



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101754762 A

(43) 申请公布日 2010.06.23

(21) 申请号 200780023749.6

地址 美国伊利诺伊州

(22) 申请日 2007.04.27

(72) 发明人 M·沃特森 L·范埃尔迪克 W·胡

(30) 优先权数据

60/796,328 2006.04.28 US

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 关立新 黄可峻

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008.12.24

(51) Int. Cl.

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2007/010248 2007.04.27

A61K 31/501 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(87) PCT申请的公布数据

W02007/127375 EN 2007.11.08

(71) 申请人 西北大学

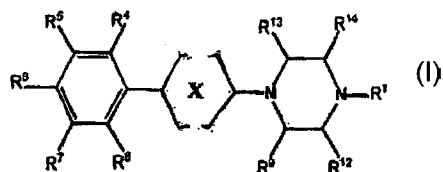
权利要求书 4 页 说明书 76 页 附图 21 页

(54) 发明名称

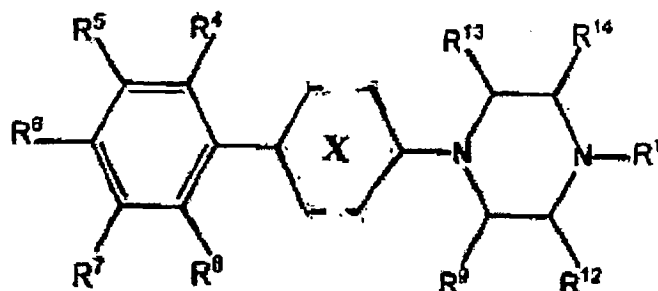
用于治疗神经炎症性疾病的包含哒嗪化合物的制剂

(57) 摘要

本发明涉及化合物、组合物以及制造和应用同样化合物、组合物的方法。具体而言,本发明提供选择的式(I)的哒嗪化合物、其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物,独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氨基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、硫酸盐或酯、烃硫基、亚磺酰基、磺酰基、磺酸盐或酯、亚砷、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、=O、=S、磷酸酯、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺;且X为任选取代的嘧啶基或哒嗪基。本发明还涉及包含这些化合物的组合物,以及应用这些化合物和组合物的方法,用于调节细胞途径,用于治疗或预防炎症性疾病,用于研究、药物筛选和治疗应用。



1. 组合物, 在治疗患有神经炎症性疾病的受试者时有效提供更低副作用的风险和 / 或有益的药动学特性, 其包括治疗有效量的下式 I 的化合物、其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物:

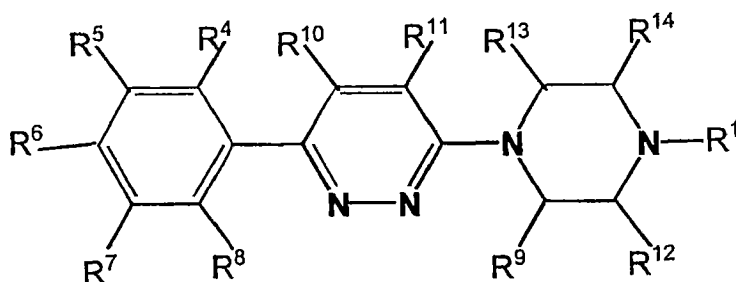


I

其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氨基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、硫酸盐或酯、烃硫基、亚磺酰基、磺酰基、磺酸盐或酯、亚砷、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、 $=O$ 、 $=S$ 、膦酸酯、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺; 且 X 为任选取代的嘧啶基或哒嗪基。

2. 根据权利要求 1 的组合物, 其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 链烯氧基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_3 - C_{10} 环烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳氧基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳酰基、 C_6 - C_{10} 杂芳基、 C_3 - C_{10} 杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 酰氧基、 $-NH_2$ 、 $-NHR^{28}$ 、 $-NR^{28}R^{29}$ 、 $=NR^{28}$ 、 $-S(O)_2R^{28}$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R^{28}$ 、 $-NHC(O)R^{28}$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR^{28}$ 、 $-C(O)NR^{28}R^{29}$ 、 $-NHS(O)_2R^{28}$, 其中 R^{28} 和 R^{29} 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷基、 C_6 - C_{10} 杂芳基和 C_3 - C_{10} 杂环基。

3. 根据权利要求 1 的组合物, 其包括治疗有效量的下式 II 的化合物或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物:



II

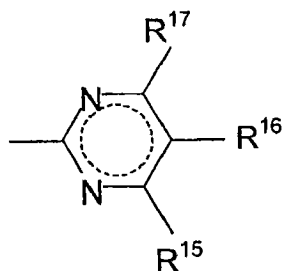
其中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氨基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、亚砷、烃硫基、亚磺酰基、磺酰基、磺酸盐或酯、硫酸盐或酯、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、 $=O$ 、 $=S$ 、膦酸酯、脲基、

羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺。

4. 根据权利要求 3 的组合物, 其中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 独立地为氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 链烯氧基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_3 - C_{10} 环烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳氧基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳酰基、 C_6 - C_{10} 杂芳基、 C_3 - C_{10} 杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 酰氧基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}^{28}$ 、 $-\text{NR}^{28}\text{R}^{29}$ 、 $=\text{NR}^{28}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{28}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^{28}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{28}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{28}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{28}\text{R}^{29}$ 、 $-\text{NHS}(\text{O})_2\text{R}^{28}$, 其中 R^{28} 和 R^{29} 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷基、 C_6 - C_{10} 杂芳基和 C_3 - C_{10} 杂环基。

5. 根据权利要求 1 或 2 的组合物, 其中 R^1 为烷基、环烷基、或杂芳基。

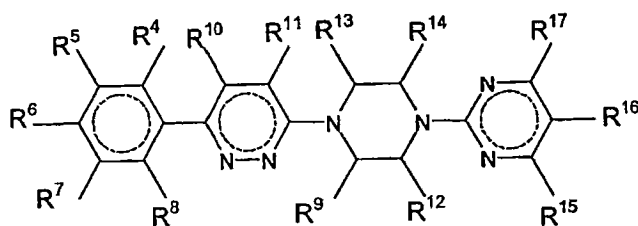
6. 根据权利要求 1 或 2 的组合物, 其中 R^1 为



其中 R^{15} 、 R^{16} 和 R^{17} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环烷氧基、环炔基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、亚砷、硫酸盐或酯、磺酰基、烃硫基、亚磺酰基、磺酸盐或酯、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、膦酸酯、脒基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺。

7. 根据权利要求 6 的组合物, 其中 R^{15} 、 R^{16} 和 R^{17} 独立地为氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 链烯氧基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_3 - C_{10} 环烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳氧基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳酰基、 C_6 - C_{10} 杂芳基、 C_3 - C_{10} 杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 酰氧基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}^{28}$ 、 $-\text{NR}^{28}\text{R}^{29}$ 、 $=\text{NR}^{28}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{28}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、硝基、氰基、卤素、亚砷、硫酸盐或酯、磺酰基、烃硫基、亚磺酰基、磺酸盐或酯、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、膦酸酯、脒基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺。

8. 组合物, 在治疗时在患有神经炎症性疾病的受试者内有效提供更低副作用的风险和/或有益的药动学特性, 其包括治疗有效量的下式 III 的化合物或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物:



III

其中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、亚砷、硫酸盐或酯、磺酰基、烃硫基、亚磺酰基、磺酸盐或酯、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、 $=O$ 、 $=S$ 、膦酸酯、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺；条件是 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 不能全部为氢，或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物。

9. 根据权利要求 8 的组合物，其中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 独立地为氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 链烯氧基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_3 - C_{10} 环烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳氧基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳酰基、 C_6 - C_{10} 杂芳基、 C_3 - C_{10} 杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 酰氧基、 $-NH_2$ 、 $-NHR^{28}$ 、 $-NR^{28}R^{29}$ 、 $=NR^{28}$ 、 $-S(O)_2R^{28}$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R^{28}$ 、 $-NHC(O)R^{28}$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR^{28}$ 、 $-C(O)NR^{28}R^{29}$ 、 $-NHS(O)_2R^{28}$ ，其中 R^{28} 和 R^{29} 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷基、 C_6 - C_{10} 杂芳基和 C_3 - C_{10} 杂环基。

10. 根据权利要求 8 的组合物，其中式 III 化合物或其异构体或药学上可接受的盐中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 为氢、羟基、烷基， R^{10} 和 R^{11} 中的一个或两个独立地为取代的或未取代的氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、磺酰基、亚磺酰基、烃硫基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、脲基、氰基、卤素、甲硅烷基、甲硅烷基烷基、甲硅氧基、甲硅烷基硫基、 $=O$ 、 $=S$ 、羧基、羰基、或氨基甲酰基。

11. 根据权利要求 8 的组合物，其中式 III 化合物中 R^{10} 和 R^{11} 的一个为烷基，特别为 C_1 - C_6 烷基，且 R^{10} 和 R^{11} 中的另一个为氢。

12. 根据权利要求 8 的组合物，其中式 III 化合物中 R^{10} 和 R^{11} 的一个为芳基，且 R^{10} 和 R^{11} 中的另一个为氢。

13. 根据权利要求 8 的组合物，其中式 III 化合物中 R^{10} 和 R^{11} 的一个为杂芳基，特别为含有 1 至 4 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，且 R^{10} 和 R^{11} 中的另一个为氢。

14. 根据权利要求 8 的组合物，其中式 III 化合物中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 为氢，且 R^{11} 为烷基、链烯基、炔基、亚烷基、烷氧基、芳基、或含有 1 至 4 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团。

15. 根据权利要求 8 的组合物，其中式 III 化合物中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 为氢，且 R^{11} 为烷基或吡啶基。

16. 根据权利要求 8 的组合物,其中式 III 化合物 4- 甲基 -6- 苯基 -3-(4- 嘧啶 -2- 基 哌嗪 -1- 基) 吡嗪。

17. 根据任何前述权利要求的组合物,包括治疗有效量的化合物,用于选择性降低或阻碍 IL-1 β 和 S100B 的向上调节,和 / 或降低或防止 PSD-95 和 / 或突触囊泡蛋白丧失。

18. 根据任何前述权利要求的组合物,包括治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物,用于治疗神经炎症性疾病,同时降低 hERG 钾通道的抑制活性。

19. 根据任何前述权利要求的组合物,包括治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物,用于治疗神经炎症性疾病,同时降低 hERG 的抑制作用。

20. 根据任何前述权利要求的组合物,其中治疗有效量是给药期间有效地选择性降低或阻碍 IL-1 β 和 S100B 的向上调节,和 / 或降低或防止 PSD-95 和 / 或突触囊泡蛋白丧失的量。

21. 根据任何前述权利要求的组合物,包括治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物,适合给受试者施用以提供化合物在应用环境中的有效浓度或有效剂量,所述有效浓度或有效剂量在预防、治疗、或控制本文公开疾病的征状中可产生治疗效应。

22. 根据权利要求 21 的组合物,其中疾病为神经炎症性疾病。

23. 根据任何前述权利要求的组合物,包括式 I、II 或 III 的化合物的量为大约 0.1 至 100mg/kg,0.1 至 50mg/kg,0.1 至 25mg/kg,0.1 至 20mg/kg,0.1 至 15mg/kg,0.1 至 10mg/kg,0.1 至 5mg/kg,0.1 至 4mg/kg,0.1 至 3mg/kg,0.1 至 2mg/kg,或 0.1 至 1mg/kg。

24. 在受试者中治疗神经炎症性疾病的方法,包括给受试者施用任何前述权利要求的组合物。

25. 至少一种如任何前述权利要求中所述的式 I、II 或 III 的化合物在制备药剂中的用途,用于治疗神经炎症性疾病中提供更低副作用的风险和 / 或有益的药动学特性。

26. 试剂盒,包括一种或多种任何前述权利要求的组合物、容器、和使用说明书。

用于治疗神经炎症性疾病的包含哒嗪化合物的制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及化合物、组合物以及制造和应用同样化合物、组合物的方法。具体而言,本发明提供选择的哒嗪化合物、包含这些化合物的组合物,以及应用这些化合物和组合物的方法,用于调节细胞途径,用于治疗或预防炎症性疾病,用于治疗或预防神经学病症,用于研究、药物筛选和治疗应用。

背景技术

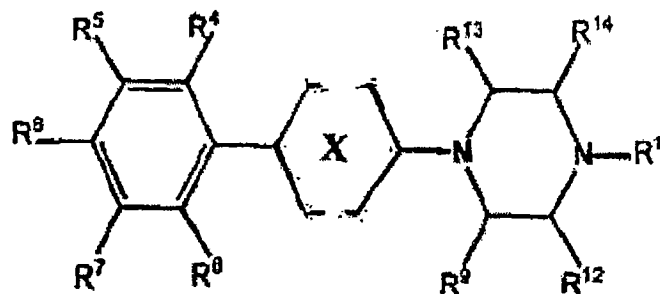
[0002] 神经学病症和失调的治疗在医学上是非常重要的,且需要新的药物和治疗,以防止进展并反转这些病症和失调的损害。在许多神经系统病症和疾病的病理中,神经炎症是公认的突出特征。神经炎症主要是神经胶质(小胶质细胞和星形胶质细胞)异常高度或慢性激活所引起的过程。这种过度活跃状态的神经胶质导致更高水平的炎症和氧化应激反应的分子,从而导致神经元损伤或死亡。神经元损伤或死亡也可以诱导神经胶质活化,促进神经炎症局部有害的周期传播(Griffin, WST 等, Brain Pathol 8:65-72, 1998)。炎症周期已被提议为新发展的治疗炎症性疾病方法的潜在治疗靶点。然而,迄今为止开发的大多数抗炎治疗是治标的,提供最低限度的、短暂的、症状缓解,对炎症性疾病进展只有有限的效应。因此,需要影响疾病进展的抗炎治疗或预防。

[0003] 发明概述

[0004] 本发明提供一些哒嗪化合物,包含这些化合物的组合物,以及应用这些化合物和组合物的方法,用于调节细胞途径(例如信号转导途径),用于治疗或预防炎症性疾病,用于治疗或预防神经学疾病和病症,用于研究、药物筛选和治疗应用。特别地,本发明一般提供剂型,制剂和方法,以提供更低副作用的风险和/或产生有益的药动学特性(pharmacokinetic profile),尤其用于神经炎症性疾病。

[0005] 本发明涉及组合物,尤其制剂或剂型,其在治疗后有效提供更低副作用的风险和/或有益的药动学特性,包括以下式 I 化合物、其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物:

[0006]



I

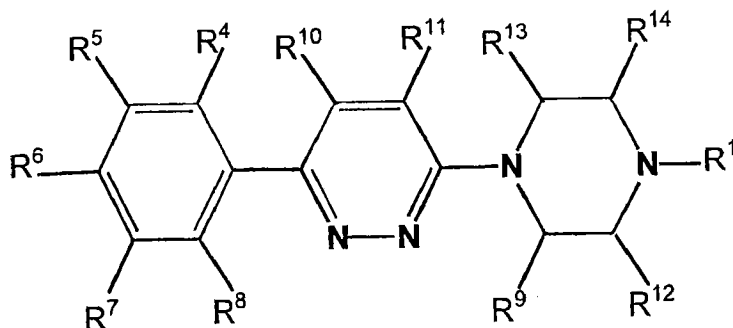
[0007] 其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基(alkenylene)、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫

氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、硫酸盐或酯 (sulfate)、烃硫基 (sulfenyl)、亚磺酰基、磺酰基、磺酸盐或酯 (sulfonate)、亚砷、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷硫基、= O、= S、膦酸酯 (phosphonate)、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺；且 X 为任选取代的嘧啶基或哒嗪基。

[0008] 在本发明的一个方面，提供式 I 化合物、其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物，其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷硫基、= O、= S、膦酸酯、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺；且 X 为嘧啶基或哒嗪基。

[0009] 在一个方面，提供组合物，制剂或剂型，其在治疗后有效提供更低副作用的风险和 / 或有益的药动学特性，包括以下式 II 化合物、其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物：

[0010]



II

[0011] 其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、烃硫基、亚磺酰基、磺酰基、磺酸盐或酯、硫酸盐或酯、亚砷、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷硫基、= O、= S、膦酸酯、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺。

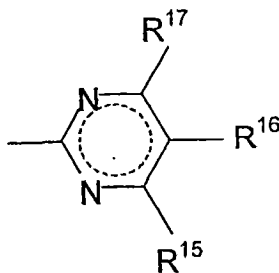
[0012] 在本发明的一个方面，提供式 II 化合物，其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷硫基、= O、= S、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺；或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物。

[0013] 在本发明的方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为取代的或未取代的烷基、环己基、芳基、芳基烷氧基、芳酰基、或杂芳基。

[0014] 在特定的方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为取代的或未取代的芳基、芳基烷氧基、芳酰基、或杂芳基。

[0015] 在本发明的一些方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为：

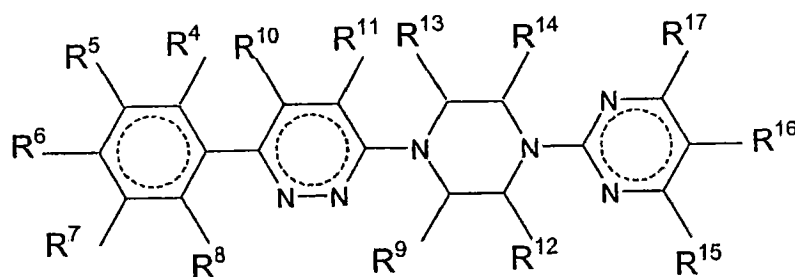
[0016]



[0017] 其中 R¹⁵、R¹⁶ 和 R¹⁷ 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、亚砷、硫酸盐或酯、磺酰基、烃硫基、亚磺酰基、磺酸盐或酯、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、= O、= S、膦酸酯、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺。

[0018] 因此，在本发明的一些方面中，提供组合物，尤其制剂或剂型，随着包括以下一定量的式 III 化合物的治疗，有效提供更低副作用的风险和 / 或有益的药理学特性：

[0019]



III

[0020] 其中 R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、和 R¹⁷ 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、亚砷、硫酸盐或酯、磺酰基、烃硫基、亚磺酰基、磺酸盐或酯、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、= O、= S、脲基、膦酸酯、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺。

[0021] 一般而言，式 III 化合物中的 R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、和 R¹⁷ 不能全部为氢。

[0022] 本发明涉及本文公开的式 I、II 或 III 化合物，尤其为纯的或基本上纯的式 I、II 或 III 的化合物。

[0023] 本发明也涉及利用本发明图 1 化合物的组合物和方法，尤其 MW01-4-179LKM、MW01-7-084WH、MW01-7-085WH、MW01-7-133WH、MW01-2-151SRM、MW01-5-188WH 或 MW01-7-057，或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物。

[0024] 本发明的组合物，尤其制剂或剂型，可以进一步表征为其选择性降低或阻碍

IL-1 β 和 S100B 的向上调节的能力,和 / 或降低或防止 PSD-95 和 / 或突触囊泡蛋白丧失的能力。

[0025] 在方面中,本发明的组合物,尤其制剂或剂型,可以提供更低的 QT- 相关性副作用的风险。

[0026] 在具体方面,本发明进一步提供组合物,制剂或剂型,其包括治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物,以治疗本文公开的疾病,同时降低 hERG 钾通道的抑制活性。

[0027] 在另一个具体方面,本发明进一步提供组合物,制剂或剂型,其包括治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物,以治疗本文公开的疾病,同时降低 hERG 的抑制作用。

[0028] 在另一个具体方面,本发明进一步提供组合物,制剂或剂型,其包括治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物,以在接收延长 QT 间期治疗或处理的受试者中治疗本文公开的疾病。

[0029] 本发明涉及用于治疗本文公开的疾病制剂,其包括治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物和药学上可接受的载体、赋形剂、或媒介物,以提供有益的药理学特性,尤其为持续的药理学特性。在一个方面中,提供包括治疗有效量的式 I、II 或 III 化合物的制剂,其作为一种形式或适合给受试者施用,以提供有益的药理学特性以治疗本文公开的疾病。在一个实施方案中提供剂型,以使该剂型给患有本文公开疾病的受试者施用可提供有益的药理学特性,产生给药期间的治疗效应,包括选择性降低或阻碍 IL-1 β 和 S100B 的向上调节,和 / 或降低或防止 PSD-95 和 / 或突触囊泡蛋白的丧失。特别地,组合物为适合提供有益的药理学特性的形式,在受试者给药期间产生持续时间的一种或多种以下结果:选择性降低 IL-1 β 和 S100B 的向上调节,和 / 或降低 PSD-95 和 / 或突触囊泡蛋白的丧失。

[0030] 在另一个方面,本发明涉及包括一定量的式 I、II 或 III 的化合物的剂型,适合给受试者施用以提供化合物在应用环境中的有效浓度或有效剂量,其在预防、治疗、或控制本文公开疾病(特别为神经炎症性疾病)的征状中可产生治疗效应。在本发明的方面,应用环境为脑或血浆。

[0031] 在还一个方面,本发明涉及适合一日一次、两次、或三次施用的治疗本文公开疾病的制剂或剂型,其包括一种或多种有效量的式 I、II 或 III 的化合物,以在给药期间提供更低副作用的风险和 / 或有益的药理学特性。

[0032] 在还一个方面,本发明涉及包括一种或多种有效量的式 I、II 或 III 化合物的剂型,以维持化合物在受试者中产生治疗效应的有效血浆和 / 或脑的药物浓度。

[0033] 本发明还涉及制备式 I、II 或 III 化合物的稳定制剂或剂型的方法,其适合随着治疗提供更低副作用的风险和 / 或有益的药理学特性。制剂可以置于适当的容器中,并标记以指示疾病的治疗。对于本发明制剂的施用,这样的标记将包括量、频率、和施用方法。

[0034] 本发明也提供制备商业可得的制剂的方法,其包含式 I、II 或 III 的化合物,在治疗本文公开的疾病中提供更低副作用的风险和 / 或有益的药理学特性。

[0035] 本发明涉及至少一种式 I、II 或 III 的化合物在制备药剂中的用途,用于本文公开的疾病治疗中提供更低副作用的风险和 / 或有益的药理学特性。本发明还涉及本发明药物组合物在制备药剂中的用途,用于本文公开的疾病预防和 / 或治疗中提供更低副作用的风险和 / 或有益的药理学特性。

[0036] 商业可得的制剂或药剂可以为丸剂、片剂、囊片、软和硬明胶胶囊、锭剂、小药囊、

扁囊剂、植物胶囊 (vegicaps)、液滴、酏剂、混悬剂、乳剂、溶液、糖浆剂、气溶胶 (作为固体或在液体介质中)、栓剂、无菌可注射溶液、和 / 或无菌包装粉末, 其含有 I、II 或 III 的化合物。

[0037] 本发明的式 I、II 或 III 化合物和组合物可以治疗或预防地施用, 以治疗本文公开的疾病, 特别为神经炎症性疾病。因此, 本发明提供治疗本文公开的疾病尤其神经炎症性疾病的方法, 包括施用治疗有效量的或预防有效量的式 I、II 或 III 的化合物。在一个方面中, 本发明提供治疗本文公开的疾病尤其神经炎症性疾病的方法, 包括施用有效量的式 I、II 或 III 的化合物, 以降低副作用的风险和 / 或提供有益的药理学特性。在一个方面中, 提供治疗本文公开的疾病尤其神经炎症性疾病的方法, 包括施用有效量的式 I、II 或 III 的化合物, 以选择性抑制 IL-1 β 和 S100B 的向上调节, 降低或防止 PSD-95 和 / 或突触囊泡蛋白的丧失, 和 / 或防止行为缺损。

[0038] 本发明的方面中, 提供治疗本文公开的疾病尤其神经炎症性疾病的方法, 包括给受试者施用有效量的式 I、II 或 III 的化合物, 以在受试者中降低 QT- 相关的副作用的风险。本发明的一些方面中, 提供治疗本文公开的疾病尤其神经炎症性疾病的方法, 包括给受试者施用治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物, 以治疗所述疾病, 同时降低 hERG 钾通道的抑制活性。本发明的其它方面中, 提供治疗本文公开的疾病尤其神经炎症性疾病的方法, 包括给受试者施用治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物, 以治疗所述疾病, 同时降低 hERG 的抑制作用。本发明进一步的方面中, 提供在受试者中治疗本文公开的疾病的方法, 所述受试者患有本文公开的疾病且接收延长 QT 间期治疗或处理, 所述方法包括给受试者施用治疗有效量的式 I 化合物, 以降低 QT- 相关的副作用风险。

[0039] 本发明也提供在受试者中治疗和 / 或预防本文公开的疾病的方法, 包括给受试者施用一种或多种尤其两种、三种或四种剂量的制剂, 所述制剂包含一种或多种有效量的式 I、II 或 III 的化合物, 以维持化合物在受试者中产生治疗效应的有效血浆和 / 或脑的药物浓度。

[0040] 在本发明的具体方面, 提供在受试者中治疗涉及或特征在于炎症尤其神经炎症的疾病的方法, 包括给受试者施用在药学上可接受载体、赋形剂、或媒介物中的治疗有效量的式 I、II 或 III 的化合物, 提供有益的药理学特性。

[0041] 在另一方面, 本发明提供方法, 其涉及给受试者施用式 I、II 或 III 的治疗化合物或其药学上可接受的盐, 或包含式 I、II 或 III 的化合物和药学上可接受载体、赋形剂、或媒介物的组合物, 可抑制或降低神经炎症、神经胶质的激活、星形细胞的激活、小神经胶质的激活、促炎细胞因子、氧化应激 - 相关性酶、急性期蛋白和 / 或补体级联系统的组分, 且提供更低 QT- 相关性副作用的风险和 / 或有益的药理学特性。

[0042] 本发明也提供试剂盒, 所述试剂盒包含一种或多种本发明式 I、II 或 III 的化合物, 或组合物, 适合提供更低副作用的风险和 / 或有益的药理学特性。在一个方面, 本发明提供用于预防和 / 或治疗本文公开的失调和 / 或疾病的试剂盒, 包括本发明的制剂或剂型、容器、和使用说明书。

[0043] 根据以下附图和详细描述, 本领域技术人员应当明白本发明的这些和其它的方面、特征、和优点。

[0044] 附图描述

[0045] 图 1 显示 MW01-2-151SRM、MW01-6-189WH、MW01-7-107WH、MW01-4-179LKM、MW01-7-084WH、MW01-7-085WH、MW01-7-133WH、和 MW01-7-057 的结构。

[0046] 图 2 描述 MW01-3-183WH 的合成方案。

[0047] 图 3 描述 MW01-2-151SRM 的合成方案。

[0048] 图 4 描述 MW01-2-151SRM 的合成方案。

[0049] 图 5 描述 MW01-2-151SRM 的合成方案。

[0050] 图 6 描述 MW01-2-151SRM 的合成方案。

[0051] 图 7 描述 MW01-5-188WH 的合成方案。

[0052] 图 8 描述 MW01-5-188WH 的合成方案。

[0053] 图 9 描述 MW01-5-188WH 的合成方案。

[0054] 图 10A 和 10B 描述 MW01-6-189WH 的合成方案。

[0055] 图 11 描述 MW01-7-084WH 的合成方案。

[0056] 图 12 描述 MW01-7-085WH 的合成方案。

[0057] 图 13 描述 MW01-7-133WH 的合成方案。

[0058] 图 14 描述 MW01-7-107WH 的合成方案。

[0059] 图 15 描述的 MW01-7-057 合成方案。

[0060] 图 16 显示图形和显微照相,说明经 MW01-5-151SRM 处理的促炎细胞因子的产生。

(A)MW01-5-151SRM 在 BV-2 小神经胶质细胞系中对 LPS 诱导 IL-1 β 增加的浓度依赖性抑制。(B)MW01-5-151SRM 在浓度最高达 33 μ M 时不抑制 LPS 刺激的 NO 代谢产物亚硝酸盐的累积。(C)MW01-5-1151SRM 在激活的 BV-2 细胞中不抑制 LPS 诱导的 iNOS 或 COX-2 的产生。

[0061] 图 17 显示图形和显微照相,说明经 MW01-5-189WH 处理的促炎细胞因子的产生。

(A)MW01-5-189WH 在 BV-2 小神经胶质细胞系中对 LPS 诱导 IL-1 β 增加的浓度依赖性抑制。(B)MW01-5-189WH 在浓度最高达 33 μ M 时不抑制 LPS 刺激的 NO 代谢产物亚硝酸盐的累积。(C)MW01-5-189WH 在激活的 BV-2 细胞中不抑制 LPS 诱导的 iNOS 或 COX-2 的产生。

[0062] 图 18 显示图形和显微照相,说明经 MW01-5-107WH 处理的促炎细胞因子的产生。

(A)MW01-5-107WH 在 BV-2 小神经胶质细胞系中对 LPS 诱导 IL-1 β 增加的浓度依赖性抑制。(B)MW01-5-107WH 抑制 LPS 刺激的 NO 代谢产物亚硝酸盐的累积。(C)MW01-5-107WH 在激活的 BV-2 细胞中也抑制 LPS 诱导的 iNOS 或 COX-2 的产生。

[0063] 图 19 显示图形和显微照相,说明经 MW01-5-179WH 处理的促炎细胞因子的产生。

(A)MW01-5-179WH 在 BV-2 小神经胶质细胞系中对 LPS 诱导 IL-1 β 增加的浓度依赖性抑制。(B)MW01-5-179WH 在浓度最高达 33 μ M 时不抑制 LPS 刺激的 NO 代谢产物亚硝酸盐的累积。(C)MW01-5-179WH 在激活的 BV-2 细胞中不抑制 LPS 诱导的 iNOS 或 COX-2 的产生。

[0064] 图 20 显示图形和显微照相,说明经 MW01-5-084WH 处理的促炎细胞因子的产生。

(A)MW01-5-084WH 在 BV-2 小神经胶质细胞系中对 LPS 诱导 IL-1 β 增加的浓度依赖性抑制。(B)MW01-5-084WH 在浓度最高达 33 μ M 时不抑制 LPS 刺激的 NO 代谢产物亚硝酸盐的累积。(C)MW01-5-084WH 在激活的 BV-2 细胞中不抑制 LPS 诱导的 iNOS 或 COX-2 的产生。

[0065] 图 21 显示图形和显微照相,说明经 MW01-5-085WH 处理的促炎细胞因子的产生。

(A)MW01-5-085WH 在 BV-2 小神经胶质细胞系中对 LPS 诱导 IL-1 β 增加的浓度依赖性抑制。(B)MW01-5-085WH 在浓度最高达 33 μ M 时不抑制 LPS 刺激的 NO 代谢产物亚硝酸盐的累积。

(C)MW01-5-085WH 在激活的 BV-2 细胞中不抑制 LPS 诱导的 iNOS 或 COX-2 的产生。

[0066] 图 22 显示图形和显微照相,说明经 MW01-5-0133WH 处理的促炎细胞因子的产生。

(A)MW01-5-133WH 在 BV-2 小神经胶质细胞系中对 LPS 诱导 IL-1 β 增加的浓度依赖性抑制。

(B)MW01-5-133WH 在浓度最高达 33 μ M 时不抑制 LPS 刺激的 NO 代谢产物亚硝酸盐的累积。

(C)MW01-5-133WH 在激活的 BV-2 细胞中不抑制 LPS 诱导的 iNOS 或 COX-2 的产生。

[0067] 图 23 显示图形和显微照相,说明经 MW01-5-057WH 处理的促炎细胞因子的产生。

(A)MW01-5-057WH 在 BV-2 小神经胶质细胞系中对 LPS 诱导 IL-1 β 增加的浓度依赖性抑制。

(B)MW01-5-057WH 在浓度最高达 33 μ M 时不抑制 LPS 刺激的 NO 代谢产物亚硝酸盐的累积。

(C)MW01-5-057WH 在激活的 BV-2 细胞中不抑制 LPS 诱导的 iNOS 或 COX-2 的产生。

[0068] 图 24A-H 显示图形,说明 MW01-2-151SRM 在 A β 灌注小鼠模型中的体内活性。图形是 MW01-2-151SRM 抑制 A β 诱导的神经炎症和突触损害以及在 Y- 迷宫中的活性。对来自媒介物灌注小鼠(对照)、A β 灌注小鼠(注射溶剂)、和 A β 灌注小鼠(注射 MW01-2-151SRM)的海马切片或提取物,通过测量促炎细胞因子 IL-1 β (A)、TNF α (B)、和 S100B(C)的水平以及 GFAP- 阳性星形胶质细胞 (D)、F4/80 (E)、突触前标记突触囊泡蛋白 (F) 的数目,评价神经炎症;和通过分析突触后密度蛋白质 95 (PSD-95) (G) 的水平和 Y- 迷宫 (H),评价突触损害。数据是来自两个独立的实验之一,且是每实验组 4-5 只小鼠的平均值 +SEM。

[0069] 图 25A-E 显示图形,说明 MW01-2-189SRM 在 A β 灌注小鼠模型中的体内活性。图形是 MW01-2-189SRM 抑制 A β 诱导的神经炎症和突触损害以及在 Y- 迷宫中的活性。对来自媒介物灌注小鼠(对照)、A β 灌注小鼠(注射溶剂)、和 A β 灌注小鼠(MW01-2-189SRM)的海马切片或提取物,通过测量促炎细胞因子 IL-1 β (A) 和 S100B(B) 的水平、突触前标记突触囊泡蛋白 (C),评价神经炎症;和通过分析突触后密度蛋白质 95 (PSD-95) (D) 的水平和 Y- 迷宫 (E),评价突触损害。数据是来自 MW01-2-189SRM 中分析的三个样品。

[0070] 图 26A-E 显示图形,说明 MW01-2-084SRM 在 A β 灌注小鼠模型中的体内活性。图形是 MW01-2-084SRM 抑制 A β 诱导的神经炎症和突触损害以及在 Y- 迷宫中的活性。对来自媒介物灌注小鼠(对照)、A β 灌注小鼠(注射溶剂)、和 A β 灌注小鼠(MW01-2-084SRM)的海马切片或提取物,通过测量促炎细胞因子 IL-1 β (A) 和 S100B(B) 的水平、突触前标记突触囊泡蛋白 (C),评价神经炎症;和通过分析突触后密度蛋白质 95 (PSD-95) (D) 的水平和 Y- 迷宫 (E),评价突触损害。数据是来自每组分析的五个样品。

[0071] 图 27A-E 显示图形,说明 MW01-2-085SRM 在 A β 灌注小鼠模型中的体内活性。图形是 MW01-2-085SRM 抑制 A β 诱导的神经炎症和突触损害以及在 Y- 迷宫中的活性。对来自媒介物灌注小鼠(对照)、A β 灌注小鼠(注射溶剂)、和 A β 灌注小鼠(MW01-2-085SRM)的海马切片或提取物,通过测量促炎细胞因子 IL-1 β (A) 和 S100B(B) 的水平、突触前标记突触囊泡蛋白 (C),评价神经炎症;和通过分析突触后密度蛋白质 95 (PSD-95) (D) 的水平和 Y- 迷宫 (E),评价突触损害。数据是来自 MW01-2-085SRM 中分析的三个样品。

[0072] 图 28A-E 显示图形,说明 MW01-2-057WH 在 A β 灌注小鼠模型中的体内活性。图形是 MW01-2-057WH 抑制 A β 诱导的神经炎症和突触损害以及在 Y- 迷宫中的活性。对来自媒介物灌注小鼠(对照)、A β 灌注小鼠(注射溶剂)、和 A β 灌注小鼠(MW01-2-057WH)的海马切片或提取物,通过测量促炎细胞因子 IL-1 β (A) 和 S100B(B) 的水平、突触前标记突触囊泡蛋白 (C),评价神经炎症;和通过分析突触后密度蛋白质 95 (PSD-95) (D) 的水平和

Y- 迷宫 (E), 评价突触损害。数据是来自 MW01-2-057WH 中分析的三个样品。对 PSD-95 没有显著性影响。

[0073] 图 29 是一种图形, 显示 MW01-2-151SRM(15mg/10ml/kg/po) 的 QTc 间期 (Bazett)。QTc 中的变化为豚鼠中口服施用 15mg/kg 的 MW01-2-151SRM 后的变化。应用 Bazett 公式对心率变化校正 QT 间期。折线代表媒介物 (在蒸馏水中的 2%吐温 80) - 治疗对照中的 QTc 变化的 95%可信限 (平均值 $\pm$ 2SD)。五个治疗动物由各自的符号表示。

[0074] 图 30 是一种图形, 显示索他洛尔 (0.3mg/kg/iv) 的 QTc 间期 (Bazett)。QTc 中的变化为豚鼠中静脉施用 0.3mg/kg 的索他洛尔后的变化。应用 Bazett 公式对心率变化校正 QT 间期。折线代表媒介物 (0.9% NaCl) - 治疗对照中的 QTc 变化的 95%可信限 (平均值 $\pm$ 2SD)。五个治疗动物由各自的符号表示。

[0075] 图 31 是一种图形, 显示 MW01-2-151SRM(15mg/10ml/kg/po) 的 QTc 间期 (Fredericia)。QTc 中的变化为豚鼠中口服施用 15mg/kg 的 MW01-2-151SRM 后的变化。应用 Fredericia 公式对心率变化校正 QT 间期。折线代表媒介物 (在蒸馏水中的 2%吐温 80) - 治疗对照中的 QTc 变化的 95%可信限 (平均值 $\pm$ 2SD)。五个治疗动物由各自的符号表示。

[0076] 图 32 是一种图形, 显示索他洛尔 (0.3mg/kg/iv) 的 QTc 间期 (Fredericia)。QTc 中的变化为豚鼠中静脉施用 0.3mg/kg 的索他洛尔后的变化。应用 Fredericia 公式对心率变化校正 QT 间期。折线代表媒介物 (0.9% NaCl) - 治疗对照中的 QTc 变化的 95%可信限 (平均值 $\pm$ 2SD)。五个治疗动物由各自的符号表示。

[0077] 图 33 是一种图形, 显示在豚鼠中口服施用 MW01-5-188WH(15mg/kg p.o.) 的 QTc 间期。

[0078] 图 34 是 MW01-5-188WH、MW01-2-151SRM、和 MW01-6-189WH 的肝毒性研究结果的图形。通过口服管饲给 C57B1/6 小鼠施用化合物 (2.5mg/kg/天, 每日一次, 为期 2 周)。通过检查组织结构、细胞坏死、和炎症浸润评估组织学上的肝毒性。评分记分范围为 0 (最好) 至 9 (最坏)。MW01-5-188WH、MW01-2-151SRM、和 MW01-6-189WH 与接受媒介物管饲的没有管饲的对照小鼠相比, 在肝毒性记分上没有显示出显著的差异。

[0079] 图 35 显示 MW01-5-188WH 在单剂量口服施用后在血浆和大脑中容易被检测到, 且不会抑制周围组织炎症应答或在慢性口服后不会引起肝损伤。过口服管饲给 C57B1/6 小鼠施用 MW01-5-188WH(2.5mg/kg), 按照本文所述, 在施用后不同的时间上处理血液和大脑, 并确定血浆和脑中的化合物水平。MW01-5-188WH 迅速出现在血浆 (A) 和大脑 (B) 中, 在 15 分钟达到高峰, 然后在 120 分钟内缓慢下降到基础水平。数据是每个时间点上的 3 至 6 只小鼠的 mean_{SEM}。MW01-5-188WH 不抑制血浆中的 IL-1 β (C) 和 TNF- α (D) 增加的生产, 但是抑制相同小鼠大脑中的细胞因子反应 (E, F)。通过口服管饲每日一次给小鼠 (每组 n = 3-6) 施用稀释剂或 MW01-5-188WH(2.5mg/kg) 2 周, 然后用 LPS(10mg/kg, i.p.) 激发 6 个小时。给对照小鼠注射生理盐水。测定血浆和脑上清液中的 IL-1 β 和 TNF- α 水平。数据表示为平均值 $\pm$ SEM, ***p_{0.001}, 显著不同稀释剂。每日口服施用稀释剂 (G) 或 MW01-5-188WH(H) (2.5mg/kg) 不会导致任何组织学上的肝毒性。如 C-F 中的治疗小鼠的代表性肝切片用苏木精和伊红染色。比例尺 (Scale bar), 125 μ m. 188, 用苏木精和伊红染色。比例尺, 125 μ m. 188, MW01-5-188WH。

[0080] 图 36 是两个不同量的两个时期的 MW01-2-151SRM 在应用人 (A, B) 和大鼠 (C, D)

微粒体时的稳定性数据图形。E 和 F 显示与米那普令相比,人 (E) 和 (F) 大鼠微粒体不同时期对 MW01-2-151SRM 的稳定性。

[0081] 图 37 显示合成其中 R^{11} 是苄基、4-吡啶基、异丁基、或甲基的式 I 化合物的合成方案。试剂和条件 :a) $\text{Ph}-\text{CH}_2\text{NH}_2\text{NH}_2$, CH_3COONa , 乙醇, 回流, 29h ;b) POCl_3 , PCL_5 , 120°C , 12h ;c) CH_3COOH_3 , 回流, 5h ;d) 1-(2- 嘧啶基) 哌嗪, 1- 丁醇, 130°C , 41h ;e) POCl_3 , 100°C , 3h ;f) 硼酸, $\text{Pd}(0)$ 。2R = 苄基 ;3R = 4- 吡啶基 ;4R = 异丁基 ;5R = 甲基。

[0082] 图 38 显示合成其中 R^1 是甲基的式 I 化合物的合成方案。

[0083] 图 39 显示合成本发明吡嗪类似物的合成方案。a) NaOH , -41°C , MeOH ;b) Tf_2O , DMAP , 吡啶, rt ;c) 1-(2- 嘧啶基) 哌嗪, DMSO , 60°C 。

[0084] 实施方案的详细说明

[0085] 为方便起见,将说明书、实施例、和所附权利要求中应用的某些术语集中在此。

[0086] 本文通过端点叙述的数值范围包括包含在该范围之内全部数和分数 (例如 1 至 5 包括 1、1.5、2、2.75、3、3.90、4、和 5)。也应当理解,其全部数和分数可假定由术语“约”修饰。术语“约”表示对引用的数进行加或减 0.1-50%、5-50%、或 10-40%,优选 10-20%,更优选 10%或 15%。另外,应当理解“a,”“an,”和“the”包括复数指示物,除非另外明确规定的內容。因而,例如提及包含“化合物”的组合物包括两个或更多个化合物的混合物。

[0087] 本文所用的术语“施用 (administering)”和“给药 (administration)”是指为了预防和 / 或治疗的目的,通过其将治疗有效量的本文所考虑的式 I、II 或 III 的化合物或组合物递送给受试者的过程。按照优良医疗实践施用组合物,应考虑受试者的临床病症、施用部位和方法、剂量、患者年龄、性别、体重、及医师所知的其它因素。

[0088] 本文所用的术语“共同给药”或“共同施用”是指将至少两种化合物或试剂或疗法施用于受试者。在一些实施方案中,两个或多个试剂 / 疗法的共同施用是同时的。在其它实施方案中,第一试剂 / 疗法施用在第二试剂 / 疗法之前。在该方面,各个成分可以单独施用,但在时间上应足够靠近以提供预期效应,特别是有益的、添加的、或协同效应。本领域技术人员理解所用多种试剂 / 疗法的制剂和 / 或给药途径可以变化。用于共同施用的适当剂量可以容易地由本领域技术人员确定。在一些实施方案中,当试剂 / 疗法共同施用时,各个试剂 / 疗法以比它们单独施用的适合剂量更低的剂量施用。因而,共同施用特别合意于这样的实施方案 :其中所述试剂 / 疗法的共同施用可以降低已知潜在有害的 (例如毒性) 试剂的必需剂量。

[0089] 术语“治疗”是指,对于该术语所适用的对象,逆转、减轻、或抑制其疾病或该疾病的一种或多种症状的发展。取决于所述受试者的病症,所述术语也指预防疾病,且包括预防疾病的发作,或预防与疾病有关的症状。治疗可以以急性或慢性方式进行。所述术语也指在受所述疾病折磨之前减轻疾病或与该疾病有关症状的严重性。在折磨之前这样的预防或减轻疾病的严重性是指给受试者施用本发明的化合物或组合物,在施用时所述受试者还没有受到所述疾病的折磨。“预防”也指预防疾病或与该疾病有关的一种或多种症状的复发。“治疗”和“治疗地,”是指如上面“治疗”所定义的治疗的行为。预防和干预的目的是与疾病、病症、或失调作斗争,包括施用活性化合物以预防或延迟症状或并发症的发作,或减轻症状或并发症,或消除疾病、病症、或失调。

[0090] 术语“受试者”、“个体”、或“患者”在这里可互换地使用,且是指动物优选温血

动物诸如哺乳动物。哺乳动物非限制性地包括哺乳类的任何成员。作为本发明公开内容的受试者或患者的哺乳动物可以为灵长目、食肉目、长鼻目、奇蹄目、偶蹄目、啮齿目、和兔形目家族。在其它具体实施方案中,本发明的哺乳动物可以为家犬 (*Canis familiaris*) (狗)、家猫 (*Felis Catus*) (猫)、亚洲象 (*Elephas maximus*) (象)、马 (*Equus Caballus*) (马)、家猪 (*Sus domesticus*) (猪)、*Camelus dromedarius* (骆驼)、*Cervus axis* (鹿)、*Giraffa camelopardalis* (长颈鹿)、欧洲牛 (*Bos taurus*) (牛 / 母牛)、*Copra hircus* (山羊)、*Ovis aries* (绵羊)、小家鼠 (*Mus musculus*) (小鼠)、日本兔 (*Lepus brachyurus*) (兔子)、金仓鼠 (*Mesocricetus auratus*) (仓鼠)、豚鼠 (*Cavia porcellus*) (豚鼠)、*Meriones ungulatus* (沙鼠)、或智人 (*Homo sapiens*) (人类)。在特定的实施方案中,哺乳动物为人。在其它实施方案中,可以治疗动物,所述动物可以为脊椎动物,包括禽类和哺乳动物。在本发明的一个方面,所述术语包括用作食物或作为宠物饲养的驯养动物,包括马、牛、绵羊、家禽、鱼、猪、犬、猫、和动物园动物,山羊、猿 (例如大猩猩或黑猩猩),和啮齿类动物诸如大鼠和小鼠。

[0091] 治疗的一般受试者包括被本文所公开疾病折磨或怀疑已经或正在易患本文所公开疾病的人,或者对本文所公开疾病敏感、正在患或已经患本文所公开疾病的人。受试者可能有或可能没有本文所公开疾病的遗传性倾向。在本发明某些方面的上下文中,术语“受试者”一般指因为以炎症、蛋白激酶调节异常、和 / 或凋亡过程调节异常为特征的病症将要接受或已经接受治疗 (例如施用式 I、II、或 III 的化合物,和任选一种或多种其它试剂) 的个体。在一些方面,受试者可以为健康的受试者。

[0092] 在特定的方面中,受试者显示出认知缺陷和阿尔茨海默氏病神经病理学的体征。在本发明的实施方案中,受试者易感或患有阿尔茨海默氏病。

[0093] 本文所用的术语“健康的受试者”是指受试者,特别是哺乳动物,没有确诊的疾病、病症、衰弱、或失调,更具体而言为已知损害或以其它方式减弱记忆力的疾病、失调、衰弱或失调。

[0094] 本文所用的术语“确诊的”是指通过其体征和症状 (例如,对于常规疗法的抗性),或遗传分析、病理分析、组织学分析等识别疾病。

[0095] 本文所用的术语“调节”是指化合物 (例如式 I、II 或 III 的化合物) 的活性影响 (例如促进或延迟) 细胞功能的一个方面,包括但不限于细胞生长、增殖、细胞凋亡等。

[0096] “治疗有效量”涉及式 I、II 或 III 的活性化合物或者包含同样化合物的组合物的量或剂量,其将导致一种或多种预期效应,特别是一种或多种治疗效应或有益的药理学特性。物质的治疗有效量可以根据因素改变,所述因素诸如受试者的疾病状态、年龄、性别、和重量,和该物质在受试者中引起所需反应的能力。可以调节给药方案,以提供最佳治疗反应或药理学特性。例如,可以每天施用数个分剂量或者剂量可以按照紧急治疗情况的指示按比例减少。

[0097] 术语“预防有效量”是指剂量达到预期预防结果且持续必需时期的有效量。一般地,由于预防剂量在疾病的早期或患病前用于受试者,预防有效量会小于治疗有效量。

[0098] 术语“有益的药理学特性”是指式 I、II 或 III 化合物的量或剂量可提供血浆和 / 或脑中的化合物水平或所需剂量,达到治疗效应以预防、治疗、或控制本文所示疾病的征状,特别为神经炎症性疾病,更特别为阿尔茨海默氏病。本文所用的术语“持续的药理学特

性”是指式 I、II 或 III 的生物学活性化合物在其应用环境中长时间的有效水平。持续的药动学特性可以为每天单次或两次给药,以充分预防、治疗、或控制本文所示疾病的征状。有益的药动学特性可以提供血浆和 / 或脑中持续大约 12 至大约 48 小时、12 小时至大约 36 小时、或 12 小时至大约 24 小时的治疗有效量的式 I、II 或 III 化合物。

[0099] “治疗效应”是指本文公开的组合物尤其制剂或剂型或者方法的效应,包括改善的生物活性、效能、和 / 或更低的副作用风险(例如更低的 QT 相关的副作用风险)。治疗效应可以为持续的治疗效应,所述持续的治疗效应与在用药期间尤其持续用药期间式 I、II 或 III 化合物的连续血浆和 / 或脑浓度相关。治疗效应可以是按照统计分析的统计上的显著效应,所述统计分析为比较式 I、II 或 III 化合物的效果与无该化合物的效果。

[0100] “统计上显著的”或“显著不同的”效应或水平可以表示比标准更高或更低的水平。在本发明的方面中,与没用式 I、II 或 III 的化合物所获的效应相比,差异可以是 1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25 或 50 倍的更高或更低。

[0101] 在一个实施方案,其中疾病为神经炎症性疾病诸如阿尔茨海默氏病,本发明化合物或组合物或治疗的治疗效应可以由以下的一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个、八个或全部,特别以下的五个或更多个,更特别以下的七个或更多个所证明:

[0102] a) 蛋白激酶活性(例如 DAPK)降低,特别地,至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99% 的蛋白激酶活性降低。

[0103] b) 神经胶质活化反应降低,特别地,至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99% 的神经胶质活化反应降低。

[0104] c) 相对于在神经炎症性疾病症状的受试者中缺失式 I、II 或 III 化合物所测定的水平,脑神经胶质活性的降低。特别地,所述化合物诱导至少约 2%、5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90% 的神经胶质活性降低。

[0105] d) 星形细胞活化反应降低,特别地,至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99% 的星形细胞活化反应降低。

[0106] e) 相对于缺失根据本发明的化合物或治疗所测定的水平,脑星形细胞活性的降低。特别地,所述化合物诱导至少约 2%、5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90% 的星形细胞活性降低。

[0107] f) 小神经胶质的活性降低,特别地,至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99% 的小神经胶质活性降低。

[0108] g) 小神经胶质的活化反应降低,特别地,小神经胶质活化反应降低至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99%。

[0109] h) 突触囊泡蛋白和 / 或 PSD-95 丧失的降低,特别地,至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99% 的突触囊泡蛋白和 / 或 PSD-95 丧失的降低。

[0110] i) 氧化应激-相关性反应(例如一氧化氮合酶产生和/或一氧化氮累积)的降低,特别地,至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99% 的氧化应激-相关性反应诸如一氧化氮合酶产生和/或一氧化氮累积的降低。

[0111] j) 细胞凋亡和/或死亡相关的蛋白激酶活性降低,特别地,至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99% 的细胞凋亡和/或死亡相关的蛋白激酶活性降低。

[0112] k) 促炎细胞因子应答的降低,特别地,至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99% 的促炎细胞因子应答的降低。

[0113] l) 白细胞间介素-1 β 和/或肿瘤坏死因子 α 生产的降低,特别地,至少大约 0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%、33%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或 99% 的白细胞间介素-1 β 和/或肿瘤坏死因子 α 生产的降低。

[0114] m) 患有神经炎症性疾病(例如阿尔茨海默氏病)的受试者中疾病进行速率的减缓。

[0115] n) 患有神经炎症性疾病(例如阿尔茨海默氏病)症状的受试者存活的增加。

[0116] 在本发明的特定方面中,本发明的化合物、组合物或治疗的治疗效应可以表现为(a)和(b);(a)、(b)和(c);(a)至(d);(a)至(e);(a)至(f);(a)至(g);(a)至(h);(a)至(i);(a)至(j);和(a)至(k),(a)至(l),(a)至(m),或(a)至(n)。

[0117] 术语“药物上可接受的载体、赋形剂、或媒介物”指不干扰活性成分的效力或活性且对所施用的宿主无毒的介质。载体、赋形剂、或媒介物包括为了制备特定组合物需要的稀释剂、粘合剂、粘附剂、润滑剂、崩解剂、填充剂、润湿或乳化剂、pH 缓冲剂、和混杂物料诸如吸收剂。载体等的实例包括但不限于盐水、缓冲盐水、右旋糖、水、甘油、乙醇、及其组合。这样的介质和试剂对于活性物质的用途是本领域众所周知的。

[0118] 本文公开的式 I、II 或 III 的化合物也包括“药学上可接受的盐”。药学上可接受的盐是指适用于与受试者或患者的组织接触而没有不当毒性、刺激、变态反应等的那些盐,并且与合理的利益/风险比例是相称的。药学上可接受的盐描述在例如 S. M. Berge 等, J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66:1 中。适用的盐包括其中化合物的酸性质子能够与无机或有机碱起反应所形成的盐。适用的无机盐包括与碱金属例如钠和钾、镁、钙、和铝所形成的那些盐。适用的有机盐包括与有机碱诸如胺碱如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇和 N-甲基葡糖胺等所形成的那些盐。适用的盐也包括与无机酸(例如盐酸和氢溴酸)和有机酸(例如醋酸、柠檬酸、马来酸、以及烷烃-和芳烃磺酸诸如甲磺酸和苯磺酸)所形成的酸加成盐。当存在两个酸性基团时,药学上可接受的盐可以为单酸-单盐或二元盐;类似地,当存在两个以上的酸性基团时,这些基团可以部分或全部成盐。

[0119] 式 I、II 或 III 的化合物可以含有一个或多个不对称中心且可以产生对映异构体、非对映异构体、及其它立体异构形式,它们可以按照绝对立体化学定义为(R)-或(S)-型。因而,式 I、II 或 III 的化合物包括全部可能的非对映异构体和对映异构体以及它们消旋的和旋光纯的形式。光学活性的(R)-和(S)-异构体可以利用手性合成子或手性试剂制备,

或利用常规技术拆分制得。当式 I、II 或 III 的化合物含有几何不对称中心时,并且除非另外说明,所述化合物旨在同时包括 E 和 A 几何异构体。全部互变异构形式也包括在式 I、II 或 III 的化合物的范围内。

[0120] 式 I、II 或 III 的化合物包括结晶形式,其可以以多形体存在。与水或普通有机溶剂所形成的化合物溶剂合物也有意包含在该术语内。另外,化合物及其盐的水合物也包含在本发明内。式 I、II 或 III 化合物的前体药物也包含在该术语内。

[0121] 术语“溶剂合物”表示化合物与一种或多种溶剂分子的物理缔合,或通过溶质(例如本发明化合物)和溶剂例如水、乙醇、或醋酸所形成的可变化学计量的复合物。这种物理缔合可涉及多种程度的离子和共价键合,包括氢键合。在某些情况下,溶剂合物可以隔离,例如当一种或多种溶剂分子掺入结晶固体的晶格中时。一般而言,所选溶剂不会干扰溶质的生物活性。溶剂合物包括溶液-相和可隔离的两种溶剂合物。代表性溶剂合物包括水合物、乙醇合物(ethanolate)、甲醇合物(methanolate)等。也包括本发明化合物的脱水、共-结晶、无水、或无定型的形式。术语“水合物”表示其中溶剂分子为 H₂O 的溶剂合物,包括其单水合物、二水合物、和多种多水合物。溶剂合物可以应用本领域已知的方法形成。

[0122] 式 I、II 或 III 结晶化合物可以为游离碱、盐、或共晶体。游离碱化合物可以在适当的溶剂存在下结晶以形成溶剂合物。式 I、II 或 III 化合物的酸性盐(例如盐酸、氢溴酸、苯甲酸)也可用于制备溶剂合物。例如通过应用醋酸或醋酸乙酯,可以形成溶剂合物。溶剂合物分子可以经由氢键、范德华力、或分散力,或任何两种或三种力的组合,形成晶体结构。

[0123] 用于制备溶剂合物的溶剂数量可通过常规试验确定。例如式 I、II 或 III 化合物的一水合物,每当量的本发明化合物应有大约 1 当量的溶剂(H₂O)。然而,取决于所需溶剂合物的选择,可应用更多或更少的溶剂。

[0124] 式 I、II 或 III 化合物可以是无定形或可以有不同结晶的多晶型,可能存在不同的溶剂化或水合状态。通过改变药物的不同形式,就有可能改变其物理性质。例如结晶的多晶型通常彼此有不同的溶解度,热力学上更稳定的晶型比热力学上更少稳定的晶型的溶解度更小。药物多晶型也可以有所不同的性质如贮存期限、生物利用度、形态、蒸气压、密度、颜色、和压缩性。

[0125] 术语“前体药物”是指与母体化合物或活性药物共价键合的衍生物或载体,其在显其药理作用之前至少经历一些生物转化。一般而言,这样的前体药物具有可代谢裂解的基团,且在体内迅速转化例如通过血液中的水解作用以产生母体化合物,通常包括母体化合物的酯和酰胺类似物。制造前体药物的目的是提高化学稳定性,提高患者的接受和依从性,提高生物利用度,延长作用持续时间,提高器官选择性,改善制剂(例如增加水溶性),和/或降低副作用(例如毒性)。一般而言,前体药物本身有弱的或没有生物活性,且在通常条件下是稳定的。前体药物可应用本领域已知的方法容易地由母体化合物制得,所述方法诸如以下所述的那些方法:A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen 和 H. Bundgaard(编),Gordon & Breach,1991,尤其第 5 章:“Design and Applications of Prodrugs”;Design of Prodrugs, H. Bundgaard(编),Elsevier,1985;Prodrugs:Topical and Ocular Drug Delivery, K. B. Sloan(编),Marcel Dekker,1998;Methods in Enzymology, K. Widder 等.(编),Vol. 42, Academic Press,1985,尤其 pp. 309-396;Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 5th Ed.,

M. Wolff(编), John Wiley & Sons, 1995, particularly Vol. 1 和 pp. 172 178 和 pp. 949 982 ;Pro-Drugs as Novel Delivery Systems, T. Higuchi 和 V. Stella(编), Am. Chem. Soc., 1975 ;和 Bioreversible Carriers in Drug Design, E. B. Roche(编), Elsevier, 1987,。

[0126] 前体药物的实例包括但不限于式 I、II 或 III 化合物的羟基官能团的酯(例如醋酸酯、甲酸酯、和苯甲酸衍生物)、和氨甲酸酯(例如 N, N-二甲氨基羰基)等。

[0127] 式 I、II 或 III 的化合物可以包含药学上可接受的共晶体或共晶体盐。药学上可接受的共晶体包括适用于与受试者或患者的组织接触而没有不当毒性、刺激、变态反应且具有和理想药动学性质的共晶体。

[0128] 本文所用的术语“共晶体”是指结晶材料在室温下包括两种或更多种独特的固体,每种含有区别性物理特征,如结构、熔点和熔解热。共晶体可以由活性药物成分(API)形成,共晶体成型可以通过氢键或其他非共价相互作用,诸如 π 堆积(π stacking)和范德华相互作用。在本发明的方面,提供了共晶体,其中共晶体成型剂为第二种 API。在另一个方面,共晶体成型剂不是 API。在另一个方面,共晶体包括一种以上的共晶体成型剂。例如二、三、四、五、更多种共晶体成型剂可掺入 API 共晶体中。药学上可接受的共晶体例如描述在“Pharmaceutical Co-crystals,” Journal of Pharmaceutical Sciences, Volume 95(3) Pages 499-516, 2006。生产共晶体的方法论述在美国专利申请 20070026078 中。

[0129] 共晶体成型剂一般是药学上可接受的化合物,可为例如苯醌、对苯二甲醛、糖精、烟酰胺、乙酸、甲酸、丁酸、苯均三酸、5-硝基间苯二甲酸、金刚烷-1,3,5,7-四羧酸、甲酰胺、琥珀酸、富马酸、酒石酸、苹果酸、酒石酸、丙二酸、苯甲酰胺、扁桃酸、乙醇酸、富马酸、马来酸、尿素、烟酸、哌嗪、对苯二甲醛、2,6-吡啶甲酸、5-硝基间苯二甲酸、柠檬酸、以及烷烃和芳烃磺酸,如甲磺酸和苯磺酸。

[0130] 总的来说,式 I、II 或 III 化合物的所有物理形式旨在本发明的范围内。

[0131] 式 I、II 或 III 的化合物可以是纯的或基本上是纯的。本文所用术语“纯的”一般是指超过 90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 纯度,并且“基本上纯的”是指合成化合物以使所述化合物当被制造或被考虑用于本文公开的组合物或治疗剂量中时,仅具有那些通过常规纯化方法不能容易地也不能适当除去的杂质。

[0132] “任选”或“任选地”表示其后所述的事件或条件除了必须外可以不出现,这种描述包括其中事件或条件出现的情况和其中事件或条件不出现的情况。例如“任选被卤素基团取代的烷基”表示卤素除了必须外可以不存在,这种描述包括其中烷基被卤素基团取代的情形和其中烷基未被卤素基团取代的情形。

[0133] 式 I、II 或 III 的化合物包括衍生物。本文所用的式 I、II 或 III 化合物的术语“衍生物”是指化学改性的化合物,其中化学改性发生在化合物的官能团或环上。式 I、II 或 III 化合物的衍生物的非限制性实例可以包括在所述化合物的任何可利用氮上的 N-乙酰基、N-甲基、N-羟基。可用于式 I、II 或 III 的化合物改性的衍生基团可参见美国专利申请号 20030176437(本文为了所有目的将其全文引入作为参考)。

[0134] 在本发明的方面,式 I、II 或 III 的化合物为药用功能衍生物。“药用功能衍生物”包括任何药学上可接受的式 I、II 或 III 化合物的衍生物,例如酯或酰胺,其在给受试者施用上能够提供(直接或间接地)式 I、II 或 III 的化合物或其活性代谢物或剩余物。对于本领域技术人员来说不需要过度的实验就可以辨别这样的衍生物(例如参见 Burger's

Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 5. sup. th Edition, Vol 1: Principles and Practice, 其阐述了药用功能性衍生物)。

[0135] 式 I、II 或 III 的化合物可以包括载体。使用的载体包括聚合物、碳水化合物、或肽。

[0136] “聚合物”是指包含两个或多个单体亚基的分子, 所述亚基可以是相同的重复亚基或不同的重复亚基。单体一般包括简单结构, 含有碳的低-分子量分子。聚合物可以任选被取代。本发明中可用的聚合物非限制性地包括乙烯基、丙烯基、苯乙烯, 碳水化合物衍生的聚合物, 聚乙二醇 (PEG), 聚氧乙烯, 聚亚甲基二醇类, 聚-1,3-丙二醇 (poly-trimethyleneglycols), 聚乙烯吡咯烷酮, 聚氧化乙烯-聚氧化丙烯嵌段共聚物, 及其共聚物、盐和衍生物。在本发明的方面中, 所述聚合物是聚(2-丙烯酰胺基-2-甲基-1-丙磺酸); 聚(2-丙烯酰胺基-2-甲基-1-丙磺酸-共丙烯腈 (coacrylonitrile), 聚(2-丙烯酰胺基-2-甲基-1-丙磺酸-共-苯乙烯), 聚(乙烯基磺酸); 聚(4-苯乙烯磺酸钠); 和由此衍生的硫酸盐或酯和磺酸盐或酯; 聚(丙烯酸), 聚(甲基丙烯酸盐或酯), 聚(甲基丙烯酸甲酯), 和聚(乙醇)。

[0137] 本文所用的“碳水化合物”是指多羟基醛、或多羟基酮及其衍生物。所述术语包括单糖诸如赤藓糖、阿拉伯糖、阿洛糖、阿卓糖、葡萄糖、甘露糖、蔗糖、木糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖、塔罗糖、己醛糖、果糖、己酮糖、核糖、和戊醛糖。所述术语也包括由单糖单元组成的碳水化合物, 包括二糖类、寡糖类、或多糖类。二糖的实例是蔗糖、乳糖、和麦芽糖。寡糖类一般含有 3 至 9 之间的单糖单元, 多糖类含有大于 10 个单糖单元。除结合到式 I、II 或 III 化合物的位置外, 可以在一个两个、三个或四个位置取代碳水化合物的基团。例如, 可以用一个或多个烷基、氨基、硝基、卤素、硫氢基、羧基、或羟基基团取代碳水化合物, 它们是任选取代的。说明性取代的碳水化合物是葡糖胺, 或半乳糖胺。在本发明的方面中, 所述碳水化合物是糖, 特别是己糖或戊糖并且可以是醛糖或酮糖。糖可以是 D 或 L 系列的一员并且可以包括氨基糖、脱氧糖、和它们的糖醛酸衍生物。在本发明的实施方案中, 其中碳水化合物是己糖, 所述己糖是葡萄糖、半乳糖、或甘露糖, 或取代的己糖糖残基诸如氨基糖残基诸如氨基己糖、半乳糖胺、葡糖胺, 特别是 D-葡糖胺 (2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖) 或 D-半乳糖胺 (2-氨基-2-脱氧-D-半乳糖)。说明性的戊糖类包括阿拉伯糖、岩藻糖、和核糖。

[0138] 糖残基可以以 1,1 键合、1,2 键合、1,4 键合、1,5 键合、或 1,6 键合连接到式 I、II 或 III 的化合物。键合可以经由式 I、II 和 III 化合物的氧原子进行。可以用 -CH₂- 或 -S- 基团一次或多次替换氧原子。

[0139] 术语“碳水化合物”也包括糖蛋白诸如凝集素 (例如伴刀豆球蛋白 A、小麦胚芽凝集素、花生凝集素、血清粘蛋白、和血清类粘蛋白) 和糖脂类诸如脑苷脂和神经节苷脂。

[0140] 用在本发明的实施中的“肽”载体包括通过肽键共价结合的一个、两个、三个、四个、或五个或更多个氨基酸。肽可以包含一种或多种天然存在的氨基酸, 及其类似物、衍生物、和同源物。可以将肽修饰以增加它的稳定性、生物利用度、溶解度等。本文所用的“肽类似物”和“肽衍生物”包括模仿肽化学结构并维持所述肽功能性的分子。用在本发明中的载体可以是氨基酸诸如丙氨酸、甘氨酸、脯氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、天门冬酰胺、丙氨酰-丙氨酰、脯氨酰-甲硫氨酰、或甘氨酰-甘氨酰。载体可以是多肽诸如白蛋白、抗胰蛋白酶、微球蛋白、触珠蛋白、铜蓝蛋白 (caeruloplasm)、传递子 (transferring)、

α -或 β -脂蛋白、 β -或 γ -球蛋白或血纤蛋白原。

[0141] 设计肽类似物、衍生物和模拟物的方法在本领域中是已知的。例如,参见 Farmer, P. S. in Drug Design (E. J. Ariens, 编) Academic Press, New York, 1980, vol. 10, pp. 119-143; Ball, J. B. 和 Alewood, P. F. (1990) J Mol. Recognition 3 :55; Morgan, B. A. 和 Gainor, J. A. (1989) Ann. Rep. Med. Chem. 24 :243; 和 Freidinger, R. M. (1989) Trends Pharmacol. Sci. 10 :270。也参见 Sawyer, T. K. (1995) " Peptidomimetic Design and Chemical Approaches to Peptide Metabolism" in Taylor, M. D. 和 Amidon, G. L. (编) Peptide-Based Drug Design :Controlling Transport and Metabolism, Chapter 17; Smith, A. B. 3rd, 等 . (1995) J. Am. Chem. Soc. 117 :11113-11123; Smith, A. B. 3rd, 等 . (1994) J. Am. Chem. Soc. 116 :9947-9962; 和 Hirschman, R., 等 . (1993) J. Am. Chem. Soc. 115 :12550-12568。

[0142] 肽可以通过某些氨基酸(例如丝氨酸)侧链上的官能团或其它适合的官能团连接到式 I、II 或 III 的化合物。载体可以包含四个或更多个氨基酸,期中基团通过侧链上的官能团连接三个或更多个氨基酸。在一个方面中,所述载体是一个氨基酸,特别是氨基酸的磺酸盐或酯衍生物,例如磺基丙氨酸。

[0143] 术语“烷基”,或者单独或者在其它术语诸如“硫烷基”和“芳基烷基”之内,是指一价的饱和烃基团,其可以是直链(即线性的)或支链。用在本发明中的烷基基团一般包含约 1 至 20 个碳原子,特别是约 1 至 10, 1 至 8 或 1 至 7, 更特别是约 1 至 6 个碳原子,或 3 至 6。说明性的烷基基团包括甲基、乙基、正-丙基、正-丁基、正-戊基、正-己基、异丙基、异丁基、异戊基、戊基、仲-丁基、叔-丁基、叔-戊基、正-庚基、正-辛基、正-壬基、正-癸基、十一烷基、正-十二烷基、正-十四烷基、十五烷基、正-十六烷基、十七烷基、正-十八烷基、十九烷基、二十烷基、dosyl、正-廿四基等,以及它们的支链变体。在本发明的某些方面中,烷基基团为 C_1 - C_6 低级烷基、包含或选自:甲基、乙基、正-丙基、正-丁基、正-戊基、正-己基、异丙基、异丁基、异戊基、戊基、三丁基、仲-丁基、叔-丁基、叔-戊基、和正-己基。烷基基团可以任选用本文限定的取代基在不显著干扰式 I、II 或 III 化合物的制备且不显著减少化合物功效的位置取代。在本发明的某些方面中,将烷基基团用一至五个取代基取代,所述取代基包括卤素、低级烷氧基、低级脂肪族、取代的低级脂肪族、羟基、氰基、硝基、硫代、氨基、酮基、醛、酯、酰胺、取代的氨基、羧基、磺酰基、亚磺酰基、烃硫基(sulfenyl)、硫酸盐或酯、亚砷、取代的羧基、卤代的低级烷基(例如 CF_3)、卤代的低级烷氧基、羟基羰基、低级烷氧基羰基、低级烷基羰基氧基、低级烷基羰基氨基、脂环族(cycloaliphatic)、取代的脂环族、或芳基(例如苯甲基(即苄基))、杂芳基(例如吡啶基)、和杂环(例如哌啶基、吗啉基)。烷基上的取代基它们自身可以是取代的。

[0144] 在本发明的方面中,“取代的烷基”包括被例如一个至五个取代基且优选一个至三个取代基取代的烷基、所述取代基诸如烷基、烷氧基、氧基、烷酰基、芳基、芳烷基、芳氧基、烷酰氧基、环烷基、酰基、氨基、羟基氨基、烷基氨基、芳基氨基、烷氧基氨基、芳烷基氨基、氰基、卤素、羟基、羧基、氨甲酰基、羧基烷基、酮基、硫酮基、硫氢基、烷基硫氢基、芳烷基硫氢基、磺酰胺、硫代烷氧基、和硝基。

[0145] 关于本发明的某些方面,术语“取代的脂肪族”是指具有小于 10 个碳的烷基或烷烃。术语“取代的脂肪族”是指具有小于 10 个碳的烷基或烷烃,其中至少一个脂肪族氢原

子由下列一个基团取代：卤素、氨基、羟基、硝基、硫代、酮、醛、酯、酰胺、低级脂肪族、取代的低级脂肪族、或环（芳基、取代的芳基、脂环族、或取代的脂环族等）。这样的基团实例包括但不限于 1- 氯乙基等。

[0146] 如本文所用，关于本发明的某些方面，术语“低级烷基取代的氨基”是指含有高达并包括八个碳原子的任何烷基单元，其中一个脂肪族氢原子由氨基替换。这样的实例包括但不限于乙基氨基等。

[0147] 如本文所用，关于本发明的某些方面，术语“低级烷基取代的卤素”是指含有高达并包括八个碳原子的任何烷基链，其中一个脂肪族氢原子由卤素替换。这样的实例包括但不限于氯乙基等。

[0148] 本文所用的术语“乙酰氨基”是指乙酰化的任何伯氨基或仲氨基。这样的实例包括但不限于乙酰胺等。

[0149] 本文所用的术语“链烯基”是指包含至少一个双键的不饱和的非环状的支链或直链烃基团。链烯基基团可以含有约 2 至 24 个或 2 至 10 个碳原子，特别是约 3 至 8 个碳原子并且更具体而言约 3 至 6 个碳原子。适合的链烯基基团非限制性包括乙烯基、丙烯基（例如丙 -1- 烯 -1- 基、丙 -1- 烯 -2- 基、丙 -2- 烯 -1- 基（烯丙基）、丙 -2- 烯 -2- 基），丁烯 -1- 基、丁 -1- 烯 -2- 基、2- 甲基 - 丙 -1- 烯 -1- 基、丁 -2- 烯 -1- 基、丁 -2- 烯 -2- 基、丁 -1,3- 二烯 -1- 基、丁 -1,3- 二烯 -2- 基、己烯 -1- 基、3- 羟基己烯 -1- 基、庚烯 -1- 基、和辛烯 -1- 基等。链烯基基团可以类似于烷基任选被取代。

[0150] 在本发明的方面中，“取代的烯基”包括被例如一个至三个取代基且优选一个至两个取代基取代的烯基、所述取代基诸如烷基、烷氧基、卤代烷氧基、烷基烷氧基、卤代烷氧基烷基、烷酰基、烷酰氧基、环烷基、环烷氧基、酰基、酰基氨基、酰氧基、氨基、烷基氨基、烷酰基氨基、氨酰基、氨基酰氧基、氰基、卤素、羟基、羧基、羧基烷基、氨甲酰基、酮基、硫酮基、硫氢基、烷基硫氢基、磺酰基、磺酰胺基、硫代烷氧基、芳基、和硝基等。

[0151] 本文所用的术语“炔基”是指包含一个或多个三键的不饱和的支链或直链的烃基。炔基基团可以含有约 1 至 20、1 至 15、或 2 至 10 个碳原子，特别是约 3 至 8 个碳原子及更特别是约 3 至 6 个碳原子。适合的炔基基团非限制性地包括乙炔基、丙炔基（例如丙 -1- 炔 -1- 基、丙 -2- 炔 -1- 基），丁炔基诸如丁 -1- 炔 -1- 基、丁 -1- 炔 -3- 基、丁 -3- 炔 -1- 基、戊炔基诸如戊炔 -1- 基、戊炔 -2- 基、4- 甲氧基戊炔 -2- 基和 3- 甲基丁炔 -1- 基、己炔基例如己炔 -1- 基、己炔 -2- 基、己炔 -3- 基、和 3,3- 二甲基丁炔 -1- 基基团等。在本发明的方面中，炔基基团包括乙烯基 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$)，正 - 丙烯基 ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$)，异 - 丙烯基 ($-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$) 等。炔基可以类似于烷基任选被取代。术语“环炔基”是指环状的炔基基团。

[0152] 在本发明的方面中，“取代的炔基”包括被例如取代基取代的炔基、所述取代基诸如烷基、烷氧基、烷酰基、烷酰氧基、环烷基、环烷氧基、酰基、酰基氨基、酰氧基、氨基、烷基氨基、烷酰基氨基、氨酰基、氨基酰氧基、氰基、卤素、羟基、羧基、羧基烷基、氨甲酰基、酮基、硫酮基、硫氢基、烷基硫氢基、磺酰基、磺酰胺基、硫代烷氧基、芳基、和硝基等。

[0153] 本文所用的术语“亚烷基”指具有约 1 至 10 个、1 至 8 个、或 2 至 6 个碳原子并且具有用于两个或多个共价键的结合点的直链或支链基团。这样的基团实例是亚甲基、1,2- 亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基、亚己基、亚乙基、甲基亚乙基、和异亚丙基。当亚烷基基团作

为取代基在另一个基团上存在时,一般将其认为是单取代基而不是由两个取代基形成的基团。

[0154] 本文所用的术语“亚烯基”是指具有至少一个双键约 2 至 10 个、2 至 8 个或 2 至 6 个碳原子的,且具有用于两个或多个共价键结合点的直链或支链的基团。亚烯基基团的实例包括 1,1-亚乙烯基 ($-\text{CH}_2 = \text{C}-$)、1,2-亚乙烯基 ($-\text{CH} = \text{CH}-$)、和 1,4-丁二烯基 ($-\text{CH} = \text{CH}-\text{CH} = \text{CH}-$)。

[0155] 本文所用的术语“卤素”是指诸如氟、氯、溴或碘原子的卤素。

[0156] 本文所用的术语“羟基 (hydroxyl)”或“羟基 (hydroxy)”是指 $-\text{OH}$ 基团。

[0157] 本文所用的术语“氰基”是指四个中的三个共价键由氮原子共享的碳基团,特别是 $-\text{C} \equiv \text{N}$ 。氰基基团可以用本文所述的取代基取代。

[0158] 本文所用的术语“烷氧基”是指具有烷基部分为一至约十个碳原子的直链的或支链的含氧基团,诸如甲氧基基团,其可以是取代的。在本发明的方面中,烷氧基基团可以包含约 1-10、1-8、1-6 或 1-3 个碳原子。在本发明的实施方案中,烷氧基基团包括约 1-6 个碳原子且包括 C_1-C_6 烷基 $-\text{O}-$ 基团,其中 C_1-C_6 烷基具有本文所述的含义。烷氧基基团的实例非限制性地包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、异丙氧基和叔-丁氧基烷基。“烷氧基”基团可以任选被一个或多个本文公开的取代基取代,所述取代基包括提供“烷基烷氧基”基团的烷基原子;提供“卤代烷氧基”基团(例如氟甲氧基、氯甲氧基、三氟甲氧基、二氟甲氧基、三氟乙氧基、氟乙氧基、四氟乙氧基、五氟乙氧基、和氟丙氧基)和“卤代烷氧基烷基”基团(例如氟甲氧基甲基、氯甲氧基乙基、三氟甲氧基甲基、二氟甲氧基乙基、和三氟乙氧基甲基)的卤素原子诸如氟、氯或溴。

[0159] 本文所用的术语“链烯氧基”是指具有链烯基部分为约 2 至 10 个碳原子的直链的或支链的含氧基团,诸如乙烯基氧基或丙烯基氧基。链烯氧基基团可以是具有约 2 至 6 个碳原子的“低级链烯氧基”基团。链烯氧基基团的实例非限制性地包括乙烯基氧基、丙烯基氧基、丁烯基氧基、和异丙烯基氧基烷基。“链烯氧基”基团可以被一个或多个本文公开的取代基取代,所述取代基包括卤素原子诸如氟、氯或溴,以提供“卤代链烯氧基”基团(例如三氟乙烯基氧基、氟乙烯基氧基、二氟乙烯基氧基、和氟丙烯基氧基)。

[0160] “碳环”包括从饱和的或不饱和的,取代的或未取代的 5 至 14 元有机核衍生的基团,其形成环的原子(除氢以外)仅是碳。碳环基团的实例是环烷基、环烯基、芳基、特别是苯基、萘基、降冰片烷基、二环庚二烯基、甲苯基、二甲苯基、茚基、茈基(stilbenyl)、联苯基、二苯基乙烯基、苯基环己基、茚烯基(acenaphththienyl)、蒽基、联苯基、联苄基和相关的联苄基类似物、八氢萘基、四氢萘基、八氢喹啉基、二甲氧基四氧萘基等。

[0161] 本文所用的术语“环烷基”是指具有约 3 至 15 个、3 至 10 个、3 至 8 个、或 3 至 6 个碳原子并含有一、二、三、或四个环的基团,其中这些环可以以悬垂方式连接或可以稠合。在本发明的方面中,“环烷基”是指任选取代的包含 1-2 个环且每个环 3 至 7 个碳的饱和烃环系统,其可以进一步与不饱和 C_3-C_7 碳环稠合。环烷基的实例包括单环结构诸如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十二烷基等,或多环结构诸如金刚烷基等。在本发明的某些方面中,环烷基基团是具有约 3 至 10 个、3 至 8 个、3 至 6 个、或 3 至 4 个碳原子的“低级环烷基”基团,特别是环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。术语“环烷基”包含其中环烷基与芳基或杂环基稠合的基团。环烷基基团可以任选被本文

公开的基团取代。

[0162] 在本发明的方面中,“取代的环烷基”包括具有 1 至 5 个(尤其 1 至 3 个)取代基的环烷基,所述取代基非限制性包括烷基、链烯基、烷氧基、环烷基、取代的环烷基、酰基、酰基氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨基酰基氧基、氧基酰基氨基、氰基、卤素、羟基、羧基、羧基烷基、酮基、硫酮基、硫氢基、硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、羟基氨基、烷氧基氨基和硝基。

[0163] 如本文所用,关于本发明的某些方面,术语“脂环族”是指拥有小于 8 个碳的环烷烃或由至多三个稠合的脂环族环组成的稠环系统。这样基团的实例包括但不限于萘烷等。

[0164] 如本文所用,关于本发明的某些方面,术语“取代的脂环族”是指拥有小于 8 个碳的环烷烃或由至多三个稠环组成的稠环体系,且其中至少一个脂肪族氢原子已经被下列一个基团替换:卤素、硝基、硫代、氨基、羟基、酮、醛、酯、酰胺、低级脂肪族、取代的低级脂肪族、或环(芳基、取代的芳基、脂环族、或取代的脂环族)。这样基团的实例包括但不限于 1-氯癸基(1-chlorodecyl)等。

[0165] 本文所用的术语“环链烯基”是指包含约 4 至 16 个、2 至 15 个、2 至 10 个、2 至 8 个、4 至 10 个、3 至 8 个、3 至 7 个、3 至 6 个、或 4 至 6 个碳原子,一个或多个碳-碳双键,和一、二、三、或四个环的基团,其中这些环可以以悬垂方式连接或者可以稠合。在本发明的某些方面中,环链烯基基团是具有三至七个碳原子的“低级环链烯基”基团。环链烯基基团的实例非限制性地包括环丁烯基、环戊烯基、环己烯基和环庚烯基。环链烯基基团可以任选被本文公开的基团取代,特别是被 1、2、或 3 个取代基取代,所述取代基可以是相同的或不同的。

[0166] 本文所用的术语“环烷氧基”是指与氧基结合环的环烷基基团(特别地,环烷基基团具有 3 至 15、3 至 8 或 3 至 6 个碳原子)。环烷氧基基团的实例包括环己氧基和环戊氧基。环烷氧基基团可以任选被本文公开的基团取代。

[0167] 本文所用的单独的或组合的术语“芳基”是指含有一、二或三个环的碳环芳族体系,其中这些环可以以悬垂方式连接在一起或可以稠合。在本发明的方面中,芳基基团包含 4 至 24 个碳原子,尤其 4 至 10 个、4 至 8 个、或 4 至 6 个碳原子。说明性的“芳基”基团非限制性地包括芳基诸如苯基、苄基、萘基、茛基、苯并环辛烯基、苯并环庚烯基、并环戊二烯基、甘菊环基、四氢萘基、茛满基、联苯基、茚烯基、茛基、phenalenyl、菲基、和蒽基、优选苯基。

[0168] 芳基可以任选被本文公开的基团取代,特别是羟基、烷基、羧基、羧基、硫氢基、氨基、和/或卤素,特别是取代的芳基非限制性地包括芳基胺和芳基烷基胺。

[0169] 如本文所用,关于本发明的某些方面,术语“取代的芳基”包括芳环,或由至多三个稠环(其中至少之一是芳环)所组成的稠环体系,并且其中至少一个环碳上的氢原子已经被下列一个基团替换:卤素、氨基、羟基、硝基、硫基、烷基、酮、醛、酯、酰胺、低级脂肪族、取代的低级脂肪族、或环(芳基、取代的芳基、脂环族、或取代的脂环族)。这样的实例包括但不限于羟基苯基、氯苯基等。

[0170] 在本发明的方面中,芳基基团可以任选被一个至四个取代基取代,所述取代基诸如烷基、取代的烷基、链烯基、取代的链烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、芳烷基、卤素、三氟甲氧基、三氟甲基、羟基、烷氧基、烷酰基、烷酰基氧基、芳氧基、芳烷基氧基、氨基、烷基氨基、芳基氨基、芳烷基氨基、二烷基氨基、烷酰基氨基、硫氢基、烷基硫基、脲基、硝

基、氰基、羧基、羧基烷基、氨甲酰基、烷氧基羰基、烷基硫羰基、芳基硫羰基、芳基磺酰基胺、磺酸、烷基磺酰基、磺酰基氨基、和芳氧基等。取代基可以进一步被羟基、卤素、烷基、烷氧基、链烯基、炔基、芳基或芳烷基取代。在本发明的一个方面中，芳基基团被羟基、烷基、羰基、羧基、硫氢基、氨基、和 / 或卤素取代。

[0171] 术语“芳烷基”是指直接与烷基键合的芳基或取代的芳基、诸如苄基。取代的芳基的其它具体实例包括氯苄基和氨基苄基。

[0172] 本文所用的术语“芳氧基”是指与氧原子结合的如上所定义的芳基。例举性的芳氧基基团包括萘基氧基、喹啉基氧基、异喹啉基氧基等。

[0173] 本文所用的术语“芳基烷氧基”是指与烷氧基结合的如上所定义的芳基。芳基烷氧基的代表性实例包括但不限于 2- 苄乙氧基、3- 萘-2- 基丙氧基、和 5- 苯基戊氧基。

[0174] 本文所用的术语“芳酰基”是指与如上所定义羰基基团结合的如上所定义的芳基、非限制性地包括苯甲酰基和甲苯酰基。芳酰基基团可以任选被本文公开的基团取代。

[0175] 本文所用的术语“杂芳基”是指完全不饱和的含有杂原子的环形的芳族基团，具有至少一个选自碳、氮、硫和氧的杂原子。杂芳基基团可以含有一、二或三个环并且所述环可以以悬垂方式连接或者可以稠合。在本发明的一个方面中，该术语是指完全不饱和的含有杂原子的环形的芳族基团，具有 3 至 15、3 至 10、3 至 8、5 至 15、5 至 10、或 5 至 8 个选自碳、氮、硫和氧的环成员，其中至少一个环原子为杂原子。“杂芳基”基团的实例非限制性地包括，含有 1 至 4 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2- 吡啶基、3- 吡啶基、4- 吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基和四唑基等；含有 1 至 5 个氮原子的不饱和稠合杂环基团，特别是吲哚基、异吲哚基、中氮茛基、苯并咪唑基、喹啉基、异喹啉基、吲唑基、喹唑啉基、蝶啶基、喹诺里西啶基、酞嗪基、二氮杂萘基、喹噁啉基、噌啉基、菲啶基、吡啶基、菲咯啉基、吩嗪基、呋唑基、嘌呤基、苯并咪唑基、喹啉基、异喹啉基、苯并三唑基、四唑并哒嗪基等；含有氧原子的不饱和 3 至 6 元杂单环基团，特别是 2- 呋喃基、3- 呋喃基和吡喃基等；含有硫原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，特别是噻吩基、2- 噻吩基和 3- 噻吩基等；含有 1 至 2 个氧原子和 1 至 3 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，特别是呋咱基、苯并呋咱基、噁唑基、异噁唑基和噁二唑基；含有 1 至 2 个氧原子和 1 至 3 个氮原子的不饱和稠合杂环基、特别是苯并噁唑基和苯并噁二唑基等；含有 1 至 2 个硫原子和 1 至 3 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，例如噻唑基、异噻唑基和噻二唑基等；含有 1 至 2 个硫原子和 1 至 3 个氮原子的不饱和稠合杂环基团诸如苯并噻唑基和苯并噻二唑基等。所述术语也包括其中杂环基团与芳基基团稠合的基团，特别是二环基团如苯并呋喃基、苯并噻吩基、酞嗪基、色烯基、咕吨基等。杂芳基基团可以任选用本文公开的基团取代，例如用烷基、氨基、卤素等，特别是杂芳基胺。

[0176] 在本发明的一个方面中，该术语是指含有 1 至 4 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2- 吡啶基、3- 吡啶基、4- 吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基和四唑基等。

[0177] 杂芳基基团可以任选用本文公开的基团取代，例如用烷基、氨基、卤素等，尤其取代的杂芳基基团为杂芳基胺。

[0178] 术语“杂环”是指饱和的和部分饱和的含有杂原子的环状基团，具有至少一个选自碳、氮、硫和氧的杂原子。杂环基团可以含有一、二或三个环，其中这样的环可以以悬垂方式

连接或可以稠合。在一个方面中,该术语是指饱和的和部分饱和的含有杂原子的环状基团,具有大约 3 至 15、3 至 10、5 至 15、5 至 10、或 3 至 8 个选自碳、氮、硫和氧的环成员,其中至少一个环原子为杂原子。例举性的饱和杂环基团非限制性地包括含有 1 至 4 个氮原子的饱和的 3 至 6-元杂单环基团[例如吡咯烷基、咪唑烷基、哌啶基和哌嗪基];含有 1 至 2 个氧原子和 1 至 3 个氮原子的饱和的 3 至 6-元杂单环基团[例如吗啉基;悉尼酮基];和含有 1 至 2 个硫原子和 1 至 3 个氮原子的饱和的 3 至 6-元杂单环基团[例如噻唑烷基]等。部分饱和的杂环基团的实例非限制性地包括二氢噻吩,二氢吡喃基、二氢呋喃基和二氢噻唑基。例举性的杂环基团非限制性地包括氮丙啶基、氮杂环丁烷基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、吡咯烷基、氮杂卓基、1,3-二氧戊环基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、哌啶基、1,4-二噁烷基、吗啉基、吡唑基、1,4-二噻烷基、硫代吗啉基、1,2,3,6-四氢吡啶基、环氧乙烷基、环氧丁基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢吡啶基、四氢硫代吡喃基、噻噁烷基、二氢吡啶基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二噁烷基、1,3-二氧戊环基、吡唑基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二氢呋喃基、吡唑烷基、咪唑基、咪唑烷基、3H-吡啶基、奎宁环基、和喹啉基等。在式 II 的一些化合物中,其中当 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} , 和 R^{17} 为氢时、 R^{11} 不为哌啶基。

[0179] 如本文所用,关于本发明的某些方面,术语“杂环的”是指拥有小于 8 个碳或由至多三个稠环组成的稠环体系的环境烷烃和 / 或芳基环状体系,其中至少一个环碳原子被氧、氮或硫替换。这样基团的实例包括但不限于吗啉代等。

[0180] 如本文所用,关于本发明的某些方面,术语“取代的杂环”是指拥有小于 8 个碳或由至多三个稠环组成的稠环体系的环境烷烃和 / 或芳基环状体系,其中至少一个环碳原子被氧、氮或硫替换,并且其中至少一个脂肪族氢原子被下列一个基团替换:卤素、羟基、硫代、硝基、氨基、酮、醛、酯、酰胺、低级脂肪族、取代的低级脂肪族、或环(芳基、取代的芳基、脂环族,或取代的脂环族)。这样基团的实例包括但不限于 2-氯吡喃基。

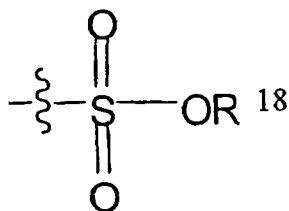
[0181] 上述的杂芳基和杂环基团可以是 C-连接的或 N-连接的(在这可能时)。

[0182] 本文单独或与其它术语如烷基磺酰基或芳基磺酰基结合使用的术语“磺酰基”,是指二价基团 $-SO_2$ 。在本发明的方面中,磺酰基团可以结合到取代或未取代的羟基、烷基、酰基、链烯基、炔基、芳基、环烷基、环烯基、环炔基、杂环基、碳水化合物、肽、或肽衍生物上。

[0183] 单独或与其它术语如烷基亚磺酰基(即 $-S(O)-$ 烷基)或芳基亚磺酰基结合使用的术语“亚磺酰基”,是指二价基 $-S(O)-$ 。

[0184] 术语“磺酸盐或酯”是本领域公知的,包括下式表示的基团:

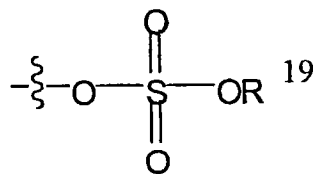
[0185]



[0186] 其中 R^{18} 为电子对、氢、烷基、环烷基、芳基、链烯基、炔基、环链烯基、环炔基、杂环基、碳水化合物、肽、或肽衍生物。

[0187] 单独或与其它术语结合使用的术语“硫酸盐或酯”是本领域公知的,包括可用下式表示的基团:

[0188]



[0189] 其中 R^{19} 为电子对、氢、烷基、链烯基、炔基、环烷基、环链烯基、环炔基、芳基、杂环基、碳水化合物、肽、或肽衍生物。

[0190] 术语“亚砷”是指基团 $-\text{S}=\text{O}$ 。

[0191] 本文单独或组合使用的术语“氨基”，是指其中将氮原子 (N) 结合到三个取代基上的基团，所述取代基是下列基团的任何组合：氢、羟基、烷基、环烷基、链烯基、炔基、芳基、甲硅烷基、杂环基、或杂芳基、所述基团可以是取代的或者未取代的。通常“氨基”具有通用化学式 $-\text{NR}^{20}\text{R}^{21}$ ，其中 R^{20} 和 R^{21} 可以是下列基团的任何组合：氢、羟基、烷基、环烷基、烷氧基、链烯基、炔基、芳基、羰基羧基、氨基、甲硅烷基、杂芳基、或杂环，所述基团可以是取代的或不取代的。任选所述氮原子的一个取代基可以是羟基基团 ($-\text{OH}$) 以提供称为羟基胺的胺。氨基基团的例举性实例是氨基 ($-\text{NH}_2$)、烷基氨基、酰基氨基、环氨基、非环烷基氨基、芳基氨基、芳基烷基氨基、和低级烷基甲硅烷基氨基、特别是甲氨基、乙氨基、二甲氨基、2-丙氨基、丁氨基、异丁氨基、环丙氨基、苄基氨基、烯丙基氨基、羟基氨基、环己基氨基、哌啶基、胍基、苄基氨基、二苯基甲基氨基、三苯甲基氨基、三甲基甲硅烷基氨基、和二甲基-叔-丁基甲硅烷基氨基，其可以是取代的或者是未取代的。

[0192] 本文所用的术语“硫氢基”是指 $-\text{SH}$ 。硫氢基可以被本文公开的取代基取代，特别是烷基（硫代烷基），芳基（硫代芳基），烷氧基（硫代烷氧基）或羧基。

[0193] 单独或与其它术语如烷基烃硫基结合使用的术语“烃硫基”，是指基团 $-\text{SR}^{22}$ ，其中 R^{22} 不是氢。在本发明的方面中， R^{22} 是取代的或未取代的烷基、环烷基、链烯基、炔基、芳基、甲硅烷基、甲硅烷基烷基、杂环基、杂芳基、羰基、氨基甲酰基、烷氧基、或羧基。

[0194] 本文单独或组合使用的术语“硫代烷基”，是指其中硫原子 (S) 与烷基结合的化学官能团，所述烷基可以是取代的。硫代烷基的实例是硫代甲基、硫代乙基和硫代丙基。硫代烷基可以被取代的或者非取代的羧基、芳基、杂环、羰基、或杂环所取代。

[0195] 本文单独或组合使用的术语“硫代芳基”，是指其中硫原子 (S) 与芳基基团结合的化学官能团，具有通用化学式 $-\text{SR}^{23}$ ，其中 R^{23} 是芳基、所述芳基可以是取代的。硫代芳基基团和取代的硫代芳基基团的说明性实例是苯硫基、氯苯硫基、对-氯苯硫基、硫代苄基、4-甲氧基-苯硫基、4-硝基-苯硫基、和对-硝基硫代苄基。

[0196] 本文单独或组合使用的术语“硫代烷氧基”是指其中硫原子 (S) 与烷氧基结合的化学官能团，具有通用化学式 $-\text{SR}^{24}$ 其中 R^{24} 是烷氧基、所述烷氧基可以是取代的。“硫代烷氧基基团”可以具有 1-6 个碳原子即 $-\text{S}-(\text{O})-\text{C}_1-\text{C}_6$ 烷基基团，其中 C_1-C_6 烷基具有如上所定义的含义。具有 1 至 6 个碳原子的直链或支链的硫代烷氧基基团 (group) 或基团 (radical) 的说明性实例，也称为 C_1-C_6 硫代烷氧基、包括硫代甲氧基和硫代乙氧基。

[0197] 硫氢基可以被取代的或未取代的杂芳基或杂环的取代，特别是取代的或未取代的含有 1 至 4 个氮原子的饱和的 3 至 6-元杂单环基团 [例如吡咯烷基、咪唑啉基、哌啶基、和哌嗪基] 或含有 1 至 2 个氧原子和 1 至 3 个氮原子的饱和的 3 至 6-元杂单环基团 [例如

吗啉基；悉尼酮基]，特别是取代的吗啉基或哌啶基所取代的。

[0198] 本文所用的术语“羰基”是指四个共价键的两个与氧原子共享的碳原子团。

[0199] 本文单独和组合使用的术语“羧基”是指 $-C(O)OR^{25}$ 或 $-C(=O)OR^{25}$ ，其中 R^{25} 是氢、烷基、链烯基、炔基、环烷基、环链烯基、氨基、硫氢基、芳基、杂芳基、硫代烷基、硫代芳基、硫代烷氧基、杂芳基、或杂环基，它们可以是任选取代的。在本发明的一个方面中，羧基基团可以为酯化形式，且可以包含酯化基团低级烷基。在本发明的特定方面中， $-C(O)OR^{25}$ 提供酯或氨基酸衍生物。酯化形式也具体是指“羧酸酯”。在本发明的一个方面中，“羧基”可以是取代的，特别是被烷基取代的，所述烷基任选被一个或多个氨基、胺、卤素、烷基氨基、芳基、羧基或杂环取代。羧基基团的实例是甲氧基羰基、丁氧基羰基、叔烷氧基羰基诸如叔丁氧基羰基、具有一个或两个芳基基团的芳基甲氧基羰基，其非限制性地包括任选由例如低级烷基、低级烷氧基、羟基、卤素、和 / 或硝基取代的苯基、诸如苄氧基羰基、甲氧基苄氧基羰基、二苯基甲氧基羰基、2- 溴乙氧基羰基、2- 碘乙氧基羰基叔丁基羰基、4- 硝基苄氧基羰基、二苯基甲氧基 - 羰基、苯羟基羰基 (benzhydroxycarbonyl)、二 - (4- 甲氧苯基 - 甲氧基羰基、2- 溴乙氧基羰基、2- 碘乙氧基羰基、2- 三甲基甲硅烷基乙氧基羰基、或 2- 三苯基甲硅烷基乙氧基羰基。另外的酯化形式的羧基基团是甲硅氧基羰基基团，包括有机的甲硅氧基羰基。这些化合物中的硅取代基可以被低级烷基（例如甲基）、烷氧基（例如甲氧基）、和 / 或卤素（例如氯）取代。硅取代基的实例包括三甲基甲硅烷基和二甲基叔丁基甲硅烷基。在本发明的方面中，羰基可以是烷氧基羰基、特别是甲氧基羰基、乙氧基羰基、异丙氧基羰基、叔丁氧基羰基、叔戊氧基羰基、或庚氧基羰基、特别是甲氧基羰基或乙氧基羰基。

[0200] 本文单独和组合使用的术语“氨基甲酰基”是指结合到羰基基团中两个非共享键之一的氨基、单烷基氨基、二烷基氨基、单环烷基氨基、烷基环烷基氨基、和二环烷基氨基基团。

[0201] 本文所用的术语“羧酰胺”是指基团 $-CONH-$ 。

[0202] 本文所用的术语“硝基”是指基团 $-NO_2-$ 。

[0203] 本文单独和组合使用的术语“酰基”是指与选自下列基团结合的羰基或硫代羰基，所述基团例如任选取代的氢根 (hydrido)、烷基（例如卤代烷基）、链烯基、炔基、烷氧基（“酰氧基”包括乙酰氧基、丁酰氧基、异 - 戊酰氧基、苯基乙酰氧基、苯甲酰氧基、对 - 甲氧基苯甲酰氧基、和取代的酰氧基诸如烷氧基烷基和卤代烷氧基）、芳基、卤素，杂环基、杂芳基、亚磺酰基（例如烷基亚磺酰基烷基）、磺酰基（例如烷基磺酰基烷基）、环烷基、环链烯基、硫代烷基、硫代芳基、氨基（例如烷基氨基或二烷基氨基）、和芳烷氧基。“酰基”基团的说明性实例是甲酰基、乙酰基、2- 氯乙酰基、2- 溴乙酰基、苯甲酰基、三氟乙酰基、邻苯二甲酰基、丙二酰基、和烟酰基等。

[0204] 在本发明的一个方面中，“酰基”是指基团 $-C(O)R^{26}$ ，其中 R^{26} 是氢、烷基、环烷基、环杂烷基、芳基、芳基烷基、杂烷基、杂芳基、和杂芳基烷基。实例包括但不限于甲酰基、乙酰基、环己基羰基、环己基甲基羰基、和苯甲酰基等。

[0205] 本文所用的术语“磷酸酯”是指 $C-PO(OH)_2$ 或 $C-PO(OR^{27})_2$ 基团，其中 R^{27} 为可取代的烷基或芳基。

[0206] 本文所用的“脲基”是指基团 $-NHCONH-$ 。脲基基团包括烷基脲基，包含被烷基取代的脲基，特别是与脲基末端氮结合的低级烷基。烷基脲基的实例非限制性地包括 N' - 甲

基脲基、N' - 乙基脲基、N' - 正丙基脲基、N' - 异丙基脲基等。脲基基团也包括含有基团 -NHCON 的 N'，N' - 二烷基脲基基团，其中末端氮结合两个任选取代的基团，所述基团包括烷基、芳基、杂环基、和杂芳基。

[0207] 本文对于基团所用的包括“烷基”、“烷氧基”、“链烯基”、“炔基”、“羟基”等的术语是指未取代的和取代的基团。本文所用的术语“取代的”是指指定原子（例如氢）上的任何一个或多个部分是被选自本文公开的基团替换，条件是不超过所指定原子的正常价，并且所述取代导致稳定的化合物。取代基和 / 或基团的组合是可允许的，只要这样的组合产生稳定的化合物。“稳定的化合物”是指充分稳固的化合物，可以从反应混合物中经分离达到有效纯度，且可以制成有效的治疗剂。

[0208] 对于本领域技术人员来说显然可以用一个或多个基团或取代基将式 I、II 或 III 的化合物中的官能团或环修饰，或将式 I、II 或 III 的化合物中的基团取代，所述基团或取代基非限制性地包括烷基、烷氧基、链烯基、炔基、烷酰基、亚烷基、亚链烯基、羟基烷基、卤代烷基、卤代亚烷基、卤代链烯基、烷氧基、链烯氧基、链烯氧基烷基、烷氧基烷基、芳基、烷基芳基、卤代烷氧基、卤代链烯氧基、杂环基、杂芳基、烷基磺酰基、亚磺酰基、磺酰基、炔硫基、烷基亚磺酰基、芳烷基、杂芳烷基、环烷基、环链烯基、环烷氧基、环链烯氧基、氨基、氧基、卤素、叠氮基、硫代、= O、= S、氰基、羟基、膦酸根 (phosphonato)、亚膦酸根 (phosphinato)、硫代烷基、烷基氨基、芳基氨基、芳基磺酰基、烷基羰基、芳基羰基、杂芳基羰基、杂芳基亚磺酰基、杂芳基磺酰基、杂芳基氨基、杂芳氧基、杂芳氧基烷基、芳基乙酰氨基、芳氧基、芳酰基、芳烷酰基、芳烷氧基、芳氧基烷基、卤代芳氧基烷基、杂芳酰基、杂芳烷酰基、杂芳烷氧基、杂芳烷氧基烷基、硫代芳基、芳基硫代烷基、烷氧基烷基、和酰基基团。这些基团或取代基自身可以是取代的。可用于修饰式 I 化合物的衍生基团也可参见于美国专利申请号 20030176437。

[0209] 如果化学取代基与基团的原子结合，它是与该基团“悬垂的”。在上下文中，取代基可以是与基团的碳原子（通过增链剂将碳原子连接至所述基团碳原子）或所述基团的杂原子悬垂的 (pendent)。术语“稠合的”是指通过共同具有两个相邻的原子或与第一个环共享即结合或形成）而存在第二个环。

[0210] “剂型”是指组合物或装置，包含式 I、II 或 III 的化合物和任选的药物上可接受载体、赋形剂、或媒介物。剂型可以为立即释放剂型或持续释放剂型。

[0211] “立即释放剂型”是指不包括持续释放成分（即活性化合物缓慢崩解或溶出的成分）的剂型。这些剂型一般依靠药物基质的组合，以产生活性成分剂的迅速释放效应。

[0212] “持续释放剂型”是指多数小时释放活性化合物的剂型。在一个方面，持续剂型包括活性化合物缓慢崩解或溶出的成分。剂型可以为设计有或无初始延迟时期的持续释放制剂。持续释放剂型可以在持续时期不断释放药物，所述持续时期至少约 4 个小时或以上、约 6 个小时或以上、约 8 个小时或以上、约 12 个小时或以上、约 15 个小时或以上、约 20 小时至 24 日小时。持续释放剂型可以制定成多种形式，包括片剂、锭剂、软胶囊、口腔贴片剂、混悬液、溶液、凝胶等。在本发明的方面，持续释放形式导致施用最低数量的日剂量。

[0213] 可以利用本发明化合物、组合物、或方法治疗和 / 或预防的“疾病”包括下列一种或多种相关的或需要调节的病症：炎症（例如神经炎症）；涉及炎症（例如神经炎症）的信号途径；细胞信号分子生产；神经胶质的激活或神经胶质激活途径和应答；促炎细胞因子

或趋化因子（例如白细胞间介素（IL）尤其 IL-1 β ）或肿瘤坏死因子（TNF，尤其 TNF α ）；星形细胞的激活或星形细胞激活途径和应答；小神经胶质的激活或小神经胶质激活途径和应答；氧化应激-相关性应答诸如氧化氮合酶生产和一氧化氮积累；急性期蛋白；突触囊泡蛋白和 / 或 95 损失；补体级联系统的组分；突触功能损失或降低；蛋白激酶活性（例如死亡有关的蛋白激酶活性）；细胞损伤（例如神经元细胞损伤）；细胞死亡（例如神经元细胞死亡）；淀粉样斑块的 β 淀粉样蛋白沉积；和行为缺损。

[0214] 特别地，疾病是神经性疾病或病症，包括但不限于痴呆性病症、神经变性病症、CNS 脱髓鞘病症、疼痛病症、自身免疫性病症、或外周炎性疾病。

[0215] 疾病可以以炎性过程为特征，归因于促淀粉样形成蛋白质或肽所激活的巨噬细胞的存在。因而，本发明的方法可涉及抑制巨噬细胞激活和 / 或抑制炎性过程。方法包括减少、减慢、改善、或逆转患者中巨噬细胞侵入或炎症的过程或程度。

[0216] 可以与应用本发明化合物、组合物和方法治疗和 / 或预防的疾病实例包括阿尔茨海默氏病和相关病症、衰老和衰老形式；淀粉样蛋白血管疾病；轻微的认知损伤；阿尔茨海默氏病相关的痴呆（例如血管性痴呆或阿尔茨海默病痴呆）；爱滋病相关的痴呆，Tau 病变（例如嗜银颗粒性痴呆、皮质基底节变性、拳击员痴呆、钙化弥漫性神经原纤维缠结、具有震颤麻痹的额颞叶痴呆（frontotemporal dementia）、朊病毒相关的疾病、Hallervorden-Spatz 疾病、营养不良性肌强直、Niemann-Pick C 型疾病、具有神经原纤维缠结的非 - 关岛（non-Guamanian）运动神经元病、皮克氏病、脑炎后震颤麻痹、脑淀粉样蛋白血管疾病、进行性皮质下神经胶质增生、进行性核上麻痹、亚急性硬化性全脑炎、和仅痴呆性缠结），共核蛋白病（alpha-synucleinopathy）（例如 Lewy 体的痴呆、神经胶质细胞质内含物的多系统萎缩），多系统萎缩，Shy-Drager 综合征，脊髓小脑共济失调（例如 DRPLA 或马 - 约病）；纹状体黑质变性，橄榄体脑桥小脑萎缩，大脑铁积累 I 型神经变性，嗅觉功能性障碍，和肌萎缩侧索硬化）；帕金森氏病（例如，家族的或非家族的）；肌萎缩侧索硬化；痉挛性截瘫（例如，与伴侣蛋白和 / 或三 A 蛋白质（triple A protein）功能缺陷有关的）；亨廷顿病，脊髓小脑共济失调，Freidrich 氏共济失调；脑血管疾病，包括中风、缺氧、局部缺血、梗塞、脑内出血；外伤性脑损伤；唐氏综合征；外伤后 β 淀粉样肽积累的头面部创伤；家族性英国痴呆；家族性丹麦痴呆；具有痉挛共济失调的早老性痴呆；脑淀粉样蛋白血管疾病，英国类型；具有痉挛共济失调的早老性痴呆；脑淀粉样蛋白血管疾病，丹麦类型；神经源性丝氨酸蛋白酶抑制剂包涵体（neuroserpin inclusion bodies）的家族性脑病（FENIB）；淀粉样蛋白多神经病（例如老年淀粉样蛋白多神经病或系统性淀粉样变性）；归因于 β 淀粉样肽的包涵体肌炎；家族性和芬兰型淀粉样变；与多发性骨髓瘤有关的系统性淀粉样变性；家族性地中海热；多发性硬化，视神经炎；格 - 巴二综合征；慢性炎性脱髓鞘性多神经病；慢性感染和炎症；急性播散性脑脊髓炎（ADEM）；自身免疫内耳疾病（AIED）；糖尿病；心肌缺血及其它心血管病症；胰腺炎；痛风；炎症性肠病；溃疡性结肠炎，克罗恩氏病，类风湿性关节炎，骨关节炎；关节硬化症（arteriosclerosis），炎性动脉瘤；哮喘；成人呼吸窘迫综合征；再狭窄；局部缺血 / 再灌注损伤；肾小球肾炎；sacoidosis 癌症；再狭窄；风湿热；全身性红斑狼疮；Reiter 综合征；牛皮癣关节炎；强直性脊柱炎；髌关节炎；盆腔炎性疾病；骨髓炎；粘连性关节囊炎；寡关节炎；关节周围炎；多关节炎；银屑病；斯蒂尔病；滑膜炎；炎性皮肤病；和伤口愈合。

[0217] 在本发明的方面中,所述疾病为阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、帕金森病相关性痴呆、视觉空间缺损(visuospatial deficits)、威廉斯综合征、脑炎、脑膜炎、胎儿酒精综合征、Korsakoff 综合征、缺氧性脑损伤、心肺复苏术损伤、糖尿病、Sjogren 综合征、中风、眼睛疾病诸如白内障和黄斑变性、睡眠障碍、和高胆固醇引起的认知缺损。

[0218] 在本发明的方面中,本文公开的化合物、组合物、或方法可用于预防和/或治疗包括神经炎症的疾病(即神经炎症性疾病)。神经炎症是多种系列的神经变性病症中的疾病病理学和进展的特征,所述病症在它们的社会影响方面正在增加(对于最近的综述,例如参见 Prusiner, S. B. (2001) *New Engl. J. Med.* 344, 1516-1526)。这些神经炎症相关的病症包括阿尔茨海默氏病(AD)、肌萎缩性侧索硬化、自身免疫病症、先验性疾病(prior diseases)、中风和外伤性脑损伤。神经炎症是由神经胶质细胞(例如星形胶质细胞和小神经胶质细胞)激活造成的,其通常作为生物对损伤或发育变化的体内平衡性应答的部分起有益作用。然而,经神经胶质慢性或过度激活的过程失调,通过增加产生促炎细胞因子和趋化因子、氧化应激-相关酶类、急性期蛋白、和补体级联的多种组分,会促进所述疾病过程。(参见,例如, Akiyama 等, (2000) *Neurobiol. Aging* 21, 383-421)。神经胶质激活对于作为疾病标志的病理学的直接联系,着重于了解信号转导途径的重要性,所述信号转导途径介导这些关键性神经胶质细胞应答,以及可以调节这些疾病相关途径的细胞可渗透配体的发现。

[0219] 在本发明所选的一些方面中,所述疾病为神经变性疾病或神经变性病症,包括这样的疾病和损伤,如阿尔茨海默氏病、痴呆、MCI、亨廷顿病、帕金森氏病、肌萎缩侧索硬化、和本文公开的其它相似疾病和病症。

[0220] 对于阿尔茨海默氏病(AD),尤其 β -淀粉样蛋白($A\beta$)的沉积和神经原纤维缠结,是与神经胶质激活、神经元损失和认知衰退有关。分子水平上,阿尔茨海默氏病特征在于:一氧化氮合酶(NOS)在淀粉样蛋白斑块周围胶质细胞中增加的表达;过氧亚硝酸盐介导的神经元损伤的神经病理学证据;和涉及 $A\beta$ -诱导的大脑功能性障碍的一氧化氮(NO)过量生产。NOS(iNOS)是作为神经胶质激活应答的一部分诱导的并且是产生NO的氧化应激-相关酶。当NO以高水平与过氧化物一起存在时,产生高度反应性NO-衍生的分子过氧亚硝酸盐,导致神经元细胞死亡。促炎性细胞因子IL-1 β 在AD大脑中激活的神经胶质中也是过表达的,且IL-1 β 基因的多态性与增加AD早期偶发的风险有关(参见例如, Du 等, (2000) *Neurology* 55, 480-483)。IL-1 β 还可以影响淀粉样蛋白斑块发展,且涉及另外的神经胶质炎症和神经元的功能障碍应答(参见例如, Griffin 等, (1998) *Brain Pathol.* 8, 65-72;和 Sheng 等, (1996) *Neurobiol. Aging* 17, 761-766)。因此,因为神经胶质激活和特定的神经胶质产物与神经变性病症(例如阿尔茨海默氏病)有关,所以本文公开的能够调节细胞信号途径(例如神经胶质激活途径)的化合物和组合物将在治疗和预防炎性疾病中具有特别的应用。

[0221] 在本发明的方面中,可以将本文公开的化合物、组合物、或方法用于预防和/或治疗涉及蛋白激酶信号传导失调的疾病。蛋白激酶信号传导的失调常常伴随细胞信号途径(例如胶质细胞激活途径)的失调。蛋白激酶是一大家族类蛋白质,它们在调节许多细胞功能包括细胞生长、分化和死亡中起着重要作用。据认为存在超过500种蛋白激酶和130种在蛋白质磷酸化上发挥严格控制的蛋白质磷酸酶。每一种蛋白激酶将ATP的 γ -磷酸盐

传递到蛋白质底物的特定残基。基于受体残基,蛋白激酶可以进一步分类为酪氨酸、丝氨酸 / 苏氨酸或双特异型 (dual specific)。丝氨酸 / 苏氨酸激酶的实例包括 MAP 激酶、MAPK 激酶 (MEK)、Akt/PKB、Jun 激酶 (JNK)、CDKs、蛋白激酶 A (PKA)、蛋白激酶 C (PKC)、和钙调蛋白 (CaM) - 依赖的激酶 (CaMKs)。失调的蛋白激酶活性 (例如,超 - 或亚 - 活性) 导致异常的蛋白质磷酸化,构成许多疾病的基础,所述疾病包括糖尿病、类风湿性关节炎、炎症、高血压、和增殖性疾病诸如癌症。因此,因为异常的激酶活性与炎性疾病 (例如神经变性的病症像阿尔茨海默氏病) 有关,所以本文公开的能够调节涉及细胞信号途径激酶的化合物和组合物将对于治疗和预防炎性疾病具有特别的应用。

[0222] 根据本发明可用于治疗和 / 或预防的疾病包括脱髓鞘疾病。“脱髓鞘疾病”是指其中髓鞘 (myelin) 为主要靶标的疾病。这些疾病可分为两类:获得性疾病和遗传性代谢失调。获得性脱髓鞘疾病包括多发性硬化 (MS),其包括交替复发 / 缓解阶段。遗传性代谢失调包括脑白质营养不良症如异染性脑白质营养不良,Refsum 病,肾上腺脑白质营养不良、Krabbe 氏病,苯丙酮尿症,Canavan 病,Pelizaeus-Merzbacher 病和亚历山大氏病。

[0223] 根据本发明可用于治疗和 / 或预防的疾病包括“脱髓鞘性病症”。该术语是指导致髓鞘形成缺损的病症。这样的病症包括但不限于脊髓损伤、创伤性脑损伤和中风。

[0224] 术语“脊髓损伤 (SCI)”是指导致脊髓功能如移动或感觉丧失的损伤。

[0225] “创伤性脑损伤 (TBI)”是指导致脑损害的损伤。头部受伤可以为闭合性头部损伤或穿透性头部损伤。当头部受到钝器撞击造成大脑与头盖骨内的硬骨表面相互作用时,可能会出现闭合性头部损伤。如果大脑经历快速向前或向后移动 (例如急性颈部扭伤),也可能发生没有直接外部创伤的闭合性头部损伤。当快速移动的物体如子弹刺穿头盖骨时,可能会出现穿透性头部损伤。闭合性或穿透性头部损伤可以导致局部和普遍的 (或弥漫性) 脑损害,可表现为记忆力丧失、情绪障碍、运动困难包括瘫痪、知觉损害和死亡。该术语还包括受伤后的继发性损害,包括肿胀和流体聚集,这些物质的积累毒害周围神经元如神经递质谷氨酸。

[0226] 术语“中风”是指大脑功能的突然丧失,起因于血液中断流到大脑 (缺血性中风) 或大脑中血管破裂 (出血性中风)。血流量中断或血管破裂引起受累区域神经元死亡。该术语还包括中风康复,它是指导致因中风已失去的功能全部或部分恢复的干预。

[0227] 根据本发明也可以治疗和 / 或预防的疼痛障碍。“疼痛障碍”是指涉及疼痛的障碍或病症,包括但不限于急性疼痛、持续性疼痛、慢性疼痛、炎症性疼痛、神经性疼痛、神经源性疼痛、和趋化因子诱导的疼痛。在本发明的方面,疼痛障碍包括但不限于起因于软组织及周缘组织损伤如急性创伤的疼痛;复杂区域性疼痛综合征也被称为反射性交感神经营养不良;带状疱疹后神经痛,枕神经痛,三叉神经痛,节段性或肋间神经痛和其他神经痛;与骨关节炎和类风湿关节炎相关的疼痛;肌肉骨骼疼痛,如与紧张、扭伤和创伤如骨折相关的疼痛;脊椎疼痛,中枢神经系统疼痛如由于脊髓或脑干损伤的疼痛;下腰痛,坐骨神经痛,牙痛,肌筋膜疼痛综合征,会阴切开术疼痛,痛风疼痛,和烧伤引起的疼痛;深部和内脏痛,如心脏疼痛;肌肉疼痛,眼痛,炎性疼痛,口面疼痛例如齿痛;腹部疼痛,和妇科疼痛,例如痛经、分娩阵痛和与子宫内膜异位症相关的疼痛;体因性疼痛;与神经和根损害相关的疼痛,如与周围神经失调相关的疼痛例如神经卡压、臂丛撕裂,和周围神经病;与截肢、三叉神经痛、神经瘤、或血管炎相关的疼痛;糖尿病神经病变,化疗引起的神经病变,急性疱疹和带

状疱疹后神经痛；非典型面部疼痛，神经根损伤，神经性下背痛，HIV 有关的神经性疼痛，癌症相关的神经痛疼痛，糖尿病有关的神经性疼痛和蛛网膜炎，三叉神经痛，枕神经痛，节段性或肋间神经痛，HIV 有关的神经痛和 AIDS 有关的神经痛以及其他神经痛；痛觉过敏，特发性疼痛，化疗所致疼痛；枕神经痛，精神性疼痛，臂丛撕裂，与不宁腿综合征相关的疼痛；与胆结石相关的疼痛；慢性酒精中毒或甲状腺功能低下症或尿毒症或维生素缺乏症引起的疼痛；与癌相关的神经和非神经性疼痛，通常称为癌性疼痛，幻肢痛，功能腹部疼痛，头痛，包括有先兆的偏头痛、无先兆的偏头痛和其他血管性头痛、急性或慢性紧张性头痛、窦性头痛、丛集性头痛；颞下颌（temporomandibular）疼痛和上颌窦疼痛；强直性脊柱炎和痛风引起的疼痛；膀胱收缩加剧所致的疼痛；与胃肠道（GI）失调相关的疼痛，所述失调是由幽门螺杆菌与胃肠道疾病如胃炎、直肠炎、胃十二指肠溃疡、胃溃疡、消化不良所引起的，所述失调相关于内脏、溃疡性结肠炎、慢性胰腺炎、克罗恩病和呕吐的神经元控制；手术后疼痛，瘢痕疼痛，和慢性非神经性疼痛如与艾滋病毒有关的疼痛、关节痛（arthralgia）和肌肉痛、血管炎和纤维。

[0228] 术语“神经性疼痛”是指神经系统的原发灶或功能障碍发起或引起的疼痛。为了本发明的目的，包括在本项下的或视为同义词的是“神经源性疼痛”，其定义为周围或中枢神经系统的原发灶、功能障碍或短暂失调发起或引起的疼痛。在方面中，本发明的应用包括中枢或周围神经性疼痛或神经源性疼痛。在其他方面，神经性疼痛包括单神经病或多神经病引起的疼痛。神经性疼痛还包括趋化因子诱导的疼痛。

[0229] “周围神经性疼痛”是指周围神经系统的原发灶或功能障碍发起或引起的疼痛，“周围神经源性疼痛”是指周围神经系统的原发灶、功能障碍或短暂失调发起或引起的疼痛。“周围神经性疼痛”可为（即因通常不会引起疼痛的刺激引起的疼痛）；灼痛（即外伤性神经损伤后持续烧灼痛、异常性疼痛和痛觉过敏的综合征，往往合并血管舒缩的和催汗的功能障碍以及稍后的营养变化）；痛觉过敏（即对刺激增加反感觉过敏（即对不包括知觉刺激增加敏感性）；痛觉过度（即疼痛综合征，特征为对刺激尤其是反复刺激异常的疼痛反应，以及增加的阈值）；神经炎（即一个神经或多个神经的炎症）；神经病（即神经中的功能紊乱或病理变化）。[参见 IASP, Classification of Chronic pain, 第 2 版 IASP 出版社（2002），详细定义了这些神经性疼痛和神经源性疼痛的类别]。

[0230] 神经性疼痛的示范类型包括感染性的（例如疱疹后神经痛和 HIV 神经痛），代谢的（例如糖尿病神经病变和法布里氏病），毒性的（例如来自铅或化疗），创伤性 / 牵张性损伤（例如切口后、创伤、幻肢痛、和反射性交感神经营养不良 / 复杂区域性疼痛综合征 / 灼痛），和特发性的（例如三叉神经痛 / 三叉神经痛症）。

[0231] 神经病理性疼痛的具体实例包括疱疹后神经痛、糖尿病神经病变疼痛、幻肢痛、中枢卒中后疼痛、HIV 神经病、法布里氏病、周围神经病、三叉神经痛、切口后神经痛、幻肢痛、反射性交感神经营养不良、灼痛、痛性感觉缺失、肋间神经痛（intercostal neuralgia）、创伤后局部疼痛、拔牙等后的非典型面部神经痛、复杂区域性疼痛综合征、由创伤、铅或化疗所造成的神经性疼痛、耐受麻醉性镇痛药如吗啡的癌性疼痛。

[0232] 神经性疼痛的治疗可以被定义为施用治疗剂量的式 I、II 或 III 化合物，以减少和优选消除神经损伤引起的疼痛。神经损伤的治疗可以被定义为施用治疗剂量的式 I、II 或 III 化合物，以改善损伤并提高恢复率。增加的恢复率被定义为减少对周围神经损伤的疼痛

指征,如热痛觉过敏和力学异常性疼痛,更迅速地超过没有药理或其他医疗干预所达到的恢复率。

[0233] “趋化因子诱导的疼痛”是指对趋化因子全部或部分应答发生的疼痛,特别是促炎细胞因子(例如趋化因子 CX3、CCL2、和 CCL5)。趋化因子诱导的疼痛的实例是关节炎疼痛。

[0234] 化合物和方法

[0235] 本发明旨在应用分离的和纯的,特别是基本上纯的,式 I 的化合物或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物,其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、硫酸盐或酯、烃硫基、亚磺酰基、磺酰基、磺酸盐或酯、亚砷、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、 $=O$ 、 $=S$ 、膦酸酯、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺;且 X 为任选取代的嘧啶基或哒嗪基。

[0236] 本发明也旨在应用分离的和纯的,特别是基本上纯的,式 I 的化合物或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物,其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 链烯氧基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_3 - C_{10} 环烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳氧基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳酰基、 C_6 - C_{10} 杂芳基、 C_3 - C_{10} 杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 酰氧基、 $-NH_2$ 、 $-NHR^{28}$ 、 $-NR^{28}R^{29}$ 、 $=NR^{28}$ 、 $-S(O)_2R^{28}$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R^{28}$ 、 $-NHC(O)R^{28}$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR^{28}$ 、 $-C(O)NR^{28}R^{29}$ 、 $-NHS(O)_2R^{28}$, 其中 R^{28} 和 R^{29} 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷基、 C_6 - C_{10} 杂芳基和 C_3 - C_{10} 杂环基,且 X 为嘧啶基或哒嗪基。

[0237] 本发明还旨在应用分离的和纯的,特别是基本上纯的,式 II 的化合物或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物,其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、亚砷、硫酸盐或酯、磺酰基、烃硫基、亚磺酰基、磺酸盐或酯、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、 $=O$ 、 $=S$ 、膦酸酯、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺。

[0238] 本发明还进一步旨在应用分离的和纯的,特别是基本上纯的,式 II 的化合物或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物,其中 R^1 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、和 R^{14} 独立地为氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 链烯氧基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_3 - C_{10} 环烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳氧基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳酰基、 C_6 - C_{10} 杂芳基、 C_3 - C_{10} 杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 酰氧基、 $-NH_2$ 、 $-NHR^{28}$ 、 $-NR^{28}R^{29}$ 、 $=NR^{28}$ 、 $-S(O)_2R^{28}$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R^{28}$ 、 $-NHC(O)R^{28}$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR^{28}$ 、 $-C(O)NR^{28}R^{29}$ 、 $-NHS(O)_2R^{28}$, 其中 R^{28} 和 R^{29} 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基- C_1 - C_3 烷基、 C_6 - C_{10} 杂芳基和 C_3 - C_{10} 杂环基。

[0239] 在本发明的一个方面,式 I 或 II 化合物中的 R^1 为烷基、链烯基、炔基、烷氧基、或环烷基。在本发明的一些方面,式 I 或 II 化合物中的 R^1 为 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔

基、 C_1-C_6 烷氧基、或 C_3-C_{10} 环烷基。在实施方案中， R^1 为低级烷基。在另一个实施方案中， R^1 为环己基。

[0240] 在本发明的方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为芳基，特别是苯基、苄基、萘基、茛基、苯并环辛烯基、苯并环庚烯基、并环戊二烯基、甘菊环基、四氢萘基、茛满基、联苯基、茛烯基、茛基、phenalenylyl、菲基、和蒽基。在本发明的一个方面中， R^1 为被一个或多个取代基取代的芳基，所述取代基为羟基、烷基、羰基、羧基、巯基、氨基、硝基、酮、醛、酯、酰胺、低级脂肪族、芳基、环烷基、和卤素。在本发明的方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 包括两个稠合的芳环。

[0241] 在本发明的方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为芳氧基，特别为 C_6-C_{10} 芳氧基。在本发明的实施方案中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为萘基氧基、喹啉基氧基、异喹啉基氧基等。

[0242] 在本发明的方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为芳基烷氧基，特别为 C_6-C_{10} 芳基氧基或 C_6-C_{10} 芳基- C_1-C_3 烷氧基。在实施方案中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为 2- 苄乙氧基、3- 萘-2- 基丙氧基、和 5- 苄基戊氧基。

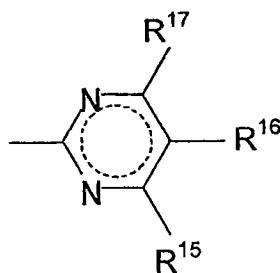
[0243] 在本发明的方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为芳酰基，特别为 C_6-C_{10} 芳酰基。在本发明的实施方案中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为苯甲酰基或甲苯酰基。

[0244] 在本发明的方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为杂芳基，特别为 C_6-C_{10} 杂芳基。在方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 包括以悬垂方式连接或稠合的一或二个环。在本发明的一些方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为：(a) 含有 1 至 4 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，更具体而言为吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2- 吡啶基、3- 吡啶基、4- 吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、和四唑基等；(b) 含有 1 至 5 个氮原子的不饱和稠合杂环基团，特别是吲哚基、异吲哚基、中氮茛基、吲唑基、喹啉基、蝶啶基、喹诺里西啶基、酞嗪基、二氮杂萘基、喹噁啉基、噌啉基、菲啶基、吡啶基、菲咯啉基、吩嗪基、呋唑基、嘌呤基、苯并咪唑基、喹啉基 (quinolyl)、异喹啉基 (isoquinolyl)、喹啉基 (quinolinyl)、异喹啉基 (isoquinolinyl)、吡唑基、苯并三唑基、和四唑并哒嗪基等；(c) 含有氧原子的不饱和 3 至 6 元杂单环基团，特别是 2- 呋喃基、3- 呋喃基和吡喃基等；(d) 含有硫原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，特别是噻吩基、2- 噻吩基和 3- 噻吩基等；(e) 含有 1 至 2 个氧原子和 1 至 3 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，特别是呋咱基、苯并呋咱基、噁唑基、异噁唑基和噁二唑基；(f) 含有 1 至 2 个氧原子和 1 至 3 个氮原子的不饱和稠合杂环基、特别是苯并噁唑基和苯并噁二唑基等；(g) 含有 1 至 2 个硫原子和 1 至 3 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，例如噻唑基、异噻唑基和噻二唑基等；或 (h) 含有 1 至 2 个硫原子和 1 至 3 个氮原子的不饱和稠合杂环基团诸如苯并噻唑基和苯并噻二唑基等。

[0245] 在本发明的一些方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为与芳基基团稠合杂环基，特别是苯并呋喃基、苯并噻吩基、酞嗪基、色烯基、和咕吨基等。

[0246] 在本发明的特定方面中，式 I 或 II 化合物中的 R^1 为：

[0247]

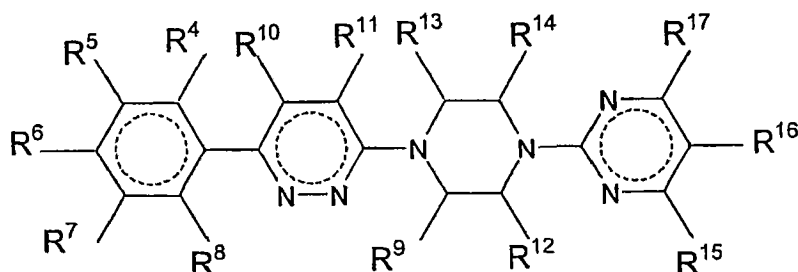


[0248] 其中 R¹⁵、R¹⁶ 和 R¹⁷ 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、亚砷、硫酸盐或酯、磺酰基、烃硫基、亚磺酰基、磺酸盐或酯、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、= O、= S、膦酸酯、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺。

[0249] 在本发明的实施方案中，其中 R¹⁵、R¹⁶ 和 R¹⁷ 独立地为氢、羟基、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 炔基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 链烯氧基、C₃-C₁₀ 环烷基、C₄-C₁₀ 环链烯基、C₃-C₁₀ 环烷氧基、C₆-C₁₀ 芳基、C₆-C₁₀ 芳氧基、C₆-C₁₀ 芳基 -C₁-C₃ 烷氧基、C₆-C₁₀ 芳酰基、C₆-C₁₀ 杂芳基、C₃-C₁₀ 杂环基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 酰氧基、-NH₂、-NHR²⁸、-NR²⁸R²⁹、= NR²⁸、= O、= S、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、-CO₂H、-CO₂R²⁸、-NHC(O)R²⁸、-C(O)NH₂、-C(O)NHR²⁸、-C(O)NR²⁸R²⁹、-NHS(O)₂R²⁸，其中 R²⁸ 和 R²⁹ 独立地选自 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 炔基、C₃-C₁₀ 环烷基、C₄-C₁₀ 环链烯基、C₆-C₁₀ 芳基、C₆-C₁₀ 芳基 C₁-C₃ 烷基、C₆-C₁₀ 杂芳基和 C₃-C₁₀ 杂环基。

[0250] 在本发明的其它特定方面，应用式 III 化合物：

[0251]



III

[0252] 其中 R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、和 R¹⁷ 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、环炔基、环烷氧基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、亚砷、硫酸盐或酯、磺酰基、烃硫基、亚磺酰基、磺酸盐或酯、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷基硫基、= O、= S、膦酸酯、脲基、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺。

[0253] 在本发明的方面中，R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶ 和 R¹⁷ 独立地为氢、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 炔基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 链烯氧基、C₃-C₁₀ 环烷基、C₄-C₁₀ 环链烯基、C₃-C₁₀ 环烷氧基、C₆-C₁₀ 芳基、C₆-C₁₀ 芳氧基、C₆-C₁₀ 芳基 -C₁-C₃ 烷氧基、C₆-C₁₀ 芳酰基、C₆-C₁₀ 杂芳基、C₃-C₁₀ 杂环基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 酰氧基、-NH₂、-NHR²⁸、-NR²⁸R²⁹、

$= \text{NR}^{28}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{28}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^{28}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{28}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{28}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{28}\text{R}^{29}$ 、 $-\text{NHS}(\text{O})_2\text{R}^{28}$ ，其中 R^{28} 和 R^{29} 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基 C_1 - C_3 烷基、 C_6 - C_{10} 杂芳基和 C_3 - C_{10} 杂环基。

[0254] 一般而言，式 III 化合物中的 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 不能全部为氢。在本发明的方面中，提供其中 R^{10} 和 R^{11} 都不是氢的式 III 化合物。在本发明的其它方面中，提供其中 R^{11} 不是氢的式 II 化合物。

[0255] 在本发明进一步的方面中，应用纯的特别是基本上纯的式 III 化合物，其中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 独立地为氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氨基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷硫基、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺，且 R^1 为烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氨基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、甲硅烷基、甲硅氧基、甲硅烷基烷基、甲硅烷硫基、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺；或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物。在本发明的方面中， R^{11} 为 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 链烯氧基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_3 - C_{10} 环烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳氧基、 C_6 - C_{10} 芳基 $-\text{C}_1$ - C_3 烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳酰基、 C_6 - C_{10} 杂芳基、 C_3 - C_{10} 杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 酰氧基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}^{28}$ 、 $-\text{NR}^{28}\text{R}^{29}$ 、 $=\text{NR}^{28}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{28}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^{28}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{28}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{28}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{28}\text{R}^{29}$ 、 $-\text{NHS}(\text{O})_2\text{R}^{28}$ ，其中 R^{28} 和 R^{29} 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基 C_1 - C_3 烷基、 C_6 - C_{10} 杂芳基和 C_3 - C_{10} 杂环基。

[0256] 在本发明的一些方面中，应用式 III 化合物或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物，其中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 为氢、羟基、烷基， R^{10} 和 R^{11} 中的一个或两个独立地为取代的或未取代的氢、羟基、烷基、链烯基、炔基、亚烷基、亚链烯基、烷氧基、链烯氧基、环烷基、环链烯基、芳基、芳氧基、芳基烷氧基、芳酰基、杂芳基、杂环基、酰基、酰氧基、磺酰基、亚磺酰基、羟硫基、氨基、亚氨基、叠氨基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、脲基、氰基、卤素、甲硅烷基、甲硅烷基烷基、甲硅氧基、甲硅烷硫基、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、羧基、羰基、或氨基甲酰基。在本发明的方面中， R^{10} 和 R^{11} 中的一个或两个独立地为 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 链烯氧基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_3 - C_{10} 环烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳氧基、 C_6 - C_{10} 芳基 $-\text{C}_1$ - C_3 烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳酰基、 C_6 - C_{10} 杂芳基、 C_3 - C_{10} 杂环基、 C_1 - C_6 酰基、 C_1 - C_6 酰氧基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}^{28}$ 、 $-\text{NR}^{28}\text{R}^{29}$ 、 $=\text{NR}^{28}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{28}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^{28}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{28}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{28}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{28}\text{R}^{29}$ 、 $-\text{NHS}(\text{O})_2\text{R}^{28}$ ，其中 R^{28} 和 R^{29} 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_4 - C_{10} 环链烯基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_6 - C_{10} 芳基 C_1 - C_3 烷基、 C_6 - C_{10} 杂芳基和 C_3 - C_{10} 杂环基。

[0257] 在一些方面中，应用式 III 化合物，其中 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、和 R^{17} 为氢；且 R^{10} 为 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 链烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_2 - C_6 链烯

氧基、C₃-C₁₀ 环烷基、C₄-C₁₀ 环链烯基、C₃-C₁₀ 环烷氧基、C₆-C₁₀ 芳基、C₆-C₁₀ 芳氧基、C₆-C₁₀ 芳基-C₁-C₃ 烷氧基、C₆-C₁₀ 芳酰基、C₆-C₁₀ 杂芳基、C₃-C₁₀ 杂环基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 酰氧基、-NH₂、-NHR²⁸、-NR²⁸R²⁹、= NR²⁸、-S(O)₂R²⁸、-SH、-SO₃H、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基烷基、-CO₂H、-CO₂R²⁸、-NHC(O)R²⁸、-C(O)NH₂、-C(O)NHR²⁸、-C(O)NR²⁸R²⁹、-NHS(O)₂R²⁸，其中 R²⁸ 和 R²⁹ 独立地选自 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 炔基、C₃-C₁₀ 环烷基、C₄-C₁₀ 环链烯基、C₆-C₁₀ 芳基、C₆-C₁₀ 芳基 C₁-C₃ 烷基、C₆-C₁₀ 杂芳基和 C₃-C₁₀ 杂环基。

[0258] 在一些方面中，应用式 III 化合物，其中 R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、和 R¹⁷ 为氢；R¹⁰ 为氢、羟基、烷基（例如 C₁-C₆ 烷基）、芳基 [例如 C₆-C₁₀ 芳基，尤其为任选取代（例如用卤化物）的苯基]、C₃-C₁₀ 杂环基（例如可取代的哌嗪基，例如用嘧啶基取代；或可取代的吗啉基）、-NR³⁰R³¹ 其中 R³⁰ 为氢或烷基、且 R³¹ 为可取代的苯基或可取代 [例如用氨基尤其 -CH₂CH₂NH₂；CH₂CH₂NHCOO C(CH₃)₃] 的烷基（例如 C₁-C₆ 烷基）、或 -SR³² 其中 R³² 为可取代的苯基；且 R¹¹ 为氢、烷基、或芳基（例如 C₆-C₁₀ 芳基，尤其例如为苯基），其为可取代的。

[0259] 在本发明的方面中，R¹¹ 为烷基、卤素、芳基、取代的芳基（例如烷基芳基）、或含有 1 至 4 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团。在实施方案中，R¹¹ 为低级烷基（例如 C₁-C₆ 烷基）或支链烷基。在另一个实施方案中，R¹¹ 为 C₆-C₁₀ 芳基，尤其为苯基。在另一个实施方案中，R¹¹ 为卤素。在还进一步实施方案中，R¹¹ 为含有 1 至 4 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，例如吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、和四唑基等。在具体实施方案中，R¹¹ 为吡啶基。

[0260] 在本发明的一些方面，应用式 III 化合物，其中 R¹⁰ 为氢、卤素、任选取代的羟基、烷基、吡啶基、苯基、苄基、哌嗪基、氨基、吗啉基、和 -SR³³ 其中 R³³ 为烷基或芳基。在一个实施方案中，R¹⁰ 为 -NH[CH₂]_mNR³⁴R³⁵ 其中 m 为 1 至 6，尤其为 2 至 4，R³⁴ 为氢，R³⁵ 为羧基，尤其为 -COO C(CH₃)₃。

[0261] 在本发明的具体实施方案中，式 III 化合物中 R¹⁰ 和 R¹¹ 的一个为杂芳基，特别为含有 1 至 4 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团，更特别为吡啶基，且 R¹⁰ 和 R¹¹ 中的另一个为氢。

[0262] 在本发明的一个方面，应用式 III 化合物，其中 R¹¹ 为氢、卤素、任选取代的烷基、吡啶基、哌啶基、吗啉基、哌嗪基、或苯基。

[0263] 在本发明的方面，应用式 III 化合物，其中 R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、和 R¹⁷ 为氢、烷基、烷氧基、磺酰基、亚磺酰基、卤素、硫氢基、或羧基，且 R¹¹ 为烷基、链烯基、烷氧基、链烯氧基、芳基、杂芳基、酰基、酰氧基、氨基、亚氨基、叠氮基、硫氢基、硫代烷基、硫代烷氧基、硫代芳基、硝基、氰基、卤素、甲硅烷基、= O、= S、羧基、羰基、氨基甲酰基、或羧酰胺；或其异构体、药学上可接受的盐、或衍生物。在具体方面中，R¹¹ 为 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 链烯氧基、C₆-C₁₀ 芳基、C₆-C₁₀ 杂芳基、C₁-C₆ 酰基、C₁-C₆ 酰氧基、-NH₂、-NHR²⁸、-NR²⁸R²⁹、= NR²⁸、-S(O)₂R²⁸、-SH、-SO₃H、硝基、氰基、卤素、卤代烷基、卤代烷氧基、-CO₂H、-CO₂R²⁸、-NHC(O)R²⁸、-C(O)NH₂、-C(O)NHR²⁸、-C(O)NR²⁸R²⁹、-NHS(O)₂R²⁸，其中 R²⁸ 和 R²⁹ 独立地选自 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 炔基、C₃-C₁₀ 环烷基、C₄-C₁₀ 环链烯基、C₆-C₁₀ 芳基、C₆-C₁₀ 芳基 C₁-C₃ 烷基、C₆-C₁₀ 杂芳基和 C₃-C₁₀ 杂环基。

[0264] 在本发明的方面，应用式 III 化合物，其中 R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、

R¹⁶、和 R¹⁷ 为氢,且 R¹¹ 为烷基、链烯基、炔基、亚烷基、烷氧基、芳基、或含有 1 至 4 个氮原子的不饱和 5 至 6 元杂单环基团。在具体方面, R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、和 R¹⁷ 为氢,且 R¹¹ 为烷基或吡啶基,更特别地 R¹¹ 为烷基。

[0265] 在本发明的其它方面中,式 III 化合物中 R¹⁰ 和 R¹¹ 的一个为烷基,特别为 C₁-C₆ 烷基,且 R¹⁰ 和 R¹¹ 中的另一个为氢。

[0266] 在本发明的具体实施方案中,式 III 化合物中 R¹⁰ 和 R¹¹ 的一个为芳基,特别为 C₆-C₁₀ 芳基,更特别为苯基或苄基,且 R¹⁰ 和 R¹¹ 中的另一个为氢。

[0267] 在本发明的实施方案中,式 II 化合物为表 1 或 2 中的化合物。

[0268] 在本发明的具体实施方案中,式 III 化合物为 MW01-6-189WH、MW01-5-188WH、或 MW01-2-151SRM,和 / 或其盐或衍生物。

[0269] 在本发明的具体实施方案中,式 II 化合物为 4-甲基-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-2-151SRM),和 / 或其盐或衍生物。

[0270] 在本发明的具体实施方案中,式 II 化合物为 4,6-二苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-5-188WH),和 / 或其盐或衍生物。

[0271] 式 I、II 或 III 的化合物可以是药物前体的形式,所述药物前体在体内转化成活性化合物。例如,在式 II 的化合物中,一个或多个 R¹⁰ 和 R¹¹ 可以包含在给受试者施用后可裂解的基团,以提供活性(例如治疗活性)化合物,或随后产生活性化合物的中间体化合物。可裂解的基团可以是酶法或非酶法去除的酯。

[0272] 式 I、II 或 III 的化合物可以包含载体,诸如一种或多种聚合物、碳水化合物、肽或其衍生物,它们可以直接或间接与所述化合物共价结合。载体可以用本文描述的取代基取代,所述取代基包括但不限于一种或多种烷基、氨基、硝基、卤素、硫氢基、硫代烷基、硫酸盐或酯,磺酰基、亚磺酰基、亚砷、羟基基团。在本发明的方面中,所述载体是氨基酸,所述氨基酸包括丙氨酸、甘氨酸、脯氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天门冬酰胺、丙氨酰-丙氨酰、脯氨酰-甲硫氨酰、或甘氨酰-甘氨酰。载体也可以包括将式 I、II 或 III 的化合物靶向特定组织或器官的分子。因而,载体可以促进或增强式 I、II 或 III 的化合物转运到脑。

[0273] 式 I、II 或 III 的化合物可以利用本领域普通技术人员普遍已知的反应和方法,考虑那些知识和本申请包括所述实施例的公开内容制得。这些反应在适合于所用的试剂和原料并适于所述反应实现的溶剂中进行。有机合成领域技术人员应当理解,所述化合物上存在的官能度应该与提议的反应步骤一致。这有时将需要修改合成步骤的顺序或在另一种上选择一种具体的过程方案,以便获得本发明所需的化合物。也应当承认,开发合成路线的另一个主要考虑是保护基的选择,所述保护基用于保护本发明中所述化合物中存在的反应官能团。对于技术人员来说,描述许多备选方案的权威解释是 Greene 和 Wuts (Protective Groups In Organic Synthesis, Wiley and Sons, 1991)。

[0274] 用于制备本发明化合物的原材料和试剂是从商业厂商获得或者是通过本领域普通技术人员众所周知的方法,按照下列参考文献中描述的步骤制得,如 Fieser and Fieser' s Reagents for Organic Synthesis, vols. 1-17, John Wiley and Sons, New York, N. Y., 1991; Rodd' s Chemistry of Carbon Compounds, vols. 1-5 和 supps., Elsevier Science Publishers, 1989; Organic Reactions, vols. 1-40, John Wiley and Sons, New York, N. Y., 1991; March J. : Advanced Organic Chemistry, 4th ed., John Wiley and Sons,

New York, N. Y. ;和 Larock :Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, New York, 1989。

[0275] 式 I、II 或 III 的原材料、中间体、和化合物可以利用常规技术分离和纯化,所述方法诸如沉淀、过滤、蒸馏、结晶、和色谱法等。可以利用常规方法表征式 I、II 或 III 的化合物,所述方法包括物理常数和光谱法,特别是 HPLC。

[0276] 本质为碱性的式 I、II 或 III 的化合物可以与多种无机和有机酸形成广泛多样的不同盐。在实践中,合乎需要的是首先从反应混合物中分离出式 I、II 或 III 化合物的药学上不能接受的盐,然后通过用碱性试剂处理将后者转化成游离碱化合物,随后将所述游离碱转化成药学上可接受的酸加成盐。通过将式 I、II 或 III 的碱性化合物在水性溶剂介质或在适合的有机溶剂诸如甲醇或乙醇中用基本上当量数量的所选矿物酸或无机酸或有机酸处理,容易制备其碱性化合物的酸加成盐。在小心蒸发所述溶剂后,获得所需的固体盐。

[0277] 本质为酸性的式 I、II 或 III 的化合物能够与多种药理上可接受的阳离子形成碱盐。这些盐可以经由常规方法制备:通过将相应的酸性化合物用含有所需药理上可接受阳离子的水溶液处理,然后蒸发得到的溶液至干燥,优选在减压之下。备选地,可以通过将酸性化合物的低级烷醇溶液与所需碱金属醇盐一起混合,然后以之前一样的方法蒸发得到的溶液至干燥而制备它们。在任一个情况中,一般采用化学计量数量的试剂以确保反应完全和最大的产物收率。

[0278] 在特定的方面中,本发明提供制备本文公开的化合物的方法,所述方法包含所提供的步骤(参见例如,图和实施例)。

[0279] 在一个方面中,本发明提供用于制备式 III 化合物的方法,其中 R^{11} 是氢且 R^{10} 是含有 1 至 4 个氮原子的不饱和的 5 至 6 元杂单环基团,特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、或四唑基,更具体而言是吡啶基,所述方法包含将其中 R^{10} 是卤素特别是氯且 R^{11} 是氢的式 III 化合物在适合的条件下与硼酸反应,所述硼酸用含有 1 至 4 个氮原子的不饱和的 5 至 6 元杂单环基团(特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、或四唑基,更具体而言是吡啶基)取代,以制备式 III 的化合物,其中 R^{11} 是氢且 R^{10} 是含有 1 至 4 个氮原子的不饱和的 5 至 6 元杂单环基团,特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、或四唑基,更具体而言是吡啶基。

[0280] 在另一个方面中,本发明提供用于制备其中 R^{11} 是氢且 R^{10} 是取代的芳基的式 III 化合物的方法,其包含将其中 R^{10} 是卤素特别是氯且 R^{11} 是氢的式 III 化合物在适合的条件下与取代的芳基硼酸反应,以制备其中 R^{11} 是氢且 R^{10} 是取代的芳基的式 III 化合物。

[0281] 在另一个方面中,本发明提供用于制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是烷基的式 III 化合物的方法,其包含将其中 R^{11} 是卤素特别是氯且 R^{10} 是氢的式 III 化合物在适合的条件下与烷基硼酸反应,以制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是烷基的式 III 化合物。在一个实施方案中, R^{11} 是低级烷基,特别是甲基或乙基,其中 R^{11} 是氯的式 III 化合物与低级烷基硼酸特别是甲基或乙基硼酸在适当的条件下反应。

[0282] 在另一个方面中,本发明提供用于制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是芳基的式 III 化合物的方法,其包含在适合的条件下将其中 C3 位用卤素(例如氯)、C4 位用芳基、和 6 位用苯基

取代哒嗪, R^{10} 是氢且 R^{11} 是卤素(例如氯)的式 III 化合物与 2-(哌啶-4-基氧)嘧啶起反应, 以制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是芳基的式 III 化合物。在一个实施方案中, R^{11} 是苯基。

[0283] 在另一个方面中, 本发明提供用于制备式 III 化合物的方法, 其中所述化合物的 R^{10} 是氢且 R^{11} 是含有 1 至 4 个氮原子的不饱和的 5 至 6 元杂单环基团, 特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、或四唑基, 更具体而言是吡啶基, 该方法包含将其中 R^{11} 是卤素特别是氯且 R^{10} 是氢的式 III 化合物在适合条件下与取代的硼酸起反应, 所述取代是用含有 1 至 4 个氮原子的不饱和的 5 至 6 元杂单环基团, 特别是用吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、或四唑基, 更具体而言是用吡啶基取代, 以制备式 III 化合物, 其中所述化合物的 R^{10} 是氢且 R^{11} 是含有 1 至 4 个氮原子的不饱和的 5 至 6 元杂单环基团, 特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、或四唑基, 更具体而言是吡啶基。

[0284] 在一个实施方案中, 本发明提供用于制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是吡啶基的式 III 化合物的方法, 其包含将其中 R^{11} 是卤素特别是氯且 R^{10} 是氢的式 III 化合物在适合条件下与吡啶基硼酸反应, 以制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是吡啶基的式 III 化合物。

[0285] 在另一个方面中, 本发明提供用于制备式 III 化合物的方法, 其中所述化合物的 R^{10} 是氢且 R^{11} 是含有 1 至 4 个氮原子的不饱和的 5 至 6 元杂单环基团, 特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、或四唑基, 更具体而言是吡啶基, 该方法包含在适合条件下将 C3 位用卤素(例如氯), C4 位用含有 1 至 4 个氮原子的不饱和的 5 至 6 元杂单环基团, 特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、或四唑基, 更具体而言是吡啶基, 和 6 位用苯基取代的哒嗪与 2-(哌啶-4-基氧)嘧啶起反应, 以制备式 III 化合物, 其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是含有 1 至 4 个氮原子的不饱和的 5 至 6 元杂单环基团, 特别是吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、吡唑基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三唑基、或四唑基, 更具体而言是吡啶基。

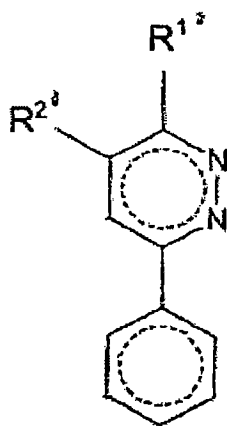
[0286] 在一个实施方案中, 本发明提供用于制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是吡啶基的式 III 化合物的方法, 其包含在适合条件下将 C3 位用卤素、C4 位用吡啶基, 和 6 位用苯基取代的哒嗪与 2-(哌啶-4-基氧)嘧啶起反应, 以制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是吡啶基的式 III 化合物。

[0287] 在另一个方面中, 本发明提供用于制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是哌啶基或取代的哌啶基的式 III 化合物的方法, 其包含将其中 R^{11} 是卤素特别是氯且 R^{10} 是氢的式 II 化合物在适合条件下与哌嗪基或取代的哌嗪基, 以制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是哌啶基或取代的哌啶基的式 II 化合物。

[0288] 在另一个方面中, 本发明提供用于制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是烷基的式 III 化合物的方法, 其包含在适合条件下将其中 C3 位用卤素(例如氯)、C4 位用烷基、和 6 位用苯基取代的哒嗪, 与 2-(哌啶-4-基氧)嘧啶起反应, 以制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是烷基的式 III 化合物。在一个实施方案中, R^{11} 是甲基或乙基。

[0289] 在具体方面中, 本发明提供用于制备其中 R^{10} 是氢且 R^{11} 是烷基的式 III 化合物的方法, 其包含在适合条件下尤其是回流条件下将式 IV 化合物

[0290]



IV

[0291] 其中 R^{1'} 是卤素,特别是氯或溴,更特别是氯且 R^{2'} 是烷基,

[0292] 与 2-(哌嗪基) 嘧啶起反应,以制备其中 R¹⁰ 是氢且 R¹¹ 是烷基的式 III 化合物。

[0293] 本发明化合物、组合物和方法的治疗功效和毒性可以由标准药物程序在细胞培养中或用实验动物来确定,诸如通过计算统计参数如 ED₅₀ (在 50% 群体中治疗有效的剂量) 或 LD₅₀ (致 50% 的群体死亡的剂量) 统计法。治疗指数是治疗对毒性作用的剂量比并且可以将其表示为 ED₅₀/LD₅₀ 比。优选显示大治疗指数的药物组合物。例如,一种或多种治疗效应可以在受试者或疾病模型中得到证明,例如在具有阿尔茨海默氏病症状的 TgCRND8 小鼠中。

[0294] 用本文公开的化合物进行生物学调查,通过 HPLC/MS 分析,确定为 > 95% 同源的。作为分级的、基于细胞的筛选规程的一部分,通过用 LPS 刺激的 BV-2 小鼠小神经胶质的细胞,筛选化合物阻滞 IL-1 β 和 TNF α 生产的能力。

[0295] 组合物、方法和试剂盒

[0296] 本发明提供剂型、制剂、和方法,其提供优势,尤其为更低副作用的风险 (例如更低 QT- 相关性副作用的风险) 和 / 或有益的药动学特性,更具体而言持续的药动学特性。用于剂型中的式 I、II 或 III 的化合物可以为纯的或基本上纯的形式,药学上可接受的盐的形式,以及其他形式包括无水的或含水的形式。

[0297] 有益的药动学特性可以通过施用制剂或剂型获得,所述制剂或剂型适合每天一次、二次、或每天三次或更多次施用,包括一种或多种足够量存在的式 I、II 或 III 的化合物,以提供所需浓度或剂量的化合物至治疗本文公开疾病特别为神经炎症性疾病的应用环境中。在方面中,应用环境为脑或血浆。

[0298] 本发明的实施方案涉及剂型,其包含一种或多种式 I、II 或 III 的化合物,提供化合物的血浆浓度峰值 C_{max} 为大约 0.001 ~ 2mg/ml、0.001 ~ 1mg/ml、0.002 ~ 2mg/ml、0.005 ~ 2mg/ml、0.01 ~ 2mg/ml、0.05 ~ 2mg/ml、0.1 ~ 2mg/ml、0.001 ~ 0.5mg/ml、0.002 ~ 1mg/ml、0.005 ~ 1mg/ml、0.01 ~ 1mg/ml、0.05 ~ 1mg/ml、或 0.1 ~ 1mg/ml。

[0299] 在进一步的方面中,本发明提供剂型和制剂,其包含一种或多种式 I、II 或 III 的化合物,其提供消除 t_{1/2} 为 0.5 ~ 20 小时、0.5 ~ 15 小时、0.5 ~ 10 小时、0.5 ~ 6 小时、1 ~ 20 小时、1 ~ 15 小时、1 ~ 10 小时、或 1 ~ 6 小时。

[0300] 本发明进一步的方面涉及制剂或剂型,其包含一种或多种式 I、II 或 III 的化合

物,其提供血浆 AUC 为大约 3 ~ 2000ng. h/ml、3 ~ 3000ng. h/ml、3 ~ 4000ng. h/ml、2 ~ 2000ng. h/ml、2 ~ 3000ng. h/ml、2 ~ 4000ng. h/ml、1 ~ 2000ng. h/ml、1 ~ 3000ng. h/ml、1 ~ 4000ng. h/ml,1,和尤其为 3 ~ 3000ng. h/ml。

[0301] 受试者可以基本上以任何预期的方案用式 I、II 或 III 的化合物或其组合物或单位剂量得到治疗。他们可以每日一次或多次施用,尤其每日一次或二次、每周一次、每月一次或连续地施用。然而,受试者可以以更低的频率治疗,诸如隔日一次或一周一次,或更频繁。化合物或组合物可以以下列时间周期地或连续地给受试者施用:约或至少约 24 小时、2 天、3 天、1 周、2 周至 4 周、2 周至 6 周、2 周至 8 周、2 周至 10 周、2 周至 12 周、2 周至 14 周、2 周至 16 周、2 周至 6 月、2 周至 12 月、2 周至 18 月、2 周至 24 月、或大于 24 月。

[0302] 在方面中,有益的药动学特性可以通过施用制剂或剂型获得,所述制剂或剂型适合每天一次、二次、或三次施用,优选每天二次施用,包括一种或多种足够量存在的式 I、II 或 III 的化合物,以提供所需剂量的化合物。在方面中,每天一次、二次、三次或更多次施用的式 I、II 或 III 化合物的所需剂量为大约 0.01 ~ 3000mg/kg、0.01 ~ 2000mg/kg、0.5 ~ 2000mg/kg、大约 0.5 ~ 1000mg/kg、0.1 ~ 1000mg/kg、0.1 ~ 500mg/kg、0.1 ~ 400mg/kg、0.1 ~ 300mg/kg、0.1 ~ 200mg/kg、0.1 ~ 100mg/kg、0.1 ~ 50mg/kg、0.1 ~ 20mg/kg、0.1 ~ 10mg/kg、0.1 ~ 6mg/kg、0.1 ~ 5mg/kg、0.1 ~ 3mg/kg、0.1 ~ 2mg/kg、0.1 ~ 1mg/kg、1 ~ 1000mg/kg、1 ~ 500mg/kg、1 ~ 400mg/kg、1 ~ 300mg/kg、1 ~ 200mg/kg、1 ~ 100mg/kg、1 ~ 50mg/kg、1 ~ 20mg/kg、1 ~ 10mg/kg、1 ~ 6mg/kg、1 ~ 5mg/kg、或 1 ~ 3mg/kg、或 1 ~ 2.5mg/kg、或者更少或每天二次或者更少次施用大约 10mg/kg、5mg/kg、2.5mg/kg、1mg/kg、或 0.5mg/kg。

[0303] 一些剂型和制剂可以使式 I、II 或 III 化合物在血浆和 / 或大脑中的峰和谷水平之间的变化降到最低,且尤其提供持久的治疗有效量的化合物。

[0304] 本发明还涉及制剂或剂型,包含一定量的一种或多种式 I、II 或 III 的化合物,其导致给药期间尤其 24 小时的给药期间内提供治疗有效量的化合物。本发明的方面中,式 I、II 或 III 的化合物的治疗有效量为大约 0.1 ~ 1000mg/kg、0.1 ~ 500mg/kg、0.1 ~ 400mg/kg、0.1 ~ 300mg/kg、0.1 ~ 200mg/kg、0.1 ~ 100mg/kg、0.1 ~ 75mg/kg、0.1 ~ 50mg/kg、0.1 ~ 25mg/kg、0.1 ~ 20mg/kg、0.1 ~ 15mg/kg、0.1 ~ 10mg/kg、0.1 ~ 9mg/kg、0.1 ~ 8mg/kg、0.1 ~ 7mg/kg、0.1 ~ 6mg/kg、0.1 ~ 5mg/kg、0.1 ~ 4mg/kg、0.1 ~ 3mg/kg、0.1 ~ 2mg/kg、或 0.1 ~ 1mg/kg。

[0305] 本发明的药剂或治疗可以包含单位剂量的至少一种式 I、II 或 III 的化合物以提供治疗效应。“单位剂量”或“剂量单位”是指能够给患者施用并且可以容易地操作和包装的单一即单次剂量,保持为物理和化学稳定的单位剂量,包含如此的活化剂,或者与一种或多种固体或液体药物赋形剂、载体、或媒介物一起的混合物。

[0306] 本发明的制剂或剂型可以为立即释放剂型或者非立即释放递药系统,包括但不限于延迟释放或持续释放剂型。

[0307] 在方面中,本发明提供式 I、II 或 III 的化合物的持续释放剂型,有利地实现了更持久的药物血浆和 / 或脑水平反应,同时通过提供化合物随时间基本上稳定的释放减轻或消除了药物浓度尖峰。优选地,基本上恒定的血药浓度与一种或多种本文公开的治疗效应相关。在实施方案中,持续释放剂型为口服施用的。

[0308] 组合物,特别是剂型或制剂,可以为任何适合给受试者施用的形式,包括但不限于适合口服、胃肠外、静脉内(推注或输注)、腹腔内、皮下或肌肉内施用的形式。剂型或制剂可以为丸剂、片剂、囊片、软和硬明胶胶囊、锭剂、小药囊、扁囊剂、植物胶囊、液滴、酞剂、混悬剂、乳剂、溶液、糖浆剂、气溶胶(作为固体或在液体介质中)、栓剂、无菌可注射溶液、和/或无菌包装粉末。

[0309] 在本发明的方面中,剂型或制剂为口服剂型或制剂,诸如片剂、囊片、软和硬明胶胶囊、丸剂、粉剂、颗粒剂、酞剂、酞剂、混悬剂、糖浆剂、和乳剂。在另一个方面中,剂型或制剂为胃肠外剂型,诸如于无菌水或非水溶剂中的活性物质,所述溶剂如水、等渗盐水、等渗葡萄糖溶液、缓冲溶液、或适宜胃肠外施用应用的其它溶剂。

[0310] 本发明式 I、II 或 III 的化合物可以通过本领域已知适当的方法配制成用于给受试者施用的药物组合物。基于预定的施用形式,并且一致于常规的药物实践,本发明的药物组合物或其部分包含适合选择的药物上可接受载体、赋形剂、和媒介物。适合的药物载体、赋形剂、和媒介物描述在标准文本中,Remington:The Science and Practice of Pharmacy(第 21 版,2005,University of the Sciences in Philadelphia(Editor),MackPublishing Company)和 1999 出版的美国药典:The National Formulary(USP 24NF19)中。例如以胶囊或片剂形式用于口服,可以将活性成分与经口的、非毒性的药物上可接受的惰性载体组合,所述惰性载体诸如乳糖、淀粉、蔗糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、葡萄糖、硫酸钙、磷酸二钙、甘露醇、和山梨糖醇等。对于以液体形式的口服给药,药物成分可以与任何经口的、非-毒性的、药物上可接受的惰性载体组合,所述惰性载体诸如乙醇、甘油、和水等。适合的粘合剂(例如明胶、淀粉、玉米甜味剂、天然的糖类包括葡萄糖、天然的和合成的胶、和蜡),润滑剂(例如油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、和氯化钠),崩解剂(例如淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、和黄原胶),矫味剂,和着色剂也可以组合在所述组合物或其组分中。本文所述的组合物还可以包含润湿或乳化剂,或 pH 缓冲剂。

[0311] 本发明的组合物可以是液体溶液,悬浮液,乳剂,片剂,丸剂,胶囊,持续释放制剂,或粉末。用常规的粘合剂和载体诸如甘油三酯,组合物可以配制为栓剂。口服制剂可以包括标准的载体诸如药物级别的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、和碳酸镁等。多种递药系统是已知的且可用于施用本发明的组合物,所述递药系统例如脂质体的胶囊化、微粒、和微胶囊等。

[0312] 肠胃外施用制剂可以包括水溶液、糖浆剂、水或油悬浮液和食用油乳剂,所述食用油诸如棉籽油、椰子油或花生油。可用于水混悬液的分散或悬浮剂包括合成的或天然的胶诸如黄蓍胶、海藻酸盐、阿拉伯胶、葡聚糖、羧甲基纤维素钠、明胶、甲基纤维素、和聚乙烯吡咯烷酮。

[0313] 用于肠胃外施用的组合物可以包括无菌水或非水溶剂,诸如水、等渗盐水、等渗葡萄糖溶液、缓冲溶液、或其它适宜用于治疗活性剂肠胃外施用的溶剂。旨在肠胃外施用的组合物也可以包括常规添加剂诸如稳定剂,缓冲剂,或防腐剂,例如抗氧化剂诸如羟基苯甲酸甲酯或类似的添加剂。

[0314] 本发明的组合物可以通过下列方式灭菌:例如通过细菌保留在过滤器上的过滤、向所述组合物中加入灭菌剂、照射所述组合物、或加热所述组合物。备选地,可以提供本发明的化合物或组合物作为无菌固体制剂,例如冻干粉末,其在使用之前容易立即溶解在无

菌溶剂中。

[0315] 在药物组合物已经制备以后,可以将它们置于适当的容器中,并标记以指示病症的治疗。对于本发明组合物的施用,这样的标记将包括量、频率、和施用方法。

[0316] 根据本发明,提供试剂盒。在一个方面中,试剂盒包含式 I、II 或 III 的化合物或试剂盒形式的本发明制剂。试剂盒可以收藏在容器中而被包装,其含有本发明式 I、II 或 III 化合物或制剂,还收藏给受试者施用化合物或制剂的说明书。本发明还涉及商用包装,包括本发明式 I、II 或 III 化合物或制剂以及说明书,用于同时、分开或连续应用。特别地,标记将包括施用量、频率、和方法。

[0317] 本发明也提供药物包装或试剂盒,包括装有一种或多种提供治疗效应的本发明组合物组份的一个或多个容器。与这样的容器有关的可以是多种书面材料诸如使用说明书,或由政府机构管理药剂或生物制品的标记、制造、用途或销售所指定形式的通告,其通告反映得到了为人施用的制造、用途、或销售的机构批准。

[0318] 本发明也涉及制造的物品和试剂盒,其包含用于治疗本文公开疾病的物质。制造的物品可以包括容器和标签。合适容器的实例包括瓶、小瓶、和试管,可由多种材料包括玻璃和塑料形成。容器存有本发明式 I、II 或 III 化合物或制剂,其可有效治疗本文公开的疾病。容器上的标签指示本发明式 I、II 或 III 化合物或制剂用于治疗本文公开的疾病,且可以指示使用说明。在本发明的方面,容器中的药剂或制剂可包括本文披露的任何药剂或制剂。

[0319] 本发明还涉及试剂盒,其包含一种或多种式 I、II 或 III 的化合物。在本发明的方面,本发明的试剂盒包括本文公开的容器。特别地,本发明的试剂盒包括本文公开的一个容器和第二个包含缓冲剂的容器。试剂盒还可以包括商业上和用户角度上需要的其他材料,包括但不限于缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头、注射器、包装插入物,指示执行本文公开的任何方法(例如治疗本文公开疾病的方法)。本发明试剂盒中的药剂或制剂可包括本文披露的任何制剂或组合物。

[0320] 在本发明的方面,试剂盒可用于本文公开的任何方法,包括但不限于治疗患有阿尔茨海默氏病的受试者。本发明的试剂盒可以包含说明书,用于实施本文公开的任何方法。

[0321] 本文所述的组合物和方法被指示为单独的或与其他治疗药物或其他治疗形式结合的治疗药物或方法。它们可以与一种和多种疗法或药物共同施用、组合或配制,用于治疗本文公开的病症。本发明的组合物可以与其他治疗剂或疗法同时地、分开地或连续地施用。因此,式 I、II 或 III 的化合物可以与一种或多种其他治疗剂共同施用,用于治疗本文公开的疾病,所述其他治疗剂包括但不限于 β -分泌酶抑制剂、 α -分泌酶抑制剂、和 ϵ -分泌酶抑制剂,乙酰胆碱酯酶抑制剂,用于治疗本文公开的疾病所引起或相关的并发症的药物,或治疗或预防副作用的一般药物。

[0322] 将通过具体的实施例更详细地描述本发明。提供下列实施例,是为了说明性目的,并不旨在以任何方式限制本发明。

[0323] 实施例

[0324] 实施例 1

[0325] 吡嗪化合物的合成

[0326] 图 1 显示 MW01-2-151SRM、MW01-6-189WH、MW01-7-107WH、MW01-4-179LKM、

MW01-7-084WH、MW01-7-085WH、MW01-7-133WH、和 MW01-7-057 的结构,以下描述制备这些化合物的合成方案。

[0327] A. 2-(4-(6- 苯基哒嗪 -3- 基) 哌嗪 -1- 基) 嘧啶 (MW01-3-183WH) 的制备

[0328] 图 2 描述了用于制备 2-(4-(6- 苯基哒嗪 -3- 基) 哌嗪 -1- 基) 嘧啶 (MW01-3-183WH) 的合成方案。试剂和条件:(a) 1-BuOH、 NH_4Cl 、和 2-(哌嗪 -1- 基) 嘧啶。在约 15ml 的 1-BuOH 中制备通常的反应混合物,其包含在 2-(哌嗪 -1- 基) 嘧啶中的约 0.01mol 的 3- 氯 -6- 苯基哒嗪、约 0.05mol 的 2-(哌嗪 -1- 基) 嘧啶和约 0.01mol 盐酸铵。将所述混合物在约 130°C 搅拌约 48 小时,然后在减压下除去溶剂。然后将剩余残余物用乙酸乙酯萃取,用水和盐水洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥。除去溶剂后,接着用 95% 乙醇重结晶获得浅黄色晶体,产率 96.4%;HPLC:97.4% 纯度;HRMS 计算值为 318.1587,实测值为 318.1579; ^1H NMR(CDCl_3): δ 8.356(d, $J = 4.5$, 2H), 8.011(d, $J = 7.5$, 1H), 7.692(d, $J = 9.5$, 1H), 7.468(t, $J = 6.0$, 2H), 7.417(d, $J = 7.5$, 1H), 7.047(d, $J = 9.5$, 1H), 6.546(t, $J = 4.5$, 1H), 4.013(t, $J = 5.0$, 4H), 3.826(t, $J = 5.0$, 4H)。

[0329] B. 4- 甲基 -6- 苯基 -3-(4- 嘧啶 -2- 基哌嗪 -1- 基) 哒嗪 (MW01-2-151SRM) 的制备

[0330] 用如本文详细描述进行的如图 3(方案 1)、图 4(方案 2)、图 5(方案 3)、和图 6(方案 4) 中描述的几种合成方案制备 4- 甲基 -6- 苯基 -3-(4- 嘧啶 -2- 基哌嗪 -1- 基) 哒嗪 (MW01-2-151SRM)。不同的反应方案(方案 1、2 和 3) 通常可用于本发明的化合物,且不仅限于用于 MW01-2-151SRM 的制备。

[0331] 方案 1(图 3)

[0332] 4,5- 二氢 -4- 甲基 -6- 苯基哒嗪 -3(2H)- 酮 (2)

[0333] 在安装温度探头和冷凝器的 250mL 三 - 颈圆底烧瓶中,加入 7.7g (40mmol) 2- 甲基 -4- 氧 -4- 苯基丁酸和 20ml 乙醇 (95%)。将该混悬液冷却至 10°C 以下,以维持溶液温度在 20°C 以下的速度滴加于 10ml 乙醇中的 2.2ml (42mmol, 1.05 当量) 肼 - 水合物。在加入时,混悬液变成淡黄色溶液。加入后,将反应混合物回流加热且搅拌 2 小时,加热 20 分钟后,混合物中出现固体。一旦反应完成后,将烧瓶从油浴中移出并冷却至环境温度。经冷却,在烧瓶中形成了白色晶体,通过过滤收集沉淀。将固体首先用 30mL 2N NaHCO_3 ,随后用 60mL Milli-Q 水洗涤三次,在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥,得到产率 96.1% 的预期产品 2[参见 Hansen, KB 等, Organic process research & development, 2005, 9, 634-639; Nelson, DA. US 20050137397A1. Coudert, P 等. Journal of Heterocyclic Chemistry, 1988, 25(3), 799-802]。

[0334] 4- 甲基 -6- 苯基哒嗪 -3(2H)- 酮 (3)

[0335] 将 7.0g (35mmol) 2 放入 250ml 单颈圆底烧瓶中,随后加入 30ml 乙腈。搅拌混合物以让 2 溶解。向溶液中加入 11.3g (84mmol, 2.4 当量) 无水氯化铜 (II), 得到绿黄色的悬浮液。将一个回流冷凝器与该烧瓶连接并将一个充满无水 CaCl_2 的干燥试管安装到冷凝器的顶部。为控制反应过程中形成的 HCl 气体,应用 NaOH 溶液吸收从干燥试管中逃逸的 HCl。将反应混合物回流加热,反应悬浮液的颜色变为深绿色。当反应完成(回流 2 小时后)时,将烧瓶从油浴除去并冷却至环境温度。将反应在冰水浴中冷却,加入 150mL 冰水熄灭反应。将混合物强力搅拌 10 分钟,以得到灰色沉淀和蓝色含氯化铜 (I) 液体。通过过

滤收集沉淀(滤液 pH 为 0-1),用 100ml 的 1N HCl 溶液然后用 100 毫升水洗涤 5 次。为除去陷在固体中残余的含铜副产物,将滤饼在 150mL 1N HCl 溶液中搅拌 0.5 小时且过滤。滤饼随后用 Milli-Q 水洗涤直到滤液 pH 为 pH 7(大约 7 次洗涤)。将固体在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥,得到产率 93.8%的浅灰色粉末 3[参见 Eddy, S 等. *Synthetic Communications*, 2000, 30(1), 1-7. Csende, F 等 *Synthesis*, 1995, 1240-1242.]。

[0336] 3-氯-4-甲基-6-苯基哒嗪(4)

[0337] 将 6.0g (32mmol) 3 放入 250mL 单颈圆底烧瓶,并加入 30ml 乙腈,得到淡黄色泥浆。加入 6.0ml (64mmol, 2 当量) 三氯化磷,泥浆变为暗色。将该烧瓶与回流冷凝器连接并将一个充满无水 CaCl_2 的干燥试管安装到冷凝器的顶部。将反应混合物回流加热,并变为暗红色液体。当反应完成(回流 2.5 小时后)时,将混合物冷却至环境温度,并置于冰水浴中。搅拌下将冰水(150mL)缓慢地倾入反应混合物中,以将三氯化磷分解为 HCl 和 H_3PO_4 ,从而形成粉红色固体。通过过滤收集固体,用 50mL Milli-Q 水洗涤 3 次。将固体转移到 250 毫升烧杯中,随后加入 100mL 水以形成混悬液。接着加入 1N NaOH 直至水混悬液 pH = 8,将混合物搅拌 5 分钟以除去所有微量的起始原料污染物。将固体过滤,用 100 毫升水洗涤 3 次,以洗掉过量碱。将固体在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥,得到产率 96%的浅粉红色粉末 4[参见 Contreras, JM 等. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2001, 44(17), 2707-2718 ; Nelson, DA. US20050137397A1.]。

[0338] 2-(4-(4-甲基-6-苯基哒嗪-3-基)哌嗪-1-基)嘧啶(5)

[0339] 将 7.5g (36.6mmol) 4 放入 250mL 单颈圆底烧瓶中,并悬浮在 125mL 水中。加入 60.17g (366.0mmol, 10 当量) 2-(哌嗪-1-基)嘧啶,且将烧瓶安装冷凝器。将反应混合物在快速搅拌下加热回流 60 小时,连续加入胺有可能提高反应速率。当完成后,将混合物冷却至环境温度,在烧瓶中观察到由橙色水层和沉积在瓶底部的棕色油层组成的 2 层。将水倾出,剩下的油为产品 5。然后将油溶解在最小体积的异丙醇中,回流加热。回流 10 分钟后,将溶液冷却至环境温度,然后冷却至 0°C 以诱发结晶。将淡黄色结晶从异丙醇中过滤,用最小量的冷乙醚冲洗,得到 5。结晶回收率为 50%,但通过化合物循环结晶可以增加。[Contreras, JM 等 *Journal of Medicinal Chemistry*, 1999, 42(4), 730-741. Chayer, S 等. *Tetrahedron Letters*, 1998, 39, 841-844.]。

[0340] 方案 2(图 4)

[0341] 3-氯-6-苯基哒嗪-4-醇是按照 Coudert, P. 等 *supra.* 中所述的操作合成的。

[0342] 6-苯基-3-(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪-4-醇 (MW01-7-121WH)

[0343] 以下述同样的方式由 3-氯-4-羟基-6-苯基哒嗪(14g, 68mmol) 制备该化合物,得到白色固体(22.1g, 66mmol, 97.3%)。ESI-MS :m/z 335.2(M+H⁺)。¹H NMR(DMSO) :¹H NMR(DMSO) :d 8.406(d, J = 6.5, 2H), 7.740(d, J = 4.0, 2H), 7.558(s, 3H), 6.686(t, J = 4.8, J = 4.4, 1H), 6.841(s, 1H), 3.881(s, 4H), 3.620(s, 4H), 3.776(s, 4H)。

[0344] 4-氯-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-6-127WH)

[0345] 将 6-苯基-3-(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪-4-醇(22.0g, 66mmol) 混悬于 75ml 三氯化磷中,并在搅拌下 100°C 加热 3 小时。冷却至室温后,将混合物倾倒在碎冰上。然后将混合物用 NaOH 溶液中和,得到白色混悬液。将沉淀滤出,水洗,经过滤漏斗干燥,得到白色固体(21.3g, 60.3mmol, 91.4%)。ESI-MS :m/z 353.4(M+H⁺)。¹H NMR(CDCl₃) :

d 8.377 (d, J = 4.5, 2H), 8.036 (d, J = 7.5, 2H), 7.833 (s, 1H), 7.508 (m, 3H), 6.564 (t, J = 4.5, 1H), 4.073 (t, J = 4.0, J = 4.5, 4H), 3.672 (t, J = 4.0, J = 4.5, 4H)。

[0346] 4-甲基-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基)咪唑 (MW01-2-151SRM)

[0347] 将 MW01-6-127WH (1.4g, 4.0mmol)、K₂CO₃ 粉 (1.7g, 12.4mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (326mg, 0.4mmol)、氧化银 (2.3g, 10mmol)、甲基硼酸 (324mg, 5.4mmol) 和 20ml THF 加入反应试管中。然后将氩气冲入试管中 3 分钟。然后将试管紧紧地密封,并在 80℃ 加热搅拌 12 小时。冷却后,将该混合物用 10% NaOH 溶液淬灭,并用乙酸乙酯提取。在真空中浓缩有机相,并通过柱色谱法用 1 : 4 乙酸乙酯 : 石油醚洗脱,将剩余物纯化。获得白色粉末固体 (0.60g, 1.8mmol, 产率 45.2%)。ESI-MS :m/z 333.4 (M+H⁺)。¹H NMR (CDCl₃) :d 8.380 (d, J = 5.0, 2H), 7.065 (d, J = 7.0, 2H), 7.626 (s, 1H), 7.473 (m, 3H), 6.567 (t, J = 4.5, J = 5.0, 1H), 4.056 (t, J = 5.0, 4H), 3.475 (t, J = 5.0, 4H), 2.456 (s, 3H)。

[0348] 方案 3 (图 5)

[0349] 将 MW01-6-127WH (1.4g, 4.0mmol)、K₂CO₃ 粉 (1.7g, 12.4mmol)、Pd(PPh₃)₄ (240mg, 0.2mmol)、氧化银 (2.3g, 10mmol)、甲基硼酸 (324mg, 5.4mmol) 和 20ml DME 加入反应试管中。然后将氩气冲入试管中 3 分钟。然后将试管紧紧地密封,并在 120℃ 加热搅拌 24 小时。冷却后,通过硅藻土过滤混合物,然后将过滤液浓缩,并通过柱色谱法用 1 : 4 乙酸乙酯 : 石油醚洗脱,将剩余物纯化。获得白色粉末固体 (0.64g, 1.93mmol, 产率)。ESI-MS :m/z 333.4 (M+H⁺)。¹H NMR (CDCl₃) :d 8.380 (d, J = 5.0, 2H), 7.065 (d, J = 7.0, 2H), 7.626 (s, 1H), 7.473 (m, 3H), 6.567 (t, J = 4.5, J = 5.0, 1H), 4.056 (t, J = 5.0, 4H), 3.475 (t, J = 5.0, 4H), 2.456 (s, 3H)。

[0350] 方案 4 (图 6)

[0351] 4,5-二氢-4-甲基-6-苯基咪唑-3(2H)-酮 (2) (MW01-8-004WH)

[0352] 将 7.7g (40mmol) 2-甲基-4-氧-4-苯基丁酸加入 100ml 单颈圆底烧瓶中,随后加入 3.0ml (60mmol) 肼一水合物,然后加入 20ml 试剂等级的乙醇 (100%, 95% 乙醇也应当精制)。将烧瓶安装回流冷凝器,将反应混合物在 110℃ (油浴温度) 油浴中回流加热且搅拌 2 小时。将烧瓶从油浴中移出,并将反应混合物冷却至环境温度。移出搅拌棒,在 45℃ 水浴真空中蒸发溶剂。然后用 50ml Milli-Q 水处理剩余物,并搅拌 10 分钟,得到混悬液。通过过滤收集沉淀,用 100ml 2N NaHCO₃, 然后用 60ml Milli-Q 水洗涤三次,在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥,得到 7.15g 白色结晶 (Syn. ID, WH-8-004)。经 ESI-MS 确认,产率 95%。ESI-MS :m/z 189.2 (M+H⁺)。

[0353] 4-甲基-6-苯基咪唑-3(2H)-酮 (MW01-8-008WH)

[0354] 将 7.0g (35mmol) MW01-8-004WH 放入 100ml 单颈圆底烧瓶中,随后加入 9.4g (70mmol) 无水氯化铜 (II),然后加入 30ml 乙腈,得到棕黄色的悬浮液。将一个回流冷凝器与该烧瓶连接并将一个充满 CaCl₂ 的干燥试管安装到冷凝器的顶部。将反应混合物油浴 (110℃) 中回流加热 3 小时,一旦开始回流,反应悬浮液的颜色变为暗黄色。在反应完成 (通过 HPLC 监测) 后,将烧瓶从油浴除去并冷却至环境温度。将混合物倾倒在 300g 碎冰上,强力搅拌 10 分钟,以得到灰色沉淀和蓝色液体。然后通过过滤收集沉淀 (滤液 pH 为 1.5-2.0),用 100ml 的 1N HCl 溶液洗涤,以除去任何残余的铜副产物固体。随后用 100ml Milli-Q 水洗涤以除去固体中的酸,通过检查滤液 pH 值监控。将固体洗涤直到在大约 5 次

洗涤后滤液显示为 pH 7。将固体在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥,得到 6.3g 蓝灰色固体。产率为 96.7%,并经 ESI-MS 确认。ESI-MS :m/z 187.3 (M+H⁺)。

[0355] 3-氯-4-甲基-6-苯基哒嗪 (MW01-8-012WH)

[0356] 将 6.0g (32mmol) MW01-8-008WH 和 30ml (320mmol) 三氯化磷放入 100mL 单颈圆底烧瓶中。将该烧瓶与回流冷凝器连接并将一个充满无水 CaCl₂ 的干试管安装到冷凝器的顶部。(该反应中形成 HCl 气体,所以在大规模合成中可能需要碱性溶液诸如 NaOH 吸收 HCl)。将反应混合物在油浴 (90°C) 中搅拌 2 小时,然后冷却至环境温度,并倾倒在碎冰上(三氯化磷可通过水分解,得到 HCl 和 H₃PO₄)。然后将混合物强力搅拌 10 分钟,得到白色混悬液。将混悬液用 2N NaOH 溶液中和,直至该混悬液的 pH 为 pH = 7。将沉淀滤出,用 100ml Milli-Q 水洗涤三次,在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥,得到 5.9g 浅粉红色粉末 (Syn. ID, WH-8-012)。产率为 89.4%,并经 ESI-MS 确认。ESI-MS :m/z 205.4 (M+H⁺)。

[0357] 2-(4-(4-甲基-6-苯基哒嗪-3-基)哌嗪-1-基)嘧啶 (MW01-2-151SRM)

[0358] 将 0.82g (4.0mmol) WH-8-012 置入 30ml 高压容器,随后加入 2.6g (16.0mmol) 1-(2-嘧啶)哌嗪,然后加入 15ml 1-BuOH。将容器紧紧地密封,放入油浴中,在 130°C (油浴温度) 搅拌 2.5 天。然后将反应混合物冷却至环境温度,并转移至单颈烧瓶以在减压下蒸发。除去溶剂产生棕红色残余物,用 30ml 水处理得到棕色粘性油。将该混合物保持在环境温度过夜,油逐渐固体化。然后将形成的固体用钢刮刀弄碎成小片。通过过滤收集固体,并用 50ml 的 Milli-Q 纯水洗涤 3 次并在真空中经过滤漏斗干燥得到 1.25g 浅黄色固体 (Syn. ID, WH-8-020)。收率 94%。(备选的分选是应用沉淀步骤代替固化过程。固化是一种简单且廉价的操作,但耗时。沉淀是有时间效率的,但比前一种更昂贵。这可由过程化学家决定选择哪种步骤来生产。沉淀过程如下:将油产品完全溶解在 10ml 的试剂纯度的乙醇或丙酮中形成溶液。然后将溶液在剧烈搅拌的条件下逐滴加入到 150ml 冰水中。然后逐渐形成浅黄色悬浮液。通过过滤收集固体,用 Milli-Q 水洗涤,在真空中经过滤漏斗干燥得到所需产品。)最终化合物经 ESI-MS 和 NMR 确认。ESI-MS :m/z 333.8 (M+H⁺)。1H NMR (CDCl₃) :d 8.380 (d, J = 5.0, 2H), 7.065 (d, J = 7.0, 2H), 7.626 (s, 1H), 7.473 (m, 3H), 6.567 (t, J = 4.5, J = 5.0, 1H), 4.056 (t, J = 5.0, 4H), 3.475 (t, J = 5.0, 4H), 2.456 (s, 3H)。

[0359] C. 4,6-二苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-5-188WH) 的制备

[0360] 用如本文详细描述进行的如图 7 (方案 1)、图 8 (方案 2)、和图 9 (方案 3) 中描述的几种合成方案制备 4,6-二苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-5-188WH) 的制备。不同的反应方案 (方案 1、2 和 3) 通常可用于本发明的化合物,且不仅限于用于 MW01-2-188WH 的制备。

[0361] 方案 1 (图 7)

[0362] 3-氯-6-苯基哒嗪-4-醇是按照 Coudert, P. 等 *supra.* 中所述的操作合成的。

[0363] 6-苯基-3-(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪-4-醇 (MW01-7-121WH)

[0364] 由 3-氯-4-羟基-6-苯基哒嗪 (14g, 68mmol) 制备该化合物。将 3ml 1-BuOH 中的 3-氯-4,6-二苯基哒嗪 (267mg, 1.0mmol)、1-(2-嘧啶基)哌嗪 (656mg, 4.0mmol) 的混合物在 130°C 搅拌下加热 3 天。在真空中蒸发除去溶剂,用水处理剩余物,得到混悬液。将固体滤出,用水洗涤,在真空中经过滤漏斗干燥得到浅粉红色固体。产生白色固体 (22.1g,

66mmol, 97.3%)。ESI-MS :m/z 335.2 (M+H⁺)。¹H NMR (DMSO) :d 8.406 (d, J = 6.5, 2H), 7.740 (d, J = 4.0, 2H), 7.558 (s, 3H), 6.686 (t, J = 4.8, J = 4.4, 1H), 6.841 (s, 1H), 3.881 (s, 4H), 3.620 (s, 4H), 3.776 (s, 4H)。

[0365] 4-氯-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-6-127WH)

[0366] 将 6-苯基-3-(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪-4-醇 (22.0g, 66mmol) 混悬于 75ml 三氯化磷中, 并在搅拌下 100℃ 加热 3 小时。冷却至室温后, 将混合物倾倒在碎冰上。然后将混合物用 NaOH 溶液中和, 得到白色混悬液。将沉淀滤出, 水洗, 经过滤漏斗干燥, 得到白色固体 (21.3g, 60.3mmol, 91.4%)。ESI-MS :m/z 353.4 (M+H⁺)。¹H NMR (CDCl₃) : d 8.377 (d, J = 4.5, 2H), 8.036 (d, J = 7.5, 2H), 7.833 (s, 1H), 7.508 (m, 3H), 6.564 (t, J = 4.5, 1H), 4.073 (t, J = 4.0, J = 4.5, 4H), 3.672 (t, J = 4.0, J = 4.5, 4H)。

[0367] 4,6-二苯基-3-(4-嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-5-188WH)

[0368] 将于 3ml 1-BuOH 中 3-氯-4,6-二苯基哒嗪 (267mg, 1.0mmol)、1-(2-嘧啶基)哌嗪 (656mg, 4.0mmol) 的混合物在 130℃ 搅拌下加热 3 天。在真空中蒸发除去溶剂, 用水处理剩余物, 得到混悬液。将固体滤出, 用水洗涤, 在真空中经过滤漏斗干燥得到浅粉红色固体。(320mg, 0.81mmol, 产率 81.1%)。ESI-MS :m/z 395.5 (M+H⁺)。HRMS 计算值为 395.1979, 实测值为 395.1973; ¹H NMR (CDCl₃) : d 8.329 (d, J = 5.0, 2H), 8.101 (d, J = 7.5, 2H), 7.734 (d, J = 7.5, 2H), 7.655 (s, 1H), 7.509 (m, 6H), 6.530 (t, J = 4.5, 1H), 3.836 (t, J = 4.5, J = 5.0, 4H), 3.394 (t, J = 5.0, J = 4.5, 4H)。

[0369] 方案 2 (图 8)

[0370] 4,5-二氢-6-苯基-4-苯基哒嗪-3(2H)-酮

[0371] 将 135ml (135mmol) 苯基溴化镁 (1M) 在 THF 中的溶液加入到 6-苯基哒嗪酮化合物 7.8g (45mmol) 在无水甲苯 (50ml) 的热悬浮液。将混合物回流 8 小时, 放在环境温度过夜, 然后用饱和氯化铵溶液分解。分离有机层, 并且将水层用 100ml 乙酸乙酯萃取。除去溶剂并将剩余物用乙醇结晶。通过过滤收集晶体且在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥, 得到 5.6g 白色结晶。产率为 50%, 并经 ESI-MS 确认。ESI-MS :m/z 250.1 (M+H⁺)。

[0372] 6-苯基-4-苯基哒嗪-3(2H)-酮

[0373] 将上述获得的 4.4g (17.5mmol) 的 6-哒嗪酮放入 50ml 单颈圆底烧瓶, 接着加入 4.7g (35mmol) 无水氯化铜 (II), 然后加入 20ml 乙腈, 得到棕黄色悬浮液。将回流冷凝器与烧瓶连接并将一个充满 CaCl₂ 的干燥试管安装到冷凝器的顶部。将反应混合物在油浴 (110℃) 中加热到回流 3 小时。一旦开始回流, 反应悬浮液的颜色变成暗黄色。在反应完成 (通过 HPLC 监测) 后, 将烧瓶从油浴中除去并冷却至环境温度。将混合物倾倒在 200g 碎冰上并剧烈搅拌 10 分钟, 得到灰色沉淀和蓝色液体。然后通过过滤收集沉淀 (滤液 pH 为 1.5-2.0), 用 50ml 的 1N HCl 溶液洗涤, 以除去任何残余的铜副产物固体。随后用 100ml Milli-Q 水洗涤以除去固体中的酸, 并通过检查监控滤液 pH 值。将固体洗涤直到在大约 5 次洗涤后滤液显示为 pH7。将固体在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥, 得到 3.9g 蓝灰色固体。产率为 90%, 并经 ESI-MS 确认。ESI-MS :m/z 248.1 (M+H⁺)。

[0374] 3-氯-6-苯基-4-苯基哒嗪

[0375] 将上述获得的 2.0g (8mmol) 6-苯基哒嗪酮和 10ml (54mmol) 三氯化磷 (试剂等级, Aldrich) 放入 50ml 单颈圆底烧瓶中。将该烧瓶与回流冷凝器连接并将一个充满 CaCl₂

的干试管安装到冷凝器的顶部。(该反应中形成 HCl 气体,所以在大规模合成中可能需要碱性溶液诸如 NaOH 吸收 HCl)。将反应混合物在油浴 (90℃) 中搅拌 2 小时,然后冷却至环境温度,并倾倒在碎冰上。(三氯化磷可通过水分解,得到 HCl 和 H_3PO_4)。然后将混合物强力搅拌 10 分钟,得到白色混悬液。将混悬液用 2N NaOH 溶液中和,直至该混悬液的 pH 为 pH = 7。将沉淀滤出,用 100ml 水洗涤三次,在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥,得到 1.8g 浅粉红色粉末。产率为 85%,并经 ESI-MS 确认。ESI-MS :m/z 266.4 (M+H⁺)。

[0376] 2-(4-(6-苯基-4-苯基哒嗪-3-基)哌嗪-1-基)嘧啶

[0377] 将上述获得的 1.1g (4.0mmol) 3-氯哒嗪放入一个 30ml 压力容器中,随后加入 2.6g (16.0mmol) 1-(2-嘧啶)哌嗪,然后加入 15ml 1-BuOH (试剂等级)。将容器紧紧地密封,放入油浴中,在 130℃ (油浴温度) 搅拌 3 天。然后将反应混合物冷却至环境温度,并转移至单颈烧瓶以在减压下蒸发。除去溶剂产生棕红色残余物,用 30ml 水处理得到棕色混悬液。通过过滤收集固体,并用 50ml 水洗涤 3 次,在真空中经过滤漏斗干燥,得到 0.96g 浅黄色固体。产率为 90%,ESI-MS :m/z 395.5 (M+H⁺)。HRMS 的计算值为 395.1979,实测值为 395.1973; ¹H NMR (CDCl₃) :d 8.329 (d, J = 5.0, 2H), 8.101 (d, J = 7.5, 2H), 7.734 (d, J = 7.5, 2H), 7.655 (s, 1H), 7.509 (m, 6H), 6.530 (t, J = 4.5, 1H), 3.836 (t, J = 4.5, J = 5.0, 4H), 3.394 (t, J = 5.0, J = 4.5, 4H)。

[0378] 方案 3 (图 9)

[0379] 3-氯-6-苯基哒嗪-4-醇是按照 Coudert, P. 等 supra. 中所述的操作合成的。

[0380] 4,6-二苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-5-188WH)

[0381] 将于 3ml 1-BuOH 中 3-氯-4,6-二苯基哒嗪 (267mg, 1.0mmol)、1-(2-嘧啶基)哌嗪 (656mg, 4.0mmol) 的混合物在 130℃ 搅拌下加热 3 天。在真空中蒸发除去溶剂,用水处理剩余物,得到混悬液。将固体滤出,用水洗涤,在真空中经过滤漏斗干燥得到浅粉红色固体。(320mg, 0.81mmol, 产率 81.1%)。ESI-MS :m/z 395.5 (M+H⁺)。HRMS 的计算值为 395.1979,实测值为 395.1973; ¹H NMR (CDCl₃) :d 8.329 (d, J = 5.0, 2H), 8.101 (d, J = 7.5, 2H), 7.734 (d, J = 7.5, 2H), 7.655 (s, 1H), 7.509 (m, 6H), 6.530 (t, J = 4.5, 1H), 3.836 (t, J = 4.5, J = 5.0, 4H), 3.394 (t, J = 5.0, J = 4.5, 4H)。

[0382] D. 4-吡啶基-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-6-189WH).

[0383] 用如本文详细描述进行的如图 10A 和 10B 中描述的两种合成方案制备 4-吡啶基-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-6-189WH)。不同的反应方案 (方案 1 和 2) 通常可用于本发明的化合物,且不仅限于用于 MW01-2-189WH 的制备。

[0384] 方案 1

[0385] 3-氯-6-苯基哒嗪-4-醇是按照 Coudert, P. 等 supra. 中所述的操作合成的。

[0386] 6-苯基-3-(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪-4-醇 (MW01-7-121WH)

[0387] 由 3-氯-4-羟基-6-苯基哒嗪 (14g, 68mmol) 制备该化合物。将于 3ml 1-BuOH 中的 3-氯-4,6-二苯基哒嗪 (267mg, 1.0mmol)、1-(2-嘧啶基)哌嗪 (656mg, 4.0mmol) 的混合物在 130℃ 搅拌下加热 3 天。在真空中蒸发除去溶剂,用水处理剩余物,得到混悬液。将固体滤出,用水洗涤,在真空中经过滤漏斗干燥得到浅粉红色固体。产生白色固体 (22.1g, 66mmol, 97.3%)。ESI-MS :m/z 335.2 (M+H⁺)。 ¹H NMR (DMSO) :d 8.406 (d, J = 6.5, 2H), 7.740 (d, J = 4.0, 2H), 7.558 (s, 3H), 6.686 (t, J = 4.8, J = 4.4, 1H), 6.841 (s,

1H), 3.881 (s, 4H), 3.620 (s, 4H), 3.776 (s, 4H)。

[0388] 4-氯-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-6-127WH)

[0389] 将 6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪-4-醇 (22.0g, 66mmol) 混悬于 75ml 三氯化磷中, 并在搅拌下 100℃ 加热 3 小时。冷却至室温后, 将混合物倾倒在碎冰上。然后将混合物用 NaOH 溶液中和, 得到白色混悬液。将沉淀滤出, 水洗, 经过滤漏斗干燥, 得到白色固体 (21.3g, 60.3mmol, 91.4%)。ESI-MS :m/z 353.4 (M+H⁺)。1H NMR (CDCl₃) :d 8.377 (d, J = 4.5, 2H), 8.036 (d, J = 7.5, 2H), 7.833 (s, 1H), 7.508 (m, 3H), 6.564 (t, J = 4.5, 1H), 4.073 (t, J = 4.0, J = 4.5, 4H), 3.672 (t, J = 4.0, J = 4.5, 4H)。

[0390] 4-吡啶基-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-6-189WH)

[0391] 将 MW01-6-127WH (1.4g, 4.0mmol)、K₂CO₃ 粉 (1.7g, 12.4mmol)、Pd(PPh₃)₄ (240mg, 0.2mmol)、4-吡啶硼酸 (664mg, 5.4mmol) 和 20ml DME 加入反应试管中。然后将氩气冲入试管中 3 分钟。然后将试管紧紧地密封, 并在 120℃ 加热搅拌 24 小时。冷却后, 通过硅藻土过滤混合物, 然后将过滤液浓缩, 并通过柱色谱法用 1 : 4 乙酸乙酯 : 石油醚洗脱, 将剩余物纯化。获得浅黄色针状结晶 (0.65g, 1.65mmol, 产率 41.2%)。经 ESI-MS 和 NMR 确认。ESI-MS :m/z 396.2 (M+H⁺)。1H NMR (CDCl₃) :d 8.809 (d, J = 6.0, 2H), 8.335 (d, J = 5.0, 2H), 8.090 (d, J = 7.5, 2H), 7.750 (m, 6H), 6.543 (t, J = 4.5, 1H), 3.868 (t, J = 5.0, 4H), 3.404 (t, J = 5.0, 4H)。

[0392] 方案 2

[0393] 4,5-二氢-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪-3(2H)-酮

[0394] 向配有磁力搅拌棒、150ml 压力平衡添加漏斗、回流冷凝器和一个玻璃塞的 200ml 三颈圆底烧瓶中, 加入 21g (135mmol) 4-溴吡啶和 70 无水 THF。将系统烘干并用前用氩气冲洗。将 135ml (135mmol) 苯基溴化镁的 THF 溶液 (1M) 放入压力平衡添加漏斗。然后, 经 10 分钟时期内滴加格利雅 (Grignard) 溶液。加入后, 将反应搅拌 15 分钟以完成反应。然后获得 Grignard 试剂溶液。将上述获得的 4-吡啶基溴化镁溶液加入到 6-苯基哒嗪酮化合物 7.8g (45mmol) 在无水甲苯 (50ml) 的热悬浮液。将混合物回流 8 小时, 放在环境温度过夜, 然后用饱和氯化铵溶液分解。分离有机层, 并且将水层用 100ml 乙酸乙酯萃取。除去溶剂并将剩余物用乙醇结晶。通过过滤收集晶体且在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥, 得到 5.6g 白色结晶。产率为 50%, 并经 ESI-MS 确认。ESI-MS :m/z 252.1 (M+H⁺)。

[0395] 6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪-3(2H)-酮

[0396] 将上述获得的 4.4g (17.5mmol) 的 6-哒嗪酮放入 50ml 单颈圆底烧瓶, 接着加入 4.7g (35mmol) 无水氯化铜 (II), 然后加入 20ml 乙腈, 得到棕黄色悬浮液。将回流冷凝器与烧瓶连接并将一个充满 CaCl₂ 的干燥试管安装到冷凝器的顶部。将反应混合物在油浴 (110℃) 中加热到回流 3 小时。一旦开始回流, 反应悬浮液的颜色变成暗黄色。在反应完成 (通过 HPLC 监测) 后, 将烧瓶从油浴中除去并冷却至环境温度。将混合物倾倒在 200g 碎冰上并剧烈搅拌 10 分钟, 得到灰色沉淀和蓝色液体。然后通过过滤收集沉淀 (滤液 pH 为 1.5-2.0), 用 50ml 的 1N HCl 溶液洗涤, 以除去任何残余的铜副产物固体。随后用 100ml Milli-Q 水洗涤以除去固体中的酸, 并通过检查监控滤液 pH 值。将固体洗涤直到在大约 5 次洗涤后滤液显示为 pH7。将固体在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥, 得到 3.9g 蓝灰色固体。产率为 90%, 并经 ESI-MS 确认。ESI-MS :m/z 250.1 (M+H⁺)。

[0397] 3-氯-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪

[0398] 将上述获得的 2.0g (8mmol) 6-苯基哒嗪酮和 10ml (54mmol) 三氯化磷 (试剂等级, Aldrich) 放入 50ml 单颈圆底烧瓶中。将该烧瓶与回流冷凝器连接并将一个充满 CaCl_2 的干试管安装到冷凝器的顶部。(该反应中形成 HCl 气体, 所以在大规模合成中可能需要碱性溶液诸如 NaOH 吸收 HCl)。将反应混合物在油浴 (90°C) 中搅拌 2 小时, 然后冷却至环境温度, 并倾倒在碎冰上。(三氯化磷可通过水分解, 得到 HCl 和 H_3PO_4)。然后将混合物强力搅拌 10 分钟, 得到白色混悬液。将混悬液用 2N NaOH 溶液中和, 直至该混悬液的 pH 为 $\text{pH} = 7$ 。将沉淀滤出, 用 100ml 水洗涤三次, 在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥, 得到 1.8g 浅粉红色粉末。产率为 85%, 并经 ESI-MS 确认。ESI-MS : m/z 268.4 ($\text{M}+\text{H}^+$)。

[0399] 4-吡啶基-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-基)哒嗪 (MW01-6-189WH)

[0400] 将上述获得的 1.1g (4.0mmol) 3-氯哒嗪放入一个 30ml 压力容器中, 随后加入 2.6g (16.0mmol) 1-(2-嘧啶)哌嗪, 然后加入 15ml 1-BuOH (试剂等级)。将容器紧紧地密封, 放入油浴中, 在 130°C (油浴温度) 搅拌 3 天。然后将反应混合物冷却至环境温度, 并转移至单颈烧瓶以在减压下蒸发。除去溶剂产生棕红色残余物, 用 30ml 水处理得到棕色混悬液。通过过滤收集固体, 并用 50ml 水洗涤 3 次, 在真空中经过滤漏斗干燥, 得到 0.96g 浅黄色固体。产率为 90%, 并经 ESI-MS 和 NMR 确认。ESI-MS : m/z 396.2 ($\text{M}+\text{H}^+$)。 ^1H NMR (CDCl_3) : δ 8.809 (d, $J = 6.0$, 2H), 8.335 (d, $J = 5.0$, 2H), 8.090 (d, $J = 7.5$, 2H), 7.750 (m, 6H), 6.543 (t, $J = 4.5$, 1H), 3.868 (t, $J = 5.0$, 4H), 3.404 (t, $J = 5.0$, 4H)。

[0401] E.N-(环丙基甲基)-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪-3-胺 (MW01-7-084WH) 的制备.

[0402] 制备 N-(环丙基甲基)-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪-3-胺 (MW01-7-084WH) 合成方案描述在图 11 中, 按照本文所述进行合成。

[0403] 4-氯-6-苯基哒嗪-3(2H)-酮 (MW01-6-093WH)

[0404] 4-氯-6-苯基哒嗪-3(2H)-酮是按照 Coudert, P. [18] 中所述的操作合成的。

[0405] 4-氯-2-(甲氧基甲基)-6-苯基哒嗪-3(2H)-酮 (MW01-7-053WH)

[0406] 将于无水 CH_2Cl_2 (300mL) 中的氯哒嗪酮 1 (25.5g, 0.12mol)、4-N, N-二甲基氨基吡啶 (0.20g) 和 $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ (26.7g, 0.21mol) 的混合物在 0°C (冰浴) 搅拌 30 分钟。加入甲氧基甲基氯 (25g, 0.31mol), 并在 0°C 将混合物搅拌 1 小时, 然后温热至室温。将反应在室温搅拌直到完成。然后在真空中除去溶剂, 用水处理剩余物, 用稀释的 Na_2CO_3 溶液洗涤并用 EtOAc 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并蒸发。然后将剩余物通过 95% 乙醇重结晶纯化, 得到 20.1 浅黄色固体。产率 66.9%。

[0407] 6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪-3(2H)-酮 (MW01-7-069WH)

[0408] 将受保护的哒嗪酮 MW01-7-053WH (1.0 当量) 与芳基硼酸 (1.37 当量)、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.05 当量) 和 K_2CO_3 (3.1 当量) 以及 200mL DME 在 350ml 高压容器中混合, 将氩气冲入 3 分钟, 然后将混合物搅拌并回流 (油浴, 120°C), 直到起始材料不复存在。冷却后, 在减压下将溶液浓缩至干, 剩余物用水处理并过滤。滤饼用水经过滤漏斗洗过, 然后直接用于下一步。将上述得到的剩余物溶于 200ml EtOH 中, 加入 6N HCl (200mL), 并将反应混合物回流 (油浴, 120°C) 小时, 然后让其冷却至室温, 在减压下浓缩至干。剩余物用稀氢氧化钠溶液中和。然后将混悬液过滤, 用水洗涤, 经过滤漏斗干燥。用 90% 乙醇重结晶, 得到棕黄

色固体。产率 80.4%。

[0409] ESI-MS :m/z 294.3 (M+H⁺)。

[0410] 3-氯-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪 (MW01-7-076WH)

[0411] 将 3-氯-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪 (MW01-7-076WH) (66mmol) 悬浮于 75ml 三氯化磷,并在搅拌下 100℃加热 3 小时。冷却至室温后,将混合物倾倒在碎冰上。然后将混合物用 NaOH 溶液中和,得到白色混悬液。将沉淀滤出,水洗,经过滤漏斗干燥,得到浅黄色固体。ESI-MS :m/z 268.4 (M+H⁺)。

[0412] N-(环丙基甲基)-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪-3-胺 (MW01-7-084WH)

[0413] 将 3ml 1-BuOH 中的 N-(环丙基甲基)-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪-3-胺 (MW01-7-084WH) (0.5mmol)、C-环丙基-甲胺 (2.0mmol) 的混合物在 130℃搅拌下加热约 7 天。在真空中蒸发除去溶剂,用水处理剩余物,得到混悬液。将固体滤出,用水洗涤,然后用 1 : 3 乙酸乙酯 : 石油醚洗涤,在真空中经过滤漏斗干燥,得到灰色固体。ESI-MS :m/z 330.4 (M+H⁺)。

[0414] F. 3-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪 (MW01-7-085WH) 的制备.

[0415] 将 3ml 1-BuOH 中的 3-氯-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪 (MW01-7-076WH) (0.5mmol)、1-甲基-哌嗪 (2.0mmol) 的混合物在 130℃搅拌下加热约 7 天。在真空中蒸发除去溶剂,用水处理剩余物,得到混悬液。将固体滤出,用水洗涤,然后用 1 : 3 乙酸乙酯 : 石油醚洗涤,在真空中经过滤漏斗干燥,得到棕色固体。ESI-MS :m/z 332.2 (M+H⁺)。制备 3-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-苯基-4-(吡啶-4-基)哒嗪 (MW01-7-085WH) 的合成反应方案描述在图 12 中。

[0416] G. 4,6-二苯基-3-哌嗪基哒嗪 (MW01-7-133WH) 的制备

[0417] 制备 4,6-二苯基-3-哌嗪基哒嗪 (MW01-7-133WH) 的合成反应方案描述在图 13 中,且合成按照本文所述进行。以 MW01-7-057WH 所述的同样方式由 3-氯-4,6-二苯基哒嗪 (533mg, 2.0mmol) 制备本化合物,得到浅黄色固体。(550mg, 17.4mmol, 产率 86.9%)。ESI-MS :m/z 317.3 (M+H⁺)。1H NMR (CDCl₃) :d 8.086 (d, J = 7.5, 2H), 7.705 (d, J = 7.5, 2H), 7.619 (s, 1H), 7.498 (m, 6H), 3.318 (d, J = 4.0, 4H), 2.932 (d, J = 4.0, 4H) 1.896 (s, 1H)。

[0418] H. 2-(4-(6-苯基-4-(哌啶-1-基)哒嗪-3-基)哌嗪-1-基)嘧啶 (MW01-7-107WH) 的制备

[0419] 制备 2-(4-(6-苯基-4-(哌啶-1-基)哒嗪-3-基)哌嗪-1-基)嘧啶 (MW01-7-107WH) 的合成反应方案描述在图 14 中,且合成按照本文所述进行。以 MW01-7-057WH 所述的同样方式由 MW01-6-127WH (200mg, 0.57mmol) 制备本化合物,得到浅黄色固体 (220mg, 0.55mmol, 产率 96.3%)。ESI-MS :m/z 402.5 (M+H⁺)。

[0420] I. 6-甲基-4-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-)哒嗪 (MW01-7-057) 的制备

[0421] 制备 6-甲基-4-苯基-3-(4-嘧啶-2-基哌嗪-1-)哒嗪 (MW01-7-057) 的合成反应方案描述在图 15 中,且合成按照本文所述进行。将 3ml 1-BuOH 中的 3-氯-6-甲基-4-苯基哒嗪 (100mg, 0.5mmol)、1-(2-嘧啶基)哌嗪 (400mg, 2.0mmol) 的混合物在 130℃搅拌下加热 7 天。在真空中蒸发除去溶剂,用水处理剩余物,得到混悬液。将固体滤出,用

水洗涤,然后用 1 : 3 乙酸乙酯 : 石油醚洗涤,在真空中经过滤漏斗干燥,得到浅黄色固体 (68mg, 0.20mmol, 产率 41.7%)。纯度 > 95%;ESI-MS :m/z 333.1 (M+H⁺)。¹H NMR(CDCl₃) : d 8.310(d, J = 5.0, 2H), 7.678(d, J = 7.5, 2H), 7.476(m, 3H), 7.119(s, H), 6.509(t, J = 4.5, 1H), 3.785(t, J = 4.5, J = 5.0, 4H), 3.277(t, J = 4.5, J = 5.0, 4H), 2.669(s, 3H)。

[0422] 实施例 2

[0423] 证实吡嗪化合物活性的检测

[0424] 以下测定可用于证实吡嗪化合物活性。

[0425] 细胞培养测定。应用以前描述的方法 (Mirzoeva 等, J Med Chem 45 :563-566, 2002), 进行本发明化合物浓度依赖性活性的基于细胞的检测。将 BV-2 小鼠小神经胶质细胞 (1.25×10^4 细胞 / 孔, 于 48-孔板) 在含 10% 胎牛血清 (FBS) 的 α MEM 培养基培养一天, 然后在含对照缓冲剂或标准神经胶质活化刺激的脂多糖 (LPS, 来自鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonellatyphimurium*); 终浓度 100ng/ml) 的无血清培养基中, 在存在稀释剂或化合物下, 处理 16 小时。在二甲基亚砜 (DMSO) 中制备化合物的原液 (20mM)。细胞处理溶液通过在即将加入细胞前将原液稀释到无血清培养基中制得。对照孔含有与含化合物孔相同终浓度的 DMSO。以前确定了该浓度的 DMSO 对细胞没有毒性 (Mirzoeva 等, Brain Res. 844 : 126-134, 1999)。通过如以前描述的 Griess 测定 (Mirzoeva 等, Brain Res. 844 :126-134, 999; Mirzoeva 等, J Med Chem 45 :563-566, 2002), 在 BV-2 条件培养基中测量累积的亚硝酸盐即一氧化氮 (NO) 的稳定代谢产物。在细胞裂解液中 IL-1 β 的水平 and 条件培养基中的 TNF α 将按照制造商的指示通过 ELISA (Biosource International) 测定。细胞裂解液将按照 (Mirzoeva 等, JMed Chem, 2002) 所述的蛋白质印迹法分析, 以确定诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、环氧合酶 -2 (COX-2) 和载脂蛋白 E (apoE) 的水平。为了 apoE 的测定, 制备大鼠初始混合的神经胶质, 并如先前所述 (Mirzoeva 等, 2002, supra) 用人低聚物 A β ₁₋₄₂ (10 μ M) 刺激。蛋白质印迹所用的抗体和稀释如下 : 抗 -COX-2 (1 : 1000, Santa Cruz), 抗 -iNOS (1 : 1000, Transduction Laboratories), 抗 -apoE (1 : 000)。抗 β -肌动蛋白抗体 (1-500, 000 稀释度, Sigma) 将用来确认样品间负载的平等蛋白质。

[0426] 小鼠体内疗效的研究。按照先前所述 (Craft 等, Neurobiol Aging 25 :1283-1292, 2004b), 除了化合物施用将是经口外, 设计这项研究并治疗小鼠脑室内 (ICV) 灌注人低聚物 A β ₁₋₄₂ 的示例。将雌性 C57B1/6 小鼠 (Harlan) 体重 20-25g (3-4 个月龄) 安置在无病原体的设施和近 12 小时 /12 小时黑暗和光周期中, 并可随意获得食物和水。

[0427] 通过口服管饲法给小鼠施用于 0.5% (w/v) 羧甲基纤维素混悬液中的测试化合物 (2.5mg/kg/天) 或对照溶剂 (10% DMSO)。在 A β ICV 灌注开始后第 21 天, 开始每天一次的治疗并继续 14 天。在 A β ICV 灌注开始后第 50 天开始, 按照以前所述 (Craft 等, J Mol Neurosci 24 :115-122, 2004a), 应用自发交替的 Y 迷宫试验, 评价海马依赖性空间学习能力。简单地说, 将每个小鼠放置在“开始”臂, 然后释放, 让其选择两个其他臂中的一个。阻滞小鼠在所选臂中停留 30 秒, 然后将它们放回到开始臂, 并再次释放, 让其选择两个其他臂中的一个。如果第二次选择不同于第一次选择, 小鼠将记为交替。每日一次试验, 测试小鼠 10 天, 计算每个小鼠的平均交替的百分数。在 A β ICV 灌注开始后第 50 天后, 将小鼠用戊巴比妥 (50mg/kg) 麻醉, 灌注 HEPES 缓冲液 (10mM, pH 7.2), 其含有蛋白酶抑制剂鸡尾酒 (1 μ g/ml 亮肽素、1 μ M 二巯苏糖醇 (dithithreitol)、2mM 钒酸钠、1 μ M 苯基甲基磺酰氟化

物)。如以前所述 (Craft 等, Neurobiol Aging 25:1283-1292, 2004b), 移出大脑, 纵向对切。将右半脑固定在 4% (v/v) 多聚甲醛和石蜡包埋, 用于组织学检查。从左半脑切开海马, 急速冻结, 用于随后生化评价。按照 (Craft 等, 2004b, supra) 的描述, 通过杜恩斯匀浆 (dounce) 和超声处理, 随后离心, 在含蛋白酶抑制剂鸡尾酒的 HEPES 缓冲液中制备海马提取上清液。

[0428] 按照制造商的指示通过 ELISA (Biosource International) 测定海马上清液中 IL-1 β 和 TNF α 的水平。基本上按照以前所述 (Van Eldik 和 Griffin, Biochem Biophys Acta 1223:398-403, 1994) 的以钨为基础 ELISA, 测定海马上清液中 S100B 的水平。按照以前所述程序 (Craft 等, 2004b, supra) 通过 ELISA 定量海马上清液中突触囊泡蛋白的水平。按照 (Craft 等, 2004b) 所述应用抗 -PSD-95 抗体 (1 : 100,000 稀释度; Upstate Biotechnology) 通过蛋白质印迹, 测定 PSD-95 水平。

[0429] 如同以前所述 (Craft 等, 2004b, supra), 分别应用抗 -GFAP (1 : 1500; Sigma) 和抗 -F4/80 (1 : 100; Serotek) 抗体, 使用小鼠对小鼠或 Vectastain Universal Elite ABC 免疫检测试剂盒 (Vector/Novocastra) 和二氨基联苯胺 (DAB) 底物发育, 在 10 μ m 切片上进行激活星形细胞和小神经胶质细胞的免疫组织化学检测。在离海马前囟点 -1.8、-2.1、和 -2.3mm 处的 3 个 GFAP 和 F4/80 标记的切片中, 手动计算细胞体。如同以前所述 (Craft 等, 2004b, supra), 用兔抗人 A β 抗体进行 A β 免疫组织化学检测。如同以前所述 (Craft 等, 2004b, supra), 通过双盲观测, 确定细胞计数和淀粉样蛋白斑计数, 并确定淀粉样蛋白斑块面积。应用 Vectastain Rabbit Elite ABC 试剂盒, 用抗硝基酪氨酸抗体 (1 : 125; Chemicon) 测量过氧亚硝酸盐介导的神经元损害。对于硝基酪氨酸细胞计数, 如 (Craft 等, 2004b, supra) 所述, 对大致邻近用于 F4/80 和 GFAP 分析的三种切片, 计算海马和下托神经元层中所有 DAB 染色的细胞体。

[0430] 体外稳定性, 口服生物利用度和脑摄取。在 37 $^{\circ}$ C 的标准孵化中, 用大鼠肝微粒体 (BD Biosciences) 和 NADPH- 再生系统对化合物 (1 μ M) 的稳定性进行孵化 30 和 120 分钟。反应通过乙腈停止, 将反应混合物在 16000xg 离心 10 分钟。通过校准 HPLC 分析 10 μ l 的上清液, 定量测量孵化后剩余化合物占初始量的百分数。HPLC 系统 (Dionex Corp., Sunnyvale, CA) 包括 Dionex P480 泵, 备有保护柱 (Phenomenex, Torrance, CA) 的 Phenomenex Luna C18 柱 (250 $\times$ 2.0mm, 5 μ m), Dionex UVD340U 紫外 (UV) 探测器。流动相由作为试剂 A 的 0.1% 甲酸和作为试剂 B 的于 80% 乙腈中的 0.08% 甲酸 / 水组成, 流速为每分钟 0.2ml。梯度包括试剂 B 中下列线性和等度梯度洗脱变化: 从 0 到 5 分钟以 60% 等度, 从 5 至 39 分钟由 60% 至 90%, 直至 44 分钟为 90% 等度。基于 260nm 测量的吸收, 相对于应用化合物系列稀释所获得的标准曲线, 进行峰定量。

[0431] 为评价口服生物利用度 (化合物在血液中的浓度作为口服后的时间函数) 以及洞察潜在的脑摄取, 给小鼠口服管饲以 0.5% (w/v) 羧甲基纤维素混悬液施用化合物 (2.5mg/kg)。在化合物施用后 5、15、60 和 120 分钟, 将动物用戊巴比妥 (50mg/kg) 麻醉。通过心内穿刺, 采集血液, 收集在肝素化管内, 通过离心得到血浆。将小鼠灌注 HEPES 缓冲液 (10mM, pH7.2), 其含有蛋白酶抑制剂鸡尾酒 (1 μ g/ml 亮肽素、1 μ M 二巯苏糖醇、2mM 钒酸钠、1 μ M 苯基甲基磺酰氟化物), 移出大脑并称重。通过杜恩斯匀浆和超声处理, 在含蛋白酶抑制剂鸡尾酒的 HEPES 缓冲液中制备脑组织匀浆。在 12000xg 将脑匀浆物离心 10 分钟, 将上

清液用 1 : 3 的 0.1% 甲酸 (Fluka) 稀释酸化。固相萃取后进行 HPLC 分析, 用于脑上清液中化合物的定量。简言之, 柱体 (Sep-Pak® C18, Waters) 用 1ml 乙腈 (HPLC 级别, EMD Biosciences) 适应, 然后用 1ml 水平衡。应用化合物结构类似物作为内标物。向柱体中加入酸化的大脑上清液, 随后用 30% 乙腈 1ml 清洗。应用 80% 乙腈将化合物从柱体中洗脱。将洗脱液蒸发到干, 重新溶于在 80% 乙腈中的 0.08% 甲酸 / 水中, 使用试剂 B 中下列梯度通过 HPLC 分析: 从 2 到 5 分钟由 0% 至 60%, 直至 7 分钟为 65% 等度, 从 7 至 12 分钟由 65% 至 80%, 直至 15 分钟为 80% 等度, 从 15 至 18 分钟由 89% 至 100%, 直至 23 分钟为 100% 等度。血浆样品将在 0.1M 高氯酸中脱去蛋白质, 在 12000xg 离心 10 分钟。上清液用 1M NaOH 中和, 然后用二氯甲烷提取, 并在 3000xg 分离层 5 分钟。将连续三次提取的有机相汇合, 在减压下蒸发至干。将干燥残渣重新溶解在 50 μ l 试剂 B 中, 将 10 μ l 的重新溶解物质通过 HPLC 应用上文所述梯度分析脑上清液。

[0432] 对比 CNS 与周围的炎症抑制。给小鼠口服管饲以 0.5% (w/v) 羧甲基纤维素混悬液施用化合物 (2.5mg/kg/天) 或稀释剂 (10% DMSO), 每日一次, 为期两周。在最后施用后, 将小鼠腹腔注射 (i.p.) 10mg/kg LPS。对照小鼠注射生理盐水。LPS 激发 6 个小时后, 将小鼠用戊巴比妥 (50mg/kg) 麻醉, 通过心内穿刺取血, 允许凝块, 离心制备血清。如上所述移出和处理大脑。按照制造商的指示应用 MSD 多重检测 (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD), 测量脑上清液和血清中的 IL-1 β 和 TNF α 的水平。

[0433] 化合物体内施用后的肝慢性毒性。给小鼠口服管饲以 0.5% (w/v) 羧甲基纤维素混悬液施用测试化合物 (2.5mg/kg/天) 或稀释剂 (10% DMSO), 每日一次, 为期两周。如上所述将小鼠麻醉和处死。移出肝脏, 固定在 4% (v/v) 多聚甲醛和石蜡包埋, 用于组织学检查。为了评估组织学的毒性, 将 4 μ m 肝切片染苏木精和曙红。两个独立的不知道治疗组的观察员进行组织损伤的显微镜评估。

[0434] Morris 水迷宫。这项测试是根据游泳迷宫检测空间记忆力 (Morris, Learn Mot 12:239-260, 1981; J Neurosci Methods 11:47-60, 1984), 利用啮齿动物的自然游泳能力和易操纵的迷宫周围线索。在这项任务中, 将小鼠置于液体池中, 所述液体通过加入非毒性粉末颜料成为不透明的。然后小鼠游泳, 直到发现逃生平台 (藏在恰好水表面下)。发现平台能使小鼠逃出水面, 因此是积极有效的。当平台保存在同一位置, 动物迅速学会使用远端线索 (distal Cue) 确定平台位置, 即使在不同的起点位置将小鼠置于液体池中。Morris 迷宫试验的实验方案描述在 Ohno 等 (Eur. J. Neurosci. 2006, 23(8):2235-40; Learn Mem 2005, 12(3):211-5) 中。简言之, 池直径为 1.2 米, 由白色金属制成。水维持在 25 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, 并用无毒白颜料制成不透明, 以隐藏正方形白色逃生平台 (10cm $\times$ 10cm)。在训练中, 平台淹没在水面下 (1cm), 并保持在同样的位置, 以避免象限偏移 (quadrant biases)。小鼠接受每日 6 次试验, 进行 4 天 (3 组两次试验; 试验间隔 1 分钟, 组间间隔 1 小时)。将小鼠面临池塘放入水中, 允许搜寻平台。每次试验以伪随机方式在四个地点之间改变起点位置。当动物爬上平台或过去最大 60 秒, 结束试验。每次试验前和后, 将小鼠放在平台 60 秒。在训练结束时, 所有小鼠与从池移出的平台一起接受探头检测。通过摄像机记录小鼠的行为, 并计算分析一些参数如找到平台的潜伏期, 游历的全距离, 用在目标象限的时间百分数。

[0435] 在工作后 60 天将小鼠麻醉, 灌注含有蛋白酶抑制剂鸡尾酒 Hepes 缓冲液。移出大脑, 纵向对切。将右半脑固定在多聚甲醛 / 磷酸盐缓冲液, 并用石蜡包埋, 用于组织学检查,

同时从左半脑分离出海马,急速冻结,用于终点生化评价。

[0436] 实施例 3

[0437] Tg6799 5X FAD 小鼠模型中的功效

[0438] 以 5、10 和 25mg/kg 将 MW01-2-151SRM 用于 Tg6799 小鼠的测试。如上,确定神经炎症和突触功能障碍的生化终点和 Y- 迷宫行为终点。基于对动物(基于紧张特征已经显露出病理学体征)的开始给药,计划给更高的剂量。与灌注模型相比,需要更多的动物比较显著性,由于需要经育种扩大集落需要更长的时间。

[0439] 实施例 4

[0440] 选择导向药物化合物

[0441] 合成以下 8 个化合物:MW01-4-179LKM;MW01-2-151SRM;MW01-7-107WH;MW01-6-189WH;MW01-7-084WH;MW01-7-085WH;MW01-7-133WH;和 MW01-7-057WH(参见图 1 ~ 15 和实施例 1)。

[0442] A. 在以神经胶质细胞为基础的测定中测试了化合物对神经炎症终点的浓度依赖性抑制(一氧化氮, IL-1 β)。所有 8 个化合物均以浓度依赖性方式在 BV-2 小神经胶质细胞中抑制 LPS 诱导 IL-1 β 的生产。大多数化合物也是有选择性的,其中他们没有抑制一氧化氮(NO)的生产。通过显示出不会影响 iNOS 上调的水平,对 NO 生产缺乏作用得到进一步验证。在相同浓度范围内没有观察到对 COX-2 上调的影响。以下为选择性化合物:MW01-2-151SRM;MW01-4-179LKM;MW01-6-189WH;MW01-7-084WH;MW01-7-085WH;MW01-7-133WH;和 MW01-7-057WH。一个化合物 MW01-7-107WH 是非选择性的,其中在相同浓度范围内它也抑制 NO、iNOS 和 COX-2 的生产(参见图 16 ~ 23,显示了 MW01-2-151SRM;MW01-6-189WH;MW01-4-107WH;MW01-4-179LKM;MW01-7-084WH;MW01-7-085WH;MW01-7-133WH;和 MW01-7-057WH 在 BV-2 小神经胶质细胞中的基于细胞的活性结果)。

[0443] B. 测试化合物在人 A β 灌注小鼠模型中抑制神经炎症和神经元功能障碍的生化终点(IL-1 β , S100B, 突触囊泡蛋白)。特别地,在体内测试了以下 5 个活性化合物:MW01-2-151SRM;MW01-6-189WH;MW01-7-084WH;MW01-7-085WH;和 MW01-7-057WH。体内最好的化合物为 MW01-2-151SRM 和 MW01-6-189WH。这两个化合物阻滞 IL-1 β 和 S100B 的向上调节,并防止 PSD-95 损失。MW01-2-151SRM 也防止突触囊泡蛋白损失。MW01-6-189WH 显示有防止突触囊泡蛋白损失的趋势;然而由于样本大小的限制没有达到统计学显著性。MW01-7-084WH 和 MW01-7-085WH 阻滞 IL-1 β 和 S100B 的向上调节,并防止 PSD-95 损失。在防止突触囊泡蛋白损失中,它们不如 MW01-2-151SRM 一样有效。MW01-7-057WH 阻滞 S100B 的向上调节和突触囊泡蛋白损失,但不阻滞 IL-1 β 的向上调节或 PSD-95 损失。(参见图 24 ~ 28,显示了 MW01-2-151SRM;MW01-6-189WH;MW01-7-084WH;MW01-7-085WH;和 MW01-7-057WH 在 A β 灌注小鼠模型中的体内活性结果)。

[0444] C. 在人 A β 灌注小鼠模型中应用 Y- 迷宫行为分析以 1.25、2.5、5、和 10mg/kg 测试了导向化合物。神经炎症的生化终点(IL-1 α , TNF α 的海马水平)是基于所提议的作用机制,还应用突触功能障碍的生化终点(突触囊泡蛋白的海马水平)以及 Y- 迷宫行为终点。MW01-2-151SRM、MW01-6-189WH、和 MW01-7-057WH 在防止人 A β 灌注造成的 Y- 迷宫行为短失中是显著有效的。MW01-7-084WH 和 MW01-7-085WH 也显示有防止 Y- 迷宫行为短失的趋势。

[0445] 实施例 5**[0446] hERG 通道抑制测定和心脏 QT 间期测定**

[0447] 已筛选了化合物对 hERG (human ether-a-go-go) 钾离子通道的结合和抑制作用,以便在所述过程初期除去在随后研究中由于离靶毒性而有高度可能引起心脏 QT 间期延长的任何化合物。hERG 通道快速传导激活的延时校正钾电流,其决定性促进心脏复极化。hERG 通道基因的突变和药物诱导的电流阻断已经关联到动作电位的延迟复极化,导致 QT 间期延长 (Finlayson 等,2004 ;Recanatini 等,2005 ;Roden,2004)。QT 延长被认为是针对新药的心脏安全性的显著危险因素。因此,在开发过程早期考虑心脏安全性,通过对 hERG 通道抑制的测试提供有效的和预言性的方式以评价潜在化合物的心脏安全性倾向。另外,FDA (美国) 此时正在考虑将此作为将来批准的标准并具有具体的推荐。迄今为止所进行的这些测定已经是通过商业服务的 (MDS PharmaService)。

[0448] 初始测定是放射性配体结合的测定,测定受试化合物与 ^3H -阿司咪唑 (对 hERG 通道具有 nM 亲和性结合力的参考标准) 竞争结合重组 hERG 通道的能力,所述重组 hERG 通道是在人 HEK-293 细胞上稳定表达的。选择该细胞系是因为它是人源的,已充分表征了其 hERG 电生理学和药理学,并且显示预期特性的 I_{Kr} 电流以及预期的药理学灵敏性,并且容易保持在培养物中 (Zhou 等, J. Gen. Physiol. 1998, 111 (6) :781-94)。测定单一浓度 (10 μM) 的测试化合物,并且计算 ^3H -阿司咪唑结合的抑制%。一般地,任何显示 > 50% 抑制的化合物,还在 hERG 通道活性测定中进一步进行了测试。这在筛选中对于培养基是常用的但是在 FDA 文件中不被推荐,并且趋于产生假阳性,如通过下面报道的结果所证实。

[0449] hERG 通道活性抑制测定提供化合物对 hERG K^+ 通道功能影响的全细胞电生理学数据。全细胞膜片钳方法一般认为是离子通道活性测定的金 - 标准,而不是简单测量通道结合。该标准试验程序是使用以对数稀释度的化合物的 3 至 5 个浓度,每个浓度一式三份测试 (三个细胞)。这使得在针对广浓度范围实现合理准确的 IC_{50} 测量和减少在更拖延的实验期间会发生的细胞耗损之间达到平衡。在完成化合物剂量 - 响应过程后,将已知的 hERG 通道抑制剂诸如阿司咪唑,用作阳性对照。

[0450] 显示抑制 hERG 通道活性的化合物,通过测试体内心脏 QT 间期的延长,被证实为阳性的 (hERG 通道活性测定可以产生假阳性和假阴性)。通过评价化合物对麻醉豚鼠中测量的 Lead II 心电图 QT 间期的影响,进行 QT 间期研究 (Hirohashi 等,1991, Arzneim. -Forsch. /Drug Res 41 :9-18),所述豚鼠是 FDA 白皮书中推荐的物种之一。媒介物或化合物以 15mg/kg (10ml/kg 的给药体积) 口服施用到雄性豚鼠 (重量 330-350g) 组,每一组 5 个动物。通过考虑所述动物的体表面积,该剂量近似对应于 20 倍的治疗剂量。在基线,并且在化合物施用 15、30、45、和 60 分钟以后,测量心率、动脉血压、和 QT 间期。以 0.3mg/kg 静脉内施用索他洛尔,其用作阳性对照化合物。同时利用 Bazett 和 Fridericia 公式为心率变化校正 QT 间期。连续两个时间观察到的 QT 间期值对基线值的任何增加超过相应的时间点媒介物治疗对照组中该平均变化的 95% 置信上限,表示该个体治疗组的动物中存在显著的 QT 间期延长。在发现初的该功能试验提供迅速和成本效益的方法,以便更好预测并除去在人中可能具有不利的 QT 延长潜力的化合物。

[0451] 需要的化合物量的计算:**[0452] 竞争结合测定 :1-2mg**

[0453] 膜片钳测定 :1-2mg

[0454] QT 间期测定 :5mg/ 动物 / 剂量=以 15mg/kg 的剂量,每次测定 25mg

[0455] 因为体外活性测定易受假阳性和阴性的影响,所以认为更好的是按照 FDA 意见书的准则完成体内 QT 间期测定的研究。

[0456] 结果 :

[0457] 竞争抑制测定 :

[0458] 在 10 μ M 浓度下测试 MW01-5-188WH、MW01-2-151SRM、和 MW01-6-127WH。

[0459] MW01-5-188WH 在 10 μ M 下显示 91% 的抑制。MW01-2-151SRM 和 MW01-6-127WH 为阴性的,只分别显示 8% 和 19% 的抑制。

[0460] 膜片钳抑制测定 :

[0461] 在三个浓度 0.1、1、10 μ M) 下测试 MW01-2-151SRM 和 MW01-6-189WH。这些化合物显示最小的抑制,MW01-6-189WH 的 IC_{50} 值为 4.81 μ M,MW01-2-151SRM 的 IC_{50} 值为 9.21 μ M。

[0462] 心脏 QT 间期延长测定

[0463] 以下提出结果以及材料和方法的概述

[0464] 概述

[0465] 在麻醉豚鼠中评价测试物质(例如 MW01-2-151SRM)对 II 导联(LeadII)心电图测量中 QT 间期的可能影响。利用 Bazett 和 Fridericia 公式为心率变化校正 QT 间期(QTc)。连续两个时间观察到的 QTc 值对基线值的任何增加超过相应的时间点媒介物治疗对照组中变化的 95% 置信上限,表示该个体治疗动物中存在显著的 QTc 间期延长。口服 15mg/kg 测试物质在所有 5 个治疗动物给药后 60 分钟时期内没有引起任何 QTc 间期的显著延长(图 29 和 31)。另一方面,静脉施用 0.3mg/kg 索他洛尔在所有(5.5)动物内引起 QTc 间期的显著延长(图 30 和 32)。通过利用 Bazett 和 Fridericia 公式的 QT 校正,其结果可获得类似的结论。

[0466] 以 15mg/kg 给 5 个豚鼠(330-350g 重量)口服施用 MW01-5-188WH 和 MW01-2-151SRM。在基线、和化合物施用后 15 分钟、30 分钟、45 分钟、和 60 分钟获得 QT 间期。没有化合物增加心脏 QT 间期的值在媒介物对照组相应值的平均值 +2SD 之上。化合物施用后对平均血压或心率也没有显著的影响。

[0467] MW01-5-188WH 的实例数据显示在图 33 中。阳性对照化合物索他洛尔引起心脏 QTc 间期的显著增加。

[0468] 材料和方法。

[0469] 将测试物质溶解于 2% 的吐温 80 中,并通过口服施用。以 15mg/kg、给药体积 10ml/kg 以给药体积 10ml/kg 处理该物质。应用 MDS PharmaServices-Taiwan Ltd 提供的 Duncan Hartley 源豚鼠。索他洛尔得自美国 Sigma。

[0470] 应用豚鼠组(体重 330-350g),每组 5 个动物。将动物用乌拉坦(1500mg/kg,以 5ml/kg 的体积静脉推注)麻醉,自发呼吸。用皮下针电极和 ECG 信号调理器,得到 II 导联心电图。用脉率测速计测量心率。颈动脉插入导管,所述导管连接压力传感器和压力处理器,用于测量动脉血压(BP)。记录 5 个参数[HR、Q-T 间期、QTc(Bazett)、QTc(Fridericia)、BP],且显示在数据采集分析和存档系统(Digital Acquisition Analysis and ArchiveSystem)(PO-NE-MAH 公司,美国)。通过应用 Bazett 和 Fridericia 公式校正心率的变化,得到了

QTc 间期。在个体治疗豚鼠中连续两个时间的 QTc 间期增加位于相应时间点媒介物治疗对照中该变化的 95% 可信限 (平均值 $\pm$ SD) 的上限之外, 认为是显著性的。

[0471] 实施例 6

[0472] 急性和慢性毒性测定

[0473] 对于经口施用的化合物, 肝毒性是特别重要的初始考虑, 因为肝是初始药物代谢的主要部位并且决定动物的总代谢和体内平衡。肝损伤也是在某些慢性施用药物中见到的特发性组织损伤的部分。因此, 在将化合物经口施用到小鼠以后的肝毒性初始评价是重要的。

[0474] 方法:

[0475] 标准方法是在两个体内初始毒性测定中测试化合物: 急性的、逐步上升的剂量范例和慢性的、治疗剂量方案。对于逐步上升剂量的急性毒性测定, 将小鼠 (5 个 / 实验组) 通过经口管饲法每天一次施用 3 天于 0.5% 羧甲基纤维素 (备选地, 可以使用蓖麻油或芝麻油) 中的化合物或者媒介物。标准化合物的剂量是 3.1、12.5 和 50mg/kg; 最高剂量是 20 倍的治疗剂量。在第 4 天, 将小鼠处死, 收集肝并固定用于组织学。将石蜡包埋的苏木精 & 曙红 (H&E) - 染色的肝组织切片由两名对于治疗组不知情的个人进行损伤显微镜分析。应用从 0 (最好) 至 9 (最坏) 的半定量的组织学评分系统, 考虑结构特征 (正常至广泛纤维化)、细胞特征 (正常至广泛浮肿和普遍的坏死)、和炎性浸润的程度 (正常至广泛浸润)。对于每个急性毒性测定, 需要 15mg 的化合物。

[0476] 对于所述治疗剂量的慢性毒性测定, 将小鼠 (5 个 / 实验组) 以 2.5mg/kg/ 天的治疗剂量每天一次经口管饲法施用于 0.5% 羧甲基纤维素中的化合物或者媒介物 2 周。在治疗两周以后, 处死小鼠并如上所述分析肝毒性。对于每个慢性毒性测定, 需要 5mg 的化合物。

[0477] 结果:

[0478] 毒性研究的结果显示在图 34 中。

[0479] MW01-5-188WH 在急性逐步上升的剂量测定和慢性治疗剂量的测定中进行了测试。在较低剂量没有观察到组织毒性的组织学证据, 但是在 50mg/kg 剂量观察到一些空泡形成 (vacuolisation)。

[0480] MW01-2-151SRM 在慢性治疗剂量测定中进行了测试。没有观察到组织毒性的组织学证据; 没有看到来自媒介物或化合物治疗的小鼠肝中的组织学之间的差异。

[0481] MW01-6-189WH 在慢性治疗剂量测定中进行了测试。没有观察到组织毒性的组织学证据; 没有看到来自媒介物或化合物治疗的小鼠肝中的组织学之间的差异。

[0482] MW01-5-188WH 在慢性治疗剂量测定中进行了测试。特别地, 将小鼠经口管饲法每天一次施用 2 周于 0.5% (w/v) 羧甲基纤维素混悬液中的 MW01-5-188WH (2.5mg/kg) 或稀释剂 (10% DMSO)。如上所述将小鼠麻醉和处死。移出肝脏, 固定在 4% (v/v) 多聚甲醛和石蜡包埋, 用于组织学检查。为了评估组织学的毒性, 将 4 μ m 肝切片染色木精和曙红。两个独立的不知道治疗组的观察员进行组织损伤的显微镜评估。肝组织的组织学评估表明与稀释剂治疗的小鼠相比, 以每天 2.5mg/kg 口服施用 2 周 MW01-5-188WH 没有招致肝毒性组织损害的任何指标。

[0483] 实施例 7

[0484] 体外稳定性、口服生物利用度和大脑摄取。在 37℃ 的标准孵化中,用大鼠肝微粒体 (BD Biosciences, Bedford, MA) 和 NADPH- 再生系统对 MW01-5-188WH (1 μ M) 的稳定性进行孵化 30 和 120 分钟。反应通过乙腈停止,将反应混合物在 16,000 μ g 离心 10 分钟。通过校准 HPLC 分析 10 μ l 的上清液,定量测量孵化后剩余 MW01-5-188WH 占初始量的百分数。HPLC 系统 (Dionex, Sunnyvale, CA) 包括 Dionex P680 泵, Phenomenex (Torrance, CA) Luna C18 柱 (250 $\times$ 2.0mm ;5 μ m) 且备有保护柱,和 Dionex UVD340U 紫外探测器。流动相由作为试剂 A 的 0.1% 甲酸和作为试剂 B 的于 80% 乙腈中的 0.08% 甲酸 / 水组成,流速为每分钟 0.2ml。梯度包括试剂 B 中下列线性和等度 (isocratic) 梯度洗脱变化:从 0 到 5 分钟以 60% 等度,从 5 至 39 分钟由 60% 至 90%,直至 44 分钟为 90% 等度。基于 260nm 测量的吸收,相对于应用 MW01-5-188WH 系列稀释所获得的标准曲线,进行峰定量。为评价口服生物利用度 (化合物在血液中的浓度作为口服后的时间函数) 以及洞察潜在的脑摄取,给小鼠口服管饲施用在 0.5% (w/v) 羧甲基纤维素混悬液中的 MW01-5-188WH (2.5mg/kg)。在化合物施用后 5、15、60 和 120 分钟,将动物用戊巴比妥 (50mg/kg) 麻醉。通过心内穿刺采集血液,收集在肝素化管内,通过离心得到血浆。将小鼠灌注 PBS。在 12000 μ g 将脑匀浆物离心 10 分钟,将上清液用 1 : 3 的 0.1% 甲酸 (Fluka, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 稀释酸化。固相萃取后进行 HPLC 分析,用于脑上清液中化合物的定量。简言之,柱体 (Sep-Pak C18 ; Waters Associates, Milford, MA) 用 1ml 乙腈 (HPLC 级别 ; EMD Biosciences, San Diego, CA) 适应,然后用 1ml 水平衡。应用 MW01-5-188WH 结构类似物作为内标物。向柱体中加入酸化的大脑上清液,随后用 30% 乙腈 1ml 清洗。应用 80% 乙腈将 MW01-5-188WH 从柱体中洗脱。将洗脱液蒸发到干,重新溶于在 80% 乙腈中的 0.08% 甲酸 / 水中,并使用试剂 B 中下列梯度通过 HPLC 分析:从 2 到 5 分钟 0-60%,直至 7 分钟为 65% 等度,从 7 至 12 分钟 65-80%,直至 15 分钟为 80% 等度,从 15 至 18 分钟 89-100%,直至 23 分钟为 100% 等度。血浆样品将在 0.1M 高氯酸中脱去蛋白质,在 12000 μ g 离心 10 分钟。上清液用 1M NaOH 中和,然后用二氯甲烷提取,并在 3000 μ g 分离层 5 分钟。将连续三次提取的有机相汇合,在减压下蒸发至干。将干燥残渣重新溶解在 50 μ l 试剂 B 中,将 10 μ l 的重新溶解物质通过 HPLC 应用上文所述梯度分析脑上清液。

[0485] 结果 :

[0486] MW01-5-188WH 的口服生物利用度和大脑摄取

[0487] 神经科学的综合化学生物学工具和 CNS 靶向药物必须表现出适当的生物利用度和大脑摄取或血脑屏障的渗透。在长期和时间分隔的使用动物模型的体内研究中,每日口服给药是优选的施用方法,且因为多种原因包括患者更好的依从性,是药物开发中的优选方式。在这方面,证明抑制剂的生物利用度和初始脑摄取的适当速率是关键的,以充分解释体内研究的结果。因此,测定了 MW01-5-188WH 在口服后血液中的浓度变化率 (口服生物利用度) 及其在大脑中的变化率。使用上述从生物样品中提取 MW01-5-188WH 的定量分析方案,检测了给小鼠低剂量口服给药 (2.5mg/kg) 后在血液和脑中的出现率。在最早可能的时间点 (5 分钟) 内容易地检测到 MW01-5-188WH 在血液中出现 (图 35A), 15 分钟内达到峰浓度,口服给药后 120 分钟出现大多数清除 (bulk Clearance)。这表明 MW01-5-188WH 具有良好的口服生物利用性质。大脑 (图 35B) 中观察到时间依赖性浓度变化的类似模式,表明反映血液的 MW01-5-188WH 初始脑摄取。然而,与临床使用的 CNS 药物相比, MW01-5-188WH 的

脑 / 血液峰浓度比 > 3.3 。例如米那普林 (6- 苯基氨基吡嗪 CNS 药物) 脑 / 血液比例为大约 2 (Caccia 等, 1985 *Xenobiotica*, 15(12) :1111-9)。这些结果表明 MW01-5-188WH 通过了常用的排除许多在细胞培养中有活性的化合物用于体内调查的标准, 并指出其在口服给药后和通过人 A β ICV 灌注模型所施加约束的实验内具有潜在的体内作用。

[0488] 为 CNS 炎症选择 MW01-5-188WH 给药

[0489] 重新关注口服施用 MW01-5-188WH 的选择性抑制神经胶质活化途径和出色的脑摄取性质, 提出了可能性, 即化合物可能表现出与抑制周缘组织生产的促炎细胞因子相比, 对 CNS 促炎细胞因子抑制的选择性。为了检测这种可能性, 以标准治疗剂量 (2.5mg/kg) 通过口服管饲每日施用 MW01-5-188WH, 为期 2 周, 然后腹腔内注射细菌 LPS 以激发小鼠。LPS 激发 6 个小时后, 测量血清和脑中的 IL-1 β 和 TNF α 的水平。正如预期地, 与注射生理盐水对照老鼠相比, LPS 激发引起血清 (图 35C, D) 和脑 (图 35E, F) 中 IL-1 β 和 TNF α 的水平增加。一个有趣的发现是用 MW01-5-188WH 治疗 2 周, 抑制了脑 (图 35E, F) 中 LPS 诱导 IL-1 β 和 TNF α 产生的向上调节, 但没有抑制血清反应图 35C, D)。MW01-5-188WH 对脑细胞因子反应的抑制与其通过活化胶质细胞抑制促炎细胞因子产生的能力及其上述所示的口服生物利用度和脑摄取性质是一致的。

[0490] 实施例 8

[0491] 药动学研究

[0492] 在犬和 / 或大鼠中的血浆药动学和绝对生物利用度

[0493] 2 组 (每组 3 个动物 ; 雄性动物) 经 PO 和 IV 给药。应用一个剂量水平 (2.5mg/kg), 和应用交叉设计, 在给药周期之间有 1 周洗脱期。在不超过给药后 24 小时不少于 8 个时间点 (例如在施用单次剂量后的 15、30、60、90、120、240、和 480 分钟和 24 小时) 上, 测定血浆药物浓度。将得到的 PK 参数包括 C_{max} 、 T_{max} 、 $t_{1/2}$ 、AUC、CI/F、 V_d 和 MRT。给药制剂 : 口服管饲 / CMC 溶液。

[0494] 在犬和 / 或大鼠中的物质平衡研究

[0495] 应用 ^{14}C - 标记的 minozac (MW01-2-151SRM), 可进行研究, 以分析排泄 (尿液, 粪便) 和血浆分布。

[0496] 在大鼠中发现剂量范围的研究

[0497] 阶段 A 的研究为单剂量 MTD (每个剂量水平 3M/3F, n = 达到 MTD 或发现 MFD)。设计的剂量水平基于可用的数据如果有的话 ; 下面提供的剂量可仅用于举例的目的。给药可通过口服管饲 CMC 溶液。

[0498] 剂量水平 1 : 10mg/kg ; 剂量水平 2 : 100mg/kg ; 剂量水平 3 : 500mg/kg ; 剂量水平 4 : 1000mg/kg ; 剂量水平 5 : 3000mg/kg ;

[0499] 结果 : 评价单剂量 MTD/MFD (sdMTD)

[0500] 可进行阶段 B 的研究。该阶段包括为期 7 天的发现剂量范围的研究 (每组 3M/3F, n = 24)。应用控制加一个剂量水平 (sdMTD 的一部分) ; 可以通过初步 7 天的发现剂量范围的研究结果根据需要纳入额外的剂量水平。

[0501] 结果 : 在大鼠中评价重复剂量的 MTD。

[0502] 在犬中发现剂量范围的研究

[0503] 该研究应用单剂量 MTD (交叉研究 5M, n = 达到 MTD 或发现 MFD)。设计的剂量水

平基于可用的数据。下面提供剂量的实例。优选地,给药可通过口服管饲 CMC 溶液;替代选择地,可以应用填充胶囊。

[0504] 口服剂量水平 1 :30mg/kg ;口服剂量水平 2 :100mg/kg ;口服剂量水平 3 :300mg/kg

[0505] IV 剂量 1 :100mg/kg ;IV 剂量 2 :300mg/kg ;口服剂量水平 4 :1000mg/kg ;口服剂量水平 5 :3000mg/kg。

[0506] 在适当的洗脱期 (IV 接触 2 天或 5 天后) 后,进行其后每次给药。用剂量水平 1 和 2 确定药动学和绝对生物利用度。在不超过给药后 24 小时不少于 8 个时间点 (例如在施用单次剂量后的 15、30、60、120、240、和 480 分钟) 上,测定血浆药物浓度。要得到的 PK 参数包括 C_{max} 、 T_{max} 、 $t_{1/2}$ 、AUC、 Cl/F 、 V_d 和 MRT。

[0507] 在大鼠中 28 天的重复剂量的毒理学研究

[0508] 主要研究涉及每个治疗组 10M/10F, $n = 80$ 。给药将通过口服管饲 CMC 溶液。应用对照、低剂量、中剂量和高剂量四组。结果:在第 1 天及第 28 天确定 PK (血浆及 CSF 药物的水平)。在治疗完成后,进行尸体剖检。确定死亡率、临床观察、体重、食物消耗、临床病理学、检眼镜检查、总的病理、和器官重量。在对照和高剂量组确定组织病理学。

[0509] 在每个治疗组中用 5M/5F, $n = 20$,进行恢复试验。有对照和高剂量两组。结果:在随访期另一个第 28 天后进行尸体剖检。同样确定死亡率、临床观察、体重、食物消耗、临床病理学、检眼镜检查、总的病理、和器官重量。如果要求观察治疗效果,确定组织病理学。

[0510] 在犬中 28 天的重复剂量的毒理学研究

[0511] 在每个治疗组应用 3M/3F, $n = 24$,进行主要研究。优选地,给药可通过口服管饲 CMC 溶液;替代选择地,如果需要的话可应用填充胶囊。应用对照、低剂量、中剂量和高剂量四组。结果:在第 1 天及第 28 天确定 PK (血浆及 CSF 药物的水平)。在治疗完成后,进行尸体剖检。确定死亡率、临床观察、体重、食物消耗、临床病理学、检眼镜检查、总的病理、和器官重量。在所有剂量组确定组织病理学。

[0512] 在每个治疗组中用 3M/3F, $n = 12$,进行恢复试验。试验有对照和高剂量两组。结果:在随访期另一个第 28 天后进行尸体剖检。同样确定死亡率、临床观察、体重、食物消耗、临床病理学、检眼镜检查、总的病理、和器官重量。如果要求观察治疗效果,确定组织病理学。

[0513] 实施例 9

[0514] 一般方法:

[0515] 化学制品一般购于 Aldrich (Milwaukee, WI) 或通过 VWR International 且作为接受品使用。所有溶剂作为接受品使用,除非文中另有说明。所有有机溶液在最后蒸发前经硫酸镁干燥。应用 CEM-Discover 微波合成系统 (Matthews, NC),进行了微波辐射。

[0516] 所有中间体均通过 MS (ESI) 和 HPLC 且在某些情况下通过 1H -NMR 赋予特征。最终化合物通过 HRMS、HPLC 和 1H -NMR 赋予特征,且在某些情况下通过通过元素分析赋予特征。NMR 光谱要求在室温下 Varian Inova 500MHz 光谱仪上进行。电喷射质谱 (EI-MS) 收集于 Micromass Quattro II Triple Quadrupole HPLC/MS/MS Mass Spectrometer。在 VG70-250SE 质谱仪上获得高分辨质谱 (HR-MS)。

[0517] 所有的合成通过分析 HPLC 监控。在 Rainin Instruments HPLC 上应用商业上可用的 SUPEL CO C18 反相柱 (25×4.6mm, 5 μ m),获得 HPLC 示踪。流动相由作为试剂 A 的于

Milli-Q 水中的 0.1% 甲酸和作为试剂 B 的于 80% 乙腈中的 0.08% 甲酸 /Milli-Q 水组成。以 22 分钟内试剂 B 从 0 至 100% 的梯度,应用 1.5ml/ 分钟的流速。通过在 260nm 的紫外吸收跟踪 HPLC 的痕迹。

[0518] 应用分开的 HPLC 系统,获取最终化合物的纯度。HPLC 系统 (Dionex, Sunnyvale, CA) 由以下元件组成:Dionex P680 泵、Dionex ASI-100 自动进样器、Phenomenex (Torrance, CA) Luna C18 柱 (250×2.0mm; 5 μM) 且备有保护柱、Dionex UVD 1700 紫外检测器。流动相由作为试剂 A 的于 Milli-Q 水中的 0.1% 甲酸和作为试剂 B 的于 80% 乙腈中的 0.08% 甲酸 /Milli-Q 水组成。应用 0.2ml/ 分钟的流速,除非文中另有说明。为测定化合物的纯度,梯度由 30 分钟内试剂 B 从 0 至 100% 的线性变化组成。在四个波长 (215、230、260 和 300nm) 监测 UV 吸收,报告 260nm 的痕迹。以大于仪器较低检出限的 100 倍浓度注入化合物 (注入 500ng)。

[0519] 通过定量技术公司 (Quantitative Technologies Inc.) (QTI, Whitehouse, NJ) 进行了元素分析。在 Buchi Melting Point B-540 (Flawil, Switzerland) 获得二盐酸盐一水合物 (dichloro monohydrate salt) 26 (234.1–234.7°C) 和化合物 16 (> 215°C, 分解为黑色固体) 的熔点数据。

[0520] R4 类似物的合成 (图 37))

[0521] 2- 苄基 -6- 苯基 -4,5- 二氢哒嗪 -3(2H)- 酮 (18)

[0522] 将 3- 苯甲酰基丙酸 17 (17.8g, 0.1mol)、苄基胍二盐酸盐 (19.5g, 0.1mol) 和醋酸钠 (74.9g, 0.55mol) 混悬于 500mL 乙醇 (95%) 中。将白色混悬液在回流下加热 29 小时。减压下除去乙醇,然后用水 (300mL) 处理剩余物。用浓碳酸钠溶液调节水层 pH 至 pH = 8, 用乙酸乙酯 (1×200mL) 萃取。将有机层用盐水洗涤,减压下浓缩至干。获得的产物 18 为黄色油,78% 的产率,没有进一步纯化用于下一步骤。HPLC (t_r / 纯度): 23.4 分钟, 80%。3, 4- 二氯 -6- 苯基哒嗪 (19)

[0523] 将化合物 18 (26g, 0.079mol- 估算 80% 纯度)、三氯氧化磷 (59mL, 0.64mol, 6.5 当量) 和五氯化磷 (133.2g, 0.64mol, 6.5 当量) 在 120°C 加热 12 小时。为控制反应过程中形成的 HCl 气体,应用 NaOH 溶液吸收此酸。在减压下蒸馏大多数三氯氧化磷,向剩余物中加入冰水,搅拌 30 分钟。冷却离析出黄色结晶固体,过滤,用水 (3×100mL) 洗涤,无水乙醇再结晶,得到预期产物 19,黄色针状,44% 的产率。¹H NMR (CDCl₃): δ 8.06 (dd, ³J = 6.5Hz, ⁴J = 2.5Hz, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.56 (t, ³J = 6.5Hz, 3H)。HPLC (t_r / 纯度): 23.6 分钟, > 95%。

[0524] 3- 氯 -6- 苯基哒嗪 -4- 醇 (20)

[0525] 将 19 (158g, 0.7mol) 和醋酸 (700mL) 的混合物在回流下加热 5 小时。将反应混合物冷却至室温,过滤沉淀,用水 (5×500mL) 洗涤嫩黄色滤饼。滤饼用乙酸乙酯 (200mL) 再结晶,过滤,在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥,得到预期产物 20,产率 32%。HPLC (t_r / 纯度): 15.37 分钟, > 95%。ESI m/z (MeOH): 207.3 (MH⁺)。

[0526] 6- 苯基 -3-(4-(嘧啶 -2- 基) 哌嗪 -1- 基) 哒嗪 -4- 醇 (21)

[0527] 将化合物 20 (14g, 0.068mol) 与 1- 丁醇 (30mL) 和 4 当量的 1-(2- 嘧啶基) 哌嗪 (45g, 0.27mol, 4 当量) 一起置于反应试管中。将烧瓶盖上帽,在 130°C 加热 41 小时。将反应混合物冷却至环境温度,减压下除去 1- 丁醇,得到深色油残余物。用水处理该油,得到混悬液,然后过滤并用水洗涤。将滤饼在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥,得到预期产

物 21, 产率 97%。HPLC(t_r / 纯度): 17.30 分钟, > 99%。ESI m/z (MeOH): 334.38 (MH^+)。

[0528] 4-氯-6-苯基-3-(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪 (6)

[0529] 将化合物 21 (22g, 0.066mol) 混悬于三氯化磷 (80mL) 中。将反应混合物在 100℃ 加热 3 小时, 冷却至室温, 然后将混合物倾倒在碎冰 (2kg) 上。将水混合物用 NaOH 溶液中和, 得到白色混悬液。将沉淀滤出, 在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥, 得到产率 91% 的所需产物 6 (21g)。 1H NMR($CDCl_3$): δ 8.35 (d, J = 4.6Hz, 2H), 8.01 (d, J = 7.5Hz, 2H), 7.81 (s, 1H), 7.50 (t, J = 7.0Hz, 2H), 7.48 (t, J = 7.0Hz, 1H), 6.54 (t, J = 4.4Hz, 1H), 4.05 (t, J = 4.4Hz, 4H), 3.65 (t, J = 4.4Hz, 4H)。HPLC(t_r / 纯度): 22.4 分钟, > 99%; $C_{18}H_{17}ClN_6$ 的 HRMS 计算值为 352.1198, 实测值为 352.1201。

[0530] 4-苄基-6-苯基-3-(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪 (2)

[0531] 按照 Zou 等 (Tet Lett. 2001 42:7213-7215) 的操作方法, 将化合物 6 (100mg, 0.28mmol) 与 1.37 当量的苄基硼酸 (42mg, 0.31mmol)、0.2 当量的 Pd(dppf) Cl_2 CH_2Cl_2 (23mg, 0.02mmol)、2.5 当量的氧化银 (164mg, 0.71mmol) 和 3 当量的碳酸钾 (117mg, 0.85mmol) 一起混悬于 THF 中。将混合物用氩气净化, 在封闭管中 120℃ 加热 16 小时。然后将反应混合物冷却至环境温度, 用 33% 过氧化氢和 10% 氢氧化钠淬灭。水层用乙醚 (3×30mL) 萃取, 合并醚层并在减压下蒸发。将粗制混合物在硅胶柱上运行, 用己烷: 乙酸乙酯 (1 : 1v/v) 洗脱。获得淡粉红色固体产物 2, 产率 45%。 1H NMR($CDCl_3$): δ 8.36 (d, J = 4.4Hz, 2H), 7.94 (d, J = 7.1Hz, 2H), 7.46-7.42 (m, 3H), 7.41 (s, 1H), 7.36 (t, J = 7.3Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.1Hz, 1H), 7.22 (d, J = 7.3Hz, 2H), 6.55 (t, J = 4.4Hz, 1H), 4.10 (s, 2H), 4.01 (s, 4H), 3.44 (s, 4H)。HPLC(t_r / 纯度): 30.32 分钟, > 95%; $C_{25}H_{24}N_6$ 的 HRMS 计算值为 408.2057, 实测值为 408.2066。

[0532] 6-苯基-4-(吡啶-4-基)-3-(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪 (3)

[0533] 将化合物 6 (700mg, 2.0mmol) 与 3.1 当量的碳酸钾 (851mg, 6.2mmol)、1.37 当量的 (330mg, 2.7mmol) 4-吡啶基硼酸和 0.05 当量的 Pd(PPh_3) $_4$ (120mg, 0.1mmol) 一起置于反应器中。加入 DME (10mL), 将混合物用氩气净化。将反应混合物密封在 110℃ 加热 20 小时。将溶液冷却至环境温度, 并通过硅藻土过滤。将滤液在减压下浓缩, 溶于乙酸乙酯 (30mL), 然后用 2N HCl (50mL) 洗涤。将有机层在减压下浓缩, 用乙酸乙酯/石油醚混合物再结晶, 得到产率 41% 的浅黄色针状产物 3。 1H NMR($CDCl_3$): δ 8.79 (d, J = 5.5Hz, 2H), 8.32 (d, J = 5.0Hz, 2H), 8.07 (d, J = 7.5Hz, 2H), 7.68 (d, J = 5.5Hz, 2H), 7.63 (s, 1H), 7.51 (t, J = 7.0Hz, 2H), 7.48 (t, J = 7.0Hz, 1H), 6.53 (t, J = 4.5Hz, 1H), 3.85 (d, J = 4.5Hz, 4H), 3.39 (t, J = 5.0Hz, 4H)。HPLC(t_r / 纯度): 21.61 分钟, > 95%; $C_{23}H_{21}N_7$ 的 HRMS 计算值为 395.1853, 实测值为 395.1852。

[0534] 4-异丁基-6-苯基-3-(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪 (4)

[0535] 按照 Zou 等 (supra) 的操作方法, 将化合物 6 (200mg, 0.56mmol) 与 1.37 当量的 (2-甲基丙基) 硼酸 (79mg, 0.77mmol)、0.2 当量的 Pd(dppf) Cl_2 CH_2Cl_2 (92.5mg, 0.11mmol)、2.5 当量的氧化银 (328mg, 1.41mmol) 和 3 当量的碳酸钾 (234mg, 1.7mmol) 一起混悬于 THF 中。将混合物用氩气净化, 在封闭管中 120℃ 加热 42 小时。然后将反应冷却至环境温度, 用氢氧化钠水溶液 (10%) 将反应淬灭, 用乙醚 (3×50mL) 萃取。合并醚层, 经硫酸镁干燥, 并在减压下蒸发, 得到粘性固体。将粗制混合物用柱色谱法纯化, 用 40% 乙酸乙酯的己

烷洗脱,得到白色粉末 4,产率 52.5%。¹H NMR(CDCl₃): δ 8.36(d, J = 4.2Hz, 2H), 8.06(d, J = 7.1Hz, 2H), 7.60(s, 1H), 7.51(t, J = 7.0Hz, 2H), 7.47(t, J = 7.0Hz, 1H), 6.55(t, J = 4.2Hz, 1H), 4.03(s, 4H), 3.42(s, 4H), 2.62(d, J = 6.7Hz, 2H), 2.18(sp, J = 6.4Hz, 1H), 0.97(d, J = 6.2Hz, 6H)。HPLC(t_r/ 纯度): 29.5 分钟, > 95%; C₂₂H₂₆N₆ 的 HRMS 计算值为 374.2213, 实测值为 374.2208。

[0536] 4-甲基-6-苯基-3-(4-嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪(5)

[0537] 按照 Zou 等 (supra) 的操作方法,将化合物 6(250mg, 0.71mmol) 与 1.37 当量的甲基硼酸(59mg, 0.97mmol)、0.25 当量的 Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂(144mg, 0.18mmol)、2.5 当量的氧化银(410mg, 1.78mmol) 和 3 当量的碳酸钾(294mg, 2.1mmol) 一起混悬于 THF 中。将混合物用氩气净化,在封闭管中 120℃ 加热 18.5 小时。冷却至环境温度后,将反应用氢氧化钠水溶液(10%) 淬灭,用乙醚(3×75mL) 萃取。化合物经柱色谱法纯化,用乙酸乙酯:己烷(1:3v/v) 洗脱。获得白色结晶固体,产率 45.8%。¹H NMR(CDCl₃): δ 8.36(d, J = 4.5Hz, 2H), 8.05(d, J = 7.5Hz, 2H), 7.61(s, 1H), 7.50(t, J = 7.1Hz, 2H), 7.44(t, J = 7.1Hz, 1H), 6.55(t, J = 4.5Hz, 1H), 4.04(t, J = 4.5Hz, 4H), 3.46(t, J = 4.5Hz, 4H), 2.45(s, 3H)。HPLC(t_r/ 纯度): 24.91 分钟, > 95%; C₁₉H₂₀N₆ 的 HRMS 计算值为 332.1744, 实测值为 332.1740。C₁₉H₂₀N₆ 分析计算值: C, 68.65; H, 6.06; N, 25.28。实测值: C, 68.73; H, 5.97; N, 25.22。

[0538] R3 类似物的合成(图 38)

[0539] 4-甲基-6-苯基-3-(4-吡嗪-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪(7)

[0540] 将化合物 15(500mg, 2.4mmol) 置于戴帽烧瓶中,并悬浮于 20mL 水中。加入 2.5 当量(1g, 6mmol) 1-(2-吡嗪基)哌嗪和 5 当量(1.69mL, 12mmol) 三乙胺,将烧瓶盖上帽,在 130℃ 加热 160 小时。将反应冷却至环境温度,在烧瓶底部得到褐色油。将水从油中轻轻倾出,将油溶于最小量的异丙醇中,加热至 70℃。冷却,形成棕色固体,在烧结玻璃漏斗上过滤,用己烷清洗,得到棕色粉末产物 7,产率 28.8%。¹H NMR(CDCl₃): δ 8.25(bs, 1H), 8.16(bs, 1H), 8.08(d, J = 7.0Hz, 2H), 7.93(bs, 1H), 7.69(s, 1H), 7.54-7.48(m, 3H), 3.83(t, J = 5.0Hz, 4H), 3.57(bs, 4H), 2.48(s, 3H)。HPLC(t_r/ 纯度): C₁₉H₂₀N₆ 的 HRMS 计算值, 实测值在 4/21/06 中给出。

[0541] 4-甲基-6-苯基-3-(4-吡啶-2-基)哌嗪-1-基)哒嗪(8)

[0542] 将化合物 15(190mg, 0.93mmol) 与 1-丁醇和 4 当量的 1-(2-吡啶基)哌嗪(605mg, 3.7mmol) 一起置于反应试管中,盖帽,在 140℃ 加热 48 小时。将反应混合物冷却至环境温度,减压下除去 1-丁醇,得到深色油残余物。用水处理该油,得到混悬液,然后过滤并先用水然后用乙酸乙酯:己烷(1:6v/v) 洗涤,得到棕黄色粉末产物 8,产率 54.5%。¹H NMR(CDCl₃): δ 8.23(d, J = 3.7Hz, 1H), 8.05(d, J = 7.5Hz, 2H), 7.60(s, 1H), 7.54(t, J = 6.8Hz, 1H), 7.49(t, J = 7.1Hz, 2H), 7.44(t, J = 7.3Hz, 1H), 6.75(d, J = 8.2Hz, 1H), 6.68(t, J = 5.5Hz, 1H), 3.76(s, 4H), 3.51(t, J = 4.8Hz, 4H), 2.43(s, 3H)。HPLC(t_r/ 纯度): 15.66 分钟, > 95%; C₂₀H₂₁N₅ 的 HRMS 计算值为 331.1791, 实测值为 331.1800。

[0543] 4-甲基-6-苯基-3-(4-吡啶-4-基)哌嗪-1-基)哒嗪(9)

[0544] 将化合物 15(190mg, 0.93mmol) 与 1-丁醇和 4 当量的 4-哌嗪基(piperazino)-哒嗪(605mg, 3.7mmol) 一起置于反应试管中。将烧瓶盖帽,在 140℃ 加热 72 小时。将反应混

合物冷却至环境温度,减压下除去 1-丁醇,得到暗红色油残余物。用 20mL 水处理该油,然后用 10mL 乙酸乙酯萃取。在有机层形成棕色混悬液。通过过滤收集沉淀,用 10mL 水然后用乙酸乙酯洗涤,得到棕黄色粉末产物 9,产率 34.1%。¹H NMR(CDCl₃): δ 8.33(d, J = 4.9Hz, 2H), 8.06(d, J = 7.1Hz, 2H), 7.64(s, 1H), 7.52(t, J = 7.6Hz, 2H), 7.48(t, J = 7.1Hz, 1H), 6.79(d, J = 5.8Hz, 2H), 3.58(s, 4H), 3.56(s, 4H), 2.45(s, 3H)。HPLC(t_r/ 纯度): 14.95 分钟, > 95%; C₂₀H₂₁N₅ 的 HRMS 计算值为 331.1791, 实测值为 331.1799。

[0545] 3-(4-环己基哌嗪-1-基)-4-甲基-6-苯基吡嗪 (10)

[0546] 在 10-mL 微波玻璃容器中,将化合物 15(200mg, 0.96mmol) 与 4 当量的 4-环己基哌嗪 (651.5mg, 3.87mmol) 一起混悬于 5mL 水中,与隔膜一起盖帽。应用 75W 微波辐射,将温度变速地从室温升至 175℃。一旦到达 175℃,将反应混合物保持在该温度 3 小时。让反应混合物冷却至室温,将该褐色溶液倾入水中,得到混悬液,将其过滤得到米色固体。将该固体用 20mL 饱和碳酸氢钠洗涤,得到产率 95% 的 10。¹H NMR(CDCl₃): δ 7.56(s, 1H), 7.49(t, J = 7.5Hz, 3H), 7.44(m, 2H), 3.41(s, 4H), 2.79(s, 4H), 2.38(s, 3H), 2.34(m, 1H), 1.62(m, 2H), 1.26(m, 8H)。HPLC(t_r/ 纯度): 悬而未决的分钟, > 95%; C₂₁H₂₈N₄ 的 HRMS 计算值, 实测值在 4/21/06 中给出。

[0547] 4-甲基-3-(4-甲基哌嗪-1-基)-6-苯基吡嗪 (11)

[0548] 于戴帽烧瓶中,将化合物 15(500mg, 2.4mmol) 与 4 当量的 1-甲基-哌嗪 (961mg, 9.6mmol) 一起混悬于 20mL 中。将容器盖帽,在 120℃ 加热 120 小时直至完成。将反应混合物冷却至环境温度,得到带白色固体沉淀的淡黄色溶液。将反应过滤,用乙醚洗水滤液以除去微量起始材料,然后用乙酸乙酯萃取 (5×10mL)。合并有机洗液,经硫酸镁干燥,并在减压下除去乙酸乙酯。剩余油用乙醚处理,冷却,得到产物 11,黄色针状,产率 38.7%。¹H NMR(CDCl₃): δ 8.02(d, J = 7.0Hz, 2H), 7.55(s, 1H), 7.47(t, J = 7.0Hz, 2H), 7.43(m, 1H), 3.41(t, J = 4.5Hz, 4H), 2.63(bs, 4H), 2.38(s, 3H), 2.36(s, 3H)。HPLC(t_r/ 纯度): 悬而未决 > 95%; C₁₆H₂₀N₄ 的 HRMS 计算值在 4/21/06 中给出。

[0549] 吡嗪类似物的合成 (图 39)

[0550] 3-甲基-5-苯基-吡嗪 2(1H)-酮 (24)

[0551] 该化合物的制备按照 Jones 操作方法 (J. Amer. Chem. Soc. 1949, 71, 78-81)。简而言之,将商业上可得的苯甲酰甲醛 22(1.02g, 7.62mmol) 溶于甲醇中,冷却至 -41℃。将商业上可得的丙氨酸酰胺 (alanine amide) 23(672mg, 7.62mmol) 溶于 25mL 甲醇中,加入到反应混合物中。搅拌下,滴加入 12.5N NaOH(0.760mL, 9.53mmol) 溶液,维持反应温度在 -10℃ 以下。当加入完成后,将反应置于 -5℃ 2 小时。然后让反应升温至室温,用 12N HCl 溶液 (0.76mL) 淬灭,随后用碳酸氢钠中和溶液。减压下除去甲醇,用氯仿萃取剩余物,用乙酸乙酯析出沉淀的。分离出白色粉末化合物,得到 24,产率 188%。HPLC(t_r/ 纯度): 15.91 分钟, > 97%。ESI m/z (MeOH): 187.35 (MH⁺)。

[0552] 2-(4-(3-甲基-5-苯基吡嗪-2-基)哌嗪-1-基)嘧啶 (25)

[0553] 按照 Adams 等 (Synlett 2004, 11, 2031-2033) 的操作方法,用 1-(2-嘧啶基)哌嗪作为胺,经由三氟甲磺酸吡嗪 (pyrazine triflate) 制备本化合物。保持在充氩气的牢固密封瓶中应用无水试剂吡啶 (Aldrich)。将化合物 24(100mg, 0.52mmol) 和 DMAP(65.7, 0.52mmol) 溶于吡啶和二氯甲烷 (0.5 : 4mL v/v) 中,冷却至 0℃。滴加三氟甲烷磺酸

(0.8mmol, 135.5 μ L), 在 0℃ 搅拌 15 分钟, 然后在室温搅拌 3 小时。该三氟甲磺酸盐经 ESI (363.7(MH⁺)) 和 HPLC(t_R = 25.33 分钟) 确认。将反应混合物用二氯甲烷稀释, 用各 20ml 水、碳酸氢钠和盐水洗涤一次。在减压下除去二氯甲烷, 将剩余残余物直接溶于 DMSO。加入 1-(2- 嘧啶基) 哌嗪 (5.3mmol, 750 μ L), 将反应加热至 60℃ 并搅拌 2 小时。完成后, 将反应用乙酸乙酯稀释, 用 1N HCl 洗涤, 洗后用盐水和水除去剩余吡啶。然后将有机物干燥, 在真空中蒸发, 得到黄色固体 25 (63% 产率)。HPLC(t_R / 纯度): 24.74 分钟, > 98%。ESI m/z (CH₂Cl₂) 333.29 (MH⁺)。¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ 8.56 (s, 1H); 8.36 (d, J = 4Hz, 2H); 8.01 (d, J = 7.5Hz, 2H); 7.48-7.40 (m, 3H); 6.54 (bs, 1H); 4.03 (bs, 4H), 3.42 (bs, 4H); 2.62 (s, 6H)。HRMS 计算值在 4/21/06 中给出。

[0554] 26 的合成

[0555] 4,6- 二苯基 -3-(4- 嘧啶 -2- 基) 哌嗪 -1- 基) 哒嗪二盐酸盐一水合物 (26)

[0556] 将 700mg (1.77mmol) 的 1 悬浮于 10mL 无水异丙醇中, 加热至 70℃。立即向该溶液中加入 2.5 当量 (0.375mL, 4.4mmol) 的浓 HCl。将混悬液在 70℃ 搅拌 10 分钟, 冷却至环境温度, 并在冰上冷却 1 小时。通过过滤收集沉淀, 用冷异丙醇 (5mL) 洗涤一次, 以提供亮黄色粉末的产物 26, 产率 55%。¹H NMR (DMSO-d₆): δ 8.55 (s, 2H); 8.16 (s, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.7 (s, 2H), 7.58 (s, 6H), 6.84 (s, 1H), 4.14 (s, 4H), 3.57 (s, 4H)。HPLC(t_R / 纯度): 悬而未决的分钟, > 98%。C₂₄H₂₆Cl₂N₆O 的 EA 计算值: C 59.38, H 5.40, N 17.31。实测值: C 59.38, H 5.40, N 17.31。

[0557] 吡嗪类似物的生产方案

[0558] 4,5- 二氢 -4- 甲基 -6- 苯基哒嗪 -3(2H)- 酮 (13) (Hansen, KB 等, Org. Process Res. Dev., 2005, 9, 634-639, Nelson, DA. US 20050137397A1)。在安装温度探头和冷凝器的 250mL 三 - 颈圆底烧瓶中, 加入 7.7g (40mmol) 2- 甲基 -4- 氧 -4- 苯基丁酸的 12 和 20mL 乙醇 (95%)。将混悬液冷却至 10℃ 以下, 滴加于 10mL 乙醇中的 2.2mL (42mmol, 1.05 当量) 肼一水合物。加入后, 将反应混合物回流加热且搅拌 2 小时。将反应混合物冷却至环境温度, 并通过过滤收集形成的白色晶体。然后将固体用 2N NaHCO₃ (1×30mL)、Milli-Q 水 (3×60mL) 洗涤, 在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥, 得到产率 96.1% 的预期产品 13。¹H NMR (DMSO-d₆): δ 10.84 (s, 1H), 7.75 (m, 2H), 7.41 (m, 3H), 3.12 (m, 1H), 2.60 (m, 1H), 2.50 (m, 1H), 1.13 (d, J = 7Hz, 3H)。HPLC(t_R / 纯度): 悬而未决的分钟, > 95%; ESI m/z (MeOH) 189.08 (MH⁺)。

[0559] 4- 甲基 -6- 苯基哒嗪 -3(2H)- 酮 (14) (Csende, F 等. Synthesis, 1995, 1240-1242)

[0560] 在 250mL 单颈圆底烧瓶中, 将 7.0g (35mmol) 的 13 溶于 30mL 乙腈中。向该溶液中加入 11.3g (84mmol, 2.4 当量) 无水氯化铜 (II), 将反应混合物回流加热 2 小时。为控制反应过程中形成的 HCl 气体, 应用 NaOH 溶液吸收从干燥试管中逃逸的 HCl。将反应混合物冷却至环境温度, 并放入冰水浴中。加入 150mL 冰水熄灭反应。将混合物强力搅拌 10 分钟, 以得到灰色沉淀和蓝色含氯化铜 (I) 液体。然后通过过滤收集沉淀 (滤液 pH 为 0-1), 首先用 1N HCl (100mL), 然后用 Milli-Q 纯净水 (5×100mL) 洗涤。为除去残余的铜副产物, 将滤饼在 1N HCl (150mL) 中搅拌 0.5 小时, 然后过滤。滤饼用 Milli-Q 水洗涤直到滤液 pH 为 pH 7 (大约 7 次洗涤)。将固体在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥, 得到产率 93.8% 的浅灰色粉末 14。¹H NMR (DMSO-d₆): δ 7.95 (s, 1H), 7.85 (d, J = 7.5Hz, 2H), 7.47 (m, 2H),

7.43(m, 1H), 2.13(s, 3H)。HPLC(t_r /纯度):21.48 分钟, > 97%;ESI m/z (MeOH) 187.36 (MH^+)。

[0561] 3-氯-4-甲基-6-苯基哒嗪 (15)

[0562] 将 6.0g (32mmol) 的 14 放入 250mL 单颈圆底烧瓶, 并加入 30mL 乙腈, 得到淡黄色泥浆。加入 6.0mL (64mmol, 2 当量) 三氯化磷, 并将反应混合物回流加热 2.5 小时。在反应完成后, 将混合物冷却至环境温度, 并置于冰水浴中。搅拌下将冰水 (150mL) 缓慢地倾入反应混合物中, 以将三氯化磷分解为 HCl 和 H_3PO_4 。通过过滤收集固体, 用 Milli-Q 水洗涤 (3×50 mL)。将固体混悬于 100mL 水中, 加入 1N NaOH 直至水混悬液为 pH = 8。将混合物搅拌 5 分钟以除去所有微量的起始原料污染物。将固体过滤, 用 Milli-Q 水洗涤 (3×100 mL)。将产物在真空中经中型玻璃料烧结玻璃漏斗干燥, 得到产率 96% 的浅粉红色粉末 15。 1H NMR(DMSO- d_6): δ 8.29(s, 1H), 8.10(m, 2H), 7.53(m, 3H), 2.41(s, 3H), HPLC(t_r /纯度):2888.98 分钟, > 94%。ESI m/z (MeOH) 205.49 (MH^+)。

[0563] 2-(4-(4-甲基-6-苯基哒嗪-3-基)哌嗪-1-基)嘧啶 (5)

[0564] 将 7.5g (36.6mmol) 的 15 混悬于 125mL Milli-Q 水中。加入 60.17g (366.0mmol, 10 当量) 1-(2-嘧啶基)哌嗪, 将反应混合物在快速搅拌下加热回流 60 小时。当完成后, 将混合物冷却至环境温度, 在烧瓶中观察到由橙色水层和沉积在瓶底部的棕色油层组成的 2 层。将水倾出, 将油溶解在最小体积的异丙醇中, 回流加热。回流 10 分钟后, 将溶液慢慢冷却至 0°C, 以诱发结晶。将淡黄色结晶从异丙醇中过滤, 用最小量的冷乙醚冲洗, 得到 5, 产率 54%。 1H NMR($CDCl_3$): δ 8.36(d, $J = 4.5$ Hz, 2H), 8.05(d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.61(s, 1H), 7.50(t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.44(t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 6.55(t, $J = 4.5$ Hz, 1H), 4.04(t, $J = 4.5$ Hz, 4H), 3.46(t, $J = 4.5$ Hz, 4H), 2.45(s, 3H)。HPLC(t_r /纯度):24.91 分钟, > 95%; $C_{19}H_{20}N_6$ 的 HRMS 计算值为 332.1744, 实测值为 332.1740。 $C_{19}H_{20}N_6$ 的分析计算值: C, 68.65; H, 6.06; N, 25.28; 实测值: C, 68.73; H, 5.97; N, 25.22。

[0565] 2-(4-(4-甲基-6-苯基哒嗪-3-基)哌嗪-1-基)嘧啶二盐酸盐一水合物 (16) (Wermuth CG, Stahl PH. Selected Procedures for the Preparation of Pharmaceutically Salts, in Stahl PH., Wermuth CG. (Ed.) Handbook of Pharmaceutical Salts, Wiley-VCH, p 249-264)。将 6.3g (19.0mmol) 的 5 悬浮于 50mL 无水异丙醇中, 加热至 70°C。立即向该溶液中加入 2.5 当量 (4.0mL) 的浓 HCl。将混悬液在 70°C 搅拌 10 分钟, 冷却至环境温度, 并在冰上冷却 0.5 小时。通过过滤收集沉淀, 用冷异丙醇 (30mL) 洗涤一次, 以提供黄色粉末的产物 16, 产率 93.3%。 1H NMR(DMSO- d_6): δ 8.47(s, 3H), 8.07(d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 7.61(s, 3H), 6.76(d, $J = 2.7$ Hz, 2H), 3.99(s, 4H), 3.60(s, 4H), 2.59(s, 3H)。HPLC(t_r /纯度):25.06 分钟, 99%。 $C_{19}H_{20}N_6$ 的 HRMS 计算值为 332.1744, 实测值为 332.1744。 $C_{19}H_{22}Cl_2N_6$ 的 EA 计算值: C, 53.91; H, 5.71; N, 19.85; Cl, 16.75; O, 3.78。实测值: C, 53.66; H, 5.52; N, 19.67; Cl, 16.86; O, 4.12。铜测量值为 2ppm。

[0566] 实施例 10

[0567] 理化性质

[0568] 材料 / 方法:

[0569] HPLC 系统 (Dionex Corp., Sunnyvale, CA) 由以下元件组成: Dionex P680 泵、Dionex ASI-100 自动进样器、Phenomenex (Torrance, CA) Luna C18 柱 (250×2.0 mm; $5 \mu m$) 且备有保护柱、Dionex UVD 170U 检测器。流动相由作为溶剂 A 的于 Milli-Q 水中的 0.1%

甲酸 (Fluka) 和作为溶剂 B 的含于 Milli-Q 水中的 0.08% 甲酸的 80% 乙腈 (Burdick & Jackson) 组成。基于 254nm 的吸收, 相对于化合物系列稀释所获得的标准曲线, 进行峰定量。

[0570] 用于微小规模的水溶解度测定的毛细管购自 Büchi, 瑞士。在 SartoriusAG (德国) 分析天平上进行化合物称重。Milli-Q 水应用 MilliporeSystem (Bedford, MA) 获得。定轨振荡器 (orbital shaker)/ 孵化器购自 Barnstead International (Melrose Park, IL)。

[0571] 微小规模的水溶解度测定

[0572] 应用分析天平称量干燥、清洁的硼硅酸盐毛细管。称量 17-30mg 的 16 并将其加入管中。向管中加入蒸馏、纯净 Milli-Q 水, 以得到浓度范围 1-2g/ml 的溶液。手动混合样品管, 以确保足够的润湿并置于设定 37°C 的孵化器中过夜。从每根管中收集样品, 在 10,000rpm 离心 10 分钟, 然后注入到反相 HPLC。

[0573] 大规模的水溶解度测定

[0574] 应用分析天平称量干燥、清洁的玻璃锥形瓶。向瓶中加入最高达 30mg 的 26。向瓶中加入蒸馏、纯净水以得到饱和溶液。将该瓶置于定轨振荡器 / 孵化器中, 在 37°C, 175rpm 下运行 72 小时。以 24 小时的间隔移出样品, 在 10,000rpm 离心 10 分钟, 以除去微粒, 然后注入到反相 HPLC。

[0575] 分配系数测定

[0576] 应用 1- 辛醇 (Sigma) 和水确定 16 和 26 的分配系数。每个化合物以 0.5-1mg/ml 溶解在 Milli-Q 水, 让其分配到预饱和辛醇中。将样品水平置于 37°C 的定轨振荡器 / 孵化器中 1 小时。1 小时后, 将样品以 1500rpm 离心 5 分钟, 分离水相。测定化合物在水和辛醇相两相中的浓度。

[0577] 活性测定

[0578] 细胞培养测定。按照以前所述 (Hu W、Ralay Ranaivo 等, CurrentAlzheimer' s Research 2005, 2:197-205; Mirzoeva S, 等, J Med Chem 2002, 45:563-566; Ralay Ranaivo H, 等, J Neurosci 2006, 26:662-670), 对化合物的浓度依赖性活性进行以神经胶质为基础的检测。将 BV-2 小鼠小神经胶质细胞在多孔板中培养一天, 然后在含对照缓冲剂或标准神经胶质活化刺激的脂多糖 (LPS, 来自鼠伤寒沙门氏菌 (Salmonella typhimurium); 100ng/ml) 的无血清培养基中, 在存在稀释剂或不同浓度的化合物下, 处理 16 小时。通过如以前描述的 Griess 测定 (Hu W、Ralay Ranaivo 等, CurrentAlzheimer' s Research 2005, 2:197-205; Mirzoeva S, 等, J Med Chem 2002, 45:563-566; Mirzoeva S, 等, Brain Res 1999, 844:126-134), 在 BV-2 条件培养基中测量累积的亚硝酸盐, 一氧化氮 (NO) 的稳定代谢产物。按照制造商的指示通过 Mesoscale Discovery system 测量细胞裂解液中 IL-1 β 、TNF α 、MCP-1 和 IL-10 的水平。按照 (Mirzoeva S, 等, J Med Chem 2002, 45:563-566; Ralay Ranaivo H, 等, J Neurosci 2006, 26:662-670) 所述, 通过蛋白质印迹分析细胞溶解物, 以确定确定诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和环氧合酶 -2 (COX-2) 的水平。本发明化合物的结果显示在表 1 中。

[0579] 口服生物利用度和大脑摄取

[0580] 为评价口服生物利用度 (化合物在血液中的浓度作为口服后的时间函数) 以及洞察潜在的脑摄取, 给小鼠口服管饲施用在 0.5% (w/v) 羧甲基纤维素混悬液中的化合

物 5 (2.5mg/kg) (Ralay Ranaivo H, 等, J Neurosci 2006, 26 :662-670)。在口服施用后 5、15、30、60 和 120 分钟, 将小鼠处死, 灌注并收集其血液和脑。将脑在乙腈中匀浆, 然后在 12000xg 离心 10 分钟。接着, 将血浆和脑上清液分别用 1 : 1 和 1 : 3 的 0.1% 甲酸 (Fluka) 稀释酸化。固相萃取后进行 HPLC 分析, 用于血浆脑上清液中化合物的定量。简言之, 柱体 (Sep-Pak® C18, Waters) 用 1ml 乙腈 (HPLC 级别, EMD Biosciences) 适应, 然后用 1ml 水平衡。应用 6- 甲基 -4- 苯基 -3-(4- 嘧啶 -2- 基) 哌嗪 -1- 啉 (MWO 1-7-057WH) 的结构类似物作为回收内标 (internal recovery standard)。将酸化样品装至柱体, 随后用 10% 乙腈 1ml 清洗。应用 80% 乙腈将化合物 5 从柱体中洗脱。将洗脱液蒸发到干, 重新溶于在 80% 乙腈中的 0.08% 甲酸 / 水中, 并用作为试剂 A 的于水中 0.1% 甲酸和作为试剂 B 的于乙腈中的 0.1% 甲酸, 使用试剂 B 中下列梯度通过 HPLC 分析: 直至 3 分钟 0% ~ 50%, 直至 6 分钟为 50% 等度, 从 6 至 10 分钟 50% ~ 70%, 直至 13 分钟为 70% 等度, 从 13 至 18 分钟 70% ~ 80%, 直至 21 分钟为 80% 等度, 从 21 至 23 分钟 80% ~ 70%, 和最后从 23 至 28 分钟从 70% 返回 0%。

[0581] 在小鼠中的体内功效研究。按照先前所述 (Craft JM, 等, Neurobiol Aging 2004, 25, :1283-1292), 除了化合物施用将是经口外 (Ralay Ranaivo H, 等, J Neurosci 2006, 26 :662-670), 设计这项研究并治疗小鼠脑室内 (ICV) 灌注人低聚物 A β ₁₋₄₂ 的示例。先前已经表明 A β - 诱导的神经炎症是与病理生理学起始和进行相关的早期事件, 并可以通过抑制胶质细胞激活得到抑制。将雌性 C57Bl/6 小鼠 (Harlan) 体重 20-25g (3-4 个月龄) 安置在无病原体的设施和近 12 小时 / 12 小时黑暗和光周期中, 并可随意获得食物和水。所有动物的操作得到 Northwestern Animal Care and Use Committee 的批准。

[0582] 通过口服管饲法给小鼠施用于 0.5% (w/v) 羧甲基纤维素混悬液中的化合物 5 (2.5mg/kg/ 天) 或对照溶剂 (10% DMSO), 在 A β ICV 灌注开始后第 21 天, 开始每天一次的治疗并继续 14 天 (Ralay Ranaivo H, 等, J Neurosci 2006, 26 :662-670)。在 A β ICV 灌注开始后第 50 天开始, 按照以前所述 (Ralay Ranaivo H 等, J Neurosci 2006, 26 :662-670), 应用自发交替的 Y 迷宫试验, 评价海马依赖性空间学习能力。在 A β ICV 灌注开始后第 60 天, 按照以前所述 (Ralay Ranaivo H 等, J Neurosci 2006, 26 :662-670), 将小鼠处死, 灌注 HEPES 缓冲液 (10mM, pH 7.2), 其含有蛋白酶抑制剂鸡尾酒, 采集大脑并切开。按照以前所述 (Ralay Ranaivo H 等, J Neurosci 2006, 26 :662-670; Craft JM, 等, Neurobiol Aging 2004, 25, :1283-1292; Eldik, LJ, 1994), 测量海马上清液中 IL-1 β 和 TNF α 的水平、S100B、突触囊泡蛋白 PSD-95 的水平。

[0583] 按照以前所述 (Ralay Ranaivo H 等, J Neurosci 2006, 26 :662-670; Craft JM, 等, Neurobiol Aging 2004, 25, :1283-1292), 在 10 μ m 切片上进行 GFAP- 阳性激活的星形细胞和 F4/80 阳性小神经胶质细胞的免疫组织化学检测。

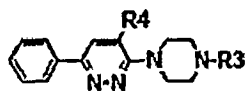
[0584] 统计分析。应用统计软件包 (GraphPad Prism version 4.00, GraphPad Software, San Diego CA), 采用单因素方差分析 ANOVA 与 Newman-Keuls 后分析 (post-hoc analysis), 比较实验与对照组。当 $p < 0.05$ 时, 假定有统计学显著性。

[0585] 本发明在范围上不受本文所述具体实施方案的限制, 因为这些实施方案旨在作为本发明一个方面的单个举例说明, 而且任何功能等效的实施方案在本发明范围之内。实际上, 除本文所示和所述的那些之外, 根据上述说明和附图, 本发明的多种修改对于本领域技

术人员来说将是显然的。这样的修改旨在落入所附权利要求书的范围内。

[0586] 本文参考的全部出版物、专利和专利申请通过以它们的全文引入作为参考，好象独立具体地指示每个单独的出版物、专利或专利申请通过以其全文引入作为参考一样。本文提及的全部出版物、专利和专利申请在此引入作为参考，用于描述和公开方法等目的，其中的报道可以与本发明结合应用。在此没有什么能解释为承认本发明不早于在先发明所公开的内容。

[0587]



[0588] 表 1. 精制药物化学

	R4	R3	MW*	log S*	log P*	IL- 1 β *	NO*
1			394.47	-5.40	3.88	2.5 ± 1.6	>25
2			408.50	-5.33	3.82	5.3 ± 0.6	>25
3			395.46	-4.41	2.49	25.8 ± 7.0	>25
4			374.48	-4.89	3.71	6.1 ± 2.5	22 ± 3
5	CH ₃		332.40	-4.08	2.29	8.3 ± 5.8	>25
6	Cl		352.82	-4.64	2.76	9.5 ± 4.0	19 ± 8
7	CH ₃		332.40	-1.43	2.01	46.1 ± 23.3	
8	CH ₃		331.41	-2.11	2.45	7.6 ± 2.9	>25
9	CH ₃		331.41	-2.09	2.38	17.7 ± 7.2	>25
10	CH ₃		336.47	-2.60	3.88	31.4 ± 4.9	
11	CH ₃	CH ₃	268.36	-1.22	1.83	48.9 ± 22.2	

[0590] * 使用 ACD/Solubility DB9.03 计算。

[0591] logS 为中性形式的化合物的固有溶解度

[0592] PSA :1,2,4,7 = 53.04 ;3 = 70.93 ;8,9 = 45.15 ;10,11 = 32.26.

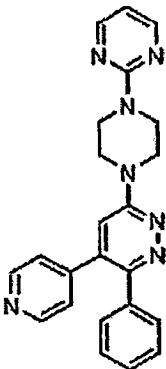
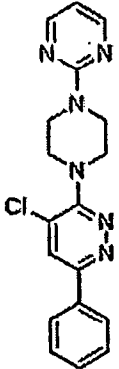
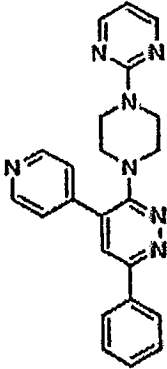
[0593] -50%抑制所需要的浓度 (μ M)

[0594] IL-1 β = 白细胞介素 -1 β ;No = 一氧化氮

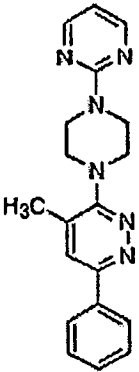
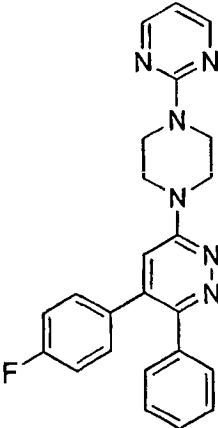
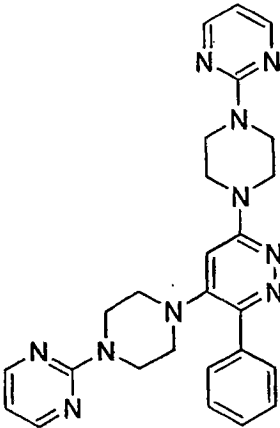
[0595] 表 2

[0596] 式 II 的化合物

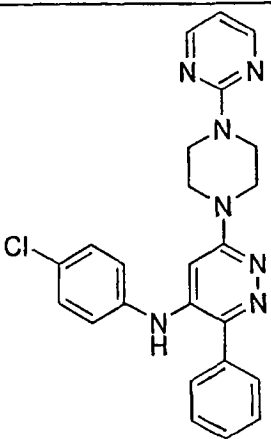
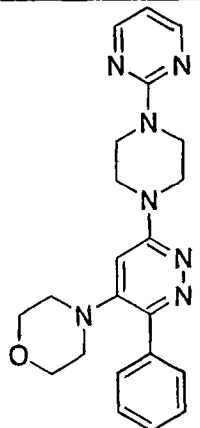
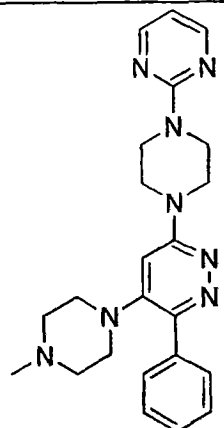
[0597]

化合物	最终编号
	MW01-2-069A-SRM
	MW01-6-127WH
	MW01-6-189WH

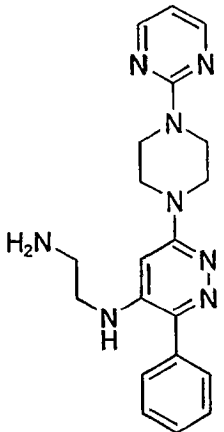
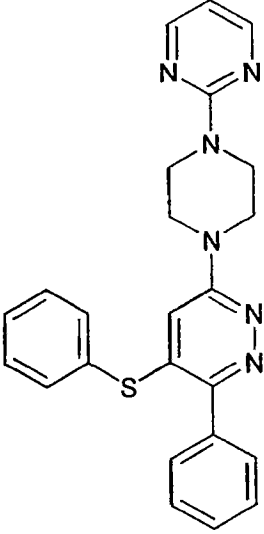
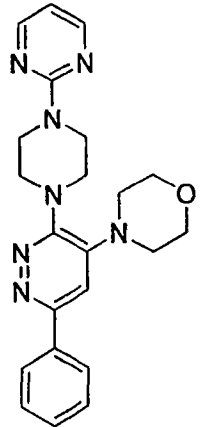
[0598]

	WH 151SRM
	MW01-2-069A-SRM
	MW01-1-030A-LKM

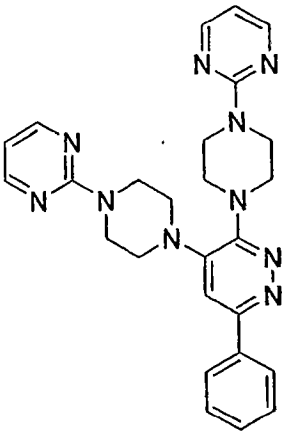
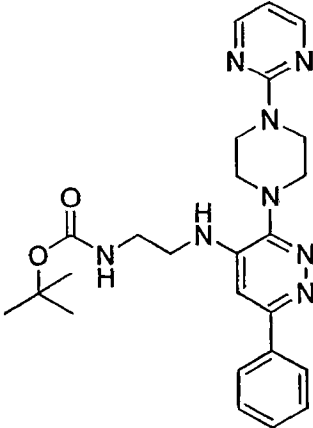
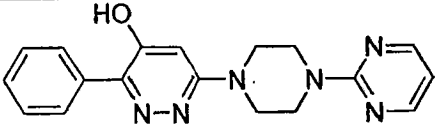
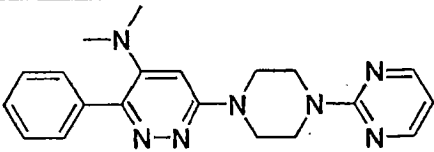
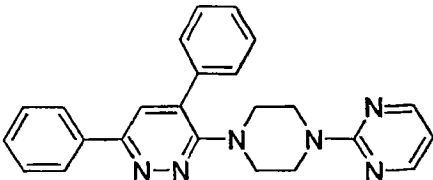
[0599]

	MW01-2-127LKM
	MW01-2-134LKM
	MW01-2-146LKM

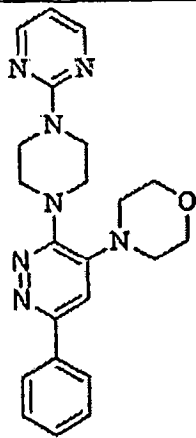
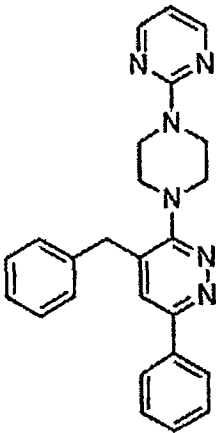
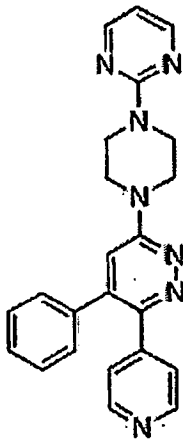
[0600]

	MW01-2-147LKM
	MW01-1-045MAS
	MW01-2-023SRM

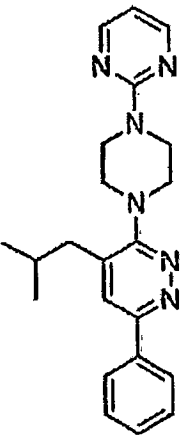
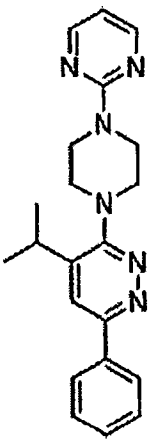
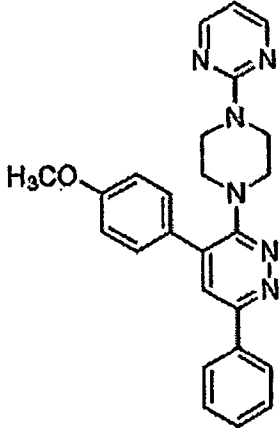
[0601]

	MW01-2-177A-WH
	MW01-2-191A-WH
	MW01-3-003WH
	MW01-3-019A-WH
	MW01-5-188WH

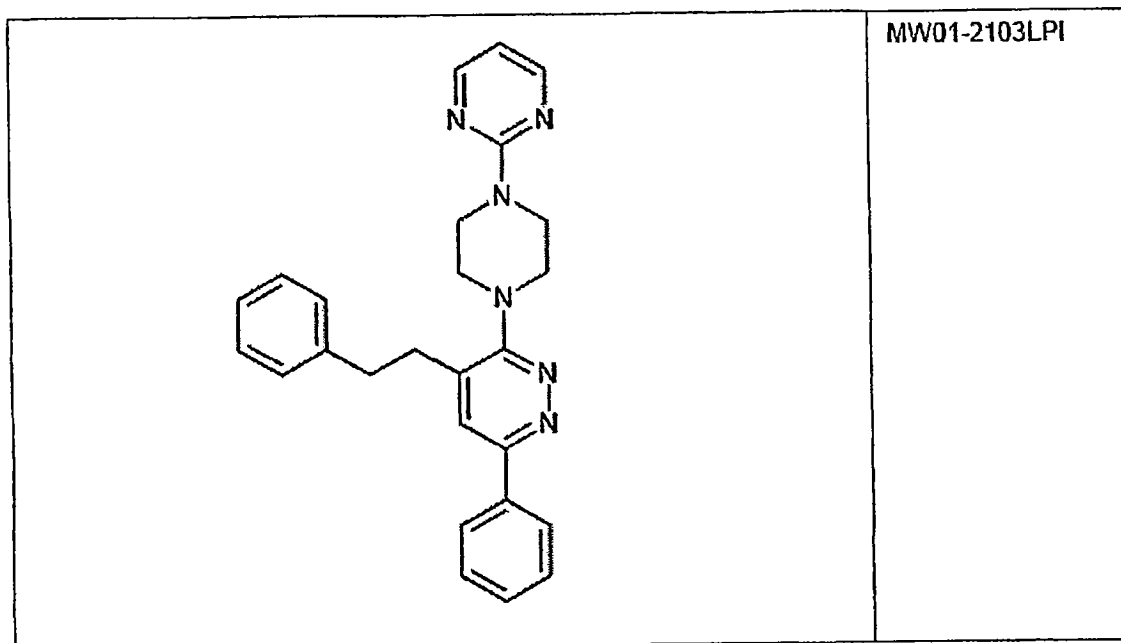
[0602]

	MW01-2-023SRM
	MW01-2-141SRM
	MW01-2-163MAS

[0603]

	MW01-3-024SRM
	MW01-3-027SRM
	MW01-7-100WH

[0604]



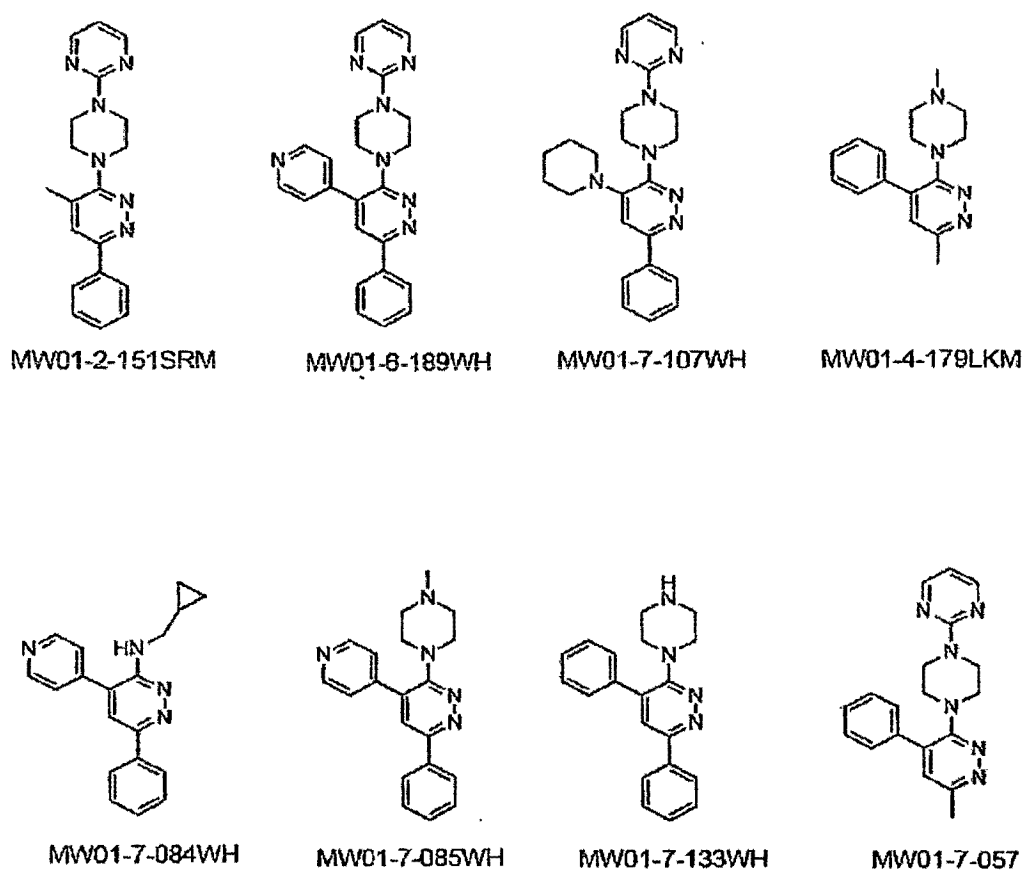


图 1

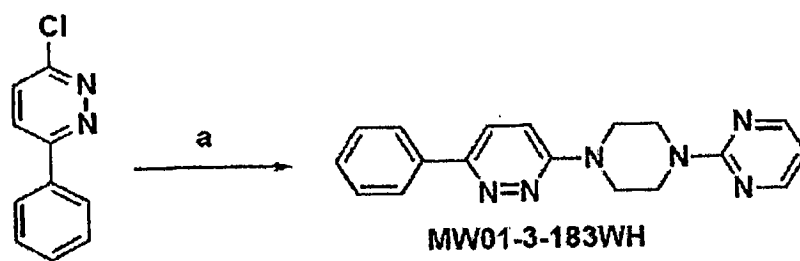


图 2

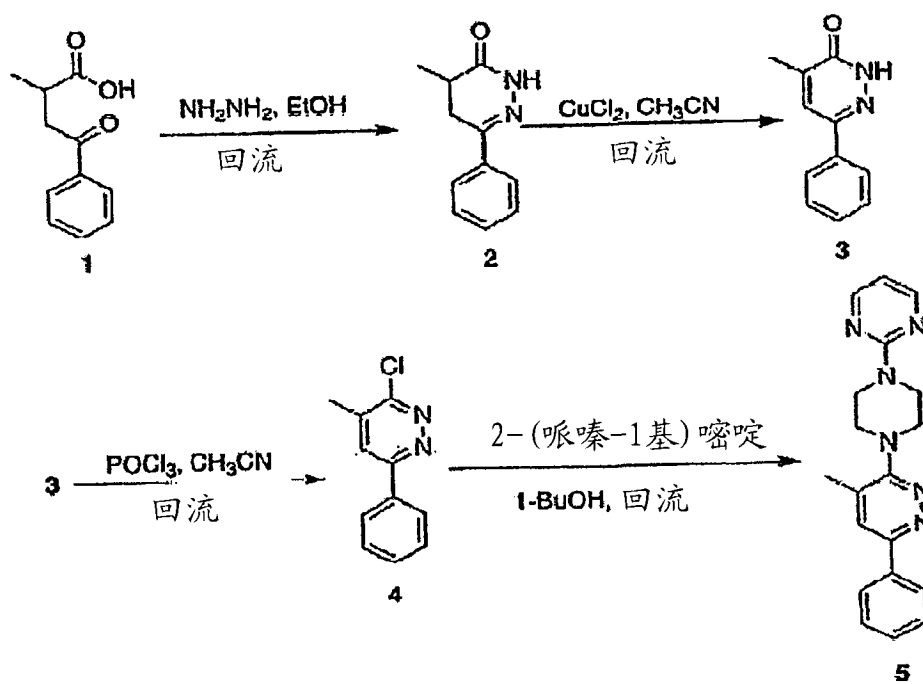


图 3

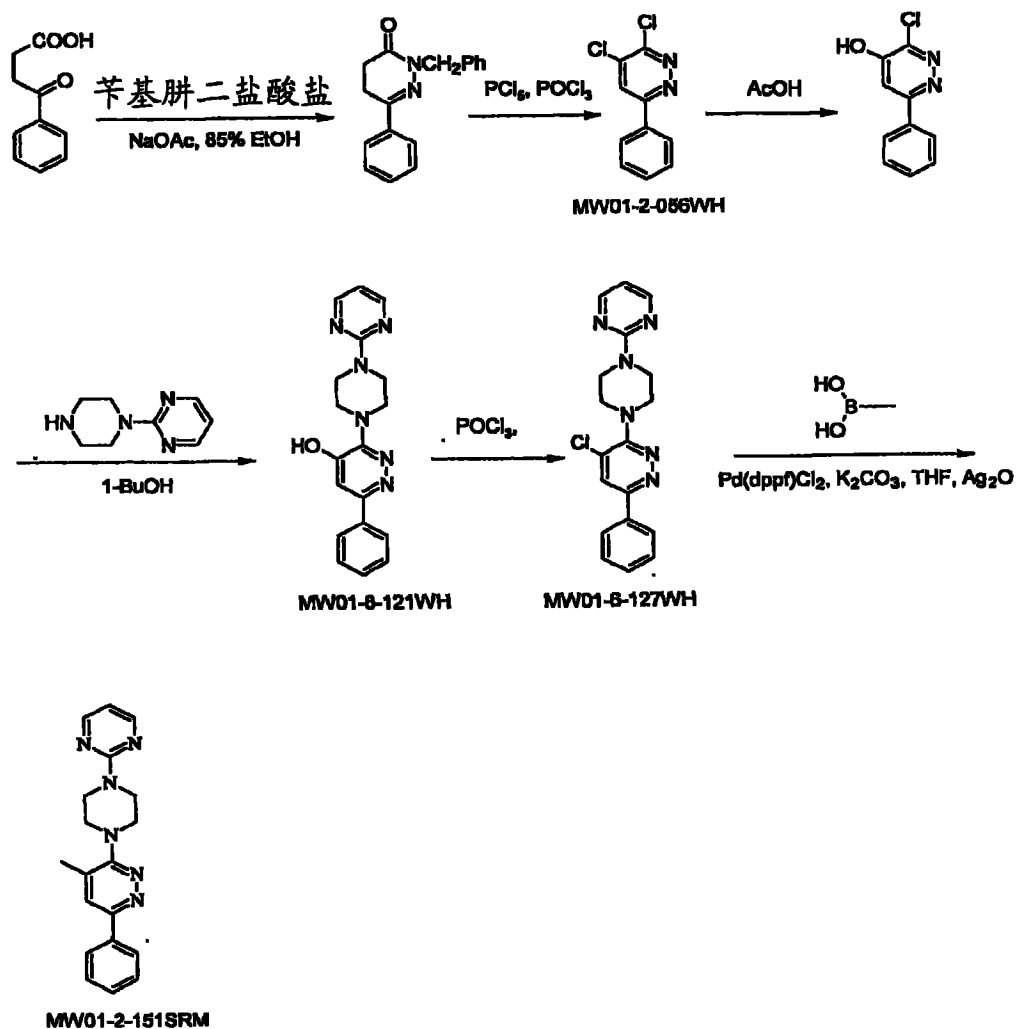


图 4



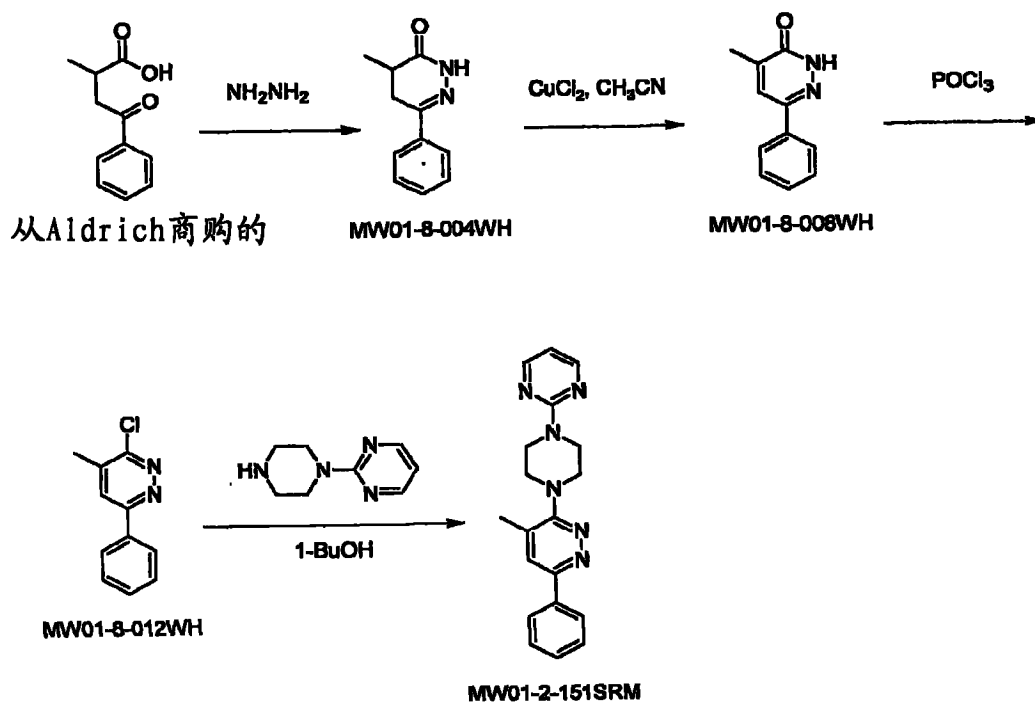


图 6

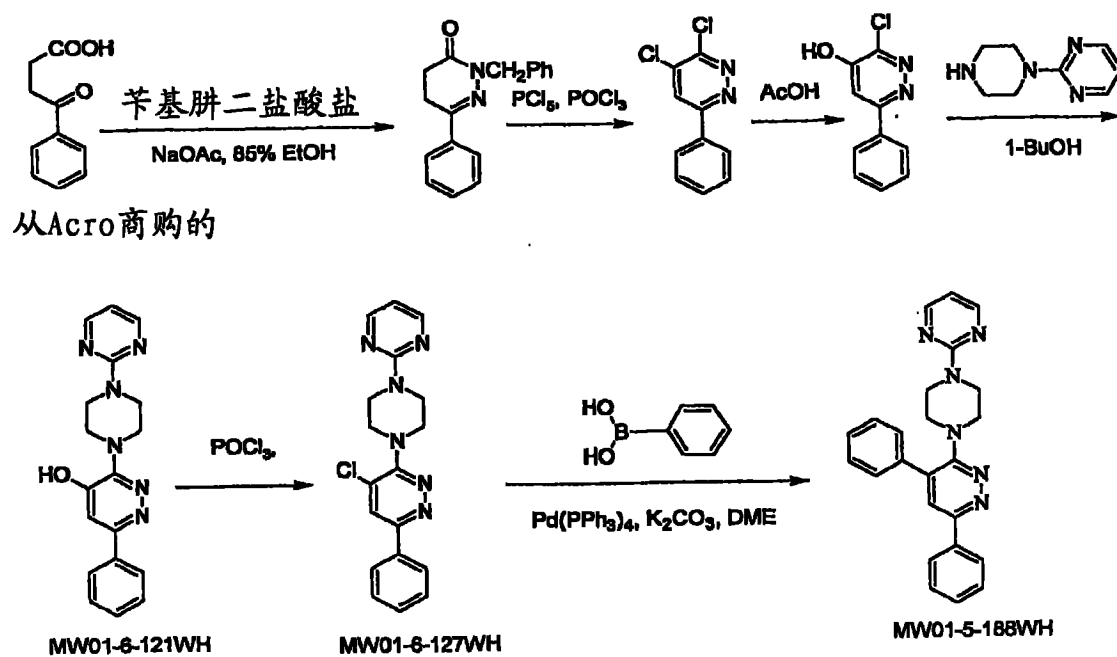


图 7

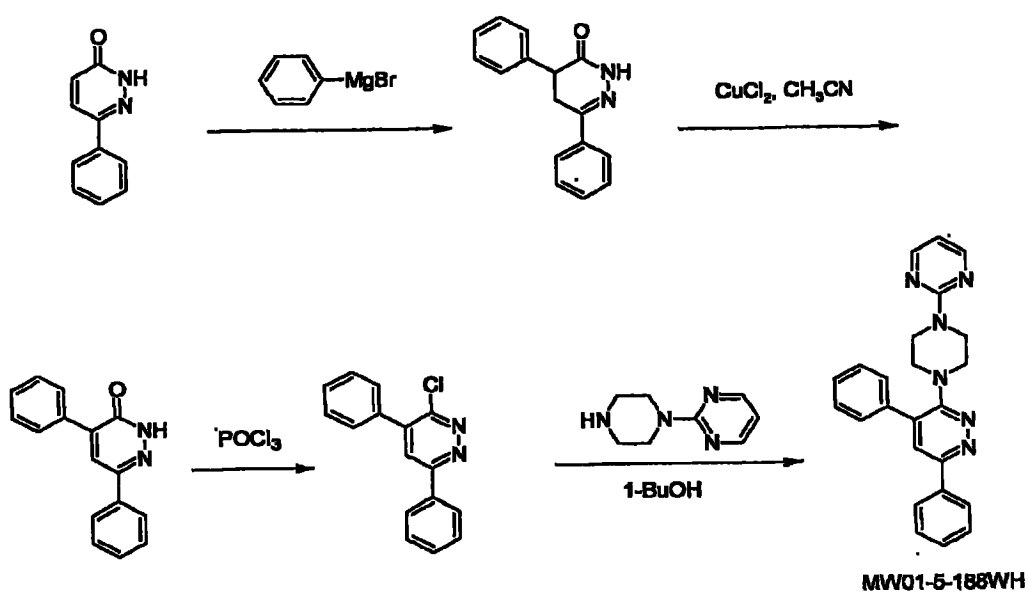


图 8

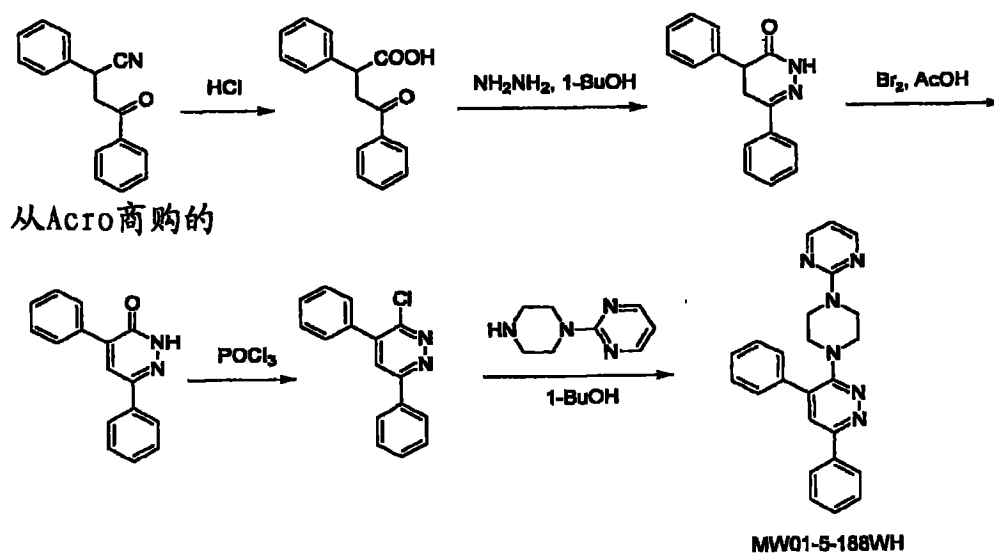


图 9

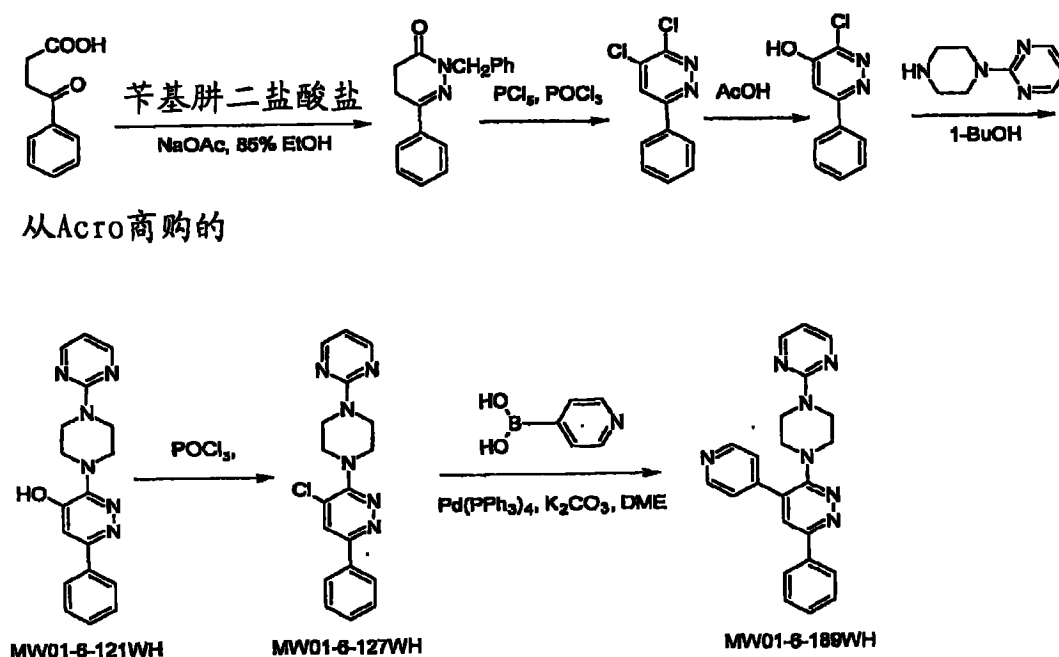


图 10A

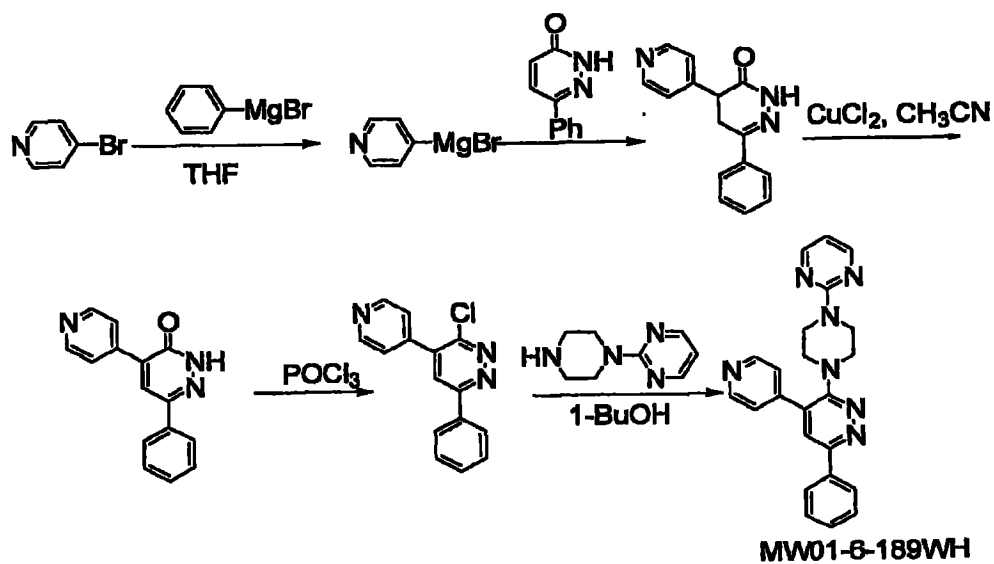


图 10B

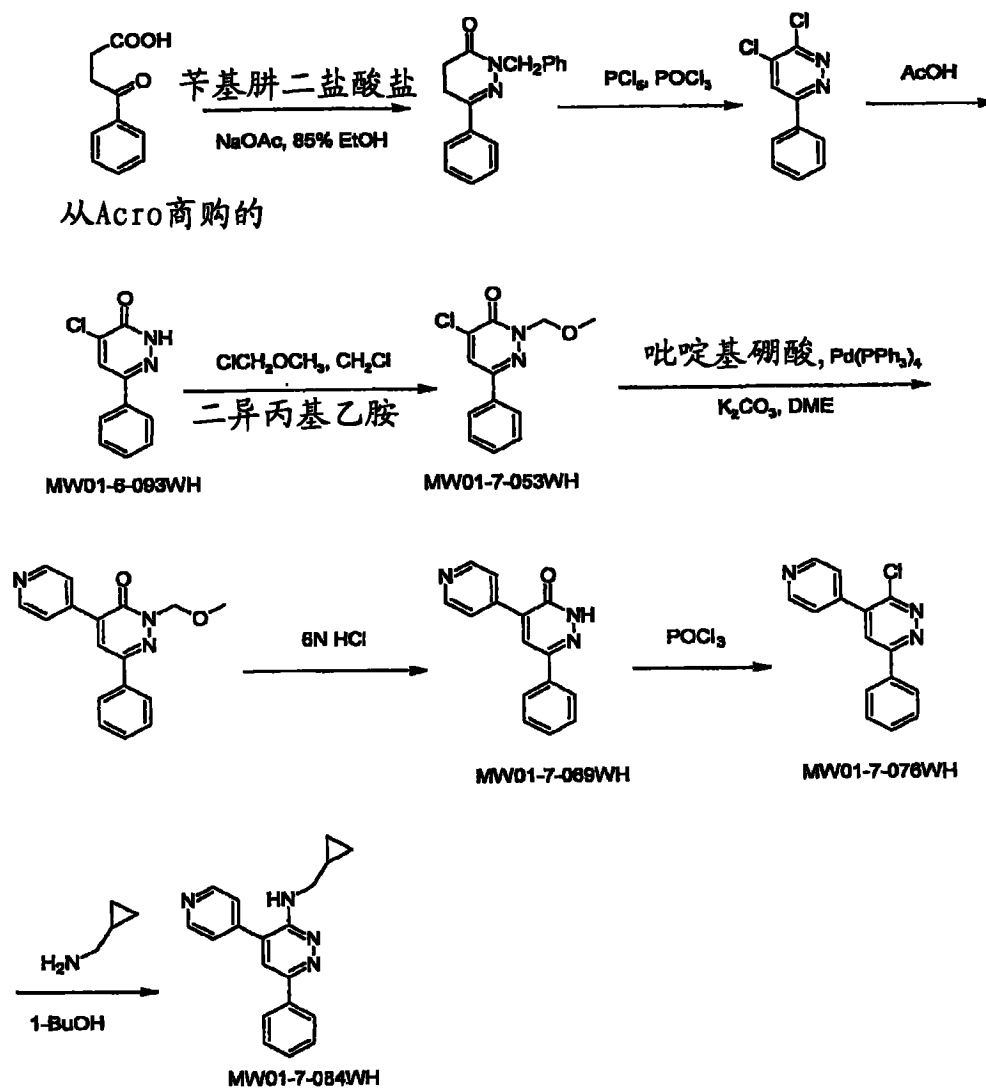


图 11

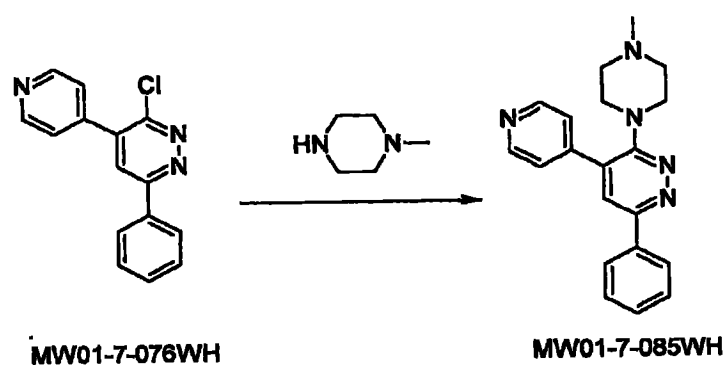


图 12

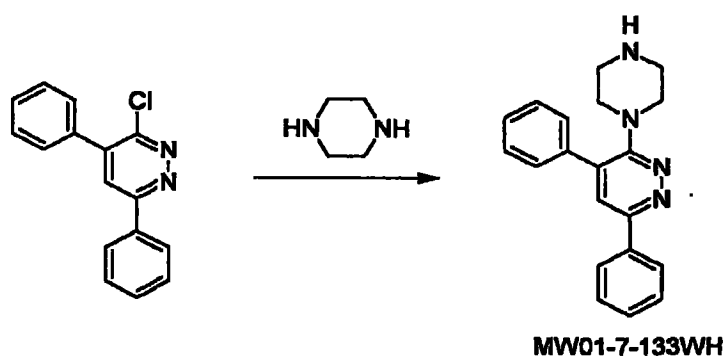


图 13

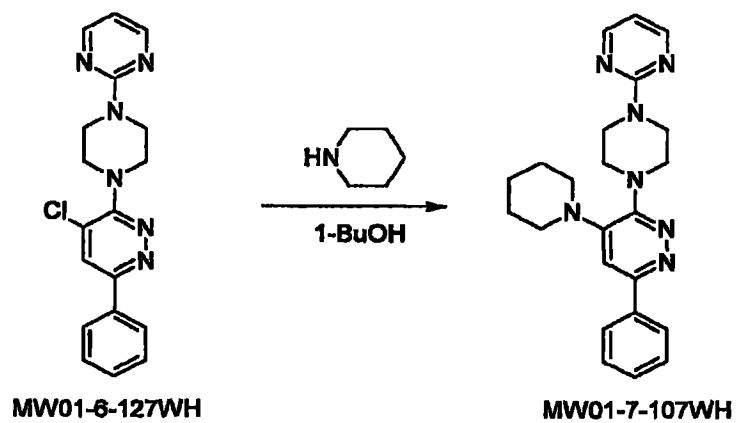


图 14

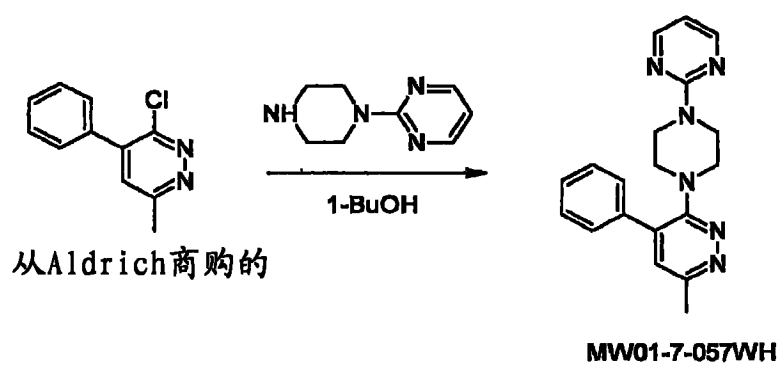


图 15

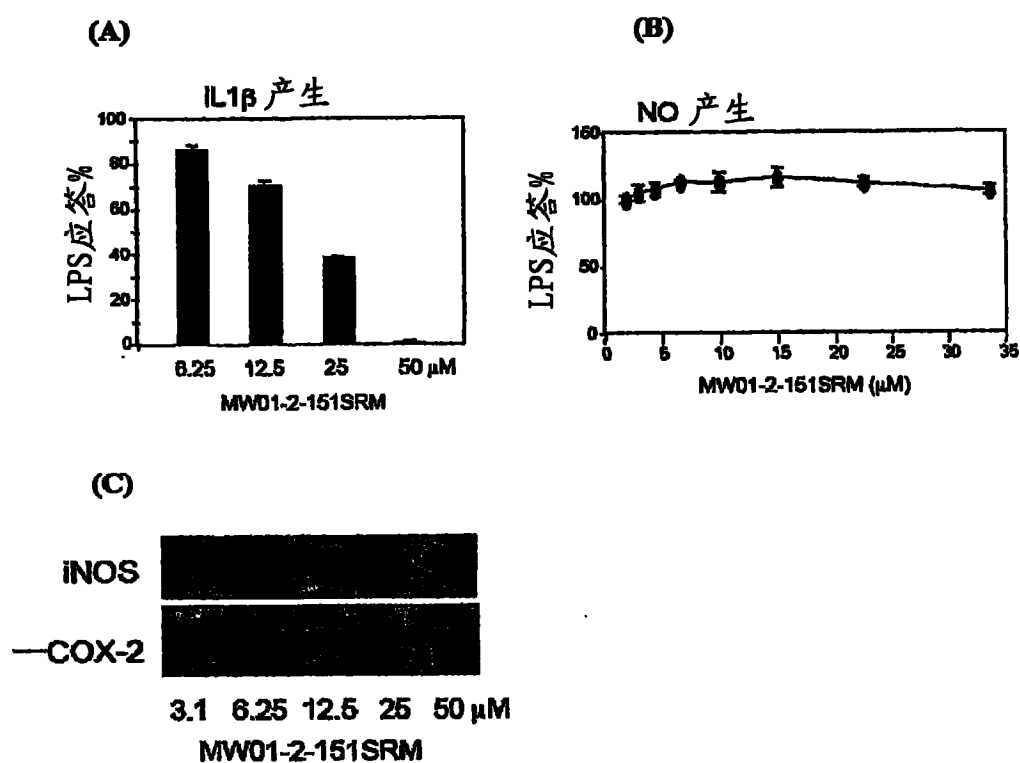


图 16

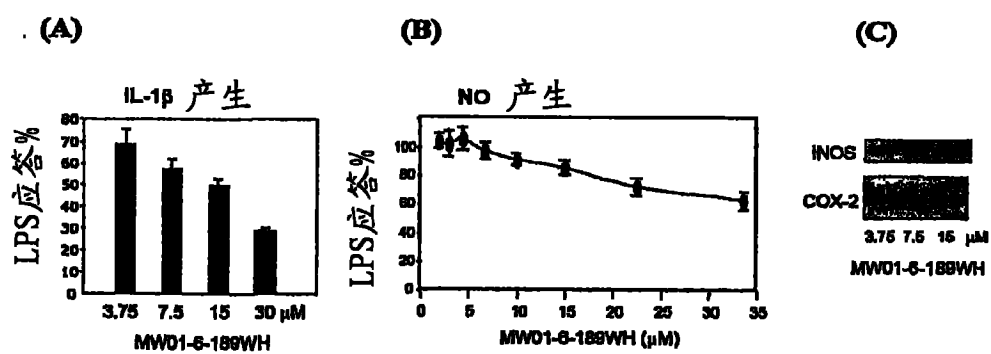


图 17

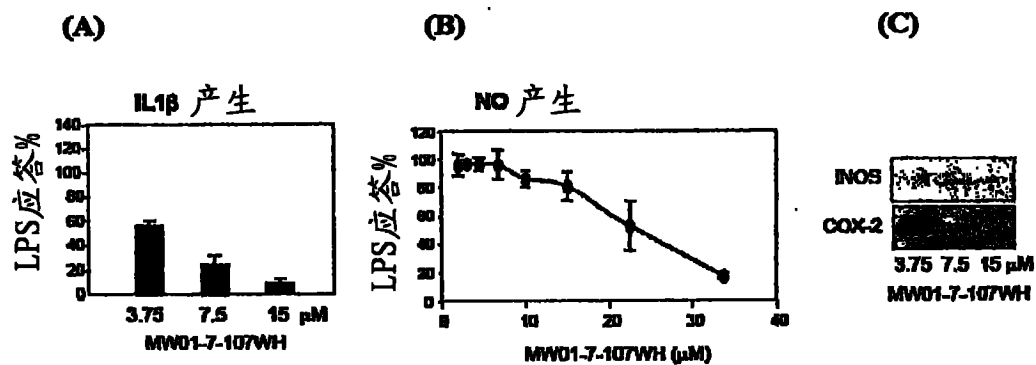


图 18

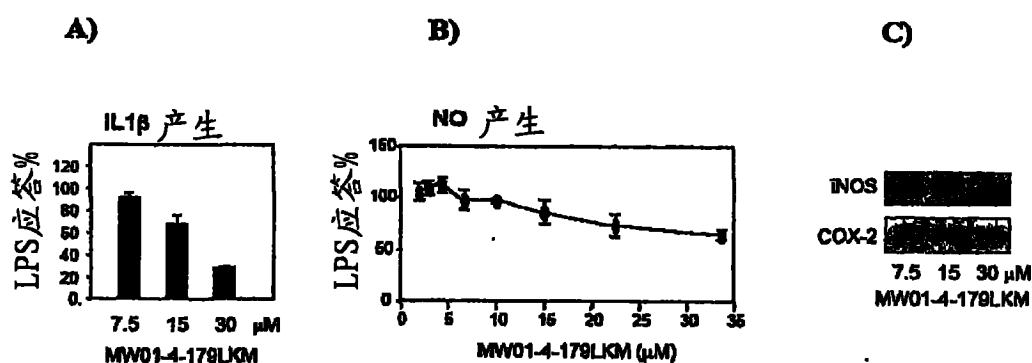


图 19

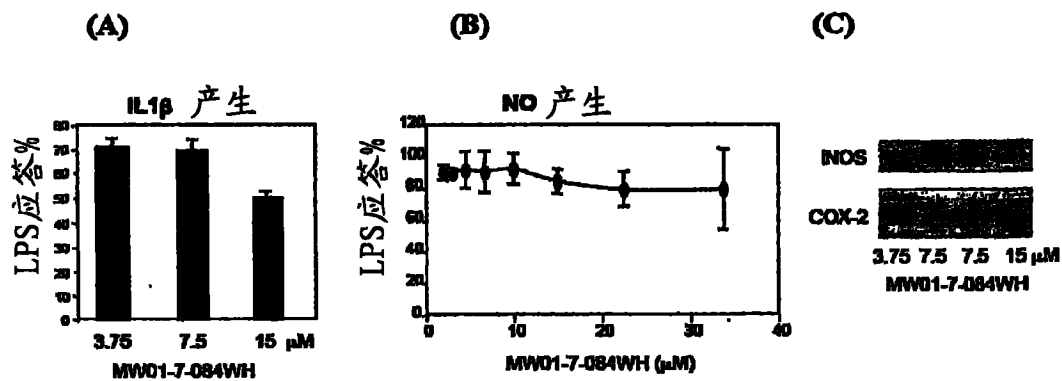


图 20

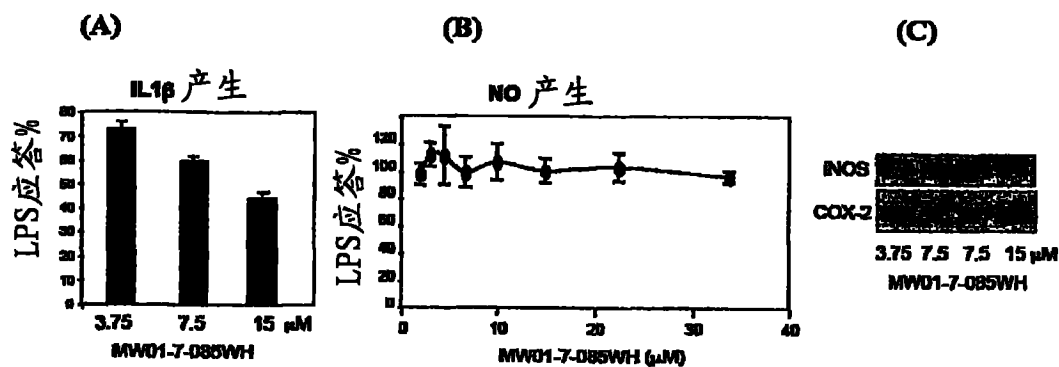


图 21

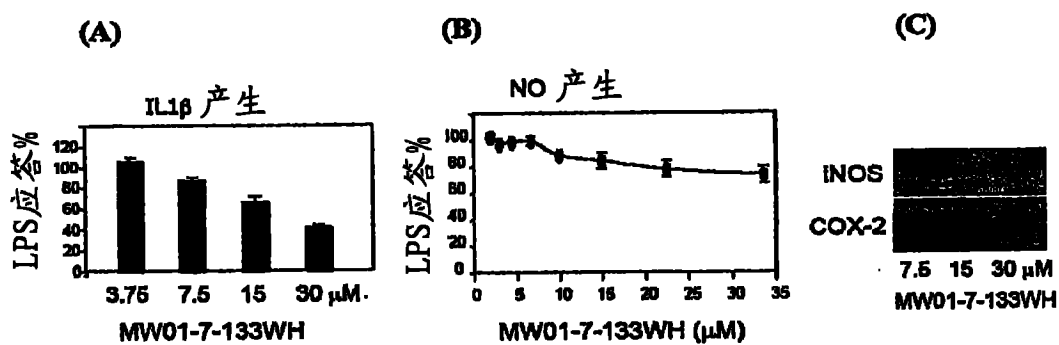


图 22

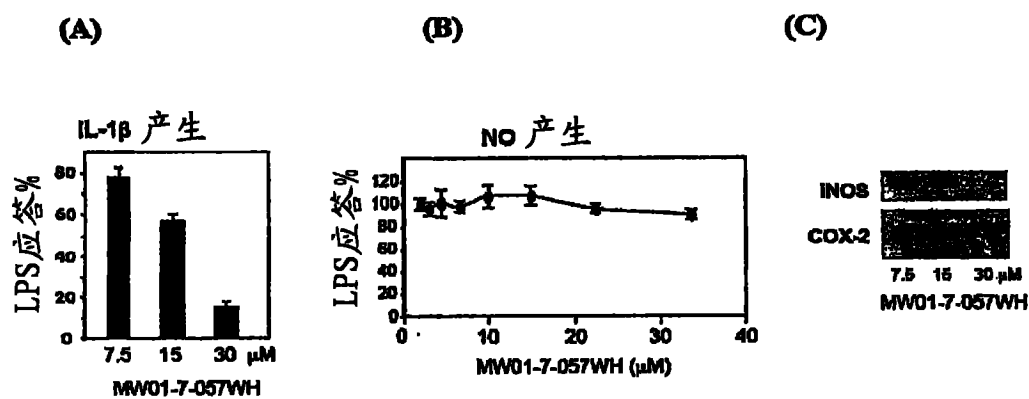


图 23

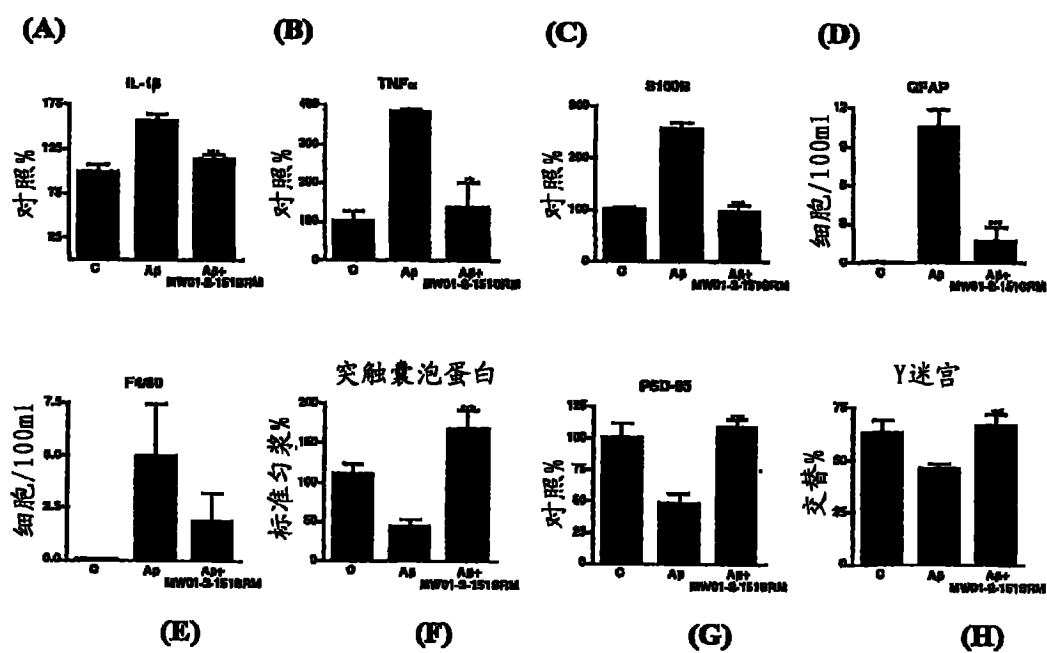


图 24

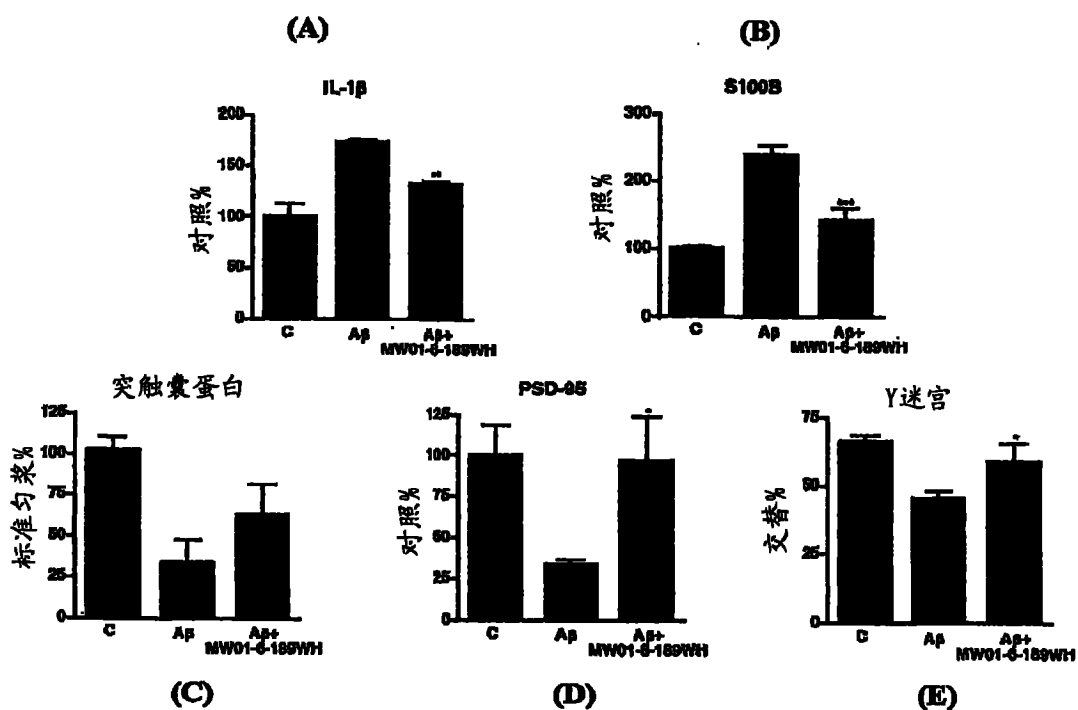


图 25

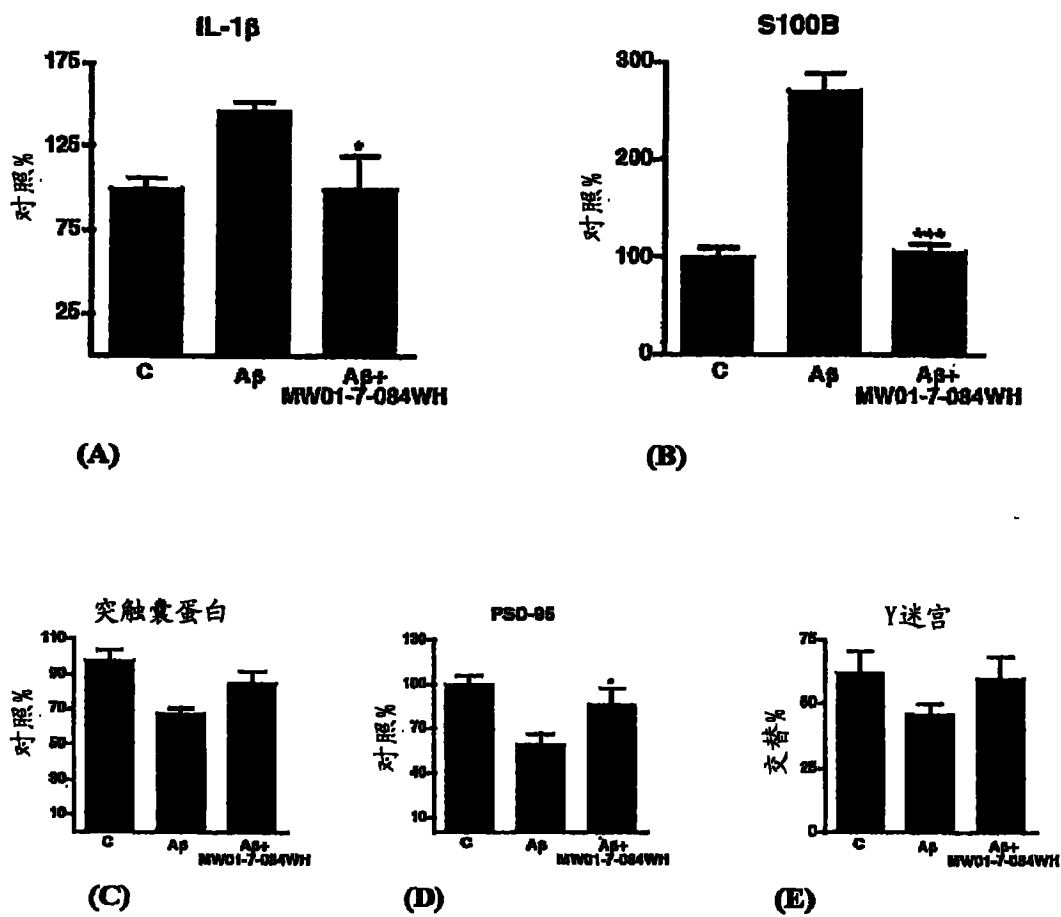
MW01-7-084WH 的体内活性

图 26

MW01-7-085WH 的体内活性

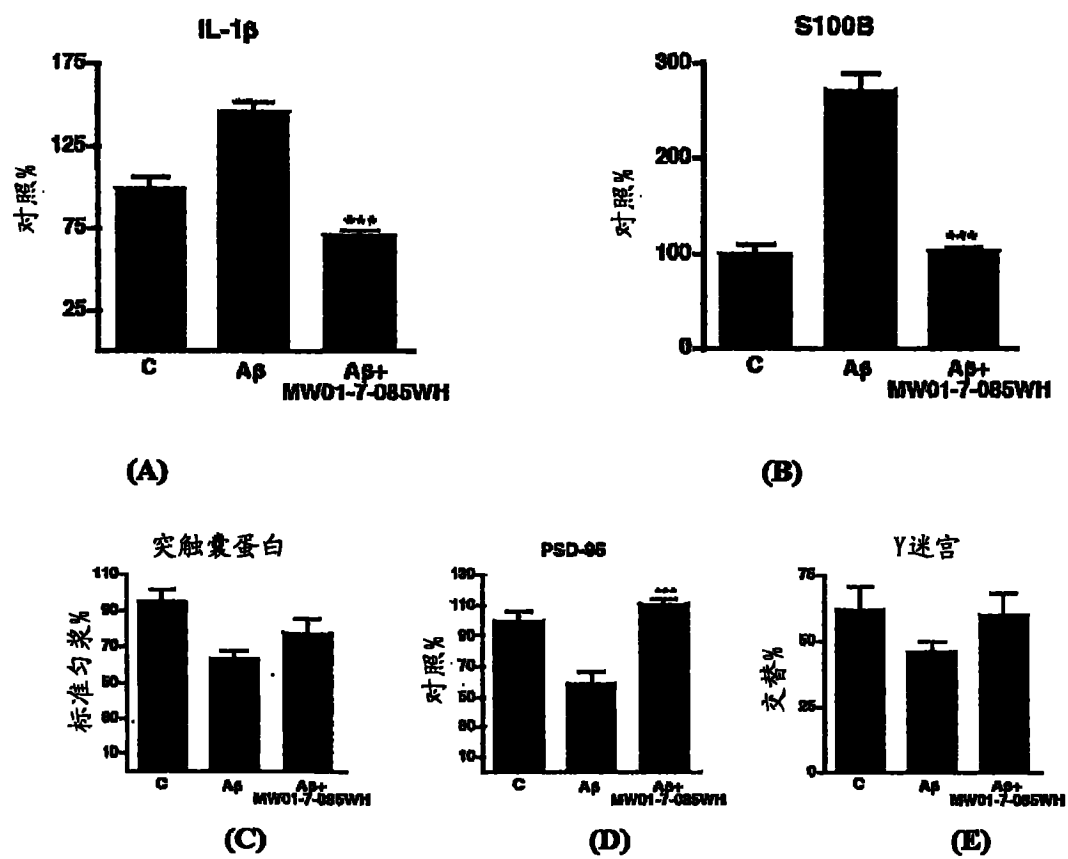


图 27

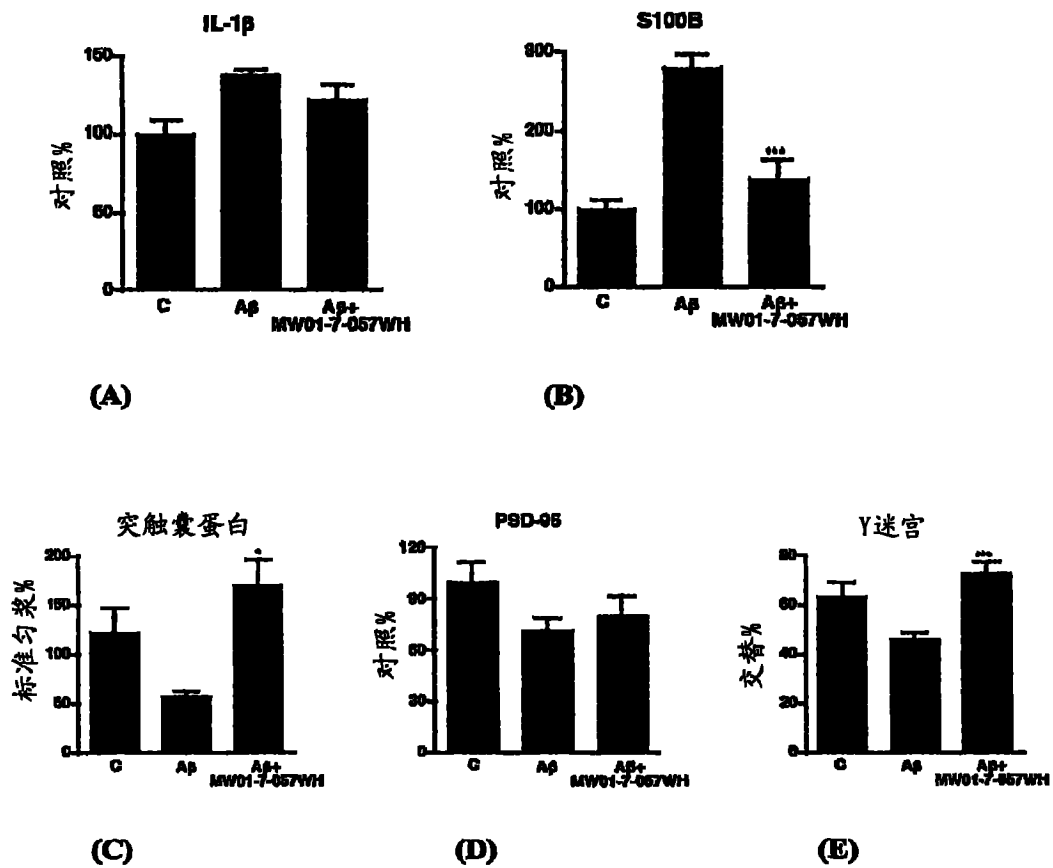


图 28

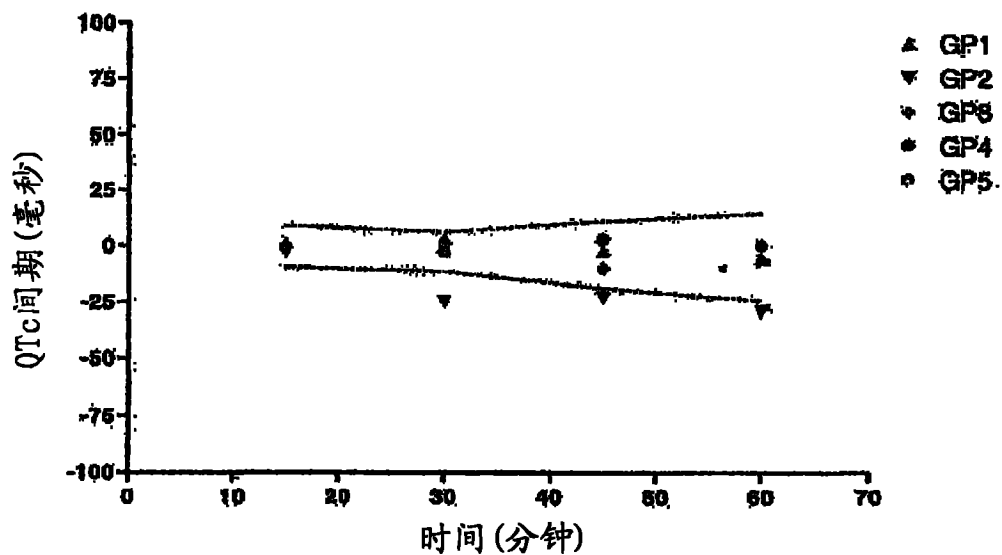


图 29

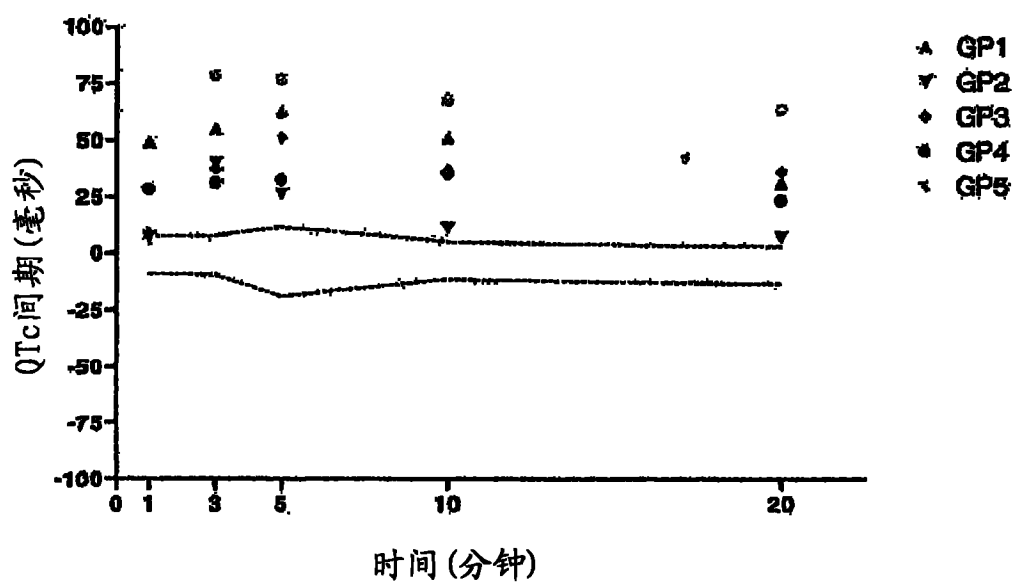


图 30

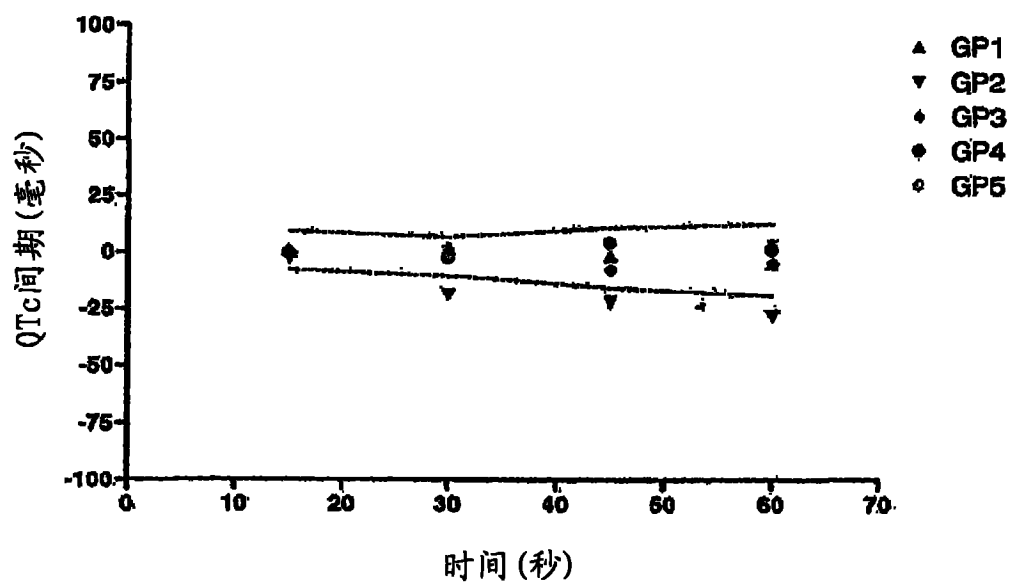


图 31

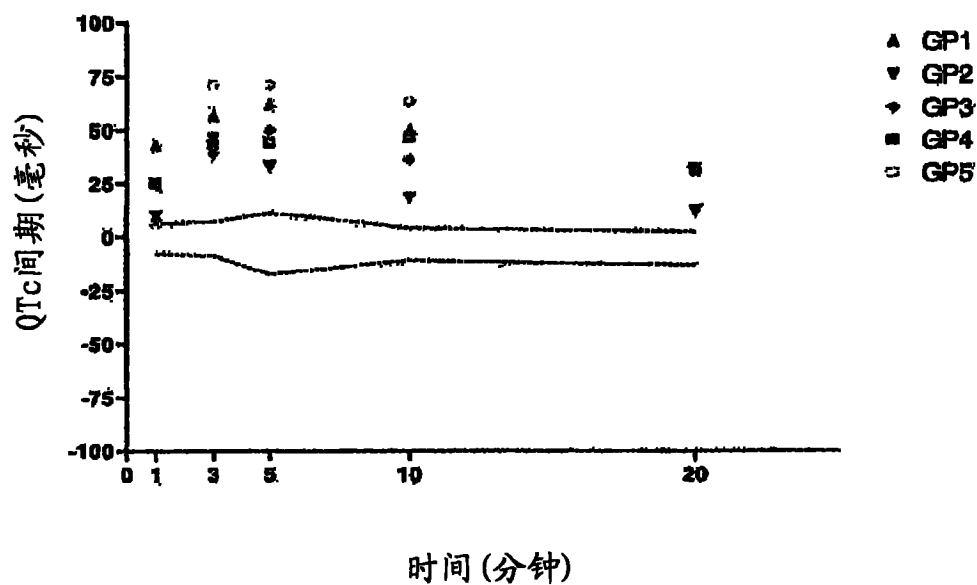


图 32

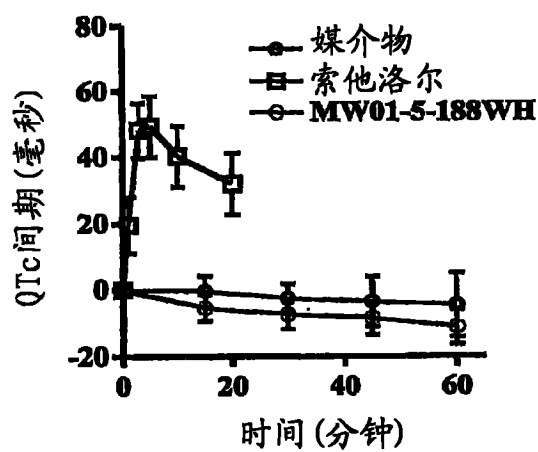


图 33

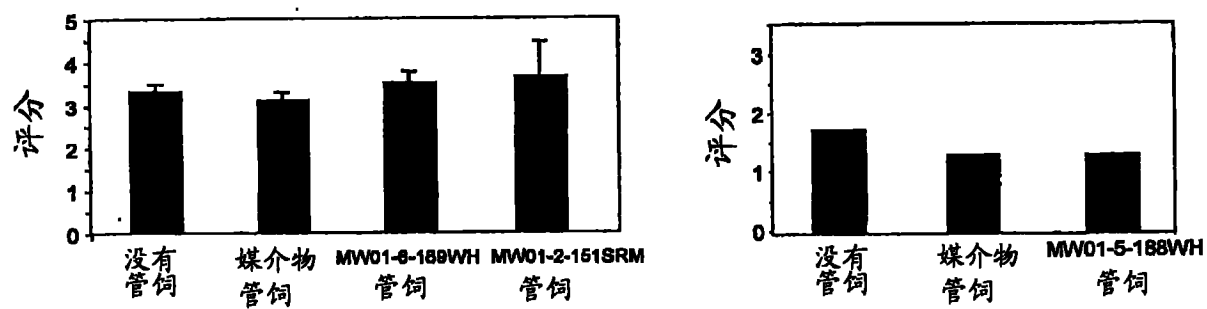


图 34

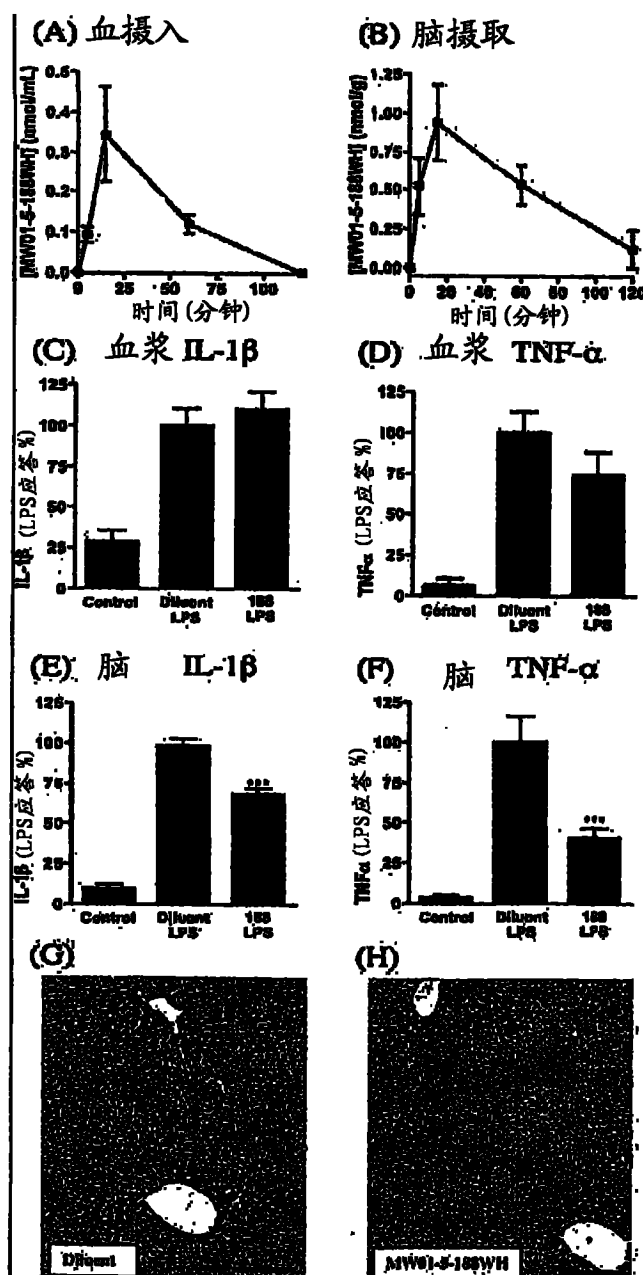


图 35

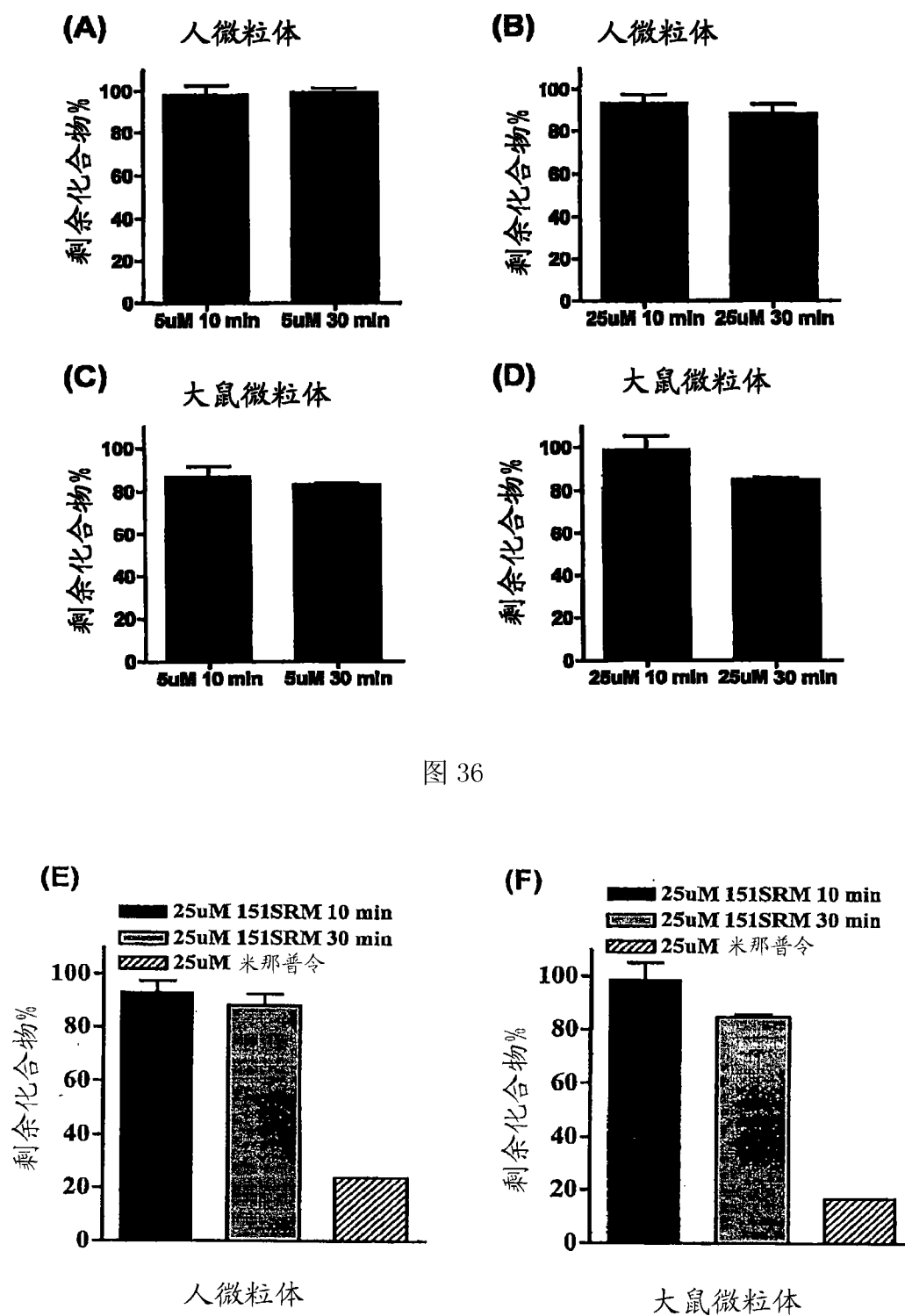


图 36

续图 36

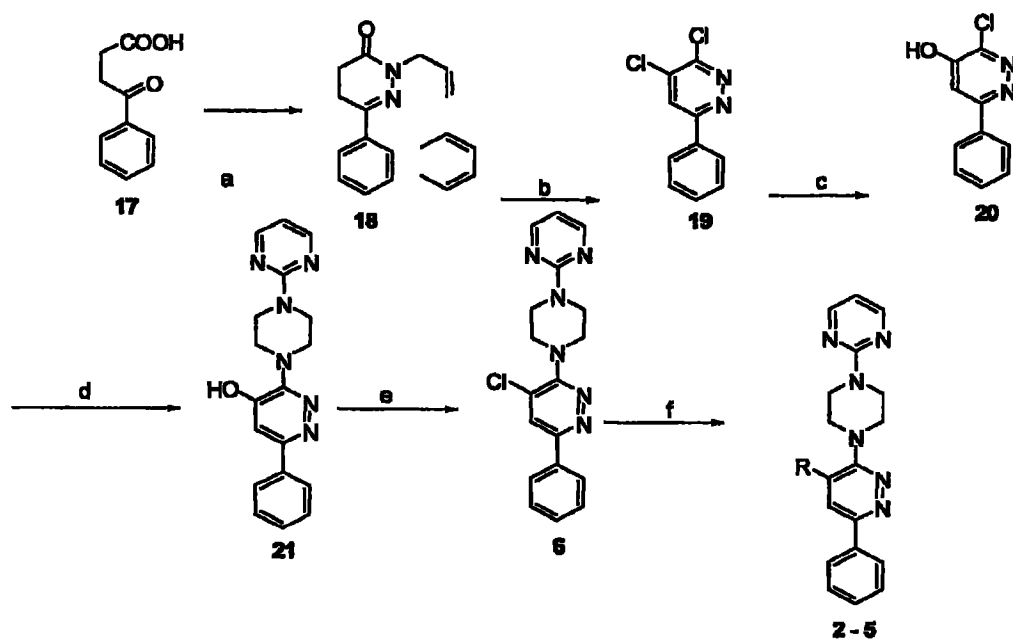


图 37

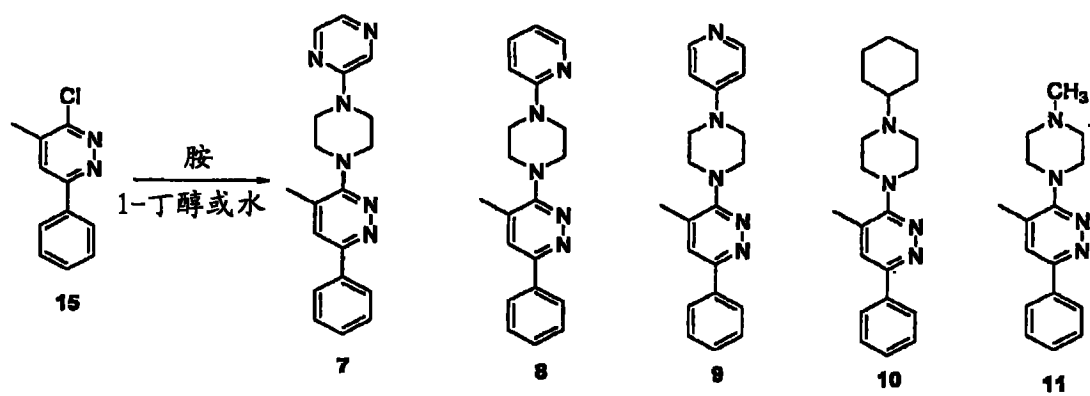


图 38

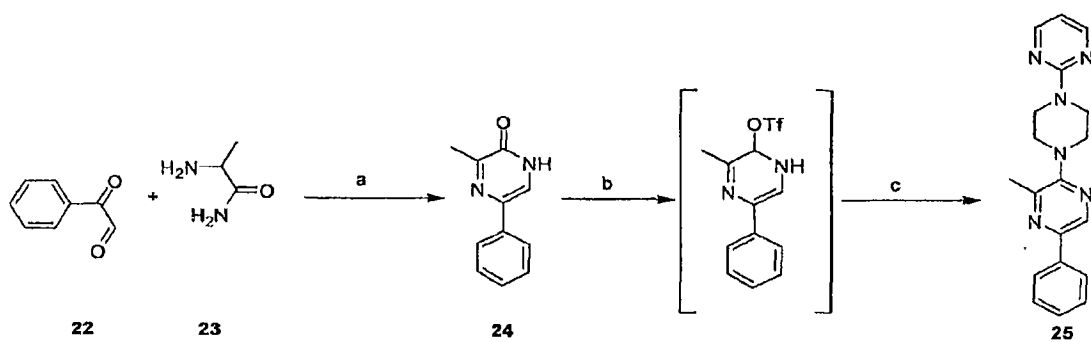


图 39