



(21)申請案號：112110756

(22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 03 月 22 日

(51)Int. Cl.：

C07D417/14 (2006.01)

C07F9/6512 (2006.01)

A61K31/506 (2006.01)

A61K31/675 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

A61P11/00 (2006.01)

A61P31/00 (2006.01)

A61P9/00 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2022/03/23 美國

63/322,955

(71)申請人：美商雷傑製藥公司 (美國) RIGEL PHARMACEUTICALS, INC. (US)

美國

(72)發明人：曼傑克 MAUNG, JACK (US)；陳揚 CHEN, YAN (US)；索西蒙 SHAW,

SIMON (GB)；斯威尼大衛 SWEENEY, DAVID (US)；馬蘇達依斯特班

MASUDA, ESTEBAN (US)

(74)代理人：王立成；余宗學

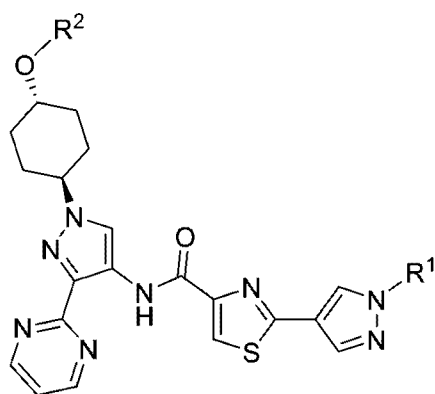
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：36 項 圖式數：0 共 115 頁

(54)名稱

作為 IRAK 抑制劑的嘧啶-2-基-吡唑化合物

(57)摘要

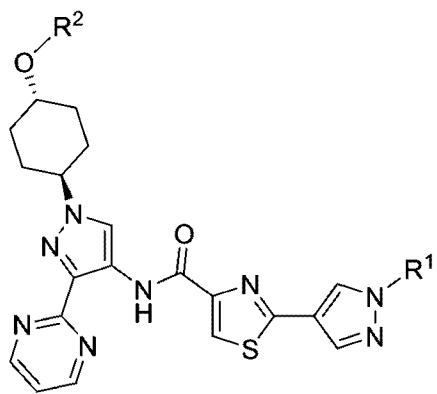
所揭露的實施方式關於新穎的介白素受體相關的激酶 (IRAK) 抑制劑化合物和包含此類化合物的組成物。該等化合物可以具有根據式 I 的結構



式I

還揭露了製備和使用該等化合物和組成物之方法。所揭露的化合物和/或組成物可以用於治療或預防 IRAK 相關的疾病或病症。

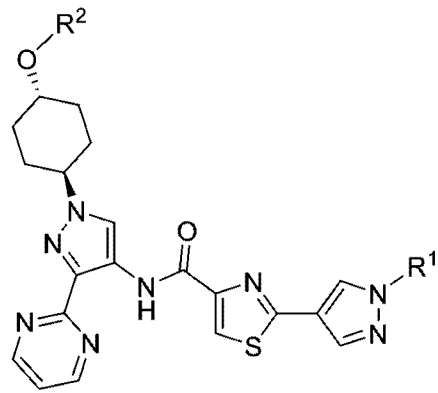
Disclosed embodiments concern novel interleukin receptor associated kinases (IRAK) inhibitor compounds and compositions comprising such compounds. The compounds may have a structure according to Formula I



Formula I

Also disclosed are methods of making and using the compounds and compositions. The disclosed compounds and/or compositions may be used to treat or prevent an IRAK-associated disease or condition.

特徵化學式：



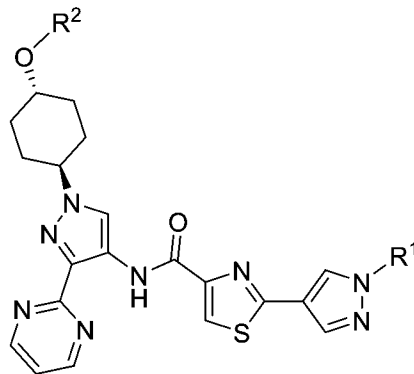
【發明摘要】

【中文發明名稱】 作為IRAK抑制劑的嘧啶-2-基-吡唑化合物

【英文發明名稱】 PYRIMID-2-YL-PYRAZOLE COMPOUNDS AS IRAK
INHIBITORS

【中文】

所揭露的實施方式關於新穎的介白素受體相關的激酶（IRAK）抑制劑化合物和包含此類化合物的組成物。該等化合物可以具有根據式I的結構

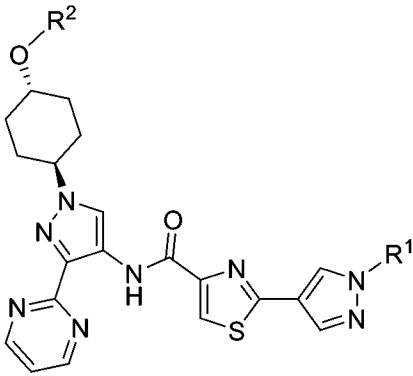


式I

還揭露了製備和使用該等化合物和組成物之方法。所揭露的化合物和/或組成物可以用於治療或預防IRAK相關的疾病或病症。

【英文】

Disclosed embodiments concern novel interleukin receptor associated kinases (IRAK) inhibitor compounds and compositions comprising such compounds. The compounds may have a structure according to Formula I



Formula I

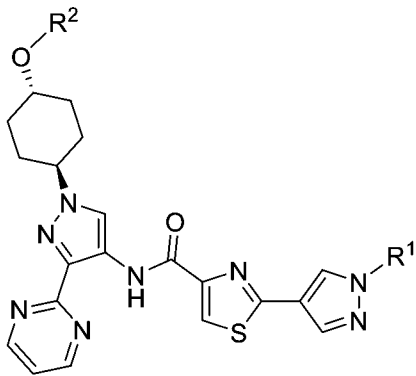
Also disclosed are methods of making and using the compounds and compositions.
The disclosed compounds and/or compositions may be used to treat or prevent an IRAK-associated disease or condition.

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】 作為IRAK抑制劑的嘧啶-2-基-吡唑化合物

【英文發明名稱】 PYRIMID-2-YL-PYRAZOLE COMPOUNDS AS IRAK
INHIBITORS

【技術領域】

【0001】 本揭露關於吡唑化合物，以及用於製備和使用該等化合物之方法的實施方式，諸如用於抑制介白素受體相關的激酶（IRAK）並且用於治療與IRAK相關的疾病和病症。

【先前技術】

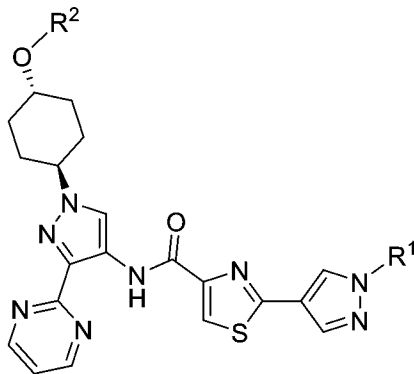
【0002】 介白素-1受體相關的激酶（IRAK）係傳訊過程（諸如toll-樣受體（TLR）和介白素-1受體（IL-1R）傳訊過程）的重要介體。IRAK已經涉及調節控制炎症、細胞凋亡和細胞分化的傳訊網路。已經在人類基因組中鑒定出四種IRAK基因（IRAK1、IRAK2、IRAK3和IRAK4），並且研究已經揭示了不同的非冗餘生物學作用。已經顯示IRAK1和IRAK4表現出激酶活性。

【發明內容】

【0003】 相關申請的交叉引用

【0004】 本申請要求於2022年3月23日提交的美國臨時專利申請案號63/322,955的較早提交日期的權益，其藉由引用以其全文併入本文。

【0005】 本文揭露了具有根據式I的結構的化合物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物的實施方式：



式I.

關於式I， R^1 係H、脂肪族、醯基、雜環基、羧基酯、醯胺、烷基胺基磷酸酯或烷基磷酸酯，諸如H、烷基或-烷基 $OP(O)(OR)_2$ ，例如- $CH(CH_3)OP(O)(OR)_2$ 或- $CH_2OP(O)(OR)_2$ ，其中每個OR係-OH、-O烷基、-O芳基、-O雜芳基、-O芳烷基或- O^+M^+ ，其中 M^+ 係具有單個正電荷的相對離子，並且 R^2 係 C_{1-6} 烷基。在一些實施方式中， R^2 係 C_{1-4} 烷基。在一些實施方式中，該化合物具有根據式II的結構或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。

【0006】 在一個實施方式中， R^1 係H。在另一個實施方式中， R^1 係 C_{1-6} 烷基。在另一個實施方式中， R^1 係- $CH_2OP(O)(OR)_2$ ，並且可為- $CH_2OP(O)(OH)_2$ 、- $CH_2OP(O)(OC_{1-6}烷基)_2$ 或- $CH_2OP(O)(O^+M^+)_2$ ，諸如- $CH_2OP(O)(O^+Na^+)_2$ 。在另一個實施方式中， R^1 係- $CH(CH_3)OP(O)(OR)_2$ ，並且可為- $CH(CH_3)OP(O)(OH)_2$ 、- $CH(CH_3)OP(O)(OC_{1-6}烷基)_2$ 或- $CH(CH_3)OP(O)(O^+M^+)_2$ ，諸如- $CH(CH_3)OP(O)(O^+Na^+)_2$ 。

【0007】 該化合物可以呈游離鹼形式或鹽形式，諸如共晶體形式，例如酒石酸鹽共晶體三鹽共晶體。

【0008】 本文還揭露了一種藥物組成物，該藥物組成物包含本文揭露的化合物和藥學上可接受的賦形劑。

【0009】 本文揭露了一種用於抑制IRAK酶之方法。該方法可以包括使該酶與有效量的本文揭露的化合物接觸。在一些實施方式中，接觸該酶包括向受試者投與該化合物。

【0010】 本文還揭露了一種用於治療受試者的需要IRAK抑制劑的疾病或病症之方法。該方法可以包括向該受試者投與有效量的本文揭露的化合物或其藥物組成物。該疾病或病症可以包括自體免疫性疾病、炎性障礙、心血管疾病、神經退化性疾病、過敏性疾患、多器官衰竭、腎臟疾病、血小板凝集、過度增生性障礙、移植、精子活力、紅血球缺乏、移植排斥、肺損傷、呼吸道疾病、缺血性病症、細菌感染、病毒感染、免疫調節障礙或其組合。在一些實施方式中，該疾病或病症包括再生不良性貧血、異位性皮膚炎、膿疱型乾癬、掌蹠膿疱症（palmoplantar pustulosis）、原發性膽汁性肝硬化、膿皮病、硬化性膽管炎、系統性幼年型特發性關節炎、化膿性汗腺炎、細胞介素釋放綜合症或骨髓化生不良症候群（MDS）。

【0011】 在一些實施方式中，該疾病或病症包括淋巴細胞腫瘤。該淋巴細胞腫瘤可以選自不包括真性紅血球增多症的骨髓增生性腫瘤（MPN）、髓系/淋巴細胞腫瘤伴PDGFRA重排、髓系/淋巴細胞腫瘤伴PDGFRB重排、髓系/淋巴細胞腫瘤伴FGFR1重排、髓系/淋巴細胞腫瘤伴PCM1-JAK2、骨髓化生不良/骨髓增生性腫瘤（MDS/MPN）、髓樣肉瘤、唐氏症相關骨髓增殖症、母細胞性漿細胞樣樹突狀細胞腫瘤、B淋巴母細胞白血病/淋巴瘤；和/或T淋巴母細胞白血病/淋巴瘤。在一些實施方式中，該淋巴細胞腫瘤係選自以下的骨髓增生性

腫瘤：慢性骨髓性白血病（CML）、慢性嗜中性球白血病（CNL）、原發性骨髓纖維化（PMF）、原發性血小板過多症、慢性嗜酸性球白血病或其組合。在某些實施方式中，該淋巴細胞腫瘤係慢性骨髓性白血病。

【0012】 在任何實施方式中，該方法可以進一步包括鑒定患有該淋巴細胞腫瘤的受試者。在某些實施方式中，該淋巴細胞腫瘤係慢性骨髓單核球白血病，並且鑒定該受試者包括鑒定持續性周邊血單核球增多 $\geq 1 \times 10^9/L$ 以及單核球占白血球（WBC）分類計數的 $\geq 10\%$ 並且未觀察到PDGFRA、PDGFRB或FGFR1基因和PCM1-JAK2融合基因中的重排的受試者。

【0013】 本技術的前述和其他目標、特徵和優勢將從以下詳細說明中變得清楚。

【圖式簡單說明】

【0014】 無

【實施方式】

I. 定義

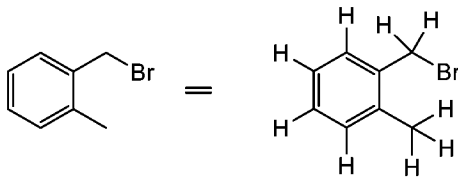
【0015】 提供以下術語和方法的解釋以更好的描述本揭露並指導熟悉該項技術者實踐本揭露。單數形式「一個/一種」（a/an）和「該」（the）係指一個/一種或多於一個/一種，除非上下文另外明確指示。術語「或」係指陳述的可替代性元素的單個元素或者兩個或更多個元素的組合，除非上下文另外明確指示。如本文所用，「包含」意指「包括」。因此，「包含A或B,」意指「包括A、B、

或A和B」而不排除另外的元素。本文引用的所有參考文獻（包括專利和專利申請）藉由引用併入。

【0016】 除非另外指示，否則所有表示組分、分子量、百分比、溫度、時間等的量的數字，如在說明書或請求項中使用的將被理解為由術語「約」進行修飾。因此，除非明確地或隱含地另外指示，否則提出的數值參數係可能取決於所希望的所需特性和/或在標準測試條件/方法下的檢測限度的近似值。當直接地或明確地區別實施方式和所討論的先前技術時，實施方式的數量不是近似的，除非引用詞語「約」。

【0017】 除非另外解釋，否則本文所用的所有技術和科學術語具有與本揭露所屬領域的普通技術者通常所理解相同的含義。雖然與本文描述的那些方法和材料類似或等同的方法和材料可以用於本揭露的實踐或測試，但是以下描述適合的方法和材料。該等材料、方法和實例僅僅是說明性的，並且不旨在進行限制。

【0018】 當描繪或描述化學結構時，除非另外清楚地說明，否則假定所有碳包括氫以致於每個碳符合四價化合價。例如，在以下示意圖的左手邊的結構中，暗示有九個氫原子。該九個氫原子描繪在左手邊結構中。



【0019】 有時結構中的特定原子在本文的化學式中描述為具有氫或氫原子，例如-CH₂CH₂-。熟悉該項技術者將會理解，上述描述的技術在化學領域中係常見的，以提供有機結構的描述的簡潔性和簡單性。

【0020】 熟悉該項技術者將理解可以將該等定義組合以進一步描述具體的化合物。例如，羥基脂肪族係指被羥基（-OH）基團取代的脂肪族基團，並且

鹵代烷基芳基係指被烷基基團取代的芳基基團，其中該烷基基團也被鹵素取代，並且其中附接至母體結構的附接點經由芳基部分，因為芳基係該取代基的基本名稱。

【0021】如本文所用，術語「**經取代的**」係指術語中所有後來的修飾部分，例如在術語「經取代的芳基C₁₋₈烷基」中取代可以發生在芳基C₁₋₈烷基基團的「C₁₋₈烷基」部分、「芳基」部分或兩個部分上。另外舉例來說，烷基包括經取代的環烷基基團。

【0022】當用於修飾指定的基團或部分時，「**經取代的**」意指指定基團或部分的至少一個、以及或許兩個或更多個氫原子獨立地被如下定義的相同或不同的取代基基團替代。在一個特別實施方式中，基團、部分或取代基可為經取代的或未經取代的，除非明確地定義為「未經取代的」或「經取代的」。因此，本文指定的任何基團可為未經取代的或經取代的。在特別實施方式中，取代基可以或可以不明確地定義為經取代的，但仍然考慮為視需要經取代的。例如，「烷基」取代基可為未經取代的或經取代的，但是「未經取代的烷基」可以不是經取代的。

【0023】在一個實施方式中，經取代的基團具有1個取代基、2個取代基、取代基、或4個取代基。

【0024】另外，在基團或部分被經取代的取代基取代的實施方式中，此類經取代的取代基的嵌套被限制為三個，從而防止聚合物的形成。因此，在包含第一基團的基團或部分中，該第一基團係在第二基團上的取代基，該第二基團本身係在第三基團上的取代基，該基團或部分附接至母體結構，該第一（最外面的）基團可以僅被未經取代的取代基取代。例如，在包含-(雜芳基-1)-(雜芳基-2)-(雜芳基-3)的基團中，雜芳基-3可以僅被其自身不是經取代的取代基取代。

【0025】「**脂肪族**」係指基本上基於烴的基團或部分，包括**烷基**、**烯基**、**炔基**基團、其環狀版本，諸如環烷基、環烯基或環炔基，並且進一步包括直鏈和

支鏈排列、以及所有的立體和位置異構物。除非另外明確說明，否則脂肪族基團含有從一至二十五個碳原子；例如，從一至十五、從一至十、從一至六或從一至四個碳原子，並且環狀脂肪族含有從三至二十五個碳原子；例如，從三至十五、從三至十、從三至六或從三至四個碳原子。

【0026】「**醯基**」係指基團-C(O)R，其中R係H、脂肪族、雜脂肪族、雜環或芳基。示例性醯基部分包括但不限於-C(O)H、-C(O)烷基、-C(O)C₁-C₆烷基、-C(O)C₁-C₆鹵代烷基-C(O)環烷基、-C(O)烯基、-C(O)環烯基、-C(O)芳基、-C(O)雜芳基或-C(O)雜環基。具體實例包括-C(O)H、-C(O)Me、-C(O)Et或-C(O)環丙基。

【0027】「**烷基**」係指飽和的脂肪族烴基基團，該烴基基團具有從1至25個碳原子，典型地1至10個碳原子，諸如1至6個碳原子（C₁-C₆烷基）。烷基部分可為經取代的或未經取代的。舉例來說，此術語包括直鏈和支鏈烴基基團、環烷基基團及其組合，諸如-CH₂環丙基基團，除非另外說明。**環烷基**係指環狀脂肪族基團，該脂肪族基團具有從3至15個碳原子、從3至8個碳原子、從3至6個碳原子或從3至4個碳原子。環烷基基團可為單環（例如，環己基），或者可以包括多個環，諸如稠合的、橋接的或螺環系統，其至少一個係脂肪族的，條件係附接點係通過環烷基基團的脂肪族區域的原子。示例性烷基基團包括但不限於甲基（CH₃）、乙基（-CH₂CH₃）、正丙基（-CH₂CH₂CH₃）、異丙基（-CH(CH₃)₂）、正丁基（-CH₂CH₂CH₂CH₃）、異丁基（-CH₂CH₂(CH₃)₂）、二級丁基（-CH(CH₃)(CH₂CH₃）、三級丁基（-C(CH₃)₃）、正戊基（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃）、新戊基（-CH₂C(CH₃)₃）、環丙基、環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、-CH₂環丙基、-CH₂環丁基、-CH₂環戊基或-CH₂環己基。

【0028】「**醯胺**」係指基團-N(H)醯基或-C(O)胺基。

【0029】「**芳脂肪族**」係指經由脂肪族部分附接至母體的芳基基團。芳脂肪族包括芳烷基或芳基烷基基團，諸如苄基和苯基乙基。

【0030】「**芳烷基**」係指經由烷基部分附接至母體的芳基基團。芳烷基包括基團，諸如苄基和苯基乙基。

【0031】除非另外指明，否則「**芳基**」係指具有從5個至15個環原子的芳香族基團，該芳香族基團具有單環（例如苯基）或至少一個環係芳香族的多個稠合的環（例如萘基）。對於具有多個環的基團，其至少一個係芳香族的並且一個不是，然而此類基團係指「芳基」，其條件係附接至該化合物的剩餘部分的附接點係通過芳基基團的芳香族部分的原子。芳基基團可為單環的、二環的、三環的或四環的。除非另外說明，否則芳基基團可為經取代的或未經取代的。

【0032】「**羧基**」（「carboxyl」或「carboxy」）或「**羧酸酯**」係指 $\text{-CO}_2\text{H}$ 、 -C(O)O^- 或其鹽。

【0033】「**羧基酯**」（「Carboxyl ester」或「carboxy ester」）係指基團 -C(O)OR ，其中R係脂肪族、雜脂肪族和雜環，包括芳基和雜芳基。

【0034】「**環脂肪族**」係指環狀脂肪族基團，該環狀脂肪族基團具有單個環（例如環己基）或多個環（諸如稠合的、橋接的或螺環系統，其至少一個係脂肪族的，條件係附接點係通過環脂肪族基團的脂肪族區域的原子）。環脂肪族包括飽和和不飽和的系統，包括**環烷基**、**環烯基**和**環炔基**。示例性環脂肪族基團包括但不限於環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、環戊烯基或環己烯基。

【0035】「**鹵代**」、「**鹵化物**」或「**鹵素**」係指氟、氯、溴或碘。

【0036】「**鹵代烷基**」係指被一或多個鹵素取代的烷基部分。示例性鹵代烷基部分係 CF_3 。

【0037】「**雜環基**」和「**雜環**」係指芳香族的和非芳香族的環系統，並且更具體地係指包含碳原子和至少一個（諸如從一個至五個）雜原子的穩定的三員至十五員環部分。該雜環基部分可為單環部分，或可以包含多個環，諸如在二環的或三環的環系統中，條件係該等環中的至少一個含有雜原子。這種多環部分可

以包括稠合或橋接的環系統以及螺環系統；並且雜環基部分中的氮、磷、碳、矽或硫原子可以視需要被氧化成各種氧化態。為了方便，特別地但不是排他地，那些定義為環形的芳香族的氮不是意指包括其相應的N-氧化物形式，儘管在特定實例中沒有明確地定義為這樣。另外，環形的氮原子可以視需要分成四部分。雜環包括**雜芳基**或芳香族雜環基部分和非芳香族雜環基部分（其係部分或完全飽和的雜環基環，諸如**雜環烷基**）。

【0038】除非另外指明，否則「**雜芳基**」係指包含至少一個碳原子和至少一個雜原子（諸如N、S、O、P、或Si）的具有從5至15個環原子的芳香族基團或部分。雜芳基基團或部分可以包含單環（例如，吡啶基、嘧啶基或吡唑基）或多個稠環（例如，吡咯基、苯并吡唑基、或吡唑并吡啶基）。例如，雜芳基基團或部分可為單環的、二環的、三環的或四環的。除非另外說明，雜芳基基團或部分可為經取代的或未經取代的。

【0039】「**雜環烷基**」係指穩定的三員至十五員非芳香族環部分，該非芳香族環部分包含至少一個碳原子和典型地多個碳原子以及至少一個（諸如從一至五個）雜原子。該一或多個雜原子可為一或多個氮、磷、氧、矽或硫原子。該雜環烷基部分可為單環部分，或者可以包含多個環，諸如在二環的或三環的環系統中，條件係該等環中的至少一個含有雜原子。這種多環部分可以包括稠合或橋接的環系統以及螺環系統；並且雜環烷基部分中的任何氮、磷、碳、矽或硫原子可以視需要被氧化成各種氧化態，除非明確地排除或藉由上下文排除。為了方便，特別地但不是排他地，那些定義為環形的芳香族的氮不是意指包括其相應的N-氧化物形式，儘管在特別實例中沒有明確地定義為這樣。另外，環形的氮原子可以視需要分成四部分。

【0040】雜環烷基基團之實例包括但不限於四氫異喹啉基、哌啶基、哌啶基、2-側氧基哌啶基、2-側氧基哌啶基、吡咯啶基、4-哌啶酮基、二氫吡啶基、

四氫吡啶基、咪啉基、二氮雜二環庚烷、二氮雜庚烷（diazapane）、二氮呋、四氫呋喃基和四氫吡喃基。

【0041】 「**磷酸酯**」係指基團 $-O-P(O)(OR')_2$ ，其中每個 $-OR'$ 獨立地是 $-OH$ 、 $-O$ -脂肪族（諸如 $-O$ -烷基）、 $-O$ -芳基或 $-O$ -芳烷基，或者 $-OR'$ 係 $-O-M^+$ ，其中 M^+ 係如本文揭露的具有單個正電荷的相對離子。例如，每個 M^+ 可為鹼性離子，諸如 K^+ 、 Na^+ 、 Li^+ ；銨離子，諸如 $^+N(R'')_4$ ，其中每個 R'' 獨立地是 H ，脂肪族，諸如烷基、羥烷基或其組合，雜環基或芳基；胺基酸，諸如精胺酸或離胺酸；胺基糖，諸如葡甲胺；或鹼土金屬離子，諸如 $[Ca^{2+}]_{0.5}$ 、 $[Mg^{2+}]_{0.5}$ 或 $[Ba^{2+}]_{0.5}$ 。烷基磷酸酯係指基團-烷基-磷酸酯，諸如 $-CH_2O-P(O)(OR')_2$ 或 $-CH_2(CH_3)O-P(O)(OR')_2$ ，例如， $-CH_2OP(O)(O-異丙基)_2$ 、 $-CH_2OP(O)(OH)(O-三級丁基)$ 、 $-CH_2OP(O)(O-三級丁基)_2$ 、 $-CH_2OP(O)(OCH_2OCO_2 異丙基)_2$ 、 $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 或其鹽，諸如 $-CH_2OP(O)(O-Na^+)_2$ 、 $-CH_2OP(O)(O^-)_2Mg^{2+}$ 或 $-CH_2OP(O)(OH)(O-Na^+)$

【0042】 「**胺基磷酸酯**」係指基團 $-O-P(O)(OR')(N(R')_2)$ ，其中每個 R' 獨立地是 H 、脂肪族（諸如烷基、芳基或芳烷基），或者 $-OR'$ 係 $-O-M^+$ ，並且其中 M^+ 係如本文揭露的具有單個正電荷的相對離子。例如，每個 M^+ 可為鹼性離子，諸如 K^+ 、 Na^+ 、 Li^+ ；銨離子，諸如 $^+N(R'')_4$ ，其中每個 R'' 獨立地是 H ，脂肪族，諸如烷基、羥烷基或其組合，雜環基或芳基；胺基酸，諸如精胺酸或離胺酸；胺基糖，諸如葡甲胺；或鹼土金屬離子，諸如 $[Ca^{2+}]_{0.5}$ 、 $[Mg^{2+}]_{0.5}$ 或 $[Ba^{2+}]_{0.5}$ 。烷基胺基磷酸酯係指基團-烷基-胺基磷酸酯，例如像， $-CH_2O-P(O)(OR')(N(R'_2))$ 或 $-CH_2(CH_3)O-P(O)(OR')(N(R'_2))$ ，諸如， $-CH_2OP(O)(O-苯基)[NHC(CH_3)CO_2 異丙基]$ 或 $-CH_2OP(O)(OH)(N(H)烷基)$ 或其鹽，諸如 $-CH_2OP(O)(O-Na^+)(N(H)烷基)$ 。

【0043】 「**患者**」或「**受試者**」係指哺乳動物或其他動物，特別地是人類。因此，所揭露的方法可應用於人類療法和獸醫應用兩者。

【0044】「**藥學上可接受的賦形劑**」係指除了活性成分外的物質，其包括在活性成分的配製物中。如本文所用，可以將賦形劑摻入藥物組成物的顆粒內，或其可以與藥物組成物的顆粒進行物理混合。例如，可以使用賦形劑來稀釋活性劑和/或改變藥物組成物的特性。賦形劑可以包括但不限於，抗黏附劑、黏合劑、包衣、腸溶包衣、崩散劑、調味劑、甜味劑、著色劑、潤滑劑、助流劑、吸著劑、防腐劑、佐劑、載劑或媒劑。賦形劑可為澱粉和改性澱粉、纖維素和纖維素衍生物、糖類及其衍生物（諸如二糖、多糖和糖醇）、蛋白質、合成的聚合物、交聯聚合物、抗氧化劑、胺基酸或防腐劑。示例性賦形劑包括但不限於硬脂酸鎂、硬脂酸、植物脂、蔗糖、乳糖、澱粉、羥基丙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、木糖醇、山梨糖醇、麥芽糖醇、明膠、聚乙烯吡咯啉酮（PVP）、聚乙二醇（PEG）、生育酚聚乙二醇1000琥珀酸鹽（也稱為維生素E TPGS或TPGS）、羧甲基纖維素、二棕櫚醯磷脂醯膽鹼（DPPC）、維生素A、維生素E、維生素C、軟脂酸視網酯、硒、半胱胺酸、甲硫胺酸、檸檬酸、檸檬酸鈉、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、糖、二氧化矽、滑石、碳酸鎂、澱粉乙醇酸鈉、酒石黃、阿斯巴甜、殺藻胺、芝麻油、沒食子酸丙酯、焦亞硫酸氫鈉或羊毛脂。

【0045】「**佐劑**」係改變其他試劑（典型地活性成分）的作用的賦形劑。佐劑通常是藥學和/或免疫學試劑。佐劑可以藉由增加免疫響應改變活性成分的作用。佐劑也可以作為用於配製物的穩定劑。示例性佐劑包括但不限於，氫氧化鋁、明礬、磷酸鋁、殺死的細菌、角鯊烯、洗滌劑、細胞介素、石蠟油、和組合佐劑（諸如弗氏完全佐劑或弗氏不完全佐劑）。

【0046】「**藥學上可接受的載劑**」係指作為載劑或媒劑的賦形劑，諸如懸浮助劑、增溶助劑或霧化助劑。*Remington: The Science and Practice of Pharmacy* [雷明頓：藥學科學與實踐]，費城科學大學，編輯：Lippincott、Williams、和Wilkins，

賓夕法尼亞州費城，第21版（2005）（其藉由引用併入本文），描述了適合於藥物遞送一或多種治療組成物和另外的藥學試劑的示例性組成物和配製物。

【0047】通常，載劑的性質將取決於所採用的具體的投與模式。例如，腸胃外配製物通常包括可注射液體，該等可注射液體包括藥學上或生理學上可接受的液體，諸如水、生理鹽水、平衡鹽溶液、水性葡萄糖、甘油或類似物如煤劑。在一些實例中，藥學上可接受的載劑可為無菌的以適合於投與至受試者（例如，藉由腸胃外、肌內、或皮下注射）。除了生物學中性載劑之外，待投與的藥物組成物可以含有少量的無毒輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、防腐劑和pH緩衝劑等，例如乙酸钠或脫水山梨糖醇單月桂酸酯。

【0048】「**藥學上可接受的鹽**」係指如熟悉該項技術者將已知的衍生自各種有機和無機相對離子的化合物的藥學上可接受的鹽，並且僅舉例來說，包括鈉、鉀、鈣、鎂、銨、四烷基銨等；以及當分子含有鹼性官能性時，有機或無機酸的鹽，諸如鹽酸鹽、氫溴酸鹽、酒石酸鹽、甲磺酸鹽、乙酸鹽、順丁烯二酸鹽、草酸鹽等。「**藥學上可接受的酸加成鹽**」係在藉由酸伴侶形成時保留游離鹼的生物有效性的「**藥學上可接受的鹽**」的子集。具體地，所揭露的化合物與各種藥學上可接受的酸形成鹽，該等藥學上可接受的酸包括但不限於無機酸，諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等，以及有機酸，諸如甲酸、乙酸、己二酸、天冬氨酸、三氟乙酸、丙酸、龍膽酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、順丁烯二酸、蘋果酸、丙二酸、琥珀酸、延胡索酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、肉桂酸、苦杏仁酸、苯磺酸、羥基乙磺酸、乳酸、甲磺酸、乙磺酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、對甲苯磺酸、水楊酸、昔萘酸（xinafoic acid）等。「**藥學上可接受的鹼加成鹽**」係衍生自無機鹼（諸如鈉、鉀、鋰、銨、鈣、鎂、鐵、鋅、銅、錳、鋁鹽等）的「**藥學上可接受的鹽**」的子集。示例性鹽係銨、鉀、鈉、鈣、和鎂鹽。衍生自藥學上可接受的有機鹼的鹽包括但不限於一級胺、二級胺以及三級胺、取代胺（包括天然

存在的取代胺)、環胺以及鹼離子交換樹脂(諸如異丙基胺、三甲基胺、二乙基胺、三乙胺、三丙基胺、三(羥基甲基)胺基甲烷(Tris)、乙醇胺、2-二甲基胺基乙醇、2-二乙基胺基乙醇、二環己基胺、離胺酸、精胺酸、組胺酸、咖啡因、普魯卡因、海巴明、膽鹼、甜菜鹼、乙二胺、胺基葡萄糖、甲葡糖胺、可可鹼、嘌呤、嘧啶、哌啶、*N*-乙基哌啶、聚胺樹脂等)的鹽。示例性有機鹼係異丙胺、二乙胺、三(羥基甲基)胺基甲烷(Tris)、乙醇胺、三甲胺、二環己基胺、膽鹼和咖啡因。(參見例如, S. M. Berge等人,「Pharmaceutical Salts [藥用鹽],」J. Pharm.Sci. [藥物科學雜誌], 1977; 66:1-19, 其藉由引用併入本文。)在具體的揭露的實施方式中, 該吡啶化合物可為甲酸鹽或鈉鹽。

【0049】 關於化合物或組成物的「有效量」係指化合物或組成物足以達到以下特定所需結果的量, 該特定所需結果係諸如抑制蛋白質或酶, 特別是介白素-1受體相關的激酶; 在組織、系統、受試者或患者中引起所需的生物學或醫學響應; 治療或預防特定障礙或疾病; 改善或根除其症狀中的一或多種; 和/或預防疾病或障礙的發生。構成「有效量」的化合物的量可以取決於化合物、所需結果、疾病狀態及其嚴重程度、待治療患者的年齡等而變化。

【0050】 「溶劑化物」係指藉由溶劑分子與溶質的分子或離子的組合而形成的複合物。溶劑可為有機溶劑、無機溶劑、或兩者的混合物。示例性溶劑包括但不限於醇, 諸如甲醇、乙醇、丙醇; 醯胺, 諸如*N,N*-二脂肪族醯胺, 諸如*N,N*-二甲基甲醯胺; 四氫呋喃; 烷基亞砷, 諸如二甲基亞砷; 水; 及其組合。當與藥學上可接受的或不可接受的溶劑(諸如水、乙醇等)組合時, 本文所述之化合物能夠以非溶劑化物的連同溶劑化物的形式存在。本發明所揭露的化合物的溶劑化物形式在本文揭露的實施方式的範圍內。

【0051】如本文所用，「治療」(**Treating**或**treatment**)涉及在患者和受試者(特別是患有感興趣的疾病或病症的人類)中治療感興趣的疾病或病症，並且包括(舉例來說)且不限於：

- (i) 抑制該疾病或病症，例如阻止或減緩其發展；
- (ii) 改善該疾病或病症，例如，引起疾病或病症或其症狀的消退；或
- (iii) 穩定該疾病或病症。

【0052】如本文所用，「預防」涉及預防疾病或病症在患者或受試者中發生，特別地，當此類患者或受試者易患該病症但還沒有診斷為患有其時。

【0053】如本文所用，術語「疾病」、「障礙」和「病症」可以可互換地使用或可以不同，因為具體的弊病或病症可以不具有已知的致病因素(所以病因尚未確定)，並且因此還不被認為是疾病而僅是不希望的病症或綜合症，其中由臨床醫生鑒定出或多或少特定的一系列症狀。

【0054】以上定義和以下通用化學式不旨在包括不允許的取代模式(例如，被5個氟基團取代的甲基)。熟悉該項技術者容易識別此類不允許的取代模式。

【0055】本文提及的任何基團可以視需要被至少一個(可能兩個或更多個)如本文定義的取代基取代。也就是說，除非上下文另外指示或特定的結構式排除了取代，經取代的基團具有至少一個(可能兩個或更多個)可取代的氫，該等氫被如本文定義的一或多個取代基替代。

【0056】熟悉該項技術者將理解化合物可以表現出互變異構現象、構形異構現象、幾何異構現象和/或光學異構現象。例如，某些揭露的化合物可以包括一或多個手性的中心和/或雙鍵，並因此可以作為立體異構物存在，諸如雙鍵異構物(即幾何異構物)、鏡像異構物、非鏡像異構物及其混合物(諸如外消旋混合物)。作為另一個實例，某些揭露的化合物可以存在若干種互變異構物形式，

包括烯醇形式、酮形式及其混合物。由於在說明書和申請專利範圍內的各種化合物名稱、化學式和化合物圖可以僅代表可能的互變異構、構形異構、光學異構、或幾何異構形式之一，可以理解的係所揭露的化合物涵蓋本文所述之化合物的任何互變異構、構形異構、光學異構、和/或幾何異構形式、連同該等各種不同異構形式的混合物。在有限旋轉（例如在醯胺鍵周圍或兩個直接附接的環（諸如吡唑和吡啶環）之間）的情況下，阻轉異構物亦為可能的，並且也特別包括在本揭露的化合物中。

【0057】 本發明揭露的化合物的特別實例包括一或多個不對稱中心；因此該等化合物可以不同的立體異構形式存在。因此，化合物和組成物可以作為單獨的純鏡像異構物或非鏡像異構物，或作為立體異構物混合物（包括外消旋混合物）提供。在某些實施方式中，本文揭露的化合物以基本上對映純的形式合成或純化為基本上對映純的形式，諸如至少90%鏡像異構物過量、95%鏡像異構物過量、97%鏡像異構物過量、98%鏡像異構物過量、99%鏡像異構物過量、99.5%鏡像異構物過量、或大於99.5%鏡像異構物過量，諸如呈對映純形式。

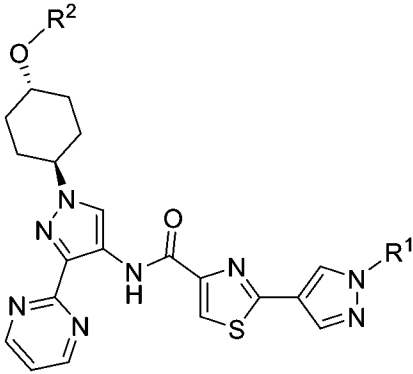
【0058】 在任何實施方式中，存在於該化合物中或者在該化合物內的特定基團或部分中的任何或所有氫可以被氘或氚替代。因此，烷基的陳述包括含重氫的烷基，其中存在的從一個到最大數量的氫可以被氘替代。例如，乙基可為 C_2H_5 或 C_2H_5 ，其中從1至5個氫被氘替代。

II. 化合物

【0059】 本文揭露了化合物、製備該等化合物之方法和使用該等化合物之方法。在一個實施方式中，所揭露的化合物此激酶抑制劑，特別是酪胺酸激酶抑制劑。在一個特別實施方式中，該等化合物在阻斷一或多個細胞介素傳訊途徑（諸如IL-17傳訊途徑）中係有用的。對於某些實施方式，所揭露的化合物對於治療抑制介白素-1受體相關的激酶（IRAK）途徑係治療有用的病症係有用的。

在一些實施方式中，該等化合物直接抑制IRAK蛋白，諸如IRAK1、IRAK2、IRAK3和/或IRAK4。

【0060】 在本揭露的範圍內的示例性化合物具有通式I



式I

或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。

【0061】 關於式I， R^1 係H、脂肪族、醯基、雜環基、羧基酯、醯胺、烷基胺基磷酸酯或烷基磷酸酯。在一些實施方式中， R^1 不是H，或可替代地， R^1 係氫。當 R^1 係氫時，化合物可為游離鹼或呈鹽的形式。在其他實施方式中， R^1 係烷基、醯基、羧基酯、醯胺、非芳香族雜環基、烷基胺基磷酸酯或烷基磷酸酯。熟悉該項技術者理解，例如當投與於受試者時，其中 R^1 不是H的化合物可以充當其中 R^1 係H的化合物的前驅藥。

【0062】 R^2 係 C_{1-6} 烷基，諸如 C_{1-4} 烷基。

【0063】 在一些實施方式中， R^2 係乙基。

【0064】 在一些實施方式中， R^1 係H、 C_{1-4} 烷基磷酸酯、 C_{1-4} 烷基胺基磷酸酯、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 醯基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 脂肪族、 $-C(O)N(R^b)_2$ 或者5員或6員非芳香族雜環基，但是在某些實施方式中， R^1 不是H，或者 R^1 係H並且該化合物係鹽。

【0065】 關於 R^1 部分， C_{1-6} 烷基部分可為未經取代的，或者它可以諸如被5員或6員非芳香族雜環基、OH、 $-OC(O)-R^a$ 、 $-N(R^b)_2$ 、 $-OC(O)-R^c$ 、羧基或其組合取代；

該C₁₋₆酯基部分可為未經取代的，或者它可以被-C(O)O-C₁₋₄烷基、-C(O)O-C₁₋₄烷基-N(R^b)₂、N(R^b)₂、-NHC(O)C₁₋₄烷基或其組合取代；

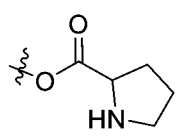
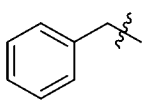
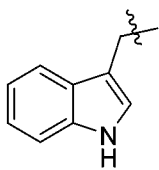
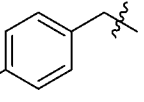
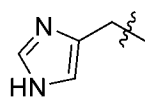
該5員或6員雜環基部分可為5員或6員含氧雜環基，和/或可以被羥基、羥基甲基或其組合取代；或者

該-C(O)O-C₁₋₆脂肪族可為視需要被-OC(O)C₁₋₄烷基或N(R^b)₂取代的-C(O)O-C₁₋₆烷基，或者該-C(O)O-C₁₋₆脂肪族可為視需要被C₁₋₄烷基取代的-C(O)O-C₃₋₆環烷基。

【0066】 在任何實施方式中，每個R^a獨立地是5員非芳香族雜環基，被-CH₂N(R^b)₂取代的芳基，被羧基取代的C₃₋₆環烷基，C₁₋₆烷氧基，未經取代的C₁₋₆烷基，或被N(R^b)₂、羧基、羧基酯、-OC₁₋₆酯基、-NHC(O)(NH₂)C₁₋₆烷基或-(OCH₂CH₂)₁₋₈N(R^b)₂中的一或多個（諸如1、2或3個）取代的C₁₋₆烷基；

每個R^b獨立地是H、未經取代的C₁₋₆烷基、被-N(R^s)₂取代的C₁₋₆烷基、羧基酯或5員或6員非芳香族雜環基，或者兩個R^b與它們附接的氮一起形成視需要被一個或兩個-O-或-N(R^s)間斷的C₃₋₆非芳香族雜環基部分，其中R^s係H或C₁₋₄烷基；並且

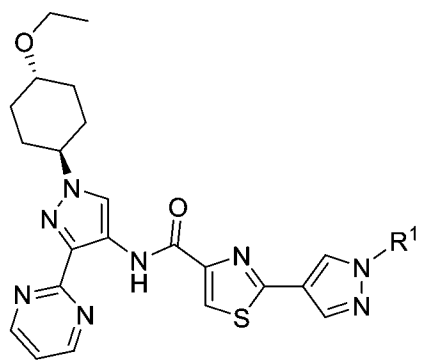
-OC(O)-R^c衍生自胺基酸，其中-OC(O)-R^c的-OC(O)-部分對應於胺基酸上的酸部分，並且R^c包含-N(R^b)₂或含氮的非芳香族雜環基，諸如5員或6員不飽和含氮雜環基，例如吡咯啉基。胺基酸可為任何胺基酸，諸如天然存在的胺基酸，並且可為選自以下的胺基酸：甘胺酸、纈胺酸、丙胺酸、白胺酸、異白胺酸、蛋胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、酪胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、精胺酸、組胺酸、離胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、半胱胺酸或脯胺酸。熟悉該項技術者將理解，在胺基酸包含一或多個手性中心的情況下，考慮所有鏡像異構物、非鏡像異構物和/或其混合物。例如，胺基酸可為L-胺基酸、D-胺基酸或其混合物。在一些實施方式中，胺基酸係L-胺基酸。並且在某些實施方式中，-OC(O)-R^c係-

$\text{OC(O)CH(NH}_2\text{)R}^d$ 、、或 $-\text{OC(O)-(CH}_2\text{)}_{1-2}\text{C(NH}_2\text{)CO}_2\text{H}$ ，其中 R^d 係胺基酸側鏈，和/或可為 H 、 $-\text{CH}_3$ 、異丙基、 $-\text{CH}_2\text{CH(CH}_3\text{)}_2$ 、 $-\text{CH(CH}_3\text{)Et}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 、、、、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH(OH)CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{C(O)NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C(O)NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{SH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC(O)(NH)NH}_2$ 、、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 或 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 。

【0067】 在一些實施方式中， R^1 係 H 、烷基或-烷基 OP(O)(OR)_2 ，其中每個 OR 獨立地是 $-\text{OH}$ 、 $-\text{O}$ 烷基、 $-\text{O}$ 芳基、 $-\text{O}$ 雜芳基、 $-\text{O}$ 芳烷基或 $-\text{O}^-\text{M}^+$ ，其中 M^+ 係具有單個正電荷的相對離子。每個 OR 獨立地可為 $-\text{OH}$ 、 $-\text{O}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})$ 、 $-\text{OC}_6\text{芳基}$ 、 $-\text{O}(\text{3-15員雜芳基})$ 、 $-\text{OC}_7\text{芳烷基}$ 或 $-\text{O}^-\text{M}^+$ 。並且在一些實施方式中，兩個 OR 部分係不同的，但是在其他實施方式中，兩個 OR 部分係相同的。

【0068】 在一些實施方式中， R^1 係 H 、 C_{1-6} 烷基或 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基 OP(O)(OR)_2 ，諸如 H 、 C_{1-6} 烷基、 $-\text{CH}_2\text{OP(O)(OR)}_2$ 或 $-\text{CH(CH}_3\text{)OP(O)(OR)}_2$ ，並且在某些實施方式中， R^1 係 H 、 C_{1-6} 烷基或 $-\text{CH}_2\text{OP(O)(OR)}_2$ 。

【0069】 在特別實施方式中，該化合物具有根據式II的結構或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。



式II

【0070】 關於式II， R^1 如先前針對式I所定義。

【0071】 在式I和II的一些實施方式中， R^1 係H。

【0072】 在式I和II的其他實施方式中， R^1 係烷基，諸如 C_{1-6} 烷基或 C_{1-4} 烷基，並且可為甲基或乙基。

【0073】 在式I和II的一些其他實施方式中， R^1 係-烷基 $OP(O)(OR)_2$ ，諸如- C_{1-4} 烷基 $OP(O)(OR)_2$ ，並且可為- $CH_2OP(O)(OR)_2$ 或- $CH(CH_3)OP(O)(OR)_2$ 。

【0074】 在一些實施方式中， R^1 係- $CH_2OP(O)(OR)_2$ 。在一個實施方式中， R^1 係- $CH_2OP(O)(OH)_2$ 。在另一個實施方式中， R^1 係- $CH_2OP(O)(OH)(O^-M^+)$ 。在另一個實施方式中， R^1 係- $CH_2OP(O)(O^-M^+)_2$ ，並且可為- $CH_2OP(O)(O^-Na^+)_2$ 。並且在另一個實施方式中， R^2 係- $CH_2OP(O)(OC_{1-6}烷基)_2$ 。

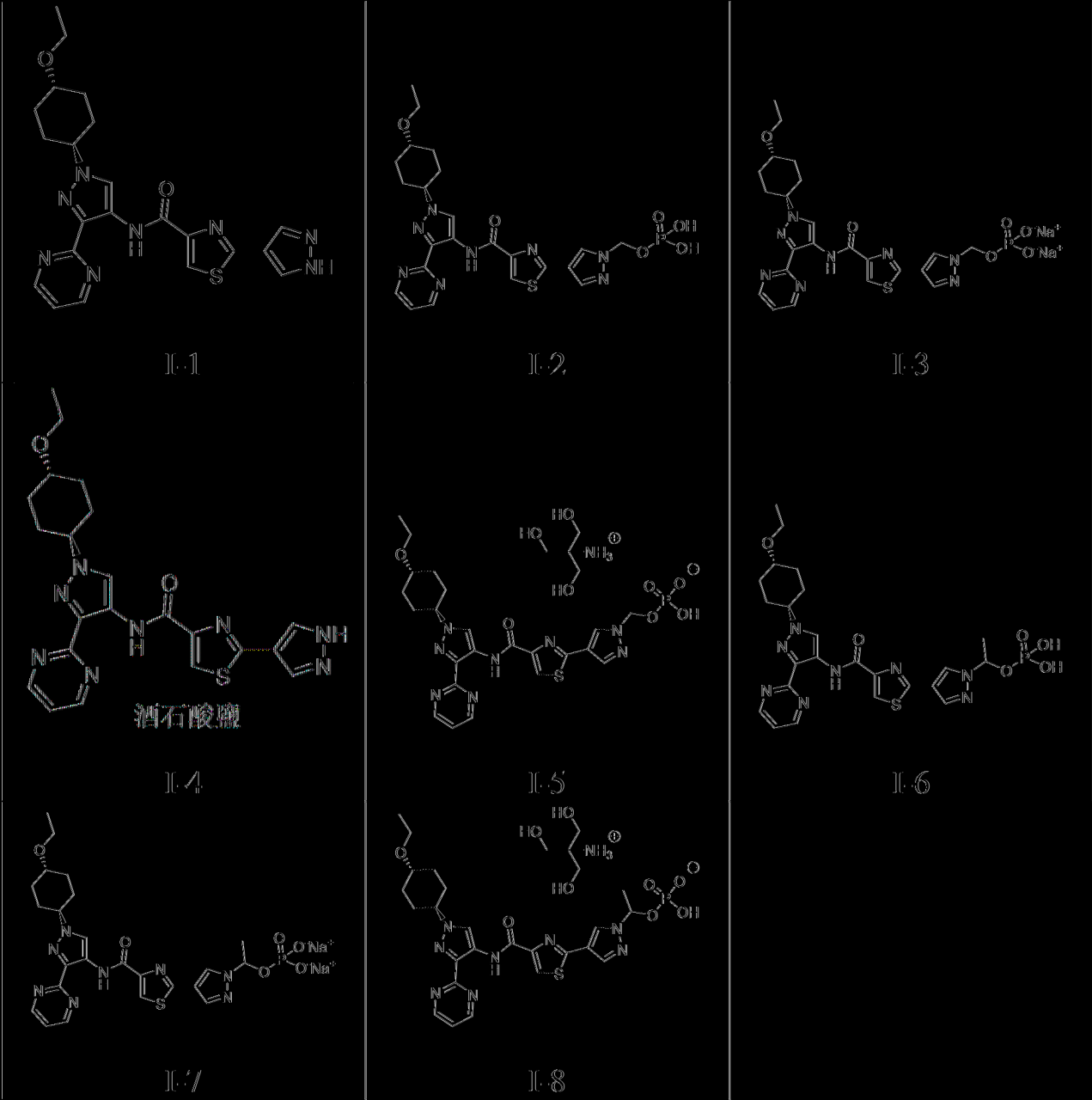
【0075】 在一些實施方式中， R^1 係- $CH(CH_3)OP(O)(OR)_2$ 。在一個實施方式中， R^1 係- $CH(CH_3)OP(O)(OH)_2$ 。在另一個實施方式中， R^1 係- $CH(CH_3)OP(O)(OH)(O^-M^+)$ 。在另一個實施方式中， R^1 係- $CH(CH_3)OP(O)(O^-M^+)_2$ ，並且可為- $CH(CH_3)OP(O)(O^-Na^+)_2$ 。並且在另一個實施方式中， R^2 係- $CH(CH_3)OP(O)(OC_{1-6}烷基)_2$ 。

【0076】 在本文揭露的一個實施方式中，該化合物包含IRAK抑制性部分和用於在體內釋放或遞送IRAK抑制性部分的裝置。舉例來說，在 R^1 不是H的一些實施方式中， R^1 係用於遞送IRAK抑制劑，諸如本文揭露的化合物I-1的裝置。

【0077】 在任何實施方式中，該化合物可以呈游離鹼形式，或者它可為鹽。在一些實施方式中，該鹽係酸加成鹽，諸如但不限於本文定義的酸加成鹽。在特別實施方式中，該化合物係酒石酸鹽。

【0078】 在其他實施方式中，該化合物呈鹼加成鹽形式，諸如但不限於本文定義的鹼加成鹽。在一些實施方式中，該化合物係鈉鹽，諸如二鈉鹽或三鹽。

根據式I的示例性化合物包括但不限於：



[(00/9)] 根據化學式1的一些示例性化合物包括：

I-1：N-(1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡嗪-4-基)-2-(1H-吡嗪-4-基)噻唑-4-甲酰胺；

I-2：(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡嗪-4-基)胺基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡嗪-1-基)甲基二氫磷酸酯；

I-3：(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡嗪-4-基)胺基甲酰基)噻唑-2-基)-1H-吡嗪-1-基)甲基磷酸鈉；

I-4 : N-(1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲醯胺酒石酸鹽；

I-5 : (4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基氫磷酸酯1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-胺(三鹽)；

I-6 : 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基二氫磷酸酯；

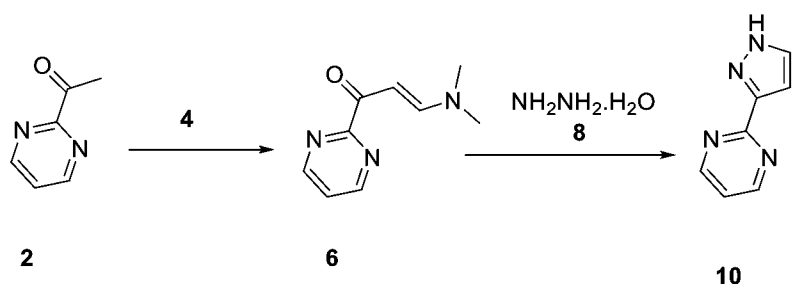
I-7 : 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基磷酸鈉；或

I-8 : 1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基氫磷酸酯1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-胺(三鹽)。

【0080】 在一些實施方式中，與其他IRAK抑制劑相比，根據式I和II中的任一種的化合物或其鹽具有至少一種改善的特性。該一或多種改善的特性可以包括但不限於物理特性，包括但不限於熔點、玻璃轉移溫度、流動性和/或穩定性，諸如熱穩定性、機械穩定性、保質期、抗多晶型轉變的穩定性等；化學特性，諸如但不限於吸濕特性、在水和/或有機溶劑中的溶解性、反應性、與賦形劑和/或遞送媒劑的相容性；和/或藥物動力學特性，諸如但不限於生體可用率、吸收、分佈、代謝、排泄、毒性（包括細胞毒性）、溶出速率、選擇性（諸如對於一種IRAK蛋白優於不同IRAK蛋白的選擇性）、活性和/或半衰期。

III. 合成

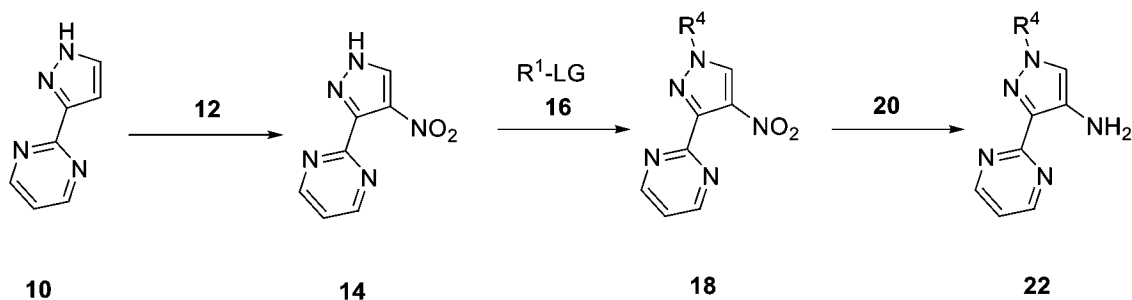
【0081】 所揭露的吡唑化合物可以如以下例示的進行製備，並且將會被有機合成領域的普通技術者所理解。示例性合成可以包括根據方案1的以下第1反應步驟：



方案1

在適合促進反應的溫度下，使乙醯基化合物**2**與二甲基甲醯胺二甲基縮醛**4**反應以形成中間體化合物**6**。適合的溫度典型地是從85°C至130°C。然後使中間體化合物**6**與水合肼**8**反應以形成吡啶化合物**10**。該反應在適合的溶劑（例如醇（諸如乙醇、甲醇或異丙醇））中進行，並典型地加熱至諸如回流。

【0082】 下面根據方案2提供示例性合成中的第2反應步驟：



方案2

使用適合的硝化劑或試劑**12**的混合物使化合物**10**發生硝化以形成化合物**14**。適合的硝化條件包括使化合物**10**與硝酸（諸如發煙硝酸）反應（視需要在硫酸的存在下）。典型地，緩慢地添加化合物**10**和硝酸，一個添加至另一個。冷卻，諸如藉由冰浴，可以用於將反應溫度維持在適合的範圍內，諸如從約0 C至小於50 C、從0 C至20 C或從0 C至10 C。在添加完成之後，允許反應進行，直至反應基本上完成，並且可以允許升溫至室溫以促進反應。視需要，可以添加另外的硝化劑或硝化劑的混合物以促進該反應進行完全。然後將該反應淬滅，諸如藉由添加水和/或冰，並將產物從水性溶液中分離或萃取，並且如果需要的話進行純化。

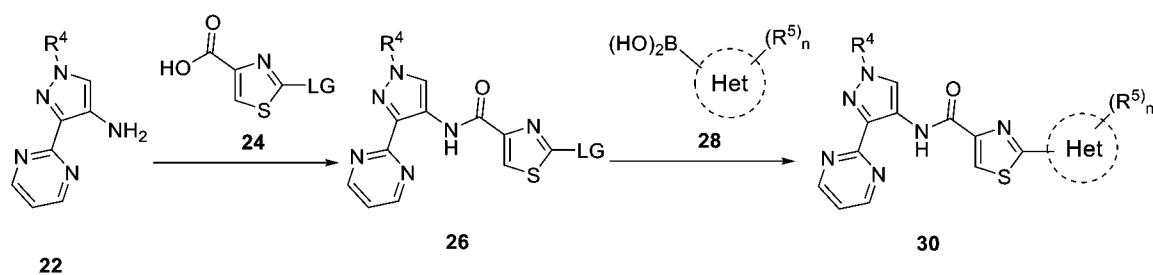
適合於從本文揭露的任何反應中純化產物的純化技術包括但不限於結晶、蒸餾和/或層析法。

【0083】繼續參考方案2，然後使化合物**14**與化合物**16**反應以形成化合物**18**。化合物**16**包含所需的R¹部分和適合的脫離基LG。適合的脫離基包括將充當脫離基以促進將R¹部分添加至化合物**14**上的任何基團。適合的脫離基包括但不限於鹵素（典型地是溴、氯或碘）、和甲苯磺酸酯或甲磺酸酯基團。在適合的溶劑中並典型地在鹼的存在下，使化合物**14**與化合物**16**反應。適合的溶劑包括促進該反應的任何溶劑，諸如非質子溶劑。適合的溶劑包括但不限於DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶劑（諸如二氯甲烷和氯仿）、DMA、二噁咻、N-甲基吡咯啉酮或其組合。適合的鹼包括將促進該反應的任何鹼，諸如氫化物（典型地是氫化鈉）或碳酸鹽（諸如碳酸鉀、碳酸鈉或碳酸銨）。如所希望的，可以將該反應加熱至諸如50°C、100°C或更高，或者該反應可以在室溫下進行。然後將化合物**18**從反應混合物中分離並且如果需要的話進行純化。

【0084】然後使化合物**18**與適合於將硝基部分還原為胺的還原劑**20**進行反應。適合的還原劑包括但不限於：在催化劑諸如鈀催化劑存在下的氫氣；硼氫化物，諸如硼氫化鈉，視需要在催化劑諸如鎳催化劑的存在下；乙酸中的鋅金屬；或在水中的或水和酸中的鐵粉。在某些實施方式中，使用氫氣，在鈀碳催化劑的存在下，並且在適合的溶劑（諸如乙酸乙酯或甲醇）中。在一些實施方式中，使用還原劑和/或技術的組合。例如，使用包含第一還原劑和/或技術的第一方法可以首先進行還原，但產生產物的混合物。可以重複第一方法，和/或可以進行包含第二還原劑和/或技術的第二方法。如藉由分析技術（諸如LC-MS、TLC或HPLC）指示的，一旦該反應完全，將產物化合物**22**分離並且如果需要的話進行純化。

【0085】下面根據方案3，提供示例性反應順序的第3步驟：

第 23 頁，共 106 頁(發明說明書)

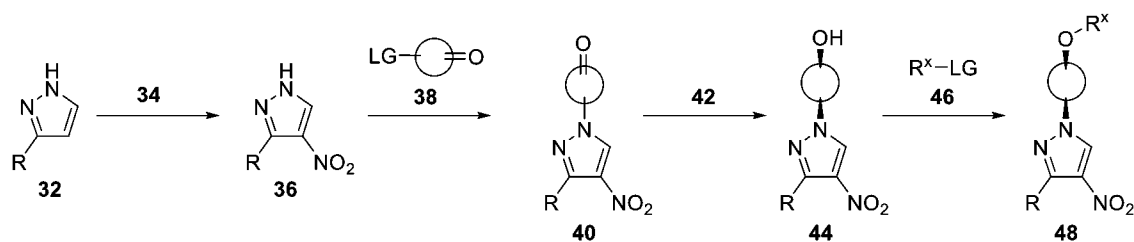


方案3

使化合物**22**與羧酸**24**反應以形成化合物**26**。將羧酸**24**藉由任何適合的方法活化，然後與化合物**22**上的胺反應。適合的活化方法包括但不限於：用亞硫醯氯處理形成醯氯；用1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎘3-氧化物六氟磷酸鹽（HATU）和鹼諸如二異丙基乙胺（DIPEA）處理；用羰基二咪唑（CDI）處理；或用碳二亞胺處理，諸如二環己基碳二亞胺（DCC）或1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二亞胺（EDC）。

【0086】 然後使用任何適合在兩個環之間形成鍵的偶合反應，使化合物**26**與化合物**28**進行偶合以形成化合物**30**。在以上實例中顯示硼酸偶合，其中在化合物**26**上的脫離基LG典型地是溴或碘。其他適合的偶合官能基包括三烷基錫或硼酸酯。該偶合反應典型地在適合的催化劑的存在下進行。對於硼酸偶合，該催化劑典型地是鈀催化劑，諸如PdCl₂(dppf)₂、Pd[P(Ph)₃]₂Cl₂、乙酸鈀和三苯基膦、或四(三苯基膦)鈀(0)。該反應在鹼（諸如碳酸鈉、碳酸鉀或碳酸鈣）的存在下進行，並在適合的溶劑或溶劑混合物（諸如二噁呋喃、二噁呋喃/水或DME/乙醇/水）中進行。該反應可以在適合的溫度（諸如從50°C至125°C，典型地約100°C）下加熱，和/或攪動適合的一段時間（諸如從1小時至3天、從6小時至24小時、或從12小時至18小時）以促進該反應進行完全。然後將化合物**30**從反應混合物中分離並且藉由適合的技術進行純化。

【0087】 可替代的示例性合成可以包括根據方案4的以下第1反應步驟：



方案4

使用適合的硝化劑或試劑**34**的混合物使化合物**32**發生硝化以形成化合物**36**。適合的硝化條件包括使化合物**32**與硝酸（諸如發煙硝酸）反應（視需要在硫酸的存在下）。典型地，緩慢地添加化合物**32**和硝酸，一個添加至另一個。冷卻，諸如藉由冰浴，可以用於將反應溫度維持在適合的範圍內，諸如從約0 C至小於50 C、從0 C至20 C或從0 C至10 C。在添加完成之後，允許反應進行，直至反應基本上完成，並且可以允許升溫至室溫以促進反應。視需要，可以添加另外的硝化劑或硝化劑的混合物以促進該反應進行完全。然後將該反應淬滅，諸如藉由添加水和/或冰，並將產物從水性溶液中分離或萃取，並且如果需要的話進行純化。適合於從本文揭露的任何反應中純化產物的純化技術包括但不限於結晶、蒸餾和/或層析法。

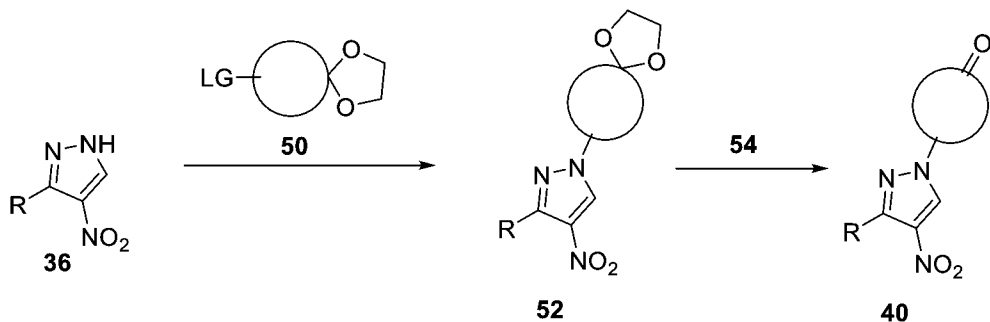
【0088】繼續參考方案4，然後使化合物**36**與化合物**38**反應以形成化合物**40**。化合物**38**包含所需的環（如環丁基、環戊基、或環己基環）和適合的脫離基LG。適合的脫離基包括將充當脫離基以促進將環添加至化合物**36**上的任何基團。適合的脫離基包括但不限於鹵素（典型地是溴、氯或碘）、和甲苯磺酸酯或甲磺酸酯基團。在適合的溶劑中並典型地在鹼的存在下，使化合物**36**與化合物**38**反應。適合的溶劑包括促進該反應的任何溶劑，諸如非質子溶劑。適合的溶劑包括但不限於DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶劑（諸如二氯甲烷和氯仿）、DMA、二噁咻、N-甲基吡咯啉酮或其組合。適合的鹼包括將促進該反應的任何鹼，諸如氫化物（典型地是氫化鈉）或碳酸鹽（諸如碳酸鉀、碳酸鈉或碳酸銨）。如所希

望的，可以將該反應加熱至諸如50°C、100°C或更高，或者該反應可以在室溫下進行。然後將化合物**40**從反應混合物中分離並且如果需要的話進行純化。

【0089】 然後將化合物**40**與適合將羰基部分還原至羥基的還原劑**42**反應。適合的還原劑包括但不限於硼氫化鈉、二異丁基氫化鋁或氫化鋁鋰。該反應在適合於促進該反應的溶劑（諸如醇，特別是甲醇或乙醇；THF；或二乙醚）中進行。可以將該反應加熱至諸如50°C、100°C或更高，如所希望的，冷卻至諸如低於20°C、低於10°C、低於0°C或更低，或者該反應可以在室溫下進行。如藉由分析技術（諸如LC-MS、TLC或HPLC）指示的，一旦反應完全，藉由適合的技術（諸如柱層析法）將產物化合物**44**分離並且如果需要的話進行純化。

【0090】 視需要，化合物**44**可以與化合物**46**反應以形成化合物**48**。化合物**46**包含所需的R^x部分和適合的脫離基LG。適合的脫離基包括將充當脫離基以促進將R^x部分添加至化合物**44**上的任何基團。適合的脫離基包括但不限於鹵素（典型地是溴、氯或碘）、和甲苯磺酸酯或甲磺酸酯基團。在適合的溶劑中並典型地在鹼或其他試劑或促進該反應的試劑的存在下，使化合物**44**與化合物**46**反應。適合的溶劑包括促進該反應的任何溶劑，諸如非質子溶劑。適合的溶劑包括但不限於DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶劑（諸如二氯甲烷和氯仿）、DMA、二噁咁、N-甲基吡咯啉酮或其組合。促進該反應的適合的鹼或試劑包括但不限於三氟甲磺酸銀、2,6-二三級丁基吡啶、氫化鈉或其組合。典型地，將化合物**46**緩慢地與該反應組合。冷卻，諸如藉由冰浴，可以用於將反應溫度維持在適合的範圍內，諸如從約0 C至小於50 C、從0 C至20 C或從0 C至10 C。在添加完成之後，允許反應進行，直至反應基本上完成，並且可以允許升溫至室溫以促進反應，或者可以將反應加熱至諸如50°C、100°C或更高，以促進反應。如藉由分析技術（諸如LC-MS、TLC或HPLC）指示的，一旦反應完全，藉由適合的技術（諸如柱層析法）將產物化合物**48**分離並且如果需要的話進行純化。

【0091】可替代地，化合物**40**可以根據方案5的示例性合成途徑進行製備：



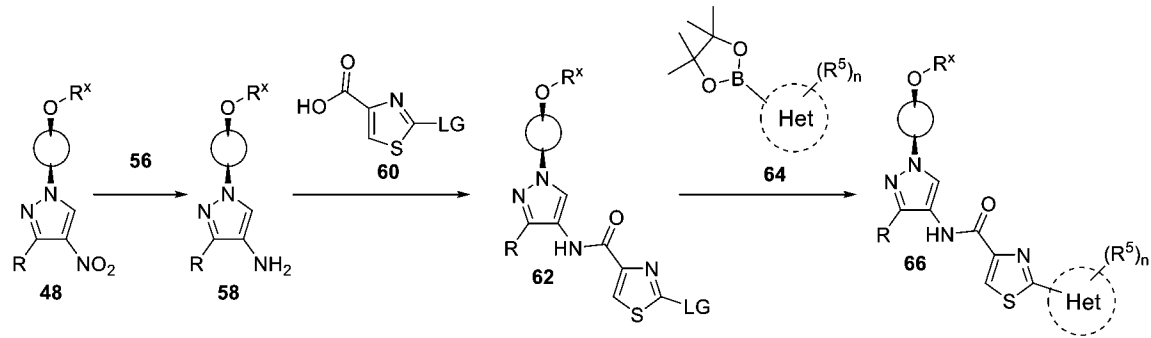
方案5

關於方案5，使化合物**36**與化合物**50**反應以形成化合物**52**。化合物**50**包含所需的環（諸如環丁基、環戊基、或環己基環）、適合的脫離基（LG）、以及保護的羰基部分（諸如縮醛或縮酮）。在以上實例中顯示了環狀縮酮部分。適合的脫離基包括將充當脫離基以促進將環添加至化合物**36**上的任何基團，並且包括但不限於鹵素（典型地溴、氯或碘）、和甲苯磺酸酯或甲磺酸酯基團。在適合的溶劑中並典型地在鹼的存在下，使化合物**36**與化合物**50**反應。適合的溶劑包括促進該反應的任何溶劑，諸如非質子溶劑。適合的溶劑包括但不限於DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶劑（諸如二氯甲烷和氯仿）、DMA、二噁咻、N-甲基吡咯啉酮或其組合。適合的鹼包括將促進該反應的任何鹼，諸如氫化物（典型地是氫化鈉）或碳酸鹽（諸如碳酸鉀、碳酸鈉或碳酸銨）。如所希望的，可以將該反應加熱至諸如50°C、100°C或更高，或者該反應可以在室溫下進行。然後將化合物**52**從反應混合物中分離，並且如果需要的話藉由適合的技術（諸如柱層析法）進行純化。

【0092】然後使化合物**52**與適合的試劑**54**反應以形成化合物**40**。試劑**54**可為適合於去除保護基團和/或形成羰基部分的任何試劑。在方案5中顯示的示例性合成中，保護基團係環狀縮酮，並且適合的試劑**54**包括但不限於吡啶鎂甲苯磺酸酯（PPTS）、對甲苯磺酸、鹽酸、或乙酸。該反應在適合於促進該反應的溶劑或

溶劑的混合物（諸如丙酮、THF、乙酸、水或其組合）中進行。可以將該反應加熱至諸如50°C、100°C或更高，或者如所希望的，在回流下，或者該反應可以在室溫下進行。然後將化合物**40**從反應混合物中分離，並且如果需要的話藉由適合的技術（諸如柱層析法）進行純化。

【0093】 下面根據方案6提供示例性反應順序的第2步驟：



方案6

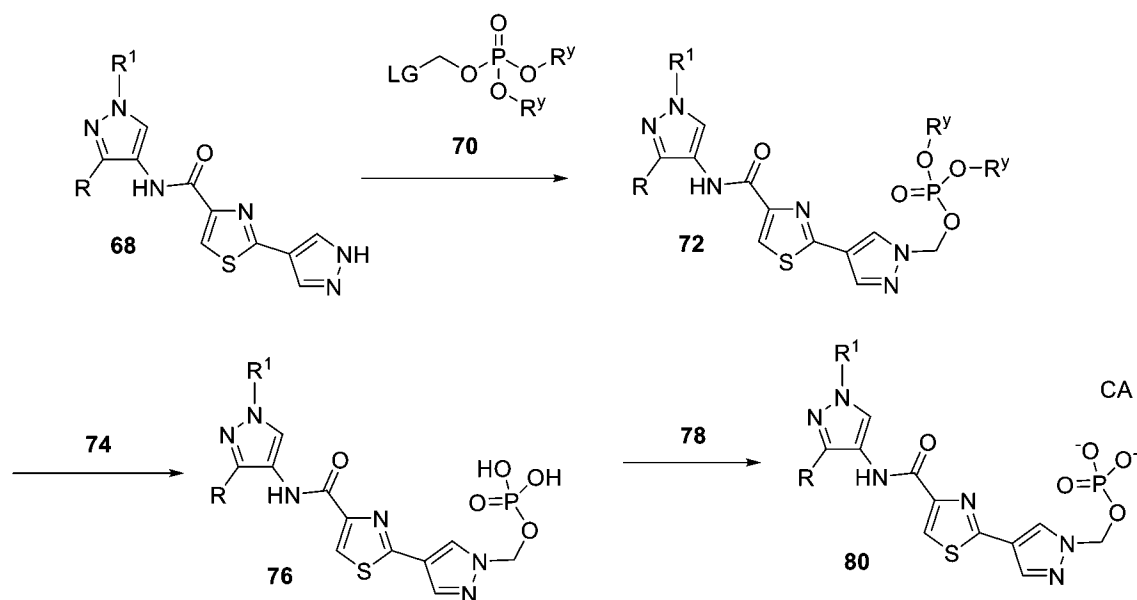
然後使化合物**48**與適合於將硝基部分還原為胺的還原劑**56**進行反應。在某些實施方式中，其中所需的產物化合物包含羥基部分，可以使用化合物**44**替代化合物**48**。適合的還原劑包括但不限於：在催化劑諸如鈀催化劑存在下的氫氣；硼氫化物，諸如硼氫化鈉，視需要在催化劑諸如鎳催化劑的存在下；乙酸中的鋅金屬；或在水中的或水和酸中的鐵粉。在某些實施方式中，使用氫氣，在鈀碳催化劑的存在下，並且在適合的溶劑（諸如乙酸乙酯或甲醇）中。在一些實施方式中，使用還原劑和/或技術的組合。例如，使用包含第一還原劑和/或技術的第一方法可以首先進行還原，但產生產物的混合物。可以重複第一方法，和/或可以進行包含第二還原劑和/或技術的第二方法。如藉由分析技術（諸如LC-MS、TLC或HPLC）指示的，一旦該反應完全，將產物化合物**58**分離並且如果需要的話進行純化。

【0094】 使化合物**58**與羧酸**60**反應以形成化合物**62**。將羧酸**60**藉由任何適合的方法活化，然後與化合物**58**上的胺反應。適合的活化方法包括但不限於：用

亞硫醯氯處理形成醯氯；用1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎘3-氧化物六氟磷酸鹽（HATU）和鹼諸如二異丙基乙胺（DIPEA）處理；用羰基二咪唑（CDI）處理；或用碳二亞胺處理，諸如二環己基碳二亞胺（DCC）或1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二亞胺（EDC）。

【0095】 然後使用任何適合在兩個環之間形成鍵的偶合反應，使化合物**62**與化合物**64**進行偶合以形成化合物**66**。在以上實例中顯示硼酸酯偶合，其中在化合物**62**上的脫離基LG典型地是溴或碘。其他適合的偶合官能基包括三烷基錫或硼酸。該偶合反應典型地在適合的催化劑的存在下進行。對於硼酸酯或硼酸偶合，該催化劑典型地是鈀催化劑，諸如PdCl₂(dppf)₂、Pd[P(Ph)₃]₂Cl₂、乙酸鈀和三苯基膦、或四(三苯基膦)鈀(0)。該反應在鹼（諸如碳酸鈉、碳酸鉀或碳酸銨）的存在下進行，並在適合的溶劑或溶劑混合物（諸如二噁呋、二噁呋/水或DME/乙醇/水）中進行。該反應可以在適合的溫度（諸如從50°C至125°C，典型地約100°C）下加熱，和/或攪動適合的一段時間（諸如從1小時至3天、從6小時至24小時、或從12小時至18小時）以促進該反應進行完全。然後將化合物**66**從反應混合物中分離並且藉由適合的技術進行純化。

【0096】 某些實施方式可以包含磷酸酯部分。方案7提供某些此類實施方式的示例性合成：



方案7

使化合物**68**與化合物**70**反應以形成化合物**72**。化合物**70**包含所需的R^y部分和適合的脫離基LG。典型的R^y部分包括但不限於脂肪族（諸如烷基，典型地甲基、乙基、丙基、異丙基或三級丁基）；芳基；雜脂肪族；或雜環。兩個R^y部分可為相同的或不同的。適合的脫離基包括但不限於鹵素（典型地是溴、氯或碘）、和甲苯磺酸酯或甲磺酸酯基團。在適合的溶劑中並典型地在鹼的存在下，使化合物**68**與化合物**70**反應。適合的溶劑包括促進該反應的任何溶劑，諸如非質子溶劑。適合的溶劑包括但不限於DMF、THF、DMSO、乙腈、氯化溶劑（諸如二氯甲烷和氯仿）、DMA、二噁咁、N-甲基吡咯啉酮或其組合。適合的鹼包括將促進該反應的任何鹼，諸如氫化物（典型地是氫化鈉）或碳酸鹽（諸如碳酸鉀、碳酸鈉或碳酸銨）。如所希望的，可以將該反應加熱至諸如50°C、100°C或更高，或者該反應可以在室溫下進行。然後將化合物**72**從反應混合物中分離並且如果需要的话進行純化。

【0097】 然後使化合物**72**與化合物**74**反應以形成化合物**76**。化合物**74**可為適合在化合物**76**中形成酸部分的任何化合物。化合物**74**可為酸性試劑，諸如三氟乙酸、鹽酸、或氫溴酸，或者其可為鹼性試劑，諸如氫氧化鈉、氫氧化鋰或氫氧

化鉀。適合的溶劑包括但不限於氯化溶劑（諸如二氯甲烷和氯仿）、醇（諸如甲醇和乙醇）、水或其組合。可以將該反應加熱至諸如50°C、100°C或更高，如所希望的，冷卻至諸如低於20°C、低於10°C、低於0°C或更低，或者該反應可以在室溫下進行。如藉由分析技術（諸如LC-MS、TLC或HPLC）指示的，一旦反應完全，藉由適合的技術（諸如藉由攪動，諸如藉由攪拌或超音波處理），在適合的溶劑或溶劑系統中，將產物化合物**76**分離並且如果需要的話進行純化。適合的溶劑或溶劑系統包括但不限於丙酮/水、丙酮、二乙醚、或醇/水。

【0098】 然後使化合物**76**與化合物**78**反應以形成鹽化合物**80**。化合物**78**可為將為鹽化合物**80**提供適合的平衡離子CA的任何化合物，諸如氫氧化鈣、氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化鋰、銨、三甲胺、三(羥甲基)胺基甲烷、或胺基酸（諸如離胺酸或精胺酸）。熟悉該項技術者將理解如果相對離子CA具有單個正電荷（如處於Na⁺、K⁺、Li⁺或NH₄⁺的形式），則化合物**80**將包含兩個CA離子，然而如果相對離子CA具有兩個正電荷（如處於CA²⁺形式），則化合物**80**將包含一個CA離子。

IV. 治療劑的組合

【0099】 本揭露的化合物可以單獨地、彼此組合地、在分開的藥物組成物中、一起在單一組成物中使用，或作為其他已建立的療法的輔助或與該等療法組合使用。該一或多種化合物可以投與一次，或者更可能多次投與。在另一方面，本揭露的化合物可以與對正在治療的障礙或病症有用的其他治療劑組合使用。該等化合物和/或藥劑可以同時、以任何順序依次、藉由相同的投與途徑或不同的途徑進行投與。對於依次投與，可以投與該一或多種化合物和/或藥劑，這樣使得至少一種化合物和/或藥劑的有效時間段與至少一種其他化合物和/或藥劑的有效時間段重疊。在包含四種組分的組合的示例性實施方式中，所投與的第一組分的有效時間段可以與第二、第三和第四組分的有效時間段重疊，但是第二、

第三和第四組分的有效時間段獨立地可以彼此重疊或不重疊。在包含四種組分的組合的另一個示例性實施方式中，所投與的第一組分的有效時間段與第二組分的有效時間段重疊，但與第三或第四組分的有效時間段不重疊；第二組分的有效時間段與第一和第三組分的有效時間段重疊；並且第四組分的有效時間段僅與第三組分的有效時間段重疊。在一些實施方式中，所有化合物和/或藥劑的有效時間段彼此重疊。

【0100】 在一些實施方式中，與另一種治療劑（諸如鎮痛劑、抗生素、抗凝劑、抗體、抗炎劑、免疫抑制劑、鳥苷醯環化酶C促效劑、腸促分泌素、抗病毒劑、抗癌劑、抗真菌劑或其組合）一起投與所揭露的化合物。在某些實施方式中，第二治療劑係抗炎劑、免疫抑制劑和/或可為類固醇。

【0101】 該抗炎劑可為類固醇或非類固醇抗炎劑。在某些實施方式中，該非類固醇抗炎劑選自胺基水楊酸鹽、環氧合酶抑制劑、雙氯芬酸、依託度酸、啡莫替定、非諾洛芬、氟白普洛芬、酮洛芬、酮咯酸、伊布洛芬、吲哚美辛、甲氯芬那酸、甲芬那酸、美洛昔康、萘普酮、萘普生、奧沙普秦、吡羅昔康、雙水楊酯、舒林酸、妥美丁或其組合。在一些實施方式中，該免疫抑制劑係巯基嘌呤、皮質類固醇、烷化劑、鈣調神經磷酸酶抑制劑、肌苷一磷酸脫氫酶抑制劑、抗淋巴球球蛋白、抗胸腺細胞球蛋白、抗T細胞抗體或其組合。在一個實施方式中，該抗體係英利昔單抗。

【0102】 在一些實施方式中，本發明之化合物可以與抗癌劑或細胞毒素劑一起使用。各種種類的抗癌劑和抗腫瘤化合物包括但不限於烷化劑、抗代謝藥、BCL-2抑制劑、長春花生物鹼、紫杉烷類、抗生素、酶、細胞介素、鉑配位錯合物、蛋白酶體抑制劑、經取代的尿素酶、激酶抑制劑、激素類和激素拮抗劑、以及低甲基化劑（例如DNMT抑制劑，諸如阿紮胞苷和地西他濱）。示例性烷化劑包括但不限於氮芥、環磷醯胺、異環磷醯胺、黴法蘭、氮芥苯丁酸、次乙亞胺、

甲基三聚氰胺、烷基磺酸鹽（例如白消安）和卡莫司汀。示例性抗代謝藥包括，舉例但不限於葉酸類似物胺甲喋呤；吡啶類似物氟尿嘧啶、胞嘧啶阿糖胞苷；嘌呤類似物巯基嘌呤、硫鳥嘌呤和硫唑嘌呤。示例性長春花生物鹼包括，舉例但不限於長春花鹼、長春新鹼、紫杉醇和秋水仙鹼。示例性抗生素包括，舉例但不限於放線菌素D、道諾黴素和博來黴素。作為抗腫瘤劑有效的示例性酶包括L-天冬醯胺酶。示例性配位化合物包括，舉例但不限於順鉑和卡鉑。示例性激素和激素相關的化合物包括，舉例但不限於腎上腺皮質類固醇（強體松和地塞米松）；芳香酶抑制劑（胺魯米特、福美司坦、和阿那曲唑）；孕酮化合物（羥助孕酮己酯、甲羥助孕酮）；和抗雌激素化合物（它莫西芬）。

【0103】 該等和其他有用的抗癌化合物描述在Merck Index [默克索引], 第13版（O'Neil M. J.等人編輯）Merck Publishing Group [默克出版集團]（2001）；以及Goodman和Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics [治療的藥理學基礎], 第12版, Brunton L.L.編輯, 第60-63章, McGraw Hill [麥格勞-希爾集團],（2011）中，其兩者藉由引用併入本文。

【0104】 在CTLA 4抗體中可以與本揭露的抑制劑組合使用的係由百時美施貴寶公司（Bristol-Myers Squibb）以YERVOY®出售的伊匹木單抗。

【0105】 用於組合的其他化療劑包括免疫腫瘤試劑，諸如檢查點途徑抑制劑，例如PD-1抑制劑（諸如納武單抗和lambrolizumab）和PD-L1抑制劑（諸如派姆單抗、MEDI-4736和MPDL3280A/RG7446）。用於與本文揭露的化合物組合的另外的檢查點抑制劑包括抗LAG-3試劑，諸如BMS-986016（MDX-1408）。

【0106】 用於與本揭露的抑制劑組合的另外的化療劑包括抗SLAMF7試劑（諸如人源化單株抗體埃羅妥珠單抗（elotuzumab）（BMS-901608））、抗KIR試劑（諸如抗KIR單株抗體利瑞單抗（lirilumab）（BMS-986015））和抗CD137試劑（諸如完全人源性單株抗體尤爾單抗（urelumab）（BMS-663513））。

【0107】與本揭露的化合物組合有用的另外的抗增殖化合物包括，舉例但不限於針對生長因子受體（例如，抗Her2）的抗體；和細胞介素（諸如干擾素- α 和干擾素- γ 、介白素-2和GM-CSF）。

【0108】與本發明化合物組合有用的另外的化療劑包括蛋白酶體抑制劑，諸如硼替佐米、卡非佐米、麻瑞佐米（marizomib）等。

【0109】與本揭露的化合物組合有用（特別是在治療惡性腫瘤中）的激酶抑制劑之實例包括：Btk抑制劑，諸如依魯替尼；CDK抑制劑，諸如帕博西尼；EGFR抑制劑，諸如阿法替尼、埃羅替尼、吉非替尼、拉帕替尼、奧斯替尼和凡德替尼（vandetinib）；Mek抑制劑，諸如曲美替尼；Raf抑制劑，諸如達拉菲尼、索拉非尼和威羅菲尼；VEGFR抑制劑，諸如阿西替尼、樂伐替尼、尼達尼布、帕唑帕尼；BCR-Abl抑制劑，諸如博舒替尼、達沙替尼、伊馬替尼和尼祿替尼；Syk抑制劑，諸如福他替尼（fostamatinib）；和JAK抑制劑，諸如盧梭利替尼（ruxolitinib）。

【0110】在其他實施方式中，第二治療劑可以選自以下中的任一個：

鎮痛劑-嗎啡、芬太尼、氫嗎啡酮、羥考酮、可待因、醋胺酚、氫可酮、丁丙諾啡、特拉嗎竇、文拉法辛、氟吡汀、配西汀（meperidine）、噴他佐辛、右嗎拉胺、地匹哌酮；

抗生素-胺基糖苷類（例如阿米卡星、建它黴素、康黴素、新黴素、奈替米星、妥布黴素、和巴龍黴素）、碳青黴烯類（例如厄他培南、多利培南、亞胺培南、西司他丁、和美羅培南）、頭孢菌素（例如頭孢卓西、頭孢若林、頭孢噻吩、頭孢力欣、頭孢可若、頭孢羥唑、頭孢西丁、頭孢丙烯、頭孢呋辛、頭孢克肟、頭孢地尼、頭孢托侖、頭孢匹拉、頭孢噻肟、頭孢泊肟、頭孢他啶、頭孢布烯、頭孢唑肟、頭孢克松、頭孢吡肟和頭孢吡普（cefobiprole））、糖肽（例如替考拉寧、萬古黴素和特拉萬星）、林可醯胺（例如氯林絲菌素和林可黴素）、脂肽

(例如達托黴素)、大環內酯類(亞茲索黴素、克拉黴素、地紅黴素、紅黴素、羅紅黴素、醋竹桃黴素、泰利黴素和觀黴素)、單環β-內酰胺類(例如胺曲南)、硝基呋喃(例如呋喃唑酮和硝基呋喃妥因)、青黴素(例如阿莫西林、胺苄青黴素、阿洛西林、卡本西林、氯噻青黴素、二氯噻青黴素、氟氯西林、美洛西林、甲氧西林、萘夫西林、苯唑西林、青黴素G、青黴素V、必倍西林、替莫西林和替凱西林)、青黴素組成物(例如阿莫西林/克拉維酸、胺苄青黴素/舒巴坦、必倍西林/他唑巴坦、和替凱西林/克拉維酸)、多肽(例如枯草菌素、黏菌素和多黏菌素B)、喹啉酮(例如賽普沙辛、依諾沙星、加替沙星、左旋氧氟沙星、洛美沙星、莫西沙星、噁啉酮酸、諾氟沙星、氧氟沙星、曲伐沙星、格雷沙星、司帕沙星和替馬沙星)、磺醯胺(例如磺胺米隆、磺醯胺基柯衣定(sulfonamidochrysoidine)、乙醯磺胺、磺胺嘧啶、磺胺嘧啶銀、磺胺甲二唑、磺胺甲噁唑、磺胺、柳氮磺胺吡啶、磺胺異噁唑、曲美普林、和曲美普林-磺胺甲噁唑)、四環素(例如去甲基氯四環素、去氧羥四環素、米諾四環素、氧四環素和四環素)、抗分支桿菌化合物(例如氯法齊明、二胺苯磺、卷曲黴素、環絲胺酸、乙胺丁醇、乙硫異菸醯胺、異菸酸肼、吡叻甲醯胺、利福平(rifampicin、rifampin)、利福布汀、利福噴丁、和鏈黴素)、以及其他(諸如砷凡納明、氯黴素、磷黴素、梭鏈孢酸、利奈唑胺、甲硝唑、莫螢菌素、平板黴素、奎奴普汀(quinuprisin)/達福普汀、利福昔明、甲磺黴素、替加環素和替硝唑)；

抗體-抗TNF-α抗體，例如英利昔單抗(Remicade™)、阿達木單抗、戈利木單抗、賽妥珠單抗；抗B細胞抗體，例如利妥昔單抗；抗IL-6抗體，例如托珠單抗；抗IL-1抗體，例如阿那白滯素；抗PD-1和/或抗PD-L1抗體，例如納武單抗、派姆單抗、佩蒂單抗(pidilizumab)、BMS-936559、MPDL3280A、AMP-224、MEDI4736；艾克司單抗(itekizumab)、布朗德柳單抗(brodalumab)、奧法木單抗、斯瑞克單抗(sirukumab)、克立昔單抗、克拉紫克單抗(clazakiumab)、

斐紫克單抗（fezakinumab）、斐替克單抗（fletikumab）、馬瑞林單抗（mavrilimumab）、奧瑞珠單抗（ocrelizumab）、三瑞林單抗（sarilumab）、賽庫克單抗（secukinumab）、托利珠單抗（toralizumab）、紫木單抗；

抗凝劑-華法林（Coumadin™）、苡香豆醇、苯丙香豆素、裂盒蕈色素、苯茛二酮、肝素、磺達肝癸鈉、艾卓肝素（idraparinux）、利伐沙班、阿哌沙班、水蛭素、來匹盧定、比伐盧定、阿加曲班（argatrobam）、達比加群、西米拉坦、巴曲酶、裂纖酶；

抗炎劑-類固醇（例如布地奈德）、非類固醇抗炎劑（例如胺基水楊酸鹽（例如柳氮磺胺吡啶、美沙拉吡、奧沙拉秦、和巴柳氮）、環氧合酶抑制劑（COX-2抑制劑，諸如羅非考昔、塞來昔布）、雙氯芬酸、依託度酸、啡莫替定、非諾洛芬、氟白普洛芬、酮洛芬、酮咯酸、伊布洛芬、吲哚美辛、甲氯芬那酸、甲芬那酸、美洛昔康、萘普酮、萘普生、奧沙普秦、吡羅昔康、雙水楊酯、舒林酸、妥美丁）；

免疫抑制劑-巯基嘌呤、皮質類固醇（諸如地塞米松、氫化可體松、強體松、甲基普賴蘇稷、和普賴蘇稷）、烷化劑（諸如環磷醯胺）、鈣調神經磷酸酶抑制劑（諸如環孢素、西羅莫司以及他克莫司）、肌苷一磷酸脫氫酶（IMPDH）抑制劑（諸如麥考酚酯、嗎替麥考酚酯和硫唑嘌呤）、以及設計用於抑制細胞免疫同時保留接受者的體液免疫反應完整的藥劑，包括各種抗體（例如抗淋巴球蛋白（ALG）、抗胸腺細胞球蛋白（ATG）、單株抗T-細胞抗體（OKT3））以及放射。硫唑嘌呤目前可從Salix製藥公司的商標名稱Azasan下獲得；巯基嘌呤目前可從Gate製藥公司的商標名稱Purinethol下獲得；普賴鬆和普賴蘇稷目前可從洛葛仙妮實驗室公司（Roxane Laboratories, Inc.）獲得；甲基普賴蘇稷目前可從輝瑞公司（Pfizer）獲得；西羅莫司（雷帕黴素）目前可從惠氏-斯特公司（Wyeth-Ayerst）的商標名稱Rapamune下獲得；他克莫司目前可從藤澤公司（Fujisawa）商標名稱

Prograf下獲得；環孢素目前可從諾華公司（Novartis）的商標名稱Sandimmune和雅培公司（Abbott）的商標名稱Gengraf下獲得；IMPDH抑制劑（諸如嗎替麥考酚酯和麥考酚酸）目前可從羅氏公司（Roche）的商標名稱Cellcept下和諾華公司（Novartis）的商標名稱Myfortic下獲得；硫唑嘌呤目前可從葛蘭素史克公司（Glaxo Smith Kline）的商標名稱Imuran下獲得；並且抗體目前可從奧托生物技術公司（Ortho Biotech）的商標名稱Orthoclone下、諾華公司（Novartis）的商標名稱Simulect（巴厘昔單抗）下以及羅氏公司（Roche）的商標名稱Zenapax（達利珠單抗）下獲得；以及

鳥苷酸環化酶C受體促效劑或腸促分泌素，例如在Linzess名下出售的利那洛肽（linaclotide）。

【0111】在某些實施方式中，第二治療劑係或包含類固醇，諸如皮質類固醇，包括但不限於糖皮質激素和/或鹽皮質激素。適合與所揭露的化合物組合使用的類固醇包括合成的和非合成的糖皮質激素。適用於所揭露的方法的示例性類固醇，諸如糖皮質激素，包括但不限於阿氯米松、阿爾孕酮、倍氯米松（例如二丙酸倍氯米松）、倍他米松（例如17-戊酸貝皮質醇、倍他米松乙酸鈉、倍他米松磷酸鈉、戊酸貝皮質醇）、布地奈德、氯倍他索（例如丙酸氯貝皮質醇）、可洛貝他松、氯可托龍（例如戊酸氯可托龍）、氯潑尼醇、皮質酮、可體松、可的伐唑、地夫可特、地奈德、去氯地塞米松、地塞米松（例如21-磷酸地塞米松、乙酸地塞米松、地塞米松磷酸鈉）、二氟拉松（例如二乙酸二氟拉松）、二氟可龍、二氟潑尼酯、甘草次酸、氟紫可松、氟二氯松、氟氫可體松（例如氟可體松乙酸酯）、氟米松（例如新戊酸氟米松）、氟尼縮松、氟輕鬆（例如丙酮氟洛皮質醇）、氟洛奈皮質醇、氟可丁、氟可龍、氟米龍（例如乙酸氟米龍）、氟培龍（例如乙酸氟培龍）、氟潑尼定、氟普賴蘇穩、氟氫縮松、氟替卡松（例如氟替皮質醇丙酸酯）、福莫可他、氯氟舒松、鹵倍他索、鹵米松、鹵普賴鬆、氫可他

酯、氫化可體松（例如21-丁酸氫化可體松、醋丙氫化可體松、乙酸皮質醇、丙丁氫化可體松、丁酸氫化可體松、環戊丙酸氫化可體松、半琥珀酸氫化可體松、丙丁酸氫化可體松、氫化可體松磷酸鈉、氫化可體松琥珀酸鈉、戊酸氫化可體松）、依碳酸氯替潑諾、馬潑尼酮、甲羥松、甲普賴鬆、甲基普賴蘇濃（醋丙甲基普賴蘇濃、乙酸甲基普賴蘇濃、半琥珀酸甲基普賴蘇濃、甲基普賴蘇濃琥珀酸鈉）、莫米松（例如糠酸莫美他松）、帕拉米松（例如乙酸帕拉米松）、潑尼卡酯、普賴蘇濃（例如25-二乙氨基乙酸普賴蘇濃、普賴蘇濃磷酸鈉、21-半琥珀酸普賴蘇濃、乙酸普賴蘇濃；法呢酸普賴蘇濃、半琥珀酸普賴蘇濃、普賴蘇濃-21（ β -D-葡萄糖醛酸）、間磺基苯甲酸普賴蘇濃、司替普賴蘇濃、丁乙酸普賴蘇濃、四氫鄰苯二甲酸普賴蘇濃）、普賴鬆、普賴蘇濃戊酸酯（prednival）、潑尼立定、利美索龍、替可體松、曲安奈德（例如丙酮特安皮質醇（triamcinolone acetonide）、苯曲安奈德（triamcinolone benetonide）、己曲安奈德（triamcinolone hexacetonide）、21-棕櫚酸曲安奈德（triamcinolone acetonide 21-palmitate）、二乙酸曲安奈德（triamcinolone diacetate））或其任何組合。有關類固醇及其鹽的其他資訊例如可以在Remington's Pharmaceutical Sciences [雷明頓製藥科學], A. Osol編輯, Mack Pub.Co. [馬克出版公司], 伊斯頓, 賓夕法尼亞州（Easton, Pa.）（第16版 1980）中找到。

【0112】 在一些實例中，類固醇係糖皮質激素，並且可以選自可體松、地塞米松、氫化可體松、甲基普賴蘇濃、普賴蘇濃、普賴鬆或其組合。在一個特別實例中，類固醇係或包含普賴鬆。在另一個特別實例中，類固醇係或包含地塞米松。

【0113】 該等不同的藥劑可以根據其標準或常規劑量來使用，如在伴隨該等藥物的可商購形式的處方資訊中所指明的（還參見，醫生案頭參考 [The

Physician's Desk Reference] 的2006年版本中的處方資訊），其揭露內容藉由引用併入本文。

V. 包含所揭露的化合物的組成物

【0114】 所揭露的化合物可以單獨地、以任何組合並且與至少一種第二治療劑組合或作為其輔助來使用。此外，所揭露的一或多種化合物和/或至少一種第二治療劑可以與任何適合的賦形劑組合使用，該賦形劑可用於形成投與於受試者的組成物。賦形劑可以包括在用於各種目的的藥物組成物內，諸如用於稀釋向受試者遞送的組成物、用於促進配製物的加工、用於向配製物提供有利的材料特性、用於促進遞送裝置分散、用於穩定配製物（例如，抗氧化劑或緩衝液）、用於向配製物提供滿意的或可口的味道或稠度等。該一或多種藥學上可接受的賦形劑可以包括一或多種藥學上可接受的載劑和/或藥學上可接受的佐劑。示例性賦形劑包括但不限於：單糖、二糖、和聚糖、糖醇和其他多元醇，諸如乳糖、葡萄糖、棉子糖、松三糖、乳糖醇、麥芽糖醇、海藻糖、蔗糖、甘露醇、澱粉或其組合；界面活性劑，諸如山梨醇、雙磷脂酰膽鹼、和卵磷脂；膨脹劑；緩衝液，諸如磷酸鹽和檸檬酸緩衝液；抗黏附劑，諸如硬脂酸鎂；黏合劑，諸如糖類（包括二糖類，諸如蔗糖和乳糖）、聚糖（諸如澱粉、纖維素、微晶纖維素、纖維素酯（諸如羥丙基纖維素））、明膠、合成的聚合物（諸如聚乙烯吡咯啉酮、聚烯二醇）；包衣（諸如纖維素醚，包括羥丙基甲基纖維素、蟲膠、玉米蛋白質玉米醇溶蛋白、和明膠）；釋放助劑（諸如腸溶包衣）；崩散劑（諸如交聚維酮、交聯的羧甲基纖維素鈉、和澱粉乙醇酸鈉）；填充劑（諸如二鹼式磷酸鈣、植物脂肪和油、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇、山梨醇、碳酸鈣、和硬脂酸鎂）；風味劑和甜味劑（諸如薄荷、櫻桃、大茴香、桃子、杏子或甘草、覆盆子、和香草）；潤滑劑（諸如礦物質，例示為滑石或二氧化矽；脂肪，例示為植物硬脂，硬脂酸鎂或硬脂酸）；防腐劑（諸如抗氧化劑，例示為維生素A、維生素E、維生素C、

軟脂酸視網酯、和硒、胺基酸（例示為半胱胺酸和甲硫胺酸）、檸檬酸和檸檬酸鈉、對羥基苯甲酸酯類（例示為對羥基苯甲酸甲酯和對羥基苯甲酸丙酯）；著色劑；壓縮助劑；乳化劑；封裝劑；膠質；造粒劑；及其組合。

VI. 使用方法

A. 疾病/障礙

【0115】所揭露的化合物、連同其組合和/或組成物可以用於改善、治療和/或預防各種疾病、病症和/或障礙。在特別實施方式中，所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物可以用於治療其中抑制介白素-1受體相關的激酶（IRAK）途徑係治療上有用的病症。在一些實施方式中，該等化合物直接抑制IRAK蛋白，諸如IRAK1、IRAK2、IRAK3和/或IRAK4。在某些實施方式中，所揭露的化合物可用於治療、預防和/或改善自體免疫性疾病、炎性障礙、心血管疾病、神經障礙、神經退化性疾病、過敏性疾患、氣喘、胰臟炎、多器官衰竭、腎臟疾病、血小板凝集、癌症、移植、精子活力、紅血球缺乏、移植排斥、肺損傷、呼吸道疾病、缺血性病變、以及細菌和病毒感染。

【0116】在一些實施方式中，所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物可以用於治療或預防過敏性疾病、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、全身性紅斑狼瘡、類風濕性關節炎、I型糖尿病、炎性腸病、膽汁性肝硬化、眼色素層炎、多發性硬化、克隆氏症、潰瘍性結腸炎、大皰性類天皰瘡、肉狀瘤病、牛皮癬、自體免疫性肌炎、華格納氏肉芽病、魚鱗癬、格雷夫斯眼病或氣喘。

【0117】所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物也可以用於改善、治療和/或預防與骨髓或器官移植排斥或移植物抗宿主病相關的免疫調節障礙。可以用本發明之化合物治療的炎性或免疫調節障礙之實例包括但不限於器官或組織的移植、藉由移植帶來的移植物抗宿主病、自體免疫性綜合症（包括類風濕性關節炎）、狼瘡（包括全身性紅斑狼瘡）、橋本甲狀腺炎、多發性硬化、

系統性硬化、重症肌無力、I型糖尿病、眼色素層炎、後眼色素層炎、過敏腦脊髓炎、腎小球腎炎、感染後自體免疫性疾病（包括風濕熱和感染後腎小球腎炎）、炎性和過度增生性皮膚疾病、牛皮癬、異位性皮膚炎、接觸性皮炎、濕疹性皮炎、脂溢性皮炎、扁平苔癬、天皰瘡、大皰性類天皰瘡、大包性表皮鬆解、蕁麻疹、血管性水腫、血管炎、紅斑、皮膚嗜酸性球增多症、紅斑狼瘡、痤瘡、斑禿、角膜結膜炎、春季結膜炎、與白塞氏病相關的眼色素層炎、角膜炎、皰疹性角膜炎、圓錐形角膜、角膜上皮營養不良、角膜白斑、眼天皰瘡、蠶蝕性角膜潰瘍、鞏膜炎、格雷夫斯眼病、Vogt-小柳原田氏症候群（Vogt-Koyanagi-Harada syndrome）、肉狀瘤病、花粉過敏、可逆阻塞性氣道疾病、支氣管氣喘、過敏性氣喘、內源性氣喘、外源性氣喘、塵埃性氣喘、慢性或根深氣喘、晚期氣喘和氣道高反應、支氣管炎、胃潰瘍、由缺血性疾病和血栓形成引起的血管損傷、缺血性腸病、炎性腸病、壞死性小腸結腸炎、與熱燒傷有關的腸道病變、乳糜瀉、直腸炎、嗜伊紅性胃腸炎、肥胖細胞增多症、克隆氏症、潰瘍性結腸炎、偏頭痛、鼻炎、濕疹、間質性腎炎、古巴士德氏症候群（Goodpasture's syndrome）、溶血性尿毒症候群、糖尿病腎病、多發性肌炎、格巴二氏症候群（Guillain-Barre syndrome）、美尼爾氏病、多發神經炎、多神經炎、單神經炎、神經根病、甲狀腺機能亢進、巴塞多氏病（Basedow's disease）、純紅血球再生不良、再生不良性貧血、低形成性貧血、特發性血小板減少性紫癜、自體免疫性溶血性貧血、顆粒性白血球缺乏症、惡性貧血、巨胚紅血球貧血、紅血球發生不能、骨質疏鬆症、肉狀瘤病、肺纖維變性、特發性間質性肺炎、皮肌炎、尋常性白斑病、尋常性魚鱗癬、光變應性敏感（photoallergic sensitivity）、皮膚T細胞淋巴瘤、慢性淋巴球白血病、動脈硬化、動脈粥樣硬化、主動脈炎綜合症、結節性多動脈炎、心肌病、硬皮病、華格納氏肉芽病、休格倫氏症候群（Sjögren's syndrome）、肥胖病、嗜酸性筋膜炎、齒齦病變、牙周膜病變、齒槽骨病變、牙骨質（substantia ossea dentis）病變、腎

小球腎炎、藉由預防脫毛或提供頭髮發生和/或促進頭髮生成和頭髮生長的男性型脫髮或老年脫髮、肌肉萎縮症、膿皮病和Sézary氏症候群(Sezary's syndrome)、艾迪生病、器官保存後發生的缺血再灌注損傷、移植或缺血性疾病、內毒素休克、假膜性結腸炎、由藥物或輻射引起的結腸炎、缺血性急性腎功能不全、慢性腎功能不全、由肺氧或藥物引起的毒素病、肺癌、肺氣腫、白內障、鐵質沈著病(siderosis)、色素沈著性視網膜炎、老年性黃斑變性、玻璃體疤痕、角膜鹼燒傷、皮炎多形性紅斑、線性IgA大疱性皮炎和水泥皮炎、齒齦炎、牙周炎、敗血症、胰臟炎、由環境污染引起的疾病、老化、致癌作用、癌轉移和低氣壓病、由組胺或白三烯-C4釋放引起的疾病、白塞氏病、自體免疫性肝炎、原發性膽汁性肝硬化、硬化性膽管炎、肝部分切除、急性肝壞死、毒素引起的壞死、病毒性肝炎、休克、或缺氧症、B型病毒性肝炎、非A型/非B型肝炎、肝硬化、酒精性肝病(包括酒精性肝硬化)、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、肝功能衰竭、猛爆性肝衰竭、晚發性肝功能衰竭、「慢加急」肝衰竭、化療效果增加、巨細胞病毒感染、HCMV感染、AIDS、癌症、老年失智症、帕金森病、創傷、慢性細菌感染、掌蹠膿疱症、化膿性汗腺炎、細胞介素釋放綜合症(CRS)、急性呼吸窘迫綜合症(ARDS)、急性腎損傷(AKI)、腎功能不全或血栓形成。

【0118】 在一些實施方式中，該疾病或病症係化膿性汗腺炎或選自以下的淋巴細胞腫瘤：不包括真性紅血球增多症的骨髓增生性腫瘤(MPN)、髓系/淋巴細胞腫瘤伴PDGFRA重排、髓系/淋巴細胞腫瘤伴PDGFRB重排、髓系/淋巴細胞腫瘤伴FGFR1重排、髓系/淋巴細胞腫瘤伴PCMI-JAK2、骨髓化生不良/骨髓增生性腫瘤(MDS/MPN)、髓樣肉瘤、唐氏症相關骨髓增殖症、母細胞性漿細胞樣樹突狀細胞腫瘤、B淋巴母細胞白血病/淋巴瘤；和/或T淋巴母細胞白血病/淋巴瘤。在一些實施方式中，該淋巴細胞腫瘤係選自以下的骨髓增生性腫瘤：慢性骨髓性白血病(CML)、慢性嗜中性球白血病(CNL)、原發性骨髓纖維化(PMF)、

原發性血小板過多症、慢性嗜酸性球白血病或其組合。在其他實施方式中，該淋巴細胞腫瘤係選自以下的骨髓化生不良/骨髓增生性腫瘤：慢性骨髓單核球白血病、不典型慢性骨髓性白血病（aCML）、少年性骨髓單核球白血病（JMML）、MDS/MPN伴環形含鐵胚血球和血小板增多症（MDS/MPN-RS-T）或其組合。

【0119】在某些實施方式中，本發明化合物可用於治療神經疼痛，包括神經性疼痛和炎症引起的疼痛。

【0120】在某些實施方式中，所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物可用於治療和/或預防類風濕性關節炎、牛皮癬關節炎、骨關節炎、全身性紅斑狼瘡、狼瘡性腎炎、關節黏連性脊椎炎、骨質疏鬆症、系統性硬化、多發性硬化、牛皮癬（特別是膿皰型乾癬）、I型糖尿病、II型糖尿病、炎性腸病（克隆氏症和潰瘍性結腸炎）、高免疫球蛋白血症和週期性發熱綜合症、冷吡啶蛋白相關週期性綜合症、Schnitzler氏症候群（Schnitzler's syndrome）、系統性幼年型特發性關節炎、成人發作斯蒂爾氏病（adult's onset Still's disease）、痛風、痛風發作、假痛風、sapho綜合症、卡斯爾曼病（Castleman's disease）、敗血症、中風、動脈粥樣硬化、乳糜瀉、DIRA（II-1受體拮抗劑的缺乏）、阿茲海默症、或帕金森病。

【0121】可以由所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物治療的增生性疾病包括良性或惡性腫瘤、實性瘤、腦癌、腎癌、肝癌、腎上腺癌、膀胱癌、乳癌、胃癌、胃腫瘤、卵巢癌、結腸癌、直腸癌、前列腺癌、胰臟癌、肺癌、陰道癌、子宮頸癌、睪丸癌、泌尿生殖道癌、食道癌、喉癌、皮膚癌、骨癌或甲狀腺癌、肉瘤、神經膠質母細胞瘤、神經母細胞瘤、多發性骨髓瘤、胃腸癌（尤其是結腸癌或結腸直腸腺瘤）、頭頸腫瘤、表皮增生、牛皮癬、前列腺增生、瘤形成、上皮性瘤形成、腺瘤、腺癌、角質棘皮瘤、鱗狀細胞癌、大細胞癌、非小細胞肺癌、淋巴瘤、霍奇金和非霍奇金、乳癌、濾泡癌、未分化癌、乳頭狀癌、

精原細胞瘤、黑色素瘤、IL-1驅動的障礙、MyD88驅動的障礙（諸如ABC彌散性大B細胞淋巴瘤（DLBCL）、瓦登斯特隆巨球蛋白血症（Waldenström's macroglobulinemia）、霍奇金氏淋巴瘤、原發性皮膚T淋巴球瘤或慢性淋巴球白血症）、鬱積或無痛多發性骨髓瘤、或血液惡性腫瘤（包括白血症、急性髓性白血症（AML）、DLBCL、ABC DLBCL、慢性淋巴球白血症（CLL）、慢性淋巴球性淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤/白血症、急性淋巴球白血症、B細胞前淋巴球白血症、淋巴漿細胞性淋巴瘤、骨髓化生不良症候群（MDS）、骨髓纖維化、真性紅血球增多症、卡波西肉瘤、瓦登斯特隆巨球蛋白血症（WM）、脾臟緣帶淋巴瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、血管內大B細胞淋巴瘤）。具體地，本揭露的化合物可用於治療藥物抗性惡性腫瘤，諸如抗JAK抑制劑依魯替尼抗性惡性腫瘤的那些，包括依魯替尼抗性血液惡性腫瘤，諸如依魯替尼抗性CLL和依魯替尼抗性瓦登斯特隆巨球蛋白血症。

【0122】 可以使用所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物治療的過敏性疾患之實例包括但不限於氣喘（例如異位性氣喘、過敏性氣喘、特應性支氣管IgE介導的氣喘、非特應性氣喘、支氣管氣喘、非異位性氣喘、特發性氣喘、真氣喘、由病理生理紊亂引起的內源性氣喘、未知或不明顯原因引起的特發性氣喘、肺氣腫氣喘、運動誘發的氣喘、情緒誘發的氣喘、由環境因素引起的外源性氣喘、冷空氣誘發的氣喘、職業性氣喘、由細菌、真菌、原生動物或病毒感染引起或與之相關的感染性氣喘、早期氣喘、氣喘嬰兒綜合症、小支氣管炎、咳嗽變異性氣喘或藥物性氣喘）、過敏性支氣管與肺的麴菌病（ABPA）、過敏性鼻炎、常年性過敏性鼻炎、常年性鼻炎、血管運動性鼻炎、鼻液倒流、膿性或非膿性鼻竇炎、急性或慢性鼻竇炎、以及篩骨、額骨、上頷骨、或蝶骨竇炎。

【0123】 作為另一個實例，類風濕性關節炎（RA）典型地導致腫脹、疼痛、運動損失和全身目標關節的壓痛。RA的特徵在於密集淋巴球的慢性發炎性滑膜。

典型地一個細胞層厚的滑膜變成強烈細胞，並假定為與淋巴組織相似的形式（包括樹突狀細胞、T細胞、B細胞和NK細胞、巨噬細胞和漿細胞簇）。此過程以及包括形成抗原-免疫球蛋白複合物的大量免疫病理學機制最終導致關節的完整性破壞，該破壞導致關節處或附近畸形、功能永久喪失和/或骨侵蝕。所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物可以用於治療、改善或預防任何單個、幾個或所有的該等RA症狀。因此，在RA的上下文中，當實現通常與RA相關的任何症狀的降低或改善時，化合物被認為提供治療益處，而不管治療是否導致對下面的RA的聯合治療和/或循環類風濕因子（「RF」）的量減少。

【0124】 美國風濕病學會（ACR）已經制定了定義RA的改善和臨床緩解的標準。一旦達到這種參數，ACR20（20%臨床改善的ACR標準）需要使疼痛和腫脹關節的計數提高20%，以及以下5個參數中的3個提高20%：患者整體評估、醫生整體評估、患者疼痛評估、殘疾程度和急性期反應物水平。該等標準分別在ACR50和ACR70中提高了50%和70%。其他標準包括Paulu的標準和放射學進展（例如Sharp評分）。

【0125】 在一些實施方式中，當患者表現出ACR20時，經受RA的患者獲得治療益處。在具體實施方式中，可以實現ACR50或甚至ACR70的ACR改善。

【0126】 細胞介素釋放綜合症（CRS）係可能危及生命的病症，可能由多種因素引起，包括嚴重的病毒感染（諸如流感）、用於免疫療法（諸如癌症免疫療法）的抗體的投與，以及基於非蛋白質的癌症藥物（諸如奧沙利鉑和來那度胺）的投與。免疫療法可能涉及超過自然發生的免疫激活水平的高水平免疫激活，並且CRS係可能因此發生的非抗原特異性毒性。隨著基於免疫的療法變得更加有效，CRS的診斷率越來越高。在半相合供體幹細胞移植和移植物抗宿主病的情況下也觀察到CRS。Shimabukuro-Vornhagen等人，*Journal for ImmunoTherapy of Cancer* [癌症免疫療法雜誌] 6:56 (2018)。CRS與包括介白素（IL）-6和干擾素γ的

第 45 頁，共 106 頁(發明說明書)

幾種細胞介素的循環水平升高相關。Lee等人, *Blood* [血液] **124(2)**:188–195 (2014年7月10日；2014年5月29日電子公佈)。

【0127】 當大量淋巴球和/或骨髓細胞被激活並釋放炎性細胞介素時，通常會在臨床上觀察到CRS。細胞介素釋放可以由化學療法或生物療法誘導，和/或可以與治療性抗體治療（諸如用於癌症治療的免疫療法）相關。可能導致CRS的示例性免疫療法包括但不限於其中細胞表現重組受體諸如嵌合抗原受體（CAR）和/或其他轉基因受體諸如T細胞受體（TCR）的療法。CAR T療法誘導的CRS通常發生在T細胞輸注幾天內CAR T細胞擴增高峰期時。Giavridis等人, *Nat Med.* [自然醫學] **24(6)**:731-738 (2018年6月；2018年5月28日電子公佈)。可以誘導CRS的CAR T療法之實例包括西羅來塞-阿卡他近（以YESCARTA®銷售）和tisagenlecleucel（以KYMRIAH®銷售）。

【0128】 在CRS患者和該疾病的小鼠模型中觀察到介白素6（IL-6）水平高度升高，表明IL-6可能在CRS病理生理學中起作用。Shimabukuro-Vornhagen, *J Immunother Cancer* [癌症免疫療法雜誌] **6(1)**, 56 (2018)。IL-6可以經由兩種不同的模式發出訊息。經典的IL-6傳訊涉及IL-6與膜結合的IL-6受體的結合。然而，IL-6受體不具有細胞內傳訊結構域。相反，在可溶性IL-6與膜結合的IL-6受體結合後，IL-6/IL-6受體複合物與膜結合的gp130結合，後者通過其細胞內結構域啟動傳訊。在傳訊中，IL-6與可溶形式的IL-6受體結合，該受體通常被金屬蛋白酶從細胞表面切割下來。產生的可溶性IL-6/IL-6受體複合物與gp130結合，因此也可以在不表現膜結合IL-6受體的細胞類型中誘導傳訊。

【0129】 IL-6促成了CRS的許多關鍵症狀。通過傳訊，IL-6導致嚴重CRS的特徵性症狀，即血管滲漏，以及補體和凝血級聯的激活，從而誘導彌散性血管內凝血（DIC）。此外，IL-6可能藉由促進心肌功能障礙導致CRS患者中經常觀察到的心肌病。在小鼠模型中，CRS在CAR T細胞輸注2-3天內出現並且可能是致

命的。Giavridis 等人, *Nat Med.* [自然醫學] **24**(6): 731-738 (2018)。CRS症狀可能在抗體治療開始的幾分鐘或幾小時內開始出現，並且可能包括發燒（可能達到或超過40°C）、噁心、疲勞、頭痛、心跳過速、低血壓、皮疹、呼吸急促和/或肌痛。然而，在某些情況下，可能會出現另外的和可能更嚴重的併發症，包括心功能不全、成人呼吸窘迫綜合症、神經毒性、腎和/或肝功能衰竭和/或彌散性血管內凝血。

【0130】美國國家癌症研究所不良事件通用術語標準（CTCAE v. 5.0，2017年11月27日公佈）包括CRS的分級系統。

【0131】1級：發燒伴或不伴全身症狀。

【0132】2級：液體反應性低血壓；< 40% O₂反應性缺氧。

【0133】3級：用加壓器控制的低血壓；需要≥ 40% O₂的缺氧。

【0134】4級：危及生命的後果；緊急干預指示。

【0135】5級：死亡。

【0136】受試者可能不表現出CRS的體征或症狀和/或可能處於發生CRS的風險中。在此類實施方式中，投與化合物基本上防止CRS的發作，或防止2級或更高CRS的發作。

【0137】可替代地，受試者表現出CRS的至少一種體征或症狀並且可以表現出1級CRS的至少一種體征或症狀。或者受試者可能表現出2級或更高CRS（諸如3級或更高CRS）的至少一種體征或症狀。所揭露的一或多種化合物可以在體征或症狀發作的24小時內投與，和/或與投與該一或多種化合物之前的體征或症狀的嚴重程度相比，投與該一或多種化合物可以改善CRS的體征或症狀，諸如將CRS的等級從4降到3、2或1，或從3降到2或1，或從2降到1。可替代地，CRS症狀基本上降低至1級以下，使得受試者不再經歷與CRS相關的症狀。在一些實施方式中，體征或症狀係發燒並且可為40°C或更高的發燒。

【0138】 可以向先前已投與過其中CRS係已知的、懷疑的或潛在的副作用的第一療法的受試者投與所揭露的一或多種化合物。第一療法的投與可以在該一或多種化合物投與前大於零至10天開始。可替代地，可以將該一或多種化合物投與於將要或同時正在投與其中CRS係已知的、懷疑的和/或潛在的副作用的第一療法的受試者。第一療法可以包括細胞療法，包括但不限於嵌合抗原受體（CAR）表現療法和/或轉基因受體療法。還已知無細胞抗體會引發這種綜合症，尤其是那些激活T細胞的抗體，包括但不限於CAMPATH 1-H、布利妥莫單抗和/或利妥昔單抗。

【0139】 也可以投與第二治療劑（例如，類固醇、抗炎劑、免疫抑制劑或其組合）來治療或預防CRS。類固醇可為皮質類固醇，例如像地塞米松或普賴鬆或其組合。所揭露的一或多種化合物可以與第二治療劑基本上同時投與，或者該一或多種化合物和第二治療劑可以以任何順序依次投與。

【0140】 急性呼吸窘迫綜合症（ARDS）係以嚴重呼吸短促、呼吸費力和異常快速、低血壓、精神錯亂和極度疲倦為特徵的綜合症。基於儘管PEEP超過5 cm H₂O但PaO₂/FiO₂比率低於300 mmHg可以診斷這種綜合症（Fan等人 JAMA. 319: 698–71）。

【0141】 當肺泡中積聚流體時會發生ARDS。流體會阻止肺部充滿足夠的空氣，從而限制到達血流的氧氣量，進而剝奪器官運作所需的氧氣。ARDS症狀的強度可能會有所不同，具體取決於其原因和嚴重程度。嚴重的呼吸短促—ARDS的標誌—通常在一些呼吸道病毒感染（例如，COVID-19感染和流感）之後的幾小時到幾天內出現。許多患有ARDS的人無法生存，死亡風險隨著年齡和疾病嚴重程度的增加而增加。在ARDS中倖存的患者中，一些人完全康復，而另一些人的肺部受到了持久的損害。在一些出版物中，ARDS可能被稱為急性肺損傷（ALI）。

【0142】 急性腎損傷（AKI），也稱為急性腎損傷（ARI）或急性腎衰竭（ARF），係一種以腎功能（包括例如從患者血液中排泄廢物的能力）突然下降為特徵的綜合症。AKI的特徵係腎小球濾過率、尿產量的下降或這兩者均下降。這種過濾能力的喪失導致通常由腎臟排泄的含氮（尿素和肌酐）和非含氮廢物滯留、尿產量減少或兩者均有。根據因果關係，AKI可以歸類為腎前性、內源性腎性或腎後性。內源性腎病可以進一步分為腎小球、腎小管、間質和血管異常。AKI伴隨著一種炎性響應，該響應若未加抑制可以導致腎纖維化和慢性腎衰竭。AKI通常存在數小時或數天的時間段並且是潛在性可逆的。AKI的特徵可為腎功能突然（即，例如在14天內、7天內、72小時內或48小時內）下降，這藉由血清肌酐大於或等於0.3 mg/dl ($\geq 26.4 \mu\text{mol/l}$) 的絕對增加、血清肌酐大於或等於50%（相對於基線1.5倍）的百分比增加或尿產量降低（記錄到小於每小時0.5 ml/kg、至少6小時的少尿）來鑒定。風險因素包括例如正在接受或已經接受過重大血管手術、冠狀動脈搭橋術或其他心臟手術的受試者；預先存在鬱血性心臟衰竭、子癇前症、子癇、糖尿病、高血壓、冠狀動脈疾病、蛋白尿、腎功能不全、腎小球濾過低於正常範圍、肝硬化、血清肌酐高於正常範圍或敗血症的受試者；或暴露於NSAID、環孢素、他克莫司、胺基糖苷類、膦甲酸、乙二醇、血紅素、肌紅蛋白、異環磷醯胺、重金屬、胺甲喋呤、不透射線的造影劑或鏈脲佐菌素的受試者。這個列表並非旨在是限制性的。

【0143】 腎功能不全包括但不限於腎臟障礙、腎臟疾病、腎功能障礙、腎癌、由於事故、手術切除或遺傳疾病而缺至少一個腎臟或其中一個或兩個腎臟功能不正常的其他病症。腎功能不全可以包括急性腎損傷。

【0144】 血栓形成係一種凝血障礙，血小板過多會導致這種疾病。血栓形成可以係指血管內形成血栓（血凝塊）。該術語涵蓋但不限於動脈和靜脈血栓形成，包括深靜脈血栓形成、門靜脈血栓形成、頸靜脈血栓形成、腎靜脈血栓形成、

中風、心肌梗死、布加綜合症（Budd-Chiari syndrome）、Paget-Schroetter病和腦靜脈竇血栓形成。在一些實施方式中，患者相對於一般人群（例如，藉由公認的風險因素來衡量）處於血栓形成事件的風險升高。在一些實施方式中，患者具有一或多個風險因素，該等風險因素使該患者相對於一般人群具有發生血栓形成的高風險。血栓形成的風險因素包括例如經典的心血管疾病風險因素：高脂血症、吸煙、糖尿病、高血壓和腹部肥胖；強烈的經典靜脈血栓栓塞風險因素：創傷或骨折、重大骨科手術和腫瘤手術；中度的經典靜脈血栓栓塞風險因素：非腫瘤手術、口服避孕藥和激素替代療法、妊娠和產後期、高凝狀態和既往靜脈血栓栓塞；和較弱的經典靜脈血栓栓塞風險因素：年齡、臥床休息（> 3天）、長時間旅行和代謝綜合症。另外的風險因素包括血栓形成的遺傳性、獲得性和混合性凝血或代謝風險因素，例如像遺傳性：抗凝血酶缺乏症、蛋白C缺乏症、蛋白S缺乏症、萊頓第五因子（Factor V Leiden）、凝血酶原G20210A；獲得性：抗磷脂綜合症；混合性：高同型半胱氨酸血症、纖維蛋白原水平增加、因子VIII水平增加、因子IX水平增加。在一些情況下，使用肝素可能增加血栓形成的風險，包括例如肝素誘導的血小板減少症（HIT）。與血栓形成相關的疾病和病症包括但不限於急性靜脈血栓形成、肺栓塞、妊娠期血栓形成、出血性皮膚壞死、急性或慢性彌散性血管內凝血（DIC）、敗血症誘導的凝血病（SIC）、手術引起的血栓形成、長時間臥床休息、長時間固定、靜脈血栓形成、暴發性腦膜炎球菌敗血症、急性血栓性中風、急性冠狀動脈閉塞、急性周圍動脈閉塞、大面積肺栓塞、腋靜脈血栓形成、大面積髂股靜脈血栓形成、動脈插管閉塞、靜脈插管閉塞、心肌病、肝靜脈閉塞性病、低血壓、心輸出量降低、血管阻力降低、肺動脈高壓、肺順應性減弱、白血球減少、血小板減少症（例如，免疫性血小板減少症）和免疫性血小板紫癜。在具有血栓形成風險的受試者中，可以使用熟悉該項技術者已知的方法監測受試者，以維持具有血栓形成風險的患者的止血。用於監測具有血栓形成

風險的患者之方法的實例包括但不限於數位減贅血管攝影術、體外測定或非侵入性方法。可用於鑒定和監測具有血栓形成風險的受試者以及使用本發明方法進行治療的體外測定之實例包括但不限於功能測定和抗體檢測測定。

【0145】 血栓事件係指任何涉及動脈或靜脈阻塞或部分阻塞伴有血栓形成的障礙。血栓形成事件包括但不限於血栓性障礙，諸如心肌梗死、不穩定型心絞痛、中風、肺栓塞、短暫性腦缺血發作、深靜脈血栓形成、血栓再閉塞和周邊血管血栓形成。血栓形成事件還包括冠狀動脈介入手術或溶栓療法後發生的血栓再閉塞。

【0146】 COVID-19係由SARS-CoV-2（以前稱為2019-nCoV）感染引起的疾病，該疾病首次出現在中國武漢。

【0147】 COVID-19相關ARDS係指由SARS-CoV-2感染引起的ARDS。患有COVID-19相關ARDS的患者可能已被診斷為患有COVID-19，可能曾接觸過另一個患有COVID-19的人，或者根據其症狀可能被懷疑患有COVID-19。

【0148】 COVID-19相關AKI係指由SARS-CoV-2感染引起的AKI。患有COVID-19相關AKI的患者可能已被診斷為患有COVID-19，可能曾接觸過另一個患有COVID-19的人，或者根據其症狀可能被懷疑患有COVID-19。在一些情況下，COVID-19相關AKI包括具有例如在以下中描述的症狀的AKI：Battle等人 J. AM.SOC.NEPHROL. [美國腎臟病學會雜誌] 2020, 31(7): 1380-1383和Gabarre等人 Intensive Care Med. [重症監護醫學雜誌] 2020, 46(7): 1339-1348，其揭露內容藉由引用以其全文併入本文。

【0149】 COVID-19相關血栓形成係指由SARS-CoV-2感染引起的血栓形成。患有COVID-19相關血栓形成的患者可能已被診斷為患有COVID-19，可能曾接觸過另一個患有COVID-19的人，或者根據其症狀可能被懷疑患有COVID-19。在一些情況下，COVID-19相關血栓形成包括例如在以下中描述的任何症狀：

Connors 等人 Blood [血液] 2020, 135(23): 2033-2040 和 Bikdeli 等人 J. Am. Coll. Cardiol. [美國心臟病學會雜誌] 2020, 75(23): 2950-73，其揭露內容藉由引用以其全文併入本文。

【0150】 術語「與COVID-19相關」係指典型地在住院後28天內因COVID-19/體征而出現的症狀或適應症。

【0151】 對於COVID-19相關ARDS，成功的治療可以包括減少呼吸短促、更少的勞累或更少的呼吸急促、更高的血壓、減少的精神錯亂和/或疲勞。可以預防性地進行治療，即在ARDS發作之前進行。預防性治療可預防ARDS，並且可以投與給已感染或疑似感染COVID-19但沒有ARDS嚴重症狀的患者。例如，可以對咳嗽但沒有其他ARDS症狀的患者投與預防性治療。

【0152】 對於COVID-19相關AKI，成功的治療可以包括腎功能增加。腎功能可以藉由測量血清肌酐水平、血清肌酐清除率、或血液尿素氮水平來進行評估。在一些情況下，成功的治療包括在代謝性酸中毒、高血鉀、少尿或無尿、氮質血症方面的下降、體液平衡的恢復、以及對其他器官系統的改進的作用。可以預防性地進行治療，即在AKI發作之前進行。預防性治療可預防AKI，並且可以投與給已感染或疑似感染COVID-19但沒有AKI嚴重症狀的患者。例如，預防性治療可以投與給具有以下一或多種的患者：血清或尿肌酐增加、血尿、低蛋白血症、抗凝血酶III水平降低、低白蛋白血症（hypalbuminaemia）、白血球尿（leucozyturia）或沒有其他AKI症狀的蛋白尿。

【0153】 對於COVID-19相關血栓形成，成功的治療可以包括改善受試者的凝血狀況，或預防、減緩、延遲或阻止受試者具有風險的凝血狀況惡化。凝血概況可以藉由測量一或多個凝血參數來評估，包括例如受試者的血清中D-二聚體、因子II、因子V（例如，萊頓第五因子）、因子VII、因子VIII、因子IX、因子XI、因子XII、因子XIII、F/纖維蛋白降解產物、凝血酶-抗凝血酶111複合物、

纖維蛋白原、血纖維蛋白溶解酶原、凝血酶原和血管性假血友病因子中的一或多種的水平。可以針對凝血概況測量的其他凝血參數包括例如凝血酶原時間、促凝血酶原激酶時間、活化部分凝血活酶時間（aPTT）、抗凝血酶活性、血小板計數、蛋白C水平和蛋白S水平。另外，在治療之前也可以評估患者的C反應蛋白水平，並且如果升高，這可以用作患者血栓形成風險增加的進一步指標。

【0154】 敗血症係一種危及生命的器官功能障礙的臨床綜合症，由對感染的免疫響應失調引起。更嚴重形式的敗血症「感染性休克」的特徵係組織灌注嚴重減少；多個器官的急性衰竭，包括肺、腎和肝。免疫功能正常患者的常見病因包括革蘭氏陽性菌和革蘭氏陰性菌的許多不同物種。免疫功能受損的患者可能具有不常見的細菌或真菌物種作為病因。體征包括發熱、低血壓、少尿和精神錯亂。診斷主要依靠臨床結合顯示感染的培養結果；早期識別和治療係至關重要的。治療係積極的液體復蘇、抗生素、手術切除感染或壞死組織以及膿液引流和支持性護理。

【0155】 流感係一種通常被稱為「流感（flu）」的疾病。流感係由一組病毒引起的，該等病毒可以分為4個單獨的組：甲型流感、乙型流感、丙型流感和丁型流感，根據其核蛋白和基質蛋白進行區分。流感引起病毒性呼吸道感染，從而導致發熱、鼻炎、咳嗽、頭痛和不適。甲型、乙型和丙型流感都會感染人類，而尚無記錄在案的人類丁型流感感染病例。另一方面，丙型流感不會引起感染甲型、乙型或丙型流感的個體中所見的典型流感疾病。

【0156】 甲型流感毒株基於兩種表面蛋白，血球凝聚素（H）和神經胺酶（N）來進一步分類。有18種不同的血球凝聚素亞型和11種不同的神經胺酶亞型（分別為H1至H18和N1至N11）。雖然可能有198種不同的甲型流感亞型組合，但在自然界中只檢測到131種亞型。目前常規在人群中傳播的甲型流感病毒亞型包括：A(H1N1)和A(H3N2)。

【0157】 與流感相關的細胞介素釋放相關病症係指與流感相關的任何病症，該病狀導致肺和/或腎中高水平的細胞介素釋放。細胞介素釋放相關病症包括但不限於流感相關ARDS、流感相關AKI、流感相關血栓形成、流感相關敗血症、流感相關感染性休克等。

【0158】 流感相關ARDS係由流感感染引起的ARDS。患有流感相關ARDS的患者可能已被診斷為感染了流感，可能曾接觸過另一個已感染流感的人，或者根據其症狀可能被懷疑感染了流感。

【0159】 流感相關AKI係由流感感染引起的AKI。患有流感相關AKI的患者可能已被診斷為感染了流感，可能曾接觸過另一個已感染流感的人，或者根據其症狀可能被懷疑感染了流感。在一些情況下，流感相關AKI包括具有例如在以下中描述的症狀的AKI：Batlle等人 J. AM. SOC. NEPHROL. [美國腎臟病學會雜誌] 2020, 31(7): 1380-1383和Gabarre等人 Intensive Care Med. [重症監護醫學雜誌] 2020, 46(7): 1339-1348，其揭露內容藉由引用以其全文併入本文。

【0160】 流感相關血栓形成係由流感感染引起的血栓形成。患有流感相關血栓形成的患者可能已被診斷為感染了流感，可能曾接觸過另一個已感染流感的人，或者根據其症狀可能被懷疑感染了流感。在一些情況下，流感相關血栓形成包括例如在以下中描述的任何症狀：Connors等人 Blood [血液] 2020, 135(23): 2033-2040和Bikdeli等人 J. Am. Coll.Cardiol. [美國心臟病學會雜誌] 2020, 75(23): 2950-73，其揭露內容藉由引用以其全文併入本文。

【0161】 流感相關敗血症係由流感感染引起的敗血症。患有流感相關敗血症的患者可能已被診斷為感染了流感，可能曾接觸過另一個已感染流感的人，或者根據其症狀可能被懷疑感染了流感。在一些情況下，流感相關血栓形成包括例如在以下中描述的症狀：Florescu等人 Virulence. 2014年1月1日；5(1): 137-142.

和Gu等人 Eur Respir Rev. [歐洲呼吸評論] 2020年7月21日;29(157):200038，其揭露內容藉由引用以其全文併入本文。

【0162】術語「與流感相關」係指在住院/流感感染體征後28天內出現的症狀或適應症。

【0163】對於流感相關ARDS，成功的治療可以包括減少呼吸短促、更少的勞累或更少的呼吸急促、更高的血壓、減少的精神錯亂和/或疲勞。可以預防性地進行治療，即在ARDS發作之前進行。預防性治療可預防ARDS，並且可以投與給已感染或疑似感染流感但沒有ARDS嚴重症狀的患者。例如，可以對咳嗽但沒有其他ARDS症狀的患者投與預防性治療。

【0164】對於流感相關AKI，成功的治療可以包括腎功能增加。腎功能可以藉由測量血清肌酐水平、血清肌酐清除率、或血液尿素氮水平來進行評估。在一些情況下，成功的治療包括在代謝性酸中毒、高血鉀、少尿或無尿、氮質血症方面的下降、體液平衡的恢復、以及對其他器官系統的改進的作用。可以預防性地進行治療，即在AKI發作之前進行。預防性治療可預防AKI，並且可以投與給已感染或疑似感染流感但沒有AKI嚴重症狀的患者。例如，預防性治療可以投與給具有以下一或多種的患者：血清或尿肌酐增加、血尿、低蛋白血症、抗凝血酶III水平降低、低白蛋白血症（hypalbuminaemia）、白血球尿（leucozyturia）或沒有其他AKI症狀的蛋白尿。

【0165】對於流感相關血栓形成，成功的治療可以包括改善受試者的凝血狀況，或預防、減緩、延遲或阻止受試者具有風險的凝血狀況惡化。凝血概況可以藉由測量一或多個凝血參數來評估，包括例如受試者的血清中D-二聚體、因子II、因子V（例如，萊頓第五因子）、因子VII、因子VIII、因子IX、因子XI、因子XII、因子XIII、F/纖維蛋白降解產物、凝血酶-抗凝血酶111複合物、纖維蛋白原、血纖維蛋白溶解酶原、凝血酶原和血管性假血友病因子中的一或多種的水平。

第 55 頁，共 106 頁(發明說明書)

可以針對凝血概況測量的其他凝血參數包括例如凝血酶原時間、促凝血酶原激酶時間、活化部分凝血活酶時間（aPTT）、抗凝血酶活性、血小板計數、蛋白C水平和蛋白S水平。另外，在治療之前也可以評估患者的C反應蛋白水平，並且如果升高，這可以用作患者血栓形成風險增加的進一步指標。

【0166】 對於流感相關敗血症或感染性休克，成功的治療可以包括減少發燒、減少高心跳或中高心跳（例如，心跳過速）、減少出汗（即，發汗）、減少精神錯亂和/或減少疲勞和/或減少呼吸短促、更少的勞累或更少的呼吸急促。可以預防性地進行治療，即在敗血症或感染性休克發作之前進行。預防性治療可預防敗血症或感染性休克，並且可以投與給已感染或疑似感染流感但沒有敗血症或感染性休克嚴重症狀的患者。例如，可以對咳嗽但沒有其他敗血症或感染性休克症狀的患者投與預防性治療。

【0167】 此外，所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物可以用於治療鎌狀細胞病，特別是減少在該疾病中表現出的免疫響應。在一些實施方式中，該受試者可能表現出以下癌症中的一或多種：貧血、鎌狀細胞危象、血管閉塞危象、脾隔斷危象、脾隔斷危象、急性胸部綜合症、急性胸部綜合症、再生障礙危象、溶血危象、指炎、肺炎、呼吸道感染、骨髓栓塞或肺不張。

【0168】 鎌狀細胞病（SCD）係一組典型地遺傳性血液障礙。最常見的類型被稱為鎌狀細胞性貧血，它導致紅血球中發現的攜氧蛋白血紅素異常。在某些情況下，這會導致剛性鎌刀狀的形狀。鎌狀細胞病的問題典型地在5至6個月大時開始，並且可能會出現許多健康問題，諸如疼痛發作（被稱為鎌狀細胞危象）、貧血、手腳腫脹、細菌感染和中風。隨著年齡的增長，可能會出現長期疼痛。

【0169】 當一個人繼承了產生血紅素的β珠蛋白基因（HBB）的兩個異常拷貝（父母雙方各一個）時，會發生鎌狀細胞病。此基因出現在11號染色體中。存

在若干種亞型，這取決於每個血紅素基因的確切突變。溫度變化、壓力、脫水和
高海拔可能會導致發作。

【0170】 鎌狀細胞病患者的護理可以包括通過疫苗接種和抗生素預防感染、大量液體攝入、補充葉酸和止痛藥。其他措施可以包括輸血和藥物羥基脲（羥基脲（hydroxyurea））。一小部分人可以藉由骨髓細胞移植來治癒。鎌狀細胞病患者可能表現出以下症狀：

【0171】 鎌狀細胞危象：術語「鎌狀細胞危象（sickle cell crisis）」或「鎌狀細胞危象（sickling crisis）」可以用於描述SCD受試者中發生的若干種獨立的急性病症，其導致貧血和危象，該等危象可能有多種類型，包括血管閉塞危象、再生障礙危象、脾隔斷危象、溶血危象等。大多數鎌狀細胞危象發作持續五到七天。雖然感染、脫水和酸中毒（所有該等都有利於鎌變）可能充當觸發因素，但在大多數情況下，沒有鑒定到誘發原因。

【0172】 血管閉塞危象：血管閉塞危象係由鐮刀形紅血球引起的，其阻塞毛細血管並限制血液流向器官，從而導致缺血、疼痛、壞死並且經常導致器官損傷。該等危象的頻率、嚴重程度和持續時間差異很大。疼痛性危象通過水合作用、鎮痛劑和輸血進行治療；疼痛管理需要定期投與類鴉片藥物，直至危象得以解決。對於較輕的危象，受試者亞組使用非類固醇抗炎藥，諸如雙氯芬酸或萘普生進行管理。對於更嚴重的危象，大多數受試者需要靜脈內類鴉片藥物進行受試者內管理；在這種情況下，通常使用受試者控制的鎮痛裝置。涉及諸如陰莖或肺等器官的血管閉塞危象被認為是緊急情況，並且通過紅血球輸注進行治療。推薦使用誘發性肺量計法，這係一種鼓勵深呼吸以儘量減少肺不張發展的技術。

【0173】 脾隔斷危象：鎌狀細胞病經常影響脾臟，因為鐮刀形紅血球導致血管變窄並降低清除缺陷細胞的功能。鎌狀細胞性貧血患者通常在兒童期末期

之前發生梗死。這種脾臟損傷增加了被莢膜微生物感染的風險；對於缺乏正常脾臟功能的那些患者，建議使用預防性抗生素和疫苗接種。

【0174】 脾隔斷危像係急性疼痛性脾臟腫大，由脾內紅血球捕獲引起，並且導致血紅素水平急劇下降，並可能導致低血容量性休克。隔斷危象被認為是緊急情況。如果不進行治療，受試者可能會因循環衰竭而在1–2個小時內死亡。管理係支持性管理，有時進行輸血。該等危像係暫時的；它們保持3–4個小時，並且可能持續一天。

【0175】 急性胸部綜合症：急性胸部綜合症由至少兩種以下體征或症狀定義：胸部疼痛、發熱、肺部浸潤或局灶性異常、呼吸道症狀或低氧血症。它係第二常見的併發症，並且占SCD受試者死亡人數的約25%。大多數病例表現為血管閉塞危象，並且然後發展急性胸部綜合症。然而，約80%的人在急性胸部綜合症期間具有血管閉塞危象。

【0176】 再生障礙危象：再生障礙危像係受試者的基線貧血急性惡化的例子，導致外觀蒼白、心率加快和疲勞。這種危象通常是由細小病毒B19觸發的，該病毒藉由入侵紅血球先質並在其中繁殖和破壞它們來直接影響紅血球的產生。細小病毒感染幾乎完全阻止紅血球產生，持續兩到三天。在正常個體中，這並不重要，但SCD受試者的紅血球壽命縮短導致突然的危及生命的情況。在疾病期間，網織紅血球計數急劇下降（導致網織紅血球減少症），並且紅血球的快速周轉導致血紅素下降。這場危象需要4至7天才能消失。大多數受試者可以得到支持性管理；一些需要輸血。

【0177】 溶血危象：溶血危像係血紅素水平急性加速下降。紅血球以更快的速度分解。這在共存G6PD缺乏症的人群中特別常見。鎌狀細胞病中溶血危象的另一個影響係對紅血球、白血球和血小板的氧化應激。當骨髓中沒有足夠的紅血球產生時，身體接收、處理和運輸的氧與身體的抗氧化劑不平衡。細胞中的氧

活性不平衡，這導致更多地產生未適當氧合或形成的紅血球。由於組織中的氧不平衡，氧化應激可能導致貧血。管理係支持性管理，有時進行輸血。

【0178】另外，最早的臨床表現之一係指炎，最早在六個月大時出現，並且可能發生在具有鎌狀細胞性狀的兒童中。該危象可能持續長達一個月。鑒於肺炎和肺中的鎌變兩者均可能產生急性胸部綜合症的症狀，針對兩種病症對受試者進行治療。它可能由疼痛性危象、呼吸道感染、骨髓栓塞觸發，或可能由肺不張、鎮靜劑投與或手術觸發。也可能發生造血性潰瘍。

【0179】另外，所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物可以用於治療肺損傷。肺損傷可為化學或輻射誘導性肺損傷。

【0180】在一些實施方式中，受試者可能吸入或可能預期暴露於肺部刺激物。在一些實施方式中，受試者可能吸入或可能預期吸入窒息劑。肺部試劑或窒息劑係一種旨在阻礙受試者的呼吸能力的化學試劑。該等化合物通常藉由引起肺中液體積聚，然後導致窒息來起作用。吸入該等試劑會導致喉嚨灼熱、咳嗽、嘔吐、頭痛、胸痛、胸悶以及呼吸和循環衰竭。此類試劑之實例包括：氯氣、氯化苦（PS）、雙光氣（DP）、光氣（CG）、五氟化硫、全氟異丁烯、丙烯醛和二苯肼基氰（piphenylcyanoarsine）。光氣誘導的急性肺損傷（P-ALI）通常與短期光氣吸入相關聯。長期暴露可能導致慢性通氣不足、難治性肺水腫和其他相關肺損傷，最終導致ARDS。化學性肺炎係由於吸入化學煙霧或吸入某些化學物質並窒息而引起的肺部炎症或呼吸困難。

【0181】另外，所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物可以用於治療或預防急性吸入損傷（AII）和電子煙或水煙產品使用相關性肺損傷（EVALI）。

【0182】在其他實施方式中，受試者已經暴露於或預期暴露於電離輻射。在該等實施方式中，受試者可能已經或可能預期發展輻射誘導性肺損傷（RILI）。

在一些實施方式中，受試者可能患有放射性肺炎或放射性肺纖維化。在該等實施方式中，受試者可能已經接受或正在接受胸部放射治療，可能已經吸入放射性試劑或可能已經直接暴露於電離輻射。例如，受試者可能已經吸入放射性試劑，或者由於例如核武器或核電站洩漏而直接暴露於電離輻射。

【0183】 所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物可以用於治療或預防出血熱或其症狀，包括埃博拉病毒病、阿爾庫馬出血熱（Alkhurma hemorrhagic fever）、查帕雷出血熱（Chapare hemorrhagic fever）、克裡米亞-剛果出血熱（Crimean-Congo hemorrhagic fever）、漢坦病毒肺綜合症（HPS）、出血熱伴腎綜合症（HFRS）、卡薩努爾森林病（KFD）、拉沙熱（Lassa fever）、盧霍出血熱（Lujo hemorrhagic fever）、瑪律堡出血熱（Marburg hemorrhagic fever）、鄂木斯克出血熱（Omsk hemorrhagic fever）、裂谷熱（Rift Valley fever）、黃熱病或登革熱，諸如重症登革熱（登革出血熱）。

B. 配製和投與

【0184】 包含本揭露的一或多種活性化合物的藥物組成物可以藉由任何適合的方法，諸如混合、溶解、造粒、造糖衣片、研磨、乳化、封裝、包埋或凍乾過程來製造。可以使用一或多種生理學上可接受的賦形劑、稀釋劑、載劑、佐劑或助劑來配製該等組成物，以提供藥學上可以使用的製劑。

【0185】 一或多種活性化合物可以以藥物組成物本身，或以水合物、溶劑化物、N-氧化物或藥學上可接受的鹽的形式進行配製。典型地，此類鹽比相應的游離酸和鹼更易溶於水溶液，但是也可以形成比相應的游離酸和鹼具有更低的溶解度的鹽。

【0186】 包含所揭露的一或多種化合物的藥物組成物可以採取幾乎任何適於投與的模式，包括例如局部、眼部、口服、經頰、全身、鼻內、注射（諸如

靜脈內或腹膜內)、透皮、直腸、陰道等,或採取適合藉由吸入或吹入投與的形式。

【0187】對於局部投與來說,該一或多種活性化合物(或其水合物、溶劑化物、N-氧化物或藥學上可接受的鹽)可以配製為如本領域熟知的溶液、凝膠、軟膏、乳膏、懸浮液等。

【0188】系統性配製物包括為藉由注射(例如皮下、靜脈內、肌內、鞘內或腹膜內注射)投與而設計的那些,連同為透皮、穿黏膜、口服或肺部投與而設計的那些。

【0189】有用的可注射的製劑包括水性或油性媒劑中的一或多種活性化合物的無菌懸浮液、溶液或乳液。該等組成物還可以包含配製劑,諸如懸浮劑、穩定劑和/或分散劑。用於注射的該等配製物能以單位劑型存在,例如,在安瓿瓶或在多劑量容器中,並且可以包含添加的防腐劑。

【0190】可替代地,在使用之前,可注射的配製物能以用於與適合的媒劑複水的粉末形式提供,該媒劑包括但不限於無菌的、熱原自由水、緩衝劑、葡萄糖溶液等。為此,該一或多種活性化合物可以藉由任何本領域已知的技術(諸如凍乾)來乾燥,並且在使用之前進行複水。

【0191】對於穿黏膜投與,在配製物中使用適合有待滲透的障礙的滲透劑。此類滲透劑係本領域已知的。

【0192】對於口服投與,藥物組成物可以採取以下形式:例如藉由常規手段用藥學上可接受的賦形劑(諸如結合劑(例如預膠凝玉米澱粉、聚乙烯吡咯酮、或羥丙基甲基纖維素);填充劑(例如乳糖、微晶纖維素或磷酸氫鈣);潤滑劑(例如硬脂酸鎂、滑石或二氧化矽);崩散劑(例如馬鈴薯澱粉或澱粉羥基乙酸鈉);和/或潤濕劑(例如十二烷基硫酸鈉))製備的錠劑、片劑或膠囊。該等片劑可以藉由本領域中熟知的方法例如用糖、膜或腸溶包衣來包衣。

【0193】 用於口服投與的液體製劑可以採取以下形式：例如酏劑、溶液、糖漿或懸浮液，或它們可以作為一種在使用前用水或其他適合的媒劑進行化合的乾燥產品而存在。此類液體製劑可以藉由常規手段用藥學上可接受的賦形劑（諸如懸浮劑（例如山梨醇糖漿、纖維素衍生物或氫化食用脂肪）；乳化劑（例如卵磷脂或阿拉伯膠）；非水性媒劑（例如杏仁油、油酯類、乙醇、cremophore™或分餾植物油）；以及防腐劑（例如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯或山梨酸））來製備。該等製劑還可以酌情包含緩衝鹽、防腐劑、調味劑、著色劑以及甜味劑。

【0194】 如所熟知的，用於口服投與的製劑可以進行適合地配製以給出該活性化合物的受控釋放。

【0195】 對於口腔含化投與，該等組成物可以採取以常規手段配製的片劑或錠劑的形式。

【0196】 對於直腸和陰道投與途徑來說，該一或多種活性化合物可以配製為包含常規栓劑基質（諸如可可脂或其他甘油酯）的溶液（用於滯留型灌腸劑）栓劑或軟膏。

【0197】 對於鼻內投與或藉由吸入或吹入投與，該一或多種活性化合物、水合物、溶劑化物、N-氧化物或藥學上可接受的鹽可以使用適合的推進劑從加壓包裝或噴霧器中以噴霧劑的形式便利地被遞送，該推進劑係例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、碳氟化合物、二氧化碳或其他適合的氣體。在增壓式氣溶膠的情況下，劑量單位可以藉由提供閥以遞送計量的量來確定。可以配製用於在一個吸入器或吹入器中使用的膠囊或藥筒（例如包括明膠的膠囊和藥筒），該等膠囊或藥筒包含該化合物和一種適合的粉末基質（諸如乳糖或澱粉）的粉末混合物。

【0198】藥物組成物可以呈無菌的可注射水性或油性懸浮液的形式。該懸浮液可以根據已知技術使用上面已經提到的那些適合的分散劑或濕潤劑以及懸浮劑來配製。無菌可注射製劑也可為在非毒性的、腸胃外可接受的稀釋劑或溶劑中的無菌可注射溶液或懸浮液。可接受的媒劑和溶劑中可以使用的係水、林格氏液和等滲氯化鈉溶液。

【0199】根據本揭露，所揭露的一或多種化合物、其溶劑化物、N-氧化物、藥學上可接受的鹽或一或多種前驅藥的形式也可以藉由多種吸入裝置中的任何一種和本領域已知的方法來遞送，包括例如：美國專利案號6,241,969；美國專利案號6,060,069；美國專利案號6,238,647；美國專利案號6,335,316；美國專利案號5,364,838；美國專利案號5,672,581；WO 96/32149；WO 95/24183；美國專利案號5,654,007；美國專利案號5,404,871；美國專利案號5,672,581；美國專利案號5,743,250；美國專利案號5,419,315；美國專利案號5,558,085；WO 98/33480；美國專利案號5,364,833；美國專利案號5,320,094；美國專利案號5,780,014；美國專利案號5,658,878；5,518,998；5,506,203；美國專利案號5,661,130；美國專利案號5,655,523；美國專利案號5,645,051；美國專利案號5,622,166；美國專利案號5,577,497；美國專利案號5,492,112；美國專利案號5,327,883；美國專利案號5,277,195；美國公開案號20010041190；美國公開案號20020006901；和美國公開案號20020034477。

【0200】可以用於投與一或多種活性化合物的形式的裝置包括本領域熟知的裝置，諸如計量吸入器、液體霧化器、乾粉吸入器、噴霧器、熱蒸發器等。其他用於投與具體的2,4-嘧啶二胺化合物的適合的技術包括電流體霧化器。

【0201】此外，吸入裝置較佳的是從易於使用、體積小到便於攜帶、能夠提供多個劑量、耐用的意義上說的實用型。市售吸入裝置的一些具體實例係Turbohaler（Astra, 威明頓市, 德拉瓦州（Astra, Wilmington, DE））、Rotahaler

(Glaxo [葛蘭素公司], Research Triangle Park [三角研究園], 北卡羅來納州)、Diskus (Glaxo [葛蘭素公司], Research Triangle Park [三角研究園], 北卡羅來納州)、Ultravent霧化器 (Mallinckrodt [馬林克羅製藥公司])、Acorn II霧化器 (Marquest Medical Products [瑪奎斯特醫療產品公司], 托托瓦市, 新澤西州 (Totowa, NJ))、Ventolin計量吸入器 (Glaxo [葛蘭素公司], Research Triangle Park [三角研究園], 北卡羅來納州) 等。在一個實施方式中, 所揭露的一或多種化合物、其溶劑化物、N-氧化物、藥學上可接受的鹽或一或多種前驅藥可以藉由乾粉吸入器或噴霧器遞送。

【0202】 如熟悉該項技術者將認識到的, 所揭露的一或多種化合物、其溶劑化物、N-氧化物、藥學上可接受的鹽或一或多種前驅藥的形式的配製物、遞送的配製物的量以及單劑量的投與持續時間取決於所使用的吸入裝置的類型以及其他因素。對於一些氣霧膠遞送系統, 諸如霧化器, 投與頻率和系統被激活的時間長度將主要取決於所揭露的一或多種化合物在氣霧膠中的濃度。例如, 可以在霧化器溶液中更高濃度的所揭露的一或多種化合物時使用更短的投與時間。在一些實施方式中, 諸如計量吸入器之類的裝置可以產生更高的氣溶膠濃度, 並且可以操作更短的時間來遞送所需量的活性化合物。諸如乾粉吸入器之類的裝置遞送活性劑, 直到從裝置中排出給負載的藥劑。在這種類型的吸入器中, 所揭露的一或多種化合物、其溶劑化物、N-氧化物、藥學上可接受的鹽或一或多種前驅藥在給定量的粉末中的量決定了在單次投與中遞送的劑量。選擇所揭露的一或多種化合物的配製物以在所選吸入裝置中產生所需粒度。

【0203】 用於從乾粉吸入器投與的所揭露的化合物的配製物通常可以包括含有所揭露的一或多種化合物的細碎乾粉, 但該粉末還可以包括膨脹劑、緩衝劑、載劑、賦形劑、另一種添加劑等。添加劑可以包含在乾粉配製物中, 例如, 以根據需要稀釋粉末以從特定粉末吸入器遞送, 以促進配製物的加工, 為配製物

提供有利的粉末性質，以促進粉末從吸入裝置分散，以穩定配製物（例如抗氧化劑或緩衝劑），為配製物提供味道等。典型的添加劑包括單糖、二糖和多糖；糖醇和其他多元醇，例如像乳糖、葡萄糖、棉子糖、松三糖、乳糖醇、麥芽糖醇、海藻糖、蔗糖、甘露醇、澱粉或其組合；界面活性劑，諸如山梨糖醇、二磷脂醯膽鹼或卵磷脂；等。

【0204】 所揭露的方法可以藥物組成物進行，該藥物組成物包含適合藉由吸入投與的所揭露的一或多種化合物。例如，乾粉配製物可以使用常規技術以多種方式製備，諸如在上述任何出版物中描述的並且藉由引用明確地併入本文的常規技術，以及例如Baker等人的美國專利案號5,700,904，其揭露內容藉由引用明確併入本文。可以藉由微粉化、研磨等製備適合於在下呼吸道中最大沈積的尺寸範圍內的顆粒。並且液體配製物可以藉由將化合物溶解在適合的溶劑（諸如水，在適合的pH下，包括緩衝劑或其他賦形劑）中來製備。

【0205】 適合於使用商業上可獲得的鼻內噴霧裝置的鼻內投與的水性懸浮液配製物的具體實例包括以下成分：活性化合物（0.5 20 mg/ml）；殺藻胺（0.1 0.2 mg/mL）；聚山梨醇酯80（TWEEN® 80；0.5 5 mg/ml）；羧甲基纖維素鈉或微晶纖維素（1 15 mg/ml）；苯乙醇（1 4 mg/ml）；和葡萄糖（20 50 mg/ml）。最終懸浮液的pH可以調節至從約pH 5至pH 7的範圍，典型的pH係約5.5的pH。

【0206】 適合於經由吸入投與化合物的水性懸浮液的另一具體實例含有20 mg/mL的所揭露的一或多種化合物、1%（v/v）聚山梨醇酯80（TWEEN® 80）、50 mM檸檬酸和/或0.9%氯化鈉。

【0207】 對於眼部投與，該一或多種活性化合物可以配製成適合於向眼睛投與的溶液、乳液、懸浮液等。適合於向眼睛投與化合物的各種媒劑係本領域已知的。具體的非限制性實例在描述於以下中：美國專利案號6,261,547；6,197,934；

6,056,950；5,800,807；5,776,445；5,698,219；5,521,222；5,403,841；5,077,033；4,882,150；和4,738,851，其藉由引用併入本文。

【0208】對於延長遞送，該一或多種活性化合物可以配製成用於藉由植入或肌肉注射投與的貯庫製劑。該活性成分可以與適合的聚合物或疏水性材料（例如，作為在可接受的油中的乳液）或離子交換樹脂一起配製，或被配製成微溶的衍生物，例如被配製成微溶的鹽。可替代地，可以使用製造為緩慢釋放一或多種活性化合物用於經皮吸收的黏著盤或貼片的透皮遞送系統。為此，滲透促進劑可以用於促進一或多種活性化合物的透皮滲透。適合的透皮貼劑描述於例如美國專利案號5,407,713；5,352,456；5,332,213；5,336,168；5,290,561；5,254,346；5,164,189；5,163,899；5,088,977；5,087,240；5,008,110；和4,921,475，其藉由引用併入本文。

【0209】可替代地，可以採用其他藥物遞送系統。脂質體和乳液係可以用於遞送一或多種活性化合物的遞送媒劑的熟知的實例。還可以採用某些有機溶劑（諸如二甲亞砜（DMSO）），儘管通常是以更大的毒性為代價。

【0210】如果需要，藥物組成物可以呈現於包裝或分配器裝置中，該包裝或分配器裝置可以包括含有一或多種活性化合物的一或多個單位劑型。包裝可以例如包括金屬或塑膠箔，諸如泡罩包裝。包裝或分配器裝置可以附有投與說明書。

C. 劑量

【0211】所揭露的化合物或所揭露的化合物的組合將通常以有效實現預期的結果的量來使用，例如以有效治療或改善具體病症的量。所揭露的一或多種化合物或其藥物組成物，可以在治療上進行投與以實現治療益處，或在預防上進行投與以實現預防益處。治療益處意指正在治療的潛在障礙的根除或改善和/或與該潛在障礙相關的一或多種症狀的根除或改善，這樣使得儘管該患者可能仍

被這種潛在障礙所折磨，但是該患者在感覺或病症上報告改善。例如，向患有過敏症的患者投與化合物，不但當這種潛在的變應性反應被根除或改善時，而且當該患者在暴露於過敏原後與過敏症相關的症狀的嚴重程度或持續時間上報告減少時提供治療益處。作為另一個實例，在氣喘的上下文中的治療益處包括在氣喘發作開始後的呼吸改善或氣喘發作的頻率或嚴重程度的降低。無論是否實現了改善，治療益處還包括該疾病的進展的停止或放慢。

【0212】 如由熟悉該項技術者已知的，所揭露的化合物的較佳的劑量可以取決於各種因素，包括正被治療的患者或受試者的年齡、體重、總體健康、和病症的嚴重程度。當藉由吸入投與時，劑量也可能需要調整以適應個體的性別和/或個體的肺容量。也可以調整劑量以適應患有多於一種病症的個體或具有影響肺容量和正常呼吸能力的另外的病症（例如肺氣腫、支氣管炎、肺炎和呼吸道感染）的個體。所揭露的一或多種化合物或其組成物的劑量和投與頻率還將取決於所揭露的一或多種化合物是否配製用於治療病症的急性發作或用於障礙的預防性治療。本領域人員或普通技術者將能夠針對具體個體確定最佳劑量。

【0213】 對於預防性投與，可以將所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物投與至處於發展先前描述的病症之一的風險的患者或受試者。例如，如果不知道患者或受試者對具體的藥物是否過敏，可以在投與該藥物之前投與所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物以避免或改善對該藥物的過敏反應。可替代地，可以使用預防性投與以避免或改善被診斷為該潛在的障礙的患者的症狀的發作。例如，在過敏原的預期暴露之前，可以向過敏症受害者投與所揭露的一或多種化合物或其組成物。還可以將所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物向健康個體預防性地投與以預防該障礙的發作，該健康個體反復暴露於上述疾病之一已知的藥劑。例如，可以將所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物投與給反復暴露於已知引起過敏的過敏原（諸

如膠乳)的健康個體，以試圖防止個體發展過敏症。可替代地，可以在參加引發氣喘發作的活動之前向患有氣喘的患者投與所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物以減輕氣喘發作的嚴重程度或完全避免氣喘發作。

【0214】可以最初從體外測定中估計有效劑量。例如，可以配製用於受試者的初始劑量以實現如在體外測定中測量的等於或高於特定化合物的 IC_{50} 或 EC_{50} 的活性化合物的循環血液或血清濃度。考慮特定化合物的生體可用率，可以計算劑量以實現此類循環血液或血清濃度。Fingl和Woodbury,「General Principles [一般原則],」在: Goodman和Gilman的The Pharmaceutical Basis of Therapeutics [藥物治療基礎], 第1章, 第1-46頁, Pergamon Press [培格曼出版社], 以及其中引用的參考文獻, 提供了關於有效劑量的另外的指導。

【0215】在一些實施方式中，所揭露的化合物具有從大於0至20 μM (諸如從大於0至10 μM 、從大於0至5 μM 、從大於0至1 μM 、從大於0至0.5 μM 、從大於0至0.1 μM 、或從大於0至0.05 μM) 的關於激酶蛋白 (諸如IRAK蛋白) 的 EC_{50} 。

【0216】也可以從體內數據 (諸如動物模型) 估計初始劑量。用於測試化合物治療或預防上述各種疾病的療效的動物模型係本領域中熟知的。適合的超敏反應或過敏反應的動物模型描述在: Foster, (1995) Allergy [過敏] 50(增刊21): 6-9, 討論34-38; 以及Tumas等人, (2001), J. Allergy Clin. Immunol. [過敏臨床免疫學雜誌] 107(6):1025-1033中。過敏性鼻炎的適合動物模型描述於Szelenyi等人, (2000), Arzneimittelforschung 50(11):1037-42; Kawaguchi等人, (1994), Clin. Exp. Allergy [臨床與實驗變態反應] 24(3):238-244 以及 Sugimoto 等人, (2000), Immunopharmacology [免疫藥理學] 48(1):1-7中。熟悉該項技術者可以調整這樣的資訊以確定適合於人類投與的劑量。

【0217】 所揭露的化合物的劑量將典型地在從大於0 mg/kg/天（諸如0.0001 mg/kg/天或0.001 mg/kg/天或0.01 mg/kg/天）高達至少約100 mg/kg/天的範圍內。更典型地，該劑量（或有效量）可以在至少每天一次投與的從約0.0025 mg/kg至約1 mg/kg的範圍內，諸如從0.01 mg/kg至約0.5 mg/kg、或從約0.05 mg/kg至約0.15 mg/kg。總日劑量典型地在每天從約0.1 mg/kg至約5 mg/kg或至約20 mg/kg的範圍內，諸如每天從0.5 mg/kg至約10 mg/kg或從每天約0.7 mg/kg至約2.5 mg/kg/天。除了其他因素之外，劑量可以更高或更低，取決於所揭露的化合物的活性、其生體可用率、投與方式以及以上討論的各種因素。

【0218】 可以針對個體調整劑量和劑量間隔，以提供足以維持治療或預防作用的所揭露的化合物的血漿水平。例如，化合物可以每天一次、每天多次、每週一次、每週多次（例如每隔一天）、每月一次、每月多次或每年一次投與，除其他事物以外，這取決於投與方式、正被治療的具體適應症、以及處方醫師的判斷。無需過度的實驗，熟悉該項技術者能夠最優化有效的局部劑量。

【0219】 包含一或多種所揭露的化合物的組成物典型地包含從大於0至高達99%的所揭露的化合物、或多種化合物、和/或其他治療劑（按總重量百分比）。更典型地，包含一或多種所揭露的化合物的組成物包含從約1至約20總重量百分比的所揭露的化合物和其他治療劑，以及從約80至約99重量百分比的藥學上可接受的賦形劑。典型的每日投與可以在100–300 mg/天的範圍內，例如100、150、200、250或300 mg/天。投與可為每天一次或兩次或更多次，例如，100或150 mg BID。因此，包含本文揭露的化合物的藥物劑型可以含有50–300 mg的所揭露的化合物，例如50、100、150、200、250、300 mg的所揭露的化合物。

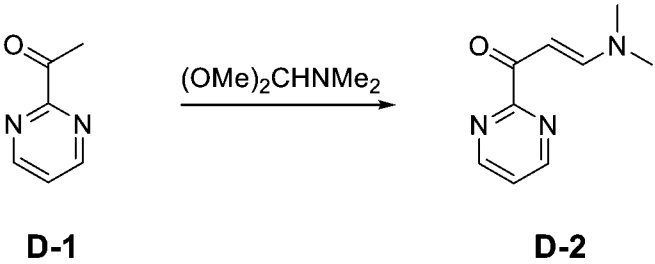
【0220】 較佳的是，所揭露的化合物、所揭露的化合物的組合或其組成物將提供治療或預防益處而不引起實質的毒性。所揭露的化合物的毒性可以使用

標準製藥程序進行確定。在毒性和治療（或預防）作用之間的劑量比率係治療指數。表現出高的治療指數的所揭露的化合物係較佳的。

VII. 實例

實例1

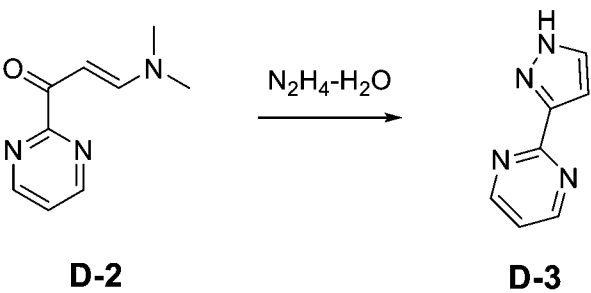
3-(二甲基胺基)-1-(嘧啶-2-基)丙-2-烯-1-酮 (D-2)



【0221】 將1-(嘧啶-2-基)乙烷-1-酮 (D-1, 5 g, 40.95 mmol) 的1,1-二甲氧基-*N,N*-二甲基甲胺 (11 mL, 81.9 mmol) 溶液在90°C下攪拌過夜。反應進行完全，如藉由LCMS監測。在真空中去除揮發物，並且粗產物無需進一步純化而用於下一反應：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 8.89 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 8.00 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 7.35 (dd, $J = 4.9, 4.9$ Hz, 1H), 6.39 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 3.20 (s, 3H), 3.00 (s, 3H); LRMS (M+H) m/z 178.2。

實例2

2-(1*H*-吡唑-3-基)嘧啶 (D-3)

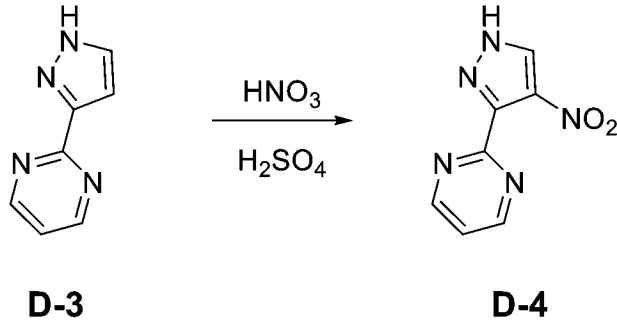


【0222】 將一水合肼溶液 (64-65%水溶液, 2.8 mL, 約0.9 eq) 添加到3-(二甲基胺基)-1-(嘧啶-2-基)丙-2-烯-1-酮 (D-2, 41 mmol) 的EtOH (15 mL) 溶液中，在冰浴中冷卻。在回流3小時之後，反應進行完全，如藉由LCMS監測。在真空中

去除揮發物，並且粗產物無需進一步純化而用於下一反應；¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 11.20 (br s, 1H), 8.79 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 7.71 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H); LRMS (M+H) *m/z* 147.1。

實例3

2-(4-硝基-1*H*-吡唑-3-基)嘧啶 (D-4)



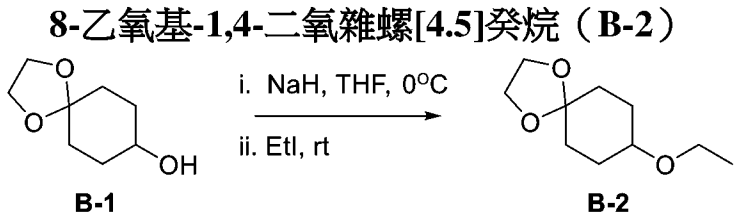
【0223】 將90%發煙硝酸（3.8 mL，81.9 mmol）逐滴添加到2-(1*H*-吡唑-3-基)嘧啶（**D-3**，約41 mmol）的濃H₂SO₄（10 mL）懸浮液中，在冰浴中冷卻。一旦完成硝酸的添加，就將混合物在70°C下攪拌過夜。反應進行完全，如藉由LCMS監測。在冷卻至室溫之後，將混合物小心地倒入冰水中。用NaOH水溶液將pH調節至8，並且將產物用EtOAc（100 mL × 5）萃取。將合併的有機層乾燥（Na₂SO₄），過濾，並且在真空中去除溶劑。在矽膠層析純化之後，獲得作為灰白色固體的化合物2-(4-硝基-1*H*-吡唑-3-基)嘧啶（**D-4**）：5.6 g（在3個步驟內71.5%產率）；¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 11.26 (br s, 1H), 8.90 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.28 (s, 1H), 7.40 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H); LRMS (M+H) *m/z* 192.1。

【0224】 替代程序：

向2-(1*H*-吡唑-3-基)嘧啶（**D-3**，32.6 g，223 mmol）的濃H₂SO₄（200 mL）懸浮液中逐滴添加發煙硝酸（100 mL），並且將反應混合物在室溫下攪拌過夜。將混合物小心地倒在冰上，並且添加27 N NaOH水溶液來將pH調節至6。藉由過

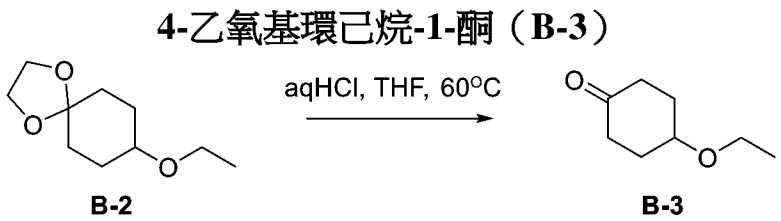
濾收集固體，用水洗滌，並在真空中乾燥。獲得作為灰白色固體的化合物2-(4-硝基-1*H*-吡唑-3-基)嘧啶：29.2 g（69%產率）。

實例4



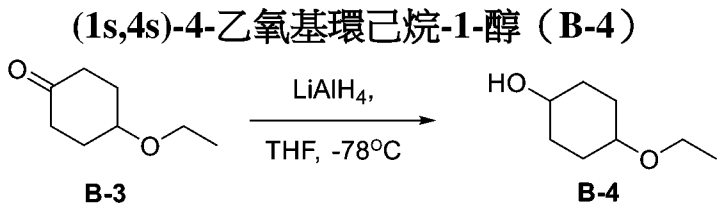
【0225】 將1,4-二氧雜螺[4.5]癸醇**B-1**（158 g，1.0 mol，1.0 eq）在四氫呋喃（500 mL）中之溶液在0°C下添加到己烷洗滌的氫化鈉（48 g在礦物油中的60%懸浮液，1.2 mol，1.2 eq）在四氫呋喃（500 mL）中之懸浮液中。將反應在0°C下攪拌15分鐘，並且在室溫下攪拌4小時，然後冷卻至0°C並添加碘乙烷（104.5 mL，1.3 mol，1.3 eq）。將反應在0°C下攪拌10分鐘，並且然後在室溫下攪拌14小時。藉由小心添加NH₄Cl（大約100 mL）將反應淬滅。將反應濃縮以去除四氫呋喃，並且在EtOAc（800 mL）與水（600 mL）之間進行濃縮物分配。將水相用EtOAc（300 mL）萃取。將合併的有機物用NaHCO₃（500 mL）和鹽水（500 mL）洗滌，乾燥（Na₂SO₄），並在減壓下濃縮，以產生作為橙色油狀物的標題化合物（177 g，95%）；¹H nmr（400 MHz, CD₃Cl）δ 3.90, 3.89（4H, 2d AB系統, J 2.5 Hz, OCH₂CH₂O）, 3.44（2H, q, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃）, 3.35（1H, tt, J 7.5, 3.0 Hz, H-8）, 1.82-1.74（4H, m, 4H of H-6, H-7, H-9, H-10）, 1.70-1.63（2H, m, 2H of H-6, H-7, H-9, H-10）, 1.54-1.47（2H, m, 2H of H-6, H-7, H-9, H-10）, 1.15（3H, t, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃）。

實例5



【0226】 將鹽酸（450 mL的3 M溶液）添加到二噁吡喃**B-2**（177 g，952 mmol）在四氫呋喃（450 mL）中之溶液中。將反應在60°C下劇烈攪拌20小時。NMR分析顯示完成75%。再添加鹽酸（100 mL的4 M溶液），並且將反應在60°C下再攪拌24小時，然後冷卻並濃縮以去除四氫呋喃。將有機物用EtOAc（3 x 400 mL）萃取。將合併的有機物用鹽水（400 mL）洗滌，乾燥（Na₂SO₄），並在減壓下濃縮，以產生作為橙色油狀物的標題化合物（142.2 g，理論產量135.1 g）；¹H nmr (400 MHz, CD₃Cl) δ 3.71 (1H, m, 環己烷H-4), 3.55 (2H, q, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃), 2.58 (2H, ddd, J 15.5, 10.5, 6.0 Hz, 2H of 環己烷H-2, H-6), 2.25 (2H, m, 2H of 環己烷H-2, H-6), 2.10-2.02 (2H, m, 2H of 環己烷H-3, H-5), 1.98-1.90 (2H, m, 2H of 環己烷H-3, H-5), 1.24 (3H, t, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃)。

實例6

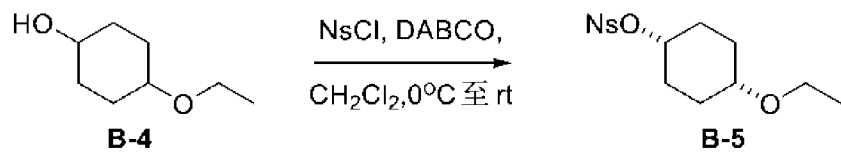


【0227】 將酮**B-3**（146.2 g，1.0 eq）在四氫呋喃（300 mL）中之溶液冷卻至-78°C。在90分鐘內逐滴滴加氫化鋁鋰（400 mL的在四氫呋喃中的1 M溶液，400 mmol，0.4 eq）。將反應在-78°C下再攪拌30分鐘，並且藉由初始地在-78°C下逐滴添加NaOH（1 M，300 mL）將反應淬滅，然後從冷浴中取出。產生凝膠。將反應用EtOAc（400 mL）稀釋並攪拌，然後傾析以去除凝膠。將傾析的有機物用羅謝爾鹽（400 mL）洗滌，將水相用EtOAc（200 mL）反萃取。將合併的有機物用羅謝爾鹽（300 mL）和鹽水（400 mL）洗滌，乾燥（Na₂SO₄），並在減壓下濃縮，以獲得作為橙色油狀物的標題化合物（131.1 g）而無需進一步純化；¹H nmr (400 MHz, CD₃Cl) δ 3.74 (1H主要產物, m, 環己烷H-1), 3.68 (1H次要產物, m, 環己烷H-1), 3.48 (2H次要產物, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃), 3.47 (2H主要產物, J 7.0 Hz,

OCH₂CH₃), 3.37 (1H主要產物, tt, J 6.5, 3.0 Hz, H-4), 3.25 (1H次要產物, m, H-4), 1.99 (1H, m, 1H of H-2, H-3, H-5, H-6), 1.81 (2H, m, 2H of H-2, H-3, H-5, H-6), 1.73-1.51 (5H, m, 5H of H-2, H-3, H-5, H-6), 1.19 (3H主要產物, t, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃), 1.19 (3H次要產物, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃)。

實例7

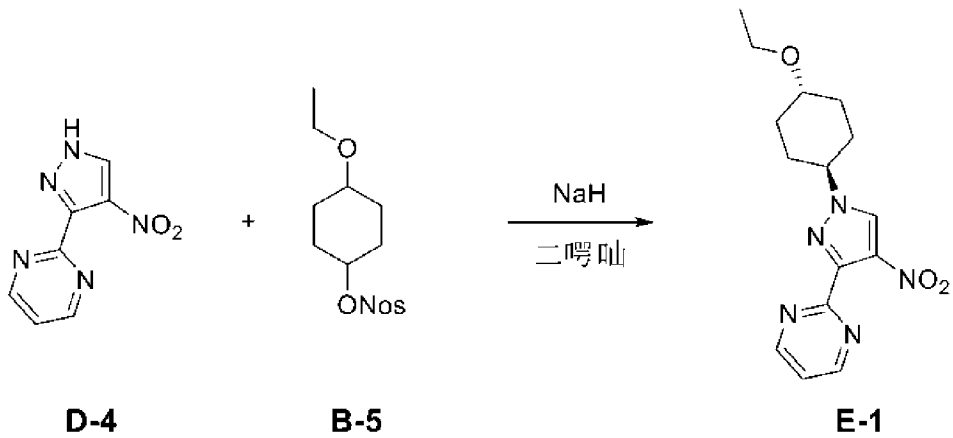
(1r,4r)-4-乙氧基環己基4-硝基苯磺酸酯 (B-5)



【0228】 在0°C下向4-乙氧基環己烷-1-醇**B-4**（112.9 g，作為大約2：1比率的1s,4s和1r,4s非鏡像異構物，782.9 mmol，1.0 eq）在二氯甲烷（800 mL）中之溶液中添加1,4-二氮雜二環[2.2.2]辛烷（105.4 g，939.5 mmol，1.2 eq）。在1小時內在0°C下分批添加4-硝基苯磺醯氯（190.8 g，861.2 mmol，1.1 eq），並且使反應在16小時內升溫至室溫。將反應用CH₂Cl₂（400 mL）稀釋並用NaHCO₃（1 L）、水（1 L）和鹽水（1 L）洗滌。將有機物乾燥（Na₂SO₄），並在減壓下濃縮。將所得的固體從乙酸乙酯和己烷研磨，以產生160.8 g作為灰白色固體的4-乙氧基環己基4-硝基苯磺酸酯（作為1r,4r和1s,4s的混合物）；¹H nmr (400 MHz, CD₃Cl) δ 8.39 (2H, d, J 9.0 Hz, 2H of C₆H₄NO₂), 8.11 (2H, d, J 9.0 Hz, 2H of C₆H₄NO₂), 4.75 (1H主要產物, tt, J 7.5, 3.5 Hz, H-1), 4.70 (1H次要產物, m, H-1), 3.45 (2H次要產物, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃), 3.44 (2H主要產物, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃), 3.34 (1H, tt, J 6.5, 3.0 Hz, H-4), 1.99-1.88 (3H, m, 3H of H-2, H-3, H-5, H-6), 1.80-1.71 (1H, m, 1H of H-2, H-3, H-5, H-6), 1.67-1.56 (3H, m, 3H of H-2, H-3, H-5, H-6), 1.48-1.40 (1H, m, 1H of H-2, H-3, H-5, H-6), 1.17 (3H主要產物, t, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃), 1.16 (3H次要產物, J 7.0 Hz, OCH₂CH₃)。

實例8

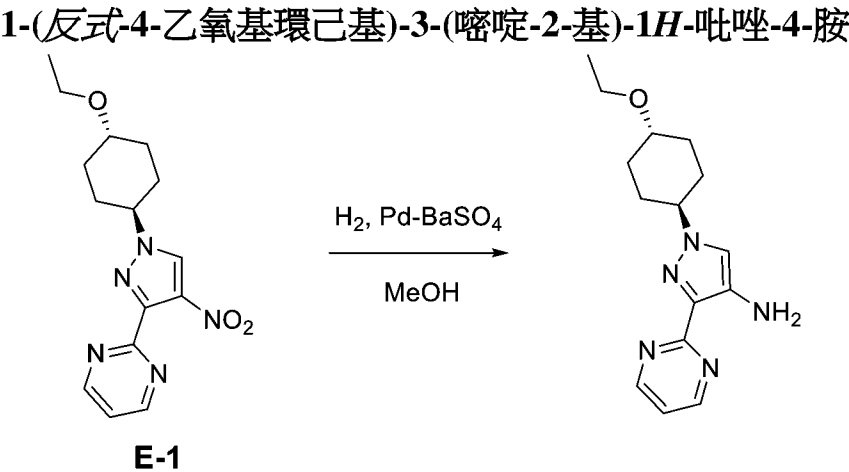
2-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-4-硝基-1*H*-吡唑-3-基)嘧啶 (E-1)



【0229】在氮氣氛下並在冰浴中冷卻的情況下，將NaH（60%在礦物油中的分散體，1.68 g，42 mmol）分批添加到2-(4-硝基-1*H*-吡唑-3-基)嘧啶（**D-4**，5.73 g，30 mmol）的1,4-二噁咁（150 mL，0.2 M）懸浮液中。在去除冰浴之後，將懸浮液在25°C下攪拌。在3小時之後，添加化合物4-乙氧基環己基4-硝基苯磺酸酯（**B-5**，11.86 g，36 mmol，*順式*/*反式*比率 ≥ 2 ），並且將反應混合物在100°C下在溫和回流下攪拌。在19小時之後，再添加約0.4 eq（5 g）的**B-5**，並且繼續反應。藉由LC-MS監測反應進度，並且在第4天停止反應。在冷卻至室溫之後，將反應用NaHCO₃飽和水溶液（100 mL）淬滅，並且藉由在減壓下旋轉蒸發來去除大部分二噁咁。將產物用EtOAc（150 mL）萃取，將其用鹽水進一步洗滌。將有機層乾燥（Na₂SO₄），過濾，並且藉由在減壓下旋轉蒸發來去除溶劑。將產物藉由矽膠層析法純化，接著從己烷–EtOAc研磨（8 mL–2 mL，35°C，過夜，然後在室溫下作為沈澱物收集）。獲得作為灰白色固體的化合物2-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-4-硝基-1*H*-吡唑-3-基)嘧啶（**E-1**）：1.98 g（21%產率）；¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 8.89 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 8.24 (s, 1H), 7.37 (dd, $J = 4.9, 4.9$ Hz, 1H), 4.27 (tt, $J = 11.8, 3.9$ Hz, 1H), 3.55 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H), 3.35 (tt, $J = 10.7, 4.2$ Hz, 1H), 2.35

– 2.29 (m, 2H), 2.26 – 2.20 (m, 2H), 1.94 – 1.83 (m, 2H), 1.50 – 1.40 (m, 2H), 1.22 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); LRMS (M+H) m/z 318.3。

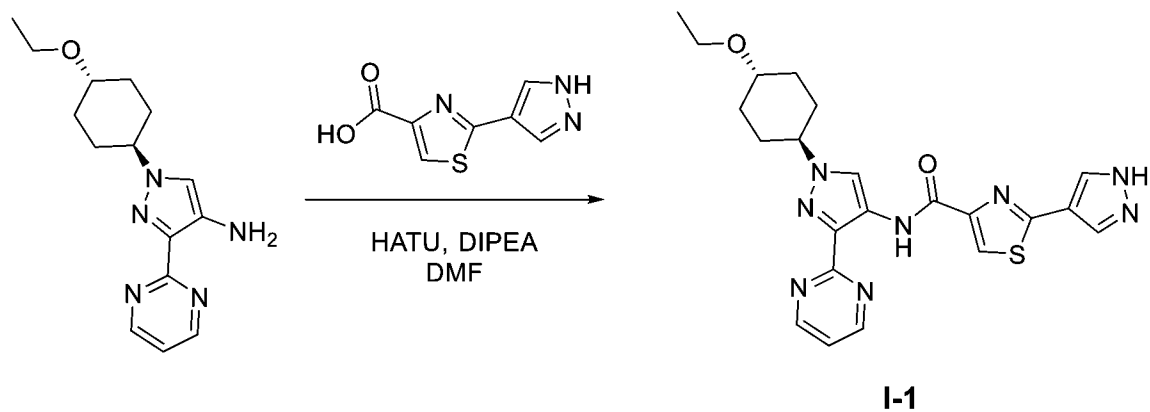
實例9



【0230】在Parr燒瓶中，在15 psi 氫氣下，將2-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-4-硝基-1*H*-吡唑-3-基)嘧啶（**E-1**，974.2 mg，3.07 mmol）和Pd-BaSO₄（在BaSO₄上的5% Pd，450 mg）的MeOH（30 mL）溶液在室溫下振盪4小時。反應進行完全，如藉由LC-MS監測。在氮氣氛下，將反應混合物通過矽藻土墊，將其用MeOH進一步洗滌。收集濾液並且在真空中去除溶劑。獲得作為淺黃色固體的化合物1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-胺（無需進一步純化而用於下一反應）；¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 8.75 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 7.09 – 7.06 (m, 2H), 4.56 (br s, 2H), 4.20 (tt, $J = 12.1, 3.7$ Hz, 1H), 3.54 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.33 (tt, $J = 10.7, 4.0$ Hz, 1H), 2.26 – 2.17 (m, 4H), 1.88 – 1.78 (m, 2H), 1.47 – 1.36 (m, 2H), 1.21 (t, $J = 7.0$, Hz, 3H); LRMS (M+H) m/z 288.3。

實例10

N-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-2-(1*H*-吡唑-4-基)噁唑-4-甲醯胺（**I-1**）



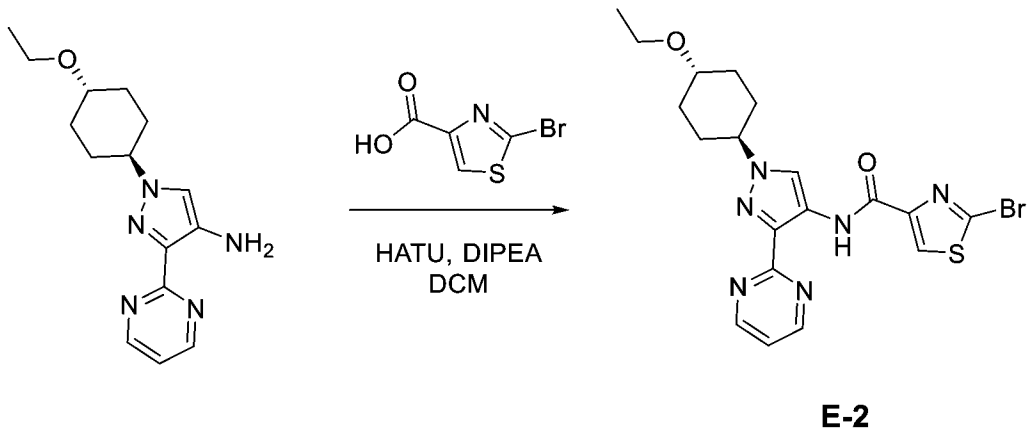
【0231】 將2-(1*H*-吡唑-4-基)噻唑-4-羧酸 (599.2 mg, 3.07 mmol) 添加到1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-胺 (3.07 mmol) 的DMF (12 mL) 溶液中，在冰浴中冷卻，接著在30分鐘之後添加HATU (1.28 g, 3.38 mmol) 。再過1小時之後，逐滴添加*N*-乙基-*N*-異丙基丙-2-胺 (DIPEA, 1.6 mL, 9.2 mmol) 。去除冰浴，並且將混合物在室溫下攪拌16小時。藉由逐滴添加NaHCO₃飽和水溶液 (300 mL) 將反應淬滅，並且在1小時之後，藉由過濾收集沈澱物，用H₂O洗滌，然後在真空中乾燥。獲得黃色固體 (約1.17 g) 並溶解在CH₂Cl₂-MeOH (10:1) 中。然後將溶液通過矽膠墊以去除更深顏色的雜質。獲得作為淺黃色固體的化合物*N*-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-2-(1*H*-吡唑-4-基)噻唑-4-甲醯胺 (**I-1**) : 1.10 g (77%產率) ; ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 12.04 (s, 1H), 11.10 (v br s, 1H), 8.90 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.49 (s, 1H), 8.16 (s, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.23 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 4.34 (tt, *J* = 12.0, 3.9 Hz, 1H), 3.56 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (tt, *J* = 10.8, 4.2 Hz, 1H), 2.33 – 2.29 (m, 2H), 2.25 – 2.20 (m, 2H), 2.00 – 1.89 (m, 2H), 1.51 – 1.41 (m, 2H), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, 氯仿-*d*) δ 161.47, 160.21, 158.35, 157.15, 150.29, 136.25, 132.67, 122.71, 121.86, 119.89, 118.68, 117.15, 76.33, 63.62, 61.83, 31.09, 31.01, 15.65; LRMS (M+H) *m/z* 465.4 。

【0232】 該化合物無需進一步純化即可用於製備酒石酸鹽/共晶體並用於前驅藥物合成。另外，如果需要的話，該化合物藉由矽膠層析法或RP-HPLC進一步純化。

實例11

I-1的替代合成

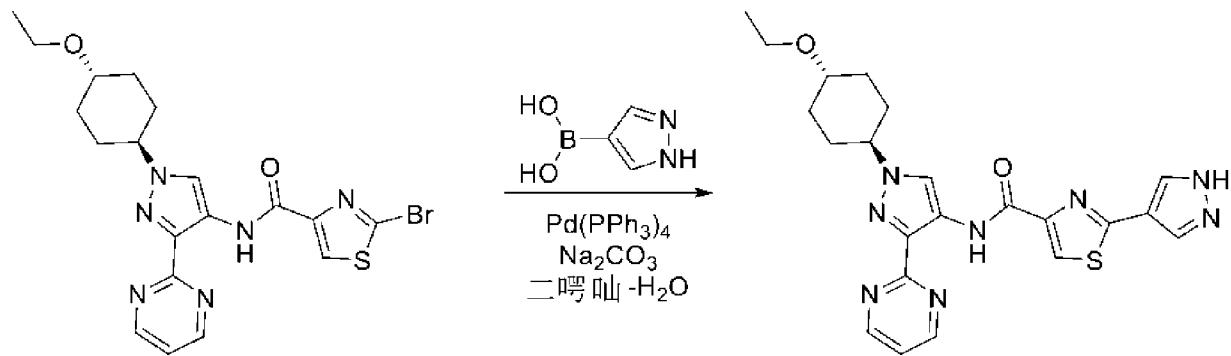
A. 2-溴-*N*-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)噻唑-4-甲醯胺 (E-2)



【0233】 將2-溴噻唑-4-羧酸 (298 mg, 1.43 mmol) 和HATU (572 mg, 1.50 mmol) 的CH₂Cl₂ (20 mL) 溶液在室溫下攪拌15分鐘。添加*N*-乙基-*N*-異丙基丙-2-胺 (0.623 mL, 3.58 mmol)，在冰浴中冷卻，接著添加1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-胺 (452 mg, 1.576 mmol) 的CH₂Cl₂ (5 mL) 溶液。將反應混合物在室溫下攪拌17小時，之後LC-MS指示反應完成。藉由添加NaHCO₃飽和水溶液將反應淬滅，並且繼續攪拌30分鐘。分離兩個層，並且將有機層再次用NaHCO₃飽和水溶液洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾，並且藉由在減壓下旋轉蒸發去除溶劑。在矽膠層析法之後，獲得作為白色固體的化合物2-溴-*N*-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)噻唑-4-甲醯胺 (**E-2**) : 581.1 mg (85%產率) ; ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 8.89 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.42 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.22 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 4.33 (tt, *J* = 12.0, 3.9 Hz, 1H), 3.56

(q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.36 (tt, $J = 10.8, 4.2$ Hz, 1H), 2.32 – 2.28 (m, 2H), 2.24 – 2.20 (m, 2H), 1.99 – 1.89 (m, 2H), 1.50 – 1.41 (m, 2H), 1.22 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); LRMS ($M+H$) m/z 477.3, 479.3。

B. *N*-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(噻啉-2-基)-1*H*-吡啶-4-基)-2-(1*H*-吡啶-4-基)噻啉-4-甲醯胺 (I-1)



E-2

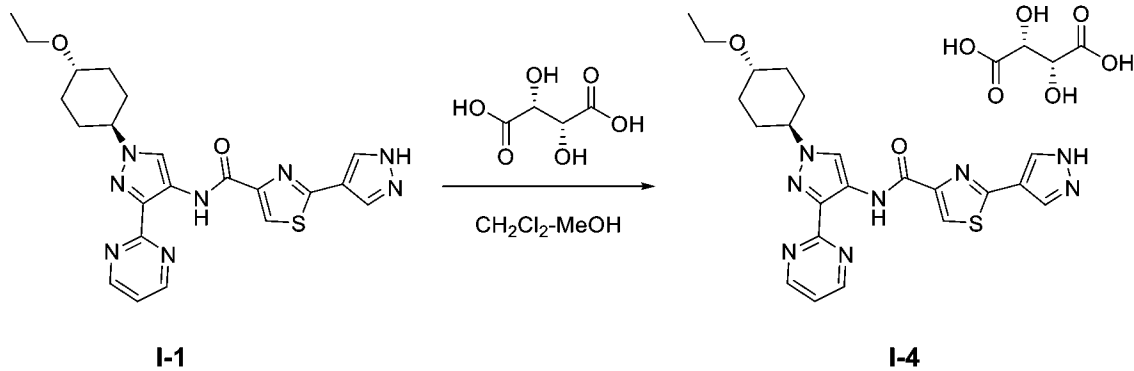
【0234】將2-溴-*N*-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(噻啉-2-基)-1*H*-吡啶-4-基)噻啉-4-甲醯胺 (**E-2**, 477.4 mg, 1 mmol)、(1*H*-吡啶-4-基)硼酸 (279.8 mg, 2.5 mmol)、 Na_2CO_3 (318 mg, 3 mmol) 和四(三苯基膦)鈀(0) (28 mg, 0.02 mmol) 的1,4-二噁啉- H_2O (4 mL–1 mL) 懸浮液脫氣，並且然後用氮氣反填充三次。將混合物在氮氣氛下在90°C下加熱21.5小時，之後LC-MS指示反應完成。藉由在減壓下旋轉蒸發去除大部分二噁啉，並且將粗產物與水和 NaHCO_3 飽和水溶液混合，直至出現自由流動的固體。藉由過濾收集固體，用 H_2O 洗滌，並且然後在一週內在35°C下在己烷–EtOAc–EtOH (1 mL–3 mL–0.5 mL) 中攪拌。藉由過濾收集固體產物，用冰冷的己烷–EtOAc (約1:1) 洗滌並在真空中乾燥。獲得作為淺米色固體的化合物*N*-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(噻啉-2-基)-1*H*-吡啶-4-基)-2-(1*H*-吡啶-4-基)噻啉-4-甲醯胺 (**I-1**) : 287.1 mg (62%產率) ; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 氯仿- d) δ 12.04 (s, 1H), 11.10 (v br s, 1H), 8.90 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 8.49 (s, 1H), 8.16 (s, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.23 (dd, $J = 4.9, 4.9$ Hz, 1H), 4.34 (tt, $J = 12.0, 3.9$ Hz, 1H), 3.56

(q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.37 (tt, $J = 10.8, 4.2$ Hz, 1H), 2.33 – 2.29 (m, 2H), 2.25 – 2.20 (m, 2H), 2.00 – 1.89 (m, 2H), 1.51 – 1.41 (m, 2H), 1.22 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); LRMS ($M+H$) m/z 465.4。

實例12

N-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(噻啉-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-2-(1*H*-吡唑-4-基)噻唑-4-甲醯胺(2*R*,3*R*)-2,3-二羥基琥珀酸

(**I-4** ; **I-1**的酒石酸鹽/共晶體)



【0235】 將*N*-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(噻啉-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-2-(1*H*-吡唑-4-基)噻唑-4-甲醯胺 (**I-1** , 1.10 g , 2.37 mmol) 和(L)-酒石酸 (177.9 mg , 1.19 mmol) 的CH₂Cl₂-MeOH (12 mL-1 mL) 溶液在35°C下攪拌18小時。再添加 12 mL的CH₂Cl₂ , 並且再繼續攪拌5小時。在冷卻至室溫之後, 藉由過濾收集沈澱物, 用冰冷的CH₂Cl₂洗滌, 並且在真空中乾燥。獲得作為淡黃色固體的產物: 702.7 mg ; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.41 (br s, 1H), 12.68 (br s, 2H), 11.93 (s, 1H), 8.98 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 8.52 (v br s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.13 (v br s, 1H), 7.49 (dd, $J = 4.9, 4.9$ Hz, 1H), 5.08 (br s, 2H), 4.39 – 4.31 (m, 3H), 3.50 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.41 – 3.31 (m, 與H₂O重疊, 1H), 2.13 – 2.06 (m, 4H), 1.96 – 1.86 (m, 2H), 1.41 – 1.32 (m, 2H), 1.12 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 173.14, 161.27, 160.61, 157.55, 157.31, 149.07, 135.61, 132.61, 123.08, 121.86,

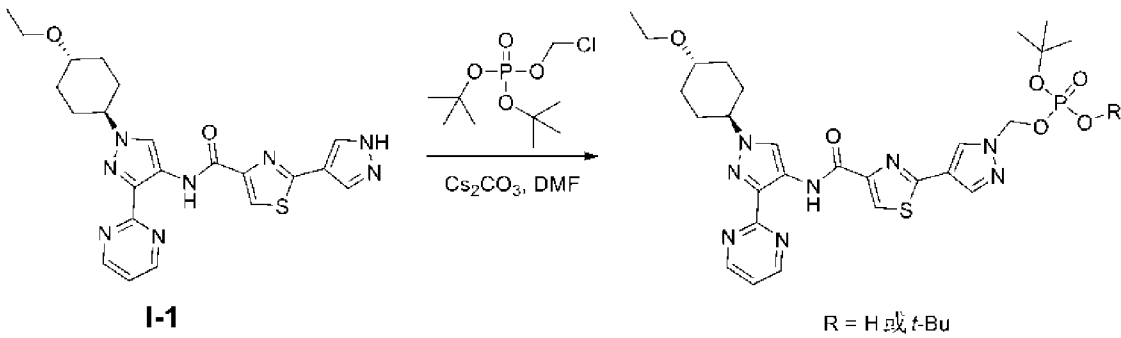
120.21, 119.46, 115.64, 75.64, 72.13, 62.58, 60.34, 30.60, 30.50, 15.67; LRMS (M+H) m/z 465.5。

【0236】 針對濾液：在去除溶劑之後，將材料溶解在CH₂Cl₂-MeOH(12 mL-1 mL) 中，並且添加另外的(L)-酒石酸 (177.9 mg，1.19 mmol)。經過類似的反應和後處理常式之後，獲得作為淺黃色固體的另一批產物：280.9 mg，與第1批具有相同的¹H NMR。

【0237】 合併總計：983.6 mg，68%產率。

實例13

二三級丁基((4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基)磷酸酯
三級丁基((4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基)氫磷酸酯



【0238】 將Cs₂CO₃ (495 mg，1.52 mmol) 在室溫下添加到*N*-(1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-2-(1*H*-吡唑-4-基)噻唑-4-甲醯胺 (**I-1**，470.6 mg，1.01 mmol) 的DMF (5 mL) 溶液中。在10分鐘之後，添加二三級丁基(氯甲基)磷酸酯 (524 mg，2.03 mmol)。在22小時之後，LC-MS上的主峰係所需的產物 (m/z 687.7 (M+H))，剩下 < 5%的化合物I-1。在冰浴中冷卻的情況下，藉由逐滴添加水 (60 mL) 將反應淬滅，並且在室溫下繼續攪拌。在3小時之後，將產物用CH₂Cl₂ (50 mL × 2) 萃取。將合併的有機層乾燥 (Na₂SO₄)，過濾，

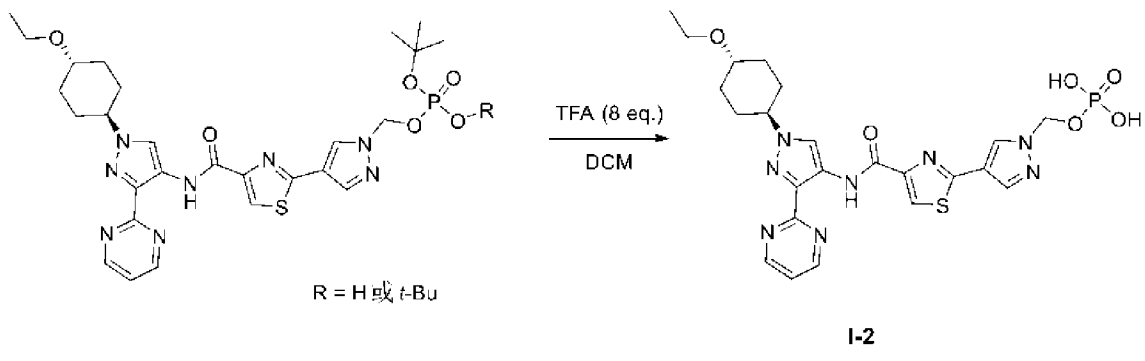
並且在真空中去除溶劑。獲得淺棕色油狀物，並且似乎主要是單-*t*Bu產物：635 mg；¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 11.97 (s, 1H), 8.88 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.01 – 8.00 (m, 3H), 7.97 (s, 1H), 7.25 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 5.96 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H), 4.32 (tt, *J* = 11.8, 3.9 Hz, 1H), 3.57 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (tt, *J* = 10.7, 4.2 Hz, 1H), 2.33 – 2.30 (m, 2H), 2.25 – 2.21 (m, 2H), 1.99 – 1.89 (m, 2H), 1.45 (s, 部分重疊, 9H), 1.51 – 1.36 (m, 部分重疊, 2H), 1.23 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ³¹P NMR (162 MHz, 氯仿-*d*) δ - 5.03; LRMS (M+H) *m/z* 631.6。

【0239】 用1 N HCl (水溶液) 將水層調節至pH 2，並且收集沈澱物，將其用H₂O進一步洗滌以得到55.3 mg的亮黃色固體，藉由LCMS顯示其主要是酸。

【0240】 通過具有類似後處理常式的不同反應，從有機層獲得二-*t*Bu產物：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 12.08 (s, 1H), 8.96 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.47 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.25 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 5.96 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H), 4.34 (tt, *J* = 11.6, 3.8 Hz, 1H), 3.56 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (tt, *J* = 10.4, 4.5 Hz, 1H), 2.33 – 2.30 (m, 2H), 2.24 – 2.20 (m, 2H), 2.00 – 1.89 (m, 4H), 1.50 – 1.41 (m, 部分重疊, 2H), 1.44 (s, 部分重疊, 18H), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); LRMS (M+H) *m/z* 687.7。

實例14

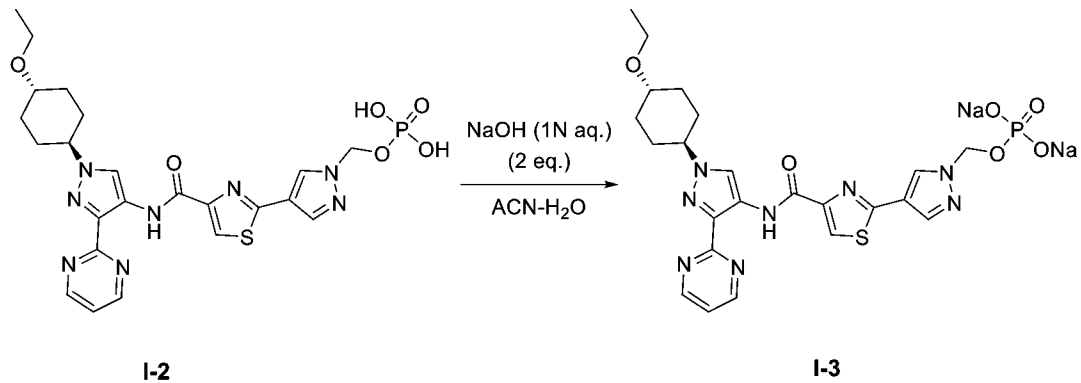
(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基二氫磷酸酯 (I-2)



【0241】 將三氟乙酸 (TFA) (0.613 mL, 8 mmol) 添加到三級丁基((4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基)氫磷酸酯 (635 mg, 1 mmol) 的CH₂Cl₂ (7 mL) 溶液中, 在冰浴中冷卻, 並且在室溫下繼續攪拌。在2小時之後, LC-MS指示反應完成。在真空中去除揮發物, 並且獲得淺棕色油狀物。將粗產物在35°C下懸浮在丙酮-H₂O (10:1, 12 mL) 中15小時。藉由過濾收集固體, 用丙酮洗滌, 並且在室溫下進一步懸浮在CH₂Cl₂ (5 mL) 中1小時。藉由過濾收集沈澱物, 用CH₂Cl₂洗滌, 並且在真空中乾燥。獲得作為淺黃色固體的化合物(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基二氫磷酸酯 (**I-2**) : 277.6 mg (52%產率) ; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.97 (s, 1H), 11.62 (v br s, 1H), 9.02 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.63 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.20 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 5.92 (d, *J* = 11.2 Hz, 2H), 4.35 (tt, *J* = 11.5, 3.7 Hz, 1H), 3.50 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.37 (tt, *J* = 10.7, 3.8 Hz, 1H), 2.13 – 2.07 (m, 4H), 1.96 – 1.85 (m, 2H), 1.41 – 1.31 (m, 2H), 1.12 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-*d*₆) δ -2.17; LRMS (M+H) *m/z* 575.5。

實例15

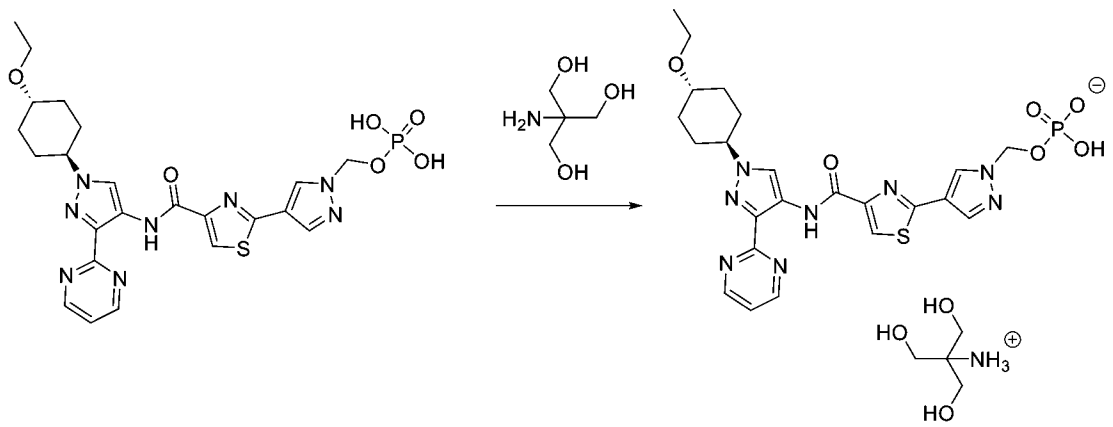
(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基磷酸鈉 (**I-3**)



【0242】 將1 N NaOH溶液（0.9 mL，0.9 mmol）逐滴添加到(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基二氫磷酸酯（**I-2**，258.5 mg，0.45 mmol）的CH₃CN（2 mL）和H₂O（2 mL）懸浮液中，在冰浴中冷卻，直至獲得pH = 8。在室溫下再繼續攪拌10分鐘，並且藉由凍乾去除溶劑。獲得作為奶油色固體的化合物(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基磷酸鈉（**I-3**）：278 mg（99%產率）；¹H NMR (400 MHz, 氧化氬) δ 8.63 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H), 8.23 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.27 (dd, *J* = 5.0, 5.0 Hz, 1H), 5.74 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.21 (br t, *J* = 12.1 Hz, 1H), 3.73 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.69 – 3.59 (m, 1H), 2.31 – 2.23 (m, 4H), 1.93 – 1.84 (m, 2H), 1.53 – 1.44 (m, 2H), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H); ³¹P NMR (162 MHz, 氧化氬) δ 2.10; LRMS (M+H) *m/z* 575.4。

實例16

1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-胺(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基氫磷酸酯（**I-5**）



【0243】 向(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基二氫磷酸酯(**I-2**，25 mg，0.0435 mmol)的*i*-PrOH-H₂O（0.2 mL–0.2 mL）懸浮液中添加2-胺基-2-(羥基甲基)丙烷-1,3-二醇

(5.4 mg, 0.044 mmol)，並且將稀懸浮液在30°C下攪拌過夜。在冷卻至室溫之後，添加額外的*i*-PrOH (0.2 mL，然後達到0.5 mL)，並且混合物保持渾濁，沒有自由流動的沈澱。在減壓下藉由旋轉蒸發去除大部分有機溶劑之後，將混合物重新懸浮在*i*-PrOH-ACN-H₂O中，直至出現白色固體。在過濾之後，將收集的(吸濕性)固體溶解在水中，並且在真空中去除溶劑。獲得作為灰白色固體的標題化合物1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-胺(4-(4-((1-(反式-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基氫磷酸酯 (**I-5**)：15.2 mg (50%產率)；¹H NMR (400 MHz, 氧化氬) δ 8.45 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 8.01 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.13 (dd, *J* = 4.9, 4.9 Hz, 1H), 5.68 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 4.11 (br t, *J* = 12.2 Hz, 1H), 3.72 – 3.67 (m, 8H), 3.58 (tt, *J* = 11.1, 3.9 Hz, 1H), 2.28 – 2.25 (m, 2H), 2.20 – 2.17 (m, 2H), 1.86 – 1.77 (m, 2H), 1.49 – 1.40 (m, 2H), 1.23 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ³¹P NMR (162 MHz, 氧化氬) δ 0.18; LRMS (*M*+*H*) *m/z* 576.1。

實例17

LPS誘導的IL23p19在THP-1細胞中(用IFN γ 引發)的測定

材料和設備

【0244】 THP-1細胞(ATCC公司，目錄號TIB-202)，二甲亞砜(DMSO)(西格瑪奧德里奇公司(Sigma-Aldrich)，目錄號D2650)，RPMI 1640(Cellgro公司，目錄號10-040-CM)，胎牛血清(西格瑪公司(Sigma)，目錄號F4135)，來自牛血清的白蛋白(BSA)(西格瑪奧德里奇公司，目錄號A7906)，LPS(血清型K-235，西格瑪公司，產品編號L 2143)，IFN γ (派普泰克公司(Peprotech)，目錄號300-02)，捕獲抗體：人IL-23p19 ELISA(e-生物科學公司(e-Bioscience)，目錄號14-7238-85)，檢測抗體：原代小鼠生物素化抗人IL-12(p40/p70)(e-生物科學公司，目錄號13-7129-85)，第二HRP軛合的鏈黴親和素(R&D系統公司

(R&D Systems)，目錄號DY998)，1x PBST洗滌緩衝液(PBS-Tween片劑)(VWR國際公司(VWR International)，目錄號80058-558)，ELISA阻斷緩衝液(具有1% BSA的PBS)，ELISA稀釋緩衝液(具有1% BSA的PBS)，384孔平底、MaxiSorp黑色免疫板(賽默科技公司(Thermo Scientific)，目錄號12-565-346)，384孔平底、白色組織培養板(賽默科技公司，目錄號12-565-343)，超級訊息ELISA微小化學發光底物(賽默科技公司，目錄號37070)，Cell Titer Glo試劑(普洛麥格公司(Promega)，目錄號G7573)，陽性對照、IKK2VI抑制劑(Calbiochem公司，目錄號401483)，AquaMax 4000洗板機(分子裝置公司(Molecular Devices))，光度計，Wallac Victor2 1420多標籤計數器。

方法

THP-1細胞刺激：

【0245】 在第1天，在具有10% FBS的RPMI培養基中，在384孔板中接種50K/孔THP-1細胞並用IFN γ (50 ng/mL)引發約18小時。在第2天，將化合物從5 mM以3倍稀釋在DMSO中連續地稀釋，然後在具有10% FBS的RPMI培養基中以1:125進行稀釋。在384孔組織培養板中，將50 μ L/孔2x化合物一式兩份添加至50 μ L/孔THP-1細胞(用IFN γ 引發)中。將細胞與化合物在37°C、5% CO₂下預孵育1小時，然後添加10 μ L/孔11x LPS以得到1 μ g/mL LPS的最終濃度。第3天，在37°C、5% CO₂下刺激18小時之後，將測定板離心並收穫70 μ L/孔上清液。藉由夾心ELISA測量70 μ L/孔上清液中的IL-23p19蛋白，並且向剩餘的細胞中添加25 μ L/孔的Cell Titer Glo試劑以測量化合物毒性。

人IL-23p19夾心ELISA：

【0246】 將Maxisorp免疫ELISA板在室溫下用在PBS中的25 μ L/孔的抗IL-23p19捕獲抗體(2.5 μ g/mL)預塗覆過夜。在用1x PBST洗滌之後，在室溫下，將板使用在PBS中的100 μ L/孔的1% BSA阻斷2小時。將板用1x PBST洗滌三次，

第 86 頁，共 106 頁(發明說明書)

並且添加70 µL/孔上清液。將板在室溫下伴隨振盪孵育2小時，並用1x PBST洗滌三次。添加在具有1% BSA的PBS中的25 µL/孔的生物素標記的抗IL-12 (p40/p70) 檢測抗體 (100 ng/mL)，並且將板在室溫下伴隨振盪孵育2小時。在用1x PBST洗滌三次之後，添加在具有1% BSA的PBS中的25 µL/孔的鏈黴親和素-HRP (1 : 200)，並且將板在室溫下伴隨振盪孵育20分鐘。將板用1x PBST洗滌三次，並且添加25 µL/孔的超級訊息ELISA微小化學發光底物。用光度計讀取板，並將化學發光值輸入雅典娜公司 (Athena) (Rigel) 進行曲線擬合、EC₅₀計算和數據庫存儲。將結果示出於表1中。

實例18

使用DC細胞進行化合物篩選

材料

人PBMC細胞 (所有細胞，目錄號PB002)

含有10% FBS的RPMI生長培養基

IFN γ (派普泰克公司，目錄號300-02)

GMCSF (派普泰克公司 (Peprotech)，目錄號300-03) 和IL4 (派普泰克公司 (Peprotech)，目錄號200-04)

白色透明底96孔板 (費希爾公司 (Fisher)，目錄號07-200-587，康寧公司 (Corning) #3903)

LPS (製成在PBS中的2.5 mg/ml儲備液)，來自西格瑪奧德里奇公司 (Sigma-Aldrich) (目錄號L2018-5MG)

Cell Titer Glo試劑 (普洛麥格公司，目錄號G7573)

陽性對照、IKK2VI抑制劑 (Calbiochem公司，目錄號401483)

方案

1. PBMC至DC細胞的分化：

【0247】 將從供應商獲得的人PBMC細胞（4億個）轉移至含有15 ml RPMI 培養基（10% FBS）的T-175燒瓶中並在37°C下孵育2小時。在2小時之後，小心吸出包含懸浮細胞的培養基，並且添加含有GMCSF（100 ng/ml）和IL4（20 ng/ml）的12 ml新鮮RPMI培養基（10% FBS），並且將燒瓶在37°C培養箱中保存7天。

【0248】 在3天之後，將新鮮GMCSF（100 ng/ml）和IL4（20 ng/ml）添加至燒瓶中並繼續孵育。在7天之後，藉由旋轉（1200 rpm/5 min）和吸出培養基來收穫完全分化的細胞。將細胞懸浮在含有50 ng/ml IFN γ （1000 U/ml）的新鮮RPMI 培養基（10% FBS）中，然後鋪板（50K/孔，在100 μ l中）在白色透明底96孔板中並放置在37°C培養箱中持續24小時。

2. 化合物的添加：

【0249】 在孵育24小時之後，將含有每孔2X濃縮的測試化合物的100 μ l的RPMI培養基添加至上述細胞培養基（最終濃度變為1X），並且在用LPS刺激之前將板在37°C下預孵育1小時。

【0250】 在化合物預孵育1小時之後，添加在RPMI培養基中每孔20X濃縮的LPS溶液10 μ l以得到1 μ g/ml的最終濃度。將混合物振盪並且將板在37°C下再孵育18小時。

【0251】 從每個孔小心地收穫155 μ l上清液（不用尖端接觸孔的底部），並向剩下的50 μ l/孔的細胞培養板中添加50 μ l的Cell Titer Glo試劑。將混合物在振盪器上孵育1-2分鐘，讀取板的發光強度以確定化合物細胞毒性。將上述收集的細胞培養物上清液用於進行如下文描述的IL23 ELISA（65 μ l-上清液）和IL10 ELISA（90 μ l-上清液）。

實例19

人IL-23（p19/p40）ELISA方案（e-生物科學公司）

材料：

第 88 頁，共 106 頁(發明說明書)

【0252】 96孔高結合不透明白色板（來自皮爾斯公司（Pierce），目錄號15042）；

1X PBS；1X TBST洗滌緩衝液；

阻斷溶液：在PBS中的0.5%酪蛋白（來自BDH公司，目錄號440203H）；

稀釋溶液：在PBS中的1% BSA（10% BSA，來自費希爾公司（Fisher），目錄號37525）；

捕獲抗體：大鼠抗人IL-23（p19）（e-生物科學公司（e-Biosciences），目錄號14-7238-85）；

檢測抗體：原代小鼠生物素化的抗人IL-12（p40/p70）（e-生物科學公司（e-Biosciences），目錄號13-7129-85）；

第二HRP軛合的鏈黴親和素（R&D系統公司（R&D Systems），目錄號DY998）；

r人-IL-23（e-生物科學公司（e-Biosciences），目錄號34-8239）（推薦的起始濃度 = 5 ng/ml，在RPMI細胞培養基中）；

細胞培養上清液（65 μ l，來自用IFN γ 引發（50 ng/ml – 1000 U/ml）並用0.01% SAC刺激的THP-1細胞）；

超級訊息ELISA微小化學發光底物 [皮爾斯公司（Pierce），目錄號37069]。

塗覆板：

【0253】 向添加50 μ l的抗IL23（p19）的10.5 ml PBS中添加捕獲抗體（2.5 μ g/ml）。將混合物充分混合，並將100 μ l的塗覆溶液添加至來自皮爾斯公司（Pierce）的96孔白色板的每個孔中。將孔覆蓋並在4°C下孵育過夜。

阻斷板：

【0254】 將抗IL23（p19）-抗體塗覆的板用TBST洗滌2X（用洗板機），並使用200 μ l的0.5%酪蛋白在室溫下伴隨振盪阻斷1.5-2小時。

添加上清液並檢測：

【0255】 將板使用TBST洗滌2X，並將上清液（65 µl/孔）轉移至以上預阻斷的/IL23（p19）-抗體塗覆的96孔板上，並在室溫下伴隨振盪孵育1.5小時。

【0256】 使用TBST將板洗滌4X（洗板機），並添加從在11 ml 1% BSA/PBS溶液（1-5000稀釋）中的2 µl生物素標記的抗IL-12（p40/p70）抗體製備的100 µl/孔檢測抗體溶液。將板在室溫下伴隨振盪孵育1小時。

【0257】 再次，將板用TBST洗滌4X，並添加100 µl的HRP標記的鏈黴親和素（R&D系統公司（R&D Systems））溶液（10 µl/10 ml 1% BSA溶液），並將板在室溫下伴隨振盪再孵育45分鐘。

【0258】 在45分鐘之後，將板用TBST洗滌4X，並添加來自皮爾斯公司（Pierce）的100 µl/孔超級訊息ELISA微小化學發光底物（3.5 ml A + 3.5 ml B + 3.5 ml MQ水）。將板振盪1-2分鐘，然後在讀板器上讀數。

實例20

IRAK4 ADP-GLO測定

材料

IRAK4激酶（新格諾康公司（Signalchem），I12-10G-20）；0.1 M DTT（新格諾康公司，D86-09B）；MBP底物（新格諾康公司，M42-51N）；ADP Glo（普洛麥格公司，V9101）；1 M MgCl₂（特努瓦公司（Teknova），M03304）；1 M Tris-HCl pH 7.4（特努瓦公司，T1074）；BSA（西格瑪公司（A3059））；蒸餾 H₂O

設備

Wallac Victor2 1420多標籤計數器

方法

【0259】 將ADP-Glo™試劑在環境溫度下解凍。藉由混合激酶檢測緩衝液與凍乾的激酶檢測底物來製備激酶檢測試劑並置於一側。

【0260】 在具有最終pH 7.4的蒸餾H₂O中用最終濃度100 mM MgCl₂、200 mM Tris-HCl和0.5 mg/ml的BSA製備儲備液體積的5X反應激酶緩衝液。將2X工作儲備液體積的反應激酶緩衝液製備為含有100 μM DTT的最終濃度。

【0261】 將IRAK4酶的組分在冰上解凍。以5.0 ng/μl製備在1X激酶反應緩衝液（從2X緩衝液稀釋）中的稀釋IRAK4。在1X激酶反應緩衝液（從2X緩衝液稀釋）中製備250 μM工作儲備液ATP測定溶液。

【0262】 將化合物在DMSO中從250 μM以4倍連續稀釋度稀釋8點。然後在96孔板中在2X反應緩衝液中以1:5稀釋。將1.0 μl轉移至384孔板中，一式兩份。添加2 μl的稀釋活性IRAK4（不添加至柱1中），並且將2X反應緩衝液添加至柱1中。添加1 μl的1 mg/ml MBP儲備液。應注意：可以將MBP與等體積的ATP合併，並且然後以2 μl/孔添加。最終反應體積為5 μl。

【0263】 將板離心，並且將反應混合物在室溫下孵育60分鐘或在30°C下孵育30分鐘。

【0264】 中止反應，並且藉由添加5 μl的ADP-Glo™試劑來耗盡剩餘的ATP。將384孔板離心，並且然後將反應混合物在環境溫度下再孵育40分鐘。

【0265】 添加10 μl的激酶檢測試劑。將板離心，並且然後將反應混合物在環境溫度下再孵育30分鐘。

【0266】 使用WALLAC讀板器（發光0.1s）讀取384孔反應板。

實例21

IRAK1 ADAPTA測定

材料

- 條碼康寧低體積白色384孔板（康寧公司，目錄號4512）

第 91 頁，共 106 頁(發明說明書)

- 測試化合物：在孔中在1% DMSO（最終）中篩選測試化合物。對於10點滴定，3倍連續稀釋，10 μ M。
- 底物/激酶混合物：在50 mM HEPES pH 7.5、0.01% BRIJ-35、10 mM MgCl_2 、1 mM EGTA中製備2X IRAK1/組蛋白H3（1-20）肽混合物。
- ATP溶液：將所有的ATP溶液在水中稀釋至4X工作濃度。
- 先前使用放射性測定確定ATP K_m 表觀，沒有底物可用時除外，在這種情況下進行Adapta測定。
- 檢測混合物：在TR-FRET稀釋緩衝液中製備檢測混合物。檢測混合物由EDTA（30 mM）、Eu-抗ADP抗體（6 nM）和ADP示蹤劑組成。檢測混合物含有 EC_{60} 濃度的示蹤劑，用於5-150 μ M ATP。

IRAK1方法

1. 100 nL – 100X測試化合物，在100% DMSO中
2. 2.4 μ L – 30 mM HEPES
3. 2.5 μ L – 4X ATP溶液
4. 5 μ L – 2X底物/激酶混合物

【0267】最終10 μ L激酶反應由在32.5 mM HEPES pH 7.5、0.005% BRIJ-35、5 mM MgCl_2 、0.5 mM EGTA中的3.17 - 42 ng IRAK1和100 μ M組蛋白H3（1-20）組成。

5. 30秒板振盪
6. 在1000 x g下1分鐘離心
7. 在室溫下60分鐘激酶反應孵育
8. 5 μ L – 檢測混合物
9. 30秒板振盪
10. 在1000 x g下1分鐘離心

11. 在室溫下60分鐘檢測混合物平衡
12. 在螢光讀板器上讀取並分析數據

實例22

IRAK4 Z'-電介質測定

材料

- 條碼康寧低體積NBS黑色384孔板（康寧公司，目錄號4514）
- 測試化合物：在孔中在1% DMSO（最終）中篩選測試化合物。對於10點滴定，從10 μ M進行3倍連續稀釋。
- 肽/激酶混合物：在50 mM HEPES pH 7.5、0.01% BRIJ-35、10 mM MnCl_2 、1 mM EGTA、2 mM DTT、0.02% NaN_3 中製備2X IRAK4/Ser/Thr 07混合物。
- ATP溶液：在激酶緩衝液（50 mM HEPES pH 7.5、0.01% BRIJ-35、10 mM MgCl_2 、1 mM EGTA）中將所有ATP溶液稀釋至4X工作濃度。先前使用Z'-LYTE®測定確定ATP K_m 表觀。
- 顯影試劑溶液：在顯影緩衝液中以1：45000稀釋顯影試劑。

一般方法

1. 100 nL – 100X測試化合物，在100% DMSO中
2. 2.4 μ L – 激酶緩衝液
3. 5 μ L – 2X肽/激酶混合物
4. 2.5 μ L – 4X ATP溶液

【0268】最終10 μ L激酶反應由在50 mM HEPES pH 7.5、0.01% BRIJ-35、5 mM MgCl_2 、5 mM MnCl_2 、1 mM EGTA、1 mM DTT、0.01% NaN_3 中的3.45 - 63.6 ng IRAK4和2 μ M Ser/Thr 07組成。

5. 30秒板振盪
6. 在室溫下60分鐘激酶反應孵育

- 7. 5 μ L – 顯影試劑溶液
- 8. 30秒板振盪
- 9. 在室溫下60分鐘顯影反應孵育
- 10. 在螢光讀板器上讀取並分析數據

【0269】 將來自該等測定的結果示於表1中。

[表1]. 體外結果。

	IL23-p19 ELISA , THP1- IFNγ , LPS , 10pt EC₅₀ (μM)	IL23-p19 ELISA , 樹突狀細胞 , LPS , 10pt EC₅₀ (μM)	IRAK4 ADP-Glo 激酶 , 8pt EC₅₀ (μM)	IRAK1 ADP-Glo 激酶 , 8pt EC₅₀ (μM)	IRAK4 Z'-電介 質測定 EC₅₀ (μM)	IRAK1 ADAPT A測定 EC₅₀ (μM)
I-1	0.008	0.18	0.007	0.0081	0.006	0.004
I-2	0.011		0.0464	3.909		
I-3	0.0544		0.1284	0.0618		
I-4	0.0025		0.0188	0.0281		

實例23

I-1的血漿蛋白結合

實驗程序

【0270】 使用快速平衡透析（RED）裝置藉由平衡透析進行腦和血漿藥物結合。簡而言之，將含有藥物（5 μ M）的300 μ L血漿或腦勻漿（1個腦/3個緩衝液）針對500 μ L緩衝鹽水進行平衡（4-18 h）。在孵育之後，藉由LC-MS/MS確定血漿/腦勻漿和緩衝液中藥物的濃度。

回收值

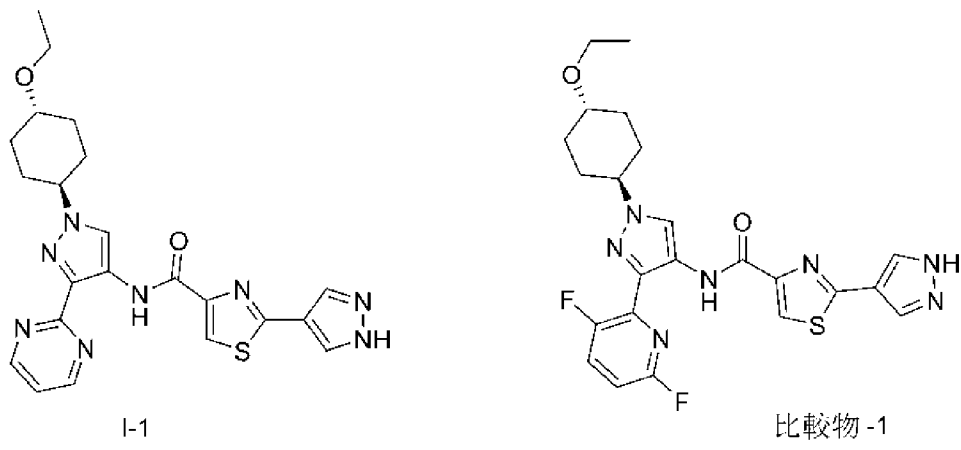
【0271】 藉由確定孵育之後50 μL血漿和50 μL緩衝液中的藥物總量並將此值與未孵育的50 μL血漿樣本中的藥物量進行比較來計算回收率。對於蛋白質結合測定，將藥物添加到血漿中，並且將此血漿添加到透析裝置的一側，同時將緩衝液添加到另一側。在提交平衡裝置的血漿室之後，將50 μL等分試樣的血漿與50 μL緩衝液混合，並且然後用終止試劑淬滅。

藥物回收率 = (藥物緩衝液 + 藥物血漿)/(初始血漿中的藥物)

【0272】 較低的回收率可能是由於與設備結合的損失的血漿中藥物的水解（即，醯胺水解）所致。

游離藥物

【0273】 血漿和腦中較高的游離藥物允許更多的藥物與靶標相互作用。



【0274】 從游離藥物的角度來看，化合物I-1在大鼠、狗、猴和人類蛋白質中的游離度係比較物-1的大約6倍。

【0275】 由於水解，小鼠回收率較低，這與小鼠的其他類似試驗相當。

[表2]. 血漿蛋白結合結果

	比較物-1		I-1	
	結合 %	回收 (%)	結合 %	回收 (%)
狗	99.0	77.2	93.4	70.7

大鼠	99.3	68.3	96.3	73.9
人類	99.6	75.5	97.0	77.1
猴	99.7	71.6	98.3	104*
小鼠	97.8	10	91.5	23.6

*由於實驗誤差，結果似乎大於100%。

【0276】 與比較物-1相比，兩輪大鼠腦勻漿與I-1結合。I-1在大鼠腦中的游離度係比較物-1的大約10倍。

比較物-1 0.102%和0.114%

I-1 1.06%和1.43%

實例24

全血測定

【0277】 化合物I-1在體外測定中表現出與比較物-1類似的生化效力（比較物-1的結構參見實例23），但I-1在細胞中和在全血存在下進行的測定中顯著更有效力。

[表3]. 體外測定

化合物	IRAK4 IC ₅₀ (μM)		
	ADP-Glo (n >= 3)	Z'LYTE (n = 1)	Adapta (n = 1)
I-1	0.007 ± 0.004	0.006	0.004
比較物-1	0.006 ± 0.006	0.015	0.014

[表4]. 全血測定中的游離級分

化合物	大鼠	人類
I-1	3.7%	3.0%
比較物-1	0.7%	0.4%

【0278】 I-1在全血測定中的更大效力係由血漿游離級分驅動的。並且游離級分百分比在物種之間係一致的。

【0279】 為了評價化合物I-1對於TLR和IL-1R依賴性細胞介素釋放的作用，在化合物I-1或比較物-1存在下分離和刺激多種細胞類型。結果在表5中提供。

[表5]. 細胞測定

化合物	細胞測定IC ₅₀ (μM)			
	IL-23 (LPS , THP-1)	TNFα (PBMC , 雷西莫特)	TNFα (DC , 嘎 德莫特)	平均值
I-1	0.008	0.003	0.005	0.005
比較物-1	0.063	0.015	0.019	0.032

【0280】 以上細胞測定中獲得的結果表明，化合物I-1係多種細胞類型中TLR和IL-1R依賴性細胞介素產生的有效抑制劑（表5）。化合物I-1抑制人THP-1細胞進行的TLR4誘導的IL-23和TNF-α產生。在人原代樹突狀細胞（DC）中，化合物I-1阻斷TLR4誘導的IL-23產生，TLR7和TLR2誘導的TNF-α產生。化合物I-1亦為人PBMC中TLR7依賴性細胞介素產生和小鼠巨噬細胞中TLR4依賴性細胞介素產生的有效抑制劑。另外，化合物I-1有效地抑制原代人內皮細胞中IL-1β誘導的細胞介素IL-6產生。化合物I-1通過抑制IRAK1/4激酶活性，廣泛地抑制多種原代人細胞類型中TLR和IL-1R依賴性促炎細胞介素產生。此外，化合物I-1係多種細胞類型中TLR和IL-1R依賴性傳訊的更有效抑制劑。

【0281】 測定方案：THP-1細胞中TLR4和TLR2誘導的細胞介素。

材料

- 二甲亞砜（DMSO）（西格瑪-奧德里奇公司，目錄號D2650）
- 胎牛血清（西格瑪公司，目錄號F4135）

- RPMI 1640 (Cellgro公司, 目錄號10-040-CM)
- THP-1 (ATCC公司, 目錄號TIB-202)
- 重組人IFN- γ (派普泰克公司, 目錄號AF-300-02)
- 來自大腸桿菌K-235的脂多糖 (LPS) (西格瑪-奧德里奇公司, 目錄號L2018)

- LTA (InvivoGen公司, 目錄號tlrl-pslta)
- 抗人IL-23p19 (e生物科學公司, 目錄號14-7238-85)
- 生物素抗人IL-12 (p40/70) (e生物科學公司, 目錄號13-7129-85)
- 牛血清白蛋白 (BSA) (西格瑪-奧德里奇公司, 目錄號A7906)
- 1x PBST洗滌緩衝液 (PBS-Tween片劑) (VWR國際公司, 目錄號80058-558)

- ELISA阻斷緩衝液 (具有2% BSA的PBS)
- ELISA稀釋緩衝液 (在PBST中的0.2% BSA)
- 人TNF- α DuoSet ELISA套組 (Kit) (R&D系統公司, 目錄號DY210)
- CellTiter-Glo®發光細胞活力測定 (普洛麥格公司, 目錄號G7571)
- 96孔平底白色組織培養板, 具有透明底 (Costar 3903)
- 96孔平底MaxiSorp黑色免疫板 (賽默科技公司, 目錄號12-566-24)
- 超級訊息ELISA微小化學發光底物 (賽默科技公司, 目錄號37070)

設備

- Scan Washer 400洗板機 (分子裝置公司)
- 光度計, Wallac Victor2 1420多標籤計數器

方法

【0282】 將THP-1細胞 (100K, 在100 μ L/孔中) 在37°C、5% CO₂下用25 ng/mL IFN- γ 引發18小時。將化合物從2.5 mM以4倍稀釋在DMSO中連續地稀釋,

第 98 頁, 共 106 頁(發明說明書)

然後在具有10% FBS的RPMI 1640完全培養基中以1:125進行稀釋。將100 μ L/孔2x化合物在96孔平底白色組織培養板中與100 μ L/孔IFN- γ 引發的THP-1混合。將細胞與化合物在37°C、5% CO₂下預孵育1小時，然後添加10 μ L/孔21x LPS以得到1 μ g/mL最終濃度的LPS。將該等細胞在37°C、5% CO₂下用LPS刺激18小時。在離心之後，藉由使用多通道移液管提取100 μ L/孔的上清液。藉由夾心ELISA測量上清液中的IL-23p19或TNF- α 蛋白。使用剩餘的IFN- γ 引發的THP-1細胞沈澱物進行細胞活力測定，以確定化合物細胞毒性。用光度計讀取板，並將化學發光值輸入雅典娜公司（Athena）（Rigel）進行曲線擬合、EC₅₀計算和數據庫存儲。

【0283】 將如先前所述之用IFN- γ 引發的THP1細胞在37°C、5% CO₂下用LTA（在RPMI培養基中的10 μ L/孔的20X濃LTA溶液，得到4 μ g/ml的最終濃度）再刺激18小時。收穫上清液（155 μ L/孔）以測量TNF- α 。根據套組方案，使用人TNF- α DuoSet ELISA套組藉由ELISA定量TNF- α 。

人IL-23p19夾心ELISA：

【0284】 將Maxisorp免疫ELISA板在室溫下用在PBS中的100 μ L/孔的抗IL-23p19捕獲抗體（2.4 μ g/mL）預塗覆過夜。在用1x PBST洗滌之後，將板在室溫下使用在PBS中的300 μ L/孔的1% BSA阻斷2小時。將板用1x PBST洗滌三次，並且添加100 μ L/孔上清液。將板在室溫下孵育2小時，同時振盪。將板用1x PBST洗滌三次，並且添加在具有0.1% BSA的PBS中的100 μ L/孔的生物素抗人IL-12（p40/70）檢測抗體（10 ng/mL）。將板在室溫下孵育2小時，同時振盪。將板用1x PBST洗滌三次，並且添加在具有0.1% BSA的PBS中的100 μ L/孔的鏈黴親和素-HRP（1:200）。將板在室溫下孵育20分鐘，同時振盪。將板用1x PBST洗滌三次，並且添加100 μ L/孔的超級訊息ELISA微小化學發光底物。用光度計讀取板，並將化學發光值輸入雅典娜公司（Athena）（Rigel）進行曲線擬合、EC₅₀計算和數據庫存儲。

【0285】 測定方案：人周邊血單核球（PBMC）中的TLR7誘導的TNF- α 。

材料

- Corning™ Costar™ 96孔細胞培養物處理的U形底微板（費希爾公司，目錄號07-200-95）
- 人PBMC細胞（所有細胞，目錄號PB002）
- 雷西莫特（InvivoGen公司，目錄號tlrl-r848）
- 人TNF- α DuoSet ELISA套組（R&D系統公司，目錄號DY210）
- 重組人IFN- β （派普泰克公司，目錄號300-02BC）
- 具有10% FBS的RPMI
- Axygen 96孔1.1 mL無菌物（VWR國際公司，目錄號47734-788）

方法

【0286】 將人周邊血單核球（PBMC）以100,000個細胞/孔接種在100 μ l具有10% FCS的RPMI中，並且在37°C、5% CO₂下用8 ng/ml的IFN- β 引發過夜。將化合物從2 mM以3倍稀釋在DMSO中連續地稀釋，然後在具有10% FBS的RPMI 1640完全培養基（2x儲備液）中以1:100進行稀釋。藉由添加含有2X濃縮測試化合物/孔（0.5%最終DMSO濃度）的100 μ l RPMI培養基，將PBMC在37°C、5% CO₂下與測試化合物預孵育1小時。

雷西莫特刺激：

【0287】 將PBMC在37°C、5% CO₂下用雷西莫特（在RPMI培養基中的10 μ l/孔的21X濃雷西莫特溶液，得到0.1 μ g/ml的最終濃度）再刺激18小時。收穫100 μ l上清液/孔以測量TNF- α 。根據製造商的方案，使用DuoSet ELISA套組定量TNF- α 。

【0288】 測定方案：人原代單核球衍生的樹突狀細胞（DC）中的TLR誘導的細胞介素。

材料

- 二甲亞砜（DMSO）（西格瑪-奧德里奇公司，目錄號D2650）
- 胎牛血清（西格瑪公司，目錄號F4135）
- 人PBMC細胞（所有細胞，目錄號PB002）
- 含有10% FBS的RPMI生長培養基
- IFN- γ （派普泰克公司，目錄號300-02）
- GMCSF（派普泰克公司（Peprotech），目錄號300-03）和IL4（派普泰克公司（Peprotech），目錄號200-04）
- 白色透明底96孔板（費希爾公司（Fisher），目錄號07-200-587，康寧公司（Corning）#3903）
- LPS（製成在PBS中的2.5 mg/ml儲備液），來自西格瑪奧德里奇公司（Sigma-Aldrich）（目錄號L2018-5MG）
- 來自大腸桿菌K-235的脂多糖（LPS）（西格瑪-奧德里奇公司，目錄號L2018）
- 嘎德莫特，新的咪唑喹啉化合物（InvivoGen公司，目錄號tlrl-gdqs）
- 抗人IL-23p19（e生物科學公司，目錄號14-7238-85）
- 生物素抗人IL-12（p40/70）（e生物科學公司，目錄號13-7129-85）
- 牛血清白蛋白（BSA）（西格瑪-奧德里奇公司，目錄號A7906）
- 1x PBST洗滌緩衝液（PBS-Tween片劑）（VWR國際公司，目錄號80058-558）
- ELISA阻斷緩衝液（具有2% BSA的PBS）
- ELISA稀釋緩衝液（在PBST中的0.2% BSA）
- 人TNF- α DuoSet ELISA套組（R&D系統公司，目錄號DY210）
- Cell Titer Glo試劑（普洛麥格公司，目錄號G7573）

- 陽性對照、IKK2VI抑制劑（Calbiochem公司，目錄號401483）

設備

- Scan Washer 400洗板機（分子裝置公司）
- 光度計，Wallac Victor2 1420多標籤計數器

方法

樹突狀細胞的分化和IFN γ 引發：

【0289】 使人周邊血單核球（PBMC）（4億個）在37°C、5% CO₂下在含有15 ml RPMI培養基（10% FBS）的T-175燒瓶中附著2小時，以捕獲單核球。

【0290】 在2小時之後，小心去除包含懸浮細胞的培養基，並且將含有GM-CSF（100 ng/ml）和IL-4（20 ng/ml）的12 ml新鮮RPMI培養基（10% FBS）添加到附著的單核球中。使單核球在37°C、5% CO₂下分化7天，在3天之後，補充新鮮GM-CSF和IL-4。

【0291】 藉由離心（1200 rpm/5 min）收穫分化的樹突狀細胞（DC）。在白色透明底96孔板中，將DC在37°C、5% CO₂下在100 μ l/孔的新鮮RPMI培養基（10% FBS）中以50K/孔用50 ng/ml IFN- γ （1000 U/ml）引發24小時。

化合物預孵育：

【0292】 將化合物從2.5 mM以4倍稀釋在DMSO中連續地稀釋，然後在具有10% FBS的RPMI 1640完全培養基中以1:125進行稀釋。藉由添加含有2X濃縮測試化合物/孔（0.5%最終DMSO濃度）的100 μ l RPMI培養基，將引發的DC在37°C、5% CO₂下與測試化合物預孵育1小時。

LPS刺激：

【0293】 將DC在37°C、5% CO₂下用LPS（在RPMI培養基中的10 μ l/孔的20X濃LPS溶液，得到1 μ g/ml的最終濃度）再刺激18小時。

【0294】收穫上清液（155 μ l/孔）以藉由ELISA測量IL-23（65 μ l上清液），如附錄1中所述。將Cell Titer Glo試劑（50 μ l/孔）添加到剩餘的50 μ l/孔的細胞培養板中，在振盪器上孵育1-2分鐘，並且讀取板的發光強度以確定化合物細胞毒性。將化學發光值輸入雅典娜公司（Athena）（Rigel）進行曲線擬合、EC₅₀計算和數據庫存儲。

嘎德莫特刺激：

【0295】將DC在37°C、5% CO₂下用嘎德莫特（在RPMI培養基中的10 μ l/孔的20X濃嘎德莫特溶液，得到4 μ g/ml的最終濃度）再刺激18小時。收穫上清液（155 μ l/孔）以測量TNF- α 。根據套組方案，藉由ELISA定量TNF- α 。

全血測定：

【0296】為了評估全血對於化合物I-1和比較物-1的效力的作用，評價了該等化合物對於人血液中TLR依賴性細胞介素釋放的抑制潛力。將從健康志願者新鮮抽取的周邊血與測試化合物孵育，並且用LPS或嘎德莫特刺激過夜。在離心之後分離血清，並且藉由ELISA測量TNF- α 和IL-6。結果在表6中示出。

【0297】測定方案：人血中的LPS誘導的TNF- α 。

材料

- RPMI 1640（Cellgro公司，目錄號10-040-CM）
- 胎牛血清（西格瑪公司，目錄號F4135）
- 來自大腸桿菌K-235的脂多糖（西格瑪-奧德里奇化學品公司，目錄號L2018-5MG）
- BD Vacutainer肝素鈉管（BD公司，目錄號4191982）
- 96孔聚苯乙烯板（費希爾公司，目錄號12-565-500）
- 二甲亞砜（DMSO）（西格瑪-奧德里奇公司，目錄號D2650）

- 人細胞介素磁力板：Magnetic (EMD密理博公司 (EMD Millipore Corp.)，目錄號HCYTOMAG-60K-02)

設備

Luminex Flexmap 3d

方法

【0298】 在含有肝素鈉的Vacutainer中採集健康志願者的全血，並且將40 μ l 血液鋪板到每個孔中。將化合物從2 mM以3倍稀釋在DMSO中連續地稀釋，然後在具有10% FBS的培養基中以1：100進行稀釋。將每孔50 μ L的2X化合物一式兩份添加到每個孔中並孵育一小時。將10 μ L LPS以0.5 ng/ml的最終濃度添加到每個孔中並使細胞孵育過夜。

【0299】 將100 μ L的PBS添加到每個孔中並以1000 RPM離心10分鐘。取25 μ L上清液，並且在Luminex Flexmap 3d上測量TNF- α 。

【0300】 測定方案：人血中人血誘導的TNF- α 中的嘎德莫特誘導的IL-6。

材料

- RPMI 1640 (Cellgro公司，目錄號10-040-CM)
- 胎牛血清 (西格瑪公司，目錄號F4135)
- 嘎德莫特 (InvivoGen公司，目錄號tlrl-gdqs)
- BD Vacutainer肝素鈉管 (BD公司，目錄號4191982)
- 96孔聚苯乙烯板 (費希爾公司，目錄號12-565-500)
- 二甲亞砜 (DMSO) (西格瑪-奧德里奇公司，目錄號D2650)
- 人細胞介素磁力板：Il6 Magnetic (EMD密理博公司，目錄號HCYTOMAG-60K-02)

設備

Luminex Flexmap 3d

方法

【0301】 在含有肝素鈉的Vacutainer中採集健康志願者的全血，並且將40 µl 血液鋪板到每個孔中。將化合物從2 mM以3倍稀釋在DMSO中連續地稀釋，然後在具有10% FBS的培養基中以1：100進行稀釋。將每孔50 µL的2X化合物一式兩份添加到每個孔中並孵育一小時。將10 µL嘎德莫特以4 µg/ml的最終濃度添加到每個孔中並將細胞孵育過夜。

【0302】 將100 µL的PBS添加到每個孔中並以1000 RPM離心10分鐘。取25 µL上清液，並且藉由Luminex Flexmap 3d測量IL-6。

[表6]. 人全血測定

化合物	人全血測定 (IC50 ₅₀) (µM)		
	IL-6嘎德莫特	TNFα LPS	平均值
I-1	0.124	0.224	0.174
比較物-1	1.400	1.399	1.400

【0303】 化合物I-1在基於細胞的測定中在阻斷炎性傳訊方面表現出更大的效力，並且在人全血存在下進行測試時比比較物-1損失的效力更小。

實例25

前驅藥化合物I-3

[表7]. 化合物I-3的生體可用率

物種	化合物I-3的生體可用率 (%F)
小鼠	34
大鼠	12
猴	71
狗	53

【0304】 將化合物I-3的生體可用率測量為檢測到的母體化合物I-1的量，從而證明了化合物I-3在體內充當I-1的前驅藥。

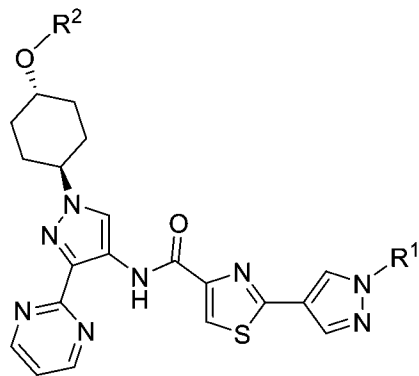
【0305】 鑒於可以應用所揭露技術的原理的許多可能的實施方式，應當認識到，所示出的實施方式僅是技術的較佳的是實例，而不應被認為是限制技術的範圍。相反地，技術的範圍由所附申請專利範圍限定。因此，我們聲稱我們的技術全部落入該等申請專利範圍的範圍和精神範圍之內。

【符號說明】

【0306】 無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種化合物，該化合物具有根據式I的結構



式I

或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中：

R¹係H、脂肪族、鹼基、雜環基、羧基酯、鹼胺、烷基胺基磷酸酯或烷基磷酸酯；

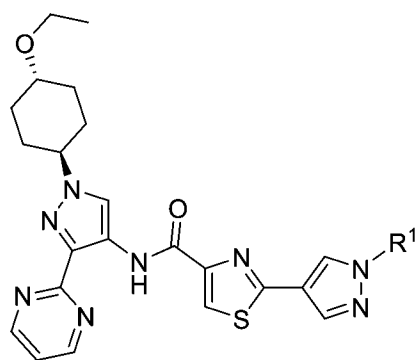
R²係C₁₋₆烷基。

【請求項2】 如請求項1所述之化合物，其中R¹係H、烷基或-烷基OP(O)(OR)₂，其中每個OR係-OH、-O烷基、-O芳基、-O雜芳基、-O芳烷基或-O-M⁺，其中M⁺係具有單個正電荷的相對離子。

【請求項3】 如請求項1或請求項2所述之化合物，其中R¹係CH(CH₃)OP(O)(OR)₂或-CH₂OP(O)(OR)₂。

【請求項4】 如請求項1-3中任一項所述之化合物，其中R²係C₁₋₄烷基。

【請求項5】 如請求項1-4中任一項所述之化合物，其中該化合物具有根據式II的結構



式II

或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。

【請求項6】 如請求項1-5中任一項所述之化合物，其中R¹係H。

【請求項7】 如請求項1-5中任一項所述之化合物，其中R¹係C₁₋₆烷基。

【請求項8】 如請求項1-5中任一項所述之化合物，其中R¹係-CH₂OP(O)(OR)₂。

【請求項9】 如請求項8所述之化合物，其中R¹係-CH₂OP(O)(OH)₂。

【請求項10】 如請求項8所述之化合物，其中R¹係-CH₂OP(O)(OC₁₋₆烷基)₂。

【請求項11】 如請求項8所述之化合物，其中R¹係-CH₂OP(O)(O⁻M⁺)₂。

【請求項12】 如請求項8所述之化合物，其中R¹係-CH₂OP(O)(O⁻Na⁺)₂。

【請求項13】 如請求項1-12中任一項所述之化合物，其中該化合物可以呈游離鹼形式。

【請求項14】 如請求項1-12中任一項所述之化合物，其中該化合物係鹽共晶體。

【請求項15】 如請求項14所述之化合物，其中該鹽共晶體係酒石酸鹽共晶體或三鹽共晶體。

【請求項16】 如請求項1所述之化合物，該化合物選自：

I-1：N-(1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲醯胺；

I-2：(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基二氫磷酸酯；

I-3：(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基磷酸鈉；

I-4：N-(1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)-2-(1H-吡唑-4-基)噻唑-4-甲醯胺酒石酸鹽；

I-5：(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基氫磷酸酯1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-胺（三鹽）；

I-6：1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基二氫磷酸酯；

I-7：1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基磷酸鈉；或

I-8：1-(4-(4-((1-((1r,4r)-4-乙氧基環己基)-3-(嘧啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)胺基甲醯基)噻唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)乙基氫磷酸酯1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-胺（三鹽）。

【請求項17】 一種藥物組成物，該藥物組成物包含如請求項1-16中任一項所述之化合物和藥學上可接受的賦形劑。

【請求項18】 一種用於抑制IRAK酶之方法，該方法包括使該酶與有效量的如請求項1-16中任一項所述之化合物接觸。

【請求項19】 如請求項18所述之方法，其中接觸包括向受試者投與該化合物。

【請求項20】 一種用於治療受試者的需要IRAK抑制劑的疾病或病症之方法，該方法包括向該受試者投與有效量的如請求項1-16中任一項所述之化合物或如請求項17所述之藥物組成物。

【請求項21】 如請求項20所述之方法，其中該疾病或病症包括自體免疫性疾病、炎症障礙、心血管疾病、神經退化性疾病、過敏性疾患、多器官衰竭、腎臟疾病、血小板凝集、過度增生性障礙、移植、精子活力、紅血球缺乏、移植排斥、肺損傷、呼吸道疾病、缺血性病變、細菌感染、病毒感染、免疫調節障礙、鎌狀細胞病、化學或輻射誘導性肺損傷、出血熱或其組合。

【請求項22】 如請求項20所述之方法，其中該疾病或病症包括再生不良性貧血、異位性皮膚炎、膿疱型乾癬、掌蹠膿疱症、原發性膽汁性肝硬化、膿皮病、硬化性膽管炎、系統性幼年型特發性關節炎、化膿性汗腺炎、細胞介素釋放綜合症或骨髓化生不良症候群（MDS）。

【請求項23】 如請求項20所述之方法，其中該疾病係肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（ALS）、全身性紅斑狼瘡、慢性類風濕性關節炎、I型糖尿病、炎症腸病、膽汁性肝硬化、眼色素層炎、多發性硬化、克隆氏症、潰瘍性結腸炎、大疱性類天皰瘡、肉狀瘤病、牛皮癬、自體免疫性肌炎、胰臟炎、卡波西肉瘤、骨髓化生不良症候群、華格納氏肉芽病、魚鱗癬、格雷夫斯眼病或氣喘。

【請求項24】 如請求項21所述之方法，其中該免疫調節障礙係類風濕性關節炎、全身性紅斑狼瘡、橋本甲狀腺炎、多發性硬化、系統性硬化、重症肌無力、I型糖尿病、眼色素層炎、後眼色素層炎、過敏腦脊髓炎、腎小球腎炎、包括風濕熱和感染後腎小球腎炎等感染後自體免疫性疾病、炎症和過度增生性皮膚疾病、牛皮癬、異位性皮膚炎、接觸性皮炎、濕疹性皮炎、脂溢性皮炎、扁平苔癬、天皰瘡、大疱性類天皰瘡、大包性表皮鬆解、蕁麻疹、血管性水腫、血管炎、紅斑、皮膚嗜酸性球增多症、紅斑狼瘡、痤瘡、斑禿、角膜結膜炎、春季結膜炎、

與白塞氏病相關的眼色素層炎、角膜炎、疱疹性角膜炎、圓錐形角膜、角膜上皮營養不良、角膜白斑、眼天皰瘡、蠶蝕性角膜潰瘍、鞏膜炎、格雷夫斯眼病、Vogt-小柳原田氏症候群、肉狀瘤病、花粉過敏、可逆阻塞性氣道疾病、支氣管氣喘、過敏性氣喘、內源性氣喘、外源性氣喘、塵埃性氣喘、慢性或根深氣喘、晚期氣喘和氣道高反應、支氣管炎、胃潰瘍、由缺血性疾病和血栓形成引起的血管損傷、缺血性腸病、炎性腸病、壞死性小腸結腸炎、與熱燒傷有關的腸道病變、乳糜瀉、直腸炎、嗜伊紅性胃腸炎、肥胖細胞增多症、克隆氏症、潰瘍性結腸炎、偏頭痛、鼻炎、濕疹、間質性腎炎、古巴士德氏症候群、溶血性尿毒症候群、糖尿病腎病、多發性肌炎、格巴二氏症候群、美尼爾氏病、多發神經炎、多神經炎、單神經炎、神經根病、甲狀腺機能亢進、巴塞多氏病、純紅血球再生不良、再生不良性貧血、低形成性貧血、特發性血小板減少性紫癜、自體免疫性溶血性貧血、顆粒性白血球缺乏症、惡性貧血、巨胚紅血球貧血、紅血球發生不能、骨質疏鬆症、肉狀瘤病、肺纖維變性、特發性間質性肺炎、皮肌炎、尋常性白斑病、尋常性魚鱗癬、光變應性敏感、皮膚T細胞淋巴瘤、慢性淋巴球白血病、動脈硬化、動脈粥樣硬化、主動脈炎綜合症、結節性多動脈炎、心肌病、硬皮病、華格納氏肉芽病、休格倫氏症候群、肥胖病、嗜酸性筋膜炎、齒齦病變、牙周膜病變、齒槽骨病變、牙骨質病變、腎小球腎炎、藉由預防脫毛或提供頭髮發生和/或促進頭髮生成和頭髮生長的男性型脫髮或老年脫髮、肌肉萎縮症、膿皮病和Sézary氏症候群、艾迪生病、器官保存後發生的缺血再灌注損傷、移植或缺血性疾病、內毒素休克、假膜性結腸炎、由藥物或輻射引起的結腸炎、缺血性急性腎功能不全、慢性腎功能不全、由肺氧或藥物引起的毒素病、肺癌、肺氣腫、白內障、鐵質沈著病、色素沈著性視網膜炎、老年性黃斑變性、玻璃體疤痕、角膜鹼燒傷、皮炎多形性紅斑、線性IgA大皰皮炎和水泥皮炎、齒齦炎、牙周炎、敗血症、胰臟炎、由環境污染引起的疾病、老化、致癌作用、癌轉移和低氣壓病、由組胺或白三烯-C4釋

放引起的疾病、白塞氏病、自體免疫性肝炎、原發性膽汁性肝硬化、硬化性膽管炎、肝部分切除、急性肝壞死、毒素引起的壞死、病毒性肝炎、休克、或缺氧症、B型病毒性肝炎、非A型/非B型肝炎、肝硬化、酒精性肝硬化、肝功能衰竭、猛爆性肝衰竭、晚發性肝功能衰竭、「慢加急」肝衰竭、化療效果增加、巨細胞病毒感染、HCMV感染、AIDS、癌症、老年失智症、帕金森病、創傷、CRS、ARDS、AKI或慢性細菌感染。

【請求項25】如請求項20所述之方法，其中該疾病或病症包括選自以下的淋巴細胞腫瘤：不包括真性紅血球增多症的骨髓增生性腫瘤（MPN）、髓系/淋巴細胞腫瘤伴PDGFRA重排、髓系/淋巴細胞腫瘤伴PDGFRB重排、髓系/淋巴細胞腫瘤伴FGFR1重排、髓系/淋巴細胞腫瘤伴PCM1-JAK2、骨髓化生不良/骨髓增生性腫瘤（MDS/MPN）、髓樣肉瘤、唐氏症相關骨髓增殖症、母細胞性漿細胞樣樹突狀細胞腫瘤、B淋巴母細胞白血病/淋巴瘤；和/或T淋巴母細胞白血病/淋巴瘤。

【請求項26】如請求項25所述之方法，其中該淋巴細胞腫瘤係選自以下的骨髓增生性腫瘤：慢性骨髓性白血病（CML）、慢性嗜中性球白血病（CNL）、原發性骨髓纖維化（PMF）、原發性血小板過多症、慢性嗜酸性球白血病或其組合。

【請求項27】如請求項26所述之方法，其中該淋巴細胞腫瘤係慢性骨髓性白血病。

【請求項28】如請求項25所述之方法，其中該淋巴細胞腫瘤係選自以下的骨髓化生不良/骨髓增生性腫瘤：慢性骨髓單核球白血病、不典型慢性骨髓性白血病（aCML）、少年性骨髓單核球白血病（JMML）、MDS/MPN伴環形含鐵胚血球和血小板增多症（MDS/MPN-RS-T）或其組合。

【請求項29】如請求項25所述之方法，其中該方法進一步包括鑒定患有該淋巴細胞腫瘤的受試者。

【請求項30】 如請求項29所述之方法，其中該淋巴細胞腫瘤係慢性骨髓單核球白血病，並且鑒定該受試者包括鑒定持續性周邊血單核球增多 $\geq 1 \times 10^9/L$ 以及單核球占白血球（WBC）分類計數的 $\geq 10\%$ 並且未觀察到PDGFRA、PDGFRB或FGFR1基因和PCM1-JAK2融合基因中的重排的受試者。

【請求項31】 如請求項1-16中任一項所述之化合物或如請求項17所述之組成物，該化合物或組成物用於在治療方法中使用。

【請求項32】 如請求項31所述之用於使用的化合物，其中該治療方法係用於治療需要IRAK抑制劑的疾病或病症之方法。

【請求項33】 如請求項31或請求項32所述之用於使用的化合物，其中該疾病或病症包括自體免疫性疾病、炎性障礙、心血管疾病、神經退化性疾病、過敏性疾患、多器官衰竭、腎臟疾病、血小板凝集、過度增生性障礙、移植、精子活力、紅血球缺乏、移植排斥、肺損傷、呼吸道疾病、缺血性病症、細菌感染、病毒感染、免疫調節障礙、鎌狀細胞病、化學或輻射誘導性肺損傷、出血熱或其組合。

【請求項34】 如請求項1-16中任一項所述之化合物或如請求項17所述之組成物在製造用於體內治療的藥物中之用途。

【請求項35】 如請求項34所述之化合物或組成物之用途，其中該藥物係用於治療需要IRAK抑制劑的疾病或病症的藥物。

【請求項36】 如請求項34或請求項35所述之化合物或組成物之用途，其中該疾病或病症包括自體免疫性疾病、炎性障礙、心血管疾病、神經退化性疾病、過敏性疾患、多器官衰竭、腎臟疾病、血小板凝集、過度增生性障礙、移植、精子活力、紅血球缺乏、移植排斥、肺損傷、呼吸道疾病、缺血性病症、細菌感染、病毒感染、免疫調節障礙、鎌狀細胞病、化學或輻射誘導性肺損傷、出血熱或其組合。