



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104918616 A

(43) 申请公布日 2015. 09. 16

(21) 申请号 201380055721. 6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 10. 22

A61K 31/4196(2006. 01)

C07D 251/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

12189823. 3 2012. 10. 24 EP

61/717803 2012. 10. 24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 04. 24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2013/072098 2013. 10. 22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/064118 EN 2014. 05. 01

(71) 申请人 格卢科克斯生物科技有限公司

地址 瑞典斯德哥尔摩

(72) 发明人 M. 维科 E. 瓦鲁姆

P. 维克斯特雷姆

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 黄登高 石克虎

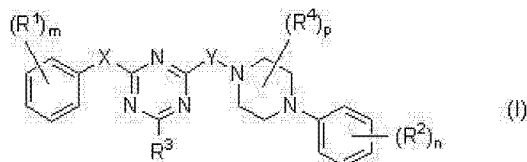
权利要求书2页 说明书22页 附图2页

(54) 发明名称

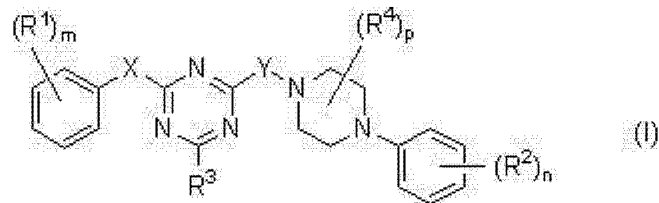
用于治疗与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶相关的病况的三嗪衍生物

(57) 摘要

一种式 (I) 化合物, 其用于治疗与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶相关的病况或病症。



1. 一种用于治疗与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶相关的病况或病症的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐,



其中

各  $R^1$ 、 $R^2$  和  $R^3$  独立地选自卤素、 $R^5O(CH_2)_q$ 、 $R^5S(CH_2)_q$ 、 $R^6R^7N(CH_2)_q$ 、 $CN(CH_2)_q$ 、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基; 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代;

各  $R^4$  独立地选自卤素、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基; 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代;

各  $R^5$  独立地选自 H、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基; 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代;

各  $R^6$  和  $R^7$  独立地选自 H、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基; 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代;

X 是 NH、 $CH_2$  或 C(O);

Y 是 NH、 $CH_2$  或 C(O);

m 是 0-5 的整数;

n 是 0-5 的整数;

p 是 0-4 的整数; 和

q 是 0-3 的整数;

所述病况或病症选自内分泌病症、心血管病症、呼吸病症、代谢病症、皮肤病症、骨病症、神经炎性病症和 / 或神经变性病症、肾病、生殖病症、影响眼和 / 或晶状体的疾病和 / 或影响内耳的病况、炎性病症、肝病、疼痛、例如肺癌的癌症、变应性病症、创伤、败血性、出血性和过敏性休克、胃肠系统疾病或病症、血管生成、血管生成依赖性病况、肺感染、急性肺损伤、肺动脉高压、阻塞性肺病和纤维变性肺病。

2. 权利要求 1 的化合物或所述化合物的药学上可接受的盐, 其中各  $R^1$  独立地选自卤素、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基; 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

3. 权利要求 1 或 2 的化合物或所述化合物的药学上可接受的盐, 其中各  $R^2$  独立地选自卤素、 $R^5O(CH_2)_q$  和  $R^5S(CH_2)_q$ 。

4. 权利要求 1-3 中任一项的化合物, 其中  $R^3$  是  $R^6R^7N(CH_2)_q$ 。

5. 权利要求 1-4 中任一项的化合物, 其中  $R^6$  和  $R^7$  二者均为 H。

6. 权利要求 1-5 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐, 其中 m 是 0-2 的整数。

7. 权利要求 1-6 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐, 其中 n 是 0 或 1。

8. 权利要求 1-7 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐, 其中 p 是 0。

9. 权利要求 1-8 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐, 其中 X 是 NH。

10. 权利要求 1-9 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐,其中 Y 是 CH<sub>2</sub>。
11. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中  
各 R<sup>1</sup>独立地选自卤素和 C1-C6 烷基,所述烷基任选用至少一个卤素取代;  
各 R<sup>2</sup>独立地选自卤素和 R<sup>5</sup>O;  
R<sup>3</sup>是 NH<sub>2</sub>;  
R<sup>5</sup>是 C1-C6 烷基;  
X 是 NH;  
Y 是 CH<sub>2</sub>;  
m 是 0-2 的整数;  
n 是 0 或 1;和  
p 是 0。
12. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物选自  
N<sup>2</sup>-(3,4-二甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三  
嗪-2,4-二胺;  
N<sup>2</sup>-(3-氯-4-甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三  
嗪-2,4-二胺;  
6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-N<sup>2</sup>-(对-甲苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;  
N<sup>2</sup>-苯基-6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;和  
6-((4-(4-氟代苯基)哌嗪-1-基)甲基)-N<sup>2</sup>-苯基-1,3,5-三嗪-2,4-二胺。
13. 权利要求 1-12 中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中所述病症或病况  
选自糖尿病、中风和肺纤维化。
14. 一种用于治疗化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物选自  
N<sup>2</sup>-(3,4-二甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三  
嗪-2,4-二胺;  
N<sup>2</sup>-(3-氯-4-甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三  
嗪-2,4-二胺;  
6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-N<sup>2</sup>-(对-甲苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;  
N<sup>2</sup>-苯基-6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;和  
6-((4-(4-氟代苯基)哌嗪-1-基)甲基)-N<sup>2</sup>-苯基-1,3,5-三嗪-2,4-二胺。
15. 一种药物组合物,所述药物组合物包含选自以下的化合物:  
N<sup>2</sup>-(3,4-二甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三  
嗪-2,4-二胺;  
N<sup>2</sup>-(3-氯-4-甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三  
嗪-2,4-二胺;  
6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-N<sup>2</sup>-(对-甲苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;  
N<sup>2</sup>-苯基-6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;和  
6-((4-(4-氟代苯基)哌嗪-1-基)甲基)-N<sup>2</sup>-苯基-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;  
或其药学上可接受的盐,和任选至少一种药学上可接受的赋形剂。

## 用于治疗与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶相关的病况 的三嗪衍生物

### 发明领域

[0001] 本发明涉及用于治疗与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 (Nox) 相关的病况或病况的三嗪衍生物。更具体地讲,本发明涉及作为 Nox 抑制剂用于治疗由提高的 Nox 活性导致或引发的不同疾病的三嗪衍生物。具体地讲,本发明涉及具有 Nox4 选择性的化合物。

### [0002] 发明背景

氧化应激的定义是活性氧生成和清除之间的体内失衡。细胞或组织中的正常氧化还原态变化可产生有害自由基,这些自由基可伤害细胞机构的成分,包括 DNA、蛋白和脂质。如果化学改变细胞成分导致基因变化,一般认为这促进形成癌症或其它严重疾病。

[0003] *氧自由基源* - 已确定可潜在引起氧化应激的很多体内氧自由基 ( $O_2^-$ 、 $H_2O_2$  和  $OH^-$ ) 的发生剂:线粒体中的复合体 I 和 III、和 NAD(P)H 氧化酶、黄嘌呤氧化酶、细胞色素 P450、金属离子(钴、钒、铬、铜和铁)和可氧化还原循环的一些有机化合物。

[0004] *一般抗氧化剂* - 也有很多内源细胞抗氧化剂,例如过氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化物氧化还原蛋白(peroxiredoxin)和硫氧化还原蛋白。也将食物提供的维生素认为是保护有机体不受有害氧自由基侵害的重要部分,在很多食物源中存在的重要抗氧化剂的最近发现已增大了抗氧化剂库。

[0005] *抗氧化剂作为治疗剂* - 很清楚,一些抗氧化剂可有助于预防疾病和促进健康。不太清楚的是能够使用哪种类型的抗氧化剂。天然食物中存在的很多抗氧化剂为氧化还原活性的。如果这些类型的氧化还原活性物质分离并作为补充药物提供—这可能最终更有害,而不是有益。临床试验已显示,非定向应用广泛清除氧自由基的抗氧化剂,不仅低效,而且可能更有害。这在用六十七个随机试验进行的研究中说明,其中 232, 550 个参与者包括健康的人和有不同疾病的患者 (Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Cochrane Database Syst Rev. 2008 Jul 16; (3):CD004183. Epub 2008 Jul 16)。

[0006] 因此,具有氧化还原活性的一般抗氧化剂可通过介导有害氧化还原循环实际增加细胞损伤。其它一般抗氧化剂会有害地阻断保持身体功能所必需的正常细胞体内活性。

[0007] *活性氧的来源和作用* - 越来越清楚,在很多病理疾病中,例如炎症、2 型糖尿病、糖尿病并发症、多囊卵巢综合征、中风、有害神经疾病和癌症,导致活性氧过量产生和积累的不是一般渗漏氧自由基,例如线粒体中的复合体 I 或 III,而是氧自由基的上调的强有力生产者,即,正常细胞信号转导系统的部分。因此,氧化应激的定义不一定是将不可逆改变 DNA、蛋白或脂质的氧自由基,而应是渐增干扰(如果上调的)“正常”信号转导,在细胞水平产生不平衡,最终可改变其它组织和全身功能。其一般实例是与以下疾病相关的代谢综合征:血管疾病、2 型糖尿病、中风、肾病、神经病、心力衰竭和有胰岛素抵抗作为起始因子的中风 (Reaven, “Role of insulin resistance in human disease”(胰岛素抵抗在人类疾病中的作用), Diabetes 37(12), 1988)。胰岛素抵抗本身也是作为能量直接选择性储存到适合接收器官的工具的正常身体功能的部分。然而,在代谢变化发生时,例如在摄食过度或其它失调中,例如在 ob/ob- 小鼠中有过量生长激素产生或功能障碍瘦蛋白的肢端巨大症,

这会诱导伴有无控制胰岛素抵抗的有害疾病,这可导致与代谢综合征相关的器官衰竭。无控制胰岛素抵抗的共同特点是过度产生局部和系统性氧自由基 (Houstis et al., Nature 440, 2006; Katakam et al., J cereb blood Flow Metab, 2012 Jan 11)。

[0008] 这种过度产生的最感兴趣的候选者之一是跨膜蛋白(酶)族,也称为NAD(P)H氧化酶(Nox)。有确定的Nox七个家族成员(Nox 1-5和Duox 1-2),它们很常被识别为活性氧的主要或关键源,并且也在很多细胞事件中作为正常细胞信号转导系统的部分起主要作用,包括增殖(Brar et al., Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 282, 2002)、生长(Brar et al., Am J Physiol Cell Physiol, 282, 2002)、纤维变性(Grewal et al., Am J Physiol, 276, 1999)、迁移(Sundaresan et al., Science, 270, 1995)、细胞凋亡(Lundqvist-Gustafsson et al., J Leukoc Biol, 65, 1999)、分化(Steinbeck et al., J Cell Physiol, 176, 1998)、细胞骨架重排(Wu et al., J Virol, 78, 2004)和收缩(Rueckschloss et al., Exp Gerontol, 45, 2010)。

[0009] *NADPH氧化酶和疾病* - 已识别具有减小的NADPH氧化酶活性的一些遗传疾病 - 缺损Nox2减小杀死和消除微生物侵害的免疫应答(慢性肉芽肿性疾病) - 内耳中缺损Nox3导致缺陷重力感受,且在甲状腺中具有不足酶活性的双NAD(P)H氧化酶Duox2引起甲状腺功能减退。

[0010] 然而,有非常多也似乎以指数方式增加的出版物作为证明,强有力证明了增加的Nox活性是一些疾病的部分或甚至成因(Lambeth JD, Review Article “*Nox enzymes, ROS, and chronic disease: An example of antagonistic pleiotropy*”(Nox酶、ROS和慢性疾病:拮抗性多效性的实例), Free Radical Biology & Medicine 43, 2007; Takac I et al., “*The Nox Family of NADPH Oxidases: Friend or Foe of the Vascular System*”(Nox家族NADPH氧化酶:血管系统的友还是敌), Curr Hypertens Rep. 2011 Nov 10; Montezano AC, “*Novel Nox homologues in the vasculature: focusing on Nox4 and Nox5*”(血管系统中的新Nox同源物:聚焦Nox4和Nox5), Clin Sci London 2011; Bedard K et al., “*The Nox family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology*”(Nox家族ROS-产生NADPH氧化酶:生理学和病理生理学) Physiol Rev. 2007; Camici M et al., “*Obesity-related glomerulopathy and podocyte injury: a mini review*”(肥胖症相关的肾小球病和足状突细胞损伤:微评), Front Biosci 2012; Nabeebaccus A et al., “*NADPH oxidases and cardiac remodeling*”(NADPH氧化酶和心脏重塑) Heart Fai Rev. 2011; Kuroda J et al., “*NADPH oxidase and cardiac failure*”(NADPH氧化酶和心力衰竭) J Cardiovasc Transl Res. 2010; Kuroda J et al., “*NADPH oxidase 4 is a major source of oxidative stress in the failing heart*”(NADPH氧化酶4是衰竭心脏中氧化应激的主要来源) Proc Natl Acad Sci USA 2010; Maejima Y et al., “*Regulation of myocardial growth and death by NADPH oxidase*”(由NADPH氧化酶调节心肌生长和死亡) J Mol Cell Cardiol. 2011; Barnes JL et al., “*Myofibroblast differentiation during fibrosis: role of NAD(P)H oxidases*”(纤维变性期间的肌成纤维细胞分化:NAD(P)H氧化酶的作用) Kidney international, 2011; Alison Cave “*Selective targeting of NADPH oxidase for cardiovascular protection*”(NADPH氧化酶对心血管保护的选择靶向) Current

Opinion in Pharmacology 2009; Albert van der Vliet “*Nox enzymes in allergic airway inflammation*” (过敏性呼吸道炎症中的 Nox 酶) Biochimica et Biophysica Acta 1810, 2011; Pendyala S et al., “*Redox regulation of Nox proteins*” (Nox 蛋白质的氧化还原调节) Respiratory Physiology & Neurobiology 174, 2010; Nair D et al., “*Intermittent Hypoxia-Induced Cognitive Deficits Are Mediated by NADPH oxidase Activity in a Murine Model of Sleep Apnea*” (在睡眠窒息鼠模型中由 NADPH 氧化酶活性介导间歇低氧诱导的认知缺陷) PLoS ONE, vol. 6, Issue 5, 2011 年 5 月; Chia-Hung Hsieh et al., “*NADPH oxidase Subunit 4-Mediated Reactive Oxygen species Contribute to Cycling Hypoxia-Promoted Tumor Progression in Glioblastoma Multiforme*” (NADPH 氧化酶亚基 4-介导的活性氧物质促成多形性胶质母细胞瘤的循环缺氧促进的肿瘤进程) PloS ONE, vol 6, issue 9, 2011 年 9 月; Sedeek M et al., “*Molecular mechanisms of hypertension:role of nox family NADPH oxidase*” (高血压的分子机制: Nox 家族 NADPH 氧化酶的作用) Current Opinion in Nephrology and Hypertension 2009; Augusto C et al., “*Novel Nox homologues in the vasculature:focusing on Nox4 and Nox5*” (血管系统中的新 Nox 同源物: 聚焦 Nox4 和 Nox5) Clinical Science 2011; Briones AM et al., “*Differential regulation of Nox1, Nox2 and Nox4 in vascular smooth muscle cells from WKY and SHR*” (来自 WKY 和 SHR 的血管平滑肌细胞中 Nox1、Nox2 和 Nox4 的差别调节) Journal of the American Society of Hypertension 5:3, 2011)。

[0011] 最近显示, Nox 酶, 特别是 Nox 4 和 NAD(P)H-氧化酶, 高度涉及肺纤维变性。现已充分认识纤维变性中氧化应激的作用 (Kinnula VL, Fattman CL, Tan RJ, Oury TD (2005) Oxidative stress in pulmonary fibrosis:a possible role for redox modulatory therapy (肺纤维变性中的氧化应激:氧化还原调节治疗的可能作用) Am J Respir Crit Care Med 172:417 - 422), 因为有重要的并且越来越多的证据表明, 在肺纤维变性和多器官系统纤维变性的病理发展中氧化应激起重要作用 (Kuwano K, Nakashima N, Inoshima I, Hagimoto N, Fujita M, Yoshimi M, Maeyama T, Hamada N, Watanabe K, Hara N (2003) Oxidative stress in lung epithelial cells from patients with idiopathic interstitial pneumonias (有特发性间质性肺炎的患者的肺上皮细胞的氧化应激) Eur Respir J 21:232 - 240)。因此, Nox 酶, 特别是 Nox4, 似乎也涉及肺感染、急性肺损伤、肺动脉高压、阻塞性肺病、纤维变性肺病和肺癌。

[0012] *NADPH氧化酶同工酶、相似性、差异和功能* - NADPH 氧化酶的所有七种同工酶 (已识别) 在具有 NADPH 和 FAD 结合位点和六个跨膜结构域方面是类似的, 并且在于它们包括两种血红素复合体。所有 NADPH 氧化酶形式使用产生活性氧的相同基本机制, 但亚细胞定位和作用方式显著不同。酶的 Nox- 家族产生的活性氧物质为过氧化物  $O_2^-$  或过氧化氢  $H_2O_2$ 。

[0013] Nox1 和 2 在组成上连接到 p22phox, 并且为了活化酶复合体, 完全 Nox1 活性需要其它组分, 例如 Rac、p47phox、p67phox。为了完全活化, Nox2 需要 Rac、p40phox、p47phox 和 p67phox。在活化时, Nox1 和 2 产生  $O_2^-$ 。

[0014] Nox3 也需要装配胞质蛋白而具有活性 (Cheng et al., J Biol Chem, 279(33), 2004)。

[0015] Nox4 也与 p22phox 相关, 并且以此形式在组成上是活性的。然而, Nox4 活性通过表达调节 - 不通过装配或配体活化, 这使此同工型区别于其它同工型 (Serrander et al., Biochem J. 406, 2007)。在诱导时, Nox4 一般在比 Nox1 和 2 更高的水平表达 (Ago et al., Circulation, 109, 2004)。Nox4 似乎主要产生  $H_2O_2$  而不是  $O_2^-$  作为其它 Nox- 变体 (Takac et al., J. Biol. Chem. 286, 2011)。这使此同工型独特, 因为  $H_2O_2$  有能力跨过膜, 并因此在比具有很短半衰期的  $O_2^-$  更长的距离起作用。

[0016] Nox5、Doux1 和 Doux2 由  $Ca^{2+}$  活化 (De Deken, Wang et al., J. Biol Chem., 275(30), 2000)。

[0017] *Nox4* 和疾病 - 与其它同工型相比, Nox4 的独特性也与作为治疗靶的独特性相关, 因为它似乎在过量表达时涉及多种不同的疾病。

[0018] Nox4 普遍在很多细胞类型中表达, 虽然在很低水平, 直至被诱导。然而, 它主要发现于肾、内皮细胞、外膜成纤维细胞、胎盘、平滑肌细胞、破骨细胞, 并且是肿瘤中表达的主要 Nox (Chamseddine et al., Am J Physiol Heart Circ Physiol. 285, 2003; Ellmark et al., Cardiovasc Res. 65, 2005; Van Buul et al., Antioxid Redox Signal. 7, 2005; Kawahara et al., BMC Evol Biol. 7, 2007; Krause et al., Jpn J Infect is. 57(5), 2004; Griendling, Antioxid Redox Signal. 8(9), 2006)。已发现, Nox4 过量表达于大部分乳腺癌细胞系和原发性乳腺肿瘤。Nox4 在已转化的乳腺肿瘤细胞中过量表达显示增加的致癌性, 并在线粒体中识别 Nox4。建议 Nox4 作为靶治疗乳腺癌 (Graham et al., Cancer Biol Ther 10(3), 2010)。

[0019] Nox4 介导脑血管内皮细胞中 TNF- $\alpha$  诱导的氧化应激和细胞凋亡 (Basuroy et al., Am J Physiol Cell Physiol vol. 296, 2009)。在缺血性中风后它的副作用充分在动物模型和人组织中证明。Nox4 的敲减 (Knockdown) 试验显著减小神经元损伤的面积 (Sedwick, PLoS Biology, vol. 8 issue 9, 2010; Kleinschnitz et al., vol. 8 issue 9, 2010)。

[0020] 在微血管和脐静脉二者的内皮细胞中通过敲减和过度表达的研究已证实, 增加的 Nox4 活性在内皮细胞的增殖和迁移中起着重要作用 (Datla et al., Arterioscler Throm Vasc Biol. 27(11), 2007)。最初认为, Nox2 是造成糖尿病中血管生成缺陷的原因, 但焦点已更多地移向 Nox4 (Zhang et al., PNAS, 107, 2010; Garriodo-Urbani et al., Plos One 2011; Takac et al., Curr Hypertens Rep, 14, 2012)。在肺纤维化的发展期间, Nox4 在上皮细胞死亡中起关键作用 (Camesecchi et al., Antiox Redox Signal. 1:15(3), 2011)。

[0021] 已进一步证实, Nox4 的 siRNA- 介导的敲减显著减小来自系膜细胞和肾皮质的纯化线粒体中的 NADPH 氧化酶活性。该敲减阻止葡萄糖诱导的线粒体超氧化物产生。有人提出 Nox4 作为氧化应激的中心介质, 它可导致糖尿病中的线粒体功能障碍和细胞损伤 (Block et al., PNAS vol. 106, no. 34, 2009)。

[0022] 还证明, Nox4 在饮食引起的大鼠肥胖症中系统性上调 (Jiang, redox rep, 16(6), 2011)。

[0023] Nox4 已强力关连衰竭心脏的病理。(Nabeebaccus A et al. "NADPH oxidases and cardiac remodeling" (NADPH 氧化酶和心脏重塑) Heart Fai Rev. 2011; Kuroda J et al., "NADPH oxidase and cardiac failure (NADPH 氧化酶和心力衰竭) Cardiovasc

Transl Res. 2010; Kuroda J et al., “NADPH oxidase 4 is a major source of oxidative stress in the failing heart” (NADPH 氧化酶 4 是衰竭心脏中氧化应激的主要来源) Proc Natl Acad Sci USA 2010)。已提出增加的线粒体 Nox4 活性和“心脏衰老”功能障碍之间的联系 (Tetsuro Ago et al., AGING, 2010 年 12 月, vol.2 No 12)。

[0024] 胞外基质积累促成慢性肾病的病理。生长因子 IGF-I 活性是此过程的主要促成因素, Nox4 是在此过程中的介质 (New et al., Am J Physiol Cell Physiol. 302(1), 2012)。在此过程中, 肾素 - 血管紧张素慢性活化和肾损伤系统进展之间的关系已充分建立, 其中 Nox4 和血管紧张素 II 作为合作者 (Chen et al., Mol Cell Biol. 2012)。

[0025] 因此, 从上面可以看出, Nox 酶在活体中有数种作用, 并且它们也可涉及多种病症。这些疾病和病症的实例为心血管病症、呼吸病症、代谢病症、内分泌病症、皮肤病症、骨病症、神经炎性病症和 / 或神经变性病症、肾病、生殖病症、影响眼和 / 或晶状体的疾病和 / 或影响内耳的病况、炎性病症、肝病、疼痛、癌症、变应性病症、创伤 (如创伤性头损伤)、败血性、出血性和过敏性休克、胃肠系统疾病或病症、血管生成、血管生成依赖性病况。也似乎尤其发现 Nox4 涉及这些病症。因此认为能够抑制 Nox 的化合物 (特别是能够选择性抑制 Nox4 的化合物) 会非常有利地用于治疗涉及 Nox 酶 (特别是 Nox4) 的疾病和病症。

[0026] 来自 GenKyoTex SA 的几个专利申请涉及用作 Nox 抑制剂的不同吡啶并和吡啶啉衍生物。因此, PCT 申请 WO 2010/035217、WO 2010/035219、WO 2010/035220、WO 2010/035221、WO 2011/036651、WO2011/101804 和 WO2011/101805 描述涉及 Nox 的几种病况和病症, 并提供关于该主题的不同文献来源的参考。所述申请中包含的信息和其中涉及的文献通过引用结合到本文中。

[0027] 如本文上面提出的, 除了其它疾病外, Nox4 还涉及中风。中风是世界上死亡的第二主要原因, 幸存者经常因影响社会生活的严重认知困难以及进行工作的能力而致残。除了患者和亲人的痛苦外, 这对社会和医疗保健系统也是极其昂贵的。对中风患者没有新的有效治疗, 在未来 45 年期间, 仅在美国用于中风受害者的保健费用将超过 2.2 万亿美元。

[0028] 中风分为两大类。引起血液供应中断的缺血型和因血管破裂所致的出血型。这两型均诱导因干扰血液供应引起的脑功能的快速丧失。缺血性中风是迄今为止最常见的形式, 占 87% 的病例, 而 9% 是由于脑内出血和剩余的 4% 是由于蛛网膜下腔出血。

[0029] 缺血性中风的病理生理学是复杂的且患者恢复依赖于神经组织缺乏血液供应的时间长度。缺氧超过三小时的脑组织将受到不可逆转的损害。病理生理学包括兴奋性毒性机制、炎症途径、氧化损伤、离子失衡、细胞凋亡、血管生成和内源性神经元保护。此外, 当白细胞经回血再进入先前低灌注区时, 它们可封闭小血管, 产生额外的缺血。

[0030] 控制中风的策略是: 鉴定风险群体用于预防性治疗; 基于证据的临床实践指南的发展、灌输和传播, 以通过伴有早期治疗的连续护理建立中风控制标准, 所述伴有早期治疗的连续护理对于缺血性中风发作后改善后果是基础性的。现今两种批准的治疗方法之一是 IV 给予将导致溶栓的组织纤维蛋白溶酶原激活剂 (tPA), 其可清除血块和恢复血液供应到大脑组织。另一方法是机械地去除血块, 以恢复血液供应。

[0031] 其它即将来到的方法处于早期阶段的研究, 而一些方法处于临床试验。感兴趣的新的潜在疗法包括给予神经保护剂、冷却缺血的脑和使用支架以使闭塞的动脉再次血管形成 (revascularize)。

[0032] 因此,一种治疗缺血性中风发作的方法通常包括例如通过静脉内给予组织纤维蛋白溶酶原激活剂(tPA),从血流除去机械阻碍物(血凝块)。认为从血流除去机械阻碍物与在此之前或者之后给予神经保护剂联合,可帮助挽救缺血的脑神经元免于不可逆的损伤,包括细胞凋亡。然而,迄今为止,未提供成功治疗中风的神经保护剂。因此,似乎仍然需要改进的治疗中风,特别是通过给予神经保护剂,优选与缺血脑中的血凝块去除组合的改进治疗。

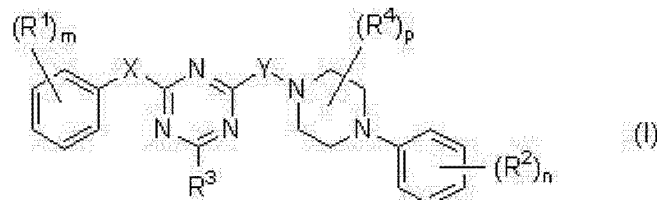
### [0033] 发明概述

根据一个方面,本发明提供用于治疗的为 Nox 抑制剂的化合物。更具体地讲,本发明提供用于治疗的为 Nox4 抑制剂的化合物。

[0034] 根据另一个方面,本发明提供有效治疗与提高的 Nox 活性(更具体地讲,提高的 Nox4 活性)相关,例如由提高的 Nox 活性(更具体地讲,提高的 Nox4 活性)导致或引发的疾病的化合物。

[0035] 根据另一个方面,本发明提供为 Nox 抑制剂(更具体地讲, Nox4 抑制剂)的化合物,用于治疗与提高的 Nox 活性(更具体地讲,提高的 Nox4 活性)相关的病症。

[0036] 因此,根据本发明,提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,



各  $R^1$ 、 $R^2$  和  $R^3$  独立地选自卤素、 $R^5O(CH_2)_q$ 、 $R^5S(CH_2)_q$ 、 $R^6R^7N(CH_2)_q$ 、 $CN(CH_2)_q$ 、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基,和 C3-C6 环烷基、所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代;

各  $R^4$  独立地选自卤素、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基,和 C3-C6 环烷基;所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代;

各  $R^5$  独立地选自 H、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基,和 C3-C6 环烷基;所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代;

各  $R^6$  和  $R^7$  独立地选自 H、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基,和 C3-C6 环烷基;所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代;

X 是 NH、 $CH_2$  或 C(O);

Y 是 NH、 $CH_2$  或 C(O);

m 是 0-5 的整数;

n 是 0-5 的整数;

p 是 0-4 的整数;和

q 是 0-3 的整数;

用于治疗与 Nox (优选 Nox4) 相关的病况或病症。

[0037] 此类病况和病症的实例例如为本文以上关于 Nox 提到的那些或由其介导的那些,例如,选自以下的病况和病症:心血管病症、内分泌病症、呼吸病症、代谢病症、皮肤病症、骨病症、神经炎性病症和 / 或神经变性病症、肾病、生殖病症、内分泌病症、影响眼和 / 或晶状体的疾病和 / 或影响内耳的病况、炎性病症、肝病、疼痛、癌症、变应性病症、创伤、败血性、

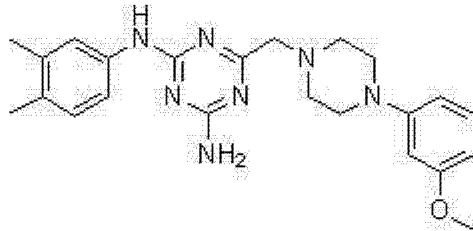
出血性和过敏性休克、胃肠道疾病或病症、血管生成、血管生成依赖性病况以及肺感染、急性肺损伤、肺动脉高压、阻塞性肺病、纤维变性肺病和肺癌。

[0038] 根据一个方面,本发明提供一种在有此需要的哺乳动物中,通过给予所述哺乳动物本文以上限定的式(I)的化合物,抑制 Nox,特别是 Nox4 的活性的方法。

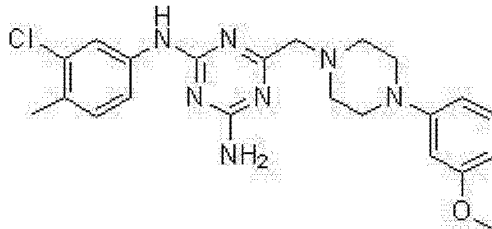
[0039] 根据一个方面,本发明的化合物在治疗中风,例如缺血性中风中用作神经保护剂。

[0040] 根据一个方面,提供如本文定义的化合物在制备用于治疗本文提及的任何病症的药物中的用途。

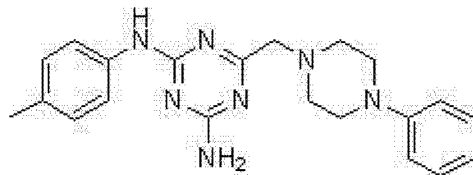
[0041] 根据一个方面,本发明提供选自以下的化合物:



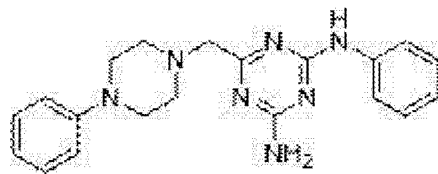
$N^2$ -(3,4-二甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;



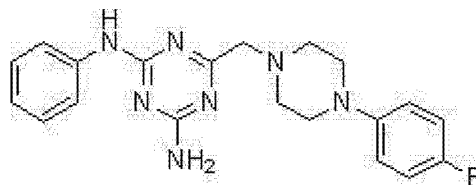
$N^2$ -(3-氯-4-甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;



6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)- $N^2$ -(对-甲苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;



$N^2$ -苯基-6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;



6-((4-(4-氟代苯基)哌嗪-1-基)甲基)- $N^2$ -苯基-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;  
或其药学上可接受的盐,其用于治疗。

[0042] 在另一方面,提供药物组合物,其包含

$N^2$ -(3,4-二甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;

$N^2$ -(3-氯-4-甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;

6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)- $N^2$ -(对-甲苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;

$N^2$ -苯基-6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;或

6-((4-(4-氟代苯基)哌嗪-1-基)甲基)- $N^2$ -苯基-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;  
或其药学上可接受的盐和任选的至少一种药学上可接受的赋形剂。

#### [0043] 附图简述

图1显示本发明的4种不同化合物在Nox4-转染的TRex-293细胞中,在通过1:3连续稀释以下试验化合物的200 $\mu$ M溶液得到的11个浓度的剂量-反应曲线:A)  $N^2$ -(3,4-二甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺,B)  $N^2$ -(3-氯-4-甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺,C) 6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)- $N^2$ -(对-甲苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺,D)  $N^2$ -苯基-6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺,和E) 6-((4-(4-氟代苯基)哌嗪-1-基)甲基)- $N^2$ -苯基-1,3,5-三嗪-2,4-二胺。

[0044] 图2为显示通过腹膜内(i.p.)分别注射 $N^2$ -(3,4-二甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺(M4)或媒介物(对照)治疗的诱发中风的小鼠脑中平均梗塞体积( $\text{mm}^3$ )的柱状图。

#### [0045] 发明详述

通常本文所用任何术语应作为本发明所属领域内接受的一般意义给出。然而,为了清楚,一些定义在本文下面给出,并应用于整个说明书和所附权利要求书,除非另外规定或从上下文明显看出。

[0046] 术语“内分泌病症”是指内分泌系统病症,并且也可以为内分泌腺分泌过少或分泌过多或内分泌腺肿瘤。糖尿病和多囊卵巢综合征为内分泌病症的实例。

[0047] 术语“心血管病症或疾病”包括动脉粥样硬化、尤其与内皮功能障碍相关的疾病或病症(包括但不限于高血压)、I型或II型糖尿病的心血管并发症、内膜增生、冠心病、脑、冠状动脉或动脉血管痉挛、内皮功能障碍、心力衰竭(包括充血性心力衰竭)、外周动脉病、再狭窄、由支架引起的创伤、中风、缺血性发作、血管并发症(例如,在器官移植后)、心肌梗塞、高血压、形成动脉粥样斑块、血小板聚集、心绞痛、动脉瘤、主动脉夹层、缺血性心脏病、心脏肥大、肺栓塞、血栓形成事件(包括深静脉血栓形成)、由血流或氧输送恢复在局部缺血后引起的损伤(例如,在器官移植、开放心脏手术、血管成形术、出血性休克、缺血器官(包括心脏、脑、肝、肾、视网膜和肠)的血管成形术)。

[0048] 术语“呼吸病症或疾病”包括支气管哮喘、支气管炎、过敏性鼻炎、成人呼吸综合征、囊性纤维化、肺病毒感染(流感)、肺动脉高压、特发性肺纤维变性和慢性阻塞性肺病(COPD)。

[0049] 术语“变应性病症”包括花粉症和哮喘。

[0050] 术语“创伤”包括多发性损伤。

[0051] 术语“影响代谢的疾病或病症”包括肥胖症、代谢综合征和II型糖尿病。

[0052] 术语“皮肤疾病或病症”包括银屑病、湿疹、皮炎、伤口愈合和疤痕形成。

[0053] 术语“骨病症”包括骨质疏松症 (osteoporosis)、osteoporosis、骨硬化症、牙周炎和甲状旁腺功能亢进。

[0054] 术语“神经变性疾病或病症”包括特征为中枢神经系统 (CNS) 变性或改变的疾病或状态,尤其在神经元水平,例如阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿舞蹈病、肌萎缩性侧索硬化症、癫痫和肌肉萎缩症。还包括神经炎性和脱髓鞘状态或疾病,例如脑白质病和脑白质营养不良。

[0055] 术语“脱髓鞘”是指包括在轴突周围髓鞘质变性的 CNS 状态或疾病。在本发明背景下,术语脱髓鞘病旨在包括包含细胞脱髓鞘的过程的病况,例如多发性硬化、渐进性多灶脑白质病 (PML)、脊髓病、涉及 CNS 内自体反应白细胞的任何神经炎性病况、先天性代谢病症、有异常髓鞘化的神经病、药物引起的脱髓鞘、辐射引起的脱髓鞘、遗传性脱髓鞘病况、朊病毒引起的脱髓鞘病况、脑炎引起的脱髓鞘或脊髓损伤。优选,所述病况为多发性硬化。

[0056] 术语“肾疾病或病症”包括糖尿病性肾病、肾衰竭、肾小球肾炎、氨基糖苷和铂化物的肾毒性和膀胱过度活动。在一个具体实施方案中,本发明的这一术语包括慢性肾病或病症。

[0057] 术语“生殖病症或疾病”包括勃起功能障碍、生育障碍、前列腺肥大和良性前列腺肥大。

[0058] 术语“影响眼和 / 或晶状体的疾病或病症”包括白内障 (包括糖尿病性白内障)、白内障术后晶状体的重新混浊、糖尿病和其它形式的视网膜病。

[0059] 术语“影响内耳的病况”包括老年性耳聋、耳鸣、美尼尔病和其它平衡问题、椭圆囊性结石病 (utrunculolithiasis)、前庭性偏头痛和噪音引起的听力丧失及药物引起的听力丧失 (耳毒性)。

[0060] 术语“炎性病或疾病”是指炎性肠病、败血症、败血性休克、成人呼吸窘迫综合征、胰腺炎、创伤引起的休克、支气管哮喘、过敏性鼻炎、类风湿性关节炎、慢性类风湿性关节炎、动脉硬化、脑内出血、脑梗塞、心力衰竭、心肌梗塞、银屑病、囊性纤维化、中风、急性支气管炎、慢性支气管炎、急性细支气管炎、慢性细支气管炎、骨关节炎、痛风、脊髓炎、关节强直性脊椎炎、Reuter 综合征、牛皮癣性关节炎、椎关节炎、青少年关节炎或青少年关节强直性脊椎炎、反应性关节炎、感染性关节炎或感染后关节炎、淋病性关节炎、梅毒性关节炎、莱姆病、“脉管炎综合征”引起的关节炎、结节性多动脉炎、过敏性脉管炎、Luegenec 肉芽肿病、类风湿性多肌痛、关节细胞风湿病、钙结晶沉积关节炎、假痛风、非关节炎性风湿病、滑囊炎、腱鞘炎、上髌炎 (网球肘)、腕管综合征、由反复使用 (打字) 引起的病症、混合型关节炎、神经性关节病、出血性关节炎、血管性紫癜、肥大性骨关节病、多中心网状组织细胞增生症、特定疾病引起的关节炎、血液色素沉着、镰形细胞病和其它血红蛋白异常、高脂蛋白血症、异常  $\gamma$  球蛋白血症、甲状旁腺功能亢进、肢端巨大症、家族性地中海热、白塞氏病、系统性自身免疫病红斑狼疮、多发性硬化和克罗恩氏病或疾病如复发性多软骨炎、慢性炎性肠病 (IBD), 或需要以抑制 NADPH 氧化酶的足够剂量给予哺乳动物治疗有效剂量式 (I) 表示的化合物的相关疾病。

[0061] 术语“肝病或病症”包括肝纤维变性、酒精引起的纤维变性、脂肪变性和非酒精性脂肪性肝炎。

[0062] 术语“关节炎”指急性风湿性关节炎、慢性类风湿性关节炎、衣原体性关节炎、慢性吸收性关节炎、强直性关节炎、基于肠病的关节炎、丝虫性关节炎、淋病性关节炎、痛风性关节炎、血友病性关节炎、增生性关节炎、青少年慢性关节炎、莱姆关节炎、新生儿关节炎 (neonatal foal arthritis)、结节性关节炎、褐黄病性关节炎、牛皮癣性关节炎或化脓性关节炎,或需要以抑制 NADPH 氧化酶的足够剂量给予哺乳动物治疗有效剂量的式 (I) 表示的化合物的相关疾病。

[0063] 术语“疼痛”包括与炎性疼痛相关的痛觉过敏。

[0064] 术语“癌症”指癌 (例如,纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮瘤、骨膜瘤、间皮瘤、尤因瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、肾癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝细胞癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、维耳姆斯瘤、子宫颈癌、睾丸癌、肺癌、小细胞肺癌、肺腺癌、膀胱癌或上皮癌) 或需要以抑制 NADPH 氧化酶的足够剂量给予哺乳动物治疗有效剂量的式 (I) 表示的化合物的相关疾病。

[0065] 术语“胃肠系统疾病或病症”包括胃粘膜病症、局部缺血性肠病控制、肠炎 / 结肠炎、癌症化疗或嗜中性白血球减少症。

[0066] 术语“血管生成”包括出芽式血管生成、套叠式血管生成 (intussusceptive angiogenesis)、血管发生、动脉生成和淋巴管生成。血管生成是从原有毛细管或毛细管后微静脉形成新血管,并且发生于病理病况中,例如癌症、关节炎和炎症。多种组织或包含组织化组织的器官可支持疾病病况的血管生成,包括皮肤、肌肉、肠、结缔组织、关节、骨和血管可在血管生成刺激时侵入的类似组织。本文所用术语“血管生成依赖性病况”意指指血管生成或血管发生过程维持或扩大病理状况的病况。血管发生是由于从成血管细胞产生的新血管的生成,成血管细胞是内皮细胞前体。两种过程均导致新血管生成,并且包括在术语血管生成依赖性病况的意义内。同样,本文所用术语“血管生成”旨在包括从头生成血管,例如,产生于血管发生的那些以及产生于现有血管、毛细管和微静脉分支和出芽的那些。

[0067] 术语“血管生成抑制”意指有效减小新血管形成的范围、量或速率。减小组织中内皮细胞增殖或迁移的范围、量或速率是抑制血管生成的具体实例。血管生成抑制活性可特别用于治疗任何癌症,因为它靶向肿瘤生长过程,并且在肿瘤组织新血管形成不存在下,肿瘤组织得不到所需的营养,生长减慢,停止另外生长,退化并最终变得坏死,从而杀灭肿瘤。另外,血管生成抑制活性可特别用于治疗任何癌症,由于它特别有效地对抗转移形成,因为其形成也需要原发肿瘤的血管形成,以便转移癌细胞能够离开原发肿瘤,并且其在次要部位的建立需要新血管形成以支持转移生长。

[0068] 本文所用“治疗”和“处理”等一般指获得所需的药理学和生理学作用。该作用可在预防或部分预防疾病、症状或其病况方面为预防性,并且 / 或者可在部分或完全治愈疾病、病况、症状或归因于该疾病的不良作用方面为治疗性。本文所用术语“治疗”涵盖对哺乳动物 (特别是人) 的疾病的任何治疗,并包括:(a) 预防可能易患疾病但尚未诊断患有该病的受试者中发生的疾病;(b) 抑制疾病,即阻止其发展;或缓解疾病,即,使疾病和 / 或其症状或病况消退。

[0069] 本文所用术语“受试者”指哺乳动物。例如,本发明涵盖的哺乳动物包括人、灵长

类、家养动物,例如牛、羊、猪、马等。

[0070] “有效量”指给予治疗的受试者治疗效果的化合物量。治疗效果可以为客观性(即,可由一些试验或标记检测)或主观性(即,受试者给出效果指示或感受效果)。

[0071] 在本发明上下文中使用的术语“抑制剂”定义为完全或部分抑制 Nox (特别是 Nox4) 活性和/或抑制或减少活性氧物质(ROS)产生的分子。

[0072] “药学上可接受的”指可用于制备药物组合物,所述药物组合物一般安全、无毒且在生物学上和在其他方面都合乎需要,并且包括可用于兽医用途和人药用途。

[0073] 术语 C<sub>n</sub>,其中 n 为整数,指定基团或部分包含 n 个碳原子。

[0074] 术语 C<sub>n</sub>-C<sub>m</sub>,其中 n 和 m 二者均为整数且 m>n,是指包含 n、n+1、n+2、...或 m 个碳原子的基团或部分。因此,术语 C1-C6 烷基是指可包含 1、2、3、4、5 或 6 个碳原子的烷基。术语 C0 烷基指共价键。

[0075] 本发明的烷基部分可以为支链或直链,例如选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、2-甲基丁基、2,2-二甲基丙基、正己基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、2,2-二甲基丁基和 2,3-二甲基丁基。

[0076] 本发明的 C1-C6 烷基更具体可选自 C1-C5 烷基,例如选自 C1-C4 烷基,选自 C1-C3 烷基,选自 C1-C2 烷基,或选自甲基。

[0077] 术语“C2-C6 烯基”是指在链中具有 2 至 6 个碳原子并且可在任何可利用位置具有任何可利用数的双键的直链或支链烯基。双键的构型可以为(E)或(Z)。实例为乙烯基、烯丙基、异丙烯基、1-丙烯基、2-甲基-1-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-乙基-1-丁烯基、3-甲基-2-丁烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、4-戊烯基、4-甲基-3-戊烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、4-己烯基和 5-己烯基。更具体地讲,本发明的 C2-C6 烯基可以为 C2-C4 烯基或 C2-C3 烯基。

[0078] 术语“C2-C6 炔基”是指在链中具有 2 至 6 个碳原子并且可在任何可利用位置具有任何可利用数的三键的直链或支链炔基。实例为乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、2-丁炔基和 2-戊炔-4-炔基。更具体地讲,本发明的 C2-C6 炔基可以为 C2-C4 炔基或 C2-C3 炔基。

[0079] 术语“C3-C6 环烷基”是指具有 3 至 6 个环碳原子的环烷基,例如环丙基、环丁基、环戊基或环己基。

[0080] “用至少一个卤素取代”是指至少一个氢由卤素替换,例如 F。用至少一个卤素取代的烷基的实例为三氟甲基。

[0081] 如本文所用且除非另外说明,术语“卤素”(或“卤基”)指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)。本发明的任何卤素更具体地可选自 F 和 Cl。

[0082] 在本文提供的式(I)化合物中,各 R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和 R<sup>3</sup>独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>N(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、CN(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基,和 C3-C6 环烷基,所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0083] 在一些实施方案中,各 R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和 R<sup>3</sup>独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>N(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>,和 C1-C6 烷基,所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0084] 在一些其它实施方案中,各 R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和 R<sup>3</sup>独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>N(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>,和 C1-C6 烷基,所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0085] 如本文以上提出的,各 R<sup>1</sup>独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>N(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>,

CN(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基, 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0086] 在一些实施方案中, 各 R<sup>1</sup> 独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、CN(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基, 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0087] 在一些其它实施方案中, 各 R<sup>1</sup> 独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基, 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0088] 在还有的其它实施方案中, 各 R<sup>1</sup> 独立地选自卤素、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基, 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0089] 在一些特定的实施方案中, 各 R<sup>1</sup> 独立地选自卤素和 C1-C6 烷基, 所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0090] 在一些实施方案中, 各 R<sup>1</sup> 独立地选自 C1-C6 烷基, 所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0091] 在一些实施方案中, 各 R<sup>1</sup> 独立地选自卤素。

[0092] 在任何以上实施方案中, 当 R<sup>1</sup> 是卤素时, 其特别地可选自 F 和 Cl, 且尤其是 R<sup>1</sup> 可以是 Cl。

[0093] 如本文以上提出的, 各 R<sup>2</sup> 独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>N(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、CN(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基, 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0094] 在一些实施方案中, 各 R<sup>2</sup> 独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、CN(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基, 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0095] 在一些其它实施方案中, 各 R<sup>2</sup> 独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基, 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0096] 在还有的其它实施方案中, 各 R<sup>2</sup> 独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>, 和 C1-C6 烷基, 所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0097] 在进一步的实施方案中, 各 R<sup>2</sup> 独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>, 和 R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>。

[0098] 在一些实施方案中, 各 R<sup>2</sup> 独立地选自 R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>, 和 R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>。

[0099] 在一些其它实施方案中, 各 R<sup>2</sup> 独立地选自卤素, 和 R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>。

[0100] 在一些实施方案中, 各 R<sup>2</sup> 独立地选自 R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>。

[0101] 在一些其它实施方案中, 各 R<sup>2</sup> 独立地选自卤素。

[0102] 如本文以上提出的, R<sup>3</sup> 独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>N(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、CN(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基, 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0103] 在一些实施方案中, R<sup>3</sup> 独立地选自卤素、R<sup>5</sup>O(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>5</sup>S(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>N(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、CN(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>、C1-C6 烷基, 所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0104] 在一些其它实施方案中, R<sup>3</sup> 是 R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>N(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>。

[0105] 在式 (I) 化合物中, 各  $R^4$  独立地选自卤素, 例如 F、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基; 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0106] 在一些实施方案中, 各  $R^4$  独立地选自卤素, 例如 F 和 C1-C6 烷基, 所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0107] 在式 (I) 化合物中, 任何  $R^5$ , 当存在时, 独立地选自 H、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基; 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0108] 在一些实施方案中, 任何  $R^5$ , 当存在时, 独立地选自 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基; 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0109] 在一些实施方案中, 任何  $R^5$ , 当存在时, 独立地选自 H 和 C1-C6 烷基, 所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0110] 在一些实施方案中, 任何  $R^5$ , 当存在时, 独立地选自 C1-C6 烷基, 所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0111] 在式 (I) 化合物中, 各  $R^6$  和  $R^7$  独立地选自 H、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基, 和 C3-C6 环烷基; 所述烷基、烯基、炔基和环烷基任选用至少一个卤素取代。

[0112] 在一些实施方案中, 各  $R^6$  和  $R^7$  独立地选自 H 和 C1-C6 烷基, 所述烷基任选用至少一个卤素取代。

[0113] 在一些实施方案中,  $R^6$  如本文以上定义和  $R^7$  是 H。在其它实施方案中,  $R^6$  和  $R^7$  二者均为 H。

[0114] 在如本文定义的式 (I) 化合物中, X 是 NH、 $CH_2$  或 C(O)。在一些实施方案中, X 是 NH 或  $CH_2$ 。在其它实施方案中, X 是 NH。

[0115] 在如本文定义的式 (I) 化合物中, Y 是 NH、 $CH_2$  或 C(O)。在一些实施方案中, Y 是 NH 或  $CH_2$ 。在其它实施方案中, Y 是  $CH_2$ 。

[0116] 整数 m, 表示在式 (I) 化合物中部分  $R^1$  的数目, 范围从 0 至 5, 从 0 至 4, 从 0 至 3, 或从 0 至 2。在一些实施方案中, m 为至少 1, 例如 m 是 1-5、1-4, 或 1-3。在一些实施方案中, m 是 1 或 2, 例如 m 是 2。

[0117] 在一些实施方案中, 当 m 是 1 或更大的整数时, 一个  $R^1$  在对位或在间位连接于苯环。换言之, 苯环在该苯环的 3、4 或 5 位的任何碳原子上被取代, 假定连接于三嗪环的 X 连接于苯环的 1 位碳原子上。

[0118] 在一些实施方案中, 当 m 是 1 或更大的整数时, 一个  $R^1$  在对位连接于苯环。

[0119] 在一些实施方案中, 当 m 是 2 或更大的整数时, 一个  $R^1$  在对位连接于苯环而一个  $R^1$  连接在间位连接于苯环。

[0120] 整数 n, 表示在式 (I) 化合物中部分  $R^2$  的数目, 范围从 0 至 5, 从 0 至 4, 从 0 至 3, 或从 0 至 2。在一些实施方案中, n 为至少 1, 例如 n 是 1-5、1-4, 或 1-3。在一些实施方案中, n 是 1 或 2, 例如 n 是 1。在一些实施方案中, n 是 0 或 1。

[0121] 在一些实施方案中, 当 n 是 1 或更大的整数时, 一个  $R^2$  在对位或在间位连接于苯环。换言之, 苯环在该苯环的 3、4 或 5 位的任何碳原子上被取代, 假定连接于三嗪环的 Y 连接于苯环的 1 位碳原子上。

[0122] 在一些实施方案中, 当 n 是 1 或更大的整数时, 例如 n 是 1, 一个  $R^2$  在间位连接于苯环, 例如  $R^2$  是在间位的  $R^5O(CH_2)_q$ 。例如, n 是 1,  $R^2$  在间位并且为  $R^5O(CH_2)_q$ 。

[0123] 在一些实施方案中,当  $n$  是 1 或更大的整数时,例如  $n$  是 1,一个  $R^2$  在对位连接于苯环,例如  $R^2$  是卤素,如 F,在对位。

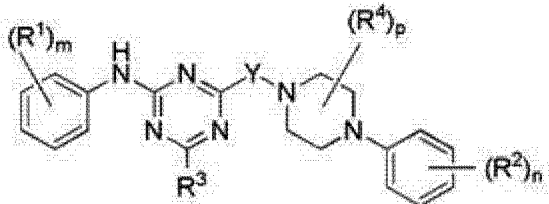
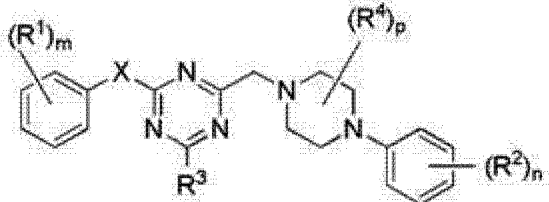
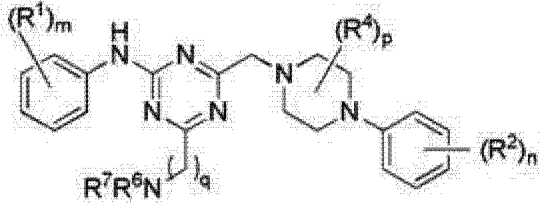
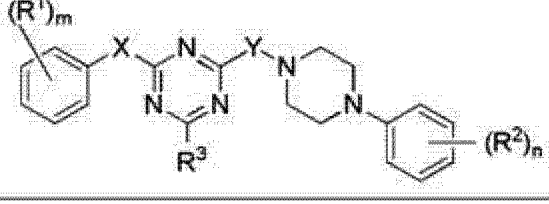
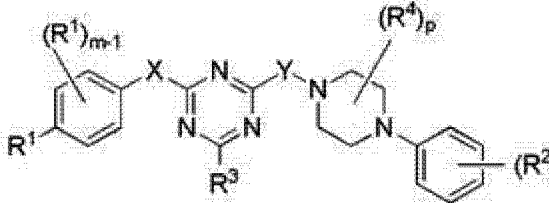
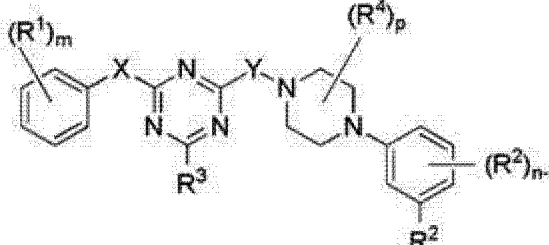
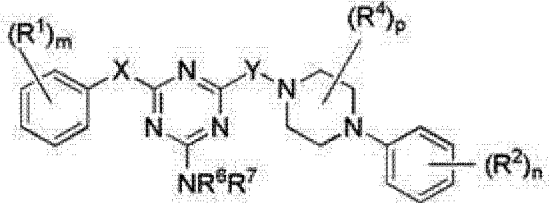
[0124] 整数  $p$ ,表示在式 (I) 化合物中部分  $R^4$  的数目,范围从 0 至 4,从 0 至 3,或从 0 至 2,例如  $p$  是 0 或 1。在一些实施方案中, $p$  是 0。

[0125] 任何部分  $R^5O(CH_2)_q$ 、 $R^5S(CH_2)_q$ 、 $R^6R^7N(CH_2)_q$  和  $CN(CH_2)_q$  中的整数  $q$  选自 0、1、2 和 3。在一些实施方案中,任何  $q$  选自 0、1 和 2 ;或 0 和 1。在一些实施方案中, $q$  是 0,即任何部分  $R^5O(CH_2)_q$ 、 $R^5S(CH_2)_q$ 、 $R^6R^7N(CH_2)_q$  或  $CN(CH_2)_q$  是  $R^5O-$ 、 $R^5S-$ 、 $R^6R^7N-$  或  $CN-$ 。

[0126] 在一些特定的实施方案中, $X$  是 NH 和  $Y$  是  $CH_2$ 。在一些其它的特定实施方案中, $X$  是 NH, $Y$  是  $CH_2$ ,和  $p$  是 0。在还有的其它特定的实施方案中, $X$  是 NH, $Y$  是  $CH_2$ , $p$  是 0,和  $R^3$  是  $R^6R^7N$ 。

[0127] 许多进一步的实施方案是可能的并包含在式 (I) 的范围内,其中的一些在下表 1 中以非限制性方式举例说明。

[0128] 表 1 依据本发明的式 (I) 化合物的示例性实施方案

实施方案的特定特征	实施方案的结构式
(a) X 是 NH	 <span style="float: right;">(Ia)</span>
(b) Y 是 CH <sub>2</sub>	 <span style="float: right;">(Ib)</span>
(c) R <sup>3</sup> 是 NR <sup>6</sup> R <sup>7</sup> (CH <sub>2</sub> ) <sub>q</sub>	 <span style="float: right;">(Ic)</span>
(d) p 是 0	 <span style="float: right;">(Id)</span>
(e) m 为至少 1, 且一个 R <sup>1</sup> 是在对位	 <span style="float: right;">(Ie)</span>
(f) n 为至少 1, 且一个 R <sup>2</sup> 是在间位	 <span style="float: right;">(If)</span>
(g) R <sup>3</sup> 是 NR <sup>6</sup> R <sup>7</sup> (CH <sub>2</sub> ) <sub>q</sub> , 且 q 是 0	 <span style="float: right;">(Ig)</span>

实施方案的特定特征	实施方案的结构式
(h) = (a)+(b)	 (Ih)
(i) = (h)+(c)	 (Ii)
(j) = (i)+(d)	 (Ij)
(k) = (h)+(g)	 (Ik)
(m) = (k)+(d)	 (Im)
(n) = (m) 其中 R <sup>6</sup> 和 R <sup>7</sup> 二者均为 H	 (In)

在表 1 中, 例如 (a) 和 (b) 的总和写成为 (h) = (a)+(b), 指实施方案 (“实施方案 (h)”) 包含实施方案 (a) 和 (b) 各自的特征, 即其中 X 已被指定为 NH, 和 Y 已被指定为 CH<sub>2</sub>, 对于其它实施方案也如此。

[0129] 除非从上下文明显看出或在此特别指明, 对式 (I) 化合物的任何提及也意欲应用于如表 1 中说明的式 (Ia)-(In) 中的任一个化合物。然而, 应该认识到, 许多其它实施方案也可能在本发明范围内。

[0130] 在一些特定的实施方案中, 本发明的化合物选自

N<sup>2</sup>-(3,4-二甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺;

$N^2$ -(3-氯-4-甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺；  
6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)- $N^2$ -(对-甲苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺；  
 $N^2$ -苯基-6-((4-苯基哌嗪-1-基)甲基)-1,3,5-三嗪-2,4-二胺；和  
6-((4-(4-氟代苯基)哌嗪-1-基)甲基)- $N^2$ -苯基-1,3,5-三嗪-2,4-二胺；  
或其药学上可接受的盐。

[0131] 通过本领域熟知的方法,可从容易得到的原料用一般方法和步骤制备式(I)的化合物。式(I)的一些化合物可以购得,例如,从 Vitas-M Laboratory, 莫斯科, 125252, 俄罗斯。

[0132] 本发明的化合物为 Nox 抑制剂。更具体地讲,本发明的化合物为 Nox4 抑制剂。由于 Nox 同工型不仅涉及疾病,例如 Nox4,而且在活体中具有多种重要的生物功能,主要抑制一种具体 Nox 同工型(即, Nox4)的能力被认为是本发明化合物的重要优势。

[0133] 根据过程条件,以中性或盐形式得到式(I)的最终产物。游离碱和游离酸二者和这些最终产物的盐均在本发明的范围内。使用碱性试剂,例如碱,或者通过离子交换,可以本身已知的方式使发明化合物的酸加成盐转变成游离碱。得到的游离碱也可与有机或无机酸生成盐。通过使用酸性试剂,例如酸,或者通过离子交换,可以本身已知的方式使发明化合物的碱加成盐转变成游离酸。得到的游离酸也可与有机或无机碱生成盐。

[0134] 在制备酸或碱加成盐中,优选使用适合生成治疗上可接受的盐的这些酸或碱。这些酸的实例为氢卤酸、硫酸、磷酸、硝酸、脂族、脂环族、芳族或杂环羧酸或磺酸,例如甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、马来酸、羟基马来酸、丙酮酸、对羟基苯甲酸、扑酸、甲磺酸、乙磺酸、羟基乙磺酸、卤苯磺酸、甲苯磺酸或萘磺酸。碱加成盐包括从无机碱(例如,铵或碱金属或碱土金属氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等)和有机碱(例如醇盐、烷基酰胺、烷基和芳基胺等)得到的那些盐。用于制备本发明的盐的碱的实例包括氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、碳酸钾等。

[0135] 本发明的化合物可以有多种立体异构体,包括对映异构体和非对映异构体。对映异构体可以它们的纯态存在,或者作为两种对映异构体的外消旋(相等)或不等混合物。非对映异构体可以它们的纯态存在,或者作为非对映异构体的混合物。非对映异构体也包括几何异构体,几何异构体可以它们的纯顺式或反式存在,或者作为这些异构体的混合物。

[0136] 通常通过混合活性物质(即,本发明的化合物或其药学上可接受的盐)与常规药用赋形剂制备药物制剂。可进一步通过已知方法制备制剂,例如制粒、压缩、微胶囊、喷涂等。可通过常规方法以片剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂、糖浆剂、混悬剂、栓剂或注射剂剂型制备制剂。通过活性物质溶于或悬浮于水或其它适合的媒介物,可制备液体制剂。片剂和颗粒剂可以常规方式包衣。

[0137] 为了临床使用,本发明的化合物配制成用于口服、直肠、胃肠外或其它给药方式的药物制剂。这些药物制剂为本发明的另一个目的。

[0138] 通常,活性化合物的有效量在制剂重量的 0.1-95% 重量之间,在用于胃肠外用途的制剂中优选在 0.2-20% 重量之间,在用于口服的制剂中优选在 1 和 50% 重量之间。

[0139] 具体化合物的剂量水平和给药频率根据多种因素而变化,包括所用具体化合物的效力、化合物的代谢稳定性和作用时间长度、患者的年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、

给药方式和时间、排泄速率、药物组合、要治疗疾病的严重性和接受治疗的患者。日剂量可以例如约 0.001mg 至约 100mg/kg 体重,可分单个或多个剂量给药,例如每个约 0.01mg 至约 25mg。一般此剂量口服给药,也可选择胃肠外给药。

[0140] 在以用于口服的剂量单位形式制备包含本发明化合物的药物制剂中,选择的化合物可与固体粉状成分(例如乳糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、淀粉、支链淀粉、纤维素衍生物、明胶或其它适合成分)与崩解剂和润滑剂(例如硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂基富马酸钠和聚乙二醇蜡)混合。然后将混合物处理成颗粒或压成片。

[0141] 利用包含本发明的一种或多种活性化合物、植物油、脂肪或用于软明胶胶囊的其它适合媒介物的混合物的胶囊,可制备软明胶胶囊。硬明胶胶囊可包含活性化合物的颗粒。硬明胶胶囊也可包含活性化合物与固体粉状成分(例如乳糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、马铃薯淀粉、玉米淀粉、支链淀粉、纤维素衍生物或明胶)的组合。

[0142] 用于直肠给药的剂量单位可以以下的形式制备:(i) 栓剂形式,包含与中性脂肪基质混合的活性物质;(ii) 明胶直肠胶囊剂形式,包含与植物油、石蜡油或用于明胶直肠胶囊的其它适合媒介物混合的活性物质;(iii) 现成微型灌肠剂形式;或(iv) 恰好在给药前重组于适合溶剂的干燥微型灌肠剂制剂形式。

[0143] 用于口服的液体制剂可以糖浆剂或混悬剂剂型制备,例如,溶液或混悬剂,其包含 0.2% 重量至 20% 重量活性成分,其余由糖或糖醇和乙醇、水、甘油、丙二醇和聚乙二醇的混合物组成。如果需要,这些液体制剂可包含着色剂、矫味剂、糖精和羧甲基纤维素或其它增稠剂。用于口服的液体制剂也可以在使用前用适合溶剂重构的干粉剂型制备。

[0144] 用于胃肠外(例如静脉内)给药的溶液可作为药学上可接受的溶剂中的本发明化合物的溶液,优选以 0.1% 重量至 10% 重量的浓度制备。这些溶液也可包含稳定成分和/或缓冲成分,并以安瓿或小瓶的形式分配成单位剂量。用于胃肠外给药的溶液也可作为在使用前临时用适合溶剂重构的干燥制剂制备。

[0145] 本发明的化合物也可与一种或多种另外的治疗活性剂组合使用或给药。组分可在相同的制剂中或单独的制剂中同时或依次给药。

[0146] 因此,在本发明的另一个方面,本发明提供一种组合产品,包含:

(A) 本文限定的本发明的化合物;和

(B) 另一种治疗剂,其中(A)和(B)与药学上可接受的赋形剂混合配制。

[0147] 这些组合产品提供本发明的化合物与其它治疗剂的联合给药,因此,可作为单独的制剂存在,其中那些制剂中至少一个包含本发明的化合物,且至少一个包含其它治疗剂;或者可作为组合的制剂(即,作为包括本发明的化合物和其它治疗剂的单一制剂存在)存在(即,配制)。

[0148] 因此,本发明进一步提供:

(1) 一种药物制剂,所述药物制剂包含本文以上限定的本发明化合物、另一种治疗剂和药学上可接受的赋形剂(例如,助剂、稀释剂或载体);或

(2) 各部分的试剂盒,所述试剂盒包含以下作为组分:

(a) 药物制剂,所述药物制剂包含本文限定的本发明化合物与药学上可接受的赋形剂(例如,助剂、稀释剂或载体)的混合物;和

(b) 药物制剂,所述药物制剂包含另一种治疗剂与药学上可接受的赋形剂(例如,助

剂、稀释剂或载体)的混合物,组分(a)和(b)各自以适用于相互组合给药的形式提供。

[0149] 在一些特定的实施方案中,在治疗恶性过度增殖性疾病中,本发明的化合物与抗肿瘤剂组合使用。这样的联合疗法在癌症化疗中可能是特别有用的,以抵消可导致对抗肿瘤剂耐药的肿瘤的 Nox4 的抗凋亡效应。

[0150] 因此,本发明还提供:

(1) 药物制剂,包含如本文限定的本发明化合物、抗肿瘤剂,和药学上可接受的赋形剂,例如助剂、稀释剂或载体;或

(2) 各部分的试剂盒,所述试剂盒包含以下作为组分:

(a) 药物制剂,包含如本文限定的本发明的化合物与药学上可接受的赋形剂(例如,助剂、稀释剂或载体)的混合物;和

(b) 药物制剂,包含抗肿瘤剂与药学上可接受的赋形剂(例如,助剂、稀释剂或载体)的混合物,组分(a)和(b)各自以适用于相互组合给药的形式提供。

[0151] 在任何以上各部分的试剂盒中,组分(a)和(b)可以同时、依次,或彼此分开地给药。

[0152] 本发明的化合物也可与治疗癌症的其它治疗方式(例如照射)组合使用或给予。

[0153] 根据一个方面,本发明提供通过给予所述患者治疗有效量的如本文限定的式(I)的化合物,在有此需要的患者中抑制 Nox(特别是 Nox4)的活性的方法。患者可以为任何哺乳动物,但优选为人。

[0154] 要治疗的患者可以是患有与 Nox(特别是 Nox4)提高活性相关的病况或病症的患者,或者是有发展此病况或病症风险的患者。这些病况和病症的实例为心血管病症、呼吸病症、代谢病症、皮肤病症、骨病症、神经炎性病症和/或神经变性病症、肾病、生殖病症、影响眼和/或晶状体的疾病和/或影响内耳的病况、炎性病症、肝病、疼痛、癌症、变应性病症、创伤、败血性、出血性和过敏性休克、胃肠系统疾病或病症、血管生成、血管生成依赖性病况、肺感染、急性肺损伤、肺动脉高压、阻塞性肺病、纤维变性肺病和肺癌。

[0155] 在一个实施方案中,本发明的化合物用于治疗中风。在一个特定的实施方案中,中风是缺血性的。认为本发明的化合物在治疗中风中具有神经保护活性。因此,本发明的化合物适用在缺血性中风的治疗中与除去血凝块组合。在一个特定的实施方案中,在缺血性中风的治疗中,本发明的化合物与 tPA 组合使用。

[0156] 本发明将通过以下非限制实施例说明。

## 实施例

### [0157] 实施例 1

基于细胞的测定和分析化学

#### 1 细胞存活力

##### 1.1 Celltiter-Blue 细胞存活力测定 (Promega)

测定基于细胞将刃天青还原成试卤灵的能力作为存活力的量度。在 T-225 烧瓶中培养 TREx™-293 Nox4 细胞,通过胰蛋白酶消化收集,并重新悬浮于细胞培养基。将 90 $\mu$ l 中的 20,000 个细胞接种到 96 孔细胞培养平板(黑色,有透明底部)。也制备只有 90 $\mu$ l 细胞培养基的一个背景平板。

[0158] 24 小时后,将在 37°C 细胞培养基中稀释到 10 倍最终浓度的 10 $\mu$ l 化合物加到细胞和背景平板。以 10 $\mu$ M 最终浓度一式两份对化合物进行试验。作为阳性对照加入 100 $\mu$ M 最终浓度的氯丙嗪。处理 24 小时后,加入 20 $\mu$ l CellTiter-Blue 试剂,并将平板在 37°C 孵育 120min。在 Victor2V 平板读取器中读取试卤灵荧光。在细胞存活力分析前,所有试验值关于背景校正。

#### [0159] 1.2 CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定 (Promega)

测定基于周围细胞培养基中乳酸脱氢酶 (LDH) 活性作为膜完整性的量度。膜完整性可受细胞凋亡、坏死或化学物质影响。在 T-225 烧瓶中培养 TREx™-293 Nox4 细胞,通过胰蛋白酶消化收集,并重新悬浮于 HBSS 至 100,000 个细胞 /ml。将 90 $\mu$ l 细胞悬浮液加到 V 形底聚丙烯 96 孔平板的各孔。只用 HBSS 制备一个背景平板。将化合物在 HBSS 中稀释到 10 倍最终浓度,且每孔加入 10 $\mu$ l。以 10 $\mu$ M 最终浓度一式两份对化合物进行试验。

[0160] 在 37°C 孵育平板 3 小时。在孵育时间结束前的 45 分钟,向所有的对照孔加入 10 $\mu$ l 裂解液 (Triton X-100),以估计细胞的总 LDH 含量。用未处理细胞测定自发 LDH 渗漏。

[0161] 使细胞平板在 250 x g 离心 5 分钟,并将 50 $\mu$ l 上清液转移到 96 孔 Spectraplate 板。加入 50 $\mu$ l 重构的底物混合物,并在室温孵育平板 30 分钟。加入 50 $\mu$ l 终止液,并在 SpectraMax® 在 490nm 波长读板。减去化合物特定背景,如下计算 % 细胞毒性:

$$[(\text{试验} - \text{自发}) / (\text{总} - \text{自发})] * 100 \%$$

[0162] 在两个细胞存活力测定中试验时,本发明化合物均不显示任何显著细胞毒性作用。

#### [0163] 2 剂量-反应曲线

利用基于 Amplex® Red 的测定如下进行剂量-反应检测:

使用基于液体处理 Janus®(Perkin Elmer) 的系统和计划软件 Overlord (Process Analysis and Automation) (过程分析和自动化),进行化合物连续稀释。

[0164] 从化合物平板利用在 DMSO 中 15 $\mu$ l 10mM 化合物储备溶液开始,将 10 $\mu$ l DMSO 加到化合物平板列 (Flexdrop)。通过将 5 $\mu$ l 化合物溶液加到 10 $\mu$ l DMSO (1:3) 进行连续稀释,达到 11 个浓度。向化合物平板的各孔加入 90 $\mu$ l 测定缓冲液。混合后,将 10 $\mu$ l 从化合物平板的各孔转移到测定平板的孔,随后加入 20 $\mu$ l 检测混合物和 20 $\mu$ l TREx™-293 Nox4 细胞悬浮液。

[0165] 然后在室温孵育测定平板 40-60min。

[0166] 在 Activitybase XE (IDBS) 中用常规计算模板分析数据。用嵌入公式使原始荧光数据转换成 % 抑制:

$$\% \text{抑制} = 100 - \frac{\text{原始数据}_{\text{化合物}} - \text{原始数据}_{\text{低}}}{\text{原始数据}_{\text{高}} - \text{原始数据}_{\text{低}}} \times 100$$

利用四参数逻辑公式,用非线性回归拟合剂量-反应曲线。图 1A-E 显示本发明一些化合物的剂量-反应曲线。测试的化合物具有范围从约 1  $\mu$ M 至约 68 $\mu$ M 的 IC50 值。

#### [0167] 实施例 2 体内研究:中风动物模型

使用小鼠 (10-12 周),野生型 C57Bl6,6 只动物:

对照 (n=3) 用媒介物腹膜内 (i.p.) 处理诱发中风的小鼠 2h 和 12h。

[0168] 试验 (n=3) 用本发明的化合物 M4 (N<sup>2</sup>-(3,4-二甲基苯基)-6-((4-(3-甲氧基苯

基) 哌嗪 -1- 基) 甲基) -1, 3, 5- 三嗪 -2, 4- 二胺) 腹膜内 (i. p.) 治疗诱发中风的小鼠。

[0169] M4 制剂用于腹膜内 (i. p.) 给予: 首先使 3.5 mg M4 溶于 1ml DMSO 中。在所述物质全部溶解后, 加入 5 ml 在 PBS (磷酸盐缓冲的盐水溶液) 中的 20% Cremophor ELP。然后加入另外的 4 ml PBS。通过使 10.5 g Cremophor 溶于 50 ml PBS 制备 20 % Cremophor ELP 溶液。

[0170] 注射溶液的最终浓度: 0.35 mg/ml。

[0171] M4 的注射体积: 剂量为 3.2 mg/kg, 在每次给药 (2h 和 12h) 时对各动物进行计算。

[0172] 步骤:

1. 通过用细丝阻断 1h 引起短暂性中脑动脉闭塞 (tMCAO)。

[0173] 2. 1h 后通过除去细丝进行再灌注

3. 2h 后经腹膜内 (i. p.) 注射 M4, 12h 后重复腹膜内 (i. p.) 注射

4. 24h 后处死动物, 梗塞面积由三苯基氯化四氮唑鎓 (TTC) 染色测定。- 因此中脑动脉闭塞 (MCAO) 的程序: 1h 闭塞和 23 h 再灌注。

[0174] 5. 中风分析如前所述进行 (Experimental Neurology 200 (2006), pp. 480 - 485; Circulation May 1, 2007, pp. 2323-2330)。为测定梗塞面积, 在 tMCAO、pMCAO, 或皮质光栓疗法 (photothrombosis) 后 24 h 处死小鼠。使用小鼠脑薄片矩阵 (slice matrix) 将脑切成 2-mm- 厚冠状切片 (Harvard Apparatus)。用 2% TTC (Sigma-Aldrich) 对切片染色以显现梗塞。如前所述针对脑水肿将计算损伤体积的平面测量 (ImageJ 软件, 美国国立卫生研究所 (United States National Institutes of Health)) 矫正 (Ann Neurol 2003; 54:330 - 342)。

[0175] 动物研究

动物研究由 Regierung von Unterfranken 批准并根据最近公布的对机制 - 驱动的基础中风研究中的研究建议进行。成年雄性 C57/BL6 小鼠 (20-25 g) 自 Charles River (Sulzfeld, 德国) 购得。使用 tMCAO 模型诱导如在其它地方详细描述局灶性脑缺血。简言之, 用在 70% N2O/30% O2 混合物中的 2% 异氟醚麻醉小鼠。在整个手术期间, 使用伺服控制电热毯 (servo-controlled heating blanket) 保持核心体温接近 37° C。在产生中线颈部切口后, 将标准化硅橡胶 - 涂布的 6.0 尼龙单丝 (60 - 1720RE, Docol, Redlands, Calif) 插入右颈总动脉并经颈内动脉推进以闭塞 MCA 的起点。1 小时后, 再次麻醉小鼠, 并取出闭塞细丝以允许再灌注。由同一操作者对所有动物进行手术以减少梗塞变异性; 每只动物的手术时间不超过 15 分钟。

[0176] 梗塞面积的测定

在 tMCAO 后 24 小时处死小鼠。快速取出脑并使用小鼠脑薄片矩阵将其切成 2-mm- 厚冠状切片。用在 PBS 中的 2% 2, 3, 5- 三苯基氯化四氮唑鎓 (TTC; Sigma-Aldrich, Seelze, 德国) 对切片染色以显现梗塞。平面测量 (ImageJ 软件, 美国国立卫生研究所, Bethesda, Md) 由不知道治疗组的研究者进行并用于计算损伤体积, 如在其它地方所述将其针对脑水肿进行矫正。再次在切成 2-mm- 厚的冠状脑切片后和在 TTC 染色前, 宏观评估整个大脑的脑内出血 (ICH) 的发生 (见上文)。将显示出 ICH 的脑从梗塞体积的评价中排除。用 M4 治疗的 3 只小鼠和 3 只对照小鼠的结果分别示于表 2 中。图 2 是分别显示用 M4 治疗的组和对照组的平均梗塞体积的柱状图。

[0177] 表 2

梗塞体积, mm <sup>3</sup>	
用 M4 治疗的动物	对照动物
73	107
145	224
134	204

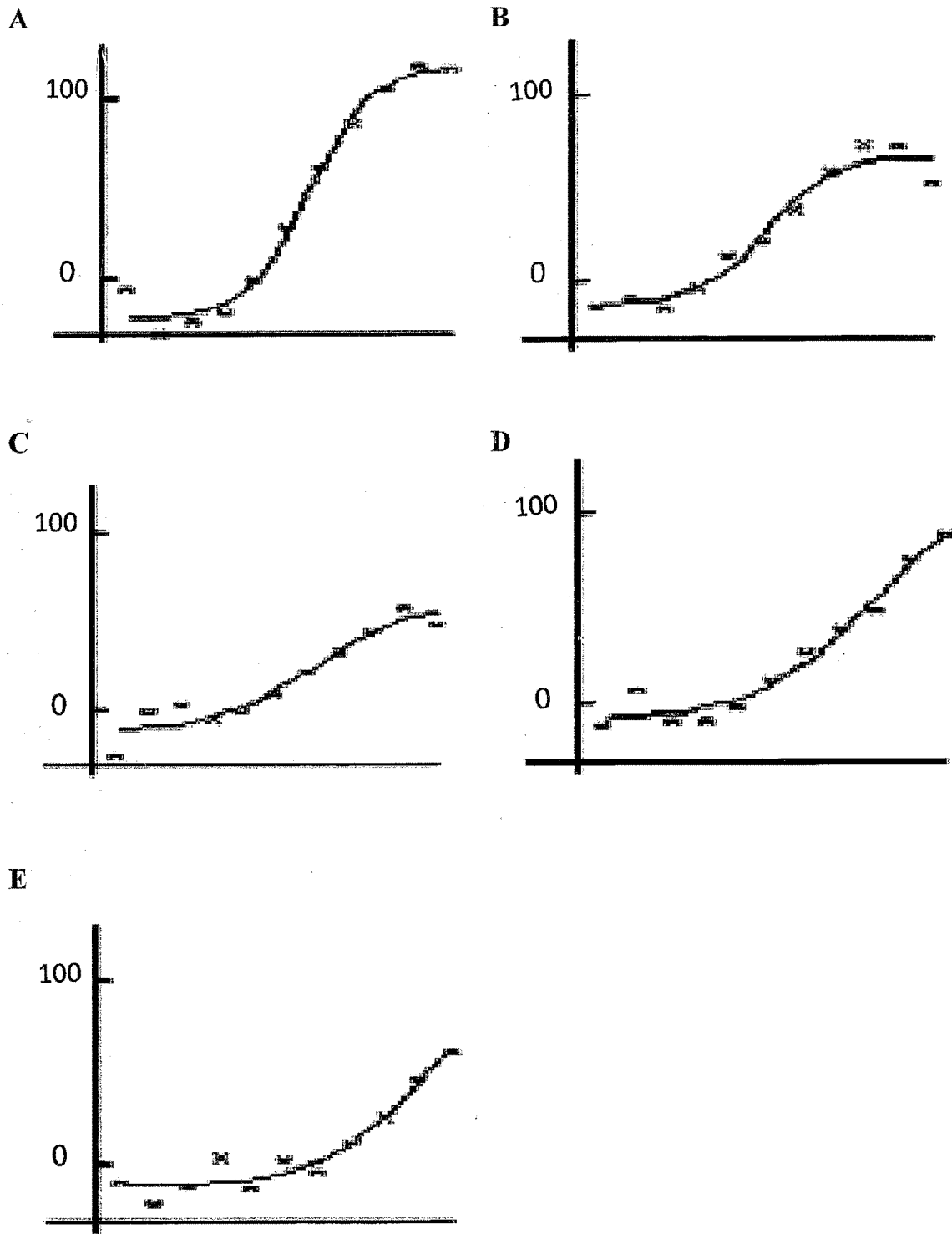


图 1

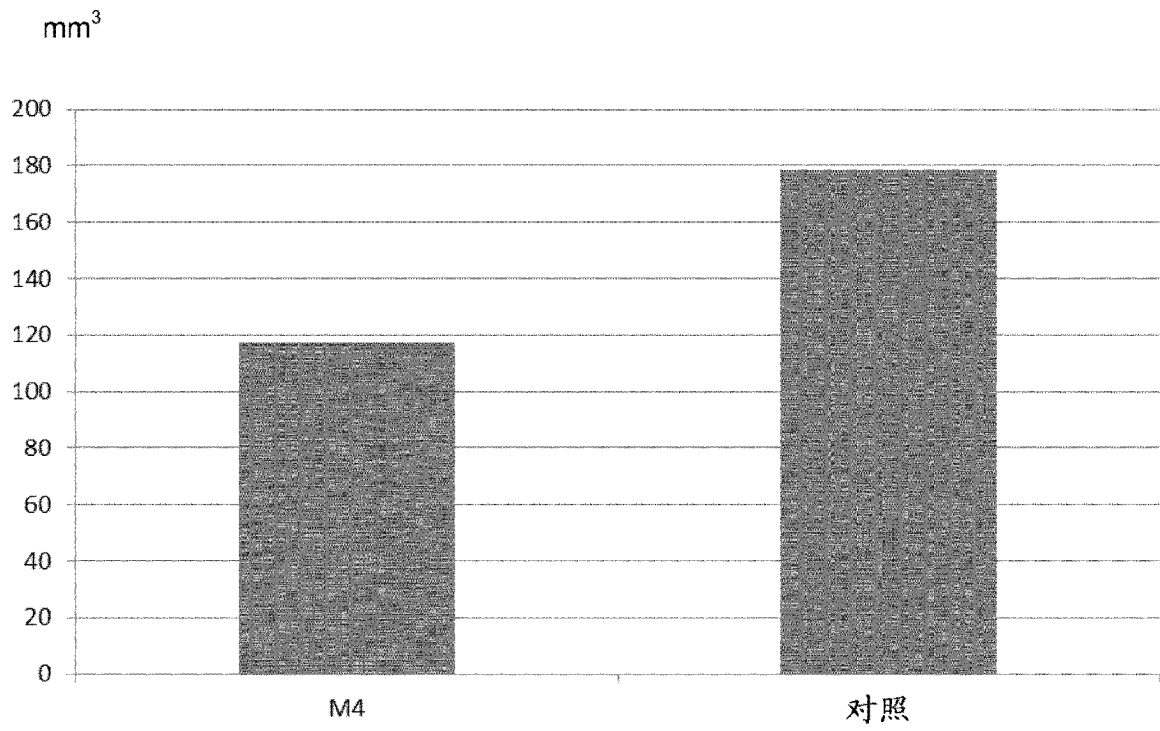


图 2