(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112867489 A
(43)申请公布日 2021.05.28

(21)申请号 201980052440.2
(22)申请日 2019.06.06
(30)优先权数据
62/682,054 2018.06.07 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.02.05
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/035846 2019.06.06
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/236890 EN 2019.12.12
(71)申请人 达萨玛治疗公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 R·O·休斯 R·德夫拉吉
T·博萨纳 R·A·杰里斯-派克
A·S·布雷利 J·本特利
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 郭慧 彭昶
(51)Int.Cl.
A61K 31/41(2006.01)
A61K 31/425(2006.01)
A61K 31/427(2006.01)
C07D 275/00(2006.01)
C07D 275/02(2006.01)
C07D 285/01(2006.01)

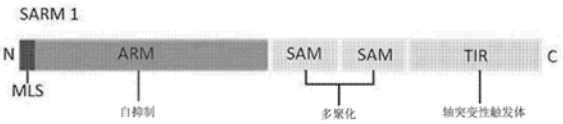
权利要求书3页 说明书107页
序列表5页 附图2页

(54)发明名称

SARM1抑制剂

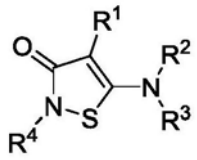
(57)摘要

本公开提供了可用于抑制SARMI和/或治疗和/或预防轴突变性的化合物和方法。所提供的SARMI抑制剂减少或抑制SARMI对NAD+的结合,并且SARMI抑制剂在包含一个或多个催化残基的口袋(例如SARMI的催化裂隙)内与SARMI结合。



CN 112867489 A

1.一种化合物,其具有式II:



II

或其药学上可接受的盐,其中

R^1选自-CN、$-NO_2$、-C(O)R、$-S(O)_2R$、$-CON(R)_2$、$-S(O)_2N(R)_2$、$-CO_2R$、$-C(=NR)N(R)_2$和具有2-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基环;

R^2是-R;

R^3是$-(CH_2)_{0-2}Cy$,或:

R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成与Cy稠合的4元至7元饱和或部分不饱和的环,或形成被-Cy取代的4元至7元饱和或部分不饱和的环;

Cy选自苯基、3元至7元饱和或部分不饱和的碳环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环、和8元至10元双环芳基环,其中每个苯基、碳环、杂芳基环和芳基环被0-4个R^x取代;

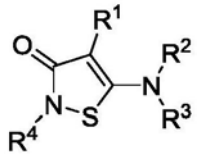
每个R^x独立地选自卤素、-CN、$-NO_2$、-OR、-SR、$-N(R)_2$、$-SO_2R$、$-SO_2N(R)_2$、$-CO_2R$、$-CON(R)_2$、$-N(R)SO_2R$、-N(R)C(O)R、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族基团、任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元饱和或部分不饱和的杂环、和任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元杂芳基环;

R^4是-R;并且

每个R独立地是氢、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族、任选地被取代的苯基、或任选地被取代的3元至7元饱和或部分不饱和的碳环,或:

两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。

2.根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物具有式I:



I

或其药学上可接受的盐,其中

R^1选自-CN、$-NO_2$、-C(O)R、$-S(O)_2R$、$-CON(R)_2$、$-S(O)_2N(R)_2$和$-CO_2R$;

R^2是-R;

R^3是$-(CH_2)_{0-2}Cy$,或:

R^2和R^3与它们所连接的氮一起形成与Cy稠合的4元至7元饱和或部分不饱和的环,或形成被-Cy取代的4元至7元饱和或部分不饱和的环;

Cy选自苯基、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环、具有1-3

个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环、和8元至10元双环芳基环，其中每个苯基、杂芳基环和芳基环被0-4个-R^x取代；

每个-R^x独立地选自卤素、-CN、-NO_2、-OR、-SR、-N(R)$_2$、-SO_2R、-SO_2N(R)$_2$、-CO_2R、-CON(R)$_2$、-N(R)SO_2R、-N(R)C(O)R和任选地被取代的C_{1-6}脂肪族；

R^4是-R；

每个R独立地是氢或任选地被取代的C_{1-6}脂肪族；或：

两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。

3.根据权利要求1所述的化合物，其中

R^1选自-CN、-CON(R)$_2$和-C(=NR)N(R)$_2$；并且

R^2选自-H和-CH_3。

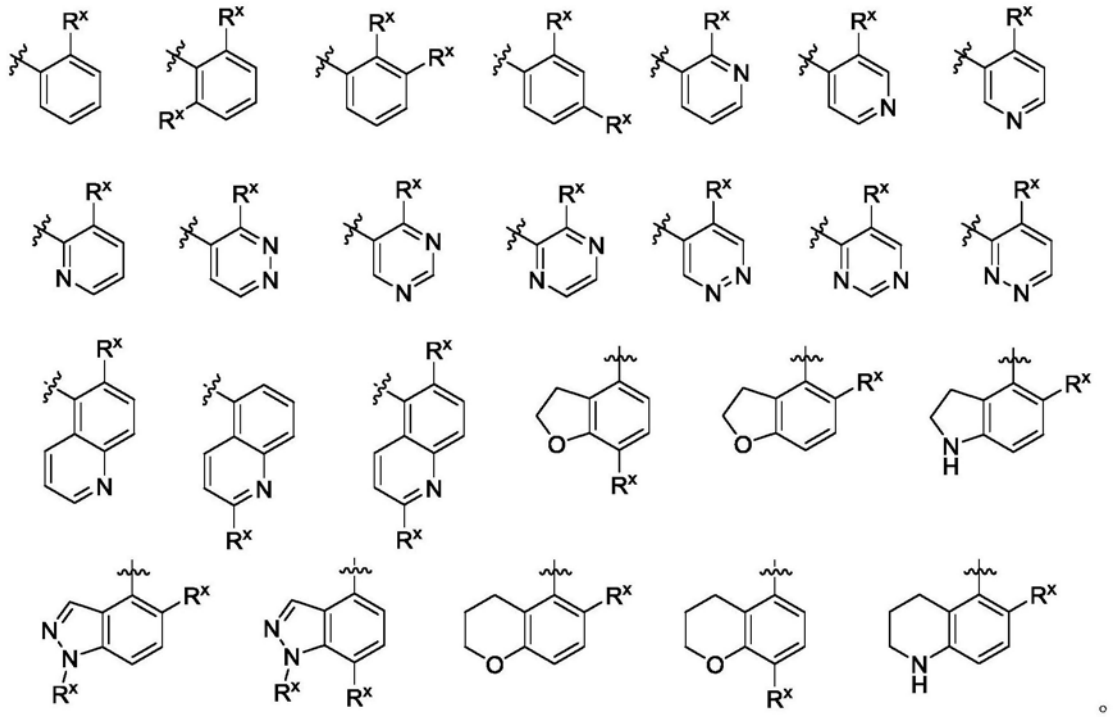
4.根据权利要求1所述的化合物，其中：

R^1选自-CN、-CON(R)$_2$和-C(=NR)N(R)$_2$；

R^2选自-H和-CH_3；

R^3是-Cy；并且

-Cy选自



5.根据权利要求4所述的化合物，其中：

R^1是-CN；并且

R^2是-H。

6.根据权利要求4所述的化合物，其中：

R^1是-$CONH_2$；并且

R^2是-H。

7.一种方法，其包括以下步骤：

将根据权利要求1至6中任一项所述的化合物施用于(i)患有以轴突变性为特征的病况或(ii)具有罹患以轴突变性为特征的病况的风险的受试者。

8.一种治疗或预防轴突变性的方法,其包括向有需要的受试者施用根据权利要求1至6中任一项所述的化合物。

9.一种抑制SARM1的方法,其包括使生物样品与根据权利要求1至6中任一项所述的化合物接触。

10.根据权利要求9所述的方法,其中通过共价修饰SARM1的半胱氨酸残基来抑制SARM1。

11.根据权利要求10所述的方法,其中所述SARM1的半胱氨酸残基是Cys635。

12.根据权利要求10所述的方法,其中所述SARM1的半胱氨酸残基是Cys629。

13.根据权利要求10所述的方法,其中所述SARM1的半胱氨酸残基是Cys649。

SARM1抑制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年6月7日提交的美国临时申请第62/682,054号的权益，所述临时申请以全文引用的方式并入本文中。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有序列表，所述序列表以ASCII格式以电子方式提交，并且特此以全文引用的方式并入。2019年6月6日创建的ASCII副本，名为2012800-0024_SL.txt，大小为13,851字节。

背景技术

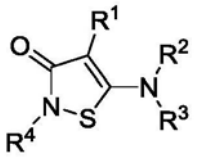
[0005] 轴突变性是包括外周神经病变、创伤性脑损伤和神经退行性疾病在内的多种神经系统病症的标志(Gerdts等人，SARM1激活通过NAD(+)破坏在局部触发轴突变性(SARM1 activation triggers axon degeneration locally via NAD(+)destruction.)《科学》(Science)348 2016，第453-457页，特此以全文引用的方式并入)。神经退行性疾病和损伤对患者和看护者来说都是毁灭性的。目前仅在美国，与这些疾病相关的费用每年就超过数千亿美元。由于这些疾病和病症中的许多的发病率随着年龄的增长而增加，因此随着人口结构的变化，其发病率正在迅速增加。

发明内容

[0006] 本公开提供了除其它外的用于治疗和/或预防神经变性(例如，用于减少轴突变性)的技术。在一些实施方式中，所提供的技术抑制SARM1。

[0007] 在一些实施方式中，本公开提供了某些化合物和/或组合物，这些化合物和/或组合物可用于医学，特别是用于治疗神经变性(例如，用于减少轴突变性)。

[0008] 在一些实施方式中，本公开提供了具有如式I所示结构的化合物：

[0009] 

[0010] I

[0011] 或其药学上可接受的盐，其中

[0012] R^1选自-CN、$-NO_2$、-C(O)R、$-S(O)_2R$、$-CON(R)_2$、$-S(O)_2N(R)_2$和$-CO_2R$；

[0013] R^2是-R；

[0014] R^3是$-(CH_2)_{0-2}Cy$，或：

[0015] R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成与Cy稠合的4元至7元饱和或部分不饱和的环，或形成被-Cy取代的4元至7元饱和或部分不饱和的环；

[0016] Cy选自苯基、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环、和8元至10元双环芳基

环，其中每个苯基、杂芳基环和芳基环被0-4个R^x取代；

[0017] 每个R^x独立地选自卤素、-CN、-NO_2、-OR、-SR、-$N(R)_2$、-SO_2R、-$SO_2N(R)_2$、-CO_2R、-$CON(R)_2$、-$N(R)SO_2R$、-$N(R)C(O)R$和任选地被取代的C_{1-6}脂肪族；

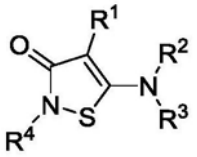
[0018] R^4是-R；并且

[0019] 每个R独立地是氢或任选地被取代的C_{1-6}脂肪族；或：

[0020] 两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。

[0021] 在一些实施方式中，所提供的化合物具有如下所述的式I-a、I-a-i、I-a-ii、I-a-iii、I-a-iv、I-a-v、I-a-vi、I-b、I-b-i、I-b-ii、I-b-iii、I-b-iv、I-b-v、I-b-vi、I-c、I-c-i、I-c-ii、I-c-iii、I-c-iv、I-c-v和I-c-vi的结构。

[0022] 在一些实施方式中，本公开提供了具有如式II所示结构的化合物：

[0023] 

II

[0024] 或其药学上可接受的盐，其中

[0025] R^1选自-CN、-NO_2、-C(O)R、-S(O)$_2$R、-$CON(R)_2$、-S(O)$_2$$N(R)_2$、-$CO_2R$、-C(=NR)$N(R)_2$和具有2-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基环；

[0026] R^2是-R；

[0027] R^3是-$(CH_2)_{0-2}Cy$，或：

[0028] R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成与Cy稠合的4元至7元饱和或部分不饱和的环，或形成被-Cy取代的4元至7元饱和或部分不饱和的环；

[0029] Cy选自苯基、3元至7元饱和或部分不饱和的碳环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环、和8元至10元双环芳基环，其中每个苯基、碳环、杂芳基环和芳基环被0-4个R^x取代；

[0030] 每个R^x独立地选自卤素、-CN、-NO_2、-OR、-SR、-$N(R)_2$、-SO_2R、-$SO_2N(R)_2$、-CO_2R、-$CON(R)_2$、-$N(R)SO_2R$、-$N(R)C(O)R$、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族基团、任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元饱和或部分不饱和的杂环、和任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元杂芳基环；

[0031] R^4是-R；并且

[0032] 每个R独立地是氢、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族、任选地被取代的苯基、和任选地被取代的3元至7元饱和或部分不饱和的碳环，或：

[0033] 两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。

[0034] 在一些实施方式中，以固体形式(例如，晶体形式或无定形形式)提供和/或利用一种或多种式I或式II所示的化合物。

[0035] 在一些实施方式中，本公开提供了包含和/或递送式I或式II所示的化合物(例如，以本文所述的形式)、其前药或活性代谢物的组合物。

[0036] 在一些实施方式中，本公开提供了包含和/或递送式I或式II所示的化合物的组合

物。在一些实施方式中，这类组合物是包括至少一种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0037] 在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂减少或抑制SARM1对NAD+的结合。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂在包含一个或多个催化残基的口袋(例如SARM1的催化裂隙)内与SARM1结合。

[0038] 在一些实施方式中，所提供的化合物和/或组合物抑制SARM1的活性。替代地或另外地，在一些实施方式中，所提供的化合物缓解神经变性的一种或多种属性。在一些实施方式中，本公开提供了治疗与轴突变性相关的神经退行性疾病或病症的方法。

[0039] 在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如医学实践中。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如治疗、预防或改善轴突变性(例如，其一种或多种特征或特性)。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如抑制轴突变性，包括由NAD+减少或耗竭导致的轴突变性。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如防止轴突损伤远端的轴突变性。

[0040] 在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如治疗一种或多种选自由神经病变或轴突病变组成的组的神经退行性疾病、病症或病况。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如治疗与轴突变性相关的神经病变或轴突病变。在一些实施方式中，与轴突变性相关的神经病变是遗传性或先天性神经病变或轴突病变。在一些实施方式中，与轴突变性相关的神经病变是由新生或体细胞突变导致的。在一些实施方式中，与轴突变性相关的神经病变选自本文包含的列表中。在一些实施方式中，神经病变或轴突病变与轴突变性相关，包括但不限于帕金森氏病(Parkinson's disease)、非帕金森氏病、阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease)、疱疹感染、糖尿病、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、脱髓鞘疾病、局部缺血或中风、化学损伤、热损伤和AIDS。

[0041] 在一些实施方式中，施用本文所述化合物或组合物的受试者可以是或包含患有或易患神经退行性疾病、病症或病况的受试者。在一些实施方式中，神经退行性疾病、病症或病况可以是或包含创伤性神经元损伤。在一些实施方式中，创伤性神经元损伤是钝力创伤、闭合性头部损伤、开放性头部损伤、暴露于震荡性和/或爆炸性力量、在脑腔或身体神经支配区域内或对脑腔或身体神经支配区域的穿透性损伤。在一些实施方式中，创伤性神经元损伤是导致轴突变形、拉伸、挤压或剪切的力。

[0042] 在一些实施方式中，所提供的方法包含向有需要的患者施用本文所述的化合物(例如式I或式II所示的化合物)。在一些这样的实施方式中，患者具有罹患以轴突变性为特征的病况的风险。在一些实施方式中，患者患有以轴突变性为特征的病况。在一些实施方式中，患者已被诊断为患有以轴突变性为特征的病况。

[0043] 在一些实施方式中，所提供的方法包含向有需要的患者群体施用本文所述的组合物。在一些实施方式中，所述群体是来自参与创伤性神经元损伤的可能性高的活动的这些个体。在一些实施方式中，群体是来自参与接触性运动或其它高风险活动的这些运动员。

[0044] 在一些实施方式中，患者具有罹患神经退行性病症的风险。在一些实施方式中，患者是老年人。在一些实施方式中，已知患者具有神经变性的遗传风险因素。

[0045] 在某些实施方式中，本公开提供了用作例如根据本公开所述的分析工具、生物测定中的探针或治疗剂的化合物。本公开提供的化合物也可用于研究SARM1在生物和病理现象中的功能以及在体外或体内对新的SARM1活性抑制剂的比较评价。

[0046] 在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用作例如抑制源自受试者的神经元退化的方法。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于抑制体外培养的神经元或其一部分的变性。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用作稳定剂以促进体外神经元存活。

[0047] 附图简要说明

[0048] 图1示出了SARM1蛋白的结构。

[0049] 图2示出了具有NR补充的NRK1-HEK293T稳定系在SARM1-TIR表达后维持较高的NAD+水平。

[0050] 定义

[0051] 脂肪族：术语“脂肪族”是指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元的直链(即非支链)或支链、被取代或未被取代的烃链，或完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但不是芳香族的单环烃或双环烃(在本文中也称为“碳环”或“环脂肪族”)，它与分子的其余部分具有单个连接点。除非另有说明，否则脂肪族基团含有1-6个脂肪族碳原子。在一些实施方式中，脂肪族基团含有1-5个脂肪族碳原子。在其它实施方式中，脂肪族基团含有1-4个脂肪族碳原子。在其它实施方式中，脂肪族基团含有1-3个脂肪族碳原子，并且在其它实施方式中，脂肪族基团含有1-2个脂肪族碳原子。在一些实施方式中，“环脂族”(或“碳环”)是指单环C_3-C_8烃或双环C_7-C_{10}烃，它完全饱和或含有一个或多个不饱和单元，但它不是芳香族，它与分子的其余部分具有单个连接点。合适的脂肪族基团包括但不限于直链或支链、被取代或未被取代的烷基、烯基、炔基及其杂化物。

[0052] 烷基：单独或作为较大部分的一部分使用的术语“烷基”是指具有1-12、1-10、1-8、1-6、1-4、1-3或1-2个碳原子的饱和、任选地被取代的直链或支链或环状烃基。术语“环烷基”是指具有约3至约10个环碳原子的任选地被取代的饱和环系统。示例性的单环环烷基环包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。

[0053] 亚烷基：术语“亚烷基”是指二价烷基。在一些实施方式中，“亚烷基”是二价直链或支链烷基。在一些实施方式中，“亚烷基链”是聚亚甲基，即-$(CH_2)_n$-，其中n是正整数，例如1至6、1至4、1至3、1至2或2至3。任选地被取代的亚烷基链是其中一个或多个亚甲基氢原子任选地被取代基置换的聚亚甲基。合适的取代基包括下文针对被取代的脂肪族基团所描述的那些，并且还包括本文说明书中所描述的那些。应了解，亚烷基的两个取代基可以一起形成环系统。在某些实施方式中，两个取代基可以一起形成3元至7元环。取代基可以在相同或不同的原子上。

[0054] 烯基：单独或作为较大部分的一部分使用的术语“烯基”是指具有至少一个双键并具有2-12、2-10、2-8、2-6、2-4或2-3个碳原子的任选地被取代的直链或支链或环状烃基。术语“环烯基”是指含有至少一个碳-碳双键并具有约3至约10个碳原子的任选地被取代的非芳香族单环或多环环系统。示例性单环环烯基环包括环戊基、环己烯基和环庚烯基。

[0055] 炔基：单独或作为较大部分的一部分使用的术语“炔基”是指具有至少一个三键并具有2-12、2-10、2-8、2-6、2-4或2-3个碳原子的任选地被取代的直链或支链烃基。

[0056] 芳基:术语“芳基”是指具有总共五至十四个环成员的单环和双环环系统,其中系统中的至少一个环是芳香族的,并且其中系统中的每个环含有三至七个环成员。术语“芳基”可与术语“芳基环”互换使用。在本发明的某些实施方式中,“芳基”是指芳香族环系统,其包括但不限于苯基、联苯、萘基、蒽基等,它们可以带有一个或多个取代基。如本文所用,在术语“芳基”的范围内还包括芳香族环与一个或多个非芳香族环稠合的基团,如茚满基、邻苯二甲酰亚胺基、萘酰亚胺基、菲啶基或四氢萘基等。

[0057] 结合:应理解,本文使用的术语“结合”通常是指两个或更多个实体之间或之中的非共价缔合。“直接”结合涉及实体或部分之间的物理接触;间接结合涉及借助于与一个或多个中间实体物理接触进行的物理相互作用。通常可以在多种情形中的任何一种下评估两个或更多个实体之间的结合,包括孤立地或在更复杂的系统中(例如,在与载体实体共价或以其它方式缔合时和/或在生物系统或细胞中)研究相互作用的实体或部分。

[0058] 生物样品:如本文所用,术语“生物样品”通常是指如本文所述从感兴趣的生物来源(例如,组织或生物体或细胞培养物)获得或衍生的样品。在一些实施方式中,感兴趣的来源包含生物体,例如动物或人类。在一些实施方式中,生物样品是或包含生物组织或液体。在一些实施方式中,生物样品可以是或包含骨髓;血液;血细胞;腹水;组织或细针活检样品;含细胞的体液;游离的核酸;痰液;唾液;尿液;脑脊液;腹膜液、胸膜液;粪便;淋巴;妇科液体;皮肤拭子;阴道拭子;口腔拭子;鼻拭子;洗液或灌洗液,如导管灌洗液或支气管肺泡灌洗液;吸液;刮片;骨髓标本;组织活检标本;手术标本;粪便、其它体液、分泌物和/或排泄物;和/或由此得到的细胞等。在一些实施方式中,生物样品是或包含从个体获得的细胞。在一些实施方式中,获得的细胞是或包括从其获得样品的个体的细胞。在一些实施方式中,样品是通过任何适当的方式直接从感兴趣的来源获得的“原始样品”。例如,在一些实施方式中,通过选自由活检(例如,细针抽吸或组织活检)、手术、收集体液(例如,血液、淋巴、粪便等)等组成的组的方法获得原始生物样品。在一些实施方式中,如将从上下文中可知,术语“样品”是指通过处理原始样品(例如,通过去除原始样品的一种或多种组分和/或通过向其添加一种或多种试剂)获得的制备物。例如,使用半透膜进行过滤。这样的“处理后的样品”可以包含例如从样品中提取的或通过对原始样品进行如mRNA的扩增或逆转录、某些组分的分离和/或纯化等技术而获得的核酸或蛋白质。

[0059] 生物标志物:术语“生物标志物”在本文中用于指其存在、水平、程度、类型和/或形式与感兴趣的特定生物事件或状态相关的实体、事件或特征,因此它被认为是该事件或状态的“标志物”。仅举几个例子,在一些实施方式中,生物标志物可以是或包含特定疾病状态的标志物,或特定疾病、病症或病况可能发展、发生或复发的可能性的标志物。在一些实施方式中,生物标志物可以是或包含特定疾病或其治疗结果或可能性的标志物。因此,在一些实施方式中,生物标志物是感兴趣的相关生物事件或状态的预测,在一些实施方式中,生物标志物是感兴趣的相关生物事件或状态的预后,在一些实施方式中,生物标志物是感兴趣的相关生物事件或状态的诊断。生物标志物可以是或包含任何化学类别的实体,并且可以是或包含实体的组合。例如,在一些实施方式中,生物标志物可以是或包含核酸、多肽、脂质、碳水化合物、小分子、无机试剂(例如,金属或离子)或其组合。在一些实施方式中,生物标志物是细胞表面标志物。在一些实施方式中,生物标志物是细胞内的。在一些实施方式中,生物标志物是在细胞外检测到的(例如,是分泌的或以其它方式在细胞外产生或存在

的，例如在体液中，如血液、尿液、眼泪、唾液、脑脊液等。在一些实施方式中，生物标志物可以是或包含遗传或表观遗传特征。在一些实施方式中，生物标志物可以是或包含基因表达特征。

[0060] 在一些实施方式中，生物标志物可以是或包含神经变性的标志物，或神经退行性疾病、病症或病况可能发展、发生或复发的可能性的标志物。在一些实施方式中，生物标志物可以是或包含神经变性、其治疗结果或可能性的标志物。因此，在一些实施方式中，生物标志物是神经退行性疾病、病症或病况的预测，在一些实施方式中，生物标志物是神经退行性疾病、病症或病况的预后，在一些实施方式中，生物标志物是神经退行性疾病、病症或病况的诊断。在一些实施方式中，生物标志物水平的变化可以通过脑脊液(CSF)、血浆和/或血清来检测。

[0061] 在一些实施方式中，可以例如通过检测受试者的脑脊液所含神经丝蛋白轻链(NF-L)和/或神经丝蛋白重链(NF-H)浓度的增加和/或减少来评估神经变性。在一些实施方式中，神经变性的发生和/或进展可以通过正电子发射断层扫描(PET)与突触囊泡糖蛋白2a(SV2A)配体进行评估。在一些实施方式中，神经元中组成型NAD和/或cADPR水平的可检测变化可用于评估神经变性。

[0062] 在一些实施方式中，相对于健康参考群体，受试者中一种或多种神经变性相关蛋白的可检测变化可用作神经变性的生物标志物。这类蛋白质包括但不限于白蛋白、淀粉样蛋白-β(Aβ)38、Aβ40、Aβ42、神经胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、心脏型脂肪酸结合蛋白(hFABP)、单核细胞趋化蛋白(MCP)-1、神经颗粒蛋白、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、可溶性淀粉样前体蛋白(sAPP)α、sAPPβ、在髓样细胞上表达的可溶性触发受体(sTREM)2、磷酸化tau和/或总tau。在一些实施方式中，细胞因子和/或趋化因子的增加，包括但不限于Ccl2、Ccl7、Ccl12、Csf1和/或Il6，可用作神经变性的生物标志物。

[0063] 载体：如本文所用，术语“载体”是指与组合物一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒剂。在一些示例性实施方式中，载体可以包括无菌液体，例如水和油，包括石油、动物、植物或合成来源的油，例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。在一些实施方式中，载体是或包括一种或多种固体组分。

[0064] 组合疗法：如本文所用，术语“组合疗法”是指受试者同时暴露于两种或更多种治疗方案(例如，两种或更多种治疗剂)的那些情况。在一些实施方式中，两种或更多种方案可以同时施用；在一些实施方式中，这类方案可以依次施用(例如，在施用第二方案的任何剂量之前施用第一方案的所有“剂量”)；在一些实施方式中，这类药剂以重叠的给药方案施用。在一些实施方式中，组合疗法的“施用”可涉及将一种或多种药剂或药征施用于接受组合中的其它药剂或药征的受试者。为了清楚起见，组合疗法不要求各个药剂在单一组合物中一起施用(或甚至必须同时施用)，尽管在一些实施方式中，两种或更多种药剂或其活性部分可以在组合组合物中，或甚至在组合化合物(例如，作为单一化学复合物或共价实体的一部分)中一起施用。

[0065] 组合物：本领域技术人员应了解，术语“组合物”可用于指包含一种或多种指定组分的离散物理实体。一般来说，除非另外规定，否则组合物可以是任何形式，例如气体、凝胶、液体、固体等。

[0066] 域：本文使用的术语“域”是指实体的一段或一部分。在一些实施方式中，“域”与实

体的特定结构和/或功能特征相关联，因此，当域与其母实体的其余部分物理分离时，它基本上或完全保留了特定的结构和/或功能特征。替代地或另外地，域可以是或包括实体的一部分，当与该(母)实体分离并与不同的(受体)实体连接时，该部分基本上保留和/或赋予受体实体一个或多个结构和/或功能特征，这些特征在母实体中是其特征。在一些实施方式中，域是分子(例如，小分子、碳水化合物、脂质、核酸或多肽)的一段或一部分。在一些实施方式中，域是多肽的一段；在一些这样的实施方式中，域的特征在于特定的结构元件(例如，特定的氨基酸序列或序列基序、α-螺旋特征、β-折叠特征、卷曲螺旋特征、无规卷曲特征等)，和/或在于特定的功能特征(例如，结合活性、酶活性、折叠活性、信号传导活性等)。

[0067] 剂型或单位剂型：本领域技术人员应了解，术语“剂型”可用于指用于给受试者施用的活性剂(例如，治疗剂或诊断剂)的物理离散单位。通常，每个这样的单位含有预定量的活性剂。在一些实施方式中，这样的量是适合于按照已确定在向相关群体施用时与期望的或有益的结果相关的给药方案(即，治疗性给药方案)施用的单位剂量(或其全部分数)。本领域普通技术人员了解到，施用于特定受试者的治疗组合物或药剂的总量由一名或多名主治医生确定，并且可能涉及多个剂型的施用。

[0068] 给药方案或治疗方案：本领域技术人员应了解，术语“给药方案”和“治疗方案”可用于指向受试者单独施用的一组单位剂量(通常多于一个)，所述单位剂量通常按时间段分开。在一些实施方式中，给定的治疗剂具有推荐的给药方案，其可能涉及一个或多个剂量。在一些实施方式中，给药方案包括多个剂量，其中每个剂量在时间上与其它剂量分开。在一些实施方式中，各个剂量彼此间隔相同长度的时间段；在一些实施方式中，给药方案包括多个剂量和至少两个分开各个剂量的不同时间段。在一些实施方式中，给药方案内的所有剂量都具有相同的单位剂量的量。在一些实施方式中，给药方案内的不同剂量具有不同的量。在一些实施方式中，给药方案包含呈第一剂量的量的第一剂量，接着是呈不同于第一剂量的量的第二剂量的量的一个或多个额外剂量。在一些实施方式中，给药方案包含呈第一剂量的量的第一剂量，接着是呈与第一剂量的量相同的第二剂量的量的一个或多个额外剂量。在一些实施方式中，当在相关群体中施用时，给药方案与期望的或有益的结果相关(即，是治疗性给药方案)。

[0069] 赋形剂：如本文所用，是指可包括在药物组合物中的非治疗剂，例如以提供或促进所需的一致性或稳定作用。合适的药物赋形剂包括例如淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙稀、乙二醇、水、乙醇等。

[0070] 杂芳基：单独或作为较大部分(例如“杂芳烷基”或“杂芳烷氧基”)的一部分使用的术语“杂芳基”和“杂芳-”是指下述基团：其具有5至10个环原子，优选5、6、9或10个环原子；具有以环状阵列共享的6、10或14个π电子；除碳原子外，还具有一至五个杂原子。术语“杂原子”是指氮、氧或硫，并且包括氮或硫的任何氧化形式以及碱性氮的任何季铵化形式。杂芳基包括但不限于噻吩基、呋喃基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、吲哚嗪基、嘌呤基、萘啶基和喋啶基。本文使用的术语“杂芳基”和“杂芳-”还包括杂芳香族环与一个或多个芳基环、环脂肪族环或杂环基环稠合的基团，其中自由基或连接点在杂芳香族环上。非限制性实例包括吲哚基、异吲哚基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、二苯并呋喃基、吲唑基、苯并咪

唑基、苯并噻唑基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、4H-喹嗪基、咔唑基、吖啶基、啡嗪基、啡噻嗪基、啡噁嗪基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基和吡啶并[2,3-b]-1,4-噁嗪-3(4H)-酮。杂芳基可以是单环或双环的。术语“杂芳基(heteroaryl)”可与术语“杂芳基环”、“杂芳基(heteroaryl group)”或“杂芳香族”互换使用,这些术语中的任一个都包括任选地被取代的环。术语“杂芳烷基”是指被杂芳基取代的烷基,其中烷基和杂芳基部分独立地任选地被取代。

[0071] 杂环:如本文所用,术语“杂环(heterocycle)”、“杂环基(heterocyclyl)”、“杂环自由基(heterocyclic radical)”和“杂环(heterocyclic ring)”可互换使用,指稳定的3至8元单环或7-10元双环杂环部分,该部分是饱和或部分不饱和的,除碳原子外,还具有一个或多个,如一至四个杂原子,如上文所定义。当用于提及杂环的环原子时,术语“氮”包括被取代的氮。例如,在具有0-3个选自氧、硫和氮的杂原子的饱和或部分不饱和环中,氮可以是N(如在3,4-二氢-2H-吡咯基中)、NH(如在吡咯烷基中)或NR^+(如在N-取代的吡咯烷基中)。杂环可以在任何杂原子或碳原子处连接到其侧基,从而产生稳定的结构,并且任何环原子可以任选地被取代。这类饱和或部分不饱和杂环基的实例包括但不限于四氢呋喃基、四氢噻吩基、哌啶基、十氢喹啉基、噁唑烷基、哌嗪基、二噁烷基、二氧戊环基、二氮呼基、噁氮呼基、噻氮呼基、吗啉基和噻吗啉基。杂环基可以是单环、双环、三环或多环,优选单环、双环或三环,更优选单环或双环。术语“杂环基烷基”是指被杂环基取代的烷基,其中烷基和杂环基部分独立地任选地被取代。此外,杂环还包括其中杂环与一个或多个芳环稠合的基团。

[0072] 抑制剂:如本文所用,术语“抑制剂”是指其存在、水平或程度与靶标的水平或活性降低相关的实体、条件或事件。在一些实施方式中,抑制剂可以直接起作用(在这种情况下,它直接对其靶标施加影响,例如通过与靶标结合);在一些实施方式中,抑制剂可以间接起作用(在这种情况下,它通过与靶标的调节剂相互作用和/或以其它方式改变靶标的调节剂,使靶标的水平和/或活性降低而施加影响)。在一些实施方式中,抑制剂是其存在或水平与相对于特定参考水平或活性(例如,在适当的参考条件,如存在已知的抑制剂,或不存在所讨论的抑制剂等条件下观察到的水平或活性)降低的靶标水平或活性相关的抑制剂。

[0073] 神经变性:如本文所用,术语“神经变性”是指神经元或神经元组织的一种或多种特征、结构或特性的减少。在一些实施方式中,神经变性被观察为生物体的病理性减少。本领域技术人员应了解,神经变性与某些疾病、病症和病况相关,包括影响人类的那些疾病、病症和病况。在一些实施方式中,神经变性可以是短暂的(例如,有时与某些感染和/或化学或机械破坏相关联地发生);在一些实施方式中,神经变性可以是慢性和/或进行性的(例如,经常与某些疾病、病症或病况相关联,如但不限于帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化症、多发性硬化症、亨廷顿病(Huntington disease)或阿尔茨海默氏病)。在一些实施方式中,神经变性可以例如通过在受试者中检测与神经变性相关的生物标志物的增加来评估。在一些实施方式中,神经变性可以例如通过在受试者中检测与神经变性相关的生物标志物的减少来评估。替代地或另外地,在一些实施方式中,神经变性可以通过磁共振成像(MRI)、含有生物标志物的脑脊液或在患者中观察到的其它生物标志物来评估。在一些实施方式中,神经变性被定义为小型精神状态检查的得分低于24。在一些实施方式中,神经变性是指突触的丧失。在一些实施方式中,神经变性是指与创伤性损伤(例如暴露于破坏神经组织完整性的外力)有关的神经组织的减少。在一些实施方式中,神经变性是指外周神经组织的减少。在

一些实施方式中，神经变性是指中枢神经组织的减少。

[0074] 口服：本文所用的短语“口服施用(oral administration)”和“口服施用(administered orally)”具有其本领域所理解的含义，是指通过口腔施用化合物或组合物。

[0075] 肠胃外：本文所用的短语“肠胃外施用(parenteral administration)”和“肠胃外施用(administered parenterally)”具有其本领域所理解的含义，是指除肠内和局部施用以外的施用方式(通常通过注射)，并且包括但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内和胸骨内注射和输注。

[0076] 部分不饱和：如本文所用，术语“部分不饱和”是指在环原子之间包括至少一个双键或三键的环部分。术语“部分不饱和”旨在涵盖具有多个不饱和位点的环，但并不旨在包括本文所定义的芳香族(例如，芳基或杂芳基)部分。

[0077] 患者：如本文所用，术语“患者”是指例如出于实验、诊断、预防、美容和/或治疗目的而施用或可以施用所提供的组合物的任何生物体。典型的患者包括动物(例如哺乳动物，如小鼠、大鼠、兔子、非人灵长类和/或人类)。在一些实施方式中，患者是人类。在一些实施方式中，患者患有或易患一种或多种病症或病况。在一些实施方式中，患者显示病症或病况的一种或多种症状。在一些实施方式中，患者已被诊断为患有一种或多种病症或病况。在一些实施方式中，患者正在接受或已经接受某些疗法以诊断和/或治疗疾病、病症或病况。

[0078] 药物组合物：如本文所用，术语“药物组合物”是指与一种或多种药学上可接受的载体一起配制的活性剂。在一些实施方式中，活性剂以适合于以治疗或给药方案施用的单位剂量的量存在，该治疗或给药方案在施用于相关群体时显示出实现预定治疗效果的统计学显著概率。在一些实施方式中，可将药物组合物专门配制成以固体或液体形式施用，包括适合于以下的药物组合物：口服施用，例如灌服药(水性或非水溶液或悬浮液)、片剂，例如靶向颊内、舌下和全身吸收的片剂、大丸剂、粉末剂、颗粒剂、施用于舌头的糊剂；肠胃外施用，例如作为例如无菌溶液或悬浮液或持续释放制剂，通过皮下、肌肉内、静脉内或硬膜外注射；局部施用，例如作为乳膏、软膏或控释贴剂或喷雾施用于皮肤、肺或口腔；阴道内或直肠内，例如作为子宫托、乳膏或泡沫；舌下；经眼；经皮；或经鼻、经肺和其它粘膜表面。

[0079] 药学上可接受：如本文所用，短语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内，适合与人类和动物的组织接触使用，而不会产生过度的毒性、刺激性、过敏反应或其它问题或并发症，并与合理的效益/风险比相称的化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0080] 药学上可接受的载体：如本文所用，术语“药学上可接受的载体”是指药学上可接受的材料、组分或媒剂，如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂或溶剂囊封材料，涉及将主题化合物从一个器官或身体的一部分携带或运输到另一个器官或身体的一部分。在与制剂的其它成分相容并且对患者无害的意义上，每种载体必须是“可接受的”。可以充当药学上可接受的载体的材料的一些实例包括：糖，如乳糖、葡萄糖和蔗糖；淀粉，如玉米淀粉和马铃薯淀粉；纤维素及其衍生物，如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素；粉末状黄芪胶；麦芽；明胶；滑石；赋形剂，如可可脂和栓剂蜡；油，如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；二醇，如丙二醇；多元醇，如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇；酯，如油酸乙酯和月桂酸乙酯；琼脂；缓冲剂，如氢氧化镁和氢氧化铝；褐藻酸；无热原质水；等渗

生理盐水;林格氏溶液(Ringer's solution);乙醇;pH缓冲溶液;聚酯、聚碳酸酯和/或聚酸酐;以及在药物制剂中采用的其它无毒性相容物质。

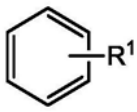
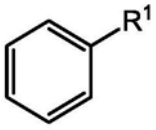
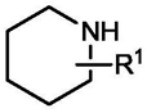
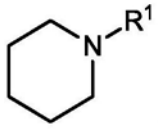
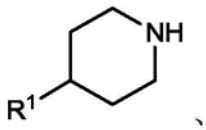
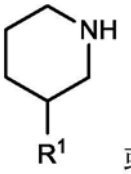
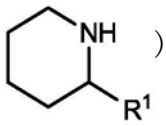
[0081] 药学上可接受的盐:本文使用的术语"药学上可接受的盐"是指适合于在药学背景中使用的这类化合物的盐,即在合理的医学判断范围内,适合与人类和低等动物的组织接触使用,而不会产生过度的毒性、刺激性、过敏反应等,并与合理的效益/风险比相称的盐。药学上可接受的盐是本领域众所周知的。例如,S.M.Berge等人在《药物科学杂志》(J.Pharmaceutical Sciences),66:1-19(1977)中详细描述了药学上可接受的盐。在一些实施方式中,药学上可接受的盐包括但不限于无毒的酸加成盐,它们是氨基与无机酸或与有机酸形成的盐,无机酸如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸以及高氯酸,有机酸如乙酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸,或通过使用本领域中所用的其它方法,如离子交换法形成的盐。在一些实施方式中,药学上可接受的盐包括但不限于己二酸盐、褐藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘化物、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。代表性的碱金属盐或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等。在一些实施方式中,适当时,药学上可接受的盐包括使用抗衡离子形成的无毒的铵、季铵以及胺阳离子,抗衡离子例如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、具有1至6个碳原子的烷基、磺酸根以及芳基磺酸根。

[0082] 预防(Prevent)或预防(prevention):如本文所用,术语"预防(prevent)"或"预防(prevention)"在与疾病、病症和/或病况的发生结合使用时,是指降低发展疾病、病症和/或病况的风险和/或延缓疾病、病症或病况的一种或多种特征或症状的发作。当疾病、病症或病况的发作已被延迟预定的时间段时,可以认为预防完成。

[0083] 特异性:术语"特异性",在本文用于提及具有活性的药剂时,本领域技术人员应理解为是指该药剂对潜在的靶标实体或状态进行区分。例如,在一些实施方式中,如果在存在一个或多个竞争性替代靶标的情况下,药剂优先与其靶标结合,则该药剂被称为与该靶标"特异性"结合。在许多实施方式中,特异性相互作用取决于靶实体的特定结构特征(例如,表位、裂隙、结合位点)的存在。应理解,特异性不必是绝对的。在一些实施方式中,特异性可相对于结合剂对一个或多个其它潜在靶实体(例如,竞争者)的特异性进行评估。在一些实施方式中,特异性相对于参考特异性结合剂的特异性进行评估。在一些实施方式中,特异性相对于参考非特异性结合剂的特异性进行评估。在一些实施方式中,药剂或实体在与其靶实体结合的条件下,不会检测到与竞争性替代靶标结合。在一些实施方式中,与竞争性替代靶标相比,结合剂以较高的结合速率、较低的解离速率、增加的亲和力、减少的解离和/或增加的稳定性与其靶实体结合。

[0084] 受试者:如本文所用,术语"受试者"是指生物体,通常是哺乳动物(例如,人,在一些实施方式中包括产前人形式)。在一些实施方式中,受试者患有相关疾病、病症或病况。在一些实施方式中,受试者易患疾病、病症或病况。在一些实施方式中,受试者显示疾病、病症

或病况的一种或多种症状或特征。在一些实施方式中，受试者不显示疾病、病症或病况的任何症状或特征。在一些实施方式中，受试者是具有疾病、病症或病况的易感性或风险的一个或多个特征的人。在一些实施方式中，受试者是患者。在一些实施方式中，受试者是正在和/或已经对其进行诊断和/或治疗的个体。

[0085] 被取代或任选地被取代：如本文所述，本发明的化合物可含有“任选地被取代”的部分。一般来说，术语“被取代”，无论前面是否有术语“任选地”，都意指指定部分的一个或多个氢被合适的取代基置换。“被取代”适用于从结构中明确或隐含的一个或多个氢(例如，至少指；并且至少指、、、或)。除非另外指示，否则“任选地被取代”的基团可在该基团的每个可取代位置处具有合适的取代基，并且当任何给定结构中的超过一个位置可以被超过一个选自指定基团的取代基取代时，取代基在每一位置处可以是相同或不同的。本发明所设想的取代基组合优选是引起稳定或化学上可行的化合物的形成的那些取代基组合。本文使用的术语“稳定”是指化合物在经历允许其生产、检测以及在某些实施方式中，其回收、纯化和用于本文公开的一个或多个目的的条件时，基本上不发生改变。

[0086] “任选地被取代”的基团的可取代碳原子上的合适的单价取代基独立地是卤素；$-(CH_2)_{0-4}R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$；$-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$；$-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$；$-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}Ph$，其可被$R^\circ$取代；$-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$，其可被$R^\circ$取代；$-CH=CHPh$，其可被$R^\circ$取代；$-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$-吡啶基，其可被$R^\circ$取代；$-NO_2$；$-CN$；$-N_3$；$-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$；$-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$；$-N(R^\circ)C(S)R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$；$-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$；$-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$；$-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$；$-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$；$-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$；$-C(S)R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$；$-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$；$-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$；$-C(S)NR^\circ_2$；$-C(S)SR^\circ$；$-SC(S)SR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$；$-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$；$-C(O)C(O)R^\circ$；$-C(O)CH_2C(O)R^\circ$；$-C(NOR^\circ)R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$；$-S(O)_2NR^\circ_2$；$-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$；$-N(R^\circ)S(O)_2NR^\circ_2$；$-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$；$-N(OR^\circ)R^\circ$；$-C(NH)NR^\circ_2$；$-P(O)_2R^\circ$；$-P(O)R^\circ_2$；$-OP(O)R^\circ_2$；$-OP(O)(OR^\circ)_2$；$SiR^\circ_3$；$-(C_{1-4}$直链或支链亚烷基$)O-N(R^\circ)_2$；或$-(C_{1-4}$直链或支链亚烷基$)C(O)O-N(R^\circ)_2$，其中每个$R^\circ$可如下文所定义被取代，并且独立地是氢、$C_{1-6}$脂肪族、$-CH_2Ph$、$-O(CH_2)_{0-1}Ph$、$-CH_2-$(5元至6元杂芳基环)、具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5元至6元饱和环、部分不饱和环或芳基环、或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8元至10元双环芳基环，或者，尽管有上述定义，两个独立出现的R°与它们的中间原子一起形成具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3元至12元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环或桥接环，其可如下文所定义被取代。

[0087] R°(或两个独立出现的R°与它们的中间原子一起形成的环)上合适的单价取代基独立地是卤素、$-(CH_2)_{0-2}R^\bullet$、-(卤基$R^\bullet$)、$-(CH_2)_{0-2}OH$、$-(CH_2)_{0-2}OR^\bullet$、$-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\bullet)_2$、-O(卤

基R•)、-CN、-N_3、-$(CH_2)_{0-2}$C(O)R•、-$(CH_2)_{0-2}$C(O)OH、-$(CH_2)_{0-2}$C(O)OR•、-$(CH_2)_{0-2}$SR•、-$(CH_2)_{0-2}$SH、-$(CH_2)_{0-2}$$NH_2$、-$(CH_2)_{0-2}$NHR•、-$(CH_2)_{0-2}$$NR•_2$、-$NO_2$、-$SiR•_3$、-OSiR•$_3$、-C(O)SR•、-($C_{1-4}$直链或支链亚烷基)C(O)OR•或-SSR•,其中每个R•是未被取代的,或前面有"卤基"的地方仅被一个或多个卤素取代,并且独立地选自C_{1-4}脂肪族、-CH_2Ph、-O$(CH_2)_{0-1}$Ph或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3元至6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。R°的饱和碳原子上合适的二价取代基包括=O和=S。

[0088] "任选地被取代"的基团的饱和碳原子上合适的二价取代基包括以下:=O("氧代")、=S、=NNR*$_2$、=NNHC(O)R*、=NNHC(O)OR*、=NNHS(O)$_2$R*、=NR*、=NOR*、-O(C(R*$_2$))$_{2-3}$O-或-S(C(R*$_2$))$_{2-3}$S-,其中每个独立出现的R*选自氢、可如下文所定义被取代的C_{1-6}脂肪族、或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未被取代的5元至6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。与"任选地被取代"的基团的邻位可取代碳结合的合适的二价取代基包括:-O(CR*$_2$)$_{2-3}$O-,其中每个独立出现的R*选自氢、可如下文所定义被取代的C_{1-6}脂肪族、或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未被取代的5元至6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0089] R*的脂肪族基团上合适的取代基包括卤素、-R•、-(卤基R•)、-OH、-OR•、-O(卤基R•)、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR•、-NH_2、-NHR•、-$NR•_2$或-NO_2,其中每个R(是未被取代的,或前面有"卤基"的地方仅被一个或多个卤素取代,并且独立地是C_{1-4}脂肪族、-CH_2Ph、-O$(CH_2)_{0-1}$Ph或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5元至6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0090] "任选地被取代"的基团的可取代氮上的合适取代基包括-$R^{\dagger}$、-$NR^{\dagger}_2$、-C(O)$R^{\dagger}$、-C(O)O$R^{\dagger}$、-C(O)C(O)$R^{\dagger}$、-C(O)CH_2C(O)$R^{\dagger}$、-S(O)$_2$$R^{\dagger}$、-S(O)$_2$$NR^{\dagger}_2$、-C(S)$NR^{\dagger}_2$、-C(NH)$NR^{\dagger}_2$或-N($R^{\dagger}$)S(O)$_2$$R^{\dagger}$;其中每个$R^{\dagger}$独立地是氢、可如下文所定义被取代的$C_{1-6}$脂肪族、未被取代的-OPh、或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫杂原子的未被取代的5元至6元饱和环、部分不饱和环或芳基环,或者,尽管有上述定义,两个独立出现的$R^{\dagger}$与它们的中间原子一起形成具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未被取代的3元至12元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环。

[0091] $R^{\dagger}$的脂肪族基团上合适的取代基独立地是卤素、-R•、-(卤基R•)、-OH、-OR•、-O(卤基R•)、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR•、-NH_2、-NHR•、-$NR•_2$或-NO_2,其中每个R•是未被取代的,或前面有"卤基"的地方仅被一个或多个卤素取代,并且独立地是C_{1-4}脂肪族、-CH_2Ph、-O$(CH_2)_{0-1}$Ph或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5元至6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0092] 治疗剂:如本文所用,短语"治疗剂"通常是指当施用于生物体时引起期望的药理作用的任何药剂。在一些实施方式中,如果药剂在适当的群体中显示出统计学上显著的作用,则认为该药剂是治疗剂。在一些实施方式中,适当的群体可以是模型生物体的群体。在一些实施方式中,适当的群体可以由各种标准定义,例如某个年龄组、性别、遗传背景、预先存在的临床病况等。在一些实施方式中,治疗剂是可用于减轻、改善、缓解、抑制、预防疾病、病症和/或病况的一种或多种症状或特征、延缓其发作、降低其严重程度和/或降低其发病率的物质。在一些实施方式中,"治疗剂"是指已经或需要由政府机构批准才能将其销售给人类施用的药剂。在一些实施方式中,"治疗剂"是需要医疗处方才能给人类施用的药剂。

[0093] 治疗:如本文所用,术语“治疗(treat)”、“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”是指用于部分或完全减轻、改善、缓解、抑制、预防疾病、病症和/或病况的一种或多种症状或特征、延迟其发作、降低其严重程度和/或减少其发生率的任何方法。可以向没有表现出疾病、病症和/或病况的迹象的受试者施用治疗。在一些实施方式中,可以向仅表现出疾病、病症和/或病况的早期迹象的受试者施用治疗,例如出于降低发展出与该疾病、病症和/或病况相关的病理的风险的目的。

具体实施方式

[0094] 程序性轴突变性和SARM1

[0095] 轴突变性是神经系统疾病的主要病理特征,例如但不限于阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、ALS、多发性硬化症、糖尿病性外周神经病变、化疗诱导的外周神经病变、遗传性神经病变、创伤性脑损伤和/或青光眼。受损或不健康的轴突通过内在的自我毁灭程序被消除,这种程序不同于传统的细胞死亡途径,如被称为华勒氏变性(Wallerian degeneration)的细胞凋亡。(Gerdts,J.等人,《神经元》(Neuron),2016,89,449-460;Whitmore,A.V.等人,《细胞死亡与分化》(Cell Death Differ.),2003,10,260-261)。在华勒氏变性中,外周神经在损伤远端轴突段发生选择性分解,而近端轴突段和细胞体保持完整。这种变性的特征是,首先是烟酰胺单核苷酸腺苷转移酶(NMNAT)的耗竭,随后是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD+)损耗、三磷酸腺苷(ATP)损耗、神经丝蛋白水解,最后在损伤后约8至24小时发生轴突退化。(Gerdts,J.等人,《神经元》,2016,89,449-460)。

[0096] NAD+是一种普遍存在的代谢物,在能量代谢和细胞信号传导中起关键作用(Belenkey等人,《生物化学趋势》(Trends Biochem.),2007,32,12-19;Chiarugi等人,《自然综述癌症》(Nat.Rev.Cancer),2012,12,741-752)。NAD+水平的稳态调节也负责维持轴突的稳定性和完整性。因此,增加NMNAT1轴突定位的操作赋予轴突保护(Babetto等人,《细胞报导》(Cell Rep.),2010,3,1422-1429;Sasaki等人,《神经科学杂志》(J.Neurosci.),2009)。

[0097] 在原代小鼠神经元的全基因组RNAi筛选中,鉴定出SARM1(Sterile Alpha and TIR motif-containing 1)),其中敲减SARM1使得感觉神经元得到针对损伤诱导的轴突变性的长效保护(Gerdts等人,《神经科学杂志》,2013,33,13569-13580)。SARM1属于胞质衔接蛋白家族,但在其成员中是独特的,因为它是进化最古老的衔接子,矛盾地抑制TLR信号传导,并已被确定为损伤诱导的轴突死亡途径的核心执行者(O'Neill,L.A.和Bowie,A.G.,《自然综述·免疫学》(Nat.Rev.Immunol.),2007,7,353-364;Osterloh,J.M.等人,《科学》,2012,337,481-484;Gerdts,J.等人,《神经科学杂志》33,2013,13569-13580)。通过轴突损伤或SARM1-TIR域的强制二聚化激活SARM1,会促进烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD+)的快速和灾难性消耗,随后很快就会出现轴突退化,从而突出了NAD+稳态在轴突完整性中的核心作用。(Gerdts,J.等人,《科学》,2015,348,453-457)。SARM1对于这种损伤诱导的NAD+耗竭在体内和体外均是必需的,并且SARM1的激活经由NAD(+)的破坏局部地触发了轴突变性(Gerdts等人,《科学》,2015 348,452-457;Sasaki等人,《生物化学杂志》(J.Biol.Chem.)2015,290,17228-17238;两者均特此以全文引用的方式并入)。

[0098] 从遗传功能丧失的研究中可以清楚地看出,SARM1在损伤后充当轴突变性途径的

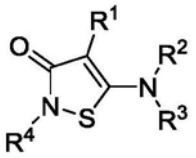
核心执行者。遗传敲除SARM1可使神经横断后的轴突保存长达14天(Osterloh,J.M.等人,《科学》,2012,337,481-484;Gerdts,J.等人,《神经科学杂志》,2013,33,13569-13580),还能改善小鼠创伤性脑损伤后的功能结果(Henninger,N.等人,《脑》(Brain)139,2016,1094-1105)。除了SARM1在直接轴突损伤中的作用外,观察到,SARM1对于化疗诱导的外周神经病变中的轴突变性也是必需的。SARM1的缺失会阻断化疗诱导的外周神经病变,两者均会抑制轴突变性以及在化疗长春新碱治疗后产生的增加的疼痛敏感性(Geisler等人,《脑》,2016,139,3092-3108)。

[0099] SARM1含有多个保守的基序,包括SAM域、ARM/HEAT基序和TIR域(图1),这些基序介导寡聚化和蛋白质-蛋白质相互作用(O'Neill,L.A.和Bowie,A.G.,《自然综述·免疫学》,2007,7,353-364;Tewari,R.等人,《细胞生物学趋势》(Trends Cell Biol.),2010,20,470-481;Qiao,F.和Bowie,J.U.,《科学信号》(Sci.STKE)2005,re7,2005)。TIR域通常存在于在先天免疫途径中起作用的信号传导蛋白中,它们在其中充当蛋白质复合物的支架(O'Neill,L.A.和Bowie,A.G.,《自然综述·免疫学》,2007,7,353-364)。有趣的是,SARM1-TIR域的二聚化足以诱导轴突变性,并通过充当NAD+裂解酶迅速触发NAD+的降解(Milbrandt等人,WO 2018/057989;Gerdts,J.等人,《科学》,2015,348,453-457)。鉴于SARM1在轴突变性途径中的核心作用及其已确定的NAD酶活性,已经做了很多努力来鉴定能够调节SARM1并可能充当有用的治疗剂的药剂,例如,以防止发生神经退行性疾病,包括外周神经病变、创伤性脑损伤和/或神经退行性疾病。

[0100] 除其它外,本公开提供了充当SARM1抑制剂(例如,作为SARM1抑制剂)的某些化合物和/或组合物,以及与之相关的技术。

[0101] 化合物

[0102] 在一些实施方式中,本公开提供了式I所示的化合物:

[0103] 

I

[0104] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0105] R^1选自-CN、$-NO_2$、-C(O)R、-S(O)$_2$R、-CON(R)$_2$、-S(O)$_2$N(R)$_2$和$-CO_2R$;

[0106] R^2是-R;

[0107] R^3是-(CH$_2$)$_{0-2}$Cy,或:

[0108] R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成与Cy稠合的4元至7元饱和或部分不饱和的环,或形成被-Cy取代的4元至7元饱和或部分不饱和的环;

[0109] Cy选自苯基、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环、和8元至10元双环芳基环,其中每个苯基、杂芳基环和芳基环被0-4个R^x取代;

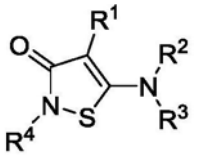
[0110] 每个R^x独立地选自卤素、-CN、$-NO_2$、-OR、-SR、-N(R)$_2$、$-SO_2R$、$-SO_2N$(R)$_2$、$-CO_2R$、-CON(R)$_2$、-N(R)SO_2R、-N(R)C(O)R和任选地被取代的C_{1-6}脂肪族;

[0111] R^4是-R;并且

[0112] 每个R独立地是氢或任选地被取代的C_{1-6}脂肪族;或:

[0113] 两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。

[0114] 在一些实施方式中,本公开提供了具有如式II所示结构的化合物:

[0115] 

II

[0116] 或其药学上可接受的盐,其中

[0117] R^1选自-CN、$-NO_2$、-C(O)R、$-S(O)_2R$、$-CON(R)_2$、$-S(O)_2N(R)_2$、$-CO_2R$、$-C(=NR)N(R)_2$和具有2-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基环;

[0118] R^2是-R;

[0119] R^3是$-(CH_2)_{0-2}Cy$,或:

[0120] R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成与Cy稠合的4元至7元饱和或部分不饱和的环,或形成被-Cy取代的4元至7元饱和或部分不饱和的环;

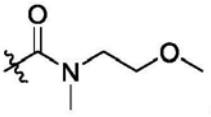
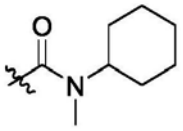
[0121] Cy选自苯基、3元至7元饱和或部分不饱和的碳环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环、和8元至10元双环芳基环,其中每个苯基、碳环、杂芳基环和芳基环被0-4个R^x取代;

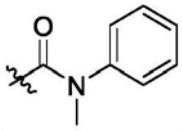
[0122] 每个R^x独立地选自卤素、-CN、$-NO_2$、-OR、-SR、$-N(R)_2$、$-SO_2R$、$-SO_2N(R)_2$、$-CO_2R$、$-CON(R)_2$、$-N(R)SO_2R$、-N(R)C(O)R、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族基团、任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元饱和或部分不饱和的杂环、和任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元杂芳基环;

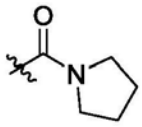
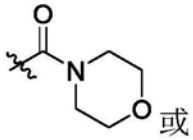
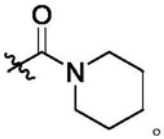
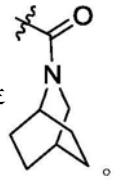
[0123] R^4是-R;并且

[0124] 每个R独立地是氢、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族、任选地被取代的苯基、或任选地被取代的3元至7元饱和或部分不饱和的碳环,或:

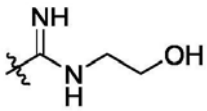
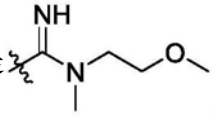
[0125] 两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。

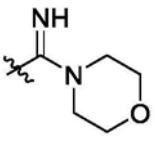
[0126] 如在上文中一般定义,R^1选自-CN、$-NO_2$、-C(O)R、$-S(O)_2R$、$-CON(R)_2$、$-S(O)_2N(R)_2$和$-CO_2R$。在一些实施方式中,R^1选自-CN、$-C(O)N(R)_2$和$-CO_2R$。在一些实施方式中,R^1是-CN。在一些实施方式中,R^1是$-CON(R)_2$。在一些这样的实施方式中,每个R独立地选自氢和C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中,R^1是$-CON(R)_2$,其中每个R独立地选自氢和任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中,R^1是。在一些实施方式中,R^1是$-CON(R)_2$,其中每个R独立地选自氢和C_{1-6}烷基。在一些实施方式中,R^1是$-CON(R)_2$,其中每个R独立地选自氢和$-CH_3$。在一些实施方式中,R^1是$-CONH_2$。在一些实施方式中,R^1是$-CON(CH_3)_2$。在一些实施方式中,R^1是。在一些实施方式中,R^1是$-CON(R)_2$,其中每个R独立地选自C_{1-6}烷基和

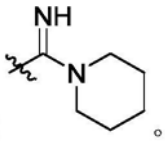
任选地被取代的苯基。在一些实施方式中，R^1是。

[0127] 在一些实施方式中，R^1是-CON(R)$_2$，其中R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族，并且两个R的实例与它们所连接的原子一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。在一些实施方式中，R^1是、或。在一些实施方式中，R^1是-CON(R)$_2$，其中R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族，并且两个R的实例与它们所连接的原子一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8元至10元桥接双环饱和或部分不饱和杂环。在一些实施方式中，R^1是。

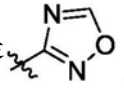
[0128] 在一些实施方式中，R^1是-CO_2R。在一些这样的实施方式中，R选自氢和C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^1是-CO_2R，其中R选自氢和C_{1-6}烷基。在一些实施方式中，R^1是-CO_2R，其中R选自氢和-CH_3。在一些实施方式中，R^1是-CO_2H。在一些实施方式中，R^1是-CO_2CH_3。在一些实施方式中，R^1是-NO_2。在一些实施方式中，R^1是-C(O)R。在一些实施方式中，R^1是-S(O)$_2$R。在一些实施方式中，R^1是-S(O)$_2$N(R)$_2$。

[0129] 在式II的一些实施方式中，R^1是-C(=NR)N(R)$_2$。在式II的一些实施方式中，R^1是-C(=NR)N(R)$_2$，其中R选自氢和任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R^1是-C(=NR)N(R)$_2$，其中R选自氢和-CH_3。在式II的一些实施方式中，R^1是-C(=NH)NHCH$_3$。在一些实施方式中，R^1是-C(=NH)N(CH$_3$)$_2$。在式II的一些实施方式中，R^1是-C(=NR)N(R)$_2$，其中R选自氢和被-(CH$_2$)$_{0-4}$OR°取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R^1是-C(=NR)N(R)$_2$，其中R选自氢和被-OH取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R^1是。在式II的一些实施方式中，R^1是-C(=NR)N(R)$_2$，其中R选自H、-CH_3和被-OR°取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R^1是。

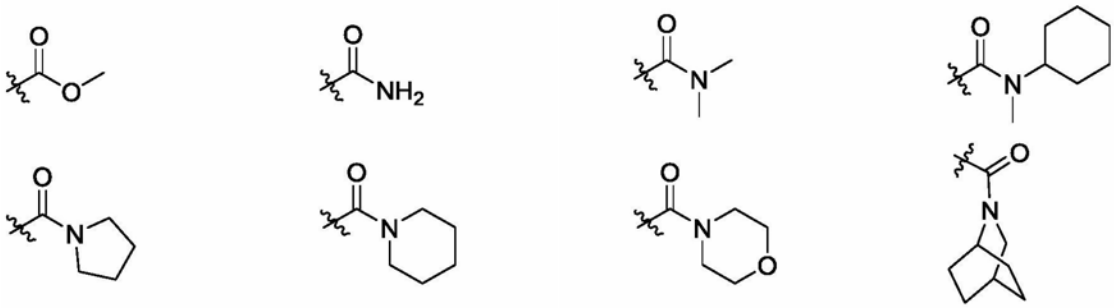
[0130] 在式II的一些实施方式中，R^1是-C(=NH)N(R)$_2$，其中R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族，并且两个R的实例与它们所连接的原子一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。在式II的一些实施方式中，R^1是



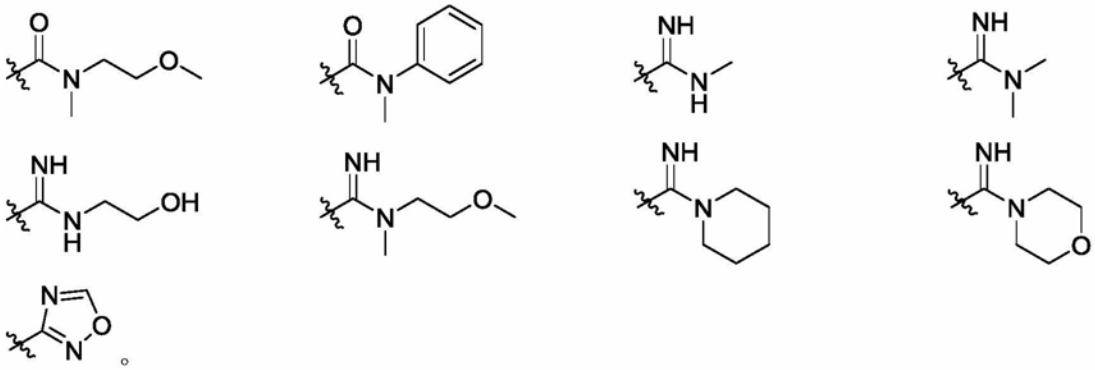
或 。

[0131] 在式II的一些实施方式中，R^1是具有2-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基环。在式II的一些实施方式中，R^1是具有3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基环。在一些实施方式中，R^1是。

[0132] 在一些实施方式中，R^1选自-CN、



[0133]



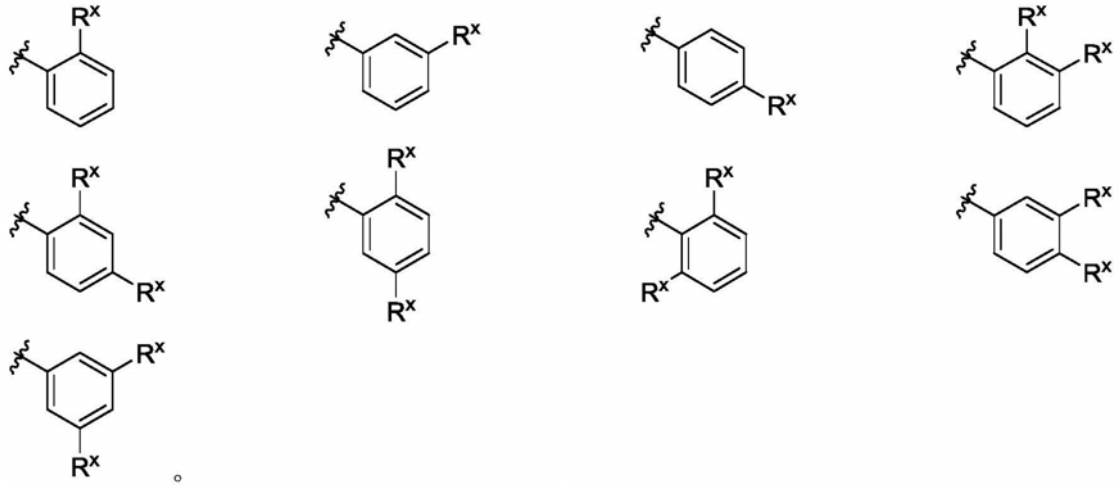
。

[0134] 如在上文中一般定义，R^2是-R。在一些这样的实施方式中，-R是氢。因此，在一些实施方式中，R^2是-H。在一些实施方式中，R^2是-R，其中-R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^2是-R，其中-R是C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^2是-C_{1-6}烷基。在一些这样的实施方式中，R^2是-CH_3。

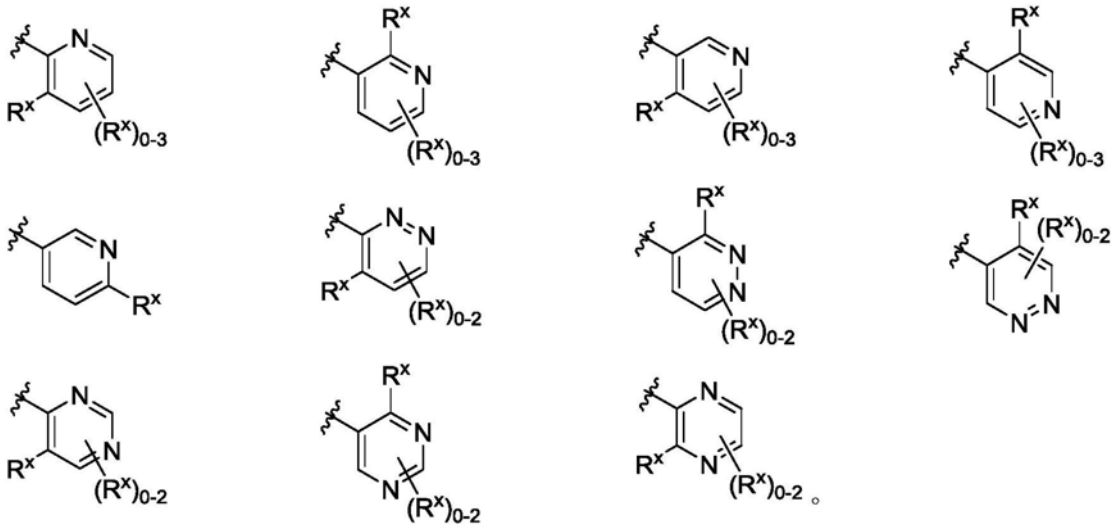
[0135] 如在上文中一般定义，R^3是-$(CH_2)_{0-2}$Cy。在一些实施方式中，R^3是-Cy。在一些实施方式中，R^3是-CH_2-Cy。在一些实施方式中，R^3是-$(CH_2)_2$-Cy。

[0136] 如在上文中一般定义，Cy选自苯基、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环、和8元至10元双环芳基环，其中每个苯基、杂芳基环和芳基环被0-4个R^x取代。

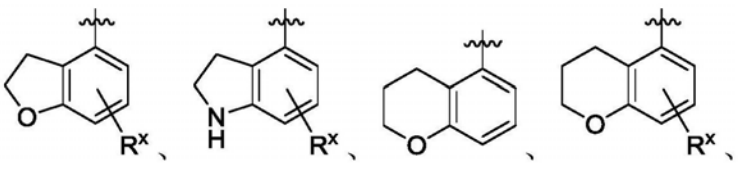
[0137] 在一些实施方式中，Cy是苯基。在一些实施方式中，Cy是被1个R^x取代的苯基。在一些实施方式中，Cy是被2个R^x取代的苯基。在一些实施方式中，Cy选自

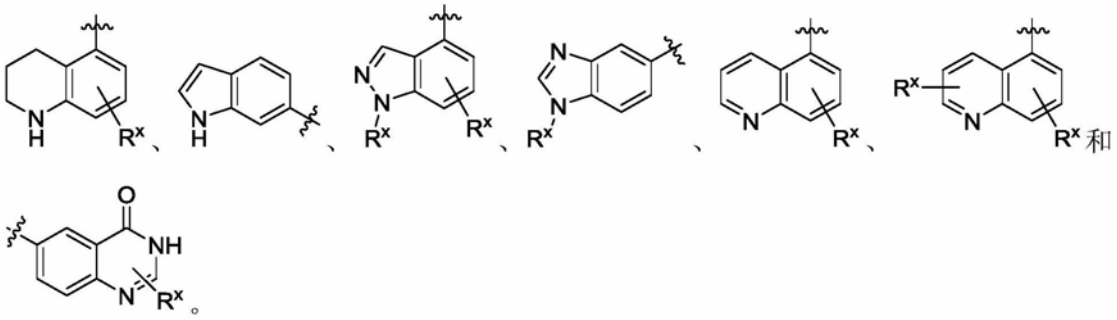


[0138] 在一些实施方式中,Cy是具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环。在一些实施方式中,Cy是具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基环。在一些实施方式中,Cy是具有1-3个氮原子的6元杂芳基环。在一些实施方式中,Cy是具有1-2个氮原子的6元杂芳基环。在一些这样的实施方式中,Cy被1个R^x取代。在一些实施方式中,Cy是吡啶基。在一些这样的实施方式中,Cy是嘧啶-2-基、嘧啶-3-基或嘧啶-4-基。在一些实施方式中,Cy是哒嗪基。在一些实施方式中,Cy是吡嗪基。在一些实施方式中,Cy是嘧啶基。在一些实施方式中,Cy选自:

[0139] 

[0140] 在一些实施方式中,Cy是具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环。在一些实施方式中,Cy是具有1-3个氮原子的8元至10元双环杂芳基环。在一些实施方式中,Cy是具有1-3个氮原子的10元双环杂芳基环。在一些实施方式中,Cy是具有1个氮原子的10元双环杂芳基环。在一些这样的实施方式中,Cy被1个R^x取代。在一些实施方式中,Cy是喹啉-2-基、喹啉-3-基、喹啉-4-基、喹啉-5-基、喹啉-6-基、喹啉-7-基或喹啉-8-基。

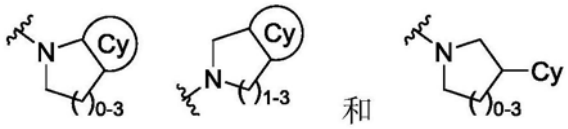
[0141] 在一些实施方式中,Cy选自



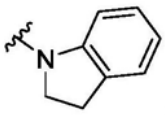
[0142] 在一些实施方式中，Cy是8元至10元双环芳基环。在一些实施方式中，Cy是10元双环芳基环。在一些这样的实施方式中，Cy被1个R^x取代。在一些实施方式中，Cy是萘-1-基。在一些实施方式中，Cy是萘-2-基。

[0143] 在式II的一些实施方式中，Cy是3元至7元饱和或部分不饱和的碳环，其中Cy被0-4个R^x取代。在一些实施方式中，Cy是3元至7元饱和碳环。在一些实施方式中，Cy是环己基。

[0144] 在一些实施方式中，R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成与Cy稠合的4元至7元饱和或部分不饱和的环，或形成被-Cy取代的4元至7元饱和或部分不饱和的环。在一些实施方式中，R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成选自以下的环：

[0145] 

[0146] 其中Cy被0-4个R^x取代。

[0147] 在一些实施方式中，R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成与Cy稠合的5元饱和环。在一些这样的实施方式中，-Cy是苯基。在一些实施方式中，R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成。

[0148] 如在上文中一般定义，每个R^x独立地选自卤素、-CN、$-NO_2$、-OR、-SR、$-N(R)_2$、$-SO_2R$、$-SO_2N(R)_2$、$-CO_2R$、$-CON(R)_2$、$-N(R)SO_2R$、-N(R)C(O)R和任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。

[0149] 在一些实施方式中，R^x是卤素。在一些这样的实施方式中，R^x是氟。在一些实施方式中，R^x是氯。在一些实施方式中，R^x是溴。

[0150] 在一些实施方式中，R^x是-CN。

[0151] 在一些实施方式中，R^x是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^x是任选地被取代的$-C_{1-6}$烷基。在一些实施方式中，R^x是任选地被卤素取代的$-C_{1-6}$烷基。在一些实施方式中，R^x是任选地被取代的$-CH_3$。在一些这样的实施方式中，R^x是$-CF_3$。

[0152] 在一些实施方式中，R^x是C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^x是$-C_{1-6}$烷基。在一些实施方式中，R^x是$-CH_3$。在一些实施方式中，R^x是$-CH(CH_3)_2$。在一些实施方式中，R^x是$-C(CH_3)_3$。在一些实施方式中，R^x是环丙基。

[0153] 在一些实施方式中，R^x是-OR。在一些这样的实施方式中，R是C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^x是-OR，其中R是C_{1-6}烷基。在一些实施方式中，R^x是$-OCH_3$。

[0154] 在一些实施方式中，R^x是-OR。在一些这样的实施方式中，R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^x是-OR，其中R是任选地被取代的C_{1-6}烷基。在一些实施方式

中，R^x是-OR，其中R是任选地被取代的$-CH_3$。在一些实施方式中，R^x是-OR，其中R是$-CF_3$。因此，在一些实施方式中，R^x是$-OCF_3$。

[0155] 在一些实施方式中，R^x是$-SO_2R$。在一些这样的实施方式中，R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^x是$-SO_2R$，其中R是C_{1-6}烷基。在一些实施方式中，R^x是$-SO_2R$，其中R是$-CH_3$。因此，在一些实施方式中，R^x是$-SO_2CH_3$。

[0156] 在一些实施方式中，R^x是$-SO_2N(R)_2$。在一些这样的实施方式中，R选自氢或任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^x是$-SO_2N(R)_2$，其中R选自氢和C_{1-6}烷基。在一些实施方式中，R^x是$-SO_2N(R)_2$，其中R选自氢和$-CH_3$。因此，在一些实施方式中，R^x是$-SO_2NHCH_3$或$-SO_2N(CH_3)_2$。

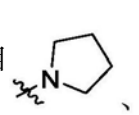
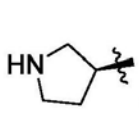
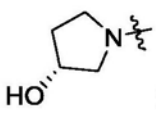
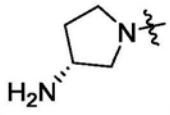
[0157] 在一些实施方式中，R^x是-SR。在一些这样的实施方式中，R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^x是-SR，其中R是C_{1-6}烷基。在一些实施方式中，R^x是-SR，其中R是$-CH_3$。因此，在一些实施方式中，R^x是$-SCH_3$。

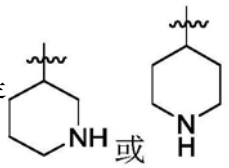
[0158] 在一些实施方式中，R^x是$-N(R)_2$。在一些这样的实施方式中，R选自氢和任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^x是$-NH_2$，在一些实施方式中，R^x是-NHR，其中R是C_{1-6}烷基。在一些实施方式中，R^x是-NHR，其中R是$-CH_3$。因此，在一些实施方式中，R^x是$-NHCH_3$。

[0159] 在一些实施方式中，R^x是$-CON(R)_2$。在一些实施方式中，R^x是$-CONH_2$。

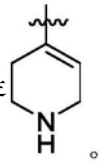
[0160] 在一些实施方式中，R^x是$-CO_2R$。在一些实施方式中，R^x是$-CO_2H$。

[0161] 在一些实施方式中，R^x是$-N(R)SO_2R$。在一些这样的实施方式中，R选自氢或任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^x是$-N(R)SO_2R$，其中R选自氢和C_{1-6}烷基。在一些实施方式中，R^x是$-N(R)SO_2R$，其中R选自氢和$-CH_3$。因此，在一些实施方式中，R^x是$-NHSO_2CH_3$或$-N(CH_3)SO_2CH_3$。

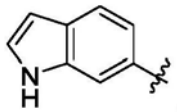
[0162] 如在上文中关于式II一般定义，每个R^x独立地选自卤素、-CN、$-NO_2$、-OR、-SR、$-N(R)_2$、$-SO_2R$、$-SO_2N(R)_2$、$-CO_2R$、$-CON(R)_2$、$-N(R)SO_2R$、$-N(R)C(O)R$、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族基团、任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元饱和或部分不饱和的杂环、和任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元杂芳基环。在式II的一些实施方式中，R^x是任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元饱和或部分不饱和的杂环。在式II的一些实施方式中，R^x是具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元饱和杂环。在式II的一些这样的实施方式中，R^x选自  、  、  和  。

[0163] 在式II的一些实施方式中，R^x是具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的6元饱和杂环。在式II的一些这样的实施方式中，R^x是  。

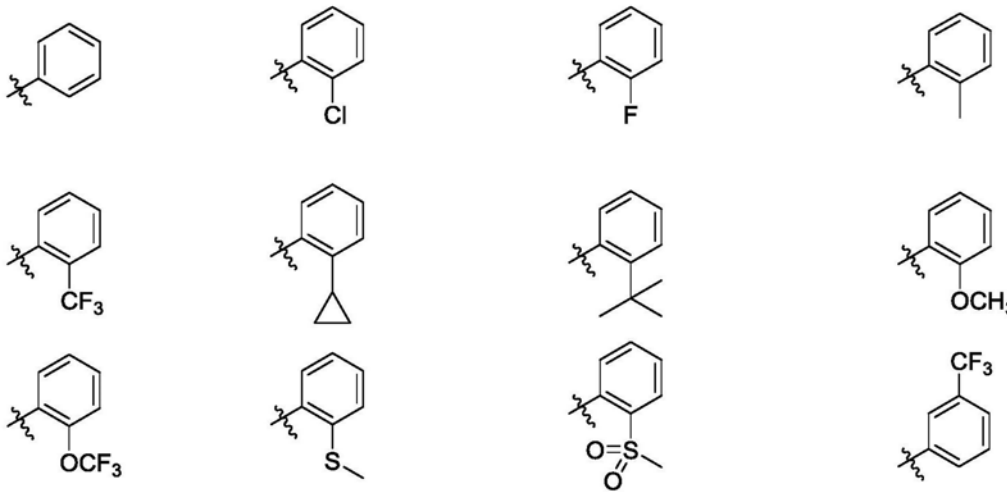
[0164] 在式II的一些实施方式中，R^x是具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的6元

部分不饱和的杂环。在式II的一些这样的实施方式中，R^x是。

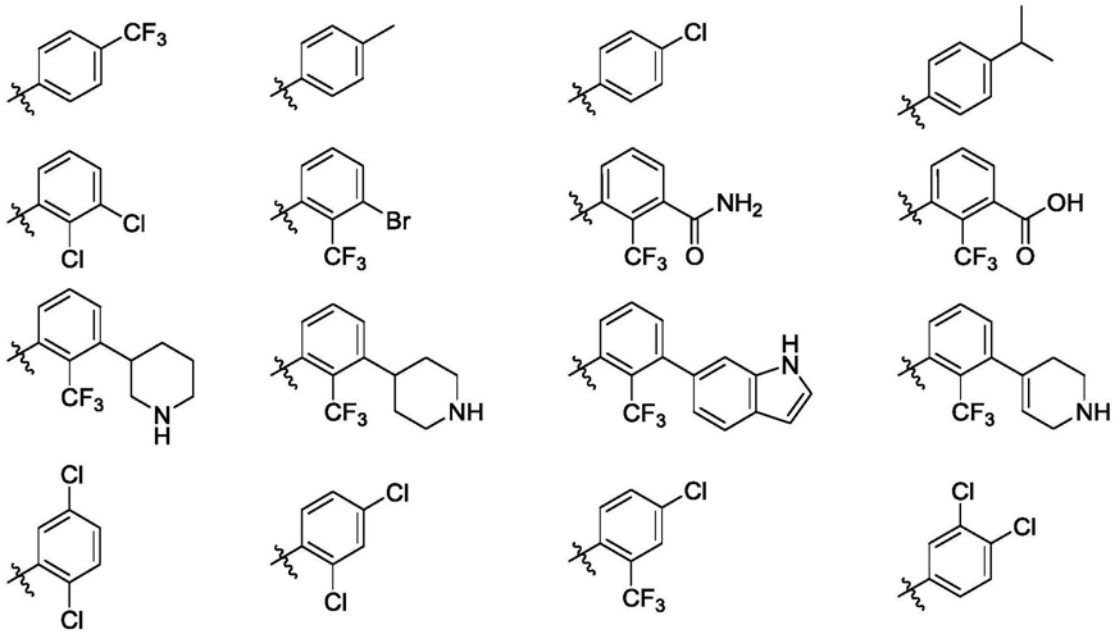
[0165] 在式II的一些实施方式中，R^x是任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元杂芳基环。在式II的一些实施方式中，R^x是任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的9元杂芳基环。在式II的一些这样的实施方式中，R^x是

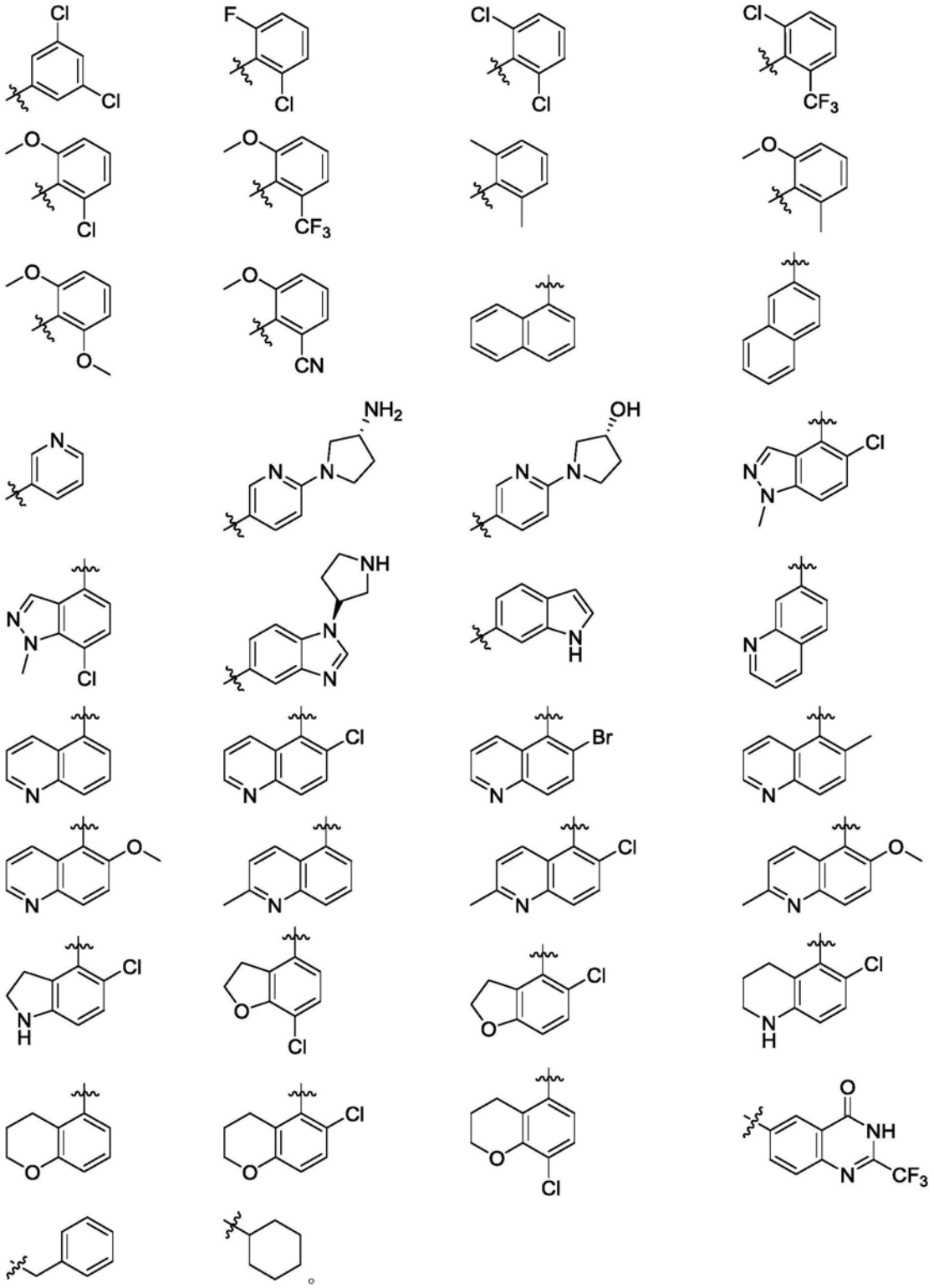
。

[0166] 在一些实施方式中，R^3选自



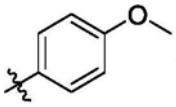
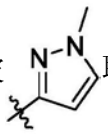
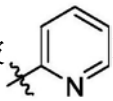
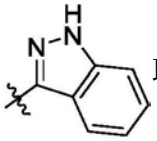
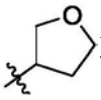
[0167]



[0168] 

[0169] 如在上文中一般定义，R^4是-R。在一些实施方式中，R^4是-R。在一些这样的实施方式中，-R是氢。因此，在一些实施方式中，R^4是氢。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是C_{1-6}烷基。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是C_{1-3}烷基。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是$-CH_3$。因此，在一些实施方式中，R^4是$-CH_3$。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是$-CH_2CH_3$。因此，在一些实施方式中，R^4是$-CH_2CH_3$。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是-

$CH_2CH_2CH_3$。因此，在一些实施方式中，R^4是-$CH_2CH_2CH_3$。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是-$CH(CH_3)_2$。因此，在一些实施方式中，R^4是-$CH(CH_3)_2$。

[0170] 在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被选自以下的基团取代的C_{1-6}脂肪族：-$(CH_2)_{0-4}R^\circ$、-$(CH_2)_{0-4}OR^\circ$、-$(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$、-$(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$、-$(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$、-$(CH_2)_{0-4}C(O)N(R^\circ)_2$或-$(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$。在一些实施方式中，$R^4$是-R，其中R是被-$(CH_2)_{0-4}R^\circ$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在一些这样的实施方式中，$R^\circ$是具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5元至6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被苯基取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被具有1-3个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5元杂芳基环取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被具有1-3个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的6元杂芳基环取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的8元至10元双环芳基环取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5元饱和杂环取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被取代的C_{1-6}脂肪族。

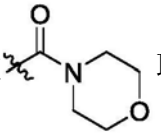
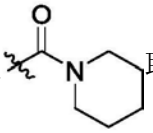
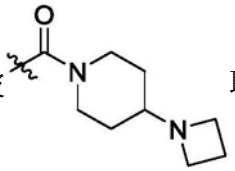
[0171] 在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-$(CH_2)_{0-4}OR^\circ$取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-OR°取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-OH取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-OCH_3取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-$OCH_2CH_2OCH_2C{\equiv}CH$取代的$C_{1-6}$脂肪族。

[0172] 在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-$(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-$N(R^\circ)_2$取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-NH_2取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-$N(CH_3)_2$取代的C_{1-6}脂肪族。

[0173] 在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-$(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在一些实施方式中，$R^4$是-R，其中R是被-$S(O)_2R^\circ$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在一些实施方式中，$R^4$是-R，其中R是被-$S(O)_2CH_3$取代的$C_{1-6}$脂肪族。

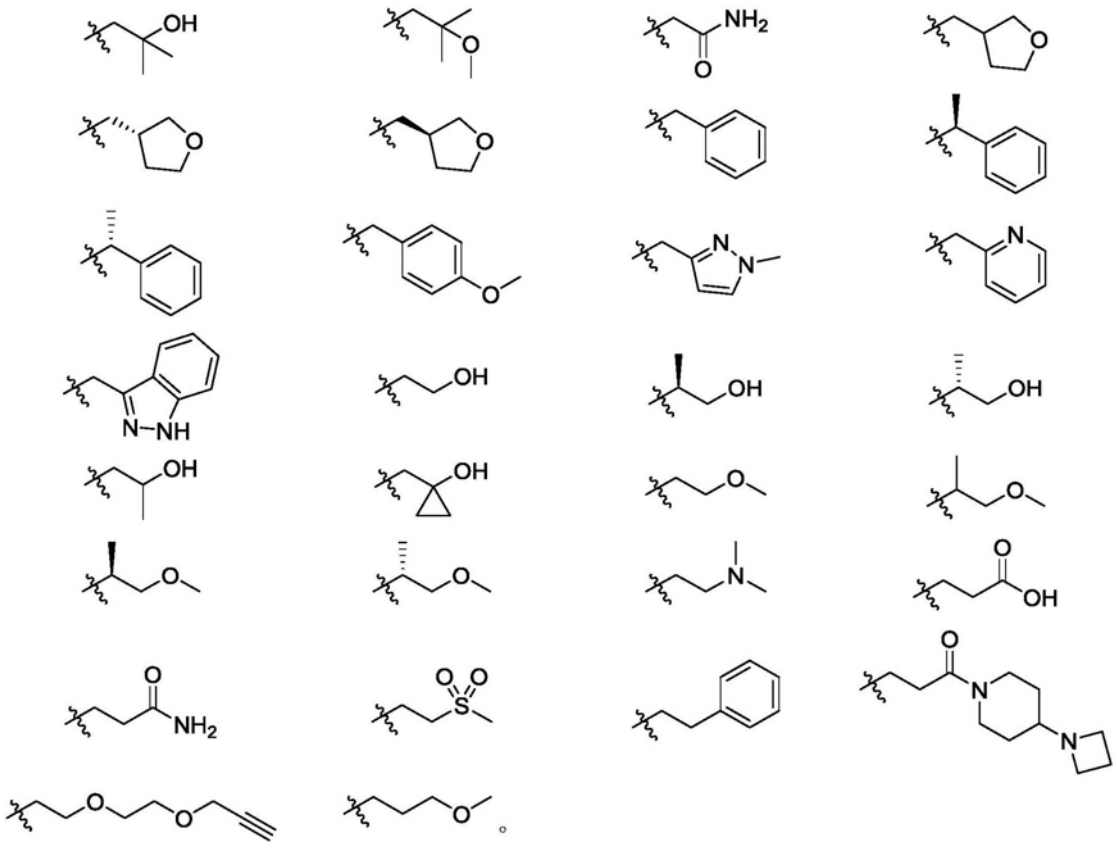
[0174] 在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-$(CH_2)_{0-4}C(O)N(R^\circ)_2$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在一些实施方式中，$R^4$是-R，其中R是被-$C(O)N(R^\circ)_2$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在一些实施方式中，$R^4$

是-R，其中R是被-C(O)NH_2取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-C(O)N(R°)$_2$取代的C_{1-6}脂肪族，其中两个独立出现的R°与它们的中间原子一起形成具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3元至12元饱和环、部分不饱和环或芳基单环或双环。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-C(O)N(R°)$_2$取代的C_{1-6}脂肪族，其中两个独立出现的R°与它们的中间原子一起形成具有1-2个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5元至6元饱和单环。

在一些这样的实施方式中，R^4是-R，其中R是被 取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被 取代的C_{1-6}脂肪族。

[0175] 在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-$(CH_2)_{0-4}$C(O)OR°取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-C(O)OR°取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R^4是-R，其中R是被-C(O)OH取代的C_{1-6}脂肪族。

[0176] 在一些实施方式中，R^4是H、-CH_3、-CH_2CH_3、-$CH_2CH_2CH_3$、-$CH(CH_3)_2$或选自以下的基团：

[0177] 。

[0178] 如在上文中一般定义，每个R独立地是氢或任选地被取代的C_{1-6}脂肪族；或两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。

[0179] 在一些实施方式中，R是氢。在一些实施方式中，R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些这样的实施方式中，R是-C_{1-6}烷基。在一些实施方式中，R是-CH_3。在一些实施方式中，R是任选地被卤素取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}R^\circ$取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-R°取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}OR^\circ$取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-OR°取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$N(R^\circ)_2$取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$C(O)OR^\circ$取代的C_{1-6}脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}C(O)N(R^\circ)_2$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$C(O)N(R^\circ)_2$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在一些实施方式中，R是任选地被-$S(O)_2R^\circ$取代的$C_{1-6}$脂肪族。

[0180] 在一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。在一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成6元饱和或部分不饱和的杂环。在一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成吡咯烷基环。在一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成吗啉基环。在一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成哌啶基环。在一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成2-氮杂双环[2.2.2]辛基环。

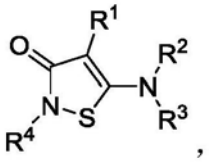
[0181] 如在上文中关于式II的一般定义，每个R独立地是氢、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族、任选地被取代的苯基、或任选地被取代的3元至7元饱和或部分不饱和的碳环，或两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。在式II的一些实施方式中，R是氢。在式II的一些实施方式中，R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。在一些这样的实施方式中，R是-C_{1-6}烷基。在式II的一些实施方式中，R是-CH_3。

[0182] 在式II的一些实施方式中，R是任选地被卤素取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}R^\circ$取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-R°取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}OR^\circ$取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-OR°取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$N(R^\circ)_2$取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$C(O)OR^\circ$取代的C_{1-6}脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}C(O)N(R^\circ)_2$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$C(O)N(R^\circ)_2$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$取代的$C_{1-6}$脂肪族。在式II的一些实施方式中，R是任选地被-$S(O)_2R^\circ$取代的$C_{1-6}$脂肪族。

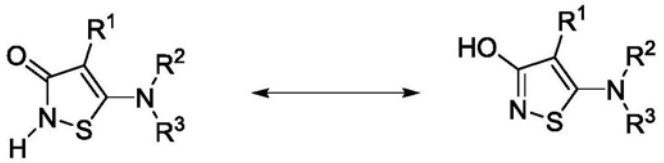
[0183] 在式II的一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。在式II的一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成6元饱和或部分不饱和的杂环。在式II的一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成吡咯烷基环。在式II的一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原

子一起形成吗啉基环。在式II的一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成哌啶基环。在式II的一些实施方式中，两个R的实例与它们所连接的原子一起形成2-氮杂双环[2.2.2]辛基环。

[0184] 应理解，具有以下结构的式I或式II所示的化合物

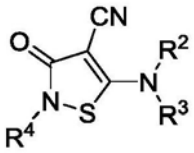
[0185] 

[0186] 当R^4是H时，可以以两种互变异构形式存在：

[0187] 

[0188] 因此，应理解，当R^4是H时，式I或式II所示的化合物可以以任一互变异构形式绘制。

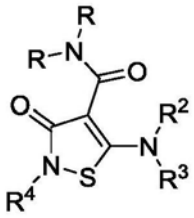
[0189] 在式I或式II的一些实施方式中，R^1是-CN。因此，在一些实施方式中，本公开提供了式I-a所示化合物：

[0190] 

I-a

[0191] 或其药学上可接受的盐，其中R^2、R^3和R^4中的每一个如上文所定义并在本文中描述。

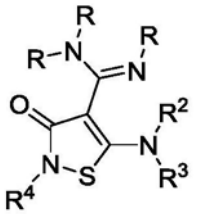
[0192] 在式I或式II的一些实施方式中，R^1是$-CON(R)_2$。因此，在一些实施方式中，本公开提供了式I-b所示的化合物：

[0193] 

[0194] **I-b**

[0195] 或其药学上可接受的盐，其中R^2、R^3、R^4和R中的每一个如上文所定义并在本文中描述。

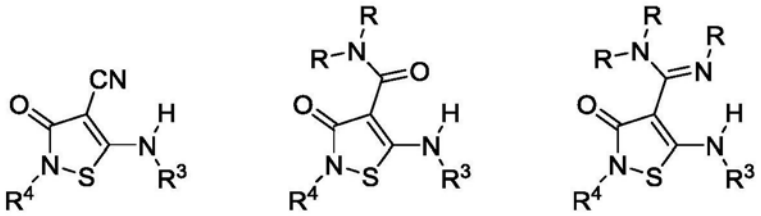
[0196] 在式I或式II的一些实施方式中，R^1是$-C(=NR)N(R)_2$。因此，在一些实施方式中，本公开提供了式I-c所示的化合物：

[0197] 

I-c

[0198] 或其药学上可接受的盐，其中R^2、R^3、R^4和R中的每一个如上文所定义并在本文中描述。

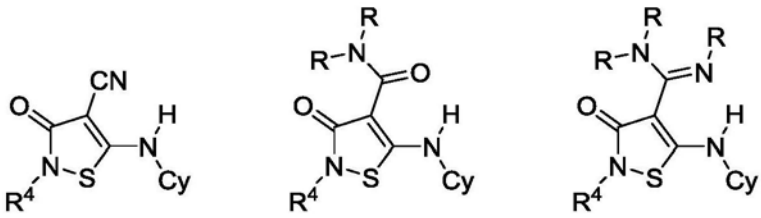
[0199] 在式I-a、I-b或I-c的一些实施方式中，R^2是H。因此，本公开提供了式I-a-i、I-b-i或I-c-i所示的化合物：

[0200] 

I-a-*i* I-b-*i* I-c-*i*

[0201] 或其药学上可接受的盐，其中R^3、R^4和R中的每一个如上文所定义并在本文中描述。

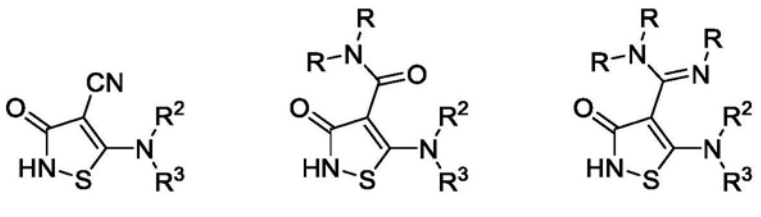
[0202] 在式I-a-i、I-b-i或I-c-i的一些实施方式中，R^3是Cy。因此，本公开提供了式I-a-ii、I-b-ii或I-c-ii所示的化合物：

[0203] 

I-a-*ii* I-b-*ii* I-c-*ii*

[0204] 或其药学上可接受的盐，其中Cy、R^4和R中的每一个如上文所定义并在本文中描述。

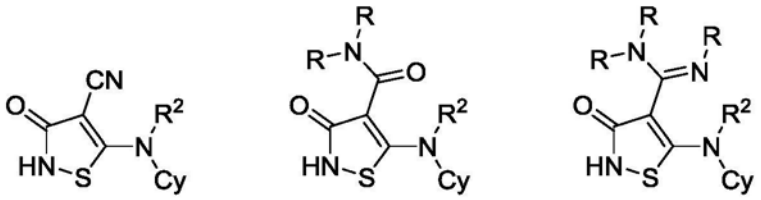
[0205] 在式I-a、I-b或I-c的一些实施方式中，R^4是氢。因此，本公开提供了式I-a-iii、I-b-iii或I-c-iii所示的化合物：

[0206] 

I-a-*iii* I-b-*iii* I-c-*iii*

[0207] 或其药学上可接受的盐，其中R^2、R^3和R中的每一个如上文所定义并在本文中描述。

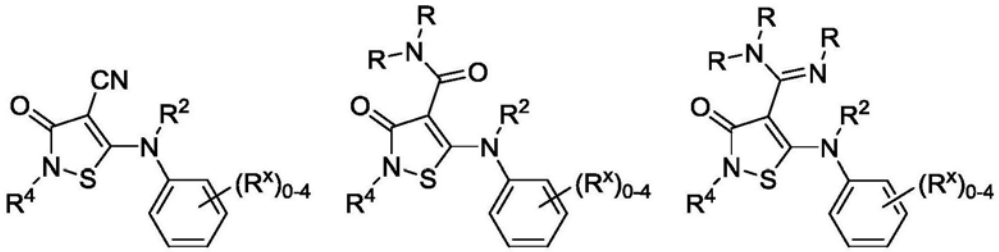
[0208] 在式I-a-iii、I-b-iii或I-c-iii的一些实施方式中，R^3是Cy。因此，本公开提供了式I-a-iv、I-b-iv或I-c-iv所示的化合物：

[0209] 

I-a-*iv* I-b-*iv* I-c-*iv*

[0210] 或其药学上可接受的盐，其中Cy、R^2和R中的每一个如上文所定义并在本文中描述。

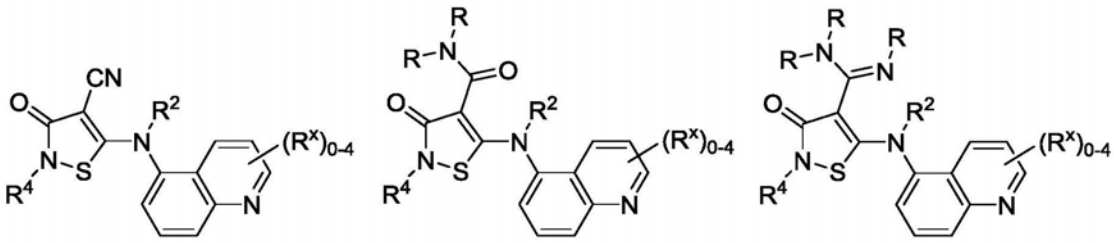
[0211] 在式I-a、I-b或I-c的一些实施方式中，R^3是-Cy，其中-Cy是被0-4个R^x基团取代的苯基。因此，在一些实施方式中，本公开提供了式I-a-v或I-b-v或I-c-v所示的化合物：

[0212] 

I-a-*v* I-b-*v* I-c-*v*

[0213] 或其药学上可接受的盐，其中R^2、R^4、R和R^x中的每一个如上文所定义并在本文中描述。

[0214] 在式I-a、I-b或I-c的一些实施方式中，R^3是-Cy，其中-Cy是被0-4个R^x基团取代的喹啉-5-基。因此，在一些实施方式中，本公开提供了式I-a-vi或I-b-vi或I-c-vi所示的化合物：

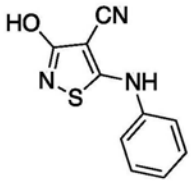
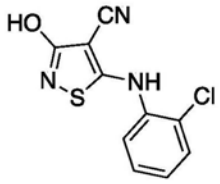
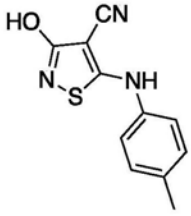
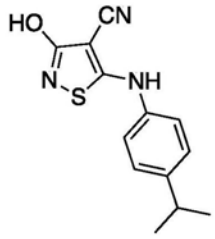
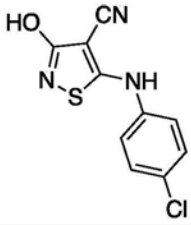
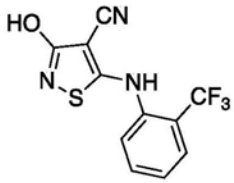
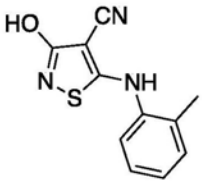
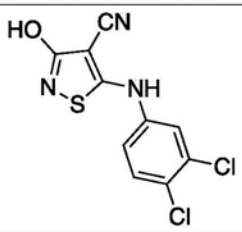
[0215] 

I-a-*vi* I-b-*vi* I-c-*vi*

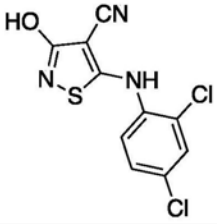
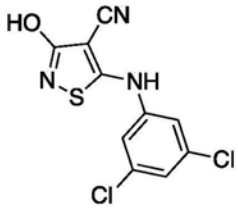
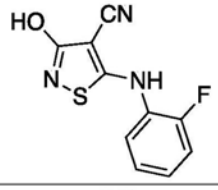
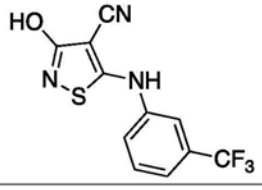
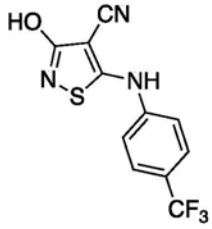
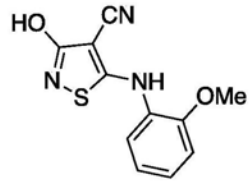
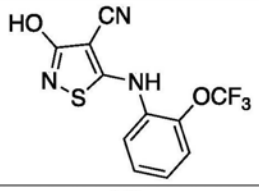
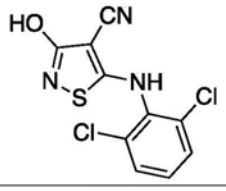
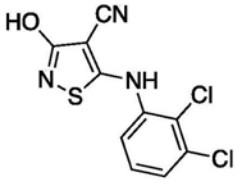
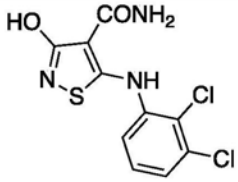
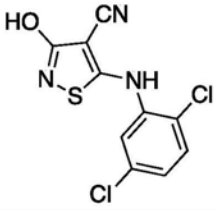
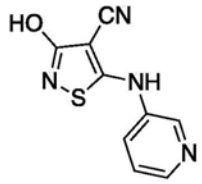
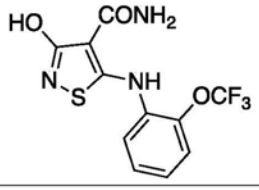
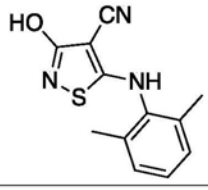
[0216] 或其药学上可接受的盐，其中R^2、R^4、R和R^x中的每一个如上文所定义并在本文中描述。

[0217] 在一些实施方式中，本公开提供了选自以下的化合物：

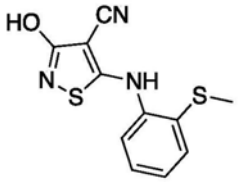
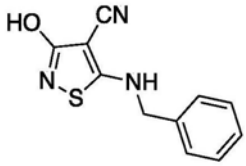
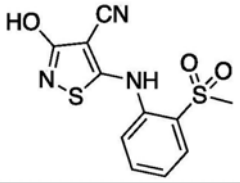
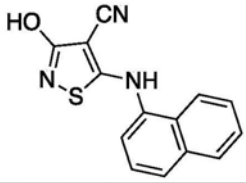
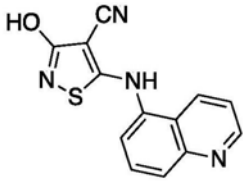
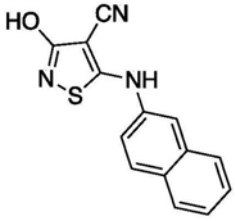
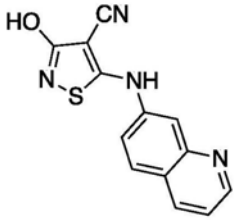
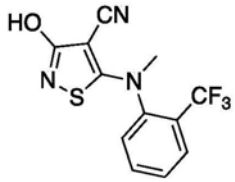
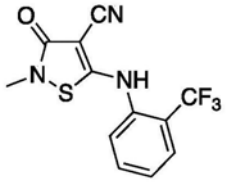
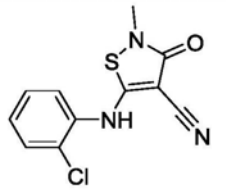
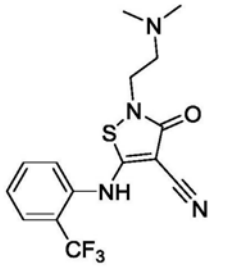
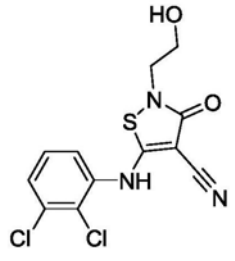
[0218]

实例	结构	实例	结构
1		2	
3		4	
5		6	
7		8	

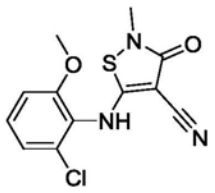
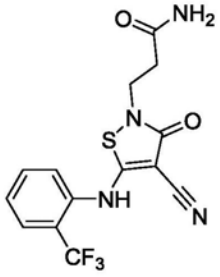
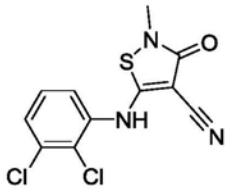
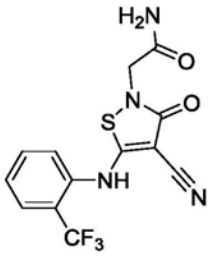
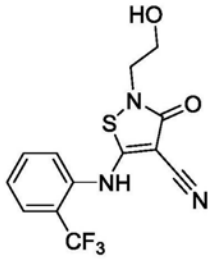
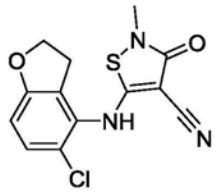
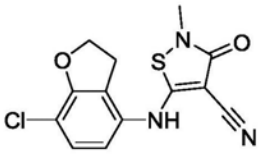
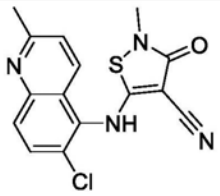
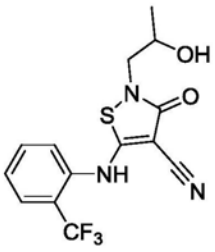
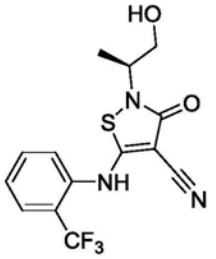
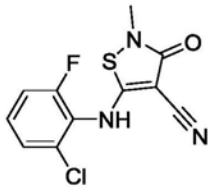
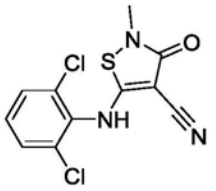
[0219]

实例	结构	实例	结构
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	
17		18	
19		20	
21		22	

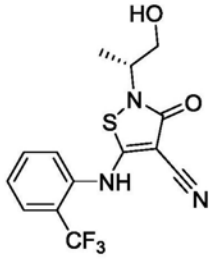
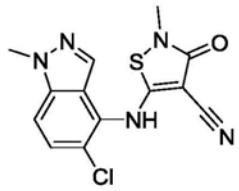
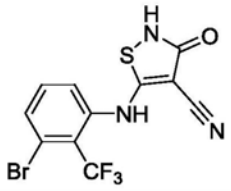
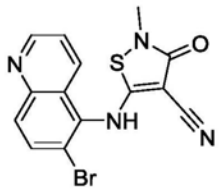
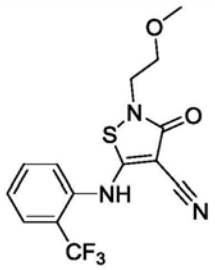
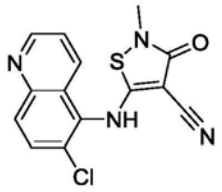
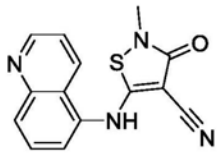
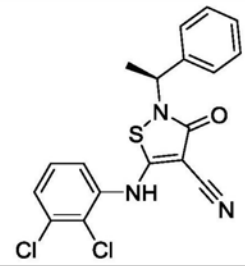
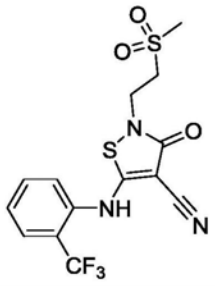
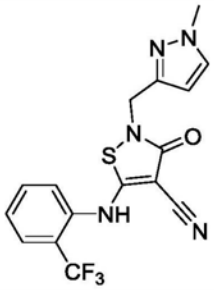
[0220]

实例	结构	实例	结构
23		24	
25		26	
27		28	
29		30	
31		32	
33		34	

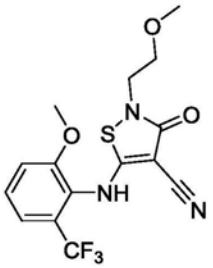
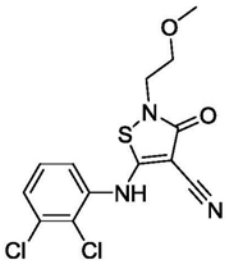
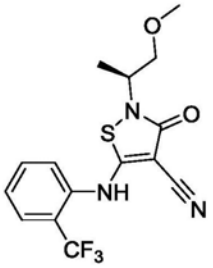
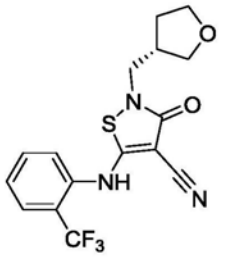
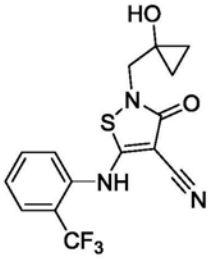
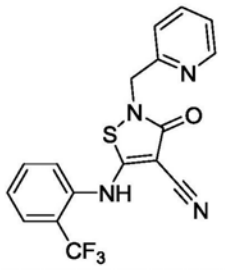
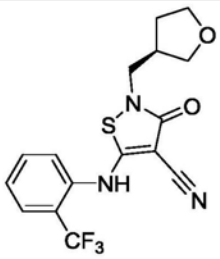
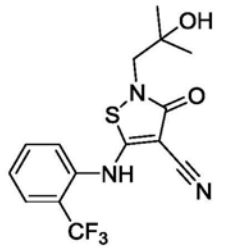
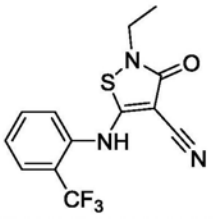
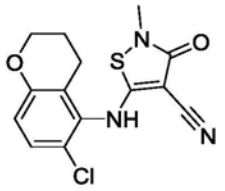
[0221]

实例	结构	实例	结构
35		36	
37		38	
39		40	
41		42	
43		44	
45		46	

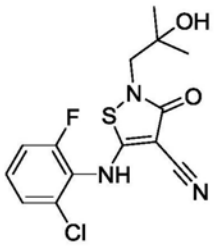
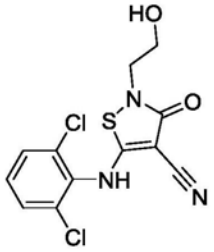
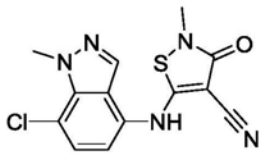
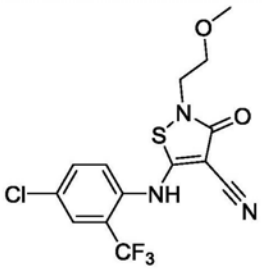
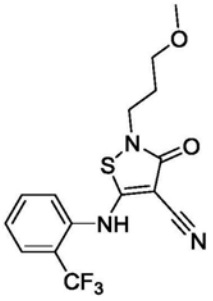
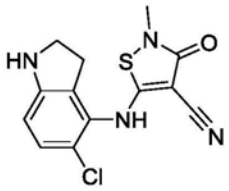
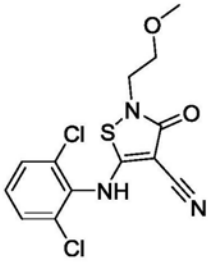
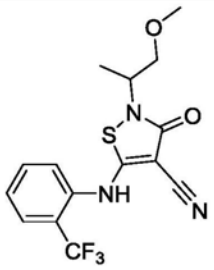
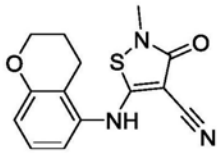
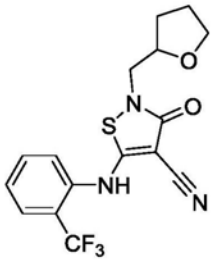
[0222]

实例	结构	实例	结构
47		48	
49		50	
51		52	
53		54	
55		56	

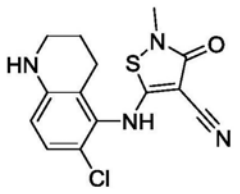
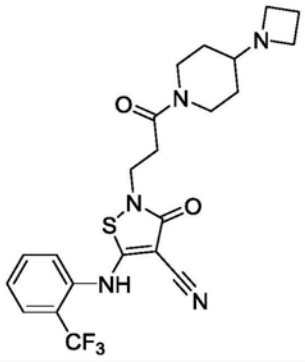
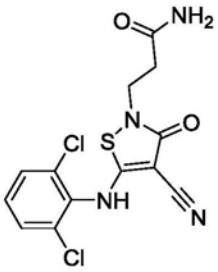
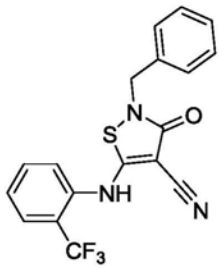
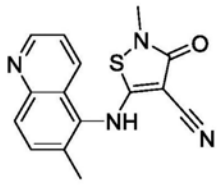
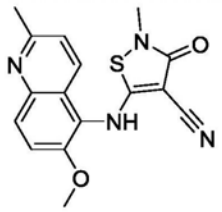
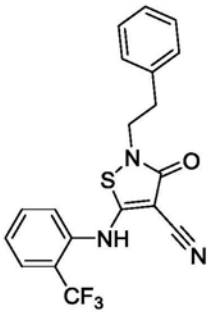
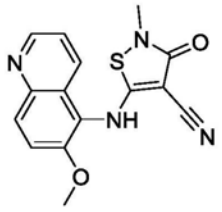
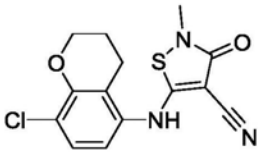
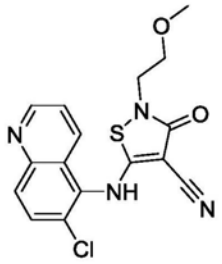
[0223]

实例	结构	实例	结构
57		58	
59		60	
61		62	
63		64	
65		66	

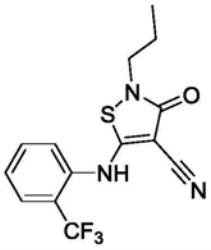
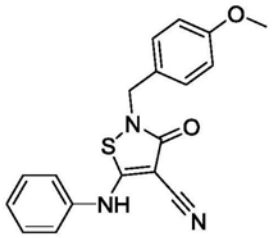
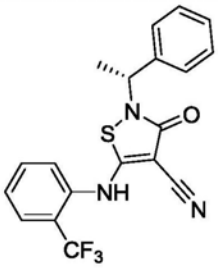
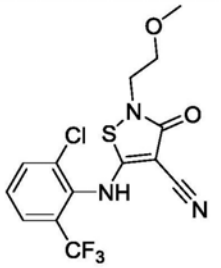
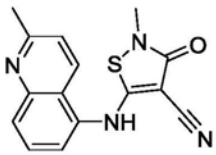
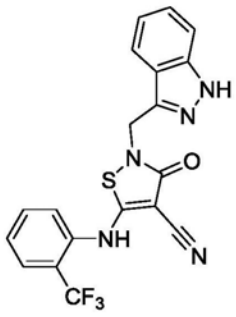
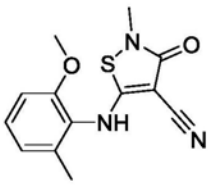
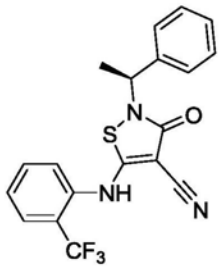
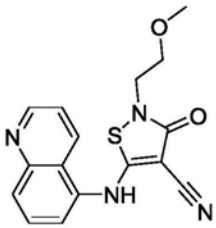
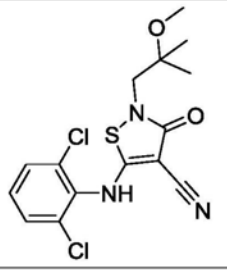
[0224]

实例	结构	实例	结构
67		68	
69		70	
71		72	
73		74	
75		76	

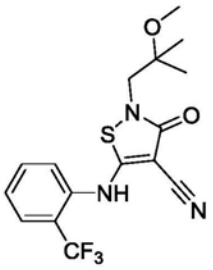
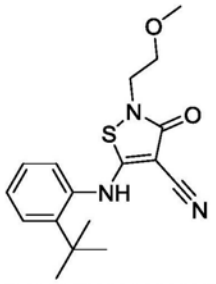
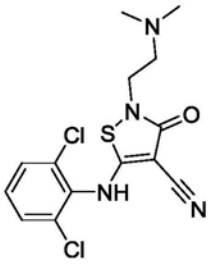
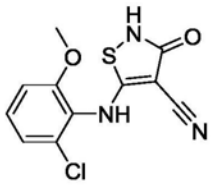
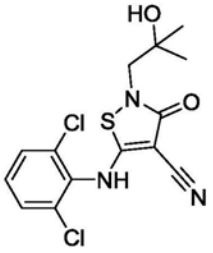
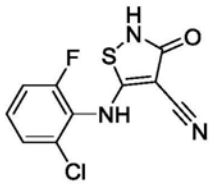
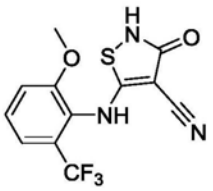
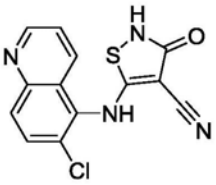
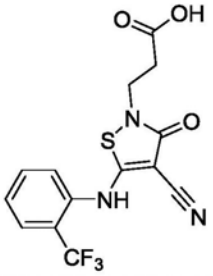
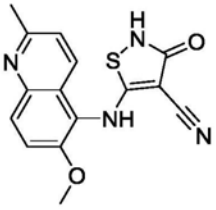
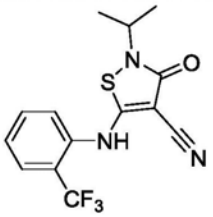
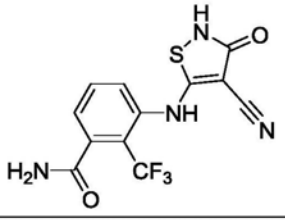
[0225]

实例	结构	实例	结构
77		78	
79		80	
81		82	
83		84	
85		86	

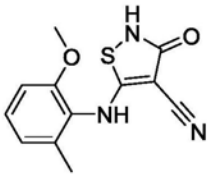
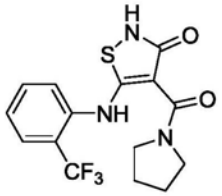
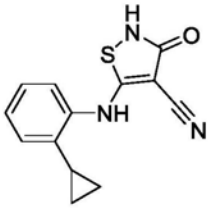
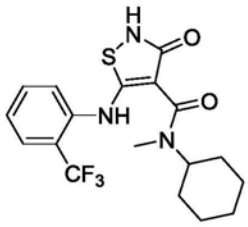
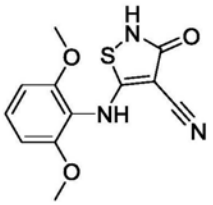
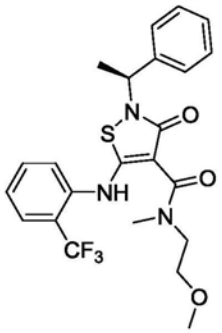
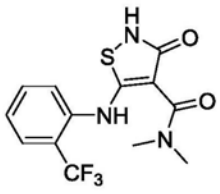
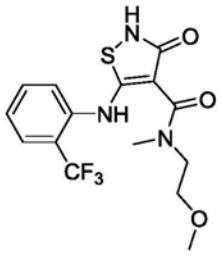
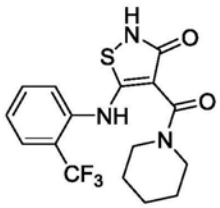
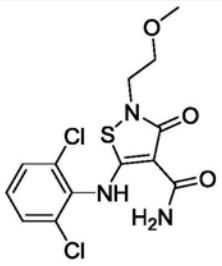
[0226]

实例	结构	实例	结构
87		88	
89		90	
91		92	
93		94	
95		96	

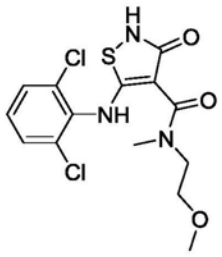
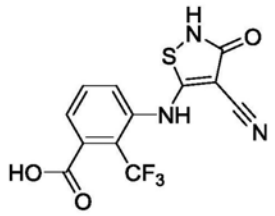
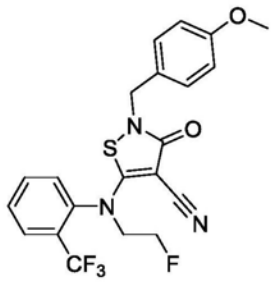
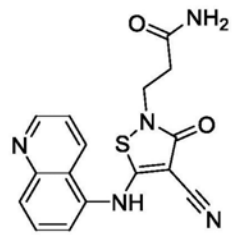
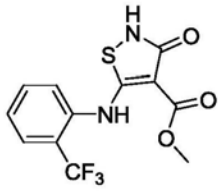
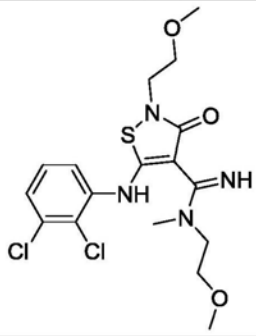
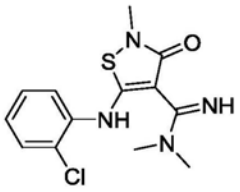
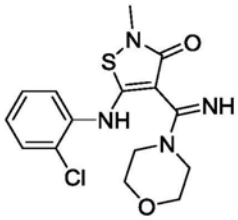
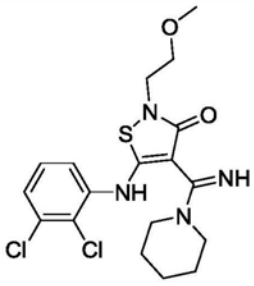
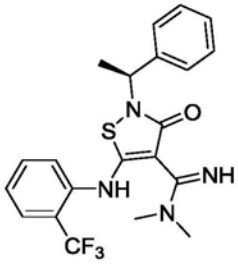
[0227]

实例	结构	实例	结构
97		98	
99		100	
101		102	
103		104	
105		106	
107		108	

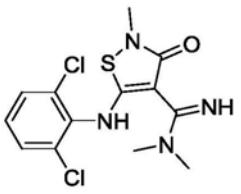
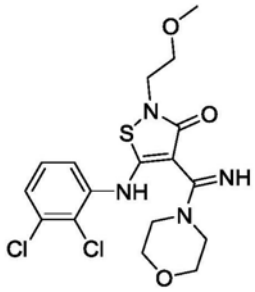
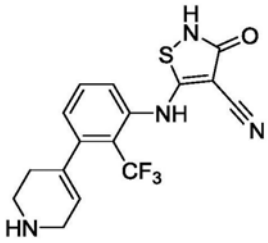
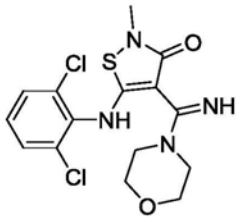
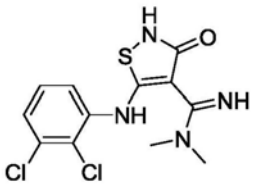
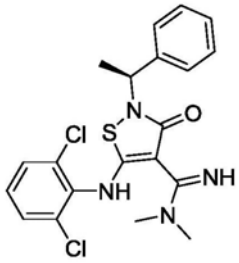
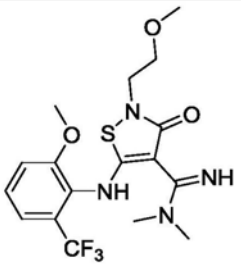
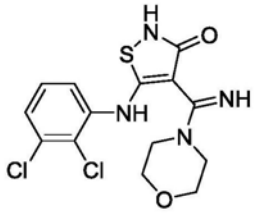
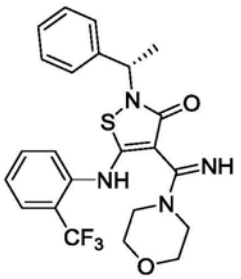
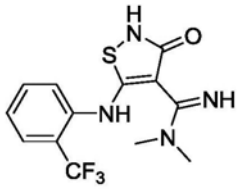
[0228]

实例	结构	实例	结构
109		110	
111		112	
113		114	
115		116	
117		118	

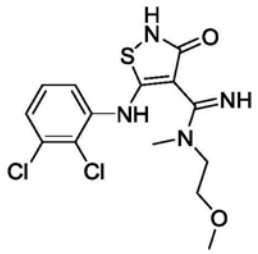
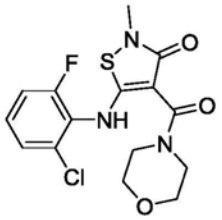
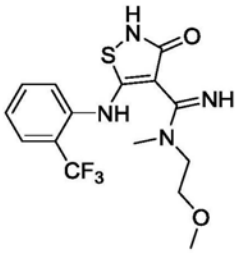
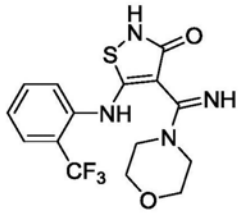
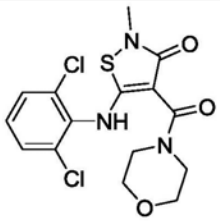
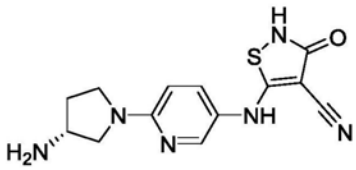
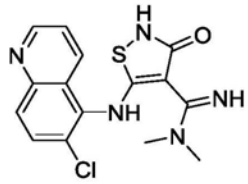
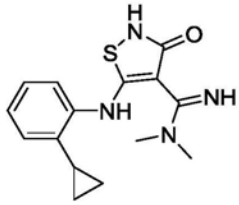
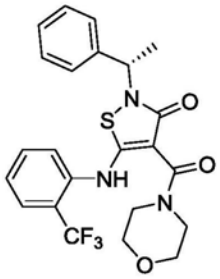
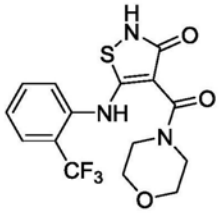
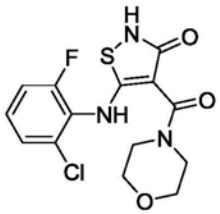
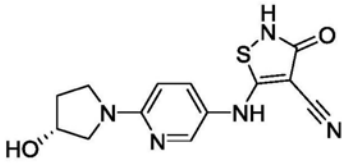
[0229]

实例	结构	实例	结构
119		120	
121		122	
123		124	
125		126	
127		128	

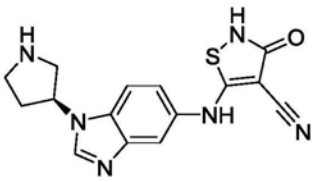
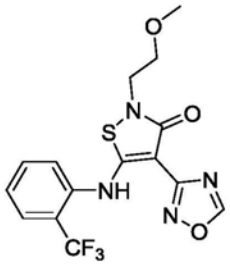
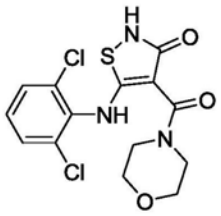
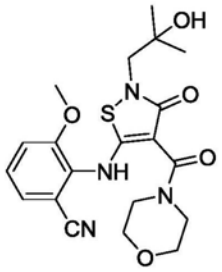
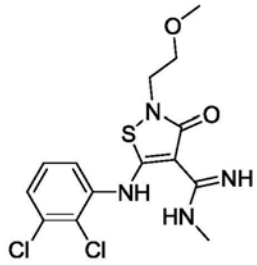
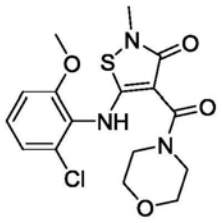
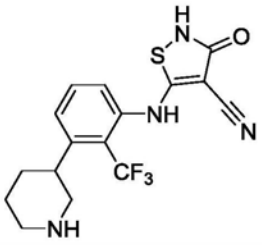
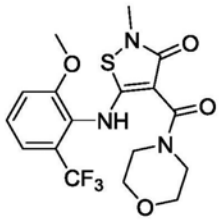
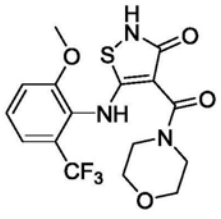
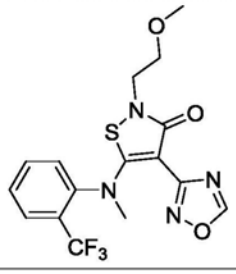
[0230]

实例	结构	实例	结构
129		130	
131		132	
133		134	
135		136	
137		138	

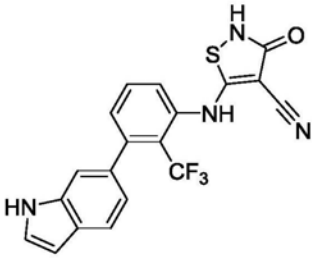
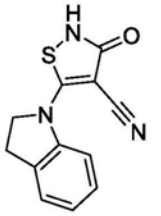
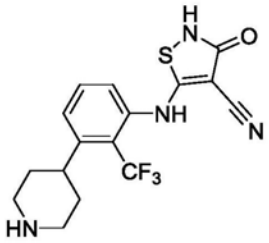
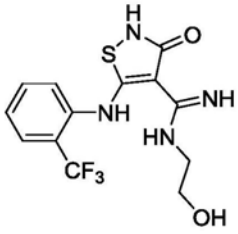
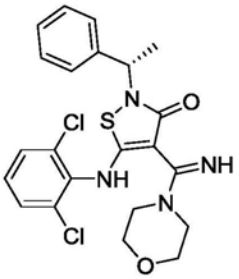
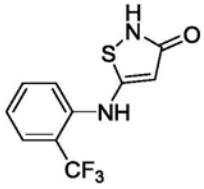
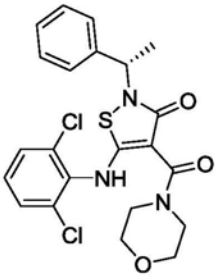
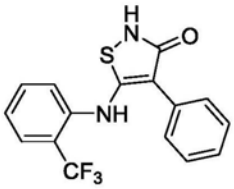
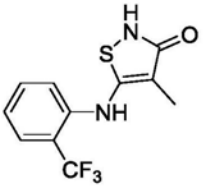
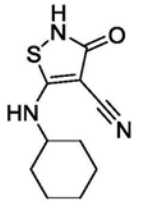
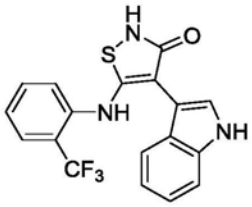
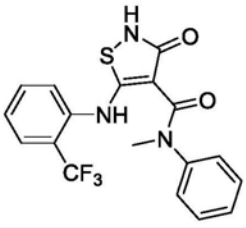
[0231]

实例	结构	实例	结构
139		140	
141		142	
143		144	
145		146	
147		148	
149		150	

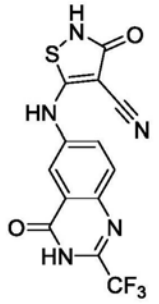
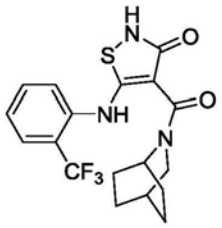
[0232]

实例	结构	实例	结构
151		152	
153		154	
155		156	
157		158	
159		160	

[0233]

实例	结构	实例	结构
161		162	
163		164	
165		166	
167		168	
169		170	
171		172	

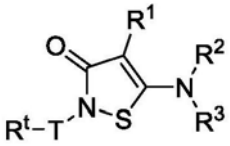
[0234]

实例	结构	实例	结构
173		174	

[0235] 工具化合物

[0236] 在一些实施方式中，将一种或多种式I或式II所示的化合物系栓至可检测部分以形成工具化合物。在一些实施方式中，工具化合物包含式I或式II所示的化合物、可检测部分和将可检测部分连接至式I或式II所示的化合物的系栓部分。在一些实施方式中，工具化合物包含式I或式II所示的化合物和包含能够与可检测部分结合或反应的官能团的部分。

[0237] 在一些实施方式中，本公开提供了式III所示的化合物：

[0238] 

III

[0239] 或其药学上可接受的盐，其中R^1、R^2和R^3中的每一个如上文关于式II所定义，并在本文中的各集和各子集中描述；T是二价系栓部分；并且R^t是可检测部分。

[0240] 在一些实施方式中，R^t是选自初级标记或二级标记的可检测部分。在某些实施方式中，R^t是选自荧光标记(例如，荧光染料或发色团)、质量标签、化学发光基团、发色团、电子致密基团和能量转移剂的可检测部分。

[0241] 如本文所用，术语“可检测部分”与术语“标记”和“报告分子”可互换使用，并且涉及能够被检测的任何部分，例如初级标记和二级标记。可以通过使用量化(以绝对、近似或相对方式)所研究系统中的可检测部分的方法来测量可检测部分的存在。在一些实施方式中，此类方法是本领域普通技术人员众所周知的，并且包括任何量化报告分子部分(例如，标记、染料、光交联剂、细胞毒性化合物、药物、亲和标记、光亲和标记、反应化合物、抗体或抗体片段、生物材料、纳米粒子、自旋标记、发色团、含金属部分、放射性部分、量子点、新型官能团、与其它分子共价或非共价相互作用的基团、光笼锁部分、光化辐射可激发部分、配体、可光致异构化部分、生物素、生物素类似物(例如生物素亚砜)、并入重原子的部分、可化学裂解基团、可光裂解基团、氧化还原活性剂、同位素标记部分、生物物理探针、磷光基团、化学发光基团、电子致密基团、磁性基团、嵌入基团、发色团、能量转移剂、生物活性剂、可检测标记和上述的任何组合)的方法。

[0242] 初级标记，如放射性同位素(例如氚、^{32}P、^{33}P、^{35}S、^{14}C、^{123}I、^{124}I、^{125}I或^{131}I)、质量标签，包括但不限于稳定同位素(例如^{13}C、^{2}H、^{17}O、^{18}O、^{15}N、^{19}F和^{127}I)、正电子发射同位素(例如^{11}C、^{18}F、^{13}N、^{124}I和^{15}O)和荧光标记，是无需进一步修饰即可被检测的信号产生报告基团。可检测部分可以通过包括但不限于荧光、正电子发射断层扫描、SPECT医学成像、化学发光、

电子自旋共振、紫外/可见吸光光谱、质谱、核磁共振、磁共振、流式细胞术、放射自显影、闪烁计数、磷光成像和电化学方法等方法进行分析。

[0243] 本文使用的术语“二级标记”是指如生物素和多种蛋白质抗原的部分，其需要第二中间体的存在才能产生可检测信号。对于生物素，第二中间体可以包括链霉亲和素-酶缀合物。对于抗原标记，第二中间体可包括抗体-酶缀合物。一些荧光基团充当二级标记，因为它们在非辐射性荧光共振能量转移(FRET)过程中向另一个基团转移能量，而该第二个基团产生检测信号。

[0244] 本文使用的术语“荧光标记”、“荧光染料”和“发色团”是指在限定的激发波长下吸收光能并发射不同波长的光能的部分。荧光标记的实例包括但不限于:Alexa Fluor染料(Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 532、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 660和Alexa Fluor 680)、AMCA、AMCA-S、BODIPY染料(BODIPY FL、BODIPY R6G、BODIPY TMR、BODIPY TR、BODIPY 493/503、BODIPY 530/550、BODIPY 558/568、BODIPY 564/570、BODIPY 576/589、BODIPY 581/591、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665)、羧基罗丹明6G、羧基-X-罗丹明(ROX)、级联蓝、级联黄、香豆素343、花青染料(Cy3、Cy5、Cy3.5、Cy5.5)、丹磺酰基、Dapoxyl、二烷基氨基香豆素、4',5'-二氯-2',7'-二甲氧基-荧光素、DM-NERF、曙红、赤藓红、荧光素、FAM、羟基香豆素、IRDye(IRD40、IRD 700、IRD 800)、JOE、丽丝胺罗丹明(Lissamine rhodamine)B、海蓝(Marina Blue)、甲氧基香豆素、萘基荧光素、俄勒冈绿(Oregon Green)488、俄勒冈绿500、俄勒冈绿514、太平洋蓝(Pacific Blue)、PyMPO、芘、罗丹明B、罗丹明6G、罗丹明绿、罗丹明红、罗德尔绿(Rhodol Green)、2',4',5',7'-四-溴矾-荧光素、四甲基-罗丹明(TMR)、羧基四甲基罗丹明(TAMRA)、德克萨斯红(Texas Red)、德克萨斯红-X、5(6)-羧基荧光素、2,7-二氯荧光素、N,N-双(2,4,6-三甲基苯基)-3,4:9,10-苝双(二甲酰亚胺、HPTS、乙基曙红、DY-490XLMegaStokes、DY-485XL MegaStokes、阿迪朗达克绿(Adirondack Green)520、ATTO 465、ATTO 488、ATTO 495、YOYO-1、5-FAM、BCECF、二氯荧光素、罗丹明110、罗丹明123、YO-PRO-1、绿菁SYTOX(SYTOX Green)、组织钠离子荧光(Sodium Green)、SYBR Green I、Alexa Fluor 500、FITC、Fluo-3、Fluo-4、氟-翡翠(fluoro-emerald)、YoYo-1ssDNA、YoYo-1dsDNA、YoYo-1、SYTO RNASelect、迪文萨绿(Diversa Green)-FP、德拉贡绿(Dragon Green)、伊娃绿(EvaGreen)、瑟夫绿(Surf Green)EX、光谱绿(Spectrum Green)、NeuroTrace 500525、NBD-X、MitoTracker Green FM、LysoTracker Green DND-26、CBQCA、PA-GFP(活化后)、WEGFP(活化后)、FlASH-CCXXCC、蓟绿单体(Azami Green monomeric)、蓟绿、绿色荧光蛋白(GFP)、EGFP(Campbell Tsien 2003)、EGFP(Patterson 2001)、克德绿(Kaede Green)、7-苯甲基氨基-4-硝基苯并-2-氧杂-1,3-二唑、Bexl、小红莓(Doxorubicin)、卢米奥绿(Lumio Green)和SuperGlo GFP。

[0245] 本文使用的术语“质量标签”是指能够使用质谱(MS)检测技术凭借其质量而被唯一检测的任何部分。质量标签的实例包括电泳释放标签，例如N-[3-[4'-[(对甲氧基四氟苯甲基)氧基]苯基]-3-甲基甘油基]异哌啶甲酸、4'-[2,3,5,6-四氟-4-(五氟苯氧基)]甲基苯乙酮及其衍生物。这些质量标签的合成和效用描述于美国专利4,650,750、4,709,016、5,360,8191、5,516,931、5,602,273、5,604,104、5,610,020和5,650,270中。质量标签的其它实例包括但不限于核苷酸、双脱氧核苷酸、长度和碱基组成不同的寡核苷酸、寡肽、寡糖和

长度和单体组成不同的其它合成聚合物。适当质量范围(100-2000道尔顿)的各种中性和带电的有机分子(生物分子或合成化合物)也可用作质量标签。稳定的同位素(例如^{13}C、^{2}H、^{17}O、^{18}O和^{15}N)也可用作质量标签。

[0246] 本文使用的术语“化学发光基团”是指在不添加热量的情况下,由于化学反应而发光的基团。举例来说,鲁米诺(luminol,5-氨基-2,3-二氢-1,4-邻苯二甲酰肼)在碱和金属催化剂的存在下与诸如过氧化氢(H_2O_2)的氧化剂反应以产生激发态产物(3-氨基邻苯二甲酸,3-APA)。

[0247] 本文使用的术语“发色团”是指吸收可见波长、UV波长或IR波长的光的分子。

[0248] 本文使用的术语“染料”是指含有发色团的可溶性着色物质。

[0249] 本文使用的术语“电子致密基团”是指当用电子束照射时散射电子的基团。这类基团包括但不限于钼酸铵、碱式硝酸铋、碘化镉、碳酰肼、六水合氯化铁、六亚甲基四胺、无水三氯化铟、硝酸镧、三水合乙酸铅、三水合柠檬酸铅、硝酸铅、过碘酸、磷钼酸、磷钨酸、铁氰化钾、亚铁氰化钾、钌红、硝酸银、蛋白银(Ag测定:8.0-8.5%)“强(Strong)”、四苯卟吩银(S-TPPS)、氯金酸钠、钨酸钠、硝酸铊、氨基硫脲(TSC)、乙酸铀酰、硝酸铀酰和硫酸氧钒。

[0250] 本文使用的术语“能量转移剂”是指向另一分子供给能量或接受另一分子的能量的分子。仅举例来说,荧光共振能量转移(FRET)是一种偶极-偶极耦合过程,通过这一过程,荧光供体分子的激发态能量以非辐射方式转移到未激发的受体分子上,随后该受体分子以较长的波长荧光发射所供给的能量。

[0251] 本文使用的术语“并入重原子的部分”是指并入通常比碳重的原子的离子的基团。在一些实施方式中,这类离子或原子包括但不限于硅、钨、金、铅和铀。

[0252] 本文使用的术语“光亲和标记”是指带有基团的标记,在暴露于光后,和与该标记具有亲和力的分子形成连接。

[0253] 本文使用的术语“光笼锁部分”是指在某些波长的照射下,共价或非共价地结合其它离子或分子的基团。

[0254] 本文使用的术语“可光致异构化部分”是指当以光照射时从一种异构形式变为另一种异构形式的基团。

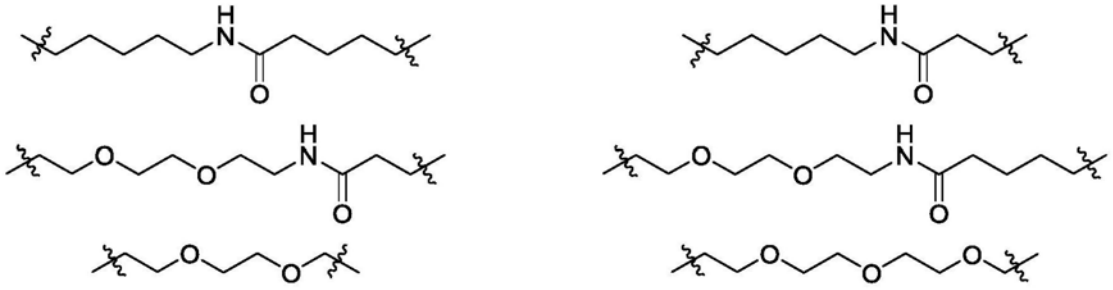
[0255] 本文使用的术语“放射性部分”是指其原子核自发地发出核辐射(如α、β或γ粒子)的基团;其中,α粒子是氦原子核,β粒子是电子,并且γ粒子是高能光子。

[0256] 本文使用的术语“自旋标记”是指含有表现出未成对电子自旋的原子或原子团(即稳定的顺磁性基团)的分子,其在一些实施方式中通过电子自旋共振光谱法被检测到,而在其它实施方式中被连接到另一分子上。这类自旋标记分子包括但不限于硝酰基自由基和硝基氧,并且在一些实施方式中是单自旋标记或双自旋标记。

[0257] 本文使用的术语“量子点”是指胶体半导体纳米晶体,在一些实施方式中,它们在近红外中被被检测到,并且具有极高的量子产率(即,在适度的照射下非常明亮)。

[0258] 本领域的普通技术人员将认识到,可检测部分可以通过合适的取代基被连接到所提供的化合物上。如本文所用,术语“合适的取代基”是指能够与可检测部分共价连接的部分。这类部分是本领域的普通技术人员所熟知的,并且包括含有例如羧酸根部分、氨基部分、巯基部分或羟基部分的基团(此处仅举几例)。应理解,这类部分可以直接或通过系栓部分(如二价饱和或不饱和烃链)连接到所提供的化合物上。

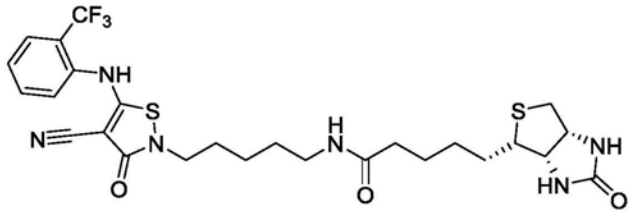
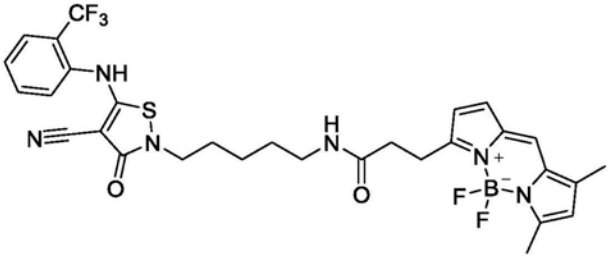
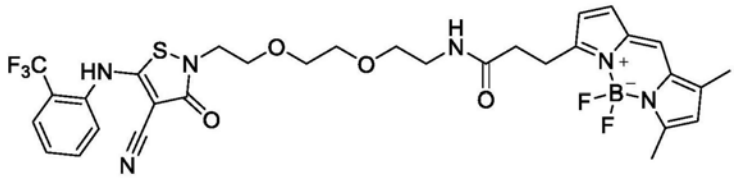
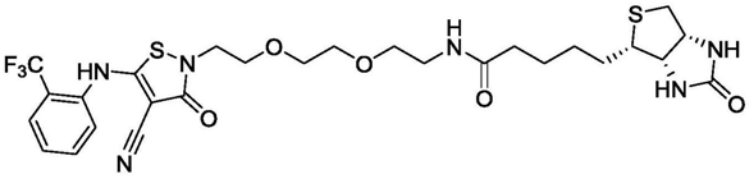
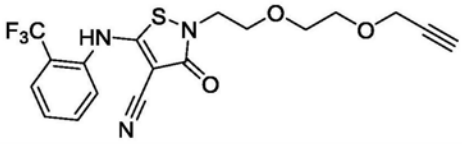
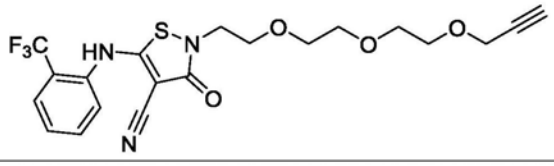
[0259] 在一些实施方式中，-T-选自-$(CH_2CH_2O)_n$-、-(C_{1-6}烷基)N(R)C(O)(C_{1-6}烷基)-和-$(CH_2CH_2O)_n$(C_{1-6}烷基)N(R)C(O)(C_{1-6}烷基)-，其中n是1-4。在一些实施方式中，-T-选自-$(CH_2CH_2O)_n$-、-(C_{3-5}烷基)N(R)C(O)(C_{2-4}烷基)-和-$(CH_2CH_2O)_n$(C_{3-5}烷基)N(R)C(O)(C_{2-4}烷基)-，其中n是2-3。在一些实施方式中，-T-选自由以下组成的组：

[0260] 

[0261] 在一些实施方式中，可检测部分R^t通过点击化学(click chemistry)连接到式I或式II所示的化合物。在一些实施方式中，式I或式II所示的化合物通过叠氮化物与炔的1,3-环加成(任选地在铜催化剂的存在下)连接到-T-R^t。使用点击化学的方法是本领域已知的，并且包括Rostovtsev等人，《应用化学国际版》(Angew.Chem.Int.Ed.)2002,41,2596-99和Sun等人，《生物结合物化学》(Bioconjugate Chem.),2006,17,52-57所描述的方法。在一些实施方式中，式IV所示的化合物是点击备用抑制剂(click ready inhibitor)。在一些这样的实施方式中，式IV所示的的点击备用抑制剂与点击备用-T-R^t部分反应。如本文所用，“点击备用”是指用于点击化学反应的含有叠氮化物或炔的部分。在一些实施方式中，点击备用抑制剂部分包含叠氮化物。在某些实施方式中，点击备用-T-R^t部分包含用于无铜点击化学反应的应变环辛炔(例如，使用Baskin等人，《美国国家科学院院刊》(Proc.Natl.Acad.Sci.USA)2007,104,16793-16797中描述的方法)。

[0262] 在一些实施方式中，式III所示的化合物选自

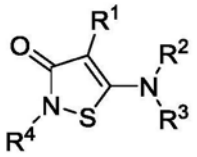
[0263]

实例	结构
175	
176	
177	
178	
179	
180	

[0264] 在一些实施方式中,一种或多种式I或式II所示的化合物共价抑制SARM1。在一些实施方式中,一种或多种式I或式II所示的化合物共价修饰SARM1的半胱胺酸残基。在一些实施方式中,一种或多种式I或式II所示的化合物共价修饰SARM1的Cys635。在一些实施方式中,一种或多种式I或式II所示的化合物共价修饰SARM1的Cys629。在一些实施方式中,一种或多种式I或式II所示的化合物共价修饰SARM1的Cys649。在不希望受任何特定理论束缚的情况下,在一些实施方式中,一种或多种式I或式II所示的化合物通过半胱胺酸残基的共价修饰使SARM1蛋白变性。在一些实施方式中,一种或多种式I或式II所示的化合物通过Cys635的共价修饰使SARM1蛋白变性。在一些实施方式中,一种或多种式I或式II所示的化合物通过Cys629的共价修饰使SARM1蛋白变性。在一些实施方式中,一种或多种式I或式II所示的化合物通过Cys649的共价修饰使SARM1蛋白变性。

[0265] 在一些方面,本公开提供了根据以下实施方式的化合物:

[0266] 实施方式1.一种化合物,其具有式II:

[0267] 

II

[0268] 或其药学上可接受的盐，其中

[0269] R^1选自-CN、-NO_2、-C(O)R、-S(O)$_2$R、-CON(R)$_2$、-S(O)$_2$N(R)$_2$、-CO_2R、-C(=NR)N(R)$_2$和具有2-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基环；

[0270] R^2是-R；

[0271] R^3是-(CH$_2$)$_{0-2}$Cy，或：

[0272] R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成与Cy稠合的4元至7元饱和或部分不饱和的环，或形成被-Cy取代的4元至7元饱和或部分不饱和的环；

[0273] Cy选自苯基、3元至7元饱和或部分不饱和的碳环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环、和8元至10元双环芳基环，其中每个苯基、碳环、杂芳基环和芳基环被0-4个R^x取代；

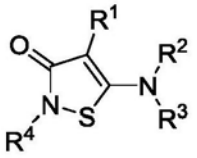
[0274] 每个R^x独立地选自卤素、-CN、-NO_2、-OR、-SR、-N(R)$_2$、-SO_2R、-SO_2N(R)$_2$、-CO_2R、-CON(R)$_2$、-N(R)SO_2R、-N(R)C(O)R、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族基团、任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元饱和或部分不饱和的杂环、和任选地被取代的具有1-2个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元杂芳基环；

[0275] R^4是-R；并且

[0276] 每个R独立地是氢、任选地被取代的C_{1-6}脂肪族、任选地被取代的苯基、和任选地被取代的3元至7元饱和或部分不饱和的碳环，或：

[0277] 两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。

[0278] 实施方式2.一种化合物，其具有式I：

[0279] 

I

[0280] 或其药学上可接受的盐，其中

[0281] R^1选自-CN、-NO_2、-C(O)R、-S(O)$_2$R、-CON(R)$_2$、-S(O)$_2$N(R)$_2$和-CO_2R；

[0282] R^2是-R；

[0283] R^3选自-(CH$_2$)$_{0-2}$Cy，或：

[0284] R^2和R^3与它们所连接的氮原子一起形成与Cy稠合的4元至7元饱和或部分不饱和的环，或形成被-Cy取代的4元至7元饱和或部分不饱和的环；

[0285] Cy选自苯基、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环、具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环、和8元至10元双环芳基环，其中每个苯基、杂芳基环和芳基环被0-4个R^x取代；

[0286] 每个R^x独立地选自卤素、-CN、$-NO_2$、-OR、-SR、$-N(R)_2$、$-SO_2R$、$-SO_2N(R)_2$、$-CO_2R$、$-CON(R)_2$、$-N(R)SO_2R$、-N(R)C(O)R和任选地被取代的C_{1-6}脂肪族；

[0287] R^4是-R；

[0288] 每个R独立地是氢或任选地被取代的C_{1-6}脂肪族；或：

[0289] 两个R的实例与它们所连接的原子一起形成3元至6元饱和或部分不饱和的杂环。

[0290] 实施方式3.根据实施方式1或实施方式2所述的化合物，其中R^2是-H。

[0291] 实施方式4.根据实施方式1或实施方式2所述的化合物，其中R^2是-R。

[0292] 实施方式5.根据实施方式4所述的化合物，其中-R是C_{1-6}脂肪族。

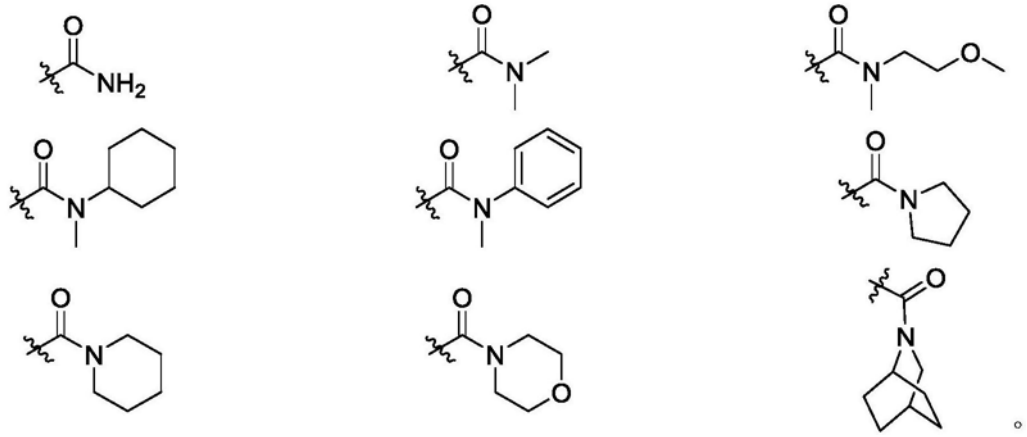
[0293] 实施方式6.根据实施方式5所述的化合物，其中R是-C_{1-6}烷基。

[0294] 实施方式7.根据实施方式6所述的化合物，其中R是-CH_3。

[0295] 实施方式8.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1是-CN。

[0296] 实施方式9.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1是$-C(O)N(R)_2$。

[0297] 实施方式10.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1选自

[0298] 

[0299] 实施方式11.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1是$-CO_2R$。

[0300] 实施方式12.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1是$-NO_2$。

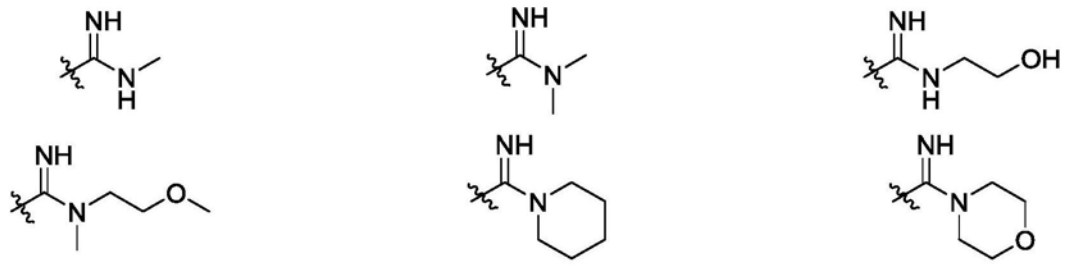
[0301] 实施方式13.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1是-C(O)R。

[0302] 实施方式14.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1是$-S(O)_2R$。

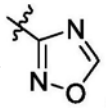
[0303] 实施方式15.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1是$-S(O)_2N(R)_2$。

[0304] 实施方式16.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1是$-C(=NR)C(R)_2$。

[0305] 实施方式17.根据实施方式16所述的化合物，其中R^1选自

[0306] 

[0307] 实施方式18.根据实施方式1-7中任一项所述的化合物，其中R^1是具有2-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基环。

[0308] 实施方式19.根据实施方式18所述的化合物，其中R^1是。

[0309] 实施方式20.根据实施方式1-19中任一项所述的化合物，其中R^4是-H。

[0310] 实施方式21.根据实施方式1-19中任一项所述的化合物，其中R^4是-R，其中-R是任选地被取代的C_{1-6}脂肪族。

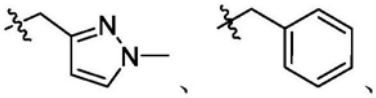
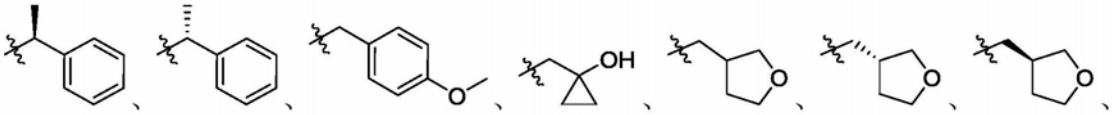
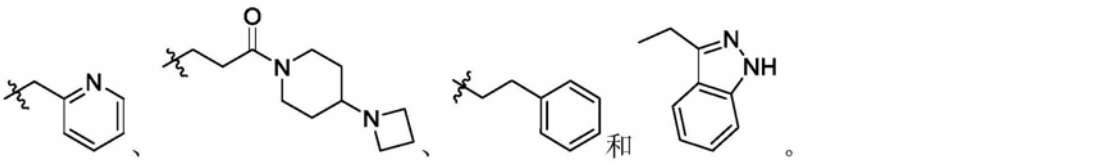
[0311] 实施方式22.根据实施方式21所述的化合物，其中R是-C_{1-6}烷基。

[0312] 实施方式23.根据实施方式22所述的化合物，其中R是-CH_3。

[0313] 实施方式24.根据实施方式22所述的化合物，其中R是-CH_2CH_3。

[0314] 实施方式25.根据实施方式22所述的化合物，其中R是-$CH_2CH_2CH_3$。

[0315] 实施方式26.根据实施方式22所述的化合物，其中R是-$CH(CH_3)_2$。

[0316] 实施方式27.根据实施方式21所述的化合物，其中R选自-$CH_2C(O)NH_2$、-$CH_2CH_2N(CH_3)_2$、-CH_2CH_2OH、-$CH_2CH(CH_3)OH$、-$CH(CH_3)CH_2OH$、-$CH_2C(CH_3)_2OH$、-$CH_2CH_2OCH_3$、-$CH_2C(CH_3)_2OCH_3$、-$CH(CH_3)CH_2OCH_3$、-$CH_2CH_2C(O)NH_2$、-$CH_2CH_2C(O)OH$、-$CH_2CH_2S(O)_2CH_3$、-$CH_2CH_2CH_2OCH_3$、、、、和。

[0317] 实施方式28.根据实施方式1-27中任一项所述的化合物，其中R^3是-Cy。

[0318] 实施方式29.根据实施方式1-27中任一项所述的化合物，其中R^3是-CH_2Cy。

[0319] 实施方式30.根据实施方式28或实施方式29所述的化合物，其中-Cy是苯基。

[0320] 实施方式31.根据实施方式28或实施方式29所述的化合物，其中-Cy是具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元杂芳基环。

[0321] 实施方式32.根据实施方式31所述的化合物，其中-Cy是具有1-3个氮原子的6元杂芳基环。

[0322] 实施方式33.根据实施方式32所述的化合物，其中-Cy是吡啶基。

[0323] 实施方式34.根据实施方式28或实施方式29所述的化合物，其中-Cy是具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的8元至10元双环杂芳基环。

[0324] 实施方式35.根据实施方式34所述的化合物，其中-Cy是具有1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的10元双环杂芳基环。

[0325] 实施方式36.根据实施方式35所述的化合物，其中-Cy是具有1个氮原子的10元双环杂芳基环。

[0326] 实施方式37.根据实施方式36所述的化合物，其中-Cy是喹啉基。

[0327] 实施方式38.根据实施方式28或实施方式29所述的化合物，其中-Cy是8元至10元

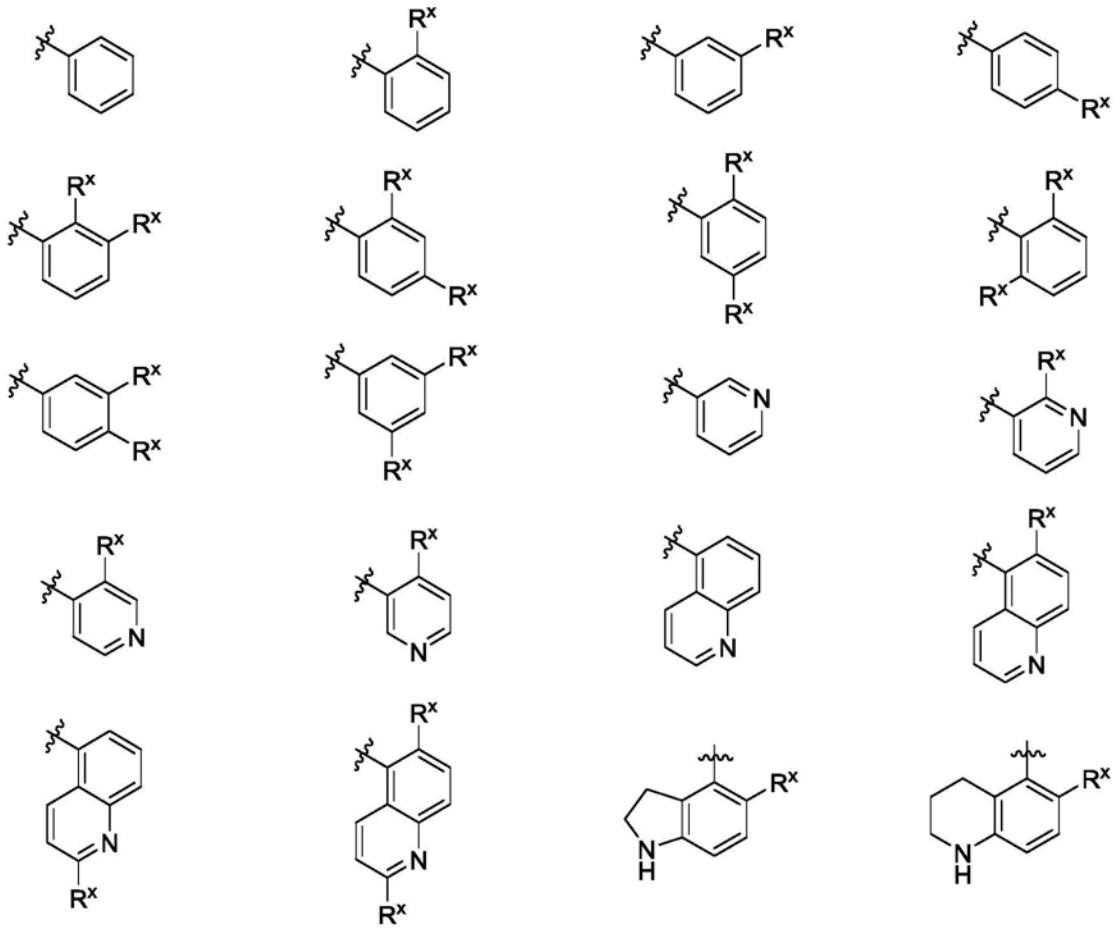
双环芳基环。

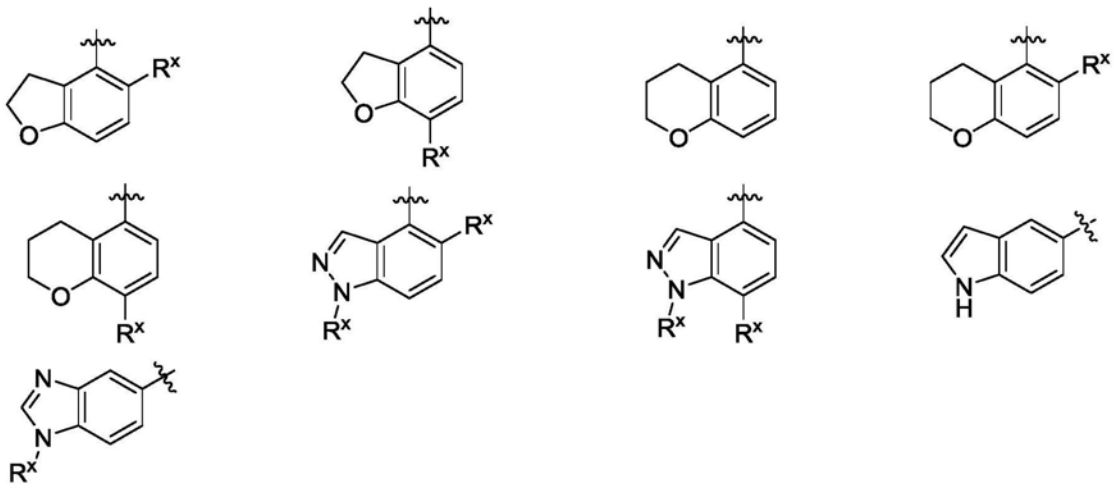
[0328] 实施方式39.根据实施方式38所述的化合物，其中-Cy是10元双环芳基环。

[0329] 实施方式40.根据实施方式39所述的化合物，其中-Cy是1-萘基。

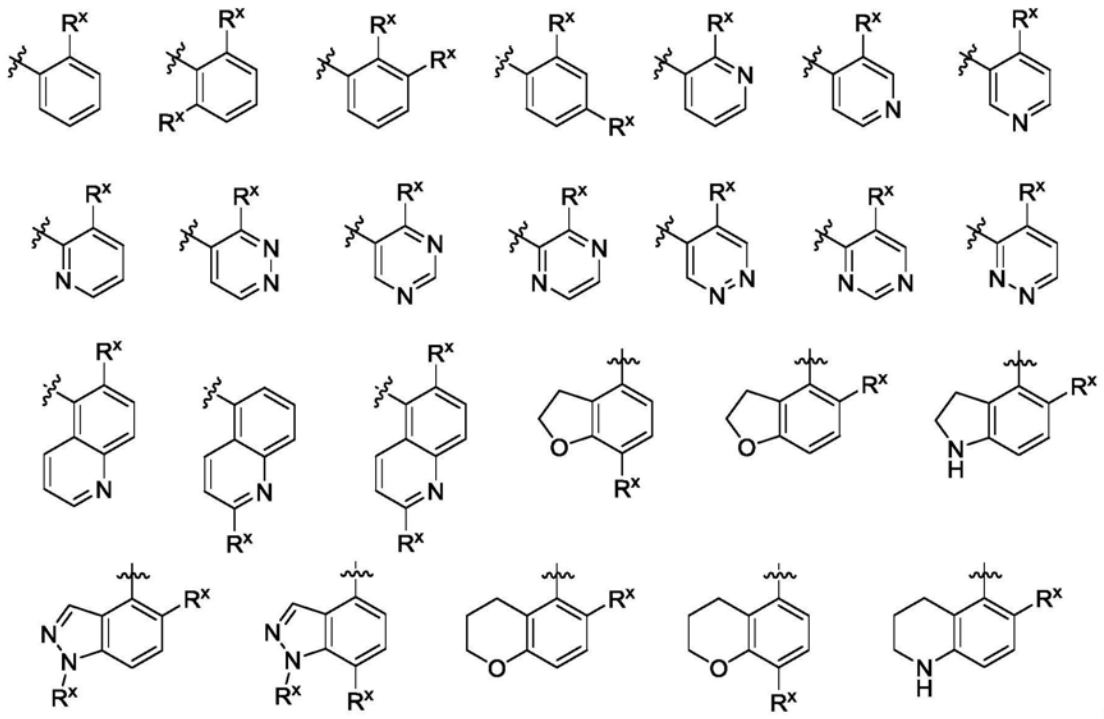
[0330] 实施方式41.根据实施方式39所述的化合物，其中-Cy是2-萘基。

[0331] 实施方式42.根据实施方式28所述的化合物，其中-Cy选自由以下组成的组：

[0332] 

[0333] 

[0334] 实施方式43.根据实施方式28所述的化合物，其中-Cy选自由以下组成的组：

[0335] 

[0336] 实施方式44.根据实施方式28-43中任一项所述的化合物，其中R^X是卤素。

[0337] 实施方式45.根据实施方式44所述的化合物，其中R^X是氯。

[0338] 实施方式46.根据实施方式44所述的化合物，其中R^X是氟。

[0339] 实施方式47.根据实施方式28-43中任一项所述的化合物，其中R^X是任选地被取代的-C_{1-6}脂肪族。

[0340] 实施方式48.根据实施方式47所述的化合物，其中R^X是-C_{1-6}烷基。

[0341] 实施方式49.根据实施方式48所述的化合物，其中R^X是-CH_3。

[0342] 实施方式50.根据实施方式48所述的化合物，其中R^X是-$CH(CH_3)_2$。

[0343] 实施方式51.根据实施方式47所述的化合物，其中R^X是任选地被卤素取代的-C_{1-6}脂肪族。

[0344] 实施方式52.根据实施方式51所述的化合物，其中R^X是-CF_3。

[0345] 实施方式53.根据实施方式28-43中任一项所述的化合物，其中R^X是-OR。

[0346] 实施方式54.根据实施方式53所述的化合物，其中R是任选地被取代的-C_{1-6}脂肪族。

[0347] 实施方式55.根据实施方式54所述的化合物，其中R是-C_{1-6}烷基。

[0348] 实施方式56.根据实施方式55所述的化合物，其中R是-CH_3。

[0349] 实施方式57.根据实施方式54所述的化合物，其中R是任选地被卤素取代的-C_{1-6}脂肪族。

[0350] 实施方式58.根据实施方式57所述的化合物，其中R是-CF_3。

[0351] 实施方式59.根据实施方式28-43中任一项所述的化合物，其中R^X是-SR。

[0352] 实施方式60.根据实施方式59所述的化合物，其中-R是任选地被取代的-C_{1-6}脂肪族。

[0353] 实施方式61.根据实施方式60所述的化合物，其中-R是-C_{1-6}烷基。

[0354] 实施方式62.根据实施方式61所述的化合物，其中-R是-CH_3。

[0355] 实施方式63.根据实施方式28-43中任一项所述的化合物，其中-R^x是-SO_2R。

[0356] 实施方式64.根据实施方式63所述的化合物，其中R是-C_{1-6}烷基。

[0357] 实施方式65.根据实施方式64所述的化合物，其中R是-CH_3。

[0358] 实施方式66.根据实施方式1或实施方式2所述的化合物，其中：

[0359] R^1选自-CN和-$CONH_2$；并且

[0360] R^2选自-H和-CH_3。

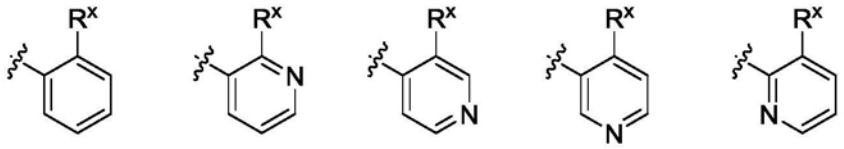
[0361] 实施方式67.根据实施方式1或实施方式2所述的化合物，其中：

[0362] R^1选自-CN和-$CONH_2$；

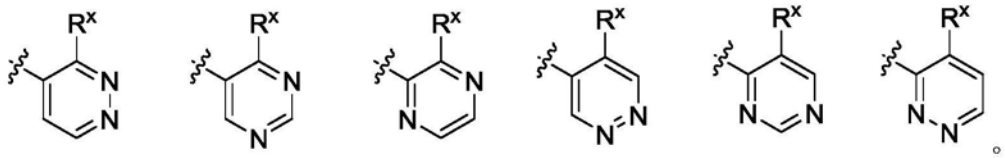
[0363] R^2选自-H和-CH_3；

[0364] R^3是-Cy；并且

[0365] -Cy选自



[0366]



[0367] 实施方式68.根据实施方式67所述的化合物，其中：

[0368] R^1是-CN；并且

[0369] R^2是-H。

[0370] 实施方式69.根据实施方式67所述的化合物，其中：

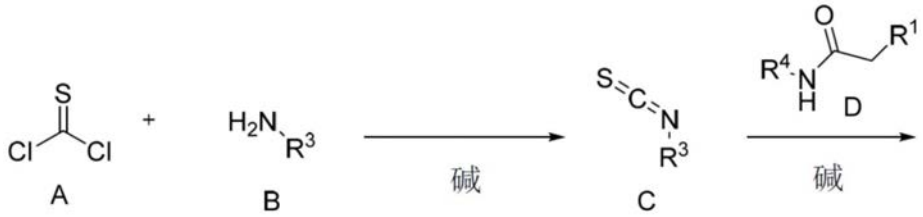
[0371] R^1是-$CONH_2$；并且

[0372] R^2是-H。

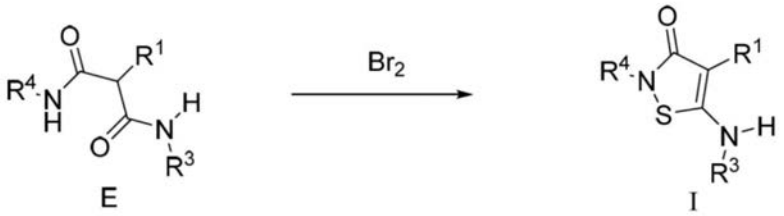
[0373] 式I或式II所示的化合物的制备

[0374] 式I或式II所示的化合物可以以如下方案Ia和Ib所示进行制备。

[0375] 方案Ia：

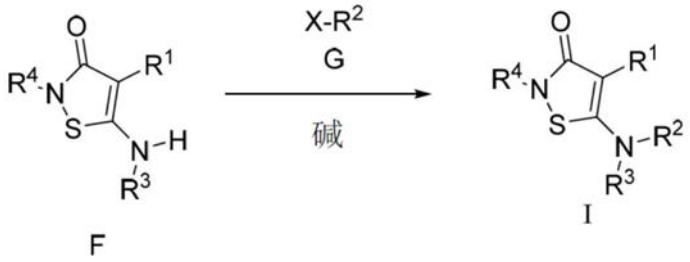


[0376]



[0377] 在方案Ia中，硫光气A和胺B在合适的碱的存在下偶合在一起，得到异氰酸酯C。在合适的碱的存在下，用酰胺D处理异氰酸酯C，得到硫代酰胺E，将其用溴处理，得到通式I或通式II所示的化合物，其中R^2是H并且R^1是-CN或$-CONH_2$，后者是由CN在此步骤中水解而产生的。

[0378] 方案Ib：

[0379] 

[0380] 在方案Ib中，用合适的碱和化合物G处理化合物F，其中X是合适的离去基团，得到通式I或通式II所示的化合物，其中R^2是-C_{1-6}烷基。

[0381] 组合物

[0382] 在一些实施方式中，式I或式II化合物可以例如与一种或多种其它组分组合(例如，混合)的组合物的形式提供。

[0383] 在一些实施方式中，本公开提供了包含和/或递送式I或式II化合物或其活性代谢物的组合物，例如，当与系统或环境接触或以其它方式施用于系统或环境时，例如该系统或环境可包括SARM1 NAD酶活性；在一些实施方式中，向该系统或环境施用该组合物可实现本文所述的SARM1活性的抑制。

[0384] 在一些实施方式中，本文所述的提供的组合物可以是药物组合物，其中所述药物组合物包含活性剂和一种或多种药学上可接受的赋形剂；在一些这样的实施方式中，所提供的药物组合物包含式I或式II化合物或其活性代谢物和/或将式I或式II化合物或其活性代谢物递送至本文所述的相关系统或环境(例如，递送至有需要的受试者)。

[0385] 在一些实施方式中，以药学上可接受的盐形式提供和/或利用一种或多种式I或式II化合物。

[0386] 除其它外，本公开提供了包含式I或式II化合物或其药学上可接受的盐或衍生物和药学上可接受的载体、佐剂或媒剂的组合物。提供的组合物中化合物的量使得有效可测量地抑制生物样品或患者中的轴突变性。在某些实施方式中，所提供的化合物或组合物被配制成用于向需要这类组合物的患者施用。根据本公开的方法，化合物和组合物可以使用对治疗或减轻本文所述的任何疾病或病症的严重程度有效的任何量和任何施用途径来施用。所提供的化合物优选以单位剂型配制，以便于施用和剂量的均一性。本文使用的表述“单位剂型”是指适合于待治疗的患者的物理上离散的药剂单位。然而，应理解，所提供的化合物和组合物的每日总用量将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。任何特定患者或生物体的具体有效剂量水平将因受试者而异，这取决于多种因素，包括正在治疗的病症和病症的严重程度；所采用的特定化合物的活性；所采用的特定组合物及其施用途径；患者的物种、年龄、体重、性别和饮食；受试者的一般状况；施用时间；所采用的特定化合物的排泄率；治疗持续时间；与所采用的特定化合物组合使用或同时使用的药物，等等。

[0387] 提供的组合物可以口服、肠胃外、通过吸入或鼻喷雾、局部(例如，通过散剂、软膏

或滴剂)、经直肠、经颊、阴道内、腹腔内、脑池内或通过植入式贮器施用,这取决于所治疗的病况的严重程度。优选地,组合物口服、腹腔内或静脉内施用。在某些实施方式中,所提供的化合物以受试者体重的约0.01mg/kg至约50mg/kg的剂量水平口服或肠胃外施用,每天一次或多次,以获得所需的治疗效果。

[0388] 本文使用的术语"肠胃外"包括皮下、静脉内、肌肉内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。提供的组合物的无菌可注射形式可以是水性或油性悬浮液。这些悬浮液可以根据本领域已知的技术使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。无菌可注射制剂也可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如,作为1,3-丁二醇中的溶液。可采用的可接受的媒剂和溶剂有水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。此外,常规上还采用无菌的不挥发性油作为溶剂或悬浮介质。

[0389] 为此,可以采用任何温和的不挥发性油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸,如油酸及其甘油酯衍生物可用于制备可注射剂,天然药学上可接受的油,如橄榄油或蓖麻油,特别是其聚氧乙基化形式也可用于制备可注射剂。这些油溶液或悬浮液还可以含有长链醇稀释剂或分散剂,如羧甲基纤维素或类似的分散剂,这些分散剂常用于配制药学上可接受的剂型,包括乳液和悬浮液。其它常用的表面活性剂,如吐温类(Tweens)、斯潘类(Spans)和其它乳化剂或生物利用度增强剂,它们常用于制造药学上可接受的固体、液体或其它剂型,也可以用于配制目的。

[0390] 可注射制剂可进行灭菌,例如,通过细菌截留过滤器的过滤,或以无菌固体组合物的形式掺入灭菌剂,这些固体组合物可在使用前溶解或分散在无菌水或其它无菌可注射介质中。

[0391] 为了延长所提供的化合物的作用,通常希望减缓皮下或肌肉内注射的化合物的吸收。这可以通过使用水溶性差的结晶或无定形材料的液体悬浮液来实现。然后,化合物的吸收率取决于其溶解率,而溶解率又可取决于晶体大小和结晶形态。或者,通过将化合物溶解或悬浮在油性媒剂中来实现肠胃外施用的化合物形式的延迟吸收。可注射积存形式是通过在可生物降解的聚合物如聚丙交酯-聚乙交酯中形成化合物的微胶囊基质而制成的。根据化合物与聚合物的比例和所采用的特定聚合物的性质,可以控制化合物的释放速率。其它可生物降解聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。还可以通过将化合物包封在与身体组织相容的脂质体或微乳液中来制备积存可注射制剂。

[0392] 本文所述的药学上可接受的组合物可以任何口服可接受的剂型口服施用,包括但不限于胶囊、片剂、水性悬浮液或溶液。在这类固体剂型中,活性化合物可以与至少一种惰性稀释剂如蔗糖、乳糖或淀粉混合。这类剂型还可按正常做法包含惰性稀释剂以外的附加物质,例如润滑剂和其它压片助剂,如硬脂酸镁和微晶纤维素。当需要口服的水性悬浮液时,活性成分与乳化剂和悬浮剂组合。如果需要,还可以添加某些甜味剂、调味剂或着色剂。

[0393] 口服施用的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这类固体剂型中,活性化合物与以下各项混合:至少一种惰性、药学上可接受的赋形剂或载体,如柠檬酸钠或磷酸二钙,和/或a)填充剂或增量剂,如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和硅酸;b)粘合剂,例如羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶;c)保湿剂,如甘油;d)崩解剂,如琼脂-琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;e)溶液缓凝剂,如石蜡;f)吸收促进剂,如季铵化合物;g)润湿剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;

h)吸收剂,如高岭土和膨润土;和/或i)润滑剂,如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠及其混合物。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,剂型还可以包含缓冲剂。活性化合物也可以是具有一种或多种如上所述的赋形剂的微包封形式。

[0394] 类似类型的固体组合物也可以用作软的和硬的填充明胶胶囊的填充剂,其使用乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇等赋形剂。片剂、糖衣药丸、胶囊、丸剂和颗粒剂的固体剂型可以用包衣和外壳如肠溶衣(即缓冲剂)和其它在药物配制技术中熟知的包衣来制备。它们可以任选地含有遮光剂,并且也可以是仅或优选地在肠道的某一部分,任选地以延迟的方式释放活性成分的组合物。可以使用的包埋组合物的实例包括聚合物质和蜡。

[0395] 口服施用的液体剂型包括但不限于药学上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酏剂。除活性化合物外,液体剂型还可以含有本领域常用的惰性稀释剂,例如水或其它溶剂、增溶剂和乳化剂,如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯及其混合物。除惰性稀释剂外,口服组合物还可以包括佐剂,如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂和芳香剂。

[0396] 或者,本文所述的药学上可接受的组合物可以用于直肠或阴道施用的栓剂形式施用。这些可以通过将本公开的化合物与合适的非刺激性赋形剂或载体混合来制备,这些赋形剂或载体在室温下为固体,但在体温(例如直肠或阴道温度)下为液体,因此将在直肠或阴道腔内熔化以释放活性化合物。这类材料包括可可脂、栓剂蜡(例如蜂蜡)和聚乙二醇。

[0397] 本文所述的药学上可接受的组合物也可以局部施用,特别是当治疗目标包括通过局部施用容易到达的区域或器官时,包括眼睛、皮肤或下肠道的疾病。对下肠道的局部施用可以直肠栓剂制剂(见上文)或合适的灌肠制剂来实现。

[0398] 用于所提供化合物的局部或透皮施用的剂型包括软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、粉末、溶液、喷雾剂、吸入剂或贴剂。活性组分在无菌条件下与药学上可接受的载体和可能需要的任何所需的防腐剂或缓冲剂混合。眼科制剂、滴耳剂和滴眼剂也被考虑在本公开的范围内。此外,本公开还考虑使用透皮贴剂,其具有将化合物可控地递送到体内的额外优点。这类剂型可以通过将化合物溶解或分散在适当的介质中而制成。吸收增强剂也可用于增加化合物穿过皮肤的通量。可以通过提供速率控制膜或通过将化合物分散在聚合物基质或凝胶中来控制速率。

[0399] 对于局部施用,所提供的药学上可接受的组合物可以配制成含有悬浮或溶解在一种或多种载体中的活性组分的合适软膏。用于局部施用本公开的化合物的载体包括但不限于矿物油、液体矿脂、白矿脂、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。或者,所提供的药学上可接受的组合物可以配制成含有悬浮或溶解在一种或多种药学上可接受的载体中的活性组分的合适的洗剂或乳膏。合适的载体包括但不限于矿物油、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯60、鲸蜡酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二醇、苯甲醇和水。

[0400] 对于眼科用途,所提供的药学上可接受的组合物可以配制为等渗、pH经过调整的无菌生理盐水中的微粉化悬浮液,或优选配制为等渗、pH经过调整的无菌生理盐水中的溶液,可含有或不含防腐剂如苯扎氯铵。或者,对于眼科用途,药学上可接受的组合物可以配制在软膏如矿脂中。

[0401] 本公开的药学上可接受的组合物也可以通过鼻气雾剂或吸入施用。这类组合物是根据药物制剂领域中众所周知的技术制备的，并且可以采用苯甲醇或其它合适的防腐剂、提高生物利用度的吸收促进剂、碳氟化合物和/或其它常规增溶剂或分散剂，以在生理盐水中的溶液形式制备。

[0402] 最优选地，本公开的药学上可接受的组合物被配制用于口服施用。

[0403] 化合物和/或组合物的鉴定和/或表征

[0404] 除其它外，本公开提供了用于鉴定和/或表征本文所述的化合物和/或组合物的各种技术。例如，本公开提供了用于评估SARM1抑制活性，特别是用于评估SARM1抑制活性的各种测定。

[0405] 在一些实施方式中，将一种或多种感兴趣的化合物或组合物在本文所述的测定中的性能与适当参考的性能进行比较。例如，在一些实施方式中，参考可以是不存在相关化合物或组合物。替代地或另外地，在一些实施方式中，参考可以是存在替代化合物或组合物，例如，该替代化合物或组合物在相关测定中具有已知的性能(例如，作为阳性对照或阴性对照，如本领域中所理解的)。在一些实施方式中，参考可以是一组替代但可比较的条件(例如，温度、pH值、盐浓度等)。在一些实施方式中，参考可以是化合物或组合物相对于SARM1变体的性能。

[0406] 进一步替代地或另外地，在一些实施方式中，在本文所述的测定中，可以在适当的参考化合物或组合物的存在下评估一种或多种感兴趣的化合物或组合物的性能，例如，以便确定该化合物或组合物与参考物竞争的能力。

[0407] 在一些实施方式中，可以在特定的测定中对多个感兴趣的化合物或组合物进行分析和/或与同一参考物进行比较。在一些实施方式中，这样的多个化合物或组合物可以是或包括一组化合物或组合物，由于多个成员共享一个或多个特征(例如，结构元素、来源特性、合成相似性等)，所以所述一组化合物或组合物被认为是“库”。

[0408] 可用于本公开的实践的某些示例性测定在下面的实例中进行了说明。阅读本公开的本领域技术人员将意识到，用于鉴定和/或表征根据本公开的化合物和/或组合物的有用的或相关的系统并不限于实例中包括的那些，或下文另外讨论的那些。

[0409] 在一些实施方式中，可基于一种或多种活性或特征来确定化合物和/或组合物，和/或以一种或多种活性或特征来表征化合物和/或组合物，所述活性或特征例如：促进轴突完整性、细胞骨架稳定性和/或神经元存活。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂抑制SARM1对NAD+的分解代谢。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂减缓NAD+分解代谢的速率。

[0410] 在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂减少或抑制SARM1对NAD+的结合。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂在包含一个或多个催化残基的口袋(例如SARM1的催化裂隙)内与SARM1结合。这类催化残基的实例包括642位处的谷氨酸(E642)。

[0411] 在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂破坏和/或防止SARM1的TIR1域的多聚化。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂破坏SAM域的多聚化。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂破坏导致NAD+耗竭的轴突信号级联。

[0412] 在一些实施方式中，本公开提供了可用于鉴定和/或表征感兴趣的化合物和/或组合物的一种或多种活性和/或特征的测定。例如，在一些实施方式中，本公开提供了用于评

估一种或多种这类活性和/或特征的体外、细胞和/或体内系统。

[0413] SARM1活性测定

[0414] 在一些实施方式中，鉴定SARM1抑制剂的方法包括：a)提供包含i)SARM1的突变体或片段、ii)NAD+和iii)候选抑制剂的混合物，其中所述突变体或片段具有组成型活性；b)培育混合物；c)培育后对混合物中的NAD+进行定量；以及d)如果NAD+的量大于不包含候选抑制剂的对照混合物的量，则将候选抑制剂化合物鉴定为抑制剂。

[0415] 在一些实施方式中，提供了鉴定SARM1抑制剂的方法，包括：a)提供包含i)全长SARM1、ii)NAD+和iii)候选抑制剂的混合物，其中所述全长SARM1具有组成型活性；b)培育混合物；c)培育后对混合物中的NAD+和ADPR(或cADPR)进行定量；d)确定NAD+:ADPR(或cADPR)的摩尔比；以及e)如果所述摩尔比大于不含候选抑制剂的对照混合物的摩尔比，则将候选抑制剂化合物鉴定为抑制剂。

[0416] 在一些实施方式中，提供了鉴定SARM1抑制剂的方法，包括：a)提供包含与i)全长SARM1和至少一个标签、ii)NAD+和iii)候选抑制剂结合的固体支撑物的混合物；b)培育混合物；c)培育后对NAD+进行定量；以及d)如果NAD+的浓度大于对照的浓度，则将候选抑制剂化合物鉴定为SARM1抑制剂。

[0417] SARM1结合测定

[0418] 在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂的功效可以根据例如2018年3月29日公开的WO 2018/057989中描述的测定来确定，该公开在此以全文引用的方式并入。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂可以应用于含有SARM1或其片段的溶液。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂可以应用于体外系统。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂可以应用于体内系统。在一些实施方式中，所提供的SARM1抑制剂可以应用于患者。在一些实施方式中，可以将SARM1抑制剂与已用表位标签标记的SARM1或其片段混合。在一些实施方式中，可以将结合的SARM1抑制剂的量与未结合的SARM1抑制剂的量进行比较，得出对SARM1抑制剂的亲和力。

[0419] 在一些实施方式中，SARM1的突变体或片段是具有组成型活性的SAM-TIR片段。具有组成型活性的SARM1片段包括例如但不限于，缺失自抑制域的SARM1；使自抑制域失活的SARM1的至少一个点突变；含有TIR域的SARM1片段；或由SAM和TIR域组成的SARM1片段。在一些实施方式中，SARM1多肽可以包括一个或多个额外的氨基酸序列，这些序列可以充当标签，如His标签、链霉亲和素标签或其组合。在一些实施方式中，SARM1多肽可以包括在氨基末端、羧基末端或其组合的标签。在一些实施方式中，用表位标签标记的SARM1或其片段可用于测量所提供的SARM1抑制剂的结合功效。

[0420] SARM1-TIR域的纯化

[0421] 在一些实施方式中，SARM1-TIR域可以用各种蛋白质标签或表位标签进行工程化，这些标签可用于例如纯化。在一些实施方式中，本公开还提供了NRK1-HEK293T细胞系，其包含用烟酰胺核苷激酶1(NRK1)转化的HEK293T细胞。在一些实施方式中，用编码烟酰胺核苷激酶1(NRK1)的DNA序列转化或转染HEK293T细胞。在一些实施方式中，编码NRK1的DNA可以是基因组的或cDNA。在一些实施方式中，用来自宿主细胞外源的编码NRK1的DNA稳定地或瞬时地转染HEK293T细胞。在一些实施方式中，用编码NRK1的DNA稳定地或瞬时地转染HEK293T细胞，使所述细胞与对照细胞相比以升高的水平表达NRK1。在一些实施方式中，编码NRK1的

DNA处于一个或多个外源调控DNA序列(如启动子、增强子或其组合)的控制下。在一些实施方式中,编码NRK1的DNA序列和调控序列的组合是非天然存在的组合。在一些实施方式中,编码NRK1的DNA,无论是基因组的还是cDNA,都包含表达载体,如FCIV表达载体。在一些实施方式中,编码NRK1的DNA来源于来自脊椎动物或无脊椎动物物种的基因组DNA或cDNA,所述脊椎动物或无脊椎动物物种如但不限于人类、小鼠、斑马鱼或果蝇。在一些配置中,NRK1DNA是人类NRK1 DNA。

[0422] 应用和用途

[0423] 本公开提供了本文所述的化合物和/或组合物的各种用途和应用,例如根据如本文所述的这些化合物和/或组合物的活性和/或特征。在一些实施方式中,这类用途可以包括治疗和/或诊断用途。或者,在一些实施方式中,这类用途可以包括研究、生产和/或其它技术用途。

[0424] 在一个方面,本公开提供了包含向受试者施用一种或多种式I或式II所示的化合物的方法,例如以治疗、预防一种或多种以轴突变性为特征的病况或降低罹患所述病况的风险。在一些这样的实施方式中,式I或式II所示的化合物是SARM1抑制剂。

[0425] 本公开的另一个实施方式涉及抑制患者中SARM1活性的方法,其包含向所述患者施用所提供的化合物或包含所述化合物的组合物的步骤。

[0426] 抑制生物样品中的酶对于本领域技术人员已知的各种目的是有用的。这类目的的实例包括但不限于生物测定、基因表达研究和生物靶标鉴定。

[0427] 在某些实施方式中,本公开涉及治疗生物样品中的轴突变性的方法,其包含使所述生物样品与式I或式II所示的化合物或组合物接触的步骤。在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如抑制源自受试者的神经元退化的方法。在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于抑制体外培养的神经元或其一部分的变性。在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用作稳定剂以促进体外神经元存活。

[0428] 在一些实施方式中,所提供的化合物和/或组合物抑制SARM1的NAD酶活性。替代地或另外地,在一些实施方式中,所提供的化合物缓解神经变性的一种或多种属性。在一些实施方式中,本公开提供了治疗与轴突变性相关的神经退行性疾病或病症的方法。

[0429] 在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如医学实践中。在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如治疗、预防或改善轴突变性(例如,其一种或多种特征或特性)。在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如抑制轴突变性,包括由NAD+减少或耗竭导致的轴突变性。在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如防止轴突损伤远端的轴突变性。

[0430] 在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如抑制外周神经系统神经元或其一部分退化的方法。在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如抑制或防止中枢神经系统(神经元)或其一部分退化的方法。在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物或组合物的特征在于,当施用于受试者群体时,减少神经变性的一种或多种症状或特征。例如,在一些实施方式中,相关症状或特征可选自神经元破坏的程度、速率和/或时机组成的组。

[0431] 在某些实施方式中，本公开提供了根据本公开所述的例如用作分析工具、用作生物测定中的探针或用作治疗剂的化合物。本公开提供的化合物也可用于研究生物和病理现象中的SARM1活性以及在体外或体内对新的SARM1活性抑制剂的比较评价。在某些实施方式中，本公开提供了用于鉴定和/或表征本文提供的化合物和/或组合物的测定。在一些实施方式中，所提供的测定利用可用于测定SARM1活性的特定试剂和/或系统(例如，某些载体构建体和/或多肽)。例如，在一些实施方式中，所提供的测定可以利用例如缺失SARM1N端自动抑制域的SAM-TIR，和/或TIR域的一个或多个加标签版本。

[0432] 在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如抑制源自受试者的神经元退化的方法。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于抑制体外培养的神经元或其一部分的变性。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用作稳定剂以促进体外神经元存活。

[0433] 在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如影响与神经变性相关的生物标志物。在一些实施方式中，生物标志物的变化可以全身性地或用来自受试者的脑脊液(CSF)、血浆、血清和/或组织的样品来检测。在一些实施方式中，一种或多种化合物和/或组合物可用于影响受试者的脑脊液所含神经丝蛋白轻链(NF-L)和/或神经丝蛋白重链(NF-H)的浓度变化。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可以影响神经元和/或轴突中的组成型NAD和/或cADPR水平。

[0434] 在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可以影响受试者中一种或多种神经变性相关蛋白水平的可检测的变化。这类蛋白质包括但不限于白蛋白、淀粉样蛋白-β(Aβ)38、Aβ40、Aβ42、神经胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、心脏型脂肪酸结合蛋白(hFABP)、单核细胞趋化蛋白(MCP)-1、神经颗粒蛋白、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、可溶性淀粉样前体蛋白(sAPP)α、sAPPβ、在髓样细胞上表达的可溶性触发受体(sTREM)2、磷酸化tau和/或总tau(total-tua)。在一些实施方式中，本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可以影响细胞因子和/或趋化因子的变化，包括但不限于Ccl2、Ccl7、Ccl12、Csf1和/或Il6。

[0435] 疾病、病症和病况

[0436] 在一些实施方式中，本文所述的化合物和/或组合物可以施用于患有一种或多种疾病、病症或病况的受试者。

[0437] 在一些实施方式中，所述病况是急性病况。在一些实施方式中，所述病况是慢性病况。

[0438] 在一些实施方式中，所述病况的特征是中枢神经系统、外周神经系统、视神经、颅神经或其组合的轴突变性。

[0439] 在一些实施方式中，所述病况是或包含对中枢神经系统的急性损伤，例如对脊髓的损伤和/或创伤性脑损伤。在一些实施方式中，所述病况是或包含对中枢神经系统的慢性损伤，例如对脊髓的损伤、创伤性脑损伤和/或创伤性轴突损伤。在一些实施方式中，所述病况是或包含慢性创伤性脑病变(CTE)。

[0440] 在一些实施方式中，所述病况是影响中枢神经系统的慢性病况，例如帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化症、多发性硬化症或亨廷顿病、阿尔茨海默氏病。

[0441] 在一些实施方式中，所述病况是急性外周神经病变。化疗诱导的外周神经病变

(CIPN)是急性外周神经病变的一个实例。CIPN可以与多种药物相关联,例如但不限于沙利度胺(thalidomide)、埃博霉素(epothilone)(例如伊沙匹隆(ixabepilone))、紫杉烷(taxane)(例如太平洋紫杉醇(paclitaxel)和多烯紫杉醇(docetaxel))、长春花生物碱(vinca alkaloid)(例如长春花碱(vinblastine)、长春瑞滨(vinorelbine)、长春新碱(vincristine)和长春地辛(vindesine))、蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米(bortezomib))、铂类药物(例如顺铂(cisplatin)、奥沙利铂(oxaliplatin)和卡铂(carboplatin))。

[0442] 在一些实施方式中,所述病况是影响外周神经系统的慢性病况,例如糖尿病性神经病变、HIV神经病变、夏-马-图三氏病(Charcot Marie Tooth disease)或肌萎缩性侧索硬化症。

[0443] 在一些实施方式中,所述病况是影响视神经的急性病况,例如急性视神经病变(AON)或急性闭角型青光眼。

[0444] 在一些实施方式中,所述病况是影响视神经的慢性病况,例如利伯氏先天性黑蒙、利伯氏遗传性视神经病变、原发性开角型青光眼和常染色体显性视神经萎缩。

[0445] 在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如治疗一种或多种选自由神经病变或轴突病变组成的组的神经退行性疾病、病症或病况。在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物和/或组合物可用于例如治疗与轴突变性相关的神经病变或轴突病变。在一些实施方式中,与轴突变性相关的神经病变是遗传性或先天性神经病变或轴突病变。在一些实施方式中,与轴突变性相关的神经病变是由新生或体细胞突变导致的。在一些实施方式中,与轴突变性相关的神经病变选自本文包含的列表中。在一些实施方式中,神经病变或轴突病变与轴突变性相关,包括但不限于帕金森氏病、非帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、疱疹感染、糖尿病、肌萎缩性侧索硬化症、脱髓鞘疾病、局部缺血或中风、化学损伤、热损伤和AIDS。

[0446] 在一些实施方式中,本文所述的一种或多种化合物或组合物的特征在于,当施用于受试者群体时,减少神经变性的一种或多种症状或特征。例如,在一些实施方式中,相关症状或特征可选自神经元破坏的程度、速率和/或时机组成的组。在一些实施方式中,神经元破坏可以是或包含轴突退化、突触丧失、树突丧失、突触密度丧失、树突乔化丧失、轴突分支丧失、神经元密度丧失、髓鞘化丧失、神经元细胞体丧失、突触增强丧失、动作电位增强丧失、细胞骨架稳定性丧失、轴突运输丧失、离子通道合成和周转丧失、神经递质合成丧失、神经递质释放和再摄取能力丧失、轴突电位传播丧失、神经元超兴奋性和/或神经元低兴奋性。在一些实施方式中,神经元破坏的特征是无法维持适当的静息神经元膜电位。在一些实施方式中,神经元破坏的特征是出现包涵体、斑块和/或神经原纤维缠结。在一些实施方式中,神经元破坏的特征是出现应激颗粒。在一些实施方式中,神经元破坏的特征是半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶(Caspase)家族的一个或多个成员的细胞内激活。在一些实施方式中,神经元破坏的特征是神经元经历程序性细胞死亡(例如细胞凋亡、焦化、铁死亡和/或坏死)和/或炎症。

[0447] 在一些实施方式中,神经退行性或神经系统疾病或病症与轴突变性、轴突损伤、轴突病变、脱髓鞘疾病、脑桥中央髓鞘溶解症、神经损伤疾病或病症、代谢性疾病、线粒体疾病、代谢性轴突变性、由脑白质病或脑白质营养不良导致的轴突损伤有关。在一些实施方式中,神经退行性或神经系统疾病或病症选自下组:脊髓损伤、中风、多发性硬化症、进行性多

灶性脑白质病、先天性髓鞘形成减少、脑脊髓炎、急性播散性脑脊髓炎、脑桥中央髓鞘溶解症、渗透性低钠血症、缺氧性脱髓鞘、缺血性脱髓鞘、肾上腺脑白质营养不良、亚历山大氏病(Alexander's disease)、尼曼-皮克病(Niemann-Pick disease)、佩梅病(Pelizaeus Merzbacher disease)、脑室周围白质软化、球形细胞脑白质营养不良(克拉伯氏病(Krabbe's disease))、华勒氏变性、视神经炎、横贯性脊髓炎、肌萎缩性侧索硬化症(ALS,葛雷克氏病(Lou Gehrig's disease))、亨廷顿病、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、泰-萨克斯病(Tay-Sacks disease)、高雪氏病(Gaucher's disease)、赫尔勒综合征(Hurler Syndrome)、创伤性脑损伤、放射后损伤、化疗的神经系统并发症(化疗诱导的神经病变;CIPN)、神经病变、急性缺血性视神经病变、维生素B_{12}缺乏症、单维生素E缺乏综合征、巴-科综合征(Bassen-Kornzweig syndrome)、青光眼、利伯氏遗传性视神经萎缩(神经病变)、利伯氏先天性黑蒙、视神经脊髓炎、异染性脑白质营养不良、急性出血性白质脑炎、三叉神经痛、贝尔氏麻痹(Bell's palsy)、脑缺血、多系统萎缩、外伤性青光眼、热带痉挛性截瘫人类嗜T淋巴细胞病毒1(HTLV-1)相关的脊髓病、西尼罗河病毒脑病(west Nile virus encephalopathy)、拉克罗斯病毒脑炎(La Crosse virus encephalitis)、布尼亚病毒脑炎(Bunyavirus encephalitis)、小儿病毒性脑炎、特发性震颤、夏-马-图三氏病、运动神经元病、脊髓性肌萎缩(SMA)、遗传性感觉和自主神经病变(HSAN)、肾上腺脊髓神经病变、进行性核上性麻痹(PSP)、弗里德里希共济失调(Friedrich's ataxia)、遗传性共济失调、噪声诱发的听力损失、先天性听力损失、路易体痴呆(Lewy Body Dementia)、额颞痴呆、淀粉样变性、糖尿病性神经病变、HIV神经病变、肠神经病变和轴突病变、吉兰-巴雷综合征(Guillain-Barre syndrome)、严重急性运动轴突神经病变(AMAN)、克雅氏病(Creutzfeldt-Jakob disease)、传染性海绵状脑病、脊髓小脑共济失调、先兆子痫、遗传性痉挛性截瘫、痉挛性截瘫、家族性痉挛性截瘫、法国定居病(French settlement disease)、斯-洛病(Strumpell-Lorrain disease)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0448] 在一些实施方式中,本公开提供了用于治疗涉及轴突变性或轴突病变的神经退行性或神经系统疾病或病症的SARM1活性抑制剂。本公开还提供了使用SARM1活性抑制剂来治疗、预防或改善轴突变性、轴突病变和涉及轴突变性的神经退行性或神经系统疾病或病症的方法。

[0449] 在一些实施方式中,本公开提供了治疗与轴突变性、轴突损伤、轴突病变、脱髓鞘疾病、脑桥中央髓鞘溶解症、神经损伤疾病或病症、代谢性疾病、线粒体疾病、代谢性轴突变性、由脑白质病或脑白质营养不良导致的轴突损伤有关的神经退行性或神经系统疾病或病症的方法。

[0450] 在一些实施方式中,神经病变和轴突病变包括涉及神经元和/或支持细胞,例如胶质细胞、肌肉细胞或成纤维细胞的任何疾病或病况,特别是涉及轴突损伤的那些疾病或病况。轴突损伤可以由创伤性损伤或由疾病、病况或暴露于有毒分子或药物导致的非机械性损伤而引起。这种损伤的结果可以是轴突的变性或功能障碍和功能神经元活性的丧失。产生的或与这种轴突损伤相关的疾病和病况是许多神经性疾病和病况中的一种。这样的神经病变可以包括外周神经病变、中枢神经病变及其组合。此外,外周神经性表现可以主要由集中在中枢神经系统的疾病产生,而中枢神经系统表现可以基本上由外周性或全身性疾病产生。

[0451] 在一些实施方式中，外周神经病变可以涉及对外周神经的损伤，和/或可以由神经的疾病或由于全身性疾病引起。一些这样的疾病可以包括糖尿病、尿毒症、感染性疾病如AID或麻风病、营养缺乏、血管或胶原病症如动脉粥样硬化，以及自身免疫性疾病如全身性红斑狼疮、硬皮病、结节病、类风湿性关节炎和结节性多动脉炎。在一些实施方式中，外周神经变性是由对神经的创伤性(机械性)损伤以及对神经的化学或热损伤造成的。损伤外周神经的这类病况包括压迫或夹伤，如青光眼、腕管综合征、直接创伤、穿透伤、挫伤、骨折或骨脱位；涉及浅表神经(尺骨、桡骨或腓骨神经)的压力，这可能是由于长期使用拐杖或在一个位置上停留时间过长，或由于肿瘤；神经内出血；局部缺血；暴露于寒冷或辐射或某些药物或有毒物质，如除草剂或杀虫剂。特别地，神经损伤可能是由于细胞毒性抗癌剂，例如紫杉醇、顺铂、蛋白酶体抑制剂或长春花生物碱如长春新碱的化学损伤所致。这类外周神经病变的典型症状包括手臂、手、腿和/或脚的无力、麻木、感觉异常(异常感觉，如烧灼、发痒、刺痛或发麻)和疼痛。在一些实施方式中，神经病变与线粒体功能障碍相关联。这种神经病变可以表现出能量水平下降，即NAD和ATP水平下降。

[0452] 在一些实施方式中，外周神经病变是一种代谢和内分泌神经病变，其包括与代谢起源的全身性疾病相关的广泛的外周神经病症。这些疾病包括例如糖尿病、低血糖、尿毒症、甲状腺功能低下、肝衰竭、红细胞增多症、淀粉样变性、肢端肥大症、卟啉症、脂质/糖脂代谢病症、营养/维生素缺乏症和线粒体病症等。这些疾病的共同特点是由于代谢途径失调导致髓鞘和轴突的结构或功能改变而累及外周神经。

[0453] 在一些实施方式中，神经病变包括视神经病变，如青光眼；视网膜神经节变性，如与色素性视网膜炎和视网膜外神经病变相关的视网膜神经节变性；视神经神经炎和/或变性，包括与多发性硬化症相关的视神经炎和/或变性；对视神经的创伤性损伤，其可以包括例如在肿瘤切除过程中的损伤；遗传性视神经病变，如凯氏病(Kjer's disease)和利伯氏遗传性视神经病变；缺血性视神经病变，如继发于巨细胞动脉炎的视神经病变；代谢性视神经病变，如神经退行性疾病，包括前面提到的利伯氏神经病变，营养缺乏症，如维生素B12或叶酸缺乏症，以及中毒，如由于乙胺丁醇或氰化物引起的；药物不良反应引起的神经病变和维生素缺乏症引起的神经病变。缺血性视神经病变还包括非动脉性前部缺血性视神经病变。

[0454] 在一些实施方式中，与中枢神经系统中的神经病变或轴突病变相关的神经退行性疾病包括多种疾病。这类疾病包括涉及进行性痴呆的疾病，例如阿尔茨海默氏病、老年性痴呆、皮克氏病(Pick's disease)和亨廷顿病；影响肌肉功能的中枢神经系统疾病，例如帕金森氏病、运动神经元疾病和进行性共济失调，例如肌萎缩性侧索硬化症；脱髓鞘疾病，例如多发性硬化症；病毒性脑炎，例如由肠道病毒、虫媒病毒和单纯疱疹病毒引起的病毒性脑炎；以及朊病毒疾病。机械性损伤，如青光眼或头部和脊柱的创伤性损伤，也可引起脑和脊髓的神经损伤和变性。此外，局部缺血和中风以及诸如营养缺乏和化学毒性(如化学治疗剂)之类的病况也可引起中枢神经系统神经病变。

[0455] 在一些实施方式中，本公开提供了一种治疗与轴突变性相关的神经病变或轴突病变的方法。在一些这样的实施方式中，与轴突变性相关的神经病变或轴突病变可以是多种神经病变或轴突病变中的任何一种，例如那些遗传性或先天性的或与帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、疱疹感染、糖尿病、肌萎缩性侧索硬化症、脱髓鞘疾病、局部缺血或中风、化学损

伤、热损伤和AIDS相关的神经病变或轴突病变。此外，上面未提及的神经退行性疾病以及上面提及的疾病的子集也可以用本公开的方法进行治疗。这类疾病子集可以包括帕金森氏病或非帕金森氏病，或阿尔茨海默氏病。

[0456] 受试者

[0457] 在一些实施方式中，将本文所述的化合物和/或组合物施用于患有或易患本文所述的疾病、病症或病况的受试者；在一些实施方式中，这种疾病、病症或病况的特征是轴突变性，如本文提及的病况之一。

[0458] 在一些实施方式中，向其施用本文所述的化合物或组合物的受试者表现出与轴突变性相关的一种或多种迹象或症状；在一些实施方式中，受试者不表现出神经变性的任何迹象或症状。

[0459] 在一些实施方式中，所提供的方法包含向有需要的患者施用式I或式II所示的化合物。在一些这样的实施方式中，患者具有罹患以轴突变性为特征的病况的风险。在一些实施方式中，患者患有以轴突变性为特征的病况。在一些实施方式中，患者已被诊断为患有以轴突变性为特征的病况。

[0460] 在一些实施方式中，所提供的方法包含向有需要的患者群体施用本文所述的组合物。在一些实施方式中，群体是来自参与创伤性神经元损伤的可能性高的活动的这些个体。在一些实施方式中，群体是来自参与接触性运动或其它高风险活动的运动员。

[0461] 在一些实施方式中，受试者具有罹患以轴突变性为特征的病况的风险。在一些实施方式中，受试者被鉴定为具有轴突变性的风险，例如基于受试者的基因型、与轴突变性相关的病况的诊断和/或暴露于诱导轴突变性的试剂和/或条件。

[0462] 在一些实施方式中，患者具有罹患神经退行性病症的风险。在一些实施方式中，患者是老年人。在一些实施方式中，已知患者具有神经变性的遗传风险因素。在一些实施方式中，患者具有神经退行性疾病的家族史。在一些实施方式中，患者表达神经变性的已知的遗传风险因子的一个或多个拷贝。在一些实施方式中，患者是来自神经变性高发群体。在一些实施方式中，患者在9号染色体开放阅读框72中具有六核苷酸重复扩增。在一些实施方式中，患者具有ApoE4等位基因的一个或多个拷贝。

[0463] 在一些实施方式中，施用本文所述化合物或组合物的受试者可以是或包含患有或易患神经退行性疾病、病症或病况的受试者。在一些实施方式中，神经退行性疾病、病症或病况可以是或包含创伤性神经元损伤。在一些实施方式中，创伤性神经元损伤是钝力创伤、闭合性头部损伤、开放性头部损伤、暴露于震荡性和/或爆炸性力量、对脑腔或身体神经支配区域的穿透性损伤。在一些实施方式中，创伤性神经元损伤是导致轴突变形、拉伸、挤压或剪切的力。

[0464] 在一些实施方式中，受试者从事被鉴定为神经元退化的风险因素的活动，例如，从事接触性运动或创伤性神经元损伤机率高的职业的受试者。

[0465] 例如，受试者可以是正在接受与外周神经病变相关的化疗或被开了与外周神经病变相关的化疗的处方的患者。化学治疗剂的实例包括但不限于沙利度胺、埃博霉素(例如伊沙匹隆)、紫杉烷(例如太平洋紫杉醇和多烯紫杉醇)、长春花生物碱(例如长春花碱、长春瑞滨、长春新碱和长春地辛)、蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米)、铂类药物(例如顺铂、奥沙利铂和卡铂)。

[0466] 在一些实施方式中，所提供的方法包含基于一种或多种生物标志物的存在或不存在，向患者或患者群体施用本文所述的组合物。在一些实施方式中，所提供的方法还包含监测患者或患者群体中的生物标志物的水平并相应地调整给药方案。

[0467] 给药

[0468] 本领域技术人员应理解，在一些实施方式中，本文所述的药物组合物或方案中包括和/或通过施用递送的特定化合物的精确量可由医疗从业者来选择，并且对于不同的受试者可能不同，例如在考虑了受试者的物种、年龄和一般状况，和/或特定化合物或组合物的特性、其施用方式等中的一个或多个之后。或者，在一些实施方式中，如本文所述的药物组合物或方案中包括和/或通过施用递送的特定化合物的量可在相关患者群体(例如，所有患者、特定年龄或疾病阶段或表达特定生物标志物的所有患者等)中标准化。

[0469] 本公开所提供的化合物或组合物优选以单位剂型配制，以便于施用和剂量的均一性。本文使用的表述“单位剂型”是指适合于待治疗的患者的物理上离散的药剂单位。然而，应理解，本公开所提供的化合物和组合物的每日总用量将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。任何特定患者或生物体的具体有效剂量水平将取决于多种因素，包括正在治疗的病症和病症的严重程度；个人患者的临床状况；病症的原因；所采用的特定化合物的活性；所采用的特定组合物；患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食；所采用的特定化合物的施用时间、药剂的递送部位、施用途径和排泄率；治疗持续时间；与所采用的特定化合物组合使用或同时使用的药物，以及医学技术中众所周知的类似因素。待施用化合物的有效量将由这些考虑因素决定，并且是抑制SARM1活性所需的最低量，以预防或治疗不希望的疾病或病症，例如神经变性或创伤性神经损伤。

[0470] 本公开的药学上可接受的组合物可根据所治疗的疾病、病症或感染的严重程度，以口服、经直肠、静脉内、肠胃外、脑池内、阴道内、腹膜内、局部(如粉剂、软膏或滴剂)、经颊、作为口服或鼻喷雾等施用于人类和其它动物。在某些实施方式中，日剂量以每日单次剂量或每日两次至六次的分次剂量，或持续释放形式给予。可以调整此给药方案以提供最佳治疗反应。化合物可按每天1次至4次，优选每天一次或两次的方案进行施用。

[0471] 在一些实施方式中，可以口服、肠胃外、通过吸入喷雾、局部、经直肠、经鼻、经颊、经阴道或通过植入式贮器施用本公开的组合物。本文使用的术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌肉内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、皮内、眼内、病灶内和颅内注射或输注技术。优选地，口服、腹腔内或静脉内施用组合物。

[0472] 在一些实施方式中，也可以局部施用本公开的药学上可接受的组合物，特别是当治疗目标包括通过局部施用容易到达的区域或器官时，包括眼睛、皮肤或下肠道的疾病。容易制备适用于这些区域或器官中的每一个的局部制剂。

[0473] 最优选地，本公开的药学上可接受的组合物被配制用于口服施用。这类制剂可以与食物一起施用或不与食物一起施用。在一些实施方式中，本公开的药学上可接受的组合物不与食物一起施用。在其它实施方式中，本公开的药学上可接受的组合物与食物一起施用。

[0474] 那些额外的药剂可以作为多剂量方案的一部分，与所提供的化合物或其组合物分开施用。或者，那些药剂可以是单一剂型的一部分，与所提供的化合物一起混合在单一组合物中。如果作为多剂量方案的一部分施用，两种活性剂可以同时、依次或彼此间隔一段时间

内(通常彼此间隔五小时内)提供。

[0475] 还应理解,任何特定患者的特定剂量和治疗方案可能取决于多种因素,包括所采用的特定化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、排泄率、药物组合以及治疗医师的判断和所治疗的特定疾病的严重程度。在一些实施方式中,本公开的化合物在组合物中的量也将取决于组合物中的特定化合物。

[0476] 在一些实施方式中,本文所述的SARM1抑制剂可以与一种或多种其它疗法组合利用,以治疗相关疾病、病症或病况。在一些实施方式中,与作为单药疗法施用时相比,在使用组合疗法时,SARM1抑制剂的剂量被改变;替代地或另外地,在一些实施方式中,与本文所述的SARM1抑制组合施用的疗法是根据不同于其单独施用或与SARM1抑制以外的一种或多种疗法组合施用时的方案(regimen)或治疗流程(protocol)的方案或治疗流程进行施用的。在一些实施方式中,包含附加治疗剂的组合物、该附加治疗剂和所提供的化合物可以协同作用。在一些实施方式中,与当用作单药疗法时相比,以较低水平或更不频繁地施用在组合方案中使用的一种或两种疗法。

[0477] 在一些实施方式中,本文所述的化合物和/或组合物与化学治疗剂一起施用,包括但不限于烷化剂、蒽环霉素、紫杉烷、埃博霉素、组蛋白去乙酰基酶抑制剂、拓扑异构酶抑制剂、激酶抑制剂、核苷酸类似物、肽抗生素、铂类药剂、类视黄素、长春花生物碱和衍生物。在一些实施方式中,本文所述的化合物和/或组合物与PARP抑制剂组合施用。

[0478] 实施例

[0479] 本教导包括实施例中提供的描述,其目的不是限制任何权利要求的范围。除非特别以过去式提出,否则包含在实施例中的并不打算暗示实际进行了实验。提供以下非限制性实例以进一步说明本教导。根据本公开,本领域技术人员应理解,可以在所公开的具体实施例中进行许多改变,并且仍然获得类似或相似的结果,而不偏离本教导的精神和范围。

[0480] 方法

[0481] 本文所述的一些方法和组合物利用了本领域技术人员众所周知的实验室技术,并且可以在实验室手册中找到,如Sambrook,J等人,《分子克隆:实验室手册》(Molecular Cloning:A Laboratory Manual),第3版冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press),纽约州冷泉港(Cold Spring Harbor,N.Y.),2001;《分子生物学方法》(Methods In Molecular Biology),编辑Richard,胡马纳出版社(Humana Press),新泽西州(NJ),1995;Spector,D.L.等人,《细胞:实验室手册》(Cells:A Laboratory Manual),冷泉港实验室出版社,纽约州冷泉港,1998;和Harlow,E.,《使用抗体:实验室手册》(Using Antibodies:A Laboratory Manual),冷泉港实验室出版社,纽约州冷泉港,1999。药物的施用方法和剂量方案可以根据药理学的标准原理,使用标准参考文献提供的方法来确定,如《雷明顿:药学的科学与实践》(Remington:the Science and Practice of Pharmacy)(Alfonso R.Gennaro编,1995年第19版);Hardman,J.G.等人,《古德曼和吉尔曼治疗学的药理学基础》(Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics),第九版,麦格劳-希尔(McGraw-Hill),1996;和Rowe,R.C.等人,《药物赋形剂手册》(Handbook of Pharmaceutical Excipients),第四版,英国医药出版社(Pharmaceutical Press),2003。

[0482] 实施例1:化合物的表征

[0483] LCMS方法:

[0484] 分析型LC/MS分析方法A：

[0485] ESI+/-离子模式100-1000Da

[0486] 色谱柱:XBridge C18,50x4.6mm,3.5um

[0487] 温度:40℃

[0488] 梯度：

[0489]

时间(分钟)	水(10mM NH NH_4HCO_3)	乙腈	流量(mL/分钟)
0	95%	5%	2.0
1.2	5%	95%	2.0
3.0	5%	95%	2.0

[0490] 分析型LC/MS分析方法B：

[0491] ESI+/-离子模式150-850Da

[0492] 色谱柱:Phenomenex Kinetix-XB C18,零件编号00D-4498-AN,2.1x100mm,1.7um

[0493] 温度:40℃

[0494] 梯度：

[0495]

时间(分钟)	水+0.1%甲酸	乙腈+0.1%甲酸	流量(mL/分钟)
0.00	95%	5%	0.6
5.30	0%	100%	0.6
5.80	0%	100%	0.6
5.82	95%	5%	0.6
7.00	95%	5%	0.6

[0496] 分析型LC/MS分析方法C：

[0497] ESI+/-离子模式100-1000Da

[0498] 色谱柱:XBridge C18,50x4.6mm,3.5um

[0499] 温度:40℃

[0500] 梯度：

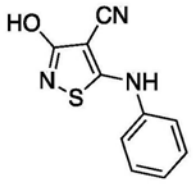
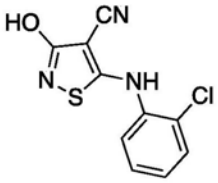
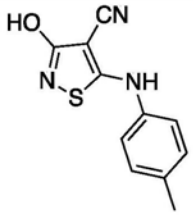
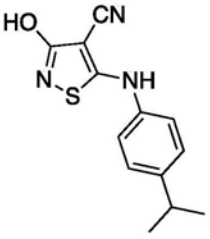
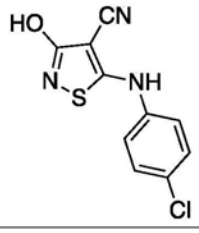
[0501]

时间(分钟)	水+0.1%TFA	乙腈+0.1%TFA	流量(mL/分钟)
0	95%	5%	1.8
1.8	5%	95%	1.8
3.0	5%	95%	1.8

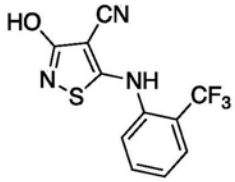
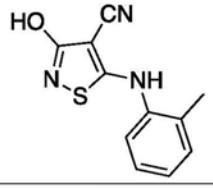
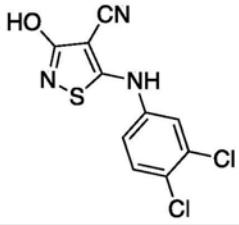
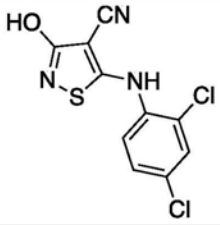
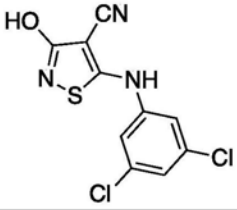
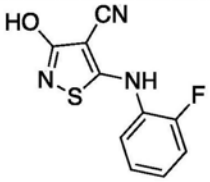
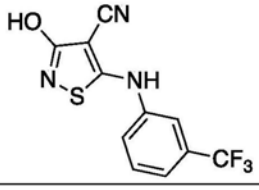
[0502] 结果列于表1：

[0503] 表1.

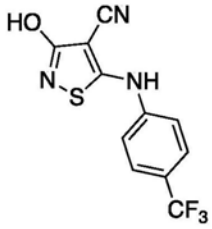
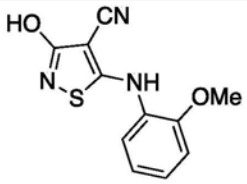
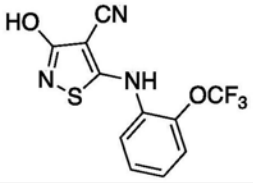
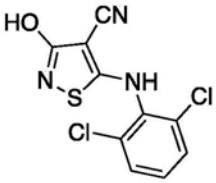
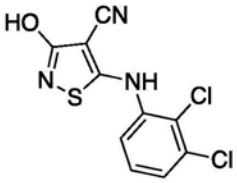
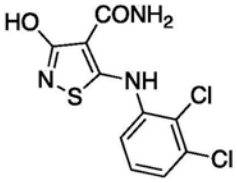
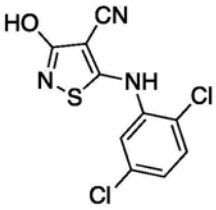
[0504]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
1		B	1.83	218.0
2		A	1.21	252.0
3		B	2.16	232.0
4		B	2.77	260.0
5		B	2.30	252.0

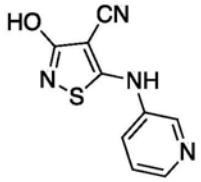
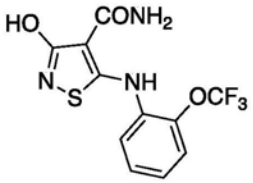
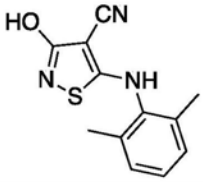
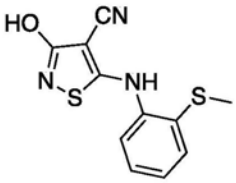
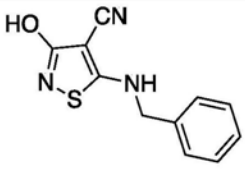
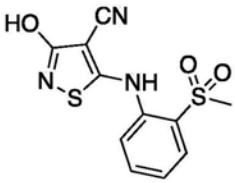
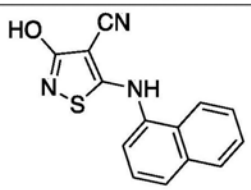
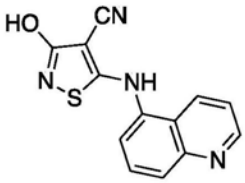
[0505]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
6		A	1.25	286.0
7		A	1.20	232.0
8		B	2.72	286.0
9		B	2.45	286.0
10		B	2.84	286.0
11		B	1.78	236.0
12		B	2.53	285.24

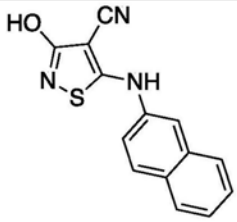
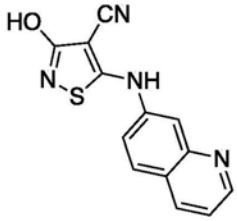
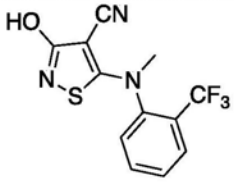
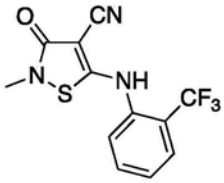
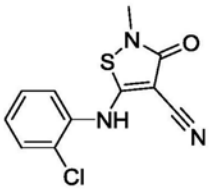
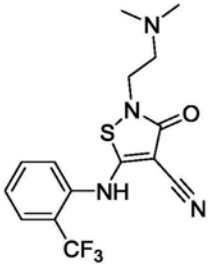
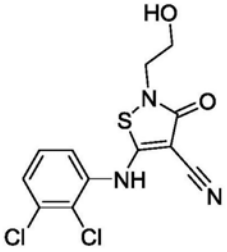
[0506]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
13		B	2.62	286.0
14		B	1.90	248.0
15		B	2.34	302.0
16		B	2.03	286.0
17		B	2.39	286.0
18		B	2.78	304.0
19		B	2.38	286.0

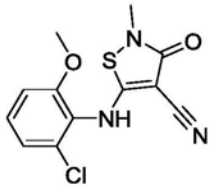
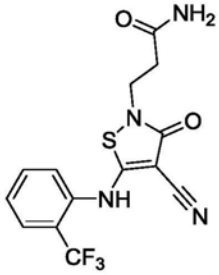
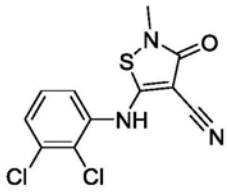
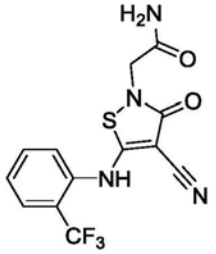
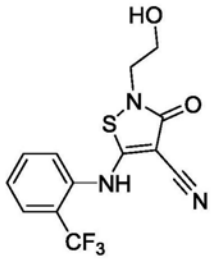
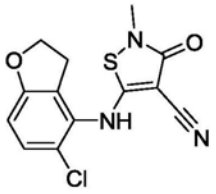
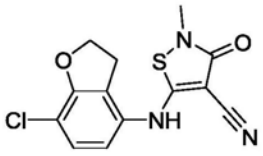
[0507]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
20		B	0.90	219.0
21		B	2.24	320.0
22		B	2.12	246.0
23		B	2.05	264.0
24		B	1.88	232.0
25		B	1.66	296.0
26		A	1.28	268.0
27		A	1.07	269.0

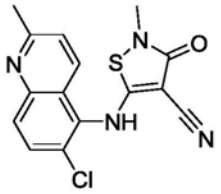
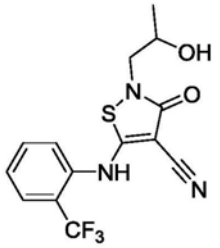
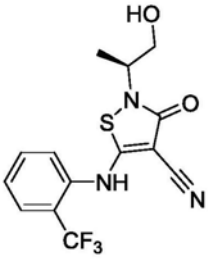
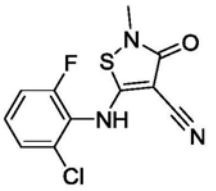
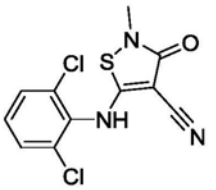
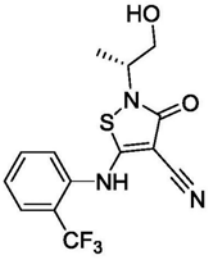
[0508]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
28		A	1.29	268.0
29		A	1.08	269.0
30		A	1.26	300.0
31		A	1.25	300.0
32		B	2.14	266.1
33		A	1.4	357
34		A	1.23	330, 332

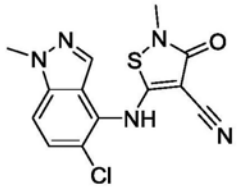
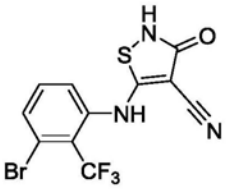
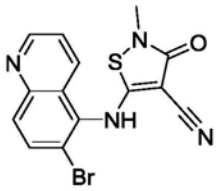
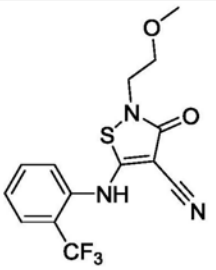
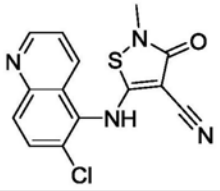
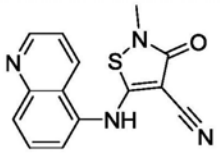
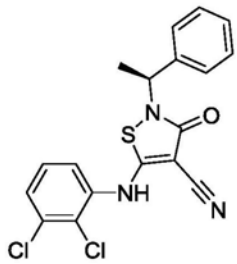
[0509]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
35		A	1.32	296, 298
36		A	1.28	357
37		A	1.25	300, 302
38		A	1.266	343
39		A	1.33	330
40		A	1.338	308, 310
41		A	1.429	308, 309.9

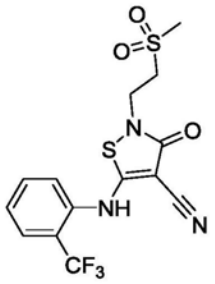
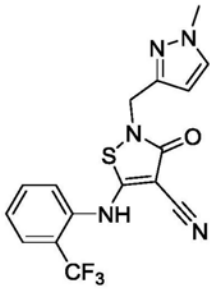
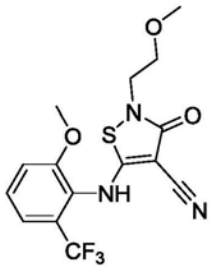
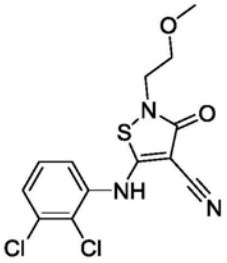
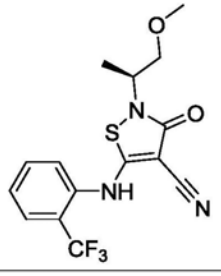
[0510]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
42		A	1.382	331.1, 333.1
43		A	1.26	344
44		A	1.45	344
45		B	2.06	284.1
46		A	1.35	299.9, 302.00
47		A	1.45	344

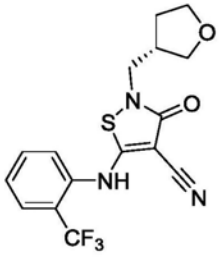
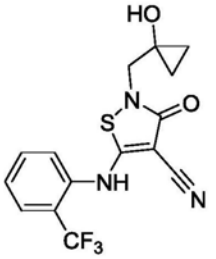
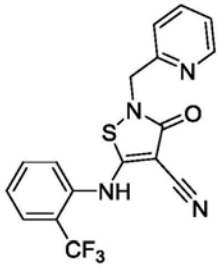
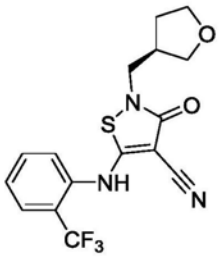
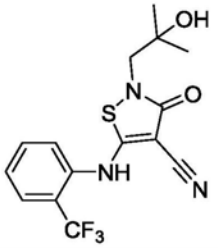
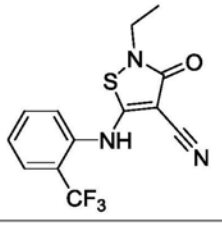
[0511]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
48		A	1.316	320.1, 322.1
49		A	1.35	363.9, 366
50		A	1.302	360.9, 362.9
51		A	1.41	344
52		A	1.246	317, 318.9
53		A	1.164	283
54		B	3.51	390.1/392.1

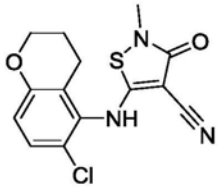
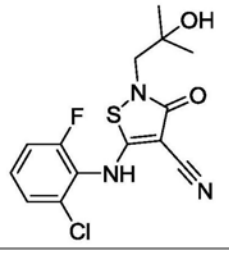
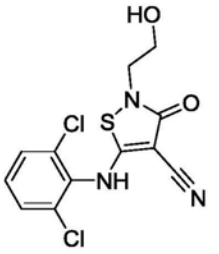
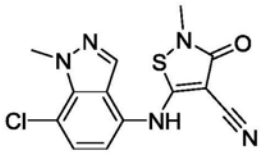
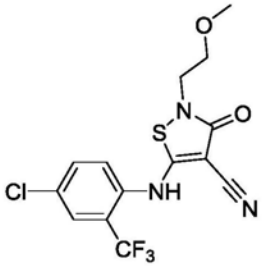
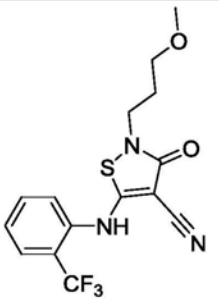
[0512]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
55		A	1.36	392
56		A	1.39	380
57		A	1.435	374
58		A	1.44	345
59		A	1.35	358

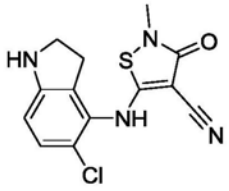
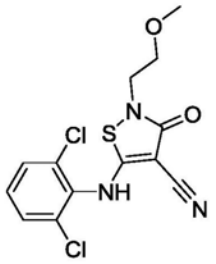
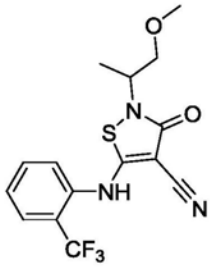
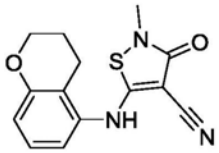
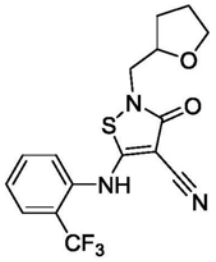
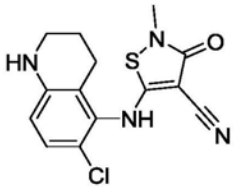
[0513]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
60		A	1.42	370
61		A	1.38	356
62		A	1.42	377
63		A	1.42	370
64		A	1.29	358
65		A	1.47	314

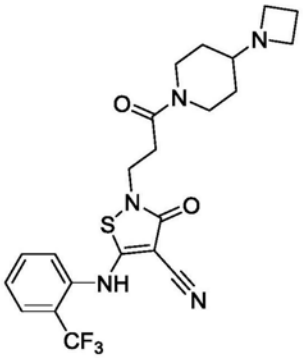
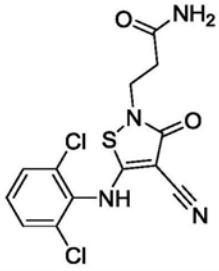
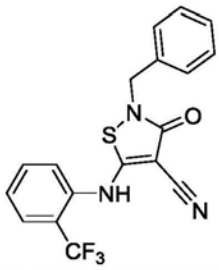
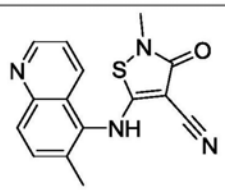
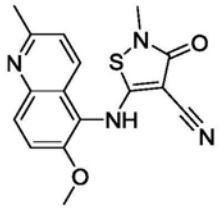
[0514]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
66		A	1.674	322, 324
67		B	2.06	342.1
68		A	1.39	330.0, 331.9
69		C	1.917	320.2, 322.1
70		A	1.51	378
71		A	1.45	358

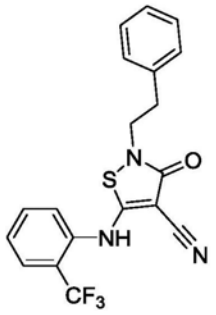
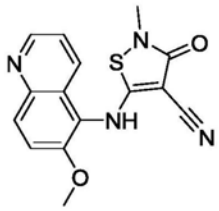
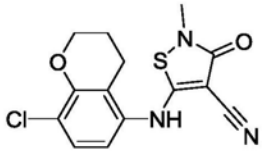
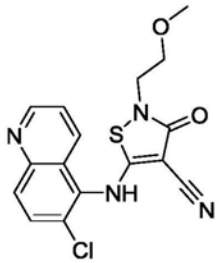
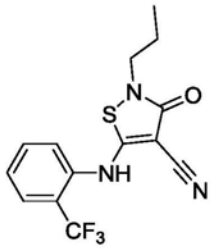
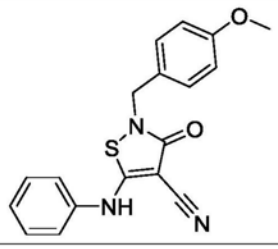
[0515]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
72		A	1.255	307, 309
73		A	1.53	344.0, 346.0
74		C	1.55	358
75		A	1.421	288
76		A	1.48	370
77		A	1.296	321.0, 323.0

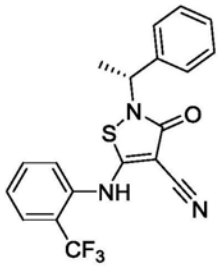
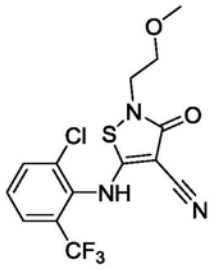
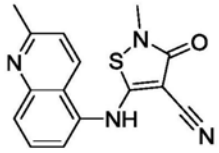
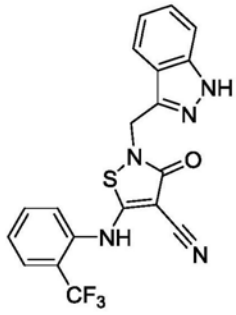
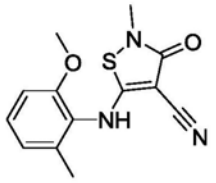
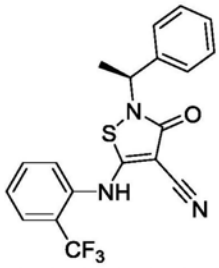
[0516]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
78		A	1.347	180
79		A	1.077	357, 359
80		A	1.58	376
81		A	1.295	297
82		A	1.22	327

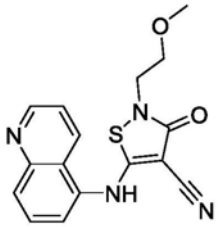
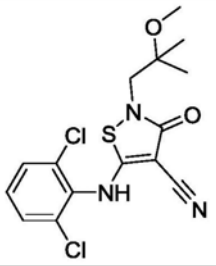
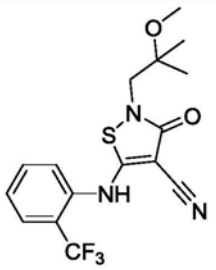
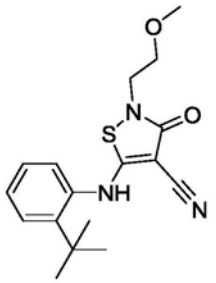
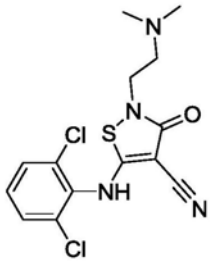
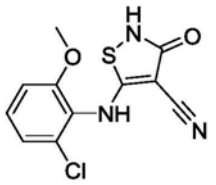
[0517]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
83		A	1.47	390
84		A	1.18	313
85		A	1.483	321.9, 324
86		A	1.327	360.9, 362.9
87		A	1.5	328
88		B	3	338.2

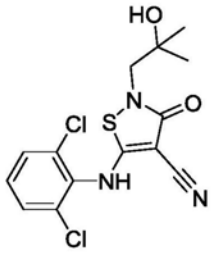
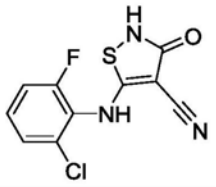
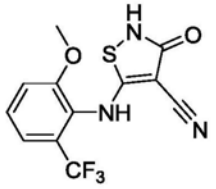
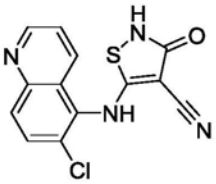
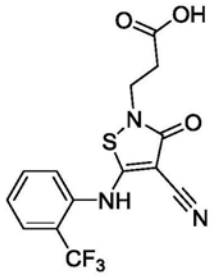
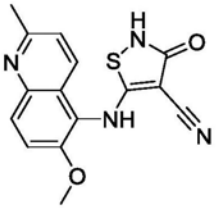
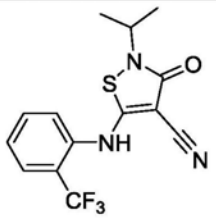
[0518]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
89		A	1.607	390
90		A	1.42	378
91		C	0.862	297
92		A	1.44	416
93		B	2.27	276.1
94		A	1.78	390

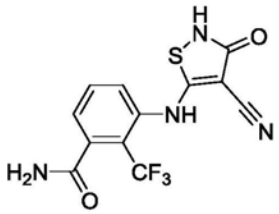
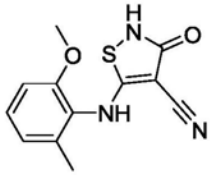
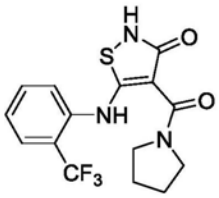
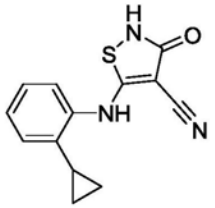
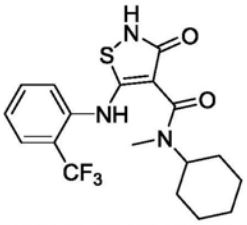
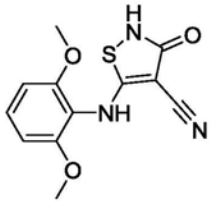
[0519]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
95		A	1.206	327
96		A	1.34	372, 374
97		A	1.5	372
98		A	1.61	332
99		A	1.36	356.9, 359
100		B	1.95	279.2/281.2

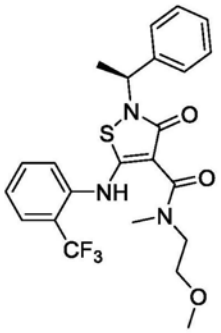
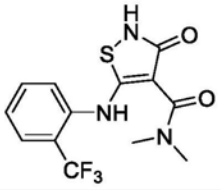
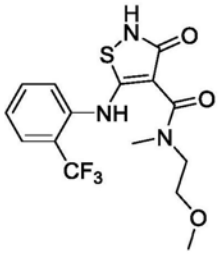
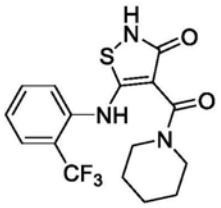
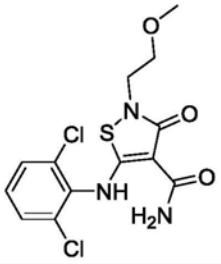
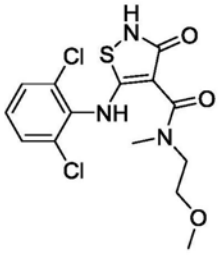
[0520]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
101		C	1.49	358, 360
102		B	1.88	270/272
103		B	2.1	316.1
104		A	1.118	303, 305
105		A	1.13	358
106		B	0.87	313.1
107		A	1.5	328

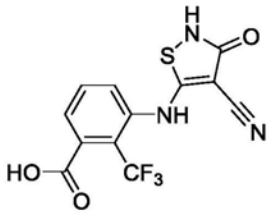
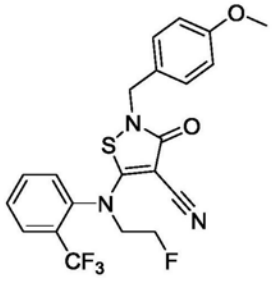
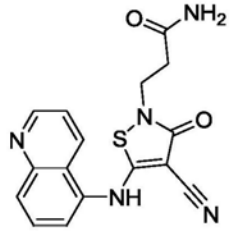
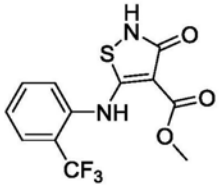
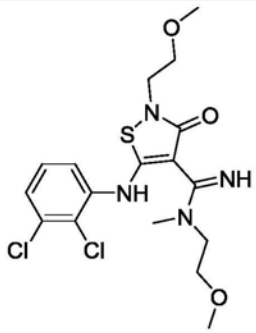
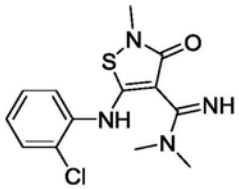
[0521]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
108		A	0.39	329
109		B	1.96	262.1
110		B	2.56	358.1
111		A	1.27	258
112		B	3.37	400.2
113		B	1.75	278.1

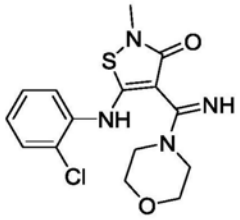
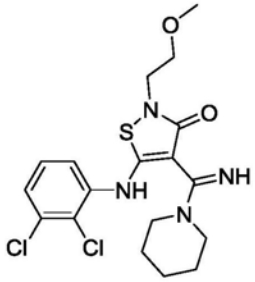
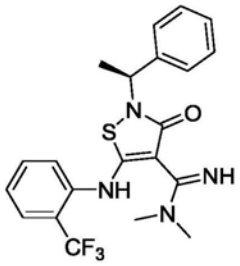
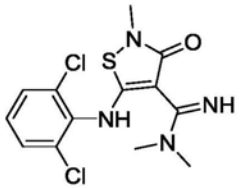
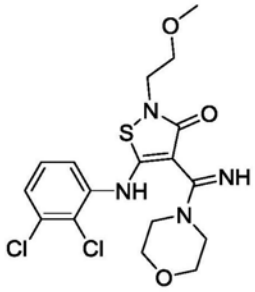
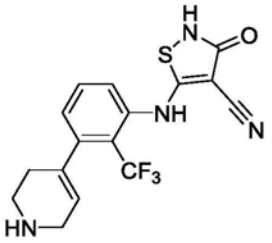
[0522]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
114		B	3.28	480.0
115		B	2.25	332.1
116		B	2.4	376.2
117		B	2.86	372.2
118		A	1.52	363
119		B	2.18	376.1/378.0

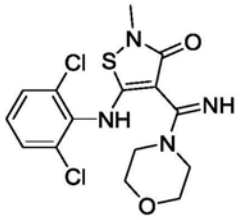
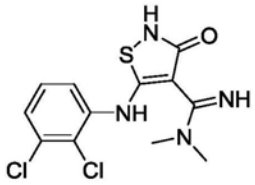
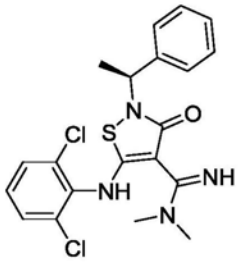
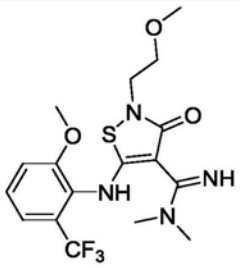
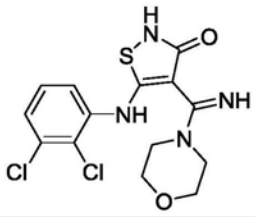
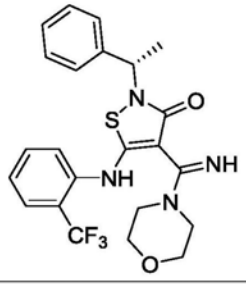
[0523]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
120		A	0.38	330
121		B	3.29	452.2
122		A	1.091	340
123		B	2.78	319.1
124		B	1.75	433.0 / 435.0
125		B	1.22	311.1

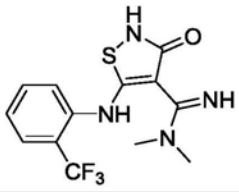
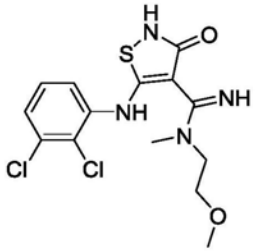
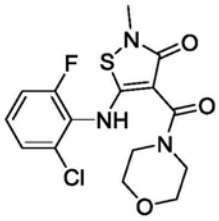
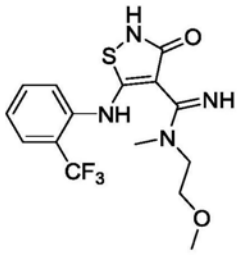
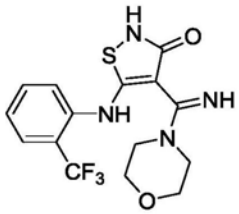
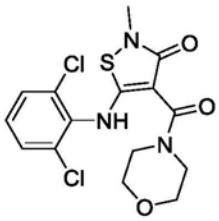
[0524]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
126		B	1.27	353.2
127		B	1.87	429.1/431.2
128		A	1.919	435
129		B	1.3	387.2/389.1
130		B	1.67	431.0 / 433.0
131		A	1.078	367

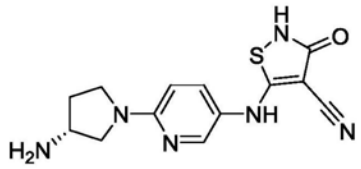
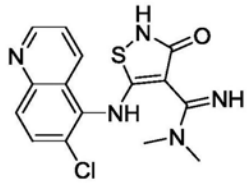
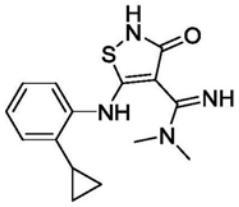
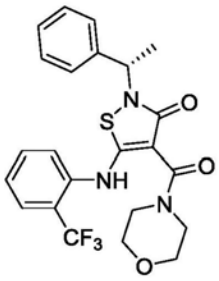
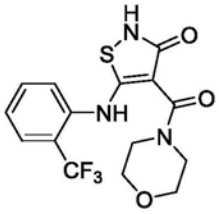
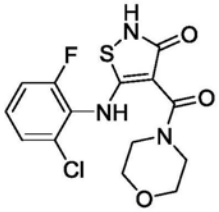
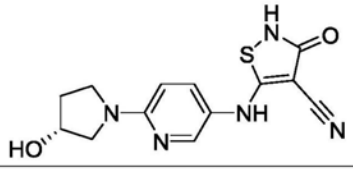
[0525]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
132		B	1.33	387.2/389.1
133		A	1.307	331, 333
134		A	1.676	435.1, 437
135		A	1.556	419
136		B	1.39	375.2/377.2
137		B	2.18	477.3

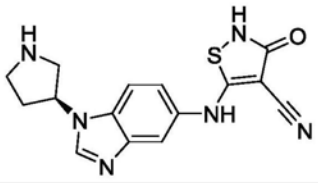
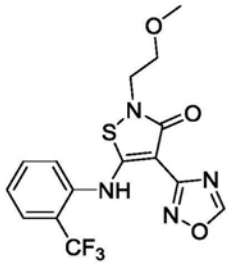
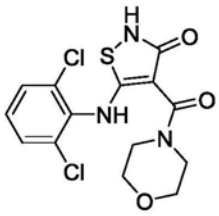
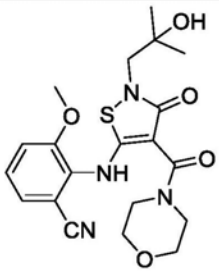
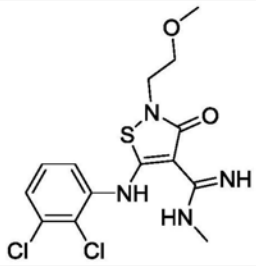
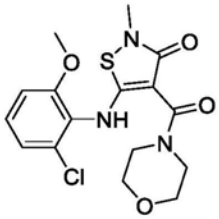
[0526]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
138		A	1.16	330.9
139		A	1.384	375, 377
140		B	2.05	370.1
141		A	1.408	375
142		B	1.21	331.2
143		B	2.25	388

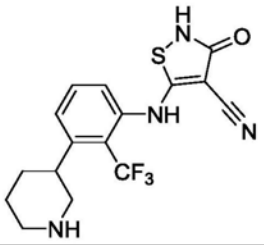
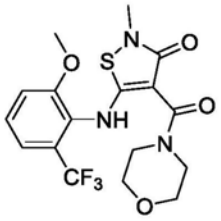
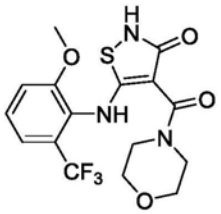
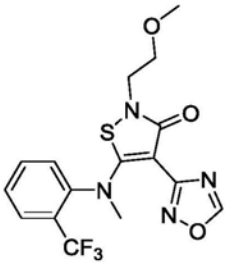
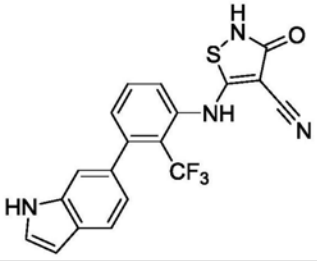
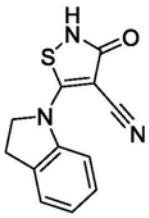
[0527]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
144		A	0.797	303
145		A	1.154	348, 350
146		A	1.343	303
147		B	3.51	478.2
148		B	2.28	374.1
149		B	1.84	358.1/360.1
150		A	1.01	304

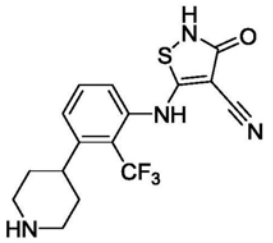
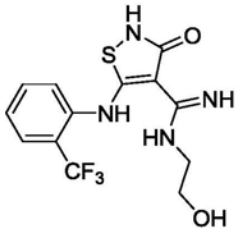
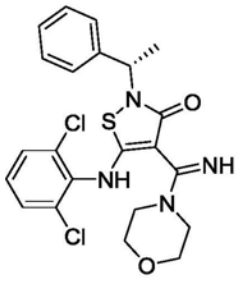
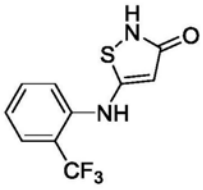
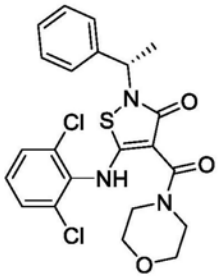
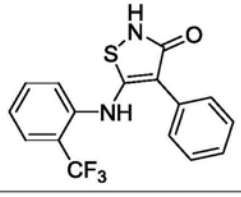
[0528]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
151		A	0.96	327
152		B	2.86	387.1
153		B	2.03	374.0/376.0
154		B	1.79	433.3
155		A	1.642	389.0, 390.9
156		B	2.21	286.1

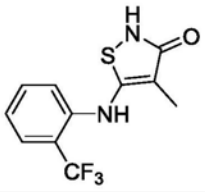
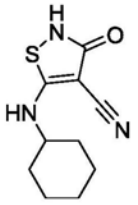
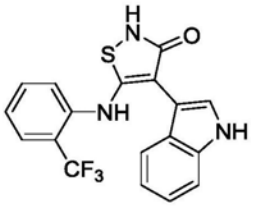
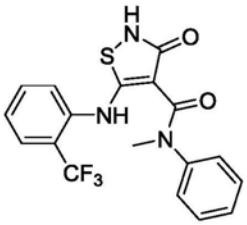
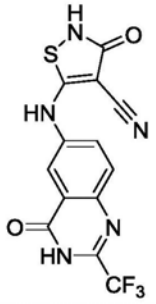
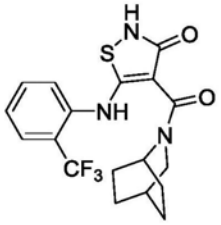
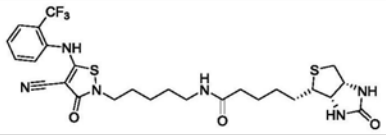
[0529]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
157		A	1.114	369
158		B	2.46	418.1
159		B	2.24	404.1
160		B	2.63	401.1
161		A	1.539	401
162		C	1.601	244.1

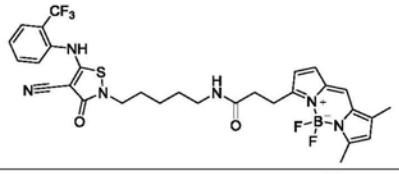
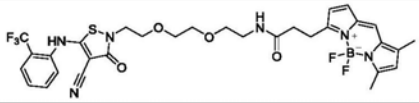
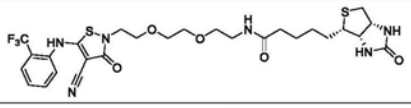
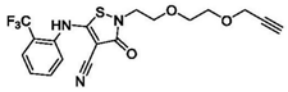
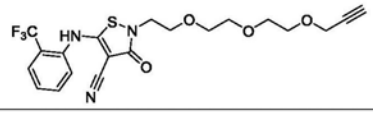
[0530]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
163		A	1.022	369
164		A	1.408	375
165		B	2.16	477.2/479.2
166		A	1.378	261
167		B	3.28	478.1
168		B	3.24	337.1

[0531]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
169		C	1.627	275.1
170		B	2.07	224.2
171		A	1.222	242.1
172		B	2.95	394.2
173		A	1.031	354
174		B	3.08	398.3
175		A	1.42	597

[0532]

实例	结构	LCMS 方法	RT (分钟)	分子离子(m/z)
176		A	1.9	645
177		A	1.59	691
178		A	1.34	643
179		A	1.45	411.9
180		A	1.308	455.9

[0533] 实施例2:SAM-TIR SARM1 IC50测定

[0534] 本实施例描述了SAM-TIR NAD酶活性的测定,以及使用该测定来测量式I或式II所示的化合物阻断SARM1介导的NAD+裂解的功效。该测定经过优化,以表征式I或式II所示的化合物抑制SARM1活性的功效,并计算每种化合物的IC50值。该测定利用包含SAM和TIR域的SARM1分子片段。如本文所示,没有自抑制性N-末端域的该片段的表达产生了裂解NAD+的组成型活性酶。

[0535] SARM1 SAM-TIR溶解物(STL)的制备

[0536] NRK1-HEK293T细胞是指用FCIV表达载体稳定转染的细胞系,该载体表达人烟酰胺核苷激酶1(NRK1),该酶将NAD+生物合成前体烟酰胺核苷(NR)转化为NMN,即NAD+的直接前体。当提供NR时,此细胞系在表达SARM1 SAM-TIR时会增加细胞内NAD+水平并维持细胞活力。图2示出了具有NR补充的NRK1-HEK293T稳定系在SARM1-TIR表达后维持较高的NAD+水平。数据是从三个独立的转染实验的三个独立的NAD+测量产生的,并相对于同时运行的非转染实验的数据进行标准化。数据表示为平均值±SEM;误差条:SEM;***P<0.001两尾学生t检验(student's-test)。

[0537] NRK1-HEK293T细胞代表用FCIV表达载体稳定转染的细胞系,该载体表达人烟酰胺核苷激酶1(NRK1),该酶将NAD+生物合成前体烟酰胺核苷(NR)转化为NMN,即NAD+的直接前体。

[0538] 将NRK1-HEK293T细胞以每板20×10^6个细胞接种到150cm^2板上。第二天,使用X-TREMEGENE™ 9 DNA转染试剂(Roche产品#06365787001)用15μg FCIV-SST(SAM-TIR表达质粒,SEQ ID NO:1)转染细胞。

[0539] gtcgacggatcgggagatctcccgatcccctatggtgcactctcagtacaatctgctctgatgccgcatagttaagccagtatctgctccctgcttgtgtgttggaggtcgctgagtagtgcgcgagcaaaatttaagctacaacaaggcaaggcttgaccgacaattgcatgaagaatctgcttagggttaggcgttttgcgctgcttcgcgatgtacggccagatatacgcgttgacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcccatatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccat

tgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtattt
acggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggt
aaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattag
tcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatt
tccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgt
aacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagcgcgttttgcc
tgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagc
ctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccct
cagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacttgaaagcgaaagggaaaccag
aggagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggtgagtac
gccaaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaatt
agatcgcgatgggaaaaaattcggttaaggccaggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtatgggcaa
gcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaatactgggaca
gctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtagcaaccctctattgtgtg
catcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaacaaaagtaagacca
ccgcacagcaagcggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtgaattatata
aatataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgcagagagaaaa
aagagcagtgggaataggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcgtcaatg
acgctgacggtacaggccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggctattgagg
cgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagata
cctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaat
gctagttggagtaataaatctctggaacagatttggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaaca
attacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattgga
attagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaattattcataatg
atagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgctgtactttctatagtgaatagagttaggcagggatatt
caccattatcgtttcagacccacctcccaaccccgaggggacccgacaggcccgaaggaatagaagaagaaggtgg
agagagagacagagacagatccattcgattagtgaacggatcggcactgcgtgcgccaattctgcagacaaatggc
agtattcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcaggggaaagaatagtagacataata
gcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattacaaaaattcaaaattttcgggtttattacagggaca
gcagagatccagtttggttaattaagggtgcagcggcctccgcgccgggttttggcgcctcccgcgggcgcccccc
tcctcacggcgagcgctgccacgtcagacgaagggcgcaggagcgttcctgatccttccgcccggacgctcaggac
agcggcccgctgctcataagactcggccttagaaccccagtatcagcagaaggacattttaggacgggacttgggt
gactctagggcactggttttctttccagagagcggaacaggcgaggaaaagtagtcccttctcggcgattctgcgg
agggatctccgtggggcggtgaacgccgatgattatataaggacgcgccgggtgtggcacagctagttccgtcgca
gccgggatttgggtcgcggttcttgtttgtggatcgctgtgatcgtcacttggtgagttgcgggctgctgggctgg
ccggggctttcgtggccgccgggccgctcggtgggacggaagcgtgtggagagaccgccaagggctgtagtctggg
tccgcgagcaaggttgccctgaactgggggttgggggggagcgcacaaaatggcggctgttcccgagtcttgaatgg
aagacgcttgtaaggcgggctgtgaggtcgttgaaacaaggtgggggcatggtgggcggcaagaacccaaggtct
tgaggccttcgctaatgcgggaaagctcttattcgggtgagatgggctggggcaccatctggggaccctgacgtga

agtttgtcactgactggagaactcgggtttgtcgtctggttgcgggggcggcagttatgcggtgccgttgggcagt
gcacccgtacctttgggagcgcgcgcctcgtcgtgtcgtgacgtcacccgttctgttggcttataatgcagggtgg
ggccacctgccggtaggtgtgcggtaggcttttctccgtcgcaggacgcagggttcgggcctagggtaggctctcc
tgaatcgacaggcgccggacctctggtgaggggagggataagtgaggcgtcagtttctttggtcggttttatgtac
ctatcttcttaagtagctgaagctccggttttgaactatgcgctcggggttggcgagtgtgttttgtgaagttttt
taggcacctttgaaatgtaatcatttgggtcaatatgtaattttcagtgttagactagtaaagcttctgcaggtc
gactctagaaaattgtccgctaaattctggccgtttttggcttttttgttagacgaagcttgggctgcaggtcgac
tctagaggatccGGATCCGCCACCATGTCAgctTGGAGCCACCCACAATTCGAAAAAGGCGGTGGCTCAGGCGGTG
GCTCAGGTGGCTCAGCTTGGAGCCACCCACAATTCGAAAAAGGCGGTGGCTCATCTGGCGGAGGTGGCGGTGGCTC
ATCTGGCGGAGGTGCTAGCgtgcccagctggaaggaggccgaggttcagacgtggctgcagcagatcggtttctcc
aagtactgcgagagcttccgggagcagcaggtggatggcgacctgcttctgcggctcacggaggaggaactccaga
ccgacctgggcatgaaatcgggcatcacccgcaagaggttctttagggagctcacggagctcaagaccttcgccaa
ctattctacgtgcgaccgcagcaacctggcggactggctgggcagcctggacccgcgcttccgccagtacacctac
ggcctggtcagctgcggcctggaccgctccctgctgcaccgcgtgtctgagcagcagctgctggaagactgcggca
tccacctgggcgtgcaccgcgcccgcatcctcacggcggccagagaaatgctacactccccgctgccctgtactgg
tggcaaacccagtggggacactccagatgtcttcatcagctaccgccggaactcaggttcccagctggccagtctc
ctgaaggtgcacctgcagctgcatggcttcagtgtcttcattgatgtggagaagctggaagcaggcaagttcgagg
acaaactcatccagagtgtcatgggtgcccgcaactttgtgttggtgctatcacctggagcactggacaagtgcat
gcaagaccatgactgcaaggattgggtgcataaggagattgtgactgctttaagctgcggcaagaacattgtgccc
atcattgatggcttcgagtggcctgagccccaggtcctgcctgaggacatgcaggctgtgcttactttcaacggta
tcaagtggtcccacgaataccaggaggccaccattgagaagatcatccgcttcctgcagggccgctcctcccggga
ctcatctgcaggctctgacaccagtttggagggtgctgcacccatgggtccaacctaaactctagaattcgatatc
aagcttatcgataatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggtattcttaactatgttgctcctt
ttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttctcctc
cttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcact
gtgtttgctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttcc
ccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttgggcac
tgacaattccgtggtgttgtcggggaaatcatcgtcctttccttggctgctcgcctgtgttgccacctggattctg
cgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctgctgccggctc
tgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggccgcctccccgcatcgata
ccgtcgacctcgagacctagaaaaacatggagcaatcacaagtagcaatacagcagctaccaatgctgattgtgcc
tggctagaagcacaagaggaggaggaggtgggttttccagtcacacctcaggtacctttaagaccaatgacttaca
aggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactcccaacgaagaca
agatatccttgatctgtggatctaccacacacaaggctacttccctgattggcagaactacacaccagggccaggg
atcagatatccactgacctttggatggtgctacaagctagtaccagttgagcaagagaaggtagaagaagccaatg
aaggagagaacacccgcttgttacaccctgtgagcctgcatgggatggatgacccggagagagaagtattagagtg
gaggtttgacagccgcctagcatttcatcacatggcccgagagctgcatccggactgtactgggtctctctggtta
gaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgag
tgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtg

gaaaatctctagcagggcccgtttaaacccgctgatcagcctcgactgtgccttctagttgccagccatctgttgt
ttgcccctcccccgtgccttccttgaccctggaaggtgccactcccactgtcctttcctaataaaatgaggaaatt
gcatcgcattgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtggggtggggcaggacagcaaggggaggattggg
aagacaatagcaggcatgctggggatgcggtgggctctatggcttctgaggcggaaagaaccagctggggctctag
ggggtatccccacgcgccctgtagcggcgcattaagcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgaccgctaca
cttgccagcgccctagcgcccgctcctttcgctttcttcccttcctttctcgccacgttcgccggctttccccgtc
aagctctaaatcgggggctccctttagggttccgatttagtgctttacggcacctcgaccccaaaaaacttgatta
gggtgatggttcacgtagtgggccatcgccctgatagacggtttttcgccctttgacgttggagtccacgttcttt
aatagtggactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcggtctattcttttgatttataagggattt
tgccgatttcggcctattggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaattaattctgtggaatgtg
tgtcagttagggtgtggaaagtccccaggctccccagcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcag
caaccaggtgtggaaagtccccaggctccccagcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagcaac
catagtcccgcccctaactccgcccatcccgcccctaactccgcccagttccgcccattctccgccccatggctga
ctaatttttttatttatgcagaggccgaggccgcctctgcctctgagctattccagaagtagtgaggaggctttt
ttggaggcctaggcttttgcaaaaagctcccgggagcttgtatatccattttcggatctgatcagcacgtgttgac
aattaatcatcggcatagtatatcggcatagtataatacgacaaggtgaggaactaaaccatggccaagttgacca
gtgccgttccggtgctcaccgcgcgcgacgtcgccggagcggtcgagttctggaccgaccggctcgggttctcccg
ggacttcgtggaggacgacttcgccggtgtggtccgggacgacgtgaccctgttcatcagcgcggtccaggaccag
gtggtgccggacaacaccctggcctgggtgtgggtgcgcggcctggacgagctgtacgccgagtggtcggaggtcg
tgtccacgaacttccgggacgcctccgggccggccatgaccgagatcggcgagcagccgtgggggcgggagttcgc
cctgcgcgacccggccggcaactgcgtgcacttcgtggccgaggagcaggactgacacgtgctacgagatttcgat
tccaccgccgccttctatgaaaggttgggcttcggaatcgttttccgggacgccggctggatgatcctccagcgcg
gggatctcatgctggagttcttcgcccaccccaacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatag
catcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatct
tatcatgtctgtataccgtcgacctctagctagagcttggcgtaatcatggtcatagctgtttcctgtgtgaaatt
gttatccgctcacaattccacacaacatacgagccggaagcataaagtgtaaagcctggggtgcctaatgagtgag
ctaactcacattaattgcgttgcgctcactgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatga
atcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattgggcgctcttccgcttcctcgctcactgactcgctgcgct
cggtcgttcggctgcggcgagcggtatcagctcactcaaaggcggtaatacggttatccacagaatcaggggataa
cgcaggaaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcgttgctggcgttttc
cataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaacccgacaggactat
aaagataccaggcgtttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgttccgaccctgccgcttaccggatacct
gtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcatagctcacgctgtaggtatctcagttcggtgtaggtc
gttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaaccccccgttcagcccgaccgctgcgccttatccggtaactatcgtc
ttgagtccaacccggtaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgaggta
tgtaggcggtgctacagagttcttgaagtggtggcctaactacggctacactagaagaacagtatttggtatctgc
gctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaacaaaccaccgctggtagcg
gtggtttttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctac
ggggtctgacgctcagtggaacgaaaactcacgttaagggattttggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacc

tagatccttttaaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttggtctgacagttacc
aatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttcgttcatccatagttgcctgactccccgtcgt
gtagataactacgatacgggagggcttaccatctggccccagtgctgcaatgataccgcgagacccacgctcaccg
gctccagatttatcagcaataaaccagccagccggaagggccgagcgcagaagtggtcctgcaactttatccgcct
ccatccagtctattaattgttgccgggaagctagagtaagtagttcgccagttaatagtttgcgcaacgttgttgc
cattgctacaggcatcgtggtgtcacgctcgtcgtttggtatggcttcattcagctccggttcccaacgatcaagg
cgagttacatgatcccccatgttgtgcaaaaaagcggttagctccttcggtcctccgatcgttgtcagaagtaagt
tggccgcagtgttatcactcatggttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgctt
ttctgtgactggtgagtactcaaccaagtcattctgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgctcttgcccggcg
tcaatacgggataataccgcgccacatagcagaactttaaaagtgctcatcattggaaaacgttcttcggggcgaa
aactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcgatgtaacccactcgtgcacccaactgatcttcagcatc
ttttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaaaacaggaaggcaaaatgccgcaaaaaagggaataagggcgaca
cggaaatgttgaatactcatactcttccttttcaatattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcg
gatacatatttgaatgtatttagaaaaataaacaaatagggttccgcgcacatttccccgaaaagtgccacctgac
(SEQ ID NO:1)

[0540] 转染时用1mM NR补充培养物,以最大限度地减少SAM-TIR过表达的毒性。转染四十八小时后,收获细胞,以1,000rpm离心集结(Sorvall ST 16R离心机,Thermo Fisher),用冷PBS(0.01M磷酸盐缓冲盐水NaCl 0.138M;KCl 0.0027M;pH 7.4)洗涤一次。将细胞重悬于具有蛋白酶抑制剂(cOmplete™蛋白酶抑制剂混合液,Roche产品#11873580001)的PBS中,并通过超声处理(Branson Sonifer 450,输出=3,20次冲击)来制备细胞溶解物。将溶解物离心(在4℃下12,000×g,10分钟)以去除细胞碎片,并将上清液(含有SARM1 SAM-TIR蛋白)在-80℃下保存,以便后续用于体外SARM1 SAM-TIR NAD酶测定(见下文)。蛋白质浓度用双金鸡纳酸(BCA)法测定,并用于溶解物浓度的标准化。

[0541] 式I或式II所示的化合物的SAM-TIR IC50测定

[0542] 酶促测定在384孔聚丙烯板中在杜氏PBS(Dulbecco's PBS)缓冲液中进行,其最终测定体积为20μL。将最终浓度为5μg/mL的SAM-TIR溶解物与相应化合物以1%DMSO最终测定浓度在室温下预培育2小时。通过添加5μM最终测定浓度的NAD+作为底物引发反应。室温培育2小时后,用40μL 7.5%三氯乙酸在乙腈中的终止溶液来终止反应。通过RapidFire高通量质谱系统(Agilent Technologies,Santa Clara,CA),使用API4000三重四极杆质谱仪(AB Sciex Framingham,MA)来分析NAD+和ADPR的浓度。

[0543] 结果列于下表2。具有指定为"A"活性的化合物的IC_{50}<1μM;具有指定为"B"活性的化合物的IC_{50}为1-5μM;具有指定为"C"活性的化合物的IC_{50}>5μM。

[0544] 表2.

[0545]

实例	SARM1 IC_{50}（μM）
1	B
2	A
3	B
4	C
5	B
6	A
7	B
8	B
9	A
10	B
11	B
12	B
13	B
14	B
15	A
16	A
17	A
18	B
19	A
20	C
21	B
22	B
23	A
24	C
25	A
26	A
27	B
28	B
29	B
30	C
31	A
32	A
33	A
34	A
35	A

[0546]

36	A
37	A
38	A
39	A
40	A
41	A
42	A
43	A
44	A
45	A
46	A
47	A
48	A
49	A
50	A
51	A
52	A
53	A
54	A
55	A
56	A
57	A
58	A
59	A
60	A
61	A
62	A
63	A
64	A
65	A
66	A
67	A
68	A
69	A
70	A
71	A
72	A
73	A
74	A
75	A
76	A
77	A
78	A
79	A
80	A
81	A
82	A

[0547]

83	A
84	A
85	A
86	A
87	A
88	A
89	A
90	A
91	A
92	A
93	A
94	A
95	A
96	A
97	A
98	A
99	A
100	A
101	A
102	A
103	A
104	B
105	A
106	B
107	A
108	B
109	B
110	B
111	B
112	B
113	B
114	C
115	B
116	C
117	B
118	C
119	C
120	C
121	C
122	A
123	C
124	A
125	A
126	A
127	A
128	A
129	A

[0548]

130	A
131	A
132	A
133	A
134	B
135	B
136	B
137	B
138	B
139	B
140	B
141	B
142	B
143	B
144	B
145	B
146	B
147	B
148	B
149	B
150	B
151	B
152	C
153	B
154	C
155	C
156	C
157	C
158	C
159	C
160	C
161	C
162	C
163	C
164	C
165	C
166	B
167	B
168	C
169	C
170	C
171	C
172	B
173	C
174	C
175	A
176	B

[0549]

177	A
178	A
179	A
180	A

[0550] 实施例3:轴突变性指数

[0551] 本实施例说明了用于表征式I或式II所示的化合物的体外轴突变性测定。该测定用于测试式I或式II所示的化合物在小鼠背根神经节(DRG)悬滴培养中预防轴突变性的功效。

[0552] 小鼠DRG悬滴培养:将小鼠背根神经节神经元(DRG)从E12.5 CD1小鼠(每个胚胎50个神经节)中解剖出来,用含0.02%EDTA(Gibco)的0.5%胰蛋白酶溶液在37℃下培育15分钟。然后通过轻柔移液将细胞湿磨,并用DRG生长培养基(含有2%B27(Invitrogen)、100ng/ml 2.5S NGF(Harland Bioproducts)、1mM 5-氟-2'脱氧尿苷(Sigma)、青霉素和链霉素的Neurobasal培养基(Gibco))洗涤3次。将细胞悬浮在DRG生长培养基中。将5000个细胞/孔点入涂有聚D-赖氨酸(0.1mg/ml;Sigma)和层粘连蛋白(3mg/ml;Invitrogen)的96孔组织培养板的每孔中心,以创建DRG悬滴培养物。使细胞在潮湿的组织培养培育箱(5%CO_2)中粘附到板上,持续15分钟,随后轻轻加入DRG生长培养基(每孔100ml)。

[0553] 轴突变性测定:通过使用手术刀的手动轴突横断或化学毒性刺激来刺激轴突变性。在适当的实验时间段后,将DRG培养物固定在1%PFA加蔗糖中,并在成像前保存在冰箱中。使用Phenix自动共聚焦显微镜(PerkinElmer)的20倍水浸透镜收集DRG轴突和细胞体的明场图像,并使用内部开发的脚本(Acapella,PerkinElmer)进行轴突的定量。

[0554] 结果列于下表3。本文所述的化合物在细胞测定中表现出对轴突断裂的保护,并按IC_{50}10-30μM(B)、<10μM(A)进行分选。

[0555] 表3.

[0556]

实例	轴突变性IC_{50}
6	B
7	B
27	A
12	A
31	B

序列表

<110> 达萨玛治疗公司

<120> SARM1抑制剂

<130> 2012800-0024

<150> 62/682,054

<151> 2018-06-07

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10329

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 化学合成的寡核苷酸

<400> 1

gtcgacggat cgggagatct cccgatcccc tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg 60
atgccgcata gttaagccag tatctgctcc ctgcttgtgt gttggaggtc gctgagtagt 120
gcgcgagcaa aatttaagct acaacaaggc aaggcttgac cgacaattgc atgaagaatc 180
tgcttagggt taggcgtttt gcgctgcttc gcgatgtacg ggccagatat acgcgttgac 240
attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg gtcattagtt catagcccat 300
atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc gcctggctga ccgcccaacg 360
acccccgccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat agtaacgcca atagggactt 420
tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc ccacttggca gtacatcaag 480
tgtatcatat gccaagtacg ccccctattg acgtcaatga cggtaaatgg cccgcctggc 540
attatgccca gtacatgacc ttatgggact ttcctacttg gcagtacatc tacgtattag 600
tcatcgctat taccatggtg atgcggtttt ggcagtacat caatgggcgt ggatagcggt 660
ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt caatgggagt ttgttttggc 720
accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaacaactc cgccccattg acgcaaatgg 780
gcggtaggcg tgtacggtgg gaggtctata taagcagcgc gttttgcctg tactgggtct 840
ctctggttag accagatctg agcctgggag ctctctggct aactagggaa cccactgctt 900
aagcctcaat aaagcttgcc ttgagtgctt caagtagtgt gtgcccgtct gttgtgtgac 960
tctggtaact agagatccct cagacccttt tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtggc 1020
gcccgaacag ggacttgaaa gcgaaaggga aaccagagga gctctctcga cgcaggactc 1080
ggcttgctga agcgcgcacg gcaagaggcg aggggcggcg actggtgagt acgccaaaaa 1140
ttttgactag cggaggctag aaggagagag atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg 1200
ggagaattag atcgcgatgg gaaaaaattc ggttaaggcc aggggaaag aaaaaatata 1260
aattaaaaca tatagtatgg gcaagcaggg agctagaacg attcgcagtt aatcctggcc 1320
tgttagaaac atcagaaggc tgtagacaaa tactgggaca gctacaacca tcccttcaga 1380

caggatcaga agaacttaga tcattatata atacagtagc aaccctctat tgtgtgcatc 1440
aaaggataga gataaaagac accaaggaag ctttagacaa gatagaggaa gagcaaaaca 1500
aaagtaagac caccgcacag caagcggccg ctgatcttca gacctggagg aggagatatg 1560
agggacaatt ggagaagtga attatataaa tataaagtag taaaaattga accattagga 1620
gtagcaccca ccaaggcaaa gagaagagtg gtgcagagag aaaaaagagc agtgggaata 1680
ggagctttgt tccttgggtt cttgggagca gcaggaagca ctatgggcgc agcgtcaatg 1740
acgctgacgg tacaggccag acaattattg tctggtatag tgcagcagca gaacaatttg 1800
ctgagggcta ttgaggcgca acagcatctg ttgcaactca cagtctgggg catcaagcag 1860
ctccaggcaa gaatcctggc tgtggaaaga tacctaaagg atcaacagct cctggggatt 1920
tggggttgct ctggaaaact catttgcacc actgctgtgc cttggaatgc tagttggagt 1980
aataaatctc tggaacagat ttggaatcac acgacctgga tggagtggga cagagaaatt 2040
aacaattaca caagcttaat acactcctta attgaagaat cgcaaaacca gcaagaaaag 2100
aatgaacaag aattattgga attagataaa tgggcaagtt tgtggaattg gtttaacata 2160
acaaattggc tgtggtatat aaaattattc ataatgatag taggaggctt ggtaggttta 2220
agaatagttt ttgctgtact ttctatagtg aatagagtta ggcagggata ttcaccatta 2280
tcgtttcaga cccacctccc aaccccgagg ggacccgaca ggcccgaagg aatagaagaa 2340
gaaggtggag agagagacag agacagatcc attcgattag tgaacggatc ggcactgcgt 2400
gcgccaattc tgcagacaaa tggcagtatt catccacaat tttaaaagaa aaggggggat 2460
tgggggtac agtgcagggg aaagaatagt agacataata gcaacagaca tacaaactaa 2520
agaattacaa aaacaaatta caaaaattca aaattttcgg gtttattaca gggacagcag 2580
agatccagtt tggttaatta agggtgcagc ggcctccgcg ccgggttttg gcgcctcccg 2640
cgggcgcccc cctcctcacg gcgagcgctg ccacgtcaga cgaagggcgc aggagcgttc 2700
ctgatccttc cgcccggacg ctcaggacag cggcccgctg ctcataagac tcggccttag 2760
aaccccagta tcagcagaag gacattttag gacgggactt gggtgactct agggcactgg 2820
ttttctttcc agagagcgga acaggcgagg aaaagtagtc ccttctcggc gattctgcgg 2880
agggatctcc gtggggcggt gaacgccgat gattatataa ggacgcgccg ggtgtggcac 2940
agctagttcc gtcgcagccg ggatttgggt cgcggttctt gtttgtggat cgctgtgatc 3000
gtcacttggt gagttgcggg ctgctgggct ggccggggct ttcgtggccg ccgggccgct 3060
cggtgggacg gaagcgtgtg gagagaccgc caagggctgt agtctgggtc cgcgagcaag 3120
gttgccctga actgggggtt gggggggagcg cacaaaatgg cggctgttcc cgagtcttga 3180
atggaagacg cttgtaaggc gggctgtgag gtcgttgaaa caaggtgggg ggcatggtgg 3240
gcggcaagaa cccaaggtct tgaggccttc gctaatgcgg gaaagctctt attcgggtga 3300
gatgggctgg ggcaccatct ggggaccctg acgtgaagtt tgtcactgac tggagaactc 3360
gggtttgtcg tctggttgcg ggggcggcag ttatgcggtg ccgttgggca gtgcacccgt 3420
acctttggga gcgcgcgcct cgtcgtgtcg tgacgtcacc cgttctgttg gcttataatg 3480
cagggtgggg ccacctgccg gtaggtgtgc ggtaggcttt tctccgtcgc aggacgcagg 3540
gttcgggcct agggtaggct ctcctgaatc gacaggcgcc ggacctctgg tgaggggagg 3600
gataagtgag gcgtcagttt ctttggtcgg ttttatgtac ctatcttctt aagtagctga 3660
agctccggtt ttgaactatg cgctcggggt tggcgagtgt gttttgtgaa gtttttagg 3720

caccttttga aatgtaatca tttgggtcaa tatgtaattt tcagtgttag actagtaaag 3780
cttctgcagg tcgactctag aaaattgtcc gctaaattct ggccgttttt ggctttttg 3840
ttagacgaag cttgggctgc aggtcgactc tagaggatcc ggatccgcca ccatgtcagc 3900
ttggagccac ccacaattcg aaaaaggcgg tggctcaggc ggtggctcag gtggctcagc 3960
ttggagccac ccacaattcg aaaaaggcgg tggctcatct ggcggaggtg gcggtggctc 4020
atctggcgga ggtgctagcg tgcccagctg gaaggaggcc gaggttcaga cgtggctgca 4080
gcagatcggt ttctccaagt actgcgagag cttccgggag cagcaggtgg atggcgacct 4140
gcttctgcgg ctcacggagg aggaactcca gaccgacctg ggcatgaaat cgggcatcac 4200
ccgcaagagg ttctttaggg agctcacgga gctcaagacc ttcgccaact attctacgtg 4260
cgaccgcagc aacctggcgg actggctggg cagcctggac ccgcgcttcc gccagtacac 4320
ctacggcctg gtcagctgcg gcctggaccg ctccctgctg caccgcgtgt ctgagcagca 4380
gctgctggaa gactgcggca tccacctggg cgtgcaccgc gcccgcatcc tcacggcggc 4440
cagagaaatg ctacactccc cgctgccctg tactggtggc aaacccagtg gggacactcc 4500
agatgtcttc atcagctacc gccggaactc aggttcccag ctggccagtc tcctgaaggt 4560
gcacctgcag ctgcatggct tcagtgtctt cattgatgtg gagaagctgg aagcaggcaa 4620
gttcgaggac aaactcatcc agagtgtcat gggtgcccgc aactttgtgt tggtgctatc 4680
acctggagca ctggacaagt gcatgcaaga ccatgactgc aaggattggg tgcataagga 4740
gattgtgact gctttaagct gcggcaagaa cattgtgccc atcattgatg gcttcgagtg 4800
gcctgagccc caggtcctgc ctgaggacat gcaggctgtg cttactttca acggtatcaa 4860
gtggtcccac gaataccagg aggccaccat tgagaagatc atccgcttcc tgcagggccg 4920
ctcctcccgg gactcatctg caggctctga caccagtttg gagggtgctg cacccatggg 4980
tccaacctaa actctagaat tcgatatcaa gcttatcgat aatcaacctc tggattacaa 5040
aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttgct ccttttacgc tatgtggata 5100
cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttcccgt atggctttca ttttctcctc 5160
cttgtataaa tcctggttgc tgtctcttta tgaggagttg tggcccgttg tcaggcaacg 5220
tggcgtggtg tgcactgtgt ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac 5280
ctgtcagctc ctttccggga ctttcgcttt ccccctccct attgccacgg cggaactcat 5340
cgccgcctgc cttgcccgct gctggacagg ggctcggctg ttgggcactg acaattccgt 5400
ggtgttgtcg gggaaatcat cgtcctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat 5460
tctgcgcggg acgtccttct gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttccttc 5520
ccgcggcctg ctgccggctc tgcggcctct tccgcgtctt cgccttcgcc ctcagacgag 5580
tcggatctcc ctttgggccg cctccccgca tcgataccgt cgacctcgag acctagaaaa 5640
acatggagca atcacaagta gcaatacagc agctaccaat gctgattgtg cctggctaga 5700
agcacaagag gaggaggagg tgggttttcc agtcacacct caggtacctt taagaccaat 5760
gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa gaaaaggggg gactggaagg 5820
gctaattcac tcccaacgaa gacaagatat ccttgatctg tggatctacc acacacaagg 5880
ctacttccct gattggcaga actacacacc agggccaggg atcagatatc cactgacctt 5940
tggatggtgc tacaagctag taccagttga gcaagagaag gtagaagaag ccaatgaagg 6000
agagaacacc cgcttgttac accctgtgag cctgcatggg atggatgacc cggagagaga 6060

agtattagag tggaggtttg acagccgcct agcatttcat cacatggccc gagagctgca 6120
tccggactgt actgggtctc tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta 6180
actagggaac ccactgctta agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg 6240
tgcccgtctg ttgtgtgact ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg 6300
gaaaatctct agcagggccc gtttaaaccc gctgatcagc ctcgactgtg ccttctagtt 6360
gccagccatc tgttgtttgc ccctcccccg tgccttcctt gaccctggaa ggtgccactc 6420
ccactgtcct ttcctaataa aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt 6480
ctattctggg gggtggggtg gggcaggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca 6540
ggcatgctgg ggatgcggtg ggctctatgg cttctgaggc ggaaagaacc agctggggct 6600
ctaggggta tccccacgcg ccctgtagcg gcgcattaag cgcggcgggt gtggtggtta 6660
cgcgcagcgt gaccgctaca cttgccagcg ccctagcgcc cgctcctttc gctttcttcc 6720
cttcctttct cgccacgttc gccggctttc cccgtcaagc tctaaatcgg gggctccctt 6780
tagggttccg atttagtgct ttacggcacc tcgaccccaa aaaacttgat tagggtgatg 6840
gttcacgtag tgggccatcg ccctgataga cggtttttcg ccctttgacg ttggagtcca 6900
cgttctttaa tagtggactc ttgttccaaa ctggaacaac actcaaccct atctcggtct 6960
attcttttga tttataaggg attttgccga tttcggccta ttggttaaaa aatgagctga 7020
tttaacaaaa atttaacgcg aattaattct gtggaatgtg tgtcagttag ggtgtggaaa 7080
gtccccaggc tccccagcag gcagaagtat gcaaagcatg catctcaatt agtcagcaac 7140
caggtgtgga aagtccccag gctccccagc aggcagaagt atgcaaagca tgcatctcaa 7200
ttagtcagca accatagtcc cgcccctaac tccgcccatc ccgcccctaa ctccgcccag 7260
ttccgcccat tctccgcccc atggctgact aatttttttt atttatgcag aggccgaggc 7320
cgcctctgcc tctgagctat tccagaagta gtgaggaggc ttttttggag gcctaggctt 7380
ttgcaaaaag ctcccgggag cttgtatatc cattttcgga tctgatcagc acgtgttgac 7440
aattaatcat cggcatagta tatcggcata gtataatacg acaaggtgag gaactaaacc 7500
atggccaagt tgaccagtgc cgttccggtg ctcaccgcgc gcgacgtcgc cggagcggtc 7560
gagttctgga ccgaccggct cgggttctcc cgggacttcg tggaggacga cttcgccggt 7620
gtggtccggg acgacgtgac cctgttcatc agcgcggtcc aggaccaggt ggtgccggac 7680
aacaccctgg cctgggtgtg ggtgcgcggc ctggacgagc tgtacgccga gtggtcggag 7740
gtcgtgtcca cgaacttccg ggacgcctcc gggccggcca tgaccgagat cggcgagcag 7800
ccgtgggggc gggagttcgc cctgcgcgac ccggccggca actgcgtgca cttcgtggcc 7860
gaggagcagg actgacacgt gctacgagat ttcgattcca ccgccgcctt ctatgaaagg 7920
ttgggcttcg gaatcgtttt ccgggacgcc ggctggatga tcctccagcg cggggatctc 7980
atgctggagt tcttcgccca ccccaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaaataa 8040
agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt cactgcattc tagttgtggt 8100
ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctgtatac cgtcgacctc tagctagagc 8160
ttggcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgct cacaattcca 8220
cacaacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaatg agtgagctaa 8280
ctcacattaa ttgcgttgcg ctcactgccc gctttccagt cgggaaacct gtcgtgccag 8340
ctgcattaat gaatcggcca acgcgcgggg agaggcggtt tgcgtattgg gcgctcttcc 8400

gcttcctcgc tcactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc tgcggcgagc ggtatcagct 8460
cactcaaagg cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg 8520
tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc 8580
cataggctcc gccccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga 8640
aacccgacag gactataaag ataccaggcg tttcccccctg gaagctccct cgtgcgctct 8700
cctgttccga ccctgccgct taccggatac ctgtccgcct ttctcccttc gggaagcgtg 8760
gcgctttctc atagctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg tgtaggtcgt tcgctccaag 8820
ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag cccgaccgct gcgccttatc cggtaactat 8880
cgtcttgagt ccaacccggt aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac 8940
aggattagca gagcgaggta tgtaggcggt gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac 9000
tacggctaca ctagaagaac agtatttggt atctgcgctc tgctgaagcc agttaccttc 9060
ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cggtggtttt 9120
tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc 9180
ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat tttggtcatg 9240
agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaatt aaaaatgaag ttttaaatca 9300
atctaaagta tatatgagta aacttggtct gacagttacc aatgcttaat cagtgaggca 9360
cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc cgtcgtgtag 9420
ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg ctgcaatgat accgcgagac 9480
ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc cagccggaag ggccgagcgc 9540
agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta ttaattgttg ccgggaagct 9600
agagtaagta gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc tacaggcatc 9660
gtggtgtcac gctcgtcgtt tggtatggct tcattcagct ccggttccca acgatcaagg 9720
cgagttacat gatcccccat gttgtgcaaa aaagcggtta gctccttcgg tcctccgatc 9780
gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgtta tcactcatgg ttatggcagc actgcataat 9840
tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga ctggtgagta ctcaaccaag 9900
tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt gcccggcgtc aatacgggat 9960
aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttggaaaacg ttcttcgggg 10020
cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc cactcgtgca 10080
cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc aaaaacagga 10140
aggcaaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatgttgaat actcatactc 10200
ttccttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgag cggatacata 10260
tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc ccgaaaagtg 10320
ccacctgac 10329

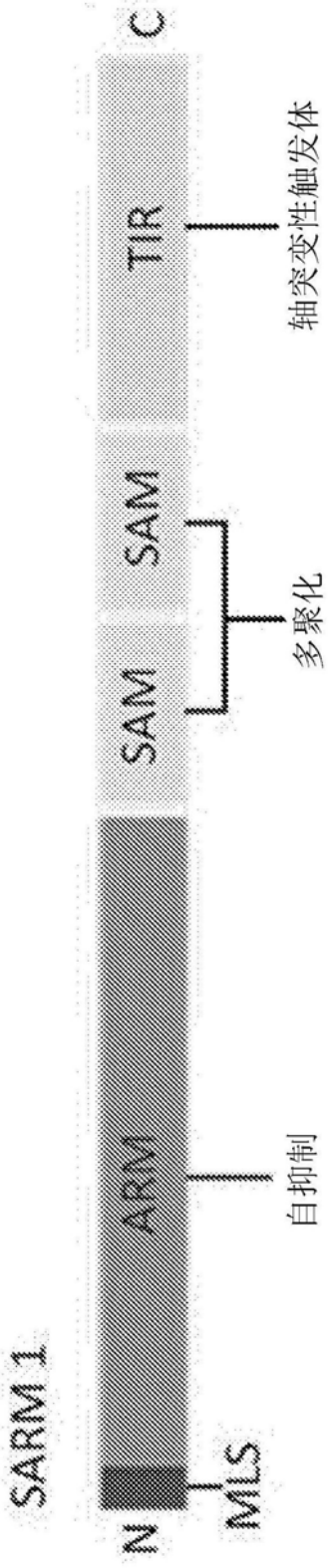


图1

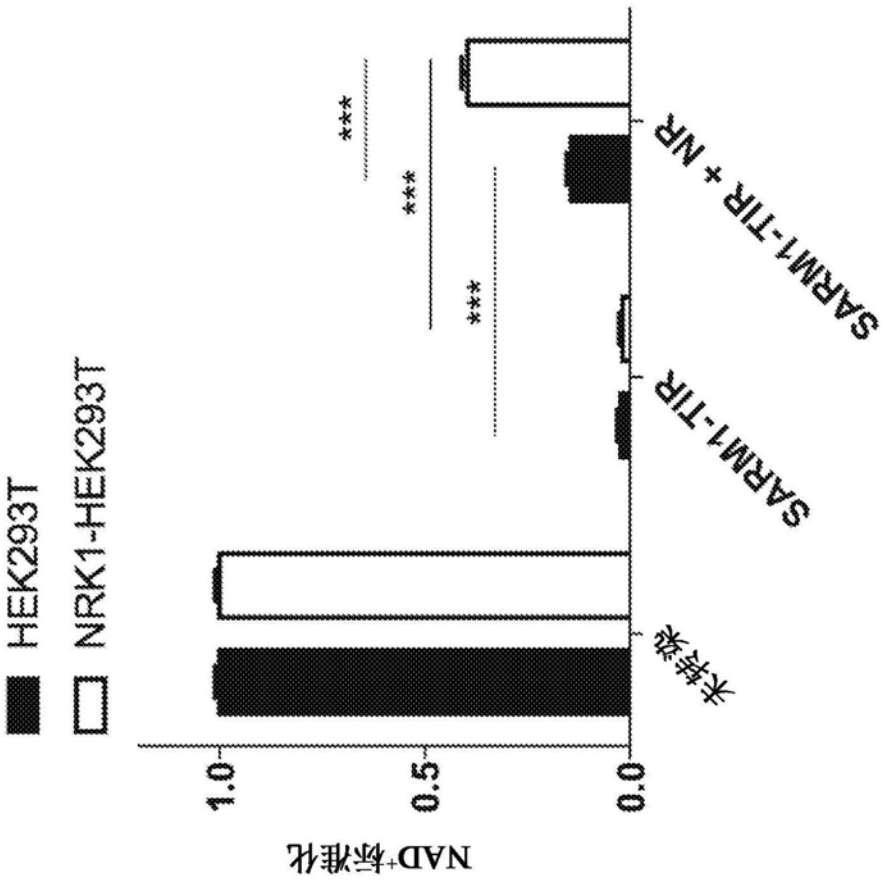

HEK293T
NRK1-HEK293T
NAD+标准化
1.0
0.5
0.0
未转染
SARM1-TIR
SARM1-TIR + NR
***
***
***

图2