



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1777575 B

(45) 授权公告日 2010.05.12

(21) 申请号 200480011059.5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2004.04.29

C07C 217/64 (2006.01)

(30) 优先权数据

C07F 9/09 (2006.01)

0309944.7 2003.04.30 GB

A61K 31/137 (2006.01)

0329500.3 2003.12.19 GB

A61K 31/661 (2006.01)

0329505.2 2003.12.19 GB

A61P 37/02 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2005.10.24

EP 1002792 A1, 2000.05.24, 摘要和第 30、37 和 39-47 页.

(86) PCT申请的申请数据

EP 0778263 A1, 1997.06.11, 表 1、表 3、表 7、表 17 和表 20, 摘要和第 146-151 页.

PCT/EP2004/004569 2004.04.29

(87) PCT申请的公布数据

WO 02/076995 A2, 2002.10.03, 实施例 1-4、6-8、10-13、17、22、23 和 25-27, 第 21-26 页.

W02004/096752 EN 2004.11.11

(73) 专利权人 诺瓦提斯公司

审查员 宗绮

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 K·欣特尔丁 C·斯庞克

F·泽克里

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 隗永良

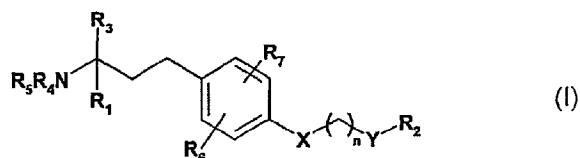
权利要求书 2 页 说明书 17 页

(54) 发明名称

作为 1- 磷酸 - 鞘氨醇受体调节剂的氨基 - 丙醇衍生物

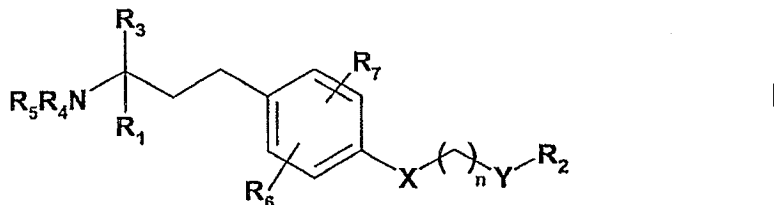
(57) 摘要

本 发 明 涉 及 式 I 化 合 物 :



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 X 、 Y 和 n 如说明书中所定义; 它们的制备方法; 它们的用途和含有它们的药物组合物。

1. 游离形式或盐形式的式 I 化合物：



其中：

R_1 是 C_{1-6} 烷基；被羟基、 C_{1-2} 烷氧基或 1 至 6 个氟原子取代的 C_{1-6} 烷基； C_{2-6} 链烯基；或 C_{2-6} 炔基；

X 是 O ；

Y 是 O 或 S ；

R_2 是苯基；萘基； C_{3-6} 环烷基；杂芳基；杂环基；苯基 C_{1-2} 烷基； C_{3-6} 环烷基 C_{1-2} 烷基；杂芳基 C_{1-2} 烷基；杂环基 C_{1-2} 烷基；

其中每一个可以被 1 至 5 个取代基环取代，所述取代基选自羟基、卤素、 C_{1-4} 烷基、被 1 至 5 个氟原子取代的 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-4} 烷氧基、被 1 至 5 个氟原子取代的 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-6} 环烷氧基、 C_{3-6} 环烷基 C_{1-2} 烷基、氰基、苯基和被羟基、卤素、 C_{1-4} 烷基、被 1 至 5 个氟原子取代的 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、被 1 至 5 个氟原子取代的 C_{1-4} 烷氧基或氰基取代的苯基；

R_3 是 $Z-X_2$ ，其中 Z 是 CH_2 、 CHF 或 CF_2 ，且 X_2 是 OH 或式 (a) 的残基：



其中 Z_1 是直连键、 CH_2 、 CHF 、 CF_2 或 O ， R_8 和 R_9 各自独立地是 H 或任选地被 1、2 或 3 个卤素原子取代的 C_{1-4} 烷基；且

R_4 和 R_5 各自独立地是 H ；任选地被 1、2 或 3 个卤素原子取代的 C_{1-4} 烷基；或酰基；

R_6 和 R_7 各自独立地是 H ；羟基；卤素； C_{1-4} 烷基； C_{1-6} 环烷基； C_{1-4} 烷氧基；

C_{1-6} 环烷氧基； C_{3-6} 环烷基 C_{1-2} 烷基；或氰基；且

n 是 2 或 3。

2. 权利要求 1 的游离形式或盐形式的式 I 化合物，其中 R_2 是苯基；被 1 或 2 个卤素、 C_{1-2} 烷基或 C_{1-2} 烷氧基取代的苯基；氰基苯基；萘基；或苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基。

3. 权利要求 1 或 2 的游离形式或盐形式的化合物，其中 R_6 和 R_7 各自独立地是氢、甲氧基、甲基或氯。

4. 权利要求 1 的游离形式或盐形式的化合物，其中 R_1 是 CH_3 或 CH_2-OH 。

5. 权利要求 1 的游离形式或盐形式的化合物，其中每一 R_4 和 R_5 是氢。

6. 权利要求 1 的游离形式或盐形式的化合物，其中 R_3 是 CH_2-OH 或 $CH_2-OP(O)_3H_2$ 。

7. 一种药物组合物，其包含权利要求 1 至 6 中任意一项的化合物或其可药用盐以及适合的可药用的稀释剂或载体。

8. 一种药物组合物，其包含权利要求 1 至 6 中任意一项的游离形式或可药用盐形式的化合物和至少一种联用活性剂。

9. 根据权利要求 1 的化合物或其可药用盐的用途，用于制备预防或治疗淋巴细胞介导

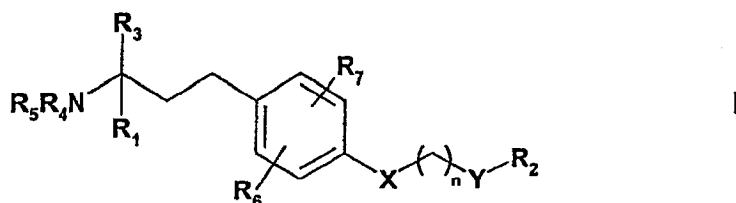
的病症或疾病、预防或治疗急性或慢性移植物排斥反应或 T 细胞介导的炎性或自身免疫性疾病的药物。

作为 1- 磷酸 - 鞘氨醇受体调节剂的氨基 - 丙醇衍生物

[0001] 本发明涉及氨基 - 丙醇衍生物、它们的制备方法、它们的用途和含有它们的药物组合物。

[0002] 更具体而言,本发明提供了游离形式或盐形式的式 I 化合物:

[0003]



[0004] 其中:

[0005] R_1 是 C_{1-6} 烷基;被羟基、 C_{1-2} 烷氧基或 1 至 6 个氟原子取代的 C_{1-6} 烷基; C_{2-6} 链烯基;或 C_{2-6} 炔基;

[0006] X、Y 各自独立地是 O、 CH_2 或 $C=O$;

[0007] R_2 是苯基;萘基; C_{3-6} 环烷基;杂芳基;杂环基;苯基 C_{1-2} 烷基; C_{3-6} 环烷基 C_{1-2} 烷基;杂芳基 C_{1-2} 烷基;杂环基 C_{1-2} 烷基;

[0008] 其中每一个可以被 1 至 5 个取代基环取代,所述取代基选自羟基、卤素、 C_{1-4} 烷基、被 1 至 5 个氟原子取代的 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-4} 烷氧基、被 1 至 5 个氟原子取代的 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-6} 环烷氧基、 C_{3-6} 环烷基 C_{1-2} 烷基、氰基、苯基和被羟基、卤素、 C_{1-4} 烷基、被 1 至 5 个氟原子取代的 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、被 1 至 5 个氟原子取代的 C_{1-4} 烷氧基或氰基取代的苯基;

[0009] R_3 是 $Z-X_2$, 其中 Z 是 CH_2 、CHF 或 CF_2 , 且 X_2 是 OH 或式 (a) 的残基:

[0010]



[0011] 其中 Z_1 是直连键、 CH_2 、CHF、 CF_2 或 O, R_8 和 R_9 各自独立地是 H 或任选地被 1、2 或 3 个卤素原子取代的 C_{1-4} 烷基;且

[0012] R_4 和 R_5 各自独立地是 H;任选地被 1、2 或 3 个卤素原子取代的 C_{1-4} 烷基;或酰基;

[0013] R_6 和 R_7 各自独立地是 H;羟基;卤素; C_{1-4} 烷基; C_{1-6} 环烷基; C_{1-4} 烷氧基;

[0014] C_{1-6} 环烷氧基; C_{3-6} 环烷基 C_{1-2} 烷基;或氰基;且

[0015] n 是 2 或 3。

[0016] 烷基或烷基部分可以是直链或支链。链烯基可以是例如乙烯基。炔基可以是例如丙炔-2-基。酰基可以是残基 $R-CO$, 其中 R 是 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、苯基或苯基 C_{1-4} 烷基。卤素可以是氟、氯或溴, 优选氟或氯。当烷基被羟基取代时, 优选的是在末端碳原子上取代。苯基 C_{1-2} 烷基可以是例如苄基。

[0017] 杂芳基可以是包含 1 至 4 个选自 N、O 和 S 的杂原子的 5 至 8 元芳族环, 例如吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、呋喃基、噁唑基、异噁唑基、噻吩基、噻唑基、异噻唑基、吡咯基、咪唑基

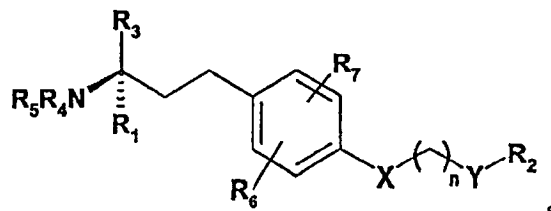
或吡唑基。

[0018] 杂环基是指包含 1 至 4 个选自 N、O 和 S 的杂原子的 3 至 8 元、优选 5 至 8 元的饱和或不饱和的杂环,例如四氢呋喃基、四氢吡喃基、吡丙啉基、哌啶基、吡咯烷基、哌嗪基。该杂环基也可以与任选取代的芳基或杂芳基例如苯基稠合,其中 Y 与所述的芳基或杂芳基键合;实例包括例如苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯基。

[0019] 式 I 化合物可以以游离形式或以盐形式存在,所述盐形式例如与例如无机酸的加成盐,如盐酸盐、氢溴酸盐或硫酸盐,与有机酸的盐,如乙酸盐、富马酸盐、马来酸盐、苯甲酸盐、柠檬酸盐、苹果酸盐、甲磺酸盐或苯磺酸盐。水合物或溶剂合物形式的式 I 化合物及其盐也是本发明的一部分。

[0020] 当式 I 化合物在分子中具有不对称中心时,得到各种旋光异构体。本发明也包括对映体、外消旋物、非对映异构体以及它们的混合物。例如,带有 R_1 、 R_3 和 NR_4R_5 的中心碳原子可以具有 R 或 S 构型。具有以下三维构型的化合物一般是优选的:

[0021]



[0022] 此外,当式 I 化合物包括几何异构体时,本发明包括顺式-化合物、反式-化合物以及它们的混合物。相似的考虑也适用于含有以上提及的不对称碳原子或不饱和键的起始原料,例如以下所示的式 II、III 或 IV 的化合物。

[0023] 在式 I 化合物中,单独地或以任一亚组合形式优选以下含义:

[0024] 1. X 是 O;

[0025] 2. Y 是 O 或 S;

[0026] 3. R_1 是 CH_3 或 CH_2-OH ;

[0027] 4. R_2 是苯基;被 1 或 2 个选自卤素、 C_{1-2} 烷基或 C_{1-2} 烷氧基的取代基取代的苯基;氰基苯基;萘基;或苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯-5-基;

[0028] 5. R_3 是 CH_2-OH 或 $CH_2-OP(O)(H)_2$;

[0029] 6. R_4 和 R_5 各自是氢;

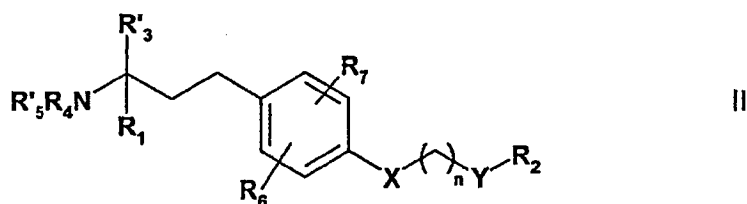
[0030] 7. R_6 是氢、甲氧基、甲基或氯;和

[0031] 8. R_7 是氢、甲氧基、甲基或氯。

[0032] 本发明还包括制备式 I 化合物的方法,该方法包括:

[0033] a) 对于其中 R_3 是 $Z-X_2$, X_2 是 OH 的式 I 化合物,除去式 II 化合物中存在的保护基:

[0034]

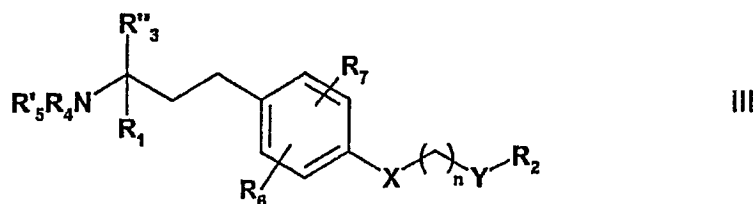


[0035] 其中 X、n、 R_1 、 R_2 和 R_4 如以上所定义, R'_3 是 $Z-X_2$, 其中 X_2 是 OH, 且 R'_5 是氨基保

护基,或者

[0036] b) 对于其中 R_3 是 $Z-X_2$, X_2 是式 (a) 的残基的式 I 化合物,除去式 III 化合物中存在的保护基:

[0037]



[0038] 其中 X 、 n 、 R_1 、 R_2 、 R_4 和 R'_5 如以上所定义,且 R''_3 是 $Z-X_2$,其中 X_2 是式 (a') 的残基:

[0039]



[0040] 其中 Z_1 如以上所定义,且 R'_8 或 R'_9 各自是可水解或可氢解的基团,或者 R'_8 和 R'_9 一起形成任选地与环(例如苯环)耦合的二价桥连基,

[0041] 并且,如果需要,将所获得的游离形式的式 I 化合物转化成所需的盐形式,反之亦然。

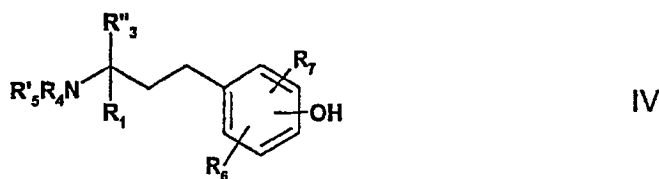
[0042] 方法步骤 a) 可根据本领域已知的方法进行。氨基保护基的除去可根据本领域已知的方法方便地进行,例如通过水解例如在酸性介质中如使用盐酸水解。氨基保护基的实例有例如“Protective Groups in Organic Synthesis”T. W. Greene, J. Wiley & Sons NY, 第2版,第7章,1991 以及其中的参考文献中所公开的那些保护基,例如苄基、对-甲氧基苄基、甲氧基甲基、四氢吡喃基、三烷基硅烷基、酰基、叔丁氧基-羰基、苄氧基羰基、9-苄基甲氧基羰基、三氟乙酰基等。

[0043] 在式 (a') 的基团中, R'_8 或 R'_9 均可以具有例如叔丁基、苯基或苄基的含义,或者一起形成环体系,如 1,5-二氢-2,4,3-苯并二氧杂磷杂萘 (benzodioxaphosphepin) 中的环体系。

[0044] 方法步骤 b) 可根据本领域已知的方法进行,例如通过水解进行,例如当 R'_6 和 R'_7 各自是可水解基团时在碱性介质中如使用氢氧化物如氢氧化钡水解,或者当 R'_6 和 R'_7 各自是叔丁基时在酸性介质中水解。其还可通过氢解作用来进行,例如在催化剂如 Pd/C 存在下氢解,然后水解,例如在酸性介质如 HCl 中水解。用作起始原料的式 II 和 III 的化合物和它们的盐也是新的,并且是本发明的一部分。

[0045] 本发明还包括制备式 II 化合物的方法,该方法包括转变式 IV 的化合物:

[0046]

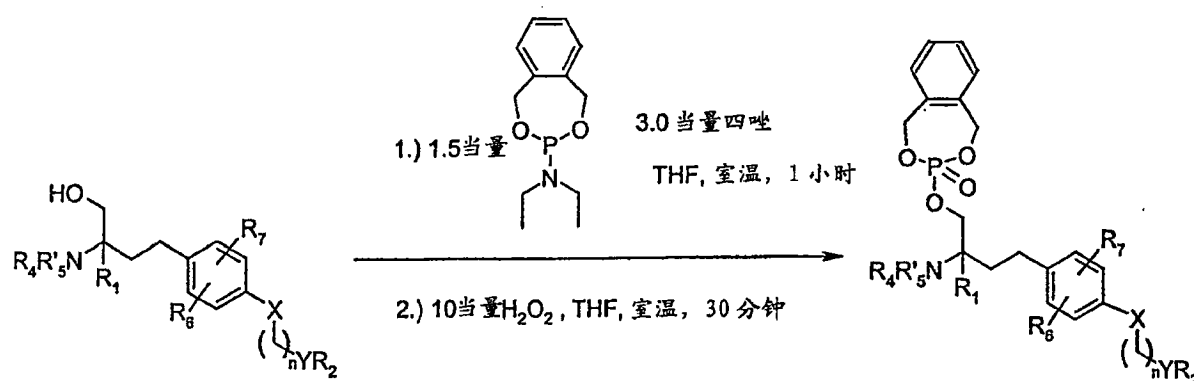


[0047] 其中 R_1 、 R'_3 、 R_4 和 R'_5 如以上所定义,

[0048] 以引入所需的基团 $-(CH_2)_n-Y-R_2$, 例如通过烷基化引入。式 IV 化合物的烷基化可根据本领域已知的方法进行, 例如通过亲核取代, 例如通过与烷基化剂 $R_2-Y-(CH_2)_n-X_3$ 反应, 其中 X_3 是甲磺酸根、甲苯磺酸根、三氟甲磺酸根、硝基苯磺酸根 (nosylate)、氯、溴或碘。烷基化也可以通过按照 Mitsunobu 方案使用 $R_2-Y-(CH_2)_n-OH$ (例如如 Hughes, Organic Preparation and Procedures International 28, 127-164, 1996 或 D. L. Hughes, Org. React. 42, 335, 1992 中所述) 在溶液中进行或按照固相支持合成进行, 例如通过使式 IV 化合物附着于树脂上。或者, 可以使用例如键合于树脂如聚苯乙烯上的三苯膦或偶氮甲酸二乙酯 (diethyl azocarboxylate)。

[0049] 其中 R'_8 和 R'_9 形成环体系的式 III 化合物可以如下制备:

[0050]



[0051] 其中 X 、 Y 、 n 、 R_1 、 R_2 、 R_4 和 R'_5 如以上所定义。

[0052] 在对起始原料的制备没有进行具体描述的情况下, 这些化合物是已知的或可以通过与本领域已知方法类似的方法或如下文实施例中公开的那样进行制备。

[0053] 以下的实施例是本发明的举例说明。熔点未经校正。

[0054] RT = 室温

[0055] THF = 四氢呋喃

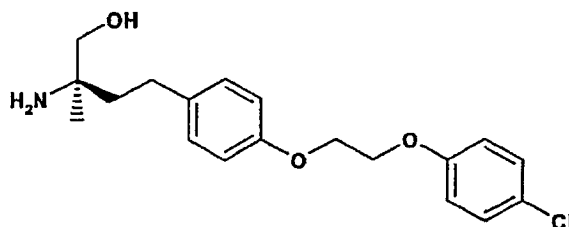
[0056] DMF = 二甲基甲酰胺

[0057] MTBE = 甲基叔丁基醚

[0058] AcOEt = 乙酸乙酯

[0059] **实施例 1:** (R)-2-氨基-4-{4-[2-(4-氯-苯氧基)-乙氧基]-苯基}-2-甲基-丁烷-1-醇盐酸盐:

[0060]



[0061] 向 (R)-(3-{4-[2-(4-氯-苯氧基)-乙氧基]-苯基}-1-羟甲基-1-甲基-丙基)-氨基甲酯叔丁基酯 (38mg, 0.063mmol) 中加入 4M 的在干燥二噁烷 (1mL) 中的 HCl。将澄清的无色溶液在防潮下搅拌 2 小时。然后, 将该溶液蒸发至干, 将部分结晶的残余物用干燥乙醚 (5mL) 吸收。声波振荡 10 分钟, 得到无色晶体沉淀。滤出产物, 用冷乙醚洗

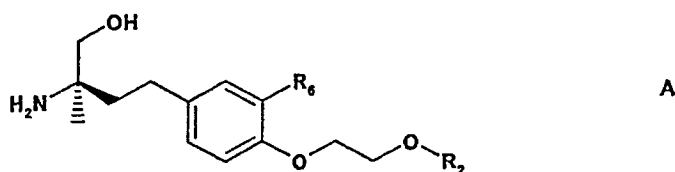
涤 (3×1mL), 并在真空中干燥, 得到不吸湿的无色微晶粉末形式的标题化合物 :HPLC : $t_R = 3.17$ 分钟, ESI+MS : $m/z = 350/352$ (MH⁺)。

[0062] (R)-(3-{4-[2-(4-氯-苯氧基)-乙氧基]-苯基}-1-羟甲基-1-甲基-丙基)-氨基甲酯叔丁基酯可以根据以下方法制备:

[0063] 向 [(R)-1-羟基-4-(4-羟基-苯基)-2-甲基-丁-2-基]-氨基甲酯叔丁基酯 (100mg, 0.34mmol) 和 1-(2-溴乙氧基)-4-氯苯 (120mg, 0.51mmol, 1.5 当量) 在无水 DMF (2.5mL) 中的溶液中加入不含水的碳酸铯 (166mg, 0.51mmol, 1.5 当量)。将得到的混悬液在 60℃、防潮下搅拌过夜。冷却至 RT 后, 滤出固体, 并用 DMF 洗涤 (2×1mL)。将合并的滤液在高真空中蒸发, 得到深橙色糖浆状物。通过快速色谱法 (FlashMaster II, MTBE/己烷梯度: 45 分钟内 0% MTBE → 40% MTBE, 随后 40% MTBE 15 分钟) 纯化, 得到无色晶体: HPLC : $t_R = 5.45$ 分钟, ESI+MS : $m/z = 450/452$ 。

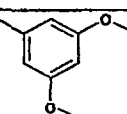
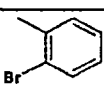
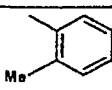
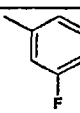
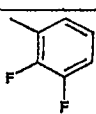
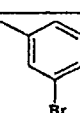
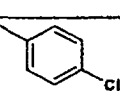
[0064] 按照实施例 1 的方法但使用适当的起始原料, 可以制备其中 R₂ 和 R₆ 如表 1 中所示的式 A 化合物:

[0065]



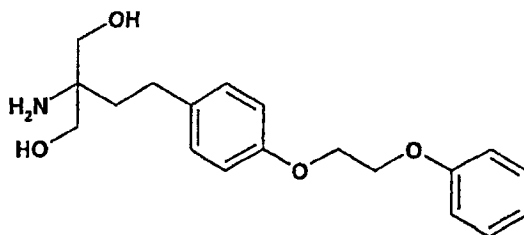
[0066] 表 1

[0067]

实施例	R ₂	R ₆	质谱数据
2.	苯基	H	MH ⁺ 316.5
3.		H	MH ⁺ 376.5
4.		H	MH ⁺ 394.3
5.		H	MH ⁺ 330.4
6.		H	MH ⁺ 334.4
7.		H	MH ⁺ 352.4
8.		H	MH ⁺ 394.3
9.		甲氧基	MH ⁺ 380.9
10.	苯基	甲氧基	MH ⁺ 346.5

[0068] 实施例 11: 2-氨基-4-{4-[2-苯氧基-乙氧基]-苯基}-2-乙氧基-丁烷-1-醇
 盐酸盐:

[0069]

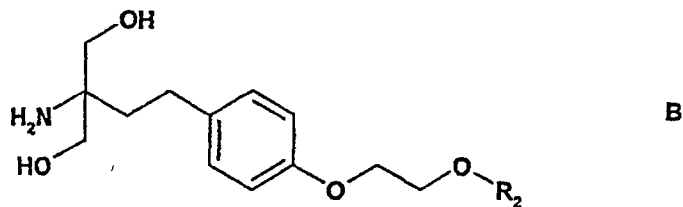


[0070] 向 4-[2-(4-羟甲基-2-甲基-4,5-二氢-噁唑-4-基)-乙基]-苯酚 (300mg, 1.27mmol) 在 DMF (5mL) 中的溶液中加入 Cs₂CO₃ (1.2g, 3.83mmol) 和 2-苯氧基乙基溴 (770mg, 1.27mmol)。将反应混合物在 85℃ 下搅拌 4 小时。然后加入 AcOEt 和水, 分离有机层, 水相用 AcOEt 萃取 (3×50mL)。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥并蒸发至干。通过快速色谱法 (AcOEt/Hx9 : 1) 纯化, 得到无色油状物形式的 (2-甲基-4-{2-[4-(2-苯氧基-乙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基)-甲醇。向 (2-甲基-4-{2-[4-(2-苯氧基-乙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基)-甲醇 (50mg, 0.14mmol) 在乙醇 (2mL) 中的溶液中加入浓 HCl (2mL)。将反应混合物在 85℃ 下搅拌 2 小时, 然后浓缩至干。将残余物重新溶解在 AcOEt 中并用己烷使其沉淀。滤出固体, 用干

燥乙醚洗涤并在真空中干燥,得到无色粉末形式的 2-氨基-4-{4-[2-苯氧基-乙氧基]-苯基}-2-乙氧基-丁烷-1-醇盐酸盐。ESI+MS : $m/z = 332.3 (M+H)^+$ 。

[0071] 按照实施例 11 的方法但使用适当的起始原料,可以制备其中 R_2 如表 2 中所示的式 B 化合物:

[0072]

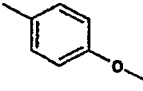
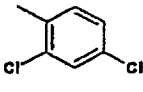
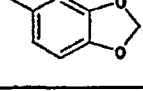
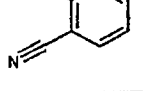
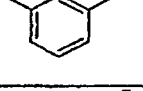
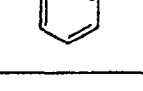


[0073] 表 2

实施例	R_2	质谱数据
12		$(M+H)^+ 410.1$
13		$(M+H)^+ 410.1$
14		$(M+H)^+ 382.2$
15		$(M+H)^+ 362.2$
16		$(M+H)^+ 376.0$
17		$(M+H)^+ 366.2$
18		$(M+H)^+ 346.2$
19		$(M+H)^+ 362.2$

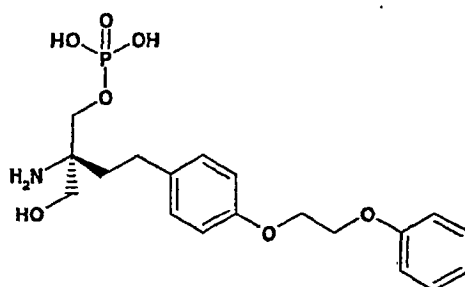
[0074]

[0075]

20		(M+H) ⁺ 362.0
21		(M+H) ⁺ 400.1
22		(M+H) ⁺ 376.0
23		(M+H) ⁺ 357.4
24		MH ⁺ 346.4
25		MH ⁺ 350.4

[0076] 实施例 26 : (+/-) 磷酸单-(2-氨基-4-{4-[2-苯氧基-乙氧基]-苯基}-2-乙氧基-丁烷) 酯:

[0077]

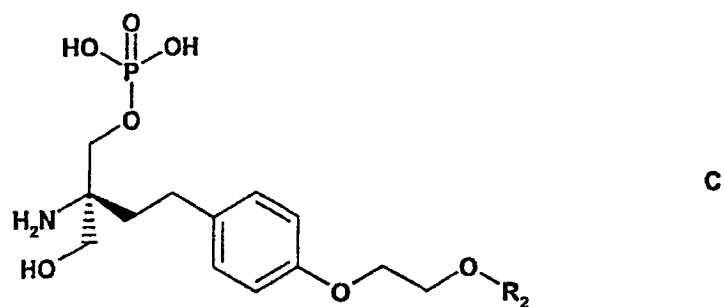


[0078] 向 (2-甲基-4-{2-[4-(2-苯氧基-乙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基)-甲醇 (200mg, 0.56mmol) 和四唑 (197mg, 2.81mmol, 5 当量, 用甲苯重结晶得到) 在干燥 THF (5mL) 中的溶液中加入 N,N-二异丙基氨基磷酸二叔丁酯 (di-tert-butyl-N,N-diisopropylphosphoramidate) (561mg, 2.25mmol, 4 当量)。在 RT、氩气下搅拌 3 小时后, 在 0℃、剧烈搅拌下缓慢加入 H₂O₂ (30%, 10 当量)。将反应混合物再搅拌 30 分钟, 然后加入饱和硫代硫酸钠溶液 (5mL)。分离有机层, 水相用乙醚萃取 (3×20mL)。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥并蒸发至干。通过快速色谱法 (AcOEt/己烷 1:1) 纯化, 得到无色晶体形式的磷酸二叔丁基酯 2-甲基-4-{2-[4-(2-苯氧基-乙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基甲基酯。最后, 向磷酸二叔丁基酯 2-甲基-4-{2-[4-(2-苯氧基-乙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基甲基酯 (150mg, 0.27mmol) 在乙醇 (5mL) 中的溶液中加入浓 HCl (5mL)。将反应混合物在 50℃ 下搅拌 2 小时, 然后浓缩至干。将残余物重新溶解在 AcOEt 中, 用己烷使其沉淀。滤出固体, 用干燥乙醚洗涤并在真空中干燥, 得到无色粉末形式的磷酸单-(2-氨基-4-{4-[2-苯氧基-乙氧基]-苯基}-2-乙氧基-丁烷) 酯。ESI+MS : m/z = 410.2 (M-H)⁺。

[0079] 按照实施例 26 的方法但使用适当的起始原料, 可以制备其中 R₂ 如表 3 中所示的

式 C 化合物：

[0080]

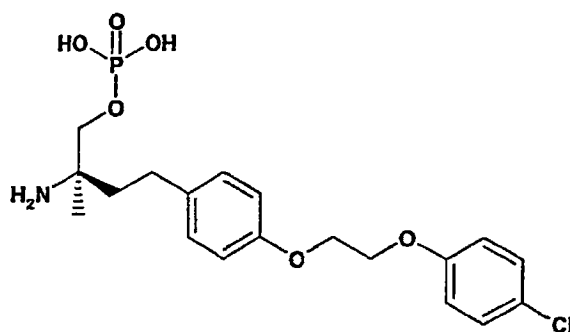


[0081] 表 3

实施例	R ₂	质谱数据
27		(M+H) ⁺ 488.0, (M-H) ⁺ 490.0
28		(M+H) ⁺ 488.0, (M-H) ⁺ 490.0
29		(M+H) ⁺ 440.2
30		(M+H) ⁺ 440.2
31		(M+H) ⁺ 444.0
32		(M+H) ⁺ 424.0
33		MH ⁺ 426.4
34		MH ⁺ 430.3
35		(M+H) ⁺ 442.4

[0083] 实施例 36：磷酸 (R)-单-(2-氨基-4-{4-[2-(4-氯-苯氧基)-乙氧基]-苯基}-2-甲基-丁基)酯：

[0084]



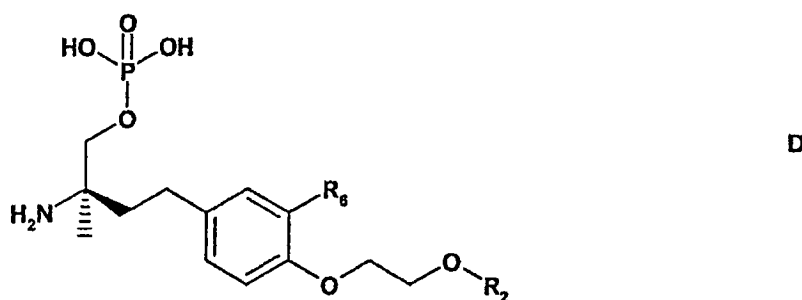
[0085] 将 [3-{4-[2-(4-氯-苯氧基)-乙氧基]-苯基}-1-(二叔丁氧基-磷酰氧基-甲基)-1-甲基-丙基]-氨基甲酸叔丁基酯 (44mg, 0.069mmol) 溶解在 4M 的在二噁烷 (2mL) 中的 HCl 中。搅拌 2 小时后, 蒸发略微混浊的溶液。将无色半固体残余物用干燥乙醚 (5mL) 进行声波振荡, 得到无色沉淀。滤出固体, 用干燥乙醚洗涤并将其真空干燥, 得到灰白色粉末: HPLC: $t_R = 3.11$ 分钟, ESI+MS: $m/z = 430/432 (M-H^+)$ 。

[0086] [3-{4-[2-(4-氯-苯氧基)-乙氧基]-苯基}-1-(二叔丁氧基-磷酰氧基-甲基)-1-甲基-丙基]-氨基甲酸叔丁基酯根据以下方法制备:

[0087] 向 (R)-(3-{4-[2-(4-氯-苯氧基)-乙氧基]-苯基}-1-羟甲基-1-甲基-丙基)-氨基甲酸叔丁基酯 (40mg, 0.089mmol, 实施例 1a) 和四唑 (19mg, 0.27mmol, 3 当量, 用甲苯重结晶得到) 在干燥 THF (1mL) 中的溶液中加入 N, N-二乙基-氨基磷酸二叔丁酯 (36 μ L, 0.13mmol, 1.5 当量)。将反应混合物在 RT、氩气下搅拌 2 小时。然后, 在 0°C、剧烈搅拌下注入 H_2O_2 (30%, 91 μ L, 0.89mmol, 10 当量)。将反应混合物再搅拌 30 分钟, 然后加入饱和硫代硫酸钠溶液 (1mL)。分离有机层, 水相用乙醚萃取 (3 $\times$ 1mL)。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 用 $MgSO_4$ 干燥并蒸发至干。通过快速色谱法 (FlashMaster II, MTBE/己烷梯度: 在 45 分钟内 0% MTBE $\rightarrow$ 50% MTBE, 然后 50% MTBE 15 分钟) 纯化粗物质, 得到无色晶体: HPLC: $t_R = 6.64$ 分钟, ESI+MS: $m/z = 642/644 (MH^+)$ 。

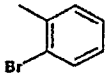
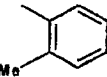
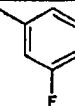
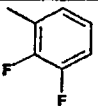
[0088] 按照实施例 36 的方法但使用适当的起始原料, 可以制备其中 R_2 和 R_6 如表 4 中所示的式 D 化合物:

[0089]



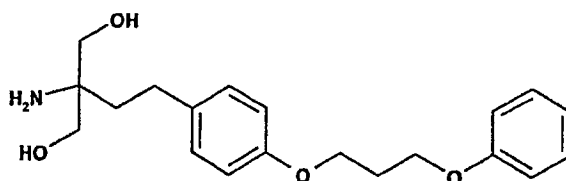
[0090] 表 4

[0091]

实施例	R ₂	R ₆	质谱数据
38	苯基	H	(M+H) ⁺ 396.3
39		H	MH ⁺ 472.0
40		H	MH ⁺ 408.2
41		H	MH ⁺ 412.1
42		H	MH ⁺ 432.1
43	苯基	甲氧基	M-H 424.4

[0092] 实施例 44: 2-氨基-2-{2-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-乙基}-丙烷-1,3-二醇盐酸盐:

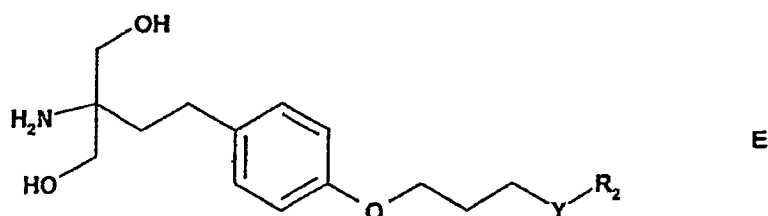
[0093]



[0094] 向 4-[2-(4-羟甲基-2-甲基-4,5-二氢-噁唑-4-基)-乙基]-苯酚 (300mg, 1.27mmol) 在 DMF (5mL) 中的溶液中加入 Cs₂CO₃ (1.2g, 3.83mmol) 和 (3-溴-丙氧基)-苯 (273mg, 1.27mmol)。将反应混合物在 85℃ 下搅拌 4 小时。然后加入 AcOEt 和水, 分离有机层, 水相用 AcOEt 萃取 (3×50mL)。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥并蒸发至干。通过快速色谱法 (AcOEt/己烷 9:1) 纯化, 得到无色油状物形式的 (2-甲基-4-{2-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基)-甲醇。向 (2-甲基-4-{2-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基)-甲醇 (50mg, 0.135mmol) 在乙醇 (2mL) 中的溶液中加入浓 HCl (2mL)。将反应混合物在 85℃ 下搅拌 2 小时, 然后浓缩至干。将残余物重新溶解在 AcOEt 中, 用己烷使其沉淀。滤出固体, 用干燥乙醚洗涤并在真空中干燥, 得到无色粉末形式的 2-氨基-2-{2-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-乙基}-丙烷-1,3-二醇盐酸盐。ESI+MS: m/z = 370.4 (M+H)⁺。

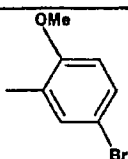
[0095] 按照实施例 44 的方法但使用适当的起始原料, 可以制备其中 R₂ 和 Y 如表 5 中所示的式 E 化合物:

[0096]



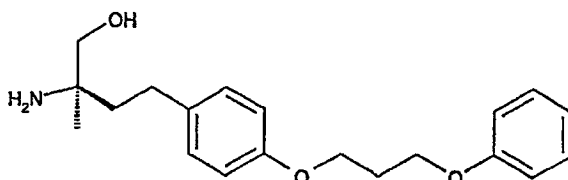
[0097] 表 5

[0098]

实施例	R ₂	Y	质谱数据
45	3-MeO- 苯基	O	(M+H) ⁺ 376.4
46	2-Br- 苯基	O	(M+H) ⁺ 425.3
47	4-Cl- 苯基	O	(M+H) ⁺ 380.9
48		O	(M+H) ⁺ 455.3
49	3-Me- 苯基	O	(M+H) ⁺ 360.4
50	4-MeO- 苯基	O	(M+H) ⁺ 376.4
51	苯基	S	(M+H) ⁺ 362.5

[0099] 实施例 52: (R)-2-氨基-2-甲基-4-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-丁烷-1-醇盐酸盐:

[0100]



[0101] 向 {(R)-1-羟甲基-1-甲基-3-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-丙基}-氨基甲酸叔丁基酯 (50mg, 0.11mmol) 中加入 4M 的在干燥二噁烷 (1mL) 中的 HCl。将无色澄清溶液在防潮下搅拌 2 小时。然后,将溶液蒸发至干,将部分结晶的残余物用干燥乙醚 (5mL) 吸收。声波振荡 10 分钟,得到无色晶体沉淀。滤出产物,用冷乙醚洗涤 (3×1mL),在真空中干燥,得到不吸湿的无色微晶粉末形式的标题化合物。ESI+MS :m/z = 330.4 (MH⁺)。

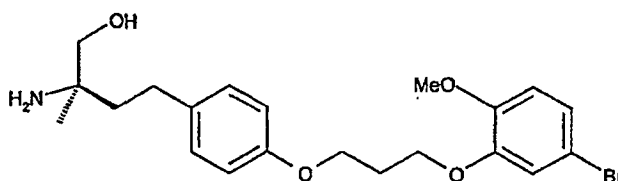
[0102] {(R)-1-羟甲基-1-甲基-3-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-丙基}-氨基甲酸叔丁基酯可以根据以下方法制备:

[0103] 向 [(R)-1-羟基-4-(4-羟基-苯基)-2-甲基-丁-2-基]氨基甲酸叔丁基酯 (100mg, 0.34mmol) 和 (3-溴-丙氧基)-苯 (109.6mg, 0.51mmol, 1.5 当量) 在无水 DMF (2.5mL) 中的溶液中加入不含水的碳酸铯 (166mg, 0.51mmol, 1.5 当量)。将得到的混悬液在 60℃、防潮下搅拌过夜。冷却至 RT 后,滤出固体,用 DMF 洗涤 (2×1mL)。将合并的滤液在高真空中蒸发,得到深橙色糖浆状物。通过快速色谱法 (FlashMaster II, MTBE/己烷梯度:在 45 分钟内 0% MTBE → 40% MTBE,然后 40% MTBE 15 分钟) 纯化,得到无色晶体:

ESI+MS :m/z = 430.4。

[0104] **实施例 53:** (R)-2-氨基-4-{4-[3-(5-溴-2-甲氧基-苯氧基)-丙氧基]-苯基}-2-甲基-丁烷-1-醇盐酸盐:

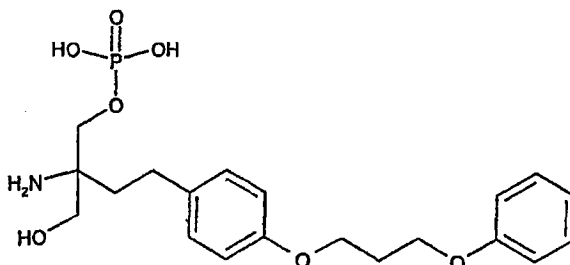
[0105]



[0106] 如实施例 52 中所述使用 4-溴-2-(3-溴-丙氧基)-1-甲氧基-苯代替 (3-溴-丙氧基)-苯制备标题化合物。ESI+MS :m/z = 439.3 (M+H)⁺。

[0107] **实施例 54:** (+/-) 单磷酸单-{2-氨基-2-羟甲基-4-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-丁基}酯:

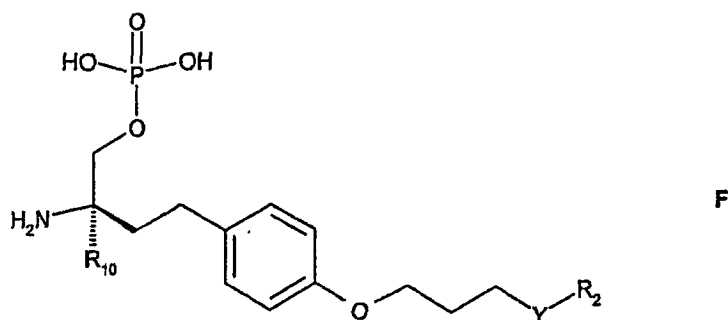
[0108]



[0109] 向 (2-甲基-4-{2-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基)-甲醇 (200mg, 0.54mmol) 和四唑 (189mg, 2.70mmol, 5 当量, 用甲苯重结晶得到) 在干燥 THF (5mL) 中的溶液中加入 N,N'-二异丙基氨基磷酸二叔丁酯 (538.5mg, 2.16mmol, 4 当量)。在 RT、氩气下搅拌 3 小时后, 在 0℃、剧烈搅拌下缓慢加入 H₂O₂ (30%, 10 当量)。将反应混合物再搅拌 30 分钟, 然后加入饱和硫代硫酸钠溶液 (5mL)。分离有机层, 水相用乙醚萃取 (3×20mL)。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥并蒸发至干。通过快速色谱法 (AcOEt/己烷 1:1) 纯化, 得到无色晶体形式的 (+/-) 磷酸二叔丁基酯 2-甲基-4-{2-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基甲基酯。最后, 向磷酸二叔丁基酯 2-甲基-4-{2-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-乙基}-4,5-二氢-噁唑-4-基甲基酯 (50mg, 0.089mmol) 在乙醇 (5mL) 中的溶液中加入浓 HCl (5mL)。将反应混合物在 50℃ 下搅拌 2 小时, 然后浓缩至干。将残余物重新溶解在 AcOEt 中, 用己烷使其沉淀。滤出固体, 用干燥乙醚洗涤并在真空中干燥, 得到无色粉末形式的 (+/-) 单磷酸单-{2-氨基-2-羟甲基-4-[4-(3-苯氧基-丙氧基)-苯基]-丁基}酯。ESI+MS :m/z = 426.4 (M-H)⁺。

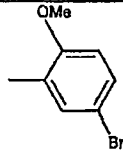
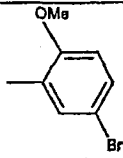
[0110] 按照实施例 54 的方法但使用适当的起始原料, 可以制备其中 R₂、R₁₀ 和 Y 如表 6 中所示的式 F 化合物。

[0111]



[0112] 表 6

[0113]

实施例	R ₂	R ₁₀	Y	质谱数据
55	2-Br-苯基	CH ₂ -OH	O	(M+H) ⁺ 505.3
56		CH ₂ -OH	O	(M+H) ⁺ 535.3
57	苯基	CH ₂ -OH	S	(M+H) ⁺ 442.4
58		CH ₃	O	(M+H) ⁺ 519.3

[0114] 游离形式或可药用盐形式的式 I 化合物显示出有价值的药理学性质,例如调节淋巴细胞再循环的特性,例如如体外和体内试验所证明,并因此适用于治疗。

[0115] A. 体外

[0116] 如以下测定法中所测定的那样,式 I 化合物对各个 S1P 受体具有结合亲和力:

[0117] 1-磷酸-鞘氨醇 (S1P) 受体特性

[0118] 用人 S1P 受体 EDG-1 (S1P₁)、EDG-3 (S1P₃)、EDG-5 (S1P₂)、EDG-6 (S1P₄) 和 EDG-8 (S1P₅) 试验了化合物的激活剂活性。通过对化合物诱导的 GTP[γ-³⁵S] 与膜蛋白的结合能力进行定量来评估功能受体活化,所述膜蛋白由稳定表达适当人 S1P 受体的转染 CHO 或 RH7777 细胞制备得到。所用的测定技术是 SPA (基于闪烁亲近的测定法)。简言之,将 DMSO 溶解的化合物连续稀释,在 50mM Hepes、100mM NaCl、10mM MgCl₂、10 μM GDP、0.1% 无脂肪 BSA 和 0.2nM GTP[γ-³⁵S] (1200Ci/mmol) 存在下加至 SPA-珠粒 (Amersham-Pharmacia) 固定的表达膜蛋白的 S1P 受体中 (10-20 μg/孔)。于 RT 下在 96 孔微量滴定板中孵育 120 分钟后,通过离心步聚分离出未结合的 GTP[γ-³⁵S]。用 TOPcount 读板仪 (Packard) 对膜结合的 GTP[γ-³⁵S] 引发的 SPA 珠粒的发光进行定量。使用标准曲线拟合软件计算 EC₅₀。在本测定法中,式 I 化合物对 S1P₁ 受体具有 < 50nM 的结合亲和力。

[0119]

实施例	S1P ₁ EC ₅₀ [nM]	S1P ₃ EC ₅₀ [nM]	S1P ₄ EC ₅₀ [nM]	S1P ₅ EC ₅₀ [nM]
36	0.6Agon.	15Agon.	> 1000	14Agon.
38	8.6Agon.	> 1000	28Agon.	11.7Agon.
42	5.5Agon.	> 1000	8.2Agon.	6.3Agon.
43	8Agon.	340Agon.	43Agon.	0.5Agon.
56	8.5Agon.	> 10000Agon.	1.6Agon.	16.5Agon

[0120] Agon. = 激动剂

[0121] B. 体内 : 血液淋巴细胞减少

[0122] 通过管饲法向大鼠口服施用式 I 的化合物或赋形剂。在第 1 天和施用后 2、6、24、48 和 72 小时于大鼠尾部采血进行血液学分析, 由第 1 天的血样得到个体的基线值。在本测定法中, 当以 0.03 至 3mg/kg 的剂量施用时, 式 I 化合物使外周血液淋巴细胞减少。例如, 得到以下结果 : 外周血液淋巴细胞减少 50% 以上

[0123] 实施例 1 : 0.03mg/kg 口服 6 小时后, 0.02mg/kg 口服 24 小时后。

[0124] 实施例 3 : 0.01mg/kg 口服 6 小时后, < 0.03mg/kg 口服 48 小时后。

[0125] 实施例 7 : 0.03mg/kg 口服 6 小时后, 0.02mg/kg 口服 48 小时后。

[0126] 实施例 9 : 0.2mg/kg 口服 6 小时后, > 1mg/kg 口服 48 小时后。

[0127] 实施例 53 : 0.1mg/kg 口服 6 小时后, 0.5mg/kg 口服 48 小时后。

[0128] 因此, 式 I 化合物可用于治疗和 / 或预防由淋巴细胞相互作用介导的疾病或病症, 例如在移植中, 如急性或慢性细胞、组织或器官同种异体移植物或异种移植物排斥反应或移植物功能恢复延迟 (delayed graft function)、移植物抗宿主病、自身免疫性疾病例如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、桥本甲状腺炎、多发性硬化症、重症肌无力、I 型或 II 型糖尿病以及与之有关的病症、脉管炎、恶性贫血、干燥综合征、葡萄膜炎、银屑病、格雷夫斯眼病 (Graves ophthalmopathy)、局限性脱发等、变应性疾病例如变应性哮喘、特应性皮炎、变应性鼻炎 / 结膜炎、变应性接触性皮炎、任选地伴有潜在异常反应的炎性疾病例如炎性肠病、局限性回肠炎或溃疡性结肠炎、内源性哮喘、炎性肺损伤、炎性肝损伤、炎性肾小球损伤、动脉粥样硬化、骨关节炎、刺激性接触性皮炎以及进一步的湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、免疫介导病症的皮肤症状、炎性眼病、角膜结膜炎、心肌炎或肝炎、局部缺血 / 再灌注损伤例如心肌梗塞、中风、消化道缺血、肾衰竭或出血性休克、外伤性休克、血管生成、阿尔茨海默病、癌症例如乳腺癌、T 细胞淋巴瘤或 T 细胞白血病、感染性疾病例如中毒性休克 (例如超抗原诱发的)、败血症性休克、成人型呼吸窘迫综合征或病毒感染例如 AIDS、病毒性肝炎、慢性细菌感染或老年性痴呆。细胞、组织或实体器官移植物的实例包括例如胰岛、干细胞、骨髓、角膜组织、神经元组织、心脏、肺、联合心肺、肾脏、肝脏、肠、胰腺、气管或食管。对于以上用途, 所需剂量当然将随着施用方式、所治疗的具体病症以及所需效果的不同而变化。

[0129] 一般而言,表明在约 0.03 至 2.5mg/kg 体重的日剂量下全身性施用可获得令人满意的结果。在较大的哺乳动物例如人中,适用的日剂量是约 0.5mg 至约 100mg,该日剂量可以方便地例如以每天不超过 4 次的分剂量或以缓释形式被施用。用于口服施用的合适的单位剂量形式包含约 0.1 至 50mg 活性成分。

[0130] 式 I 化合物可以以任何常规途径施用,特别是经肠、例如口服施用,例如以片剂或胶囊剂形式经肠施用,或者经胃肠外施用,例如以注射用溶液或混悬液形式经胃肠外施用,经局部施用,例如以洗剂、凝胶剂、软膏剂或乳膏剂形式或以鼻用或栓剂形式经局部施用。包含游离形式或可药用盐形式的式 I 化合物以及至少一种可药用载体或稀释剂的药物组合物可按照常规方法通过与可药用载体或稀释剂混合来制备。

[0131] 式 I 化合物可以以游离形式或可药用盐形式施用,例如如上所述的可药用盐形式。这类盐可通过常规方法制备并具有与游离化合物同样数量级的活性。

[0132] 根据上述内容,本发明还提供了:

[0133] 1.1 在需要这种治疗的个体中预防或治疗由淋巴细胞介导的病症或疾病例如以上所述的那些病症或疾病的方法,该方法包括向所述个体施用有效量的式 I 化合物或其可药用盐;

[0134] 1.2 在需要这种治疗的个体中预防或治疗急性或慢性移植物排斥反应或 T 细胞介导的炎性或自身免疫性疾病例如以上所述的那些的方法,该方法包括向所述个体施用有效量的式 I 化合物或其可药用盐;

[0135] 2. 用作药物的游离形式或可药用盐形式的式 I 化合物,其例如在以上 1.1 或 1.2 项下所述的任一方法中用作药物。

[0136] 3. 一种药物组合物,其包含游离形式或可药用盐形式的式 I 化合物以及合适的可药用的稀释剂或载体,其例如用于以上 1.1 或 1.2 项下所述的任一方法中。

[0137] 4. 式 I 化合物或其可药用盐,其用于制备用于以上 1.1 或 1.2 项下所述的任一方法中的药物组合物。

[0138] 式 I 化合物可以作为单独的活性成分施用或例如作为辅剂与其它药物联合施用,所述的其它药物例如免疫抑制剂或免疫调节剂或其它抗炎剂,例如用于治疗或预防同种异体移植物或异种移植物急性或慢性排斥反应或炎性或自身免疫性病症的上述药物,或化学治疗剂例如恶性细胞抗增殖剂。例如,式 I 化合物可以与以下物质组合使用:钙调磷酸酶抑制剂,例如环孢菌素 A、FK 506 或 ISA_{TX}247;mTOR 抑制剂,例如雷帕霉素、40-0-(2-羟乙基)-雷帕霉素、CCI779、ABT578、AP23573、AP23464、AP23675、AP23841、TAFA-93、比利莫司(biolimus)7 或比利莫司 9;具有免疫抑制性质的子囊霉素,例如 ABT-281、ASM981 等;皮质类固醇;环磷酰胺;硫唑嘌呤;甲氨蝶呤;来氟洛米;咪唑立宾;霉酚酸;霉酚酸酯;15-去氧斯潘格宁或其免疫抑制同系物、类似物或衍生物;免疫抑制单克隆抗体,例如抗白细胞受体例如 MHC、CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD25、CD28、CD40、CD45、CD58、CD80、CD86 或它们的配体的单克隆抗体;其它免疫调节化合物,例如具有至少一部分 CTLA4 或其突变体的胞外结构域、例如具有至少与非-CTLA4 蛋白序列结合的 CTLA4 或其突变体、例如 CTLA4Ig(例如称为 ATCC 68629)或其突变体、例如 LEA29Y 的胞外部分的重组合分子;粘附分子抑制剂,例如 LFA-1 拮抗剂、ICAM-1 或 -3 拮抗剂、VCAM-4 拮抗剂或 VLA-4 拮抗剂;或化学治疗剂,例如紫杉醇、吉西他滨、顺铂、阿霉素或 5-氟尿嘧啶;或抗感染剂。

[0139] 当式 I 化合物与其它免疫抑制 / 免疫调节、抗炎、化学治疗或抗感染疗法联合施用时, 共同施用的免疫抑制、免疫调节、抗炎、化学治疗或抗感染化合物的剂量当然将随所共同使用的药物的类型、例如它是甾类化合物还是钙调磷酸酶抑制剂、所用的具体药物、所治疗的病症等的不同而变化。根据上述内容, 另一方面, 本发明提供了:

[0140] 5. 如上所述的方法, 该方法包括共同施用例如并行或相继施用治疗有效且无毒量的式 I 化合物和至少一种第二种药物物质, 例如免疫抑制、免疫调节、抗炎或化学治疗药物, 例如以上所述的那些。

[0141] 6. 药物组合, 例如套药包, 其包括 a) 第一种活性剂, 其是本文所公开的游离形式或可药用盐形式的式 I 化合物, 和 b) 至少一种联用活性剂, 例如免疫抑制、免疫调节、抗炎、化学治疗或抗感染药物。该套药包可以包括关于其施用的说明书。

[0142] 本文所用的术语“共同施用”或“联合施用”等意指包括向单个患者施用所选择的治疗剂, 并旨在包括活性剂不必须通过相同施用途径或同时被施用的治疗方案。

[0143] 本文所用的术语“药物组合”是指通过将一种以上的活性成分相混合或组合而得到的产物, 它包括活性成分的固定组合和非固定组合。术语“固定组合”是指活性成分例如式 I 的化合物与联用活性剂以单一实体或剂量形式被同时施用于患者。术语“非固定组合”是指活性成分例如式 I 化合物与联用活性剂作为分开的实体被同时、并行或无特定时间限制地相继施用于患者, 其中所述施用在患者体内提供治疗有效水平的 2 种化合物。后者也适用于组合疗法 (cocktail therapy), 例如施用 3 种或更多种活性成分。