℃之间逐滴添加溶解于水(40mL)的亚硝酸钠(3.60g, 52.16mmol),且在此温度下搅拌反应混合物另外40分钟。然后,逐滴添加碘化钾(14.43g, 86.93mmol)于水(40mL)的冷却溶液(约0℃),且在5℃下搅拌反应混合物1小时。将反应混合物倒至冰-水上且用乙酸乙酯萃取。有机层用水、10%硫代硫酸钠水溶液、盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,且真空浓缩。产率94%。

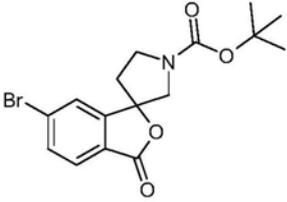
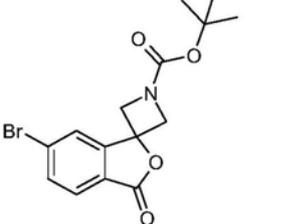
[0426] 步骤2:合成中间体I-7.2

[0427] 将含I-7.1(9.42g, 27.63mmol)及4-氧代基哌啶-1-甲酸叔丁酯(6.24g, 30.40mmol)的无水THF(200mL)冷却至-70℃。逐滴添加氯化异丙基镁-氯化锂络合物(1.3mol/L于THF中,23.38mL,30.40mmol),且在此温度下搅拌反应混合物另外20分钟,使其达到室温且搅拌45分钟。反应混合物用水淬灭且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥且真空浓缩。通过快速管柱色谱(石油醚:EtOAc=95:5至40:60)纯化粗残余物,得到I-7.2。

[0428] 产率74%, m/z 326, 328[M+H-tert-Bu]⁺, rt 1.09min, LC-MS方法Z011_S03。

[0429] 以类似方式由适当的中间体合成如表2中所展示的以下中间体:

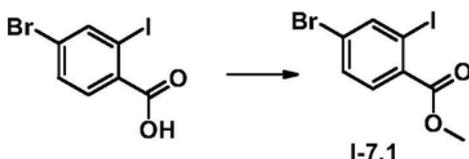
[0430] 表2

中间体	结构	m/z [M+H] ⁺	rt (min)	LC-MS 方法
I-7.2.1		312; 314 [M-叔丁基+H] ⁺	1.06	Z011_S03
I-7.2.2		298; 300 [M-叔丁基+H] ⁺	1.07	Z012_S04

[0431]

[0432] 替代合成中间体I-7.1

[0433]



[0434] 向含4-溴-2-碘苯甲酸 (9.0g, 27.53mmol) 的甲醇 (50mL) 中添加浓硫酸 (10mL), 且在80℃下搅拌反应混合物90分钟。将反应混合物倒入至冰水上, 添加碳酸氢钠直至达到7的pH值, 且用乙酸乙酯萃取反应混合物。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。产率95%。

[0435] 步骤3: 合成中间体I-7.3

[0436] 向含I-7.2 (8.11g, 21.22mmol) 的THF (100mL) 中添加硼氢化锂 (2mol/L于THF中, 21.22mL, 42.44mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。HPLC-MS分析指示20%转化率。逐滴添加额外硼氢化锂 (2mol/L于THF中, 27.0mL, 54.0mmol), 且在室温下搅拌反应混合物6天。谨慎地用水淬灭反应混合物, 同时用冰浴冷却至约0℃。将碳酸氢钠饱和溶液添加至反应混合物中, 滤出所获得的沉淀物, 且用乙酸乙酯萃取母液若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。

[0437] 产率>95%, m/z 312/314[M+H-叔丁基-H₂O]⁺, rt 1.01min, LC-MS方法Z011_S03。

[0438] 步骤4: 合成中间体I-7.4

[0439] 使I-7.3 (605mg, 1.57mmol) 溶解于无水THF (20mL) 中且冷却至0℃, 添加TEA (1.09mL, 7.83mmol) 及对甲苯磺酸酐 (613.44mg, 1.88mmol)。使反应混合物达到室温且搅拌隔夜。反应混合物用水及碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤且真空浓缩。通过反相HPLC纯化残余物。

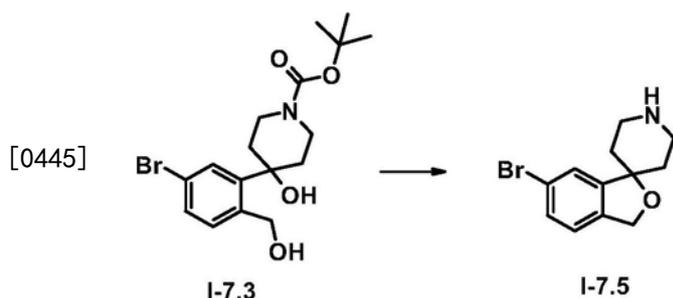
[0440] 产率72%, m/z 368; 370[M+H]⁺

[0441] 步骤5: 合成中间体I-7.5

[0442] 使I-7.4 (240mg, 1.57mmol) 溶解于干燥DCM (2mL) 中, 且添加TFA (500μL, 6.53mmol)。使反应混合物在室温下70分钟。真空浓缩反应混合物, 使残余物再溶解于甲醇中, 经由固相滤筒 (StratoSpheres™ PL-HC03 MP Resin) 过滤, 且真空移除甲醇。

[0443] 产率97%, m/z 268; 270 [M+H]⁺, rt 0.93min, LC-MS方法Z011_S03。

[0444] 替代合成中间体I-7.5



[0446] 使I-7.3 (8.39g, 21.71mmol) 溶解于无水THF (25mL) 中, 添加5N HCl水溶液 (25mL), 且在90℃下搅拌反应混合物30小时。使反应混合物冷却至室温, 用碳酸氢钠饱和溶液碱化且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤且真空浓缩。

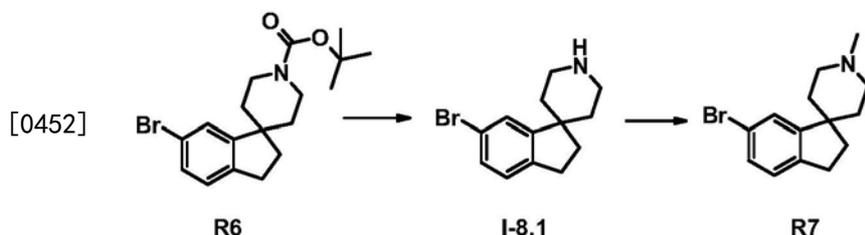
[0447] 产率76%, m/z 268; 270 [M+H]⁺, rt 0.93min, LC-MS方法Z011_S03。

[0448] 步骤6: 合成R5

[0449] 使I-7.5 (5.0g, 18.49mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (20mL) 中, 添加3-氧杂环丁酮 (1.78mL, 27.73mmol) 及乙酸 (1.06mL, 18.49mmol), 且在室温下搅拌反应混合物25分钟。添加三乙酰氧基硼氢化钠 (6.82g, 30.57mmol), 且在室温下搅拌反应混合物另外30分钟。反应混合物用MeOH淬灭, 用碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 且真空浓缩, 得到R5。

[0450] 产率89%, m/z 324, 326 [M+H]⁺, rt 0.93min, LC-MS方法Z011_S03。

[0451] 合成6-溴-1'-甲基-螺[茛满-1, 4'-哌啶] (R7)



[0453] 步骤1: 合成中间体I-8.1

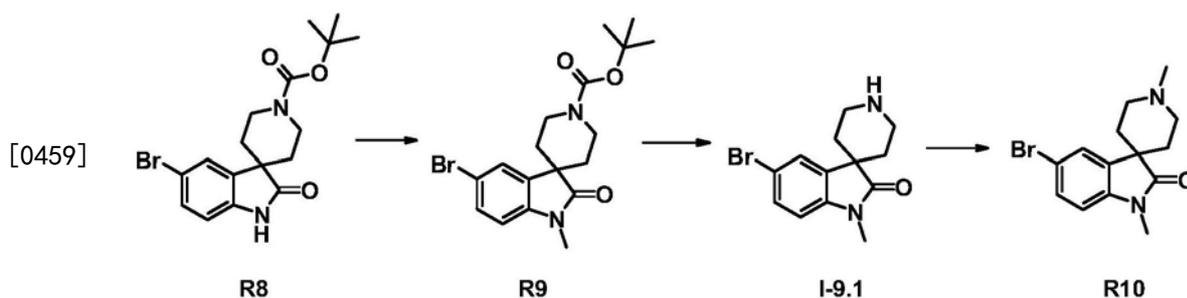
[0454] 向含购自WUXI APPTEC的R6 (200mg, 0.55mmol) 的二氯甲烷 (3mL) 中添加三氟乙酸 (0.25mL), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。真空浓缩反应混合物, 使残余物再溶解于甲醇中, 经由固相滤筒 (StratoSpheresTM PL-HC03MP Resin) 过滤, 且真空移除甲醇。产率>95%。

[0455] 步骤2: 合成R7

[0456] 向含I-8.1 (152mg, 0.57mmol) 的甲醇 (4mL) 中添加甲醛 (37%于水中, 0.21mL, 2.86mmol) 及乙酸 (0.05mL, 0.86mmol)。在室温下搅拌反应混合物2小时。添加三乙酰氧基硼氢化钠 (302.6mg, 1.43mmol), 且在室温下搅拌反应混合物80分钟。浓缩反应混合物, 用水及碳酸氢钠饱和溶液湿磨, 且用乙酸乙酯萃取。用碳酸氢钠饱和溶液及盐水洗涤有机层。滤出沉淀物, 且滤液经Na₂SO₄干燥, 过滤且真空浓缩, 得到R7。

[0457] 产率89%。

[0458] 合成5-溴-1, 1'-二甲基-螺[吲哚啉-3, 4'-哌啶]-2-酮 (R10)



[0460] 步骤1:合成R9

[0461] 在冷却至0℃下向含购自ACTIVATE的R8 (200mg, 0.53mmol) 的DMF (4mL) 中添加氢化钠 (60%分散液于矿物油中, 31.5mg, 0.79mmol), 且在室温下搅拌反应混合物另外30分钟。添加碘代甲烷 (36μL, 0.58mmol), 且在室温下搅拌反应混合物40分钟。反应混合物用水稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用水和盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤且真空浓缩, 得到R9。产率98%。

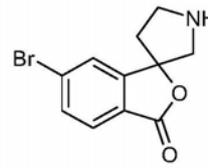
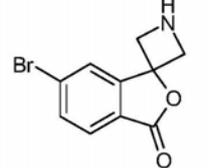
[0462] 步骤2:合成中间体I-9.1

[0463] 向含R9 (191mg, 0.48mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 中添加三氟乙酸 (0.5mL), 且在室温下搅拌反应混合物20分钟。真空浓缩反应混合物, 使残余物再溶解于甲醇中, 经由固相滤筒 (StratoSpheres™ PL-HCO₃ MP Resin) 过滤, 且真空移除甲醇。

[0464] 产率>95%

[0465] 以类似方式由适当的中间体合成如表3中所展示的以下中间体:

[0466] 表3

中间体	结构	m/z [M+H] ⁺	rt (min)	LC-MS 方法
I-9.1.1		282; 284	0.69	Z012_S04
I-9.1.2		268; 270	0.57	Z021_S01
I-9.1.3		254; 256	0.62	Z012_S04

[0468] 步骤3:合成R10

[0469] 向含I-9.1 (152mg, 0.52mmol) 的甲醇 (5mL) 中添加甲醛 (37%于水中, 0.19mL, 2.58mmol) 及乙酸 (0.044mL, 0.77mmol)。在室温下搅拌反应混合物2小时。添加三乙酰氧基硼氢化钠 (273.0mg, 1.29mmol), 且在室温下搅拌反应混合物40分钟。浓缩反应混合物, 用水及碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤且真空浓缩。

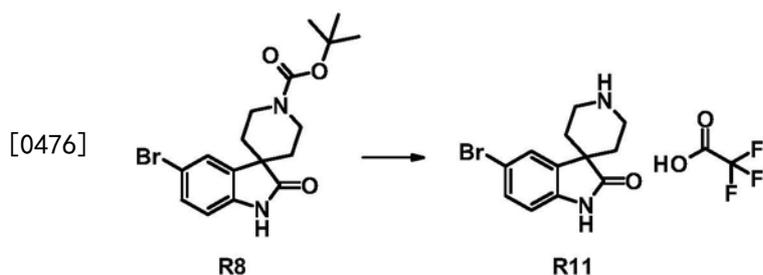
[0470] 产率>95%, 309; 311 [M+H]⁺, rt 0.75min, LC-MS方法Z012_S04。

[0471] 以类似方式由适当的中间体合成如表4中所展示的以下中间体:

[0472] 表4

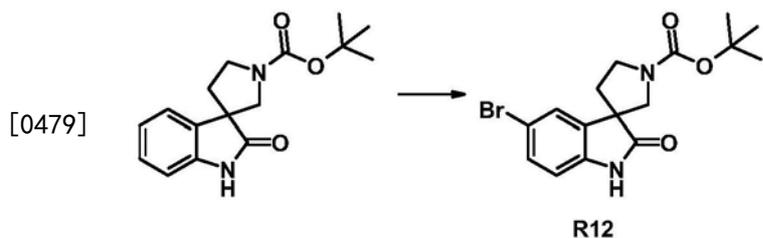
中间体	结构	m/z [M+H] ⁺	rt (min)	LC-MS 方法
[0473] R10.1		295; 297	0.69	Z012_S04
R10.2		296; 298	0.70	Z012_S04
R10.3		282; 284	0.68	Z012_S04
R10.4		268; 270	0.62	Z012_S04
[0474] R10.5		282; 284	0.77	Z012_S04
R10.6		309; 311	0.59	Z020_S01
R10.7		253	0.24	Z021_S01

[0475] 合成5-溴螺[吡啶啉-3,4'-哌啶]-2-酮的TFA盐 (R11)



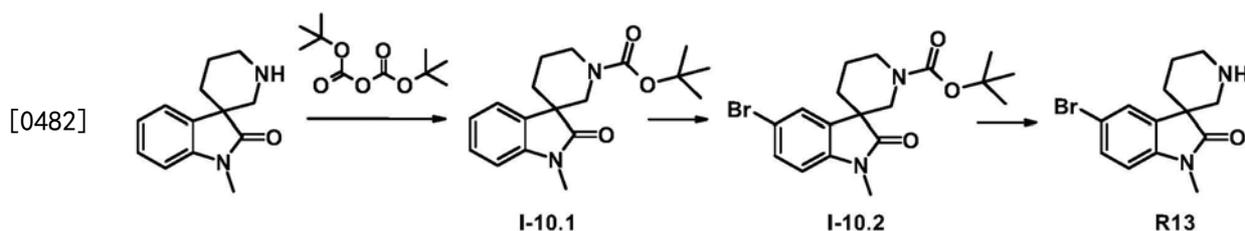
[0477] 向含购自ACTIVATE的R8 (150mg, 0.39mmol) 的二氯甲烷 (3mL) 中添加三氟乙酸 (0.5mL), 且在室温下搅拌反应混合物45分钟。浓缩反应混合物。产率100%。

[0478] 合成5-溴-2-氧代基-螺[吡咯啉-3,3'-吡咯烷]-1'-甲酸叔丁酯 (R12)



[0480] 向含购自Zerenex的2-氧代基螺[吡咯啉-3,3'-吡咯烷]-1'-甲酸叔丁酯 (50.0mg, 0.17mmol) 的乙腈 (1.5mL) 中添加N-溴琥珀酰亚胺 (30.5mg, 0.17mmol), 且在室温下搅拌反应混合物5小时。反应混合物用水及碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤, 干燥且真空浓缩。产率80%, m/z 367; 369 [M+H]⁺

[0481] 合成5-溴-1-甲基螺[吡咯啉-3,3'-哌啶]-2-酮 (R13)



[0483] 步骤1: 合成中间体I-10.1

[0484] 向含购自ChemBridge Corporation的1-甲基螺[吡咯-3,3'-哌啶]-2(1H)-酮 (1.0g, 4.62mmol) 的二氯甲烷 (20mL) 中添加TEA (0.64mL, 4.62mmol) 及焦碳酸二叔丁酯 (958.6mg, 4.39mmol)。在室温下搅拌反应混合物10分钟, 用水及碳酸氢钠饱和溶液稀释且用二氯甲烷萃取。分离各相且用DCM萃取水层。经合并的有机层经MgSO₄干燥且真空浓缩。

[0485] 产率>95%, m/z 261 [M+H-叔丁基]⁺, rt 1.06min, LC-MS方法Z020_S01。

[0486] 步骤2: 合成中间体I-10.2

[0487] 向含I-10.1 (1.54g, 4.87mmol) 的乙腈 (35mL) 中添加N-溴琥珀酰亚胺 (856.7mg, 5mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。反应混合物用水及碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用乙酸乙酯萃取。有机层用碳酸氢钠饱和溶液及盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤且真空浓缩。

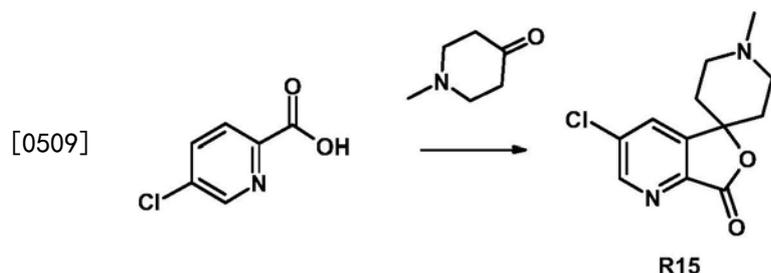
[0488] 产率93%, m/z 340 [M+H-叔丁基]⁺, rt 1.13min, LC-MS方法Z020_S01。

[0489] 步骤3: 合成R13

[0490] 向含I-10.2 (200mg, 0.51mmol) 的二氯甲烷 (10mL) 中添加三氟乙酸 (5mL), 且在室温下搅拌反应混合物15分钟。真空浓缩反应混合物且冻干。使残余物溶解于二氯甲烷中且

及焦碳酸二叔丁酯 (396.6mg, 1.82mmol)。在室温下搅拌反应混合物20分钟,用水及碳酸氢钠饱和溶液稀释,且用二氯甲烷萃取。干燥有机层且真空浓缩。产率91%。

[0508] 合成3-氯-1'-甲基-螺[呋喃并[3,4-b]吡啶-5,4'-哌啶]-7-酮 (R15)

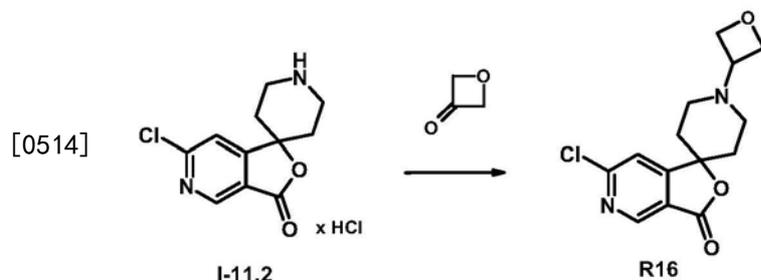


[0510] 在-78℃下,将1.6M正丁基锂的己烷溶液 (2.38mL, 3.81mmol) 逐滴添加至2,2,6,6-四甲基哌啶 (0.76mL, 4.43mmol) 的THF溶液 (5mL) 中,且在此温度下搅拌所获得的溶液1小时。然后,历经5分钟逐滴添加5-氯-2-吡啶甲酸 (0.2g, 1.27mmol) 的THF溶液 (1mL),且搅拌反应混合物45分钟。在-78℃下逐滴添加1-甲基-4-哌啶酮 (0.44mL, 3.81mmol) 的THF溶液 (1mL)。1小时后,添加水 (10mL),且使反应混合物升温至室温。

[0511] 将乙酸乙酯 (15mL) 及NaHCO₃饱和水溶液 (15mL) 添加至反应混合物中,且分离水层。用NaHCO₃饱和水溶液萃取有机层 (2×10mL)。通过添加浓盐酸使经合并的水相酸化 (pH约1)。

[0512] 搅拌1小时后,通过添加NaHCO₃饱和水溶液碱化反应混合物,且用乙酸乙酯萃取 (4×25mL)。有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,且真空浓缩,得到R15。产率21%, m/z 253, 255 [M+H]⁺, rt 0.41min, LC-MS方法Z012_S04。

[0513] 合成6-氯-1'-(氧杂环丁-3-基)螺[呋喃并[3,4-c]吡啶-1,4'-哌啶]-3-酮 (R16)

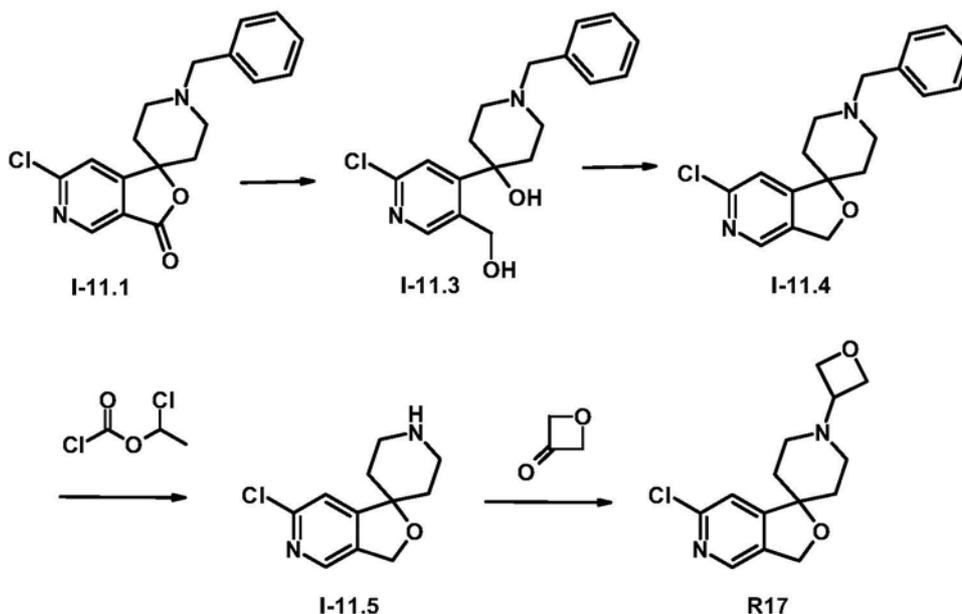


[0515] a) 产生游离碱:

[0516] 使I-11.2 (200mg, 0.73mmol) 部分溶解于干燥甲醇中,添加聚合物结合四烷基碳酸铵 (Aldrich, 540293) 且在室温下搅拌此混合物2小时。滤出聚合物结合四烷基碳酸铵,且真空移除甲醇以递送I-11.2的游离碱。

[0517] b) 使I-11.2的游离碱溶解于无水二氯甲烷 (3mL) / 无水四氢呋喃 (1mL) 混合物中,添加3-氧杂环丁酮 (0.23mL, 3.64mmol) 及乙酸 (0.06mL, 1.1mmol)。在室温下搅拌反应混合物75分钟,随后添加三乙酰氧基硼氢化钠且在室温下搅拌反应混合物15分钟。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥且真空浓缩。产率80%, m/z 295 [M+H]⁺, rt 0.75min, LC-MS方法Z011_S03。

[0518] 合成6-氯-1'-(氧杂环丁-3-基)螺[3H-呋喃并[3,4-c]吡啶-1,4'-哌啶] (R17)



[0519]

[0520] 步骤1:合成中间体I-11.3

[0521] 向含I-11.1 (1.00g, 3.04mmol) 的甲醇 (15mL) 中以小份添加硼氢化钠 (345mg, 9.12mmol), 且在室温下搅拌反应混合物20小时。历经5小时分3份 (各250mg) 将额外硼氢化钠 (750mg, 19.82mmol) 添加至反应混合物中。反应混合物用水淬灭, 且用乙酸乙酯稀释。分离有机层且用乙酸乙酯萃取水层。经合并的有机层用碳酸氢钠饱和溶液、盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥且真空浓缩。通过反相HPLC纯化残余物以得到I-11.3。产率40%, m/z 333 [M+H]⁺, rt 0.91min, LC-MS方法Z011_S03。

[0522] 步骤2:合成中间体I-11.4

[0523] 在0℃下向含I-11.3 (378mg, 1.14mmol) 的无水THF (5mL) 中添加TEA (0.95mL, 6.81mmol) 及甲磺酰氯 (0.26mL, 3.5mmol)。使反应混合物达到室温且搅拌1小时。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥且真空浓缩, 得到不经进一步纯化即用于下一步骤中的粗产物。

[0524] 产率95%, m/z 315 [M+H]⁺, rt 1.06min, LC-MS方法Z011_S03。

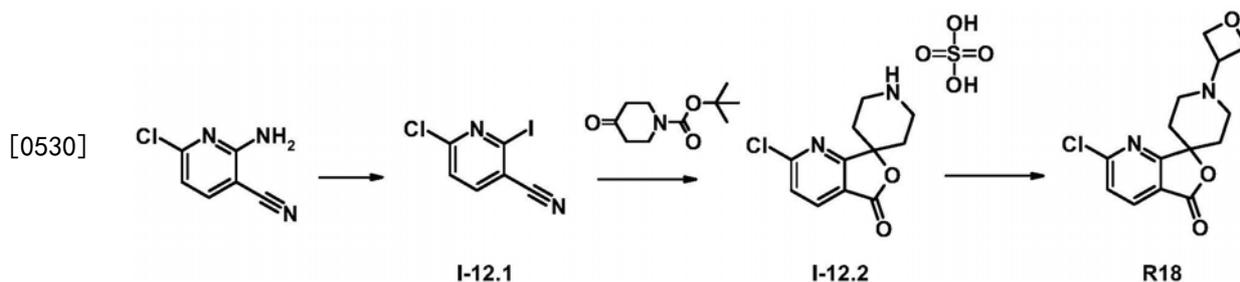
[0525] 步骤3:合成中间体I-11.5

[0526] 向I-11.4 (246mg, 0.78mmol) 于二氯乙烷 (4mL) 的溶液中添加氯甲酸1-氯乙酯 (0.42mL, 3.91mmol), 且将反应混合物加热至回流且搅拌3小时。真空移除二氯乙烷, 使所获得的残余物再溶解于甲醇 (3mL) 中, 且使所获得的溶液回流持续30分钟。使反应混合物冷却至室温且通过反相HPLC纯化得到I-11.5。产率72%, m/z 225 [M+H]⁺, rt 0.71min, LC-MS方法Z011_S03。

[0527] 步骤4:合成R17

[0528] 使I-11.5 (114mg, 0.51mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (2mL) 中, 添加3-氧杂环丁酮 (0.05mL, 0.76mmol) 及乙酸 (0.044mL, 0.76mmol), 且在室温下搅拌反应混合物1小时。添加三乙酰氧基硼氢化钠 (269mg, 1.27mmol), 且在室温下搅拌反应混合物另外15分钟。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 且真空浓缩, 得到R17。产率62%, m/z 281 [M+H]⁺, rt 0.76min, LC-MS方法Z011_S03。

[0529] 合成2-氯-1'--(氧杂环丁-3-基)螺[呋喃并[3,4-b]吡啶-7,4'-哌啶]-5-酮 (R18)



[0531] 步骤1:合成中间体I-12.1

[0532] 使购自ABLOCK PHARMATECH的2-氨基-6-氯烟酸腈(2.0g,13.02mmol)溶解于无水四氢呋喃(40mL)中,添加碘化铜(I)(3.72g,19.54mmol)、二碘甲烷(8.39mL,104.2mmol)及亚硝酸叔丁酯(6.20mL,52.1mmol)。反应混合物回流持续1.5小时,冷却至室温且真空移除所有挥发物。使所获得的残余物溶解于乙酸乙酯(100mL)中且用10%硫代硫酸钠水溶液(25mL)、碳酸氢钠饱和溶液(25mL)洗涤,经MgSO₄干燥,过滤且真空浓缩。通过快速管柱色谱纯化粗残余物以得到I-12.1(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯)。

[0533] 产率74%,m/z 265[M+H]⁺,rt 0.90min,LC-MS方法Z012_S04。

[0534] 步骤2:合成中间体I-12.2

[0535] 使I-12.1(1.0g,3.78mmol)及4-氧代基哌啶-1-甲酸叔丁酯(753mg,3.78mmol)溶解于无水THF(10mL)中,且将反应混合物冷却至-65℃。逐滴添加氯化异丙基镁-氯化锂络合物(1.3mol/L于THF中,3.78mL,4.92mmol),且在此温度下搅拌反应混合物另外10分钟。然后,使反应混合物达到室温,搅拌20分钟,且添加甲醇(0.8mL,19.7mmol)。使反应混合物冷却至0℃,且逐滴添加50%硫酸水溶液(2.0mL)。使反应混合物升温至室温且搅拌隔夜。滤出所形成的白色沉淀物,用THF洗涤且真空干燥,得到呈白色固体状的粗I-12.2(硫酸盐)。粗产物不经进一步纯化即用于下一步骤中。

[0536] 产率94%,m/z 239[M+H]⁺,rt 0.69min,LC-MS方法Z011_S03。

[0537] 步骤3:合成R18

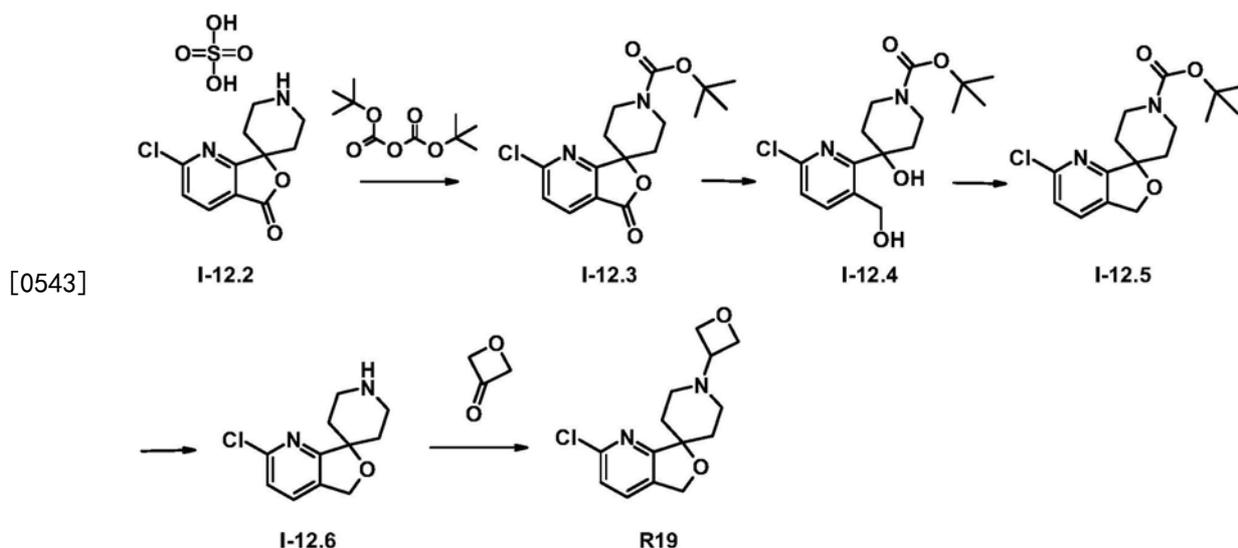
[0538] a)产生游离碱:

[0539] 使I-12.2(150mg,0.45mmol)溶解于甲醇(2mL)/水(2mL)混合物中,添加聚合物结合四烷基碳酸铵(Aldrich,540293),且在室温下搅拌此混合物1小时。滤出聚合物结合四烷基碳酸铵,且真空移除甲醇及水以递送I-12.2的游离碱。

[0540] b)使所获得的残余物再溶解于THF(2mL)/水(0.1mL)混合物中,添加3-氧杂环丁酮(0.04mL,0.67mmol)及乙酸(0.038mL,0.67mmol),且在室温下搅拌反应混合物1小时。添加三乙酰氧基硼氢化钠,且在室温下搅拌反应混合物隔夜。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,且真空浓缩。通过快速管柱色谱纯化粗残余物以得到R18(洗脱剂:DCM/MeOH)。

[0541] 产率18%,m/z 295[M+H]⁺,rt 0.74min,LC-MS方法Z011_S03。

[0542] 合成2-氯-1'-(氧杂环丁-3-基)螺[5H-呋喃并[3,4-b]吡啶-7,4'-哌啶](R19)



[0544] 步骤1:合成中间体I-12.3

[0545] 向含I-12.2 (3.25g, 9.65mmol) 的二氯甲烷 (50mL) 中添加TEA (4.04mL, 28.95mmol), 在室温下搅拌反应混合物20分钟, 且添加焦碳酸二叔丁酯 (2.11g, 9.65mmol)。在室温下搅拌反应混合物90分钟, 用碳酸氢钠饱和溶液稀释且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 真空浓缩, 且通过快速管柱色谱 (石油醚:EtOAc=95:5至60:40) 纯化所获得的残余物以得到I-12.3。

[0546] 产率49%, m/z 239 [M-Boc+H]⁺, rt 1.03min, LC-MS方法Z011_S03。

[0547] 步骤2:合成中间体I-12.4

[0548] 分两份向含I-12.3 (10.0g, 29.52mmol) 的乙醇 (500mL) 中添加硼氢化钠 (2.23g, 59.03mmol) 及氯化钙 (6.55g, 59.03mmol), 且在室温下搅拌反应混合物隔夜。HPLC-MS指示所需产物的85%转化率。添加额外量的硼氢化钠 (350mg, 9.25mmol), 且在室温下搅拌反应混合物6小时。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液淬灭, 真空移除乙醇且用乙酸乙酯湿磨所获得的残余物。滤出所形成的沉淀物, 且用乙酸乙酯萃取母液若干次。经合并的有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤且真空浓缩。用乙腈湿磨所获得的残余物, 滤出所形成的沉淀物, 真空浓缩母液, 且此程序再重复两次。合并沉淀物且真空干燥以得到I-12.4。

[0549] 产率54%, m/z 243 [M+H-Boc]⁺, rt 0.97min, LC-MS方法Z011_S03。

[0550] 步骤3:合成中间体I-12.5

[0551] 在0℃下向含I-12.4 (6.77g, 17.77mmol) 的无水THF (75mL) 中添加TEA (14.84mL, 106.64mmol) 及甲磺酰氯 (5.50mL, 71.09mmol)。使反应混合物达到室温且搅拌1小时。反应混合物用碳酸氢钠饱和溶液稀释, 且用二氯甲烷萃取若干次。有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 真空浓缩, 且通过快速管柱色谱 (石油醚:EtOAc=95:5至72:28) 纯化所获得的残余物以得到I-12.5。

[0552] 产率65%, m/z 225 [M+H-Boc]⁺, rt 1.07min, LC-MS方法Z011_S03。

[0553] 步骤4:合成中间体I-12.6

[0554] 向含I-12.5 (4.13g, 12.07mmol) 的二氯甲烷 (15mL) 中添加三氟乙酸 (5mL), 且在室温下搅拌反应混合物3小时。真空浓缩反应混合物, 使所获得的残余物再溶解于甲醇 (50mL) 中, 添加聚合物结合四烷基碳酸铵 (Aldrich, 540293), 且在室温下搅拌此混合物30分钟。滤

出聚合物结合四烷基碳酸铵,且真空移除甲醇以递送I-12.6。

[0555] 产率99%,m/z 225[M+H]⁺,rt 0.74min,LC-MS方法Z011_S03。

[0556] 步骤5:合成R19

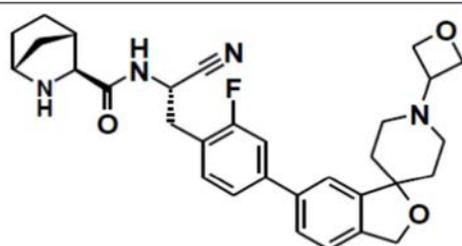
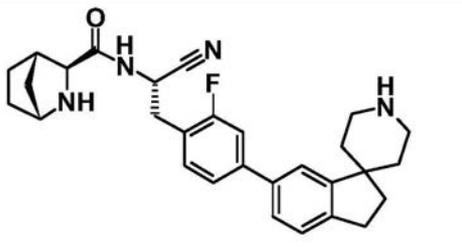
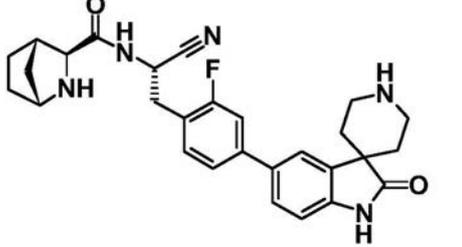
[0557] 使I-12.6 (3.62g, 12.08mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (40mL) 中,添加3-氧杂环丁酮 (1.16mL, 18.13mmol) 及乙酸 (691μL, 12.08mmol),且在室温下搅拌反应混合物20分钟。添加三乙酰氧基硼氢化钠 (6.74g, 30.21mmol),且在室温下搅拌反应混合物25分钟。反应混合物用甲醇淬灭,用碳酸氢钠饱和溶液稀释,且用乙酸乙酯萃取若干次。有机层用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,且真空浓缩。用乙腈/甲醇混合物 (9:1) 湿磨所获得的残余物,滤出所形成的沉淀物,真空浓缩母液,且此程序再重复两次。合并沉淀物且真空干燥以得到2.47g R19。真空浓缩母液,使所获得的残余物再溶解于乙腈中,且通过反相HPLC纯化,得到额外量 (0.32g) 的R19。

[0558] 产率78%,m/z 281[M+H]⁺,rt 0.78min,LC-MS方法Z011_S03。

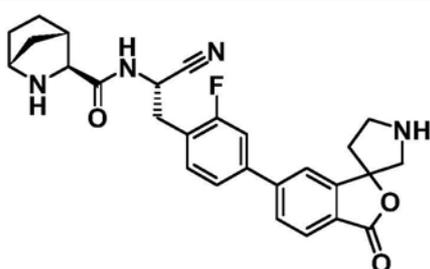
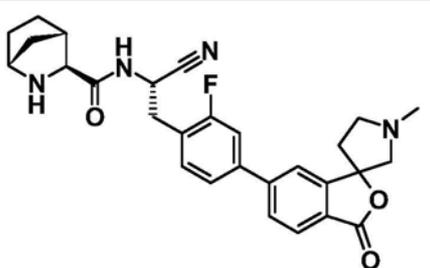
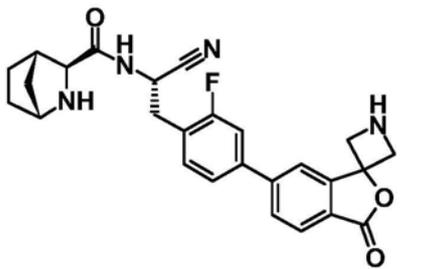
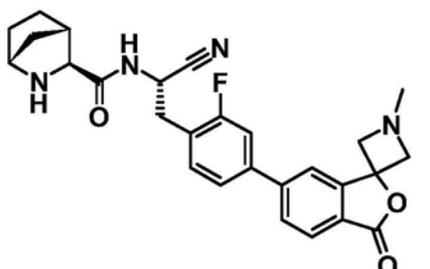
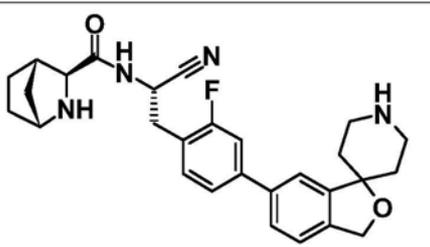
实施例

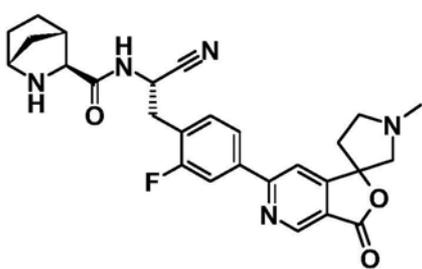
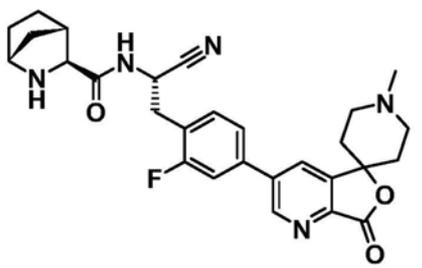
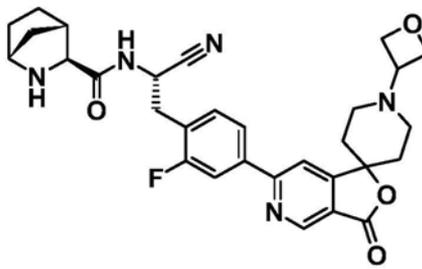
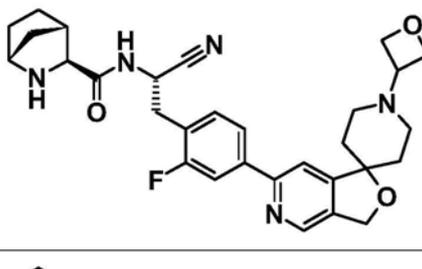
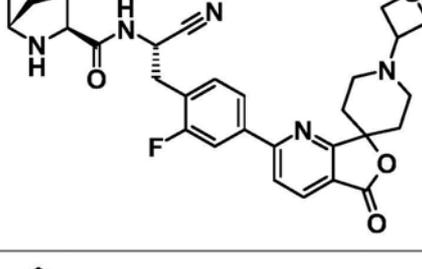
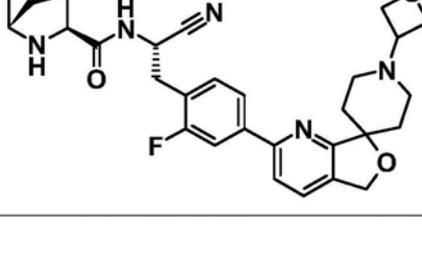
[0559] (rt=保留时间)。去保护方法:TSA (甲苯磺酸参见实施例1)。靠近腈基的碳原子的立体化学指定为:立体键表示S-异构体。

[0560] 表6

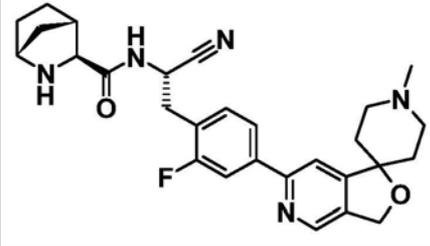
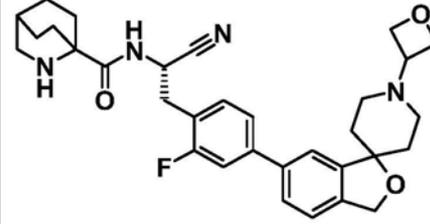
#	结构	离析物	合成/去保护方法	产率 [%]
1		I-1.5	A/TSA	84
[0561] 2		I-1.5.1	A/TSA	>95
3		I-1.5.2	A/TSA	35

#	结构	离析物	合成/去保护方法	产率 [%]
4		I-1.5.3	A/TSA	48
5		I-1.5.4	A/TSA	48
[0562] 6		I-1.5.5	A/TSA	7
7		I-1.5.6	A/TSA	43
8		I-1.5.7	A/TSA	41

#	结构	离析物	合成/去保护方法	产率 [%]
9		I-1.5.8	A/TSA	90
10		I-1.5.9	A/TSA	16
[0563] 11		I-1.5.10	A/TSA	20
12		I-1.5.11	A/TSA	54
13		I-1.5.12	A/TSA	9

#	结构	离析物	合成/去保护方法	产率 [%]
20		I-1.5.19	A/TSA	47
21		I-1.5.20	A/TSA	36
22		I-1.5.21	A/TSA	35
23		I-1.5.22	A/TSA	83
24		I-1.5.23	A/TSA	>95
25		I-1.5.24	A/TSA	88

[0565]

#	结构	离析物	合成/去保护方法	产率 [%]
26		I-2.5	B/TSA	28
27		I-3.5	C/TSA	61

[0566]

[0567] 实施例的分析数据

[0568] 表7

[0569]

实例	m/z [M+H] ⁺	rt [min]	LC-MS-方法
1	531	1.00	Z011_S03
2	473	1.19	Z011_S03
3	488	0.89	Z012_S04
4	502	0.73	Z012_S04
5	516	0.74	Z012_S04
6	502	0.70	Z012_S04
7	489	0.72	Z012_S04
8	503	0.72	Z012_S04
9	475	0.91	Z011_S03
10	489	0.96	Z011_S03
11	461	0.91	Z011_S03
12	475	0.97	Z011_S03
13	475	0.76	Z012_S04
14	489	1.05	Z011_S03
15	487	1.17	Z011_S03
16	474	0.89	Z011_S03
17	516	0.60	Z020_S01

实例	m/z [M+H] ⁺	rt [min]	LC-MS-方法
18	490	0.90	Z011_S03
19	504	0.95	Z011_S03
20	490	0.92	Z011_S03
21	504	0.92	Z011_S03
22	546	0.94	Z011_S03
23	532	0.96	Z011_S03
24	546	0.93	Z011_S03
25	532	0.97	Z011_S03
26	490	0.96	Z011_S03
27	545	1.02	Z011_S03

[0570] 表8

[0571] 缩写列表

[0572]

ACN	乙腈
aq.	水溶液

BOC、boc	叔丁氧基羰基
d	天
DBU	1,8-二氮双环[5.4.0]十一-7-烯
DCM	二氯甲烷
DEA	二乙胺
DIPEA	N,N-二异丙基乙胺
DIPE	二异丙基醚
DMAP	4-二甲氨基吡啶
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲亚砜
EA、EtOAc	乙酸乙酯
FA	甲酸
h	小时
HATU	邻(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲脒鎓六氟磷酸酯
LiOH	氢氧化锂
MeOH	甲醇
MeTHF	甲基四氢呋喃
min	分钟
NaH	氢化钠
PE	石油醚
PPA	1-丙烷磷酸环酐
RT、r.t.	室温,例如15°C至25°C
rt	保留时间
TBME	叔丁基甲基醚
TBTU	邻(1H-苯并-1,2,3-三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲脒鎓四氟硼酸酯
TEA	三乙胺
TFA	三氟乙酸
THF	四氢呋喃
TSA	对甲苯磺酸单水合物

[0573] 药理学资料

[0574] 本发明的其他特征及优点将自以下更详细的实施例(其以举例方式说明本发明的原理)而变得显而易见。

[0575] 人类DPPI(组织蛋白酶C)的抑制

[0576] 材料:购自PerkinElmer的微量滴定盘(Microtiterplate)(Optiplate-384F)(产品号10 6007270)。底物Gly-Arg-AMC来自Biotrend(产品号808756定制肽)。

[0577] 牛血清白蛋白(BSA;产品号A3059)及二硫苏糖醇(DTT;产品号D0632)来自Sigma。TagZyme缓冲液来自Riedel-de-Haen(产品号04269),NaCl来自Merck(产品号1.06404.1000),且吗啉乙磺酸(MES)来自Serva(产品号29834)。DPP1抑制剂Gly-Phe-DMK购自MP Biomedicals(产品号03DK00625)。重组人类DPPI购自Prozymex。所有其他材料为可商购的最高级别。

[0578] 使用以下缓冲液: MES缓冲液: 25mM MES、50mM NaCl、5mM DTT, 调节至pH 6.0, 含有0.1% BSA; TAGZyme缓冲液: 20mM NaH₂PO₄、150mM NaCl, 用HCl调节至pH 6.0。

[0579] 分析条件: 使重组人类DPPI稀释于TAGZyme缓冲液中达到1U/ml (分别38.1μg/ml), 且随后通过以1:2比率与半胱胺(cysteamine)水溶液(2mM)混合来活化, 且在室温下培育5分钟。

[0580] 将含5μL测试化合物(最终浓度0.1nM至100μM)的aqua bidest 5(含有4%DMSO, 最终DMSO浓度1%)与含10μL DPPI的MES缓冲液(最终浓度0.0125ng/μL)混合, 且培育10分钟。随后, 添加含5μL底物的MES缓冲液(最终浓度50μM)。随后在室温下培育微量滴定盘30分钟。随后, 通过添加含10μL Gly-Phe-DMK的10MES-缓冲液(最终浓度1μM)停止反应。使用Molecular Devices SpectraMax M5 Fluorescence Reader(激发360nm, 发射460nm)或Envision Fluorescence Reader(激发355nm, 发射460nm)来测定孔中的荧光。

[0581] 各分析微量滴定盘含有具有媒剂对照(1%DMSO于bidest中+0.075% BSA)作为非抑制酶活性参考(100%对照; 较高值)的孔及具有抑制剂(Gly-Phe-DMK, 于bidest中+1%DMSO+0.075% BSA, 最终浓度1μM)作为背景荧光对照(0%对照; 较低值)的孔。

[0582] 通过使用下式计算20减去背景荧光后相比于媒剂对照的荧光在测试化合物存在下的荧光百分比来进行数据分析:

[0583] $(RFU(\text{样品}) - RFU(\text{背景})) * 100 / (RFU(\text{对照}) - RFU(\text{背景}))$

[0584] 这些计算的数据分别用于产生DPPI抑制的IC₅₀值。

[0585] 表9

实施例	DPPI 抑制 IC ₅₀ [μM]
1	0.0011
2	0.0006
3	0.0003
4	0.0004
5	0.0006
6	0.0002
7	0.0005
8	0.0007
9	0.0005
10	0.0006
11	0.0007
12	0.0005
[0586] 13	0.0006
14	0.0010
15	0.0005
16	0.0005
17	0.0016
18	0.0016
19	0.0010
20	0.0016
21	0.0014
22	0.0048
23	0.0050
24	0.0027
25	0.0018
26	0.0020
27	0.0029

[0587] 在与测试化合物一起培育之后制备的U937胞溶质裂解物中的嗜中性粒细胞弹性蛋白酶活性的测定

[0588] 材料:

[0589] Optiplate 384F购自PerkinElmer (产品号#6007270)。24孔Nunclon细胞培养物盘(142475号)及96孔盘(267245号)来自Nunc。二甲亚砜(DMSO)来自Sigma(产品号D8418)。Nonidet-P40(NP40)来自USBiological(产品号N3500)

[0590] 对嗜中性粒细胞弹性蛋白酶具有特异性的底物来自Bachem(MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC;产品号I-1270)。

[0591] 人类嗜中性粒细胞弹性蛋白酶来自Calbiochem(产品号324681)

[0592] 缓冲液:

[0593] Tris-缓冲液(100mM Tris;1M NaCl;pH 7.5)

[0594] Tris-缓冲液+HSA0.1%;来自Calbiochem的人类血清白蛋白(目录号126658)

[0595] 丝氨酸-蛋白酶缓冲液(20mM Tris;100mM NaCl;pH 7.5)+0.1%HSA

[0596] 丝氨酸蛋白酶裂解缓冲液:20mM Tris-HCl;100mM NaCl pH 7.5;+0.2%Nonidet-P40;

- [0597] PBS:不具有Ca及Mg的磷酸盐缓冲盐水,来自Gibco。
- [0598] 细胞培养:
- [0599] 在37℃及5%CO₂下于悬浮液中培养来自ECACC的U937(目录号85011440)。
- [0600] 细胞密度:0.2-1Mio.细胞/毫升。
- [0601] 培养基:具有10%来自Gibco的FCS的RPMI1640 GlutaMAX(61870号)
- [0602] 细胞接种及处理:
- [0603] 使含化合物的100%DMSO稀释于具有10%DMSO的培养基(-FCS)中,且根据规划的实验进一步稀释。
- [0604] 将20μl化合物溶液转移至24孔盘的各别孔中且用2ml含有 1×10^5 个细胞/毫升的细胞悬浮液/孔稀释(最终浓度DMSO=0.1%)。化合物稀释因子=100利用用于DMSO 0.1%对照的3孔一式三份测试化合物(高达7浓度),在无培养基变化的情况下在37℃、5%CO₂及95%相对湿度下培育48小时。
- [0605] 细胞收集及细胞裂解物:
- [0606] 将细胞悬浮液转移至2ml 96孔分析模块中。通过离心自培养基分离细胞(500X g;10分钟;RT);丢弃上清液。再悬浮于1ml PBS中;离心(500X g;10分钟;RT);用PBS洗涤细胞两次。将80μl丝氨酸蛋白酶裂解缓冲液(冰冷的)添加至细胞沉淀物中;使沉淀物再悬浮且储存在冰上10分钟。通过在1000X g下在4℃下离心10分钟来移除碎片。将80-100μl裂解物上清液转移至96孔盘中且立即储存在-80℃下。
- [0607] 嗜中性粒细胞弹性蛋白酶活性分析:
- [0608] 在37℃下解冻冷冻裂解物10分钟且储存在冰上。用布莱德福(Bradford)蛋白质分析测定蛋白质含量。于丝氨酸蛋白酶缓冲液+HSA中将裂解物稀释至0.2-0.5mg/ml蛋白质。
- [0609] 标准物:将NE(含100μg/ml储备溶液的Tris-缓冲液;储存在-80℃下)稀释于Tris-缓冲液+HSA中达到750ng/ml,且针对标准曲线进一步连续稀释1:2。
- [0610] 将缓冲液、空白、标准物及裂解物样品转移至384孔盘中
- [0611] 吸液规划
- [0612] 空白:5μl Tris-缓冲液+10μl丝氨酸蛋白酶缓冲液+5μl底物
- [0613] 标准物:5μl Tris-缓冲液+10μl NE(不同浓度)+5μl底物
- [0614] 裂解物:5μl Tris-缓冲液+10μl裂解物+5μl底物
- [0615] 30分钟后,用Molecular Device Spectramax M5 Fluorescence Reader测定出荧光提高(激发360nm/发射460nm)。使用excel式功能将结果插入至ng/mg裂解物蛋白质。相对于经DMSO处理的对照样品计算经化合物处理的裂解物样品的抑制百分比(100-(化合物-样品*100)/对照样品)。
- [0616] 测试化合物将产生0%与100%之间的嗜中性粒细胞弹性蛋白酶抑制值。使用Graphpad Prism;非线性拟合(对数(抑制剂)与反应-变量斜率)来计算IC₅₀。IC₅₀值插入为导致嗜中性粒细胞弹性蛋白酶活性降低50%(相对于经DMSO处理的对照)的测试化合物浓度。
- [0617] 表10

[0618]

实施例	U937 细胞 IC50 中的 NE 活性降低[μM]
1	0.0010
2	0.0068
3	0.5030
4	0.0910
5	0.0023
6	0.0222
7	0.0349
8	0.0008
9	0.0215
10	0.0014
11	0.0107
12	0.0012
13	0.0167
14	0.0011
15	0.0002
16	0.0738

[0619]

实施例	U937 细胞 IC50 中的 NE 活性降低[μM]
17	0.0006
18	0.2202
19	0.0050
20	0.0232
21	0.0637
22	0.0157
23	0.0075
24	0.0060
25	0.0016
26	0.0046
27	0.0007

[0620] 人类组织蛋白酶K的抑制

[0621] 材料:

[0622] 微量滴定盘 (Optiplate-384F) 购自PerkinElmer (产品号6007270)。底物Z-Gly-Pro-Arg-AMC来自Biomol (产品号P-142)。L-半胱氨酸 (产品号168149) 来自Sigma。乙酸钠来

自Merck (产品号6268.0250), EDTA来自Fluka (产品号03680)。抑制剂E-64购自Sigma (产品号E3132)。重组人类组织蛋白酶K酶原购自Biomol (产品号SE-367)。所有其他材料为可商购的最高级别。

[0623] 使用以下缓冲液:活化缓冲液:32.5mM乙酸钠,用HCl调节至pH 3.5;分析缓冲液:150mM乙酸钠、4mM EDTA、20mM L-半胱氨酸,用HCl调节至pH 5.5。

[0624] 分析条件:

[0625] 为活化酶原,将5 μ l组织蛋白酶K与1 μ l活化缓冲液混合,且在室温下培育30分钟。

[0626] 将5 μ L测试化合物(最终浓度0.1nM至100 μ M)的aqua bidest(含有4%DMSO,最终DMSO浓度1%)与含10 μ L组织蛋白酶K的分析缓冲液(最终浓度2ng/ μ L)混合,且培育10分钟。随后,添加含5 μ L底物的分析缓冲液(最终浓度12.5 μ M)。随后在室温下培育所述盘60分钟。随后,通过添加含10 μ L E64的分析缓冲液(最终浓度1 μ M)停止反应。使用Molecular Devices SpectraMax M5 Fluorescence Reader(激发360nm,发射460nm)来测定孔中的荧光。

[0627] 各分析微量滴定盘含有具有媒剂对照(1%DMSO于bidest中)作为非抑制酶活性参考(100%对照;较高值)的孔及具有抑制剂(含E64的bidest+1%DMSO,最终浓度1 μ M)作为背景荧光对照(0%对照;较低值)的孔。通过计算在减去背景荧光后相比于媒剂对照的荧光在测试化合物存在下的荧光百分比来进行数据分析:

[0628] $(RFU(\text{样品}) - RFU(\text{背景})) * 100 / (RFU(\text{对照}) - RFU(\text{背景}))$

[0629] 这些计算的数据分别用于产生组织蛋白酶K抑制的IC₅₀值。

[0630] 利用人类肝脏微粒体的代谢稳定性的测定

[0631] 在37°C下使用所收集的人类肝脏微粒体来分析测试化合物的代谢降解。每时间点的100 μ l最终培育体积含有TRIS缓冲液(pH 7.6, 0.1M)、氯化镁(5mM)、微粒体蛋白质(1mg/ml)及最终浓度为1 μ M的测试化合物。在37°C下短暂预培育一定时间段之后,通过添加还原形式的 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH, 1mM)来引发反应,且通过在不同时间点之后将等分试样转移至乙腈中来终止反应。另外,在无NADPH存在的情况下培育时监测不依赖于NADPH的降解,且在最后时间点终止。在不依赖于NADPH的培育之后的残余测试化合物[%]反映为参数c(对照组)(代谢稳定性)。通过离心(10'000g, 5分钟)来使经淬灭的培育液聚集。通过LC-MS/MS分析上清液的等分试样中的母体化合物量。

[0632] 通过浓度-时间曲线的半对数图的斜率来测定半衰期(t_{1/2}IN VITRO)。通过考虑蛋白质在培育液中的量来计算内在清除率(CL_INTRINSIC):

[0633] $CL_INTRINSIC[\text{微升/分钟/毫克蛋白质}] = (\ln 2 / (\text{半衰期}[\text{分钟}] \times \text{蛋白质含量}[\text{mg/ml}])) \times 1'000$ 。

[0634] 所选择的化合物在上文所描述的代谢稳定性分析中的半衰期(t_{1/2}IN VITRO)值列于下表中。

[0635] 表11

[0636]

实施例	人类肝脏微粒体培育液中的活体外稳定性 t1/2 [min]
1	>130
2	>130

[0637]

实施例	人类肝脏微粒体培育液中的活体外稳定性 t1/2 [min]
3	>130
4	>130
5	>130
6	110
7	>130
8	74
9	>130
10	>130
11	>130
12	46
13	>130
14	>130
15	>130
16	>130
17	60
18	>130
19	>130
20	>130
21	>130
22	>130
23	>130
24	>130
25	>130
26	55
27	120

[0638] 目标参与小鼠模型

[0639] 化合物处理：

[0640] 为监测测试化合物对外周嗜中性粒细胞中的嗜中性粒细胞弹性蛋白酶活性的作用,雌性Cr1:NMRI小鼠如下处理：

[0641] 第1组 (6个动物) :含0.5mg/kg测试化合物的0.5%纤维素羟乙基醚 (Natrosol) (pH 2-3)

[0642] 第2组 (6个动物) :0.5%纤维素羟乙基醚 (pH 2-3)

[0643] 第3组 (2个动物) :0.5%纤维素羟乙基醚 (pH 2-3)

[0644] 在研究第一周星期一至星期五每天的7:00am及4:00pm及第二周星期一及星期二 (7:00am及4:00pm) 施用测试化合物或纤维素羟乙基醚溶液。经口施用测试化合物或纤维素羟乙基醚。

[0645] LPS挑战及支气管肺泡灌洗准备:

[0646] 在第二周星期三,用如上文所描述的测试化合物或纤维素羟乙基醚溶液处理动物 (7:00am),继而进行LPS (脂多醣)吸入挑战:

[0647] 第1组及第2组:使用MiniHeart Hi-Flo连续喷雾器 (Westmed) 20分钟吸入LPS (大肠杆菌血清型055:B5;1mg/ml于PBS中)

[0648] 第3组:无LPS挑战

[0649] LPS挑战后4小时,使用每个动物2×1ml Hank`s盐溶液由所有动物制备支气管肺泡灌洗液,且使用Sysmex XT-1800i测定灌洗流体中的细胞数。通过离心分离灌洗流体中的细胞且于裂解缓冲液中使其裂解 (100mM TRIS (pH 7.5)、1M NaCl、0.2%NP40)。

[0650] 嗜中性弹性蛋白酶 (NE) 测量:

[0651] 使用荧光NE底物MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC (Bachem) 测量BALF (支气管肺泡灌洗流体) 细胞裂解物中的NE活性:在384孔盘 (Optiplate 384f,PerkinElmer) 中将10μl细胞裂解物与5μl分析缓冲液 (20mM Tris (pH 7.5)、100mM NaCl、0.1%人类血清白蛋白) 及5μl底物 (1mM于分析缓冲液中) 混合。在室温下培育反应混合物60分钟,且测量荧光 (360nm激发,460nm发射)。针对各动物,使所获得的荧光值标准化为BALF嗜中性粒细胞数。为计算通过测试化合物的NE活性抑制,自第1组及第2组的荧光值扣除第3组的平均荧光值,且将第1组中的NE活性抑制%与所计算的第2组中的平均荧光值进行比较。

[0652] 在用组织蛋白酶C抑制剂预处理 (给予7天,每日两次 (bid) (一日两次)) 之后,BALF裂解物中的嗜中性粒细胞弹性蛋白酶活性列于下表中:

[0653] 表12

实施例	在用组织蛋白酶 C 抑制剂预处理(剂量: 0.5 mg/kg 每日两次, 持续 7 天)之后, BALF 裂解物中的嗜中性粒细胞弹性蛋白酶活性抑制
1	96
25	94

[0655] 组织蛋白酶C配位体复合物的晶体结构

[0656] 方法

[0657] 蛋白质:

[0658] 根据标准分子生物方案 (文献:1-3) 产生重组人类组织蛋白酶C (Cat C)。

[0659] 结晶及浸泡:

[0660] 在结晶之前,用NAP10管柱 (GE Healthcare) 将蛋白质缓冲液更换为20mM Bis-

Tris (pH 7.0)、150mM NaCl、2mM EDTA、2mM DTT。将蛋白质样品浓缩至9-10mg/mL。在20℃下以悬滴形式,使用1.0μL蛋白质及1.0μL孔溶液(0.1M Bis-Tris-丙烷(pH 6.0-6.5)、18%-20% (w/v) PEG 3350、200mM NaF、1mM DDT)使晶体生长。晶体隔夜出现且在2-3天内生长至完整尺寸。通过将脱辅基晶体浸泡于补充有1mM各别配位体(经由含100mM储备溶液的DMSO的稀释液)的孔溶液中隔夜来获得配位体共结构。随后,在数据采集之前,于液氮中使用20%甘油及孔溶液作为低温保护剂来冷冻晶体。

[0661] 数据收集、结构溶液及优化:

[0662] 在100K下在旋转阳极产生器(Rigaku)上使用CuK α 辐射采集所有绕射资料且用XDS进行处理(文献:4)。通过差值傅里叶方法溶解配位体共结构且用程序autoBuster(Global Phasing Ltd.)优化,该程序使用程序coot重建手册迭代(文献:5)。最终数据处理及优化统计列于表13中。程序PyMOL(DeLano Scientific LLC)用于图式制备。

[0663] 结果

[0664] 组织蛋白酶C配位体复合物的结构:

[0665] 人类组织蛋白酶C(Cat C)的结构于文献(文献2)中描述为含有四个相同次单元的四聚体。各次单元包含三个链:轻链及重链形成催化域,而所谓的排除结构域阻断除S2袋外的活性位点裂隙且负责Cat C的外肽酶活性。测定具有实施例11及实施例16(表14,图1)的络合物中的Cat C结构来阐明此类别化合物的结合模式。实施例11及实施例16经由腈基团与Cys234的共价相互作用而结合。实施例11为靠近腈基的碳原子为(S)构型的单一对映异构体,而实施例16(螺环碳原子具有RS立体化学)为非对映异构体的混合物。双环氨基酸到达酶S1袋,其中其经由氢键锚定至Gly277及Asn380的主链原子以及Asp1的侧链。双芳基系统定向至S2袋中,其中其涉及排除结构域的残基Asp1及Pro3的范德华力(van der Waals)相互作用。出人意料地,我们观测到以下螺环胺的额外相互作用:实施例11中的螺氮杂环丁烷及实施例16中的螺吡咯烷。在两种情况下,碱性氮原子与Glu275形成盐桥,其与此化合物类别的较高酶活性一致。

[0666] 文献:

[0667] (1) Søren W. Dahl, Torben Halkier, Conni Lauritzen, Iztok Dolenc, John Pedersen, Vito Turk and Boris Turk. (2001) Human Recombinant Pro-dipeptidyl Peptidase I (Cathepsin C) Can Be Activated by Cathepsins L and S but Not by Autocatalytic Processing. *Biochemistry* 40, 1671-1678.

[0668] (2) Dusan Turk, Vojko Janjic, Igor Stern, Marjetka Podobnik, Dorian Lamba, Søren Weis Dahl, Connie Lauritzen, John Pedersen, Vito Turk and Boris Turk (2001) Structure of human dipeptidyl peptidase I (cathepsin C): exclusion domain added to an endopeptidase framework creates the machine for activation of granular serine proteases. *The EMBO Journal* 20, 6570-6582.

[0669] (3) Furber, M. et al. (2014) Cathepsin C Inhibitors: Property Optimization and Identification of a Clinical Candidate. *J. Med. Chem.*, 57, 2357-2367.

[0670] (4) Kabsch, W. (2010) XDS. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 66, 125-132.

[0671] (5) Emsley, P. & Cowtan, K. (2004) Coot: model-building tools for molecular graphics. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 60, 2126-2132.

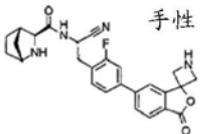
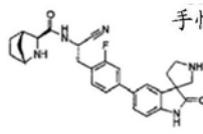
[0672] 表13. 数据收集及优化统计

数据采集¹			
	数据组	实施例 11	实施例 16
[0673]	检测器	Saturn944	Mar345
	空间群	I222	I222
	单位晶胞尺寸		
	a, b, c (Å)	86.0, 89.3, 114.6	86.5, 88.7, 114.5
	分辨率(Å)	1.7	1.5
	完整性(%)	81.0 (9.1)	93.3 (43.5)
	R _{sym} (%)	4.2 (31.6)	3.5 (28.0)
[0674]	< I/σ(I) >	32.1 (2.9)	32.5 (4.7)
优化²			
	R-因子/R-自由(%)	17.8/19.2	21.3/21.7
	Rmsd 键长度(Å)	0.008	0.008
	Rmsd 键角度(°)	0.90	0.93

[0675] ¹圆括号中的值针对最高分辨率壳层; $R_{\text{sym}} = \frac{\sum_{\text{hkl}} \sum_i |I_i - \langle I \rangle|}{\sum_{\text{hkl}} \sum_i I_i}$

[0676] ²R-因子 = $\frac{\sum_{\text{hkl}} ||\text{Fobs} - k|\text{Fcalc}||}{\sum_{\text{hkl}} |\text{Fobs}|}$; R-自由使用5%自优化排除的数据计算; Rmsd, 均方根差。

[0677] 表14. X射线结晶中检测的化合物

化合物	实施例 11	实施例 16
结构		
立体异构体	单一非对映异构体	非对映异构体混合物
CatC IC ₅₀ (nM)	0.7	0.5

[0679] 药物组合物

[0680] 一般技术人员将显而易见用于给予式I化合物的适合的制剂且包括例如片剂、丸剂、胶囊、栓剂、口含锭、糖衣锭、溶液、糖浆、酞剂、药囊、可注射剂、吸入剂及散剂等, 优选为片剂。

[0681] 可例如通过将一或多种根据式I的化合物与已知赋形剂(例如惰性稀释剂、载剂、崩解剂、佐剂、界面活性剂、黏合剂及/或润滑剂)混合来获得适合的片剂。片剂亦可由若干层组成。

[0682] 组合

[0683] 通式I化合物可独立地使用或与根据本发明的其他式I活性物质组合使用。通式I化合物任选亦可与其他药理学上的活性物质组合。这些包括β2-肾上腺素受体-激动剂(短效及长效)、抗胆碱能药物(短效及长效)、抗炎剂类固醇(经口及局部皮质类固醇)、色甘酸盐、甲基黄嘌呤、解离糖皮质激素模拟物、PDE3抑制剂、PDE4抑制剂、PDE7抑制剂、LTD4拮抗剂、EGFR抑制剂、多巴胺激动剂、PAF拮抗剂、脂氧素A4衍生物、FPRL1调节剂、LTB4受体(BLT1、BLT2)拮抗剂、组织胺H1受体拮抗剂、组织胺H4受体拮抗剂、双组织胺H1/H3受体拮抗剂、PI3激酶抑制剂、非受体酪氨酸激酶抑制剂(例如LYN、LCK、SYK、ZAP-70、FYN、BTK或ITK)、

MAP激酶抑制剂(例如p38、ERK1、ERK2、JNK1、JNK2、JNK3或SAP)、NF- κ B信号传导路径抑制剂(例如IKK2激酶抑制剂、iNOS抑制剂、MRP4抑制剂)、白三烯生物合成抑制剂(例如5-脂肪加氧酶(5-L0)抑制剂、cPLA2抑制剂、白三烯A4水解酶抑制剂或FLAP抑制剂)、非甾体抗炎剂(NSAID)、CRTH2拮抗剂、DP1受体调节剂、血栓素受体拮抗剂、CCR3拮抗剂、CCR4拮抗剂、CCR1拮抗剂、CCR5拮抗剂、CCR6拮抗剂、CCR7拮抗剂、CCR8拮抗剂、CCR9拮抗剂、CCR30拮抗剂、CXCR3拮抗剂、CXCR4拮抗剂、CXCR²拮抗剂、CXCR1拮抗剂、CXCR5拮抗剂、CXCR6拮抗剂、CX3CR3拮抗剂、神经激肽(NK1、NK2)拮抗剂、神经鞘胺醇1-磷酸酯受体调节剂、神经鞘胺醇1-磷酸酯解离酶抑制剂、腺苷受体调节剂(例如A2a-激动剂)、嘌呤受体调节剂(例如P2X7抑制剂)、组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)活化剂、缓激肽(BK1、BK2)拮抗剂、TACE抑制剂、PPAR γ 调节剂、Rho-激酶抑制剂、白介素1- β 转化酶(ICE)抑制剂、Toll样受体(TLR)调节剂、HMG-CoA还原酶抑制剂、VLA-4拮抗剂、ICAM-1抑制剂、SHIP激动剂、GABA_A受体拮抗剂、ENaC抑制剂、前列腺蛋白酶抑制剂、间质蛋白酶抑制剂、黑皮质素受体(MC1R、MC2R、MC3R、MC4R、MC5R)调节剂、CGRP拮抗剂、内皮素拮抗剂、TNF α 拮抗剂、抗TNF抗体、抗GM-CSF抗体、抗CD46抗体、抗IL-1抗体、抗IL-2抗体、抗IL-4抗体、抗IL-5抗体、抗IL-13抗体、抗IL-4/IL-13抗体、抗TSLP抗体、抗OX40抗体、黏液调整剂、免疫治疗剂、抗气管肿胀化合物、抗咳嗽化合物、VEGF抑制剂、NE抑制剂、MMP9抑制剂、MMP12抑制剂以及两种或三种活性物质的组合。

[0684] 优选为 β 模拟剂、抗胆碱能药物、皮质类固醇、PDE4抑制剂、LTD4拮抗剂、EGFR抑制剂、CRTH2抑制剂、5-L0抑制剂、组织胺受体拮抗剂及SYK抑制剂、NE抑制剂、MMP9抑制剂、MMP12抑制剂以及两种或三种活性物质的组合，亦即：

[0685] • β 模拟剂与皮质类固醇、PDE4抑制剂、CRTH2抑制剂或LTD4拮抗剂，

[0686] • 抗胆碱能药物与 β 模拟剂、皮质类固醇、PDE4抑制剂、CRTH2抑制剂或LTD4拮抗剂，

[0687] • 皮质类固醇与PDE4抑制剂、CRTH2抑制剂或LTD4拮抗剂

[0688] • PDE4抑制剂与CRTH2抑制剂或LTD4拮抗剂

[0689] • CRTH2抑制剂与LTD4拮抗剂。

[0690] 适应症

[0691] 本发明化合物及其药学上可接受的盐作为药剂，尤其作为二肽基肽酶I活性抑制剂具有活性，且因此可用于治疗以下各疾病：

[0692] 1. 呼吸道：气管阻塞性疾病，包括：哮喘，包括支气管、过敏性、内源性、外源性、运动诱导、药物诱导(包括阿司匹林及NSAID诱导)及灰尘诱导的哮喘(间歇性及持续性两种及所有严重性)，及气管过度反应的其他病因；慢性阻塞性肺病(COPD)；支气管炎，包括传染性及嗜酸性粒细胞支气管炎；气肿； α 1-抗胰蛋白酶缺乏症；支气管扩张症；囊性纤维化；类肉瘤病；农夫肺及相关疾病；过敏性肺炎；肺纤维化，包括隐源性致纤维化肺泡炎、特发性间质性肺炎、纤维化并发抗肿瘤性疗法；及慢性感染，包括肺结核及曲菌病及其他真菌感染；肺移植并发症；肺脉管的脉管炎及血栓性病、多血管炎(韦格纳肉芽肿病(Wegener Granulomatosis))及肺高血压；止咳活性，包括治疗与气管的炎性及分泌性病况相关的慢性咳嗽及医源性咳嗽；急性及慢性鼻炎，包括药物性鼻炎及血管舒缩性鼻炎；常年性及季节性过敏性鼻炎，包括神经性鼻炎(枯草热)；鼻部多发性息肉；急性病毒感染(包括感冒)及归因于呼吸道融合病毒、流感、冠形病毒(包括SARS)及腺病毒的安装；

[0693] 2. 皮肤: 牛皮癣、异位性皮炎、接触性皮炎或其他湿疹皮肤病及迟发型超敏反应; 植物性及光照性皮炎; 脂溢性皮炎、疱疹样皮炎、扁平苔癣、硬化性萎缩性苔藓、坏疽性脓皮病、皮肤类肉瘤、盘状红斑性狼疮、天疱疮、类天疱疮、大疱性表皮松懈、荨麻疹、血管性水肿、血管炎、毒性红斑、皮肤嗜酸性粒细胞增多、斑秃、男性型秃发、斯威特氏综合征 (Sweet's syndrome)、韦-克二氏综合征 (Weber-Christian syndrome)、多形性红斑; 蜂窝组织炎 (感染性及非感染性的两者); 脂层炎; 皮肤淋巴瘤、非黑色素瘤皮肤癌症及其他发育不良病变; 药物诱导的病症, 包括固定性药疹;

[0694] 3. 眼睛: 睑炎; 结膜炎, 包括常年性及春季过敏性结膜炎; 虹膜炎; 前及后葡萄膜炎; 脉络膜炎; 影响视网膜的自体免疫性、退化性或炎性病症; 眼炎, 包括交感神经眼炎; 类肉瘤病; 感染, 包括病毒、真菌及细菌;

[0695] 4. 生殖泌尿: 肾炎, 包括间质及肾小球肾炎; 肾病综合征; 膀胱炎, 包括急性及慢性 (间质) 膀胱炎及杭纳氏溃疡 (Hunner's ulcer); 急性及慢性尿道炎、前列腺炎、附睾炎、卵巢炎及输卵管炎; 女阴阴道炎; 佩洛尼氏疾病 (Peyronie's disease); 勃起困难 (男性及女性两者);

[0696] 5. 同种异体移植排斥反应: 在例如移植肾脏、心脏、肝脏、肺脏、骨髓、皮肤或角膜之后或在输血之后的急性及慢性排斥反应; 或慢性移植物抗宿主疾病;

[0697] 6. 其他自体免疫及过敏性病症, 包括类风湿性关节炎、肠激惹综合征、全身性红斑性狼疮症、多发性硬化症、桥本氏甲状腺炎 (Hashimoto's thyroiditis)、格雷夫斯氏病 (Graves' disease)、艾迪森氏病 (Addison's disease)、糖尿病、特发性血小板减少性紫癜、嗜酸性筋膜炎、高IgE综合征、抗磷脂综合征及塞扎里综合征 (Sazary syndrome);

[0698] 7. 肿瘤学: 治疗常见癌症, 包括前列腺、乳房、肺脏、卵巢、胰腺、肠及结肠、胃、皮肤及脑部肿瘤及影响骨髓的恶性病 (包括白血病) 及淋巴组织增生系统的恶性病 (诸如霍奇金氏淋巴瘤 (Hodgkin's lymphoma) 及非霍奇金氏淋巴瘤); 包括预防及治疗转移性疾病及肿瘤复发及副肿瘤综合征; 及

[0699] 8. 传染性疾病: 病毒疾病, 诸如生殖器疣、寻常性疣、跖疣、乙型肝炎、丙型肝炎、单纯性疱疹病毒、传染性软疣、痘疮、人类免疫缺陷病毒 (HIV)、人类乳头状瘤病毒 (HPV)、细胞巨大病毒 (CMV)、水痘带状疱疹病毒 (VZV)、鼻病毒、腺病毒、冠形病毒、流感、副流感; 细菌疾病, 诸如肺结核及鸟分支杆菌 (*mycobacterium avium*)、麻风; 其他传染性疾病, 诸如真菌疾病、衣原体、念珠菌属、曲菌属、隐球菌脑膜炎、肺炎肺囊虫 (*Pneumocystis carinii*)、隐孢子虫病、组织浆菌病、弓虫病、锥虫感染及利什曼体病 (*leishmaniasis*)。

[0700] 9. 疼痛: 来自组织蛋白酶C缺陷型小鼠的近期文献数据指出组织蛋白酶C在疼痛感觉方面的调节作用。因此, 组织蛋白酶C的抑制剂亦可适用于各种形式的慢性疼痛, 例如炎性或神经性疼痛的临床配置。

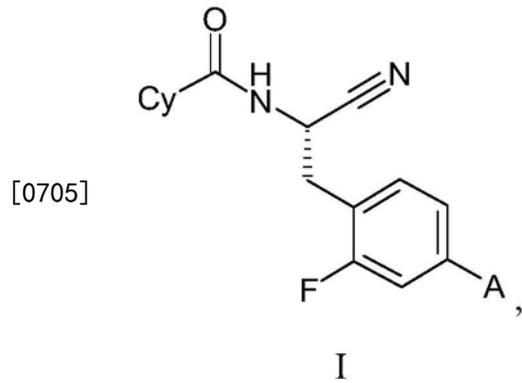
[0701] 为治疗上文所描述的疾病及病况, 治疗学上有效的剂量将通常在每剂量本发明化合物每公斤体重约0.01mg至约100mg的范围内; 优选为每剂量每公斤体重约0.1mg至约20mg。举例而言, 对70公斤个人给予时, 剂量范围将为每剂量本发明化合物约0.7mg至约7000mg, 优选每剂量约7.0mg至约1400mg。可能需要进行一定程度的常规剂量优化以确定最佳给药量及模式。活性成分可一日给予1至6次。

[0702] 当然实际药学上的有效量或治疗剂量将视本领域技术人员已知的因素而定, 诸如

患者的年龄及重量、给予途径及疾病严重程度。在任何情况下,将以允许基于患者的独特病况而递送药学上有效量的剂量及方式给予活性成分。

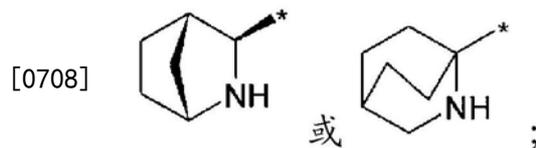
[0703] 具体地,本发明涉及如下各项:

[0704] 1. 一种式I化合物或其药学上可接受的盐,

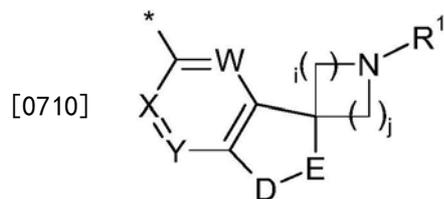


[0706] 其中

[0707] Cy为



[0709] A为



[0711] 其中

[0712] W选自由CH及N组成的群;

[0713] X选自由CH及N组成的群;

[0714] Y选自由CH及N组成的群;

[0715] 其限制条件为W、X及Y中最多一者可为N;

[0716] D-E选自由N(R²)-C(O)、CH₂CH₂、C(O)-O及CH₂-O组成的群;

[0717] R²选自由H及C₁₋₃烷基组成的群;

[0718] R¹选自由H、C₁₋₃烷基、CH₃OCH₂CH₂-、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、4-四氢吡喃基及3-四氢吡喃基组成的群;

[0719] i为1、2或3;

[0720] j为1、2或3;

[0721] 其限制条件为i+j的总和为2、3或4。

[0722] 2. 如项1的式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0723] Cy为



[0725] 3. 如项1的式I化合物或其药学上可接受的盐, 其中

[0726] Cy为



[0728] 4. 如项1、2或3的式I化合物或其药学上可接受的盐, 其中

[0729] R¹选自由H、CH₃-及氧杂环丁烷基组成的群。

[0730] 5. 如项1-4中任一项的式I化合物或其药学上可接受的盐, 其中

[0731] R²选自由H及CH₃组成的群。

[0732] 6. 如项1-5中任一项的式I化合物或其药学上可接受的盐, 其中

[0733] D-E为CH₂-O。

[0734] 7. 如项1的式I化合物或其药学上可接受的盐, 其中

[0735] R¹选自由H、CH₃及氧杂环丁烷基组成的群;

[0736] R²为CH₃;

[0737] W选自由CH及N组成的群;

[0738] X选自由CH及N组成的群;

[0739] Y选自由CH组成的群;

[0740] 其限制条件为W、X及Y中最多一者可为N;

[0741] D-E选自由N(R²)-C(O)、CH₂CH₂、C(O)-O及CH₂-O组成的群;

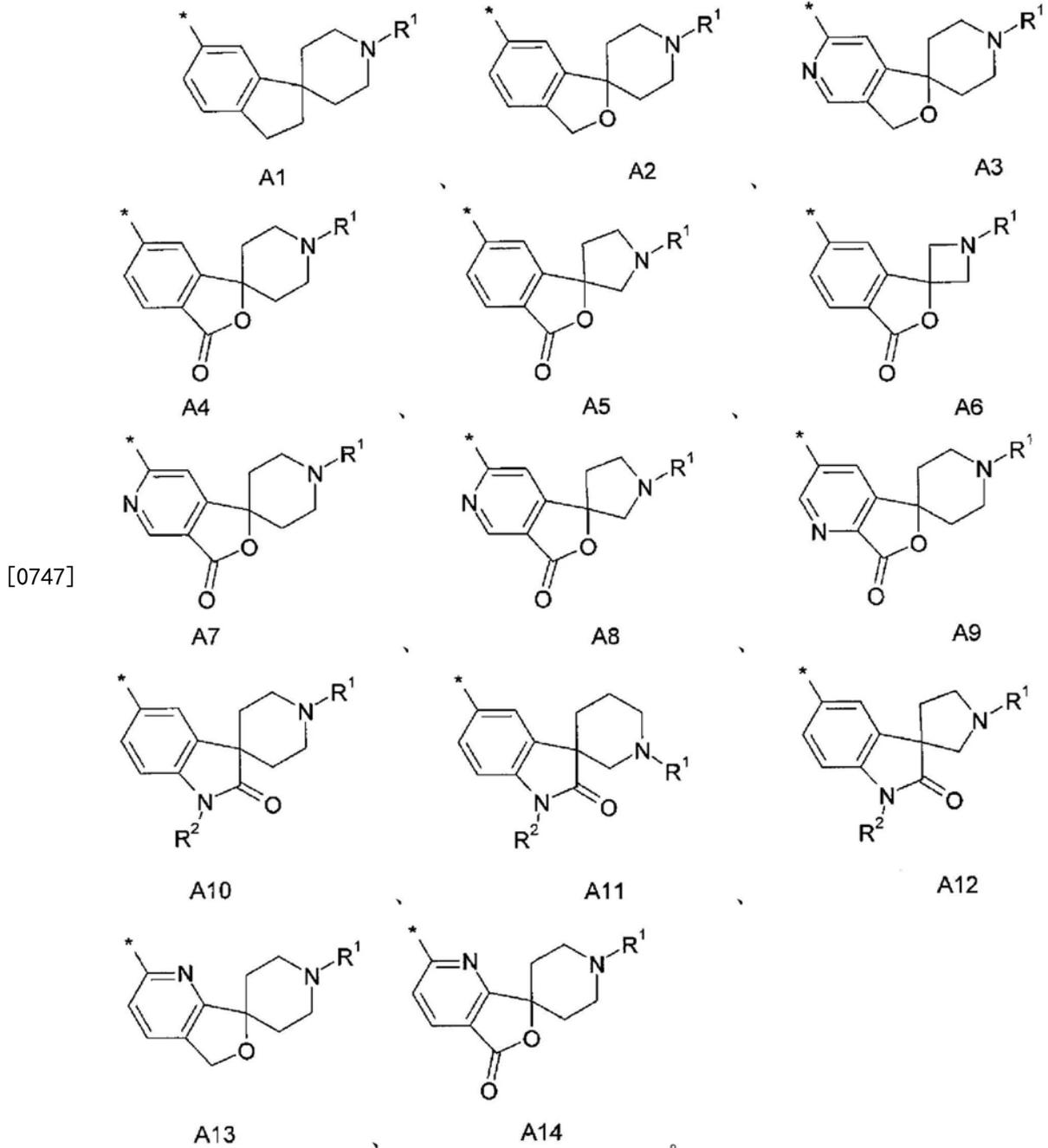
[0742] i为1或2;

[0743] j为1或2;

[0744] 其限制条件为i+j的总和为2、3或4。

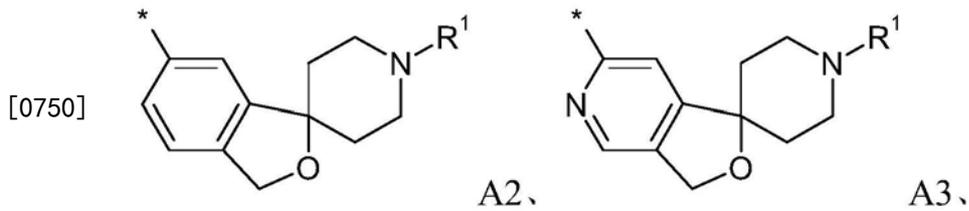
[0745] 8. 如项1-7中任一项的式I化合物或其药学上可接受的盐, 其中

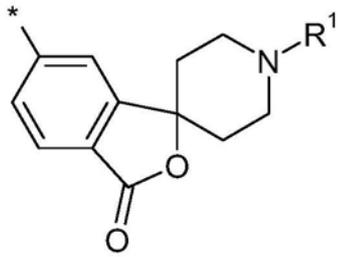
[0746] A选自由式A1至A14组成的群:



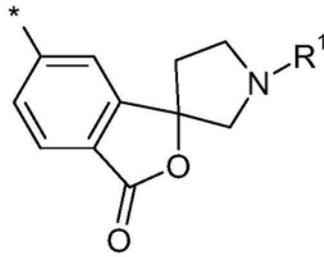
[0748] 9. 如项8的式I化合物或其药学上可接受的盐, 其中

[0749] A选自由A2、A3、A4、A5、A6、A7、A10、A13及A14组成的群:

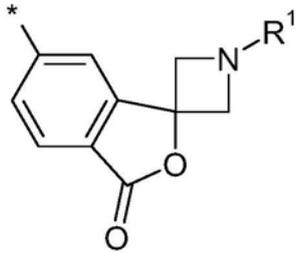




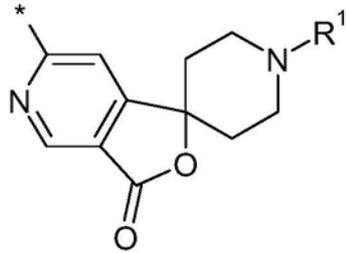
A4、



A5、

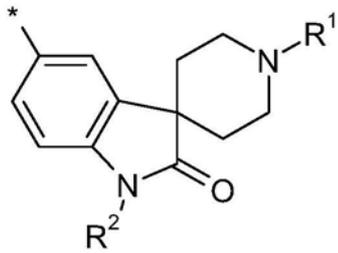


A6、

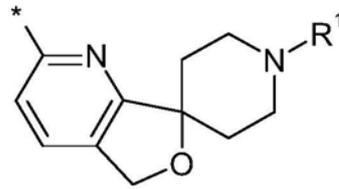


A7、

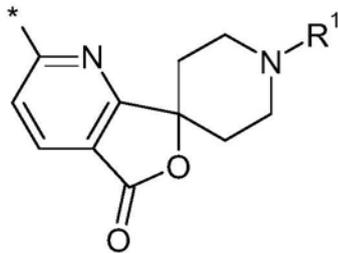
[0751]



A10、



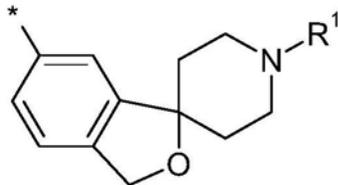
A13、



A14。

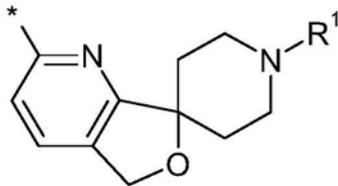
[0752] 10. 如项8或9的式I化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0753] A选自由A2及A13组成的群



A2、

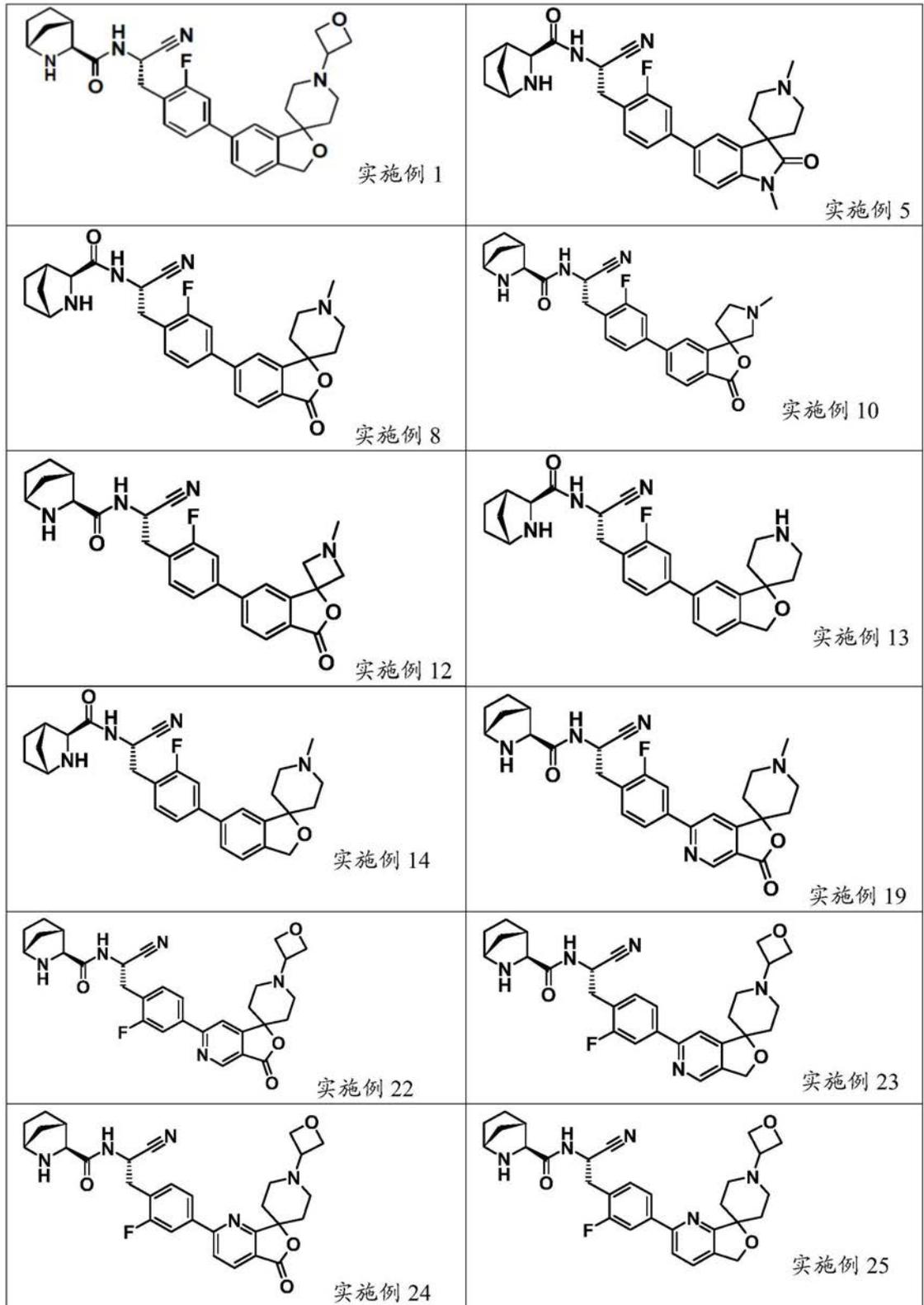
[0754]



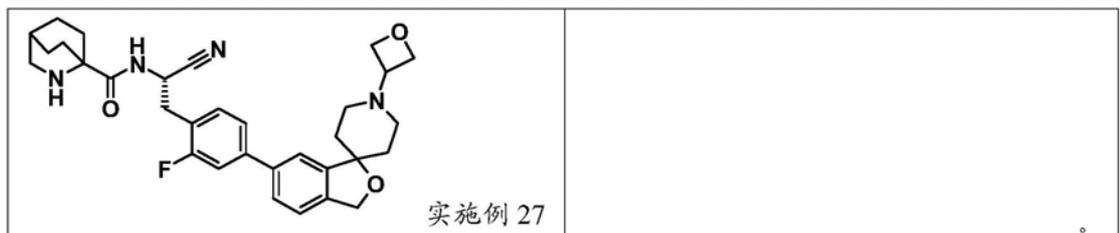
A13。

[0755] 11. 如项1的式I化合物,其选自由实施例1、实施例5、实施例8、实施例10、实施例12、实施例13、实施例14、实施例19、实施例22、实施例23、实施例24、实施例25及实施例27组成的群

[0756]



[0757]



[0758] 12. 如项1-11中任一项的式I化合物或其药学上可接受的盐,其用作药物。

[0759] 13. 如项1-11中任一项的式I化合物或其药学上可接受的盐,其用作用于治疗以下疾病的药物:哮喘及过敏性疾病、胃肠炎性疾病、肾小球肾炎、嗜酸性粒细胞疾病、慢性阻塞性肺病、病原性微生物感染、类风湿性关节炎、嗜中性粒细胞疾病、囊性纤维化(CF)、非囊性纤维化、特发性肺部纤维化、支气管扩张、ANCA相关脉管炎、肺癌、气肿、慢性支气管炎、急性肺损伤(ALI)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、肺高血压、肺部动脉高血压(PAH)及 α -1-抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)、肥胖症及相关炎症、胰岛素抗性、糖尿病、脂肪肝及肝脂肪变性。

[0760] 14. 一种药物组合物,其含有一或多种如项1-11中任一项的式I化合物或其药学活性盐。

[0761] 15. 治疗或预防疾病的方法,其中在所述疾病中DPPI活性抑制剂具有治疗效益,该方法包括将治疗有效量或预防有效量的如项1-11中任一项的式I化合物给予有需要的患者。

[0762] 16. 一种药物组合物,其包含如项1-11中任一项的式I化合物,以及选自由以下组成的群的药学活性化合物: β 模拟剂、抗胆碱能药物、皮质类固醇、PDE4抑制剂、LTD4拮抗剂、EGFR抑制剂、CRTH2抑制剂、5-LO抑制剂、组织胺受体拮抗剂、CCR9拮抗剂及SYK抑制剂、NE抑制剂、MMP9抑制剂、MMP12抑制剂,以及两种或三种活性物质的组合。

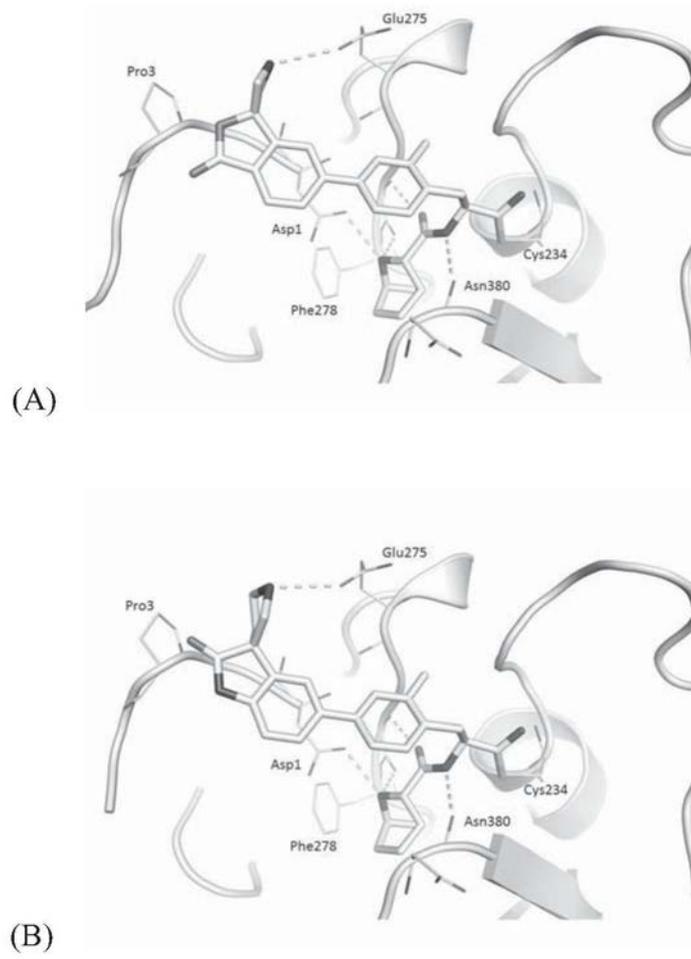


图1