



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113395963 B

(45) 授权公告日 2024.06.25

(21) 申请号 201980091398.5

(72) 发明人 保罗·S·夏皮罗

(22) 申请日 2019.12.06

小亚历山大·D·麦克雷尔

(65) 同一申请的已公布的文献号

杰弗里·D·哈斯迪

申请公布号 CN 113395963 A

史蒂文·弗莱彻

(43) 申请公布日 2021.09.14

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204

(30) 优先权数据

专利代理人 王达佐 安佳宁

62/776,837 2018.12.07 US

(51) Int.CI.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 31/44 (2006.01)

2021.08.05

A61K 31/5377 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

C07D 413/14 (2006.01)

PCT/US2019/064960 2019.12.06

(56) 对比文件

(87) PCT国际申请的公布数据

CN 105979948 A, 2016.09.28

W02020/118194 EN 2020.06.11

CN 106456628 A, 2017.02.22

(73) 专利权人 马里兰大学巴尔的摩分校

审查员 刘玮

地址 美国马里兰州

权利要求书1页 说明书123页 附图18页

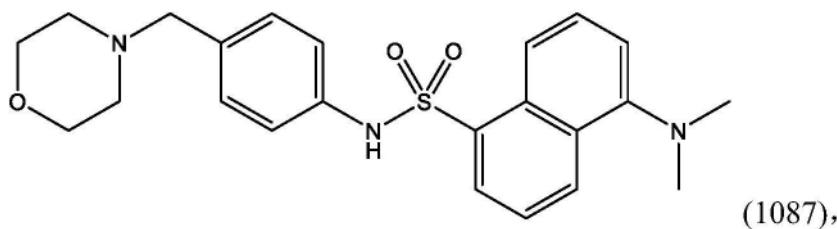
(54) 发明名称

非ATP/催化位点p38丝裂原活化蛋白激酶抑制剂

(57) 摘要

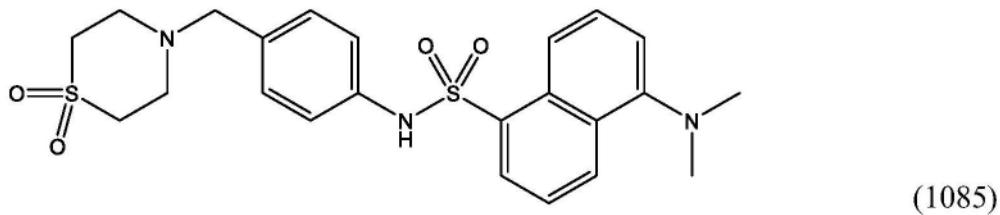
提供了抑制p38 α MAPK蛋白的化合物和使用该化合物的方法, 用于治疗或预防诸如癌症或炎性疾病的疾病。

1. 化合物, 其具有式(1087) (5- (二甲基氨基) -N- (4- (吗啉代甲基) 苯基) 萘-1-磺酰胺) 的结构:



或其药学上可接受的盐。

2. 化合物, 其具有式(1085) (5- (二甲基氨基) -N- (4- ((1,1-二氧化硫代吗啉代) 甲基) 苯基) 萘-1-磺酰胺) 的结构:



或其药学上可接受的盐。

3. 药物组合物, 其包含权利要求1至2中任一项所述的化合物, 或其药学上可接受的盐。

4. 治疗有效量的权利要求1至2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或急性肺损伤(ALI)的药物中的用途。

5. 治疗有效量的权利要求3所述的药物组合物在制备用于治疗慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或急性肺损伤(ALI)的药物中的用途。

非ATP/催化位点p38丝裂原活化蛋白激酶抑制剂

技术领域

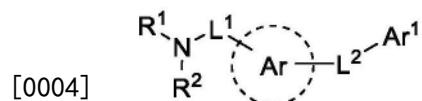
[0001] 本发明总体上涉及作为p38丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)蛋白抑制剂的化合物，并且更具体地但非排他地，涉及通过结合到p38 α MAPK的ED底物对接位点附近的口袋来抑制p38 α MAPK蛋白的化合物，以及使用此类化合物治疗疾病的方法。

背景技术

[0002] p38丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)有助于多种疾病的发病机理，但目前可用的p38催化抑制剂(例如SB203580)效果不佳并且可能由于针对非炎性p38同种型(例如，p38 β)的活性和丧失p38 α 依赖性反调节响应(例如，MSK1/2)而引起毒性。因此，该领域需要新的疗法和治疗方法来解决选择性抑制p38 α MAPK以及选择性阻断某些p38 α MAPK功能以保持关键的反调节和稳态功能，以应用于治疗炎性和肿瘤疾病。

发明内容

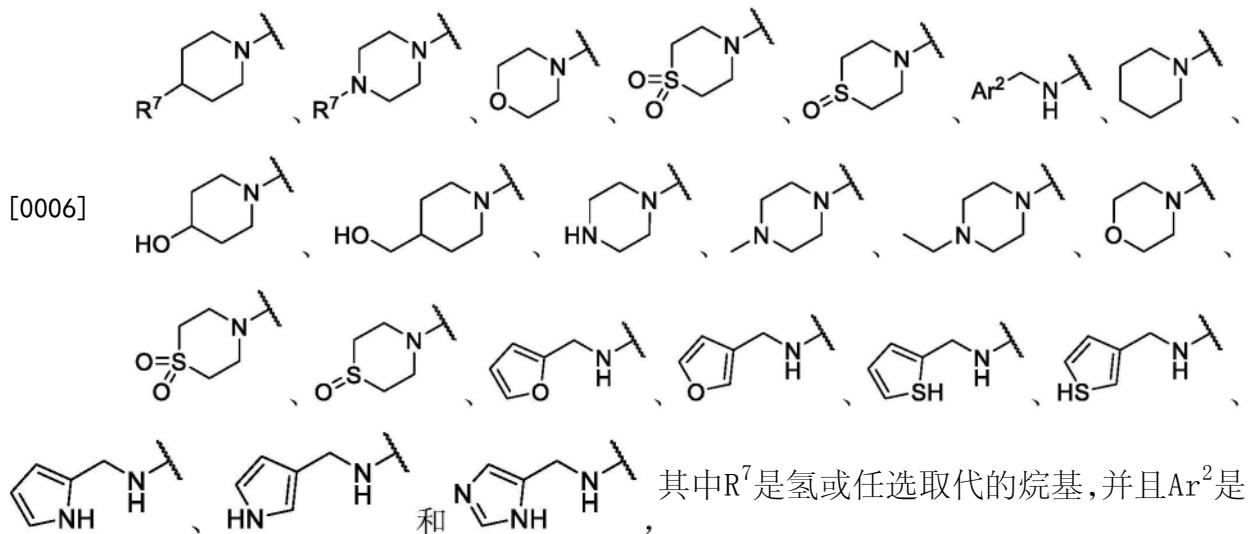
[0003] 本公开提供了一种式A化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药：



式 A

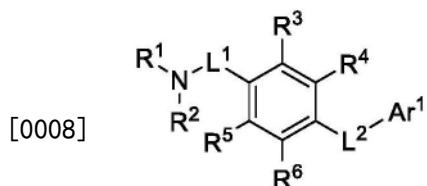
[0005] 其中在式A中：Ar和Ar¹独立地选自单环或多环任选取代的环烷基、单环或多环任选取代的杂环烷基、单环或多环任选取代的芳基、单环或多环任选取代的芳基烷基、单环或多环任选取代的杂芳基和单环或多环任选取代的杂芳基烷基；R¹和R²独立地选自氢、任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的烷氧基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基和任选取代的烷基杂芳基，其中R¹和R²可以任选地连接形成碳环或杂环；L¹和L²是独立地包含以下的一个或多个的接头：键、-NR^a-、-S-、-S(0)-、-S(0)₂-、-O-、-CR^a₂-、-C(0)O-、-OC(0)-、-C(0)S-、-SC(0)-、-C(0)NR^a-、-NR^aC(0)-、-C(0)NR^aSO₂-、-SO₂NR^aC(0)-、-OC(0)O-、-OC(0)S-、-SC(0)O-、-OC(0)NR^a-、-NR^aC(0)O-、-S(0)_tN(R^a)- (其中t是1或2)、-N(R^a)S(0)_t- (其中t是1或2)、二取代烷基、二取代杂烷基、二取代烯基、二取代炔基、二取代环烷基、二取代杂环烷基、二取代芳基、二取代芳基烷基、二取代杂芳基和二取代杂芳基烷基；其中任何任选的取代基在每次出现时独立地选自任选取代的烷基、任选取代的杂烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的环烷基、任选取代的杂环烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基硅烷基、-OR^a、-SR^a、-OC(0)-R^a、-SC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-C(0)SR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)和PO₃(R^a)₂；并且R^a在每次出现时独立

地选自氢、任选取代的烷基、任选取代的氟烷基、任选取代的碳环基、任选取代的碳环基烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基烷基、任选取代的杂环烷基、任选取代的杂环烷基烷基、任选取代的杂芳基和任选取代的杂芳基烷基。在一些实施方案中,任选的取代基独立地选自R³、R⁴、R⁵和R⁶,它们独立地选自氢、任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的烷氧基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基和任选取代的烷基杂芳基,其中R¹、R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶中的任意两个可以任选地连接以形成碳环或杂环。在一些实施方案中,Ar¹是任选取代的芳基或任选取代的杂芳基环。在一些实施方案中,Ar是单环或多环任选取代的芳基、单环或多环任选取代的芳基烷基、单环或多环任选取代的杂芳基、或单环或多环任选取代的杂芳基烷基。在一些实施方案中,Ar是5或6元任选取代的芳基或5或6元任选取代的杂芳基,其中L¹和L²以1,2,1,3或1,4取代模式连接至Ar。在一些实施方案中,Ar是1,2二取代、1,3二取代或1,4二取代的苯基、吡啶、嘧啶、吡嗪或三嗪。在一些实施方案中,Ar是1,2二取代或1,3二取代的呋喃、噻吩、吡咯、噻唑、咪唑、噁唑、三唑或吡唑。在一些实施方案中,Ar是1,2二取代、1,3二取代、1,4二取代、1,5二取代、1,6二取代、1,7二取代或1,8二取代的萘、喹啉、异喹啉或喹唑啉。在一些实施方案中,Ar是1,2二取代、1,3二取代、1,4二取代、1,5二取代、1,6二取代或1,7二取代的吲哚或咪唑。在一些实施方案中,L¹是选自-CH₂-、-C(CH₃)₂-和-C(CH₂CH₂)-的接头;L²是选自-NHCH₂-、-CH₂NH-、-NHC0-、-CONH-、-SO₂NH-和-NHSO₂-的接头;并且-NR¹R²选自:



其中R⁷是氢或任选取代的烷基,并且Ar²是杂环。

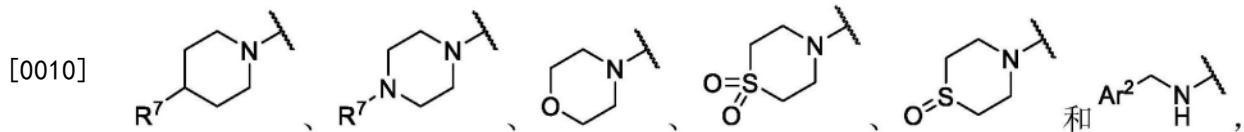
[0007] 在一个方面,本公开涉及一种式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药:



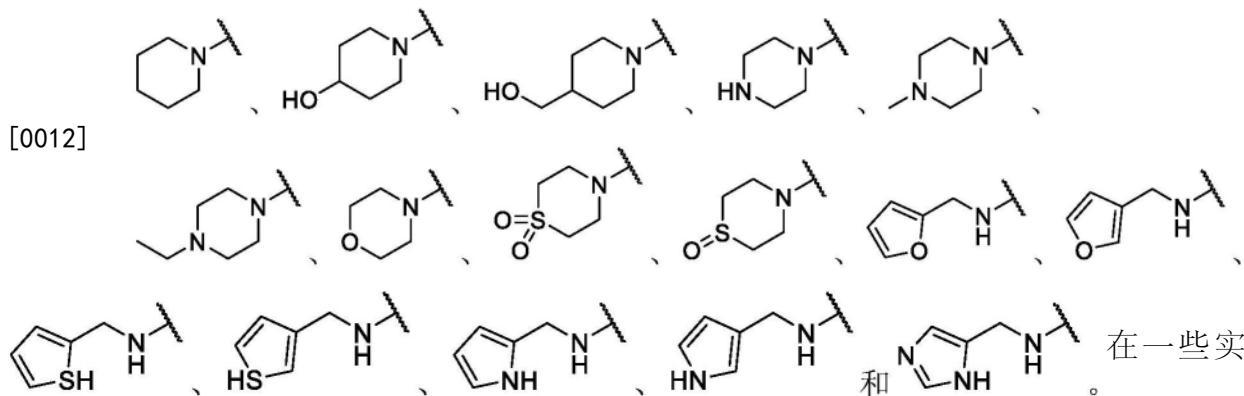
式 1

[0009] 其中在式I中:R¹、R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶中的每一个独立地选自氢、任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的烷氧基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基

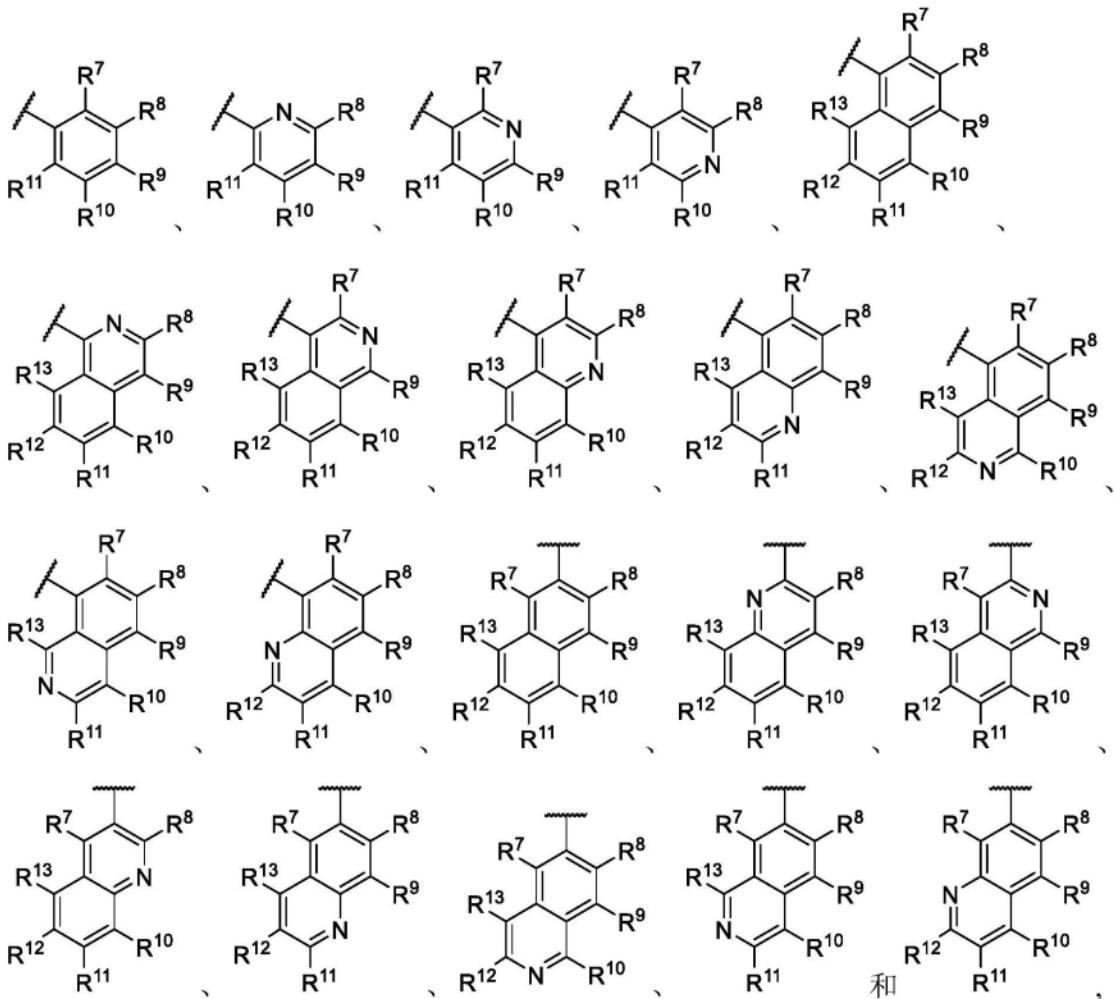
和任选取代的烷基杂芳基,其中R¹和R²可以任选地连接以形成碳环或杂环;L¹是选自-CH₂-、-C(CH₃)₂-和-C(CH₂CH₂)-的接头;L²是选自-NHCH₂-、-CH₂NH-、-NHCO-、-CONH-、-SO₂NH-和-NHSO₂-的接头;并且Ar¹是任选取代的芳基或任选取代的杂芳基环。在一些实施方案中,式I中的-NR¹R²基团选自:



[0011] 其中R⁷是氢或任选取代的烷基,并且Ar²是杂环。在一些实施方案中,式I中的-NR¹R²基团选自:

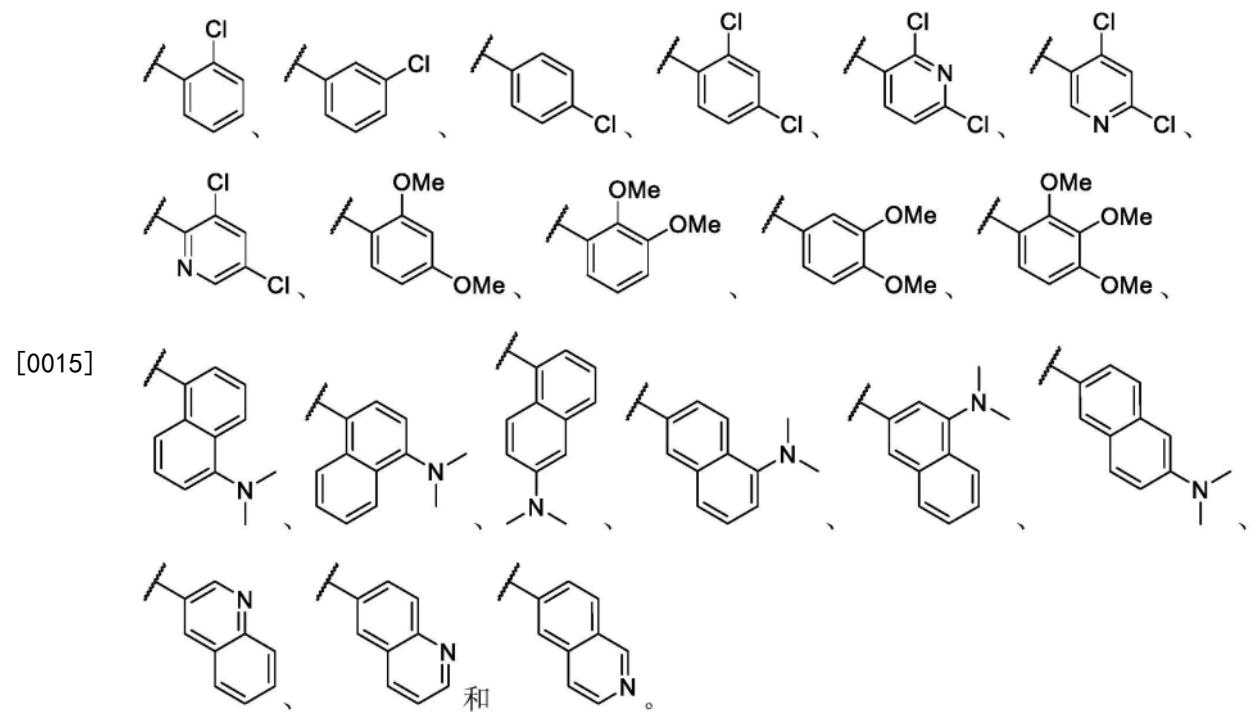


施方案中,L¹是-CH₂-。在一些实施方案中,R³、R⁴、R⁵和R⁶是氢。在一些实施方案中,L²选自-NHCH₂-、-NHCO-和-NHSO₂-。在一些实施方案中,Ar¹选自:

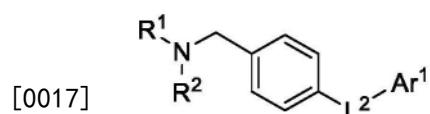


[0013]

[0014] 其中R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²和R¹³中的每一个独立地选自氢、卤素、-NR¹R²、烷氧基、任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的烷氧基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基和任选取代的烷基杂芳基,其中R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²和R¹³中的任意两个邻位基团可以任选地连接形成碳环或杂环。在一些实施方案中,Ar¹选自:

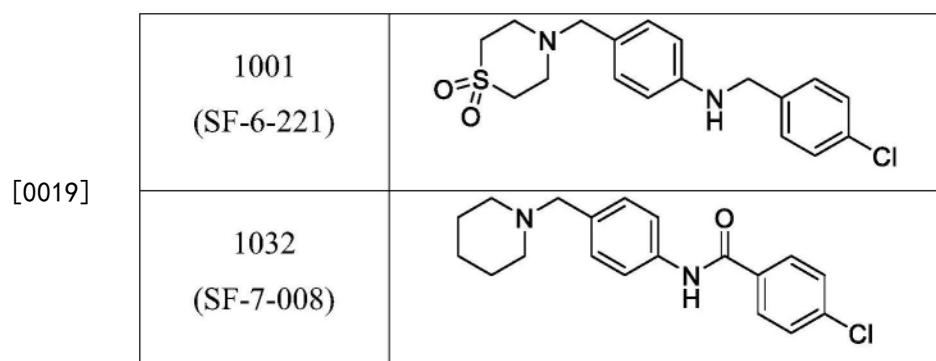


[0016] 在另一方面,本公开涉及一种式II化合物,其中所述化合物具有表1中公开的式1001-1180中的任一个:



式 II

[0018] 在另一方面,本公开涉及式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),和1087(SF-7-044)中任一个的化合物:



1034 (SF-7-010)	
1035 (SF-7-011)	
1036 (SF-7-012)	
1037 (SF-6-217)	
[0020]	1043 (SF-6-223)
	1049 (SF-6-224)
1061 (SF-6-219)	
1085 (SF-6-222)	
1087 (SF-7-044)	

[0021] 在另一方面,本公开涉及式A、I、II和1001-1180中任一个的化合物,其中所述化合物是p38 α MAPK抑制剂。在另一方面,本公开涉及式1001 (SF-6-221) ,1032 (SF-7-008) ,1034 (SF-7-010) ,1035 (SF-7-011) ,1036 (SF-7-012) ,1037 (SF-6-217) ,1043 (SF-6-223) ,1049 (SF-6-224) ,1061 (SF-6-219) ,1085 (SF-6-222) ,SF-7-009和1087 (SF-7-044) ,中任一个的化合物,其中所述化合物是p38 α MAPK抑制剂。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂是p38 α

MAPK选择性抑制剂。

[0022] 在另一方面,本公开涉及式A、I、II和1001-1180中任一个的p38 α MAPK抑制剂,其中所述p38 α MAPK抑制剂能够结合p38 α MAPK的ED底物对接位点附近的口袋,并且至少由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108和K165限定。在一些实施方案中,结合口袋由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108、M109、G110、A157、V158、E163、L164和K165限定。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂是p38 α MAPK选择性抑制剂。

[0023] 在另一方面,本公开涉及式1001 (SF-6-221) ,1032 (SF-7-008) ,1034 (SF-7-010) ,1035 (SF-7-011) ,1036 (SF-7-012) ,1037 (SF-6-217) ,1043 (SF-6-223) ,1049 (SF-6-224) ,1061 (SF-6-219) ,1085 (SF-6-222) ,SF-7-009,和1087 (SF-7-044) 中任一个的p38 α MAPK抑制剂,其中所述p38 α MAPK抑制剂能够结合p38 α MAPK的ED底物对接位点附近的口袋,并且至少由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108和K165限定。在一些实施方案中,结合口袋由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108、M109、G110、A157、V158、E163、L164和K165限定。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂是p38 α MAPK选择性抑制剂。

[0024] 在一个方面,本公开涉及一种药物组合物,其包含式A、I、II和1001-1180中任一个的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,以及生理学上相容的载体介质,其中组合物中化合物的量是治疗或预防通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK活性而减轻的疾病的治疗有效量。在另一方面,本公开涉及一种药物组合物,其包含式1001 (SF-6-221) ,1032 (SF-7-008) ,1034 (SF-7-010) ,1035 (SF-7-011) ,1036 (SF-7-012) ,1037 (SF-6-217) ,1043 (SF-6-223) ,1049 (SF-6-224) ,1061 (SF-6-219) ,1085 (SF-6-222) ,SF-7-009,和1087 (SF-7-044) ,中任一个的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,以及生理学上相容的载体介质,其中组合物中化合物的量是治疗或预防通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK活性而减轻的疾病的治疗有效量。在一些实施方案中,疾病是癌症或炎性疾病。在一些实施方案中,疾病选自由以下组成的群组:类风湿性关节炎、心血管疾病、多发性硬化、炎性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肺损伤(ALI)。在一些实施方案中,癌症选自由以下组成的群组:听神经瘤、腺癌、血管肉瘤、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、支气管癌、宫颈癌、脊索瘤、绒毛膜癌、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、囊腺癌、胚胎癌、内皮癌、室管膜瘤、上皮癌、食道癌、尤文氏瘤、纤维肉瘤、胃癌、多形性胶质母细胞瘤、胶质瘤、头颈癌、血管母细胞瘤、肝细胞瘤、肾癌、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴管内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、髓样癌、髓母细胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、间皮瘤、粘液肉瘤、鼻癌、神经母细胞瘤、少突胶质细胞瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、乳头状腺癌、乳头状癌、松果体瘤、前列腺癌、横纹肌肉瘤、直肠癌、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、肉瘤、皮脂腺癌、精原细胞瘤、皮肤癌、鳞状细胞癌、胃癌、汗腺癌、滑膜瘤、睾丸癌、小细胞肺癌、喉癌、子宫癌、肾母细胞瘤、血癌、急性红白血病、急性淋巴细胞性B细胞白血病、急性淋巴细胞性T细胞白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性巨核细胞白血病、急性单核细胞白血病、急性粒细胞白血病、急性粒单核细胞白血病、急性非淋巴细胞性白血病、急性早幼粒细胞白血病、急性未分化白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性粒细胞白血病、毛细胞白血病、多发性骨髓瘤、重链病、霍奇金病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、真性红细胞增多症和华氏巨球蛋白血症。

[0025] 在一个方面,本公开涉及一种治疗或预防通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK

蛋白而减轻的疾病的方法,包括向患者施用治疗有效量的p38 α MAPK抑制剂或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,其中所述p38 α MAPK抑制剂是式A、I、II和1001-1180中任一个的化合物。在另一方面,本公开涉及一种治疗或预防通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK蛋白而减轻的疾病的方法,包括向患者施用治疗有效量的p38 α MAPK抑制剂或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,其中所述p38 α MAPK抑制剂是式1001 (SF-6-221) ,1032 (SF-7-008) ,1034 (SF-7-010) ,1035 (SF-7-011) ,1036 (SF-7-012) ,1037 (SF-6-217) ,1043 (SF-6-223) ,1049 (SF-6-224) ,1061 (SF-6-219) ,1085 (SF-6-222) ,SF-7-009, 和1087 (SF-7-044) . 中任一个的化合物。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂以剂量单位形式施用。在一些实施方案中,剂量单位包括生理学上相容的载体介质。在一些实施方案中,疾病是癌症或炎性疾病。在一些实施方案中,疾病选自由以下组成的群组:类风湿性关节炎、心血管疾病、多发性硬化、炎性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肺损伤(ALI)。在一些实施方案中,癌症选自由以下组成的群组:听神经瘤、腺癌、血管肉瘤、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、支气管癌、宫颈癌、脊索瘤、绒毛膜癌、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、囊腺癌、胚胎癌、内皮癌、室管膜瘤、上皮癌、食道癌、尤文氏瘤、纤维肉瘤、胃癌、多形性胶质母细胞瘤、胶质瘤、头颈癌、血管母细胞瘤、肝细胞癌、肾癌、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴管内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、髓样癌、髓母细胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、间皮瘤、粘液肉瘤、鼻癌、神经母细胞瘤、少突胶质细胞瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、乳头状腺癌、乳头状癌、松果体瘤、前列腺癌、横纹肌肉瘤、直肠癌、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、肉瘤、皮脂腺癌、精原细胞瘤、皮肤癌、鳞状细胞癌、胃癌、汗腺癌、滑膜瘤、睾丸癌、小细胞肺癌、喉癌、子宫癌、肾母细胞瘤、血癌、急性红白血病、急性淋巴细胞性B细胞白血病、急性淋巴细胞性T细胞白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性巨核细胞白血病、急性单核细胞白血病、急性粒细胞白血病、急性粒单核细胞白血病、急性非淋巴细胞性白血病、急性早幼粒细胞白血病、急性未分化白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性粒细胞性白血病、毛细胞白血病、多发性骨髓瘤、重链病、霍奇金病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、真性红细胞增多症和华氏巨球蛋白血症。在一些实施方案中,该化合物选择性地抑制p38 α MAPK。在一些实施方案中,p38 α MAPK的抑制不会导致p38 α 依赖性反调节响应的丧失。在一些实施方案中,p38 α 依赖性反调节响应涉及丝裂原和应激活化蛋白激酶-1 (MSK1) 或MSK2。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可稳定内皮或上皮屏障功能。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可减少炎症。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可减轻肺损伤。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可减轻LPS诱导的肺损伤。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可调节白细胞运输。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可调节细胞因子表达。

[0026] 在一个方面,本公开涉及一种治疗或预防通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK蛋白而减轻的疾病的方法,包括向患者施用治疗有效量的组合物,所述组合物包含式A、I、II和1001-1180中的任一个的化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,以及生理学上相容的载体介质。在另一方面,本公开涉及一种治疗或预防通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK蛋白而减轻的疾病的方法,包括向患者施用治疗有效量的组合物,所述组合物包含式1001 (SF-6-221) ,1032 (SF-7-008) ,1034 (SF-7-010) ,1035 (SF-7-011) ,1036 (SF-7-012) ,1037 (SF-6-217) ,1043 (SF-6-223) ,1049 (SF-6-224) ,1061 (SF-6-219) ,1085 (SF-6-222) ,SF-7-009, 和1087 (SF-7-044) 中任一个的化合物,或其药学上可接

受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,以及生理学上相容的载体介质。在一些实施方案中,组合物以剂量单位形式施用。在一些实施方案中,剂量单位包括生理学上相容的载体介质。在一些实施方案中,疾病是癌症或炎性疾病。在一些实施方案中,疾病选自由以下组成的群组:类风湿性关节炎、心血管疾病、多发性硬化、炎性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肺损伤(ALI)。在一些实施方案中,癌症选自由以下组成的群组:听神经瘤、腺癌、血管肉瘤、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、支气管癌、宫颈癌、脊索瘤、绒毛膜癌、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、囊腺癌、胚胎癌、内皮癌、室管膜瘤、上皮癌、食道癌、尤文氏瘤、纤维肉瘤、胃癌、多形性胶质母细胞瘤、胶质瘤、头颈癌、血管母细胞瘤、肝细胞瘤、肾癌、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴管内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、髓样癌、髓母细胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、间皮瘤、粘液肉瘤、鼻癌、神经母细胞瘤、少突胶质细胞瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、乳头状腺癌、乳头状癌、松果体瘤、前列腺癌、横纹肌肉瘤、直肠癌、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、肉瘤、皮脂腺癌、精原细胞瘤、皮肤癌、鳞状细胞癌、胃癌、汗腺癌、滑膜瘤、睾丸癌、小细胞肺癌、喉癌、子宫癌、肾母细胞瘤、血癌、急性红白血病、急性淋巴细胞性B细胞白血病、急性淋巴细胞性T细胞白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性巨核细胞白血病、急性单核细胞白血病、急性粒细胞白血病、急性粒单核细胞白血病、急性非淋巴细胞白血病、急性早幼粒细胞白血病、急性未分化白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性粒细胞白血病、毛细胞白血病、多发性骨髓瘤、重链病、霍奇金病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、真性红细胞增多症和华氏巨球蛋白血症。在一些实施方案中,该化合物选择性地抑制p38 α MAPK。在一些实施方案中,p38 α MAPK的抑制不会导致p38 α 依赖性反调节响应的丧失。在一些实施方案中,p38 α 依赖性反调节响应涉及丝裂原和应激激活化蛋白激酶-1(MSK1)或MSK2。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可稳定内皮或上皮屏障功能。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可减少炎症。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可减轻肺损伤。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可减轻LPS诱导的肺损伤。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可调节白细胞运输。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可调节细胞因子表达。

[0027] 在一个方面,本公开涉及一种治疗有效量的p38 α MAPK抑制剂或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,用于治疗或预防通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK蛋白而减轻的疾病,其中所述p38 α MAPK抑制剂是式A、I、II和1001-1180中任一个的化合物。在另一方面,本公开涉及一种治疗有效量的p38 α MAPK抑制剂或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,用于治疗或预防通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK蛋白而减轻的疾病,其中所述p38 α MAPK抑制剂是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),和1087(SF-7-044)中任一个的化合物。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂以剂量单位形式施用。在一些实施方案中,剂量单位包括生理学上相容的载体介质。在一些实施方案中,疾病是癌症或炎性疾病。在一些实施方案中,疾病选自由以下组成的群组:类风湿性关节炎、心血管疾病、多发性硬化、炎性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肺损伤(ALI)。在一些实施方案中,癌症选自由以下组成的群组:听神经瘤、腺癌、血管肉瘤、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、支气管癌、宫颈癌、脊索瘤、绒毛膜癌、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、囊腺癌、胚胎癌、内皮癌、室管膜瘤、上皮癌、食道癌、尤文氏瘤、纤维肉瘤、胃癌、多

形性胶质母细胞瘤、胶质瘤、头颈癌、血管母细胞瘤、肝细胞瘤、肾癌、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴管内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、髓样癌、髓母细胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、间皮瘤、粘液肉瘤、鼻癌、神经母细胞瘤、少突胶质细胞瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、乳头状腺癌、乳头状癌、松果体瘤、前列腺癌、横纹肌肉瘤、直肠癌、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、肉瘤、皮脂腺癌、精原细胞瘤、皮肤癌、鳞状细胞癌、胃癌、汗腺癌、滑膜瘤、睾丸癌、小细胞肺癌、喉癌、子宫癌、肾母细胞瘤、血癌、急性红白血病、急性淋巴细胞性B细胞白血病、急性淋巴细胞性T细胞白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性巨核细胞白血病、急性单核细胞白血病、急性粒细胞白血病、急性粒单核细胞白血病、急性非淋巴细胞性白血病、急性早幼粒细胞白血病、急性未分化白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性粒细胞白血病、毛细胞白血病、多发性骨髓瘤、重链病、霍奇金病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、真性红细胞增多症和华氏巨球蛋白血症。在一些实施方案中,该化合物选择性地抑制p38 α MAPK。在一些实施方案中,p38 α MAPK的抑制不会导致p38 α 依赖性反调节响应的丧失。在一些实施方案中,p38 α 依赖性反调节响应涉及丝裂原和应激激活蛋白激酶-1 (MSK1) 或MSK2。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可稳定内皮或上皮屏障功能。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可减少炎症。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可减轻肺损伤。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可减轻LPS诱导的肺损伤。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可调节白细胞运输。在一些实施方案中,抑制p38 α MAPK可调节细胞因子表达。

附图说明

[0028] 当结合附图和图解阅读时,将更好地理解前述概述以及本发明的实施方案的以下详细描述。

[0029] 图1A至图1F示出了底物选择性p38抑制剂的设计。图1A示出了p38 α 的结构,显示了CD、ED、DEF和激活位点。图1B示出了p38 α 和 β 结构之间的比较;CD和ED位点为红色和蓝色,并且CADD靶向黄色。包含p38 α 上的CADD靶标的序列和p38 β 上的相应位点仅在十个氨基酸中的三个有所不同(突出显示为黄色)。图1C示出了apo- (PDB: 1P38; 绿色) 和双磷酸化 (PDB: 3PY3; 黄色) 小鼠p38 α 中CADD靶结构的重叠。图1D示出了CADD筛选策略的概述。图1E示出了以10、25、50或100 μ M添加到重组p38 α 或ERK2的化合物的DSF筛选,结合由熔解温度的升高指示。结合ERK2和p38 α 的化合物以黄色突出显示。仅与p38 α 结合的那些以蓝色突出显示。图1F示出了UM60、UM101和SB203580的化学结构。

[0030] 图2A至图2D示出了p38抑制剂的生物学效应。图2A和图2B示出了10 μ MSB203580 (SB) 或UM60或101的指示浓度对HMVECL渗透性(图2A) 和IL-8定向中性粒细胞TEM的容量(图2B) 的影响。细胞用DMSO或化合物预处理1小时,然后在渗透性测定之前用10ng/ml TNF α 孵育6小时(图2A) 或在TEM测定之前在没有额外刺激的情况下在39.5°C下孵育6小时(图2B)。平均值 \pm SE.*表示p<0.0001vs.DMSO, †p<0.0001vs.SB, ‡p<0.005vs.37°C。图2C和图2D。雄性CD1小鼠在i.t.滴注50 μ g LPS和高热暴露之前用1mg SB或0.1-1mg UM101预处理。*表示p<0.05vs.DMSO。

[0031] 图3A至图3K示出了底物选择性p38抑制剂的生化作用。图3A和图3B示出了来自RNASeq的热图,显示了被单独SB203580或SB203580和UM101或(图3A) 抑制的IPA途径以及仅被UM101抑制的那些(图3B)。图3C示出了底物选择性p38抑制剂对HeLa细胞的生化作用,所

述细胞用50 μ M UM101或10 μ M SB203580 (SB) 预处理30分钟,然后用茴香霉素处理10-60分钟,并针对含磷MK2、Stat-1和总p38进行免疫印迹。图3D示出了与重组p38 α 和p38 β 结合的UM101和SB203580 (SB) 的DSF分析。4次实验的平均值 \pm SE。*、†和§分别表示p<0.0001vs.p38 α 与DMSO、p38 β 与DMSO和p38 β 与SB203580。对于UM101通过MANOVA与p38 α 和p38 β 结合之间的差异,P<0.0001。图3E示出了与重组野生型p38 α 和在CADD靶向口袋中具有4个突变的p38 α 突变体结合的UM101和SB203580 (SB) 的DSF分析。4次实验的平均值 \pm SE。*和†分别表示p<0.0001vs.野生型与DMSO和突变体与DMSO。对于UM101通过MANOVA与野生型和突变型p38 α 结合之间的差异,P<0.0001。图3F至图3K示出了用UM101和p38 α (图3F和图3G)、p38 β (图3H和图3I) 和p38 α 突变体 (图3J和图3K) 进行的STD-NMR。显示了来自同一样品的1D (图3F、图3H和图3J) 和STD光谱 (图3G、图3I和图3K)。暂定的峰分配示于图3F中。带有标记质子的UM101结构以插图显示。

[0032] 图4示出了在RNASEq之前通过qRT-PCR对IL-8和IL-1 β mRNA的初步分析。HMVECL用0.4%DMSO、10 μ M SB203580或100 μ M UM101预孵育1小时,然后用10ng/ml TNF α 刺激4小时,并收集总RNA,逆转录,并使用 δ - δ 方法和GAPDH作为管家基因计算相对于未刺激对照细胞的倍数变化。

[0033] 图5是RNASEq分析的象限图。显示了在每组一个样本中具有至少10个读数并且使用TNF α 增加至少2倍的基因。关键是指UM101处理的细胞/SB203580处理的细胞相对于DMSO处理的细胞的变化方向。

[0034] 图6是p38 α 的SILCS FragMap。非极性图 (绿色) 表示假定的结合口袋,其中标明了ED位点的位置。显示了H键供体 (蓝色) 和受体 (红色) 图。

[0035] 图7示出了覆盖在SILCS FragMaps上的化合物UM101,以-1.0kcal/mol等高线在线框中显示p38 α 骨架上的芳族 (紫色)、脂族 (绿色)、阳性 (青色)、氢键受体 (红色) 和氢键供体 (蓝色) 官能团,其中指出在我们的CADD位点破坏的突变体中突变的四个残基的侧链。FragMaps的空间分布表明各个官能团对结合的有利贡献。

[0036] 图8示出了UM101和类似物抑制凝血酶诱导的细胞渗透性。用或不用10或15mM UM101、SF-6-222 (6222) 或SF-7-009 (7009) 预处理内皮细胞。跨上皮/跨内皮电阻 (TEER) 用于测量细胞渗透性。

[0037] 图9示出了UM101和类似物在小鼠模型中抑制急性肺损伤。小鼠用1mg测试化合物i.p.预处理,然后用100mg LPS i.t.在39°C下处理以诱导炎症。通过测量肺灌洗液中的总蛋白来评估肺损伤。

[0038] 图10示出了UM101和类似物在小鼠模型中抑制急性肺损伤。所有小鼠均接受50 μ g LPS i.t.并在39°C下保持24小时;在LPS后6小时给予所有处理在0.5ml DMSO中的1mg;平均值 \pm SM,n=5,*p=0.03vs DMSO#1;† p=0.16vs DMSO#2。通过测量肺灌洗液中的总蛋白来评估肺损伤。

具体实施方案

[0039] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的相同的含义。本文提及的所有专利和出版物均通过引用以其整体并入。

[0040] 定义

[0041] 如本文所用,术语“施用(administer、administration或administering)”是指(1)根据本公开由健康从业者或其授权代理人或在其指导下提供、给予、给药和/或开具;和/或(2)根据本公开由哺乳动物放入、摄取或食用。

[0042] 如本文所用,术语“共同施用(co-administration、co-administering)”、“与……组合施用(administered in combination with、administering in combination with)”、和“同时(simultaneous、concurrent)”包括向受试者施用两种或更多种活性药物成分使得两种活性药物成分和/或其代谢物同时存在于受试者中。共同施用包括以分开的组合物同时施用、以分开的组合物在不同时间施用或以存在两种或更多种活性药物成分的组合物施用。优选以分开的组合物同时施用和以存在两种药剂的组合物施用。

[0043] 术语“活性药物成分”和“药物”包括本文所述的p38 α MAPK抑制剂,并且更具体地,式A、I、II、1001-1180,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)所述的p38 α MAPK抑制剂。术语“活性药物成分”和“药物”还可以包括本文所述的结合p38 α MAPK蛋白从而调节p38 α MAPK蛋白活性的那些化合物。

[0044] 术语“等排体”是指化学和/或物理性质与另一基团或分子的那些相似的基团或分子。“生物等排体”是一类等排体,并且是指生物学性质与另一基团或分子的那些相似的基团或分子。例如,对于本文所述的p38 α MAPK抑制剂,羧酸可以被以下羧酸的生物等排体之一替代,包括但不限于烷基酯(COOR)、酰基磺酰胺(CONR-SO₂R)、异羟肟酸(CONR-OH)、异羟肟酸酯(CONR-OR)、四唑、羟基异噁唑、异噁唑-3-酮和磺酰胺(SO₂NR),其中每个R可以独立地代表氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳基烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0045] 术语“体内”是指在受试者体内发生的事件。

[0046] 术语“体外”是指在受试者体外发生的事件。体外测定包括使用活细胞或死细胞的基于细胞的测定,并且也可以包括不使用完整细胞的无细胞测定。

[0047] 术语“有效量”或“治疗有效量”是指足以实现预期应用包括但不限于疾病治疗的如本文所述的化合物或化合物组合的量。治疗有效量可根据预期应用(体外或体内)、或所治疗的受试者和疾病状况(例如,受试者的体重、年龄和性别)、疾病状况的严重程度、施用方式等而变化,这可由本领域普通技术人员容易地确定。该术语也适用于在靶细胞中诱导特定反应的剂量(例如,血小板粘附和/或细胞迁移的减少)。具体剂量将根据所选择的特定化合物、要遵循的给药方案、该化合物是否与其他化合物组合施用、施用时间、施用的组织以及携带化合物的物理递送系统而变化。

[0048] 本文所用术语“治疗效果”包括治疗益处和/或预防益处。预防效果包括延迟或消除疾病或病况的出现,延迟或消除疾病或病况的症状的发作,减缓、停止或逆转疾病或病况的进展,或其任何组合。

[0049] 如本文所用,术语“治疗(treat、treatment和/或treating)”可指对疾病、病症或病理状况或其症状的管理,目的是治愈、改善、稳定和/或控制疾病、病症、病理状况或其症状。关于疾病、病症或病理状况的控制,更具体地,“控制”可以包括如通过对本文所述方法的反应所评估的状况进展的缺失,其中此类反应可以是完全的(例如,使疾病处于缓解)或

部分的(例如,减轻或改善与状况相关的任何症状)。如本文所用,术语“预防(prevent、preventing和/或prevention)”可指降低发展疾病、病症或病理状况的风险。

[0050] 如本文所用,术语“调节(modulate和modulation)”是指生物分子(例如,蛋白质、基因、肽、抗体等)的生物活性的变化,其中此类变化可涉及生物分子的生物活性的增加(例如,活性增加、激动、活化、表达、上调和/或表达增加)或生物活性的降低(例如,活性降低、拮抗、抑制、失活、下调和/或表达降低)。例如,本文所述化合物可调节(即抑制)p38 α MAPK蛋白。在一些实施方案中,与其它MAPK或p38 MAPK蛋白相比,本文所述的化合物可选择性地调节(即,选择性地抑制)p38 α MAPK蛋白。在一些实施方案中,与其它MAPK或p38 MAPK蛋白相比,本文所述的化合物可选择性地调节(即,选择性地抑制)p38 α MAPK蛋白。

[0051] 术语“QD”、“qd”或“q.d.”是指一天一次(quaque die、once a day或once daily)。术语“BID”、“bid”或“b.i.d.”是指一天两次(bis in die、twice a day或twice daily)。术语“TID”、“tid”或“t.i.d.”是指一天三次(ter in die、three times a day或three times daily)。术语“QID”、“qid”或“q.i.d.”是指一天四次(quater in die、four times a day或four times daily)。

[0052] 术语“药学上可接受的盐”是指衍生自本领域已知的多种有机和无机抗衡离子的盐。药学上可接受的酸加成盐可以由无机酸和有机酸形成。可衍生盐的优选无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸和磷酸。可衍生盐的优选有机酸包括例如乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸和水杨酸。药学上可接受的碱加成盐可以由无机和有机碱形成。可衍生盐的无机碱包括例如钠、钾、锂、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰和铝。可衍生盐的有机碱包括例如伯胺、仲胺和叔胺、取代的胺包括天然存在的取代胺、环胺和碱性离子交换树脂。具体实例包括异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺和乙醇胺。在一些实施方案中,药学上可接受的碱加成盐选自铵盐、钾盐、钠盐、钙盐和镁盐。术语“共晶”是指衍生自本领域已知的多种共晶形成物的分子复合物。与盐不同,共晶通常不涉及共晶和药物之间的氢转移,而是涉及晶体结构中共晶形成物和药物之间的分子间相互作用,例如氢键结、芳环堆积或分散力。

[0053] “药学上可接受的载体”或“药学上可接受的赋形剂”或“生理学上相容的”载体或载体介质旨在包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂以及惰性成分。此类药学上可接受的载体或药学上可接受的赋形剂用于活性药物成分的用途是本领域公知的。除了到任何常规的药学上可接受的载体或药学上可接受的赋形剂与活性药物成分不相容的程度之外,考虑其在本发明的治疗组合物中的用途。其它活性药物成分,例如其它药物,也可以掺入所述组合物和方法中。

[0054] “前药”是指本文所述化合物的衍生物,其药理作用产生于通过体内化学或代谢过程转化为活性化合物。前药包括以下化合物:其中氨基酸残基或两个或更多个(例如两个、三个或四个)氨基酸残基的多肽链通过酰胺或酯键共价连接到式A、I、II、1001-1180,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)的游离氨基、羟基或羧酸基团。氨基酸残基包括但不限于通常由一个或三个字母符号指定的20个天然存在的氨基酸,而且还包括例如4-羟基脯氨

酸、羟基赖氨酸、锁链素、异锁链素、3-甲基组氨酸、 β -丙氨酸、 γ -氨基丁酸、瓜氨酸、高半胱氨酸、高丝氨酸、鸟氨酸和甲硫氨酸砜。还包括其他类型的前药。例如，游离羧基可以衍生为酰胺或烷基酯(例如，甲酯和乙酰氧基甲酯)。如本文所用的前药酯包括通过使用本领域技术人员已知的程序使本发明方法的化合物的一个或多个羟基与烷基、烷氧基或芳基取代的酰化剂反应以产生乙酸酯、新戊酸酯、甲基碳酸酯、苯甲酸酯等而形成的酯和碳酸酯。作为进一步的实例，如《高等药物递送综述(Advanced Drug Delivery Reviews)》，1996, 19, 115中概述的，可以使用包括但不限于半琥珀酸酯、磷酸酯、二甲氨基乙酸酯和磷酰氧基甲氧基羰基的基团来衍生游离羟基。也包括羟基和氨基的氨基甲酸酯前药，如羟基的碳酸酯前药、磺酸酯前药、磺酸酯和硫酸酯。游离胺也可以衍生为酰胺、磺酰胺或膦酰胺。所有所述前药部分都可以掺入包括但不限于醚、胺和羧酸官能团的基团。此外，可以在体内转化以提供生物活性剂的任何化合物(例如，式A、I、II、III和IV的化合物)是本发明范围内的前药。各种形式的前药是本领域公知的。前药和前药衍生物的综合描述描述于：(a)《药用化学实践(The Practice of Medicinal Chemistry)》，Camille G. Wermuth等人(Academic Press, 1996)；(b)《前药的设计(Design of Prodrugs)》，由H. Bundgaard编辑，(Elsevier, 1985)；(c)《药物设计和开发教科书(A Textbook of Drug Design and Development)》，P. Krosgaard-Larsen和H. Bundgaard编辑，(Harwood Academic Publishers, 1991)。一般来说，前药可以设计成提高药物穿过生物膜的渗透性，以获得改善的药物吸收，延长药物的作用持续时间(母体药物从前药中缓慢释放，降低药物首过代谢)，靶向药物作用(例如，器官或肿瘤靶向，淋巴细胞靶向)，改变或改善药物的水溶性(例如，i.v.制剂和滴眼剂)，改善局部药物递送(例如，皮肤和眼部药物递送)，改善药物的化学/酶稳定性，或降低脱靶药物效应，并且更具体地是为了改善本发明所用化合物的治疗效果。

[0055] 除非另有说明，本文描述的化学结构旨在包括仅在存在一个或多个同位素富集原子的情况下有所不同的化合物。例如，其中一个或多个氢原子被氘或氚置换，或其中一个或多个碳原子被¹³C-或¹⁴C-富集碳置换的化合物在本发明的范围内。

[0056] 当本文使用范围来描述例如物理或化学性质例如分子量或化学式时，旨在包括其中的范围和具体实施方案的所有组合和亚组合。当提及数字或数值范围时使用术语“约”意味着所提及的数字或数值范围是实验变异性内(或统计实验误差内)的近似值，并且因此数字或数值范围可以变化。变化通常为所述数字或数值范围的0%至15%，或0%至10%，或0%至5%。术语“包含(comprising)”(以及相关术语，例如“包含(comprise或comprises)”或“具有(having)”或“包括(including)”)包括那些实施方案，例如，“由”或“基本上由”所描述的特征组成的任何物质组合物、方法或过程的实施方案。

[0057] “烷基”是指仅由碳和氢原子组成的不含不饱和度并具有1至10个碳原子的直链或支链烃基(例如，(C₁₋₁₀)烷基或C₁₋₁₀烷基)。每当在本文中出现时，诸如“1至10”的数字范围是指给定范围内的每个整数，例如，“1至10个碳原子”是指烷基可由1个碳原子、2个碳原子、3个碳原子等组成，其最多并包括10个碳原子，尽管该定义还旨在涵盖没有具体指定数字范围的术语“烷基”的出现。典型的烷基包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基异丁基、叔丁基、戊基、异戊基、新戊基、己基、庚基、辛基、壬基和癸基。烷基部分可以通过单键连接到分子的其余部分，例如甲基(Me)、乙基(Et)、正丙基(Pr)、1-甲基乙基(异丙基)、正丁基、正戊基、1,1-二甲基乙基(叔丁基)和3-甲基己基。除非在说明书中另有

具体说明,烷基任选被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地为杂烷基、酰基磺酰胺基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂,其中每个R^a独立地为氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0058] “烷基芳基”是指- (烷基) 芳基,其中芳基和烷基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为芳基和烷基的合适取代基的取代基取代。

[0059] “烷基杂芳基”是指- (烷基) 杂芳基,其中杂芳基和烷基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为芳基和烷基的合适取代基的取代基取代。

[0060] “烷基杂环烷基”是指- (烷基) 杂环基团,其中烷基和杂环烷基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为杂环烷基和烷基的合适取代基的取代基取代。

[0061] “烯烃”部分是指由至少两个碳原子和至少一个碳-碳双键组成的基团,“炔烃”部分是指由至少两个碳原子和至少一个碳-碳三键组成的基团。烷基部分,无论是饱和的还是不饱和的,可以是支链、直链或环状的。

[0062] “烯基”是指仅由碳和氢原子组成的含有至少一个双键并具有2至10个碳原子的直链或支链烃基(即,(C₂₋₁₀) 烯基或C₂₋₁₀ 烯基)。每当在本文中出现时,诸如“2至10”的数字范围是指给定范围内的每个整数-例如,“2至10个碳原子”是指烯基可由2个碳原子、3个碳原子等组成,其最多并包括10个碳原子。烯基部分可以通过单键连接到分子的其余部分,例如乙烯基(ethenyl、vinyl)、丙-1-烯基(即烯丙基)、丁-1-烯基、戊-1-烯基和戊-1,4-二烯基。除非在说明书中另有具体说明,否则烯基任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地为烷基、杂烷基、酰基磺酰胺基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂,其中每个R^a独立地为氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0063] “烯基-环烷基”是指- (烯基) 环烷基,其中烯基和环烷基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为烯基和环烷基的合适取代基的取代基取代。

[0064] “炔基”是指仅由碳和氢原子组成的含有至少一个三键并具有2至10个碳原子的直链或支链烃基(即,(C₂₋₁₀) 炔基或C₂₋₁₀ 炔基)。每当在本文中出现时,诸如“2至10”的数字范围是指给定范围内的每个整数-例如,“2至10个碳原子”是指炔基可由2个碳原子、3个碳原子等组成,其最多并包括10个碳原子。炔基部分可以通过单键连接到分子的其余部分,例如乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基和己炔基。除非在说明书中另有具体说明,否则炔基任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地为:烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、酰基磺酰胺基、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三

氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂，其中每个R^a独立地为氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0065] “炔基-环烷基”是指- (炔基) 环烷基，其中炔基和环烷基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为炔基和环烷基的合适取代基的取代基取代。

[0066] “酰基磺酰胺基”是指基团-C(=O)NR^a-S(=O)₂R^a，其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0067] “甲醛基”是指- (C=O)H基团。

[0068] “羰基”是指基团-C(=O)-。羰基可被以下示例性取代基取代：烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、酰基磺酰胺基、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-NR^a-OR^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂，其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0069] “羧基”是指- (C=O)OH基团。

[0070] “氰基”是指-CN基团。

[0071] “环烷基”是指仅含有碳和氢的单环或多环基团，并且可以是饱和的或部分不饱和的。环烷基包括具有3至10个环原子的基团 (即(C₃₋₁₀)环烷基或C₃₋₁₀环烷基)。每当在本文中出现时，诸如“3至10”的数字范围是指给定范围内的每个整数-例如，“3至10个碳原子”是指环烷基可由3个碳原子等组成，其最多并包括10个碳原子。环烷基的说明性实例包括但不限于以下部分：环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、降莰基等。除非在说明书中另有具体说明，否则环烷基任选地被一个或多个取代基取代，所述取代基独立地为：烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、酰基磺酰胺基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂，其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0072] “环烷基-烯基”是指- (环烷基) 烯基，其中环烷基和烯基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为环烷基和烯基的合适取代基的取代基取代。

[0073] “环烷基-杂环烷基”是指- (环烷基) 杂环烷基，其中环烷基和杂环烷基如本文所公

开并且任选地被一个或多个分别描述为环烷基和杂环烷基的合适取代基的取代基取代。

[0074] “环烷基-杂芳基”是指- (环烷基) 杂芳基, 其中环烷基和杂芳基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为环烷基和杂芳基的合适取代基的取代基取代。

[0075] 术语“烷氧基”是指包括1至8个碳原子的通过氧连接到母体结构的直链、支链、环状构型及其组合的基团-0-烷基。实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、环丙氧基和环己氧基。“低级烷氧基”是指含有1至6个碳的烷氧基。

[0076] 术语“取代的烷氧基”是指烷氧基, 其中烷基成分被取代(即-0- (取代的烷基))。除非在说明书中另有具体说明, 否则烷氧基的烷基部分任选地被一个或多个取代基取代, 所述取代基独立地为: 烷基、杂烷基、烯基、酰基磺酰胺基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂, 其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0077] 术语“烷氧基羰基”是指通过羰基碳连接的式(烷氧基)(C=O)-的基团, 其中烷氧基具有指定的碳原子数。因此, (C₁₋₆) 烷氧基羰基是具有1至6个碳原子的烷氧基, 其通过其氧连接到羰基接头。“低级烷氧基羰基”是指烷氧基羰基, 其中烷氧基是低级烷氧基。

[0078] 术语“取代的烷氧基羰基”是指基团(取代的烷基)-0-C(0)-, 其中通过羰基官能团将该基团连接到母体结构。除非在说明书中另有具体说明, 否则烷氧基羰基的烷基部分任选被一个或多个取代基取代, 所述取代基独立地为: 烷基、杂烷基、酰基磺酰胺基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂, 其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0079] “酰基”是指基团(烷基)-C(0)-、(芳基)-C(0)-、(杂芳基)-C(0)-、(杂烷基)-C(0)-和(杂环烷基)-C(0)-, 其中通过羰基官能团将该基团连接到母体结构。如果R基团是杂芳基或杂环烷基, 则杂环或链原子有助于链或环原子的总数。除非在说明书中另有具体说明, 否则酰基的烷基、芳基或杂芳基部分任选被一个或多个取代基取代, 所述取代基独立地为: 烷基、杂烷基、酰基磺酰胺基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂, 其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0080] “酰氧基”是指 $R(C=O)O-$ 基团,其中R是如本文所述的烷基、芳基、杂芳基、杂烷基或杂环烷基。如果R基团是杂芳基或杂环烷基,则杂环或链原子有助于链或环原子的总数。除非在说明书中另有具体说明,否则酰氧基的R任选被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地为:烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、 $-OR^a$ 、 $-SR^a$ 、 $-S(O)_{t}R^a$ (其中t是1或2)、 $-OC(O)R^a$ 、 $-N(R^a)_{2}$ 、 $-C(O)R^a$ 、 $-C(O)OR^a$ 、 $-OC(O)N(R^a)_{2}$ 、 $-C(O)N(R^a)_{2}$ 、 $-N(R^a)C(O)OR^a$ 、 $-N(R^a)C(O)R^a$ 、 $-N(R^a)C(O)N(R^a)_{2}$ 、 $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_{2}$ 、 $-N(R^a)S(O)_{t}R^a$ (其中t是1或2)、 $-S(O)_{t}R^a$ (其中t是1或2)、 $-S(O)_{t}OR^a$ (其中t是1或2)、 $-S(O)_{t}N(R^a)_{2}$ (其中t是1或2)或 $P(O)OR^a$,其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0081] “氨基”或“胺”是指 $-N(R^a)_{2}$ 基团,其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基,除非在说明书中另有具体说明。当 $-N(R^a)_{2}$ 基团具有除氢以外的两个R^a取代基时,它们可以与氮原子组合形成4-、5-、6-或7元环。例如, $-N(R^a)_{2}$ 旨在包括但不限于1-吡咯烷基和4-吗啉基。除非在说明书中另有具体说明,否则氨基任选被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地为:烷基、酰基磺酰胺基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、 $-OR^a$ 、 $-SR^a$ 、 $-S(O)_{t}R^a$ (其中t是1或2)、 $-OC(O)R^a$ 、 $-N(R^a)_{2}$ 、 $-C(O)R^a$ 、 $-C(O)OR^a$ 、 $-OC(O)N(R^a)_{2}$ 、 $-C(O)N(R^a)_{2}$ 、 $-N(R^a)C(O)OR^a$ 、 $-N(R^a)C(O)R^a$ 、 $-N(R^a)C(O)N(R^a)_{2}$ 、 $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_{2}$ 、 $-N(R^a)S(O)_{t}R^a$ (其中t是1或2)、 $-S(O)_{t}R^a$ (其中t是1或2)、 $-S(O)_{t}OR^a$ (其中t是1或2)、 $-S(O)_{t}N(R^a)_{2}$ (其中t是1或2)或 $P(O)OR^a$,其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0082] 术语“取代的氨基”还指各自如上所述的基团 $-NHR^d$ 和 NR^dR^d 的N-氧化物。N-氧化物可以通过用例如过氧化氢或间氯过氧苯甲酸处理相应的氨基来制备。

[0083] “酰胺”或“酰胺基”是指具有式 $-C(O)NR^aR^b$ 或 $-NR^aC(O)R^b$ 的化学部分,其中R^a和R^b选自由以下组成的群组:氢、烷基、环烷基、芳基、杂芳基(通过环碳键合)和杂脂环基(通过环碳键合),每个部分本身可以是任选被取代的。 $-C(O)N R^aR^b$ 酰胺的R^a和R^b可任选地与它们连接的氮一起形成4-、5-、6-或7元环。除非在说明书中另有具体说明,否则酰胺基任选独立地被一个或多个本文为烷基、氨基、环烷基、芳基、杂芳基或杂环烷基描述的取代基取代。酰胺可以是附着在本文公开的化合物上的氨基酸或肽分子,从而形成前药。制备此类酰胺的程序和特定基团是本领域技术人员已知的,并且可以容易地在重要来源中找到,例如Greene和Wuts,“有机合成中的保护基(Protective Groups in Organic Synthesis)”,第3版,约翰威利父子公司(John Wiley&Sons),纽约州纽约市,1999,其通过引用以其整体并入本文。

[0084] “芳族”或“芳基”或“Ar”是指具有6至10个环原子的芳族基团(例如, C_6-C_{10} 芳族或 C_6-C_{10} 芳基),其具有至少一个环,该环具有为碳环的共轭pi电子系统(例如,苯基、芴基和萘基)。由取代的苯衍生物形成并具有环原子的自由化合价的二价基团被命名为取代的亚苯基。通过从具有自由化合价的碳原子除去一个氢原子由其名称以“-基”结尾的一价多环烃基衍生的二价基团通过向相应的一价基团名称加入“-亚基”来命名,例如具有两个连接点的萘基被称为亚萘基。每当在本文中出现时,诸如“6至10”的数字范围是指给定范围内的每

个整数,例如,“6至10个环原子”是指烷基可由6个环原子、7个环原子等组成,其最多并包括10个环原子。该术语包括单环或稠环多环(即,共享相邻环原子对的环)基团。除非在说明书中另有具体说明,否则芳基部分任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地为烷基、杂烷基、酰基磺酰胺基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂,其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0085] “芳烷基”或“芳基烷基”是指(芳基)烷基-基团,其中芳基和烷基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为芳基和烷基的合适取代基的取代基取代。

[0086] “酯”是指式-COOR的化学基团,其中R选自由以下组成的群组:烷基、环烷基、芳基、杂芳基(通过环碳键合)和杂脂环基(通过环碳键合)。制备酯的程序和特定基团是本领域技术人员已知的,并且可以容易地在重要来源中找到,例如Greene和Wuts,“有机合成中的保护基”,第3版,John Wiley&Sons,New York,N.Y.,1999,其通过引用以其整体并入本文。除非在说明书中另有具体说明,否则酯基任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地为:烷基、酰基磺酰胺基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂,其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0087] “氟烷基”是指如上定义的烷基,其被一个或多个如上所定义的氟基团取代,例如三氟甲基、二氟甲基、2,2,2-三氟乙基、1-氟甲基-2-氟乙基等。氟烷基的烷基部分可被任选取代,如上面为烷基所定义的。

[0088] “卤素(halo)”、“卤化物”,或者可选地“卤素(halogen)”旨在表示氟、氯、溴或碘。术语“卤代烷基”、“卤代烯基”、“卤代炔基”和“卤代烷氧基”包括被一个或多个卤素基团或其组合取代的烷基、烯基、炔基和烷氧基结构。例如,术语“氟烷基”和“氟烷氧基”分别包括卤代烷基和卤代烷氧基,其中卤素是氟。

[0089] “杂烷基”、“杂烯基”和“杂炔基”是指任选取代的烷基、烯基和炔基,并且其具有一个或多个选自除碳之外的原子例如氧、氮、硫、磷或其组合的骨架链原子。可以给出数字范围-例如C₁-C₄杂烷基,其是指总链长,在该实例中是4个原子长。杂烷基可以被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地是:烷基、杂烷基、烯基、炔基、酰基磺酰胺基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、硝基、氧代、硫代、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂,其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2) 或PO(OR^a)₂，其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0090] “杂烷基芳基”是指- (杂烷基) 芳基，其中杂烷基和芳基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为杂烷基和芳基的合适取代基的取代基取代。

[0091] “杂烷基杂芳基”是指- (杂烷基) 杂芳基，其中杂烷基和杂芳基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为杂烷基和杂芳基的合适取代基的取代基取代。

[0092] “杂烷基杂环烷基”是指- (杂烷基) 杂环烷基，其中杂烷基和杂环烷基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为杂烷基和杂环烷基的合适取代基的取代基取代。

[0093] “杂烷基环烷基”是指- (杂烷基) 环烷基，其中杂烷基和环烷基如本文所公开并且任选地被一个或多个分别描述为杂烷基和环烷基的合适取代基的取代基取代。

[0094] “杂芳基”或“杂芳族”或“HetAr”是指包含一个或多个选自氮、氧和硫的环杂原子的5-至18-元芳族基团(例如C₅-C₁₈杂芳基)，并且其可以是单环、双环、三环或四环系统。每当在本文中出现时，诸如“5至18”的数字范围是指给定范围内的每个整数-例如，“5至18个环原子”表示杂芳基可由5个环原子、6个环原子等组成，其最多并包括18个环原子。通过从具有自由化合价的原子除去一个氢原子由其名称以“-基”结尾的一价杂芳基衍生的二价基团通过向相应的一价基团名称加入“-亚基”来命名，例如具有两个连接点的吡啶基为亚吡啶基。含N的“杂芳族”或“杂芳基”部分是指其中环的骨架原子中的至少一个是氮原子的芳族基团。多环杂芳基可以是稠合的或非稠合的。杂芳基中的杂原子任选地被氧化。一个或多个氮原子(如果存在)任选地被季铵化。杂芳基可以通过环的任何原子连接到分子的其余部分。杂芳基的实例包括但不限于氮杂环庚三烯基、吖啶基、苯并咪唑基、苯并吲哚基、1,3-苯并二氧杂环戊烯基、苯并呋喃基、苯并噁唑基、苯并[d]噻唑基、苯并噁二唑基、苯并[b][1,4]二氧杂环庚三烯基、苯并[b][1,4]噁嗪基、1,4-苯并二噁烷基、苯并萘并呋喃基、苯并噁唑基、苯并二氧杂环戊烯基、苯并二氧杂环己烯基、苯并噁唑基、苯并吡喃基、苯并吡喃酮基、苯并呋喃基、苯并呋喃酮基、苯并呋吖基、苯并噁唑基、苯并噁吩基(benzothienyl、benzothiophenyl)、苯并噁吩并[3,2-d]嘧啶基、苯并三唑基、苯并[4,6]咪唑并[1,2-a]吡啶基、咔唑基、噌啉基、环戊二烯并[d]嘧啶基、6,7-二氢-5H-环戊二烯并[4,5]噁吩并[2,3-d]嘧啶基、5,6-二氢苯并[h]喹唑啉基、5,6-二氢苯并[h]噌啉基、6,7-二氢-5H-苯并[6,7]环庚三烯并[1,2-c]哒嗪基、二苯并呋喃基、二苯并噁吩基、呋喃基、呋吖基、呋喃酮基、呋喃并[3,2-c]吡啶基、5,6,7,8,9,10-六氢环辛四烯并[d]嘧啶基、5,6,7,8,9,10-六氢环辛四烯并[d]哒嗪基、5,6,7,8,9,10-六氢环辛四烯并[d]吡啶基、异噁唑基、咪唑基、吲哚基、吖啶基、吲哚基、异吲哚基、吲哚啉基、异吲哚啉基、吲哚嗪基、异噁唑基、异噁唑-3-酮、5,8-甲桥-5,6,7,8-四氢喹唑啉基、萘啶基、1,6-萘啶酮基、噁二唑基、2-氧杂氮杂环庚三烯基、噁唑基、环氧乙烷基、5,6,6a,7,8,9,10,10a-八氢苯并[h]喹唑啉基、1-苯基-1H-吡咯基、吩嗪基、吩噁嗪基、吩噁嗪基、酞嗪基、蝶啶基、嘌呤基、吡喃基、吡咯基、吡唑基、吡唑并[3,4-d]嘧啶基、吡啶基、吡啶并[3,2-d]嘧啶基、吡啶并[3,4-d]嘧啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、吡咯基、喹唑啉基、喹唑啉基、喹啉基、异喹啉基、四氢喹啉基、5,6,7,8-四氢喹唑啉基、5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噁吩并[2,3-d]嘧啶基、6,7,8,9-四氢-5H-环庚三烯并[4,5]噁吩并[2,3-d]嘧啶基、5,6,7,8-四氢吡啶并[4,5-c]哒嗪基、噁唑基、噁二唑基、噁喃基、三唑基、四唑基、三嗪基、噁吩并[2,3-d]嘧啶基、噁吩并[3,2-d]嘧啶基、噁吩并[2,3-c]吡啶基

和噻吩基(thiophenyl、thienyl)。除非在说明书中另有具体说明,否则杂芳基部分任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地为:烷基、酰基磺酰胺基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、硝基、氧代、硫代、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂,其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0095] 取代的杂芳基还包括被一个或多个氧化物(-O-)取代基取代的环系统,例如吡啶基N-氧化物。

[0096] “杂芳基烷基”是指具有连接至如本文所述的亚烷基部分的如本文所述的芳基部分的部分,其中与分子的其余部分的连接是通过亚烷基连接的。

[0097] “杂环烷基”是指稳定的3-至18-元非芳族环基团,其包含2至12个碳原子和1至6个选自氮、氧和硫的杂原子。每当在本文中出现时,诸如“3至18”的数字范围是指给定范围内的每个整数-例如,“3至18个环原子”是指杂环烷基可由3个环原子、4个环原子等组成,其最多并包括18个环原子。除非在说明书中另有具体说明,杂环烷基是单环、双环、三环或四环环系统,其可包括稠环或桥环系统。杂环烷基中的杂原子可以任选地被氧化。一个或多个氮原子(如果存在)任选地被季铵化。杂环烷基为部分或完全饱和。杂环烷基可以通过环的任何原子连接到分子的其余部分。此类杂环烷基的实例包括但不限于:二氧杂环戊烷基、噻吩基[1,3]二噻烷基、十氢异喹啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、八氢吲哚基、八氢异吲哚基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、噁唑烷基、哌啶基、哌嗪基、4-哌啶酮基、吡咯烷基、吡唑烷基、奎宁环基、噻唑烷基、四氢呋喃基、三噻烷基、四氢吡喃基、硫代吗啉基、硫杂吗啉基、1-氧代-硫代吗啉基和1,1-二氧化-硫代吗啉基。除非在说明书中另有具体说明,否则杂环烷基部分任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基独立地为:烷基、酰基磺酰胺基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、异羟肟酸酯、芳基、芳基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、硝基、氧代、硫代、三甲基甲硅烷基、-OR^a、-SR^a、-S(0)_tR^a- (其中t是1或2)、-OC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)或PO(OR^a)₂,其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0098] “杂环烷基”还包括双环系统,其中通常具有3至7个环原子的一个非芳族环除了1-3个独立地选自氧、硫和氮的杂原子以及包含至少一个上述杂原子的组合之外还含有至少2个碳原子;并且通常具有3-7个环原子的另一个环任选地包含1-3个独立地选自氧、硫和氮的杂原子并且不是芳族的。

[0099] “异羟肟酸酯”是指-C(0)NR^aOR^a部分,其中每个R^a独立地是氢、烷基、氟烷基、碳环基、碳环基烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂环烷基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0100] “硝基”是指-NO₂基团。

[0101] “氧杂”是指-0-基团。

[0102] “氧代”是指=0基团。

[0103] “异构体”是具有相同分子式的不同化合物。“立体异构体”是仅在原子空间排列方式上不同的异构体,即具有不同的立体化学构型。“对映异构体”是一对立体异构体,它们是彼此不可重叠的镜像。一对对映异构体的1:1混合物是“外消旋”混合物。在适当的情况下,术语“(±)”用于表示外消旋混合物。“非对映异构体”是具有至少两个不对称原子但彼此不是镜像的立体异构体。根据Cahn-Ingold-Prelog R-S系统指定绝对立体化学。当化合物是纯对映异构体时,每个手性碳的立体化学可由(R)或(S)指定。绝对构型未知的拆分化合物可以根据它们在钠D线波长下旋转平面偏振光的方向(右旋或左旋)指定为(+)或(-)。本文所述的某些化合物含有一个或多个不对称中心,因此可以产生对映异构体、非对映异构体和其他立体异构形式,它们可以根据绝对立体化学定义为(R)或(S)。本发明的化学实体、药物组合物和方法意在包括所有此类可能的异构体,包括外消旋混合物、光学纯形式和中间体混合物。旋光(R)-和(S)-异构体可使用手性合成子或手性试剂制备,或使用常规技术拆分。当本文所述的化合物包含烯属双键或其他几何不对称中心时,并且除非另有说明,否则意指该化合物包括E和Z几何异构体。

[0104] 如本文所用,“对映体纯度”是指特定对映体相对于其他对映体的存在的相对量,以百分比表示。例如,如果可能具有(R)-或(S)-异构构型的化合物作为外消旋混合物存在,则相对于(R)-或(S)-异构体,对映体纯度为约50%。如果该化合物具有一种比另一种占优势的异构形式,例如80% (S)-异构体和20% (R)-异构体,则该化合物相对于(S)-异构形式的对映体纯度为80%。化合物的对映体纯度可以通过本领域已知的多种方式确定,包括但不限于使用手性载体的色谱法、偏振光旋转的偏振测量、使用手性位移试剂的核磁共振光谱法,包括但不限于含有镧系元素的手性配合物或Pirkle试剂,或使用手性化合物如Mosher酸衍生化合物随后进行色谱法或核磁共振光谱法。

[0105] 在一些实施方案中,与该组合物的外消旋混合物相比,对映异构体富集的组合物在每单位质量的治疗效用方面具有更高的效力。对映异构体可以通过本领域技术人员已知的方法从混合物中分离,包括手性高压液相色谱法(HPLC)和手性盐的形成和结晶;或优选的对映异构体可以通过不对称合成制备。参见,例如,Jacques等人,“对映异构体、外消旋体和拆分(Enantiomers, Racemates and Resolutions)”,Wiley Interscience, New York (1981); E.L. Eliel,“碳化合物的立体化学(Stereochemistry of Carbon Compounds)”,McGraw-Hill, New York (1962); 和E.L. Eliel和S.H. Wilen,“有机化合物的立体化学(Stereochemistry of Organic Compounds)”,Wiley-Interscience, New York (1994)。

[0106] 如本文所用,术语“对映异构体富集的”和“非外消旋的”是指其中一种对映异构体的重量百分比大于外消旋组合物的对照混合物中该种对映异构体的量的组合物(例如,大于1:1,按重量计)。例如,(S)-对映异构体的对映异构体富集制剂是指相对于(R)-对映异构体具有大于50重量%的(S)-对映异构体的化合物制剂,例如至少75重量%,或例如至少80重量%。在一些实施方案中,富集可以显著大于80重量%,提供“基本上对映异构体富集的”或“基本上非外消旋的”制剂,其是指相对于其他对映异构体具有至少85重量%的一种对映异构体的组合物的制剂,例如至少90重量%,或例如至少95重量%。术语“对映异构体纯的”或“基本上对映异构体纯的”是指包含至少98%的单一对映异构体和少于2%的相反对映异

构体的组合物。

[0107] “部分”是指分子的特定片段或官能团。化学部分通常是公认的嵌入或附加到分子的化学实体。

[0108] “互变异构体”是结构上不同的通过互变异构化相互转化的异构体。“互变异构化”是异构化的一种形式，并且包括质子异变或质子转移互变异构化，这被认为是酸碱-化学的子集。“质子异变互变异构化”或“质子转移互变异构化”涉及质子迁移，伴随着键顺序的变化，通常是单键与相邻双键的互换。在可能发生互变异构化的情况下（例如，在溶液中），可以达到互变异构体的化学平衡。互变异构化的一个实例是酮-烯醇互变异构化。酮-烯醇互变异构化的一个具体实例是戊烷-2,4-二酮和4-羟基戊-3-烯-2-酮互变异构体的互变。互变异构化的另一个实例是酚-酮互变异构化。酚-酮互变异构化的一个具体实例是吡啶-4-醇和吡啶-4(1H)-酮互变异构体的互变。

[0109] “离去基团或原子”是将在选定的反应条件下从起始材料裂解从而促进特定位点反应的任何基团或原子。除非另有说明，否则此类基团的实例包括卤素原子和甲磺酰氧基、对硝基苯磺酰氧基和甲苯磺酰氧基。

[0110] “保护基团”旨在是指选择性封闭多官能化合物中的一个或多个反应位点的基团，使得可以在另一个未保护的反应位点上选择性地进行化学反应，然后该基团可以在选择反应完成后容易地去除或脱保护。多种保护基团例如公开于T.H. Greene 和 P.G.M. Wuts, “有机合成中的保护基团 (Protective Groups in Organic Synthesis)”, 第三版, John Wiley & Sons, New York (1999)。

[0111] “溶剂化物”是指与药学上可接受的溶剂的一种或多种分子物理结合的化合物。

[0112] “取代的”是指所述基团可以连接一个或多个附加基团、基或部分，该附加基团、基或部分单独且独立地选自例如酰基、烷基、烷基芳基、环烷基、芳烷基、芳基、碳水化合物、碳酸酯、杂芳基、杂环烷基、异羟肟酸酯、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、烷硫基、芳硫基、氰基、卤素、羰基、酯、硫代羰基、异氰酸基、氰硫基、异硫氰基、硝基、氧代、全卤代烷基、全氟烷基、磷酸酯、甲硅烷基、亚磺酰基、磺酰基、磺酰胺基、磺酸基、磺酸酯、脲和氨基包括单取代和二取代的氨基，及其受保护的衍生物。取代基本身可以被取代，例如，环烷基取代基本身可以在其一个或多个环碳上具有卤化物取代基。术语“任选取代的”是指用指定的基团、基或部分任选取代。

[0113] “硫烷基”是指包括-S- (任选取代的烷基)、-S- (任选取代的芳基)、-S- (任选取代的杂芳基) 和-S- (任选取代的杂环烷基) 的基团。

[0114] “亚磺酰基”是指包括-S(0)-H、-S(0)- (任选取代的烷基)、-S(0)- (任选取代的氨基)、-S(0)- (任选取代的芳基)、-S(0)- (任选取代的杂芳基) 和-S(0)- (任选取代的杂环烷基) 的基团。

[0115] “磺酰基”是指包括-S(0₂)-H、-S(0₂)- (任选取代的烷基)、-S(0₂)- (任选取代的氨基)、-S(0₂)- (任选取代的芳基)、-S(0₂)- (任选取代的杂芳基) 和-S(0₂)- (任选取代的杂环烷基) 的基团。

[0116] “磺酰胺基 (Sulfonyl或sulfonamido)”是指-S(=O)₂-NRR基团，其中每个R独立地选自由以下组成的群组：氢、烷基、环烷基、芳基、杂芳基（通过环碳键合）和杂脂环基（通过环碳键合）。-S(=O)₂-NRR基团的-NRR中的R基团可以与其连接的氮一起形成4-、5-、

6-或7-元环。磺酰胺基任选地被一个或多个分别针对烷基、环烷基、芳基、杂芳基描述的取代基取代。

[0117] “磺酸基”是指-S(=O)₂OH基团。

[0118] “磺酸酯”是指-S(=O)₂-OR基团,其中R选自由以下组成的群组:烷基、环烷基、芳基、杂芳基(通过环碳键合)和杂脂环基(通过环碳键合)。磺酸酯基团在R上任选被一个或多个分别针对烷基、环烷基、芳基、杂芳基描述的取代基取代。

[0119] 本发明的化合物还包括这些化合物的结晶和无定形形式,包括例如化合物的多晶型物、假多晶型物、溶剂化物、水合物、未溶剂化的多晶型物(包括无水物)、构象多晶型物和无定形形式,以及它们的混合物。“结晶形式”和“多晶型物”旨在包括化合物的所有结晶和无定形形式,包括例如多晶型物、假多晶型物、溶剂化物、水合物、未溶剂化的多晶型物(包括无水物)、构象多晶型物和无定形形式,以及它们的混合物,除非提及特定的结晶或无定形形式。

[0120] p38丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、其抑制和p38 α 选择性抑制

[0121] 应激和细胞因子活化激酶的p38丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)家族有助于多种人类疾病的发病机制,包括癌症、类风湿性关节炎、心血管疾病、多发性硬化、炎性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肺损伤(ALI)。在p38 MAPK调节的多个重要生物学过程中,内皮和上皮屏障功能的调节、白细胞运输和细胞因子表达是急性和慢性炎性病症发病机制的核心。

[0122] 虽然临床前研究支持p38的药理学抑制作为炎性疾病的有希望的治疗,但p38抑制剂由于剂量限制性毒性和缺乏功效而在临床试验中取得有限的成功。在www.clinicaltrials.gov列出的36项p38抑制剂的II期临床试验中,只有8项研究的结果已发表或列在ClinicalTrials.gov上,并且显示出很少的临床益处和中等毒性。

[0123] 所有可用的p38抑制剂都通过直接竞争ATP结合或通过变构引起阻止ATP进入催化位点的构象变化来阻断催化活性。Davidson等人鉴定了一种据称是p38 α 底物选择性抑制剂的CMPD1,它在体外激酶测定中选择性抑制MK2磷酸化,但它结合在p38 α 活性位点附近,随后被证明在细胞中缺乏底物选择性。几乎所有可用的抑制剂对p38 α 和p38 β 都有活性,有些对其他同种型也有活性。然而,遗传和药理学研究已将p38 α 鉴定为促炎同种型,而其他研究表明p38 β 信号传导具有细胞保护作用。因此,p38 β 的抑制可能导致非同种型选择性p38抑制剂缺乏功效和毒性。然而,大多数蛋白激酶上催化模块的广泛结构保守性对开发具有高选择性的催化抑制剂提出了挑战,尤其是对于单个p38同种型而言。

[0124] 不希望受任何特定理论的束缚,据信即使催化抑制剂对p38 α 具有绝对选择性,这些化合物通过设计也会阻断所有p38 α 信号传导事件,其中多种对于重建和维持体内平衡是必不可少的。例如,p38 α 不仅激活促炎细胞因子的表达,还通过p38 α 底物MSK1/2激活抗炎细胞因子和反调节双特异性蛋白磷酸酶-2(DUSP2)。在p38催化抑制剂的临床试验中观察到的血清C反应蛋白(CRP)水平的短暂下降和随后的反弹可能是由MSK1/2依赖性抗炎信号传导的丧失引起的。

[0125] 作为催化抑制剂的替代物,在一些实施方案中,本发明的化合物和方法靶向p38 α 的底物结合槽,其在两个酸性斑块—CD和ED结构域之间延伸,并且不同于DEF底物结合口袋。下游底物、上游活化激酶和可能的支架分子,都通过这些位点与p38相互作用。在一些实

施方案中,使用计算机辅助药物设计(CADD)和/或合理设计以将低分子量化合物靶向靠近p38 α ED底物结合位点的口袋,这是MAPK活化蛋白激酶-2(MAPKAPK2;MK2)磷酸化所必需的,该激酶是一种已知在体外介导内皮渗透性和中性粒细胞跨内皮迁移(TEM)以及小鼠肺损伤模型中的肺水肿的p38 α 底物;而抗炎MSK1/2与CD位点结合。使用该算法,鉴定了高效的p38 α 结合化合物,这些化合物能够:稳定人肺微血管内皮细胞(HMVECL)的内皮屏障功能,抑制LPS诱导的THP1细胞中的促炎基因表达,并且具有良好的耐受性和在减轻实验性ALI方面比SB203580更有效。

[0126] p38 α MAPK抑制剂治疗的急性肺损伤和本文所述的方法

[0127] 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是呼吸衰竭的常见原因,死亡率为30-40%,并且没有有效的治疗选择。p38信号传导在ARDS发病机制中具有重要性,但p38抑制剂的临床试验(所有这些都使p38催化位点失活并阻断所有p38底物的磷酸化)由于剂量限制性毒性都令人失望。

[0128] 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的特征是非流体静力性肺水肿的急性发作,主要由中性粒细胞介导的肺泡上皮损伤和毛细血管内皮屏障功能障碍引起。与ARDS相关激活的促炎和抗炎介质的复杂网络对于急性肺损伤(ALI)以及常伴随ARDS的多器官衰竭的发病机制至关重要。然而,已证明靶向促炎介质的治疗剂对ARDS无效。肺实质损伤导致顺应性降低、肺内分流和通气-灌注不匹配,这通常需要机械通气。然而,机械通气引起的肺泡的周期性募集/去募集和过度膨胀本身会导致中性粒细胞依赖性炎症和肺损伤,甚至对以前正常的肺也是如此。对该机制的认识导致了一项III期随机临床试验,证明低潮气量的机械通气可提高ARDS患者的存活。两种额外的支持性操作已被证明可以改善严重ARDS、神经肌肉阻滞和俯卧位患者的死亡率。第三种干预措施保守的液体管理被证明减少机械通气持续时间和ICU停留时间,但不会降低死亡率。尽管在支持性护理方面取得了这些改善,但ARDS患者的死亡率仍为30-40%,在美国每年约有74,500人死亡,这凸显了开发针对相关致病机制的新疗法的重要性。

[0129] p38丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)是一个应激和细胞因子活化激酶家族,可被多种与ARDS相关的致病信号激活,包括炎性介质、发热范围内高热(FRH)和周期性拉伸。由于p38 MAPK在有ARDS风险的患者中被激活,并且如下所讨论的,p38 MAPK参与促成ARDS发病机制的多个过程,因此该MAPK家族在ARDS中提供了一个感兴趣的治疗靶点。作为这一概念的证明,抑制p38 α 和 β 的激酶活性但不抑制p38 γ 或 δ 的激酶活性的原型吡啶基咪唑化合物SB203580已被证明阻断导致ARDS发病机制的多个过程。内皮p38信号传导由中性粒细胞结合激活,并且是中性粒细胞跨内皮迁移(TEM)所必需的。在人脐静脉内皮细胞(HUVEC)上交联ICAM-1刺激p38 α 激活、HSP27磷酸化、F-肌动蛋白重排、ICAM-1聚集和细胞硬化,并增加中性粒细胞向HUVEC细胞间连接处的迁移,所有这些都被SB203580阻断。HUVEC上的交联E-选择蛋白激活p38和p38依赖性细胞骨架重排、应力纤维形成和中性粒细胞TEM。类似地,中性粒细胞上 β 2整联蛋白的ICAM-1连接激活中性粒细胞p38和p38依赖性化学增活现象和趋化性。用p38抑制剂预处理对呼吸机诱导的肺损伤、补体诱导的肺损伤和与败血症的盲肠结扎和穿刺模型相关的肺损伤的小鼠模型具有保护作用,但对出血和内毒素血症诱导的肺损伤没有保护作用。表明了实验性ALI中由FRH(核心温度升高2-3°C)引起的过度内皮屏障功能障碍与p38激活相关并被SB203580阻断。SB203580在减轻导致急性肺损伤的多种致病过程

中的有效性以及p38 α 和 β 在人肺中的相对高表达支持这两种p38同种型在ARDS发病机制中的核心作用。

[0130] 尽管有这些说服性的临床前数据,但仅有一种临床试验开始评价p38抑制作为ARDS中的治疗策略。在有ARDS风险的患者中的SB-681323/dilmapimod的这种早期IIa期试验 (clinicaltrials.gov no.NCT00996840) 表明dilmapimod在施用剂量下是安全的,并适度降低血清C-反应蛋白 (CRP) 水平,但不能用于分析对ARDS发病率或严重程度的影响。目前总共有74个p38抑制剂临床试验列于www.clinicaltrials.gov,包括26个I期、47个II期和一个III期试验。II期和III期试验测试了十种不同的p38催化抑制剂对于13种不同的疾病/适应症的安全性和功效,所述疾病/适应症包括痛觉缺失 (6次试验)、骨关节炎 (2次试验)、类风湿性关节炎 (13次试验)、阿尔茨海默病 (2次试验)、强直性脊柱炎 (1次试验)、心脏病 (1次试验)、银屑病 (2次试验)、动脉粥样硬化 (5次试验)、抑郁症 (2次试验)、COPD (8次试验)、处于ARDS风险中 (1次试验)、癌症 (4次试验) 和肾小球硬化 (1次试验)。尽管仅有一部分数据在公共领域中,但是这些药物中的大多数的失败似乎是由于不利的副作用特征或在所使用的剂量下缺乏有效性。在48个II期和III期试验中,36个试验已经完成,并且3个试验早期终止,但是只有8个研究的结果已经公开或列在ClinicalTrials.gov. 中。VX-702在类风湿性关节炎中的两次试验显示具有与安慰剂相比的ACR20症状评分的治疗受试者的比例有小的增加。在两个公开的关于疼痛的P38抑制剂的研究中,一个报告疼痛的适度减少,而另一个没有作用。在COPD中p38抑制剂的两个公开研究中,一个显示没有作用,而另一个显示在治疗组中FEV1增加100ml并且血清CRP水平降低,但具有相关毒性(皮疹、咽炎、延长的QTc)。GW85655 (losmapimod) 在高胆固醇血症患者中改善了血管舒张并降低了血清CRP。在没有列在clinicaltrials.gov中的第九临床试验中,BIRB 796 (doramapimod) 在克罗恩病患者中没有临床效果,但血清CRP水平暂时降低。总之,这些研究证明了p38抑制在广泛的人类疾病中的治疗潜力,但强调了目前可获得的p38抑制剂在可安全施用于人类的剂量下的有限功效。

[0131] p38 MAPK,与大多数蛋白激酶一样,共享保守的双叶结构和催化位点,其疏水性ATP结合口袋位于N-末端和C-末端叶之间。大多数可获得的蛋白激酶抑制剂与ATP竞争结合催化位点的ATP结合口袋,但是催化模块在大多数蛋白激酶上的广泛结构保守性对开发具有高特异性的催化性p38抑制剂提出了挑战。由于吡啶基咪唑抑制剂SB203580与p38 α 和 β 的ATP结合位点结合,但其与p38 γ 和 δ 的ATP结合位点的接近被大体积甲硫氨酸阻断,因此其用作p38 α 和 β 的特异性抑制剂。然而,蛋白质组分析鉴定了几种另外的激酶,它们被SB203580以亚微摩尔IC₅₀抑制,包括Rip-样相互作用的半胱天冬酶-样凋亡-调节蛋白激酶 (RICK/Rip2)、酪蛋白激酶 (CK)-1 δ 和细胞周期蛋白G-相关激酶 (GAK)。

[0132] 在p38抑制剂的高通量生化筛选中发现了一类新的二芳基脲化合物。这些化合物不是直接结合ATP结合口袋,而是结合到诱导p38构象变化的变构位点,该构象变化阻止ATP进入其催化位点的结合口袋。三种变构的p38抑制剂BIRB796/dormapimod、GW856553/losmapimod和SB-681323/dilmapimod已经进入临床测试,但是如同ATP-竞争性的,除了LATITUDE研究(在患有急性冠状动脉综合征的患者中进行的losmapimod III期试验 (clinicaltrials.gov no.NCT02145468))外,没有发展到II期测试之外。由于变构抑制剂不受门控甲硫氨酸存在的影响,这些化合物抑制所有四种p38同种型,但BIRB 796也以0.1 μ

M的IC₅₀有效抑制JnK2α2，并且以IC₅₀ 1.4μM有效抑制c-Raf-1。ATP竞争性和变构p38抑制剂特异性的缺乏可能是脱靶毒性的主要来源。

[0133] p38抑制剂毒性的一个同样重要的来源可能源自每个p38 MAPK同种型的广泛功能。由于两种类型的抑制剂均阻断p38催化位点，因此ATP竞争性抑制剂和变构抑制剂会阻断所有p38磷酸化事件。由于p38磷酸化至少66种具有重要生物活性的公认底物，因此使用这些药剂可能不可避免地会产生剂量限制性毒性。

[0134] MAPK p38和ERK家族成员共享一个结构特征，一个底物结合槽位于与催化结构域相对的一侧上的蛋白质的C端叶上。结合槽在两个酸性斑块—CD和ED结构域之间延伸。p38的该区域不仅结合p38底物，还结合上游激酶和支架蛋白。我们的团队之前通过使用计算机辅助药物设计(CADD)来识别靶向底物结合槽而不是ERK2催化模块的小分子，开发了一类具有改进毒性特征的新型ERK1/2MAPK抑制剂。如本文所述，可采用类似的策略来鉴定靶向p38αED底物结合位点附近口袋的低分子量化合物，这是MK2磷酸化所必需的，MK2是一种已知在体外介导肺内皮渗透性和小鼠肺损伤模型中的肺水肿的p38底物。使用CADD搜索可商购化合物的数据库，已鉴定出150种预测结合到p38α靶标ED结合位点附近的靶标口袋的低分子量化合物。获得了来自该列表的20种结构不同的化合物，通过差示扫描荧光法(DSF)筛选与p38α而非ERK2的选择性结合，然后分析减少人肺微血管内皮细胞(HMVECL)中致病性内皮屏障变化和体外THP1单核细胞中细胞因子表达的能力，并减轻小鼠中诱发的ALI。在测试的20种CADD选择的化合物中，5种与p38α结合的亲和力足以被DSF检测，两种选择性地与p38α结合但不与ERK2结合，并且在体外稳定内皮屏障功能方面比SB203580更有效，并且这些化合物中的一种具有良好的耐受性和在减轻实验性ALI方面比SB203580更有效。

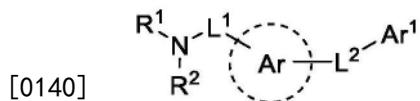
[0135] 在某些实施方案中，本文所述的p38αMAPK抑制剂可用于治疗急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和/或急性肺损伤(ALI)。

[0136] p38αMAPK抑制剂和抑制p38αMAPK的方法

[0137] 在一个实施方案中，本发明包括可以是p38αMAPK蛋白活性的p38αMAPK抑制剂和/或调节剂的化合物，例如能够与p38αMAPK的ED底物对接位点附近的口袋结合的化合物，或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药。在一个实施方案中，p38αMAPK抑制剂是p38αMAPK选择性抑制剂。在一个实施方案中，p38αMAPK抑制剂在p38αMAPK的底物结合槽附近结合p38αMAPK，该结合槽在两个酸性斑块—CD和ED结构域之间延伸。在其他实施方案中，p38αMAPK抑制剂引起对MK2磷酸化的抑制。

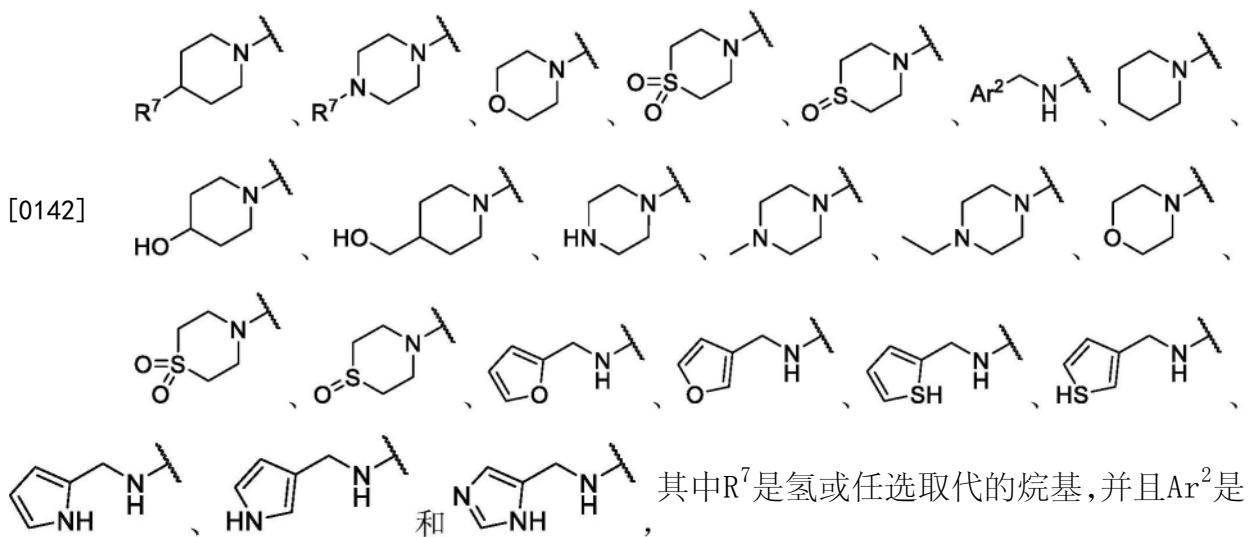
[0138] 在一个实施方案中，已经鉴定了一种先导p38αMAPK抑制剂化合物，其在人类细胞培养模型和炎性肺损伤小鼠模型中具有有利的生物学效应。在一个实施方案中，已经借助于CADD策略鉴定了p38αMAPK抑制剂。p38α中的CADD靶向口袋在10个氨基酸中的3个与p38β中的相应口袋不同，这为p38α选择性提供了机会。在一些实施方案中，靶向口袋的序列至少包括p38αMAPK中的氨基酸R49、H107、L108和K165。在一些实施方案中，靶向口袋的序列是p38αMAPK中的R49、H107、L108、M109、G110、A157、V158、E163、L164和K165。在一个实施方案中，已经借助于合理的设计策略鉴定了p38αMAPK抑制剂。

[0139] 在一些实施方案中，p38αMAPK抑制剂是式A化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药：



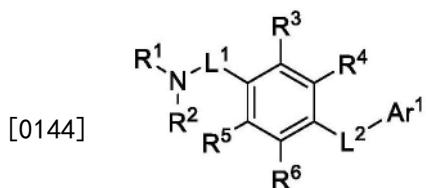
式 A

[0141] 其中在式A中:Ar和Ar¹独立地选自单环或多环任选取代的环烷基、单环或多环任选取代的杂环烷基、单环或多环任选取代的芳基、单环或多环任选取代的芳基烷基、单环或多环任选取代的杂芳基和单环或多环任选取代的杂芳基烷基;R¹和R²独立地选自氢、任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的烷氧基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基和任选取代的烷基杂芳基,其中R¹和R²可以任选地连接形成碳环或杂环;L¹和L²是独立地包含以下的一个或多个的接头:键、-NR^a-、-S-、-S(0)-、-S(0)₂-、-O-、-CR^a₂-、-C(0)O-、-OC(0)-、-C(0)S-、-SC(0)-、-C(0)NR^a-、-NR^aC(0)-、-C(0)NR^aSO₂-、-SO₂NR^aC(0)-、-OC(0)O-、-OC(0)S-、-SC(0)O-、-OC(0)NR^a-、-NR^aC(0)O-、-S(0)_tN(R^a)- (其中t是1或2)、-N(R^a)S(0)_t- (其中t是1或2)、二取代烷基、二取代杂烷基、二取代烯基、二取代炔基、二取代环烷基、二取代杂环烷基、二取代芳基、二取代芳基烷基、二取代杂芳基和二取代杂芳基烷基;其中任何任选的取代基在每次出现时独立地选自任选取代的烷基、任选取代的杂烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的环烷基、任选取代的杂环烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基烷基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、硝基、三甲基硅烷基、-OR^a、-SR^a、-OC(0)-R^a、-SC(0)-R^a、-N(R^a)₂、-C(0)R^a、-C(0)OR^a、-C(0)SR^a、-OC(0)N(R^a)₂、-C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(0)OR^a、-N(R^a)C(0)R^a、-N(R^a)C(0)N(R^a)₂、-N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tOR^a (其中t是1或2)、-S(0)_tN(R^a)₂ (其中t是1或2)和PO₃(R^a)₂;并且R^a在每次出现时独立地选自氢、任选取代的烷基、任选取代的氟烷基、任选取代的碳环基、任选取代的碳环基烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基烷基、任选取代的杂环烷基、任选取代的杂环烷基烷基、任选取代的杂芳基和任选取代的杂芳基烷基。在一些实施方案中,任选的取代基独立地选自R³、R⁴、R⁵和R⁶,它们独立地选自氢、任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的烷氧基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基和任选取代的烷基杂芳基,其中R¹、R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶中的任意两个可以任选地连接以形成碳环或杂环。在一些实施方案中,Ar¹是任选取代的芳基或任选取代的杂芳基环。在一些实施方案中,Ar是单环或多环任选取代的芳基、单环或多环任选取代的芳基烷基、单环或多环任选取代的杂芳基、或单环或多环任选取代的杂芳基烷基。在一些实施方案中,Ar是5或6元任选取代的芳基或5或6元任选取代的杂芳基,其中L¹和L²以1,2、1,3或1,4取代模式连接至Ar。在一些实施方案中,Ar是1,2二取代、1,3二取代或1,4二取代的苯基、吡啶、嘧啶、吡嗪或三嗪。在一些实施方案中,Ar是1,2二取代或1,3二取代的呋喃、噻吩、吡咯、噻唑、咪唑、噁唑或吡唑。在一些实施方案中,Ar是1,2二取代、1,3二取代、1,4二取代、1,5二取代、1,6二取代、1,7二取代或1,8二取代的萘、喹啉、异喹啉或喹唑啉。在一些实施方案中,Ar是1,2二取代、1,3二取代、1,4二取代、1,5二取代、1,6二取代或1,7二取代的吲哚或咪唑。在一些实施方案中,L¹是选自-CH₂-、-C(CH₃)₂-和-C(CH₂CH₂)-的接头;L2是选自-NHCH₂-、-CH₂NH-、-NHC(=O)-、-CONH-、-SO₂NH-和-NHSO₂-的接头;并且-NR¹R²选自:



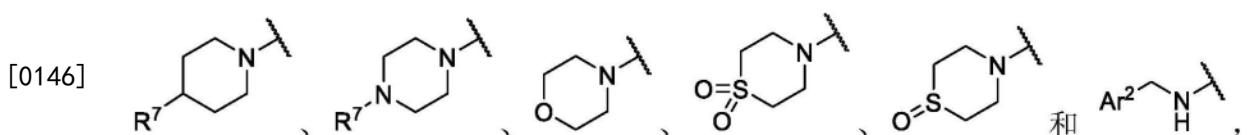
杂环。

[0143] 在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂是式I化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药:

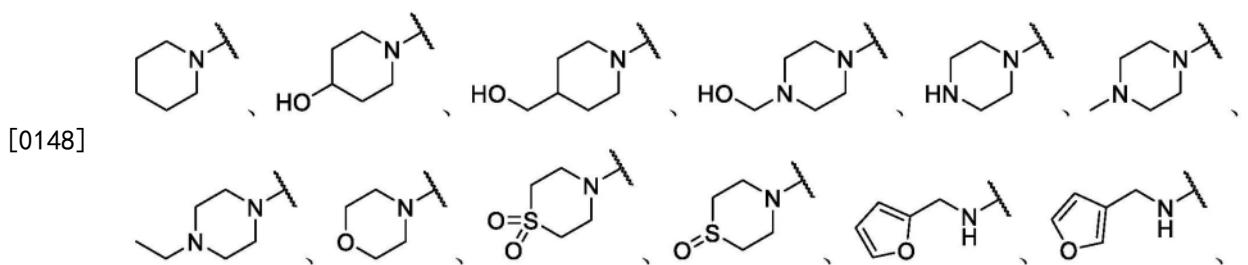


式 1

[0145] 其中在式I中:R¹、R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶中的每一个独立地选自氢、任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的烷氧基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基和任选取代的烷基杂芳基,其中R¹和R²可以任选地连接以形成碳环或杂环;L¹是选自-CH₂-、-C(CH₃)₂-和-C(CH₂CH₂)-的接头;L²是选自-NHCH₂-、-CH₂NH-、-NHCO-、-CONH-、-SO₂NH-和-NHSO₂-的接头;并且Ar¹是任选取代的芳基或任选取代的杂芳基环。在一些实施方案中,式I中的-NR¹R²基团选自:

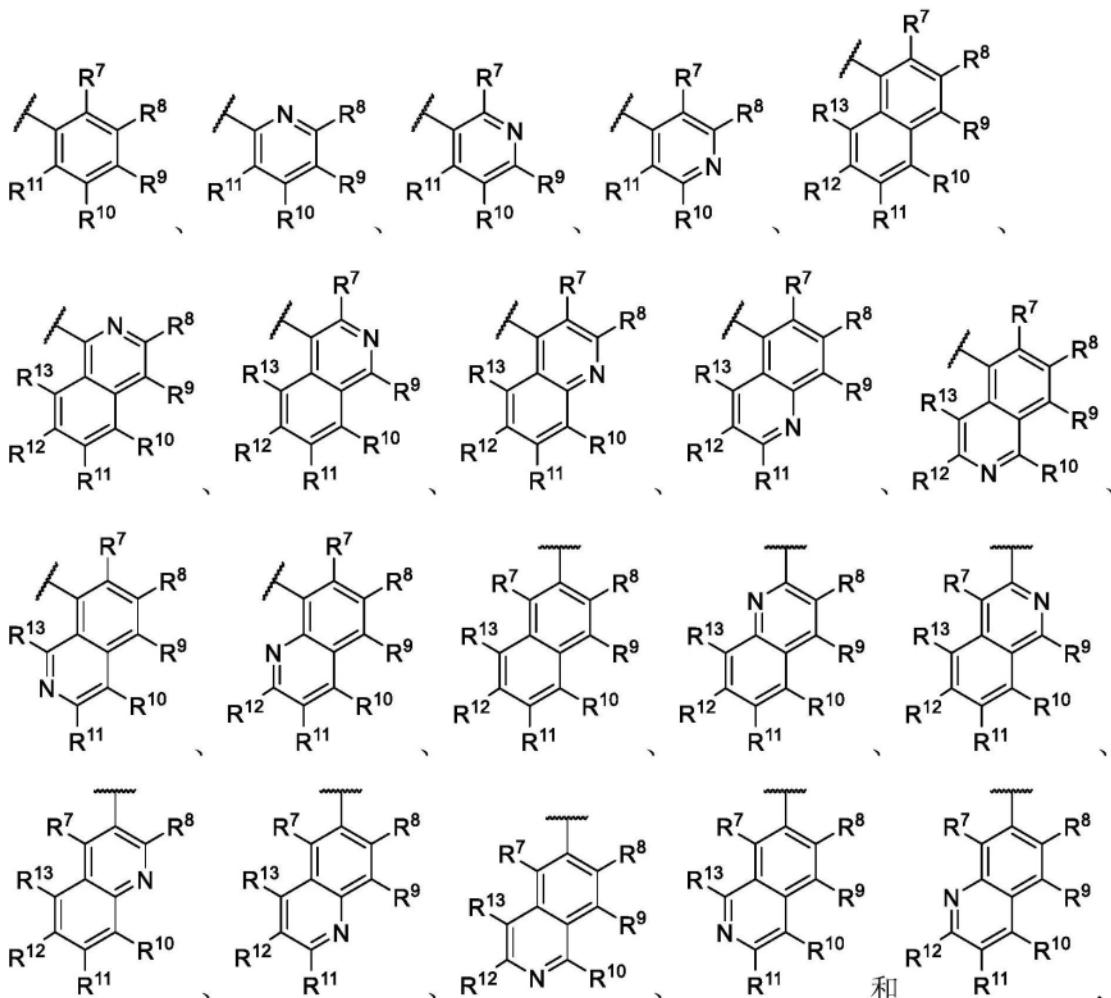


[0147] 其中R⁷是氢或任选取代的烷基,并且Ar²是杂环。在一些实施方案中,式I中的-NR¹R²基团选自:

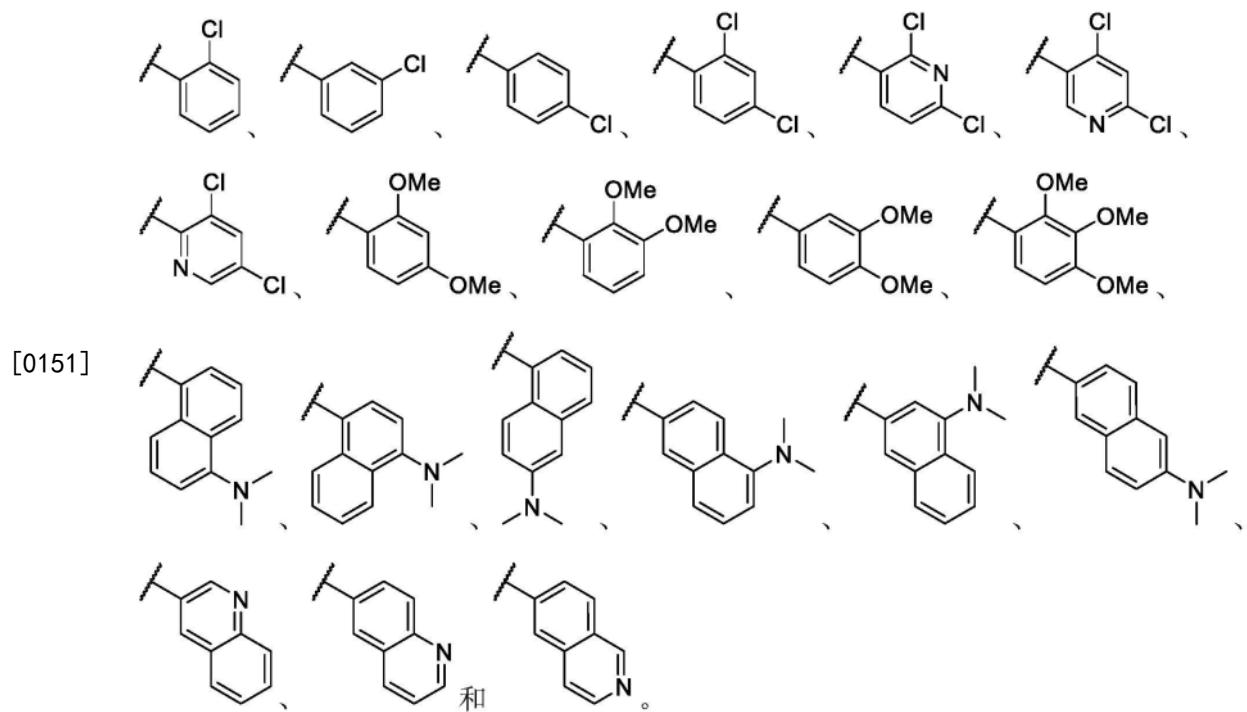


一些实验中，CN(C)CCc1ccsc1、CN(C)CCc1ccsc1、CN(C)CCc1c[nH]cn1、CN(C)CCc1c[nH]cn1 和 CN(C)CCc1c[nH]cn1 在一些实验中。

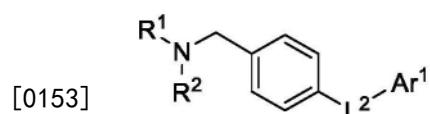
施方案中, L^1 是 $-\text{CH}_2-$ 。在一些实施方案中, R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 是氢。在一些实施方案中, L^2 选自 $-\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{NHCO}-$ 和 $-\text{NHSO}_3-$ 。在一些实施方案中, Ar^1 选自:



[0150] 其中R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²和R¹³中的每一个独立地选自氢、卤素、-NR¹R²、烷氧基、任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、任选取代的烷氧基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基和任选取代的烷基杂芳基，其中R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²和R¹³中的任意两个邻位基团可以任选地连接形成碳环或杂环。在一些实施方案中，Ar¹选自：

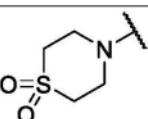
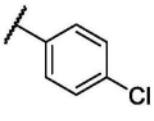
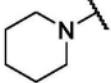
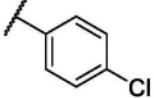


[0152] 在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂是式II化合物, 并且可选自表1中式1001-1180中任一种化合物:

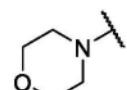
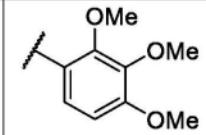
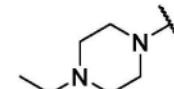
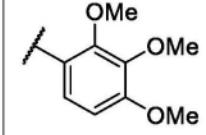
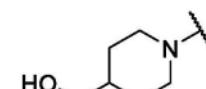
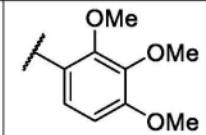
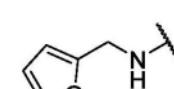
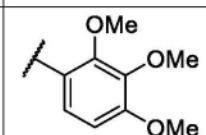
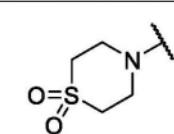
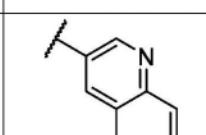
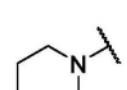
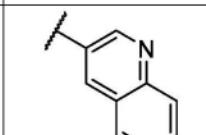
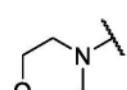
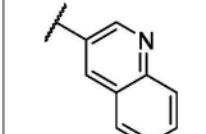
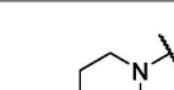
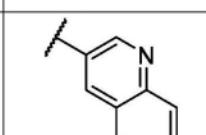
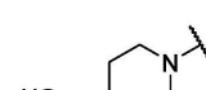
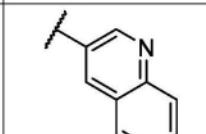
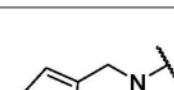
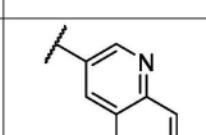


式 II

[0154] 表1

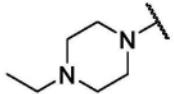
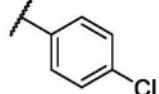
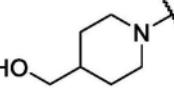
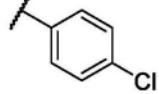
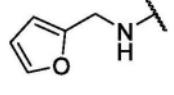
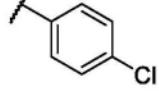
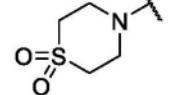
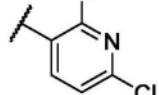
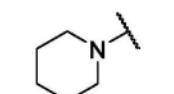
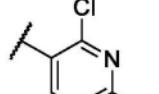
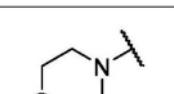
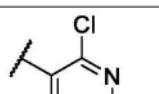
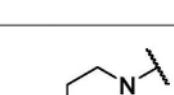
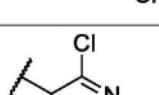
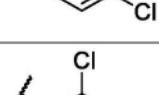
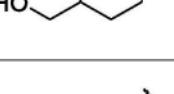
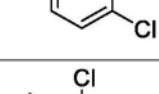
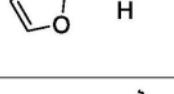
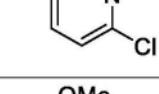
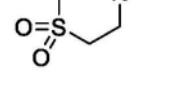
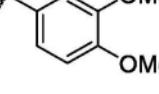
化合物#		L ²	Ar ¹
1001		-NHCH ₂ -	
1002		-NHCH ₂ -	

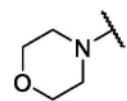
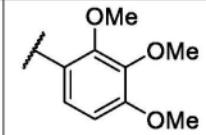
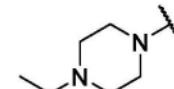
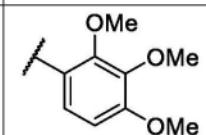
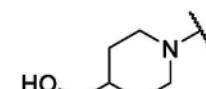
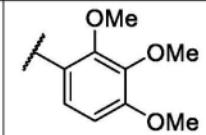
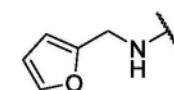
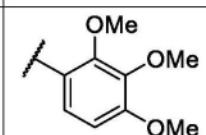
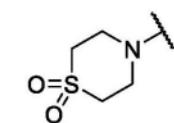
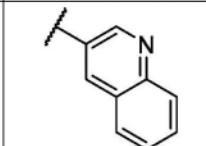
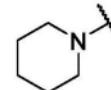
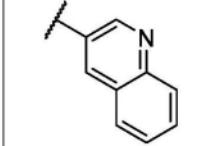
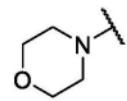
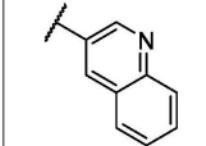
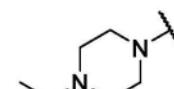
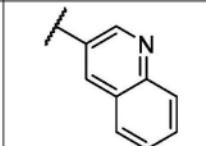
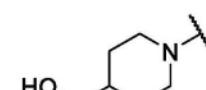
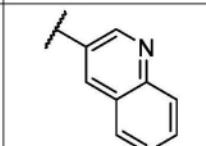
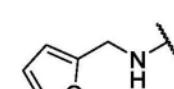
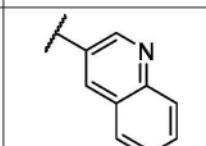
1003		-NHCH ₂ -		
1004		-NHCH ₂ -		
1005		-NHCH ₂ -		
1006		-NHCH ₂ -		
1007		-NHCH ₂ -		
1008		-NHCH ₂ -		
[0156]	1009		-NHCH ₂ -	
	1010		-NHCH ₂ -	
	1011		-NHCH ₂ -	
	1012		-NHCH ₂ -	
	1013		-NHCH ₂ -	
	1014		-NHCH ₂ -	

1015		-NHCH ₂ -		
1016		-NHCH ₂ -		
1017		-NHCH ₂ -		
1018		-NHCH ₂ -		
1019		-NHCH ₂ -		
[0157]	1020		-NHCH ₂ -	
	1021		-NHCH ₂ -	
	1022		-NHCH ₂ -	
	1023		-NHCH ₂ -	
	1024		-NHCH ₂ -	

	1025		-NHCH ₂ -	
	1026		-NHCH ₂ -	
	1027		-NHCH ₂ -	
	1028		-NHCH ₂ -	
[0158]	1029		-NHCH ₂ -	
	1030		-NHCH ₂ -	
	1031 (UM101)		-NHCO-	
	1032		-NHCO-	
	1033		-NHCO-	

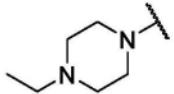
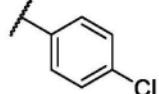
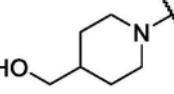
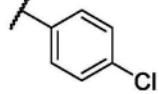
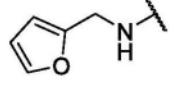
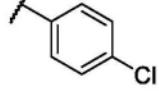
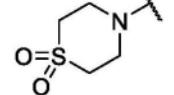
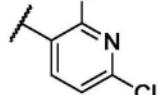
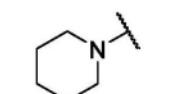
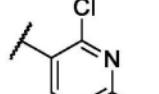
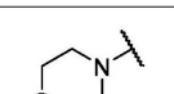
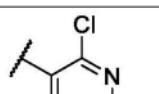
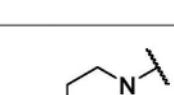
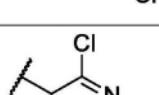
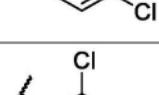
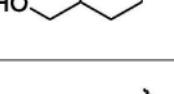
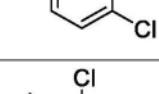
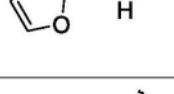
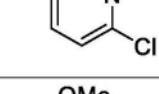
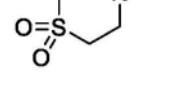
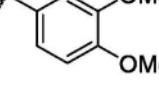
[0159]

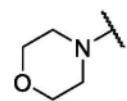
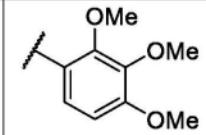
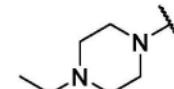
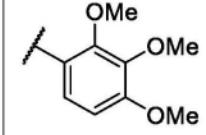
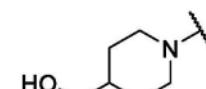
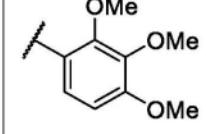
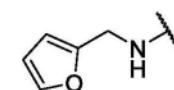
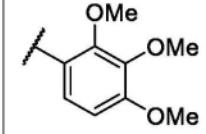
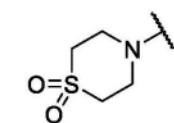
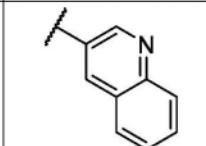
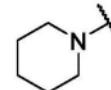
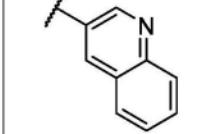
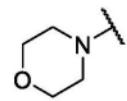
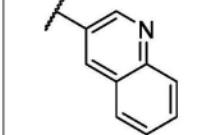
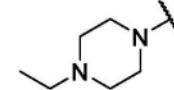
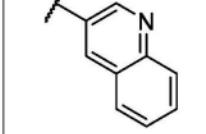
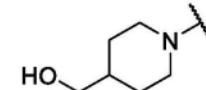
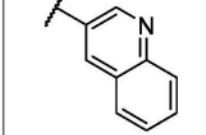
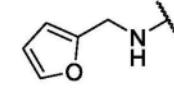
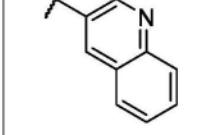
1034		-NHCO-	
1035		-NHCO-	
1036		-NHCO-	
1037		-NHCO-	
1038		-NHCO-	
1039		-NHCO-	
1040		-NHCO-	
1041		-NHCO-	
1042		-NHCO-	
1043		-NHCO-	
1044		-NHCO-	

1045		-NHCO-		
1046		-NHCO-		
1047		-NHCO-		
1048		-NHCO-		
1049		-NHCO-		
[0160]	1050		-NHCO-	
	1051		-NHCO-	
	1052		-NHCO-	
	1053		-NHCO-	
	1054		-NHCO-	

1055		-NHCO-		
1056		-NHCO-		
1057		-NHCO-		
1058		-NHCO-		
[0161]	1059		-NHCO-	
	1060		-NHCO-	
1061		-NHSO2-		
1062		-NHSO2-		
1063		-NHSO2-		

[0162]

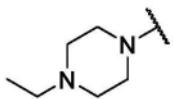
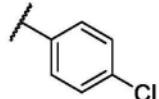
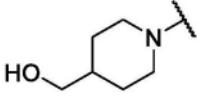
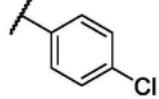
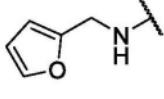
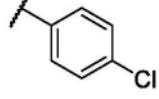
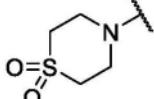
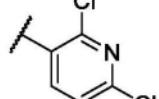
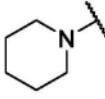
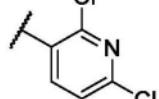
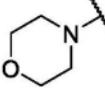
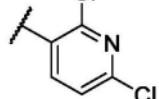
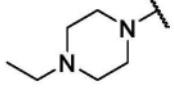
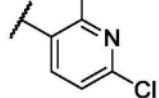
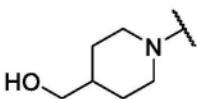
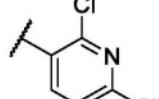
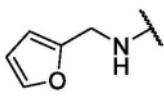
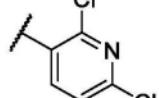
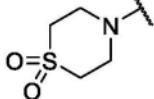
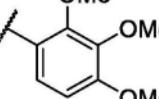
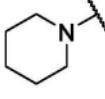
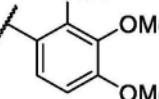
1064		-NHSO ₂ -	
1065		-NHSO ₂ -	
1066		-NHSO ₂ -	
1067		-NHSO ₂ -	
1068		-NHSO ₂ -	
1069		-NHSO ₂ -	
1070		-NHSO ₂ -	
1071		-NHSO ₂ -	
1072		-NHSO ₂ -	
1073		-NHSO ₂ -	
1074		-NHSO ₂ -	

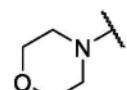
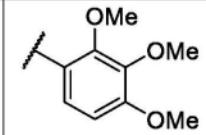
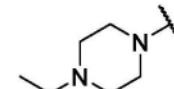
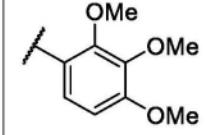
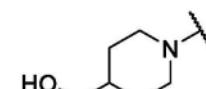
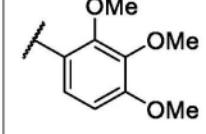
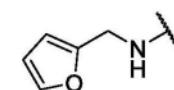
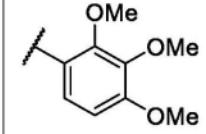
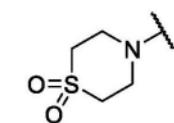
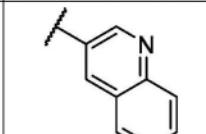
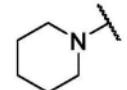
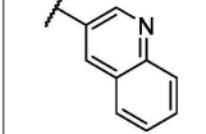
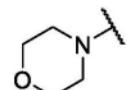
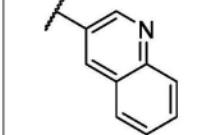
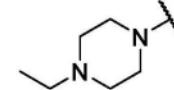
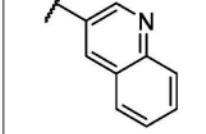
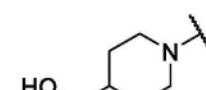
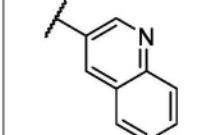
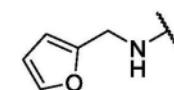
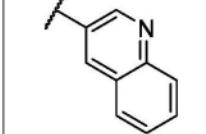
1075		-NHSO ₂ ⁻	
1076		-NHSO ₂ ⁻	
1077		-NHSO ₂ ⁻	
1078		-NHSO ₂ ⁻	
1079		-NHSO ₂ ⁻	
[0163]	1080		
	1081		
	1082		
	1083		
	1084		

[0164]

1085		-NHSO ₂ -	
1086		-NHSO ₂ -	
1087		-NHSO ₂ -	
1088		-NHSO ₂ -	
1089		-NHSO ₂ -	
1090		-NHSO ₂ -	
1091		-CH ₂ NH-	
1092		-CH ₂ NH-	
1093		-CH ₂ NH-	

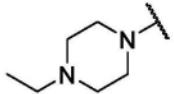
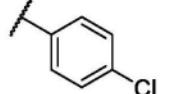
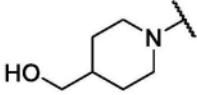
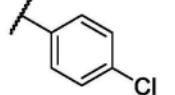
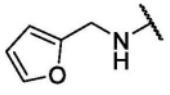
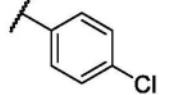
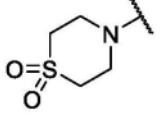
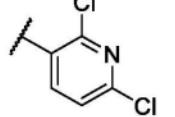
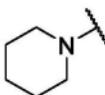
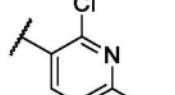
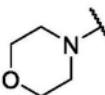
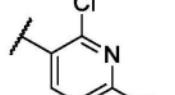
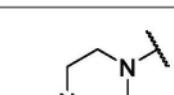
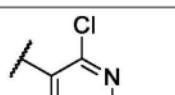
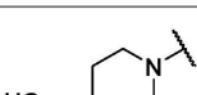
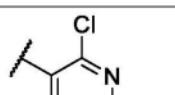
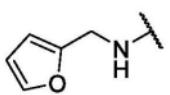
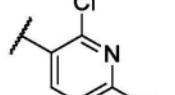
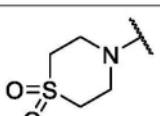
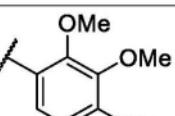
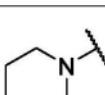
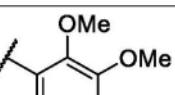
[0165]

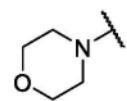
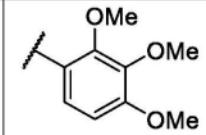
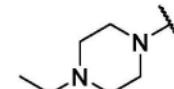
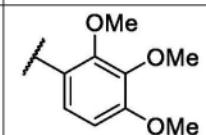
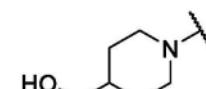
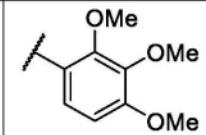
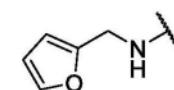
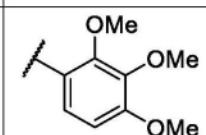
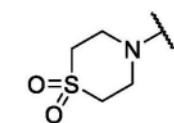
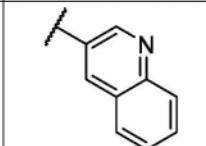
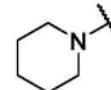
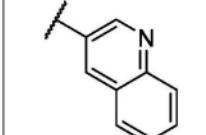
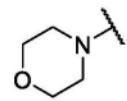
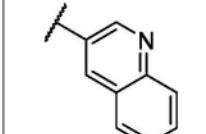
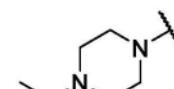
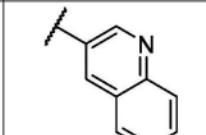
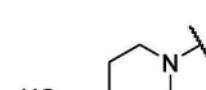
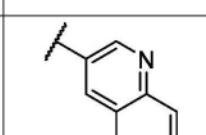
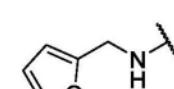
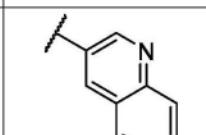
1094		-CH ₂ NH-	
1095		-CH ₂ NH-	
1096		-CH ₂ NH-	
1097		-CH ₂ NH-	
1098		-CH ₂ NH-	
1099		-CH ₂ NH-	
1100		-CH ₂ NH-	
1101		-CH ₂ NH-	
1102		-CH ₂ NH-	
1103		-CH ₂ NH-	
1104		-CH ₂ NH-	

1105		-CH ₂ NH-		
1106		-CH ₂ NH-		
1107		-CH ₂ NH-		
1108		-CH ₂ NH-		
1109		-CH ₂ NH-		
[0166]	1110		-CH ₂ NH-	
	1111		-CH ₂ NH-	
	1112		-CH ₂ NH-	
	1113		-CH ₂ NH-	
	1114		-CH ₂ NH-	

	1115		-CH ₂ NH-	
	1116		-CH ₂ NH-	
	1117		-CH ₂ NH-	
	1118		-CH ₂ NH-	
[0167]	1119		-CH ₂ NH-	
	1120		-CH ₂ NH-	
	1121		-CONH-	
	1122		-CONH-	
	1123		-CONH-	

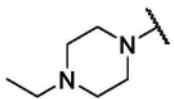
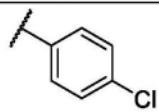
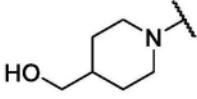
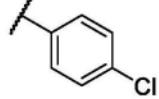
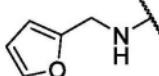
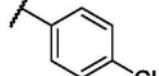
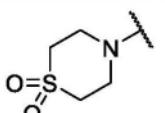
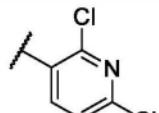
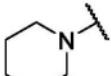
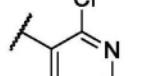
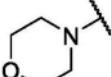
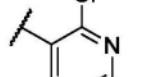
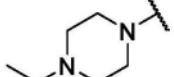
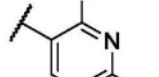
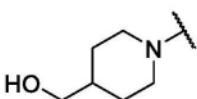
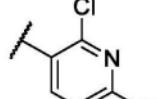
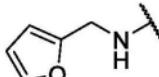
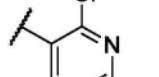
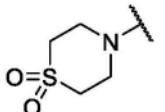
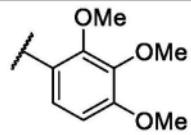
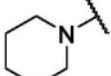
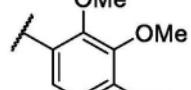
[0168]

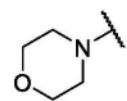
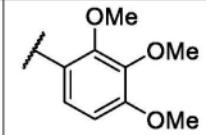
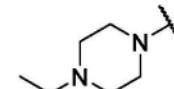
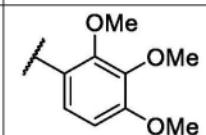
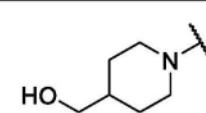
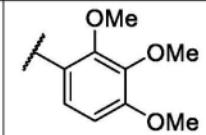
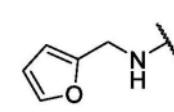
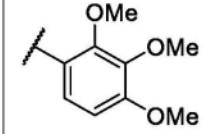
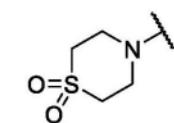
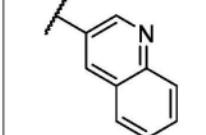
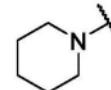
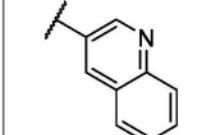
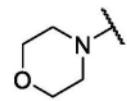
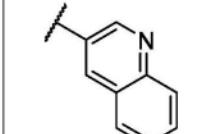
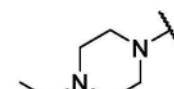
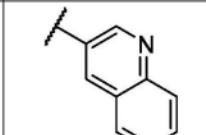
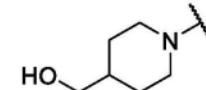
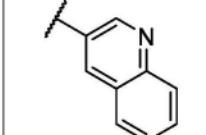
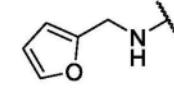
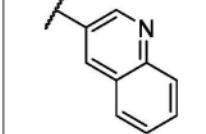
1124		-CONH-	
1125		-CONH-	
1126		-CONH-	
1127		-CONH-	
1128		-CONH-	
1129		-CONH-	
1130		-CONH-	
1131		-CONH-	
1132		-CONH-	
1133		-CONH-	
1134		-CONH-	

1135		-CONH-		
1136		-CONH-		
1137		-CONH-		
1138		-CONH-		
1139		-CONH-		
[0169]	1140		-CONH-	
	1141		-CONH-	
	1142		-CONH-	
	1143		-CONH-	
	1144		-CONH-	

1145		-CONH-		
1146		-CONH-		
1147		-CONH-		
1148		-CONH-		
[0170]	1149		-CONH-	
	1150		-CONH-	
	1151		-SO2NH-	
	1152		-SO2NH-	
	1153		-SO2NH-	

[0171]

1154		-SO2NH-	
1155		-SO2NH-	
1156		-SO2NH-	
1157		-SO2NH-	
1158		-SO2NH-	
1159		-SO2NH-	
1160		-SO2NH-	
1161		-SO2NH-	
1162		-SO2NH-	
1163		-SO2NH-	
1164		-SO2NH-	

1165		-SO2NH-	
1166		-SO2NH-	
1167		-SO2NH-	
1168		-SO2NH-	
1169		-SO2NH-	
[0172]	1170		
	1171		
1172		-SO2NH-	
1173		-SO2NH-	
1174		-SO2NH-	

1175		-SO ₂ NH-		
1176		-SO ₂ NH-		
1177		-SO ₂ NH-		
[0173]	1178		-SO ₂ NH-	
	1179		-SO ₂ NH-	
	1180		-SO ₂ NH-	

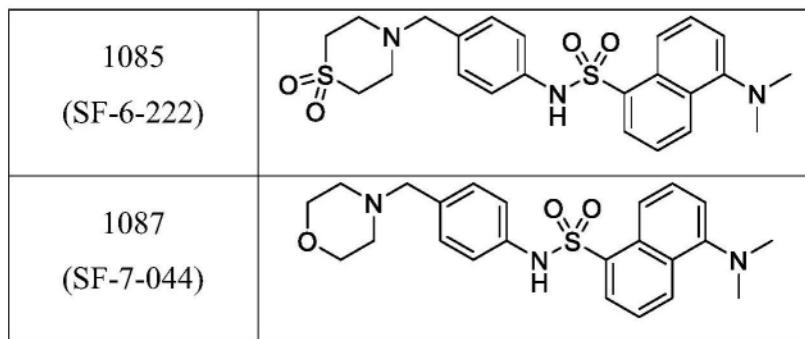
[0174] 在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂是式1001 (SF-6-221)、1032 (SF-7-008)、SF-7-009、1034 (SF-7-010)、1035 (SF-7-011)、1036 (SF-7-012)、1037 (SF-6-217)、1043 (SF-6-223)、1049 (SF-6-224)、1061 (SF-6-219)、1085 (SF-6-222) 和1087 (SF-7-044) 中任一个的化合物:

1001 (SF-6-221)	
--------------------	--

[0176]

1032 (SF-7-008)	
SF-7-009	
1034 (SF-7-010)	
1035 (SF-7-011)	
1035-b	
1036 (SF-7-012)	
1037 (SF-6-217)	
1043 (SF-6-223)	
1049 (SF-6-224)	
1061 (SF-6-219)	

[0177]



[0178] 使用互补技术证实了UM101与p38 α 的选择性结合。检测配体诱导的蛋白质稳定性 的DSF显示UM101导致p38 α 而非p38 β 的熔化温度的浓度依赖性增加(图3D)。与SB203580相比,UM101对p38 α 熔化的较小影响表明底物选择性与催化抑制剂的较低p38 α 结合亲和力,与底物选择性ERK抑制剂相似。与p38 α 相比,SB203580对p38 β 的较小影响与已知的SB203580对p38 α 的结合亲和力高约10倍一致。通过从蛋白质到配体质子的非标量磁化转移来测量低亲和力蛋白质:配体结合的STD-NMR证实了UM101与p38 α 的特异性结合,并将相互作用定位于其芳环。UM101与其CADD靶标的结合也通过显示使靶向口袋中的十个氨基酸中的四个突变消除UM101结合同时保留SB203580结合来证实。

[0179] 在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂引起p38 α MAPK熔化温度的浓度依赖性升高。熔化温度差异 ΔT_m ($^{\circ}$ C)是在1nM至1000 μ M的p38 α MAPK抑制剂浓度下测量的。在一个实施方案中,熔化温度差异 ΔT_m ($^{\circ}$ C)是在100 μ M的p38 α MAPK抑制剂浓度下测量的。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.1至约2 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.01至约0.05 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.01至约0.1 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.03至约0.7 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.06至约1.5 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1 $^{\circ}$ C至约2 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.5至约2 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.1 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.2 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.3 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.4 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.5 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.6 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.7 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.8 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.9 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.1 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.2 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.3 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.4 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.5 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.6 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.7 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.8 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约1.9 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约2 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.735 $^{\circ}$ C。在一个实施方案中, ΔT_m 为约0.667 $^{\circ}$ C。

[0180] 在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂具有约-5至约10的logP。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂具有约-3至约8的logP。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂具有约0至约5的logP。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂具有约0.1至约3的logP。logP是药物溶解度的量度,并且被定义为药物的辛醇/水分配系数的对数。在一个实施方案中,p38 α MAPK抑制剂具有约0.1至约1的logP。在一个实施方案中,p38 α MAPK抑制剂具有约0.5至约1.5的logP。在一个实施方案中,p38 α MAPK抑制剂具有约0.75至约2的logP。在一个实施方案中,p38 α MAPK抑制剂具有约1至约2.5的logP。在一个实施方案中,p38 α MAPK抑制剂具有约1.75至约3的

logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约0.1的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约0.25的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约0.5的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约0.75的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约1的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约1.25的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约1.5的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约1.75的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约2的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约2.25的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约2.5的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约2.75的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约3的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约0.28的logP。在一个实施方案中, p38 α MAPK抑制剂具有约2.31的logP。

[0181] MK2的磷酸化需要与p38 α MAPK中与CADD靶标口袋相邻的ED位点结合。在一些实施方案中, 靶标口袋至少由p38 α MAPK中的氨基酸R49、H107、L108和K165定义。在一些实施方案中, 靶标口袋由选自由p38 α MAPK中的R49、H107、L108、M109、G110、A157、V158、E163、L164和K165及其组合组成的群组的氨基酸定义。在一些实施方案中, 靶标口袋由p38 α MAPK中的氨基酸R49、H107、L108、M109、G110、A157、V158、E163、L164和K165定义。蛋白质印迹证实了UM101对茴香霉素刺激的HeLa细胞中MK2磷酸化的部分抑制, 但与10 μ M SB203580相比较少。浓度分别是对p38 α 和p38 β 的IC₅₀的200倍和20倍的SB203580未能完全阻断MK2磷酸化, 这可能反映了来自p38 γ 或 δ 的贡献, 因为这两种同种型都在HeLa细胞中表达。

[0182] 在一个实施方案中, 本发明涉及抑制p38 α MAPK的方法, 其中抑制p38 α MAPK稳定内皮或上皮屏障功能。两种选择性p38 α 结合化合物UM60和UM101都发挥了SB203580样内皮屏障稳定和巨噬细胞细胞因子修饰作用, 从而验证了ED靶向策略。尽管对MK2磷酸化的影响较小, 但UM101比SB203580更有效地稳定内皮屏障(图2A和图2B)。在一个实施方案中, 内皮屏障渗透性可以通过单独或组合暴露于TNF α 和高热, 然后测量对10kDa葡聚糖的渗透性来测量。在一个实施方案中, 通过在渗透性测量之前和之后用本发明的化合物预处理来评估内皮屏障稳定性, 其中稳定性表示为预处理之前和之后渗透性增加的降低百分比。可以在不同浓度下使用p38 α MAPK抑制剂进行预处理, 例如10、25、50或100 μ M。在一个实施方案中, 对10kDa葡聚糖的渗透性增加可减少5%至超过100%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约5%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约10%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约20%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约30%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约40%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约50%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约60%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约70%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约80%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约90%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约100%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少超过约100%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约71%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约74%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约89%。在一个实施方案中, 渗透率增加减少约100%。

[0183] 尽管对MK2磷酸化的影响较小(图3C), 但由于UM101比SB203580更有效地稳定内皮屏障(图2A和图2B), 因此通过在TNF α 处理的HMVECL中使用RNASeq比较UM101和SB203580对全局基因表达的影响来评价额外的分子作用。TNF α 使511个基因的表达增加 ≥ 2 倍, 其中通过10 μ M SB203580预处理使61个减少, 38个增加。尽管使用了是稳定HMVECL屏障功能所需浓

度>10倍的UM101浓度(图2A和图2B),但UM101仅改变了99个SB203580修饰基因中的38个的表达。PathwayNet分析显示UM101仅阻断15个SB203580阻断的转录因子中的7个。MSK1/2属于UM101未阻断的那些,这与UM101针对ED位点的靶向策略一致,并且考虑到MSK1/2的抗炎作用,这是一种有利的方式。

[0184] RNASeq揭示的UM101和SB203580的部分功能重叠与UM101作为非催化底物选择性抑制剂的设计一致,但也可能是SB203580脱靶效应的结果,其包括受体相互作用蛋白激酶-2、细胞周期蛋白G相关激酶和酪蛋白激酶-18。然而,如使用PhosphoNetworks所分析的,通过PathwayNet分析鉴定的SB203580抑制转录因子都不是这些激酶的已知底物。

[0185] 尽管本分析中使用的高浓度UM101可能导致一些p38非依赖性作用,但本文描述的数据支持以下结论:UM101主要通过修饰p38 α 发挥其生物学效应:(1)DSF和STD-NMR显示UM101的p38 α 特异性结合;(2)通过使10个靶标口袋氨基酸中的4个突变来消除UM101的p38 α 结合;(3)UM60和101均与p38 α 结合,并对内皮功能发挥与SB203580类似的作用;(4)UM101部分阻断了TNF α 刺激的HeLa细胞中p38底物MK2和Stat-1的磷酸化;和(5)UM101抑制了被SB203580抑制的大约一半基因的表达。UM101在稳定内皮屏障方面可能比SB203580更有效,因为它选择性地免受潜在反调节基因的影响,例如GM-CSF、MSK1/2依赖的抗炎基因和p38 β 依赖的促生存基因。

[0186] 在一个实施方案中,本发明涉及一种抑制p38 α MAPK的方法,包括使p38 α MAPK与能够与p38 α MAPK的ED底物对接位点附近的口袋结合的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药接触。在一个实施方案中,该化合物选择性地抑制p38 α MAPK。在一个实施方案中,p38 α MAPK抑制剂在p38 α MAPK的底物结合槽附近结合p38 α MAPK,该结合槽在两个酸性斑块—CD和ED结构域之间延伸。在一个实施方案中,结合口袋至少由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108和K165定义。在一个实施方案中,结合口袋由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108、M109、G110、A157、V158、E163、L164和K165定义。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂引起p38 α MAPK熔化温度的浓度依赖性增加。在其他实施方案中,p38 α MAPK抑制剂引起对MK2磷酸化的抑制。在一个实施方案中,化合物具有式A、I、II、1001-1180中的任一个,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044),中任一个的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药。

[0187] 在一个实施方案中,本发明涉及一种抑制p38 α MAPK的方法,其中p38 α MAPK的抑制不会导致p38 α 依赖性反调节响应的丧失。在一些实施方案中,p38 α 依赖性反调节响应涉及丝裂原和应激活化蛋白激酶-1(MSK1)或MSK2。在靶向p38 α 的ED底物对接位点附近的口袋时,本文所述的抑制剂避免干扰CD特异性底物,包括MSK1/2,从而通过IL-10和DUSP2的表达来限制炎症。小鼠中MSK1/2缺少的影响包括LPS诱导的CRP调节剂IL-6的表达增加和延长,这表明在催化p38抑制剂的一些临床试验中观察到的血清CRP反弹的可能机制。

[0188] 在一个实施方案中,本发明涉及一种抑制p38 α MAPK的方法,其中抑制p38 α MAPK减少炎症。在一个实施方案中,通过用p38 α MAPK抑制剂预处理PMA分化的THP1细胞,然后用LPS刺激,并在一段时间后收获RNA以通过基于PCR的细胞因子阵列进行分析,比较p38 α MAPK抑制剂对炎性细胞因子表达的影响。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂抑制多种基因的表

达,例如IL-1A、IL-8、TNFSF8、CXCL5、CCL7、CCL17、TNFSF9、IL-1B、CXCL1、TNFSF15、CCL5、CCL4、CCL20、CXCL2、TNF或BMP6。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂抑制Smad3的表达,其驱动Foxp3 T调节细胞的分化并抑制干扰素- γ 。p38 α MAPK抑制剂可以以任何合适的浓度使用,例如10、25、50或100 μ M。在一个实施方案中,通过比较不同浓度的p38 α MAPK抑制剂下mRNA水平与未刺激的PMA分化的THP1细胞相比的变化倍数来测量炎症减少。

[0189] 在一些实施方案中,如使用RNASeq所证明的,p38 α MAPK抑制剂调节HMVECL中TNF α 诱导的基因表达。在一个实施方案中, HMVECL用适当浓度如10 μ M或100 μ M的p38 α MAPK抑制剂预处理一段时间,然后用TNF α 刺激一段时间。本发明的p38 α MAPK抑制剂抑制基因,例如PRRG4, TSLP, CCL17, EXOC3L4, MMP9, ID01, CXCL10, CD200, SLC15A3, VDR, IL1B, GPR88, CD207, TCHH, HAS3, GBP1P1, MUC4, ELOVL7, CXCL11, GBP4, PLA1A, 或CXCL5。

[0190] 在一个实施方案中,本发明涉及一种抑制p38 α MAPK的方法,其中抑制p38 α MAPK减轻受试者的肺损伤,包括但不限于LPS诱导的肺损伤。在一个实施方案中,比较了p38 α MAPK抑制剂在LPS/高热诱导的ALI小鼠模型中减轻跨肺泡蛋白和中性粒细胞渗出的有效性(图2C和图2D)。在一个实施方案中,在气管内滴注LPS和/或转移到超热室之前的一段时间,受试者接受在适当载体例如DMSO中例如100、250、300、400、500、750、1000 μ g等浓度的p38 α MAPK抑制剂的腹膜内注射。测量来自受试者的肺灌洗液的蛋白质和/或中性粒细胞。与对照受试者相比,用p38 α MAPK抑制剂预处理的受试者的灌洗液蛋白浓度和中性粒细胞含量降低。在一些实施方案中,减少为约5%至约100%。在一个实施方案中,减少大于约5%。在一个实施方案中,减少大于约10%。在一个实施方案中,减少大于约20%。在一个实施方案中,减少大于约30%。在一个实施方案中,减少大于约40%。在一个实施方案中,减少大于约50%。在一个实施方案中,减少大于约60%。在一个实施方案中,减少大于约70%。在一个实施方案中,减少大于约80%。在一个实施方案中,减少大于约90%。在一个实施方案中,减少为约100%。在一个实施方案中,减少小于约10%。在一个实施方案中,减少小于约20%。在一个实施方案中,减少小于约30%。在一个实施方案中,减少小于约40%。在一个实施方案中,减少小于约50%。在一个实施方案中,减少小于约60%。在一个实施方案中,减少小于约70%。在一个实施方案中,减少小于约80%。在一个实施方案中,减少小于约90%。在一个实施方案中,减少为约100%。在一个实施方案中,减少为约44.1%。在一个实施方案中,减少为约43.9%。在一个实施方案中,减少为约92.9%。在一个实施方案中,减少为约44.4%。在一个实施方案中,减少为约49.5%。在一个实施方案中,减少为约55.3%。在一个实施方案中,减少为约54%。

[0191] 在一个实施方案中,本发明涉及一种抑制p38 α MAPK的方法,其中抑制p38 α MAPK可调节白细胞运输。

[0192] 在一个实施方案中,本发明涉及一种抑制p38 α MAPK的方法,其中抑制p38 α MAPK可调节细胞因子表达。

[0193] 治疗方法

[0194] 本文所述的化合物和组合物可用于治疗疾病的方法中。在一些实施方案中,本文所述的化合物和组合物可用于治疗与p38 α MAPK蛋白的上调和/或下调相关的疾病的方法中。

[0195] 在一个实施方案中,本发明涉及一种治疗通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK

蛋白而减轻的疾病的方法,包括向患者施用治疗有效量的p38 α MAPK抑制剂或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,其中p38 α MAPK抑制剂是能够与p38 α MAPK的ED底物对接位点附近的口袋结合的化合物。在一个实施方案中,结合口袋至少由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108和K165定义。在一个实施方案中,结合口袋由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108、M109、G110、A157、V158、E163、L164和K165定义。在一个实施方案中,p38 α MAPK抑制剂是式A、I、II、1001-1180中任一个的化合物,特别是式1001 (SF-6-221) ,1032 (SF-7-008) ,1034 (SF-7-010) ,1035 (SF-7-011) ,1036 (SF-7-012) ,1037 (SF-6-217) ,1043 (SF-6-223) ,1049 (SF-6-224) ,1061 (SF-6-219) ,1085 (SF-6-222) ,SF-7-009和1087 (SF-7-044) 中任一个的化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂是p38 α MAPK选择性抑制剂。

[0196] 在一个实施方案中,本发明涉及一种治疗通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK蛋白而减轻的疾病的方法,包括以剂量单位形式向患者施用治疗有效量的p38 α MAPK抑制剂。在一个实施方案中,剂量单位包含生理学上相容的载体介质。

[0197] 在一个实施方案中,本发明涉及一种治疗通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK蛋白而减轻的疾病的方法,包括向患者施用治疗有效量的p38 α MAPK抑制剂,其中所述疾病是癌症或炎性疾病。在一些实施方案中,所述疾病是类风湿性关节炎、心血管疾病、多发性硬化、炎性肠病、慢性阻塞性肺病 (COPD) 、哮喘、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 或急性肺损伤 (ALI) 。在一个实施方案中,疾病是过度增殖性病症。在一些实施方案中,过度增殖性病症是癌症。在一些实施方案中,癌症是胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、淋巴瘤、皮肤癌、结肠癌、黑色素瘤、恶性黑色素瘤、卵巢癌、脑癌、原发性脑癌、头颈癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、肝癌、膀胱癌、非小细胞肺癌、头颈癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、小细胞肺癌、肾母细胞瘤、宫颈癌、睾丸癌、膀胱癌、胰腺癌、胃癌、结肠癌、前列腺癌、泌尿生殖系统癌、甲状腺癌、食道癌、骨髓瘤、多发性骨髓瘤、肾上腺癌、肾细胞癌、子宫内膜癌、肾上腺皮质癌、恶性胰腺胰岛素瘤、恶性类癌、绒毛膜癌、蕈样真菌病、恶性高钙血症、宫颈增生、白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性粒细胞白血病、急性粒细胞白血病、毛细胞白血病、神经母细胞瘤、横纹肌肉瘤、卡波西肉瘤、真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、软组织肉瘤、骨原性肉瘤、原发性巨球蛋白血症或视网膜母细胞瘤等。在其他实施方案中,癌症是听神经瘤、腺癌、血管肉瘤、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、支气管癌、宫颈癌、脊索瘤、绒毛膜癌、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、囊腺癌、胚胎癌、内皮癌、室管膜瘤、上皮癌、食道癌、尤文氏瘤、纤维肉瘤、胃癌、多形性胶质母细胞瘤、胶质瘤、头颈癌、血管母细胞瘤、肝细胞瘤、肾癌、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴管内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、髓样癌、髓母细胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、间皮瘤、粘液肉瘤、鼻癌、神经母细胞瘤、少突胶质细胞瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、乳头状腺癌、乳头状癌、松果体瘤、前列腺癌、横纹肌肉瘤、直肠癌、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、肉瘤、皮脂腺癌、精原细胞瘤、皮肤癌、鳞状细胞癌、胃癌、汗腺癌、滑膜瘤、睾丸癌、小细胞肺癌、喉癌、子宫癌、肾母细胞瘤、血癌、急性红白血病、急性淋巴细胞性B细胞白血病、急性淋巴细胞性T细胞白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性巨核细胞白血病、急性单核细胞白血病、急性粒细胞白血病、急性粒单核细胞白血病、急性非淋巴细胞性白血病、急性早幼粒细胞白血病、急性未分化白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性粒细胞白血病、毛细胞

白血病、多发性骨髓瘤、重链病、霍奇金病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、真性红细胞增多症或华氏巨球蛋白血症。

[0198] 在一些实施方案中,由本文所述的化合物和组合物治疗的过度增殖性病症(例如,癌症)包括具有p38 α MAPK蛋白和/或p38 α MAPK相关蛋白表达的细胞。

[0199] 在一个实施方案中,本发明涉及一种治疗通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK蛋白而减轻的疾病的方法,包括向患者施用治疗有效量的p38 α MAPK抑制剂,其中p38 α MAPK抑制剂是能够与p38 α MAPK的ED底物对接位点附近的口袋结合的化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,以及一种或多种其他治疗剂,包括化学治疗剂和/或免疫治疗剂。

[0200] 可以使用本领域已知和本文描述的各种模型测试本文描述的化合物和化合物的组合在治疗指定疾病或病症中的功效,这些模型为治疗人类疾病提供指导。任何和所有描述的治疗方法可以包括医学随访以确定在经历本文描述的化合物和/或组合物治疗的受试者中产生的治疗或预防效果。

[0201] 药物组合物

[0202] 在一个实施方案中,活性药物成分或活性药物成分的组合,例如本发明的任何p38 α MAPK抑制剂,作为药学上可接受的组合物提供。

[0203] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物组合物,其包含治疗有效量的用于治疗通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK活性而减轻的疾病的p38 α MAPK抑制剂或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药;和生理学上相容的载体介质;其中p38 α MAPK抑制剂是能够与p38 α MAPK的ED底物对接位点附近的口袋结合的化合物。在一个实施方案中,结合口袋至少由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108和K165定义。在一个实施方案中,结合口袋由p38 α MAPK中的残基R49、H107、L108、M109、G110、A157、V158、E163、L164和K165定义。在一个实施方案中,p38 α MAPK抑制剂是式A、I、II、1001-1180中任一个的化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009和1087(SF-7-044)中任一个的化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药。在一些实施方案中,p38 α MAPK抑制剂是p38 α MAPK选择性抑制剂。

[0204] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物组合物,其包含治疗有效量的用于治疗通过抑制有此需要的患者中的p38 α MAPK活性而减轻的疾病的p38 α MAPK抑制剂或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药;和生理学上相容的载体介质,其中所述疾病是癌症或炎性疾病。在一个实施方案中,所述疾病是类风湿性关节炎、心血管疾病、多发性硬化、炎性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或急性肺损伤(ALI)。在一个实施方案中,所述疾病是癌症,例如听神经瘤、腺癌、血管肉瘤、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、支气管癌、宫颈癌、脊索瘤、绒毛膜癌、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、囊腺癌、胚胎癌、内皮癌、室管膜瘤、上皮癌、食道癌、尤文氏瘤、纤维肉瘤、胃癌、多形性胶质母细胞瘤、胶质瘤、头颈癌、血管母细胞瘤、肝细胞瘤、肾癌、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴管内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、髓样癌、髓母细胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、间皮瘤、粘液肉瘤、鼻癌、神经母细胞瘤、少突胶质细胞瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、乳头状腺癌、乳头状癌、松果体瘤、前列腺癌、横纹肌肉瘤、直肠癌、肾细胞癌、视网膜母细胞

瘤、肉瘤、皮脂腺癌、精原细胞瘤、皮肤癌、鳞状细胞癌、胃癌、汗腺癌、滑膜瘤、睾丸癌、小细胞肺癌、喉癌、子宫癌、肾母细胞瘤、血癌、急性红白血病、急性淋巴细胞性B细胞白血病、急性淋巴细胞性T细胞白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性巨核细胞白血病、急性单核细胞性白血病、急性粒细胞性白血病、急性粒单核细胞性白血病、急性非淋巴细胞性白血病、急性早幼粒细胞性白血病、急性未分化白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性粒细胞性白血病、毛细胞白血病、多发性骨髓瘤、重链病、霍奇金病、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、真性红细胞增多症或华氏巨球蛋白血症。

[0205] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物中提供的每种活性药物成分的浓度例如小于药物组合物的100%,90%,80%,70%,60%,50%,40%,30%,20%,19%,18%,17%,16%,15%,14%,13%,12%,11%,10%,9%,8%,7%,6%,5%,4%,3%,2%,1%,0.5%,0.4%,0.3%,0.2%,0.1%,0.09%,0.08%,0.07%,0.06%,0.05%,0.04%,0.03%,0.02%,0.01%,0.009%,0.008%,0.007%,0.006%,0.005%,0.004%,0.003%,0.002%,0.001%,0.0009%,0.0008%,0.0007%,0.0006%,0.0005%,0.0004%,0.0003%,0.0002% or 0.0001% w/w, w/v或V/V,所述活性药物成分为例如本发明的任何p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物。

[0206] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物中提供的每种活性药物成分的浓度例如大于药物组合物的90%,80%,70%,60%,50%,40%,30%,20%,19.75%,19.50%,19.25%,19%,18.75%,18.50%,18.25%,18%,17.75%,17.50%,17.25%,17%,16.75%,16.50%,16.25%,16%,15.75%,15.50%,15.25%,15%,14.75%,14.50%,14.25%,14%,13.75%,13.50%,13.25%,13%,12.75%,12.50%,12.25%,12%,11.75%,11.50%,11.25%,11%,10.75%,10.50%,10.25%,10%,9.75%,9.50%,9.25%,9%,8.75%,8.50%,8.25%,8%,7.75%,7.50%,7.25%,7%,6.75%,6.50%,6.25%,6%,5.75%,5.50%,5.25%,5%,4.75%,4.50%,4.25%,4%,3.75%,3.50%,3.25%,3%,2.75%,2.50%,2.25%,2%,1.75%,1.50%,1.25%,1%,0.5%,0.4%,0.3%,0.2%,0.1%,0.09%,0.08%,0.07%,0.06%,0.05%,0.04%,0.03%,0.02%,0.01%,0.009%,0.008%,0.007%,0.006%,0.005%,0.004%,0.003%,0.002%,0.001%,0.0009%,0.0008%,0.0007%,0.0006%,0.0005%,0.0004%,0.0003%,0.0002% or 0.0001% w/w, w/v,或V/V,所述活性药物成分为例如本发明的任何p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009和1087(SF-7-044),中的任一个的化合物。

[0207] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物中提供的每种活性药物成分的浓度在药物组合物的约0.0001%至约50%、约0.001%至约40%、约0.01%至约30%、约0.02%至约29%、约0.03%至约28%、约0.04%至约27%、约0.05%至约26%、约0.06%至约25%、约0.07%至约24%、约0.08%至约23%、约0.09%至约22%、约0.1%至约21%、约0.2%至约

20%、约0.3%至约19%、约0.4%至约18%、约0.5%至约17%、约0.6%至约16%、约0.7%至约15%、约0.8%至约14%、约0.9%至约12%或约1%至约10%w/w、w/v或v/v范围内,所述活性药物成分为例如本发明的任何p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009和1087(SF-7-044),中的任一个的化合物。

[0208] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物中提供的每种活性药物成分的浓度在药物组合物的约0.001%至约10%、约0.01%至约5%、约0.02%至约4.5%、约0.03%至约4%、约0.04%至约3.5%、约0.05%至约3%、约0.06%至约2.5%、约0.07%至约2%、约0.08%至约1.5%、约0.09%至约1%、约0.1%至约0.9%w/w、w/v或v/v的范围内,所述活性药物成分为例如本发明的任何p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物。

[0209] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物中提供的每种活性药物成分的量等于或小于10g,9.5g,9.0g,8.5g,8.0g,7.5g,7.0g,6.5g,6.0g,5.5g,5.0g,4.5g,4.0g,3.5g,3.0g,2.5g,2.0g,1.5g,1.0g,0.95g,0.9g,0.85g,0.8g,0.75g,0.7g,0.65g,0.6g,0.55g,0.5g,0.45g,0.4g,0.35g,0.3g,0.25g,0.2g,0.15g,0.1g,0.09g,0.08g,0.07g,0.06g,0.05g,0.04g,0.03g,0.02g,0.01g,0.009g,0.008g,0.0007g,0.0006g,0.0005g,0.0004g,0.0003g,0.0002g,or 0.0001g,所述活性药物成分为例如本发明的前述p38 α MAP抑制剂中的任一种,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物。

[0210] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物中提供的每种活性药物成分的量大于0.0001g,0.0002g,0.0003g,0.0004g,0.0005g,0.0006g,0.0007g,0.0008g,0.0009g,0.001g,0.0015g,0.002g,0.0025g,0.003g,0.0035g,0.004g,0.0045g,0.005g,0.0055g,0.006g,0.0065g,0.007g,0.0075g,0.008g,0.0085g,0.009g,0.0095g,0.01g,0.015g,0.02g,0.025g,0.03g,0.035g,0.04g,0.045g,0.05g,0.055g,0.06g,0.065g,0.07g,0.075g,0.08g,0.085g,0.09g,0.095g,0.1g,0.15g,0.2g,0.25g,0.3g,0.35g,0.4g,0.45g,0.5g,0.55g,0.6g,0.65g,0.7g,0.75g,0.8g,0.85g,0.9g,0.95g,1g,1.5g,2g,2.5,3g,3.5,4g,4.5g,5g,5.5g,6g,6.5g,7g,7.5g,8g,8.5g,9g,9.5g,or 10g.,所述活性药物成分为例如本发明的任何p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物。

[0211] 根据本发明的每种活性药物成分在宽剂量范围内有效。例如,在成人的治疗中,范围独立地为每天0.01至1000mg、0.5至100mg、1至50mg和每天5至40mg的剂量是可以使用的

剂量的实例。确切的剂量将取决于施用途径、施用化合物的形式、待治疗受试者的性别和年龄、待治疗受试者的体重以及主治医师的偏好和经验。如果合适,也可以使用本发明的p38 α MAPK抑制剂的临床确定剂量。

[0212] 在一个实施方案中,药物组合物中两种活性药物成分的摩尔比在10:1至1:10的范围内,优选2.5:1至1:2.5,并且更优选约1:1。在一个实施方案中,药物组合物中两种活性药物成分的摩尔比的重量比选自由以下组成的群组:20:1,19:1,18:1,17:1,16:1,15:1,14:1,13:1,12:1,11:1,10:1,9:1,8:1,7:1,6:1,5:1,4:1,3:1,2:1,1:1,1:2,1:3,1:4,1:5,1:6,1:7,1:8,1:9,1:10,1:11,1:12,1:13,1:14,1:15,1:16,1:17,1:18,1:19,和1:20。在一个实施方案中,药物组合物中两种活性药物成分的摩尔比的重量比选自由以下组成的群组:20:1,19:1,18:1,17:1,16:1,15:1,14:1,13:1,12:1,11:1,10:1,9:1,8:1,7:1,6:1,5:1,4:1,3:1,2:1,1:1,1:2,1:3,1:4,1:5,1:6,1:7,1:8,1:9,1:10,1:11,1:12,1:13,1:14,1:15,1:16,1:17,1:18,1:19,和1:20。

[0213] 在一个实施方案中,本文所述的药物组合物,例如本发明的任何p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物,用于治疗炎性疾病。在一个实施方案中,本文所述的药物组合物,例如本发明的任何p38 α MAPK抑制剂,用于治疗类风湿性关节炎、心血管疾病、多发性硬化、炎性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或急性肺损伤(ALI)。

[0214] 在一个实施方案中,本文所述的药物组合物,例如本发明的任何p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物,用于治疗与p38 α MAPK蛋白的过表达或上调和/或下调相关的过度增殖性病症。在一些实施方案中,本文所述的药物组合物用于治疗与p38 α MAPK蛋白的过表达或上调和/或下调相关的癌症,例如胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、淋巴瘤、皮肤癌、结肠癌、黑色素瘤、恶性黑色素瘤、卵巢癌、脑癌、原发性脑癌、头颈癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、肝癌、膀胱癌、非小细胞肺癌、头颈癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、小细胞肺癌、肾母细胞瘤、宫颈癌、睾丸癌、膀胱癌、胰腺癌、胃癌、结肠癌、前列腺癌、泌尿生殖系统癌、甲状腺癌、食道癌、骨髓瘤、多发性骨髓瘤、肾上腺癌、肾细胞癌、子宫内膜癌、肾上腺皮质癌、恶性胰腺胰岛素瘤、恶性类癌、绒毛膜癌、蕈样真菌病、恶性高钙血症、宫颈增生、白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性粒细胞白血病、急性粒细胞白血病、毛细胞白血病、神经母细胞瘤、横纹肌肉瘤、卡波西肉瘤、真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、软组织肉瘤、骨原性肉瘤、原发性巨球蛋白血症或视网膜母细胞瘤。

[0215] 下面描述了非限制性药物组合物及其制备方法。

[0216] 用于口服施用的药物组合物

[0217] 在一个实施方案中,本发明提供一种用于口服施用的药物组合物,其含有活性药物成分或活性药物成分的组合,例如本文所述的p38 α MAPK抑制剂,以及适合口服施用的药

物赋形剂。

[0218] 在一些实施方案中,本发明提供一种用于口服施用的固体药物组合物,其含有:(i)有效量的活性药物成分或活性药物成分的组合,和(ii)适合口服施用的药物赋形剂。在选定的实施方案中,该组合物进一步含有(iii)有效量的第三活性药物成分,和任选地(iv)有效量的第四活性药物成分。

[0219] 在一些实施方案中,药物组合物可以是适合口服的液体药物组合物。适用于口服施用的本发明的药物组合物可以呈离散剂型,例如胶囊、小袋或片剂,或液体或气溶胶喷雾,各自含有预定量的活性成分,作为粉末或颗粒、溶液、或悬浮液(于水性或非水性液体中)、水包油乳剂、油包水液体乳剂、复溶粉剂、口服粉剂、瓶(包括瓶中的粉末或液体)、口服溶解薄膜、锭剂、糊剂、管、胶和包装。此类剂型可以通过任何药学方法制备,但所有方法都包括将活性成分与载体结合的步骤,载体构成一种或多种必要成分。通常,通过将活性成分与液体载体或细分散的固体载体或两者均匀且紧密地混合,然后,如果需要,将产品成型为所需的形式来制备组合物。例如,片剂可以通过压缩或模塑来制备,任选地与一种或多种辅助成分一起。压制片剂可以通过在合适的机器中压制自由流动形式例如粉末或颗粒的活性成分来制备,任选地与赋形剂混合,例如但不限于粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂和/或表面活性剂或分散剂。模制片剂可通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉末状混合物来制备。

[0220] 本发明还包括无水药物组合物和剂型,因为水可以促进某些化合物的降解。例如,在制药领域,可以添加水(例如,5%)作为模拟长期储存的手段,以确定诸如货架期或制剂随时间的稳定性的特性。本发明的无水药物组合物和剂型可以使用无水或含低水分成分和低水分或低湿度条件制备。如果预期在制造、包装和/或储存过程中大量接触水分和/或湿气,则含有乳糖的本发明的药物组合物和剂型可以制成无水的。可以制备和储存无水药物组合物使得保持其无水性质。因此,无水组合物可以使用已知的防止暴露于水的材料进行包装,使得它们可以包括在合适的处方试剂盒中。合适的包装的实例包括但不限于密封箔、塑料等、单位剂量容器、泡罩包装和条状包装。

[0221] 每种活性药物成分都可以根据常规药物复合技术与药物载体组合在紧密混合物中。根据施用所需的制剂形式,载体可以采用多种形式。在制备用于口服剂型的组合物时,可以使用任何常用的药物介质作为载体,在口服液体制剂(如悬浮液、溶液和酏剂)或气雾剂的情况下,药物介质为例如水、乙二醇、油、醇、调味剂、防腐剂、着色剂等;或者在口服固体制剂的情况下,可以使用载体例如淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、造粒剂、润滑剂、粘合剂和崩解剂,在一些实施方案中不使用乳糖。例如,在固体口服制剂的情况下,合适的载体包括粉剂、胶囊和片剂。如果需要,片剂可以通过标准的水性或非水性技术进行包衣。

[0222] 适用于药物组合物和剂型的粘合剂包括但不限于玉米淀粉、马铃薯淀粉或其他淀粉、明胶、天然和合成树胶如阿拉伯胶、海藻酸钠、海藻酸、其他海藻酸盐、黄蓍胶粉、瓜尔胶、纤维素及其衍生物(例如乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠)、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、预胶化淀粉、羟丙基甲基纤维素、微晶纤维素及其混合物。

[0223] 用于本文公开的药物组合物和剂型的合适填充剂的实例包括但不限于滑石、碳酸钙(例如,颗粒或粉末)、微晶纤维素、粉状纤维素、葡萄糖结合剂(dextrose)、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨糖醇、淀粉、预胶化淀粉及其混合物。

[0224] 崩解剂可用于本发明的组合物中以提供当暴露于水性环境时崩解的片剂。过多的崩解剂可能会产生在瓶中崩解的片剂。太少可能不足以发生崩解,从而改变活性成分从剂型中释放的速率和程度。因此,既不会太少也不会太多以不利地改变活性成分的释放的足够量的崩解剂可用于形成本文公开的化合物的剂型。所用崩解剂的量可根据制剂类型和施用方式而变化,并且对本领域普通技术人员来说是容易辨别的。药物组合物中可使用约0.5至约15重量%的崩解剂,或约1至约5重量%的崩解剂。可用于形成本发明的药物组合物和剂型的崩解剂包括但不限于琼脂、海藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、交聚维酮、波拉克林钾、羟基乙酸淀粉钠、马铃薯或木薯淀粉、其他淀粉、预胶化淀粉、其他淀粉、粘土、其他藻胶、其他纤维素、树胶或其混合物。

[0225] 可用于形成本发明药物组合物和剂型的润滑剂包括但不限于硬脂酸钙、硬脂酸镁、硬脂富马酸钠、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨糖醇、甘露醇、聚乙二醇、其他乙二醇、硬脂酸、月桂基硫酸钠、滑石、氢化植物油(例如花生油、棉籽油、葵花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、ethyl laurate、琼脂或其混合物。额外的润滑剂包括例如syloid硅胶、合成二氧化硅的凝结气溶胶、硅化微晶纤维素或它们的混合物。润滑剂可以任选地以小于药物组合物的约0.5%或小于药物组合物的约1% (按重量计) 的量加入。

[0226] 当需要水性悬浮液和/或酏剂用于口服施用时,活性药物成分可以与各种甜味剂或调味剂、着色剂或染料组合,并且如果需要,可以与乳化剂和/或悬浮剂组合,以及稀释剂如水、乙醇、丙二醇、甘油及其各种组合。

[0227] 片剂可以不包衣或通过已知技术包衣以延迟在胃肠道中的崩解和吸收,从而提供更长时间的持续作用。例如,可以使用延时材料,例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。用于口服使用的制剂也可以呈硬明胶胶囊,其中活性成分与惰性固体稀释剂混合,例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土,或呈软明胶胶囊,其中活性成分与水或油介质,例如花生油、液体石蜡或橄榄油混合。

[0228] 可用于形成本发明的药物组合物和剂型的表面活性剂包括但不限于亲水性表面活性剂、亲脂性表面活性剂及其混合物。即,可以使用亲水性表面活性剂的混合物,可以使用亲脂性表面活性剂的混合物,或者可以使用至少一种亲水性表面活性剂和至少一种亲脂性表面活性剂的混合物。

[0229] 合适的亲水性表面活性剂通常可具有至少10的HLB值,而合适的亲脂性表面活性剂可通常具有约10或小于约10的HLB值。用于表征非离子两亲化合物的相对亲水性和疏水性的经验参数是亲水亲油平衡(“HLB”值)。HLB值较低的表面活性剂更亲脂或疏水,并且在油中的溶解度更大,而HLB值较高的表面活性剂更亲水,并且在水溶液中的溶解度更大。亲水性表面活性剂通常被认为是那些HLB值大于约10的化合物,以及HLB标度通常不适用的阴离子、阳离子或两性离子化合物。类似地,亲脂性(即疏水性)表面活性剂是HLB值等于或小于约10的化合物。然而,表面活性剂的HLB值只是一个粗略的指导,通常用于实现工业、药物和化妆品乳剂的配制。

[0230] 亲水性表面活性剂可以是离子的或非离子的。合适的离子表面活性剂包括但不限于烷基铵盐;夫西地酸盐;氨基酸、寡肽和多肽的脂肪酸衍生物;氨基酸、寡肽和多肽的甘油酯衍生物;卵磷脂和氢化卵磷脂;溶血卵磷脂和氢化溶血卵磷脂;磷脂及其衍生物;溶血磷脂及其衍生物;肉碱脂肪酸酯盐;烷基硫酸酯的盐;脂肪酸盐;多库酯钠;酰基-乳酸酯;单-

和二-甘油酯的单-和二-乙酰化酒石酸酯；琥珀酰化单-和二-甘油酯；单-和二-甘油酯的柠檬酸酯；及其混合物。

[0231] 在上述群组中，离子表面活性剂包括，例如：卵磷脂、溶血卵磷脂、磷脂、溶血磷脂及其衍生物；肉碱脂肪酸酯盐；烷基硫酸酯的盐；脂肪酸盐；多库酯钠；酰基-乳酸酯；单-和二-甘油酯的单-和二-乙酰化酒石酸酯；琥珀酰化单-和二-甘油酯；单-和二-甘油酯的柠檬酸酯；及其混合物。

[0232] 离子表面活性剂可以是卵磷脂、溶血卵磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酸、磷脂酰丝氨酸、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺、溶血磷脂酰甘油、溶血磷脂酸、溶血磷脂酰丝氨酸、PEG-磷脂酰乙醇胺、PVP-磷脂酰乙醇胺、脂肪酸的乳酸酯、硬脂酰2-乳酸酯、硬脂酰乳酸酯、琥珀酰化单甘油酯、单/二甘油酯的单/二乙酰化酒石酸酯、单/二甘油酯的柠檬酸酯、胆酰肌氨酸、己酸酯、辛酸酯、癸酸酯、月桂酸酯、肉豆蔻酸酯、棕榈酸酯、油酸酯、蓖麻醇酸酯、亚油酸酯、亚麻酸酯、硬脂酸酯、月桂基硫酸酯、十四烷基硫酸酯、多库酯、月桂酰肉碱、棕榈酰肉碱、肉豆蔻酰肉碱及其盐和混合物的离子化形式。

[0233] 亲水性非离子表面活性剂可包括但不限于烷基葡萄糖苷；烷基麦芽糖苷；烷基硫代葡萄糖苷；月桂基聚氧乙烯甘油酯；聚氧化烯烷基醚，如聚乙二醇烷基醚；聚氧化烯烷基酚，如聚乙二醇烷基酚；聚氧化烯烷基酚脂肪酸酯，如聚乙二醇脂肪酸单酯和聚乙二醇脂肪酸二酯；聚乙二醇甘油脂肪酸酯；聚甘油脂肪酸酯；聚氧化烯脱水山梨糖醇脂肪酸酯，如聚乙二醇脱水山梨糖醇脂肪酸酯；多元醇与由甘油酯、植物油、氢化植物油、脂肪酸和甾醇组成的群组中的至少一个成员的亲水性酯交换产物；聚氧乙烯甾醇、其衍生物和类似物；聚氧乙烯化维生素及其衍生物；聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物；及其混合物；聚乙二醇脱水山梨糖醇脂肪酸酯和多元醇与由甘油三酯、植物油和氢化植物油组成的群组中的至少一个成员的亲水性酯交换产物。多元醇可以是甘油、乙二醇、聚乙二醇、山梨糖醇、丙二醇、季戊四醇或糖。

[0234] 其他亲水性非离子表面活性剂包括但不限于PEG-10月桂酸酯、PEG-12月桂酸酯、PEG-20月桂酸酯、PEG-32月桂酸酯、PEG-32二月桂酸酯、PEG-12油酸酯、PEG-15油酸酯、PEG-20油酸酯、PEG-20二油酸酯、PEG-32油酸酯、PEG-200油酸酯、PEG-400油酸酯、PEG-15硬脂酸酯、PEG-32二硬脂酸酯、PEG-40硬脂酸酯、PEG-100硬脂酸酯、PEG-20二月桂酸酯、PEG-25三油酸甘油酯、PEG-32二油酸酯、PEG-20月桂酸甘油酯、PEG-30月桂酸甘油酯、PEG-20硬脂酸甘油酯、PEG-20油酸甘油酯、PEG-30油酸甘油酯、PEG-30月桂酸甘油酯、PEG-40月桂酸甘油酯、PEG-40棕榈仁油、PEG-50氢化蓖麻油、PEG-40蓖麻油、PEG-35蓖麻油、PEG-60蓖麻油、PEG-40氢化蓖麻油、PEG-60氢化蓖麻油、PEG-60玉米油、PEG-6癸酸/辛酸甘油酯、PEG-8癸酸/辛酸甘油酯、聚甘油-10月桂酸酯、PEG-30胆固醇、PEG-25植物甾醇、PEG-30大豆甾醇、PEG-20三油酸酯、PEG-40脱水山梨糖醇油酸酯、PEG-80脱水山梨糖醇月桂酸酯、聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、POE-9月桂基醚、POE-23月桂基醚、POE-10油基醚、POE-20油基醚、POE-20硬脂基醚、生育酚PEG-100琥珀酸酯、PEG-24胆固醇、聚甘油-10油酸酯、吐温40、吐温60、蔗糖单硬脂酸酯、蔗糖单月桂酸酯、蔗糖单棕榈酸酯、PEG 10-100壬基苯酚系列、PEG 15-100辛基苯酚系列和泊洛沙姆。

[0235] 合适的亲脂性表面活性剂包括，仅作为实例：脂肪醇；甘油脂肪酸酯；乙酰化甘油脂肪酸酯；低级醇脂肪酸酯；丙二醇脂肪酸酯；脱水山梨糖醇脂肪酸酯；聚乙二醇脱水山梨

糖醇脂肪酸酯；甾醇和甾醇衍生物；聚氧乙烯甾醇和甾醇衍生物；聚乙二醇烷基醚；糖酯；糖醚；单-甘油酯和二-甘油酯的乳酸衍生物；多元醇与由甘油酯、植物油、氢化植物油、脂肪酸和甾醇组成的群组中的至少一个成员的疏水性酯交换产物；油溶性维生素/维生素衍生物；及其混合物。在该群组中，优选的亲脂性表面活性剂包括甘油脂肪酸酯、丙二醇脂肪酸酯及其混合物，或者是多元醇与由植物油、氢化植物油和甘油三酯组成的群组中的至少一个成员的疏水性酯交换产物。

[0236] 在一个实施方案中，组合物可包含增溶剂以确保本发明化合物的良好增溶和/或溶解并使本发明化合物的沉淀最小化。这对于非口服使用的组合物-例如注射用组合物尤其重要。也可加入增溶剂以增加亲水性药物和/或其他组分如表面活性剂的溶解度，或将组合物保持为稳定或均匀的溶液或分散体。

[0237] 合适的增溶剂的实例包括但不限于以下：醇和多元醇，例如乙醇、异丙醇、丁醇、苯甲醇、乙二醇、丙二醇、丁二醇及其异构体、甘油、季戊四醇、山梨糖醇、甘露醇、还氧二元醇（transcutol）、异山梨醇二甲醚、聚乙二醇、聚丙二醇、聚乙烯醇、羟丙基甲基纤维素和其他纤维素衍生物、环糊精和环糊精衍生物；平均分子量为约200至约6000的聚乙二醇醚，如四氢糠醇PEG醚（glycofurool）或甲氧基PEG；酰胺和其他含氮化合物，例如2-吡咯烷酮、2-哌啶酮、 ϵ -己内酰胺、N-烷基吡咯烷酮、N-羟基烷基吡咯烷酮、N-烷基哌啶酮、N-烷基己内酰胺、二甲基乙酰胺和聚乙烯吡咯烷酮；酯，例如丙酸乙酯、柠檬酸三丁酯、柠檬酸乙酰基三乙酯、柠檬酸乙酰基三丁酯、柠檬酸三乙酯、油酸乙酯、辛酸乙酯、丁酸乙酯、三醋精、丙二醇单乙酸酯、丙二醇二乙酸酯、 ϵ -己内酯及其异构体、 δ -戊内酯及其异构体、 β -丁内酯及其异构体；和本领域已知的其他增溶剂，例如二甲基乙酰胺、异山梨醇二甲醚、N-甲基吡咯烷酮、单辛精、二乙二醇单乙基醚和水。

[0238] 也可以使用增溶剂的混合物。实例包括但不限于三醋精、柠檬酸三乙酯、油酸乙酯、辛酸乙酯、二甲基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮、N-羟乙基吡咯烷酮、聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基甲基纤维素、羟丙基环糊精、乙醇、聚乙二醇200-100、糖原质、还氧二元醇、丙二醇和异山梨醇二甲醚。特别优选的增溶剂包括山梨糖醇、甘油、三醋精、乙醇、PEG-400、糖原质和丙二醇。

[0239] 可以包含的增溶剂的量没有特别限制。给定增溶剂的量可限于生物可接受的量，其可由本领域技术人员容易地确定。在一些情况下，包括远超过生物可接受量的增溶剂的量可能是有利的，例如以最大化药物的浓度，在将组合物提供给患者之前使用常规技术例如蒸馏或蒸发去除过量的增溶剂。因此，如果存在，基于药物和其他赋形剂的组合重量，增溶剂的重量比可以为10重量%、25重量%、50重量%、100重量%或高达约200重量%。如果需要，也可以使用非常少量的增溶剂，例如5%、2%、1%或甚至更少。通常，增溶剂可以约1重量%至约100重量%，更通常约5重量%至约25重量%的量存在。

[0240] 该组合物还可包括一种或多种药学上可接受的添加剂和赋形剂。此类添加剂和赋形剂包括但不限于防粘剂、消泡剂、缓冲剂、聚合物、抗氧化剂、防腐剂、螯合剂、粘度调节剂、张力剂、调味剂、着色剂、增味剂、遮光剂、悬浮剂、粘合剂、填充剂、增塑剂、润滑剂，以及它们的混合物。

[0241] 此外，可将酸或碱掺入组合物中以促进加工、增强稳定性或用于其他原因。药学上可接受的碱的实例包括氨基酸、氨基酸酯、氢氧化铵、氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸氢钠、氢氧

化铝、碳酸钙、氢氧化镁、硅酸铝镁、合成硅酸铝、合成二水方解石、氢氧化铝镁、二异丙基乙胺、乙醇胺、乙二胺、三乙醇胺、三乙胺、三异丙醇胺、三甲胺、三(羟甲基)氨基甲烷(TRIS)等。还合适的是作为药学上可接受的酸的盐的碱,例如乙酸、丙烯酸、己二酸、海藻酸、烷磺酸、氨基酸、抗坏血酸、苯甲酸、硼酸、丁酸、碳酸、柠檬酸、脂肪酸、甲酸、富马酸、葡萄糖酸、对苯二酚磺酸、异抗坏血酸、乳酸、马来酸、草酸、对溴苯磺酸、丙酸、对甲苯磺酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、鞣酸、酒石酸、巯基乙酸、甲苯磺酸、尿酸等。也可以使用多元酸的盐,例如磷酸钠、磷酸氢二钠和磷酸二氢钠。当碱是盐时,阳离子可以是任何方便的和药学上可接受的阳离子,例如铵、碱金属和碱土金属。实例可包括但不限于钠、钾、锂、镁、钙和铵。

[0242] 合适的酸是药学上可接受的有机或无机酸。合适的无机酸的实例包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、硼酸、磷酸等。合适的有机酸的实例包括乙酸、丙烯酸、己二酸、海藻酸、烷磺酸、氨基酸、抗坏血酸、苯甲酸、硼酸、丁酸、碳酸、柠檬酸、脂肪酸、甲酸、富马酸、葡萄糖酸、对苯二酚磺酸、异抗坏血酸、乳酸、马来酸、甲磺酸、草酸、对溴苯基磺酸、丙酸、对甲苯磺酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、鞣酸、酒石酸、巯基乙酸、甲苯磺酸和尿酸。

[0243] 注射用药物组合物

[0244] 在一些实施方案中,提供了一种用于注射的药物组合物,其含有活性药物成分或活性药物成分的组合,例如p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中任一个的任何化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物,以及适合注射的药物赋形剂。

[0245] 可以掺入本发明的组合物以通过注射使用的形式包括水或油悬浮液或乳剂,含有芝麻油、玉米油、棉籽油或花生油,以及酏剂、甘露醇、葡萄糖或无菌水溶液和类似的药物媒介物。

[0246] 盐水中的水溶液通常也用于注射。也可以使用乙醇、甘油、丙二醇和液体聚乙二醇(及其合适的混合物)、环糊精衍生物和植物油。适当的流动性可以例如通过使用包衣如卵磷脂以在分散体的情况下维持所需的粒度以及通过使用表面活性剂来保持。各种抗细菌剂和抗真菌剂可以防止微生物的作用,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸和硫柳汞。

[0247] 无菌可注射溶液通过将所需量的活性药物成分或活性药物成分的组合与上面列举的各种其他成分掺入适当的溶剂中,根据需要,然后过滤灭菌来制备。通常,分散体通过将各种灭菌的活性成分掺入含有基本分散介质和来自上述列举的那些的所需其他成分的无菌媒介物中来制备。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,某些期望的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,它们从其先前无菌过滤的溶液中产生活性成分加上任何额外的所需成分的粉末。

[0248] 用于局部递送的药物组合物

[0249] 在一些实施方案中,提供一种用于透皮递送的药物组合物,其含有活性药物成分或活性药物成分的组合,例如本文所述的p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中任一个的任何化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物,以及适

合透皮递送的药物赋形剂。

[0250] 本发明的组合物可以配制成适合局部或局部施用的固体、半固体或液体形式的制剂,例如凝胶、水溶性凝胶剂、乳膏、洗剂、悬浮液、泡沫、粉剂、浆剂、软膏、溶液、油、糊剂、栓剂、喷雾、乳剂、盐水溶液、基于二甲基亚砜(DMSO)的溶液。通常,具有较高密度的载体能够提供长时间暴露于活性成分的区域。相反,溶液制剂可以使活性成分更直接地暴露于所选区域。

[0251] 药物组合物还可以包含合适的固体或凝胶相载体或赋形剂,它们是允许增加治疗分子穿过皮肤角质层渗透屏障的渗透或帮助治疗分子穿过皮肤角质层渗透屏障的递送的化合物。局部制剂领域的受训人员已知多种这些渗透增强分子。此类载体和赋形剂的实例包括但不限于湿润剂(例如尿素)、二醇(例如丙二醇)、醇(例如乙醇)、脂肪酸(例如油酸)、表面活性剂(例如肉豆蔻酸异丙基酯和月桂基硫酸钠)、吡咯烷酮、单月桂酸甘油酯、亚砜、萜烯(例如薄荷醇)、胺、酰胺、烷烃、烷醇、水、碳酸钙、磷酸钙、各种糖、淀粉、纤维素衍生物、明胶和聚合物如聚乙二醇。

[0252] 用于本发明方法的另一种示例性制剂采用透皮递送装置(“贴剂”)。此类透皮贴剂可用于提供受控量的活性药物成分或活性药物成分的组合(有或没有另一种活性药物成分)的连续或不连续输注。

[0253] 用于递送药剂的透皮贴剂的构造和使用是本领域公知的。参见,例如,美国专利第5,023,252;4,992,445;和5,001,139号,其全部内容通过引用并入本文。此类贴剂可构造用于连续、脉动或按需递送药剂。

[0254] 吸入用药物组合物

[0255] 用于吸入或吹入的组合物包括在药学上可接受的水性或有机溶剂或其混合物中的溶液和悬浮液,以及粉末。液体或固体组合物可含有如上文所述的合适的药学上可接受的赋形剂和本文所述的p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物。优选地,组合物通过口或鼻呼吸途径施用以用于局部或全身作用。在优选药学上可接受的溶剂中的组合物可以通过使用惰性气体雾化。雾化溶液可以直接从雾化装置吸入,或者雾化装置可以连接到面罩(face mask tent)或间歇性正压呼吸机。溶液、悬浮液或粉末组合物可以从以适当方式递送制剂的装置施用,优选口服或鼻施用。干粉吸入器也可用于提供组合物的吸入递送。

[0256] 其他药物组合物

[0257] 本文所述的p38 α MAPK抑制剂的药物组合物,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物,也可以由本文所述的组合物和一种或多种适用于舌下、口腔、直肠、骨内、眼内、鼻内、硬膜外或脊柱内施用的药学上可接受的赋形剂制备。此类药物组合物的制剂是本领域公知的。参见例如,Anderson, Philip O.; Knoben, James E.; Troutman, William G编辑,《临床药物数据手册(Handbook of Clinical Drug Data)》,第十版,McGraw-Hill,2002;和Pratt和Taylor编

辑,《药物作用原理(Principles of Drug Action)》,第三版,Churchill Livingston, N.Y., 1990,其各自通过引用以其整体并入本文。

[0258] 活性药物成分或活性药物成分的组合或其药物组合物的施用可以通过能够将化合物递送至作用部位的任何方法来实现。这些方法包括口服途径、十二指肠内途径、肠胃外注射(包括静脉内、动脉内、皮下、肌内、血管内、腹膜内或输注)、局部(例如透皮应用)、直肠施用、通过导管或支架局部递送或通过吸入。活性药物成分或活性药物成分的组合也可以脂肪内或鞘内施用。

[0259] 示例性肠胃外施用形式包括活性化合物在无菌水溶液中的溶液或悬浮液,例如丙二醇或葡萄糖水溶液。如果需要,此类剂型可以被适当地缓冲。

[0260] 试剂盒

[0261] 本发明还提供试剂盒。试剂盒包括单独或组合在合适的包装中的活性药物成分或活性药物成分的组合,以及书面材料,其可包括使用说明、临床研究讨论和副作用列表。此类试剂盒还可包括信息,例如科学文献参考、包装插页材料、临床试验结果和/或这些的总结等,其指示或确定组合物的活性和/或优势,和/或描述剂量、施用、副作用、药物相互作用或其他对医疗保健提供者有用的信息。此类信息可能基于各种研究的结果,例如使用涉及体内模型的实验动物的研究和基于人类临床试验的研究。该试剂盒可以进一步含有另一种活性药物成分。在选定的实施方案中,活性药物成分或活性药物成分的组合在试剂盒内的单独容器中作为单独的组合物提供。在选定的实施方案中,活性药物成分或活性药物成分的组合作为试剂盒中容器内的单一组合物提供。合适的包装和使用的附加制品(例如,用于液体制剂的量杯、最小化暴露于空气的箔包装等)是本领域已知的并且可以包括在试剂盒中。本文所述的试剂盒可以提供、销售和/或推广给健康提供者,包括医生、护士、药剂师、处方管理人员等。在选定的实施方案中,试剂盒也可以直接销售给消费者。

[0262] 在一些实施方案中,本发明提供一种包含组合物的试剂盒,所述组合物包含治疗有效量的活性药物成分(例如,p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物),或活性药物成分的组合或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药。这些组合物通常是药物组合物。该试剂盒用于同时或单独地共同施用活性药物成分或活性药物成分的组合。

[0263] 在一些实施方案中,本发明提供了一种试剂盒,其包含(1)组合物,该组合物包含治疗有效量的活性药物成分(例如,p38 α MAPK抑制剂,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物),或活性药物成分的组合或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶或前药,以及(2)用于确定患者癌症是否是癌症的特定亚型的诊断测试。在试剂盒中可以使用任何前述诊断方法。

[0264] 上述试剂盒优先用于治疗本文所述的疾病和病况。在一些实施方案中,试剂盒用于治疗炎性疾病。在一些实施方案中,试剂盒用于治疗类风湿性关节炎、心血管疾病、多发性硬化、炎性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或急性肺损

伤(ALI)。在一个特定的实施方案中,试剂盒用于治疗过度增殖性病症,例如癌症。

[0265] 在一个特定的实施方案中,本文所述的试剂盒用于治疗癌症。在一些实施方案中,本文所述的试剂盒用于治疗癌症,所述癌症选自由以下组成的群组:胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、淋巴瘤、皮肤癌、结肠癌、黑色素瘤、恶性黑色素瘤、卵巢癌、脑癌、原发性脑癌、头颈癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、肝癌、膀胱癌、非小细胞肺癌、头颈癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、小细胞肺癌、肾母细胞瘤、宫颈癌、睾丸癌、膀胱癌、胰腺癌、胃癌、结肠癌、前列腺癌、泌尿生殖系统癌、甲状腺癌、食道癌、骨髓瘤、多发性骨髓瘤、肾上腺癌、肾细胞癌、子宫内膜癌、肾上腺皮质癌、恶性胰腺胰岛素瘤、恶性类癌、绒毛膜癌、蕈样真菌病、恶性高钙血症、宫颈增生、白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性粒细胞白血病、急性粒细胞白血病、毛细胞白血病、神经母细胞瘤、横纹肌肉瘤、卡波西肉瘤、真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、软组织肉瘤、骨原性肉瘤、原发性巨球蛋白血症和视网膜母细胞瘤。在特定实施方案中,本文所述的试剂盒用于治疗恶性黑色素瘤。

[0266] 剂量和给药方案

[0267] 使用本文的方法施用的药物组合物的量,例如p38 α MAPK抑制剂的剂量,例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物的剂量,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物的剂量,将取决于所治疗的人类或哺乳动物、病症或病况的严重程度、施用速率、活性药物成分的分布以及处方医师的判断力。然而,有效剂量范围为每天每kg体重约0.001至约100mg,例如约1至约35mg/kg/天,以单或分剂量。对于70kg的人,这将等于约0.05至7g/天,例如约0.05至约2.5g/天。在某些情况下,低于上述范围下限的剂量水平可能绰绰有余,而在其他情况下,仍可以使用更大的剂量而不会引起任何有害的副作用-例如,将此类较大的剂量分成几个小剂量以用于全天施用。药物组合物和活性药物成分的剂量可以以mg/kg体重或以mg/m²体表面积为单位提供。

[0268] 在一些实施方案中,本发明包括治疗患有癌症的人类受试者的癌症的方法,其中癌细胞过度表达p38 α MAPK,该方法包括向人类受试者施用治疗有效剂量的活性药物成分的步骤,所述活性药物成分是p38 α MAPK抑制剂,例如,式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物。

[0269] 在一些实施方案中,本发明包括治疗患有癌症的人类受试者的癌症的方法,其中癌细胞过度表达p38 α MAPK,该方法包括向人类受试者施用治疗有效剂量的活性药物成分以抑制或降低p38 α MAPK蛋白的活性的步骤,所述活性药物成分是p38 α MAPK抑制剂,例如,式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001(SF-6-221),1032(SF-7-008),1034(SF-7-010),1035(SF-7-011),1036(SF-7-012),1037(SF-6-217),1043(SF-6-223),1049(SF-6-224),1061(SF-6-219),1085(SF-6-222),SF-7-009,和1087(SF-7-044)中的任一个的化合物。

[0270] 在一些实施方案中,药物组合物或活性药物成分以单剂量施用。此类施用可以通

过注射,例如静脉内注射进行,以快速引入活性药物成分。然而,可以在适当时使用其他途径,包括优选的口服途径。单剂量的药物组合物也可用于治疗急性病况。

[0271] 在一些实施方案中,以多剂量施用药物组合物或活性药物成分。在一个实施方案中,以多剂量施用药物组合物。给药可以是每天一次、两次、三次、四次、五次、六次或多于六次。给药可以是每月一次、每两周一次、每周一次或每两天一次。在其他实施方案中,药物组合物以约每天一次至约每天6次施用。在一些实施方案中,药物组合物每天一次施用,而在其他实施方案中,药物组合物每天两次施用,并且在其他实施方案中,药物组合物每天三次施用。

[0272] 活性药物成分的施用可根据需要持续足够长的时间。在选定的实施方案中,药物组合物施用超过1、2、3、4、5、6、7、14或28天。在一些实施方案中,药物组合物施用少于28、14、7、6、5、4、3、2或1天。在一些实施方案中,在持续的基础上长期施用药物组合物-例如,用于治疗慢性作用。在一些实施方案中,药物组合物的施用持续少于约7天。在又一个实施方案中,施用持续超过约6、10、14、28天、两个月、六个月或一年。在某些情况下,根据需要实现并保持连续连续给药。

[0273] 在一些实施方案中,本文公开的活性药物成分的有效剂量在约1mg至约500mg、约10mg至约300mg、约20mg至约250mg、约25mg至约200mg、约10mg至约200mg、约20mg至约150mg、约30mg至约120mg、约10mg至约90mg、约20mg至约80mg、约30mg至约70mg、约40mg至约60mg、约45mg至约55mg、约48mg至约52mg、约50mg至约150mg、约60mg至约140mg、约70mg至约130mg、约80mg至约120mg、约90mg至约110mg、约95mg至约105mg、约150mg至约250mg、约160mg至约240mg、约170mg至约230mg、约180mg至约220mg、约190mg至约210mg、约195mg至约205mg或约198至约202mg的范围内,所述活性药物成分为例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001 (SF-6-221) ,1032 (SF-7-008) ,1034 (SF-7-010) ,1035 (SF-7-011) ,1036 (SF-7-012) ,1037 (SF-6-217) ,1043 (SF-6-223) ,1049 (SF-6-224) ,1061 (SF-6-219) ,1085 (SF-6-222) ,SF-7-009,和1087 (SF-7-044) 中的任一个的化合物。在一些实施方案中,本文公开的活性药物成分的有效剂量小于约25mg、小于约50mg、小于约75mg、小于约100mg、小于约125mg、小于约150mg、小于约175mg、小于约200mg、小于约225mg或小于约250mg。在一些实施方案中,本文公开的活性药物成分的有效剂量大于约25mg、大于约50mg、大于约75mg、大于约100mg、大于约125mg、大于约150mg、大于约175mg、大于约200mg、大于约225mg或大于约250mg。

[0274] 在一些实施方案中,本文公开的活性药物成分的有效剂量在约0.01mg/kg至约200mg/kg、或约0.1至100mg/kg,或约1至50mg/kg的范围内,所述活性药物成分为例如式A、I、II、1001-1180中的任一个的任一化合物,特别是式1001 (SF-6-221) ,1032 (SF-7-008) ,1034 (SF-7-010) ,1035 (SF-7-011) ,1036 (SF-7-012) ,1037 (SF-6-217) ,1043 (SF-6-223) ,1049 (SF-6-224) ,1061 (SF-6-219) ,1085 (SF-6-222) ,SF-7-009,和1087 (SF-7-044) 中的任一个的化合物。

[0275] 在一些实施方案中,活性药物成分以10至200mg BID的剂量施用,包括50、60、70、80、90、100、150或200mg BID。在一些实施方案中,活性药物成分以10至500mg BID的剂量施用,包括1、5、10、15、25、50、75、100、150、200、300、400或500mg BID。

[0276] 在某些情况下,低于上述范围下限的剂量水平可能绰绰有余,而在其他情况下,仍

可以使用更大的剂量而不会引起任何有害的副作用,例如,将此类较大的剂量分成几个小剂量以用于全天施用。当然,如本领域技术人员将理解的,实际施用的剂量将取决于所治疗的病况、接受者的年龄、健康状况和体重、同时治疗的类型(如果有的话)和治疗的频率。此外,有效剂量可由本领域技术人员在常规经验活性测试的基础上确定,以在生物测定中测量化合物的生物活性,从而确定合适的施用剂量。

[0277] 有效量的活性药物成分的组合可以通过任何可接受的具有相似效用的药剂的施用方式以单剂量或多剂量施用,包括直肠、口腔、鼻内和透皮途径、通过动脉内注射、静脉内、腹膜内、肠胃外、肌内、皮下、口服、局部或作为吸入剂。

[0278] 在一些实施方案中,本文所述的组合物进一步包括用于施用本文所述的化合物的控释、缓释或延长释放治疗剂型,其涉及在某些组合物的形成中将化合物掺入合适的递送系统中。该剂型以一定方式控制化合物的释放,该方式使得可以在延长的时间段内维持血流中化合物的有效浓度,同时血液中的浓度保持相对恒定,以改善治疗结果和/或最小化副作用。此外,控释系统将提供化合物血浆水平的最小峰谷波动。

[0279] 以下实例更详细地描述了本发明。提供这些实例仅用于说明目的,并且决不应认为是对本发明的限制。

[0280] 实施例

[0281] 材料和方法

[0282] 化学品、重组蛋白和抗体:小鼠抗人p38 α 和兔抗含磷MK2 (T222) 和含磷Stat-1 (S727) 购自Cell Signaling Technology (Danvers, MA)。人p38 α 变体2和p38 β (带有N末端HA标签) 的编码序列通过PCR扩增并克隆到pRSetA (Thermo Fisher) 中。使用Quikchange (Stratagene) 将突变引入p38 α 并通过双向测序确认。质粒在大肠杆菌BL21中转化,并且蛋白质使用钴柱 (TALONTM; Clontech Laboratories; Mountain View, CA) 纯化,并通过SDS-PAGE和蛋白质印迹确认。CADD筛选中鉴定的化合物购自Maybridge Chemical Co. (Belgium)。

[0283] 先导化合物的CADD鉴定(图1D):基于小鼠p38 α /MAPK14 (PDB ID:1P38) 的X射线晶体结构,逐步迭代CADD过程用于筛选小分子化合物计算机数据库的在ED底物结合位点附近的口袋中结合的潜力,该数据库可从Maybridge Chemical Screening Collection获得(图1A和图1B)。使用CHARMM36和一般 (CGenFF) 力场与纳米分子动力学 (NAMD) 程序进行p38 α 构象的计算机制备,以识别局部潜在的配体结合口袋。对蛋白质结构进行聚类以鉴定20种代表性蛋白质构象,以说明蛋白质的灵活性。筛选分以下几个阶段进行:(1) 鉴定潜在的抑制剂结合位点;(2) 利用基于大小的分数归一化使用程序DOCK,基于其与蛋白质结合口袋的范德华 (VDW) 和静电相互作用能对化合物进行排序;(3) 在模拟结合期间对前50,000个化合物进行第二次计算机筛选,另外松弛配体,并基于总相互作用能选择前1,000个化合物,包括基于配体大小的分数归一化;(4) 使用MOE (Chemical Computing Group) 程序对得分靠前的化合物进行基于化学指纹的聚类分析,以识别化学上不同的化合物,并基于标量生物利用度度量4DBA选择潜在p38 α 相互作用化合物的最终列表,这解释了利平斯基五原则中的物理化学描述符。

[0284] 小鼠未磷酸化p38 α /MAPK14变体1与其人类变体2仅在两个氨基酸H48L和A263T上有所不同,并与小鼠变体2和人类变体1仅在残基230和254之间的14个氨基酸上有所不同。

预测这些氨基酸差异和p38 α 的磷酸化状态(图1C)都不会显著改变CD或ED位点的结构或我们的靶向CADD,从而验证小鼠未磷酸化p38 α 变体-1用于CADD搜索和未磷酸化重组人p38 α 变体-2蛋白用于DSF筛选的用途。

[0285] 配体竞争饱和位点识别(SILCS):使用配体竞争饱和位点识别(SILCS)法(图6,潜在结合位点为绿色)完成p38 α 中所有潜在配体结合口袋的计算机图,包括ED位点靶标。SILCS方法创建p38 α 的官能团相互作用模式的自由能图(grid自由能;GFE FragMaps),允许识别假定的结合位点和配体与各种p38 α 位点(配体GFE或LGFE)结合的快速自由能估计。SILCS GFE FragMaps考虑了蛋白质的灵活性、蛋白质去溶剂化、官能团去溶剂化以及官能团-蛋白质相互作用,从而产生用于数据库筛选和先导化合物优化的高度准确的蛋白质图。任何化合物数据库的逐步计算机CADD筛选都从SILCS药效团方法开始,该方法考虑了蛋白质的灵活性。二级筛选基于MC SILCS方法,根据该方法计算结合的相对自由能。基于化学多样性、最大化吸收、分布、代谢和排泄(ADME)特征的理化特性和化学优化潜力的最终筛选生成用于测试选择性p38 α 结合和生物活性的化合物列表。使用基于先导化合物的蛋白质组学和结构分析修改的CADD策略进行其他轮筛选。使用MOE程序(Chemical Computing Group)在数据库中搜索前几轮先导化合物的结构类似物。

[0286] 替代的CADD方法:程序Dock可与基于Dock范德华(vdW)相互作用能的评分(针对分子量(MW)归一化)一起使用。该方法识别在空间上适合结合位点的化合物,同时偏向于低MW化合物。化合物的其他排序使用普适线性响应方法,并包括基于隐式溶剂普适波恩(GB)模型的溶剂化自由能。

[0287] 替代的p38 α 靶标:可以更改搜索策略以靶向CD或DEF位点。由于DEF口袋的形成需要p38 α 激活,因此双磷酸化p38 α 用于其DSF筛选。

[0288] 差示扫描荧光法(DSF):CADD选择的化合物与p38 α 和 β 同种型的结合使用DSF进行实验测试,DSF评价由于与测试化合物的相互作用而导致的目标蛋白质熔化温度(ΔT_m)的变化。将SYPRO橙(Invitrogen;在10mM HEPES,150mM NaCl,pH 7.5中按1:1000稀释)和1 μ M未磷酸化的重组人p38 α 加入到96孔PCR板,然后加入在100%DMSO中的50nM至200 μ M测试化合物(最终DMSO浓度为2%),将板混合、密封、以1000rpm离心1分钟,并使用Applied Biosystems实时PCR仪器绘制熔化曲线。熔点由一阶导数曲线确定。此外,还使用p38 β 或靶标破坏的p38 α 突变体。

[0289] 尽管DSF不如其他配体:蛋白质结合测定灵敏,但它成本低且通量相对高。DSF检测到筛选的25%的CADD鉴定化合物结合p38 α 和10%的CADD鉴定化合物选择性结合p38 α ,证明了CADD和DSF筛选策略均具有良好效率。CADD搜索底物选择性p38 α 抑制剂的10%命中率与底物选择性ERK抑制剂的搜索相似,并且远高于仅使用实验筛选时通常的0.1-0.01%命中率。

[0290] 细胞培养:HMVECL购自Promocell (Heidelberg, DE),保持在内皮细胞生长培养基MV2中,以第3至10代使用,并根据供应商的方案在汇合后研究。THP1人单核细胞系(美国菌种保藏中心/ATCC no.TIB202)保持在补充有2mM L-谷氨酰胺、1mM丙酮酸钠、10mM HEPES缓冲液、pH 7.3、青霉素、链霉素、0.05mM β -巯基乙醇和10%确定的胎牛血清(FBS;Gibco, Life Technologies, Grand Island, NY)的RPMI 1640中。HeLa细胞(ATCC no.CCL-2)培养在含有4.5g/L葡萄糖、1mM丙酮酸钠、2mM L-谷氨酰胺、青霉素、链霉素和10%FBS的DMEM中。在实验

暴露之前,THP1细胞通过用5ng/ml 12-豆蔻酸-13-乙酸佛波醇(PMA,Sigma-Aldrich)处理24小时,用PBS洗涤,并在37°C下在无PMA培养基中培养另外24小时来分化。

[0291] 内皮渗透性测定:通过在基质胶包被的3μm孔径Transwell板中,在37°C下测量与级联蓝色荧光染料缀合的10kDa葡聚糖的跨内皮通量30分钟,评估HMVECL单层的渗透性。

[0292] 细胞用1-100μM的测试化合物、10μM SB203580或DMSO处理1小时,然后用10ng/ml rhTNF α 在39.5°C下处理6小时,并且通过在37°C下将100μg/ml级联蓝缀合的10kDa葡聚糖加入底孔中30分钟并分析上孔中的荧光(400/420nm)来评估渗透性。

[0293] 中性粒细胞跨内皮迁移(TEM)测定:使用马里兰大学机构审查委员会批准的方案从收集自健康志愿者的肝素化静脉血中分离中性粒细胞,并通过HMVECL测量钙黄绿素标记的中性粒细胞的TEM。

[0294] 通过MTS测定(Promega)、LDH释放(Promega)和激活的半胱天冬酶-3的免疫印迹(Cell Signaling)分析暴露于10-100μM每种化合物的HMVECL的细胞毒性。

[0295] 巨噬细胞细胞因子表达:使用qRT-PCR和Luminex-based免疫测定(UMB Cytokine Core Lab)在PMA分化的THP1细胞中评估测试化合物阻断LPS诱导的细胞因子表达的能力。用5ng/ml PMA分化24小时的THP1细胞用1-100μM测试化合物、10μM SB203580或DMSO处理1小时,然后用100ng/ml超纯大肠杆菌0111:B4 LPS(InvivoGen)处理3小时(qRT-PCR;实时引物)或24小时(免疫测定的上清液)。

[0296] 小鼠急性肺损伤模型:重25-30g的雄性CD-1小鼠购自Charles River,并在AALAC批准的条件下圈养在巴尔的摩退伍老兵管理医疗中心动物护理机构(Baltimore Veterans Administration Medical Center Animal Care Facility)中。所有方案均得到马里兰大学巴尔的摩IACUC的批准。在小鼠i.t.LPS/FRH诱导的ALI模型中测试抑制剂。在i.t.滴注50μgLPS之前1小时,小鼠用SB203580或推定的p38抑制剂(在≤2%DMSO中)通过0.5ml i.p.注射预处理,并转换至37°C培养箱,其将核心温度提高至约39.5°C。24小时后将小鼠安乐死,用总共2ml PBS灌洗肺,计数细胞并使用Bradford方法(Biorad)分析无细胞灌洗液的蛋白质含量。

[0297] 在手术期间用吸入的异氟烷麻醉动物以植入腹膜内热敏电阻。小鼠接受0.05-0.1mg/kg丁丙诺啡镇痛s.c.Q12小时,持续2个术后日。如果在ALI模型中出现明显的痛苦,则施用丁丙诺啡镇痛。在用异氟烷麻醉期间,以50μl PBS通过在口咽后部滴注施用LPS。p38抑制剂通过用25g针i.p.注射施用,小鼠清醒且轻度受限。

[0298] FRH和气管内LPS的组合诱导强烈的肺中性粒细胞流入、细胞因子表达和蛋白质渗漏12-24小时,并且50%死亡率开始于48小时。UM101在减少该模型中BAL中嗜中性粒细胞和蛋白质积累方面比SB203580更有效。因此,为了使该筛选所需的小鼠数量最小化,在单一24小时时间点测量肺损伤、肺和肺外炎症和药物毒性,包括BAL蛋白、中性粒细胞和促炎细胞因子含量、IL-6、肌酸酐和AST(Abcam)的血清水平和心肌肌钙蛋白I(MyBiosource)。新化合物以4、12和40mg/kg的剂量进行试验,并与媒介物(DMSO)和SB203580(40mg/kg)处理的对照进行比较。将所有媒介物和药物处理的小鼠暴露于i.t.LPS/FRH并与未处理小鼠比较。每组可以使用4只小鼠。

[0299] 通常,筛选在预防模型中进行,并且最终候选物也在治疗模型中评价。

[0300] 底物磷酸化的抑制:在HeLa细胞中进行UM101阻断MK2和Stat-1的p38依赖性磷酸

化的功能分析。细胞用SB203580或UM101预处理30分钟,然后用10 μ M茴香霉素活化30分钟。将在含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的RIPA缓冲液中制备的细胞提取物通过SDS-PAGE拆分,转移到PVDF膜上,用5%脱脂奶粉封闭,用针对磷酸化MK2和Stat-1的一抗探测,并且总p38 α 作为上样对照。使用与红外荧光团缀合的二抗和红外荧光成像(Odyssey; LICOR)检测条带。

[0301] 细胞毒性测定:根据制造商的方案使用比色测定在建立于96孔培养板中的平行HMVEC-L单层中监测细胞毒性,该比色测定测量3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧甲氨基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑鎓(MTS)还原成甲瓒染料(CellTiter 96TM; Promega; Madison, WI),并通过测量490nm处的吸收来定量产物形成。

[0302] 基因表达:通过Agilent Bioanalyzer 2100确认RNA完整性,并且在进一步分析之前确认所有样品的RNA完整性评分(RIN)为10。使用Illumina HiSeq平台对富含Poly(A)的样品进行逆转录和测序,每个样品至少产生9000万个读数。基因间序列占所有读数的少于0.7%,表明基因组DNA污染最小。使用TopHat读数比对工具和智人基因组参考序列(Ensembl版本GRCh38.78)分析原始数据。使用DESeq R包(Bioconductor)和负二项式模型分析差异基因表达。基因表达显著差异的标准是(1)错误发现率(FDR)<0.05,(2)表达水平>10%,以及(3) ≥ 2 倍变化。使用PathwayNet(Troyanskaya Lab, Princeton)和IngenuityTMPathway Analysis(Qiagen)工具进一步分析差异基因表达模式。根据供应商的方案,使用在市售PCR阵列(HCA-II阵列;实时引物;Elkins Park, PA)和SYBR-绿色反应混合物(Biorad)中的引物和BioRad iCycler IQ Optical Module,通过定量RT-PCR分析THP1细胞中的细胞因子基因表达。使用基因表达Ct差异方法量化数据,并使用热循环仪自动确定的Ct值将数据标准化为管家基因GAPDH的水平。

[0303] 饱和转移差异核磁共振(STD-NMR):在d₆-DMSO中制备40mM UM101原液。STD-NMR样品含有在D₂O中的150mM NaCl、50mM磷酸盐、pH 7、200 μ M UM101和5 μ M p38蛋白质。光谱在300K下在配备5-mm反向HFCN探针的Agilent DD2500-MHz光谱仪上记录。在每个瞬变期间,使用供应商提供的STD-ES脉冲序列用一系列58个高斯形脉冲(50ms,脉冲之间有1ms延迟)饱和蛋白质,总饱和时间为3秒。蛋白质的正共振照射在0.5ppm下进行,并且偏共振照射在30ppm下进行。供应商提供的WATERGATE脉冲序列用于抑制STD光谱中的水信号。在内部减去正共振和偏共振脉冲序列。每个STD实验总共收集16,384个瞬变,采集之间有1秒延迟,谱宽为6000Hz并且采集时间为1.3秒。

[0304] 通过质谱法(MS)比较蛋白质组和磷酸肽表达概况:蛋白质表达和特定蛋白质的磷酸化百分比使用基于质谱法的技术以无标记方式量化。具体地,使用LC-MS/MS将本发明的化合物与SB203580对TNF α 刺激的HMVECL和LPS刺激的THP1细胞中的蛋白质磷酸化模式和蛋白质组表达的影响进行比较。细胞用10 μ M SB203580或测试化合物(EC₅₀和EC₉₀)预处理30分钟(基于HMVECL渗透性和THP1 IL-8表达测定)。对于磷酸肽分析,刺激细胞0.5、1.5和4小时。胰蛋白酶磷酸肽使用市售的TiO₂富集方案(Pierce)富集,然后使用三种策略在nanoUPLC耦合Thermo Orbitrap Fusion Tribrid质谱仪上分析:(1)混合电子转移(ETD)/高能碰撞(HCD)解离(EThcD);(2)数据依赖性决策树(DDDT)逻辑;(3)HCD产品依赖性ETD(HCD-pd-ETD);和/或(4)使用离子淌度关联平行MS(UDMS^E)的nanoUPLC耦合Waters Synapt G2S质谱仪。对于比较蛋白质组表达分析,刺激细胞4小时和12小时,并分别使用UDMS^E和ADAPT-DDA在nanoUPLC耦合Waters Synapt G2S和/或nanoUPLC耦合Thermo Orbitrap

Fusion Tribrid上分析裂解物。相对肽丰度通过比较肽离子的MS1峰面积来测量,其身份和磷酸化事件通过MS2测序使用上述不同的碎片策略 (EThcD、DDDT、HCD-pd-ETD和UDMS^e) 确认。所描述的对齐AMRT (精确质量和保留时间) 群集量化算法用于无标记量化。

[0305] 免疫印迹分析:使用商业抗体和红外荧光成像 (Odyssey; LICOR) 通过免疫印迹确认总体内蛋白质组和磷酸蛋白质组的变化。体外激酶测定在含有重组活性p38 α 和一种或多种重组底物蛋白的反应中进行,并使用磷酸化特异性抗体通过免疫印迹分析。

[0306] X射线晶体学:X射线晶体学提供了与p38 α 结合的化合物的更高分辨率分析。生长p38 α 的主要方法包括化合物晶体的共结晶,其中化合物:p38 α 摩尔比为2:1。或者,将化合物浸入预先形成的p38 α 晶体中。使用自动化系统生长和筛选衍射质量蛋白质晶体,该系统包含Alchemist DT屏幕制作器、带有LCP模块的Gryphon滴定器和Minstrel DT UV/Vis自动可视化系统 (Rigaku)。这些结构通过分子置换方法使用已知的p38 α 结构和标准晶体学分析软件 (SBGrid) 解析。

[0307] p38结合动力学的分析:本发明化合物的KD通过DSF估计。执行ITC以改进化合物的KD计算并产生热力学信息以促进配体优化。在Auto ITC HT微量热计 (MicroCal) 上收集数据。重组p38 α (10 μ M) 和原液浓度的测试化合物 (200 μ M) 在含有低电离能 (例如,50mM磷酸盐或柠檬酸盐 (含50mM NaCl)) 的相同缓冲液中制备并脱气。使用MicroCal软件测量和分析化合物滴定过程中的热量产生/吸收。

[0308] 先导化合物的药代动力学/药效学 (PK/PD) 分析:在气管内LPS+FRH诱导的小鼠ALI模型中,综合分析化合物作为预防和治疗的体内毒性和有效性。该模型是人类ARDS的短期模型,适合胃肠外给药治疗剂,其特征在于广泛的内皮渗透性、中性粒细胞积聚、促炎细胞因子和趋化因子表达、上皮损伤和48小时后开始的约50%死亡率。结果可推广到其他炎性疾病。化合物以≤1% DMSO的终浓度溶解并作为单一腹膜内注射施用。最大耐受剂量 (MTD) 通过监测小鼠24小时的不适迹象 (包括运动活动的变化、体重下降、梳理减少和毛皮皱褶)、肌酐、BUN、天冬氨酸转氨酶 (AST) 和心肌肌钙蛋白来确定。在LPS+FRH之前30分钟或之后8小时施用抑制剂,分别作为预防或治疗的模型。

[0309] 动物数量和性别:所有测试均在CD1小鼠中进行,CD1小鼠是一种其中ALI和肺炎模型已得到验证的稳健品系。根据已发布的指南,剂量递增使用2只小鼠/剂并进行24小时观察。在20只小鼠的组中测试存活差异 (以检测75%与25%的存活差异; $\alpha=0.05$; $\beta=0.2$)。使用每组6只小鼠用于损伤/炎症的BAL和血浆分析,以及细胞凋亡信号传导的肺匀浆分析,并且使用每组4只小鼠用于组织学。在相同数量的雄性和雌性小鼠中进行存活实验,并通过两因素ANOVA比较差异。添加了额外的实验来分析在药物作用中发现的任何意外的性别差异。在一些实施例中,实验将使用雄性小鼠。

[0310] 大多数有效、结构不同的化合物的最大耐受剂量是通过测量每剂量2只小鼠中20、40和80mg/kg i.p.的毒性来确定的,监测该小鼠24小时并实施安乐死。分析血清的肝、肾和心脏毒性标志物。将肾、心脏、肝和肺 (膨胀) 固定,用石蜡包埋,进行H&E染色,并检查炎症和损伤。对照小鼠接受媒介物 (1% DMSO)。有毒化合物被候选物列表上的下一个结构不同的化合物替代。

[0311] 抑制剂在阻断FRH增强的LPS诱导的ALI中的活性:在LPS+FRH诱导的ALI模型中以MTD测试化合物。

[0312] 预处理对存活的影响:在20只小鼠的组中,将以MTD测试化合物预处理对LPS/FRH攻击小鼠的存活的有效性与40mg/kg SB203580和媒介物(1%DMSO)进行比较。小鼠接受作为单一0.5ml注射的预处理,并且30分钟后通过i.t.滴注接受50 μ g LPS并置于37℃环境温度下。该暴露使核心温度从36.5℃增加到39.5℃,但在一些使用遥测温度监测(Data Sciences International; St.Paul, MN)的小鼠身上得到了证实。使用垂死作为死亡替代物来监测小鼠的存活。当在LPS后24小时给予时,进一步分析那些显示出相对于DMSO的存活优势的化合物的功效。无效化合物由候选列表中的下一个化合物替换。进一步测试MTD的10%和30%的有效化合物。

[0313] LPS后给药对存活的影响:使用相同的方案分析作为预处理有效的化合物在相同剂量下的有效性,不同之处在于将给药延迟直至LPS滴注和启动FRH后8小时。分析了与SB203580相比具有存活优势的化合物的生物学效应和PK。无效的化合物被列表中的下一个化合物替换。

[0314] 化合物对炎症、肺损伤和渗透性的影响:在LPS+FRH ALI模型中进一步分析了存活实验中最有效的化合物对肺损伤和炎症的影响。在LPS/FRH攻击之前30分钟或之后8小时用每种化合物(以其ED50,基于存活实验)、40mg/kg SB203580或DMSO预处理小鼠,并在LPS后24小时安乐死。在每组6只小鼠中,收集BALF并通过计算改良吉姆萨染色的cytoprep、布拉德福德方法得到的总蛋白和基于Luminex的免疫测定(UMB Cytokine Core Lab)得到的细胞因子水平来分析中性粒细胞含量。灌洗后,将肺切除,在液氮中快速冷冻,并制备匀浆用于候选p38 α 底物的免疫印迹,以确认体外发现的底物抑制剂作用。将来自每组4只小鼠的肺膨胀/固定在20cm H₂O中,使用PreferTM、石蜡包埋、H&E染色或GR-1免疫染色以分析肺损伤和中性粒细胞浸润,以及用于活性半胱天冬酶-3的TUNEL染色和免疫染色以评估细胞凋亡。将血清IL-6作为全身炎症的指标进行测量。

[0315] 新型p38调节剂的药代动力学:表征小鼠中有效化合物的PK。首先,根据FDA指南开发和验证每种化合物的生物分析方法。然后进行PK研究以确定肺吸收和表征每种化合物的关键PK参数(即清除率(CL)、分布容积(Vd)、最大血浆浓度(C_{max})、达到C_{max}的时间(T_{max})、血浆浓度曲线下面积(AUC)和半衰期(t_{1/2}))。PK参数用于估计达到稳态血浆浓度所需的时间(相当于五个半衰期),并指导进一步PD研究的剂量选择。此外,这些研究有助于根据其肺/血浆浓度比对测试的p38调节剂进行排序。对于每项研究,CD1小鼠(n=30)用单一i.p.剂量(10-50mg/kg)的所选p38调节剂处理(每种p38调节剂的剂量范围取决于上述研究的结果)。在一些实施例中,小鼠(n=3/时间点)在预给药和给药后5、15、30、60、120、240、360、600、720分钟安乐死。使用经过验证的HPLC方法分析血液和肺样本。

[0316] 数据分析:与SB203580相比,由本发明的化合物修饰的途径通过以下推导:(1)使用Ingenuity Pathway Analysis和PathwayNet分析比较蛋白质组表达,类似于来自UM101的RNASeq数据;以及(2)通过定量方法和生物信息学分析比较磷酸化蛋白质组。质谱法结果通过分析通过免疫印迹进行的细胞和体外激酶测定中候选底物的磷酸化得到证实。蛋白质组学数据表明的脱靶结合通过DSF和STD-NMR以及针对特定底物的磷酸化免疫印迹在广泛浓度范围的测试化合物中进行评价,并在体外激酶反应中得到证实。通过识别由多种先导化合物修饰的常见途径及其与p38 α 的相互作用,推断出其有利生物活性所需的常见p38 α 效应,并将其纳入CADD算法,以用于后续搜索和先导化合物优化。

[0317] 在一个实施例中,由于本发明的目的是鉴定和表征新型抗炎化合物的PD/PK特性,因此在一个实施例中按照基于功能筛选的活性顺序测试这些化合物,并且在存活研究中没有毒性或功效的化合物被下一个最有效且结构不同的化合物替代。使用单因素ANOVA/Fisher PLSD将化合物与单独的媒介物和SB203580进行比较。PK数据通过简单平均法分析。隔室模型用于使用Phoenix平台(版本1.3,Pharsight,Sunnyvale,CA)估计各种药代动力学参数。评价几个隔室模型以确定最佳拟合模型。使用多种加权方案,包括等权重、 $1/y$ 、 $1/y^1$ 、 $1/y^2$ 和 $1/y^2$,其中y是观察到的药物浓度,并且 y^1 是模型预测的药物浓度。在一些实施例中,基于拟合优度图、加权残差平方和、残差的随机分布、参数估计的精度、Akaike的信息标准和Schwarz标准来选择最终模型。开发最终模型后,报告PK参数的估计值,包括血浆CL、Vd、 C_{max} 、 T_{max} 、AUC和 $t_{1/2}$ 。肺摄取表示为肺/血浆(L/P)浓度比。

[0318] 替代方法:如果没有磷酸化特异性抗体,并且磷酸化不会导致免疫印迹的可检测的变化,则可以在免疫印迹之前使用Ti02富集细胞裂解物。可以根据需要基于体外和体内蛋白质组学和免疫印迹结果调整孵育时间。尽管有最大的起始材料或使用分离的细胞级分,但低蛋白质丰度可能会阻止细胞裂解物中的磷蛋白检测。在这种情况下,体内细胞磷酸化蛋白质组分析可以通过使用LC-MS-MS全面分析抑制剂对在用5'-4-氟碘酰苯甲酰腺苷(FSBA)灭活内源性激酶后使用细胞裂解物作为底物的体外激酶测定中p38 α 的磷酸肽模式的影响来增强。在不明确的无标记结果的情况下,可以使用稳定同位素二甲基标记。其他备用技术包括氘氢交换质谱法和NMR,以及DSF/STD-NMR评估的与野生型p38 α 和CADD靶标突变体的结合。表面等离子共振(SPR)(Biacore T200 Core)可以作为ITC的替代品进行评价,以减少蛋白质/化合物需求。

[0319] 统计方法:数据表示为平均值±SE。通过将Tukey忠实显著性差异检验应用于单因素方差分析(ANOVA)来分析>2组之间的差异。通过多变量ANOVA(MANOVA)分析剂量-反应曲线之间的差异。p<0.05的差异被认为是显著的。

[0320] 实施例1:p38 MAPK底物对接位点的CADD建模、化合物鉴定以及筛选与p38 α 的直接、选择性相互作用的化合物

[0321] 本发明的抑制剂和方法涉及基于CADD的策略以识别预测在小鼠未磷酸化p38 α (MAPK14变体-1;PDB:1P38,与人p38 α (变体2)>99%相同)的ED底物对接位点附近结合的低分子量化合物(图1A)。p38 α 中的ED和CD位点位于底物结合裂缝的任一端,该裂缝位于蛋白质的催化位点的对侧(图1A)。识别ED结合位点附近的口袋,其包含10个氨基酸,其中只有7个在p38 α 和p38 β 中相同(图1B)。小鼠未磷酸化(PDB:1P38)和双磷酸化p38 α (PDB:3PY3)结构的叠加显示两种形式的靶向口袋几乎叠加(图1C)。

[0322] CADD筛选和化合物测试方案的概述在图1D中示出。基于范德华(VDW)和静电相互作用能,通过基于化学指纹的聚类分析得到的化学多样性、溶解度、分子量和最大化生物利用度的氢键官能团的数量,来分析Maybridge Screening Collection中的化合物与靶向p38 α 口袋的结合。

[0323] 从一组150种被选择用于潜在生物测试的不同化合物(表3)中选择20种结构不同的化合物进行功能分析(表2)。

[0324] 表2:CADD识别的筛选用于p38 α 结合的p38 α ED位点结合候选物

CADD no.	化合物 ID ¹	MW	logP ²	p38 α ΔT_m (°C) @100 μ M ³	ERK2 ΔT_m (°C) @100 μ M ³
2	SEW 06373	417	3.19	-0.05	0.412
3	HTS 02798	415	0.67	0.282	0.337
4	HTS 13333	312	-1.10	0.065	0.452
5	SCR 00846	418	2.22	0.808	0.628
8	AW 00509	317	1.13	-0.07	0.531
13	SEW 06264	309	0.28	0.005	0.390
16	SCR 00610	339	1.69	-0.052	0.444
23	SCR 01200	378	2.79	-0.488	-0.598
29	BTB 05645	350	3.07	-0.353	0.342
31	KM 04113	304	1.83	-0.278	0.153
43	CD 11992	300	1.16	-0.485	0.151
55	SP 01164	2.11	1.92	-0.506	0.022
60	BTB 13869	426	0.28	0.735	0.195
63	PD 00612	294	0.61	-0.287	0.075
69	KM 00081	345	1.68	-0.233	0.361
101	HTS 05732	378	2.31	0.667	0.0175
115	NRB 03986	278	3.88	-0.156	0.246
141	SEW 02182	318	2.46	0.554	0.238
146	KM 10445	313	2.55	-1.084	-1.632
150	HTS 03239	341	1.68	-0.171	0.133

[0325] [0326] ¹化合物ID来自Maybridge组集。

[0327] ²logP是估计的辛醇/水分配系数的对数,是化合物溶解度的量度。

[0328] ³DSF测定中相对于DMSO对照的熔化温度变化

[0329] 表3:CADD鉴定的前150个p38 α ED位点结合候选物

CADD no.	化合物 ID ¹	MW	logP ²
1	AW 1221	442	3.84
2	SEW 06373	417	3.19
3	HTS 02798	415	0.67
4	HTS 13333	312	-1.10
5	SCR 00846	418	2.22
6	HTS 01830	400	4.15
7	KM11105	409	1.27
8	AW 00509	317	1.13

9	SCR 01457	401	2.12
10	KM 09878	362	2.45
11	BTB 10384	434	2.32
12	HTS 03243	419	3.46
13	SEW 06264	309	0.28
14	CD 06142	382	3.29
15	KM 08516	382	2.03
16	SCR 00610	339	1.69
17	KM 09250	364	0.87
18	SCR 01462	344	-0.25
19	KM 08262	375	1.34
20	SCR 01164	430	3.44
21	HTS 05992	360	2.65
22	CD 00735	390	1.72
23	SCR 01200	378	2.79
24	SCR 01160	390	0.69
25	SCR 00883	398	2.09
26	AW 01002	331	1.49
27	KM 10346	339	1.52
28	KM 09924	374	2.25
29	BTB 05645	350	3.07
30	HTS 01722	401	3.5
31	KM 04113	304	1.83
32	SCR 00662	338	2.62
33	RJC 02765	348	1.21
34	HTS 08093	330	0.50
35	KM 09335	352	1.08
36	HTS 06913	355	1.52
37	KM 07646	296	0.23
38	KM 06447	355	2.44
39	HTS 01903	444	2.51
40	KM 06789	333	1.38
41	EN 00285	380	2.34
42	JFD 01748	321	2.74
43	CD 11992	300	1.16
44	KM 03098	455	2.56
45	RJF 01988	450	3.99
46	RH 00635	402	4.14
47	GK 02919	363	1.17
48	KM 02331	451	3.96
49	GK 01789	360	2.91
50	GK 03735	376	1.38
51	HTS 05862	364	1.97
52	KM 07197	337	0.40
53	BTB 02067	305	1.94
54	JFD 01679	357	3.55
55	SP 01164	2.11	1.92
56	KM 00730	450	1.92
57	HTS 03184	407	3.33
58	HTS 01701	397	4.06
59	HTS 11459	409	-1.37
60	BTB 13869	426	0.28
61	RJC 00192	360	3.85
62	HTS 06577	367	3.73
63	PD 00612	294	0.61
64	HTS 09813	453	2.98

[0331]

65	RJC 02517	404	1.93
66	DP 01615	356	4.00
67	DP 01320	385	3.74
68	JFD 01765	352	3.24
69	KM 00081	345	1.68
70	RDR 03171	419	2.14
71	HTS 04127	398	2.82
72	AW 00409	403	2.36
73	BTB 06009	413	2.14
74	KM 10383	443	2.81
75	HTS 05233	369	0.82
76	KM 05297	428	0.00
77	CD 11533	373	3.22
78	KM 04839	441	3.01
79	CD 09639	460	3.00
80	HTS 04160	414	2.73
81	KM 07794	358	3.70
82	CD 04864	420	3.51
83	RDR 02594	397	3.10
84	DP 01806	435	3.43
85	HTS 03190	388	3.29
86	KM 09808	405	3.70
87	CD 09308	396	2.27
88	SPB 01817	416	3.99
89	KM 07150	411	2.05
90	KM 09339	381	0.91
91	RDR 01132	415	3.32
92	SS 00046	322	3.63
93	HTS 02914	351	1.98
94	KM 02270	381	4.08
95	CD 09636	366	1.15
96	KBK 00012	364	3.69
97	HTS 13527	337	0.78
98	BB 06821	389	3.99
99	AW 01218	343	2.37
100	PD 00703	303	0.33
101	HTS 05732	378	2.31
102	HTS 03187	357	0.79
103	HTS 05493	427	1.73
104	RJF 01945	356	3.81
105	CD 05416	378	3.30
106	CD 08365	285	1.37
107	SPB 02947	372	3.15
108	SCR 01004	357	0.95
109	HTS 05491	429	3.03
110	HTS 02224	372	0.33
111	KM 05869	421	1.45
112	KM 02112	388	3.19
113	KM 07452	347	0.49
114	RJC 02844	302	2.65
115	NRB 03986	278	3.88
116	SEW 06625	373	3.05
117	SCR 0170	320	-0.70
118	SPB 06098	373	4.07
119	FM 00079	382	3.19
120	BTB 03095	350	1.91

[0332]

[0333]	121	KM 08272	382	1.99
	122	BTB 07326	458	3.97
	123	HTS 10719	386	3.71
	124	JFD 01751	375	1.21
	125	HTS 05737	366	0.34
	126	BTB 02557	300	-0.17
	127	KM 01947	386	3.26
	128	KM 04674	340	2.99
	129	BTB 14836	358	1.88
	130	KM 07275	346	3.43
	131	RH 02254	321	1.27
	132	S 07734	274	2.06
	133	KM 03963	308	2.90
	134	KM 01163	377	2.95
	135	SEW 05535	324	-1.08
	136	RDR 02622	321	2.97
	137	AW 00695	338	-0.37
	138	RJC 03556	323	1.30
	139	SP 00787	415	2.74
	140	JFD 02020	322	0.84
	141	SEW 02182	318	2.46
	142	SEW 00427	350	1.64
	143	HTS 00966	311	3.43
	144	HTS 02841	339	-0.16
	145	KM 06585	371	2.32
	146	KM 10445	313	2.55
	147	KM 03965	356	3.97
	148	AW 00554	345	0.36
	149	HTS 01470	371	2.01
	150	HTS 03239	341	1.68

[0334] ¹化合物ID来自Maybridge组集。

[0335] ²logP是辛醇/水分配系数的对数,是药物溶解度的量度。

[0336] 使用DSF筛选10-100 μ M的测试化合物用于与重组p38 α 和ERK2的结合(图1E,表1)。五种化合物导致p38 α 的浓度依赖性稳定,表明结合。这些中的三个也稳定ERK2(3、5和141突出显示为黄色(带有“*”)),并且两个(突出显示为蓝色(带有“+”))—UM60(N2,N7-二(2-羟乙基)-9-氧代-9H-2,7-芴二磺酰胺)和UM101(4-氯-N-{4-[(1,1-二氧代-1 λ ~6~,4-噻唑烷4-基)甲基]苯基}苯甲酰胺)稳定p38 α 但不稳定ERK2。以100 μ M添加的这两种结构不同的化合物(图1F)使p38 α 的熔化温度增加约0.7℃,相比之下,SB203580增加6℃。

[0337] UM101与ED位点的MC SILCS对接和GFE FragMap分析已经识别了几个可以修饰以提高选择性和效力的结构特征(图7)。UM101上的可修饰位点对应于在NMR STD分析中识别为与p38 α 相互作用的那些位点(图3F至图3K)。

[0338] 实施例2:化合物对内皮屏障功能的影响

[0339] 测试了UM60和UM101在TNF α 和高热应激HMVECL单层中稳定对大分子和中性粒细胞的内皮屏障的能力(图2A至图2D)。与未处理的37℃细胞相比,联合暴露于1ng/ml TNF α 和高热(39.5℃)6小时使对10kDa葡聚糖的渗透性增加2.8倍。用10 μ M SB203580预处理30分钟后,TNF α /高热诱导的渗透性降低了50%(图2A)。用10 μ M和25 μ M的UM60预处理对渗透性没有影响,但100 μ M UM60使TNF α /高热诱导的渗透性增加降低了71%,而10、25和100 μ M的UM101使TNF α /高热诱导的渗透性增加分别降低了74%、89%和>100%。

[0340] 在39.5℃下预孵育HMVECL 6小时使随后IL-8定向的中性粒细胞TEM从22.8±0.45x10³增加至31.8±0.54x10³个中性粒细胞(图2B)。用10 μ M SB203580预处理使高热增强

的中性粒细胞TEM降低84%。10和25 μ M的UM60以及10 μ M的UM101使高热增强的TEM增加降低18%、89%和95%。50 μ M的UM60以及25和50 μ M的UM101使TEM降低至低于基线水平。当以100 μ M添加到HMVECL中48小时时,化合物在LDH释放和MTS测定中均无毒性。

[0341] 实施例3:比较SB203580和UM101在小鼠ALI中的有效性

[0342] 比较了UM60、UM101和SB203580在LPS/高热诱导的ALI小鼠模型中减轻跨肺泡蛋白和中性粒细胞渗出的有效性(图2C和图2D)。在气管内滴注50 μ g LPS并转移到高热室之前30分钟,小鼠接受单一腹膜内注射的100、300、500或1000 μ g UM101、1000 μ g UM60或1000 μ g SB203580(于0.5ml 2%DMSO中)。对照小鼠接受DMSO。六只UM60处理的小鼠中的四只、六只SB203580处理的小鼠中的一只和十一只DMSO处理的对照小鼠中的一只在24小时内死亡。所有16只UM101预处理的小鼠都存活。来自DMSO预处理、LPS/高热攻击小鼠的肺灌洗液含有1.09±0.19mg/ml蛋白质和3.97±1.07 \times 10⁶个中性粒细胞。与DMSO处理的对照相比,用1000 μ g SB203580预处理的小鼠的灌洗液蛋白浓度和中性粒细胞含量分别降低了42%和46.8%。用100 μ g、300 μ g、500 μ g和1000 μ g UM101预处理的小鼠的灌洗液蛋白浓度分别降低了0、44.1%、43.9%和92.9%,并且灌洗液中性粒细胞含量分别降低了44.4%、49.5%、55.3%和54%。

[0343] 实施例4:SB203580和UM101对人THP1前单核细胞中LPS诱导的基因表达的影响

[0344] 通过用25 μ M SB203580或10、25或100 μ M UM101预处理PMA分化的THP1细胞30分钟,然后用100ng/ml LPS刺激,并在4小时后收获RNA以通过基于PCR的细胞因子阵列进行分析,来比较UM101和SB203580对炎性细胞因子表达的影响。在阵列中的16个LPS刺激基因中,SB203580抑制了7个基因的表达,即IL-1 α 、IL-8、TNFSF8(CD30配体)、TNFSF9(CD137配体)、CXCL5、CCL7和CCL17(表4)。UM101抑制除TNFSF9之外的所有SB203580抑制基因的表达,并抑制四种SB203580不敏感基因的表达,即IL-1 β 、CXCL1、TNFSF15和CCL5。

[0345] 表4. SB203580和UM101对LPS诱导的THP1细胞中细胞因子表达的影响¹

基因	DMSO ²	ANOVA ³	SB203580 25 μ M	P vs. LPS ⁴	UM101 10 μ M	P vs.LPS ⁴	UM101 25 μ M	P vs. LPS	UM101 100 μ M	P vs. LPS ⁴
IL-1A	453±24	<0.0001	141±9.2	<0.0001	424±22.6	0.74	339±13.5	0.041	88±3.33	<0.0001
IL-8	56.5±3.3	0.0026	9.6±0.1	0.002	35.6±0.7	0.40	26.7±4.1	0.564	19.7±1.8	0.015
TNFSF8	60.5±5.5	0.0073	20.6±8.8	0.024	23.5±8.3	0.37	10.5±3.9	0.006	20.7±9.5	0.025
CXCL5	49.7±2.9	<0.0001	3.2±1.0	<0.0001	23.2±3.7	0.0002	8.7±2.9	<0.0001	3.1±0.2	<0.0001
CCL7	12.8±1.2	<0.0001	4.2±0.3	<0.0001	7.7±0.3	0.0036	6.2±0.9	0.0036	4±0.4	<0.0001
CCL17	56.9±6.1	<0.0001	21.5±3.7	0.001	30.4±4.7	0.008	11±1.0	0.0004	2.5±0.33	<0.0001
TNFSF9	50.8±6.1	0.0046	20.7±3.1	0.0054	48±2.1	0.99	38.2±6.9	0.334	32±1.12	0.086
IL-1B	171±9.0	0.0089	187±7.4	0.988	104±21	0.382	88±9.0	0.204	51.6±5.2	0.033
CXCL1	24.5±0.5	<0.0001	28.2±1.9	0.577	19.8±1.8	0.36	12.8±2.5	0.005	5.2±1.0	<0.0001
TNFSF15	9.6±1.1	0.0012	10±1.1	0.998	7.6±0.9	0.544	5.4±0.8	0.053	2.9±0.6	0.003
CCL5	7.6±0.9	0.0045	3.6±0.8	0.26	3±0.5	0.018	2.7±0.2	0.008	2.6±1.2	0.006
CCL4	188±12	0.9519	188±16	ns	174±41	ns	191±57	ns	217±51	ns
CCL20	82.5±27.8	0.1189	106±15.1	ns	63±3.1	ns	63.4±1.0	ns	42.7±12.7	ns
CXCL2	122±11.0	0.9887	125±4.6	ns	128±20.0	ns	132±22.9	ns	130±6.4	ns
TNF	115±13/1	0.6112	66.4±9.6	ns	87±12.4	ns	95.9±21.2	ns	80±14.5	ns
BMP6	8.1±1.8	0.1195	4.1±1.1	ns	8.9±1.7	ns	7.8±1.1	ns	3.9±0.5	ns

[0347] ¹所有值都是mRNA水平与未受刺激的PMA分化的THP1细胞相比的倍数变化

[0348] ²细胞用0.4%DMSO或抑制剂预孵育1小时,然后用100ng/ml LPS刺激2小时³P-值来自单因素ANOVA.

[0349] ⁴P-值来自Tukey忠实显著性差异事后检验

[0350] 实施例5:比较SB203580和UM101对HMVECL中TNF α 诱导的基因表达的影响

[0351] 使用RNASeq比较UM101和SB203580对HMVECL中TNF α 诱导的基因表达的影响。HMVECL用10 μ M SB203580或100 μ M UM101预处理1小时,然后用10ng/ml TNF α 刺激3小时。在HMVECL屏障测定中使用是其生物有效剂量10倍的UM101浓度,以确保识别与SB203580的任何部分重叠。所用的TNF α 浓度和刺激持续时间基于先前发表的研究,并通过IL-8和IL-1 β mRNA表达的初步qRT-PCR分析证实(图4)。在针对每个实验至少一个样本中具有 ≥ 10 个读数的基因过滤RNASeq结果后,发现通过TNF α 处理,511个基因被上调,520个基因被下调 ≥ 2 倍(表5)。

[0352] 表5:针对每组一个样本中至少有10个读数的基因过滤的RNASeq结果

SB203580或UM101修饰的基因列表(也参见图5); Bin号是指基因表达反应模式:

- 1 = 两种抑制剂都增加表达
- 5 = UM101增加表达, SB203580不变
- 2 = UM101降低表达, SB203580增加表达
- 6 = UM101不变, SB203580增加表达
- 3 = 两种抑制剂都降低表达
- 7 = UM101降低表达, SB203580不变
- 4 = UM101增加表达, SB203580降低表达
- 8 = UM101不变, SB203580降低表达

[0353]

Log (碱基2)变化倍数					
基因	UM101 vs. 对照	SB203580 vs. 对照	bin	基因符号	基因名称
ENSG00000006468	1.14697638	1.42107626	1	ETV1	ets 变体 1[来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:3490]
ENSG00000128917	1.25167179	1.33201352	1	DLL4	δ-样 4 (果蝇) [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:2910]
ENSG00000196872	1.10366409	1.62514778	1	KIAA1211L	KIAA1211 样 [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:33454]
ENSG00000108984	1.34524718	1.27752638	1	MAP2K6	丝裂原活化蛋白激酶激酶 6 [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:6846]
ENSG00000229953	1.63323083	1.70115175	1	RP11-284F21.7	
ENSG00000255690	1.81451563	1.5932836	1	TRIL	具有富含亮氨酸重复序列的 TLR4 相互作用子 [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:22200]
[0354]	ENSG00000095739	1.11321658	1.12281058	BAMBI	BMP 和激活素膜结合抑制剂 [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:30251]
	ENSG00000137872	2.48510888	1.90449301	SEMA6D	sema 结构域、跨膜结构域 (TM) 和细胞质结构域 (脑信号蛋白)6D [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:16770]
	ENSG00000184185	1.18112212	1.55055314	KCNJ12	钾通道，内向整流亚家族 J，成员 12 [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:6258]
	ENSG00000125848	1.25784422	1.46432561	FLRT3	纤连蛋白富含亮氨酸的跨膜蛋白 3 [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:3762]
	ENSG00000196664	-1.5535936	1.21794414	TLR7	toll 样受体 7 [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:15631]
	ENSG00000119714	-1.3040616	1.22615088	GPR68	G 蛋白偶联受体 68 [来源： HGNC 符号;Acc:HGNC:4519]

[0355]	ENSG00000165379	-1.4439353	2.06145291	2	LRFN5	富含亮氨酸的重复序列和含III型纤连蛋白结构域蛋白5 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:20360]
	ENSG00000135378	-1.1984882	-1.78258053	3	PRRG4	富含脯氨酸的Gla (G-羧基谷氨酸) 4 (跨膜) [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:30799]
	ENSG00000145777	-1.3366525	-1.65143959	3	TSLP	胸腺基质淋巴细胞生成素 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:30743]
	ENSG00000102970	-2.7303098	-1.83414345	3	CCL17	趋化因子 (C-C基序) 配体 17 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:10615]
	ENSG00000259717	-1.4952254	-1.6963101	3	LINC00677	长基因间非蛋白质编码 RNA 677 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:20121]
	ENSG00000205436	-1.160471	-1.47916318	3	EXOC3L4	泡外复合体组分3样4 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:20120]
	ENSG00000100985	-1.0911796	-1.15709135	3	MMP9	基质金属肽酶 9 (明胶酶B、92kDa明胶酶、92kDa IV型胶原酶) [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:7176]
	ENSG00000131203	-3.5679874	-3.51063293	3	IDO1	吲哚胺2,3-双加氧酶1 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:6059]
	ENSG00000276408	-3.0213604	-2.36477309	3	RP11-490B18.5	
	ENSG00000169245	-4.3698367	-3.10091556	3	CXCL10	趋化因子 (C-X-C基序) 配体 10 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:10637]
	ENSG00000091972	-1.5381554	-1.72928565	3	CD200	CD200分子 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:7203]
	ENSG00000110446	-1.7310589	-1.00338842	3	SLC15A3	溶质载体家族15 (寡肽转运蛋白) 成员3 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:18068]
	ENSG00000111424	-1.1973169	-1.16718631	3	VDR	维生素D (1,25-二羟基维生素D3) 受体 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:12679]
	ENSG00000125538	-1.1725305	-1.40158693	3	IL1B	白细胞介素1, β [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:5992]

[0356]

ENSG00000279805	-1.4538855	-1.28507313	3	CTA-212A2.1	
ENSG00000202533	-2.8157077	-1.96733528	3	Y_RNA	Y RNA [来源：RFAM;Acc:RF00019]
ENSG00000181656	-2.1505992	-1.39708375	3	GPR88	G蛋白偶联受体88 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:4539]
ENSG00000116031	-3.3824373	-1.54775729	3	CD207	CD207分子，胰岛蛋白[来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:17935]
ENSG00000159450	-1.5476653	-1.50495809	3	TCHH	毛透明蛋白 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:11791]
ENSG00000103044	-1.1243396	-1.43377734	3	HAS3	透明质酸合成酶3 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:4820]
ENSG00000225492	-1.7557061	-1.3632872	3	GBP1P1	鸟苷酸结合蛋白1，干扰素诱导假基因1 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:39561]
ENSG00000145113	-1.0573157	-2.85949188	3	MUC4	细胞表面相关的粘蛋白4 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:7514]
ENSG00000164181	-1.3810632	-1.34093337	3	ELOVL7	ELOVL脂肪酸延长酶7 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:26292]
ENSG00000169248	-4.1363549	-1.37790594	3	CXCL11	趋化因子（C-X-C基序）配体 11 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:10638]
ENSG00000162654	-2.8359479	-1.25928308	3	GBP4	鸟苷酸结合蛋白4 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:20480]
ENSG00000144837	-1.5006334	-1.27452433	3	PLA1A	磷脂酶A1成员 A[来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:17661]
ENSG00000222365	-1.7462552	-2.69898993	3	SNORD12B	小核仁RNA, C/D盒12B [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:33573]
ENSG00000237988	-3.7376706	-1.08751395	3	OR2I1P	嗅觉受体, 家族2, 亚家族I, 成员1假基因 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:8258]

[0357]	ENSG00000163735	-1.4683077	-1.01742785	3	CXCL5	趋化因子 (C-X-C基序) 配体 5 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:10642]
	ENSG00000277105	1.8720451	-1.66179692	4	FP236383.10	
	ENSG00000259498	1.51730088	0	5	RP11-244F12.3	
	ENSG00000079841	1.1627696	0	5	RIMS1	调节突触膜胞吐作用 1 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:17282]
	ENSG00000104081	1.87839947	0	5	BMF	Bcl2 修饰因子 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:24132]
	ENSG00000128011	1.21234677	0	5	LRFN1	富含亮氨酸的重复序列和含 III型纤连蛋白结构域蛋白 1 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:29290]
	ENSG00000102760	2.39873086	0	5	RGCC	细胞周期调节因子 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:20369]
	ENSG00000272918	2.02570082	0	5	CTB-152G17.6	
	ENSG00000158715	1.09721113	0	5	SLC45A3	溶质载体家族45, 成员3 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:8642]
	ENSG00000169247	1.22087519	0	5	SH3TC2	SH3结构域和四肽重复序列 2 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:29427]
	ENSG00000163235	1.00798575	0	5	TGFA	转化生长因子 α [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:11765]
	ENSG00000138311	1.68539518	0	5	ZNF365	锌指蛋白365 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:18194]
	ENSG00000263426	1.90751532	0	5	RN7SL471P	RNA, 7SL, 细胞质471, 假基因 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:46487]
	ENSG00000203883	3.1401464	0	5	SOX18	SRY (性别决定区Y) - 盒18 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:11194]
	ENSG00000152213	2.11880858	0	5	ARL11	ADP-核糖基化因子样11 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:24046]
	ENSG00000115641	1.20543525	0	5	FHL2	四个半LIM结构域2 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:3703]

[0358]

ENSG00000163884	1.31377126	0	5	KLF15	Kruppel样因子15 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:14536]
ENSG00000171223	1.07792014	0	5	JUNB	jun B原癌基因 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:6205]
ENSG00000137875	1.24981	0	5	BCL2L10	BCL2样10 (细胞凋亡促进剂) [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:993]
ENSG00000119630	1.02473901	0	5	PGF	胎盘生长因子 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:8893]
ENSG00000157404	1.98981566	0	5	KIT	v-kit Hardy-Zuckerman 4猫科肉瘤病毒致癌基因同源物 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:6342]
ENSG00000004799	2.74875752	0	5	PDK4	丙酮酸脱氢酶激酶, 同工酶4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:8812]
ENSG00000104903	1.17436711	0	5	LYL1	淋巴细胞白血病相关造血调节因子1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:6734]
ENSG00000164683	2.56462289	0	5	HEY1	具有YRPW基序1的hes相关家族bHLH转录因子 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:4880]
ENSG00000229436	2.97587733	0	5	AC073850.6	
ENSG00000074590	1.86606392	0	5	NUAK1	NUAK家族, SNF1样激酶, 1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:14311]
ENSG00000163121	1.17777496	0	5	NEURL3	神经化E3泛素蛋白连接酶3 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:25162]
ENSG00000171435	2.0275154	0	5	KSR2	ras 2激酶抑制物 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:18610]
ENSG00000225213	2.78814593	0	5	RP11-197M22.2	

[0359]

ENSG00000175556	2.1400816	0	5	LONRF3	LON肽酶N末端结构域和环指3 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:21152]
ENSG00000172031	1.46275504	0	5	EPHX4	环氧化物水解酶4 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:23758]
ENSG00000164284	1.60799521	0	5	GRPEL2	GrpE样2, 线粒体(大肠杆菌) [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:21060]
ENSG00000198774	1.92290695	0	5	RASSF9	Ras关联(RalGDS/AF-6)结构域家族(N末端)成员9 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:15739]
ENSG00000109452	1.25820227	0	5	INPP4B	肌醇多磷酸-4-磷酸酶, II型, 105kDa [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:6075]
ENSG00000071282	1.2458539	0	5	LMCD1	LIM和富含半胱氨酸的结构域1 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:6633]
ENSG00000163545	1.15652631	0	5	NUAK2	NUAK家族, SNF1样激酶, 2 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:29558]
ENSG00000125968	2.63377664	0	5	ID1	DNA结合抑制剂1, 显性负螺旋-环-螺旋蛋白 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:5360]
ENSG00000099260	1.50498454	0	5	PALMD	palmdelphin [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:15846]
ENSG00000176641	1.2877484	0	5	RNF152	环指蛋白152 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:26811]
ENSG00000139874	1.37617951	0	5	SSTR1	生长抑素受体1 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:11330]
ENSG00000137834	2.51438228	0	5	SMAD6	SMAD家族成员6 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:6772]
ENSG00000259721	1.0709029	0	5	RP11-758N13.1	

[0360]

ENSG00000181800	2.42803687	0	5	CELF2-AS1	CELF2反义RNA 1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:23515]
ENSG00000184523	2.14599043	0	5	PTGER4P2	前列腺素E受体4(EP4亚型)假基因2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:9598]
ENSG00000101187	1.12788457	0	5	SLCO4A1	溶质载体有机阴离子转运蛋白家族, 成员4A1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:10953]
ENSG00000237512	1.72226772	0	5	UNC5B-AS1	UNC5B反义RNA 1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:45096]
ENSG00000156463	1.43711148	0	5	SH3RF2	含有SH3结构域的环指2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:26299]
ENSG00000137672	1.41739616	0	5	TRPC6	瞬时受体电位阳离子通道, 亚家族C, 成员6 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:12338]
ENSG00000138135	2.4356406	0	5	CH25H	胆固醇25-羟化酶 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:1907]
ENSG00000183691	1.18113108	0	5	NOG	noggin [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:7866]
ENSG00000139174	2.23155754	0	5	PRICKLE1	皮刺同源蛋白1(果蝇) [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:17019]
ENSG00000188305	1.46592995	0	5	C19orf35	19号染色体开放阅读框35 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:24793]
ENSG00000082497	3.01359039	0	5	SERTAD4	含有SERTA结构域的4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:25236]

[0361]

ENSG00000134215	1.69084	0	5	VAV3	vav 3 鸟嘌呤核苷酸交换因子 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:12659]
ENSG00000242902	1.87508823	0	5	RP11-309L24.2	
ENSG00000027075	1.03323842	0	5	PRKCH	蛋白激酶C, eta [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:9403]
ENSG00000203280	1.22563855	0	5	CTA-221G9.12	
ENSG0000006459	1.00029861	0	5	KDM7A	赖氨酸(K)特异性脱甲基酶7A [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:22224]
ENSG00000171408	3.15161753	0	5	PDE7B	磷酸二酯酶7B [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:8792]
ENSG00000162981	1.53241836	0	5	FAM84A	具有序列相似性的家族84, 成员A [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:20743]
ENSG00000118946	1.93243268	0	5	PCDH17	原钙粘蛋白17 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:14267]
ENSG00000146376	1.27126839	0	5	ARHGAP18	Rho GTPase活化蛋白18 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:21035]
ENSG00000204086	2.05144911	0	5	RPA4	复制蛋白A4, 30kDa [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:30305]
ENSG00000221887	1.05893107	0	5	HMSD	含有组织相容性(次要)丝氨酸蛋白酶抑制剂结构域 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:23037]
ENSG00000196196	1.26354255	0	5	HRCT1	富含组氨酸的羧基末端1 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:33872]
ENSG00000172548	2.84971177	0	5	NIPAL4	含NIPA样结构域4 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:28018]
ENSG00000156804	2.04515428	0	5	FBXO32	F-盒蛋白32 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:16731]

ENSG00000203684	1.5984677	0	5	IBA57-AS1	IBA57反义RNA 1 (头对头) [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:32062]
ENSG00000205502	1.63750711	0	5	C2CD4B	含C2钙依赖性结构域的4B [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:33628]
ENSG00000163734	1.26141193	0	5	CXCL3	趋化因子 (C-X-C基序) 配体 3 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:4604]
ENSG00000181444	1.48713949	0	5	ZNF467	锌指蛋白467 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:23154]
ENSG00000275342	1.45192287	0	5	SGK223	酪 氨 酸 蛋 白 激 酶 SgK223 [来 源 : UniProtKB/Swiss-Prot;Acc: Q86YV5]
ENSG00000214944	1.43116765	0	5	ARHGEF28	Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子 (GEF) 28 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:30322]
ENSG00000198795	1.37664308	0	5	ZNF521	锌指蛋白521 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:24605]
ENSG00000108932	1.95156031	0	5	SLC16A6	溶质载体家族16, 成员 6[来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:10927]
ENSG00000145990	1.18764084	0	5	GFOD1	含有葡萄糖-果糖氧化还原酶结构域1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:21096]
ENSG00000179546	1.7287987	0	5	HTR1D	G蛋白偶联的5-羟色胺 (血清素) 受体1D [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:5289]
ENSG00000186472	1.73331066	0	5	PCLO	piccolo突触前细胞基质蛋白 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:13406]

[0362]

[0363]

ENSG00000138678	1.55650245	0	5	AGPAT9	1-酰基甘油-3-磷酸O-酰基转移酶9 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:28157]
ENSG00000225814	1.57236046	0	5	GRPEL2P2	GrpE样2, 线粒体 (大肠杆菌) 假基因2 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:41970]
ENSG00000172572	1.01708765	0	5	PDE3A	cGMP 抑制的磷酸二酯酶3A [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:8778]
ENSG00000107282	1.0986938	0	5	APBA1	淀粉样蛋白β (A4) 前体蛋白结合, 家族A, 成员1 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:578]
ENSG00000171877	1.0590391	0	5	FRMD5	含FERM结构域5 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:28214]
ENSG00000151623	1.83557493	0	5	NR3C2	核受体亚家族3, 组C, 成员2 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:7979]
ENSG00000189184	1.39874706	0	5	PCDH18	原钙粘蛋白18 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:14268]
ENSG00000187479	1.56424224	0	5	C11orf96	11号染色体开放阅读框96 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:38675]
ENSG00000178726	1.31386114	0	5	THBD	血栓调节蛋白 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:11784]
ENSG00000137193	2.05607477	0	5	PIM1	Pim-1原癌基因, 丝氨酸/苏氨酸激酶 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:8986]
ENSG00000154734	1.08386589	0	5	ADAMTS1	具有血小板反应蛋白1型基序的ADAM金属肽酶, 1 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:217]

[0364]

ENSG00000143772	1.05692317	0	5	ITPKB	肌醇三磷酸3-激酶B [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:6179]
ENSG00000140022	1.42852098	0	5	STON2	stonin 2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:30652]
ENSG00000181722	1.75771309	0	5	ZBTB20	含锌指和BTB结构域20 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:13503]
ENSG00000184058	2.32518737	0	5	TBX1	T- 盒1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:11592]
ENSG0000043591	1.38727807	0	5	ADRB1	肾上腺素能受体β1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:285]
ENSG00000126550	2.94676056	0	5	HTN1	组胺素1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:5283]
ENSG00000143867	1.2361215	0	5	OSR1	奇跳相关转录因子1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:8111]
ENSG00000116833	1.34604824	0	5	NR5A2	核受体亚家族5, 组A, 成员2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:7984]
ENSG00000166292	2.00173044	0	5	TMEM100	跨膜蛋白100 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:25607]
ENSG00000188487	1.04413181	0	5	INSC	不可分割同源物(果蝇) [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:33116]
ENSG00000176697	1.76616859	0	5	BDNF	脑源性神经营养因子 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:1033]
ENSG00000079102	1.5770273	0	5	RUNX1T1	矮小相关转录因子1; 易位至, 1(细胞周期蛋白D相关) [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:1535]
ENSG00000162599	1.02633907	0	5	NFIA	核因子I/A [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:7784]

[0365]	ENSG00000188763	1.52543754	0	5	FZD9	卷曲类受体9 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:4047]
	ENSG00000154639	1.36734426	0	5	CXADR	柯萨奇病毒和腺病毒受体 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:2559]
	ENSG00000227946	1.24976159	0	5	AC007383.3	
	ENSG00000143341	1.16130281	0	5	HMCN1	hemicentin 1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:19194]
	ENSG00000237892	1.07996952	0	5	KLF7-IT1	KLF7内含子转录物1 (非蛋白质编码) [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:41355]
	ENSG00000103522	1.30364536	0	5	IL21R	白细胞介素21受体 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:6006]
	ENSG00000162630	1.457488	0	5	B3GALT2	UDP-Gal:βGlcNAcβ 1,3-半乳糖基转移酶, 多肽2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:917]
	ENSG00000106069	1.15244395	0	5	CHN2	嵌合蛋白2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:1944]
	ENSG00000169047	1.03338349	0	5	IRS1	胰岛素受体底物1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:6125]
	ENSG00000226476	1.25685284	0	5	RP11-776H12.1	
	ENSG00000181016	1.30372056	0	5	LSMEM1	富含亮氨酸的单程膜蛋白1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:22036]
	ENSG00000121966	3.89708969	0	5	CXCR4	趋化因子 (C-X-C基序) 受体 4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:2561]
	ENSG00000189143	1.4778446	0	5	CLDN4	密封蛋白4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:2046]
	ENSG00000257642	2.54048396	0	5	RP11-474B16.1	
	ENSG00000250271	2.3827306	0	5	RP11-64D22.5	
	ENSG00000188483	1.76997593	0	5	IER5L	立即早期反应5样 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:23679]

[0366]	ENSG00000183775	1.04020782	0	5	KCTD16	含钾通道四聚化结构域16 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:29244]
	ENSG00000107984	1.55122779	0	5	DKK1	dickkopf WNT信号传导途径抑制剂1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:2891]
	ENSG00000174514	0	1.18746783	6	MFSD4	含主要促进子超家族结构域 4 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:25433]
	ENSG00000270379	0	1.09045988	6	HEATR9	含HEAT重复序列9 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:26548]
	ENSG00000240859	0	1.36188025	6	AC093627.10	
	ENSG00000236671	0	1.65509644	6	PRKG1-AS1	PRKG1反义RNA 1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:45029]
	ENSG00000261707	0	1.15736629	6	RP11-264M12.2	
	ENSG00000273669	0	3.69876021	6	RP11-405M12.4	
	ENSG00000231345	0	1.35868618	6	BEND3P1	含BEN结构域3假基因1 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:45014]
	ENSG00000134253	0	1.10224143	6	TRIM45	含三方基序 45 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:19018]
	ENSG00000138336	0	1.76426632	6	TET1	tet甲基胞嘧啶双加氧酶1 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:29484]
	ENSG00000120162	0	1.23378866	6	MOB3B	MOB激酶活化剂3B [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:23825]
	ENSG00000171860	0	1.01814888	6	C3AR1	补体成分3a受体1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:1319]
	ENSG00000167676	0	1.03160807	6	PLIN4	围脂滴蛋白4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:29393]
	ENSG00000237234	0	1.66084244	6	RP1-142L7.5	

ENSG00000164124	0	1.05381028	6	TMEM144	跨膜蛋白144 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:25633]
ENSG00000118513	0	1.12982301	6	MYB	v-myb禽成髓细胞性白血病病毒癌基因同源物 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:7545]
ENSG00000091137	0	1.16699806	6	SLC26A4	溶质载体家族26 (阴离子交换剂), 成员4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:8818]
ENSG00000198483	0	1.43532228	6	ANKRD35	锚蛋白重复序列结构域35 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:26323]
ENSG00000237886	0	1.57281997	6	LINC01573	长基因间非蛋白质编码 RNA 1573 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:51192]
ENSG00000174004	0	2.27602232	6	NRROS	活性氧负调节剂 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:24613]
ENSG00000185634	0	1.66433678	6	SHC4	SHC (含Src同源2结构域) 家族, 成员4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:16743]
ENSG00000259886	0	1.17666464	6		
ENSG00000145358	0	1.32550219	6	DDIT4L	DNA 损伤诱导转录物4样 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:30555]
ENSG00000269896	0	1.28838255	6	RP4-740C4.5	
ENSG00000135828	0	1.0837094	6	RNASEL	核糖核酸酶L (2',5'-寡腺苷酸合成酶依赖性) [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:10050]
ENSG00000259162	0	1.52667158	6	RP11-203M5.6	
ENSG00000279109	-3.3403535	0	7	AC008641.1	未表征蛋白 {ECO:0000313 Ensembl:ENSP00000485568} [来源: UniProtKB/TrEMBL;Acc:A0A96LPF4]
ENSG00000152778	-1.0972226	0	7	IFIT5	具有四肽重复序列的干扰素诱导蛋白5 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:13328]

[0367]

[0368]

ENSG00000128284	-1.3050716	0	7	APOL3	载脂蛋白L, 3 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:14868]
ENSG00000213886	-4.0396114	0	7	UBD	泛素 D [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:18795]
ENSG00000164116	-1.5223055	0	7	GUCY1A3	可溶性鸟苷酸环化酶1, α 3 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:4685]
ENSG00000137462	-1.0020489	0	7	TLR2	toll样受体2 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:11848]
ENSG00000049249	-2.1008906	0	7	TNFRSF9	肿瘤坏死因子受体超家族, 成员 9 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:11924]
ENSG00000169181	-2.095598	0	7	GSG1L	GSG1样 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:28283]
ENSG00000162888	-1.7912286	0	7	Clorf147	1号染色体开放阅读框147 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:32061]
ENSG00000107201	-1.2413536	0	7	DDX58	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 盒多肽58 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:19102]
ENSG00000179826	-2.5133806	0	7	MRGPRX3	MAS-相关GPR, 成员X3 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:17980]
ENSG00000132109	-1.2867007	0	7	TRIM21	含三方基序 21 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:11312]
ENSG00000215007	-1.0078729	0	7	DNAJA1P3	DnaJ (Hsp40) 同源物, 亚家族A, 成员1, 假基因3 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:39339]
ENSG00000204682	-1.1628447	0	7	CASC10	癌症易感候选物10 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:31448]
ENSG00000108688	-1.8703428	0	7	CCL7	趋化因子 (C-C基序) 配体7 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:10634]
ENSG00000112096	-1.0730214	0	7	SOD2	超氧化物歧化酶2, 线粒体 [来源: HGNC 符号; Acc: HGNC:11180]

[0369]

ENSG0000010379	-2.697306	0	7	SLC6A13	溶质载体家族6 (神经递质转运蛋白), 成员13 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:11046]
ENSG00000169403	-1.579388	0	7	PTAFR	血小板活化因子受体 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:9582]
ENSG00000115604	-3.2590591	0	7	IL18R1	白细胞介素18受体1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:5988]
ENSG00000133401	-1.024655	0	7	PDZD2	含 PDZ 结构域 2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:18486]
ENSG00000095587	-2.2510173	0	7	TLL2	tolloid样2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:11844]
ENSG00000134256	-1.3577477	0	7	CD101	CD101分子 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:5949]
ENSG00000272463	-1.1413394	0	7	RP11-532F6.3	
ENSG00000102794	-1.5942464	0	7	IRG1	免疫反应性1同源物 (小鼠) [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:33904]
ENSG00000223799	-1.6341444	0	7	IL10RB-AS1	IL10RB反义RNA 1 (头对头) [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:44303]
ENSG0000019582	-1.1055825	0	7	CD74	CD74分子, 主要组织相容性复合体, II类不变链[来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:1697]
ENSG00000121577	-1.2357302	0	7	POPDC2	含popeye结构域2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:17648]
ENSG00000215268	-1.7373145	0	7	LA16c-60G3.8	
ENSG00000119121	-1.4785767	0	7	TRPM6	瞬时受体电位阳离子通道, 亚家族M, 成员6 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:17995]
ENSG00000108576	-1.2299055	0	7	SLC6A4	溶质载体家族6 (神经递质转运蛋白), 成员4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:11050]
ENSG00000274818	-1.8854991	0	7	RP1-292L20.3	

[0370]	ENSG00000198133	-1.9389698	0	7	TMEM229B	跨膜蛋白 229B [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:20130]
	ENSG00000130477	-1.2541053	0	7	UNC13A	unc-13同源物A (秀丽隐杆线虫) [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:23150]
	ENSG00000266094	-1.0579637	0	7	RASSF5	Ras关联 (RalGDS/AF-6) 结构域家族成员 5 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:17609]
	ENSG00000137571	-1.0904993	0	7	SLCO5A1	溶质载体有机阴离子转运蛋白家族，成员5A1[来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:19046]
	ENSG00000272512	-1.5915514	0	7	RP11-54O7.17	
	ENSG00000124391	-1.7278326	0	7	IL17C	白细胞介素 17C [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:5983]
	ENSG00000136052	-1.3272223	0	7	SLC41A2	溶质载体家族41 (镁转运蛋白) 成员2 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:31045]
	ENSG00000185245	-1.9464332	0	7	GP1BA	糖蛋白Ib (血小板), α 多肽 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:4439]
	ENSG00000203685	-1.8061183	0	7	Clorf95	1号染色体开放阅读框95 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:30491]
	ENSG00000149654	-1.331613	0	7	CDH22	2型钙粘蛋白22 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:13251]
	ENSG00000230943	-1.574129	0	7	RP11-367G18.1	
	ENSG00000215277	-3.2333936	0	7	RNF212B	环指蛋白 212B [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:20438]
	ENSG00000112139	-1.2861961	0	7	MDGA1	含有MAM结构域的糖基磷脂酰肌醇锚1 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:19267]
	ENSG00000143494	-1.5135205	0	7	VASH2	vasohibin 2 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:25723]
	ENSG00000151883	-1.1760751	0	7	PARP8	聚(ADP-核糖)聚合酶家族，成员 8 [来源：HGNC 符号;Acc:HGNC:26124]

ENSG00000136514	-1.9750242	0	7	RTP4	受体(化学感应)转运蛋白4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:23992]
ENSG00000106258	-1.012592	0	7	CYP3A5	细胞色素P450, 家族3, 亚家族A, 多肽5 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:2638]
ENSG00000243649	-2.5551714	0	7	CFB	补体因子B [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:1037]
ENSG00000164342	-1.0290951	0	7	TLR3	toll样受体3 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:11849]
ENSG00000115956	-2.3479537	0	7	PLEK	普列克底物蛋白 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:9070]
ENSG00000144476	-1.7184658	0	7	ACKR3	非典型趋化因子受体3 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:23692]
ENSG00000157601	-1.4173764	0	7	MX1	MX发动蛋白样GTPase 1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:7532]
[0371] ENSG00000177409	-1.1465499	0	7	SAMD9L	含不育α基序结构域9样 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:1349]
ENSG00000119917	-1.8565474	0	7	IFIT3	具有四肽重复序列3的干扰素诱导蛋白 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:5411]
ENSG00000271503	-1.7683442	0	7	CCL5	趋化因子(C-C基序)配体5 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:10632]
ENSG00000117226	-1.1447048	0	7	GBP3	鸟苷酸结合蛋白3 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:4184]
ENSG00000163840	-1.3311379	0	7	DTX3L	deltex 3样E3泛素连接酶 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:30323]
ENSG00000010030	-1.2207673	0	7	ETV7	ets变体7 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:18160]
ENSG00000261884	-1.3310986	0	7	CTC-479C5.12	未表征蛋白质{ECO:0000313 Ensembl:ENSP00000463376} [来源: UniProtKB/TrEMBL;Acc:J3QL48]

[0372]	ENSG00000152229	-1.0179291	0	7	PSTPIP2	脯氨酸-丝氨酸-苏氨酸磷酸酶相互作用蛋白2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:9581]
	ENSG00000100678	-2.0514071	0	7	SLC8A3	溶质载体家族8 (钠/钙交换剂), 成员3 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:11070]
	ENSG00000225194	-2.4201688	0	7	LINC00092	长基因间非蛋白质编码 RNA 92 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:31408]
	ENSG00000140968	-1.1898419	0	7	IRF8	干扰素调节因子8 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:5358]
	ENSG00000006210	-1.2182721	0	7	CX3CL1	趋化因子 (C-X3-C基序) 配体 1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:10647]
	ENSG00000221963	-1.1392138	0	7	APOL6	载脂蛋白L, 6 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:14870]
	ENSG00000130589	-1.0673283	0	7	HELZ2	解旋酶, 含锌指2, 转录共激活因子 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:30021]
	ENSG00000239713	-1.6622438	0	7	APOBEC3G	载脂蛋白B mRNA编辑酶, 催化多肽样3G [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:17357]
	ENSG00000151023	-1.0139189	0	7	ENKUR	enkurin, TRPC通道相互作用蛋白 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:28388]
	ENSG00000187123	-1.3193979	0	7	LYPD6	含LY6/PLAUR结构域6 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:28751]
	ENSG00000253831	-3.0507137	0	7	ETV3L	ets变体3样 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:33834]
	ENSG00000246130	-3.0351799	0	7	RP11-875O11.2	
	ENSG00000128335	-1.8122079	0	7	APOL2	载脂蛋白L, 2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:619]
	ENSG00000108702	-4.9466198	0	7	CCL1	趋化因子 (C-C基序) 配体1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:10609]

[0373]

ENSG00000105963	-1.2049889	0	7	ADAP1	ArfGAP, 具有双PH结构域1 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:16486]
ENSG00000170075	-1.4491156	0	7	GPR37L1	G蛋白偶联受体37样1 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:14923]
ENSG00000267607	-1.2021234	0	7	CTD-2369P2.8	
ENSG00000142961	-1.1266143	0	7	MOB3C	MOB激酶激活物3C [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:29800]
ENSG00000159200	-1.1629133	0	7	RCAN1	钙调磷酸酶调节剂1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:3040]
ENSG00000185291	-1.5031919	0	7	IL3RA	白细胞介素3受体, α (低亲 和力) [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:6012]
ENSG00000135917	-1.3131434	0	7	SLC19A3	溶质载体家族19 (硫胺素转 运蛋白), 成员3 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:16266]
ENSG00000179817	-1.7239398	0	7	MRGPRX4	MAS-相关GPR, 成员X4 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:17617]
ENSG00000173918	-1.1809051	0	7	C1QTNF1	C1q与肿瘤坏死因子相关蛋白 1 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:14324]
ENSG00000198879	-1.3578392	0	7	SFMBT2	Scm样, 具有四个mbt结构域 2 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:20256]
ENSG00000272078	-1.1495108	0	7	RP4-734G22.3	
ENSG00000269794	-1.7476941	0	7	AC010642.2	
ENSG00000115919	-1.2162129	0	7	KYNU	犬尿氨酸酶 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:6469]
ENSG00000255521	-1.8970116	0	7	RP4-607I17.1	
ENSG00000173193	-1.3401257	0	7	PARP14	聚(ADP-核糖)聚合酶家族, 成员 14 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:29232]
ENSG00000183644	-1.6099016	0	7	C11orf88	11号染色体开放阅读框88 [来 源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:25061]
ENSG00000253522	-1.2658724	0	7	CTC-231O11.1	
ENSG00000236453	-1.8969845	0	7	AC003092.1	

[0374]	ENSG00000131979	-1.5762138	0	7	GCH1	GTP环化水解酶1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:4193]
	ENSG0000069493	-2.1742062	0	7	CLEC2D	C型凝集素结构域家族2, 成员 D [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:14351]
	ENSG0000069696	-1.1323561	0	7	DRD4	多巴胺受体D4 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:3025]
	ENSG00000175356	-1.3984803	0	7	SCUBE2	信号肽, CUB结构域, EGF样 2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:30425]
	ENSG00000128165	-1.1779326	0	7	ADM2	肾上腺髓质素2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:28898]
	ENSG00000166856	-1.1992337	0	7	GPR182	G蛋白偶联受体182 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:13708]
	ENSG00000199161	-1.616849	0	7	MIR126	微小RNA 126 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:31508]
	ENSG0000050730	-1.9873165	0	7	TNIP3	TNFAIP3 相互作用蛋白 3 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:19315]
	ENSG00000255750	-1.8909724	0	7	RP11-283G6.5	
	ENSG00000184530	-2.3505853	0	7	C6orf58	6号染色体开放阅读框58 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:20960]
	ENSG00000104883	-1.3860147	0	7	PEX11G	过氧化物酶体生物发生因子 11γ [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:20208]
	ENSG00000129521	-2.7016498	0	7	EGLN3	egl-9 家族缺氧诱导因子 3 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:14661]
	ENSG00000204482	-1.2475769	0	7	LST1	白细胞特异性转录物1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:14189]
	ENSG00000115267	-1.3445539	0	7	IFIH1	干扰素诱导的解旋酶C结构域 1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:18873]
	ENSG00000162692	-2.1801821	0	7	VCAM1	血管细胞粘附分子1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:12663]
	ENSG00000261618	-1.2864344	0	7	RP11-79H23.3	

[0375]	ENSG00000101276	-1.1705916	0	7	SLC52A3	溶质载体家族52 (核黄素转运蛋白), 成员3 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:16187]
	ENSG00000064309	-1.4651234	0	7	CDON	细胞粘附相关, 致癌基因调节 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:17104]
	ENSG00000167371	-1.4282411	0	7	PRRT2	富含脯氨酸的跨膜蛋白2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:30500]
	ENSG00000101017	-1.5583663	0	7	CD40	CD40分子, TNF受体超家族成员5 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:11919]
	ENSG00000164400	0	-1.63408281	8	CSF2	集落刺激因子2 (粒细胞-巨噬细胞) [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:2434]
	ENSG00000172602	0	-1.15027449	8	RND1	Rho家族GTPase 1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:18314]
	ENSG00000174502	0	-2.09273487	8	SLC26A9	溶质载体家族26 (阴离子交换剂), 成员9 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:14469]
	ENSG00000234290	0	-1.00067832	8	AC116366.6	
	ENSG00000170961	0	-2.64619793	8	HAS2	透明质酸合成酶2 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:4819]
	ENSG00000110848	0	-1.46706866	8	CD69	CD69分子 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:1694]
	ENSG00000164512	0	-1.20441285	8	ANKRD55	锚蛋白重复序列结构域55 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:25681]
	ENSG00000167034	0	-1.10541745	8	NKX3-1	NK3同源盒1 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:7838]
	ENSG00000105246	0	-1.39394774	8	EBI3	EB病毒诱导3 [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:3129]
	ENSG00000145506	0	-1.41815829	8	NKD2	裸露角质蛋白同源物2 (果蝇) [来源: HGNC 符号;Acc:HGNC:17046]

[0376]	ENSG00000127533	0	-2.64266235	8	F2RL3	凝血因子II (凝血酶) 受体样 3 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:3540]
	ENSG00000115008	0	-2.15272028	8	IL1A	白细胞介素 1 α [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:5991]
	ENSG00000073282	0	-1.31215479	8	TP63	肿瘤蛋白p63 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:15979]
	ENSG00000113196	0	-1.61798433	8	HAND1	心脏和神经嵴衍生物表达1 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:4807]
	ENSG00000096996	0	-1.40936482	8	IL12RB1	白细胞介素12受体 β 1 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:5971]
	ENSG00000275582	0	-1.05575947	8	RP4-681N20.5	
	ENSG00000244476	0	-1.23492596	8	ERVFRD-1	内源性逆转录病毒组FRD, 成员 1 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:33823]
	ENSG00000165685	0	-1.10987961	8	TMEM52B	跨膜蛋白52B [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:26438]
	ENSG00000172331	0	-1.20450079	8	BPGM	2,3-二磷酸甘油酸变位酶 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:1093]
	ENSG00000198846	0	-1.42254609	8	TOX	胸腺细胞选择相关高迁移率族盒 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:18988]
	ENSG00000258521	0	-1.0229865	8	RP11-638I2.9	
	ENSG00000279133	0	-1.46999903	8	RP11-342K2.1	
	ENSG00000121905	0	-2.21994573	8	HPCA	海马钙结合蛋白 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:5144]
	ENSG00000232810	0	-1.4782116	8	TNF	肿瘤坏死因子 [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:11892]
	ENSG00000178882	0	-1.71201963	8	FAM101A	具有序列相似性的家族 101, 成员 A [来源 : HGNC 符号;Acc:HGNC:27051]

[0377]	ENSG00000173391	0	-1.01327133	8	OLR1	氧化低密度脂蛋白(凝集素样)受体1 [来源: HGNC 符号; Acc:HGNC:8133]
	ENSG00000257671	0	-1.03664909	8	RP3-416H24.1	
	ENSG00000269826	0	-1.64046441	8	RP11-158I3.3	
	ENSG00000176907	0	-1.2182476	8	C8orf4	8号染色体开放阅读框4 [来源: HGNC 符号; Acc:HGNC:1357]
	ENSG00000165478	0	-1.21164831	8	HEPACAM	肝和胶质细胞粘附分子 [来源: HGNC 符号; Acc:HGNC:26361]
	ENSG00000175746	0	-1.57742953	8	C15orf54	15号染色体开放阅读框54 [来源: HGNC 符号; Acc:HGNC:33797]
	ENSG00000187848	0	-2.24446361	8	P2RX2	嘌呤能受体 P2X, 配体门控离子通道2 [来源: HGNC 符号; Acc:HGNC:15459]

[0378] SB203580抑制61个TNF α 诱导基因的表达,其中28个也被UM101抑制(表6、表5、图5)。SB203580增加38个基因的表达,其中10个也被UM101增加。在SB203580和UM101都抑制的28个基因中,22个编码已知蛋白质,包括IL-1 β 、CCL17、MMP9、IDO1、CXCL5、10和11、透明质酸合成酶-3、MUC4和PLA2(表6)。在SB203580而非UM101抑制的33个基因中,24个编码已知蛋白质,包括GM-CSF、IL-1 α 、TNF α 、IL-12受体- β 1和透明质酸合成酶-2(表6)。

[0379] 表6:在HMVECL中SB203580和UM101对TNF α 诱导基因的影响¹

基因符号	基因名称	LOG 变化倍数 SB203580 vs. DMSO	LOG 变化倍数 UM101 vs. DMSO
SB203580 和 UM101 都抑制的基因			
PRRG4	富含脯氨酸的 Gla 4	-1.782580534	-1.198488233
TSLP	胸腺基质淋巴细胞生成素	-1.651439594	-1.336652511
CCL17	趋化因子 (C-C 基序) 配体 17	-1.834143455	-2.730309773
EXOC3L4	泡外复合体组分 3 样 4	-1.479163179	-1.160471021
MMP9	基质金属肽酶 9	-1.157091348	-1.091179627
IDO1	吲哚胺 2,3-双加氧酶 1	-3.510632932	-3.567987354
CXCL10	趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 10	-3.100915562	-4.369836708
CD200	CD200	-1.729285649	-1.538155406

SLC15A3	溶质载体家族 15, 成员 3	-1.00338842	-1.73105887
VDR	维生素 D 受体	-1.16718631	-1.19731694
IL1B	白细胞介素-1 β	-1.401586926	-1.172530543
GPR88	G 蛋白偶联受体 88	-1.397083754	-2.150599176
CD207	CD207 (胰岛蛋白)	-1.547757288	-3.382437255
TCHH	毛透明蛋白	-1.504958085	-1.547665316
HAS3	透明质酸合成酶 3	-1.43377734	-1.124339564
GBP1P1	鸟苷酸结合蛋白 1	-1.363287203	-1.755706078
MUC4	黏蛋白-4	-2.859491876	-1.057315692
ELOVL7	ELOVL 脂肪酸延长酶 7	-1.340933369	-1.381063226
CXCL11	趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 11	-1.377905942	-4.136354868
GBP4	鸟苷酸结合蛋白 4	-1.259283076	-2.835947907
PLA1A	磷脂酶 A1 成员 A	-1.27452433	-1.500633356
CXCL5	趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 5	-1.017427849	-1.468307731
SB203580 抑制但 UM101 不抑制的基因			
CSF2	GM-CSF	-1.634082807	ns ²
RND1	Rho 家族 GTPase 1	-1.15027449	ns
SLC26A9	溶质载体家族 26, 成员 9	-2.092734866	ns
HAS2	透明质酸合成酶 2	-2.646197932	ns
CD69	CD69	-1.467068659	ns
ANKRD55	锚蛋白重复序列结构域 55	-1.204412851	ns
NKX3-1	NK3 同源盒 1	-1.105417452	ns
EBI3	EB 病毒诱导 3	-1.393947741	ns
NKD2	裸露角质蛋白同源物 2	-1.418158287	ns
F2RL3	凝血因子 II 受体样 3	-2.642662346	ns
IL1A	白细胞介素-1 α	-2.152720278	ns
TP63	肿瘤蛋白 63	-1.312154792	ns
HAND1	心脏和神经嵴衍生物表达 1	-1.617984328	ns
IL12RB1	白细胞介素 12 受体 β 1	-1.409364824	ns
ERVFRD-1	内源性逆转录病毒组 FRD 成员 1	-1.234925956	ns
TMEM52B	跨膜蛋白 52B	-1.109879612	ns
BPGM	2,3-二磷酸甘油酸变位酶	-1.204500786	ns
TOX	胸腺细胞选择相关高迁移率族盒	-1.422546092	ns
HPCA	海马钙结合蛋白	-2.219945733	ns

[0381]

[0382]	TNF	肿瘤坏死因子- α	-1.478211598	ns
	FAM101A	具有序列相似性的家族 101 成员 A	-1.712019627	ns
	OLR1	氧化低密度脂蛋白受体 1	-1.013271327	ns
	HEPACAM	肝和胶质细胞粘附分子	-1.211648309	ns
	P2RX2	嘌呤能受体 P2X	-2.244463614	ns

[0383] ¹HMVECL与0.4% DMSO、10 μ M SB20350或100 μ M UM101一起预孵育1小时,然后用10ng/ml TNF α 刺激4小时并进行RNASeq。

[0384] ²不显著

[0385] 使用PathwayNet和IngenuityTM工具进一步分析差异表达的基因,以识别由两种抑制剂调节的转录因子和生物学途径。PathwayNet分析表明UM101抑制某些SB203580抑制的转录因子(Stat-1、c-Fos、c-Jun、NF κ B、p53、PPAR γ 和Sp1),但不抑制其他转录因子(ATF1、ATF2、E1k1、c/EBP β 、USF1、SMAD3、FOXO1和CREB,经由MSK1/2)。IngenuityTM分析表明SB203580和UM101均抑制树突状细胞成熟、髓样细胞表达的触发受体-1(TREM1)、高迁移率族盒1(HMGB1)和NF κ B途径,并且都增加肝X受体/维甲酸X-受体(LXR/RXR)激活,而只有SB203580抑制IL-6、急性期和胆囊收缩素/胃泌素介导的途径(图3A)。100 μ M的UM101降低了115个基因的表达并增加了119个未被SB203580修饰的基因的表达(表5),IngenuityTM途径分析表明降低了Toll样受体和Wnt/ β -catenin信号传导并增加了心血管疾病途径中的一氧化氮(图3B)。

[0386] 实施例6:比较SB203580和UM101对p38 MAPK底物磷酸化概况的影响

[0387] 为了评估UM101是否选择性抑制与其靶标一致的磷酸化,HeLa细胞用10 μ M SB203580、50 μ M UM101或0.1%DMSO媒介物对照预处理30分钟,然后用p38激活剂、茴香霉素(25 μ g/ml)处理并且通过免疫印迹分析磷酸化MK2和Stat-1(图3C)。10 μ M SB203580和50 μ M UM101均降低了茴香霉素刺激的MK2和Stat-1磷酸化,但SB203580降低的更多。

[0388] 实施例7:分析UM101与p38 α 的特异性结合

[0389] 使用DSF分析UM101与p38 α 和p38 β 的浓度特异性结合。虽然SB203580稳定了p38 α 和p38 β 二者,但UM101仅稳定了p38 α (图3D)。为了确认UM101与CADD靶向口袋结合,使用DSF比较UM101和SB203580与野生型p38 α 和p38 α 突变体的结合,其中十个靶口袋氨基酸(R49K/HL107-8TF/K165R)中的四个被取代(图3E)。该突变体表现出与野生型p38 α 相同的SB203580结合,但没有UM101结合。

[0390] 使用饱和转移差(STD)-NMR确认UM101与p38 α 中的CADD靶向口袋的选择性结合。UM101在p38 α 存在下的1D光谱如图3F所示,并且相同样品的STD光谱如图3G所示。基于UM101在2mM d6-DMSO中的分配,根据水性形式UM101的暂定峰分配标记1D光谱中的峰,所述分配通过使用1D质子以及C13和2D-HMBC实验获得。STD光谱中峰的位移与1D光谱中的那些恰好对应,因此表明UM101的两个芳环中的质子与p38 α 相互作用。相比之下,虽然UM101与p38 β 和突变的p38 α 的1D光谱与UM101/p38 α 的1D光谱相似(图3H和图3J),但UM101与p38 β 和突变的p38 α 的相互作用要弱得多,如UM101与p38 β (图3I)和突变的p38 α (图3K)的STD光谱中芳族质子的几乎不可辨别峰所示。

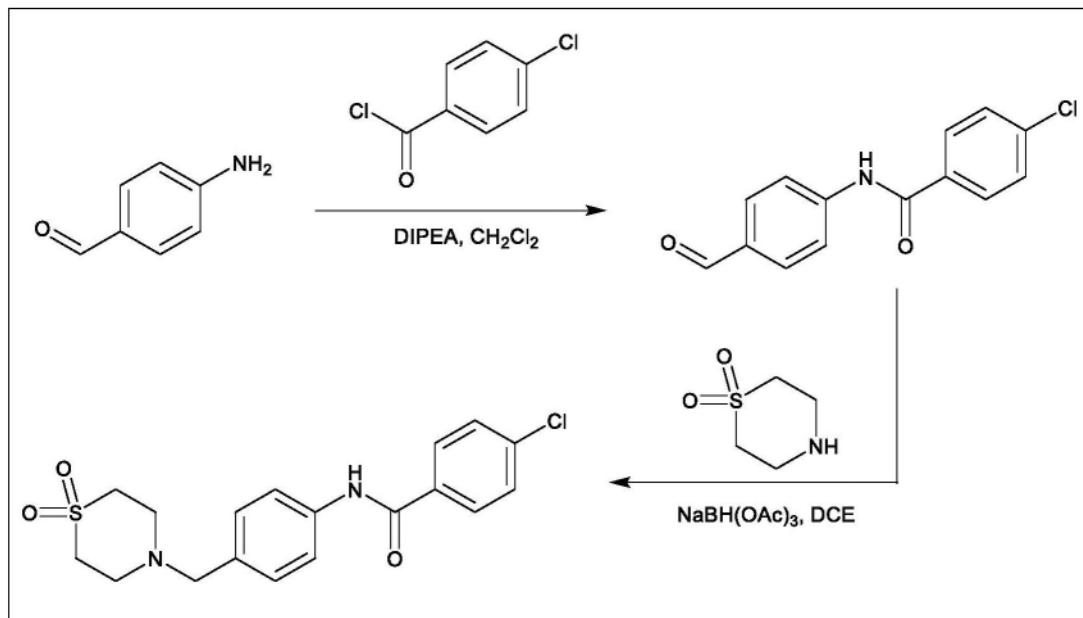
[0391] 实施例8:制备本发明示例性化合物的合成方法

[0392] 化学通用方法:所有空气或湿气敏感反应均在氮气正压下用烘箱干燥的玻璃器皿进行。化学试剂和无水溶剂从商业来源获得并按原样使用。

[0393] 本发明的p38 α MAPK抑制剂可以通过本领域公知的方法制备。例如,化合物UM101可以如方案1中所述制备。UM101可以从三个市售片段分两步制备(方案1),这有利于其优化。在二异丙胺(DIPEA)存在下,用4-氯苯甲酰氯酰化4-氨基苯甲醛生成中间体醛。随后用硫代吗啉1,1-二氧化物和三乙酰氧基硼氢化钠($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$)对醛进行还原胺化,得到UM101。

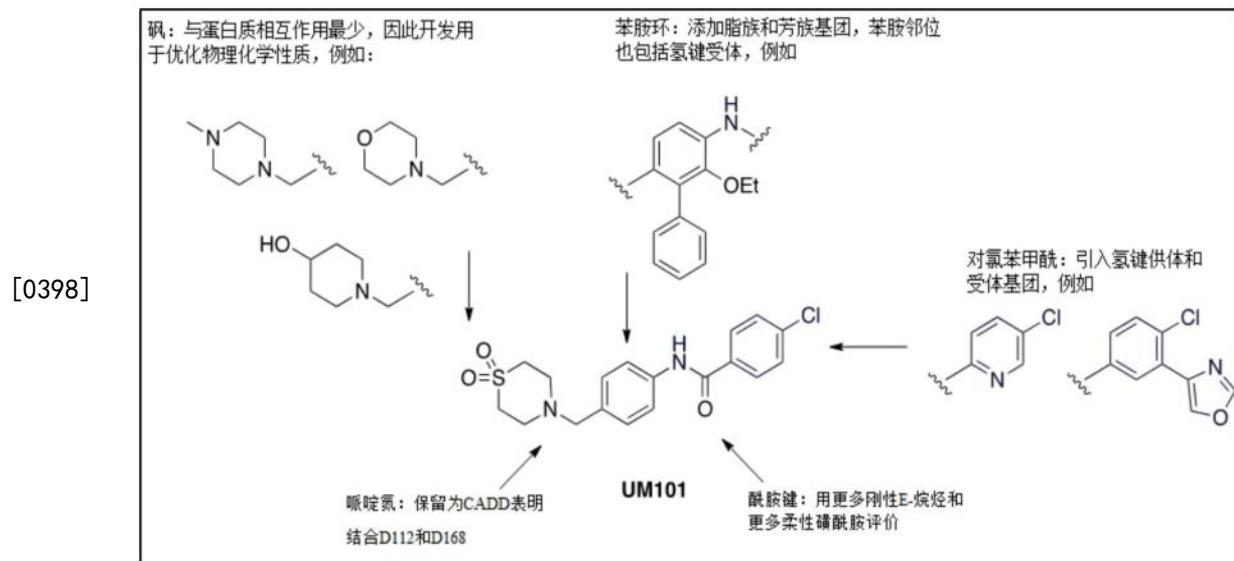
[0394] 方案1

[0395]



[0396] 进行UM101和其他先导化合物的聚焦构效关系(SAR)以确定其药效团和用于实现其优化的信息,例如通过将此信息反馈回CADD模型以提高其可预测性,从而促进后续设计周期。对UM101的建议修改的总结显示在方案2中,该方案由SILCS分子建模驱动,并解决了结合亲和力和特异性的改进以及物理化学性质的增强。重要的是,UM101的STD-NMR分析证实它的两个芳环与蛋白质相互作用,因此这些环的修饰将影响结合亲和力。首先,由于预测UM101的带正电(在生理条件下)哌啶型氮会与带负电的残基如D112和D168相互作用,因此在一些实施例中将被保留。根据FragMaps,远离中心苯环的脂族(例如环己基)或芳族(例如呋喃)取代基应通过与V30、V38、A51、I84、L108和L167的相互作用增强与蛋白质的结合。此外,与脂族图重叠的氢键受体图的存在表明,在一些实施例中,组合的脂族/氢键受体基团如OEt在苯胺氮的邻位掺入。在一些实施例中,氢键供体(例如 NH_2 、OH)和/或受体基团(例如OMe、异噁唑)被掺入外围氯苯环的邻位和间位,在其他实施例中其可以被氯吡啶环替代。这些变化进一步增加了化合物的溶解度。尽管在一些实施例中,如通过SILCS GFE分析所判断的,氯苯环的氯与蛋白质适度相互作用,但在其他实施例中,该位点也随着替代的疏水基团和更多极性基团而变化。在一些实施例中,反式酰胺键被修饰为刚性E-烯烃,并且在其他实施例中被修饰为更柔性的磺酰胺。基于SILCS GFE分析,砜 SO_2 基团对结合贡献-0.5kcal/mol,表明在一些实施例中,可以利用分子的该区域来优化分子的物理化学性质,而不会影响结合亲和力。例如, SO_2 基团在一些实施例中被极性氧原子替换,并且在其他实施例中也被NMe基团替换。

[0397] 方案2

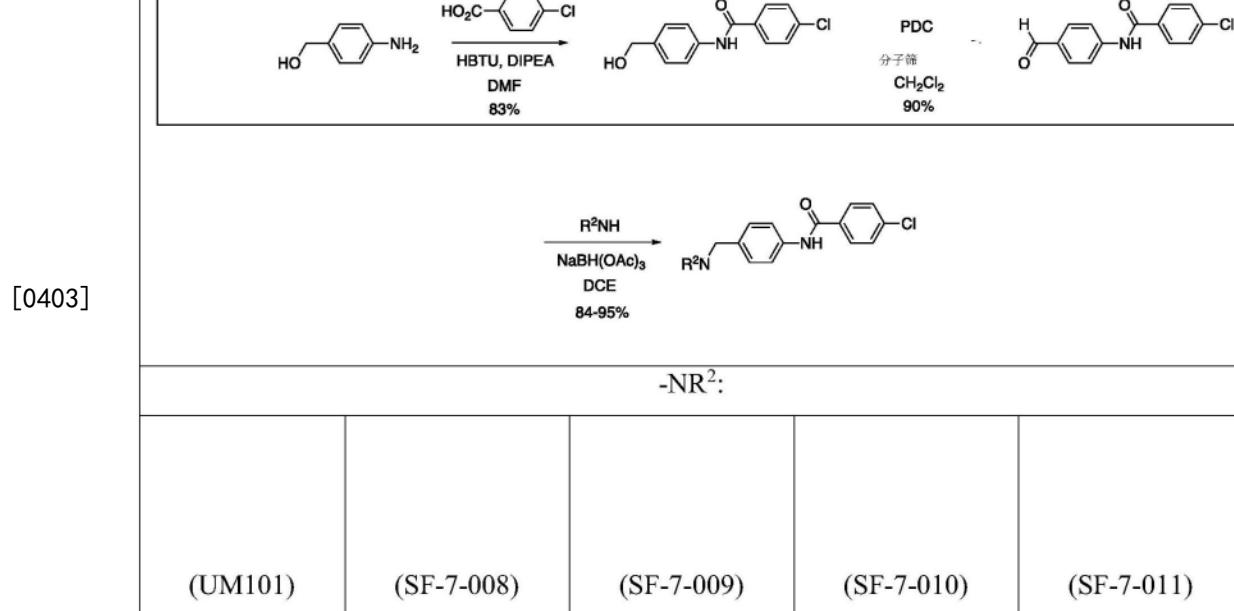


[0399] 实施例9：新型非ATP/催化位点p38丝裂原活化蛋白激酶抑制剂

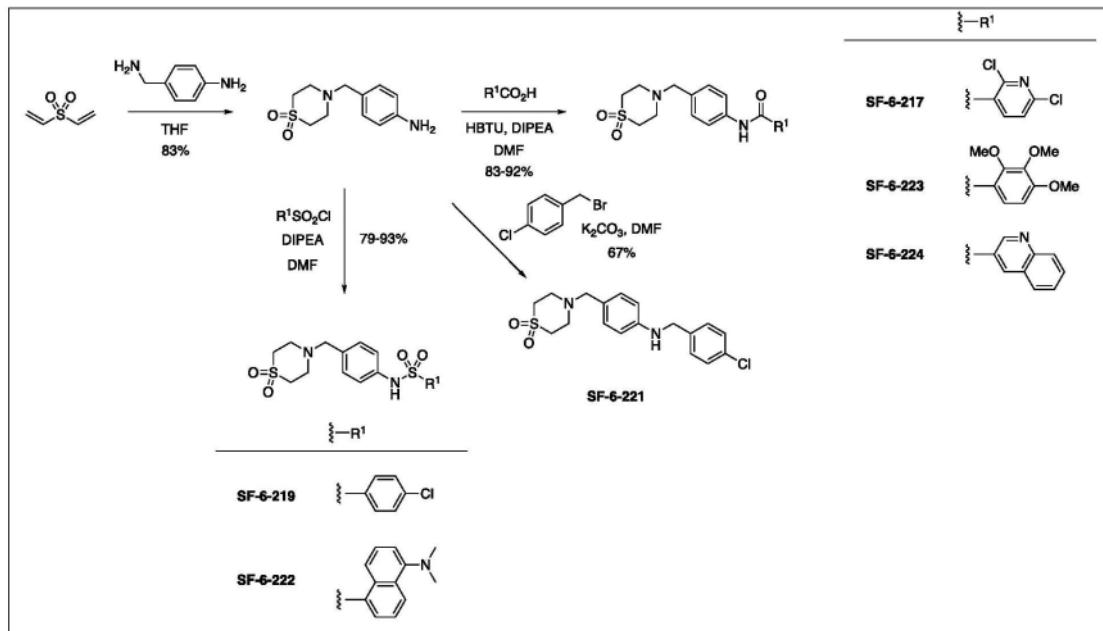
[0400] 计算机辅助药物设计(CADD)用于识别靶向选择底物结合位点并抑制导致急性肺损伤的p38丝裂原活化蛋白(MAP)激酶活性的新型小分子化合物。这些化合物的独特之处在于它们是非ATP/催化位点激酶抑制剂，并为当前靶向ATP结合或催化位点并阻断所有酶活性的p38 MAP激酶抑制剂提供了替代方案。化合物UM101靶向p38 α MAP激酶同种型，并且是与慢性炎症和急性肺损伤相关的组织损伤相关的主要p38 MAP激酶同种型。当前的p38 MAP激酶抑制剂靶向ATP结合或催化位点，其阻断所有酶活性，并且缺乏同种型选择性。相比之下，本文公开的化合物靶向蛋白质底物相互作用所特有的位点并阻断特定的p38 α MAP激酶功能。

[0401] 合成了新型UM101类似物(方案3-5)并测试了与p38 α MAP激酶的相互作用和生物活性。

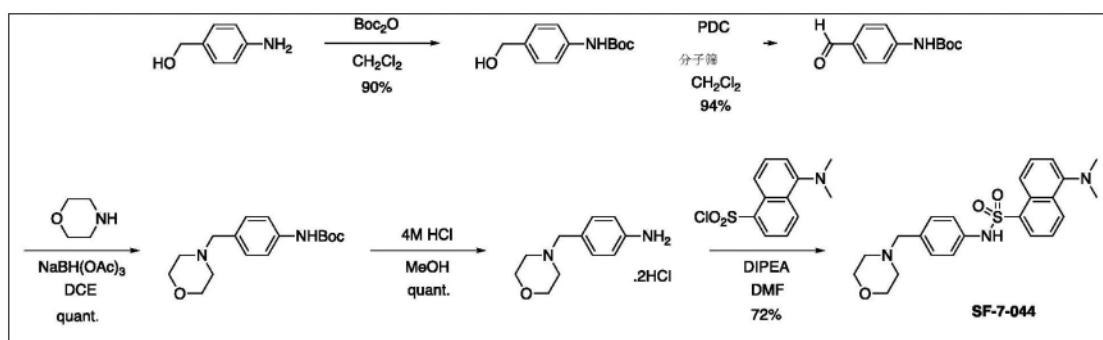
[0402] 方案3



[0404] 方案4



[0405] 方案5



[0408] 两条证据表明先导化合物可以改善肺屏障功能并预防肺损伤。首先,该化合物可以阻断人血管内皮细胞中凝血酶诱导的细胞渗透性(图8)。其次,在母体化合物UM101和类似物SF-6-222和SF-7-009(图9)或类似物SF-6-222、SF-7-009和SF-7-044(图10)存在下,用LPS攻击以诱导肺部炎症的小鼠减少了泄漏到支气管肺泡灌洗液中的蛋白质。如图9所示,UM101和类似物抑制小鼠模型中的急性肺损伤。小鼠用1mg测试化合物i.p.预处理,然后用100mg LPS i.t.在39℃下处理以诱导炎症。通过测量肺灌洗液中的总蛋白来评估肺损伤。如图10所示,UM101和类似物抑制小鼠模型中的急性肺损伤。所有小鼠均接受50μg LPS i.t.,并在39℃下保持24小时;LPS后6小时给予所有处理1mg(于0.5ml DMSO中);平均值±SM,n=5,*p=0.03vs DMSO#1;†p=0.16vs DMSO#2。通过测量肺灌洗液中的总蛋白来评估肺损伤。

[0409] 本发明的有用应用是为由炎症和内皮渗透性引起的急性肺损伤和其他疾病提供新的疗法。此外,本发明旨在克服目前用于临床治疗炎症的p38 MAP激酶抑制剂的毒性和功效不佳的问题。

[0410] 本文引用了多个专利和非专利出版物,以描述本发明所属领域的现状。这些出版物中的每一个的全部公开内容通过引用并入本文。

[0411] 虽然上面已经描述和/或举例说明了本发明的某些实施方案,但是根据前述公开,

各种其他实施方案对本领域技术人员而言将是显而易见的。因此,本发明不限于所描述和/或例示的特定实施方案,而是能够在不脱离所附权利要求的范围和精神的情况下进行相当大的变化和修改。

[0412] 此外,如本文所用,术语“约”是指数量、大小、制剂、参数、形状和其他量和特性不是也不必是精确的,但可以是近似的和/或根据需要更大或更小,反映公差、转换因数、四舍五入、测量误差等,以及本领域技术人员已知的其他因素。一般而言,量、大小、制剂、参数、形状或其他量或特性是“大约”或“近似”,无论是否明确这样说明。

[0413] 此外,当在所附权利要求中以原始和修改形式使用时,过渡性术语“包括”、“基本上由……组成”和“由……组成”定义了权利要求范围,其中未列举的附加权利要求要素或步骤(如果有的话)被排除在权利要求的范围之外。术语“包括”旨在是包容性的或开放式的,并且不排除任何额外的、未列举的要素、方法、步骤或材料。术语“由……组成”不包括权利要求中指定的元素、步骤或材料之外的任何元素、步骤或材料,并且在后一种情况下,不包括通常与指定材料相关的杂质。术语“基本上由……组成”将权利要求的范围限制为指定的元素、步骤或材料,以及不会对要求保护的发明的基本和新颖特征产生实质性影响的要素、步骤或材料。在替代实施方案中,本文描述的体现本发明的所有化合物、组合物、制剂和方法可以由任何过渡术语“包括”、“基本上由……组成”和“由……组成”更具体地定义。

[0414] 参考文献

[0415] Wagner EF&Nebreda AR (2009) .JNK和p38 MAPK途径在癌症发展中的信号整合 (Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development) .《自然综述癌症 (Nat Rev Cancer) 》9(8) :537-549.

[0416] Thalhamer T,McGrath MA,&Harnett MM(2008) .MAPK及其与关节炎和炎症的相关性 (MAPKs and their relevance to arthritis and inflammation) .《风湿病学 (牛津) (Rheumatology (Oxford)) 》47(4) :409-414.

[0417] Fisk M,Gajendragadkar PR,Maki-Petaja KM,Wilkinson IB,&Cheriyam J (2014) .p38MAP激酶抑制剂在心血管疾病管理中的治疗潜力 (Therapeutic potential of p38 MAP kinase inhibition in the management of cardiovascular disease) .《美国心血管药物杂志 (Am J Cardiovasc Drugs) 》14(3) :155-165.

[0418] Krementsov DN,Thornton TM,Teuscher C,&Rincon M(2013) .p38丝裂原活化蛋白激酶在多发性硬化及其模型中的新作用 (The emerging role of p38 mitogen-activated protein kinase in multiple sclerosis and its models) .《分子细胞生物学 (Mol Cell Biol) 》33(19) :3728-3734.

[0419] Feng YJ&Li YY (2011) .p38丝裂原活化蛋白激酶在炎性肠病发病机制中的作用 (The role of p38 mitogen-activated protein kinase in the pathogenesis of inflammatory bowel disease) .《消化疾病杂志 (J Dig Dis) 》12(5) :327-332.

[0420] Chung KF (2011) .哮喘和COPD中的p38丝裂原活化的蛋白激酶途径 (p38mitogen-activated protein kinase pathways in asthma and COPD) .《胸部 (Chest) 》139 (6) :1470-1479.

[0421] Damarla M等人 (2009) .丝裂原活化蛋白激酶活化蛋白激酶2调节呼吸机相关性肺损伤中的肌动蛋白聚合和血管渗漏 (Mitogen activated protein kinase activated

protein kinase 2regulates actin polymerization and vascular leak in ventilator associated lung injury).《美国科学公共图书馆 (PLoS One)》4(2):e4600.

[0422] Shah NG等人 (2012) . 发热范围内高热增加人类微血管肺内皮细胞中可逆性TNF- α 诱导的渗透性过高 (Febrile-range hyperthermia augments reversible TNF-alpha-induced hyperpermeability in human microvascular lung endothelial cells) .《国际热疗学报:欧洲热疗肿瘤学研究会官方杂志,北美热疗组 (International journal of hyperthermia:the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group)》28(7):627-635.

[0423] Tulapurkar ME等人 (2012) . 发热范围内高热改变内皮和中性粒细胞功能以促进外渗 (Febrile-range hyperthermia modifies endothelial and neutrophilic functions to promote extravasation) .《美国呼吸细胞与分子生物学杂志 (American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology)》46(6):807-814.

[0424] Damjanov N,Kauffman RS,&Spencer-Green GT (2009) . VX-702—一种新型p38MAPK抑制剂—在类风湿性关节炎中的功效、药效学和安全性:两项随机双盲安慰剂对照临床研究的结果 (Efficacy, pharmacodynamics, and safety of VX-702, a novel p38 MAPK inhibitor, in rheumatoid arthritis: results of two randomized, double-blind, placebo-controlled clinical studies) .《关节炎&风湿病学 (Arthritis Rheum)》60(5):1232-1241.

[0425] Watz H,Barnacle H,Hartley BF,&Chan R(2014) . p38 MAPK抑制剂losmapimod对于慢性阻塞性肺病患者的功效和安全性:随机双盲安慰剂对照试验 (Efficacy and safety of the p38 MAPK inhibitor losmapimod for patients with chronic obstructive pulmonary disease:a randomised, double-blind, placebo-controlled trial) .《柳叶刀呼吸医学杂志 (Lancet Respir Med)》2(1):63-72.

[0426] MacNee W,Allan RJ,Jones I,De Salvo MC,&Tan LF (2013) . 口服p38抑制剂PH-797804在慢性阻塞性肺病中的功效和安全性:随机临床试验 (Efficacy and safety of the oral p38 inhibitor PH-797804 in chronic obstructive pulmonary disease:a randomised clinical trial) .《胸腔 (Thorax)》68(8):738-745.

[0427] Schreiber S等人 (2006) . 口服BIRB 796抑制p38丝裂原活化蛋白激酶活性以用于活动性克罗恩病:随机双盲安慰剂对照试验 (Oral p38 mitogen-activated protein kinase inhibition with BIRB 796 for active Crohn's disease:a randomized, double-blind, placebo-controlled trial) .《临床胃肠病学和肝病学 (Clin Gastroenterol Hepatol)》4(3):325-334.

[0428] Pargellis C等人 (2002) . 利用新型变构结合位点抑制p38 MAP激酶 (Inhibition of p38MAP kinase by utilizing a novel allosteric binding site) .《自然结构生物学 (Nat Struct Biol)》9(4):268-272.

[0429] Davidson W等人 (2004) . 底物选择性p38 α 抑制剂的发现和表征 (Discovery and characterization of a substrate selective p38alpha inhibitor) .《生物化学 (Biochemistry)》43(37):11658-11671.

[0430] Hendriks BS,Seidl KM,&Chabot JR(2010) . 两种加和机制在体外削弱了“底物选

择性”p38抑制剂与经典p38抑制剂的区分(Two additive mechanisms impair the differentiation of ‘substrate-selective’ p38 inhibitors from classical p38 inhibitors in vitro).《BMC系统生物学(BMC Syst Biol)》4:23.

[0431] Marber MS,Molkentin JD,&Force T(2010).开发小分子以抑制对心脏不利的激酶:p38 MAPK为例(Developing small molecules to inhibit kinases unkind to the heart:p38MAPK as a case in point).《药物发现与疾病机制(Drug Discov Today Dis Mech)》7(2):e123-e127.

[0432] Beardmore VA等人(2005).p38 β (MAPK11)基因靶向小鼠的生成和表征(Generation and characterization of p38beta (MAPK11) gene-targeted mice).《分子细胞生物学(Mol Cell Biol)》25(23):10454-10464.

[0433] O'Keefe SJ等人(2007).化学遗传学定义了p38 α 和p38 β 在急性和慢性炎症中的作用(Chemical genetics define the roles of p38alpha and p38beta in acute and chronic inflammation).《生物化学杂志(J Biol Chem)》282(48):34663-34671.

[0434] Ferrari G等人(2012).TGF- β 1通过将p38(MAPK)的VEGF活化从促存活p38 β 转变为促细胞凋亡p38 α 来诱导内皮细胞凋亡(TGF-beta1 induces endothelial cell apoptosis by shifting VEGF activation of p38 (MAPK) from the prosurvival p38beta to proapoptotic p38alpha).《分子癌症综述(Mol Cancer Res)》10(5):605-614.

[0435] Liu H,Yanamandala M,Lee TC,&Kim JK(2014).心肌细胞中雌激素介导的线粒体p38 β 和锰超氧化物歧化酶相互作用(Mitochondrial p38beta and manganese superoxide dismutase interaction mediated by estrogen in cardiomyocytes).《美国科学公共图书馆(PLoS One)》9(1):e85272.

[0436] Ananieva O等人(2008).激酶MSK1和MSK2充当Toll样受体信号传导的负调节物(The kinases MSK1 and MSK2 act as negative regulators of Toll like receptor signaling).《自然免疫学(Nat Immunol)》9(9):1028-1036.

[0437] Kim C等人(2008).激酶p38 α 在皮肤损伤中提供细胞类型特异性炎性功能,并协调促炎和抗炎基因表达(The kinase p38 alpha serves cell type-specific inflammatory functions in skin injury and coordinates pro- and anti-inflammatory gene expression).《自然免疫学(Nat Immunol)》9(9):1019-1027.

[0438] Cheriyam J等人(2011).p38丝裂原活化蛋白激酶的抑制改善了一氧化氮介导的血管舒张并减轻了高胆固醇血症中的炎症(Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase improves nitric oxide-mediated vasodilatation and reduces inflammation in hypercholesterolemia).《循环(Circulation)》123(5):515-523.

[0439] Tanoue T,Adachi M,Moriguchi T,&Nishida E(2000).底物、激活剂和调节剂共有的MAP激酶中的保守对接基序(A conserved docking motif in MAP kinases common to substrates,activators and regulators).《自然细胞生物学(Nat Cell Biol)》2(2):110-116.

[0440] Tanoue T,Maeda R,Adachi M,&Nishida E(2001).调节对接相互作用特异性的ERK和p38 MAP激酶上的对接槽的鉴定(Identification of a docking groove on ERK and p38MAP kinases that regulates the specificity of docking interactions)《欧

洲分子生物学学会杂志(Embo J)》20(3):466-479.

[0441] Tzarum N,Komornik N,Ben Chetrit D,Engelberg D,&Livnah O(2013).p38 α 中的DEF口袋促进底物选择性并介导自磷酸化(DEF pocket in p38alpha facilitates substrate selectivity and mediates autophosphorylation).《生物化学杂志(The Journal of Biological Chemistry)》288(27):19537-19547.

[0442] ter Haar E,Prabhakar P,Liu X,&Lepre C(2007).p38 α -MAPKAP激酶2异二聚体的晶体结构(Crystal structure of the p38 alpha-MAPKAP kinase 2heterodimer).《生物化学杂志(J Biol Chem)》282(13):9733-9739.

[0443] Pan Y,Huang N,Cho S,&MacKerell AD,Jr.(2003).在虚拟的基于靶的数据库筛选中化合物选择期间分子量的考虑(Consideration of molecular weight during compound selection in virtual target-based database screening).《化学信息与计算机科学杂志(J Chem Inf Comput Sci)》43(1):267-272.

[0444] Butina D(1999).日光指纹和Tanimoto相似性的无监督数据库聚类:用于将小数据集和大数据集聚类的快速且自动的方式(Unsupervised Data Base Clustering on Daylight'sFingerprint and Tanimoto Similarity:A Fast and Automated Way to Cluster Small and Large Data Sets).《化学信息与计算机科学杂志(J.Chem.Inf.Comput.Sci.)》39:747-750.

[0445] Godden JW,Stahura FL,&Bajorath J(2005).对结构多样的活性化合物组进行指纹搜索计算的解剖学(Anatomy of fingerprint search calculations on structurally diverse sets of active compounds).《化学信息与建模杂志(Journal of chemical information and modeling)》45(6):1812-1819.

[0446] Oashi T,Ringer AL,Raman EP,&Mackerell AD(2011).具有使生物利用度和类药性最大化的物理化学性质的化合物的自动选择(Automated selection of compounds with physicochemical properties to maximize bioavailability and druglikeness).《化学信息与建模杂志(Journal of chemical information and modeling)》51(1):148-158.

[0447] Niesen FH,Berglund H,&Vedadi M(2007).使用差示扫描荧光测定法检测促进蛋白质稳定性的配体相互作用(The use of differential scanning fluorimetry to detect ligand interactions that promote protein stability).《自然方案(Nat Protoc)》2(9):2212-2221.

[0448] Rice P等人(2005).在实验性革兰氏阴性细菌性肺炎中发热范围内高热增加中性粒细胞积聚并增强肺损伤(Febrile-range Hyperthermia Augments Neutrophil Accumulation and Enhances Lung Injury in Experimental Gram-negative Bacterial Pneumonia).《免疫学杂志(J. Immunol.)》174:3676-3685.

[0449] Jiang MZ等人(2005).抗氧化剂和NO对人肺微血管内皮细胞中TNF- α 诱导的粘附分子表达的作用(Effects of antioxidants and NO on TNF-alpha-induced adhesion molecule expression in human pulmonary microvascular endothelial cells).《呼吸道医学(Respir Med)》99(5):580-591.

[0450] Viemann D等人(2006).TNF在微血管和大血管人内皮细胞中诱导不同的基因表达

程序(TNF induces distinct gene expression programs in microvascular and macrovascular human endothelial cells).《白细胞生物学杂志(J Leukoc Biol)》80(1):174-185.

[0451] Vivoli M,Novak HR,Littlechild JA,&Harmer NJ(2014).使用差示扫描荧光测定法测定蛋白质-配体相互作用(Determination of protein-ligand interactions using differential scanning fluorimetry).《可视化实验杂志(J Vis Exp)》(91):51809.

[0452] Hancock CN等人(2005).新型细胞外信号调节激酶对接结构域抑制剂的鉴定(Identification of novel extracellular signal-regulated kinase docking domain inhibitors).《药物化学杂志(J Med Chem)》48(14):4586-4595.

[0453] Burkhard K,Smith S,Deshmukh R,MacKerell AD,Jr.,&Shapiro P(2009).细胞外信号调节激酶抑制剂的开发(Development of extracellular signal-regulated kinase inhibitors).《当前医药化学的热门话题(Curr Top Med Chem)》9(8):678-689.

[0454] Godl K等人(2003).鉴定蛋白激酶抑制剂的细胞靶标的有效蛋白质组学方法(An efficient proteomics method to identify the cellular targets of protein kinase inhibitors).《美国国家科学院学报(Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)》100(26):15434-15439.

[0455] Mayer M&Meyer B(2001).通过饱和转移差异NMR鉴定与蛋白质受体直接接触的配体区段的组表位作图(Group epitope mapping by saturation transfer difference NMR to identify segments of a ligand in direct contact with a protein receptor).《美国化学学会杂志(J Am Chem Soc)》123(25):6108-6117.

[0456] Zhong W等人(2014).MAPK11/12/13/14(p38 MAPK)途径的激活调节HeLa细胞中响应由新的铜络合物诱导的氧化应激的自噬基因的转录(Activation of the MAPK11/12/13/14(p38 MAPK) pathway regulates the transcription of autophagy genes in response to oxidative stress induced by a novel copper complex in HeLa cells).《自噬(Autophagy)》10(7):1285-1300.

[0457] Hu J等人(2014).人磷酸化网络的全局分析(Global analysis of phosphorylation networks in humans).《生物物理学法案(Biochim Biophys Acta)》1844(1Pt B):224-231.

[0458] Zhao J等人(2015).粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子减弱热注射后内皮的渗透性过高(Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor attenuates endothelial hyperpermeability after thermal injury).《美国翻译研究杂志(Am J Transl Res)》7(3):474-488.

[0459] Best RB等人(2012).加和CHARMM全原子蛋白质力场的优化靶向骨架 Φ 、 Ψ 和侧链 χ (1)和 χ (2)二面角的改进取样(Optimization of the additive CHARMM all-atom protein force field targeting improved sampling of the backbone phi,psi and side-chain chi(1) and chi(2) dihedral angles).《化学理论与计算杂志(J Chem Theory Comput)》8(9):3257-3273.

[0460] Vanommeslaeghe K等人(2010).CHARMM一般力场:用于药物类分子的与CHARMM全

原子加合生物力场相容的力场 (CHARMM general force field:A force field for drug like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields).《计算机化学杂志 (J Comput Chem)》31(4):671-690.

[0461] Phillips JC等人 (2005). NAMD的可缩放分子动力学 (Scalable molecular dynamics with NAMD).《计算机化学杂志 (J. Comput. Chem.)》26:1781-1802.

[0462] Foster TJ,MacKerell AD,Jr.,&Guvench O (2012). 在基于计算片段的抑制剂发现中平衡靶标灵活性和靶标变性 (Balancing target flexibility and target denaturation in computational fragment-based inhibitor discovery).《计算机化学杂志 (J Comput Chem)》33(23):1880-1891.

[0463] Karpen ME,Tobias DJ,&Brooks CL,3rd (1993). 用于分析长分子动力学轨迹的统计聚类技术:YPGDV的2.2ns轨迹分析 (Statistical clustering techniques for the analysis of long molecular dynamics trajectories:analysis of 2.2-ns trajectories of YPGDV).《生物化学 (Biochemistry)》32(2):412-420.

[0464] Zhong S&MacKerell AD,Jr. (2007). 结合反应:用于选择蛋白质表面配体结合位点的描述物 (Binding response:a descriptor for selecting ligand binding site on protein surfaces).《化学信息与建模杂志 (Journal of chemical information and modeling)》47(6):2303-2315.

[0465] DesJarlais RL,Sheridan RP,Dixon JS,Kuntz ID,&Venkataraghavan R (1986). 通过分子形状将柔性配体对接到大分子受体 (Docking flexible ligands to macromolecular receptors by molecular shape).《医学化学杂志 (Journal of Medicinal Chemistry)》29(11):2149-2153.

[0466] Kuntz ID,Blaney JM,Oatley SJ,Langridge R,&Ferrin TE (1982). 大分子-配体相互作用的几何学方法 (A geometric approach to macromolecule-ligand interactions).《分子生物学杂志 (Journal of Molecular Biology)》161(2):269-288.

[0467] Makino S&Kuntz ID (1997). 自动化的柔性配体对接方法及其在数据库搜索中的应用 (Automated Flexible Ligand Docking Method and Its Application for Database Search).《计算化学杂志 (Journal of Computational Chemistry)》18:1812-1825.

[0468] Pan Y,Huang N,Cho S,&MacKerell AD,Jr. (2003). 在虚拟的基于靶的数据库筛选中化合物选择期间分子量的考虑 (Consideration of molecular weight during compound selection in virtual target-based database screening).《化学信息与计算机科学杂志 (J Chem Inf Comput Sci)》43(1):267-272.

[0469] Lipinski CA (2000). 药物类的性质以及溶解性差和渗透性差的原因 (Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability).《药理学和毒理学方法杂志 (J Pharmacol Toxicol Methods)》44(1):235-249.

[0470] Gong P等人 (2008). TLR4信号传导与SRC家族激酶活化、粘着小带蛋白的酪氨酸磷酸化和人肺微血管内皮中细胞旁路途径的打开偶联 (TLR4 signaling is coupled to SRC family kinase activation,tyrosine phosphorylation of zonula adherens proteins, and opening of the paracellular pathway in human lung microvascular

endothelia) .《生物化学杂志 (The Journal of Biological Chemistry)》283(19) :13437-13449.

[0471] Liu A等人 (2012) .TRAF6蛋白将Toll样受体4信号传导与Src家族激酶活化,并在人肺微血管内皮中细胞旁路途径的打开偶联 (TRAF6 protein couples Toll-like receptor 4signaling to Src family kinase activation and opening of paracellular pathway in human lung microvascular endothelia) .《生物化学杂志 (The Journal of Biological Chemistry)》287(20):16132-16145.

[0472] Hasday JD等人 (2001) .暴露于发热温度改变内皮细胞对肿瘤坏死因子 α 的应答 (Exposure to febrile temperature modifies endothelial cell response to tumor necrosis factor- α) .《应用生理学杂志 (J.Appl.Physiol.)》90:90-98.

[0473] Sakarya S等人 (2004) .中性粒细胞唾液酸酶活性的动员使肺血管内皮表面失活,并增加静息中性粒细胞与内皮的粘附和穿过内皮的迁移 (Mobilization of neutrophil sialidase activity desialylates the pulmonary vascular endothelial surface and increases resting neutrophil adhesion to and migration across the endothelium) .《糖生物学 (Glycobiology)》14(6):481-494.

[0474] Livak KJ&Schmittgen TD(2001) .使用实时定量PCR和 $2(-\Delta\Delta C(T))$ 方法分析相对基因表达数据 (nalysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2(-\Delta\Delta C(T))$ Method) .《方法 (Methods)》25(4):402-408.

[0475] Gupta A等人 (2013) .Toll样受体激动剂和发热范围内高热协同诱导热休克蛋白70表达和细胞外释放 (Toll-like receptor agonists and febrile range hyperthermia synergize to induce heat shock protein 70expression and extracellular release) .《生物化学杂志 (The Journal of Biological Chemistry)》288(4):2756-2766.

[0476] Kotlyarov,A.等人 .MAPKAP激酶2对于LPS诱导的TNF- α 生物合成是必需的 (MAPKAP kinase 2is essential for LPS-induced TNF-alpha biosynthesis) .《自然细胞生物学 (Nat Cell Biol)》1,94-97, (1999) .

[0477] Neininger,A.等人 .MK2靶向富AU元件并在不同的转录后水平独立地调节肿瘤坏死因子和白介素-6的生物合成 (MK2 targets AU-rich elements and regulates biosynthesis of tumor necrosis factor and interleukin-6independently at different post-transcriptional levels) .《生物化学杂志 (J Biol Chem)》277, 3065-3068, (2002) .

[0478] Shi,J.X.,Su,X.,Xu,J.,Zhang,W.Y.&Shi,Y.MK2通过三四蛋白在人肺微血管内皮细胞中转录后调节TNF- α 诱导的ICAM-1和IL-8的表达 (MK2 posttranscriptionally regulates TNF-alpha-induced expression of ICAM-1and IL-8via tristetraprolin in human pulmonary microvascular endothelial cells) .《美国生理学肺细胞和分子生理学杂志 (Am JPhysiol Lung Cell Mol Physiol)》302, L793-799, (2012) .

[0479] Wolfson,R.K.,Chiang,E.T.&Garcia,J.G.HMGB1诱导人肺内皮细胞骨架重排和屏障破坏 (HMGB1 induces human lung endothelial cell cytoskeletal rearrangement and barrier disruption) .《微血管研究 (Microvasc Res)》81, 189-197, (2011) .

- [0480] Hannigan, M.O. 等人. 丝裂原活化蛋白激酶-活化蛋白激酶2-/-中性粒细胞在含有甲酰基-甲硫氨酰基-亮氨酰基-苯丙氨酸梯度的Zigmond室中的异常迁移表型 (Abnormal migration phenotype of mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2-/-neutrophils in Zigmond chambers containing formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine gradients). 《免疫学杂志 (J Immunol)》167, 3953-3961, (2001).
- [0481] Tremolec, N., Dave-Coll, N. & Nebreda, A.R. 简要说明: p38 MAPK底物 (SnapShot: p38 MAPK substrates). 《细胞 (Cell)》152, 924-924e921, (2013).
- [0482] Cuadrado, A. & Nebreda, A.R. p38 MAPK信号传导的机制和功能 (Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling). 《生物化学杂志 (The Biochemical journal)》429, 403-417, (2010).
- [0483] Hayes, S.A., Huang, X., Kambhampati, S., Platanias, L.C. & Bergan, R.C. p38 MAP激酶调节人前列腺细胞粘附中Smad-依赖性变化 (p38 MAP kinase modulates Smad-dependent changes in human prostate cell adhesion). 《致癌基因 (Oncogene)》22, 4841-4850, (2003).
- [0484] Hammaker, D. & Firestein, G.S. “去上游,年轻人”: 从p38 saga中学习的教训 (“Go upstream, young man”: lessons learned from the p38 saga). 《风湿病年鉴 (Ann Rheum Dis)》69 Suppl 1, i77-82, (2010).
- [0485] Zhang, J., Shen, B. & Lin, A. 抑制p38 MAPK途径的新策略 (Novel strategies for inhibition of the p38 MAPK pathway). 《药理学趋势 (Trends Pharmacol Sci)》28, 286-295, (2007).
- [0486] Raman, E.P., Yu, W., Guvench, O. & Mackerell, A.D. 通过配体竞争性饱和 (SILCS) 模拟使用位点识别再现配体官能团的晶体结合模式 (Reproducing crystal binding modes of ligand functional groups using Site-Identification by Ligand Competitive Saturation (SILCS) simulations). 《化学信息与建模杂志 (Journal of chemical information and modeling)》51, 877-896, (2011).
- [0487] Boston, S.R. 等人. 通过靶向Rsk-1和半胱天冬酶-9诱导凋亡的ERK对接结构域抑制剂的表征 (Characterization of ERK docking domain inhibitors that induce apoptosis by targeting Rsk-1 and caspase-9). 《BMC癌症 (BMC Cancer)》11, 7, (2011).
- [0488] Irwin, J.J., Sterling, T., Mysinger, M.M., Bolstad, E.S. & Coleman, R.G. 锌: 发现生物化学的自由工具 (ZINC: a free tool to discover chemistry for biology). 《化学信息与建模杂志 (J Chem Inf Model)》52, 1757-1768, (2012).
- [0489] Guvench, O. & MacKerell, A.D., Jr. 通过配体竞争性饱和进行的计算片段基结合位点识别 (Computational fragment-based binding site identification by ligand competitive saturation). 《美国科学公共图书馆计算生物学 (PLoS computational biology)》5, e1000435, (2009).
- [0490] Raman, E.P., Yu, W., Lakkaraju, S.K. & Mackerell, A.D., Jr. 通过配体竞争饱和度 (SILCS) 方法在位点识别中包含多种片段类型 (Inclusion of Multiple Fragment Types in the Site Identification by Ligand Competitive Saturation (SILCS) Approach). 《化学信息与建模杂志 (Journal of chemical information and modeling)》53, 3384-

3398, (2013) .

[0491] Ekins, S., Boulanger, B., Swaan, P. W. & Hupcey, M. A. 迈向虚拟ADME/TOX和多维药物发现的新时代 (Towards a new age of virtual ADME/TOX and multidimensional drug discovery) . 《计算机辅助分子设计杂志 (J Comput Aided Mol Des) 》16, 381-401, (2002) .

[0492] Ekins, S. 等人. 计算机预测人类ADME参数的进展 (Progress in predicting human ADME parameters in silico) . 《药理学和毒理学方法杂志 (J Pharmacol Toxicol Methods) 》44, 251-272, (2000) .

[0493] Oprea, T. I., Davis, A. M., Teague, S. J. & Leeson, P. D. 铅和药物之间有区别吗?一个历史的角度 (Is there a difference between leads and drugs? A historical perspective) . 《化学信息与计算机科学杂志 (J Chem Inf Comput Sci) 》41, 1308-1315, (2001) .

[0494] Cerchietti, L. C. 等人. BCL6的小分子抑制剂在体外和体内杀死DLBCL细胞 (A small-molecule inhibitor of BCL6 kills DLBCL cells in vitro and in vivo) . 《癌细胞 (Cancer Cell) 》17, 400-411, (2010) .

[0495] Chen, I. J. 等人. 使用ASV和HIV-1整合酶作为靶点, 通过三维数据库搜索识别HIV-1整合酶抑制剂 (Identification of HIV-1 integrase inhibitors via three-dimensional database searching using ASV and HIV-1 integrases as targets) . 《生物有机与药物化学 (Bioorgan Med Chem) 》8, 2385-2398, (2000) .

[0496] Chen, X. 等人. 靶向细胞DNA复制和修复的人类DNA连接酶抑制剂的合理设计 (Rational design of human DNA ligase inhibitors that target cellular DNA replication and repair) . 《癌症研究 (Cancer research) 》68, 3169-3177, (2008) .

[0497] Furci, L. M. 等人. 抑制来自铜绿假单胞菌和脑膜炎奈瑟菌的细菌血红素加氧酶: 新的抗菌靶点 (Inhibition of the bacterial heme oxygenases from *Pseudomonas aeruginosa* and *Neisseria meningitidis*: Novel antimicrobial targets) . 《医学化学杂志 (Journal of Medicinal Chemistry) 》50, 3804-3813, (2007) .

[0498] Huang, N., Nagarsekar, A., Xia, G. J., Hayashi, J. & MacKerell, A. D. 通过针对pY+3结合位点的计算机筛选鉴定酪氨酸激酶p56 Lck SH2结构域的不含磷酸盐的小分子量抑制剂 (Identification of non-phosphate-containing small molecular weight inhibitors of the tyrosine kinase p56 Lck SH2 domain via in silico screening against the pY+3 binding site) . 《医学化学杂志 (Journal of Medicinal Chemistry) 》47, 3502-3511, (2004) .

[0499] Markowitz, J. 等人. 钙依赖性S100B-p53肿瘤抑制相互作用的小分子抑制剂的鉴定和表征 (Identification and characterization of small molecule inhibitors of the calcium-dependent S100B-p53 tumor suppressor interaction) . 《医学化学杂志 (Journal of Medicinal Chemistry) 》47, 5085-5093, (2004) .

[0500] Yu, B. 等人. 靶向蛋白酪氨酸磷酸酶SHP2以用于治疗PTPN11相关恶性肿瘤 (Targeting Protein Tyrosine Phosphatase SHP2 for the Treatment of PTPN11-Associated Malignancies) . 《分子癌症疗法 (Mol Cancer Ther) 》12, 1738-1748, (2013) .

- [0501] Hasday, J. 等人. 发热范围内高热增强肺中性粒细胞募集并放大肺氧毒性 (Febrile-Range Hyperthermia Augments Pulmonary Neutrophil Recruitment and Amplifies Pulmonary Oxygen Toxicity). 《美国病理学杂志 (Am J. Pathol.)》162, 2005-2017, (2003).
- [0502] Chen, W.H., Kang, T.J., Bhattacharjee, A.K. & Cross, A.S. 鼻内施用脱毒内毒素疫苗保护小鼠免受异源革兰氏阴性细菌性肺炎的侵害 (Intranasal administration of a detoxified endotoxin vaccine protects mice against heterologous Gram-negative bacterial pneumonia). 《先天免疫 (Innate Immun)》14, 269-278, (2008).
- [0503] Feng, C. 等人. 神经氨酸酶重编程肺组织并增强脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤 (Neuraminidase reprograms lung tissue and potentiates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice). 《免疫学杂志 (Journal of immunology)》191, 4828-4837, (2013).
- [0504] Aqvist, J., Medina, C. & Samuelsson, J.E. 一种在计算机辅助药物设计中预测结合亲和力的新方法 (A new method for predicting binding affinity in computer-aided drug design). 《英国蛋白质 (Protein Eng)》7, 385-391, (1994).
- [0505] Chen, X., Rusinko, A., 3rd, Tropsha, A. & Young, S.S. 大型化学数据集的自动药效团识别 (Automated pharmacophore identification for large chemical data sets). 《化学信息与计算机科学杂志 (J Chem Inf Comput Sci)》39, 887-896, (1999).
- [0506] Feig, M. & Brooks, C.L., 3rd. 生物分子模拟中隐式溶剂模型的开发和应用的最新进展 (Recent advances in the development and application of implicit solvent models in biomolecule simulations). 《结构生物学的新观点 (Curr Opin Struct Biol)》14, 217-224, (2004).
- [0507] Lee, M.S., Feig, M., Salsbury, F.R., Jr. & Brooks, C.L., 3rd. 标准分子体积定义的新解析近似及其在广义波恩计算中的应用 (New analytic approximation to the standard molecular volume definition and its application to generalized Born calculations). 《计算化学杂志 (J Comput Chem)》24, 1348-1356, (2003).
- [0508] Qui, D., Shenkin, P.S., Hollinger, F.P. & Still, W.C. 用于求解的GB/SA连续模型。计算近似波恩半径的快速分析方法 (The GB/SA Continuum Model for Solvation. A Fast Analytical Method for the Calculation of Approximate Born Radii). 《物理化学杂志 (J. Phys. Chem.)》A 101, 3005-3014, (1997).
- [0509] Frese, C.K. 等人. 使用电子转移/高能碰撞解离 (EThcD) 进行明确的磷位点定位 (Unambiguous phosphosite localization using electron-transfer/higher-energy collision dissociation (EThcD)). 《蛋白质组研究杂志 (J Proteome Res)》12, 1520-1525, (2013).
- [0510] Swaney, D.L., McAlister, G.C. & Coon, J.J. 用于鸟枪法蛋白质组学的决策树驱动串联质谱法 (Decision tree-driven tandem mass spectrometry for shotgun proteomics). 《自然方法 (Nat Methods)》5, 959-964, (2008).
- [0511] Saba, J., Dutta, S., Hemenway, E. & Viner, R. 通过使用更高能量的碰撞解离精确的质量产物依赖性电子转移解离来提高糖肽分析的生产率 (Increasing the productivity

of glycopeptides analysis by using higher-energy collision dissociation-accurate mass-product-dependent electron transfer dissociation).《蛋白质组学国际杂志(Int JProteomics)》2012,560391, (2012) .

[0512] Distler,U.等人.漂移时间特定的碰撞能量使深度覆盖数据独立的采集蛋白质组学成为可能(Drift time-specific collision energies enable deep-coverage data-independent acquisition proteomics).《自然方法(Nat Methods)》11,167-170, (2014) .

[0513] Williamson,J.C.等人.用于定量蛋白质组分析的高性能混合Orbitrap质谱仪:观察和影响(High-performance hybrid Orbitrap mass spectrometers for quantitative proteome analysis:Observations and implications).《蛋白质组学(Proteomics)》16,907-914, (2016) .

[0514] Cox,J.等人.通过延迟归一化和最大肽比提取进行准确的蛋白质组范围无标记定量,称为MaxLFQ(Accurate proteome-wide label-free quantification by delayed normalization and maximal peptide ratio extraction, termed MaxLFQ).《分子细胞蛋白质组学(Mol Cell Proteomics)》13,2513-2526, (2014) .

[0515] Li,X.等人.在反向凝胶激酶测定中使用稳定同位素标记量化激酶特异性磷酸化化学计量(Quantifying Kinase-specific Phosphorylation Stoichiometry Using Stable Isotope Labeling In a Reverse In-gel Kinase Assay).《分析化学(Anal Chem)》(2016) .

[0516] Wang,Z.等人.2.1-A分辨率的丝裂原活化蛋白激酶p38的结构(The structure of mitogen-activated protein kinase p38 at 2.1-A resolution).《美国科学院学报(Proc Natl Acad Sci U S A)》94,2327-2332, (1997) .

[0517] Barker,J. J. 等人.基于片段的Hsp90抑制剂鉴定(Fragment-based identification of Hsp90 inhibitors).《药理及制药学(ChemMedChem)》4,963-966, (2009) .

[0518] Chang,C.I.,Xu,B.E.,Akella,R.,Cobb,M.H.&Goldsmith,E.J.MAP激酶p38的晶体结构与其核底物MEF2A和激活剂MKK3b上的对接位点复合(Crystal structures of MAP kinase p38 complexed to the docking sites on its nuclear substrate MEF2A and activator MKK3b).《分子细胞(Mol Cell)》9,1241-1249, (2002) .

[0519] Wang,Z.等人.MAP激酶抑制剂选择性的结构基础(Structural basis of inhibitor selectivity in MAP kinases).《结构(Structure)》6,1117-1128, (1998) .

[0520] Watterson,D.M.等人.开发新型化学探针以解决CNS蛋白激酶参与突触功能障碍(Development of Novel Chemical Probes to Address CNS Protein Kinase Involvement in Synaptic Dysfunction).《美国科学公共图书馆(PLoS One)》8,e66226, (2013) .

[0521] White,A.,Pargellis,C.A.,Studts,J.M.,Werneburg,B.G.&Farmer,B.T.,2nd.MAPK活化蛋白激酶2:p38组装的分子基础(Molecular basis of MAPK-activated protein kinase2:p38 assembly).《美国科学院学报(Proc Natl Acad Sci U S A)》104,6353-6358, (2007) .

[0522] Zhang,Y.Y.,Wu,J.W.&Wang,Z.X.激酶p38 α 的晶体结构揭示的与磷酸酶MKP5的

MAPK结合结构域的独特相互作用模式 (A distinct interaction mode revealed by the crystal structure of the kinase p38alpha with the MAPK binding domain of the phosphatase MKP5) .《科学信号 (Sci Signal)》4,ra88, (2011) .

[0523] Leavitt,S.&Freire,E.通过等温滴定量热法直接测量蛋白质结合能量 (Direct measurement of protein binding energetics by isothermal titration calorimetry) .《结构生物学的新观点 (Curr Opin Struct Biol)》11,560-566, (2001) .

[0524] DeNardo,B.D.等人.定量磷蛋白质组学分析鉴定成神经细胞瘤中RET和IGF-1R/IR 信号传导通路的激活 (Quantitative phosphoproteomic analysis identifies activation of the RET and IGF-1R/IR signaling pathways in neuroblastoma) .《美国科学公共图书馆 (PLoS One)》8,e82513, (2013) .

[0525] Soderholm,S.,Hintsanen,P.,Ohman,T.,Aittokallio,T.&Nyman,T.A.PhosFox: 用于基于LC-MS/MS的磷酸化蛋白质组数据的肽水平处理的生物信息学工具 (PhosFox: abioinformatics tool for peptide-level processing of LC-MS/MS-based phosphoproteomic data) .《蛋白质组科学 (Proteome Sci)》12,36, (2014) .

[0526] Adams,P.D.&Parker,P.J.通过MAP激酶-激酶活化丝裂原活化蛋白 (MAP) 激酶 (Activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase by a MAP kinase-kinase) .《生物化学杂志 (J Biol Chem)》267,13135-13137, (1992) .

[0527] Boersema,P.J.,Raijmakers,R.,Lemeer,S.,Mohammed,S.&Heck,A.J.用于定量蛋白质组学的多重肽稳定同位素二甲基标记 (Multiplex peptide stable isotope dimethyl labeling for quantitative proteomics) .《自然方案 (Nat Protoc)》4,484-494, (2009) .

[0528] Lanning,M.E.等人.作为Mc1-1癌蛋白选择性抑制剂的N-取代的1-羟基-4-氨基磺酰基-2-萘甲酸酯的基于结构的设计 (Structure-based design of N-substituted 1-hydroxy-4-sulfamoyl-2-naphthoates as selective inhibitors of the Mc1-oncoprotein) .《欧洲药物化学杂志 (Eur J Med Chem)》113,273-292, (2016) .

[0529] Jung,K.Y.等人.改善对抑制含有活性ERK信号传导的黑素瘤细胞增殖的选择性的 (Z)-3-(2-氨基乙基)-5-(4-乙氧基亚苄基)噻唑烷-2,4-二酮的结构修饰 (Structural modifications of (Z)-3-(2-aminoethyl)-5-(4-ethoxybenzylidene)thiazolidine-2,4-dione that improve selectivity for inhibiting the proliferation of melanoma cells containing active ERK signaling) .《有机与生物分子化学 (Org Biomol Chem)》11,3706-3732, (2013) .

[0530] Jiang,Q.等人.发热核心温度是细菌性腹膜炎中最佳宿主防御所必需的 (Febrile Core Temperature is Essential for Optimal Host Defense in Bacterial Peritonitis) .《感染与免疫 (Infect. Immun.)》68,1265-1270, (2000) .

[0531] Jiang,Q.,DeTolla,L.,Kalvakolanu,I.,Fitzgerald,B.&Hasday,J.D.发热上调内毒素攻击的小鼠中致热细胞因子的表达 (Fever upregulates expression of pyrogenic cytokines in endotoxin-challenged mice) .《美国生理学杂志 (Am. J. Physiol.)》276,R1653-R1660, (1999) .

[0532] Jiang,Q.等人.发热性范围温度改变了用细菌内毒素攻击的小鼠中的早期全身性

TNF α 表达(Febrile range temperature modifies early systemic TNF α expression in mice challenged with bacterial endotoxin).《感染与免疫 (Infect. Immun.)》67, 1539-1546, (1999).

[0533] Workman, P. 等人. 动物在癌症研究中的福利和使用的指南 (Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research). 《英国癌症杂志 (Br J Cancer)》102, 1555-1577, (2010).

[0534] Dai, B. 等人. 细胞外信号调节激酶正调节弥漫性大B细胞淋巴瘤中MCT-1的致癌活性 (Extracellular Signal-Regulated Kinase Positively Regulates the Oncogenic Activity of MCT-1 in Diffuse Large B-Cell Lymphoma). 《癌症研究 (Cancer Research)》69, 7835-7843, (2009).

[0535] Fandy, T., Abdallah, I., Khayat, M., Colby, D. & Hassan, H. 生物碱转运和代谢的体外表征:长春胺、长春西汀和埃那矛宁 (In Vitro Characterization of Transport and Metabolism of the Alkaloids: Vincamine, Vinpocetine and Eburnamonine). 《癌症化疗与药理学 (Cancer Chemother Pharmacol)》印刷中, (2015).

[0536] Yu, M. 等人. 通过简单的UPLC-FLD方法同时测定人血浆中的L-延胡索乙素和可卡因:在临床研究中的应用 (Simultaneous determination of L-tetrahydropalmatine and cocaine in human plasma by simple UPLC-FLD method: application in clinical studies). 《生物医学和生命科学中的色谱分析技术杂志 (J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci)》965, 39-44, (2014).

[0537] Mason, C.W. 等人. 为治疗精神兴奋剂滥用而开发的多巴胺D3受体选择性芴基-和2-吡啶基苯基酰胺的转运、代谢和药代动力学表征 (Characterization of the transport, metabolism, and pharmacokinetics of the dopamine D3 receptor-selective fluorenyl-and 2-pyridylphenyl amides developed for treatment of psychostimulant abuse). 《药理学和实验治疗学杂志 (J Pharmacol Exp Ther)》333, 854-864, (2010).

[0538] Shah, N.G., Tulapurkar, M.E., Ramarathnam, A., Brophy, A., Martinez, R., 3rd, Hom, K., Hodges, T., Samadani, R., Singh, I.S., MacKerell, A.D., Jr., Shapiro, P., 和 Hasday, J.D. (2017). 具有内皮稳定和抗炎活性的新的非催化底物选择性p38 α 特异性MAPK抑制剂 (Novel Noncatalytic Substrate-Selective p38alpha-Specific MAPK Inhibitors with Endothelial-Stabilizing and Anti-Inflammatory Activity). 《免疫学杂志 (J Immunol)》198, 3296-3306.

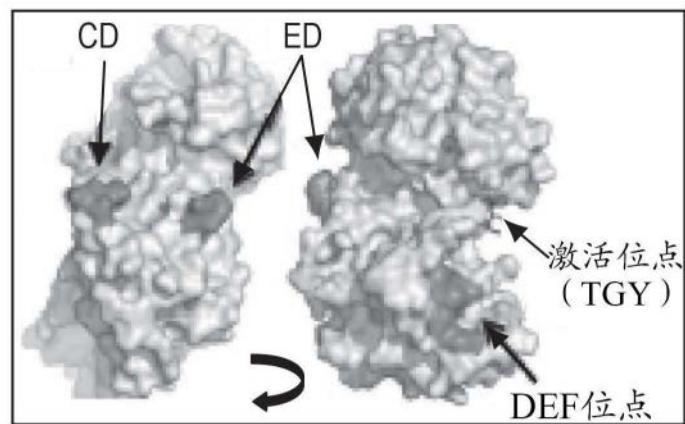


图1A

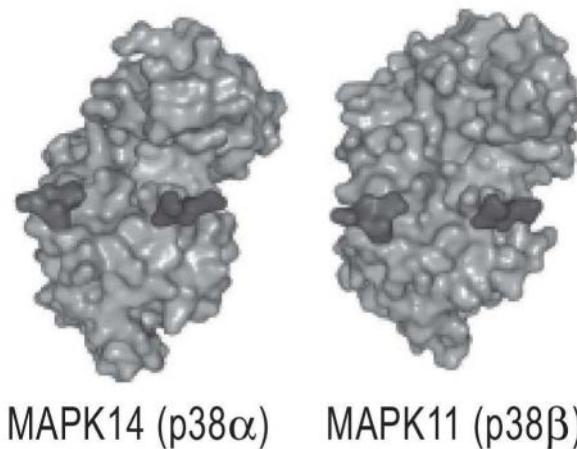


图1B

MAPK14和MAPK11中靶向口袋的序列

MAPK14: R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164, K165

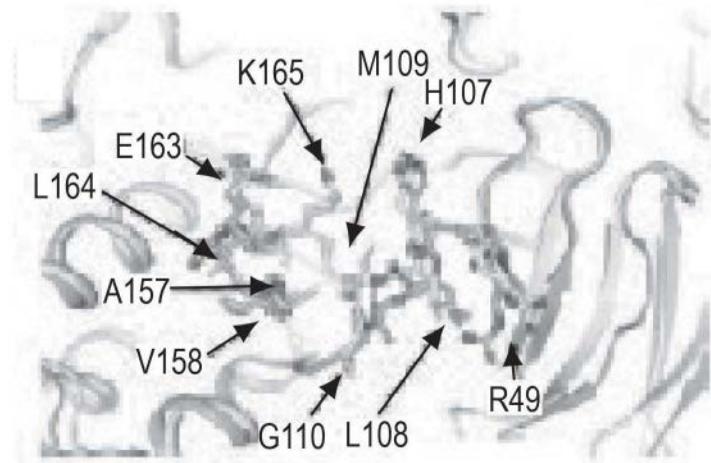
MAPK11: **K49, T107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164, R165**

图1C

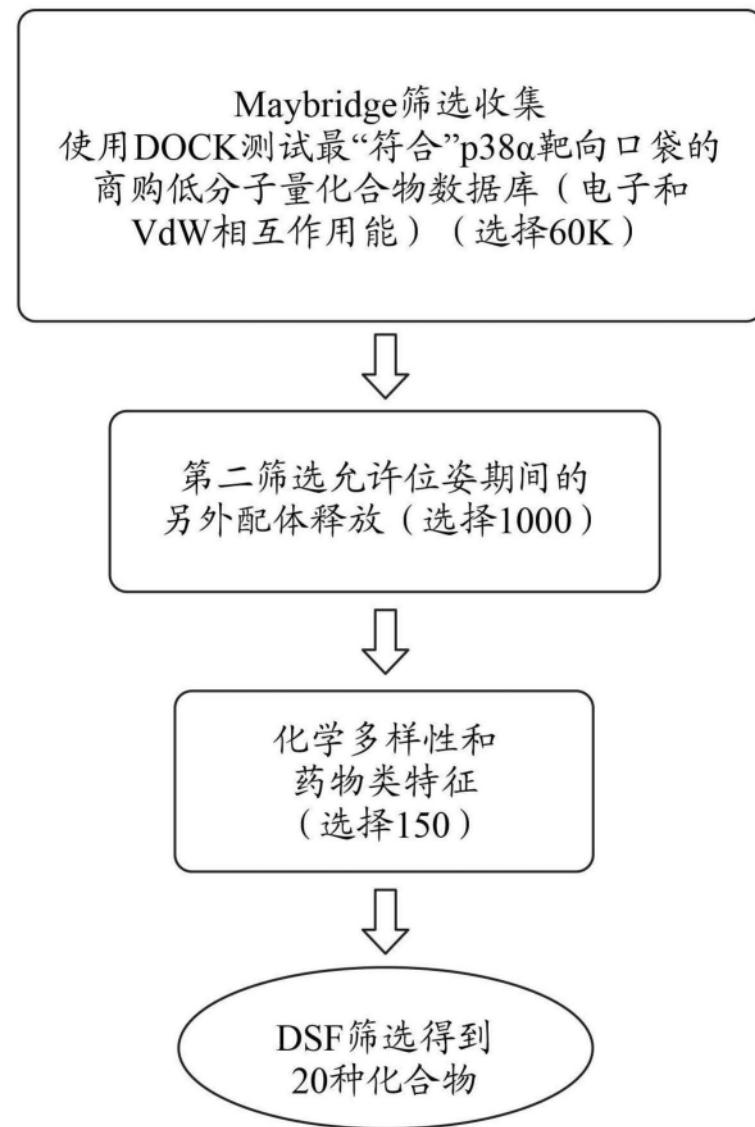


图1D

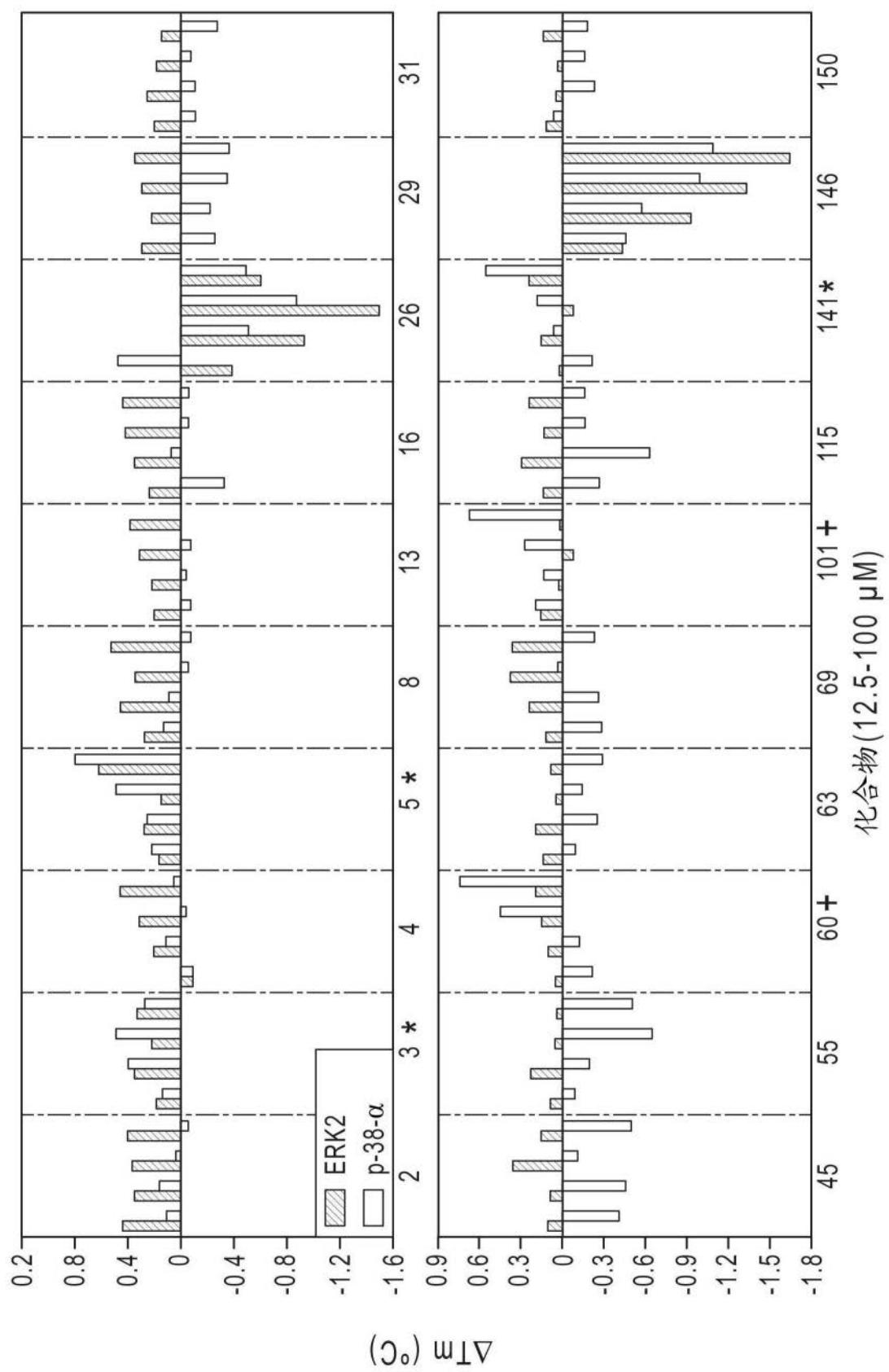


图1E

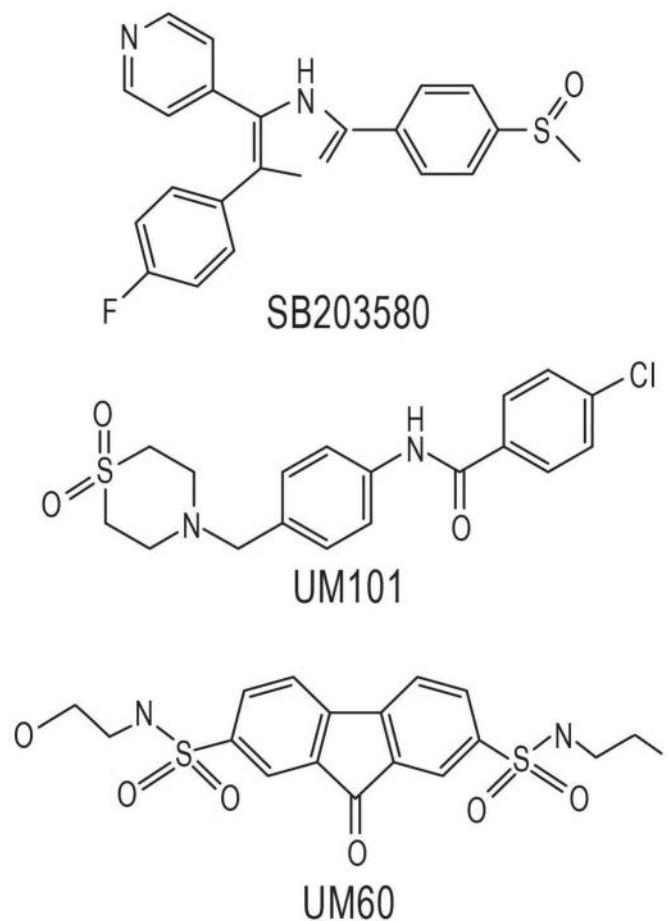


图1F

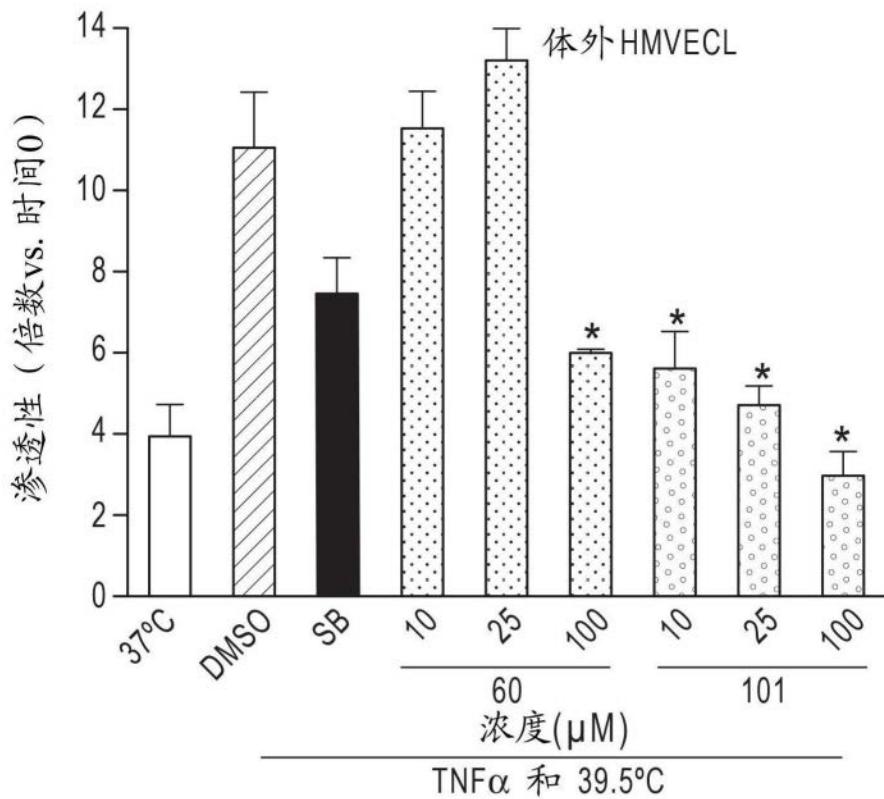


图2A

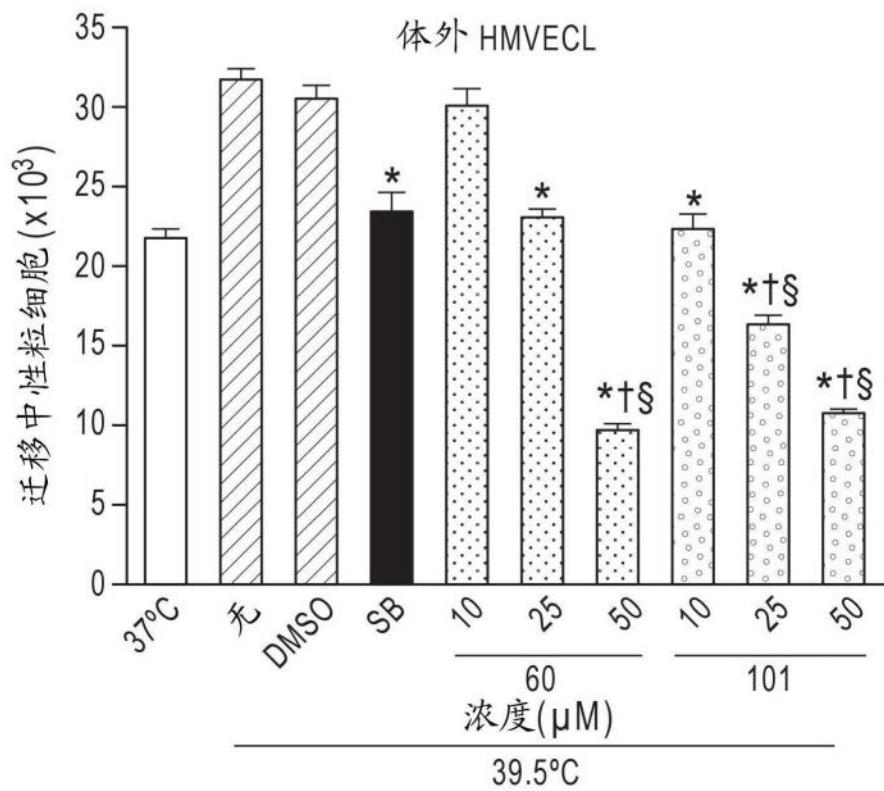


图2B

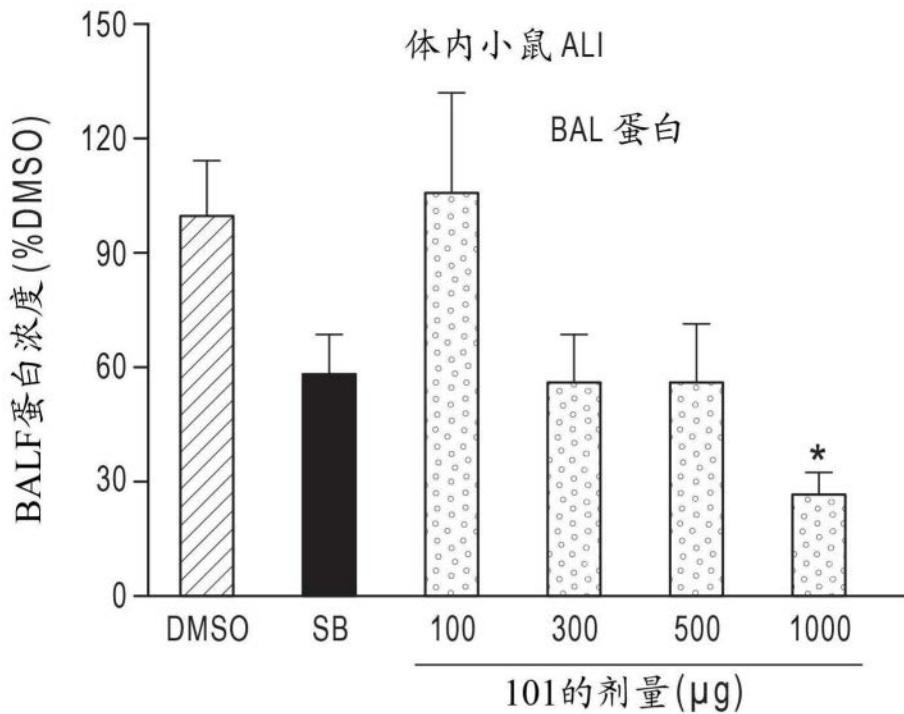


图2C

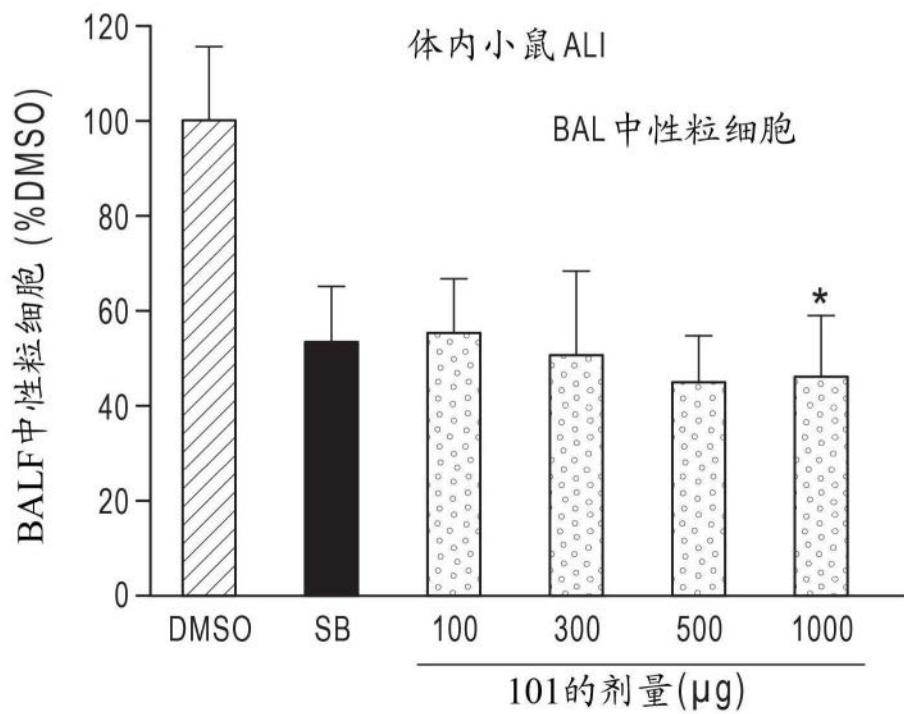


图2D

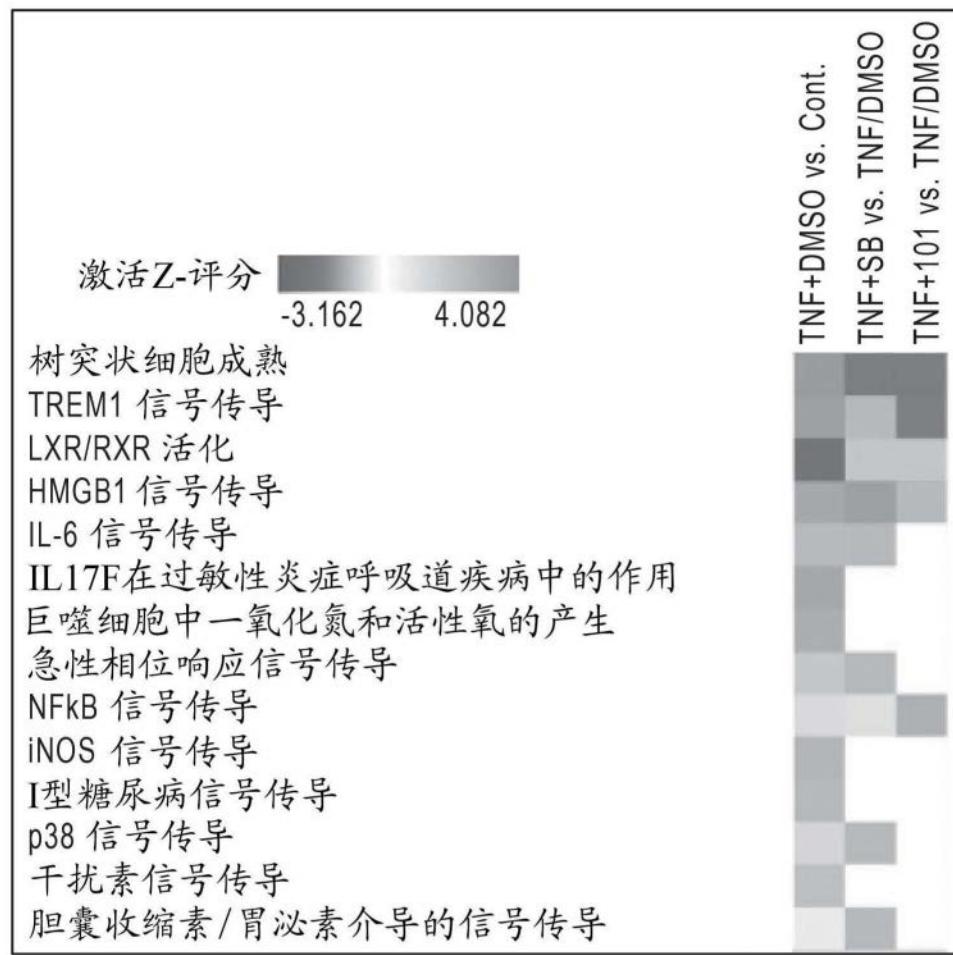


图3A



图3B

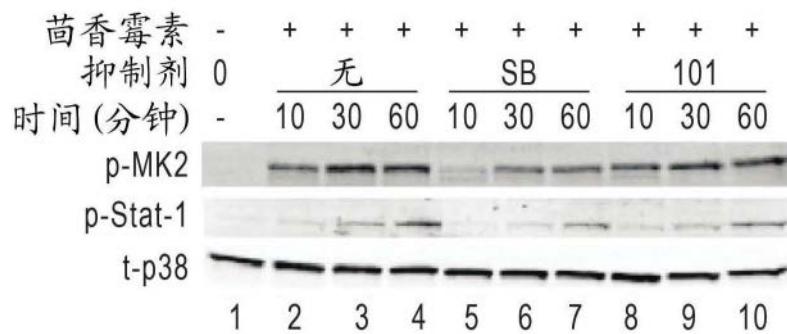


图3C

MAPK14和MAPK11中靶向口袋的序列WT p38 α : R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164, K165

突变体: [K49], [T107], [F108], M109, G110, A157, V158, E163, L164, [R165]

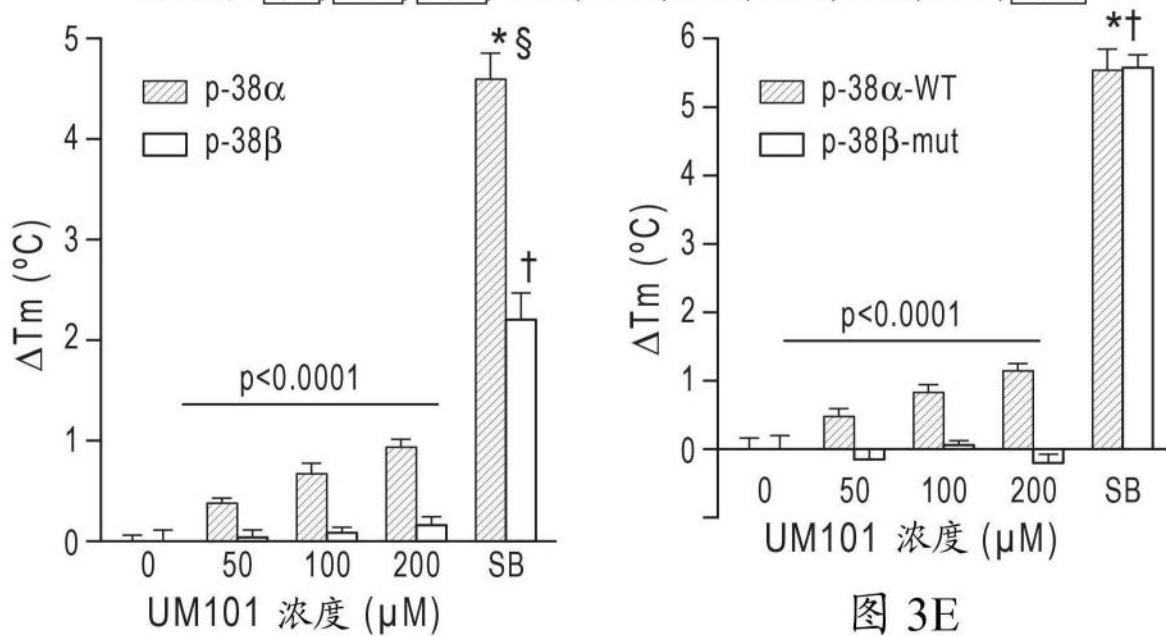


图 3D

图 3E

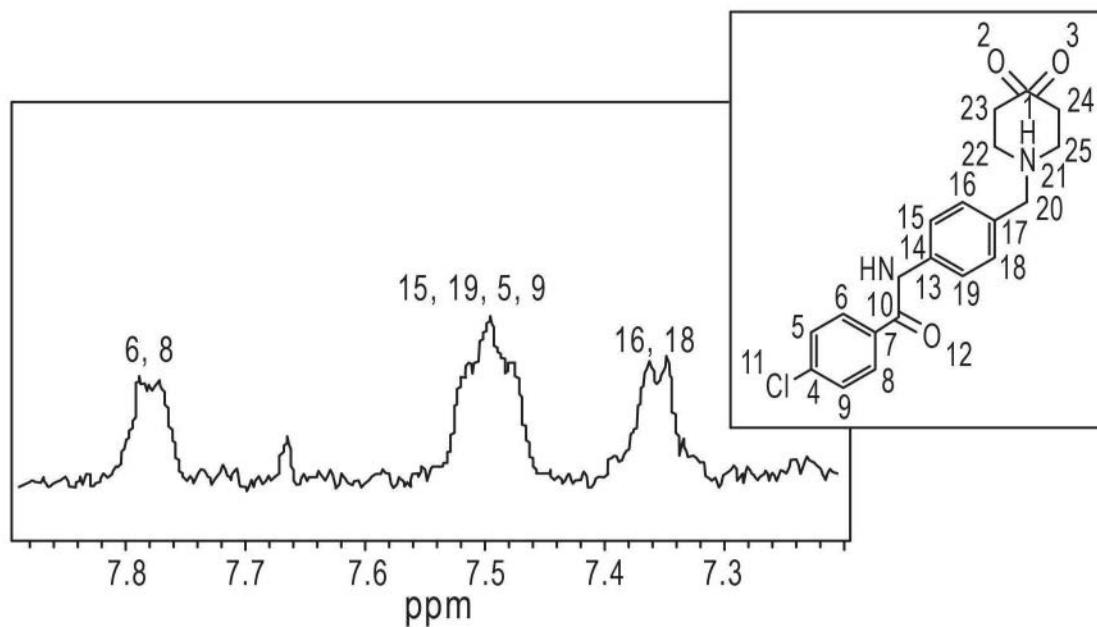


图3F

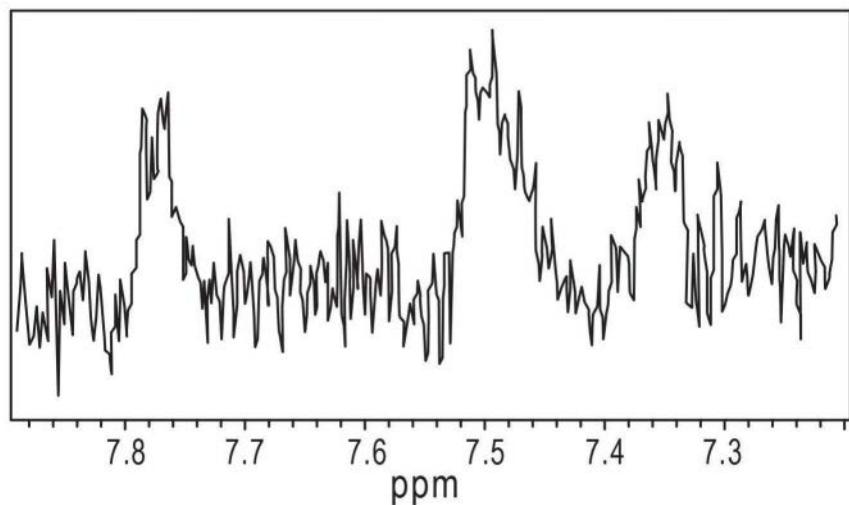


图3G

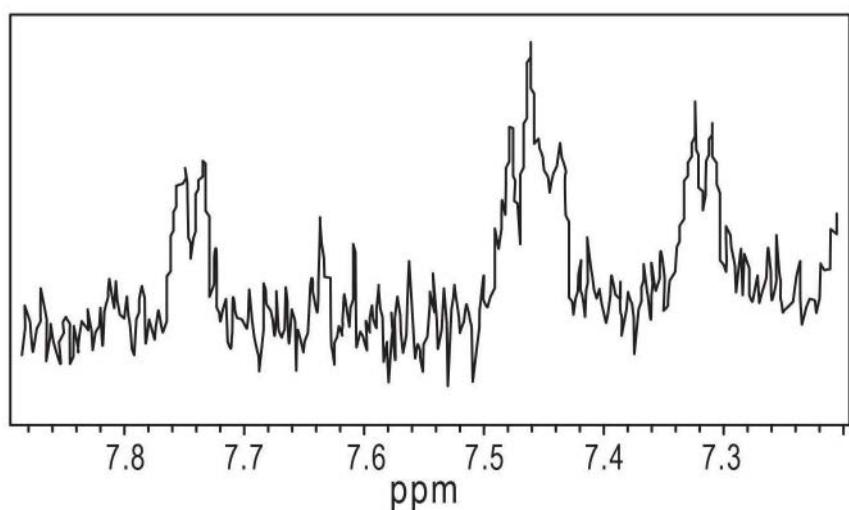


图3H

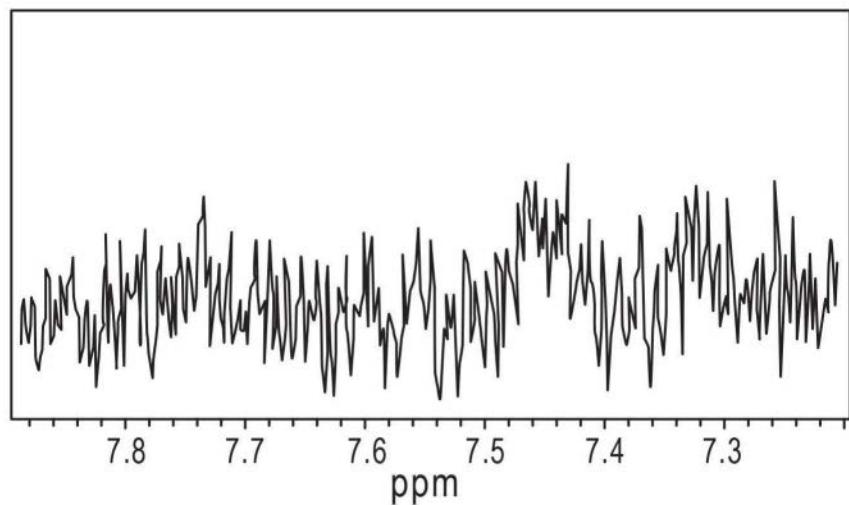


图3I

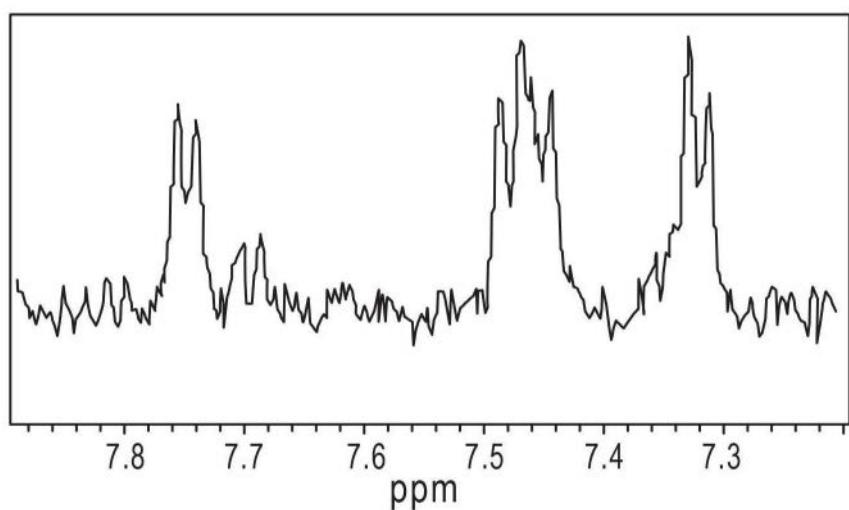


图3J

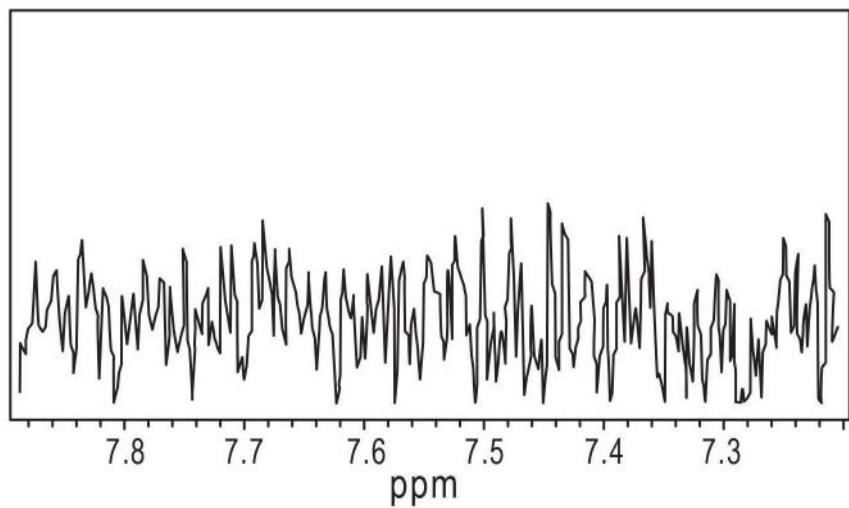


图3K

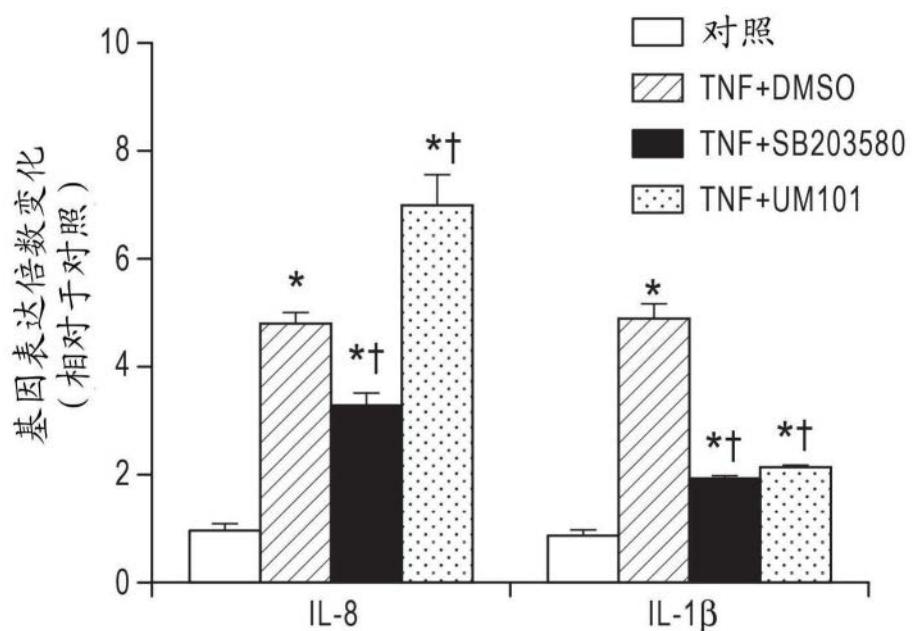


图4

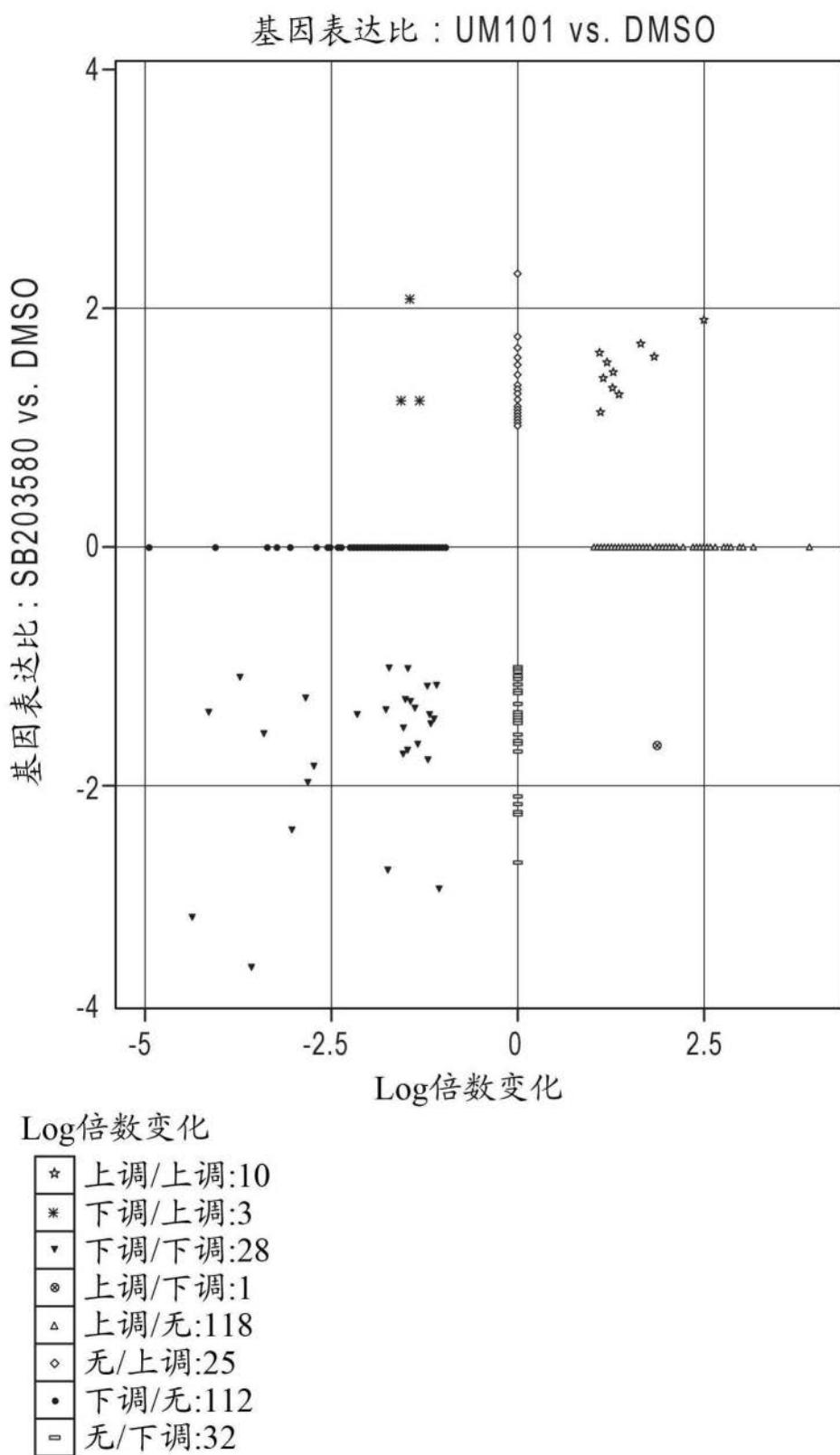


图5

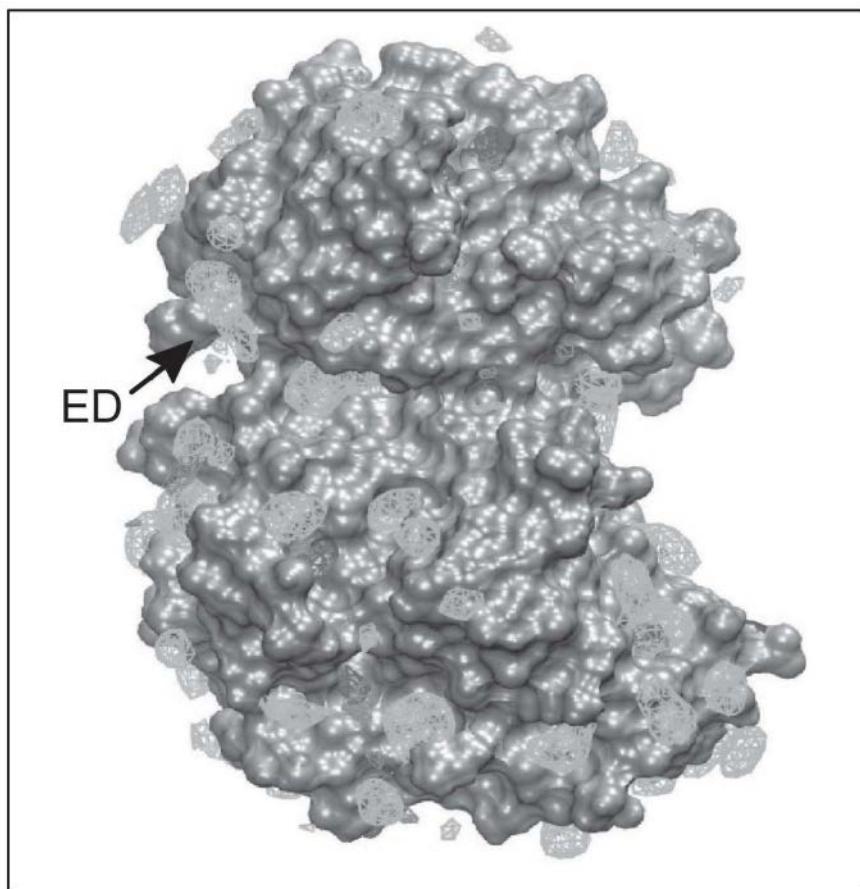


图6

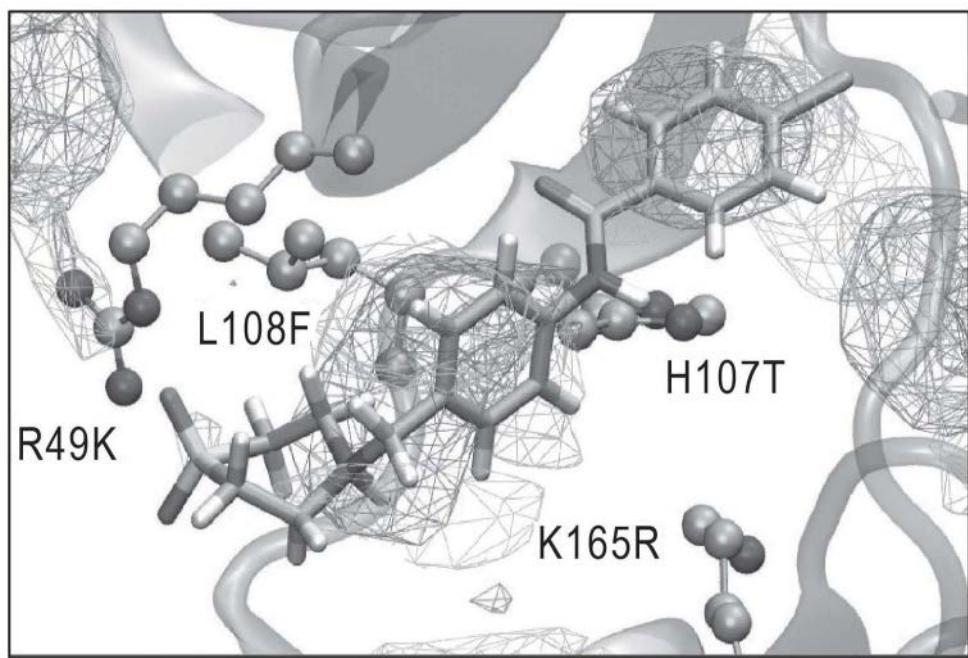


图7

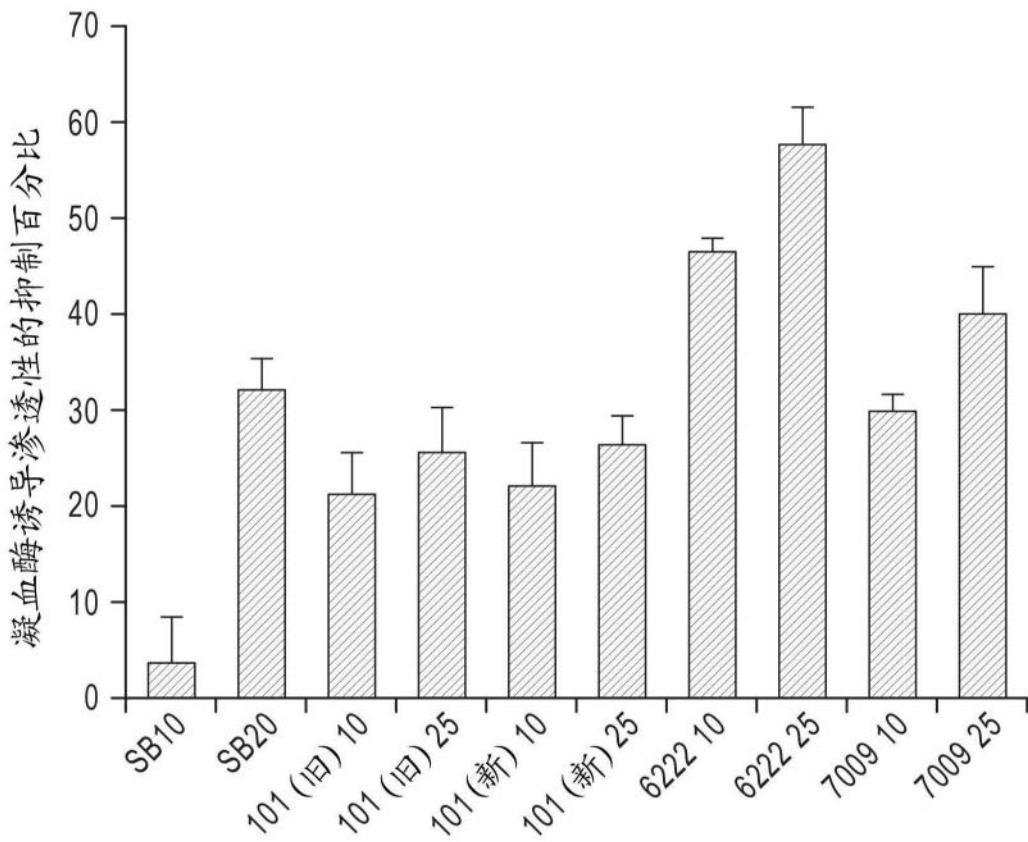


图8

所有小鼠均在39°C下接受100 μ g LPS i.t. 并保持24小时
n=4
10/18和10/22进行的实验

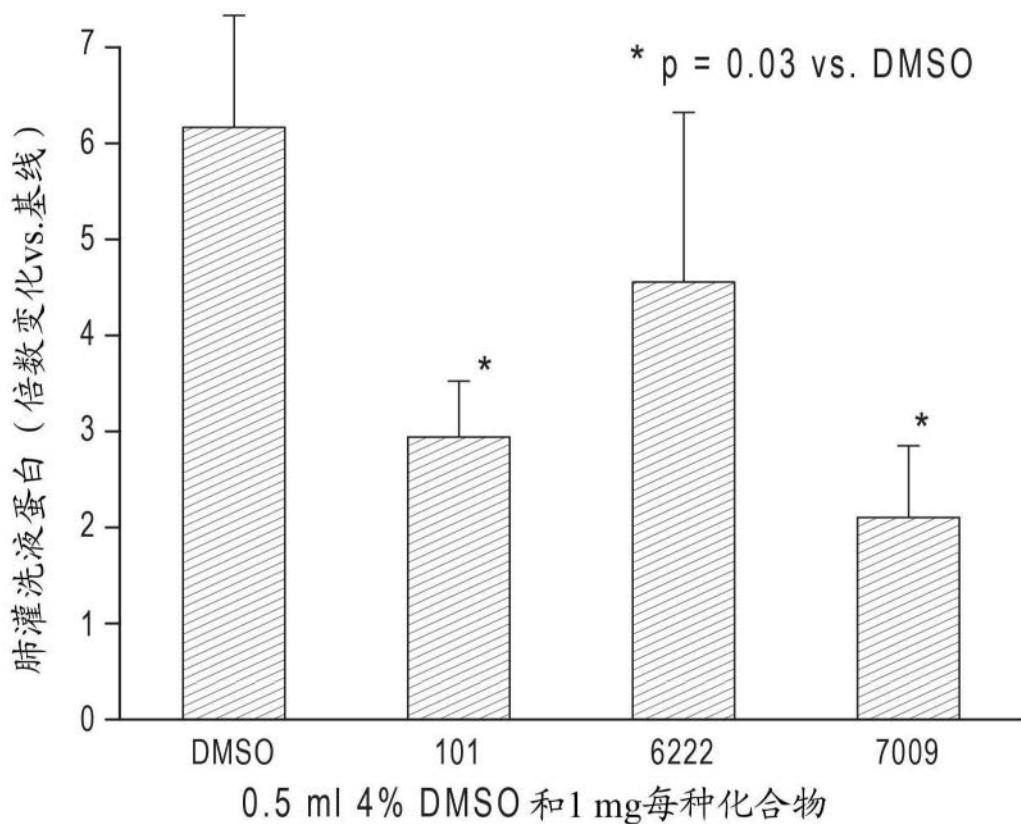


图9

所有小鼠均在39°C下接受50 μg LPS i.t.并保持24小时
LPS后6小时给予所有处理1 mg (于0.5 ml DMSO中)
平均值±SM, n=5

* p=0.03 vs DMSO#1; † p=0.16 vs DMSO#2

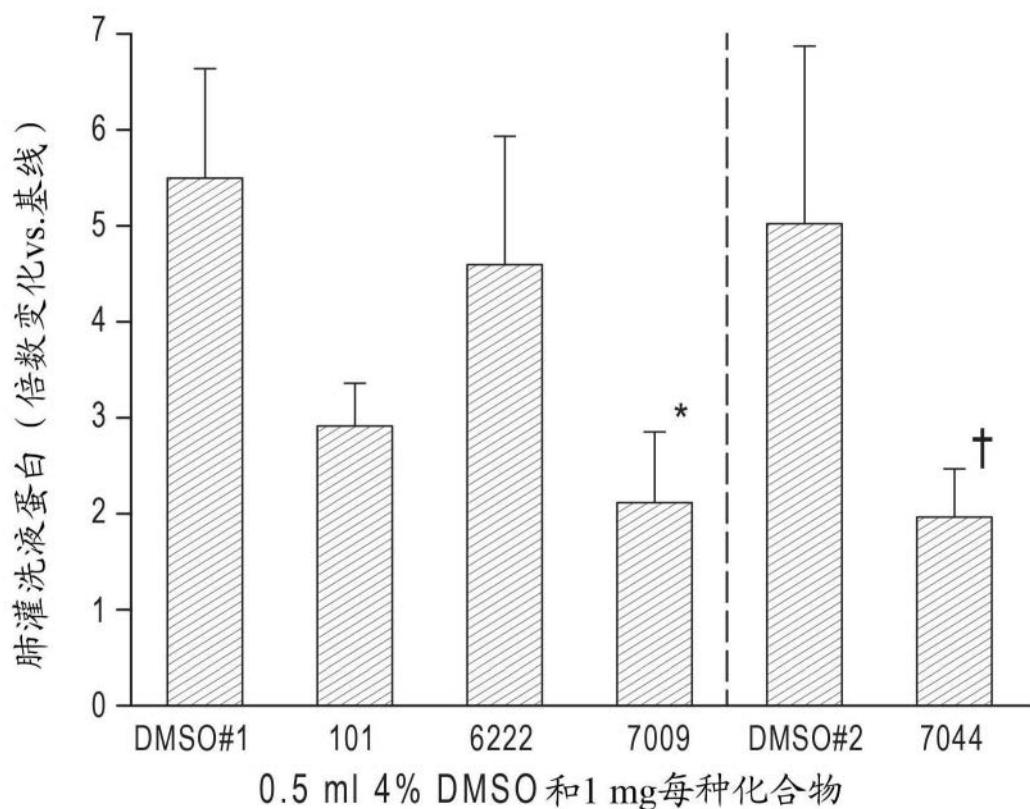


图10