(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119156217 A
(43)申请公布日 2024.12.17

(21)申请号 202380037527.9

(22)申请日 2023.05.03

(30)优先权数据
63/338,328 2022.05.04 US
63/414,111 2022.10.07 US
63/424,352 2022.11.10 US
63/447,432 2023.02.22 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.10.30

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/020832 2023.05.03

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/215377 EN 2023.11.09

(71)申请人 雅斯娜制药公司
地址 美国华盛顿州

(72)发明人 K·彻池 R·泰勒 J·约翰斯顿 H·J·莫必斯 D·波特曼 L·H·卡瓦斯

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51)Int.Cl.
A61K 31/519(2006.01)
A61P 25/00(2006.01)

权利要求书6页 说明书89页

(54)发明名称

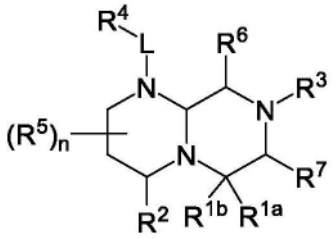
治疗神经炎症性病状的方法

(57)摘要

本文提供用于调节肝细胞生长因子的化合物及其组合物。在一些实施方案中,提供所述化合物和所述组合物以用于治疗包括神经炎症性疾病的疾病。

CN 119156217 A

1.一种治疗有需要的受试者的神经炎症性病状的方法,其包括施用有效量的式(I)化合物:



(I)

或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体,其中:

L为直接键、-C(=O)-、$(CR^aR^b)_m$-C(=O)-、-C(=O)-$(CR^aR^b)_m$-或-$(CR^aR^b)_m$-;

每个R^a和R^b独立地为H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基或C_2-C_6炔基;

R^{1a}和R^{1b}独立地为H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6烷氧基、卤代基或C_6-C_{10}芳基烷基;

R^2为H、氧代基或硫代基;

R^3为C_2-C_6烷基、C_3-C_6烯基、C_3-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_6环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基烷基、5至10元杂芳基烷基或5至10元杂环基烷基,

其中所述5至10元杂芳基烷基或所述5至10元杂环基烷基含有1-3个选自氮和氧的杂原子;

R^4为C_6-C_{10}芳基、5至10元杂芳基或5至10元杂环基,

其中所述5至10元杂芳基或所述5至10元杂环基含有1-3个选自氮和氧的杂原子;

每个R^5独立地为C_1-C_6烷基、氧代基或卤代基;

R^6为H、C_1-C_6烷基或氧代基;

R^7为H或氧代基;

m为1或2;并且

n为0至3的整数;

其中每个C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_{12}环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基、C_6-C_{10}芳基烷基、5至10元杂芳基、5至10元杂芳基烷基、5至10元杂环基和5至10元杂环基烷基任选地被一个至五个选自以下的取代基取代:羟基、卤代基、氨基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6卤烷氧基、氰基、-(C=O)NH_2、硝基、-SO_2(C_1-C_6烷基)和-CO_2H。

2.如权利要求1所述的方法,其中L为-C(=O)-或-$(CR^aR^b)_m$-。

3.如权利要求1或2所述的方法,其中L为-C(=O)-。

4.如权利要求1或2所述的方法,其中L为-$(CR^aR^b)_m$-。

5.如权利要求4所述的方法,其中R^a和R^b各自为H,并且m为1。

6.如权利要求1至5中任一项所述的方法,其中R^{1a}和R^{1b}各自独立地为H;任选地被1-3个选自卤代基、-CO_2H和-C(=O)NH_2的取代基取代的C_1-C_6烷基;C_1-C_6烷氧基;卤代基;或任选地被1-3个选自卤代基和氨基的取代基取代的C_6-C_{10}芳基烷基。

7.如权利要求6所述的方法,其中R^{1a}和R^{1b}各自独立地为H、甲基、氟、2-甲基丁基、-CH_2F、

甲氧基、-CH_2CO_2H、-$CH_2C(=O)NH_2$、苄基或4-氨基苄基。

8.如权利要求6所述的方法,其中R^{1a}和R^{1b}各自独立地为H或C_1-C_3烷基。

9.如权利要求8所述的方法,其中R^{1a}为甲基并且R^{1b}为H。

10.如权利要求8所述的方法,其中R^{1a}和R^{1b}各自为H。

11.如权利要求1至10中任一项所述的方法,其中R^2为H。

12.如权利要求1至10中任一项所述的方法,其中R^2为硫代基。

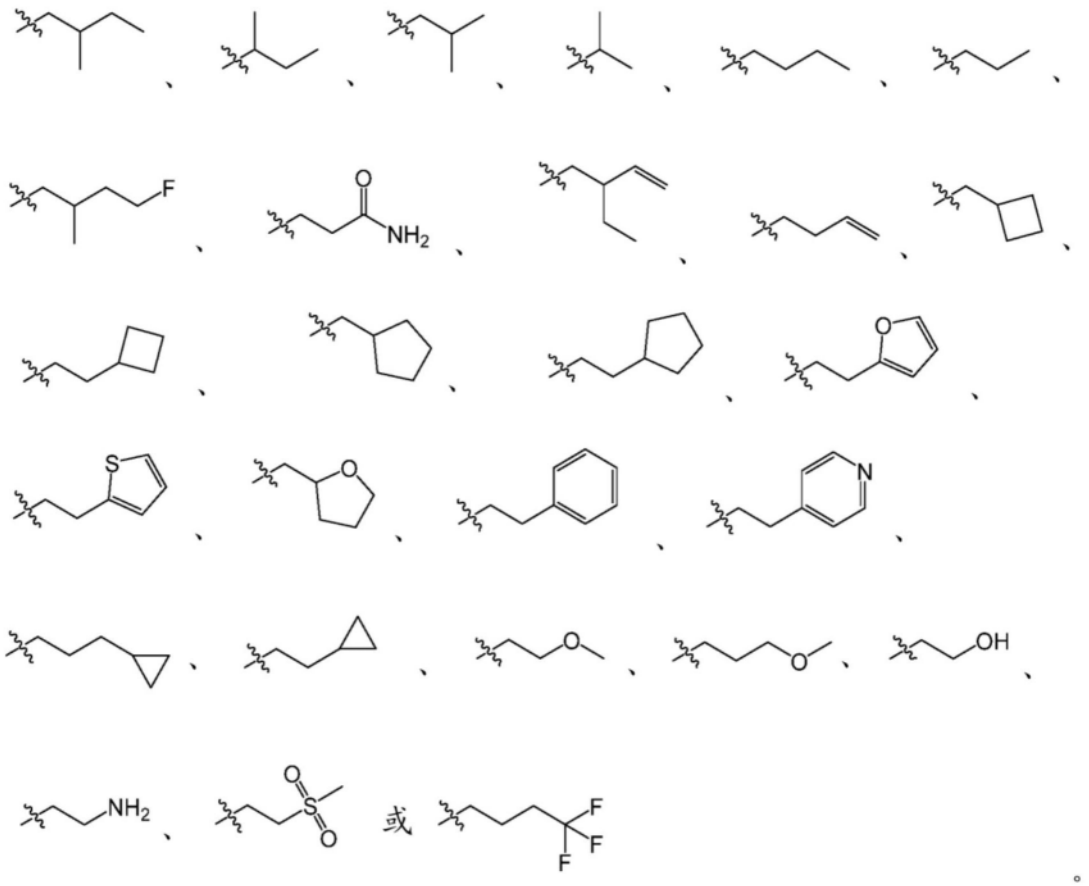
13.如权利要求1至10中任一项所述的方法,其中R^2为氧代基。

14.如权利要求1至13中任一项所述的方法,其中R^3为C_3-C_6烷基、C_3-C_6烯基、C_3-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_6环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基烷基、5至10元杂芳基烷基或5至10元杂环基烷基,其中所述烷基、烯基、炔基、环烷基、环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基或杂环基烷基任选地被一个至五个选自以下的取代基取代:羟基、卤代基、氨基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6卤烷氧基、氰基、-$(C=O)NH_2$、硝基、-SO_2(C_1-C_6烷基)和-CO_2H。

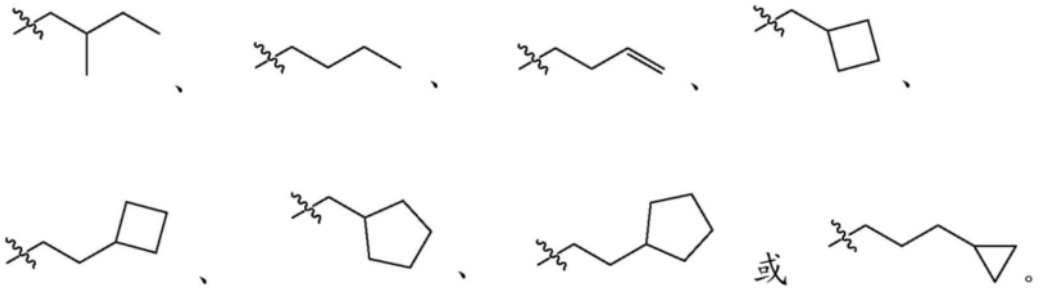
15.如权利要求1至13中任一项所述的方法,其中R^3为任选地被1-3个选自卤代基、C_1-C_3烷氧基、羟基、-NH_2、-SO_2(C_1-C_3烷基)和-$C(=O)NH_2$的取代基取代的C_2-C_6烷基;C_2-C_6烯基;C_3-C_6环烷基烷基;5至6元杂芳基烷基;5至6元杂环基烷基;或C_6芳基烷基。

16.如权利要求15所述的方法,其中R^3为被1-3个选自C_1-C_3烷氧基、羟基、-NH_2和-SO_2(C_1-C_3烷基)的取代基取代的C_2烷基。

17.如权利要求14至16中任一项所述的方法,其中R^3为:



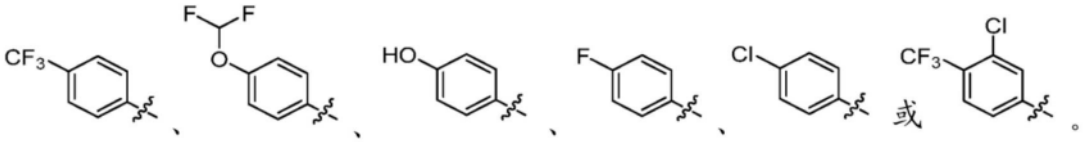
18.如权利要求17所述的方法,其中R^3为:



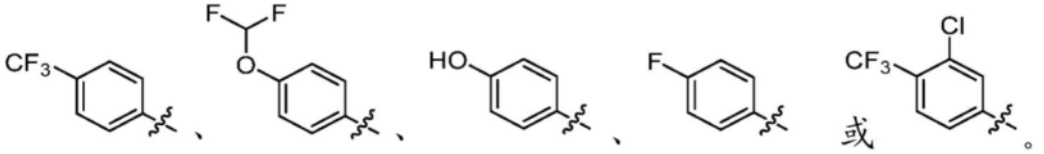
19.如权利要求1至18中任一项所述的方法,其中R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的C_6-C_{10}芳基。

20.如权利要求19所述的方法,其中R^4为被1-3个选自-CF_3、-$OCHF_2$、-OH、氟和氯的取代基取代的苯基。

21.如权利要求20所述的方法,其中R^4为:



22.如权利要求21所述的方法,其中R^4为:

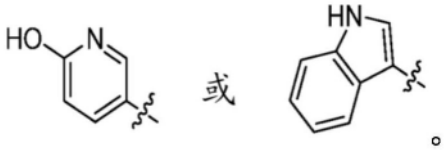


23.如权利要求1至18中任一项所述的方法,其中R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的5至10元杂芳基。

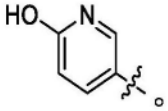
24.如权利要求23所述的方法,其中

R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的吡啶基或吲哚基。

25.如权利要求24所述的方法,其中

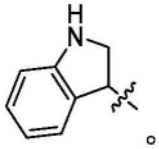
R^4为。

26.如权利要求25所述的方法,其中

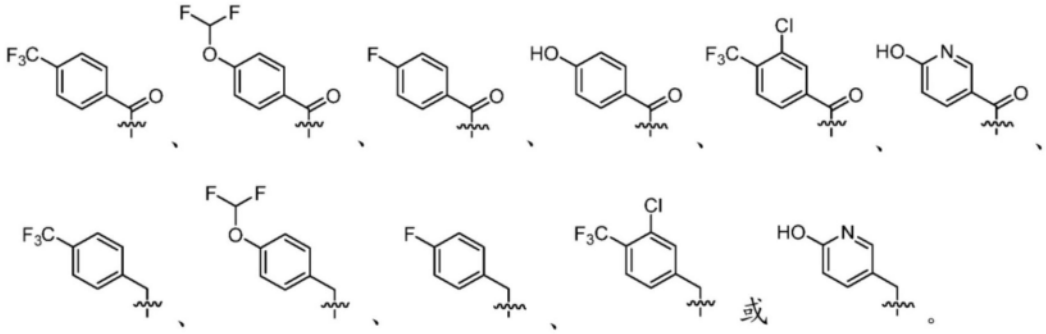
R^4为。

27.如权利要求1至18中任一项所述的方法,其中R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的5至10元杂环基。

28.如权利要求27所述的方法,其中R^4为吲哚啉基。

29.如权利要求28所述的方法,其中R^4为。

30.如权利要求1至26中任一项所述的方法,其中-L-R^4为:



31.如权利要求1至30中任一项所述的方法,其中n为0。

32.如权利要求1至30中任一项所述的方法,其中n为1。

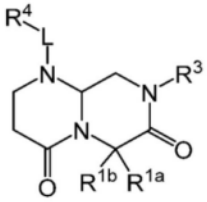
33.如权利要求32所述的方法,其中R^5为氧代基或卤代基。

34.如权利要求33所述的方法,其中R^5为氧代基或氟。

35.如权利要求1至34中任一项所述的方法,其中R^6为H。

36.如权利要求1至35中任一项所述的方法,其中R^7为氧代基。

37.如权利要求1至10、13至31、35和36中任一项所述的方法,其中所述化合物为式(V)化合物:



(V)

或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

38.如权利要求37所述的方法,其中:

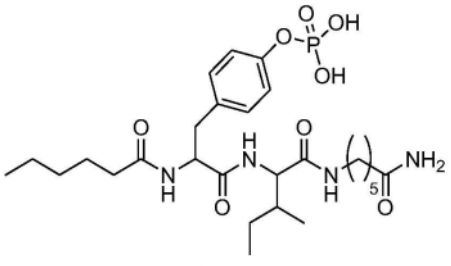
L为-C(=O)-或-CH_2-;

R^{1a}和R^{1b}独立地为H或任选地被-CO_2H取代的C_1-C_3烷基;

R^3为C_4-C_5烷基、C_4-C_5烯基或C_1-C_3烷基,被C_3-C_5环烷基取代;并且

R^4为被1-3个选自-CF_3、-$OCHF_2$、-OH、氟和氯的取代基取代的苯基或吡啶基。

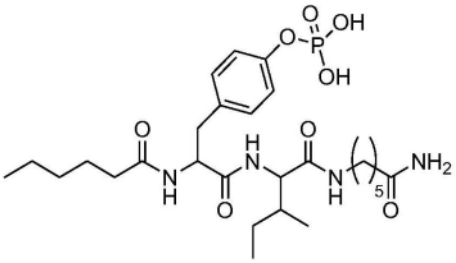
39.一种治疗有需要的受试者的神经炎症性病状的方法,其包括施用有效量的化合物A19:



A19

或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

40.一种治疗有需要的受试者的神经炎症性病状的方法,其包括施用有效量的选自表1A化合物的化合物和化合物A19:



A19

及其药学上可接受的盐、同位素形式和立体异构体。

41.如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为多发性硬化、中风、额颞叶痴呆、脑病或脑炎。

42.如权利要求1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为多发性硬化。

43.如权利要求1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为中风。

44.如权利要求43所述的方法,其中所述神经炎症性病状为缺血性中风。

45.如权利要求43所述的方法,其中所述神经炎症性病状为出血性中风。

46.如权利要求1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为额颞叶痴呆。

47.如权利要求46所述的方法,其中所述额颞叶痴呆为特发的。

48.如权利要求46所述的方法,其中所述额颞叶痴呆是与17号染色体相关的颗粒蛋白前体突变(p17)的结果。

49.如权利要求1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为脑病。

50.如权利要求49所述的方法,其中所述脑病与缺氧相关,诸如小血管脑病(“宾斯旺格病”)、多发性脑梗死性痴呆、窒息或缺血。

51.如权利要求49所述的方法,其中所述脑病为慢性创伤性脑病。

52.如权利要求1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为脑炎。

53.如权利要求52所述的方法,其中所述脑炎为自身免疫性脑炎、病毒性脑炎或细菌性脑炎。

54.如权利要求53所述的方法,其中所述自身免疫性脑炎为N-甲基D-天冬氨酸受体(NMDAR)-脑炎。

55.如权利要求1至54中任一项所述的方法,其中所述化合物减轻与所述炎症性病状相关的炎症。

56.如权利要求1至55中任一项所述的方法,其中所述化合物减轻与所述炎症相关的缺氧。

57.如权利要求1至56中任一项所述的方法,其中所述化合物提高神经元存活率和/或遏制因炎症引起的凋亡性细胞死亡。

58.如权利要求1至57中任一项所述的方法,其中所述化合物被配制为药物组合物。

59.如权利要求1至58中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状不是由外周炎症或外周神经系统的疾病或病症引起的。

60.如权利要求1至59中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状不是由阿尔茨海默病、轻度认知障碍、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤、创伤性脑损伤或感觉神经性听力和视力丧失引起的。

61.如权利要求1至60中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状与外周炎症或外

周神经系统的疾病或病症不相关。

62.如权利要求1至61中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状与阿尔茨海默病、轻度认知障碍、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤、创伤性脑损伤或感觉神经性听力和视力丧失不相关。

63.如权利要求1至62中任一项所述的方法,其中所述受试者并不罹患阿尔茨海默病、轻度认知障碍、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤、创伤性脑损伤、感觉神经性听力和视力丧失或外周神经系统的疾病或病症。

治疗神经炎症性病状的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2022年5月4日提交的美国临时申请号63/338,328、于2022年10月7日提交的美国临时申请号63/414,111、于2022年11月10日提交的美国临时申请号63/424,352以及于2023年2月22日提交的美国临时申请号63/447,432的优先权权益,这些申请中的每一个出于任何目的均以引用的方式整体并入本文。

技术领域

[0003] 本公开总体上涉及用于治疗疾病的化合物、组合物和方法,所述疾病诸如神经炎症性病状,诸如多发性硬化、中风、额颞叶痴呆、脑病或脑炎。

背景技术

[0004] 肝细胞生长因子(HGF)是参与包括胚胎和器官发育、再生和炎症的多个生物过程的多效性蛋白因子。HGF为皮层、运动、感觉、交感和副交感神经元发育和成熟的关键促成因素。HGF被翻译并分泌为无活性促HGF,但在裂解后,所产生的α和β-亚单元由二硫键联接合以形成活性异二聚体。HGF的表达主要发生在间质细胞中,诸如成纤维细胞、成软骨细胞、脂肪细胞和内皮。表达还已证明在包括神经元、星形胶质细胞和室管膜细胞的中枢神经系统(CNS)中(Nakamura和Mizuno,2010)。

[0005] HGF的所有生物活性是通过MET介导,所述MET为充当HGF的唯一已知受体的跨膜受体酪氨酸激酶。已知MET参与各种生物过程,在发育、再生和对损伤的反应中具有已证明的作用。在HGF与MET的胞外域结合后,MET蛋白质的均二聚化引起胞内域的自磷酸化。MET胞内域的磷酸化引起包括Gab1、GRB2、磷脂酶C和Stat3的各种效应蛋白的募集和磷酸化(Gherardi等人,2012;Organ和Tsao,2011)。然后这些效应蛋白与包括PI3K/Akt、Ras/Raf/MAPK、RAC1/CDC42、RAP/FAK等的下游信号传导路径相互作用以影响一系列细胞组分,包括基因调控、细胞骨架重排、细胞周期进展、细胞粘附、存活和增殖(Organ和Tsao,2011)。

[0006] 多项证据表明HGF/MET可能是神经炎症性病状的可行靶。HGF是炎症和自身免疫的重要调节剂。HGF活性降低促炎细胞因子IL-6的表达并促进单核细胞中抗炎细胞因子Il-10的表达(Molnarfi等人,2015)。另外,HGF增加耐受性树突状细胞并减弱细胞毒性T细胞活性(Ilangumaran等人,2016)。HGF活性对炎症和免疫功能的这些效应可能对神经炎症性病状有益。

[0007] 对于多发性硬化疗法,脑脊液(CSF)中的HGF水平与MS患者的疾病活性呈负相关。当疾病处于发作期时,HGF水平会降低,但当疾病进入缓解期时,HGF水平会再次升高(Muller等人,2012)。目前尚不清楚CSF HGF水平的降低是否是导致发病率增加的原因,但HGF对少突细胞的再生特性(Yan和Rivkees,2002)可能在短期内控制住病情。一些临床试验报告称,移植间质干细胞(MSC)祖细胞后,MS患者的病情有所改善(Harris等人,2018),并且这种改善可能归因于MSCs分泌的高水平的HGF(Bai Lianhua等人,2012)。

[0008] 当流向大脑结构的血液中断时就会发生中风。中风通常是由缺血或出血引起的。

缺血性中风是一种因血管闭塞而导致大脑或某些区域血流量减少的疾病。这会导致一系列反应,包括缺氧、能量供应不足、导致过量钙的过度兴奋信号传导,最终导致兴奋性毒性和活性氧物质的释放。这些适应不良的信号传导路径的启动会导致胶质瘢痕形成和/或经由凋亡的细胞死亡(Campbell等人,2019)。由动脉瘤引起的蛛网膜下腔出血和导致血管闭塞的因素外渗也会引发缺血事件。

[0009] 大多数中风治疗要么侧重于预防中风复发,要么经由血栓切除术或血栓溶解术来去除血栓(Campbell等人,2019)。后者的治疗可能非常昂贵并具有侵入性,因为它们需要手术。据报告,其他创新治疗,诸如调节HGF信号传导,通过参与神经营养和再生机制而不是手术干预来促进中风恢复。研究表明,持续输注HGF可促进急性中风期的组织保存(Date等人,2006)。同样,中风后前三天急性HGF递送可促进神经保护以及运动协调恢复并减少梗死体积(Doeppner Thorsten R等人,2011)。因此,由于其神经营养、抗凋亡和再生特征,HGF调节可能是中风恢复的一个有前途的治疗选项。

[0010] 出血性中风是由于大脑内血肿形成而引起的。释放凝血酶以诱导凝血,从而减缓出血并启动级联反应,最终导致水肿、神经元和神经胶质细胞凋亡、兴奋性毒性、小胶质细胞活化以及炎症介质(包括但不限于TNF-α、IL-6和基质金属蛋白酶-9)的释放(Unnithan和Mehta,2022;Chen等人,2014)。

[0011] 出血性中风的治疗主要围绕减少持续出血和防止包括癫痫和颅内压升高在内的继发性效应造成的进一步损害。针对炎症、兴奋性毒性和氧化应激的神经保护治疗也正在接受评价(Unnithan和Mehta,2022)。涉及调节神经保护性HGF系统的治疗很好地减少这些神经损伤来源的影响(Desole等人,2021)。评价永生化神经干细胞移植到出血性中风的动物模型中的研究表明,与对照动物相比,行为结果有所改善。这种改善部分与植入的干细胞的增加的HGF表达有关(Hong等人,2007),这表明调节HGF可能是对于出血性中风的可行的神经保护性治疗。

[0012] 额颞叶痴呆(FTD)是导致痴呆症的第二大最常见原因,并且其特征在于不同程度的语言功能障碍和行为障碍。与许多其他神经系统和神经退行性疾病一样,FTD疾病进展和症状呈现可能是由神经炎症过程驱动的。HGF/MET信号传导的调节涉及FTD的发展,因为对FTD患者的神经炎症特征的研究鉴定HGF表达失调(Boström等人,2021)。因此,可预期,小分子调节HGF/MET信号传导会限制人类患者的FTD症状的进展。

[0013] 特发性脑病也可通过调节HGF/MET信号传导来治疗。脑病患者大脑功能的改变可能由多种原因引起,其中许多原因可能通过遏制凋亡神经元死亡和减少神经炎症来HGF/MET信号传导作出反应。脓毒性脑病是由脓毒性炎症反应介导的大脑功能障碍,独立于其他器官功能障碍,并且患有脓毒症的患者的HGF表达谱发生改变,导致长期认知障碍(Andonegui等人,2018),这表明HGF/MET信号传导被活化作为对神经相关脓毒症的内源性反应。可能对HGF/MET信号传导调节有反应的其他形式的脑病包括但不限于肝性脑病、代谢性脑病、缺氧性脑病、桥本脑病(Hashimoto encephalopathy)和慢性创伤性脑病。

[0014] 脑炎是指大脑炎症,可能导致脑肿胀、发烧、头痛、精神错乱和癫痫。炎症的来源可能多种多样,包括由于病毒、细菌、寄生虫或真菌感染或由于自身免疫性疾病。

[0015] 治疗通常取决于脑炎的原因(即使用抗病毒药物治疗病毒性脑炎,使用抗生素治疗细菌性脑炎)。然而,针对潜在炎症的治疗也可能有助于治疗脑炎疾病。据报告,HGF/MET

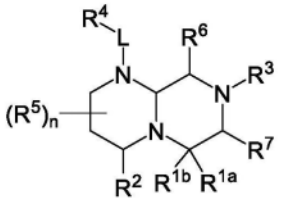
信号传导路径是具有炎症影响的各种疾病模型中的有效免疫调节系统(Gong等人,2006;Mizuno和Nakamura,2012;Mizuno等人,1998;Vallarola等人,2020),并且还已知可抑制细胞凋亡(Xiao等人,2001),这是导致大多数类型脑炎的一个因素。

[0016] 尽管所述领域已经取得了进展,但仍然需要用于治疗神经炎症性病状的改进的化合物和方法。

发明内容

[0017] 本文提供调节HGF的化合物,其用于治疗神经炎症性病状,诸如多发性硬化、中风、额颞叶痴呆、脑病或脑炎。非限制性示例性实施方案包括:

[0018] 1.一种治疗有需要的受试者的神经炎症性病状的方法,其包括施用有效量的式(I)化合物:

[0019] 

(I)

[0020] 或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体,其中:

[0021] L为直接键、-C(=O)-、$(CR^aR^b)_m$-C(=O)-、-C(=O)-$(CR^aR^b)_m$-或-$(CR^aR^b)_m$-;

[0022] 每个R^a和R^b独立地为H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基或C_2-C_6炔基;

[0023] R^{1a}和R^{1b}独立地为H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6烷氧基、卤代基或C_6-C_{10}芳基烷基;

[0024] R^2为H、氧代基或硫代基;

[0025] R^3为C_2-C_6烷基、C_3-C_6烯基、C_3-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_6环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基烷基、5至10元杂芳基烷基或5至10元杂环基烷基,

[0026] 其中所述5至10元杂芳基烷基或所述5至10元杂环基烷基含有1-3个选自氮和氧的杂原子;

[0027] R^4为C_6-C_{10}芳基、5至10元杂芳基或5至10元杂环基,

[0028] 其中所述5至10元杂芳基或所述5至10元杂环基含有1-3个选自氮和氧的杂原子;

[0029] 每个R^5独立地为C_1-C_6烷基、氧代基或卤代基;

[0030] R^6为H、C_1-C_6烷基或氧代基;

[0031] R^7为H或氧代基;

[0032] m为1或2;并且

[0033] n为0至3的整数;

[0034] 其中每个C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_{12}环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基、C_6-C_{10}芳基烷基、5至10元杂芳基、5至10元杂芳基烷基、5至10元杂环基和5至10元杂环基烷基任选地被一个至五个选自以下的取代基取代:羟基、卤代基、氨基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6卤烷氧基、氰基、-(C=O)NH_2、硝基、-SO_2(C_1-C_6烷基)和-CO_2H。

[0035] 2.如实施方案1所述的方法,其中L为-C(=O)-或-$(CR^aR^b)_m$-。

[0036] 3.如实施方案1或2所述的方法,其中L为-C(=O)-。

[0037] 4.如实施方案1或2所述的方法,其中L为-$(CR^aR^b)_m$-。

[0038] 5.如实施方案4所述的方法,其中R^a和R^b各自为H,并且m为1。

[0039] 6.如实施方案1至5中任一项所述的方法,其中R^{1a}和R^{1b}各自独立地为H;任选地被1-3个选自卤代基、-CO_2H和-$C(=O)NH_2$的取代基取代的C_1-C_6烷基;C_1-C_6烷氧基;卤代基;或任选地被1-3个选自卤代基和氨基的取代基取代的C_6-C_{10}芳基烷基。

[0040] 7.如实施方案6所述的方法,其中R^{1a}和R^{1b}各自独立地为H、甲基、氟、2-甲基丁基、-CH_2F、甲氧基、-CH_2CO_2H、-$CH_2C(=O)NH_2$、苄基或4-氨基苄基。

[0041] 8.如实施方案6所述的方法,其中R^{1a}和R^{1b}各自独立地为H或C_1-C_3烷基。

[0042] 9.如实施方案8所述的方法,其中R^{1a}为甲基并且R^{1b}为H。

[0043] 10.如实施方案8所述的方法,其中R^{1a}和R^{1b}各自为H。

[0044] 11.如实施方案1至10中任一项所述的方法,其中R^2为H。

[0045] 12.如实施方案1至10中任一项所述的方法,其中R^2为硫代基。

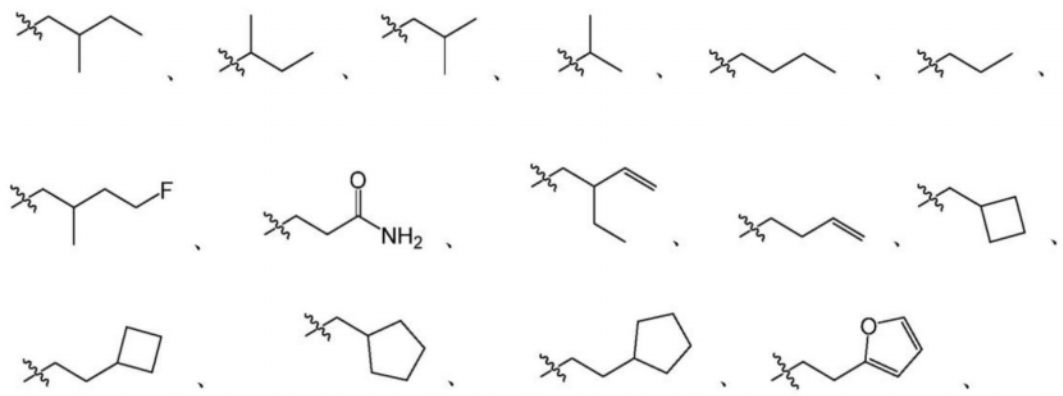
[0046] 13.如实施方案1至10中任一项所述的方法,其中R^2为氧代基。

[0047] 14.如实施方案1至13中任一项所述的方法,其中R^3为C_3-C_6烷基、C_3-C_6烯基、C_3-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_6环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基烷基、5至10元杂芳基烷基或5至10元杂环基烷基,其中所述烷基、烯基、炔基、环烷基、环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基或杂环基烷基任选地被一个至五个选自以下的取代基取代:羟基、卤代基、氨基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6卤烷氧基、氰基、-$(C=O)NH_2$、硝基、-SO_2(C_1-C_6烷基)和-CO_2H。

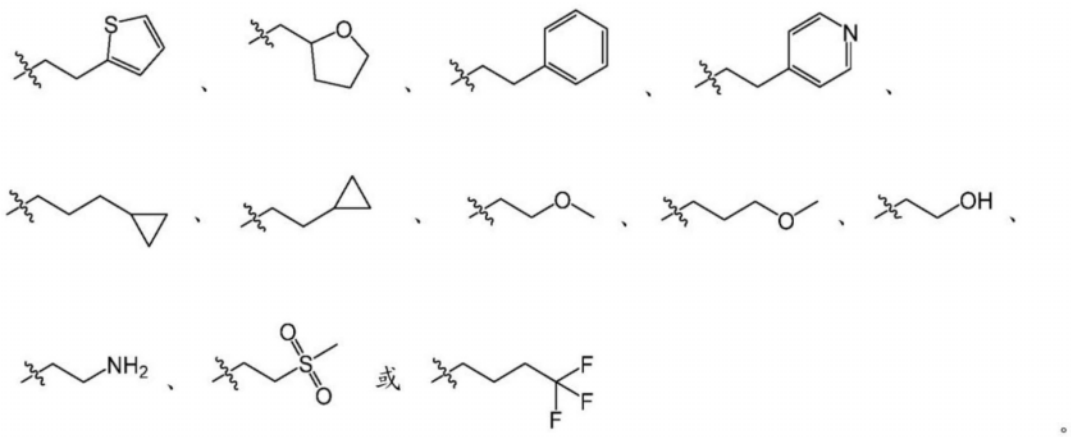
[0048] 15.如实施方案1至13中任一项所述的方法,其中R^3为任选地被1-3个选自卤代基、C_1-C_3烷氧基、羟基、-NH_2、-SO_2(C_1-C_3烷基)和-$C(=O)NH_2$的取代基取代的C_2-C_6烷基;C_2-C_6烯基;C_3-C_6环烷基烷基;5至6元杂芳基烷基;5至6元杂环基烷基;或C_6芳基烷基。

[0049] 16.如实施方案15所述的方法,其中R^3为被1-3个选自C_1-C_3烷氧基、羟基、-NH_2和-SO_2(C_1-C_3烷基)的取代基取代的C_2烷基。

[0050] 17.如实施方案14至16中任一项所述的方法,其中R^3为:



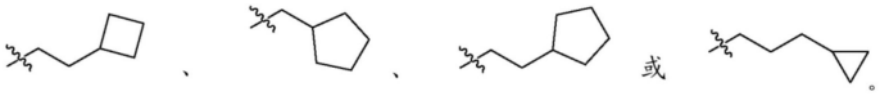
[0051]



[0052] 18.如实施方案17所述的方法,其中R^3为:



[0053]

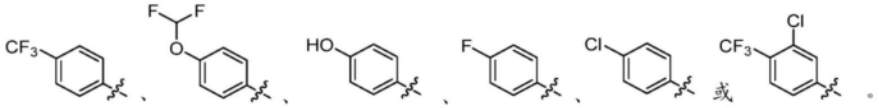


[0054] 19.如实施方案1至18中任一项所述的方法,其中R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的C_6-C_{10}芳基。

[0055] 20.如实施方案19所述的方法,其中R^4为被1-3个选自-CF_3、-$OCHF_2$、-OH、氟和氯的取代基取代的苯基。

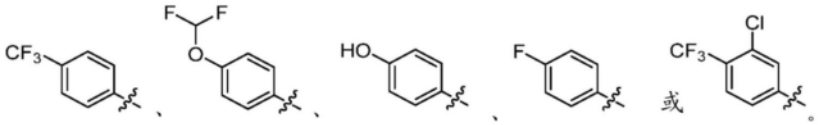
[0056] 21.如实施方案20所述的方法,其中R^4为:

[0057]



[0058] 22.如实施方案21所述的方法,其中R^4为:

[0059]

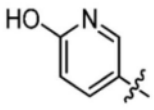
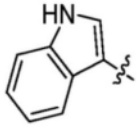


[0060] 23.如实施方案1至18中任一项所述的方法,其中R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的5至10元杂芳基。

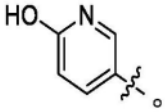
[0061] 24.如实施方案23所述的方法,其中

[0062] R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的吡啶基或吲哚基。

[0063] 25.如实施方案24所述的方法,其中

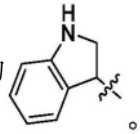
[0064] R^4为或。

[0065] 26.如实施方案25所述的方法,其中

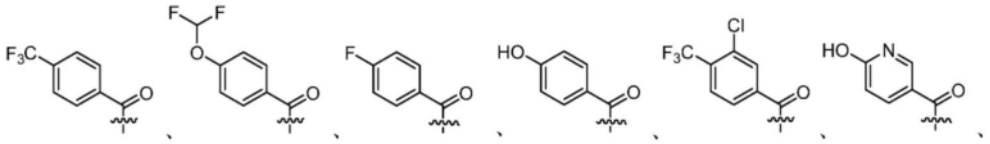
[0066] R^4为。

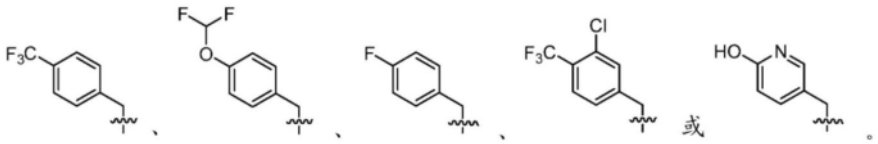
[0067] 27.如实施方案1至18中任一项所述的方法,其中R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的5至10元杂环基。

[0068] 28.如实施方案27所述的方法,其中R^4为吲哚啉基。

[0069] 29.如实施方案28所述的方法,其中R^4为。

[0070] 30.如实施方案1至26中任一项所述的方法,其中-L-R^4为:

[0071] 



[0072] 31.如实施方案1至30中任一项所述的方法,其中n为0。

[0073] 32.如实施方案1至30中任一项所述的方法,其中n为1。

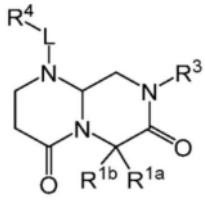
[0074] 33.如实施方案32所述的方法,其中R^5为氧代基或卤代基。

[0075] 34.如实施方案33所述的方法,其中R^5为氧代基或氟。

[0076] 35.如实施方案1至34中任一项所述的方法,其中R^6为H。

[0077] 36.如实施方案1至35中任一项所述的方法,其中R^7为氧代基。

[0078] 37.如实施方案1至10、13至31、35和36中任一项所述的方法,其中所述化合物为式(V)化合物:

[0079] 

(V),

或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0080] 38.如实施方案37所述的方法,其中:

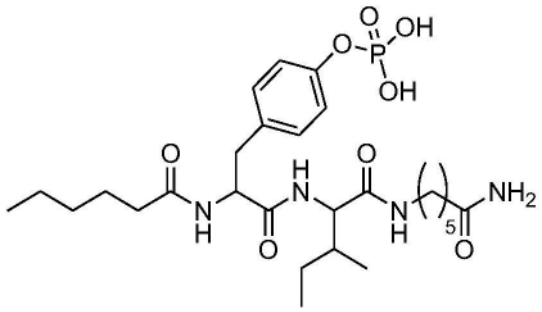
[0081] L为-C(=O)-或-CH_2-;

[0082] R^{1a}和R^{1b}独立地为H或任选地被-CO_2H取代的C_1-C_3烷基;

[0083] R^3为C_4-C_5烷基、C_4-C_5烯基或C_1-C_3烷基,被C_3-C_5环烷基取代;并且

[0084] R^4为被1-3个选自-CF_3、-$OCHF_2$、-OH、氟和氯的取代基取代的苯基或吡啶基。

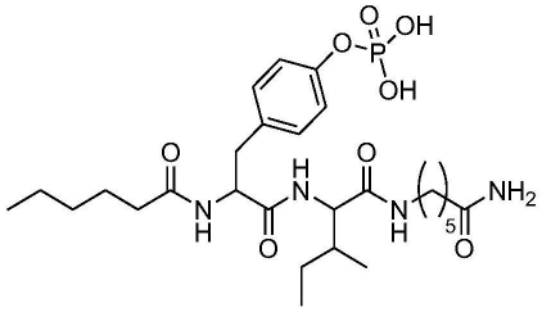
[0085] 39.一种治疗有需要的受试者的神经炎症性病状的方法,其包括施用有效量的化合物A19:

[0086] 

A19

[0087] 或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0088] 40.一种治疗有需要的受试者的神经炎症性病状的方法,其包括施用有效量的选自表1A化合物的化合物和化合物A19:

[0089] 

A19

[0090] 及其药学上可接受的盐、同位素形式和立体异构体。

[0091] 41.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为多发性硬化、中风、额颞叶痴呆、脑病或脑炎。

[0092] 42.如实施方案1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为多发性硬化。

[0093] 43.如实施方案1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为中风。

[0094] 44.如实施方案43所述的方法,其中所述神经炎症性病状为缺血性中风。

[0095] 45.如实施方案43所述的方法,其中所述神经炎症性病状为出血性中风。

[0096] 46.如实施方案1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为额颞叶痴呆。

[0097] 47.如实施方案46所述的方法,其中所述额颞叶痴呆为特发的。

[0098] 48.如实施方案46所述的方法,其中所述额颞叶痴呆是与17号染色体相关的颗粒蛋白前体突变(p17)的结果。

[0099] 49.如实施方案1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为脑病。

[0100] 50.如实施方案49所述的方法,其中所述脑病与缺氧相关,诸如小血管脑病(“宾斯旺格病(Binswanger's disease)”)、多发性脑梗死性痴呆、窒息或缺血。

[0101] 51.如实施方案49所述的方法,其中所述脑病为慢性创伤性脑病。

[0102] 52.如实施方案1至41中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状为脑炎。

[0103] 53.如实施方案52所述的方法,其中所述脑炎为自身免疫性脑炎、病毒性脑炎或细菌性脑炎。

[0104] 54.如实施方案53所述的方法,其中所述自身免疫性脑炎为N-甲基D-天冬氨酸受体(NMDAR)-脑炎。

[0105] 55.如实施方案1至54中任一项所述的方法,其中所述化合物减轻与所述炎症性病状相关的炎症。

[0106] 56.如实施方案1至55中任一项所述的方法,其中所述化合物减轻与所述炎症相关的缺氧。

[0107] 57.如实施方案1至56中任一项所述的方法,其中所述化合物提高神经元存活率和/或遏制因炎症引起的凋亡性细胞死亡。

[0108] 58.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述化合物被配制为药物组合物。

[0109] 59.如实施方案1至58中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状不是由外周炎症或外周神经系统的疾病或病症引起的。

[0110] 60.如实施方案1至59中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状不是由阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、轻度认知障碍、帕金森病(Parkinson's disease)、亨廷顿病(Huntington's disease)、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤、创伤性脑损伤或感觉神经性听力和视力丧失引起的。

[0111] 61.如实施方案1至60中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状与外周炎症或外周神经系统的疾病或病症不相关。

[0112] 62.如实施方案1至61中任一项所述的方法,其中所述神经炎症性病状与阿尔茨海默病、轻度认知障碍、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤、创伤性脑损伤或感觉神经性听力和视力丧失不相关。

[0113] 63.如实施方案1至62中任一项所述的方法,其中所述受试者并不罹患阿尔茨海默病、轻度认知障碍、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤、创伤性脑损伤、感觉神经性听力和视力丧失或外周神经系统的疾病或病症。

具体实施方式

[0114] 定义

[0115] 除非另外定义,否则本文中所使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的技术人员通常所理解相同的含义。在以下描述中,阐述某些具体细节以便提供对本公开的各种实施方案的全面理解。应理解,前述一般描述和以下详细描述仅为示例性和解释性的并且并不限制所要求的任何主题。在以引用的方式并入本文中的任何材料与本公开的表述内容不一致的情况下,以表述内容为准。在本申请中,除非另外具体说明,否则单数的使用包括复数。必须指出,除非上下文另外清楚指示,否则如本说明书和随附权利要求书中所使用的单数形式“一(a/an)”和“所述”包括复数个指示物。在本申请中,除非另外陈述,否则

“或”的使用意指“和/或”。此外,术语“包括(including)”以及其他形式(诸如“包括(include/includes/included)”)的使用不具限制性。

[0116] 除非上下文另外要求,否则在整个本说明书和权利要求书中,字语“包含(comprise)”及其变化形式(诸如“包含(comprises/comprising)”)应以开放的包括性含义理解,即“包括但不限于”。

[0117] 在本说明书中,除非另外指示,否则任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围应理解为包括所叙述范围内的任何整数值及(适当时)其分数(诸如整数的十分之一和百分之一)。此外,除非另外指示,否则本文中所叙述的与诸如聚合物亚单元、大小或厚度的任何物理特征有关的任何数量范围应理解为包括所叙述范围内的任何整数。如本文中所使用,除非另外指示,否则术语“约”和“大致”意指所指示范围、值或结构的±20%、±10%、±5%或±1%。

[0118] 贯穿于本说明书中的对“一个实施方案”或“一实施方案”的提及意指结合实施方案所描述的特定特征、结构或特性包括在本公开的至少一个实施方案中。因此,贯穿本说明书在不同位置中出现的短语“在一个实施方案中”或“在一实施方案中”未必都指代同一实施方案。此外,特定特征、结构或特性可在一个或多个实施方案中以任何适合方式组合。

[0119] “氨基”是指-NH_2基团。

[0120] “羧基(carboxy/carboxyl)”是指-CO_2H基团。

[0121] “氰基”是指-CN基团。

[0122] “羟基(hydroxy/hydroxyl)”是指-OH基团。

[0123] “硝基”是指-NO_2基团。

[0124] “氧代基”是指=O取代基。

[0125] “硫代基(thioxo)”是指=S取代基。

[0126] “硫醇基”是指-SH取代基。

[0127] “烷基”是指仅由碳原子和氢原子组成的未分支或分支饱和烃链基团,其具有一个至十二个碳原子(C_1-C_{12}烷基)、优选地一个至八个碳原子(C_1-C_8烷基)、一个至六个碳原子(C_1-C_6烷基)或一个至三个碳原子(C_1-C_3烷基)并且其通过单键连接至分子的其余部分,例如甲基、乙基、正丙基、1-甲基乙基(异丙基)、正丁基、正戊基、1,1-二甲基乙基(叔丁基)、3-甲基己基、2-甲基己基等。除非本说明书中另外具体说明,否则烷基任选地被取代。

[0128] “烯基”是指仅由碳原子和氢原子组成的未分支或分支不饱和烃链基团,其含有一个或多个碳-碳双键,具有二个至十二个碳原子(C_2-C_{12}烯基)、优选地二个至八个碳原子(C_2-C_8烯基)或二个至六个碳原子(C_2-C_6烯基),并且其通过单键连接至分子的其余部分,例如乙烯基、丙-1-烯基、丁-1-烯基、戊-1-烯基、戊-1,4-二烯基等。除非本说明书中另外具体说明,否则烯基任选地被取代。

[0129] “炔基”是指仅由碳原子和氢原子组成的未分支或分支不饱和烃链基团,其含有一个或多个碳-碳三键,具有二个至十二个碳原子(C_2-C_{12}炔基)、优选地二个至八个碳原子(C_2-C_8炔基)或二个至六个碳原子(C_2-C_6炔基),并且其通过单键连接至分子的其余部分,例如乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基等。除非本说明书中另外具体说明,否则炔基任选地被取代。

[0130] “烷氧基”是指式-OR_a的基团,其中R_a为含有一个至十二个碳原子的如上文所定义

的烷基。优选的烷氧基在烷基中具有一个至六个碳原子(即C_1-C_6烷氧基)或一个至三个碳原子(即C_1-C_3烷氧基)。除非本说明书中另外具体说明,否则烷氧基任选地被取代。

[0131] "芳族环"是指具有共振键的环的分子(即基团)的环状平面部分,其相对于具有相同组的原子的其他连结性排列展现增加的稳定性。一般而言,芳族环含有一组共价键结的共平面原子并且包含为偶数但并非4的倍数的多个π-电子(例如,交替双键和单键)(即4n+2个π-电子,其中n=0、1、2、3等)。芳族环包括但不限于苯基、萘次甲基(naphthenyl)、咪唑基、吡咯基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、吡啶酮基、哒嗪基、嘧啶酮基。除非本说明书中另外具体说明,否则"芳族环"包括任选地被取代的所有基团。

[0132] "芳基"是指包含6至18个碳原子和至少一个芳族环(即C_6-C_{18}芳基)、优选地具有6至10个碳原子(即C_6-C_{10}芳基)的碳环系统基团。出于本公开的实施方案的目的,芳基为单环、双环、三环或四环的环系统,其可包括稠合或桥接环系统。芳基包括但不限于衍生自以下的芳基:苯并苊(aceanthrylene)、苊烯(acenaphthylene)、醋菲烯(acephenanthrylene)、蒽(anthracene)、薁(azulene)、苯、䓛(chrysene)、荧蒽(fluoranthene)、芴、不对称引达省(as-indacene)、对称引达省(s-indacene)、茚满(indane)、茚(indene)、萘(naphthalene)、非那烯(phenalene)、菲(phenanthrene)、苯基、七曜烯(pleiadene)、芘(pyrene)和三亚苯。除非本说明书中另外具体说明,否则芳基任选地被取代。

[0133] "芳基烷基"是指式-R_b-R_c的基团,其中R_b为亚烷基链并且R_c为如上文所定义的一个或多个芳基,例如苄基、二苯基甲基等。芳基烷基可含有连结至C_6-C_{10}芳基(即C_6-C_{10}芳基烷基)的C_1-C_{10}亚烷基链。除非本说明书中另外具体说明,否则芳基烷基任选地被取代。

[0134] "环烷基"是指仅由碳原子和氢原子组成的稳定非芳族单环或多环碳环基团,其可包括稠合或桥接环系统,具有三个至十五个碳原子(即C_3-C_{15}环烷基)、优选地具有三个至十个碳原子(即C_3-C_{10}环烷基)或三个至六个碳原子(即C_3-C_6环烷基),并且其为饱和或不饱和的并通过单键连接至分子的其余部分。单环基团包括例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。当在同一碳原子上存在两个取代位置时,环烷基还包括"螺环烷基"。多环基团包括例如金刚烷基、降冰片基、十氢萘基、7,7-二甲基-双环[2.2.1]庚基等。除非本说明书中另外具体说明,否则环烷基任选地被取代。

[0135] "环烷基烷基"是指式-R_b-R_c的基团,其中R_b为亚烷基链并且R_c为如上文所定义的一个或多个环烷基,例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基等。环烷基烷基可含有连结至C_3-C_{12}环烷基(即C_3-C_{12}环烷基烷基)的C_1-C_{10}亚烷基链或连结至C_3-C_6环烷基(即C_3-C_6环烷基烷基)的C_1-C_{10}亚烷基链。除非本说明书中另外具体说明,否则环烷基烷基任选地被取代。

[0136] "稠合"是指本文中所描述的任何环结构与本公开化合物中现有的环结构稠合。当稠合环为杂环基环或杂芳基环时,成为稠合杂环基环或稠合杂芳基环的一部分的现有环结构上的任何碳原子由氮原子替换。

[0137] "卤基"或"卤素"是指溴、氯、氟或碘。

[0138] "卤烷基"是指经一个或多个如上文所定义的卤代基取代的如上文所定义的烷基,例如三氟甲基、二氟甲基、三氯甲基、2,2,2-三氟乙基、1,2-二氟乙基、3-溴-2-氟丙基、1,2-二溴乙基等。优选的卤烷基包括具有一个至六个碳原子并且被一个或多个卤代基取代的烷

基(即C_1-C_6卤烷基)。卤代基可全部相同或卤代基可不同。除非本说明书中另外具体说明,否则卤烷基任选地被取代。

[0139] “卤烷氧基”是指式-OR_a的基团,其中R_a为含有一个至十二个碳原子的如本文中所定义的卤烷基。优选的卤烷氧基包括具有一个至六个碳原子(即C_1-C_6卤烷氧基)或具有一个至三个碳原子(C_1-C_3卤烷氧基)并且经一个或多个卤代基取代的烷氧基。卤代基可全部相同或卤代基可全部不同。除非本说明书中另外具体说明,否则卤烷氧基任选地被取代。

[0140] “杂芳基”是指具有单个环、多个环或多个稠合环的芳族基团(例如,5至14元环系统),其中一个或多个环杂原子独立地选自氮、氧和硫。如本文中所使用,杂芳基包括1至10个环碳原子和1至4个环内的独立地选自氮、氧和硫的杂原子。优选的杂芳基具有含有一个至四个选自氮、氧和硫的杂原子的5至10元环系统(即5至10元杂芳基)和含有一个至四个选自氮、氧和硫的杂原子的5至6元环系统(即5至6元杂芳基)。出于本公开的实施方案的目的,芳基可为单环、双环、三环或四环的环系统,其可包括稠合或桥接环系统。杂芳基的实例包括吡咯基、吡唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、喹啉基、奎宁环基、异喹啉基、四氢喹啉基、噻唑基、噻二唑基、三唑基、四唑基、三嗪基和苯硫基(即噻吩基)。杂芳基可包含一个或多个N-氧化物(N-O-)部分,诸如吡啶-N-氧化物。除非本说明书中另外具体说明,否则杂芳基任选地被取代。

[0141] “杂芳基烷基”是指式-R_b-R_c的基团,其中R_b为亚烷基链并且R_c为如上文所定义的一个或多个杂芳基。杂芳基烷基可含有连结至5至10元杂芳基(即5至10元杂芳基烷基)的C_1-C_{10}亚烷基链或连结至5至6元杂芳基(即5至6元杂芳基烷基)的C_1-C_{10}亚烷基链。除非本说明书中另外具体说明,否则杂芳基烷基任选地被取代。

[0142] “杂环基”是指具有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的饱和或不饱和环状烷基。术语“杂环基”包括杂环烯基(即具有至少一个双键的杂环基)、桥接杂环基、稠合杂环基和螺接杂环基。杂环基可为单个环或多个环,其中多个环可为稠合的、桥接的或螺接的,并且可包含一个或多个氧代基(C=O)部分或N-氧化物(N-O-)部分。含有至少一个杂原子的任何非芳族环被视为杂环基,无论连接如何(即可经由碳原子或杂原子键结)。此外,无论与分子的其余部分的连接如何,术语杂环基意图涵盖含有至少一个杂原子的任何非芳族环,所述环可与芳基或杂芳基环稠合。如本文中所使用,杂环基具有1至10个环碳原子、1至8个碳原子、1至6个碳原子或1至4个碳原子,以及独立地选自氮、硫和氧的1至5个环杂原子、1至4个杂原子、1至3个杂原子或1至2个杂原子。优选的杂环基具有包括一个至四个选自氮和氧的杂原子的环系统中的五个至10个成员(即5至10元杂环基)或包括一个至四个选自氮和氧的杂原子的环系统中的五个至八个成员(即5至8元杂环基)。杂环基的实例包括二氧戊环基、噻吩基[1,3]二噻烷基、十氢异喹啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、八氢吲哚基、八氢异吲哚基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、噁唑烷基、哌啶基、哌嗪基、4-哌啶酮基、吡咯烷基、吡唑烷基、奎宁环基、噻唑烷基、四氢呋喃基、三噻烷基、四氢吡喃基、硫代吗啉基、噻吗啉基、1-氧代-硫代吗啉基和1,1-二氧代-硫代吗啉基。除非本说明书中另外具体说明,否则杂环基任选地被取代。

[0143] “杂环基烷基”是指式-R_b-R_c的基团,其中R_b为亚烷基链并且R_c为如上文所定义的一个或多个杂环基。杂环基烷基可含有连结至5至10元杂环基(即5至10元杂环基烷基)的C_1-C_{10}亚烷基链或连结至5至8元杂环基(即5至8元杂环基烷基)的C_1-C_{10}亚烷基链。除非本说

明书中另外具体说明,否则杂环基烷基任选地被取代。

[0144] 在一些实施方案中,如本文中所使用的术语“经取代”意指以上基团中的任一者或其他取代基(例如,C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_{12}环烷基烷基、芳基和杂芳基),其中至少一个氢原子(例如,1个、2个、3个或所有氢原子)由与诸如但不限于以下的非氢原子的键替换:卤素原子,诸如F、Cl、Br和I(即“卤代基”);基团中的氧原子,诸如羟基或烷氧基(例如,烷氧基或卤烷氧基);基团中的氮原子,诸如胺(例如,-NH_2)、酰胺(例如,-(C=O)NH_2)和硝基;包括一个或多个卤素的烷基,诸如F、Cl、Br和I(例如,卤烷基);和氰基。

[0145] 应理解,除非另外具体说明,否则L、R^{1a}、R^{1b}、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6和R^7的每种选择如上文所描述任选地被取代,并且其限制条件为通过取代满足所有价数。具体而言,除非另外具体说明,否则L、R^{1a}、R^{1b}、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6和R^7的每种选择任选地被取代,并且所提供的此类取代产生稳定分子(例如,诸如H和卤代基的基团未任选地被取代)。

[0146] “神经炎症”或“神经炎症性病状”是指中枢神经系统(即大脑和/或脊髓内)的组织的不适当或长期炎症。神经炎症是由细胞因子、趋化因子、活性氧物质和/或第二信使的产生介导的。在一些实施方案中,神经炎症不同于中枢神经系统外部的炎症反应。

[0147] 化合物或组合物的“有效量”或“治疗有效量”是指基于本文的公开内容视需要产生预期结果的化合物或组合物的量。有效量可通过细胞培养物或实验动物中的标准药学程序,包括但不限于通过测定ED_{50}(在50%群体中治疗有效的剂量)和LD_{50}(在50%群体中致死的剂量)来确定。在一些实施方案中,有效量的化合物引起受试者(即人患者)的症状的减轻或抑制或存活期的延长。结果可能需要多次剂量的化合物。

[0148] “治疗(treating/treatment)”受试者的疾病是指1)防止疾病发生在易患病或尚未显示疾病症状的患者中;2)抑制疾病或阻遏其发展;或3)改善疾病或使疾病消退。如本文中所使用,“治疗(treatment/treating)”为用于获得有益或所需结果(包括临床结果)的方法。出于本公开的目的,有益或所需结果包括但不限于以下中的一者或多者:减轻由疾病或病症引起的一种或多种症状;降低疾病或病症的程度;使疾病或病症稳定(例如,预防或延迟疾病或病症的恶化);延迟疾病或病症的发生或复发;延迟或减缓疾病或病症的进展;改善疾病或病症病况;使疾病或病症(部分或完全)缓解;降低治疗疾病或病症所需的一种或多种其他药物的剂量;增强用于治疗疾病或病症的另一种药物的效应;延迟疾病或病症的进展;提高生活品质;和/或延长受试者的存活期。“治疗”还涵盖疾病或病症的病理后果减轻。本发明的方法涵盖这些治疗方面中的任一者或多者。

[0149] 如本文中所使用,术语“个体(individual)”、“受试者(subject)”和“患者”意指任何哺乳动物。实例包括但不限于小鼠、大鼠、仓鼠、天竺鼠、猪、兔、猫、狗、山羊、绵羊、母牛和人。在一些实施方案中,哺乳动物为人。

[0150] 如术语在本文中使用时,“治疗效应”涵盖如本文中所描述的治疗益处和/或预防益处。治疗效应包括延迟或消除疾病或病状的出现;延迟或消除疾病或病状的症状的发作;减缓、阻止或逆转疾病或病状的进展;使疾病或病状部分或完全消退;或其任何组合。

[0151] 如本文中所使用,术语“共施用”、“与……组合施用”和其文法等效物涵盖向包括人的动物施用两种或更多种剂,使得剂和/或其代谢物两者同时存在于受试者中。共施用包括以单独组合物形式同时施用、在不同时间处以单独组合物形式施用或以其中存在两种剂

的组合物形式施用。

[0152] “药学上可接受”是指适用于制备适用于兽医学或人药学用途的药物组合物的化合物、盐、组合物、剂型和其他材料。

[0153] “药学上可接受的盐”包括酸加成盐和碱加成盐两者。

[0154] “药学上可接受的酸加成盐”是指保留游离碱的生物有效性和特性的那些盐,其在生物学或其他方面不是不合乎需要的,并由以下形成:无机酸,诸如但不限于盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等;和有机酸,诸如但不限于乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、海藻酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰胺基苯甲酸、樟脑酸、樟脑-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、柠檬酸、环己胺磺酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙烷磺酸、2-羟基乙烷磺酸、甲酸、富马酸、半乳糖二酸、龙胆酸、葡萄糖庚酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、2-氧代-戊二酸、甘油磷酸、乙醇酸、马尿酸、异丁酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、杏仁酸、甲烷磺酸、粘液酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、丙酸、焦谷氨酸、丙酮酸、柳酸、4-氨基柳酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸、三氟乙酸、十一碳烯酸等。

[0155] “药学上可接受的碱加成盐”是指保留游离酸的生物有效性和特性的那些盐,其在生物学或其他方面不是不合乎需要的。这些盐由无机碱或有机碱与游离酸加成而制备的。衍生自无机碱的盐包括但不限于钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐、铝盐等。优选的无机盐为铵盐、钠盐、钾盐、钙盐和镁盐。衍生自有机碱的盐包括但不限于以下的盐:伯胺、仲胺和叔胺、取代的胺(包括天然存在的取代的胺)、环胺和碱性离子交换树脂,诸如氨、异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、二乙醇胺、乙醇胺、丹醇(deanol)、2-二甲基氨基乙醇、2-二乙基氨基乙醇、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡碱、普鲁卡因(procaine)、海巴胺(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、苯明青霉素(benethamine)、苄星青霉素(benzathine)、乙二胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可豆碱(theobromine)、三乙醇胺、缓血酸胺(tromethamine)、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、多胺树脂等。特别优选的有机碱为异丙胺、二乙胺、乙醇胺、三甲胺、二环己胺、胆碱和咖啡碱。

[0156] 在一些实施方案中,药学上可接受的盐包括季铵盐,诸如季胺烷基卤化物盐(例如,甲基溴)。

[0157] 如本文中所使用,“治疗剂”是指生物学、药学或化学化合物或其他部分。非限制性实例包括简单或复杂的有机分子或无机分子、肽、蛋白质、寡核苷酸、抗体、抗体衍生物、抗体片段、维生素衍生物、碳水化合物、毒素或化学治疗性化合物。可合成各种化合物,例如小分子和低聚物(例如,寡肽和寡核苷酸),以及基于各种核心结构的合成有机化合物。另外,各种天然来源可提供化合物以供筛选,诸如植物或动物提取物等。

[0158] 术语“体内”是指发生在受试者体内的事件。

[0159] 本公开的实施方案还意图涵盖通过使一个或多个原子由具有不同原子质量或质量数的原子替换而经同位素标记的所有药学上可接受的式(I)化合物(即式(I)化合物的“同位素形式”)。可并入式(I)化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟、氯和碘的同位素,分别诸如^{2}H、^{3}H、^{11}C、^{13}C、^{14}C、^{13}N、^{15}N、^{15}O、^{17}O、^{18}O、^{31}P、^{32}P、^{35}S、^{18}F、^{36}Cl、^{123}I和^{125}I。这些放射性标记的化合物可用于帮助测定或测量化合物的有效性,其通过表征例如作用位点或模式或与药理学上重要的作用位点的结合亲和力来进行。某些经同位素标记的式(I)化

合物(例如,并入放射性同位素的那些)适用于药物和/或底物组织分布研究。放射性同位素氚(即^{3}H)和碳-14(即^{14}C)鉴于其易于并入和现成检测手段而尤其适用于此目的。

[0160] 经诸如氘(即^{2}H)的较重同位素取代可提供由较大代谢稳定性产生的某些治疗优势,例如体内半衰期增加或剂量需求降低,并因此在一些情况下为优选的。

[0161] 经诸如^{11}C、^{18}F、^{15}O和^{13}N的正电子发射同位素取代可适用于正电子发射断层摄影术(PET)研究以用于检查底物受体占有率。经同位素标记的式(I)化合物一般可通过本领域的技术人员已知的常规技术或通过与如下文阐述的实施例中所描述的方法类似的方法,使用适当的经同位素标记的试剂代替先前所用的未标记的试剂来制备。

[0162] 某些实施方案还意图涵盖所公开化合物的体内代谢产物。此类产物可例如由所施用化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、酯化等产生,这主要归因于酶促过程。因此,实施方案包括通过包括向哺乳动物施用本公开化合物持续足以产生其代谢产物的时间段的方法而产生的化合物。此类产物通常通过向动物(诸如大鼠、小鼠、天竺鼠、猴)或向人施用可检测剂量的放射性标记的本公开化合物,使代谢进行足够时间并将其转化产物从尿液、血液或其他生物样本分离来鉴别。

[0163] “稳定化合物”和“稳定结构”意图指示足够稳固以经受住从反应混合物中分离至有用纯度并配制成有效治疗剂的化合物。

[0164] 通常结晶产生本公开化合物的溶剂化物。如本文中所使用,术语“溶剂化物”是指包含一个或多个式(I)化合物分子与一个或多个溶剂分子的聚集体。在一些实施方案中,溶剂为水,在此情况下,溶剂化物为水合物。替代地,在其他实施方案中,溶剂为有机溶剂。因此,式(I)化合物可以水合物,包括单水合物、二水合物、半水合物、倍半水合物、三水合物、四水合物等,以及对应溶剂化形式存在。在一些方面,式(I)化合物为真实的溶剂化物,而在其他情况下,本公开化合物仅保留外源水或为水加一些外源溶剂的混合物。

[0165] “任选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情形可能发生或可能不发生,并且所述描述包括所述事件或情形发生的情况和不发生的情况。例如,“任选取代的芳基”意指芳基可能被取代或可能未被取代并且所述描述包括取代的芳基和不具有取代的芳基两者。通过定义具有无限地附加的其他取代基的取代基而获得的聚合物或类似无限结构(例如,具有取代的烷基的取代的芳基,所述取代的烷基本身被取代的芳基取代,所述取代的芳基进一步被取代的杂烷基取代等)并不意图包括在本文中。类似地,以上定义不意图包括不允许的取代模式(例如,经5个氟取代的甲基或具有两个相邻氧环原子的杂芳基)。此类不允许的取代模式为本领域的技术人员所熟知的。

[0166] “药物组合物”或“药学上可接受的组合物”是指本公开化合物和本领域中普遍接受的用于向哺乳动物(例如人)递送生物活性化合物的介质的配制剂。此类介质包括所有其药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂。

[0167] “药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂”包括但不限于任何佐剂、载剂、赋形剂、助滑剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、增香剂、表面活性剂、湿润剂、分散剂、悬浮剂、稳定剂、等张剂、溶剂或乳化剂,其已被美国食品和药物管理局(the United States Food and Drug Administration)批准为对于在人或家畜中使用而言是可接受的。

[0168] 式(I)化合物或其药学上可接受的盐或其同位素形式可含有一个或多个引起几何不对称性的中心,并可因此提供就绝对立体化学而言定义为(R)-或(S)-或定义为氨基酸的

(D)-或(L)-的对映异构体、非对映异构体和其他立体异构形式。实施方案因此包括所有此类可能的异构体,以及其外消旋和光学纯形式。光学活性的(+)和(-)、(R)-和(S)-或(D)-和(L)-异构体可使用手性合成子或手性试剂来制备,或使用常规技术(例如色谱和分步结晶)来拆分。用于制备/分离个别对映异构体的常规技术包括从合适的光学纯的前体进行手性合成或使用例如手性高压液相色谱(HPLC)对外消旋体(或盐或衍生物的外消旋体)进行拆分。当本文中所描述的化合物含有烯系双键或其他几何不对称中心时,除非另外指定,否则意图化合物包括E型几何异构体和Z型几何异构体两者。同样,还意图包括所有互变异构形式。

[0169] "立体异构体"是指由通过相同键键结的相同原子构成但具有不可互换的不同三维结构的化合物。本公开涵盖各种立体异构体和其混合物并且包括"对映异构体",所述对映异构体是指分子为彼此不可重叠的镜像的两种立体异构体。

[0170] "非对映异构体"为具有至少两个不对称原子但彼此不为镜像的立体异构体。

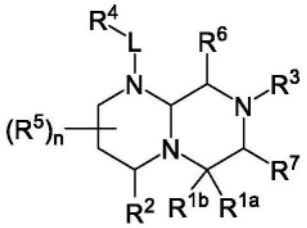
[0171] "互变异构体"是指质子从分子的一个原子转移至同一分子的另一原子。实施方案因此包括所公开化合物的互变异构体。

[0172] 本文中所使用的化学命名方案和结构图为I.U.P.A.C.命名法系统的修改形式,其使用ACD/命名9.07版软件程序和/或ChemDraw Ultra11.0.1版软件命名程序(CambridgeSoft)。对于本文中所采用的复杂化学名称,取代基通常在其所连接的基团之前命名。例如,环丙基乙基包含具有环丙基取代基的乙基主链。除非下文描述,否则在本文化学结构图中鉴别所有键,除一些碳原子上的所有键以外,假定其与足够的氢原子键结以完成价数。

[0173] 尽管本发明的各种特征可描述于单个实施方案的上下文中,但所述特征也可分开或以任何合适的组合形式提供。相反,尽管为了清楚起见,本发明在本文中可在单独的实施方案的上下文中描述,但本发明也可以单个实施方案形式实施。

[0174] 化合物

[0175] 在一个方面,本文提供一种式(I)化合物:

[0176] 

(I)

[0177] 或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体,其中:

[0178] L为直接键、-C(=O)-、$(CR^aR^b)_m$-C(=O)-、-C(=O)-$(CR^aR^b)_m$-或-$(CR^aR^b)_m$-;

[0179] 每个R^a和R^b独立地为H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基或C_2-C_6炔基;

[0180] R^{1a}和R^{1b}独立地为H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6烷氧基、卤代基或C_6-C_{10}芳基烷基;

[0181] R^2为H、氧代基或硫代基;

[0182] R^3为C_2-C_6烷基、C_3-C_6烯基、C_3-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_6环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基

烷基、5至10元杂芳基烷基或5至10元杂环基烷基，

[0183] 其中所述5至10元杂芳基烷基或所述5至10元杂环基烷基含有1-3个选自氮和氧的杂原子；

[0184] R^4为C_6-C_{10}芳基、5至10元杂芳基或5至10元杂环基，

[0185] 其中所述5至10元杂芳基或所述5至10元杂环基含有1-3个选自氮和氧的杂原子；

[0186] 每个R^5独立地为C_1-C_6烷基、氧代基或卤代基；

[0187] R^6为H、C_1-C_6烷基或氧代基；

[0188] R^7为H或氧代基；

[0189] m为1或2；并且

[0190] n为0至3的整数；

[0191] 其中每个C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_{12}环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基、C_6-C_{10}芳基烷基、5至10元杂芳基、5至10元杂芳基烷基、5至10元杂环基和5至10元杂环基烷基任选地被一个至五个选自以下的取代基取代：羟基、卤代基、氨基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6卤烷氧基、氰基、-(C=O)NH_2、硝基、-SO_2(C_1-C_6烷基)和-CO_2H。

[0192] 在一些实施方案中，L为直接键。在一些实施方案中，L为-C(=O)-或-$(CR^aR^b)_m$-。在一些实施方案中，L为-C(=O)-。在一些实施方案中，L为-$(CR^aR^b)_m$-。在一些实施方案中，L为-$(CR^aR^b)_m$-C(=O)-或-C(=O)-$(CR^aR^b)_m$-。在一些实施方案中，L为-$(CR^aR^b)_m$-C(=O)-。在一些实施方案中，L为-C(=O)-$(CR^aR^b)_m$-。

[0193] 在一些实施方案中，每个R^a和R^b独立地为H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基或C_2-C_6炔基。在一些实施方案中，每个R^a和R^b独立地为H、C_1-C_3烷基、C_2-C_4烯基或C_2-C_4炔基。在一些实施方案中，R^a和R^b各自为H。在一些实施方案中，R^a为H。在一些实施方案中，R^a为C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基或丙基。在一些实施方案中，R^a为C_2-C_6烯基，诸如乙烯基或丙烯基。在一些实施方案中，R^a为C_2-C_6炔基，诸如乙炔基或丙炔基。在一些实施方案中，R^b为H。在一些实施方案中，R^b为C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基或丙基。在一些实施方案中，R^b为C_2-C_6烯基，诸如乙烯基或丙烯基。在一些实施方案中，R^b为C_2-C_6炔基，诸如乙炔基或丙炔基。

[0194] 在一些实施方案中，R^{1a}和R^{1b}独立地为H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6烷氧基、卤代基或C_6-C_{10}芳基烷基。在一些实施方案中，R^{1a}为H。在一些实施方案中，R^{1a}为C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基或丙基。在一些实施方案中，R^{1a}为C_2-C_6烯基，诸如乙烯基或丙烯基。在一些实施方案中，R^{1a}为C_2-C_6炔基，诸如乙炔基或丙炔基。在一些实施方案中，R^{1a}为C_1-C_6烷氧基，诸如甲氧基、乙氧基或丙氧基。在一些实施方案中，R^{1a}为卤代基，诸如氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^{1a}为C_6-C_{10}芳基烷基，诸如苄基。在一些实施方案中，R^{1b}为H。在一些实施方案中，R^{1b}为C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基或丙基。在一些实施方案中，R^{1b}为C_2-C_6烯基，诸如乙烯基或丙烯基。在一些实施方案中，R^{1b}为C_2-C_6炔基，诸如乙炔基或丙炔基。在一些实施方案中，R^{1b}为C_1-C_6烷氧基，诸如甲氧基、乙氧基或丙氧基。在一些实施方案中，R^{1b}为卤代基，诸如氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^{1b}为C_6-C_{10}芳基烷基，诸如苄基。

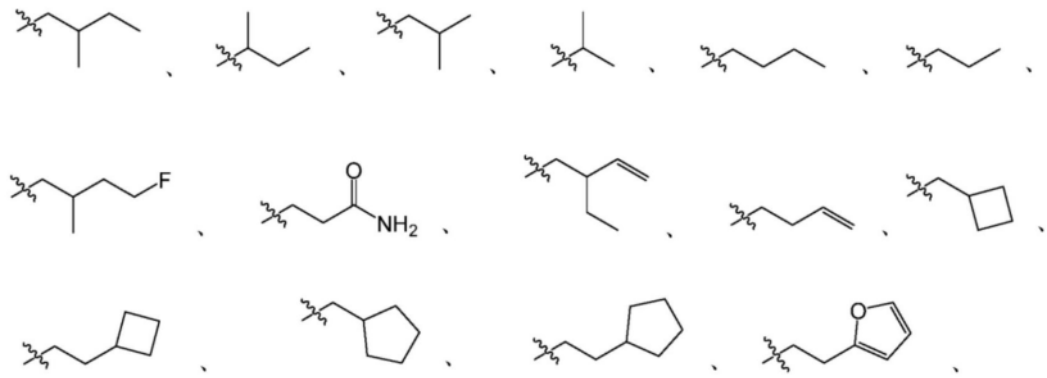
[0195] 在一些实施方案中，R^{1a}和R^{1b}各自独立地为H；任选地被1-3个选自卤代基、-CO_2H和-C(=O)NH_2的取代基取代的C_1-C_6烷基；C_1-C_6烷氧基；卤代基；或任选地被1-3个选自卤代基和氨基的取代基取代的C_6-C_{10}芳基烷基。在一些实施方案中，R^{1a}为被1-3个卤代基(诸如氟或氯)取代的C_1-C_6烷基。在一些实施方案中，R^{1a}为被1-3个-CO_2H基团取代的C_1-C_6烷基。在一些

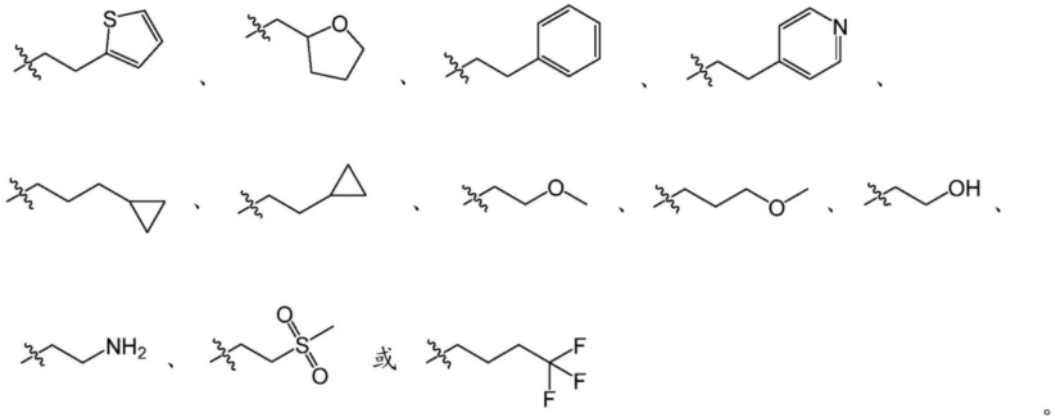
变化形式中,R^{1a}为被1-2个CO_2H基团(诸如-CH_2CO_2H或-$CH_2CH_2CO_2H$)取代的C_1-C_3烷基。在一些实施方案中,R^{1a}为被1-3个-C(=O)NH_2基团取代的C_1-C_6烷基。在一些实施方案中,R^{1a}为被1-2个-C(=O)NH_2基团(诸如-CH_2C(=O)NH_2或-CH_2CH_2C(=O)NH_2)取代的C_1-C_3烷基。在一些实施方案中,R^{1a}为被1-3个选自卤代基和氨基的取代基取代的C_6-C_{10}芳基烷基。在一些实施方案中,R^{1a}为被1-3个卤代基(诸如氟、氯或溴)取代的C_6-C_{10}芳基烷基。在一些实施方案中,R^{1a}为被1-3个氨基取代的C_6-C_{10}芳基烷基。在一些实施方案中,R^{1b}为被1-3个卤代基(诸如氟或氯)取代的C_1-C_6烷基。在一些实施方案中,R^{1b}为被1-3个-CO_2H基团取代的C_1-C_6烷基。在一些变化形式中,R^{1b}为被1-2个CO_2H基团(诸如-CH_2CO_2H或-$CH_2CH_2CO_2H$)取代的C_1-C_3烷基。在一些实施方案中,R^{1b}为被1-3个-C(=O)NH_2基团取代的C_1-C_6烷基。在一些实施方案中,R^{1b}为被1-2个-C(=O)NH_2基团(诸如-CH_2C(=O)NH_2或-CH_2CH_2C(=O)NH_2)取代的C_1-C_3烷基。在一些实施方案中,R^{1b}为被1-3个选自卤代基和氨基的取代基取代的C_6-C_{10}芳基烷基。在一些实施方案中,R^{1b}为被1-3个卤代基(诸如氟、氯或溴)取代的C_6-C_{10}芳基烷基。在一些实施方案中,R^{1b}为被1-3个氨基取代的C_6-C_{10}芳基烷基。在一些实施方案中,R^{1a}和R^{1b}各自独立地为H、甲基、氟、2-甲基丁基、-CH_2F、甲氧基、-CH_2CO_2H、-CH_2C(=O)NH_2、苄基或4-氨基苄基。在一些实施方案中,R^{1a}和R^{1b}各自独立地为H或C_1-C_3烷基。在一些实施方案中,R^{1a}为甲基并且R^{1b}为H。在一些实施方案中,R^{1a}和R^{1b}各自为H。在一些实施方案中,R^{1a}和R^{1b}中的一个为H并且另一个为C_1-C_3烷基,诸如甲基。

[0196] 在一些实施方案中,R^2为H、氧代基或硫代基。在一些实施方案中,R^2为H。在一些实施方案中,R^2为氧代基。在一些实施方案中,R^2为硫代基。

[0197] 在一些实施方案中,R^3为C_3-C_6烷基、C_3-C_6烯基、C_3-C_6炔基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_6环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基烷基、5至10元杂芳基烷基或5至10元杂环基烷基,其中所述5至10元杂芳基烷基或5至10元杂环基烷基含有1-3个选自氮和氧的杂原子。在一些实施方案中,R^3为C_3-C_6烷基,诸如丙基、丁基、戊基或己基。在一些实施方案中,R^3为C_4-C_6烷基。在一些实施方案中,R^3为C_3-C_6烯基。在一些实施方案中,R^3为C_4-C_6烯基。在一些实施方案中,R^3为C_3-C_6炔基。在一些实施方案中,R^3为C_4-C_6炔基。在一些实施方案中,R^3为C_3-C_{12}环烷基,诸如环丙基、环丁基、环戊基或环己基。在一些实施方案中,R^3为C_3-C_6环烷基。在一些实施方案中,R^3为C_3-C_6环烷基烷基,诸如-$(CH_2)_{1-3}$(C_3-C_6环烷基)。在一些实施方案中,R^3为C_6-C_{10}芳基烷基,诸如苄基。在一些实施方案中,R^3为5至10元杂芳基烷基,诸如-$(CH_2)_{1-3}$(5至10元杂芳基)或-$(CH_2)_{1-3}$(5至6元杂芳基)。在一些实施方案中,5至10元杂芳基烷基含有1-2个氮原子。在一些实施方案中,R^3为5至10元杂环基烷基,诸如-$(CH_2)_{1-3}$(5至10元杂环基)或-$(CH_2)_{1-2}$(5至6元杂环基)。在一些实施方案中,5至10元杂环基烷基含有1-2个氮原子。

[0198] 在一些实施方案中,R^3为任选地被1-3个选自卤代基和-C(=O)NH_2的取代基取代的C_3-C_6烷基、C_2-C_6烯基或C_3-C_6环烷基烷基。在一些实施方案中,R^3为任选地被1-3个选自卤代基、C_1-C_3烷氧基、羟基、-NH_2、-SO_2(C_1-C_3烷基)和-C(=O)NH_2的取代基取代的C_2-C_6烷基;C_2-C_6烯基;C_3-C_6环烷基烷基;5至6元杂芳基烷基;5至6元杂环基烷基;或C_6芳基烷基。在一些实施方案中,R^3为被1-3个选自C_1-C_3烷氧基、羟基、-NH_2和-SO_2(C_1-C_3烷基)的取代基取代的C_2烷基。在一些实施方案中,R^3为:

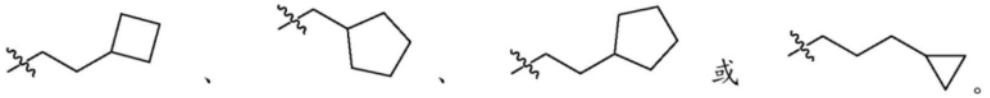


[0199] 

[0200] 在一些实施方案中,R^3为:



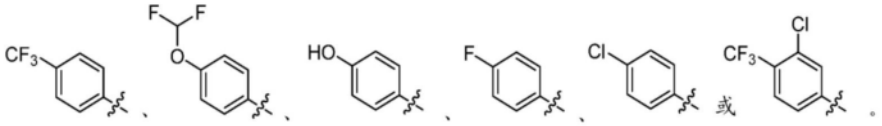
[0201]



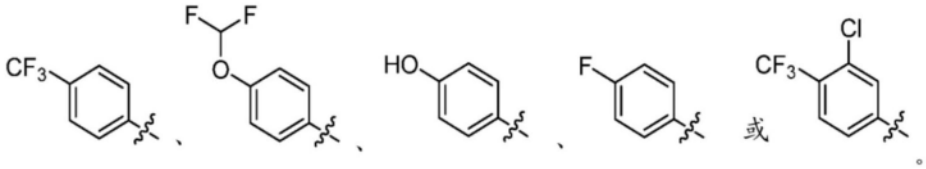
[0202] 在一些实施方案中,R^3为2-甲基丁基。

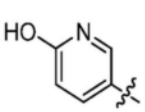
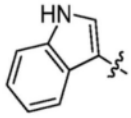
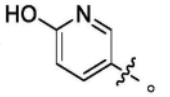
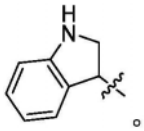
[0203] 在一些实施方案中,R^4为C_6-C_{10}芳基、5至10元杂芳基或5至10元杂环基,其中所述5至10元杂芳基或5至10元杂环基含有1-3个选自氮和氧的杂原子。在一些实施方案中,R^4为C_6-C_{10}芳基,诸如苯基。在一些实施方案中,R^4为含有1-2个氮原子的5至10元杂芳基。在一些实施方案中,R^4为5至10元杂环基。在一些实施方案中,R^4为含有1-2个氮原子的5至9元杂环基。在一些实施方案中,R^4为含有1-2个氧原子的5至9元杂环基。在一些实施方案中,R^4为含有1个氮原子和1个氧原子的5至9元杂环基。

[0204] 在一些实施方案中,R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的C_6-C_{10}芳基。在一些实施方案中,R^4为被1-3个选自-CF_3、-$OCHF_2$、-OH、氟和氯的取代基取代的苯基。在一些实施方案中,R^4为:

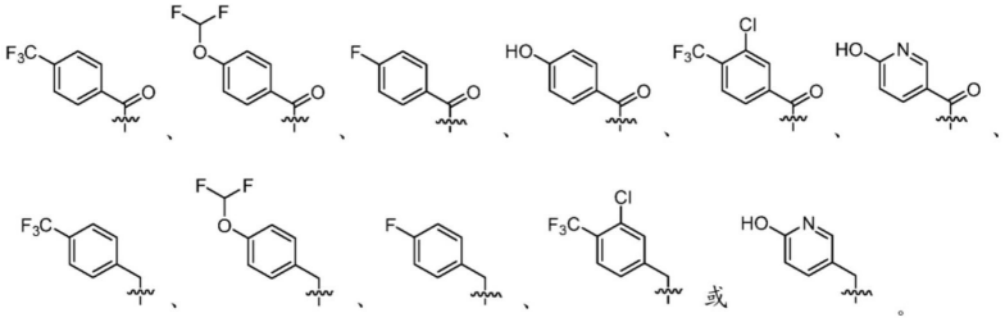
[0205] 

[0206] 在一些实施方案中,R^4为:

[0207] 

[0208] 在一些实施方案中,R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的5至10员杂芳基。在一些实施方案中,R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的吡啶基或吲哚基。在一些实施方案中,R^4为或。在一些实施方案中,R^4为被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的吡啶基。在一些实施方案中,R^4为。在一些实施方案中,R^4为任选地被1-3个选自卤代基、羟基、C_1-C_6卤烷基和C_1-C_6卤烷氧基的取代基取代的5至10员杂环基。在一些实施方案中,R^4为吲哚啉基。。

[0209] 在一些实施方案中,-L-R^4为-CH_2(苯基)或-C(O)(苯基),其中苯基被1-3个选自C_1-C_3卤烷基、C_1-C_3卤烷氧基、卤代基和羟基的取代基取代。在一些实施方案中,-L-R^4为-CH_2(吡啶基)或-C(O)(吡啶基),其中吡啶基被1-3个选自C_1-C_3卤烷基、C_1-C_3卤烷氧基、卤代基和羟基的取代基取代。在一些实施方案中,-L-R^4为:

[0210] 

[0211] 在一些实施方案中,每个R^5独立地为C_1-C_6烷基、氧代基或卤代基。在一些实施方案中,R^5为C_1-C_6烷基,诸如甲基、乙基或丙基。在一些实施方案中,R^5为氧代基。在一些实施方案中,R^5为卤代基,诸如氟、氯或溴。在一些实施方案中,R^5为氧代基或卤代基。在一些实施方案中,R^5为氧代基或氟。

[0212] 在一些实施方案中,R^6为H、C_1-C_6烷基或氧代基。在一些实施方案中,R^6为H。在一些实施方案中,R^6为C_1-C_6烷基,诸如甲基、乙基或丙基。在一些实施方案中,R^6为氧代基。

[0213] 在一些实施方案中,R^7为H或氧代基。在一些实施方案中,R^7为H。在一些实施方案中,R^7为氧代基。

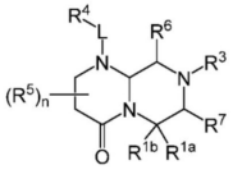
[0214] 在一些实施方案中,m为1。在其他实施方案中,m为2。

[0215] 在一些实施方案中,n为0。在其他实施方案中,n为1至3的整数。在一些实施方案中,n为1。在一些实施方案中,n为2。在一些实施方案中,n为3。

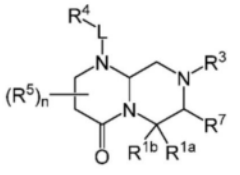
[0216] 在式(I)的任何实施方案或其变化形式中,每个C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、

C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_{12}环烷基烷基、C_6-C_{10}芳基、C_6-C_{10}芳基烷基、5至10元杂芳基、5至10元杂芳基烷基、5至10元杂环基和5至10元杂环基烷基任选地被一个至三个选自以下的取代基取代:羟基、卤代基(诸如氟、氯或溴)、氨基、C_1-C_6卤烷基(诸如-CF_3或-CHF_2)、C_1-C_6烷氧基(诸如甲氧基或乙氧基)、C_1-C_6卤烷氧基(诸如-$OCHF_2$或-OCF_3)和-(C=O)NH_2。

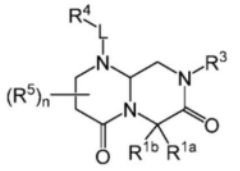
[0217] 在一个实施方案中,式(I)化合物为式(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)或(IIe)化合物:



(II)

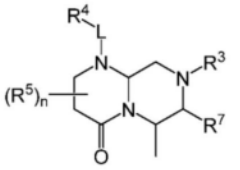


(IIa)

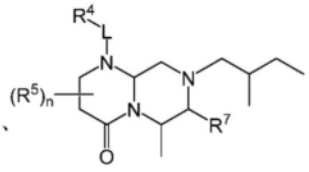


(IIb)

[0218]

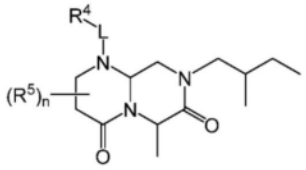


(IIc)



(IId)

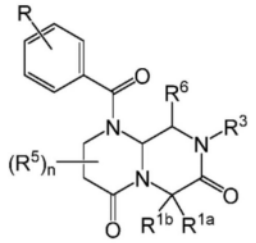
或



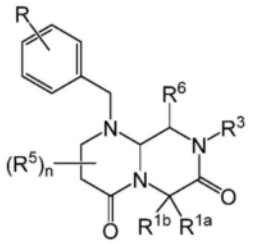
(IIe)

[0219] 或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体,其中L、R^{1a}、R^{1b}、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7和n如针对式(I)所描述的。在一些实施方案中,化合物为式(II)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中,化合物为式(IIa)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中,化合物为式(IIb)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中,化合物为式(IIc)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中,化合物为式(IId)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中,化合物为式(IIe)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0220] 在一个实施方案中,式(I)化合物为式(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)或(IIId)化合物:

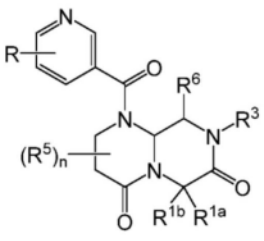


(IIIa)



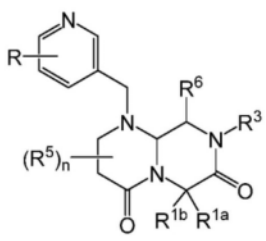
(IIIb)

[0221]



(IIIc)

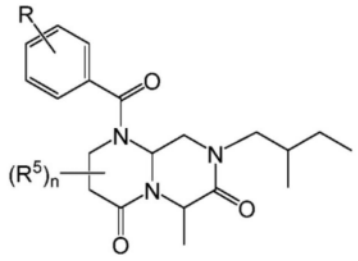
或



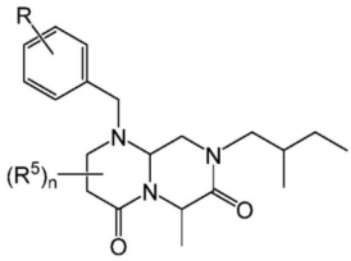
(IIId)

[0222] 或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体，其中R^{1a}、R^{1b}、R^3、R^5、R^6和n如针对式(I)所描述的，并且R代表一个或多个任选取代基，诸如羟基、卤代基、氨基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基，如针对式(I)所描述的。在一些实施方案中，化合物为式(IIIa)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中，化合物为式(IIIb)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中，化合物为式(IIIc)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中，化合物为式(IIId)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0223] 在一个实施方案中，式(I)化合物为式(IVa)、(IVb)、(IVc)或(IVd)化合物：

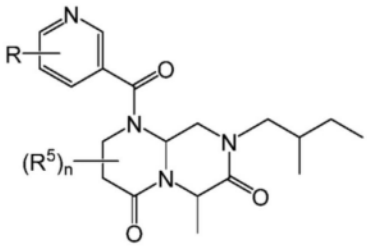


(IVa)、

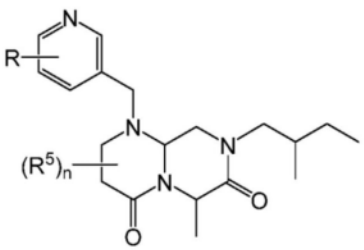


(IVb)、

[0224]



(IVc) 或



(IVd)

[0225] 或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体，其中R^5和n如针对式(I)所描述的，并且R代表一个或多个任选取代基，诸如羟基、卤代基、氨基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基，如针对式(I)所描述的。在一些实施方案中，化合物为式(IVa)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中，化合物为式(IVb)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中，化合物为式(IVc)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中，化合物为式(IVd)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0226] 在一个实施方案中，式(I)化合物为式(V)化合物：

[0227]



[0228] (V)

[0229] 或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体，其中L、R^{1a}、R^{1b}、R^3和R^4如针对式(I)所描述的。在一些实施方案中，L为-C(=O)-或-CH_2-；R^{1a}和R^{1b}独立地为H或任选地被-

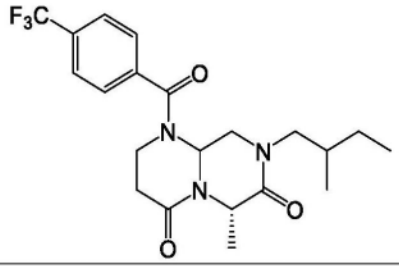
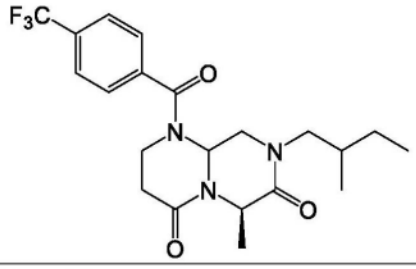
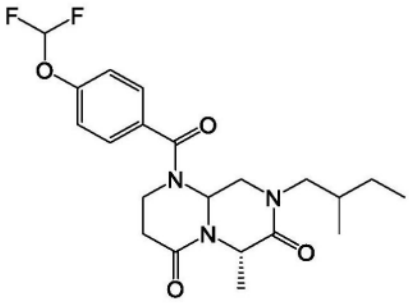
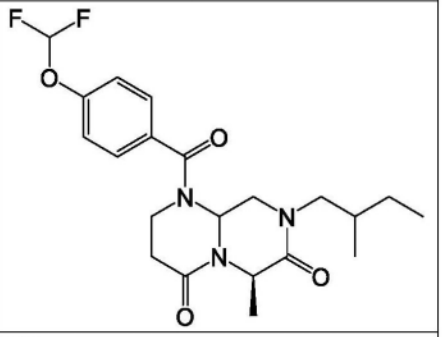
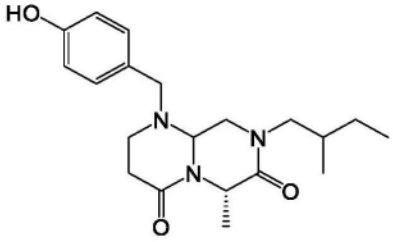
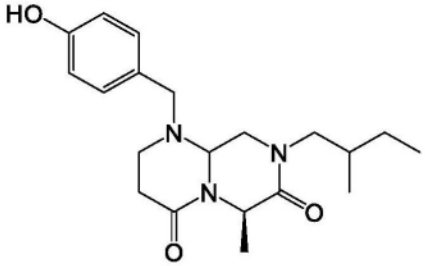
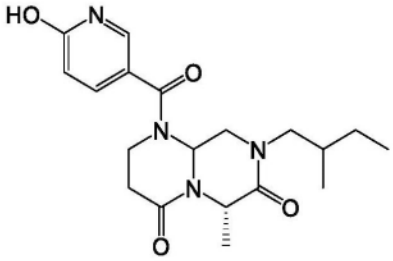
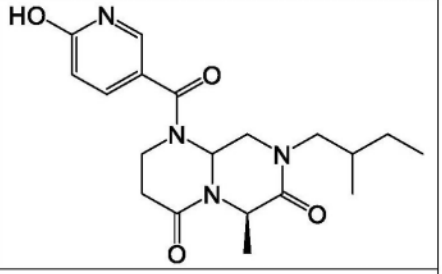
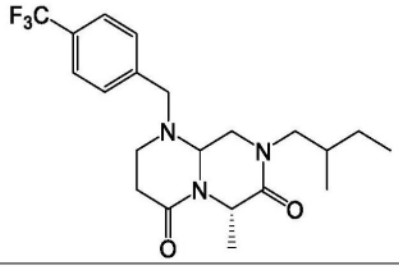
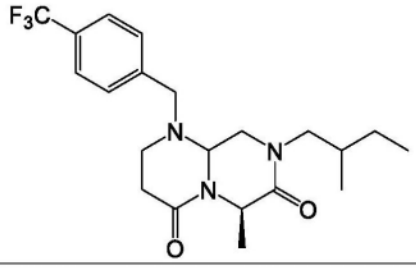
CO_2H取代的C_1-C_3烷基;R^3为C_4-C_5烷基、C_4-C_5烯基或C_1-C_3烷基,任选地被C_3-C_5环烷基取代;并且R^4为被1-3个选自-CF_3、-$OCHF_2$、-OH、氟和氯的取代基取代的苯基或吡啶基。在一些变化形式中,R^{1a}和R^{1b}中的一个为H,并且另一个为C_1-C_3烷基,诸如甲基。

[0230] 在本文中的描述中,应理解,一部分的每个描述、变化形式、实施方案或方面可与其他部分的每个描述、变化形式、实施方案或方面组合,如同特定并个别地列出描述的每一个组合一般。例如,本文中关于式(I)的L提供的每个描述、变化形式、实施方案或方面可与R^{1a}、R^{1b}、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7和n的每个描述、变化形式、实施方案或方面组合,如同特定并个别地列出每一个组合一般。亦应理解,适用时,式(I)的所有描述、变化形式、实施方案或方面同样适用于本文中详述的其他式,并同等地进行描述,如同针对所有式单独并个别地列出每一个描述、变化形式、实施方案或方面一般。例如,适用时,式(I)的所有描述、变化形式、实施方案或方面同样适用于本文中详述的式中的任一者,诸如式(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIe)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)、(IIId)、(IVa)、(IVb)、(IVc)、(IVd)和(V),并同等地进行描述,如同针对所有化学式单独并个别地列出每一个描述、变化形式、实施方案或方面一般。

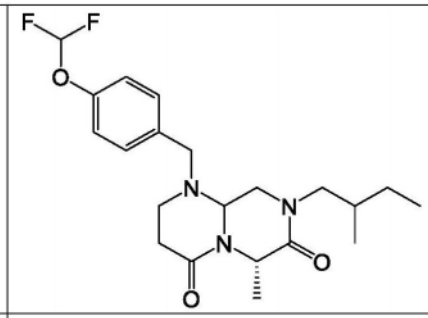
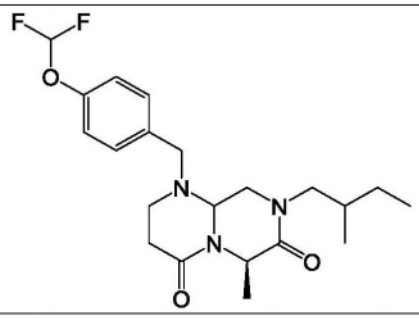
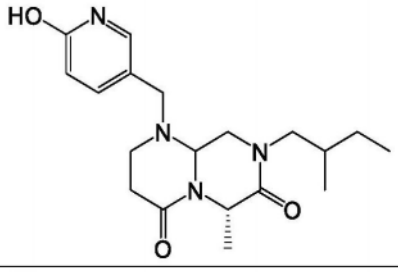
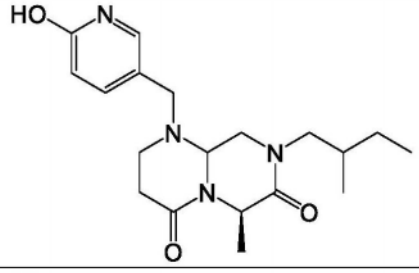
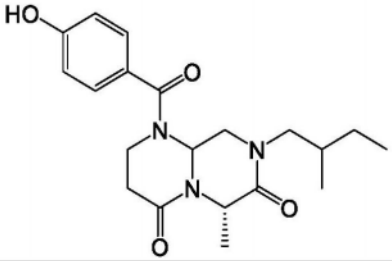
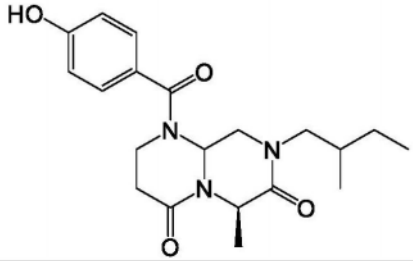
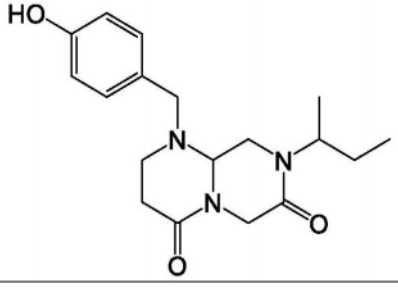
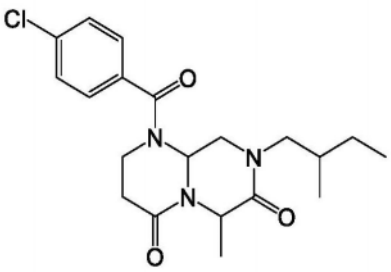
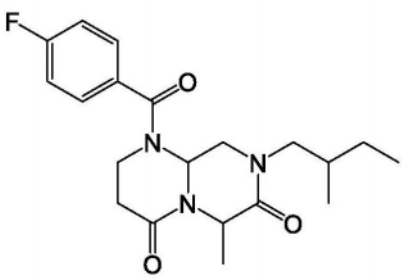
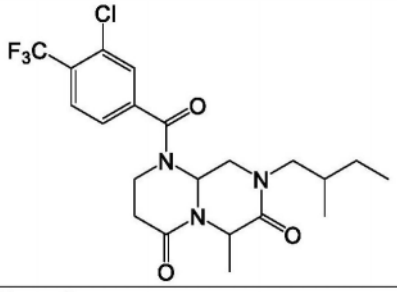
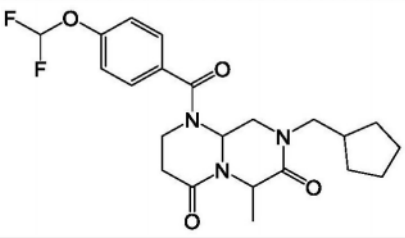
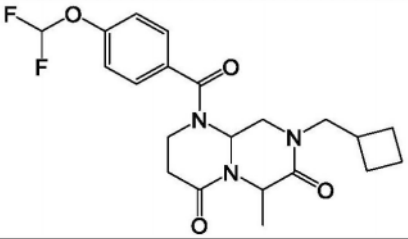
[0231] 在一些实施方案中,提供选自表1中的化合物的化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。尽管本公开中所描述的某些化合物(包括表1中的化合物)呈现为特定立体异构体和/或非立体化学形式,但应理解,本文中描述本公开的化合物(包括表1中的化合物)中的任一者的任何或所有立体化学形式(包括任何对映异构或非对映异构形式)和任何互变异构体或其他形式。

[0232] 表1.

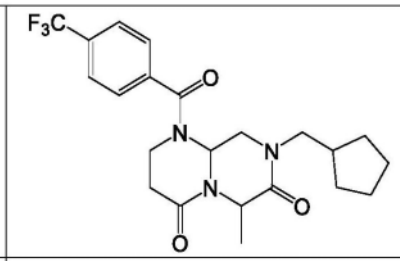
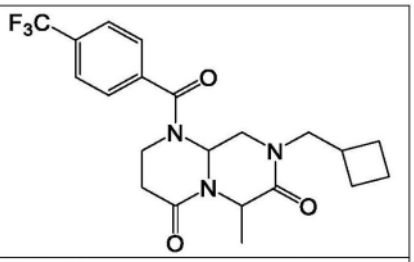
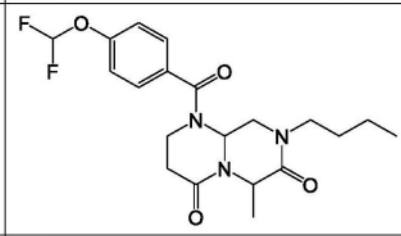
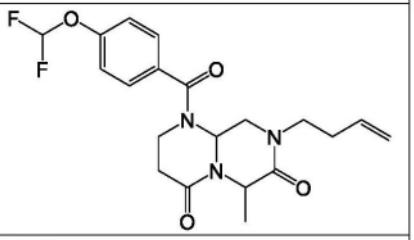
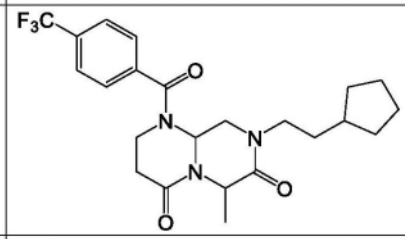
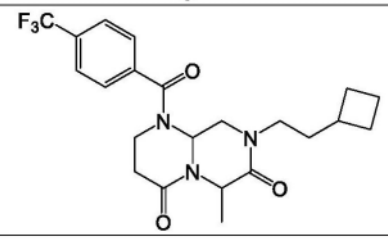
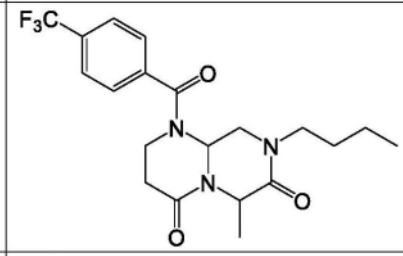
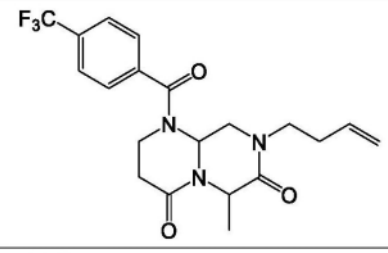
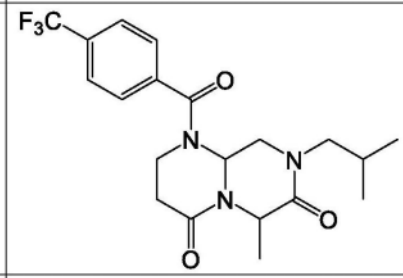
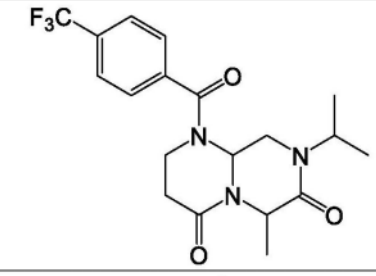
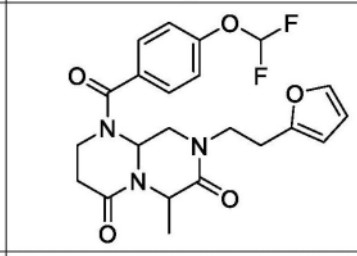
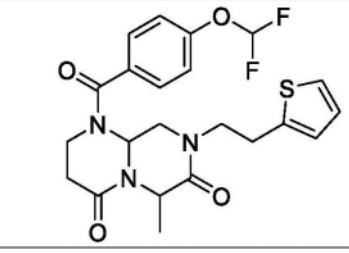
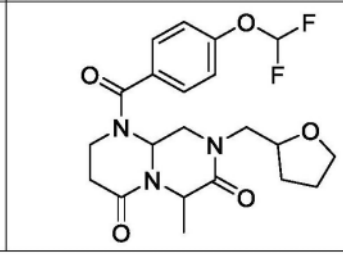
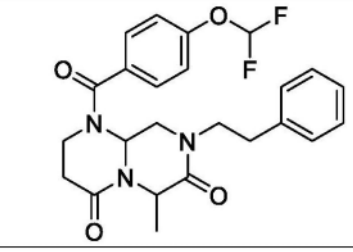
[0233]

化合物	结构	化合物	结构
1a		1b	
2a		2b	
3a		3b	
4a		4b	
5a		5b	

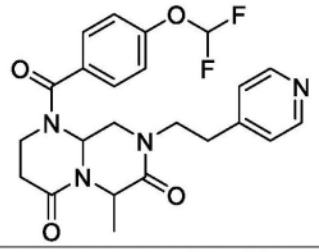
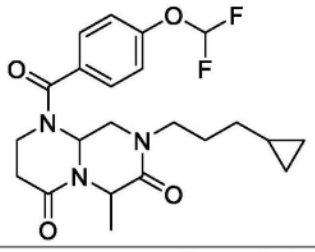
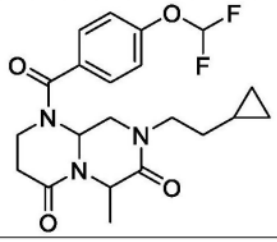
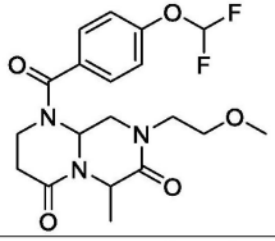
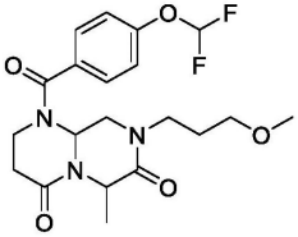
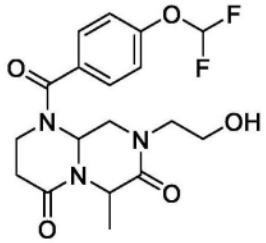
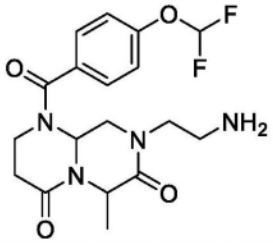
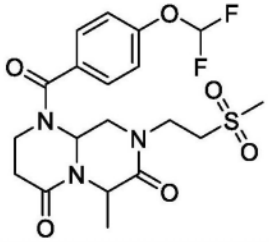
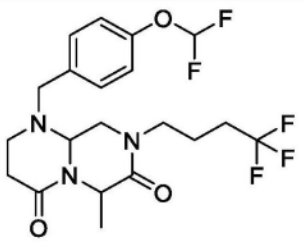
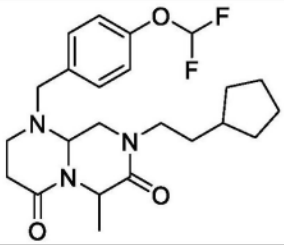
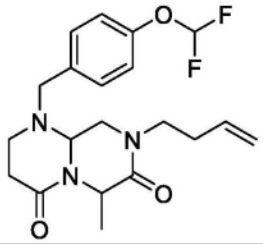
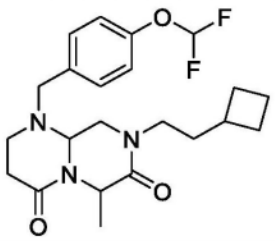
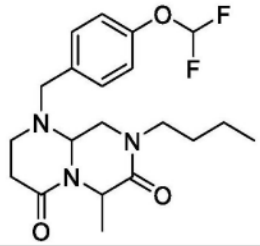
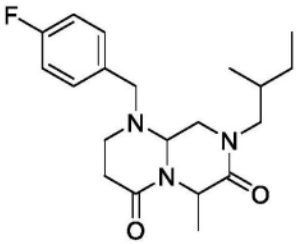
[0234]

6a		6b	
7a		7b	
8a		8b	
9		10	
11		12	
13		14	

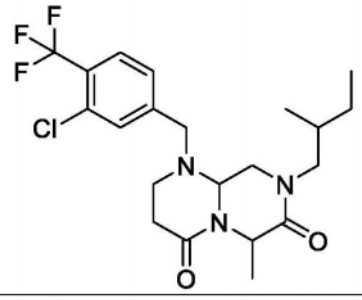
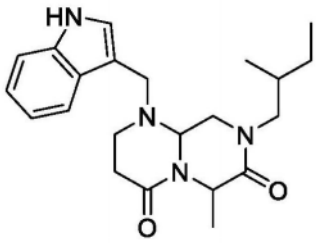
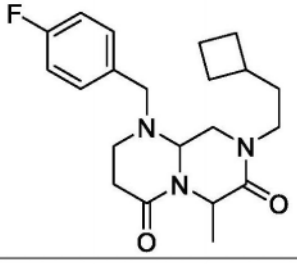
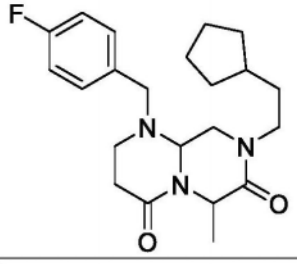
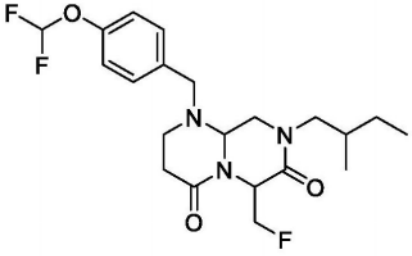
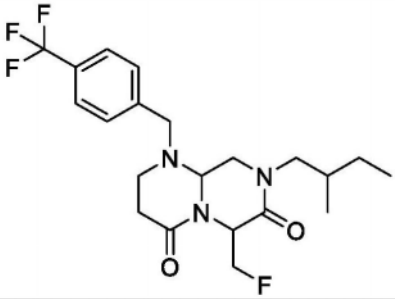
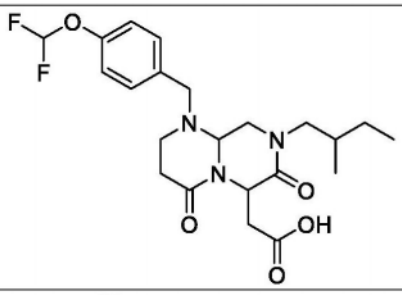
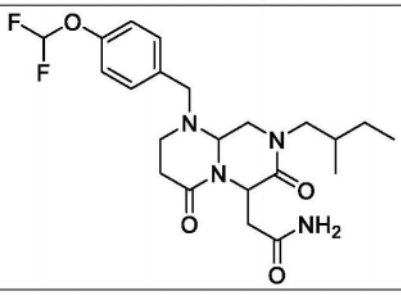
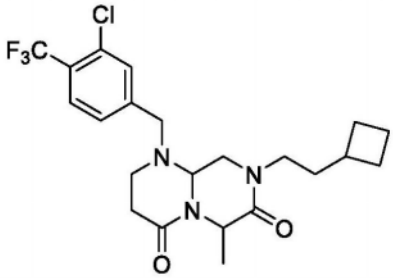
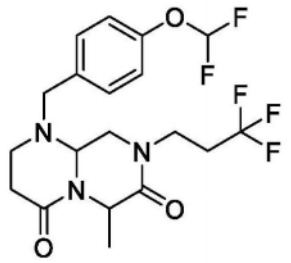
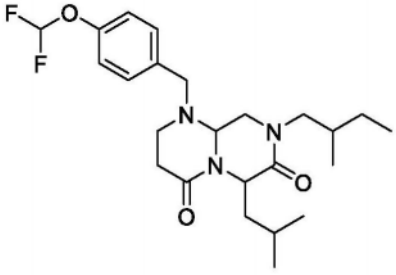
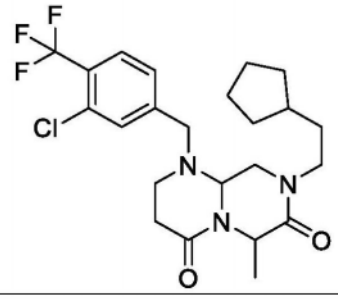
[0235]

15		16	
17		18	
19		20	
21		22	
23		24	
25		26	
27		28	

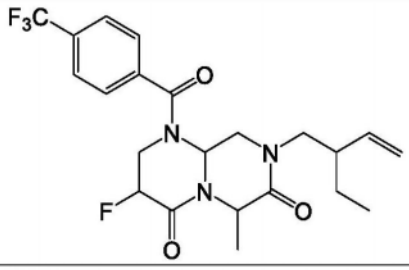
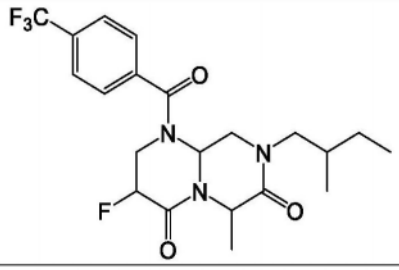
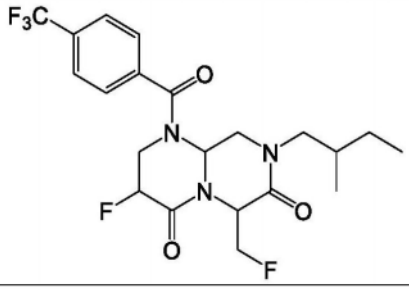
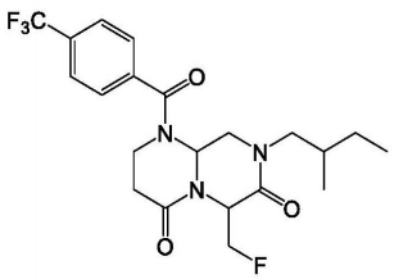
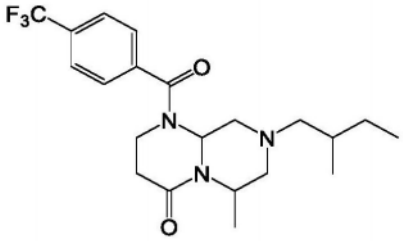
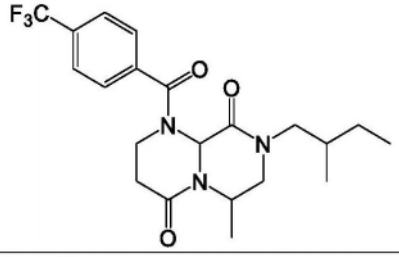
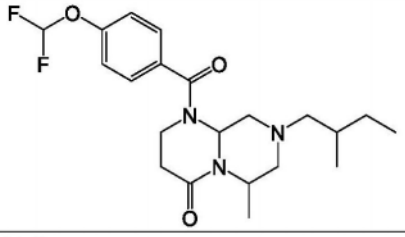
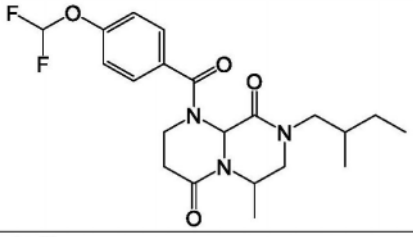
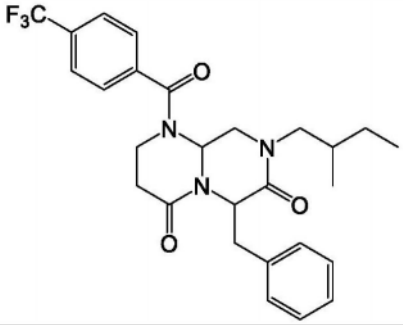
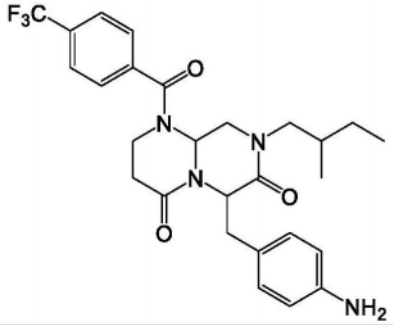
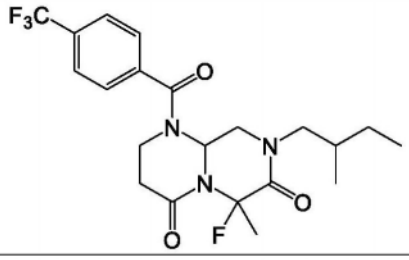
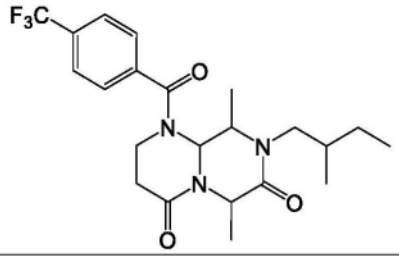
[0236]

29		30	
31		32	
33		34	
35		36	
37		38	
39		40	
41		42	

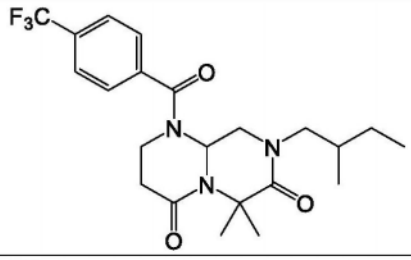
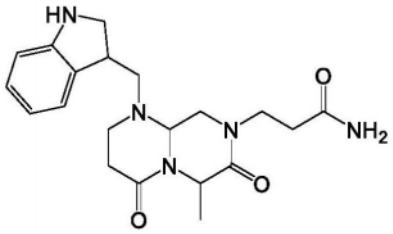
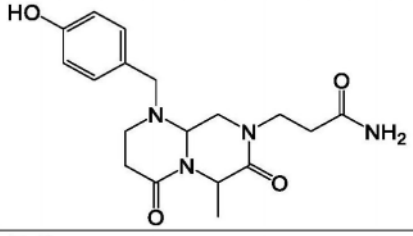
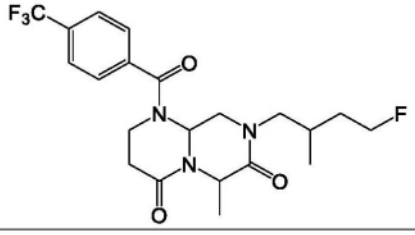
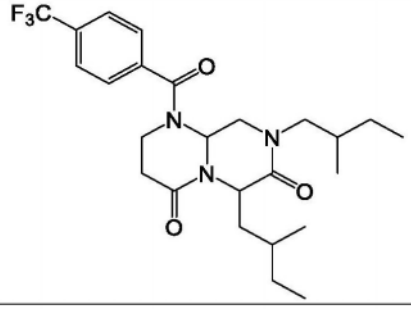
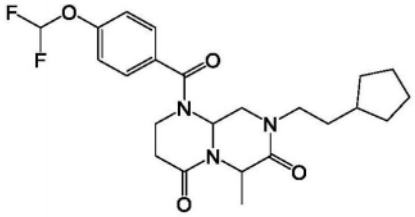
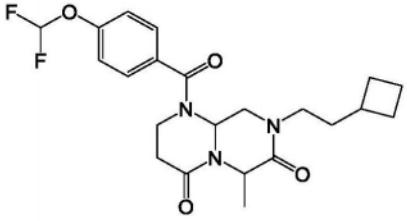
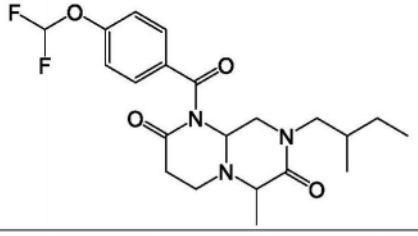
[0237]

43		44	
45		46	
47		48	
49		50	
51		52	
53		54	

[0238]

55		56	
57		58	
59		60	
61		62	
63		64	
65		66	

[0239]

67		68	
69		70	
71		72	
73		74	

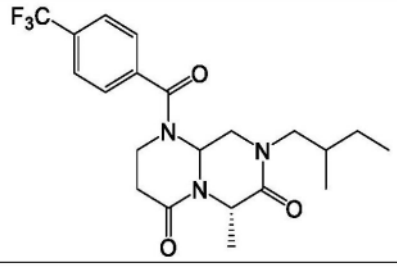
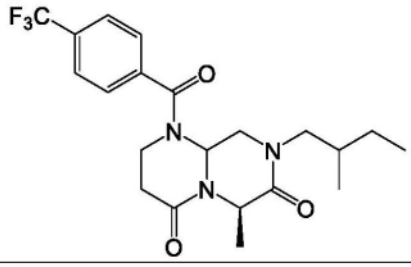
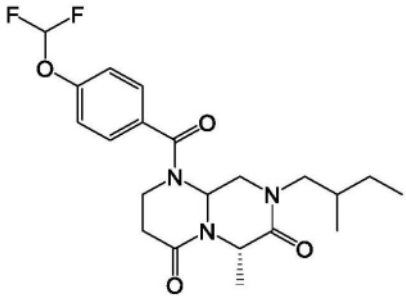
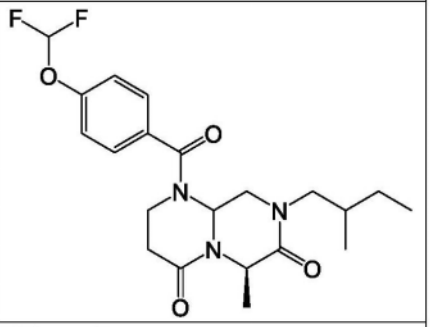
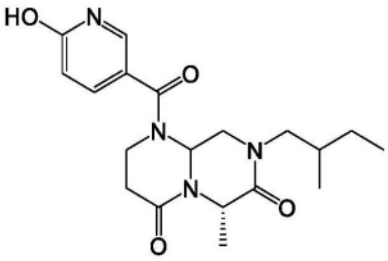
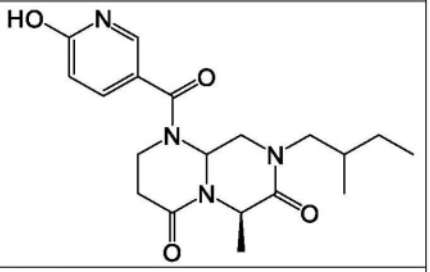
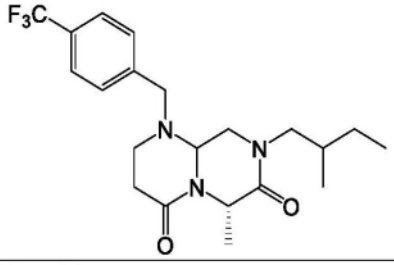
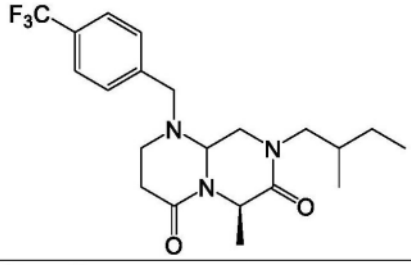
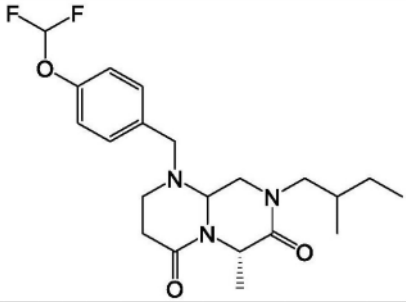
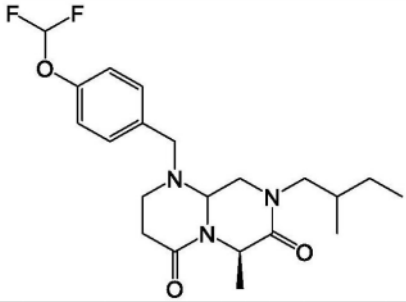
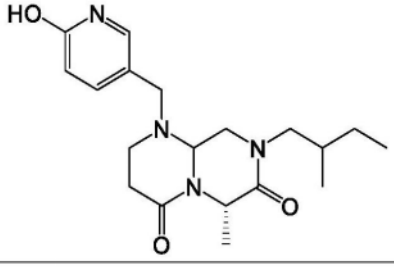
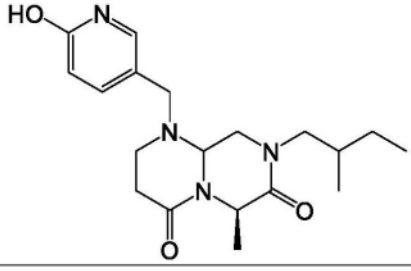
[0240] 或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0241] 在一些实施方案中,式(I)化合物不为化合物3a、3b、9、10、13、15、16、18、21、23-29、31-41、43-48、50、52或54。

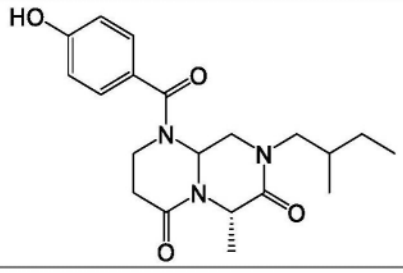
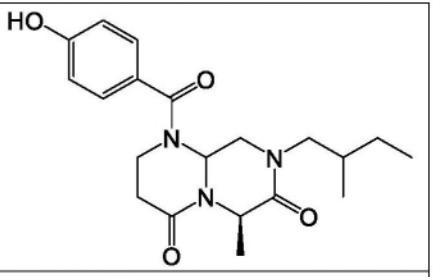
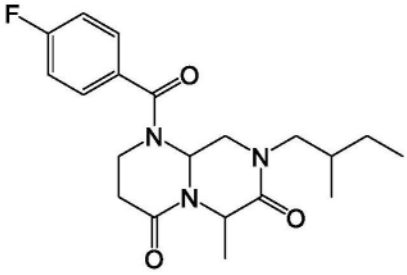
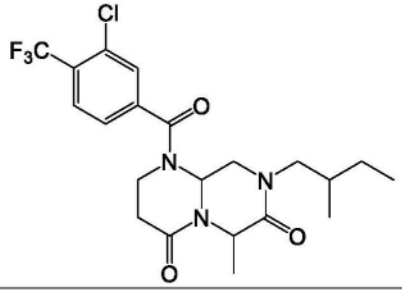
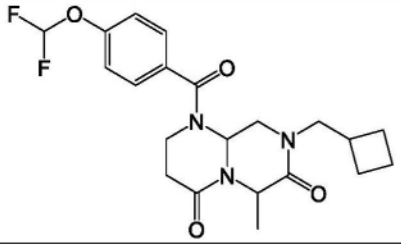
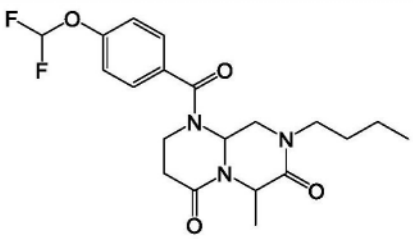
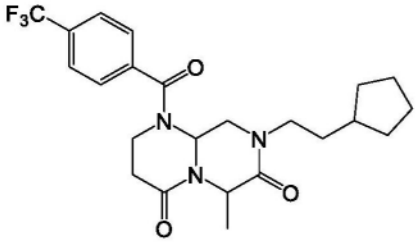
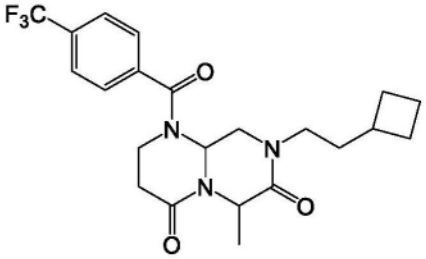
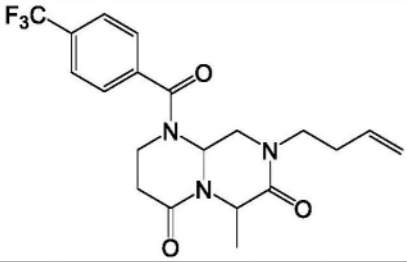
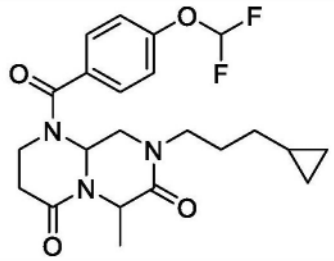
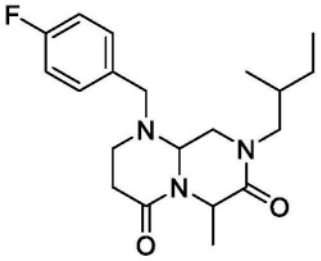
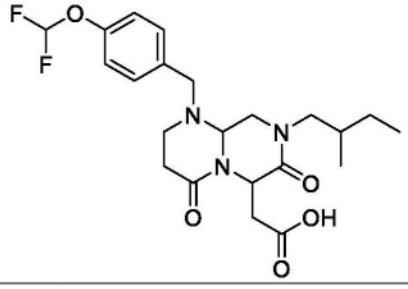
[0242] 在一些实施方案中,提供选自表1A中的化合物的化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。尽管本公开中所描述的某些化合物(包括表1A中的化合物)呈现为特定立体异构体和/或非立体化学形式,但应理解,本文中描述本公开的化合物(包括表1A中的化合物)中的任一者的任何或所有立体化学形式(包括任何对映异构或非对映异构形式)和任何互变异构体或其他形式。

[0243] 表1A.

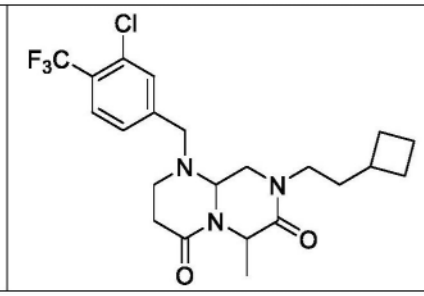
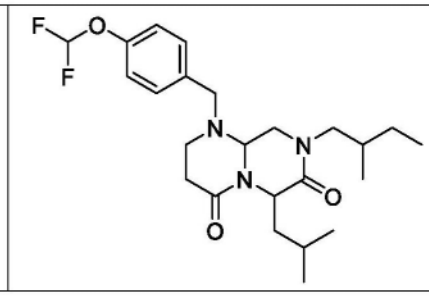
[0244]

化合物	结构	化合物	结构
1a		1b	
2a		2b	
4a		4b	
5a		5b	
6a		6b	
7a		7b	

[0245]

8a		8b	
11		12	
14		17	
19		20	
22		30	
42		49	

[0246]

51		53	

[0247] 或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

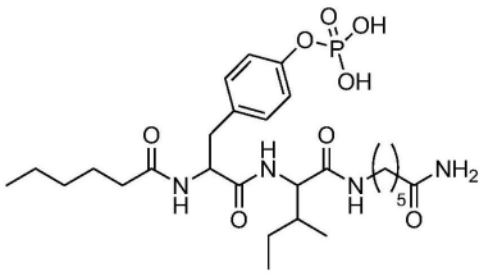
[0248] 应理解,在本说明书中,所描绘化学式的取代基和/或变量的组合仅当此类作用产生稳定化合物时才容许。

[0249] 此外,以游离碱或游离酸形式存在的所有式(I)化合物可通过本领域的技术人员已知的方法通过用适当无机碱或有机碱或者无机酸或有机酸处理而转换为其药学上可接受的盐。式(I)化合物的盐可通过标准技术转换为其游离碱或游离酸形式。

[0250] 福戈尼酮(Fosgonimeton)和相关化合物

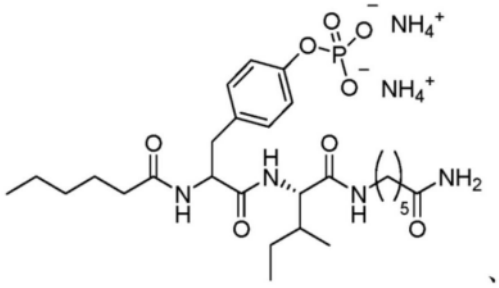
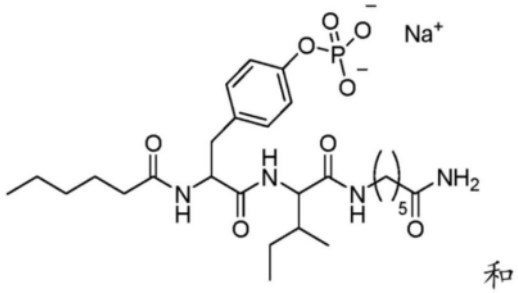
[0251] 福戈尼酮是一种前药,其在皮下注射后在血浆中迅速转化为活性药物ATH-1001(Dihexa;参见US2014/0094413)。活性药物ATH-1001充当肝生长因子(HGF)受体及其酪氨酸激酶MET受体系统的正调节剂。

[0252] 福戈尼酮为化合物A19的药学上可接受的盐:

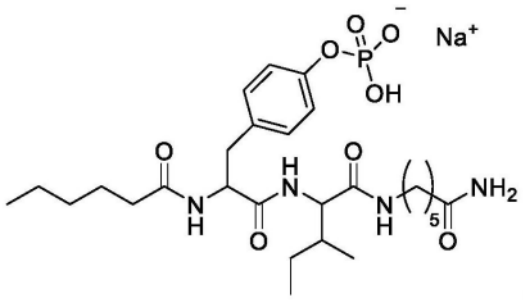
[0253] 

A19。

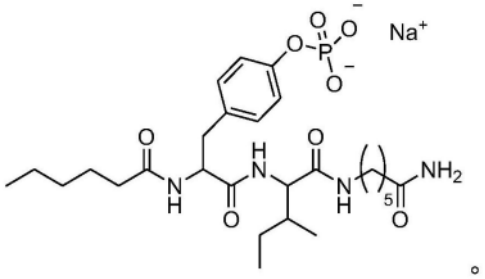
[0254] 化合物A19的非限制性示例性药学上可接受的盐包括:

、和

[0255]

。

[0256] 除非另外说明,福戈尼酮是指化合物A19的单钠盐,如下所示:

[0257] 

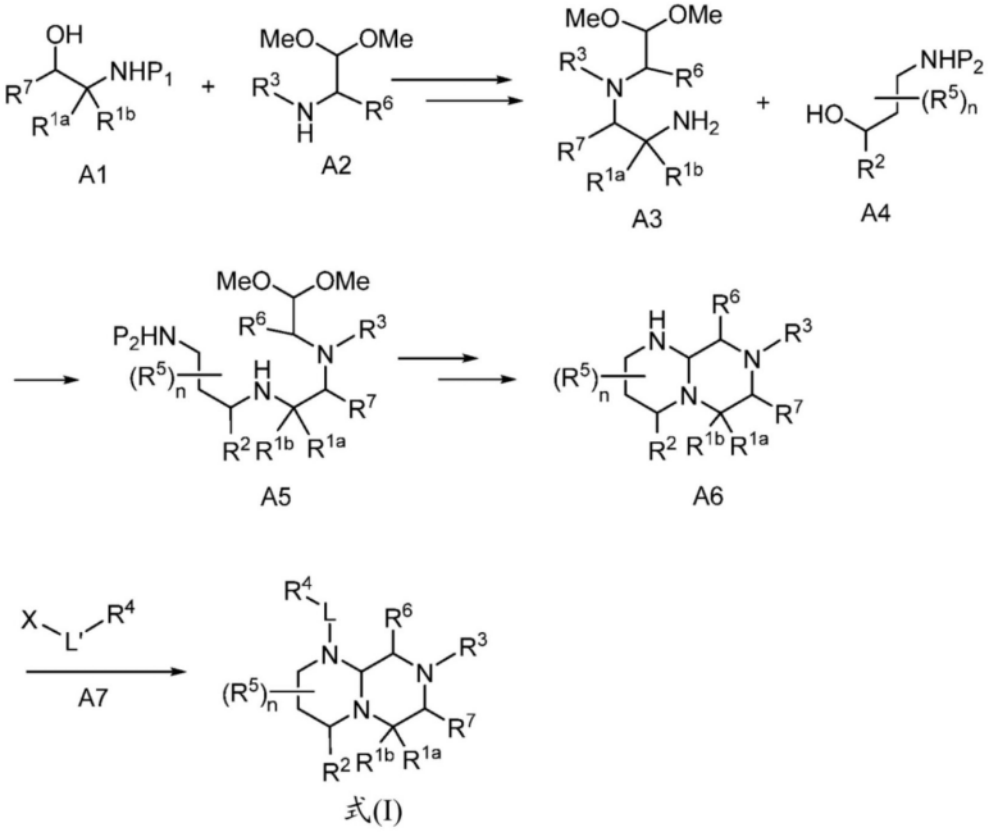
[0258] 化合物A19及其药学上可接受的盐、同位素形式和立体异构体(包括福戈尼酮)可使用本领域的技术人员已知的方法(诸如PCT公开号WO 2017/210489 A1中所述的方法)合成和表征。

[0259] 在一些实施方案中,福戈尼酮被配制用于皮下施用。

[0260] 合成方法

[0261] 式(I)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体可通过使用本领域已知的有机化学合成方法来制备。一般而言,起始组分可从诸如Sigma Aldrich、Lancaster Synthesis,Inc.、Maybridge、Matrix Scientific、TCI和Fluorochem USA等来源获得或根据本领域的技术人员已知的来源合成(参见例如,Advanced Organic Chemistry:Reactions,Mechanisms,and Structure,第5版(Wiley,2000年12月))或如本文中所描述制备。

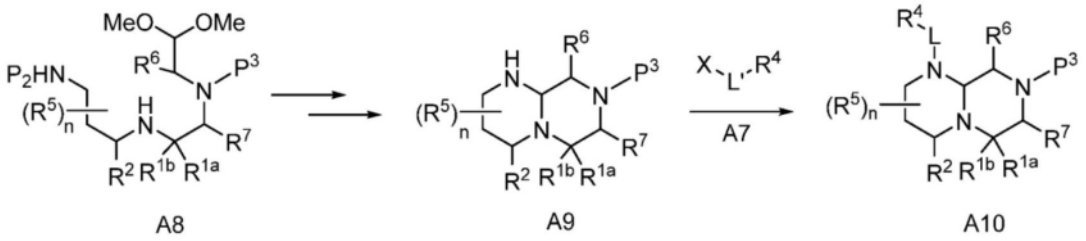
[0262] 通用反应方案1.

[0263] 

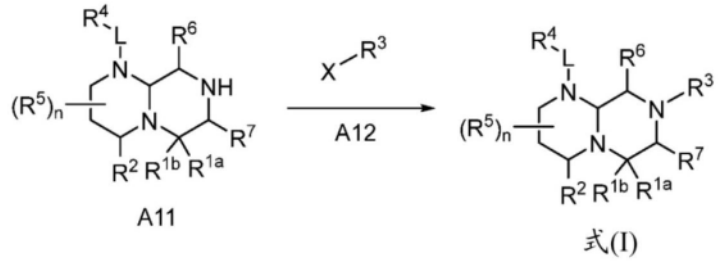
[0264] 通用反应方案1提供用于制备式(I)化合物的示例性方法。通用反应方案1中的R^{1a}、R^{1b}、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、L和n如本文中所定义。X为促进所需反应的所选反应性部分(例如,卤

代基)。P_1和P_2为合适的保护基。选择L'以使得所需L部分由L'-R^4与仲胺之间的反应产生。购买或根据本领域已知的方法来制备结构A1的化合物。在适当偶合条件(例如,T_3P和碱)下A1与A2的反应产生A1与A2、A3之间的偶合反应的产物。然后将A3在合适的偶合条件(例如,T_3P和碱)下与A4反应以得到化合物A5。然后将化合物A5环化(例如,使用甲酸)并脱保护(例如,使用哌啶)以得到化合物A6。然后化合物A6与化合物A7反应以得到如所示的最终式(I)化合物。

[0265] 通用反应方案2.

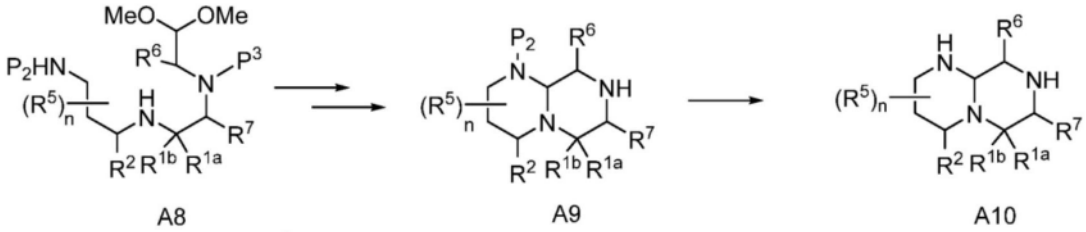


[0266]

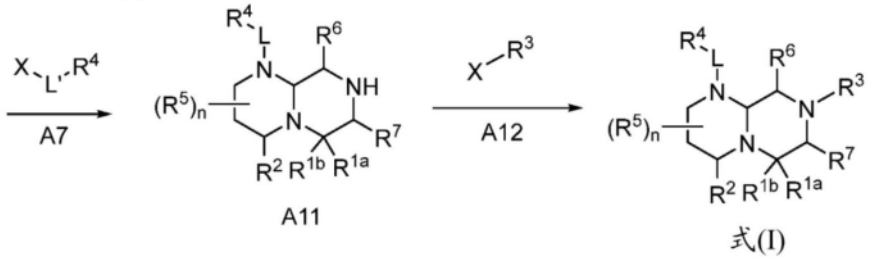


[0267] 通用反应方案2中描绘用于合成式(I)化合物的替代性方法。通用反应方案2中的R^{1a}、R^{1b}、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、L和n如本文中所定义。P_2为合适的保护基。每个X为促进所需反应的所选反应性部分(例如,卤代基)。选择L'以使得所需L部分由L'-R^4与仲胺之间的反应产生。用可去除的保护基P^3(例如,对甲氧基苄基)作为R^3基团来制备中间体A5,得到中间体A8。然后将A8环化(例如,使用甲酸)并脱保护(例如,使用哌啶)以得到化合物A9。然后化合物A9与A7反应以得到化合物A10。然后将化合物A10脱保护(例如,用硝酸铈铵)以得到化合物A11。然后化合物A11与A12反应以提供最终式(I)化合物。

[0268] 通用反应方案3.



[0269]



[0270] 通用反应方案3中描绘与通用反应方案2中所示的方法有关的方法。在此方法中,

双环核心的两个胺氮原子经脱保护以提供化合物A10,然后与A7反应以得到化合物A11。与A12的后续反应提供最终式(I)化合物。

[0271] 应注意,用于制备式(I)化合物的各种替代性策略可供本领域的普通技术人员使用。例如,其他式(I)化合物可使用适当起始材料根据类似方法来制备。

[0272] 本领域的技术人员还应了解,在制备本文中所描述的化合物的方法中,中间化合物的官能团可能需要由合适的保护基保护。此类官能团可包括羟基、氨基和羧酸。羟基的合适保护基包括三烷基硅基或二芳基烷基硅基(例如,叔丁基二甲基硅基、叔丁基二苯基硅基或三甲基硅基)、四氢吡喃基、苄基等。氨基和甲脒基的合适保护基包括叔丁氧基羰基、苄氧基羰基等。羧酸的合适保护基包括烷基、芳基或芳基烷基酯。保护基任选地根据本领域的技术人员已知的标准技术和如本文中所描述添加或去除。保护基的使用详细描述于Green,T.W.和P.G.M.Wutz,Protective Groups in Organic Synthesis(1999),第3版,Wiley中。如本领域的技术人员将了解,保护基也可为聚合物树脂,诸如王树脂(Wang resin)、林克树脂(Rink resin)或2-氯三苯甲基氯化物树脂。

[0273] 药物组合物和配制剂

[0274] 在另一方面,本文提供药物组合物。药物组合物包含前述化合物中的任一种(或多种)和药学上可接受的载剂。在一些实施方案中,药物组合物被配制以用于口服施用。在其他实施方案中,药物组合物被配制以用于注射。在另外更多实施方案中,药物组合物包含式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体,以及额外治疗剂。下文描述此类治疗剂的非限制性实例。

[0275] 合适的施用途径包括但不限于口服、静脉内、经直肠、气溶胶、非经肠、经眼、经肺、经粘膜、透皮、经阴道、经耳、经鼻和局部施用。另外,仅举例来说,非经肠递送包括肌肉内、皮下、静脉内、髓内注射以及鞘内、直接脑室内、腹膜内、淋巴管内和鼻内注射。

[0276] 在某些实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体是以局部而非全身性方式施用,例如,常常以储槽式制剂或持续释放型配制剂形式经由将化合物直接注射至器官中来施用。在具体实施方案中,长效配制剂是通过植入(例如,皮下或肌肉内)或通过肌肉内注射来施用。此外,在其他实施方案中,药物在靶向药物递送系统中,例如在涂覆有器官特异性抗体的脂质体中递送。在此类实施方案中,脂质体靶向器官并由器官选择性吸收。在又其他实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体是以快速释放型配制剂形式、以延长释放型配制剂形式或以中间释放型配制剂形式提供。在又其他实施方案中,局部施用本文所描述的化合物。

[0277] 式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体在广泛剂量范围内有效。例如,在治疗成人时,0.01至1000mg、0.5至100mg、1至50mg/天和5至40mg/天的剂量为在一些实施方案中使用的剂量的实例。示例性剂量为10至30mg/天。精确剂量将取决于施用途径、化合物的施用形式、待治疗的受试者、待治疗的受试者的体重和主治医生的偏好和经验。

[0278] 在一些实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体是以单次剂量形式施用。通常,此类施用将通过注射进行,例如静脉内注射,以便快速引入剂。然而,适当时使用其他途径。单次剂量的本公开化合物还可用于治疗

急性病状。

[0279] 在一些实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体是以多次剂量形式施用。在一些实施方案中,给药为每天约一次、两次、三次、四次、五次、六次或超过六次。在其他实施方案中,给药为约一月一次、每两周一次、一周一次或每隔一天一次。在另一实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体和另一治疗剂一起施用约每天一次至约每天6次。在另一实施方案中,施用式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体和治疗剂持续少于约7天。在又另一实施方案中,施用持续超过约6天、10天、14天、28天、两个月、六个月或一年。在一些情况下,只要需要,达成并维持连续给药。

[0280] 只要需要,可持续施用式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中,施用式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体持续超过1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、14天或28天。在一些实施方案中,施用式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体持续少于28天、14天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天。在一些实施方案中,在不间断的基础上长期施用式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体,例如用于治疗慢性效应(例如,神经炎症性病状)。

[0281] 在一些实施方案中,按剂量施用式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。本领域已知由于受试者间在化合物药物动力学上的变化性,因此最佳疗法需要给药方案的个性化。化合物的给药可鉴于本公开通过常规实验来发现。

[0282] 在一些实施方案中,将式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体配制成药物组合物。在具体实施方案中,药物组合物以常规方式使用一种或多种生理学上可接受的载剂来配制,所述载剂包括有助于活性化合物加工成药学上可使用的制剂的赋形剂和助剂。恰当配制剂取决于所选施用途径。任何药学上可接受的技术、载剂和赋形剂适用于配制本文中所描述的药物组合物:Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第十九版(Easton,Pa.:Mack Publishing Company,1995);Hoover,John E.,Remington'sPharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton,Pennsylvania1975;Liberman,H.A.和Lachman,L.编,Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Decker,New York,N.Y.,1980;和Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,第七版(Lippincott Williams&Wilkins1999)。

[0283] 本文提供药物组合物,其包含式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体,以及药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载剂。本文还提供用于施用药物组合物的方法,所述药物组合物包含式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体,以及药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载剂。

[0284] 在某些实施方案中,化合物作为药物组合物施用,其中式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体与其他治疗剂混合,如在组合疗法中。本文涵盖以下方法部分和整个本公开中所阐述的活性成分的所有组合。在具体实施方案中,药物组合物包括一种或多种式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0285] 如本文中所使用的药物组合物是指式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受

的盐、同位素形式或立体异构体与其他化学组分,诸如载剂、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂和/或赋形剂的混合物。在某些实施方案中,药物组合物有助于向生物体施用化合物。在一些实施方案中,为实践本文中所提供的治疗或使用方法,以药物组合物形式向患有待治疗的疾病、病症或医学病状的哺乳动物施用本文所提供的治疗有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在具体实施方案中,哺乳动物为人。在一些实施方案中,治疗有效量取决于以下因素:疾病的严重程度、受试者的年龄和相对健康状况、所用化合物的效力和其他因素。本文中所描述的化合物单独或与作为混合物的组分的一种或多种治疗剂组合使用。

[0286] 在一个实施方案中,一种或多种式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体是在水溶液中配制。在具体实施方案中,仅举例来说,水溶液选自生理学上相容的缓冲液,诸如汉克氏溶液(Hank's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理盐水缓冲液。在其他实施方案中,一种或多种式(I)化合物或化合物A19、其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体被配制以用于经粘膜施用。在具体实施方案中,经粘膜配制剂包括适合于待渗透的屏障(例如,血脑屏障)的渗透剂。在本文中所描述的化合物被配制以用于其他非经肠注射的再其他实施方案中,适当配制剂包括水溶液或非水溶液。在具体实施方案中,此类溶液包括生理学上相容的缓冲液和/或赋形剂。

[0287] 在一些实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体被配制以用于口服施用。化合物通过使活性化合物与例如药学上可接受的载剂或赋形剂组合来配制。在各种实施方案中,将化合物式(I)或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体配制成口服剂型,其包括(仅举例来说)片剂、散剂、丸剂、糖衣药丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、酏剂、浆液、悬浮液等。

[0288] 在某些实施方案中,口服使用的药物制剂是通过以下获得:将一种或多种固体赋形剂与式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体中的一种或多种混合;任选地研磨所得混合物;并且视需要在添加合适助剂后,处理颗粒的混合物以获得片剂或糖衣药丸核心。具体而言,合适的赋形剂为填充剂,诸如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇;纤维素制剂,诸如:例如玉米淀粉、小麦淀粉、稻谷淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、微晶纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠;或其他者,诸如:聚乙烯吡咯烷酮(PVP或聚维酮)或磷酸钙。在具体实施方案中,任选地添加崩解剂。崩解剂包括(仅举例来说)经交联的交联羧甲纤维素钠、聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸或其盐,诸如海藻酸钠。

[0289] 在一个实施方案中,诸如糖衣药丸核心和片剂的剂型具有一层或多层合适的包衣。在具体实施方案中,使用浓缩的糖溶液来涂覆剂型。糖溶液任选地含有额外组分,诸如(仅举例来说)阿拉伯胶(gum arabic)、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波姆凝胶(carbopol gel)、聚乙二醇和/或二氧化钛、漆溶液和合适的有机溶剂或溶剂混合物。染料和/或颜料也任选地添加至包衣中以用于鉴别目的。另外,任选地利用染料和/或颜料表征活性化合物剂量的不同组合。

[0290] 在某些实施方案中,将治疗有效量的化合物式(I)或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体中的至少一种配制成其他口服剂型。口服剂型包括由明胶制成的推入配合胶囊(push-fit capsule),以及由明胶和塑化剂(诸如甘油或山梨糖醇)

制成的软密封胶囊。在具体实施方案中,推入配合胶囊含有与一种或多种填充剂掺合的活性成分。填充剂包括(仅举例来说)乳糖、粘合剂(诸如淀粉)和/或润滑剂(诸如滑石或硬脂酸镁)和任选选用的稳定剂。在其他实施方案中,软胶囊含有一种或多种溶解或悬浮于合适液体中的活性化合物。合适液体包括(仅举例来说)一种或多种油脂、液体石蜡或液体聚乙二醇。另外,任选地添加稳定剂。

[0291] 在其他实施方案中,治疗有效量的本文中所描述的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体中的至少一种被配制以用于经颊或舌下施用。适用于经颊或舌下施用的配制剂包括(仅举例来说)片剂、口含锭或凝胶。在再其他实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体被配制以用于非经肠注射,包括适用于弹丸注射或连续输注的配制剂。在具体实施方案中,用于注射的配制剂是以单位剂型(例如,以安瓿)或以多剂量容器提供。任选地将防腐剂添加至注射配制剂中。在再其他实施方案中,将药物组合物配制成适用于非经肠注射的形式,如于油性或水性媒介物中的无菌悬浮液、溶液或乳液。非经肠注射配制剂任选地含有配制用剂(formulatory agent),诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。在具体实施方案中,用于非经肠施用的药物配制剂包括呈水溶性形式的活性化合物的水溶液。在额外实施方案中,一种或多种活性化合物(例如,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体)的悬浮液在适当时制备为油性注射悬浮液。用于本文中所描述的药物组合物中的合适的亲脂性溶剂或媒介物包括(仅举例来说)油脂诸如芝麻油,或合成脂肪酸酯诸如油酸乙酯或三酸甘油酯,或脂质体。在某些具体实施方案中,水性注射悬浮液含有增加悬浮液的粘度的物质,诸如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或聚葡萄糖。任选地,悬浮液含有合适的稳定剂或增加化合物的溶解度以允许制备高度浓缩溶液的剂。替代地,在其他实施方案中,活性成分呈粉末形式,以供在使用之前用合适的媒介物(例如无菌无热原质水)复原。

[0292] 在再其他实施方案中,局部施用式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。将化合物配制成多种可局部施用的组合物,诸如溶液、悬浮液、洗剂、凝胶、膏、药用棒、香膏、乳膏或软膏。此类药物组合物任选地含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。

[0293] 在又其他实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体被配制以用于透皮施用。在具体实施方案中,透皮配制剂采用透皮递送装置和透皮递送贴片并且可为亲脂性乳液或溶解和/或分散于聚合物或粘着剂中的经缓冲水溶液。在各种实施方案中,构建此类贴片以用于连续、脉冲式或按需递送药用剂。在额外实施方案中,借助于离子电渗贴片等完成式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的透皮递送。在某些实施方案中,透皮贴片提供式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的受控递送。在具体实施方案中,通过使用速率控制膜或通过将化合物截留在聚合物基质或凝胶内来减缓吸收速率。在替代实施方案中,使用吸收增强剂来增加吸收。吸收增强剂或载剂包括辅助通过皮肤的可吸收的药学上可接受的溶剂。例如,在一个实施方案中,透皮装置呈绷带形式,其包括背衬部件、含有任选地具有载剂的化合物的储集层、在延长时间段内以受控和预定速率将化合物递送至宿主皮肤的任选地存在的速率控制屏障以及使装置紧固至皮肤的构件。

[0294] 在其他实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形

式或立体异构体被配制以供通过吸入施用。适用于通过吸入施用的各种形式包括但不限于气溶胶、喷雾剂或散剂。通过使用合适的推进剂(例如,二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他合适的气体)从加压包装或喷雾器以气溶胶喷雾呈现形式适宜地递送式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体中的任一种的药物组合物。在具体实施方案中,加压气溶胶的剂量单位是通过提供递送计量的量的阀来确定。在某些实施方案中,用于吸入器或吹入器的诸如(仅举例来说)明胶的胶囊和药筒被配制含有化合物与合适的粉末基质(诸如乳糖或淀粉)的粉末混合物。

[0295] 在再其他实施方案中,将式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体配制为含有常规栓剂基质(诸如可可豆油或其他甘油酯)的经直肠组合物,诸如灌肠剂、直肠凝胶、直肠泡沫、直肠气溶胶、栓剂、胶状栓剂或保留灌肠剂,以及合成聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮、PEG等。在组合物的栓剂形式中,首先熔融低熔点蜡,诸如但不限于脂肪酸甘油酯任选地与可可豆油组合的混合物。

[0296] 在某些实施方案中,药物组合物以任何常规方式使用一种或多种生理学上可接受的载剂来配制,所述载剂包括有助于将活性化合物处理成药学上可使用的制剂的赋形剂和助剂。恰当配制剂取决于所选施用途径。合适时,任选地使用任何药学上可接受的技术、载剂和赋形剂。包含式(I)化合物、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的药物组合物是以常规方式制造,诸如(仅举例来说)借助于常规混合、溶解、成粒、糖衣药丸制作、水磨、乳化、封装、包埋或压缩方法。

[0297] 药物组合物包含至少一种药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂和至少一种式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体,本文中描述为活性成分。活性成分呈游离酸或游离碱形式,或呈药学上可接受的盐形式。另外,本文中所描述的方法和药物组合物包括使用N-氧化物、结晶形式(也称为多晶型物)以及具有相同类型活性的这些化合物的活性代谢物。本文中所描述的化合物的所有互变异构体包括在本文中所呈现的化合物的范围内。另外,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体涵盖与药学上可接受的溶剂,诸如水、乙醇等的非溶剂化以及溶剂化形式。本文呈现的化合物的溶剂化形式还被认为将在本文公开。另外,药物组合物任选地包含其他医学或药学剂、载剂、佐剂(诸如防腐剂、稳定剂、湿润剂或乳化剂)、促溶剂、用于调控渗透压的盐、缓冲剂和/或治疗上有价值的其他物质。

[0298] 用于制备包含式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的组合物的方法包括用一种或多种惰性的药学上可接受的赋形剂或载剂配制化合物以形成固体、半固体或液体。固体组合物包括但不限于散剂、片剂、分散性颗粒、胶囊、扁囊剂和栓剂。液体组合物包括其中溶解化合物的溶液;包含化合物的乳液;或含有包含式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的脂质体、微胞或纳米粒子的溶液。半固体组合物包括但不限于凝胶、悬浮液和乳膏。本文中所描述的药物组合物的形式包括液体溶液或悬浮液、适用于在使用之前溶解于或悬浮于液体中的固体形式,或乳液。这些组合物还任选地含有少量无毒助剂物质,诸如湿润剂或乳化剂、pH缓冲剂等。

[0299] 在一些实施方案中,当剂以溶液形式、悬浮液形式或两者存在时,包含至少一种式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的药物组合物

说明性地采用液体形式。通常,当组合物以溶液或悬浮液形式施用时,剂的第一部分以溶液形式存在并且剂的第二部分以悬浮于液体基质中的微粒形式存在。在一些实施方案中,液体组合物包括凝胶配制剂。在其他实施方案中,液体组合物为水溶液。

[0300] 在某些实施方案中,有用的水性悬浮液含有一种或多种聚合物作为悬浮剂。有用的聚合物包括水溶性聚合物,诸如纤维素聚合物,例如羟丙基甲基纤维素,和水不溶性聚合物,诸如交联的含羧基聚合物。本文中所描述的某些药物组合物包含粘膜粘着性聚合物,其选自例如羧甲基纤维素、卡波姆(丙烯酸聚合物)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚丙烯酰胺、聚卡波非(polycarbophil)、丙烯酸/丙烯酸丁酯共聚物、海藻酸钠和聚葡萄糖。

[0301] 有用的药物组合物还任选地包含增溶剂以辅助式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的溶解度。术语“增溶剂”通常包括使得形成微胞溶液或剂真溶液的剂。某些可接受的非离子表面活性剂(例如聚山梨醇酯80)适用作增溶剂,眼科上可接受的二醇、聚乙二醇(例如聚乙二醇400)和二醇醚也可适用作增溶剂。

[0302] 此外,有用的药物组合物任选地包含一种或多种pH调节剂或缓冲剂,包括酸,诸如乙酸、硼酸、柠檬酸、乳酸、磷酸和盐酸;碱,诸如氢氧化钠、磷酸钠、硼酸钠、柠檬酸钠、乙酸钠、乳酸钠和三羟基甲基氨基甲烷;和缓冲剂,诸如柠檬酸盐/右旋糖、碳酸氢钠和氯化铵。此类酸、碱和缓冲剂以将组合物的pH维持在可接受范围内所需的量而包含在内。

[0303] 另外,有用的组合物还任选地包含一种或多种使得组合物的重量摩尔渗透浓度在可接受范围内所需的量的盐。此类盐包括具有钠、钾或铵阳离子和氯根、柠檬酸根、抗坏血酸根、硼酸根、磷酸根、碳酸氢根、硫酸根、硫代硫酸根或亚硫酸氢根阴离子的盐;合适的盐包括氯化钠、氯化钾、硫代硫酸钠、亚硫酸氢钠和硫酸铵。

[0304] 其他有用的药物组合物任选地包含一种或多种防腐剂以抑制微生物活性。合适的防腐剂包括含汞物质,诸如硼酸苯汞(merfen)和硫柳汞(thiomersal);稳定的二氧化氯;和季铵化合物,诸如苯扎氯铵(benzalkonium chloride)、十六烷基三甲基溴化铵和十六烷基氯化吡啶鎓。

[0305] 其他有用的组合物还包含一种或多种表面活性剂以增强物理稳定性或用于其他目的。合适的非离子表面活性剂包括聚氧化乙烯脂肪酸甘油酯和植物油,例如聚氧化乙烯(60)氢化蓖麻油;和聚氧化乙烯烷基醚和烷基苯基醚,例如辛苯聚醇(octoxynol)10和辛苯聚醇40。

[0306] 其他有用的组合物视需要还包含一种或多种抗氧化剂以增强化学稳定性。合适的抗氧化剂包括(仅举例来说)抗坏血酸和偏亚硫酸氢钠。

[0307] 在某些实施方案中,水性悬浮液组合物包装于单次剂量不可再闭合容器中。替代地,使用多次剂量可再闭合容器,在此情况下,组合物中通常包含防腐剂。

[0308] 在替代性实施方案中,采用用于疏水性药物化合物的其他递送系统。脂质体和乳液为本文中有用的递送媒介物或载剂的实例。在某些实施方案中,也采用有机溶剂,诸如N-甲基吡咯烷酮。在额外实施方案中,使用持续释放型系统,诸如含有治疗剂的固体疏水性聚合物的半透基质递送式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。各种持续释放型材料在本文中为适用的。在一些实施方案中,持续释放型胶囊释放化合物持续数周直至超过100天。取决于治疗剂的化学性质和生物学稳定性,可采用额外策略用于蛋白质稳定化。

[0309] 在某些实施方案中,本文中所描述的配制剂包含一种或多种抗氧化剂、金属螯合剂、含硫醇化合物和/或其他通用稳定剂。此类稳定剂的实例包括但不限于:(a)约0.5%至约2%w/v甘油、(b)约0.1%至约1%w/v甲硫氨酸、(c)约0.1%至约2%w/v单硫代甘油、(d)约1mM至约10mM EDTA、(e)约0.01%至约2%w/v抗坏血酸、(f)0.003%至约0.02%w/v聚山梨醇酯80、(g)0.001%至约0.05%w/v聚山梨醇酯20、(h)精氨酸、(i)肝素、(j)硫酸聚葡萄糖、(k)环糊精、(l)戊聚糖聚硫酸盐和其他类肝素、(m)二价阳离子,诸如镁和锌;或(n)其组合。

[0310] 在一些实施方案中,本公开的药物组合物中所提供的式(I)化合物或化合物A19的浓度小于100%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、19%、18%、17%、16%、15%,14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.09%、0.08%、0.07%、0.06%、0.05%、0.04%、0.03%、0.02%、0.01%、0.009%、0.008%、0.007%、0.006%、0.005%、0.004%、0.003%、0.002%、0.001%、0.0009%、0.0008%、0.0007%、0.0006%、0.0005%、0.0004%、0.0003%、0.0002%或0.0001%w/w、w/v或v/v。

[0311] 在一些实施方案中,本公开的药物组合物中所提供的式(I)化合物或化合物A19的浓度大于90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、19.75%、19.50%、19.25%、19%、18.75%、18.50%、18.25%、18%、17.75%、17.50%、17.25%、17%、16.75%、16.50%、16.25%、16%、15.75%、15.50%、15.25%、15%、14.75%、14.50%、14.25%、14%、13.75%、13.50%、13.25%、13%、12.75%、12.50%、12.25%、12%、11.75%、11.50%、11.25%、11%、10.75%、10.50%、10.25%、10%、9.75%、9.50%、9.25%、9%、8.75%、8.50%、8.25%、8%、7.75%、7.50%、7.25%、7%、6.75%、6.50%、6.25%、6%、5.75%、5.50%、5.25%、5%、4.75%、4.50%、4.25%、4%、3.75%、3.50%、3.25%、3%、2.75%、2.50%、2.25%、2%、1.75%、1.50%、125%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.09%、0.08%、0.07%、0.06%、0.05%、0.04%、0.03%、0.02%、0.01%、0.009%、0.008%、0.007%、0.006%、0.005%、0.004%、0.003%、0.002%、0.001%、0.0009%、0.0008%、0.0007%、0.0006%、0.0005%、0.0004%、0.0003%、0.0002%或0.0001%w/w、w/v或v/v。

[0312] 在一些实施方案中,药物组合物中所提供的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的浓度范围介于大致0.0001%至大致50%、大致0.001%至大致40%、大致0.01%至大致30%、大致0.02%至大致29%、大致0.03%至大致28%、大致0.04%至大致27%、大致0.05%至大致26%、大致0.06%至大致25%、大致0.07%至大致24%、大致0.08%至大致23%、大致0.09%至大致22%、大致0.1%至大致21%、大致0.2%至大致20%、大致0.3%至大致19%、大致0.4%至大致18%、大致0.5%至大致17%、大致0.6%至大致16%、大致0.7%至大致15%、大致0.8%至大致14%、大致0.9%至大致12%或大致1%至大致10%w/w、w/v或v/v。

[0313] 在一些实施方案中,药物组合物中所提供的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的浓度范围介于大致0.001%至大致10%、大致0.01%至大致5%、大致0.02%至大致4.5%、大致0.03%至大致4%、大致0.04%至大致3.5%、大致0.05%至大致3%、大致0.06%至大致2.5%、大致0.07%至大致2%、大致

0.08%至大致1.5%、大致0.09%至大致1%或大致0.1%至大致0.9%w/w、w/v或v/v。

[0314] 在一些实施方案中,药物组合物中所提供的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的量等于或少于10g、9.5g、9.0g、8.5g、8.0g、7.5g、7.0g、6.5g、6.0g、5.5g、5.0g、4.5g、4.0g、3.5g、3.0g、2.5g、2.0g、1.5g、1.0g、0.95g、0.9g、0.85g、0.8g、0.75g、0.7g、0.65g、0.6g、0.55g、0.5g、0.45g、0.4g、0.35g、0.3g、0.25g、0.2g、0.15g、0.1g、0.09g、0.08g、0.07g、0.06g、0.05g、0.04g、0.03g、0.02g、0.01g、0.009g、0.008g、0.007g、0.006g、0.005g、0.004g、0.003g、0.002g、0.001g、0.0009g、0.0008g、0.0007g、0.0006g、0.0005g、0.0004g、0.0003g、0.0002g或0.0001g。

[0315] 在一些实施方案中,本公开的药物组合物中所提供的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的量大于0.0001g、0.0002g、0.0003g、0.0004g、0.0005g、0.0006g、0.0007g、0.0008g、0.0009g、0.001g、0.0015g、0.002g、0.0025g、0.003g、0.0035g、0.004g、0.0045g、0.005g、0.0055g、0.006g、0.0065g、0.007g、0.0075g、0.008g、0.0085g、0.009g、0.0095g、0.01g、0.015g、0.02g、0.025g、0.03g、0.035g、0.04g、0.045g、0.05g、0.055g、0.06g、0.065g、0.07g、0.075g、0.08g、0.085g、0.09g、0.095g、0.1g、、0.15g、0.2g、0.25g、0.3g、0.35g、0.4g、0.45g、0.5g、0.55g、0.6g、0.65g、0.7g、0.75g、0.8g、0.85g、0.9g、0.95g、1g、1.5g、2g、2.5g、3g、3.5g、4g、4.5g、5g、5.5g、6g、6.5g、7g、7.5g、8g、8.5g、9g、9.5g或10g。

[0316] 在一些实施方案中,药物组合物中所提供的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的量范围介于0.0001-10g、0.0005-9g、0.001-8g、0.005-7g、0.01-6g、0.05-5g、0.1-4g、0.5-4g或1-3g。

[0317] 在一些实施方案中,方法包括通过皮下注射施用化合物A19或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0318] 在一些实施方案中,方法包括通过口服剂型施用HGF/MET正调节剂。

[0319] 在一些实施方案中,方法包括通过口服剂型施用化合物2a或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0320] 在一些实施方案中,方法包括通过口服剂型施用化合物1a或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0321] 在一些实施方案中,方法包括通过口服剂型施用化合物5a或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0322] 在一些实施方案中,方法包括通过口服剂型施用化合物6a或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0323] 在一些实施方案中,方法包括通过口服剂型施用化合物7a或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0324] 药盒/制品

[0325] 还提供用于本文中所描述的治疗应用中的药盒和制品。在一些实施方案中,此类药盒包括载剂、包装或经分隔以容纳一个或多个容器(诸如小瓶、管等)的容器,容器中的每一者包括待用于本文中所描述的方法中的个别元件中的一者。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器和试管。容器由诸如玻璃或塑料的多种材料形成。

[0326] 本文中所提供的制品含有包装材料。用于包装药物产品的包装材料包括例如美国

专利号5,323,907、5,052,558和5,033,252中所发现的包装材料。药用包装材料的实例包括但不限于泡壳包装、瓶子、管、吸入器、泵、袋、小瓶、容器、注射器、瓶子和适用于所选配制剂和预期施用和治疗模式的任何包装材料。例如,容器包括本文中所描述的一种或多种化合物,其任选地呈组合物形式或与如本文中所公开的另一剂组合。容器任选地具有无菌进入口(例如容器为静脉内溶液袋或具有可通过皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。此类药盒任选地包括化合物,其具有与其在本文中所描述的方法中的用途相关的鉴别描述或标签或说明书。

[0327] 例如,药盒通常包括一个或多个额外容器,每个额外容器具有自商用和使用者观点需要用于使用式(I)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的各种材料(诸如任选地呈浓缩形式的试剂,和/或装置)中的一者或多者。此类材料的非限制性实例包括但不限于缓冲剂、稀释剂、过滤器、针、注射器、载剂、包装、容器、小瓶和/或列出内容物的管标签和/或使用说明书,以及具有使用说明书的包装插页。通常还包括一组说明书。标签任选地附于容器上或与容器相关联。例如,当形成标签的字母、数字或其他字符被附加、模制或蚀刻于容器本身中时,标签附于容器上;或当标签存在于还装有容器的接收器或载体内时,标签与容器相关联,例如作为包装插页。另外,标签用以指示用于特定治疗应用的内容物。另外,标签指示内容物诸如在本文中所描述方法中的使用指南。在某些实施方案中,药物组合物在一种或多种含有本文中所提供的化合物的单位剂型的包装或分配器装置中进行呈递。包装例如含有金属或塑料箔,诸如泡壳包装。或者,包装或分配器装置附有施用说明书。或者,包装或分配器附有与容器相关联的注意事项,其呈管制医药品的制造、使用或销售的政府机构指定的形式,所述注意事项反映所述机构批准所述药物形式用于人或兽医学施用。此类注意事项例如为被美国食品和药物管理局批准用于处方药物的标签,或批准的产品插页。在一些实施方案中,在相容药物载剂中配制的含有式(I)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的组合物被制备、置于适当容器中并且被标记以用于治疗所指示病状。

[0328] 使用/治疗方法

[0329] 本公开的实施方案提供一种用于调节有需要的受试者的肝细胞生长因子的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的如本文中所公开的化合物(例如,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体)。在一些实施方案中,本文中所描述的化合物活化肝细胞生长因子。在一些实施方案中,如本文中所描述的化合物积极调节肝细胞生长因子活性。调节(例如,抑制或活化)肝细胞生长因子可通过本领域中已知的广泛多种方式来评估和证实。可利用药盒和市售测定来确定是否已调节(例如,抑制或活化)肝细胞生长因子和将肝细胞生长因子调节至何种程度。

[0330] 在一些实施方案中,本文提供式(I)化合物或化合物A19或其药学上可接受的盐,其用于调节有需要的受试者的肝细胞生长因子。在一些实施方案中,本文提供式(I)化合物或化合物A19或其药学上可接受的盐,其用于制造用于调节有需要的受试者的肝细胞生长因子的药物。

[0331] 申请人已发现式(I)化合物或化合物A19展示有前景的与某些目标疾病有关的活性。因此,在一个方面中,本文提供一种用于调节有需要的受试者的肝细胞生长因子的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的

盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中,本文提供一种用于活化有需要的受试者的肝细胞生长因子的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在一些实施方案中,本文提供一种用于积极调节有需要的受试者的肝细胞生长因子的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。

[0332] 在某些更具体实施方案中,调节包括治疗疾病、病状或损伤,或减少疾病、病状或损伤的症状。在一些实施方案中,疾病、病状或损伤为神经炎症性病状。神经炎症性病状可为多发性硬化、中风、额颞叶痴呆、脑病或脑炎。

[0333] 在一些实施方案中,神经炎症性病状为多发性硬化(MS)。多发性硬化为一种中枢神经系统(CNS)的慢性炎症性疾病,其病理特征为脱髓鞘、神经胶质过多症、神经轴突损害和炎症。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻与MS相关的炎症。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减少与脱髓鞘相关的神经胶质细胞死亡。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻神经胶质过多症。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻神经轴突损害。在一些实施方案中,向患有多发性硬化的受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体导致扩展残疾状态量表(Expanded Disability Status Scale,EDSS)的纵向改善、MS综合功能(MS Functional Composite,MSFC)评分的改善、神经结构(丘脑、上颈髓)或病变的体积MRI的改善或者神经变性或骨髓变性的血浆生物标记的改善,和/或疾病发病率的降低。

[0334] 在一些实施方案中,神经炎症性病状为中风。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻与中风相关的炎症。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻由中风引起的炎症。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体降低受试者患中风的风险。在一些实施方案中,向罹患中风的受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体导致受影响结构的体积MRI改善,和/或包括语言和/或运动功能的心理测量量表的测量改善。

[0335] 在一些实施方案中,神经炎症性病状为额颞叶痴呆。在一些实施方案中,神经炎症性病状为特发性额颞叶痴呆。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻与额颞叶痴呆相关的炎症。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻由额颞叶痴呆引起的炎症。在一些实施方案中,向罹患额颞叶痴呆的受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体导致TAR DNA结合蛋白43(TDP-43)水平、颗粒蛋白前体(PRGN)和NfL水平、纵向体积MRI和/或心理测量量表的改善。

[0336] 在一些实施方案中,神经炎症性病状为脑病、与脑病相关或由脑病引起。在一些实

施方案中,神经炎症性病状为脑病、与脑病相关或由脑病引起,诸如小血管脑病(“宾斯旺格病”)、多发性脑梗死性痴呆或中风。在一些实施方案中,神经炎症性病状为脑病(诸如慢性创伤性脑病)、与所述脑病相关或由所述脑病引起。在一些实施方案中,神经炎症性病状为脑病、与脑病相关或由脑病引起,所述脑病是因导致神经毒素累积的肝脏器官功能障碍引起的(肝性脑病)和/或因导致神经毒素累积的肾脏器官功能障碍引起的(尿毒症性脑病)。在一些实施方案中,神经炎症性病状为因外周脓毒症引起的脑病、与所述脑病相关或由所述脑病引起。在一些实施方案中,神经炎症性病状为因代谢病症(包括但不限于糖尿病)引起的脑病(代谢性脑病)、与所述脑病相关或由所述脑病引起。在一些实施方案中,神经炎症性病状为脑病(诸如缺氧性脑病)、与所述脑病相关或由所述脑病引起。在一些实施方案中,神经炎症性病状为桥本脑病(一种以脑功能受损为特征的罕见病症)、与所述桥本脑病相关或由所述桥本脑病引起。

[0337] 在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻与脑病相关的炎症。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻与脑病相关的或由脑病引起的炎症。在一些实施方案中,向罹患脑病的受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体导致脑功能的心理测量量表和/或导致脑功能障碍的疾病度量改善。

[0338] 在一些实施方案中,神经炎症性病状为脑炎。在一些实施方案中,神经炎症性病状为脑炎,诸如自身免疫性脑炎、病毒性脑炎或细菌性脑炎。在一些实施方案中,自身免疫性脑炎为NMDAR脑炎。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻与脑炎相关的炎症。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减轻由脑炎引起的炎症。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体减少与脑炎的炎症相关的缺氧。在一些实施方案中,向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体改善神经元存活。在一些实施方案中,向罹患脑炎的受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体导致颅内压降低、炎症性细胞因子的CSF表达减少:IL-1、CXCL10、CCL3、IL-10、CCL22和IL-6,和/或认知和记忆的心理测量量表改善。

[0339] 本文还提供一种用于减轻与神经炎症性病状相关的炎症的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体。在各种实施方案中,神经炎症性病状与由炎症引起的缺氧相关。

[0340] 在一些实施方案中,神经炎症不是由外周炎症或外周神经系统的疾病或病症引起的。在一些实施方案中,神经炎症不是由痴呆引起的。在一些实施方案中,神经炎症不是由神经退行性疾病引起的。在一些实施方案中,神经炎症不是由阿尔茨海默病、轻度认知障碍、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤、创伤性脑损伤或感觉神经性听力和视力丧失引起的。在一些实施方案中,接受神经炎症治疗的受试者并未罹患痴呆。在一些实施方案中,接受神经炎症治疗的受试者并未罹患神经退行性疾病。在一些实施方案中,接受神经炎症治疗的受试者并未罹患阿尔茨海默病、轻度认知障碍、帕金森病、亨廷顿病、肌萎

缩侧索硬化症、脊髓损伤、创伤性脑损伤或感觉神经性听力和视力丧失。

[0341] 在一些实施方案中,神经炎症与外周炎症或外周神经系统的疾病或病症不相关。在一些实施方案中,神经炎症与痴呆不相关。在一些实施方案中,神经炎症与神经退行性疾病不相关。在一些实施方案中,神经炎症与阿尔茨海默病、轻度认知障碍、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤、创伤性脑损伤或感觉神经性听力和视力丧失不相关。在一些实施方案中,接受神经炎症治疗的受试者并未罹患痴呆。

[0342] 在一些实施方案中,本公开提供通过向受试者施用有效量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体来调节包括但不限于啮齿动物和哺乳动物(例如,人)的受试者中的蛋白质活性(例如,肝细胞生长因子)的方法。在一些实施方案中,肝细胞生长因子的调节为肝细胞生长因子的活化。在一些实施方案中,调节百分比超过25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方案中,抑制百分比超过25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。

[0343] 在一些实施方案中,本公开提供通过使细胞与足以调节肝细胞生长因子的活性的一定量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体接触来调节所述细胞中的肝细胞生长因子活性的方法。在一些实施方案中,本公开提供通过使组织与足以调节组织中的肝细胞生长因子的活性的一定量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体接触来调节所述组织中的肝细胞生长因子活性的方法。在一些实施方案中,本公开提供通过使生物体与足以调节生物体中的肝细胞生长因子的活性的一定量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体接触来调节所述生物体中的肝细胞生长因子活性的方法。在一些实施方案中,本公开提供通过使动物与足以调节动物中的肝细胞生长因子的活性的一定量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体接触来调节动物中的肝细胞生长因子活性的方法。在一些实施方案中,本公开提供通过使哺乳动物与足以调节哺乳动物中的肝细胞生长因子的活性的一定量的式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体接触来调节哺乳动物中的肝细胞生长因子活性的方法。在一些实施方案中,本公开提供通过使人与足以调节人体中的肝细胞生长因子的活性的一定量的式(I)化合物或化合物A19、其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体接触来调节人体中的肝细胞生长因子活性的方法。在其他实施方案中,本公开提供治疗对此类治疗有需要的受试者的由肝细胞生长因子活性介导的疾病的方法。在一些变化形式中,通过式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体调节肝细胞生长因子涉及活化肝细胞生长因子。

[0344] 其他实施方案提供用于组合疗法的方法,其中已知调节其他路径、或相同路径的其他组分、或甚至重叠的目标酶组的治疗剂与式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体组合使用。在一个方面中,此类疗法包括但不限于一种或多种式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体与治疗剂、治疗性抗体和其他治疗形式的组合,以提供协同的或附加的治疗效应。

[0345] 目前本领域中已知许多治疗剂并且可与式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体组合使用。在一些实施方案中,患有多发性硬化的受试者也可用治疗剂治疗,诸如β干扰素、格拉替雷(glatiramer)、克拉屈滨(cladribine)、富马

酸二甲酯、富马酸地罗西美(diroximel fumarate)、芬戈莫德(fingolimod)、富马酸单甲酯、奥扎莫德(ozanimod)、西尼莫德(Siponimod)、特立氟胺(teriflunomide)、阿仑单抗(alemtuzumab)、米托蒽醌(mitoxantrone)、那他珠单抗(natalizumab)、奥瑞珠单抗(ocrelizumab)或类固醇。

[0346] 在一些实施方案中,将本文中所提供的化合物施用于患有中风或正在从中风中恢复的患者,并且所述患者还正在用治疗剂(诸如血纤蛋白溶解酶原活化剂或钙拮抗剂)的治疗,以预防和治疗继发性小动脉痉挛。

[0347] 在一些实施方案中,本文中所提供的化合物与全身或局部皮质类固醇、阿巴西普(abatacept)、托珠单抗(tocilizumab)组合施用,例如,用于患有额颞叶痴呆并且还用治疗剂(诸如抗抑郁剂或抗精神病药)治疗的受试者。在一些实施方案中,治疗剂选自抗抑郁剂/抗焦虑药和/或抗精神病药物。抗抑郁剂可包括但不限于选择性血清素再摄取抑制剂(SSRI)(例如,度洛西汀(duloxetine)、文拉法辛(venlafaxine)、西酞普兰(citalopram)、帕罗西汀(paroxetine)或艾司西酞普兰(escitalopram))。本文中所描述的方法的一些实施方案可包括使用或施用抗精神病药物,诸如阿立哌唑(aripiprazole)(Abilify)、氟哌啶醇(haloperidol)(Haldol)、奥氮平(olanzapine)(Zyprexa)和利培酮(risperidone)(Risperdal)。

[0348] 在一些实施方案中,患有脑病的受试者还用治疗剂治疗,诸如抗炎剂(诸如对乙酰氨基酚、布洛芬或萘普生钠)、抗病毒剂(诸如阿昔洛韦、更昔洛韦或膦甲酸)或抗生素。

[0349] 在一些实施方案中,患有脑炎的受试者也用治疗剂治疗,诸如抗炎剂(诸如对乙酰氨基酚、布洛芬或萘普生钠)、类固醇、抗病毒剂或静脉注射抗体(例如,IVIg)或血浆置换术。

[0350] 目前本领域中已知许多治疗剂并且可与式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体组合使用。在一些实施方案中,治疗剂选自加巴喷丁类(gabapentinoid)(例如,普瑞巴林(pregabalin)或加巴喷丁(gabapentin))、度洛西汀、抗抑郁剂(例如,阿米替林(amitriptyline)、地昔帕明(desipramine)、奥米帕明(orimipramine))、类阿片药物(例如,曲马多(tramadol)或他喷他多(tapentadol))、地文拉法辛(desvenlafaxine)、局部药物(例如,利多卡因(lidocaine)贴片和辣椒碱乳膏(capsaicin cream))、阿片类药物(例如,羟可酮(oxycodone)或吗啡)或选择性血清素-去甲肾上腺素再摄取抑制剂(例如,度洛西汀、文拉法辛、西酞普兰、帕罗西汀或艾司西酞普兰)。在一些实施方案中,治疗剂选自普瑞巴林、加巴喷丁、度洛西汀、阿米替林、曲马多、他喷他多、羟可酮、吗啡、西酞普兰、帕罗西汀或艾司西酞普兰。

[0351] 在一些实施方案中,治疗剂选自抗抑郁剂和/或抗精神病药物。抗抑郁剂可包括但不限于选择性血清素再摄取抑制剂(SSRI)。本文中所描述的方法的一些实施方案可包括使用或施用抗精神病药物,诸如阿立哌唑(Abilify)、氟哌啶醇(Haldol)、奥氮平(Zyprexa)和利培酮(Risperdal)。

[0352] 在一些实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体与也称为润滑剂的液体或固体组织屏障一起配制或施用。组织屏障的实例包括但不限于多糖类、多聚糖类、生物可吸收性膜(seprafilm)、防粘连膜(interceed)和玻尿酸。

[0353] 可与式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体组合的其他治疗剂可见于由Hardman、Limbird和Gilman编辑的Goodman和Gilman的“The Pharmacological Basis of Therapeutics”第十版或Physician’s Desk Reference中,两者均以以引用的方式整体并入本文。

[0354] 取决于所治疗的病状,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体可与本文中所公开的治疗剂组合使用。因此,在一些实施方案中,一种或多种式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体将与如上文所描述的其他治疗剂一起共施用。当用于组合疗法中时,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体与第二治疗剂同时施用或单独施用。此组合施用可包括以相同剂型同时施用、以单独剂型同时施用,以及单独施用。即,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体和上文所描述的治疗剂中的任一者可以相同剂型配制在一起并同时施用。替代地,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体和上文所描述的治疗剂中的任一者可同时施用,其中两者均存在于单独配制剂中。在另一替代方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体可刚好在上文所描述的治疗剂中的任一者之后施用,或反之亦然。在单独施用方案的一些实施方案中,式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体和上文所描述的治疗剂中的任一者相隔几分钟、或相隔数小时、或相隔数天施用。

[0355] 下文所提供的实施例和制备进一步说明并且例示式(I)化合物或化合物A19、或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体以及制备此类化合物的方法。应理解,本公开的范围不以任何方式受以下实施例和制备的范围限制。在以下实施例中并且在整个说明书和权利要求书中,除非另外指出,否则具有单一立体中心的分子以外消旋混合物的形式存在。除非另外指出,否则具有两个或更多个立体中心的那些分子以非对映异构体的外消旋混合物的形式存在。单一对映异构体/非对映异构体可通过本领域技术人员已知的方法获得。

[0356] 实施例

[0357] 出于示例性目的提供以下实施例。用于制备式(I)化合物或其药学上可接受的盐、同位素形式或立体异构体的方法在本文中提供或可由本领域一般技术人员推导。

[0358] 下文所提供的实施例和制备进一步说明并且例示本公开的化合物和用于测试此类化合物的方法。应理解,本公开的范围不以任何方式受以下实施例的范围限制。

[0359] 所描述的实施例中的化学反应可容易地调适以制备本文中所公开的许多其他化合物,并认为用于制备本公开化合物的替代方法在本公开的范围内。例如,可通过对本领域技术人员显而易见的修改,例如通过恰当地保护干扰基团、通过利用本领域中已知的除所描述的那些试剂以外的其他合适的试剂或通过对反应条件、试剂和起始材料进行常规修改来进行根据本公开的未例示化合物的合成。替代地,将认为本文中所公开或本领域中已知的其他反应适用于制备本公开的其他化合物。

[0360] 除非另外指示,否则在以下实施例中,化合物分离为外消旋混合物。

[0361] 以下缩写可与本申请相关。

[0362] 缩写

[0363] AcOH:乙酸

[0364] CAN:硝酸铈铵

[0365] DAST:三氟化二乙基氨基硫

[0366] DCM:二氯甲烷

[0367] DIPEA:N,N-二异丙基乙胺

[0368] DMEM:达尔伯克氏(Dulbecco's)改良伊格尔(Eagle)培养基

[0369] DMF:二甲基甲酰胺

[0370] DMSO:二甲基亚砜

[0371] EMEM:伊格尔氏最低必需培养基

[0372] EtOAc:乙酸乙酯

[0373] EtOH:乙醇

[0374] FBS:胎牛血清

[0375] Fmoc:芴基甲氧基羰基

[0376] HATU:(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐

[0377] LC/MS:液相色谱-质谱法

[0378] Me:甲基

[0379] MeOH:甲醇

[0380] PBS:磷酸盐缓冲盐水

[0381] Pic-BH_3:甲基吡啶硼烷

[0382] PMB:对甲氧基苄基醚

[0383] 制备型HPLC:制备型高效液相色谱

[0384] rt或RT:室温

[0385] TFA:三氟乙酸

[0386] TLC:薄层色谱

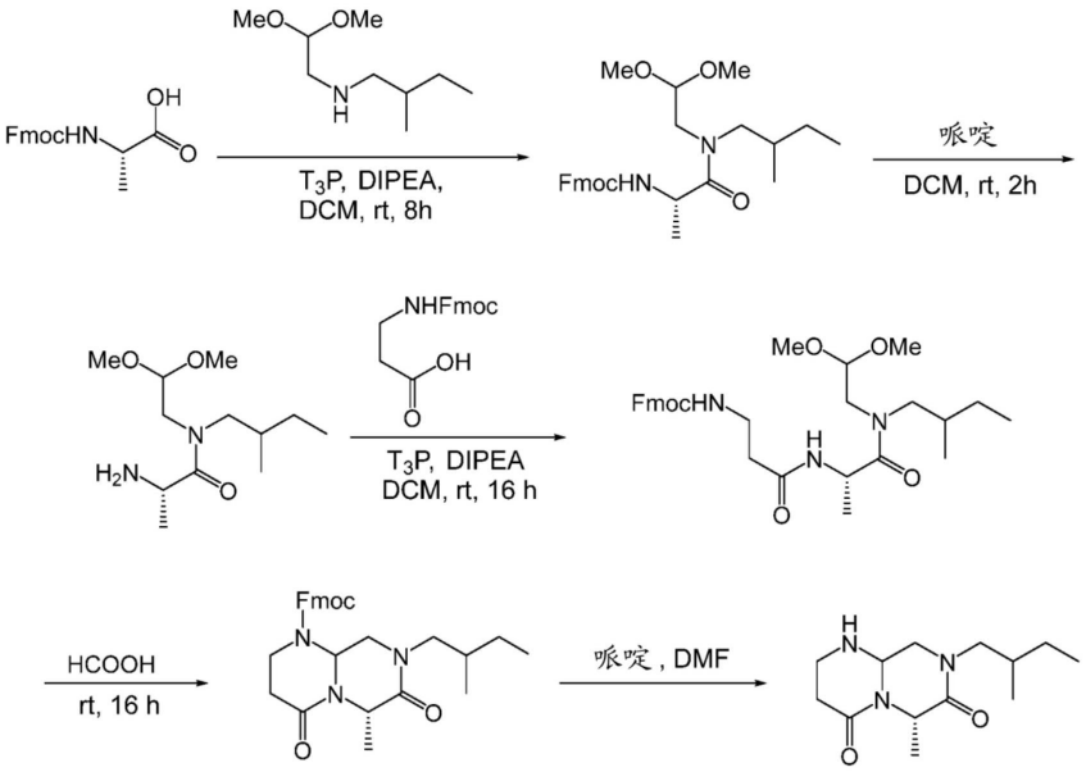
[0387] T_3P:丙烷磷酸酸酐

[0388] 合成实施例

[0389] 实施例S1.(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。用于制备此起始材料化合物的合成路线展示于方案1中。

[0390] 方案1.

[0391]



[0392] 步骤1:(2S)-1-((2,2-二甲氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。在室温下向化合物(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)丙酸(5.0g,16.07mmol)于二氯甲烷(100mL)中的搅拌溶液中添加T_3P(15.2mL,24.1)和DIPEA(5.6mL,32.1mmol)。将反应混合物在室温下搅拌15min并添加N-(2,2-二甲氧基乙基)-2-甲基丁-1-胺(2.81g,32.1mmol),并在室温下继续搅拌8小时。通过TLC监测反应。完成后,反应混合物用冰冷的水(100mL)淬灭并用二氯甲烷(2×100mL)萃取。合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到粗化合物。粗化合物通过快速柱色谱(100-200目硅胶,用40%乙酸乙酯/石油醚洗脱)纯化,以得到呈胶状化合物的纯化合物(2S)-1-((2,2-二甲氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(5.2g,69.1%)。

[0393] 步骤2:(2S)-2-氨基-N-(2,2-二甲氧基乙基)-N-(2-甲基丁基)丙烯酰胺的合成。在0℃下向(2S)-1-((2,2-二甲氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(34.0g,72.6mmol)于DMF(230mL)中的搅拌溶液中添加含20%哌啶的DMF(70mL)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。通过TLC监测反应。反应完成后,添加过量DMF(100mL),然后用过量正己烷(3×200mL)洗涤。收集DMF层并倒入冰冷的水(1000mL)中,然后用10%甲醇-二氯甲烷(3×500mL)萃取。合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到呈胶状固体的(2S)-2-氨基-N-(2,2-二甲氧基乙基)-N-(2-甲基丁基)丙酰胺(20.4g,68.4%)。

[0394] 步骤3:3-((2S)-1-((2,2-二甲氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-1-氧代丙-2-基氨基)-3-氧代丙基氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。向3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)丙酸(20.2g,81.2mmol)在室温下搅拌于二氯甲烷(500mL)中的搅拌溶液中添加T_3P(80mL,121.8mmol)和DIPEA(28.6mL,160.4mmol),并将混合物搅拌10分钟。向此混合物中添

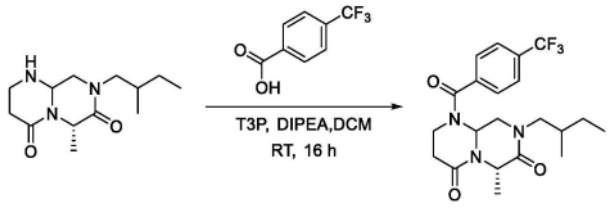
加(2S)-2-氨基-N-(2,2-二甲氧基乙基)-N-(2-甲基丁基)丙酰胺(25.53mL,81.2mmol)并且在室温下继续搅拌16小时。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用水(500mL)淬灭,并且混合物用二氯甲烷(2×500mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到粗产物。粗化合物通过快速柱色谱(100-200目硅胶,用70%乙酸乙酯/石油醚洗脱)纯化,以得到呈胶状化合物的纯化合物3-((2S)-1-((2,2-二甲氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-1-氧代丙-2-基氨基)-3-氧代丙基氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(21.2g,78.6%)。

[0395] 步骤4:6-甲基-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-1H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1-甲酸(6S)-(9H-芴-9-基)甲酯的合成。向3-((2S)-1-((2,2-二甲氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-1-氧代丙-2-基氨基)-3-氧代丙基氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(21.0g,38.9mmol)的搅拌溶液中添加甲酸(105mL)。将反应混合物在室温下搅拌12小时。通过TLC监测反应进程。完成后,在减压下浓缩反应混合物以得到粗化合物。将粗化合物溶解于饱和$NaHCO_3$(200mL)水溶液中,然后用乙酸乙酯(3×500mL)萃取。合并的有机层用盐水溶液(500mL)洗涤,然后合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。粗化合物通过快速柱色谱(100-200目硅胶,用50%乙酸乙酯/石油醚洗脱)纯化,以得到呈胶状的纯化合物6-甲基-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-1H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1-甲酸(6S)-(9H-芴-9-基)甲酯(25g,69.0%)。

[0396] 步骤5:(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮。向0℃下的6-甲基-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-1H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1-甲酸(6S)-(9H-芴-9-基)甲酯(14.0g,29.4mmol)于DMF(70mL)中的搅拌溶液中添加含20%哌啶的DMF(30mL)。使反应混合物升温至室温并搅拌2小时。通过TLC监测反应。起始材料完全耗尽之后,添加额外DMF(50mL),然后混合物用过量正己烷(3×200mL)洗涤。将DMF层倒入冰冷的水(1000mL)中并用10%甲醇-二氯甲烷(3×500mL)萃取。合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以提供呈固体的所需粗化合物(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(6.25g,83.8%)。

[0397] 实施例S2.化合物1a的合成。用于制备化合物1a的合成路线展示于方案2中。

[0398] 方案2.

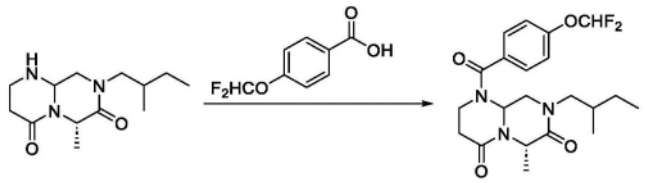
[0399] 

1a

[0400] 向4-(三氟甲基)苯甲酸(0.232g,0.91mmol)在室温下搅拌于二氯甲烷(20mL)中的溶液中添加T_3P(1.2mL,1.37mmol)和DIPEA(0.42mL,1.82mmol),并将混合物搅拌15分钟。向此混合物中添加(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.310g,0.91mmol)并继续搅拌8小时。通过TLC监测反应进程。反应完成后,混合物用水(50mL)淬灭并用二氯甲烷(2×50mL).萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。粗化合物通过制备型HPLC纯化。将纯级分合并,并在减压下浓缩,然后冻干,以得到呈固体的化合物1a(0.340g,65.3%)。制备型HPLC方法:流动相A:10mM碳酸氢铵/水;流动相B:乙腈;柱:X-Select苯基己基(150×19mm 5μ);流速:16mL/min。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:426.05。

[0401] 实施例S3.化合物2a的合成。用于制备化合物2a的合成路线展示于方案3中。

[0402] 方案3.

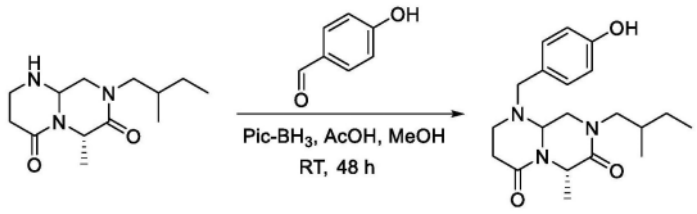
[0403] 

2a

[0404] 向4-(二氟甲氧基)苯甲酸(0.37g,1.968mmol)于室温下的二氯甲烷(15mL)中的溶液中添加DIPEA(0.8ml,5.904mmol)和T_3P(2.0mL,3.936mmol)。将混合物搅拌30min,然后添加(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.4g,1.578mmol),并继续搅拌16小时。通过TLC和LC/MS监测反应进程。反应混合物用二氯甲烷(100mL)稀释并用水(50mL)和饱和氯化钠溶液(50mL)洗涤,然后经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将粗产物通过制备型HPLC纯化。收集纯级分并冻干,以得到呈固体的化合物2a(380mg,46%)。制备型HPLC条件:流动相A:10mM碳酸氢铵/水;流动相B:乙腈;柱:Kromosil苯基(150×25mm 10μ);流速:25mL/min。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:424.11。

[0405] 实施例S4.化合物3a的合成。用于制备化合物3a的合成路线展示于方案4中。

[0406] 方案4.

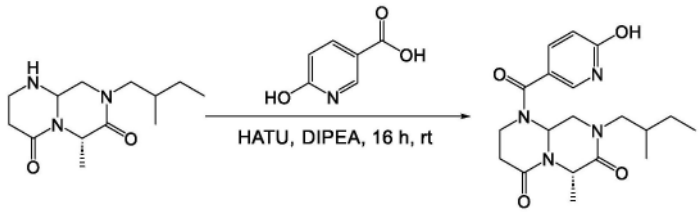
[0407] 

3a

[0408] 向(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.500g,1.97mmol)在室温下搅拌于甲醇(20mL)中的溶液中添加4-羟基苯甲醛(0.289g,1.97mmol)和乙酸(0.23mL,3.95mmol)。将反应混合物在室温下搅拌5分钟。向此混合物中添加甲基吡啶硼烷(0.253g,2.37mmol),并继续搅拌48hr。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用冰冷的水(50mL)淬灭,并且混合物用10%甲醇-二氯甲烷(3×40mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。粗化合物通过制备型HPLC纯化。将纯级分合并,并在减压下浓缩,然后冻干,以得到呈固体的化合物3a(0.180g,46.09%)。制备型HPLC方法:流动相A:10mM碳酸氢铵/水;流动相B:乙腈;柱:Kromosil苯基(150×25mm 10μ);流速:25mL/min。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:360.11。

[0409] 实施例S5.化合物4a的合成。用于制备化合物4a的合成路线展示于方案5中。

[0410] 方案5.

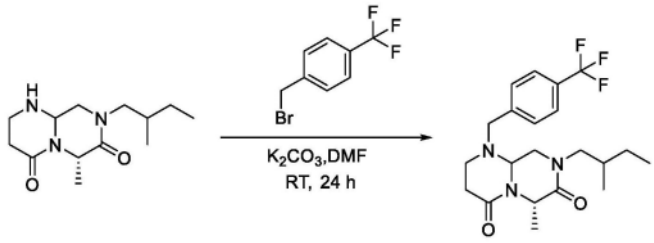
[0411] 

4a

[0412] 向6-羟基烟酸(0.340g,2.446mmol)于室温下的DMF(15mL)中的溶液中添加DIPEA(1.30mL,7.338mmol)和HATU(1.39g,3.669mmol)。将所得反应混合物搅拌30min,然后添加(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.495g,1.956mmol),并将混合物搅拌16小时。通过TLC和LC/MS(TLC系统:10%甲醇/二氯甲烷,Rf:0.15,检测:UV)监测反应进程。反应混合物用冷水(100mL)淬灭并用10%甲醇/二氯甲烷(3×100mL)萃取。合并的有机层用冷水(50mL)和冷盐水溶液(50mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将粗产物通过制备型HPLC纯化。收集纯级分并冻干,以得到呈固体的化合物4a(160mg,21.8%)。制备型HPLC方法:流动相A:0.01mM碳酸氢铵/水;流动相B:乙腈;柱:X-Select苯基已基(150×19mm,5μ);流速:15mL/min。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:375.05。

[0413] 实施例S6.化合物5a的合成。用于制备化合物5a的合成路线展示于方案6中。

[0414] 方案6.

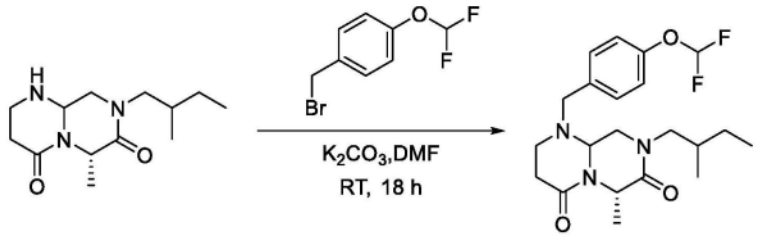
[0415] 

5a

[0416] 向(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.5g,1.97mmol)和1-(溴甲基)-4-(三氟甲基)苯(0.470g,1.97mmol)在室温下搅拌于DMF(20mL)中的溶液中添加K_2CO_3(0.546g,3.95mmol),并将混合物搅拌8hr。通过TLC监测反应进程。完成后,混合物用水(100mL)淬灭并用乙酸乙酯(3×50mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。粗化合物通过制备型HPLC纯化。将纯级分合并,并在减压下浓缩,然后冻干,以得到呈胶状的化合物5a(0.270g,63.8%)。制备型HPLC方法:流动相A:10mM碳酸氢铵/水;流动相B:乙腈;柱:Kromosil C_{18}(150×25mm 10μ);流速:25mL/min。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:412.2。

[0417] 实施例S7.化合物6a的合成。用于制备化合物6a的合成路线展示于方案7中。

[0418] 方案7.

[0419] 

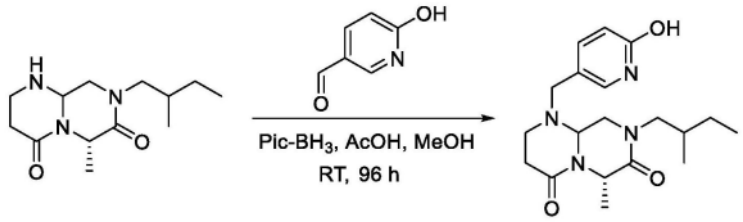
6a

[0420] 向(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.500g,1.97mmol)和1-(溴甲基)-4-(二氟甲氧基)苯(0.466g,1.97mmol)在室温下搅拌于DMF(20mL)中的溶液中添加K_2CO_3(0.546g,9.95mmol)。将反应混合物在室温下搅拌18hr。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用水(100mL)淬灭并用乙酸乙酯(3×50mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。粗化合物通过制备型HPLC纯化。将纯级分合并,并在减压下浓缩,然后冻干,以得到呈半固体的化合物6a(0.178g,41.5%)。制备型

HPLC方法:流动相A:10mM碳酸氢铵/水;流动相B:乙腈;柱:X-Select C_{18}(250×19mm,5μ);流速:18mL/min。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:410.11。

[0421] 实施例S8.化合物7a的合成。用于制备化合物7a的合成路线展示于方案8中。

[0422] 方案8.

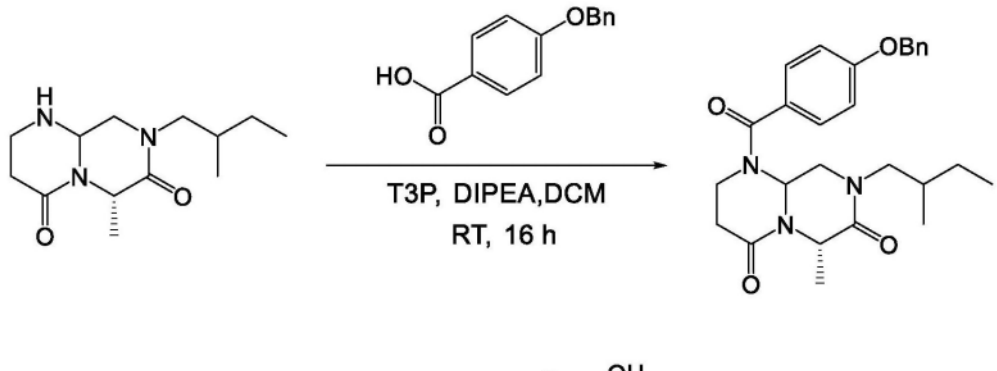
[0423] 

7a

[0424] 向化合物(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.500g,1.97mmol)在室温下搅拌于甲醇(20mL)中的溶液中添加6-羟基烟醛(0.243g,1.97mmol)和乙酸(0.25mL,3.95mmol),并将混合物搅拌5min。向此混合物中添加甲基吡啶硼烷(0.318g,2.96mmol)并继续搅拌96小时。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用冰冷的水(50mL)淬灭,并用10%甲醇-二氯甲烷(3×40mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。粗化合物通过制备型HPLC纯化。收集纯级分,并在减压下浓缩,然后冻干,以得到呈固体的化合物7a(0.164g,42%)。制备型HPLC方法:流动相A:10mM碳酸氢铵/水;流动相B:乙腈;柱:X-BRIDGE C_{18}(250×19mm,5μ);流速:18mL/min。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:361.11。

[0425] 实施例S9.化合物8a的合成。用于制备化合物8a的合成路线展示于方案9中。

[0426] 方案9.

[0427] 

8a

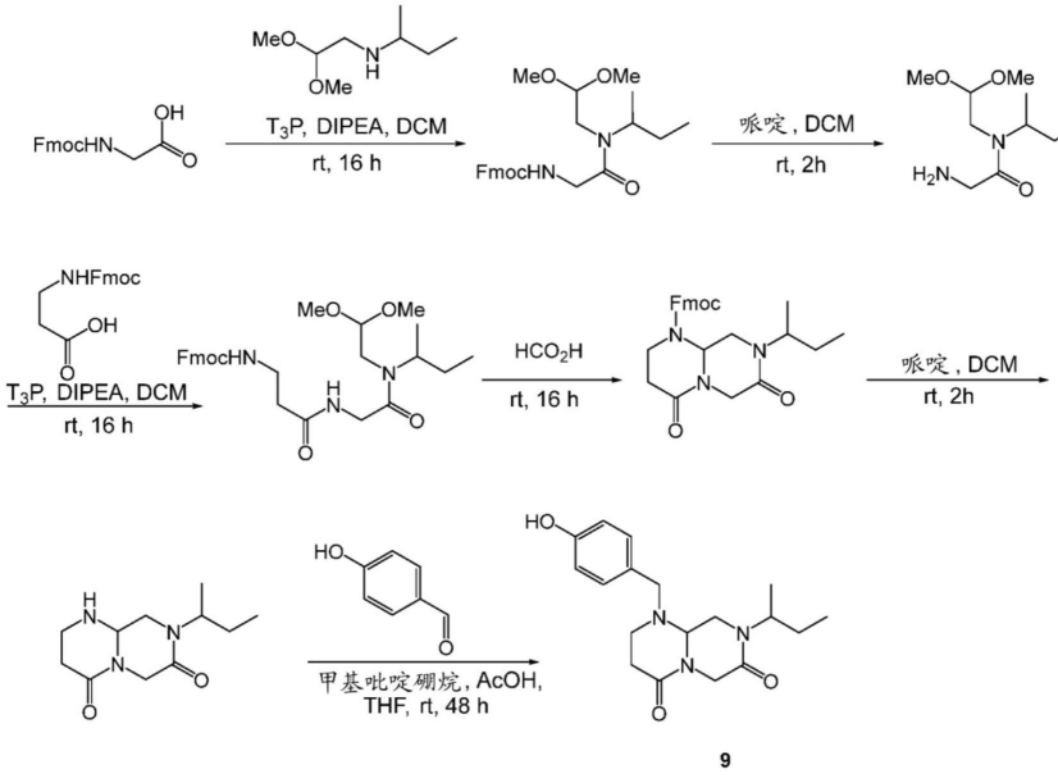
[0428] 步骤1:(6S)-1-(4-(苄氧基)苯甲酰基)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。向4-(苄氧基)苯甲酸(0.360g,1.42mmol)在室温下搅拌于二氯甲烷(20mL)中的溶液中添加T_3P(1.2mL,1.7mmol)和DIPEA(0.55mL,2.84mmol),并将混合物搅拌15min。向此混合物中添加(6S)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,

2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.400g,1.42mmol),并在室温下继续搅拌16小时。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用水(50mL)淬灭并用二氯甲烷(2×50mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到0.9g的粗材料。通过LC/MS进行的粗材料分析展示54.59%的所需产物。粗材料未经纯化即用于下一步骤。

[0429] 步骤2:化合物8a的合成。在N_2气氛下,向(6S)-1-(4-(苄氧基)苯甲酰基)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.900g)在室温下搅拌于甲醇(20mL)中的溶液中添加10% Pd-C(0.200g)。将反应混合物在室温下在H_2气球下搅拌8hr。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物通过硅藻土过滤并在减压下蒸发,以得到粗化合物。将粗化合物溶解于二氯甲烷(50mL)中,用$NaHCO_3$水溶液(20mL)和盐水溶液(20mL)洗涤。滤液经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩。将粗化合物与二乙基醚一起湿磨,以得到呈固体的化合物8a(0.330g,82%)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:374.11。

[0430] 实施例S10.化合物9的合成。用于制备化合物9的合成路线展示于方案10中。

[0431] 方案10.

[0432] 

9

[0433] 步骤1:2-(仲丁基(2,2-二甲氧基乙基)氨基)-2-氧代乙基氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。向冷却至0℃的2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)乙酸(10g,33.6mmol)于二氯甲烷(100mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA(11.88mL,67.3mmol)、N-(2,2-二甲氧基乙基)丁-2-胺(10.84g,67.3mmol)和T_3P(53.0mL,84.1mmol),并将反应混合物在室温下搅拌16小时。通过TLC监测反应进程。反应完成后,添加冰冷的水(100mL)并用乙酸乙酯(2×150mL).萃取。合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以获得所需粗产物。粗化合物通过快速柱色谱(100-200目硅胶)纯化并用20%-25%乙酸乙酯/石油醚洗脱,以得到呈固体的2-(仲丁基(2,2-二甲氧基乙基)氨基)-2-氧代乙基氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(10.8g,72.9%)。

[0434] 步骤2:2-氨基-N-仲丁基-N-(2,2-二甲氧基乙基)乙酰胺的合成。向冷却至0℃的2-(仲丁基(2,2-二甲氧基乙基)氨基)-2-氧代乙基氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(10.8g,24.5mmol)于DMF(20mL)中的溶液中添加哌啶(2.4mL),并将反应混合物在室温下搅拌2小时。通过TLC监测反应进程。TLC指示起始材料完全耗尽后,反应混合物用石油醚(2×100mL)稀释,然后添加水并分离混合物。水层用二氯甲烷(2×150mL)萃取。合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以获得呈固体的所需纯产物2-氨基-N-仲丁基-N-(2,2-二甲氧基乙基)乙酰胺(3.6g,67.2%)。

[0435] 步骤3:(9H-芴-9-基)甲基-3-(2-(仲丁基(2,2-二甲氧基乙基)氨基)-2-氧代乙基氨基)-3-氧代丙基氨基甲酸酯的合成。在0℃下向2-氨基-N-仲丁基-N-(2,2-二甲氧基乙基)乙酰胺(3.6g,16.5mmol)于二氯甲烷(40mL)中的搅拌溶液中添加DIPEA(31.91mL,49.5mmol)、3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)丙酸(5.14g,16.5mmol)和T_3P(39.13g,33mmol)。将反应混合物在室温下搅拌16小时。通过TLC监测反应进程。反应完成后,添加反应水(100mL)并且分离有机相。水相用二氯甲烷(2×150mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到粗产物。粗产物通过使用硅胶的柱色谱(230-400目;23%-25%乙酸乙酯/石油醚作为洗脱液)纯化。在减压下浓缩所收集的纯级分,以得到呈胶状的(9H-芴-9-基)甲基-3-(2-(仲丁基(2,2-二甲氧基乙基)氨基)-2-氧代乙基氨基)-3-氧代丙基氨基甲酸酯(4.1g,48.6%)。

[0436] 步骤4:8-仲丁基-4,7-二氧代八氢-1H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。将(9H-芴-9-基)甲基-3-(2-(仲丁基(2,2-二甲氧基乙基)氨基)-2-氧代乙基氨基)-3-氧代丙基氨基甲酸酯(4.1g,8.01mmol)于乙酸(2mL)中的溶液在室温下搅拌16小时。通过TLC监测反应进程。TLC指示起始材料完全耗尽后,浓缩反应混合物并且将所得块状物用水稀释并用二氯甲烷(2×100mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到呈胶状的产物8-仲丁基-4,7-二氧代八氢-1H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(3.2g,89.3%)。

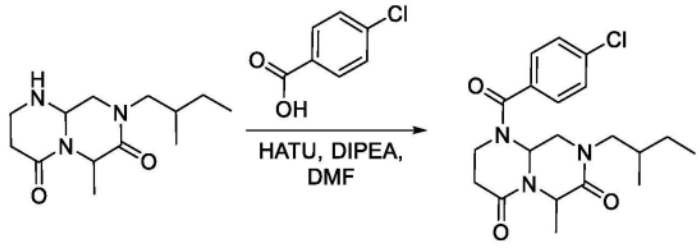
[0437] 步骤5:8-仲丁基四氢-1H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H,8H)-二酮的合成。向冷却至0℃的8-仲丁基-4,7-二氧代八氢-1H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(3.2g,7.1mmol)于DMF(20mL)中的溶液中添加哌啶(0.7mL,1.0eq),并将反应混合物在室温下搅拌2小时。通过TLC监测反应进程。TLC指示起始材料完全耗尽后,反应混合物用石油醚(2×50mL)洗涤以去除非极性杂质。添加冷水并用二氯甲烷(2×100mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到呈固体的纯产物(8-仲丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(900mg,55.9%)。

[0438] 步骤6:化合物9的合成。在室温下向(8-(仲丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.500g,2.2mmol)和4-羟基苯甲醛(0.271g,2.2mmol)于甲醇(10mL)中的搅拌溶液中添加乙酸(0.27mL,2.0eq.)和甲基吡啶硼烷(0.285g,2.6mmol)。将反应混合物在室温下搅拌48hr。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用冰冷的水(10mL)淬灭并用乙酸乙酯(2×20mL)萃取。合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到粗产物。通过LC/MS分析粗化合物。粗LC/MS数据展示8.28%所需块状物。粗化合物通过硅胶柱色谱(100至200)纯化,并且50%-70%乙酸乙酯/石油醚洗脱所需化合物。洗脱级分的LC/MS展示72.16%所需块状物,其通过制备型HPLC进一步纯化。制备型HPLC纯化后,收集级分并在减

压下浓缩,然后冻干,以得到呈固体的化合物9(0.168g,22.8%)。制备型HPLC方法:流动相A:10mM碳酸氢铵/水;流动相B:乙腈;柱:X-BRIDGE C_{18}(150×19mm 5μ);流速:18mL/min。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:332.2。

[0439] 实施例S11.化合物10的合成。用于制备化合物10的合成路线展示于方案11中。

[0440] 方案11.

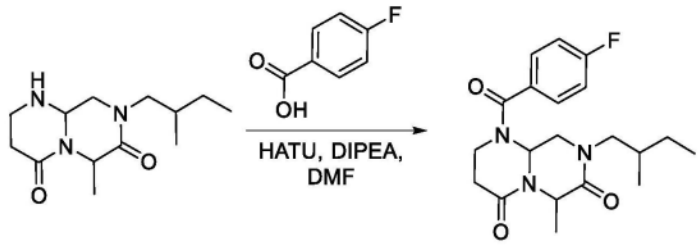
[0441] 

10

[0442] 向0℃下的6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(250mg,0.98mmol)和4-氯苯甲酸(170mg,1.09mmol)于DMF(4mL)中的溶液中添加HATU(413mg,1.08mmol),接着添加DIPEA(0.35mL,1.97mmol)。将反应混合物在室温下搅拌12h。完成后,反应混合物用冰冷的水(50mL)淬灭并且水层用EtOAc(50mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(30mL)洗涤,接着用饱和盐水(30mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;30% EtOAc/己烷)纯化,以得到呈固体的化合物10 1-(4-氯苯甲酰基)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(150mg,0.383mmol,39.2%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:392.05。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ0.66-0.89(m,6H)0.91-1.42(m,4H)1.57-1.78(m,1H)2.16-2.35(m,2H)2.55-2.65(m,2H)3.08-3.23(m,2H)3.28-3.40(m,1H)3.51-3.64(m,2H)4.76-4.89(m,1H)5.88-6.02(m,1H)7.46-7.56(m,4H)。

[0443] 实施例S12.化合物11的合成。用于制备化合物11的合成路线展示于方案12中。

[0444] 方案12.

[0445] 

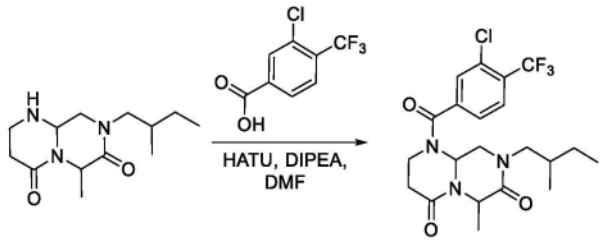
11

[0446] 向0℃下的6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(250mg,0.98mmol)和4-氟苯甲酸(153mg,1.09mmol)于DMF(4mL)中的溶液中添加HATU(413mg,1.08mmol),接着添加DIPEA(0.35mL,1.97mmol)。将反应混合物在室温下搅拌12h。完成后,反应混合物用冰冷的水(50mL)淬灭并且水层用EtOAc(50mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(30mL)洗涤,接着用饱和盐水(30mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;30% EtOAc/己烷)纯化,以得到呈固体的化合物11 1-(4-氟苯甲酰基)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(140mg,0.37mmol,38.0%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:376.05。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ0.69-0.81

(m,3H)0.86(t,J＝7.23Hz,3H)0.95-1.14(m,2H)1.20-1.43(m,4H)1.59-1.80(m,2H)2.26(d,J＝16.95Hz,1H)2.55-2.72(m,1H)3.20-3.31(m,2H)3.35-3.39(m,1H)3.52-3.70(m,2H)4.73-4.89(m,1H)7.33(t,J＝8.73Hz,2H)7.61(dd,J＝8.23,5.73Hz,2H)。

[0447] 实施例S13.化合物12的合成。用于制备化合物12的合成路线展示于方案13中。

[0448] 方案13.

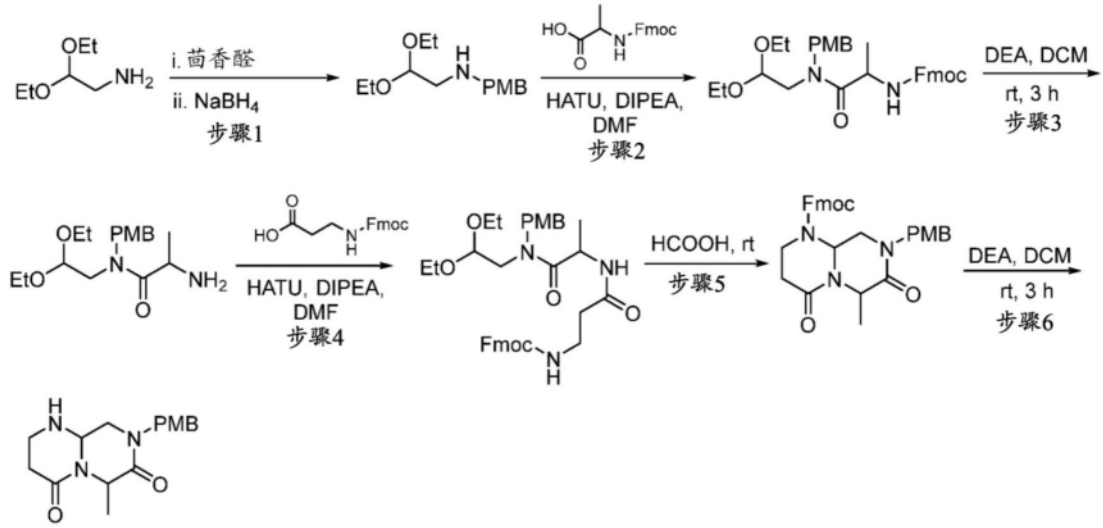
[0449] 

12

[0450] 向0℃下的6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(250mg,0.98mmol)和3-氯-4-(三氟甲基)苯甲酸(242mg,1.09mmol)于DMF(4mL)中的溶液中添加HATU(413mg,1.08mmol),接着添加DIPEA(0.35mL,1.97mmol)。将反应混合物在室温下搅拌12h。完成后,反应混合物用冰冷的水(50mL)淬灭并且水层用EtOAc(50mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(30mL)洗涤,接着用饱和盐水(30mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;30% EtOAc/己烷)纯化,以得到呈固体的化合物12(1-(3-氯-4-(三氟甲基)苯甲酰基)-6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮)(250mg,0.55mmol,55.2%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:460.0。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ0.74-0.93(m,6H)0.98-1.19(m,2H)1.28-1.46(m,3H)1.64-1.81(m,1H)2.22(d,J＝17.45Hz,1H)2.57-2.70(m,1H)3.14(dd,J＝13.21,6.23Hz,1H)3.25-3.31(m,2H)3.44-3.57(m,1H)3.61-3.87(m,2H)4.78-4.90(m,1H)5.89-6.05(m,1H)7.72(d,J＝7.98Hz,1H)7.90-8.02(m,2H)。

[0451] 实施例S14.中间化合物8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。用于制备此中间化合物的合成路线展示于方案14中。

[0452] 方案14.

[0453] 

[0454] 步骤1:2,2-二乙氧基-N-(4-甲氧基苄基)乙-1-胺的合成。向500mL圆底烧瓶中装

入茴香醛(12mL,90.22mmol)和2,2-二乙氧基乙胺(10g,75.18mmol)。将反应混合物在100℃下加热1h。使反应混合物在室温下冷却并向此反应混合物中添加EtOH(100mL),接着添加$NaBH_4$(4.28g,112.7mmol)。将所得反应混合物在室温下搅拌16h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),在降低的真空下浓缩反应混合物。将获得的粗物质溶解于EtOAc(300mL)中。有机层用盐水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在真空下浓缩,以得到粗产物。获得的粗产物通过柱色谱(硅胶100-200目;70% EtOAc/己烷)纯化,以获得呈液体的2,2-二乙氧基-N-(4-甲氧基苄基)乙-1-胺(15g,59.28mmol,78%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:254.3。

[0455] 步骤2:(1-((2,2-二乙氧基乙基)(4-甲氧基苄基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯。向维持处于0℃下的(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)丙氨酸(32g,102.76mmol)于无水DMF(140mL)中的搅拌溶液中添加HATU(42g,110.67mmol)、DIPEA(21.06mL,118.57mmol),接着添加2,2-二乙氧基-N-(4-甲氧基苄基)乙-1-胺(20g,79.05mmol)。将反应混合物在室温下搅拌16h。起始材料完全耗尽后,反应混合物用冰冷的水(300mL)淬灭并用EtOAc(200mL x 2)萃取水层。有机层用冷H_2O(200mL)洗涤,接着用盐水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到粗产物。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;50% EtOAc/己烷)纯化,以得到呈胶状液体的(1-((2,2-二乙氧基乙基)(4-甲氧基苄基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(28g,51.22mmol,64.8%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H-EtOH]^+$:501.2。

[0456] 步骤3:2-氨基-N-(2,2-二乙氧基乙基)-N-(4-甲氧基苄基)丙酰胺的合成。向(1-((2,2-二乙氧基乙基)(4-甲氧基苄基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(28g,51.22mmol)于CH_2Cl_2(30mL)中的溶液中添加二乙胺(200mL)。将反应混合物在室温下搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),浓缩反应混合物并且获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈粘稠液体的2-氨基-N-(2,2-二乙氧基乙基)-N-(4-甲氧基苄基)丙酰胺(14.5g,44.75mmol,87%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H-EtOH]^+$:279.05。

[0457] 步骤4:(3-((1-((2,2-二乙氧基乙基)(4-甲氧基苄基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。向维持处于0℃下的3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸(14.78g,47.53mmol)于无水DMF(120mL)中的搅拌溶液中添加HATU(18.06g,47.53mmol)、DIPEA(9.21mL,51.85mmol),接着添加2-氨基-N-(2,2-二乙氧基乙基)-N-(4-甲氧基苄基)丙酰胺(14g,43.20mmol)。将反应混合物在室温下搅拌16h。完成后,反应混合物用冰冷的水(200mL)淬灭并且水层用EtOAc(200mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(500mL)洗涤,接着用饱和盐水(200mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;30% EtOAc/己烷)纯化,以得到呈粘稠液体的(3-((1-((2,2-二乙氧基乙基)(4-甲氧基苄基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(18g,29.14mmol,67.44%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H-EtOH]^+$:572。

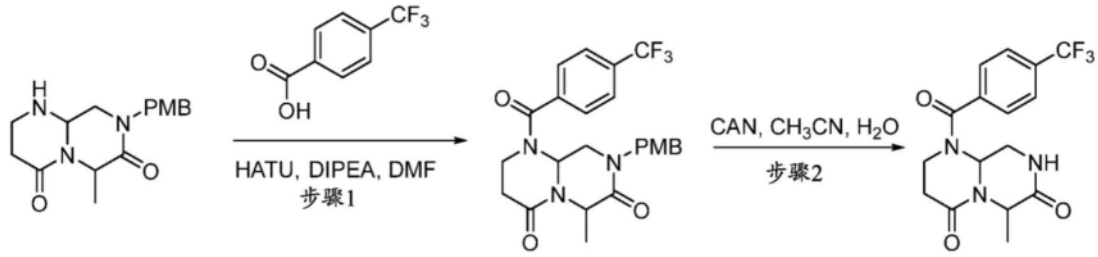
[0458] 步骤5:8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。将(3-((1-((2,2-二乙氧基乙基)(4-甲氧基苄基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(18g,29.14mmol)于甲酸(120mL)中的溶液在室温下搅拌12h。完成后,浓缩反应混合物并且获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;30% EtOAc/己烷)纯化,以得到呈固体的8-(4-甲氧基苄基)-6-甲

基-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(14.5g,27.58mmol,94%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:526。

[0459] 步骤6:8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。向8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(14g,26.63mmol)于CH_2Cl_2(150mL)中的溶液中添加二乙基胺(100mL),并将反应混合物在室温下搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),浓缩反应混合物并且获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH的/DCM)纯化,以得到呈粘稠固体的8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(7g,23.07mmol,87%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:304。

[0460] 实施例S15.中间化合物8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。用于制备此中间化合物的合成路线展示于方案15中。

[0461] 方案15.

[0462] 

[0463] 步骤1:8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基-1-(4-(三氟甲基)苯甲酰基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。向维持处于0℃下的4-(三氟甲基)苯甲酸(5.26g,27.69mmol)于DMF(100mL)中的溶液中添加HATU(10.52g,27.69mmol)、DIPEA(12.30mL,69.23mmol),接着添加8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(7g,23.07mmol),并将反应混合物在室温下搅拌12h。完成后,反应混合物用冰冷的水(200mL)淬灭并且水层用EtOAc(200mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(200mL)洗涤,接着用饱和盐水(150mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;30% EtOAc/已烷)纯化,以得到呈固体的8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基-1-(4-(三氟甲基)苯甲酰基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(9g,18.92mmol,82.04%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:476.15和MS(ESI)m/z[M+Na]$^+$:498.05。

[0464] 步骤2:6-甲基-1-(4-(三氟甲基)苯甲酰基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。向维持处于0℃下的8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基-1-(4-(三氟甲基)苯甲酰基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(9g,18.92mmol)于CH_3CN:H_2O(2:1,150mL)中的溶液中添加CAN(31.15g,56.82mmol),并将反应混合物在室温下搅拌3h。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用饱和$NaHCO_3$水溶液(200mL)淬灭并用EtOAc(200mL×2)萃取。合并的有机层用H_2O(200mL)洗涤,接着用饱和盐水溶液(150mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;10%MeOH/DCM)纯化,以得到呈固体的6-甲基-1-(4-(三氟甲基)苯甲酰基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(3.5g,9.85mmol,52.8%产率)。MS(ESI)m/z[M+H+CH_3CN]$^+$:397.0。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ1.25-1.46(m,3H)2.15-2.30(m,1H)2.56-2.69(m,1H)3.16(d,J=4.99Hz,1H)3.22-3.30(m,1H)3.42-3.72(m,2H)4.70-4.87(m,1H)5.85-5.95(m,1H)7.75(d,J=7.98Hz,2H)

7.86(d,J＝7.98Hz,2H)8.11(brs,1H)。

[0465] 实施例S16.用于合成最终化合物的通用程序A。

[0466] 向6-甲基-1-(4-(三氟甲基)苯甲酰基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(200mg,0.56mmol)于DMF(2mL)中的溶液中添加KO^{t}Bu(1M于THF中,1.69mmol,1.69mL),接着添加适当的烷基卤化物(1.12mmol),并将反应混合物在120℃下暴露于微波辐射持续1h。使反应混合物冷却至室温并用H_2O(25mL)淬灭。水层用EtOAc(10mL×3)萃取。合并的有机层用盐水洗涤并浓缩。获得的粗产物通过CombiFlash纯化。

[0467] 实施例S17.化合物15的合成。

[0468] 通过通用程序A使用(溴甲基)环戊烷作为烷基卤化物来合成化合物15。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:438.65。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ1.02-1.26(m,3H)1.28-1.42(m,2H)1.44-1.76(m,6H)1.80-2.08-2.33(m,2H)2.55-2.71(m,1H)3.22(dd,J＝12.96,7.48Hz,1H)3.26-3.32(m,1H)3.39(d,J＝6.98Hz,1H)3.49-3.57(m,1H)3.59-3.74(m,1H)3.76-3.91(m,1H)4.80-4.90(m,1H)5.95-6.05(m,1H)7.72-7.79(m,2H)7.84-7.91(m,2H)。

[0469] 实施例S18.化合物16的合成。

[0470] 通过通用程序A使用溴甲基环丁烷作为烷基卤化物来合成化合物16。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:424.15。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ1.29-1.44(m,2H)1.58-1.89(m,4H)1.90-2.08(m,2H)2.16-2.31(m,1H)2.55-2.70(m,2H)3.18-3.31(m,1H)3.25-3.26(m,1H)3.34-3.42(m,1H)3.36-3.57(m,2H)3.60-3.69(n,1H)3.71-3.83(m,1H)4.75-4.89(m,1H)5.90-6.05(m,1H)7.70-7.79(m,2H)7.87(d,J＝8.31Hz,2H)。

[0471] 实施例S19.化合物19的合成。

[0472] 通过通用程序A使用(2-溴乙基)环戊烷作为烷基卤化物来合成化合物19。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:452.35。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ0.94-1.18(m,3H)1.26-1.61(m,9H)1.66-1.83(m,2H)2.16-2.31(m,1H)2.56-2.70(m,1H)3.16-3.28(m,1H)3.35-3.56(m,3H)3.60-3.73(m,1H)3.77-3.90(m,1H)4.72-4.92(m,1H)5.94-6.06(m,1H)7.77(d,J＝7.98Hz,2H)7.87(d,J＝7.98Hz,2H)。

[0473] 实施例S20.化合物20的合成。

[0474] 通过通用程序A使用(2-溴乙基)环丁烷作为烷基卤化物来合成化合物20。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:438.25。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ1.27-1.44(m,3H)1.50-1.71(m,4H)1.71-1.88(m,2H)1.93-2.09(m,2H)2.13-2.34(m,2H)2.56-2.70(m,2H)3.25-3.32(m,1H)3.35-3.42(m,1H)3.45-3.55(m,1H)3.59-3.72(m,1H)3.74-3.90(m,1H)4.75-4.89(m,1H)5.94-6.05(m,1H)7.71-7.79(m,2H)7.87(d,J＝8.31Hz,2H)。

[0475] 实施例S21.化合物21的合成。

[0476] 通过通用程序A使用1-溴丁烷作为烷基卤化物来合成化合物21。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:412.20。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ0.81-0.97(m,3H)1.15-1.57(m,7H)2.15-2.31(m,1H)2.57-2.69(m,1H)3.14-3.28(m,1H)3.35-3.60(m,3H)3.62-3.73(m,1H)3.74-3.92(m,1H)4.75-4.91(m,1H)5.94-6.06(m,1H)7.76(d,J＝7.34Hz,2H)7.87(d,J＝7.83Hz,2H)。

[0477] 实施例S22.化合物22的合成。

[0478] 通过通用程序A使用4-溴丁-1-烯作为烷基卤化物来合成化合物22。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:410.20。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ1.28-1.45(m,3H)2.14-2.38(m,3H)2.55-2.69(m,

1H)3.36-3.57(m,4H)3.58-3.72(m,1H)3.75-3.89(m,1H)4.75-4.90(m,1H)4.98-5.19(m,2H)5.69-5.84(m,1H)5.93-6.05(m,1H)7.76(d,J＝7.98Hz,2H)7.88(d,J＝7.98Hz,2H)。

[0479] 实施例S23.化合物23的合成。

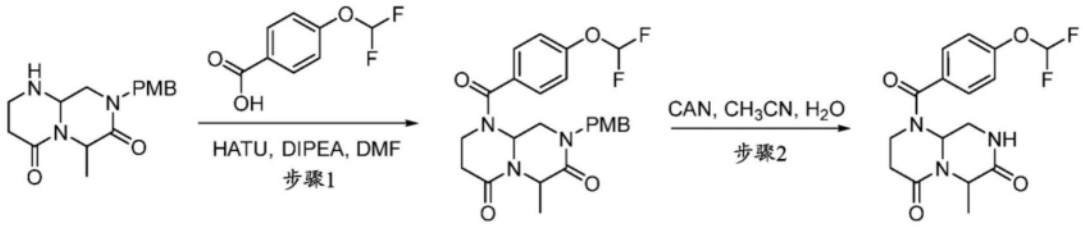
[0480] 通过通用程序A使用1-溴-2-甲基丙烷作为烷基卤化物来合成化合物23。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:412.25。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ0.80-0.96(m,6H)1.30-1.48(m,3H)1.85-2.03(m,1H)2.15-2.31(m,1H)2.57-2.70(m,1H)3.06-3.16(m,1H)3.18-3.28(m,1H)3.36-3.45(m,1H)3.44-3.57(m,1H)3.60-3.74(m,1H)3.73-3.87(m,1H)4.77-4.92(m,1H)5.93-6.07(m,1H)7.76(d,J＝7.48Hz,2H)7.87(d,J＝7.48Hz,2H)。

[0481] 实施例S24.化合物24的合成。

[0482] 通过通用程序A使用2-溴丙烷作为烷基卤化物来合成化合物24。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:398.55。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ1.10(d,J＝5.49Hz,6H)1.28-1.45(m,3H)2.16-2.24(m,1H)2.56-2.71(m,1H)3.34-3.40(m,1H)3.44-3.79(m,3H)4.59-4.72(m,1H)4.75-4.90(m,1H)5.86-6.00(m,1H)7.79(d,J＝7.98Hz,2H)7.83-7.92(m,2H)。

[0483] 实施例S25.中间化合物1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。用于制备此中间化合物的合成路线展示于方案16中。

[0484] 方案16.

[0485] 

[0486] 步骤1:1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。向维持处于0℃下的4-(二氟甲氧基)苯甲酸(1.71g,9.08mmol)于DMF(25mL)中的溶液中添加HATU(3.45g,9.08mmol)、DIPEA(4.34mL,24.8mmol),接着添加8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(2.5g,8.25mmol),并将反应混合物在室温下搅拌12h。完成后,反应混合物用冰冷的水(50mL)淬灭并且水层用EtOAc(100mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(100mL)洗涤,接着用饱和盐水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;30% EtOAc/己烷)纯化,以得到呈固体的1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(3.5g,7.38mmol,89.5%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:474.12。

[0487] 步骤2:1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。向维持处于0℃下的1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(3.0g,6.34mmol)于CH_3CN:H_2O(2:1,45mL)中的溶液中添加CAN(12.0g,21.90mmol),并将反应混合物在室温下搅拌3h。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用饱和$NaHCO_3$水溶液(100mL)淬灭并用EtOAc(200mL×2)萃取。合并的有机层用H_2O(250mL)洗涤,接着用饱和盐水溶液(250mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;10%MeOH/DCM)纯化,以得到呈固体的1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二

酮(2.0g,5.66mmol,89.6%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:353.95。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ1.10-1.39(m,3H)2.17-2.18(m,1H)2.52-2.68(m,1H)3.18-3.27(m,2H)3.44-3.71(m,2H)4.69-4.83(m,1H)5.75-5.92(m,1H)7.24(d,J=7.83Hz,2H)7.32(t,J=72.0Hz,1H)7.57(d,J=8.31Hz,2H)8.04(brs,1H)。

[0488] 实施例S26.用于合成最终化合物的通用程序B。

[0489] 向维持处于0℃下的1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(200mg,0.56mmol)于DMF(4mL)中的溶液中添加NaH(122mg,2.8mmol,55%分散液于矿物油中),并将反应混合物在相同温度下搅拌15分钟。向此反应混合物中添加适当的烷基卤化物(1.6mmol)并且使反应混合物升温至室温并搅拌3h。完成后,反应混合物用冰冷的H_2O(15mL)淬灭并用EtOAc(15mL×3)萃取水层。合并的有机层用盐水洗涤并浓缩。获得的粗产物通过CombiFlash纯化。

[0490] 实施例S27.化合物13的合成。

[0491] 通过通用程序B使用(溴甲基)环戊烷作为烷基卤化物来合成化合物13。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:436.05。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ1.07-1.16(m,3H)1.32(d,J=6.48Hz,3H)1.41-1.73(m,7H)2.06-2.21(m,1H)2.21-2.34(m,1H)2.54-2.70(m,1H)3.14-3.29(m,1H)3.35-3.45(m,1H)3.52-3.69(m,1H)3.75-3.93(m,1H)4.75-4.91(m,1H)5.88-5.99(m,1H)7.27(d,J=8.48Hz,2H)7.35(t,J=72.0Hz,1H)7.61(d,J=8.98Hz,2H)。

[0492] 实施例S28.化合物14的合成。

[0493] 通过通用程序B使用(溴甲基)环丁烷作为烷基卤化物来合成化合物14。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:421.14。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ1.16-1.25(m,1H)1.27-1.43(m,3H)1.54-1.73(m,2H)1.73-1.86(m,2H)1.89-2.03(m,2H)2.24(d,J=17.12Hz,1H)2.53-2.69(m,2H)3.20-3.28(m,1H)3.29-3.40(m,1H)3.40-3.66(m,2H)3.69-3.87(m,1H)4.75-4.86(m,1H)5.74-6.02(m,1H)7.26(d,J=8.31Hz,2H))7.33(t,J=72.0Hz,1H)7.59(d,J=8.31Hz,2H)。

[0494] 实施例S29.化合物17的合成。

[0495] 通过通用程序B使用1-溴丁烷作为烷基卤化物来合成化合物20。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:410.0。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ0.81-0.96(m,3H)1.15-1.39(m,4H)1.40-1.55(m,2H)2.26(d,J=16.95Hz,1H)2.53-2.70(m,2H)3.12-3.30(m,2H)3.38-3.46(m,1H)3.56-3.74(m,2H)3.75-3.92(m,1H)4.84(q,J=6.81Hz,1H)5.86-6.06(m,1H)7.28(d,J=7.98Hz,2H)7.36(t,J=72.0Hz,1H)7.62(d,J=8.48Hz,2H)。

[0496] 实施例S30.化合物18的合成。

[0497] 通过通用程序B使用4-溴丁-1-烯作为烷基卤化物来合成化合物18。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:408.06。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ1.16-1.45(m,3H)2.18-2.33(m,3H)2.53-2.70(m,1H)3.36-3.46(m,3H)3.51-3.72(m,2H)3.74-3.90(m,1H)4.84(q,J=6.65Hz,1H)4.91-5.15(m,2H)5.67-5.84(m,1H)5.86-6.03(m,1H)7.29(d,J=8.48Hz,2H)7.36(t,J=72.0Hz,1H)7.61(d,J=8.48Hz,2H)。

[0498] 实施例S31.化合物27的合成。

[0499] 通过通用程序B使用2-(溴甲基)四氢呋喃作为烷基卤化物来合成化合物27。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:438.1。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.48-7.55(m,2H),7.20-7.30(m,2H),6.40-6.76(m,1H),5.90-6.20(m,1H),5.16-5.26(m,1H),4.06-4.17(m,2H),3.82-3.92(m,

4H),3.61-3.77(m,2H),2.83-2.99(m,1H),2.47-2.59(m,2H),2.01-2.12(m,4H),1.49(s,3H)。

[0500] 实施例S32.化合物28的合成。

[0501] 通过通用程序B使用(2-溴乙基)苯作为烷基卤化物来合成化合物28。MS(ESI)m/z $[M+H]^+$:458.10。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.40-7.50(m,2H),7.20-7.28(m,2H),7.33-7.43(m,5H),6.40-6.76(m,1H),5.90-6.20(m,1H),5.16-5.26(m,1H),3.72-3.96(m,2H),3.44-3.52(m,1H),3.25-3.35(m,2H),2.83-2.99(m,2H),2.47-2.59(m,1H),2.42-2.60(m,1H),2.30-2.57(m,1H),1.49(s,3H)。

[0502] 实施例S33.化合物29的合成。

[0503] 通过通用程序B使用4-(2-溴乙基)吡啶作为烷基卤化物来合成化合物29。MS(ESI)m/z $[M+H]^+$:459.10。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.50-8.58(m,2H),7.24-7.46(m,4H),7.18(d,J=7.99Hz,2H),6.40-6.76(m,1H),5.90-6.20(m,1H),5.16-5.26(m,1H),3.72-3.96(m,2H),3.44-3.52(m,1H),3.25-3.35(m,2H),2.83-2.99(m,2H),2.47-2.59(m,1H),2.42-2.60(m,1H),2.30-2.57(m,1H),1.49(s,3H)。

[0504] 实施例S34.化合物30的合成。

[0505] 通过通用程序B使用(3-溴丙基)环丙烷作为烷基卤化物来合成化合物30。MS(ESI)m/z $[M+H]^+$:459.10。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.50-8.58(m,2H),7.24-7.46(m,4H),7.18(d,J=7.99Hz,2H),6.40-6.76(m,1H),5.90-6.20(m,1H),5.16-5.26(m,1H),3.72-3.96(m,2H),3.44-3.52(m,1H),3.25-3.35(m,2H),2.83-2.99(m,2H),2.47-2.59(m,1H),2.42-2.60(m,1H),2.30-2.57(m,1H),1.49(s,3H)。

[0506] 实施例S35.化合物31的合成。

[0507] 通过通用程序B使用(2-溴乙基)环丙烷作为烷基卤化物来合成化合物31。MS(ESI)m/z $[M+H]^+$:422.2。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.48(d,J=8.01Hz,2H),7.20-7.28(m,2H),6.40-6.76(m,1H),5.90-6.20(m,1H),5.16-5.26(m,1H),3.72-3.96(m,1H),3.46-3.64(m,5H),2.46-2.64(m,2H),1.43-1.56(m,5H),0.43-0.65(m,2H),0.75-0.85(m,2H)。

[0508] 实施例S36.化合物32的合成。

[0509] 通过通用程序B使用1-溴-2-甲氧基乙烷作为烷基卤化物来合成化合物32。MS(ESI)m/z $[M+H]^+$:412.1。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.52-7.62(m,2H),7.16-7.34(m,3H),5.85-5.95(m,1H),4.80-4.90(m,1H),3.85-3.95(m,1H),3.70-3.80(m,2H),3.25-3.46(m,5H),3.22(s,3H),2.62-2.72(m,1H),2.20-2.30(m,1H),1.49(s,3H)。

[0510] 实施例S37.化合物33的合成。

[0511] 通过通用程序B使用1-溴-3-甲氧基丙烷作为烷基卤化物来合成化合物33。MS(ESI)m/z $[M+H]^+$:426.20。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.52-7.62(m,2H),7.16-7.34(m,3H),5.85-5.95(m,1H),4.80-4.90(m,1H),3.85-3.95(m,1H),3.70-3.80(m,2H),3.58-3.68(m,2H),3.45-3.55(m,4H),3.22(s,3H),2.62-2.72(m,1H),2.20-2.30(m,2H),1.49(s,3H)。

[0512] 实施例S38.化合物36的合成。

[0513] 通过通用程序B使用(2-溴乙基)甲基砜作为烷基卤化物来合成化合物36。MS(ESI)m/z $[M+H]^+$:459.95。^1H NMR(400MHz,CHLOROFORM)δ7.49(d,J=8.01Hz,2H),7.15-7.26(m,2H),6.40-6.76(m,1H),5.90-6.20(m,1H),5.15-5.25(m,1H),3.86-3.97(m,3H),3.66-3.77

(m,2H),3.38-3.49(m,3H),2.97(s,3H),2.59-2.69(m,2H),1.49(s,3H)。

[0514] 实施例S39.化合物34的合成。

[0515] 步骤1.8-(2-((叔丁基二甲基硅基)氧基)乙基)-1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。在0℃下向1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.300g,0.849mmol)于DMF(6mL)中的溶液中添加Cs_2CO_3(0.827g,2.547mmol),接着添加(2-溴乙氧基)(叔丁基)二甲基硅烷(0.243g,1.018mmol),并将反应混合物在120℃下在密封管中加热1h。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用冰冷的水(30mL)缓慢淬灭并用EtOAc(50mL)萃取。合并的有机层用冰冷的盐水溶液(3x 30mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到8-(2-((叔丁基二甲基硅基)氧基)乙基)-1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.250g,粗物质)。粗化合物不经进一步纯化即按原样用于下一反应。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:512.10。

[0516] 步骤2.1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-8-(2-羟基乙基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。在0℃温度下向8-(2-((叔丁基二甲基硅基)氧基)乙基)-1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.250g,0.4886mmol)于THF(5mL)中的溶液中添加TBAF(3mL)。使反应混合物达至室温并搅拌6h。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用冰冷的水(5mL)缓慢淬灭并用EtOAc(2x 10mL)萃取。合并的有机层用冰冷的盐水溶液(10mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到粗化合物。获得的粗化合物通过柱色谱(硅胶60-120目;10% MeOH/DCM)纯化,以得到化合物34(1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-8-(2-羟基乙基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮)(0.102g,52%产率),白色固体。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:398.2。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.52-7.62(m,2H),7.16-7.34(m,3H),5.92-6.02(m,1H),6.78-6.88(m,2H),3.86-3.92(m,1H),3.47-3.62(m,6H),3.21-3.31(m,1H),2.57-2.67(m,1H),2.25-3.35(m,1H),1.49(s,3H)。

[0517] 实施例S40.化合物35的合成。

[0518] 步骤1.2-(1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基-4,7-二氧代八氢-8H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-8-基)乙腈的合成。在0℃下向1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.300g,0.849mmol)于DMF(6mL)中的溶液中添加NaH(0.050g,1.274mmol),接着添加2-溴乙腈(0.112g,0.933mmol),并使反应混合物在室温下静置1h。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用冰冷的水(70mL)缓慢淬灭并用EtOAc(100mL)萃取。合并的有机层用冰冷的盐水溶液(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到粗化合物。获得的粗化合物通过柱色谱(硅胶60-120目;10%MeOH/DCM)纯化,以得到2-(1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基-4,7-二氧代八氢-8H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-8-基)乙腈(0.120g,36%产率),白色固体。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:393.05。

[0519] 步骤2.8-(2-氨基乙基)-1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。在室温下向2-(1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基-4,7-二氧代八氢-8H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-8-基)乙腈(0.120g,0.305mmol)于乙醇(5mL)中的溶液中添加浓HCl(0.100mL),接着添加氧化铂(0.012g,0.030mmol),并将反应混合物在氢气气氛下加热3h。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物通过硅藻土垫过滤。硅藻

土垫用乙醇(20mL)洗涤并且在减压下浓缩滤液,以得到粗化合物。将粗化合物与正戊烷一起湿磨,以得到化合物35(8-(2-氨基乙基)-1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮)(0.110g,90%产率),白色固体。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:397.05。^{1}H NMR(400MHz,DMSO d_6)δ7.96(s,2H),7.55-7.65(m,2H),7.20-7.35(m,3H),5.90-6.20(m,1H),4.85-4.95(m,1H),3.82-3.92(m,1H),3.55.-3.85(m,2H),3.35-3.45(m,3H),2.95-3.05(m,2H),2.60-2.70(m,1H),2.20-2.30(m,1H),1.35(s,3H)。

[0520] 实施例S41.用于合成最终化合物的通用程序C。

[0521] 在0℃下向1-(4-(二氟甲氧基)苯甲酰基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.200g,0.566mmol)于DMF(5mL)中的溶液中添加Cs_2CO_3(0.735g,2.264mmol,4eq),接着添加适当的烷基卤化物(0.679mmol,1.2eq),并将反应混合物在50℃下在微波辐射下加热1h。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用冰冷的水(6mL)缓慢淬灭并用EtOAc(20mL×3)萃取。合并的有机层用饱和盐水溶液(10mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到粗化合物。粗化合物通过柱色谱来纯化,以得到最终化合物。

[0522] 实施例S42.化合物25的合成。

[0523] 通过通用程序C使用2-(2-碘乙基)呋喃作为烷基卤化物来合成化合物25。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:448.10。^{1}H NMR:δ7.40-7.50(m,2H),7.28-7.38(m,1H),7.15-7.25(m,2H),6.39-6.78(m,1H),6.25-6.35(m,1H),5.90-6.12(m,2H),5.25-5.35(m,1H),5.10-5.20(m,1H),3.70-3.80(m,1H),3.50-3.60(m,1H),3.20-3.40(m,2H),2.95-3.05(m,3H),2.45-2.60(m,2H),1.59(s,3H)。

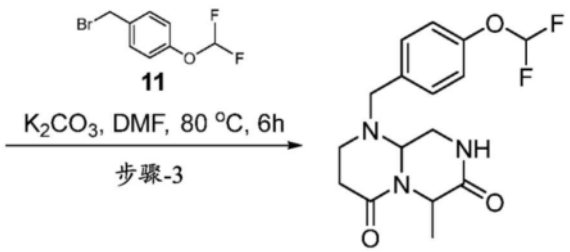
[0524] 实施例S43.化合物26的合成。

[0525] 通过通用程序C使用2-(2-溴乙基)噻吩作为烷基卤化物来合成化合物26。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:464.1。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.40-7.48(m,2H),7.15-7.26(m,3H),6.85-6.95(m,2H),6.39-6.95(m,2H),5.90-6.20(m,1H),5.15-5.25(m,1H),3.72-3.96(m,2H),3.47-3.54(m,1H),3.32-3.42(m,3H),3.10-3.20(m,2H),2.42-2.56(m,2H),1.49(s,3H)。

[0526] 实施例S44.中间化合物1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。



[0527]



[0528] 步骤1:6-甲基-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。将8-(4-甲氧基苄基)-6-甲基-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(1.0g,26.63mmol)于TFA(10mL)中的溶液在130℃下在微波中

搅拌2h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),在真空下浓缩反应混合物并且粗产物用乙酸乙酯(100ml)和饱和碳酸氢钠溶液萃取。有机层经无水Na_2SO_4干燥并在真空下浓缩,并且通过柱色谱(硅胶100-200目;5%MeOH/DCM)纯化,以得到呈粘稠固体的6-甲基-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(300mg,42%产率)。MS(ESI)m/z $[M+H]^+$:406。

[0529] 步骤2:6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成.向6-甲基-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(300mg,0.74mmol)于CH_2Cl_2(5mL)中的溶液中添加二乙胺(6mL)。将反应混合物在室温下搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),浓缩反应混合物并且粗产物通过柱色谱(硅胶100-200目;10%MeOH/DCM)纯化,以得到呈白色固体的6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(120g,92%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:184。

[0530] 步骤3:1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。在室温下向6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.700g,3.820mmol)于DMF(8.0mL)中的溶液中添加K_2CO_3(1.58g,11.46mmol)并搅拌10min。向所得反应混合物中添加1-(溴甲基)-4-(二氟甲氧基)苯(1.086g,4.584mmol),并将反应混合物在80℃下加热6h。通过TLC监测反应进程。完成后,使反应混合物冷却至室温,用水(50mL)淬灭并用EtOAc(50mL×2)萃取。合并的有机层用饱和盐水溶液(20mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗产物通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈灰白色固体的1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.550g,43.0%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:340.34。

[0531] 实施例S45.用于合成最终化合物的通用程序D。

[0532] 在0℃下向1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.100g,0.2949mmol)于DMF(2mL)中的溶液中添加NaH(0.021g,0.8847mmol),接着添加适当的烷基卤化物(2eq.),并且使反应混合物升温至室温并搅拌5h。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用饱和$NaHCO_3$水溶液(2mL)缓慢淬灭并用EtOAc(10mL×2)萃取。合并的有机层用H_2O(5mL)洗涤,接着用饱和盐水溶液(5mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗材料通过combiflash柱色谱(5% MeOH/DCM)纯化,以得到最终产物。

[0533] 实施例S46.化合物37的合成。

[0534] 通过通用程序D使用4-溴-1,1,1-三氟丁烷作为烷基卤化物来合成化合物37。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:354.2。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ1.41(d,J=7.13Hz,3H),1.71-1.86(m,2H),2.01-2.15(m,2H),2.26-2.35(m,1H),2.60-2.67(m,1H),2.89-3.01(m,1H),3.07-3.15(m,1H),3.21-3.34(m,2H),3.46-3.65(m,2H),3.81-3.95(m,2H),4.35-4.41(m,1H),5.20-5.29(m,1H),6.53(t,J=72.0Hz,1H),7.08-7.16(m,2H),7.30-7.36(m,2H)。

[0535] 实施例S47.化合物38的合成。

[0536] 通过通用程序D使用(2-溴乙基)环戊烷作为烷基卤化物来合成化合物38。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:436.2。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ1.01-1.15(m,2H),1.41(d,J=7.13Hz,3H),1.45-1.62(m,8H),1.66-1.80(m,2H),2.23-2.34(m,1H),2.58-2.72(m,1H),2.89-2.98(m,1H),3.04-3.18(m,2H),3.23-3.33(m,1H),3.43-3.54(m,1H),3.55-3.65(m,1H),3.78-3.93(m,1H),4.31-4.39(m,1H),5.15-5.26(m,1H),6.53(t,J=72.0Hz,1H),7.13(d,J=8.50Hz,

2H),7.34(d,J＝8.50Hz,2H)。

[0537] 实施例S48.化合物39的合成。

[0538] 通过通用程序D使用4-溴丁-1-烯作为烷基卤化物来合成化合物39。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:394.2。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ1.41(d,J＝7.13Hz,3H),2.23-2.35(m,3H),2.60-2.71(m,1H),2.92-3.01(m,1H),3.06-3.14(m,1H),3.22-3.46(m,3H),3.53-3.64(m,1H),3.79-3.93(m,2H),4.28-4.38(m,1H),4.91-5.00(m,2H),5.16-5.26(m,1H),5.64-5.76(m,1H),6.52(t,J＝72.0Hz,1H),7.10-7.16(m,2H),7.30-7.36(m,2H)。

[0539] 实施例S49.化合物40的合成。

[0540] 通过通用程序D使用(2-溴乙基)环丁烯作为烷基卤化物来合成化合物40。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:422.25。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ1.41(d,J＝7.13Hz,3H),1.56-1.65(m,4H),1.73-1.92(m,2H),1.95-2.07(m,2H),2.14-2.25(m,1H),2.26-2.35(m,1H),2.59-2.72(m,1H),2.91-2.99(m,1H),3.04-3.14(m,2H),3.23-3.43(m,2H),3.53-3.63(m,1H),3.87(q,J＝13.38Hz,2H),4.29-4.39(m,1H),5.17-5.24(m,1H),6.53(t,J＝72.0Hz,1H),7.13(d,J＝8.63Hz,2H),7.30-7.37(m,2H)。

[0541] 实施例S50.化合物41的合成。

[0542] 通过通用程序D使用1-溴丁烷作为烷基卤化物来合成化合物41。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:396.05。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ0.86(t,J＝7.34Hz,3H),1.14-1.24(m,2H),1.24-1.30(m,2H),1.38-1.50(m,2H),1.98-2.10(m,1H),2.53-2.61(m,2H),2.64-2.77(m,2H),3.07-3.25(m,3H),3.32-3.41(m,1H),3.62-3.73(m,1H),3.87-3.93(m,2H),4.49-4.58(m,1H),4.84-4.94(m,1H),7.15(d,J＝8.56Hz,2H),7.22(t,J＝72.0Hz,1H),7.43(d,J＝8.56Hz,1H)。

[0543] 实施例S51.化合物52的合成。

[0544] 通过通用程序D使用2-三氟甲基-1-溴乙烷作为烷基卤化物来合成化合物52。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:420.16。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 7.31-7.38(m,2H),7.11-7.16(m,2H),6.31-6.73(m,1H),5.26(q,J＝7.21Hz,1H),4.23-4.44(m,2H),3.98-4.13(m,1H),3.80-3.93(m,3H),3.59(t,J＝11.07Hz,1H),3.10(dd,J＝11.51,3.75Hz,1H),2.90-2.99(m,1H),2.62-2.72(m,1H),2.32(dd,J＝4.38,2.38Hz,1H),2.28(dd,J＝4.31,2.31Hz,1H),1.48(d,J＝7.25Hz,1H),1.41(d,J＝7.13Hz,3H)。

[0545] 实施例S52.用于合成最终化合物的通用程序E。

[0546] 向浸没于冰/水浴液中的在烧瓶中搅拌的6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.300g,1.184mmol)于DMF(6mL)中的溶液中添加碳酸铯(0.771g,2.368mmol,2eq.),接着添加适当的烷基卤化物(1.1eq.)。将烧瓶从浴液中移除并搅拌直至TLC指示起始材料完全耗尽。将反应混合物倒入冰冷的水(70mL)中并用EtOAc(100mL)萃取水层。有机层用冰冷的盐水(50mL×3)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗产物通过制备型HPLC纯化,以得到最终化合物。

[0547] 实施例S53.化合物42的合成。

[0548] 通过通用程序E使用4-(溴甲基)-2-氯-1-(三氟甲基)苯作为烷基卤化物来合成化合物42。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:362.2。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ0.75-0.89(m,3H),0.82-0.87(m,3H),0.96-1.13(m,1H),1.23-1.31(m,4H),1.64-1.75(m,1H),2.06-2.09(m,1H),2.55-

2.62(m,1H),2.65-2.76(m,1H),3.05-3.15(m,1H),3.15-3.26(m,3H),3.64-3.74(m,1H),3.84-3.95(m,2H),4.52-4.60(m,1H),4.86-4.94(m,1H),7.17(t,J=8.76Hz,2H),7.41(dd,J=8.19,5.82Hz,2H)。

[0549] 实施例S54.化合物43的合成。

[0550] 通过通用程序E使用4-(溴甲基)-2-氯-1-(三氟甲基)苯作为烷基卤化物来合成化合物43。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:446.2。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)0.72-0.80(m,3H),0.80-0.87(m,3H),0.96-1.10(m,1H),1.21-1.27(m,1H),1.28-1.34(m,3H),1.62-1.79(m,1H),2.00-2.13(m,1H),2.53-2.65(m,1H),2.66-2.76(m,1H),3.00-3.10(m,1H),3.17-3.29(m,3H),3.62-3.72(m,1H),4.00-4.08(m,2H),4.55-4.65(m,1H),4.85-4.95(m,1H),7.52-7.60(m,1H),7.73(s,1H),7.80-7.88(m,1H)。

[0551] 实施例S55.化合物44的合成。

[0552] 向6-甲基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.420g,1.657mmol)和1H-吲哚-3-甲醛(0.264g,1.823mmol)于DCE(15mL)中的溶液中添加乙酸(1mL,1.657mmol),并将反应混合物在80℃下加热1h。向所得反应混合物中逐份添加$NaBH_4$(0.188g,4.973mmol)并且将反应混合物在80℃下加热并搅拌4h。当TLC分析(5% MeOH/DCM)指示起始材料完全耗尽时,反应混合物用水(40mL)稀释并用DCM(100mL)萃取水层。有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,接着用水(30mL)洗涤并在减压下干燥,以得到呈灰白色固体的化合物44(0.250g,39%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:383.4。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ0.70(t,J=7.09Hz,3H),0.75-0.82(m,3H),0.91-1.11(m,1H),1.22-1.31(m,3H),1.57-1.72(m,1H),1.97-2.07(m,1H),2.55-2.70(m,2H),2.83(dt,J=10.91,2.74Hz,1H),2.95-3.07(m,1H),3.10-3.26(m,3H),3.54-3.69(m,1H),3.96-4.04(m,1H),4.06-4.15(m,1H),4.54-4.64(m,1H),4.84-4.95(m,1H),6.94-7.02(m,1H),7.04-7.13(m,1H),7.29-7.40(m,2H),7.65(d,J=7.95Hz,1H),10.95(s,1H)。

[0553] 实施例S56.中间化合物1-(4-氟苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)二酮的合成。

[0554] 向6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(250mg,1.40mmol)于DMF(3mL)中的溶液中添加碳酸钾(580mg,4.20mmol),接着添加4-氟苄基溴(0.320g,1.70mmol),并在80℃温度下搅拌3h。完成后,通过TLC(5% MeOH/DCM)监测反应混合物。将反应混合物倒入冰冷的水(50mL)中并用EtOAc(50mL)萃取水层。有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈白色固体的1-(4-氟苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)二酮(160mg,70%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:292。

[0555] 实施例S57.化合物45的合成。

[0556] 向0℃下的冰冷浴液下的1-(4-氟苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)二酮(80mg,0.2739mmol)于DMF(3mL)中的溶液中添加NaH(20mg,0.2739mmol)并且搅拌20min,然后在3h后添加(2-溴乙基)环丁烷(67mg,0.41mmol)。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),反应混合物用冰冷的水淬灭并用乙酸乙酯萃取。有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈胶状

液体的化合物45(8-(2-环丁基乙基)-1-(4-氟苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)二酮)(13mg,16%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:374。^{1}H NMR(400MHz,CD_3Cl_3):δ7.30-7.40(m,2H),7.00-7.10(m,2H),5.15-5.25(m,1H),4.25-4.35(m,1H),3.80-3.95(m,2H),3.55-3.65(m,1H),3.25-3.45(m,2H),3.05-3.20(m,2H),2.90-3.0(m,1H),2.60-2.70(m,1H),2.15-2.40(m,2H),1.75-2.10(m,4H),1.55-1.65(m,4H),1.20-1.30(m,3H)。

[0557] 实施例S58.化合物46的合成。

[0558] 向0℃下的冰冷浴液下的1-(4-氟苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)二酮(80mg,0.2739mmol)于DMF(3mL)中的溶液中添加NaH(20mg,0.2739mmol)并搅拌20min,然后在3小时之后添加(2-溴乙基)环戊烷(72mg,0.41mmol),起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),反应混合物用冰冷的水淬灭并用乙酸乙酯萃取。有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈胶状液体的化合物46(8-(2-环戊基乙基)-1-(4-氟苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)二酮)。

[0559] 实施例S59.中间化合物6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮盐酸盐的合成。

[0560] 步骤1:N-(2,2-二乙氧基乙基)-2-甲基丁-1-胺的合成。在室温下向经搅拌纯净2,2-二乙氧基乙-1-胺(20.0g,0.137mmol)中添加2-甲基丁醛(11.60g,0.137mmol),并将反应混合物加热至100℃持续3h。在室温下向所得反应混合物中缓慢添加乙醇(200mL),接着添加$NaBH_4$(15.40g,0.413mmol),并将反应混合物搅拌16h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),将反应混合物冷却至室温并用饱和NH_4Cl溶液(100mL)缓慢淬灭。水层用EtOAc(200mL x 2)萃取。合并的有机层用盐水(400mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到粗化合物。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;10%MeOH/DCM)纯化,以获得N-(2,2-二乙氧基乙基)-2-甲基丁-1-胺(25.8g,88%产率),无色液体。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:204.3。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ0.80-0.89(m,6H)1.11(t,J=6.98Hz,6H)1.35-1.48(m,2H)2.28-2.32(m,1H)2.41-2.45(m,1H)2.55(d,J=5.49Hz,2H)3.42-3.52(m,2H)3.57-3.65(m,2H)4.49(t,J=5.49Hz,1H)。

[0561] 步骤2:(1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯。向维持处于0℃下的(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)丝氨酸(15.0g,45.81mmol)于无水DMF(150mL)中的搅拌溶液中添加HATU(26.0g,68.80mmol)、DIPEA(23.92mL,137.61mmol),接着添加N-(2,2-二乙氧基乙基)-2-甲基丁-1-胺(12.10g,59.63mmol)。将反应混合物在室温下搅拌4h。起始材料完全耗尽后,反应混合物用冰冷的水(500mL)淬灭并用EtOAc(250mL x 2)萃取水层。合并的有机层用冷H_2O(200mL)洗涤,接着用盐水(200mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以提供粗产物。粗材料通过柱色谱(硅胶100-200目;80% EtOAc/己烷)纯化,以得到呈黄色粘稠固体的(1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(21.0g,89.43%产率)。MS(ESI)m/z[M+Na]$^+$:535.35。

[0562] 步骤3:2-氨基-N-(2,2-二乙氧基乙基)-3-羟基-N-(2-甲基丁基)丙烯酰胺的合成。向维持处于0℃下的(1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(21.0g,41.01mmol)于无水DCM(110mL)中的搅拌溶液中

添加二乙胺(58mL,2.80体积),并将反应混合物在室温下搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),在减压下浓缩反应混合物,以得到粗产物。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈黄色粘稠固体的2-氨基-N-(2,2-二乙氧基乙基)-3-羟基-N-(2-甲基丁基)丙烯酰胺(9.50g,80%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:291.4。

[0563] 步骤4:(3-((1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。在室温下向维持处于0℃下的3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸(9.50g,30.54mmol)于无水DMF(95mL)中的搅拌溶液中添加HATU(17.40g,45.81mmol)、DIPEA(16.0mL,91.62mmol),接着添加2-氨基-N-(2,2-二乙氧基乙基)-3-羟基-N-(2-甲基丁基)丙酰胺(13.20g,45.81mmol),并将反应混合物搅拌16h。完成后,反应混合物用冰冷的水(200mL)淬灭并且水层用EtOAc(200mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(500mL)洗涤,接着用饱和盐水(200mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗化合物通过柱色谱(硅胶100-200目;80% EtOAc/己烷)纯化,以得到呈粘稠黄色油状物的(3-((1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(8.0g,31.0%产率)。MS(ESI)m/z[M-H]$^-$:582.2。

[0564] 步骤5:6-(羟基甲基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。将室温下的(3-((1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(8.0g,13.77mmol)于甲酸(48.0mL,6.0体积)中的搅拌溶液和反应混合物搅拌16h。完成后,在减压下浓缩反应混合物,以得到呈棕色半固体的6-(羟基甲基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(6.0g,粗物质)。粗化合物未经进一步纯化即按原样用于下一反应。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:492.2。

[0565] 步骤6:6-(羟基甲基)-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。在0℃下向6-(羟基甲基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(6.0g,12.20mmol)于CH_2Cl_2(36.0mL)中的溶液中添加二乙胺(18.0mL),并将反应混合物在室温下搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),在减压下浓缩反应混合物,以获得粗化合物。粗材料通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈粘稠无色油状物的6-(羟基甲基)-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(3.0g,93.75%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:270.20。

[0566] 步骤7:6-(羟基甲基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸叔丁酯的合成。在0℃下向6-(羟基甲基)-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(3.0g,11.15mmol)于CH_2Cl_2(60mL)中的溶液中添加三乙胺(4.5mL,33.45mmol),接着添加Boc酸酐(3.78mL,16.72mmol),并将反应混合物在室温下搅拌16h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),反应混合物用冰冷的水(30mL)缓慢淬灭并用DCM(40mL)萃取。有机层用盐水(30mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗化合物通过柱色谱(硅胶100-200目;10% MeOH/DCM)纯化,以得到呈粘稠黄色油状物的6-(羟基甲基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸叔丁酯(8.0g,31.0%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:370.25。

[0567] 步骤8:6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸叔丁酯的合成。在-78℃下向6-(羟基甲基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-

2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸叔丁酯(1.50g,4.065mmol)于DCM(30mL)中的溶液中添加DAST(1.97g,12.19mmol)并且搅拌15min。使反应混合物升温至室温并搅拌3h。反应完成后(通过TLC监测),反应混合物用饱和$NaHCO_3$溶液(15mL)淬灭并用EtOAc(100mL x 2)萃取水层。合并的有机层用饱和盐水(50mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以获得粗化合物。粗材料通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈无色粘稠油状物的6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸叔丁酯(0.800g,72.0%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:372.2。

[0568] 步骤9:6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮盐酸盐的合成。在0℃下向6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸叔丁酯(1.0g,2.695mmol)于1,4-二噁烷(5mL)中的搅拌溶液中添加含4M HCl的二噁烷(5mL),并将反应混合物在室温下搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),反应混合物用饱和碳酸氢钠溶液(10mL)淬灭并用乙酸乙酯(20mL x 3)萃取。合并的有机层用饱和盐水(10mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到呈棕色粘稠油状物的6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮盐酸盐(0.630g,粗物质)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$游离碱:271.00。

[0569] 实施例S60.化合物47的合成。

[0570] 向6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮盐酸盐(0.150g,0.550mmol)于DMF(1.5mL)中的溶液中添加K_2CO_3(0.381g,2.760mmol),接着添加1-(溴甲基)-4-(二氟甲氧基)苯(0.261g,1.100mmol),并将反应混合物在室温下搅拌16h。完成后(通过TLC监测),反应混合物用冰冷的水(6mL)缓慢淬灭并用EtOAc(20mL×3)萃取。合并的有机层用饱和盐水溶液(10mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到粗化合物。粗化合物通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的化合物47(1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮)(0.040g,17.0%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:428.10。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.34(d,J=8.01,2H),7.11(d,J=8.01,2H),6.32-6.69(m,1H),5.14-5.25(m,2H),4.60-4.76(m,2H),3.84-3.97(m,2H),3.35-3.45(m,2H),3.12-3.40(m,4H),2.85-3.05(m,1H),2.65-2.75(m,1H),2.29-2.34(m,1H),1.65-1.75(m,1H),1.30-1.40(m,1H),1.05 -1.18(m,1H),0.80-0.90(m,6H)。

[0571] 实施例S61.化合物48的合成。

[0572] 向6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮盐酸盐(0.340g,1.253mmol)于DMF(3.4mL)中的溶液中添加Cs_2CO_3(0.814g,2.506mmol),接着添加1-(溴甲基)-4-(三氟甲基)苯(0.598g,2.506mmol),并将反应混合物在室温下搅拌16h。完成后(通过TLC监测),反应混合物用冰冷的水(6mL)缓慢淬灭并用EtOAc(20mL×3)萃取。合并的有机层用饱和盐水溶液(10mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到粗化合物。粗化合物通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的化合物48(6-(氟甲基)-8-(2-甲基丁基)-1-(4-(三氟甲基)苄基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮)(0.045g,8.0%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:430.10。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.34(d,J=8.01,2H),7.11(d,J=8.01,2H),5.14-5.25(m,2H),4.60-4.76(m,2H),3.84-3.97(m,2H),3.35-3.45(m,2H),3.12-3.40(m,4H),2.85-3.05(m,1H),2.65-2.75(m,1H),2.29-2.34(m,1H),1.65-1.75(m,1H),1.30-1.40(m,1H),1.05 -1.18(m,1H),0.80-0.90(m,6H)。

[0573] 实施例S62.中间化合物2-(1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酸甲酯的合成。

[0574] 步骤1:3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-4-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-氧代丁酸甲酯的合成。向2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-4-甲氧基-4-氧代丁酸(1.90g,9.475mmol)在0℃下搅拌于无水DMF(30mL)中的溶液中添加HATU(3.60g,1.137mmol),接着添加DIPEA(2.70mL,1.895mmol),并将反应混合物在相同温度下搅拌10min。向所得反应混合物中添加N-(2,2-二乙氧基乙基)-2-甲基丁-1-胺(3.50g,9.475mmol),然后使混合物升温至室温并搅拌6h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),反应混合物用冰冷的水(100mL)淬灭并用EtOAc(50mL x 2)萃取水层。合并的有机层用冷H_2O(50mL)洗涤,接着用盐水(50mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到粗产物。粗材料通过CombiFlash柱色谱使用50% EtOAc/正己烷纯化,以得到呈白色固体的3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-4-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-氧代丁酸甲酯(4.30g,83.0%产率)。MS(ESI)m/z[M+H-EtOH]$^+$:509.2。

[0575] 步骤2:3-氨基-4-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-氧代丁酸甲酯的合成。在室温下向3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-4-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-氧代丁酸甲酯(1.36g,2.451mmol)于CH_2Cl_2(27.0mL)中的溶液中添加二乙胺(1.53mL,14.71mmol),并将反应混合物搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),在减压下浓缩反应混合物,以获得粗化合物。粗化合物通过CombiFlash柱色谱使用5% MeOH/DCM纯化,以得到呈黄色粘稠液体的3-氨基-4-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-氧代丁酸甲酯(0.700g,86%产率)。MS(ESI)m/z[M+H-EtOH]$^+$:287.68。

[0576] 步骤3:3-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-氧代丁酸甲酯的合成。向维持处于0℃下的3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸(0.490g,1.594mmol)于无水DMF(10mL)中的搅拌溶液中添加HATU(0.720g,1.913mmol)、DIPEA(0.555mL,3.188mmol),接着添加3-氨基-4-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-氧代丁酸甲酯(0.530g,1.594mmol)。使反应混合物升温至室温并搅拌6h。完成后,反应混合物用冰冷的水(20mL)淬灭并且水层用EtOAc(20mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(10mL)洗涤,接着用饱和盐水(20mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗化合物通过Combiflash柱色谱使用5%MeOH/DCM纯化,以得到呈灰白色固体的3-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-氧代丁酸甲酯(0.630g,70%产率)。MS(ESI)m/z[M+H-EtOH]$^+$:580.20。

[0577] 步骤4:6-(2-甲氧基-2-氧代乙基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。在室温下向3-(3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-氧代丁酸甲酯(0.300g,0.4794mmol)的搅拌溶液中添加甲酸(1.5mL),并将反应混合物搅拌16h。完成后,浓缩反应混合物并且获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;0-5%MeOH/DCM)纯化,以得到呈黄色固体的6-(2-甲氧基-2-氧代乙基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(0.200g,80%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:534.67。

[0578] 步骤5:2-(8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酸

甲酯的合成。向6-(2-甲氧基-2-氧代乙基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(0.240g,0.4499mmol)于CH_2Cl_2(0.5mL)中的溶液中添加二乙胺(0.280mL),并将反应混合物在室温下搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),浓缩反应混合物并且粗材料通过combiflash柱色谱使用0-5% MeOH/DCM纯化,以得到呈白色固体的2-(8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酸甲酯(0.130g,93%产率)。MS(ESI)m/z$[M-H]^+$:310.4。

[0579] 步骤6:2-(1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酸甲酯的合成。在室温下向2-(8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酸甲酯(3.08g,9.890mmol)于DMF(30mL)中的溶液中添加K_2CO_3(4.10g,29.66mmol),并将反应混合物在80℃下搅拌15min。向所得反应混合物中添加1-(溴甲基)-4-(二氟甲氧基)苯(3.48g,14.36mmol),并将经搅拌混合物加热至80℃持续2h。完成后,反应混合物用冰冷的水(200mL)淬灭并且水层用EtOAc(200mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(200mL)洗涤,接着用饱和盐水(150mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗化合物通过Combiflash柱色谱(5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈黄色固体的2-(1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酸甲酯(2.20g,48%产率)。MS(ESI)m/z$[M-CH_3]^+$:454.10。

[0580] 实施例S63.化合物49的合成。

[0581] 向2-(1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酸甲酯(2.20g,4.705mmol)于THF(22.0mL)中的溶液中添加NaOH(0.560g,14.11mmol),接着添加水(4mL),并将反应混合物在室温下搅拌3h。通过TLC监测反应进程。完成后,在减压下浓缩反应混合物。将粗残余物溶解于水(10mL)中,用6N HCl(10mL)缓慢酸化并搅拌5min。将获得的固体沉淀通过布氏漏斗(Buchner funnel)过滤并在减压下干燥,以得到呈白色固体的化合物49(2-(1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酸)(0.85g,40%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:454.10。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.28-7.38(m,2H),7.11(d,J=7.99Hz,2H),6.33-6.71(m,1H),5.36-5.40(m,1H),4.70-4.80(m,1H),4.65-4.75(m,1H),3.80-4.00(m,2H),3.55-3.65(m,1H),3.35-3.45(m,1H),2.85-3.30(m,6H),2.70-2.80(m,1H),2.25-2.35(m,1H),1.65-1.76(m,1H),1.25-1.35(m,1H),1.10-1.20(m,1H),0.8-0.9(m,6H)。

[0582] 实施例S64.化合物50的合成。

[0583] 在室温下向2-(1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酸(0.470g,1.036mmol)于THF(5mL)中的溶液中添加1,1'-羰基二咪唑(0.500g,3.109mmol),并将反应混合物搅拌15min。向所得反应混合物中添加NH_3水溶液(10mL)并将反应混合物在室温下搅拌3h。通过TLC监测反应进程。完成后,反应混合物用冰冷的水(6mL)缓慢淬灭并用EtOAc(20mL×3)萃取。合并的有机层用饱和盐水溶液(10mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以提供粗化合物。获得的粗化合物通过Combiflash柱色谱使用5% MeOH/DCM,接着通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的化合物50(2-(1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代八氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-6-基)乙酰胺)(0.070g,15%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:453.20。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.30-7.40(m,2H),7.05-7.15(m,2H),6.39-6.70(m,1H),5.20-5.40(m,2H),4.75-

4.85(m,1H),3.95-4.05(m,1H),3.75-3.85(m,1H),3.50-3.60(m,1H),3.30-3.40(m,1H),3.05-3.25(m,2H),2.85-2.95(m,2H),2.55-2.70(m,1H),2.25-2.35(m,1H),1.70-1.80(m,2H),1.30-1.40(m,2H),1.05-1.20(m,2H),0.75-0.90(m,6H)。

[0584] 实施例S65.中间化合物1-(3-氯-4-(三氟甲基)苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。

[0585] 向6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(500mg,2.732mmol)于DMF(7mL)中的溶液中添加碳酸钾(1.13g,8.196mmol),接着添加4-(溴甲基)-2-氯-1-(三氟甲基)苯(0.894g,3.278mmol),并在80℃温度下搅拌12h。反应完成后,通过TLC(5% MeOH/DCM)监测。将反应混合物倒入冰冷的水(50mL)中并用EtOAc(50mL)萃取水层。有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈白色固体的1-(3-氯-4-(三氟甲基)苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)二酮(320mg,42%产率)。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:376.34。

[0586] 实施例S66.用于合成最终化合物的通用程序F。

[0587] 向0℃下的1-(3-氯-4-(三氟甲基)苄基)-6-甲基六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(150mg,0.400mmol)于DMF(2mL)中的溶液中添加Cs_2CO_3(4eq)并搅拌20min,然后在室温下添加适当的烷基卤化物(1.2eq),并且将反应混合物在80℃下加热并搅拌12h。起始材料耗尽后(通过TLC监测),反应混合物用冰冷的水淬灭并用乙酸乙酯萃取。有机层经无水Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。获得的粗物质通过柱色谱(硅胶100-200目;5% MeOH/DCM)纯化,以得到最终化合物。

[0588] 实施例S67.化合物51的合成。

[0589] 通过通用程序F使用(2-溴乙基)环丁烷作为烷基卤化物来合成化合物51。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:458.2。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 7.70(d,J=8.07Hz,1H),7.54(s,1H),7.33(d,J=8.68Hz,1H),4.34(dd,J=10.64,3.55Hz,1H),3.87-3.99(m,2H),3.61(t,J=11.13Hz,1H),3.25-3.42(m,2H),3.08-3.19(m,2H),2.89-2.98(m,1H),2.64-2.74(m,1H)2.29-2.38(m,1H)2.17-2.27(m,1H)1.97-2.09(m,2H)1.72-1.92(m,3H)1.58-1.66(m,4H)1.55(br.s,3H)。

[0590] 实施例S68.化合物54的合成。

[0591] 通过通用程序F使用(2-溴乙基)环戊烷作为烷基卤化物来合成化合物54。MS(ESI)m/z$[M+H]^+$:472.15。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 7.69(d,J=8.11Hz,1H)7.52-7.56(m,1H)7.33(d,J=7.89Hz,1H),5.23(q,J=7.23Hz,1H),4.36(dd,J=10.52,3.29Hz,1H),3.87-3.98(m,2H),3.63(t,J=11.07Hz,1H),3.46-3.56(m,1H),3.25-3.35(m,1H),3.12-3.23(m,2H),2.87-2.97(m,1H),2.60-2.70(m,1H),2.29-2.37(m,1H),1.66-1.82(m,2H),1.54-1.63(m,1H),1.51(d,J=,2.63Hz,2H),1.42(d,J=7.23Hz,3H),1.26(br.s,2H)1.04-1.16(m,2H)0.80-0.92(m,2H)。

[0592] 实施例S69.化合物53的合成。

[0593] 步骤1:(1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-甲基-1-氧代戊-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。在0℃下向(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)亮氨酸(20.0g,56.58mmol)于无水DMF(200mL)中的搅拌溶液中添加HATU(21.50g,56.58mmol),接着添加DIPEA(10.62mL,61.10mmol),并将反应混合物在相同温度下搅拌10min。在室温下向所得反

应混合物中添加N-(2,2-二乙氧基乙基)-2-甲基丁-1-胺(11.48g,56.58mmol),并将反应混合物搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),反应混合物用冰冷的水(100mL)淬灭并用EtOAc(50mL x 4)萃取水层。合并的有机层用冷H_2O(50mL x 2)洗涤,接着用盐水(50mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩,以得到粗产物。粗产物通过CombiFlash柱色谱使用5% MeOH/DCM纯化,以得到呈白色固体的(1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-甲基-1-氧代戊-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(14.5g,47.57产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:539.04。

[0594] 步骤2:2-氨基-N-(2,2-二乙氧基乙基)-4-甲基-N-(2-甲基丁基)戊酰胺的合成。在室温下向(1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-甲基-1-氧代戊-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(8.50g,15.77mmol)于CH_2Cl_2(50mL)中的溶液中添加二乙胺(16mL,157.7mmol),并将反应混合物搅拌3h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),在减压下浓缩反应混合物,以获得粗化合物。粗化合物通过CombiFlash柱色谱使用5% MeOH/DCM纯化,以得到呈黄色粘稠液体的2-氨基-N-(2,2-二乙氧基乙基)-4-甲基-N-(2-甲基丁基)戊酰胺(3.60g,72%产率)。MS(ESI)m/z[M+H-EtOH]$^+$:272.10。

[0595] 步骤3:(3-((1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-甲基-1-氧代戊-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。向维持处于0℃下的3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸(3.80g,12.28mmol)于无水DMF(35mL)中的搅拌溶液中添加HATU(6.48g,17.05mmol)和DIPEA(4.90mL,28.42mmol),接着添加2-氨基-N-(2,2-二乙氧基乙基)-4-甲基-N-(2-甲基丁基)戊酰胺(3.60g,11.37mmol)。使反应混合物达至室温并搅拌3h。完成后,反应混合物用冰冷的水(20mL)淬灭并且水层用EtOAc(30mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(10mL)洗涤,接着用饱和盐水(20mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。粗化合物通过Combiflash柱色谱使用5% MeOH/DCM纯化,以得到呈灰白色固体的(3-((1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-甲基-1-氧代戊-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(3.8g,55%产率)。MS(ESI)m/z[M+H-EtOH]$^+$:565.30。

[0596] 步骤4:6-异丁基-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯的合成。在室温下,向(3-((1-((2,2-二乙氧基乙基)(2-甲基丁基)氨基)-4-甲基-1-氧代戊-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(3.80g,6.231mmol)的搅拌溶液中添加甲酸(20mL),并将反应混合物搅拌16h。完成后,在减压下浓缩反应混合物。粗化合物通过柱色谱(硅胶100-200目;0-5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈黄色固体的6-异丁基-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(3.60g,94%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:518.23。

[0597] 步骤5:6-异丁基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。向6-异丁基-8-(2-甲基丁基)-4,7-二氧代六氢-2H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-1(6H)-甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(3.60g,6.954mmol)于CH_2Cl_2(36mL)中的溶液中添加二乙胺(6.8mL,69.54mmol),并将反应混合物在室温下搅拌16h。起始材料完全耗尽后(通过TLC监测),在减压下浓缩反应混合物,并且粗物质通过combiflash柱色谱使用10%-50%乙酸乙酯/正己烷纯化,以得到呈白色固体的6-异丁基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(1.20g,60%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:296.10。

[0598] 步骤6:1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-6-异丁基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,

2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮的合成。在0℃下向6-异丁基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮(0.170g,0.576mmol)于DMF(5mL)中的溶液中添加K_2CO_3(0.159g,1.152mmol),并将反应混合物搅拌10min。在室温下向所得反应混合物中添加1-(溴甲基)-4-(二氟甲氧基)苯(0.150g,0.632mmol)并搅拌3h。完成后,反应混合物用冰冷的水(200mL)淬灭并且水层用EtOAc(20mL x 2)萃取。有机层用冷H_2O(20mL)洗涤,接着用饱和盐水(15mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并在减压下浓缩。所得粗化合物通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的化合物53(1-(4-(二氟甲氧基)苄基)-6-异丁基-8-(2-甲基丁基)六氢-4H-吡嗪并[1,2-a]嘧啶-4,7(6H)-二酮)(0.103g,40%产率)。MS(ESI)m/z[M+H]$^+$:452.3。^{1}H NMR(400MHz,DMSO d_6)δ7.42(d,J=8.8Hz,2H),7.14-7.24(m,3H),5.0-5.10(m,1H),4.50-4.60(m,1H),3.90-4.00(m,2H),3.60-3.70(m,1H),3.02-3.40(m,4H),2.70-2.85(m,2H),2.0-2.10(m,1H),1.50-1.70(m,4H),1.20-1.35(m,1H),1.0-1.10(m,1H),0.70-0.98(m,12H)。

[0599] 生物学实施例

[0600] 实施例B1.化合物1a和化合物A19活性代谢物在体外的广泛神经毒性保护作用。

[0601] HGF/MET信号传导的活化预期可保护细胞(包括神经元)免于细胞死亡。为了证明实例化合物的HGF/MET加强特性,测试了化合物1a和化合物A19的活性代谢物提高培养的原代神经元受到化学伤害时的活力的能力,所述化学伤害通过一系列机制导致神经元死亡。过氧化氢(H_2O_2)处理会产生有毒的氧化应激。细菌源性脂多糖(LPS)治疗诱导了炎症性细胞死亡。用过量的谷氨酸(Glut)处理会在神经元培养物中产生兴奋毒性。用1-甲基-4-苯基吡啶鎓(MPP^+)处理通过抑制线粒体功能导致细胞死亡。

[0602] 大鼠原代皮质神经元培养物在37℃、5% CO_2下在补充有含有10% FBS的B27/GDNF/BDNF的完全Neurobasal培养基中生长直至成熟,然后以5,000个细胞/孔接种到384孔板中。然后用1uM、100nM、10nM、1nM或0.1nM的化合物1a处理培养物15分钟。然后使细胞在以下浓度下经受单独的条件伤害24小时:1uM的H_2O_2、1uM的LPS、25uM的谷氨酸或500uM的MPP+。所有处理均含有浓度为5ng/ml的重组人HGF(R&D Systems)。MK-801(地佐环平(Dizocilpine))为N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体(一种谷氨酸受体)的孔隙阻滞剂,并且用作阳性对照。

[0603] 为了量化神经保护作用,用Cell Titer-Glo发光细胞活力测定(Promega,目录号G7571)测量细胞活力。数据归一化到设定为100%细胞活力的DMSO+HGF对照。使用单因素ANOVA和Tukey多重比较检验对每组(n=4)进行统计分析。

[0604] 结果展示于表2中。数据报告为相对于伤害对照的统计显著性,其中NS=不显著,+=$p<0.05$,++=$p<0.01$,并且+++=$p<0.001$。

[0605] 表2.化合物1a保护大鼠原代神经元免于多种神经毒性伤害

[0606]

	伤害效应(相对于媒介物的%活力)	[化合物 1a] + HGF (5ng/ml)					阳性对照 MK-801 (1 uM)
伤害		1 uM	100 nM	100 nM	1 nM	0.1 nM	
H_2O_2 (1 uM)	64.23	+++	+++	+++	+++	+++	+++
谷氨酸(25 uM)	49.55	+++	+++	+++	+++	+++	+++
LPS (1 uM)	49.19	+++	+++	+++	NS	+++	+++
MPP+ (500 uM)	49.85	+++	+++	+++	+++	+++	+++

[0607] 在一项基本相似的研究中,检查了化合物A19的活性代谢物dihexa在受到相同范围的神经毒性伤害攻击时促进广泛神经保护效应的能力。化合物A19活性代谢物还表现出在如表3中详细列出的浓度范围内对抗H_2O_2、谷氨酸、LPS和MPP+的细胞存活率的提高。

[0608] 表3.化合物A19活性代谢物保护大鼠原代神经元免于多种神经毒性伤害

[0609]

伤害	伤害效应(相对于媒介物的%活力)	[化合物 A19 活性代谢物] + HGF (5ng/ml)				
		1 uM	100 nM	100 nM	1 nM	0.1 nM
H_2O_2 (1 uM)	59.35	+++	+++	+++	+++	+++
谷氨酸(25 uM)	54.4	NS	+	+	++	+
LPS (1 uM)	57.1	++	++	+++	++	++
MPP+ (500 uM)	54.3	+++	+++	+++	+++	+++

[0610] 数据报告为相对于伤害对照的统计显著性,其中NS=不显著,+=$p<0.05$,++=$p<0.01$,并且+++=$p<0.001$。

[0611] 在此项研究中,化合物1a和化合物A19活性代谢物处理在较宽的浓度范围内对整个测试的伤害组起到有效的神经保护处理作用。此结果表明,用化合物1a和化合物A19活性代谢物加强HGF/MET信号传导对培养物中的大鼠神经元产生有效的神经保护效应。

[0612] 实施例B2.对抗毒性炎症性攻击的神经保护

[0613] 为了评估化合物处理对抗炎症伤害的神经保护效应,对原代培养的皮质神经元进行24h的脂多糖(LPS)处理,同时使用不同化合物剂量的式(I)化合物或化合物A19。LPS为Toll样受体4(TLR4)的有效活化剂,它在神经元和小胶质细胞上表达,并能启动多种促炎介质的释放。例如,LPS在小鼠原代神经元培养物中诱导肿瘤坏死因子-α(TNFα)和IL-6的强烈释放,这两者均为与神经退行性和细胞毒性相关的标志性促炎介质。为了证明测试化合物对抗炎症诱导的细胞毒性的神经保护潜力,利用率Cell Titer-Glo发光细胞活力测定(Promega,目录号G7571)。大鼠原代皮质神经元培养物在37℃、5% CO_2下在补充有含有10% FBS的B27/GDNF/BDNF的完全Neurobasal培养基中生长直至成熟。将25μl培养物体积以5,000个细胞/孔接种到384孔板中,并用1μM、100nM、10nM、1nM或0.1nM的测试化合物处理15分钟。然后使细胞经受1μM LPS攻击持续24小时。在Envision读板仪(Perkin Elmer)上进行发光测量以评估ATP的相对水平。DMSO对照的数据设置为100%细胞活力,并对每组(n=4)取平均并且表示为平均值±SEM。

[0614] 结果展示于表4中。化合物1a、2a、5a、6a和A19活性代谢物均在至少一种测试剂量下保护原代神经元免于LPS刺激的炎症毒性。使用单因素ANOVA和Tukey多重比较检验进行统计分析。针对DMSO+LPS,++指示$p<0.01$,并且+++指示$p<0.001$。

[0615] 表4.大鼠皮质神经元对LPS攻击的神经保护

[0616]

处理	剂量	相对于 1 uM LPS 的神经保护的显著性
A19，活性代谢物	1 μM	++
	100 nM	++
	10 nM	+++
	1 nM	++
	0.1 nM	+++
化合物 1a	1 μM	+++
	100 nM	+++
	10 nM	+++
	1 nM	+++
	0.1 nM	+++
化合物 2a	1 μM	+++
	100 nM	+++
	10 nM	+++
	1 nM	+++
	0.1 nM	+++
化合物 5a	1 μM	+++
	100 nM	+++
	10 nM	+++
	1 nM	+++
	0.1 nM	+++
化合物 6a	1 μM	+++
	100 nM	+++
	10 nM	+++
	1 nM	+++
	0.1 nM	+++

[0617] 实施例B3.神经炎症性攻击期间的神经保护和神经元形态拯救

[0618] 一系列神经退行性疾病状态均与线粒体损伤和活性氧物质(ROS)的产生相关的神经炎症性功能障碍有关。通过使用1-甲基-4-苯基吡啶鎓(MPP+)或杀虫剂鱼藤酮(rotenone)处理神经元培养物对线粒体功能的化学破坏可导致炎症信号传导路径活化并通过凋亡和坏死机制导致死亡。类似地,很容易被培养物中的多巴胺能神经元吸收的6-羟基多巴胺(6-OHDA)的细胞内氧化会导致细胞内ROS的产生、炎症信号传导的活化和细胞死亡。体外暴露于这些神经毒素已成功用于模拟神经退行性炎症的效应并鉴定可保护神经元免受这些效应的治疗剂。

[0619] 解剖从15天大的大鼠(Wistar)胚胎获得的中脑组织,并且通过胰蛋白酶消化和机械通道去除并分离腹侧中脑区域(富含多巴胺能(DA)神经元的区域)。细胞在补充有B27(2%)、L-谷氨酰胺(2mM)、2%青霉素-链霉素(PS)溶液、10ng/mL脑源性神经营养因子(BDNF)和1ng/mL神经胶质源性神经营养因子(GDNF)的Neurobasal培养基中培养。

[0620] 活细胞以40,000个细胞/孔的密度接种于96孔板中,并维持在37℃和5% CO_2条件下。在培养第6天,将化合物A19活性代谢物以一系列浓度添加至培养物中并孵育20分钟。随后,将化学伤害添加至单独板中的培养物中,如下:4uM MPP+培养48小时,10nM鱼藤酮培养24小时并且20uM 6-OHDA培养24小时。

[0621] 孵育后,将细胞培养上清液用含4%多聚甲醛的PBS的固定溶液替换持续20分钟,

并准备进行免疫染色。固定的培养物用单克隆抗酪氨酸羟化酶(TH)抗体(1:10000于PBS中,2hr,RT)染色,接着与适当的荧光二抗和Hoechst染料一起孵育。自动荧光成像(每个孔20张图像)是在10倍放大下进行的。使用计算机图像分析来量化TH+神经元的总数和神经突网络的总长度。使用单因素ANOVA,接着进行Fisher LSD检验的统计分析比较了使用和未使用测试化合物处理的炎症伤害培养物。"NS"指示比较无统计显著性,"+"指示$p<0.05$。

[0622] 结果展示于表5-7中。用化合物A19活性代谢物处理原代神经元通过保护神经元免于死亡("TH+神经元数")并促进正常、健康的神经突网络("神经突网络")的形成来减少炎症相关化学伤害的神经毒性影响。

[0623] 表5.MPP+攻击后的神经保护和神经突网络长度拯救

[0624]

	MPP+损伤(4 uM, 48hr)	
A19, 活性代谢物剂量(nM)	TH+神经元数量	神经突网络
0.01	NS	NS
0.1	NS	NS
1	+	NS
10	+	NS
100	+	+
1000	+	+

[0625] 表6.鱼藤酮攻击后的神经保护和神经突网络长度拯救

[0626]

	鱼藤酮损伤(10 nM, 24 hr)	
A19, 活性代谢物剂量(nM)	TH+神经元数量	神经突网络
0.01	NS	NS
0.1	NS	NS
1	NS	NS
10	+	NS
100	+	+
1000	+	+

[0627] 表7.6-OHDA攻击后的神经保护和神经突网络长度拯救

[0628]

	6-OHDA 损伤(20 uM, 24 hr)	
A19, 活性代谢物剂量(nM)	TH+神经元数量	神经突网络
0.01	NS	NS
0.1	NS	NS

[0629]

1	+	NS
10	+	+
100	+	+
1000	+	+

[0630] 实施例B4.中风的啮齿动物大脑中动脉闭塞(MCAO)模型

[0631] 在第0天,通过用管腔内细丝插入股动脉来诱发动物的MCAO。闭塞持续90分钟并且再灌注在24小时内进行。用测试化合物(例如,式(I)化合物或化合物A19)或媒介物的处理是预防性的(从第-3天开始)或治疗性的(从第1天(MCAO手术后24小时)开始)。在第1天(MCAO手术后24小时),对动物的改良神经功能缺损评分(modified neurological severity score,MNSS)和运动功能行为测试(网格行走、转棒、握力和平衡木行走)进行评估。在第8天记录第二个MNSS。在第16天,再次进行MNSS并重新评估动物的运动功能。在第15天,将动物处死。次要终点包括用2,3,5-三苯基-2H-四唑氯化物(TTC)染色以评估梗死体积、尾壳核和海马的组织学H&E染色,以及收集脑脊液和血浆中的S-100B、神经元特异性烯醇化酶、神经胶质纤维酸性蛋白、髓鞘碱性蛋白、脂肪酸结合蛋白、视锥蛋白样蛋白-1,以及炎症性细胞因子肿瘤坏死因子、白细胞介素-1α、1β、IL-6。

[0632] 与接受媒介物治疗的动物相比,以预防或治疗方式接受测试化合物治疗的动物在治疗期过程中均表现出改进的MNSS评分和运动功能行为。在研究结束时,组织学检查显示,与对照治疗的动物相比,化合物治疗的动物的中风严重程度的终点标记减少,包括标记炎症、炎症细胞活化、毒性蛋白质累积和脱髓鞘减少。

[0633] 实施例B5.脓毒性脑病的啮齿动物脂多糖模型

[0634] 脑炎是指大脑炎症,可能导致脑肿胀、发烧、头痛、精神错乱和癫痫。神经炎症的来源可能多种多样,包括由于病毒、细菌、寄生虫或真菌感染或由于自身免疫性疾病。脂多糖(LPS)是一种细菌内毒素,其诱导强烈的神经炎症性反应并与认知能力下降有关。使用T迷宫测定研究了化合物A19在小鼠脑炎模型中逆转LPS诱导的认知能力下降的能力。在另一项实质上相似的测定中,还评估了化合物1a和5a。

[0635] 自发和连续交替是啮齿动物在T迷宫(T-CAT)中连续运行过程中交替进行自由选择的固有倾向。这个依序程序依赖于工作记忆,并且对影响记忆过程的各种药理操作很敏感。本研究旨在评价化合物A19、化合物1a和化合物5a在T迷宫测定中逆转LPS诱导的认知缺陷的能力。

[0636] 将化合物A19溶解于0.9% NaCl(盐水)中,并且定期涡旋直至完全溶解,并将pH值调整在7.4至7.8之间。使用的化合物A19的浓度为0.125、0.1、0.05、0.025和0.0125mg/ml,当以10ml/kg的体积给予时,导致剂量分别为1.25、1、0.5、0.25和0.125mg/kg。将化合物1a以160mg/ml溶解于100% DMSO中,并涡旋直至完全溶解。然后将上述储备溶液在20% PEG-400和78%0.9% NaCl中稀释,其中储备溶液占最终溶液的2%。使用的化合物1a的浓度为0.05、0.2、0.8、1.6和3.2mg/ml,当以10ml/kg的体积给予时,导致剂量分别为0.5、2、8、16和32mg/kg。将化合物5a以100mg/ml溶解于100%DMSO中,并涡旋直至完全溶解。然后将上述储备溶液在20%PEG-400和78%0.9% NaCl中稀释,其中储备溶液占最终溶液的2%。使用的化合物5a的浓度为0.125、0.25、0.5、1和2mg/ml,当以10ml/kg的体积给予时,导致剂量分别为1.25、2.5、5、10和20mg/kg。

[0637] 将美金刚(memantine)溶解于盐水中。使用的美金刚的浓度为0.1和0.01mg/ml,当以10ml/kg的体积给予时,导致剂量分别为1和0.1mg/kg。美金刚被批准用于治疗阿尔茨海默病的症状,并被用作参考化合物。

[0638] 将LPS溶解于盐水中,并且以0.0125mg/ml的浓度制备,并以20ml/kg的剂量体积进

行腹膜内(i.p.)给予,以得到0.25mg/kg(250μg/kg)的剂量。

[0639] 研究使用了四到五周大的雄性CD-1小鼠(Janvier;Le Genest St Isle-France)。

[0640] 对化合物A19进行了测试,剂量为1.25、1、0.5、0.25和0.125mg/kg,皮下(s.c.)施用14天,其中最后一次治疗在T迷宫试验前60min进行。在T迷宫试验之前2周腹膜内注射LPS。对化合物1a进行了测试,剂量为0.5、2、8、16和32mg/kg,口服(p.o.)施用14天,其中最后一次治疗在T迷宫试验前60min进行。对化合物5a进行了测试,剂量为1.25、2.5、5、10和20mg/kg,口服(p.o.)施用14天,其中最后一次治疗在T迷宫试验前60min进行。在T迷宫试验之前2周腹膜内注射LPS。

[0641] 表8展示了每个治疗组的施用途径和治疗日程表。

[0642] 表8.治疗日程表

[0643]

组号	描述	途径	治疗及试验前时间(min)
1	盐水/媒介物	ip/sc	每天一次 LPS 施用持续 14 天。最后一次治疗在 T 迷宫前 60 min 进行
2	LPS/媒介物	ip/sc	
3	LPS/美金刚 0.1 mg/kg	ip/ip	每天一次 LPS 施用持续 14 天。最后一次治疗在 T 迷宫前 60 min 进行
4	LPS/美金刚 1 mg/kg	ip/ip	
5	LPS / A19 1.25 mg/kg	ip/sc	每天一次 LPS 施用持续 14 天。最后一次治疗在 T 迷宫前 60 min 进行
6	LPS / A19 1 mg/kg	ip/sc	
7	LPS / A19 0.5 mg/kg	ip/sc	
8	LPS / A19 0.25 mg/kg	ip/sc	
9	LPS / A19 0.125 mg/kg	ip/sc	
10	LPS/化合物 1a 0.5 mg/kg	ip/po	每天一次 LPS 施用持续 14 天。最后一次治疗在 T 迷宫前 60 min 进行
11	LPS/化合物 1a 2 mg/kg	ip/po	
12	LPS/化合物 1a 8 mg/kg	ip/po	
13	LPS/化合物 1a 16 mg/kg	ip/po	
14	LPS/化合物 1a 32 mg/kg	ip/po	
15	LPS/化合物 5a 1.25 mg/kg	ip/po	每天一次 LPS 施用持续 14 天。最后一次治疗在 T 迷宫前 60 min 进行
16	LPS/化合物 5a 2.5 mg/kg	ip/po	
17	LPS/化合物 5a 5 mg/kg	ip/po	
18	LPS/化合物 5a 10 mg/kg	ip/po	
19	LPS/化合物 5a 20 mg/kg	ip/po	

[0644] T迷宫设备由灰色有机玻璃(Plexigla)制成,具有主干(55cm长x10cm宽x 20cm高)和相对于主干成90度角的两个臂(30cm长x 10cm宽x 20cm高)。起始箱(15cm长x 10cm宽)通过截断门(guillotine door)与主干隔开。在力选择交替任务期间,还提供了水平门来关闭特定的臂。

[0645] 实验方案由一个单独的环节组成,从一个“强迫选择”试验开始,接着是14个“自由选择”试验。在“强制选择”试验中,动物被限制在起始臂中5秒钟,然后被释放,同时左或右目标臂被水平门阻挡。动物穿过迷宫,但最终进入了开放的目标臂并返回起始位置。动物回到起始位置后立即打开左侧或右侧目标门,让动物在左侧或右侧目标臂之间自由选择(“自由选择试验”)。当动物将其四只爪子放入手臂时,就被认为进入了手臂。一旦完成14次自由

选择试验或经过10min(以先发生者为准),则终止环节并将动物从迷宫中移除。

[0646] 确定了每只小鼠14次自由选择试验中的交替百分比(交替次数/14*100),并将其用作工作记忆表现的指标。所述百分比定义为在连续试验中进入T迷宫的不同臂(即左-右-左-右等)。

[0647] 对结果数据进行了方差分析(ANOVA)。使用Fisher的PLSD测试进行成对比较,并且p值≤0.05被认为是显著的。通过将盐水/媒介物组的相应反应设为100%并将LPS/媒介物组的相应反应设为0%来计算LPS诱导的记忆缺陷的药物诱导逆转。

[0648] 相比于注射2周后评估的注射盐水的小鼠(不含LPS)的表现,单次注射250μg/kg LPS导致小鼠的自发交替显著减少(在评估化合物A19的研究中减少约24%,并且在评估化合物1a和化合物5a的研究中减少44%)。事实上,在评估化合物A19的研究中,LPS/媒介物组和盐水/媒介物组的交替率分别为45%和69%。在评估化合物1a和5a的研究中,LPS/媒介物组和盐水/媒介物组的交替率分别为44%和70%。LPS小鼠的交替率减少表明存在认知缺陷。表9和表10展示了每个治疗组的自发交替和恢复百分比。

[0649] 如表9中所示,化合物A19在小鼠T迷宫交替测试中产生LPS诱导的缺陷的剂量依赖性逆转。事实上,剂量为1.25、1、0.5、0.25和0.125mg/kg A19的交替率分别为61%、61%、64%、60%和42%。这些交替率分别对应于剂量为1.25、1、0.5、0.25和0.125mg/kg A19的LPS小鼠的认知表现恢复65%、65%、79%、62%和-12%。除0.125mg/kg外,化合物A19在所有剂量下均有显著效应。另外,化合物1a在小鼠T迷宫交替测试中产生LPS诱导的缺陷的剂量依赖性逆转。0.5、2、8、16和32mg/kg的交替率分别为49%、59%、56%、51%和56%。0.5、2、8、16和32mg/kg的逆转率分别为17%、56%、47%、28%和44%。化合物5a还被评估为能逆转小鼠T迷宫交替测试中LPS诱导的缺陷。1.25、2.5、5、10和20mg/kg的交替率分别为59%、58%、61%、58%和60%。1.25、2.5、5、10和20mg/kg的逆转率分别为58%、53%、64%、53%和61%。

[0650] 用美金刚(1和0.1mg/kg)治疗的LPS小鼠分别展示出54%和64%的交替率(参见表9)。这些交替率对应于LPS治疗的小鼠的认知表现恢复了38%和76%。两种剂量的美金刚的效应均显著。

[0651] 与文献研究结果一致,美金刚使LPS治疗的小鼠的自发交替显著增加,这表明T迷宫测定中的认知表现有所提高。虽然0.125mg/kg A19(最低测试剂量)无法逆转LPS诱导的认知缺陷,但较高剂量(高达1.25mg/kg)可显著改善LPS小鼠的认知表现。

[0652] 化合物1a和5a的结果展示于表10中。化合物1a在2mg/kg时展现出对LPS诱导的认知缺陷的显著逆转,并且在8mg/kg和32mg/kg时呈现趋势。化合物5a在所有剂量下均可显著逆转LPS诱导的认知缺陷。

[0653] 表9.自发交替和恢复百分比

[0654]

组名称	自发交替(%)			恢复(%)
	均值	s.e.m.	n	
媒介物/盐水	69.3	2.1	10	100
媒介物/LPS 250 μg/kg	45.0	2.1	10	0
A19 1.25 mg/kg / LPS 250 μg/kg	60.7	1.9	10	58
A19 1 mg/kg / LPS 250 μg/kg	60.7	2.4	10	65
A19 0.5 mg/kg / LPS 250 μg/kg	64.3	3.8	10	79
A19 0.25 mg/kg / LPS 250 μg/kg	60.0	3.0	10	62
A19 0.125 mg/kg / LPS 250 μg/kg	42.1	2.5	10	-12
美金刚 1 mg/kg / LPS 250 μg/kg	54.3	3.2	10	38
美金刚 0.1 mg/kg / LPS 250 μg/kg	63.6	4.3	10	76

[0655] 表10.自发交替和恢复百分比

[0656]

组名称	自发交替(%)			恢复(%)
	均值	s.e.m.	n	
媒介物/盐水	70.0	2.3	10.0	100
媒介物/LPS 250μg/kg	44.3	3.0	10.0	0
Cmpd 1a 0.5mg/kg / LPS 250μg/kg	48.6	5.8	10.0	17
Cmpd 1a 2mg/kg / LPS 250μg/kg	58.6	2.8	10.0	56
Cmpd 1a 8mg/kg / LPS 250μg/kg	56.4	4.0	10.0	47
Cmpd 1a 16mg/kg / LPS 250μg/kg	51.4	1.8	10.0	28
Cmpd 1a 32mg/kg / LPS 250μg/kg	55.7	2.6	10.0	44
Cmpd 5a 1.25mg/kg / LPS 250μg/kg	59.3	3.0	10.0	58
Cmpd 5a 2.5mg/kg / LPS 250μg/kg	57.9	2.7	10.0	53
Cmpd 5a 5mg/kg / LPS 250μg/kg	60.7	2.7	10.0	64
Cmpd 5a 10mg/kg / LPS 250μg/kg	57.9	2.9	10.0	53
Cmpd 5a 20mg/kg / LPS 250μg/kg	60.0	2.4	10.0	61

[0657] 结果指示化合物A19、化合物1a和化合物5a逆转小鼠T迷宫测定中LPS诱导的认知障碍。

[0658] 实施例B6.额颞叶痴呆症(FTD)的啮齿动物人tau转基因小鼠模型

[0659] 使用表达tau蛋白的P301S突变(特定于额颞叶痴呆症)的转基因啮齿动物来评估测试化合物(例如,式(I)化合物或化合物A19)的功效。在动物大约4个月大时,对动物进行一系列认知任务的表现评估。然后,用式(I)化合物或化合物A19或媒介物治疗转基因动物及其年龄匹配的非转基因对应物持续大约8周的时段。然后在动物大约6个月大时重新评估治疗诱导的认知改变。行为测试之后,处死动物,并收集脑脊液和血浆,并且评估磷酸化tau蛋白以及炎症介质(包括肿瘤坏死因子α、神经胶质纤维酸性蛋白、白细胞介素-1α、白细胞介素-1β和IL-6)的水平。收集大脑并评估tau磷酸化或构象变化的标记(包括pTau181、pTau217、CP13、MC1 Alz50和PHF1)的表达和定位。大脑还会接受如上所述的炎症介质,以及小胶质细胞标记(诸如Iba1)和神经元标记(包括NeuN)的评估。此外,还评估了指示大脑突触缺失的标记,包括PSD95和突触素,以及糖原合成酶激酶3-β的表达。

[0660] 与媒介物治疗的动物相比,用测试化合物治疗的动物在研究期间在一项或多项认知功能测试中有所改善。在研究终止时,与媒介物治疗的动物相比,用测试化合物治疗的动物中一种或多种炎症介质的表达测量值降低。与用媒介物治疗的动物相比,用测试化合物

治疗的动物中病理蛋白质累积的标记减少,并且突触健康标记得到改善。

[0661] 实施例B7.巨噬细胞样细胞培养物中促炎细胞因子表达的减少。

[0662] 神经炎症在疾病进展中起着至关重要的作用,并且是一种涉及各种细胞的复杂现象,所述各种细胞影响许多细胞外和细胞内的信号传导路径和细胞因子的产生。大脑的巨噬细胞(小胶质细胞)是CNS先天免疫的主要因子,并且在炎症信号响应中发挥各种功能,包括神经保护。活化的小胶质细胞参与形成神经炎症,对有毒的外源性物质(如LPS)或内源性物质(如淀粉样蛋白-β)作出反应。在此,THP-1细胞被用作体外细胞模型来评价与CNS炎症相关的机制。与佛波醇-12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯(PMA)的分化导致THP-1单核细胞获取与巨噬细胞的功能和形态的相似性。LPS通过Toll样受体4与THP-1分化的巨噬细胞相互作用,引发炎症反应并刺激促炎细胞因子释放,最终导致细胞死亡。研究测试化合物是否对LPS攻击的巨噬细胞培养物具有抗炎效应。THP-1分化的巨噬细胞用测试化合物处理20分钟,接着进行24hr的LPS攻击。然后收集培养上清液,以分析促炎细胞因子的存在:白细胞介素1β(IL-1β)、白细胞介素6(IL-6)和肿瘤坏死因子α(TNF-α)。

[0663] 通过均相时间分辨荧光(homogeneous time resolved fluorescence,HTRF)试剂盒对细胞培养上清液中的细胞因子进行定量,以评估IL-1β(人IL-1β试剂盒,#62HIL1BPEG,Cisbio)和IL-6(人IL-6试剂盒,62HIL06PET,Cisbio)的水平,并通过ELISA(人TNF-αELISA试剂盒,KHC3011,ThermoFisher)来确定TNF-α的水平。

[0664] 与LPS处理培养物相比,使用Prism统计软件(GraphPad),通过单因素ANOVA和Tukey事后检验进行数据分析。表格数据指示所示剂量下所示分析物的培养上清液显著减少。

[0665] 结果收集在表11中。使用化合物1a、5a、6a和A19活性代谢物处理均在至少一种测试剂量下显著降低IL-1β和TNF-α的表达。用化合物1a、5a和A19活性代谢物处理均在至少一种测试剂量下显著降低IL-6的表达。“NS”指示所示细胞因子无显著降低。“+”指示Tukey事后检验中p值<0.05。“++”指示Tukey事后检验中p值<0.01。

[0666] 表11:体外THP-1免疫细胞促炎细胞因子表达显著降低

化合物 1a			
剂量	炎症分析物		
(nM)	IL-1β	IL-6	TNF-α
0.1	++	NS	++
10	++	++	++
1000	++	+	++

化合物 5a			
剂量	炎症分析物		
(nM)	IL-1β	IL-6	TNF-α
0.1	++	NS	NS
10	++	+	NS
1000	++	++	+

[0667]

化合物 6a			
剂量	炎症分析物		
(nM)	IL-1β	IL-6	TNF-α
0.1	NS	NS	NS
10	NS	NS	NS
1000	+	NS	+

化合物 A19, 活性代谢物			
剂量	炎症分析物		
(nM)	IL-1β	IL-6	TNF-α
0.1	NS	NS	NS
10	++	+	+
1000	+	++	++

[0668] 实施例B8.化合物A19、5a和6a减少TPD43小鼠模型中的炎症和神经退行性标记

[0669] TDP-43蛋白的核外累积是多种神经系统疾病的病理标志。神经元中转基因表达TDP-43突变形式的小鼠已成为一种有价值的模型,可重现多种疾病特征,包括神经炎症驱动的细胞因子表达显著增加。在此项研究中,通过定量转基因TDP-43小鼠血浆中的炎症细胞因子IL-6和TNF-α来检查测试化合物降低突变的TDP-43表达的神经炎症效应的能力。向3周龄雄性Prp-TDP43^{A315T}小鼠(每组N=10只小鼠)每日施用测试化合物的治疗。化合物A19通过皮下注射施用,并且化合物5a和化合物6a通过口服管饲施用。治疗2个月后,收集血浆样本以进行细胞因子定量。在所有情况下,未经治疗的转基因动物中检测到的细胞因子水平均显著高于野生型对照动物。使用ELISA方法测定血浆IL-6和TNF-α细胞因子表达水平。用刺血针穿刺颌下静脉,并将一滴血直接收集在含有EDTA作为抗凝剂的微管上。样本采集后20分钟内以1000x g在4℃下离心15分钟。在ELISA分析前,将20μl血浆上清液储存在-20℃下。

[0670] 将血浆在无菌PBS中以1:10的比例稀释,并且然后使用ELISA方法对每只动物进行两次IL-6和TNF-α定量分析,在96孔板中每孔使用10μl样本(IL-6:Signa-Aldrich目录号RAB0308,TNF-α:Sigma-Aldrich目录号RAB0477)。与媒介物处理的样本相比,使用双因素ANOVA和Dunnett多重比较事后检验对化合物处理的样本进行统计分析。

[0671] 结果展示于表12中。在此项研究中,化合物A19在剂量为0.005、0.01和0.03mg/kg时显著降低IL-6表达,并在剂量为0.005和0.01mg/kg时显著降低TNF-α表达。化合物5a在剂量为2、10和20mg/kg时显著降低两种细胞因子水平。化合物6a在剂量为10和20mg/kg时显著降低两种细胞因子的表达。

[0672] 表12.化合物A19、化合物5a和化合物6a降低转基因神经退行性模型中炎症细胞因子的表达

[0673]

			处理2个月后血浆细胞因子表达显著下降	
化合物	剂量	途径	IL-6	TNF-α
A19	0.005 mg/kg	SC	++++	++++
	0.01 mg/kg	SC	+++++	+
	0.03 mg/kg	SC	+	NS
5a	2 mg/kg	PO	++++	++++
	10 mg/kg	PO	++++	++++
	20 mg/kg	PO	++++	++++
6a	10 mg/kg	PO	++++	++++
	20 mg/kg	PO	++++	++++

[0674] 与媒介物治疗的Prp-TDP43^{A315T}动物相比,用所示剂量的所示化合物治疗2个月后Prp-TDP43^{A315T}小鼠的细胞因子表达变化显著。SC=皮下注射,PO=口服管饲。统计分析:与媒介物处理的动物相比,双因素ANOVA和Dunnett多重比较事后检验。NS=不显著,+=$p<0.05$,++++=$p<0.0001$。

[0675] 实施例B9.小胶质细胞培养中LPS介导的炎症减少。

[0676] 小胶质细胞是大脑中的常驻免疫细胞,并且在病理条件下被活化时,会促进广谱神经炎症。当小胶质细胞被有毒的外源性物质活化时,会产生过量的活性氧物质(ROS)、氧

化氮(NO)和促炎细胞因子,进一步传播疾病的发病机制。BV2小胶质细胞被用作体外细胞模型来评价与CNS炎症相关的机制。当用LPS活化TLR4时,小胶质细胞被活化并引发过度的氧化应激,其为部分由AKT磷酸化(pAKT)和活化介导的过程。小胶质细胞的活化还会导致基因表达的一系列变化。

[0677] 研究化合物A19活性代谢物(化合物A19-AM)是否可减轻LPS在小胶质细胞中的炎症效应。通过用LPS预处理45分钟,接着添加测试化合物1小时(pAKT)或23.5小时(NO和基因表达面板)来刺激BV2小胶质细胞的炎症活化。为了测量pAKT,将细胞裂解并使用HTRF系统进行pAKT测量。对于NO的产生,收集培养上清液并评估其中存在的亚硝酸盐(氧化氮的主要代谢产物)。

[0678] 使用Griess试剂系统(Promega,G2930)对细胞培养上清液中的亚硝酸盐产生进行定量分析。利用Phospho-AKT 1/2/3(Ser473)LANCE Ultra TR-FRET细胞检测试剂盒(CisBio,64AKSPEH)评估pAKT的测量值。

[0679] 使用Prism统计软件(GraphPad),通过单因素ANOVA和Dunnett多重比较检验与LPS刺激的、媒介物处理的培养物进行比较来进行数据分析。表格数据指示所示剂量下所示分析物的显著减少。

[0680] 结果展示于表13中。用化合物A19活性代谢物进行处理显著降低AKT磷酸化和亚硝酸盐的产生。

[0681] 表13:BV2小胶质细胞中LPS介导的炎症的显著减少

[0682]

化合物 A19 活性代谢物		
剂量	炎症读数	
(nM)	亚硝酸盐	pAKT
0.001	NT	++
0.01	++	NT
1	+++	++
10	NS	NT

[0683] “NS”指示NO产生无显著减少。“++”指示在Dunnett多重比较中p值<0.005。“+++”指示在Dunnett多重比较中p值<0.0005;“NT”意指未经测试。

[0684] 还检查了BV2细胞在LPS刺激下基因表达的变化,以及这些基因表达变化是否受到用化合物A19-AM处理的影响。通过用LPS预处理45分钟接着添加测试化合物23.5小时来刺激BV2小胶质细胞的炎症活化。然后裂解并处理细胞培养物,以用于使用Quantigene多重基因表达分析(ThermoFisher)和与炎症活化相关的靶转录本的定制阵列通过基于珠的转录本定量进行表达分析。评估了炎症小体主要组分(NLRP3)、细胞因子(TNF-α、IL-1β和IL-6)和诱导型氧化氮合成酶(iNOS)的表达。与未刺激的细胞培养物相比,表达数据被量化为倍数变化。与LPS刺激的裂解物相比,统计分析由单因素ANOVA和Dunnett多重比较事后检验组成。基因表达数据呈现于表14中。所有炎症转录标靶的表达均由LPS处理诱导。用100nM和1μM化合物A19-AM处理后,炎症小体组分NLRP3的表达显著降低。通过所有测试浓度下的A19-AM处理均降低TNF-α的表达。在100nM和1μM的处理浓度下,IL-1β的表达降低,而在1μM A19-AM的处理浓度下,IL-6的表达降低。用浓度为100nM和1μM的A19-AM处理后,iNOS的表达显著

降低。总体而言,这些结果表明,用化合物A19-AM处理至少部分地通过减少炎症相关基因的表达产生抗炎效应。

[0685] 表14:回应于化合物A19-AM处理的LPS刺激的BV2小胶质细胞的基因表达变化

[0686]

	与 LPS 刺激的 BV2 裂解物相比，靶转录本丰度显著降低				
化合物 A19-AM 剂量	NLRP3	TNF-α	IL-1β	IL-6	iNOS
1 pM	NS	++++	NS	NS	NS
10 pM	NS	++++	NS	NS	NS
100 pM	NS	++++	NS	NS	NS
100 nM	++	++++	+	NS	++
1 μM	+	++++	++	+	++

[0687] “NS”指示与LPS处理的培养物相比,基因表达无显著减少。“+”指示p值<0.05,“++”指示p值<0.01,“+++”指示p值<0.001在Dunnett多重比较中,“+++”指示p值<0.0005。

[0688] 实施例B10.αβ1-42攻击的皮质神经元和小胶质细胞的原代培养中小胶质细胞活化降低

[0689] 小胶质细胞活化为神经退行性疾病诸如阿尔茨海默病(AD)和帕金森病(PD)的标志。例如,回应于淀粉样蛋白β(Aβ)肽的累积小胶质细胞被活化,并被认为是AD发病机制的一部分,因为过度活化会导致神经炎症和神经元损伤。因此,可减少小胶质细胞过度活化的化合物可能代表神经炎症性病状的一种有希望的治疗途径。研究化合物A19活性代谢物(A19-AM)是否可降低受Aβ损伤的皮质神经元和小胶质细胞原代培养物中的小胶质细胞活化。用化合物A19-AM(如下所示的3种不同处理条件)、HGF(5ng/ml)或BDNF(50ng/ml)处理小胶质细胞,并用Aβ1-42处理72小时。然后固定培养物并对Iba1(小胶质细胞活化的标记)进行免疫染色。

[0690] 通过自动测量处理的细胞培养物捕获的荧光图像中Iba-1染色的面积来定量小胶质细胞活化。

[0691] 与Aβ攻击、媒介物处理的培养物相比,使用GraphPad Prism软件,通过单因素ANOVA和Fisher LSD进行数据分析。表格数据指示,在所示剂量和处理下,所示分析物的小胶质细胞活化显著降低。结果展示于表15中。如通过Iba1面积测量的,用化合物A19-AM处理显著降低小胶质细胞活化。

[0692] 表15:回应于Aβ攻击化合物A19-AM降低原代小胶质细胞的活化

[0693]

处理	与媒介物处理(Aβ 攻击)相比，Iba1 面积显著减少
100 nM 化合物 A19-AM Aβ 攻击前(60min)和攻击后(24h)	NS
1 μM 化合物 A19-AM Aβ 攻击前(60min)和攻击后(24h)	NS
100 nM 化合物 A19-AM Aβ 攻击前(60min)和共攻击	+
1 μM 化合物 A19-AM Aβ 攻击前(60min)和共攻击	+
100 nM 化合物 A19-AM Aβ 攻击前(60min)、共攻击和攻击后(24h)	+
1 μM 化合物 A19-AM Aβ 攻击前(60min)、共攻击和攻击后(24h)	+
HGF (5 ng/ml) Aβ 攻击前 15min	+
化合物 A19-AM Aβ 攻击前 60min	+

[0694] “NS”指示Iba1区域无显著变化。“+”指示与Aβ刺激相比,Fisher LSD事后检验中的p值<0.05。