



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 119301121 A

(43) 申请公布日 2025. 01. 10

(21) 申请号 202380040224.2

(22) 申请日 2023.03.22

(30) 优先权数据

63/322,955 2022.03.23 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.11.13

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/015889 2023.03.22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/183377 EN 2023.09.28

(71) 申请人 里格尔药品股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·芒 陈燕 S·肖 D·斯韦尼

E·马苏达

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 陈桢

(51) Int.Cl.

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

C07F 1/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

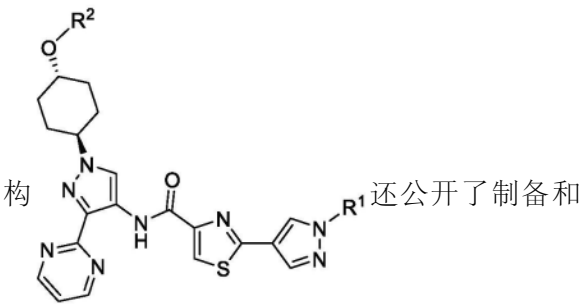
权利要求书4页 说明书60页

(54) 发明名称

作为IRAK抑制剂的嘧啶-2-基-吡唑化合物

(57) 摘要

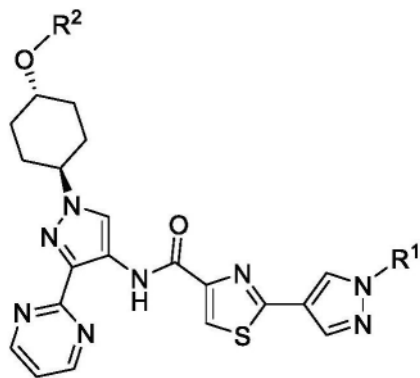
所公开的实施方案涉及新颖的白介素受体相关激酶 (IRAK) 抑制剂化合物和包含此类化合物的组合物。所述化合物可具有根据式 I (I) 的结



式 I

使用所述化合物和组合物的方法。所公开的化合物和/或组合物可用于治疗或预防IRAK相关疾病或疾患。

1. 一种化合物,所述化合物具有根据式I的结构



式 I

或其药学上可接受的盐或溶剂合物,其中:

R¹为H、脂肪族、酰基、杂环基、羧基酯、酰胺、烷基氨基磷酸酯或烷基磷酸酯;

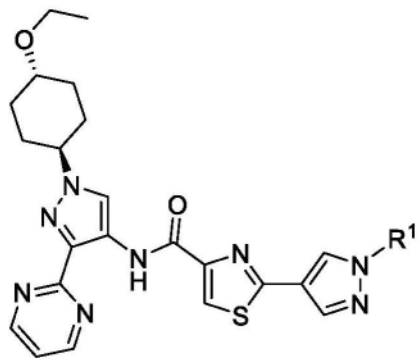
R²为C₁₋₆烷基。

2. 如权利要求1所述的化合物,其中R¹为H、烷基或-烷基OP(O)(OR)₂,其中每个OR为-OH、-O烷基、-O芳基、-O杂芳基、-O芳烷基或-O⁻M⁺,其中M⁺为具有单个正电荷的相对离子。

3. 如权利要求1或权利要求2所述的化合物,其中R¹为-CH(CH₃)OP(O)(OR)₂或-CH₂OP(O)(OR)₂。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的化合物,其中R²为C₁₋₄烷基。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有根据式II的结构



式 II

或其药学上可接受的盐或溶剂合物。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的化合物,其中R¹为H。

7. 如权利要求1-5中任一项所述的化合物,其中R¹为C₁₋₆烷基。

8. 如权利要求1-5中任一项所述的化合物,其中R¹为-CH₂OP(O)(OR)₂。

9. 如权利要求8所述的化合物,其中R¹为-CH₂OP(O)(OH)₂。

10. 如权利要求8所述的化合物,其中R¹为-CH₂OP(O)(OC₁₋₆烷基)₂。

11. 如权利要求8所述的化合物,其中R¹为-CH₂OP(O)(O⁻M⁺)₂。

12. 如权利要求8所述的化合物,其中R¹为-CH₂OP(O)(O⁻Na⁺)₂。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的化合物,其中所述化合物可呈游离碱形式。

14. 如权利要求1-12中任一项所述的化合物,其中所述化合物为盐共晶体。

15. 如权利要求14所述的化合物,其中所述盐共晶体为酒石酸盐共晶体或三盐共晶体。

16. 如权利要求1所述的化合物,所述化合物选自:

I-1: N-(1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺;

I-2: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基二氢磷酸酯;

I-3: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基磷酸钠;

I-4: N-(1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺酒石酸盐;

I-5: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基氢磷酸酯1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-胺盐(三盐);

I-6: 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基二氢磷酸酯;

I-7: 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基磷酸钠;或

I-8: 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基氢磷酸酯1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-胺盐(三盐)。

17. 一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1-16中任一项所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

18. 一种用于抑制IRAK酶的方法,所述方法包括使所述酶与有效量的权利要求1-16中任一项所述的化合物接触。

19. 如权利要求18所述的方法,其中接触包括向受试者施用所述化合物。

20. 一种用于治疗受试者的需要IRAK抑制剂的疾病或疾患的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的权利要求1-16中任一项所述的化合物或根据权利要求17所述的药物组合物。

21. 如权利要求20所述的方法,其中所述疾病或疾患包括自身免疫性疾病、炎症性疾病、心血管疾病、神经退行性疾病、过敏性病症、多器官衰竭、肾脏疾病、血小板凝集、过度增生性疾病、移植、精子活力、红细胞缺乏症、移植排斥、肺损伤、呼吸道疾病、缺血性疾患、细菌感染、病毒感染、免疫调节病症、镰状细胞病、化学或辐射诱导性肺损伤、出血热或其组合。

22. 如权利要求20所述的方法,其中所述疾病或疾患包括再生障碍性贫血、特应性皮炎、脓疱性银屑病、掌跖脓疱病、原发性胆汁性肝硬化、脓皮病、硬化性胆管炎、系统性幼年型特发性关节炎、化脓性汗腺炎、细胞因子释放综合征或骨髓增生异常综合征(MDS)。

23. 如权利要求20所述的方法,其中所述疾病为肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)、系统

性红斑狼疮、慢性类风湿性关节炎、I型糖尿病、炎症性肠病、胆汁性肝硬化、葡萄膜炎、多发性硬化症、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、大疱性类天疱疮、结节病、银屑病、自身免疫性肌炎、胰腺炎、卡波济氏肉瘤、骨髓增生异常综合征、韦格纳氏肉芽肿病、鱼鳞病、格雷夫斯眼病或哮喘。

24. 如权利要求21所述的方法,其中所述免疫调节病症为类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、桥本氏甲状腺炎、多发性硬化症、系统性硬化症、重症肌无力、I型糖尿病、葡萄膜炎、后葡萄膜炎、过敏性脑脊髓炎、肾小球肾炎、包括风湿热和感染后肾小球肾炎的感染后自身免疫性疾病、炎症性和过度增生性皮肤病、银屑病、特应性皮炎、接触性皮炎、湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、扁平苔癣、天疱疮、大疱性类天疱疮、大疱性表皮松解症、荨麻疹、血管性水肿、血管炎、红斑、皮肤嗜酸性粒细胞增多症、红斑狼疮、痤疮、斑秃、角膜结膜炎、春季结膜炎、与白塞氏病相关的葡萄膜炎、角膜炎、疱疹性角膜炎、圆锥形角膜、角膜上皮营养不良、角膜白斑、眼天疱疮、蚕蚀性角膜溃疡、巩膜炎、格雷夫斯眼病、伏格特-小柳-原田氏综合征、结节病、花粉过敏、可逆阻塞性气道疾病、支气管哮喘、过敏性哮喘、内源性哮喘、外源性哮喘、尘埃性哮喘、慢性或根深哮喘、晚期哮喘和气道高反应性、支气管炎、胃溃疡、由缺血性疾病和血栓形成引起的血管损伤、缺血性肠病、炎症性肠病、坏死性小肠结肠炎、与热烧伤相关的肠道病变、乳糜泻、直肠炎、嗜酸粒细胞性胃肠炎、肥大细胞增多症、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、偏头痛、鼻炎、湿疹、间质性肾炎、古德帕斯丘氏综合征、溶血性尿毒综合征、糖尿病肾病、多发性肌炎、格林-巴利综合征、美尼尔氏病、多发神经炎、多神经炎、单神经炎、神经根病、甲状腺机能亢进、巴塞多氏病、纯红细胞再生障碍、再生障碍性贫血、低形成性贫血、特发性血小板减少性紫癜、自身免疫性溶血性贫血、粒性白细胞缺乏症、恶性贫血、巨幼红细胞性贫血、红细胞发生不能、骨质疏松症、结节病、纤维性肺、特发性间质性肺炎、皮炎、寻常性白斑病、寻常性鱼鳞病、光变应性敏感、皮肤T细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、动脉硬化、动脉粥样硬化、主动脉炎综合征、结节性多动脉炎、心肌病、硬皮病、韦格纳氏肉芽肿病、舍格伦综合征、肥胖病、嗜酸性筋膜炎、齿龈病变、牙周膜病变、牙槽骨病变、牙骨质病变、肾小球肾炎、通过预防脱发或提供头发发生和/或促进头发生成和头发生长的男性型脱发或老年脱发、肌肉萎缩症、脓皮病和塞扎里氏综合征、艾迪生病、器官保存后发生的缺血再灌注损伤、移植或缺血性疾病、内毒素休克、假膜性结肠炎、由药物或辐射引起的结肠炎、缺血性急性肾功能不全、慢性肾功能不全、由肺氧或药物引起的毒素性病、肺癌、肺气肿、白内障、铁质沉着病、视网膜色素变性、老年性黄斑变性、玻璃体瘢痕、角膜碱烧伤、多形性皮炎红斑、线性IgA大疱性皮炎和水泥性皮炎、齿龈炎、牙周炎、败血症、胰腺炎、由环境污染引起的疾病、衰老、致癌作用、癌转移和低气压病、由组胺或白三烯-C4释放引起的疾病、白塞氏病、自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、硬化性胆管炎、肝部分切除、急性肝坏死、毒素引起的坏死、病毒性肝炎、休克或缺氧症、B型病毒性肝炎、非A型/非B型肝炎、肝硬化、酒精性肝硬化、肝功能衰竭、暴发性肝功能衰竭、晚发性肝功能衰竭、“慢加急性”肝功能衰竭、化疗效果增强、巨细胞病毒感染、HCMV感染、AIDS、癌症、老年痴呆症、帕金森氏病、创伤、CRS、ARDS、AKI或慢性细菌感染。

25. 如权利要求20所述的方法,其中所述疾病或疾患包括选自以下的淋巴样肿瘤:不包括真性红细胞增多症的骨髓增生性肿瘤(MPN)、髓系/淋巴样肿瘤伴PDGFRA重排、髓系/淋巴样肿瘤伴PDGFRB重排、髓系/淋巴样肿瘤伴FGFR1重排、髓系/淋巴样肿瘤伴PCM1-JAK2、骨髓

增生异常/骨髓增生性肿瘤(MDS/MPN)、髓样肉瘤、与唐氏综合征有关的骨髓增生、母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤、B淋巴母细胞性白血病/淋巴瘤;和/或T淋巴母细胞性白血病/淋巴瘤。

26. 如权利要求25所述的方法,其中所述淋巴样肿瘤为选自以下的骨髓增生性肿瘤:慢性骨髓性白血病(CML)、慢性嗜中性粒细胞白血病(CNL)、原发性骨髓纤维化(PMF)、原发性血小板增多症、慢性嗜酸性粒细胞白血病或其组合。

27. 如权利要求26所述的方法,其中所述淋巴样肿瘤为慢性骨髓性白血病。

28. 如权利要求25所述的方法,其中所述淋巴样肿瘤为选自以下的骨髓增生异常/骨髓增生性肿瘤:慢性骨髓单核细胞性白血病、非典型慢性骨髓性白血病(aCML)、幼年型骨髓单核细胞性白血病(JMML)、MDS/MPN伴环形铁粒幼红细胞和血小板增多症(MDS/MPN-RS-T)或其组合。

29. 如权利要求25所述的方法,其中所述方法进一步包括鉴定患有所述淋巴样肿瘤的受试者。

30. 如权利要求29所述的方法,其中所述淋巴样肿瘤为慢性骨髓单核细胞性白血病,并且鉴定所述受试者包括鉴定持续性外周血单核细胞增多 $\geq 1 \times 10^9/L$ 以及单核细胞占白细胞(WBC)分类计数的 $\geq 10\%$ 并且未观察到PDGFRA、PDGFRB或FGFR1基因和PCM1-JAK2融合基因中的重排的受试者。

31. 根据权利要求1-16中任一项所述的化合物或根据权利要求17所述的组合物,所述化合物或组合物用于在治疗方法中使用。

32. 根据权利要求31使用的化合物,其中所述治疗方法为用于治疗需要IRAK抑制剂的疾病或疾患的方法。

33. 根据权利要求31或权利要求32使用的化合物,其中所述疾病或疾患包括自身免疫性疾病、炎症性病症、心血管疾病、神经退行性病症、过敏性病症、多器官衰竭、肾脏疾病、血小板凝集、过度增生性病症、移植、精子活力、红细胞缺乏症、移植排斥、肺损伤、呼吸道疾病、缺血性疾患、细菌感染、病毒感染、免疫调节病症、镰状细胞病、化学或辐射诱导性肺损伤、出血热或其组合。

34. 根据权利要求1-16中任一项所述的化合物或根据权利要求17所述的组合物在制造用于体内治疗的药物中的用途。

35. 根据权利要求34所述的化合物或组合物的用途,其中所述药物为用于治疗需要IRAK抑制剂的疾病或疾患的药物。

36. 根据权利要求34或权利要求35所述的化合物或组合物的用途,其中所述疾病或疾患包括自身免疫性疾病、炎症性病症、心血管疾病、神经退行性病症、过敏性病症、多器官衰竭、肾脏疾病、血小板凝集、过度增生性病症、移植、精子活力、红细胞缺乏症、移植排斥、肺损伤、呼吸道疾病、缺血性疾患、细菌感染、病毒感染、免疫调节病症、镰状细胞病、化学或辐射诱导性肺损伤、出血热或其组合。

作为IRAK抑制剂的嘧啶-2-基-吡唑化合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2022年3月23日提交的美国临时专利申请第63/322,955号的较早提交日期的权益,其通过引用以其整体并入本文。

技术领域

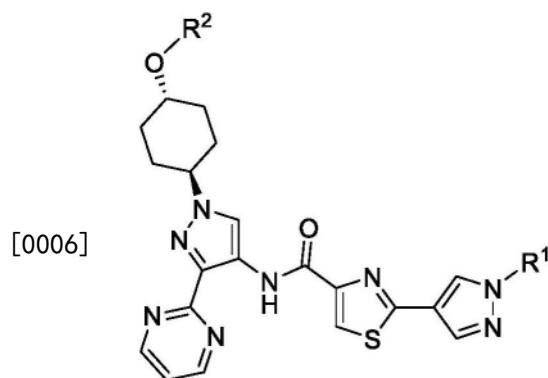
[0003] 本公开涉及吡唑化合物,以及用于制备和使用所述化合物的方法的实施方案,诸如用于抑制白介素受体相关激酶 (IRAK) 并且用于治疗与IRAK有关的疾病和疾患。

背景技术

[0004] 白介素-1受体相关激酶 (IRAK) 为信号传导过程 (诸如tol1-样受体 (TLR) 和白介素-1受体 (IL-1R) 信号传导过程) 的重要介质。IRAK已经牵涉于调节控制炎症、细胞凋亡和细胞分化的信号传导网络。已经在人类基因组中鉴定出四种IRAK基因 (IRAK1、IRAK2、IRAK3和IRAK4), 并且研究已经揭示了不同的非冗余生物学作用。已经显示IRAK1和IRAK4表现出激酶活性。

发明内容

[0005] 本文公开了具有根据式I的结构化合物或其药学上可接受的盐或溶剂合物的实施方案:



式 I。

[0007] 关于式I, R¹为H、脂肪族、酰基、杂环基、羧基酯、酰胺、烷基氨基磷酸酯或烷基磷酸酯, 诸如H、烷基或-烷基OP(O)(OR)₂, 例如-CH(CH₃)OP(O)(OR)₂或-CH₂OP(O)(OR)₂, 其中每个OR为-OH、-O烷基、-O芳基、-O杂芳基、-O芳烷基或-O⁻M⁺, 其中M⁺为具有单个正电荷的相对离子, 并且R²为C₁₋₆烷基。在一些实施方案中, R²为C₁₋₄烷基。在一些实施方案中, 所述化合物具有根据式II的结构或其药学上可接受的盐或溶剂合物。

[0008] 在一个实施方案中, R¹为H。在另一个实施方案中, R¹为C₁₋₆烷基。在另一个实施方案中, R¹为-CH₂OP(O)(OR)₂, 并且可为-CH₂OP(O)(OH)₂、-CH₂OP(O)(OC₁₋₆烷基)₂或-CH₂OP(O)(O⁻M⁺)₂, 诸如-CH₂OP(O)(O⁻Na⁺)₂。在另一个实施方案中, R¹为-CH(CH₃)OP(O)(OR)₂, 并且可为-CH

$(\text{CH}_3)\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OP}(\text{O})(\text{OC}_{1-6}\text{烷基})_2$ 或 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OP}(\text{O})(\text{O}^-\text{M}^+)_2$, 诸如 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OP}(\text{O})(\text{O}^-\text{Na}^+)_2$ 。

[0009] 所述化合物可呈游离碱形式或盐形式, 诸如共晶体形式, 例如酒石酸盐共晶体或三盐共晶体。

[0010] 本文还公开了一种药物组合物, 所述药物组合物包含本文公开的化合物和药学上可接受的赋形剂。

[0011] 本文公开了一种用于抑制IRAK酶的方法。所述方法可包括使所述酶与有效量的本文公开的化合物接触。在一些实施方案中, 接触所述酶包括向受试者施用所述化合物。

[0012] 本文还公开了一种用于治疗受试者的需要IRAK抑制剂的疾病或疾患的方法。所述方法可包括向所述受试者施用有效量的本文公开的化合物或其药物组合物。所述疾病或疾患可包括自身免疫性疾病、炎症性病症、心血管疾病、神经退行性病症、过敏性病症、多器官衰竭、肾脏疾病、血小板凝集、过度增生性病症、移植、精子活力、红细胞缺乏症、移植排斥、肺损伤、呼吸道疾病、缺血性疾患、细菌感染、病毒感染、免疫调节病症或其组合。在一些实施方案中, 所述疾病或疾患包括再生障碍性贫血、特应性皮炎、脓疱性银屑病、掌跖脓疱病(palmoplantar pustulosis)、原发性胆汁性肝硬化、脓皮病、硬化性胆管炎、系统性幼年型特发性关节炎、化脓性汗腺炎、细胞因子释放综合征或骨髓增生异常综合征(MDS)。

[0013] 在一些实施方案中, 所述疾病或疾患包括淋巴样肿瘤。所述淋巴样肿瘤可选自不包括真性红细胞增多症的骨髓增生性肿瘤(MPN)、髓系/淋巴样肿瘤伴PDGFRA重排、髓系/淋巴样肿瘤伴PDGFRB重排、髓系/淋巴样肿瘤伴FGFR1重排、髓系/淋巴样肿瘤伴PCM1-JAK2、骨髓增生异常/骨髓增生性肿瘤(MDS/MPN)、髓样肉瘤、与唐氏综合征有关的骨髓增生、母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤、B淋巴母细胞性白血病/淋巴瘤; 和/或T淋巴母细胞性白血病/淋巴瘤。在一些实施方案中, 所述淋巴样肿瘤为选自以下的骨髓增生性肿瘤: 慢性骨髓性白血病(CML)、慢性嗜中性粒细胞白血病(CNL)、原发性骨髓纤维化(PMF)、原发性血小板增多症、慢性嗜酸性粒细胞白血病或其组合。在某些实施方案中, 所述淋巴样肿瘤为慢性骨髓性白血病。

[0014] 在任何实施方案中, 所述方法可进一步包括鉴定患有所述淋巴样肿瘤的受试者。在某些实施方案中, 所述淋巴样肿瘤为慢性骨髓单核细胞性白血病, 并且鉴定所述受试者包括鉴定持续性外周血单核细胞增多 $\geq 1 \times 10^9/\text{L}$ 以及单核细胞占白细胞(WBC)分类计数的 $\geq 10\%$ 并且未观察到PDGFRA、PDGFRB或FGFR1基因和PCM1-JAK2融合基因中的重排的受试者。

[0015] 本技术的前述和其他目标、特征和优点将从以下具体实施方式中变得清楚。

具体实施方式

[0016] I. 定义

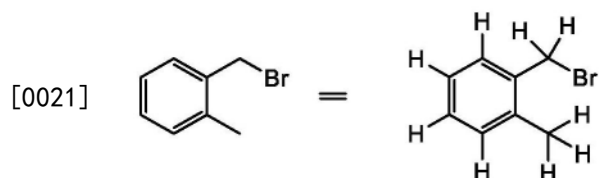
[0017] 提供以下术语和方法的解释以更好的描述本公开并指导本领域普通技术人员实践本公开。单数形式“一个/一种(a/an)”和“所述(the)”是指一个/一种或多于一个/一种, 除非上下文另外明确指示。术语“或”是指陈述的可替代性要素的单个要素或者两个或更多个要素的组合, 除非上下文另外明确指示。如本文所用, “包含”意指“包括”。因此, “包含A或B,”意指“包括A、B或A和B”而不排除另外的要素。本文引用的所有参考文献(包括专利和专

利申请)通过引用并入。

[0018] 除非另外指示,否则所有表示组分、分子量、百分比、温度、时间等的量的数字,如在说明书或权利要求中使用的将被理解为由术语“约”进行修饰。因此,除非明确地或隐含地另外指示,否则提出的数值参数为可能取决于所希望的所需特性和/或在标准测试条件/方法下的检测限度的近似值。当直接地或明确地区别实施方案和所讨论的现有技术时,实施方案的数量不是近似的,除非引用词语“约”。

[0019] 除非另外解释,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解相同的含义。虽然与本文描述的那些方法和材料类似或等同的方法和材料可以用于本公开的实践或测试,但是以下描述适合的方法和材料。所述材料、方法和实例仅仅是说明性的,并且不旨在进行限制。

[0020] 当描绘或描述化学结构时,除非另外清楚地说明,否则假定所有碳包括氢以致于每个碳符合四价化合价。例如,在以下示意图的左手侧的结构中,暗示存在九个氢原子。所述九个氢原子描绘在右手结构中。



[0022] 有时结构中的特定原子在本文的式中描述为具有氢或氢原子,例如 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。本领域普通技术人员将会理解,上述描述的技术在化学领域中为常见的,以提供有机结构的描述的简洁性和简单性。

[0023] 本领域普通技术人员将理解可以将所述定义组合以进一步描述特定化合物。例如,羟基脂肪族是指被羟基($-\text{OH}$)基团取代的脂肪族基团,并且卤代烷基芳基是指被烷基取代的芳基,其中所述烷基也被卤素取代,并且其中与母体结构的连接点是经由芳基部分,因为芳基为所述取代基的基本名称。

[0024] 如本文所用,术语“取代的”是指术语中所有后来的修饰部分,例如在术语“取代的芳基 C_{1-8} 烷基”中取代可以发生在芳基 C_{1-8} 烷基的“ C_{1-8} 烷基”部分、“芳基”部分或两个部分上。另外举例来说,烷基包括取代的环烷基。

[0025] 当用于修饰指定的基团或部分时,“取代的”意指指定基团或部分的至少一个、以及或许两个或更多个氢原子独立地被如下定义的同或不同的取代基基团替代。在一个特定实施方案中,基团、部分或取代基可为取代的或未取代的,除非明确地定义为“未取代的”或“取代的”。因此,本文指定的任何基团可为未取代的或取代的。在特定实施方案中,取代基可以或可以不明确地定义为取代的,但仍然考虑为任选取代的。例如,“烷基”取代基可为未取代的或取代的,但是“未取代的烷基”可以不是取代的。

[0026] 在一个实施方案中,经取代的基团具有1个取代基、2个取代基、取代基或4个取代基。

[0027] 另外,在基团或部分被取代的取代基取代的实施方案中,此类取代的取代基的嵌套被限制为三个,从而防止聚合物的形成。因此,在包含第一基团的基团或部分中,所述第一基团为在第二基团上的取代基,所述第二基团本身为在第三基团上的取代基,所述基团或部分连接至母体结构,所述第一(最外面的)基团可以仅被未取代的取代基取代。例如,在

包含-(杂芳基-1)-(杂芳基-2)-(杂芳基-3)的基团中,杂芳基-3可以仅被其自身不被取代的取代基取代。

[0028] “脂肪族”是指基本上基于烃的基团或部分,包括烷基、烯基、炔基、其环状型式,诸如环烷基、环烯基或环炔基,并且进一步包括直链和支链排列、以及所有的立体和位置异构体。除非另外明确说明,否则脂肪族基团含有一至二十五个碳原子;例如,一至十五、一至十、一至六或一至四个碳原子,并且环状脂肪族含有三至二十五个碳原子;例如,三至十五、三至十、三至六或三至四个碳原子。

[0029] “酰基”是指基团-C(O)R,其中R为H、脂肪族、杂脂肪族、杂环或芳基。示例性酰基部分包括但不限于-C(O)H、-C(O)烷基、-C(O)C₁-C₆烷基、-C(O)C₁-C₆卤代烷基、-C(O)环烷基、-C(O)烯基、-C(O)环烯基、-C(O)芳基、-C(O)杂芳基或-C(O)杂环基。具体实例包括-C(O)H、-C(O)Me、-C(O)Et或-C(O)环丙基。

[0030] “烷基”是指饱和的脂肪族烃基,所述烃基具有1至25个碳原子,通常1至10个碳原子,诸如1至6个碳原子(C₁-C₆烷基)。烷基部分可为取代的或未取代的。举例来说,此术语包括直链和支链烃基、环烷基及其组合,诸如-CH₂环丙基,除非另外说明。环烷基是指环状脂肪族基团,所述脂肪族基团具有3至15个碳原子,通常3至8个碳原子、3至6个碳原子或3至4个碳原子。环烷基可为单环(例如,环己基),或者可以包含多个环,诸如稠合的、桥接的或螺环系统,其中的至少一个为脂肪族的,条件是连接点为通过环烷基的脂肪族区域的原子。示例性烷基包括但不限于甲基(CH₃)、乙基(-CH₂CH₃)、正丙基(-CH₂CH₂CH₃)、异丙基(-CH(CH₃)₂)、正丁基(-CH₂CH₂CH₂CH₃)、异丁基(-CH₂CH₂(CH₃)₂)、仲丁基(-CH(CH₃)(CH₂CH₃))、叔丁基(-C(CH₃)₃)、正戊基(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)、新戊基(-CH₂C(CH₃)₃)、环丙基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、-CH₂环丙基、-CH₂环丁基、-CH₂环戊基或-CH₂环己基。

[0031] “酰胺”是指基团-N(H)酰基或-C(O)氨基。

[0032] “芳脂肪族”是指经由脂肪族部分连接至母体的芳基。芳脂肪族包括芳烷基或芳基烷基,诸如苄基和苯基乙基。

[0033] “芳烷基”是指经由烷基部分连接至母体的芳基。芳烷基包括基团,诸如苄基和苯基乙基。

[0034] 除非另外指明,否则“芳基”是指具有5至15个环原子的芳香族基团,所述芳香族基团具有单个环(例如苯基)或至少一个环为芳香族的多个稠合的环(例如萘基)。对于具有多个环的基团,其中的至少一个为芳香族的并且一个不是,然而此类基团被称为“芳基”,其条件为连接至所述化合物的剩余部分的连接点为通过芳基的芳香族部分的原子。芳基可为单环的、二环的、三环的或四环的。除非另外说明,否则芳基可为取代的或未取代的。

[0035] “羧基”(“Carboxyl”或“carboxy”)或“羧酸酯”是指-CO₂H、-C(O)O⁻或其盐。

[0036] “羧基酯”(“Carboxyl ester”或“carboxy ester”)是指基团-C(O)OR,其中R为脂肪族、杂脂肪族和杂环,包括芳基和杂芳基。

[0037] “环脂肪族”是指环状脂肪族基团,所述环状脂肪族基团具有单个环(例如环己基)或多个环(诸如稠合的、桥接的或螺环系统,其中的至少一个为脂肪族,条件是连接点为通过环脂肪族基团的脂肪族区域的原子)。环脂肪族包括饱和的和饱和的和不饱和的系统,包括环烷基、环烯基和环炔基。示例性环脂肪族基团包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环戊烯基或环己烯基。

[0038] “卤基”、“卤化物”或“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

[0039] “卤代烷基”是指被一个或多个卤素取代的烷基部分。示例性卤代烷基部分为 CF_3 。

[0040] “杂环基”和“杂环”是指芳香族的和非芳香族的环系统,并且更具体地是指包含碳原子和至少一个(诸如一个至五个)杂原子的稳定的三至十五元环部分。所述杂环基部分可为单环部分,或者可以包含多个环,诸如在二环的或三环的环系统中,条件是所述环中的至少一个含有杂原子。这种多环部分可以包括稠合或桥接的环系统以及螺环系统;并且杂环基部分中的氮、磷、碳、硅或硫原子可以任选地被氧化成各种氧化态。为了方便,氮,特别地但不是排他地,那些定义为环形的芳香族的氮不是意指包括其相应的N-氧化物形式,尽管在特定实例中没有明确地定义为这样。另外,环形的氮原子可以任选地季铵化。杂环包括杂芳基或芳香族杂环基部分和非芳香族杂环基部分(其为部分或完全饱和的杂环基环,诸如杂环烷基)。

[0041] 除非另外指明,否则“杂芳基”是指包含至少一个碳原子和至少一个杂原子(诸如N、S、O、P或Si)的具有5至15个环原子的芳香族基团或部分。杂芳基或部分可以包含单个环(例如,吡啶基、嘧啶基或吡唑基)或多个稠环(例如,吲哚基、苯并吡唑基或吡唑并吡啶基)。例如,杂芳基或部分可为单环的、二环的、三环的或四环的。除非另外说明,杂芳基或部分可为取代的或未取代的。

[0042] “杂环烷基”是指稳定的三至十五元非芳香族环部分,所述非芳香族环部分包含至少一个碳原子和通常多个碳原子以及至少一个(诸如一至五个)杂原子。所述一个或多个杂原子可为一个或多个氮、磷、氧、硅或硫原子。所述杂环烷基部分可为单环部分,或者可以包含多个环,诸如在二环的或三环的环系统中,条件是所述环中的至少一个含有杂原子。这种多环部分可以包括稠合或桥接的环系统以及螺环系统;并且杂环烷基部分中的任何氮、磷、碳、硅或硫原子可以任选地被氧化成各种氧化态,除非明确地排除或通过上下文排除。为了方便,氮,特别地但不是排他地,那些定义为环形的芳香族的氮不是意指包括其相应的N-氧化物形式,尽管在特定实例中没有明确地定义为这样。另外,环形的氮原子可以任选地季铵化。

[0043] 杂环烷基的实例包括但不限于四氢异喹啉基、哌啶基、哌嗪基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、吡咯烷基、4-哌啶酮基、二氢吡啶基、四氢吡啶基、吗啉基、二氮杂二环庚烷、二氮杂环庚烷(diazapane)、二氮杂卓、四氢呋喃基和四氢吡喃基。

[0044] “磷酸酯”是指基团 $-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OR}')_2$,其中每个 $-\text{OR}'$ 独立地为 $-\text{OH}$ 、 $-\text{O}$ -脂肪族(诸如 $-\text{O}$ -烷基)、 $-\text{O}$ -芳基或 $-\text{O}$ -芳烷基,或者 $-\text{OR}'$ 为 $-\text{O}^-\text{M}^+$,其中 M^+ 为如本文公开的具有单个正电荷的相对离子。例如,每个 M^+ 可为碱性离子,诸如 K^+ 、 Na^+ 、 Li^+ ;铵离子,诸如 $^+\text{N}(\text{R})_4$,其中每个 R 独立地为H,脂肪族,诸如烷基、羟烷基或其组合,杂环基或芳基;氨基酸,诸如精氨酸或赖氨酸;氨基糖,诸如葡甲胺;或碱土金属离子,诸如 $[\text{Ca}^{2+}]_{0.5}$ 、 $[\text{Mg}^{2+}]_{0.5}$ 或 $[\text{Ba}^{2+}]_{0.5}$ 。烷基磷酸酯是指基团-烷基-磷酸酯,诸如 $-\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OR}')_2$ 或 $-\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OR}')_2$,例如, $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{O}-\text{异丙基})_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OH})(\text{O}-\text{叔丁基})$ 、 $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{O}-\text{叔丁基})_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OCH}_2\text{OCO}_2\text{异丙基})_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$ 或其盐,诸如 $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{O}^-\text{Na}^+)_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{O}^-)_2\text{Mg}^{2+}$ 或 $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OH})(\text{O}^-\text{Na}^+)$ 。

[0045] “氨基磷酸酯”是指基团 $-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OR}')(\text{N}(\text{R}')_2)$,其中每个 R' 独立地为H、脂肪族(诸如烷基、芳基或芳烷基),或者 $-\text{OR}'$ 为 $-\text{O}^-\text{M}^+$,并且其中 M^+ 为如本文公开的具有单个正电荷

的相对离子。例如,每个 M^+ 可为碱性离子,诸如 K^+ 、 Na^+ 、 Li^+ ;铵离子,诸如 $N(R'')_4$,其中每个 R'' 独立地为H,脂肪族,诸如烷基、羟烷基或其组合,杂环基或芳基;氨基酸,诸如精氨酸或赖氨酸;氨基糖,诸如葡甲胺;或碱土金属离子,诸如 $[Ca^{2+}]_{0.5}$ 、 $[Mg^{2+}]_{0.5}$ 或 $[Ba^{2+}]_{0.5}$ 。烷基氨基磷酸酯是指基团-烷基-氨基磷酸酯,例如像, $-CH_2O-P(O)(OR')(N(R')_2)$ 或 $-CH_2(CH_3)O-P(O)(OR')(N(R')_2)$, 诸如, $-CH_2OP(O)(O-苯基)[NHC(CH_3)CO_2异丙基]$ 或 $-CH_2OP(O)(OH)(N(H)烷基)$ 或其盐, 诸如 $-CH_2OP(O)(O^-Na^+)(N(H)烷基)$ 。

[0046] “患者”或“受试者”是指哺乳动物或其他动物,特别是人类。因此,所公开的方法可应用于人类疗法和兽医应用两者。

[0047] “药学上可接受的赋形剂”是指除活性成分以外的物质,其包括在活性成分的制剂中。如本文所用,可以将赋形剂掺入药物组合物的颗粒内,或者其可以与药物组合物的颗粒进行物理混合。例如,可以使用赋形剂来稀释活性剂和/或改变药物组合物的特性。赋形剂可以包括但不限于,抗粘附剂、粘合剂、包衣、肠溶包衣、崩解剂、调味剂、甜味剂、着色剂、润滑剂、助流剂、吸附剂、防腐剂、佐剂、载体或媒介物。赋形剂可为淀粉和改性淀粉、纤维素和纤维素衍生物、糖类及其衍生物(诸如二糖、多糖和糖醇)、蛋白质、合成聚合物、交联聚合物、抗氧化剂、氨基酸或防腐剂。示例性赋形剂包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸、植物油、蔗糖、乳糖、淀粉、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、木糖醇、山梨糖醇、麦芽糖醇、明胶、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙二醇(PEG)、生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯(也称为维生素E TPGS或TPGS)、羧甲基纤维素、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、维生素A、维生素E、维生素C、棕榈酸视黄酯、硒、半胱氨酸、甲硫氨酸、柠檬酸、柠檬酸钠、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、糖、二氧化硅、滑石、碳酸镁、羟基乙酸淀粉钠、酒石黄、阿斯巴甜、苯扎氯铵、芝麻油、没食子酸丙酯、偏亚硫酸氢钠或羊毛脂。

[0048] “佐剂”为改变其他剂(通常活性成分)的作用的赋形剂。佐剂通常是药学和/或免疫学剂。佐剂可以通过增加免疫反应改变活性成分的作用。佐剂也可以充当用于制剂的稳定剂。示例性佐剂包括但不限于,氢氧化铝、明矾、磷酸铝、杀死的细菌、角鲨烯、洗涤剂、细胞因子、石蜡油和组合佐剂(诸如弗氏完全佐剂或弗氏不完全佐剂)。

[0049] “药学上可接受的载体”是指作为载体或媒介物的赋形剂,诸如悬浮助剂、增溶助剂或雾化助剂。Remington: The Science and Practice of Pharmacy, The University of the Sciences in Philadelphia, Editor, Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, PA, 第21版(2005)(其通过引用并入本文),描述了适合于药物递送一种或多种治疗组合物和另外的药学剂的示例性组合物和制剂。

[0050] 通常,载体的性质将取决于所采用的特定施用模式。例如,肠胃外制剂通常包括可注射流体,所述可注射流体包括药学上或生理学上可接受的流体,诸如水、生理盐水、平衡盐溶液、水性葡萄糖、甘油或类似物如媒介物。在一些实例中,药学上可接受的载体可为无菌的以适合于施用至受试者(例如,通过肠胃外、肌内或皮下注射)。除了生物学中性载体之外,待施用的药物组合物可以含有少量的无毒辅助物质,诸如润湿剂或乳化剂、防腐剂和pH缓冲剂等,例如乙酸钠或脱水山梨糖醇单月桂酸酯。

[0051] “药学上可接受的盐”是指如本领域普通技术人员将已知的衍生自各种有机和无机相对离子的化合物的药学上可接受的盐,并且仅举例来说,包括钠、钾、钙、镁、铵、四烷基铵等;以及当分子含有碱性官能团时,有机或无机酸的盐,诸如盐酸盐、氢溴酸盐、酒石酸

盐、甲磺酸盐、乙酸盐、马来酸盐、草酸盐等。“药学上可接受的酸加成盐”为在通过酸配偶体形成时保留游离碱的生物有效性的“药学上可接受的盐”的子集。特别地,所公开的化合物与各种药学上可接受的酸形成盐,所述药学上可接受的酸包括但不限于无机酸,诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等,以及有机酸,诸如甲酸、乙酸、己二酸、天冬氨酸、三氟乙酸、丙酸、龙胆酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、苯磺酸、羟基乙磺酸、乳酸、甲磺酸、乙磺酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸、昔萘酸(xinafoic acid)等。“药学上可接受的碱加成盐”为衍生自无机碱(诸如钠、钾、锂、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰、铝盐等)的“药学上可接受的盐”的子集。示例性盐为铵、钾、钠、钙和镁盐。衍生自药学上可接受的有机碱的盐包括但不限于伯胺、仲胺以及叔胺、取代的胺(包括天然存在的取代的胺)、环胺以及碱离子交换树脂(诸如异丙基胺、三甲基胺、二乙基胺、三乙基胺、三丙基胺、三(羟甲基)氨基甲烷(Tris)、乙醇胺、2-二甲基氨基乙醇、2-二乙基氨基乙醇、二环己基胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、海巴明、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可碱、嘌呤、腺嘌呤、N-乙基腺嘌呤、聚胺树脂等)的盐。示例性有机碱为异丙胺、二乙胺、三(羟甲基)氨基甲烷(Tris)、乙醇胺、三甲胺、二环己基胺、胆碱和咖啡因。(参见例如, S.M. Berge 等人, “Pharmaceutical Salts,” J.Pharm.Sci., 1977; 66:1-19, 其通过引用并入本文。)在特定公开的实施方案中,吡唑化合物可为甲酸盐或钠盐。

[0052] 关于化合物或组合物的“有效量”是指化合物或组合物足以实现以下特定所需结果的量,所述特定所需结果为诸如抑制蛋白质或酶,特别是白介素-1受体相关激酶;在组织、系统、受试者或患者中引发所需的生物学或医学反应;治疗或预防特定病症或疾病;改善或根除其症状中的一种或多种;和/或预防疾病或病症的发生。构成“有效量”的化合物的量可以取决于化合物、所需结果、疾病状态及其严重程度、待治疗患者的年龄等而变化。

[0053] “溶剂合物”是指通过溶剂分子与溶质的分子或离子的组合而形成的复合物。溶剂可为有机溶剂、无机溶剂或两者的混合物。示例性溶剂包括但不限于醇,诸如甲醇、乙醇、丙醇;酰胺,诸如N,N-二脂肪族酰胺,诸如N,N-二甲基甲酰胺;四氢呋喃;烷基亚砜,诸如二甲基亚砜;水;及其组合。当与药学上可接受的或不可接受的溶剂(诸如水、乙醇等)组合时,本文所述的化合物能够以非溶剂化形式以及溶剂化形式存在。本发明所公开的化合物的溶剂化形式在本文公开的实施方案的范围内。

[0054] 如本文所用,“治疗(Treating或treatment)”涉及在患者和受试者(特别是患有目标疾病或疾患的人)中治疗目标疾病或疾患,并且包括(举例来说)且不限于:

[0055] (i) 抑制所述疾病或疾患,例如阻止或减缓其发展;

[0056] (ii) 改善所述疾病或疾患,例如,引起疾病或疾患或其症状的消退;或

[0057] (iii) 稳定所述疾病或疾患。

[0058] 如本文所用,“预防”涉及预防疾病或疾患在患者或受试者中发生,特别地,当此类患者或受试者易患所述疾患但还没有诊断为患有所述疾患时。

[0059] 如本文所用,术语“疾病”、“病症”和“疾患”可以可互换地使用或者可以不同,因为具体的弊病或疾患可以不具有已知的致病因素(所以病因尚未确定),并且因此还不被认为是疾病而仅是不希望的疾患或综合征,其中由临床医生鉴定出或多或少特定的一系列症状。

[0060] 以上定义和以下通式不旨在包括不允许的取代模式(例如,被5个氟基团取代的甲基)。本领域普通技术人员容易识别此类不允许的取代模式。

[0061] 本文提及的任何基团可以任选地被至少一个(可能两个或更多个)如本文定义的取代基取代。也就是说,除非上下文另外指示或特定的结构式排除了取代,取代的基团具有至少一个(可能两个或更多个)可取代的氢,所述氢被如本文定义的一个或多个取代基替代。

[0062] 本领域普通技术人员将理解化合物可以表现出互变异构现象、构象异构现象、几何异构现象和/或光学异构现象。例如,某些公开的化合物可以包括一个或多个手性中心和/或双键,并因此可以作为立体异构体存在,诸如双键异构体(即几何异构体)、对映异构体、非对映异构体及其混合物(诸如外消旋混合物)。作为另一个实例,某些公开的化合物可以若干种互变异构体形式,包括烯醇形式、酮基形式及其混合物存在。由于在说明书和权利要求书内的各种化合物名称、式和化合物图可以仅代表可能的互变异构、构象异构、光学异构或几何异构形式之一,将了解所公开的化合物涵盖本文所述的化合物的任何互变异构、构象异构、光学异构和/或几何异构形式,以及这些各种不同异构形式的混合物。在有限旋转(例如在酰胺键周围或两个直接连接的环(诸如吡唑和吡啶基环)之间)的情况下,阻转异构体也为可能的,并且也特别包括在本公开的化合物中。

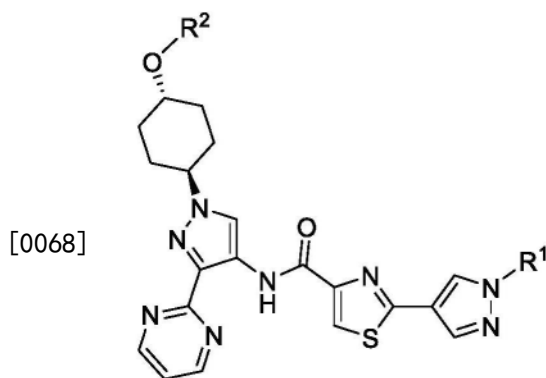
[0063] 本发明公开的化合物的特定实例包括一个或多个不对称中心;因此这些化合物可以不同的立体异构形式存在。因此,化合物和组合物可以作为单独的纯对映异构体或非对映异构体,或作为立体异构体混合物(包括外消旋混合物)提供。在某些实施方案中,本文公开的化合物以基本上对映纯的形式合成或纯化为基本上对映纯的形式,诸如至少90%对映异构体过量、95%对映异构体过量、97%对映异构体过量、98%对映异构体过量、99%对映异构体过量、99.5%对映异构体过量或大于99.5%对映异构体过量,诸如呈对映纯形式。

[0064] 在任何实施方案中,存在于所述化合物中或者在所述化合物内的特定基团或部分中的任何或所有氢可以被氘或氚替代。因此,烷基的陈述包括氘化烷基,其中存在的一个至最大数量的氢可以被氘替代。例如,乙基可为 C_2H_5 或 C_2H_5 ,其中1至5个氢被氘替代。

[0065] II. 化合物

[0066] 本文公开了化合物、制备所述化合物的方法和使用所述化合物的方法。在一个实施方案中,所公开的化合物为激酶抑制剂,特别是酪氨酸激酶抑制剂。在一个特定实施方案中,所述化合物可用于阻断一种或多种细胞因子信号传导途径(诸如IL-17信号传导途径)。对于某些实施方案,所公开的化合物可用于治疗抑制白介素-1受体相关激酶(IRAK)途径为治疗有用的疾患。在一些实施方案中,所述化合物直接抑制IRAK蛋白,诸如IRAK1、IRAK2、IRAK3和/或IRAK4。

[0067] 在本公开的范围内的示例性化合物具有通式I



式 I

[0069] 或其药学上可接受的盐或溶剂合物。

[0070] 关于式I, R^1 为H、脂肪族、酰基、杂环基、羧基酯、酰胺、烷基氨基磷酸酯或烷基磷酸酯。在一些实施方案中, R^1 不为H, 或者可替代地, R^1 为氢。当 R^1 为氢时, 化合物可为游离碱或呈盐形式。在其他实施方案中, R^1 为烷基、酰基、羧基酯、酰胺、非芳香族杂环基、烷基氨基磷酸酯或烷基磷酸酯。本领域普通技术人员理解, 例如当施用于受试者时, 其中 R^1 不为H的化合物可以充当其中 R^1 为H的化合物的前药。

[0071] R^2 为 C_{1-6} 烷基, 诸如 C_{1-4} 烷基。

[0072] 在一些实施方案中, R^2 为乙基。

[0073] 在一些实施方案中, R^1 为H、 C_{1-4} 烷基磷酸酯、 C_{1-4} 烷基氨基磷酸酯、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 酰基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 脂肪族、 $-C(O)N(R^b)_2$ 或5元或6元非芳香族杂环基, 但是在某些实施方案中, R^1 不为H, 或者 R^1 为H并且所述化合物为盐。

[0074] 关于 R^1 部分, C_{1-6} 烷基部分可为未取代的, 或者它可以诸如被5元或6元非芳香族杂环基、OH、 $-OC(O)-R^a$ 、 $-N(R^b)_2$ 、 $-OC(O)-R^c$ 、羧基或其组合取代;

[0075] 所述 C_{1-6} 酰基部分可为未取代的, 或者它可以被 $-C(O)O-C_{1-4}$ 烷基、 $-C(O)O-C_{1-4}$ 烷基- $N(R^b)_2$ 、 $N(R^b)_2$ 、 $-NHC(O)C_{1-4}$ 烷基或其组合取代;

[0076] 所述5元或6元杂环基部分可为5元或6元含氧杂环基, 并且/或者可以被羟基、羟甲基或其组合取代; 或者

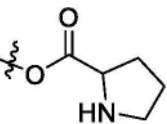
[0077] 所述 $-C(O)O-C_{1-6}$ 脂肪族可为任选地被 $-OC(O)C_{1-4}$ 烷基或 $N(R^b)_2$ 取代的 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基, 或者所述 $-C(O)O-C_{1-6}$ 脂肪族可为任选地被 C_{1-4} 烷基取代的 $-C(O)O-C_{3-6}$ 环烷基。

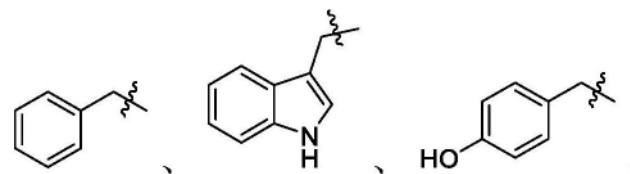
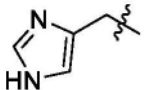
[0078] 在任何实施方案中, 每个 R^a 独立地为5元非芳香族杂环基, 被 $-CH_2N(R^b)_2$ 取代的芳基, 被羧基取代的 C_{3-6} 环烷基, C_{1-6} 烷氧基, 未取代的 C_{1-6} 烷基, 或被 $N(R^b)_2$ 、羧基、羧基酯、 $-OC_{1-6}$ 酰基、 $-NHC(O)(NH_2)C_{1-6}$ 烷基或 $-(OCH_2CH_2)_{1-8}N(R^b)_2$ 中的一个或多个(诸如1、2或3个)取代的 C_{1-6} 烷基;

[0079] 每个 R^b 独立地为H、未取代的 C_{1-6} 烷基、被 $-N(R^s)_2$ 取代的 C_{1-6} 烷基、羧基酯或5元或6元非芳香族杂环基, 或者两个 R^b 与它们所连接的氮一起形成任选地被一个或两个-O-或-N(R^s)间断的 C_{3-6} 非芳香族杂环基部分, 其中 R^s 为H或 C_{1-4} 烷基; 并且

[0080] $-OC(O)-R^c$ 衍生自氨基酸, 其中 $-OC(O)-R^c$ 的 $-OC(O)-$ 部分对应于氨基酸上的酸部分, 并且 R^c 包含 $-N(R^b)_2$ 或含氮的非芳香族杂环基, 诸如5元或6元不饱和含氮杂环基, 例如吡咯烷基。氨基酸可为任何氨基酸, 诸如天然存在的氨基酸, 并且可为选自以下的氨基酸: 甘

氨酸、缬氨酸、丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、酪氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、组氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、半胱氨酸或脯氨酸。本领域普通技术人员将理解,在氨基酸包含一个或多个手性中心的情况下,考虑所有对映异构体、非对映异构体和/或其混合物。例如,氨基酸可为L-氨基酸、D-氨基酸或其混合物。在一些实施方案中,氨基酸为L-氨基酸。并且在某些实施方案中, $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}^c$ 为 $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}$

$(\text{NH}_2)\text{R}^d$ 、 或 $-\text{OC}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{1-2}\text{C}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$, 其中 R^d 为氨基酸侧链,并且/或者可为 H、 $-\text{CH}_3$ 、异丙基、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Et}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 、

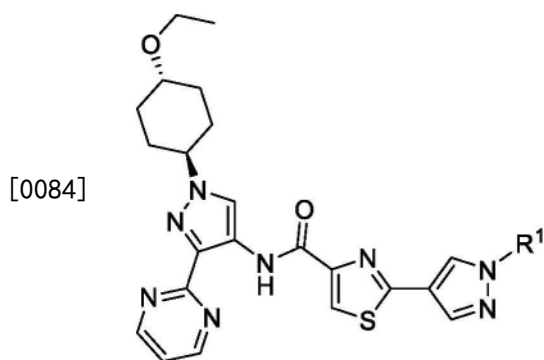
 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}$
 $(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{SH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})(\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 或

$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 。

[0081] 在一些实施方案中, R^1 为H、烷基或 $-\text{烷基OP}(\text{O})(\text{OR})_2$,其中每个OR独立地为 $-\text{OH}$ 、 $-\text{O}$ 烷基、 $-\text{O}$ 芳基、 $-\text{O}$ 杂芳基、 $-\text{O}$ 芳烷基或 $-\text{O}^-\text{M}^+$,其中 M^+ 为具有单个正电荷的相对离子。每个OR独立地可为 $-\text{OH}$ 、 $-\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 、 $-\text{OC}_6\text{芳基}$ 、 $-\text{O}(3-15\text{元杂芳基})$ 、 $-\text{OC}_7\text{芳烷基}$ 或 $-\text{O}^-\text{M}^+$ 。并且在一些实施方案中,两个OR部分为不同的,但是在其他实施方案中,两个OR部分为相同的。

[0082] 在一些实施方案中, R^1 为H、 C_{1-6} 烷基或 $-\text{C}_{1-4}\text{烷基OP}(\text{O})(\text{OR})_2$,诸如H、 C_{1-6} 烷基、 $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OR})_2$ 或 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OP}(\text{O})(\text{OR})_2$,并且在某些实施方案中, R^1 为H、 C_{1-6} 烷基或 $-\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OR})_2$ 。

[0083] 在特定实施方案中,所述化合物具有根据式II的结构或其药学上可接受的盐或溶剂合物。



[0085] 式 II

[0086] 关于式II, R^1 如先前针对式I所定义。

[0087] 在式I和II的一些实施方案中, R^1 为H。

[0088] 在式I和II的其他实施方案中, R^1 为烷基,诸如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-4} 烷基,并且可为甲基或乙基。

[0089] 在式I和II的一些其他实施方案中, R^1 为-烷基OP(O)(OR)₂, 诸如-C₁₋₄烷基OP(O)(OR)₂, 并且可为-CH₂OP(O)(OR)₂或-CH(CH₃)OP(O)(OR)₂。

[0090] 在一些实施方案中, R^1 为-CH₂OP(O)(OR)₂。在一个实施方案中, R^1 为-CH₂OP(O)(OH)₂。在另一个实施方案中, R^1 为-CH₂OP(O)(OH)(O⁻M⁺)。在另一个实施方案中, R^1 为-CH₂OP(O)(O⁻M⁺)₂, 并且可为-CH₂OP(O)(O⁻Na⁺)₂。并且在另一个实施方案中, R^2 为-CH₂OP(O)(OC₁₋₆烷基)₂。

[0091] 在式I和式II的一些实施方案中, R^1 为-CH(CH₃)OP(O)(OR)₂。在一个实施方案中, R^1 为-CH(CH₃)OP(O)(OH)₂。在另一个实施方案中, R^1 为-CH(CH₃)OP(O)(OH)(O⁻M⁺)。在另一个实施方案中, R^1 为-CH(CH₃)OP(O)(O⁻M⁺)₂, 并且可为-CH(CH₃)OP(O)(O⁻Na⁺)₂。并且在另一个实施方案中, R^2 为-CH(CH₃)OP(O)(OC₁₋₆烷基)₂。

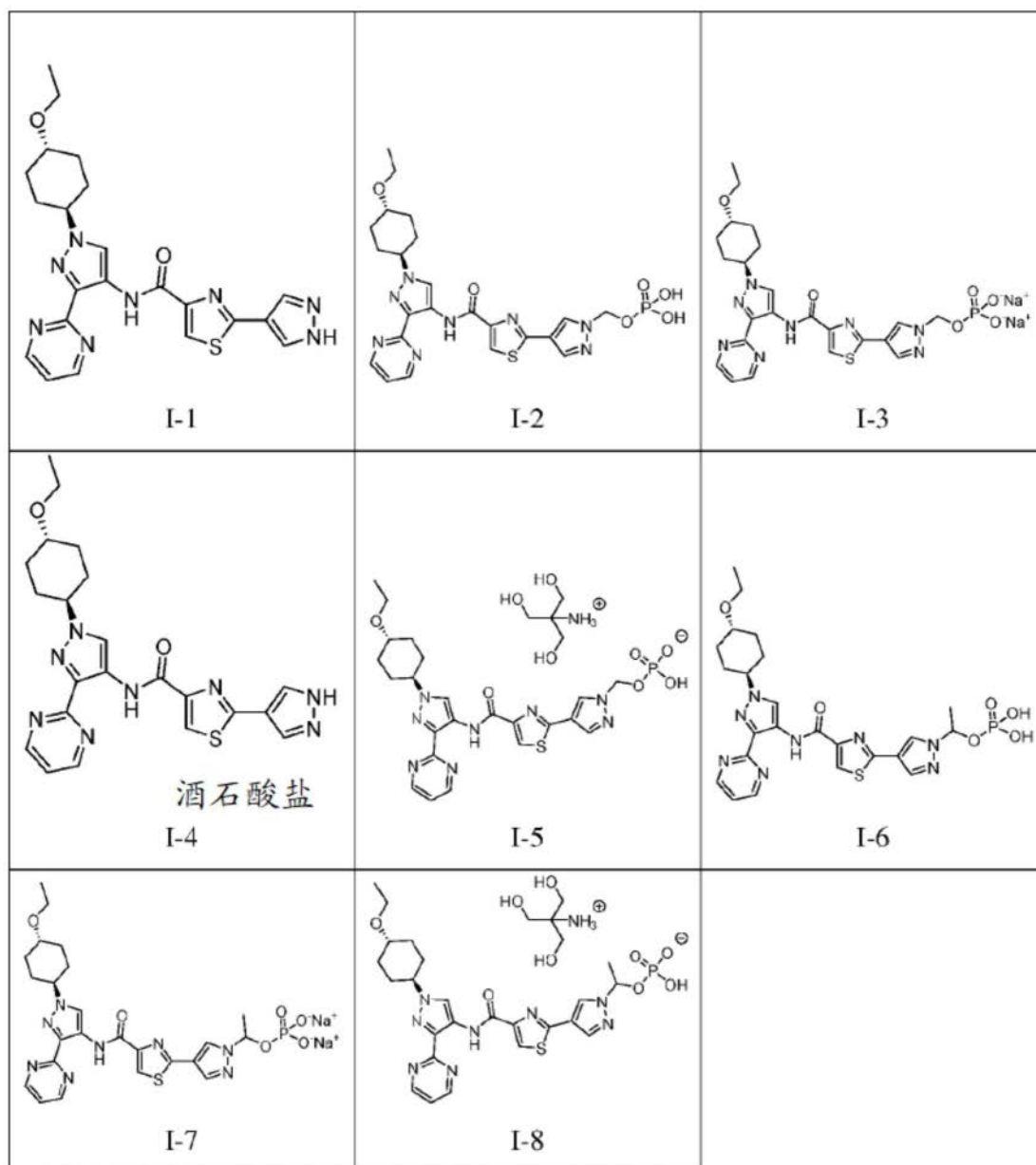
[0092] 在本文公开的一个实施方案中, 所述化合物包含IRAK抑制性部分和用于在体内释放或递送IRAK抑制性部分的手段。举例来说, 在 R^1 不为H的一些实施方案中, R^1 包含用于递送IRAK抑制剂, 诸如本文公开的化合物I-1的手段。在考虑本文公开的式和工作实施例后, 包含此类手段的式I和式II的示例性实施方案对于本领域技术人员而言将是显而易见的。举例来说, 包含用于递送IRAK抑制性部分的手段的手段式I和式II的实施方案包括但不限于化合物I-2、I-3、I-6、I-7和I-8。

[0093] 在任何实施方案中, 所述化合物可呈游离碱形式, 或者它可为盐。在一些实施方案中, 所述盐为酸加成盐, 诸如但不限于本文定义的酸加成盐。在特定实施方案中, 所述化合物为酒石酸盐。

[0094] 在其他实施方案中, 所述化合物呈碱加成盐形式, 诸如但不限于本文定义的碱加成盐。在一些实施方案中, 所述化合物为钠盐, 诸如二钠盐或三盐。

[0095] 根据式I的示例性化合物包括但不限于:

[0096]



[0097] 根据式1的一些示例性化合物包括：

[0098] I-1: N-(1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺；

[0099] I-2: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基二氢磷酸酯；

[0100] I-3: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基磷酸钠；

[0101] I-4: N-(1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺酒石酸盐；

[0102] I-5: (4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基氢磷酸酯1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-胺盐(三盐)；

[0103] I-6: 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)

氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基二氢磷酸酯;

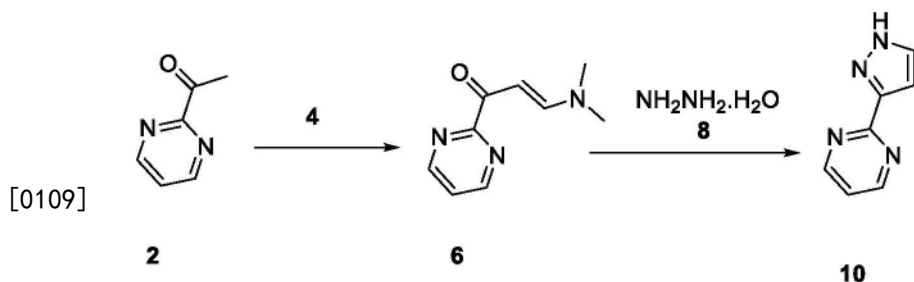
[0104] I-7:1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基磷酸钠;或

[0105] I-8:1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基氢磷酸酯1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-胺盐(三盐)。

[0106] 在一些实施方案中,与其他IRAK抑制剂相比,根据式I和式II中的任一者的化合物或其盐具有至少一种改善的特性。一种或多种改善的特性可以包括但不限于物理特性,包括但不限于熔点、玻璃化转变温度、流动性和/或稳定性,诸如热稳定性、机械稳定性、保质期、抗多晶型转变的稳定性等;化学特性,诸如但不限于吸湿特性、在水和/或有机溶剂中的溶解性、反应性、与赋形剂和/或递送媒介物的相容性;和/或药物动力学特性,诸如但不限于生物利用度、吸收、分布、代谢、排泄、毒性(包括细胞毒性)、溶出速率、选择性(诸如对于一种IRAK蛋白优于不同IRAK蛋白的选择性)、活性和/或半衰期。

[0107] III.合成

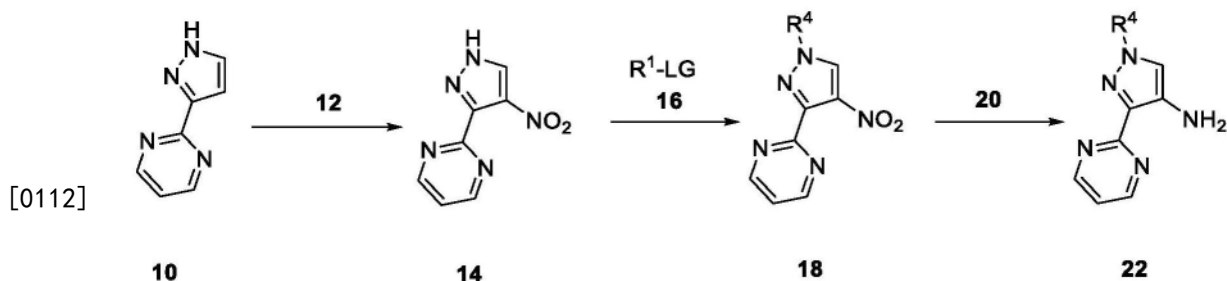
[0108] 所公开的吡唑化合物可以如以下所例示进行制备,并且将会被有机合成领域的普通技术人员所理解。示例性合成可以包括根据方案1的以下第1反应步骤:



方案 1

[0110] 在适合促进反应的温度下,使乙酰基化合物2与二甲基甲酰胺二甲基缩醛4反应以形成中间体化合物6。适合的温度通常是85℃至130℃。然后使中间体化合物6与水合肼8反应以形成吡唑化合物10。所述反应在适合的溶剂(例如醇(诸如乙醇、甲醇或异丙醇))中进行,并且通常加热至诸如回流。

[0111] 下面根据方案2提供示例性合成中的第2反应步骤:



方案 2

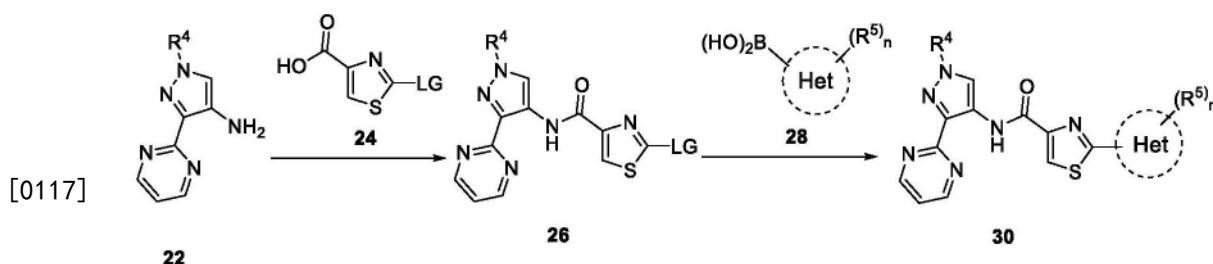
[0113] 使用适合的硝化试剂或试剂12的混合物使化合物10发生硝化以形成化合物14。适

合的硝化条件包括使化合物10与硝酸(诸如发烟硝酸)反应(任选地在硫酸存在下)。通常,缓慢地添加化合物10和硝酸,一个添加至另一个。冷却,诸如通过冰浴,可以用于将反应温度维持在适合的范围内,诸如约0℃至小于50℃、0℃至20℃或0℃至10℃。在添加完成之后,允许反应进行,直至反应基本上完成,并且可以允许升温至室温以促进反应。任选地,可以添加另外的硝化试剂或硝化试剂的混合物以促进反应进行至完成。然后将反应淬灭,诸如通过添加至水和/或冰,并且从水性溶液中分离或萃取产物,并且如果需要的话进行纯化。适合于从本文公开的任何反应中纯化产物的纯化技术包括但不限于结晶、蒸馏和/或色谱法。

[0114] 继续参考方案2,然后使化合物14与化合物16反应以形成化合物18。化合物16包含所需的R¹部分和适合的离去基团LG。适合的离去基团包括将充当离去基团以促进将R¹部分添加至化合物14的任何基团。适合的离去基团包括但不限于卤素(通常是溴、氯或碘)和甲磺酸酯或甲磺酸酯基团。在适合的溶剂中并且通常在碱存在下,使化合物14与化合物16反应。适合的溶剂包括促进反应的任何溶剂,诸如非质子溶剂。适合的溶剂包括但不限于DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶剂(诸如二氯甲烷和氯仿)、DMA、二噁烷、N-甲基吡咯烷酮或其组合。适合的碱包括将促进反应的任何碱,诸如氢化物(通常是氢化钠)或碳酸盐(诸如碳酸钾、碳酸钠或碳酸铯)。根据需要,可以将反应物加热至诸如50℃、100℃或更高,或者反应可以在室温下进行。然后将化合物18从反应混合物中分离并且如果需要的话进行纯化。

[0115] 然后使化合物18与适合于将硝基部分还原为胺的还原剂20进行反应。适合的还原剂包括但不限于:在催化剂诸如钨催化剂存在下的氢气;硼氢化物,诸如硼氢化钠,任选地在催化剂诸如镍催化剂存在下;乙酸中的锌金属;或在水中的或水和酸中的铁粉。在某些实施方案中,使用氢气,在钨催化剂存在下,并且在适合的溶剂(诸如乙酸乙酯或甲醇)中。在一些实施方案中,使用还原剂和/或技术的组合。例如,使用包含第一还原剂和/或技术的第一方法可以首先进行还原,但产生产物的混合物。可以重复第一方法,和/或可以进行包括第二还原剂和/或技术的第二方法。如通过分析技术(诸如LC-MS、TLC或HPLC)指示的,一旦反应完全,就将产物化合物22分离并且如果需要的话进行纯化。

[0116] 下面根据方案3,提供示例性反应顺序的第3步骤:

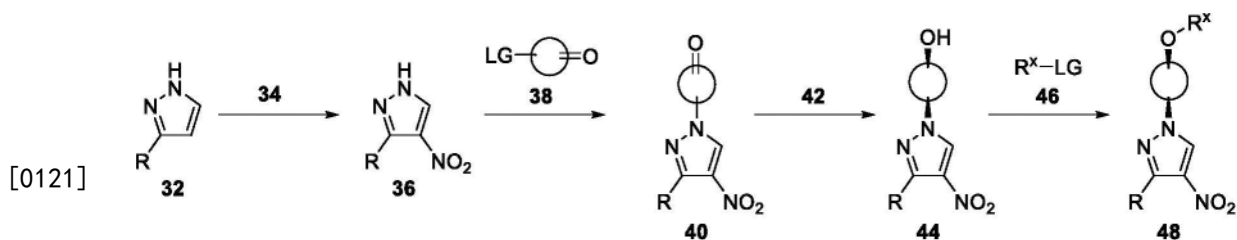


方案 3

[0118] 使化合物22与羧酸24反应以形成化合物26。将羧酸24通过任何适合的方法活化,然后与化合物22上的胺反应。适合的活化方法包括但不限于:用亚硫酰氯处理形成酰氯;用1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐(HATU)和碱诸如二异丙基乙胺(DIPEA)处理;用羰基二咪唑(CDI)处理;或用碳二亚胺处理,诸如二环己基碳二亚胺(DCC)或1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)。

[0119] 然后使用任何适合在两个环之间形成键的偶联反应,使化合物26与化合物28进行偶联以形成化合物30。在以上实例中显示硼酸偶联,其中在化合物26上的离去基团LG通常是溴或碘。其他适合的偶联官能团包括三烷基锡或硼酸酯。偶联反应通常在适合的催化剂存在下进行。对于硼酸偶联,催化剂通常是钯催化剂,诸如 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ 、 $\text{Pd}[\text{P}(\text{Ph})_3]_2\text{Cl}_2$ 、乙酸钯和三苯基膦或四(三苯基膦)钯(0)。反应在碱(诸如碳酸钠、碳酸钾或碳酸铯)存在下进行,并在适合的溶剂或溶剂混合物(诸如二噁烷、二噁烷/水或DME/乙醇/水)中进行。反应可以在适合的温度(诸如 50°C 至 125°C ,通常约 100°C)下加热,和/或搅动适合的一段时间(诸如1小时至3天、6小时至24小时或12小时至18小时)以促进反应进行至完成。然后将化合物30从反应混合物中分离并且通过适合的技术进行纯化。

[0120] 可替代的示例性合成可以包括根据方案4的以下第1反应步骤:



方案 4

[0122] 使用适合的硝化试剂或试剂34的混合物使化合物32发生硝化以形成化合物36。适合的硝化条件包括使化合物32与硝酸(诸如发烟硝酸)反应(任选地在硫酸存在下)。通常,缓慢地添加化合物32和硝酸,一个添加至另一个。冷却,诸如通过冰浴,可以用于将反应温度维持在适合的范围内,诸如约 0°C 至小于 50°C 、 0°C 至 20°C 或从 0°C 至 10°C 。在添加完成之后,允许反应进行,直至反应基本上完成,并且可以允许升温至室温以促进反应。任选地,可以添加另外的硝化试剂或硝化试剂的混合物以促进反应进行至完成。然后将反应淬灭,诸如通过添加水和/或冰,并且从水性溶液中分离或萃取产物,并且如果需要的话进行纯化。适合于从本文公开的任何反应中纯化产物的纯化技术包括但不限于结晶、蒸馏和/或色谱法。

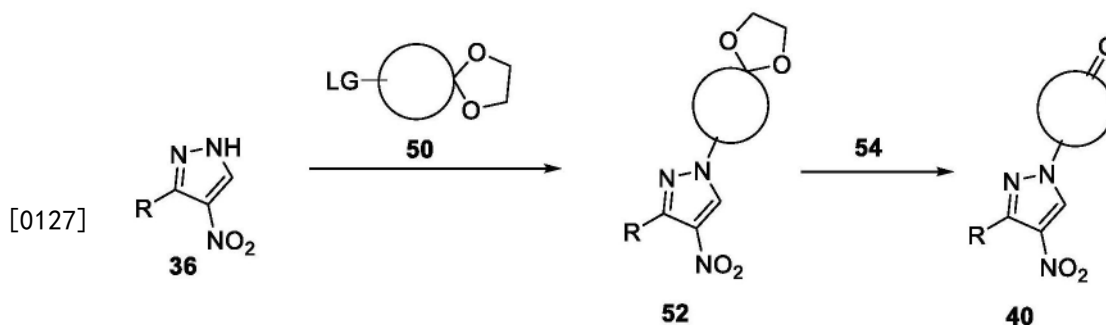
[0123] 继续参考方案4,然后使化合物36与化合物38反应以形成化合物40。化合物38包含所需的环(诸如环丁基、环戊基或环己基环)和适合的离去基团LG。适合的离去基团包括将充当离去基团以促进将环添加至化合物36的任何基团。适合的离去基团包括但不限于卤素(通常是溴、氯或碘)和甲苯磺酸酯或甲磺酸酯基团。在适合的溶剂中并且通常在碱存在下,使化合物36与化合物38反应。适合的溶剂包括促进反应的任何溶剂,诸如非质子溶剂。适合的溶剂包括但不限于DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶剂(诸如二氯甲烷和氯仿)、DMA、二噁烷、N-甲基吡咯烷酮或其组合。适合的碱包括将促进反应的任何碱,诸如氢化物(通常是氢化钠)或碳酸盐(诸如碳酸钾、碳酸钠或碳酸铯)。根据需要,可以将反应物加热至诸如 50°C 、 100°C 或更高,或者反应可以在室温下进行。然后将化合物40从反应混合物中分离并且如果需要的话进行纯化。

[0124] 然后使化合物40与适合将羰基部分还原为羟基的还原剂42反应。适合的还原剂包括但不限于硼氢化钠、二异丁基氢化铝或氢化铝锂。反应在适合于促进反应的溶剂(诸如醇,特别是甲醇或乙醇;THF;或二乙醚)中进行。可以将反应物加热至诸如 50°C 、 100°C 或更

高,根据需要,冷却至诸如低于20℃、低于10℃、低于0℃或更低,或者反应可以在室温下进行。如通过分析技术(诸如LC-MS、TLC或HPLC)指示的,一旦反应完全,就通过适合的技术(诸如柱色谱法)将产物化合物44分离并且如果需要的话进行纯化。

[0125] 任选地,化合物44可以与化合物46反应以形成化合物48。化合物46包含所需的R^x部分和适合的离去基团LG。适合的离去基团包括将充当离去基团以促进将R^x部分添加至化合物44的任何基团。适合的离去基团包括但不限于卤素(通常是溴、氯或碘)和甲苯磺酸酯或甲磺酸酯基团。在适合的溶剂中并通常在碱或其他试剂或促进反应的试剂存在下,使化合物44与化合物46反应。适合的溶剂包括促进反应的任何溶剂,诸如非质子溶剂。适合的溶剂包括但不限于DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶剂(诸如二氯甲烷和氯仿)、DMA、二噁烷、N-甲基吡咯烷酮或其组合。促进反应的适合的碱或试剂包括但不限于三氟甲磺酸银、2,6-二叔丁基吡啶、氢化钠或其组合。通常,将化合物46缓慢地与反应物组合。冷却,诸如通过冰浴,可以用于将反应温度维持在适合的范围内,诸如约0℃至小于50℃、0℃至20℃或0℃至10℃。在添加完成之后,允许反应进行,直至反应基本上完成,并且可以允许升温至室温以促进反应,或者可以将反应物加热至诸如50℃、100℃或更高,以促进反应。如通过分析技术(诸如LC-MS、TLC或HPLC)指示的,一旦反应完全,就通过适合的技术(诸如柱色谱法)将产物化合物48分离并且如果需要的话进行纯化。

[0126] 可替代地,化合物40可以根据方案5的示例性合成途径进行制备:



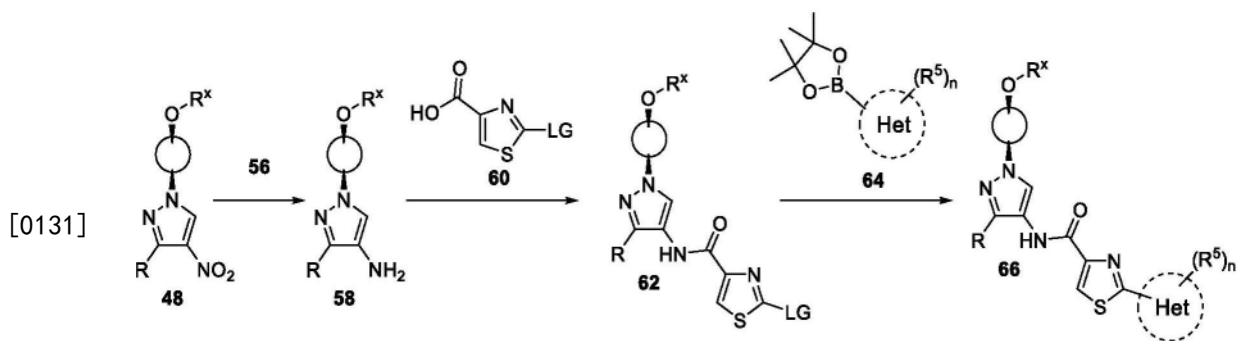
方案 5

[0128] 关于方案5,使化合物36与化合物50反应以形成化合物52。化合物50包含所需的环(诸如环丁基、环戊基或环己基环)、适合的离去基团(LG)以及受保护的羰基部分(诸如缩醛或缩酮)。在以上实例中显示了环状缩酮部分。适合的离去基团包括将充当离去基团以促进将环添加至化合物36的任何基团,并且包括但不限于卤素(通常溴、氯或碘)和甲苯磺酸酯或甲磺酸酯基团。在适合的溶剂中并通常在碱存在下,使化合物36与化合物50反应。适合的溶剂包括促进反应的任何溶剂,诸如非质子溶剂。适合的溶剂包括但不限于DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶剂(诸如二氯甲烷和氯仿)、DMA、二噁烷、N-甲基吡咯烷酮或其组合。适合的碱包括将促进反应的任何碱,诸如氢化物(通常是氢化钠)或碳酸盐(诸如碳酸钾、碳酸钠或碳酸铯)。根据需要,可以将反应物加热至诸如50℃、100℃或更高,或者反应可以在室温下进行。然后将化合物52从反应混合物中分离,并且如果需要的话通过适合的技术(诸如柱色谱法)进行纯化。

[0129] 然后使化合物52与适合的试剂54反应以形成化合物40。试剂54可为适合于去除保护基团和/或形成羰基部分的任何试剂。在方案5中显示的示例性合成中,保护基团为环状

缩酮,并且适合的试剂54包括但不限于甲苯磺酸吡啶鎓(PPTS)、对甲苯磺酸、盐酸或乙酸。反应在适合于促进所述反应的溶剂或溶剂的混合物(诸如丙酮、THF、乙酸、水或其组合)中进行。可以将反应物加热至诸如50℃、100℃或更高,或者根据需要,在回流下,或者反应可以在室温下进行。然后将化合物40从反应混合物中分离,并且如果需要的话通过适合的技术(诸如柱色谱法)进行纯化。

[0130] 下面根据方案6提供示例性反应顺序的第2步骤:



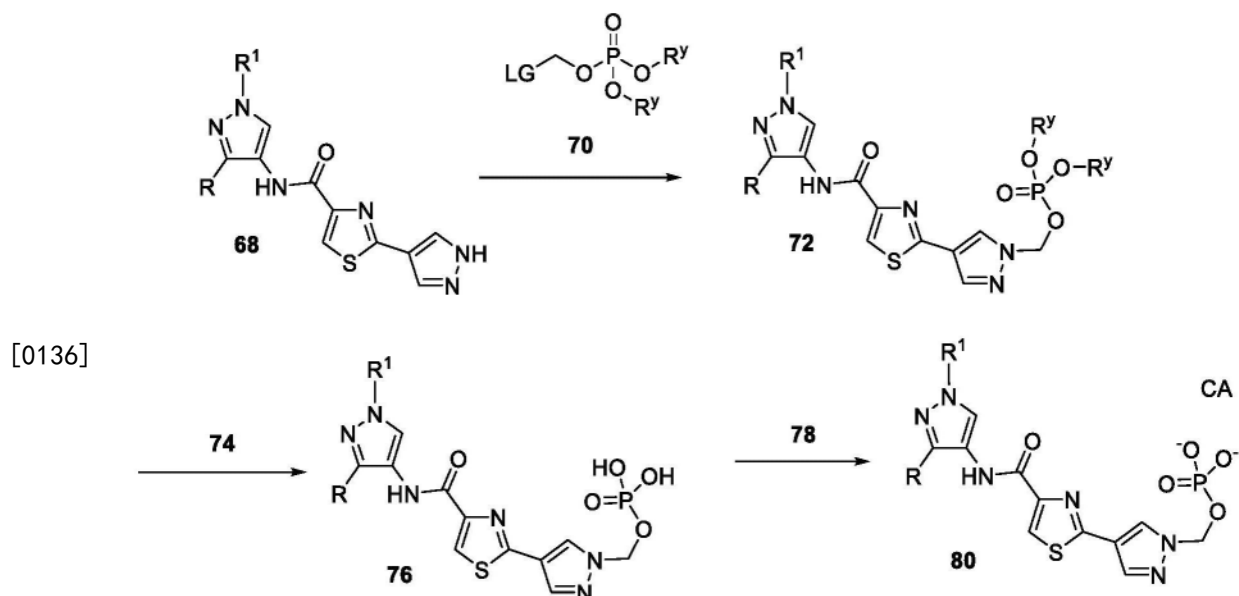
方案 6

[0132] 然后使化合物48与适合于将硝基部分还原为胺的还原剂56进行反应。在某些实施方案中,其中所需的产物化合物包含羟基部分,可以使用化合物44替代化合物48。适合的还原剂包括但不限于:在催化剂诸如钯催化剂存在下的氢气;硼氢化物,诸如硼氢化钠,任选地在催化剂诸如镍催化剂存在下;乙酸中的锌金属;或在水中的或水和酸中的铁粉。在某些实施方案中,使用氢气,在钯碳催化剂存在下,并且在适合的溶剂(诸如乙酸乙酯或甲醇)中。在一些实施方案中,使用还原剂和/或技术的组合。例如,使用包括第一还原剂和/或技术的第一方法可以首先进行还原,但产生产物的混合物。可以重复第一方法,并且/或者可以进行包括第二还原剂和/或技术的第二方法。如通过分析技术(诸如LC-MS、TLC或HPLC)指示的,一旦反应完全,就将产物化合物58分离并且如果需要的话进行纯化。

[0133] 使化合物58与羧酸60反应以形成化合物62。将羧酸60通过任何适合的方法活化,然后与化合物58上的胺反应。适合的活化方法包括但不限于:通过用亚硫酰氯处理形成酰氯;用1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐(HATU)和碱诸如二异丙基乙胺(DIPEA)处理;用羰基二咪唑(CDI)处理;或用碳二亚胺处理,诸如二环己基碳二亚胺(DCC)或1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)。

[0134] 然后使用任何适合在两个环之间形成键的偶联反应,使化合物62与化合物64进行偶联以形成化合物66。在以上实例中显示硼酸酯偶联,其中在化合物62上的离去基团LG通常是溴或碘。其他适合的偶联官能团包括三烷基锡或硼酸。偶联反应通常在适合的催化剂存在下进行。对于硼酸酯或硼酸偶联,催化剂通常是钯催化剂,诸如 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ 、 $\text{Pd}[\text{P}(\text{Ph})_3]_2\text{Cl}_2$ 、乙酸钯和三苯基膦或四(三苯基膦)钯(0)。反应在碱(诸如碳酸钠、碳酸钾或碳酸铯)存在下进行,并在适合的溶剂或溶剂混合物(诸如二噁烷、二噁烷/水或DME/乙醇/水)中进行。反应物可以在适合的温度(诸如50℃至125℃,通常约100℃)下加热,和/或搅动适合的一段时间(诸如1小时至3天、6小时至24小时或12小时至18小时)以促进反应进行至完成。然后将化合物66从反应混合物中分离并且通过适合的技术进行纯化。

[0135] 某些实施方案可以包含磷酸酯部分。方案7提供某些此类实施方案的示例性合成:



方案 7

[0137] 使化合物68与化合物70反应以形成化合物72。化合物70包含所需的 R^y 部分和适合的离去基团LG。典型的 R^y 部分包括但不限于脂肪族(诸如烷基,通常甲基、乙基、丙基、异丙基或叔丁基);芳基;杂脂肪族;或杂环。两个 R^y 部分可为相同的或不同的。适合的离去基团包括但不限于卤素(通常是溴、氯或碘)和甲苯磺酸酯或甲磺酸酯基团。在适合的溶剂中并且通常在碱存在下,使化合物68与化合物70反应。适合的溶剂包括促进反应的任何溶剂,诸如非质子溶剂。适合的溶剂包括但不限于DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶剂(诸如二氯甲烷和氯仿)、DMA、二噁烷、N-甲基吡咯烷酮或其组合。适合的碱包括将促进反应的任何碱,诸如氢化物(通常是氢化钠)或碳酸盐(诸如碳酸钾、碳酸钠或碳酸铯)。根据需要,可以将反应物加热至诸如50℃、100℃或更高,或者反应可以在室温下进行。然后将化合物72从反应混合物中分离并且如果需要的话进行纯化。

[0138] 然后使化合物72与化合物74反应以形成化合物76。化合物74可为适合在化合物76中形成酸部分的任何化合物。化合物74可为酸性试剂,诸如三氟乙酸、盐酸或氢溴酸,或者其可为碱性试剂,诸如氢氧化钠、氢氧化锂或氢氧化钾。适合的溶剂包括但不限于氯化溶剂(诸如二氯甲烷和氯仿)、醇(诸如甲醇和乙醇)、水或其组合。可以将反应物加热至诸如50℃、100℃或更高,根据需要,冷却至诸如低于20℃、低于10℃、低于0℃或更低,或者反应可以在室温下进行。如通过分析技术(诸如LC-MS、TLC或HPLC)指示的,一旦反应完全,就通过适合的技术(诸如通过搅动,诸如通过搅拌或超声处理),在适合的溶剂或溶剂系统中,将产物化合物76分离并且如果需要的话进行纯化。适合的溶剂或溶剂系统包括但不限于丙酮/水、丙酮、二乙醚或醇/水。

[0139] 然后使化合物76与化合物78反应以形成盐化合物80。化合物78可为将为盐化合物80提供适合的相对离子CA的任何化合物,诸如氢氧化钙、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、铵、三甲胺、三(羟甲基)氨基甲烷或氨基酸(诸如赖氨酸或精氨酸)。本领域普通技术人员将理解如果相对离子CA具有单个正电荷(如处于 Na^+ 、 K^+ 、 Li^+ 或 NH_4^+ 的形式),则化合物80将包含两个CA离子,然而如果相对离子CA具有两个正电荷(如处于 Ca^{2+} 形式),则化合物80将包含一

个CA离子。

[0140] IV. 治疗剂的组合

[0141] 本公开的化合物可以单独地、彼此组合地、在分开的药物组合物中、一起在单一组合物中使用,或作为其他已建立的疗法的辅助或与所述疗法组合使用。一种或多种化合物可以施用一次,或者更可能多次施用。在另一方面,本公开的化合物可以与对正在治疗的病症或疾患有用的其他治疗剂组合使用。这些化合物和/或剂可以同时、以任何顺序依次、通过相同的施用途径或不同的途径进行施用。对于依次施用,可以施用一种或多种化合物和/或一种或多种剂,这样使得至少一种化合物和/或剂的有效时间段与至少一种其他化合物和/或剂的有效时间段重叠。在包含四种组分的组合的示例性实施方案中,所施用的第一组分的有效时间段可以与第二、第三和第四组分的有效时间段重叠,但是第二、第三和第四组分的有效时间段独立地可以或可以不彼此重叠。在包含四种组分的组合的另一个示例性实施方案中,所施用的第一组分的有效时间段与第二组分的有效时间段重叠,但与第三或第四组分的有效时间段不重叠;第二组分的有效时间段与第一和第三组分的有效时间段重叠;并且第四组分的有效时间段仅与第三组分的有效时间段重叠。在一些实施方案中,所有化合物和/或剂的有效时间段彼此重叠。

[0142] 在一些实施方案中,与另一种治疗剂(诸如镇痛剂、抗生素、抗凝剂、抗体、抗炎剂、免疫抑制剂、鸟苷酸环化酶C激动剂、肠促分泌素、抗病毒剂、抗癌剂、抗真菌剂或其组合)一起施用所公开的化合物。在某些实施方案中,第二治疗剂为抗炎剂、免疫抑制剂,并且/或者可为类固醇。

[0143] 抗炎剂可为类固醇或非类固醇抗炎剂。在某些实施方案中,非类固醇抗炎剂选自氨基水杨酸盐、环氧合酶抑制剂、双氯芬酸、依托度酸、法莫替丁、非诺洛芬、氟比洛芬、酮洛芬、酮咯酸、布洛芬、吲哚美辛、甲氯芬那酸、甲芬那酸、美洛昔康、萘普酮、萘普生、奥沙普秦、吡罗昔康、双水杨酯、舒林酸、托美丁或其组合。在一些实施方案中,免疫抑制剂为巯基嘌呤、皮质类固醇、烷化剂、钙调磷酸酶抑制剂、肌苷一磷酸脱氢酶抑制剂、抗淋巴细胞球蛋白、抗胸腺细胞球蛋白、抗T细胞抗体或其组合。在一个实施方案中,抗体为英利昔单抗。

[0144] 在一些实施方案中,本发明的化合物可以与抗癌剂或细胞毒素剂一起使用。各种类别的抗癌剂和抗肿瘤化合物包括但不限于烷化剂、抗代谢药、BCL-2抑制剂、长春花生物碱、紫杉烷类、抗生素、酶、细胞因子、铂配位络合物、蛋白酶体抑制剂、取代的尿素酶、激酶抑制剂、激素类和激素拮抗剂以及低甲基化剂(例如DNMT抑制剂,诸如阿扎胞苷和地西他滨)。示例性烷化剂包括但不限于氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法兰、苯丁酸氮芥、乙烯亚胺、甲基三聚氰胺、烷基磺酸盐(例如白消安)和卡莫司汀。示例性抗代谢药包括,举例但不限于叶酸类似物氨甲喋呤;吡啶类似物氟尿嘧啶、胞嘧啶阿糖胞苷;嘌呤类似物巯基嘌呤、硫鸟嘌呤和硫唑嘌呤。示例性长春花生物碱包括,举例但不限于长春花碱、长春新碱、紫杉醇和秋水仙碱。示例性抗生素包括,举例但不限于放线菌素D、道诺霉素和博来霉素。作为抗肿瘤剂有效的示例性酶包括L-天冬酰胺酶。示例性配位化合物包括,举例但不限于顺铂和卡铂。示例性激素和激素相关化合物包括,举例但不限于肾上腺皮质类固醇泼尼松和地塞米松;芳香酶抑制剂氨鲁米特、福美司坦和阿那曲唑;孕酮化合物羟孕酮己酯、甲羟孕酮;和抗雌激素化合物他莫昔芬。

[0145] 这些和其他有用的抗癌化合物描述于Merck Index,第13版(O'Neil M.J.等人编

辑)Merck Publishing Group(2001);以及Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics,第12版,Brunton L.L.编辑,第60-63章,McGraw Hill,(2011)中,所述文献两者均通过引用并入本文。

[0146] 在CTLA-4抗体中可以与本公开的抑制剂组合使用者为由Bristol-Myers Squibb以YERVOY®销售的伊匹单抗。

[0147] 用于组合的其他化疗剂包括免疫肿瘤剂,诸如检查点途径抑制剂,例如PD-1抑制剂(诸如纳武单抗和兰布罗利珠单抗)和PD-L1抑制剂(诸如派姆单抗、MEDI-4736和MPDL3280A/RG7446)。用于与本文公开的化合物组合的另外的检查点抑制剂包括抗LAG-3剂,诸如BMS-986016(MDX-1408)。

[0148] 用于与本公开的抑制剂组合的另外的化疗剂包括抗SLAMF7剂(诸如人源化单克隆抗体埃罗妥珠单抗(elotuzumab)(BMS-901608))、抗KIR剂(诸如抗KIR单克隆抗体利瑞鲁单抗(lirilumab)(BMS-986015))和抗CD137剂(诸如完全人单克隆抗体乌瑞鲁单抗(urelumab)(BMS-663513))。

[0149] 与本公开的化合物组合有用的另外的抗增殖化合物包括,举例但不限于针对生长因子受体(例如,抗Her2)的抗体;和细胞因子,诸如干扰素- α 和干扰素- γ 、白介素-2和GM-CSF。

[0150] 与本发明化合物组合有用的另外的化疗剂包括蛋白酶体抑制剂,诸如硼替佐米、卡非佐米、玛利佐米(marizomib)等。

[0151] 与本公开的化合物组合有用(特别是在治疗恶性肿瘤中)的激酶抑制剂的实例包括:Btk抑制剂,诸如依鲁替尼;CDK抑制剂,诸如帕博西尼;EGFR抑制剂,诸如阿法替尼、埃罗替尼、吉非替尼、拉帕替尼、奥希替尼和凡德他尼(vandetanib);Mek抑制剂,诸如曲美替尼;Raf抑制剂,诸如达拉菲尼、索拉非尼和威罗菲尼;VEGFR抑制剂,诸如阿西替尼、乐伐替尼、尼达尼布、帕唑帕尼;BCR-Abl抑制剂,诸如博舒替尼、达沙替尼、伊马替尼和尼罗替尼;Syk抑制剂,诸如福他替尼(fostamatinib);和JAK抑制剂,诸如鲁索替尼(ruxolitinib)。

[0152] 在其他实施方案中,第二治疗剂可以选自以下中的任一个:

[0153] 镇痛剂-吗啡、芬太尼、氢吗啡酮、羟考酮、可待因、醋氨酚、氢可酮、丁丙诺啡、曲马多、文拉法辛、氟吡汀、哌替啶(meperidine)、喷他佐辛、右吗拉胺、地匹哌酮;

[0154] 抗生素-氨基糖苷类(例如,阿米卡星、庆大霉素、卡那霉素、新霉素、奈替米星、妥布霉素和巴龙霉素)、碳青霉烯类(例如,厄他培南、多利培南、亚胺培南、西司他丁和美罗培南)、头孢菌素类(例如,头孢羟氨苄、头孢唑啉、头孢噻吩、头孢氨苄、头孢克洛、头孢孟多、头孢西丁、头孢丙烯、头孢呋辛、头孢克肟、头孢地尼、头孢托仑、头孢哌酮、头孢噻肟、头孢泊肟、头孢他啶、头孢布烯、头孢唑肟、头孢曲松、头孢吡肟和头孢吡普(cefobiprole))、糖肽类(例如,替考拉宁、万古霉素和特拉万星)、林可酰胺类(例如,克林霉素和林可霉素)、脂肽(例如,达托霉素)、大环内酯类(阿奇霉素、克拉霉素、地红霉素、红霉素、罗红霉素、醋竹桃霉素、泰利霉素和壮观霉素)、单环内酰胺类(例如,氨曲南)、硝基呋喃(例如,呋喃唑酮和硝基呋喃妥因)、青霉素类(例如,阿莫西林、氨苄西林、阿洛西林、羧苄西林、氯唑西林、双氯西林、氟氯西林、美洛西林、甲氧西林、萘夫西林、苯唑西林、青霉素G、青霉素V、哌拉西林、替莫西林和替卡西林)、青霉素组合(例如,阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦和替卡西林/克拉维酸)、多肽(例如,杆菌肽、粘菌素和多粘菌素B)、喹啉酮类(例

如,环丙沙星、依诺沙星、加替沙星、左氧氟沙星、洛美沙星、莫西沙星、**噁**啉酮酸、诺氟沙星、氧氟沙星、曲伐沙星、格帕沙星、司帕沙星和替马沙星)、磺酰胺类药物(例如,磺胺米隆、磺酰胺基柯衣定(sulfonamidochrysoidine)、乙酰磺胺、磺胺嘧啶、磺胺嘧啶银、磺胺甲二唑、磺胺甲噁唑、磺胺二甲异噁唑(sulfanilimide)、柳氮磺胺吡啶、磺胺异噁唑、甲氧苄啶和甲氧苄啶-磺胺甲噁唑)、四环素类(例如,地美环素、多西环素、米诺环素、氧四环素和四环素)、抗分支杆菌化合物(例如,氯法齐明、氨苯砒、卷曲霉素、环丝氨酸、乙胺丁醇、乙硫异烟胺、异烟肼、吡嗪酰胺、利福平(rifampicin)(利福平(rifampin))、利福布丁、利福喷丁和链霉素)、以及其他(诸如砷凡纳明、氯霉素、磷霉素、梭链孢酸、利奈唑胺、甲硝唑、莫匹罗星、平板霉素、奎奴普丁(quinuprisin)/达福普丁、利福昔明、甲砒霉素、替加环素和替硝唑);

[0155] 抗体-抗TNF- α 抗体,例如英利昔单抗(Remicade™)、阿达木单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗;抗B细胞抗体,例如利妥昔单抗;抗IL-6抗体,例如托珠单抗;抗IL-1抗体,例如阿那白滞素;抗PD-1和/或抗PD-L1抗体,例如纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗(pidilizumab)、BMS-936559、MPDL3280A、AMP-224、MEDI4736;艾克司单抗(ixekizumab)、布罗达单抗(brodalumab)、奥法木单抗、西鲁库单抗(sirukumab)、克立昔单抗、克拉扎克单抗(clazakiumab)、非扎奴单抗(fezakinumab)、夫来库单抗(fletikumab)、玛弗利木单抗(mavrilimumab)、奥瑞利珠单抗(ocrelizumab)、萨瑞鲁单抗(sarilumab)、苏金单抗(secukinumab)、托利珠单抗(toralizumab)、扎木单抗;

[0156] 抗凝剂-华法林(Coumadin™),苊香豆醇、苯丙香豆素、裂盒萘色素、苯茛二酮、肝素、磺达肝癸钠、艾卓肝素(idraparinux)、利伐沙班、阿哌沙班、水蛭素、来匹卢定、比伐卢定、阿加曲班(argatroban)、达比加群、希美加群、巴曲酶、裂纤酶;

[0157] 抗炎剂-类固醇(例如,布地奈德)、非类固醇抗炎剂(例如,氨基水杨酸盐(例如,柳氮磺胺吡啶、美沙拉嗪、奥沙拉嗪和巴柳氮)、环氧合酶抑制剂(COX-2抑制剂,诸如罗非考昔、塞来昔布)、双氯芬酸、依托度酸、法莫替丁、非诺洛芬、氟比洛芬、酮洛芬、酮咯酸、布洛芬、吲哚美辛、甲氯芬那酸、甲芬那酸、美洛昔康、萘普酮、萘普生、奥沙普秦、吡罗昔康、双水杨酯、舒林酸、托美丁);

[0158] 免疫抑制剂-巯基嘌呤、皮质类固醇(诸如地塞米松、氢化可的松、泼尼松、甲泼尼龙和泼尼松龙)、烷化剂(诸如环磷酰胺)、钙调磷酸酶抑制剂(诸如环孢素、西罗莫司和他克莫司)、肌苷一磷酸脱氢酶(IMPDH)抑制剂(诸如麦考酚酯、吗替麦考酚酯和硫唑嘌呤)、以及被设计用于抑制细胞免疫同时保留接受者的体液免疫反应完整的剂,包括各种抗体(例如,抗淋巴细胞球蛋白(ALG)、抗胸腺细胞球蛋白(ATG)、单克隆抗T-细胞抗体(OKT3))以及放射。硫唑嘌呤目前可从Salix Pharmaceuticals, Inc以商标名称Azasan获得;巯基嘌呤目前可从Gate Pharmaceuticals, Inc.以商标名称Purinethol获得;泼尼松和泼尼松龙目前可从Roxane Laboratories, Inc.获得;甲泼尼龙目前可从Pfizer获得;西罗莫司(雷帕霉素)目前可从Wyeth-Ayerst以商标名称Rapamune获得;他克莫司目前可从Fujisawa以商标名称Prograf获得;环孢素目前可从Novartis以商标名称Sandimmune和Abbott以商标名称Gengraf获得;IMPDH抑制剂(诸如吗替麦考酚酯和麦考酚酸)目前可从Roche以商标名称Cellcept和Novartis以商标名称Myfortic获得;硫唑嘌呤目前可从Glaxo Smith Kline以商标名称Imuran获得;并且抗体目前可从Ortho Biotech以商标名称Orthoclone、Novartis以商标名称Simulect(巴利昔单抗)以及Roch以商标名称Zenapax(达利珠单抗)获得;以及

[0159] 鸟苷酸环化酶C受体激动剂或肠促分泌素,例如以名称Linzess出售的利那洛肽(linaclotide)。

[0160] 在某些实施方案中,第二治疗剂为或包含类固醇,诸如皮质类固醇,包括但不限于糖皮质激素和/或盐皮质激素。适合与所公开的化合物组合使用的类固醇包括合成的和非合成的糖皮质激素。适用于所公开的方法的示例性类固醇(诸如糖皮质激素)包括但不限于阿氯米松、阿尔孕酮、倍氯米松(例如二丙酸倍氯米松)、倍他米松(例如17-戊酸倍他米松、倍他米松乙酸钠、倍他米松磷酸钠、戊酸倍他米松)、布地奈德、氯倍他索(例如丙酸氯倍他米松)、氯倍他松、氯可托龙(例如新戊酸氯可托龙)、氯泼尼醇、皮质酮、可的松、可的伐唑、地夫可特、地奈德、去氯地塞米松、地塞米松(例如21-磷酸地塞米松、乙酸地塞米松、地塞米松磷酸钠)、二氟拉松(例如二乙酸二氟拉松)、二氟可龙、二氟泼尼酯、甘草次酸、氟扎可松、氟二氯松、氟氢可的松(例如乙酸氟氢可的松)、氟米松(例如新戊酸氟米松)、氟尼缩松、氟轻松(例如乙酸氟轻松(fluocinolone acetonide))、乙酸氟轻松(fluocinonide)、氟可丁、氟可龙、氟米龙(例如乙酸氟米龙)、氟培龙(例如乙酸氟培龙)、氟泼尼定、氟泼尼龙、氟可丁、氟替卡松(例如丙酸氟替卡松)、福莫可他、氯氟舒松、卤倍他索、卤米松、卤泼尼松、氢可他酯、氢化可的松(例如21-丁酸氢化可的松、醋丙氢化可的松、乙酸氢化可的松、丙丁氢化可的松、丁酸氢化可的松、环戊丙酸氢化可的松、半琥珀酸氢化可的松、丙丁酸氢化可的松、氢化可的松磷酸钠、氢化可的松琥珀酸钠、戊酸氢化可的松)、依碳酸氯替泼诺、马泼尼酮、甲羟松、甲泼尼松、甲泼尼龙(醋丙甲泼尼龙、乙酸甲泼尼龙、半琥珀酸甲泼尼龙、甲泼尼龙琥珀酸钠)、莫米松(例如,糠酸甲泼尼龙)、帕拉米松(例如,乙酸帕拉米松)、泼尼卡酯、泼尼松龙(例如25-二乙氨基乙酸泼尼松龙、泼尼松龙磷酸钠、21-半琥珀酸泼尼松龙、乙酸泼尼松龙;法呢酸泼尼松龙、半琥珀酸泼尼松龙、泼尼松龙-21(β -D-葡萄糖醛酸)、间磺基苯甲酸泼尼松龙、司替泼尼松龙、丁乙酸泼尼松龙、四氢邻苯二甲酸泼尼松龙)、泼尼松、泼尼松龙戊酸酯(prednival)、泼尼立定、利美索龙、替可的松、曲安奈德(例如乙酸曲安奈德(triamcinolone acetonide)、苯曲安奈德(triamcinolone benetonide)、己曲安奈德(triamcinolone hexacetonide)、21-棕榈酸曲安奈德(triamcinolone acetonide 21-palmitate)、二乙酸曲安奈德(triamcinolone diacetate))或其任何组合。有关类固醇及其盐的其他信息例如可以在Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol编辑, Mack Pub. Co., Easton, Pa. (第16版1980)中找到。

[0161] 在一些实例中,类固醇为糖皮质激素,并且可以选自可的松、地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松龙、泼尼松或其组合。在一个特定实例中,类固醇为或包含泼尼松。在另一个特定实例中,类固醇为或包含地塞米松。

[0162] 这些不同的剂可以根据其标准或常规剂量来使用,如在伴随药物的可商购形式的处方信息中所指明的(还参见,The Physician's Desk Reference的2006年版本中的处方信息),其公开内容通过引用并入本文。

[0163] V. 包含所公开的化合物的组合物

[0164] 所公开的化合物可以单独地、以任何组合并且与至少一种第二治疗剂组合或作为其辅助来使用。此外,所公开的一种或多种化合物和/或至少一种第二治疗剂可以与任何适合的赋形剂组合使用,所述赋形剂可用于形成施用于受试者的组合物。赋形剂可以包括在用于各种目的的药物组合物内,诸如用于稀释向受试者递送的组合物、用于促进制剂的加

工、用于向制剂提供有利的材料特性、用于促进从递送装置分散、用于稳定制剂(例如,抗氧化剂或缓冲剂)、用于向制剂提供满意的或可口的味道或稠度等。一种或多种药学上可接受的赋形剂可以包括一种或多种药学上可接受的载体和/或药学上可接受的佐剂。示例性赋形剂包括但不限于:单糖、二糖和多糖、糖醇和其他多元醇,诸如乳糖、葡萄糖、棉子糖、松三糖、乳糖醇、麦芽糖醇、海藻糖、蔗糖、甘露醇、淀粉或其组合;表面活性剂,诸如山梨醇、二磷脂酰胆碱和卵磷脂;膨胀剂;缓冲剂,诸如磷酸盐和柠檬酸缓冲剂;抗粘附剂,诸如硬脂酸镁;粘合剂,诸如糖类(包括二糖类,诸如蔗糖和乳糖)、多糖(诸如淀粉、纤维素、微晶纤维素、纤维素酯(诸如羟丙基纤维素))、明胶、合成的聚合物(诸如聚乙烯吡咯烷酮、聚亚烷基二醇);包衣(诸如纤维素醚,包括羟丙基甲基纤维素、虫胶、玉米蛋白质玉米醇溶蛋白和明胶);释放助剂(诸如肠溶包衣);崩解剂(诸如交聚维酮、交联羧甲基纤维素钠和羟基乙酸淀粉钠);填充剂(诸如二碱式磷酸钙、植物脂肪和油、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇、山梨醇、碳酸钙和硬脂酸镁);风味剂和甜味剂(诸如薄荷、樱桃、大茴香、桃子、杏子或甘草、覆盆子和香草);润滑剂(诸如矿物质,例示为滑石或二氧化硅;脂肪,例示为植物硬脂,硬脂酸镁或硬脂酸);防腐剂(诸如抗氧化剂,例示为维生素A、维生素E、维生素C、棕榈酸视黄酯和硒、氨基酸(例示为半胱氨酸和甲硫氨酸)、柠檬酸和柠檬酸钠、对羟基苯甲酸酯类(例示为对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯));着色剂;压缩助剂;乳化剂;包封剂;胶质;造粒剂;以及其组合。

[0165] VI. 使用方法

[0166] A. 疾病/病症

[0167] 所公开的化合物以及其组合和/或组合物可以用于改善、治疗和/或预防各种疾病、疾患和/或病症。在特定实施方案中,所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物可以用于治疗其中抑制白介素-1受体相关激酶(IRAK)途径为治疗上有用的疾患。在一些实施方案中,所述化合物直接抑制IRAK蛋白,诸如IRAK1、IRAK2、IRAK3和/或IRAK4。在某些实施方案中,所公开的化合物可用于治疗、预防和/或改善自身免疫性疾病、炎症性病症、心血管疾病、神经病症、神经退行性病症、过敏性病症、哮喘、胰腺炎、多器官衰竭、肾脏疾病、血小板凝集、癌症、移植、精子活力、红细胞缺乏症、移植排斥、肺损伤、呼吸道疾病、缺血性疾病以及细菌和病毒感染。

[0168] 在一些实施方案中,所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物可以用于治疗或预防过敏性疾病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、I型糖尿病、炎症性肠病、胆汁性肝硬化、葡萄膜炎、多发性硬化症、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、大疱性类天疱疮、结节病、银屑病、自身免疫性肌炎、韦格纳氏肉芽肿病、鱼鳞病、格雷夫斯眼病或哮喘。

[0169] 所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物也可以用于改善、治疗和/或预防与骨髓或器官移植排斥或移植抗宿主病相关的免疫调节病症。可以用本发明的化合物治疗的炎性或免疫调节病症的实例包括但不限于器官或组织的移植、通过移植带来的移植抗宿主病、自身免疫性综合征(包括类风湿性关节炎)、狼疮(包括系统性红斑狼疮)、桥本氏甲状腺炎、多发性硬化症、系统性硬化症、重症肌无力、I型糖尿病、葡萄膜炎、后葡萄膜炎、过敏性脑脊髓炎、肾小球肾炎、感染后自身免疫性疾病(包括风湿热和感染后肾小球肾炎)、炎症性和过度增生性皮肤病疾病、银屑病、特应性皮炎、接触性皮炎、湿疹性皮炎、脂溢性

皮炎、扁平苔癣、天疱疮、大疱性类天疱疮、大疱性表皮松解症、荨麻疹、血管性水肿、血管炎、红斑、皮肤嗜酸性粒细胞增多症、红斑狼疮、痤疮、斑秃、角膜结膜炎、春季结膜炎、与白塞氏病相关的葡萄膜炎、角膜炎、疱疹性角膜炎、圆锥形角膜、角膜上皮营养不良、角膜白斑、眼天疱疮、蚕蚀性角膜溃疡、巩膜炎、格雷夫斯眼病、伏格特-小柳-原田氏综合征 (Vogt-Koyanagi-Harada syndrome)、结节病、花粉过敏、可逆阻塞性气道疾病、支气管哮喘、过敏性鼻炎哮喘、内源性哮喘、外源性哮喘、尘埃性哮喘、慢性或根深哮喘、晚期哮喘和气道高反应性、支气管炎、胃溃疡、由缺血性疾病和血栓形成引起的血管损伤、缺血性肠病、炎症性肠病、坏死性小肠结肠炎、与热烧伤相关的肠道病变、乳糜泻、直肠炎、嗜酸粒细胞性胃肠炎、肥大细胞增多症、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、偏头痛、鼻炎、湿疹、间质性肾炎、古德帕斯丘氏综合征 (Goodpasture's syndrome)、溶血性尿毒综合征、糖尿病肾病、多发性肌炎、格林-巴利综合征 (Guillain-Barre syndrome)、美尼尔氏病、多发神经炎、多神经炎、单神经炎、神经根病、甲状腺机能亢进、巴塞多氏病 (Basedow's disease)、纯红细胞再生障碍、再生障碍性贫血、低形成性贫血、特发性血小板减少性紫癜、自身免疫性溶血性贫血、粒性白细胞缺乏症、恶性贫血、巨幼红细胞性贫血、红细胞发生不能、骨质疏松症、结节病、纤维性肺、特发性间质性肺炎、皮炎、寻常性白斑病、寻常性鱼鳞病、光变应性敏感 (photoallergic sensitivity)、皮肤T细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、动脉硬化、动脉粥样硬化、主动脉炎综合征、结节性多动脉炎、心肌病、硬皮病、韦格纳氏肉芽肿病、舍格伦综合征 (Sjögren's syndrome)、肥胖病、嗜酸性筋膜炎、齿龈病变、牙周膜病变、牙槽骨病变、牙骨质 (substantia ossea dentis) 病变、肾小球肾炎、通过预防脱毛或提供头发发生和/或促进头发生成和头发生长的男性型脱发或老年脱发、肌肉萎缩症、脓皮病和塞扎里氏综合征 (Sezary's syndrome)、艾迪生病、器官保存后发生的缺血再灌注损伤、移植或缺血性疾病、内毒素休克、假膜性结肠炎、由药物或辐射引起的结肠炎、缺血性急性肾功能不全、慢性肾功能不全、由肺氧或药物引起的毒素性病、肺癌、肺气肿、白内障、铁质沉着病 (siderosis)、视网膜色素变性、老年性黄斑变性、玻璃体瘢痕、角膜碱烧伤、多形性皮炎红斑、线性IgA大疱性皮炎和水泥性皮炎、齿龈炎、牙周炎、败血症、胰腺炎、由环境污染引起的疾病、衰老、致癌作用、癌转移和低气压病、由组胺或白三烯-C4释放引起的疾病、白塞氏病、自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、硬化性胆管炎、肝部分切除、急性肝坏死、毒素引起的坏死、病毒性肝炎、休克或缺氧症、B型病毒性肝炎、非A型/非B型肝炎、肝硬化、酒精性肝病 (包括酒精性肝硬化)、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、肝功能衰竭、暴发性肝功能衰竭、晚发性肝功能衰竭、“慢加急性”肝功能衰竭、化疗效果增强、巨细胞病毒感染、HCMV感染、AIDS、癌症、老年痴呆症、帕金森氏病、创伤、慢性细菌感染、掌跖脓疱病、化脓性汗腺炎、细胞因子释放综合征 (CRS)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、急性肾损伤 (AKI)、肾功能不全或血栓形成。

[0170] 在一些实施方案中，疾病或疾患为化脓性汗腺炎或选自以下的淋巴样肿瘤：不包括真性红细胞增多症的骨髓增生性肿瘤 (MPN)、髓系/淋巴样肿瘤伴PDGFRA重排、髓系/淋巴样肿瘤伴PDGFRB重排、髓系/淋巴样肿瘤伴FGFR1重排、髓系/淋巴样肿瘤伴PCM1-JAK2、骨髓增生异常/骨髓增生性肿瘤 (MDS/MPN)、髓样肉瘤、与唐氏综合征有关的骨髓增生、母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤、B淋巴母细胞性白血病/淋巴瘤；和/或T淋巴母细胞性白血病/淋巴瘤。在一些实施方案中，淋巴样肿瘤为选自以下的骨髓增生性肿瘤：慢性骨髓性白血病 (CML)、慢性嗜中性粒细胞白血病 (CNL)、原发性骨髓纤维化 (PMF)、原发性血小板增多症、慢

性嗜酸性粒细胞白血病或其组合。在其他实施方案中,淋巴样肿瘤为选自以下的骨髓增生异常/骨髓增生性肿瘤:慢性骨髓单核细胞性白血病、非典型慢性骨髓性白血病(aCML)、幼年型骨髓单核细胞性白血病(JMML)、MDS/MPN伴环形铁粒幼红细胞和血小板增多症(MDS/MPN-RS-T)或其组合。

[0171] 在某些实施方案中,本发明化合物可用于治疗神经疼痛,包括神经性疼痛和炎症引起的疼痛。

[0172] 在某些实施方案中,所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物可用于治疗和/或预防类风湿性关节炎、银屑病性关节炎、骨关节炎、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、关节粘连性脊椎炎、骨质疏松症、系统性硬化症、多发性硬化症、银屑病(特别是脓疱性银屑病)、I型糖尿病、II型糖尿病、炎症性肠病(克罗恩氏病和溃疡性结肠炎)、高免疫球蛋白血症和周期性发热综合征、冷吡啶蛋白相关周期性综合征、施尼茨勒氏综合征(Schnitzler's syndrome)、系统性幼年型特发性关节炎、成人发作斯蒂尔氏病(adult's onset Still's disease)、痛风、痛风发作、假痛风、sapho综合征、卡斯尔曼病(Castleman's disease)、败血症、中风、动脉粥样硬化、乳糜泻、DIRA(IL-1受体拮抗剂的缺乏)、阿尔茨海默氏病或帕金森氏病。

[0173] 可以由所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物治疗的增生性疾病包括良性或恶性肿瘤、实体瘤、脑癌、肾癌、肝癌、肾上腺癌、膀胱癌、乳癌、胃癌、胃肿瘤、卵巢癌、结肠癌、直肠癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、阴道癌、子宫颈癌、睾丸癌、泌尿生殖道癌、食道癌、喉癌、皮肤癌、骨癌或甲状腺癌、肉瘤、神经胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、多发性骨髓瘤、胃肠癌(尤其是结肠癌或结肠直肠癌)、头颈肿瘤、表皮增生、银屑病、前列腺增生、瘤形成、上皮性瘤形成、腺瘤、腺癌、角质棘皮瘤、鳞状细胞癌、大细胞癌、非小细胞肺癌、淋巴瘤、霍奇金和非霍奇金、乳腺癌、滤泡癌、未分化癌、乳头状癌、精原细胞瘤、黑素瘤、IL-1驱动的疾病、MyD88驱动的疾病(诸如ABC弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(Waldenström's macroglobulinemia)、霍奇金氏淋巴瘤、原发性皮肤T淋巴细胞瘤或慢性淋巴细胞性白血病)、郁积或无痛多发性骨髓瘤或血液恶性肿瘤(包括白血病、急性骨髓性白血病(AML)、DLBCL、ABC DLBCL、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性淋巴细胞性淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤/白血病、急性淋巴细胞白血病、B细胞前淋巴细胞白血病、淋巴浆细胞性淋巴瘤、骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓纤维化、真性红细胞增多症、卡波济氏肉瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(WM)、脾脏边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、浆细胞瘤、血管内大B细胞淋巴瘤)。具体地,本公开的化合物可用于治疗药物抗性恶性肿瘤,诸如抗JAK抑制剂依鲁替尼抗性恶性肿瘤的那些,包括依鲁替尼抗性血液恶性肿瘤,诸如依鲁替尼抗性CLL和依鲁替尼抗性瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症。

[0174] 可以使用所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物治疗的过敏性病症的实例包括但不限于哮喘(例如异位性哮喘、过敏性哮喘、特应性支气管IgE介导的哮喘、非特应性哮喘、支气管哮喘、非过敏性哮喘、特发性哮喘、真哮喘、由病理生理紊乱引起的内源性哮喘、未知或不明显原因引起的特发性哮喘、肺气肿哮喘、运动诱发的哮喘、情绪诱发的哮喘、由环境因素引起的外源性哮喘、冷空气诱发的哮喘、职业性哮喘、由细菌、真菌、原生动物或病毒感染引起或与之相关的感染性哮喘、早期哮喘、哮喘婴儿综合征、小支气管炎、咳嗽变异性哮喘或药物性哮喘)、变应性支气管肺曲菌病(ABPA)、过敏性鼻炎、常年性过敏

性鼻炎、常年性鼻炎、血管运动性鼻炎、鼻后滴流、化脓性或非化脓性鼻窦炎、急性或慢性鼻窦炎、以及筛窦炎、额窦炎、上颌窦炎或蝶窦炎。

[0175] 作为另一个实例,类风湿性关节炎(RA)通常导致肿胀、疼痛、运动损失和全身目标关节的压痛。RA的特征在于密集淋巴细胞的慢性炎性滑膜。通常一个细胞层厚的滑膜变成强烈细胞,并假定为与淋巴组织相似的形式(包括树突状细胞、T细胞、B细胞和NK细胞、巨噬细胞和浆细胞簇)。这一过程以及包括形成抗原-免疫球蛋白复合物的大量免疫病理学机制最终导致关节的完整性破坏,所述破坏导致关节处或附近畸形、功能永久丧失和/或骨侵蚀。所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物可以用于治疗、改善或预防任何单个、几个或所有这些RA症状。因此,在RA的上下文中,当实现通常与RA相关的任何症状的降低或改善时,化合物被认为提供治疗益处,而不管治疗是否导致对下面的RA的联合治疗和/或循环类风湿因子(“RF”)的量减少。

[0176] 美国风湿病学会(ACR)已经制定了定义RA的改善和临床缓解的标准。一旦达到这种参数,ACR20(20%临床改善的ACR标准)需要使疼痛和肿胀关节的计数提高20%,以及以下5个参数中的3个提高20%:患者整体评估、医生整体评估、患者疼痛评估、残疾程度和急性期反应物水平。这些标准分别在ACR50和ACR70中提高了50%和70%。其他标准包括Paulu的标准和放射学进展(例如Sharp评分)。

[0177] 在一些实施方案中,当患者表现出ACR20时,患有RA的患者获得治疗益处。在具体实施方案中,可以实现ACR50或甚至ACR70的ACR改善。

[0178] 细胞因子释放综合征(CRS)为可能危及生命的疾患,可能由多种因素引起,包括严重的病毒感染(诸如流感)、用于免疫疗法(诸如癌症免疫疗法)的抗体的施用,以及基于非蛋白质的癌症药物(诸如奥沙利铂和来那度胺)的施用。免疫疗法可能涉及超过天然存在的免疫激活水平的高水平免疫激活,并且CRS为可能因此发生的非抗原特异性毒性。随着基于免疫的疗法变得更加有效,CRS的诊断率越来越高。在半相合供体干细胞移植和移植抗宿主病的情况下也观察到CRS。Shimabukuro-Vornhagen等人,Journal for ImmunoTherapy of Cancer 6:56(2018)。CRS与包括白介素(IL)-6和干扰素 γ 的几种细胞因子的循环水平升高相关。Lee等人,Blood 124(2):188-195(2014年7月10日;2014年5月29日电子公布)。

[0179] 当大量淋巴细胞和/或骨髓细胞被激活并释放炎症性细胞因子时,通常会在临床上观察到CRS。细胞因子释放可以由化学疗法或生物疗法诱导,和/或可以与治疗性抗体治疗(诸如用于癌症治疗的免疫疗法)相关。可能导致CRS的示例性免疫疗法包括但不限于其中细胞表达重组受体诸如嵌合抗原受体(CAR)和/或其他转基因受体诸如T细胞受体(TCR)的疗法。CAR T疗法诱导的CRS通常发生在T细胞输注几天内CAR T细胞扩增高峰期时。Giavridis等人,Nat Med. 24(6):731-738(2018年6月;2018年5月28日电子公布)。可以诱导CRS的CAR T疗法的实例包括西罗来塞-阿卡他近(以YESCARTA®销售)和tisagenlecleucel(以KYMRIAH®销售)。

[0180] 在CRS患者和所述疾病的鼠类模型中观察到白介素6(IL-6)水平高度升高,表明IL-6可能在CRS病理生理学中起作用。Shimabukuro-Vornhagen, J Immunother Cancer 6(1), 56(2018)。IL-6可以经由两种不同的模式发出信号。经典的IL-6信号传导涉及IL-6与膜结合的IL-6受体的结合。然而,IL-6受体不具有细胞内信号传导结构域。相反,在可溶性IL-6与膜结合的IL-6受体结合后,IL-6/IL-6受体复合物与膜结合的gp130结合,后者通过

其细胞内结构域启动信号传导。在反式信号传导中,IL-6与可溶形式的IL-6受体结合,所述受体通常被金属蛋白酶从细胞表面裂解。产生的可溶性IL-6/IL-6受体复合物与gp130结合,并且因此也可以在不表达膜结合IL-6受体的细胞类型中诱导信号传导。

[0181] IL-6促成了CRS的许多关键症状。通过反式信号传导,IL-6导致严重CRS的特征性症状,即血管渗漏,以及补体和凝血级联的激活,从而诱导弥散性血管内凝血(DIC)。此外,IL-6可能通过促进心肌功能障碍导致CRS患者中经常观察到的心肌病。在鼠类模型中,CRS在CAR T细胞输注2-3天内出现并且可能是致命的。Giavridis等人,Nat Med.24(6):731-738(2018)。CRS症状可能在抗体治疗开始的几分钟或几小时内开始出现,并且可能包括发烧(可能达到或超过40℃)、恶心、疲劳、头痛、心跳过速、低血压、皮疹、呼吸急促和/或肌痛。然而,在某些情况下,可能会出现另外的和可能更严重的并发症,包括心功能不全、成人呼吸窘迫综合征、神经毒性、肾和/或肝功能衰竭和/或弥散性血管内凝血。

[0182] 美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准(CTCAE v.5.0,2017年11月27日公布)包括CRS的分级系统。

[0183] 1级:发烧伴或不伴全身症状。

[0184] 2级:液体反应性低血压; $<40\%O_2$ 反应性缺氧。

[0185] 3级:用一个加压器控制的低血压;需要 $\geq 40\%O_2$ 的缺氧。

[0186] 4级:危及生命的后果;紧急干预指示。

[0187] 5级:死亡。

[0188] 受试者可能不表现出CRS的体征或症状和/或可能处于发生CRS的风险中。在此类实施方案中,施用化合物基本上防止CRS的发作,或防止2级或更高CRS的发作。

[0189] 可替代地,受试者表现出CRS的至少一种体征或症状并且可以表现出1级CRS的至少一种体征或症状。或者受试者可能表现出2级或更高CRS(诸如3级或更高CRS)的至少一种体征或症状。所公开的一种或多种化合物可以在体征或症状发作的24小时内施用,和/或与施用所述一种或多种化合物之前的体征或症状的严重程度相比,施用所述一种或多种化合物可以改善CRS的体征或症状,诸如将CRS的等级从4降到3、2或1,或从3降到2或1,或从2降到1。可替代地,CRS症状基本上降低至1级以下,使得受试者不再经历与CRS相关的症状。在一些实施方案中,体征或症状为发烧并且可为40℃或更高的发烧。

[0190] 可以向先前已施用过其中CRS为已知的、怀疑的或潜在的副作用的第一疗法的受试者施用所公开的一种或多种化合物。第一疗法的施用可以在一种或多种化合物施用前大于零至10天开始。可替代地,可以将一种或多种化合物施用于将要或同时正在施用其中CRS为已知的、怀疑的和/或潜在的副作用的第一疗法的受试者。第一疗法可以包括细胞疗法,包括但不限于嵌合抗原受体(CAR)表达疗法和/或转基因受体疗法。还已知无细胞抗体会引发这种综合征,尤其是那些激活T细胞的抗体,包括但不限于CAMPATH 1-H、博纳吐单抗和/或利妥昔单抗。

[0191] 也可以施用第二治疗剂(例如,类固醇、抗炎剂、免疫抑制剂或其组合)来治疗或预防CRS。类固醇可为皮质类固醇,例如像地塞米松或泼尼松或其组合。所公开的一种或多种化合物可以与第二治疗剂基本上同时施用,或者所述一种或多种化合物和第二治疗剂可以以任何顺序依次施用。

[0192] 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)为以严重呼吸短促、呼吸费力和异常快速、低血压、精

神错乱和极度疲倦为特征的综合征。基于尽管PEEP超过5cm H₂O但PaO₂/FiO₂比率低于300mmHg可以诊断这种综合征 (Fan等人JAMA. 319:698-71)。

[0193] 当肺泡中积聚流体时会发生ARDS。流体会阻止肺部充满足够的空气,从而限制到达血流的氧气量,进而剥夺器官运作所需的氧气。ARDS症状的强度可能会有所不同,具体取决于其原因和严重程度。严重的呼吸短促—ARDS的标志—通常在一些呼吸道病毒感染(例如,COVID-19感染和流感)之后的几小时到几天内出现。许多患有ARDS的人无法生存,死亡风险随着年龄和疾病严重程度的增加而增加。在ARDS中幸存的患者中,一些人完全康复,而另一些人的肺部受到了持久的损害。在一些出版物中,ARDS可能被称为急性肺损伤(ALI)。

[0194] 急性肾损伤(AKI),也称为急性肾损伤(ARI)或急性肾衰竭(ARF),为一种以肾功能(包括例如从患者血液中排泄废物的能力)突然下降为特征的综合征。AKI的特征为肾小球滤过率、排尿量的下降或两者均下降。这种过滤能力的丧失导致通常由肾脏排泄的含氮(尿素和肌酐)和非含氮废物滞留、排尿量减少或两者均有。根据因果关系,AKI可以归类为肾前性、内源性肾性或肾后性。内源性肾病可以进一步分为肾小球、肾小管、间质和血管异常。AKI伴随着一种炎性反应,所述反应如果未加抑制可以导致肾纤维化和慢性肾衰竭。AKI通常存在数小时或数天的时间段并且是潜在性可逆的。AKI的特征可为肾功能突然(即,例如在14天内、7天内、72小时内或48小时内)下降,这通过血清肌酐大于或等于0.3mg/dl ($\geq 26.4\mu\text{mol/l}$)的绝对增加、血清肌酐大于或等于50% (相对于基线1.5倍)的百分比增加或排尿量降低(记录到小于每小时0.5ml/kg持续至少6小时的少尿)来鉴定。风险因素包括例如正在接受或已经接受过重大血管手术、冠状动脉搭桥术或其他心脏手术的受试者;预先存在郁血性心脏衰竭、子痫前症、子痫、糖尿病、高血压、冠状动脉疾病、蛋白尿、肾功能不全、肾小球滤过低于正常范围、肝硬化、血清肌酐高于正常范围或败血症的受试者;或暴露于NSAID、环孢素、他克莫司、氨基糖苷类、膦甲酸、乙二醇、血红素、肌红蛋白、异环磷酰胺、重金属、氨甲喋呤、不透射线的造影剂或链脲佐菌素的受试者。这个列表并非旨在是限制性的。

[0195] 肾功能不全包括但不限于肾脏病症、肾脏疾病、肾功能障碍、肾癌、由于事故、手术切除或遗传病症而缺乏至少一个肾脏或其中一个或两个肾脏功能不正常的其他疾患。肾功能不全可以包括急性肾损伤。

[0196] 血栓形成作为一种凝血障碍,血小板过多会导致血栓形成。血栓形成可以是指血管内形成血栓(血凝块)。所述术语涵盖但不限于动脉和静脉血栓形成,包括深静脉血栓形成、门静脉血栓形成、颈静脉血栓形成、肾静脉血栓形成、中风、心肌梗死、布加综合征(Budd-Chiari syndrome)、佩吉特-施罗特病(Paget-Schroetter disease)和脑静脉窦血栓形成。在一些实施方案中,患者相对于一般人群(例如,通过公认的风险因素来衡量)处于血栓形成事件的风险升高。在一些实施方案中,患者具有一个或多个风险因素,所述风险因素使所述患者相对于一般人群具有发生血栓形成的高风险。血栓形成的风险因素包括例如经典的心血管疾病风险因素:高脂血症、吸烟、糖尿病、高血压和腹部肥胖;强烈的经典静脉血栓栓塞风险因素:创伤或骨折、重大骨科手术和肿瘤手术;中度的经典静脉血栓栓塞风险因素:非肿瘤手术、口服避孕药和激素替代疗法、妊娠和产后期、高凝状态和既往静脉血栓栓塞;和较弱的经典静脉血栓栓塞风险因素:年龄、卧床休息(>3天)、长时间旅行和代谢综合征。另外的风险因素包括血栓形成的遗传性、获得性和混合性凝血或代谢风险因素,例如像遗

传性:抗凝血酶缺乏症、蛋白C缺乏症、蛋白S缺乏症、莱顿第五因子 (Factor V Leiden)、凝血酶原G20210A;获得性:抗磷脂综合征;混合性:高同型半胱氨酸血症、纤维蛋白原水平增加、因子VIII水平增加、因子IX水平增加。在一些情况下,使用肝素可能增加血栓形成的风险,包括例如肝素诱导的血小板减少症 (HIT)。与血栓形成相关的疾病和疾患包括但不限于急性静脉血栓形成、肺栓塞、妊娠期血栓形成、出血性皮肤坏死、急性或慢性弥散性血管内凝血 (DIC)、败血症诱导的凝血病 (SIC)、手术引起的血栓形成、长时间卧床休息、长时间固定、静脉血栓形成、暴发性脑膜炎球菌败血症、急性血栓性中风、急性冠状动脉闭塞、急性周围动脉闭塞、大面积肺栓塞、腋静脉血栓形成、大面积髂股静脉血栓形成、动脉插管闭塞、静脉插管闭塞、心肌病、肝静脉闭塞性病、低血压、心输出量降低、血管阻力降低、肺动脉高压、肺顺应性减弱、白细胞减少、血小板减少症 (例如,免疫性血小板减少症) 和免疫性血小板紫癜。在具有血栓形成风险的受试者中,可以使用本领域普通技术人员已知的方法监测受试者,以维持具有血栓形成风险的患者的止血。用于监测具有血栓形成风险的患者的方法的实例包括但不限于数字减影血管造影术、体外测定或非侵入性方法。可用于鉴定和监测具有血栓形成风险的受试者以及使用本发明方法进行治疗的体外测定的实例包括但不限于功能测定和抗体检测测定。

[0197] 血栓事件是指任何涉及动脉或静脉阻塞或部分阻塞伴有血栓形成的病症。血栓形成事件包括但不限于血栓性病症,诸如心肌梗死、不稳定型心绞痛、中风、肺栓塞、短暂性脑缺血发作、深静脉血栓形成、血栓再闭塞和外周血管血栓形成。血栓形成事件还包括冠状动脉介入手术或溶栓疗法后发生的血栓再闭塞。

[0198] COVID-19为由SARS-CoV-2 (以前称为2019-nCoV) 感染引起的疾病,所述疾病首次出现在中国武汉。

[0199] COVID-19相关ARDS是指由SARS-CoV-2感染引起的ARDS。患有COVID-19相关ARDS的患者可能已被诊断为患有COVID-19,可能曾接触过另一个患有COVID-19的人,或者根据其症状可能被怀疑患有COVID-19。

[0200] COVID-19相关AKI是指由SARS-CoV-2感染引起的AKI。患有COVID-19相关AKI的患者可能已被诊断为患有COVID-19,可能曾接触过另一个患有COVID-19的人,或者根据其症状可能被怀疑患有COVID-19。在一些情况下,COVID-19相关AKI包括具有例如在以下中描述的症状的AKI:Batlle等人J. AM. SOC. NEPHROL. 2020, 31 (7) : 1380-1383和Gabarre等人Intensive Care Med. 2020, 46 (7) : 1339-1348,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0201] COVID-19相关血栓形成是指由SARS-CoV-2感染引起的血栓形成。患有COVID-19相关血栓形成的患者可能已被诊断为患有COVID-19,可能曾接触过另一个患有COVID-19的人,或者根据其症状可能被怀疑患有COVID-19。在一些情况下,COVID-19相关血栓形成包括例如在以下中描述的任何症状:Connors等人Blood 2020, 135 (23) : 2033-2040和Bikdeli等人J. Am. Coll. Cardiol. 2020, 75 (23) : 2950-73,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0202] 术语“与COVID-19相关”是指通常在住院后28天内因COVID-19/COVID-19的体征而出现的症状或适应症。

[0203] 对于COVID-19相关ARDS,成功的治疗可以包括呼吸短促减少、呼吸困难或呼吸急促减少、血压更高、意识模糊减少和/或疲劳减少。可以预防性地施用治疗,即在ARDS发作之前进行。预防性治疗可预防ARDS,并且可以施用给已感染或疑似感染COVID-19但没有ARDS

严重症状的患者。例如,可以对咳嗽但没有其他ARDS症状的患者施用预防性治疗。

[0204] 对于COVID-19相关AKI,成功的治疗可以包括肾功能增加。肾功能可以通过测量血清肌酐水平、血清肌酐清除率或血液尿素氮水平来进行评估。在一些情况下,成功的治疗包括在代谢性酸中毒、高血钾、少尿或无尿、氮质血症方面的下降、体液平衡的恢复、以及对其他器官系统的改进的作用。可以预防性地施用治疗,即在AKI发作之前进行。预防性治疗可预防AKI,并且可以施用给已感染或疑似感染COVID-19但没有AKI严重症状的患者。例如,预防性治疗可以施用给具有以下一种或多种的患者:血清或尿肌酐增加、血尿、低蛋白血症、抗凝血酶III水平降低、低白蛋白血症(hypalbuminaemia)、白细胞尿(leucozyturia)或没有其他AKI症状的蛋白尿。

[0205] 对于COVID-19相关血栓形成,成功的治疗可以包括改善受试者的凝血概况,或预防、减缓、延迟或阻止受试者具有风险的凝血概况恶化。凝血概况可以通过测量一个或多个凝血参数来评估,包括例如受试者的血清中D-二聚体、因子II、因子V(例如,莱顿第五因子)、因子VII、因子VIII、因子IX、因子XI、因子XII、因子XIII、F/纤维蛋白降解产物、凝血酶-抗凝血酶111复合物、纤维蛋白原、血纤蛋白溶解酶原、凝血酶原和血管性假血友病因子中的一种或多种的水平。可以针对凝血概况测量的其他凝血参数包括例如凝血酶原时间、促凝血酶原激酶时间、活化部分凝血活酶时间(aPTT)、抗凝血酶活性、血小板计数、蛋白C水平和蛋白S水平。另外,在治疗之前也可以评估患者的C反应蛋白水平,并且如果升高,这可以用作患者血栓形成风险增加的进一步指标。

[0206] 败血症为一种危及生命的器官功能障碍的临床综合征,由对感染的免疫反应失调引起。更严重形式的败血症“感染性休克”的特征为组织灌注严重减少;多个器官的急性衰竭,包括肺、肾和肝。免疫活性患者的常见病因包括革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌的许多不同物种。免疫功能受损的患者可能具有不常见的细菌或真菌物种作为病因。体征包括发热、低血压、少尿和精神错乱。诊断主要依靠临床结合显示感染的培养结果;早期识别和治疗为至关重要的。治疗为积极的液体复苏、抗生素、手术切除感染或坏死组织以及脓液引流和支持性护理。

[0207] 流感为一种通常被称为“流感(flu)”的疾病。流感为由一组病毒引起的,所述病毒可以分为4个单独的组:甲型流感、乙型流感、丙型流感和丁型流感,根据其核蛋白和基质蛋白进行区分。流感引起病毒性呼吸道感染,从而导致发热、鼻炎、咳嗽、头痛和不适。甲型、乙型和丙型流感都会感染人类,而尚无记录在案的人类丁型流感感染病例。另一方面,丙型流感不会引起感染甲型、乙型或丙型流感的个体中所见的典型流感疾病。

[0208] 甲型流感毒株基于两种表面蛋白,血凝素(H)和神经氨酸酶(N)来进一步分类。有18种不同的血凝素亚型和11种不同的神经氨酸酶亚型(分别为H1至H18和N1至N11)。虽然可能有198种不同的甲型流感亚型组合,但在自然界中只检测到131种亚型。目前常规在人群中传播的甲型流感病毒亚型包括:A(H1N1)和A(H3N2)。

[0209] 与流感相关的细胞因子释放相关疾患是指与流感相关的任何疾患,所述疾患导致肺和/或肾中高水平的细胞因子释放。细胞因子释放相关疾患包括但不限于流感相关ARDS、流感相关AKI、流感相关血栓形成、流感相关败血症、流感相关感染性休克等。

[0210] 流感相关ARDS为由流感感染引起的ARDS。患有流感相关ARDS的患者可能已被诊断为感染了流感,可能曾接触过另一个已感染流感的人,或者根据其症状可能被怀疑感染了

流感。

[0211] 流感相关AKI为由流感感染引起的AKI。患有流感相关AKI的患者可能已被诊断为感染了流感,可能曾接触过另一个已感染流感的人,或者根据其症状可能被怀疑感染了流感。在一些情况下,流感相关AKI包括具有例如在以下中描述的症状的AKI:Batlle等人J.AM.SOC.NEPHROL.2020,31(7):1380-1383和Gabarre等人Intensive Care Med.2020,46(7):1339-1348,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0212] 流感相关血栓形成为由流感感染引起的血栓形成。患有流感相关血栓形成的患者可能已被诊断为感染了流感,可能曾接触过另一个已感染流感的人,或者根据其症状可能被怀疑感染了流感。在一些情况下,流感相关血栓形成包括例如在以下中描述的任何症状:Connors等人Blood 2020,135(23):2033-2040和Bikdeli等人J.Am.Coll.Cardiol.2020,75(23):2950-73,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0213] 流感相关败血症为由流感感染引起的败血症。患有流感相关败血症的患者可能已被诊断为感染了流感,可能曾接触过另一个已感染流感的人,或者根据其症状可能被怀疑感染了流感。在一些情况下,流感相关血栓形成包括例如在以下中描述的症状:Florescu等人Virulence.2014年1月1日;5(1):137-142.和Gu等人Eur Respir Rev.2020年7月21日;29(157):200038,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0214] 术语“与流感相关”是指在住院/流感感染体征后28天内出现的症状或适应症。

[0215] 对于流感相关ARDS,成功的治疗可以包括呼吸短促减少、呼吸困难或呼吸急促减少、血压更高、意识模糊减少和/或疲劳减少。可以预防性地施用治疗,即在ARDS发作之前进行。预防性治疗可预防ARDS,并且可以施用给已感染或疑似感染流感但没有ARDS严重症状的患者。例如,可以对咳嗽但没有其他ARDS症状的患者施用预防性治疗。

[0216] 对于流感相关AKI,成功的治疗可以包括肾功能增加。肾功能可以通过测量血清肌酐水平、血清肌酐清除率或血液尿素氮水平来进行评估。在一些情况下,成功的治疗包括在代谢性酸中毒、高血钾、少尿或无尿、氮质血症方面的下降、体液平衡的恢复、以及对其他器官系统的改进的作用。可以预防性地施用治疗,即在AKI发作之前进行。预防性治疗可预防AKI,并且可以施用给已感染或疑似感染流感但没有AKI严重症状的患者。例如,预防性治疗可以施用给具有以下中的一种或多种的患者:血清或尿肌酐增加、血尿、低蛋白血症、抗凝血酶III水平降低、低白蛋白血症、白细胞尿或没有其他AKI症状的蛋白尿。

[0217] 对于流感相关血栓形成,成功的治疗可以包括改善受试者的凝血概况,或预防、减缓、延迟或阻止受试者具有风险的凝血概况恶化。凝血概况可以通过测量一个或多个凝血参数来评估,包括例如受试者的血清中D-二聚体、因子II、因子V(例如,莱顿第五因子)、因子VII、因子VIII、因子IX、因子XI、因子XII、因子XIII、F/纤维蛋白降解产物、凝血酶-抗凝血酶111复合物、纤维蛋白原、血纤蛋白溶解酶原、凝血酶原和冯维勒布兰德因子中的一种或多种的水平。可以针对凝血概况测量的其他凝血参数包括例如凝血酶原时间、促凝血酶原激酶时间、活化部分凝血活酶时间(aPTT)、抗凝血酶活性、血小板计数、蛋白C水平和蛋白S水平。另外,在治疗之前也可以评估患者的C反应蛋白水平,并且如果升高,这可以用作患者血栓形成风险增加的进一步指标。

[0218] 对于流感相关败血症或感染性休克,成功的治疗可以包括发烧减少、高心跳或中高心跳(例如,心跳过速)减少、出汗(即,发汗)减少、意识模糊减少和/或疲劳减少和/或呼

吸短促减少、呼吸困难或呼吸急促减少。可以预防性地施用治疗,即在败血症或感染性休克发作之前进行。预防性治疗可预防败血症或感染性休克,并且可以施用给已感染或疑似感染流感但没有败血症或感染性休克严重症状的患者。例如,可以对咳嗽但没有其他败血症或感染性休克症状的患者施用预防性治疗。

[0219] 此外,所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物可以用于治疗镰状细胞病,特别是减少在所述疾病中表现出的免疫反应。在一些实施方案中,受试者可能表现出以下癌症中的一种或多种:贫血、镰状细胞危象、血管闭塞危象、脾隔离危象、脾隔离危象、急性胸部综合征、急性胸部综合征、再生障碍危象、溶血危象、指尖炎、肺炎、呼吸道感染、骨髓栓塞或肺不张。

[0220] 镰状细胞病(SCD)为一组通常遗传性血液病症。最常见的类型被称为镰状细胞贫血,它导致红细胞中发现的携氧蛋白血红蛋白异常。在某些情况下,这会导致刚性镰刀状的形状。镰状细胞病的问题通常在5至6个月大时开始,并且可能会出现许多健康问题,诸如疼痛发作(被称为镰状细胞危象)、贫血、手脚肿胀、细菌感染和中风。随着年龄的增长,可能会出现长期疼痛。

[0221] 当一个人继承了产生血红蛋白的 β 珠蛋白基因(HBB)的两个异常拷贝(父母双方各一个)时,会发生镰状细胞病。所述基因出现在11号染色体中。存在若干种亚型,这取决于每个血红蛋白基因的确切突变。温度变化、压力、脱水和高海拔可能会导致发作。

[0222] 镰状细胞病患者的护理可以包括通过疫苗接种和抗生素预防感染、大量液体摄入、补充叶酸和止痛药。其他措施可以包括输血和药物羟基脲(hydroxycarbamide)(羟基脲(hydroxyurea))。一小部分人可以通过骨髓细胞移植来治愈。镰状细胞病患者可能表现出以下症状:

[0223] 镰状细胞危象:术语“镰状细胞危象(sickle cell crisis)”或“镰状细胞形成危象(sickling crisis)”可以用于描述SCD受试者中发生的若干种独立的急性疾患,其导致贫血和危象,所述危象可能有多种类型,包括血管闭塞危象、再生障碍危象、脾隔离危象、溶血危象等。大多数镰状细胞危象发作持续五到七天。虽然感染、脱水和酸中毒(所有所述都有利于镰变)可能充当触发因素,但在大多数情况下,没有鉴定到诱发原因。

[0224] 血管闭塞危象:血管闭塞危象为由镰刀形红细胞引起的,其阻塞毛细血管并限制血液流向器官,从而导致缺血、疼痛、坏死并且经常导致器官损伤。这些危象的频率、严重程度和持续时间差异很大。疼痛性危象通过水合作用、镇痛剂和输血进行治疗;疼痛管理需要定期施用类鸦片药物,直至危象得以解决。对于较轻的危象,受试者亚组使用非类固醇抗炎药,诸如双氯芬酸或萘普生进行管理。对于更严重的危象,大多数受试者需要静脉内类鸦片药物进行受试者内管理;在这种情况下,通常使用受试者控制的镇痛装置。涉及诸如阴茎或肺的器官的血管闭塞危象被认为是紧急情况,并且通过红细胞输注进行治疗。推荐使用诱发性肺量计法,这为一种鼓励深呼吸以尽量减少肺不张发展的技术。

[0225] 脾隔离危象:镰状细胞病经常影响脾脏,因为镰刀形红细胞导致血管变窄并降低清除缺陷细胞的功能。镰状细胞贫血患者通常在儿童期末期之前发生梗死。这种脾脏损伤增加了被荚膜微生物感染的风险;对于缺乏正常脾脏功能的那些患者,建议使用预防性抗生素和疫苗接种。

[0226] 脾隔离危象为急性疼痛性脾脏肿大,由脾内红细胞捕获引起,并且导致血红素水

平急剧下降,并可能导致低血容量性休克。隔断危象被认为是紧急情况。如果不进行治疗,受试者可能会因循环衰竭而在1-2个小时内死亡。管理为支持性管理,有时进行输血。这些危象为暂时的;它们保持3-4个小时,并且可能持续一天。

[0227] 急性胸部综合征:急性胸部综合征由至少两种以下体征或症状定义:胸部疼痛、发热、肺部浸润或局灶性异常、呼吸道症状或低氧血症。它为第二常见的并发症,并且占SCD受试者死亡人数的约25%。大多数病例表现为血管闭塞危象,并且然后发展急性胸部综合征。然而,约80%的人在急性胸部综合征期间具有血管闭塞危象。

[0228] 再生障碍危象:再生障碍危象为受试者的基线贫血急性恶化的实例,导致外观苍白、心率加快和疲劳。这种危象通常是由细小病毒B19触发的,所述病毒通过入侵红细胞前体并在其中繁殖和破坏它们来直接影响红细胞的产生。细小病毒感染几乎完全阻止红细胞产生,持续两到三天。在正常个体中,这并不重要,但SCD受试者的红细胞寿命缩短导致突然的危及生命的情况。在疾病期间,网织红细胞计数急剧下降(导致网织红细胞减少症),并且红细胞的快速周转导致血红蛋白下降。这场危象需要4至7天才能消失。大多数受试者可以得到支持性管理;一些需要输血。

[0229] 溶血危象:溶血危象为血红蛋白水平急性加速下降。红细胞以更快的速度分解。这在共存G6PD缺乏症的人群中特别常见。镰状细胞病中溶血危象的另一个影响为对红细胞、白细胞和血小板的氧化应激。当骨髓中没有足够的红细胞产生时,身体接收、处理和运输的氧与身体的抗氧化剂不平衡。细胞中的氧活性不平衡,这导致更多地产生未适当氧合或形成的红细胞。由于组织中的氧不平衡,氧化应激可能导致贫血。管理为支持性管理,有时进行输血。

[0230] 另外,最早的临床表现之一是指炎,最早在六个月大时出现,并且可能发生在具有镰状细胞性状的儿童中。所述危象可能持续长达一个月。鉴于肺炎和肺中的镰变两者均可能产生急性胸部综合征的症状,针对两种疾患对受试者进行治疗。它可能由疼痛性危象、呼吸道感染、骨髓栓塞触发,或可能由肺不张、镇静剂施用或手术触发。也可能发生造血性溃疡。

[0231] 另外,所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物可以用于治疗肺损伤。肺损伤可为化学或辐射诱导性肺损伤。

[0232] 在一些实施方案中,受试者可能吸入或可能预期暴露于肺部刺激物。在一些实施方案中,受试者可能吸入或可能预期吸入窒息剂。肺部试剂或窒息剂为一种旨在阻碍受试者的呼吸能力的化学剂。这些化合物通常通过引起肺中液体积聚,然后导致窒息来起作用。吸入这些剂会导致喉咙灼热、咳嗽、呕吐、头痛、胸痛、胸闷以及呼吸和循环衰竭。此类剂的实例包括:氯气、氯化苦(PS)、双光气(DP)、光气(CG)、五氟化硫、全氟异丁烯、丙烯醛和二苯胂基胂(piphenylcyanoarsine)。光气诱导的急性肺损伤(P-ALI)通常与短期光气吸入相关联。长期暴露可能导致慢性通气不足、难治性肺水肿和其他相关肺损伤,最终导致ARDS。化学性肺炎为由于吸入化学烟雾或吸入某些化学物质并窒息而引起的肺部炎症或呼吸困难。

[0233] 另外,所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物可以用于治疗或预防急性吸入损伤(AII)和电子烟或水烟产品使用相关性肺损伤(EVALI)。

[0234] 在其他实施方案中,受试者已经暴露于或预期暴露于电离辐射。在这些实施方案中,受试者可能已经或可能预期发展辐射诱导性肺损伤(RILI)。在一些实施方案中,受试者

可能患有放射性肺炎或放射性肺纤维化。在这些实施方案中,受试者可能已经接受或正在接受胸部放射治疗,可能已经吸入放射性剂或可能已经直接暴露于电离辐射。例如,受试者可能已经吸入放射性剂,或者由于例如核武器或核电站泄漏而直接暴露于电离辐射。

[0235] 所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物可以用于治疗或预防出血热或其症状,包括埃博拉病毒病、阿尔库马出血热(Alkhurma hemorrhagic fever)、查帕雷出血热(Chapare hemorrhagic fever)、克里米亚-刚果出血热(Crimean-Congo hemorrhagic fever)、汉坦病毒肺综合征(HPS)、出血热伴肾综合征(HFRS)、卡萨努尔森林病(KFD)、拉沙热(Lassa fever)、卢霍出血热(Lujo hemorrhagic fever)、马尔堡出血热(Marburg hemorrhagic fever)、鄂木斯克出血热(Omsk hemorrhagic fever)、裂谷热(Rift Valley fever)、黄热病或登革热,诸如重症登革热(登革出血热)。

[0236] B. 配制和施用

[0237] 包含本公开的一种或多种活性化合物的药物组合物可以通过任何适合的方法,诸如混合、溶解、造粒、造糖衣片、研磨、乳化、封装、包埋或冻干过程来制造。可以使用一种或多种生理学上可接受的赋形剂、稀释剂、载体、佐剂或助剂来配制组合物,以提供药学上可以使用的制剂。

[0238] 一种或多种活性化合物可以药物组合物本身,或以水合物、溶剂合物、N-氧化物或药学上可接受的盐的形式进行配制。通常,此类盐比相应的游离酸和碱更易溶于水溶液,但是也可以形成比相应的游离酸和碱具有更低的溶解度的盐。

[0239] 包含所公开的一种或多种化合物的药物组合物可以采取适于几乎任何施用的模式,包括例如局部、眼部、口服、经颊、全身、鼻内、注射(诸如静脉内或腹膜内)、透皮、直肠、阴道等,或采取适合通过吸入或吹入施用的形式。

[0240] 对于局部施用来说,一种或多种活性化合物(或其水合物、溶剂合物、N-氧化物或药学上可接受的盐)可以配制为如本领域熟知的溶液、凝胶、软膏、乳膏、悬浮液等。

[0241] 系统性制剂包括为通过注射(例如皮下、静脉内、肌内、鞘内或腹膜内注射)施用而设计的那些,以及为透皮、跨粘膜、口服或肺部施用而设计的那些。

[0242] 有用的可注射的制剂包括水性或油性媒介物中的一种或多种活性化合物的无菌悬浮液、溶液或乳液。组合物还可以含有配制剂,诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。用于注射的制剂可以单位剂型存在,例如,在安瓿瓶或在多剂量容器中,并且可以含有添加的防腐剂。

[0243] 可替代地,在使用之前,可注射的制剂可以用于与适合的媒介物复水的粉末形式提供,所述媒介物包括但不限于无菌、无热原水、缓冲剂、葡萄糖溶液等。为此,一种或多种活性化合物可以通过任何本领域已知的技术(诸如冻干)来干燥,并且在使用之前进行复水。

[0244] 对于跨粘膜施用,在制剂中使用适合有待渗透的屏障的渗透剂。此类渗透剂为本领域已知的。

[0245] 对于口服施用,药物组合物可以采取以下形式:例如通过常规手段用药学上可接受的赋形剂(诸如结合剂(例如预胶凝玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮或羟丙基甲基纤维素);填充剂(例如乳糖、微晶纤维素或磷酸氢钙);润滑剂(例如硬脂酸镁、滑石或二氧化硅);崩解剂(例如马铃薯淀粉或淀粉羟基乙酸钠);和/或润湿剂(例如十二烷基硫酸钠))制备的锭

剂、片剂或胶囊。片剂可以通过本领域中熟知的方法例如用糖、膜或肠溶包衣来包衣。

[0246] 用于口服施用的液体制剂可以采取以下形式：例如酏剂、溶液、糖浆或悬浮液，或者它们可以作为一种在使用前用水或其他适合的媒介物进行化合的干燥产品而存在。此类液体制剂可以通过常规手段用药学上可接受的赋形剂（诸如悬浮剂（例如，山梨醇糖浆、纤维素衍生物或氢化食用脂肪）；乳化剂（例如，卵磷脂或阿拉伯胶）；非水性媒介物（例如，杏仁油、油酯类、乙醇、cremophoreTM或分馏植物油）；以及防腐剂（例如，对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸））来制备。制剂还可以酌情含有缓冲盐、防腐剂、调味剂、着色剂以及甜味剂。

[0247] 如所熟知的，用于口服施用的制剂可以进行适合地配制以给出活性化合物的受控释放。

[0248] 对于经颊施用，组合物可以采取以常规手段配制的片剂或锭剂的形式。

[0249] 对于直肠和阴道施用途来说，一种或多种活性化合物可以配制为含有常规栓剂基质（诸如可可脂或其他甘油酯）的溶液（用于滞留型灌肠剂）栓剂或软膏。

[0250] 对于鼻内施用或通过吸入或吹入施用，一种或多种活性化合物、水合物、溶剂合物、N-氧化物或药学上可接受的盐可以使用适合的推进剂从加压包装或喷雾器中以喷雾剂的形式便利地递送，所述推进剂为例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、碳氟化合物、二氧化碳或其他适合的气体。在增压式气溶胶的情况下，剂量单位可以通过提供阀以递送计量的量来确定。可以配制用于在一个吸入器或吹入器中使用的胶囊或药筒（例如包括明胶的胶囊和药筒），所述胶囊或药筒含有化合物和适合的粉末基质（诸如乳糖或淀粉）的粉末混合物。

[0251] 药物组合物可呈无菌的可注射水性或油性悬浮液的形式。所述悬浮液可以根据已知技术使用上面已经提到的那些适合的分散剂或湿润剂以及悬浮剂来配制。无菌可注射制剂也可在非毒性的、肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液。可接受的媒介物和溶剂中可以使用的为水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。

[0252] 根据本公开，所公开的一种或多种化合物、其溶剂合物、N-氧化物、药学上可接受的盐或一种或多种前药的形式也可以通过多种吸入装置中的任一种和本领域已知的方法来递送，包括例如：美国专利号6,241,969；美国专利号6,060,069；美国专利号6,238,647；美国专利号6,335,316；美国专利号5,364,838；美国专利号5,672,581；WO 96/32149；WO 95/24183；美国专利号5,654,007；美国专利号5,404,871；美国专利号5,672,581；美国专利号5,743,250；美国专利号5,419,315；美国专利号5,558,085；WO 98/33480；美国专利号5,364,833；美国专利号5,320,094；美国专利号5,780,014；美国专利号5,658,878；5,518,998；5,506,203；美国专利号5,661,130；美国专利号5,655,523；美国专利号5,645,051；美国专利号5,622,166；美国专利号5,577,497；美国专利号5,492,112；美国专利号5,327,883；美国专利号5,277,195；美国公布号20010041190；美国公布号20020006901；和美国公布号20020034477。

[0253] 可以用于施用一种或多种活性化合物的形式的装置包括本领域熟知的装置，诸如计量吸入器、液体雾化器、干粉吸入器、喷雾器、热蒸发器等。其他用于施用具体的2,4-嘧啶二胺化合物的适合的技术包括电流体雾化器。

[0254] 此外，吸入装置优选的是从易于使用、体积小到便于携带、能够提供多个剂量且耐

用的意义上说的实用型。市售吸入装置的一些具体实例为Turbohaler (Astra, Wilmington, DE)、Rotahaler (Glaxo, Research Triangle Park, NC)、Diskus (Glaxo, Research Triangle Park, NC)、Ultravent雾化器 (Mallinckrodt)、Acorn II雾化器 (Marquest Medical Products, Totowa, NJ)、Ventolin计量剂量吸入器 (Glaxo, Research Triangle Park, NC)等。在一个实施方案中,所公开的一种或多种化合物、其溶剂合物、N-氧化物、药学上可接受的盐或一种或多种前药可以通过干粉吸入器或喷雾器递送。

[0255] 如本领域普通技术人员将认识到的,所公开的一种或多种化合物、其溶剂合物、N-氧化物、药学上可接受的盐或一种或多种前药的形式制剂、递送的制剂的量以及单剂量的施用持续时间取决于所使用的吸入装置的类型以及其他因素。对于一些气雾胶递送系统,诸如雾化器,施用频率和系统被激活的时间长度将主要取决于所公开的一种或多种化合物在气雾胶中的浓度。例如,可以在雾化器溶液中更高浓度的所公开的一种或多种化合物时使用更短的施用时间。在一些实施方案中,诸如计量剂量吸入器的装置可以产生更高的气溶胶浓度,并且可以操作更短的时间来递送所需量的活性化合物。诸如干粉吸入器的装置递送活性剂,直到从装置中排出给定负载的剂。在这种类型的吸入器中,所公开的一种或多种化合物、其溶剂合物、N-氧化物、药学上可接受的盐或一种或多种前药在给定量粉末中的量决定了在单次施用中递送的剂量。选择所公开的一种或多种化合物的制剂以在所吸入装置中产生所需粒度。

[0256] 用于从干粉吸入器施用的所公开的化合物的制剂通常可以包括含有所公开的一种或多种化合物的细碎干粉,但所述粉末还可以包括膨胀剂、缓冲剂、载体、赋形剂、另一种添加剂等。添加剂可以包含在干粉制剂中,例如,以根据需要稀释粉末以从特定粉末吸入器递送,以促进制剂的加工,为制剂提供有利的粉末性质,以促进粉末从吸入装置分散,以稳定制剂(例如抗氧化剂或缓冲剂),为制剂提供味道等。典型的添加剂包括单糖、二糖和多糖;糖醇和其他多元醇,例如像乳糖、葡萄糖、棉子糖、松三糖、乳糖醇、麦芽糖醇、海藻糖、蔗糖、甘露醇、淀粉或其组合;表面活性剂,诸如山梨糖醇、二磷脂酰胆碱或卵磷脂;等。

[0257] 所公开的方法可以药物组合物进行,所述药物组合物包含适合通过吸入施用的所公开的一种或多种化合物。例如,干粉制剂可以使用常规技术以多种方式制备,诸如在上述任何出版物中描述的并且通过引用明确地并入本文的常规技术,以及例如Baker等人的美国专利号5,700,904,其公开内容通过引用明确并入本文。可以通过微粉化、研磨等制备适合于在下呼吸道中最大沉积的尺寸范围内的颗粒。并且液体制剂可以通过将化合物溶解在适合的溶剂(诸如水,在适合的pH下,包括缓冲剂或其他赋形剂)中来制备。

[0258] 适合于使用商业上可获得的鼻内喷雾装置的鼻内施用的水性悬浮液制剂的具体实例包括以下成分:活性化合物(0.5 20mg/ml);苯扎氯铵(0.1 0.2mg/mL);聚山梨醇酯80(**TWEEN**[®]80;0.5 5mg/ml);羧甲基纤维素钠或微晶纤维素(1 15mg/ml);苯乙醇(1 4mg/ml);和葡萄糖(20 50mg/ml)。最终悬浮液的pH可以调节至约pH 5至pH 7的范围,典型的pH为约5.5的pH。

[0259] 适合于经由吸入施用化合物的水性悬浮液的另一具体实例含有20mg/mL的所公开的一种或多种化合物、1% (v/v) 聚山梨醇酯80(**TWEEN**[®]80)、50mM柠檬酸和/或0.9%氯化钠。

[0260] 对于眼部施用,一种或多种活性化合物可以配制成适合于向眼睛施用的溶液、乳

液、悬浮液等。适合于向眼睛施用化合物的各种媒介物为本领域已知的。具体的非限制性实例描述于以下中：美国专利号6,261,547;6,197,934;6,056,950;5,800,807;5,776,445;5,698,219;5,521,222;5,403,841;5,077,033;4,882,150;和4,738,851,其通过引用并入本文。

[0261] 对于延长递送,一种或多种活性化合物可以配制成用于通过植入或肌肉注射施用的贮库制剂。活性成分可以与适合的聚合物或疏水性材料(例如,作为在可接受的油中的乳液)或离子交换树脂一起配制,或被配制成微溶的衍生物,例如被配制成微溶的盐。可替代地,可以使用制造为缓慢释放一种或多种活性化合物用于经皮吸收的粘着盘或贴片的透皮递送系统。为此,渗透促进剂可以用于促进一种或多种活性化合物的透皮渗透。适合的透皮贴剂描述于例如美国专利号5,407,713;5,352,456;5,332,213;5,336,168;5,290,561;5,254,346;5,164,189;5,163,899;5,088,977;5,087,240;5,008,110;和4,921,475中,其通过引用并入本文。

[0262] 可替代地,可以采用其他药物递送系统。脂质体和乳液为可以用于递送一种或多种活性化合物的递送媒介物的熟知的实例。还可以采用某些有机溶剂(诸如二甲亚砜(DMSO)),尽管通常是以更大的毒性为代价。

[0263] 如果需要,药物组合物可呈现于包装或分配器装置中,所述包装或分配器装置可以包括含有一种或多种活性化合物的一个或多个单位剂型。包装可以例如包括金属或塑料箔,诸如泡罩包装。包装或分配器装置可以附有施用说明书。

[0264] C. 剂量

[0265] 所公开的化合物或所公开的化合物的组合将通常以有效实现预期结果的量来使用,例如以有效治疗或改善特定疾患的量。所公开的一种或多种化合物或其药物组合物,可以在治疗上施用以实现治疗益处,或在预防上施用以实现预防益处。治疗益处意指正在治疗的潜在病症的根除或改善和/或与所述潜在病症相关的一种或多种症状的根除或改善,这样使得尽管患者可能仍被这种潜在病症所折磨,但是患者在感觉或疾患方面报告改善。例如,向患有过敏症的患者施用化合物,不仅当潜在过敏性反应被根除或改善时,而且当患者在暴露于过敏原后与过敏症相关的症状的严重程度或持续时间方面报告减少时提供治疗益处。作为另一个实例,在哮喘的上下文中的治疗益处包括在哮喘发作开始后的呼吸改善或哮喘发作的频率或严重程度的降低。无论是否实现了改善,治疗益处还包括疾病的进展的停止或减缓。

[0266] 如由本领域普通技术人员已知的,所公开的化合物的优选剂量可以取决于各种因素,包括正被治疗的患者或受试者的年龄、体重、总体健康和疾患的严重程度。当通过吸入施用时,剂量也可能需要调整以适应个体的性别和/或个体的肺容量。也可以调整剂量以适应患有多于一种疾患的个体或具有影响肺容量和正常呼吸能力的另外的疾患(例如肺气肿、支气管炎、肺炎和呼吸道感染)的个体。所公开的一种或多种化合物或其组合物的剂量和施用频率还将取决于所公开的一种或多种化合物是否被配制用于治疗疾患的急性发作或用于病症的预防性治疗。本领域普通技术人员将能够针对特定个体确定最佳剂量。

[0267] 对于预防性施用,可以将所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物施用至处于发展先前描述的疾患之一的风险的患者或受试者。例如,如果不知道患者或受试者对特定药物是否过敏,可以在施用所述药物之前施用所公开的化合物、所公开的化合物

的组合或其组合物以避免或改善对所述药物的过敏反应。可替代地,可以使用预防性施用以避免或改善被诊断患有潜在病症的患者的症状的发作。例如,在过敏原的预期暴露之前,可以向过敏症受害者施用所公开的一种或多种化合物或其组合物。还可以将所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物预防性地施用给健康个体以预防病症的发作,所述健康个体反复暴露于上述疾病之一已知的剂。例如,可以将所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物施用给反复暴露于已知引起过敏的过敏原(诸如胶乳)的健康个体,以试图防止个体发展过敏症。可替代地,可以在参加引发哮喘发作的活动之前向患有哮喘的患者施用所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物以减轻哮喘发作的严重程度或完全避免哮喘发作。

[0268] 可以最初从体外测定中估计有效剂量。例如,可以配制用于受试者的初始剂量以实现如在体外测定中测量的等于或高于特定化合物的 IC_{50} 或 EC_{50} 的活性化合物的循环血液或血清浓度。考虑特定化合物的生物利用度,可以计算剂量以实现此类循环血液或血清浓度。Fingl和Woodbury,“General Principles,”在:Goodman和Gilman的The Pharmaceutical Basis of Therapeutics,第1章,第1-46页,Pergamon Press,以及其中引用的参考文献,提供了关于有效剂量的另外的指导。

[0269] 在一些实施方案中,所公开的化合物具有从大于0至 $20\mu M$ (诸如大于0至 $10\mu M$ 、大于0至 $5\mu M$ 、大于0至 $1\mu M$ 、大于0至 $0.5\mu M$ 、大于0至 $0.1\mu M$ 或大于0至 $0.05\mu M$)的关于激酶蛋白(诸如IRAK蛋白)的 EC_{50} 。

[0270] 也可以从体内数据(诸如动物模型)估计初始剂量。可用于测试化合物治疗或预防上述各种疾病的功效的动物模型为本领域中熟知的。适合的超敏反应或过敏反应的动物模型描述于:Foster, (1995) Allergy 50 (增刊21):6-9, 讨论34-38;以及Tumas等人, (2001), J. Allergy Clin. Immunol. 107 (6):1025-1033中。过敏性鼻炎的适合动物模型描述于Szelenyi等人, (2000), Arzneimittelforschung 50 (11):1037-42;Kawaguchi等人, (1994), Clin. Exp. Allergy 24 (3):238-244以及Sugimoto等人, (2000), Immunopharmacology 48 (1):1-7中。本领域普通技术人员可以调整这样的信息以确定适合于人类施用的剂量。

[0271] 所公开的化合物的剂量将通常在大于 0mg/kg/天 (诸如 0.0001mg/kg/天 或 0.001mg/kg/天 或 0.01mg/kg/天)高达至少约 100mg/kg/天 的范围内。更通常,剂量(或有效量)可以在至少每天一次施用的约 0.0025mg/kg 至约 1mg/kg 的范围内,诸如 0.01mg/kg 至约 0.5mg/kg 或约 0.05mg/kg 至约 0.15mg/kg 。总日剂量通常在每天约 0.1mg/kg 至约 5mg/kg 或至约 20mg/kg 的范围内,诸如每天 0.5mg/kg 至约 10mg/kg 或每天约 0.7mg/kg 至约 2.5mg/kg/天 。除了其他因素之外,剂量可以更高或更低,取决于所公开的化合物的活性、其生物利用度、施用方式以及以上讨论的各种因素。

[0272] 可以针对个体调整剂量和剂量间隔,以提供足以维持治疗或预防作用的所公开的化合物的血浆水平。例如,化合物可以每天一次、每天多次、每周一次、每周多次(例如每隔一天)、每月一次、每月多次或每年一次施用,除其他事物以外,这取决于施用方式、正被治疗的具体适应症以及处方医师的判断。无需过度的实验,本领域普通技术人员能够最优化有效的局部剂量。

[0273] 包含一种或多种所公开的化合物的组合物通常包含大于0%至高达99%的所公开

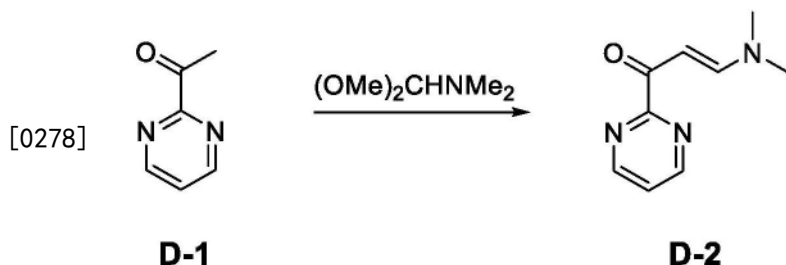
的化合物或多种化合物和/或其他治疗剂(按总重量百分比计)。更通常,包含一种或多种所公开的化合物的组合物包含约1至约20总重量百分比的所公开的化合物和其他治疗剂,以及约80至约99重量百分比的药理学上可接受的赋形剂。典型的每日施用可以在100-300mg/天的范围内,例如100、150、200、250或300mg/天。施用可为每天一次或两次或更多次,例如,100或150mg BID。因此,包含本文公开的化合物的药物剂型可以含有50-300mg的所公开的化合物,例如50、100、150、200、250、300mg的所公开的化合物。

[0274] 优选的是,所公开的化合物、所公开的化合物的组合或其组合物将提供治疗或预防益处而不引起实质性毒性。所公开的化合物的毒性可以使用标准制药程序进行确定。在毒性与治疗(或预防)作用之间的剂量比率为治疗指数。表现出高治疗指数的所公开的化合物为优选的。

[0275] VII. 实施例

[0276] 实施例1

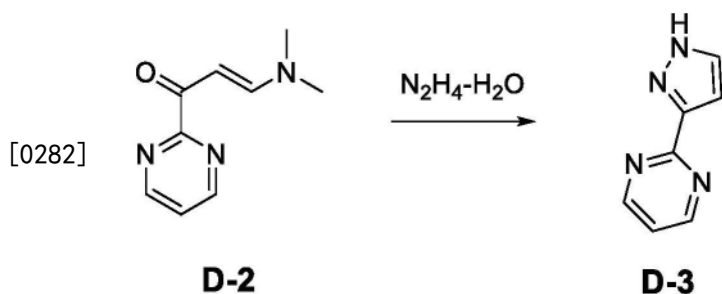
[0277] 3-(二甲基氨基)-1-(嘧啶-2-基)丙-2-烯-1-酮(D-2)



[0279] 将1-(嘧啶-2-基)乙烷-1-酮(D-1, 5g, 40.95mmol)的1,1-二甲氧基-N,N-二甲基甲胺(11mL, 81.9mmol)溶液在90℃下搅拌过夜。反应进行完全,如通过LCMS监测。在真空中去除挥发物,并且粗产物无需进一步纯化而用于下一反应:¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ8.89(d, J=4.9Hz, 2H), 8.00(d, J=10.3Hz, 1H), 7.35(dd, J=4.9, 4.9Hz, 1H), 6.39(d, J=10.3Hz, 1H), 3.20(s, 3H), 3.00(s, 3H); LRMS(M+H)^{m/z} 178.2。

[0280] 实施例2

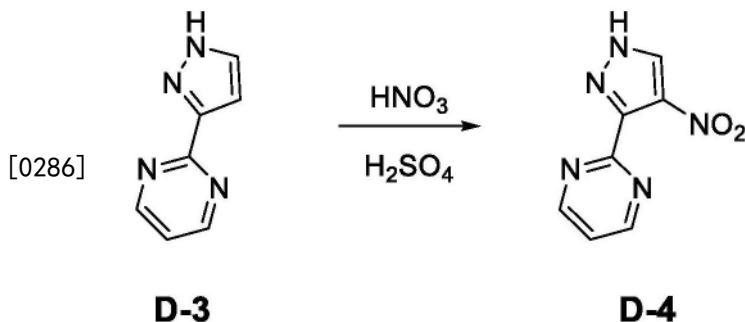
[0281] 2-(1H-吡唑-3-基)嘧啶(D-3)



[0283] 将一水合肼溶液(64%-65%水溶液, 2.8mL, 约0.9当量)添加到3-(二甲基氨基)-1-(嘧啶-2-基)丙-2-烯-1-酮(D-2, 41mmol)的EtOH(15mL)溶液中,在冰浴中冷却。在回流3小时之后,反应进行完全,如通过LCMS监测。在真空中去除挥发物,并且粗产物无需进一步纯化而用于下一反应;¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ11.20(br s, 1H), 8.79(d, J=4.9Hz, 2H), 7.71(d, J=2.0Hz, 1H), 7.22(dd, J=4.9, 4.9Hz, 1H), 7.08(d, J=2.0Hz, 1H); LRMS(M+H)^{m/z} 147.1。

[0284] 实施例3

[0285] 2-(4-硝基-1H-吡唑-3-基)嘧啶(D-4)



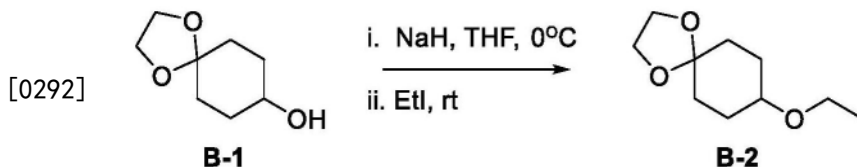
[0287] 将90%发烟硝酸(3.8mL, 81.9mmol)逐滴添加到2-(1H-吡唑-3-基)嘧啶(D-3, 约41mmol)的浓H₂SO₄(10mL)悬浮液中,在冰浴中冷却。一旦完成硝酸的添加,就将混合物在70℃下搅拌过夜。反应进行完全,如通过LCMS监测。在冷却至室温之后,将混合物小心地倒入冰水中。用NaOH水溶液将pH调节至8,并且将产物用EtOAc(100mL×5)萃取。将合并的有机层干燥(Na₂SO₄),过滤,并且在真空中去除溶剂。在硅胶色谱纯化之后,获得呈灰白色固体的化合物2-(4-硝基-1H-吡唑-3-基)嘧啶(D-4):5.6g(在3个步骤内71.5%产率);¹HNMR(400MHz, 氯仿-d) δ11.26(br s, 1H), 8.90(d, J=4.9Hz, 2H), 8.28(s, 1H), 7.40(dd, J=4.9, 4.9Hz, 1H); LRMS(M+H)^{m/z} 192.1。

[0288] 替代程序:

[0289] 向2-(1H-吡唑-3-基)嘧啶(D-3, 32.6g, 223mmol)的浓H₂SO₄(200mL)悬浮液中逐滴添加发烟硝酸(100mL),并且将反应混合物在室温下搅拌过夜。将混合物小心地倒在冰上,并且添加27N NaOH水溶液来将pH调节至6。通过过滤收集固体,用水洗涤,并在真空中干燥。获得呈灰白色固体的化合物2-(4-硝基-1H-吡唑-3-基)嘧啶:29.2g(69%产率)。

[0290] 实施例4

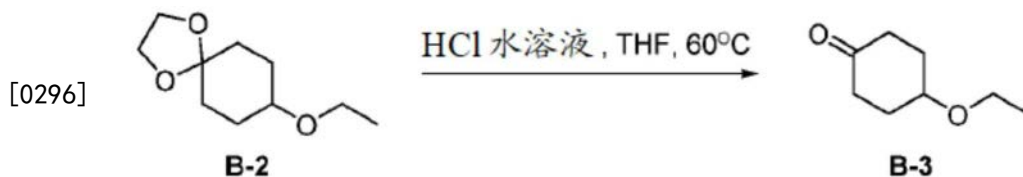
[0291] 8-乙氧基-1,4-二氧杂螺[4.5]癸烷(B-2)



[0293] 将1,4-二氧杂螺[4.5]癸醇B-1(158g, 1.0mol, 1.0当量)在四氢呋喃(500mL)中的溶液在0℃下添加到己烷洗涤的氢化钠(48g在矿物油中的60%悬浮液, 1.2mol, 1.2当量)于四氢呋喃(500mL)中的悬浮液中。将反应物在0℃下搅拌15分钟,并且在室温下搅拌4小时,然后冷却至0℃并添加碘乙烷(104.5mL, 1.3mol, 1.3当量)。将反应物在0℃下搅拌10分钟,并且在室温下搅拌14小时。通过小心添加NH₄Cl(大约100mL)将反应淬灭。将反应物浓缩以去除四氢呋喃,并且在EtOAc(800mL)与水(600mL)之间分配浓缩物。用EtOAc(300mL)萃取水相。将合并的有机物用NaHCO₃(500mL)和盐水(500mL)洗涤,干燥(Na₂SO₄),并在减压下浓缩,以产生呈橙色油状物的标题化合物(177g, 95%);¹H nmr(400MHz, CD₃Cl) δ3.90, 3.89(4H, 2d AB系统, J 2.5Hz, OCH₂CH₂O), 3.44(2H, q, J 7.0Hz, OCH₂CH₃), 3.35(1H, tt, J 7.5, 3.0Hz, H-8), 1.82-1.74(4H, m, 4H的H-6, H-7, H-9, H-10), 1.70-1.63(2H, m, 2H的H-6, H-7, H-9, H-10), 1.54-1.47(2H, m, 2H的H-6, H-7, H-9, H-10), 1.15(3H, t, J 7.0Hz, OCH₂CH₃)。

[0294] 实施例5

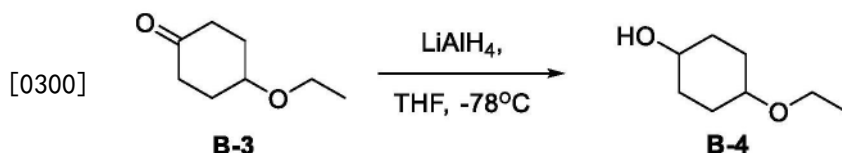
[0295] 4-乙氧基环己烷-1-酮 (B-3)



[0297] 将盐酸 (450mL 的 3M 溶液) 添加到二噁烷 B-2 (177g, 952mmol) 于四氢呋喃 (450mL) 中的溶液中。将反应在 60°C 下剧烈搅拌 20 小时。NMR 分析显示完成 75%。再添加盐酸 (100mL 的 4M 溶液), 并且将反应在 60°C 下再搅拌 24 小时, 然后冷却并浓缩以去除四氢呋喃。将有机物用 EtOAc (3x 400mL) 萃取。将合并的有机物用盐水 (400mL) 洗涤, 干燥 (Na_2SO_4), 并在减压下浓缩, 以产生呈橙色油状物的标题化合物 (142.2g, 理论产量 135.1g); ^1H nmr (400MHz, CD_3Cl) δ 3.71 (1H, m, 环己烷 H-4), 3.55 (2H, q, J 7.0Hz, OCH_2CH_3), 2.58 (2H, ddd, J 15.5, 10.5, 6.0Hz, 2H 的环己烷 H-2, H-6), 2.25 (2H, m, 2H 的环己烷 H-2, H-6), 2.10-2.02 (2H, m, 2H 的环己烷 H-3, H-5), 1.98-1.90 (2H, m, 2H 的环己烷 H-3, H-5), 1.24 (3H, t, J 7.0Hz, OCH_2CH_3)。

[0298] 实施例 6

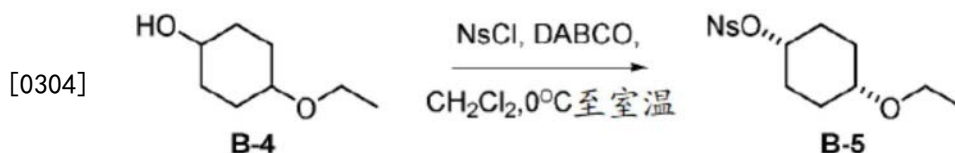
[0299] (1s, 4s) -4-乙氧基环己烷-1-醇 (B-4)



[0301] 将酮 B-3 (146.2g, 1.0 当量) 于四氢呋喃 (300mL) 中的溶液冷却至 -78°C。在 90 分钟内逐滴滴加氢化铝锂 (400mL 的于四氢呋喃中的 1M 溶液, 400mmol, 0.4 当量)。将反应物在 -78°C 下再搅拌 30 分钟, 并且通过初始地在 -78°C 下逐滴添加 NaOH (1M, 300mL) 将反应淬灭, 然后从冷浴中取出。产生凝胶。将反应物用 EtOAc (400mL) 稀释并搅拌, 然后倾析以去除凝胶。将倾析的有机物用罗谢尔盐 (400mL) 洗涤, 用 EtOAc (200mL) 反萃取水相。将合并的有机物用罗谢尔盐 (300mL) 和盐水 (400mL) 洗涤, 干燥 (Na_2SO_4), 并在减压下浓缩, 以获得呈橙色油状物的标题化合物 (131.1g) 而无需进一步纯化; ^1H nmr (400MHz, CD_3Cl) δ 3.74 (1H 主要产物, m, 环己烷 H-1), 3.68 (1H 次要产物, m, 环己烷 H-1), 3.48 (2H 次要产物, J 7.0Hz, OCH_2CH_3), 3.47 (2H 主要产物, J 7.0Hz, OCH_2CH_3), 3.37 (1H 主要产物, tt, J 6.5, 3.0Hz, H-4), 3.25 (1H 次要产物, m, H-4), 1.99 (1H, m, 1H 的 H-2, H-3, H-5, H-6), 1.81 (2H, m, 2H 的 H-2, H-3, H-5, H-6), 1.73-1.51 (5H, m, 5H 的 H-2, H-3, H-5, H-6), 1.19 (3H 主要产物, t, J 7.0Hz, OCH_2CH_3), 1.19 (3H 次要产物, J 7.0Hz, OCH_2CH_3)。

[0302] 实施例 7

[0303] 4-硝基苯磺酸 (1r, 4r) -4-乙氧基环己酯 (B-5)

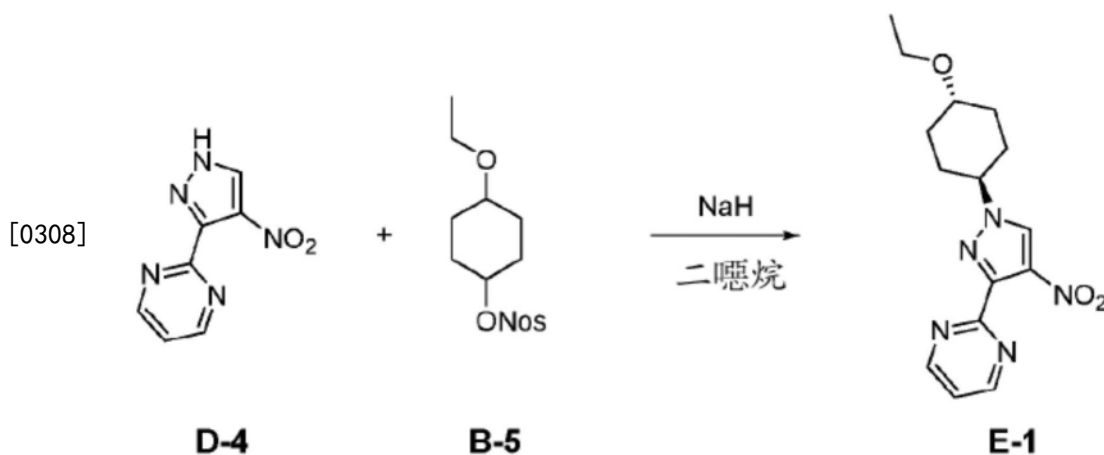


[0305] 在 0°C 下向 4-乙氧基环己烷-1-醇 B-4 (112.9g, 作为大约 2:1 比率的 1s, 4s 和 1r, 4s 非对映异构体, 782.9mmol, 1.0 当量) 于二氯甲烷 (800mL) 中的溶液中添加 1,4-二氮杂二环 [2.2.2] 辛烷 (105.4g, 939.5mmol, 1.2 当量)。在 1 小时内在 0°C 下分批添加 4-硝基苯磺酰氯

(190.8g, 861.2mmol, 1.1当量), 并且使反应物在16小时内升温至室温。将反应物用 CH_2Cl_2 (400mL) 稀释并用 NaHCO_3 (1L)、水 (1L) 和盐水 (1L) 洗涤。将有机物干燥 (Na_2SO_4), 并在减压下浓缩。将所得固体从乙酸乙酯和己烷研磨, 以产生160.8g呈灰白色固体的4-硝基苯磺酸4-乙氧基环己酯 (作为1r, 4r和1s, 4s的混合物); ^1H nmr (400MHz, CD_3Cl) δ 8.39 (2H, d, J 9.0Hz, 2H的 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8.11 (2H, d, J 9.0Hz, 2H的 $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 4.75 (1H主要产物, tt, J 7.5, 3.5Hz, H-1), 4.70 (1H次要产物, m, H-1), 3.45 (2H次要产物, J 7.0Hz, OCH_2CH_3), 3.44 (2H主要产物, J 7.0Hz, OCH_2CH_3), 3.34 (1H, tt, J 6.5, 3.0Hz, H-4), 1.99-1.88 (3H, m, 3H的H-2, H-3, H-5, H-6), 1.80-1.71 (1H, m, 1H的H-2, H-3, H-5, H-6), 1.67-1.56 (3H, m, 3H的H-2, H-3, H-5, H-6), 1.48-1.40 (1H, m, 1H的H-2, H-3, H-5, H-6), 1.17 (3H主要产物, t, J 7.0Hz, OCH_2CH_3), 1.16 (3H次要产物, J 7.0Hz, OCH_2CH_3)。

[0306] 实施例8

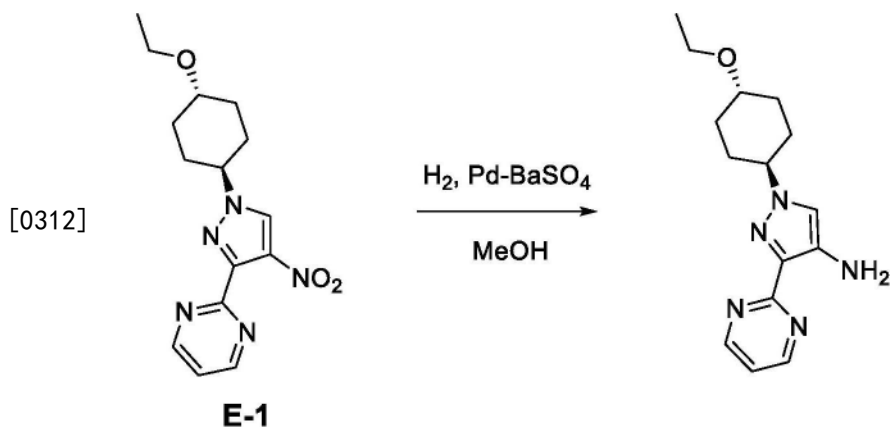
[0307] 2-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-4-硝基-1H-吡唑-3-基) 嘧啶 (E-1)



[0309] 在氮气氛围下并在冰浴中冷却的情况下, 将NaH (60%于矿物油中的分散体, 1.68g, 42mmol) 分批添加到2-(4-硝基-1H-吡唑-3-基) 嘧啶 (D-4, 5.73g, 30mmol) 的1, 4-二噁烷 (150mL, 0.2M) 悬浮液中。在去除冰浴之后, 将悬浮液在25℃下搅拌。在3小时之后, 添加化合物4-硝基苯磺酸4-乙氧基环己酯 (B-5, 11.86g, 36mmol, 顺式/反式比率 ≥ 2), 并且将反应混合物在100℃下在温和回流下搅拌。在19小时之后, 再添加约0.4当量 (5g) 的B-5, 并且继续反应。通过LC-MS监测反应进度, 并且在第4天停止反应。在冷却至室温之后, 将反应用 NaHCO_3 饱和水溶液 (100mL) 淬灭, 并且通过在减压下旋转蒸发来去除大部分二噁烷。将产物用EtOAc (150mL) 萃取, 将其用盐水进一步洗涤。将有机层干燥 (Na_2SO_4), 过滤, 并且通过在减压下旋转蒸发来去除溶剂。将产物通过硅胶色谱法纯化, 接着从己烷-EtOAc研磨 (8mL-2mL, 35℃, 过夜, 然后在室温下作为沉淀物收集)。获得呈灰白色固体的化合物2-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-4-硝基-1H-吡唑-3-基) 嘧啶 (E-1): 1.98g (21%产率); ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 8.89 (d, J=4.9Hz, 2H), 8.24 (s, 1H), 7.37 (dd, J=4.9, 4.9Hz, 1H), 4.27 (tt, J=11.8, 3.9Hz, 1H), 3.55 (q, J=7.0Hz, 1H), 3.35 (tt, J=10.7, 4.2Hz, 1H), 2.35-2.29 (m, 2H), 2.26-2.20 (m, 2H), 1.94-1.83 (m, 2H), 1.50-1.40 (m, 2H), 1.22 (t, J=7.0Hz, 3H); LRMS (M+H) m/z 318.3。

[0310] 实施例9

[0311] 1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-胺

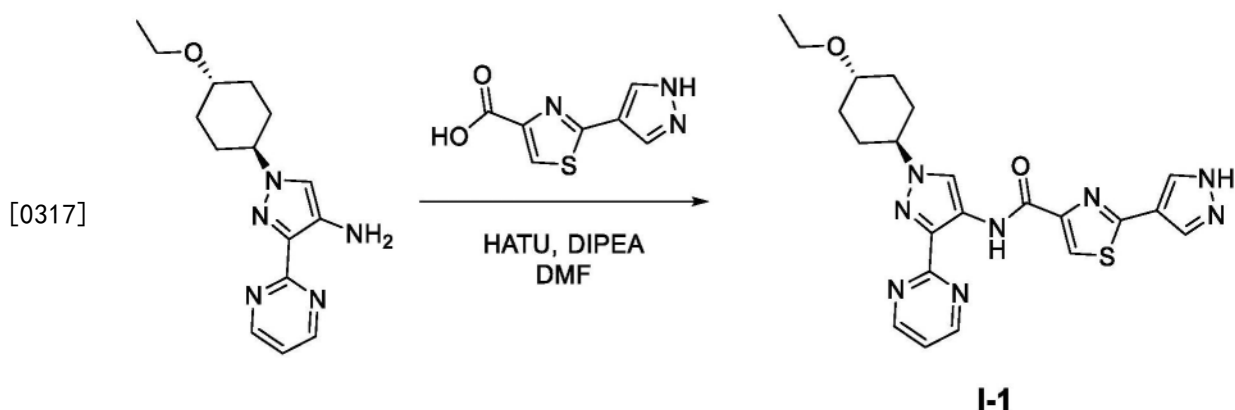


[0313] 在Parr烧瓶中,在15psi氢气下,将2-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-4-硝基-1H-吡唑-3-基)吡啶(E-1,974.2mg,3.07mmol)和Pd-BaSO₄(在BaSO₄上的5%Pd,450mg)的MeOH(30mL)溶液在室温下振荡4小时。反应进行完全,如通过LC-MS监测。在氮气氛下,将反应混合物通过硅藻土垫,将其用MeOH进一步洗涤。收集滤液并且在真空中去除溶剂。获得呈浅黄色固体的化合物1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-胺(无需进一步纯化而用于下一反应);¹HNMR(400MHz,氯仿-d)δ8.75(d,J=4.9Hz,2H),7.09-7.06(m,2H),4.56(br s,2H),4.20(tt,J=12.1,3.7Hz,1H),3.54(q,J=7.0Hz,2H),3.33(tt,J=10.7,4.0Hz,1H),2.26-2.17(m,4H),1.88-1.78(m,2H),1.47-1.36(m,2H),1.21(t,J=7.0,Hz,3H);LRMS(M+H)^{m/z} 288.3。

[0314] 实施例10

[0315] N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑

[0316] -4-基)噻唑-4-甲酰胺(I-1)



[0318] 将2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酸(599.2mg,3.07mmol)添加到1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-胺(3.07mmol)的DMF(12mL)溶液中,在冰浴中冷却,接着在30分钟之后添加HATU(1.28g,3.38mmol)。再过1小时之后,逐滴添加N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(DIPEA,1.6mL,9.2mmol)。去除冰浴,并且将混合物在室温下搅拌16小时。通过逐滴添加NaHCO₃饱和水溶液(300mL)将反应淬灭,并且在1小时之后,通过过滤收集沉淀物,用H₂O洗涤,然后在真空中干燥。获得黄色固体(约1.17g)并溶解在CH₂Cl₂-MeOH(10:1)中。然后将溶液通过硅胶垫以去除更深颜色的杂质。获得呈浅黄色固体的化合物N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺(I-1):1.10g(77%产率);¹HNMR(400MHz,氯仿-d)δ12.04(s,1H),11.10(v br s,1H),8.90(d,J=

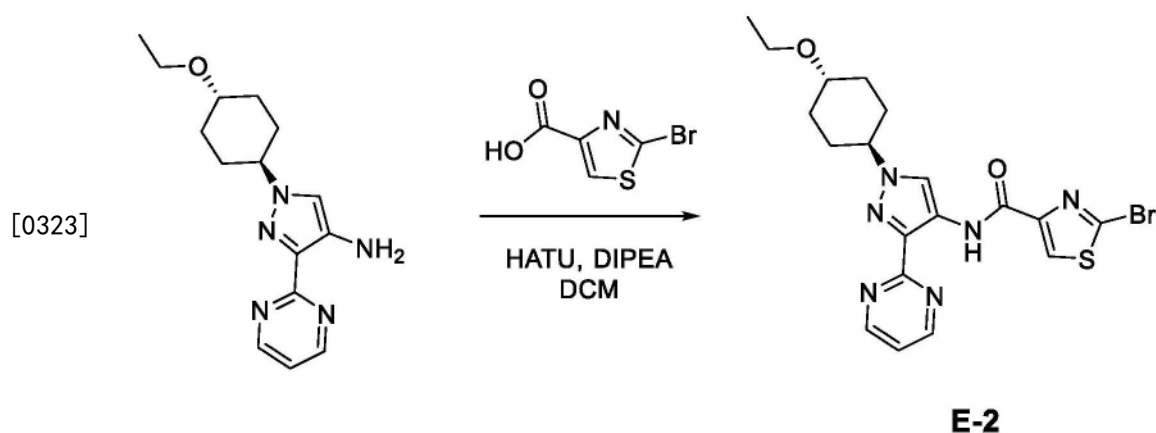
4.9Hz, 2H), 8.49 (s, 1H), 8.16 (s, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.23 (dd, J=4.9, 4.9Hz, 1H), 4.34 (tt, J=12.0, 3.9Hz, 1H), 3.56 (q, J=7.0Hz, 2H), 3.37 (tt, J=10.8, 4.2Hz, 1H), 2.33-2.29 (m, 2H), 2.25-2.20 (m, 2H), 2.00-1.89 (m, 2H), 1.51-1.41 (m, 2H), 1.22 (t, J=7.0Hz, 3H); ¹³C NMR (101MHz, 氯仿-d) δ161.47, 160.21, 158.35, 157.15, 150.29, 136.25, 132.67, 122.71, 121.86, 119.89, 118.68, 117.15, 76.33, 63.62, 61.83, 31.09, 31.01, 15.65; LRMS (M+H) m/z 465.4。

[0319] 化合物无需进一步纯化即可用于制备酒石酸盐/共晶体并用于前药合成。另外, 如果需要的话, 化合物通过硅胶色谱法或RP-HPLC进一步纯化。

[0320] 实施例11

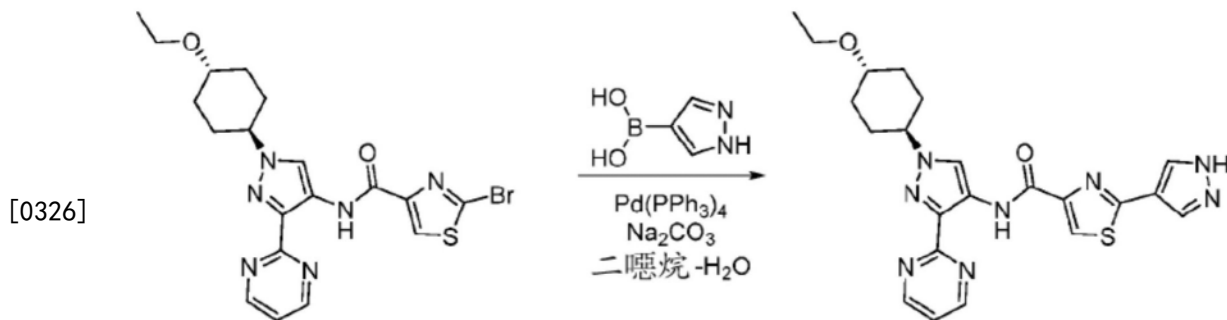
[0321] I-1的替代合成

[0322] A. 2-溴-N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺 (E-2)



[0324] 将2-溴噻唑-4-甲酸 (298mg, 1.43mmol) 和HATU (572mg, 1.50mmol) 的CH₂Cl₂ (20mL) 溶液在室温下搅拌15分钟。添加N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (0.623mL, 3.58mmol), 在冰浴中冷却, 接着添加1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-胺 (452mg, 1.576mmol) 的CH₂Cl₂ (5mL) 溶液。将反应混合物在室温下搅拌17小时, 之后LC-MS指示反应完成。通过添加NaHCO₃饱和水溶液将反应淬灭, 并且继续搅拌30分钟。分离两个层, 并且将有机层再次用NaHCO₃饱和水溶液洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤, 并且通过在减压下旋转蒸发去除溶剂。在硅胶色谱法之后, 获得呈白色固体的化合物2-溴-N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺 (E-2): 581.1mg (85% 产率); ¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ8.89 (d, J=4.9Hz, 2H), 8.42 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.22 (dd, J=4.9, 4.9Hz, 1H), 4.33 (tt, J=12.0, 3.9Hz, 1H), 3.56 (q, J=7.0Hz, 2H), 3.36 (tt, J=10.8, 4.2Hz, 1H), 2.32-2.28 (m, 2H), 2.24-2.20 (m, 2H), 1.99-1.89 (m, 2H), 1.50-1.41 (m, 2H), 1.22 (t, J=7.0Hz, 3H); LRMS (M+H) m/z 477.3, 479.3。

[0325] B. N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺 (I-1)



E-2

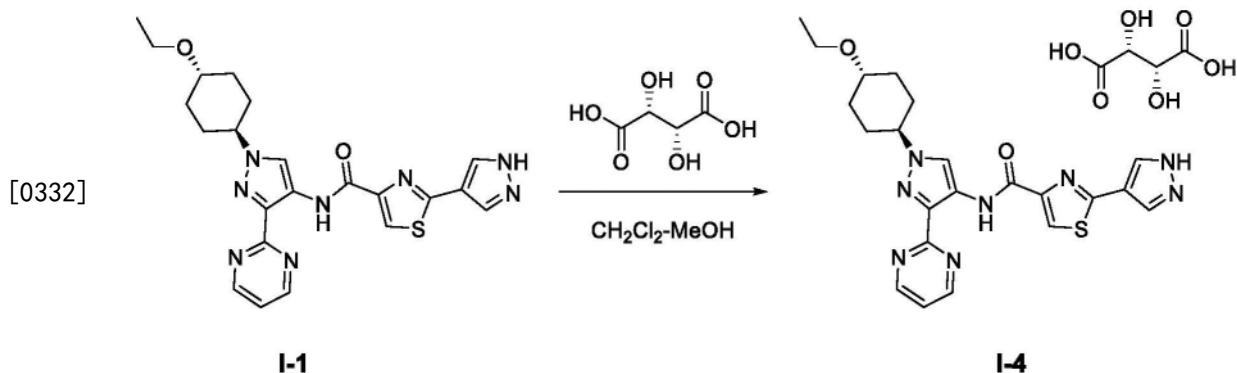
[0327] 将2-溴-N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺 (E-2, 477.4mg, 1mmol)、(1H-吡唑-4-基)硼酸 (279.8mg, 2.5mmol)、 Na_2CO_3 (318mg, 3mmol) 和四(三苯基膦)钯(0) (28mg, 0.02mmol) 的1,4-二噁烷- H_2O (4mL-1mL) 悬浮液脱气, 并且然后用氮气反填充三次。将混合物在氮气氛下在90℃下加热21.5小时, 之后LC-MS指示反应完成。通过在减压下旋转蒸发去除大部分二噁烷, 并且将粗产物与水和 NaHCO_3 饱和水溶液混合, 直至出现自由流动的固体。通过过滤收集固体, 用 H_2O 洗涤, 并且然后在一周内 在35℃下在己烷-EtOAc-EtOH (1mL-3mL-0.5mL) 中搅拌。通过过滤收集固体产物, 用冰冷的己烷-EtOAc (约1:1) 洗涤并在真空中干燥。获得呈浅米色固体的化合物N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺 (I-1): 287.1mg (62%产率); ^1H NMR (400MHz, 氯仿- d) δ 12.04 (s, 1H), 11.10 (v br s, 1H), 8.90 (d, $J=4.9\text{Hz}$, 2H), 8.49 (s, 1H), 8.16 (s, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.23 (dd, $J=4.9, 4.9\text{Hz}$, 1H), 4.34 (tt, $J=12.0, 3.9\text{Hz}$, 1H), 3.56 (q, $J=7.0\text{Hz}$, 2H), 3.37 (tt, $J=10.8, 4.2\text{Hz}$, 1H), 2.33-2.29 (m, 2H), 2.25-2.20 (m, 2H), 2.00-1.89 (m, 2H), 1.51-1.41 (m, 2H), 1.22 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 3H); LRMS (M+H) m/z 465.4。

[0328] 实施例12

[0329] N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑

[0330] -4-基)噻唑-4-甲酰胺 (2R,3R)-2,3-二羟基琥珀酸

[0331] (I-4; I-1的酒石酸盐/共晶体)



[0333] 将N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺 (I-1, 1.10g, 2.37mmol) 和(L)-酒石酸 (177.9mg, 1.19mmol) 的 CH_2Cl_2 -MeOH (12mL-1mL) 溶液在35℃下搅拌18小时。再添加12mL的 CH_2Cl_2 , 并且再继续搅拌5小时。在冷却至室温之后, 通过过滤收集沉淀物, 用冰冷的 CH_2Cl_2 洗涤, 并且在真空中干燥。获得呈淡

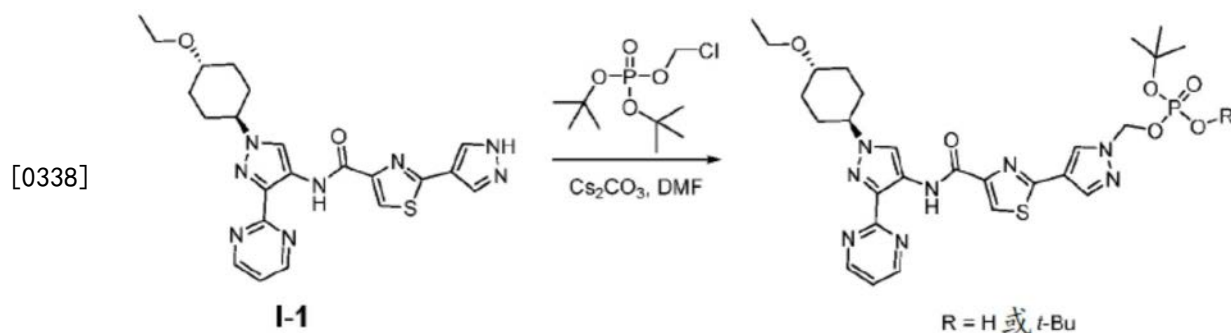
黄色固体的产物:702.7mg; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.41 (br s, 1H), 12.68 (br s, 2H), 11.93 (s, 1H), 8.98 (d, $J=4.9\text{Hz}$, 2H), 8.52 (v br s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.13 (v br s, 1H), 7.49 (dd, $J=4.9, 4.9\text{Hz}$, 1H), 5.08 (br s, 2H), 4.39-4.31 (m, 3H), 3.50 (q, $J=7.0\text{Hz}$, 2H), 3.41-3.31 (m, 与 H_2O 重叠, 1H), 2.13-2.06 (m, 4H), 1.96-1.86 (m, 2H), 1.41-1.32 (m, 2H), 1.12 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 3H); ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ 173.14, 161.27, 160.61, 157.55, 157.31, 149.07, 135.61, 132.61, 123.08, 121.86, 120.21, 119.46, 115.64, 75.64, 72.13, 62.58, 60.34, 30.60, 30.50, 15.67; LRMS (M+H) m/z 465.5。

[0334] 针对滤液:在去除溶剂之后,将材料重新溶解于 CH_2Cl_2 -MeOH (12mL-1mL) 中,并且添加另外的(L)-酒石酸 (177.9mg, 1.19mmol)。经过类似的反应和后处理程序之后,获得呈浅黄色固体的另一批产物:280.9mg,与第1批具有相同的 ^1H NMR。

[0335] 合并总计:983.6mg, 68%产率。

[0336] 实施例13

[0337] ((4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基)磷酸二叔丁酯((4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基)氢磷酸叔丁酯



[0339] 将 Cs_2CO_3 (495mg, 1.52mmol) 在室温下添加到N-(1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲酰胺 (I-1, 470.6mg, 1.01mmol) 的DMF (5mL) 溶液中。在10分钟之后,添加(氯甲基)磷酸二叔丁酯 (524mg, 2.03mmol)。在22小时之后,LC-MS上的主峰为所需的产物 (m/z 687.7 (M+H)), 剩下<5%的化合物I-1。在冰浴中冷却的情况下,通过逐滴添加水 (60mL) 将反应淬灭,并且在室温下继续搅拌。在3小时之后,将产物用 CH_2Cl_2 (50mL $\times$ 2) 萃取。将合并的有机层干燥 (Na_2SO_4), 过滤,并且在真空中去除溶剂。获得浅棕色油状物,并且似乎主要是单- $t\text{Bu}$ 产物:635mg; ^1H NMR (400MHz, 氯仿- d) δ 11.97 (s, 1H), 8.88 (d, $J=4.9\text{Hz}$, 2H), 8.01-8.00 (m, 3H), 7.97 (s, 1H), 7.25 (dd, $J=4.9, 4.9\text{Hz}$, 1H), 5.96 (d, $J=12.1\text{Hz}$, 2H), 4.32 (tt, $J=11.8, 3.9\text{Hz}$, 1H), 3.57 (q, $J=7.0\text{Hz}$, 2H), 3.37 (tt, $J=10.7, 4.2\text{Hz}$, 1H), 2.33-2.30 (m, 2H), 2.25-2.21 (m, 2H), 1.99-1.89 (m, 2H), 1.45 (s, 部分重叠, 9H), 1.51-1.36 (m, 部分重叠, 2H), 1.23 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 3H); ^{31}P NMR (162MHz, 氯仿- d) δ -5.03; LRMS (M+H) m/z 631.6。

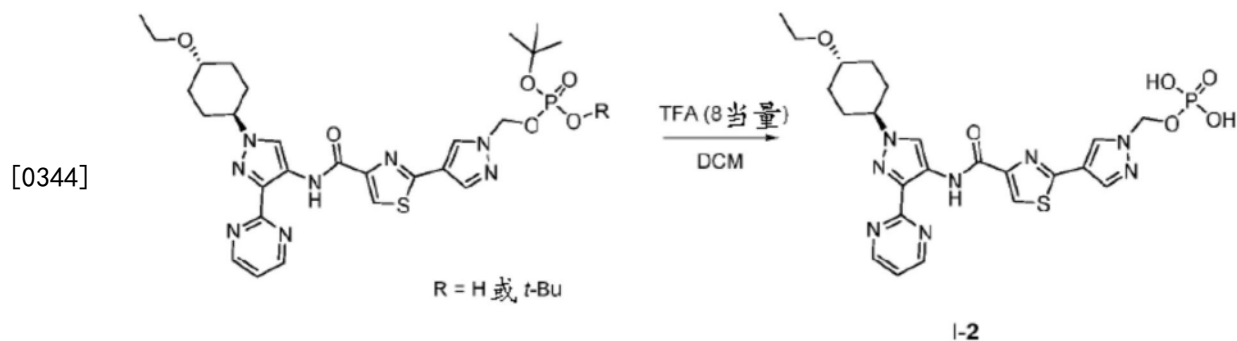
[0340] 用1N HCl (水溶液) 将水层调节至pH 2,并且收集沉淀物,将其用 H_2O 进一步洗涤以得到55.3mg的亮黄色固体,通过LCMS显示其主要是酸。

[0341] 通过具有类似后处理程序的不同反应,从有机层获得二- $t\text{Bu}$ 产物: ^1H NMR (400MHz, 氯仿- d) δ 12.08 (s, 1H), 8.96 (d, $J=4.9\text{Hz}$, 2H), 8.47 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.08

(s, 1H), 7.25 (dd, J=4.9, 4.9Hz, 1H), 5.96 (d, J=13.2Hz, 2H), 4.34 (tt, J=11.6, 3.8Hz, 1H), 3.56 (q, J=7.0Hz, 2H), 3.37 (tt, J=10.4, 4.5Hz, 1H), 2.33-2.30 (m, 2H), 2.24-2.20 (m, 2H), 2.00-1.89 (m, 4H), 1.50-1.41 (m, 部分重叠, 2H), 1.44 (s, 部分重叠, 18H), 1.22 (t, J=7.0Hz, 3H); LRMS (M+H)⁺m/z 687.7。

[0342] 实施例14

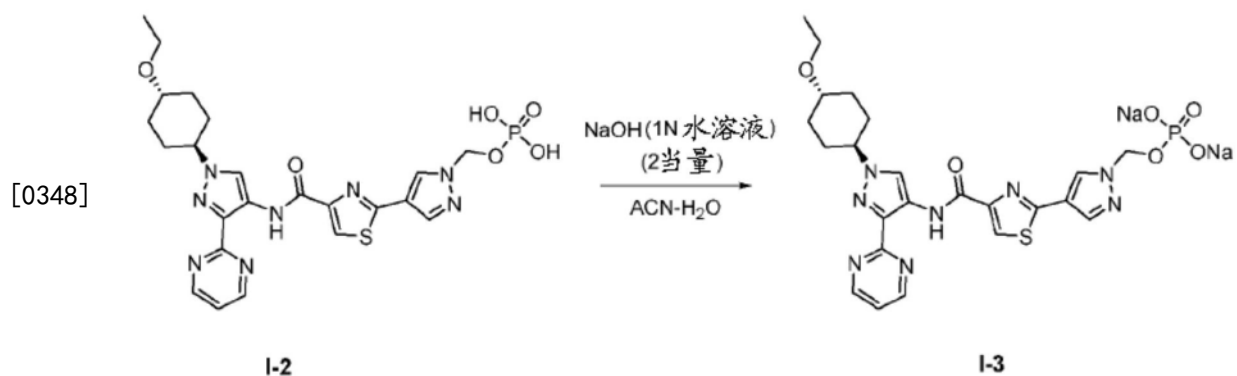
[0343] (4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基二氢磷酸酯(I-2)



[0345] 将三氟乙酸(TFA) (0.613mL, 8mmol) 添加到((4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基)氢磷酸叔丁酯(635mg, 1mmol)的CH₂Cl₂ (7mL) 溶液中, 在冰浴中冷却, 并且在室温下继续搅拌。在2小时之后, LC-MS指示反应完成。在真空中去除挥发物, 并且获得浅棕色油状物。将粗产物在35℃下悬浮在丙酮-H₂O (10:1, 12mL) 中15小时。通过过滤收集固体, 用丙酮洗涤, 并且在室温下进一步悬浮在CH₂Cl₂ (5mL) 中1小时。通过过滤收集沉淀物, 用CH₂Cl₂洗涤, 并且在真空中干燥。获得呈浅黄色固体的化合物(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基二氢磷酸酯(I-2): 277.6mg (52%产率); ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 11.97 (s, 1H), 11.62 (v br s, 1H), 9.02 (d, J=4.9Hz, 2H), 8.63 (d, J=0.8Hz, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.20 (d, J=0.8Hz, 1H), 7.46 (dd, J=4.9, 4.9Hz, 1H), 5.92 (d, J=11.2Hz, 2H), 4.35 (tt, J=11.5, 3.7Hz, 1H), 3.50 (q, J=7.0Hz, 2H), 3.37 (tt, J=10.7, 3.8Hz, 1H), 2.13-2.07 (m, 4H), 1.96-1.85 (m, 2H), 1.41-1.31 (m, 2H), 1.12 (t, J=7.0Hz, 3H); ³¹P NMR (162MHz, DMSO-d₆) δ -2.17; LRMS (M+H)⁺m/z 575.5。

[0346] 实施例15

[0347] (4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基磷酸钠(I-3)

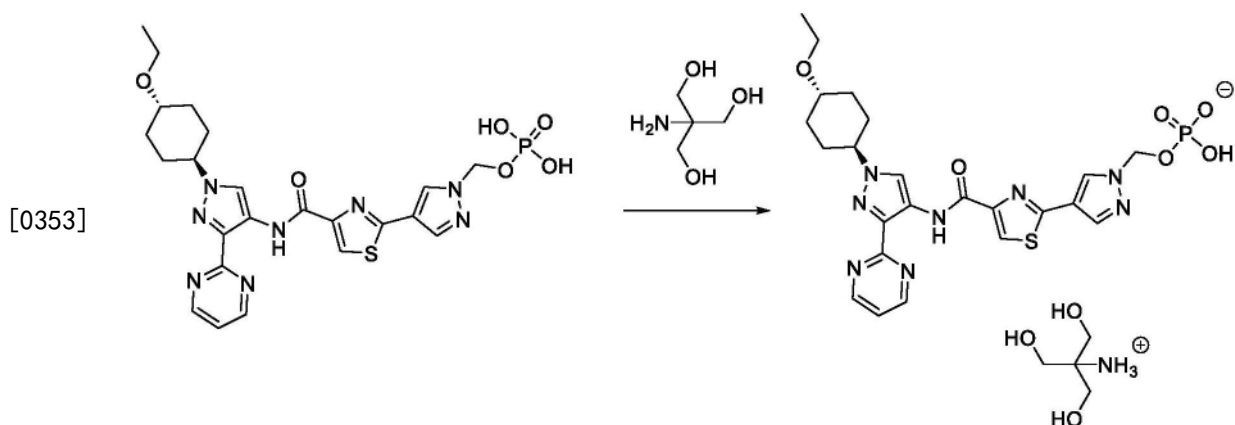


[0349] 将1N NaOH溶液(0.9mL, 0.9mmol)逐滴添加到(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基二氢磷酸酯(I-2, 258.5mg, 0.45mmol)的CH₃CN(2mL)和H₂O(2mL)悬浮液中, 在冰浴中冷却, 直至获得pH=8。在室温下再继续搅拌10分钟, 并且通过冻干去除溶剂。获得呈奶油色固体的化合物(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基磷酸钠(I-3): 278mg (99%产率); ¹H NMR (400MHz, 氧化氘) δ8.63 (d, J=5.0Hz, 2H), 8.23 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.27 (dd, J=5.0, 5.0Hz, 1H), 5.74 (d, J=6.8Hz, 2H), 4.21 (br t, J=12.1Hz, 1H), 3.73 (q, J=7.1Hz, 2H), 3.69-3.59 (m, 1H), 2.31-2.23 (m, 4H), 1.93-1.84 (m, 2H), 1.53-1.44 (m, 2H), 1.25 (t, J=7.1Hz, 3H); ³¹P NMR (162MHz, 氧化氘) δ2.10; LRMS (M+H)⁺m/z 575.4。

[0350] 实施例16

[0351] 1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-胺盐(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-

[0352] 基)甲基氢磷酸酯(I-5)



[0354] 向(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基二氢磷酸酯(I-2, 25mg, 0.0435mmol)的i-PrOH-H₂O(0.2mL-0.2mL)悬浮液中添加2-氨基-2-(羟甲基)丙烷-1,3-二醇(5.4mg, 0.044mmol), 并且将稀悬浮液在30℃下搅拌过夜。在冷却至室温之后, 添加额外的i-PrOH(0.2mL, 然后达到0.5mL), 并且混合物保持浑浊, 没有自由流动的沉淀物。在减压下通过旋转蒸发去除大部分有机溶剂之后, 将混合物重新悬浮在i-PrOH-ACN-H₂O中, 直至出现白色固体。在过滤之后, 将收集的(吸湿性)固体溶解在水中, 并且在真空中去除溶剂。获得呈灰白色固体的标题化合物1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-胺盐(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基环己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)氨基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基氢磷酸酯(I-5): 15.2mg (50%产率); ¹H NMR (400MHz, 氧化氘) δ8.45 (d, J=4.9Hz, 2H), 8.01 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.13 (dd, J=4.9, 4.9Hz, 1H), 5.68 (d, J=7.9Hz, 2H), 4.11 (br t, J=12.2Hz, 1H), 3.72-3.67 (m, 8H), 3.58 (tt, J=11.1, 3.9Hz, 1H), 2.28-2.25 (m, 2H), 2.20-2.17 (m, 2H), 1.86-1.77 (m, 2H), 1.49-1.40 (m, 2H), 1.23 (t, J=7.0Hz, 3H); ³¹P NMR (162MHz, 氧化氘) δ0.18; LRMS (M+H)⁺m/z 576.1。

[0355] 实施例17

[0356] LPS诱导的IL23p19在THP-1细胞中(用IFN γ 引发)的测定

[0357] 材料和设备

[0358] THP-1细胞(ATCC,目录号TIB-202),二甲亚砜(DMSO)(Sigma-Aldrich,目录号D2650),RPMI 1640(Cellgro,目录号10-040-CM),胎牛血清(Sigma,目录号F4135),来自牛血清的白蛋白(BSA)(Sigma-Aldrich,目录号A7906),LPS(血清型K-235,Sigma,产品编号L2143),IFN γ (Peprotech,目录号300-02),捕获抗体:人IL-23p19 ELISA(e-Bioscience,目录号14-7238-85),检测抗体:原代小鼠生物素化抗人IL-12(p40/p70)(e-Bioscience,目录号13-7129-85),第二HRP缀合的链霉亲和素(R&D Systems,目录号DY998),1x PBST洗涤缓冲液(PBS-Tween片剂)(VWR International,目录号80058-558),ELISA封闭缓冲液(具有1%BSA的PBS),ELISA稀释缓冲液(具有1%BSA的PBS),384孔平底、MaxiSorp黑色免疫板(Thermo Scientific,目录号12-565-346),384孔平底、白色组织培养板(Thermo Scientific,目录号12-565-343),超级信号ELISA微小化学发光底物(Thermo Scientific,目录号37070),Cell Titer Glo试剂(Promega,目录号G7573),阳性对照、IKK2VI抑制剂(Calbiochem,目录号401483),AquaMax 4000洗板机(Molecular Devices),光度计,Wallac Victor2 1420多标签计数器。

[0359] 方法

[0360] THP-1细胞刺激:

[0361] 在第1天,在具有10%FBS的RPMI培养基中,在384孔板中接种50K/孔THP-1细胞并用IFN γ (50ng/mL)引发约18小时。在第2天,将化合物从5mM以3倍稀释在DMSO中连续地稀释,然后在具有10%FBS的RPMI培养基中以1:125进行稀释。在384孔组织培养板中,将50 μ L/孔2x化合物一式两份添加至50 μ L/孔THP-1细胞(用IFN γ 引发)中。将细胞与化合物在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂下预孵育1小时,然后添加10 μ L/孔11x LPS以得到1 μ g/mL LPS的最终浓度。第3天,在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂下刺激18小时之后,将测定板离心并收获70 μ L/孔上清液。通过夹心ELISA测量70 μ L/孔上清液中的IL-23p19蛋白,并且向剩余的细胞中添加25 μ L/孔的Cell Titer Glo试剂以测量化合物毒性。

[0362] 人IL-23p19夹心ELISA:

[0363] 将Maxisorp免疫ELISA板在室温下用在PBS中的25 μ L/孔的抗IL-23p19捕获抗体(2.5 μ g/mL)预包被过夜。在用1x PBST洗涤之后,在室温下,将板使用在PBS中的100 μ L/孔的1%BSA封闭2小时。将板用1x PBST洗涤三次,并且添加70 μ L/孔上清液。将板在室温下伴随振荡孵育2小时,并用1x PBST洗涤三次。添加在具有1%BSA的PBS中的25 μ L/孔的生物素标记的抗IL-12(p40/p70)检测抗体(100ng/mL),并且将板在室温下伴随振荡孵育2小时。在用1x PBST洗涤三次之后,添加在具有1%BSA的PBS中的25 μ L/孔的链霉亲和素-HRP(1:200),并且将板在室温下伴随振荡孵育20分钟。将板用1xPBST洗涤三次,并且添加25 μ L/孔的超级信号ELISA微小化学发光底物。用光度计读取板,并将化学发光值输入Athena(Rigel)进行曲线拟合、EC₅₀计算和数据库存储。将结果示出于表1中。

[0364] 实施例18

[0365] 使用DC细胞进行化合物筛选

[0366] 材料

[0367] 人PBMC细胞(A11 Cells,目录号PB002)

[0368] 含有10%FBS的RPMI生长培养基

- [0369] IFN γ (Peprotech, 目录号300-02)
- [0370] GMCSF (Peprotech, 目录号300-03) 和IL4 (Peprotech 目录号200-04)
- [0371] 白色透明底96孔板 (Fisher, 目录号07-200-587, Corning#3903)
- [0372] LPS (制成在PBS中的2.5mg/ml储备液), 来自Sigma-Aldrich (目录号L2018-5MG)
- [0373] Cell Titer Glo试剂 (Promega, 目录号G7573)
- [0374] 阳性对照、IKK2VI抑制剂 (Calbiochem, 目录号401483)
- [0375] 方案
- [0376] 1. PBMC至DC细胞的分化:
- [0377] 将从供货商获得的人PBMC细胞 (4亿个) 转移至含有15ml RPMI培养基 (10%FBS) 的T-175烧瓶中并在37°C下孵育2小时。在2小时之后, 小心吸出包含悬浮细胞的培养基, 并且添加含有GMCSF (100ng/ml) 和IL4 (20ng/ml) 的12ml新鲜RPMI培养基 (10%FBS), 并且将烧瓶在37°C孵育箱中保存7天。
- [0378] 在3天之后, 将新鲜GMCSF (100ng/ml) 和IL4 (20ng/ml) 添加至烧瓶中并继续孵育。在7天之后, 通过旋转 (1200rpm/5min) 和吸出培养基来收获完全分化的细胞。将细胞悬浮在含有50ng/ml IFN γ (1000U/ml) 的新鲜RPMI培养基 (10%FBS) 中, 然后铺板 (50K/孔, 在100 μ l中) 在白色透明底96孔板中并放置在37°C孵育箱中持续24小时。
- [0379] 2. 化合物的添加:
- [0380] 在孵育24小时之后, 将含有每孔2X浓缩的测试化合物的100 μ l的RPMI培养基添加至上述细胞培养基 (最终浓度变为1X), 并且在用LPS刺激之前将板在37°C下预孵育1小时。
- [0381] 在化合物预孵育1小时之后, 添加在RPMI培养基中每孔20X浓缩的LPS溶液10 μ l以得到1 μ g/ml的最终浓度。将混合物振荡并且将板在37°C下再孵育18小时。
- [0382] 从每个孔小心地收获155 μ l上清液 (不用尖端接触孔的底部), 并向剩下的50 μ l/孔的细胞培养板中添加50 μ l的Cell Titer Glo试剂。将混合物在振荡器上孵育1-2分钟, 读取板的发光强度以确定化合物细胞毒性。将上述收集的细胞培养物上清液用于进行如下文描述的IL23 ELISA (65 μ l-上清液) 和IL10 ELISA (90 μ l-上清液)。
- [0383] 实施例19
- [0384] 人IL-23 (p19/p40) ELISA方案 (e-Bioscience)
- [0385] 材料:
- [0386] 96孔高结合不透明白色板 (来自Pierce, 目录号15042);
- [0387] 1X PBS; 1X TBST洗涤缓冲液;
- [0388] 封闭溶液: 在PBS中的0.5%酪蛋白 (来自BDH, 目录号440203H);
- [0389] 稀释溶液: 在PBS中的1% BSA (10% BSA, 来自Fisher, 目录号37525);
- [0390] 捕获抗体: 大鼠抗人IL-23 (p19) (e-Bioscience, 目录号14-7238-85);
- [0391] 检测抗体: 原代小鼠生物素化的抗人IL-12 (p40/p70) (e-bioscience, 目录号13-7129-85);
- [0392] 第二HRP缀合的链霉亲和素 (R&D Systems, 目录号DY998);
- [0393] r人-IL-23 (e-bioscience, 目录号34-8239) (推荐的起始浓度=5ng/ml, 在RPMI细胞培养基中);
- [0394] 细胞培养上清液 (65 μ l, 来自用IFN γ 引发 (50ng/ml-1000U/ml) 并用0.01% SAC刺

激的THP-1细胞)；

[0395] 超级信号ELISA微小化学发光底物[Pierce,目录号37069]。

[0396] 包被板：

[0397] 向添加50 μ l的抗IL23 (p19) 的10.5ml PBS中添加捕获抗体 (2.5 μ g/ml)。将混合物充分混合,并将100 μ l的包被溶液添加至来自Pierce的96孔白色板的每个孔中。将孔覆盖并在4℃下孵育过夜。

[0398] 封闭板：

[0399] 将抗IL23 (p19) -抗体包被的板用TBST洗涤2X (用洗板机),并使用200 μ l的0.5%酪蛋白在室温下伴随振荡封闭1.5-2小时。

[0400] 添加上清液并检测：

[0401] 将板使用TBST洗涤2X,并将上清液 (65 μ l/孔) 转移至以上预封闭的/IL23 (p19) -抗体包被的96孔板上,并在室温下伴随振荡孵育1.5小时。

[0402] 使用TBST将板洗涤4X (洗板机),并添加从在11ml 1%BSA/PBS溶液 (1-5000稀释) 中的2 μ l生物素标记的抗IL-12 (p40/p70) 抗体制备的100 μ l/孔检测抗体溶液。将板在室温下伴随振荡孵育1小时。

[0403] 再次,将板用TBST洗涤4X,并添加100 μ l的HRP标记的链霉亲和素 (R&D Systems) 溶液 (10 μ l/10ml 1%BSA溶液),并将板在室温下伴随振荡再孵育45分钟。

[0404] 在45分钟之后,将板用TBST洗涤4X,并添加来自Pierce的100 μ l/孔超级信号ELISA微小化学发光底物 (3.5ml A+3.5ml B+3.5ml MQ水)。将板振荡1-2分钟,然后在读板器上读数。

[0405] 实施例20

[0406] IRAK4 ADP-GLO测定

[0407] 材料

[0408] IRAK4激酶 (Signalchem,I12-10G-20);0.1M DTT (Signalchem,D86-09B);MBP底物 (Signalchem,M42-51N);ADP Glo (Promega,V9101);1M MgCl₂ (Teknova,M03304);1M Tris-HCl pH 7.4 (Teknova,T1074);BSA (Sigma (A3059));蒸馏H₂O

[0409] 设备

[0410] Wallac Victor2 1420多标签计数器

[0411] 方法

[0412] 将ADP-GloTM试剂在环境温度下解冻。通过混合激酶检测缓冲液与冻干的激酶检测底物来制备激酶检测试剂并置于一侧。

[0413] 在具有最终pH 7.4的蒸馏H₂O中用最终浓度100mM MgCl₂、200mM Tris-HCl和0.5mg/ml的BSA制备储备液体积的5X反应激酶缓冲液。将2X工作储备液体积的反应激酶缓冲液制备为含有100 μ M DTT的最终浓度。

[0414] 将IRAK4酶的组分在冰上解冻。以5.0ng/ μ l制备在1X激酶反应缓冲液 (从2X缓冲液稀释) 中的稀释IRAK4。在1X激酶反应缓冲液 (从2X缓冲液稀释) 中制备250 μ M工作储备液ATP测定溶液。

[0415] 将化合物在DMSO中从250 μ M以4倍连续稀释度稀释8点。然后在96孔板中在2X反应缓冲液中以1:5稀释。将1.0 μ l转移至384孔板中,一式两份。添加2 μ l的稀释活性IRAK4 (不添

加至柱1中),并且将2X反应缓冲液添加至柱1中。添加1 μ l的1mg/ml MBP储备液。应注意:可以将MBP与等体积的ATP合并,并且然后以2 μ l/孔添加。最终反应体积为5 μ l。

[0416] 将板离心,并且将反应混合物在室温下孵育60分钟或在30℃下孵育30分钟。

[0417] 中止反应,并且通过添加5 μ l的ADP-Glo™试剂来耗尽剩余的ATP。将384孔板离心,并且然后将反应混合物在环境温度下再孵育40分钟。

[0418] 添加10 μ l的激酶检测试剂。将板离心,并且然后将反应混合物在环境温度下再孵育30分钟。

[0419] 使用WALLAC读板器(发光0.1s)读取384孔反应板。

[0420] 实施例21

[0421] IRAK1 ADAPTA测定

[0422] 材料

[0423] • 条形码康宁低体积白色384孔板(Corning目录号4512)

[0424] • 测试化合物:在孔中在1%DMSO(最终)中筛选测试化合物。对于10点滴定,3倍连续稀释,10 μ M。

[0425] • 底物/激酶混合物:在50mM HEPES pH 7.5、0.01%BRIJ-35、10mM MgCl₂、1mM EGTA中制备2X IRAK1/组蛋白H3(1-20)肽混合物。

[0426] • ATP溶液:将所有的ATP溶液在水中稀释至4X工作浓度。

[0427] • 先前使用放射性测定确定ATP K_m表观,没有底物可用时除外,在这种情况下进行Adapta测定。

[0428] • 检测混合物:在TR-FRET稀释缓冲液中制备检测混合物。检测混合物由EDTA(30mM)、Eu-抗ADP抗体(6nM)和ADP示踪剂组成。检测混合物含有EC₆₀浓度的示踪剂,用于5-150 μ M ATP。

[0429] IRAK1方法

[0430] 1.100nL-100X测试化合物,在100%DMSO中

[0431] 2.2.4 μ L-30mM HEPES

[0432] 3.2.5 μ L-4X ATP溶液

[0433] 4.5 μ L-2X底物/激酶混合物

[0434] 最终10 μ L激酶反应由在32.5mM HEPES pH 7.5、0.005%BRIJ-35、5mM MgCl₂、0.5mM EGTA中的3.17-42ng IRAK1和100 μ M组蛋白H3(1-20)组成。

[0435] 5.30秒板振荡

[0436] 6.在1000x g下1分钟离心

[0437] 7.在室温下60分钟激酶反应孵育

[0438] 8.5 μ L-检测混合物

[0439] 9.30秒板振荡

[0440] 10.在1000x g下1分钟离心

[0441] 11.在室温下60分钟检测混合物平衡

[0442] 12.在荧光读板器上读取并分析数据

[0443] 实施例22

[0444] IRAK4 Z' -电介质测定

[0445] 材料

[0446] • 条形码Corning低体积NBS黑色384孔板 (Corning目录号4514)

[0447] • 测试化合物:在孔中在1%DMSO(最终)中筛选测试化合物。对于10点滴定,从10 μ M进行3倍连续稀释。

[0448] • 肽/激酶混合物:在50mM HEPES pH 7.5、0.01%BRIJ-35、10mM MnCl₂、1mM EGTA、2mM DTT、0.02%NaN₃中制备2X IRAK4/Ser/Thr 07混合物。

[0449] • ATP溶液:在激酶缓冲液(50mM HEPES pH 7.5、0.01%BRIJ-35、10mM MgCl₂、1mM EGTA)中将所有ATP溶液稀释至4X工作浓度。先前使用Z'-LYTE®测定确定ATP K_m表现。

[0450] • 显影试剂溶液:在显影缓冲液中以1:45000稀释显影试剂。

[0451] 一般方法

[0452] 1.100nL-100X测试化合物,在100%DMSO中

[0453] 2.2.4 μ L-激酶缓冲液

[0454] 3.5 μ L-2X肽/激酶混合物

[0455] 4.2.5 μ L-4X ATP溶液

[0456] 最终10 μ L激酶反应由在50mM HEPES pH 7.5、0.01%BRIJ-35、5mM MgCl₂、5mM MnCl₂、1mM EGTA、1mM DTT、0.01%NaN₃中的3.45-63.6ng IRAK4和2 μ M Ser/Thr 07组成。

[0457] 5.30秒板振荡

[0458] 6.在室温下60分钟激酶反应孵育

[0459] 7.5 μ L-显影试剂溶液

[0460] 8.30秒板振荡

[0461] 9.在室温下60分钟显影反应孵育

[0462] 10.在荧光读板器上读取并分析数据

[0463] 将来自所述测定的结果示于表1中。

[0464] 表1.体外结果。

[0465]

	IL23-p19 ELISA, THP1-IFN γ , LPS, 10pt EC ₅₀ (μ M)	IL23-p19 ELISA, 树 突状细胞, LPS, 10pt EC ₅₀ (μ M)	IRAK4 ADP-Glo 激酶, 8pt EC ₅₀ (μ M)	IRAK1 ADP-Glo 激酶, 8pt EC ₅₀ (μ M)	IRAK4 Z'-电介质 测定 EC ₅₀ (μ M)	IRAK1 ADAPTA 测定 EC ₅₀ (μ M)
I-1	0.008	0.18	0.007	0.0081	0.006	0.004
I-2	0.011		0.0464	3.909		
I-3	0.0544		0.1284	0.0618		
I-4	0.0025		0.0188	0.0281		

[0466] 实施例23

[0467] I-1的血浆蛋白结合

[0468] 实验程序

[0469] 使用快速平衡透析 (RED) 装置通过平衡透析进行脑和血浆药物结合。简言之,将含有药物 (5 μ M) 的300 μ L血浆或脑匀浆 (1个脑/3个缓冲液) 针对500 μ L缓冲盐水进行平衡 (4-18小时)。在孵育之后,通过LC-MS/MS确定血浆/脑匀浆和缓冲液中药物的浓度。

[0470] 回收值

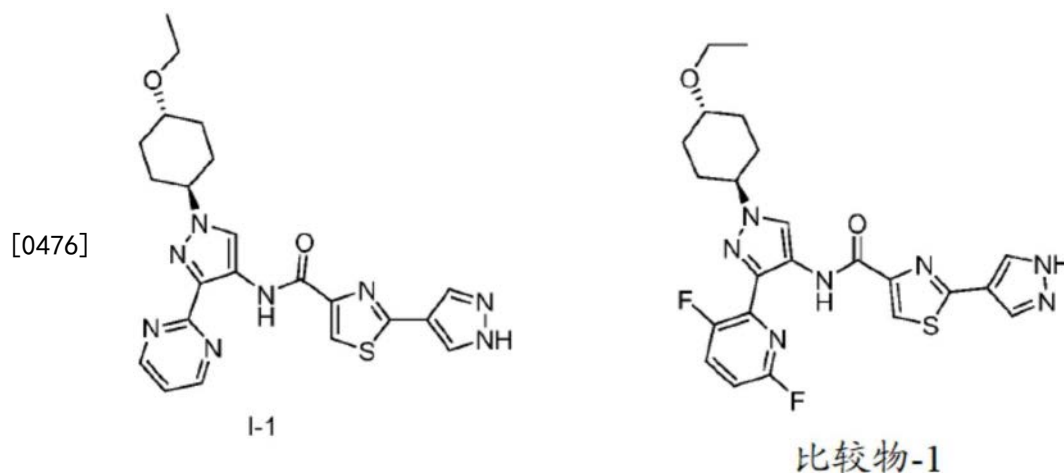
[0471] 通过确定孵育之后50 μ L血浆和50 μ L缓冲液中的药物总量并将此值与未孵育的50 μ L血浆样品中的药物量进行比较来计算回收率。对于蛋白质结合测定,将药物添加到血浆中,并且将此血浆添加到透析装置的一侧,同时将缓冲液添加到另一侧。在提交平衡装置的血浆室之后,将50 μ L等分试样的血浆与50 μ L缓冲液混合,并且然后用终止试剂淬灭。

[0472] 药物回收率=(药物缓冲液+药物血浆)/(初始血浆中的药物)

[0473] 较低回收率可能是由于与设备结合的损失的血浆中药物的水解(即,酰胺水解)所致。

[0474] 游离药物

[0475] 血浆和脑中较高的游离药物允许更多的药物与靶标相互作用。



[0477] 从游离药物的角度来看,化合物I-1在大鼠、狗、猴和人类蛋白质中的游离度为比较物-1的大约6倍。

[0478] 由于水解,小鼠回收率较低,这与小鼠的其他类似试验相当。

[0479] 表2. 血浆蛋白结合结果

	比较物-1		I-1		
	结合%	回收(%)	结合%	回收(%)	
[0480]	狗	99.0	77.2	93.4	70.7
	大鼠	99.3	68.3	96.3	73.9
	人类	99.6	75.5	97.0	77.1
	猴	99.7	71.6	98.3	104*
	小鼠	97.8	10	91.5	23.6

[0481] *由于实验误差,结果似乎大于100%。

[0482] 与比较物-1相比,两轮大鼠脑匀浆与I-1结合。I-1在大鼠脑中的游离度为比较物-1的大约10倍。

[0483] 比较物-1 0.102%和0.114%

[0484] I-1 1.06%和1.43%

[0485] 实施例24

[0486] 全血测定

[0487] 化合物I-1在体外测定中表现出与比较物-1类似的生化效力(比较物-1的结构参

见实施例23),但I-1在细胞中和在全血存在下进行的测定中显著更有效力。

[0488] 表3.体外测定

[0489]	化合物	IRAK4 IC ₅₀ (μM)		
		ADP-Glo (n ≥ 3)	Z'LYTE (n = 1)	Adapta (n = 1)
	I-1	0.007 ± 0.004	0.006	0.004
	比较物-1	0.006 ± 0.006	0.015	0.014

[0490] 表4.全血测定中的游离级分

[0491]	化合物	大鼠	人类
	I-1	3.7%	3.0%
	比较物-1	0.7%	0.4%

[0492] I-1在全血测定中的更大效力为由血浆游离级分驱动的。并且游离级分百分比在物种之间为一致的。

[0493] 为了评价化合物I-1对于TLR和IL-1R依赖性细胞因子释放的作用,在化合物I-1或比较物-1存在下分离和刺激多种细胞类型。结果在表5中提供。

[0494] 表5.细胞测定

[0495]	化合物	细胞测定 IC ₅₀ (μM)			
		IL-23 (LPS, THP-1)	TNFα (PBMC, 瑞 隆莫德)	TNFα (DC, 嘎德莫特)	平均值
	I-1	0.008	0.003	0.005	0.005
	比较物-1	0.063	0.015	0.019	0.032

[0496] 以上细胞测定中获得的结果表明,化合物I-1为多种细胞类型中TLR和IL-1R依赖性细胞因子产生的有效抑制剂(表5)。化合物I-1抑制人THP-1细胞进行的TLR4诱导的IL-23和TNF-α产生。在人原代树突状细胞(DC)中,化合物I-1阻断TLR4诱导的IL-23产生,TLR7和TLR2诱导的TNF-α产生。化合物I-1还为人PBMC中TLR7依赖性细胞因子产生和小鼠巨噬细胞中TLR4依赖性细胞因子产生的有效抑制剂。另外,化合物I-1有效地抑制原代人内皮细胞中IL-1β诱导的细胞因子IL-6产生。化合物I-1通过抑制IRAK1/4激酶活性,广泛地抑制多种原代人细胞类型中TLR和IL-1R依赖性促炎细胞因子产生。此外,化合物I-1为多种细胞类型中TLR和IL-1R依赖性信号传导的更有效抑制剂。

[0497] 测定方案:THP-1细胞中TLR4和TLR2诱导的细胞因子。

[0498] 材料

[0499] • 二甲亚砜(DMSO) (Sigma-Aldrich,目录号D2650)

[0500] • 胎牛血清(Sigma,目录号F4135)

[0501] • RPMI 1640(Cellgro,目录号10-040-CM)

[0502] • THP-1(ATCC,目录号TIB-202)

[0503] • 重组人IFN-γ (Peprotech,目录号AF-300-02)

[0504] • 来自大肠杆菌K-235的脂多糖(LPS) (Sigma-Aldrich,目录号L2018)

- [0505] • LTA (InvivoGen, 目录号tlrl-pslta)
- [0506] • 抗人IL-23p19 (eBioscience, 目录号14-7238-85)
- [0507] • 生物素抗人IL-12 (p40/70) (eBioscience, 目录号13-7129-85)
- [0508] • 牛血清白蛋白 (BSA) (Sigma-Aldrich, 目录号A7906)
- [0509] • 1x PBST洗涤缓冲液 (PBS-Tween片剂) (VWR International, 目录号80058-558)
- [0510] • ELISA封闭缓冲液 (具有2% BSA的PBS)
- [0511] • ELISA稀释缓冲液 (在PBST中的0.2% BSA)
- [0512] • 人TNF- α DuoSet ELISA试剂盒 (R&D Systems, 目录号DY210)
- [0513] • **CellTiter-Glo®** 发光细胞活力测定 (Promega, 目录号G7571)
- [0514] • 96孔平底白色组织培养板, 具有透明底 (Costar 3903)
- [0515] • 96孔平底MaxiSorp黑色免疫板 (Thermo Scientific, 目录号12-566-24)
- [0516] • 超级信号ELISA微小化学发光底物 (Thermo Scientific, 目录号37070)
- [0517] 设备
- [0518] • Scan Washer 400洗板机 (Molecular Devices)
- [0519] • 光度计, Wallac Victor2 1420多标签计数器

[0520] 方法

[0521] 将THP-1细胞 (100K, 在100 μ L/孔中) 在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂下用25ng/mL IFN- γ 引发18小时。将化合物从2.5mM以4倍稀释在DMSO中连续地稀释, 然后在具有10% FBS的RPMI 1640完全培养基中以1:125进行稀释。将100 μ L/孔2x化合物在96孔平底白色组织培养板中与100 μ L/孔IFN- γ 引发的THP-1混合。将细胞与化合物在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂下预孵育1小时, 然后添加10 μ L/孔21x LPS以得到1 μ g/mL最终浓度的LPS。将所述细胞在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂下用LPS刺激18小时。在离心之后, 通过使用多通道移液管提取100 μ L/孔的上清液。通过夹心ELISA测量上清液中的IL-23p19或TNF- α 蛋白。使用剩余的IFN- γ 引发的THP-1细胞沉淀物进行细胞活力测定, 以确定化合物细胞毒性。用光度计读取板, 并将化学发光值输入Athena (Rigel) 进行曲线拟合、EC₅₀计算和数据库存储。

[0522] 将如先前所述的用IFN- γ 引发的THP1细胞在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂下用LTA (在RPMI培养基中的10 μ L/孔的20x浓LTA溶液, 得到4 μ g/mL的最终浓度) 再刺激18小时。收获上清液 (155 μ L/孔) 以测量TNF- α 。根据试剂盒方案, 使用人TNF- α DuoSet ELISA试剂盒通过ELISA定量TNF- α 。

[0523] 人IL-23p19夹心ELISA:

[0524] 将Maxisorp免疫ELISA板在室温下用在PBS中的100 μ L/孔的抗IL-23p19捕获抗体 (2.4 μ g/mL) 预包被过夜。在用1x PBST洗涤之后, 将板在室温下使用在PBS中的300 μ L/孔的1% BSA封闭2小时。将板用1x PBST洗涤三次, 并且添加100 μ L/孔上清液。将板在室温下孵育2小时, 同时振荡。将板用1x PBST洗涤三次, 并且添加在具有0.1% BSA的PBS中的100 μ L/孔的生物素抗人IL-12 (p40/70) 检测抗体 (10ng/mL)。将板在室温下孵育2小时, 同时振荡。将板用1x PBST洗涤三次, 并且添加在具有0.1% BSA的PBS中的100 μ L/孔的链霉亲和素-HRP (1:200)。将板在室温下孵育20分钟, 同时振荡。将板用1x PBST洗涤三次, 并且添加100 μ L/孔的超级信号ELISA微小化学发光底物。用光度计读取板, 并将化学发光值输入Athena (Rigel) 进行曲线拟合、EC₅₀计算和数据库存储。

- [0525] 测定方案:人外周血单核细胞(PBMC)中的TLR7诱导的TNF- α 。
- [0526] 材料
- [0527] • Corning™Costar™96孔细胞培养物处理的U形底微板(Fisher,目录号07-200-95)
- [0528] • 人PBMC细胞(ALL Cells,目录号PB002)
- [0529] • 瑞喹莫德(InvivoGen,目录号tlrl-r848)
- [0530] • 人TNF- α DuoSet ELISA试剂盒(R&D Systems,目录号DY210)
- [0531] • 重组人IFN- β (Peprotech,目录号300-02BC)
- [0532] • 具有10%FBS的RPMI
- [0533] • Axygen 96孔1.1mL无菌物(VWR International,目录号47734-788)
- [0534] 方法
- [0535] 将人外周血单核细胞(PBMC)以100,000个细胞/孔接种在100 μ l具有10%FCS的RPMI中,并且在37℃、5%CO₂下用8ng/ml的IFN- β 引发过夜。将化合物从2mM以3倍稀释在DMSO中连续地稀释,然后在具有10%FBS的RPMI 1640完全培养基(2x储备液)中以1:100进行稀释。通过添加含有2x浓缩测试化合物/孔(0.5%最终DMSO浓度)的100 μ l RPMI培养基,将PBMC在37℃、5%CO₂下与测试化合物预孵育1小时。
- [0536] 瑞喹莫德刺激:
- [0537] 将PBMC在37℃、5%CO₂下用瑞喹莫德(在RPMI培养基中的10 μ l/孔的21x浓瑞喹莫德溶液,得到0.1 μ g/ml的最终浓度)再刺激18小时。收获100 μ l上清液/孔以测量TNF- α 。根据制造商的方案,使用DuoSet ELISA试剂盒定量TNF- α 。
- [0538] 测定方案:人原代单核细胞来源的树突状细胞(DC)中的TLR诱导的细胞因子。
- [0539] 材料
- [0540] • 二甲亚砜(DMSO)(Sigma-Aldrich,目录号D2650)
- [0541] • 胎牛血清(Sigma,目录号F4135)
- [0542] • 人PBMC细胞(All Cells,目录号PB002)
- [0543] • 含有10%FBS的RPMI生长培养基
- [0544] • IFN- γ (Peprotech,目录号300-02)
- [0545] • GMCSF(Peprotech,目录号300-03)和IL4(Peprotech,目录号200-04)
- [0546] • 白色透明底96孔板(Fisher,目录号07-200-587,Corning#3903)
- [0547] • LPS(制成在PBS中的2.5mg/ml储备液),来自Sigma-Aldrich(目录号L2018-5MG)
- [0548] • 来自大肠杆菌K-235的脂多糖(LPS)(Sigma-Aldrich,目录号L2018)
- [0549] • 嘎德莫特,新的咪唑喹啉化合物(InvivoGen,目录号tlrl-gdqs)
- [0550] • 抗人IL-23p19(eBioscience,目录号14-7238-85)
- [0551] • 生物素抗人IL-12(p40/70)(eBioscience,目录号13-7129-85)
- [0552] • 牛血清白蛋白(BSA)(Sigma-Aldrich,目录号A7906)
- [0553] • 1x PBST洗涤缓冲液(PBS-Tween片剂)(VWR International,目录号80058-558)
- [0554] • ELISA封闭缓冲液(具有2%BSA的PBS)
- [0555] • ELISA稀释缓冲液(在PBST中的0.2%BSA)
- [0556] • 人TNF- α DuoSet ELISA试剂盒(R&D Systems,目录号DY210)

- [0557] • Cell Titer Glo试剂(Promega,目录号G7573)
- [0558] • 阳性对照、IKK2VI抑制剂(Calbiochem,目录号401483)
- [0559] 设备
- [0560] • Scan Washer 400洗板机(Molecular Devices)
- [0561] • 光度计,Wallac Victor2 1420多标签计数器
- [0562] 方法
- [0563] 树突状细胞的分化和IFN γ 引发:
- [0564] 使人外周血单核细胞(PBMC) (4亿个) 在37℃、5%CO₂下在含有15ml RPMI培养基(10%FBS)的T-175烧瓶中附着2小时,以捕获单核细胞。
- [0565] 在2小时之后,小心去除包含悬浮细胞的培养基,并且将含有GM-CSF(100ng/ml)和IL-4(20ng/ml)的12ml新鲜RPMI培养基(10%FBS)添加到附着的单核细胞中。使单核细胞在37℃、5%CO₂下分化7天,在3天之后,补充新鲜GM-CSF和IL-4。
- [0566] 通过离心(1200rpm/5min)收获分化的树突状细胞(DC)。在白色透明底96孔板中,将DC在37℃、5%CO₂下在100 μ l/孔的新鲜RPMI培养基(10%FBS)中以50K/孔用50ng/ml IFN- γ (1000U/ml)引发24小时。
- [0567] 化合物预孵育:
- [0568] 将化合物从2.5mM以4倍稀释在DMSO中连续地稀释,然后在具有10%FBS的RPMI 1640完全培养基中以1:125进行稀释。通过添加含有2X浓缩测试化合物/孔(0.5%最终DMSO浓度)的100 μ lRPMI培养基,将引发的DC在37℃、5%CO₂下与测试化合物预孵育1小时。
- [0569] LPS刺激:
- [0570] 将DC在37℃、5%CO₂下用LPS(在RPMI培养基中的10 μ l/孔的20x浓LPS溶液,得到1 μ g/ml的最终浓度)再刺激18小时。
- [0571] 收获上清液(155 μ l/孔)以通过ELISA测量IL-23(65 μ l上清液)。将Cell Titer Glo试剂(50 μ l/孔)添加到剩余的50 μ l/孔的细胞培养板中,在振荡器上孵育1-2分钟,并且读取板的发光强度以确定化合物细胞毒性。将化学发光值输入Athena(Rigel)进行曲线拟合、EC₅₀计算和数据库存储。
- [0572] 嘎德莫特刺激:
- [0573] 将DC在37℃、5%CO₂下用嘎德莫特(在RPMI培养基中的10 μ l/孔的20x浓嘎德莫特溶液,得到4 μ g/ml的最终浓度)再刺激18小时。收获上清液(155 μ l/孔)以测量TNF- α 。根据试剂盒方案,通过ELISA定量TNF- α 。
- [0574] 全血测定:
- [0575] 为了评估全血对于化合物I-1和比较物-1的效力的作用,评价了所述化合物对于人血液中TLR依赖性细胞因子释放的抑制潜力。将从健康志愿者新鲜抽取的外周血与测试化合物孵育,并且用LPS或嘎德莫特刺激过夜。在离心之后分离血清,并且通过ELISA测量TNF- α 和IL-6。结果在表6中示出。
- [0576] 测定方案:人血中的LPS诱导的TNF- α 。
- [0577] 材料
- [0578] • RPMI 1640(Cellgro,目录号10-040-CM)
- [0579] • 胎牛血清(Sigma,目录号F4135)

- [0580] • 来自大肠杆菌K-235的脂多糖 (Sigma-Aldrich Chemicals 目录号L2018-5MG)
- [0581] • BD Vacutainer肝素钠管 (BD 目录号4191982)
- [0582] • 96孔聚苯乙烯板 (Fisher 目录号12-565-500)
- [0583] • 二甲亚砜 (DMSO) (Sigma-Aldrich, 目录号D2650)
- [0584] • 人细胞因子磁力板:Magnetic (EMD Millipore Corp., 目录号HCYTOMAG-60K-02)
- [0585] 设备
- [0586] Luminox Flexmap 3d
- [0587] 方法
- [0588] 在含有肝素钠的Vacutainer中采集健康志愿者的全血,并且将40μl血液铺板到每个孔中。将化合物从2mM以3倍稀释在DMSO中连续地稀释,然后在具有10%FBS的培养基中以1:100进行稀释。将每孔50μL的2x化合物一式两份添加到每个孔中并孵育一小时。将10μL LPS以0.5ng/ml的最终浓度添加到每个孔中并使细胞孵育过夜。
- [0589] 将100μL的PBS添加到每个孔中并以1000RPM离心10分钟。取25μL上清液,并且在Luminox Flexmap 3d上测量TNF-α。
- [0590] 测定方案:人血中人血诱导的TNF-α中的嘎德莫特诱导的IL-6。
- [0591] 材料
- [0592] • RPMI 1640 (Cellgro, 目录号10-040-CM)
- [0593] • 胎牛血清 (Sigma, 目录号F4135)
- [0594] • 嘎德莫特 (InvivoGen 目录号tlrl-gdqs)
- [0595] • BD Vacutainer肝素钠管 (BD 目录号4191982)
- [0596] • 96孔聚苯乙烯板 (Fisher 目录号12-565-500)
- [0597] • 二甲亚砜 (DMSO) (Sigma-Aldrich, 目录号D2650)
- [0598] • 人细胞因子磁力板:IL6 Magnetic (EMD Millipore Corp. 目录号HCYTOMAG-60K-02)
- [0599] 设备
- [0600] Luminox Flexmap 3d
- [0601] 方法
- [0602] 在含有肝素钠的Vacutainer中采集健康志愿者的全血,并且将40μl血液铺板到每个孔中。将化合物从2mM以3倍稀释在DMSO中连续地稀释,然后在具有10%FBS的培养基中以1:100进行稀释。将每孔50μL的2X化合物一式两份添加到每个孔中并孵育一小时。将10μL嘎德莫特以4μg/ml的最终浓度添加到每个孔中并将细胞孵育过夜。
- [0603] 将100μL的PBS添加到每个孔中并以1000RPM离心10分钟。取25μL上清液,并且通过Luminox Flexmap 3d测量IL-6。
- [0604] 表6. 人全血测定

[0605]	化合物	人全血测定(IC ₅₀) (μM)		
		IL-6 嘎德莫特	TNFα LPS	平均值
	I-1	0.124	0.224	0.174
	比较物-1	1.400	1.399	1.400

[0606] 化合物I-1在基于细胞的测定中在阻断炎症信号传导方面表现出更大的效力,并且在人全血存在下进行测试时比比较物-1损失的效力更小。

[0607] 实施例25

[0608] 前药化合物I-3

[0609] 表7. 化合物I-3的生物利用度

[0610]	物种	化合物I-3的生物利用度(%F)
	小鼠	34
	大鼠	12
	猴	71
	狗	53

[0611] 将化合物I-3的生物利用度测量为检测到的母体化合物I-1的量,从而证明了化合物I-3在体内充当I-1的前药。

[0612] 鉴于可以应用所公开技术的原理的许多可能的实施方案,应当认识到,所示出的实施方案仅是技术的优选实施例,而不应被视为限制技术的范围。相反地,技术的范围由所附权利要求书限定。因此,我们声称我们的技术全部落入这些权利要求书的范围和精神之内。