



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111032658 B

(45) 授权公告日 2022.12.20

(21) 申请号 201880036650.8

(22) 申请日 2018.05.29

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111032658 A

(43) 申请公布日 2020.04.17

(30) 优先权数据
62/513,025 2017.05.31 US(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.12.02(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/034908 2018.05.29(87) PCT国际申请的公布数据
WO2018/222601 EN 2018.12.06(73) 专利权人 凯莫森特里斯股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 樊平臣 C·W·兰格 R·M·路易

V·马拉索恩 V·R·马利

S·普那 曾一斌 张朋烈

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266

专利代理师 徐迅 马莉华

(51) Int.Cl.
C07D 487/04 (2006.01)(56) 对比文件
CN 104936960 A, 2015.09.23
CN 1777605 A, 2006.05.24
WO 2006042102 A2, 2006.04.20
Michael P. Winters, 等. Discovery and SAR of novel tetrahydropyrrolo[3,4-c]pyrazoles as inhibitors of the N-type calcium channel.《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》.2014,第24卷(第9期),

审查员 孙静

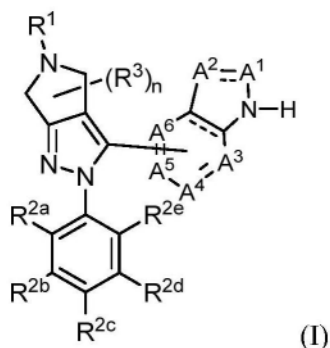
权利要求书11页 说明书67页

(54) 发明名称

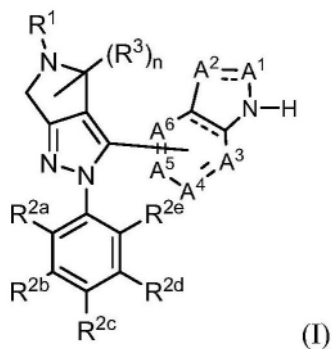
作为C5a抑制剂的5-5稠合环类

(57) 摘要

本发明尤其提供了式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐,其是C5a受体的调节剂。还提供了药物组合物和使用方法,包括治疗受C5a的病理学激活的疾病或病症和非药物应用。

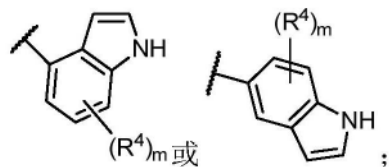


1. 式 (I) 化合物



或其药学上可接受的盐, 其中,

以 A^0 、 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 为环顶点的环结构为具有选自下组结构的双环杂芳基:

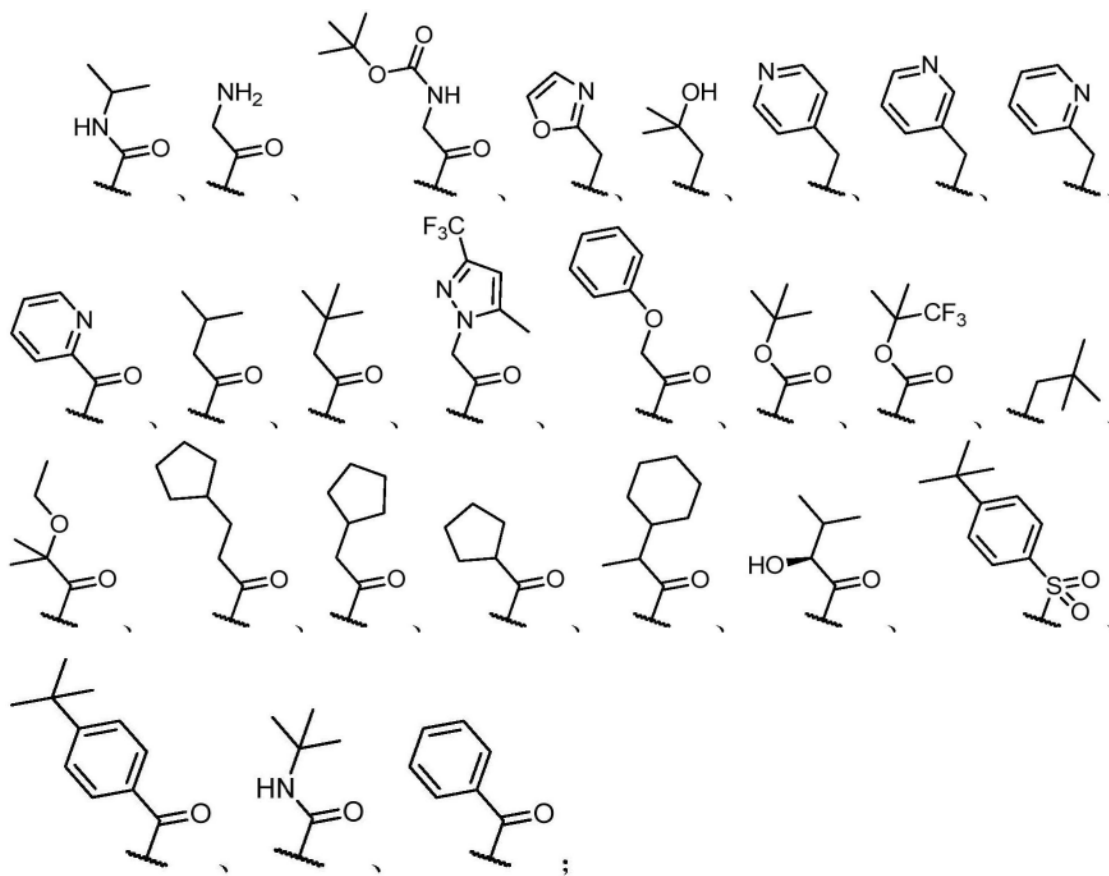


其中, m 为 0、1、2 或 3; 并且其中所述 R^4 取代基可以连接至所述双环杂芳基的任何适合的碳环顶点;

R^1 为 $-C_{1-8}$ 亚烷基- C_6 芳基;

其中, R^1 任选地被 1 至 5 个 R^5 取代基所取代; 或者

R^1 选自下组:



R^{2a} 和 R^{2e} 各自独立地选自下组： C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基；

R^{2b} 、 R^{2c} 和 R^{2d} 各自独立地为氢；

各 R^3 独立地选自下组： C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基和卤素，以及在同一个碳原子上的任选地两个 R^3 基团结合以形成氧代(=O)或形成三至五元环烷基环；

各 R^4 独立地选自下组： C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 羟烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、羟基、和 $-CO_2R^{4a}$ ；

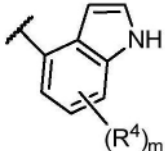
R^{4a} 和 R^{4b} 各自独立地选自下组：氢、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 卤代烷基；

各 R^5 独立地选自下组： C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{1-8} 卤代烷氧基、 C_{1-8} 羟烷基、 C_{3-6} 环烷基、卤素、OH、 $-NR^{5a}R^{5b}$ 、 $OC(O)NR^{5a}R^{5b}$ 、 $-NR^{5a}C(O)_2R^{5b}$ 、 $NR^{5a}-C(O)NR^{5b}R^{5b}$ 和 CO_2R^{5a} ；

其中， R^{5a} 和 R^{5b} 各自独立地选自下组：氢、 C_{1-8} 烷基和 C_{1-8} 卤代烷基，或者当 R^{5a} 和 R^{5b} 连接至相同的氮原子时，它们与所述氮原子结合以形成具有0至1个选自N、O或S的额外的杂原子作为环顶点的五或六元环；以及

下标n为0、1、2或3。

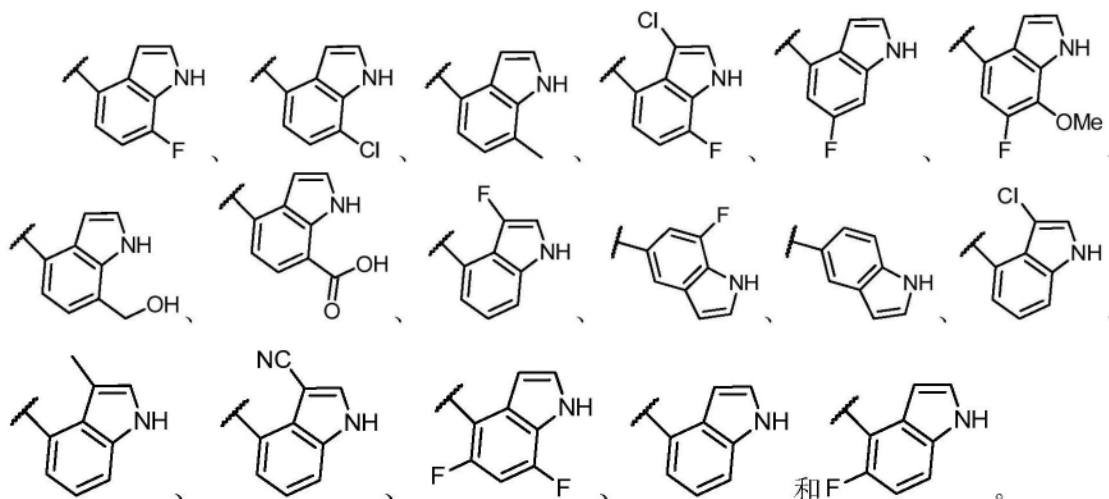
2. 如权利要求1所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中，具有 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6

作为环顶点的环部分是由结构  表示的双环杂芳基，

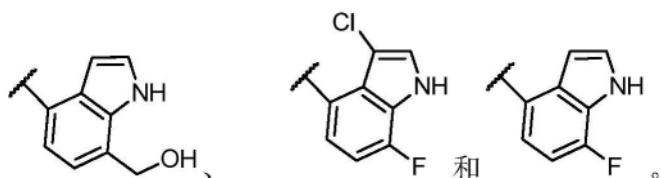
其中，m为0、1、2或3；且其中所述 R^4 取代基可以连接至所述双环杂芳基的任何适合的碳环顶点。

3. 如权利要求1所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中，各 R^4 独立地选自下组： C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-6} 羟烷基、卤素、氰基和 $-CO_2R^{4a}$ ；且其中所述 R^4 取代基可以连接至所述双环杂芳基的任何适合的碳环顶点。

4. 如权利要求1所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中，具有 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 作为环顶点的环部分为选自下组的双环杂芳基：



5. 如权利要求1所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中，具有 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 作为环顶点的环部分是选自下组的双环杂芳基：



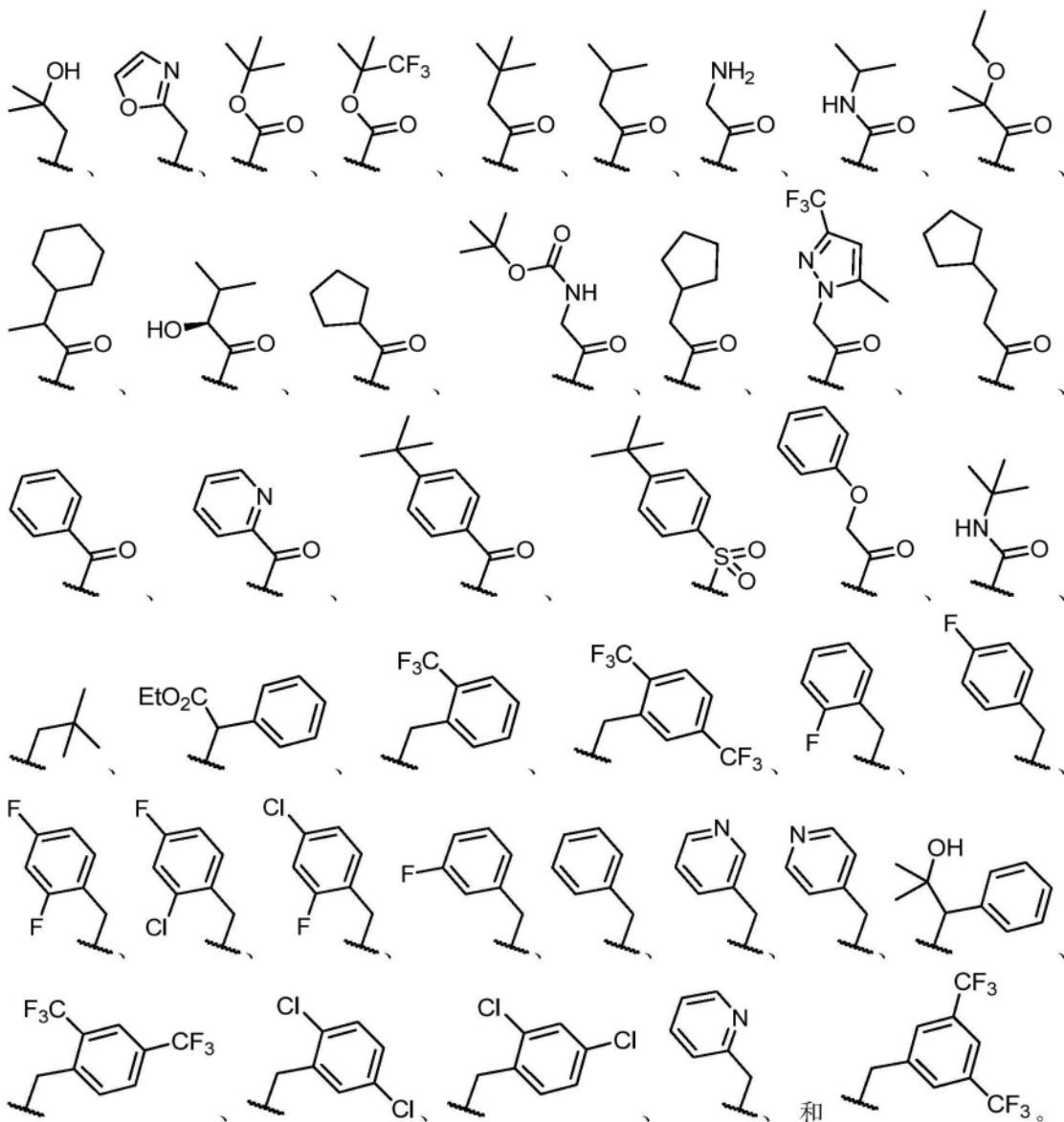
6. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中,各R⁵独立地选自下组: C₁₋₈烷基、C₁₋₈烷氧基、C₁₋₈卤代烷基、C₁₋₈卤代烷氧基、C₁₋₈羟烷基、C₃₋₆环烷基、卤素、OH、-NR^{5a}R^{5b}和CO₂R^{5a}, 其中, R^{5a}和R^{5b}各自独立地选自下组: 氢、C₁₋₈烷基和C₁₋₈卤代烷基。

7. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中, R^1 为 $-CH_2-$ 苯基,且 $-CH_2-$ 苯基可任选地被1至3个 R^5 所取代。

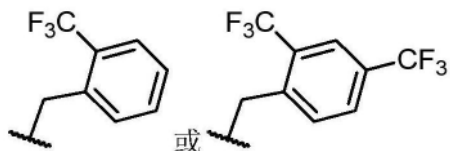
8. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中, R^1 为被1或2个 R^5 所取代的 $-CH_2-$ 苯基,其中,各 R^5 独立地为 C_{1-4} 卤代烷基。

9. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中,R¹为被1或2个CF₃所取代的-CH₂-苯基。

10. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中,R¹选自下组:



11. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中, R^1 为

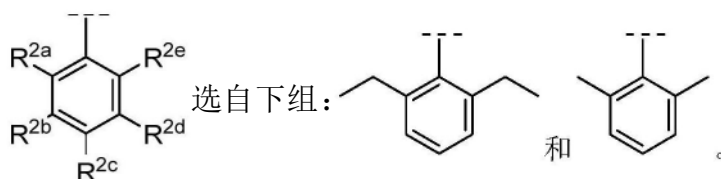


12. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中, R^{2a} 和 R^{2e} 各自独立地为 C_{1-6} 烷基。

13. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中, R^{2a} 和 R^{2e} 各自独立地选自下组:甲基和乙基。

14. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中, R^{2a} 和 R^{2e} 均为甲基或均为乙基。

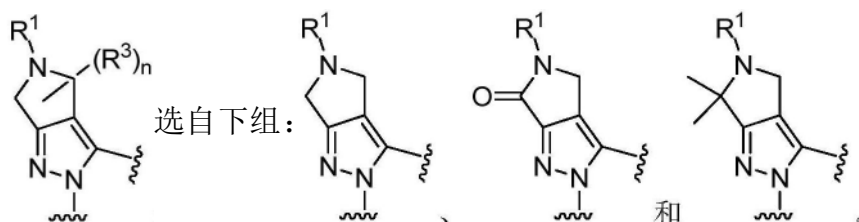
15. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中,



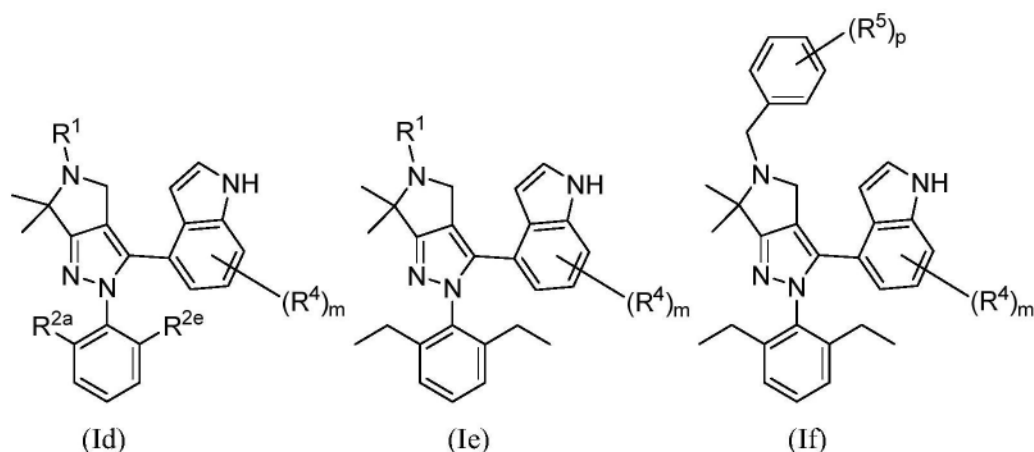
16. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中, n 为0、1或2。

17. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中,各 R^3 独立地为 C_{1-4} 烷基。

18. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中,

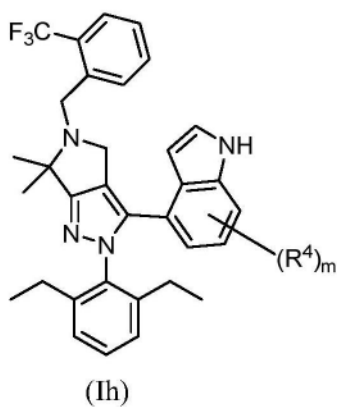
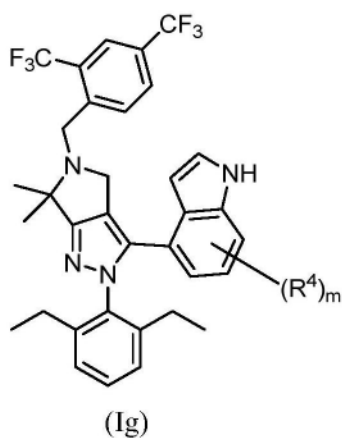


19. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,具有式(Id)、(Ie)或(If)所示的结构:



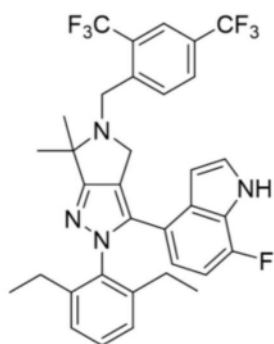
其中, m 为0、1或2;其中,所述 R^4 取代基可以连接至所述双环杂芳基的任何适合的碳环顶点;且其中 p 为0、1或2。

20. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,具有式(Ig)或(Ih)所示的结构:

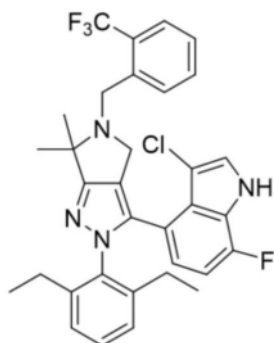


其中, m 为 0、1 或 2 且其中所述 R⁴ 取代基可以连接至咪唑杂芳基的任何适合的碳环顶点。

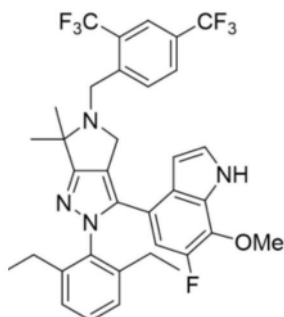
21. 如权利要求 1 所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其特征在于所述的化合物为



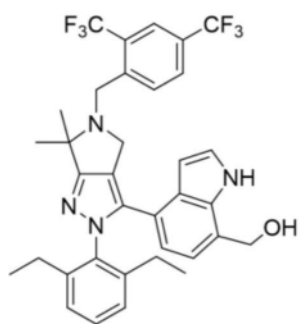
22. 如权利要求 1 所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其特征在于所述的化合物为



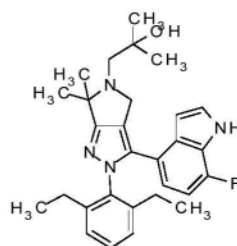
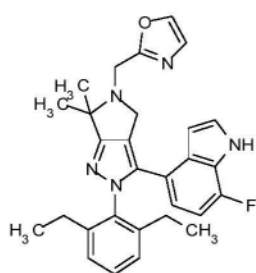
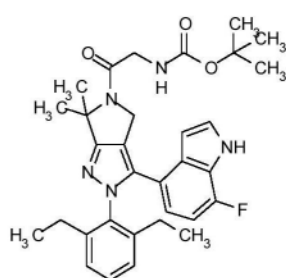
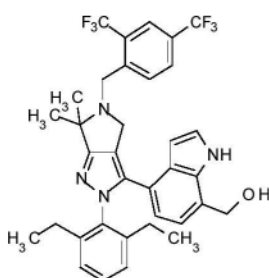
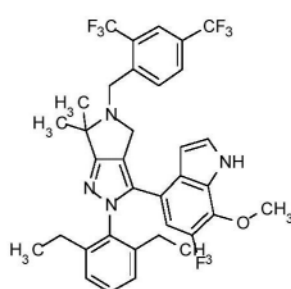
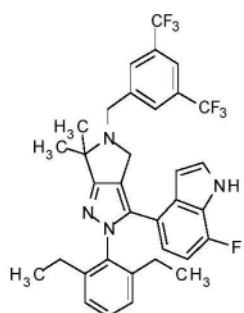
23. 如权利要求 1 所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其特征在于所述的化合物为

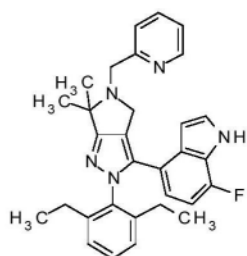
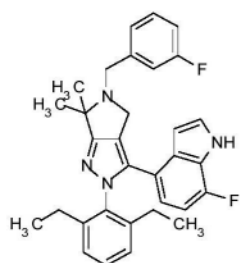
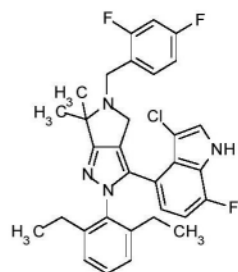
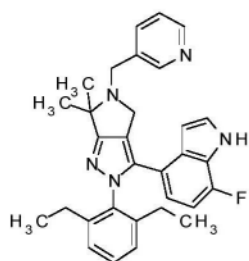
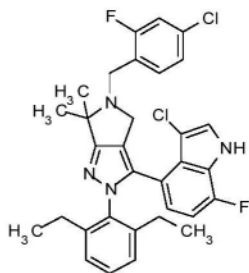
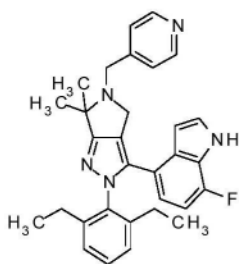
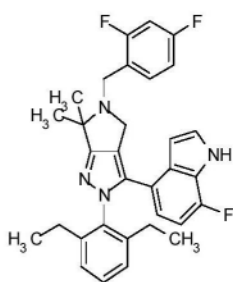
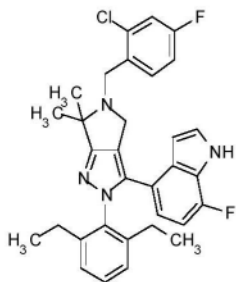
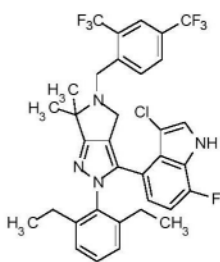
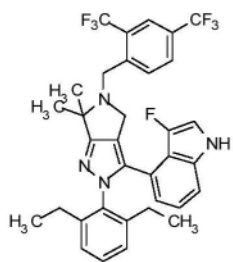


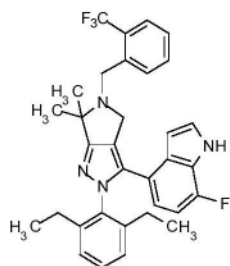
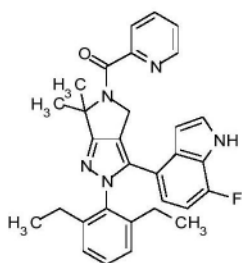
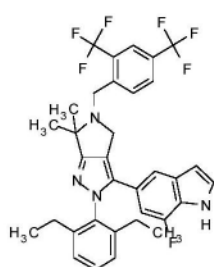
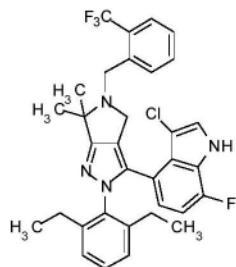
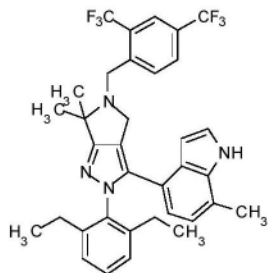
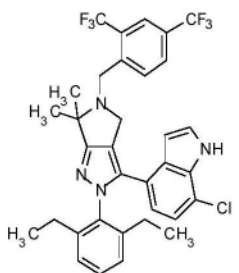
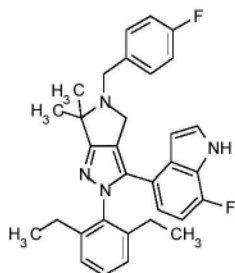
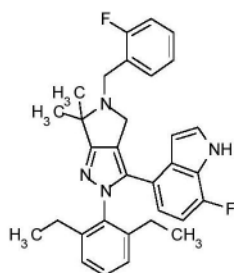
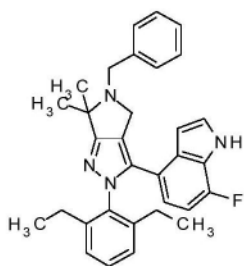
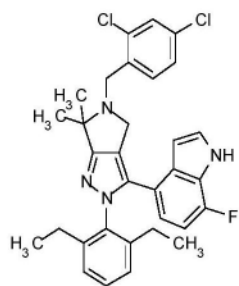
24. 如权利要求 1 所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其特征在于所述的化合物为

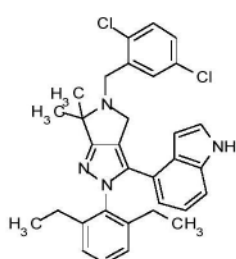
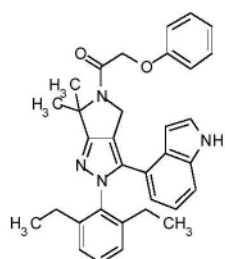
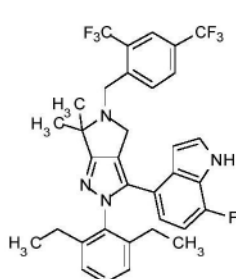
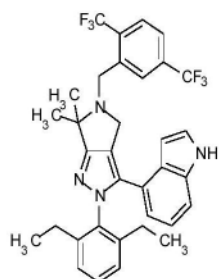
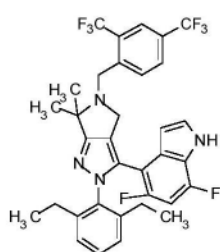
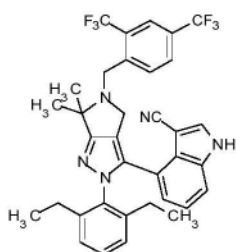
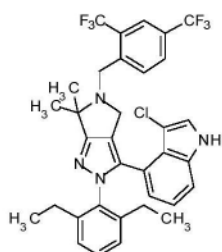
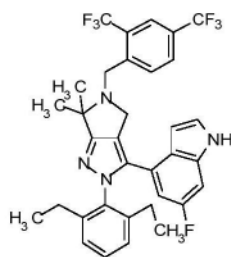
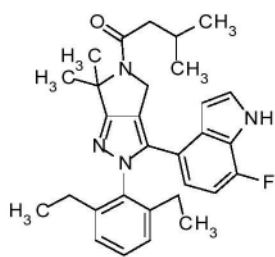


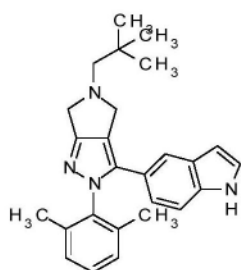
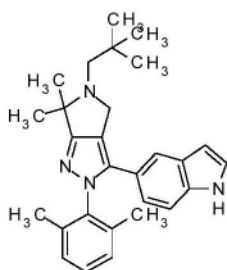
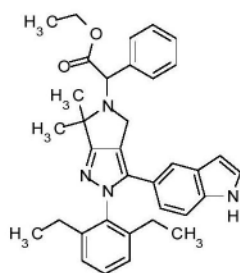
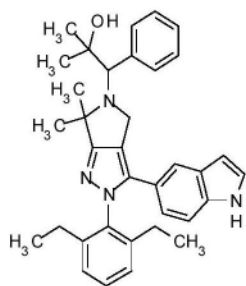
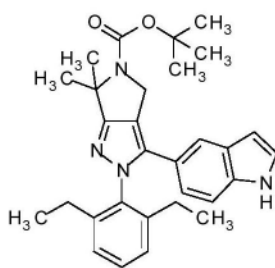
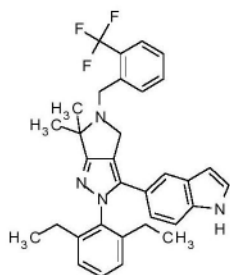
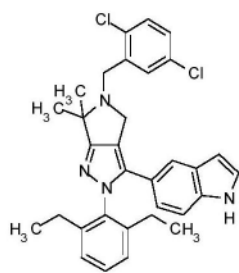
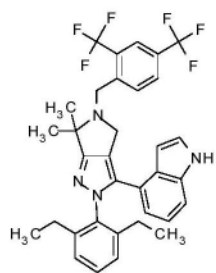
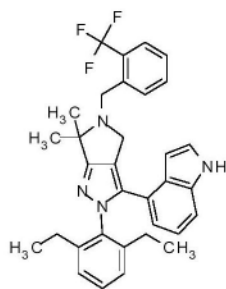
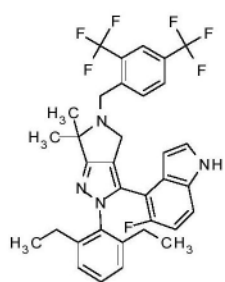
25. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中,所述的化合物选自下组:

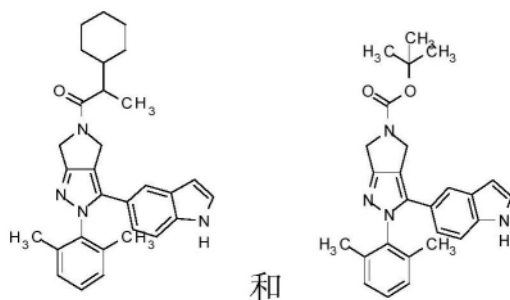












26. 一种药物组合物,包括如权利要求1至25任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,和药学上可接受的载体。

27. 一种如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐或者如权利要求26所述的组合物的应用,其特征在于,用于制备治疗受C5a的病理激活的疾病或病症的药物。

28. 如权利要求27所述的应用,其中,所述疾病或病症是炎性疾病或病症、心血管或脑血管疾病、自身免疫性疾病,或肿瘤疾病或病症。

29. 如权利要求27所述的应用,其特征在于,所述疾病或病症选自下组:中性粒细胞减少、中性白细胞增多症、C3肾小球病、致密物沉积病、膜增生性肾小球肾炎、川崎病、溶血性尿毒症综合征、组织移植排斥、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、血管炎、韦格纳肉芽肿病、自身免疫性溶血和血小板减少症状态。

30. 如权利要求27所述的应用,其中所述疾病或病症选自下组:C3肾小球肾炎、非典型溶血尿毒综合征(aHUS)、狼疮性肾小球肾炎、海曼肾炎、膜性肾炎、血管球性肾炎、ANCA相关的血管炎、显微镜下多血管炎、免疫性血管炎。

31. 如权利要求27所述的应用,其中所述疾病或病症选自下组:狼疮性肾病、IGA肾病。

32. 如权利要求27所述的应用,其中所述疾病或病症选自下组:移植器官超急性排斥反应。

33. 如权利要求27所述的应用,其中所述疾病或病症选自下组:移植物抗宿主病。

34. 如权利要求27所述的应用,其中,所述疾病或病症为癌。

35. 如权利要求27所述的应用,其中所述疾病或病症选自下组:肉瘤、肺癌、白血病、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、乳头状癌、肾细胞癌、肝细胞癌、移行细胞癌、绒毛膜癌、胚胎癌。

36. 如权利要求27所述的应用,其中所述疾病或病症选自下组:囊腺癌、支气管癌。

37. 如权利要求27所述的应用,其中所述疾病或病症选自下组:黑色素瘤、巴瘤、滑膜瘤、间皮瘤、脑膜瘤、精原细胞瘤、维尔姆斯瘤、肝细胞乳头状瘤、乳头状瘤、腺瘤、平滑肌瘤、横纹肌瘤、血管瘤、淋巴管瘤、骨瘤、软骨瘤、脂肪瘤和纤维瘤。

38. 如权利要求27所述的应用,其中所述疾病或病症选自下组:多形性腺瘤、肾小管腺瘤、囊腺瘤。

39. 如权利要求27所述的应用,其中所述疾病或病症选自下组:纤维肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨源性肉瘤、血管肉瘤、淋巴管肉瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤。

40. 一种如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐的体外的非治疗的应用,其特征在于,用于抑制C5a介导的细胞趋化性的方法,包括使哺乳动物白细胞与C5a调节量的如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐接触。

作为C5a抑制剂的5-5稠合环类

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请依照35 U.S.C. §119 (e) 要求2017年5月31日提交的编号为62/513,025的美国临时申请的权利,其通过引用整体并入本文。

[0003] 发明背景

[0004] 补体系统(complement system)在免疫复合物的清除以及对传染因子、外源抗原、病毒感染的细胞和肿瘤细胞的免疫反应中起着核心作用。由于严重的炎症和导致的组织破坏,补体系统的不适当或过度激活会导致危害性、和甚至可能危及生命的后果。这些后果临床上在各种疾病中有体现,包括败血性休克、心肌以及肠缺血性/再灌注损伤、移植排斥、器官衰竭、肾炎、病理性炎症和自身免疫性疾病。

[0005] 补体系统由一组蛋白质组成,这些蛋白质通常以无活性状态存在于血清中。补体系统的激活主要包括三种不同的途径,即经典途径、旁路(alternative)途径和凝集素途径(VM Holers,临床免疫学:原理与实践(In Clinical Immunology:Principles and Practice),RR Rich编,莫斯比出版社(Mosby Press);1996,363-391):1)经典途径是钙/镁依赖性级联,其通常通过抗原-抗体络合物的形成来激活。其还可以通过与配体复合的C反应蛋白(与配体复合)的结合、以及通过许多病原体(包括革兰氏阴性细菌),以抗体非依赖性方式激活。2)旁路途径是镁依赖性级联,其通过在某些敏感表面(例如酵母和细菌的细胞壁多糖,以及某些生物聚合物材料)上C3的沉积和活化来激活。3)凝集素途径涉及甘露糖结合凝集素的初始结合,以及随后C2和C4的激活,这是经典途径常见的(Matsushita,M等人,实验医学杂志(J.Exp.Med.) 176:1497-1502 (1992);Suankratay,C等人,免疫学杂志(J.Immunol) 160:3006-3013 (1998))。

[0006] 补体途径的激活产生补体蛋白的生物活性片段,例如C3a,C4a和C5a过敏毒素MAC和C5b-9膜攻击复合物(MAC),它们均通过影响白细胞趋化性;活化巨噬细胞、中性粒细胞、血小板、肥大细胞和内皮细胞、以及增加血管通透性、细胞溶解和组织损伤来介导炎症反应。

[0007] 补体C5a是补体系统最有效的促炎介质之一。(在引起炎症反应方面,按摩尔计算,过敏性C5a肽比C3a强100倍。)C5a是C5的活化形式(190kD,分子量)。C5a以约80g/ml存在于人血清中(Kohler,P.F等人,免疫学杂志(J.Immunol) 99:1211-1216 (1967))。它由两条多肽链(和)组成,其分子量分别约为115kD和75kD(Tack,BF等人,生物化学(Biochemistry) 18:1490-1497 (1979))。生物合成为单链前分子,在加工和分泌过程中C5被酶切成双链结构。切割后,两条链通过至少一个二硫键以及非共价相互作用保持在一起(Ooi,Y.M等人,免疫学杂志(J.Immunol) 124:2494-2498 (1980))。

[0008] 在补体途径的活化过程中,C5被切割成C5a和C5b片段。用于经典途径的C5激活的转化酶是C4b、C2a和C3b的多亚基复合物,用于旁路途径的是(C3b)₂、Bb和P的多亚基复合物(Goldlust,M.B等人,免疫学杂志(J.Immunol) 113:998-1007 (1974);Schreiber,R.D等人,美国科学院院报(Proc.Natl.Acad.Sci.) 75:3948-3952 (1978))。C5通过-链中74-75位(Arg-Leu)的切割而被激活。活化后,释放来自-链氨基末端部分的11.2kD,74个氨基酸肽

C5a。C5a和C3a都是中性粒细胞和单核细胞的有效刺激物(Schindler,R等人,血液(Blood) 76:1631-1638(1990);Haeffner-Cavaillon,N等人,免疫学杂志(J.Immunol) 138:794-700(1987);Cavaillon,J.M等人,欧洲免疫学杂志(Eur.J.Immunol) 20:253-257(1990))。

[0009] C5a除了具有过敏毒性外,还诱导嗜中性粒细胞(Ward,P.A等人,免疫学杂志(J.Immunol) 102:93-99(1969))、嗜酸性粒细胞(eosinophils)(Kay,A.B等人,免疫学(Immunol) 24:969-976(1973))、嗜碱性粒细胞(Lett-Brown,M.A等人,免疫学杂志(J.Immunol) 117:246-252 1976))和单核细胞(Snyderman,R等人,实验生物学与医学学会学报(Proc.Soc.Exp.Biol.Med.) 138:387-390 1971))的趋化性迁移(chemotactic migration)。C5a和C5b-9均激活内皮细胞以表达对隔离活化的白血细胞(其介导组织炎症和损伤)至关重要的粘附分子(adhesion molecules)(Foreman,K.E等人,临床研究杂志(J.Clin.Invest.) 94:1147-1155(1994);Foreman,K.E等人,炎症(Inflammation) 20:1-9(1996);Rollins,S.A等人,移植(Transplantation) 69:1959-1967(2000))。C5a还通过引起平滑肌收缩、增加血管通透性、诱导嗜碱性粒细胞和肥大细胞脱粒和诱导溶酶体蛋白酶和氧化自由基的释放来介导炎症反应(Gerard,C等人,免疫学年鉴(Ann.Rev.Immunol.) 12:775-808(1994))。此外,C5a通过增加TNF-、IL-1-、IL-6、IL-8、前列腺素和白三烯的产生来调节肝急性期基因表达和增强总体免疫反应(Lambris,J.D等人,发表在:健康与疾病中的人类补充系统(In:The Human Complement System in Health and Disease),Volanakis,J.E编,马塞尔德克(Marcel Dekker),纽约州第83-118页)。

[0010] C5a的过敏反应和趋化作用被认为是通过其与C5a受体的相互作用介导的。人C5a受体(C5aR)是52kD膜结合G蛋白偶联受体,在嗜中性粒细胞、单核细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、肝细胞、肺平滑肌和内皮细胞以及肾小球组织中表达(Van-Epps,D.E等人免疫学杂志(J.Immunol.) 132:2862-2867(1984);Haviland,D.L等人免疫学杂志(J.Immunol.) 154:1861-1869(1995);Wetsel,R.A.,Immunol.Leff.44:183-187(1995);Buchner,R.R等人免疫学杂志(J.Immunol.) 155:308-315(1995);Chenoweth,D.E等人,美国科学学院学报(Proc.Natl.Acad.Sci.),75:3943-3947(1978);Zwirner,J等人,分子免疫(Mol.Immunol.),36:877-884(1999))。C5aR的配体结合位点是复杂的,并且由至少两个物理上可分离的结合域组成。一个结合C5a氨基末端(氨基酸1-20)和二硫键连接的核心(氨基酸21-61),而另一个结合C5a羧基末端(氨基酸62-74)(Wetsel,R.A,免疫学的最新观点(Curr.Opin.Immunol.) 7:48-53(1995))。

[0011] C5a在炎症和组织损伤中起重要作用。在心肺旁路和血液透析中,当人类血液与心肺机或肾脏透析机的人造表面接触时,C5a的形成是旁路补充途径的激活的结果(Howard,R.J等人,外科学文献(Arch.Surg.) 123:1496-1501(1988);Kirklin,J.K等人,心血管外科杂志(J.Cardiovasc.Surg.) 86:845-857(1983);Craddock,P.R等人,N.Engl.J.Med.296:769-774(1977))。C5a导致毛细血管通透性和水肿、支气管收缩、肺血管收缩、白细胞和血小板活化以及向组织(特别是肺)的浸润增加(Czermak,B.J等人,白细胞生物学杂志(J.Leukoc.Biol.) 64:40-48(1998))。施用抗C5a单克隆抗体已显示出可减少心肺旁路和心麻痹引起的冠状动脉内皮功能障碍(Tofukuji,M等人,胸心血管外科杂志(J.Thorac.Cardiovasc.Surg.) 116:1060-1068(1998))。

[0012] C5a还涉及急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、慢性阻塞性肺疾病(COPD)和多器官衰竭

(MOF) (Hack, C.E等人, 美国医学杂志 (Am. J. Med.) 1989;86:20-26; Hammerschmidt DE等人柳叶刀 (Lancet) 1980;1:947-949; Heideman M.等人 J. Trauma 1984;4:1038-1043; Marc, MM, 等人, 美国呼吸系统细胞和分子生物学杂志 (Am. J. Respir. Cell and Mol. Biol.), 2004:31:216-219)。C5a增加了单核细胞生成产生两种重要的促炎细胞因子 (TNF-和IL-1)。在败血性休克的动物模型中, C5a在组织损伤尤其是肺损伤的进展中也显示出重要作用 (Smedegard G等人, 美国病理学杂志 (Am. J. Pathol.), 1989;135:489-497; Markus, S等人, 美国实验生物学会联合会杂志 (FASEB Journal) (2001), 15:568-570)。在使用大鼠、猪和非人类灵长类动物的脓毒症模型中, 在内毒素或大肠杆菌处理前向动物施用抗C5a抗体可减少组织损伤, 并减少IL-6的产生 (Smedegard, G等人, 美国病理学杂志 (Am. J. Pathol.) .135:489-497 (1989); Hopken, U等人, 欧洲免疫学杂志 (Eur. J. Immunol.) .26:1103-1109 (1996); Stevens, J.H等人, 临床研究杂志 (J. Clin. Invest.) 77:1812-1816 (1986))。更重要的是, 阻断剂或具有抗-C5a多克隆抗体的C5a显示出可显著提高大鼠脓毒症的盲肠结扎/穿刺模型中的存活率。(Czermak, B.J等人, 自然医学 (Nat. Med.) 5:788-792 (1999))。该模型与人类的败血症的临床表现有许多相似之处。(Parker, S.J等人, 英国外科学杂志 (Br. J. Surg.) 88:22-30 (2001))。在同一脓毒症模型中, 抗-C5a抗体显示出可抑制胸腺细胞凋亡 (Guo, R.F等人, J. Clin. Invest. 106:1271-1280 (2000)) 并预防MOF (Huber-Lang, M等人, J. Immunol. 166:1193-1199 (2001))。抗C5a抗体在大鼠肺损伤的眼镜蛇毒因子模型中, 以及在免疫复合物诱导的肺损伤中也具有保护作用 (Mulligan, M.S等人, 临床研究杂志 (J. Clin. Invest. 98:503-512 (1996))。后来在小鼠中证实了C5a在免疫复合物介导的肺损伤中的重要性 (Bozic, C.R等人, 科学 (Science) 26:1103-1109 (1996))。

[0013] 发现C5a是心肌缺血-再灌注损伤的主要介质。补体损耗减少了小鼠的心肌梗死面积 (Weisman, H.F等人, 科学 (Science) 249:146-151 (1990)), 并且用抗C5a抗体的治疗减少了大鼠后肢缺血-再灌注模型的损伤 (Bless, N.M等人, 美国生理学杂志 (Am. J. Physiol.) 276:L57-L63 (1999))。在用单克隆抗C5a IgG治疗的猪中, 心肌梗塞期间的再灌注损伤也显著降低 (Amsterdam, E.A等人, 美国生理学杂志 (Am. J. Physiol.) 268:H448-H457 (1995))。重组人C5a拮抗剂在外科血管重建的猪模型中减小了梗塞面积 (Riley, R.D等人, 胸心血管外科杂志 (J. Thorac. Cardiovasc. Surg.) 120:350-358 (2000))。

[0014] C5a驱动的中性粒细胞还导致许多大疱性疾病 (例如大疱性天疱疮、寻常性天疱疮和叶天疱疮)。这些是慢性和复发性炎性疾病, 临床上以在皮肤和粘膜的亚表皮空间出现的无菌水泡为特征。虽然据信对位于皮肤基底膜的角质形成细胞的自身抗体是表皮基底角质形成细胞与下面的基底膜分离的基础, 但水泡的另一特征是中性粒细胞在真皮上层和水泡腔内的积累。在实验模型中, 即使存在高自身抗体滴度, 中性粒细胞的减少或补体的缺乏 (总的或C5选择性的) 也可以抑制表皮下水疱的形成。

[0015] 类风湿关节炎 (Jose, P.J等人, 风湿病年鉴 (Ann. Rheum. Dis.) 49:747-752 (1990); Grant, E.P等人, 实验医学杂志 (J. J. of Exp. Med.), 196 (11):1461-1471, (2002))、狼疮性肾炎 (Bao, L., 等人, 欧洲免疫学杂志 (Eur. J. of Immunol.), 35 (8), 2496-2506, (2005)) 和系统性红斑狼疮 (SLE) (Porcel, J.M等人, 临床免疫学与免疫病理学 (Clin. Immunol. Immunopathol.) 74:283-288 (1995)) 患者的补体水平升高。C5a水平与疾病状态的严重程度相关。小鼠和大鼠中胶原蛋白诱导的关节炎类似于人的类风湿关节炎疾

病。缺乏C5a受体的小鼠表现出对注射单克隆抗胶原Abs诱导的关节炎的完全保护(Banda, N.K等人,免疫学杂志(J.of Immunol.),2003,171:2109-2115)。因此,抑制C5a和/或C5a受体(C5aR)可用于治疗这些慢性疾病。

[0016] 据信补体系统在炎症肠道疾病(IBD)患者中被激活,并且被认为在疾病发病机理中起作用。在IBD患者的表面上皮细胞的腔表面上以及肌层粘膜和粘膜下血管中发现了活化的补体产物(Woodruff,T.M等人,免疫学杂志(J of Immunol.),2003,171:5514-5520)。

[0017] 在发炎的人中枢神经系统中的反应性星形胶质细胞、小胶质细胞和内皮细胞的C5aR表达上调(Gasque,P等人,美国病理学杂志(Am.J.Pathol.).150:31-41(1997))。C5a可能涉及神经退行性疾病,例如阿尔茨海默氏病(Mukherjee,P等人,神经免疫学杂志(J.Neuroimmunol.)105:124-130(2000);O'Barr,S等人,神经免疫学杂志(J.Neuroimmunol.), (2000)105:87-94;Farkas,I等人免疫学杂志(J.Immunol.), (2003)170:5764-5771)、帕金森病、匹克病和传染性海绵状脑病。神经元C5aR的活化可以诱导细胞凋亡(Farkas I等人生理学杂志(J.Physiol.)1998;507:679-687)。因此,抑制C5a和/或C5aR也可用于治疗神经退行性疾病。

[0018] 有证据表明,C5a的产生会加重与特应性皮炎相关的炎症(Neuber,K等人,免疫学(Immunology)73:83-87,(1991))和慢性荨麻疹(Kaplan,A.P.,J.Allergy Clin.Immunol.114:465-474,(2004))。

[0019] 现在已知牛皮癣是T细胞介导的疾病(Gottlieb,E.L等人,自然医学(Nat.Med.)1:442-447(1995))。然而,嗜中性粒细胞和肥大细胞也可能参与该疾病的发病过程(Terui,T等人,实验皮肤病学(Exp.Dermatol).9:1-10;2000);Werfel,T.等人,皮肤病症相关档案研究(Arch.Dermatol.Res.)289:83-86(1997))。在牛皮癣菌斑的高度发炎区域观察到了中性粒细胞在角质层下的蓄积,牛皮癣病变(鳞屑)提取物含有高度升高的C5a水平并且显示出对中性粒细胞具有强大的趋化活性(一种可通过添加C5a抗体来抑制的作用)。T细胞和嗜中性粒细胞被C5a化学吸引(Nataf,S.等人,免疫学杂志(J.Immunol.)162:4018-4023(1999);Tsuji,R.F等人,免疫学杂志(J.Immunol.)165:1588-1598(2000);Cavaillon,J.M.等人,欧洲免疫学杂志(Eur.J.Immunol.)20:253-257(1990))。此外,C5aR的表达已在皮肤性红斑狼疮的病变中分离出的浆细胞样树突状细胞(pDC)中得到证明,并且这些细胞显示出对C5a的趋化行为,这表明在pDC上阻断C5aR可能有效减少pDC对SLE和牛皮癣皮肤的浸润。因此,C5a可以是用于治疗牛皮癣的重要治疗靶标。

[0020] 含免疫球蛋白G的免疫复合物(IC)是许多自身免疫性疾病(例如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、舍格伦氏病(Sjogren's disease)、古德帕斯彻氏综合征(Goodpasture's syndrome)和过敏性肺炎)的病理生理学基础(Madaio,M.P.,肾脏病研讨会(Semin.Nephrol.)19:48-56(1999);Korganow,A.S.等人,免疫(Immunity)10:451-459(1999);Bolten,W.K.,国际肾脏杂志(Kidney Int.)50:1754-1760(1996);Ando,M.等人,当前肺医学的观点(Curr.Opin.Pulm.Med.)3:391-399(1997))。这些疾病具有高度异质性且通常影响下述一个或多个器官:皮肤、血管、关节、肾脏、心脏、肺、神经系统和肝脏(包括肝硬化和肝纤维化)。用于这些IC疾病中炎症反应的经典动物模型是阿图斯(Arthus)反应,其特征是多形核细胞浸润、出血和血浆渗出(Arthus,M.,C.R.Soc.Biol.55:817-824(1903))。最近的研究表明,C5aR缺陷型小鼠免受IC诱导的组织损伤(Kohl,J等人,分子免疫

(Mol. Immunol.) 36:893-903 (1999); Baumann, U等人, 免疫学杂志 (J. Immunol.) 164:1065-1070 (2000)。该结果与一种小肽类抗C5aR拮抗剂抑制了由IC沉积引起的炎症反应所观察到的一致 (Strachan, A.J等人, 免疫学杂志 (J. Immunol.) 164:6560-6565 (2000))。C5a (与其受体一起) 在IC疾病的发病机理中起重要作用。C5a和C5aR抑制剂可用于治疗这些疾病。

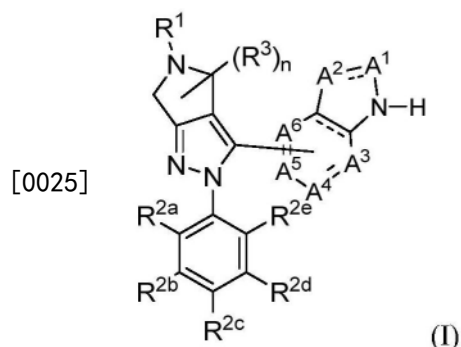
[0021] 相关技术描述:

[0022] 已经报道了基于非肽的C5a受体拮抗剂有效治疗了大鼠的内毒素休克 (Strachan, A.J等人, 免疫学杂志 (J. of Immunol.) (2000), 164 (12):6560-6565); 并用于在大鼠模型中治疗IBD (Woodruff, T.M等人, 免疫学杂志 (J. of Immunol.), 2003, 171:5514-5520)。基于非肽的C5a受体调节剂也已在神经元公司 (Neurogen Corporation) (例如W02004/043925、W02004/018460、W02005/007087, W003/082826、W003/08828、W002/49993、W003/084524); 东佩S.P.A (Dompe S.P.A.) (W002/029187); 昆士兰大学 (W02004/100975); 和凯莫森特利克斯 (ChemoCentryx) (W02010/075257) 的专利文献中进行了描述。

[0023] 文献中有大量的实验证据表明C5a水平升高与多种疾病和病症 (尤其是自身免疫和炎性疾病和病症) 有关。因此, 在本领域中仍然需要新的有机小分子C5a受体 (C5aR) 的调节剂 (例如激动剂, 优选拮抗剂, 部分激动剂), 其可用于抑制病原事件 (pathogenic events), 例如与过敏毒素活性相关的趋化性。本发明满足了这一需求和其他需求。

发明内容

[0024] 在一个方面, 本发明提供了式 (I) 化合物:



[0026] 或其药学上可接受的盐, 其中,

[0027] 环顶点A¹选自下组: N、CH、C(O) 和C(R⁴);

[0028] 环顶点A²选自下组: N、CH和C(R⁴);

[0029] 环顶点A³、A⁴、A⁵和A⁶各自独立地选自下组: CH和C(R⁴);

[0030] 各虚线键独立地代表单键或双键;

[0031] R¹选自下组: -C₁₋₈亚烷基-杂芳基、-C₁₋₈亚烷基-C₆₋₁₀芳基、C₁₋₈烷基、C₁₋₈卤代烷基、-C(O)-C₁₋₈烷基、-C(O)-C₆₋₁₀芳基、-C(O)-杂芳基、-C(O)-C₃₋₆环烷基、-C(O)-杂环烷基、-C(O)NR^{1a}R^{1b}、-SO₂-C₆₋₁₀芳基、-SO₂-杂芳基、-C(O)-C₁₋₈亚烷基-0-杂芳基、-C(O)-C₁₋₈亚烷基-C₆₋₁₀芳基、-C(O)-C₁₋₈亚烷基-0-杂环烷基、-C(O)-C₁₋₈亚烷基-0-C₃₋₆环烷基、-C(O)-C₁₋₈亚烷基-杂芳基、-C(O)-C₁₋₈亚烷基-C₆₋₁₀芳基、-C(O)-C₁₋₈亚烷基-杂环烷基、-C(O)-C₁₋₈亚烷基-C₃₋₆环烷基和-CO₂R^{1a}; 所述杂环烷基基团是具有1至3个选自N、O和S的杂原子作为环顶点的4至8元环; 以及所述杂芳基基团具有1至3个选自N、O和S的杂原子作为环顶点的5至10元芳香

环;

[0032] 其中, R^{1a} 和 R^{1b} 各自独立地选自下组: 氢、 C_{1-8} 烷基和 C_{1-8} 卤代烷基;

[0033] 其中, R^1 任选地被 1 至 5 个 R^5 取代基所取代;

[0034] R^{2a} 和 R^{2e} 各自独立地选自下组: C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷基、 $-O-C_{1-6}$ 卤代烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-6}$ 烷基- $O-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-6}$ 烷基- $S-C_{1-6}$ 烷基、CN 和卤素;

[0035] R^{2b} 、 R^{2c} 和 R^{2d} 各自独立地选自下组: 氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷基、 $-O-C_{1-6}$ 卤代烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-6}$ 烷基- $O-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-6}$ 烷基- $S-C_{1-6}$ 烷基、氰基和卤素;

[0036] 各 R^3 独立地选自下组: C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、卤素和羟基, 且任选地在同一个碳原子上的两个 R^3 基团结合以形成氧代(=O) 或形成三至五元环烷基环;

[0037] 各 R^4 独立地选自下组: C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 羟烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、 $-O-C_{1-6}$ 卤代烷基、卤素、氰基、羟基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-6}$ 烷基- $O-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-6}$ 烷基- $S-C_{1-6}$ 烷基、 $-NR^{4a}R^{4b}$ 、 $-CONR^{4a}R^{4b}$ 、 $-CO_2R^{4a}$ 、 $-COR^{4a}$ 、 $OC(O)NR^{4a}R^{4b}$ 、 $-NR^{4a}C(O)R^{4b}$ 、 $-NR^{4a}C(O)_2R^{4b}$ 和 $NR^{4a}-C(O)NR^{4a}R^{4b}$;

[0038] R^{4a} 和 R^{4b} 各自独立地选自下组: 氢、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 卤代烷基;

[0039] 各 R^5 独立地选自下组: C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{1-8} 卤代烷氧基、 C_{1-8} 羟烷基、 $-C_{1-8}$ 亚烷基-杂环烷基、 $-C_{1-8}$ 亚烷基- C_{3-6} 环烷基、 C_{3-6} 环烷基、杂环烷基、卤素、OH、 C_{2-8} 烯基、 C_{2-8} 炔基、CN、 $C(O)R^{5a}$ 、 $-NR^{5b}C(O)R^{5a}$ 、 $-CONR^{5a}R^{5b}$ 、 $-NR^{5a}R^{5b}$ 、 $-C_{1-8}$ 亚烷基- $NR^{5a}R^{5b}$ 、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-6}$ 亚烷基- $O-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_{1-6}$ 亚烷基- $S-C_{1-6}$ 烷基、 $OC(O)NR^{5a}R^{5b}$ 、 $-NR^{5a}C(O)_2R^{5b}$ 、 $NR^{5a}-C(O)NR^{5b}R^{5b}$ 和 CO_2R^{5a} ; 其中, 所述杂环烷基基团是具有 1 至 3 个选自 N、O 和 S 的杂原子作为环顶点的 4 至 8 元环;

[0040] 其中, R^{5a} 和 R^{5b} 各自独立地选自下组: 氢、 C_{1-8} 烷基和 C_{1-8} 卤代烷基, 或者当 R^{5a} 和 R^{5b} 连接至相同的氮原子时它们与所述氮原子结合以形成具有 0 至 1 个选自 N、O 或 S 的额外的杂原子作为环顶点的五或六元环; 以及

[0041] 下标 n 为 0、1、2 或 3。

[0042] 除了本发明提供的化合物外, 本发明还提供了含一种或多种这些化合物的药物组合物, 以及这些化合物在治疗方法中的用途, 主要为了治疗与 C5a 信号传导活性相关的疾病。

[0043] 在其他方面, 本发明提供了诊断个体中疾病的方法。在这些方法中, 将本文提供的化合物以标记的形式向对象施用, 随后通过诊断性成像以确定 C5aR 的存在或不存在和/或表达 C5aR 受体的细胞的定位。在相关的方面, 诊断疾病的方法通过将组织或血液样本与本文提供的标记化合物接触并确定样本中 C5aR 存在、不存在、量或定位来进行。

[0044] 发明详述

[0045] I. 缩写和定义

[0046] 除非另有说明, 术语“烷基”, 本身或作为另一个取代基的一部分, 是指具有指定碳原子数 (即 C_{1-8} 是指 1 至 8 个碳) 的直链或支链烃基。烷基的例子包括甲基、乙基、n-丙基、异丙基、n-丁基、t-丁基、异丁基、仲-丁基、n-戊基、n-己基、n-庚基、n-辛基, 以及类似基团。术语“烯基”是指具有一个或多个双键的不饱和烷基。类似地, 术语“炔基”是指具有一个或多个三键的不饱和烷基。这种不饱和烷基的实例包括: 乙烯基、2-丙烯基、巴豆基、2-异戊烯基、2-(丁二烯基)、异丁烯基、2,4-戊二烯基、3-(1,4-戊二烯基)、乙炔基、1-和 3-丙炔基、3-丁

炔基以及高级同系物和异构体。术语“环烷基”是指具有指定数量的环原子(例如, C_{3-6} 环烷基)并且完全饱和或环顶点之间具有不超过一个双键的烃环。”环烷基”也可指双环烃环和多环烃环,例如,双环[2.2.1]庚烷、双环[2.2.2]辛烷等。术语“杂环烷基”是指含一至五个选自N、O和S的杂原子的环烷基,其中氮和硫原子任选地被氧化,以及氮原子任选地被季铵化。所述杂环烷基可以是单环、双环或多环体系。杂环烷基的非限制性示例包括:吡咯烷、咪唑烷、吡啶烷、丁内酰胺、戊内酰胺、咪唑啉酮、乙内酰脲、二氧戊环、邻苯二甲酰亚胺、哌啶、1,4-二氧六环、吗啉、硫代吗啉、硫代吗啉-S-氧化物、硫代吗啉-S,S-氧化物、哌嗪、吡喃、吡啶酮、3-吡咯啉、噻喃、吡喃酮、四氢呋喃,四氢噻吩、奎宁环,以及类似基团。杂环烷基可通过环碳或杂原子与分子的其他部分连接。

[0047] 术语“亚烷基”本身或作为另一取代基的一部分,是指衍生自烷烃的二价基团,如 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 所示。通常,烷基(或亚烷基)会有1至24个碳原子,在本发明中优选具有10个或更少碳原子的那些基团。“低级烷基”或“低级亚烷基”是通常具有四个或更少碳原子的短链烷基或亚烷基。类似地,“亚烯基”和“亚炔基”分别是指具有双键或三键的“亚烷基”的不饱和形式。

[0048] 除非另外说明,术语“杂烷基”本身或与另一术语组合是指稳定的直链或支链或环状烃基,或其组合,由所述数量的碳原子和一至三个选自O、N、Si和S的杂原子组成,以及其中氮和硫原子可任选被氧化,以及氮杂原子可任选被季铵化。杂原子O、N和S可位于杂烷基内的任何位置。杂原子Si可以位于杂烷基的任何位置,包括烷基与分子的其余部分连接的位置。实例包括: $-CH_2-CH_2-O-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ 、 $-CH=CH-O-CH_3$ 、 $-Si(CH_3)_3$ 、 $-CH_2-CH=N-OCH_3$, 和 $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$ 。至多两个杂原子可以是连续的,例如 $-CH_2-NH-OCH_3$ 和 $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$ 。类似地,除非另外说明,术语“杂烯基”和“杂炔基”本身或与另一术语组合,表示分别是指包含所述数量的碳和具有一至三个选自O、N、Si和S的杂原子的烯基或炔基,以及其中氮和硫原子可任选被氧化,以及氮杂原子可任选被季铵化。杂原子O、N和S可位于杂烷基的任何内部位置。

[0049] 术语“杂亚烷基”本身或作为另一个取代基的一部分是指衍生自杂烷基的饱和或不饱和或多不饱和的二价基团,例如 $-CH_2-CH_2-S-CH_2CH_2-$ 和 $-CH_2-S-CH_2-CH_2-NH-CH_2-$ 、 $OCH_2CH=CH$ 、 $CH_2CH=C(H)CH_2OCH_2-$ 和 $SCH_2C\equiv C$ 。对于杂亚烷基,杂原子也可以位于链末端中的一个或两个(例如,亚烷氧基、亚烷基二氧基、亚烷基氨基、亚烷基二氨基等)。

[0050] 术语“烷氧基”、“烷氨基”和“烷硫基”(或硫代烷氧基)采用它们的传统意义,是指分别通过氧原子、氨基或硫原子与分子其他部分连接的那些烷基。另外,对于二烷氨基,烷基部分可以相同或不同,且可与其连接的氮原子组合以形成3-7元环。因此,用 NR^aR^b 表示的基团包括哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、氮杂啉(azetidiny1)以及类似的基团。

[0051] 术语“羟烷基”以其常规含义使用,是指被至少一个羟基取代的支链或直链烷基。羟基可以在烷基中的任何位置。例如,术语“ C_{1-4} 羟烷基”是指包括:羟甲基、羟乙基、羟丙基、羟异丙基等。

[0052] 除非另外说明,术语“卤代”或“卤素”它们本身或作为另一取代基的一部分,是指氟、氯、溴或碘原子。另外,诸如“卤代烷基”的术语意在包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如,术语“ C_{1-4} 卤代烷基”意在包括:三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基,以及类

似基团。

[0053] 除非另有说明,术语“芳基”是指多不饱和通常为芳香性的烃基,其可以是单环或稠合在一起或共价连接的多环(最多三环)。术语“杂芳基”是指含一至五个选自N、O和S的杂原子的芳基(或环),其中氮和硫原子任选地被氧化以及氮原子任选地被季铵化。杂芳基可通过杂原子与分子的其他部分连接。芳基的非限制性例子包括:苯基、萘基和联苯基;且杂芳基的非限制性例子包括:吡啶基、哒嗪基、吡嗪基、嘧啶基、三嗪基、喹啉基、喹喔啉基、喹唑啉基、噌啉基(cinnolinyl)、酞嗪基(phthalaziniyl)、苯并三嗪基、嘌呤基、苯并咪唑基、苯并吡唑基、苯并噁唑基(benzooxazolyl)、苯并三唑基、苯并异恶唑基、异苯并呋喃基、异吲哚基、吲哚基、吲哚啉基(indoliziniyl)、苯并三嗪基、噻吩并吡啶基、噻吩并嘧啶基、吡唑并嘧啶基、吡咯并吡啶基、咪唑并吡啶基、苯并噻唑基(benzothiazolyl)、苯并呋喃基、苯并噻吩基、吲哚基、喹啉基、异喹啉基、异噻唑基、吡唑基、吲唑基、蝶啶基、咪唑基、三唑基、四唑基、恶唑基、异恶唑基、噻二唑基、吡咯基、噻唑基、呋喃基,以及类似基团。用于上述记载的每个芳基和杂芳基环系统的取代基选自后文所述的可接受的取代基。

[0054] 术语“药学上可接受的盐”意指包括用相对无毒的酸或碱制备的活性化合物的盐,这取决于本文所述化合物上存在的特定取代基。当本发明化合物含有相对较酸性的官能团时,碱加成盐可以通过使这些化合物的中性形式与足够量的所需接触而获得,所述碱在无溶剂或合适的惰性溶剂中。衍生自药学上可接受的无机碱的盐的实例包括铝盐、铵盐、钙盐、铜盐、铁盐、亚铁盐、锂盐、镁盐、三价锰盐、二价锰盐、钾盐、钠盐、锌盐等。衍生自药学上可接受的有机碱的盐包括伯胺、仲胺和叔胺的盐,包括取代的胺、环胺、天然存在的胺等,例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙基氨基乙醇、2-二甲基氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡萄糖胺、葡萄糖胺、组氨酸、海巴明(hydrabamine)、异丙基胺、赖氨酸、甲基葡萄糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙基胺、氨丁三醇,以及类似基团。当本发明化合物含有相对碱性的官能团时,可以通过使这些化合物的中性形式与足够量的所需酸接触而获得酸加成盐,所述酸可以是无溶剂的或在合适的惰性溶剂中。药学上可接受的酸加成盐的实例包括衍生自无机酸如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等,以及衍生自如乙酸、丙酸、异丁酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸等相对无毒的有机酸的盐。还包括氨基酸,例如精氨酸等的盐,以及有机酸,例如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸等的盐(参见,例如,Berge,S.M.等,“药用盐(Pharmaceutical Salts)”,药物科学杂志(Journal of Pharmaceutical Science),1977,66,1-19)。本发明的某些同时含有碱性和酸性官能团具体化合物,使得化合物可以转化为碱或酸加成盐。

[0055] 化合物的中性形式可通过使盐与碱或酸接触,并以常规方式分离母体化合物而再生。化合物的母体形式在某些物理性质上不同于其各种盐形式,例如在极性溶剂中的溶解性,但是出于本发明目的在其他方面盐等同于化合物的母体形式。

[0056] 除了盐形式外,本发明提供了以前药形式存在的化合物。本文所述化合物的前药是在生理条件下易于发生化学变化得到本发明化合物的那些化合物。另外,前药可以在离体环境中通过化学或生物化学方法转化成本发明的化合物。例如,当将前药放置在具有合适的酶或化学试剂的透皮贴剂储库中时,前药会缓慢地转化成本发明的化合物。

[0057] 本发明的某些化合物可以非溶剂化形式以及溶剂化形式存在,包括水合形式。通常,溶剂化形式与非溶剂化形式相当,并且意图包括在本发明的范围内。本发明的某些化合物可以以多晶或无定形形式存在。通常,所有物理形式对于本发明所设想的用途是等同的,并且意图在本发明的范围内。

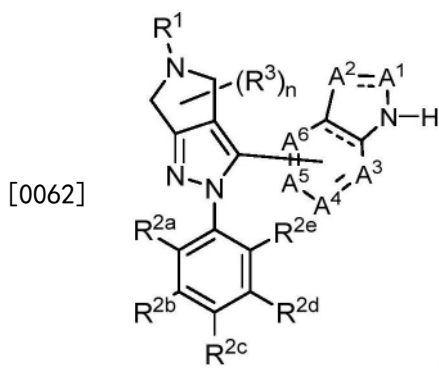
[0058] 本发明的某些化合物具有不对称碳原子(光学中心)或双键;外消旋体、非对映异构体、几何异构体、区域异构体和单个异构体(例如单独的对映异构体)均旨在包括在本发明的范围内。本发明的化合物还可以在构成这些化合物的一个或多个原子上含有非天然比例的原子同位素。例如,化合物可以用放射性同位素(如氚(^3H)、碘125(^{125}I)或碳14(^{14}C))进行放射性标记。本发明化合物的所有同位素变体,无论是否是放射性的,均旨在被包括在本发明的范围内。

[0059] 如本文所用,与本文所描述的任何化学结构中的单键、双键或三键相交的波浪线“ \sim ”表示单键、双键或三键与分子的其余部分的连接点。

II. 具体实施方式

[0060] A. 化合物

[0061] 在一个方面,本发明提供了式(I)化合物:



[0063] 或其药学上可接受的盐,其中,

[0064] 环顶点 A^1 选自下组: N 、 CH 、 $\text{C}(\text{O})$ 和 $\text{C}(\text{R}^4)$;

[0065] 环顶点 A^2 选自下组: N 、 CH 和 $\text{C}(\text{R}^4)$;

[0066] 环顶点 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 各自独立地选自下组: CH 和 $\text{C}(\text{R}^4)$;

[0067] 各虚线键独立地代表单键或双键;

[0068] R^1 选自下组: $-\text{C}_{1-8}$ 亚烷基杂芳基、 $-\text{C}_{1-8}$ 亚烷基- C_{6-10} 芳基、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{1-8}$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{6-10}$ 芳基、 $-\text{C}(\text{O})$ -杂芳基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{3-6}$ 环烷基、 $-\text{C}(\text{O})$ -杂环烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{1a}\text{R}^{1b}$ 、 $-\text{SO}_2-\text{C}_{6-10}$ 芳基、 $-\text{SO}_2$ -杂芳基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{1-8}$ 亚烷基- O -杂芳基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{1-8}$ 亚烷基- $\text{O}-\text{C}_{6-10}$ 芳基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{1-8}$ 亚烷基- O -杂环烷基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{1-8}$ 亚烷基- $\text{O}-\text{C}_{3-6}$ 环烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-8}$ 亚烷基杂芳基、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-8}$ 亚烷基 C_{6-10} 芳基、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-8}$ 亚烷基杂环烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-8}$ 亚烷基 C_{3-6} 环烷基和 CO_2R^{1a} ;所述杂环烷基基团是具有1至3个选自 N 、 O 和 S 的杂原子作为环顶点的4至8元环;以及所述杂芳基基团具有1至3个选自 N 、 O 和 S 的杂原子作为环顶点的5至10元芳香环;

[0069] 其中, R^{1a} 和 R^{1b} 各自独立地选自下组:氢、 C_{1-8} 烷基和 C_{1-8} 卤代烷基;

[0070] 其中, R^1 任选地被1至5个 R^5 取代基所取代;

[0071] R^{2a} 和 R^{2e} 各自独立地选自下组: C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷基、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 卤代烷

基、-S-C₁₋₆烷基、-C₁₋₆烷基-O-C₁₋₆烷基、-C₁₋₆烷基-S-C₁₋₆烷基、CN和卤素；

[0072] R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地选自下组：氢、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆卤代烷基、-O-C₁₋₆卤代烷基、-S-C₁₋₆烷基、-C₁₋₆烷基-O-C₁₋₆烷基、-C₁₋₆烷基-S-C₁₋₆烷基、氰基和卤素；

[0073] 各R³独立地选自下组：C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、卤素和羟基，以及任选地在同一个碳原子上的两个R³基团结合以形成氧代(=O)或形成三至五元环烷基环；

[0074] 各R⁴独立地选自下组：C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆羟烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₁₋₆卤代烷氧基、-O-C₁₋₆卤代烷基、卤素、氰基、羟基、-S-C₁₋₆烷基、-C₁₋₆烷基-O-C₁₋₆烷基、-C₁₋₆烷基-S-C₁₋₆烷基、-NR^{4a}R^{4b}、-CONR^{4a}R^{4b}、-CO₂R^{4a}、-COR^{4a}、OC(O)NR^{4a}R^{4b}、-NR^{4a}C(O)R^{4b}、-NR^{4a}C(O)₂R^{4b}和NR^{4a}-C(O)NR^{4a}R^{4b}；

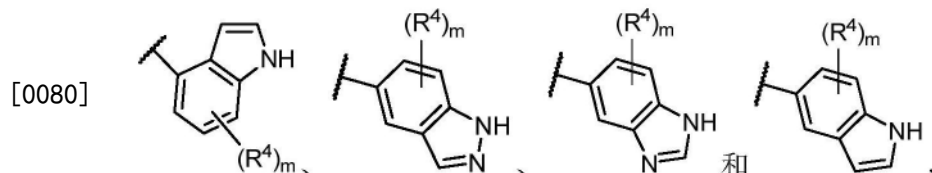
[0075] R^{4a}和R^{4b}各自独立地选自下组：氢、C₁₋₄烷基和C₁₋₄卤代烷基；

[0076] 各R⁵独立地选自下组：C₁₋₈烷基、C₁₋₈烷氧基、C₁₋₈卤代烷基、C₁₋₈卤代烷氧基、C₁₋₈羟烷基、-C₁₋₈亚烷基-杂环烷基、-C₁₋₈亚烷基-C₃₋₆环烷基、C₃₋₆环烷基、杂环烷基、卤素、OH、C₂₋₈烯基、C₂₋₈炔基、CN、C(O)R^{5a}、-NR^{5b}C(O)R^{5a}、-CONR^{5a}R^{5b}、-NR^{5a}R^{5b}、-C₁₋₈亚烷基NR^{5a}R^{5b}、-S-C₁₋₆烷基、-C₁₋₆亚烷基-O-C₁₋₆烷基、-C₁₋₆亚烷基-S-C₁₋₆烷基、-OC(O)NR^{5a}R^{5b}、-NR^{5a}C(O)₂R^{5b}、-NR^{5a}-C(O)NR^{5b}R^{5b}和CO₂R^{5a}；其中，所述杂环烷基基团是具有1至3个选自N、O和S的杂原子作为环顶点的4至8元环；

[0077] 其中，R^{5a}和R^{5b}各自独立地选自下组：氢、C₁₋₈烷基和C₁₋₈卤代烷基，或者当R^{5a}和R^{5b}连接至相同的氮原子时，它们与所述氮原子结合以形成具有0至1个选自N、O或S的额外的杂原子作为环顶点的五或六元环；以及

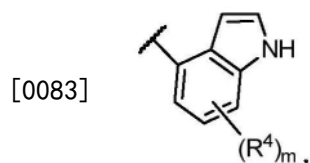
[0078] 下标n为0、1、2或3。

[0079] 着眼于环具有A¹、A²、A³、A⁴、A⁵和A⁶作为环顶点的环部分，在一些实施例中，具有A¹、A²、A³、A⁴、A⁵和A⁶作为环顶点的环部分为双环杂芳基，并选自：



[0081] 其中，m为0、1、2或3；且其中所述R⁴取代基可以连接至所述双环杂芳基的任何适合的碳环顶点。

[0082] 在一些实施例中，具有A¹、A²、A³、A⁴、A⁵和A⁶作为环顶点的环部分是



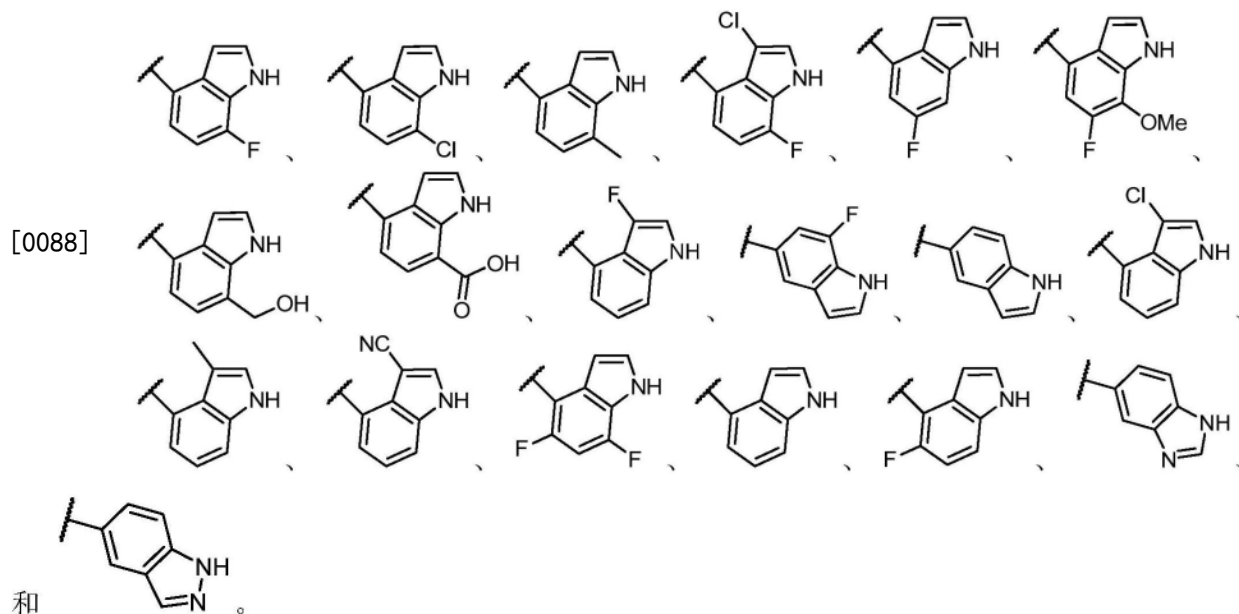
[0084] 其中，m为0、1、2或3；其中所述R⁴取代基可以连接至所述双环杂芳基的任何适合的碳环顶点。

[0085] 在一些实施例中，各R⁴独立地为C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、C₁₋₆羟烷基、卤素、氰基和-CO₂R^{4a}，其中，R^{4a}定义如前，且其中所述R⁴取代基可以连接至所述双环杂芳基的任何适合的碳环顶点。

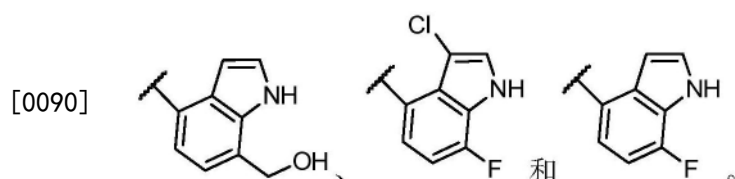
[0086] 本领域技术人员将认识到，具有A¹、A²、A³、A⁴、A⁵和A⁶的环部分的特定碳原子不能被

R^4 取代。例如,将双环杂芳基部分(即具有具有 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 的环部分)连接至分子的其余部分的碳原子,以及在稠合的双环杂芳基部分中作为两个环系统成员的碳原子(即在苯和五元环系统中均为环顶点的两个碳原子)不能被 R^4 取代,因为额外的取代基将超过这些碳原子的化合价。

[0087] 在一些实施例中,具有 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 作为环顶点的环部分选自下组:



[0089] 在一些实施例中,具有 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 作为环顶点的环部分选自下组:



[0091] 回到 R^1 和可选的取代基, R^5 ,在一些实施例中, R^1 为 $-C_{1-8}$ 亚烷基杂芳基、 $-C_{1-8}$ 亚烷基 C_{6-10} 芳基、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 $-C(O)-C_{1-8}$ 烷基、 $-C(O)-C_{6-10}$ 芳基、 $-C(O)-$ 杂芳基、 $-C(O)-C_{3-8}$ 环烷基、 $C(O)NR^{1a}R^{1b}$ 、 $-SO_2-C_{6-10}$ 芳基、 $-C(O)-C_{1-8}$ 亚烷基- $O-C_{6-10}$ 芳基或 CO_2R^{1a} ;其中 R^{1a} 和 R^{1b} 、杂环烷基和杂芳基定义如前,且其中, R^1 任选地被1至5个 R^5 取代基所取代。

[0092] 在一些实施例中, R^1 或 R^5 的杂环烷基基团是具有1至3个选自N、O和S的杂原子作为环顶点的4至6元环。在一些实施例中, R^1 或 R^5 的杂芳基基团是具有1至3个选自N、O和S的杂原子作为环顶点的5至6元芳香环。在一些实施例中, R^1 的 C_{6-10} 芳基为苯基。

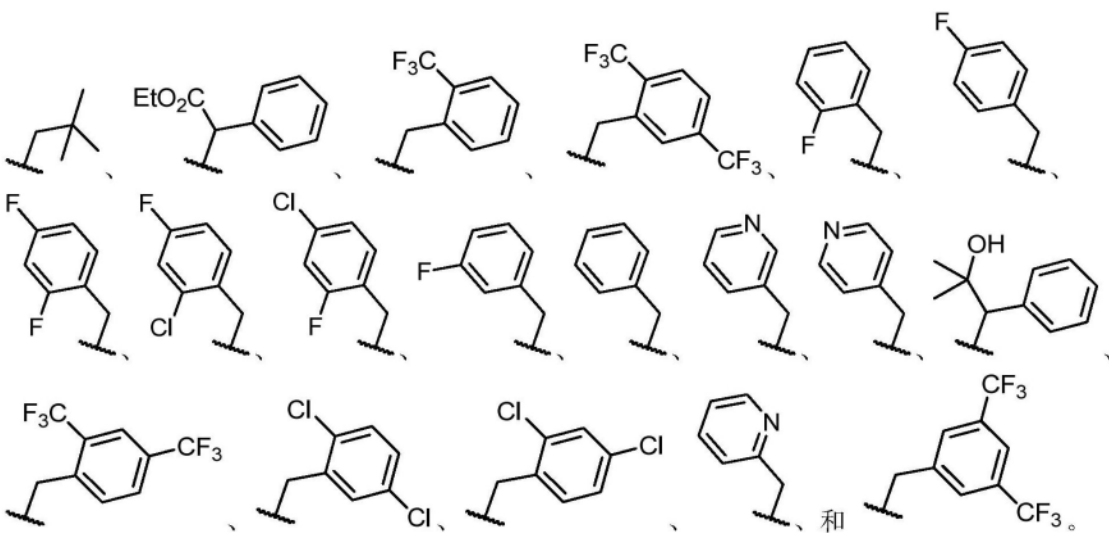
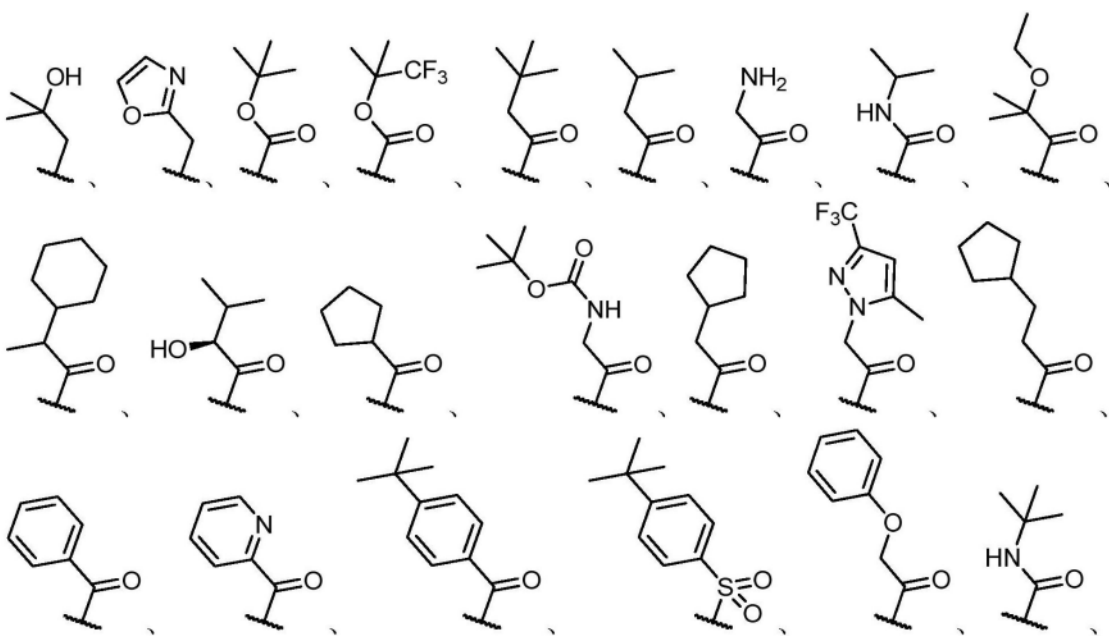
[0093] 在一些实施例中, R^1 为任选地被1至3个 R^5 所取代的 $-CH_2-$ 苯基。

[0094] 在一些实施例中,各 R^5 各自独立地为 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{1-8} 卤代烷氧基、 C_{1-8} 羟烷基、 C_{3-6} 环烷基、卤素、OH、 $-NR^{5a}R^{5b}$ 或 CO_2R^{5a} ,其中,各 R^{5a} 和 R^{5b} 各自独立地选自下组:氢、 C_{1-8} 烷基和 C_{1-8} 卤代烷基。


[0095] 在一些实施例中, R^1 为被1或2个 R^5 所取代的 $-CH_2-$ 苯基,其中,各 R^5 独立地为 C_{1-4} 卤代烷基。

[0096] 在一些实施例中, R^1 为被1或2个 CF_3 所取代的 $-CH_2-$ 苯基。

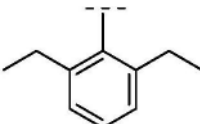
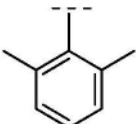
[0097] 在一些实施例中, R^1 选自下组:

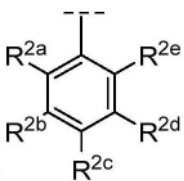


[0101]



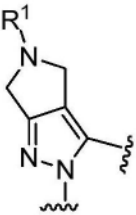
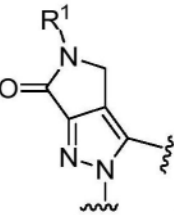
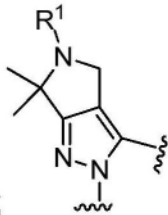
[0105] 在一些实施例中, R^{2a} 和 R^{2e} 各自独立地为甲基或乙基。在一些实施例中, R^{2a} 和 R^{2e} 均为甲基或均为乙基。

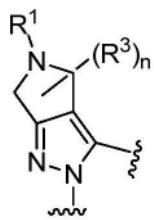
[0106] 在一些实施例中,由  或 

[0107] 表示的式I的部分 。

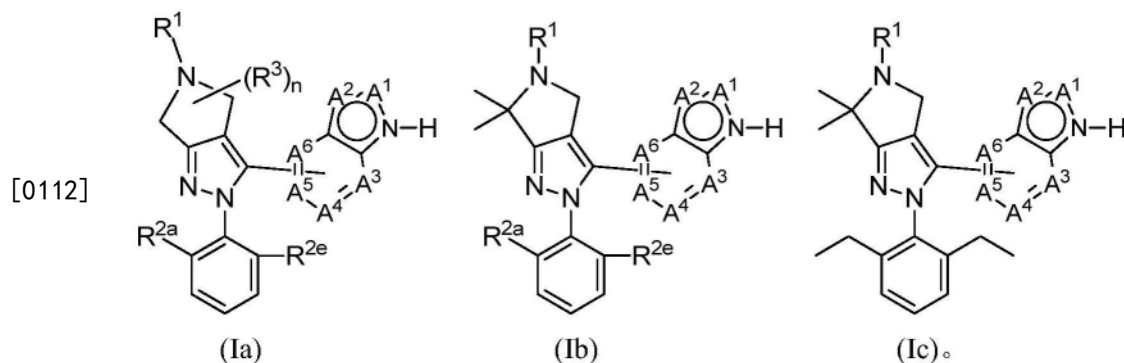
[0108] 式I的各个 R^3 ,在一些实施例中,为 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基或卤素。在一些实施例中,各个 R^3 独立地为 C_{1-4} 烷基。

[0109] 在一些实施例中, R^3 的下标n为0、1或2。在一些实施例中,n为0。在一些实施例中,n为2。

[0110] 在一些实施例中,由 , , 或  表示的式I的部分



[0111] 在一些实施例中,式I化合物由式(Ia)、(Ib)或(Ic)表示。



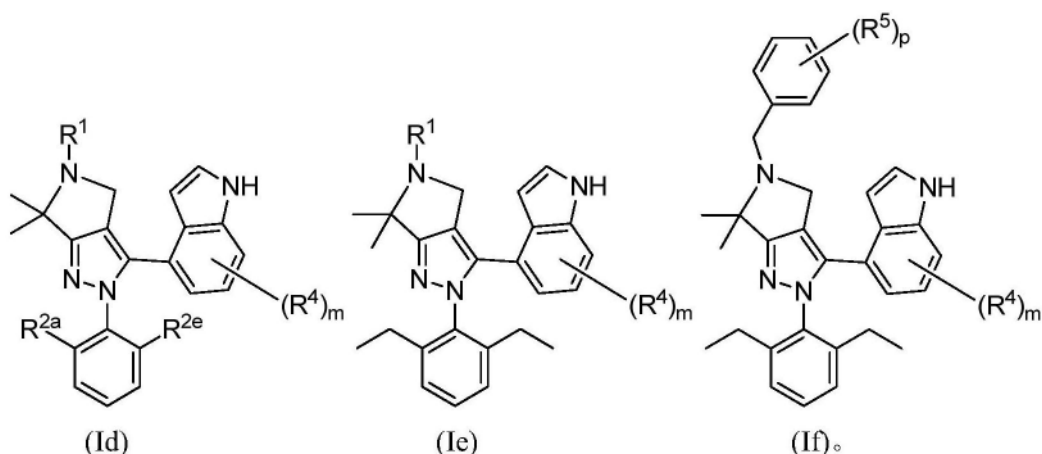
[0113] 在式(I)化合物由式(Ia)表示的实施例中, R^1 、 R^3 、n、 R^{2a} 、 R^{2e} 和具有 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 作为环顶点的环部分如前述式(I)中定义。

[0114] 在式(I)化合物由式(Ib)表示的实施例中, R^1 、 R^{2a} 、 R^{2e} 和具有 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 作为环顶点的环部分如前述式(I)中定义。

[0115] 在式(I)化合物由式(Ic)表示的实施例中, R^1 和具有 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 和 A^6 作为环顶点的环部分如前述式(I)中定义。

[0116] 在一些实施例中,式I化合物由式(Id)、(Ie)或(If)表示

[0117]



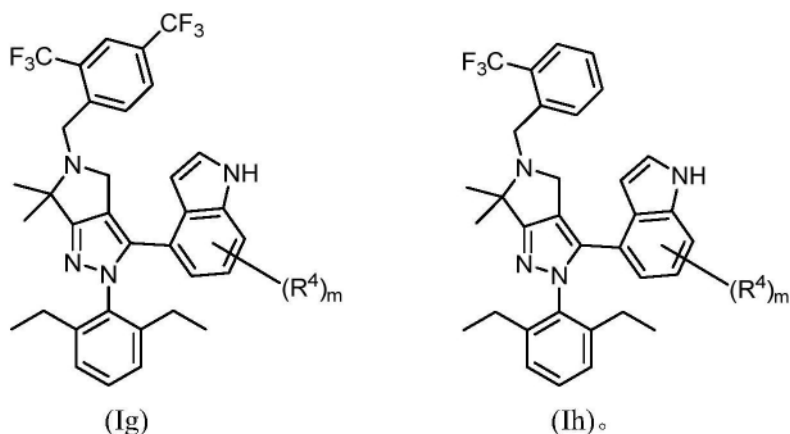
[0118] 在式(I)化合物由式(Id)表示的实施例中, R^1 、 R^4 、 m 、 R^{2a} 和 R^{2e} 如前述式(I)中定义。

[0119] 在式(I)化合物由式(Ie)表示的实施例中, R^1 、 R^4 和 m 如前述式(I)中定义。

[0120] 在式(I)化合物由式(If)表示的实施例中, R^5 、 R^4 和 m 如前述式(I)中定义,和 p 为0、1或2。

[0121] 在一些实施例中,式I化合物由式(Ig)或(Ih)表示。

[0122]



[0123] 在式(I)化合物由式(Ig)或(Ih)表示的实施例中, R^4 和 m 如前述式(I)中定义。

[0124] 在一些实施例中,式(I)化合物是在实施例部分中描述的化合物。

[0125] 化合物的制备

[0126] 本发明的某些化合物可以按照本文实施例部分中描述的方法制备。另外,还描述了可用于制备本发明化合物的某些中间体化合物的合成。

[0127] B. 药物组合物

[0128] 除了上述的化合物之外,用于调节人和动物中C5a活性的组合物通常包含药物载体或稀释剂。

[0129] 如本文所用,术语“组合物”是指包含特定量的特定成分的产品,以及直接或间接地基于包含特定量的特定成分的组合的制造的任何产品。“药学上可接受的”是指载体,稀释剂或赋形剂必须与制剂的其它成分相容并且对其接受者无害。

[0130] 用于施用本发明化合物的药物组合物可以方便地以单位剂量形式存在,并且可以通过制药和给药领域中众所周知的任何方法来制备。所有方法包括使活性成分与构成一种或多种辅助成分的载体结合的步骤。一般而言,药物组合物通过使活性成分与液体载体或细碎的固体载体或两者均匀且紧密地结合来制备,然后,如果需要,将产品制成为所需的制

剂。在药物组合物中,包含活性目标化合物的量足以对疾病的过程或情况产生期望的效果。

[0131] 含有活性成分的药物组合物可以是适于口服使用的形式,例如,作为片剂、锭剂、含片、水性或油性混悬剂、可分散的粉剂或颗粒剂、乳剂和自乳化剂(如美国专利申请2002-0012680中所述)、硬胶囊或软胶囊、糖浆、酏剂、溶液、口腔贴剂、口腔凝胶、口香糖、咀嚼片、泡腾粉和泡腾片。用于口服使用的组合物可以根据本领域已知用于制备药物组合物的任何方法来制备,并且这样的组合物可以包含一种或多种选自下组的试剂:甜味剂、调味剂、着色剂、抗氧化剂和防腐剂得到药学优雅和可口的制剂。片剂含有与适于制造片剂的无毒的药学上可接受的赋形剂混合的活性成分。这些赋形剂可以是,例如惰性稀释剂,如纤维素、二氧化硅、氧化铝、碳酸钙、碳酸钠、葡萄糖、甘露醇、山梨糖醇、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;造粒剂和崩解剂,例如,玉米淀粉,或者海藻酸;结合剂,例如PVP、纤维素、PEG、淀粉、明胶或阿拉伯胶,和润滑剂,例如硬脂酸镁,硬脂酸或滑石粉。片剂可以是未包衣的或可以是包衣的,肠溶或以其他方式,通过已知的技术来延缓在胃肠道中的崩解和吸收从而提供较长时期的持续作用。例如,可以采用延时材料如甘油单硬脂酸酯或甘油二硬脂酸酯。它们也可以通过美国专利号4,256,108、4,166,452和4,265,874所述技术进行包衣以形成用于控释的渗透治疗片剂。

[0132] 用于口服制剂也可以是硬明胶胶囊,其中活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙,磷酸钙或高岭土混合,或者是软明胶胶囊,其中活性成分与水或油性介质,例如花生油、液体石蜡或橄榄油混合。另外,乳剂可以用非水混溶性成分(如油)制备以及用表面活性剂(如单甘油二酯、PEG酯等)来稳定。

[0133] 水悬浮剂含有与适合制造水悬浮剂的赋形剂的混合的活性物质。这类赋形剂是悬浮剂,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄蓍胶和阿拉伯树胶;分散剂或湿润剂,可以是天然存在的磷脂(例如卵磷脂)或烯氧化物与脂肪酸的缩合产物(例如聚氧乙烯硬脂酸酯),或烯氧化物与长链脂肪醇(例如十七烷基氧基鲸蜡醇)或烯氧化物与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物(例如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯)或烯氧化物与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物(例如,聚乙氧基脱水山梨醇单油酸酯)。水悬浮剂还可含有一种或多种防腐剂,例如乙基、或正丙基、对羟基苯甲酸酯,一种或多种着色剂,一种或多种调味剂,和一种或多种甜味剂(如蔗糖或糖精)。

[0134] 油性悬浮剂可通过将活性成分悬浮于植物油(例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油)或矿物油(例如液体石蜡)中来配制。油悬浮液可以含有增稠剂,例如蜂蜡、硬石蜡或十六烷醇。可以添加例如前文所述的甜味剂和调味剂,得到适于口服的制剂。这些组合物可以通过加入抗氧化剂(如抗坏血酸)来保存。

[0135] 适用于通过加水制备水性悬浮剂的可分散粉末和颗粒提供了与分散或润湿剂、悬浮剂和一种或多种防腐剂混合的活性成分。合适的分散或润湿剂和悬浮剂的例子如上所述。另外的可以有例如甜味剂,调味剂和着色剂的赋形剂。

[0136] 本发明的药物组合物也可以是水包油乳剂的形式。油相可以是植物油(例如橄榄油或花生油),或矿物油(例如液体石蜡)或这些的混合物。合适的乳化剂可以是天然存在的树胶,例如阿拉伯树胶或黄蓍胶,天然存在的磷脂例如大豆、卵磷脂、以及脂肪酸衍生的酯或偏酯和己糖醇酐,例如山梨醇单油酸酯,所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物,例如聚氧乙烯

山梨糖醇酐单油酸酯。乳液也可以含有甜味剂和调味剂。

[0137] 糖浆剂和酞剂可以用甜味剂(例如甘油、丙二醇、山梨糖醇或蔗糖)配制。该制剂还可以含有缓和剂、防腐剂和调味剂和着色剂。口服溶液可以通过与例如,环糊精、PEG和表面活性剂组合制备。

[0138] 药物组合物可以是无菌可注射的水溶液或油状悬浮液的形式。该悬浮液可以根据已知的技术用那些合适的分散剂或润湿剂和上述悬浮剂来配制无菌注射制剂也可以是在无毒肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液或混悬液,例如在1,3-丁二醇中的溶液。在可接受的载体和溶剂中,可以采用水,林格溶液和等渗氯化钠溶液。另外,无菌、固定油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的,可以使用任何温和的非挥发性油包括合成的甘油一酯或甘油二酯。此外,脂肪酸(如油酸)可用于制备注射剂。

[0139] 本发明的化合物也可以以栓剂的形式为直肠给药。这些组合物可以通过将药物与合适的非刺激性赋形剂混合来制备,其在常温下为固体,但在直肠温度下为液体,因此将在直肠中融化以释放药物。这种材料包括可可脂和聚乙二醇。此外,所述化合物可以通过溶液或软膏经眼给药。本发明化合物的透皮给药也可以通过离子电渗贴片等的方式实现。对于局部使用,可以使用含有本发明的化合物的乳膏、软膏、凝胶、溶液或悬浮液等。如本文所用,局部应用还指包括漱口水和漱口剂的使用。

[0140] 本发明的化合物还可以与合适的载体偶联,所述载体是作为靶向药物载体的适合的聚合物。所述聚合物可以包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟基丙基甲基丙烯酸酯-苯酚、聚羟基乙基-天冬酰胺-苯酚、或用棕榈酰残基取代的聚环氧乙烷-聚赖氨酸。此外,本发明的化合物可以偶联至载体,该载体是可用于实现药物的控释的一类可生物降解的聚合物,例如,聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸和聚乙醇酸的共聚物、聚己内酯、聚羟基丁酸、聚原氨酸、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸酯和交联或水凝胶的两亲嵌段共聚物。聚合物和半透性聚合物基质可以形成成形制品,例如瓣膜、支架、管道、假体等。在本发明的一个实施例中,本发明化合物偶联到形成为支架或覆膜支架装置的聚合物或半透性聚合物基质。

[0141] 本发明的药物组合物可以与一种或多种另外的治疗剂一起配制。所述一种或多种另外的治疗剂可包括:皮质类固醇、类固醇、免疫抑制剂或CD20抑制剂。在一些实施例中,所述一种或多种另外的治疗剂包括:奥比妥珠单抗(obinutuzumab)、利妥昔单抗、奥瑞珠单抗(ocrelizumab)、环磷酰胺、强的松、氢化可的松、醋酸氢化可的松、醋酸可的松、特戊酸硫氢可的松(tixocortol pivalate)、泼尼松龙(prednisolone)、甲基强的松龙、曲安奈德、曲安奈醇、莫米松、安西奈德、布地奈德、地奈德、醋酸氟轻松(fluciclonide)、氟轻松(fluciclonide acetone)、哈西奈德(halciclonide)、倍他米松、倍他米松磷酸钠、地塞米松、地塞米松磷酸钠、氟可龙(flucicortolone)、氢化可的松-17-戊酸酯、卤米松、二丙酸阿氯米松(alclometasone dipropionate)、倍氯米松、戊酸倍他米松、二丙酸倍他米松、泼尼卡酯、氯倍他松-17-丁酸酯、氯倍他索17-丙酸酯、氟可龙己酸酯、氟可龙三甲基乙酸酯、醋酸氟泼尼定、氢化可的松-17-丁酸酯、氢化可的松-17-醋丙酯(hydrocortisone-17-aceponate)、氢化可的松-17-丙丁酸酯(hydrocortisone-17-buteprate)、环索奈德和泼尼卡酯。联合疗法的进一步讨论包含在本申请的“使用方法”部分。

[0142] C. 使用方法

[0143] 本发明的化合物可以用作体内和体外的各种情况下的C5a受体的激动剂、(优选

地)拮抗剂、部分激动剂、反向激动剂。在一个实施例中,本发明的化合物是C5aR拮抗剂,其可用于在体外或体内抑制C5a受体配体(如C5a)与C5a受体的结合。一般来说,所述方法包括使C5a受体与有效量的本发明提供的一种或多种C5a受体调节剂接触,在C5a受体配体存在于水溶液中和其他适于配体与C5a受体结合的条件下。C5a受体可以存在于悬浮液(如,分离的膜或细胞制剂中)中,于培养的或分离的细胞中,或于组织或器官中。

[0144] 优选地,与受体接触的C5a受体调节剂的量应经测定(例如,使用本文所述的放射性配体结合测定,钙动员测定或趋化性测定)足以在体外抑制C5a与C5a受体的结合。

[0145] 在本发明的一个实施例中,本发明的C5a调节剂可以用于调节(优选地抑制)C5a受体的信号转导活性,例如,通过使本发明的一种或多种化合物与C5a受体(体外或体内)在适于调节剂与受体结合的条件下接触。受体可以存在于溶液或悬浮液,于培养或分离的细胞制剂中或在患者体内。信号转导活性的任何调节可以通过检测对钙离子钙动员的作用或者通过检测对C5a受体介导的细胞趋化性的影响进行评估。一般来说,C5a调节剂的有效量是一个足以在钙动员测定中在体外调节C5a受体信号转导活性或在迁移测定中C5a受体介导的细胞趋化性的量。

[0146] 当本发明的化合物用于抑制C5a受体介导的细胞趋化性(优选地白细胞(如中性粒细胞)趋化性)时,在体外趋化性测定中,这种方法包括将一种或多种本发明化合物与白血球(尤其是灵长类白血球,特别是人类白血球)接触。优选地,浓度足以在体外趋化性测定中抑制白血球的趋化性,从而,如上所述,在对照测定中观察到的趋化性水平明显高于添加本发明化合物在测定中观察到的趋化性水平。

[0147] 在另一个实施例中,本发明的化合物进一步用于治疗患有响应C5a受体调节的疾病的患者。如本文所用,术语“治疗”或“疗法”包括疾病改善治疗和对症治疗,其中任一个可以是预防性的(即在症状发作之前,为了预防、延缓或减轻症状的严重程度)或治疗性的(即在症状发作后,为了减轻症状的严重性和/或持续时间)。如本文所用,如果对C5a受体活性的调节导致C5a受体的不适当活性的减少,则被认为是“响应C5a受体调节”的疾病。如本文所用,术语“患者”包括灵长类动物(特别是人),家养伴侣动物(如狗、猫、马等)和家畜(如牛、猪、绵羊等)以本文所述剂量。

[0148] 可以通过C5a调节治疗的疾病:

[0149] 自身免疫失调-例如,类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、格林-巴利综合征、胰腺炎、狼疮性肾炎、狼疮性肾小球肾炎、银屑病、克罗恩病、血管炎、过敏性肠综合征、皮炎、多发性硬化症、支气管哮喘、致密物沉积病(dense deposit disease)、天疱疮、类天疱疮、硬皮病、重症肌无力、自身免疫性溶血和血小板减少症状态、古德帕斯丘综合征(和相关的肾小球肾炎和肺出血)、C3肾小球病、C3肾小球肾炎、膜增生性肾小球肾炎、川崎病、IGs肾病、免疫血管炎、组织移植排斥、移植物抗宿主病、移植器官超急性排斥反应等。

[0150] 炎症疾病和相关病症-例如,中性粒细胞减少、脓血症、感染性休克、阿尔茨海默氏病、多发性硬化症、中性白细胞增多症、中风、炎症性肠道疾病(IBD)、与严重烧伤相关的炎症、肺损伤、和缺血再灌注损伤、骨性关节炎、以及急性(成人)呼吸窘迫综合征(ARDS)、慢性阻塞性肺病(COPD)、全身炎症反应综合征(SIRS)、特应性皮炎、银屑病、慢性荨麻疹和多器官功能障碍综合征(MODS)、溶血性尿毒症综合征、非典型溶血尿毒症综合征(aHUS)。还包括与胰岛素依赖性糖尿病(包括糖尿病性视网膜病)相关的病理性后遗症,狼疮性肾病、海曼

(Heyman) 肾炎、膜性肾炎和其他形式的肾小球肾炎、接触敏感性反应,以及导致的补体激活的血液与人造表面接触所引起的炎症,例如,在体外血液循环期间(例如,在血液透析期间或通过心肺机,例如,与血管手术如冠状动脉旁路移植或心脏瓣膜置换相关)时发生,或与其他人造器皿或容器表面(例如,心室辅助装置、人造心脏机器、输液管、血袋、血浆置换、采血小板等)。还包括与缺血/再灌注损伤相关的疾病,例如由移植物(包括实体器官移植物)和诸如缺血性再灌注损伤/缺血性结肠炎和心脏缺血等综合征引起的疾病。本发明化合物也可用于治疗年龄相关性黄斑变性(Hageman等人,P.N.A.S.102:7227-7232,2005)。

[0151] 心血管和脑血管疾病-例如,心肌梗塞、冠状动脉血栓形成、血管闭塞、手术后血管再闭塞、动脉粥样硬化、创伤性中枢神经系统损伤和缺血性心脏病。在一个实施例中,有效量的本发明化合物可以给予有心肌梗塞或血栓形成风险的患者(即,具有一种或多种已识别的心肌梗塞或血栓形成的危险因素,例如,但不限于肥胖症、吸烟、高血压、高胆固醇血症、有既往或遗传史的心肌梗塞或血栓形成的患者)以减少心肌梗塞或血栓形成的风险。

[0152] 肿瘤性疾病或病症-例如,黑色素瘤、肺癌、淋巴瘤、肉瘤、癌(carcinoma)、纤维肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨源性肉瘤、血管肉瘤、淋巴管肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、脑膜瘤、白血病、淋巴瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、乳头状癌、囊腺癌、支气管癌、肾细胞癌、肝细胞癌、移行细胞癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、维尔姆斯瘤(wilm's tumor)、多形性腺瘤、肝细胞乳头状瘤(liver cell papilloma)、肾小管腺瘤、囊腺瘤、乳头状瘤、腺瘤、平滑肌瘤、横纹肌瘤、血管瘤、淋巴管瘤、骨瘤、软骨瘤、脂肪瘤和纤维瘤。

[0153] 血管炎疾病-以血管炎症为特征的血管炎疾病。白细胞的浸润导致血管壁的破坏,补体途径被认为在启动白细胞迁移以及在炎症部位表现出的造成的损伤方面起主要作用(血管炎,第二版,Ball和Bridges编辑,牛津大学出版社,47-53页,2008)。本发明提供的化合物可以用于治疗白细胞性血管炎、抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关的血管炎、免疫性血管炎韦格纳肉芽肿病、显微镜下多血管炎、变应性肉芽肿性(Churg-Strauss syndrome)、亨-舍二氏紫癜(Henoch-Schonlein purpura)、结节性多动脉炎(polyarteritis nodosa)、快速进展性肾小球肾炎(RPGN)、冷球蛋白血症、巨细胞动脉炎(GCA)、白塞氏病和高安的动脉炎(TAK)。

[0154] HIV感染和AIDS--本发明提供的C5a受体调节剂可用于抑制HIV感染,延缓AIDS进展或降低症状或HIV感染和AIDS的严重程度。

[0155] 神经退行性疾病及相关疾病--在另一方面,本发明提供的C5a拮抗剂可用于治疗阿尔茨海默病、多发性硬化以及与心肺搭桥手术及相关程序相关的认知功能下降。

[0156] 在本发明的一个实施例中,本发明的化合物可以用于治疗选自下组的疾病:脓毒症(和相关病症)、COPD、类风湿性关节炎、狼疮肾炎和多发性硬化症。

[0157] 本发明提供的治疗方法通常包括向患者施用有效量的一种或多种本发明提供的化合物。合适的患者包括患有或易患(即预防性治疗)本文确定的病症或疾病的那些患者。如本文所述用于治疗的典型患者包括哺乳动物,特别是灵长类,尤其是人。其他合适的患者包括家养伴侣动物,例如,狗、猫、马等,或家畜如牛、猪、绵羊等。

[0158] 一般来说,本文提供的治疗方法包括向患者施用有效量的本文提供的一种或多种化合物。优选实施例中,本发明化合物优选地口服或局部向患者(例如人)施用。所述有效量

可以是足以调节C5a受体活性的量和/或足以减少或减轻患者所呈现症状的量。优选地,施用的量足以产生足够高的化合物(或其活性代谢物,如果化合物是前药的话)的血浆浓度,以在体外可检测地抑制白细胞(如中性粒细胞)趋化性。治疗方案可以根据使用的化合物和待治疗的特定病症而变化;为了治疗大多数病症,优选日给药频率为4次或更少。一般而言,每日2次的剂量方案是更优选的,每天一次给药是特别优选的。然而,应该理解,对于任何特定患者的特定剂量水平和治疗方案将取决于各种因素,包括所使用的具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药途径、排泄速率、药物组合(即给予患者的其它药物)和正在进行治疗的特定疾病的严重程度,以及处方医师的判断。一般来说,使用足得到有效治疗的最小剂量是优选的。通常可以使用适合于正在治疗或预防的病症的医学或兽医标准来监测患者的治疗有效性。

[0159] 大约0.1mg至大约140mg每天每千克体重的剂量水平可用于治疗或预防涉及致病性C5a活性的疾病(每人每天约0.5mg至约7g)。可以与载体材料结合以生产单一剂型的活性成分的量将根据所治疗的宿主和特定的给药方式而变化。单位剂型通常含有约1mg至约500mg之间的活性成分。对于口服、透皮、静脉或皮下给药的化合物,优选地,施用足够量的化合物以达到5ng(纳克)/mL-10g(微克)/mL血清的血清浓度,更优选地,应该施用足够的化合物得到20ng-1g/ml血清的血清浓度,最优选地,应施用足够的化合物以达到为50ng/ml-200ng/ml血清的血清浓度。对于直接注射到滑膜(用于治疗关节炎)应该给予足够的化合物以达到约1微摩尔的局部浓度。

[0160] 剂量的频率也可以根据所用的化合物和治疗的特定疾病而变化。然而,对于大多数病症的治疗,每日4次,每日3次的剂量方案,或优选的更少,每日一次或每日2次的剂量方案是特别优选的。然而,应该理解,对于任何特定患者的特定剂量水平将取决于各种因素,包括所使用的具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药时间、给药途径,和排泄速率、药物组合(即给予患者的其它药物)正在进行治疗的特定疾病的严重程度,以及包括处方医师的判断在内的其他的因素。

[0161] 联合治疗

[0162] 本发明公开的化合物可以与一种或多种用于治疗、预防、抑制或改善本发明的化合物和组合物可用的疾病或病症的另外的治疗剂联合使用。这样的一种或多种另外的治疗剂可以通过本发明的化合物或组合物同时或相继地以其通常使用的途径和量施用。当本发明的化合物或组合物与一种或多种其他药物同时使用时,药物组合物包含除本发明的化合物或组合物之外的此类其他药物是优选的。因此,本发明的药物组合物包括除本发明的化合物或组合物之外还包含一种或多种其他活性成分或治疗剂的那些。

[0163] 可以与本发明的化合物或组合物组合的分开施用或在相同的药物组合物形式施用的一种或多种另外的治疗剂的实例包括但不限于:(a) VLA-4拮抗剂,(b) 类固醇和皮质类固醇,例如,倍氯米松、倍他米松(包括倍他米松磷酸钠、戊酸倍他米松、二丙酸倍他米松)强的松、泼尼松龙(prenisolone)、甲基强的松龙、莫米松、地塞米松(包括地塞米松磷酸钠)、氟替卡松(fluticasone)、可的松(包括醋酸可的松)氢化可的松(包括醋酸氢化可的松、氢化可的松-17-戊酸酯、氢化可的松-17-丙酸酯、氢化可的松-17-醋丙酯、氢化可的松17-丙丁酸酯)、布地奈德地奈德、氟轻松醋酸酯(包括氟轻松醋酸酯)、氟羟氢化泼尼松(包括曲安奈德和曲安奈醇)、替可的松(tixocortol)(包括特戊酸硫氢可的松)、氟可龙(包括氟可龙

己酸酯和氟可龙三甲基乙酸酯)、安西奈德、哈西奈德、卤米松、醋酸氟泼尼定、沙美特罗(salmeterol)、沙美特罗、柳丁氨醇(salbutamol)、环索奈德、沙丁胺醇(formeterol)、阿氯米松(包括二丙酸阿氯米松)、泼尼卡酯、氯倍他松(clobetasone)(包括氯倍他松-17-丙酸酯)、氯倍他索(clobetasol)(包括氯倍他索-17-丙酸酯);(c)免疫抑制剂,例如环孢霉素(环孢霉素A、山地明(Sandimmune)®、新山地明(Neoral)®)、他克莫司(tacrolimus)(FK-506)、普乐可复(Prograf)®、雷帕霉素(西罗莫司(sirolimus)、雷帕鸣(Rapamune)®)和其他FK-506型免疫抑制剂,以及霉酚酸(mycophenolate)(例如吗替麦考酚酯(mycophenolate mofetil)(CellCept8));(d)抗组胺(H1-组胺拮抗剂),如溴苯那敏、氯苯吡胺(chlorpheniramine)、右氯苯那敏(dexchlorpheniramine)、苯丙哌啶(triprolidine)、克立马丁(clemastine)、苯海拉明(diphenhydramine)、二苯拉明(diphenylpyraline)、曲吡那敏(tripelenamine)、羟嗪、甲地嗪(methdilazine)、异丙嗪、异丁嗪(trimetopazine)、阿扎他定、赛庚啶(cyproheptadine)、安他唑啉(antazoline)、非尼拉敏(pheniramine)、美吡拉敏(pyrimilamine)、阿司咪唑(astemizole)、特非那定(Terfenadine)、氯雷他定(loratadine)、西替利嗪(cetirizine)、非索非那定(fexofenadine)、去羧乙氧基氯雷他定(descarboethoxyloratadine)等;(e)非甾体类抗哮喘药(例如,特布他林(terbutaline)、奥西那林(metaproterenol)、非诺特罗(fenoterol)、新异丙肾上腺素(isoetharine)、沙丁胺醇(albuterol)、比托特罗(bitolterol)和吡布特罗(pirbuterol))、茶碱、色甘酸钠(cromolyn sodium)、阿托品、异丙托溴铵(ipratropium bromide)、白三烯类拮抗剂(例如,扎夫鲁克司特(zafirlukast)、孟鲁司特、伊拉司特(Iralukast)、泊比司特(pobilukast)和SKB-106,203))、白三烯生物合成抑制剂(齐留通(Zileuton)、BAY-1005);(f)非类固醇抗炎药(NSAID),例如丙酸衍生物(如阿明洛芬、苯恶洛芬、布氯酸(bucloxic acid))、卡洛芬、芬布芬(fenbufen)、非诺洛芬(fenoprofen)、氟洛芬(fluprofen)、氟比洛芬(flurbiprofen)、布洛芬、吲哚布洛芬(indoprofen)、酪洛芬(ketoprofen)、咪洛芬(rnioprofen)、萘普生、奥沙普秦(oxaprozin)、吡洛芬(pirprofen)、非诺洛芬(pranoprofen)、舒洛芬(suprofen)、噻洛芬酸(tiaprofenic acid)、和硫恶洛芬(tioxaprofen))、乙酸衍生物(如萘甲新、阿西美辛(acemetacin)、阿氯芬酸(alclofenac)、环氯萘酸(clidanac)、双氯芬酸、芬氯酸(fenclofenac)、芬克洛酸(fenclozic acid)、芬替酸(fentiazac)、呋罗芬酸(furofenac)、异丁芬酸(ibufenac)、伊索克酸(isoxepac)、奥平内克(oxpinac)、舒林酸(sulindac)、硫平酸(tiopinac)、托美丁(tolmetin)、齐多美辛(zidometacin)、和佐美酸(zomepirac))、芬那酸(fenamic acid)衍生物(氟灭酸、甲氯芬那酸(meclofenamic acid)、甲芬那酸(mefenamic acid)、尼氟灭酸(niflumic acid)和氨甲环酸(tolfenamic acid))、联苯甲酸衍生物(如二氟尼柳(diflunisal)(和氟苯柳(flufenisal))、昔康类(oxicams)(如伊索昔康(isoxicam)、吡罗昔康、舒多昔康(sudoxicam)和替诺昔康(tenoxicam))、水杨酸盐类(如乙酰水杨酸和柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)和吡唑酮类(如阿扎丙宗(apazone)、苯哌隆(bezpiperlylon)、非普拉宗(feprazone)、莫非保松、羟基保泰松和苯基丁氮酮));(g)环氧合酶-2(COX-2)抑制剂,例如塞来昔布(西乐葆(Celebrex)®)和罗非考昔(万络(Vioxx)®);(h)IV型磷酸二酯酶(PDE IV)抑制剂;(i)金化合物,如金诺芬(auranofin)和金硫葡萄糖(aurothioglucose),(j)依那西普(Enbrel), (k)环磷酰胺, (l)抗体疗法,例如英罗单抗(OKT3)、达克珠单抗

(daclizumab) (赛尼哌 (Zenapax)®)、巴维昔单抗 (舒莱 (Simulect)®) 和英夫利昔 (类克 (Remicade)®), (m) 靶向CD20的抗体疗法, 例如奥比妥珠单抗 (obinutuzumab)、利妥昔单抗 (rituximab) 或奥瑞珠单抗 (ocrelizumab); (n) 化学治疗剂, 例如, 蒽环类药物 (例如, 柔红霉素 (daunorubicin) (正定霉素 (daunomycin); 红比霉素), 阿霉素, 表柔比星, 伊达比星, 和戊柔比星 (valrubicin))、米托蒽醌 (mitoxantrone) 和匹杉琼 (pixantrone); 铂基试剂 (例如, 顺铂、卡铂、奥沙利铂、赛特铂 (satraplatin)、吡铂 (picoplatin)、奈达铂 (nedaplatin)、三铂 (triplatin)、和利泊铂 (lipoplatin)); 他莫昔芬和其代谢物, 如4-羟基他莫昔芬 (阿非昔芬 (afimoxifene)) 和N-去甲基-4-羟基他莫昔芬 (内昔芬 (endoxifen)); 紫杉烷类, 例如, 紫杉醇 (他克唑 (taxol)) 和多西他赛 (docetaxel); 烷化剂 (例如, 氮芥, 如二氯甲基二乙胺 (HN2)、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑 (melphalan) (L-沙可来新 (L-sarcolysin)) 和苯丁酸氮芥 (chlorambucil); 乙烯亚胺类和甲基三聚氰胺 (例如, 六甲基三聚氰胺、噻替派 (thiotepa)、烷基磺酸盐如白消安、亚硝基脲如卡莫司汀 (BCNU)、洛莫司汀 (lomustine) (CCNLJ)、司莫司汀 (semustine) (甲基-CCN-U) 和链佐菌素 (streptozoein) (链脲霉素 (streptozotocin), 和三氮烯如达卡巴嗪 (decarbazine) (DTIC; 二甲基三叠氮基咪唑羧酰胺)); 抗代谢物 (例如, 叶酸类似物如甲氨蝶呤 (氨甲蝶呤 (amethopterin))、嘧啶类似物如氟尿嘧啶 (5-氟尿嘧啶; 5-FU)、氟尿苷 (氟脱氧尿苷; FUDR) 和阿糖胞苷 (胞嘧啶阿拉伯糖苷), 和嘌呤类似物及相关的抑制剂, 例如巯嘌呤 (6-巯基嘌呤; 6-MP) 和硫鸟嘌呤 (6-硫鸟嘌呤; 6-TG) 和喷司他丁 (pentostatin) (2'-脱氧柯福霉素) (2'-deoxycofonnycin)); (o) 趋化因子受体 (尤其是CXCR2、CXCR3、CCR2、CCR3、CCR4、CCR7、CX3CR1和CXCR6) 的其他拮抗剂。

[0164] 被治疗的疾病或病症将决定最适合与本发明化合物联合施用的其他治疗剂或多种治疗剂-这种决定可以由本领域技术人员进行。

[0165] 本发明的化合物与第二活性成分的重量比可以变化且取决于每个成分的有效剂量。一般来说, 使用各自的有效剂量。因此, 例如, 当本发明化合物与NSAID组合时, 本发明化合物与NSAID的重量比通常为从约1000:1至约1:1000, 优选地, 从约200:1至约1:200。本发明化合物和其它活性成分的组合通常也在上述范围内, 但是在每种情况下, 应使用每种活性成分的有效剂量。

[0166] 非医药应用

[0167] 在本发明的另一个方面, 本发明的化合物可以用于各种非药学的体外和体内应用。例如, 本发明化合物可以被标记并用于检测 and 定位C5a受体 (细胞制剂或组织切片样品) 的探针。本发明的化合物还可以用作C5a受体活性测定的阳性对照, 即, 作为确定候选试剂结合C5a受体能力的标准, 或作为正电子发射断层扫描 (PET) 成像或单光子发射计算机断层扫描 (SPECT) 的放射性示踪剂。所述方法可以用来表征活体中的C5a受体。例如, C5a受体调节剂可以使用各种公知技术 (例如, 用放射性核素如氘放射性标记) 中的任一种进行标记, 并在适合的培养时间 (例如, 通过第一次测定结合的时间过程来确定) 下培养样品。培养后, 去除未结合的化合物 (如, 通过洗涤), 并且用任何适合于所用标记的方法检测结合的化合物 (例如, 放射性标记的化合物的放射自显影或闪烁计数; 可以使用光谱方法检测发光基团和荧光基团)。作为对照, 含有标记的化合物和更多 (例如, 10倍以上) 量的未标记的化合物的匹配样品可以以相同的方式处理。测试样品中残留的可检测标记的量大于对照样品,

表明样品中存在C5a受体。检测分析,包括培养细胞或组织样品中C5a受体的受体放射自显影(受体映射)可以按照Kuhar在即药理学实验指南(Current Protocols in Pharmacology) (1998) John Wiley&Sons纽约的第8.1.1至8.1.9节中所述进行。

[0168] 本发明提供的化合物也可以用于各种众所周知的细胞分离方法中。例如,调节剂可以连接到组织培养板或其他支持物的内表面,用作体外固定和由此分离C5a受体(例如分离受体表达细胞)的亲配体。在一个优选的应用中,调节剂与荧光标记(如荧光素)连接后细胞接触,其后通过荧光激活细胞分选(FACS)进行分析(或分离)。

[0169] III. 实施例

[0170] 下述实施例为了说明而非限制所要求保护的发明。

[0171] 以下使用的试剂和溶剂可以从商业来源,例如奥尔德里奇化学(Aldrich Chemical)公司(密尔沃基,威斯康星州,美国)获得。¹H-NMR谱用Varian Mercury 400MHz NMR波谱仪记录。有效峰是相对于TMS提供且以以下顺序制表:多重性(s,单峰;d,双峰;t,三重峰;q,四重峰;m,多重峰)及质子数量。质谱结果是以质荷比、各离子的相对丰度(括号中)来报告。在实施例中,单一m/e值报告含最常见原子同位素的M+H(或标记为M-H)离子。在所有情况下,同位素分布(Isotope patterns)符合预期公式。电喷雾电离(ESI)质谱分析用Hewlett-Packard MSD电喷雾质谱仪进行,用HP1100 HPLC样品递送。通常将分析物以0.1mg/mL溶解在甲醇中,并将1微升与递送溶剂一起注入质谱仪中,所述质谱仪扫描100-1500道尔顿。所有化合物都可以用正ESI模式分析,使用含有1%甲酸的乙腈/水作为递送溶剂。下述化合物也可以用负ESI模式分析,使用2mM NH₄OAc的乙腈/水作为递送溶剂。

[0172] 在实施例和整个本发明的描述中使用以下缩写:

[0173] EtOH:乙醇

[0174] EtONa:乙醇钠

[0175] THF:四氢呋喃

[0176] TLC:薄层色谱法

[0177] MeOH:甲醇

[0178] 本发明范围内的化合物可用本领域技术人员已知的各种反应如下所述进行合成。本领域技术人员也将认识到,可以采用替代方法来合成本发明的目标化合物,并且在本文中主要描述的方法不是穷尽的,而是提供了目标化合物的广泛适用的和实用的途径。

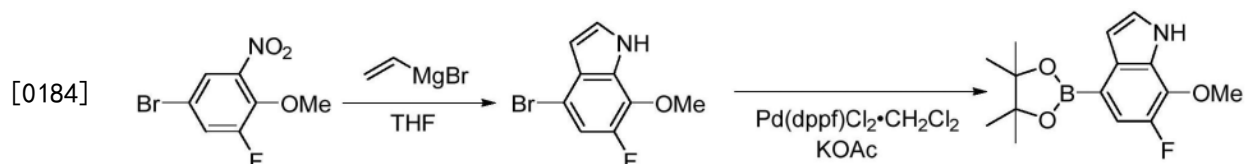
[0179] 本专利中要求保护的某些分子可以以不同的对映体和非对映体形式存在,以及要求保护这些化合物的所有这些变体。

[0180] 本文中用于合成关键化合物的实验过程的详细描述,得到了鉴别其的物理数据以及与其相关的结构描述说明的分子。

[0181] 本领域技术人员还将认识到,在有机化学的标准后处理过程中,经常使用酸和碱。如果它们本身具有酸性或碱性,在本专利中描述的实验程序期间,有时会产生母体化合物的盐。

[0182] 实施例1

[0183] 中间体6-氯-7-甲氧基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷(dioxaborolan)-2-基)-1H-吡啶的合成

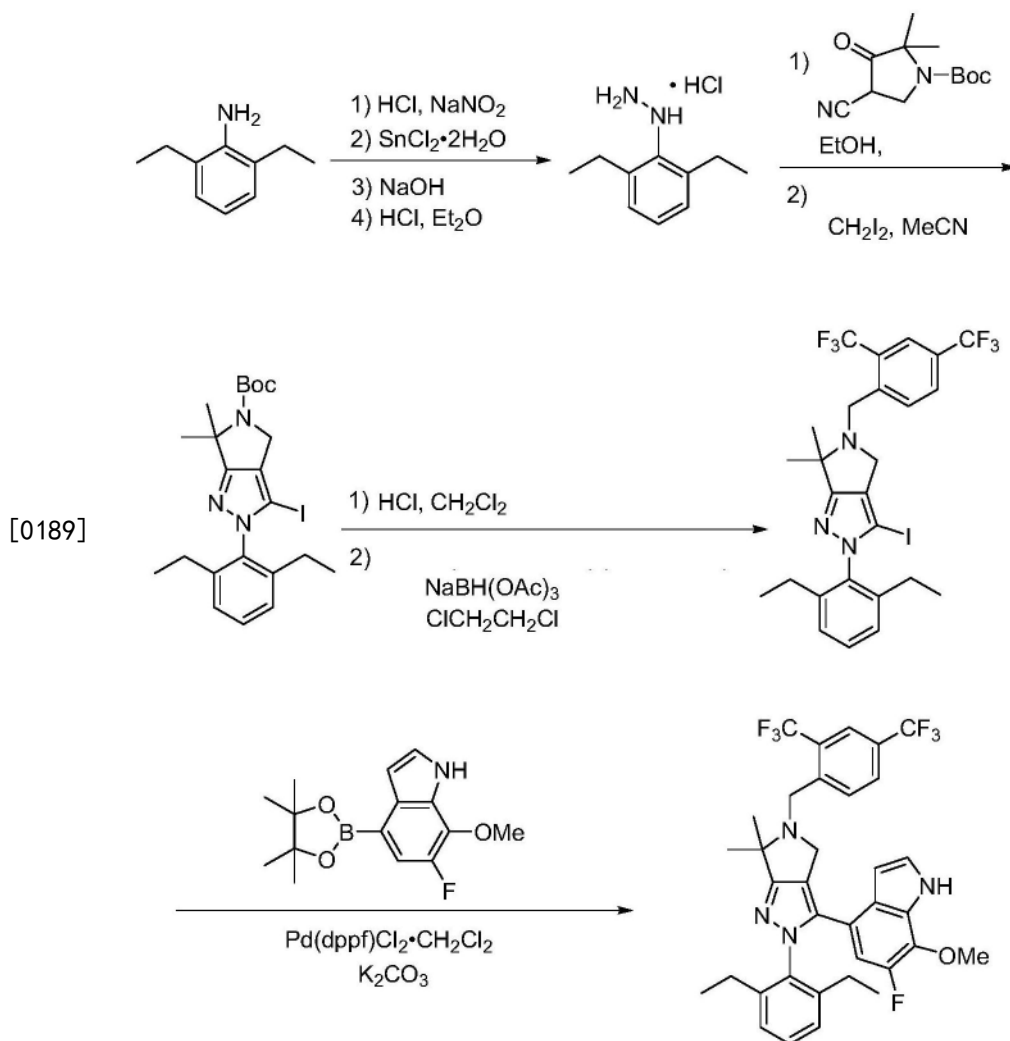


[0185] 步骤a: 在 N_2 中, 在 -50°C 下, 将于THF中的乙烯基溴化镁溶液(1.0M, 70mL, 70mmol)加入至4-溴-2-氟-6-硝基苯甲醚(5.0g, 20mmol)于无水THF(70mL)的溶液中。将反应混合物在相同的温度下搅拌并温热至 -30°C 经1.5h。将反应混合物用饱和的 NH_4Cl 水溶液淬灭并将混合物加热至室温经1小时。将反应混合物用EtOAc稀释, 用盐水洗涤并用 Na_2SO_4 干燥。在减压下除去溶剂, 并将残余物通过硅胶快速色谱法(0至100%EtOAc的己烷溶液)纯化, 得到4-溴-6-氟-7-甲氧基-1H-吡咯。MS: (ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_9\text{H}_8\text{BrFNO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 243.9, 实测值243.9.

[0186] 步骤b: 向4-溴-6-氟-7-甲氧基-1H-吡咯(900mg, 3.68mmol)、双(频哪醇合)二硼(1.21g, 4.8mmol)和KOAc(1.08g, 11mmol)于二氧六环(16mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (400mg, 0.49mmol)。将反应混合物用 N_2 脱气2min并在 100°C 下搅拌2h。将反应混合物用EtOAc稀释, 并经硅藻土过滤。在减压下除去溶剂, 并将残余物通过硅胶快速色谱法(0至100%EtOAc的己烷溶液)纯化, 得到6-氟-7-甲氧基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡咯。MS: (ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{BFNO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 292.1, 实测值292.1.

[0187] 实施例2

[0188] 4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡啶-3-基)-6-氟-7-甲氧基-1H-吡咯的合成



[0190] 步骤a:在磁力搅拌下,向含90mL浓盐酸的250mL烧瓶中加入2,6-二乙基苯胺(10g, 67mmol)。将所得的混合物搅拌30min并用冰/盐浴冷却直到内温达到5℃。将亚硝酸钠(5.5g, 80mmol)于水(60mL)中的溶液缓慢加入至上述混合物中,与此同时保持内温低于5℃。

[0191] 此外,在机械搅拌下,将二水合氯化锡(II)(31.6g, 140mmol)加入至含浓盐酸(60mL)的500mL的3颈圆底烧瓶中。之后将所得的溶液用冰浴降温。

[0192] 之后,将重氮浆液过滤进含在剧烈搅拌下的冷却的氯化锡溶液的500mL烧瓶中。90min后,将反应混合物转移至500mL爱伦美氏烧瓶中并将烧瓶用水(20mL)和氯仿(8mL)冲洗。合并的混合物在室温下搅拌过夜。倾析液体,得到湿固体。将固体在真空中干燥一天,然后转移至配有机械搅拌器的500mL的3颈圆底烧瓶中,并与乙醚(180mL)一起搅拌。将所得的混合物在冰浴中冷却,并将10N的NaOH溶液(30mL)缓慢加入至混合物中,与此同时维持内温低于12℃。加入后,使混合物在冰上静置2h。将乙醚层倾析至500mL烧瓶中,并向搅拌下的乙醚溶液中鼓入氯化氢气体流。过滤收集所得的沉淀,得到(2,6-二乙基苯基)胍盐酸盐。MS: (ES) m/z计算值对于C₁₀H₁₇N₂[M+H]⁺165.1,实测值165.1。

[0193] 步骤b:在磁力搅拌下,将吡啶(4mL, 49.5mmol)加入至250mL圆底烧瓶中的(2,6-二乙基苯基)胍盐酸盐(5g, 24.91mmol)、4-氰基-2,2-二甲基-3-氧代吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯(5g, 20.98mmol)和EtOH(60mL)的混合物中。将所得的混合物在70℃下搅拌24h。减压下除去

溶剂并将残余物用EtOAc溶解并用柠檬酸水溶液、NaHCO₃水溶液、盐水洗涤,并用MgSO₄干燥。在减压下除去溶剂,并将残余物自环己烷中结晶,得到3-氨基-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-羧酸叔丁基酯。MS: (ES) m/z 计算值对于C₂₂H₃₃N₄O₂[M+H]⁺385.2,实测值385.2。

[0194] 在室温磁力搅拌下,将亚硝酸叔丁酯(0.5mL,3.8mmol)缓慢加入至于100mL圆底烧瓶中的3-氨基-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-羧酸叔丁基酯(1g,2.6mmol)、二碘甲烷(1.5mL,18.6mmol)和MeCN(15mL)的混合物中。将所得的混合物在45℃下搅拌3h,之后用甲苯稀释,用饱和的NH₄Cl溶液/NH₄OH(3:1)、盐水洗涤,并用MgSO₄干燥。在减压下除去溶剂,并将残余物通过硅胶快速色谱法(2至25%EtOAc的己烷溶液)纯化,得到2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-羧酸叔丁基酯。MS: (ES) m/z 计算值对于C₂₂H₃₁IN₃O₂[M+H]⁺496.1,实测值496.2。

[0195] 步骤c:将上述2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-羧酸叔丁基酯溶解于二氯甲烷(10mL)中并加入HCl的二氧六环溶液(4N,5mL)。将所得混合物在室温下搅拌12h。反应完成后,真空蒸发溶剂,得到2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑盐酸盐。MS: (ES) m/z 计算值对于C₁₇H₂₃IN₃[M+H]⁺396.1,实测值396.2。

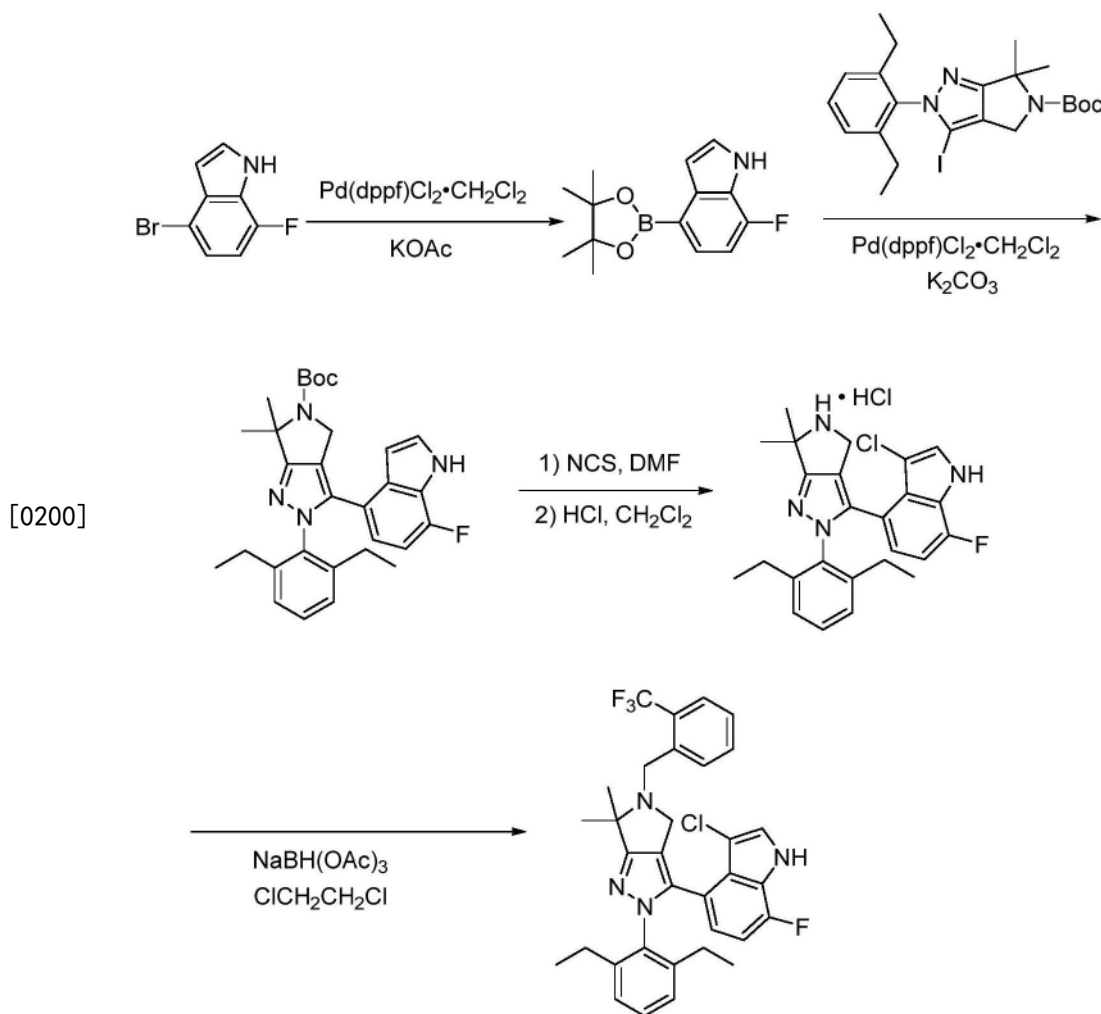
[0196] 在磁力搅拌下,将N,N-二异丙基乙胺(0.3mL,1.73mmol)加入至2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑盐酸盐(680mg,1.57mmol)和2,4-双(三氟甲基)苯甲醛(800mg,3.3mmol)于1,2-二氯乙烷(10mL)中的悬浮液中。在室温下搅拌10min之后,分批加入NaBH(OAc)₃(800mg,3.77mmol)。将所得混合物在45℃下搅拌2h。冷却至室温后,将反应混合物用EtOAc稀释,用NaHCO₃水溶液、盐水洗涤,并用MgSO₄干燥。在减压下除去溶剂,并将残余物通过硅胶快速色谱法(2至25%EtOAc的己烷溶液)纯化,得到5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑。MS: (ES) m/z 计算值对于C₂₆H₂₇F₆IN₃[M+H]⁺622.1,实测值622.1。

[0197] 步骤d:向5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑(250mg,0.40mmol)、6-氟-7-甲氧基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶(100mg,0.34mmol)和K₂CO₃(445mg,1.81mmol)于二氧六环(6mL)和水(1mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的Pd(dppf)Cl₂(50mg,0.06mmol)。将反应混合物用N₂脱气2min并在N₂中在100℃下搅拌2.5h。将反应混合物用EtOAc稀释,用NaHCO₃水溶液洗涤并用Na₂SO₄干燥。在减压下除去溶剂,并将残余物通过硅胶快速色谱法(3至35%EtOAc的己烷溶液)随后通过HPLC(MeCN/H₂O,含1%TFA)纯化,得到4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-6-氟-7-甲氧基-1H-吡啶¹H NMR(400MHz,CDCl₃) 8.37(br s,1H),8.19(d,J=12Hz,1H),7.86(s,1H),7.76(d,J=12Hz,1H),7.07-7.33(m,4H),6.41(dd,J=2.2,3.2Hz,1H),6.33(d,J=13.8Hz,1H),4.14(s,2H),4.01(s,3H),3.70(s,2H),2.23-2.37(m,4H),1.55(s,6H),1.02(t,J=7.6Hz,6H)。MS: (ES) m/z 计算值对于C₃₅H₃₄F₇N₄O[M+H]⁺659.2,实测值659.2。

[0198] 实施例3

[0199] 3-氯-4-(2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-5-(2-(三氟甲基)苄基)-2,4,5,6-四

氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吡啶的合成



[0201] 步骤a:向4-溴-7-氟-1H-吡啶(1.00g, 4.67mmol)、双(频哪醇合)二硼(1.31g, 5.14mmol)和 KOAc (1.15g, 11.7mmol)于二氧六环(15mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的 Pd(dppf)Cl_2 (416mg, 0.51mmol)。将反应混合物用 N_2 脱气2min并在100℃下搅拌2h。将反应混合物冷却至室温,用 EtOAc 稀释,经硅藻土过滤。在减压下除去溶剂,并将残余物通过硅胶快速色谱法(0至30% EtOAc 的己烷溶液),得到7-氟-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶。MS: (ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{BFNO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 262.1, 实测值262.1。

[0202] 步骤b:向2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-羧酸叔丁基酯(540mg, 1.09mmol)、7-氟-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶(350mg, 1.34mmol)和 K_2CO_3 (830mg, 6.78mmol)于二氧六环(10mL)和水(2mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的 Pd(dppf)Cl_2 (200mg, 0.32mmol)。将反应混合物用 N_2 脱气2min并在 N_2 中在100℃下搅拌2h。将反应混合物冷却至室温,用 EtOAc 稀释,用 NaHCO_3 水溶液洗涤并用 Na_2SO_4 干燥。在减压下除去溶剂,并将残余物通过硅胶快速色谱法(5至25% EtOAc 的己烷溶液),得到2-(2,6-二乙基苯基)-3-(7-氟-1H-吡啶-4-基)-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-羧酸叔丁基酯。MS: (ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{FN}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 503.2, 实测值503.3。

[0203] 步骤c:将上述2-(2,6-二乙基苯基)-3-(7-氟-1H-吡啶-4-基)-6,6-二甲基-2,6-

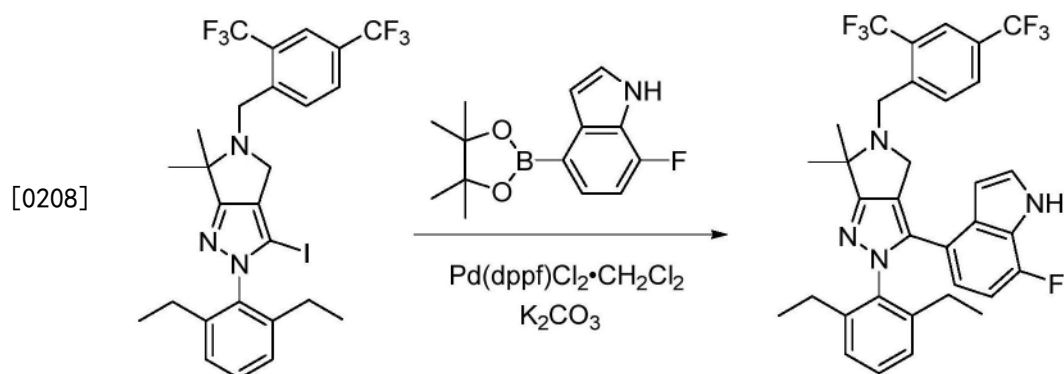
二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-羧酸叔丁基酯(200mg, 0.40mmol)溶解于DMF(5mL)中并装入N-氯琥珀酰亚胺(100mg, 0.75mmol)。将所得的混合物在室温下搅拌12h。完成后,将反应混合物用EtOAc稀释,用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水溶液、盐水洗涤,并用 MgSO_4 干燥。在减压下除去溶剂,并将残余物通过硅胶快速色谱法(2至25%EtOAc的己烷溶液)纯化,得到3-(3-氯-7-氟-1H-吡唑-4-基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-羧酸叔丁基酯。MS: (ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{ClFN}_4\text{O}_2$ [M-H]⁻ 535.2, 实测值535.2。

[0204] 将上述3-(3-氯-7-氟-1H-吡唑-4-基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-羧酸叔丁基酯溶解于二氯甲烷(6mL)中并加入HCl的二氧六环溶液(4N, 5mL)。将反应混合物在室温下搅拌12h。在反应完成后,真空下蒸发溶剂,得到3-氯-4-(2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吡唑盐酸盐。MS: (ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{ClFN}_4$ [M+H]⁺ 437.2, 实测值437.2。

[0205] 步骤d: 在磁力搅拌下,将N,N-二异丙基乙胺(0.2mL, 1.15mmol)加入至3-氯-4-(2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吡唑盐酸盐(75mg, 0.16mmol)和2-三氟甲基苯甲醛(120mg, 0.69mmol)于1,2-二氯乙烷(6mL)中的悬浮液中。在室温下搅拌10min之后,将 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (150mg, 0.71mmol)加入至反应混合物中。将所得混合物在40℃下搅拌1h,随后冷却至室温,用EtOAc稀释,用盐水洗涤,并用 MgSO_4 干燥。在减压下除去溶剂,并将残余物通过制备型TLC(40%EtOAc的己烷溶液),随后通过HPLC(MeCN/ H_2O , 含1%TFA)纯化,得到3-氯-4-(2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-5-(2-(三氟甲基)苄基)-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吡唑。¹H NMR (400MHz, CD_3OD) 7.92-7.99 (m, 1H), 7.52-7.66 (m, 2H), 7.34-7.38 (m, 2H), 7.24-7.29 (m, 2H), 6.94-6.98 (m, 1H), 6.66 (dd, J=8.2, 10.8Hz, 1H), 6.50 (dd, J=4.5, 8.2Hz, 1H), 4.88 (br, 1H), 4.09 (s, 2H), 3.82 (d, J=11.5Hz, 1H), 3.43 (d, J=11.5Hz, 1H), 2.53 (dq, J=7.5, 15Hz, 1H), 2.37-2.46 (m, 2H), 2.07 (dq, J=7.5, 15Hz, 1H), 1.54 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.33 (t, J=7.6Hz, 3H), 0.76 (t, J=7.6Hz, 3H)。MS: (ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{ClF}_4\text{N}_4$ [M+H]⁺ 595.2, 实测值595.2。

[0206] 实施例4

[0207] 4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吡唑的合成

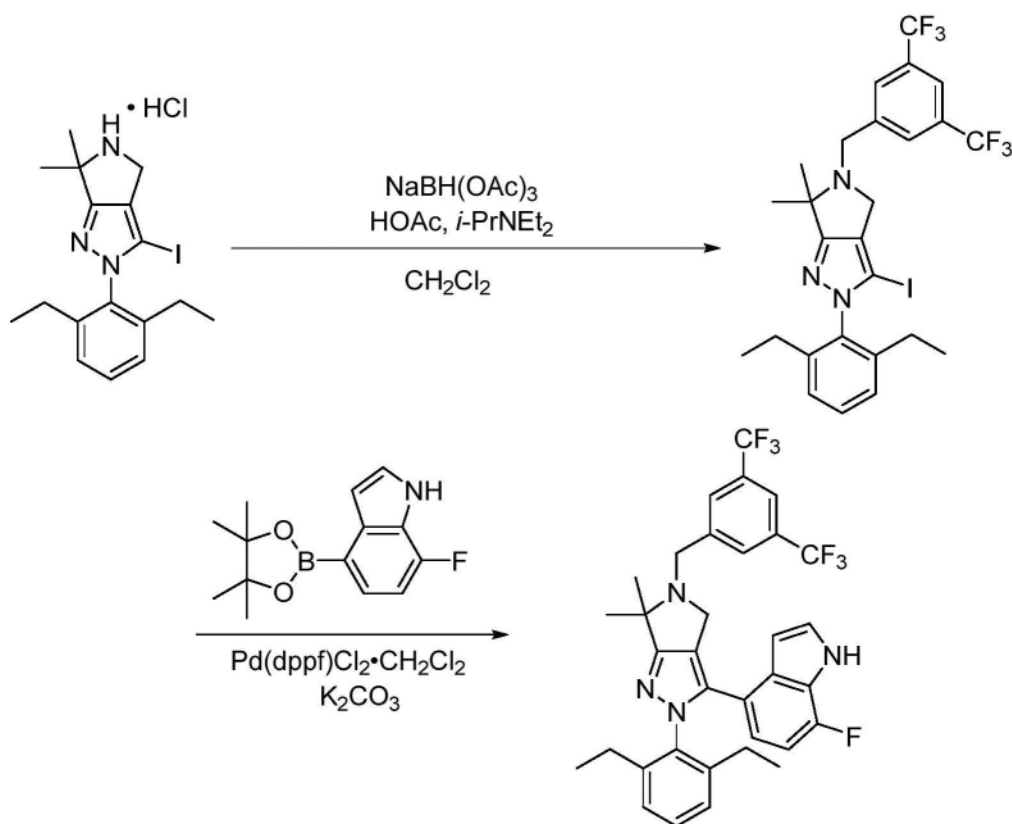


[0209] 在氮气中在100℃下,将5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-3-碘-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑(200mg, 0.32mmol)、7-氟-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑(150mg, 0.57mmol)、 K_2CO_3 (276mg, 2.0mmol)和与

二氯甲烷络合的Pd(dppf)Cl₂ (60mg, 0.07mmol) 于二氧六环 (6mL) 和水 (1mL) 中的混合物搅拌5小时。将反应混合物冷却至室温, 用EtOAc稀释, 并经硅藻土塞过滤。收集溶液, 真空下浓缩, 并将残余物通过硅胶快速色谱法 (0至50% EtOAc的己烷溶液) 纯化, 得到4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吲哚。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) 8.44 (s, 1H), 8.19 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.75 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.22 (m, 2H), 7.07 (d, J=7.6Hz, 2H), 6.61 (m, 1H), 6.47 (m, 2H), 4.15 (s, 2H), 3.71 (s, 2H), 2.37 (m, 2H), 2.22 (m, 2H), 1.56 (s, 6H), 1.00 (t, J=7.6Hz, 6H). MS: (ES) m/z 计算值对于C₃₄H₃₂F₇N₄ [M+H]⁺ 629.2, 实测值629.2.

[0210] 实施例5

[0211] 4-(5-(3,5-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吲哚的合成



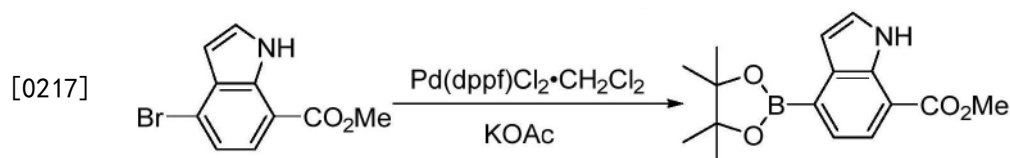
[0213] 步骤a: 将2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑盐酸盐 (2.20g, 5.1mmol)、3,5-双(三氟甲基)苯甲醛 (1.85g, 7.6mmol)、NaBH(OAc)₃ (3.24g, 15.3mmol)、iPrNEt₂ (0.84mL, 5.1mmol) 和醋酸 (0.49mL, 7.6mmol) 于DCM (30mL) 中的混合物在室温下搅拌1.5h。之后将其用NaHCO₃水溶液淬灭并用EtOAc萃取。将有机层分离, 用Na₂SO₄干燥, 真空下浓缩, 并将残余物通过硅胶快速色谱法 (0至30% EtOAc的己烷溶液) 纯化, 得到5-(3,5-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑。MS: (ES) m/z 计算值对于C₂₆H₂₇FIN₃ [M+H]⁺ 622.1, 实测值622.1.

[0214] 步骤b: 将5-(3,5-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑 (1.50g, 2.4mmol)、7-氟-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吲哚 (817mg, 3.1mmol)、K₂CO₃ (0.830g, 6.0mmol) 和与二氯甲烷络

合的Pd(dppf)Cl₂ (30mg, 0.36mmol) 于二氧六环 (12mL) 和水 (1.5mL) 中的混合物在氮气中在100℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至室温并在EtOAc和NaHCO₃水溶液之间进行分配。分离有机层,经Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱法(0至50%EtOAc的己烷溶液),随后通过HPLC(MeCN/H₂O, 含1%TFA)纯化,得到4-(5-(3,5-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吡唑。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) 8.48(s, 1H), 7.92(s, 2H), 7.14(s, 1H), 7.24(dd, J=7.6, 7.6Hz, 1H), 7.20(d, J=2.8Hz, 1H), 7.07(dd, J=7.6, 7.6Hz, 2H), 6.61(m, 1H), 6.47(m, 2H), 4.03(s, 2H), 3.65(s, 2H), 2.37(m, 2H), 2.22(m, 2H), 1.56(s, 6H), 1.00(t, J=7.6Hz, 6H). MS: (ES) m/z 计算值对于C₃₄H₃₂F₇N₄ [M+H]⁺ 629.2, 实测值629.2.

[0215] 实施例6

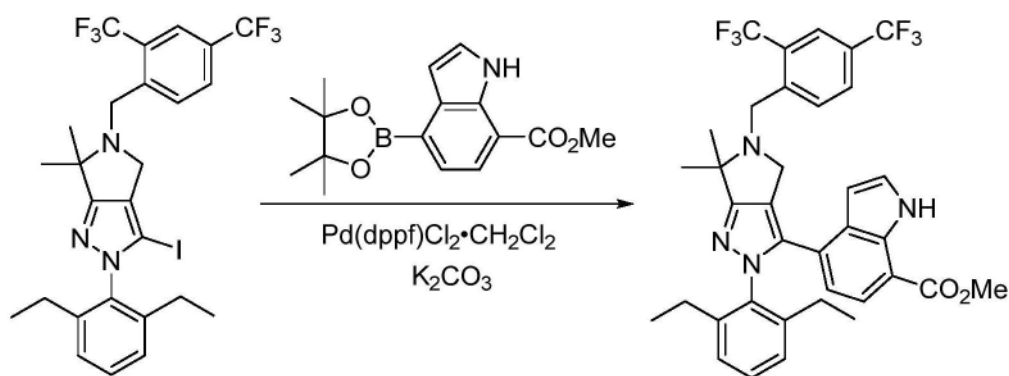
[0216] 中间体4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-7-羧酸甲酯的合成



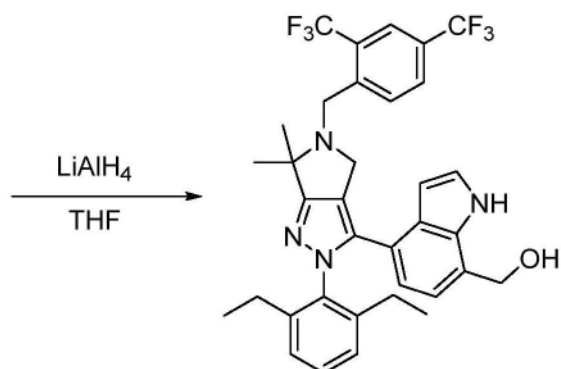
[0218] 步骤a: 向4-溴-7-氟-1H-吡唑-7-羧酸甲酯(300mg, 1.18mmol)、双(频哪醇合)二硼(330mg, 1.30mmol)和KOAc(290mg, 2.96mmol)于二氧六环(8mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的Pd(dppf)Cl₂(100mg, 0.12mmol)。将反应混合物用N₂脱气2min并在100℃下搅拌1h。将反应混合物用EtOAc稀释,经硅藻土过滤。在减压下除去溶剂,并将残余物通过硅胶快速色谱法(5至30%EtOAc的己烷溶液)纯化,得到4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-7-羧酸甲酯。MS: (ES) m/z 计算值对于C₁₆H₂₁BN₄O₄ [M+H]⁺ 302.2, 实测值302.2.

[0219] 实施例7

[0220] (4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-1H-吡唑-7-基)甲醇的合成



[0221]

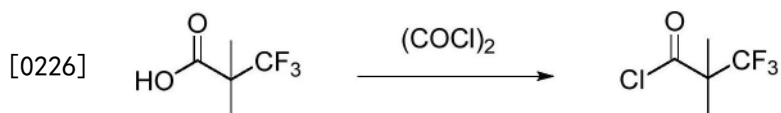


[0222] 步骤a: 在氮气中在100℃下, 将5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡啶(100mg, 0.16mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吲哚-7-羧酸甲酯(78mg, 0.26mmol)、K₂CO₃(150mg, 1.1mmol)和与二氯甲烷络合的Pd(dppf)Cl₂(90mg, 0.11mmol)于二氧六环(4mL)和水(0.7mL)中的混合物搅拌2小时。将反应混合物冷却至室温并在EtOAc和NaHCO₃水溶液之间进行分配。分离有机层, 经Na₂SO₄干燥, 并在真空下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱法(0至40% EtOAc的己烷溶液)纯化, 得到4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡啶-3-基)-1H-吲哚-7-羧酸甲酯。MS: (ES) m/z计算值对于C₃₆H₃₅F₆N₄O₂[M+H]⁺669.3, 实测值669.3。

[0223] 步骤b: 向4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡啶-3-基)-1H-吲哚-7-羧酸甲酯(25mg, 0.037mmol)于THF(1.5mL)中的溶液中加入LiAlH₄于乙醚中的溶液(1.0M, 0.20mL, 0.20mmol)。1h后在0℃下, 将反应混合物用水淬灭并在EtOAc和NaHCO₃水溶液之间进行分配。分离有机层, 经Na₂SO₄干燥, 并在真空下浓缩。将残余物通过HPLC(MeCN/H₂O, 含1% TFA), 随后通过硅胶快速色谱法(0至60% EtOAc的己烷溶液)纯化, 得到(4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡啶-3-基)-1H-吲哚-7-基)甲醇。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) 8.99(s, 1H), 8.18(d, J=8.0Hz, 1H), 7.86(s, 1H), 7.74(d, J=8.4Hz, 1H), 7.24(m, 2H), 7.06(d, J=7.6Hz, 2H), 6.70(d, J=7.4Hz, 1H), 6.49(d, J=7.4Hz, 1H), 6.48(d, J=2.6Hz, 1H), 4.92(d, J=5.6Hz, 2H), 4.15(s, 2H), 3.72(s, 2H), 2.39(m, 2H), 2.26(m, 2H), 1.83(t, J=5.8Hz, 1H), 1.56(s, 6H), 1.02(t, J=7.6, 6H)。MS: (ES) m/z计算值对于C₃₅H₃₅F₆N₄O[M+H]⁺641.3, 实测值641.3。

[0224] 实施例8

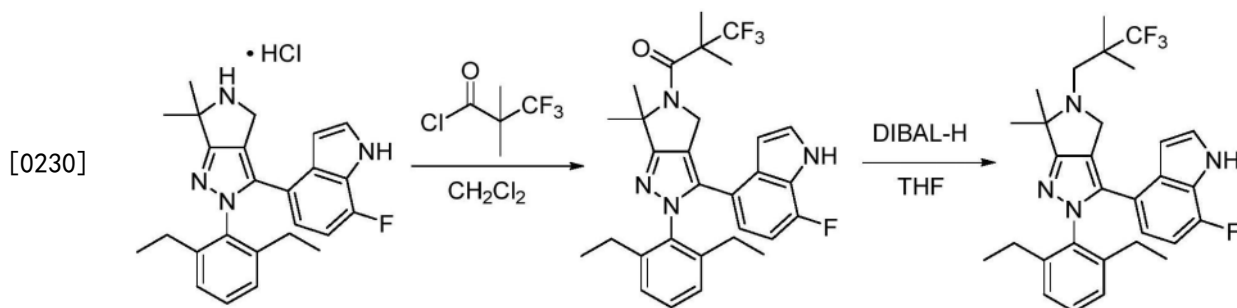
[0225] 中间体3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙酰基氯的合成



[0227] 将3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙酸(0.312g, 2.0mmol)、草酰氯(0.17mL, 2.0mmol)和DMF(2滴)于DCM(6.7mL)中的混合物在室温下搅拌30min。含3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙酰基氯的反应混合物不经进一步纯化直接用于后续步骤。

[0228] 实施例9

[0229] 4-(2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-5-(3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙基)-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吲哚的合成



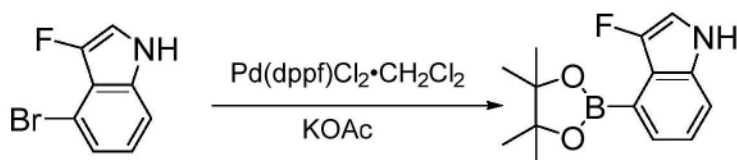
[0231] 步骤a:将4-(2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吲哚盐酸盐(78mg, 0.18mmol)、3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙酰基氯(~2mmol)和NEt₃(0.13mL, 0.89mmol)于DCM(3mL)中的混合物在室温下搅拌1h。之后使反应混合物在EtOAc和NaHCO₃水溶液之间进行分配。分离有机层,经Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱法(0至15%EtOAc的DCM溶液)纯化,得到1-(2-(2,6-二乙基苯基)-3-(7-氟-1H-吲哚-4-基)-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-基)-3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙-1-酮。MS:(ES) m/z计算值对于C₃₀H₃₃F₄N₄O[M+H]⁺541.3,实测值541.2。

[0232] 步骤b:向1-(2-(2,6-二乙基苯基)-3-(7-氟-1H-吲哚-4-基)-6,6-二甲基-2,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡唑-5(4H)-基)-3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙-1-酮(35mg, 0.064mmol)于THF(2mL)中的溶液中加入DIBAL-H于DCM中的溶液(1.0M, 1.5mL, 1.5mmol)。在室温下1h后,将反应混合物用NaHCO₃水溶液淬灭,并在EtOAc和NaHCO₃水溶液之间进行分配。分离有机层,经Na₂SO₄干燥,并在真空下浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱法(0至10%EtOAc的DCM溶液)纯化,得到4-(2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-5-(3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙基)-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-7-氟-1H-吲哚。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) 8.49(s, 1H), 7.27(dd, J=2.4, 2.4Hz, 1H), 7.23(dd, J=8.0, 8.0Hz, 1H), 7.06(d, J=7.2Hz, 2H), 6.63(m, 1H), 6.56(m, 1H), 6.47(m, 1H), 3.93(s, 2H), 2.84(s, 2H), 2.35(m, 2H), 2.20(m, 2H), 1.41(s, 6H), 1.19(s, 6H), 0.98(t, J=7.6Hz, 6H)。MS:(ES) m/z计算值对于C₃₀H₃₅F₄N₄[M+H]⁺527.3,实测值527.2。

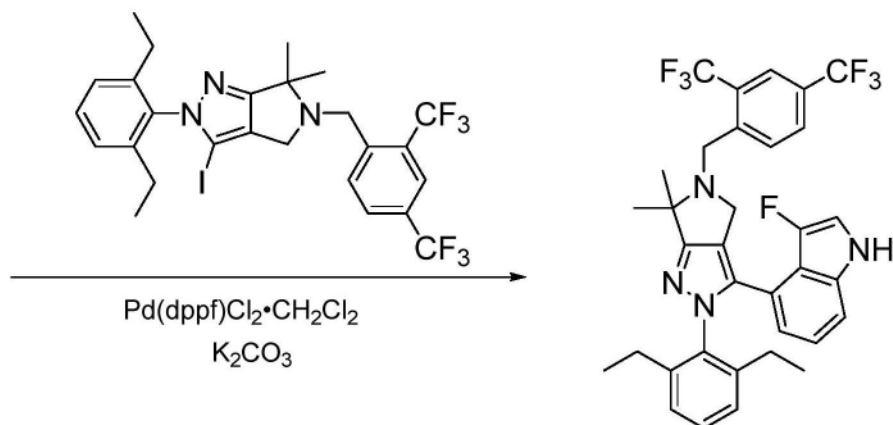
[0233] 实施例10

[0234] 4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四

氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-3-氟-1H-吡啶的合成



[0235]

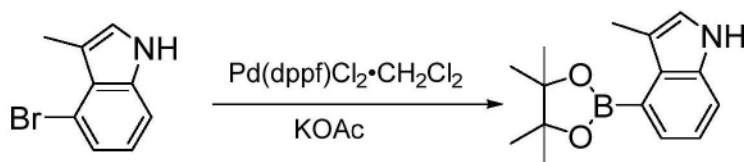


[0236] 步骤a:向4-溴-3-氟-1H-吡啶(240mg,1.1mmol)、双(频哪醇合)二硼(420mg,1.7mmol)和KOAc(320mg,3.3mmol)于二氧六环(5mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的Pd(dppf)Cl₂(140mg,0.17mmol)。将反应混合物用N₂脱气2min并在90℃下搅拌2h。将反应混合物吸附至硅胶上并通过硅胶快速色谱法(0至100%EtOAc的己烷溶液)纯化,得到3-氟-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶。MS:(ES)m/z计算值对于C₁₄H₁₈BFNO₂[M+H]⁺262.1,实测值261.2。

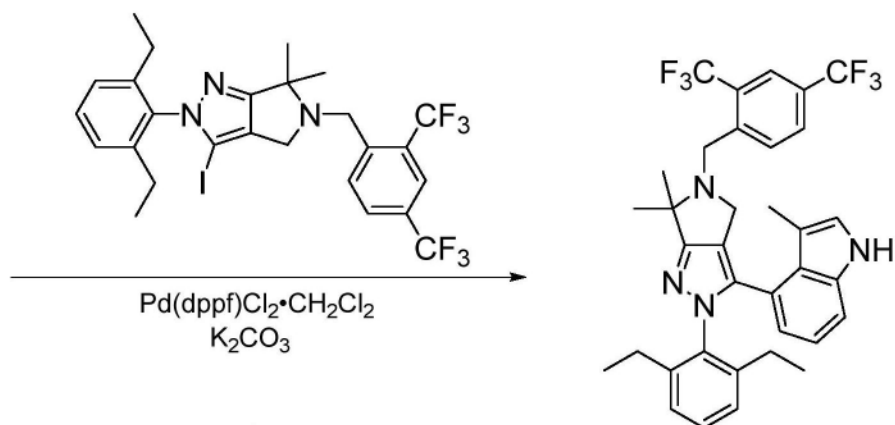
[0237] 步骤b:向5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑(74mg,0.12mmol)、3-氟-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶(64mg,0.25mmol)和K₂CO₃(169mg,1.2mmol)于二氧六环(6mL)和水(1mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的Pd(dppf)Cl₂(49mg,0.060mmol)。将反应混合物用N₂脱气2min并在90℃下搅拌16h。将反应混合物吸附至硅胶上并通过硅胶快速色谱法(0至30%MTBE的己烷溶液),随后通过HPLC(MeCN/H₂O,含1%TFA)纯化,得到4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-3-氟-1H-吡啶。¹H NMR(400MHz,CD₃OD)8.25(d,J=8.4Hz,1H),7.89-7.94(m,2H),7.28(t,J=7.6Hz,1H),7.20(dd,J=8.0,2.6Hz,1H),7.09-7.15(m,3H),6.85(t,J=8.4Hz,1H),6.51(d,J=7.2Hz,1H),4.19(s,2H),3.65(s,2H),2.19-2.50(m,4H),1.54(s,6H),0.87-1.21(m,6H)。MS:(ES)m/z计算值对于C₃₄H₃₂F₇N₄[M+H]⁺629.3,实测值629.3。

[0238] 实施例11

[0239] 4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-3-甲基-1H-吡啶的合成



[0240]

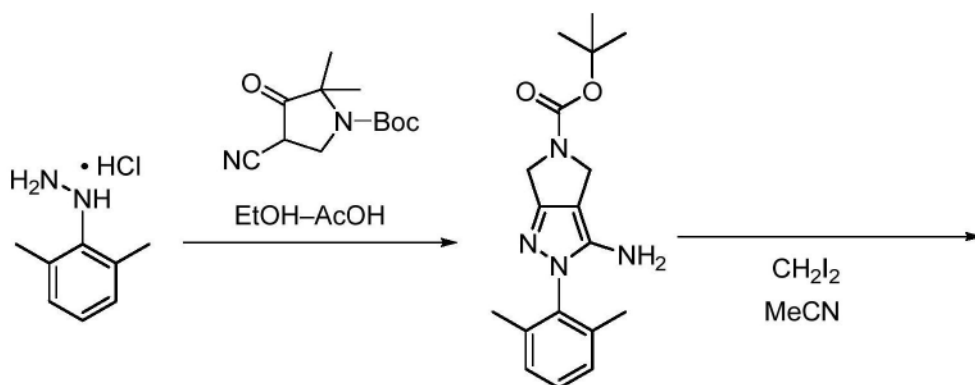


[0241] 步骤a:向4-溴-3-甲基-1H-吡咯(240mg,1.1mmol)、双(频哪醇合)二硼(910mg,3.6mmol)和 KOAc (710mg,7.2mmol)于二氧六环(6mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的 Pd(dppf)Cl_2 (290mg,0.36mmol)。将反应混合物脱气(N_2)2min并在 90°C 下搅拌4h。将反应混合物吸附至硅胶上并通过硅胶快速色谱法(0至25%MTBE的己烷溶液)纯化,得到3-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡咯。MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{BNO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 258.2,实测值258.1。

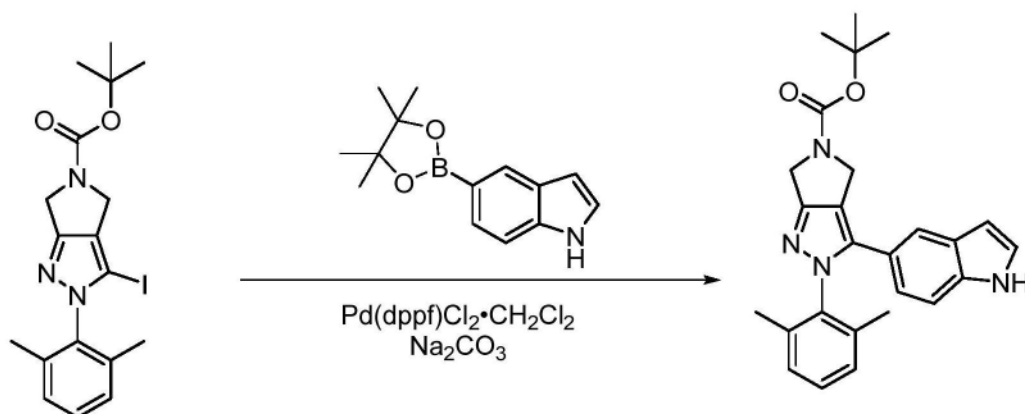
[0242] 步骤b:向5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-3-碘-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑(65mg,0.10mmol)、3-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡咯(127mg,0.49mmol)和 K_2CO_3 (256mg,1.9mmol)于二氧六环(6mL)和水(1mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的 Pd(dppf)Cl_2 (51mg,0.062mmol)。将反应混合物脱气(N_2)2min并在 N_2 中在 90°C 下搅拌2h。将反应混合物吸附至硅胶上并通过硅胶快速色谱法(0至100%MTBE的己烷溶液),随后通过HPLC($\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$,含1%TFA)和制备型TLC(40%丙酮的己烷溶液)纯化,得到4-(5-(2,4-双(三氟甲基)苄基)-2-(2,6-二乙基苯基)-6,6-二甲基-2,4,5,6-四氢吡咯并[3,4-c]吡唑-3-基)-3-甲基-1H-吡咯。 ^1H NMR(400MHz, CD_3OD) δ 8.25-8.18(m,1H),7.92(d, $J=9.0\text{Hz}$,2H),7.29-7.17(m,3H),7.04(d, $J=1.2\text{Hz}$,1H),6.97-6.90(m,1H),6.77(dd, $J=8.2,7.3\text{Hz}$,1H),6.44(dd, $J=7.4,0.9\text{Hz}$,1H),4.25-4.10(m,2H),3.66(d, $J=11.6\text{Hz}$,1H),3.51(d, $J=11.6\text{Hz}$,1H),2.28-2.58(m,3H),2.17(s,3H),2.00-2.11(m,1H),1.55(s,3H),1.53(s,3H),1.34(t, $J=7.6\text{Hz}$,3H),0.77(t, $J=7.6\text{Hz}$,3H)。MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{F}_6\text{N}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 625.3,实测值625.3。

[0243] 实施例12

[0244] 2-(2,6-二甲基苯基)-3-(1H-吡咯-5-基)-4,6-二氢吡咯并[4,3-c]吡唑-5-羧酸叔丁基酯的合成



[0245]



[0246] 步骤a:向3-氰基-4-氧代-吡咯烷-1-羧酸叔丁酯(19.5g,92.54mmol)和(2,6-二甲基苯基)肼盐酸盐(16g,92.65mmol)中加入EtOH(160mL)和AcOH(40mL)。所得的混合物在50℃下搅拌过夜。反应完成后,将反应混合物用1N NaOH水溶液淬灭并用EtOAc(2x 100mL)萃取,干燥(MgSO₄),并真空浓缩。将粗产物通过硅胶快速色谱法(50%EtOAc的己烷溶液)纯化,得到3-氨基-2-(2,6-二甲基苯基)-4,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡啶-5-羧酸叔丁基酯。MS:(ES)m/z计算值对于C₁₈H₂₅N₄O₂[M+H]⁺329.2,实测值329.2。

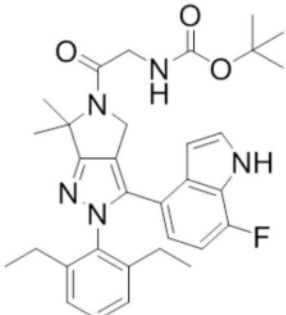
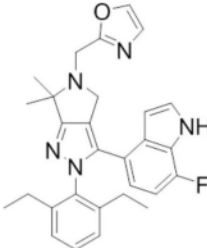
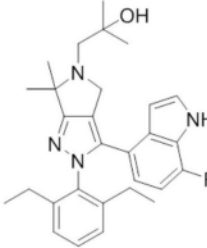
[0247] 步骤b:在室温下,将亚硝酸异戊酯(11.74mL,87.5mmol)缓慢加入至3-氨基-2-(2,6-二甲基苯基)-4,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡啶-5-羧酸叔丁基酯(14.35g,43.75mmol)、二碘甲烷(14mL,175mmol)和MeCN(180mL)的混合物中。将所得反应混合物在室温下搅拌2h。将反应混合物吸附至硅胶上并通过硅胶快速色谱法(30%EtOAc的己烷溶液)纯化,得到2-(2,6-二甲基苯基)-3-碘-4,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡啶-5-羧酸叔丁基酯。MS:(ES)m/z计算值对于C₁₈H₂₃IN₃O₂[M+H]⁺440.1,实测值440.2。

[0248] 步骤c:向2-(2,6-二甲基苯基)-3-碘-4,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡啶-5-羧酸叔丁基酯(878mg,2mmol)、5-氟-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶(729mg,3mmol)和Na₂CO₃(530g,5mmol)于二氧六环(8mL)和水(2mL)中的悬浮液中加入与二氯甲烷络合的Pd(dppf)Cl₂(163mg,0.2mmol)。将反应混合物用N₂脱气2min并在90℃下搅拌2h。将反应混合物用EtOAc稀释,并经硅藻土过滤。在减压下除去溶剂,并将残余物通过硅胶快速色谱法(0至100%EtOAc的己烷溶液)纯化,得到2-(2,6-二甲基苯基)-3-(1H-吡啶-5-基)-4,6-二氢吡咯并[3,4-c]吡啶-5-羧酸叔丁基酯。MS:(ES)m/z计算值对于C₂₆H₂₉N₄O₂[M+H]⁺429.2,实测值429.2。

[0249] 实施例13

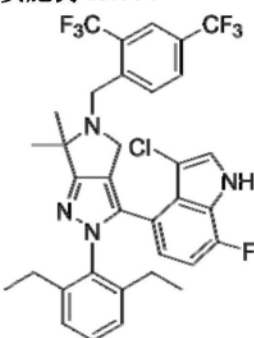
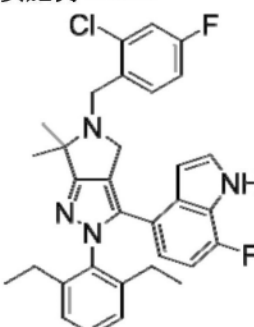
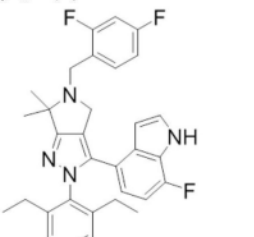
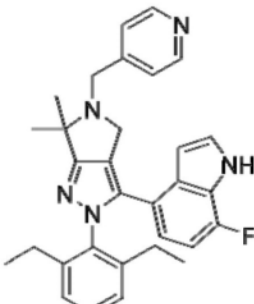
[0250] 使用上述方法制备以下表1和表2中化合物。提供了所列每种化合物的表征数据 (MS和/或NMR)。

[0251] 表1:具体实施例的结构&NMR/MS表征数据

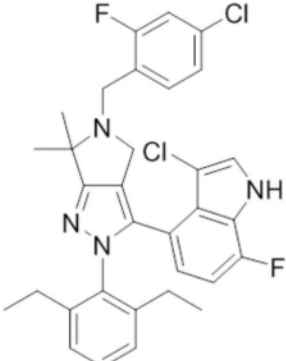
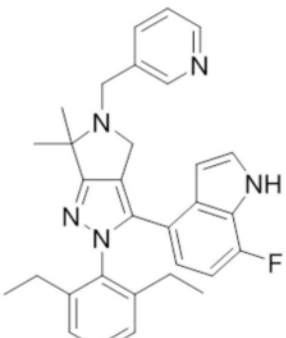
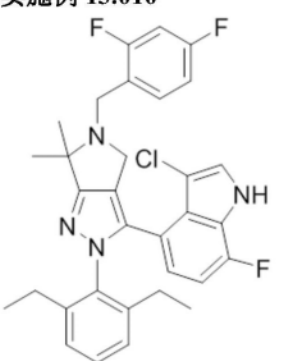
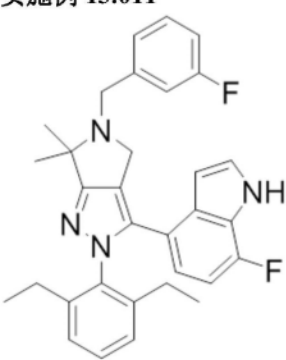
结构	¹ H NMR	MS
实施例 13.001 	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) 7.44 (d, <i>J</i> = 3.1 Hz, 1H), 7.32 (t, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 7.16 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 6.59–6.65 (m, 1H), 6.53–6.56 (m, 1H), 6.45–6.50 (m, 1H), 4.72 (s, 2H), 3.88 (s, 2H), 2.19–2.37 (m, 4H), 1.87 (s, 6H), 1.46 (s, 9H), 0.99 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₂ H ₃₉ FN ₅ O ₃ [M + H] ⁺ 560.3, 实测值 560.3.
实施例 13.002 	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) 7.89 (br s, 1H), 7.37 (d, <i>J</i> = 3.2 Hz, 1H), 7.31 (t, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 7.12–7.15 (m, 3H), 6.54–6.60 (m, 1H), 6.50–6.53 (m, 1H), 6.39–6.43 (m, 1H), 4.12 (s, 2H), 3.90 (s, 2H), 2.15–2.37 (m, 4H), 1.50 (s, 6H), 0.97 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₂₉ H ₃₁ FN ₅ O [M + H] ⁺ 484.3, 实测值 484.3.
实施例 13.003 	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) 8.53 (s, 1H), 7.27 (dd, <i>J</i> = 2.6, 2.6 Hz, 1H), 7.23 (dd, <i>J</i> = 7.6, 7.6 Hz, 1H), 7.06 (d, <i>J</i> = 7.6, 2H), 6.63 (m, 1H), 6.56 (m, 1H), 6.48 (m, 1H), 3.99 (s, 2H), 2.70 (s, 2H), 2.39 (m, 2H), 2.23 (m, 2H), 1.62 (br s, 1H), 1.43 (s, 6H), 1.25 (s, 6H), 0.99 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₂₉ H ₃₆ FN ₄ O [M + H] ⁺ 475.3, 实测值 475.3.

[0252]

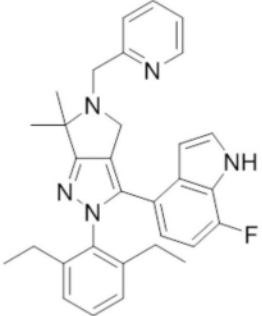
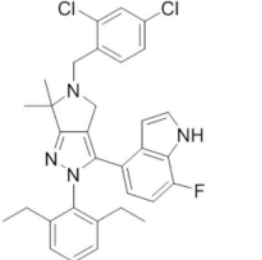
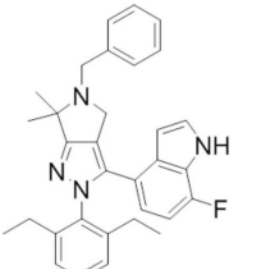
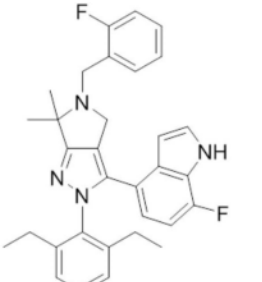
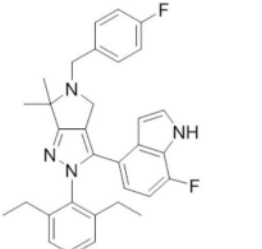
[0253]

实施例 13.004 	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) 8.20–8.27 (m, 1H), 7.89–7.92 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 7.22–7.32 (m, 2H), 6.95–6.98 (m, 1H), 6.66 (dd, <i>J</i> = 8.2, 10.8 Hz, 1H), 6.50 (dd, <i>J</i> = 4.5, 8.2 Hz, 1H), 4.88 (br, 1H), 4.18 (s, 2H), 3.84 (d, <i>J</i> = 11.4 Hz, 1H), 3.49 (d, <i>J</i> = 11.4 Hz, 1H), 2.47 (dq, <i>J</i> = 7.5, 15 Hz, 1H), 2.37–2.46 (m, 2H), 2.07 (dq, <i>J</i> = 7.5, 15 Hz, 1H), 1.54 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.33 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 3H), 0.76 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 3H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₄ H ₃₁ ClF ₇ N ₄ [M + H] ⁺ 663.2, 实测值 663.2.
实施例 13.005 	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) 7.56–7.61 (m, 1H), 7.34 (d, <i>J</i> = 3.0 Hz, 1H), 7.30 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 7.18–7.22 (m, 1H), 7.14 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 2H), 7.01–7.07 (m, 1H), 6.53–6.58 (m, 1H), 6.45 (t, <i>J</i> = 3.1 Hz, 1H), 6.38–6.42 (m, 1H), 4.04 (s, 2H), 3.73 (s, 2H), 2.15–2.38 (m, 4H), 1.57 (s, 6H), 0.98 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₂ H ₃₂ ClF ₂ N ₄ [M + H] ⁺ 545.2, 实测值 545.2.
实施例 13.006 	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7.50 (m, 1H), 7.37–7.26 (m, 2H), 7.14 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 6.91 (t, <i>J</i> = 8.7 Hz, 2H), 6.55 (dd, <i>J</i> = 10.9, 8.2 Hz, 1H), 6.48–6.36 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 3.73 (s, 2H), 2.26 (m, 4H), 1.56 (s, 6H), 0.97 (t, <i>J</i> = 7.6, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₂ H ₃₂ F ₃ N ₄ [M + H] ⁺ 529.3, 实测值 529.3.
实施例 13.007 	¹ H NMR TFA salt (400 MHz, CD ₃ OD) 11.41 (s, 1H), 8.75 (d, <i>J</i> = 5.6 Hz, 2H), 8.75 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 7.39 (dd, <i>J</i> = 2.6, 2.6 Hz, 1H), 7.34 (dd, <i>J</i> = 7.6, 7.6 Hz, 1H), 7.16 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 6.60 (m, 1H), 6.45 (m, 2H), 4.67 (s, 2H), 4.39 (s, 2H), 2.25 (m, 4H), 1.88 (s, 6H), 0.98 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₁ H ₃₃ FN ₅ [M + H] ⁺ 494.3, 实测值 494.3.

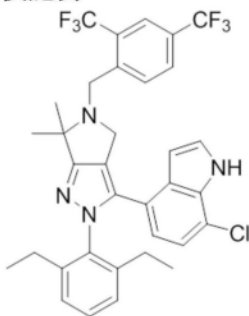
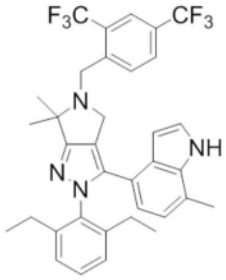
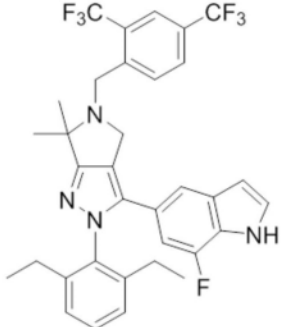
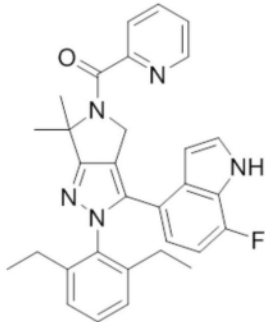
[0254]

<p>实施例 13.008</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7.47–7.57 (m, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.23–7.28 (m, 2H), 7.12–7.16 (m, 2H), 6.95–6.98 (m, 1H), 6.66 (dd, $J = 8.2, 10.8$ Hz, 1H), 6.50 (dd, J $= 4.5, 8.2$ Hz, 1H), 4.88 (br, 1H), 4.00 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 3.81–3.90 (m, 2H), 3.50 (d, $J =$ 11.4 Hz, 1H), 2.33–2.46 (m, 3H), 2.00–2.13 (m, 1H), 1.56 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.31 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 0.75 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 579.2, 实测值 579.2.</p>
<p>实施例 13.009</p> 	<p>^1H NMR TFA salt (400 MHz, CD_3OD) 11.46 (s, 1H), 8.87 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 8.71 (d, $J =$ 5.2 Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.41 (dd, $J =$ 2.8, 2.8 Hz, 1H), 7.35 (dd, $J =$ 7.8, 7.8 Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.61 (m, 1H), 6.45 (m, 2H), 4.75 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 2.25 (m, 4H), 1.97 (s, 6H), 0.97 (t, $J = 7.6$ Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{FN}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 494.3, 实测值 494.3.</p>
<p>实施例 13.010</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7.46–7.52 (m, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.23–7.28 (m, 2H), 6.82–7.00 (m, 3H), 6.66 (dd, $J = 8.2, 10.8$ Hz, 1H), 6.50 (dd, $J = 4.5, 8.2$ Hz, 1H), 4.88 (br, 1H), 4.00 (d, $J =$ 11.6 Hz, 1H), 3.81–3.90 (m, 2H), 3.50 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 2.30–2.58 (m, 3H), 2.00–2.12 (m, 1H), 1.57 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.31 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 0.75 (t, J $= 7.6$ Hz, 3H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{ClF}_3\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 563.2, 实测值 563.2.</p>
<p>实施例 13.011</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.26–7.34 (m, 3H), 7.16 – 7.25 (m, 2H), 7.13 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 6.90–7.00 (m, 1H), 6.55 (dd, $J =$ 10.9, 8.1 Hz, 1H), 6.36–6.46 (m, 2H), 5.46–5.51 (m, 1H), 3.93 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 2.05–2.45 (m, 4H), 1.54 (s, 6H), 0.98 (t, $J = 7.6$ Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{F}_2\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 511.3, 实测值 511.3.</p>

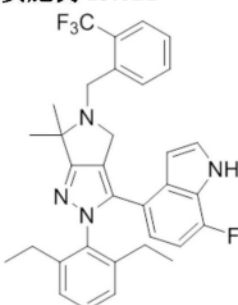
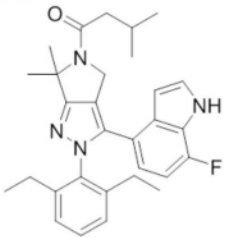
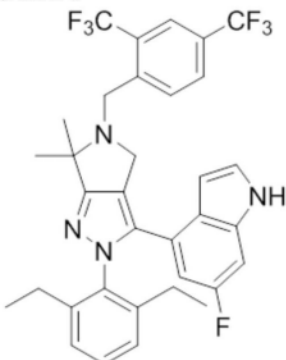
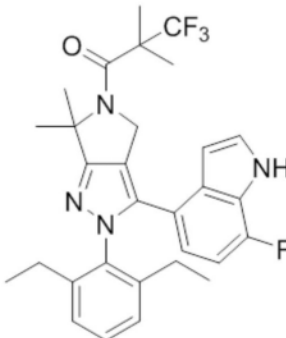
[0255]

实施例 13.012 	¹ H NMR TFA salt (400 MHz, CD ₃ OD) 11.46 (s, 1H), 8.68 (d, <i>J</i> = 4.8 Hz, 1H), 7.92 (dd, <i>J</i> = 1.6, 7.6 Hz, 1H), 7.62 (d, <i>J</i> = 8.0, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.38 (dd, <i>J</i> = 7.6, 7.6 Hz, 1H), 7.18 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 6.62 (m, 1H), 6.53 (m, 1H), 6.45 (m, 1H), 4.79 (s, 2H), 4.64 (s, 2H), 2.27 (m, 4H), 1.92 (s, 6H), 0.98 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₁ H ₃₃ FN ₅ [M + H] ⁺ 494.3, 实测值 494.3.
实施例 13.013 	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) 7.57 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H), 7.44 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 7.26–7.37 (m, 3H), 7.14 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 6.66 (dd, <i>J</i> = 8.2, 10.8 Hz, 1H), 6.39–6.46 (m, 2H), 4.88 (br, 1H), 4.04 (s, 2H), 3.74 (s, 2H), 2.03–2.33 (m, 4H), 1.56 (s, 6H), 0.98 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₂ H ₃₂ Cl ₂ FN ₄ [M + H] ⁺ 561.2, 实测值 561.2.
实施例 13.014 	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7.42 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 2H), 7.28–7.34 (m, 4H), 7.20–7.26 (m, 1H), 7.14 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 6.55 (dd, <i>J</i> = 8.2, 11.0 Hz, 1H), 6.47–6.35 (m, 2H), 3.93 (s, 2H), 3.68 (s, 2H), 2.12–2.39 (m, 4H), 1.56 (s, 6H), 0.97 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₂ H ₃₄ FN ₄ [M + H] ⁺ 493.3, 实测值 493.3.
实施例 13.015 	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) 7.32–7.49 (m, 1H), 7.25–7.34 (m, 3H), 7.04–7.14 (m, 4H), 6.53–6.57 (m, 1H), 6.38–6.46 (m, 2H), 4.88 (br, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.74 (s, 2H), 2.17–2.36 (m, 4H), 1.57 (s, 6H), 0.97 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₂ H ₃₃ F ₂ N ₄ [M + H] ⁺ 511.3, 实测值 511.3.
实施例 13.016 	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) 7.39–7.45 (m, 2H), 7.26–7.36 (m, 2H), 7.14 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H), 6.98–7.04 (m, 2H), 6.55 (dd, <i>J</i> = 8.2, 11.0 Hz, 1H), 6.35–6.46 (m, 2H), 4.88 (br, 1H), 3.91 (s, 2H), 3.66 (s, 2H), 2.17–2.36 (m, 4H), 1.55 (s, 6H), 0.97 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).	MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C ₃₂ H ₃₃ F ₂ N ₄ [M + H] ⁺ 511.3, 实测值 511.3.

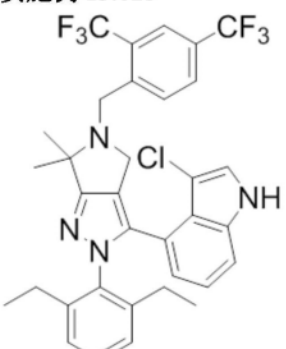
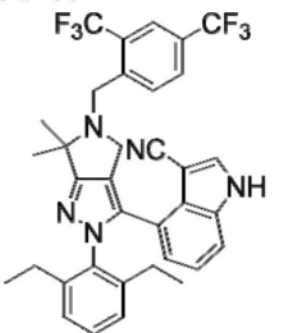
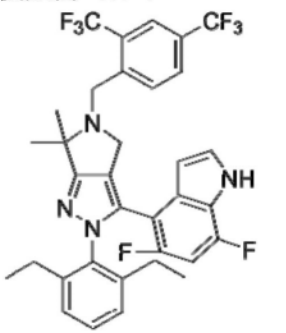
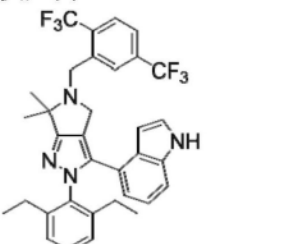
[0256]

<p>实施例 13.017</p> 	<p>¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 8.23 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H), 7.92–7.93 (m, 2H), 7.27–7.39 (m, 2H), 7.15 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 6.83 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.42–6.48 (m, 2H), 4.88 (br, 1H), 4.22 (s, 2H), 3.66 (s, 2H), 2.20–2.36 (m, 4H), 1.56 (s, 6H), 1.00 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C₃₄H₃₂ClF₆N₄ [M + H]⁺ 645.2, 实测值 645.2.</p>
<p>实施例 13.018</p> 	<p>¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.24 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H), 7.89 – 7.95 (m, 2H), 7.24 – 7.34 (m, 2H), 7.13 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 6.60 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 1H), 6.33 – 6.42 (m, 2H), 4.22 (s, 2H), 3.73 (s, 2H), 2.16 – 2.42 (m, 7H), 1.56 (s, 6H), 0.99 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C₃₅H₃₅F₆N₄ [M + H]⁺ 625.3, 实测值 625.3.</p>
<p>实施例 13.019</p> 	<p>¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 8.25–8.29 (m, 1H), 7.95–7.97 (m, 2H), 7.21–7.29 (m, 4H), 7.07 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H), 6.47 (dd, <i>J</i> = 1.4, 12.6 Hz, 1H), 6.33–6.35 (m, 1H), 4.88 (br, 1H), 4.25 (s, 2H), 3.93 (s, 2H), 2.26–2.35 (m, 4H), 1.53 (s, 6H), 1.04 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C₃₄H₃₂F₇N₄ [M + H]⁺ 629.2, 实测值 629.3.</p>
<p>实施例 13.020</p> 	<p>¹H NMR TFA salt (400 MHz, CD₃OD) 11.31 (s, 1H), 8.56 (d, <i>J</i> = 4.4 Hz, 1H), 7.99 (dd, <i>J</i> = 1.6, 7.2 Hz, 1H), 7.73 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.32 (m, 2H), 7.15 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 6.58 (m, 1H), 6.44 (m, 1H), 6.39 (m, 1H), 4.71 (s, 2H), 2.28 (m, 4H), 2.03 (s, 6H), 0.99 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C₃₁H₃₁FN₅O[M + H]⁺ 508.2, 实测值 508.2.</p>

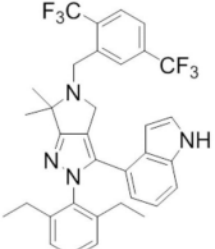
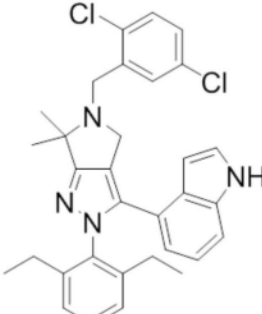
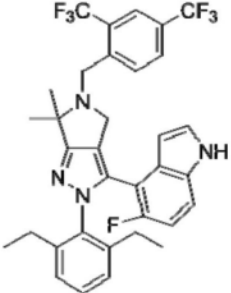
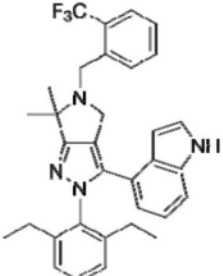
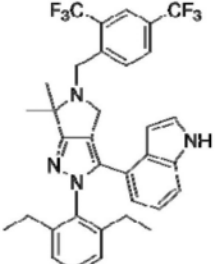
[0257]

<p>实施例 13.021</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 8.30 (s, 1H), 7.91 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.40 (dd, $J = 7.6, 7.6$ Hz, 1H), 7.14 (m, 3H), 6.97 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.51 (m, 1H), 6.41 (m, 1H), 6.36 (m, 1H), 4.00 (s, 2H), 3.62 (s, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.12 (m, 2H), 1.47 (s, 6H), 0.90 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{33}\text{H}_{33}\text{F}_4\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 561.3, 实测值 561.3.</p>
<p>实施例 13.022</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 8.54 (s, 1H), 7.26 (dd, $J = 2.8, 2.8$ Hz, 1H), 7.16 (dd, $J = 7.6, 7.6$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.59 (m, 1H), 6.43 (m, 2H), 4.53 (s, 2H), 2.20 (m, 6H), 1.84 (s, 6H), 0.91 (m, 13H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{FN}_4\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 487.3, 实测值 487.3.</p>
<p>实施例 13.023</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 8.19 (s, 1H), 8.11 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.67 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.17 (dd, $J = 7.8, 7.8$ Hz, 1H), 7.09 (dd, $J = 2.8, 2.8$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.81 (dd, $J = 2.0, 8.8$ Hz, 1H), 6.35 (m, 1H), 6.25 (dd, $J = 2.0, 10.8$ Hz, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.15 (m, 2H), 1.48 (s, 6H), 0.92 (t, $J = 7.6$ Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{F}_7\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 629.2, 实测值 629.2.</p>
<p>实施例 13.024</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 8.54 (s, 1H), 7.34 (dd, $J = 2.8, 2.8$ Hz, 1H), 7.26 (m, 1H), 7.07 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.68 (m, 1H), 6.49 (m, 2H), 4.85 (s, 2H), 2.84 (s, 2H), 2.32 (m, 2H), 2.20 (m, 2H), 1.91 (s, 6H), 1.54 (s, 6H), 1.00 (t, $J = 7.6$ Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{F}_4\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 541.3, 实测值 541.2.</p>

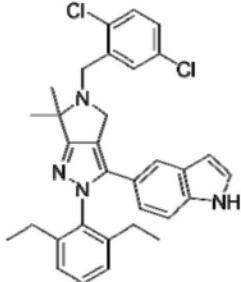
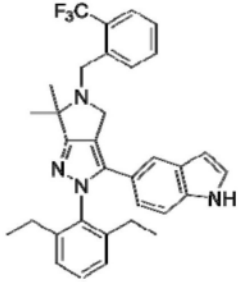
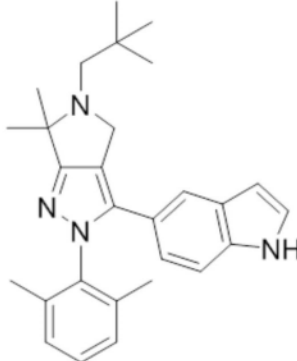
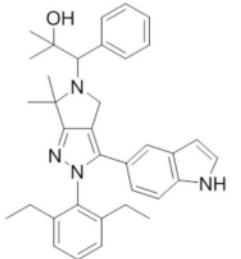
[0258]

<p>实施例 13.025</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.21 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.90 (br s, 2H), 7.24 – 7.31 (m, 4H), 6.92 – 6.95 (m, 1H), 6.88 (t, $J = 8.4$ Hz), 6.55 (dd, $J = 0.76, 7.6$ Hz, 1H), 4.18 (s, 2H), 3.86 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 3.48 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 2.03 – 2.61 (m, 4H), 1.54 (s, 3H), 1.53 (s, 3H), 1.35 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 0.75 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{ClF}_6\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 645.2, 实测值 645.2.</p>
<p>实施例 13.026</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.38 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.88 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H), 7.41 (dd, $J = 8.3, 0.8$ Hz, 1H), 7.23 – 7.33 (m, 2H), 6.93–7.08 (m, 2H), 6.68–6.75 (m, 1H), 4.21 (s, 2H), 3.99 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H), 3.51 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 2.46–2.68 (m, 2H), 2.30 – 2.40 (m, 1H), 1.98 – 2.06 (m, 1H), 1.57 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.36 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 0.77 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{F}_6\text{N}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 636.3, 实测值 636.3.</p>
<p>实施例 13.027</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 8.42 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.03 (br s, 2H), 6.51 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H), 6.38 (m, 1H), 4.14 (s, 2H), 3.63 (s, 2H), 2.38 (br s, 4H), 1.56 (s, 6H), 1.00 (br s, 6H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{34}\text{H}_{31}\text{F}_8\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 647.2, 实测值 647.2.</p>
<p>实施例 13.028</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.34 (s, 1H), 7.89 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.69 – 7.77 (m, 1H), 7.22–7.35 (m, 3H), 7.14 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.80 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.49 (m, 1H), 6.34 (m, 1H), 4.22 (s, 2H), 3.71 (s, 2H), 2.20 – 2.50 (m, 4H), 1.56 (s, 6H), 0.99 (m, 6H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{F}_6\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 611.3, 实测值 611.3.</p>

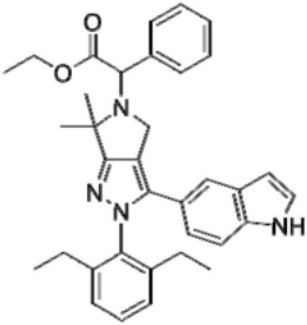
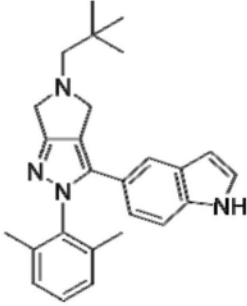
[0259]

实施例 13.029 	^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 7.24–7.35 (m, 4H), 7.15 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.90–7.01 (m, 3H), 6.85 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 4.82 (s, 2H), 2.18–2.42 (m, 4H), 1.91 (s, 6H), 0.99 (t, $J = 7.6$ Hz, 6H).	MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 519.3, 实测值 519.3.
实施例 13.030 	^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.63 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.20–7.40 (m, 5H), 7.13 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.76–6.85 (m, 1H), 6.49 (dt, $J = 7.5, 0.7$ Hz, 1H), 6.40 (dd, $J = 3.2, 0.8$ Hz, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.31 (s, 2H), 2.15–2.45 (m, 4H), 1.57 (s, 6H), 0.94 (t, $J = 7.6$ Hz, 6H).	MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{Cl}_2\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 543.2, 实测值 543.2.
实施例 13.031 	^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 8.23 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.92–7.93 (m, 2H), 7.22–7.39 (m, 3H), 7.07 (br, 2H), 6.65 (dd, $J = 8.2, 10.8$, 1H), 6.23–6.27 (m, 1H), 4.87 (br, 1H), 4.21 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 2.20–2.36 (br, 4H), 1.57 (s, 6H), 0.88–1.02 (br, 6H).	MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{F}_7\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 629.2, 实测值 629.3.
实施例 13.032 	^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 8.24 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.54–7.64 (m, 2H), 7.23–7.42 (m, 4H), 7.13 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.80 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.35–6.49 (m, 2H), 4.86 (br, 1H), 4.13 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 2.17–2.42 (m, 4H), 1.55 (s, 6H), 0.99 (t, $J = 7.6$ Hz, 6H).	MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{33}\text{H}_{34}\text{F}_3\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 543.3, 实测值 543.6.
实施例 13.033 	^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 8.24 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.90–7.93 (m, 2H), 7.26–7.32 (m, 3H), 7.14 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.80 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.35–6.49 (m, 2H), 4.88 (br, 1H), 4.22 (s, 2H), 3.74 (s, 2H), 2.20–2.36 (m, 4H), 1.56 (s, 6H), 0.99 (t, $J = 7.6$ Hz, 6H).	MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{F}_6\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 611.3, 实测值 611.6.

[0260]

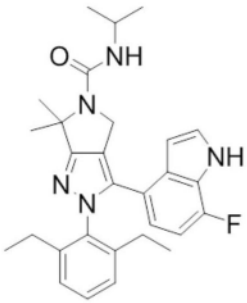
<p>实施例 13.034</p> 	<p>¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7.68 (s, 1H), 7.37–7.46 (m, 2H), 7.14–7.32 (m, 5H), 7.07 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H), 6.84–6.86 (m, 1H), 4.86 (br, 1H), 4.08 (s, 2H), 3.94 (s, 2H), 2.26–2.35 (m, 4H), 1.53 (s, 6H), 1.03 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C₃₂H₃₃Cl₂N₄ [M + H]⁺ 543.2, 实测值 543.5.</p>
<p>实施例 13.035</p> 	<p>¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 8.01 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 7.58–7.73 (m, 2H), 7.42 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 7.13–7.28 (m, 5H), 6.82 (dd, <i>J</i> = 1.7, 8.0 Hz, 1H), 6.23–6.24 (m, 1H), 4.88 (br, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.88 (s, 2H), 2.20–2.36 (m, 4H), 1.52 (s, 6H), 1.03 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 6H).</p>	<p>MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C₃₃H₃₄F₃N₄ [M + H]⁺ 543.3, 实测值 543.5.</p>
<p>实施例 13.036</p> 	<p>¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.13 (br, 1H), 7.32–7.37 (m, 1H), 7.15–7.22 (m, 4H), 7.06 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 6.91 (dd, <i>J</i> = 1.7, 8.5 Hz, 1H), 6.43–6.44 (m, 1H), 4.08 (s, 2H), 2.50 (s, 2H), 2.00 (s, 6H), 1.36 (s, 6H), 1.00 (s, 9H).</p>	<p>MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C₂₈H₃₅N₄ [M + H]⁺ 427.3, 实 测值 427.5.</p>
<p>实施例 13.037</p> 	<p>¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7.55–7.63 (m, 2H), 7.10–7.39 (m, 9H), 6.82–6.90 (m, 1H), 6.23–6.24 (m, 1H), 4.82 (br, 2H), 4.64 (d, <i>J</i> = 11.5 Hz, 1H), 4.33 (d, <i>J</i> = 11.5 Hz, 1H), 3.87 (s, 1H), 2.06–2.39 (m, 4H), 1.59 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.05 (s, 3H), 0.83–1.03 (m, 6H).</p>	<p>MS:(ES) <i>m/z</i> 计算值对于 C₃₅H₄₁N₄O [M + H]⁺ 533.3, 实测值 533.7.</p>

[0261]

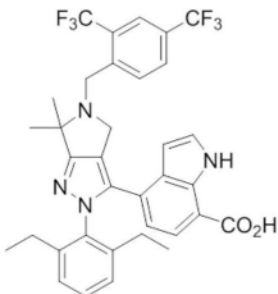
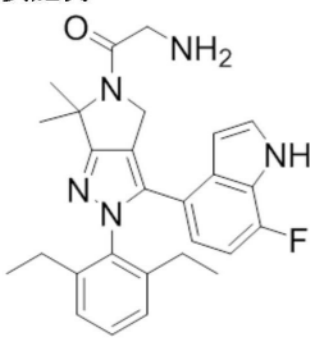
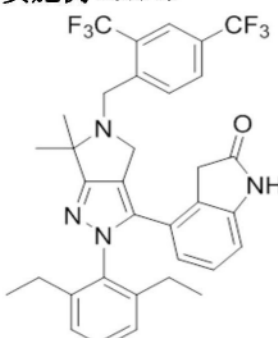
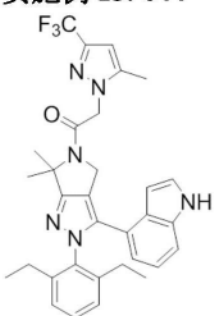
<p>实施例 13.038</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 8.15 (br, 1H), 7.48–7.56 (m, 2H), 7.24–7.44 (m, 5H), 7.08–7.20 (m, 4H), 6.83 (dd, $J = 1.7, 8.6$ Hz, 1H), 6.36–6.37 (m, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.69 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 4.18–4.35 (m, 4H), 3.94 (d, $J =$ 11.4 Hz, 1H), 2.14–2.43 (m, 4H), 1.58 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.19–1.34 (m, 6H), 0.96–1.07 (m, 6H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 547.3, 实测值 547.5.</p>
<p>实施例 13.039</p> 	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 8.17 (br, 1H), 7.13–7.37 (m, 4H), 7.03–7.06 (m, 2H), 6.89 (dd, $J = 1.1, 8.5$ Hz, 1H), 6.42–6.44 (m, 1H), 4.18 (s, 2H), 4.06 (s, 2H), 2.69 (s, 2H), 2.00 (s, 6H), 1.01 (s, 9H).</p>	<p>MS:(ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 399.3, 实 测值 399.5.</p>

[0262] 表2:具体实施例的结构&MS表征数据

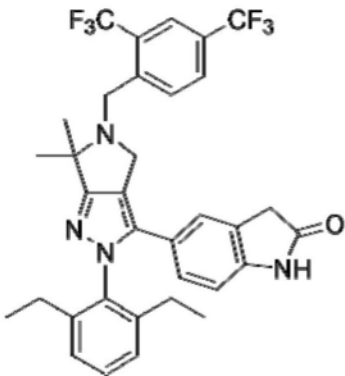
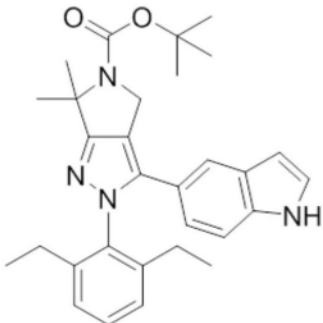
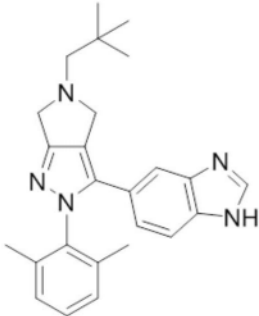
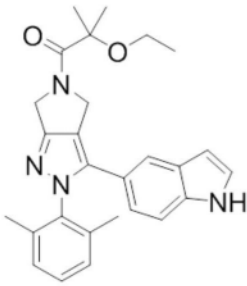
[0263]

结构	MS
<p>实施例 13.040</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{FN}_5\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 488.3, 实测值 488.3.</p>

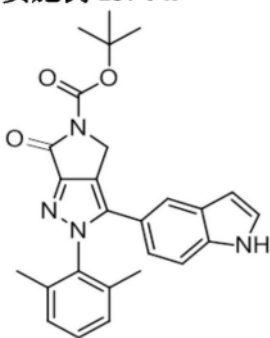
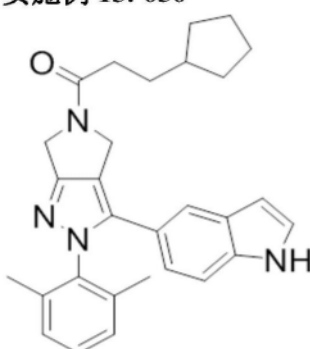
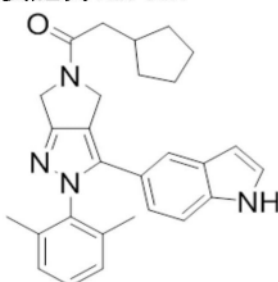
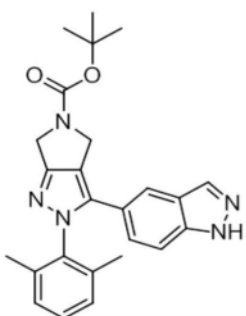
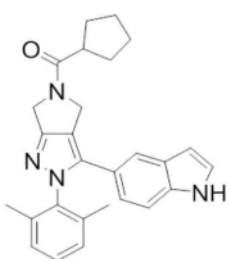
[0264]

实施例 13. 041 	MS: (ES) <i>m/z</i> 计算值对于 $C_{35}H_{32}F_6N_4O_2$ $[M + H]^+$ 655.2, 实测值 655.2.
实施例 13. 042 	MS: (ES) <i>m/z</i> 计算值对于 $C_{27}H_{31}FN_5O$ $[M + H]^+$ 460.3, 实测值 460.3.
实施例 13.043 	MS: (ES) <i>m/z</i> 计算值对于 $C_{34}H_{33}F_6N_4O$ $[M + H]^+$ 627.3, 实测值 627.3.
实施例 13. 044 	MS: (ES) <i>m/z</i> 计算值对于 $C_{32}H_{34}F_3N_6O$ $[M + H]^+$ 575.3, 实测值 575.3.

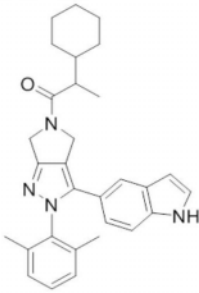
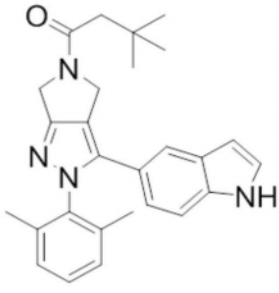
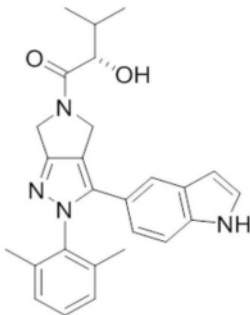
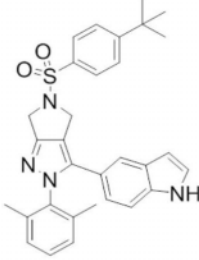
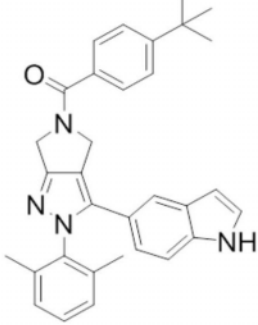
[0265]

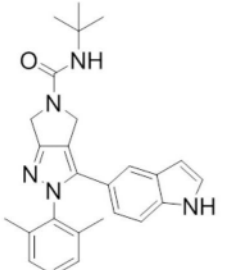
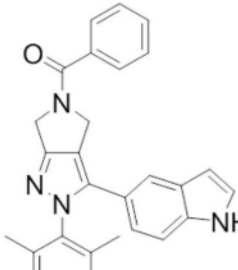
<p>实施例 13.045</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{34}H_{33}F_6N_4O$ $[M + H]^+$ 627.3, 实测值 627.3.</p>
<p>实施例 13. 046</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{30}H_{37}N_4O_2$ $[M + H]^+$ 485.3, 实测值 485.5.</p>
<p>实施例 13. 047</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{25}H_{30}N_5$ $[M + H]^+$ 400.2, 实测值 400.5.</p>
<p>实施例 13. 048</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{27}H_{31}N_4O_2$ $[M + H]^+$ 443.2, 实测值 443.2.</p>

[0266]

<p>实施例 13. 049</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{26}H_{27}N_4O_3$ $[M + H]^+$ 443.2, 实测值 443.2.</p>
<p>实施例 13. 050</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{29}H_{33}N_4O$ $[M + H]^+$ 453.2, 实测值 453.2.</p>
<p>实施例 13. 051</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{28}H_{31}N_4O$ $[M + H]^+$ 439.2, 实测值 439.2.</p>
<p>实施例 13. 052</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{25}H_{28}N_5O_2$ $[M + H]^+$ 430.2, 实测值 430.2.</p>
<p>实施例 13. 053</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{27}H_{29}N_4O$ $[M + H]^+$ 425.2, 实测值 425.2.</p>

[0267]

实施例 13.054 	MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{30}H_{35}N_4O$ $[M + H]^+$ 467.3, 实测值 467.5.
实施例 13. 055 	MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{27}H_{31}N_4O$ $[M + H]^+$ 427.2, 实测值 427.2.
实施例 13. 056 	MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{26}H_{29}N_4O_2$ $[M + H]^+$ 429.2, 实测值 429.5.
实施例 13. 057 	MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{31}H_{33}N_4O_2S$ $[M + H]^+$ 525.2, 实测值 525.2.
实施例 13. 058 	MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{32}H_{33}N_4O$ $[M + H]^+$ 489.3, 实测值 489.3.

[0268]	<p>实施例 13. 059</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{26}H_{30}N_5O$ $[M + H]^+$ 428.2, 实测值 428.2.</p>
	<p>实施例 13. 060</p> 	<p>MS: (ES) m/z 计算值对于 $C_{28}H_{25}N_4O$ $[M + H]^+$ 433.2, 实测值 433.2.</p>

[0269] 实施例14

[0270] 该实施例说明了与本发明特定化合物有关的生物活性的评价。

[0271] 材料和方法

[0272] A细胞

[0273] 1. 表达C5a受体的细胞

[0274] a) U937细胞

[0275] U937细胞是表达C5aR的单核细胞系,可从ATCC (VA) 获得。将这些细胞作为悬浮液在添加了2mM L-谷氨酰胺、1.5g/L碳酸氢钠、4.5g/L-葡萄糖、10mM HEPES、1mM丙酮酸钠和10%FBS的RPMI-1640培养基中培养。使细胞在5%CO₂/95%空气,100%湿度下于37℃下生长,并每周以1:6再培养两次(细胞在1x10⁵到2x10⁶细胞/mL的密度范围内进行培养)并以1x10⁶细胞/mL收获。在测定之前,将细胞用0.5mM的环状AMP (Sigma,OH) 处理过夜,并在使用前洗涤一次。经cAMP处理的U937细胞可用于C5aR配体结合和功能分析。

[0276] b) 分离的人类嗜中性粒细胞

[0277] 人或鼠中性粒细胞可任选地用于化合物活性的分析。嗜中性粒细胞可以使用密度分离和向心分离从新鲜的人血中分离出来。简而言之,将全血与等份的3%葡聚糖一起孵育45分钟,并分离。分离后,将顶层铺在15毫升的Ficoll的顶部(每15毫升Ficoll对应30毫升血液悬浮液),并以400x g无制动离心30分钟。然后将试管底部的沉淀分离并重悬至PharmLyse RBC裂解缓冲液(BD生物科学(BD Biosciences), 圣何塞,加利福尼亚州)中,然后再次将样品以400x g制动离心10分钟。将剩余的细胞沉淀适当重悬,且其由分离的嗜中性粒细胞组成。

[0278] B. 分析

[0279] 1. C5aR配体结合的抑制

[0280] 将经cAMP处理的表达C5aR的U937细胞离心并重悬于分析缓冲液(20mM HEPES pH 7.1,140mM NaCl,1mM CaCl₂,5mM MgCl₂和0.1%牛血清白蛋白)中至浓度为3×10⁶个细胞/

mL。如下建立结合分析。将0.1mL细胞添加到含有5 μ L化合物的测定板中,给出用于筛选的每种化合物的约2-10 μ M的最终浓度(或部分剂量反应用于化合物IC₅₀测定)。然后,加入0.1mL ¹²⁵I标记的C5a(获得自珀金埃尔默生命科学公司(Perkin Elmer Life Sciences),波士顿,马萨诸塞州)在测定缓冲液中稀释至~50pM的终浓度,产生~30,000cpm/孔,将平板4℃密封并在振荡器平台上温育约3小时。在真空细胞收集器(帕卡德仪器(Packard Instruments);梅里登,CT)上,将反应物抽吸到预先浸泡在0.3%聚乙烯亚胺(PEI)溶液中的GF/B玻璃过滤器上。将闪烁液(40 μ L;微闪(Microscint) 20,帕卡德仪器)加入到每个孔中,将板密封并在顶部计数闪烁计数器(Top Count scintillation counter)(帕卡德仪器)中测量放射性。用仅含有稀释剂(总计数)或过量C5a(1 μ g/mL,用于非特异性结合)的对照孔来计算化合物的总抑制百分比。采用GP公司(GraphPad, Inc.)(圣迭戈, Ca)的计算机程序Prism计算IC₅₀值。IC₅₀值是将放射性标记的C5a与受体的结合降低50%所需的那些浓度。(有关配体结合和其他功能测定的进一步说明,参见Dairaghi等人, J. Biol. Chem. 274: 21569-21574 (1999), Penfold等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 96: 9839-9844 (1999), 和 Dairaghi等人, J. Biol. Chem. 272: 28206-28209 (1997))。

[0281] 2. 钙动员(Calcium mobilization)

[0282] 任选地,可以进一步测定化合物抑制细胞中钙通量的能力。为了检测细胞内钙的储存的释放,将细胞(例如,cAMP刺激的U937或中性粒细胞)与3 μ M INDO-1AM染料(分子探针(Molecular Probes);尤金,俄勒冈州)在细胞培养基中于室温孵育45分钟,然后用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤。INDO-1AM加载后,将细胞重悬于通量缓冲液(汉克平衡盐溶液(HBSS)和1%FBS)中。使用光子技术国际(Photon Technology International)分光光度计(光子技术国际;新泽西州),在350nm处激发并在400nm和490nm处双重同步记录荧光发射来测量钙动员。相对细胞内钙水平用400nm/490nm发射比表示。实验在37℃下进行,每个比色皿中包含10⁶细胞,在2mL流量缓冲液中进行不断混合。趋化因子配体可以在1至100nM的范围内使用。随时间(通常为2-3分钟)绘制发射比。第10秒时添加候选配体封闭化合物(最高10 μ M)然后在60秒时添加趋化因子(即C5a;R&D系统(R&D Systems);明尼阿波利斯,明尼苏达))和在第150秒时添加对照趋化因子(即SDF-1 α ;R&D系统;明尼阿波利斯,明尼苏达)。

[0283] 3. 趋化性分析

[0284] 任选地,可以进一步分析化合物在细胞中抑制趋化性的能力。趋化性分析使用使用5mL孔聚碳酸酯,在使用趋化性缓冲液(汉克斯平衡盐溶液(HBSS)和1%FBS)的96孔趋化性腔(神经探针(Neuroprobe);盖瑟斯堡,马里兰州)中的聚乙烯吡咯烷酮涂层的滤器进行。C5aR配体(即C5a,R&D系统;明尼阿波利斯,明尼苏达)用于评估化合物介导的对C5aR介导的迁移的抑制。其他趋化因子(即SDF-1 α ;R&D系统;明尼阿波利斯,明尼苏达)用作特异性对照。下部腔室装有29 μ L趋化因子(即0.03nM C5a)和不同量的化合物;顶部腔室中包含20 μ L的100,000个U937或中性粒细胞。将腔室在37℃下孵育1.5小时,并通过每孔五个高倍视野中的直接细胞计数或通过CyQuant分析(分子探针)(一种测量核酸含量和显微镜观察的荧光染料方法)对下部腔室中的细胞数量进行定量。

[0285] C. C5aR抑制剂的鉴定

[0286] 1. 分析评价

[0287] 为了评估阻止C5a受体与配体结合的有机小分子,采用了可检测放射性配体(即

C5a)与细胞表面表达C5aR的细胞(例如,cAMP刺激的U937细胞或分离的人中性粒细胞)结合的测定方法。对于抑制结合的化合物,无论其是否为竞争性,与未抑制的对照相比,观察到的放射性计数都较少。

[0288] 将相等数量的细胞添加到平板中的每个孔中。然后将细胞与放射性标记的C5a孵育。洗涤细胞以除去未结合的配体,并通过定量放射性计数确定结合的配体。未与任何有机化合物一起孵育的细胞提供总计数;通过将细胞与未标记的配体和标记的配体一起孵育来确定非特异性结合。抑制百分比由以下公式确定:

[0289]

$$\%抑制 = (1 - [(样品\ cpm) - (非特异性\ cpm)] / [(总\ cpm) - (非特异性\ cpm)]) \times 100$$

[0290] 2. 剂量反应曲线

[0291] 为了确定候选化合物对C5aR的亲和力并确认其抑制配体结合的能力,在 1×10^{-10} 至 1×10^{-4} M化合物浓度范围内滴定测定了抑制活性。在测定中,化合物的量是变化的,而细胞数和配体浓度保持恒定。

[0292] D. 体内效力模型

[0293] 通过确定化合物在动物模型中的功效,可以评估目标化合物在治疗C5a介导的疾病中的潜在功效。除了下面描述的模型外,可以在Mizuno,M等人,研究药物的专家意见(Expert Opin.Investig.Drugs) (2005),14(7),807-821中找到用于研究目标化合物的其他合适的动物模型,其通过引用将其整体并入本文。

[0294] 1. C5a诱导的白细胞减少症模型

[0295] a) 人C5aR敲入小鼠模型中C5a诱导的白血球减少症

[0296] 为了研究本发明化合物在动物模型中的效力,可以使用标准技术创建重组小鼠,其中将小鼠C5aR的基因序列编码替换为人C5aR的序列编码,以创建hC5aR-KI小鼠。在该小鼠中,施用hC5a会导致血管壁上的粘附分子上调,该粘附分子结合血液白细胞,将其从血流中隔离。给动物施用20ug/kg的hC5a,并在1分钟后通过标准技术定量外周血中的白细胞。用不同剂量的本发明化合物对小鼠进行预处理几乎可以完全阻断hC5a诱导的白细胞减少症。

[0297] b) 食蟹猴模型中C5a诱导的白细胞减少症

[0298] 为了研究本发明化合物在非人灵长类动物模型模型中的效力,在食蟹猴(Cynomolgus)模型中研究了C5a诱导的白细胞减少症。在该模型中,施用hC5a会导致血管壁上的粘附分子上调,该粘附分子结合血液白细胞,因此将其从血流中隔离。给动物施用10ug/kg的hC5a,并在1分钟后定量外周血中的白细胞。

[0299] ANCA诱导的血管炎的小鼠模型

[0300] 在第0天,向hC5aR-KI小鼠静脉内注射50mg/kg的针对髓过氧化物酶的纯化抗体(Xiao等人J.Clin.Invest.110:955-963(2002))。进一步给小鼠口服每日剂量的本发明化合物或载体七天,然后处死小鼠并收集肾脏用于组织学检查。与载体治疗的动物相比,肾脏切片的分析可显示肾小球中新月形和坏死性病变的数量和严重程度明显降低。

[0301] 2. 脉络膜新生血管的小鼠模型

[0302] 为了研究本发明化合物在治疗与年龄有关的黄斑变性(AMD)中的效力,将hC5aR-

KI小鼠眼中的布鲁赫膜通过激光光凝法破裂(Nozika等,PNAS 103:2328-2333(2006)。用载体或本发明化合物的每日口服或适当的玻璃体内的剂量的处理小鼠一至两周。通过组织学和血管造影术评估激光诱发损伤的修复和新血管形成。

[0303] 3.类风湿关节炎模型

[0304] a) 破坏性关节炎症的兔子模型

[0305] 为了研究候选化合物对兔关节内注射细菌膜成分脂多糖(LPS)的炎症反应的抑制作用,使用了破坏性关节炎症的兔模型。该研究设计模仿了关节炎中破坏性关节炎症。关节内注射LPS会引起急性炎症反应,其特征是释放出细胞因子和趋化因子,其中许多已在类风湿关节炎的关节中被鉴定。滑液和滑膜中白细胞明显增加,以响应这些趋化介质的升高。在该模型中趋化因子受体的选择性拮抗剂显示出功效(参见Podolin等人,免疫学杂志(J.Immunol) 169(11):6435-6444(2002))。

[0306] 基本上按照Podolin等人的描述(出处同上)进行兔LPS研究,雌性新西兰兔(约2公斤)用与仅含载体(含1%DMSO的磷酸盐缓冲液)或与添加了候选化合物(剂量1=50 μ M或剂量2=100 μ M)的LPS(10ng)(总体积为1.0mL)在一个膝盖的关节内进行治疗。LPS注射后十六小时,灌洗膝盖并进行细胞计数。通过滑膜炎症的组织病理学评估来确定治疗的有益效果。用于组织病理学评估的炎症评分:1-最小、2-轻度、3-中度、4-中度显著。

[0307] b) 胶原诱导性关节炎大鼠模型中化合物的评价

[0308] 进行了为期17天的进展II型胶原蛋白关节炎研究,以评估候选化合物对关节炎引起的临床踝关节肿胀的影响。大鼠胶原关节炎是多关节炎的实验模型,其已被广泛用于许多抗关节炎药物的临床前试验(参见Trentham等人,J.Exp.Med.146(3):857-868(1977),Bendele等人,毒理病理学(Toxicologic Pathol).27:134-142(1999),Bendele等人,关节炎与风湿病(Arthritis Rheum).

[0309] 42:498-506(1999))。这种模型的特点是稳健的、易测量的多关节炎症的发生和发展,与血管翳形成和软骨破坏和轻度至中度骨吸收和骨膜骨增殖相关的显著的。

[0310] 雌性路易斯(Lewis)大鼠(大约0.2千克)被异氟烷麻醉,并在这个17天的研究的第0天和第6天在尾部底部和背部两个部位注射含有2mg/mL牛II型胶原的弗氏不完全佐剂。候选化合物每天以皮下方式从第0天至第17天以有效剂量给予。进行踝关节直径的卡尺测量,并将减少的关节肿胀作为功效的量度。

[0311] 4.脓毒症的大鼠模型

[0312] 为了研究目标化合物抑制与脓毒症样疾病相关的广义炎症反应效果,使用了脓毒症的盲肠结扎穿孔(CLP)大鼠模型。基本上按照Fujimura N等人(美国呼吸与急救医学杂志(American Journal Respiratory Critical Care Medicine)2000;161:440-446)的描述进行了大鼠CLP研究。在此简要描述,体重在200-250克之间的肉瘤(Wistar)白化病大鼠(2种性别)在实验前禁食12小时。使动物保持正常的12小时光照和黑暗周期,并喂食标准大鼠食物直到实验前12小时。然后将动物分为四组;(i)两个假手术组和(ii)两个CLP组。将这两组(即(i)和(ii))中的每一组分为载体对照组和测试化合物组。脓毒症是通过CLP方法诱导的。在短暂麻醉下,使用最少的解剖方法进行中线剖腹术,并用3-0丝线在盲肠瓣膜正下方结扎盲肠,从而保持肠的连续性。将盲肠的反肠系膜表面用18号针在相距1cm的两个位置上进行穿孔,然后轻轻挤压盲肠直至挤出粪便。然后将肠放回到腹部,并闭合切口。手术结束

时,皮下注射盐水(3ml/100g体重)以复苏所有大鼠。术后,对大鼠禁食,但在接下来的16小时内可以自由饮水直至处死。假手术组进行剖腹手术且盲肠被处理但未结扎或穿孔。通过组织和器官的组织病理学评分以及肝功能、肾功能和脂质过氧化的几个关键指标的测量来衡量治疗的有益效果。为了测试肝功能,测量了天冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸转氨酶(ALT)。研究了血尿素氮和肌酐浓度以评估肾功能。还通过ELISA分析了促炎细胞因子(如TNF- α 和IL-1 β)的血清水平。

[0313] 5. 实验性狼疮性肾炎的小鼠SLE模型。

[0314] 为了研究目标化合物对系统性红斑狼疮(SLE)的作用,使用了MRL/lpr小鼠SLE模型。RL/Mp-Tmfrsf6^{lpr/lpr}株(MRL/lpr)是常用的人SLE的小鼠模型。为了测试化合物在该模型中的效力,将雄性MRL/lpr小鼠在13周龄时被平均分为对照组和C5a拮抗剂组。然后在接下来的6周内,通过渗透泵施用化合物或载体,以维持覆盖率并使对动物的压力影响降至最低。在疾病发作和进展的六周期间,每两周收集一次血清和尿液样本。在这些小鼠的少数中,肾小球硬化的发展导致动物因肾衰竭而死亡。作为肾衰竭指标的后死亡率是衡量标准之一,成功的治疗通常会导致测试组中猝死的发作延迟。此外,肾脏疾病的存在和量级也可以通过血尿素氮(BUN)和蛋白尿的测量进行连续监测。在第19周也收获组织和器官,并进行组织病理学和免疫组织化学检查,并根据组织损伤和细胞浸润进行评分。

[0315] 6. COPD大鼠模型

[0316] 啮齿动物模型中的烟雾诱发的气道炎症可用于评估化合物在慢性阻塞性肺疾病(COPD)中的功效。趋化因子的选择性拮抗剂在该模型中显示出功效(参见史蒂文森(Stevenson)等人,美国生理学杂志-肺细胞和分子生理学)(Am.J.Physiol Lung Cell Mol Physiol.) 288L514-L522, (2005))。如史蒂文森等人所述进行COPD的急性大鼠模型。目的化合物通过口服或静脉内给药方式全身性;或者用雾化化合物局部给药。将雄性斯普拉-道来氏(Sprague-Dawley)大鼠(350-400g)安置于有机玻璃室内,并暴露于通过泵吸入的香烟烟雾中(每30秒50mL,间隔有新鲜空气)。大鼠总共暴露32分钟。初次暴露后至7天处死大鼠。通过炎症细胞浸润的降低、趋化因子和细胞因子水平的降低来评估治疗的任何有益效果。

[0317] 在慢性模型中,小鼠或大鼠每天暴露于烟草烟雾中长达12个月。化合物通过每日一次口服给药剂量,或可能通过雾化的化合物局部来全身性给药。除了用急性模型(Stevensen等人)中观察到的炎症外,动物还可能表现出其他与人类COPD相似的病理,例如肺气肿(以平均线性截距增加来指示)以及改变的肺化学(参见Martorana等人,美国呼吸和危重症医学杂志(Am.J.Respir.Crit Care Med.), 172(7):848-53。

[0318] 7. 多发性硬化症的小鼠EAE模型

[0319] 实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)是人类多发性硬化症的模型。该模型的变体已经公开,并且在本领域中是众所周知的。在典型方案中,将C57BL/6(查尔斯河实验室(Charles River Laboratories))小鼠用于EAE模型。在第0天,用含4mg/ml结核分枝杆菌(西格玛-奥德里奇(Sigma-Aldrich))的完全弗氏佐剂(CFA)乳化的200ug髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(MOG) 35-55(国际多肽(Peptide International))皮下地来免疫小鼠。另外,在第0天和第2天,对动物静脉内给予200ng百日咳毒素(Calbiochem)。临床评分基于0-5的等级:0,无疾病迹象;1,松弛的尾巴;2,后肢无力;3,后肢瘫痪;4,前肢无力或瘫痪;5,垂死的。可以在第0天(预防)或第7天(治疗,当存在疾病的组织学证据但几乎没有动物出现临床症状

时) 开始进行待评估化合物的给药, 并每天一次或多次以适合它们的活性和药代动力学特性的浓度给药, 例如皮下100mg/kg。化合物的效力可通过比较严重程度(与载体相比, 存在化合物时的最大平均临床评分) 或通过测量由脊髓分离的巨噬细胞(F4/80阳性) 数量的减少来评估。可以通过不连续的珀可(Percoll) 梯度来分离脊髓单核细胞。可以使用大鼠抗小鼠F4/80-PE或大鼠IgG2b-PE(Caltag实验室) 对细胞进行染色, 并通过FACS分析采用每个样品10ul的Polybeads(Polysciences) 进行定量。

[0320] 8. 肾移植小鼠模型

[0321] 可在小鼠中进行移植模型, 例如Faikah Gueller等人, JASN Express, 2008年8月27日中描述了从C57BL/6至BALB/c小鼠的同种异体肾移植模型。简而言之, 将小鼠麻醉, 将左供体肾脏连接至主动脉套袖和带有小腔静脉套袖的肾静脉上, 输尿管全部切除。在受体的左肾切除术后, 将血管套袖分别与受体的腹主动脉和腔静脉在低于天然肾血管的水平下吻合。输尿管直接吻合到膀胱中。冷缺血时间为60分钟, 热缺血时间为30分钟。可以在同种异体移植时或移植后第4天摘除右肾, 以进行长期存活研究。监测小鼠的总体身体状况以寻找排斥的证据。可以在手术前或移植后立即开始对动物的化合物治疗, 例如每天一次皮下(sub) 切割注射。研究了小鼠的肾功能和存活率。血清肌酐水平通过自动化方法(贝克曼分析仪(Beckman Analyzer), 克雷菲尔德, 德国) 测量。

[0322] 9. 缺血/再灌注小鼠模型

[0323] 可以按照Xiufen Zheng等人, 美国病理学杂志(Am. J. Pathol), 第173卷第4期, 2008年10月所描述的进行缺血/再灌注损伤小鼠模型。简而言之, 将6-8周龄的CD1小鼠麻醉并将其安置在加热垫上以在手术过程中保持温暖。腹部切口后, 肾蒂直接解剖, 在左肾蒂上放置微血管钳25-30分钟。缺血后, 将夹子与右肾一起移除, 缝合切口, 并让动物恢复。收集血液用于血清肌酐和BUN分析, 以指示肾脏健康状况。或者, 随时间监测动物的存活。可以在手术之前和/或之后向动物施用化合物, 以及将对血清肌酐、BUN或动物存活的作用作为化合物效力的指标。

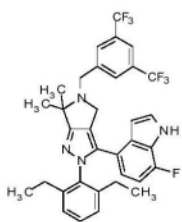
[0324] 10. 肿瘤生长的小鼠模型

[0325] 在6-16周龄的C57BL/6小鼠的右后侧或左后侧皮下注射 1×10^5 TC-1细胞(ATCC, VA)。细胞注射后约2周开始, 每2-4天用卡尺测量一次肿瘤, 直到所需的肿瘤大小, 处死小鼠。在处死动物时, 将其进行完整的尸检并去除脾脏和肿瘤。对切除的肿瘤进行测量并称重。化合物可以在肿瘤注射之前和/或之后给药, 并且通过肿瘤生长的延迟或抑制来评估化合物的效力。

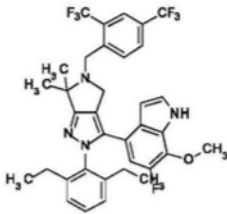
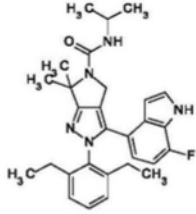
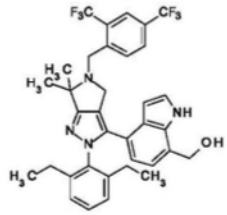
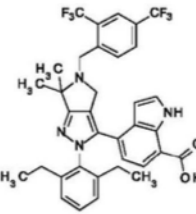
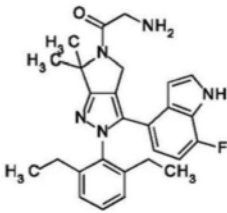
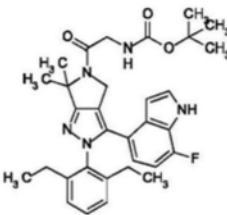
[0326] 以下表3提供了本发明所述代表性化合物的结构和活性。本发明所述的趋化性分析(见实施例14B.3) 中的抑制的活性如下: +, $500\text{nM} \leq \text{IC}_{50}$; ++, $50\text{nM} \leq \text{IC}_{50} < 500\text{nM}$; +++, $5\text{nM} \leq \text{IC}_{50} < 50\text{nM}$; 和++++, $\text{IC}_{50} < 5\text{nM}$ 。

[0327] 表3: 具体实施例的结构&生物活性

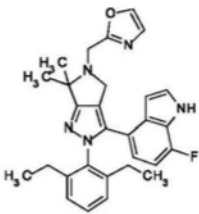
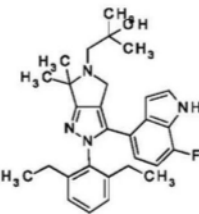
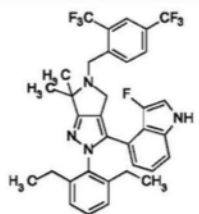
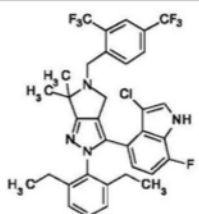
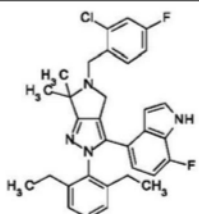
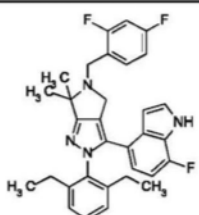
[0328]

化合物	结构	IC50 (nM)
1.001		+++

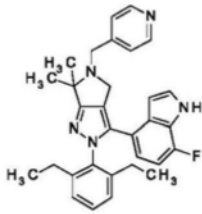
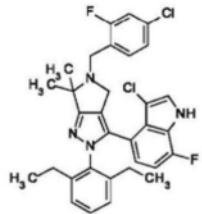
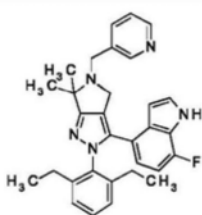
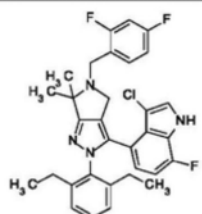
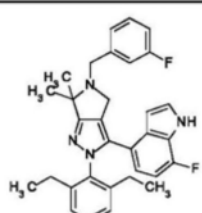
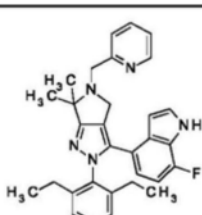
[0329]

1.002		++++
1.003		+
1.004		++++
1.005		+
1.006		+
1.007		++

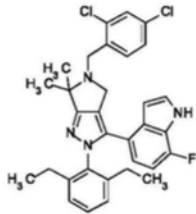
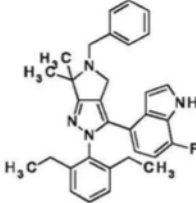
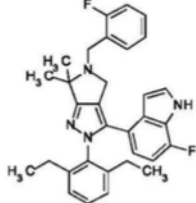
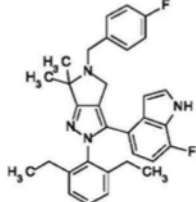
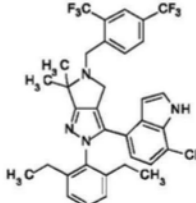
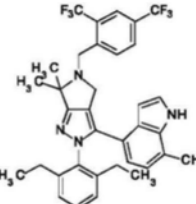
[0330]

1.008		++
1.009		++
1.010		+++
1.011		+++
1.012		+++
1.013		+++

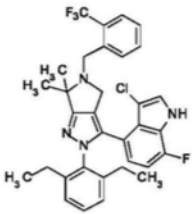
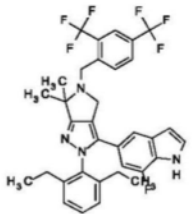
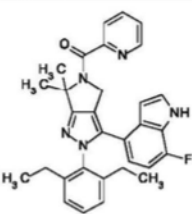
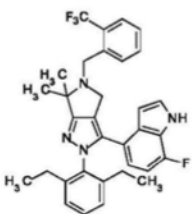
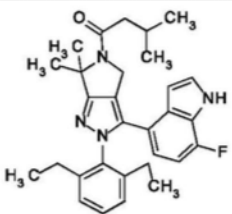
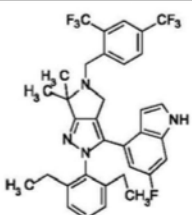
[0331]

1.014		++
1.015		+++
1.016		++
1.017		++++
1.018		+++
1.019		+++

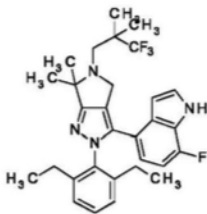
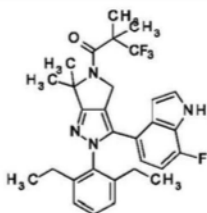
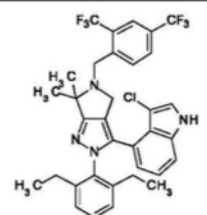
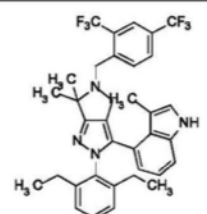
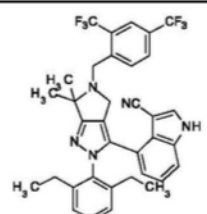
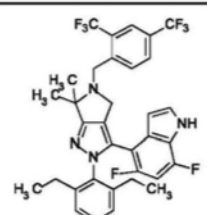
[0332]

1.020		+++
1.021		++++
1.022		+++
1.023		++++
1.024		++++
1.025		++++

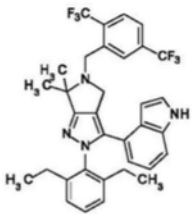
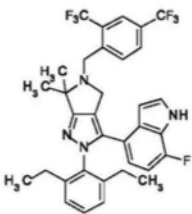
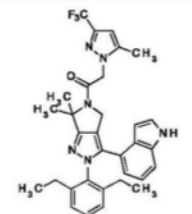
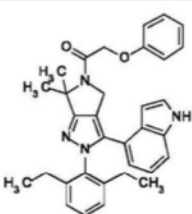
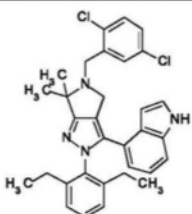
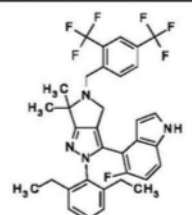
[0333]

1.026		++++
1.027		+++
1.028		++
1.029		+++
1.030		+++
1.031		+++

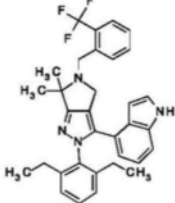
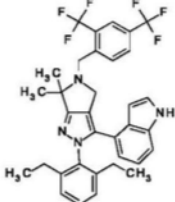
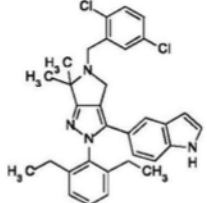
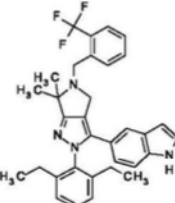
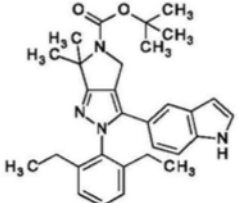
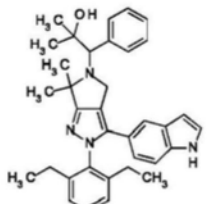
[0334]

1.032		++++
1.033		+++
1.034		+++
1.035		+++
1.036		+++
1.037		++++

[0335]

1.038		+++
1.039		+++
1.040		+
1.041		++
1.042		+++
1.043		+++

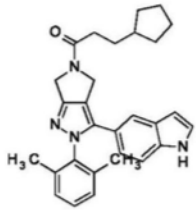
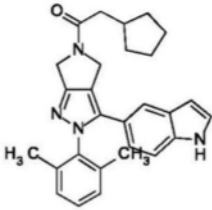
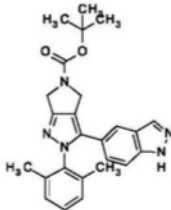
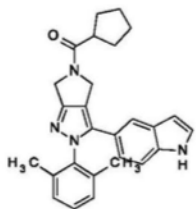
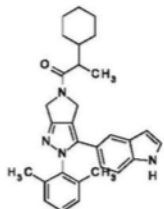
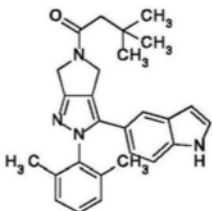
[0336]

1.044		+++
1.045		+++
1.046		+++
1.047		+++
1.048		+++
1.049		++

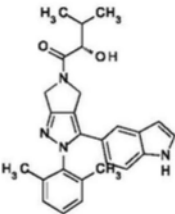
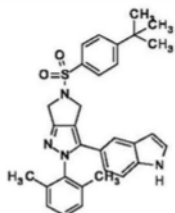
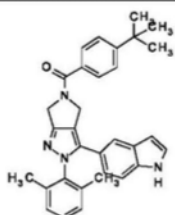
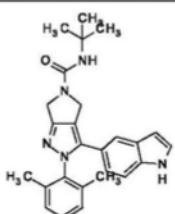
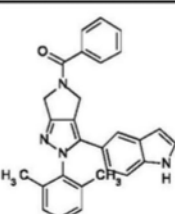
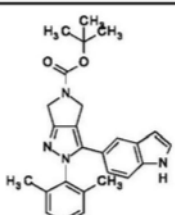
[0337]

1.050		+++
1.051		+
1.052		+++
1.053		++
1.054		+
1.055		+

[0338]

1.056		+
1.057		+
1.058		+
1.059		+
1.060		++
1.061		+

[0339]

1.062		+
1.063		+
1.064		+
1.065		+
1.066		+
1.067		++

[0340] 尽管在此描述了本发明的特定实施例,但是在阅读说明书之后,所公开的实施例的变型对于本领域技术人员而言将变得显而易见,并且可以预料那些技术人员可以适当地采用这样的变型。因此,旨在说明本发明可以不同于本文具体描述的方式来实施,并且本发明包括适用法律允许的所附权利要求中记载的主题的所有修改和等同形式。而且,除非本

文另外指出或与上下文明显矛盾,否则本发明涵盖上述元件在其所有可能的变化中的任何组合。

[0341] 本说明书中引用的所有出版物,专利申请,登录号和其他参考文献都通过引用并入本文,就好像每个单独的出版物或专利申请均被明确地和单独地指出通过引用并入。