



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107207487 B

(45) 授权公告日 2021.12.28

(21) 申请号 201580074407.1	A61K 31/4245 (2006.01)
(22) 申请日 2015.12.23	A61K 31/422 (2006.01)
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 107207487 A	A61K 31/433 (2006.01)
(43) 申请公布日 2017.09.26	A61K 31/454 (2006.01)
(30) 优先权数据	A61K 31/341 (2006.01)
62/096,374 2014.12.23 US	A61K 31/4178 (2006.01)
62/102,244 2015.01.12 US	A61K 31/5377 (2006.01)
62/196,839 2015.07.24 US	A61P 15/08 (2006.01)
62/199,661 2015.07.31 US	A61P 1/18 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2017.07.25	A61P 11/00 (2006.01)
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2015/000212 2015.12.23	A61P 11/06 (2006.01)
(87) PCT国际申请的公布数据 W02016/105485 EN 2016.06.30	A61P 11/02 (2006.01)
(73) 专利权人 蛋白质平衡治疗股份有限公司 地址 美国马萨诸塞	A61P 27/04 (2006.01)
(72) 发明人 C·M·巴斯托斯 B·穆诺茨 B·泰特	A61P 3/00 (2006.01)
(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所 有限公司 11038 代理人 于巧玲	A61P 1/10 (2006.01)
(51) Int.Cl.	A61P 3/10 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)	A61P 5/16 (2006.01)
C07D 405/12 (2006.01)	
C07D 413/12 (2006.01)	(56) 对比文件
C07D 417/12 (2006.01)	WO 2006014134 A1,2006.02.09
C07D 261/14 (2006.01)	WO 2010089297 A1,2010.08.12
C07D 261/18 (2006.01)	WO 2007126362 A1,2007.11.08
C07D 307/68 (2006.01)	US 5780393 A,1998.07.14
	WO 2010142801 A1,2010.12.16
	WO 2007086584 A1,2007.08.02
	JP 特开2006176443 A,2006.07.06
	EP 0337263 A2,1989.10.18
	WO 2012007500 A2,2012.01.19
	WO 2009011850 A2,2009.01.22
	Xin-Hong Chang.3-(2-Chlorophenyl)-N-methylisoxazole-5-carboxamide.《ACTA CRYSTALLOGRAPHICA, SECTION E: STRUCTURE REPORTS ONLINE》.2007,第E63卷(第7期),
	审查员 蒋薇薇
	权利要求书6页 说明书105页

(续)

(54) 发明名称
用于提高CFTR活性的化合物、组合物和方法

(57) 摘要

本发明涉及一种公开的化合物,所述化合物如在人类支气管上皮(hBE)细胞中所测量提高囊性纤维化跨膜传导调控因子(CFTR)活性。

CN 107207487 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

A61P 7/00 (2006.01)

A61P 19/08 (2006.01)

A61P 13/02 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

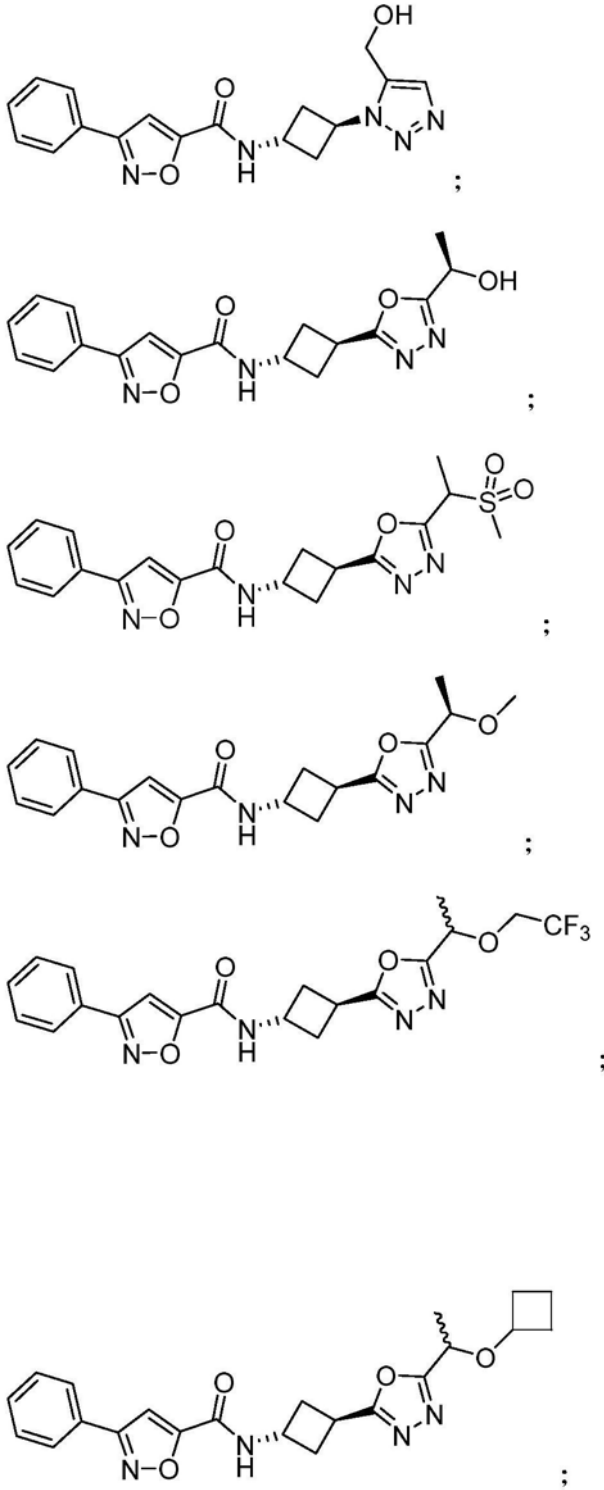
A61P 25/16 (2006.01)

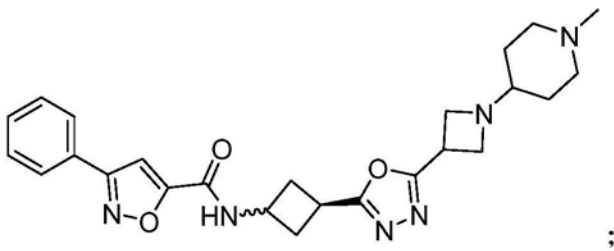
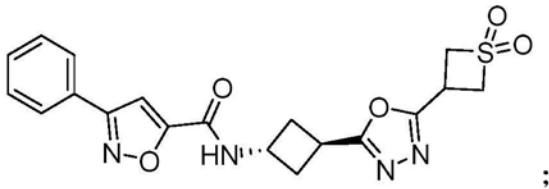
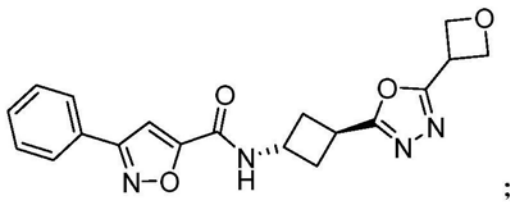
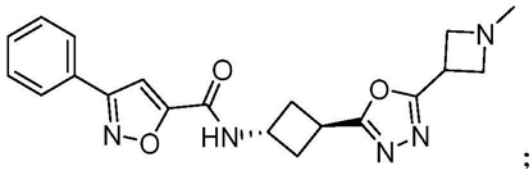
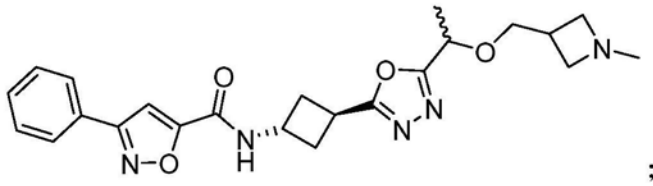
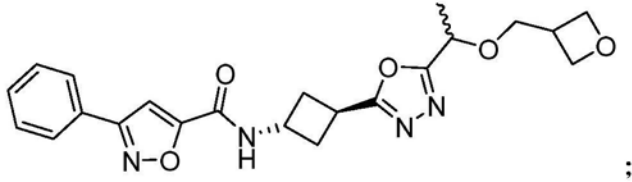
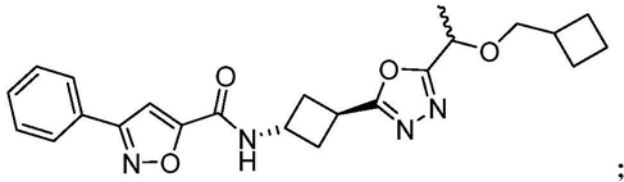
A61P 21/00 (2006.01)

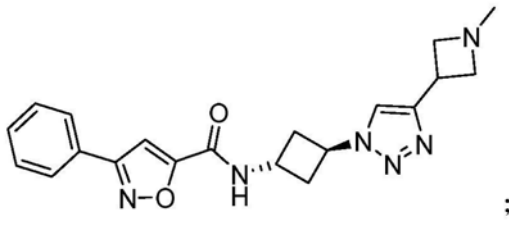
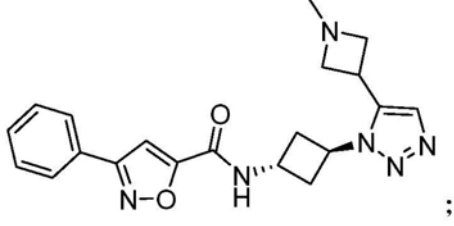
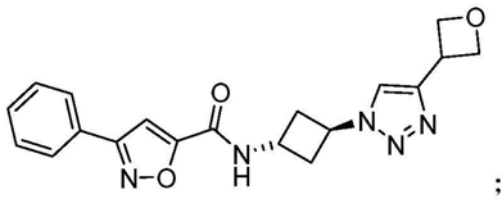
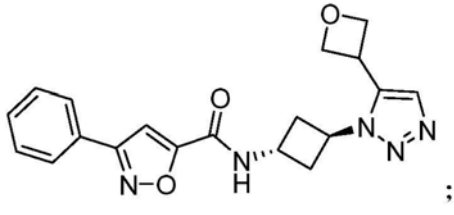
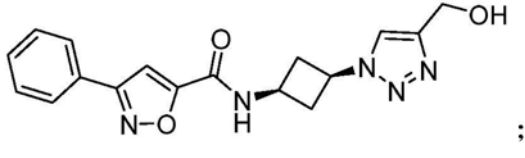
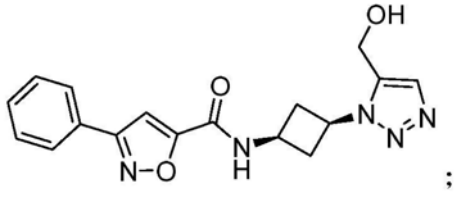
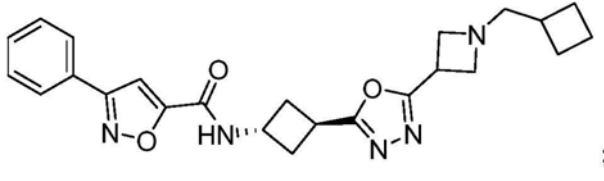
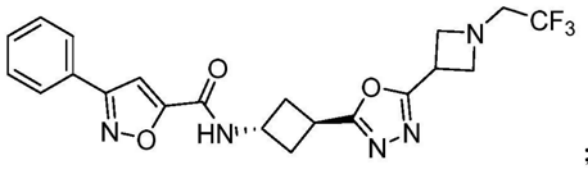
A61P 25/14 (2006.01)

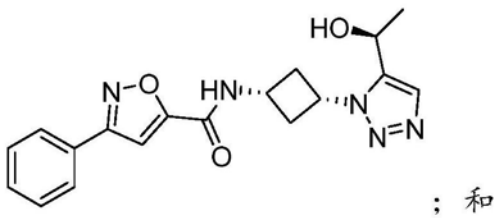
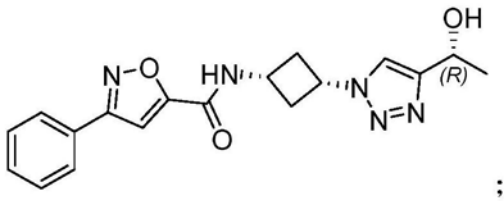
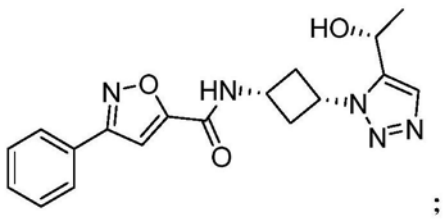
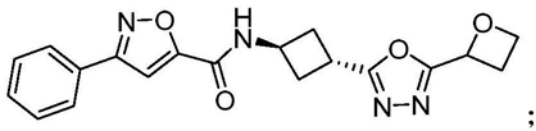
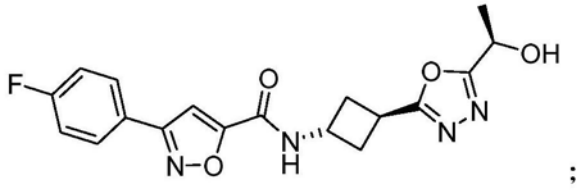
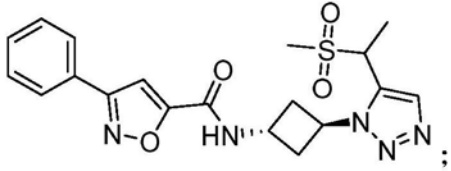
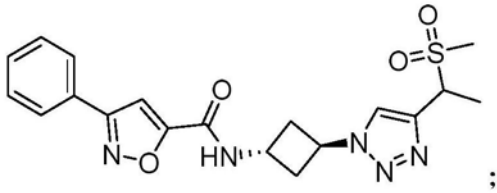
A61P 25/00 (2006.01)

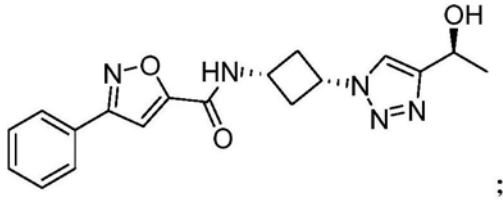
1. 一种化合物,其选自由以下各项组成的组:











或其药学上可接受的盐。

2. 一种药物组合物, 包含根据权利要求1所述的化合物和药学上可接受的载剂或赋形剂。

3. 根据权利要求2所述的药物组合物, 其中所述组合物进一步包含至少一种其它CFTR调节剂。

4. 根据权利要求2所述的药物组合物, 其中所述组合物进一步包含至少两种其它CFTR调节剂。

5. 根据权利要求1所述的化合物或根据权利要求2到4中任一项所述的药物组合物在制备药物中的用途, 所述的药物用于提高有需要的受试者体内的囊性纤维化跨膜传导调控因子活性, 所述囊性纤维化跨膜传导调控因子也称为CFTR。

6. 根据权利要求5所述的用途, 其中突变CFTR的活性被提高。

7. 根据权利要求6所述的用途, 其中所述突变CFTR选自由以下各项组成的组: Δ F508、S549N、G542X、G551D、R117H、N1303K、W1282X、R553X、621+1G>T、1717-1G>A、3849+10kbC>T、2789+5G>A、3120+1G>A、I507del、R1162X、1898+1G>A、3659delC、G85E、D1152H、R560T、R347P、2184insA、A455E、R334W、Q493X和2184delA CFTR。

8. 根据权利要求7所述的用途, 其中 Δ F508 CFTR活性被提高。

9. 根据权利要求5到8中任一项所述的用途, 其中所述受试者患有与CFTR活性降低有关的疾病。

10. 根据权利要求9所述的用途, 其中所述疾病选自由以下各项组成的组: 囊性纤维化、先天性双侧输精管缺失 (CBAVD)、急性、复发性或慢性胰腺炎、弥散性支气管扩张、哮喘、过敏性肺曲霉病、慢性阻塞性肺病 (COPD)、慢性鼻窦炎、干眼病、蛋白C缺乏症、A- β -脂蛋白血症、溶酶体贮积病、1型乳糜微粒血症、轻度肺病、脂质代谢过程缺陷、1型遗传性血管性水肿、凝血纤维蛋白溶解 (coagulation-fibrinolysis)、遗传性血色素沉着病、CFTR相关的代谢综合症、慢性支气管炎、便秘、胰腺功能障碍、遗传性肺气肿、休格连氏综合症 (Sjogren's syndrome)、家族性高胆固醇血症、包涵体细胞病 (I-cell disease) / 伪赫尔勒氏病 (pseudo-Hurler)、粘多糖病、桑德霍夫/泰-萨奇病 (Sandhof/Tay-Sachs)、II型克里格勒-纳贾尔病 (Crigler-Najjar type II)、多内分泌腺病/高胰岛素血症、糖尿病、拉容氏侏儒症 (Laron dwarfism)、髓过氧化物酶缺乏、原发性副甲状腺低能症、黑素瘤、CDG 1型糖基化病、先天性甲状腺高能症、成骨不全、遗传性纤维蛋白原血症、ACT缺乏、尿崩症 (DI)、神经生理性尿崩症、肾源性尿崩症、夏-马-图三氏综合症 (Charcot-Marie Tooth syndrome)、佩-梅病 (Perlizaesus-Merzbacher disease)、阿兹海默氏病 (Alzheimer's disease)、帕金森氏病 (Parkinson's disease)、肌萎缩性侧索硬化、进行性核上麻痹、皮克氏病 (Pick's disease)、亨廷顿氏症 (Huntington's disease)、I型脊髓小脑失调、脊髓延髓肌肉萎缩、齿状核红核苍白球路易体萎缩症 (dentatorubralpallidolulsian)、肌强直性营养不良、遗传

性克雅氏病 (hereditary Creutzfeldt-Jakob disease)、法布里病 (Fabry disease) 和斯托斯勒-谢恩克尔综合症 (Straussler-Scheinker syndrome)。

11. 根据权利要求10所述的用途,其中所述疾病是囊性纤维化。

12. 根据权利要求10所述的用途,其中所述受试者是人类患者。

13. 根据权利要求12所述的用途,其中所述的药物与其它CFTR调节剂联用。

14. 根据权利要求10所述的用途,其中所述的药物与至少两种其它CFTR调节剂联用。

15. 根据权利要求13或14中任一项所述的用途,其中至少一种CFTR调节剂是CFTR校正剂或增效剂。

16. 根据权利要求15所述的用途,其中各CFTR校正剂或增效剂独立地选自由以下各项组成的组: VX-770 (艾维卡福 (Ivacaftor))、VX-809 (3- (6- (1- (2, 2-二氟苯并[d][1, 3]间二氧杂环戊烯-5-基) 环丙烷甲酰胺基) -3-甲基吡啶-2-基) 苯甲酸)、VX661 ((R)-1- (2, 2-二氟苯并[d][1, 3]间二氧杂环戊烯-5-基) -N- (1- (2, 3-二羟丙基) -6-氟-2- (1-羟基-2-甲基丙-2-基) -1H-吡啶-5-基) 环丙烷-1-甲酰胺)、VX-152、VX-440、GLPG-2222、GLPG2665和GLPG-1837。

17. 根据权利要求15所述的用途,其中所述CFTR校正剂选自由以下各项组成的组: VX-809、VX-661、GLPG-2222和VX-983且所述CFTR增效剂选自由以下各项组成的组: GLPG-1837、艾维卡福和染料木素。

18. 根据权利要求16所述的用途,其中所述至少两种其它CFTR调节剂中的一个CFTR校正剂并且另一个是CFTR增效剂。

用于提高CFTR活性的化合物、组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年7月31日申请的美国临时申请第62/199,661号、2015年7月24日申请的美国临时申请第62/196,839号、2015年1月12日申请的美国临时申请第62/102,244号和2014年12月23日申请的美国临时申请第62/096,374号的权利和优先权,所述申请中的每一个的内容都通过全文引用的方式并入本文中。

背景技术

[0003] 细胞通常利用传感器和路径网络在蛋白质合成、折叠、运输、聚集和降解之间维持平衡,称为蛋白质稳态(西提亚(Sitia)等人,《自然(Nature)》426:891-894,2003;朗恩(Ron)等人,《自然评论:分子细胞生物学(Nat Rev Mol Cell Biol)》8:519-529,2007)。细胞维持蛋白质稳态或蛋白质动态平衡指的是控制构成蛋白质组的个别蛋白质的构形、结合相互作用、位置和浓度。体内蛋白质折叠是通过折叠多肽链与大分子细胞组分(包括多种类别的伴侣蛋白和折叠酶)之间使聚集降到最低的作用实现的(怀斯曼(Wiseman)等人,《细胞(Cell)》131:809-821,2007)。给定蛋白质是否在特定细胞类型中折叠取决于伴侣蛋白、折叠酶、代谢物等的分布、浓度和亚细胞位置(怀斯曼(Wiseman)等人)。囊性纤维化和其它蛋白质错误折叠疾病是由蛋白质稳态(蛋白质动态平衡)环境处置对正常生理机能至关重要的错误折叠突变蛋白质的降低的高能稳定性的能力不平衡引起的(鲍尔奇(Balch)等人,《科学(Science)》319,916-9(2008);鲍尔斯(Powers)等人,《生物化学年评(Annu Rev Biochem)》78,959-91(2009);赫特(Hutt)等人,《欧洲生物化学学会联合会快报(FEBS Lett)》583,2639-46(2009))。

[0004] 囊性纤维化(CF)是由囊性纤维化跨膜传导调控因子(CFTR)基因突变导致的,所述基因编码多次跨膜上皮细胞氯通道(瑞尔登(Riordan)等人,《生物化学年评(Annu Rev Biochem)》77,701-26(2008))。约90%患者具有至少一个等位基因上的苯丙氨酸(Phe)508缺失($\Delta F508$)。这种突变导致蛋白质折叠的能量学破坏,引起内质网(ER)中的CFTR降解。 $\Delta F508$ 突变因此与有缺陷的折叠和运输和加强的突变CFTR蛋白降解有关(瞿(Qu)等人,《生物化学杂志(J Biol Chem)》272,15739-44(1997))。质膜处的功能性CFTR通道损失扰乱了离子性稳态(Cl^- 、 Na^+ 、 HCO_3^-)和气管表面水合作用,导致肺功能降低(瑞尔登(Riordan)等人)。纤周液体体积减少和粘液粘度提高阻碍粘液纤毛清除,导致慢性感染和发炎,这是CF疾病的表型特点(布歇(Boucher),《内科杂志(J Intern Med)》261,5-16(2007))。除了呼吸功能障碍之外, $\Delta F508$ CFTR还影响其它器官(胰脏、肠道、胆囊)的正常功能,表明所述功能缺失影响多个下游路径,这将需要矫正。

[0005] 除了囊性纤维化之外,CFTR基因突变和/或CFTR通道的活性还牵涉于其它病况中,包括(例如)先天性双侧输精管缺失(CBAVD)、急性、复发性或慢性胰脏炎、弥漫性支气管扩张、哮喘、过敏性肺曲霉病、抽烟相关的肺病,如慢性阻塞性肺病(COPD)、干眼病、休格连氏综合症(Sjogren's syndrome)和慢性鼻窦炎(斯隆(Sloane)等人, (2012),《公共科学图书馆·综合(PLoS ONE)》7(6):e39809.doi:10.1371/journal.pone.0039809;邦别里

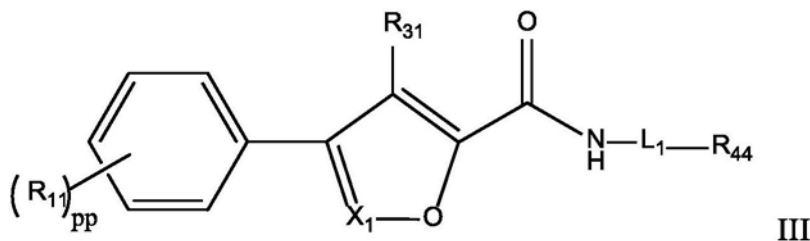
(Bombieri) 等人 (2011), 《囊性纤维化期刊 (J Cyst Fibros.)》2011年6月; 10增刊2: S86-102; (艾伯特 (Albert) 等人 (2008), 《临床呼吸医学 (Clinical Respiratory Medicine)》, 第三版, 莫斯比出版公司 (Mosby Inc.); 莱温 (Levin) 等人. (2005), 《眼科研究与视光学 (Invest Ophthalmol Vis Sci.)》, 46 (4): 1428-34; 弗鲁萨尔 (Froussard) (2007), 《胰脏 (Pancreas)》35 (1): 94-5)。

[0006] 所属领域仍然需要提高CFTR活性的化合物、组合物和方法, 和治疗CF、其它CFTR相关疾病和其它蛋白质错误折叠疾病的方法。

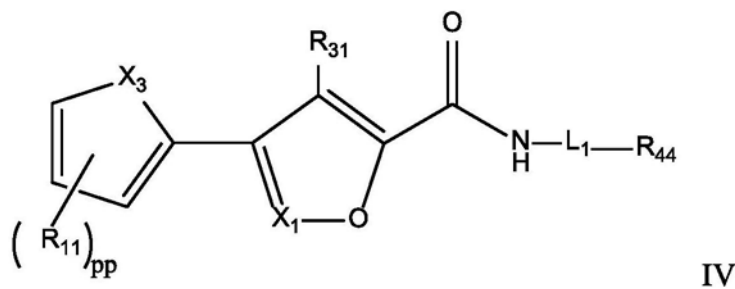
发明内容

[0007] 本公开部分地基于所公开的化合物 (如具有所公开的化学式的那些) 可以如人类支气管上皮 (hBE) 细胞中所测量提高囊性纤维化跨膜传导调控因子 (CFTR) 活性的发现。

[0008] 举例来说, 本文公开具有下式的化合物:



[0009]



[0010] 和其药学上可接受的盐、立体异构体和前药, 其中:

[0011] X_1 是 CR_{33} 或 N;

[0012] X_3 选自自由以下各项组成的组: O、S 和 NR_{hh} ;

[0013] pp 是 1、2 或 3;

[0014] R_{11} 每次出现时独立地选自自由以下各项组成的组: 氢、卤素、 C_{1-4} 烷基 (任选地经一个、两个或三个卤素取代);

[0015] R_{31} 选自自由以下各项组成的组: 氢、卤素和 C_{1-4} 烷基;

[0016] R_{33} 选自自由以下各项组成的组: H、卤素、 C_{1-4} 烷基和 $-NR'R''$

[0017] L_1 选自自由以下各项组成的组: C_{1-6} 亚烷基、 C_{3-6} 亚环烷基、 C_{3-6} 亚环烷基- C_{1-4} 亚烷基、 C_{1-3} 亚烷基- NR_{hh} -S(O)_w-、 C_{1-3} 亚烷基-S(O)_w- NR_{hh} -、 C_{3-6} 亚环烷基- C_{0-2} 亚烷基-S(O)_w- NR_{hh} 和 C_{3-6} 亚环烷基- C_{0-2} 亚烷基- NR_{hh} -S(O)_w-, 其中 L_1 可任选地经一个、两个或三个选自自由以下各项组成的组的取代基取代: 卤素、羟基和 C_{1-3} 烷基 (任选地经一个、两个或三个各自独立地选自 R_{ff} 的取代基取代);

[0018] R_{44} 选自自由以下各项组成的组: H、卤素、羟基、 C_{1-3} 烷氧基、杂环基和 5-6 元单环或 8-10 元双环杂芳基, 其具有一个、两个或三个各自选自 O、N 和 S 的杂原子; 其中杂环基和杂芳基

可任选地经一个或两个各自独立地选自的 R_{gg} 取代基取代；

[0019] R_{ff} 每次出现时选自由以下各项组成的组：卤素、羟基、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{2-4} 烯基、 C_{3-6} 环烷基、 $-NR'R''$ 、 $-NR'-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基、 $S(O)_w-NR'R''$ 和 $-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基，其中 w 是0、1或2，其中 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{2-4} 烯基和 C_{3-6} 环烷基可以任选地经一个、两个或三个各自独立地选自自由以下各项组成的组的取代基取代：卤素、羟基、 $-NR'R''$ 、 $-NR'-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基、 $S(O)_w-NR'R''$ 和 $-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基， R_{gg} 每次出现时选自由以下各项组成的组：卤素、羟基、 $-NR'R''$ 、 $-NR'R''$ 、 $-NR'-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基、 $-S(O)_w-NR'R''$ 和 $-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基，其中 w 是0、1或2； C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基和 C_{1-6} 烯基，其中 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基和 C_{1-6} 烯基任选地经一个、两个或三个各自独立地选自 R_{jj} 的取代基取代；和杂环基，其任选地经一个、两个或三个各自独立地选自 R_{11} 的取代基取代；

[0020] R_{jj} 每次出现时选自由以下各项组成的组：卤素、羟基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基（任选地经一个、两个或三个各自独立地选自 R_{kk} 的取代基取代）、杂环基、 $C(O)OH$ 、 $-C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-NR'R''$ 、 $-NR'-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基、 $-S(O)_w-NR'R''$ 和 $-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基，其中 w 是0、1或2；

[0021] R_{kk} 每次出现时选自由以下各项组成的组：卤素、羟基、 C_{1-6} 烷基（任选地经一个、两个或三个各自独立地选自以下各项的取代基取代：卤素、羟基、 C_{3-6} 环烷基和杂环基（任选地经 C_{1-6} 烷基取代））、 C_{3-6} 环烷基（任选地经一个、两个或三个各自独立地选自以下各项的取代基取代：卤素、羟基和 C_{1-6} 烷基）、苯基、杂环基（任选地经一个、两个或三个独立地选自以下各项的取代基取代：卤素、羟基和 C_{1-6} 烷基）和杂芳基；

[0022] R_{11} 每次出现时选自由以下各项组成的组：卤素、羟基、 C_{1-6} 烷基（任选地经一个、两个或三个各自独立地选自以下各项的取代基取代：卤素、羟基和 C_{3-6} 环烷基）和杂环基（任选地经一个、两个或三个独立地选自以下各项的取代基取代：卤素、羟基和 C_{1-6} 烷基）；

[0023] R' 和 R'' 每次出现时各自独立地选自H和 C_{1-4} 烷基，或与其所连接的氮一起形成杂环；

[0024] w 是0、1或2；以及

[0025] R_{hh} 每次出现时选自由以下各项组成的组：H、 C_{1-6} 烷基和 C_{3-6} 环烷基。

[0026] 本文还涵盖药物组合物，包括所公开的化合物（如具有所公开的化学式，如式(Ia)、(IIa)、(Ib)、(IIb)、(III)或(IV)的那些化合物）和药学上可接受的载剂或赋形剂。在某些实施例中，所述组合物可以包括至少一种如本文别处所述的其它CFTR调节剂或至少两种各自独立地如本文别处所述的其它CFTR调节剂。

[0027] 在其它实施例中，提供一种提高（例如增加）有需要的受试者体内的囊性纤维化跨膜传导调控因子（CFTR）活性的方法，包含向所述受试者投予有效量的具有例如式(Ia)、(IIa)、(Ib)、(IIb)、(III)或(IV)的所公开的化合物。

[0028] 在这些实施例中的一些中，一种或多种（例如一种或两种）突变CFTR（例如 $\Delta F508$ 、S549N、G542X、G551D、R117H、N1303K、W1282X、R553X、621+1G>T、1717-1G>A、3849+10kbC>T、2789+5G>A、3120+1G>A、I507del、R1162X、1898+1G>A、3659delC、G85E、D1152H、R560T、R347P、2184insA、A455E、R334W、Q493X和2184del1ACFTR）的活性提高（例如增加）。在某些实施例中， $\Delta F508$ CFTR活性提高（例如增加）。在其它实施例中，两种突变CFTR（例如 $\Delta F508$ 和G551D； $\Delta F508$ 和A455E；或G542X； $\Delta 508F$ ）的活性提高（例如增加）。

[0029] 在这些实施例中的一些中，受试者（例如人类患者）患有与CFTR活性降低有关的疾

病(例如囊性纤维化、先天性双侧输精管缺失(CBAVD)、急性、复发性或慢性胰腺炎、弥漫性支气管扩张、哮喘、过敏性肺曲霉病、慢性阻塞性肺病(COPD)、慢性鼻窦炎、干眼病、蛋白C缺乏症、A- β -脂蛋白血症、溶酶体贮积病、1型乳糜微粒血症、轻度肺病、脂质代谢过程缺陷、1型遗传性血管性水肿、凝血纤维蛋白溶解、遗传性色素沉着病、CFTR相关的代谢综合症、慢性支气管炎、便秘、胰腺功能障碍、遗传性肺气肿、休格连氏综合症(Sjogren's syndrome)、家族性高胆固醇血症、包涵体细胞病(I-cell disease)/伪赫尔勒氏病(pseudo-Hurler)、粘多糖病、桑德霍夫/泰-萨奇病(Sandhof/Tay-Sachs)、II型克里格勒-纳贾尔病(Crigler-Najjar type II)、多内分泌腺病/高胰岛素血症、糖尿病、拉容氏侏儒症(Laron dwarfism)、髓过氧化物酶缺乏、原发性副甲状腺低能症、黑素瘤、CDG 1型糖基化病、先天性甲状腺高能症、成骨不全、遗传性纤维蛋白原血症、ACT缺乏、尿崩症(DI)、神经生理性尿崩症、肾源性尿崩症、夏-马-图三氏综合症(Charcot-Marie Tooth syndrome)、佩-梅病(Perlizaeus-Merzbacher disease)、阿兹海默氏病(Alzheimer's disease)、帕金森氏病(Parkinson's disease)、肌萎缩性侧索硬化、进行性核上麻痹、皮克氏病(Pick's disease)、亨廷顿氏病(Huntington's disease)、I型脊髓小脑失调、脊髓延髓肌肉萎缩、齿状核红核苍白球路易体萎缩症(dentatorubral pallidolulsian)、肌强直性营养不良、遗传性克雅氏病(hereditary Creutzfeldt-Jakob disease)(由于朊病毒蛋白处理缺陷引起)、法布里病(Fabry disease)和斯托斯勒-谢恩克尔综合症(Straussler-Scheinker syndrome)。在某些实施例中,所述疾病是囊性纤维化。

[0030] 本文还涵盖一种治疗患有囊性纤维化的患者的方法,包含向所述患者投予有效量的所公开的化合物。

[0031] 在一些实施例中,本文所述的方法可以进一步包括投予一种其它CFTR调节剂或投予至少两种其它CFTR调节剂。在某些实施例中,至少一种CFTR调节剂是CFTR校正剂(例如VX-809、VX-661、VX-983、VX-152、VX-440、GLPG2222和GLPG2665)或增效剂(例如艾维卡福(Ivacaftor)和染料木素)。在这些实施例中的一些中,至少两种其它治疗剂中的一个CFTR校正剂(例如VX-809、VX-661、VX-983、VX-152、VX-440、GLPG2222和GLPG2665)并且另一个是CFTR增效剂(例如艾维卡福和染料木素)。

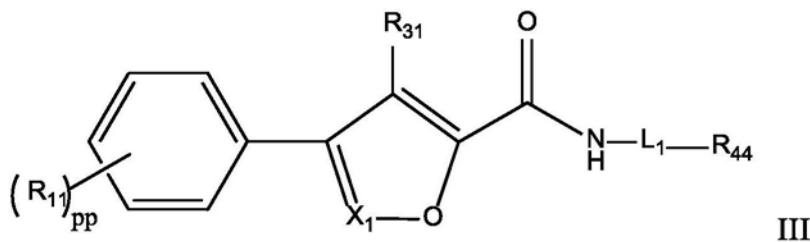
[0032] 另一方面,提供一种鉴别提高CFTR活性的候选试剂的方法,包括:(i)使表达CFTR蛋白的细胞与候选试剂和所公开的化合物接触;(ii)在候选试剂和所公开的化合物存在下测量细胞中的CFTR活性;和(iii)将所述CFTR活性与在无测试试剂存在下的CFTR活性比较,其中在测试试剂存在下的CFTR活性提高指示所述试剂提高CFTR活性。在某些实施例中,细胞表达突变CFTR蛋白。在某些实施例中,通过测量CFTR的氯通道活性和/或其它离子传输活性来测量CFTR活性。在这些实施例中的一些中,所述方法是高通量的。在这些实施例中的一些中,候选试剂是CFTR校正剂或CFTR增效剂。

具体实施方式

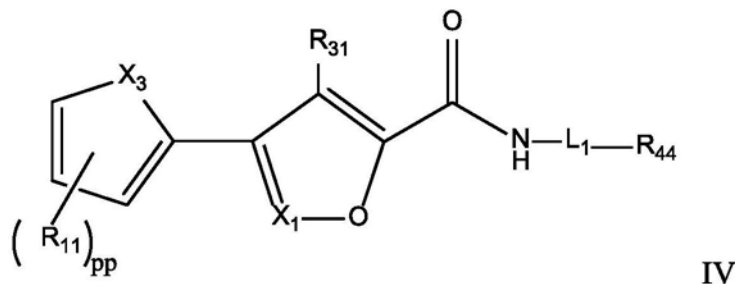
[0033] 如本文所用,除非另外规定,否则措辞“一个/种”意思是包括一个/种或多个/种。举例来说,术语“一种试剂”涵盖单个试剂和两种或更多种试剂的组合。

[0034] 如上文所论述,本公开部分针对如本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,药物组合物、提高CFTR活性的方法和治疗囊性纤维化的方法。

[0035] 举例来说,本文公开具有下式的化合物:



[0036]



[0037] 和其药学上可接受的盐、立体异构体和前药,其中:

[0038] X_1 是 CR_{33} 或N;

[0039] X_3 选自自由以下各项组成的组:O、S和 NR_{hh} ;

[0040] pp 是1、2或3;

[0041] R_{11} 每次出现时独立地选自自由以下各项组成的组:氢、卤素、 C_{1-4} 烷基(任选地经一个、两个或三个卤素取代);

[0042] R_{31} 选自自由以下各项组成的组:氢、卤素和 C_{1-4} 烷基;

[0043] R_{33} 选自自由以下各项组成的组:H、卤素、 C_{1-4} 烷基和 $-NR'R''$,其中 R' 和 R'' 每次出现时各自独立地选自H和 C_{1-4} 烷基或与其所连接的氮一起形成杂环;

[0044] L_1 选自自由以下各项组成的组: C_{1-6} 亚烷基、 C_{3-6} 亚环烷基、 C_{3-6} 亚环烷基- C_{1-4} 亚烷基、 C_{1-3} 亚烷基- $NR_{hh}-S(O)_w-$ 、 C_{1-3} 亚烷基- $S(O)_w-NR_{hh}-$ 、 C_{3-6} 亚环烷基- C_{0-2} 亚烷基- $S(O)_w-NR_{hh}$ 和 C_{3-6} 亚环烷基- C_{0-2} 亚烷基 $NR_{hh}-S(O)_w-$,其中 L_1 可任选地经一个、两个或三个选自自由以下各项组成的组的取代基取代:卤素、羟基和 C_{1-3} 烷基(任选地经一个、两个或三个各自独立地选自 R_{ff} 的取代基取代);

[0045] R_{44} 选自自由以下各项组成的组:H、卤素、羟基、 C_{1-3} 烷氧基、苯基、-O-苯基、 $-NR'$ -苯基、杂环基和5-6元单环或8-10元双环杂芳基,其具有一个、两个或三个各自选自O、N和S的杂原子;其中苯基、-O-苯基、 $-NR'$ -苯基、杂环基和杂芳基可以任选地经一个或两个各自独立地选自 R_{gg} 的取代基取代;

[0046] R_{ff} 每次出现时选自自由以下各项组成的组:卤素、羟基、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{2-4} 烯基、 C_{3-6} 环烷基、 $-NR'R''$ 、 $-NR'-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基、 $S(O)_w-NR'R''$ 和 $-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基,其中 w 是0、1或2,其中 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{2-4} 烯基和 C_{3-6} 环烷基可以任选地经一个、两个或三个各自独立地选自自由以下各项组成的组的取代基取代:卤素、羟基、 $-NR'R''$ 、 $-NR'-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基、 $S(O)_w-NR'R''$ 和 $-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基;

[0047] R_{gg} 每次出现时选自自由以下各项组成的组:

[0048] a) 卤素、羟基、氰基、 $-NR'R''$ 、 $-NR'-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基、 $-S(O)_w-NR'R''$ 和 $-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基,其中 w 是0、1或2;

[0049] b) C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基和 C_{1-6} 烯基,其中 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基和 C_{1-6} 烯基任选地经一个、两个或三个各自独立地选自 R_{jj} 的取代基取代;以及

[0050] c) 杂环基,任选地经一个、两个或三个各自独立地选自 R_{11} 的取代基取代;

[0051] R_{jj} 每次出现时选自由以下各项组成的组:卤素、羟基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{3-6} 环烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基(任选地经一个、两个或三个各自独立地选自 R_{kk} 的取代基取代)、杂环基、C(O)OH、-C(O)OC $_{1-6}$ 烷基、-NR'R''、-NR'-S(O) $_w$ - C_{1-3} 烷基、-S(O) $_w$ -NR'R''和-S(O) $_w$ - C_{1-3} 烷基,其中w是0、1或2;

[0052] R_{kk} 每次出现时选自由以下各项组成的组:卤素、羟基、 C_{1-6} 烷基(任选地经一个、两个或三个各自独立地选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基、 C_{3-6} 环烷基和杂环基(任选地经 C_{1-6} 烷基取代))、 C_{3-6} 环烷基(任选地经一个、两个或三个各自独立地选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基和 C_{1-6} 烷基)、苯基、杂环基(任选地经一个、两个或三个独立地选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基和 C_{1-6} 烷基)和杂芳基;

[0053] R_{11} 每次出现时选自由以下各项组成的组:卤素、羟基、 C_{1-6} 烷基(任选地经一个、两个或三个各自独立地选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基和 C_{3-6} 环烷基)和杂环基(任选地经一个、两个或三个独立地选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基和 C_{1-6} 烷基);

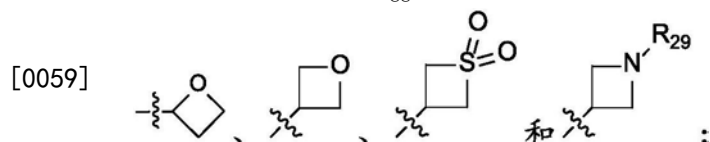
[0054] R'和R''每次出现时各自独立地选自H和 C_{1-4} 烷基;

[0055] w是0、1或2;以及

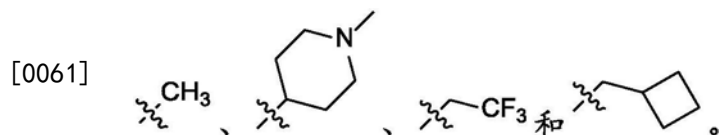
[0056] R_{hh} 每次出现时选自由以下各项组成的组:H、 C_{1-6} 烷基和 C_{3-6} 环烷基。

[0057] 举例来说,在这些实施例中的一些中,上述化学式中的一个或多个的 L_1 是 C_{1-3} 亚烷基、 C_{3-5} 亚环烷基或 C_{3-6} 亚环烷基- C_{1-4} 亚烷基和/或 R_{31} 是H或F。

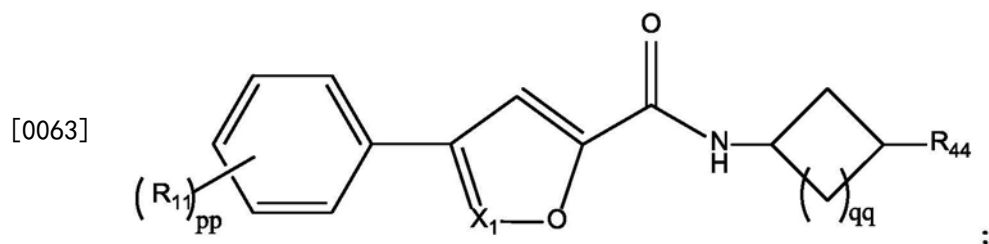
[0058] 在某些实施例中, R_{gg} 选自由以下各项组成的组:



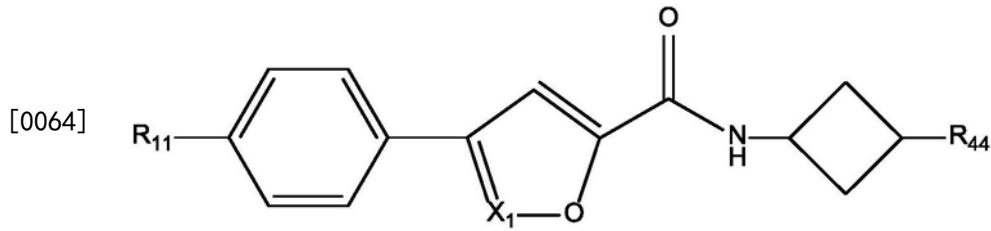
[0060] 其中 R_{29} 选自 C_{1-6} 烷基(任选地经一个、两个或三个各自独立地选自由以下各项组成的组的取代基取代:卤素、羟基、 C_{1-6} 烷氧基和环烷基)和杂环基(任选地经一个、两个或三个各自独立地选自由以下各项组成的组的取代基取代:卤素、羟基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 烷氧基)。举例来说, R_{29} 可以选自由以下各项组成的组:



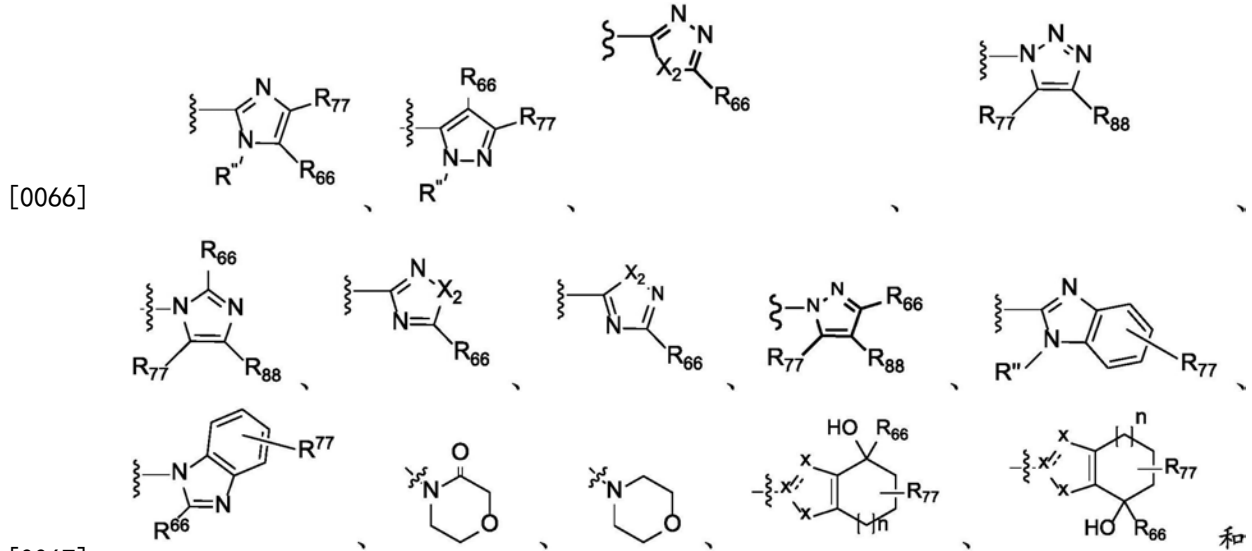
[0062] 在一实施例中,所公开的化合物具有下式:



其中qq是0或1。举例来说,在某些实施例中,所公开的化合物可以具有下式:



[0065] 举例来说,如上述化学式中的 R_{44} 可以选自由以下各项组成的组:吡咯烷基、哌啶基、四氢吡喃基和四氢呋喃基。在其它实施例中, R_{44} 选自由以下各项组成的组:



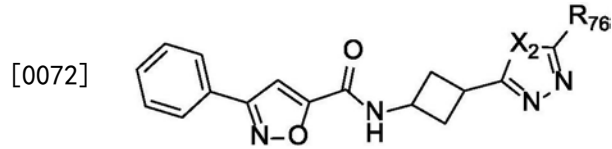
[0068] 其中X每次出现时独立地选自由以下各项组成的组:O、S、 NR_{hh} 、C、 $C(R_{88})$ 和 $C(R_{88})(R_{99})$; X_2 每次出现独立地选自由以下各项组成的组:O、S和 NR_{hh} ; R'' 是H或 C_{1-4} 烷基,各 R_{66} 、 R_{77} 、 R_{88} 和 R_{99} 每次出现时独立地选自H和 R_{gg} ,且n是0、1、2或3。

[0069] 在某些实施例中, R_{66} 、 R_{77} 、 R_{88} 和 R_{99} 中的每一个每次出现时独立地选自由以下各项组成的组:氢、卤素、羟基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基和杂环基,其中 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基和杂环基任选地经一个、两个或三个各自独立地选自由以下各项组成的组的取代基取代:羟基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基(w是0、1或2)和 $-NR'S(O)_2C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, R' 是H或 C_{1-4} 烷基。在某些实施例中, R_{66} 、 R_{77} 和 R_{88} 可以选自由以下各项组成的组:H、卤素、甲基(任选地经一个、两个或三个各自选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基、甲氧基和乙氧基)、乙基(任选地经一个、两个或三个各自选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基、甲氧基和乙氧基)、丙基(任选地经一个、两个或三个各自选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基、甲氧基和乙氧基)、异丙基(任选地经一个、两个或三个各自选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基、甲氧基和乙氧基)、正丁基(任选地经一个、两个或三个各自选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基、甲氧基和乙氧基)、叔丁基(任选地经一个、两个或三个各自选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基、甲氧基和乙氧基)、仲丁基(任选地经一个、两个或三个各自选自以下各项的取代基取代:卤素、羟基、甲氧基和乙氧基)和异丁基(任选地经一个、两个或三个

各自选自以下各项的取代基取代：卤素、羟基、甲氧基和乙氧基)。

[0070] 在某些实施例中, pp是0、1或2, 并且 R_{11} 选自H、F或甲基。

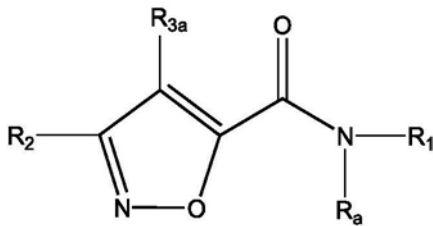
[0071] 举例来说, 本文提供一种由下式表示的化合物:



[0073] 其中 X_2 选自由以下各项组成的组: O、S或 NR_{hh} (如上文所定义的);

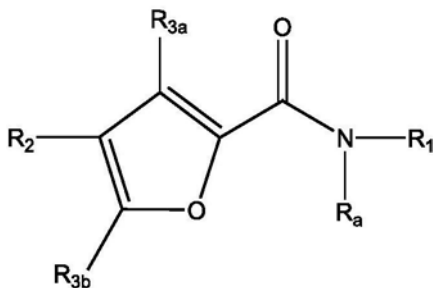
[0074] R_{76} 选自由以下各项组成的组: C_{1-6} 烷基 (任选地杂有一个或多个氧原子或 NR'' , 并且任选地经一个或多个选自由以下各项组成的组的取代基取代: 卤素、羟基、 $S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基 (w 是0、1或2)、 C_{3-6} 环烷基 (任选地经一个或多个选自以下各项的取代基取代: 杂环基、 C_{1-6} 烷基和卤素) 和杂环基 (任选地经一个或多个选自以下各项的取代基取代: 杂环基、 C_{1-6} 烷基和卤素)); 和杂环基 (任选地经一个或多个选自由以下各项组成的组的取代基取代: 卤素、羟基、 $S(O)_w-C_{1-3}$ 烷基 (w 是0、1或2)、 C_{3-6} 环烷基 (任选地经一个或多个选自以下各项的取代基取代: 杂环基、 C_{1-6} 烷基和卤素) 和杂环基 (任选地经一个或多个选自以下各项的取代基取代: 杂环基、 C_{1-6} 烷基和卤素)。

[0075] 本文还公开具有式 (Ia) 或式 (IIa) 的化合物



(Ia);

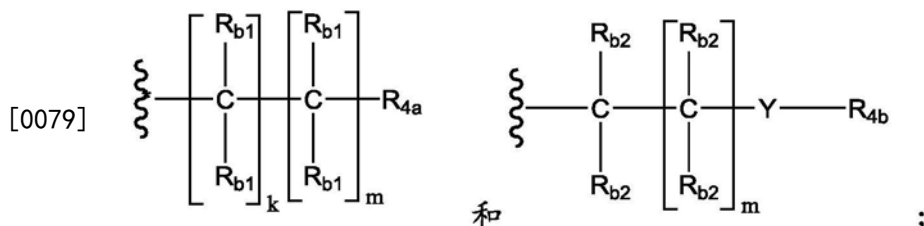
[0076]



(IIa);

[0077] 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中:

[0078] R_1 选自由以下各项组成的组:



[0080] R_2 选自由以下各项组成的组：任选经取代的芳基和任选经取代的杂芳基；

[0081] R_{3a} 和 R_{3b} 各自独立地选自由以下各项组成的组：氢、任选经取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烷基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烯基、任选经取代的芳基、卤基、 OR_c 、 NR_dR_d 、 $C(O)OR_c$ 、 NO_2 、 CN 、 $C(O)R_c$ 、 $C(O)C(O)R_c$ 、 $C(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dC(O)R_c$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $N(R_d)(COOR_c)$ 、 $NR_dC(O)C(O)R_c$ 、 $NR_dC(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nNR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nNR_dR_d$ 、 $OC(O)OR_c$ 、 $(C=NR_d)R_c$ 、任选经取代的杂环和任选经取代的杂芳基；

[0082] R_{4a} 选自由以下各项组成的组：氢、任选经取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烷基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烯基、任选经取代的芳基、卤基、 OR_c 、 $S(O)_nR_c$ 、 NR_dR_d 、 $C(O)OR_c$ 、 NO_2 、 CN 、 $C(O)R_c$ 、 $C(O)C(O)R_c$ 、 $C(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dC(O)R_c$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $N(R_d)(COOR_c)$ 、 $NR_dC(O)C(O)R_c$ 、 $NR_dC(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $S(O)NR_dR_d$ 、 $OC(O)OR_c$ 、 $(C=NR_d)R_c$ 、任选经取代的杂环和任选经取代的杂芳基；

[0083] R_{4b} 选自由以下各项组成的组：氢、任选经取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烷基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烯基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂环和任选经取代的杂芳基；

[0084] R_a 选自由以下各项组成的组：氢、任选经取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烷基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烯基、任选经取代的杂环、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、 $C(O)OR_c$ 、 $C(O)R_c$ 、 $C(O)C(O)R_c$ 和 $(O)_nR_c$ ；

[0085] 或者， R_a 和其所连接的氮原子与相邻 $C(R_{b1})(R_{b1})$ 或 $C(R_{b2})(R_{b2})$ 一起形成含有一个或多个环氮原子的任选经取代的 4 到 12 元杂环，其中所述杂环任选地含有一个或多个选自氧和硫的环杂原子；

[0086] 各 R_{b1} 和 R_{b2} 每次出现时独立地选自由以下各项组成的组：氢、任选经取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烷基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烯基、任选经取代的杂环、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、卤基、 OR_c 、 NR_dR_d 、 $C(O)OR_c$ 、 NO_2 、 CN 、 $C(O)R_c$ 、 $C(O)C(O)R_c$ 、 $C(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dC(O)R_c$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $N(R_d)(COOR_c)$ 、 $NR_dC(O)C(O)R_c$ 、 $NR_dC(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nNR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nNR_dR_d$ 、 $OC(O)OR_c$ 和 $(C=NR_d)R_c$ ；或者，两个季位 R_{b1} 基团或两个季位 R_{b2} 基团和其所连接的碳一起形成 $C(O)$ 基团，又或者，两个季位 R_{b1} 基团或两个季位 R_{b2} 基团与其所连接的碳原子一起形成螺 C_3 - C_{12} 环烷基、螺 C_3 - C_{12} 环烯基、螺杂环、螺芳基或螺杂芳基，其各自任选地经取代；

[0087] Y 选自由以下各项组成的组： $S(O)_n$ 、 NR_d 、 $NR_dS(O)_n$ 、 $NR_dS(O)_nNR_d$ 、 $NR_dC(O)$ 、 $NR_dC(O)O$ 、 $NR_dC(O)C(O)$ 、 $NR_dC(O)NR_d$ 、 $S(O)_nNR_d$ 和 O ；

[0088] 各 R_c 每次出现时独立地选自由以下各项组成的组：氢、任选经取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选经取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选经取代的 C_3 - C_{12} 环烷基、任选经取

代的C₃-C₁₂环烯基、任选经取代的杂环、任选经取代的芳基和任选经取代的杂芳基；

[0089] 各R_d每次出现时独立地选自由以下各项组成的组：氢、任选经取代的C₁-C₁₀烷基、任选经取代的C₂-C₁₀烯基、任选经取代的C₂-C₁₀炔基、任选经取代的C₁-C₁₀烷氧基、任选经取代的C₃-C₁₂环烷基、任选经取代的C₃-C₁₂环烯基、任选经取代的杂环、任选经取代的芳基和任选经取代的杂芳基；或两个孪位R_d基团与其所连接的氮原子一起形成任选经取代的杂环或任选经取代的杂芳基；

[0090] k是0或1；

[0091] m是0、1、2、3、4或5；

[0092] 各n独立地是0、1或2。

[0093] 在一些实施例中，m是0、1或2。在一些实施例中，k是0。在一些实施例中，m是0、1或2，k是0。

[0094] 在一些实施例中，R_{3a}和R_{3b}中的每一个是氢。

[0095] 在一些实施例中，R_a是氢或C₁-C₄烷基（任选地经1、2或3个卤素取代）。

[0096] 在一些实施例中，R_{b1}和R_{b2}各自独立地选自由以下各项组成的组：氢、羟基、C₁₋₄烷氧基（任选地经一个、两个或三个独立地选自卤素和羟基的取代基取代）和C₁-C₄烷基（任选地经一个、两个或三个独立地选自卤素和羟基的取代基取代）。在某些实施例中，R_{b1}和R_{b2}每次出现时是氢。

[0097] 在一些实施例中，R₂选自由以下各项组成的组：苯基和具有一个或两个各自选自N、S和O的杂原子的5-6元杂芳基，其中R₂任选地经一个或两个各自独立地选自由以下各项组成的组的取代基取代：卤素和C₁-C₄烷基（任选地经一个、两个或三个卤素取代）。

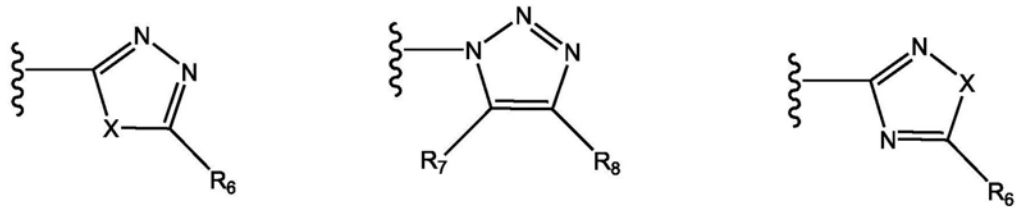
[0098] 在某些实施例中，R₂是苯基。

[0099] 在其它实施例中，R₂选自由以下各项组成的组：任选经取代的噻吩基、任选经取代的呋喃基和任选经取代的吡啶基。

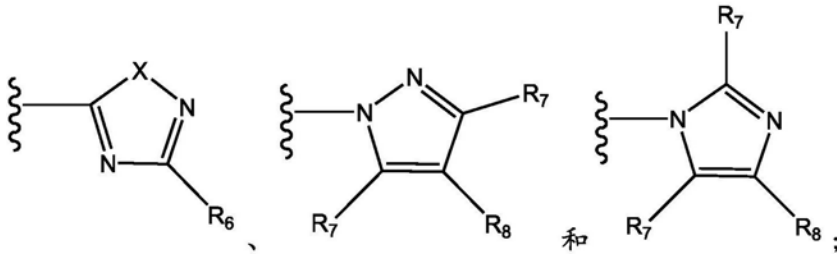
[0100] 在一些实施例中，R_{4a}选自由以下各项组成的组：任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₃-C₇环烷基、苯基、OR_c、C(O)OR_c、C(O)R_c、任选经取代的杂环基和任选经取代的杂芳基，其中R_c每次出现时独立地选自由H和C₁₋₆烷基组成的组。

[0101] 在某些实施例中，R_{4a}是杂环基或5-6元单环或8-10元双环杂芳基，其具有一个、两个或三个选自N、S或O的杂原子，其中杂环基或杂芳基任选地经一个、两个或三个每次出现时独立地选自由以下各项组成的组的取代基取代：卤素、C₁₋₆烷基（任选地经一个、两个或三个各自独立地选自卤素和羟基的取代基取代）、C₁₋₆烷氧基（任选地经一个、两个或三个卤素取代）、羟基，和NR_dR_d，其中R_d每次出现时独立地选自H和C₁₋₄烷基，或两个R_d与其所连接的N一起形成杂环。举例来说，R_{4a}可选自由以下各项组成的组：四氢吡喃基、噻二唑基、四氢呋喃基和吗啉基。作为另一实例，R_{4a}可以是含有一个、两个或三个环氮原子的单环杂芳基。作为另一个实例，R_{4a}可选自由以下各项组成的组：呋喃基、吡啶基、吡嗪基、吡唑基、咪唑基、异噁唑基、三唑基、噻唑基、噁二唑基、噻二唑基、噻吩基、哌嗪基和苯并咪唑基，其各自任选地经取代。

[0102] 在某些实施例中，R_{4a}选自由以下各项组成的组：



[0103]

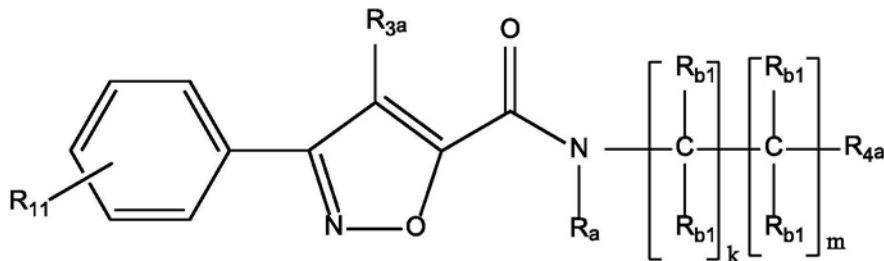
[0104] 其中各X独立地是O、S或NR_g；[0105] 各R_g独立地选自由以下各项组成的组：氢、C₁-C₄烷基、C₃-C₆环烷基，和

[0106] 各R₆、R₇和R₈每次出现时独立地选自由以下各项组成的组：氢、C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₁₆炔基、C₃-C₇环烷基、C₃-C₇环烯基、苯基、杂环基、杂芳基、卤基、羟基、羧基、OR_c、NR_dR_d、C(O)OR_c、CN、C(O)R_c，其中R₆、R₇和R₈的C₁₋₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₁₆炔基、C₃-C₇环烷基、C₃-C₇环烯基、苯基、杂环基和杂芳基可各自任选地经一个、两个或三个选自以下各项的取代基取代：卤基、羟基、C₁₋₆烷基和C₁₋₆烷氧基；

[0107] R_c是C₁₋₄烷基；以及

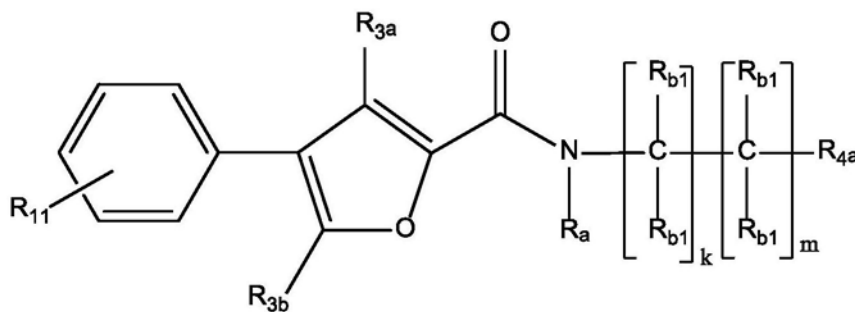
[0108] R_d每次出现时独立地选自由以下各项组成的组：H和C₁₋₄烷基，或所述两个R_d与其所连接的N一起形成杂环。

[0109] 在一些实施例中，所公开的化合物具有式 (Ib) 或式 (IIb)：



(Ib)；

[0110]

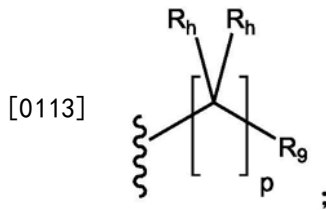


(IIb)；

[0111] 其中R₁₁选自由以下各项组成的组：氢、任选经取代的C₁-C₁₀烷基、任选经取代的C₂-C₁₀烯基、任选经取代的C₂-C₁₀炔基和卤基。在某些实施例中，R_{4a}是任选经取代的C₃-C₇环烷基

(例如任选经取代的环丙基或任选经取代的环丁基)。

[0112] 在这些实施例中的一些中, R_{4a} 经具有下式的取代基取代:



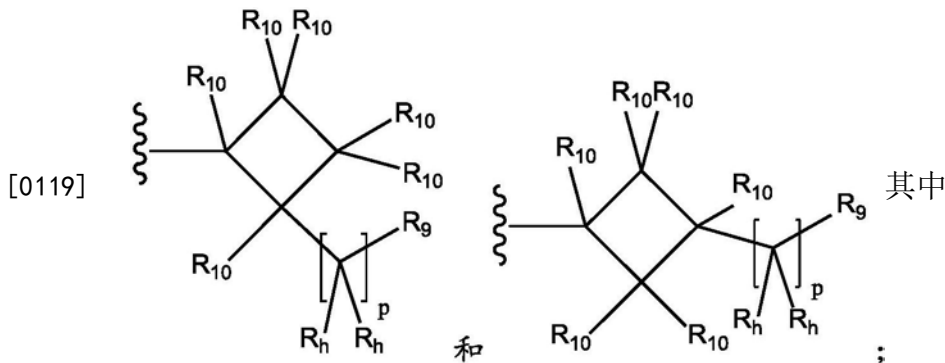
[0114] 其中各 R_h 每次出现时独立地选自由以下各项组成的组: 氢、卤基、羟基、 C_1 - C_6 烷基和 C_3 - C_6 环烷基, 或两个季位 R_h 基团独立地与其所连接的碳原子一起形成任选经取代的碳环或杂环基;

[0115] R_g 选自由以下各项组成的组: 氢、卤基、CN、羟基、甲基 (任选地经一个、两个或三个选自卤素和羟基的取代基取代)、 C_2 - C_4 烯基、 C_2 - C_4 炔基、 C_3 - C_6 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 NR_dR_d 、 $C(O)OR_c$ 、 NO_2 、 CN 、 $C(O)R_c$ 、 $C(O)C(O)R_c$ 、 $C(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dC(O)R_c$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $NR_d(COOR_c)$ 、 $NR_dC(O)C(O)R_c$ 、 $NR_dC(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nNR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nNR_dR_d$ 、 $OC(O)OR_c$ 、 $(C=NR_d)R_c$;

[0116] R_c 每次出现时独立地选自由以下各项组成的组: H、 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、杂环基和杂芳基;

[0117] R_d 每次出现时独立地选自由 H 和 C_{1-4} 烷基, 或所述两个 R_d 与其所连接的 N 一起形成杂环; 并且 p 是 0、1 或 2。

[0118] 举例来说, R_{4a} 可以选自由以下各项组成的组:



[0120] 各 R_{10} 独立地选自由以下各项组成的组: 氢、任选经取代的 C_1 - C_6 烷基、任选经取代的 C_2 - C_6 烯基、任选经取代的 C_2 - C_6 炔基、任选经取代的 C_3 - C_6 环烷基、任选经取代的 C_3 - C_6 环烯基、任选经取代的芳基、卤基、 OR_c 、 NR_dR_d 、 $C(O)OR_c$ 、 NO_2 、 CN 、 $C(O)R_c$ 、 $C(O)C(O)R_c$ 、 $C(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dC(O)R_c$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $NR_d(COOR_c)$ 、 $NR_dC(O)C(O)R_c$ 、 $NR_dC(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nNR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nNR_dR_d$ 、 $OC(O)OR_c$ 、 $(C=NR_d)R_c$ 、任选经取代的杂环和任选经取代的杂芳基; 或者, 两个季位 R_{10} 基团与其所连接的碳原子一起形成螺 C_3 - C_7 环烷基、螺 C_3 - C_7 环烯基、螺杂环、螺芳基或螺杂芳基, 其各自任选地经取代; 又或者, 两个邻接的 R_{10} 基团与其所连接的碳原子一起形成选自由以下各项组成的组的任选经取代的稠合环基: C_4 - C_8 环烷基、 C_4 - C_8 环烯基、4 到 8 元杂环、芳基和杂芳基, 其各自任选地经取代; 另外或者, 与非相邻碳原子连接的两个 R_{10} 基团与其所连接的碳原子一起形成选自由以下各项组成的组的桥接环基: C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_8 环烯基和 4 到 8 元杂环, 其各自任选地经取代;

[0121] 各 R_h 独立地选自由以下各项组成的组: 氢、卤基、任选经取代的 C_1 - C_{10} 烷基和任选经取代的 C_3 - C_6 环烷基, 或两个季位 R_h 基团独立地与其所连接的碳原子一起形成任选经取代

的杂环或任选经取代的杂芳基；

[0122] R_9 选自由以下各项组成的组：氢、任选经取代的 C_1-C_{10} 烷基、任选经取代的 C_2-C_{10} 烯基、任选经取代的 C_2-C_{10} 炔基、任选经取代的 C_3-C_{12} 环烷基、任选经取代的 C_3-C_{12} 环烯基、任选经取代的芳基、卤基、 OR_c 、 NR_dR_d 、 $C(O)OR_c$ 、 NO_2 、 CN 、 $C(O)R_c$ 、 $C(O)C(O)R_c$ 、 $C(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dC(O)R_c$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $N(R_d)(COOR_c)$ 、 $NR_dC(O)C(O)R_c$ 、 $NR_dC(O)NR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nNR_dR_d$ 、 $NR_dS(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nR_c$ 、 $S(O)_nNR_dR_d$ 、 $OC(O)OR_c$ 、 $(C=NR_d)R_c$ 、任选经取代的杂环和任选经取代的杂芳基；并且 p 是0、1或2。

[0123] 在一些实施例中， Y 是 S 、 $S(O)_2$ 或 $S(O)_2NR_d$ 。

[0124] 在一些实施例中， R_{4b} 是杂环基或5-6元单环或8-10元双环杂芳基，其具有一个、两个或三个选自 N 、 S 或 O 的杂原子，其中所述杂环基或杂芳基任选地经一个、两个或三个每次出现时独立地选自由以下各项组成的组的取代基取代：卤素、 C_{1-6} 烷基（任选地经一个、两个或三个各自独立地选自卤素和羟基的取代基取代）、 C_{1-6} 烷氧基（任选地经一个、两个或三个卤素取代）、羟基，和 NR_dR_d ，其中 R_d 每次出现时独立地选自 H 和 C_{1-4} 烷基，或两个 R_d 与其所连接的 N 一起形成杂环。举例来说， R_{4b} 可选自由以下各项组成的组：呋喃基、吡啶基、吡嗪基、吡唑基、咪唑基、异噁唑基、三唑基、噁唑基、噁二唑基、噁二唑基、噁吩基、哌嗪基和苯并咪唑基，其各自任选地经取代。

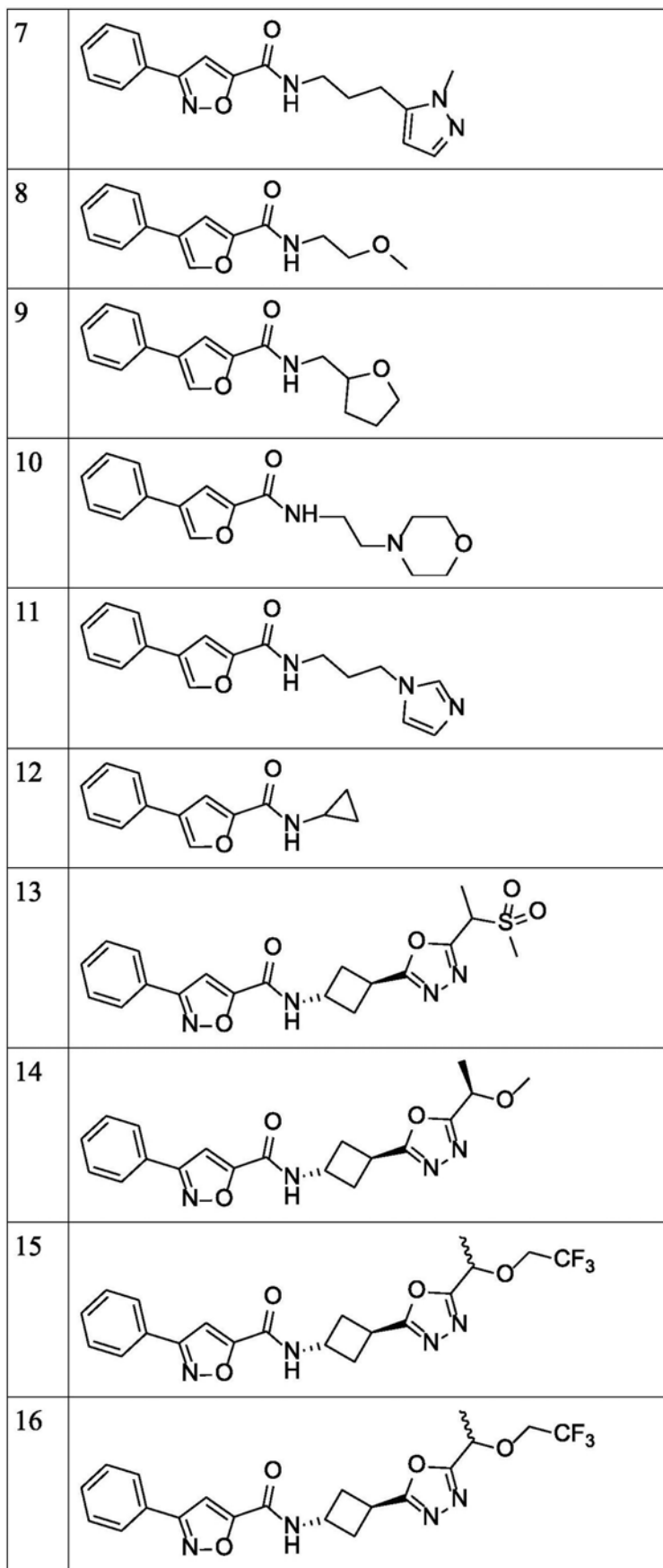
[0125] 示范性化合物显示于下表1中：

[0126] 表1

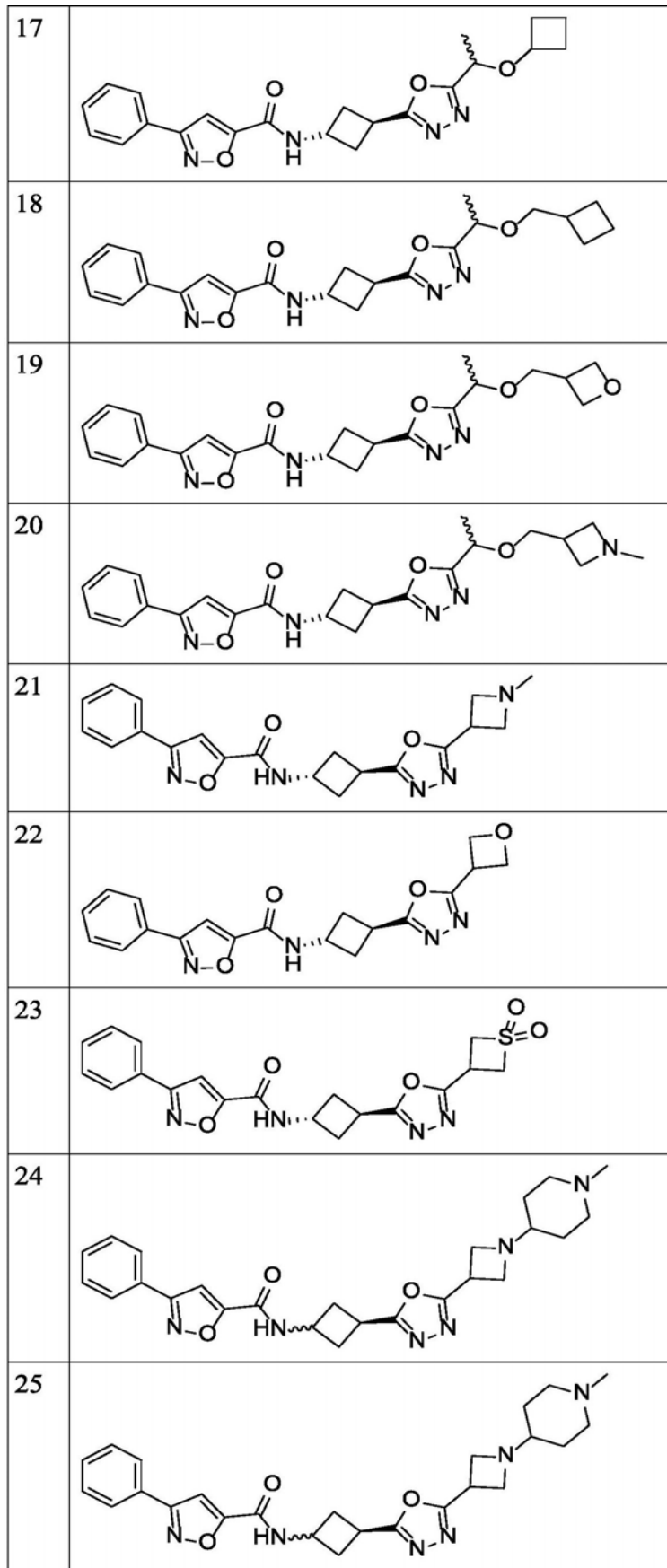
[0127]

#	结构
1	
2	
3	
4	
5	
6	

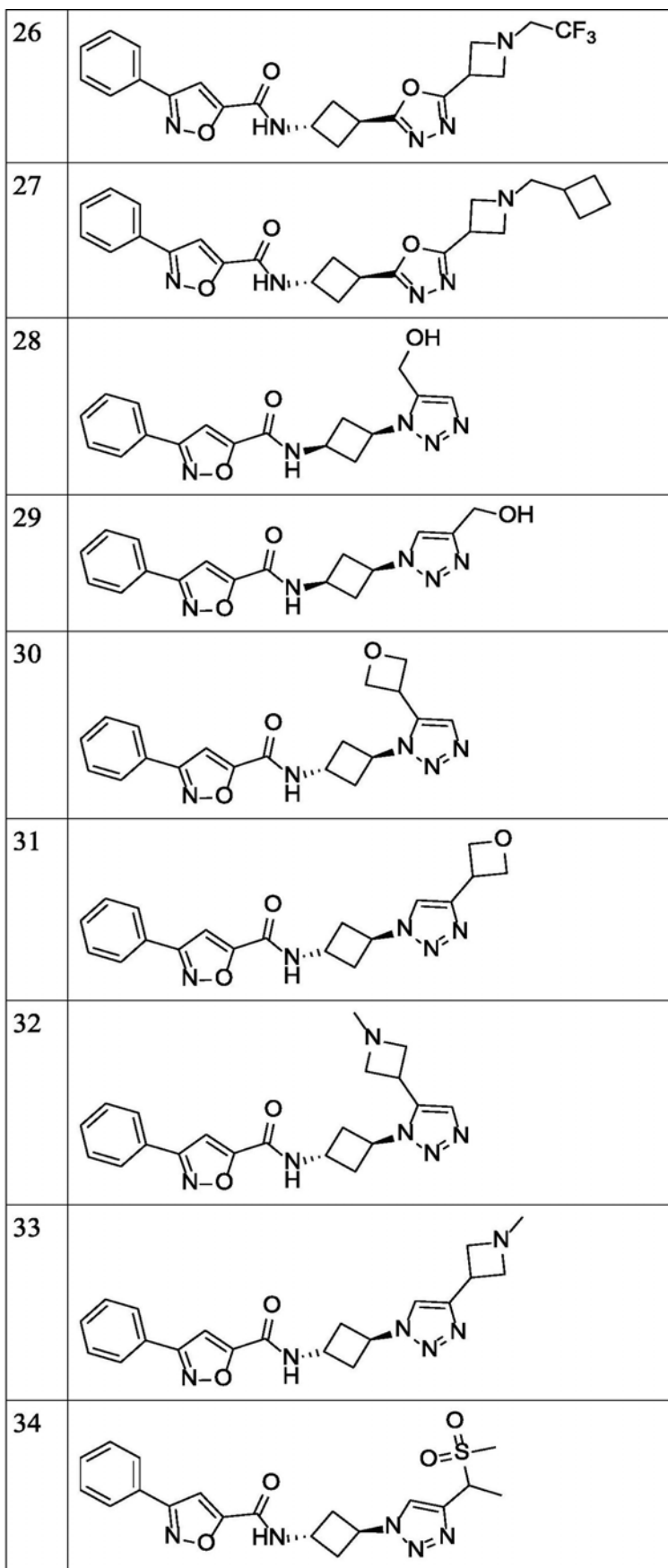
[0128]

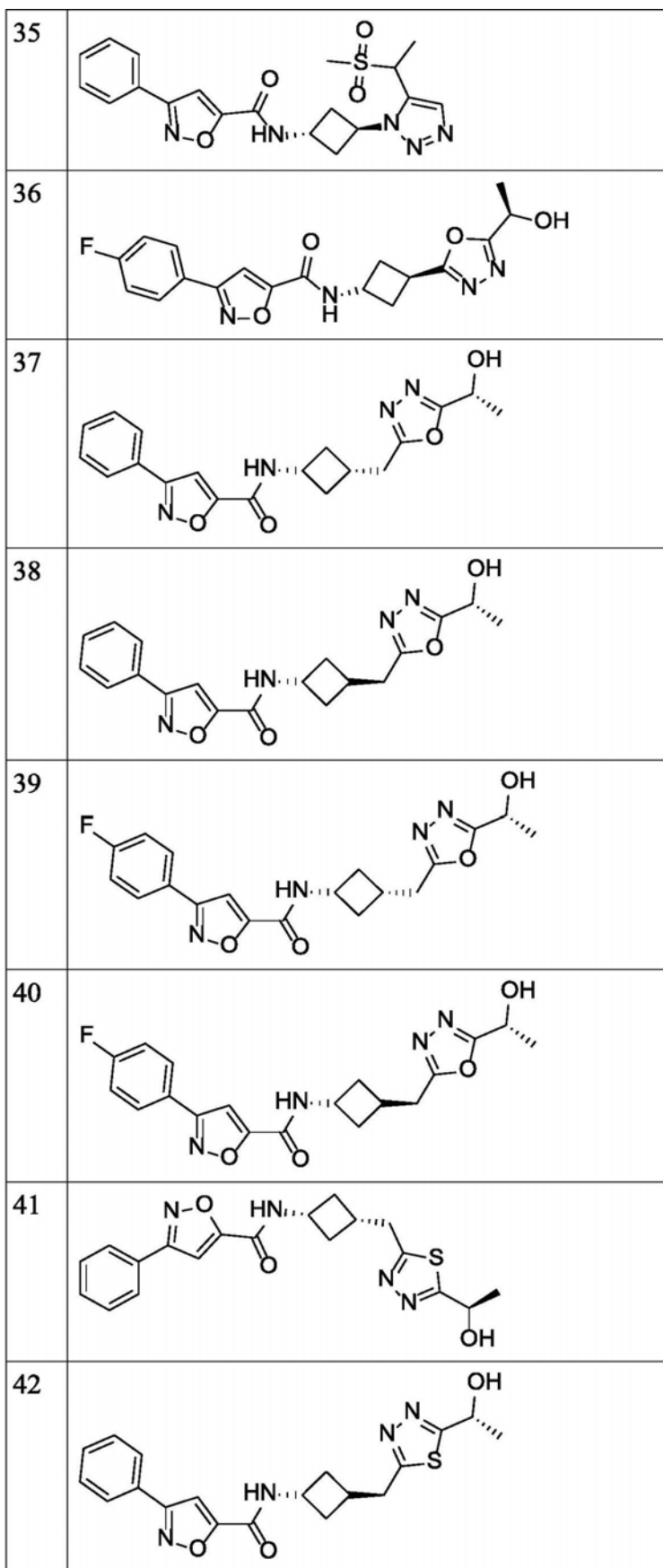


[0129]

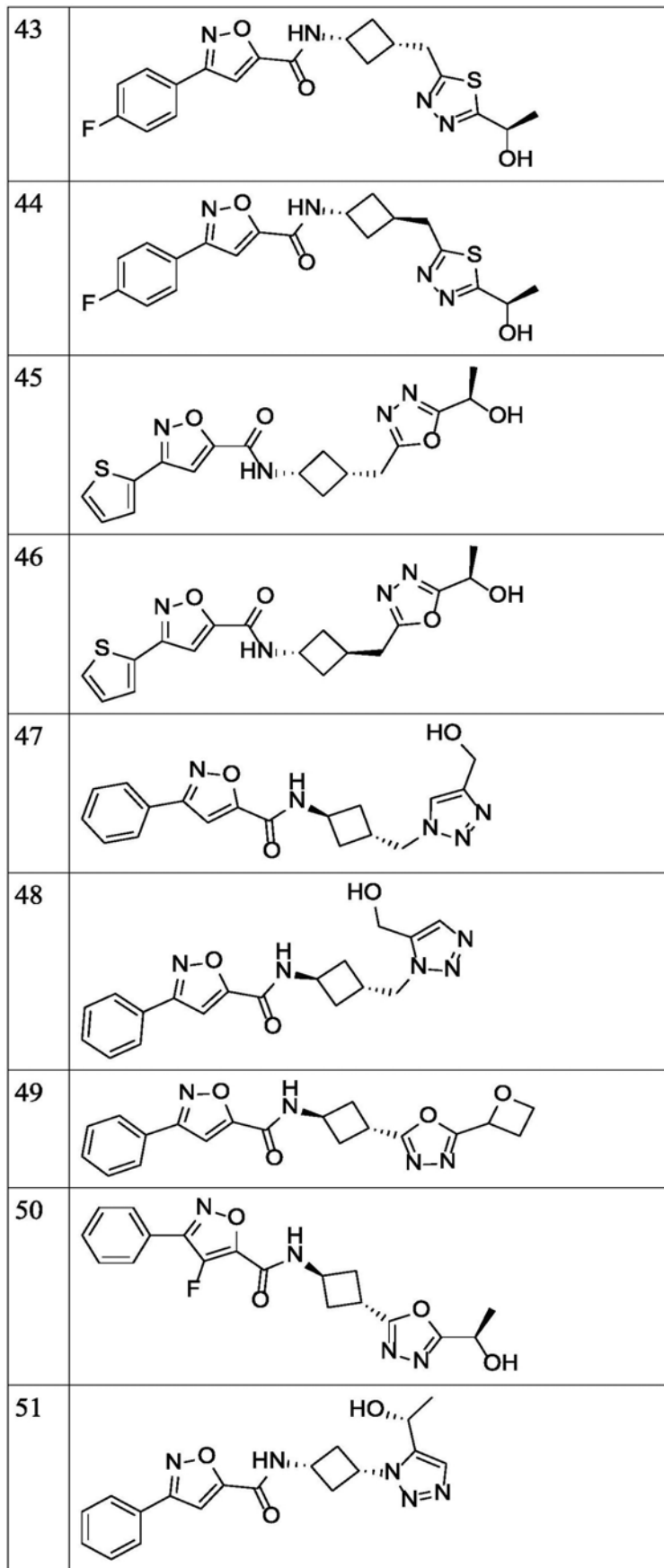


[0130]

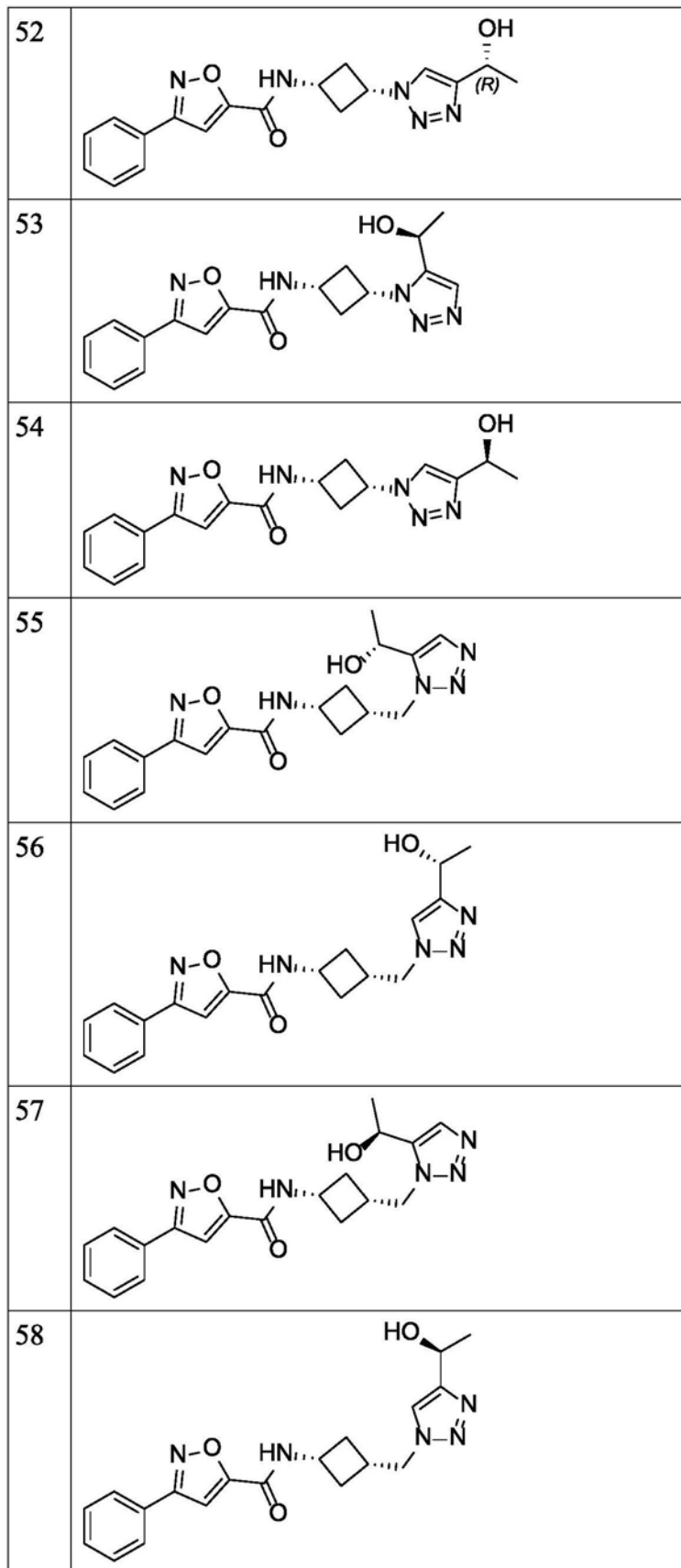




[0132]

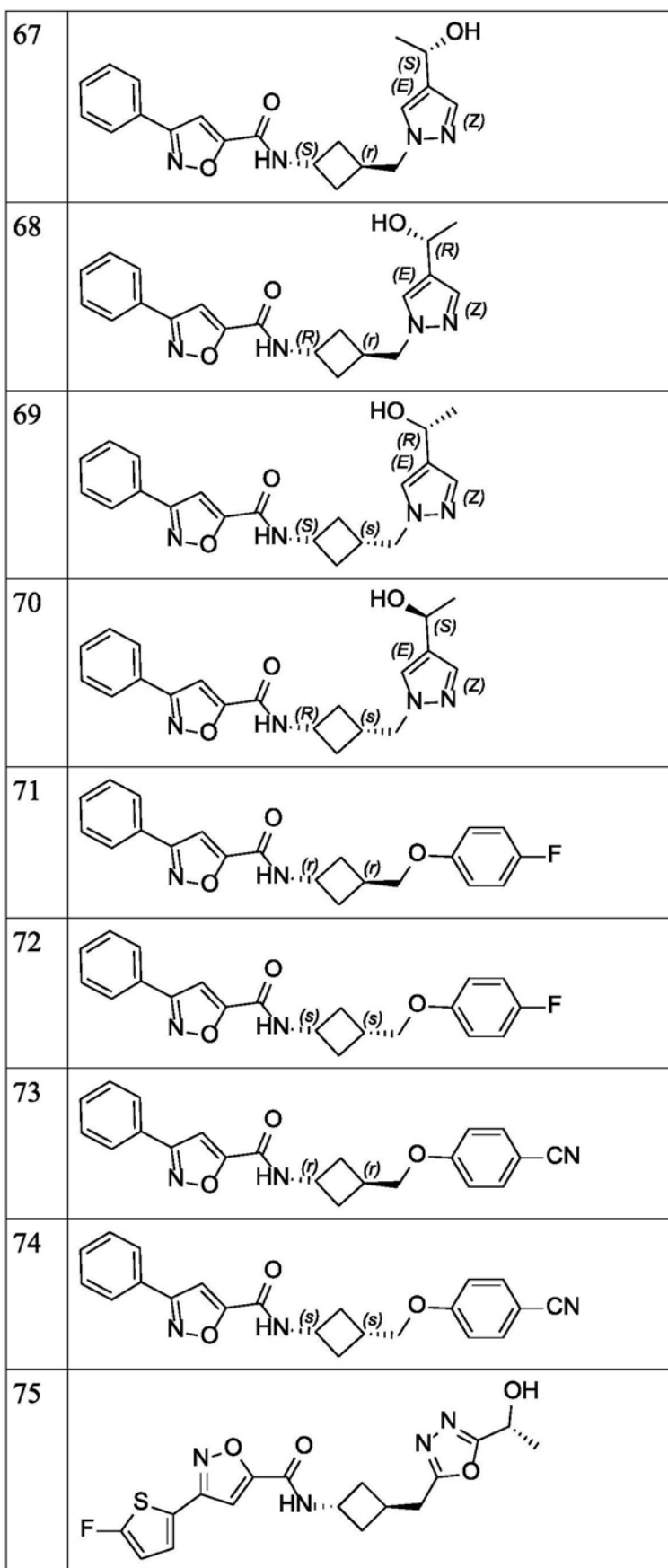


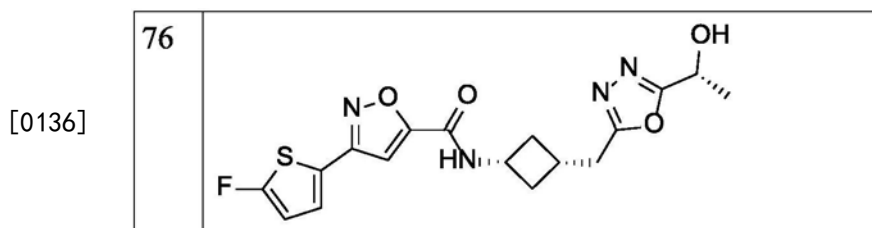
[0133]



[0134]

59	
60	
61	
62	
63	
64	
65	
66	





[0137] 本文还涵盖药物组合物,包括所公开的化合物,如具有式(Ia)、(IIa)、(Ib)、(IIb)、(III)或(IV)的那些化合物,和药学上可接受的载剂或赋形剂。在某些实施例中,所述组合物可以包括至少一种如本文别处所述的其它CFTR调节剂或至少两种各自独立地如本文别处所述的其它CFTR调节剂。

[0138] 应理解,本文所述的特定实施例可以与本文所述的其它特定实施例组合使用。举例来说,如上文所述,在一些实施例中, R_{2a} 是氟,并且在上文所述的一些实施例中,A是任选经取代的咪唑基或吡唑基。举例来说,涵盖所公开的式(Ia)、(IIa)、(Ib)、(IIb)、(III)或(IV)的化合物,其中 R_{2a} 是氟并且A是任选经取代的咪唑基或吡唑基。

[0139] 现将更具体地描述本公开的特征和其它细节。在进一步描述本发明之前,将说明书、实例和所附权利要求书中采用的特定术语集合于此。这些定义应根据本公开的其余部分进行阅读并且如所属领域的技术人员所理解。除非另外定义,否则本文中所有的技术和科学术语都具有与所属领域普通技术人员通常所理解相同的含义。

[0140] 应了解,本文对本发明的描述的解释应该与化学键结的定律和原理一致。

[0141] 除非另外规定,否则如本文所用的术语“烷基”指的是具有规定碳原子数的分支链和直链饱和脂肪族烃基;例如“ C_1 - C_{10} 烷基”表示具有1到10个碳原子的烷基,并且具有1-6、1-4或1-3个碳原子的直链或分支链烃在本文中分别称为 C_{1-6} 烷基、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-3} 烷基。烷基的实例包括(但不限于)甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基、2-甲基丁基、2-甲基戊基、2-乙基丁基、3-甲基戊基和4-甲基戊基。

[0142] 如本文所用,术语“烯基”指的是具有规定碳原子数并且具有至少一个碳-碳双键的直链和分支链部分。示范性烯基包括(但不限于)具有2-6或3-4个碳原子的直链或分支链基团,在本文中分别称为 C_{2-6} 烯基和 C_{3-4} 烯基。示范性烯基包括(但不限于)乙烯基、烯丙基、丁烯基、戊烯基等。

[0143] 如本文所用,术语“炔基”指的是具有规定碳原子数并且具有至少一个碳-碳三键的直链和分支链部分。

[0144] 如本文所用的术语“环烷基”指的是具有3个或更多个碳原子,例如3-10、3-6或4-6个碳的饱和环烷基部分,在本文中分别称为例如 C_{3-10} 环烷基、 C_{3-6} 环烷基或 C_{4-6} 环烷基。环烷基的实例包括(但不限于)环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和金刚烷基。

[0145] 如本文所用,术语“环烷氧基”指的是环烷基与氧连接(环烷基-O-)。示范性环烷氧基包括(但不限于)具有3-6个碳原子的环烷氧基,在本文中称为 C_{3-6} 环烷氧基。示范性环烷氧基包括(但不限于)环丙氧基、环丁氧基、环己氧基等。

[0146] 如本文所用的术语“环烯基”指的是具有3个或更多个碳原子的环烯基部分。

[0147] 如本文所用的术语“环炔基”指的是具有5个或更多个碳原子的环炔基部分。

[0148] “亚烷基”意思是具有指定碳数的直链或分支链饱和脂肪族二价基团。“亚环烷基”指的是具有指定碳数的碳环饱和烃基的二价基团。

[0149] 如本文所用的术语“烷氧基”指的是直链或分支链烷基与氧连接(烷基-O-)。示范性烷氧基包括(但不限于)具有1-6或2-6个碳原子的烷氧基,在本文中分别称为C₁₋₆烷氧基和C₂₋₆烷氧基。示范性烷氧基包括(但不限于)甲氧基、乙氧基、异丙氧基等。

[0150] 除非另外规定,否则术语“杂环”或“杂环基”涵盖杂环烷基、杂环烯基、杂双环烷基、杂双环烯基、杂多环烷基、杂多环烯基等。杂环烷基指的是环内含有一个或多个杂原子(O、S或N)的环烷基。如本文所用的杂环烯基指的是环内含有一个或多个杂原子(O、S或N)的环烯基。杂双环烷基指的是环内含有一个或多个杂原子(O、S或N)的双环烷基。如本文所用的杂双环烯基指的是环内含有一个或多个杂原子(O、S或N)的双环烯基,杂环基指的是例如饱和或部分不饱和4-到12或4-10元环结构,包括桥接或稠合环,并且其环结构包括一到三个杂原子,如氮、氧和硫。如果可能,杂环基环可以通过碳或氮连接到相邻基团。杂环基的实例包括(但不限于)吡咯啉、哌啉、吗啉、硫代吗啉、哌嗪、氧杂环丁烷、氮杂环丁烷、四氢呋喃或二氢呋喃等。

[0151] 环烷基、环烯基和杂环基还包括与上文针对这些各别类别中的每一个所述的基团类似但经一个或多个氧代部分取代的基团。

[0152] 如本文所用的术语“芳基”指的是单环或多环芳香族碳环系统。多环芳基是包含至少一个芳香族环的多环系统。多环芳基可以包含稠合环、共价连接的环或其组合。术语“芳基”涵盖芳香族基团,如苯基、萘基、茛基、四氢萘基和茛满基。芳基可以经取代或未经取代。在一些实施例中,芳基是C₄-C₁₀芳基。任选经取代的芳基的实例是苯基、经取代的苯基、萘基和经取代的萘基。

[0153] 如本文所用的术语“杂芳基”指的是环内含有一个或多个杂原子(O、S或N)的芳香族碳环基团。除非另外规定,否则杂芳基可以是单环或多环。杂芳基可以另外经取代或未经取代。预期杂芳基包括经一个或多个氧代部分取代的环系统。多环杂芳基可以包含稠合环、共价连接的环或其组合。多环杂芳基是包含至少一个在环内含有一个或多个杂原子的芳香族环的多环系统。杂芳基的实例包括(但不限于)吡啶基、哒嗪基、咪唑基、嘧啶基、吡唑基、三唑基、吡嗪基、喹啉基、异喹啉基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异噻唑基、噻唑基、噁唑基、异噻唑基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噌啉基、吡啶基、吡啶基、酞嗪基、三嗪基、异吡啶基、嘌呤基、噁二唑基、噻二唑基、呋吡基、苯并呋吡基、苯并噻吩基、苯并三唑基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹啉基、喹啉基、萘啶基、二氢喹啉基、四氢喹啉基、二氢异喹啉基、四氢异喹啉基、苯并呋喃基、呋喃并吡啶基、吡咯并嘧啶基、噻唑并吡啶基、噁唑并吡啶基和氮杂吡啶基。前述杂芳基可以是C-连接的或杂原子-连接的(如果这种情况是可能的)。举例来说,衍生自吡咯的基团可以是吡咯-1-基(N-连接)或吡咯-3-基(C-连接)。在一些实施例中,杂芳基是4到12元杂芳基。在其它实施例中,杂芳基是单环或双环4到10元杂芳基。

[0154] 术语“经取代的”指的是通过包括(但不限于)并且除非另外规定,否则是以下的取代基独立置换一个、两个或三个或更多个氢原子的取代:-C₁-C₁₂烷基、-C₂-C₁₂烯基、-C₂-C₁₂炔基、-C₃-C₁₂环烷基、-C₃-C₁₂环烯基、C₃-C₁₂环炔基、-杂环、-F、-Cl、-Br、-I、-OH、-NO₂、-N₃、-CN、-NH₂、氧代、硫酮基、-NHR_x、-NR_xR_x、二烷基氨基、-二芳基氨基、-二杂芳基氨基、-OR_x、-C(O)R_y、-C(O)C(O)R_y、-OCO₂R_y、-OC(O)R_y、OC(O)C(O)R_y、-NHC(O)R_y、-NHC(O)R_y、-NHC(O)C(O)R_y、NHC(S)NH₂、-NHC(S)NHR_x、-NHC(NH)NH₂、-NHC(NH)NHR_x、-NHC(NH)R_x和(C=NR_x)

R_x ; $-NR_xC(O)R_x$ 、 $-NR_xC(O)N(R_x)_2$ 、 $-NR_xCO_2R_y$ 、 $-NR_xC(O)C(O)R_y$ 、 $-NR_xC(S)NH_2$ 、 $-NR_xC(S)NHR_x$ 、 $-NR_xC(NH)NH_2$ 、 $-NR_xC(NH)NHR_x$ 、 $-NR_xC(NH)R_x$ 、 $-C(NR_x)NHR_x$ 、 $-S(O)R_y$ 、 $-NHSO_2R_x$ 、 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2SO_2CH_3$ 、-芳基、-芳基烷基、-杂芳基、-杂芳基烷基、-杂环烷基、 $-C_3-C_{12}$ -环烷基、-聚烷氧基烷基、-聚烷氧基、-甲氧基甲氧基、-甲氧基乙氧基、-SH、-S- R_x 或-甲硫基甲基,其中 R_x 选自自由以下各项组成的组:氢、 $-C_1-C_{12}$ 烷基、 $-C_2-C_{12}$ 烯基、 $-C_2-C_{12}$ 炔基、 $-C_3-C_{12}$ 环烷基、-芳基、-杂芳基和-杂环,且 $-R_y$ 选自自由以下各项组成的组:氢、 $-C_1-C_{12}$ 烷基、 $-C_2-C_{12}$ 烯基、 $-C_2-C_{12}$ 炔基、 $-C_3-C_{12}$ 环烷基、-芳基、-杂芳基、-杂环、 $-NH_2$ 、 $-NH-C_1-C_{12}$ 烷基、 $-NH-C_2-C_{12}$ 烯基、 $-NH-C_2-C_{12}$ 炔基、 $-NH-C_3-C_{12}$ 环烷基、-NH-芳基、-NH-杂芳基和-NH-杂环。应理解,芳基、杂芳基、烷基等可以进一步经取代。


[0155] 如本文所用的术语“卤基”或“卤素”指的是F、Cl、Br或I。

[0156] 如本文所用的术语“卤烷基”指的是具有1到(2n+1)个独立地选自F、Cl、Br或I的取代基的烷基,其中n是烷基中碳原子的最大数目。应理解,卤烷基是任选经取代的烷基的具体实例。

[0157] 如本文所用的术语“羟基(hydroxy/hydroxyl)”指的是基团-OH。

[0158] 如所属领域的技术人员将理解,“H”是氢的符号,“N”是氮的符号,“S”是硫的符号,“O”是氧的符号。“Me”是甲基的缩写。

[0159] 本公开的化合物可以含有一个或多个手性中心并且因此以立体异构体形式存在。本文所用的术语“立体异构体”由全部对映异构体或非对映异构体组成。这些化合物可以视立体生成碳原子周围的取代基的构形而定由符号“(+)”、“(-)”、“R”或“S”命名,但所属领域的技术人员将了解一种结构可以隐含地指示手性中心。本公开涵盖所公开的化合物的多种立体异构体和其混合物。对映异构体或非对映异构体的混合物在命名时可以用“(±)”表示,但是所属领域技术人员将认识到,结构可以隐含地指示手性中心。

[0160] 本公开的化合物可以含有一个或多个双键,并且因此以取代基在碳-碳双键周围排布产生的几何异构体形式存在。符号表示可以是如本文所述的单键、双键或三键的键。碳-碳双键周围的取代基用“Z”或“E”构形表示,其中术语“Z”和“E”根据IUPAC标准使用。除非另外规定,否则描绘了双键的结构涵盖“E”和“Z”异构体两个。碳-碳双键周围的取代基或者可以称为“顺式”或“反式”,其中“顺式”表示取代基在双键的同一侧并且“反式”表示取代基在双键的两侧。

[0161] 本公开的化合物可以含有碳环或杂环,并且因此以取代基在环周围排布产生的几何异构体形式存在。取代基在碳环或杂环周围的排布以“Z”或“E”构形命名,其中术语“Z”和“E”根据IUPAC标准使用。除非另外规定,否则描绘碳环或杂环环的结构涵盖“Z”和“E”异构体两个。碳环或杂环周围的取代基也可以称为“顺式”或“反式”,其中术语“顺式”表示取代基在环平面的同一侧并且术语“反式”表示取代基在环平面的两侧。取代基安置在环平面的同一侧和两侧的化合物的混合物用“顺式/反式”表示。

[0162] 所公开的化合物的个别对映异构体和非对映异构体可以按合成方式由含有不对称或立体对称中心的市售起始物质制备,或通过制备外消旋混合物,随后通过所属领域普通技术人员众所周知的拆分方法来制备。这些拆分方法由以下示范:(1)将对映异构体的混合物与手性助剂连结,通过再结晶或色谱法分离非对映异构体的所得混合物并且从助剂释放光学纯产物,(2)采用光学活性拆分剂形成盐,(3)在手性液相色谱柱上直接分离光学对

映异构体的混合物或(4)使用立体选择性化学或酶促试剂进行动力学拆分。外消旋混合物还可以通过众所周知的方法(如手性相液相色谱或使化合物在手性溶剂中结晶)拆分成其组成对映异构体。立体选择性合成在所属领域中是众所周知的,这是一种在形成新立体异构中心期间或转换预先存在的立体异构中心期间由单一反应物形成立体异构体的不均衡混合物的化学反应或酶反应。立体选择性合成涵盖对映选择性和非对映选择性转换,并且可能涉及手性助剂的使用。举例来说,参看卡雷尔(Carreira)和卡维诺(Kvaerno),《经典立体选择性合成(Classics in Stereoselective Synthesis)》,威利出版社(Wiley-VCH):魏因海姆(Weinheim),2009。在描述或描绘特定化合物时,希望涵盖化学结构和所述结构的互变异构体。

[0163] 术语“对映异构纯”意思是化合物的立体异构纯组合物。举例来说,立体化学纯组合物是不含或基本上不含所述化合物的其它立体异构体的组合物。在另一实例中,对于具有一个手性中心的化合物,化合物的对映异构纯组合物不含或基本上不含其它对映异构体。在另一实例中,对于具有两个手性中心的化合物,对映异构纯组合物不含或基本上不含其它非对映异构体。

[0164] 在描述或描绘特定立体化学时,打算意指特定对映异构体相对于其它对映异构体过量存在。当与在具体位置处具有S构形的化合物相比过量存在时,化合物在所述位置处具有R构形。当与在具体位置处具有R构形的化合物相比过量存在时,化合物在所述位置处具有S构形。

[0165] 本文公开的化合物可以与药学上可接受的溶剂(如水、乙醇等)的溶剂化和非溶剂化形式存在,并且希望所公开的化合物包括溶剂化和非溶化形式两个。在一个实施例中,所公开的化合物是非晶形,或在另一实施例中,是单个多晶型物。在另一实施例中,所公开的化合物是多晶型物的混合物。在另一实施例中,所公开的化合物呈结晶形式。

[0166] 本文还涵盖同位素标记的化合物,其与本文列举的那些一致,但一个或多个原子置换成原子质量或质量数与自然界中一般存在的原子质量或质量数不同的原子。可以并入到本发明化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯的同位素,分别如²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F和³⁶Cl。举例来说,所公开的化合物的一个或多个H原子可以置换成氘。

[0167] 特定同位素标记的所公开的化合物(例如用³H和¹⁴C标记的那些)适用于化合物和/或底物组织分布分析法中。氘化(即³H)和碳-14(即¹⁴C)同位素因为其容易制备和可检测性而尤其优选。另外,用较重同位素(如氘(即²H))取代可以获得因较高代谢稳定性导致的特定治疗优势(例如体内半衰期延长或剂量需求降低)并且因此在一些情况下可能是优选的。同位素标记的化合物一般可以通过以下与本文实例中公开的那些程序类似的程序,通过用同位素标记的试剂取代非同位素标记的试剂来制备。

[0168] 在一些实施例中,所公开的化合物的一个或多个氮原子(如果存在)可以氧化成N-氧化物。

[0169] 用于制备本文所公开的化合物的代表性合成途径在实例部分中提供。如所属领域的技术人员将理解,可以使用柱色谱从反应混合物分离非对映异构体。

[0170] 所公开的化合物还可以使用文献中所述的方法制备,包括(但不限于)《药物化学杂志(J. Med. Chem.)》2011, 54(13), 4350-64;《俄罗斯有机化学杂志(Russian Journal of

Organic Chemistry)》,2011,47(8),1199-1203;美国专利申请公开第2009/0036451 A1号;W02008/046072 A2和美国专利第4,336,264号,其中每一个的内容以引用的方式明确并入本文中。

[0171] 如上文所论述,本文的一个实施例中涵盖一种提高受试者体内的CFTR活性的方法,包含授予有效量的所公开的化合物。本文还涵盖一种治疗患有与CFTR活性有关的病况的患者的方法,包含向所述患者投与有效量的本文所描述的化合物。

[0172] “治疗(Treating/treatment)”包括防止或延迟症状、并发症或疾病的生物化学标志发作、减轻或改善症状或阻止或抑制疾病、病况或病症进一步发展。“受试者”是打算治疗或需要治疗的动物。“患者”是需要治疗的人类受试者。

[0173] “有效量”指的是足以实现所需和/或所列举作用的试剂的量。在治疗方法的情形中,足以改善病症的一种或多种症状和/或预防病症进展的“有效量”的治疗剂引起病症消退和/或实现所需作用。

[0174] 术语“调节”涵盖增加、提高、抑制、降低、遏制等。术语“增加”和“提高”意思是通过直接或间接方式产生净增益。如本文所用,术语“抑制”和“降低”涵盖通过直接或间接方式产生净值降低。

[0175] 在一些实例中,当CFTR活性与不授予化合物时的CFTR活性相比有增加时,CFTR活性在授予本文所描述的化合物之后提高。CFTR活性涵盖例如CFTR的氯通道活性和/或其它离子传输活性(例如 HCO_3^- 传输)。在这些实施例中的一些中,一种或多种(例如一种或两种)突变CFTR(例如 Δ F508、S549N、G542X、G551D、R117H、N1303K、W1282X、R553X、621+1G>T、1717-1G>A、3849+10kbC>T、2789+5G>A、3120+1G>A、I507del、R1162X、1898+1G>A、3659delC、G85E、D1152H、R560T、R347P、2184insA、A455E、R334W、Q493X和2184delA CFTR)的活性提高(例如增加)。预期患者可以具有一个或多个类别的CFTR突变,如(但不限于)I类CFTR突变、II类CFTR突变、III类CFTR突变、IV类CFTR突变、V类CFTR突变和VI类突变。预期受试者(例如人类受试者)CFTR基因型包括(但不限于)同型合子突变(例如 Δ F508/ Δ F508和R117H/R117H)和混合异型合子突变(例如 Δ F508/G551D; Δ F508/A455E; Δ F508/G542X; Δ 508F/W1204X;R553X/W1316X;W1282X/N1303K;591 Δ 18/E831X;F508del/R117H/N1303K/3849+10kbC>T; Δ 303K/384;和DF508/G178R)。

[0176] 在某些实施例中,突变是I类突变,例如G542X;II/I类突变,例如 Δ F508/G542X混合异型接合突变。在其它实施例中,突变是III类突变,例如G551D;II类/III类突变,例如 Δ F508/G551D混合异型接合突变。在其它实施例中,突变是V类突变,例如A455E;II类/V类突变,例如 Δ F508/A455E混合异型接合突变。在CFTR基因的超过1000种已知突变中, Δ F508是最盛行的CFTR突变,其导致蛋白质错误折叠并且削弱从内质网到顶端膜的运输(多莫(Dormer)等人.(2001).《细胞科学杂志(J Cell Sci)》114,4073-4081;<http://www.genet.sickkids.on.ca/app>)。在某些实施例中, Δ F508 CFTR活性提高(例如增加)。在某些实施例中, Δ F508 CFTR活性和/或G542X CFTR活性和/或G551D CFTR活性和/或A455E CFTR活性提高(例如增加)。CFTR活性的提高可以例如使用文献描述的方法测量,包括(例如)尤斯室分析法(Ussing chamber assay)、膜片钳分析和hBE Ieq分析(戴沃(Devor)等人.(2000),《美国生理学杂志:细胞生理学(Am J Physiol Cell Physiol)》279(2):C461-79;多斯玛尼斯(Dousmanis)等人.(2002),《普通生理学杂志(J Gen Physiol)》119(6):

545-59; 布拉什 (Bruscia) 等人. (2005), 《美国国家科学院院刊 (PNAS) 》103 (8) : 2965-2971)。

[0177] 如上文所论述, 本发明还涵盖一种治疗囊性纤维化的方法。本文还提供治疗其它与CFTR活性有关的病况 (包括与CFTR活性缺乏有关的病况) 的方法, 包含投予有效量的所公开的化合物。

[0178] 举例来说, 本文提供一种处理与CFTR活性缺乏或降低有关的病况的方法, 包含投予提高CFTR活性的有效量的所公开的化合物。与CFTR活性缺乏有关的病况的非限制性实例是囊性纤维化、先天性双侧输精管缺失 (CBAVD)、急性、复发性或慢性胰脏炎、弥散性支气管扩张、哮喘、过敏性肺曲霉病、抽烟相关的肺病, 如慢性阻塞性肺病 (COPD)、慢性鼻窦炎、干眼病、蛋白C缺乏症、A- β -脂蛋白血症、溶酶体贮积病、1型乳糜微粒血症、轻度肺病、脂质代谢过程缺陷、1型遗传性血管性水肿、凝血纤维蛋白溶解、遗传性血色素沉着病、CFTR相关的代谢综合症、慢性支气管炎、便秘、胰脏功能障碍、遗传性肺气肿和休格连氏综合症。

[0179] 在一些实施例中, 所公开的治疗方法进一步包含投予其它治疗剂。举例来说, 在一个实施例中, 本文提供一种投予所公开的化合物和至少一种其它治疗剂的方法。在某些方面, 所公开的治疗方法包含投予所公开的化合物和至少两种其它治疗剂。其它治疗剂包括例如粘液溶解剂、支气管扩张剂、抗生素、抗感染剂、消炎剂、离子通道调节剂、用于基因疗法的治疗剂、CFTR校正剂和CFTR增效剂, 或调节CFTR活性的其它试剂。在一些实施例中, 至少一种其它治疗剂选自由以下各项组成的组: CFTR校正剂和CFTR增效剂。CFTR校正剂和增效剂的非限制性实例包括VX-770 (艾维卡福)、VX-809 (3- (6- (1- (2, 2-二氟苯并[d] [1, 3]间二氧杂环戊烯-5-基) 环丙烷甲酰胺基) -3-甲基吡啶-2-基) 苯甲酸、VX-661 (1- (2, 2-二氟-1, 3-苯并二氧杂环戊烯-5-基) -N-[1-[(2R)-2, 3-二羟基丙基]-6-氟-2- (2-羟基-1, 1-二甲基乙基) -1H-吡啶-5-基]-环丙烷甲酰胺基)、VX-983、VX-152、VX-440和Ataluren (PTC124) (3-[5- (2-氟苯基) -1, 2, 4-噁二唑-3-基] 苯甲酸)、FDL169、GLPG1837/ABBV-974 (例如CFTR增效剂)、GLPG 2665、GLPG2222 (例如CFTR校正剂); 和例如以引用的方式并入本文中的W02014/144860和2014/176553中所述的化合物。调节剂的非限制性实例包括QBW-251、QR-010、NB-124, 和例如W02014/045283、W02014/081821、W02014/081820、W02014/152213、W02014/160440、W02014/160478、US2014027933、W02014/0228376、W02013/038390、W02011/113894、W02013/038386和W02014/180562中所述的化合物, 其中那些公开中公开的调节剂预期是其它治疗剂并且以引用的方式并入。消炎剂的非限制性实例包括N6022 (3- (5- (4- (1H-咪唑-1-基) 苯基) -1- (4-氨基酰基-2-甲基苯基) -1H-吡咯-2-基) 丙酸)、CTX-4430、N1861、N1785和N91115。

[0180] 在一些实施例中, 本文所述的方法可以进一步包括投予其它治疗剂或投予至少两种其它CFTR治疗剂。在一些实施例中, 本文所述的方法可以进一步包括投予一种其它CFTR调节剂或投予至少两种其它CFTR调节剂。在某些实施例中, 至少一种CFTR调节剂是CFTR校正剂 (例如VX-809、VX-661、VX-983、VX-152、VX-440、GLPG2222和GLPG2665) 或增效剂 (例如艾维卡福、染料木素和GLPG1837)。在这些实施例中的一些中, 至少两种其它治疗剂中的一个CFTR校正剂 (例如VX-809、VX-661、VX-983、VX-152和VX-440) 并且另一个是CFTR增效剂 (例如艾维卡福和染料木素)。在这些实施例中的一些中, 至少两种其它治疗剂中的一个CFTR校正剂 (例如GLPG2222或GLPG2665) 并且另一个是CFTR增效剂 (例如GLPG1837)。在这些

实施例中的一些中,至少两种其它治疗剂中的一个CFTR校正剂(例如VX-809或VX-661)并且另一个是CFTR增效剂(例如艾维卡福)。在这些实施例中的一些中,至少一种CFTR调节剂是提高终止密码子的通读的试剂(例如NB124或ataluren)。

[0181] 因此,另一方面,本公开提供一种治疗与CFTR活性缺乏或降低有关的病况(例如囊性纤维化)的方法,包括向有需要的受试者(例如有需要的人类患者)授予有效量的所公开的化合物和至少一种或两种其它CFTR治疗剂(例如至少一种或两种其它CFTR治疗剂,例如其中至少一种或两种其它治疗剂中的一个任选地是CFTR校正剂或调节剂(例如VX-809、VX-661、VX-983、VX-152、VX-440、GLPG2222、GLPG2665、NB124、ataluren)和/或另一个是CFTR增效剂(例如艾维卡福、染料木素和GLPG1837);例如至少两种其它治疗剂中的一个GLPG2222或GLPG2665,并且另一个是GLPG1837;或至少两种其它治疗剂中的一个VX-809或VX-661,并且另一个是艾维卡福)。在某些实施例中,受试者的CFTR基因型包括(但不限于)一个或多个I类CFTR突变、一个或多个II类CFTR突变、一个或多个III类CFTR突变、一个或多个IV类CFTR突变或一个或多个V类CFTR突变,或一个或多个VI类CFTR突变。在某些实施例中,受试者的CFTR基因型包括(但不限于)一个或多个同型合子突变(例如 $\Delta F508/\Delta F508$ 或R117H/R117H)和/或一个或多个混合异型合子突变(例如 $\Delta F508/G551D$; $\Delta F508/A455E$; $\Delta F508/G542X$; $\Delta 508F/W1204X$; R553X/W1316X; W1282X/N1303K; F508del/R117H; N1303K/3849+10kbC>T; $\Delta F508/R334W$; DF508/G178R, 和591 $\Delta 18/E831X$)。在某些实施例中,受试者的CFTR基因型包括I类突变,例如G542X I类突变,例如 $\Delta F508/G542X$ 混合异型接合突变。在其它实施例中,受试者的CFTR基因型包括III类突变,例如G551D III类突变,例如 $\Delta F508/G551D$ 混合异型接合突变。在其它实施例中,受试者的CFTR基因型包括V类突变,例如A455E V类突变,例如 $\Delta F508/A455E$ 混合异型接合突变。在某些实施例中, $\Delta F508$ CFTR活性和/或G542X CFTR活性和/或G551D CFTR活性和/或A455E活性提高(例如增加)。在某些实施例中,所公开的化合物和一种或两种其它治疗剂的组合提供的活性提高(例如活性增加)在与各治疗组分个别地提供的活性提高相比较时,超过累加作用。

类别	对 CFTR 蛋白的作用	突变的实例
I	缩短蛋白质	W1282X: 代替插入氨基酸色氨酸 (W), 蛋白质序列提前终止 (由 X 表示)。
II	蛋白质不能到达细胞膜	$\Delta F508$: 苯丙氨酸氨基酸 (F) 缺失
III	通道不能正确调控	G551D: “错义”突变: 添加天冬氨酸 (D) 代替甘氨酸氨基酸 (G)
IV	氯传导率降低	R117H 错义
V	基因的不正确剪接引起的降低	3120+1G>A: 基因内含子 16 中的剪接位点突变
VI	蛋白质不稳定性引起的降低	N287Y: 991 处 A->T

[0182]

基因型	描述	可能症状
$\Delta 508F/\Delta 508F$	同型合子	严重肺病、胰脏功能不全
R117H/R117H	同型合子	先天性双侧输精管缺失, 无肺病或胰脏疾病,

[0183]

[0184]	WT/ Δ 508F	异型合子	不受影响
	WT/3120+1 G>A	异型合子	不受影响
	Δ 508F/W1204X	混合异型合子	无肺病、胰脏功能不全
	R553X 和 W1316X	混合异型合子	轻度肺病、胰脏功能不全
	591 Δ 18/E831X	混合异型合子	无肺病或胰脏疾病、鼻息肉

[0185] 举例来说,本文提供一种治疗具有以下CFTR基因突变(G1244E、G1349D、G178R、G551S、S1251N、S1255P、S549N、S549R、G970R或R117H)中的一个或多个的患者,和/或例如具有F508del突变的一个或两个拷贝或 Δ F508突变的一个拷贝和导致CFTR蛋白中的门控作用的第二突变的患者(例如是 Δ F508和G551D突变的异型接合的患者)、具有 Δ F508突变的一个拷贝和导致残余CFTR活性的第二突变的患者,或具有 Δ F508突变的一个拷贝和导致残余CFTR活性的第二突变的患者的方法,包含授予有效量的所公开的化合物。如本文所述,这类示范性方法(例如具有如上文所述的那些突变的一个或突变的患者)可以包括例如向这类患者授予组合疗法,例如向所述患者授予(同时或依序)有效量的艾维卡福和有效量的可以用作扩增剂的所公开的化合物。与单独艾维卡福授予相比,这类授予可能导致例如人类支气管上皮细胞(具有例如一个或两个突变拷贝(例如 Δ F508突变))中的氯传输增加。包括所公开的化合物的另一组合疗法还可以包括有效量的通读剂(例如ataluren、NB124)和作用量的可以用作扩增剂的所公开的化合物。

[0186] 如本文所用的短语“组合疗法”指的是向患者共授予所公开的化合物、CFTR增效剂(例如艾维卡福)和任选地一种或多种CFTR校正剂(例如VX-661和/或鲁玛卡托(lumacaftor)),作为打算从这些治疗剂的共同作用提供有益作用的特定治疗方案的部分的实施例。举例来说,组合的有益作用可以包括(但不限于)由治疗剂的组合产生的药物动力学或药效学共同作用。举例来说,与单独艾维卡福或CFTR校正剂(例如鲁玛卡托或VX-661)一起授予所公开的化合物可能导致与接收单独艾维卡福或接收艾维卡福和校正剂(鲁玛卡托或VX-661)的具有G551D突变的细胞或患者中的氯活性水平相比实现临床改良(或更好)的功能水平(例如具有 Δ F508突变的HBE细胞或患者中的氯活性所测量);或例如,与单独艾维卡福或与艾维卡福和CFTR校正剂(例如鲁玛卡托或VX-661)一起授予所公开的化合物可能导致与例如50%或更多野生型细胞的氯活性水平相比实现临床改良(或更好)的功能水平(例如具有A455E突变的HBE细胞或患者中的氯活性所测量);或向患者(例如具有G551D III类突变)授予所公开的化合物和艾维卡福时与授予单独艾维卡福相比可显示例如约两倍或更高的艾维卡福活性改良。通常经限定时间段(视所选组合而定通常一天、几天、几周、几个月或几年)组合授予所公开的治疗剂。组合疗法打算包涵以依序方式授予多种治疗剂,也就是说其中各治疗剂在不同时间授予,和以大体上同时的方式授予这些治疗剂或至少两种治疗剂。可以例如通过向受试者授予具有固定比率的各治疗剂的单独片剂或胶囊或授予针对每种治疗剂的多个单独胶囊来实现大体上同时授予。可以通过任何适当途径实现各治疗剂的依序或大体上同时授予,包括(但不限于)经口途径、吸入途径、静脉内途径、肌肉内途径和通过粘膜组织直接吸收。治疗剂可以通过相同途径或不同途径授予。举例来说,所选组合的第一治疗剂可以通过静脉内注射或吸入或喷雾器授予,而组合的其它治疗剂可以经口授予。或者,例如,全部治疗剂可以经口授予或全部治疗剂可以通过静脉内注射、吸入或雾化授予。

[0187] 组合疗法还可以包涵与其它生物活性成分和非药物疗法进一步组合授予如上文

所述的治疗剂。如果组合疗法进一步包含非药物治疗,那么非药物治疗可以在任何适合时间进行,只要能实现治疗剂和非药物治疗的组的共同作用产生的有益作用。举例来说,在适当情形中,当从治疗剂的授予暂时去除非药物治疗达一天、几天或甚至几周时仍然能获得有益作用。

[0188] 所公开组合的组分可以同时或依序向患者授予。应了解,组分可以存在于相同药学上可接受的载剂中,并且因此同时授予。或者,活性成分可以存在于同时授予或依序授予的独立医药载剂中,如常规口服剂型。

[0189] 另一方面,提供一种鉴别提高CFTR活性的候选试剂的方法,包括:(i)使表达CFTR蛋白的细胞与候选试剂和所公开的化合物接触;(ii)在候选试剂和所公开的化合物存在下测量细胞中的CFTR活性;和(iii)将所述CFTR活性与在无测试试剂存在下的CFTR活性比较,其中在测试试剂存在下的CFTR活性提高指示所述试剂提高CFTR活性。在某些实施例中,细胞表达突变CFTR蛋白。在某些实施例中,通过测量CFTR的氯通道活性和/或其它离子传输活性来测量CFTR活性。在这些实施例中的一些中,所述方法是高通量的。在这些实施例中的一些中,候选试剂是CFTR校正剂或CFTR增效剂。

[0190] 如本文所用的术语“药学上可接受的盐”指的是所公开的组合物中使用的所公开的化合物中可能存在的酸性或碱性基团的盐。本发明组合物中所包括的化合物是碱性化合物,能够与多种无机酸和有机酸形成各种盐。可以用于制备这类碱性化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸是形成无毒酸加成盐的那些酸,即含有药理学上可接受的阴离子的盐,包括(但不限于)苹果酸盐、乙二酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、丹宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、丁二酸盐、顺丁烯二酸盐、龙胆酸盐、反丁烯二酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、蔗糖盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐(即1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐))。本发明组合物中所包括的化合物是酸性化合物,能够与多种药理学上可接受的阳离子形成碱盐。这类盐的实例包括碱金属盐或碱土金属盐,具体来说钙、镁、钠、锂、锌、钾和铁盐。本发明组合物中所包括的包括碱性部分或酸性部分的化合物还可以与多种氨基酸形成药学上可接受的盐。本发明的化合物可以含有酸性基团和碱性基团;例如一个氨基和一个羧基。在这类情况下,化合物可以酸加成盐、两性离子或碱盐的形式存在。

[0191] 在一个实施例中,预期的方法可以包括例如授予本文所述的化合物的前药,例如式(Ia)、(IIa)、(Ib)、(IIb)、(III)或(IV)化合物或其药物组合物的前药。

[0192] 术语“前药”指的是体内转型产生所公开的化合物或化合物的药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物的化合物。转型可以通过多种机制(例如通过酯酶、酰胺酶、磷酸酶、氧化和或还原代谢)在多个位置(例如肠腔或在肠道、血液或肝脏的中间节点)发生。前药是所属领域中众所周知的(例如参看劳季奥(Rautio),昆普莱能(Kumpulainen)等人,《自然评论:药物发现(Nature Reviews Drug Discovery)》2008,7,255)。举例来说,如果本发明化合物或所述化合物的药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物含有羧酸官能团,那么前药可以包含通过将酸基团的氢原子置换成以下基团,如(C₁₋₈)烷基、(C₂₋₁₂)烷基羰氧基甲基、具有4到9个碳原子的1-(烷基羰氧基)乙基、具有5到10个碳原子的1-甲基-1-(烷基羰氧基)-乙基、具有3到6个碳原子的烷氧基羰氧基甲基、具有4到7个碳原子的1-(烷氧基羰氧基甲

基) 乙基、具有5到8个碳原子的1-甲基-1-(烷氧基羰氧基甲基) 乙基、具有3到9个碳原子的N-(烷氧基羰基) 氨基甲基、具有4到10个碳原子的1-(N-(烷氧基羰基) 氨基) 乙基、3-酞基、4-巴豆酸内酯基、 γ -丁内酯-4-基、二-N,N-(C₁₋₂) 烷基氨基-(C₂₋₃) 烷基(如 β -二甲基氨基乙基)、氨甲酰基-(C₁₋₂) 烷基、N,N-二(C₁₋₂) 烷基氨甲酰基-(C₁₋₂) 烷基和N-哌啶基-、N-吡咯烷基-或(N-吗啉基) (C₂₋₃) 烷基形成的酯。

[0193] 类似地,如果本发明的化合物含有醇官能团,那么前药可以通过将醇基的氢原子置换成以下基团,如(C₁₋₆) 烷基羰氧基甲基、1-((C₁₋₆) 烷基羰氧基) 乙基、1-甲基-1-((C₁₋₆) 烷基羰氧基) 乙基(C₁₋₆) 烷氧基羰氧基) 甲基、N-(C₁₋₆) 烷氧基羰基氨基甲基、丁二酞基、(C₁₋₆) 烷基羰基、 α -氨基(C₁₋₄) 烷基羰基、芳基烷基羰基和 α -氨基烷基羰基,或 α -氨基烷基羰基- α -氨基烷基羰基来形成,其中各 α -氨基烷基羰基独立地选自天然存在的L-氨基酸、P(O)(OH)₂、-P(O)(O(C₁₋₆) 烷基)₂或糖基(从半缩醛形式的碳水化合物去除羟基产生的基团)。

[0194] 如果本发明的化合物并入有胺官能团,那么前药可以例如通过形成酰胺或氨基甲酸酯、N-烷基羰氧基烷基衍生物、(氧代间二氧杂环戊烯基) 甲基衍生物、N-曼尼希碱、亚胺或烯胺来形成。另外,仲胺可以代谢地裂解产生生物活性伯胺,或叔胺可以代谢地裂解产生生物活性伯胺和仲胺。举例来说,参看辛普利科(Simplício)等人,《分子(Molecules)》2008,13,519和其中的参考文献。

[0195] 在某些实施例中还预期使用本文所述的化合物的包合物、包含所述包合物的药物组合物和所述包合物的使用方法。本文还涵盖所公开的化合物或其药物组合物的包合物。

[0196] 如上文所述,本发明还涵盖授予包含药学上可接受的载剂或赋形剂和本文所描述的化合物的药物组合物。所公开的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物、包合物或前药可以在包含药学上可接受的载剂或赋形剂的药物组合物中授予。赋形剂可以基于治疗应用中组合物的预期授予途径进行选择。组合物的授予途径取决于打算治疗的病况。举例来说,静脉内注射对于全身性病况的治疗是优选的并且经口授予对于治疗胃肠病况是优选的。所属领域的技术人员无需过度实验结合标准剂量反应研究可以判断打算授予的组合物的授予途径和剂量。作出那些决定时要考虑的相关环境包括打算治疗的病况、打算授予的组合物的选择、个别患者的年龄、体重和反应,和患者症状的严重程度。包含所公开的化合物或药学上可接受的盐、溶剂合物、包合物或前药的药物组合物可以通过多种途径授予,包括(但不限于)肠胃外、经口、经肺、经眼、经鼻、经直肠、经阴道、经耳、局部、经颊、经皮、静脉内、肌肉内、皮下、皮内、眼内、脑内、淋巴管内、关节内、鞘内和腹膜内。组合物还可以取决于所需调配物而包括药学上可接受的无毒载剂或稀释剂,其定义为通常用以调配用于动物或人类授予的药物组合物的媒剂。选择不会影响药理学试剂或组合物的生物活性的稀释剂。这类稀释剂的实例是蒸馏水、生理学磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)、右旋糖溶液和汉克氏溶液(Hank's solution)。另外,药物组合物或调配物还可以包括其它载剂、佐剂或无毒性、非治疗性、非免疫原性稳定剂等。药物组合物还可以包括大型缓慢代谢的大分子,如蛋白质、多糖,如壳聚糖、聚乳酸、聚乙醇酸和共聚物(如乳胶官能化SEPHAROSE™、琼脂糖、纤维素等)、聚合氨基酸、氨基酸共聚物和脂质聚集体(如油滴或脂质体)。

[0197] 所公开的组合物可以肠胃外授予,例如通过静脉内、肌肉内、鞘内或皮下注射授予。肠胃外授予可以通过向溶液或悬浮液中并入组合物来实现。这类溶液或悬浮液还可以

包括无菌稀释剂,如注射用水、生理食盐水溶液、不挥发性油、聚乙二醇、丙三醇、丙二醇或其它合成溶剂。肠胃外调配物还可以包括抗菌剂,如苯甲醇或对羟苯甲酸甲酯、抗氧化剂,如抗坏血酸或亚硫酸氢钠,和螯合剂,如EDTA。还可以添加缓冲剂,如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,和调整张力的试剂,如氯化钠或右旋糖。可以将肠胃外制剂密封在由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0198] 另外,组合物中可以存在如湿润剂或乳化剂的辅助物质、表面活性剂、pH缓冲物质等。药物组合物的其它组分是石油、动物、植物或合成来源的那些组分,例如花生油、大豆油和矿物油。一般来说,如丙二醇或聚乙二醇的二醇是优选的液体载剂,对于可注射溶液来说尤其如此。

[0199] 可注射调配物可以制备成液体溶液或悬浮液;也可以制备成适于在注射之前溶解或悬浮于液体媒剂中的固体形式。如上文所论述,制剂也可以在如聚丙交酯、聚乙交酯或共聚物的脂质体或微粒中乳化或包封来提高辅助作用[兰格(Langer),《科学(Science)》249:1527,1990和汉斯(Hanes),《先进药物输送评论(Advanced Drug Delivery Reviews)》28:97-119,1997]。本文所述的组合物和药理学试剂能够以积存注射或植入式制剂的形式投予,它们能够以允许活性成分持续或脉冲式释放的方式调配。

[0200] 适于其它投予模式的其它调配物包括经口、鼻内和经肺调配物、栓剂、经皮应用和经眼传递。对于栓剂来说,粘合剂和载剂包括例如聚烷二醇或三酸甘油酯;这类栓剂可以由含有约0.5%到约10%,优选地约1%到约2%范围内的活性成分的混合物形成。经口调配物包括赋形剂,如药物级甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素和碳酸镁。局部应用可导致经皮或皮内传递。经皮传递可以使用皮肤贴或使用传递体实现。[保罗(Paul)等人,《欧洲免疫学杂志(Eur. J. Immunol.)》25:3521-24,1995;赛维(Cevc)等人,《生物化学与生物物理学报(Biochem. Biophys. Acta)》1368:201-15,1998]。

[0201] 对于经口治疗性投予,可以将药物组合物与赋形剂组合并且以片剂、糖衣片、胶囊、酞剂、悬浮液、糖浆、粉片、口香糖等形式使用。片剂、丸剂、胶囊、糖衣片等还可以含有粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、助流剂、甜味剂和调味剂。粘合剂的一些实例包括微晶纤维素、黄芪胶或明胶。赋形剂的实例包括淀粉或乳糖。崩解剂的一些实例包括海藻酸、玉米淀粉等。润滑剂的实例包括硬脂酸镁或硬脂酸钾。助流剂的实例是胶态二氧化硅。甜味剂的一些实例包括蔗糖、糖精等。调味剂的实例包括胡椒薄荷、水杨酸甲酯、橙调味剂等。用于制备这些各种组合物的材料应该是药学上纯净的并且在所用量时无毒性。在另一实施例中,组合物以片剂或胶囊形式投予。

[0202] 多种其它材料可以涂层形式存在或用来调节剂量单元的物理形式。举例来说,片剂可以经虫胶、糖或两者包覆。除了活性成分之外,糖浆或酞剂可以含有作为甜味剂的蔗糖、作为防腐剂的羟苯甲酸甲酯和羟苯甲酸丙酯、染料和如樱桃或橙风味的调味剂等。对于经阴道投予,药物组合物可以呈子宫托、棉塞、乳霜、凝胶、糊状物、发泡体或喷雾形式。

[0203] 药物组合物还可以通过经鼻投予来投予。如本文所用,经鼻投予或鼻部投予包括向患者的鼻孔或鼻腔的粘膜投予组合物。如本文所用,用于鼻部投予组合物的药物组合物包括治疗有效量的化合物,所述化合物通过众所周知的方法制备成例如以鼻喷雾、鼻滴剂、悬浮液、凝胶、软膏、乳霜或粉末形式投予。还可以使用鼻棉塞或鼻海绵投予组合物。

[0204] 对于局部投予,适合调配物可以包括生物相容性油状物、蜡、凝胶、粉末、聚合物或其它液体或固体载剂。这类调配物可以通过直接向受影响的组织施用来投予,例如治疗结膜组织感染的液体调配物可以逐滴投予至受试者的眼睛,或者乳霜调配物可以投予至皮肤。

[0205] 直肠投予包括向直肠或大肠中投予药物组合物。这可以使用栓剂或灌肠剂实现。栓剂调配物容易通过所属领域中已知的方法制备。举例来说,栓剂调配物可以通过以下方式制备:将甘油加热到约120℃,将药物组合物溶解于甘油中,混合已经加热的甘油,随后可以添加纯水,并且将热混合物倒入至栓剂模具中。

[0206] 经皮投予包括通过皮肤经皮吸收组合物。经皮调配物包括贴片、软膏、乳霜、凝胶、油膏等。

[0207] 除了向主要功能是与外部环境进行气体交换的任何部位、组织或器官投予本文所述的调配物的常见含义之外,出于本发明的目的,“肺”还将意味着包括与呼吸道,具体来说鼻窦,连接的组织或空腔。对于经肺投予,涵盖含有活性剂的气雾调配物、手动泵喷雾、喷雾器或加压定量吸入器和干粉调配物。这种类型的适合调配物还可以包括如抗静电剂的其它试剂,来维持所公开的化合物呈有效气雾剂形式。

[0208] 用于传递气雾剂的药物传递装置包含含有如所描述的药物气雾剂调配物的具有计量阀的适合气雾剂罐,和适于容纳所述罐并且允许药物传递的启动器外壳。药物传递装置中的罐具有超过约15%罐总体积的顶部空间。通常,将打算用于经肺投予的化合物在溶剂、表面活性剂和推进剂的混合物中溶解、悬浮或乳化。混合物加压保持于用计量阀密封的罐中。

[0209] 本公开还涵盖与受试者的蛋白质动态平衡功能障碍有关的病况的治疗,其包含向所述受试者投予有效量的所公开的化合物来提高、改良或回复蛋白质的蛋白质动态平衡。蛋白质动态平衡指的是蛋白质稳态。蛋白质稳态功能障碍是蛋白质错误折叠、蛋白质聚集、有缺陷的蛋白质运输或蛋白质降解的结果。举例来说,本公开涵盖投予矫正蛋白质错误折叠、减少蛋白质聚集、矫正或恢复蛋白质运输和/或影响蛋白质降解的所公开的化合物,例如式(Ia)、(IIa)、(Ib)、(IIb)、(III)或(IV),来治疗与蛋白质动态平衡功能障碍有关的病况。一些方面,投予矫正蛋白质错误折叠和/或矫正或恢复蛋白质运输的所公开的化合物,例如式(Ia)、(IIa)、(Ib)、(IIb)、(III)或(IV)。在囊性纤维化中,突变型或缺陷型酶是囊性纤维化跨膜传导调控因子(CFTR)。这种蛋白质的最常见突变中的一个 $\Delta F508$,它是导致蛋白质上的第508(508)位置处氨基酸苯丙氨酸(F)损失的三个核苷酸缺失(Δ)。如上文所述,突变型囊性纤维化跨膜传导调控因子以错误折叠的状态存在并且特征在于与野生型CFTR相比运输发生改变。可能有蛋白质动态平衡功能障碍,例如可能以错误折叠的状态存在的其它示范性蛋白质包括(但不限于)葡糖脑苷脂酶、己糖胺A、天冬氨酰葡糖胺酶、 α -半乳糖苷酶A、半胱氨酸转运体、酸性谷物酶(acid ceramidase)、酸性 α -L-海藻糖苷、保护性蛋白质、组织蛋白酶A、酸性 β -葡糖苷酶、酸性 β -半乳糖苷酶、艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶、 α -L-艾杜糖醛酸酶、半乳糖脑苷脂酶、酸性 α -甘露糖苷酶、酸性 β -甘露糖苷酶、芳基硫酸酯酶B、芳基硫酸酯酶A、N-乙酰基半乳糖胺-6-硫酸酯硫酸酯酶、酸性 β -半乳糖苷酶、N-乙酰基葡糖胺-1-磷酸转移酶、酸性鞘磷脂酶、NPC-1、酸性 α -葡糖苷酶、 β -己糖胺B、肝素N-硫酸酯酶、 α -N-乙酰葡糖胺糖苷酶、 α -氨基葡糖苷N-乙酰基转移酶、N-乙酰基葡糖胺-6-硫酸酯硫酸酯

酶、 α -N-乙酰基半乳糖胺酶、 α -神经醇胺酶、 β -葡萄糖苷酸酶、 β -己糖胺A和酸性脂肪酶、聚谷氨酰胺、 α -突触核蛋白、TDP-43、超氧化歧化酶(SOD)、 $\text{A}\beta$ 肽、 τ 蛋白、甲状腺素运载蛋白和胰岛素。式(Ia)、(IIa)、(Ib)、(IIb)、(III)或(IV)的化合物可以用于恢复上文所述的蛋白质的蛋白质动态平衡(例如矫正折叠和/或改变运输)。

[0210] 蛋白质构形疾病涵盖功能获得病症和功能缺失病症。在一个实施例中,蛋白质构形疾病是功能获得病症。术语“功能获得病症”、“功能获得疾病”、“毒性功能获得病症”和“毒性功能获得疾病”在本文中可互换地使用。功能获得病症是特征为聚集相关的蛋白质毒性增加的疾病。在这些疾病中,聚集超过了细胞内部和/或外部的清除率。功能获得疾病包括(但不限于)与聚谷氨酰胺聚集有关的神经退化性疾病、路易体疾病(Lewy body disease)、肌萎缩性侧索硬化、甲状腺素运载蛋白相关的聚集疾病、阿兹海默氏病(Alzheimer's disease)、马查多-约瑟夫病(Machado-Joseph disease)、大脑B-淀粉样血管病变、视网膜神经节细胞退化、 τ 蛋白病变(进行性核上麻痹、皮质基底核退化症、额颞叶退化症)、伴随淀粉样变性的脑出血、亚历山大病(Alexander disease)、丝氨酸蛋白酶抑制剂病变、家族性淀粉样变性神经病变、老年性全身性淀粉样变性、ApoAI淀粉样变性、ApoAII淀粉样变性、ApoAIV淀粉样变性、芬兰型家族性淀粉样变性、溶菌酶淀粉样变性、血纤维蛋白原淀粉样变性、透析性淀粉样变性、包涵体肌炎/肌病变、白内障、甲状腺髓样癌、心房淀粉样变性、垂体泌乳素瘤、遗传性格子状角膜变性、皮肤苔藓样淀粉样变性、角膜乳铁蛋白淀粉样变性、角膜乳铁蛋白淀粉样变性、肺泡蛋白沉积症、牙源性淀粉样瘤、精囊淀粉样、镰状细胞病、危重病肌病变、希佩尔-林道病(von Hippel-Lindau disease)、1型脊髓小脑共济失调、安格尔曼综合症(Angelman syndrome)、巨轴索神经病变、伴随佩吉特氏骨病的包涵体肌病变(inclusion body myopathy with Paget disease of bone)、额颞叶型痴呆(IBMPFD)和朊病毒病。与聚谷氨酰胺聚集有关的神经退化性疾病包括(但不限于)亨廷顿氏病、齿状核红核苍白球路易体萎缩、几种形式的脊髓小脑性共济失调和脊髓延髓肌肉萎缩。阿兹海默氏病的特征在于形成两种类型的聚集物: $\text{A}\beta$ 肽的胞外聚集物和微管相关 τ 蛋白的胞内聚集物。甲状腺素运载蛋白相关的聚集疾病包括例如老年性全身性淀粉样变性和家族性淀粉样变性神经病变。路易体疾病的特征为 α -突触核蛋白聚集并且包括例如帕金森氏病、路易体性痴呆(LBD)和多发性系统萎缩症(SMA)。朊病毒病(也称为可传播性海绵状脑病或TSE)特征为朊病毒蛋白聚集。示范性人类朊病毒病是克雅氏病(CJD)、变异型克雅氏病、格斯曼-斯托斯勒-谢恩克尔综合症(Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome)、致命性家族性失眠症和库鲁病(Kuru)。在另一实施例中,错误折叠蛋白质是 α -1抗胰蛋白酶。

[0211] 在另一实施例中,蛋白质构形疾病是功能缺失病症。术语“功能缺失疾病”和“功能缺失病症”在本文中可互换地使用。功能缺失疾病是特征为蛋白质低效折叠导致蛋白质过度降解的疾病群组。功能缺失疾病包括例如溶酶体贮积病。溶酶体贮积病是特征为特异性溶酶体酶缺乏的疾病群组,其可存在于多个组织中,导致通常由于缺乏酶退化的分子的积累。溶酶体酶缺乏可以在溶酶体运输中涉及的溶酶体水解酶或蛋白质中发生。溶酶体贮积病包括(但不限于)天冬氨酰葡萄糖胺尿症、费勃莱氏病(Fabry's disease)、巴滕病(Batten disease)、胱氨酸症、法伯病(Farber)、海藻糖苷贮积症、半乳糖唾液酸苷贮积症(Galactasidosialidosis)、高雪氏病(Gaucher's disease)(包括1、2和3型)、Gm1神经节苷脂贮积病、亨特氏病(Hunter's disease)、胡-舍二氏病(Hurler-Scheie's disease)、克拉

贝病 (Krabbe's disease)、 α -甘露糖苷贮积症、 β -甘露糖苷贮积症、马-拉二氏病 (Maroteaux-Lamy's disease)、异染性脑白质营养不良、莫尔丘A综合症 (Morquio A syndrome)、莫尔丘B综合症、粘脂贮积症II、粘脂贮积症III、尼曼-匹克病 (Neimann-Pick Disease) (包括A型、B型和C型)、庞贝氏病 (Pompe's disease)、山多夫氏病 (Sandhoff disease)、沙费利波综合症 (Sanfilippo syndrome) (包括A型、B型、C型和D型)、辛德勒病 (Schindler disease)、辛德勒-坎扎齐病 (Schindler-Kanzaki disease)、唾液酸贮积症、斯赖综合症 (Sly syndrome)、泰萨二氏病 (Tay-Sach's disease) 和沃尔曼氏病 (Wolman disease)。

[0212] 在另一实施例中,与蛋白质动态平衡功能障碍有关的疾病是心血管疾病。心血管疾病包括(但不限于)冠状动脉疾病、心肌梗塞、中风、再狭窄和动脉硬化。与蛋白质动态平衡功能障碍有关的病况还包括局部缺血性病况,如缺血性/再灌注性损伤、心肌缺血、稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛、中风、局部缺血性心脏病和大脑缺血。

[0213] 在另一实施例中,涵盖与蛋白质动态平衡功能障碍有关的疾病的治疗,所述疾病是糖尿病和/或糖尿病并发症,包括(但不限于)糖尿病性视网膜病变、心肌病变、神经病变、肾病变和伤口愈合受损。

[0214] 在另一实施例中,涵盖与蛋白质动态平衡功能障碍有关的疾病的治疗,所述疾病是眼病,包括(但不限于)年龄相关性黄斑变性 (AMD)、糖尿病性黄斑水肿 (DME)、糖尿病性视网膜病变、青光眼、白内障、色素性视网膜炎 (RP) 和干性黄斑变性。

[0215] 在其它实施例中,所公开的方法针对与蛋白质动态平衡功能障碍有关的疾病的治疗,其中所述疾病影响呼吸系统或胰脏。在某些其它实施例中,预期方法涵盖选自由以下各项组成的组的病况的治疗:多内分泌腺病/高胰岛素血症、糖尿病、腓骨肌萎缩症 (Charcot-Marie Tooth syndrome)、佩梅病 (Pelizaeus-Merzbacher disease) 和哥尔罕综合症 (Gorham's Syndrome)。

[0216] 与蛋白质动态平衡功能障碍有关的其它病况包括血红素病、发炎疾病、中间丝疾病、药物诱发性肺损伤和听力损失。举例来说,本文提供治疗以下疾病的方法:血红素病(如镰状细胞贫血)、发炎性疾病(如发炎性肠病、结肠炎、强直性脊柱炎)、中间丝疾病(如非酒精性和酒精性脂肪性肝病)和药物诱发的肺损伤(如甲胺喋呤诱发的肺损伤)。在另一实施例中,提供治疗听力损失(如噪音诱发的听力损失、氨基糖苷类诱发的听力损失和顺铂诱发的听力损失)的方法,其包含投予所公开的化合物。

[0217] 其它病况包括与蛋白质运输缺陷有关并且可以根据所公开的方法治疗的那些病况,包括:PGP突变、hERG运输突变、精氨酸血管加压素受体2中的肾性尿崩症突变、磺酰脲受体1中的婴幼儿持续性高胰岛素血症性低血糖症 (PHH1) 突变和 α 1AT。

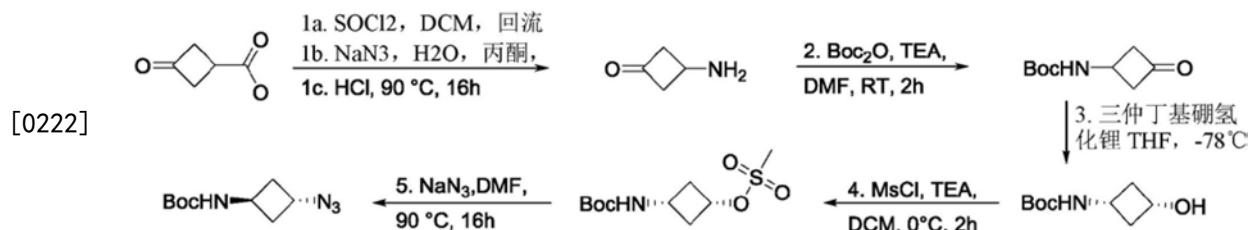
[0218] 本发明是通过以下实例绘示的,所述实例不打算以任何方式是限制性的。

[0219] 范例

[0220] 本文所述的化合物可以基于本文所含的传授内容和所属领域中已知的合成程序以许多方式制备。除非另外指示,否则在下文所述的合成方法的描述中,应理解所提议的全部反应条件(包括溶剂选择、反应气氛、反应温度、实验和处理程序的持续时间)可以根据所述反应的条件标准选择。有机合成领域的技术人员应理解,多个分子部分上存在的官能团应与所提议的试剂和反应相容。所属领域技术人员将显而易见与反应条件不相容的取代

基,并且因此指出替代方法。用于实例的起始物质可以在市面上购得或容易根据标准方法从已知材料制备。本文识别为“中间物”的至少一些化合物预期为本发明化合物。

[0221] 制备(反-3-叠氮基环丁基)氨基甲酸叔丁酯



[0223] 步骤1:3-氨基-环丁烷-1-酮:将 SOCl_2 (15.6g, 131.46mmol) 添加到3-氧代环丁烷甲酸 (5.0g, 43.82mmol) 于无水DCM (30mL) 中的冰冷却的溶液中并且使反应混合物回流3小时。将反应混合物冷却到室温并且减压去除挥发物获得粗化合物, 将其与甲苯 (20mL \times 2) 共沸蒸馏去除酸性痕量物质。将粗化合物溶解于无水丙酮 (15mL) 中并且在 0°C 下经30分钟向所得溶液添加 NaN_3 (5.69g, 87.64mmol) 于水 (20mL) 中的溶液。在 0°C 下搅拌反应混合物1小时, 并且向反应混合物中添加碎冰。水相用乙醚 (3 \times 50mL) 萃取, 经硫酸钠干燥并且浓缩至约1/4体积。接着, 将反应混合物添加到甲苯 (70mL) 中并且加热到 90°C , 直到停止逸出 N_2 (约30分钟)。在 0°C 下向所得反应混合物添加20% HCl (50mL), 并且将反应混合物温和地加热到 90°C 持续16小时。分离有机层并且用水 (50mL) 洗涤。真空浓缩水层获得呈褐色固体状的产物 (5g, 粗产物)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.75 (br, 3H), 3.92-3.86 (被溶剂信号遮蔽的m, 2H), 3.38-3.31 (m, 3H)。

[0224] 步骤2:(3-氧代环丁基)氨基甲酸叔丁酯:将TEA (29.72g, 293.73mmol) 逐滴添加到3-氨基环丁烷-1-酮 (5.0g, 58.74mmol) 和 Boc_2O (25.64g, 117.49mmol) 于DMF (80mL) 中的溶液中, 并且在室温下搅拌反应混合物2小时。TLC指示起始物质完全消耗之后, 反应混合物用水 (100mL) 稀释并且用乙醚 (6 \times 70mL) 萃取。合并的有机层用盐水 (2 \times 100mL) 洗涤并且经 Na_2SO_4 干燥。减压去除溶剂获得粗化合物, 其通过硅胶 (100-200) 柱色谱使用含30%乙酸乙酯的正己烷纯化获得呈灰白色固体状的产物 (5.3g, 两个步骤之后65%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 4.91 (br, 1H), 4.25 (br, 1H), 3.41-3.34 (m, 2H), 3.07-3.00 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)。

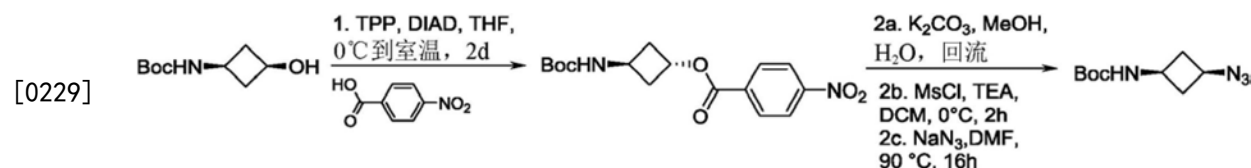
[0225] 步骤3:顺-3-羟基环丁基)氨基甲酸叔丁酯:在 N_2 气氛下, 在 -78°C 下, 经20分钟时间段将三仲丁基硼氢化锂溶液 (THF中的1M溶液) (8.053mL, 8.05mmol) 逐滴添加到(3-氧代环丁基)氨基甲酸叔丁酯 (1.0g, 5.40mmol) 于THF (25mL) 中的溶液中, 并且在 -78°C 下搅拌反应混合物1小时。经10分钟时间段向所得反应混合物添加 NaOH (3.25g) 于水 (4mL) 中的溶液, 随后经20分钟时间段添加30% H_2O_2 水溶液 (3mL)。使反应混合物升温至室温并且用乙酸乙酯 (100mL) 稀释。分离有机层并且用10% Na_2SO_3 水溶液 (40mL), 随后盐水 (40mL) 洗涤。有机层经 Na_2SO_4 干燥且减压浓缩获得粗化合物, 其通过中性氧化铝柱色谱使用含50%乙酸乙酯的正己烷作为洗脱剂进一步纯化, 获得所需化合物。化合物用正己烷洗涤获得呈白色固体状的产物 (0.750g, 74%)。熔点 119°C (文献值 117°C); $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 4.63 (br, 1H), 4.03-3.96 (m, 1H), 3.66-3.64 (m, 1H), 2.76-2.72 (m, 2H), 1.91 (br, 1H), 1.79-1.76 (m, 2H), 1.42 (s, 9H)。

[0226] 步骤4:顺-甲磺酸3-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁酯:将三乙胺 (1.0g, 9.93mmol) 添加到(顺-3-羟基环丁基)氨基甲酸叔丁酯 (0.62g, 3.31mmol) 于DCM (30mL) 中的冷 (-10°C) 溶

液,随后逐滴添加甲磺酰氯(0.45g,3.97mmol),并且在-10℃下搅拌反应混合物2小时。反应混合物用DCM(100mL)稀释并且用水(5mL),随后用稀柠檬酸(30mL)和盐水(30mL)洗涤。有机层经 Na_2SO_4 干燥,减压浓缩获得呈白色固体状的产物(0.800g,粗产物),其未经进一步纯化即原样用于下一步骤中。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 4.73-4.66(m,2H),3.85-3.80(m,1H),2.98(s,3H),2.93-2.86(m,2H),2.20-2.13(m,2H),1.42(s,9H)。

[0227] 步骤5:(反-3-叠氨基环丁基)氨基甲酸叔丁酯:将 NaN_3 (0.49g,7.54mmol)添加到甲磺酸顺-3-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁酯(0.8g,3.01mmol)于无水DMF(20mL)中的溶液中并且在85℃下加热混合物16小时。反应混合物用水(40mL)稀释并且用乙酸乙酯(50mL \times 3)萃取水相。合并的有机层用盐水(50mL \times 4)洗涤并且经 Na_2SO_4 干燥。减压去除溶剂获得呈灰白色固体状的粗产物(0.73g)。

[0228] 制备(顺-3-叠氨基环丁基)氨基甲酸叔丁酯



[0230] 步骤1:反-4-硝基苯甲酸3-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁酯:向(顺-3-羟基环丁基)氨基甲酸叔丁酯(1.5g,80.11mmol)和4-硝基苯甲酸(1.47g,88.12mmol)于无水THF(60mL)中的冰冷却溶液中添加三苯膦(3.15g,12.01mmol),随后逐滴添加DIAD(8.09g,40.05mmol),并且在室温下搅拌反应混合物2天。减压去除溶剂获得粗化合物,其通过硅胶(100-200目)柱色谱纯化。用含50%乙酸乙酯的正己烷洗脱,随后用乙醚(4mL \times 2)洗涤获得呈白色固体状的产物(2.3g,85%)。 ^1H -NMR(400MHz, CDCl_3) δ 8.29-8.27(q,2H, $J=8.92\text{Hz}$),8.21-8.19(q,2H, $J=8.92\text{Hz}$),5.37-5.32(m,1H),4.77(br,1H),4.41-4.38(m,1H),2.64-2.58(m,2H),2.47-2.40(m,2H),1.44(s,9H);LC-MS(ES,M/Z): $[\text{M}+\text{H}]^+=336.8$ 。

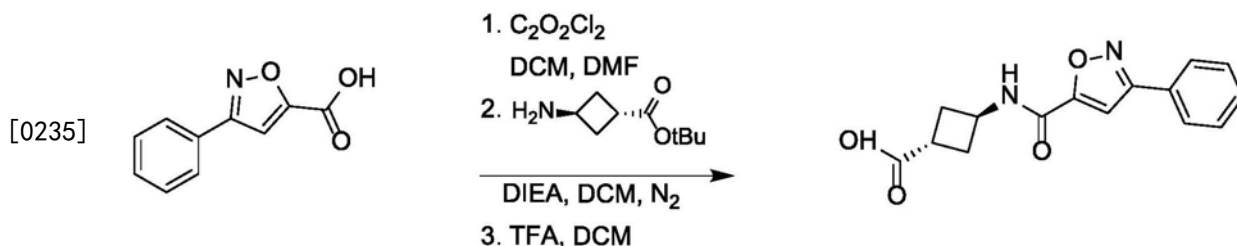
[0231] 步骤2a:反-3-羟基环丁基氨基甲酸叔丁酯:将反-4-硝基苯甲酸3-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁酯(2.3g,68.38mmol)添加到 K_2CO_3 (1.41g,10.25mmol)于MeOH(50mL)和水(10mL)中的悬浮液中并且在回流下加热反应混合物2小时。冷却反应混合物并且经硅藻土床过滤。减压浓缩滤液获得呈灰白色固体状的粗产物(4.2g,粗产物),其未经进一步纯化即原样使用。

[0232] 步骤2b:反-甲磺酸3-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁酯:在-10℃下,将三乙胺(6.8g,67.29mmol)添加到反-氨基甲酸叔丁基-3-羟基环丁酯(4.2g,22.43mmol)于DCM(100mL)中的悬浮液中,随后逐滴添加甲磺酰氯(3.08g,26.91mmol)并且在-10℃下搅拌反应混合物2小时。反应混合物用DCM(100mL)稀释且用水(50mL),随后盐水(30mL)洗涤。有机层经硫酸钠干燥且减压浓缩获得呈黄色固体状的粗产物(3.4g,粗产物),其未经纯化即原样用于下一步骤。

[0233] 步骤2c:顺-(3-叠氨基环丁基)氨基甲酸叔丁酯:在室温下,将叠氮化钠(2.08g,32.035mmol)添加到反-甲磺酸3-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁酯(3.4g,12.81mmol)于无水DMF(20mL)中的溶液中,并且在85℃下加热反应混合物16小时。粗反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(50mL \times 3)萃取水相。合并的有机层用盐水(50mL \times 4)洗涤并且经 Na_2SO_4 干燥。减压去除溶剂获得粗化合物,其通过中性氧化铝柱色谱使用含10%MeOH的DCM作为洗

脱剂纯化获得呈白色固体状的产物(1.0g,两个步骤之后68%)。¹H NMR (400MHz,CDCl₃) δ 4.66 (br,1H), 3.86-3.84 (m,1H), 3.57-3.53 (m,1H), 2.76-2.69 (m,2H), 1.92-1.85 (m,2H), 1.42 (s,9H)。

[0234] 制备反-3-(3-苯基异噁唑-5-甲酰胺基)环丁烷-1-甲酸

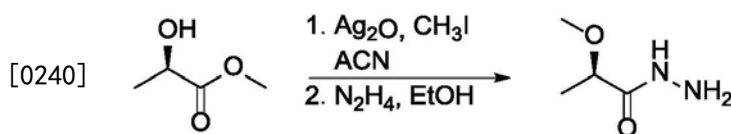


[0236] 步骤1:3-苯基异噁唑-5-羰基氯:将DMF(0.5mL)添加到3-苯基异噁唑-5-甲酸(10g,52.86mmol,1.00当量)和乙二酰氯(8.74g,68.86mmol,1.30当量)于二氯甲烷(200mL)中的溶液中并且在0℃下搅拌溶液1小时。真空浓缩所得混合物获得11.265g(粗产物)呈黄色固体状的3-苯基异噁唑-5-羰基氯。

[0237] 步骤2:3-反-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸叔丁酯:在N₂下,将3-苯基异噁唑-5-羰基氯(8.21g,39.54mmol,1.50当量)于二氯甲烷(60mL)中的溶液逐滴添加到3-反-氨基环丁烷-1-甲酸叔丁酯(4.5g,26.28mmol,1.00当量)和DIEA(6.79g,52.54mmol,2.00当量)于二氯甲烷(30mL)中的溶液中。在0℃下搅拌所得溶液2小时,接着用100mL 5% K₂CO₃水溶液淬灭。所得溶液用二氯甲烷萃取并且合并有机层,干燥且真空浓缩获得9.7g(粗产物)呈淡黄色固体状的3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸叔丁酯。LC-MS (ES,m/z):[M+1]⁺=343.1。

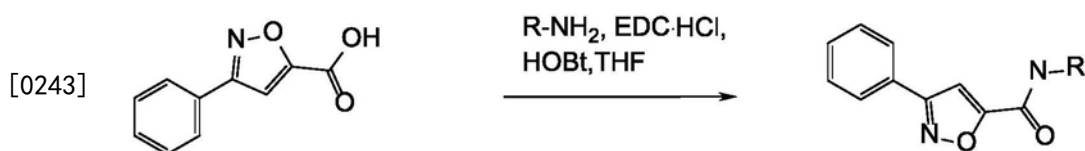
[0238] 步骤3:-3-反-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸:在室温下搅拌3-反-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸叔丁酯(9.7g,28.33mmol,1.00当量)和三氟乙酸(30mL)于二氯甲烷(100mL)中的溶液6小时。真空浓缩所得混合物,溶解于20mL甲苯中并且通过过滤收集固体获得5.116g(63%)呈淡黄色固体状的3-反-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸。LC-MS (ES,m/z):[M+1]⁺=287.0。

[0239] 制备(R)-2-甲氧基丙酰胺



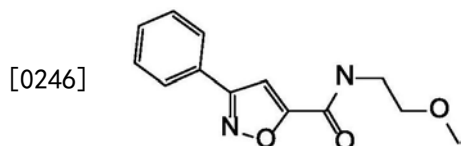
[0241] 步骤1:(2R)-2-甲氧基丙酸甲酯:将Ag₂O(6.1g,26.4mmol,1.10当量)添加到碘甲烷(27.3g,192mmol,8.00当量)和(2R)-2-羟基丙酸甲酯(2.5g,24mmol,1.00当量)于乙腈(30mL)中的溶液中并且在85℃下在油浴中搅拌溶液16小时。过滤固体并且用DCM(100mL)稀释混合物。所得混合物用水(3×50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩获得2g(70%)呈无色油状的(2R)-2-甲氧基丙酸甲酯。¹H NMR (400MHz,CDCl₃):δ3.92-3.87 (m,1H), 3.76 (s,3H), 3.40 (s,3H), 1.42-1.40 (d,J=6.8Hz,3H)。

[0242] 步骤2:(2R)-2-甲氧基丙酰胺:在70℃下,在油浴中,搅拌(2R)-2-甲氧基丙酸甲酯(2g,16.93mmol,1.00当量)和水合肼(5.3g,84.70mmol,5.00当量)于乙醇(50mL)中的溶液16小时。所得混合物真空浓缩获得2g(粗产物)呈淡黄色油状的(2R)-2-甲氧基丙酰胺。LC-MS (ES,m/z):[M+1]⁺=119。



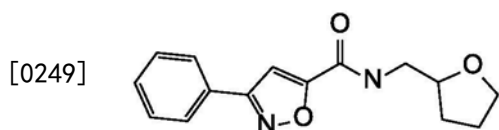
[0244] 用于酰胺偶合的通用程序(1):在室温下,将EDC·HCl(1.98mmol)、HOBT·H₂O(1.32mmol)和适当胺(1.45mmol)添加到3-苯基异噁唑-5-甲酸(1.32mmol)于THF(10mL)中的溶液中。在室温下搅拌反应混合物15小时并且浓缩反应混合物至干燥。粗固体用EtOAc(3×10mL)萃取并且用水洗涤。合并的有机层经Na₂SO₄干燥并且浓缩。粗化合物通过Combiflash色谱法纯化获得相应酰胺。

[0245] 实例1:N-(2-甲氧基乙基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:



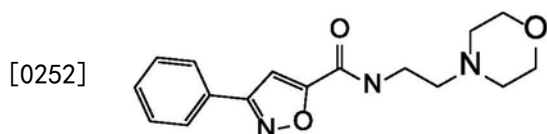
[0247] 使用通用程序1获得呈灰白色固体状的化合物1(0.120g,37.0%);¹H-NMR(400MHz,CDCl₃)δ7.82-7.79(m,2H),7.50-7.45(m,3H),7.21(s,1H),6.98-6.97(br,1H),3.68-3.64(m,2H),3.57-3.55(t,2H),3.40(s,3H);LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=247.2;HPLC纯度:220nm下99.76%和254nm下99.64%。

[0248] 实例2:3-苯基-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)异噁唑-5-甲酰胺:



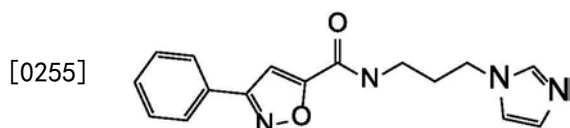
[0250] 使用通用程序1获得呈白色固体状的化合物2(0.110g,30.6%);¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ7.82-7.80(m,2H),7.49-7.45(m,3H),7.25-7.21(d,J=14.9Hz,1H),6.95(br,1H),4.08-4.06(m,1H),3.92-3.89(m,1H),3.81-3.71(m,2H),3.44-3.39(m,1H),2.06-1.99(m,1H),1.96-1.91(m,2H),1.63-1.58(m,1H);LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=273.2;HPLC纯度:220nm下99.78%和254nm下99.79%。

[0251] 实例3:N-(2-(N-吗啉基)乙基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0253] 使用通用程序1获得呈白色固体状的化合物3(0.125g,31.5%);¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ7.82-7.80(m,2H),7.49-7.46(m,3H),7.21(s,2H),3.75-3.72(t,4H),3.58-3.53(q,2H),2.61-2.58(t,2H),2.51-2.50(m,4H);LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=302.1;HPLC纯度:220nm下99.81%和254nm下99.87%。

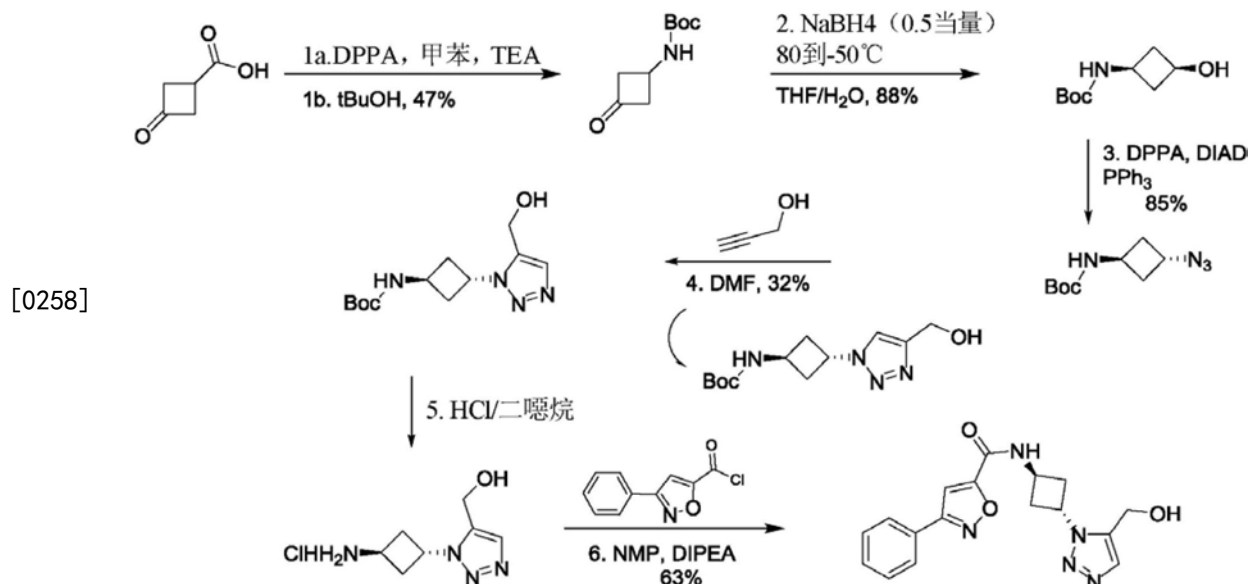
[0254] 实例4:N-(3-(1H-咪唑-1-基)丙基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0256] 使用通用程序1获得呈白色固体状的化合物4(0.127g,32.6%);¹H NMR(400MHz,

CDCl₃) δ7.82-7.79 (m, 2H), 7.52 (s, 1H), 7.50-7.46 (m, 3H), 7.22 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.98-6.97 (m, 1H), 6.79-6.76 (m, 1H), 4.08-4.04 (t, 2H), 3.52-3.47 (m, 2H), 2.18-2.11 (m, 2H); LC-MS (ES, m/z): [M+H]⁺=297.2; HPLC纯度: 220nm下98.05%和254nm下97.78%。

[0257] 实例5: N-反-3-(5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0259] 步骤1: (3-氧代环丁基)氨基甲酸叔丁酯: 将DPPA (4.0g, 1.1当量) 逐滴添加到3-氧代环丁烷甲酸 (1.5g, 1.0当量) 和TEA (1.5g, 1.1当量) 于甲苯 (30mL) 中的冷 (-5~5℃) 溶液, 并且在 -5~0℃ 下搅拌16小时。在0~10℃ 下, 反应混合物用NaHCO₃ (2×9mL)、水 (1×9mL) 和NaCl水溶液 (1×4.5mL) 洗涤。合并的有机层经Na₂SO₄干燥, 过滤并且将t-BuOH (7.5mL) 添加到滤液中。在90~100℃ 下加热反应混合物16小时。在60~70℃ 下真空浓缩混合物, 悬浮于TBME (4.5mL) 中, 过滤, 并且经空气干燥固体获得1.15g (纯度: 98.5%, 产率: 47.2%) 呈白色固体状的产物。

[0260] 步骤2: (顺-3-羟基环丁基)氨基甲酸叔丁酯: 将(3-氧代环丁基)氨基甲酸叔丁酯 (200mg, 1.0当量) 于THF (1mL) 中的溶液逐滴添加到NaBH₄ (20.4mg, 0.5当量) 于THF (1.8mL) 和水 (2mL) 中的冷 (低于-70℃) 溶液中, 将温度维持于-80~-70℃ 下 (持续约2小时来完成添加)。在-60~-50℃ 下搅拌混合物3小时, 向反应混合物添加水 (2mL) 并且使其升温到15℃。反应混合物接着用乙酸乙酯 (2mL, 2×1mL) 萃取并且合并的有机层用盐水 (1mL) 洗涤。在真空下在35~40℃ 下浓缩有机层, 将固体溶解于甲苯 (1mL, 80~90℃) 中, 并且逐渐冷却到25-30℃ 持续2.5小时。在25-30℃ 下搅拌混合物2小时, 过滤, 并且在空气中干燥固体获得呈灰白色固体状的产物 (177mg, 顺:反比率 (96.4:3.6), 产率: 87.6%)。

[0261] 步骤3: (反-3-叠氨基环丁基)氨基甲酸叔丁酯: 在0-10℃ 下搅拌PPh₃ (315mg) 和DIAD (243mg) 于THF (3mL) 中的溶液20分钟。逐滴添加(顺-3-羟基环丁基)氨基甲酸叔丁酯 (150mg, 1.0当量) 和DPPA (265mg, 1.2当量) 于THF (1mL) 中的溶液并且接着升温到25-30℃, 并且搅拌2小时。向反应混合物添加盐水 (3mL), 用乙酸乙酯 (3mL) 萃取, 接着真空浓缩获得粗油状物。混合物通过SiO₂柱色谱纯化并且用乙酸乙酯/石油醚 (0%~10%) 逐渐洗脱。产物悬浮于正庚烷 (0.3mL) 中并且在20~25℃ 下搅拌0.5小时。过滤混合物并且在空气中干燥

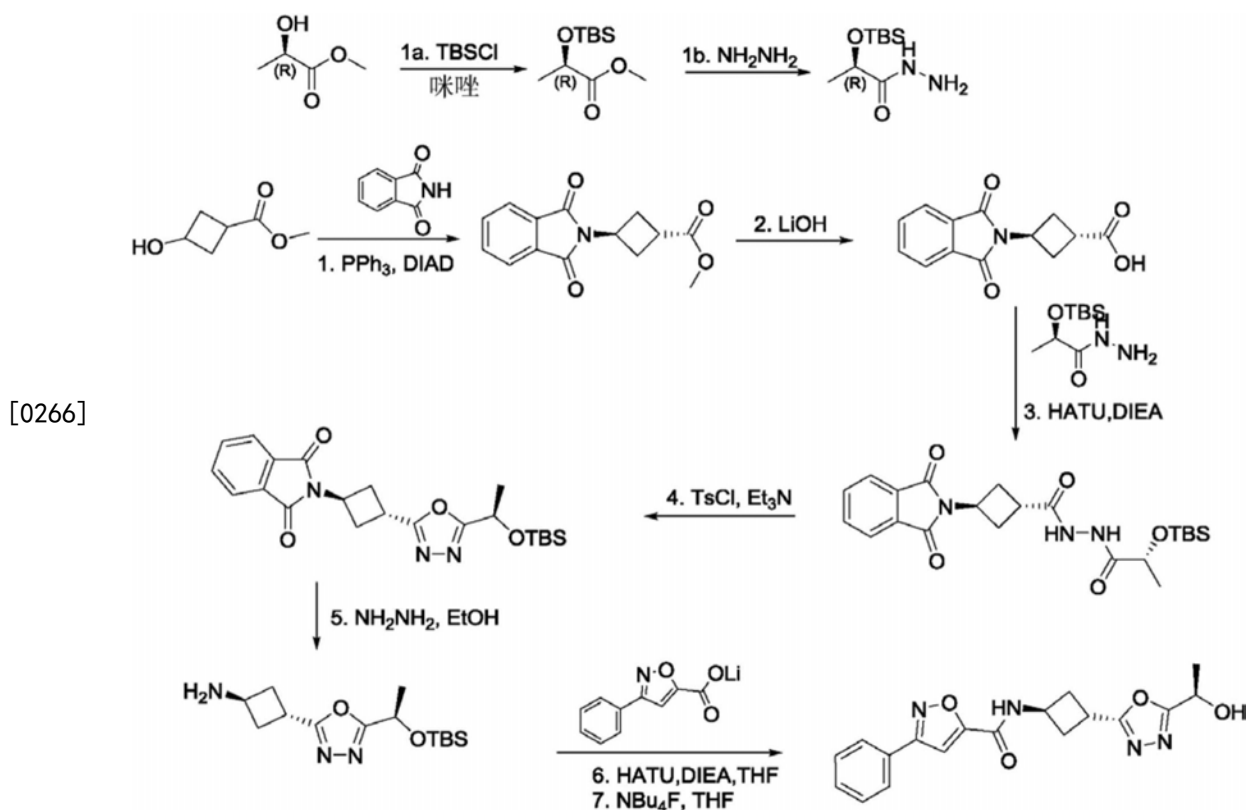
固体获得产物,通过¹H NMR检验到产率85%并且顺/反比率=4:96。

[0262] 步骤4:(反-3-(5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)氨基甲酸叔丁酯:在90~95℃下加热(反-3-叠氨基环丁基)氨基甲酸叔丁酯(246mg,1.0当量)和丙-2-炔-1-醇(326mg,5.0当量)于DMF(1.2mL)中的溶液20小时。在65℃下真空浓缩混合物获得4和5区位异构体的约1:1混合物(353mg)。通过SFC纯化混合物获得呈固体状的(反-3-(5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)氨基甲酸叔丁酯(101mg 32%产率,纯度:99.9%(205nm))。

[0263] 步骤5:(1-(反-3-氨基环丁基)-1H-1,2,3-三唑-5-基)甲醇盐酸盐:在20~30℃下,将(反-3-(5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)氨基甲酸叔丁酯(101mg,1.0当量)缓慢添加(5份)到HCl/二噁烷溶液(3.5mol/L,2mL),接着在20~30℃下搅拌18小时。在55℃下真空浓缩反应混合物获得呈固体状的产物(93.4mg,分析:按游离碱计67%,Y:100%)。

[0264] 步骤6:N-(反-3-(5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:将DIPEA(388mg,3.00mmol,3.00当量)逐滴添加到3-苯基异噁唑-5-甲酸锂(190mg,0.97mmol,1.00当量)、[1-[反-3-氨基环丁基]-1H-1,2,3-三唑-5-基]甲醇盐酸盐(204mg,1.00mmol,1.00当量)和HATU(684mg,1.80mmol,1.80当量)于DMF(5mL)中的0℃溶液。在室温下搅拌所得溶液1小时,接着用50mL水/冰稀释。将所得溶液用乙酸乙酯(3×50mL)萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水(2×30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。通过具有以下条件的快速制备型HPLC(IntelFlash-1)纯化粗产物:柱,C18;移动相,30分钟内H₂O/CH₃CN=100:1增加到H₂O/CH₃CN=1:100;检测器,UV 254nm,获得100mg(30%)呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-[5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺。LC-MS(ES,m/z):[M+1]⁺=340;¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ9.54-9.52(d,J=7.2Hz,1H),7.96-7.94(m,2H),7.69-7.63(m,2H),7.56-7.54(m,3H),5.45-5.42(t,J=5.6Hz,1H),5.27-5.20(m,1H),4.80-4.71(m,1H),4.56-4.55(d,J=5.6Hz,2H),2.93-2.87(m,2H),2.81-2.75(m,2H)。

[0265] 实例6:N-反-3-(5-((R)-1-羟基乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0267] 步骤1a: (2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙酸甲酯:向250mL圆底烧瓶中放置(2R)-2-羟基丙酸甲酯(5g,48.03mmol,1.00当量)和咪唑(6.5g,95.59mmol,2.00当量)于二氯甲烷(100mL)中的溶液,随后在0℃下,逐滴添加叔丁基(氯)二甲基硅烷(8.7g,57.72mmol,1.20当量)于二氯甲烷(50mL)中的溶液。在室温下搅拌所得溶液2小时。通过添加100mL水/冰淬灭反应物。用二氯甲烷(3×100mL)萃取所得溶液并且合并有机层。所得混合物用盐水(3×50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩获得7g(67%)呈无色油状的(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙酸甲酯。

[0268] 步骤1b: (2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙酰肼:向250mL圆底烧瓶中放置(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙酸甲酯(7g,32.06mmol,1.00当量)于乙醇(100mL)中的溶液。向溶液中添加肼(10g,159.81mmol,5.00当量,80%)。在油浴中,在90℃下搅拌所得溶液15小时。通过添加水/冰淬灭所得溶液。将所得溶液用乙酸乙酯(3×100mL)萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水(2×100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩获得6.5g(93%)呈无色油状的(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙酰肼。LC-MS(ES,m/z):[M+1]⁺=219。

[0269] 步骤1: (反-3-(1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基)环丁烷-1-甲酸甲酯:在氮气下向250mL圆底烧瓶中放置3-顺-羟基环丁烷-1-甲酸甲酯(8g,61.47mmol,1.00当量)、2,3-二氢-1H-异吡啶-1,3-二酮(18.1g,123.02mmol,2.00当量)和三苯膦(32.3g,123.15mmol,2.00当量)于THF(100mL)中的溶液,随后在0℃下在搅拌下逐滴添加DIAD(24.9g,123.14mmol,2.00当量)。在室温下搅拌所得溶液2.5小时。真空浓缩所得混合物。将残余物与乙酸乙酯/石油醚(1:5)一起施加到硅胶柱上。粗产物从10:1比率的石油醚/乙酸乙酯再结晶获得7.2g(45%)呈白色固体状的(反-3-(1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基)环丁烷-1-甲酸甲酯。LC-MS(ES,m/z):[M+1]⁺=260。¹H-NMR(400MHz,CDC1₃):δ7.85-7.82

(m, 2H), 7.74-7.71 (m, 2H), 5.08-5.04 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.34-3.32 (m, 1H), 3.20-3.12 (m, 2H), 2.66-2.60 (m, 2H)。

[0270] 步骤2:反-3-(1,3-二氧化-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基)环丁烷-1-甲酸:向100mL圆底烧瓶中放置反-3-(1,3-二氧化-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基)环丁烷-1-甲酸甲酯(7.2g, 27.77mmol, 1.00当量)于1,4-二噁烷(100mL)中的溶液。向溶液中添加5M盐酸水溶液(10mL)。在油浴中,在80℃下搅拌所得溶液4小时。真空浓缩所得混合物获得6.2g (91%)呈白色固体状的反-3-(1,3-二氧化-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基)环丁烷-1-甲酸。LC-MS (ES, m/z): [M-1]⁻ = 244。

[0271] 步骤3:(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]-N-[反-3-(1,3-二氧化-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基)环丁基]羰基]丙酰肼:向250mL圆底烧瓶中放置反-3-(1,3-二氧化-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基)环丁烷-1-甲酸(6.2g, 25.28mmol, 1.00当量)、(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙酰肼(6.61g, 30.27mmol, 1.20当量)和HATU(14.4g, 37.89mmol, 1.50当量)于THF(100mL)中的溶液,随后在0℃下在搅拌下逐滴添加DIEA(9.81g, 75.91mmol, 3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液1小时。接着通过添加100mL水/冰淬灭反应物。将所得溶液用乙酸乙酯(3×50mL)萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水(2×50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。将残余物与乙酸乙酯/石油醚(1:4)一起施加到硅胶柱上获得7g (62%)呈无色油状的(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]-N-[反-3-(1,3-二氧化-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基)环丁基]羰基]丙酰肼。LC-MS (ES, m/z): [M+1]⁺ = 446。

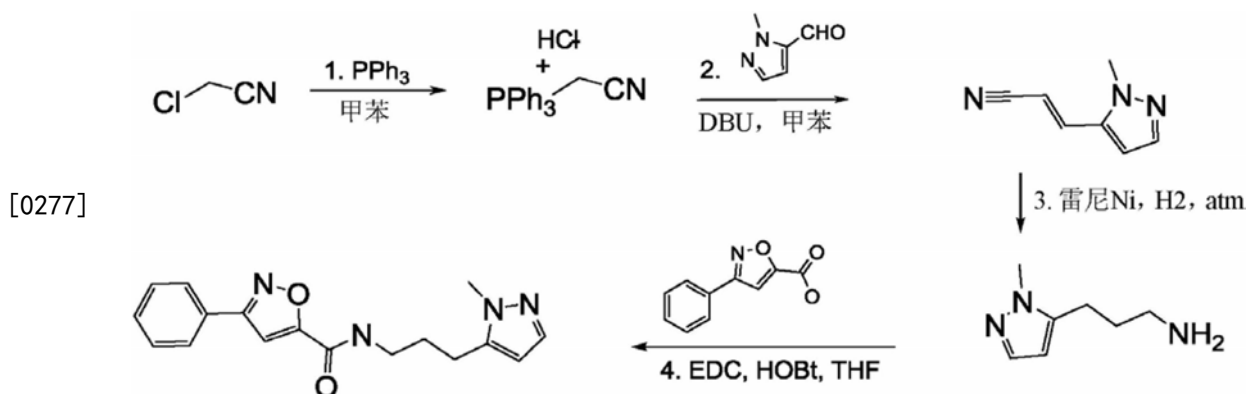
[0272] 步骤4:2-[反-3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-2,3-二氢-1H-异吡啶-1,3-二酮:向250mL圆底烧瓶中放置(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]-N-[[反-3-(1,3-二氧化-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基)环丁基]羰基]丙酰肼(6.95g, 15.60mmol, 1.00当量)和TEA(7.89g, 77.97mmol, 5.00当量)于二氯甲烷(100mL)中的溶液,随后在0℃下在搅拌下逐滴添加4-甲基苯-1-磺酰氯(8.92g, 46.79mmol, 3.00当量)于二氯甲烷(50mL)中的溶液。在室温下搅拌所得溶液15小时。接着通过添加100mL水/冰淬灭反应物。用二氯甲烷(2×50mL)萃取所得溶液并且合并有机层。所得混合物用盐水(2×50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。通过具有以下条件的快速制备型HPLC(IntelFlash-1)纯化粗产物:柱,C18;移动相,30分钟内H₂O/CH₃CN=100:1增加到H₂O/CH₃CN=1:100;检测器,UV 254nm,获得3.28g (49%)呈无色油状的2-[反-3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-2,3-二氢-1H-异吡啶-1,3-二酮。LC-MS (ES, m/z): [M+1]⁺ = 428。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): δ7.72-7.70 (m, 2H), 7.60-7.58 (m, 2H), 5.04-4.96 (m, 2H), 3.83-3.78 (m, 1H), 3.26-3.24 (m, 2H), 2.67-2.62 (m, 2H), 1.49-1.48 (d, J=6.8Hz, 3H), 0.76 (s, 9H), 0.01 (s, 3H), 0.00 (s, 3H)。

[0273] 步骤5:反-3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁烷-1-胺:向250mL圆底烧瓶中放置2-[反-3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-2,3-二氢-1H-异吡啶-1,3-二酮(1.18g, 2.76mmol, 1.00当量)于乙醇(100mL)中的溶液。向溶液添加水合肼(3.45g, 55.13mmol, 20.00当量, 80%)。在室温下搅拌所得溶液3小时。过滤固体。真空浓缩所得混合物获得760mg(粗产物)呈无色油状的反-3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁烷-1-胺。LC-MS (ES, m/z): [M+1]⁺ = 298。

[0274] 步骤6:N-(反-3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:向100mL圆底烧瓶中放置3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(300mg,1.54mmol,1.20当量)、3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁烷-1-胺(380mg,1.28mmol,1.00当量)和HATU(728mg,1.92mmol,1.50当量)于THF(50mL)中的溶液。随后在0℃下在搅拌下逐滴添加DIEA(500mg,3.87mmol,3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液1小时。所得溶液用50mL水/冰稀释。将所得溶液用乙酸乙酯(3×50mL)萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水(2×30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩获得300mg(50%)呈灰白色粗固体状的N-(反-3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺。LC-MS(ES,m/z):[M+1]⁺=469。

[0275] 步骤7:N-(反-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:向50-mL圆底烧瓶中放置N-(3-[反-5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(300mg,0.64mmol,1.00当量)和TBAF(四氢呋喃中1mol/L,1mL)于THF(5mL)中的溶液。在室温下搅拌所得溶液3小时并且用20mL水稀释。将所得溶液用乙酸乙酯(3×30mL)萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水(2×10mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。将残余物与二氯甲烷/甲醇(20:1)一起施加到硅胶柱上。通过具有以下条件的快速制备型HPLC(IntelFlash-1)纯化粗产物:柱,C18;移动相,30分钟内H₂O/CH₃CN=100:1增加到H₂O/CH₃CN=1:100;检测器,UV 254nm,获得149.2mg呈白色固体状的(66%)N-(反-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺。LC-MS(ES,m/z):[M+1]⁺=355;¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ 9.48-9.46(d,J=7.6Hz,1H),7.96-7.93(m,2H),7.67(s,1H),7.56-7.54(m,3H),5.95-5.94(d,J=5.6Hz,1H),4.95-4.89(m,1H),4.73-4.63(m,1H),3.77-3.71(m,1H),2.73-2.50(m,4H),1.50-1.48(d,J=6.8Hz,3H)。

[0276] 实例7:N-(3-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)丙基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0278] 步骤1:氯化氰基甲基三苯基磷:将氯乙腈(10g,0.132mol)逐滴添加到三苯基磷(23.5g,0.0895mol)于(120mL)甲苯中的溶液中并且在回流下加热6小时。将反应混合物冷却到室温,过滤固体并且用(2×20mL)乙醚洗涤。获得呈白色固体状的化合物(15g,49.58%)。¹H-NMR(400MHz,DMSO)δ8.02-7.97(m,3H),7.90-7.79(m,12H),5.94(s,1H),5.90(s,1H);LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=301.7

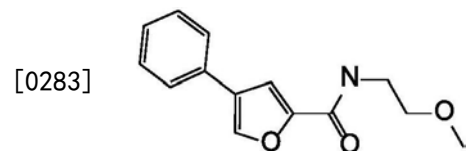
[0279] 步骤2:3-(2-甲基-2H-吡唑-3-基)-丙烯腈(4):在室温下,向2-甲基-2H-吡唑-3-甲醛3(3.8g,0.0345mol)于甲苯(50mL)中的经搅拌溶液中添加氯化氰基甲基三苯基磷

(12.8g, 0.0389mol)。接着逐滴添加DBU (1.52mL, 0.0099mol) 并且加热到回流3小时。反应完成之后, 在真空下完全蒸馏除去甲苯。在combi快速色谱上纯化所得粗产物, 所要产物在15%EtOAc:己烷中洗脱获得呈白色固体状的产物(1.1g, 24.01%产率)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.46-7.45 (d, J=176Hz, 1H), 7.3-7.25 (m, 1H), 6.56 (s, 1H), 5.79-5.75 (d, J=16.34Hz, 1H), 3.93 (s, 3H)。LC-MS (ES, m/z): [M+H]⁺=134.1。

[0280] 步骤3: 3-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)丙-1-胺: 在室温下将雷尼Ni (1g, 水悬浮液中50%) 添加到3-(2-甲基-2H-吡唑-3-基)-丙烯腈(1.0g, 0.0075mol) 于乙醇(10mL) 中的溶液中。接着在氢气气氛下搅拌反应混合物16小时, 经硅藻土床过滤并且用乙醇(2×10mL) 洗涤。在真空下蒸发滤液获得呈黄色油状的化合物(0.9g, 86.53%产率)。粗产物直接用于酰胺偶合。

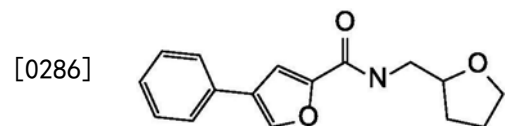
[0281] 步骤4: N-(3-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)丙基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺: 将EDC·HCl (0.220g, 0.00115mol) 和HOBt·H₂O (0.129g, 0.00084mol) 添加到3-苯基异噁唑-5-甲酸(0.150g, 0.00076mol) 于THF (5mL) 中的溶液并且在室温下搅拌20分钟。向这种反应混合物添加3-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)丙-1-胺(0.16g, 0.00115mol) 和DIPEA (0.590mL, 0.0023mol) 并且搅拌16小时。在旋转式蒸发器上浓缩反应混合物并且使用combi flash纯化混合物, 在35%EtOAc:己烷(0.115g, 47.23%) 中洗脱呈灰白色固体状的所要产物。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.54-7.53 (m, 1H), 7.50-7.48 (m, 1H), 7.38-7.37 (d, J=1.84Hz, 1H), 7.15-7.14 (m, 1H), 6.88 (br, 1H), 6.81 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.56-3.51 (q, 2H), 2.71-2.67 (t, 2H), 2.02-1.95 (m, 2H); LC-MS (ES, m/z): [M+H]⁺=316.9; HPLC纯度: 220nm下95.83%和254nm下98.85%。

[0282] 实例8: N-(2-甲氧基乙基)-4-苯基呋喃-2-甲酰胺:



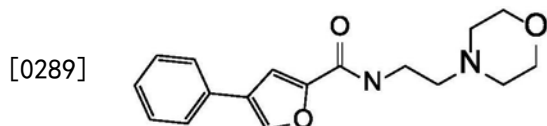
[0284] 使用通用程序1获得呈灰白色固体状的化合物8。产率: 57%; ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.42 (br, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.66 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.42 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.31 (t, J=7.3Hz, 1H), 3.44-3.39 (m, 4H), 3.26 (s, 3H); LC-MS (ES, m/z): [M+H]⁺=246.0; HPLC纯度220nm下99.32%和254nm下99.35%。

[0285] 实例9: 4-苯基-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)呋喃-2-甲酰胺:



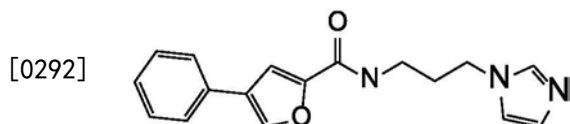
[0287] 使用通用程序1获得呈灰白色固体状的化合物9。产率: 46%; ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.42 (br, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.66 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.42 (t, J=7.2Hz, 2H), 7.31 (t, J=7.2Hz, 1H), 3.97 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.64 (m, 1H), 3.27 (s, 2H), 1.90-1.78 (m, 3H), 1.61 (m, 1H); LC-MS (ES, m/z): [M+H]⁺=271.9; HPLC纯度220nm下98.21%和254nm下98.35%。

[0288] 实例10: N-(2-(N-吗啉基)乙基)-4-苯基呋喃-2-甲酰胺



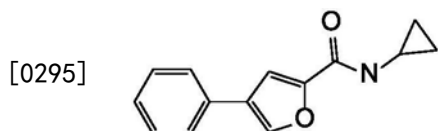
[0290] 使用通用程序1获得呈灰白色固体状的化合物10。产率：42%；¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.35 (m, 2H), 7.67 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.42 (t, J=7.2Hz, 2H), 7.31 (t, J=7.2Hz, 1H), 3.56 (s, 4H), 3.36 (s, 2H), 2.46-2.40 (m, 6H); LC-MS (ES, m/z): [M+H]⁺=300.7; HPLC纯度220nm下99.42%和254nm下99.36%。

[0291] 实例11:N-(3-(1H-咪唑-1-基)丙基)-4-苯基呋喃-2-甲酰胺:



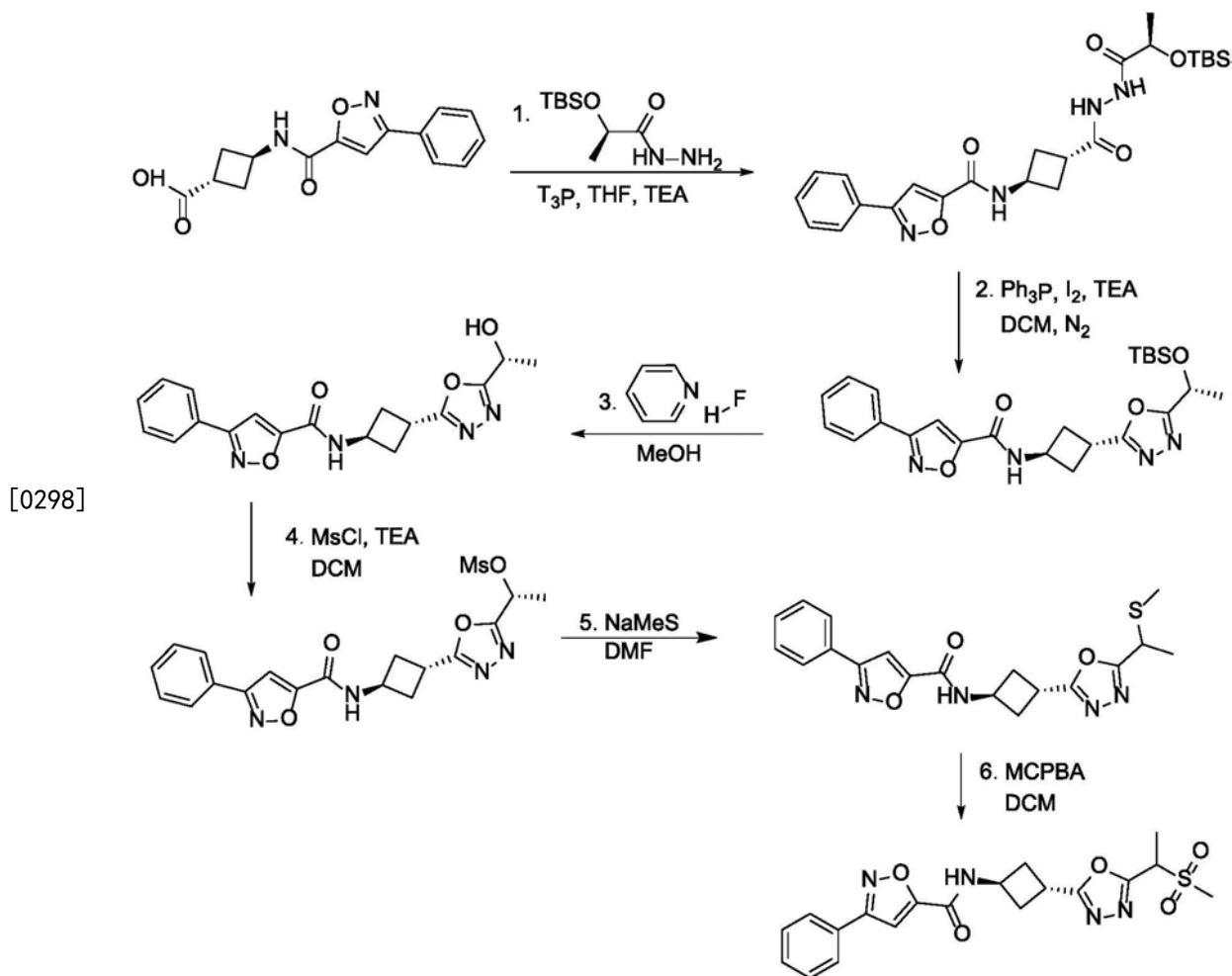
[0293] 使用通用程序1获得呈灰白色固体状的化合物11。产率：33%；¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.54 (t, J=5.6Hz, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.67 (d, J=7.2Hz, 2H), 7.56 (s, 1H), 7.43 (t, J=7.2Hz, 2H), 7.31 (t, J=7.2Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 4.02 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.23 (q, J=6.8Hz, 2H), 1.97 (五重峰, J=6.8Hz, 2H); LC-MS (ES, m/z): [M+H]⁺=296.1; HPLC纯度220nm下99.51%和254nm下99.21%。

[0294] 实例12:N-环丙基-4-苯基呋喃-2-甲酰胺:



[0296] 使用通用程序1获得呈灰白色固体状的化合物12 (0.032g, 19.04%); ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.66 (s, 1H), 7.48-7.46 (m, 2H), 7.41-7.36 (m, 3H), 7.31-7.24 (m, 1H), 6.44 (s, 1H), 2.89-2.85 (m, 1H), 0.89-0.84 (m, 2H), 0.65-0.61 (m, 2H); LC-MS (ES, m/z): [M+H]⁺=228.1; HPLC纯度: 220nm下99.57%和254nm下99.02%。

[0297] 实例13:N-(反-3-(5-(1-(甲基磺酰基)乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0299] 步骤1:N-反-(3-[[(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙烷肼基]羰基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:向3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸(5g, 17.47mmol, 1.00当量)于四氢呋喃(50mL)中的溶液中添加 T_3P (50%) (55.6g, 5.00当量)、TEA(8.83g, 87.26mmol, 5.00当量)和(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙酰肼(4.95g, 22.67mmol, 1.30当量)并且在30℃下搅拌溶液1.5小时。接着通过添加水淬灭反应物,用二氯甲烷萃取并且合并有机层,干燥且真空浓缩。将残余物与乙酸乙酯/石油醚(1:1)一起施加到硅胶柱获得8.45g(粗产物)呈淡黄色固体状的N-反-(3-[[(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙烷肼基]羰基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES, m/z): $[M+1]^+ = 487.1$ 。

[0300] 步骤2:N-反-(3-[5-[(R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:将 I_2 (20.74g, 5.00当量)和TEA(9.98g, 98.63mmol, 6.00当量)添加到 Ph_3P (21.56g, 5.00当量)于二氯甲烷(50mL)中的溶液中,随后逐滴添加N-反-(3-[[(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙烷肼基]羰基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(8g, 16.44mmol, 1.00当量)于二氯甲烷(50mL)中的溶液。在0℃下搅拌所得溶液2.5小时,接着通过添加水淬灭,并且用二氯甲烷萃取溶液,并且合并有机层,干燥且真空浓缩获得3.19g(41%)呈褐色固体状的N-反-(3-[5-[(R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES, m/z): $[M+1]^+ = 469.1$ 。

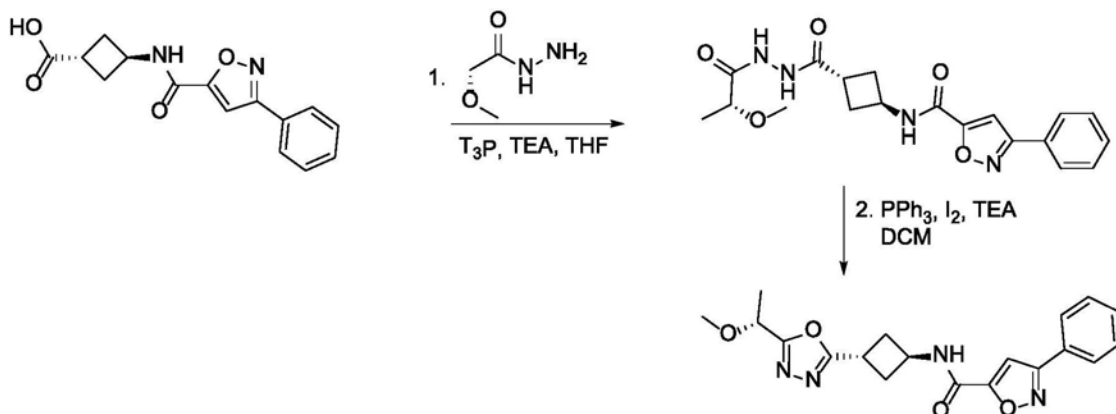
[0301] 步骤3:N-反-(3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:在室温下搅拌N-反-(3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(25.3g,53.99mmol,1.00当量)和吡啶氢氟酸盐(15g,151.35mmol,2.80当量)于甲醇(50mL)中的溶液5小时。接着通过添加水淬灭反应物,用二氯甲烷萃取并且合并有机层,干燥且真空浓缩。将残余物溶解于50mL甲苯中并且通过过滤收集固体获得1.85g(10%)呈黄色固体状的N-反-(3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z): $[M+1]^+=355.0$ 。

[0302] 步骤4:(R)-甲磺酸1-[5-反-[3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酯:将TEA(1.28g,12.65mmol,3.00当量)和MsCl(0.725g,1.50当量)添加到N-反-(3-[5-[(R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(1.5g,4.23mmol,1.00当量)于二氯甲烷(50mL)中的溶液中并且在0℃下搅拌溶液3小时。接着通过添加200mL饱和NH₄Cl淬灭反应物,用二氯甲烷萃取并且合并有机层,干燥且真空浓缩获得1.72g(94%)呈黄色固体状的(R)-甲磺酸1-[5-反-[3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酯;LC-MS(ES,m/z): $[M+1]^+=433.0$ 。

[0303] 步骤5:N-反-(3-[5-[1-(甲基磺酰基)乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:在100℃下搅拌(R)-甲磺酸1-[5-反-[3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酯(400mg,0.92mmol,1.00当量)和NaMeS(132mg,2.00当量)于DMF(3mL)中的溶液5小时。真空浓缩所得混合物并且将残余物与乙酸乙酯/石油醚(4:5)一起施加到硅胶柱上获得254mg(71%)呈黄色固体状的N-反-(3-[5-[1-(甲基磺酰基)乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z): $[M+1]^+=385.0$ 。

[0304] 步骤6:N-(3-[5-反-[1-甲磺酰基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:在室温下搅拌N-(3-[5-反-[1-(甲基磺酰基)乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(230mg,0.60mmol,1.00当量)和MCPBA(0.42g,4.00当量)于二氯甲烷(5mL)中的溶液2小时。真空浓缩所得混合物并且将残余物与二氯甲烷/甲醇(25:1)一起施加到硅胶柱上获得80mg(32%)呈黄色固体状的N-(3-[5-反-[1-甲磺酰基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺外消旋混合物;LC-MS(ES,m/z): $[M+1]^+=417.0$ ¹H NMR(DMSO-d₆,400MHz,ppm): δ 9.44(s,1H),7.93-7.91(m,2H),7.65(s,1H),7.54-7.52(m,3H),5.16-5.11(m,1H),4.69-4.63(m,1H),3.78-3.75(m,1H),3.14(s,3H),2.72-2.65(m,4H),1.74-1.70(m,3H);HPLC纯度:254nm下97.1%。

[0305] 实例14:N-(反-3-(5-((R)-1-甲氧基乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺

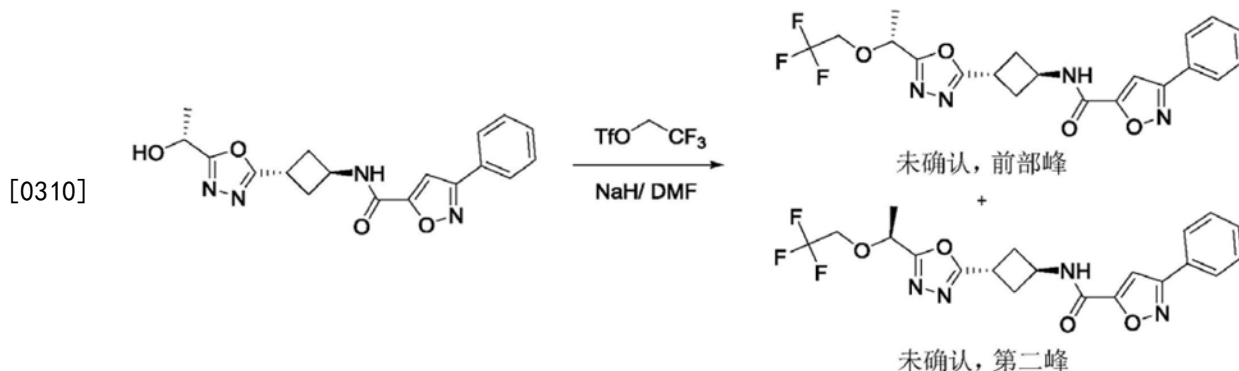


[0306]

[0307] 步骤1:3-苯基-N-[反-3-[N-[(2R) -2-甲氧基丙酰基] 胍羰基] 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:将TEA (315mg, 3.11mmol, 2.97当量) 和 T_3P (667mg) 添加到反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸 (300mg, 1.05mmol, 1.00当量) 和 (2R) -2-甲氧基丙酰肼 (185mg, 1.57mmol, 1.49当量) 于四氢呋喃 (5mL) 中的溶液中并且在室温下搅拌混合物2小时。真空浓缩所得混合物, 用5mL甲醇稀释。通过过滤收集固体并且在烘箱中减压干燥获得呈白色固体状的200mg (49%) 3-苯基-N-[反-3-[N-[(2R) -2-甲氧基丙酰基] 胍羰基] 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LC-MS (ES, m/z) : $[M+1]^+ = 387.2$ 。

[0308] 步骤2:3-苯基-N-[反-3-[5-[(1S) -1-甲氧基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基] 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:3-苯基-N-[反-3-[N-[(2R) -2-甲氧基丙酰基] 胍羰基] 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (150mg, 0.39mmol, 1.00当量) 添加到 PPh_3 (150mg, 0.57mmol, 1.47当量)、 I_2 (150mg) 和TEA (120mg, 1.19mmol, 3.05当量) 于二氯甲烷 (5mL) 中的溶液并且在 $0^\circ C$ 下搅拌混合物2小时。所得混合物用水 ($2 \times 5mL$) 洗涤且真空浓缩。通过具有以下条件的制备型HPLC (沃特斯 (Waters)) 纯化粗产物: 柱: XBridge C18 OBD制备型柱 $10\mu m$, $19mm \times 250mm$; 移动相, 水 ($0.5\% NH_4HCO_3$) 和 CH_3CN ; 梯度; 10分钟内 $40\% CH_3CN$ 到 $45\% CH_3CN$; 检测器, UV 254nm, 获得101.8mg (71%) 呈淡黄色固体状的3-苯基-N-[反-3-[5-[(1S) -1-甲氧基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基] 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LC-MS (ES, m/z) : $[M+1]^+ = 369.0$; 1H NMR ($DMSO-d_6$, 300MHz, ppm) : δ 9.46-9.44 (d, $J=7.2Hz$, 1H), 7.94-7.93 (m, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.55-7.54 (m, 3H), 4.72-4.64 (m, 2H), 3.78-3.73 (m, 1H), 3.29 (s, 3H), 2.73-2.61 (m, 4H), 1.51-1.49 (d, $J=6.8Hz$, 3H); HPLC纯度: 254nm下99.1%。

[0309] 实例15和16:3-苯基-N-(反-3-(5-((S)-1-(2,2,2-三氟乙氧基) 乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基) 环丁基) 异噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-(反-3-(5-((R)-1-(2,2,2-三氟乙氧基) 乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基) 环丁基) 异噁唑-5-甲酰胺



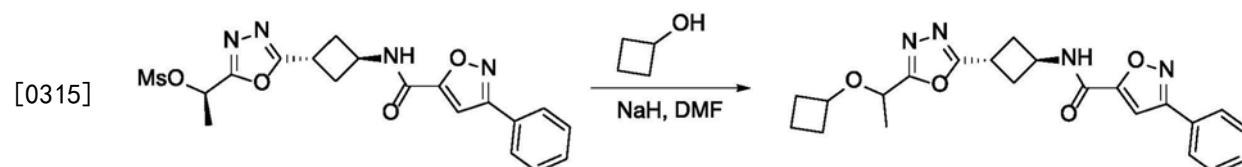
[0310]

[0311] 将三氟甲磺酸2,2,2-三氟乙酯(491mg, 2.12mmol, 1.50当量)添加到3-苯基-N-[反-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺(500mg, 1.41mmol, 1.00当量)和氢化钠(85mg, 2.12mmol, 1.50当量)于DMF(10mL)中的溶液中并且在室温下搅拌溶液2小时。反应混合物用水(30mL)稀释,用乙酸乙酯(3×30mL)萃取,并且合并有机层,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。通过具有以下条件的制备型HPLC(沃特斯)纯化粗产物:柱:XBridge C18 OBD制备型柱10 μ m, 19mm×250mm;移动相A:水(10mmol/L NH₄HCO₃), 移动相B:ACN;流动速率:25mL/min;梯度:8分钟内15%B到65%B;254/220nm。通过具有以下条件的手性制备型HPLC纯化异构体:柱:Chiralpak IA2×25cm, 5 μ m;移动相A:己烷;HPLC, 移动相B:EtOH, HPLC流动速率:18mL/min;梯度:15分钟内40B到40B;254/220nm;RT1:9.505; RT2:11.208。这产生19.1mg(3%)呈白色固体状的前部峰和16.8mg呈白色固体状的第二峰。

[0312] 前部峰:LC-MS(ES, m/z): [M+1]⁺=437.1; ¹H-NMR(DMSO-d₆, 300MHz, ppm): δ 7.87-7.86(m, 2H), 7.49-7.47(m, 3H), 7.37(s, 1H), 5.00-4.94(m, 1H), 4.11-4.02(m, 2H), 3.81-3.74(m, 1H), 2.78-2.68(m, 4H), 1.64-1.62(d, J=6.6Hz, 3H); HPLC纯度:254nm下98.6%。

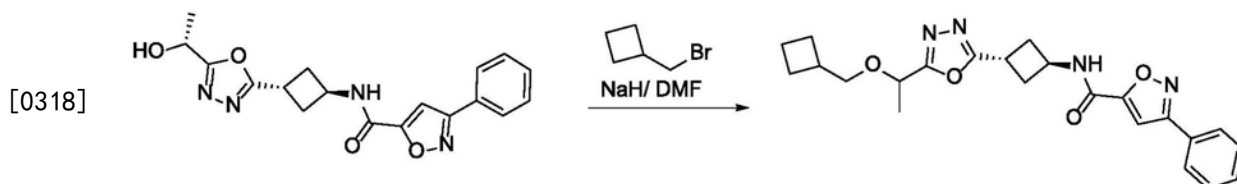
[0313] 第二峰:LC-MS(ES, m/z): [M+1]⁺=437.1; ¹H NMR(DMSO-d₆, 300MHz, ppm): δ 7.86(br, 2H), 7.48(br, 3H), 7.37(s, 1H), 5.00-4.94(m, 1H), 4.10-4.02(m, 2H), 3.79-3.77(m, 1H), 2.78-2.69(m, 4H), 1.64-1.62(d, J=6.6Hz, 3H); HPLC纯度:254nm下98.9%。

[0314] 实例17:N-(反-3-(5-(1-环丁氧基乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



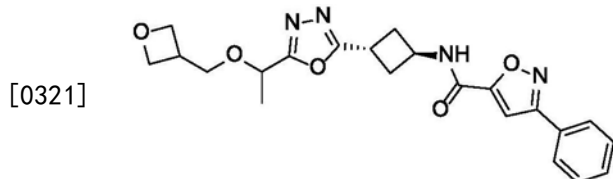
[0316] 将氢化钠(84mg, 2.10mmol, 3.00当量)分部分添加到环丁醇(150mg, 2.08mmol, 3.00当量)于DMF(10mL)中的冷(0 $^{\circ}$ C)溶液中,并且在0 $^{\circ}$ C下搅拌所得溶液30分钟。将(R)-甲磺酸1-[5-反-[3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙酯(300mg, 0.69mmol, 1.00当量)添加到混合物中并且在25 $^{\circ}$ C下再搅拌2小时。接着通过添加100mL水淬灭反应物,用乙酸乙酯(2×100mL)萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水(2×100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。通过制备型TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1)纯化粗产物获得50.2mg(18%)呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-[5-(1-环丁氧基乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES, m/z): [M+H]⁺=409.4; ¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 9.46-9.43(d, J=7.2Hz, 1H), 7.95-7.92(m, 2H), 7.65(s, 1H), 7.56-7.54(m, 3H), 4.78-4.64(m, 2H), 4.04-3.99(m, 1H), 3.77-3.74(m, 1H), 2.71-2.50(m, 4H), 2.18-2.14(m, 1H), 1.97-1.85(m, 2H), 1.75-1.57(m, 2H), 1.49-1.47(d, J=6.6Hz, 3H), 1.47-1.40(m, 1H); HPLC纯度:254nm下98.0%。

[0317] 实例18:N-(反-3-(5-(1-(环丁基甲氧基)乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



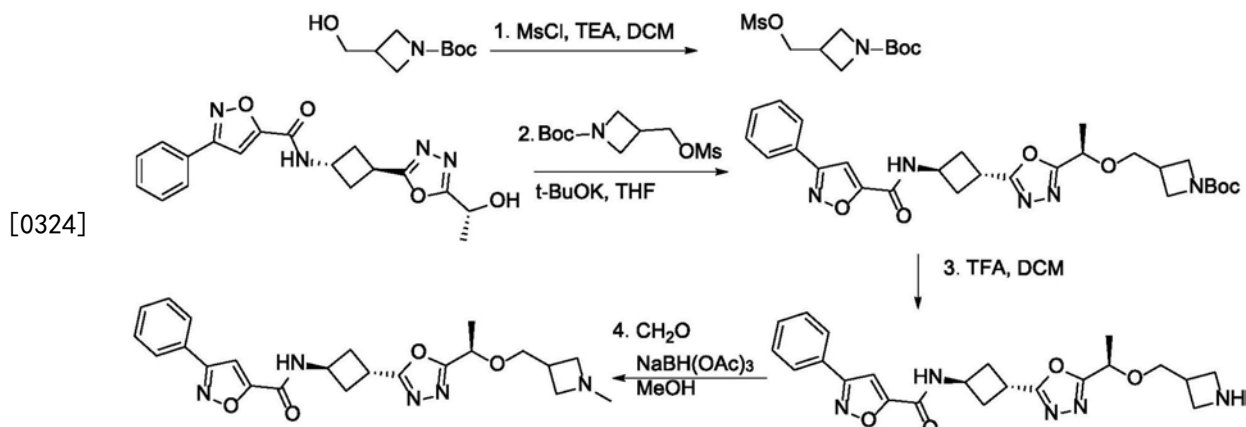
[0319] 将(溴甲基)环丁烷(83mg, 0.56mmol, 2.00当量)添加到3-苯基-N-[反-3-[5-(1-羟基乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺(100mg, 0.28mmol, 1.00当量)和氢氧化钠(17mg, 0.42mmol, 1.50当量)于DMF(2mL)中的溶液中。在室温下搅拌所得溶液2小时,通过添加水(20mL)淬灭反应混合物并且用乙酸乙酯(3×10mL)萃取溶液。合并有机层并且经无水硫酸钠干燥,且真空浓缩。通过具有以下条件的制备型HPLC(沃特斯)纯化粗产物:柱: XBridge制备型C180BD柱19×150mm, 5μm;移动相A:水(10mmol/L NH₄HCO₃), 流动相B:ACN;流动速率:20mL/min;梯度:8分钟内40%B到80%B;254nm, 获得21.2mg(18%)呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-[5-[1-(环丁基甲氧基)乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES, m/z): [M+]⁺=421.0; ¹H NMR(DMSO-d₆, 300MHz, ppm): δ9.46-9.43(d, J=7.2Hz, 1H), 7.94-7.93(m, 2H), 7.66(s, 1H), 7.57-7.54(m, 3H), 4.81-4.74(m, 1H), 4.72-4.64(m, 1H), 3.77-3.74(m, 1H), 3.49-3.36(m, 2H), 2.70-2.65(m, 4H), 1.96-1.91(m, 2H), 1.88-1.80(m, 2H), 1.75-1.67(m, 2H), 1.50-1.48(d, J=6.6Hz, 3H); HPLC纯度:254nm下99.8%。

[0320] 实例19:N-(反-3-(5-(1-(氧杂环丁烷-3-基甲氧基)乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0322] 使用实例18中所示的方法制备标题化合物。

[0323] 实例20:N-(反-3-(5-((R)-1-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)甲氧基)乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0325] 步骤1:3-[(甲磺酰基氧基)甲基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯:将MsCl(549mg, 4.82mmol, 1.20当量)和TEA(606mg, 6.00mmol, 1.50当量)添加到3-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(750mg, 4.01mmol, 1.00当量)于二氯甲烷(20mL)中的溶液中并且在室温下搅

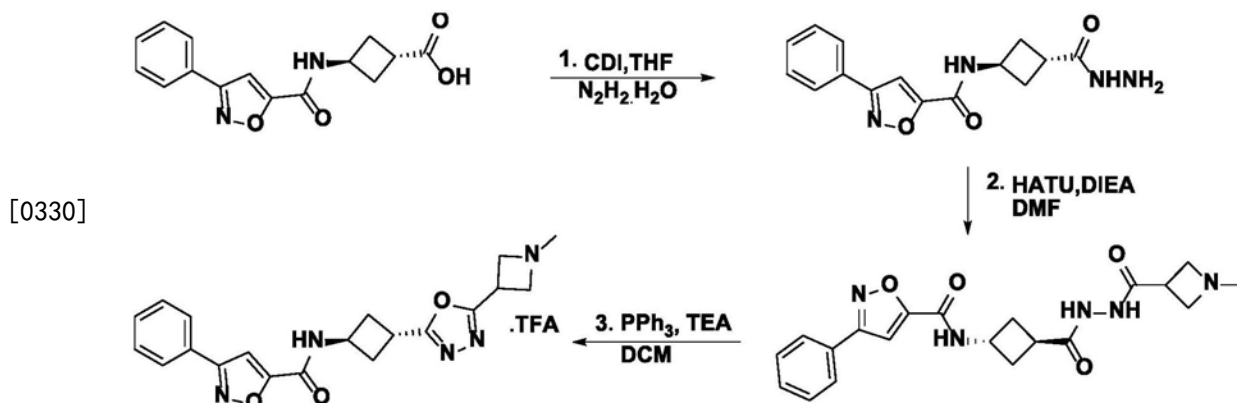
拌溶液3小时。所得溶液用乙酸乙酯(50mL)稀释,用饱和碳酸钠水溶液(1×30mL)、水(1×30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩获得980mg(92%)呈无色油状的3-[(甲磺酰基氧基)甲基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯。

[0326] 步骤2:3-[(1-[5-[反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙氧基)甲基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯:将3-[(甲磺酰基氧基)甲基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(670mg,2.53mmol,1.50当量)添加到3-苯基-N-[反-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺(600mg,1.69mmol,1.00当量)和t-BuOK(570mg,5.08mmol,3.00当量)于THF(15mL)中的溶液。在80℃下在油浴中搅拌反应物16小时,接着用乙酸乙酯(100mL)稀释。所得溶液用水(2×30mL)、盐水(1×30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。将残余物与乙酸乙酯/石油醚(1:10到1:2)一起施加到硅胶柱上获得287mg(32%)呈淡黄色固体状的3-[(1-[5-[反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙氧基)甲基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=524.2。

[0327] 步骤3:3-苯基-N-[反-3-[5-[1-(氮杂环丁烷-3-基甲氧基)乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺:在室温下搅拌3-[(1-[5-[反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1,3,4-噁二唑-2-基]乙氧基)甲基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(237mg,0.45mmol,1.00当量)和TFA(1.5mL)于DCM(4mL)中的溶液2小时。通过添加20mL碳酸钠饱和水溶液淬灭反应物并且用乙酸乙酯(2×50mL)萃取。合并的有机层用水(1×10mL)、盐水(1×10mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩获得150mg(78%)呈黄色固体状的3-苯基-N-[反-3-[5-[1-(氮杂环丁烷-3-基甲氧基)乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=424.2。

[0328] 步骤4:3-苯基-N-[反-3-(5-[1-[(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)甲氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺:将HCHO(57mg,0.70mmol,1.50当量)添加到3-苯基-N-[反-3-[5-[1-(氮杂环丁烷-3-基甲氧基)乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺(150mg,0.35mmol,1.00当量)于甲醇(3mL)中的溶液中并且搅拌30分钟。向反应混合物添加NaBH(OAc)₃(150mg,0.71mmol,2.00当量)并且在室温下搅拌16小时。通过过滤去除固体之后,通过具有以下条件的制备型HPLC(沃特斯)纯化粗产物(3mL):柱:XBridge C18 OBD制备型柱10μm,19mm×250mm;移动相A:水(10mmol/L NH₄HCO₃),移动相B:ACN;流速:20mL/min;梯度:8分钟内15%B到45%B;220/254nm,获得68.6mg(44%)呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-(5-[1-[(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)甲氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=438.2;¹H NMR(CDCl₃,400MHz):δ7.89-7.87(m,2H),7.51-7.50(m,3H),7.39(s,1H),4.85-4.78(m,2H),3.85-3.59(m,3H),3.48-3.43(m,2H),3.16-3.11(m,2H),2.87-2.73(m,4H),2.60-2.57(m,1H),2.35-2.33(m,3H),1.61-1.58(m,3H);HPLC纯度:254nm下97%。

[0329] 实例21:三氟乙酸N-(反-3-(5-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺

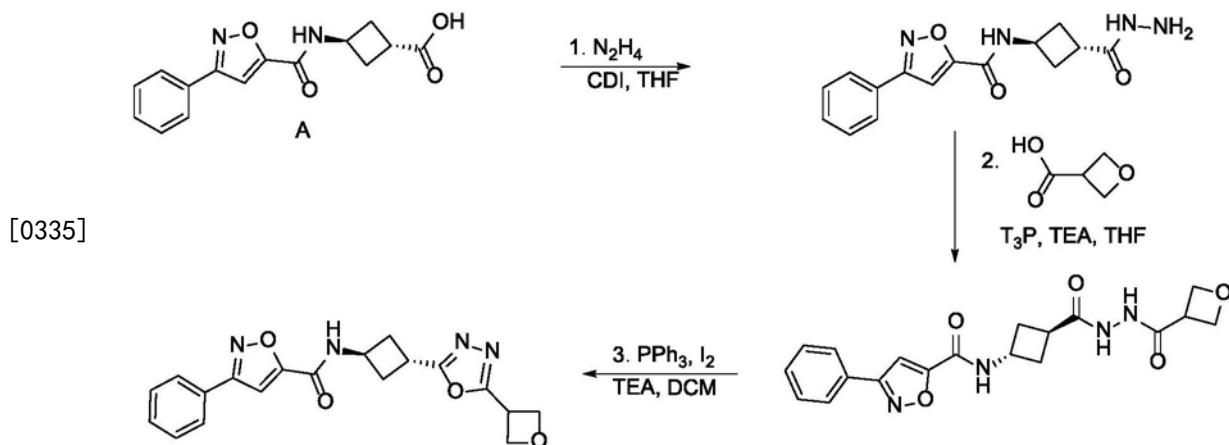


[0331] 步骤1:3-苯基-N-[反-3-(肼羰基)环丁基]异噁唑-5-甲酰胺:在室温下搅拌反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸(1.706g,5.96mmol,1.00当量)和CDI(1.933g,11.92mmol,2.00当量)于四氢呋喃(30mL)中的溶液0.5小时。向反应混合物添加水合肼(1.118g,22.33mmol,3.75当量)并且在室温下搅拌2小时。产物通过添加水来沉淀并且通过过滤来收集获得780mg(44%)呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-(肼羰基)环丁基]异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=301.2。

[0332] 步骤2:3-苯基-N-[反-3-[[5-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)甲酰肼基]羰基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺:将1-甲基氮杂环丁烷-3-甲酸(172.5mg,1.50mmol,1.50当量)、HATU(570mg,1.50mmol,1.50当量)和DIEA(387mg,2.99mmol,3.00当量)添加到3-苯基-N-[反-3-(肼羰基)环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺(300mg,1.00mmol,1.00当量)于DMF(10mL)中的溶液中,接着在室温下搅拌2小时。通过具有以下条件的快速制备型HPLC(IntelFlash-1)纯化粗产物:柱,C18;移动相,30分钟内MeCN/H₂O=5:95增加到MeCN/H₂O=95:5;检测器,UV 254nm,获得200mg(50%)呈灰白色固体状的3-苯基-N-[反-3-[[5-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)甲酰肼基]羰基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=398.0。

[0333] 步骤3:3-苯基-N-[反-3-[5-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺:将I₂(232mg)和TEA(276mg,2.73mmol,5.99当量)添加到PPh₃(239mg,0.91mmol,2.00当量)于DCM(20mL)中的冷(0℃)溶液中。在0℃下,向混合物添加3-苯基-N-[反-3-[[5-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)甲酰肼基]羰基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺(181mg,0.46mmol,1.00当量)。在室温下搅拌所得溶液3小时,用50mLDCM稀释,用NaHSO₃水溶液(2×50mL)洗涤且真空浓缩。将残余物与乙酸乙酯/石油醚(1:1)一起施加到制备型TLC上。通过具有以下条件的制备型HPLC(HPLC-10)纯化所得粗产物:柱:XBridge C180BD制备型柱100Å,10μm,19mm×250mm;移动相A:水(10mmol/L NH₄HCO₃),移动相B:ACN;流动速率:20mL/min;梯度:10分钟内20%B到30%B;254和220nm,获得50mg(29%)呈黄色固体状的3-苯基-N-[反-3-[5-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M-TFA+H]⁺=380.1;¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆,ppm):δ10.19-10.12(m,1H),9.49-9.47(d,J=7.5Hz,1H),7.95-7.92(m,2H),7.66-7.64(d,J=8.1Hz,1H),7.56-7.54(t,J=3.3Hz,3H),4.75-4.62(m,6H),3.78-3.69(m,1H),2.94(s,3H),2.44-2.72(m,4H);HPLC纯度:254nm下97.1%。

[0334] 实例22:N-反-3-(5-(氧杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺

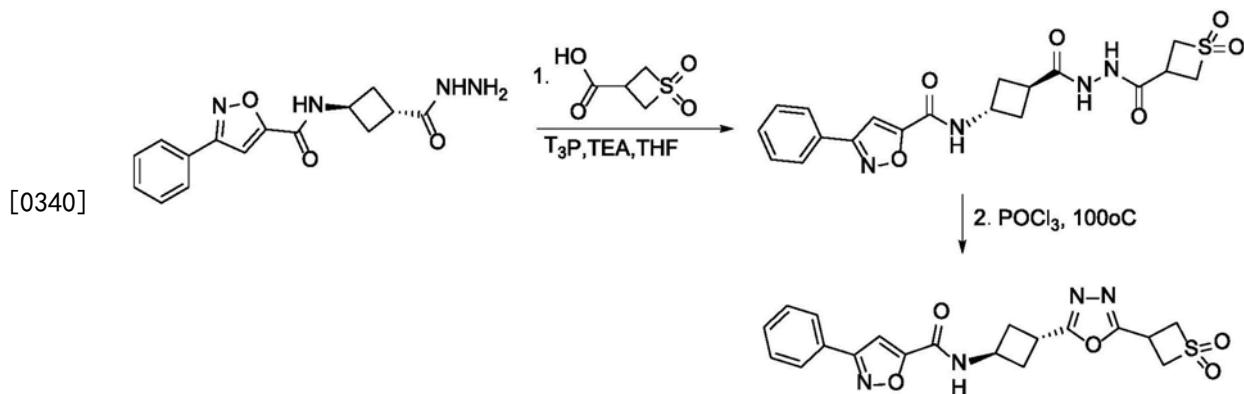


[0336] 步骤1: 3-苯基-N-[反-3-(脞羰基)环丁基]异噁唑-5-甲酰胺: 将CDI (2.26g, 13.94mmol, 2.00当量) 添加到N-反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸(根据实例13中所示的程序制备, 2g, 6.99mmol, 1.00当量)于THF (3mL) 中的溶液并且在室温下搅拌溶液1小时, 随后添加水合肼 (1.33g, 21.25mmol, 3.00当量, 80%)。在室温下再搅拌所得溶液1小时, 接着用水淬灭。通过过滤去除固体之后, 真空浓缩所得混合物并且残余物用10mL甲醇洗涤获得960mg (46%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-(脞羰基)环丁基]异噁唑-5-甲酰胺; LC-MS (ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 301.1$ 。

[0337] 步骤2: 3-苯基-N-[反-3-[(氧杂环丁烷-3-基甲酰脞基)羰基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺: 将氧杂环丁烷-3-甲酸 (170mg, 1.67mmol, 1.00当量)、 T_3P (5.3g, 8.33mmol, 5.00当量, 50%) 和TEA (838mg, 8.3mmol, 5.00当量) 添加到3-苯基-N-[反-3-(脞羰基)环丁基]异噁唑-5-甲酰胺 (500mg, 1.66mmol, 1.00当量) 于THF (50mL) 中的溶液中。在室温下搅拌所得溶液20分钟, 接着通过添加200mL水淬灭。用二氯甲烷 (3×200mL) 萃取所得溶液并且合并有机层。所得混合物用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。残余固体用2mL甲醇洗涤获得420mg (66%) 呈灰白色固体状的3-苯基-N-[反-3-[(氧杂环丁烷-3-基甲酰脞基)羰基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺; LC-MS (ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 385.0$ 。

[0338] 步骤3: 3-苯基-N-[反-3-[5-(氧杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺: 在0℃下, 将 I_2 (579mg, 2.28mmol, 2.50当量)、TEA (598mg, 5.91mmol, 6.50当量) 和3-苯基-N-[反-3-[(氧杂环丁烷-3-基甲酰脞基)羰基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺 (350mg, 0.91mmol, 1.00当量) 添加到 PPh_3 (597mg, 2.28mmol, 2.50当量) 于二氯甲烷 (30mL) 中的冷溶液中。在室温下搅拌所得溶液1小时, 接着通过添加水淬灭。所得溶液用乙酸乙酯萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。将残余物与二氯甲烷/甲醇 (10:1) 一起施加到硅胶柱上获得100.4mg (30%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-[5-(氧杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺; LC-MS (ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 367.1$; ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$, ppm): δ 9.46-9.44 (d, 1H, $J = 7.5\text{Hz}$), 7.95-7.92 (m, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.56-7.54 (m, 3H), 4.95-4.90 (m, 2H), 4.83-4.79 (m, 2H), 4.75-4.51 (m, 2H), 3.78-3.71 (m, 1H), 2.70-2.65 (m, 4H); HPLC纯度: 254nm下96.5%。

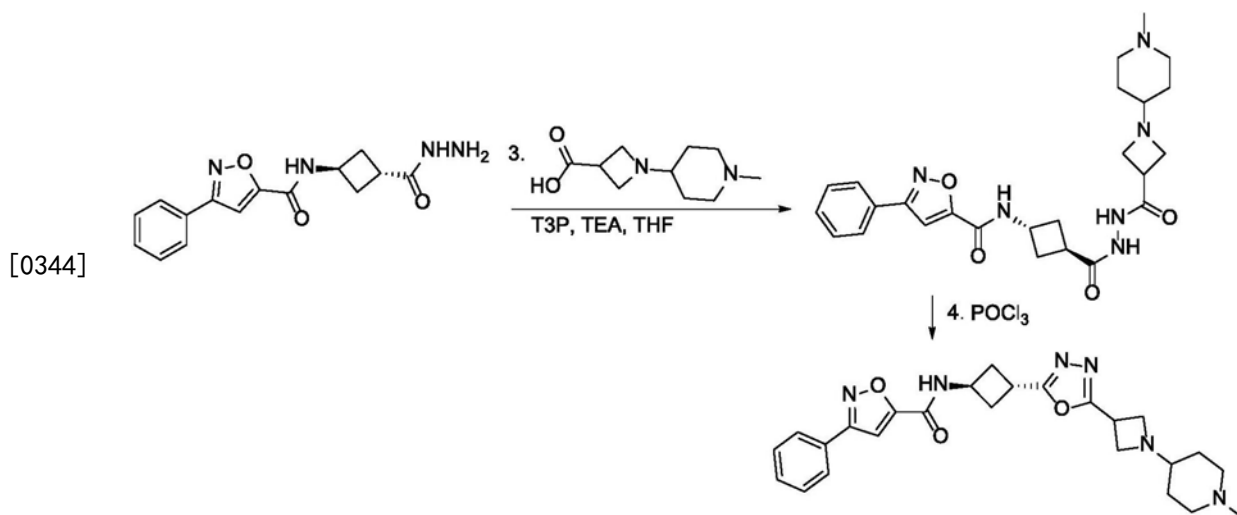
[0339] 实例23: N-(反-3-(5-(1,1-二氧离子基硫杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0341] 步骤1:N-(反-3-(2-(1,1-二氧离子基硫杂环丁烷-3-羰基)卅-1-羰基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:在室温下搅拌硫杂环丁烷-3-甲酸1,1-二氧化物(500mg, 3.4mmol, 1.00当量)、3-苯基-N-[反-3-(卅羰基)环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺(1.0g, 3.4mmol, 1.00当量)、 T_3P (10mL)和TEA(4mL)于四氢呋喃(20mL)中的溶液1小时。接着通过加水淬灭反应物,并且通过过滤收集固体获得30mg(42%)呈淡黄色固体状的N-(反-3-(2-(1,1-二氧离子基硫杂环丁烷-3-羰基)卅-1-羰基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺。LC-MS(ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+=433.1$ 。

[0342] 步骤2:N-(反-3-(5-(1,1-二氧离子基硫杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:在 100°C 下,在油浴中搅拌N-(反-3-(2-(1,1-二氧离子基硫杂环丁烷-3-羰基)卅-1-羰基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(400mg, 0.92mmol, 1.00当量)于 POCl_3 (8mL)中的溶液3小时。通过添加碳酸氢钠水溶液/冰淬灭反应物,用乙酸乙酯萃取并且合并有机层。所得混合物用水洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩获得105.8mg(28%)呈白色固体状的N-(反-3-(5-(1,1-二氧离子基硫杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+=415.2$; ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz): δ 9.46-9.42(m, 1H), 7.95-7.91(m, 2H), 7.66-7.65(m, 1H), 7.55-7.54(m, 3H), 4.75-4.57(m, 5H), 4.23-4.14(m, 1H), 3.73-3.52(m, 1H), 2.70-2.66(m, 4H); HPLC纯度: 254nm下99.2%。

[0343] 实例24和25:N-顺-(3-(5-(1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺和N-反-(3-(5-(1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0345] 步骤1:1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-甲酸苯甲酯:搅拌三氟乙酸氮杂环丁烷-3-甲酸苯甲酯(1.3g,4.26mmol,1.00当量)、1-甲基哌啶-4-酮(482mg,4.26mmol,1.10当量)和乙酸(255mg,4.25mmol,1.00当量)于DCE(20mL)中的溶液30分钟,随后添加 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (1.44g,6.79mmol,1.60当量)。在室温下搅拌所得溶液16小时。接着通过添加水淬灭反应物,用二氯甲烷萃取并且合并有机层。有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。将残余物与DCM/MeOH(10:1)一起施加到硅胶柱获得830mg(68%)呈黄色油状的1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-甲酸苯甲酯;LC-MS(ES,m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+=289.2$ 。

[0346] 步骤2:1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-甲酸:将钯/碳(100mg)添加到1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-甲酸苯甲酯(830mg,2.88mmol,1.00当量)于甲醇(20mL)中的溶液中,将溶液脱气并且用氢气反填充。在室温下搅拌所得溶液2小时,并且滤出固体。真空浓缩所得混合物获得570mg(粗产物)呈淡黄色油状的1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-甲酸;LC-MS(ES,m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+=199.1$ 。

[0347] 步骤3:3-苯基-N-[反-3-([1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-基]甲酰肼基)羰基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺:在室温下搅拌3-苯基-N-[反-3-(肼羰基)环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺(409mg,1.36mmol,1.00当量)、1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-甲酸(270mg,1.36mmol,1.00当量)、 T_3P (4.3g,6.76mmol,5.00当量,50%) and TEA(688mg,6.80mmol,5.00当量)于四氢呋喃(10mL)中的溶液30分钟。接着通过添加水淬灭反应物,用乙酸乙酯萃取并且合并水层,且真空浓缩。通过具有以下条件的快速制备型HPLC(IntelFlash-1)纯化粗产物:柱,C18;移动相,30分钟内甲醇/ H_2O =5:95增加到甲醇/ H_2O =95:5;检测器,UV 254nm,获得220mg(34%)呈淡黄色固体状的3-苯基-N-[反-3-([1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-基]甲酰肼基)羰基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+=481.2$ 。

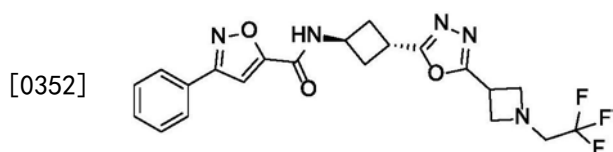
[0348] 步骤4:在100℃下搅拌3-苯基-N-[反-3-([1-(1-甲基哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-基]甲酰肼基)羰基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺(160mg,0.33mmol,1.00当量)于 POCl_3 (8mL)中的溶液1小时。接着通过添加水/冰淬灭反应物,使用碳酸氢钠水溶液将溶液的pH值调整到8。所得溶液用二氯甲烷萃取并且合并有机层,用盐水洗涤,干燥且真空浓缩。通过具有以下条件的制备型HPLC(HPLC-10)纯化粗产物:柱,XBridge Shield RP18 OBD柱,5 μm ,19 \times 150mm;移动相,水(0.05% NH_4HCO_3)和ACN(8分钟内27.0%ACN到37.0%);检测器,UV 254/

220nm, 获得19.6mg (13%) 呈白色固体状的前部峰和4.2mg (3%) 呈灰白色固体状的第二峰。

[0349] 前部峰: LC-MS (ES, m/z) : $[M+H]^+ = 463.2$; 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6 , ppm) : δ 9.45-9.43 (d, 1H, J=7.5Hz) , 7.95-7.92 (m, 2H) , 7.66 (s, 1H) , 7.56-7.53 (m, 3H) , 4.67-4.64 (m, 1H) , 3.85-3.80 (m, 1H) , 3.73-3.69 (m, 1H) , 3.60-3.55 (m, 2H) , 3.29-3.24 (m, 3H) , 2.68-2.62 (m, 5H) , 2.12 (s, 3H) , 2.04-1.98 (m, 1H) , 1.91-1.84 (m, 2H) , 1.62-1.58 (m, 2H) , 1.21-1.11 (m, 2H) ; HPLC纯度: 254nm下97.8%。

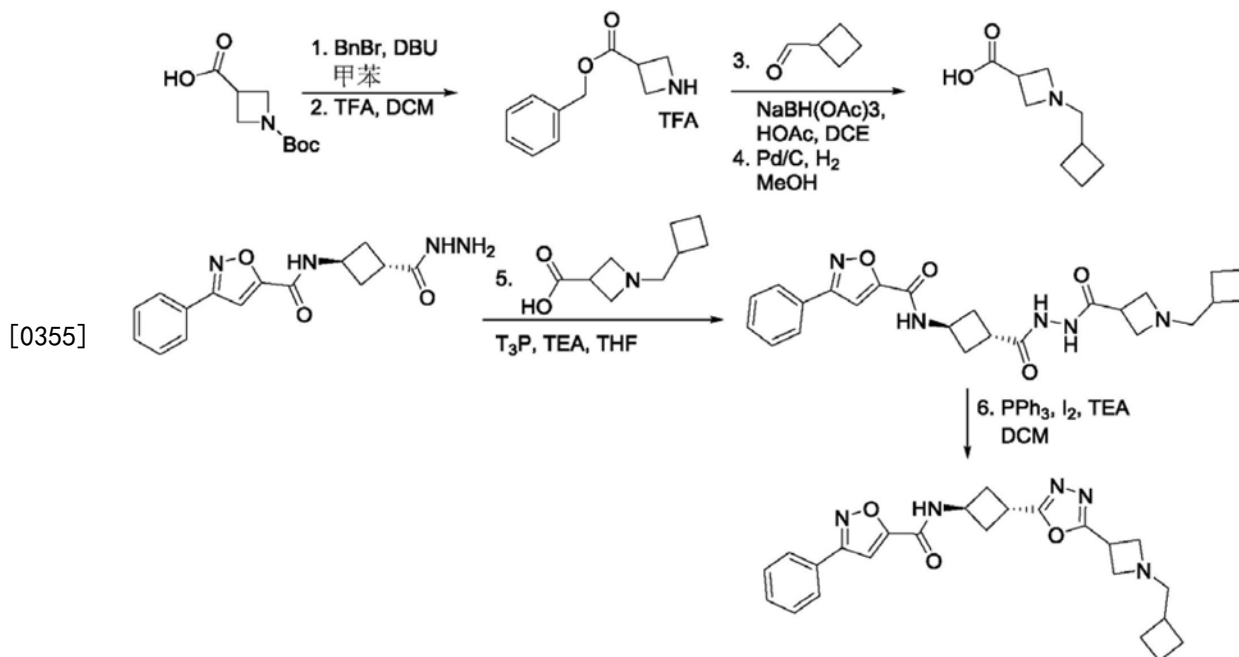
[0350] 第二峰: LC-MS (ES, m/z) : $[M+H]^+ = 463.2$; 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6 , ppm) : δ 9.47-9.44 (d, 1H, J=7.8Hz) , 7.95-7.92 (m, 2H) , 7.66 (s, 1H) , 7.56-7.54 (m, 3H) , 4.72-4.64 (m, 1H) , 3.77-3.74 (m, 1H) , 3.62 (s, 2H) , 3.29 (s, 3H) , 2.71-2.66 (m, 6H) , 2.40-2.30 (m, 1H) , 2.12 (s, 3H) , 1.89-1.75 (m, 4H) , 1.29-1.25 (m, 2H) ; HPLC纯度: 254nm下95.1%。

[0351] 实例26: 3-苯基-N-(反-3-(5-(1-(2,2,2-三氟乙基)氮杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)异噁唑-5-甲酰胺



[0353] 使用实例20中所示的类似方法制备标题化合物。

[0354] 实例27: N-(反-3-(5-(1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0356] 步骤1: 氮杂环丁烷-1,3-二甲酸3-苯甲酯1-叔丁酯: 在室温下搅拌1-[(叔丁氧基)羰基]氮杂环丁烷-3-甲酸 (5g, 24.85mmol, 1.00当量)、BnBr (4.65g, 27.19mmol, 1.10当量) 和DBU (5.67g, 37.24mmol, 1.50当量) 于甲苯 (80mL) 中的溶液4小时。接着通过添加水淬灭反应物, 用乙酸乙酯萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。将残余物与乙酸乙酯/石油醚 (1:6) 一起施加到硅胶柱上, 获得5.4g (75%) 呈无色油状的氮杂环丁烷-1,3-二甲酸3-苯甲酯1-叔丁酯; LC-MS (ES, m/z) : $[M+H-Boc]^+ = 192.0$ 。

[0357] 步骤2: 2,2,2-三氟乙酸氮杂环丁烷-3-甲酸苯甲酯: 在室温下搅拌氮杂环丁烷-1,

3-二甲酸3-苯甲酯1-叔丁酯(5.4g,18.53mmol,1.00当量)和三氟乙酸(7mL)于二氯甲烷(50mL)中的溶液隔夜。真空浓缩所得混合物获得7g(粗产物)呈淡黄色油状的2,2,2-三氟乙酸氮杂环丁烷-3-甲酸苯甲酯;LC-MS(ES,m/z): $[M+H]^+=191.8$ 。

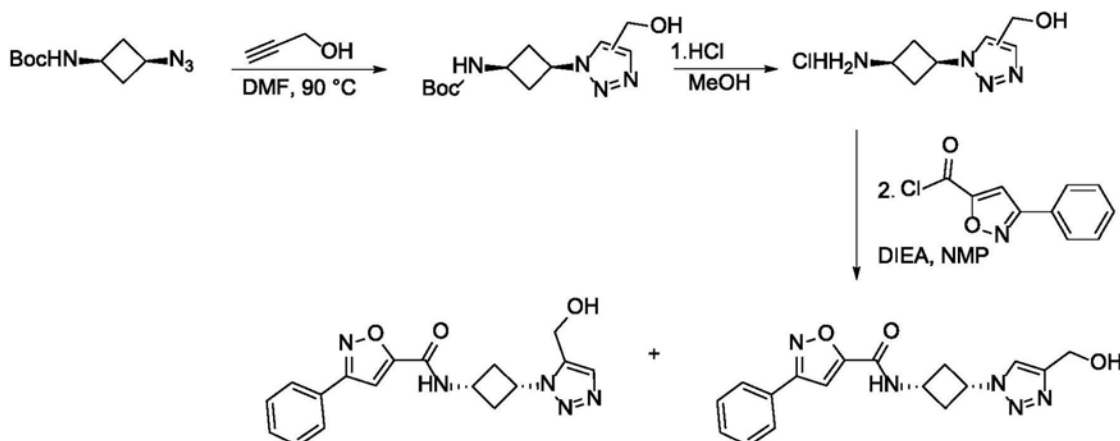
[0358] 步骤3:1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-甲酸苯甲酯:将2,2,2-三氟乙酸氮杂环丁烷-3-甲酸环己基甲酯(1.3g,4.18mmol,1.00当量)、环丁烷甲醛(358mg,4.26mmol,1.00当量)和乙酸(255mg,4.25mmol,1.00当量)于DCE(20mL)中的溶液搅拌30分钟,接着添加NaBH(OAc)₃(1.44g,6.79mmol,1.60当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时。接着通过添加水淬灭反应物,用二氯甲烷萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。将残余物与二氯甲烷/甲醇(20:1)一起施加到硅胶柱获得650mg(59%)呈无色油状的1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-甲酸苯甲酯;LC-MS(ES,m/z): $[M+H]^+=260.1$ 。

[0359] 步骤4:1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-甲酸:向1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-甲酸苯甲酯(650mg,2.51mmol,1.00当量)于甲醇(10mL)中的溶液添加钨/碳(65mg)并且将溶液脱气,并且用氢气反填充。在室温下搅拌所得溶液2小时。滤出固体且真空浓缩获得425mg(99%)呈白色固体状的1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-甲酸;LC-MS(ES,m/z): $[M+H]^+=170.1$ 。

[0360] 步骤5:3-苯基-N-[反-3-([1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-基]甲酰肼基)羰基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺:在室温下搅拌3-苯基-N-[反-3-(肼羰基)环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺(300mg,1.00mmol,1.00当量)、1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-甲酸(200mg,1.20mmol,1.20当量)、T₃P(3.18g,5.00mmol,5.00当量,50%) and TEA(505mg,4.99mmol,5.00当量)于四氢呋喃(10mL)中的溶液30分钟。接着通过添加水淬灭反应物,用乙酸乙酯萃取并且合并水层,且真空浓缩。通过具有以下条件的快速制备性HPLC(IntelFlash-1)纯化粗产物:柱,C18;移动相,30分钟内MeCN/H₂O=5:95增加到MeCN/H₂O=95:5;检测器,UV 254nm,获得210mg(47%)呈淡黄色固体状的3-苯基-N-[反-3-([1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-基]甲酰肼基)羰基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z): $[M+H]^+=452.1$ 。

[0361] 步骤6:3-苯基-N-[反-3-[5-[1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺:在N₂下,将I₂(401mg,1.58mmol,2.50当量)、TEA(415mg,4.10mmol,6.50当量)和3-苯基-N-[反-3-([1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-基]甲酰肼基)羰基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺(285mg,0.63mmol,1.00当量)添加到Ph₃P(414mg,1.58mmol,2.50当量)于二氯甲烷(20mL)中的溶液。在室温下搅拌反应混合物1小时,用水淬灭,接着用乙酸乙酯萃取,并且合并有机层。有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。将残余物与DCM/MeOH(25:1)一起施加到硅胶柱上。通过具有以下条件的制备型HPLC(HPLC-10)纯化所得粗产物:柱,X Bridge制备型C180BD柱,19×150mm,5μm;移动相,水(0.05%NH₄HCO₃)和ACN(8分钟内30%ACN到80%);检测器,UV 254nm,获得呈白色固体状的125.6mg(46%)3-苯基-N-[反-3-[5-[1-(环丁基甲基)氮杂环丁烷-3-基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z): $[M+H]^+=434.3$; ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆,ppm):δ9.45-9.43(d,1H,J=7.6Hz),7.95-7.93(m,2H),7.65(s,1H),7.55-7.54(m,2H),4.71-4.63(m,1H),3.88-3.81(m,1H),3.74-3.67(m,1H),3.59-3.55(t,2H,J=7.2Hz),3.31(s,1H),3.29-3.26(d,1H,J=6.8Hz),2.70-2.63(m,4H),2.45-2.43(m,2H),2.32-2.24(m,1H),1.99-1.95(m,2H),1.88-1.73(m,2H),1.67-1.59(m,2H);HPLC纯度:254nm下99.3%。

[0362] 实例28和29:N-(顺-3-(5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺和N-(顺-3-(4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0364] 步骤1:1-[顺-3-氨基环丁基]-1H-1,2,3-三唑-5-基]甲醇盐酸盐:在室温下搅拌N-[顺-3-[4/5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]氨基甲酸叔丁酯(使用与实例36类似的程序制备;400mg,1.49mmol,1.00当量)于盐酸/MeOH(5mL)中的溶液18小时。真空浓缩所得混合物,并且用3mL二噁烷稀释。固体通过过滤来收集并且在烘箱中减压干燥获得301mg(粗产物)呈白色固体状的1-[顺-3-氨基环丁基]-1H-1,2,3-三唑-5-基]甲醇盐酸盐;LC-MS(ES,m/z):[M+1]⁺=167.1。

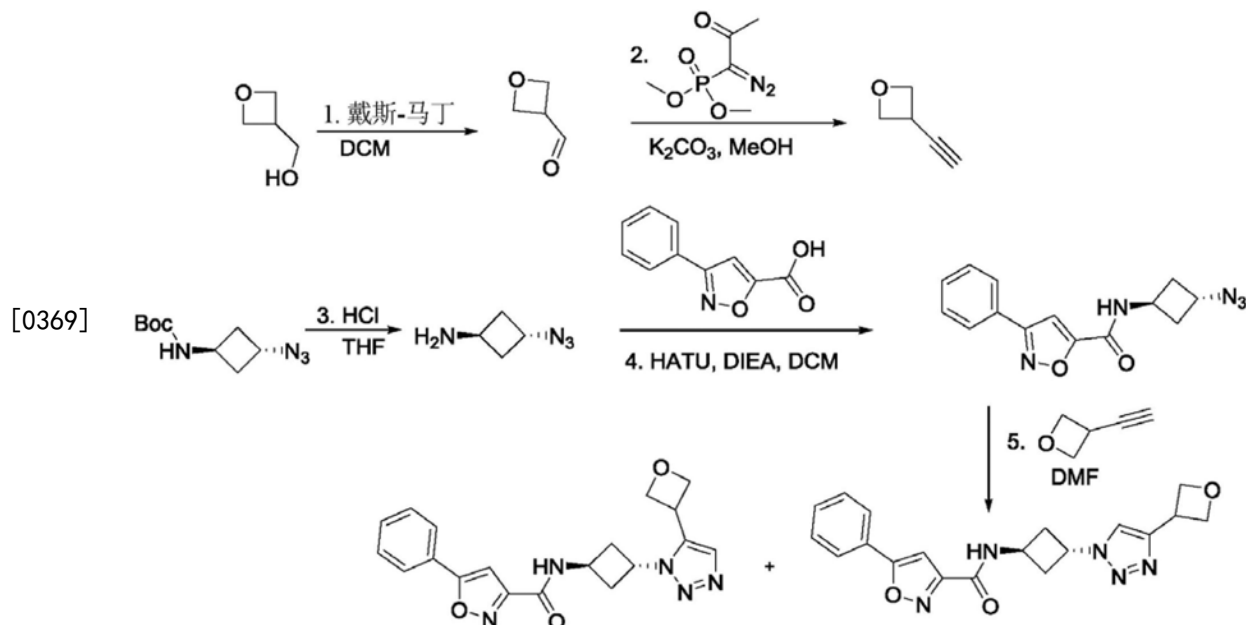
[0365] 步骤2:3-苯基-N-[顺-3-[4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[顺-3-[5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺:将DIEA(787mg,6.09mmol,3.00当量)逐滴添加到[1-[顺-3-氨基环丁基]-1H-1,2,3-三唑-4/5-基]甲醇盐酸盐(410mg,2.00mmol,1.00当量)于NMP(4mL)中的冷溶液(10℃)并且在25℃下搅拌30分钟,随后在0到10℃下在搅拌下逐滴添加3-苯基异噁唑-5-羰基氯(310mg,1.64mmol,1.00当量)于NMP(1mL)中的溶液。搅拌反应物30分钟,接着通过添加0.5mL甲醇淬灭。在25℃下搅拌混合物30分钟,接着添加40mL水。粗固体通过过滤来收集并且通过制备型HPLC纯化:柱:XBridge BEH130制备型C18 OBD柱19×150mm,5μm,13nm;移动相A:水(10mmol/LNH₄HCO₃),移动相B:ACN;流动速率:20mL/min;梯度:8分钟内22%B到47%B;254nm,获得152mg(22%)呈白色固体状的3-苯基-N-[顺-3-[5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺和143.15mg(28%)呈白色固体状的3-苯基-N-[顺-3-[4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺。

[0366] 3-苯基-N-[顺-3-[5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺:LC-MS(ES,m/z):[M+1]⁺=340.0;¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆,ppm):δ9.48-9.45(d,J=7.5Hz,1H),7.94-7.91(m,2H),7.66-7.62(m,2H),7.56-7.54(m,3H),5.46-5.42(m,1H),4.89-4.80(m,1H),4.58-4.57(d,J=5.4Hz,2H),4.45-4.35(m,1H),2.92-2.80(m,4H);HPLC纯度:254nm下99.2%。

[0367] 3-苯基-N-[顺-3-[4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺:LC-MS(ES,m/z):[M+1]⁺=340.0;¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆,ppm):δ9.41-9.39(d,J=8.4Hz,1H),8.16(s,1H),7.96-7.93(m,2H),7.67(s,1H),7.56-7.54(m,3H),5.23-5.19(t,J

=5.6Hz, 1H), 4.98-4.92 (m, 1H), 4.55-4.53 (d, J=5.4Hz, 2H), 4.45-4.37 (m, 1H), 2.98-2.90 (m, 2H), 2.75-2.65 (m, 2H); HPLC纯度: 254nm下99.3%。

[0368] 实例30和31: N-(反-3-(5-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-5-苯基异噁唑-3-甲酰胺和N-(反-3-(4-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-5-苯基异噁唑-3-甲酰胺



[0370] 步骤1: 氧杂环丁烷-3-甲醛: 在25℃下搅拌氧杂环丁烷-3-基甲醇(2g, 22.70mmol, 1.00当量)于二氯甲烷(20mL)和1,1,1-三乙酰氧基-1,1-二氢-1,2-苯碘酰-3(1H)-酮(11.7g, 27.59mmol, 1.00当量)中的溶液2小时。滤出固体并且真空浓缩混合物获得2.1g(粗产物)呈黄色油状的氧杂环丁烷-3-甲醛。

[0371] 步骤2: 3-乙炔基氧杂环丁烷: 在25℃下搅拌氧杂环丁烷-3-甲醛(2.1g, 24.39mmol, 1.00当量)、碳酸钾(6.6g, 47.75mmol, 2.00当量)和(1-重氮基-2-氧代丙基)膦酸二甲酯(7g, 36.44mmol, 1.50当量)于甲醇(30mL)中的溶液3小时。所得溶液用150mL水稀释,用乙酸乙酯(2×100mL)萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水(2×100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩获得820mg(41%)呈无色油状的3-乙炔基氧杂环丁烷。

[0372] 步骤3: 反-3-叠氮基环丁烷-1-胺: 在25℃下搅拌N-[反-3-叠氮基环丁基]氨基甲酸叔丁酯(1g, 4.71mmol, 1.00当量)于四氢呋喃(20mL)/浓HCl水溶液(5mL)中的溶液2小时。真空浓缩所得混合物获得800mg(粗产物)呈黄色油状的顺-3-叠氮基环丁烷-1-胺。

[0373] 步骤4: 3-苯基-N-[反-3-叠氮基环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺: 将HATU(1.37g, 3.60mmol, 1.50当量)、DIEA(928mg, 7.18mmol, 3.00当量)和3-苯基-异噁唑-5-甲酸(453mg, 2.39mmol, 1.00当量)添加到反-3-叠氮基环丁烷-1-胺(800mg, 7.13mmol, 1.00当量)于二氯甲烷(15mL)中的溶液并且在25℃下搅拌混合物2小时。所得溶液用150mL H₂O稀释,用乙酸乙酯(2×100mL)萃取并且合并有机层。有机层用盐水(2×100mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。将残余物与石油醚:乙酸乙酯(10:1)一起施加到硅胶柱上,获得390mg(19%)呈黄色固体状的3-苯基-N-[反-3-叠氮基环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺; LC-MS(ES, m/z): [M+H]⁺=284.1。

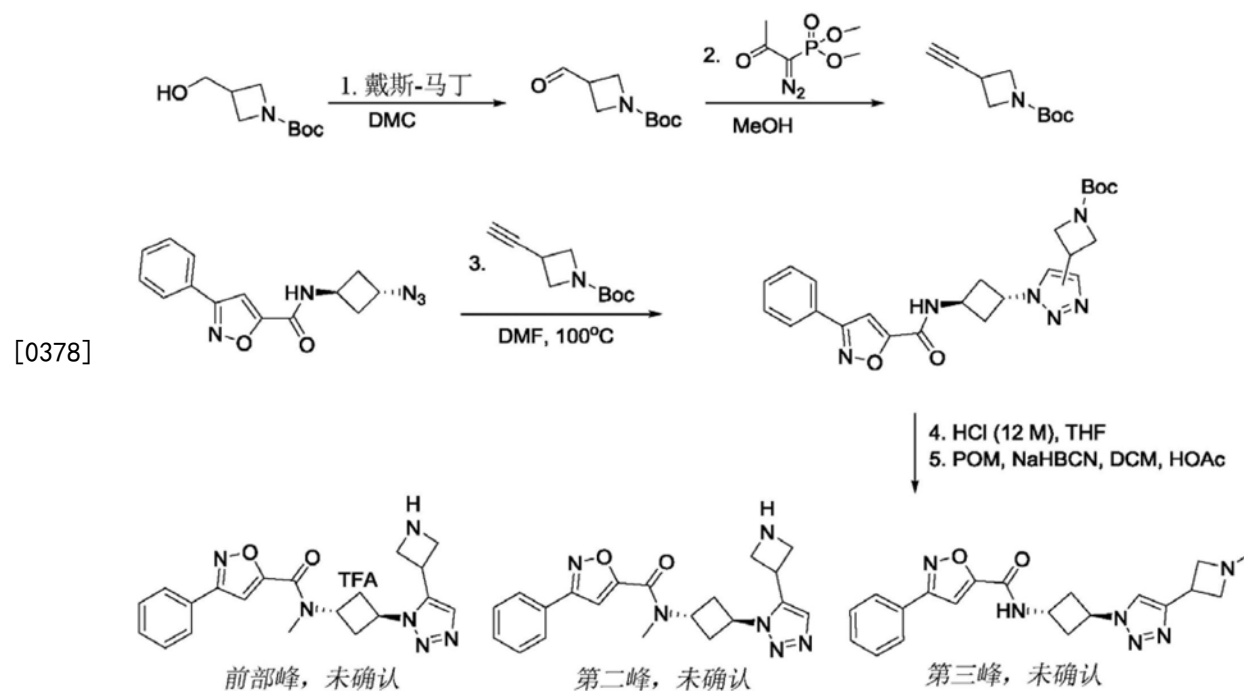
[0374] 步骤5: 5-苯基-N-[反-3-[4-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]

异噁唑-3-甲酰胺和5-苯基-N-[反-3-[5-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-3-甲酰胺:在100℃下搅拌3-苯基-N-[(反-3-叠氮基环丁基]异噁唑-5-甲酰胺(283mg,1.00mmol,1.00当量)和3-乙炔基氧杂环丁烷(410mg,4.99mmol,5.00当量)于DMF(10mL)中的溶液16小时。所得溶液用100mL H₂O稀释,用乙酸乙酯(2×100mL)萃取并且合并的有机层经无水硫酸钠干燥且真空浓缩。通过制备型TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:5)纯化粗产物。通过具有以下条件的手性制备型HPLC(制备型HPLC-032)分离所得异构体:柱,Phenomenex Lux 5u纤维素-4AXIA装填,250×21.2mm,5μm;移动相,己烷和乙醇(保持于50.0%乙醇中20分钟);检测器,UV 254/220nm,获得16.8mg(5%)呈白色固体状的5-苯基-N-[反-3-[5-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-3-甲酰胺和29.1mg(8%)呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-[4-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺。

[0375] 5-苯基-N-[反-3-[5-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-3-甲酰胺:LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=366.1;¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆)δ9.51-9.49(d,J=7.2Hz,1H),7.96-7.94(m,3H),7.68(s,1H),7.57-7.56(m,3H),4.97-4.93(m,3H),4.75-4.70(m,1H),4.66-4.62(m,2H),4.48-4.42(m,1H),2.86-2.74(m,4H);HPLC纯度:254nm下99.5%。

[0376] 5-苯基-N-[反-3-[4-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-3-甲酰胺:LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=366.1;¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆)δ9.52-9.50(d,J=6.9Hz,1H),8.33(s,1H),7.96-7.93(m,2H),7.68(s,1H),7.56-7.54(m,3H),5.34-5.24(m,1H),4.92-4.88(m,2H),4.76-4.65(m,3H),4.42-4.32(m,1H),2.91-2.75(m,4H);HPLC纯度:254nm下98%。

[0377] 实例32和33:N-(反-3-(4-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺和N-(反-3-(5-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0379] 步骤1:3-甲酰基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯:在室温下搅拌3-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(3.74g,19.97mmol,1.00当量)和戴斯-马丁试剂(Dess-Martin reagent)(12.72g,30.00mmol,1.50当量)于二氯甲烷(100mL)中的溶液2小时。滤出固体,真空浓缩所得混合物获得3.8g(粗产物)呈白色固体状的3-甲酰基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯。

[0380] 步骤2:3-乙炔基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯:在室温下搅拌3-甲酰基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(3.7g,19.98mmol,1.00当量)、碳酸钾(8.28g,59.91mmol,3.00当量)和(1-重氮基-2-氧代丙基)膦酸二甲酯(5.76g,29.98mmol,1.50当量)于甲醇(50mL)中的溶液3小时。所得溶液用200mL乙醚稀释,用饱和碳酸氢钠水溶液(2×200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥且真空浓缩获得3.282g(粗产物)呈黄色油状的3-乙炔基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯。

[0381] 步骤3:3-[1-[反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1H-1,2,3-三唑-4/5-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯:在140℃下,将3-苯基-N-[反-3-叠氮基环丁基]异噁唑-5-甲酰胺(327mg,1.15mmol,1.00当量)和3-乙炔基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(627mg,3.46mmol,3.00当量)于DMF(4mL)中的溶液置于微波反应器中6小时。真空浓缩所得混合物并且将残余物与乙酸乙酯/石油醚(1:1)一起施加到硅胶柱上,获得553mg(粗产物)呈黄色固体状的3-[1-[反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1H-1,2,3-三唑-5-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯和3-[1-[反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1H-1,2,3-三唑-4-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯的混合物;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=465.3。

[0382] 步骤4:3-苯基-N-[反-3-[4/5-(氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺盐酸盐:在室温下搅拌3-[1-反-3-(3-苯基异噁唑-5-酰胺基)环丁基]-1H-1,2,3-三唑-4/5-基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯的混合物(553mg,1.19mmol,1.00当量)于四氢呋喃(10mL)/盐酸水溶液(6N,6mL)中的溶液2小时。真空浓缩所得混合物获得551mg(粗产物)呈褐色固体状的3-苯基-N-[反-3-[4/5-(氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺盐酸盐的混合物;LC-MS(ES,m/z):[M-HCl+H]⁺=365.3。

[0383] 步骤5:N-(反-3-(4-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺和N-(反-3-(5-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:在室温下搅拌3-苯基-N-[反-3-[4/5-(氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺盐酸盐,POM的混合物(302mg,6.86mmol,4.99当量)和乙酸(165mg,2.75mmol,2.00当量)于DCM(20mL)中的溶液30分钟。向反应混合物添加NaBHCN(346mg,5.49mmol,4.00当量)并且将其在室温下搅拌3小时。真空浓缩混合物并且通过具有以下条件的制备型HPLC(HPLC-10)纯化粗产物:柱,XBridge C180BD制备型柱,19mm×250mm;移动相,水(10mmol/L NH₄HCO₃)和ACN(8分钟内40.0%ACN到90.0%);检测器,UV 254/220nm。这产生50mg粗第一峰,20mg(4%)呈白色固体状的第二峰和75mg(15%)呈白色固体状的第三峰。接着,粗第一峰通过具有以下条件的制备型HPLC(HPLC-10)纯化:柱,XBridge C18 OBD制备型柱,19mm×250mm;移动相,水(0.05%TFA)和ACN(10分钟内20.0%ACN到50.0%);检测器,UV 254/220nm,获得30mg呈黄色油状的产物。

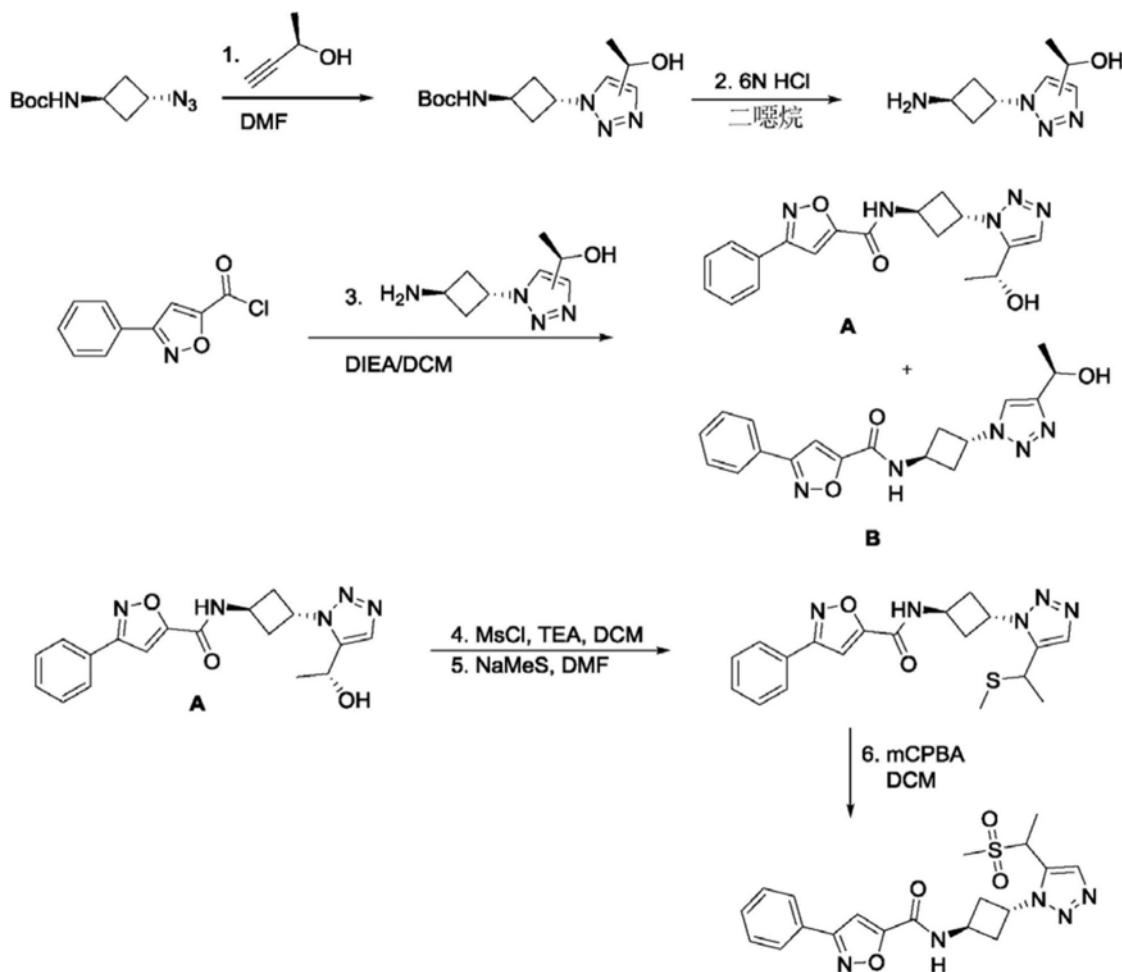
[0384] 第一峰(推定结构):

[0385] 第二峰(推定结构):LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=379.2;¹H NMR(400MHz,CD₃OD,ppm):8.05(s,1H),7.89-7.88(d,J=2.8Hz,2H),7.52-7.51(m,3H),7.43(s,1H),5.11(br,1H),

4.90-4.88 (m, 1H), 4.74-7.54 (m, 1H), 4.54-4.46 (m, 2H), 4.36-4.25 (m, 2H), 3.10-2.91 (m, 5H), 2.89-2.88 (m, 2H); HPLC纯度: 254nm下99.4%。

[0386] 第三峰: N-(反-3-(4-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺: LC-MS $[M+H]^+ = 379.3$; 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6 , ppm): δ 9.53-9.51 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.96-7.74 (m, 2H), 7.69 (s, 1H), 7.56-7.54 (m, 3H), 5.28-5.24 (m, 1H), 4.72-4.67 (m, 1H), 3.64-3.56 (m, 3H), 3.12-3.09 (m, 2H), 2.88-2.75 (m, 4H), 2.08 (s, 3H); HPLC纯度: 254nm下98.7%。

[0387] 实例34: N-(反-3-(5-(1-(甲基磺酰基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0389] 制备中间物A和B:

[0390] 步骤1: N-[反-3-[4/5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]氨基甲酸叔丁酯: 在100℃下, 在油浴中, 搅拌N-[反-3-叠氮基环丁基]氨基甲酸叔丁酯 (2g, 9.42mmol, 1.00当量) 和 (2R)-丁-3-炔-2-醇 (3.3g, 47.08mmol, 5.00当量) 于DMF (5mL) 中的溶液隔夜。真空浓缩所得混合物。将残余物与乙酸乙酯/石油醚 (3:1) 一起施加到硅胶柱上, 获得2.1g (79%) 呈淡黄色固体状的N-[反-3-[4/5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]氨基甲酸叔丁酯的混合物; LC-MS (ES, m/z): $[M+H]^+ = 283.2$ 。

[0391] 步骤2: (1R)-1-[1-[反-3-氨基环丁基]-1H-1,2,3-三唑-4/5-基]乙醇: 在室温下搅拌N-[反-3-[4/5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]氨基甲酸叔丁酯的

混合物于二噁烷(10mL)/盐酸水溶液(6N,3mL)中的溶液2小时。真空浓缩所得混合物获得1.45g(粗产物)呈淡黄色固体状的(1R)-1-[1-[反-3-氨基环丁基]-1H-1,2,3-三唑-4/5-基]乙醇的混合物;LC-MS-PH(ES,m/z):[M+H]⁺=183.1。

[0392] 步骤3:N-(反-3-(5-((R)-1-羟基乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(A)和N-(反-3-(4-((R)-1-羟基乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(B):将DIEA(2.55g,3.00当量)和3-苯基异噁唑-5-羰基氯(1.77g,8.53mmol,1.30当量)逐滴添加到(1R)-1-[1-[反-3-氨基环丁基]-1H-1,2,3-三唑-4/5-基]乙醇的混合物于二氯甲烷(20mL)中的冷(0℃)溶液中并且在0℃下搅拌混合物2小时。所得混合物用盐酸水溶液(2N)(1×50mL)和碳酸钾(5%)(1×100mL)洗涤,真空浓缩,并且通过制备型HPLC纯化粗产物获得0.236g(10%)N-(反-3-(5-((R)-1-羟基乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺和0.333g(14%)呈白色固体状的N-(反-3-(4-((R)-1-羟基乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=354.2。

[0393] 制备N-(反-3-(5-(1-(甲基磺酰基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:

[0394] 步骤4:N-(反-3-(5-((R)-1-氯乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:将MsCl(81.3mg,2.00当量)逐滴添加到3-苯基-N-[反-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺(126mg,0.36mmol,1.00当量)和TEA(108mg,3.00当量)于二氯甲烷(20mL)中的0℃溶液并且在室温下搅拌溶液5小时。混合物用30ml二氯甲烷稀释,用CuSO₄水溶液(2×30mL)洗涤且真空浓缩获得151mg(粗产物)呈褐色油状的N-(反-3-(5-((R)-1-氯乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=372.1。

[0395] 步骤5:在100℃下,在油浴中,搅拌N-(反-3-(5-((R)-1-氯乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(151mg,0.41mmol,1.00当量)和NaSMe(50mg,2.00当量)于DMF(5mL)中的溶液5小时。接着通过添加20mL水淬灭反应物,用乙酸乙酯(3×20mL)萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水(2×10mL)洗涤且真空浓缩获得189mg(粗产物)呈褐色油状的3-苯基-N-[反-3-[5-[1-(甲基磺酰基)乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=384.4。

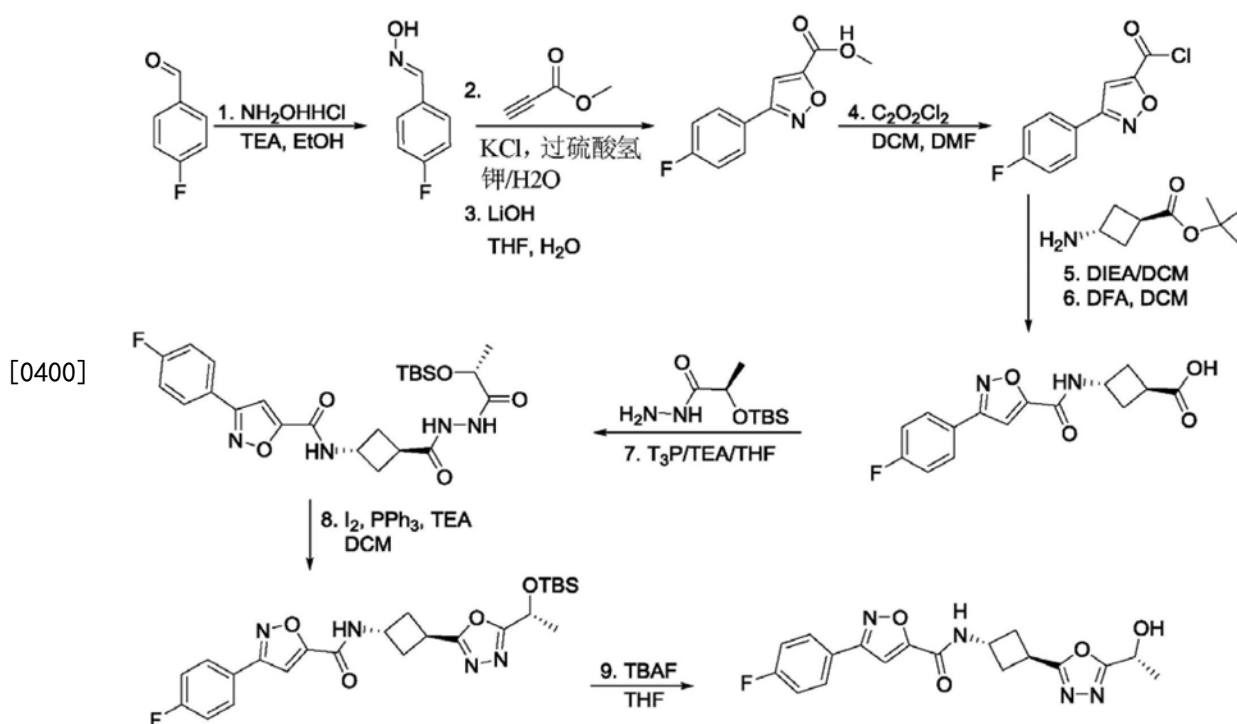
[0396] 步骤6:将mCPBA(338mg,1.96mmol,4.00当量)分数批添加到3-苯基-N-[反-3-[5-[1-(甲基磺酰基)乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]异噁唑-5-甲酰胺(189mg,0.49mmol,1.00当量)于二氯甲烷(10mL)中的0℃溶液中并且在室温下搅拌混合物5小时。反应混合物用50mL二氯甲烷稀释,用Na₂S₂O₃水溶液(1×50mL)洗涤且真空浓缩。通过具有以下条件的制备型HPLC(沃特斯)纯化粗产物:柱,Xbridge制备型C18,5μm,19×150mm;移动相,具有0.08%NH₄HCO₃的水和CH₃CN(10分钟内30%CH₃CN到70%CH₃CN,2分钟内到95%并且2分钟内降到30%);检测器,UV 254nm和220nm,获得23.3mg(11%)呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-[5-[1-甲磺酰基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=416.2;¹H NMR(DMSO-d₆,400MHz):δ9.52-9.49(d,J=12.0Hz,1H),7.95-7.93(m,3H),7.69(s,1H),7.56-7.54(m,3H),5.36-5.29(m,1H),4.93-4.87(m,1H),4.85-4.76(m,1H),3.01(s,3H),2.92-2.78(m,4H),1.69-1.67(d,J=7.2Hz,3H);HPLC纯度:254nm

下99.2%。

[0397] 实例35:N-(反-3-(4-(1-(甲基磺酰基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺

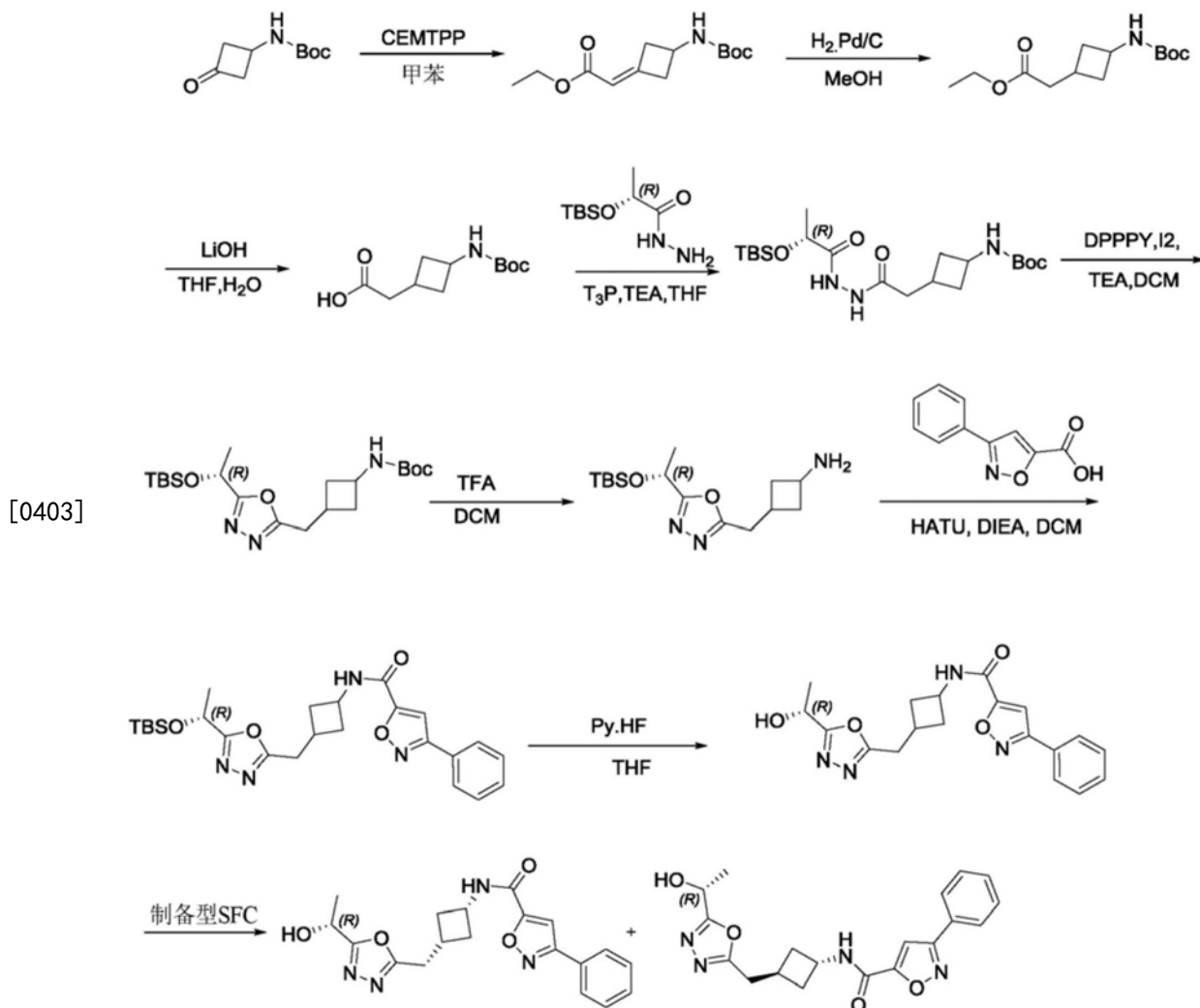
[0398] 通过如实例34中所示类似的程序使用中间物B作为起始物质制备标题化合物。通过具有以下条件的制备型HPLC(沃特斯)纯化粗产物:柱,Xbridge制备型C18,5 μ m,19 \times 150mm;移动相,具有0.08%NH₄HCO₃的水和CH₃CN(10分钟内30%CH₃CN到75%CH₃CN,2分钟内到95%并且2分钟内降到30%);检测器,UV 254nm和220nm,获得54.5mg(17.6%)呈白色固体状的3-苯基-N-[反-3-[5-[1-甲磺酰基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-异噁唑-5-甲酰胺;LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=416.2;¹H NMR(DMSO-d₆,400MHz): δ 9.54-9.52(d,J=7.2Hz,1H),8.43(s,1H),7.96-7.94(m,2H),7.68(s,1H),7.56-7.54(m,3H),5.37-5.29(m,1H),4.72-4.68(m,2H),2.95(s,3H),2.88-2.81(m,4H),1.68-1.66(d,J=7.2Hz,3H);HPLC纯度:254nm下98.4%。

[0399] 实例36:3-(4-氟苯基)-N-(反-3-(5-((R)-1-羟基乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)环丁基)异噁唑-5-甲酰胺



[0401] 标题化合物使用与实例13中所示的方法类似的方法制备并且通过具有以下条件的快速制备型HPLC(IntelFlash-1)纯化:柱,C18;移动相,30分钟内H₂O/CH₃CN=100:1增加到H₂O/CH₃CN=1:100;检测器,UV 254nm,获得37.7mg(25%)白色固体;LC-MS(ES,m/z):[M+1]⁺=373.0;¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆): δ 9.49-9.47(d,J=7.6Hz,1H),8.03-7.98(m,2H),7.68(s,1H),7.42-7.37(m,2H),5.97-5.95(d,J=6Hz,1H),7.96-4.89(m,1H),4.71-4.65(m,1H),3.76-3.72(m,1H),2.73-2.60(m,4H),1.50-1.48(d,J=6.4Hz,3H);HPLC纯度:254nm下99.8%。

[0402] 实例37和38:N-((1S,3s)-3-((5-((R)-1-羟基乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺和N-((1R,3r)-3-((5-((R)-1-羟基乙基)-1,3,4-噁二唑-2-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0404] 步骤1: 2-(3-((叔丁氧基羰基)氨基)亚环丁基)乙酸乙酯. 向250mL圆底烧瓶放置N-(3-氧代环丁基)氨基甲酸叔丁酯(13g, 70.19mmol, 1.00当量)于甲苯(100mL)中的溶液, 接着添加(乙酯基亚甲基)三苯基磷烷(CEMTPP)(25.7g, 73.77mmol, 1.05当量)。在100℃下搅拌所得溶液2小时。真空浓缩所得混合物, 接着将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:5)洗脱获得呈白色固体状的16.7g(93%) 2-(3-[[叔丁氧基]羰基]氨基)亚环丁基)乙酸乙酯。LCMS(ES, m/z): $[M+H]^+ = 256.2$ 。

[0405] 步骤2: 2-(3-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁基)乙酸乙酯. 向250mL圆底烧瓶中放置2-(3-[[叔丁氧基]羰基]氨基)亚环丁基)乙酸乙酯(16.7g, 65.41mmol, 1.00当量, 如上文所制备)于MeOH(100mL)中的溶液, 接着添加钯/碳(1g)。将溶液脱气并且用氢气反填充。在室温下搅拌所得溶液3小时。通过过滤去除固体, 接着减压浓缩所得溶液获得15.5g(92%)呈无色油状的2-(3-[[叔丁氧基]羰基]氨基)环丁基)乙酸乙酯。LCMS(ES, m/z): $[M+H]^+ = 258.2$ 。

[0406] 步骤3: 2-(3-[[叔丁氧基]羰基]氨基)环丁基)乙酸. 向500毫升圆底烧瓶中放置2-(3-[[叔丁氧基]羰基]氨基)环丁基)乙酸乙酯(15.5g, 60.23mmol, 1.00当量)于THF/H₂O(150/50mL)和LiOH(2.16g, 90.20mmol, 1.50当量)中的溶液。在室温下搅拌所得溶液3小时, 接着减压浓缩所得混合物。所得溶液用200mL NaHSO₄水溶液稀释, 用3×150mL EtOAc萃取, 接着合并有机萃取物。溶液用2×100mL盐水洗涤, 干燥并且减压浓缩, 获得13.8g(粗产物)

呈无色油状的2-(3-[[叔丁氧基]羰基]氨基)环丁基)乙酸。LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 230.1。

[0407] 步骤4:N-(3-[2-[(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙烷肼基]-2-氧代乙基]环丁基)氨基甲酸叔丁酯。向500-mL圆底烧瓶放置2-(3-[[叔丁氧基]羰基]氨基)环丁基)乙酸(13g, 56.70mmol, 1.00当量)于THF(250mL)中的溶液。向这种溶液中添加(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙酰肼(18.6g, 85.18mmol, 1.50当量)、TEA(28.9g, 285.60mmol, 5.00当量)和T₃P(72g, 113.21mmol, 2.00当量)。在室温下搅拌反应物2小时,接着用400mL H₂O稀释并且用EtOAc(3×300mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×300mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物与石油醚/EtOAc(2:1)一起施加到硅胶柱上,获得14.5g(60%)呈黄色油状的N-(3-[2-[(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙烷肼基]-2-氧代乙基]环丁基)氨基甲酸叔丁酯。LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 430.3。

[0408] 步骤5:N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]氨基甲酸叔丁酯。向用氮气净化和维持的250-mL 3颈圆底烧瓶放置PPh₃(2.84g, 10.83mmol, 2.00当量)于DCM(100mL)中的溶液。向这种溶液添加I₂(2.75g, 10.83mmol, 2.00当量)、TEA(3.7g, 36.56mmol, 5.00当量)和N-[3-([N-[(2R)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙酰基]肼羰基]甲基)环丁基]氨基甲酸叔丁酯(3.1g, 7.22mmol, 1.00当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时,接着用150mL H₂O稀释并且用EtOAc(2×150mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用石油醚/EtOAc(5:1)洗脱获得2g(67%)呈黄色油状的N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]氨基甲酸叔丁酯。LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 412.3。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) : δ5.11-5.02(m, 1H), 4.15-4.08(m, 1H), 3.02-2.92(m, 2H), 2.59-2.52(m, 1H), 2.26-2.19(m, 1H), 2.14-2.08(m, 1H), 1.70-1.62(m, 2H), 1.58-1.56(d, J=7.6Hz, 2H), 1.43(s, 9H), 0.88(s, 9H), 0.11(s, 3H), 0.04(s, 3H)。

[0409] 步骤6:3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁烷-1-胺。向100mL圆底烧瓶中放置N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]氨基甲酸叔丁酯(2g, 4.86mmol, 1.00当量)于DCM(50mL)中的溶液,接着添加TFA(3mL, 8.00当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时,接着减压浓缩获得2.5g(粗产物)呈黄色粗油状的3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁烷-1-胺。LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 312.2。

[0410] 步骤7:N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向100mL圆底烧瓶中放置3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁烷-1-胺(1g, 粗产物)于DCM(50mL)中的溶液,接着添加3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸(468mg, 2.47mmol, 1.00当量)、HATU(1.28g, 3.37mmol, 1.20当量)和DIEA(1.1mL, 2.80当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时,用水(3×50mL)洗涤,接着减压浓缩获得680mg(粗产物)呈黄色油状的N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 483.2。

[0411] 步骤8:N-[3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向100-mL 3颈圆底烧瓶中放置N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲

基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺(1g,2.07mmol,1.00当量)于THF(20mL)中的溶液,接着添加Py.HF(2.5mL,8.00当量)。在0℃下搅拌所得溶液2小时,接着通过添加100mL盐水淬灭。所得混合物用EtOAc(3×100mL)萃取,接着合并有机萃取物,用NaHCO₃(2×100mL)、盐水(2×100mL)洗涤,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用石油醚/EtOAc(1:3)洗脱,获得460mg呈淡黄色油状的N-[3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=369.2。

[0412] N-[3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺(520mg,1.41mmol,1.00当量)通过具有以下条件的制备型SFC纯化:柱:Phenomenex Lux 5u纤维素-4,250×50mm;移动相A:CO₂:50,移动相B:MeOH制备型:50;流动速率:150mL/min;220nm;RT1:6.38;RT2:7.33,获得98.6mg(19%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和78.7mg(15%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0413] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=369.0。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆):δ9.23-9.20(d,J=7.8Hz,1H),7.94-7.91(m,2H),7.62(s,1H),7.55-7.53(m,3H),5.92(s,1H),4.92-4.85(q,J=6.6Hz,1H),4.35-4.27(m,1H),2.99-2.97(d,J=6.6Hz,2H),2.45-2.35(m,3H),1.98-1.92(m,2H),1.47-1.44(d,J=6.6Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):99.0%。

[0414] 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=369.0。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆):δ9.23-9.20(d,J=8.4Hz,1H),7.94-7.91(m,2H),7.62(s,1H),7.55-7.53(m,3H),5.92(s,1H),4.92-4.85(q,J=6.6Hz,1H),4.35-4.28(m,1H),2.99-2.97(d,J=6.6Hz,2H),2.45-2.35(m,3H),1.98-1.92(m,2H),1.47-1.44(d,J=6.6Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):98.3%。

[0415] 实例39和40:3-(4-氟苯基)-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-(4-氟苯基)-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺

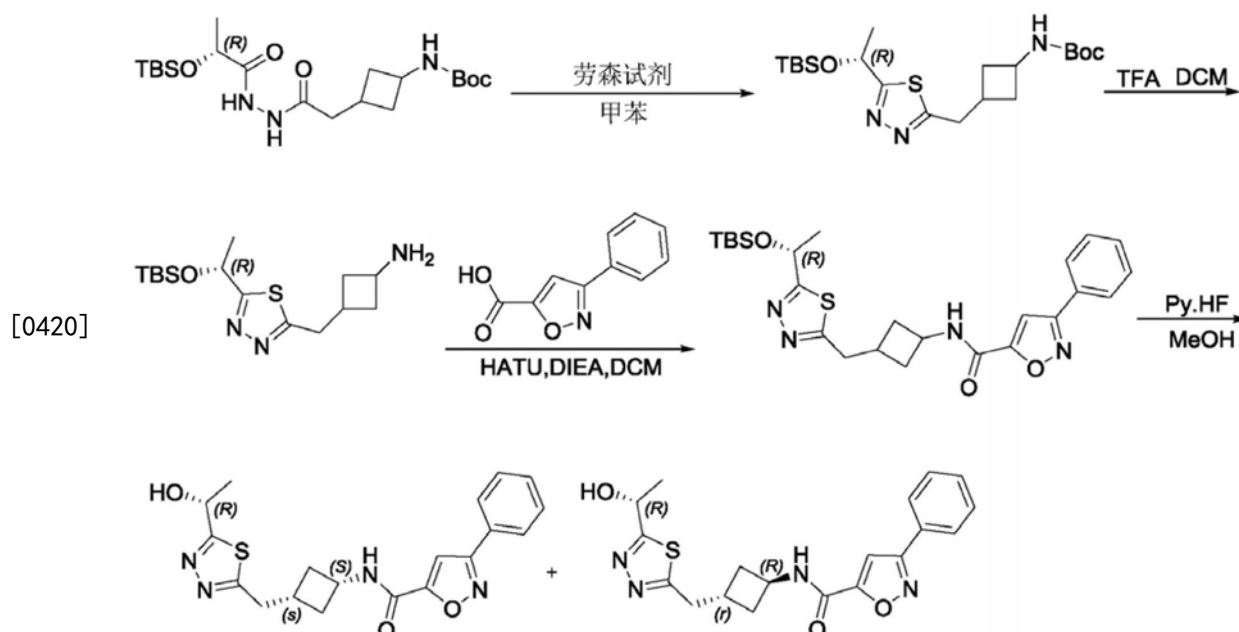
[0416] 使用与实例37中所示的方法类似的方法制备标题化合物。通过具有以下条件的手性制备型HPLC分离混合物:柱:Repaired IA,21.2×150mm,5μm;移动相A:己烷-HPLC,移动相B:EtOH-HPLC;流动速率:20mL/min;梯度:11.5分钟内50B到50B;254/220nm;RT1:7.21;RT2:8.75。这产生95mg(34%)呈白色固体状的3-(4-氟苯基)-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和79.6mg(28%)呈白色固体状的3-(4-氟苯基)-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0417] 3-(4-氟苯基)-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=386.9。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆):δ9.23-9.20(d,J=7.8Hz,1H),8.02-7.97(m,2H),7.63(s,1H),7.42-7.36(m,2H),5.92-5.90(d,J=5.4Hz,1H),4.91-4.87(m,1H),4.35-4.28(m,1H),2.99-2.97(d,J=6.9Hz,2H),2.45-2.40(m,3H),1.97-1.92(m,2H),1.47-1.44(d,J=6.9Hz,3H)。纯度(HPLC,

254nm):99.3%。

[0418] 3-(4-氟苯基)-N-[(1*r*,3*r*)-3-([5-[(1*R*)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES,m/z):[M+H]⁺=386。¹H NMR (300MHz,DMSO-d₆): δ 9.31-9.29 (d,J=7.2Hz,1H),8.01-7.96 (m,2H),7.64 (s,1H),7.41-7.35 (m,2H),5.92-5.90 (d,J=5.7Hz 1H),4.93-4.84 (m,1H),4.58-4.51 (q,J=7.5Hz,1H),3.10-3.07 (d,J=7.8Hz,2H),2.70-2.64 (s,1H),2.38-2.29 (m,2H),2.18-2.09 (m,2H),1.46-1.44 (d,J=6.6Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):98.0%。

[0419] 实例41和42:3-苯基-N-[(1*s*,3*s*)-3-([5-[(1*R*)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-([5-[(1*R*)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0421] 步骤1:N-[3-([5-[(1*R*)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]氨基甲酸叔丁酯.向250mL圆底烧瓶中放置N-[3-[2-[(2*R*)-2-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]丙烷肼基]-2-氧代乙基]环丁基]氨基甲酸叔丁酯(6g,13.97mmol,1.00当量)于甲苯(100mL)中的溶液,接着添加劳森试剂(Lawesson's reagent)(8.5g,21.02mmol,1.50当量)。在80℃下搅拌所得溶液1.5小时,接着减压浓缩。所得溶液用200mL H₂O稀释,接着用EtOAc(3×200mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×200mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。通过快速制备型HPLC(CombiFlash-1:柱,C18;移动相,X:H₂O(0.5%NH₄HCO₃),Y:CAN,40分钟内X/Y=80/20增加到X/Y=5/95;检测器,UV 254nm)纯化粗产物获得2.2g(37%)呈黄色油状的N-[3-([5-[(1*R*)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]氨基甲酸叔丁酯。LCMS (ES,m/z):[M+H-BOC]⁺=328.0。

[0422] 步骤2:3-([5-[(1*R*)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁烷-1-胺.向50mL圆底烧瓶中放置N-[3-([5-[(1*R*)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]氨基甲酸叔丁酯(2.2g,5.14mmol,1.00当量)于DCM(20mL)和TFA(4mL)中的溶液。在室温下搅拌所得溶液1小时,接着减压浓缩获得

3g(粗产物)呈黄色油状的3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁烷-1-胺。

[0423] 步骤3:N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向50mL圆底烧瓶中放置3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁烷-1-胺(500mg, 1.53mmol, 1.00当量)于DCM(20mL)中的溶液,接着添加HATU(753mg, 1.98mmol, 1.30当量)、3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸(317mg, 1.68mmol, 1.10当量)和DIEA(589mg, 4.56mmol, 3.00当量)。在室温下搅拌所得混合物2小时,接着用100mL H₂O稀释并且用EtOAc(2×50mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:5)洗脱,获得320mg(42%)呈黄色油状的N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES, m/z): [M+H]⁺=499.1。

[0424] 步骤4:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向10-mL圆底烧瓶中放置N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺(320mg, 0.64mmol, 1.00当量)于MeOH(3mL)中的溶液,接着添加Py.HF(1mL)。在室温下搅拌所得溶液2小时,用50mLH₂O稀释并且用EtOAc(2×50mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:1)洗脱。通过手性制备型HPLC(制备型HPLC-004:柱, Phenomenex Lux 5u纤维素-4AXIA装填, 250×21.2mm, 5μm;移动相, 己烷和IPA(在18分钟内保持50.0%IPA);检测器, UV 254/220nm)分离所得异构体获得88.7mg(36%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和57.8mg(23%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0425] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES, m/z): [M+H]⁺=385.0。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ9.23-9.20(d, J=7.5Hz, 1H), 7.94-7.91(m, 2H), 7.62(s, 1H), 7.55-7.53(m, 3H), 6.26-6.24(d, J=5.1Hz, 1H), 5.09-5.03(m, 1H), 4.35-4.28(m, 1H), 3.19-3.16(d, J=7.2Hz, 2H), 2.43-2.34(m, 3H), 1.98-1.92(m, 2H), 1.49-1.47(d, J=6.3Hz, 3H)。纯度(HPLC, 254nm): 97.9%。

[0426] 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES, m/z): [M+H]⁺=385。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆): δ9.31-9.29(d, J=7.2Hz, 1H), 7.94-7.91(m, 2H), 7.64(s, 1H), 7.55-7.53(m, 3H), 6.25-6.24(d, J=5.1Hz, 1H), 5.09-5.01(m, 1H), 4.60-4.52(m, 1H), 3.29-3.26(m, 2H), 2.66-2.62(m, 1H), 2.37-2.27(m, 2H), 2.18-2.12(m, 2H), 1.49-1.47(d, J=6.6Hz, 3H)。纯度(HPLC, 254nm): 98.4%。

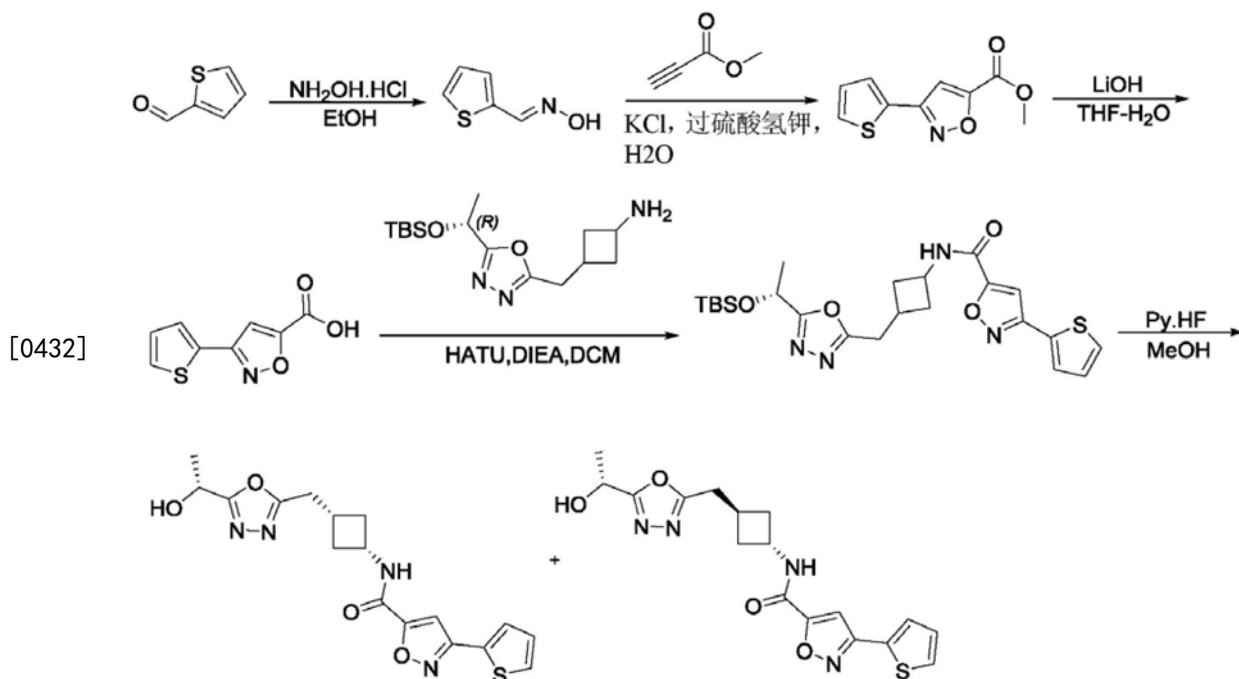
[0427] 实例43和44:3-(4-氟苯基)-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-(4-氟苯基)-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噻二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺

[0428] 使用与实例41中所示的方法类似的方法制备标题化合物。通过制备型SFC(制备型SFC100:柱,Phenomenex Lux 5u纤维素-4AXIA装填,250×21.2mm,5μm;移动相,CO₂(60%), ETOH(0.2%DEA) -- (40%);检测器,uv 220nm)分离所得异构体,获得125mg(22%)呈白色固体状的3-(4-氟苯基)-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和110.8mg(20%)呈白色固体状的3-(4-氟苯基)-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0429] 3-(4-氟苯基)-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=403。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.24-9.22(d,J=8.0Hz,1H),8.01-7.98(m,2H),7.63(s,1H),7.41-7.37(m,2H),6.25(s,1H),5.05-5.04(m,1H),4.34-4.28(m,1H),3.18-3.16(d,J=6.8Hz,2H),2.45-2.36(m,3H),1.94-1.92(m,2H),1.48-1.47(d,J=6.4Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):99.4%。

[0430] 3-(4-氟苯基)-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=403.0。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ 9.32-9.29(d,J=7.5Hz,1H),8.02-7.97(m,2H),7.65(s,1H),7.42-7.36(m,2H),6.25-6.24(d,J=5.1Hz,1H),5.09-5.01(m,1H),4.62-4.50(m,1H),3.29-3.26(d,J=8.1Hz,2H),2.69-2.60(m,1H),2.37-2.27(m,2H),2.19-2.10(m,2H),1.49-1.47(d,J=6.6Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):96.3%。

[0431] 实例45和46:N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噁吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺和N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噁吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0433] 步骤1:N-(噁吩-2-基亚甲基)羟基胺.向100mL圆底烧瓶中放置噁吩-2-甲醛(5g,44.58mmol,1.00当量)于EtOH(50mL)中的溶液,接着添加 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (3.7g,1.20当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时,接着用EtOAc萃取反应物。合并有机萃取物,干燥并且减压浓缩获得4.5g(79%)呈黄色油状的N-(噁吩-2-基亚甲基)羟基胺。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=128.0。

[0434] 步骤2:3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯.向100mL圆底烧瓶中放置N-(噻吩-2-基亚甲基)羟基胺(4.5g,35.39mmol,1.00当量)于H₂O(50mL)中的溶液,接着添加丙-2-炔酸甲酯(8mL,2.50当量)、KCl(2.6g,1.00当量)和过硫酸氢钾(14.4g,1.50当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时,接着用EtOAc(3×100mL)萃取反应物。合并有机萃取物,干燥并且减压浓缩获得5.4g(73%)呈黄色固体状的3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=210.0。

[0435] 步骤3:3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸.向250mL圆底烧瓶中放置3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯(5.4g,25.81mmol,1.00当量)于THF和H₂O(30mL/10mL)中的溶液,接着添加LiOH(1.33g,55.53mmol,2.00当量)。在室温下搅拌所得溶液1小时。减压浓缩后,残余物用100mL H₂O稀释,接着用EtOAc(2×30mL)洗涤所得溶液。使用HCl将水层的pH值调整到3,接着用EtOAc(3×100mL)萃取溶液。合并有机萃取物,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩获得3.2g(64%)呈白色固体状的3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=196.1。

[0436] 步骤4:N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向100-mL 3颈圆底烧瓶中放置3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁烷-1-胺(1.25g,4.02mmol,1.00当量)于DCM(30mL)中的溶液,接着添加3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸(800mg,4.10mmol,1.02当量)、HATU(2.3g,6.05mmol,1.50当量)和DIEA(3.1g,24.01mmol,6.00当量)。在室温下搅拌所得溶液3小时,接着用盐水(2×60mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:8)洗脱获得2.3g(粗产物)呈黄色油状的N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=489.2。

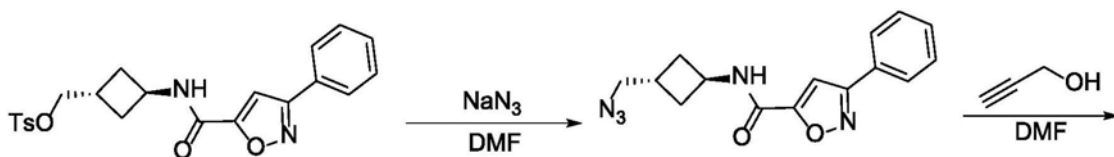
[0437] 步骤5:N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺和N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向100-mL 3颈圆底烧瓶放置N-[3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺(1.1g,2.25mmol,1.00当量)于MeOH(50mL)中的溶液,接着添加Py.HF(6mL)。在室温下搅拌所得溶液1小时,接着减压浓缩。将残余物溶解于EtOAc(60mL)中,用NaHCO₃溶液(2×50mL)和盐水(2×50mL)洗涤,接着经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:3)洗脱,获得150mg PH-PTS-005-0005和PH-PTS-005-0017的混合物。通过手性制备型HPLC(柱:Phenomenex Lux 5u纤维素-4,AXIA装填,250×21.2mm,5μm;移动相A:己烷,移动相B:EtOH;流动速率:20mL/min;梯度:27分钟内30B到30B;254/220nm;RT1:19.83;RT2:23.28)分离混合物,获得52.6mg呈白色固体状的N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺和51.3mg呈白色固体状的N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0438] N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-

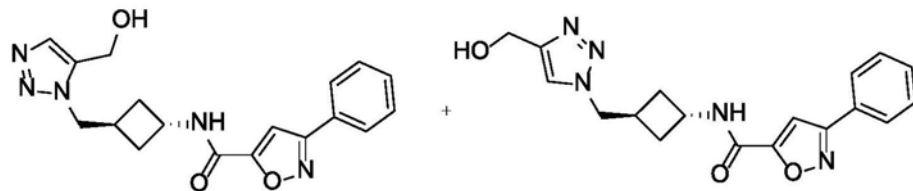
(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LC-MS-PH-PTS-005-0005-0:(ES,m/z): $[M+H]^+=375.0$ 。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆): δ 9.24-9.20(d,J=7.5Hz,1H),7.80-7.78(m,2H),7.59(s,1H),7.26-7.23(m,1H),5.92-5.90(d,J=5.7Hz,1H),4.93-4.84(m,1H),4.35-4.27(m,1H),2.99-2.96(d,J=6.6Hz,2H),2.47-2.37(m,3H),1.97-1.91(m,2H),1.46-1.44(d,J=6.6Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):95.9%。

[0439] N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-3-(噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z): $[M+H]^+=375.0$ 。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆): δ 9.32-9.30(d,J=7.2Hz,1H),7.80-7.78(d,J=4.5Hz,2H),7.60(s,1H),7.26-7.23(m,1H),5.93-5.91(d,J=5.4Hz,1H),4.93-4.85(m,1H),4.58-4.51(m,1H),3.10-3.08(d,J=7.8Hz,2H),2.72-2.65(m,1H),2.83-2.29(m,2H),2.18-2.11(m,2H),1.47-1.44(d,J=6.9Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):99.7%。

[0440] 实例47和48:N-((1r,3r)-3-((5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺和N-((1r,3r)-3-((4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺



[0441]



[0442] 步骤1:N-((1r,3r)-3-(叠氮基甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺.向50mL圆底烧瓶中放置((1r,3r)-4-甲基苯磺酸3-(3-苯基异噁唑-5-甲酰胺基)环丁基)甲酯(1.5g,3.52mmol,1.00当量)于DMF(15mL)中的溶液,接着添加NaN₃(390mg,6.00mmol,1.50当量)。在80℃下搅拌所得溶液5小时,通过添加20mL冰/水淬灭,并且用DCM(2×30mL)萃取。合并有机萃取物,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:20)洗脱获得0.9g(86%)呈白色固体状的N-((1r,3r)-3-(叠氮基甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺。LCMS:(ES,m/z): $[M+H]^+=298.1$ 。

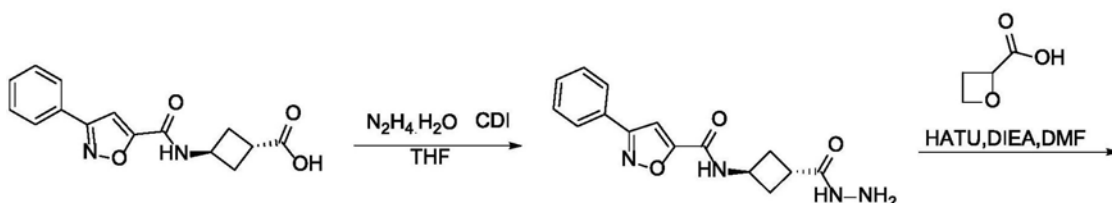
[0443] 步骤2:N-((1r,3r)-3-((5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺和N-((1r,3r)-3-((4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺.向25mL圆底烧瓶中放置N-((1r,3r)-3-(叠氮基甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺(700mg,2.35mmol,1.00当量)于MF(5mL)中的溶液,接着添加丙-2-炔-1-醇(660mg,11.77mmol,5.00当量)。在80℃下搅拌所得溶液24小时,接着减压去除溶剂。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:5)洗脱。通过制备型SFC(柱:Lux 5u纤维素-3,AXIA装填,250×21.2mm;移动相A:CO₂:70,移动相B:MeOH:30;流动速率:40mL/min;220nm;RT1:4.47;RT2:5.32)分离所得混合物获得120mg(27%)呈白色固体状的N-((1r,3r)-3-((5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺

胺和119.8mg (27%) 呈白色固体状的N-((1r,3r)-3-((4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺。

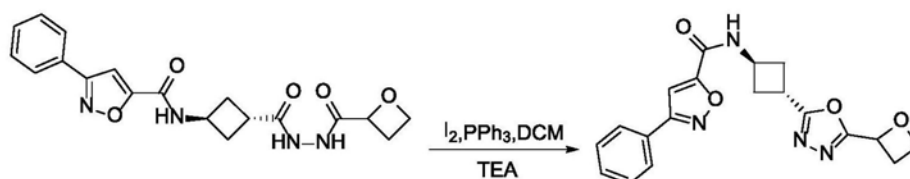
[0444] N-((1r,3r)-3-((5-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES,m/z): $[M+H]^+=354.1$ 。¹H NMR (300MHz,DMSO-d₆): δ 9.29-9.27 (d,J=7.2Hz,1H),8.00 (s,1H),7.93-7.90 (m,2H),7.63 (s,1H),7.55-7.52 (m,3H),5.17-5.13 (t,J=5.7Hz,1H),4.60-4.49 (m,5H),2.74-2.70 (m,1H),2.31-2.12 (m,4H)。纯度(HPLC,254nm):98.8%。

[0445] N-((1r,3r)-3-((4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)甲基)环丁基)-3-苯基异噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES,m/z): $[M+H]^+=354$ 。¹H NMR (300MHz,DMSO-d₆): δ 9.30-9.27 (d,J=7.5Hz,1H),7.93-7.90 (m,2H),7.63-7.60 (m,2H),7.57-7.52 (m,5H),5.51-5.47 (t,J=5.7Hz,1H),4.66-4.60 (m,3H),4.53-4.47 (m,2H),2.86-2.78 (m,1H),2.30-2.15 (m,4H)。纯度(HPLC,254nm):96.9%。

[0446] 实例49:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-(氧杂环丁烷-2-基)-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0447]



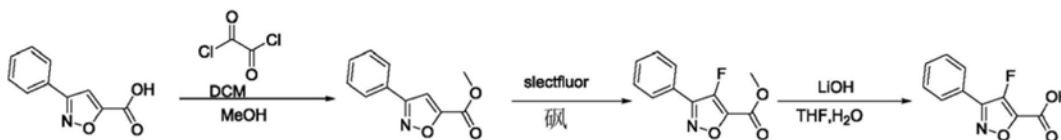
[0448] 步骤1:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(胍羰基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向100mL圆底烧瓶中放置(1r,3r)-3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸(2.87g,10.03mmol,1.00当量)于THF(50mL)中的溶液,接着添加CDI(3.24g,20.00mmol,2.00当量)。在25℃下搅拌所得溶液1小时,接着添加N₂H₄·H₂O(2.1g,30.00mmol,3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液16小时,接着用300mL H₂O稀释。通过过滤收集固体并且在烘箱中减压干燥获得487mg(16%)呈淡黄色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(胍羰基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES,m/z): $[M+H]^+=301.1$ 。

[0449] 步骤2:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[(氧杂环丁烷-2-基甲酰胍基)羰基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向25mL圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(胍羰基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(280mg,0.93mmol,1.00当量)于DMF(5mL)中的溶液,接着添加HATU(570mg,1.50mmol,1.50当量)、DIEA(361mg,2.79mmol,3.00当量)和氧杂环丁烷-2-甲酸(143mg,1.40mmol,1.50当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时,接着用50mL H₂O稀释并且用EtOAc(2×50mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。通过制备型TLC(石油醚/乙酸乙酯=1:2)纯化粗产物获得220mg(61%)呈黄色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[(氧杂环丁烷-2-基甲酰胍基)羰基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

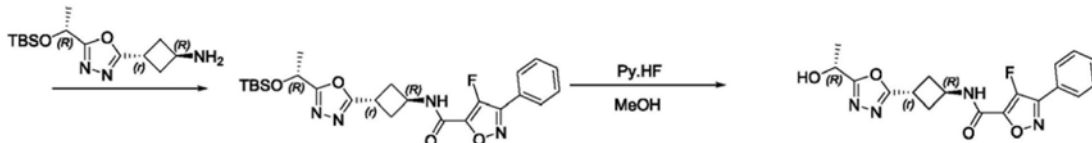
LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 385.1。

[0450] 步骤3: 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-(氧杂环丁烷-2-基)-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向100-mL 3颈圆底烧瓶中放置PPh₃ (299mg, 1.14mmol, 2.00当量) 于DCM (20mL) 中的溶液, 接着添加I₂ (290mg, 1.14mmol, 2.00当量) 和TEA (230mg, 2.27mmol, 4.00当量)。在室温下搅拌所得溶液10分钟, 接着添加3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-(氧杂环丁烷-2-基甲酰肼基)羰基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (220mg, 0.57mmol, 1.00当量) 并且在室温下搅拌1小时。反应物用100mL H₂O 稀释并且用EtOAc (2×100mL) 萃取。合并有机萃取物, 用盐水 (2×100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄ 干燥, 并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱并且用EtOAc/石油醚 (2:1) 洗脱, 获得174.8mg (83%) 呈灰白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-(氧杂环丁烷-2-基)-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 367.3。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.45 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.93-7.91 (m, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.54-7.52 (m, 3H), 5.88-5.84 (t, J=7.6Hz, 1H), 4.72-4.62 (m, 3H), 3.81-3.74 (m, 1H), 3.12-2.96 (m, 2H), 2.73-2.66 (m, 4H)。纯度 (HPLC, 254nm) : 99.5%。

[0451] 实例50: 4-氟-3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0452]



[0453] 步骤1: 3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯。向50-mL圆底烧瓶放置3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸 (1.89g, 9.99mmol, 1.00当量) 于DCM (20mL) 中的溶液, 接着添加乙二酰氯 (1.9g, 14.97mmol, 1.50当量) 和一滴DMF。在室温下搅拌所得溶液1小时, 接着添加MeOH (5mL)。在室温下搅拌反应物1小时, 接着减压浓缩获得1.9g (94%) 呈黄色固体状的3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯。

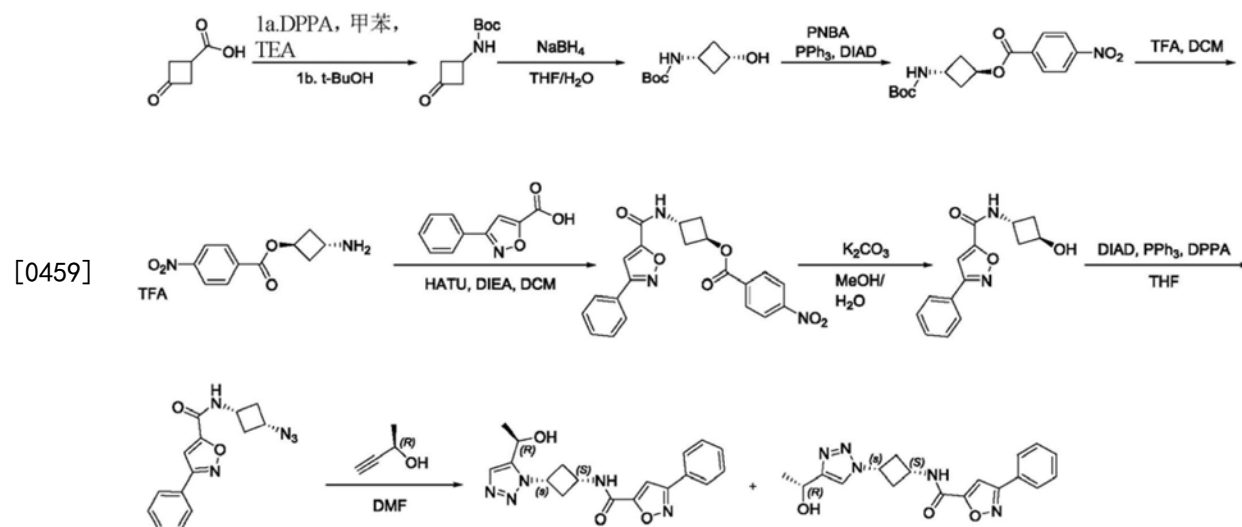
[0454] 步骤2: 4-氟-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯。向25mL圆底烧瓶中放置3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯 (1g, 4.92mmol, 1.00当量) 于吡啶 (10mL) 中的溶液, 接着添加Selectfluor (3.54g, 10.00mmol, 2.00当量)。在120℃下搅拌所得溶液16小时, 用100mL H₂O 稀释并且用EtOAc (2×100mL) 萃取。合并有机萃取物, 用盐水 (2×100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄ 干燥, 并且减压浓缩。通过制备型TLC (石油醚/乙酸乙酯=10:1) 纯化粗产物获得250mg (25%) 呈白色固体状的4-氟-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯。LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 222.0。

[0455] 步骤3: 4-氟-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸。向25mL圆底烧瓶中放置4-氟-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯 (250mg, 1.13mmol, 1.00当量) 于THF/H₂O (10/3mL) 中的溶液, 接着添加LiOH (82mg, 3.42mmol, 3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时, 接着用50mL H₂O 稀释。使用浓12M HCl将溶液的pH调整到4-5, 接着用EtOAc (2×50mL) 萃取。合并有机萃取物, 用盐水 (2×50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄ 干燥, 并且减压浓缩获得210mg (90%) 呈白色固体状的4-氟-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸。

[0456] 步骤3:4-氟-3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-[(1S)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向50-mL圆底烧瓶中放置4-氟-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸(210mg,1.01mmol,1.00当量)于DCM(10mL)中的溶液,接着添加HATU(570mg,1.50mmol,1.50当量)、(1r,3r)-3-5-[(1S)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基环丁烷-1-胺(300mg,1.01mmol,1.00当量)和DIEA(387mg,2.99mmol,3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液1小时,用100mL H₂O稀释并且用EtOAc(2×100mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:5)洗脱获得360mg(73%)呈白色固体状的4-氟-3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-[(1S)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=487.3。

[0457] 步骤4:4-氟-3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向25-mL圆底烧瓶中放置4-氟-3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(360mg,0.74mmol,1.00当量)于甲醇(6mL)中的溶液,接着添加Py.HF(2mL)。在室温下搅拌所得溶液1小时,接着用50mL H₂O稀释并且用EtOAc(2×50mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(3×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。通过制备型HPLC(HPLC-10:柱,X Bridge C180BD制备型柱,19mm×250mm;移动相,水(0.5%NH₄HCO₃)和ACN(8分钟30.0%ACN到50.0%);检测器,UV 254/220nm)纯化粗产物获得133.3mg(48%)呈白色固体状的4-氟-3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=372.9。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ9.49-9.47(d,J=7.2Hz,1H),7.99-7.94(m,1H),7.65-7.60(m,1H),7.52(s,1H),7.48-7.37(m,2H),5.96-5.95(d,J=6.4Hz,1H),4.95-4.89(m,1H),4.70-4.64(m,1H),3.78-3.72(m,1H),2.72-2.63(m,4H),1.49-1.48(d,J=6.8Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):99.7%。

[0458] 实例51和52:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0460] 步骤1:N-(3-氧代环丁基)氨基甲酸叔丁酯.向1000-mL 3颈圆底烧瓶中放置3-氧代环丁烷-1-甲酸(20g,175.29mmol,1.00当量)于甲苯(400mL)中的溶液,接着添加TEA

(19.5g, 192.71mmol, 1.10当量)和DPPA(53g, 192.73mmol, 1.10当量)。在0℃下搅拌所得溶液隔夜,接着在0~10℃下用饱和碳酸氢钠水溶液(2×120mL)、H₂O(1×120mL)和盐水(1×60mL)洗涤。溶液经无水Na₂SO₄干燥并且过滤。向这种溶液中添加t-BuOH(100mL),接着在100℃下搅拌反应物16小时。减压去除溶剂,接着残余物用TBME(60mL)洗涤获得8.3g(26%)呈淡白色固体状的N-(3-氧代环丁基)氨基甲酸叔丁酯。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ4.94(brs, 1H), 4.29(brs, 1H), 3.48-3.36(m, 2H), 3.13-3.01(m, 2H), 1.48(s, 9H)。

[0461] 步骤2:N-[(1s,3s)-3-羟基环丁基]氨基甲酸叔丁酯.向250mL圆底烧瓶中放置N-(3-氧代环丁基)氨基甲酸叔丁酯(8.3g, 44.81mmol, 1.00当量)于THF/H₂O=9:1(100mL)中的溶液,接着在-70℃下分部分添加NaBH₄(830mg, 22.54mmol, 0.50当量)。在-50℃下搅拌所得溶液1小时,接着通过添加水淬灭反应物。混合物用EtOAc萃取,合并有机萃取物并且减压去除溶剂。在80℃下将残余物溶解于20mL甲苯中,接着将溶液冷却到室温并且搅拌1小时。通过过滤收集固体获得7.56g(90%)呈白色固体状的N-[(1s,3s)-3-羟基环丁基]氨基甲酸叔丁酯。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ4.67(brs, 1H), 4.08-4.01(m, 1H), 3.69-3.66(m, 1H), 2.82-2.76(m, 2H), 2.00(brs, 1H), 1.88-1.75(m, 2H), 1.46(s, 9H)。

[0462] 步骤3:(1r,3r)-4-硝基苯甲酸3-[[叔丁氧基]羰基]氨基]环丁酯.向用惰性氮气气氛净化和维持的250-mL 3颈圆底烧瓶中放置N-[(1s,3s)-3-羟基环丁基]氨基甲酸叔丁酯(7.56g, 40.38mmol, 1.00当量)于THF(100mL)中的溶液,接着添加PPh₃(15.89g, 60.58mmol, 1.50当量)和PNBA(7.43g, 1.10当量)。随后在0℃下在搅拌下逐滴添加DIAD(12.25g, 60.58mmol, 1.50当量)。在室温下搅拌所得溶液隔夜,接着反应物通过添加水淬灭并且用EtOAc萃取。合并有机萃取物,接着减压浓缩。将残余物溶解于10mL EtOH中并且在室温下搅拌2小时。通过过滤收集固体,获得10.8g(80%)呈白色固体状的(1r,3r)-4-硝基苯甲酸3-[[叔丁氧基]羰基]氨基]环丁酯。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ8.28-8.17(m, 4H), 5.36-5.32(m, 1H), 4.77(brs, 1H), 4.36(brs, 1H), 2.65-2.56(m, 2H), 2.47-2.38(m, 2H), 1.43(s, 9H)。

[0463] 步骤4:(1r,3r)-4-硝基苯甲酸3-氨基环丁酯三氟乙酸盐.向100mL圆底烧瓶中放置(1r,3r)-4-硝基苯甲酸3-[[叔丁氧基]羰基]氨基]环丁酯(10.8g, 32.11mmol, 1.00当量)于DCM(25mL)和TFA(7mL)中的溶液。在室温下搅拌所得溶液隔夜,接着减压去除溶剂获得10.3g(92%)呈白色固体状的(1r,3r)-4-硝基苯甲酸3-氨基环丁酯三氟乙酸盐。¹H NMR(300MHz, CD₃OD) δ8.28-8.25(m, 4H), 5.52-5.44(m, 1H), 4.09-4.00(m, 1H), 2.85-2.62(m, 4H)。

[0464] 步骤5:(1r,3r)-4-硝基苯甲酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁酯.向250mL圆底烧瓶中放置(1r,3r)-4-硝基苯甲酸3-氨基环丁酯三氟乙酸盐(4g, 11.42mmol, 1.00当量)、DIEA(7.4g, 57.26mmol, 5.00当量)和3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸(2.6g, 13.74mmol, 1.20当量)于DCM(100mL)中的溶液。向这种溶液中添加HATU(6.5g, 17.09mmol, 1.50当量),接着在室温下搅拌反应物30分钟。反应物用H₂O淬灭并且用EtOAc萃取。合并有机萃取物,用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:5)洗脱获得4.57g(98%)呈白色固体状的(1r,3r)-4-硝基苯甲酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁酯。LCMS(ES, m/z): [M+H]⁺=408.1。

[0465] 步骤6:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-羟基环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向100mL圆底烧

瓶中放置(1r,3r)-4-硝基苯甲酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁酯(4.4g, 10.80mmol, 1.00当量)于MeOH/H₂O=2:1(30mL)中的溶液,接着添加K₂CO₃(4.4g, 31.83mmol, 3.00当量)。在40℃下搅拌所得混合物隔夜。反应物用H₂O淬灭,接着用EtOAc萃取。合并有机萃取物,用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,接着减压浓缩获得2.2g(79%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-羟基环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=259.1。

[0466] 步骤7:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-叠氨基环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向100mL圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1r,3r)-3-羟基环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(2.2g, 8.52mmol, 1.00当量)、DPPA(2.8g, 10.17mmol, 1.20当量)和PPh₃(3.3g, 12.58mmol, 1.50当量)于THF(40mL)中的溶液,接着逐滴添加DIAD(2.6g, 12.86mmol, 1.50当量)。在30℃下搅拌反应物1小时,通过添加盐水淬灭,并且用EtOAc萃取。合并有机萃取物,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用乙酸乙酯/石油醚(1:10)洗脱获得860mg(36%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-叠氨基环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0467] 步骤8:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向10-mL密封试管中放置3-苯基-N-[(1s,3s)-3-叠氨基环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(550mg, 1.94mmol, 1.00当量)于DMF(2.5mL)中的溶液,接着添加(2R)-丁-3-炔-2-醇(680mg, 9.70mmol, 5.00当量)。在100℃下搅拌所得溶液隔夜。减压去除溶剂之后,将残余物与乙酸乙酯/石油醚(1:3)一起施加到硅胶柱上。通过制备型SFC(制备型SFC80-1:柱,ChiralpakAD-H,2×25cm;移动相,CO₂(50%)和乙醇(50%);检测器,UV 220nm)分离所得混合物获得170.0mg(25%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和222mg(32%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0468] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=354。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ9.50-9.47(d, J=7.2Hz,1H),7.94-7.90(m,2H),7.66(s,1H),7.61(s,1H),7.56-7.54(m,3H),5.52-5.50(d, J=6.0Hz,1H),4.95-4.85(m,2H),4.45-4.31(m,1H),2.94-2.80(m,4H),1.45-1.43(d, J=6.6Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):99.4%。

[0469] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=354。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ9.41-9.39(d, J=8.4Hz,1H),8.13(s,1H),7.96-7.93(m,2H),7.68(s,1H),7.56-7.54(m,3H),5.30-5.28(d, J=4.8Hz,1H),5.00-4.80(m,2H),4.48-4.35(m,1H),2.98-2.89(m,2H),2.74-2.64(m,2H),1.43-1.41(d, J=6.6Hz,3H)。

[0470] 实例53和54:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺

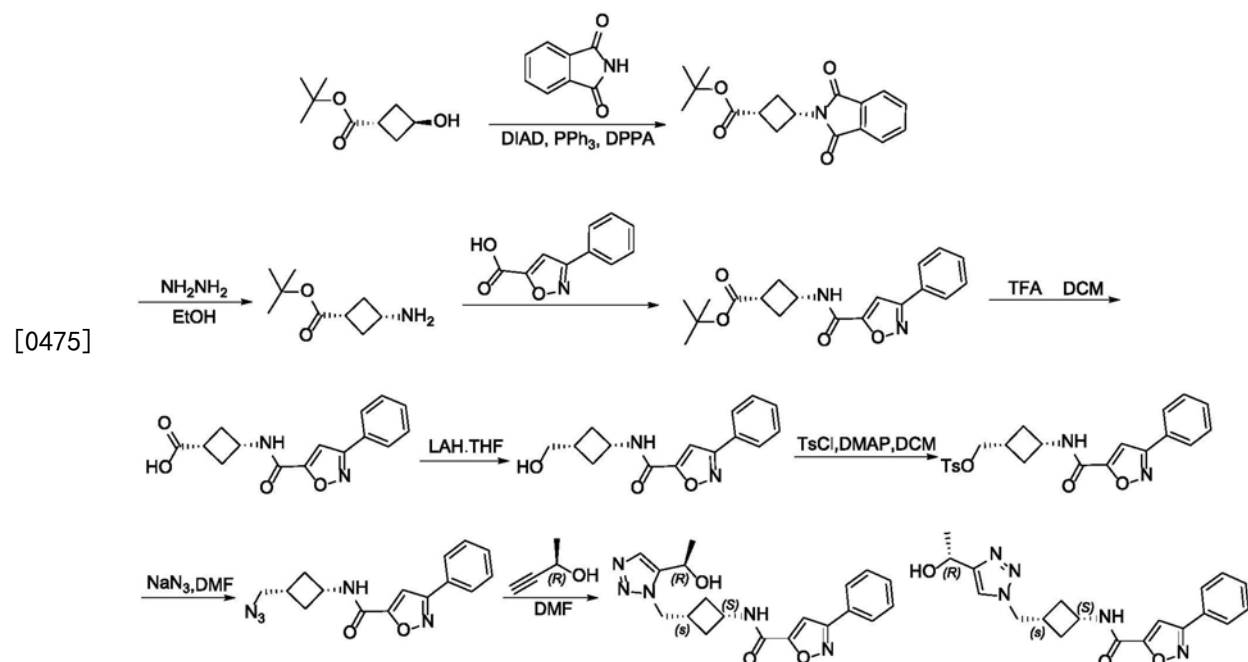
[0471] 步骤1:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向10-mL密封试管中放置3-苯基-N-[(1s,3s)-3-叠

氨基环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(500mg,1.77mmol,1.00当量)于DMF(2.5mL)中的溶液,接着添加(2S)-丁-3-炔-2-醇(618mg,8.82mmol,5.00当量)。在100℃下搅拌反应物隔夜,接着减压浓缩。将残余物与EtOAc/石油醚(1:3)一起施加到硅胶柱上。通过制备型SFC(制备型SFC80-1:柱,ChiralpakAD-H,2×25cm;移动相,CO₂(55%)和甲醇(45%);检测器,UV220nm)分离所得混合物获得106.1mg(17%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和192.2mg(31%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0472] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=354。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆)δ9.50-9.47(d,J=7.5Hz,1H),7.94-7.90(m,2H),7.66(s,1H),7.61(s,1H),7.56-7.54(m,3H),5.52-5.50(d,J=6.0Hz,1H),4.95-4.85(m,2H),4.45-4.31(m,1H),2.94-2.80(m,4H),1.45-1.43(d,J=6.3Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):96.0%。

[0473] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=354。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆)δ9.41-9.39(d,J=8.1Hz,1H),8.13(s,1H),7.96-7.93(m,2H),7.68(s,1H),7.56-7.54(m,3H),5.30-5.28(d,J=4.5Hz,1H),5.00-4.92(m,1H),4.88-4.80(m,1H),4.48-4.35(m,1H),2.98-2.89(m,2H),2.74-2.50(m,2H),1.43-1.41(d,J=6.6Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):97.7%。

[0474] 实例55和56:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0476] 步骤1:(1s,3s)-3-(1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吡唑-2-基)环丁烷-1-甲酸叔丁酯.向250-mL 3颈圆底烧瓶中放置(1r,3r)-3-羟基环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.1g,5.87mmol,1.00当量)、2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮(1.04g,7.07mmol,1.19当量)和PPh₃(2.5g)于THF(60mL)中的溶液。随后在0℃下在搅拌下逐滴添加DIAD(300mg)。在室温下搅拌所得溶液

1小时,接着通过添加50mL水淬灭反应物。所得溶液用EtOAc (3×50mL) 萃取并且合并有机层。所得混合物用盐水 (2×50mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚 (1:40) 洗脱获得810mg呈白色固体状的 (1s,3s) -3- (1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基) 环丁烷-1-甲酸叔丁酯。LCMS (ES,m/z) : [M+H]⁺ = 302.2。

[0477] 步骤2: (1s,3s) -3-氨基环丁烷-1-甲酸叔丁酯。向2000-mL圆底烧瓶中放置 (1s,3s) -3- (1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吡啶-2-基) 环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (810mg,2.64mmol,1.00当量) 于EtOH (50mL) 中的溶液,接着添加N₂H₄·H₂O (400mg,3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液4小时,接着通过过滤去除固体。减压浓缩滤液获得500mg呈淡黄色油状的粗产物 (1s,3s) -3-氨基环丁烷-1-甲酸叔丁酯。LCMS [M+H]⁺ = 172.1

[0478] 步骤3: (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸叔丁酯。向100mL圆底烧瓶中放置 (1s,3s) -3-氨基环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (1.7g,9.93mmol,1.00当量) 于DCM (50mL) 中的溶液,接着添加3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸 (1.9g,10.04mmol,1.00当量)、HATU (5.7g,14.99mmol,1.50当量) 和DIEA (3.9g,30.18mmol,3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液1小时,接着通过添加水淬灭并且用EtOAc萃取。合并有机萃取物,用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚 (1:7) 洗脱获得2g (59%) 呈白色固体状的 (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸叔丁酯。LCMS (ES,m/z) : [M+H]⁺ = 343.2。

[0479] 步骤4: (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸。向25mL圆底烧瓶中放置 (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (830mg,2.42mmol,1.00当量) 于DCM (10mL) 和TFA (3mL) 中的溶液。在室温下搅拌所得溶液2小时,接着减压浓缩反应物获得680mg (98%) 呈淡黄色固体状的 (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸。

[0480] 步骤5: 3-苯基-N-[(1s,3s) -3- (羟基甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向100-mL 3颈圆底烧瓶中放置 (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸 (1.2g,4.19mmol,1.00当量) 于THF (50mL) 中的溶液,随后在0℃下经5分钟分部分添加LiAlH₄ (319mg,8.41mmol,2.00当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时,接着通过添加100mL 2N HCl淬灭,并且用EtOAc (2×100mL) 萃取。合并有机萃取物,用盐水 (2×100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩获得860mg (75%) 呈淡黄色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s) -3- (羟基甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES,m/z) : [M+H]⁺ = 273.1。

[0481] 步骤6: [(1s,3s) -4-甲基苯-1-磺酸3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁基] 甲酯。向50-mL圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1s,3s) -3- (羟基甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (860mg,3.16mmol,1.00当量) 于DCM (20mL) 中的溶液,接着添加DMAP (781mg,6.39mmol,2.00当量) 和TsCl (779mg,4.09mmol,1.30当量)。在室温下搅拌所得溶液16小时,用100mL H₂O稀释并且用EtOAc (2×100mL) 萃取。合并有机萃取物,用盐水 (2×100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩获得1.1g (82%) 呈黄色固体状的 [(1s,3s) -4-甲基苯-1-磺酸3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁基] 甲酯。LCMS (ES,m/z) : [M+H]⁺ = 427.2。

[0482] 步骤7: 3-苯基-N-[(1s,3s) -3- (叠氮基甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向25mL圆底烧瓶中放置 [(1s,3s) -4-甲基苯-1-磺酸3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁基] 甲酯 (1.1g,2.58mmol,1.00当量) 于DMF (10mL) 中的溶液,接着添加NaN₃ (254mg,3.91mmol,

1.50当量)。在80℃下搅拌所得溶液1小时,用100mL H₂O稀释并且用EtOAc (2×100mL) 萃取。合并有机萃取物,用盐水 (5×100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,且减压浓缩获得750mg (98%) 呈黄色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-(叠氮基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0483] 步骤8:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向25mL圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1s,3s)-3-(叠氮基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(350mg,1.18mmol,1.00当量)于DMF (5mL) 中的溶液,接着添加(2R)-丁-3-炔-2-醇(420mg,5.99mmol,5.00当量)。在80℃下搅拌所得溶液16小时,接着用50mL H₂O稀释并且用EtOAc (3×50mL) 萃取。合并有机萃取物,用盐水 (3×50mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚 (5:1) 洗脱。通过手性制备型HPLC (制备型HPLC-009:柱,Chiralpak IB,2×25cm,5μm;移动相,己烷和乙醇 (在29分钟内保持15.0%乙醇);检测器,UV 254/220nm) 分离纯异构体获得29.4mg (7%) 呈淡黄色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和31.6mg (7%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0484] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES,m/z):[M+H]⁺=368.1。¹H NMR (300MHz,DMSO-d₆) δ 9.25-9.22 (d,J=7.8Hz,1H),7.94-7.91 (m,2H),7.63-7.60 (d,J=6.9Hz,2H),7.55-7.53 (m,3H),5.53-7.51 (d,J=6.0Hz,1H),4.93-4.85 (m,1H),4.43-4.40 (d,J=7.2Hz,2H),4.35-4.27 (m,1H),2.64-2.55 (m,1H),2.39-2.30 (m,2H),2.03-1.94 (m,2H),1.48-1.46 (d,J=6.3Hz,3H)。纯度 (HPLC,254nm):95.2%。

[0485] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES,m/z):[M+H]⁺=368.1。¹H NMR (300MHz,DMSO-d₆) δ 9.22-9.19 (d,J=7.8Hz,1H),7.90-7.76 (m,2H),7.84 (s,1H),7.59 (s,1H),7.55-7.46 (m,3H),5.19-5.18 (d,J=4.5Hz,1H),4.80-4.76 (m,1H),4.35-4.24 (m,3H),2.60-2.50 (m,1H),2.33-2.25 (m,2H),1.95-1.88 (m,2H),1.37-1.35 (d,J=6.3Hz,3H)。纯度 (HPLC,254nm):95.0%。

[0486] 实例57和58:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0487] 向25mL圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1s,3s)-3-(叠氮基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(270mg,0.91mmol,1.00当量)于甲苯 (5mL) 中的溶液,接着添加(2S)-丁-3-炔-2-醇(315mg,4.49mmol,5.00当量)。在100℃下搅拌所得溶液16小时,接着减压浓缩。通过制备型TLC (石油醚/EtOAc=1:5) 纯化粗产物。通过手性制备型HPLC (2#-Gilson Gx 281 (HPLC-09):柱:Chiralpak IB,2×25cm,5μm;移动相A:己烷,移动相B:EtOH;流动速率:20mL/min;梯度:15分钟内30B到30B;254/220nm;RT1:7.642;RT2:10.588) 分离所得混合物,获得32.8mg (10%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和68.5mg (21%) 呈白色固体状的3-苯基-N-

[(1s,3s)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0488] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=368.2。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.24-9.22(d,J=7.6Hz,1H),7.94-7.92(m,2H),7.62-7.60(d,J=8.4Hz,1H),7.55-7.53(m,3H),5.52-5.50(d,J=6.0Hz,1H),4.95-4.83(m,1H),4.43-4.40(m,2H),4.35-4.31(m,3H),2.54-2.52(m,1H),2.36-2.33(m,2H),2.05-1.98(m,2H),1.48-1.46(d,J=6.4Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):93.1%。

[0489] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=368.2。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.24-9.22(d,J=7.6Hz,1H),7.94-7.92(m,2H),7.87(s,1H),7.62(s,1H),7.55-7.53(m,3H),5.22-5.21(d,J=4.8Hz,1H),4.85-4.79(m,1H),4.38-4.37(d,J=7.2Hz,2H),4.34-4.28(m,1H),2.54-2.46(m,1H),2.39-2.32(m,2H),2.01-1.93(m,2H),1.41-1.39(d,J=6.4Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):98.6%。

[0490] 实例59和60:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺

[0491] 步骤1:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(叠氮基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向25mL圆底烧瓶中放置[(1r,3r)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯(920mg,2.16mmol,1.00当量)于DMF(10mL)中的溶液,接着添加NaN₃(169mg,2.60mmol,1.20当量)。在80℃下搅拌所得溶液2小时,接着用100mL H₂O稀释并且用EtOAc(2×50mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩获得600mg(94%)呈淡黄色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(叠氮基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0492] 步骤2:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向5-mL圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(叠氮基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(300mg,1.01mmol,1.00当量)于DMF(5mL)中的溶液,接着添加(2R)-丁-3-炔-2-醇(210mg,3.00mmol,3.00当量)。在100℃下搅拌所得溶液16小时,接着用50mL H₂O稀释并且用EtOAc(2×50mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。通过制备型TLC(石油醚/乙酸乙酯=1:5)纯化粗产物。通过手性制备型HPLC(制备型HPLC-004:柱,Chiralpak IA,2×25cm,5μm;移动相,己烷和IPA(在15分钟内保持30.0%IPA);检测器,UV 254/220nm)分离所得混合物获得103.5mg(28%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和127.1mg(38%)呈淡黄色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0493] 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=368.2。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ

9.29-9.27 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.92-7.90 (m, 2H), 7.62-7.59 (m, 2H), 7.53-7.52 (m, 3H), 5.53-5.52 (d, J=6.0Hz, 1H), 4.92-4.89 (m, 1H), 4.62-4.58 (m, 1H), 4.56-4.48 (m, 2H), 2.85-2.81 (m, 1H), 2.27-2.17 (m, 4H), 1.46-1.44 (d, J=6.4Hz, 3H)。纯度 (HPLC, 254nm): 95.0%。

[0494] 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES, m/z): [M+H]⁺=368.2。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.27-9.25 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.93-7.89 (m, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.53-7.51 (m, 3H), 5.21-5.20 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.83-4.80 (m, 1H), 4.59-4.51 (m, 1H), 4.48-4.46 (d, J=7.6Hz, 2H), 2.74-2.66 (m, 1H), 2.28-2.21 (m, 2H), 2.17-2.11 (m, 2H), 1.39-1.37 (d, J=6.8Hz, 3H)。纯度 (HPLC, 254nm): 96.9%。

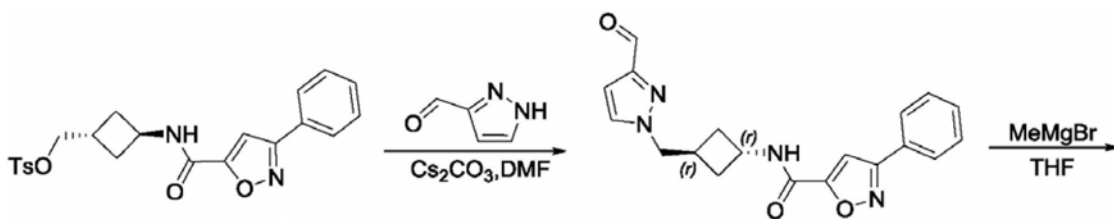
[0495] 实例61和62:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺

[0496] 向25mL圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(叠氮基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (210mg, 0.71mmol, 1.00当量) 于甲苯 (5mL) 中的溶液, 接着添加 (2S)-丁-3-炔-2-醇 (245mg, 3.50mmol, 5.00当量)。在100℃下搅拌所得溶液16小时, 接着减压浓缩。通过制备型TLC (石油醚/EtOAc=1:5) 纯化粗产物。通过手性制备型HPLC (制备型HPLC-004: 柱, Chiralpak IC, 2×25cm, 5μm; 移动相, 己烷和乙醇 (在15分钟内保持50.0%乙醇; 检测器, UV 254/220nm) 分离所得混合物获得44.2mg (17%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和78.5mg (30%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

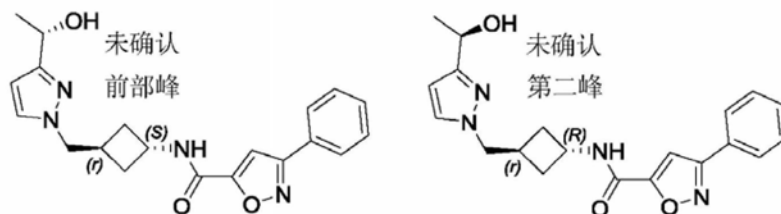
[0497] 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES, m/z): [M+H]⁺=368.2。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.31-9.29 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.94-7.91 (m, 2H), 7.64-7.60 (m, 2H), 7.55-7.52 (m, 3H), 5.55-5.53 (d, J=6.0 Hz, 1H), 4.95-4.89 (m, 1H), 4.64-4.47 (m, 3H), 2.88-2.82 (m, 1H), 2.30-2.19 (m, 4H), 1.48-1.46 (d, J=6.4Hz, 3H)。纯度 (HPLC, 254nm): 97.5%。

[0498] 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES, m/z): [M+H]⁺=368.2。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.30-9.28 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.94-7.91 (m, 2H), 7.64 (s, 1H), 7.55-7.53 (m, 3H), 5.23-5.21 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.85-4.79 (m, 1H), 4.58-4.53 (m, 1H), 4.50-4.48 (d, J=7.6Hz, 2H), 2.75-2.71 (m, 1H), 2.30-2.23 (m, 2H), 2.18-2.12 (m, 2H), 1.41-1.39 (d, J=6.4Hz, 3H)。纯度 (HPLC, 254nm): 99.2%。

[0499] 实例63和64:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([3-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([3-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0500]



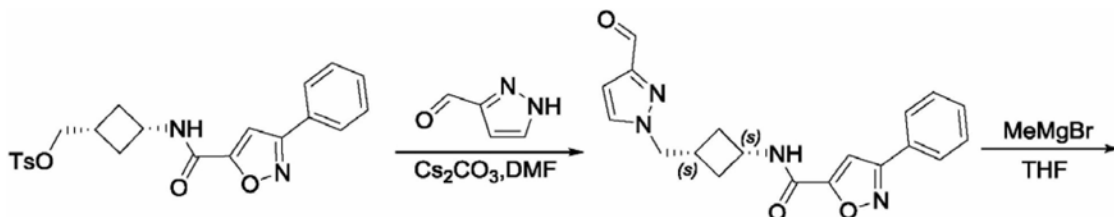
[0501] 步骤1:3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-[(3-甲酰基-1*H*-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向50-mL圆底烧瓶中放置[(1*r*,3*r*)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯(1.28g,3.00mmol,1.00当量)于DMF(20mL)中的溶液,接着添加 Cs_2CO_3 (1.95g,5.98mmol,2.00当量)和1*H*-吡唑-3-甲醛(432mg,4.50mmol,1.50当量)。在100℃下搅拌所得溶液3小时,接着通过过滤去除固体。通过快速制备型HPLC(CombiFlash-1:柱,C18;移动相,X: H_2O (0.5% NH_4HCO_3),Y:CAN,40分钟内X/Y=90/10增加到X/Y=5/95;检测器,UV 254nm)纯化滤液获得450mg(43%)呈黄色固体状的3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-[(3-甲酰基-1*H*-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+=351.2$ 。

[0502] 步骤2:3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-([3-[(1*R*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰)和3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-([3-[(1*S*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰)。向50-mL 3颈圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-[(3-甲酰基-1*H*-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(450mg,1.28mmol,1.00当量)于THF(20mL)中的溶液。将溶液冷却到0℃,接着在0℃下在搅拌下经10分钟逐滴添加MeMgBr(1.3mL,3.00当量,3mol/L)。在室温下搅拌反应物2小时,接着通过添加10mL 2*N* HCl和50mL H_2O 淬灭,并且用EtOAc(3×50mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(3×50mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(2:1)洗脱。通过手性制备型HPLC(制备型HPLC-004:柱,Chiralpak IC,2×25cm,5 μm ;移动相,己烷和乙醇(在13分钟内保持50.0%乙醇);检测器,UV 254/220nm)分离所得混合物获得126.1mg(27%)呈淡黄色固体状的3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-([3-[(1*R*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰)和136.9mg(29%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-([3-[(1*S*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰)。

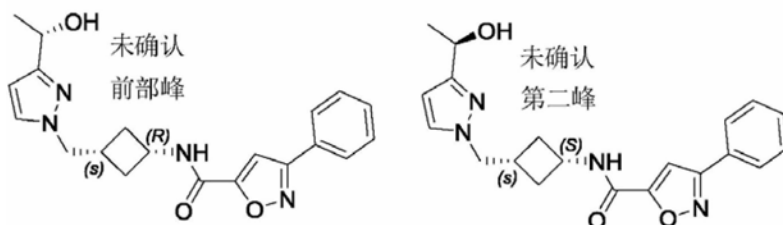
[0503] 3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-([3-[(1*R*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS(ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+=367.0$ 。 ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ 9.28-9.25(d, $J=7.2\text{Hz}$,1H),7.94-7.91(m,2H),7.65-7.63(m,2H),7.55-7.53(m,3H),6.15-6.14(d, $J=1.8\text{Hz}$,1H),4.95-4.93(d, $J=4.8\text{Hz}$,1H),4.72-4.64(m,1H),4.58-4.45(m,1H),4.19-4.16(d, $J=7.8\text{Hz}$,2H),2.72-2.64(m,1H),2.27-2.12(m,4H),1.34-1.32(d, $J=6.3\text{Hz}$,3H)。纯度(HPLC,254nm):98.9%。

[0504] 3-苯基-N-[(1*r*,3*r*)-3-([3-[(1*S*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES, *m/z*): [M+H]⁺=367.0.¹H NMR (300MHz, DMSO-*d*₆) δ9.28-9.25 (d, *J*=7.5Hz, 1H), 7.94-7.91 (m, 2H), 7.65-7.63 (m, 2H), 7.55-7.53 (m, 3H), 6.15-6.14 (d, *J*=2.1Hz, 1H), 4.95-4.93 (d, *J*=5.1Hz, 1H), 4.72-4.63 (m, 1H), 4.55-4.48 (m, 1H), 4.19-4.16 (d, *J*=7.5Hz, 2H), 2.69-2.64 (m, 1H), 2.27-2.11 (m, 4H), 1.34-1.32 (d, *J*=6.3Hz, 3H)。纯度(HPLC, 254nm): 98.3%。

[0505] 实例65和66: 3-苯基-N-[(1*s*,3*s*)-3-([3-[(1*S*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰)和3-苯基-N-[(1*s*,3*s*)-3-([3-[(1*R*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰)



[0506]



[0507] 步骤1: 3-苯基-N-[(1*s*,3*s*)-3-[(3-甲酰基-1*H*-吡唑-1-基)甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺. 向50-mL圆底烧瓶中放置[(1*s*,3*s*)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯(1.3g, 3.05mmol, 1.00当量)于DMF (15mL)中的溶液,接着添加Cs₂CO₃ (1.96g, 6.02mmol, 2.00当量)和1*H*-吡唑-3-甲醛(432mg, 4.50mmol, 1.50当量)。在100℃下搅拌所得溶液3小时,接着通过过滤去除固体。通过快速制备型HPLC (CombiFlash-1: 柱, C18; 移动相, X: H₂O (0.5% NH₄HCO₃), Y: ACN, 40分钟内X/Y=90/10增加到X/ACN=5/95; 检测器, UV 254nm) 纯化滤液获得430mg (40%) 呈黄色固体状的3-苯基-N-[(1*s*,3*s*)-3-[(3-甲酰基-1*H*-吡唑-1-基)甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES, *m/z*): [M+H]⁺=351.2。

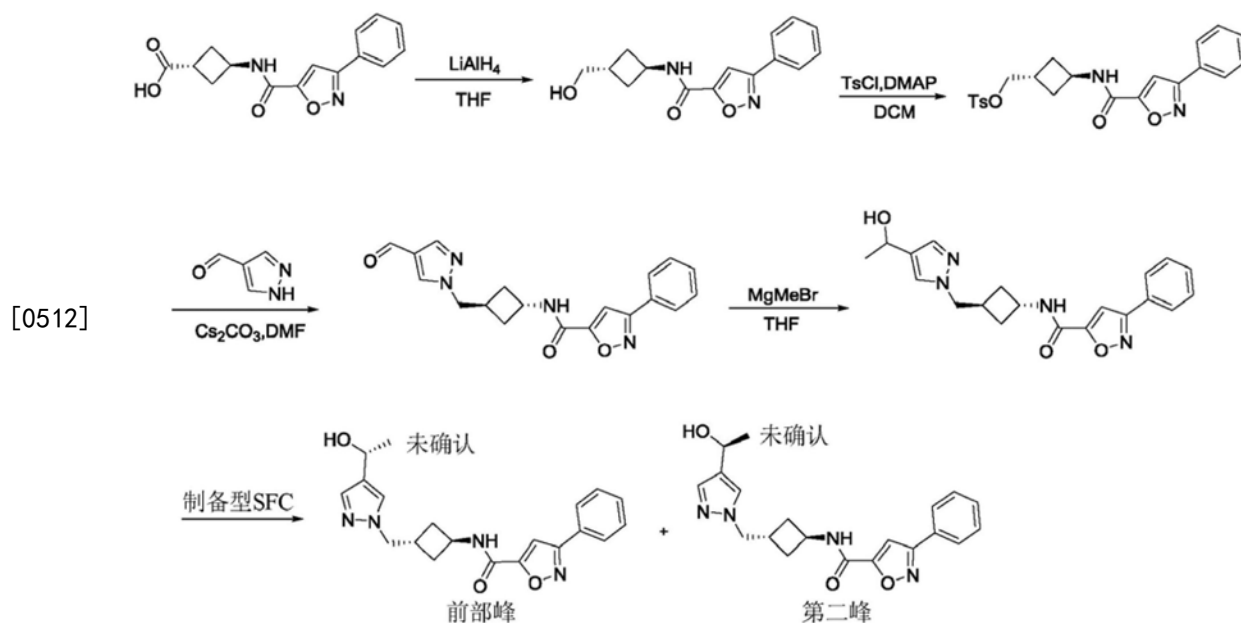
[0508] 步骤2: 3-苯基-N-[(1*s*,3*s*)-3-([3-[(1*S*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰)和3-苯基-N-[(1*s*,3*s*)-3-([3-[(1*R*)-1-羟基乙基]-1*H*-吡唑-1-基)甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰)。向100-mL 3颈圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1*s*,3*s*)-3-[(3-甲酰基-1*H*-吡唑-1-基)甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(430mg, 1.23mmol, 1.00当量)于THF (30mL)中的溶液,接着将溶液冷却到0℃并且在0℃下在搅拌下经5分钟逐滴添加MeMgBr (1.2mL, 3mol/L, 3.00当量)。在室温下搅拌反应物3小时,接着通过添加2*N* HCl (10mL)和50mL H₂O淬灭,并且用EtOAc (3×50mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(3×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(2:1)洗脱。通过手性制备型HPLC (制备型HPLC-009: 柱, Phenomenex Lux 5μ纤维素-3, 5×25em, 5μm; 移动相, 己烷和IPA (在17分钟内保持50.0% IPA); 检测器, UV 220/254nm) 分离纯异构体获得89.5mg (20%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1*s*,3*s*)-3-([3-

[(1S) -1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰)和65.5mg (15%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([3-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰)。

[0509] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([3-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰):LCMS(ES,m/z): $[M+H]^+=367.1$ 。 1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ 9.21-9.18(d,J=7.5Hz,1H),7.94-7.92(m,2H),7.62(s,1H),7.55-7.53(m,4H),6.15(d,J=2.1Hz,1H),4.94-4.92(d,J=4.8Hz,1H),4.71-4.63(m,1H),4.34-4.26(m,1H),4.09-4.06(d,J=6.9Hz,2H),2.48-2.29(m,3H),1.98-1.89(m,2H),1.34-1.32(d,J=6.3Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):98.2%。

[0510] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([3-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰):LCMS(ES,m/z): $[M+H]^+=367.2$ 。 1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ 9.21-9.18(d,J=7.5Hz,1H),7.93-7.90(m,2H),7.61(s,1H),7.54-7.52(m,4H),6.14(d,J=2.1Hz,1H),4.94-4.93(d,J=4.8Hz,1H),4.70-4.62(m,1H),4.35-4.22(m,1H),4.08-4.05(d,J=6.9Hz,2H),2.46-2.28(m,3H),1.97-1.88(m,2H),1.33-1.31(d,J=6.6Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):97.9%。

[0511] 实例67和68:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰)和3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰)



[0513] 步骤1:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(羟基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向250-mL 3颈圆底烧瓶中放置(1r,3r)-3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸(2g,6.99mmol,1.00当量)于THF(40mL)中的溶液,接着将溶液冷却到0℃并且添加LiAlH₄(800mg,21.08mmol,3.00当量)。在5℃下搅拌所得溶液2小时,接着通过添加Na₂SO₄·10H₂O淬灭。通过过滤去除固体,接着减压浓缩滤液获得850mg(45%)呈黄色油状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(羟基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES,m/z): $[M+H]^+=273.1$ 。

[0514] 步骤2:[(1r,3r)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯.向50-mL圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(羟基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰

胺 (850mg, 3.12mmol, 1.00当量) 和DMAP (762mg, 6.24mmol, 1.20当量) 于DCM (20mL) 中的溶液。向这种溶液添加TsCl (712mg, 3.73mmol, 1.20当量), 接着在室温下搅拌混合物24小时。反应物用50mL水/冰稀释并且用DCM萃取。合并有机萃取物, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且减压浓缩获得980mg (粗产物) 呈淡黄色固体状的[(1r,3r)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯。LCMS (ES, m/z): [M+H]⁺ = 427.1。

[0515] 步骤3: 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[(4-甲酰基-1H-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向50-mL圆底烧瓶中放置[(1r,3r)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯 (980mg, 2.30mmol, 1.00当量) 于DMF (20mL) 中的溶液, 接着添加1H-吡唑-4-甲醛 (331mg, 3.44mmol, 1.50当量) 和Cs₂CO₃ (1.1g, 3.37mmol, 1.50当量)。在70°C下搅拌所得溶液3小时, 接着用50mL H₂O稀释, 过滤, 接着用EtOAc萃取。合并有机萃取物, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚 (1:3) 洗脱获得400mg (50%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[(4-甲酰基-1H-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES, m/z): [M+H]⁺ = 351.1。

[0516] 步骤4: 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[[4-(1-羟基乙基)-1H-吡唑-1-基]甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向150-mL圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[(4-甲酰基-1H-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (600mg, 1.71mmol, 1.00当量) 于THF (20mL) 中的溶液, 接着将溶液冷却到5°C。在氮气下, 在5°C下, 向这种溶液添加MeMgBr (己烷中1M, 1.79mL, 1.79mmol, 4.00当量)。在5°C下搅拌所得溶液3小时。使用1M HCl将溶液的pH值调整到3, 接着用EtOAc萃取所得溶液。合并有机萃取物, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚 (1:3) 洗脱获得440mg (70%) 呈黄色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-[[4-(1-羟基乙基)-1H-吡唑-1-基]甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES, m/z): [M+H]⁺ = 367.2。

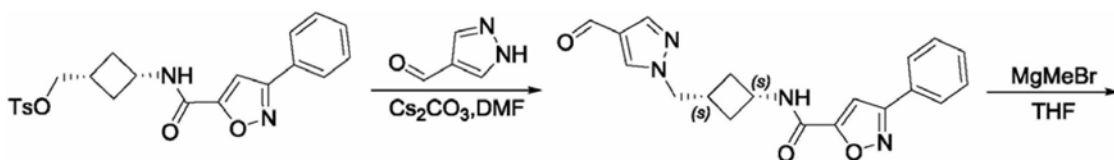
[0517] 步骤5: 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (前部峰) 和3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (第二峰)。通过制备型SFC (柱: Phenomenex Lux 5u纤维素-4 E-AXIA装填, 250×21.2mm, 5μm; 移动相A: CO₂:60, 移动相B: 己烷:40; 流动速率: 40mL/min; 220nm; RT1:5.12; RT2:6.06) 分离粗产物N-([4-[(1-羟基乙基)-1H-吡唑-1-基]甲基]环丁基)-3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (440mg, 1.20mmol, 1.00当量) 获得141.7mg (32%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (前部峰) 和146.5mg (33%) 呈红色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (第二峰)。

[0518] 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (前部峰): LCMS (ES, m/z): [M+H-H₂O]⁺ = 349.1。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ 9.26-9.23 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.93-7.90 (m, 2H), 7.62-7.60 (m, 2H), 7.54-7.52 (m, 3H), 7.32 (s, 1H), 4.85-4.83 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.71-4.63 (m, 1H), 4.55-4.47 (m, 1H), 4.20-4.17 (d, J=7.8Hz, 2H), 2.68-2.64 (m, 1H), 2.27-2.10 (m, 4H), 1.33-1.31 (d, J=6.3Hz, 3H)。纯度 (HPLC, 254nm): 98.2%。

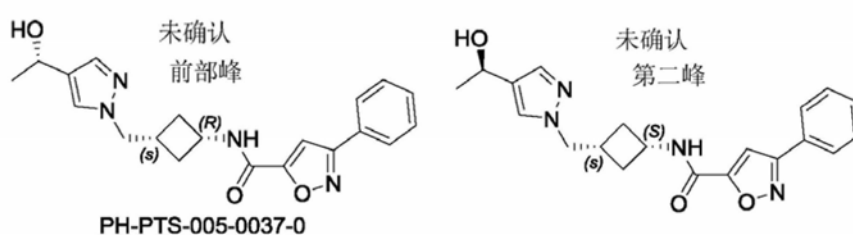
[0519] 3-苯基-N-[(1r,3r)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-

1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰):LCMS(ES,m/z): $[M+H-H_2O]^+=349.1$ 。 1H NMR(300MHz,DMSO- d_6): δ 9.26-9.24(d,J=7.2Hz,1H),7.93-7.90(m,2H),7.64-7.60(m,2H),7.54-7.52(m,3H),7.32(s,1H),4.85-4.84(d,J=4.8Hz,1H),4.71-4.63(m,1H),4.58-4.45(m,1H),4.20-4.17(d,J=7.8Hz,2H),2.68-2.64(m,1H),2.27-2.10(m,4H),1.33-1.31(d,J=6.3Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):97.0%。

[0520] 实例69和70:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰)和3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰)



[0521]



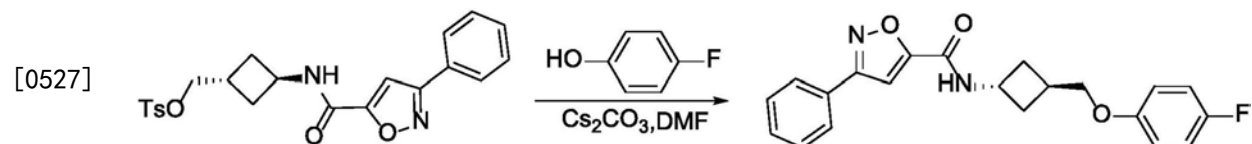
[0522] 步骤1:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[(4-甲酰基-1H-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺.向50-mL圆底烧瓶中放置[(1s,3s)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯(1g,2.34mmol,1.00当量)于DMF(15mL)中的溶液,接着添加 Cs_2CO_3 (1.5g,4.60mmol,2.00当量)和1H-吡唑-4-甲醛(338mg,3.52mmol,1.50当量)。在100℃下搅拌所得溶液3小时,接着通过过滤去除固体。通过快速制备型HPLC(CombiFlash-1:柱,C18硅胶;移动相,X:H₂O(0.5%NH₄HCO₃),Y:ACN,40分钟内X/Y=90/10增加到X/Y=5/95;检测器,UV 254nm)纯化粗产物获得460mg(56%)呈黄色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[(4-甲酰基-1H-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES,m/z): $[M+H]^+=351.1$ 。

[0523] 步骤2:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰)和3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰)。向100-mL 3颈圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1s,3s)-3-[(4-甲酰基-1H-吡唑-1-基)甲基]环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(460mg,1.31mmol,1.00当量)于THF(30mL)中的溶液中,接着将溶液冷却到0℃。在0℃下在搅拌下经10分钟向这种溶液中逐滴添加MeMgBr(1.3mL,3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液3小时,用2N HCl(10mL)和50mL H₂O淬灭,并且用EtOAc(3×50mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(3×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(2:1)洗脱。通过手性制备型HPLC(制备型HPLC-004:柱,Chiralpak IB,2×25cm,5μm;移动相,己烷和乙醇(在41分钟内保持10.0%乙醇);检测器,uv 254/220nm)纯化产物获得132.3mg(28%)呈灰白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰)和139.4mg(29%)呈灰白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰)。

[0524] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1R)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(前部峰):LCMS(ES,m/z): $[M+H]^+=367.1$ 。 1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ 9.21-9.18(d,J=7.5Hz,1H),7.94-7.91(m,2H),7.62(s,1H),7.55-7.51(m,3H),7.48(s,1H),7.32(s,1H),4.85(brs,1H),4.70-4.64(q,J=6.6Hz,1H),4.36-4.23(m,1H),4.10-4.07(d,J=6.9Hz,2H),2.46-2.29(m,3H),1.99-1.89(m,2H),1.33-1.31(d,J=6.3Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):96.4%。

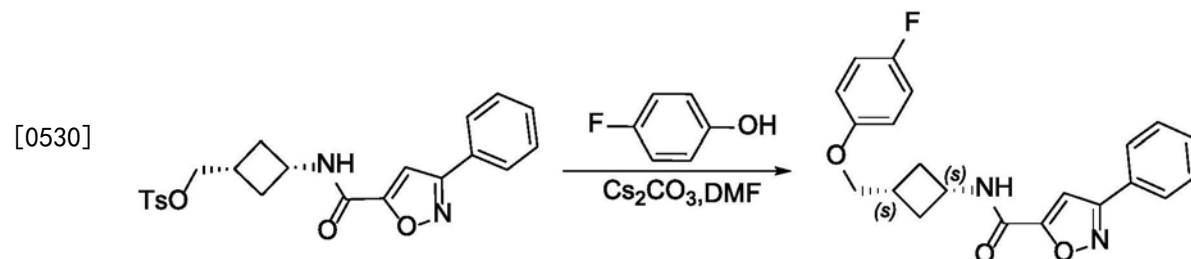
[0525] 3-苯基-N-[(1s,3s)-3-([4-[(1S)-1-羟基乙基]-1H-吡唑-1-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺(第二峰):LCMS(ES,m/z): $[M+H]^+=367.1$ 。 1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ 9.21-9.18(d,J=7.5Hz,1H),7.92-7.87(m,2H),7.68(s,1H),7.61-7.48(m,4H),7.31(s,1H),4.85(brs,1H),4.73-4.65(m,1H),4.36-4.28(m,1H),4.09-4.07(d,J=6.6Hz,2H),2.43-2.32(m,3H),1.95-1.85(m,2H),1.32-1.31(d,J=5.1Hz,3H)。纯度(HPLC,254nm):96.0%。

[0526] 实例71:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(4-氟苯氧基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。



[0528] 向50-mL圆底烧瓶中放置[(1r,3r)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯(550mg,1.29mmol,1.00当量)于DMF(10mL)中的溶液,接着添加4-氟苯酚(217mg,1.94mmol,1.50当量)和 Cs_2CO_3 (631mg,1.93mmol,1.50当量)。在70℃下搅拌所得溶液3小时,接着用 H_2O 稀释,并且用EtOAc萃取。合并有机萃取物,经无水 Na_2SO_4 干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:4)洗脱。通过制备型HPLC(沃特斯:柱,X Bridge Shield RP18 OBD柱,5 μ m,19 \times 150mm;移动相,具有0.03%TFA的水和 CH_3CN (8分钟内10.0% CH_3CN 到30% CH_3CN ,4分钟内到100%并且3分钟内降到10%);检测器,uv 254nm和220nm)进一步纯化所得粗产物获得152.3mg(53%)呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(4-氟苯氧基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS(ES,m/z): $[M+H]^+=367.1$ 。 1H NMR(300MHz,DMSO- d_6): δ 9.31-9.29(d,J=7.2Hz,1H),7.92-7.91(m,2H),7.63(s,1H),7.55-7.54(m,3H),7.15-7.09(m,2H),6.99-6.95(m,2H),4.61-4.53(m,1H),4.05-4.03(d,J=6.9Hz,2H),2.69-2.63(m,1H),2.38-2.29(m,2H),2.23-2.17(m,2H)。纯度(HPLC,254nm):97.4%。

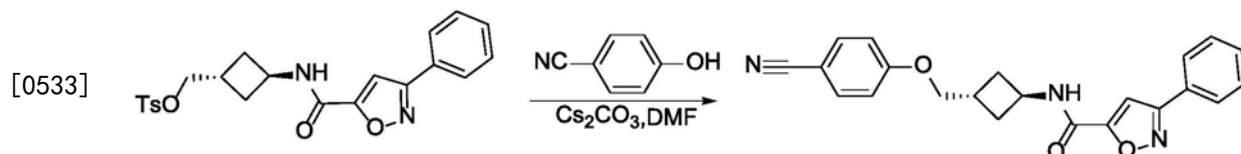
[0529] 实例72:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-(4-氟苯氧基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0531] 向25mL圆底烧瓶中放置[(1s,3s)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯(213mg,0.50mmol,1.00当量)于DMF(5mL)中的溶液,接着添加 Cs_2CO_3 (326mg,1.00mmol,2.00当量)和4-氟苯酚(84mg,0.75mmol,1.50当量)。在100℃下搅拌所得

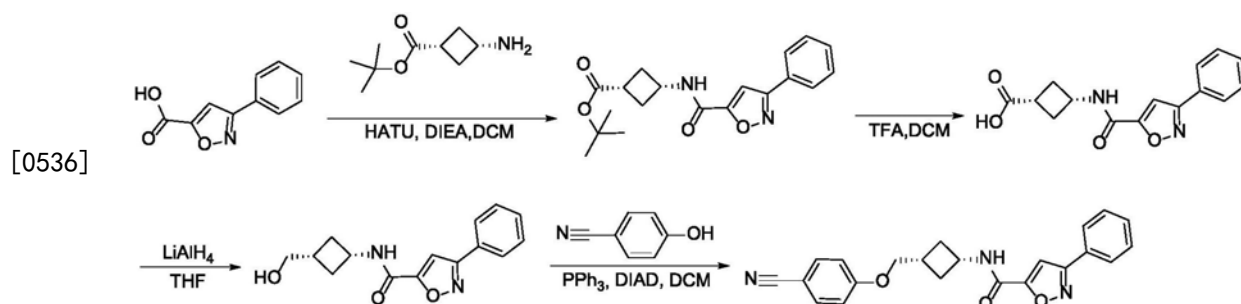
溶液3小时,接着用50mL H₂O稀释并且用EtOAc (2×50mL) 萃取。合并有机萃取物,用盐水 (2×50mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。通过制备型TLC (石油醚/乙酸乙酯=1:2) 纯化粗产物获得56.9mg (31%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s)-3-(4-氟苯氧基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES, m/z): [M+H]⁺=367.1。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 9.23-9.21 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.94-7.90 (m, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.55-7.48 (m, 3H), 7.14-7.07 (m, 2H), 6.97-6.93 (m, 2H), 4.40-4.32 (m, 1H), 3.94-3.92 (d, J=5.1Hz, 2H), 2.43-2.39 (m, 3H), 2.00-1.94 (m, 2H)。纯度 (HPLC, 254nm): 99.5%。

[0532] 实例73:3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(4-氰基苯氧基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0534] 向50-mL圆底烧瓶中放置[(1r,3r)-4-甲基苯-1-磺酸3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁基]甲酯(560mg, 1.31mmol, 1.00当量)于DMF (10mL) 中的溶液,接着添加4-羟基苯甲腈(235mg, 1.97mmol, 1.50当量)和Cs₂CO₃ (643mg, 1.97mmol, 1.50当量)。在110℃下搅拌所得溶液2小时,接着通过添加水稀释并且用EtOAc萃取。合并有机萃取物,用H₂O洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。通过制备型HPLC (沃特斯:柱, X Bridge制备型C185μm, 19×150mm; 移动相, 具有0.03% TFA的水和CH₃CN (6分钟内10.0% CH₃CN到30% CH₃CN, 5分钟内到100%并且2分钟内降到10%); 检测器, uv 254nm和220nm) 纯化残余物获得129.9mg (87%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1r,3r)-3-(4-氰基苯氧基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS-PH-PTS (ES, m/z): [M+H]⁺=374.1。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ 9.32-9.30 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.94-7.91 (m, 2H), 7.78-7.76 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.63 (s, 1H), 7.55-7.54 (m, 3H), 7.15-7.12 (m, J=8.7Hz, 2H), 4.63-4.55 (m, 1H), 4.19-4.17 (d, J=6.9Hz, 2H), 2.72-2.66 (m, 1H), 2.40-2.30 (m, 2H), 2.24-2.18 (m, 2H)。纯度 (HPLC, 254nm): 97.3%。

[0535] 实例74:3-苯基-N-[(1s,3s)-3-(4-氰基苯氧基甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0537] 步骤1: (1s,3s)-3-(3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基)环丁烷-1-甲酸叔丁酯。向100mL 圆底烧瓶中放置(1s,3s)-3-氨基环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.7g, 9.93mmol, 1.00当量)于DCM (50mL) 中的溶液,接着添加3-苯基-1,2-噁唑-5-甲酸(1.9g, 10.04mmol, 1.00当量)、HATU (5.7g, 14.99mmol, 1.50当量)和DIEA (3.9g, 30.18mmol, 3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液1小时,接着通过添加水淬灭并且用EtOAc萃取。合并有机萃取物,用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:7)洗脱获得2g

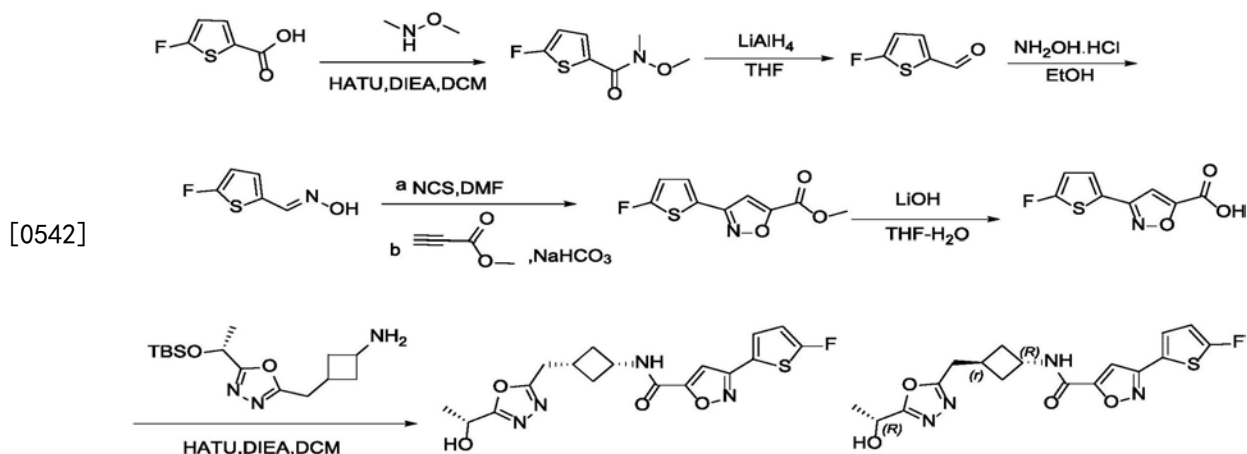
(59%) 呈白色固体状的 (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸叔丁酯。LCMS (ES, m/z) : $[M+Na]^+ = 365.1$ 。

[0538] 步骤2: (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸。向100mL圆底烧瓶中放置 (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (2g, 5.84mmol, 1.00当量) 于DCM (20mL) 和TFA (7mL) 中的溶液。在室温下搅拌所得溶液4小时,接着减压去除溶剂获得1.8g (粗产物) 呈灰白色固体状的 (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸。LCMS (ES, m/z) : $[M+H]^+ = 286.8$ 。

[0539] 步骤3: 3-苯基-N-[(1s,3s) -3- (羟基甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向100mL圆底烧瓶中放置 (1s,3s) -3- (3-苯基-1,2-噁唑-5-酰胺基) 环丁烷-1-甲酸 (1g, 2.79mmol, 1.00当量, 80%) 于THF (25mL) 中的溶液,接着将溶液冷却到0°C。在0°C下向这种溶液分部分添加LiAlH₄ (425mg, 11.18mmol, 4.00当量),接着在10°C下搅拌所得溶液1小时。通过添加Na₂SO₄·10H₂O淬灭反应物,接着通过过滤去除固体,并且减压浓缩滤液。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚 (1:2) 洗脱获得420mg (55%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s) -3- (羟基甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES, m/z) : $[M+H]^+ = 273.1$ 。

[0540] 步骤4: 3-苯基-N-[(1s,3s) -3- (4-氰基苯氧基甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向用惰性氮气气氛净化和维持的100-mL 3颈圆底烧瓶中放置3-苯基-N-[(1s,3s) -3- (羟基甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺 (420mg, 1.31mmol, 1.00当量, 85%)、4-羟基苯甲腈 (320mg, 2.69mmol, 2.00当量) 和PPh₃ (1.08g, 4.12mmol, 3.00当量) 于THF (10mL) 中的溶液。随后在0°C下在搅拌下逐滴添加DIAD (840mg, 4.15mmol, 3.00当量)。在室温下搅拌所得溶液2小时。通过添加水淬灭反应物,接着用EtOAc萃取。合并有机萃取物,用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。通过快速制备型HPLC (IntelFlash-1:柱, C18; 移动相, 20分钟内MeCN/H₂O=5:95增加到MeCN/H₂O=50:50; 检测器, UV 254nm) 纯化粗产物获得148.5mg (30%) 呈白色固体状的3-苯基-N-[(1s,3s) -3- (4-氰基苯氧基甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。LCMS (ES, m/z) : $[M+H]^+ = 374.2$ 。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ9.25-9.24 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.94-7.92 (m, 2H), 7.79-7.76 (m, 2H), 7.64 (s, 1H), 7.55-7.53 (m, 3H), 7.16-7.12 (m, 2H), 4.43-4.35 (p, J=8.0Hz, 1H), 4.08-4.06 (d, J=6.0Hz, 2H), 2.45-2.40 (m, 3H), 2.02-1.97 (m, 2H)。纯度 (HPLC, 254nm) : 98.2%。

[0541] 实例75和76: 3- (5-氟噁吩-2-基) -N-[(1s,3s) -3- ([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3- (5-氟噁吩-2-基) -N-[(1r,3r) -3- ([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基) 环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺



[0543] 步骤1:5-氟-N-甲氧基-N-甲基噻吩-2-甲酰胺.向100mL圆底烧瓶中放置5-氟噻吩-2-甲酸(1g,6.84mmol,1.00当量)于DCM(50mL)中的溶液,接着添加甲氧基(甲基)胺盐酸盐(730mg,7.53mmol,1.10当量)、HATU(3.9g,10.26mmol,1.50当量)和DIEA(2.82mL,3.00当量)。在室温下搅拌反应物3小时,用H₂O稀释,并且用DCM(2×100mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。将残余物施加到硅胶柱上并且用EtOAc/石油醚(1:4)洗脱获得1.14g(88%)呈黄色液体状的5-氟-N-甲氧基-N-甲基噻吩-2-甲酰胺。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=190.0。

[0544] 步骤2:(E)-N-[(5-氟噻吩-2-基)亚甲基]羟基胺.向50-mL圆底烧瓶中放置5-氟-N-甲氧基-N-甲基噻吩-2-甲酰胺(1.14g,6.03mmol,1.00当量)于THF(20mL),接着添加LiAlH₄(342mg,9.01mmol,1.20当量)。在室温下搅拌1小时,接着通过添加20mL H₂O/冰淬灭,并且用EtOAc(2×20mL)萃取。干燥有机萃取物并且直接用于下一步骤中。

[0545] 向250mL圆底烧瓶中放置5-氟噻吩-2-甲醛(780mg,5.99mmol,1.00当量)于EtOH/EtOAc(120mL)中的溶液,接着添加NH₂OH.HCl(0.5g,1.20当量)。在室温下搅拌所得溶液3小时,接着减压去除溶剂。将残余物溶解于H₂O(50mL)中,接着用EtOAc(3×100mL)萃取所得溶液。合并有机萃取物,用盐水(2×100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩获得650mg(75%)呈黄色固体状的(E)-N-[(5-氟噻吩-2-基)亚甲基]羟基胺。LCMS(ES,m/z):[M+H]⁺=146.0。

[0546] 步骤3:3-(5-氟噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯.向25mL圆底烧瓶中放置(E)-N-[(5-氟噻吩-2-基)亚甲基]羟基胺(300mg,2.07mmol,1.00当量)于DMF(5mL)中的溶液,接着分小份添加NCS(414mg,3.11mmol,1.50当量)。在室温下搅拌所得溶液1小时,接着添加丙-2-炔酸甲酯(0.27mL,2.00当量),随后分小份添加Na₂CO₃(260mg,3.09mmol,1.50当量)。在室温下搅拌反应物2小时,用50mL H₂O稀释并且用EtOAc(3×100mL)萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,且真空浓缩。通过制备型TLC(乙酸乙酯/石油醚=1/3)纯化残余物获得200mg(43%)呈黄色固体状的3-(5-氟噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯。

[0547] 步骤4:3-(5-氟噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸.向50-mL圆底烧瓶中放置3-(5-氟噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸甲酯(254mg,1.12mmol,1.00当量)于THF-H₂O(3:1,10mL)中的溶液,接着添加LiOH(52mg,2.17mmol,2.00当量)。在室温下搅拌反应物1小时,用H₂O(20mL)稀释,并且用乙酸乙酯(2×50mL)洗涤。使用1M HCl将水层的pH调整到3,接着用

EtOAc (3×50mL) 萃取所得溶液。合并有机萃取物,用盐水(2×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,且减压浓缩获得170mg (71%) 呈黄色固体状的3-(5-氟噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸。LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 214.1。

[0548] 步骤5:3-(5-氟噻吩-2-基)-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和3-(5-氟噻吩-2-基)-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。向50-mL圆底烧瓶中放置3-(5-氟噻吩-2-基)-1,2-噁唑-5-甲酸(170mg, 0.80mmol, 1.00当量)于DCM(20mL)中的溶液,接着添加3-([5-[(1R)-1-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁烷-1-胺(273mg, 0.88mmol, 1.10当量)、HATU(455mg, 1.20mmol, 1.50当量)和DIEA(0.33mL, 3.00当量)。在室温下搅拌反应物3小时,用H₂O稀释,并且用DCM萃取。合并有机萃取物,用盐水(2×30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且减压浓缩。通过制备型TLC(EtOAc/石油醚=1/4)纯化残余物,接着通过手性制备型HPLC(制备型HPLC-032:柱, Lux 5u 纤维素-4, AXIA装填, 250×21.2mm; 移动相, 己烷和IPA(21分钟内保持30.0% IPA); 检测器, UV 254/220nm)分离所得纯异构体获得37.2mg (19%) 呈白色固体状的3-(5-氟噻吩-2-基)-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺和9.4mg (5%) 呈白色固体状的3-(5-氟噻吩-2-基)-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺。

[0549] 3-(5-氟噻吩-2-基)-N-[(1s,3s)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 393.1。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) : δ9.23-9.20 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.57-7.55 (t, J=3.9Hz, 2H), 6.94-6.92 (m, 1H), 5.91-5.89 (d, J=5.7Hz, 1H), 4.92-4.83 (m, 1H), 4.33-4.23 (m, 1H), 2.97-2.95 (d, J=6.3Hz, 2H), 2.46-2.33 (m, 3H), 1.96-1.90 (m, 2H), 1.45-1.43 (d, J=6.6Hz, 3H)。纯度(HPLC, 254nm) : 98.8%。

[0550] 3-(5-氟噻吩-2-基)-N-[(1r,3r)-3-([5-[(1R)-1-羟基乙基]-1,3,4-噁二唑-2-基]甲基)环丁基]-1,2-噁唑-5-甲酰胺:LCMS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 393.1。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) : δ9.33-9.31 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.57-7.54 (t, J=4.2Hz, 1H), 6.94-6.92 (m, 1H), 5.92-5.90 (d, J=5.7Hz, 1H), 4.92-4.84 (m, 1H), 4.57-4.49 (m, 1H), 3.09-3.06 (d, J=7.8Hz, 2H), 2.72-2.64 (m, 1H), 2.37-2.27 (m, 2H), 2.17-2.12 (m, 2H), 1.46-1.43 (d, J=6.6Hz, 3H)。纯度(HPLC, 254nm) : 99.3%。

[0551] 实例77:CFTR活性分析

[0552] i. 尤斯测量

[0553] 如上文所论述,使用尤斯测量来测量CFTR活性。在这种方法中,在尤斯测量之前,针对引起囊性纤维化的ΔF508突变的原发性肺上皮细胞(hBE)同型接合在Snap Well滤板上在空气-液体界面中分化至少4周。在用化合物处理之前,细胞在顶部用粘液洗涤30分钟。去除底外侧培养基并且换成含有从DMSO储备液稀释到最终浓度的所关注的化合物的培养基。处理过的细胞在37°C和5%CO₂下培育24小时。在处理时段结束时,将过滤器上的细胞转移到尤斯室并且平衡30分钟。以电压钳模式(V_{保持}=0mV)测量短路电流,并且整个分析法是在36°C-36.5°C的温度下进行。当电压稳定时,夹紧室,并且通过每5秒一次的脉冲读数记录数据。在基线电流稳定之后,施加以下添加并且可以监测电流和细胞电阻的变化:

- [0554] 1. 向顶部室施加苯扎明 (Benzamil) 来抑制ENaC钠通道。
 [0555] 2. 向两个室添加毛喉素,通过磷酸化来活化 $\Delta F508$ -CFTR。
 [0556] 3. 向两个室添加染料木素来强化 $\Delta F508$ -CFTR通道开口。
 [0557] 4. 向顶部室添加CFTRinh-172来抑制 $\Delta F508$ -CFTR Cl⁻传导。
 [0558] 可抑制的电流(所述电流通过CFTRinh-172阻断)被测量作为 $\Delta F508$ -CFTR通道的比活性,并且这一活性响应于化合物而相对于媒介剂处理样品中所观察的活性增加被视为测试化合物所赋予的 $\Delta F508$ -CFTR功能的校正。

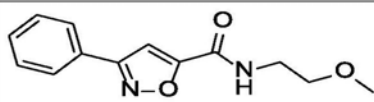
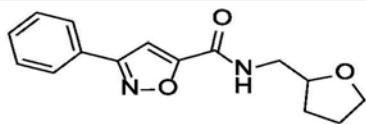
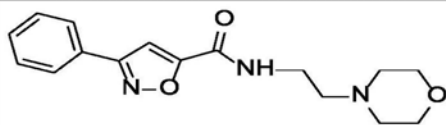
[0559] ii hBE等效电流 (I_{eq}) 分析法

[0560] 在等效电流 (I_{eq}) 测量之前,针对引起囊性纤维化的 $\Delta F508$ 突变的原发性肺上皮细胞同型接合在Costar 24孔HTS滤板上在空气-液体界面中分化至少4周。在用化合物处理之前24小时,细胞在顶部用粘液洗涤30分钟。去除底外侧培养基并且换成含有从DMSO储备液稀释到最终浓度的所关注的化合物的培养基。处理过的细胞在37°C和5%CO₂下培育24小时。在处理时段结束时,在实验之前30分钟将培养基换成I_{eq}实验溶液,并且在这一时段期间将培养盘保持于无CO₂的培育箱中。接着含有所述细胞的培养盘置于在36°C ± 0.5的预先升温的加热块中15分钟,随后进行测量。使用具有24孔电极歧管的常规24通道电流钳 (TECC-24) 测量经上皮电压 (V_T) 和传导率 (G_T)。在以标准化时段添加之后进行I_{eq}分析测量:

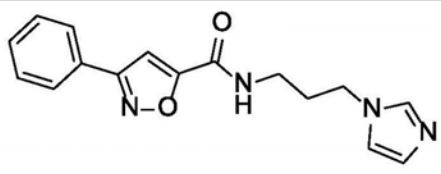
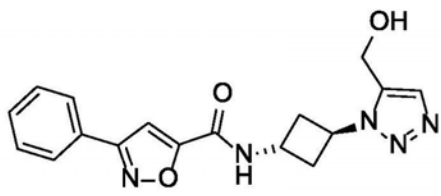
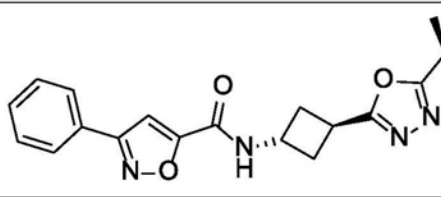
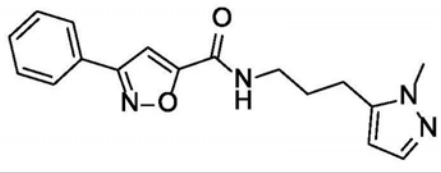
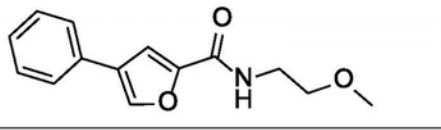
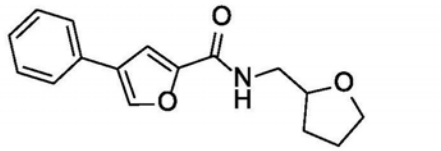
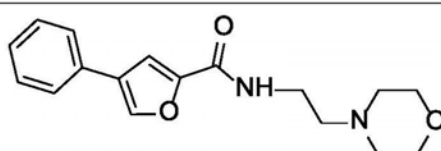
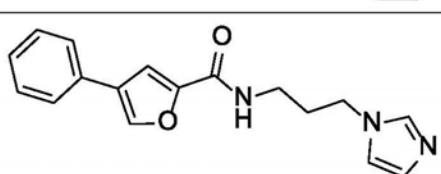
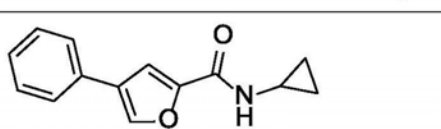
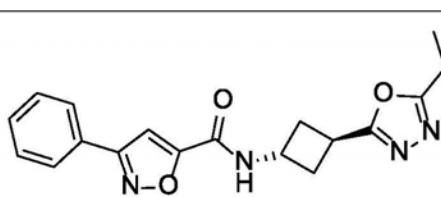
- [0561] 1. 测量基线V_T和G_T值持续约20分钟。
 [0562] 2. 添加苯扎明来阻断ENaC持续15分钟。
 [0563] 3. 添加毛喉素加VX-770来最大限度地活化 $\Delta F508$ -CFTR持续27分钟。
 [0564] 4. 添加布美他尼 (Bumetanide) 来抑制NaK₂Cl转运蛋白和关闭氯分泌。
 [0565] 所捕获的活性数据是等效氯电流的痕迹的曲线下面积 (AUC)。从毛喉素/VX-770的添加时间直到布美他尼添加抑制来收集AUC。随着化合物处理的样品的AUC相对于媒介剂处理的样品的AUC增加来对响应于化合物处理的校正进行评分。

[0566] 结果显示于下表2中。++表示在1 μ M下的活性 > 在10 μ M VX-809下的25%操作,+表示在1 μ M下的活性为在10 μ M VX-809下的10到 < 25%操作,**表示化合物在10 μ M下并且VX-809在1 μ M下时活性 > 200% VX-809 (1 μ M);*表示化合物在10 μ M下并且VX-809在1 μ M下时活性为100-200% VX-809 (1 μ M)。##表示化合物在10 μ M下并且VX-809在3 μ M下时活性 > 200% VX-809 (3 μ M);#表示化合物在10 μ M下并且VX-809在3 μ M下时活性为100-200% VX-809 (3 μ M)。

[0567] 表2:

#	结构	I _{eq}	尤斯
1		++	
[0568] 2		++	
3		++	

[0569]

4		+	
5			##
6		*	##
7		++, *	
8		+	
9		++	
10		+	
11		++	
12		++, *	
13			

[0570]

14		*	
15		*	
16			
17		*	
18			
19			
20		*	
21		*	
22		*	

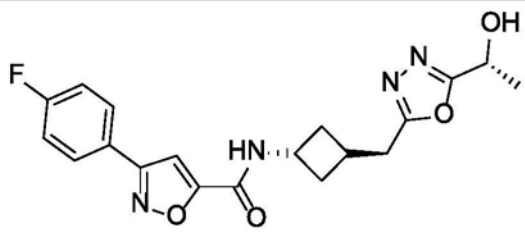
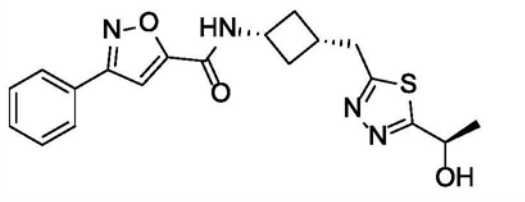
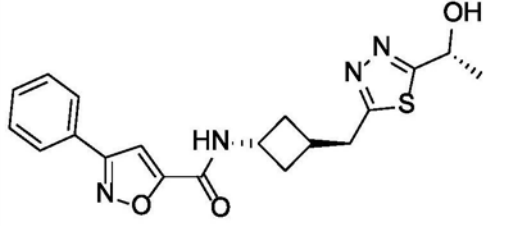
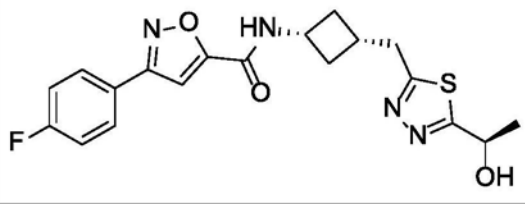
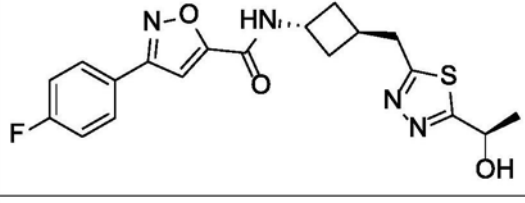
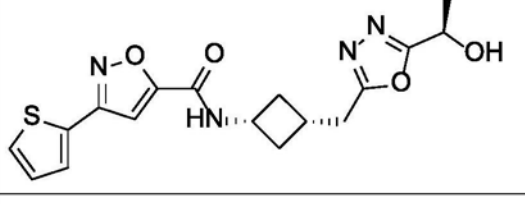
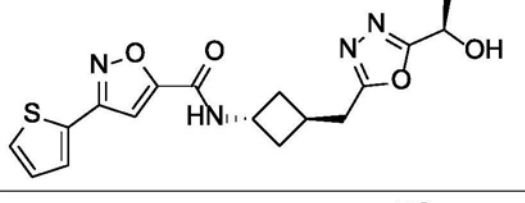
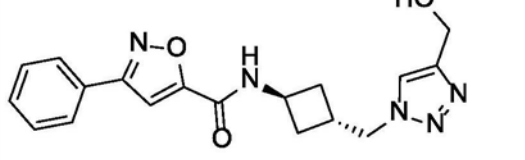
[0571]

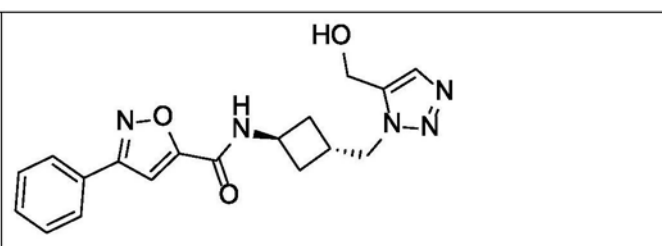
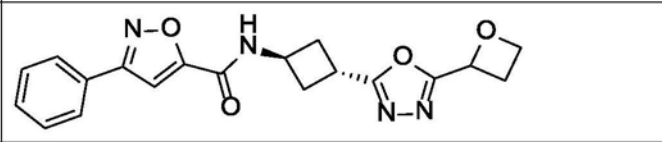
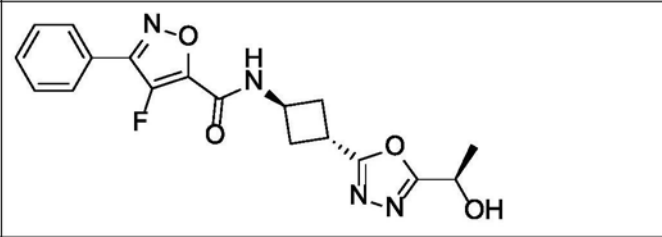
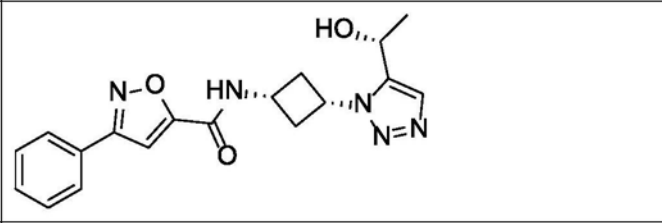
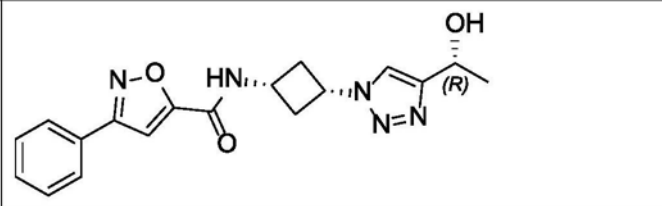
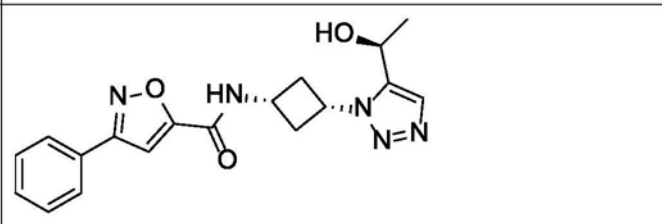
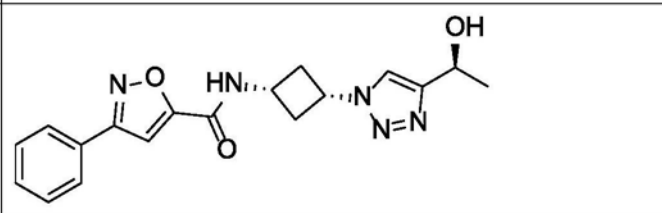
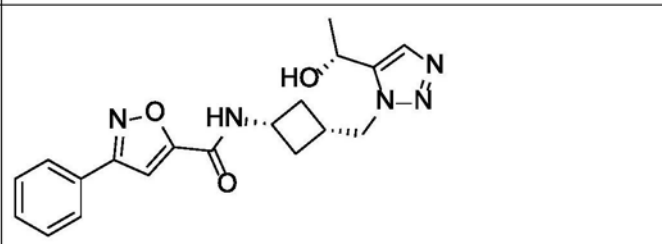
23		*	
24		*	
25		*	
26			
27		*	
28		**	
29		**	
30		*	
31			

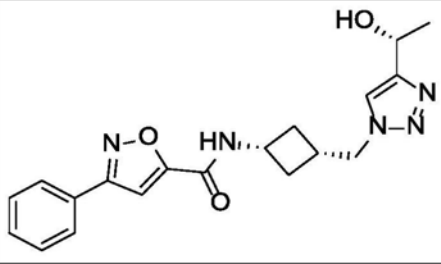
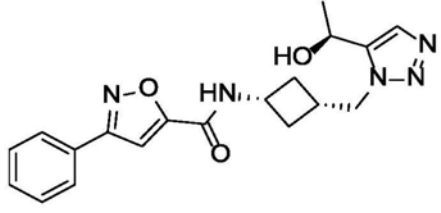
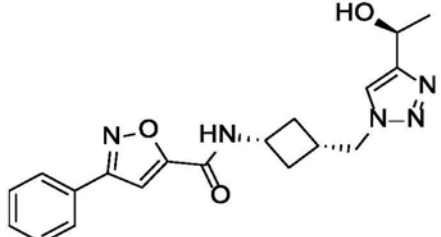
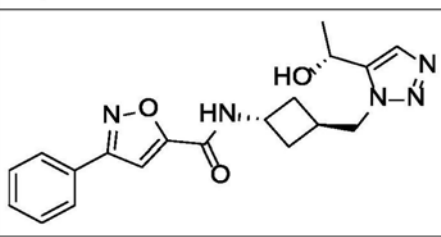
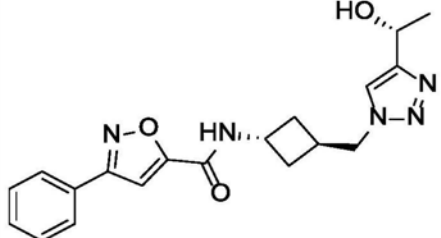
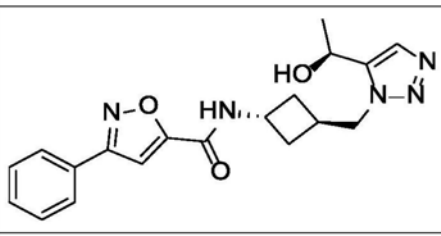
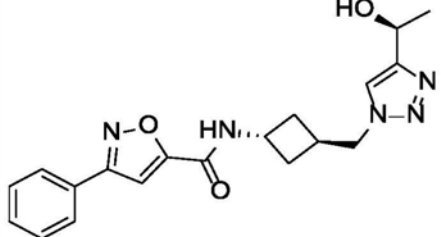
[0572]

32			
33			
34			
35		*	
36		*	
37		**	
38		**	
39			

[0573]

40		**	
41		**	
42		*	
43		**	
44		**	
45		*	
46		*	
47		*	

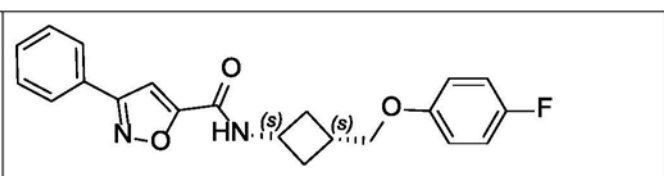
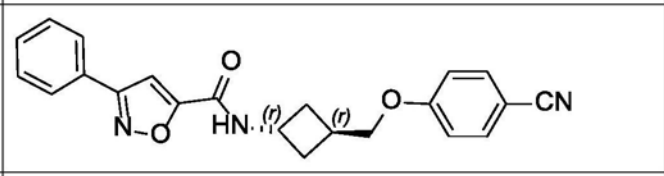
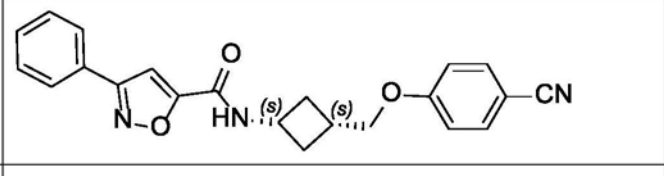
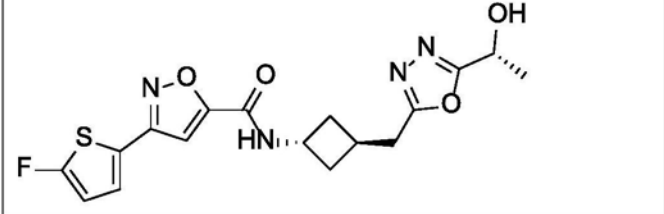
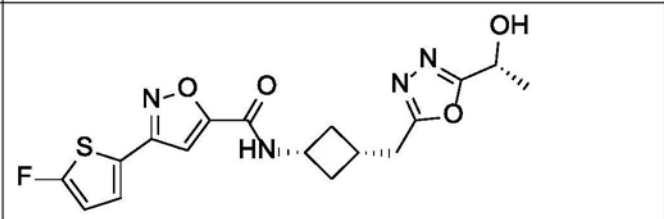
48			
49			
50		*	
51			
[0574]			
53			
54			
55			

56			
57		**	
58		*	
59			
60			
61			
62			

[0575]

[0576]

63			
64			
65			
66			
67			
68			
69			
70			
71			

72			
73			
74			
75			
76			

[0577] [0578] 实例78

[0579] i. 尤斯测量

[0580] 如上文所论述,可以使用尤斯测量来测量CFTR活性。在这种方法中,在尤斯测量之前,具有引起囊性纤维化的I类突变的原发性肺上皮细胞(hBE)在Snap Well™滤板上在空气-液体界面中分化至少4周。在用化合物处理之前,细胞在顶部用粘液洗涤30分钟。去除外侧培养基并且换成含有从DMSO或水性储备液稀释到最终浓度的所关注的化合物的培养基。处理过的细胞在37°C和5%CO₂下培育24小时。在处理时段结束时,将过滤器上的细胞转移到尤斯室并且平衡30分钟。以电压钳模式($V_{\text{保持}}=0\text{mV}$)测量短路电流,并且整个分析法是在36°C-36.5°C的温度下进行。当电压稳定时,夹紧室,并且通过每5秒一次的脉冲读数记录数据。在基线电流稳定之后,施加以下添加并且监测电流和细胞电阻的变化:

[0581] 1. 向顶部室施加苯扎明来抑制ENaC钠通道。

[0582] 2. 向两个室添加毛喉素,通过磷酸化来活化 Δ F508-CFTR。

[0583] 3. 向顶部室添加艾维卡福或染料木素来强化 Δ F508-CFTR通道开口。

[0584] 4. 向顶部室添加CFTRinh-172来抑制 Δ F508-CFTR C1传导。

[0585] 毛喉素敏感电流和可抑制电流(所述增强的电流通过CFTRinh-172阻断)被测量作为 Δ F508-CFTR通道的比活性,并且这一活性响应于化合物而相对于媒介剂处理样品中所观察的活性增加被视为测试化合物所赋予的 Δ F508-CFTR功能的校正。

[0586] 实例79

[0587] i. 尤斯测量

[0588] 如上文所论述,可以使用尤斯测量来测量CFTR活性。在这种方法中,在尤斯测量之前,具有引起囊性纤维化的III类突变的原发性肺上皮细胞(hBE)在Snap Well™滤板上在空气-液体界面中分化至少4周。在用化合物处理之前,细胞在顶部用粘液洗涤30分钟。去除底外侧培养基并且换成含有从DMSO储备液稀释到最终浓度的所关注的化合物的培养基。处理过的细胞在37℃和5%CO₂下培育24小时。在处理时段结束时,将过滤器上的细胞转移到尤斯室并且平衡30分钟。以电压钳模式($V_{保持}=0mV$)测量短路电流,并且整个分析法是在36℃-36.5℃的温度下进行。当电压稳定时,夹紧室,并且通过每5秒一次的脉冲读数记录数据。在基线电流稳定之后,施加以下添加并且监测电流和细胞电阻的变化:

[0589] 1. 向顶部室施加苯扎明来抑制ENaC钠通道。

[0590] 2. 向两个室添加毛喉素,通过磷酸化来活化 $\Delta F508$ -CFTR。

[0591] 3. 向顶部室添加VX-770或染料木素来强化 $\Delta F508$ -CFTR通道开口。

[0592] 4. 向顶部室添加CFTRinh-172来抑制 $\Delta F508$ -CFTR C1传导。

[0593] 毛喉素敏感电流和可抑制电流(所述增强的电流通过CFTRinh-172阻断)被测量作为 $\Delta F508$ -CFTR通道的比活性,并且这一活性响应于化合物而相对于媒介处理样品中所观察的活性增加被视为测试化合物所赋予的 $\Delta F508$ -CFTR功能的校正。

[0594] 实例80

[0595] i. 尤斯测量

[0596] 如上文所论述,可以使用尤斯测量来测量CFTR活性。在这种方法中,在尤斯测量之前,具有引起囊性纤维化的V类突变的原发性肺上皮细胞(hBE)在SnapWell™滤板上在空气-液体界面中分化至少4周。在用化合物处理之前,细胞在顶部用粘液洗涤30分钟。去除底外侧培养基并且换成含有从DMSO储备液稀释到最终浓度的所关注的化合物的培养基。处理过的细胞在37℃和5%CO₂下培育24小时。在处理时段结束时,将过滤器上的细胞转移到尤斯室并且平衡30分钟。以电压钳模式($V_{保持}=0mV$)测量短路电流,并且整个分析法是在36℃-36.5℃的温度下进行。当电压稳定时,夹紧室,并且通过每5秒一次的脉冲读数记录数据。在基线电流稳定之后,施加以下添加并且监测电流和细胞电阻的变化:

[0597] 1. 向顶部室施加苯扎明来抑制ENaC钠通道。

[0598] 2. 向两个室添加毛喉素,通过磷酸化来活化 $\Delta F508$ -CFTR。

[0599] 3. 向顶部室添加VX-770或染料木素来强化 $\Delta F508$ -CFTR通道开口。

[0600] 4. 向顶部室添加CFTRinh-172来抑制 $\Delta F508$ -CFTR C1传导。

[0601] 毛喉素敏感电流和可抑制电流(所述增强的电流通过CFTRinh-172阻断)被测量作为 $\Delta F508$ -CFTR通道的比活性,并且这一活性响应于化合物而相对于媒介处理样品中所观察的活性增加被视为测试化合物所赋予的 $\Delta F508$ -CFTR功能的校正。

[0602] ii. hBE等效电流(I_{eq})分析法

[0603] 在等效电流(I_{eq})测量之前,针对引起囊性纤维化的 $\Delta F508$ 突变的原发性肺上皮细胞同型接合在Costar 24孔HTS滤板上在空气-液体界面中分化至少4周。在用化合物处理之前24小时,细胞在顶部用粘液洗涤30分钟。去除底外侧培养基并且换成含有从DMSO储备液稀释到最终浓度的所关注的化合物的培养基。处理过的细胞在37℃和5%CO₂下培育24小时。在处理时段结束时,在实验之前30分钟将培养基换成I_{eq}实验溶液,并且在这一时段期间将培养盘保持于无CO₂的培育箱中。接着含有所述细胞的培养盘置于在36℃±0.5的预先

升温的加热块中15分钟,随后进行测量。使用具有24孔电极歧管的常规24通道电流钳(TECC-24)测量经上皮电压(V_T)和传导率(G_T)。在以标准化时段添加之后进行 I_{eq} 分析测量。

[0604] 1. 测量基线 V_T 和 G_T 值持续约20分钟。

[0605] 2. 添加苯扎明来阻断ENaC持续15分钟。

[0606] 3. 添加毛喉素加VX-770(艾维卡福)来最大限度地活化 $\Delta F508$ -CFTR持续27分钟。

[0607] 4. 添加布美他尼来抑制 NaK_2Cl 转运蛋白和关闭氯分泌。

[0608] 所捕获的活性数据是等效氯电流的痕迹的曲线下面积(AUC)。从毛喉素/VX-770的添加时间直到布美他尼添加抑制来收集AUC。随着化合物处理的样品的AUC相对于媒介处理的样品的AUC增加来对响应于化合物处理的校正进行评分。

[0609] 虽然已经参考本发明的优选实施例来具体地显示并且描述本发明,但是所属领域的技术人员应该理解,在不脱离如由随附权利要求书所涵盖的本发明范围的情况下,可以做出形式和细节的各种变化。

[0610] 以引用的方式并入

[0611] 本文提到的全部公开和专利(包括下面所列的那些条目)出于全部目的以全文引用的方式并入本文中,就好像每一个个别公开或专利以引用的方式专门和独立地并入。在有矛盾的情况下,将以本申请(包括本文的任何定义)为准。

[0612] 等效内容

[0613] 尽管已经论述了本发明的特定实施例,但上述说明书是说明性的并且不是限制性的。在审阅本说明书时,本发明的许多变化将对所属领域的技术人员变得显而易见。本发明的完整范围应参考权利要求书和其等效物和本说明书和此类变化的完整范围决定。

[0614] 除非另外指明,否则本说明书和权利要求书中所用的表示成分的量、反应条件等的所有数值应理解为在所有情况下都由术语“约”修饰。因此,除非指出为相反的,否则本说明书和随附权利要求书中所阐述的数值参数是可以取决于试图通过本发明获得的所需性质而变化的近似值。