(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113677679 A
(43)申请公布日 2021.11.19

(21)申请号 202080026691.6
(22)申请日 2020.03.24
(30)优先权数据
1904374.4 2019.03.29 GB
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.09.27
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2020/058063 2020.03.24
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/200899 EN 2020.10.08
(71)申请人 加拉帕戈斯股份有限公司
地址 比利时梅赫伦
(72)发明人 O·马莫利蒂 R·C·X·布里斯 G·J·R·纽瑟姆 M·G·巴贝尔
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 沈晓书 黄革生
(51)Int.Cl.
C07D 471/04(2006.01)
A61P 31/18(2006.01)
A61K 31/662(2006.01)

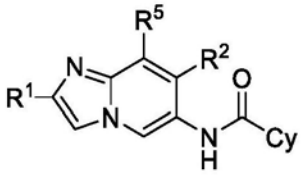
权利要求书3页 说明书113页
序列表2页

(54)发明名称

用于治疗炎性障碍的新化合物及其药物组合物

(57)摘要

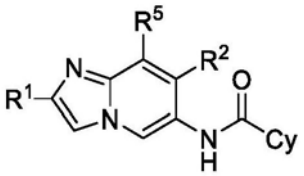
本发明公开了式I化合物，其中R^1、R^2、R^5和Cy如本文所定义。本发明涉及化合物，用于制备所述化合物的方法，包含所述化合物的药物组合物和通过施用所述化合物用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的方法。



I

CN 113677679 A

1.式I化合物：



I

其中

R^1是被一个或多个独立地选择的-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、卤素或-S(=O)$_2$-C_{1-4}烷基取代的C_{2-6}烷基；

R^2是

a)C_{1-4}烷氧基，该烷氧基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代，

b)-O-C_{3-4}环烷基，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代，或

c)-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$；

Cy是包含1或2个N原子的6元杂芳基，其被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代；

每个R^{3a}和R^{3b}独立地选自

a)H，

b)C_{1-4}烷基，该烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代，

c)C_{3-6}环烷基，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代，或

d)4-6元杂环烷基，其包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子，该杂环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代；

R^{3a}和R^{3b}与它们所连接的N原子一起可以形成4-6元单环杂环烷基；

每个R^4独立地是：

a)氧代，

b)-OH，

c)-CN，

d)卤素，

e)C_{1-4}烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，

f)C_{1-4}烷氧基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，或

g)C_{3-7}环烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代；并且

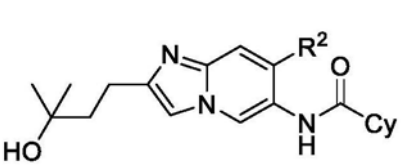
R^5选自H、卤素、-CH_3或-CF_3；

或其药学上可接受的盐或溶剂化物或其溶剂化物的盐或其代谢物。

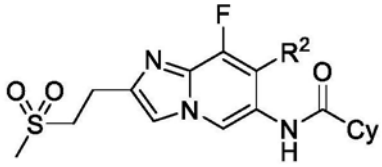
2.根据权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^1是被一个或多个独立地选择的-OH、-CN、-OCH_3、F、Cl或-S(=O)$_2CH_3$取代的C_{2-6}烷基。

3.根据权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^1是-CH_2-CH_2-C(CH_3)$_2$-OH或-CH_2-CH_2-S(=O)$_2CH_3$。

4.根据权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐，其中化合物的式IIa或IIb：



IIa



IIb。

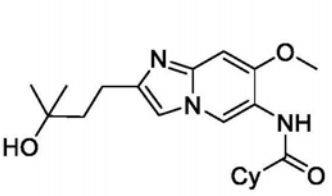
5.根据权利要求1-4任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^2是-OCH_3或-OCH_2CH_3，其各自是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代。

6.根据权利要求1-4任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^2是-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$。

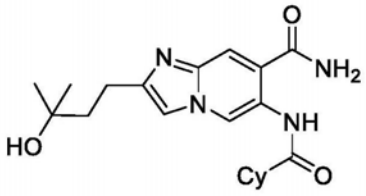
7.根据权利要求6的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}是H、-CH_3、-CH_2-CH_3或-$CH(CH_3)_2$。

8.根据权利要求6或7的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是H、-CH_3、-CH_2-CH_3或-$CH(CH_3)_2$。

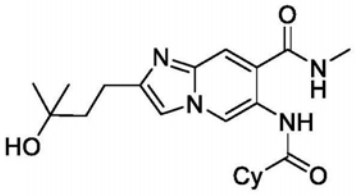
9.根据权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐，其中化合物是式IIIa、IIIb、IIIc、IVa、IVb、IVc或IVd：



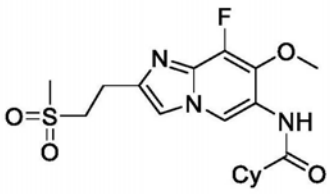
IIIa、



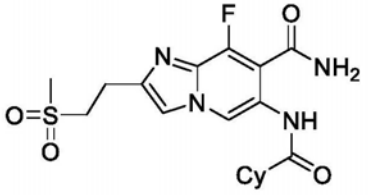
IIIb、



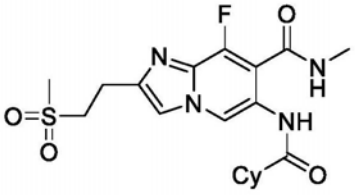
IIIc、



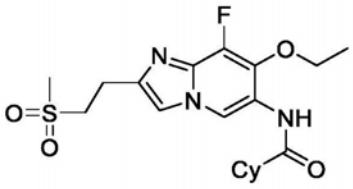
IVa、



IVb、



IVc、



IVd。

10.根据权利要求1-9任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中Cy是吡啶基或吡嗪基，其各自被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代。

11.根据权利要求10的化合物或其药学上可接受的盐，其中每个R^4独立地选自氧代、-OH、-CN、F、Cl、-CH_3、-CH_2-CH_3、-$CH(CH_3)_2$、-CF_3、-CHF_3、-CH_2CF_3、-CH_2CN、-CH_2OH、-CH_2CH_2-CN、-O-CH_2-CH_3、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基、被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。

12.药物组合物，其包含根据权利要求1-11任一项的化合物及其药学上可接受的载体。

13.根据权利要求12的药物组合物，其还包含另外的治疗剂。

14.根据权利要求1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求12或13的药物组合物,其用于药物。

15.根据权利要求1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求12或13的药物组合物,其用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病。

用于治疗炎性障碍的新化合物及其药物组合物

发明领域

[0001] 本发明涉及可用于预防和/或治疗炎性障碍、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的化合物。特别的是，本发明化合物可以抑制白介素-1受体相关激酶(IRAK)，其为涉及炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的激酶家族，并且更特别的是IRAK-4。本发明还提供了用于制备本发明化合物的方法、包含本发明化合物的药物组合物、通过施用本发明化合物预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的方法。

[0002] 发明背景

[0003] 激酶涉及细胞生理的许多必需过程，例如蛋白质磷酸化。特别的是，蛋白质和脂质激酶涉及细胞的活化、生长、分化和存活。蛋白激酶可以在优选磷酸化酪氨酸残基的那些和优选磷酸化丝氨酸和/或苏氨酸残基的那些之间分隔开。

[0004] 多年来，激酶已发展成为开发抗炎药的非常重要的靶标(Cohen，2009)。特别的是，已经将IRAK激酶并且更特别的是IRAK-4鉴定为在炎症和自身免疫疾病中起作用(Ringwood和Li，2008;Wang等人，2009)。

[0005] IRAK在许多细胞类型中表达，并且介导来自多种细胞受体的信号，包括白介素(IL-1)和toll-样受体(TLR)。在IRAK家族中，已经鉴定了4个成员，即IRAK1-4(Wang等人，2009)，该家族的最新成员IRAK4代表了一个有吸引力的治疗靶标(S.Li等人，2002)。实际上，认为IRAK4是IL-1受体和TLR(TLR3除外)下游早期活化的关键蛋白激酶，从而通过快速活化IRAK1和IRAK2启动信号传导，导致先天免疫反应。此外，其它白介素例如IL-18和IL-33依赖于IRAK-4进行信号传导。照此，致病过程涉及这些细胞因子的疾病(例如纤维化(D.Li，等人，2014;McHedlidze等人，2013;Rankin等人，2010)和特应性皮炎(Salimi等人，2013))是IRAK-4抑制剂治疗的潜在靶标疾病。

[0006] 在表达无活性IRAK4突变体而不是野生型的小鼠中，观察到对由几种TLR激动剂触发的对脓毒性休克的完全抵抗以及对IL1的反应受损。此外，表达无活性IRAK4突变体而不是野生型的小鼠在几种自身免疫疾病模型中得到部分保护，例如类风湿性关节炎(Koziczak-Holbro等人，2009)和多发性硬化(Staschke等人，2009)。有意义的是，类风湿性关节炎和系统性红斑狼疮患者的血清已显示以IRAK-4依赖性方式活化类浆细胞树突细胞(Chiang，Yu和Grogan，2011)。最终，在患有导致IRAK4无活性的遗传缺陷的儿童中观察到复发性化脓性细菌感染。由于在携带无活性IRAK-4突变的成人中未观察到这些化脓性感染，因此，IRAK-4信号传导系统显然对于成人先天免疫性的某些方面是多余的。

[0007] 先天免疫系统信号传导组分的失调也越来越被认为是癌症发生和发展的重要因素(Rhyasen和Starczynowski，2015)。事实上，有证据表明IL-1在肿瘤细胞生长、血管生成、侵袭、耐药性和转移中起直接作用(Carmi等人，2013;Vidal-Vanaclocha等人，2000)。此外，取决于肿瘤细胞环境，TLR涉及多种促肿瘤反应。作为IL-1受体和TLR信号传导的重要介体，IRAK家族激酶代表了有希望的癌症药物靶标。此外，已显示几种癌症类型依赖于MYD88的活化形式，这是TLR和IL-1R下游的衔接分子，其活化IRAK-4。已在例如弥漫性大B细胞淋巴瘤

(DLBCL)(Ngo等人,2011)和Waldenstrom巨球蛋白血症(Treon等人,2012)中鉴定出活化MYD88突变。另外的报告支持了IRAK4在肿瘤学领域的作用,特别是T细胞急性淋巴母细胞白血病(T-ALL)(Z.Li等人,2015)。IRAK-4的药理学抑制作用已显示可以增强T-ALL对化疗剂的敏感性。

[0008] IL-33已被证明在纤维化和变态反应性疾病的发展中发挥作用,特别是哮喘和特应性皮炎(Nabe,2014)。由于这种细胞因子通过IRAK-4依赖途径进行信号传导(Kroeger,Sullivan和Locksley,2009),因此,这些疾病也可以代表IRAK-4抑制剂的靶标。

[0009] 最后,已显示几种自身炎性疾病取决于IL-1活性,并且因此,IL-1阻断生物制剂显示对这些患者的一些益处。痛风、幼年特发性关节炎、穆-韦二氏病(Muckle-Wells disease)、家族性地中海热、贝赫切特病(Behcet's disease)、成人发作型斯蒂尔病(adult onset Still's disease)是此类自身炎性疾病的实例(Dinarello,Simon和van der Meer,2012)。

[0010] 用小分子抑制细胞因子信号传导可能有助于减少免疫炎性疾病的疾病结果(Sundberg等人,2014)。特别的是,细胞因子可能在生物体抵御病原体和感染方面发挥作用。然而,在开发免疫炎性疾病的新疗法时,一方面选择一个涉及途径的靶标至关重要,该途径可以在不损害适应性和/或先天免疫反应的情况下被抑制,因为同时抑制多种细胞因子反应途径可能过度削弱免疫系统。然而,对激酶的药物选择性很难实现(Bain等人,2003;Fabian等人,2005),但为了避免脱靶相关的副作用,特别是在长期治疗的背景下,这是高度期望的(Broekman,Giovannetti和Peters,2011;Dy和Adjei,2013;Force和Kolaja,2011)。

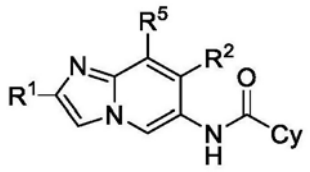
[0011] 特别的是,近来显示,伴随使用IL-1阻断剂(阿那白滞素(Anakinra))和TNFα阻断剂(依那西普(Etanercept))使得中性粒细胞减少和感染的风险增加。("Public Statement on the Increased Risk of Serious Infection and Neutropenia in Patients Trested Concurrently with Kineret(Anakinra)and Enbrel(Etanercept)",2003;Genovese等人,2004)。该发现突出了,当开发新药品时选择性是关键要素,并且因此将需要开发能够选择性调节信号传导途径而不影响其它的化合物,特别是能够选择性调节IL-1反应而不影响TNFα信号传导途径的化合物。

[0012] 当前疗法并不令人满意并且因此仍需要鉴别具有降低的脱靶相关的副作用的其它化合物,所述化合物可用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病和/或增殖性疾病。

[0013] 发明概述

[0014] 本发明涉及可用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的化合物。特别的是,本发明化合物可以抑制白介素-1受体相关激酶(IRAK),其是涉及炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的激酶家族,并且更特别的是IRAK-4。本发明还提供了用于制备本发明化合物的方法、包含本发明化合物的药物组合物、通过施用本发明化合物预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的方法。

[0015] 因此,在本发明的第一方面中,提供了具有式I的本发明化合物:

[0016] 

I

[0017] 其中

[0018] R^1是被一个或多个独立地选择的-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、卤素或-S(=O)$_2$-C_{1-4}烷基取代的C_{2-6}烷基；

[0019] R^2是

[0020] a)C_{1-4}烷氧基，该烷氧基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代，

[0021] b)-O-C_{3-4}环烷基，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-O取代，或

[0022] c)-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$；

[0023] Cy是6元杂芳基，其包含1或2个N原子，其被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代；

[0024] 每个R^{3a}和R^{3b}独立地选自：

[0025] a)H，

[0026] b)C_{1-4}烷基，该烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代，

[0027] c)C_{3-6}环烷基，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代，或

[0028] d)4-6元杂环烷基，其包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子，该杂环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代；

[0029] R^{3a}和R^{3b}与它们所连接的N原子一起可以形成4-6元单环杂环烷基；

[0030] 每个R^4独立地是：

[0031] a)氧代，

[0032] b)-OH，

[0033] c)-CN，

[0034] d)卤素，

[0035] e)C_{1-4}烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，

[0036] f)C_{1-4}烷氧基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，或

[0037] g)C_{3-7}环烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代；并且

[0038] R^5选自H、卤素、$-CH_3$或$-CF_3$。

[0039] 在一个方面中，提供了本发明化合物，其用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病。在一个特别方面中，本发明化合物可以抑制IRAK激酶

家族成员，并且更特别是IRAK-4。

[0040] 在另一个方面中，本发明化合物可以显示良好的代谢稳定性和良好的半衰期，其可以产生更低剂量方案。在特别方面中，本发明化合物在肝细胞中显示良好的稳定性，其可以使得肝清除率低。

[0041] 在另一个方面中，本发明化合物可以显示改善的溶解度，特别是热力学溶解度，其可以产生改善的可制备性。

[0042] 在另一个方面中，本发明化合物可以显示针对IRAK-4的选择性，其可以引起改善的安全性和降低的脱靶相关的副作用。

[0043] 在另一个方面中，本发明提供了药物组合物，其包含本发明化合物和药用载体、赋形剂或稀释剂。在特别方面中，药物组合物还可以包含适合与本发明化合物组合的其它治疗活性成分。在更特别方面中，其它治疗活性成分是用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的活性剂。

[0044] 此外，可用于本文公开的药物组合物和治疗方法的本发明化合物在制备和使用时是药学上可接受的。

[0045] 在本发明的另一个方面中，本发明提供了治疗患有选自本文列举的那些病症，并且特别是炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的哺乳动物，特别是人的方法，该方法包括施用有效量的本文所描述的药物组合物或本发明化合物。

[0046] 本发明还提供了药物组合物，其包含本发明化合物和用于药物的适合的药用载体、赋形剂或稀释剂。在特别方面中，药物组合物是用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病。

[0047] 在另外方面中，本发明提供了使用本文随后公开的代表性合成方案和途径合成本发明化合物的方法。

[0048] 本领域技术人员考虑随后的详细描述将显而易见其它目标和优势。

[0049] 发明详述

[0050] 定义

[0051] 以下术语旨在具有下文呈现的含义并且可用于理解本发明的描述和预期范围。

[0052] 当描述本发明时，其可以包括化合物、含有此类化合物的药物组合物和使用此类化合物和组合物的方法，除非另有指示，否则以下术语(如果存在)具有以下含义。应当理解，在本文中描述时，下文定义的任何部分可以被多个取代基取代，并且各定义旨在在下述范围内包括此类取代的部分。除非另外陈述，否则术语“取代的”应如下述定义。应当进一步理解，术语“基(group)”和“基团(radical)”在本文中使用时可视为可互换的。

[0053] 在本文中可以使用冠词“一(a和an)”指该冠词的一个或超过一个(即至少一个)语法对象。例如，“一种类似物”是指一种类似物或超过一种类似物。

[0054] “烷基”是指具有指定数目的碳原子的直链或支链脂族烃。特别的烷基具有1至6个碳原子或1至4个碳原子。支链是指一个或多个烷基例如甲基、乙基或丙基与直链烷基链连接。特别的烷基是甲基(-CH_3)、乙基(-CH_2-CH_3)、正丙基(-CH_2-CH_2-CH_3)、异丙基(-$CH(CH_3)_2$)、正丁基(-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3)、叔丁基(-CH_2-$C(CH_3)_3$)、仲丁基(-$CH(CH_3)$-CH_2-CH_3)、正戊基(-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3)、正己基(-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3)和1,2-二甲基丁基(-$CHCH_3$)-$C(CH_3)$H-CH_2-CH_3)。特别的烷基具有1至4个碳原子。

[0055] “链烯基”是指具有指定碳原子数的单价烯烃(不饱和的)烃基。特别的链烯基具有2至8个碳原子,并且更特别的是2至6个碳原子,其可以是直链或支链的并且具有至少1个并且特别是1至2个烯烃不饱和位点。特别的链烯基包括乙烯基(-CH=CH_2)、正丙烯基(-CH_2CH=CH_2)、异丙烯基(-C(CH_3)=CH_2)等。

[0056] “亚烷基”是指具有指定碳原子数的二价烯烃基团,特别是具有1至6个碳原子,并且更特别的是1至4个碳原子,其可以是直链或支链的。该术语由例如亚甲基(-CH_2-)、亚乙基(-CH_2-CH_2-)或-CH(CH_3)-等的基团示例。

[0057] “亚炔基”是指具有指定碳原子数和三键数的二价炔烃基团,特别是具有2至6个碳原子并且更特别的是2至4个碳原子,其可以是直链或支链的。此术语由例如-C≡C-、-CH_2-C≡C-和-C(CH_3)H-C≡CH-的基团示例。

[0058] “烷氧基”是指基团O-烷基,其中烷基具有指定碳原子数。特别的是,该术语是指基团-O-C_{1-6}烷基。特别的烷氧基是甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基、正己氧基和1,2-二甲基丁氧基。特别的烷氧基是低级烷氧基,即具有1至6个碳原子。其它特别的烷氧基具有1至4个碳原子。

[0059] “氨基”是指基团-NH_2。

[0060] “芳基”是指通过自母体芳族环系的单个碳原子除去一个氢原子而衍生的单价芳族烃基。特别的是,芳基是指具有指定环原子数的芳环结构,单环或稠合的多环。特别的是,该术语包括包含6至10个环成员的基团。特别的芳基包括苯基和萘基。

[0061] “环烷基”是指具有指定环原子数的非芳族烃基环结构,单环、稠合的多环、桥联的多环或螺环。环烷基可以具有3至12个碳原子,特别是3至10个,并且更特别是3至7个碳原子。此类环烷基包括例如单环结构,例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。

[0062] “氰基”是指基团-CN。

[0063] “卤代”或“卤素”是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)和碘(I)。特别的卤代基是氟或氯。

[0064] 当用于描述化合物或化合物上存在的基团时,“杂”是指化合物或基团中的一个或多个碳原子已经被氮、氧或硫杂原子代替。杂可以应用于上文描述的任何烃基,例如烷基,例如杂烷基;环烷基,例如杂环烷基;芳基,例如杂芳基等,具有1至4个并且特别是1至3个杂原子,更通常1或2个杂原子,例如单个杂原子。

[0065] “杂芳基”是指包含一个或多个独立地选自O、N和S的杂原子和指定环原子数的芳族环结构,单环或稠合的多环。特别的是,芳族环结构可以具有5至9个环成员。杂芳基可以是例如5元或6元单环或由稠合的5元和6元环或两个稠合的6元环或作为另一个实例两个稠合的5元环形成的稠合的双环结构。各环可以含有至多4个通常选自氮、硫和氧的杂原子。杂芳基环通常将含有至多4个杂原子,更通常至多3个杂原子,更通常至多2个,例如单个杂原子。在一个实施方案中,杂芳基环含有至少一个环氮原子。杂芳基环中的氮原子可以是碱性的,如在咪唑或吡啶的情况中,或基本上非碱性的,如在吲哚或吡咯氮的情况中。通常,杂芳基(包括环的任何氨基取代基)中存在的碱性氮原子数将小于5。

[0066] 5元单环杂芳基的实例包括但不限于吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、呋咱基、噁唑基、噁二唑基、噁三唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡唑基、三唑基和四唑基。

[0067] 6元单环杂芳基的实例包括但不限于吡啶基、吡嗪基、哒嗪基、嘧啶基和三嗪基。

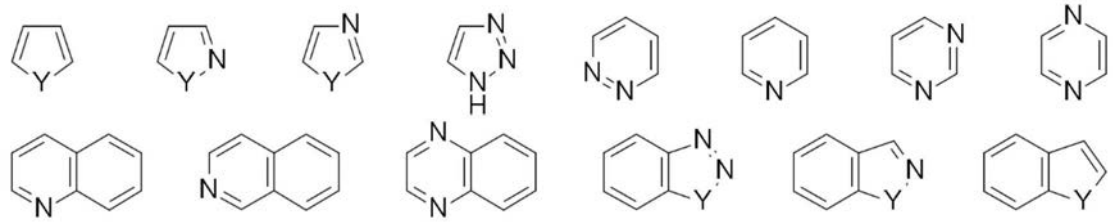
[0068] 含有5元环稠合至另一个5元环的双环杂芳基的特别实例包括但不限于咪唑并噻

唑基和咪唑并咪唑基。

[0069] 含有6元环稠合至5元环的双环杂芳基的特别实例包括但不限于苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、异苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并噻唑基、苯并异噻唑基、异苯并呋喃基、吲哚基、异吲哚基、吲哚嗪基、嘌呤基(例如腺嘌呤、鸟嘌呤)、吲唑基、吡唑并嘧啶基、三唑并嘧啶基和吡唑并吡啶基。

[0070] 含有两个稠合的6元环的双环杂芳基的特别实例包括但不限于喹啉基、异喹啉基、吡啶并吡啶基、喹喔啉基、喹唑啉基、噌啉基、酞嗪基、萘啶基和蝶啶基。特别的杂芳基是衍生自噻吩基、吡咯基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、吲哚基、吡啶基、喹啉基、咪唑基、噁唑基和吡嗪基的那些。

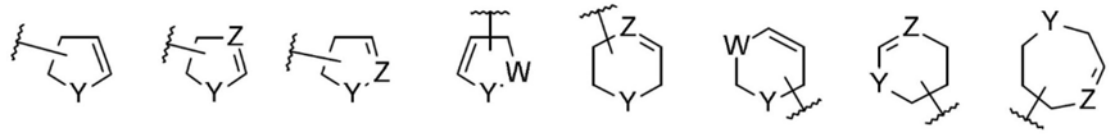
[0071] 代表性杂芳基的实例包括以下：

[0072] 

[0073] 其中每个Y选自>C=O、NH、O和S。

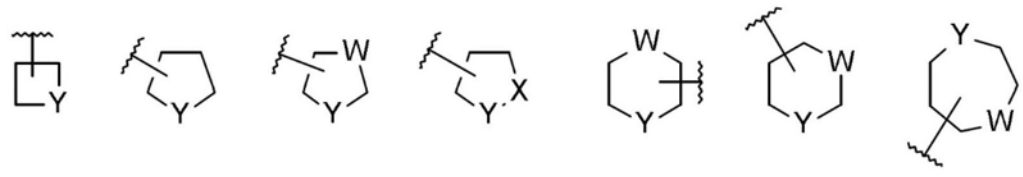
[0074] “杂环烷基”是指包含一个或多个独立地选自O、N和S的杂原子和指定环原子数的非芳族完全饱和的环结构，单环、稠合的多环、螺环或桥联的多环。杂环烷基环结构可以具有4至12个环成员，特别是4至10个环成员，并且更特别是4至7个环成员。每个环可以含有至多四个通常选自氮、硫和氧的杂原子。杂环烷基环通常将含有至多4个杂原子，更通常至多3个杂原子，更通常至多2个，例如单个杂原子。杂环的实例包括但不限于氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、吡咯烷基(例如1-吡咯烷基、2-吡咯烷基和3-吡咯烷基)、四氢呋喃基(例如1-四氢呋喃基、2-四氢呋喃基和3-四氢呋喃基)、四氢噻吩基(例如1-四氢噻吩基、2-四氢噻吩基和3-四氢噻吩基)、哌啶基(例如1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基和4-哌啶基)、四氢吡喃基(例如4-四氢吡喃基)、四氢噻喃基(例如4-四氢噻喃基)、吗啉基、硫代吗啉基、二噁烷基或哌嗪基。

[0075] 如本文中所使用，术语“杂环烯基”是指包含至少一个双键的“杂环烷基”。杂环烯基的特别实例显示于以下说明性实例中：

[0076] 

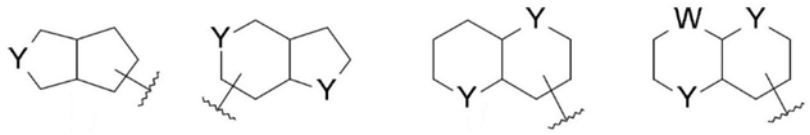
[0077] 其中每个W选自CH_2、NH、O和S；每个Y选自NH、O、C(=O)、SO_2和S；并且每个Z选自N或CH。

[0078] 单环的特别实例显示于以下说明性实例中：

[0079] 

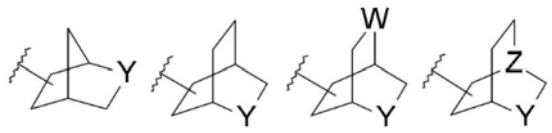
[0080] 其中每个W和Y独立地选自-CH_2-、-NH-、-O-和-S-。

[0081] 稠合的双环的特别实例显示于以下说明性实例中：

[0082] 

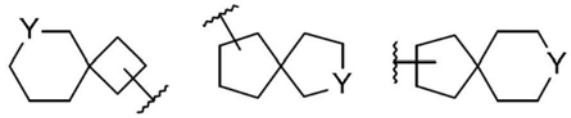
[0083] 其中每个W和Y独立地选自-CH_2-、-NH-、-O-和-S-。

[0084] 桥连的双环的特别实例显示于以下说明性实例中：

[0085] 

[0086] 其中每个W和Y独立地选自-CH_2-、-NH-、-O-和-S-，并且每个Z选自N或CH。

[0087] 螺环的特别实例显示于以下说明性实例中：

[0088] 

[0089] 其中每个Y选自-CH_2-、-NH-、-O-和-S-。

[0090] “羟基”是指基团-OH。

[0091] “氧代”是指基团=O。

[0092] “取代的”是指基团，其中一个或多个氢原子各自独立地被相同或不同的取代基代替。

[0093] “磺基”或“磺酸”是指基团例如-SO_3H。

[0094] “硫羟基”是指基团-SH。

[0095] 如本文所用，术语“被一个或多个……取代”是指一至四个取代基。在一个实施方案中，其是指一至三个取代基。在其它实施方案中，其是指一个或两个取代基。在另一个实施方案中，其是指一个取代基。

[0096] “硫代烷氧基”是指基团-S-烷基，其中该烷基具有指定碳原子数。特别的是，术语是指基团-S-C_{1-6}烷基。特别的硫代烷氧基是硫代甲氧基、硫代乙氧基、正硫代丙氧基、异硫代丙氧基、正硫代丁氧基、叔硫代丁氧基、仲硫代丁氧基、正硫代戊氧基、正硫代己氧基和1,2-二甲基硫代丁氧基。特别的硫代烷氧基是低级硫代烷氧基，即具有1至6个碳原子。其它特别的烷氧基具有1至4个碳原子。

[0097] 有机合成领域技术人员将认识到，稳定化学可行的杂环(无论是芳族的还是非芳族的)中的最大杂原子数由环的尺寸、不饱和度和杂原子的价数决定。通常，只要杂芳族环是化学可行并且稳定的，杂环就可以具有一至四个杂原子。

[0098] “药学上可接受的”是指由联邦政府或州政府的管理机构或除美国之外的国家的相应机构批准或可由其批准，或列于用于动物并且更特别是用于人的美国药典(U.S.Pharmacopoeia)或其它通常公认的药典中。

[0099] “药学上可接受的盐”是指药学上可接受的并且具有母体化合物的所需药理学活性的本发明化合物的盐。特别的是，此类盐是无毒的，可以是无机或有机酸加成盐和碱加成盐。特别的是，此类盐包括：(1)与无机酸形成的酸加成盐，所述无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫

酸、硝酸、磷酸等;或与有机酸形成的酸加成盐,所述有机酸例如乙酸、丙酸、己酸、环戊丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、丁二酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑磺酸、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-甲酸、葡庚糖酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡萄糖酸、谷氨酸、羟基萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、粘康酸等;或(2)当存在于母体化合物中的酸性质子被金属离子(例如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子)代替时;或与有机碱(例如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、N-甲基葡糖胺等)配位时形成的盐。盐进一步包括例如钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铵盐、四烷基铵盐等;并且当化合物含有碱性官能团时,还包括无毒有机或无机酸的盐,例如盐酸盐、氢溴酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、乙酸盐、马来酸盐、草酸盐等。术语“药学上可接受的阳离子”是指酸性官能团的可接受的阳离子相反离子。此类阳离子例如钠、钾、钙、镁、铵、四烷基铵阳离子等。

[0100] “药学上可接受的媒介物”是指与本发明化合物一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或载剂。

[0101] “前药”是指具有可裂解的基团并且通过溶剂分解或在生理条件下变成在活体内具有药学活性的化合物,包括本发明化合物的衍生物。此类实例包括但不限于胆碱酯衍生物等、N-烷基吗啉酯等。

[0102] “溶剂化物”是指通常通过溶剂分解反应与溶剂结合的化合物形式。该物理性结合包括氢键合。常用的溶剂包括水、EtOH、乙酸等。本发明化合物可以例如以结晶形式制备并且可以是溶剂化的或水合的。适合的溶剂化物包括药学上可接受的溶剂化物,例如水合物,并且还包括化学计量溶剂化物和非化学计量溶剂化物。在某些情况下,溶剂化物将能够分离,例如将一个或多个溶剂分子掺入结晶固体的晶格中时。“溶剂化物”包括溶液相和可分离溶剂化物。代表性的溶剂化物包括水合物、乙醇化物和甲醇化物。

[0103] “个体”包括人。术语“人”、“患者”和“个体”在本文中可互换使用。

[0104] “有效量”是指当向个体施用以治疗疾病时足以实现对疾病的此类治疗的本发明化合物的量。“有效量”可以取决于化合物、疾病及其严重程度和待治疗个体的年龄、体重等而不同。

[0105] “预防”是指降低获得或发展疾病或障碍的风险(即在疾病发作之前,使该疾病的临床症状中的至少一种不在可能暴露于致病原或易患该疾病的个体中出现)。

[0106] 术语“预防(prophylaxis)”与“预防(prevention)”相关,并且是指目的为预防而非治疗或治愈疾病的措施或程序。预防措施的非限制性实例可以包括施用疫苗;给处于归因于例如固定的血栓的风险下的住院患者施用低分子量肝素;以及在访问疟疾为地方性或感染疟疾的风险较高的地理区域之前施用抗疟疾剂,例如氯喹。

[0107] 在一个实施方案中,“治疗”任何疾病或障碍是指改善疾病或障碍(即阻止疾病或降低其至少一种临床症状的表现、程度或严重程度)。在另一个实施方案中,“治疗”是指改善至少一个不可由个体辨别的身体参数。在又一个实施方案中,“治疗”是指以物理方式(例如,稳定可辨别的症状)、以生理方式(例如,稳定生理参数)或以两种方式调节疾病或障碍。在另一个实施方案中,“治疗”涉及减缓疾病进展。

[0108] 如本文所用,术语“变态反应性疾病”是指以免疫系统的超敏障碍为特征的病症

组，包括变态反应性气道疾病(例如哮喘、鼻炎)、特应性皮炎、鼻窦炎、湿疹和荨麻疹以及食物变态反应或虫毒变态反应。

[0109] 如本文所用，本文所用的术语“哮喘”是指以与任何原因(内因、外因或两者；变态反应性或非变态反应性)的气道收缩相关的肺气流变化为特征的任何肺障碍。术语哮喘可以与一个或多个形容词一起使用以指示病因。

[0110] 如本文所用，术语“炎性疾病”是指病症组，其包括类风湿性关节炎、骨关节炎、幼年特发性关节炎、银屑病、银屑病性关节炎、强直性脊柱炎、变态反应性气道疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、炎性肠病(IBD，例如克罗恩病(Crohn's disease)、溃疡性结肠炎)、肠易激惹综合征、内毒素驱动的疾病状态(例如，在搭桥(bypass)手术之后的并发症或引起例如慢性心力衰竭的慢性内毒素状态)、成人发作型斯蒂尔病(Still's disease)、穆-韦二氏综合征(Muckle-Wells syndrome)、家族性冷自身炎性综合征(FCAS)、贝赫切特症、Cryopyrin相关周期综合征(CAPS)、家族性地中海热(FMF)、痛风、新生儿发作型多系统炎性疾病(NOMID)、施尼茨勒综合征(Schnitzler syndrome)以及涉及软骨例如关节的软骨的相关疾病。特别的是，该术语是指类风湿性关节炎、幼年型特发性关节炎、银屑病、骨关节炎、变态反应性气道疾病(例如哮喘)、慢性阻塞性肺病(COPD)和炎性肠病。更特别的是，该术语是指类风湿性关节炎、幼年特发性关节炎、银屑病、慢性阻塞性肺病(COPD)和炎性肠病。更特别的是，该术语是指类风湿性关节炎、幼年特发性关节炎、银屑病、慢性阻塞性肺病(COPD)和炎性肠病。

[0111] 如本文所用，术语“自身免疫疾病”是指疾病组，包括阻塞性气道疾病包括病症例如COPD、哮喘(例如内源性哮喘、外源性哮喘、粉尘性哮喘、婴儿哮喘)，特别是慢性或顽固性哮喘(例如迟发性哮喘和气道过度反应)、支气管炎包括支气管哮喘、系统性红斑狼疮(SLE)、皮肤红斑狼疮、狼疮性肾炎、皮肌炎、舍格伦综合征(Sjögren's syndrome)、多发性硬化、银屑病、干眼病、I型糖尿病及与其相关的并发症、特应性湿疹(特应性皮炎)、化脓性汗腺炎(HS)、甲状腺炎(桥本(Hashimoto's)甲状腺炎和自身免疫甲状腺炎)、接触性皮炎及其它湿疹性皮炎、炎性肠病(例如克罗恩病(Crohn's disease)和溃疡性结肠炎)、动脉粥样硬化和肌萎缩性侧索硬化。特别的是，该术语是指COPD、哮喘、系统性红斑狼疮、I型糖尿病、特应性皮炎和炎性肠病。

[0112] 如本文所用，术语“疼痛”是指特征为感觉不适的疾病或障碍，该感觉通常由剧烈或损害性刺激引起，并且包括但不限于伤害性疼痛(例如内脏疼痛和/或身体疼痛)、炎性疼痛(与组织损伤和炎性细胞浸润相关)和神经性或功能异常疼痛(由神经系统的损伤或功能异常引起)和/或与本文中提及的病症相关或由其引起的疼痛。疼痛可以是急性的或慢性的。特别的是，该术语是指炎性和/或神经性疼痛。

[0113] 如本文所用，术语“纤维化”是指由于炎性肠病而引起的系统性硬化症、特发性肺纤维化以及其它形式的肺纤维化和间质性肺病、酒精性脂肪性肝炎、非酒精性脂肪性肝炎、肾纤维化和结肠纤维化。特别的是，该术语是指硬皮病性慢性移植物抗宿主病。

[0114] 如本文所用，术语“增殖性疾病”是指病症例如癌症(例如子宫平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增殖障碍(例如真性红细胞增多症、原发性血小板增多症和骨髓纤维化)、白血病(例如急性髓样白血病、急性和慢性淋巴母细胞白血病)、多发性骨髓瘤、银屑病、再狭窄、硬皮病或纤维化。特别的是，该术语是指癌症、白血病、多发性骨髓瘤和银屑病。

[0115] 如本文所用，术语“癌症”是指皮肤或身体器官中细胞的恶性或良性生长，所述器官例如但不限于乳房、前列腺、肺、肾、胰腺、胃或肠。癌症往往会浸润至邻近组织中并且扩散(转移)至远处器官，例如骨骼、肝、肺或脑。如本文所用，术语癌症包括转移性肿瘤细胞类型(例如但不限于黑素瘤、淋巴瘤、白血病、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤和肥大细胞瘤)和组织癌类型(例如但不限于结肠直肠癌、前列腺癌、小细胞肺癌和非小细胞肺癌、乳癌、胰腺癌、膀胱癌、肾癌、胃癌、胶质母细胞瘤、原发性肝癌、卵巢癌、前列腺癌和子宫平滑肌肉瘤)。特别的是，术语“癌症”是指急性淋巴母细胞白血病、急性髓样白血病、肾上腺皮质癌、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、非典型畸胎样/横纹肌样肿瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌(骨肉瘤和恶性纤维组织细胞瘤)、脑干神经胶质瘤、脑瘤、脑和脊髓肿瘤、乳癌、支气管肿瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓性白血病、结肠癌、结肠直肠癌、颅咽管瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、胚胎肿瘤、子宫内膜癌、室管膜母细胞瘤、室管膜瘤、食道癌、尤因肉瘤肿瘤家族(Ewing sarcoma family of tumors)、眼癌、视网膜母细胞瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠道类癌肿瘤、胃肠道基质肿瘤(GIST)、胃肠道基质细胞瘤、生殖细胞肿瘤、神经胶质瘤、毛细胞白血病、头颈癌、肝细胞(肝)癌、霍奇金淋巴瘤(hodgkin lymphoma)、下咽癌、眼内黑素瘤、胰岛细胞肿瘤(内分泌胰腺)、卡波西肉瘤(Kaposi sarcoma)、肾癌、郎格尔汉斯细胞组织细胞增多症(Langerhans cell histiocytosis)、喉癌、白血病、急性淋巴母细胞白血病、急性髓样白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓性白血病、毛细胞白血病、肝癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、伯基特淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、淋巴瘤、髓母细胞瘤、髓上皮瘤、黑素瘤、间皮瘤、口腔癌、慢性髓性白血病、髓样白血病、多发性骨髓瘤、鼻咽癌、神经母细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌、口腔癌、口咽癌、骨肉瘤、骨恶性纤维组织细胞瘤、卵巢癌、卵巢上皮癌、卵巢生殖细胞肿瘤、卵巢低恶性潜能肿瘤(ovarian low malignant potential tumor)、胰腺癌、乳头状瘤病、副甲状腺癌、阴茎癌、咽癌、中等分化的松果体实质性肿瘤、松果体母细胞瘤和幕上原始神经外胚层肿瘤(supratentorial primitive neuroectodermal tumor)、垂体瘤、浆细胞肿瘤/多发性骨髓瘤、胸膜肺母细胞瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、前列腺癌、直肠癌、肾细胞(肾)癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、唾液腺癌、肉瘤、尤因肉瘤肿瘤家族、卡波西肉瘤、塞扎里综合征(Sézary syndrome)、皮肤癌、小细胞肺癌、小肠癌、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、胃癌、幕上原始神经外胚层肿瘤、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、喉癌、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症和威尔姆肿瘤(Wilm's tumor)。

[0116] 如本文所使用，术语“白血病”是指血液和血液形成器官的肿瘤性疾病。此类疾病可以引起骨髓和免疫系统功能障碍，其使得宿主极易感染和出血。特别的是，术语白血病是指急性髓样白血病(AML)以及急性淋巴母细胞白血病(ALL)和慢性淋巴母细胞白血病(CLL)。

[0117] “本发明化合物”及等效表述是指涵盖如本文所描述的式(e)化合物，若上下文允许，则该表述包括药学上可接受的盐和溶剂化物(例如水合物)，以及药学上可接受的盐的溶剂化物。类似地，提及中间体，无论是否要求其本身，若上下文允许，则是指涵盖其盐和溶剂化物。

[0118] 当本文中提及范围时，例如但不限于C_{1-8}烷基，范围的引用应视为表示所述范围的

每个成员。

[0119] 本发明化合物的其它衍生物的酸和酸衍生物形式均具有活性，但在酸敏感形式中通常提供在哺乳动物生物体中的溶解度、组织相容性或延迟释放的优势(Bundgard,H,1985)。前药包括本领域技术人员熟知的酸衍生物，例如通过母体酸与适合的醇反应制备的酯，或通过母体酸化合物与取代的或未取代的胺反应制备的酰胺，或酸酐或混合酸酐。衍生自侧接于本发明化合物上的酸性基团的简单脂族或芳族酯、酰胺和酸酐是特别可用的前药。在一些情况中，需要制备双酯型前药，例如(酰氧基)烷基酯或((烷氧基羰基)氧基)烷基酯。特别的此类前药是本发明化合物的C_{1-8}烷基、C_{2-8}链烯基、C_{6-10}任选取代的芳基和(C_{6-10}芳基)-(C_{1-4}烷基)酯。

[0120] 本公开包括本文中所提供的本发明化合物的所有同位素形式，无论是(i)以其中具有给定原子数的所有原子具有在自然界中占主导的质量数(或质量数的混合)的形式(在本文中被称作“天然同位素形式”)或者(ii)以其中一个或多个原子被具有相同原子数但质量数不同于在自然界中占主导的原子的质量数的原子代替的形式(在本文中被称作“非天然变体同位素形式”)。应当理解，原子可以以质量数的混合形式天然存在。术语“非天然变体同位素形式”还包括如下实施方案，其中具有自然界中不常见的质量数的具有给定原子数的原子(在本文中被称作“不常见同位素”)的比例相对于天然存在的原子已增加至例如具有该原子数的原子的数目的>20％、>50％、>75％、>90％、>95％或>99％的水平(后一实施方案称作“同位素富集的变体形式”)。术语“非天然变体同位素形式”还包括以下实施方案，其中不常见同位素的比例相对于天然存在的同位素已减少。同位素形式可以包括放射性形式(即它们掺入放射性同位素)和非放射性形式。放射性形式通常将是同位素富集的变体形式。

[0121] 因此，化合物的非天然变体同位素形式可以在一或多个原子中含有一个或多个人造或不常见同位素，例如氘(^{2}H或D)、碳-11(^{11}C)、碳-13(^{13}C)、碳-14(^{14}C)、氮-13(^{13}N)、氮-15(^{15}N)、氧-15(^{15}O)、氧-17(^{17}O)、氧-18(^{18}O)、磷-32(^{32}P)、硫-35(^{35}S)、氯-36(^{36}Cl)、氯-37(^{37}Cl)、氟-18(^{18}F)、碘-123(^{123}I)、碘-125(^{125}I)或者可以在一个或多个原子中含有与在自然界中占主导的比例相比比例增加的所述同位素。

[0122] 例如，包含放射性同位素的非天然变体同位素形式可以用于药物和/或底物组织分布研究。放射性同位素氘(即^{3}H)和碳-14(即^{14}C)由于其容易掺入并且易检测手段而特别适用于此目的。掺入氘(即^{2}H或D)的非天然变体同位素形式可以得到由更大代谢稳定性产生的某些治疗优势，例如延长的体内半衰期或降低的剂量需求，并且因此在一些情况下可以是优选的。此外，可以制备掺入正电子发射同位素例如^{11}C、^{18}F、^{15}O和^{13}N的非天然变体同位素形式并且所述非天然变体同位素形式将可用于正电子发射断层成像(PET)研究以检查底物受体占据。

[0123] 还应当理解，具有相同分子式但在原子的键合性质或顺序或原子的空间排列方面存在不同的化合物称为“异构体”。原子空间排列不同的异构体称为“立体异构体”。

[0124] 彼此不为镜像的立体异构体称为“非对映异构体”并且彼此为不可重叠的镜像的立体异构体称为“对映异构体”。当化合物具有不对称中心时，例如，其与四个不同基团键合时，可能存在一对对映异构体。对映异构体可以通过其不对称中心的绝对构型表征并且由Cahn和Prelog的R-和S-定序规则描述，或者通过分子绕偏振光平面旋转的方式描述并且指

定为右旋或左旋(即,分别为(+)-异构体或(-)-异构体)。手性化合物可以以单个对映异构体形式或以其混合物形式存在。含有相等比例的对映异构体的混合物称为“外消旋混合物”。

[0125] “互变异构体”是指作为特别化合物结构的可互换形式并且在氢原子和电子的位移方面存在变化的化合物。因此,两种结构可以通过π电子和原子(通常为H)的移动保持平衡。例如,烯醇和酮是互变异构体,因为它们通过用酸或碱处理而快速互相转化。互变异构的另一个实例是同样通过用酸或碱处理形成的苯基硝基甲烷的酸式形式和硝基形式。

[0126] 互变异构形式可以与所关注化合物的最佳化学反应性和生物活性的实现有关。

[0127] 本发明化合物可以具有一个或多个不对称中心;因此,此类化合物可以作为单个的(R)-或(S)-立体异构体形式制备或作为其混合物形式制备。

[0128] 除非另外指明,否则本说明书和权利要求中的特别化合物的描述或命名旨在包括单个对映异构体及其混合物(外消旋体或其它)两者。

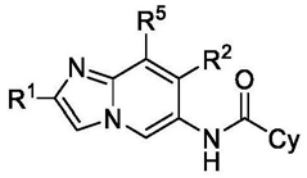
[0129] 用于确定立体化学和分离立体异构体的方法是本领域众所周知的。

[0130] 应当理解,本发明化合物可以代谢产生生物活性代谢物。

[0131] 本发明

[0132] 本发明涉及可用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的化合物。特别的是,本发明化合物可以抑制白介素-1受体相关激酶(IRAK),其是涉及炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的激酶家族,并且更特别的是IRAK-4。本发明还提供了用于制备本发明化合物的方法,包含本发明化合物的药物组合物,通过施用本发明化合物预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的方法。

[0133] 因此,在本发明的第一方面中,提供了具有式I的本发明化合物:

[0134] 

I

[0135] 其中

[0136] R^1是被一个或多个独立地选择的-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、卤素或-S(=O)$_2$-C_{1-4}烷基取代的C_{2-6}烷基;

[0137] R^2是

[0138] a)C_{1-4}烷氧基,该烷氧基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代,

[0139] b)-O-C_{3-4}环烷基,该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代,或

[0140] c)-C(=O)N$R^{3a}R^{3b}$;

[0141] Cy是6元杂芳基,其包含1或2个N原子,其被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代;

[0142] 每个R^{3a}和R^{3b}独立地选自:

[0143] a)H，

[0144] b)C_{1-4}烷基，该烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代，所述环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代，

[0145] c)C_{3-6}环烷基，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代，或

[0146] d)4-6元杂环烷基，其包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子，该杂环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代；

[0147] R^{3a}和R^{3b}与它们所连接的N原子一起可以形成4-6元单环杂环烷基；

[0148] 每个R^4独立地是：

[0149] a)氧代，

[0150] b)-OH，

[0151] c)-CN，

[0152] d)卤素，

[0153] e)C_{1-4}烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，

[0154] f)C_{1-4}烷氧基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，或

[0155] g)C_{3-7}环烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代；并且

[0156] R^5选自H、卤素、$-CH_3$或$-CF_3$。

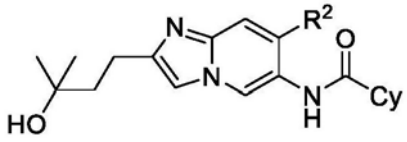
[0157] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I，其中R^5是H、F、$-CH_3$或$-CF_3$。

[0158] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I，其中R^5是H。

[0159] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I，其中R^5是F。

[0160] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I，其中R^1是被一个或多个独立地选择的-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、卤素或$-S(=O)_2-C_{1-4}$烷基取代的C_{2-6}烷基。在特别的实施方案中，R^1是被1、2或3个独立地选择的-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、卤素或$-S(=O)_2-C_{1-4}$烷基取代的C_{2-6}烷基。在特别的实施方案中，R^1是被一个或多个独立地选择的-OH、-CN、$-OCH_3$、F、Cl或$-S(=O)_2CH_3$取代的C_{2-6}烷基。在更特别的实施方案中，R^1是被一个-OH或$-S(=O)_2CH_3$取代的C_{2-6}烷基。在另一个更特别的实施方案中，R^1是$-CH_2-CH_3$、$-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3$、$-CH_2-CH_2-CH(CH_3)_2$，其各自被一个-OH或$-S(=O)_2CH_3$取代。在最特别的实施方案中，R^1是$-CH_2-CH_2-C(CH_3)_2-OH$。在另一个最特别的实施方案中，R^1是$-CH_2-CH_2-S(=O)_2CH_3$。

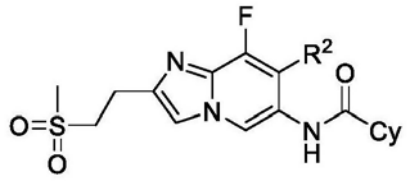
[0161] 在一个实施方案中，本发明化合物是式IIa：

[0162] 

IIa

[0163] 其中R^2和Cy如上述所定义。

[0164] 在一个实施方案中，本发明化合物是式IIb:

[0165] 

IIb

[0166] 其中R^2和Cy如上述所定义。

[0167] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是C_{1-4}烷氧基，该烷氧基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代。在特别的实施方案中，R^2是$-OCH_3$或$-OCH_2CH_3$，其各自是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代。在更特别的实施方案中，R^2是$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$或$-OCF_3$。在最特别的实施方案中，R^2是$-OCH_3$。在另一个最特别的实施方案中，R^2是$-OCH_2CH_3$。

[0168] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是-O-C_{3-4}环烷基，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代。在特别的实施方案中，R^2是-O-环丙基或-O-环丁基，其各自是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代。在更特别的实施方案中，R^2是-O-环丙基。

[0169] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$，并且每个R^{3a}和R^{3b}如上所述。在特别的实施方案中，R^{3a}是H，并且R^{3b}如上所述。在另一个特别的实施方案中，R^{3a}如上所述，并且R^{3b}是H。在更特别的实施方案中，R^{3a}和R^{3b}是H。

[0170] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如上所述，并且R^{3a}是C_{1-4}烷基。在特别的实施方案中，R^{3a}是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$。在更特别的实施方案中，R^{3a}是$-CH_3$。

[0171] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如上所述，并且R^{3a}是C_{1-4}烷基，该烷基被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代。在特别的实施方案中，R^{3a}是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$，其各自被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代。在更特别的实施方案中，R^{3a}是C_{1-4}烷基，该烷基被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、$-OCH_3$、环丙基或环丁基取代。

[0172] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I或II，其中R^2是$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如上所述，并且R^{3b}是C_{1-4}烷基。在特别的实施方案中，R^{3b}是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$。在更特别的实施方案中，R^{3b}是$-CH_3$。

[0173] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如上所述，并且R^{3b}是C_{1-4}烷基，该烷基被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代。在特别的实施方案中，R^{3b}是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$，其各自被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代。在更特别的实施方案中，R^{3b}是C_{1-4}烷基，该烷基被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、$-OCH_3$、环丙基或环丁基取代。

[0174] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}

如上所述，并且R^{3a}是C_{3-6}环烷基。在特别的实施方案中，R^{3a}是环丙基、环丁基或环戊基。在更特别的实施方案中，R^{3a}是环丙基。

[0175] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如上所述，并且R^{3a}是C_{3-6}环烷基，该环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。在特别的实施方案中，R^{3a}是C_{3-6}环烷基，该环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。在更特别的实施方案中，R^{3a}是环丙基、环丁基或环戊基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。在另一个更特别的实施方案中，R^{3a}是环丙基、环丁基或环戊基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。

[0176] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如上所述，并且R^{3b}是C_{3-6}环烷基。在特别的实施方案中，R^{3b}是环丙基、环丁基或环戊基。在最特别的实施方案中，R^{3b}是环丙基。

[0177] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如上所述，并且R^{3b}是C_{3-6}环烷基，该环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。在特别的实施方案中，R^{3b}是C_{3-6}环烷基，该环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。在更特别的实施方案中，R^{3b}是环丙基、环丁基或环戊基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。在另一个更特别的实施方案中，R^{3b}是环丙基、环丁基或环戊基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。

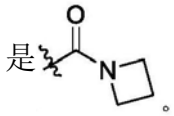
[0178] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如上所述，并且R^{3a}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基。在特别的实施方案中，R^{3a}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基。在最特别的实施方案中，R^{3a}是氮杂环丁烷基或环氧乙烷基。

[0179] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3b}如上所述，并且R^{3a}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基，该杂环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。在另一个特别的实施方案中，R^{3a}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基，该杂环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。在更特别的实施方案中，R^{3a}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。在另一个更特别的实施方案中，R^{3a}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。

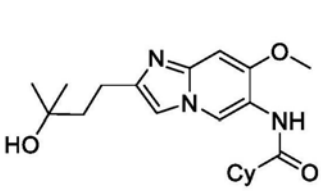
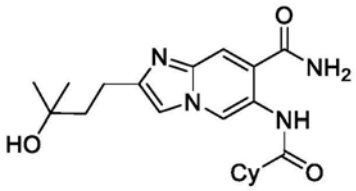
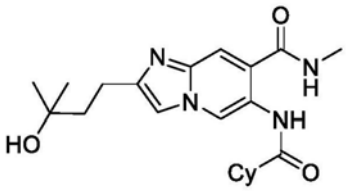
[0180] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如上所述，并且R^{3b}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基。在特别的实施方案中，R^{3b}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基。在最特别的实施方案中，R^{3b}是氮杂环丁烷基或环氧乙烷基。

[0181] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$，R^{3a}如上所述，并且R^{3b}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基，该杂环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。在另一个特别的实施方案中，R^{3b}是4-6元杂环烷基，其包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子，该杂环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。在更特别的实施方案中，R^{3b}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。在另一个更特别的实施方案中，R^{3b}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。

[0182] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或IIb，其中R^2是-C(=O)NH_2、-C(=O)$N(CH_3)_2$或$-C(=O)NHCH_3$。在最特别的实施方案中，R^2是$-C(=O)NH_2$。

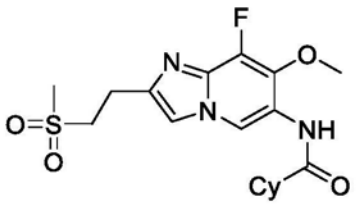
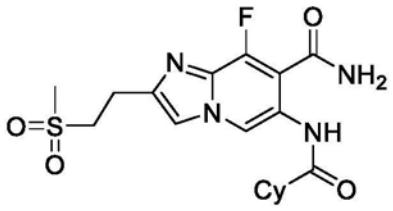
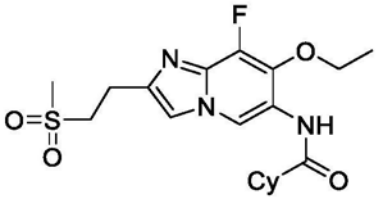
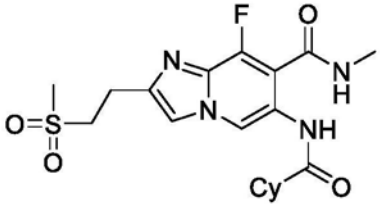
[0183] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I、IIa或II，其中R^2是$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$，其中R^{3a}和R^{3b}与它们所连接的N原子一起可以形成4-6元单环杂环烷基。在特别的实施方案中，R^2是。

[0184] 在一个实施方案中，本发明化合物是式IIIa、IIIb或IIIc：

[0185] 
IIIa、

IIIb

或 IIIc

[0186] 其中Cy如上述所定义。

[0187] 在一个实施方案中，本发明化合物是式IVa、IVb、IVc或IVd:

[0188] 
IVa、

IVb、

IVc

或 IVd

[0189] 其中Cy如上述所定义。

[0190] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，其中Cy是包含1或2个N原

子的6元杂芳基，其被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代。在特别的实施方案中，Cy是吡啶基或吡嗪基，其各自被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代。在更特别的实施方案中，Cy是被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代的吡啶基。在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，其中Cy如上述所定义，其中R^4是氧代。

[0191] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，其中Cy如上述所定义，其中R^4是-OH。

[0192] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，其中Cy如上述所定义，其中R^4是-CN。

[0193] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，其中Cy如上述所定义，其中R^4是卤素。在特别的实施方案中，R^4是F或Cl。

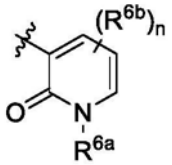
[0194] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，其中Cy如上述所定义，其中R^4是C_{1-4}烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。在特别的实施方案中，R^4是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$，其各自是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。

[0195] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，其中Cy如上述所定义，其中R^4是C_{1-4}烷氧基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。在特别的实施方案中，R^4是$-OCH_3$、$-OCH_2-CH_3$或$-OCH(CH_3)_2$，其各自是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。

[0196] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，其中Cy如上述所定义，其中R^4是C_{3-7}环烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。

[0197] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，其中Cy如上述所定义，其中每个R^4基团独立地选自氧代、-CN、-OH、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-O-CH_2-CH_3$、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基、被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。

[0198] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVd的任一个，特别是式IVc，其中Cy是：

[0199] 

Cy_1

[0200] 其中

[0201] R^{6a}是

[0202] a)C_{1-4}烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，或

[0203] b)C_{3-7}环烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代；

[0204] R^{6b}是

[0205] a)-OH，

[0206] b)-CN，

[0207] c)卤素，

[0208] d)C_{1-4}烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，

[0209] e)C_{1-4}烷氧基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，或

[0210] f)C_{3-7}环烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代；并且

[0211] 下标n是0、1或2。

[0212] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVc的任一个，特别是式IVc，其中Cy是Cy_1，其中R^{6a}和下标n如上述所定义，并且R^{6b}是-CN、-OH、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-OCH_3$、$-OCH_2-CH_3$、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基或被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。在特别的实施方案中，R^{6b}是F、Cl、$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$或$-OCH_3$。在更特别的实施方案中，R^{6b}是F。

[0213] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVc的任一个，特别是式IVc，其中Cy是Cy_1，其中R^{6a}如上述所定义，下标n是1，并且R^{6b}是-CN、-OH、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-OCH_3$、$-OCH_2-CH_3$、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基或被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。在特别的实施方案中，R^{6b}是F、Cl、$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$或$-OCH_3$。在更特别的实施方案中，R^{6b}是F。

[0214] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVc的任一个，特别是式IVc，其中Cy是Cy_1，其中R^{6b}和下标n如上述所定义，并且R^{6a}是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基或被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。在特别的实施方案中，R^{6a}是$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$、环丙基或环丁基。在更特别的实施方案中，R^{6a}是$-CH_3$或环丙基。在最特别的实施方案中，R^{6a}是环丙基。

[0215] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVc的任一个，特别是式IVc，其中Cy是Cy_1，其中R^{6b}如上述所定义，下标n是1，并且R^{6a}是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基或被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。在特别的实施方案中，R^{6a}是$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$、环丙基或环丁基。在更特别的实施方案中，R^{6a}是$-CH_3$或环丙基。在最特别的实施方案中，R^{6a}是环丙基。

[0216] 在一个实施方案中，本发明化合物是式I-IVc的任一个，特别是式IVc，其中Cy是Cy_1，其中R^{6a}如上述所定义，并且下标n是0。在特别的实施方案中，R^{6a}是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基或被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。在特别的实施方案中，R^{6a}是$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$、环丙基或环丁基。在更特别的实施方案中，R^{6a}是$-CH_3$或环丙基。在最特别的实施方案中，R^{6a}是环丙基。

[0217] 在一个实施方案中，本发明的式I化合物选自：

[0218] 2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-N-(三氘代甲基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨

基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0219] 2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-N-甲基-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0220] N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺，

[0221] N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-1-甲基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0222] 1-环丙基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0223] N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲基-吡啶-2-甲酰胺，

[0224] 6-(二氟甲基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺,N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲氧基-吡啶-2-甲酰胺，

[0225] 2-羟基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-3-甲酰胺，

[0226] 6-氰基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺，

[0227] 3-氯-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲基-吡啶-2-甲酰胺，

[0228] 1-(二氟甲基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0229] N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-3-甲酰胺，

[0230] 6-(氰基甲基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺，

[0231] 5-氟-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲基-吡啶-2-甲酰胺，

[0232] N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲基-吡嗪-2-甲酰胺，

[0233] N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡嗪-2-甲酰胺，

[0234] 1-环丁基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0235] 6-(1,1-二氟乙基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺，

[0236] 6-(羟基甲基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺，

[0237] N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-1-异丙基-

2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0238] 1-乙基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0239] N-[7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺，

[0240] 1-环丙基-N-[7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0241] 1-(二氟甲基)-N-[7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0242] 2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-N,N-二甲基-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0243] N-[7-(氮杂环丁烷-1-羰基)-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺，

[0244] N-[7-乙氧基-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-1-甲基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0245] N-甲基-2-(2-甲基磺酰基乙基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，和

[0246] 2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺。

[0247] 在另一个实施方案中，本发明的式I化合物选自：

[0248] 6-氯-5-氟-N-[2-(3-羟基-3-甲基丁基)-7-甲氧基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺，

[0249] 6-溴-N-[2-(3-羟基-3-甲基丁基)-7-甲氧基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺，

[0250] 6-氯-N-[2-(3-羟基-3-甲基丁基)-7-甲氧基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺，

[0251] N-[7-甲氧基-2-(2-甲氧基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺，

[0252] N-[7-溴-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺，

[0253] 1-环丙基-N-[7-乙氧基-8-氟-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0254] N-[7-乙氧基-8-氟-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-1-甲基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0255] 1-环丙基-N-[7-乙氧基-8-氟-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0256] 2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(2-羟基乙基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0257] 2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(2,2,2-三氟乙基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪

唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0258] 1-环丙基-N-[8-氟-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺，

[0259] 2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0260] 2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(氧杂环丁烷-3-基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0261] N-(环丙基甲基)-2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0262] 2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(1-甲基环丙基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0263] 2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(四氢呋喃-3-基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，

[0264] N-(2,2-二氟乙基)-2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺，和

[0265] N-乙基-2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺。

[0266] 在一个实施方案中，本发明化合物是1-环丙基-N-[7-乙氧基-8-氟-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺。

[0267] 在另一个实施方案中，本发明化合物不是1-环丙基-N-[7-乙氧基-8-氟-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺。

[0268] 在一个实施方案中，本发明化合物以天然同位素形式提供。

[0269] 在一个实施方案中，本发明化合物以非天然变体同位素形式提供。在特别的实施方案中，非天然变体同位素形式是将氘(即^{2}H或D)掺入的形式，其中在本发明化合物的一个或多个原子中的化学结构中指定氢。在一个实施方案中，本发明化合物的原子是不为放射性的同位素形式。在一个实施方案中，本发明化合物的一个或多个原子是放射性的同位素形式。适合地，放射性同位素是稳定的同位素。适合地，非天然变体同位素形式是药学上可接受的形式。

[0270] 在一个实施方案中，提供了本发明化合物，其中化合物的单个原子以非天然变体同位素形式存在。在另一个实施方案中，提供了本发明化合物，其中两个或更多个原子以非天然变体同位素形式存在。

[0271] 非天然同位素变异形式可以通常通过本领域技术人员已知的常规技术或通过本文中所描述的方法(例如，类似于所附实施例中描述的制备天然同位素形式的那些方法)来制备。因此，非天然同位素变异形式可以通过使用适合的同位素变体(或标记的)试剂代替实施例用于说明性示例的正常试剂制备。

[0272] 在一个方面中，根据本文所描述的实施方案中的任一者的本发明化合物是以游离碱存在。

[0273] 在一个方面中，根据本文所描述的实施方案中的任一者的本发明化合物是药学上可接受的盐。

[0274] 在一个方面中，根据本文所描述的实施方案中的任一者的本发明化合物是化合物的溶剂化物。

[0275] 在一个方面中，根据本文所描述的实施方案中的任一者的本发明化合物是化合物的药学上可接受的盐的溶剂化物。

[0276] 虽然已在上文大体上单独列出针对各实施方案所指定的基团，但本发明化合物包括其中上述式以及本文中呈现的其它式中的若干实施方案或各实施方案选自针对各变量分别指定的一个或多个特别的成员或基团的化合物。因此，本发明旨在包括在其范围内的此类实施方案的所有组合。

[0277] 虽然各实施方案的指定基团已大体上在上文单独列出，但本发明化合物可以是一个或多个变量(例如R基团)选自根据上文列出的式(e)中的任一者的一个或多个实施方案的化合物。因此，本发明旨在包括在其范围内的来自所公开实施方案中的任一者的变量的所有组合。

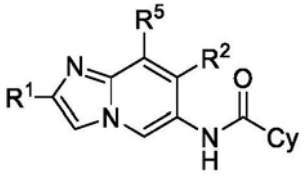
[0278] 可选择的是，本发明还涵盖自基团或实施方案或其组合排除一个或多个指定变量。

[0279] 在某些方面中，本发明提供了上述式的化合物的前药和衍生物。前药是本发明化合物的衍生物，其具有代谢可裂解基团并且通过溶剂分解或在生理条件下变成在体内具有药物活性的本发明化合物。此类实例包括但不限于胆碱酯衍生物等、N-烷基吗啉酯等。

[0280] 本发明化合物的其它衍生物的酸和酸衍生物形式具有活性，但酸敏感形式通常提供在哺乳动物生物体中的溶解度、组织相容性或延迟释放的优势(Bundgard，1985)。前药包括本领域技术人员熟知的酸衍生物，例如通过母体酸与适合的醇反应制备的酯，或通过母体酸化合物与取代的或未取代的胺反应制备的酰胺，或酸酐或混合酸酐。衍生自侧接于本发明化合物的酸性基团的简单脂族或芳族酯、酰胺和酸酐是优选的前药。在一些情况下，需要制备双酯型前药，例如(酰氧基)烷基酯或((烷氧羰基)氧基)烷基酯。本发明化合物的C_1至C_8烷基、C_2-C_8链烯基、芳基、C_7-C_{12}取代的芳基和C_7-C_{12}芳基烷基酯是特别有用的。

[0281] 条款

[0282] 1.式I化合物：

[0283] 

I

[0284] 其中

[0285] R^1是被一个或多个独立地选择的-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、卤素或-S(=O)$_2$-C_{1-4}烷基取代的C_{2-6}烷基；

[0286] R^2是

[0287] a)C_{1-4}烷氧基，该烷氧基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代，

[0288] b)-O-C_{3-4}环烷基，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代，或

[0289] c)-C(=O)$NR^{3a}R^{3b}$;

[0290] Cy是包含1或2个N原子的6元杂芳基,其被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代;每个R^{3a}和R^{3b}独立地选自

[0291] a)H,

[0292] b)C_{1-4}烷基,该烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代,该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代,

[0293] c)C_{3-6}环烷基,该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代,或

[0294] d)包含1或2个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基,该杂环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代;

[0295] R^{3a}和R^{3b}与它们所连接的N原子一起可以形成4-6元单环杂环烷基;

[0296] 每个R^4独立地是

[0297] a)氧代,

[0298] b)-OH,

[0299] c)-CN,

[0300] d)卤素,

[0301] e)C_{1-4}烷基,其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN取代,

[0302] f)C_{1-4}烷氧基,其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代,或

[0303] g)C_{3-7}环烷基,其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代;且

[0304] R^5选自H、卤素、$-CH_3$或$-CF_3$;

[0305] 或其药学上可接受的盐或其溶剂化物或溶剂化物的盐或其代谢物。

[0306] 2.条款1的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^5是H、F、$-CH_3$或$-CF_3$。

[0307] 3.条款1的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^5是H。

[0308] 4.在一个实施方案中,本发明化合物是条款1,其中R^5是F。

[0309] 5.条款1、2、3或4的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^1是被1、2或3个独立地选择的-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基、卤素或$-S(=O)_2-C_{1-4}$烷基取代的C_{2-6}烷基。

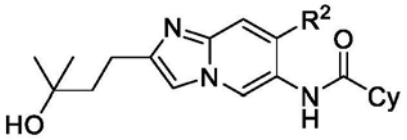
[0310] 6.条款1、2、3或4的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^1是被一个或多个独立地选择的-OH、-CN、$-OCH_3$、F、Cl或$-S(=O)_2CH_3$取代的C_{2-6}烷基。

[0311] 7.条款1、2、3或4的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^1是$-CH_2-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3$、$-CH_2-CH_2-CH(CH_3)_2$,其各自被一个-OH或$-S(=O)_2CH_3$取代。

[0312] 8.条款1、2、3或4的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^1是$-CH_2-CH_2-C(CH_3)_2-OH$。

[0313] 9.条款1、2、3或4的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^1是$-CH_2-CH_2-S(=O)_2CH_3$。

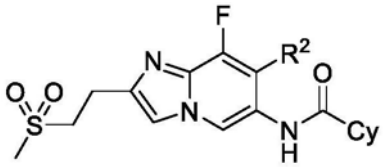
[0314] 10.条款1的化合物或其药学上可接受的盐,其中化合物是式IIa:

[0315] 

IIa

[0316] 其中R^2和Cy如上述所定义。

[0317] 11.条款1的化合物或其药学上可接受的盐,其中化合物的式IIb:

[0318] 

IIb

[0319] 其中R^2和Cy如上述所定义。

[0320] 12.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2是C_{1-4}烷氧基,该烷氧基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代。

[0321] 13.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2是$-OCH_3$或$-OCH_2CH_3$,其各自是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代。

[0322] 14.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2是$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$或$-OCF_3$。

[0323] 15.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2是$-OCH_2CH_3$。

[0324] 16.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2是-O-C_{3-4}环烷基,该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代。

[0325] 17.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2是-O-环丙基或-O-环丁基,其各自是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素或-OH取代。

[0326] 18.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2是-O-环丙基。

[0327] 19.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2是$-C(=O)NR^{3a}R^{3b}$。

[0328] 20.条款19的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{3a}是H。

[0329] 21.条款19的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{3a}是C_{1-4}烷基。

[0330] 22.条款19的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{3a}是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$。

[0331] 23.条款19的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{3a}是C_{1-4}烷基,该烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代,该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代。

[0332] 24.条款19的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{3a}是C_{3-6}环烷基。

[0333] 25.条款19的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{3a}是环丙基、环丁基或环戊基。

[0334] 26.条款19的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{3a}是环丙基。

[0335] 27.条款19的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{3a}是C_{3-6}环烷基,该环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。

[0336] 28.条款19的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{3a}是C_{3-6}环烷基,该环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。

[0337] 29.条款19的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}是环丙基、环丁基或环戊基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2-CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl取代。

[0338] 30.条款19的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基。

[0339] 31.条款19的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基。

[0340] 32.条款19的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}是氮杂环丁烷基或环氧乙烷基。

[0341] 33.条款19的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基，该杂环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。

[0342] 34.条款19的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基，该杂环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2-CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl取代。

[0343] 35.条款19的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基取代。

[0344] 36.条款19的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2-CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl取代。

[0345] 37.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是H。

[0346] 38.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是C_{1-4}烷基。

[0347] 39.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是-CH_3、-CH_2-CH_3或-$CH(CH_3)_2$。

[0348] 40.条款19-36的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是C_{1-4}烷基，该烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH、-CN、C_{1-4}烷氧基或C_{3-7}环烷基取代，该环烷基是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素取代。

[0349] 41.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是C_{3-6}环烷基。

[0350] 42.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是环丙基、环丁基或环戊基。

[0351] 43.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是环丙基。

[0352] 44.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是C_{3-6}环烷基，该环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。

[0353] 45.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是C_{3-6}环烷基，该环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2-CH_3、-OCH_3、-OCH_2CH_3、F或Cl取代。

[0354] 46.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是环丙基、环丁基或环戊基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、-CH_3、-CH_2-CH_3、-OCH_3、-

OCH_2CH_3、F或Cl取代。

[0355] 47.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基。

[0356] 48.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基。

[0357] 49.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是氮杂环丁烷基或环氧乙烷基。

[0358] 50.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基，该杂环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基或卤素取代。

[0359] 51.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是包含一个或两个独立地选择的N、S或O原子的4-6元杂环烷基，该杂环烷基被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。

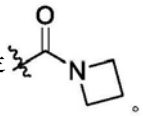
[0360] 52.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基取代。

[0361] 53.条款19-36任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3b}是氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基或硫代吗啉基，其各自被一个或多个独立地选择的氧代、-OH、-CN、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、F或Cl取代。

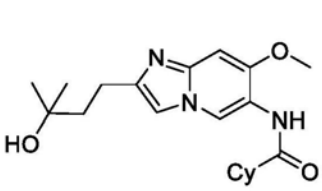
[0362] 54.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^2是$-C(=O)NH_2$、$-C(=O)N(CH_3)_2$或$-C(=O)NHCH_3$。

[0363] 55.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^2是$-C(=O)NH_2$。

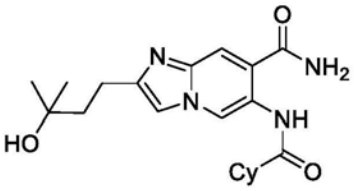
[0364] 56.条款15的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{3a}和R^{3b}与它们所连接的N原子一起可以形成4-6元单环杂环烷基。

[0365] 57.条款1-11任一项的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^2是。

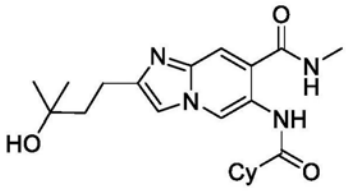
[0366] 58.条款1的化合物或其药学上可接受的盐，其中本发明化合物是式IIIa、IIIb或IIIc:

[0367] 

IIIa、



IIIb、

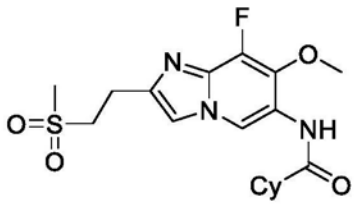


IIIc。

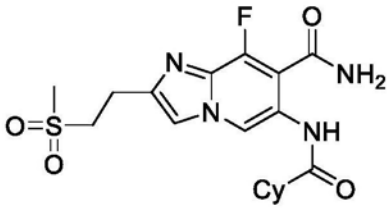
[0368] 其中Cy如上述所定义。

[0369] 59.条款1的化合物或其药学上可接受的盐，其中本发明化合物是式IVa、IVb、IVc或IVd:

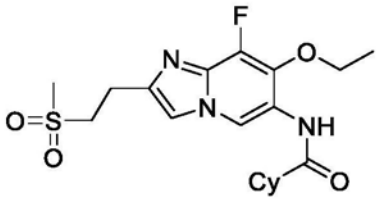
[0370]



IVa、

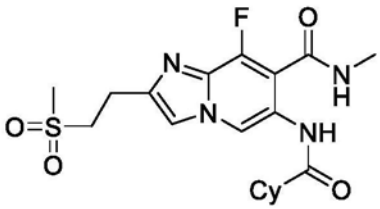


IVb、



IVc

或 IVd



[0371] 其中Cy如上述所定义。

[0372] 60.条款1-59任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中Cy是包含1或2个N原子的6元杂芳基,其被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代。

[0373] 61.条款1-59任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中Cy是吡啶基或吡嗪基,其各自被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代。

[0374] 62.条款1-59任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中Cy是吡啶基,其被一个或两个独立地选择的R^4取代基取代。

[0375] 63.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是氧代。

[0376] 64.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是-OH。

[0377] 65.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是-CN。

[0378] 66.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是卤素。

[0379] 67.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是F或Cl。

[0380] 68.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是C_{1-4}烷基,其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。

[0381] 69.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$或$-CH(CH_3)_2$,其各自是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。

[0382] 70.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是C_{1-4}烷氧基,其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。

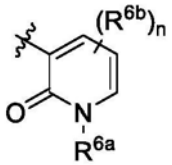
[0383] 71.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是$-OCH_3$、$-OCH_2-CH_3$或$-OCH(CH_3)_2$,其各自是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。

[0384] 72.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4是C_{3-7}环烷基,其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代。

[0385] 73.条款60、61或62的化合物或其药学上可接受的盐,其中每个R^4独立地选自氧代、-OH、-CN、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-O-CH_2-CH_3$、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基、被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。

[0386] 74.条款73的化合物或其药学上可接受的盐,其中本发明化合物是式I-IVc,其中

Cy是：

[0387] 

Cy_1

[0388] 其中

[0389] R^{6a}是

[0390] a)C_{1-4}烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，或

[0391] b)C_{3-7}环烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代；

[0392] R^{6b}是

[0393] a)-OH，

[0394] b)-CN，

[0395] c)卤素，

[0396] d)C_{1-4}烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，

[0397] e)C_{1-4}烷氧基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代，或

[0398] f)C_{3-7}环烷基，其是未取代的或者被一个或多个独立地选择的卤素、-OH或-CN取代；并且下标n是0、1或2。

[0399] 75.条款73的化合物或其药学上可接受的盐，其中Cy是Cy_1，其中R^{6a}和下标n如上述所定义，并且R^{6b}是-CN、-OH、F、Cl、$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、$-O-CH_3$、$-O-CH_2-CH_3$、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基或被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。

[0400] 76.条款73的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{6b}是F、Cl、$-CH_3$、$-CF_3$或$-CHF_2$或$-OCH_3$。

[0401] 77.条款73的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{6b}是F。

[0402] 78.条款73的化合物或其药学上可接受的盐，其中Cy是Cy_1，其中R^{6b}和下标n如上述所定义，并且R^{6a}是$-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$、$-CF_3$、$-CHF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CH_2CN$、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2-CN$、环丙基、环丁基、被一个或两个独立地选择的F或-CN取代的环丙基或被一个或两个独立地选择的F、-OH或-CN取代的环丁基。

[0403] 79.条款73的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{6a}是$-CH_3$、$-CF_3$、$-CHF_2$、环丙基或环丁基。

[0404] 80.条款73的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{6a}是$-CH_3$或环丙基。

[0405] 81.条款73的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^{6a}是环丙基。

[0406] 药物组合物

[0407] 当用作药物时，本发明化合物通常以药物组合物形式施用。此类组合物可以以医药领域中熟知的方式制备并且包含至少一种式I的本发明的活性化合物。通常，本发明化合

物以药学有效量施用。实际上施用的本发明化合物的量通常将由医师根据相关情况来决定，所述情况包括待治疗的病症、所选施用途径、施用的实际本发明化合物、个体患者的年龄、体重和反应，患者症状的严重程度等。

[0408] 本发明的药物组合物可以通过多种途径施用，包括口服、直肠、经皮、皮下、关节内、静脉内、肌内和鼻内。取决于预期递送途径，本发明化合物优选配制为可注射或口服组合物，或均用于经皮施用的软膏剂、洗剂或贴剂。

[0409] 用于口服施用的组合物可以采用散装液体溶液剂或混悬剂或散装粉末的形式。然而，组合物更通常以单位剂型存在以有助于精确给药。术语“单位剂型”是指适合用作人个体和其它哺乳动物的单位剂量的物理离散单元，每个单位含有经计算以产生所需治疗效果的预定量的活性材料，其与适合的药用赋形剂、媒介物或载体结合。典型的单位剂型包括液体组合物的预填充、预测量的安瓿或注射器或固体组合物的丸剂、片剂、胶囊剂等。在此类组合物中，根据式I的本发明化合物通常是次要组分(约0.1至约50重量％或优选约1至约40重量％)，其余部分为有助于形成所需给药形式的多种媒介物或载体及加工助剂。

[0410] 适合于口服施用的液体形式可以包含适合的水性或非水性媒介物与缓冲剂、助悬剂和分散剂、着色剂、矫味剂等。固体形式可以包含(例如)任何以下成分或具有类似性质的本发明化合物：粘合剂，例如微晶纤维素、黄蓍胶或明胶；赋形剂，例如淀粉或乳糖；崩解剂，例如海藻酸、Primogel或玉米淀粉；润滑剂，例如硬脂酸镁；助流剂，例如胶态二氧化硅；甜味剂，例如蔗糖或糖精；或矫味剂，例如薄荷或橙味矫味剂。

[0411] 可注射组合物通常基于可注射无菌盐水或磷酸盐缓冲盐水或本领域已知的其它可注射载体。如前所述，此类组合物中的根据式I的本发明活性化合物通常是次要组分，通常为约0.05至10重量％，其余部分是可注射载体等。

[0412] 经皮组合物通常配制为含有通常量范围为约0.01重量％至约20重量％，优选约0.1重量％至约20重量％，优选约0.1重量％至约10重量％并且更优选约0.5重量％至约15重量％的活性成分的局部软膏剂或乳膏剂。当配制为软膏剂时，活性成分通常将与石蜡或水可混溶性软膏基质组合。可选择的是，活性成分可以与例如水包油型乳膏基质配制为乳膏剂。此类经皮制剂是本领域熟知的并且通常包含另外的成分以增强活性成分或制剂的真皮穿透稳定性。所有此类已知的经皮制剂和成分均包括在本发明范围内。

[0413] 本发明化合物还可以通过经皮装置施用。因此，经皮施用可以使用储库或多孔膜型或固体基质类贴剂来实现。

[0414] 上文所述的用于可口服施用、可注射或可局部施用组合物的组分仅为代表性的。其它材料以及加工技术等阐述于Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,1985,Mack Publishing Company,Easton,Pennsylvania的第8部分，其以引用的方式并入本文中。(Remington and Gennaro,1985)

[0415] 本发明化合物还可以以持续释放形式施用或自持续释放药物递送系统施用。代表性的持续释放材料的描述可见于Remington's Pharmaceutical Sciences。(Remington and Gennaro,1985)

[0416] 以下制剂实例说明可以根据本发明制备的代表性药物组合物。然而，本发明不限于以下药物组合物。

[0417] 制剂1-片剂

[0418] 式I的本发明化合物可以以干燥粉末形式与干燥明胶粘合剂以约1:2重量比混合。可以添加少量硬脂酸镁作为润滑剂。混合物可以在压片机中形成240-270mg片剂(每片剂80-90mg式I的本发明活性化合物)。

[0419] 制剂2-胶囊剂

[0420] 式I的本发明化合物可以以干燥粉末形式与淀粉稀释剂以约1:1重量比混合。可以将混合物填充至250mg胶囊(每粒胶囊125mg式I的本发明活性化合物)。

[0421] 制剂3-液体制剂

[0422] 式I的本发明化合物(125mg)可以与蔗糖(1.75g)和黄原胶(4mg)混合,并且可以将所得混合物掺合,穿过美国筛第10号筛,并且接着与先前制得的微晶纤维素和羧甲基纤维素钠(11:89,50mg)的水溶液混合。苯甲酸钠(10mg)、矫味剂和着色剂可以用水稀释并且在搅拌下添加。随后可以在搅拌下添加足够水。随后可以添加另外的足够水以制备5mL的总体积。

[0423] 制剂4-片剂

[0424] 式I的本发明化合物可以以干燥粉末形式与干燥明胶粘合剂以约1:2重量比混合。可以添加少量硬脂酸镁作为润滑剂。混合物可以在压片机中形成450-900mg片剂(每片剂150-300mg式I的本发明活性化合物)。

[0425] 制剂5-注射剂

[0426] 式I的本发明化合物可以溶解或悬浮于缓冲无菌盐水可注射水性介质中,达到约5mg/mL的浓度。

[0427] 制剂6-局部制剂

[0428] 硬脂醇(250g)和白凡士林(250g)可以在约75℃熔融,随后可以添加式I的本发明化合物(50g)、对羟基苯甲酸甲酯(0.25g)、对羟基苯甲酸丙酯(0.15g)、月桂基硫酸钠(10g)和丙二醇(120g)溶解于水(约370g)中的混合物,并且可以搅拌所得混合物直至其凝结。

[0429] 治疗方法

[0430] 在一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于医学中。在特别的实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病。

[0431] 在另一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于制备用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的药物。

[0432] 在另外的治疗方法方面中,本发明提供了预防和/或治疗患有炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的哺乳动物的方法,该方法包括施用有效量的本文所描述的本发明化合物或者一种或多种药物组合物用于治疗或预防所述病症。

[0433] 在一个实施方案中,本发明提供了包含本发明化合物和另外的治疗剂的药物组合物。在特别的实施方案中,另外的治疗剂是用于预防和/或治疗炎性疾病、自身免疫疾病、疼痛、纤维化和/或增殖性疾病的活性剂。

[0434] 在一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于预防和/或治疗炎性疾病。在特别的实施方案中,炎性疾病选自类风湿性关节炎、

骨关节炎、幼年特发性关节炎、银屑病、银屑病性关节炎、强直性脊柱炎、变态反应性气道疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、炎性肠病(例如克罗恩病、溃疡性结肠炎)、内毒素驱动的疾病状态(例如在搭桥手术之后的并发症或引起例如慢性心力衰竭的慢性内毒素状态)以及涉及软骨例如关节的软骨的相关疾病。更特别的是,炎性疾病是类风湿性关节炎、银屑病或幼年特发性关节炎。

[0435] 在另一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于制备用于预防和/或治疗炎性疾病的药物。在特别的实施方案中,炎性疾病选自类风湿性关节炎、骨关节炎、幼年特发性关节炎、银屑病、银屑病性关节炎、强直性脊柱炎、变态反应性气道疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、炎性肠病(例如克罗恩病、溃疡性结肠炎)、内毒素驱动的疾病状态(例如在搭桥手术之后的并发症或引起例如慢性心力衰竭的慢性内毒素状态)以及涉及软骨例如关节的软骨的相关疾病。更特别的是,炎性疾病是类风湿性关节炎、银屑病或幼年特发性关节炎。

[0436] 在另外的治疗方法方面中,本发明提供了预防和/或治疗患有炎性疾病的哺乳动物的方法,该方法包括施用有效量的本文所述的本发明化合物或者一种或多种药物组合物用于治疗或预防所述病症。在特别的实施方案中,炎性疾病选自类风湿性关节炎、骨关节炎、幼年特发性关节炎、银屑病、银屑病性关节炎、强直性脊柱炎、变态反应性气道疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、炎性肠病(例如克罗恩病、溃疡性结肠炎)、内毒素驱动的疾病状态(例如在搭桥手术之后的并发症或引起例如慢性心力衰竭的慢性内毒素状态)以及涉及软骨例如关节的软骨的相关疾病。更特别的是,炎性疾病是类风湿性关节炎、银屑病或幼年特发性关节炎。

[0437] 在一个实施方案中,本发明提供了包含本发明化合物和另外的治疗剂的药物组合物。在特别的实施方案中,另外的治疗剂是炎性疾病治疗剂。在特别的实施方案中,炎性疾病选自类风湿性关节炎、骨关节炎、幼年特发性关节炎、银屑病、银屑病性关节炎、强直性脊柱炎、变态反应性气道疾病(例如哮喘、鼻炎)、慢性阻塞性肺病(COPD)、炎性肠病(例如克罗恩病、溃疡性结肠炎)、内毒素驱动的疾病状态(例如在搭桥手术之后的并发症或引起例如慢性心力衰竭的慢性内毒素状态)以及涉及软骨例如关节的软骨的相关疾病。更特别的是,炎性疾病是类风湿性关节炎、银屑病或幼年特发性关节炎。

[0438] 在一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于预防和/或治疗自身免疫疾病。在特别的实施方案中,自身免疫疾病选自阻塞性气道疾病包括病症例如COPD、哮喘(例如内源性哮喘、外源性哮喘、粉尘性哮喘、婴儿哮喘),特别是慢性或顽固性哮喘(例如迟发性哮喘和气管过度反应)、支气管炎包括支气管哮喘、系统性红斑狼疮(SLE)、皮肤红斑狼疮、狼疮性肾炎、皮肌炎、舍格伦综合征、多发性硬化、银屑病、干眼病、I型糖尿病及与其相关的并发症、特应性湿疹(特应性皮炎)、甲状腺炎(桥本甲状腺炎和自身免疫甲状腺炎)、接触性皮炎及其它湿疹性皮炎、炎性肠病(例如克罗恩病和溃疡性结肠炎)、动脉粥样硬化和肌萎缩性侧索硬化。更特别的是,自身免疫疾病是系统性红斑狼疮。

[0439] 在另一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于制备用于预防和/或治疗自身免疫疾病的药物。在特别的实施方案中,自身免疫疾病选自阻塞性气道疾病包括病症例如COPD、哮喘(例如内源性哮喘、外源性哮喘、粉尘

性哮喘、婴儿哮喘)，特别是慢性或顽固性哮喘(例如迟发性哮喘和气管过度反应)、支气管炎包括支气管哮喘、系统性红斑狼疮(SLE)、皮肤红斑狼疮、狼疮性肾炎、皮肌炎、舍格伦综合征、多发性硬化、银屑病、干眼病、I型糖尿病及与其相关的并发症、特应性湿疹(特应性皮炎)、甲状腺炎(桥本甲状腺炎和自身免疫甲状腺炎)、接触性皮炎及其它湿疹性皮炎、炎性肠病(例如克罗恩病和溃疡性结肠炎)、动脉粥样硬化和肌萎缩性侧索硬化。更特别的是，自身免疫疾病是系统性红斑狼疮。

[0440] 在另外的治疗方法方面中，本发明提供了预防和/或治疗患有自身免疫疾病的哺乳动物的方法，该方法包括施用有效量的本文所述的本发明化合物或者一种或多种药物组合物用于治疗或预防所述病症。在特别的实施方案中，自身免疫疾病选自阻塞性气道疾病包括病症例如COPD、哮喘(例如内源性哮喘、外源性哮喘、粉尘性哮喘、婴儿哮喘)，特别是慢性或顽固性哮喘(例如迟发性哮喘和气管过度反应)、支气管炎包括支气管哮喘、系统性红斑狼疮(SLE)、皮肤红斑狼疮、狼疮性肾炎、皮肌炎、舍格伦综合征、多发性硬化、银屑病、干眼病、I型糖尿病及与其相关的并发症、特应性湿疹(特应性皮炎)、甲状腺炎(桥本甲状腺炎和自身免疫甲状腺炎)、接触性皮炎及其它湿疹性皮炎、炎性肠病(例如克罗恩病和溃疡性结肠炎)、动脉粥样硬化和肌萎缩性侧索硬化。更特别的是，自身免疫疾病是系统性红斑狼疮。

[0441] 在一个实施方案中，本发明提供了包含本发明化合物和另外的治疗剂的药物组合物。在特别的实施方案中，另外的治疗剂是自身免疫疾病治疗剂。在特别的实施方案中，自身免疫疾病选自阻塞性气道疾病包括病症例如COPD、哮喘(例如内源性哮喘、外源性哮喘、粉尘性哮喘、婴儿哮喘)，特别是慢性或顽固性哮喘(例如迟发性哮喘和气管过度反应)、支气管炎包括支气管哮喘、系统性红斑狼疮(SLE)、皮肤红斑狼疮、狼疮性肾炎、皮肌炎、舍格伦综合征、多发性硬化、银屑病、干眼病、I型糖尿病及与其相关的并发症、特应性湿疹(特应性皮炎)、甲状腺炎(桥本甲状腺炎和自身免疫甲状腺炎)、接触性皮炎及其它湿疹性皮炎、炎性肠病(例如克罗恩病和溃疡性结肠炎)、动脉粥样硬化和肌萎缩性侧索硬化。更特别的是，自身免疫疾病是系统性红斑狼疮。

[0442] 在一个实施方案中，本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物，其用于预防和/或治疗疼痛。在特别的实施方案中，疼痛选自伤害性疼痛(例如内脏疼痛和/或躯体疼痛)、炎性疼痛(与组织损伤和炎性细胞浸润相关)和神经性或功能异常疼痛(由神经系统的损伤或功能异常引起)和/或与本文中提及的病症相关或由其引起的疼痛。更特别的是，疼痛是炎性和/或神经性疼痛。

[0443] 在另一个实施方案中，本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物，其用于制备用于预防和/或治疗疼痛的药物。在特别的实施方案中，疼痛选自伤害性疼痛(例如内脏疼痛和/或躯体疼痛)、炎性疼痛(与组织损伤和炎性细胞浸润相关)和神经性或功能异常疼痛(由神经系统的损伤或功能异常引起)和/或与本文中提及的病症相关或由其引起的疼痛。更特别的是，疼痛是炎性和/或神经性疼痛。

[0444] 在另外的治疗方法方面中，本发明提供了预防和/或治疗患有疼痛的哺乳动物的方法，该方法包括施用有效量的本文所描述的本发明化合物或者一种或多种药物组合物用于治疗或预防所述病症。在特别的实施方案中，疼痛选自伤害性疼痛(例如内脏疼痛和/或躯体疼痛)、炎性疼痛(与组织损伤和炎性细胞浸润相关)和神经性或功能异常疼痛(由神经

系统的损伤或功能异常引起)和/或与本文中提及的病症相关或由其引起的疼痛。更特别的是,疼痛是炎性和/或神经性疼痛。

[0445] 在一个实施方案中,本发明提供了包含本发明化合物和另外的治疗剂的药物组合物。在特别的实施方案中,另外的治疗剂是疼痛治疗剂。在特别的实施方案中,疼痛选自伤害性疼痛(例如内脏疼痛和/或躯体疼痛)、炎性疼痛(与组织损伤和炎性细胞浸润相关)和神经性或功能异常疼痛(由神经系统的损伤或功能异常引起)和/或与本文中提及的病症相关或由其引起的疼痛。更特别的是,疼痛是炎性和/或神经性疼痛。

[0446] 在一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于预防和/或治疗纤维化。在特别的实施方案中,纤维化选自系统性硬化症、特发性肺纤维化以及其它形式的肺纤维化和间质性肺病、酒精性脂肪性肝炎、非酒精性脂肪性肝炎、肾纤维化和由于炎性肠病引起的结肠纤维化。更特别的是,纤维化是硬皮病性慢性移植物抗宿主病。

[0447] 在另一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于制备用于预防和/或治疗纤维化的药物。在特别的实施方案中,纤维化选自系统性硬化症、特发性肺纤维化以及其它形式的肺纤维化和间质性肺病、酒精性脂肪性肝炎、非酒精性脂肪性肝炎、肾纤维化和由于炎性肠病引起的结肠纤维化。更特别的是,纤维化是硬皮病性慢性移植物抗宿主病。

[0448] 在另外的治疗方法方面中,本发明提供了预防和/或治疗患有纤维化的哺乳动物的方法,该方法包括施用有效量的本文所描述的本发明化合物或者一种或多种药物组合物用于治疗或预防所述病症。在特别的实施方案中,纤维化选自系统性硬化症、特发性肺纤维化以及其它形式的肺纤维化和间质性肺病、酒精性脂肪性肝炎、非酒精性脂肪性肝炎、肾纤维化和由于炎性肠病引起的结肠纤维化。更特别的是,纤维化是硬皮病性慢性移植物抗宿主病。

[0449] 在一个实施方案中,本发明提供了包含本发明化合物和另外的治疗剂的药物组合物。在特别的实施方案中,另外的治疗剂是纤维化治疗剂。在特别的实施方案中,纤维化选自系统性硬化症、特发性肺纤维化以及其它形式的肺纤维化和间质性肺病、酒精性脂肪性肝炎、非酒精性脂肪性肝炎、肾纤维化和由于炎性肠病引起的结肠纤维化。更特别的是,纤维化是硬皮病性慢性移植物抗宿主病。

[0450] 在一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于预防和/或治疗增殖性疾病。在特别的实施方案中,增殖性疾病选自癌症(例如子宫平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增殖障碍(例如真性红细胞增多症、原发性血小板增多症和骨髓纤维化)、白血病(例如急性髓样白血病、急性和慢性淋巴母细胞白血病)、多发性骨髓瘤、银屑病、再狭窄、硬皮病或纤维化。在特别的实施方案中,增殖性疾病是硬皮病性慢性移植物抗宿主病(cGvHD)。

[0451] 在另一个实施方案中,本发明提供了本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物,其用于制备用于预防和/或治疗增殖性疾病的药物。在特别的实施方案中,增殖性疾病选自癌症(例如子宫平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增殖障碍(例如真性红细胞增多症、原发性血小板增多症和骨髓纤维化)、白血病(例如急性髓样白血病、急性和慢性淋巴母细胞白血病)、多发性骨髓瘤、银屑病、再狭窄、硬皮病或纤维化。在特别的实施方案中,增殖性疾

病是硬皮病性慢性移植物抗宿主病(cGvHD)。

[0452] 在另外的治疗方法方面中,本发明提供了预防和/或治疗患有增殖性疾病的哺乳动物的方法,该方法包括施用有效量的本文所描述的本发明化合物或者一种或多种药物组合物用于治疗或预防所述病症。在特别的实施方案中,增殖性疾病选自癌症(例如子宫平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增殖障碍(例如真性红细胞增多症、原发性血小板增多症和骨髓纤维化)、白血病(例如急性髓样白血病、急性和慢性淋巴母细胞白血病)、多发性骨髓瘤、银屑病、再狭窄、硬皮病或纤维化。在特别的实施方案中,增殖性疾病是硬皮病性慢性移植物抗宿主病(cGvHD)。

[0453] 在一个实施方案中,本发明提供了包含本发明化合物和另外的治疗剂的药物组合物。在特别的实施方案中,另外的治疗剂是增殖性疾病治疗剂。在特别的实施方案中,增殖性疾病选自癌症(例如子宫平滑肌肉瘤或前列腺癌)、骨髓增殖障碍(例如真性红细胞增多症、原发性血小板增多症和骨髓纤维化)、白血病(例如急性髓样白血病、急性和慢性淋巴母细胞白血病)、多发性骨髓瘤、银屑病、再狭窄、硬皮病或纤维化。在特别的实施方案中,增殖性疾病是硬皮病性慢性移植物抗宿主病(cGvHD)。

[0454] 注射剂量水平范围为约0.1mg/kg/小时至至少10mg/kg/小时,全部持续约1至约120小时并且特别是24至96小时。还可以施用约0.1mg/kg至约10mg/kg或更多的预负载推注以达到充分稳态水平。对于40kg至80kg人患者,最大总剂量预期不超过约1g/天。

[0455] 对于长期病症(例如退化性病症)的预防和/或治疗,治疗方案通常延伸历经多月或多年,因此口服给药就患者便利性和耐受性而言是优选的。就口服给药而言,每天一至四次(1-4)规律给药,特别是每天一至三次(1-3)规律给药,通常每天一至两次(1-2)规律给药,并且最通常每天一次(1)规律给药是代表性方案。可选择的是,对于作用持续时间较长的药物,就口服给药而言,每隔一周一次、每周一次和每天一次是代表性方案。特别的是,给药方案可以是每1-14天,更特别的是1-10天,甚至更特别的是1-7天,并且最特别的是1-3天。

[0456] 使用这些给药模式,每个剂量提供约1至约1000mg的本发明化合物,其中特别的剂量每个提供约10至约500mg并且特别是约30至约250mg。

[0457] 通常选择经皮给药以提供与使用注射给药所实现的血液水平相比类似或更低的血液水平。

[0458] 当用于预防病症发作时,通常根据医师的建议并且在医师的监督下,以上文所述的剂量水平给处于患有该病症风险中的患者施用本发明化合物。处于患有特别的病症风险中的患者通常包括具有该病症家族史的那些患者,或已经通过遗传测试或筛检被鉴别为特别易于患有该病症的那些患者。

[0459] 本发明化合物可以作为单独的活性剂施用或者可以与其它治疗剂(包括显示相同或类似治疗活性并且被确定对于此类组合施用是安全并且有效的本发明的其它化合物)组合施用。在特别的实施方案中,共施用两种(或更多种)活性剂使得显著降低了每个待使用活性剂的剂量,由此减轻所见副作用。

[0460] 在一个实施方案中,本发明化合物或包含本发明化合物的药物组合物作为药物施用。在特别的实施方案中,所述药物组合物还包含另外的活性成分。

[0461] 在一个实施方案中,本发明化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防涉

及炎症的疾病,特别的活性剂包括但不限于免疫调节剂(例如硫唑嘌呤(azathioprine))、皮质类固醇(例如泼尼松龙(prednisolone)或地塞米松(dexamethasone))、环磷酰胺(cyclophosphamide)、环孢素A(cyclosporin A)、他克莫司(tacrolimus)、麦考酚酯(mycophenolate)、莫非替克(mofetil)、莫罗单抗-CD3(muromonab-CD3)(OKT3,例如Orthocolone®)、ATG、阿司匹林(aspirin)、醋氨酚(acetaminophen)、布洛芬(ibuprofen)、萘普生(naproxen)和吡罗昔康(piroxicam)。

[0462] 在一个实施方案中,本发明的化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防关节炎(例如类风湿性关节炎),特别的活性剂包括但不限于镇痛剂、非类固醇抗炎药(NSAIDS)、类固醇、合成的DMARDS(例如但不限于甲氨蝶呤(methotrexate)、来氟米特(leflunomide)、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)、金诺芬(auranofin)、金硫丁二钠(sodium aurothiomalate)、青霉胺(penicillamine)、氯喹、羟基氯喹、硫唑嘌呤、托法替尼(tofacitinib)、巴瑞替尼(baricitinib)、福他替尼(fostamatinib)和环孢素)和生物DMARDS(例如但不限于英利昔单抗(infliximab)、依那西普(etanercept)、阿达木单抗(adalimumab)、利妥昔单抗(rituximab)和阿巴他塞(abatacept))。

[0463] 在一个实施方案中,本发明化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防增殖性障碍,特别的活性剂包括但不限于:甲氨蝶呤、亚叶酸、亚德里亚霉素(adriamycin)、泼尼松、博来霉素(bleomycin)、环磷酰胺、5-氟尿嘧啶、紫杉醇(paclitaxel)、多西他赛(docetaxel)、长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、长春瑞滨(vinorelbine)、多柔比星(doxorubicin)、他莫昔芬(tamoxifen)、托瑞米芬(toremifene)、乙酸甲地孕酮、阿那曲唑(anastrozole)、戈舍瑞林(goserelin)、抗HER2单克隆抗体(例如Herceptin™)、卡培他滨(capecitabine)、盐酸雷洛昔芬(raloxifene)、EGFR抑制剂(例如Iressa®、Tarceva™、Erbitux™)、VEGF抑制剂(例如Avastin™)、蛋白酶体抑制剂(例如Velcade™)、Glivec®和hsp90抑制剂(例如17-AAG)。另外,根据式I的本发明化合物可以与其它疗法组合施用,所述疗法包括但不限于放射疗法或手术。在特别的实施方案中,增殖性障碍选自癌症、骨髓增殖性疾病或白血病。

[0464] 在一个实施方案中,本发明化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防自身免疫疾病,特别的活性剂包括但不限于:糖皮质激素、细胞生长抑制剂(例如嘌呤类似物)、烷基化剂(例如氮芥(环磷酰胺)、亚硝基脲、本发明的铂化合物等)、抗代谢物(例如甲氨蝶呤、硫唑嘌呤和巯嘌呤)、细胞毒抗生素(例如放线菌素D葸环霉素、丝裂霉素C、博来霉素和光辉霉素(mithramycin))、抗体(例如抗CD20、抗CD25或抗CD3(OTK3)单克隆抗体、Atgam®和Thymoglobuline®)、环孢素、他克莫司(tacrolimus)、雷帕霉素(rapamycin)(西罗莫司(sirolimus))、干扰素(例如IFN-β)、TNF结合蛋白(例如英利昔单抗、依那西普或阿达木单抗)、麦考酚酯(mycophenolate)、芬戈莫德(fingolimod)和多球壳菌素(myriocin)。

[0465] 在一个实施方案中,本发明化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防移植排斥,特别的活性剂包括但不限于:钙神经素抑制剂(例如环孢素或他克莫司(FK506))、mTOR抑制剂(例如西罗莫司、依维莫司(everolimus))、抗增殖剂(例如硫唑嘌呤、麦考酚酸)、皮质类固醇(例如泼尼松龙、氢化可的松(hydrocortisone))、抗体(例如单克隆抗IL-2Rα受体抗体、巴利昔单抗(basiliximab)、达克珠单抗(daclizumab))、多克隆抗-T-细胞抗

体(例如抗胸腺细胞球蛋白(ATG)、抗淋巴细胞球蛋白(ALG))。

[0466] 在一个实施方案中,本发明化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防哮喘和/或鼻炎和/或COPD,特别的活性剂包括但不限于:β2-肾上腺素受体激动剂(例如沙丁胺醇(salbutamol)、左旋沙丁胺醇(levalbuterol)、特布他林(terbutaline)和比托特罗(bitolterol))、肾上腺素(吸入或片剂)、抗胆碱能剂(例如异丙托溴铵(ipratropium bromide))、糖皮质激素(口服或吸入)。长效β2-激动剂(例如沙美特罗(salmeterol)、福莫特罗(formoterol)、班布特罗(bambuterol)和缓释口服沙丁胺醇)、吸入类固醇和长效支气管扩张剂的组合(例如,氟替卡松(fluticasone)/沙美特罗、布地奈德(budesonide)/福莫特罗)、白三烯拮抗剂和合成抑制剂(例如孟鲁司特(montelukast)、扎鲁司特(zafirlukast)和齐留通(zileuton))、介质释放抑制剂(例如色甘酸盐和酮替芬(ketotifen))、IgE反应的生物调节剂(例如奥马珠单抗(omalizumab))、抗组胺剂(例如西替利嗪(ceterizine)、桂利嗪(cinnarizine)、非索非那定(fexofenadine))和血管收缩剂(例如氧甲唑啉(oxymethazoline)、赛洛唑啉(xylomethazoline)、萘甲唑林(nafazoline)和曲马唑啉(tramazoline))。

[0467] 另外,本发明化合物可以与紧急疗法组合施用用于哮喘和/或COPD,此类疗法包括氧气或氦氧混合气施用、雾化沙丁胺醇或特布他林(任选与抗胆碱能剂(例如异丙托溴铵(ipratropium))组合)、全身性类固醇(口服或静脉内,例如泼尼松、泼尼松龙、甲基泼尼松龙、地塞米松或氢化可的松)、静脉内沙丁胺醇、非特异性β-激动剂、注射或吸入的(例如肾上腺素、异他林(isoetharine)、异丙肾上腺素、奥西那林(metaproterenol))、抗胆碱能剂(IV或雾化,例如格隆溴铵(glycopyrrolate)、阿托品(atropine)、异丙托溴铵)、甲基黄嘌呤(茶碱、胺茶碱、苄胺茶碱(bamiphylline))、具有支气管扩张作用的吸入麻醉剂(例如异氟醚(isoflurane)、氟烷(halothane)、恩氟烷(enflurane))、氯胺酮(ketamine)和静脉内硫酸镁。

[0468] 在一个实施方案中,本发明化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防炎性肠病(IBD),特别的活性剂包括但不限于:糖皮质激素(例如泼尼松、布地奈德);合成的疾病修饰免疫调节剂(例如甲氨蝶呤、来氟米特(leflunomide)、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)、美沙拉嗪(mesalazine)、硫唑嘌呤、6-巯基嘌呤和环孢素)和生物的疾病修饰免疫调节剂(英利昔单抗、阿达木单抗、利妥昔单抗和阿巴他塞)。

[0469] 在一个实施方案中,本发明化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防SLE,特别的活性剂包括但不限于:人单克隆抗体(贝利单抗(belimumab)(Benlysta));疾病修饰的抗风湿性药物(DMARD),例如抗疟疾剂(例如plaquenil、羟基氯奎)、免疫抑制剂(例如甲氨蝶呤和硫唑嘌呤)、环磷酰胺和麦考酚酸;免疫抑制药物和镇痛剂,例如非类固醇抗炎药、阿片剂(例如右丙氧芬(dextropropoxyphene)和可待因(co-codamol))、阿片样物质(例如氢可酮(hydrocodone)、氧可酮(oxycodone)、MS Contin或美沙酮(methadone))和芬太尼多瑞吉(fentanyl duragesic)经皮贴剂。

[0470] 在一个实施方案中,本发明化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防银屑病,特别的活性剂包括但不限于:局部治疗,例如浴溶液、保湿剂、含有煤焦油的药用乳膏剂和软膏剂、地蒽酚(dithranol)(蒽三酚(anthralin))、皮质类固醇,如去羟米松(desoximetasone)(Topicort™)、氟西奈德(fluocinonide)、维生素D3类似物(例如钙泊三

醇(calcipotriol))、摩洛哥坚果油(argan oil)和类视色素(阿维a酯(etretinate)、阿维a(acitretin)、他扎罗汀(tazarotene));全身性治疗,例如甲氨蝶呤、环孢素、类视色素、硫鸟嘌呤、羟基脲、柳氮磺胺吡啶、麦考酚酸吗啉乙酯、硫唑嘌呤、他克莫司、富马酸酯或生物制剂,例如Amevive™、Enbrel™、Humira™、Remicade™、Raptiva™和优西努单抗(ustekinumab)(IL-12和IL-23阻滞剂)。另外,本发明化合物可以与其它疗法组合施用,所述疗法包括但不限于光疗法或光化学疗法(例如补骨脂素(psoralen)和紫外线A光疗法(PUVA))。

[0471] 在一个实施方案中,本发明化合物与另外的治疗剂共施用用于治疗和/或预防变态反应性反应,特别的活性剂包括但不限于:抗组胺剂(例如西替利嗪、苯海拉明(diphenhydramine)、非索非那定、左西替利嗪(levocetirizine))、糖皮质激素(例如泼尼松、倍他米松(betamethasone)、倍氯米松(beclomethasone)、地塞米松)、肾上腺素、茶碱或抗白三烯剂(例如孟鲁司特(montelukast)或扎鲁司特(zafirlukast))、抗胆碱能剂和减充血剂。

[0472] 如本领域技术人员将显而易见,共施用包括作为同一治疗方案的部分向患者递送两种或更多种治疗剂的任何方式。尽管两种或更多种活性剂可以在单个制剂中同时施用(即作为单个药物组合物),此并非必需的。活性剂可以在不同制剂中并且在不同时间施用。

[0473] 化学合成方法

[0474] 通用

[0475] 本发明化合物可以使用以下通用方法和程序自容易获得的起始材料制备。应当了解,除非另外说明,否则当给定典型或优选方法条件(即反应温度、时间、反应物摩尔比、溶剂、压力等)时,还可以使用其它方法条件。最佳反应条件可以随所用特别的反应物或溶剂而不同,但此类条件可由本领域技术人员通过常规优化程序确定。

[0476] 此外,如本领域技术人员将显而易见,常规保护基可以是防止某些官能基进行非所需反应所必需的。选择适合于特别的官能基的保护基以及适合于保护和脱保护的条件是本领域所熟知的(Greene,T W;Wuts,P G M;,1991)。

[0477] 关于制备如上文所定义的本发明化合物和比较实施例的细节呈现以下方法。本发明化合物可以由有机合成领域技术人员已知或市售可获得的起始材料和试剂来制备。

[0478] 除非另外说明,否则所有试剂均为商品级并且未经进一步纯化即按原样使用。在惰性气氛下进行的反应使用市售无水溶剂。除非另外说明,否则所有其它情况下均使用试剂级溶剂。柱色谱在硅胶60(35-70μm)上进行。使用预涂布的硅胶F-254板(0.25mm厚)进行薄层色谱。例如在Bruker DPX 400NMR光谱仪(400MHz)或Bruker Advance 300NMR光谱仪(300MHz)上记录^{1}H NMR光谱。^{1}H NMR光谱的化学位移(δ)以相对于作为内部参考的四甲基硅烷(δ0.00)或适当残留溶剂峰,即$CHCl_3$(δ7.27)的百万分率(ppm)报告。多峰性以单峰(s)、双峰(d)、三重峰(t)、四重峰(q)、五重峰(quin)、多重峰(m)和宽峰(br)给出。电喷雾MS光谱在Waters平台LC/MS光谱仪上或使用Waters Acquity H-Class UPLC偶联Waters质量检测器3100光谱仪获得。所用柱:Waters Acquity UPLC BEH C18 1.7μm,2.1mm ID×50mm L,Waters Acquity UPLC BEH C18 1.7μm,2.1mm ID×30mm L,或Waters Xterra MS 5μm C18,100×4.6mm。方法是使用MeCN/H_2O梯度(含有0.1%TFA或0.1%NH_3的H_2O)或MeOH/H_2O梯度(含有0.05%TFA的H_2O)。使用Biotage引发器进行微波加热。

[0479] 表I.试验部分所用的缩写清单：

[0480]

缩写	定义
AcOH	乙酸
aq.	水性
atm	大气压
BINAP	(+/-)-2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联萘
Boc	叔丁氧基-羰基
br	宽峰信号
BSA	牛血清白蛋白
calc	计算的
cpd	化合物
d	双峰
δ	化学位移

DCM	二氯甲烷
DIPEA	二异丙基乙基胺
DMAP	二甲基氨基吡啶
DMF	二甲基甲酰胺
DMSO	二甲亚砜
DTT	二硫苏糖醇
EDTA	乙二胺四乙酸
eq.	当量
ES-	电喷雾负
ES+	电喷雾正
Et_2O	乙醚
EtOAc	乙酸乙酯
EtOH	乙醇
g	克
h	小时
HATU	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
HPLC	高效液相色谱
Hz	赫兹
Int	中间体
iPrOH	异丙醇
LiOMe	甲醇锂
LiOtBu	叔丁醇锂
m	多重峰
MeCN	乙腈
MeOH	甲醇
mg	毫克
MgOAc	乙酸镁
MHz	兆赫兹
min	分钟
mL	毫升
mmol	毫摩尔
mol	摩尔
MS	质谱
MW	分子量

[0481]

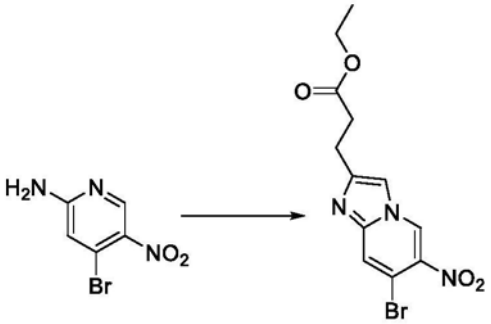
N	当量浓度
$NaBH(OAc)_3$	三乙酰氧基硼氢化钠
NaOtBu	叔丁醇钠
NBS	N-溴琥珀酰亚胺
ND	未测定
NMR	核磁共振
Obsvd	观察的
PBS	磷酸盐缓冲盐水
PBST	含 Tween 20 的磷酸盐缓冲盐水
$Pd(OAc)_2$	二乙酸钯
Pd/C	钯炭
ppm	百万分率
q	四重峰
quin	五重峰
r.t.	室温
s	单峰
sat.	饱和的
SEM	平均值的标准差
t	三重峰
TEA	三乙胺
TFA	三氟乙酸
THF	四氢呋喃
UPLC	超效液相色谱

[0482]

[0483] 本发明化合物的合成制备

[0484] 实施例1.本发明说明性化合物的中间体的制备

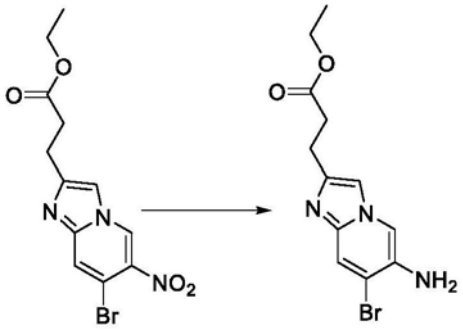
[0485] 11中间体1:3-(7-溴-6-硝基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯

[0486] 

[0487] 将4-溴-5-硝基-吡啶-2-胺CAS#84487-11-6(5.0g,23.0mmol,1.0当量)和5-溴-4-氧代-戊酸甲酯CAS#53856-93-2(7.2g,34.0mmol,1.5当量)在EtOH(50mL)中的混合物在100℃搅拌72小时。浓缩该混合物,并且用EtOAc稀释。洗涤(饱和$NaHCO_3$水溶液)得到的混合物,干燥($MgSO_4$)并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望

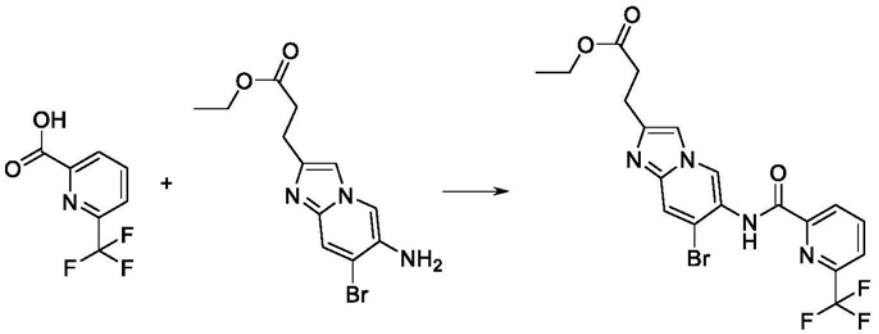
的产物。

[0488] 1.2.中间体2:3-(6-氨基-7-溴-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯

[0489] 

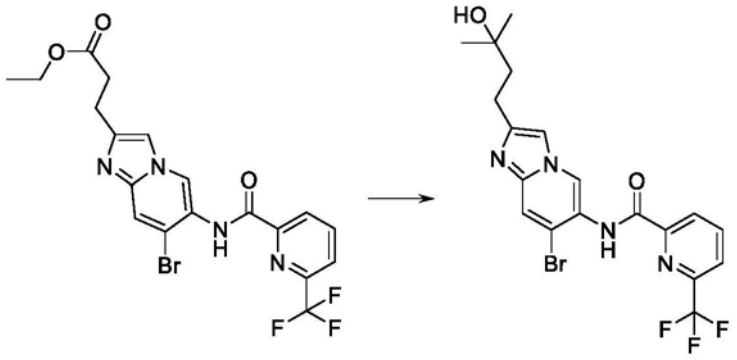
[0490] 将3-(7-溴-6-硝基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯(2.5g,7.5mmol,1.0当量)、Fe(4.2g,75.0mmol,10.0当量)和NH_4Cl CAS#12125-02-9(200mg,3.7mmol,0.5当量)在4:1EtOH/H_2O(120mL)中的混合物在80℃搅拌2小时。经dicalite和沙垫过滤混合物。浓缩滤液,并且通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH)。

[0491] 1.3.中间体3:3-[7-溴-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]丙酸乙酯

[0492] 

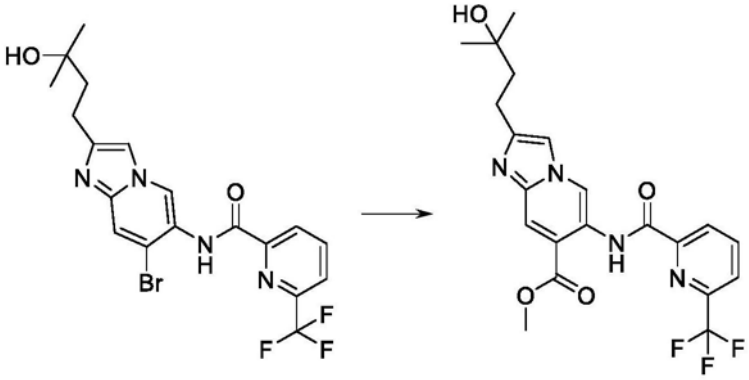
[0493] 将3-(6-氨基-7-溴-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯(2.5g,7.5mmol,1.0当量)、6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酸CAS#131747-42-7(364mg,1.90mmol,1.2当量)、[二甲基氨基(三唑并[4,5-b]吡啶-3-基氧基)亚甲基]-二甲基-铵;六氟磷酸盐CAS#148893-10-1(740mg,1.90mmol,1.2当量)和TEA CAS#7087-68-5(615mg,4.76mmol,3.0当量)在DCM(40mL)中的混合物在室温搅拌16小时。用$NaHCO_3$使该反应混合物猝灭,然后用DCM萃取。收集有机层,用盐水洗涤,分离,并且用$MgSO_4$干燥,然后过滤,并且蒸发至干。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH)。

[0494] 1.4.中间体4:N-[7-溴-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺

[0495] 

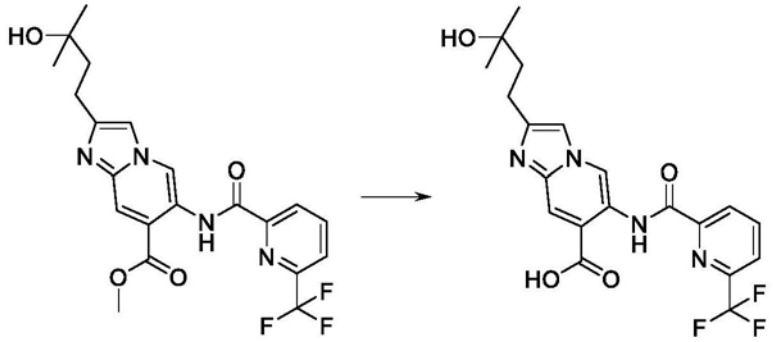
[0496] 在5℃将在Et_2O中的甲基溴化镁(3.0M)CAS#75-16-1(1.5mL,4.5mmol,3.3当量)缓慢地加入到3-[7-溴-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]丙酸乙酯(706mg,1.35mmol,1.0当量)在THF(60mL)中的混合物中。将该混合物在室温搅拌20分钟。在0℃再加入3.0当量在Et_2O中的甲基溴化镁(3.0M),并且将混合物在室温搅拌2小时。在0℃用饱和NH_4Cl水溶液使混合物猝灭。用EtOAc萃取得到的混合物,并且分离两相。洗涤有机层(盐水),干燥($MgSO_4$)并且浓缩,得到期望的产物。

[0497] 1.5.中间体5:2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸甲酯

[0498] 

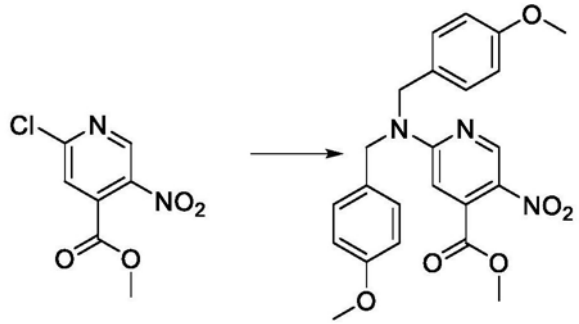
[0499] 将N-[7-溴-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺(500mg,1.06mmol,1.0当量)、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)CAS#72287-26-4(42mg,0.5mmol,0.5当量)和TEA CAS#121-44-8(300μL,2.2mmol,2.0当量)在MeOH(15mL)中的混合物在80℃在4巴的CO气体中搅拌16小时。通过dicalite垫过滤混合物,并且浓缩滤液。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0500] 1.6.中间体6:2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸

[0501] 

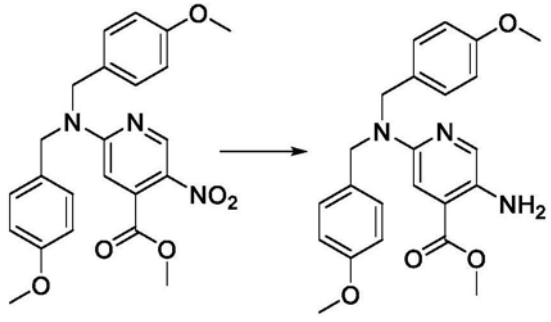
[0502] 将2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸甲酯(168mg,0.373mmol,1.0当量)和LiOH.H_2O CAS#1310-66-3(32mg,0.762mmol,2.05当量)在1:1THF/MeOH(4mL)中的混合物在65℃搅拌2小时,并且在室温搅拌16小时。浓缩混合物,并且用3.0当量2N HCl酸化。期望的产物沉淀并且过滤。用EtOAc和戊烷洗涤期望的固体产物。

[0503] 1.7.中间体7:2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]-5-硝基-吡啶-4-甲酸甲酯

[0504] 

[0505] 将2-氯-5-硝基-吡啶-4-甲酸甲酯CAS#1690506-69-4(15g,69mmol,1.0当量)、双(4-甲氧基苄基)-胺CAS#17061-62-0(19.6g,76.0mmol,1.1当量)和DIPEA CAS#7087-68-5(24.0mL,138.0mmol,2.0当量)在N,N-二甲基乙酰胺(150mL)中的混合物在室温搅拌16小时。用H_2O稀释混合物,并且用EtOAc萃取。分离两相,并且洗涤有机层(盐水),干燥($MgSO_4$)并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-80:20庚烷/EtOAc),得到期望的产物。

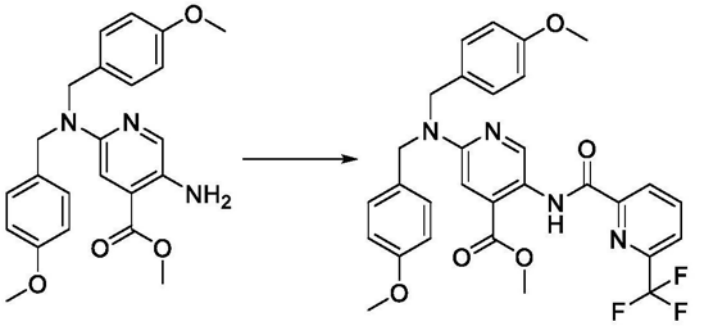
[0506] 1.8.中间体8:5-氨基-2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯

[0507] 

[0508] 将2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]-5-硝基-吡啶-4-甲酸甲酯(5.0g,11.4mmol,1.0当量)在50:50THF/MeOH(200mL)中的混合物脱气。加入5%湿Pd/C(500mg,约0.12mmol,约0.01当量),将混合物在1atm H_2气氛中搅拌16小时。通过dicalite垫过滤该混合物并且浓缩,得到期望的产物。

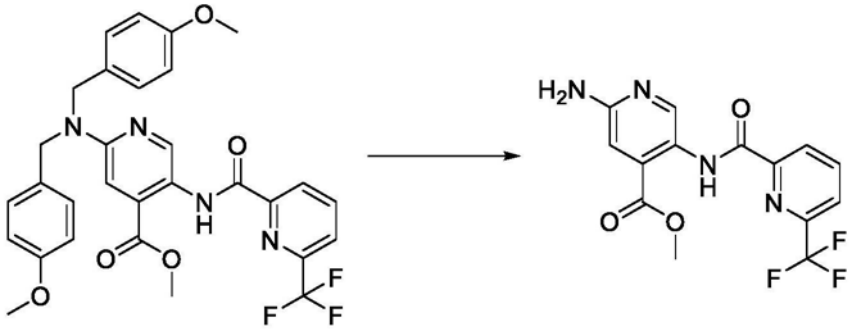
[0509] 1.9.中间体9:2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰

基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯

[0510] 

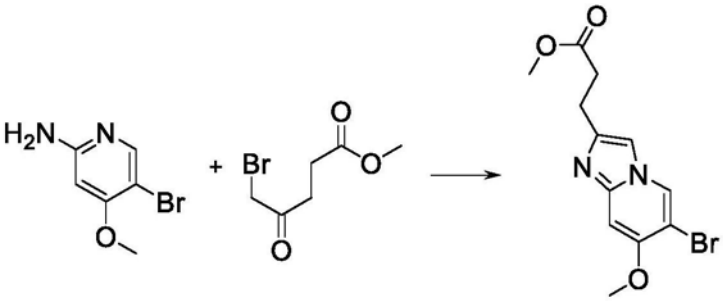
[0511] 将5-氨基-2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯(2.0g,4.9mmol,1.0当量)、6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酸CAS#22245-84-7(0.90g,5.9mmol,1.2当量)、HATU CAS#148893-10-1(2.24g,5.9mmol,1.2当量)和DIPEA CAS#7087-68-5(2.6mL,14.7mmol,3.0当量)在DCM(200mL)中的混合物在室温搅拌3小时。用$NaHCO_3$水溶液处理混合物。用DCM萃取混合物,并且分离两相。洗涤有机相(盐水),干燥并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0512] 1.10.中间体10:2-氨基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯

[0513] 

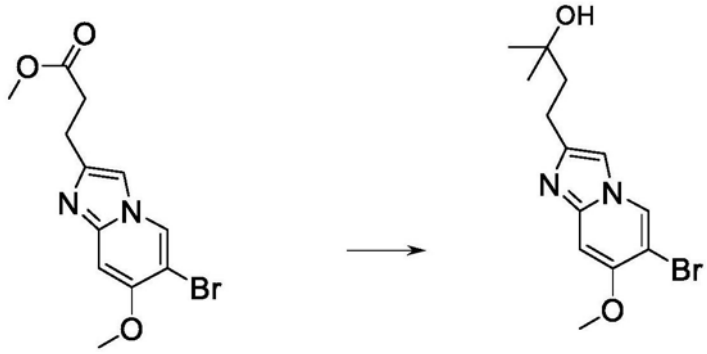
[0514] 将2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯(1.1g,1.9mmol,1.0当量)在TFA(5.6mL)中的混合物在50℃搅拌1小时。加入甲苯并且浓缩混合物。将残留物溶于EtOAc,并且洗涤得到的混合物(盐水),干燥($MgSO_4$)并且浓缩。用DCM处理残留物后得到预期的产物,为固体,过滤出固体。通过用DCM洗涤固体进一步纯化预期的产物。

[0515] 1.11.中间体11:3-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸2-甲酯

[0516] 

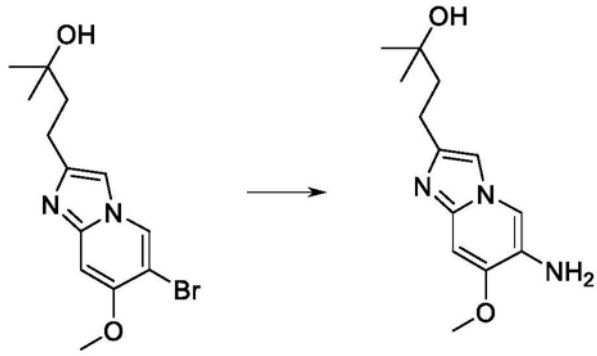
[0517] 将5-溴-4-甲氧基吡啶-2-胺(8.1g,40mmol,1.0当量)和5-溴-4-氧代戊酸甲酯CAS#53856-93-2(10.0g,48.0mmol,1.0当量)在EtOH(30mL)中的混合物在90℃搅拌1.5小时。将混合物在室温搅拌至形成沉淀。过滤出固体,并且将其溶于饱和$NaHCO_3$水溶液。分离两相,并且干燥有机层并且浓缩,得到期望的产物。

[0518] 1.12.中间体12:4-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇

[0519] 

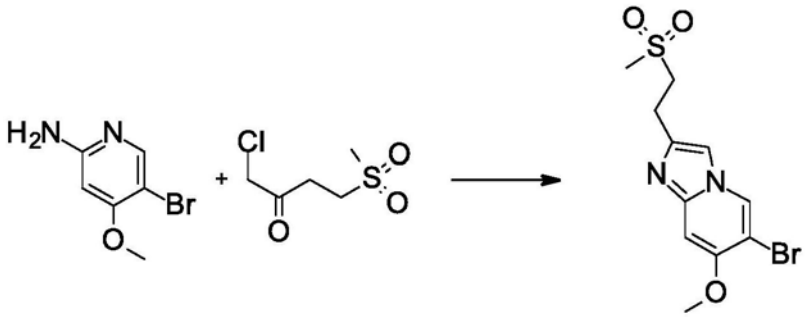
[0520] 在0℃将在甲基四氢呋喃中的甲基溴化镁3.2N CAS#75-16-1(79mL,236mmol,4.0当量)缓慢地加入到3-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯(18.5g,59.0mmol,1.0当量)在THF(185mL)中的混合物中。将混合物在室温搅拌1小时。用4.0当量1N HCl使混合物猝灭。萃取得到的混合物(9:1EtOAc/THF和9:1$CHCl_3$/iPrOH)。干燥合并的有机层($MgSO_4$)并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0521] 1.13.中间体13:4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇

[0522] 

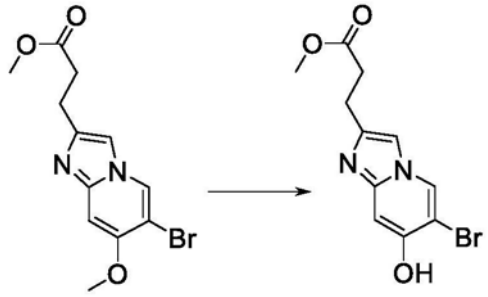
[0523] 将4-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇(10.8g,34.0mmol,1.0当量)、二苯酮亚胺CAS#1013-88-3(7.0mL,41.0mmol,1.2当量)、甲磺酸[4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基呫吨](2'-甲基氨基-1,1'-联苯-2-基)钯(II),Xantphos Pd G4 CAS#1621274-19-8(3.3g,3.4mmol,0.1当量)和Cs_2CO_3 CAS#534-17-8(33.5g,103.0mmol,3.0当量)在1,4-二噁烷(250mL)中的混合物在90℃搅拌16小时。浓缩混合物,并且用EtOAc稀释残留物。加入2N HCl直至达到pH 1。将混合物在室温搅拌1小时,并且分离两相。用NaOH颗粒碱化水层。将混合物萃取几次(9:1DCM/iPrOH,9:1EtOAc/THF,正丁醇)。浓缩合并的有机层,并且通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,99:0:1-94:5:1DCM/MeOH/TEA),得到期望的产物。

[0524] 中间体14:6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶

[0525] 

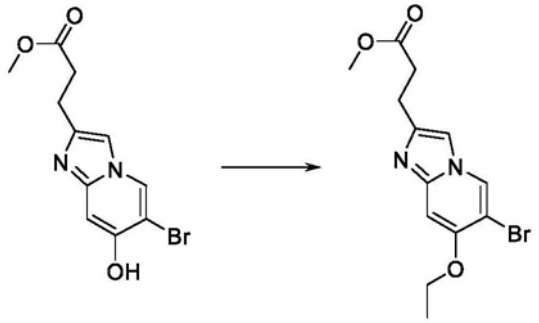
[0526] 将5-溴-4-甲氧基吡啶-2-胺(2.0g,9.9mmol,1.0当量)和1-氯-4-甲磺酰基丁-2-酮CAS#2228671-34-7(2.2g,11.8mmol,1.2当量)在EtOH(100mL)中的混合物在100℃搅拌120小时。浓缩混合物,并且使残留物在EtOAc和饱和$NaHCO_3$水溶液之间分配。分离两相,并且干燥有机层($MgSO_4$),并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-94:6DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0527] 1.15.中间体15:3-(6-溴-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯

[0528] 

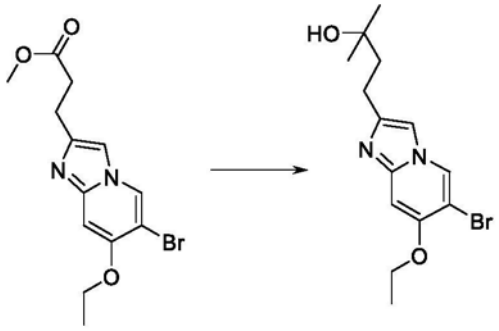
[0529] 在室温将在DCM中的BBr_3(1.0M)CAS#10294-33-4分几个5.0mL部分加入到3-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸2-甲酯(1.42g,4.5mmol,1.0当量)在DCM(15mL)中的溶液中,直至观察到大部分期望的产物。将反应混合物倾入MeOH。浓缩混合物,并且加入pH 5～7的水溶液。用正丁醇萃取混合物。分离两相,并且通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-90:10DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0530] 1.16.中间体16:3-(6-溴-7-乙氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯

[0531] 

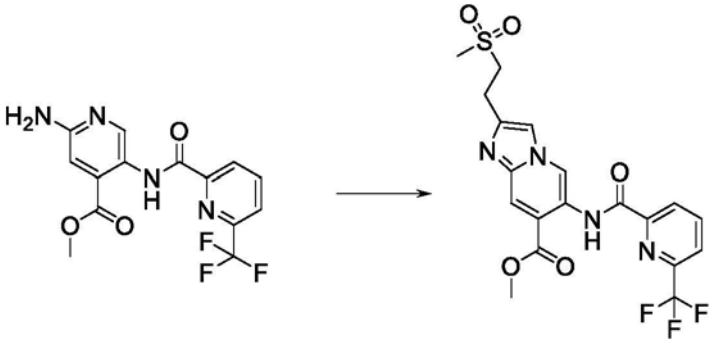
[0532] 将3-(6-溴-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯(500mg,1.67mmol,1.0当量)、K_2CO_3(2.31g,17mmol,10.0当量)和碘乙烷CAS#75-03-6(135μL,1.67mmol,1.0当量)在DMF(10mL)中的混合物在室温搅拌2小时。加入H_2O,并且用DCM萃取得到的混合物。分离两相,并且浓缩有机层。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0533] 1.17.中间体17:4-(6-溴-7-乙氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇

[0534] 

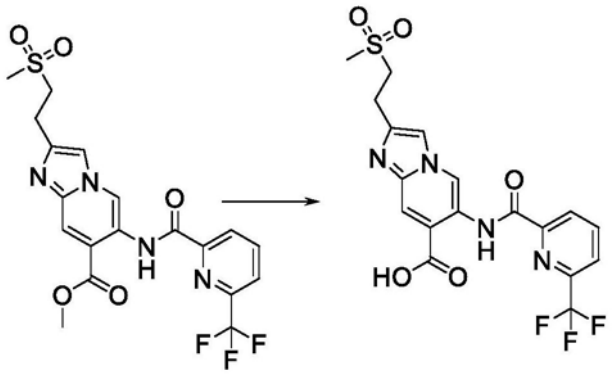
[0535] 将在Et_2O中的甲基溴化镁(3.0M)CAS#75-16-1(493.0μL,1.5mmol,4.0当量)缓慢地加入到3-(6-溴-7-乙氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯(121mg,0.37mmol,1.0当量)在THF(2mL)中的混合物中。将混合物在室温搅拌1小时。用4.0当量1N HCl使混合物猝灭。萃取得到的混合物(DCM)。分离两相。浓缩有机层,并且通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0536] 1.18.中间体18:2-(2-甲基磺酰基乙基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸甲酯

[0537] 

[0538] 将2-氨基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯(610mg,1.79mmol,1.0当量)和1-氯-4-甲基磺酰基-丁-2-酮CAS#2228671-34-7(662mg,3.58mmol,2.0当量)在EtOH(20mL)中的混合物在95℃搅拌64小时。浓缩混合物,并且将残留物溶于EtOAc。洗涤混合物(饱和$NaHCO_3$水溶液,盐水),干燥($MgSO_4$)并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物,通过与DCM一起研磨进一步纯化。

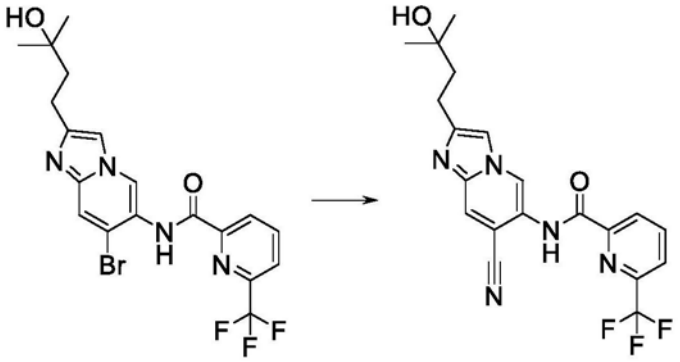
[0539] 1.19.中间体19:2-(2-甲基磺酰基乙基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸

[0540] 

[0541] 将2-(2-甲基磺酰基乙基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸甲酯(23mg,0.05mmol,1.0当量)和$LiOH.H_2O$ CAS#1310-66-3(5mg,0.2mmol,

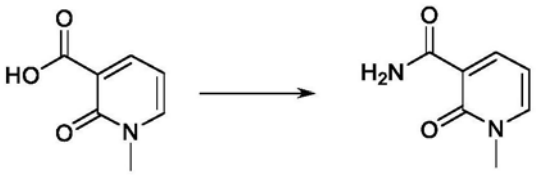
4.0当量)在1:1THF/MeOH(1mL)中的混合物在65℃搅拌2小时。浓缩混合物,并且用2N HCl(4.0当量)酸化残留物。浓缩混合物,并且将固体溶于DCM。过滤混合物,并且浓缩滤液,得到期望的产物。

[0542] 1.20.中间体20:N-[7-氰基-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺

[0543] 

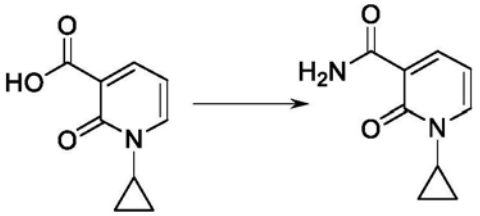
[0544] 将3-[7-溴-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]丙酸乙酯(100mg,0.21mmol,1.0当量)、氰化锌CAS#95464-05-4(100mg,0.85mmol,4.0当量)和1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁-钯(II)二氯化物DCM复合物CAS#557-21-1(35mg,0.04mmol,0.2当量)在N,N-二甲基乙酰胺(4mL)中的混合物在150℃在微波反应器中搅拌2小时。用饱和Na_2CO_3水溶液处理混合物。将产生的混合物用EtOAc萃取。分离两相并且将有机层洗涤(盐水),干燥($MgSO_4$)并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0545] 中间体21:1-甲基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺

[0546] 

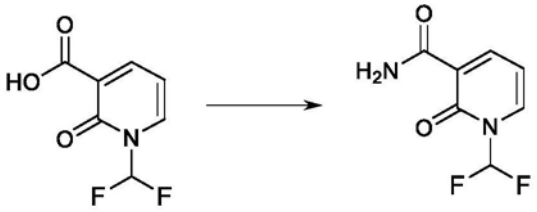
[0547] 在0℃将氯甲酸异丁酯CAS#543-27-1(931μL,7.2mmol,1.1当量)加入到1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-甲酸(1.0g,6.5mmol,1.0当量)和TEA CAS#121-44-8(1.0mL,7.2mmol,1.1当量)在THF(5mL)和N,N-二甲基乙酰胺(加入直至得到溶解)的混合物中。将混合物在0℃搅拌30分钟。将混合物加入到氨水(10mL)中,过滤出沉淀,得到期望的产物。

[0548] 1.22.中间体22:1-环丙基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺

[0549] 

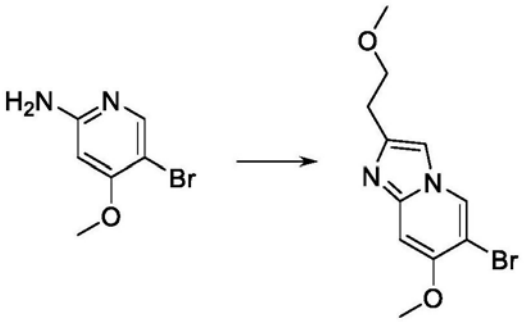
[0550] 将1-环丙基-2-氧代-吡啶-3-甲酸(2.0g,11.0mmol,1.0当量)和亚硫酰氯CAS#7719-09-7(1.2mL,17.0mmol,1.5当量)在DCM(10mL)中的混合物在室温搅拌30分钟。浓缩混合物,并且加入氨水(40.0mL,485.0mmol,43.5当量)。用EtOAc将混合物萃取几次。干燥合并的有机层(Mg_2SO_4),并且浓缩,得到期望的产物。

[0551] 1.23.中间体23:1-(二氟甲基)-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺

[0552] 

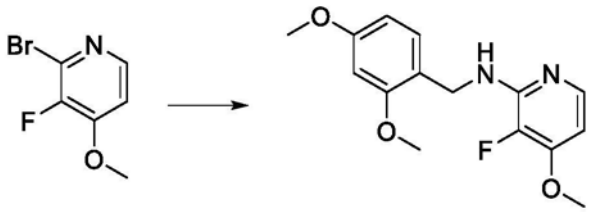
[0553] 将1-(二氟甲基)-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺CAS#1129458-32-7(1.0g,5.0mmol,1.0当量)和亚硫酰氯CAS#7719-09-7(740mg,6.0mmol,1.2当量)在DMF(5mL)中的混合物在室温搅拌30分钟。浓缩混合物,并且将15mL氨水加入到产物中。产物形成后,加入$NaHCO_3$水溶液,并且用EtOAc萃取得到的混合物。分离两相,并且浓缩有机层,得到期望的产物。

[0554] 1.24.中间体24的合成:6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲氧基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶

[0555] 

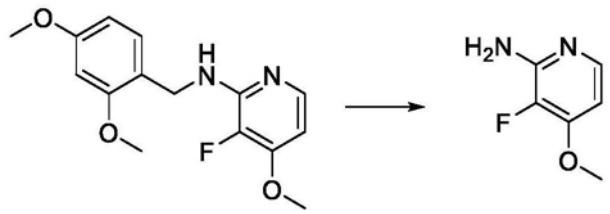
[0556] 将5-溴-4-甲氧基-吡啶-2-胺CAS#1232431-11-6(500mg,2.5mmol,1.0当量)和1-氯-4-甲氧基丁-2-酮CAS#87308-03-0(343μL,2.7mmol,1.1当量)的混合物溶于EtOH(4mL),并且将反应100℃搅拌24小时。将反应混合物蒸发至干。加入H_2O和EtOAc,并且浓缩有机层,得到期望的产物。

[0557] 1.25.中间体30的合成:N-[(2,4-二甲氧基苯基)甲基]-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺

[0558] 

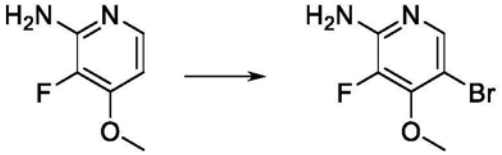
[0559] 在圆底烧瓶中,将2-溴-3-氟-4-甲氧基吡啶CAS#109613-98-1(10.0g,47.57mmol,1.00当量)和2,4-二甲氧基苄胺CAS#20781-20-8(14.6mL,95.14mmol,2.00当量)溶于1,4-二噁烷(110mL)。用N_2吹扫反应混合物,然后加入$Pd_2(dba)_3$(4.40g,4.75mmol,0.10当量)、Xantphos CAS#161265-03-8(5.50g,9.51mmol,0.20当量)和Cs_2CO_3(46.50g,142.71mmol,3.00当量)。将反应混合物在90℃搅拌过夜。然后经Celpur P65过滤反应混合物,并且用DCM洗涤。除去挥发性物质,并且通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-98:2DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0560] 1.26.中间体29的合成:3-氟-4-甲氧基吡啶-2-胺

[0561] 

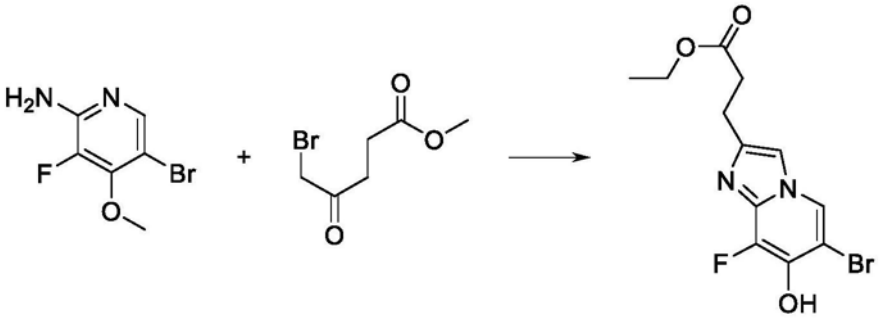
[0562] 在圆底烧瓶中，将N-[(2,4-二甲氧基苯基)甲基]-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺(14.2g，43.7mmol，1.00当量)溶于DCM(60mL)。在0℃，滴加TFA(13.2mL，175.0mmol，4.00当量)，并且将反应在室温搅拌5小时。加入甲苯，并且减压浓缩反应混合物。加入DCM和K_2CO_3水溶液。洗涤有机相(盐水)，并且干燥($MgSO_4$)并且浓缩，得到期望的产物。

[0563] 1.27.中间体28的合成：5-溴-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺(lpeltier-19-0042)

[0564] 

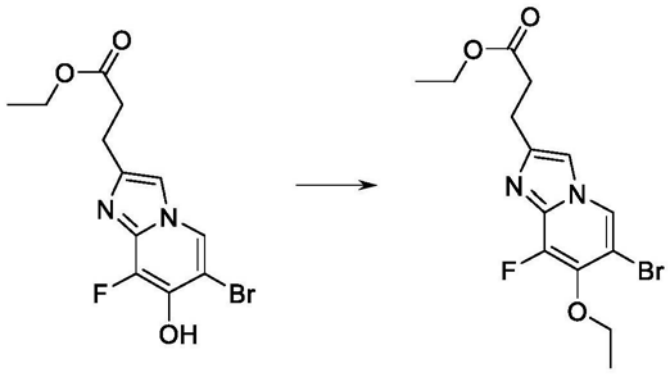
[0565] 在圆底烧瓶中，将3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺(8.32g，58.5mmol，1.00当量)溶于MeCN(200mL)。在0℃，加入N-溴琥珀酰亚胺(10.4g，58.5mmol，1.00当量)，并且将反应在0℃搅拌35分钟。加入水并且过滤粗混合物。收集固体，并且用Na_2CO_3水溶液洗涤。加入DCM，并且洗涤有机相(盐水)，并且干燥($MgSO_4$)。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2，100:0-95:5DCM/MeOH)，得到期望的产物。

[0566] 1.28.中间体27的合成：3-(6-溴-8-氟-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯

[0567] 

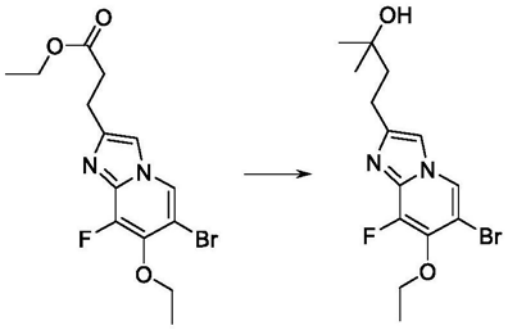
[0568] 将5-溴-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺(1.0g，4.5mmol，1.0当量)和5-溴-4-氧代戊酸甲酯CAS#53856-93-2(2.1g，9.7mmol，2.1当量)溶于EtOH(4mL)，并且将反应在100℃搅拌16小时。将反应混合物蒸发至干。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2，100:0-90:10DCM/MeOH)，得到期望的产物。

[0569] 1.29.中间体26的合成：3-(6-溴-7-乙氧基-8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯

[0570] 

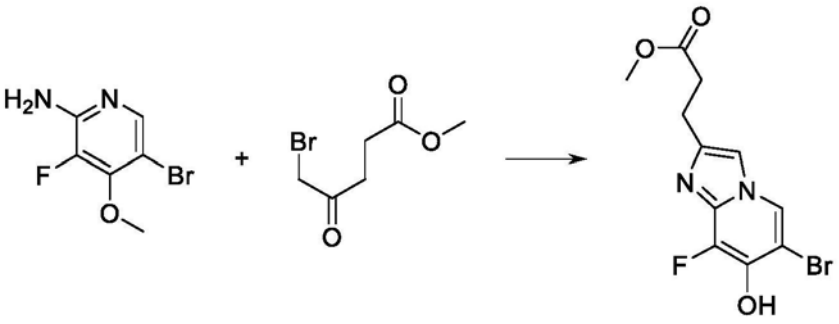
[0571] 在小瓶中,将3-(6-溴-8-氟-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯(1.05g,3.0mmol,1.0当量)和K_2CO_3(412mg,3.0mmol,1.0当量)溶于DMF(15mL)。然后加入碘乙烷CAS#75-03-6(359μL,4.5mmol,1.5当量),并且将反应混合物在室温搅拌16小时。用EtOAc和H_2O稀释反应混合物。干燥有机相($MgSO_4$),并且减压浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-98:2DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0572] 1.30.中间体25的合成:4-(6-溴-7-乙氧基-8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇

[0573] 

[0574] 在-20℃将中甲基四氢呋喃中的甲基溴化镁3.4M CAS#75-16-1(1.72mL,5.8mmol,4.2当量)缓慢地加入到3-(6-溴-7-乙氧基-8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯(497mg,1.4mmol,1.0当量)在THF(20mL)中的混合物中。将混合物在室温搅拌1小时。加入饱和NH_4Cl水溶液使反应猝灭。用EtOAc萃取得到的混合物。干燥合并的有机层($MgSO_4$),并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-97:3DCM/MeOH),得到期望的产物。

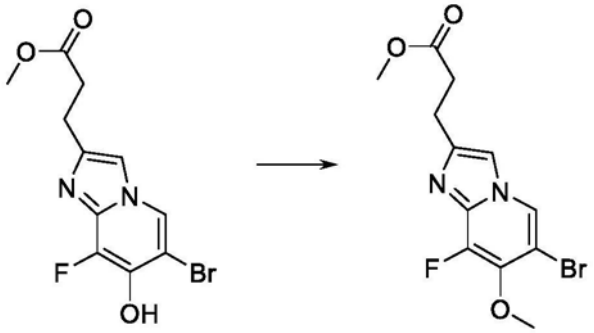
[0575] 1.31.中间体35的合成:3-(6-溴-8-氟-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯

[0576] 

[0577] 将5-溴-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺(1.0g,4.5mmol,1.0当量)和5-溴-4-氧代戊酸甲酯CAS#53856-93-2(2.1g,9.7mmol,2.1当量)溶于EtOH(4mL),将反应在100℃搅拌16小

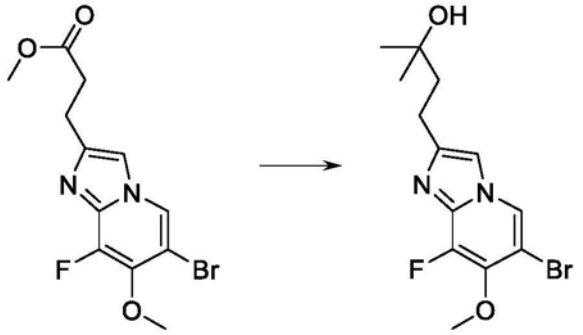
时。将反应混合物蒸发至干。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0578] 1.32.中间体34的合成:3-(6-溴-8-氟-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯

[0579] 

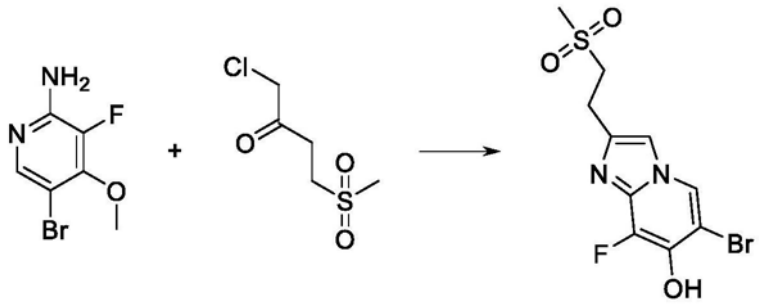
[0580] 在小瓶中,将3-(6-溴-8-氟-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯(6.6g,18.6mmol,1.0当量)和K_2CO_3(2.6g,18.6mmol,1.0当量)溶于DMF(90mL)。然后加入碘甲烷CAS#74-88-4(1.74mL,27.9mmol,1.5当量),并且将反应混合物在室温搅拌16小时。用EtOAc和H_2O稀释反应混合物。干燥有机相($MgSO_4$),并且减压浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-98:2DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0581] 1.33.中间体33的合成:4-(6-溴-8-氟-7-甲氧基咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基丁-2-醇

[0582] 

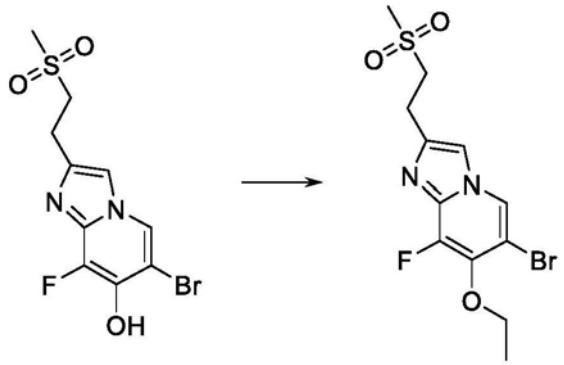
[0583] 在-10℃将在甲基四氢呋喃中的甲基溴化镁3.4M CAS#75-16-1(7.5mL,26.0mmol,5.5当量)缓慢地加入到3-(6-溴-8-氟-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯(1.8g,4.7mmol,1.0当量)在THF(200mL)中的混合物中。将混合物在室温搅拌2小时。加入饱和NH_4Cl水溶液使反应猝灭。用EtOAc萃取得到的混合物。干燥合并的有机层($MgSO_4$)并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-96:4DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0584] 1.34.中间体32的合成:6-溴-7-乙氧基-8-氟-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶

[0585] 

[0586] 将2-溴-3-氟-4-甲氧基吡啶(500mg,2.3mmol,1.0当量)和1-氯-4-甲磺酰基丁-2-酮CAS#2228671-34-7(1.7g,9.0mmol,4.0当量)溶于EtOH(8mL),将反应在100℃搅拌16小时。将反应混合物蒸发至干。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物。

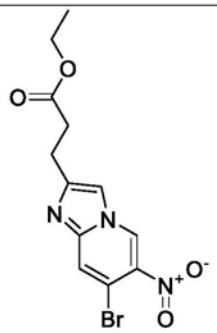
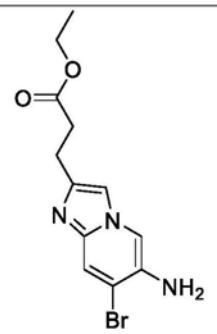
[0587] 1.35.中间体31的合成:6-溴-7-乙氧基-8-氟-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶

[0588] 

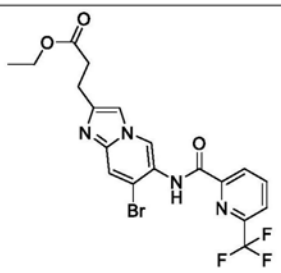
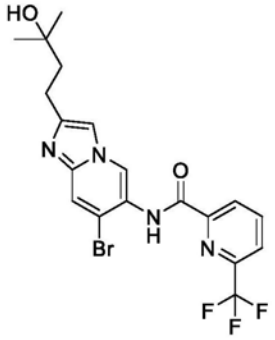
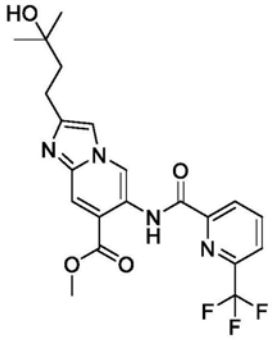
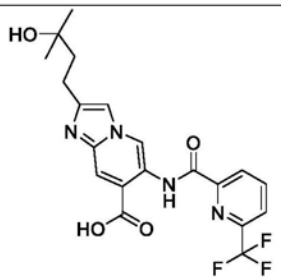
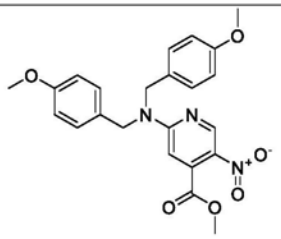
[0589] 在小瓶中,将6-溴-8-氟-7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶(352mg,1.0mmol,1.0当量)和K_2CO_3(144mg,1.0mmol,1.0当量)溶于N,N-二甲基甲酰胺(5mL)。然后加入碘乙烷CAS#75-03-6(126μL,1.6mmol,1.5当量),并且将反应混合物在室温搅拌16小时。用EtOAc和H_2O稀释反应混合物。干燥有机相($MgSO_4$),并且减压浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-98:2DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0590] 表II.本发明说明性化合物的中间体

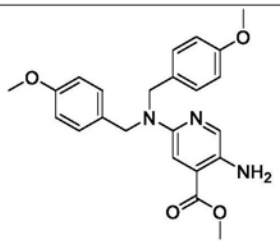
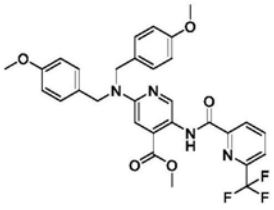
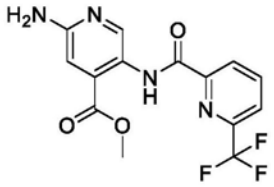
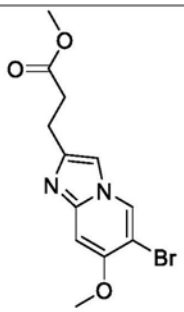
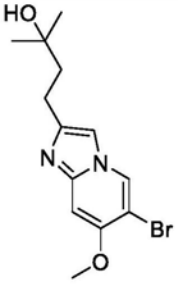
[0591]

中间体	结构	名称	名称 起始材料	Mtd	MW (计算值)	MW (实测值)
1		3-(7-溴-6-硝基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯	4-溴-5-硝基-吡啶-2-胺	NA	342.1	344.2
2		3-(6-氨基-7-溴-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯	3-(7-溴-6-硝基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯	NA	312.2	312.2

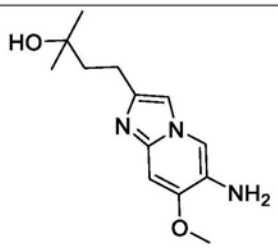
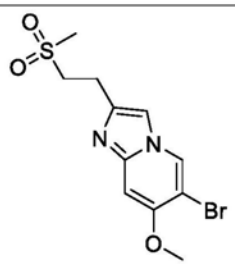
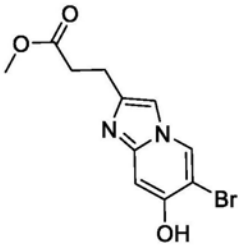
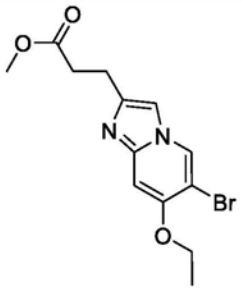
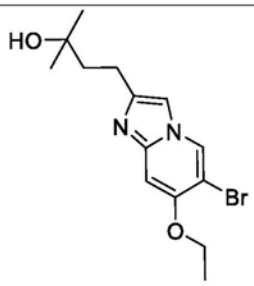
[0592]

3		3-[7-溴-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]丙酸乙酯	3-(6-氨基-7-溴-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯	NA	485.3	485.2、487.2
4		N-[7-溴-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺	3-[7-溴-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]丙酸乙酯	NA	471.3	471.2、473.2
5		2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸甲酯	N-[7-溴-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺	NA	450.4	451.3
6		2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸甲酯	NA	436.4	437.3
7		2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]-5-硝基-吡啶-4-甲酸甲酯	2-氯-5-硝基-吡啶-4-甲酸酯	NA	437.5	438.4

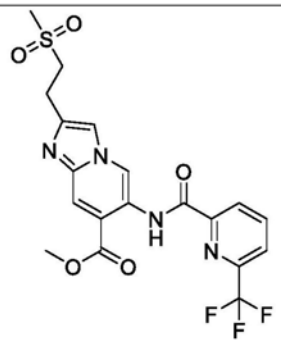
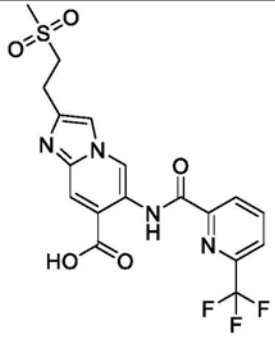
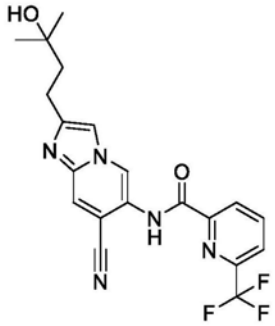
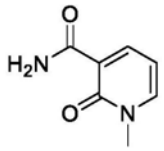
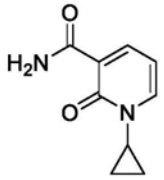
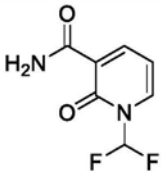
[0593]

8		5-氨基-2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯	2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]-5-硝基-吡啶-4-甲酸甲酯	NA	407.5	408.4
9		2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯	5-氨基-2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯	NA	580.6	581.3
10		2-氨基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯	2-[双[(4-甲氧基苯基)甲基]氨基]-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]吡啶-4-甲酸甲酯	NA	340.3	341.3
11		3-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	5-溴-4-甲氧基吡啶-2-胺	NA	313.1	312.8、314.8
12		4-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	3-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	NA	313.2	312.9、314.9

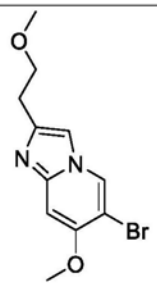
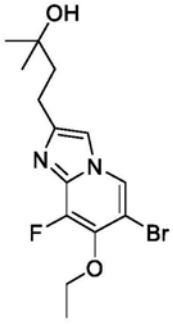
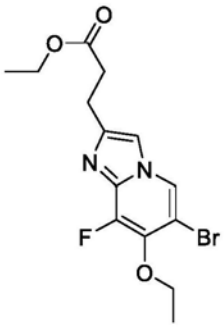
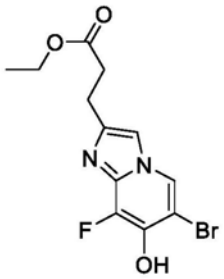
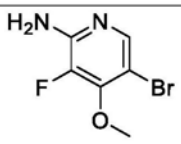
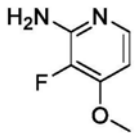
[0594]

13		4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	4-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	NA	249.3	250.3
14		6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	5-溴-4-甲氧基吡啶-2-胺	NA	333.2	333.1、335.1
15		3-(6-溴-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	4-(6-溴-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	NA	299.1	299.1、301.1
16		3-(6-溴-7-乙氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	3-(6-溴-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	NA	327.2	327.2、329.2
17		4-(6-溴-7-乙氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	3-(6-溴-7-乙氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	NA	327.2	327.2、329.2

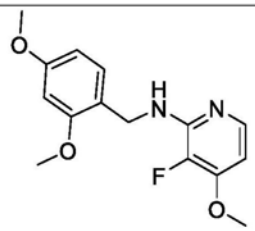
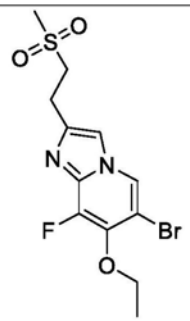
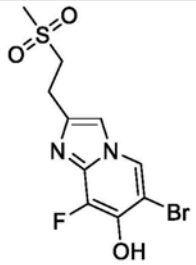
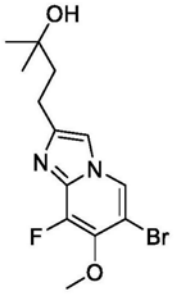
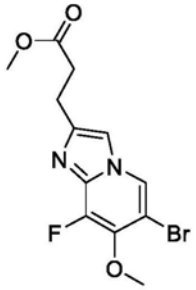
[0595]

18		2-(2-甲基磺酰基乙基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸甲酯	2-氨基-5-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]吡啶-4-甲酸酯	NA	470.4	471.3
19		2-(2-甲基磺酰基乙基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	2-(2-甲基磺酰基乙基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸甲酯	NA	456.4	457.3
20		N-[7-氰基-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺	3-[7-溴-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]丙酸乙酯	NA	417.4	419.3
21		1-甲基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	1-甲基-2-氧代-吡啶-3-甲酸	NA	152.2	152.9
22		1-环丙基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	1-环丙基-2-氧代-吡啶-3-甲酸	NA	178.2	179.1
23		1-(二氟甲基)-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	1-(二氟甲基)-2-氧代-吡啶-3-甲酸	NA	188.1	189.2

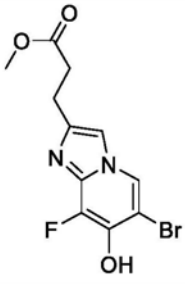
[0596]

24		6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲氧基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	5-溴-4-甲氧基吡啶-2-胺	NA	284.0	285.2、287.2
25		4-(6-溴-7-乙氧基-8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	3-(6-溴-7-乙氧基-8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯	NA	344.1	345.2、347.2
26		3-(6-溴-7-乙氧基-8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯	3-(6-溴-8-氟-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯	NA	358.0	359.1、361.1
27		3-(6-溴-8-氟-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸乙酯	5-溴-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺	NA	330.0	331.1、333.1
28		5-溴-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺	3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺	NA	220.0	221.1、223.1
29		3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺	N-[(2,4-二甲氧基苯基)甲基]-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺	NA	142.1	143.2

[0597]

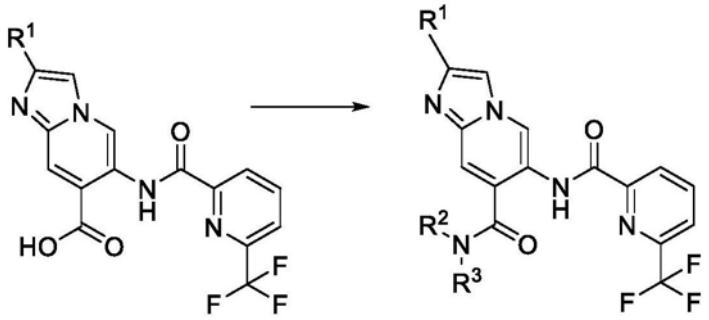
30		N-[(2,4-二甲氧基苯基)甲基]-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺	2-溴-3-氟-4-甲氧基吡啶	NA	292.1	292.3
31		6-溴-7-乙氧基-8-氟-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	6-溴-8-氟-7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	NA	364.0	365.1、367.1
32		6-溴-7-乙氧基-8-氟-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	2-溴-3-氟-4-甲氧基吡啶	NA	336.0	337.2
33		4-(6-溴-8-氟-7-甲氧基咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基丁-2-醇	3-(6-溴-8-氟-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	NA	330.0	331.2、333.2
34		3-(6-溴-8-氟-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	3-(6-溴-8-氟-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	NA	330.0	331.1

[0598]

35		3-(6-溴-8-氟-7-羟基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)丙酸甲酯	5-溴-3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-胺	NA	316.0	317.1

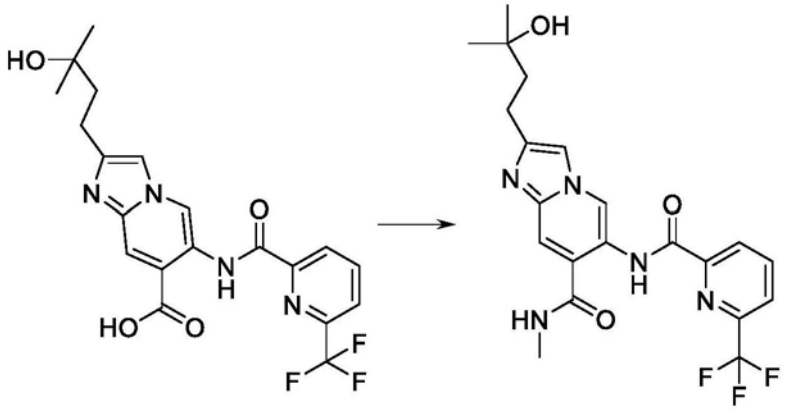
[0599] 实施例2.本发明化合物

[0600] 2.1.通用方法A:使用肽偶联条件的酰胺形成

[0601] 

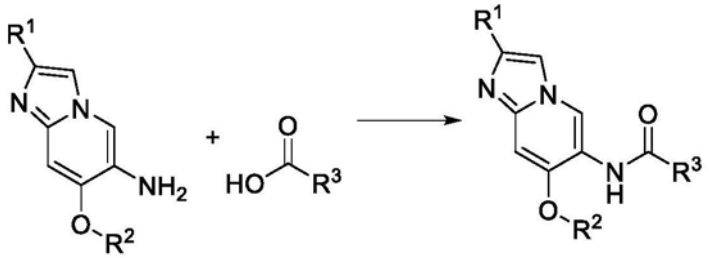
[0602] 将酸(1.0当量)、胺(3.0当量)、HATU CAS#148893-10-1(1.2至1.5当量)和DIPEA CAS#7087-68-5(6.0当量)在DMSO或DMF中的混合物在室温搅拌16-64小时。在反应未完成的情况下,向反应混合物中再加入3.0当量胺。aq.处理后,通过制备型HPLC或快速柱色谱纯化混合物,得到期望的产物。

[0603] 通用方法A的说明性实施例:化合物2的合成,2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-N-甲基-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺

[0604] 

[0605] 将2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸(100mg,0.22mmol,1.0当量)、甲胺盐酸盐CAS#593-51-1(45mg,0.68mmol,3.1当量)、HATU CAS#148893-10-1(107mg,0.28mmol,1.3当量)和DIPEA CAS#7087-68-5(200μL,1.15mmol,5.2当量)在DMF(5mL)中的混合物在室温搅拌16小时。用$NaHCO_3$水溶液使混合物猝灭。用EtOAc萃取得到的混合物。分离两相,并且干燥有机层($MgSO_4$)并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH),得到期望的产物。

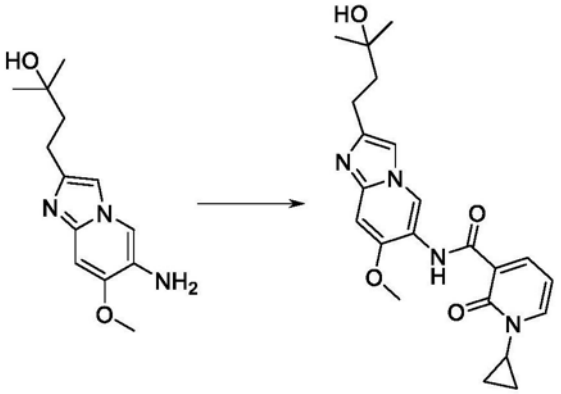
[0606] 2.2.通用方法B:使用肽偶联条件的酰胺形成

[0607] 

[0608] 将胺(1.0当量)、酸(1.2-2当量)、HATU CAS#148893-10-1(1.0-1.5当量)和DIPEA CAS#7087-68-5(3.0当量)在DMSO或DMF中的混合物在室温搅拌1-16小时。通过制备型HPLC直接或在aqueous处理后纯化混合物,得到期望的产物。可选择的是,在aqueous处理后,通

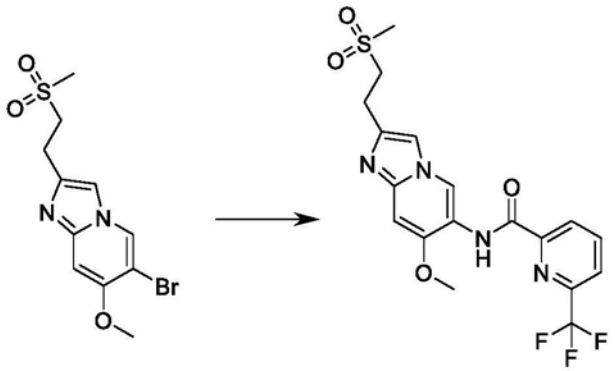
过快速柱色谱纯化混合物,得到期望的产物。

[0609] 通用方法B的说明性实施例:化合物5的合成:1-环丙基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺

[0610] 

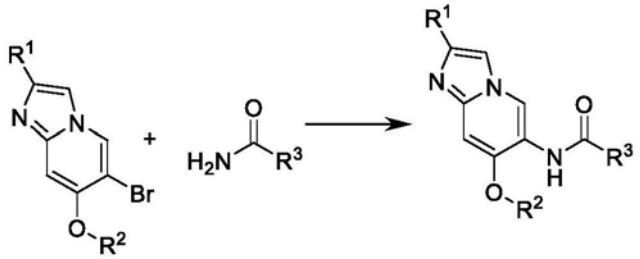
[0611] 将4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇(100mg,0.40mmol,1.0当量)、环丙基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-甲酸CAS#1267425-40-0(86mg,0.48mmol,1.2当量)、HATU CAS#148893-10-1(183mg,0.48mmol,1.2当量)和DIPEA CAS#7087-68-5(0.21mL,1.2mmol,3.0当量)在DMF(5mL)中的混合物在室温搅拌16小时。用EtOAc稀释混合物。洗涤得到的混合物($NaHCO_3$水溶液,盐水),干燥($MgSO_4$)并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-95:5DCM/MeOH)。

[0612] 化合物24的合成:N-[7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺

[0613] 

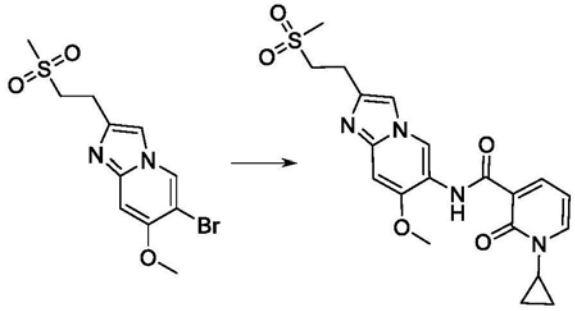
[0614] 在N_2气氛中将乙酸钯(II)CAS#3375-31-3(2mg,0.006mmol,0.02当量)和叔-丁基brettphos CAS#1160861-53-9(8.0mg,0.02mmol,0.06当量)在t-BuOH/H_2O(1/0.04mL)中的混合物在110℃搅拌5分钟。将混合物加入到6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶(100mg,0.30mmol,1.0当量)、6-(三氟甲基)吡啶酰胺CAS#22245-84-7(80mg,0.42mmol,1.4当量)和K_3PO_4 CAS#7778-53-2(191mg,0.90mmol,3.0当量)在t-BuOH(0.5mL)中的混合物中。将得到的混合物在90℃搅拌16小时。将6-(三氟甲基)吡啶酰胺(140mg,0.42mmol,1.4当量)加入到混合物中,然后加入在110℃预加热5分钟的乙酸钯(II)(2.0mg,0.006mmol,0.02当量)和叔-丁基brettphos(8.0mg,0.02mmol,0.06当量)在t-BuOH/H_2O(1/0.04mL)中的溶液。将得到的混合物在110℃搅拌24小时。浓缩混合物,并且通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-94:6DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0615] 2.4.通用方法C:通过交叉偶联条件的酰胺形成

[0616] 

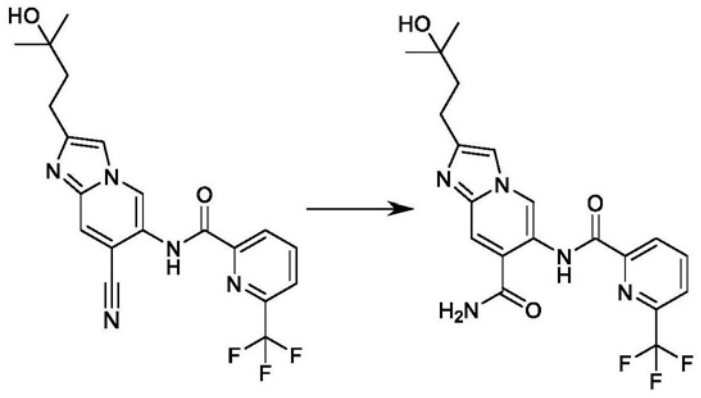
[0617] 在N_2气氛中将杂芳基溴(1.0当量)、酰胺(1.5当量)、K_3PO_4 CAS#7778-53-2(3当量)和BrettphosPdG4 CAS#1599466-83-7(0.05至0.1当量)在50:1-9:1t-BuOH/H_2O中的混合物在100-110℃搅拌16小时。浓缩混合物,并且通过快速柱色谱或通过制备型HPLC纯化残留物,得到期望的产物。

[0618] 通用方法C的说明性实施例:化合物25的合成:1-环丙基-N-[7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺

[0619] 

[0620] 将6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶(100mg,0.30mmol,1.0当量)、1-环丙基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺CAS#(80mg,0.45mmol,1.5当量)、K_3PO_4 CAS#7778-53-2(191mg,0.90mmol,3.0当量)和BrettphosPdG4,CAS#1599466-83-7(1.5mg,0.015mmol,0.05当量)在t-BuOH/H_2O(2/0.04mL)中的混合物在110℃在N_2气氛中搅拌16小时。通过dicalite垫过滤混合物。用MeOH洗涤过滤物。浓缩滤液,并且通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2,100:0-94:6DCM/MeOH),得到期望的产物。

[0621] 2.5.化合物31的合成:2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺

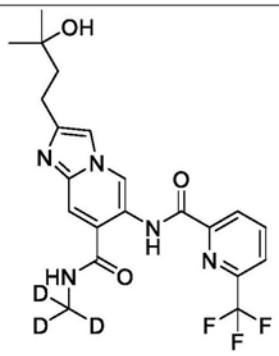
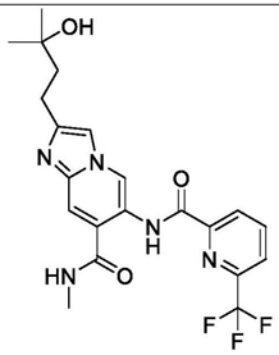
[0622] 

[0623] 将N-[7-氰基-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺(57.0mg,0.13mmol,1.0当量)、K_2CO_3 CAS#584-08-7(54mg,0.39mmol,3.0当量)和H_2O_2水(11.38M)CAS#7722-84-1(0.25mL,2.8mmol,22.0当量)在DMSO(3mL)中的混合物在室温搅拌1小时。用饱和NH_4Cl水溶液使反应混合物猝灭。用EtOAc萃取得到的混合物。

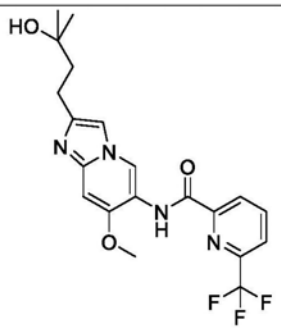
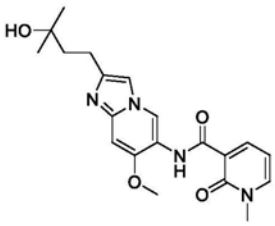
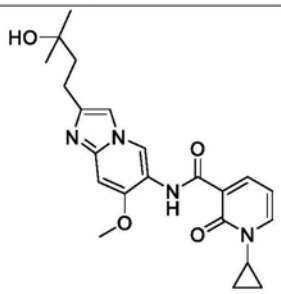
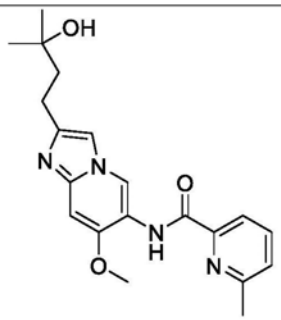
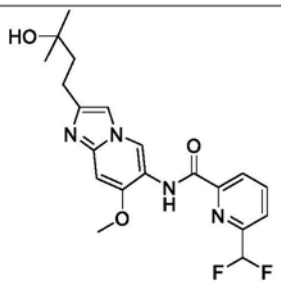
分离两相，并且洗涤有机层(盐水)，干燥($MgSO_4$)并且浓缩。通过快速柱色谱纯化残留物(SiO_2，100:0-90:10DCM/MeOH)，得到期望的产物。

[0624] 表III.本发明的说明性化合物

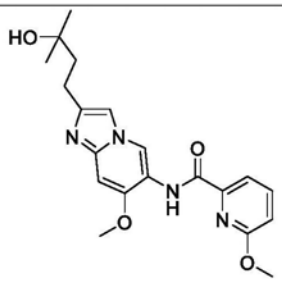
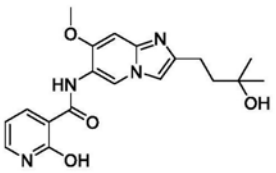
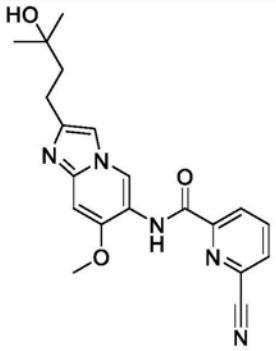
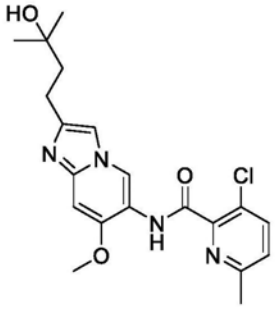
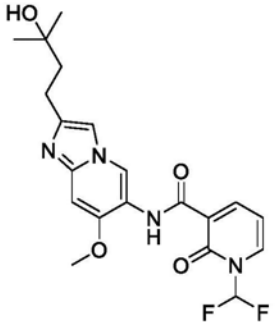
[0625]

化合物	结构	名称	名称 起始材料	Mtd	MW (计算值)	MW (实测值)
1		2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-N-(三氘代甲基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	452.5	453.4
2		2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-N-甲基-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	449.4	450.3

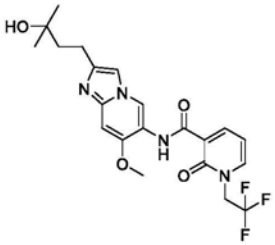
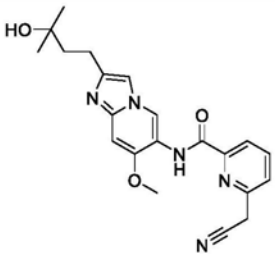
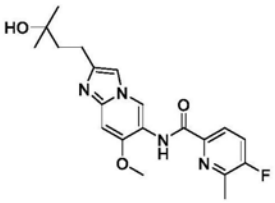
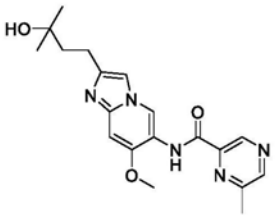
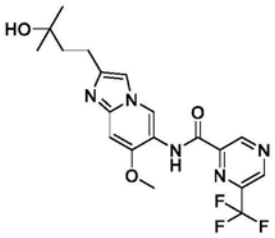
[0626]

3		N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	422.4	423.6
4		N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-1-甲基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	384.4	385.5
5		1-环丙基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	410.5	411.4
6		N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲基-吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	368.4	369.3
7		6-(二氟甲基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	404.4	405.4

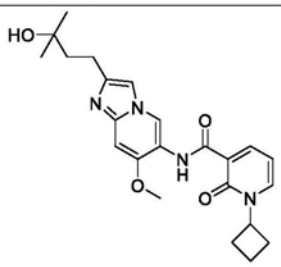
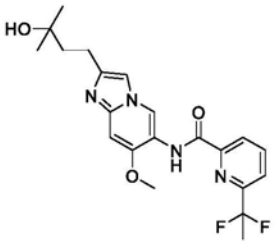
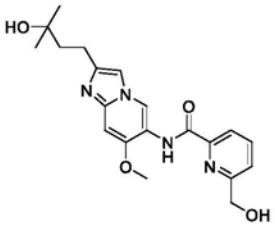
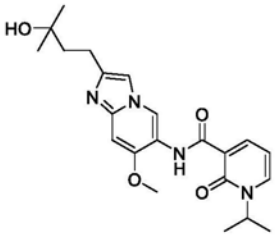
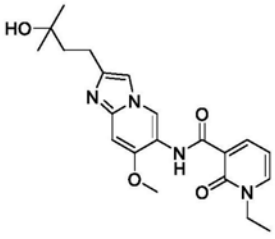
[0627]

8		N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲氧基-吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	384.4	385.4
9		2-羟基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-3-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	370.4	371.4
10		6-氰基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	379.4	380.4
11		3-氯-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲基-吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	402.9	403.4
12		1-(二氟甲基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	420.4	421.4

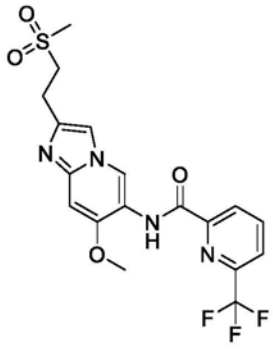
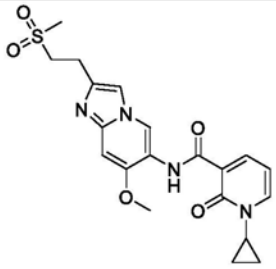
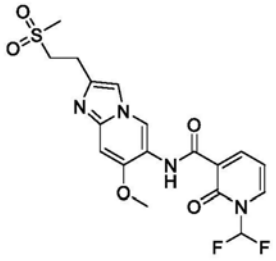
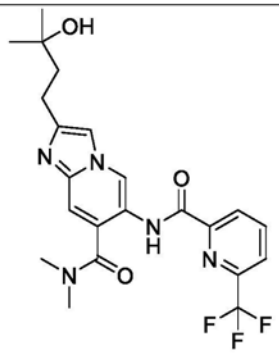
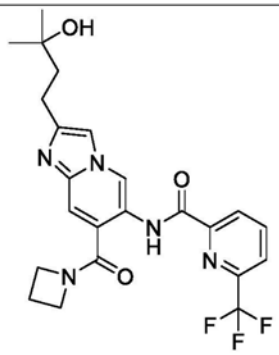
[0628]

13		N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-1-(2,2,2-三氟乙基)吡啶-3-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	452.4	454.4
14		6-(氰基甲基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	393.4	395.4
15		5-氟-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲基-吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	386.4	387.4
16		N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-甲基-吡嗪-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	369.4	370.4
17		N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡嗪-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	423.4	425.3

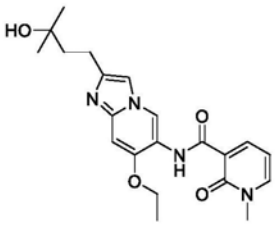
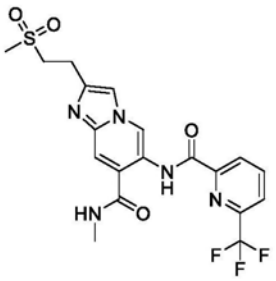
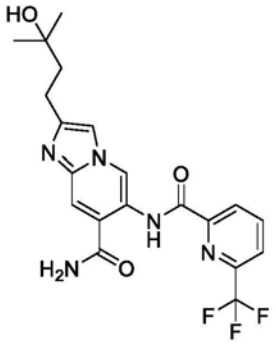
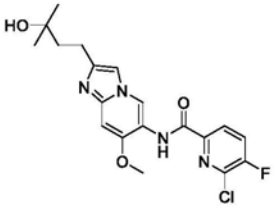
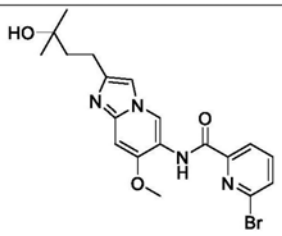
[0629]

18		1-环丁基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	424.5	425.0
20		6-(1,1-二氟乙基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	418.4	419.4
21		6-(羟基甲基)-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	384.4	385.3
22		N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-1-异丙基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	412.5	413.2
23		1-乙基-N-[2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	398.5	399.5

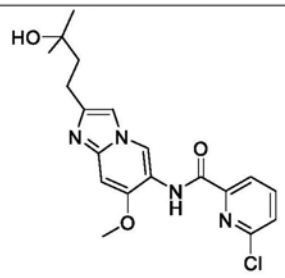
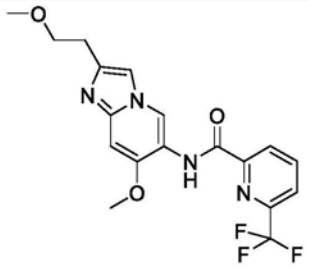
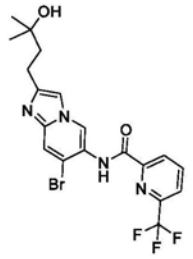
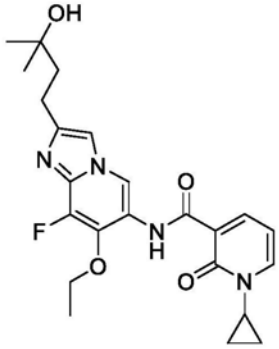
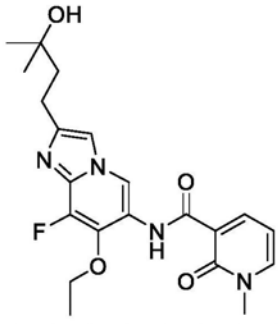
[0630]

24		N-[7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺	6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	NA	442.4	443.3
25		1-环丙基-N-[7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	C	430.5	431.4
26		1-(二氟甲基)-N-[7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	C	440.4	441.3
27		2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-N,N-二甲基-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	463.5	464.3
28		N-[7-(氮杂环丁烷-1-羰基)-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	475.5	476.3

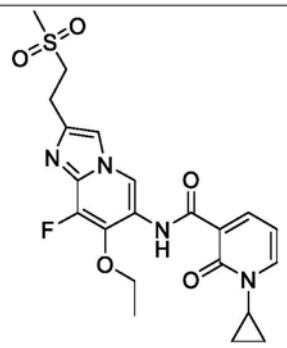
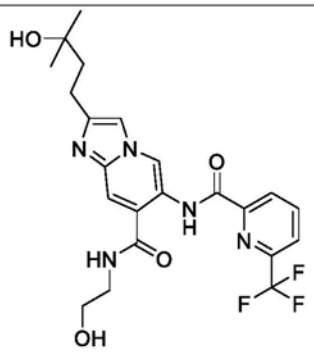
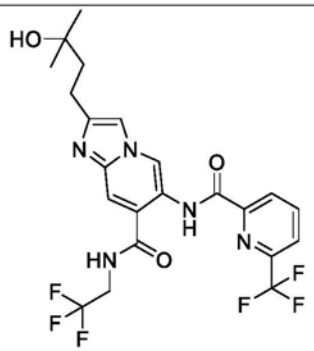
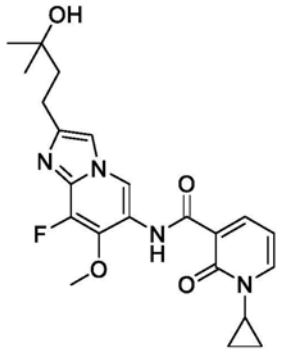
[0631]

29		N-[7-乙氧基-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-1-甲基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-溴-7-乙氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	C	398.5	399.4
30		N-甲基-2-(2-甲基磺酰基乙基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(2-甲基磺酰基乙基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	469.4	470.2
31		2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	N-[7-氰基-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺	NA	435.4	436.4
32		6-氯-5-氟-N-[2-(3-羟基-3-甲基丁基)-7-甲氧基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	406.8	407.3
33		6-溴-N-[2-(3-羟基-3-甲基丁基)-7-甲氧基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	433.3	433.3、435.3

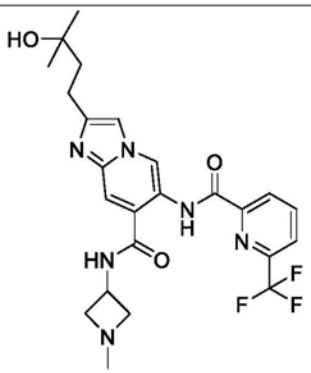
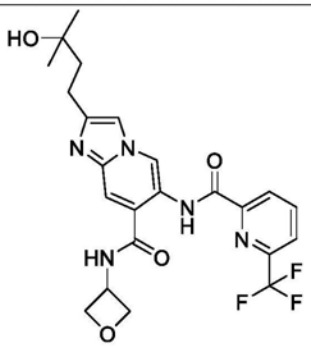
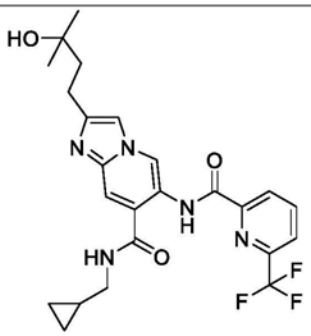
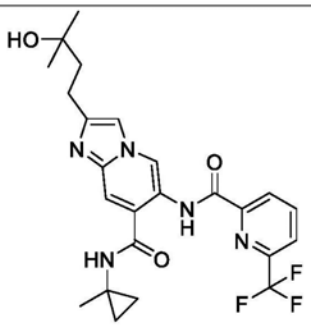
[0632]

34		6-氯-N-[2-(3-羟基-3-甲基丁基)-7-甲氧基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡啶-2-甲酰胺	4-(6-氨基-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	B	388.9	389.4
35		N-[7-甲氧基-2-(2-甲氧基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺	6-溴-7-甲氧基-2-(2-甲氧基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	C	394.1	395.1
36		N-[7-溴-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲酰胺	3-[7-溴-6-[[6-(三氟甲基)吡啶-2-羰基]氨基]咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基]丙酸乙酯	NA	471.3	471.2 473.2
37		1-环丙基-N-[7-乙氧基-8-氟-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-溴-7-乙氧基-8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	C	442.2	443.1
38		N-[7-乙氧基-8-氟-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-1-甲基-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-溴-7-乙氧基-8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	C	416.2	417.7

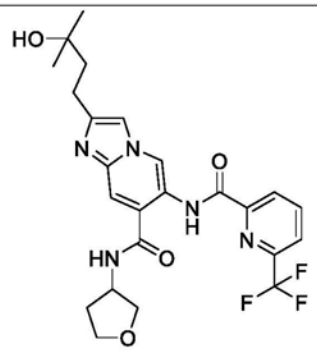
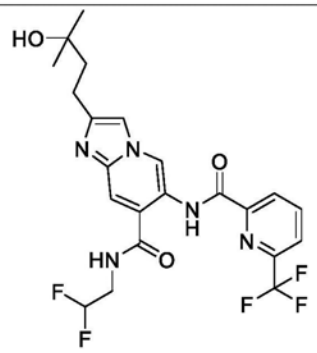
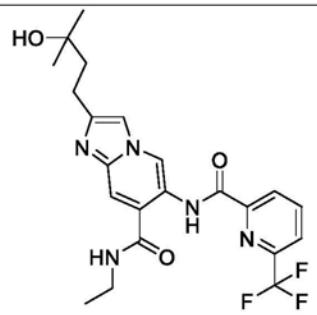
[0633]

39		1-环丙基-N-[7-乙氧基-8-氟-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	6-溴-7-乙氧基-8-氟-2-(2-甲基磺酰基乙基)咪唑并[1,2-a]吡啶	C	462.1	463.3
40		2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(2-羟基乙基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	479.2	480.3
41		2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(2,2,2-三氟乙基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	517.2	518.6
42		1-环丙基-N-[8-氟-2-(3-羟基-3-甲基-丁基)-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-2-氧代-吡啶-3-甲酰胺	4-(6-溴-8-氟-7-甲氧基-咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)-2-甲基-丁-2-醇	C	428.2	429.4

[0634]

43		2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	504.2	505.4
44		2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(氧杂环丁烷-3-基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	491.2	492.4
45		N-(环丙基甲基)-2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	489.2	490.4
46		2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(1-甲基环丙基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	489.2	490.4

[0635]

47		2-(3-羟基-3-甲基丁基)-N-(四氢呋喃-3-基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	505.2	506.4
48		N-(2,2-二氟乙基)-2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	499.2	500.4
49		N-乙基-2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酰胺	2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶酰氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-7-甲酸	A	463.2	464.3

[0636] 表IV.本发明说明性化合物的NMR数据

[0637]

Cpd.	NMR
1	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.70 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.46 – 8.36 (m, 2H), 8.20 (m, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 4.32 (s, 1H), 2.81 – 2.72 (m, 2H), 1.83 – 1.75 (m, 2H), 1.16 (s, 6H).
2	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 12.61 (s, 1H), 9.71 (s, 1H), 8.44 (d, 1H), 8.17 – 8.08 (m, 1H), 7.89 (m, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 6.84 – 6.83 (m, 1H), 3.08 (d, 3H), 2.94 (t, 2H), 1.98 –1.94 (m, 2H), 1.32 (s, 6H).
3	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.42 (s, 1H), 9.44 (s, 1H), 8.48 (d, 1H), 8.17 (t, 1H), 7.91 (d, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 4.04 (s, 3H), 2.96 – 2.87 (m, 2H), 1.98 (t, 2H), 1.35 (s, 6H).
4	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 9.39 (s, 1H), 8.44 (m, 1H), 7.92 (m, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.06 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 2.80 – 2.71 (m, 2H), 1.95 – 1.84 (m, 2H), 1.29 (s, 6H).
5	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 12.39 (s, 1H), 9.55 (s, 1H), 8.58 (m, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.49 (t, 1H), 4.09 (s, 3H), 3.57 – 3.47 (m, 1H), 2.93 (t, 2H), 1.99 (t, 2H), 1.34 (s, 6H), 1.32 – 1.22 (m, 2H), 1.03 – 0.94 (m, 2H).
6	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 9.55 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.91 (t, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.51 (t, 1H), 7.06 (s, 1H), 4.15 (s, 3H), 2.89 – 2.80 (m, 2H), 2.66 (s, 3H), 1.96 – 1.88 (m, 2H), 1.30 (s, 6H).
7	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.25 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.33 – 8.30 (m, 1H), 8.03 (t, 1H), 7.79 (m, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.65 (t, 1 H), 3.95 (s, 3H), 2.82 (t, 2H), 1.88 (t, 2H), 1.25 (s, 6H).
8	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.32 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 7.77 (m, 1H), 7.73 – 7.69 (m, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (m, 1H), 6.80 (s, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.85 – 2.77 (m, 3H), 1.87 (t, 2H), 1.25 (s, 6H).
9	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 9.46 (s, 1H), 8.59 (m, 1H), 7.74 (m, 1H), 7.42 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.64 (t, 1H), 4.06 (s, 3H), 2.83 – 2.70 (m, 2H), 1.95 – 1.82 (m, 2H), 1.29 (s, 6H).
10	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.41 (s, 1H), 9.41 (s, 1H), 7.68 (d, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.14 – 7.09 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 2.81 (t, 2H), 2.56 (s, 3H), 1.87 (t, 2H), 1.25 (s, 6H).
11	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.41 (s, 1H), 9.41 (s, 1H), 7.68 (d, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.14 – 7.09 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 2.81 (t, 2H), 2.56 (s, 3H), 1.87 (t, 2H), 1.25 (s, 6H).
12	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 11.73 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 8.69 (m, 1H), 7.86 (t, 1H), 7.78 (m, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.67 (t, 1H), 4.03 (s, 3H), 3.51 (s, 1H), 2.94 – 2.85 (m, 2H), 1.96 (t, 2H), 1.34 (s, 6H).

[0638]

Cpd.	NMR
13	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 11.86 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.52 (m, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.45 (t, 1H), 4.68 (q, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.79 (t, 2H), 1.86 (t, 2H), 1.24 (s, 6H).
14	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.48 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.17 (m, 1H), 7.91 (t, 1H), 7.47 (m, 1H), 7.18 – 7.13 (m, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.01 (s, 2H), 3.96 (s, 3H), 2.81 (t, 2H), 1.88 (t, 2H), 1.25 (s, 6H).
15	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.26 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.10 – 8.02 (m, 1H), 7.43 (t, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 2.85 – 2.77 (m, 2H), 2.55 (d, 3H), 1.87 (t, 3H), 1.25 (s, 6H).
16	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.13 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 2.86 – 2.78 (m, 2H), 2.62 (s, 3H), 1.88 (t, 2H), 1.26 (s, 6H).
17	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 9.75 (s, 1H), 9.68 (d, 1H), 9.38 (s, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.33 (s, 1H), 4.25 (s, 3H), 3.00 – 2.91 (m, 2H), 1.98 – 1.89 (m, 2H), 1.32 (s, 6H).
18	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 12.19 (s, 1H), 9.39 (s, 1H), 8.50 (m, 1H), 7.58 (m, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.37 (m, 1H), 4.19 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.69 – 3.62 (m, 2H), 3.25 (s, 3H), 2.78 (m, 2H), 1.85 (m, 2H), 1.24 (s, 6H).
20	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.47 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 8.35 (m, 1H), 8.09 (t, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.25 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 4.02 (s, 3H), 2.91 (t, 2H), 2.20 (s, 1H), 2.15 (s, 1H), 2.11 (s, 1H), 1.96 (t, 2H), 1.34 (s, 6H).
21	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 9.29 (s, 1H), 8.03 (m, 1H), 7.97 (t, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.77 (s, 2H), 4.01 (s, 3H), 2.80 – 2.71 (m, 2H), 1.93 – 1.84 (m, 2H), 1.28 (s, 6H).
22	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 12.42 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.56 (m, 1H), 7.64 (m, 1H), 7.18 (s), 6.84 (s, 1H), 6.55 (t, 1H), 5.49 (m, 1H), 4.02 (s, 3H), 2.91 – 2.83 (m, 2H), 1.94 (t, 2H), 1.44 (d, 6H), 1.32 (s, 6H).
23	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 12.35 (s, 1H), 9.49 (s, 1H), 8.59 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.51 (t, 1H), 4.18 (q, 2H), 4.03 (s, 3H), 2.93 – 2.84 (m, 2H), 1.95 (t, 2H), 1.47 (t, 3H), 1.33 (s, 6H).
24	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.21 (s, 1H), 9.40 (s, 1H), 8.50 – 8.38 (m, 2H), 8.25 (m, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.53 – 3.45 (m, 2H), 3.13 – 3.05 (m, 2H), 3.01 (s, 3H).
25	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 12.32 (s, 1H), 9.53 (s, 1H), 8.59 (m, 1H), 7.64 (m, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.49 (t, 1H), 4.07 (s, 3H), 3.57 – 3.50 (m, 3H), 3.30 – 3.27 (m, 2H), 2.84 (s, 3H), 1.34 – 1.20 (m, 2H), 1.01 – 0.96 (m, 2H).

[0639]

Cpd.	NMR
26	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.72 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 8.60 (m, 1H), 8.27 (m, 1H), 8.21 – 7.91 (m, (1 H), 7.74 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.80 (t, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.51 – 3.43 (m, 2H), 3.11 – 3.02 (m, 2H), 3.00 (s, 3H).
27	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.67 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 8.46 – 8.33 (m, 2H), 8.26 – 8.15 (m, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.63 – 7.58 (m, 1H), 4.31 (s, 1H), 3.05 (s, 6H), 2.79 – 2.70 (m, 2H), 1.83 – 1.75 (m, 2H), 1.16 (s, 6H).
28	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 9.60 (s, 1H), 8.44 (d, 1H), 8.30 (t, 1H), 8.05 (d, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 4.51 – 4.42 (m, 2H), 4.34 – 4.24 (m, 2H), 2.92 – 2.84 (m, 2H), 2.54 – 2.35 (m, 2H), 1.98 – 1.89 (m, 2H), 1.30 (s, 6H).
29	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 12.36 (s, 1H), 9.40 (s, 1H), 8.50 (m, 1H), 7.52 (m, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.39 (t, 1H), 4.14 (q, 2H), 3.63 (s, 3H), 2.85 – 2.77 (m, 2H), 1.87 (t, 2H), 1.54 (t, 3H), 1.22 (d, 6H).
30	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 10.13 (s, 1H), 8.52 (d, 1H), 8.35 (t, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.18 – 8.08 (m, 2H), 3.67 (t, 2H), 3.55 – 3.46 (m, 2H), 3.10 (s, 3H), 3.05 (s, 3H).
31	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 9.68 (s, 1H), 8.34 (d, 1H), 8.21 – 8.13 (m, 1H), 7.92 (m, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 2.82 – 2.73 (m, 2H), 1.87 – 1.78 (m, 2H), 1.18 (s, 6H).
32	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 9.64 (s, 1H), 8.31 (m, 1H), 8.00 (t, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 4.21 (s, 3H), 2.95 – 2.86 (m, 2H), 2.67 (s, 1H), 1.97 – 1.88 (m, 2H), 1.31 (s, 6H).
33	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.27 (s, 1H), 9.49 (s, 1H), 8.25 (m, 1H), 7.82 (t, 1H), 7.73 (m, 1H), 7.25 (d, 1H), 7.13 (s, 1H), 4.10 (s, 3H), 3.00 – 2.92 (m, 2H), 2.01 (t, 2H), 1.35 (s, 6H).
34	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.12 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.12 (m, 1H), 7.82 (t, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.15 (d, 1H), 6.81 (s, 1H), 3.95 (s, 3H), 2.81 (m, 2H), 1.87 (t, 2H), 1.25 (s, 6H).
35	^{1}H NMR (Methanol-d_4) δ: 9.44 (s, 1H), 8.47 (d, 1H), 8.31 (t, 1H), 8.07 (m, 1H), 7.52 (d, 1H), 6.93 (s, 1H), 4.08 (s, 3H), 3.75 (t, 2H), 3.39 (s, 3H), 2.97 (td, 2H).
36	^{1}H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 10.55 (s, 1H), 9.56 (s, 1H), 8.49 (d, 1H), 8.19 (m, 1H), 7.94 (m, 1H), 7.86 (d, 1H), 7.44 (d, 1H), 2.99 – 2.90 (m, 2H), 2.05 – 1.94 (m, 2H), 1.34 (s, 6H).
37	^{1}H NMR (400 MHz, Methanol-d_4) δ 9.36 – 9.29 (m, 1H), 8.47 (m, 1H), 7.92 (m, 1H), 7.56 (t, 1H), 6.58 – 6.49 (m, 1H), 4.46 (m, 2H), 3.55 – 3.45 (m, 1H), 2.85 – 2.77 (m, 2H), 1.95 – 1.86 (m, 2H), 1.58 (m, 3H), 1.29 (s, 6H), 1.26 – 1.13 (m, 2H), 1.09 – 0.96 (m, 2H).

[0640]

Cpd.	NMR
38	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.52 (s, 1H), 9.41 (d, 1H), 8.46 (m, 1H), 8.18 (m, 1H), 7.79 (d, 1H), 6.62 (m, 1H), 4.37 – 4.26 (m, 3H), 3.65 (s, 3H), 2.73 – 2.65 (m, 2H), 1.80 – 1.71 (m, 2H), 1.49 (t, 3H), 1.15 (s, 6H).
39	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.56 (s, 1H), 9.44 (d, 1H), 8.45 (m, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.94 (d, 1H), 6.58 (t, 1H), 4.34 (m, 2H), 3.61 – 3.46 (m, 3H), 3.15 – 3.06 (m, 2H), 3.02 (s, 3H), 1.50 (t, 3H), 1.15 – 1.07 (m, 2H), 1.07 – 0.93 (m, 2H).
40	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.52 (s, 1H), 9.67 (s, 1H), 8.88 (t, 1H), 8.40 – 8.27 (m, 2H), 8.12 (m, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 4.71 (t, 1H), 4.26 (s, 1H), 3.51 (q, 2H), 3.30 (q, 2H), 2.74 – 2.65 (m, 2H), 2.47 (s, 3H), 1.76 – 1.68 (m, 2H), 1.09 (s, 6H).
41	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.30 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 9.59 (t, 1H), 8.47 – 8.35 (m, 2H), 8.20 (m, 1H), 8.01 (s, 2H), 4.33 (s, 1H), 4.15 (m, 2H), 2.83 – 2.74 (m, 2H), 1.89 – 1.75 (m, 2H), 1.17 (s, 6H).
42	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.47 (s, 1H), 9.40 (d, 1H), 8.45 (m, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.79 (d, 1H), 6.58 (t, 1H), 4.30 (s, 1H), 4.11 (s, 3H), 3.57 (m, 1H), 2.78 – 2.60 (m, 2H), 1.92 – 1.65 (m, 2H), 1.22 – 0.94 (m, 10H).
43	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.55 (s, 1H), 9.73 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.46 – 8.33 (m, 2H), 8.19 (d, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.62 – 3.54 (m, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.82 – 2.73 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.84 – 1.73 (m, 2H), 1.16 (s, 6H).
44	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.48 (s, 1H), 9.73 (s, 1H), 9.60 (s, 1H), 8.47 – 8.33 (m, 2H), 8.21 – 8.14 (m, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 5.02 (s, 1H), 4.80 (m, 2H), 4.64 (t, 2H), 4.34 (s, 1H), 2.82 – 2.73 (m, 2H), 1.89 – 1.74 (m, 2H), 1.17 (s, 6H).
45	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.48 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 8.95 (t, 1H), 8.30 (d, 1H), 8.25 (t, 1H), 8.06 (m, 1H), 7.83 (s, 2H), 4.20 (s, 1H), 3.06 (t, 2H), 2.68 – 2.59 (m, 2H), 1.70 – 1.62 (m, 2H), 1.03 (s, 6H), 0.94 (m, 1H), 0.35 – 0.21 (m, 2H), 0.20 – 0.11 (m, 2H).
46	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.35 (s, 1H), 9.71 (s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.46 – 8.34 (m, 2H), 8.19 (d, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 4.32 (s, 1H), 2.80 – 2.71 (m, 2H), 1.82 – 1.74 (m, 2H), 1.43 (s, 3H), 1.15 (s, 6H), 0.84 – 0.78 (m, 2H), 0.67 – 0.60 (m, 2H).
47	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.71 (d, 1H), 9.12 (s, 1H), 8.47 – 8.33 (m, 2H), 8.18 (m, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 4.51 – 4.42 (m, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.94 – 3.63 (m, 5H), 2.81 – 2.72 (m, 2H), 2.25 – 2.12 (m, 1H), 1.98 (m, 1H), 1.84 – 1.73 (m, 2H), 1.16 (s, 6H).
48	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.43 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.43 (d, 1H), 8.38 (t, 1H), 8.19 (d, 1H), 7.99 (d, 2H), 6.18 (t, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.73 (t, 2H), 2.81 – 2.73 (m, 2H), 1.85 – 1.75 (m, 2H), 1.16 (s, 6H).
49	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.61 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.44 (d, 1H), 8.38 (t, 1H), 8.20 (d, 1H), 7.96 (s, 2H), 4.33 (s, 1H), 3.39 – 3.27 (m, 2H), 2.81 – 2.72 (m, 2H), 1.84 – 1.75 (m, 2H), 1.17 (d, 8H).

[0641] 生物学实施例

[0642] 实施例3.体外分析

[0643] 3.1.人IRAK-4的磷酸化IC_{50}测定

[0644] 3.1.1.分析原理

[0645] 用ADP-Glo激酶分析法(Promega,Cat#V9103)检测在Km ATP下IRAK4引起的底物

RIP140(SEQ ID1)磷酸化,其是一种测量由激酶反应形成的ADP的发光激酶分析法(Zegzouti等人,2009)。在第二步骤中,使激酶反应终止,并且耗尽所有剩余的ATP。在最终步骤中,ADP转化成ATP,并且通过使用荧光素酶/荧光素反应和发光读数器来测量此新合成的ATP。发光信号与激酶活性,特别的是激酶抑制性,呈正相关,得到降低的发光信号。

[0646] 3.1.2.材料

[0647] 对于半自动化分析,阳性对照(100%抑制)的制备是由10mM星状孢子素(staurosporine)储备混合物(20μL)在水(3.8mL)和DMSO(180μL)中稀释,从而产生10μM星状孢子素的1%DMSO溶液(在激酶反应中进一步稀释后的最终浓度)。

[0648] 对于自动化分析,不预先稀释10mM星状孢子素储备液。使用声音分配器(acoustic dispensing)将10mM星状孢子素直接点样于分析板中,并且补充DMSO,以产生如上文所提及的类似最终浓度。

[0649] 对于半自动化分析,阴性对照(0%抑制)的制备是混合水(3.8mL)和DMSO(200μL),在激酶反应中进一步稀释之后产生1%DMSO的最终浓度。对于自动化分析,则不进行DMSO的预先稀释。将100%DMSO直接点样于分析板上。

[0650] 通过混合125mM TRIS pH 7.5+0.05%Triton X-100+2.5mM EGTA(5.27mL)的溶液和1M $MgCl_2$(72μL)、1M DTT(57.6μL)和200mM $MnCl_2$(360μL),制备分析缓冲溶液,其浓度对应于最终(最高稀释的)分析浓度的5倍。

[0651] 制备酶-底物混合物(25μM RIP140和0.125ng/μL IRAK4的缓冲水溶液),其浓度对应于半自动化方法的最终(最高稀释的)分析浓度的2.5倍和自动化方法的最终(最高稀释的)分析浓度的3倍。例如,对于半自动化方法而言,酶-底物混合物的制备是混合水(3999μL)、分析缓冲溶液(1380μL)、1mM RIP140(138μL-SEQ ID1)和200ng/mL IRAK 4(3.45μL Carna Biosciences,09 145)。

[0652] 对于半自动化方法,制备ATP混合物,其浓度对应于半自动化方法的最终(最高稀释的)分析浓度的2.5倍和自动化方法的最终(最高稀释的)分析浓度的1.5倍。例如,对于半自动化方法而言,ATP混合物的制备是混合水(4126μL)、分析缓冲溶液(1380μL)和10mM ATP(13.80μL)。

[0653] 3.1.3.方法

[0654] 以半自动化或完全自动化方式进行分析。ADP检测的分析体积及温育时间根据所用方法是不同的。

[0655] 3.1.3.1.半自动化分析

[0656] 以在水中1/20稀释的2mM最高浓度起始,化合物用在100%DMSO中的1/5稀释步骤制备为10点剂量反应的系列稀释液。将1μL干燥转移至分析板。

[0657] 在各分析板上,每种对照添加32个孔(阳性&阴性),随后添加2μL酶底物混合物。

[0658] 通过在分析板上添加2μL稀释的ATP(最终浓度Km ATP)开始反应。板在1000rpm下离心几秒,随后在室温温育120分钟。

[0659] 反应停止,并且通过将5μL ADP-glo试剂(Promega,Cat#V9103)添加至反应来耗尽未消耗的ATP。对应于完全ATP消耗,将板在1000rpm下快速离心并且在室温温育40分钟。

[0660] 将ADP转化回ATP,并且引入荧光素酶和荧光素,通过向反应添加10μL激酶检测试剂(Promega,Cat#V9103)来检测ATP。将板在1000rpm下离心几秒并且在室温再温育30分钟。

[0661] 在Envision发光读取器(Perkin Elmer)上进行发光读出。

[0662] 3.1.3.2.自动化分析

[0663] 对于自动化分析,以2mM最高浓度起始,化合物用在100％DMSO中的1/5稀释步骤制备为10点剂量反应的系列稀释液。

[0664] 随后,将化合物转移和/或稀释于分析板中的DMSO中,达到30nL的最终体积并且添加对照。

[0665] 对于系列稀释:10点系列稀释,1/5稀释步骤,最终最高浓度在1％DMSO中20μM。

[0666] 在各分析板上,每种对照添加32个孔(阳性&阴性)。

[0667] 将板移动至HighRes平台,并且执行以下步骤:

[0668] a)将1μL稀释的酶/底物混合物分配于各孔中,

[0669] b)通过在分析板上添加2μL稀释的ATP(最终浓度Km ATP)开始反应,

[0670] c)板在300g下离心10秒,密封并且随后在室温温育120分钟。

[0671] d)停止反应并且通过添加3μL ADP-Glo试剂来耗尽未消耗的ATP。将板密封并且在室温温育40分钟。

[0672] e)将ADP转化成ATP,并且引入荧光素酶/荧光素,通过向反应添加6μL激酶检测试剂来检测ATP。将板密封并且在室温温育60分钟。

[0673] f)在Perkin Envision发光读取器上进行发光读出。

[0674] 3.1.4.数据分析

[0675] 按照对发光读取器进行的读出所产生的原始数据,使用下式计算抑制百分比(PIN):

[0676] $$PIN = \frac{(\mathrm{RLUn} - \mathrm{RLU}_{\text{测试化合物}})}{\mathrm{RLUn} - \mathrm{RLUp}} \times 100$$

[0677] 其中RLU＝相对化学发光光单位(背景减除),并且下标p和n分别是指阳性和阴性对照的基于各板的平均值。

[0678] 在浓度-反应中绘制PIN值并且应用4-参数非线形回归(S形)曲线拟合得出IC_{50}值。

[0679] 表V.本发明化合物的体外人IRAK-4ADP-Glo IC_{50}

[0680]

半定量评分	IC_{50}范围
****	0.1-5 nM
***	>5-10 nM
**	>10-50 nM
*	>50 nM
ND	未测定

[0681]

Cpd.	IRAK4 ADPglo 生物化学分析 IC_{50}
1	****
2	****
3	****
4	***
5	****
6	****
7	****
8	****
9	***
10	ND
11	*
12	***
13	*
14	***
15	****
16	**
17	**
18	****
20	****
21	****
22	**
23	***

Cpd.	IRAK4 ADPglo 生物化学分析 IC_{50}
24	****
25	****
26	***
27	**
28	**
29	**
30	**
31	****
32	**
33	ND
34	***
35	**
36	****
37	****
38	***
39	***
40	****
41	****
42	****
43	***
44	***
45	***

Cpd.	IRAK4 ADPglo 生物化学分析 IC_{50}
46	***
47	***

Cpd.	IRAK4 ADPglo 生物化学分析 IC_{50}
48	****
49	****

[0682] 3.2.激酶选择性特性(宽图)

[0683] 此分析的目的是确定本发明化合物对所选择的人激酶范围的活性和选择性,其在抑制时可以产生非所要的副作用(Dy和Adjei,2013;Force和Kolaja,2011)。

[0684] 在辐射测量激酶分析法中以Eurofins Cerep SA(Le Bois L'Evêque,BP 30001,F-86600Celle-Lévescault)测定人激酶的抑制。

[0685] 为了测定其IC_{50},自10μM(最高浓度)开始以3倍系列稀释测试10个剂量的化合物。通过拟合剩余酶活性%的剂量-反应曲线(相对于DMSO对照)来得出IC_{50}值。

[0686] 3.3.NFκB-报告基因分析

[0687] 3.3.1.分析原理

[0688] 已显示白介素-1受体相关激酶(IRAK4)活性在LPS和IL-1β触发活化的NFκB依赖性信号传导的下游起关键作用,而显示IRAK4不是TNFα介导的反应所要的(Jain,Kaczanowska

和Davila 2014;Davidson等人2006)。

[0689] 此分析用于评估在THP1-Lucia NFκB报告基因分析中本发明化合物对IRAK4依赖性(LPS和IL-1β)和独立触发(TNFα)的IRAK4选择性和效能。

[0690] 3.3.2.分析方案

[0691] 按照供应商的推荐,使用分裂周期培养THP-1-Lucia NFκB细胞(Invivogen-5,rue Jean Rodier 31400Toulouse France-Cat#thp1-nfkb),每个周期包含一系列解冻/扩增/接种。所报告的数据使用具有3至9个周期的细胞产生。在试验当天,对THP-1-Lucia NFκB细胞计数并且通过移液54μL/孔至384孔板中,以1,000,000个细胞/mL的密度将细胞接种于培养基(RPMI1640(Gibco,Cat#52400-025)+10%FBS(Sigma,Cat#F7524-500ML)+1%P/S(Gibco,Cat#15140-122))中。其后,将6μL 10×触发剂溶液以2.5、10和3ng/mL的最终浓度(分别对于LPS、TNFα和IL-1β)添加至所有孔中,但"无触发剂孔"除外,其中仅添加6μL培养基。

[0692] 在添加触发剂之后,使用3倍稀释步骤并且将最终DMSO浓度归一化至所有孔中0.2%DMSO,以8点浓度范围,用数位化合物分配器添加化合物。

[0693] 在37℃、5%CO_2下温育24小时之后,每孔收集40μL上清液并且转移至新384孔板,随后储存在-20℃直至进一步使用。

[0694] 对于读数,在冰上解冻上清液样品并且自各孔转移5μL样品至新384孔板。将20μLQuanti-Luc溶液(如由制备商指示,Quanti-Luc粉末(Invivogen,Cat#rep-qlc1)溶解于25mL无菌水中)添加至中各孔中,其后立即使用Envision仪器测量发光。

[0695] 为了测量LPS/TNFα/IL-1β诱导的NFκB报告基因活性的抑制,相较于对照组,计算测试的所有浓度的抑制百分比(PIN)值。

[0696] 将未刺激的样品(无触发剂/媒介物(0.2%DMSO))用作阴性对照(100%抑制)。使用刺激的样品(触发剂/媒介物)作为阳性对照(0%抑制)。

[0697] $$\mathrm{PIN} = \frac{RLU_p - RLU_{测试化合物}}{RLU_p - RLU_n} * 100$$

[0698] 其中RLU=相对光单位(背景减除),并且p和n分别是指阳性和阴性对照的平均值。

[0699] 在浓度-反应中绘制PIN值并且使用GraphPad Prism软件,应用4参数非线形回归(S形)曲线拟合得出EC_{50}值。使用以下限制进行分析:顶部必须小于120并且希尔斜率(Hill Slope)等于1。仅计算达到至少40%PIN的化合物的EC_{50}值。

[0700] 例如,当在此分析中测试时,化合物39以6.5(±0.05)的平均pEC_{50}值抑制LPS驱动的NFκB-报告基因活性,并且以7.2(±0.05)的平均pEC_{50}值抑制IL-1β驱动的NFκB报告基因活性,而对TNFα介导的NFκB-报告基因活性未观察到活性,说明化合物39的IRAK4选择性。

[0701] 实施例4.ADME分析

[0702] 4.1.动力学溶解度

[0703] 自测试化合物在DMSO中的10mM储备溶液起始,制备DMSO中的第二浓度3mM。通过将200μL缓冲液添加至2μL化合物溶液中,在0.1M磷酸盐缓冲液pH 7.4中稀释两种DMSO浓度。最终化合物浓度为100和30μM,最终DMSO浓度为1%。一式两份地进行测量。

[0704] 作为用于沉淀的阳性对照,将芘添加至各96孔板的边角点并且用作校准显微镜上的Z轴的参考点。作为阴性对照,将DMSO添加至阳性对照孔之间的列上的12个孔。

[0705] 将分析板密封并且在37℃温育1小时,同时在230rpm下振摇。

[0706] 随后在白光显微镜下使用Nikon显微镜扫描板,得到每个浓度的沉淀的单个图片(20×)。

[0707] 目测分析沉淀:

[0708] -如果在100μM和在30μM下观测到沉淀,则产生的数据将为:<30μM

[0709] -如果在100μM下但未在30μM下观测到沉淀,则产生的数据将为:>30μM

[0710] -如果未观测到沉淀(既不在30μM也不在100μM下),则产生的数据将为:>100μM

[0711] 根据此方案测量的溶解度值以μM和μg/mL报告。

[0712] 4.2.热力学溶解度

[0713] 溶解度差,特别是热力学溶解度差可能限制自胃肠道吸收化合物,其转而可以降低口服生物利用度。

[0714] 热力学溶解度研究平衡时饱和溶液的化合物的溶解度,其与动力学溶解度相反,其测量相对稳定的溶液的溶解度,其中可能发生过饱和并且提供化合物的实际溶解度的过度评估。(Klein,2010)

[0715] 4.2.1.热力学溶解度-方案1

[0716] 在8mL玻璃瓶中,添加1-2mg化合物干物质并且在室温(对于缓冲液pH 7.4)或37℃(对于GI液体)与合适的缓冲液(进食状态模拟肠液(FeSSIF)或禁食状态模拟肠液(FaSSIF)或禁食状态模拟胃液(FaSSGF)或磷酸盐缓冲液pH 7.4)一起搅拌24小时。混合物浓度为1mg/mL。

[0717] 取样500μL的体积,在10000rpm下离心10分钟并且过滤。将样品一式两份稀释于DMSO(F100和F10)中。随后,将在80/20H_2O/含有内标(华法林(warfarin))的MeCN中的最终稀释液(F100)用于LCMS-MS分析。

[0718] 自由干物质新鲜制备的DMSO中的200,000ng/mL储备液起始制作标准曲线。随后,通过使用Tecan自动机制备DMSO中15,000、10,000、2,500、1,000、200和75ng/mL的连续浓度。

[0719] 制备两个质量的对照样品:一个是DMSO中的10,000ng/mL并且一个是DMSO中的500ng/mL,也自200,000ng/mL的DMSO工作储备溶液起始。

[0720] 标准曲线和质量对照在80/20H_2O/MeCN(具有内标)中稀释F100并且在LC/MS-MS(API4000或API5500)上进行分析。

[0721] 样品在LC-MS上以0.6mL/分钟的流速进行分析。流动相A是在水中的0.1%甲酸并且流动相B是在MeCN中的0.1%甲酸。样品在来自Agilent的Pursuit C18-5μm(2.0×20mm)柱上在阳离子或阴离子喷雾下运行。

[0722] 在图中绘制标准曲线的峰面积,并且使用线性或多项式二阶等式计算测试化合物的未知浓度。

[0723] 4.2.2.热力学溶解度-方案2

[0724] 在8mL玻璃瓶中,添加1-2mg化合物干物质并且在室温(对于缓冲液pH 7.4)或37℃(对于GI液体)与合适的缓冲液(进食状态模拟肠液(FeSSIF)或禁食状态模拟肠液(FaSSIF)或禁食状态模拟胃液(FaSSGF)或磷酸盐缓冲液pH 7.4)一起搅拌24小时。混合物浓度是1mg/mL。

[0725] 取样1000μL的体积，以10000rpm离心10分钟，并且在培养板上过滤500μL上清液。将样品一式两份稀释于DMSO(F100和F10)中。随后，将80/20H_2O/含有内标(华法林)的MeCN中的最终稀释液(F100)用于LCMS-MS分析。

[0726] 自由干物质新鲜制备的DMSO中的40,000ng/mL储备液起始制作标准曲线。随后，制备DMSO中15,000、11,000、6,000、2,500、1,000、375、150和75ng/mL的连续浓度。

[0727] 制备三个质量对照样品：DMSO中10,000、1,500和200ng/mL中之一，也起始于40,000ng/mL的DMSO工作储备溶液。

[0728] 标准曲线和质量对照在80/20H_2O/MeCN(具有内标)中稀释F100并且在LC/MS-MS(API4000或API5500)上进行分析。

[0729] 在LC-MS上以0.6mL/min的流速分析样品。流动相A是在水中的0.1％甲酸并且流动相B是在90％乙腈和10％水中的0.1％甲酸。样品在来自Agilent的Pursuit C18-5μm(2.0×20mm)柱上在阳离子或阴离子喷雾下运行。

[0730] 标准曲线的分析物/内标峰面积比率绘制于图表中，并且使用线性或多项式二阶等式计算测试化合物的未知浓度。

[0731] 表VI.本发明化合物的说明性化合物的溶解度值

[0732]

Cpd #	Tsol FaSSIF (μg/mL)	Tsol FaSSGF (μg/mL)	Tsol FeSSIF (μg/mL)
2	9.08, 9.24	673, 969	35.4, 25.8
3	31.4	880	360
4	125	116	ND
5	798	>1000	>1000
6	692	ND	ND
7	15.2	ND	ND
8	8.56	ND	ND
12	188	>1000	ND
13	600	ND	ND
18	253	ND	ND
20	2.63	ND	ND

Cpd #	Tsol FaSSIF (μg/mL)	Tsol FaSSGF (μg/mL)	Tsol FeSSIF (μg/mL)
23	459	>1000	ND
24	2.44	>1000	ND
25	41.5	ND	ND
31	2.97	>1000	4.4
35	<30	ND	ND
37	70.5	>1000	ND
38	96.8	>1000	ND
39	17.3, 7.50	>1000, >1000	20.9
42	181	>1000	612

[0733] 4.3.血浆蛋白质结合PPB(平衡透析)

[0734] 在开始试验之前，将透析膜(膜带，MW截止12-14kDa，HTDialysis，Cat##1101)浸泡于去离子水中60分钟，转移并且置于20％EtOH中过夜。

[0735] 试验当天，将化合物在DMSO中的10mM储备溶液用DMSO稀释10倍。将此溶液在新鲜解冻的人、大鼠、小鼠或犬血浆(BioReclamation INC)中进一步稀释，最终浓度为5μM，并且最终DMSO浓度为0.5％。

[0736] 自此溶液获取50μL等分试样并且基质与用于回收板的等量体积的PBS匹配。此后，将6体积的STOP溶液添加至回收板中。对于这些回收板，不进行温育。

[0737] 根据制备商的说明装配平衡透析装置(96孔，HTD96b型，HTDialysis，Cat##1006)。在装配之后，立即分别将体积为100μL的血浆(外加化合物)置放于孔的一侧并且将另一个100μL空白组PBS缓冲液添加至另一侧。一式两份测试各化合物。

[0738] 使用醋丁洛尔(Acebutolol)和尼卡地平(Nicardipine)作为低和极高结合对照，

但对于小鼠，将咖啡因(Caffeine)代替醋丁洛尔用作低结合剂。如果这些对照物的PPB值不在由历史数据确定的范围内，则分析无效。

[0739] 板在37℃温育4小时，同时在230rpm下振摇。

[0740] 其后，50μL等分试样取自孔和匹配基质(相等体积的具有空白组PBS缓冲液的外加血浆与来自空白组血浆的缓冲隔室的样品的混合物)的各侧。

[0741] 将基质匹配的样品进一步与64体积的STOP溶液(具有华法林作为内标的乙腈)混合。在简单混合和离心(在+4℃以2400rpm离心15分钟)之后，将上清液过滤并且转移至新的96孔板中用于在LC-MS/MS(系统API4000或API5500)上分析。

[0742] 样品在LC/MS-MS上以0.6mL/min的流速分析。流动相A是在水中的0.1％甲酸并且流动相B是在乙腈中的0.1％甲酸。样品在来自Agilent的Pursuit C18-5μm(2.0×20mm)柱上在阳离子或阴离子喷雾下运行。溶剂梯度具有1.2分钟的总运行时间，其中梯度分布如下：

[0743]

时间(分钟)	%B
0.0	5
0.2	100
0.8	100
0.9	5
1.2	5

[0744] 使用以下等式确定血浆结合的百分比(PPB)：

[0745] $$PPB = \frac{(C_{血浆} - C_{缓冲液})}{C_{血浆}} * 100$$

[0746] C血浆＝血浆中化合物的峰面积/血浆中IS的峰面积

[0747] C缓冲液＝缓冲液中化合物的峰面积/缓冲液中IS的峰面积

[0748] “浓度”是化合物与内标峰面积之间的比率。

[0749] 回收率是对照，其允许确保化合物不具有与板的非特异性结合或其在这些条件下在血浆中不稳定。

[0750] $$\%回收率 = \frac{(PBS + 血浆) * 100}{回收}$$

[0751] 其中：

[0752] PBS＝在4小时之后在PBS隔室中(化合物的峰面积/IS的峰面积的比率)

[0753] 血浆＝在4小时之后在血浆隔室中(化合物的峰面积/IS的峰面积的比率)

[0754] 回收＝回收率＝在T0下在孔回收中的化合物的峰面积/在孔回收中的IS的峰面积的比率

[0755] 通过显微镜检查最终测试浓度的化合物在PBS中的溶解度，以指示是否观察到沉淀。如果观察到沉淀，则没有PPB数据产生。

[0756] 4.4.肝微粒体稳定性

[0757] 将化合物在DMSO中的10mM储备溶液三倍稀释于DMSO中。随后在100mM磷酸盐缓冲液(pH 7.4)中将此预稀释的化合物溶液稀释至2μM并且在37℃预温热。此化合物稀释液在

37℃在以300rpm振摇与微粒体/辅因子混合物2倍混合。

[0758] 最终反应条件为:100μL温育体积、1μM测试化合物(n=2)、0.2%DMSO、0.5mg/mL微粒体(Xeno-Tech)、0.6U/mL葡萄糖-6-磷酸盐-脱氢酶(G6PDH,Roche,10127671001)、3.3mM $MgCl_2$(Sigma,M2670)、3.3mM葡萄糖-6-磷酸盐(Sigma,G-7879)和1.3mM NADP+(Sigma,N-0505)。

[0759] 在300rpm和37℃温育30分钟之后,用600μL STOP溶液(具有双氯芬酸作为内标的乙腈)停止反应。对于零点时间点,在添加微粒体混合物之前将600μL STOP溶液添加至化合物稀释液中。

[0760] 离心两个时间点的样品,过滤并且通过LC-MS/MS分析上清液。

[0761] 样品在LC/MS-MS上以0.6mL/min的流速分析。流动相A为是在水中的0.1%甲酸并且流动相B是在90%MeCN和10%水中的0.1%甲酸。样品在来自Agilent的Pursuit C18-5μm(2.0×20mm)柱上在阳离子或阴离子喷雾下运行。溶剂梯度具有2.2分钟的总运行时间,其中梯度分布如下:

[0762]

时间(分钟)	%B
0.0	5
0.6	5
1	100
1.9	100
2.0	5
2.2	5

[0763] 仪器反应(峰面积/IS峰面积)参考零时间点样品(视为100%)以便确定剩余化合物百分比。

[0764] 将维拉帕米(Verapamil,1μM)和华法林(1μM)分别用作作为不稳定和稳定化合物的参考化合物。如果这些对照的微粒体稳定性值不在由历史数据确定之范围内,则分析未验证。

[0765] 微粒体稳定性的数据表示为30分钟温育后剩余的化合物总量的百分比。

[0766] 通过显微镜检测最终测试浓度的化合物在100mM缓冲液pH 7.4中的溶解度,以指示是否观察到沉淀。如果观察到沉淀,则没有微粒体稳定性数据产生。

[0767] 4.5.S9亚细胞级分中的代谢稳定性

[0768] 此分析的目的是通过测定在S9亚细胞级分中的体外代谢稳定性来评估通过醛氧化酶的化合物代谢。

[0769] 首先在DMSO中稀释化合物在DMSO中的10mM储备溶液(40倍)以获得250μM浓度。进一步用水(5倍)稀释此化合物溶液以获得50μM化合物工作溶液(以获得1μM化合物最终浓度)。在5mM下于水中制备肼苯哒嗪(醛氧化酶的选择性抑制剂)(以获得100μM的最终浓度)。通过在37℃将10μL肝S9悬浮液(人、大鼠、小鼠、猴、BD Gentest™,20mg/mL)添加至86μL的50mM磷酸钾缓冲液(pH 7.4)中来制备温育混合物(2mg蛋白质/mL的最终浓度)。添加2μL的5mM肼苯哒嗪用于在添加选择性抑制剂或2μL水的情况下温育,用于在无抑制剂的情况下温育。在5分钟预温热后,通过向温育混合物中添加2μL的50μM测试化合物开始反应。

[0770] 在0、3、6、12、18和30分钟温育之后,反应(100μL)用含有10ng/mL华法林的1%AcOH

混合物作为分析型内标的150μL MeCN:MeOH(2:1)终止。将样品混合,离心并且通过LC-MS/MS分析上清液。

[0771] 样品在LC/MS-MS上以0.7mL/min的流速分析。流动相A是在水中的0.1%甲酸并且流动相B是在90%MeCN和10%水中的0.1%甲酸。

[0772] 包括酞嗪(phtalazine)作为阳性对照。

[0773] 仪器反应(化合物和内标的峰面积比率)参考零时间点样品(视为100%)以便确定剩余化合物百分比。使用GraphPad Prism®软件将剩余化合物%的曲线用于测定S9温育中的半衰期和固有清除率。下式用于计算体外固有清除率(μL/分钟/mg):

[0774] CL_{int}(μL/分钟/mg)=0.693/$t_{1/2}$(分钟)*(mL温育物/mg蛋白质)*1000

[0775] 如果S9清除被肼苯哒嗪抑制,则将测试化合物分类为醛氧化酶的底物。测试化合物的物质特异性清除还可以表明通过醛氧化酶的代谢。

[0776] 4.6.肝细胞的代谢稳定性

[0777] 此分析的目的是测定化合物在不同物种的肝细胞(冷冻保存)中的代谢稳定性。低肝细胞稳定性可以使得形成不希望的代谢物、高清除率,并且因此不需要。

[0778] 通过测量LC-MS/MS分析的剩余百分比来评估母体的降低。

[0779] 首先将测试化合物在DMSO中的10mM储备溶液稀释于DMSO中至3mM,并且随后在修饰的Krebs-Henseleit缓冲液(Sigma,K3753)中稀释至5μM。在37℃在温和振摇下将此化合物稀释液添加至汇集的冷冻保存肝细胞(BioreclamationIVT)的悬浮液中。

[0780] 最终反应条件是:1μM测试化合物、0.03%DMSO、0.5百万活肝细胞/mL和75μL温育体积。

[0781] 分别使用睾酮(1μM)和7-羟基香豆素(1μM)作为阶段I和阶段II代谢反应对照。

[0782] 在温育0、10、20、45、90、120和180分钟之后,用含有100ng/mL双氯芬酸作为分析内标的225μL MeCN:MeOH(2:1)终止反应。将样品混合,离心并且通过LC-MS/MS分析上清液。

[0783] 仪器反应(测试化合物和内标峰面积的比率)参考零时间点样品(视为100%)以便确定剩余化合物百分比。

[0784] 使用以下等式将剩余化合物百分比的曲线用于测定肝细胞温育中的固有清除率:

[0785] $$Cl_{Int} = \frac{Ln(2) * \text{温育体积}}{T_{1/2} * \text{每份温育物的细胞数}} * 1000$$

[0786] 标度Cl_{int}[L/h/kg]=Cl_{int}[μL/分钟/10^6个细胞]*#(10^6)个细胞/g肝*60*(1/10^6)

[0787] 标度Cl_{int}未结合[L/h/kg]=Cl_{int}[L/h/kg]/Fu,inc

[0788] 其中:通过以下等式,fu,inc等于来源于微粒体结合的肝细胞结合(fu,mic):

[0789] $$\text{fu, inc} = \frac{1}{1 + 10^{\frac{\log\left(\frac{1-fu,mic}{fu,mic}\right)-0.06}{1.52}}}$$

[0790] 表VII.在小鼠和人中本发明说明性化合物的肝细胞稳定性

[0791]

Cpd#	小鼠（90分钟剩余百分比）	人（90分钟剩余百分比）
1	96.3	96.4
2	103.4	99.9
3	39.9	94.55
4	87.75	99.7
5	100	95.6
6	4.5	30.3
7	26.4	78.4
8	26.4	78.4
12	88.1	100.7
13	109.5	105.95
14	23.5	89.95
15	60.05	48.5

Cpd#	小鼠（90分钟剩余百分比）	人（90分钟剩余百分比）
16	74.55	29.2
18	60.9	93.95
20	75.2	75.55
21	34.9	71.95
22	74.1	99.75
23	89.65	91.45
24	46	73.6
25	95.05	95.3
26	ND	106
27	108.1	95.6
28	96.25	93.5
29	95.2	98.85

Cpd#	小鼠（90分钟剩余百分比）	人（90分钟剩余百分比）
31	96.5	94.9
34	6.59	49.8
35	25.85	64.9
37	103.5	99.7

Cpd#	小鼠（90分钟剩余百分比）	人（90分钟剩余百分比）
40	94.55	94.65
42	91.45	96.75
48	86	100.95
49	87.15	95.9

[0792] 4.7.hERG通道测试-手动膜片钳检测

[0793] 此分析的目的是测定测试化合物对人胚肾(HEK)细胞中表达的hERG电流(I_{Kr})的体外作用(评估测试物质对由在人细胞系中稳定转染的hERG通道介导的I_{Kr}-样钾电流的阻断性质),其与心脏安全性相关。

[0794] 通过冷搅拌将测试物质溶解于纯二甲亚砜(DMSO)中,得到相比于待测试的最高浓度,浓缩333倍的储备溶液。此储备溶液用于制备DMSO中的其它储备溶液。各储备溶液用于制备含有最终浓度的溶液,最终浓度通过在细胞外溶液(0.1、1、10和100μM)中的稀释来测试。DMSO的最终浓度不应超过0.3%。

[0795] 所有配制物均在玻璃容器中制备。

[0796] 如果略微乳光在最高浓度下持续,则测试50μM(而非100μM)浓度。

[0797] 将在细胞外溶液中稀释的DMSO(在最终测试物质溶液中所用的不同浓度下)用作媒介物。

[0798] 细胞外溶液如以下(mM)构成:K-葡糖酸盐:4mM/Na-葡糖酸盐:145mM/Mg-葡糖酸盐:2mM/Ca-葡糖酸盐:3.5mM/HEPES:5mM/葡萄糖:5mM/甘露醇:20mM。用NaOH将pH调节至7.40±0.05。

[0799] 用hERG克隆(Creacell)稳定转染人胚肾(HEK293)细胞并且将其维持在37℃,5%CO_2/95%空气温育箱中。将用于研究的细胞转移至约2mL的试验容器,通过热电装置(Harvard设备:TC-344B型)维持在35±0.5℃的温度并且安装在倒置显微镜(Olympus:IX1-51型或Leica DMI3000 B)的平台上。细胞连续与如下构成的Tyrode溶液融合(mM):NaCl:145/KCl:4/HEPES:5/葡萄糖:5/$CaCl_2$:1/$MgCl_2$:1。

[0800] 使用全细胞模式的膜片钳技术测量来自hERG转染的细胞的离子电流。通过垂直拉晶器(Sutter仪器:P30型)由硼硅酸盐玻璃拉制玻璃电极。当填充内部溶液时,电极尖端电阻为约1.5至3.5MΩ,所述溶液构成如下(mM):K-葡糖酸盐:145/Mg-葡糖酸盐:1/EGTA:2/HEPES:5/K_2ATP:2。

[0801] 将电极连接至膜片钳放大器(Axon仪器:Multiclamp 700B-1)的输入端。使用特别的Axon仪器软件(pClamp 9.2.0.或pClamp 10.3.0.2)进行刺激、数据记录和分析。

[0802] 在细胞膜破裂(进入全细胞模式)之后,使用以下方案每10秒刺激细胞:500ms脉冲自-80mV的保持电位至+10mV,随后为500ms脉冲至-40mV,在此期间测量尾电流。

[0803] 一旦电流在控制条件下稳定,在添加测试物质(控制)之前和之后进行记录。持续监测测试物质对尾电流的影响直至达到稳态。峰值尾电流振幅经3个刺激平均化。

[0804] 测量以下参数:

[0805] -细胞电容(pF)。

[0806] -峰值尾电流振幅(pA)。

[0807] 峰值尾电流测量是使用细胞电容作为细胞表面的指标来标准化。

[0808] 如果细胞电容<80pF、接入电阻<20MΩ并且保持电流>-200pA,则将细胞视为有效的。

[0809] 结果表示为绝对值并且表示为相对于对照的变化百分比(尾电流抑制的百分比)。

[0810] 在4个递增浓度下在3个hERG转染的细胞上研究测试物质。

[0811] 如果可能,则自各单个浓度反应曲线确定诱导50%尾电流抑制(IC_{50})的测试物质的浓度。等式具有以下形式:

[0812] $$y = Min + \frac{Max - Min}{1 + \left(\frac{X}{X50}\right)^{-P}}$$

[0813] 表VIII.本发明化合物的hERG手动膜片钳

[0814]

半定量评分	IC_{50} 范围
****	0.1-5 nM
***	>5-10 nM
**	>10-50 nM
*	>50 nM
ND	未测定

[0815]

Cpd.	IC_{50}	单一剂量 PIN (10μM)
2	19.2	-44.7
5	ND	-25
12	3.05	-76.3
31	16.3	-46.7
37	6.99	-56.3
38	ND	-30.0

Cpd.	IC_{50}	单一剂量 PIN (10μM)
39	>10	-39.7
41	ND	-17
42	>92.3	-12
48	ND	-20.5
49	ND	-17

[0816] 4.8.CYP抑制

[0817] 此分析的目的是测定测试化合物的抑制电位。药物-药物相互作用的主要问题是

细胞色素P450抑制。使用针对人细胞色素P450同功酶CYP1A2、2C9、2C19、2D6和3A4的特异性探针底物在人肝脏微粒体中测定可逆CYP抑制。

[0818] 在甲醇中制备5mM测试化合物储备溶液。此储备溶液进一步在MeOH中以1:3系列稀释，并且随后添加至含有50mM磷酸钾缓冲液pH 7.4、人肝微粒体(BD Gentest)和探针底物的混合物中。在37℃预温热5分钟之后，通过添加辅因子混合物(7.65mg/mL葡萄糖-6-磷酸盐、1.7mg/mL NADP、6U/mL葡萄糖-6-磷酸盐脱氢酶)开始反应，产生在0.137-100μM(2％甲醇)范围内的七种最终浓度的测试化合物。

[0819] 表IX.人肝微粒体中CYP抑制的分析条件：

[0820]

细胞色素P450同种型	微粒体(mg/mL)	探针底物	探针代谢物	温育(分钟)	阳性对照	阴性对照
1A2	0.1	非那西丁(35 μM)	对乙酰氨基酚	10	呋拉茶碱	磺胺苯吡唑
2C9	0.1	双氯芬酸(10 μM)	4'-OH-双氯芬酸	5	磺胺苯吡唑	呋拉茶碱
2C19	0.25	S-(+)-美芬妥英(30 μM)	4'-OH-美芬妥英	15	噻氯匹定	非那西丁
2D6	0.1	丁呋洛尔(10 μM)	OH-丁呋洛尔	10	奎尼丁	磺胺苯吡唑
3A4	0.1	咪达唑仑(3 μM)	1'-OH-咪达唑仑	5	酮康唑	磺胺苯吡唑
3A4	0.25	睾酮(100 μM)	6β-OH-睾酮	15	酮康唑	磺胺苯吡唑

[0821] 辅因子混合物组分的最终浓度如下：1.56mg/ml葡萄糖-6-磷酸盐、0.34mg/ml NADP、1.2U/mL葡萄糖酶-6-磷酸盐脱氢酶。

[0822] 在37℃温育后，使用150μL具有内标(对于2C9是华法林，对于所有其它测试同种型是双氯芬酸)的MeCN:MeOH(2:1)溶液终止反应(50μL的等分试样)。将样品离心并且通过LC-MS/MS分析上清液级分。

[0823] 仪器反应(测试化合物与内标峰面积的比率)参考用于溶剂对照的那些(设为100％)以便确定探针代谢的百分比减少。产生对照活性百分比相对于浓度曲线并且使用GraphPad Prism软件拟合以产生IC_{50}。

[0824] 4.9.MDCKII-MDR1渗透率

[0825] MDCKII-MDR1细胞是Madin-Darby犬肾上皮细胞，过度表达人多重耐药性(MDR1)基因，编码P-糖蛋白(P-gp)。细胞获自Netherlands Cancer Institute并且在24孔Millicell®细胞培养插入板(Millipore，PSRP010R5)中培养3-4天后使用。如下所述进行双向MDCKII-MDR1渗透率分析。

[0826] 在存在和不存在依拉克达(Elacridar)(特异性P-gp抑制剂)的情况下测试跨膜运输。此类试验设置使得能够测定被动渗透率(具有依拉克达)和P-gp对测试化合物运输的影响(不具有依拉克达)。

[0827] 将MDCKII-MDR1细胞(3×10^5个细胞/mL；1.2×10^5个细胞/孔)接种在由DMEM

(Sigma,D5796)+1%Glutamax-100(Sigma,G8541)+1%抗生素/抗真菌剂(Sigma,A5955)+10%FBS(Sigma,F7524;在56℃失活30分钟)组成的平板培养基中。细胞置于CO_2温育箱中3-4天。在接种之后24小时更换培养基。在渗透率试验当天,首先将在依拉克达(特异性P-gp抑制剂)存在下测试的细胞与含有1%DMSO和最终浓度为2μM的依拉克达的Dulbecco磷酸盐缓冲盐水(D-PBS,pH 7.4)一起预温育45分钟。

[0828] 在存在或不存在依拉克达(最终浓度:2μM)的情况下在Dulbecco磷酸盐缓冲盐水(D-PBS,pH 7.4;Sigma,D8662)中制备测试和参考化合物(氨普那韦(amprenavir)和双氯芬酸),并且以10μM的最终浓度(氨普那韦情形中0.5μM)与1%的最终DMSO浓度添加至Millicell细胞培养板集成的顶部(400μL)或底外侧(800μL)室中。

[0829] 参考化合物氨普那韦具有高被动渗透率,但是是Pgp的底物,并且双氯芬酸是高度可渗透的并且不是Pgp的底物。

[0830] 向所有供体缓冲溶液中添加100μM荧光黄(Sigma,L0259),以通过监测荧光黄渗透来评估细胞单层的完整性。荧光黄是旁细胞运输途径的荧光标记物并且用作内部对照,以验证分析期间的每一细胞单层的紧密接合完整性。

[0831] 在37℃同时在定轨振摇器以150rpm振摇温育1小时后,自顶部和基底室获取等分试样并且添加至在96孔板中含有分析内标(10ng/mL华法林)的3体积MeCN:水溶液(2:1)中。还在试验开始时自供体溶液取得样品以获得初始(Co)浓度。

[0832] 通过高效液体层析/质谱(LC-MS/MS)测量样品中化合物的浓度。

[0833] 使用Thermo Scientific Fluoroskan Ascent FL(激发波长:485nm,测量波长:530nm)在含有150μL来自所有接收孔(底外侧或顶侧)的液体的96孔板中测量荧光黄。

[0834] 4.10.全血分析

[0835] 4.10.1.离体人IFNα和TNFα释放抑制(全血分析)

[0836] 此分析的目的是评估本发明化合物在离体人全血环境中对活化的TLR/IRAK-4途径的活性。Toll-样受体(TLR)是识别多种微生物分子的模式识别受体,称为病原体相关分子模式(PAMP)。人TLR7和TLR8识别咪唑并喹啉化合物(例如CL097-CAS n#1026249-18-2)和作为其天然配体的单链RNA。TLR的活化引起TLR激动剂处理的细胞产生数种细胞因子(例如IFNα、TNFα、IL-8、IL-6),而IRAK-4导致IFNα的产生。细胞因子释放在此分析中用作读数并且表示所测试化合物对TLR/IRAK-4途径的抑制水平的量度。应当注意,在完全生物体的情形下,存在不依赖于TLR/IRAK-4途径的这些细胞因子的其它来源,例如巨噬细胞(在Fcγ受体的活化时,(Yan等人,2012))或T细胞(在T细胞受体的活化时(Brehm,Daniels和Welsh,2005))。

[0837] 4.10.1.1试验设计

[0838] 通过静脉穿刺自健康志愿者收集血液至肝素锂中,随后轻轻地倒置数次以防止凝结并且在摆动混合振摇器上在37℃温育至少15分钟。随后,将100μL血液分配至聚丙烯96孔微板中并且与0.3%DMSO或不同浓度的测试化合物(30至0.01μM,3倍稀释,最终得到0.3%DMSO)在37℃一式两份预温育15分钟。在此预温育之后,在37℃用CL097(自1mg/mL水溶液中的2μg/mL;InvivoGen,tlrl-c97)触发血液3小时30分钟。在4℃以5000×g离心微管10分钟并且将约40μL血浆收集至聚苯乙烯96孔板中。可以在触发之后的30分钟内新鲜分析血浆,或在-80℃冷冻。最后,根据制备商的说明书使用针对IFNα和IFNα的AlphaLISA试剂盒在血

浆中进行TNFα和IFNα的定量并且在Ensight上进行读取(PerkinElmer)。

[0839] 4.10.1.2.数据分析

[0840] 通过绘制关于y轴上的对数-对数平均吸光度相对于x轴上的浓度产生标准曲线，并且通过所述点进行4PL。对于各血液样品，由拟合确定样品的IFNα浓度。

[0841] 随后使用下式将数据表示为各重复试验的抑制百分比(PIN)：

[0842] $$PIN_{样品1} = \frac{(含CL097的IFN\alpha的平均值 - IFN\alpha_{样品1})*100}{(含CL097的IFN\alpha的平均值 - 含媒介物的IFN\alpha的平均值)}$$

[0843] 含CL097的IFNα的平均值＝用CL097触发的重复样品的IFNα浓度平均值；$IFN\alpha_{样品1}$＝样品1的IFNα浓度；含媒介物的IFNα的平均值＝用媒介物处理的重复样品的IFNα浓度平均值。

[0844] 对于各血液样品，由拟合测定样品的TNFα浓度。

[0845] 随后使用下式将数据表示为各重复试验的抑制百分比(PIN)：

[0846] $$PIN_{样品1} = \frac{(含CL097的TNF\alpha的平均值 - TNF\alpha_{样品1})*100}{(含CL097的TNF\alpha的平均值 - 含媒介物的TNF\alpha的平均值)}$$

[0847] 含CL097的TNFα的平均值＝用CL097触发的重复样品的TNFα浓度平均值；$TNF\alpha_{样品1}$＝样品1的TNFα浓度；含媒介物的TNFα的平均值＝用媒介物处理的重复样品的TNFα浓度平均值。

[0848] 使用平均值PIN±sem产生pIC_{50}测定的曲线拟合。使用Prism 5.03软件(GraphPad)得到图表和pIC_{50}计算。

[0849] 4.10.1.3.结果

[0850] 当进行该方案时，对于如下说明性化合物测量下列IC_{50}。

[0851] 表X.人全血中CL097触发的IFNα和TNFα释放IC_{50}

[0852]

半定量评分	IC_{50}范围
****	0.1-500 nM
***	>500-1000 nM
**	>1000 - 5000 nM
*	>5000 nM
ND	未测定

[0853]

Cpd.	IFNα IC_{50}	TNFα IC_{50}
1	**	****
2	***	****
3	**	ND
4	****	ND
5	****	ND
6	****	ND
7	****	ND
12	***	ND
24	***	ND
25	****	ND
31	****	****
35	*	*
37	ND	**
39	***	***
42	***	****
48	**	**

[0854] 4.10.2.离体小鼠TNFα释放抑制(全血分析)

[0855] 此分析的目的是评估本发明化合物在离体大鼠全血环境中对活化的TLR/IRAK-4途径的活性。Toll-样受体(TLR)是识别多种微生物分子的模式识别受体,称为病原体相关分子模式(PAMP)。尽管人TLR7和TLR8均识别咪唑并喹啉化合物(例如CL097)和作为其天然配体的单链RNA,但啮齿动物TLR8需要另外的因子,例如寡聚脱氧核苷酸核苷酸(例如聚(dT))用于活化。

[0856] 4.10.2.1.试验设计

[0857] Balb/cJ雌性小鼠(7-8周龄)获自Janvier Labs(France)。

[0858] 将通过换血获得的血液收集(约1只小鼠,用于5个数据点)于肝素化锂管中并且随后在摆动混合振摇器上在37℃温育至少15分钟。将来自所有小鼠的血液混合至50mL聚丙烯管中。随后,将100μL血液分配至2mL微管中并且与DMSO 0.3%或不同浓度的测试化合物(10至0.01μM,在DMSO中制备3倍稀释液)一起在37℃预温育15分钟。在此温育之后,在37℃用CL097(2μg/mL)和聚(dT)(0.2μM)或媒介物(蒸馏水)触发血液3.5小时。在4℃以5000g离心微管10分钟并且将约30μL血浆收集至聚苯乙烯96孔板中。可以新鲜分析或在-80℃冷冻血浆。最后,用2.5μL未稀释血浆(一式两份)并且根据制备商的说明书使用小鼠TNF-ααLISA试剂盒进行TNFα的定量。在Ensight(PerkinElmer)上进行读数(光学密度=OD)。

[0859] 4.10.2.2.数据分析

[0860] 标准曲线通过绘制y-轴上的平均计数相对于x-轴上的浓度而产生,并且通过图上的点绘制最佳拟合曲线。进行线性回归分析以确定等式(y=ax+b)和R-平方值。对于每个血样重复,使用公式计算TNFα浓度:$TNF\alpha浓度_{样品1}=(OD_{样品1}-b)/a$

[0861] 随后使用下式将数据表示为各重复试验的抑制百分比(PIN):

[0862] $$PIN_{样品1}=\frac{(含CL097的TNF\alpha的平均值-TNF\alpha_{样品1})*100}{(含CL097的TNF\alpha的平均值-含媒介物的TNF\alpha的平均值)}$$

[0863] 含CL097的TNFα的平均值=用CL097/聚(dT)触发的重复样品的TNFα浓度平均值;$TNF\alpha_{样品1}$=样品1的TNFα浓度;含媒介物的TNFα的平均值=用媒介物处理的重复样品的TNFα浓度平均值。

[0864] 使用平均PIN±sem产生曲线拟合。

[0865] 用Prism 5.03软件(GraphPad)进行图表和IC_{50}计算。数据呈现为在24个独立试验下获得的IC_{50}(nM)的平均值。

[0866] 实施例5.体内分析

[0867] 5.1.CIA模型

[0868] 5.1.1.材料

[0869] 完全弗氏佐剂(CFA)和不完全弗氏佐剂(IFA)购自Difco。II型牛胶原蛋白(CII)、脂多醣(LPS)和Enbrel分别获自Chondrex(Isle d'Abeau,France);Sigma(P4252,L'Isle d'Abeau,France)、Whyett(25mg可注射注射器,France)Acros Organics(Palo Alto,CA)。所用其它全部试剂是试剂级并且全部溶剂是分析级。

[0870] 5.1.2.动物

[0871] DBA1/J小鼠(雄性,7-8周龄)获自Charles River实验室(France)。将小鼠保持于12小时光/暗循环(07h00-19h00)。温度维持在22℃,并且任意提供食物和水。

[0872] 5.1.3.胶原蛋白诱发的关节炎(CIA)

[0873] 在试验前一天,用0.05M乙酸制备CII溶液(2mg/mL)并且在4℃储存。仅在免疫之前,在冰水浴中在预先冷却的玻璃瓶中通过均质机混合相同体积的佐剂(IFA)和CII。如果未形成乳液,可能需要另外的佐剂和延长均质化。在第1天,在各小鼠的尾根部皮内注射0.2mL乳液,在第9天进行第二增强剂量的皮内注射(2mg/mL CII溶液,在CFA0.1mL盐水中)。此免疫方法自公开方法(Sims等人,2004;Jou等人,2005)修饰而来。

[0874] 5.1.4.研究设计

[0875] 在小鼠CIA模型中测试化合物的治疗作用。将小鼠随机分成等量组并且每组含有10只小鼠。所有小鼠在第1天免疫并且在第21天增强免疫。阴性对照组用媒介物(MC 0.5%)处理并且阳性对照组用Enbrel(10mg/kg,3×周,s.c.)处理。相关化合物通常在3个口服剂量下加以测试(p.o.)。在第32天,关于临床评分进行各组之间的随机化,并且考虑其组而对动物进行治疗处理,直至第47天。一周两次记录体重和临床评分。

[0876] 5.1.5.关节炎的临床评估

[0877] 根据(Khachigian,2006;Lin等人,2007;Nishida等人,2004)的方法对关节炎进行评分。四个爪中的每一个的肿胀用如下关节炎评分排列:0-无症状;1-一种类型的关节(例如踝或腕)的轻度、但确实发红和肿胀,或明显发红和肿胀限于个别趾,与患病趾的数目无关;2-两种或更多种类型的关节的中度发红和肿胀;3-整个爪(包括趾)的重度发红和肿胀;4-涉及多个关节的最大限度的发炎肢体(每一动物最大累积临床关节炎评分为16)(Nishida等人,2004)。

[0878] 5.1.5.1.在关节炎发作后体重的变化(%)

[0879] 临床上,体重减轻与关节炎相关(Shelton等人,2005;Argilés和López-Soriano,1998;Rall和Roubenoff,2004;Walsmith等人,2004)。因此,在关节炎发作后的体重变化可以用作非特异性端点以评估治疗剂在大鼠模型中的作用。关节炎发作后的体重变化(%)计算如下:

[0880] 小鼠: $$\frac{\text{体重t(第6周)} - \text{体重t(第5周)}}{\text{体重t(第5周)}} \times 100\%$$

[0881] 5.1.5.2.放射学

[0882] 获取各单个动物后爪的X射线照片。将随机盲法标识号分配于每一照片,并且骨侵蚀的严重度由两个独立评分者使用如下放射学Larsen评分系统进行分级:0-正常,具有完整骨轮廓和正常关节空间;1-轻微异常,其中任一或两个外跖骨显示轻微骨侵蚀;2-确定早期异常,其中任意三至五个外跖骨显示骨侵蚀;3-中度破坏性异常,其中全部外跖骨以及任一或两个内跖骨显示确定骨侵蚀;4-重度破坏性异常,其中全部跖骨显示确定骨侵蚀并且至少一个内跖骨关节完全侵蚀,部分保留一些骨关节轮廓;5-残毁性异常,无骨轮廓。此评分系统是(Sims等人,2004;Jou等人,2005;Salvemini等人,2001;Bush等人,2002)的修饰。

[0883] 5.1.5.3.结果

[0884] 对于各读数,计算平均值和sem。完整或处理组和疾病媒介物组的统计学上显著差异用Prism软件,使用单向ANOVA(针对处理组),随后Dunnett多重比较事后测试进行评估。*:$p<0.05$、**:$p<0.01$、***:$p<0.001$,相比于疾病媒介物组。

[0885] 当遵循以上方案在3、10及30mg/kg b.i.d.下测试时,化合物2在临床评分和骨侵

蚀Larsen评分两者上显示统计学上显著作用。

[0886] 5.1.5.4.稳态PK

[0887] 在第7天,使用肝素锂作为抗凝剂在如下时间点收集在后眼眶窦处的血液样品:给药前、1小时、3小时和6小时。离心全血样品,并且将所得血浆样品储存在-20℃以待分析。各测试化合物的血浆浓度是通过LC-MS/MS方法测定,其中质谱仪以正电子喷雾模式操作。

[0888] 5.1.6.通过局部施用咪喹莫特(imiquimod)(TLR7/8激动剂)诱导的银屑病样表皮增殖的鼠模型

[0889] 5.1.7.材料

[0890] Aldara®5%咪喹莫特(imiquimod)乳膏剂获自MEDA。

[0891] 抗小鼠IL-12/IL-23p40 FG纯化抗体(C17.8)获自Affymetrix eBioscience(cat no.16-7123-85)。

[0892] 5.1.8.动物

[0893] Balb/cJ小鼠(雌性,18-20g体重)获自Janvier Labs(France)。将小鼠保持于12小时光/暗循环(07:00-19:00)。温度维持在22±2℃,任意提供食物和水。

[0894] 5.1.9.研究设计

[0895] 研究的设计是根据Van der Fits L.等人(van der Fits等人,2009)改写。

[0896] 在第一天,在用异氟醚的轻度麻醉下对小鼠的两个耳朵周围刮毛。

[0897] 将30mg市售可获得的咪喹莫特乳膏剂(Aldara 5%乳膏剂)施用于每个耳朵的内表面和外表面上,持续4个连续日,相当于1.5mg活性化合物的每日剂量。对照动物接受相同量的凡士林。

[0898] 第1天至第5天,用在甲基纤维素0.5%中的10或30mg/kg测试化合物一天两次地口服对小鼠给药,之后施用咪喹莫特(在第5天,仅对小鼠给药一次,2小时之后安乐死)。

[0899] 在阳性参考组中,动物在第1天和第1天的3天前接受抗小鼠IL-12/IL-23p40抗体,10mg/kg的两次腹膜内注射。

[0900] 5.1.10.疾病评估

[0901] 每日使用厚度量规(Mitutoyo,Absolute Digimatic,547-321)测量两只耳朵的厚度。在试验开始和处死时评估体重。在第5天,最后给药后2小时,处死小鼠。切割耳朵的耳廓,不包括软骨。称量耳廓并且随后浸入含有1mL RNAlater®溶液的小瓶中以评估基因表达或在福尔马林中用于组织学。

[0902] 每组14只小鼠。结果表示为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验相对咪喹莫特-媒介物组进行统计学分析。

[0903] 5.1.11.组织学

[0904] 在处死后,收集耳朵并且固定于3.7%甲醛中,随后包埋于石蜡中。切割2μm厚的切片并且用苏木精和伊红染色。通过影像分析(SisNcom软件)测量耳朵表皮厚度,每只耳朵以20×放大率捕获6个影像。数据表示为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验相对咪喹莫特-媒介物组进行统计学分析。

[0905] 5.1.12.基因表达分析

[0906] 自RNAlater®溶液取出耳朵并且在用1.4mm陶瓷珠于Precellys装置中破碎之后置

于Trizol®中。随后使用NucleoSpin®RNA试剂盒纯化总RNA。制备cDNA，并且使用SYBR Green技术在ViiA7实时PCR系统(Applied Biosystems)中用来自Qiagen的基因特异性引物进行定量PCR。相对于亲环蛋白A管家基因表达水平计算各基因(IL17A、IL1B、IL22、LCN2、S100A8和S100A9)的表达水平。数据表示为相对量的平均值±SEM(RQ＝$2^{-\Delta C}{}_T$，其中ΔC_T＝C_T样品-C_T亲环蛋白A)。使用的统计检验是相对咪喹莫特-媒介物组的ANOVA方差分析和Dunnett事后检验。

[0907] 5.2.通过皮内注射IL-23诱导的银屑病样表皮增殖的鼠模型

[0908] 5.2.1.材料

[0909] 由e-Bioscience提供不含载体的小鼠重组IL-23(14-8231,CF)。

[0910] 5.2.2.动物

[0911] Balb/c小鼠(雌性,18-20g体重)获自CERJ(France)。将小鼠保持于12小时光/暗循环(07:00-19:00)。温度维持在22℃，任意提供食物和水。

[0912] 5.2.3.研究设计

[0913] 研究的设计是根据Rizzo HL.等人(Rizzo等人,2011)改写。

[0914] 在第一天(D1)，将小鼠在两个耳朵周围刮毛。

[0915] 对于4个连续日(D1至D4)，小鼠在通过吸入异氟醚诱导的麻醉下在右耳廓接受每日皮内剂量的小鼠重组IL-23(1μg/20μL，在PBS中/0.1％BSA中)并且在左耳廓接受20μLPBS/0.1％BSA。

[0916] D1至D5，在注射IL-23前1小时，用测试化合物(10、30或100mg/kg，口服，每日一次，在甲基纤维素0.5％中)或用媒介物对小鼠给药。

[0917] 5.2.4.疾病评估

[0918] 每日使用自动测径器测量两只耳朵的厚度。在开始和处死时评估体重。在第五天，在最后给药后2小时，处死小鼠。切割耳朵的耳廓，不包括软骨。称量耳廓并且随后放入含有1mL RNAlater®溶液的小瓶中或甲醛中。

[0919] 在D4，同样仅在给药(T0)之前经给药后1小时、3小时、6小时自后眼眶窦处收集血液样品用于PK分析。

[0920] 每组8只小鼠。结果表示为平均值±SEM，并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验相对IL-23媒介物组进行统计学分析。

[0921] 5.2.5.组织学

[0922] 在处死后，收集耳朵并且固定于3.7％甲醛中，随后包埋于石蜡中。进行2μm厚的切片并且用苏木精和伊红染色。通过影像分析(Sis'Ncom软件)测量耳朵表皮厚度，每只耳朵以放大率×20捕获6个影像。数据表示为平均值±SEM，并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验相对IL-23媒介物组进行统计学分析。

[0923] 5.2.6.基因表达分析

[0924] 自RNAlater®溶液取出一半耳朵并且在用1.4mm陶瓷珠在Precellys装置中破碎之后置于Trizol®中。随后使用NucleoSpin®RNA试剂盒纯化总RNA。制备cDNA，并且使用SYBR Green技术在ViiA7实时PCR系统(Applied Biosystems)中用来自Qiagen的基因特异性引物进行定量PCR。相对于亲环蛋白A管家基因表达水平计算各基因(IL17A、IL1B、IL22、LCN2、

S100A8和S100A9)的表达水平。数据表示为相对量的平均值±SEM(RQ＝$2^{-\Delta C_T}$,其中$\Delta C_T = C_T$样品-C_T亲环蛋白A)。使用的统计检验是相对于IL-23媒介物组的ANOVA方差分析和Dunnett事后检验。

[0925] 5.3.PK/PD模型:由CL097(特异性TLR7/8激动剂)诱导的TNFα释放

[0926] 此分析的目的是测定在施用本发明化合物后体内IRAK-4依赖性事件的抑制与此化合物的循环浓度水平之间的关系。

[0927] 5.3.1.材料

[0928] 自InvivoGen获得CL097(cat no.tlrl-c97)和聚(dT)(cat no.tlrl-pt17)。

[0929] AlphaLISA®小鼠TNFα试剂盒获自Perkin-Elmer(cat no.AL505C)。

[0930] 5.3.2.动物

[0931] DBA/1J小鼠(雄性,18-20g体重)获自Janvier Labs(France)。将小鼠保持于12小时光/暗循环(07:00-19:00)。温度维持在22±2℃,任意提供食物和水。

[0932] 5.3.3.研究设计

[0933] 小鼠接受口服剂量的测试化合物。将不接受任何给药的一组完整动物用作t＝0时间点。

[0934] 在给药后30分钟、1小时、3小时、8小时或24小时将通过心内取样(在异氟醚麻醉下)获得的两个血液样品收集于肝素化锂管中。一个用于药代动力学(PK)分析并且第二个用于药效学(PD)标记物定量。

[0935] 5.3.4.血浆中化合物水平的定量

[0936] 以5000rpm离心全血样品10分钟,并且将所得血浆样品储存在-20℃以待分析。各测试化合物的血浆浓度是通过LC-MS/MS方法测定。

[0937] 5.3.5.药代动力学参数的测定

[0938] 使用WinNonlin® (Pharsight®,United States)计算药代动力学参数。

[0939] 5.3.6.PD标记物的定量

[0940] 各血液样品在37℃用CL097和聚(dT)刺激2小时。随后,收集血浆并且根据制备商的说明书通过AlphaLISA分析TNFα。

[0941] 每组6只小鼠。结果表示为TNFα浓度(pg/mL),或相对于t＝0时间点的抑制百分比(PIN)。数据呈现为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验相对对应于时间点的媒介物组进行统计学分析。

[0942] 5.4.通过局部施用MC903诱导的特应性皮炎的鼠预防模型

[0943] 5.4.1.材料

[0944] 自VWR(cat no.AX021233)获得甲基纤维素0.5%。自Tocris Bioscience(cat no.2700/50)获得MC903(钙泊三醇)。自PerkinElmer(cat no.NEV10003)获得ProSense® 680。自Ambion(cat no.AM7021)获得RNAlater®。自Centravet(cat no.IMA004-6827812和ROM001-6835444)获得Imalgene®1000(Merial)和Rompun®2%(Bayer)。

[0945] 5.4.2.动物

[0946] BALB/cN小鼠(雌性,18-20g体重)或CD1/Swiss小鼠(雌性,24-26g体重)是自Janvier实验室(France)获得。将小鼠保持于12小时光/暗循环(07:00-19:00)。温度维持在

22±2℃,任意提供食物和水。

[0947] 5.4.3.研究设计

[0948] 研究的设计是根据Li M.等人(Li等人,2006)改写。

[0949] 在第一天(D1),小鼠通过腹膜内注射Imalgene和Rompun(7.5%/2.5%;0.1mL/10g)麻醉并且在两个耳朵周围刮毛。

[0950] 截至D1,将20μL EtOH或2nmol MC903(在20μL EtOH中)局部施用于小鼠的每只耳朵上持续五个连续日。

[0951] 自D1至D8,向小鼠给药测试化合物(15或30mg/kg,p.o.,b.i.d.,在甲基纤维素0.5%中)或地塞米松(5mg/kg,p.o.,q.d.,在甲基纤维素0.5%中)或媒介物。

[0952] 5.4.4.血浆中化合物水平的定量

[0953] 各测试化合物的血浆浓度是通过LC-MS/MS方法测定,其中质谱仪以正或负电喷雾模式操作。

[0954] 5.4.5.药代动力学参数的测定

[0955] 使用Phoenix® Winnonlin® (Pharsight®,United States)计算药代动力学参数。

[0956] 5.4.6.疾病评估

[0957] 在研究开始、每隔一天和处死时使用厚度量规(Mitutoyo,Absolute Digimatic,547-321)测量(在通过异氟醚吸入诱导麻醉之后)两只耳朵的厚度。

[0958] 在研究开始、每隔一天和处死时评估体重。

[0959] 在D4,来自所有组的小鼠接受ProSense®680探针(0.8nmol/10g,IP)。在D5,通过腹膜内注射Imalgene和Rompun(7.5%/2.5%;0.1mL/10g)麻醉小鼠。使用体内分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系统,激发波长:630nm,发射波长:700nm,采集时间:5秒)来测量粒细胞浸润。

[0960] 在D8,在最后一次给药之后2小时,处死小鼠并且在经EDTA涂布的试管上收集全血,并且冷冻血浆用于进一步测量(包括循环化合物)。还在经肝素涂布的试管中收集血液样品。

[0961] 收集耳朵的耳廓并且称重。将一只耳朵纵向切割成两半。将一半固定于甲醛缓冲液4%中用于组织学;将另一半浸没于RNAlater®中以评估基因表达。

[0962] 每组8只小鼠。结果表示为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验,相对耳朵厚度和体重的MC903媒介物组,相对体重的EtOH媒介物组,进行统计学分析。

[0963] 5.4.7.组织学

[0964] 在处死后,收集一半耳朵并且固定于3.7%甲醛中,随后包埋于石蜡中。4μm厚切片通过免疫组织化学用特异性细胞标记物抗体免疫染色:对于T细胞是CD3并且对于嗜酸性粒细胞是EPX。通过影像分析(CaloPix软件,TRIBVN Healthcare)来测量每只小鼠的整个切片的经免疫染色细胞面积。数据表述为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验相对MC903媒介物组进行统计学分析。

[0965] 5.4.8.基因表达分析

[0966] 自RNAlater®溶液取出耳朵并且在用1.4mm陶瓷珠于Bertin Instruments Precellys®均质机中破碎之后置于Trizol®中。随后使用酚/氯仿方案萃取总RNA,并且使用

RNeasy® 96 QIAcube® HT试剂盒(Qiagen,cat no.74171)用QIAcube纯化。制备cDNA,并且使用SYBR Green技术在ViiA7实时PCR系统(Applied Biosystems)中用来自Qiagen的基因特异性引物进行定量PCR。相对于HPRT、GAPDH和β-肌动蛋白管家基因表达水平计算各基因(IL4、IL5、IL13、TSLP、IL33、ST2、IL25、IL31、IFNγ、IL6、IL10、LCN2、S100A8和S100A9)的表达水平。数据表示为相对量的平均值±SEM(RQ＝2-$^{\Delta C}$T,其中ΔC_T＝C_T样品-平均值(C_T HPRT、C_T GAPDH、C_Tβ-肌动蛋白)。使用的统计检验是相对EtOH/MC903媒介物组的ANOVA方差分析和Dunnett事后检验。

[0967] 5.5.通过局部施用MC903诱导的特应性皮炎的鼠治疗模型

[0968] 5.5.1.材料

[0969] 自VWR(cat no.AX021233)获得甲基纤维素0.5%。自Tocris Bioscience(cat no.2700/50)获得MC903(钙泊三醇)。自PerkinElmer(cat no.NEV10003)获得ProSense® 680。自Ambion获得(cat no.AM7021)获得RNAlater®。自Centravet(cat no.IMA004-6827812和ROM001-6835444)获得Imalgene® 1000(Merial)和Rompun® 2%(Bayer)。

[0970] 5.5.2.动物

[0971] BALB/cN小鼠(雌性,18-20g体重)或CD1/Swiss小鼠(雌性,24-26g体重)自Janvier实验室(France)获得。将小鼠保持于12小时光/暗循环(07:00-19:00)。温度维持在22±2℃,任意提供食物及水。

[0972] 5.5.3.研究设计

[0973] 研究的设计是根据Li M.等人(M.Li等人,2006)改写。

[0974] 在第一天(D1),小鼠通过腹膜内注射Imalgene和Rompun(7.5%/2.5%;0.1mL/10g)麻醉并且在两个耳朵周围刮毛。

[0975] 截至D1,将20μL EtOH或2nmol MC903(在20μL EtOH中)局部施用于小鼠的每只耳朵上,直至D9、D11或D15(除周末期间以外)。

[0976] 自D5,用测试化合物(15或30mg/kg,p.o.,b.i.d.,在甲基纤维素0.5%中)或地塞米松(5mg/kg,p.o.,q.d.,在甲基纤维素0.5%中)或媒介物对小鼠给药,直至D10、D12或D16为止。

[0977] 5.5.4.血浆中化合物水平的定量

[0978] 各测试化合物的血浆浓度是通过LC-MS/MS方法测定,其中质谱仪以正或负电喷雾模式操作。

[0979] 5.5.5.药代动力学参数的测定

[0980] 使用Phoenix® WinNonlin® (Pharsight®,United States)计算药代动力学参数。

[0981] 5.5.6.疾病评估

[0982] 在研究开始时、一周三次和处死时使用厚度量规(Mitutoyo,Absolute Digimatic,547-321),在施用MC903之前测量(在通过异氟醚吸入诱导麻醉之后)两只耳朵的厚度。

[0983] 在研究开始、一周三次和处死时评估体重。

[0984] 在D8、D10或D11,来自所有组的小鼠接受ProSense® 680探针(0.8nmol/10g,IP)。在次日(D9、D11或D12),通过腹膜内注射Imalgene和Rompun(7.5%/2.5%;0.1mL/10g)麻醉小

鼠。使用体内分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系统,激发波长:630nm,发射波长:700nm,采集时间:5秒)来测量粒细胞浸润。

[0985] 在D10、D12或D16,在最后一次给药之后2小时,处死小鼠;在经EDTA涂布的试管上收集全血,并且冷冻血浆用于进一步测量(包括循环化合物)。

[0986] 收集耳朵的耳廓。将一只耳朵纵向切割成两半。将一半固定于甲醛缓冲液4%中用于组织学;将另一半浸没于RNAlater®中以评估基因表达。

[0987] 每组8只小鼠。结果表示为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验,相对耳朵厚度和体重的MC903媒介物组,相对体重的EtOH媒介物组,进行统计学分析。

[0988] 5.5.7.组织学

[0989] 在处死后,收集一半耳朵并且固定于3.7%甲醛中,随后包埋于石蜡中。通过免疫组织化学用抗CD3抗体对4μm厚的切片进行免疫染色。通过影像分析(CaloPix软件,TRIBVN Healthcare)来测量每只小鼠的整个切片的经免疫染色细胞面积。数据表示为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验相对MC903媒介物组进行统计学分析。

[0990] 5.5.8.基因表达分析

[0991] 自RNAlater®溶液取出耳朵并且在用1.4mm陶瓷珠于Bertin Instruments Precellys®均质机中破碎之后置于Trizol®中。随后使用酚/氯仿方案萃取总RNA,并且使用RNeasy® 96 QIAcube®HT试剂盒(Qiagen,cat no.74171)用QIAcube纯化。制备cDNA,并且使用SYBR Green技术在ViiA7实时PCR系统(Applied Biosystems)中用来自Qiagen的基因特异性引物进行定量PCR。相对于HPRT、GAPDH和β-肌动蛋白管家基因表达水平计算各基因(GOI=IL4、IL5、IL13、TSLP、IL33、ST2、IL25、IL31、IFNγ、IL6、IL10、LCN2、S100A8和S100A9)的表达水平。

[0992] 所有qPCR数据表示为标准化相对量的平均值±SEM(NRQ=2^(ΔCq GOI)/几何平均值(2^(ΔCq HPRT),2^(ΔCq GAPDH),2^(ΔCqβ-肌动蛋白)),其中ΔCq=Cq平均值-Cq样品。使用的统计检验是相对EtOH/MC903媒介物组的ANOVA方差分析和Dunnett事后检验。

[0993] 5.6.通过表皮施用咪喹莫特诱导的系统性红斑狼疮的鼠模型

[0994] 5.6.1.材料

[0995] Aldara®5%咪喹莫特乳膏剂获自MEDA。

[0996] 小鼠抗双链DNA抗体ELISA试剂盒获自Alpha Diagnostic International(cat no.5120)。小鼠尿白蛋白ELISA试剂盒获自Abcam(cat no.ab108792)。尿肌酐分析试剂盒获自Abnova(cat no.KA4344)。

[0997] 1.1.1.动物

[0998] BALB/cJ小鼠(雌性,18-20g体重)获自Janvier实验室(France)。将小鼠保持于12小时光/暗循环(07:00-19:00)。温度维持在22±2℃,任意提供食物和水。

[0999] 5.6.2.研究设计

[1000] 研究的设计是根据Yokogawa M.等人(Yokogawa等人,2014)改写。

[1001] 在第一天(D1),将小鼠在右边耳朵周围刮毛。

[1002] 小鼠每周3次在右耳廓上接受表皮施用1.25mg咪喹莫特,持续12个连续周(D1至D86)。对照组接受相同量的凡士林。

[1003] D1至D86,用测试化合物(30mg/kg,p.o.,q.d.,在甲基纤维素0.5%中)或媒介物

(10mL/kg)对小鼠给药。

[1004] 5.6.3.疾病评估

[1005] 一周一次使用自动量规(Mitutoyo,Absolute Digimatic,547-321)测量耳朵的厚度。

[1006] 在开始时和一周一次评估体重直至处死为止。尸体解剖时,还测量脾重量。在最后一次给药之后2小时处死小鼠。

[1007] 在不同时间点(例如在第D28、D56和D84),将小鼠单个地置于代谢笼中,以进行尿分析并且评估蛋白尿(白蛋白与肌酐比)。

[1008] 在不同时间点(例如在D28、D56和D86)收集血清以评估抗双链-DNA IgG水平。

[1009] 在D13,同样仅在给药(T0)之前和给药后1小时、3小时和6小时自后眼眶窦处收集血液样品用于PK分析。

[1010] 每组8-19只小鼠。结果表示为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验相对咪喹莫特媒介物组进行统计学分析。

[1011] 5.6.4.血浆中化合物水平的定量

[1012] 各测试化合物的血浆浓度是通过LC-MS/MS方法测定,其中质谱仪以正或负电喷雾模式操作。

[1013] 5.6.5.药代动力学参数的测定

[1014] 使用Phoenix® WinNonlin® (Pharsight®,United States)计算药代动力学参数。

[1015] 5.6.6.组织学

[1016] 在处死之后,收集左肾并且纵向切成2个部分。一个部分固定于3.7%甲醛中,随后包埋于石蜡中。制备4m厚切片并且用Period acid-Schiff(PAS)染色或用CD3(T细胞)、CD20(B细胞)和F4/80(巨噬细胞)免疫染色。

[1017] 5.6.6.1.组织病理学

[1018] 在各肾小球中,将包括系膜增殖、毛细血管内增殖、系膜基质扩增和节段性硬化的4种不同读取结果按照0至2的等级分级,并且随后加和。对于各肾,对约50个肾小球进行评分,并且随后求平均,得到一个肾小球病变评分(Yokogawa等人,2014)。数据表示为平均值±SEM,并且使用Kruskal-Wallis检验随后Dunn事后检验相对咪喹莫特媒介物组进行统计学分析。

[1019] 5.6.6.2.细胞定量

[1020] 对于各细胞类型,以×20的放大率使用影像分析(CaloPix软件,TRIBVN Healthcare)对完整组织切片进行免疫组织化学分析。数据表示为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验相对咪喹莫特媒介物组进行统计学分析。

[1021] 5.6.6.3.基因表达分析

[1022] 处死时,将左肾的第二部分置于含有1.4mm陶瓷珠的试管中,并且用Bertin Instruments Precellys®均质机在1%DTT RLT裂解缓冲液(Qiagen,cat no.79216)中破碎。随后使用Rneasy®96QIAcube®HT试剂盒(Qiagen,cat no.74171)用QIAcube纯化总RNA。制备cDNA,并且使用SYBR Green技术在ViiA7实时PCR系统(Applied Biosystems)中通过来自Qiagen的基因特异性引物进行定量PCR。相对于亲环蛋白、GAPDH和β-肌动蛋白管家基因表

达水平计算各相关基因(GOI＝CD3、CD68、CD20、OAS1、Mx1、IFIT1、CXCL11和Usp18)的表达水平。

[1023] 处死时，将脾的三分之一置于含有1.4mm陶瓷珠的试管中，并且使用Bertin Instruments Precellys®均质机在Trizol®中破碎。使用酚/氯仿方法萃取总RNA，并且随后使用RNeasy®96QIAcube®HT试剂盒(Qiagen,cat no.74171)通过QIAcube纯化。制备cDNA，并且使用SYBR Green技术于ViiA7实时PCR系统(Applied Biosystems)中用来自Qiagen的基因特异性引物进行定量PCR。相对于亲环蛋白、GAPDH和β-肌动蛋白管家基因表达水平计算各相关基因(GOI＝CD20、IRF7、OAS1、Mx1、IFIT1、CXCL11、Usp18、BCL6、CXCL13、CXCR^5、MAF、ICOSL、PDCD1、SH2D1a)的表达水平。

[1024] 所有qPCR数据表示为标准化相对量的平均值±SEM(NRQ＝2^(ΔCq GOI)/几何平均值(2^(ΔCq亲环蛋白)、2^(ΔCq GAPDH)、2^(ΔCqβ-肌动蛋白))，其中ΔCq＝Cq平均值-Cq样品。使用的统计检验为相对咪喹莫特媒介物组的ANOVA方差分析和Dunnett事后检验。

[1025] 5.7.MRL/MpJ-Faslpr/J小鼠中的系统性红斑狼疮(SLE)模型

[1026] 此研究的目的是评估本发明的测试化合物在系统性红斑狼疮(SLE)的治疗中的活性。

[1027] 5.7.1.材料

[1028] 测试化合物在黑暗中储存为干燥物质，并且每周使用磁力搅拌在媒介物溶液(甲基纤维素5％水溶液)中配制为悬浮液。所得悬浮液避光保持在磁力搅拌下。

[1029] 5.7.2.动物

[1030] MRL/MpJ小鼠(雌性，20周龄)和MRL/MpJ-Faslpr/J小鼠(雌性，8周龄)获自Jackson实验室(USA)。小鼠在第一次处理时为28周龄。

[1031] 5.7.3.研究设计

[1032] 在27周龄(研究第0天)，将患有疾病的小鼠随机分组并且记录各组动物体重。

[1033] 当动物为28周龄时，在随机分组之后开始治疗并且继续直至在39周龄处死动物为止。

[1034] 每天观察动物的显著临床症状、发病率和死亡率。

[1035] 基于重量、蛋白尿水平、在尸检时的组织重量(肾、脾和淋巴结)、抗dsDNA Ab、Ig、细胞因子/趋化因子和基因表达水平；以及组织病理学和免疫组织化学来评估本发明的测试化合物的活性。

[1036] 对以下组(15只小鼠/组)进行研究：

[1037]

组 (n=15)	处理	剂量水平 (mg/kg)	给药途径	方案	给药体积 (mL/kg)^3	剂量浓度 (mg/mL)
1	非患病媒介物对照	N/A	PO	BID*	5	N/A
2	患病媒介物对照	N/A	PO	BID*	5	N/A
3	DEX 阳性对照	1	PO	QD*	10	0.1
4	测试化合物	10	PO	BID*	5	2.0

[1038] *BID给药以约10-12小时间隔进行-QD给药以约24小时间隔进行

[1039] 基于动物的最新体重每天以mg/kg计算待施用的测试化合物剂量

[1040] 5.7.4.终点

[1041] 在第28周开始直至第39周一周一次,自新鲜尿液样品,使用比色Albustix测试条带(Siemens cat#2872A)记录所有动物的蛋白尿评分。

[1042] 自取样在1至2分钟内获得使颜色与码标度匹配的所得评分,得到以下终点:

[1043] 在Albustix测试条带上捕获尿液并且通过在1-2分钟之后与瓶子上的彩色码匹配来测定评分

[1044] 0=无

[1045] 1=1至30mg/dL

[1046] 2=31至99mg/dL

[1047] 3=100至299mg/dL

[1048] 4=300至1999mg/dL

[1049] 5=>2000mg/dL

[1050] 对于第28周至第39周的所有动物,一周一次记录体重。

[1051] 在第27周、第33周和第38周对所有动物在麻醉下采集血液以用于血液ds DNAAb和Ig。

[1052] 在第29周在以下时间点收集血液用于经测试化合物处理的动物组中的PK分析;给药前0小时、0.25小时、1小时和6小时。

[1053] 抗dsDNA Ab、Ig、细胞因子/趋化因子和基因表达水平;以及在尸检时的组织病理学和免疫组织化学分析组织重量(肾、脾和淋巴结);抗dsDNAAb(ELISA(Alpha Diagnostics Cat.#5120);Igs(Luminex BBP,EMD Millipore Cat.#Mouse MGAMMAG-300K)、细胞因子/趋化因子(ELISA)和基因表达水平;以及组织病理学和免疫组织化学。

[1054] 5.7.5.统计分析

[1055] 基于单个动物原始数据,测定各组的平均值并且计算疾病对照的百分比变化。处理组使用用于所测量的(参数)数据的单向方差分析(单向ANOVA)和Dunnett事后或用于所评分的(非参数)数据的Kruskal-Wallis检验和Dunn事后分析与疾病对照进行比较。

[1056] 数据报告为1)全部动物,包括中间死亡的动物和2)仅存活至研究终止的动物(存活动物)。使用Prism 6.0d软件(GraphPad)进行统计分析。

[1057] 所有测试的显著性设定在$p<0.05$,并且p值约分至小数点后三位。使用下式计算抑制百分比:

[1058] $$\text{百分比变化}=\frac{\text{平均值[处理的]}-\text{平均值[疾病对照]}}{0-\text{平均值[疾病对照]}}*100$$

[1059] 5.8.通过IL-23的过表达诱导的银屑病性关节炎的鼠模型

[1060] 5.8.1.材料

[1061] 小鼠IL-23增强的游离型表达载体(EEV)获自System Biosciences(cat no.EEV651A-1)。Ringer溶液片剂获自Sigma-Aldrich(cat no.96724-100TAB)。小鼠IL-23Quantikine ELISA试剂盒获自R&D Systems(cat no.M2300)。ProSense®680和OsteoSense®750EX获自PerkinElmer(cat no.NEV10003和NEV10053EX)。RNAlater®获自

Ambion(cat no.AM7021)。Imalgene®1000(Merial)和Rompun®2%(Bayer)获自Centravet(cat no.IMA004-6827812和ROM001-6835444)。

[1062] 5.8.2.动物

[1063] B10.RIII小鼠(雄性,8周龄)获自Charles River(France)。将小鼠保持于12小时光/暗循环(07:00-19:00)。将温度维持在22±2℃,任意提供食物和水。

[1064] 5.8.3.研究设计

[1065] 研究的设计是根据Sherlock JP.等人改写(Sherlock等人,2012)。

[1066] 在第一天(D1),小鼠经历Ringer或Ringer中的IL-23EEV流体动力注射至尾静脉(3μg/2.1mL,历经4-6秒IV注射)。

[1067] 截至D5,一周两次对小鼠的临床症状评分直至试验结束为止。

[1068] 在D5,通过在颌下静脉中穿刺收集血液以评估血清IL-23浓度。

[1069] 在D9,来自所有组的小鼠接受ProSense®680探针(0.8nmol/10g,IP)。在D10,通过腹膜内注射Imalgene和Rompun(7.5%/2.5%;0.1mL/10g)麻醉小鼠。使用体内分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系统,激发波长:630nm,发射波长:700nm,采集时间:5秒)来测量粒细胞浸润。

[1070] 在D11,根据ProSense®680分子成像和评分进行随机分组。

[1071] 截至D12,用测试化合物(30mg/kg,p.o.,b.i.d.,在甲基纤维素0.5%中)或用媒介物对小鼠给药。

[1072] 在D19,在最后给药之后的时间T0、T1h、T3h和T6h对血液进行取样。将血浆分离并且保持在20℃直至生物分析为止。

[1073] 在D36,在最后施用化合物之后2小时,处死所有组中的小鼠。收集以下:

[1074] 立即在Precellys管中速冻左后肢的跟部周围肌腱(无皮肤)。在含有RNAlater®的试管中收集指。将右后肢立即固定于甲醛缓冲液4%中以用于组织学评估。在固定之后48小时进行X射线测量。

[1075] 在含有RNAlater®的试管中收集一只耳朵用于转录分析。

[1076] 将全血收集于血清试管中并且通过轻微倒转8-10次进行混合。凝结之后,血液样品在1800×g下离心10分钟。离心之后,将血清储存在-80℃。

[1077] 立即在Precellys管中快速冷冻结肠的一部分(1cm末端结肠)用于转录分析。另一部分(1cm末端结肠)立即固定于甲醛缓冲液4%中用于进一步组织学分析。

[1078] 5.8.4.疾病评估

[1079] 在研究开始、随后一周两次和处死时评估体重。

[1080] 每周两次,对炎症的临床症状评分:正常爪为0;一个趾肿胀为1;两个或更多个趾肿胀为2;整个爪肿胀为3。加和所有肢体的评分以产生总评分。

[1081] 在D23,来自所有组的小鼠接受ProSense®680探针(0.8nmol/10g,IP)。在D24,通过腹膜内注射Imalgene和Rompun(7.5%/2.5%;0.1mL/10g)麻醉小鼠。随后使用体内分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系统,激发波长:630nm,发射波长:700nm,采集时间:5秒)来测量粒细胞浸润。

[1082] 在D32,来自所有组的小鼠接受ProSense®680探针(0.8nmol/10g,IP)和

OsteoSense® 750EX探针(0.8nmol/10g,IP)。在D33,通过腹膜内注射Imalgene和Rompun(7.5%/2.5%;0.1mL/10g)麻醉小鼠。使用体内分子成像(Bruker In-Vivo Xtreme成像系统;激发波长:630nm,发射波长:700nm,采集时间:ProSense® 680探针5秒;激发波长:720nm,发射波长:790nm,采集时间:OsteoSense® 750EX探针5秒)来测量粒细胞浸润和骨重塑。

[1083] 每组10只小鼠。结果表示为平均值±SEM,并且使用单向ANOVA随后Dunnett事后检验进行统计学分析,相对疾病媒介物组用于评分和成像分析,相对假媒介物组用于体重。

[1084] 5.9.鼠硬皮病性慢性移植物抗宿主病(cGvHD)

[1085] 5.9.1.一般概述

[1086] 在此cGvHD模型中,通过自B10.D2(H-2d)供体小鼠同种异体移植骨髓细胞和脾细胞而在BALB/c(H-2d)小鼠中诱导纤维化(次要HLA失配)。接受者小鼠患有类似于患有快速进行性弥漫性皮肤系统性硬化的患者的炎症驱动的真皮和肺纤维化。(Zerr等人,2012)

[1087] 仅在硬皮病性cGvHD的第一临床症状发作之后提供治疗。

[1088] 5.9.2.研究组

[1089] 在此研究中使用每组具有八只小鼠的以下组

[1090] -同基因型移植,安慰剂处理的对照组:

[1091] 同基因型骨髓和脾细胞移植(BALB/c(H-2_d)→BALB/c(H-2_d))。自移植后第21天至第56天施加溶剂甲基纤维素0.5%。

[1092] -媒介物处理的纤维化组:

[1093] 同种异体骨髓和脾细胞移植(B10.D2(H-2d)→BALB/c(H-2d))。自移植后第21天至第56天施加溶剂甲基纤维素0.5%。

[1094] -评估由同种异体移植诱导的纤维化的预处理水平的对照组:

[1095] 同种异体骨髓和脾细胞移植(B10.D2(H-2^d)→BALB/c(H-2^d))。在其它组中开始处理之前,在第21天处死。

[1096] -处理组:

[1097] 同种异体骨髓和脾细胞移植(B10.D2(H-2^d)→BALB/c(H-2^d))。在移植后第21天至第56天,以10mg/kg po bid在0.5%甲基纤维素中施加本发明的测试化合物。

[1098] -阳性对照组:

[1099] 同种异体骨髓和脾细胞移植(B10.D2(H-2^d)→BALB/c(H-2^d))。自移植后第21天至第56天,施加50mg/kg qd尼达尼布(Nintedanib)。

[1100] 5.9.3.稳态PK:

[1101] 在D20,对于接受测试化合物的组,在以下时间点、给药前、用抗凝血剂Li-肝素1小时、3小时和6小时时,自2个动物的尾静脉根据时间点收集血液。

[1102] 将血液样品保持在冰上并且在血液取样之后1小时内,在+4℃以约3500×g离心持续10分钟;在储存在-20℃的标记的聚丙烯管中转移血浆。

[1103] 5.9.4.取样和分析

[1104] 在最后一次给药后2小时(Tmax+1h)处死动物,并且收集用于皮肤(3mm穿孔活检体)、肺、脾和血液的样品以用于组织学和基因表达分析。

[1105] 5.9.5.主要读数

[1106] 通过测定皮肤厚度、病变胶原蛋白的定量和针对肌纤维母细胞的染色来分析对皮

肤的抗纤维化作用。

[1107] 在对皮肤纤维化的阳性作用的情况下,通过Ashcroft评分、通过羟脯氨酸含量和通过使用SirCol染色定量胶原蛋白覆盖区域来分析对肺纤维化的作用。

[1108] 5.10.MIA大鼠疼痛模型

[1109] 5.10.1.分析原理

[1110] 单碘乙酸盐(MIA)模型已变为由Van der Kraan(Van der Kraan等人,1989)建立用于模型化大鼠中OA的关节断裂的标准模型。

[1111] MIA在啮齿动物中的关节内注射再现类OA样病变和可经分析和定量的功能损伤。MIA是甘油醛-3-磷酸酶的抑制剂,破坏细胞糖酵解并且最终导致细胞死亡(Van der Kraan等人,1989)。

[1112] 将由Pitcher等人(Pitcher,Sousa-Valente和Malcangio,2016)描述的MIA疼痛小鼠模型用于通过关节内注射MIA引起软骨细胞死亡,从而使得软骨退化和后续软骨下骨更改,例如骨赘的外观,来评估测试化合物对触觉异常性疼痛的作用(Janusz等人2001)。

[1113] MIA是最常使用的,特别是用于测试药理学活性剂治疗疼痛的疗效,因为此模型产生可通过改变MIA剂量分级的可再现、稳定并且快速的疼痛样表型。

[1114] 5.10.2.动物

[1115] 雄性Sprague Dawley(250-300g)圈养在22±1℃并且在光控环境(开灯自7am至8pm)中,同时随意获取食物和水。

[1116] 5.10.3.方案

[1117] 对疼痛的炎性超敏反应通过将25μL 80mg/mL碘乙酸单钠(MIA)溶液注射至左膝关节中来诱导。在MIA后3天内动物将产生炎性反应。

[1118] 以每天两次为基础,自第3天(D3)开始,向处理组施用测试化合物,并且继续直至D28的终止点天数为止。

[1119] 在第3天,获取承重测量并且将动物分级并且随机分入处理组。

[1120] 在测试天时,在给药之前评估异常疼痛,并且在给药2小时之后评估所施用化合物的作用。

[1121] 根据处理组每天向处理组施用测试化合物(一些在MIA后给药3-7天,并且一些在MIA后给药24-28天),并且在给药后2小时进行承重测量。

[1122] 阴性对照组(n=6)每日口服给与媒介物(甲基纤维素,MC 0.5%),阳性对照组(n=10)每日口服给与塞内昔布(Celecoxib)(50mg/kg),并且测试化合物组(n=10)在MIA后第3-第7天(炎性阶段)每日口服给与0.5%MC/Solutol。

[1123] 阴性对照组(n=6)每日口服给与媒介物(甲基纤维素,MC 0.5%),阳性对照组(n=10)每日口服给与普瑞巴林(Pregabalin)(30mg/kg),并且测试化合物组(n=10)在MIA后第24-第28天(神经病性阶段)每日口服给与0.5%MC/Solutol。

[1124] 5.10.4.稳态PK:

[1125] 在最后处理后的处死时间,对于所有组在以下时间点:T0(给药前,n=2)、T0.25 h(n=3)、T2h(n=3)和T6h(n=2),对经处理的2组进行稳态PK血液取样。

[1126] 将血液取样在冰上的Li-肝素试管中,并且随后在+4℃离心并且在-20℃冷冻所得血浆以待生物分析。

[1127] 5.10.5.触觉异常疼痛-承重缺陷测试

[1128] 使用承重缺陷测试方法评估动物的先天性(称为基线)触觉异常疼痛水平。为了避免测试结果中的假敏感化,在所有基线测试之前对小鼠进行足够适应时间和两个处理程序。另外,基线承重缺陷发生在手术之前最长2天时。

[1129] 在各测试中,针对各小鼠测试损伤的后爪同侧(左)。

[1130] 5.10.1.数据分析

[1131] 对于各读数,计算平均值和sem。完整或处理组和MIA媒介物组之间的统计显著差异用Prism软件,使用双向方差分析(针对处理组),随后Dunnett多重比较事后检验来评估。*:$p<0.05$、**:$p<0.01$、***:$p<0.001$,相较于MIA媒介物组。

[1132] 最终备注

[1133] 本领域技术人员将理解,上述描述本质上是示例性和解释性的,并且旨在示例本发明及其优选实施例。通过常规试验,本领域技术人员将认识到在不脱离本发明精神的情况下可以做出的明显修饰和改变。落入所附权利要求范围内的所有此类修饰旨在包括在其中。因此,本发明并非旨在由上述描述定义,而是由以下权利要求及其等效方案定义。

[1134] 在本说明书中引用的所有出版物,包括但不限于专利和专利申请均通过引用并入本文,就如同将各个出版物特别地和单独地指示为通过引用并入本文,如完整举出一样。

[1135] 应当理解,例如各种化合物的不同细胞渗透能力这样的因素可导致化合物在体外生物化学和细胞测定中的活性之间出现偏差。

[1136] 本申请中给出和阐述的本发明化合物的至少一些化学名称可能已经通过使用可商购的化学命名软件程序在自动基础上产生,但没有被独立验证。执行此功能的代表性程序包括由Open Eye Software,Inc.销售的Lexichem命名工具和由MDL,Inc.销售的Autonom Software工具。在指示的化学名称和所描述的结构不同的情况下,以所描述的结构为准。

[1137] 参考文献

[1138] Argilés,J M,and F J López-Soriano.1998.“Catabolic Proinflammatory Cytokines.”Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 1(3):245-51.

[1139] Bain,Jenny,Hilary McLauchlan,Matthew Elliott,and Philip Cohen.2003.“The Specificities of Protein Kinase Inhibitors:An Update.”The Biochemical Journal 371(Pt 1):199-204.https://doi.org/10.1042/BJ20021535.

[1140] Brehm,Michael A.,Keith A.Daniels,and Raymond M.Welsh.2005.“Rapid Production of TNF-αFollowing TCR Engagement of Naive CD8 T Cells.”The Journal of Immunology 175(8):5043-49.https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.8.5043.

[1141] Broekman,Fleur,Elisa Giovannetti,and Godefridus J Peters.2011.“Tyrosine Kinase Inhibitors:Multi-Targeted or Single-Targeted?”World Journal of Clinical Oncology 2(2):80-93.https://doi.org/10.5306/wjco.v2.i2.80.

[1142] Bundgaard,Hans.1985.Design of Prodrugs.Elsevier.

[1143] Bush,Katherine A.,Katherine M.Farmer,Judith S.Walker,and Bruce W.Kirkham.2002.“Reduction of Joint Inflammation and Bone Erosion in Rat Adjuvant Arthritis by Treatment with Interleukin-17Receptor IgG1 Fc Fusion

Protein."Arthritis&Rheumatism 46(3):802-5.https://doi.org/10.1002/art.10173.

[1144] Carmi,Yaron,Shahar Dotan,Peleg Rider,Irena Kaplanov,Malka R.White,Rona Baron,Shai Abutbul,et al.2013."The Role of IL-1βin the Early Tumor Cell-Induced Angiogenic Response."The Journal of Immunology 190(7):3500-3509.https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202769.

[1145] Chiang,Eugene Y.,Xin Yu,and Jane L.Grogan.2011."Immune Complex-Mediated Cell Activation from Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis Patients Elaborate Different Requirements for IRAK1/4 Kinase Activity across Human Cell Types."The Journal of Immunology 186(2):1279-88.https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002821.

[1146] Cohen,Philip.2009."Targeting Protein Kinases for the Development of Anti-Inflammatory Drugs."Current Opinion in Cell Biology 21(2):317-24.https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.01.015.

[1147] Davidson,Donald J.,Andrew J.Currie,Dawn M.E.Bowdish,Kelly L.Brown,Carrie M.Rosenberger,Rebecca C.Ma,Johan Bylund,et al.2006."IRAK-4 Mutation (Q293X):Rapid Detection,and Characterisation of Defective Post-Transcriptional TLR/IL-1R Responses in Human Myeloid and Non-Myeloid Cells."Journal of Immunology(Baltimore,Md.:1950)177(11):8202-11.

[1148] Dinarello,Charles A.,Anna Simon,and Jos W.M.van der Meer.2012."Treating Inflammation by Blocking Interleukin-1 in a Broad Spectrum of Diseases."Nature Reviews.Drug Discovery 11(8):633-52.https://doi.org/10.1038/nrd3800.

[1149] Dy,Grace K.,and Alex A.Adjei.2013."Understanding,Recognizing,and Managing Toxicities of Targeted Anticancer Therapies."CA:A Cancer Journal for Clinicians 63(4):249-79.https://doi.org/10.3322/caac.21184.

[1150] Fabian,Miles A.,William H.Biggs,Daniel K.Treiber,Corey E.Atteridge,Mihai D.Azimioara,Michael G.Benedetti,Todd A.Carter,et al.2005."A Small Molecule-Kinase Interaction Map for Clinical Kinase Inhibitors."Nature Biotechnology 23(3):329-36.https://doi.org/10.1038/nbt1068.

[1151] Fits,L.van der,S.Mourits,J.S.A.Voerman,M.Kant,L.Boon,J.D.Laman,F.Comelissen,et al.2009."Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in Mice Is Mediated via the IL-23/IL-17Axis."The Journal of Immunology 182(9):5836-45.https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802999.

[1152] Force,Thomas,and Kyle L.Kolaja.2011."Cardiotoxicity of Kinase Inhibitors:The Prediction and Translation of Preclinical Models to Clinical Outcomes."Nature Reviews.Drug Discovery 10(2):111-26.https://doi.org/10.1038/nrd3252.

[1153] Genovese,Mark C.,Stanley Cohen,Larry Moreland,Deborah Lium,Sean Robbins,Richard Newmark,Pirow Bekker,and for the 20000223 Study Group.2004.

"Combination Therapy with Etanercept and Anakinra in the Treatment of Patients with Rheumatoid Arthritis Who Have Been Treated Unsuccessfully with Methotrexate."Arthritis&Rheumatism 50(5):1412-19.https://doi.org/10.1002/art.20221.

[1154] Jain,Ajay,Sabina Kaczanowska,and Eduardo Davila.2014."IL-1 Receptor-Associated Kinase Signaling and Its Role in Inflammation,Cancer Progression, and Therapy Resistance."Frontiers in Immunology 5(November).https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00553.

[1155] Janusz,M.J.,E.B.Hookfin,S.A.Heitmeyer,J.F.Woessner,A.J.Freemont, J.A.Hoyland,K.K.Brown,et al.2001."Moderation of Iodoacetate-Induced Experimental Osteoarthritis in Rats by Matrix Metalloproteinase Inhibitors." Osteoarthritis and Cartilage 9(8):751-60.https://doi.org/10.1053/joca.2001.0472.

[1156] Jou,I-Ming,Ai-Li Shiau,Shih-Yao Chen,Chrong-Reen Wang,Dar-Bin Shieh, Ching-Shan Tsai,and Chao-Liang Wu.2005."Thrombospondin 1 as an Effective Gene Therapeutic Strategy in Collagen-Induced Arthritis."Arthritis&Rheumatism 52(1):339-44.https://doi.org/10.1002/art.20746.

[1157] Khachigian,Levon M.2006."Collagen Antibody-Induced Arthritis."Nature Protocols 1(5):2512-16.https://doi.org/10.1038/nprot.2006.393.

[1158] Klein,Sandra.2010."The Use of Biorelevant Dissolution Media to Forecast the In Vivo Performance of a Drug."The AAPS Journal 12(3):397-406.https://doi.org/10.1208/s12248-010-9203-3.

[1159] Koziczak-Holbro,Magdalena,Amanda Littlewood-Evans,Bernadette Pöllinger, Jiri Kovarik,Janet Dawson,Gerhard Zenke,Christoph Burkhart,Matthias Müller, and Hermann Gram.2009."The Critical Role of Kinase Activity of Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase 4 in Animal Models of Joint Inflammation." Arthritis&Rheumatism 60(6):1661-71.https://doi.org/10.1002/art.24552.

[1160] Kraan,P.M.van der,E.L.Vitters,L.B.van de Putte,and W.B.van den Berg.1989."Development of Osteoarthritic Lesions in Mice by'Metabolic'and 'Mechanical'Alterations in the Knee Joints."The A merican Journal of Pathology 135(6):1001-14.

[1161] Kroeger,Kelly M.,Brandon M.Sullivan,and Richard M.Locksley.2009."IL-18 and IL-33 Elicit Th2 Cytokincs from Basophils via a MyD88-and P38α-Dependent Pathway."Journal of Leukocyte Biology 86(4):769-78.https://doi.org/10.1189/jlb.0708452.

[1162] Li,Dong,Rodrigo Guabiraba,Anne-Gaëlle Besnard,Mousa Komai-Koma,Majid S.Jabir,Li Zhang,Gerard J.Graham,et al.2014."IL-33 Promotes ST2-Dependent Lung Fibrosis by the Induction of Alternatively Activated Macrophages and Innate Lymphoid Cells in Mice."Journal of A llegy and Clinical Immunology 134

(6):1422-1432.e11.https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.05.011.

[1163] Li,Mei,Pierre Hener,Zhikun Zhang,Shigeaki Kato,Daniel Metzger,and Pierre Chambon.2006."Topical Vitamin D3 and Low-Calcemic Analogs Induce Thymic Stromal Lymphopoietin in Mouse Keratinocytes and Trigger an Atopic Dermatitis."Proceedings of the National Academy of Sciences103(31):11736-41.https://doi.org/10.1073/pnas.0604575103.

[1164] Li,Shyun,Astrid Strelow,Elizabeth J.Fontana,and Holger Wesche.2002."IRAK-4:A Novel Member of the IRAK Family with the Properties of an IRAK-Kinase."Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 99(8):5567-72.https://doi.org/10.1073/pnas.082100399.

[1165] Li,Zhaoyang,Kenisha Younger,Ronald Gartenhaus,Ann Mary Joseph,Fang Hu,Maria R.Baer,Patrick Brown,and Eduardo Davila.2015."Inhibition of IRAK1/4 Sensitizes T Cell Acute Lymphoblastic Leukemia to Chemotherapies."The Journal of Clinical Investigation 125(3):1081-97.https://doi.org/10.1172/JCI75821.

[1166] Lin,H-S,C-Y Hu,H-Y Chan,Y-Y Liew,H-P Huang,L Lepescheux,E Bastianelli,R Baron,G Rawadi,and P Clément-Lacroix.2007."Anti-Rheumatic Activities of Histone Deacetylase(HDAC)Inhibitors in Vivo in Collagen-Induced Arthritis in Rodents."British Journal of Pharmacology 150(7):862-72.https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707165.

[1167] McHedlidze,Tamar,Maximilian Waldner,Steffen Zopf,Jennifer Walker,Andrew L.Rankin,Marcus Schuchmann,David Voehringer,et al.2013."Interleukin-33-Dependent Innate Lymphoid Cells Mediate Hepatic Fibrosis."Immunity39(2):357-71.https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.07.018.

[1168] Nabe,Takeshi.2014."Interleukin(IL)-33:New Therapeutic Target for Atopic Diseases."Jurnal of Pharmacological Sciences 126(2):85-91.https://doi.org/10.1254/jphs.14R12CP.

[1169] Ngo,Vu N.,Ryan M.Young,Roland Schmitz,Sameer Jhavar,Wenming Xiao,Kian-Huat Lim,Holger Kohlhammer,et al.2011."Oncogenically Active MYD88 Mutations in Human Lymphoma."Nature 470(7332):115-19.https://doi.org/10.1038/nature09671.

[1170] Nishida,Keiichiro,Takamitsu Komiyama,Shin-ichi Miyazawa,Zheng-Nan Shen,Takayuki Furumatsu,Hideyuki Doi,Aki Yoshida,et al.2004."Histone Deacetylase Inhibitor Suppression of Autoantibody-Mediated Arthritis in Mice via Regulation of P16INK4a and P21WAF1/Cip1Expression."Arthritis&Rheumatism 50(10):3365-76.https://doi.org/10.1002/art.20709.

[1171] Pitcher,Thomas,João Sousa-Valente,and Marzia Malcangio.2016."The Monoiodoacetate Model of Osteoarthritis Pain in the Mouse."Journal of Visualized Experiments:JoVE,no.111(16).https://doi.org/10.3791/53746.

[1172] "Public Statement on the Increased Risk of Serious Infection and

Neutropenia in Patients Trested Concurrently with Kineret(Anakinra)and Enbrel (Etanercept).”2003.Public statement EMEA/31631/02.European Medicines Agency.https://www.ema.europa.eu/en/news/public-statement-increased-risk-serious-infection-neutropenia-patients-trested-concurrently-kineret.

[1173] Rall,L.C.,and R.Roubenoff.2004.“Rheumatoid Cachexia:Metabolic Abnormalities,Mechanisms and Interventions.”Rheumatology 43(10):1219-23.https://doi.org/10.1093/rheumatology/keh321.

[1174] Rankin,Andrew L.,John B.Mumm,Erin Murphy,Scott Turner,Ni Yu,Terrill K.McClanahan,Patricia A.Bourne,Robert H.Pierce,Rob Kastelein,and Stefau Pflanz.2010.“IL-33 Induces IL-13-Dependent Cutaneous Fibrosis.”The Journal of Immunology 184(3):1526-35.https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903306.

[1175] Remington,Joseph P.,and Alfonso R.Gennaro,eds.1985.Remington's Pharmaceutical Sciences.17 ed.Easton,Pa:Mack.

[1176] Rhyasen,G.W.,and D.T.Starczynowski.2015.“IRAK Signalling in Cancer.” British Journal of Cancer 112(2):232-37.https://doi.org/10.1038/bjc.2014.513.

[1177] Ringwood,Lorna,and Liwu Li.2008.“The Involvement of the Interleukin-1Receptor-Associated Kinases(IRAKs)in Cellular Signaling Networks Controlling Inflammation.”Cytokine 42(1):1-7.https://doi.org/10.1016/j.cyto.2007.12.012.

[1178] Rizzo,Heather L.,Shinji Kagami,Kevin G.Phillips,Stephen E.Kurtz, Steven L.Jacques,and Andrew Blauvelt.2011.“IL-23-Mediated Psoriasis-Like Epidermal Hyperplasia Is Dependent on IL-17A.”The Journal of Immunology 186 (3):1495-1502.https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001001.

[1179] Salimi,Maryam,Jillian L.Barlow,Sean P.Saunders,Luzheng Xue,Danuta Gutowska-Owsiak,Xinwen Wang,Li-Chieh Huang,et al.2013.“A Role for IL-25 and IL-33-Driven Type-2 Innate Lymphoid Cells in Atopic Dermatitis.”The Journal of Experimental Medicine 210(13):2939-50.https://doi.org/10.1084/jem.20130351.

[1180] Salvemini,D,E Mazzon,L Dugo,I Serraino,A De Sarro,A P Caputi,and S Cuzzocrea.2001.“Amelioration of Joint Disease in a Rat Model of Collagen-Induced Arthritis by M40403,a Superoxide Dismutase Mimetic.”Arthritis and Rheumatism 44(12):2909-21.

[1181] Shelton,David L.,Jörg Zeller,Wei-Hsien Ho,Jaume Pons,and Arnon Rosenthal.2005.“Nerve Growth Factor Mediates Hyperalgesia and Cachexia in Auto-Immune Arthritis.”Pain 116(1-2):8-16.https://doi.org/10.1016/j.pain.2005.03.039.

[1182] Sherlock,Jonathan P.,Barbara Joyce-Shaikh,Scott P.Turner,Cheng-Chi Chao,Manjiri Sathe,Jeff Grein,Daniel M.Gorman,et al.2012.“IL-23Induces Spondyloarthropathy by Acting on ROR-Γt+CD3+CD4-CD8-Entheseal Resident T Cells.”Nature Medicine 18(7):1069-76.https://doi.org/10.1038/nm.2817.

[1183] Sims,Natalie A.,Jonathan R.Green,Markus Glatt,Stephen Schlict,T.John Martin,Matthew T.Gillespie,and Evan Romas.2004.“Targeting Osteoclasts with Zoledronic Acid Prevents Bone Destruction in Collagen-Induced Arthritis.”Arthritis&Rheumatism 50(7):2338-46.https://doi.org/10.1002/art.20382.

[1184] Staschke,Kirk A.,Sucai Dong,Joy Saha,Jingyong Zhao,Nathan A.Brooks,Deena L.Hepburn,Jinqi Xia,et al.2009.“IRAK4 Kinase Activity Is Required for Th17 Differentiation and Th17-Mediated Disease.”The Journal of Immunology 183(1):568-77.https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802361.

[1185] Sundberg,Thomas B,Ramnik J Xavier,Stuart L Schreiber,and Alykhan F Shamji.2014.“Small-Molecule Control of Cytokine Function:New Opportunities for Treating Immune Disorders.”Current Opinion in Chemical Biology,Molecular immunology,23(December):23-30.https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.08.013.

[1186] Treon,Steven P.,Lian Xu,Guang Yang,Yangsheng Zhou,Xia Liu,Yang Cao,Patricia Sheehy,et al.2012.“MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia.”New England Journal of Medicine 367(9):826-33.https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200710.

[1187] Vidal-Vanaclocha,Fernando,Giamila Fantuzzi,Lorea Mendoza,Angela M.Fuentes,Miren J.Anasagasti,Javier Martín,Teresa Carrascal,et al.2000.“IL-18 Regulates IL-1β-Dependent Hepatic Melanoma Metastasis via Vascular Cell Adhesion Molecule-1.”Proceedings of the National Academy of Sciencex 97(2):734-39.https://doi.org/10.1073/pnas.97.2.734.

[1188] Walsmith,Joseph,Leslie Abad,Joseph Kehayias,and Ronenn Roubenoff.2004.“Tumor Necrosis Factor-Alpha Production Is Associated with Less Body Cell Mass in Women with Rheumatoid Arthritis.”The Journal of Rheumatology 31(1):23-29.

[1189] Wang,Zhulun,Holger Wesche,Tracey Stevens,Nigel Walker,and Wen-Chen Yeh.2009.“IRAK-4Inhibitors for Inflammation.”Current Topics in Medicinal Chemistry 9(8):724-37.https://doi.org/10.2174/156802609789044407.

[1190] Yan,Chunguang,Mei Zhu,Jennifer Staiger,Peter F.Johnson,and Hongwei Gao.2012.“C5a-Regulated CCAAT/Enhancer-Binding ProteinsβandδAre Essential in FcγReceptor-Mediated Inflammatory Cytokine and Chemokine Production in Macrophages.”Journal of Biological Chemistry 287(5):3217-30.https://doi.org/10.1074/jbc.M111.280834.

[1191] Yokogawa,Maki,Mikiro Takaishi,Kimiko Nakajima,Reiko Kamijima,Chisa Fujimoto,Sayo Kataoka,Yoshio Terada,and Shigetoshi Sano.2014.“Epicutaneous Application of Toll-like Receptor 7Agonists Leads to Systemic Autoimmunity in Wild-Type Mice:A New Model of Systemic Lupus Erythematosus.”Arthritis&Rheumatology66(3):694-706.https://doi.org/10.1002/art.38298.

[1192] Zegzouti,Hicham,Marina Zdanovskaia,Kevin Hsiao,and Said

A.Goueli.2009.“ADP-Glo:A Bioluminescent and Homogeneous ADP Monitoring Assay for Kinases.”ASSAY and Drug Development Technologies 7(6):560-72.https://doi.org/10.1089/adt.2009.0222.

[1193] Zerr,Pawel,Alfiya Distler,Katrin Palumbo-Zerr,Michal Tomcik,Stefan Vollath,Clara Dees,Friederike Egberts,et al.2012.“Combined Inhibition of C-Abl and PDGF Receptors for Prevention and Treatment of Murine Sclerodermatous Chronic Graft-versus-Host Disease.”The American Journal of Pathology181(5):1672-80.https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.07.017.

序列表

<110> 加拉帕戈斯股份有限公司

<120> 用于治疗炎性障碍的新化合物及其药物组合物

<130> GAL-310-WO-PCT

<150> GB1904373.6
<151> 2019-03-29

<160> 4

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> RIP140肽

<400> 1

Cys Tyr Gly Val Ala Ser Ser His Leu Lys Thr Leu Leu Lys Lys Ser
1 5 10 15

Lys Val Lys Asp Gln
20

<210> 2
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

[0001]

<220>
<223> 组蛋白H3肽

<400> 2

Ala Arg Thr Lys Gln Thr Ala Arg Lys Ser Thr Gly Gly Lys Ala Pro
1 5 10 15

Arg Lys Gln Leu Cys
20

<210> 3
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 组蛋白H1-衍生的肽

<400> 3

Gly Gly Gly Pro Ala Thr Pro Lys Lys Ala Lys Lys Leu
1 5 10

<210> 4
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDKtide

<400> 4

Lys Thr Phe Cys Gly Thr Pro Glu Tyr Leu Ala Pro Glu Val Arg Arg

1 5 10 15

[0002]

Glu Pro Arg Ile Leu Ser Glu Glu Glu Gln Glu Met Phe Arg Asp Phe
20 25 30

Asp Tyr Ile Ala Asp Trp Cys
35