



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114040762 A

(43) 申请公布日 2022.02.11

(21) 申请号 202080025851.5

N·O·布卡诺夫 H·休松

(22) 申请日 2020.02.04

S·E·莫雷诺

(30) 优先权数据

62/800,993 2019.02.04 US

62/851,430 2019.05.22 US

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.09.28

(51) Int.Cl.

A61K 31/439 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/016588 2020.02.04

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/163337 EN 2020.08.13

(71) 申请人 建新公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 O·易卜拉欣莫夫·贝斯克罗夫纳

亚

权利要求书5页 说明书68页 附图20页

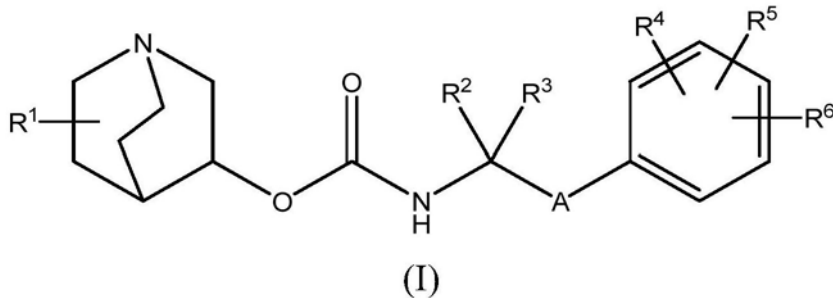
(54) 发明名称

使用葡糖神经酰胺合酶 (GCS) 的抑制剂治疗
纤毛疾病

(57) 摘要

本公开文本涉及一种治疗受试者中的纤毛疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的奎宁环化合物。还公开了一种用于所述方法中的包含奎宁环化合物的药物组合物。

1. 一种方法,所述方法用于
- (a) 在有需要的受试者中治疗纤毛疾病,
- (b) 在患有纤毛疾病的受试者中治疗选自肥胖、肝病、视网膜变性、嗅觉功能障碍、高脂血症、2型糖尿病和代谢综合征的疾病或障碍,或
- (c) 用于保留或改善有需要的受试者、任选地患有纤毛疾病的受试者中的纤毛功能,
- 所述方法包括向所述受试者施用有效量的式(I)的化合物,



或其药学上可接受的盐或前药,其中:

R^1 选自氢、卤素(例如,氟)、氰基、硝基、羟基、硫代、氨基、 C_{1-6} -烷基(例如,甲基或乙基)、 C_{2-6} -烯基、 C_{2-6} -炔基、 C_{1-6} -烷基氧基、 C_{2-6} -烯基氧基和 C_{2-6} -炔基氧基,其中所述烷基、烯基、炔基、烷基氧基、烯基氧基或炔基氧基任选地被选自卤素、氰基、硝基、羟基、硫代或氨基的一个或多个(例如,1、2或3个)基团取代;

R^2 和 R^3 独立地选自 C_{1-3} -烷基,所述烷基任选地被一个或多个(例如,1、2或3个)卤素取代,或者 R^2 和 R^3 一起形成环丙基或环丁基基团,所述环丙基或环丁基基团任选地被一个或多个(例如,1或2个)卤素取代;

R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、卤素、硝基、羟基、硫代、氨基、 C_{1-6} -烷基和 C_{1-6} -烷基氧基,其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素、羟基、氰基和 C_{1-6} -烷基氧基的一个或多个(例如,1、2或3个)基团取代;并且

A是5元或6元芳基或杂芳基基团(例如,苯基或噻唑基),其任选地被独立选自卤素、羟基、硫代、氨基、硝基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 烷基的1、2或3个基团取代。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中 R^1 选自氢、氟、甲基和乙基,其中所述甲基或乙基任选地被选自卤素、羟基、硫代或氨基的1或2个基团取代。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中 R^2 和 R^3 各自独立地选自甲基和乙基基团,所述甲基和乙基基团任选地被一个或多个氟取代。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其中 R^4 选自卤素(例如,氟)、 C_{1-3} -烷基(例如,甲基)和 C_{1-3} -烷基氧基(例如,甲氧基或乙氧基),其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素和 C_{1-3} -烷基氧基(例如,甲氧基或乙氧基)的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其中 R^5 和 R^6 各自均是氢。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中 R^4 是氟或2-甲氧基乙氧基,并且 R^5 和 R^6 是氢。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中 R^4 位于其所附接的苯环的4位(即,A取代基的对位)。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中A是苯基,其任选地被独立选自卤素、

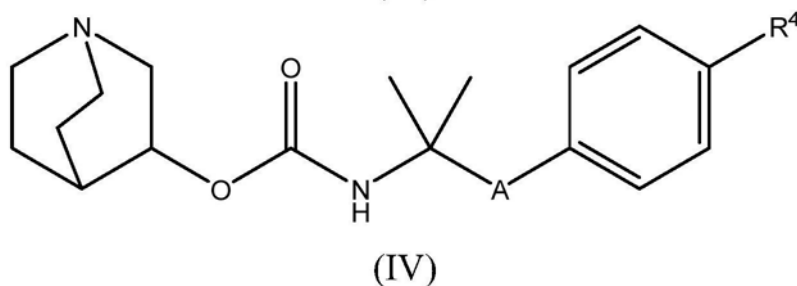
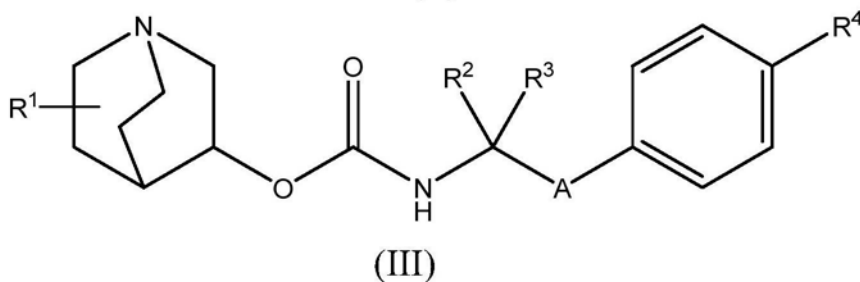
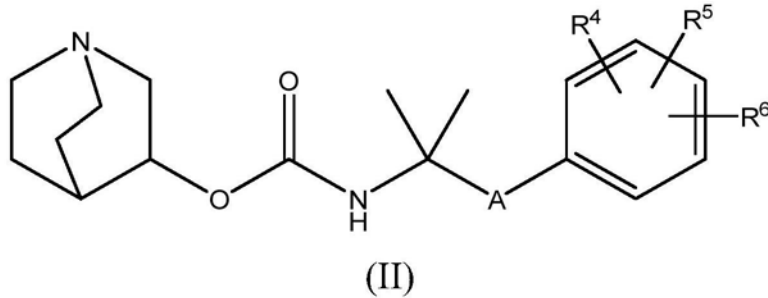
羟基、硫代、氨基、硝基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 烷基(例如,甲基)的1、2或3个基团取代。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中衔接至所述A取代基的两个基团位于彼此呈1,3-或1,4-关系(即,间位或对位)。

10. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中A是5元杂芳基基团,其含有选自N和S的1或2个杂原子。

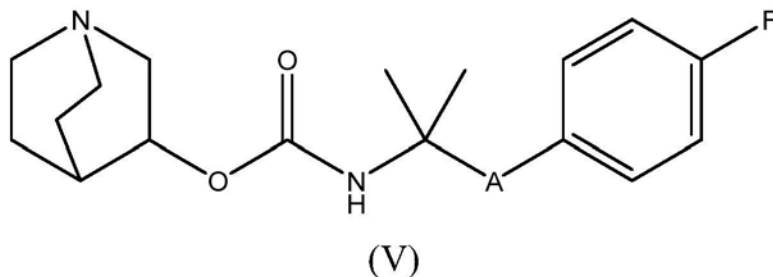
11. 根据权利要求10所述的方法,其中衔接至所述A取代基的两个基团位于彼此呈1,3-关系(即,间位)。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述化合物是式(II)、(III)或(IV)的化合物,



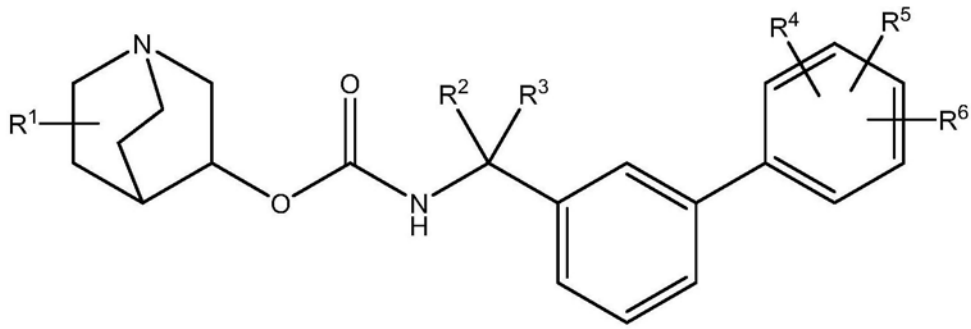
或其药学上可接受的盐或前药。

13. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述化合物是式(V)的化合物,

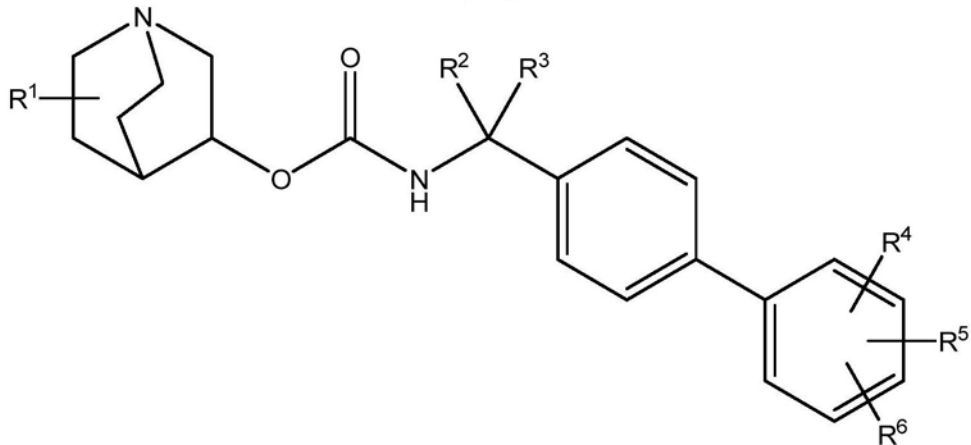


或其药学上可接受的盐或前药。

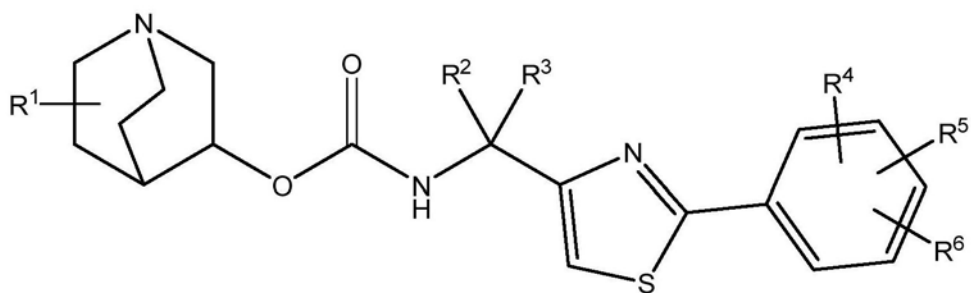
14. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述化合物是式(VI)、(VII)或(VIII)的化合物,



(VI)



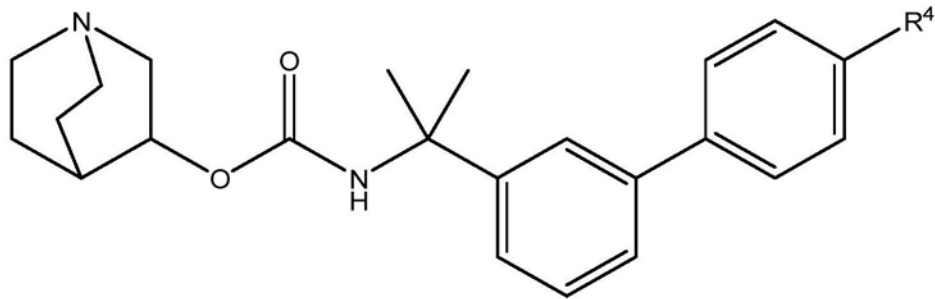
(VII)



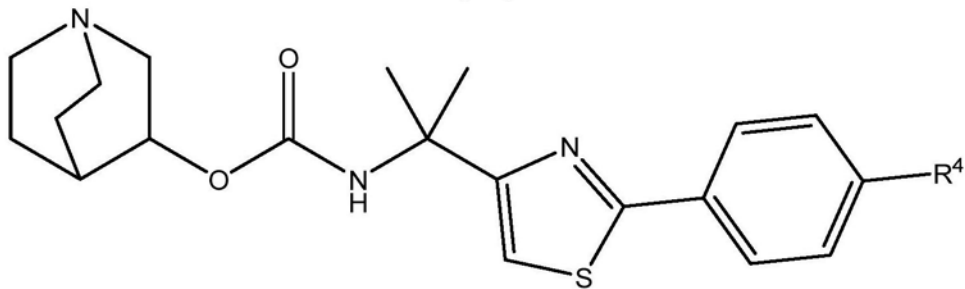
(VIII)

或其药学上可接受的盐或前药。

15. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述化合物是式(IX)或(XI)的化合物,



(IX)



(XI)

或其药学上可接受的盐或前药。

16. 根据权利要求15所述的方法, 其中R⁴是氟。

17. 根据权利要求1所述的方法, 其中所述化合物选自奎宁环-3-基(2-(4'-氟-[1,1'-联苯]-3-基)丙-2-基)氨基甲酸酯; (S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯; (S)-奎宁环-3-基(2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯; 及其药学上可接受的盐和前药。

18. 根据权利要求1所述的方法, 其中所述纤毛疾病选自朱伯特综合征全、梅克尔-格鲁伯综合征、塞-洛二氏综合征、口面指综合征I型、利伯氏先天性黑矇、巴德-比德尔综合征(BBS)、Alström综合征、莱恩窒息性胸营养不良、埃利伟综合征、森森布伦纳综合征和原发性纤毛运动障碍。

19. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是BBS。

20. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是朱伯特综合征全。

21. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是梅克尔-格鲁伯综合征。

22. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是塞-洛二氏综合征。

23. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是口面指综合征I型。

24. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是利伯氏先天性黑矇。

25. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是Alström综合征。

26. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是莱恩窒息性胸营养不良。

27. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是埃利伟综合征。

28. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是森森布伦纳综合征。

29. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述纤毛疾病是原发性纤毛运动障碍。

30. 根据权利要求1至29中任一项所述的方法, 其中所述受试者是哺乳动物, 例如人。

31. 根据权利要求1至30中任一项所述的方法, 其中将所述化合物或其药学上可接受的

盐或前药通过全身施用来施用,例如经由非肠胃外途径施用。

32. 根据权利要求31所述的方法,其中口服施用所述化合物或其药学上可接受的盐或前药。

33. 根据权利要求1至17中任一项所定义的化合物或其药学上可接受的盐或前药,所述化合物或其药学上可接受的盐或前药用于治疗受试者中的纤毛疾病的方法中。

34. 根据权利要求33所述的用于所述用途的化合物,其中所述治疗纤毛疾病的方法是根据权利要求18至32中任一项所定义的。

35. 根据权利要求1至17中任一项所定义的化合物或其药学上可接受的盐或前药在制造用于治疗受试者中的纤毛疾病的方法中的药物中的用途。

36. 根据权利要求35所述的用途,其中所述治疗纤毛疾病的方法是根据权利要求18至32中任一项所定义的。

37. 一种在被诊断为患有蛋白质病或被诊断为有风险患上蛋白质病的受试者的组织中减轻、逆转或防止蛋白质聚集物的积累的方法,其中所述蛋白质聚集物包含 τ 蛋白和/或 α -突触核蛋白,所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据权利要求1至17中任一项所定义的化合物或其药学上可接受的盐或前药。

37. 一种药物组合物,所述药物组合物包含:(i) 根据权利要求1至17中任一项所定义的化合物或其药学上可接受的盐或前药;(ii) 能够治疗或预防纤毛疾病的其他药剂;以及(iii) 药学上可接受的赋形剂。

使用葡糖神经酰胺合酶 (GCS) 的抑制剂治疗纤毛疾病

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请是要求2019年2月4日提交的美国临时申请号62/800,993和2019年5月22日提交的美国临时申请号62/851,430的优先权和权益的国际申请,将这些申请的每一个的内容通过引用以其整体特此并入。

技术领域

[0003] 本发明涉及用于使用式 (I) 的奎宁环化合物治疗纤毛疾病 (如巴德-比德尔综合征 (BBS) 和朱伯特综合征全) 的方法。

背景技术

[0004] 所述纤毛疾病是一组与编码缺陷蛋白的基因突变相关的疾病/障碍,所述缺陷蛋白导致纤毛的异常形成和功能。纤毛是体内大多数类型的细胞的组分。因此,纤毛的形成和功能的异常可以导致一系列特征,包括但不限于视网膜变性、肾脏疾病和大脑异常。由这些纤毛疾病引起的一些疾病/障碍包括朱伯特综合征全 (Joubert syndrome)、梅克尔-格鲁伯综合征 (Meckel-Gruber syndrome)、塞-洛二氏综合征 (Senior-Loken syndrome)、口面指综合征I型、利伯氏先天性黑矇 (Leber's congenital amaurosis)、巴德-比德尔综合征 (BBS)、Alström 综合征、茱恩窒息性胸营养不良 (Jeune asphyxiating thoracic dystrophy)、埃利伟综合征 (Ellis van Creveld syndrome)、森森布伦纳综合征 (Sensenbrenner syndrome)、原发性纤毛运动障碍 (也称为卡塔格内综合征) 以及一系列其他疾病和障碍。

[0005] 例如,在纤毛疾病中,BBS有很高的未满足的临床需求,并且目前尚无批准的针对BBS患者的治疗选择。BBS是一种罕见的常染色体隐性多系统遗传疾病,其在美国和北欧的患病率为1:160,000。尽管BBS可能是由至少21种不同基因中的突变引起的,但BBS1、BBS2和BBS10中的突变占大约50%的病例。影响BBS的基因是BBSome组装所必需的,BBSome是基体的组分并参与初级纤毛的形成、维持和功能。总之,初级纤毛及其锚定结构即基体对于许多关键的生物信号传导途径的正常运行是必要的。正确形成的BBSome的丧失导致纤毛的整体丧失,这表现在多种临床特征中。八种BBS蛋白 (BBS1、BBS2、BBS4、BBS5、BBS7、BBS8、BBS9和BBS18) 组装形成BBSome复合物。这些BBS蛋白的功能部分重叠,并且这与在不同BBS基因中的突变的情况下所观察到的表型相似性一致。研究已经表明,不同BBS蛋白功能的丧失可能导致相同的表型缺陷,而可以靶向多于一种BBS基因或蛋白以达到相同的治疗效果。例如,体外抑制在分化的前脂肪细胞中的BBS4、BBS10和BBS12促进脂肪形成和脂肪积累 (Marion, V等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,106 (6):1820-26 (2009);Aksanov等人,Cell Mol.Life Sci.,71 (17):3381-92 (2014))。BBS1和BBS4的丧失导致特定蛋白质的定位缺陷以及嗅觉上皮不能充分发育纤毛 (Kulaga HM等人,Nature Genetics,36 (9):944-48 (2004))。另外,BBS8的丧失再加上嗅觉感觉神经元中的纤毛丧失和纤毛相关蛋白的错误定位导致对嗅觉刺激的反应降低 (Tadenev AL等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,108 (25):10320-25 (2011))。

最后,已经发现BBS2缺失降低了主要嗅觉上皮中的腺苷酸环化酶III活性,并且在无BB1、BBS4和BBS8的小鼠中也观察到这种情况。通过葡糖神经酰胺合酶(GCS)抑制剂处理改善这种作用。

[0006] BBS的主要特征是锥体杆营养不良,伴有以夜盲症先发的儿童发作性视力丧失、轴后多指、婴儿期发生并在成年期维持的躯干性肥胖、肾脏异常和学习困难;以及许多次要特征,包括嗅觉缺失和肝脏受累。纤毛功能障碍导致正常细胞功能所需的关键信号传导途径的丧失,并且已被显示与该患者群体中的视力丧失、增加的脂肪形成和摄食过量直接相关。迄今为止,尚未鉴定出明显的基因型-表型相关性(参见Haws R.等人, *New Horizons in Translational Medicine*, 2015, 2:102-109)。BBS的当前护理标准是临床症状的管理以及对患者和护理人员的支持性关照。

[0007] 由于在BBS中可能有许多不同的基因进行突变,因此很难通过诸如基因疗法和寡核苷酸治疗剂等治疗方式靶向BBS。针对BBS的嗅觉和视网膜缺陷的基因疗法努力仅取得了一定的成功。在ORPK小鼠模型中,腺病毒介导的IFT88表达恢复嗅觉上皮中的纤毛并改善嗅觉反应(McIntyre等人, *Nature Med.*, 18(9):1423-28(2012))。在BBS1突变小鼠中进行的类似研究显示,AAV介导的野生型BBS1递送恢复了嗅觉感觉神经元中的纤毛并恢复了嗅觉反应。然而,这些感觉神经元的60至90天的周转再加上无法进行AAV基因疗法载体的多次施用,限制了这种方法的应用。另外,这种鼻内递送仅到达暴露于嗅觉上皮的顶端表面的细胞,而未到达较深的未成熟神经元(Williams CL等人, *Molecular Therapy*, 25(4):904-916(2017))。

[0008] BBS的遗传异质性将需要纠正每个单独的遗传缺陷,因此必须确定每个单独的基因特异性治疗剂的剂量和毒性。相反,无论遗传病变如何,位于BBS之下的纤毛缺陷的靶向表示一种能够改善BBS的多种表现的治疗方式。

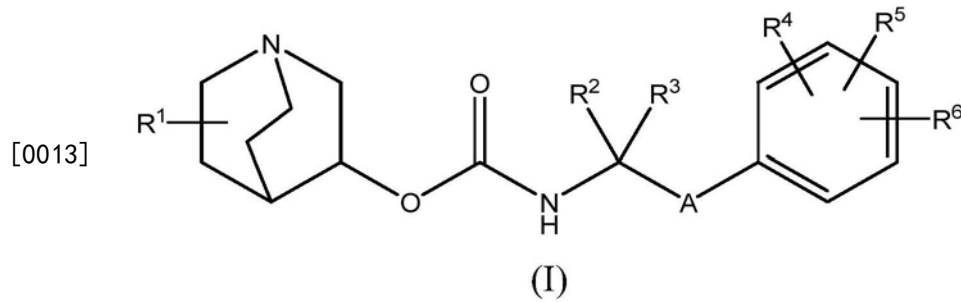
[0009] 鞘脂和鞘糖脂是对于调节重要的细胞过程(包括分化、增殖、衰老和细胞间相互作用)至关重要的关键生物活性分子。它们也是纤毛结构的核心成分,并且它们有助于纤毛信号传导。神经节苷脂GM1和GM3是上皮细胞的顶膜内不同的脂质微区的特征,并且已知神经酰胺在中心体/中心粒周(perio centriolar)细胞区室中富集。神经酰胺还调节初级纤毛的形成,并且最近的工作表明纤毛长度可以通过纤毛基底的大小或神经酰胺含量及其到纤毛的脂质通量来调节(Janich P.等人, *FEBS Letters*, 581(-):1783-1787(2007))。

[0010] 本文所述的奎宁环化合物具有作为酶即葡糖神经酰胺合酶(GCS)的抑制剂的活性。此类化合物可用于治疗病症,包括溶酶体贮积病(如戈谢病(例如W0 2012/129084))、蛋白质病(如阿尔茨海默病(例如W0 2016/145046))和囊性疾病(如多囊性肾病(例如W0 2014/152215))。已经表明,奎宁环化合物可以通过降低糖脂水平(例如在戈谢病的情况下)或通过降低蛋白质聚集(例如在阿尔茨海默病的情况下)或通过细胞凋亡(例如在有多囊性肾病的情况下)在这些治疗中起作用。先前并没有报道这些奎宁环化合物对纤毛的作用(例如对与纤毛疾病相关的异常纤毛的作用)。

[0011] 在本领域中确实需要研发有效地减轻或管理与纤毛疾病、特别是诸如BBS和朱伯特综合征全的纤毛疾病相关的症状的治疗剂。还特别需要研发有效地治疗纤毛疾病的潜在病理生理学的治疗剂。

发明内容

[0012] 本发明涉及一种根据式 (I) 的奎宁环化合物 (化合物1),



[0014] 或其药学上可接受的盐或前药,其中:

[0015] R^1 选自氢、卤素(例如,氟)、氰基、硝基、羟基、硫代、氨基、 C_{1-6} -烷基(例如,甲基或乙基)、 C_{2-6} -烯基、 C_{2-6} -炔基、 C_{1-6} -烷基氧基、 C_{2-6} -烯基氧基和 C_{2-6} -炔基氧基,其中所述烷基、烯基、炔基、烷基氧基、烯基氧基或炔基氧基任选地被选自卤素、氰基、硝基、羟基、硫代或氨基的一个或多个(例如,1、2或3个)基团取代;

[0016] R^2 和 R^3 独立地选自 C_{1-3} -烷基,所述烷基任选地被一个或多个(例如,1、2或3个)卤素取代,或者 R^2 和 R^3 一起形成环丙基或环丁基基团,所述环丙基或环丁基基团任选地被一个或多个(例如,1或2个)卤素取代;

[0017] R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、卤素、硝基、羟基、硫代、氨基、 C_{1-6} -烷基和 C_{1-6} -烷基氧基,其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素、羟基、氰基和 C_{1-6} -烷基氧基的一个或多个(例如,1、2或3个)基团取代;并且

[0018] A是5元或6元芳基或杂芳基基团,其任选地被独立选自卤素、羟基、硫代、氨基、硝基、 C_{1-6} 烷氧基或 C_{1-6} 烷基的1、2或3个基团取代。

[0019] 在第一个方面,本申请提供了一种用于治疗有需要的受试者中的纤毛疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的如本文所述的奎宁环化合物,例如根据式I的化合物。在第二个方面,本申请提供了一种用于治疗患有纤毛疾病的受试者中的选自肥胖、肝病、视网膜变性、嗅觉功能障碍、高脂血症、2型糖尿病和代谢综合征的疾病或障碍的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的如本文所述的奎宁环化合物,例如根据式I的化合物。在第三个方面,本申请提供了一种用于保留或改善有需要的受试者、任选地患有纤毛疾病的受试者中的纤毛功能的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的如本文所述的奎宁环化合物,例如根据式I的化合物。

[0020] 从以下详细描述中将清楚本文所公开的化合物、组合物和方法的另外的特征和优点。

附图说明

[0021] 图1A涉及Wt和Bbs2^{-/-}永生肾上皮细胞中纤毛长度的定量。

[0022] 图1B涉及在Wt和Bbs2^{-/-}永生肾上皮细胞中GSL定位的免疫荧光分析。

[0023] 图1C涉及采用化合物1的治疗对Wt和Bbs2^{-/-}永生肾上皮细胞中的纤毛长度和GM3纤毛水平的影响。

[0024] 图2涉及在Wt中和在用化合物1治疗后的Bbs2^{-/-}小鼠模型中对多个不同组织中的

葡糖神经酰胺 (GlcCer或GL1) 水平的的影响。

[0025] 图3A涉及如在Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠中从1月龄至6月龄测量的代谢参数(包括食物消耗量、体重、身体脂肪百分比和血清瘦素)的变化。

[0026] 图3B涉及Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和从1月龄至6月龄用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠的代表性H&E染色的白色脂肪组织(顶部)和脂肪细胞体积的定量(底部)。

[0027] 图3C涉及Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和从1月龄至6月龄用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠的白色脂肪组织中促脂肪形成基因的mRNA分析。

[0028] 图4A涉及用化合物1短期治疗对如在患有已建立的代谢疾病的Bbs2^{-/-}小鼠(从4月龄至6月龄的小鼠)中测量的包括体重、身体脂肪百分比和血清瘦素在内的代谢参数的影响。

[0029] 图4B涉及来自Wt小鼠、患有已建立的代谢疾病的Bbs2^{-/-}小鼠(从4月龄至6月龄的小鼠)和在短期治疗(从4个月到6个月)中用化合物1治疗的患有已建立的代谢疾病的Bbs2^{-/-}小鼠的代表性H&E染色的白色脂肪组织和脂肪细胞体积的定量。

[0030] 图5涉及Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和用在饮食中的化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠的下丘脑中的纤毛的分析。

[0031] 图6涉及如在Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和从1月龄至6月龄用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠中测量的包括肝脏重量、血清ALT和血清甘油三酯在内的肝脏参数的变化。

[0032] 图7A涉及在Wt小鼠和Bbs2^{-/-}小鼠中通过光学相干断层扫描对外核层(ONL)厚度的分析。

[0033] 图7B涉及Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和从1月龄至6月龄用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠的外核层(ONL)/内核层(INL)比率的分析。

[0034] 图7C涉及Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和从1月龄至6月龄用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠的眼睛切片中的对于视杆和视锥所特有的视紫红质(顶部)和视锥抑制蛋白(底部)的表达的分析。

[0035] 图8A涉及用于测量Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和从1月龄至6月龄用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠发现埋藏的甜食的等待期时间的体内埋藏甜食测试的结果。

[0036] 图8B涉及Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和从1月龄至6月龄用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠的鼻腔切片中纤毛的标记物乙酰化微管蛋白的分析。

[0037] 图8C涉及Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和从1月至6月龄用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠的鼻腔切片中气味信号传导的标记物腺苷酸环化酶III的分析。

[0038] 图9涉及Wt小鼠、Bbs2^{-/-}小鼠和从1月至6月龄用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}小鼠的鼻腔切片中主要嗅觉上皮(MOE)的细胞层标记物,即水平基底细胞(CK14,细胞角蛋白14)、球状基底细胞和支持细胞(Sox2, SRY-Box 2)、未成熟神经元(Dcx, 双皮质素)和成熟神经元(OMP, 嗅觉标记物蛋白)的分析。

[0039] 图10A涉及人脂肪细胞分化的体外测定,其显示出在用siRNA敲低BBS1、BBS2和BBS10基因后成熟脂肪细胞中脂质(球)的积累。

[0040] 图10B涉及人脂肪细胞分化的体外测定,其显示出在敲低BBS基因后在脂肪细胞条件培养基中的瘦素浓度较高。

[0041] 图10C涉及人脂肪细胞分化的体外测定,其显示出通过用化合物1(1.25-10 μ M)治

疗对脂质(球)积累的剂量依赖性影响。

[0042] 图10D涉及人脂肪细胞分化的体外测定,其显示出通过用化合物1(1.25-10 μ M)治疗对瘦素分泌的剂量依赖性影响。

具体实施方式

[0043] 尽管本公开文本的特定的实施方案现在将参考制备和方案进行描述,但是应当理解,此类实施方案仅通过举例的方式,并且仅对可以表示本公开文本的原理的应用的许多可能的特定的实施方案中的少量进行说明。考虑到本公开文本的益处,多种变化和修饰对于本领域技术人员来说将是显而易见的,并且如在所附权利要求中进一步定义的,所述多种变化和修饰被认为是在本公开文本的精神和范围内。

[0044] 定义

[0045] 除非另外定义,否则本文所用的全部技术和科学术语具有与本公开文本所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的意义。尽管在本发明的实施和测试中可以使用任何类似于或等同于本文中所述那些的方法和材料,但现在描述示例性的方法、装置和材料。本文所引用的全部技术和专利公开的全部内容通过引用并入本文。本文的任何内容都不应解释为承认本发明因在先发明而无权早于此类披露内容。

[0046] 除非另有指示,否则本公开文本的实践将采用组织培养、免疫学、分子生物学、微生物学、细胞生物学和重组DNA的常规技术,这些在本领域的技能之内。

[0047] 所有数字标记,例如,pH、温度、时间、浓度、分子量(包括范围)都是近似值,其在适当的情况下改变(+)或(-)0.1或1.0的增量。应理解,尽管不总是明确说明,所有数字名称前面具有术语“约”。还应理解,尽管不总是明确说明,本文描述的试剂仅是示例性的并且其等效物为本领域所知。

[0048] 如本文所用,术语“任选地取代”意在等同于短语“未取代或取代”。

[0049] 如本文所用,短语“在治疗或预防……的方法中”(如在短语“在治疗或预防疼痛的方法中”中)意在等同于短语“在治疗或预防……中”(如在短语“在治疗或预防疼痛中”中)。

[0050] 除非上下文另有明确指示,否则如说明书和权利要求中所用,单数形式“一个/一种(a/an)”以及“所述(the)”包括复数指示物。例如,术语“细胞”包括多个细胞,包括其混合物。除非具体说明或从上下文明显看出,如本文所用,术语“或”应理解为包含在内。术语“包括”在本文中用于意指短语“包括但不限于”并且可与其互换使用。

[0051] 如本文所用,术语“包含”(“comprising”或“comprise”)旨在表示组合物和方法包括所列举的元素,但不排除其他要素。当用于定义组合物和方法时,“基本上由……组成”应意指排除对所述目的组合具有任何重要意义的其他元素。因此,如本文所定义的基本上由元素组成的组合物将不排除来自分离和纯化方法的痕量污染物和药学上可接受的载体(如磷酸盐缓冲盐水)、防腐剂等。“由……组成”将意指排除超过微量的其他成分的元素以及用于施用本发明的组合物的实质方法步骤或用于产生组合物或实现预期结果的过程步骤。由这些过渡术语中的每一个定义的实施方案都在本发明的范围内。本文中的术语“包含”的使用旨在涵盖“基本上由……组成”和“由……组成”。

[0052] 术语“纤毛疾病”是指以纤毛功能障碍为特征的疾病。“纤毛功能障碍”意指异常的纤毛形成和/或功能,包括异常的纤毛位置。纤毛功能障碍可能影响纤毛的细胞外和/或细

胞内部分,并且其特征可能在于结构和/或功能不规则。

[0053] “受试者”、“个体”或“患者”在本文中可互换使用,并且是指脊椎动物,如哺乳动物。哺乳动物包括但不限于鼠、大鼠、兔、猿、牛、绵羊、猪、犬、猫科动物、农场动物、运动动物、宠物、马、灵长类动物和人。在一个实施方案中,所述哺乳动物包括马、狗和猫。在一个实施方案中,所述哺乳动物是人。

[0054] “施用”在本文中被定义为以导致药剂存在于受试者体内的方式向所述受试者提供所述药剂或含有所述药剂的组合物的手段。这种施用可以通过任何途径,包括但不限于口服、透皮(例如阴道、直肠、口腔粘膜)、通过注射(例如皮下、静脉内、肠胃外、腹膜内进入CNS)或通过吸入(如口服或经鼻)。当然,通过适合于每种施用途径的形式给予药物制剂。

[0055] 疾病的“治疗”(“Treating”或“treatment”)包括:(1)抑制疾病,即阻止或减少疾病或其临床症状的发展;和/或(2)缓解疾病,即引起疾病或其临床症状的消退。

[0056] 疾病的“预防”(“Preventing”或“prevention”)包括使疾病的临床症状在可能易感染疾病但尚未经历或显示疾病症状的患者中不发展。

[0057] 与术语“治疗”相关的术语“患有”是指被诊断患有疾病的患者或个体。与术语“预防”相关的术语“患有”是指易感染疾病的患者或个体。由于其家族谱系中的疾病史或由于存在与疾病相关的基因突变,患者也可能被称为“有风险患上”疾病。处于疾病风险中的患者尚未患上疾病的全部或一些特征性病状。

[0058] “有效量”或“治疗有效量”是足以产生有益或期望结果的量。可以在一次或多次施用、施加或剂量中施用有效量。这种递送取决于许多变量,包括单独剂量单位所使用的时间段、治疗剂的生物利用度和施用途径。然而,应当理解,本发明的治疗剂对于任何特定受试者的特定剂量水平取决于多种因素,包括例如所使用的特定化合物的活性、受试者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食、施用时间、排泄率、药物组合以及所治疗的特定障碍的严重程度和施用形式。通常可以对治疗剂量进行滴定以优化安全性和功效。典型地,来自体外和/或体内测试的剂量-效应关系最初可以提供对于患者施用的适当剂量的有用指导。通常,人们希望施用的化合物的量可有效地达到这样的血清水平,所述血清水平与所发现的在体外有效的浓度相称。这些参数的确定完全在本领域的技术范围内。这些考虑因素以及有效的配制品和施用程序在本领域中是熟知的,并在标准教科书中进行了描述。与该定义一致,如本文所用,术语“治疗有效量”是离体、体外或体内足以治疗(例如改善)与纤毛疾病相关的一种或多种症状的量。

[0059] 如本文所用,术语“药学上可接受的赋形剂”涵盖任何标准药物赋形剂,包括载体如磷酸盐缓冲盐水溶液、水和乳液(如油/水或水/油乳液)以及各种类型的润湿剂。药物组合物还可以包含稳定剂和防腐剂。关于载体、稳定剂和佐剂的例子,参见Remington's Pharmaceutical Sciences(第20版,Mack Publishing Co.2000)。

[0060] 如本文所用,术语“前药”意指母体药物分子的药理学衍生物,其需要在生物体内自发或酶促地进行生物转化以释放活性药物。例如,前药是本文所述的奎宁环化合物的变体或衍生物,所述变体或衍生物具有在某些代谢条件下可切割的基团,在被切割时成为本文所述的奎宁环化合物,例如,式I的化合物。当此类前药在生理条件下进行溶剂分解或进行酶促降解时,它们在体内具有药学活性。本文的前药化合物可以被称为单、双、三重的等,这取决于在生物体内释放活性药物所需的生物转化步骤的数量以及以前体类型形式存在

的官能团的数量。前药形式通常在哺乳动物生物体中提供溶解度、组织相容性或延迟释放的优势。

[0061] 本领域通常已知的前药包括熟知的酸衍生物,例如像由酸化合物与合适的醇反应制备的酯、由酸化合物与胺反应制备的酰胺、以及碱性基团反应以形成酰化的碱衍生物。其他前药衍生物可以与本文公开的其他特征组合以增加生物利用度。因此,本领域技术人员将理解,本发明公开的某些具有例如游离氨基或羟基基团的化合物可以转化为前药。前药包括具有氨基酸残基或两个或更多个(例如,两个、三个或四个)氨基酸残基的多肽链的化合物,所述氨基酸残基通过肽键与本发明公开的化合物的游离氨基、羟基或羧酸基团共价连接。所述氨基酸残基包括通常由三个字母符号指定的20种天然存在的氨基酸,并且还包括4-羟脯氨酸、羟赖氨酸、锁链赖氨酸(demosine)、异锁链赖氨酸、3-甲基组氨酸、正缬氨酸(norvalin)、 β -丙氨酸、 γ -氨基丁酸、瓜氨酸、同型半胱氨酸、同型丝氨酸、鸟氨酸和甲硫氨酸。前药还包括具有与本文公开的以上任何取代基共价键合的碳酸酯、氨基甲酸酯、酰胺或烷基酯部分的化合物。

[0062] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”意指当前公开的化合物的药学上可接受的酸加成盐或药学上可接受的碱加成盐,所述盐可以被施用而不产生任何一种或多种实质性不希望的生物作用或不产生与可能含有它的药物组合物的任何其他组分的任何一种或多种有害相互作用。

[0063] 如本文所用,术语“ C_{1-6} -烷基”意指基本上由1至6个碳原子和相应数量的氢原子组成的饱和直链或支链自由基。示例性的 C_{1-6} -烷基基团包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基和异丁基。考虑到本公开文本的有益效果,其他 C_{1-6} -烷基基团对于本领域技术人员来说将是显而易见的。术语“ C_{1-3} -烷基”、“ C_{1-4} -烷基”等具有等同的含义,即,基本上由1至3个(或4个)碳原子和相应数量的氢原子组成的饱和直链或支链自由基。

[0064] 如本文所用,术语“ C_{2-6} -烯基”意指基本上由2至6个碳原子和相应数量的氢原子组成的不饱和直链或支链自由基,所述自由基包含至少一个碳-碳双键。示例性的 C_{2-6} -烯基基团包括乙烯基、丙-1-烯基、丙-2-烯基、异丙烯基、丁-1-烯基、2-甲基-丙-1-烯基和2-甲基-丙-2-烯基。考虑到本公开文本的有益效果,其他 C_{2-6} -烯基基团对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0065] 如本文所用,术语“ C_{2-6} -炔基”意指基本上由2至6个碳原子和相应数量的氢原子组成的不饱和直链或支链自由基,所述自由基包含至少一个碳-碳三键。示例性的 C_{2-6} -炔基基团包括乙炔基、丙-1-炔基、丙-2-炔基、丁-1-炔基和3-甲基-丁-1-炔基。考虑到本公开文本的有益效果,其他 C_{2-6} -炔基基团对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0066] 如本文所用,术语“ C_{1-6} -烷基氧基”意指基本上由1至6个碳原子(和相应数量的氢原子)和氧原子组成的饱和直链或支链自由基。 C_{1-6} -烷基氧基基团经由氧原子附接。示例性的 C_{1-6} -烷基氧基基团包括甲基氧基、乙基氧基、正丙基氧基、异丙基氧基、正丁基氧基和异丁基氧基。考虑到本公开文本的有益效果,其他 C_{1-6} -烷基氧基基团对于本领域技术人员来说将是显而易见的。术语“ C_{1-3} -烷基氧基”、“ C_{1-4} -烷基氧基”等具有等同的含义,即基本上由1至3个(或4个)碳原子(和相应数量的氢原子)和氧原子组成的饱和直链或支链自由基,其中所述基团经由氧原子附接。

[0067] 如本文所用,术语“ C_{2-6} -烯基氧基”意指基本上由2至6个碳原子(和相应数量的氢

原子)和氧原子组成的不饱和直链或支链自由基,所述自由基包含至少一个碳-碳双键。 C_{2-6} -烯基氧基基团经由氧原子附接。示例性的 C_{2-6} -烯基氧基基团是乙烯基氧基;考虑到本公开文本的有益效果,其他的对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0068] 如本文所用,术语“ C_{2-6} -炔基氧基”意指基本上由2至6个碳原子(和相应数量的氢原子)和氧原子组成的不饱和直链或支链自由基,所述自由基包含至少一个碳-碳三键。 C_{2-6} -烯基氧基基团经由氧原子附接。示例性的 C_{2-6} -烯基氧基基团是乙炔基氧基;考虑到本公开文本的有益效果,其他的对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0069] 如本文所用,术语“杂芳基”意指具有形成环的5或6个原子(即,环原子)的芳族自由基,其中1至5个环原子是碳并且剩余的1至5个环原子(即,一个或多个杂环原子)独立地选自氮、硫和氧。示例性的5元杂芳基基团包括呋喃基、噻吩基、噻唑基(例如噻唑-2-基)、吡唑基、异噻唑基、噁唑基、异噁唑基、吡咯基、三唑基、咪唑基、噁二唑基和噻二唑基。示例性的6-元杂芳基基团包括吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、1,2,4-三嗪基、苯并噁唑基、苯并异噻唑基、苯并异噁唑基和苯并咪唑基。其他杂芳基基团对于本领域技术人员来说将是显而易见的。通常,杂芳基基团典型地经由碳原子附接至主要结构。然而,本领域技术人员将意识到某些其他原子(例如,杂环原子)可以附接至主结构。

[0070] 如本文所用,术语“芳基”意指具有形成环的5或6个原子(即环原子)的芳族自由基,其中所有环原子都是碳。示例性的芳基是苯基基团。

[0071] 如本文所用,术语“脂肪族”意指含有碳和氢原子例如含有1至9个碳原子的非芳族化合物。脂肪族化合物可以是直链或支链的,可以含有一个或多个环结构,并且可以含有一个或多个碳-碳双键(条件是所述化合物不含有具有芳族特征的不饱和环结构)。脂肪族化合物的例子包括乙烷、丙烯、环丁烷和环己二烯。

[0072] 如本文所用,术语“卤基”和“卤素”意指氟、氯、溴或碘。这些术语可互换使用,并且可以指卤素自由基基团或卤素原子本身。在本公开文本中使用此术语的上下文的情况下本领域技术人员将能够容易地确定其身份。

[0073] 如本文所用,术语“氰基”意指具有经由三键与氮原子连接的碳原子的自由基。氰基自由基经由其碳原子附接。

[0074] 如本文所用,术语“硝基”意指经由其氮原子附接的 $-NO_2$ 自由基。

[0075] 如本文所用,术语“羟基”(“hydroxy”和“hydroxyl”)意指经由其氧原子附接的 $-OH$ 自由基。术语“硫代”意指经由其硫原子附接的 $-SH$ 自由基。

[0076] 如本文所用,术语“氨基”意指具有氮原子和1或2个氢原子的自由基。因此,术语“氨基”通常是指伯胺和仲胺。在这方面,如本文所用,叔胺由通式 $RR'N-$ 表示,其中R和R'是可以相同或可以不相同的碳自由基。然而,术语“氨基”通常可以在本文中用于描述伯胺、仲胺、或叔胺,并且在本公开文本中使用此术语的上下文的情况下本领域技术人员将能够容易地确定所述氨基的身份。

[0077] 如本文所用,术语“氧代”意指经由双键附接的氧自由基。当与该氧键合的原子是碳原子时,所述键是碳-氧双键,其可以表示为 $-(C=O)-$,并且可以称为酮。

[0078] 在本文对变量的任何定义中的化学基团列表的引用包括该变量作为任何单个基团或所列基团的组合的定义。本文中对于变量或方面的实施方案的引用包括作为任何单个实施方案或与任何其他实施方案或其部分的组合的该实施方案。

[0079] 本文提供的任何组合物或方法可以与本文提供的任何其他组合物和方法中的一种或多种组合。

[0080] 本文使用以下缩写：

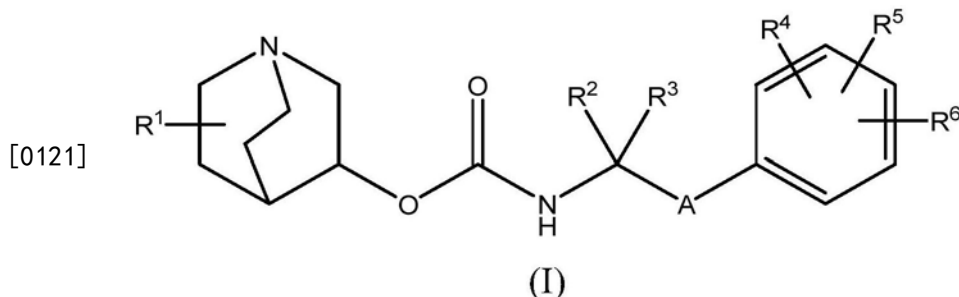
[0081]	br	广泛信号
[0082]	CDI	羰基二咪唑
[0083]	CNS	中枢神经系统
[0084]	d	双峰
[0085]	DAPI	4',6-二脒基-2-苯基吲哚
[0086]	dd	双二重峰
[0087]	DME	二甲氧基乙烷
[0088]	DMEM	杜尔贝科改良伊格尔培养基
[0089]	DMSO-d6	二甲基亚砷-d6
[0090]	DMF	二甲基甲酰胺
[0091]	DNA	脱氧核糖核酸
[0092]	DTBZ	碳-11二氢丁苯那嗪
[0093]	EDTA	乙二胺四乙酸
[0094]	ELISA	酶联免疫吸附测定
[0095]	Et ₂ O	乙醚
[0096]	EtMgBr	乙基溴化镁
[0097]	EtOAc	乙酸乙酯
[0098]	GL1	葡萄糖神经酰胺 (GlcCer)
[0099]	GM1	单唾液酸四己糖神经节苷脂
[0100]	GM3	单唾液酸二己糖神经节苷脂
[0101]	GSL	鞘糖脂
[0102]	H&E	苏木精和伊红染色
[0103]	HPLC	高压/高效液相色谱
[0104]	HSA	人血清白蛋白
[0105]	IPA	异丙醇
[0106]	J	耦合常数
[0107]	LCMS	液相色谱质谱法
[0108]	m	多重峰
[0109]	ppm	百万分率
[0110]	rHA	重组人白蛋白
[0111]	s	单峰
[0112]	TBME	叔丁基甲基醚
[0113]	THF	四氢呋喃
[0114]	Tris	三(羟基甲基)氨基甲烷
[0115]	TWEEN20	聚山梨酯20
[0116]	TWEEN80	聚山梨酯80

[0117] Wt 野生型

[0118] UPLCMS 超高效液相色谱质谱法

[0119] 化合物

[0120] 本发明涉及用于与纤毛疾病有关的治疗方法中的奎宁环化合物。在其所有各个方面，本发明涉及一种根据式 (I) 的奎宁环化合物 (化合物1)，



[0122] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0123] R^1 选自氢、卤素 (例如，氟)、氰基、硝基、羟基、硫代、氨基、 C_{1-6} -烷基 (例如，甲基或乙基)、 C_{2-6} -烯基、 C_{2-6} -炔基、 C_{1-6} -烷基氧基、 C_{2-6} -烯基氧基和 C_{2-6} -炔基氧基，其中所述烷基、烯基、炔基、烷基氧基、烯基氧基或炔基氧基任选地被选自卤素、氰基、硝基、羟基、硫代或氨基的一个或多个 (例如，1、2或3个) 基团取代；

[0124] R^2 和 R^3 独立地选自 C_{1-3} -烷基，所述烷基任选地被一个或多个 (例如，1、2或3个) 卤素取代，或者 R^2 和 R^3 一起形成环丙基或环丁基基团，所述环丙基或环丁基基团任选地被一个或多个 (例如，1或2个) 卤素取代；

[0125] R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、卤素、硝基、羟基、硫代、氨基、 C_{1-6} -烷基和 C_{1-6} -烷基氧基，其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素、羟基、氰基和 C_{1-6} -烷基氧基的一个或多个 (例如，1、2或3个) 基团取代；并且

[0126] A 是 5 元或 6 元芳基或杂芳基基团 (例如，苯基或噻唑基)，其任选地被独立选自卤素、羟基、硫代、氨基、硝基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 烷基的 1、2 或 3 个基团取代。

[0127] 在本发明的任何方面的其他实施方案中，本公开文本还涉及如下化合物：

[0128] 1.1 化合物 1，其中 R^1 选自氢、卤素、氰基、硝基、羟基、硫代、氨基、 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷基氧基，其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素、氰基、硝基、羟基、硫代或氨基的一个或多个 (例如，1、2或3个) 基团取代；

[0129] 1.2 化合物 1，其中 R^1 选自氢、卤素、 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷基氧基，其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素、氰基、硝基、羟基、硫代或氨基的一个或多个 (例如，1、2或3个) 基团取代；

[0130] 1.3 化合物 1，其中 R^1 选自氢、卤素、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷基氧基，其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素、氰基、硝基、羟基、硫代或氨基的一个或多个 (例如，1、2或3个) 基团取代；

[0131] 1.4 化合物 1，其中 R^1 选自氢、卤素、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷基氧基，其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自氰基、硝基、羟基、硫代或氨基的一个或多个 (例如，1、2或3个，或者 1 或 2 个) 基团取代；

[0132] 1.5 化合物 1，其中 R^1 选自氢、卤素和 C_{1-4} -烷基，其中所述烷基任选地被选自卤素、

羟基、硫代或氨基的一个或多个(例如,1或2个)基团取代;

[0133] 1.6化合物1,其中 R^1 选自氢、氟、甲基和乙基,其中所述甲基或乙基任选地被选自卤素、羟基、硫代或氨基的1或2个基团取代;

[0134] 1.7化合物1,其中 R^1 选自氢和甲基,其中所述甲基任选地被1或2个卤素取代;

[0135] 1.8化合物1,其中 R^1 是氢;

[0136] 1.9化合物1或1.1-1.8中的任一种,其中 R^1 不附接至奎宁环部分的氮原子;

[0137] 1.10化合物1或1.1-1.9中的任一种,其中 R^2 和 R^3 各自独立地是 C_{1-3} -烷基,所述烷基任选地被一个或多个(例如,1、2或3个)卤素取代;

[0138] 1.11化合物1.11,其中 R^2 和 R^3 各自独立地是甲基或乙基,所述甲基或乙基任选地被1或2个卤素取代;

[0139] 1.12化合物1.11,其中 R^2 和 R^3 各自独立地选自甲基和乙基,所述甲基和乙基任选地被一个或多个氟例如1、2或4个氟取代;

[0140] 1.13化合物1.11,其中 R^2 和 R^3 各自独立地是被0、1、2或3个氟取代的甲基;

[0141] 1.14化合物1.11,其中 R^2 和 R^3 各自均是甲基或三氟甲基;

[0142] 1.15化合物1.11, R^2 和 R^3 各自均是甲基;

[0143] 1.16化合物1或1.1-1.9中的任一种,其中 R^2 和 R^3 一起形成环丙基或环丁基基团,所述环丙基或环丁基基团任选地被一个或多个(例如1或2个)卤素取代;

[0144] 1.17化合物1.16,其中 R^2 和 R^3 一起形成环丙基基团;

[0145] 1.18化合物1或1.1-1.9中的任一种,其中 R^2 和 R^3 各自均是甲基或者 R^2 和 R^3 一起形成环丙基基团;

[0146] 1.19化合物1或1.1-1.9中的任一种,其中 R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、卤素、 C_{1-6} -烷基和 C_{1-6} -烷基氧基,其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素、羟基、氰基和 C_{1-6} -烷基氧基的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0147] 1.20化合物1或1.1-1.9中的任一种,其中 R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、卤素、 C_{1-3} -烷基和 C_{1-3} -烷基氧基,其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素、羟基、氰基和 C_{1-3} -烷基氧基的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0148] 1.21化合物1.19,其中 R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、卤素、 C_{1-3} -烷基和 C_{1-3} -烷基氧基,其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素、氰基和 C_{1-3} -烷基氧基的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0149] 1.22化合物1.19,其中 R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、卤素、 C_{1-3} -烷基和 C_{1-3} -烷基氧基,其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素和 C_{1-3} -烷基氧基的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0150] 1.23化合物1.19,其中 R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自卤素、 C_{1-3} -烷基和 C_{1-3} -烷基氧基,其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素和 C_{1-3} -烷基氧基的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0151] 1.24化合物1或1.19-1.23中的任一种, R^4 选自氢、卤素、 C_{1-3} -烷基和 C_{1-3} -烷基氧基,其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素和 C_{1-3} -烷基氧基的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0152] 1.25化合物1.24, R^4 选自卤素(例如,氟)、 C_{1-3} -烷基(例如,甲基)和 C_{1-3} -烷基氧基

(例如,甲氧基或乙氧基),其中所述烷基或烷基氧基任选地被选自卤素和 C_{1-3} -烷基氧基(例如,甲氧基或乙氧基)的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0153] 1.26化合物1.26, R^4 选自卤素(例如,氟)和 C_{1-3} -烷基氧基(例如,甲氧基或乙氧基),其中所述烷基氧基任选地被选自卤素和 C_{1-3} -烷基氧基(例如,甲氧基或乙氧基)的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0154] 1.27化合物1.26, R^4 是氟或 C_{1-3} -烷基氧基(例如,乙氧基),所述烷基氧基任选地被选自卤素和 C_{1-3} -烷基氧基(例如,甲氧基)的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0155] 1.28化合物1.26,其中 R^4 是氟或任选地被一个或多个(例如1、2或3个) C_{1-3} -烷基氧基(例如,甲氧基)取代的乙氧基;

[0156] 1.29化合物1或1.19-1.28中的任一种,其中 R^6 是氢;

[0157] 1.30化合物1或1.19-1.28中的任一种,其中 R^5 和 R^6 各自均是氢;

[0158] 1.31化合物1或1.19-1.28中的任一种, R^5 和 R^6 各自均是氢,并且 R^4 是氟或 C_{1-3} -烷基氧基(例如,乙氧基),所述烷基氧基任选地被选自卤素和 C_{1-3} -烷基氧基(例如,甲氧基)的一个或多个(例如1、2或3个)基团取代;

[0159] 1.32化合物1.31,其中 R^5 和 R^6 各自均是氢,并且 R^4 是氟或任选地被一个或多个(例如1、2或3个) C_{1-3} -烷基氧基(例如,甲氧基)取代的乙氧基;

[0160] 1.33化合物1.32,其中 R^5 和 R^6 各自均是氢,并且 R^4 是氟或被甲氧基取代的乙氧基(例如,2-甲氧基乙氧基);

[0161] 1.34化合物1.32,其中 R^4 是氟或2-甲氧基乙氧基;

[0162] 1.35化合物1或1.1-1.34中的任一种,其中 R^4 、 R^5 和 R^6 中的至少一个不是氢;

[0163] 1.36化合物1或1.1-1.35中的任一种,其中 R^6 是氢,并且 R^4 和 R^5 位于它们所附接的苯环的2、4或6位(即,A取代基的邻位或对位);

[0164] 1.37化合物1或1.1-1.35中的任一种,其中 R^6 是氢,并且 R^4 和 R^5 独立地位于它们所附接的苯环的2和3位(即相邻的邻位和间位)、3和4位(即相邻的间位和对位)或3和5位(即间位)(相对于A取代基);

[0165] 1.38化合物1或1.1-1.35中的任一种,其中 R^6 是氢,并且 R^4 和 R^5 位于它们所附接的苯环的3和5位(即间位)(相对于A取代基);

[0166] 1.39化合物1或1.1-1.35中的任一种,其中 R^5 和 R^6 是氢,并且 R^4 位于其所附接的苯环的2、3或4位(例如,A取代基的邻位、间位或对位);

[0167] 1.40化合物1或1.1-1.35中的任一种,其中 R^5 和 R^6 是氢,并且 R^4 位于其所附接的苯环的2或4位(例如,A取代基的邻位或对位);

[0168] 1.41化合物1或1.1-1.35中的任一种,其中 R^5 和 R^6 是氢,并且 R^4 位于其所附接的苯环的4位(例如,A取代基的对位);

[0169] 1.42化合物1或1.1-1.35中的任一种,其中 R^4 、 R^5 和 R^6 都不是氢,并且 R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地位于其所附接的苯环的2、4或6位(即,A取代基的邻位或对位);

[0170] 1.43化合物1或1.1-1.42中的任一种,其中 R^4 位于其所附接的苯环的4位(即,A取代基的对位);

[0171] 1.44化合物1或1.1-1.43中的任一种,其中A是6元芳基、5元杂芳基基团(例如,在杂芳基环中含有选自N、O和S的1、2或3个杂原子)或6元杂芳基基团(例如,在杂芳基环中含

有1、2或3个氮原子)；

[0172] 1.45化合物1.44,其中A是6元芳基基团或5元杂芳基基团(例如,在杂芳基环中含有选自N、O和S的1、2或3个杂原子),任选地其中5元杂芳基基团含有选自N和S的1或2个杂原子(例如,一个N和/或一个S)；

[0173] 1.46化合物1.44或1.45,其中A选自苯基、呋喃基、噻吩基、噻唑基、吡唑基、异噻唑基、噁唑基、异噁唑基、吡咯基、三唑基、咪唑基、噁二唑基和噻二唑基；

[0174] 1.47化合物1.46,其中A选自苯基、噻吩基、噻唑基、吡咯基和咪唑基；

[0175] 1.48化合物1.46,其中A选自苯基和噻唑基,例如2-噻唑-4-基或4-噻唑-2-基；

[0176] 1.49化合物1或1.1-1.48中的任一种,其中A是未取代的；

[0177] 1.50化合物1或1.1-1.48中的任一种,其中A被独立地选自卤素、羟基、硫代、氨基、硝基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 烷基(例如,甲基)的一个或多个(例如,1、2或3个)基团取代；

[0178] 1.51化合物1.50,其中A是被一个卤素(例如,氟)或 C_{1-6} 烷基(例如,甲基)取代的噻唑基；

[0179] 1.52化合物1.50,其中A是被独立地选自卤素(例如,氟)和 C_{1-6} 烷基(例如,甲基)的1、2或3个基团取代的苯基；

[0180] 1.53化合物1.52,其中A是被1或2个氟或甲基基团取代的苯基；

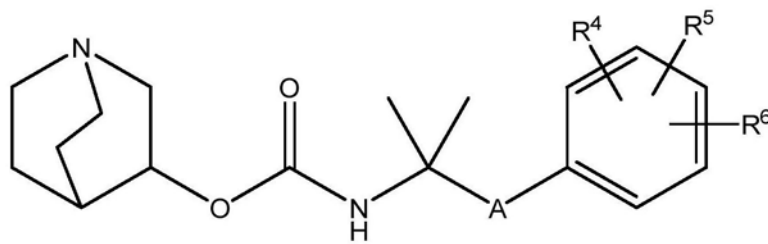
[0181] 1.54化合物1或1.1-1.53中的任一种,其中附接至A取代基的两个基团(即苯环($-C_6H_2R^4R^5R^6$))和 $-C(R^2R^3)$ -基团)位于彼此呈1,2-、1,3-或1,4-关系(即邻位、间位或对位)；

[0182] 1.55化合物1.54,其中附接至A取代基的两个基团位于彼此呈1,3-关系(即,间位)；

[0183] 1.56化合物1.54,其中附接至A取代基的两个基团位于彼此呈1,4-关系(即,对位)；

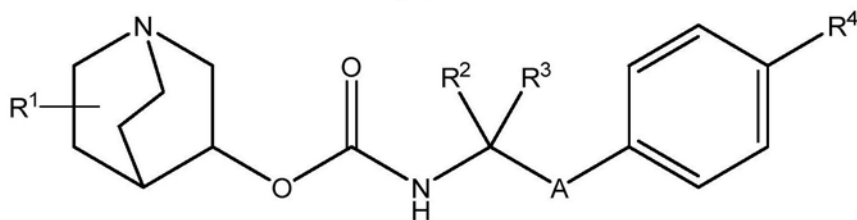
[0184] 1.57化合物1.54至1.56中的任一种,其中A取代基是5元杂芳基基团,并且附接至A取代基的两个基团中的至少一个(即,苯环($-C_6H_2R^4R^5R^6$))或 $-C(R^2R^3)$ -基团)附接至杂芳基环的碳原子,任选地其中这两个基团都附接至杂芳基环的碳原子；

[0185] 1.58化合物1或1.1-1.57中的任一种,其中式I的化合物可以由以下子结构中的任何一种或多种表示：

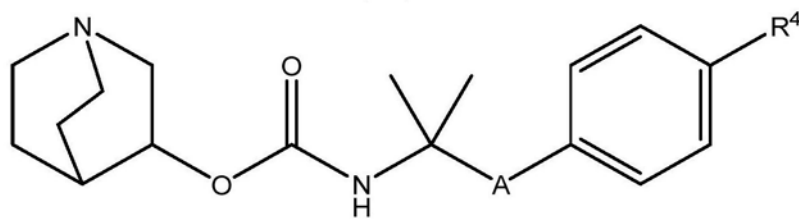


(II);

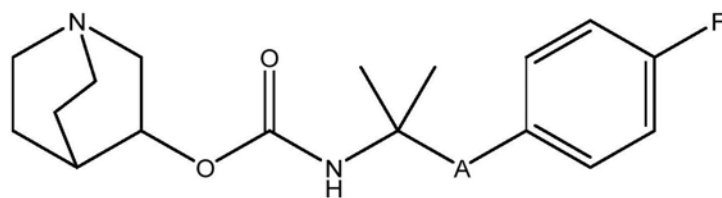
[0186]



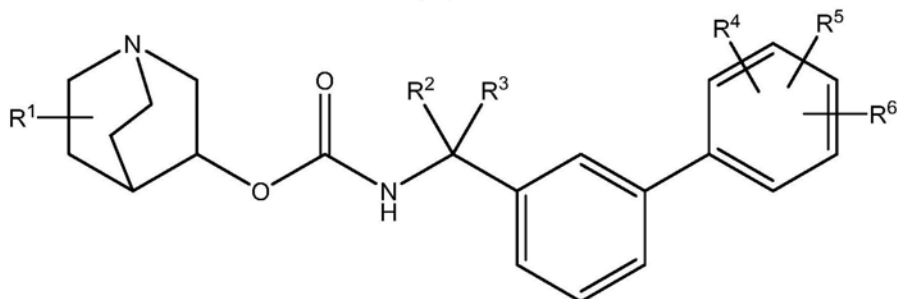
(III);



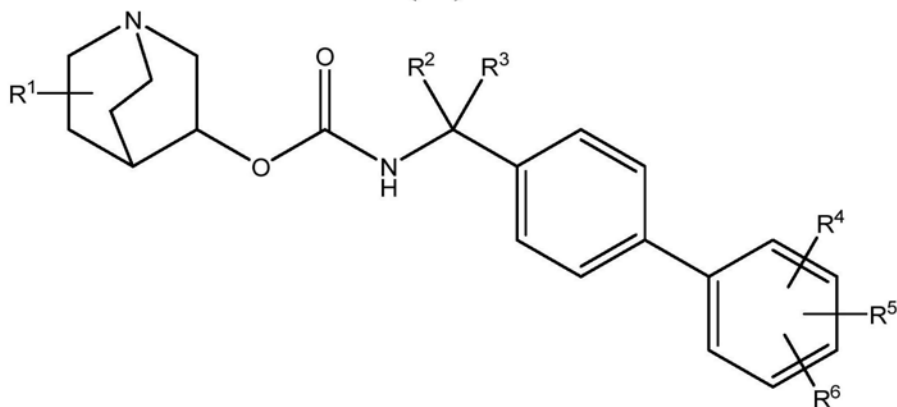
(IV);



(V);

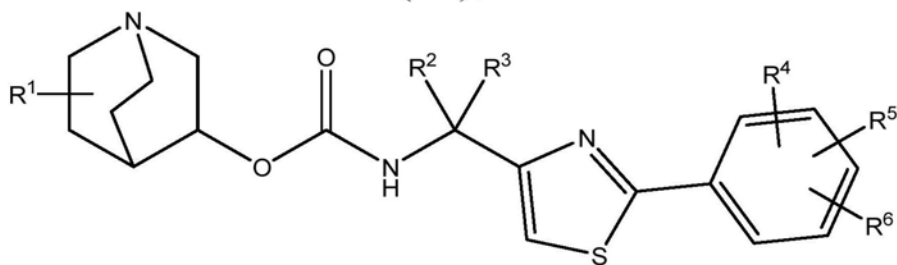


(VI);

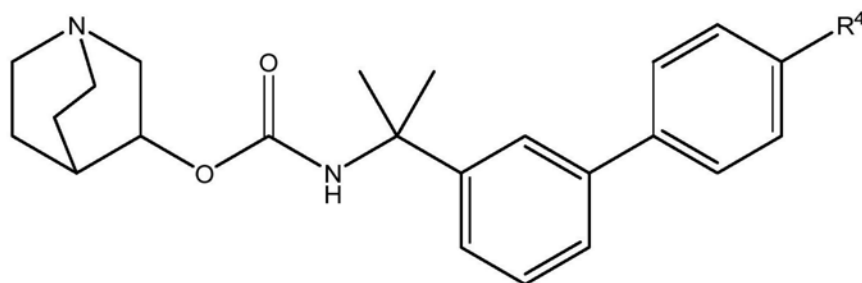


[0187]

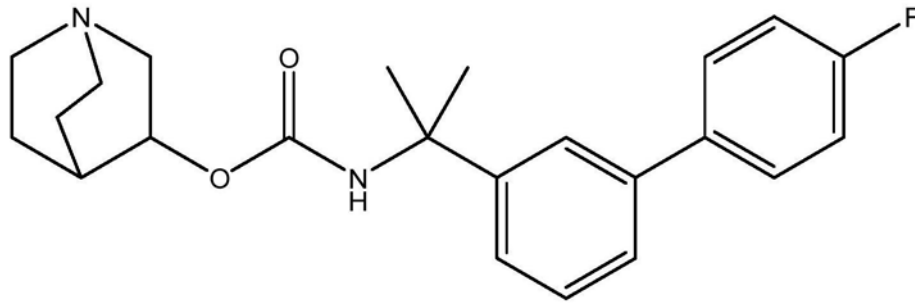
(VII);



(VIII);

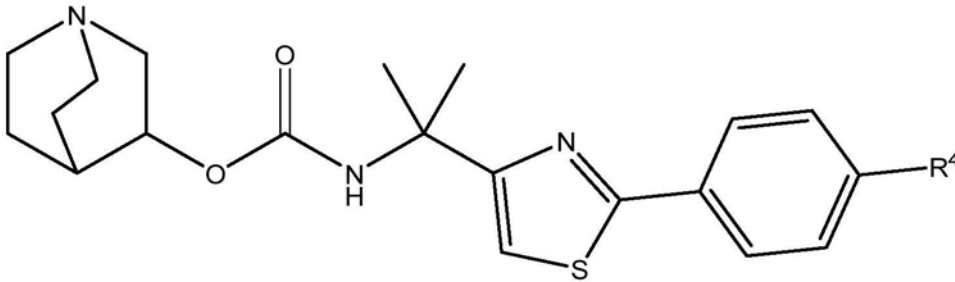


(IX);

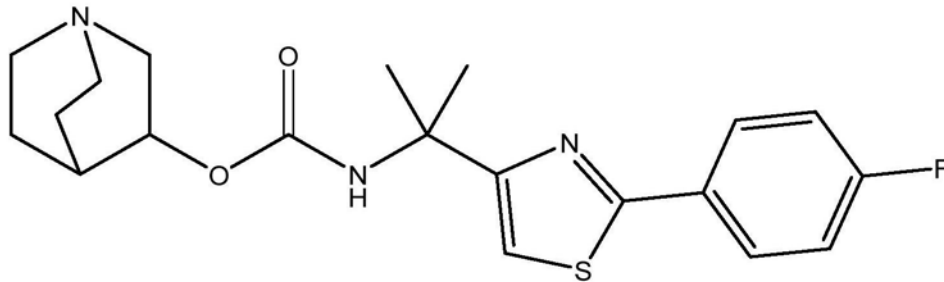


(X);

[0188]



(XI);



(XII);

[0189] 1.59化合物1或1.1-1.58中的任一种,其中式I的化合物或式II至XII中的任一种具有(S)构型;

[0190] 1.60化合物1或1.1-1.58中的任一种,其中式I的化合物或式II至XII中的任一种具有(R)构型;

[0191] 1.61化合物1或1.1-1.60中的任一种,其中式I的化合物或式II至XII中的任一种具有至少90%,例如至少92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%的对映体过量(例如,(S)构型的);

[0192] 1.62化合物1或1.1-1.58中的任一种,其中式I的化合物或式II至XII中任一种是外消旋的(即,大约50:50比率的对映体),或者是一些其他比率的对映体的混合物(例如,小于50:50或大于50:50);

[0193] 1.63化合物1或1.1-1.62中的任一种,其中式I的化合物选自:

化合物编号	化合物
1	奎宁环-3-基(2-(4'-氟-[1,1'-联苯]-3-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
2	(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
3	(S)-奎宁环-3-基(2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
4	1-氮杂双环[2.2.2]辛-3-基[2-(联苯-3-基)丙-2-基]氨基甲酸酯
5	(S)-奎宁环-3-基2-(联苯-4-基)丙-2-基氨基甲酸酯
6	奎宁环-3-基1-(联苯-4-基)环丙基氨基甲酸酯
7	(S)-奎宁环-3-基1-(4'-氟联苯-4-基)环丙基氨基甲酸酯
8	(S)-1-氮杂双环[2.2.2]辛-3-基[1-(2',4'-di氟联苯-4-基)环丙基]氨基甲酸酯
9	1-氮杂双环[2.2.2]辛-3-基[1-(4'-甲氧基联苯-4-基)环丙基]氨基甲酸酯
10	奎宁环-3-基2-(5-(4-氟苯基)噻吩-3-基)丙-2-基氨基甲酸酯
11	(S)-奎宁环-3-基2-(3-(4-氟苯基)异噻唑-5-基)丙-2-基氨基甲酸酯
12	(S)-奎宁环-3-基2-(4-(4-氟苯基)噻唑-2-基)丙-2-基氨基甲酸酯
13	奎宁环-3-基(2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
14	(S)-奎宁环-3-基(2-(3'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
15	奎宁环-3-基(2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
16	奎宁环-3-基(2-(4'-(3-甲氧基丙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
17	奎宁环-3-基(2-(4'-(羟甲基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
18	奎宁环-3-基(2-(4'-(2-羟乙基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
19	奎宁环-3-基(2-(2-(4-(3-甲氧基丙氧基)苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
20	奎宁环-3-基(2-(2-(4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
21	奎宁环-3-基2-(5-(4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)吡啶-2-基)丙-2-基氨基甲酸酯
22	奎宁环-3-基(2-(4'-(3-氟基丙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯
23	奎宁环-3-基(2-(4'-(氟基甲氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯

[0194]

[0195] 1.64化合物1或1.1-1.63中的任一种,其中所述化合物选自奎宁环-3-基(2-(4'-氟-[1,1'-联苯]-3-基)丙-2-基)氨基甲酸酯、(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-

基)丙-2-基)氨基甲酸酯和(S)-奎宁环-3-基(2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯;

[0196] 1.65化合物1或1.1-1.63中的任一种,其中所述化合物是奎宁环-3-基(2-(4'-氟-[1,1'-联苯]-3-基)丙-2-基)氨基甲酸酯;

[0197] 1.66化合物1或1.1-1.63中的任一种,其中所述化合物是奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯;

[0198] 1.67化合物1或1.1-1.66中的任一种,其中式I的化合物或II至XII中的任一种呈游离碱形式;

[0199] 1.68化合物1或1.1-1.66中的任一种,其中式I的化合物或II至XII中的任一种呈药学上可接受的盐形式;

[0200] 1.69化合物1.68,其中所述盐形式是酸加成盐形式;

[0201] 1.70化合物1.69,其中所述酸加成盐形式是选自以下的盐:盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘化物、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸性磷酸盐、乙酸盐、乳酸、柠檬酸盐、酸性柠檬酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、羟基琥珀酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、糖酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐和帕莫酸盐(pamoate);

[0202] 1.71化合物1.70,其中所述酸加成盐形式选自盐酸盐、羟基琥珀酸盐(例如,2-羟基琥珀酸盐)和苹果酸盐;

[0203] 1.72化合物1.68,其中所述盐形式是碱加成盐形式;

[0204] 1.73化合物1或1.1-1.72中的任一种,其中所述化合物是呈苹果酸盐形式的(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯;

[0205] 1.74化合物1或1.1-1.73中的任一种,其中式I的化合物或II至XII中的任一种呈如本文所述的前药的形式;

[0206] 1.75化合物1或1.1-1.74中的任一种,其中式I的化合物或II至XII中的任一种呈水合物、溶剂化物和/或多晶型物的形式。

[0207] 盐

[0208] 在自然界中为碱性的本发明公开的化合物(例如,化合物1或1.1-1.75中的任一种)通常能够与各种无机酸和/或有机酸形成多种不同的盐。虽然此类盐对于施用至动物和人而言通常是药学上可接受的,但在实践中往往希望首先从反应混合物分离化合物为药学上不可接受的盐,然后通过用碱性试剂处理简单地将后者转化回为游离碱化合物,并随后将游离碱转化为药学上可接受的酸加成盐。可以使用常规技术容易地制备碱化合物的酸加成盐,例如通过在水性溶剂介质中或在合适的有机溶剂(例如像甲醇或乙醇)中用基本上等量的所选择的矿物酸或有机酸处理碱化合物。小心蒸发溶剂后,获得所需的固体盐。本发明公开的带正电荷的化合物(例如含有季铵)还可以与各种无机酸和/或有机酸的阴离子组分形成盐。

[0209] 可用于制备奎宁环化合物的药学上可接受的盐的酸是可以形成无毒酸加成盐的那些,所述无毒酸加成盐是例如含有药理学上可接受的阴离子的盐,如氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸盐或硫酸氢盐、磷酸盐或酸性磷酸盐、乙酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐或酸性柠檬酸盐、酒石酸盐或酒石酸氢盐、琥珀酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、糖酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐和帕莫酸盐[即1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐)]盐。

[0210] 本发明公开的在自然界中为酸性的化合物(例如含有硫醇部分的化合物)通常能够与各种无机碱和/或有机碱形成多种不同的盐。虽然此类盐对于施用至动物和人而言通常是药学上可接受的,但在实践中往往希望首先从反应混合物分离化合物为药学上不可接受的盐,然后通过用酸性试剂处理简单地将后者转化回为游离酸化合物,并随后将游离酸转化为药学上可接受的碱加成盐。可以使用常规技术容易地制备这些碱加成盐,例如通过用含有所需的药理学上可接受的阳离子的水溶液处理相应的酸性化合物,然后将所得溶液例如在减压下蒸发至干。可替代地,也可以通过以下方法来制备它们:将酸性化合物的低级烷醇溶液和所需的碱金属醇盐混合在一起,然后以与之前相同的方式将所得溶液蒸发至干。在任何一种情况下,为了确保反应的完成和所需固体盐的最大产物产率,都可以使用化学计量量的试剂。

[0211] 可用于制备奎宁环化合物的药学上可接受的碱加成盐的碱是可形成无毒碱加成盐的那些,所述无毒碱加成盐是例如含有药理学上可接受的阳离子(如碱金属阳离子(例如钾和钠)、碱土金属阳离子(例如钙和镁))的盐、铵盐或其他水溶性胺加成盐(如N-甲基葡萄糖胺(葡甲胺)、低级烷醇铵和其他此类有机胺碱)。

[0212] 在一个实施方案中,所述药学上可接受的盐是琥珀酸盐。在另一个实施方案中,所述药学上可接受的盐是2-羟基琥珀酸盐,例如(S)-2-羟基琥珀酸盐。在另一个实施方案中,所述药学上可接受的盐是盐酸盐(即具有HCl的盐)。在另一个实施方案中,所述药学上可接受的盐是苹果酸盐。

[0213] 前药

[0214] 本公开文本还包括化合物1和1.1-1.75的前药。本文公开的药学上可接受的前药是奎宁环化合物的衍生物,其可以在体内转化为本文所述的奎宁环化合物。本身可能具有一些活性的前药在它们经历例如生理条件下的溶剂分解或经历酶促降解时在体内变得具有药学活性。基于本公开文本,用于制备如本文所述的化合物的前药的方法对于本领域技术人员而言将是清楚的。

[0215] 在一个实施方案中,所述奎宁环化合物的氨基甲酸酯部分被修饰。例如,可以通过添加水和/或一种或两种脂肪族醇来修饰奎宁环化合物的氨基甲酸酯部分。在这种情况下,氨基甲酸酯部分的碳-氧双键采用的是可被认为是半缩醛或缩醛官能团的官能团。在一个实施方案中,可以通过添加脂肪族二醇(如1,2-乙二醇)来修饰奎宁环化合物的氨基甲酸酯部分。

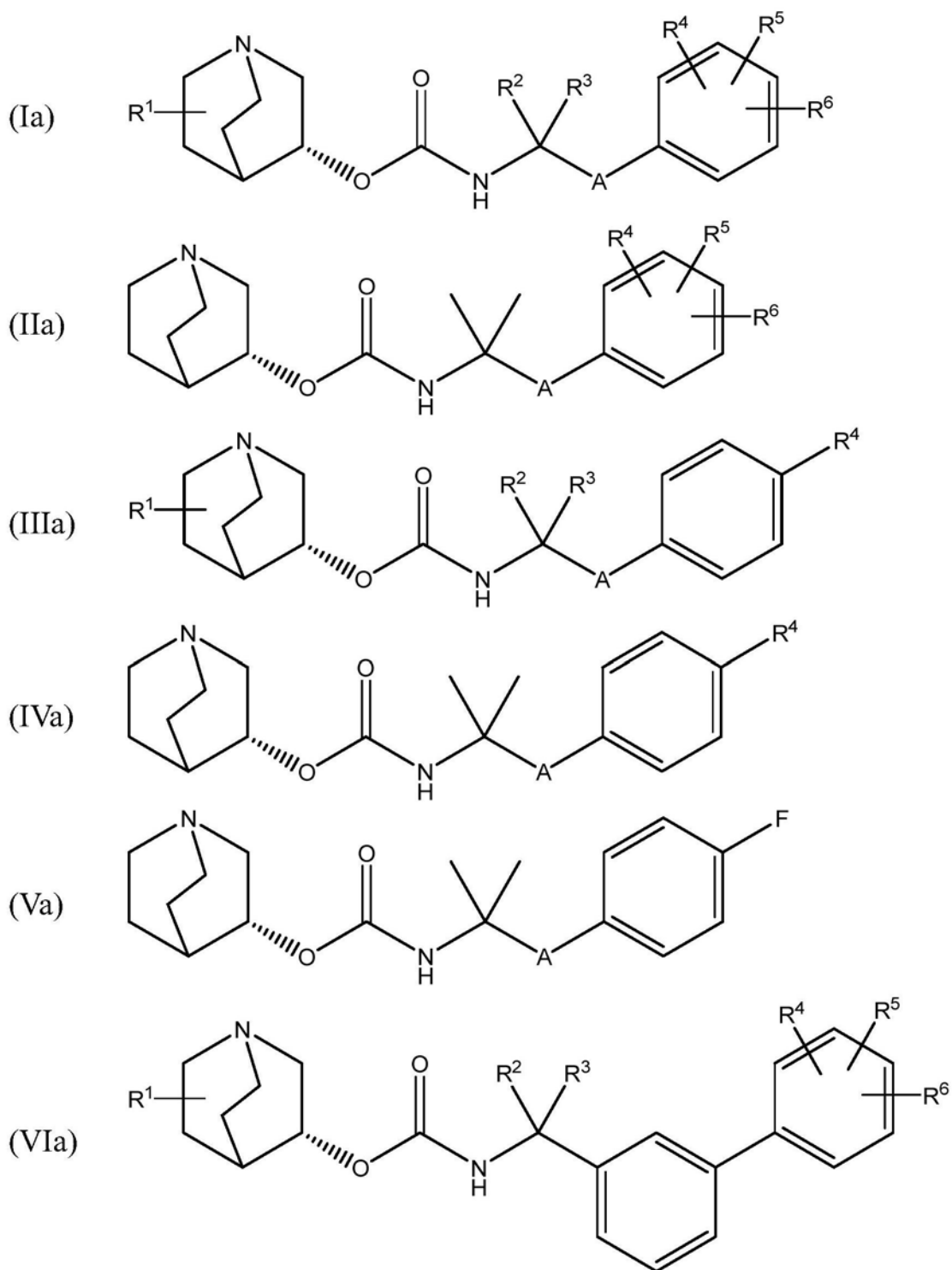
[0216] 在一个实施方案中,所述奎宁环化合物上的羟基、硫代或氨基基团中的一个或多个被修饰。例如,所述奎宁环化合物上的羟基、硫代和/或氨基基团中的一个或多个可以被修饰以形成酸衍生物,例如酯、硫酯(或硫醇酯)和/或酰胺。所述酸衍生物可以例如通过使包含一个或多个羟基、硫代或氨基基团的奎宁环化合物与乙酰化剂反应而形成。乙酰化剂的例子包括酸酐(如乙酸酐)、酸性氯化物(如苄基氯)和二碳酸酯(如二碳酸二叔丁酯)。

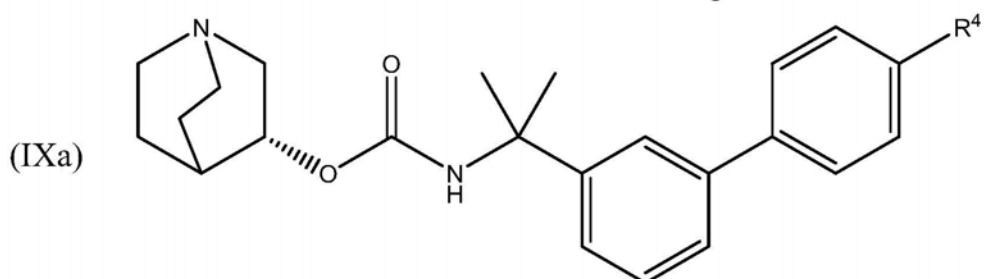
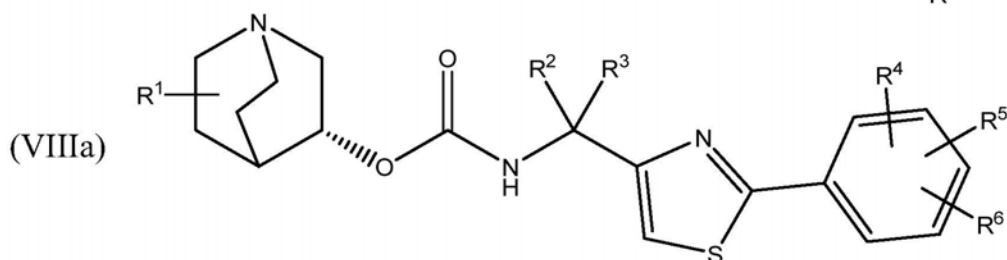
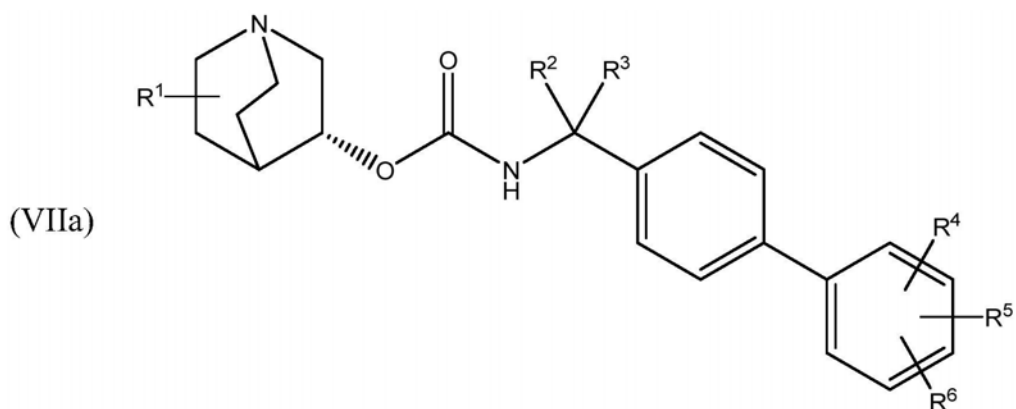
[0217] 立体化学

[0218] 本公开文本还包括化合物1和1.1-1.75的立体异构体和立体异构体的混合物。本发明公开的化合物的立体异构体(例如顺式和反式异构体)和所有光学异构体(例如R-和S-对映体)以及此类异构体的外消旋、非对映和其他混合物都在本公开文本的范围内。

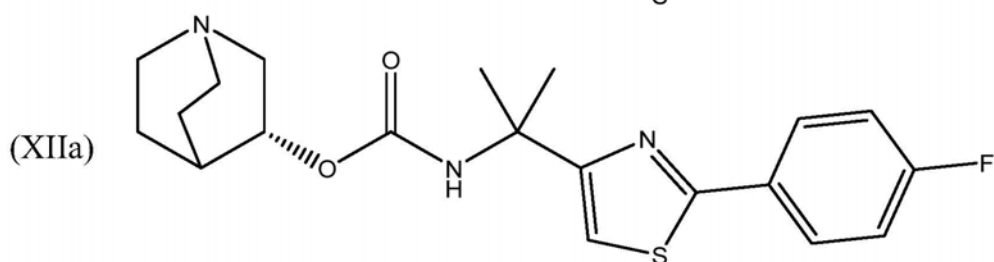
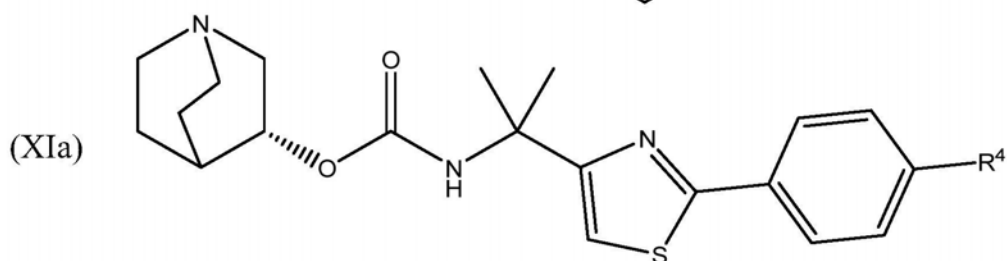
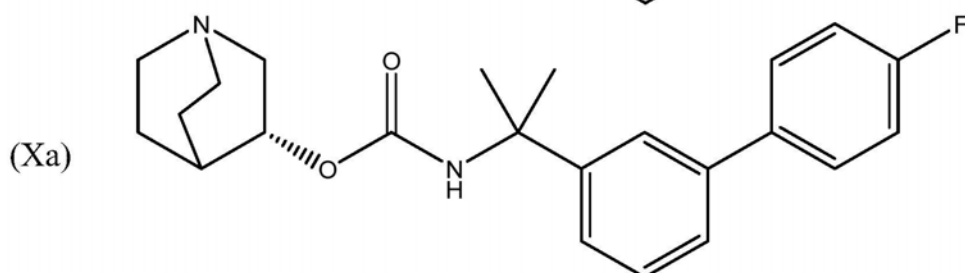
[0219] 在一个实施方案中,如本文定义的奎宁环化合物的奎宁环-3-基基团具有R-构型。

因此,所述奎宁环化合物可以选自式 (Ia) 至 (XIIa) 的化合物:





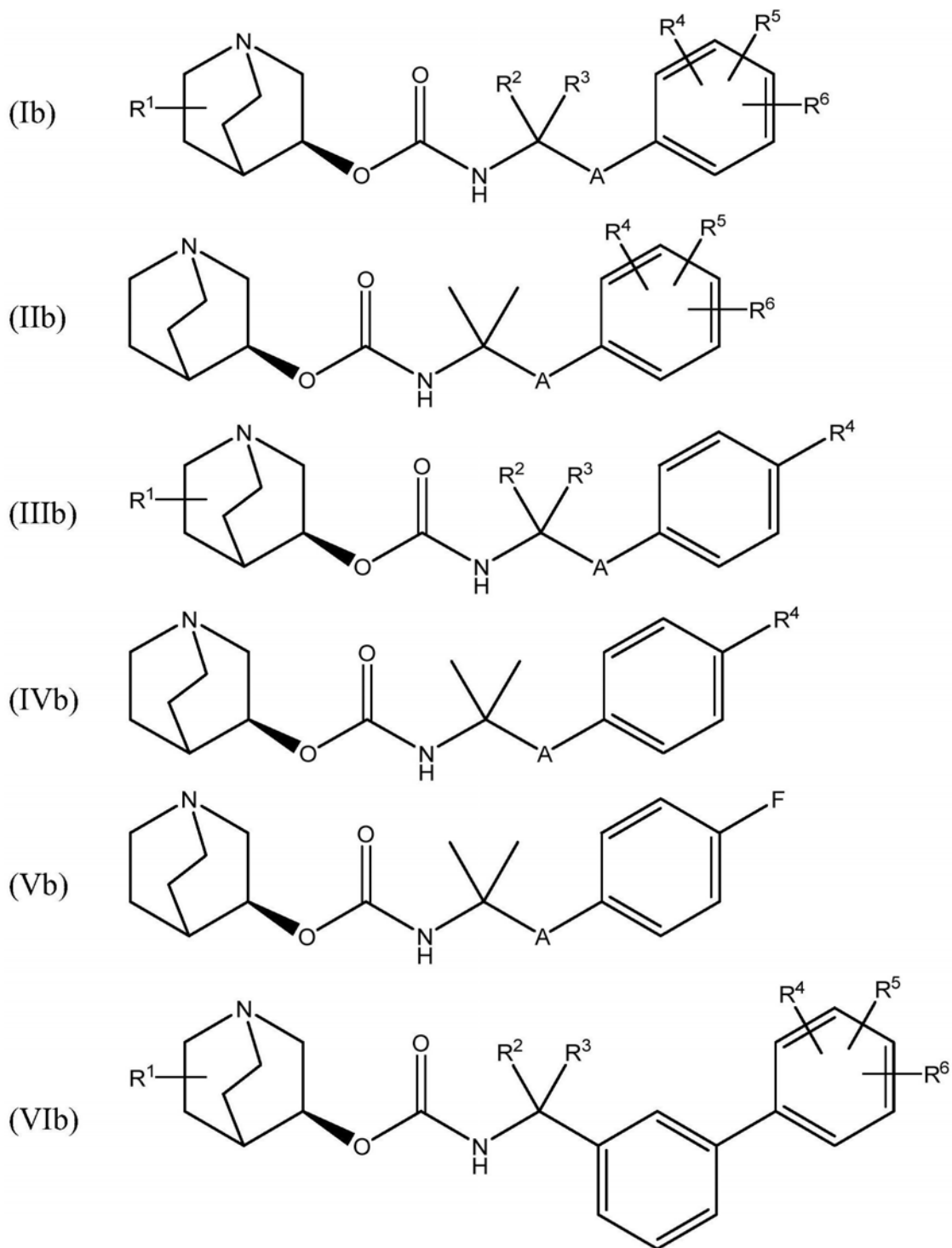
[0221]

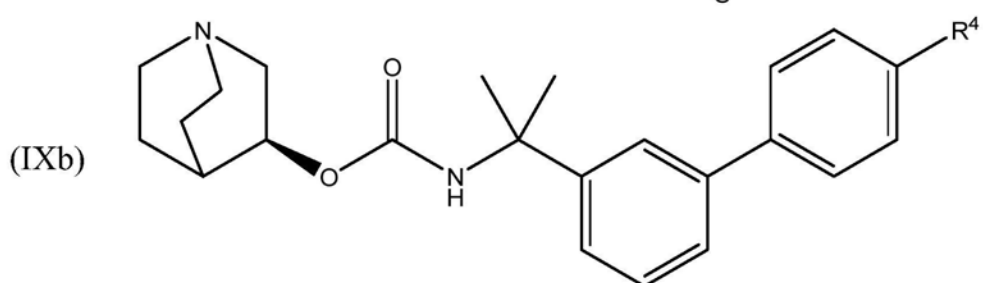
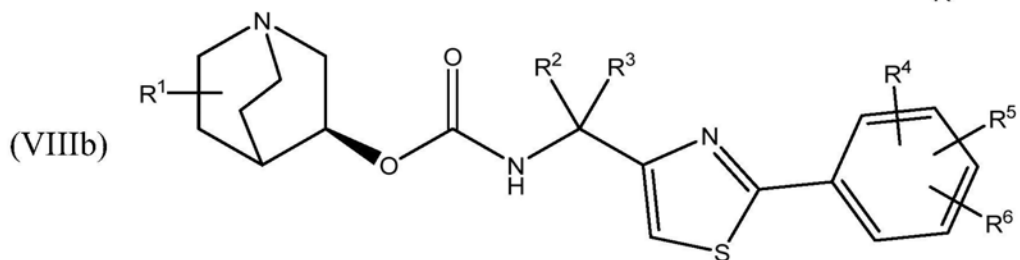
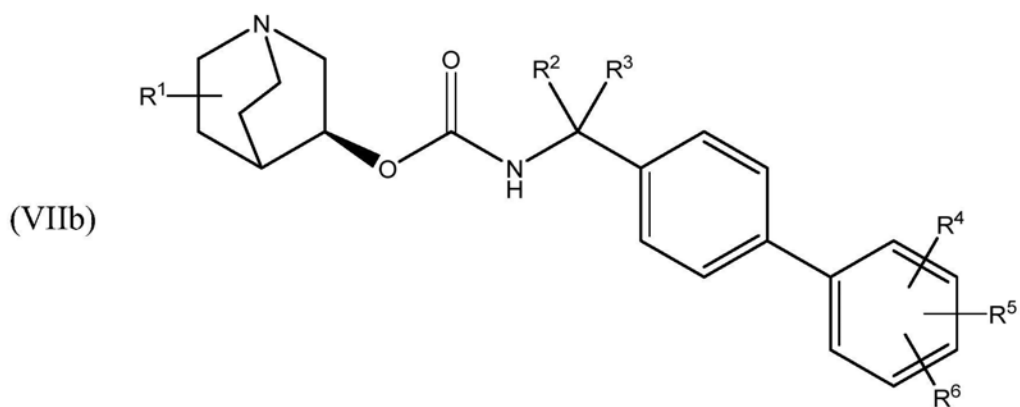


[0222] 及其药学上可接受的盐和前药。

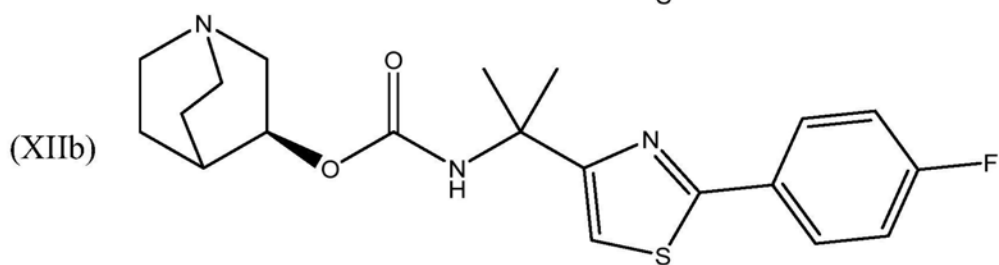
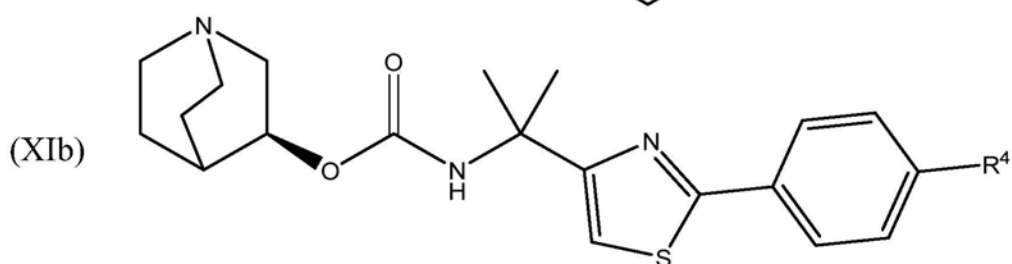
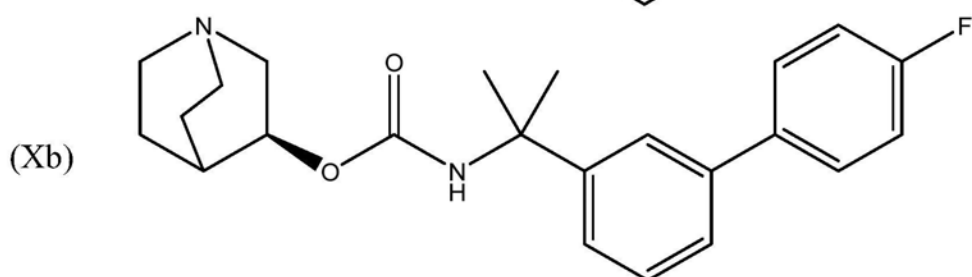
[0223] 在另一个实施方案中,如本文定义的奎宁环化合物的奎宁环-3-基基团具有S-构

型。因此,所述奎宁环化合物可以选自式 (Ib) 至 (XIb) 的化合物:





[0225]



[0226] 及其药学上可接受的盐和前药。

[0227] 在一个实施方案中,所述奎宁环化合物是式 (Xb) 的化合物或其药学上可接受的盐

或前药。在另一个实施方案中,所述奎宁环化合物是式(XIIb)的化合物或其药学上可接受的盐或前药。

[0228] 在一个实施方案中,如本文定义的奎宁环化合物的奎宁环-3-基基团存在于具有R-和S-构型的异构体的混合物中。例如,所述奎宁环化合物可以是选自以下项的化合物的混合物:式(Ia)和(Ib)、(IIa)和(IIb)、(IIIa)和(IIIb)、(IVa)和(IVb)、(Va)和(Vb)、(VIa)和(VIb)、(VIIa)和(VIIb)、(VIIIa)和(VIIIb)、(IXa)和(IXb)、(Xa)和(Xb)、(XIa)和(XIb)、以及(XIIa)和(XIIb)的化合物及其药学上可接受的盐和前药。在一个实施方案中,所述奎宁环化合物以外消旋混合物的形式存在,例如奎宁环-3-基基团的R-和S-异构体以大约相等的量存在。在另一个实施方案中,所述奎宁环化合物以具有R-和S-构型的异构体的混合物存在,其中所述R-和S-异构体以不同的量存在。在一个实施方案中,所述S-异构体以至少约5%、10%、25%、40%、70%、80%、90%、95%、97%、98%或99%(例如约100%)的对映体过量存在。在另一个实施方案中,所述R-异构体以至少约5%、10%、25%、40%、70%、80%、90%、95%、97%、98%或99%(例如约100%)的对映体过量存在。

[0229] 基于本公开文本,用于制备对映体富集和/或对映体纯的奎宁环化合物的方法对于本领域技术人员将是清楚的。

[0230] 本发明公开的化合物可以以若干种互变异构体形式存在,包括烯醇和亚胺形式、以及酮和烯胺形式以及几何异构体及其混合物。互变异构体以溶液中互变异构体集合的混合物形式存在。在固体形式中,通常一种互变异构体占主导地位。即使可以描述一种互变异构体,但所有互变异构体都在本公开文本的范围内。

[0231] 阻转异构体也在本公开文本的范围内。阻转异构体是指可以分离为旋转受限异构体的化合物。

[0232] 其他形式

[0233] 本公开文本还包括化合物1和1.1-1.75的水合物、溶剂化物和多晶型物。本文所述的奎宁环化合物的药学上可接受的水合物、溶剂化物和多晶型物在本公开文本的范围内。如本文所述的奎宁环化合物可以呈无定形的形式和/或一种或多种结晶形式。

[0234] 同位素标记的化合物也在本公开文本的范围内。如本文所用,“同位素标记的化合物”是指包括各自如本文所述的其药学盐和前药在内的本发明公开的化合物,其中一个或多个原子被原子质量或质量数不同于通常在自然界中发现的原子质量或质量数的原子替代。可以掺入本发明公开的化合物中的同位素的例子包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,分别例如²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F和³⁶Cl。

[0235] 医学适应症

[0236] 本文所述的奎宁环化合物和含有它们的药物组合物可用于疗法中,特别是用于受试者中的纤毛疾病的治疗性治疗中。有待于根据本文所述的方法进行治疗的受试者包括脊椎动物,如哺乳动物。在特定实施方案中,所述哺乳动物是人患者。

[0237] 在第一个方面,本发明提供了一种用于治疗有需要的受试者中的纤毛疾病的方法(方法1),所述方法包括向所述受试者施用有效量的如本文所述的奎宁环化合物,例如根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1或1.1至1.75中的任一种。还提供了一种如本文所述的奎宁环化合物(例如根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1或1.1至1.75中的任一种),其用于治疗受试者中

的纤毛疾病的方法中,例如用于方法1或1.1-1.62中的任一种中。还提供了如本文所述的奎宁环化合物(例如根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1或1.1至1.75中的任一种)在制造用于治疗受试者中的纤毛疾病的方法中的药物中的用途,例如在制造用于方法1或1.1-1.62中的任一种中的药物中的用途。

[0238] 在方法1的特定进一步实施方案中,本公开文本提供:

[0239] 1.1方法1,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1中的任一种或1.1至1.75中的任一种;

[0240] 1.2方法1,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的化合物1或者化合物1.1至1.75中的任何一种或多种;

[0241] 1.3方法1或1.1-1.2中的任一种,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1中的任一种或者1.1-1.75中的任一种;

[0242] 1.4方法1或1.1-1.2中的任一种,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含化合物1或者化合物1.1至1.75中的任何一种或多种;

[0243] 1.5方法1.3或1.4,其中所述药物组合物还包含至少一种如本文所述的药学上可接受的赋形剂;

[0244] 1.6方法1或1.1-1.5中的任一种,其中所述方法包括施用包含有效量的所述化合物或有效量的所述药物组合物的药物剂型;

[0245] 1.7方法1.6,其中所述剂型是口服剂型(例如,药丸、胶囊、片剂、糖衣丸、粉末、颗粒、膜剂、锭剂或液体);

[0246] 1.8方法1.7,其中所述剂型为咀嚼片;

[0247] 1.9方法1.6,其中所述剂型是肠胃外剂型(例如,其中所述药物组合物被配制用于注射);

[0248] 1.10方法1.9,其中所述注射是静脉内、肌内、鞘内或皮下注射,任选地是无菌注射;

[0249] 1.11方法1.6,其中所述剂型是局部或直肠剂型;

[0250] 1.12方法1.6,其中所述剂型是鼻内剂型(例如,气雾剂);

[0251] 1.13方法1或1.1至1.12中的任一种,其中所述方法还包括同时施用第二活性剂,例如,如本文所述能够治疗或预防有需要的患者中的纤毛疾病的第二化合物;

[0252] 1.14方法1.13,其中将所述第二活性剂在与所述奎宁环化合物相同的药物组合物或剂型中施用;

[0253] 1.15方法1或1.1-1.14中的任一种,其中所述受试者是哺乳动物;

[0254] 1.16方法1.15,其中所述受试者是灵长类动物;

[0255] 1.17方法1.16,其中所述受试者是人;

[0256] 1.18方法1或1.1-1.17中的任一种,其中所述纤毛疾病是选自以下的疾病:朱伯特综合征全、梅克尔-格鲁伯综合征、塞-洛二氏综合征、口面指综合征I型、利伯氏先天性黑矇、巴德-比德尔综合征(BBS)、**Alström**综合征、莱恩窒息性胸营养不良、埃利伟综合征、森森布伦纳综合征和原发性纤毛运动障碍或其组合;

[0257] 1.19方法1或1.1-1.18中的任一种,其中所述纤毛疾病是BBS;

- [0258] 1.20方法1.18或1.19,其中所述纤毛疾病是梅克尔-格鲁伯综合征;
- [0259] 1.21方法1.18-1.20中的任一种,其中所述纤毛疾病是塞-洛二氏综合征;
- [0260] 1.22方法1.18-1.21中的任一种,其中所述纤毛疾病是朱伯特综合征全;
- [0261] 1.23方法1.18-1.22中的任一种,其中所述纤毛疾病是利伯氏先天性黑矇;
- [0262] 1.24方法1.18-1.23中的任一种,其中所述纤毛疾病是口面指综合征I型;
- [0263] 1.25方法1.18-1.24中的任一种,其中所述纤毛疾病是Alström综合征;
- [0264] 1.26方法1.18-1.25中的任一种,其中所述纤毛疾病是埃利伟综合征;
- [0265] 1.27方法1.18-1.26中的任一种,其中所述纤毛疾病是森森布伦纳综合征;
- [0266] 1.28方法1.18-1.27中的任一种,其中所述纤毛疾病是原发性纤毛运动障碍;
- [0267] 1.29方法1或1.1-1.28中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因BBS1 (ARL)、BBS2、BBS3、BBS4、BBS5、BBS6 (MKKS)、BBS7、BBS8 (TTC8)、BBS9 (B1)、BBS10、BBS11 (TRIM32)、BBS12、BBS13 (MKS1)、BBS14 (CEP290)、BBS15 (C2ORF86/FRITZ)、BBS16 (SDCCAG8)、BBS17、BBS18、BBS19、BBS20和BBS21中的一种或多种中的突变;
- [0268] 1.30方法1.29,其中所述受试者被诊断为具有基因BBS1、BBS2、BBS4、BBS5、BBS7、BBS8、BBS9、BBS10和BBS18中的一种或多种中的突变;
- [0269] 1.31方法1.30,其中所述受试者被诊断为具有基因BBS1、BBS2和BBS10中的一种或多种中的突变;
- [0270] 1.32方法1.31,其中所述受试者被诊断为具有至少基因BBS2中的突变;
- [0271] 1.33方法1或1.1-1.32中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因MKS1、MKS3、CEP290、RPGRIPI1L、CC2D2A和TMEM216中的一种或多种中的突变;
- [0272] 1.34方法1或1.1-1.32中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有至少基因MKS1中的突变;
- [0273] 1.35方法1或1.1-1.34中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因TMEM216、AHI1、NPHP1、CEP290、TMEM67、RPGRIPI1L、ARL13B、CC2D2A、OFD1、TTC21B、KIF7、TCTN1、TMEM237、CEP41、TMEM138、C5ORF42、TCTN3、ZNF423、TMEM231、CSPP1、ARMC9、INPP5E、CXORF5、INVS、NPHP3、NPHP4、NPHP5 (IQCB1) 和SDCCAG8中的一种或多种中的突变;
- [0274] 1.36方法1或1.1-1.34中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因TMEM216、AHI1、NPHP1、CEP290、TMEM67、RPGRIPI1L、ARL13B、CC2D2A、OFD1、TTC21B、KIF7、TCTN1、TMEM237、CEP41、TMEM138、C5ORF42、TCTN3、ZNF423、TMEM231、CSPP1、ARMC9、INPP5E和CXORF5中的一种或多种中的突变;
- [0275] 1.37方法1或1.1-1.34中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因TMEM216、AHI1、NPHP1、CEP290、TMEM67、RPGRIPI1L、ARL13B、CC2D2A、INPP5E和CXORF5中的一种或多种中的突变;
- [0276] 1.38方法1或1.1-1.37中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因AHI1、ARL13B、INPP5E和OFD1中的一种或多种中的突变;
- [0277] 1.39方法1或1.1-1.38中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因CEP290、NPHP1、INVS、NPHP3、NPHP4和NPHP5中的一种或多种中的突变。
- [0278] 1.40方法1或1.1-1.39中的任一种,其中所述受试者被诊断具有基因OFD1中的突变;

- [0279] 1.41方法1或1.1-1.40中的任一种,其中受试者被诊断为具有基因GUCY2D、RPE65、SPATA7、AIPL1、LCA5、RPGRIPL1、CRX、CRB1、IMPD1、RD3、CEP290、NPHP5和RDH12中的一种或多种中的突变;
- [0280] 1.42方法1或1.1-1.40中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因GUCY2D、RPE65、SPATA7、AIPL1、LCA5、CRX、CRB1、IMPD1、RD3和RDH12中的一种或多种中的突变;
- [0281] 1.43方法1或1.1-1.42中的任一种,其中所述受试者被诊断具有基因ALMS1中的突变;
- [0282] 1.44方法1或1.1-1.43中的任一种,其中所述受试者被诊断具有基因IFT80中的突变;
- [0283] 1.45方法1或1.1-1.44中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因EVC1、EVC2、IFT122、IFT43和WDR35中的一种或多种中的突变;
- [0284] 1.46方法1.45,其中所述受试者被诊断为具有基因IFT122、IFT43和WDR35中的一种或多种中的突变;
- [0285] 1.47方法1.33,其中所述受试者被诊断为具有基因EVC1和EVC2中的一种或多种中的突变;
- [0286] 1.48方法1或1.1-1.47中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因DNAI1、DNAH5、TXNDC3、DNAH11、DNAI2、KTU、RSPH4A、RSPH9和LRRC50中的一种或多种中的突变;
- [0287] 1.49方法1或1.1-1.48中的任一种,其中所述受试者患有选自肥胖、肝病、视网膜变性、嗅觉缺陷、高脂血症、2型糖尿病和代谢综合征的共病;
- [0288] 1.50方法1或1.1-1.49中的任一种,其中所述受试者还患有糖脂贮积或积累的疾病或障碍;
- [0289] 1.51方法1.50,其中糖脂贮积或积累的疾病或障碍选自多囊性肾病(PKD)(例如,常染色体显性PKD[ADPKD])、神经节苷脂贮积病(例如,GM1神经节苷脂贮积病或GM2神经节苷脂贮积病或GM3神经节苷脂贮积病)、戈谢病(例如,1型戈谢病、2型戈谢病或3型戈谢病)、法布莱病和帕金森病(例如,戈谢型帕金森病);
- [0290] 1.52方法1或1.1-1.50中的任一种,其中还用酶替代疗法(ERT)治疗所述受试者,例如,使用葡糖脑苷脂酶(例如,阿糖苷酶(aglucerase)、伊米苷酶(imglucerase)、维拉苷酶(velaglucerase)或他利苷酶(taliglucerase))、 α -半乳糖苷酶(例如,半乳糖苷酶 α 或半乳糖苷酶 β)或 β -半乳糖苷酶治疗所述受试者,任选地其中每种这样的酶都是重组酶;
- [0291] 1.53方法1或1.1-1.52中的任一种,其中向所述受试者施用约1mg至约150mg剂量的所述化合物,例如,5至50mg、或10至40mg、或10至30mg、或10至20mg、或20至30mg、或30至40mg、或40至50mg、或5至25mg、或20至50mg、或5至15mg、或15至30mg、或约15mg、或选自2、5、15、25、50、100或150mg;
- [0292] 1.54方法1或1.1-1.53中的任一种,其中所述受试者是人儿科患者,例如,年龄为0至18岁,例如1至15岁、或1至5岁、或5至10岁、或10至15岁;
- [0293] 1.55方法1或1.1-1.54中的任一种,其中所述方法有效地治疗、减轻或改善选自肥胖、肝病(例如,升高的血清肝酶,如ALT、AST、碱性磷酸酶、 γ 谷氨酰转肽酶)、视网膜变性、高脂血症(例如,升高的血清总胆固醇、LDL、VLDL或甘油三酯)、2型糖尿病(例如,升高的血清葡萄糖)和嗅觉功能障碍的一种或多种症状或体征;

[0294] 1.56方法1或1.1-1.55中的任一种,其中所述方法有效地保留或改善下丘脑、视网膜和/或嗅觉上皮中的纤毛功能,例如,保留或改善纤毛的功能(例如运动性)和/或保留或改善功能性纤毛的数量或密度;

[0295] 1.57方法1或1.1-1.56中的任一种,其中将所述化合物或其药学上可接受的盐或前药通过全身施用来施用,例如经由肠胃外途径或非肠胃外途径施用;

[0296] 1.58方法1.57,其中所述施用途是口服(肠内);

[0297] 1.59方法1.57,其中所述施用途是肠胃外,例如通过注射,如通过静脉内注射;

[0298] 1.60方法1或1.1-1.56中的任一种,其中将所述化合物或其药学上可接受的盐或前药通过局部施用来施用,例如通过外用施用来施用;

[0299] 1.61方法1或1.1-1.60中的任一种,其中所述化合物是(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯;

[0300] 1.62方法1或1.1-1.61中的任一种,其中向所述受试者施用5mg、10mg、15mg或20mg单次日剂量的所述化合物,例如(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯,任选地呈苹果酸盐加成盐形式。

[0301] 疾病和障碍(如纤毛疾病)通常与一种或多种基因突变相关。在本公开文本的一些实施方案中,受试者或受试者被诊断为患有特定疾病或障碍,并且还被诊断为具有特定的基因突变,例如,已知作为所讨论的疾病或障碍的原因的基因突变,但通常无法证明特定患者的疾病或障碍是由一个人已被诊断具有的特定突变所引起的。如以这种方式所用,术语“被诊断为具有特定的基因突变”意指受试者或患者已经例如通过DNA或RNA测序、蛋白质谱分析或其他合适的手段进行测试,并且发现其具有所讨论的突变。然而,如下面进一步讨论的,许多遗传疾病和障碍可以具有多种遗传原因(例如,突变),并且患者可能具有多种突变,在一些情况下,所述多种突变中的每一种可能足以引起所述疾病或障碍,而没有证据证明特定的突变导致特定患者中的特定疾病或障碍。

[0302] 巴德-比德尔综合征和梅克尔-格鲁伯综合征

[0303] 巴德-比德尔综合征(BBS)是一种罕见的常染色体隐性多系统遗传疾病(参见Waters等人,Pediatr.Nephrol.,2011,26:1039-1056)。BBS在美国和北欧的患病率为1:160,000。BBS的主要特征包括锥体杆营养不良、多指、肥胖、学习障碍、性腺功能减退和肾脏异常。尽管BBS可能是由至少21种不同基因中的突变引起的,但BBS1、BBS2和BBS10中的突变占大约50%的病例。影响BBS的基因是BBSome(一种大分子复合物)组装所必需的,BBSome是基体的组分并参与初级纤毛的形成、维持和功能。

[0304] 梅克尔-格鲁伯综合征是一种常染色体隐性致死性畸形,其在表型上与其他纤毛疾病重叠(Waters等人,同上)。临床特征包括枕骨脑膨出和其他颅后窝缺陷、囊性肾发育不良、肝胆管增生和多指。梅克尔-格鲁伯综合征是由若干种基因中的突变引起的,所述基因包括MKS1、MKS3、CEP290、RPGRI1L、CC2D2A和TMEM216。MKS1中的突变也与BBS有关。

[0305] 因此,在实施方案中,所述纤毛疾病选自BBS和梅克尔-格鲁伯综合征。在一个实施方案中,所述纤毛疾病是BBS。在另一个实施方案中,所述纤毛疾病是梅克尔-格鲁伯综合征。

[0306] 朱伯特综合征全和塞-洛二氏综合征

[0307] 朱伯特综合征全是一种影响小脑的罕见的常染色体隐性遗传障碍。其特征在于肌

张力减退、共济失调、精神运动迟缓、不规律的呼吸模式和眼球运动不能。朱伯特综合征全与塞-洛二氏综合征具有表型和基因型重叠,所述塞-洛二氏综合征是一种罕见的常染色体隐性遗传障碍,其特征在于肾单位肾癆和进行性眼病(Waters等人,同上)。

[0308] 因此,在实施方案中,所述纤毛疾病选自朱伯特综合征全和塞-洛二氏综合征。在一个实施方案中,所述纤毛疾病是朱伯特综合征全。在另一个实施方案中,所述纤毛疾病是塞-洛二氏综合征。

[0309] 口面指综合征I型

[0310] 口面指综合征I型(也称为口-指-面综合征)是一种罕见的伴X先天性障碍。OFD1基因中的突变已在口面指综合征I型患者中进行描述。OFD1编码位于初级纤毛起源的基体上的中心体蛋白,并且OFD1位于人遗传细胞结构内的中心体和基体上。已经观察到疾病相关的突变减少纤毛形成(Waters等人,同上)。

[0311] 利伯氏先天性黑矇

[0312] 利伯氏先天性黑矇是一种严重的视网膜营养不良,其出现在出生后的一年内。通常,视觉功能不佳,并经常伴有眼球震颤、迟滞或几乎没有瞳孔反应、畏光、远视和圆锥形角膜(Waters等人,同上)。

[0313] Alström综合征

[0314] Alström综合征是一种罕见的常染色体隐性遗传疾病,其特征在于多器官功能障碍,包括锥体杆营养不良、肥胖、进行性感神经性听力损伤和扩张型心肌病。Alström综合征是由基因ALMS1中的突变引起的,所述基因编码特定地位于中心粒和基体近端的蛋白质(Waters等人,同上)。ALMS1蛋白参与纤毛功能、细胞周期控制和细胞内运输。

[0315] 茱恩窒息性胸营养不良

[0316] 茱恩窒息性胸营养不良(茱恩综合征)是一种罕见的常染色体隐性软骨发育不良,其影响儿童软骨和骨骼的发育方式。茱恩综合征可能是由IFT80中的突变引起的,已显示所述IFT80位于鼠软骨细胞细胞系中的纤毛的基体上(Waters等人,同上)。

[0317] 埃利伟综合征和森森布伦纳综合征

[0318] 埃利伟综合征是一种罕见的软骨外胚层发育不良,其特征在于骨骼异常,包括轴后多指、肋骨短、腭裂和腕骨畸形。其可能是由EVC1或EVC2中的突变引起的。已显示EVC蛋白位于软骨细胞的初级纤毛的基底(Waters等人,同上)。森森布伦纳综合征(也称为颅骨外胚层发育不良)是一种常染色体隐性遗传障碍,其类似于埃利伟综合征。其可能是由IFT122、IFT43或WDR35中的突变引起的,所有这些基因都编码纤毛蛋白(Waters等人,同上)。

[0319] 原发性纤毛运动障碍

[0320] 原发性纤毛运动障碍(也称为卡塔格内综合征)是一种罕见的常染色体隐性遗传障碍,其导致呼吸道(上下呼吸道、鼻窦、咽鼓管、中耳)、输卵管和精细胞鞭毛的内层纤毛的作用的缺陷。

[0321] 本发明的方法对于已被诊断患有纤毛疾病但尚未经与疾病状态相关的典型症状的受试者可能是有益的。本发明的方法还可能有益于由于例如受试者中的突变或受试者的已知引起纤毛疾病的家族谱系而有风险患上纤毛疾病的受试者。在本文所述方法的一个实施方案中,所述受试者已被诊断为有风险患上所述纤毛疾病,并且所述方法预防或延迟所述受试者中的纤毛疾病的发作和/或发展。在实施方案中,所述受试者已经被诊断为由于

具有如本文所述的基因中的突变而有风险患上所述纤毛疾病。

[0322] 在第二个方面,本发明提供了一种用于在患有纤毛疾病的受试者中治疗选自肥胖、肝病、视网膜变性、嗅觉功能障碍、高脂血症、2型糖尿病和代谢综合征的疾病或障碍的方法(方法2),所述方法包括向所述受试者施用有效量的如本文所述的奎宁环化合物,例如根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1或1.1至1.75中的任一种。还提供了一种如本文所述的奎宁环化合物(例如根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1或1.1至1.75中的任一种),其用于在患有纤毛疾病的受试者中治疗选自肥胖、肝病、视网膜变性、嗅觉功能障碍、高脂血症、2型糖尿病和代谢综合征的疾病或障碍的方法中,例如用于方法2或2.1-2.61中的任一种中。还提供了如本文所述的奎宁环化合物(例如根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1或1.1至1.75中的任一种)在制造用于在患有纤毛疾病的受试者中治疗选自肥胖、肝病、视网膜变性、嗅觉功能障碍、高脂血症、2型糖尿病和代谢综合征的疾病或障碍的方法中的药物中的用途,例如在制造用于方法2或2.1-2.61中的任一种中的药物中的用途。

[0323] 在方法2的特定进一步实施方案中,本公开文本提供:

[0324] 2.1方法2,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1中的任一种或1.1至1.75中的任一种;

[0325] 2.2方法2,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的化合物1或者化合物1.1至1.75中的任何一种或多种;

[0326] 2.3方法2或2.1-2.2中的任一种,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种,或者化合物1中的任一种或者1.1-1.75中的任一种;

[0327] 2.4方法2或2.1-2.2中的任一种,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含化合物1或者化合物1.1至1.75中的任何一种或多种;

[0328] 2.5方法2.3或2.4,其中所述药物组合物还包含至少一种如本文所述的药学上可接受的赋形剂;

[0329] 2.6方法2或2.1-2.5中的任一种,其中所述方法包括施用包含有效量的所述化合物或有效量的所述药物组合物的药物剂型;

[0330] 2.7方法2.6,其中所述剂型是口服剂型(例如,药丸、胶囊、片剂、糖衣丸、粉末、颗粒、膜剂、锭剂或液体);

[0331] 2.8方法2.7,其中所述剂型为咀嚼片;

[0332] 2.9方法2.6,其中所述剂型是肠胃外剂型(例如,其中所述药物组合物被配制用于注射);

[0333] 2.10方法2.9,其中所述注射是静脉内、肌内、鞘内或皮下注射,任选地是无菌注射;

[0334] 2.11方法2.6,其中所述剂型是局部或直肠剂型;

[0335] 2.12方法2.6,其中所述剂型是鼻内剂型(例如,气雾剂);

[0336] 2.13方法2或2.1至2.12中的任一种,其中所述方法还包括同时施用第二活性剂,例如,如本文所述能够治疗或预防有需要的患者中的纤毛疾病的第二化合物;

- [0337] 2.14方法2.13,其中将所述第二活性剂在与所述奎宁环化合物相同的药物组合物或剂型中施用;
- [0338] 2.15方法2或2.1-2.14中的任一种,其中所述受试者是哺乳动物;
- [0339] 2.16方法2.15,其中所述受试者是灵长类动物;
- [0340] 2.17方法2.16,其中所述受试者是人;
- [0341] 2.18方法2或2.1-2.17中的任一种,其中所述纤毛疾病是选自以下的疾病:朱伯特综合征全、梅克尔-格鲁伯综合征、塞-洛二氏综合征、口面指综合征I型、利伯氏先天性黑矇、巴德-比德尔综合征(BBS)、**Alström**综合征、莱恩窒息性胸营养不良、埃利伟综合征、森森布伦纳综合征和原发性纤毛运动障碍或其组合;
- [0342] 2.19方法2或2.1-2.18中的任一种,其中所述纤毛疾病是BBS;
- [0343] 2.20方法2.18或2.19,其中所述纤毛疾病是梅克尔-格鲁伯综合征;
- [0344] 2.21方法2.18-2.20中的任一种,其中所述纤毛疾病是塞-洛二氏综合征;
- [0345] 2.22方法2.18-2.21中的任一种,其中所述纤毛疾病是朱伯特综合征全;
- [0346] 2.23方法2.18-2.22中的任一种,其中所述纤毛疾病是利伯氏先天性黑矇;
- [0347] 2.24方法2.18-2.23中的任一种,其中所述纤毛疾病是口面指综合征I型;
- [0348] 2.25方法2.18-2.24中的任一种,其中所述纤毛疾病是**Alström**综合征;
- [0349] 2.26方法2.18-2.25中的任一种,其中所述纤毛疾病是埃利伟综合征;
- [0350] 2.27方法2.18-2.26中的任一种,其中所述纤毛疾病是森森布伦纳综合征;
- [0351] 2.28方法2.18-2.27中的任一种,其中所述纤毛疾病是原发性纤毛运动障碍;
- [0352] 2.29方法2或2.1-2.28中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因BBS1(ARL)、BBS2、BBS3、BBS4、BBS5、BBS6(MKKS)、BBS7、BBS8(TTC8)、BBS9(B1)、BBS10、BBS11(TRIM32)、BBS12、BBS13(MKS1)、BBS14(CEP290)、BBS15(C2ORF86/FRITZ)、BBS16(SDCCAG8)、BBS17、BBS18、BBS19、BBS20和BBS21中的一种或多种中的突变;
- [0353] 2.30方法2.29,其中所述受试者被诊断为具有基因BBS1、BBS2、BBS4、BBS5、BBS7、BBS8、BBS9、BBS10和BBS18中的一种或多种中的突变;
- [0354] 2.31方法2.30,其中所述受试者被诊断为具有基因BBS1、BBS2和BBS10中的一种或多种中的突变;
- [0355] 2.32方法2.31,其中所述受试者被诊断为具有至少基因BBS2中的突变;
- [0356] 2.33方法2或2.1-2.32中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因MKS1、MKS3、CEP290、RPGRI1L、CC2D2A和TMEM216中的一种或多种中的突变;
- [0357] 2.34方法2或2.1-2.32中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有至少基因MKS1中的突变;
- [0358] 2.35方法2或2.1-2.34中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因TMEM216、AHI1、NPHP1、CEP290、TMEM67、RPGRI1L、ARL13B、CC2D2A、OFD1、TTC21B、KIF7、TCTN1、TMEM237、CEP41、TMEM138、C5ORF42、TCTN3、ZNF423、TMEM231、CSPP1、ARMC9、INPP5E、CXORF5、INVS、NPHP3、NPHP4、NPHP5(IQCB1)和SDCCAG8中的一种或多种中的突变;
- [0359] 2.36方法2或2.1-2.34中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因TMEM216、AHI1、NPHP1、CEP290、TMEM67、RPGRI1L、ARL13B、CC2D2A、OFD1、TTC21B、KIF7、TCTN1、TMEM237、CEP41、TMEM138、C5ORF42、TCTN3、ZNF423、TMEM231、CSPP1、ARMC9、INPP5E和CXORF5

中的一种或多种中的突变；

[0360] 2.37方法2或2.1-2.34中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因TMEM216、AHI1、NPHP1、CEP290、TMEM67、RPGRIPL1、ARL13B、CC2D2A、INPP5E和CXORF5中的一种或多种中的突变；

[0361] 2.38方法2或2.1-2.37中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因AHI1、ARL13B、INPP5E和OFD1中的一种或多种中的突变；

[0362] 2.39方法2或2.1-2.38中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因CEP290、NPHP1、INVS、NPHP3、NPHP4和NPHP5中的一种或多种中的突变。

[0363] 2.40方法2或2.1-2.39中的任一种,其中所述受试者被诊断具有基因OFD1中的突变；

[0364] 2.41方法2或2.1-2.40中的任一种,其中受试者被诊断为具有基因GUCY2D、RPE65、SPATA7、AIPL1、LCA5、RPGRIPL1、CRX、CRB1、IMPD1、RD3、CEP290、NPHP5和RDH12中的一种或多种中的突变；

[0365] 2.42方法2或2.1-2.40中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因GUCY2D、RPE65、SPATA7、AIPL1、LCA5、CRX、CRB1、IMPD1、RD3和RDH12中的一种或多种中的突变；

[0366] 2.43方法2或2.1-2.42中的任一种,其中所述受试者被诊断具有基因ALMS1中的突变；

[0367] 2.44方法2或2.1-2.43中的任一种,其中所述受试者被诊断具有基因IFT80中的突变；

[0368] 2.45方法2或2.1-2.44中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因EVC1、EVC2、IFT122、IFT43和WDR35中的一种或多种中的突变；

[0369] 2.46方法2.45,其中所述受试者被诊断为具有基因IFT122、IFT43和WDR35中的一种或多种中的突变；

[0370] 2.47方法2.33,其中所述受试者被诊断为具有基因EVC1和EVC2中的一种或多种中的突变；

[0371] 2.48方法2或2.1-2.47中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因DNAI1、DNAH5、TXNDC3、DNAH11、DNAI2、KTU、RSPH4A、RSPH9和LRRC50中的一种或多种中的突变；

[0372] 2.49方法2或2.1-2.48中的任一种,其中所述受试者还患有糖脂贮积或积累的疾病或障碍；

[0373] 2.50方法2.49,其中糖脂贮积或积累的疾病或障碍选自多囊性肾病(PKD)(例如,常染色体显性PKD[ADPKD])、神经节苷脂贮积病(例如,GM1神经节苷脂贮积病或GM2神经节苷脂贮积病或GM3神经节苷脂贮积病)、戈谢病(例如,1型戈谢病、2型戈谢病或3型戈谢病)、法布莱病和帕金森病(例如,戈谢型帕金森病)；

[0374] 2.51方法2或2.1-2.49中的任一种,其中还用酶替代疗法(ERT)治疗所述受试者,例如,使用葡糖脑苷脂酶(例如,阿糖苷酶(aglucerase)、伊米苷酶(imglucerase)、维拉苷酶(velaglucerase)或他利苷酶(taliglucerase))、 α -半乳糖苷酶(例如,半乳糖苷酶 α 或半乳糖苷酶 β)或 β -半乳糖苷酶治疗所述受试者,任选地其中每种这样的酶都是重组酶；

[0375] 2.52方法2或2.1-2.51中的任一种,其中向所述受试者施用约1mg至约150mg日剂量的所述化合物,例如,5至50mg、或10至40mg、或10至30mg、或10至20mg、或20至30mg、或30

至40mg、或40至50mg、或5至25mg、或20至50mg、或5至15mg、或15至30mg、或约15mg、或选自2、5、15、25、50、100或150mg；

[0376] 2.53方法2或2.1-2.52中的任一种，其中所述受试者是人儿科患者，例如，年龄为0至18岁，例如1至15岁、或1至5岁、或5至10岁、或10至15岁；

[0377] 2.54方法2或2.1-2.53中的任一种，其中所述方法有效地治疗、减轻或改善选自肥胖、肝病（例如，升高的血清肝酶，如ALT、AST、碱性磷酸酶、 γ 谷氨酰转肽酶）、视网膜变性、高脂血症（例如，升高的血清总胆固醇、LDL、VLDL或甘油三酯）、2型糖尿病（例如，升高的血清葡萄糖）和嗅觉功能障碍的一种或多种症状或体征；

[0378] 2.55方法2或2.1-2.54中的任一种，其中所述方法有效地保留或改善下丘脑、视网膜和/或嗅觉上皮中的纤毛功能，例如，保留或改善纤毛的功能（例如运动性）和/或保留或改善功能性纤毛的数量或密度；

[0379] 2.56方法2或2.1-2.55中的任一种，其中将所述化合物或其药学上可接受的盐或前药通过全身施用来施用，例如经由肠胃外途径或非肠胃外途径施用；

[0380] 2.57方法2.56，其中所述施用途是口服（肠内）；

[0381] 2.58方法2.56，其中所述施用途是肠胃外，例如通过注射，如通过静脉内注射；

[0382] 2.59方法2或2.1-2.55中的任一种，其中将所述化合物或其药学上可接受的盐或前药通过局部施用来施用，例如通过外部施用来施用；

[0383] 2.60方法2或2.1-2.59中的任一种，其中所述化合物是(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯；

[0384] 2.61方法2或2.1-2.60中的任一种，其中向所述受试者施用5mg、10mg、15mg或20mg单次日剂量的所述化合物，例如(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯，任选地呈苹果酸盐加成盐形式。

[0385] 在第三个方面，本发明提供了一种用于保留或改善有需要的受试者、任选患有纤毛疾病的受试者中的纤毛功能的方法（方法3），所述方法包括向所述受试者施用有效量的如本文所述的奎宁环化合物，例如根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种，或者化合物1或1.1至1.75中的任一种。还提供了一种如本文所述的奎宁环化合物（例如根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种，或者化合物1或1.1至1.75中的任一种），其用于保留或改善有需要的受试者中的纤毛功能的方法中，例如用于方法3或3.1-3.62中的任一种中。还提供了如本文所述的奎宁环化合物（例如根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种，或者化合物1或1.1至1.75中的任一种）在制造用于保留或改善有需要的受试者中的纤毛功能的方法中的药物中的用途，例如在制造用于方法3或3.1-3.62中的任一种中的药物中的用途。

[0386] 在方法3的特定进一步实施方案中，本公开文本提供：

[0387] 3.1方法3，其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任一种，或者化合物1中的任一种或1.1至1.75中的任一种；

[0388] 3.2方法3，其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的化合物1或者化合物1.1至1.75中的任何一种或多种；

[0389] 3.3方法3或3.1-3.2中的任一种，其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的药物组合物，所述药物组合物包含根据式I的化合物或者II-XII、Ia-XIIa或Ib-XIIb中的任

一种,或者化合物1中的任一种或者1.1-1.75中的任一种;

[0390] 3.4方法3或3.1-3.2中的任一种,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含化合物1或者化合物1.1至1.75中的任何一种或多种;

[0391] 3.5方法3.3或3.4,其中所述药物组合物还包含至少一种如本文所述的药学上可接受的赋形剂;

[0392] 3.6方法3或3.1-3.5中的任一种,其中所述方法包括施用包含有效量的所述化合物或有效量的所述药物组合物的药物剂型;

[0393] 3.7方法3.6,其中所述剂型是口服剂型(例如,药丸、胶囊、片剂、糖衣丸、粉末、颗粒、膜剂、锭剂或液体);

[0394] 3.8方法3.7,其中所述剂型为咀嚼片;

[0395] 3.9方法3.6,其中所述剂型是肠胃外剂型(例如,其中所述药物组合物被配制用于注射);

[0396] 3.10方法3.9,其中所述注射是静脉内、肌内、鞘内或皮下注射,任选地是无菌注射;

[0397] 3.11方法3.6,其中所述剂型是局部或直肠剂型;

[0398] 3.12方法3.6,所述剂型是鼻内剂型(例如,气雾剂);

[0399] 3.13方法3或3.1至3.12中的任一种,其中所述方法还包括同时施用第二活性剂,例如,如本文所述能够治疗或预防有需要的患者中的纤毛疾病的第二化合物;

[0400] 3.14方法3.13,其中将所述第二活性剂在与所述奎宁环化合物相同的药物组合物或剂型中施用;

[0401] 3.15方法3或3.1-3.14中的任一种,其中所述受试者是哺乳动物;

[0402] 3.16方法3.15,其中所述受试者是灵长类动物;

[0403] 3.17方法3.16,其中所述受试者是人;

[0404] 3.18方法3或3.1-3.17中的任一种,其中所述受试者患有纤毛疾病,例如选自以下的疾病:朱伯特综合征全、梅克尔-格鲁伯综合征、塞-洛二氏综合征、口面指综合征I型、利伯氏先天性黑矇、巴德-比德尔综合征(BBS)、**Alström**综合征、莱恩窒息性胸营养不良、埃利伟综合征、森森布伦纳综合征和原发性纤毛运动障碍或其组合;

[0405] 3.19方法3.18,其中所述纤毛疾病是BBS;

[0406] 3.20方法3.18或3.19,其中所述纤毛疾病是梅克尔-格鲁伯综合征;

[0407] 3.21方法3.18-3.20中的任一种,其中所述纤毛疾病是塞-洛二氏综合征;

[0408] 3.22方法3.18-3.21中的任一种,其中所述纤毛疾病是朱伯特综合征全;

[0409] 3.23方法3.18-3.22中的任一种,其中所述纤毛疾病是利伯氏先天性黑矇;

[0410] 3.24方法3.18-3.23中的任一种,其中所述纤毛疾病是口面指综合征I型;

[0411] 3.25方法3.18-3.24中的任一种,其中所述纤毛疾病是**Alström**综合征;

[0412] 3.26方法3.18-3.25中的任一种,其中所述纤毛疾病是埃利伟综合征;

[0413] 3.27方法3.18-3.26中的任一种,其中所述纤毛疾病是森森布伦纳综合征;

[0414] 3.28方法3.18-3.27中的任一种,其中所述纤毛疾病是原发性纤毛运动障碍;

[0415] 3.29方法3或3.1-3.28中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因BBS1(ARL)、BBS2、BBS3、BBS4、BBS5、BBS6(MKKS)、BBS7、BBS8(TTC8)、BBS9(B1)、BBS10、BBS11

(TRIM32)、BBS12、BBS13 (MKS1)、BBS14 (CEP290)、BBS15 (C20RF86/FRITZ)、BBS16 (SDCCAG8)、BBS17、BBS18、BBS19、BBS20和BBS21中的一种或多种中的突变；

[0416] 3.30方法3.29,其中所述受试者被诊断为具有基因BBS1、BBS2、BBS4、BBS5、BBS7、BBS8、BBS9、BBS10和BBS18中的一种或多种中的突变；

[0417] 3.31方法3.30,其中所述受试者被诊断为具有基因BBS1、BBS2和BBS10中的一种或多种中的突变；

[0418] 3.32方法3.31,其中所述受试者被诊断为具有至少基因BBS2中的突变；

[0419] 3.33方法3或3.1-3.32中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因MKS1、MKS3、CEP290、RPGRIP1L、CC2D2A和TMEM216中的一种或多种中的突变；

[0420] 3.34方法3或3.1-3.32中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有至少基因MKS1中的突变；

[0421] 3.35方法3或3.1-3.34中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因TMEM216、AHI1、NPHP1、CEP290、TMEM67、RPGRIP1L、ARL13B、CC2D2A、OFD1、TTC21B、KIF7、TCTN1、TMEM237、CEP41、TMEM138、C50RF42、TCTN3、ZNF423、TMEM231、CSPP1、ARMC9、INPP5E、CXORF5、INVS、NPHP3、NPHP4、NPHP5 (IQCB1) 和SDCCAG8中的一种或多种中的突变；

[0422] 3.36方法3或3.1-3.34中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因TMEM216、AHI1、NPHP1、CEP290、TMEM67、RPGRIP1L、ARL13B、CC2D2A、OFD1、TTC21B、KIF7、TCTN1、TMEM237、CEP41、TMEM138、C50RF42、TCTN3、ZNF423、TMEM231、CSPP1、ARMC9、INPP5E和CXORF5中的一种或多种中的突变；

[0423] 3.37方法3或3.1-3.34中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因TMEM216、AHI1、NPHP1、CEP290、TMEM67、RPGRIP1L、ARL13B、CC2D2A、INPP5E和CXORF5中的一种或多种中的突变；

[0424] 3.38方法3或3.1-3.37中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因AHI1、ARL13B、INPP5E和OFD1中的一种或多种中的突变；

[0425] 3.39方法3或3.1-3.38中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因CEP290、NPHP1、INVS、NPHP3、NPHP4和NPHP5中的一种或多种中的突变。

[0426] 3.40方法3或3.1-3.39中的任一种,其中所述受试者被诊断具有基因OFD1中的突变；

[0427] 3.41方法3或3.1-3.40中的任一种,其中受试者被诊断为具有基因GUCY2D、RPE65、SPATA7、AIPL1、LCA5、RPGRIP1L、CRX、CRB1、IMPD1、RD3、CEP290、NPHP5和RDH12中的一种或多种中的突变；

[0428] 3.42方法3或3.1-3.40中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因GUCY2D、RPE65、SPATA7、AIPL1、LCA5、CRX、CRB1、IMPD1、RD3和RDH12中的一种或多种中的突变；

[0429] 3.43方法3或3.1-3.42中的任一种,其中所述受试者被诊断具有基因ALMS1中的突变；

[0430] 3.44方法3或3.1-3.43中的任一种,其中所述受试者被诊断具有基因IFT80中的突变；

[0431] 3.45方法3或3.1-3.44中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因EVC1、EVC2、IFT122、IFT43和WDR35中的一种或多种中的突变；

- [0432] 3.46方法3.45,其中所述受试者被诊断为具有基因IFT122、IFT43和WDR35中的一种或多种中的突变;
- [0433] 3.47方法3.33,其中所述受试者被诊断为具有基因EVC1和EVC2中的一种或多种中的突变;
- [0434] 3.48方法3或3.1-3.47中的任一种,其中所述受试者被诊断为具有基因DNAI1、DNAH5、TXNDC3、DNAH11、DNAI2、KTU、RSPH4A、RSPH9和LRRC50中的一种或多种中的突变;
- [0435] 3.49方法3或3.1-3.48中的任一种,其中所述受试者还患有糖脂贮积或积累的疾病或障碍;
- [0436] 3.50方法3.49,其中糖脂贮积或积累的疾病或障碍选自多囊性肾病(PKD)(例如,常染色体显性PKD[ADPKD])、神经节苷脂贮积病(例如,GM1神经节苷脂贮积病或GM2神经节苷脂贮积病或GM3神经节苷脂贮积病)、戈谢病(例如,1型戈谢病、2型戈谢病或3型戈谢病)、法布莱病和帕金森病(例如,戈谢型帕金森病);
- [0437] 3.51方法3或3.1-3.49中的任一种,其中还用酶替代疗法(ERT)治疗所述受试者,例如,使用葡糖脑苷脂酶(例如,阿糖苷酶(aglucerase)、伊米苷酶(imglucerase)、维拉苷酶(velaglucerase)或他利苷酶(taliglucerase))、 α -半乳糖苷酶(例如,半乳糖苷酶 α 或半乳糖苷酶 β)或 β -半乳糖苷酶治疗所述受试者,任选地其中每种这样的酶都是重组酶;
- [0438] 3.52方法3或3.1-3.51中的任一种,其中向所述受试者施用约1mg至约150mg日剂量的所述化合物,例如,5至50mg、或10至40mg、或10至30mg、或10至20mg、或20至30mg、或30至40mg、或40至50mg、或5至25mg、或20至50mg、或5至15mg、或15至30mg、或约15mg、或选自2、5、15、25、50、100或150mg;
- [0439] 3.53方法3或3.1-3.52中的任一种,其中所述受试者是人儿科患者,例如,年龄为0至18岁,例如1至15岁、或1至5岁、或5至10岁、或10至15岁;
- [0440] 3.54方法3或3.1-3.53中的任一种,其中所述受试者患有选自肥胖、肝病、视网膜变性、嗅觉缺陷、高脂血症、2型糖尿病和代谢综合征的共病;
- [0441] 3.55方法3或3.1-3.54中的任一种,其中所述方法有效地治疗、减轻或改善选自肥胖、肝病(例如,升高的血清肝酶,如ALT、AST、碱性磷酸酶、 γ 谷氨酰转肽酶)、视网膜变性、高脂血症(例如,升高的血清总胆固醇、LDL、VLDL或甘油三酯)、2型糖尿病(例如,升高的血清葡萄糖)和嗅觉功能障碍的一种或多种症状或体征;
- [0442] 3.56方法3或3.1-3.55中的任一种,其中所述方法有效地保留或改善下丘脑、视网膜和/或嗅觉上皮中的纤毛功能,例如,保留或改善纤毛的功能(例如运动性)和/或保留或改善功能性纤毛的数量或密度;
- [0443] 3.57方法3或3.1-3.56中的任一种,其中将所述化合物或其药学上可接受的盐或前药通过全身施用来施用,例如经由肠胃外途径或非肠胃外途径施用;
- [0444] 3.58方法3.57,其中所述施用途径是口服(肠内);
- [0445] 3.59方法3.57,其中所述施用途径是肠胃外,例如通过注射,如通过静脉内注射;
- [0446] 3.60方法3或3.1-3.56中的任一种,其中将所述化合物或其药学上可接受的盐或前药通过局部施用来施用,例如通过外部施用来施用;
- [0447] 3.61方法3或3.1-3.60中的任一种,其中所述化合物是(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯;

[0448] 3.62方法3或3.1-3.61中的任一种,其中向所述受试者施用5mg、10mg、15mg或20mg单次日剂量的所述化合物,例如(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯,任选地呈苹果酸盐加成盐形式。

[0449] 药物组合物

[0450] 本公开文本还提供了包含至少一种如本文所述的奎宁环化合物和至少一种药学上可接受的赋形剂的药物组合物,例如其用于根据本文公开的方法中。所述药学上可接受的赋形剂可以是本领域已知的任何此类赋形剂,包括例如Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A.R.Gennaro编辑1985)中描述的那些。可以通过本领域已知的常规手段制备本发明公开的化合物的药物组合物,包括例如将至少一种本发明公开的化合物与药学上可接受的赋形剂混合。

[0451] 因此,在一个方面,本发明提供了一种包含如本文所述的奎宁环化合物和药学上可接受的赋形剂的药物剂型,其中所述剂型被配制为当施用(例如当口服施用)时提供足以治疗纤毛疾病的所述化合物的量。

[0452] 本发明的药物组合物或剂型可以包含药剂和另一种载体,例如惰性或活性的化合物或组合物,如可检测药剂、标签、佐剂、稀释剂、粘合剂、稳定剂、缓冲液、盐、亲脂性溶剂、防腐剂、佐剂等。载体还包括药物赋形剂和添加剂,例如蛋白质、肽、氨基酸、脂质和碳水化合物(例如糖,包括单糖、二糖、三糖、四糖和寡糖;衍生糖,如糖醇、醛糖酸、酯化糖等;和多糖或糖聚合物),其可以单独或组合存在,包括单独或按重量或体积计以1%至99.99%组合。示例性的蛋白质赋形剂包括血清白蛋白,如人血清白蛋白(HSA)、重组人白蛋白(rHA)、明胶、酪蛋白等。也可以以缓冲能力起作用的代表性氨基酸/抗体组分包括丙氨酸、甘氨酸、精氨酸、甜菜碱、组氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、赖氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、阿斯巴甜等。碳水化合物赋形剂也旨在本发明的范围内,其例子包括但不限于单糖,如果糖、麦芽糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、山梨糖等;二糖,如乳糖、蔗糖、海藻糖、纤维二糖等;多糖,如棉子糖、松三糖、麦芽糊精、葡聚糖、淀粉等;以及糖醇,如甘露糖醇、木糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、木糖醇、山梨糖醇(葡萄糖醇)和肌醇。

[0453] 可以使用的载体包括缓冲液或pH调节剂;典型地,所述缓冲液是由有机酸或碱制备的盐。代表性缓冲液包括有机酸盐,如柠檬酸、抗坏血酸、葡萄糖酸、碳酸、酒石酸、琥珀酸、乙酸或邻苯二甲酸的盐;Tris、氨基丁三醇盐酸盐或磷酸盐缓冲液。另外的载体包括聚合物赋形剂/添加剂,如聚乙烯吡咯烷酮、ficoll(一种聚合糖)、dextrate(例如环糊精,如2-羟丙基- β -环糊精)、聚乙二醇、调味剂、抗菌剂、甜味剂、抗氧化剂、抗静电剂、表面活性剂(例如聚山梨醇酯,如“TWEEN 20”和“TWEEN 80”)、脂质(例如磷脂质、脂肪酸)、类固醇(例如胆固醇)和螯合剂(例如EDTA)。

[0454] 本公开文本还提供了药物组合物和包含所述组合物的试剂盒,所述组合物含有至少一种如本文所述的奎宁环化合物和至少一种其他药学活性剂。这些药物组合物和试剂盒可以适合于允许同时、随后和/或单独施用所述奎宁环化合物和所述其他活性剂。例如,所述奎宁环化合物和所述其他活性剂可以被配制在单独剂型中,例如在单独片剂、胶囊、冻干物或液体中,或者它们可以被配制在同一剂型中,例如在同一片剂、胶囊、冻干物或液体中。在所述奎宁环化合物和所述其他活性剂被配制在同一剂型中的情况下,所述奎宁环化合物和所述其他活性剂可以基本上以混合物的形式存在,例如在片剂的核心内,或者它们可以

基本上以所述剂型的离散区域的形式存在,例如在同一片剂的单独层中。在一个实施方案中,所述药物剂型包含能够治疗或预防纤毛疾病(例如,如本文所述的纤毛疾病)的其他药剂。

[0455] 在另一个方面,本发明提供了一种药物组合物,其包含:(i)如本文所述的奎宁环化合物;(ii)其他活性剂;和(iii)药学上可接受的赋形剂。在一个实施方案中,所述其他活性剂是能够治疗或预防纤毛疾病(例如,如本文所述的纤毛疾病)的药剂。在一个实施方案中,所述其他活性剂能够在口服施用至受试者时治疗或预防纤毛疾病。

[0456] 能够治疗蛋白质病如帕金森病的其他药剂的例子包括例如多巴胺前体(例如L-DOPA)、多巴胺激动剂(例如溴隐亭、卡麦角林、培高利特、普拉克索和阿扑吗啡),MAO-B抑制剂(例如雷沙吉兰和司来吉兰)、抗胆碱药(例如邻甲苯海拉明、普环啉和苯海索)、 β -葡糖脑苷脂酶活性的增强剂(例如氨溴索和阿戈司他(afegostat))以及金刚烷胺。能够治疗阿尔茨海默病的药剂的例子包括例如乙酰胆碱酯酶抑制剂,如他克林、卡巴拉汀、加兰他敏、多奈哌齐和美金刚。

[0457] 可与本文所述方法组合的用于蛋白质病或其他疗法包括心理社会干预、行为干预、回忆疗法、验证疗法、支持性心理疗法、感觉统合、认知再训练、康复、言语疗法等。其他干预包括手术、康复和饮食管理。

[0458] 本发明公开的奎宁环化合物和药物组合物可以用于动物或人。因此,本发明公开的化合物可以被配制为用于口服、口腔、肠胃外(例如静脉内、肌肉或皮下)、外用、直肠或鼻内施用或者呈适合于通过吸入或吹入施用的形式的药物组合物。在特定实施方案中,所述奎宁环化合物或药物组合物被配制用于全身施用,例如经由非肠胃外途径。在一个实施方案中,所述奎宁环化合物或药物组合物被配制用于例如以固体形式口服施用。例如,在Gibaldi's Drug Delivery Systems in Pharmaceutical Care(第1版,American Society of Health-System Pharmacists 2007)中描述了此类施用模式和制备合适的药物组合物的方法。

[0459] 可以使用例如用于提供所需的释放曲线的不同比例的羟丙基甲基纤维素、其他聚合物基质、脂质体和/或微球配制所述药物组合物以便提供其中活性成分的缓慢、延长或控制释放。所述药物组合物还可以任选地含有遮光剂,并且可以具有如下组成,其仅或优先地在胃肠道的特定部分中释放一种或多种活性成分,任选地以延迟的方式,例如通过使用肠溶衣。包埋组合物的例子包括聚物质和蜡。所述活性成分也可以是微囊化形式,如果合适的话,其具有本领域熟知的一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂(参见例如,Remington's)。本发明公开的化合物可以根据本领域普通技术人员熟知的方法被配制用于持续递送。此类配制品的例子可在美国专利3,119,742;3,492,397;3,538,214;4,060,598;和4,173,626中找到。

[0460] 在用于口服施用的固体剂型(例如胶囊、片剂、丸剂、糖衣丸、粉末、颗粒等)中,所述活性成分与一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂(如柠檬酸钠或磷酸二钙)和/或任何以下项混合:(1)填充剂或增量剂,如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇、微晶纤维素、磷酸钙和/或硅酸;(2)粘合剂,例如像羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、预胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基甲基纤维素、蔗糖和/或阿拉伯树胶;(3)保湿剂,如甘油;(4)崩解剂,如琼脂、碳酸钙、羟基乙酸淀粉钠、马铃薯或木薯淀粉、藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;(5)

溶液阻滞剂,如石蜡;(6)吸收促进剂,如季铵化合物;(7)润湿剂,例如像十二烷基硫酸钠、乙酰醇和单硬脂酸甘油酯;(8)吸收剂,如高岭土和膨润土;(9)润滑剂,如滑石、二氧化硅、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠及其混合物;以及(10)着色剂。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,所述药物组合物还可以包含缓冲剂。也可以使用软和硬填充明胶胶囊中的填充剂和赋形剂如(乳糖或奶糖)以及高分子量聚乙二醇等制备相似类型的固体组合物。

[0461] 可以通过压缩或模制(任选与一种或多种辅助成分一起)来制造片剂。可以使用粘合剂(例如,明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如,羧基乙酸淀粉钠或交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂和/或分散剂来制备压缩片剂。可以通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉末状活性成分的混合物来制备模制片剂。可以任选地用包衣和外壳(如肠溶衣和本领域熟知的其他包衣)来刻痕或制备片剂和其他固体剂型(如糖衣丸、胶囊、丸剂和颗粒)。

[0462] 在实施方案中,将所述药物组合物以液体形式口服施用。活性成分的用于口服的液体剂型包括药学上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酏剂。用于口服施用的液体制剂可以作为干产物呈现,以供在使用前用水或其他合适的媒介物构造。除了活性成分之外,所述液体剂型可以含有在本领域中常用的惰性稀释剂,例如像水或其他溶剂、增溶剂和乳化剂,如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(例如,棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和山梨聚糖的脂肪酸酯类及其混合物。除了惰性稀释剂之外,所述液体药物组合物还可以包含佐剂,如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂、着色剂、芳香剂和防腐剂等。除了一种或多种活性成分之外,悬浮液还可以含有悬浮剂,如但不限于乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨糖醇和脱水山梨糖醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄芪胶及其混合物。可以通过常规手段用一种或多种药学上可接受的添加剂如悬浮剂(例如山梨糖醇糖浆、甲基纤维素或氢化食用脂肪);乳化剂(例如卵磷脂或阿拉伯树胶);非水性媒介物(例如杏仁油、油性酯或乙醇);和/或防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸)来制备合适的液体制剂。也可以以推注、药糖剂或糊剂的形式施用一种或多种活性成分。

[0463] 对于口腔施用,所述组合物可以采取以常规手段配制的片剂或锭剂的形式。

[0464] 在实施方案中,通过非口服方式如通过外用施用、透皮施用、注射等施用所述药物组合物。在相关实施方案中,通过注射、输注或植入(例如静脉内、肌内、动脉内、皮下等)肠胃外施用所述药物组合物。

[0465] 本发明公开的化合物可以被配制用于通过注射(包括使用常规导管插入技术)或输注进行肠胃外施用。用于注射的配制品可以以具有防腐剂的单位剂型呈现(例如在安瓿或多剂量容器中)。所述组合物可以采取如在油性或水性媒介物中的悬浮液、溶液或乳液的形式,并且可以含有配制剂,如本领域技术人员认可的悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。可替代地,所述活性成分可以呈粉末形式,以供在使用前用合适的媒介物(例如无菌无热原水)重构。

[0466] 可以将所述药物组合物直接施用至中枢神经系统。因此,在某些实施方案中,将所述组合物直接施用至中枢神经系统以避免血脑屏障。在一些实施方案中,可以经由直接脊

髓注射施用所述组合物。在实施方案中,通过鞘内注射施用所述组合物。在一些实施方案中,经由脑室内注射施用所述组合物。在实施方案中,将所述组合物施用至大脑侧脑中。在实施方案中,将所述组合物施用至两个大脑侧脑中。在另外的实施方案中,经由海马内注射施用所述组合物。可以在一次注射或多次注射中施用所述组合物。在其他实施方案中,将所述组合物施用至多于一个位置(例如,施用至中枢神经系统中的两个部位)。

[0467] 所述药物组合物可以呈无菌注射剂的形式。可以将所述药物组合物通过例如通过保留细菌的过滤器过滤或通过掺入呈无菌固体组合物的形式的灭菌剂来灭菌,所述灭菌剂可以紧接在使用前溶解于无菌水或一些其他无菌可注射介质中。为了制备这种组合物,将活性成分溶解或悬浮在肠胃外可接受的液体媒介物中。示例性的媒介物和溶剂包括但不限于水、通过添加适量的盐酸、氢氧化钠或合适的缓冲液调节至合适pH的水、1,3-丁二醇、林格氏液和等渗氯化钠溶液。所述药物组合物还可以含有一种或多种防腐剂,例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯。为了提高溶解度,可以添加溶解增强剂或增溶剂,或者所述溶剂可以含有10%-60%w/w的丙二醇等。

[0468] 所述药物组合物可以含有一种或多种药学上可接受的无菌等渗水溶液或非水溶液、分散液、悬浮液或乳液或可在使用前重构成无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。此类药物组合物可以含有抗氧化剂;缓冲液;抑菌剂;溶质,其使制品与预期接受者的血液等渗;悬浮剂;增稠剂;防腐剂;等等。

[0469] 可以用于本发明的药物组合物中的合适的水性和非水性载体的例子包括水、乙醇、多元醇(如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其合适的混合物、植物油(如橄榄油)以及可注射的有机酯(如油酸乙酯)。可以例如通过使用包衣材料(如卵磷脂)、在分散液的情况下通过维持所要求的粒度以及通过使用表面活性剂来维持适当流动性。在一些实施方案中,为了延长活性成分的作用,期望减缓来自皮下或肌肉注射的化合物的吸收。这可以通过使用水溶性差的结晶或无定形材料的液体悬浮液来实现。那么活性成分的吸收速率取决于其溶解速率,所述溶解速率又可以取决于晶体粒度和晶型。可替代地,通过将化合物溶解或悬浮在油性媒介物中来实现肠胃外施用的活性成分的延迟吸收。另外,可以通过包含延迟吸收的药剂(如单硬脂酸铝和明胶)来实现可注射药物形式的延迟吸收。

[0470] 控制释放的肠胃外组合物可以呈水性悬浮液、微球、微胶囊、磁性微球、油溶液、油悬浮液、乳液的形式,或者可以将所述活性成分掺入一种或多种生物相容性载体、脂质体、纳米颗粒、植入物或输注装置中。用于制备微球和/或微胶囊的材料包括但不限于可生物降解/可生物消化的聚合物,如聚乳酸羟基乙酸(polyglactin)、聚-(氰基丙烯酸异丁酯)、聚(2-羟乙基-L-谷氨酰胺)和聚(乳酸)。当配制控制释放的肠胃外制品时,可使用的生物相容性载体包括碳水化合物,如葡聚糖、蛋白质(如白蛋白、脂蛋白或抗体)。用于植入物的材料可以是不可生物降解的(例如聚二甲基硅氧烷)或可生物降解的(例如像聚(己内酯)、聚(乳酸)、聚(乙醇酸)或聚(原酸酯))。

[0471] 对于外用施用,本发明公开的化合物可以被配制为软膏或乳膏。本发明公开的化合物也可以被配制在直肠组合物中,如栓剂或保留灌肠剂,例如含有常规栓剂基质(如可可脂或其他甘油酯)。

[0472] 对于鼻内施用或通过吸入施用,本发明公开的化合物可以方便地以溶液或悬浮液的形式从由患者挤压或泵送的泵喷雾容器递送,或者作为气雾剂喷雾在使用合适的推进剂

(例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他合适的气体)的情况下从加压容器或雾化器提供。在加压气雾剂的情况下,剂量单位可以通过提供递送计量量的阀来确定。所述加压容器或雾化器可以含有本发明公开的化合物的溶液或悬浮液。用于吸入器或吹入器的胶囊和筒(例如由明胶制成)可以被配制为含有本发明公开的化合物和合适的粉末基质(如乳糖或淀粉)的粉末混合物。

[0473] 通常,将本文所述的药剂和组合物以足以治疗或预防受试者中的纤毛疾病的有效量或量施用。典型地,可以基于例如年龄、身体状况、体重、性别、饮食、施用时间和其他临床因素在该范围内调整剂量。有效量的确定完全在本领域技术人员的能力之内。

[0474] 用于口服、肠胃外或口腔施用至一般成人以治疗纤毛疾病的如本文所述的奎宁环定化合物的建议剂量是约0.1mg至约2000mg。在某些实施方案中,所述建议剂量是每单位剂量约0.2mg至约1000mg的活性成分。不管所述建议剂量的量,所述化合物的施用可以发生例如每天1至4次。在一个实施方案中,用于口服施用的剂量是约0.5至约2000mg,例如约1至约750mg。在一个实施方案中,用于直接施用至中枢神经系统中的剂量是约1 μ g至约1mg,例如约5 μ g至约0.5mg,或约10 μ g至约0.1mg。用于治疗或预防一般成人中的以上提及的病症的气雾剂配制品可以被安排成使得每个计量剂量或“一次吸入”的气雾剂含有约1mg至约10g,例如约2mg至约1g的本发明公开的化合物。施用可以是每天若干次,例如2、3、4或8次,每次给予例如1、2或3个剂量。在一些实施方案中,施用可以是通过5mg、10mg、15mg或20mg的单次日剂量。在一些实施方案中,施用可以是通过2、5、15、25、50、100或150mg的单次日剂量。

[0475] 在其他方面,本发明提供了一种如本文所述的剂型或药物组合物,其用于疗法中,例如用于如本文定义的方法中。

[0476] 已经在本文中进行了一般性描述,提供了以下非限制性例子以进一步说明本发明。

[0477] 实施例

[0478] 化学合成的一般程序

[0479] 一般程序A:用三光气形成氨基甲酸酯

[0480] 在室温下向盐酸胺(1当量)和三乙胺(3-4当量)在THF(浓度为约0.2M)中的悬浮液中添加三光气(0.35当量)。将反应混合物搅拌10min,并添加少量醚(1-2mL)。过滤掉三乙胺盐以提供异氰酸盐在THF/醚中的透明溶液。

[0481] 在室温下向醇(1.5当量)在THF(浓度为约0.2M)中的溶液中添加NaH[60%,油](1.5当量)。将反应混合物搅拌15min,并逐滴添加上述溶液(在THF/醚中的异氰酸盐)。在标准处理中,用盐水淬灭反应。将溶液用EtOAc萃取,并将有机层经Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩。将粗物质在combiflash(SiO₂筒,CHCl₃和在MeOH中的2N NH₃)上纯化以提供相应的氨基甲酸酯。

[0482] 一般程序B:用有机铈烷基化

[0483] 将CeCl₃(4当量)在THF(浓度为约0.2M)中的悬浮液在室温下搅拌1h。将悬浮液冷却至-78 $^{\circ}$ C,并逐滴添加MeLi/醚[1.6M](4当量)。使有机铈络合物形成1h的时间,并逐滴添加腈(1当量)在THF(浓度为2.0M)中的溶液。将反应混合物温热至室温并搅拌18h。将溶液冷却至0 $^{\circ}$ C,用水(约1mL)淬灭,接着添加50%氢氧化铵水溶液(约3mL),直至沉淀形成并沉降到烧瓶的底部。将混合物通过硅藻土垫过滤并浓缩。用HCl/二噁烷[4.0M]溶液处理粗物质。

将中间体芳基丙-2-胺盐酸盐在醚中研制,并将其原样用于下一步骤。可替代地,将粗游离碱胺在combiflash (SiO₂筒,CHCl₃和在MeOH中的2N NH₃)上纯化以提供相应的芳基丙胺。

[0484] 一般程序C:铃木偶联(Suzuki coupling)

[0485] 向芳基卤(1当量)在DME/水[4:1](浓度为约0.2M)的混合物中的溶液中添加硼酸(2当量)、钯催化剂(0.1-0.25当量)和碳酸钠(2当量)。将反应混合物在150°C下微波处理25min。通过硅藻土塞过滤并浓缩后,将粗产物在combiflash (SiO₂筒,CHCl₃和在MeOH中的2N NH₃)上纯化以提供相应的偶联加合物。

[0486] 可替代地:向芳基卤(1当量)在甲苯/水[20:1](浓度为约0.2M)的混合物中的溶液中添加硼酸(1.3-2.5当量)、钯催化剂(0.05-0.15当量)、三环己基膦(0.15-0.45当量)和磷酸钾(5当量)。将反应混合物在150°C下微波处理25min。通过硅藻土塞过滤并浓缩后,将粗产物在combiflash (SiO₂筒,CHCl₃和在MeOH中的2N NH₃)上纯化以提供相应的偶联加合物。

[0487] 一般程序D:环丙烷化

[0488] 向在-70°C下搅拌的芳基腈(1当量)和Ti(Oi-Pr)₄(1.7当量)的混合物中逐滴添加EtMgBr[在醚中3.0M](1.1当量)。将反应混合物温热至25°C并搅拌1h。在25°C下向上述混合物中逐滴添加BF₃·Et₂O(3当量)。添加后,将混合物再搅拌2h,然后用HCl水溶液[2M]淬灭。然后通过添加NaOH水溶液[2M]将所得溶液碱化。用乙醚萃取有机物质。合并有机层,经Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩。通过硅胶柱色谱(用石油醚/EtOAc:10/1至1/1洗脱)纯化粗物质以得到相应的1-芳基-环丙胺。

[0489] 一般程序E:使用铃木条件的联芳基偶联

[0490] 向芳基卤组分(1当量)在5:1(v/v)二噁烷/水(约0.15M)或5:1(v/v)N,N-二甲基甲酰胺(约0.15M)中的搅拌溶液中添加芳基硼酸酯或芳基硼酸组分(1-1.5当量)、碳酸钠(2-3当量)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(0.05当量)。将混合物加热(90°C)过夜,然后通过硅藻土塞过滤。将硅藻土用乙酸乙酯冲洗,并将合并的滤液用盐水洗涤、干燥(Na₂SO₄)并浓缩。将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化。

[0491] 一般程序F:使用经由混合酸酐/柯提斯重排路线产生的异氰酸酯形成氨基甲酸酯

[0492] 向羧酸组分(1当量)在四氢呋喃(约0.1M)中的搅拌溶液中添加三乙胺(2当量)。将反应冷却(0°C)并用氯甲酸异丁酯(1.5当量)处理。在0°C下1小时后,添加叠氮化钠(2当量)在水(约1M)中的溶液,将反应温热至室温。搅拌过夜后,将反应用水稀释并用乙酸乙酯萃取。将合并的萃取物用碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤,干燥(Na₂SO₄)并浓缩。将粗酰基叠氮化物经由与甲苯共蒸发进一步干燥,然后溶于甲苯(约0.1M)中。将搅拌的溶液回流2-2.5小时,冷却并用醇组分(1.25-2当量)处理。将反应在回流下加热过夜,然后浓缩。将残余物溶于乙酸乙酯或氯仿中,并用碳酸钠水溶液洗涤,(Na₂SO₄)并浓缩。使用氯仿/甲醇(极性较小的氨基甲酸酯)或氯仿/甲醇/氨(极性较大的氨基甲酸酯)溶剂梯度通过快速色谱在二氧化硅上纯化粗产物。

[0493] 实施例1:奎宁环化合物的合成

[0494] 1-氮杂双环[2.2.2]辛-3-基[2-(4'-氟联苯-3-基)丙-2-基]氨基甲酸酯(化合物1)

[0495] 使用一般程序C、1-氮杂双环[2.2.2]辛-3-基[2-(3-溴苯基)丙-2-基]氨基甲酸酯(600mg,1.63mmol)、4-氟苯基硼酸(457mg,3.27mmol)和乙酸钯(II)合物得到作为白色固体

的标题化合物 (373mg; 60%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.56 (s, 1H), 7.52 (dd, J=5.4, 8.4Hz, 2H), 7.42-7.38 (m, 3H), 7.12 (m, 2H), 5.18 (s, 1H), 4.62 (s, 1H), 2.66 (m, 6H), 1.72 (s, 6H), 2.01-0.83 (m, 5H) ppm。¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ 125.0, 124.0, 123.8, 116.0, 116.0, 71.3, 55.9, 55.5, 47.6, 46.7, 29.6, 25.6, 24.8, 19.8 ppm。纯度: 98.0% UPLCMS (210nm); 保留时间 0.95min; (M+1) 382.9。C₂₃H₂₇FN₂O₂ • 0.37 (CHCl₃) 的分析计算值: C, 65.86; H, 6.47; N, 6.57。实测值: C, 65.85; H, 6.69; N, 6.49。

[0496] (S)-奎宁环-3-基-2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基氨基甲酸酯 (化合物2)

[0497] 向4-氟硫代苯甲酰胺 (8.94g, 57.6mmol) 在乙醇 (70mL) 中的搅拌溶液中添加4-氯乙酰乙酸乙酯 (7.8mL, 58mmol)。将反应在回流下加热4小时, 添加4-氯乙酰乙酸乙酯 (1.0mL, 7.4mmol) 的等分试样进行处理, 并且回流另外3.5小时。然后将反应浓缩并将残余物在乙酸乙酯 (200mL) 与NaHCO₃水溶液 (200mL) 之间分配。将有机层与水层的反萃取物 (乙酸乙酯, 1x75mL) 混合, 干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩。将所得的琥珀色油使用己烷/乙酸乙酯梯度通过快速色谱纯化以提供作为低熔点、几乎无色的固体的2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)乙酸乙酯 (13.58g, 89%)。

[0498] 向2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)乙酸乙酯 (6.28g, 23.7mmol) 在DMF (50mL) 中的搅拌溶液中添加氢氧化钠 [在矿物油中的60%分散液] (2.84g, 71.0mmol)。将泡沫状混合物搅拌15分钟, 然后在冰浴中冷却并添加碘甲烷 (4.4mL, 71mmol)。将反应搅拌过夜, 使冷却浴缓慢温热至室温。然后将混合物浓缩, 并将残余物在乙酸乙酯 (80mL) 与水 (200mL) 之间分配。将有机层用第二部分的水 (1x200mL) 洗涤, 干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩。将所得的琥珀色油使用己烷/乙酸乙酯梯度通过快速色谱纯化以提供作为无色油的2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸乙酯 (4.57g, 66%)。

[0499] 向2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸乙酯 (4.56g, 15.5mmol) 在1:1:1 THF/乙醇/水 (45mL) 中的搅拌溶液中添加氢氧化锂一水合物 (2.93g, 69.8mmol)。将反应搅拌过夜, 浓缩并再溶解于水 (175mL) 中。将溶液用醚 (1x100mL) 洗涤, 通过添加1.0N HCl (80mL) 酸化, 并用乙酸乙酯 (2x70mL) 萃取。将合并的萃取物干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩以得到作为白色固体的2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸 (4.04g, 98%)。将该物质在没有纯化的情况下用于下一步骤。

[0500] 向2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸 (4.02g, 15.2mmol) 在THF (100mL) 中的搅拌并冷却 (0°C) 的溶液中添加三甲胺 (4.2mL, 30mmol), 接着添加氯甲酸异丁酯 (3.0mL, 23mmol)。将反应再冷搅拌1小时, 然后添加叠氮化钠 (1.98g, 30.5mmol) 在水 (20mL) 中的溶液。将反应搅拌过夜, 使冷却浴缓慢温热至室温。将混合物用水 (100mL) 稀释并用乙酸乙酯 (2x60mL) 萃取。将合并的萃取物用NaHCO₃水溶液 (1x150mL) 和盐水 (1x100mL) 洗涤, 干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩。在与甲苯 (2x50mL) 共蒸发后, 将所得的白色固体溶于甲苯 (100mL) 中并回流4小时。然后添加(S)-3-奎宁环醇 (3.87g, 30.4mmol) 并继续回流过夜。将反应浓缩并将残余物在乙酸乙酯 (100mL) 与NaHCO₃水溶液 (150mL) 之间分配。将有机层用水 (1x150mL) 洗涤, 干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩。将所得的灰白色固体使用氯仿/甲醇/氨梯度通过快速色谱纯化以提供作为白色固体的标题化合物 (4.34g, 73%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.96-7.88 (m, 2H), 7.16-7.04 (m, 3H), 5.55 (br s, 1H), 4.69-4.62 (m, 1H), 3.24-3.11 (m, 1H), 3.00-2.50 (m, 5H), 2.01-1.26 (m, 11H) ppm。¹³C NMR (400MHz, CDCl₃) δ 166.4, 165.1, 163.8 (d, J=250.3Hz),

162.9, 155.0, 130.1 (d, J=3.3Hz), 128.4 (d, J=8.5Hz), 115.9 (d, J=22.3Hz), 112.5, 71.2, 55.7, 54.2, 47.5, 46.5, 28.0, 25.5, 24.7, 19.6 ppm。纯度: 100% UPLCMS (210nm和254nm); 保留时间: 0.83min; (M+1) 390。

[0501] (S)-奎宁环-3-基(2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(化合物3)

[0502] 使用一般程序E和反应输入物2-(4-溴苯基)-2-甲基丙酸乙酯和4-(2-甲氧基乙氧基)苯基硼酸, 制备作为灰白色固体的2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)-2-甲基丙酸乙酯。向该化合物(3.01g, 8.78mmol)在1:1:1(v/v)四氢呋喃/乙醇/水(45mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂一水合物(1.47g, 61.4mmol)。将混合物加热回流过夜, 然后浓缩。将残余物溶解在水中, 用1N盐酸(65mL)处理并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 干燥(Na₂SO₄)并浓缩以提供作为白色固体的2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)-2-甲基丙酸(2.75g, 100%)。按照一般程序F使该中间体和(S)-奎宁环-3-醇反应以产生作为无色玻璃状固体的标题化合物。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ7.62-7.29(m, 7H), 7.01(d, J=8.9Hz, 2H), 4.47-4.37(m, 1H), 4.17-4.08(m, 2H), 3.72-3.62(m, 2H), 3.32(s, 3H), 3.09-2.25(m, 6H), 2.05-1.18(m, 11H) ppm。¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆) δ157.9, 154.5, 146.7, 137.4, 132.5, 127.5, 125.7, 125.2, 114.8, 70.4, 70.0, 66.9, 58.2, 55.4, 54.2, 46.9, 45.9, 29.4, 25.3, 24.2, 19.2 ppm。纯度: 100%, 100% (210和254nm) UPLCMS; 保留时间: 0.87min; (M+H⁺) 439.5。

[0503] 1-氮杂双环[2.2.2]辛-3-基[2-(联苯-3-基)丙-2-基]氨基甲酸酯(化合物4)

[0504] 使用一般程序C、1-氮杂双环[2.2.2]辛-3-基[2-(3-溴苯基)丙-2-基]氨基甲酸酯(600mg, 1.63mmol)、苯基硼酸(398mg, 3.27mmol)和乙酸钡(II)合物得到作为白色固体的标题化合物(379mg, 64%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.61(s, 1H), 7.56(d, J=7.4Hz, 2H), 7.50-7.38(m, 4H), 7.34(m, 2H), 5.16(s, 1H), 4.63(s, 1H), 3.39-2.09(m, 6H), 1.72(s, 6H), 2.02-0.73(m, 5H) ppm。¹³C NMR(100MHz, CDCl₃) δ154.8, 147.8, 141.6, 129.0, 129.0, 128.6, 127.5, 125.8, 125.0, 124.0, 71.6, 71.3, 55.9, 55.5, 47.6, 46.8, 31.5, 30.2, 30.0, 29.5, 25.6, 24.8, 19.8 ppm。纯度: 99% UPLCMS (210nm); 保留时间: 0.84min; (M+1) 365.0。C₂₃H₂₈N₂O₂ • 0.29(CHCl₃)的分析计算值: C, 70.02; H, 7.14; N, 7.01。实测值: C, 70.02; H, 7.37; N, 6.84。

[0505] (S)-奎宁环-3-基2-(联苯-4-基)丙-2-基氨基甲酸酯(化合物5)

[0506] 使用一般程序B将溴苯甲腈(2.00g, 11.0mmol)转化为作为棕色油的相应的2-(4-溴苯基)丙-2-胺(1.20g, 51%)。

[0507] 使用一般程序A、2-(4-溴苯基)丙-2-胺(1.0g, 4.7mmol)和(S)-奎宁环-3-醇得到(S)-奎宁环-3-基2-(4-溴苯基)丙-2-基氨基甲酸酯(1.0g, 58%)。

[0508] 使用一般程序C、上述溴化物(200mg, 0.540mmol)、苯基硼酸(133mg, 1.10mmol)和[PdCl₂(pddf)]CH₂Cl₂得到作为白色固体的标题化合物(70mg, 35%)。¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ7.60-7.53(m, 4H), 7.47(d, J=8.5Hz, 2H), 7.42(t, J=7.5Hz, 2H), 7.33(t, J=7.5Hz, 1H), 5.26(br s, 1H), 4.64(m, 1H), 3.33-3.15(m, 1H), 3.10-2.45(m, 5H), 2.40-1.80(m, 2H), 1.78-1.58(m, 7H), 1.55-1.33(m, 2H) ppm。¹³C NMR(125MHz, CDCl₃) δ154.5, 146.1, 140.8, 139.5, 128.7, 127.2, 127.1, 127.1, 125.2, 70.9, 55.5, 55.1, 47.4, 46.4, 31.1, 29.5, 25.3, 24.5, 19.5 ppm。纯度: 100% LCMS (214nm和254nm); 保留时间: 1.56min; (M+1) 365。

[0509] 奎宁环-3-基1-(联苯-4-基)环丙基氨基甲酸酯(化合物6)

[0510] 使用一般程序D,将溴苯甲腈(3.00g,16.5mmol)转化为作为黄色固体的相应的1-(4-溴苯基)环丙胺(1.80g,51%)。

[0511] 使用一般程序A、1-(4-溴苯基)环丙胺(1.0g,4.7mmol)和奎宁环-3-醇得到作为白色半固体的奎宁环-3-基1-(4-溴苯基)环丙基-氨基甲酸酯(1.3g,75%)。

[0512] 使用一般程序C、上述氨基甲酸酯(400mg,1.12mmol)、苯基硼酸(267mg,2.22mmol)和 $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ 得到作为粘性油的标题化合物(100mg,25%)。 1H NMR(500MHz, $CDCl_3$) δ 7.47(d, $J=7.5Hz$, 2H), 7.43(d, $J=8.0Hz$, 2H), 7.33(t, $J=7.5Hz$, 2H), 7.26-7.15(m, 3H), 5.93(br s, 0.6H), 5.89(br s, 0.4H), 4.67(m, 1H), 3.20-3.06(m, 1H), 2.88-2.42(m, 5H), 1.98-1.08(m, 9H) ppm。 ^{13}C NMR(125MHz, $CDCl_3$) δ 155.0, 141.0, 139.7, 138.2, 127.7, 126.1, 126.0, 124.8, 124.1, 70.0, 54.5, 46.3, 45.4, 34.1, 24.3, 23.2, 18.3, 17.0 ppm。纯度: 100%LCMC(214nm和254nm);保留时间:1.52min; (M+1) 363。

[0513] (S)-奎宁环-3-基1-(4'-氟联苯-4-基)环丙基氨基甲酸酯(化合物7)

[0514] 使用一般程序C、(S)-奎宁环-3-基1-(4-溴苯基)环丙基氨基甲酸酯、4-F-苯基硼酸和 $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ 得到作为白色固体的标题化合物(45%)。 1H NMR(500MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.06-7.83(d, 1H), 7.69-7.66(m, 2H), 7.59-7.55(m, 2H), 7.29-7.22(m, 4H), 4.56-4.54(m, 1H), 3.13-2.32(m, 6H), 1.91-1.19(m, 9H) ppm。 ^{13}C NMR(125MHz, $DMSO-d_6$) δ 163.2, 161.2, 156.4, 143.7, 136.9, 128.9, 128.8, 126.8, 125.6, 116.2, 116.0, 70.7, 55.8, 47.4, 46.4, 34.8, 25.7, 24.6, 19.6, 18.7, 18.6 ppm。纯度:>97%LCMS(214nm和254nm);保留时间: 1.96min; (M+1) 381.2。

[0515] (S)-1-氮杂双环[2.2.2]辛-3-基[1-(2',4'-di氟联苯-4-基)环丙基]氨基甲酸酯(化合物8)

[0516] 使用一般程序C、(S)-奎宁环-3-基1-(4-溴苯基)环丙基氨基甲酸酯(0.446g, 1.22mmol)、2,4-二氟苯基硼酸(0.386g,2.44mmol)和 $Pd(OAc)_2$ (0.015g,0.067mmol)得到作为棕褐色固体的标题化合物(0.111g,23%)。 1H NMR($CDCl_3$) δ 7.43(dd, $J=8.4, 1.6Hz$, 2H), 7.40-7.33(m, 1H), 7.31(d, $J=7.7Hz$, 2H), 6.99-6.81(m, 2H), 5.54(d, $J=48.0Hz$, 1H), 4.82-4.65(m, 1H), 3.30-3.07(m, 1H), 2.98-2.44(m, 5H), 1.97(d, $J=32.7Hz$, 1H), 1.83(d, $J=10.3Hz$, 1H), 1.64(s, 1H), 1.52(s, 1H), 1.39(s, 1H), 1.31(d, $J=6.8Hz$, 4H) ppm。 ^{13}C NMR主要的旋转异构体($CDCl_3$) δ 162.2(dd, $J=12.8, 249.1Hz$), 159.8(dd, $J=11.8, 251.0Hz$), 156.9, 156.0, 142.6, 133.1, 131.3(m), 128.9, 125.6, 124.9, 111.5(dd, $J=3.9, 21.2Hz$), 104.4(dd, $J=25.2, 29.4Hz$), 72.1, 71.6, 55.7, 47.4, 46.5, 35.7, 35.3, 25.5, 24.6, 24.4, 19.5, 18.1 ppm。纯度:LCMS>99.3%(214nm和254nm);保留时间:0.90min; (M+1) 399.0。

[0517] 1-氮杂双环[2.2.2]辛-3-基[1-(4'-甲氧基联苯-4-基)环丙基]氨基甲酸酯(化合物9)

[0518] 使用一般程序C、奎宁环-3-基1-(4-溴苯基)环丙基氨基甲酸酯(0.485g, 1.33mmol)、4-甲氧基苯基硼酸(0.404g,2.66mmol)和 $Pd(OAc)_2$ (0.016g,0.071mmol)得到作为灰色固体的标题化合物(0.337mg,65%)。 1H NMR($CDCl_3$) δ 7.48(dd, $J=8.6, 5.5Hz$, 4H), 7.29(d, $J=7.6Hz$, 2H), 6.96(d, $J=8.8Hz$, 2H), 5.58(d, $J=48.7Hz$, 1H), 4.83-4.63(m, 1H), 3.84(s, 3H), 3.20(dd, $J=24.0, 15.5Hz$, 1H), 2.97-2.42(m, 5H), 1.97(d, $J=30.9Hz$, 1H),

1.81 (s, 1H), 1.75-1.33 (m, 3H), 1.28 (d, J=6.8Hz, 4H) ppm. ^{13}C NMR主要的旋转异构体 (CDCl_3) δ 159.1, 156.0, 141.4, 139.0, 133.4, 128.0, 126.7, 125.9, 114.2, 71.5, 55.7, 55.3, 47.4, 46.5, 35.3, 25.5, 24.6, 19.6, 17.8 ppm. 纯度: LCMS > 97.1% (214nm和254nm); 保留时间: 0.88min; (M+1) 393.4。

[0519] 奎宁环-3-基-2-(5-(4-氟苯基)噻吩-3-基)丙-2-基氨基甲酸酯(化合物10)

[0520] 向5-溴噻吩-3-甲酸乙酯(13.30g, 56.57mmol)在THF(100mL)中的搅拌并冷却(0℃)的溶液中经20分钟逐滴添加甲基溴化镁在乙醚[3.0M](55.0mL, 165mmol)中的溶液。2小时后,将反应溶液浓缩。将残余物溶于 NH_4Cl 水溶液(200mL)中并用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将合并的萃取物干燥(Na_2SO_4)并浓缩。将所得的琥珀色油使用己烷/乙酸乙酯梯度通过快速色谱纯化以提供作为淡琥珀色油的2-(5-溴噻吩-3-基)丙-2-醇(8.05g, 64%)。

[0521] 向2-(5-溴噻吩-3-基)丙-2-醇(8.03g, 36.3mmol)在二氯甲烷(80mL)中的搅拌溶液中添加叠氮化钠(7.08g, 109mmol),接着添加三氟乙酸(8.0mL;经5-6分钟逐滴添加)。将增稠的悬浮液搅拌1.5小时,然后用水(350mL)稀释并用乙酸乙酯(1x200mL)萃取。将有机层用 NaHCO_3 水溶液(1x250mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4)并浓缩以提供粗叠氮化物产物。向该物质在THF(160mL)中的搅拌溶液中添加水(11mL),接着添加三苯基膦(23.8g, 90.7mmol)。将反应搅拌2天,然后浓缩。将所得残余物溶于乙酸乙酯(250mL)中,并用1N HCl水溶液(4x75mL)萃取。将合并的萃取物用浓缩的 NH_4OH 碱化,并用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将这些萃取物依次干燥(Na_2SO_4)并浓缩。将所得的琥珀色油使用二氯甲烷/甲醇/氨梯度通过快速色谱纯化以提供作为粘性琥珀色油的2-(5-溴噻吩-3-基)丙-2-胺和三苯基氧化膦(约70/30比率)的混合物(1.32g, 17%)。

[0522] 向3-奎宁环醇(3.00g, 23.6mmol)在THF(100mL)中的搅拌溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯(5.94g, 29.5)。搅拌4小时后,将沉淀物过滤出,用THF冲洗,并在操作室真空下在玻璃料(frit)上经空气干燥。将滤饼溶解在乙酸乙酯(150mL)中,并用 NaHCO_3 水溶液(1x150mL)和水(2x150mL)洗涤。将有机层干燥(Na_2SO_4)并浓缩以提供粗4-硝基苯基奎宁环-3-基碳酸盐产物,将所述产物在没有纯化的情况下用于下一步骤。

[0523] 向2-(5-溴噻吩-3-基)丙-2-胺(0.366g, 1.66mmol)在THF(10mL)中的搅拌溶液中添加4-硝基苯基奎宁环-3-基碳酸酯(0.571g, 1.95mmol)和一些4-(二甲基氨基)吡啶颗粒。将混合物回流过夜,浓缩并在乙酸乙酯(50mL)与 NaHCO_3 水溶液(50mL)之间分配。将有机层再次用 NaHCO_3 水溶液(1x50mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4)并浓缩。将所得的脏黄色的胶使用氯仿/甲醇/氨梯度通过快速色谱纯化以提供作为灰白色固体的奎宁环-3-基(1-(5-溴噻吩-3-基)环丙基)氨基甲酸酯(0.305g, 49%)。

[0524] 使用一般程序C、奎宁环-3-基(1-(5-溴噻吩-3-基)环丙基)氨基甲酸酯(0.227g, 0.742mmol)、4-氟苯基硼酸(0.208g, 1.49mmol)、三环己基膦(0.021g, 0.075mmol)、磷酸钾(0.866, 4.08mmol)和乙酸钡(8.0mg, 36 μmol)得到作为灰色固体的标题化合物(0.142g, 49%)。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 7.60-7.45 (m, 2H), 7.24-7.19 (m, 1H), 7.10-6.97 (m, 3H), 5.23 (br s, 1H), 4.72-4.61 (m, 1H), 3.30-3.04 (m, 1H), 3.03-2.25 (m, 5H), 2.09-1.02 (m, 11H) ppm. ^{13}C NMR(400MHz, CDCl_3) δ 162.3 (d, J=247.1Hz), 154.5, 149.8, 143.6, 130.7, 127.4 (d, J=8.1Hz), 121.8, 118.9, 115.8 (d, J=21.6Hz), 70.8, 55.5, 53.4, 47.3, 46.4, 29.0, 25.4, 24.4, 19.4 ppm. 纯度: 95.8% UPLCMS (210nm和254nm); 保留时间: 0.90min; (M+1)

389。

[0525] (S)-奎宁环-3-基2-(3-(4-氟苯基)异噻唑-5-基)丙-2-基氨基甲酸酯(化合物11)

[0526] 向2-(3-(4-氟苯基)异噻唑-5-基)丙-2-胺(1.21g, 5.12mmol)在甲苯中的搅拌溶液中添加光气在甲苯[约1.9M](10.8mL, 20.5mmol)中的溶液。将反应在回流下加热两个小时,然后浓缩。将残余物与甲苯(2x15mL)共蒸发以提供作为金色油的粗异氰酸酯中间体。将该物质溶于甲苯(10mL)中并用(S)-3-奎宁环醇(0.749g, 5.89mmol)处理。将反应在回流下加热过夜并浓缩。将残余物使用氯仿/甲醇/氨梯度通过快速色谱纯化以提供作为白色固体的标题化合物(0.971g, 49%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ8.09-8.00(m, 2H), 7.87(br s, 1H), 7.75(s, 1H), 7.35-7.25(m, 2H), 4.54-4.45(m, 1H), 3.14-2.92(m, 1H), 2.87-2.17(m, 5H), 1.98-0.98(m, 11H) ppm。¹³C NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ180.1, 165.6, 162.6(d, J=246.4Hz), 154.7, 131.2(d, J=3.0Hz), 128.7(d, J=8.4Hz), 118.2, 115.7(d, J=21.8Hz), 70.6, 55.3, 52.8, 46.9, 45.9, 29.9, 25.2, 24.2, 19.2ppm。纯度:100%UPLCMS(210nm和254nm);保留时间:0.82min; (M+1) 390。

[0527] (S)-奎宁环-3-基2-(4-(4-氟苯基)噻唑-2-基)丙-2-基氨基甲酸酯(化合物12)

[0528] 向3-氨基-3-硫酮丙酸乙酯(20.00g, 135.9mmol)在乙醇(120mL)中的搅拌溶液中添加2-溴-4'-氟苯乙酮(29.49g, 135.9mmol)。将混合物回流1小时,浓缩并在乙酸乙酯(300mL)与NaHCO₃水溶液(400mL)之间分配。将有机层与水层的反萃取物(乙酸乙酯, 1x100mL)混合,干燥(Na₂SO₄)并浓缩。将所得的浅棕色固体使用己烷/乙酸乙酯梯度通过快速色谱纯化以提供作为灰白色固体的2-(4-(4-氟苯基)噻唑-2-基)乙酸乙酯(29.92g, 83%)。

[0529] 向2-(4-(4-氟苯基)噻唑-2-基)乙酸乙酯(10.00g, 37.69mmol)在THF(250mL)中的搅拌并冷却(-78℃)的溶液中经15分钟逐滴添加叔丁醇钾在THF[1.0M](136mL, 136mmol)中的溶液,接着添加18-冠醚-6(1.6mL, 7.5mmol)。在-78℃下另外30分钟后,经5分钟逐滴添加碘甲烷(8.5mL)。将反应再冷搅拌2小时,然后倒入水(450mL)中并用乙酸乙酯(2x150mL)萃取。将合并的萃取物用盐水(1x200mL)洗涤,干燥(Na₂SO₄)并浓缩。将所得的棕色油使用己烷/乙酸乙酯梯度通过快速色谱纯化以提供作为淡琥珀色油的2-(4-(4-氟苯基)噻唑-2-基)-2-甲基丙酸乙酯(8.64g, 78%)。

[0530] 向2-(4-(4-氟苯基)噻唑-2-基)-2-甲基丙酸乙酯(0.900g, 3.07mmol)在1:1:1THF/乙醇/水(15mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂一水合物(0.451g, 10.7mmol)。搅拌过夜后,将反应浓缩并重新溶解在水(80mL)中。将溶液用醚(1x50mL)洗涤,通过添加1N HCl(15mL)酸化,并用乙酸乙酯(2x50mL)萃取。将合并的萃取物干燥(Na₂SO₄)并浓缩以得到作为淡金色固体的2-(4-(4-氟苯基)噻唑-2-基)-2-甲基丙酸(0.808g, 99%)。

[0531] 向2-(4-(4-氟苯基)噻唑-2-基)-2-甲基丙酸(0.784g, 2.96mmol)在THF(25mL)中的搅拌并冷却(0℃)的溶液中添加三乙胺(0.82mL, 5.9mmol),接着添加氯甲酸异丁酯(0.58mL, 4.4mmol)。将反应再冷搅拌1小时,然后添加叠氮化钠(0.385g, 5.92mmol)在水(7mL)中的溶液。将反应搅拌过夜,使冷却浴缓慢温热至室温。将混合物用水(100mL)稀释并用乙酸乙酯(2x60mL)萃取。将合并的萃取物用NaHCO₃水溶液(1x150mL)和盐水(1x100mL)洗涤,干燥(Na₂SO₄)并浓缩。在与甲苯(2x30mL)共蒸发后,将所得的灰白色固体溶于甲苯(25mL)中并回流4小时。然后添加(S)-3-奎宁环醇(0.753g, 5.92mmol)并继续回流3小时。将

反应浓缩并将残余物使用氯仿/甲醇/氨梯度通过快速色谱纯化以提供作为白色固体的标题化合物(0.793g,69%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.90-7.81(m,2H),7.32(s,1H),7.14-7.05(m,2H),5.76(br s,1H),4.72-4.65(m,1H),3.26-3.10(m,1H),3.03-2.37(m,5H),2.05-1.23(m,11H) ppm。¹³C NMR(400MHz,CDCl₃) δ177.6,162.6(d,J=248.4Hz),154.8,153.6,130.8(d,J=3.2Hz),128.1(d,J=8.1Hz),115.9(d,J=21.7Hz),112.2,71.6,55.7,47.4,46.5,29.1,25.4,24.7,19.6 ppm。纯度:100%UPLCMS(210nm和254nm);保留时间:0.82min;(M+1) 390。

[0532] 奎宁环-3-基(2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(化合物13)

[0533] 使用一般程序F和反应输入物2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)-2-甲基丙酸(如在实施例3中所述制备的)和奎宁环-3-醇,产生作为无色、玻璃状固体的标题化合物(23%)。NMR数据与实施例3的数据相匹配。纯度:100%,99.1%(210和254nm)UPLCMS;保留时间:0.87min;(M+H⁺) 439.0。

[0534] (S)-奎宁环-3-基(2-(3'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(化合物14)

[0535] 将4-(2-甲氧基乙氧基)苯基硼酸更换为3-(2-甲氧基乙氧基)苯基硼酸,使用实施例3中概述的反应顺序来制备2-(3'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)-2-甲基丙酸。按照一般程序F使该中间体和奎宁环-3-醇反应以产生作为玻璃状、无色固体的标题化合物。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.63-7.31(m,6H),7.24-7.10(m,2H),6.92(dd,J=8.2,1.9Hz,1H),4.51-4.34(m,1H),4.21-4.08(m,2H),3.72-3.64(m,2H),3.32(s,3H),3.09-2.26(m,5H),2.04-1.22(m,9H) ppm。¹³C NMR(100MHz,DMSO-d₆) δ158.9,154.6,147.6,141.5,137.6,129.9,126.3,125.2,118.9,113.2,112.5,70.4,70.0,66.9,58.2,55.4,54.2,46.9,45.9,29.4,25.3,24.2,19.2 ppm。纯度:100%,100%(210和254nm)UPLCMS;保留时间:0.91min;15(M+H⁺) 439.4。

[0536] 奎宁环-3-基(2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-3-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(化合物15)

[0537] 将2-(4-溴苯基)-2-甲基丙酸乙酯更换为2-(3-溴苯基)-2-甲基丙酸乙酯,使用实施例3中概述的反应顺序来制备2-(4'-(2-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-3-基)-2-甲基丙酸。按照一般程序F使该中间体和奎宁环-3-醇反应以产生作为黄色固体的标题化合物。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.62-7.20(m,7H),7.03(d,J=8.7Hz,2H),4.48-4.35(m,2H),4.18-4.08(m,2H),3.72-3.62(m,2H),3.32(s,3H),3.10-2.19(m,6H),2.10-1.10(m,11H) ppm。¹³C NMR(100MHz,DMSO-d₆) δ158.0,154.6,148.8,139.5,133.1,128.5,127.7,123.8,123.2,122.7,114.8,70.4,69.9,67.0,58.2,55.3,54.5,47.0,45.9,29.4,25.3,24.2,19.2 ppm。纯度:97.4%,94.6%(210和254nm)UPLCMS;保留时间:0.88min;(M+H⁺) 439.3。

[0538] 奎宁环-3-基(2-(4'-(3-甲氧基丙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(化合物16)

[0539] 向4-碘苯酚(10.05g,45.68mmol)在乙腈(100mL)中的搅拌溶液中添加碳酸钾(6.95g,50.2mmol)和1-氯-3-甲氧基丙烷(6.4mL,57.1mmol)。将混合物加热回流过夜,然后浓缩。将残余物溶于水中并用乙酸乙酯萃取。将合并的提取物用碳酸氢钠水溶液洗涤,干燥

(Na₂SO₄) 并浓缩。将粗物质使用己烷/乙酸乙酯洗脱液通过快速色谱在二氧化硅上纯化以提供作为无色油的1-碘-4-(3-甲氧基丙氧基)苯(4.39g, 33%)。按照一般程序E使该中间体和2-甲基-2-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)丙酸乙酯反应以产生2-(4'-(3-甲氧基丙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)-2-甲基丙酸乙酯。向该化合物(0.693g, 1.94mmol)在1:1:1(v/v)四氢呋喃/乙醇/水(10mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂一水合物(0.326g, 7.77mmol)。将混合物加热回流过夜,然后浓缩。将残余物溶解在水中,用1N盐酸(10mL)处理并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,干燥(Na₂SO₄)并浓缩以提供作为蜡状、灰白色固体的2-(4'-(3-甲氧基乙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基)-2-甲基丙酸(0.630g, 99%)。按照一般程序F使该中间体和奎宁环-3-醇反应以产生作为玻璃状、无色固体的标题化合物(62%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ7.61-7.29(m, 7H), 7.00(d, J=8.8Hz, 2H), 4.47-4.36(m, 1H), 4.05(t, J=6.4Hz, 2H), 3.48(t, J=6.3Hz, 2H), 3.26(s, 3H), 3.10-2.25(m, 6H), 2.04-1.74(m, 4H), 1.65-1.23(m, 9H) ppm。¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆) δ158.0, 154.5, 146.7, 137.4, 132.4, 127.5, 125.7, 125.2, 114.8, 69.9, 68.5, 64.6, 57.9, 55.4, 54.2, 46.9, 46.0, 29.4, 29.0, 25.2, 24.1, 19.2ppm。纯度:97.7%, 98.2%(210和254nm) UPLCMS;保留时间:0.96min; (M+H⁺) 453.5。

[0540] 奎宁环-3-基(2-(4'-(羟甲基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(化合物17)

[0541] 使用一般程序E和反应输入物2-(4-溴苯基)-2-甲基丙酸乙酯和4-甲酰基苯基硼酸,制备作为淡琥珀固体的2-(4'-甲酰基-[1,1'-联苯]-4-基)-2-甲基丙酸乙酯。按照一般程序F使该中间体和奎宁环-3-醇反应以产生作为泡沫状黄色固体的奎宁环-3-基(2-(4'-甲酰基-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯。向该物质(0.755g, 1.92mmol)在2:1(v/v)四氢呋喃/乙醇(15mL)中的搅拌溶液中添加硼氢化钠(0.073g, 1.93mmol)。45分钟后,将反应用水稀释并用氯仿萃取。将合并的萃取物干燥(Na₂SO₄)并浓缩至二氧化硅上。使用氯仿/甲醇/氨洗脱液在二氧化硅上的快速色谱提供了作为白色固体的标题化合物(0.323g, 43%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ7.66-7.29(m, 9H), 5.18(t, J=5.7Hz, 1H), 4.53(d, J=5.7Hz, 2H), 4.46-4.37(m, 1H), 3.11-2.19(m, 6H), 2.11-1.10(m, 11H) ppm。¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆) δ154.7, 147.3, 141.5, 138.4, 137.7, 127.0, 126.2, 126.1, 125.3, 70.0, 62.6, 55.4, 54.2, 46.9, 45.9, 29.4, 25.3, 24.2, 19.2ppm。纯度:97.5%, 99.1%(210和254nm) UPLCMS;保留时间:0.73min; (M+H⁺) 395。

[0542] 奎宁环-3-基(2-(4'-(2-羟乙基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(化合物18)

[0543] 使用一般程序E和反应输入物1-(2-(苄氧基)乙基)-4-溴苯和2-甲基-2-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)丙酸乙酯,制备作为无色胶的2-(4'-(2-(苄氧基)乙基)-[1,1'-联苯]-4-基)-2-甲基丙酸乙酯。向该化合物(1.34g, 3.33mmol)在1:1:1(v/v)四氢呋喃/乙醇/水(18mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂一水合物(0.698g, 16.6mmol)。在回流下加热过夜后,将反应浓缩并在水与乙醚之间分配。将所得的乳液用0.2N氢氧化钠水溶液(5x50mL)反复萃取。每次去除水层的透明部分。然后将合并的水层用1.0N盐酸(80mL)处理,并将所得的白色固体悬浮液用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层干燥(Na₂SO₄)并浓缩以提供作为白色固体的2-(4'-(2-(苄氧基)乙基)-[1,1'-联苯]-4-基)-2-

甲基丙酸(1.20g,96%)。按照一般程序F使该化合物和奎宁环-3-醇反应以产生奎宁环-3-基(2-(4'-(2-苄氧基乙基)-[1,1'-联苯]-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯。向该物质(0.435g,0.806mmol)在甲醇中的搅拌溶液中添加1.0N盐酸(1mL)和10%碳载钨(50%水;0.087g)。将混合物在真空与氮气吹扫之间循环若干次,在最后一次抽空后再充满氢气。1.25小时后,将反应通过硅藻土过滤并浓缩。将残余物溶于碳酸钠水溶液中,并用4:1(v/v)氯仿/异丙醇萃取。将合并的萃取物干燥(Na_2SO_4)并浓缩至二氧化硅上。使用氯仿/甲醇/氨梯度在二氧化硅上的快速色谱提供了作为无色固体的纯化的标题化合物。 ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.85-7.63(m,1H),7.63-7.19(m,8H),4.78-4.62(m,2H),3.71-2.78(m,8H),2.76(t, $J=6.8\text{Hz}$,2H),2.26-1.96(m,2H),1.96-1.40(m,9H)ppm。 ^{13}C NMR(100MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 153.8,146.8,138.7,137.9,137.6,129.4,126.3,126.1,125.3,66.2,62.1,54.4,52.8,45.4,44.5,38.6,29.5,29.2,24.0,19.9,16.6ppm。纯度:100%,100%(210和254nm)UPLCMS;保留时间:0.75min;(M+H⁺)409。

[0544] 奎宁环-3-基(2-(2-(4-(3-甲氧基丙氧基)苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(化合物19)

[0545] 向4-甲氧基硫代苯甲酰胺(9.99g,59.7mmol)在乙醇(75mL)中的搅拌悬浮液中添加4-氯乙酰乙酸乙酯(8.1mL,60mmol)。将混合物在回流下加热4小时,然后冷却,添加另外的4-氯乙酰乙酸乙酯(0.81mL,6.0mmol)并返回至回流。再加热4小时后,将反应浓缩并在乙酸乙酯与碳酸氢钠水溶液之间分配。将有机层与另外的乙酸乙酯萃取物合并,干燥(Na_2SO_4)并浓缩。将粗产物使用己烷/乙酸乙酯梯度通过快速色谱在二氧化硅上纯化以提供作为淡琥珀色油的2-(2-(4-甲氧基苯基)噻唑-4-基)乙酸乙酯(14.51g,87%)。向该化合物(14.48g,52.2mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(125mL)中的搅拌溶液中经15分钟分批添加氢化钠(在矿物油中的60%分散液;6.27g,157mmol)。将所得的红色悬浮液冷却(0℃)并用碘甲烷(9.80mL,157mmol)经10分钟逐滴处理。去除冷却浴,将反应搅拌4小时,然后浓缩并将残余物在乙酸乙酯与水之间分配。将有机层用水洗涤多于两次,干燥(Na_2SO_4)并浓缩。将残余物使用己烷/乙酸乙酯梯度通过快速色谱在二氧化硅上纯化以提供作为淡琥珀色油的2-(2-(4-甲氧基苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸乙酯(14.12g,89%)。向该中间体(14.12g,46.24mmol)在二氯甲烷(250mL)中的搅拌溶液中经5分钟逐滴添加三溴化硼(11.0mL,116mmol)。搅拌过夜后,通过缓慢添加甲醇(约20mL)将反应淬灭,然后浓缩。将残余物溶于甲醇(250mL)和浓硫酸(7.0mL)中。将搅拌的溶液在回流下加热2小时,浓缩并在乙酸乙酯与碳酸氢钠水溶液之间分配。将有机层与水层的第二乙酸乙酯萃取物合并,干燥(Na_2SO_4)并浓缩以提供作为白色固体的2-(2-(4-羟基苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸甲酯(12.56g,98%)。向1-溴-3-甲氧基丙烷(1.66g,10.8mmol)在丙酮(30mL)中的搅拌溶液中添加苯酚中间体(2.00g,7.21mmol)和碳酸钾(1.25g,9.04mmol)。将混合物在回流下加热过夜,过滤并浓缩。使用己烷/乙酸乙酯梯度通过快速色谱在二氧化硅上纯化残余物以提供作为淡淡的琥珀色胶的2-(2-(4-(3-甲氧基丙氧基)苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸甲酯(2.47g,98%)。向该化合物(2.45g,7.01mmol)在1:1:1(v/v)四氢呋喃/乙醇/水(45mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂一水合物(1.47g,35.0mmol)。搅拌过夜后,将反应浓缩并在水与乙醚之间分配。将水层用1.0N盐酸(40mL)处理,并用乙酸乙酯萃取。将合并的萃取物干燥(Na_2SO_4)并浓缩以提供作为白色固体的2-(2-(4-(3-甲氧基丙氧基)苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸(2.19g,40

93%)。根据一般程序F使该化合物和奎宁环-3-醇反应以产生作为柔和的琥珀色固体的标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ7.82 (d, J=8.9Hz, 2H), 7.36 (br s, 1H), 7.24 (br s, 1H), 7.03 (d, J=8.9Hz, 2H), 4.49-4.41 (m, 1H), 4.07 (t, J=6.4Hz, 2H), 3.48 (t, J=6.4Hz, 2H), 3.26 (s, 3H), 3.09-2.26 (m, 6H), 2.02-1.91 (m, 2H), 1.91-1.03 (m, 11H) ppm. ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ165.8, 162.4, 160.0, 154.6, 127.5, 126.1, 114.9, 112.1, 70.1, 68.4, 64.8, 57.9, 55.4, 53.5, 46.9, 45.9, 28.9, 28.3, 25.2, 24.2, 19.2 ppm。纯度: 100%, 100% (210和254nm) UPLCMS; 保留时间: 0.87min; (M+H⁺) 460。

[0546] 奎宁环-3-基(2-(2-(4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(化合物20)

[0547] 向2-溴乙基甲基醚(1.88g, 13.5mmol)在丙酮中的搅拌溶液中添加2-(2-(4-羟基苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸甲酯(如实施例19中所述制备的, 2.00g, 7.21mmol)和碳酸钾(1.56g, 11.3mmol)。在回流下加热过夜后, 将混合物用另外的2-溴乙基甲基醚(1.88g, 13.5mmol)和碳酸钾(1.56g, 11.3mmol)处理。将反应在回流下加热第二晚, 过滤并浓缩。将残余物使用己烷/乙酸乙酯梯度通过快速色谱在二氧化硅上纯化以提供作为白色固体的2-(2-(4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸甲酯(2.71g, 90%)。向该化合物(2.71g, 8.08mmol)在1:1:1 (v/v) 四氢呋喃/乙醇/水(50mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂一水合物(1.70g, 40.5mmol)。搅拌过夜后, 将反应浓缩并在水与乙醚之间分配。将水层用1.0N盐酸(41mL)处理, 并用乙酸乙酯萃取。将合并的萃取物干燥(Na₂SO₄)并浓缩以提供作为白色固体(2.57g, 99%)的2-(2-(4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)噻唑-4-基)-2-甲基丙酸。根据一般程序F使该化合物和奎宁环-3-醇反应以产生作为淡琥珀色固体的标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ7.82 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.36 (br s, 1H), 7.24 (br s, 1H), 7.04 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.49-4.41 (m, 1H), 4.19-4.12 (m, 2H), 3.71-3.65 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 3.11-2.87 (m, 1H), 2.86-2.19 (m, 5H), 1.92-1.16 (m, 11H) ppm. ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ165.7, 162.9, 159.9, 154.6, 127.5, 126.2, 114.9, 112.2, 70.3, 70.1, 67.1, 58.2, 55.4, 53.5, 46.9, 45.9, 28.3, 25.2, 24.3, 19.2 ppm。纯度: 100%, 100% (210和254nm) UPLCMS; 保留时间: 0.85min; (M+H⁺) 446。

[0548] 奎宁环-3-基2-(5-(4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)吡啶-2-基)丙-2-基氨基甲酸酯(化合物21)

[0549] 使用一般程序E和反应输入物5-溴吡啶-2-甲腈和2-(4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷制备5-(4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)吡啶-2-甲腈。将三氯化铈(Cerium trichloride)(8.05g, 21.6mmol)装入烧瓶中, 并在真空下通过加热(170°C)干燥3小时。将固体溶于四氢呋喃(20mL)中并剧烈搅拌30分钟。将悬浮液冷却至-78°C, 并用3.0M的甲基锂在乙醚(7.2mL, 21.6mmol)中的溶液逐滴处理。添加后, 将反应在-78°C下搅拌1小时, 然后添加上述芳基硼酸酯(1.83g, 7.20mmol)在四氢呋喃(20mL)中的溶液。将混合物在-78°C下维持2小时, 然后使其温热至室温。此时, 通过添加氢氧化铵水溶液(10mL)将反应淬灭, 并通过硅藻土塞过滤。将滤液用乙酸乙酯萃取, 并将合并的萃取物用盐水洗涤, 干燥(Na₂SO₄)并浓缩。将残余物使用乙酸乙酯洗脱液通过快速色谱在二氧化硅上纯化以提供作为黄色固体的2-(5-(4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)吡啶-2-基)丙-2-胺(0.800g, 39%)。向该中间体(0.500g, 1.75mmol)在水(10mL)和浓盐酸(0.44mL)中的搅拌悬浮液中添

加甲苯 (10mL)。将该混合物冷却 (0℃) 并同时用三光气 (0.776g, 2.62mmol) 在甲苯 (10mL) 中的溶液和碳酸氢钠 (2.2g, 26mmol) 在水 (20mL) 中的溶液处理 1 小时。添加后, 将反应再搅拌 30 分钟, 然后去除上层甲苯层并干燥 (Na₂SO₄)。同时, 将奎宁环-3-醇 (0.445g, 3.64mmol) 在四氢呋喃 (10mL) 中的搅拌溶液用氢化钠 (在矿物油中的 60% 分散液; 0.154g, 3.85mmol) 处理。将该混合物搅拌 5 分钟, 然后添加粗异氰酸酯在甲苯中的溶液。将反应搅拌 10 分钟, 通过添加盐水 (5mL) 淬灭, 并用乙酸乙酯萃取。将合并的萃取物干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩。将残余物通过快速色谱在反相二氧化硅上纯化以提供作为浅黄色固体的标题化合物 (0.100g, 13%)。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.70-8.70 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.83-7.81 (m, 1H), 7.49-7.47 (d, J=9.0Hz, 2H), 7.45-7.43 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.03-7.01 (d, J=8.5Hz, 2H), 6.63 (br s, 1H), 4.68-4.66 (m, 1H), 4.16 (t, J=5.0Hz, 2H), 3.77 (t, J=5.0Hz, 2H), 3.45 (s, 3H), 3.19-2.70 (m, 6H), 2.15-1.89 (m, 2H), 1.76 (s, 6H), 1.73-1.36 (m, 3H) ppm. ¹³C NMR (125MHz, CDCl₃) δ 162.7, 158.9, 154.9, 145.9, 134.8, 134.3, 130.1, 128.1, 119.2, 115.2, 71.0, 70.8, 67.4, 59.2, 55.9, 55.7, 47.4, 46.5, 46.4, 27.9, 25.4, 24.6, 19.5 ppm. 纯度: >99% (214和254nm) LCMS; 保留时间: 1.32min; (M+H⁺) 440.2。

[0550] 奎宁环-3-基 (2-(4'-(3-氰基丙氧基)-[1,1'-联苯]-4-基) 丙-2-基) 氨基甲酸酯 (化合物22)

[0551] 向 4-溴苯酚 (17.1g, 98.8mmol) 在乙腈 (150mL) 中的搅拌溶液中添加 1-溴丁基脒 (12.3mL, 124mmol) 和碳酸钾 (15.0g, 109mmol)。将混合物加热至回流过夜, 冷却并浓缩。将残余物溶于水并用乙酸乙酯萃取。将合并的萃取物干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩, 并且将粗物质使用己烷/乙酸乙酯洗脱液通过快速色谱在二氧化硅上纯化以提供作为白色固体的 4-(4-溴苯氧基) 丁腈 (20.8g, 88%)。向该产物在 N,N-二甲基甲酰胺 (100mL) 中的搅拌溶液中添加双(频哪醇)二硼 (4.60g, 18.1mmol)、乙酸钾 (7.41g, 75.5mmol) 和 [1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]-二氯化钪(II) 与二氯甲烷的络合物 (0.616g, 1.04mmol)。将混合物加热至回流过夜, 然后浓缩。将残余物溶于乙酸乙酯中, 用水和盐水洗涤。将有机层干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩, 并将粗产物使用己烷/乙酸乙酯洗脱液通过快速色谱在二氧化硅上纯化以提供作为白色固体的 4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基) 苯氧基) 丁腈 (3.43g, 79%)。根据一般程序 E 使该产物和奎宁环-3-基 (2-(4-溴苯基) 丙-2-基) 氨基甲酸酯 (通过使用一般程序 F 使奎宁环-3-醇和 2-(4-溴苯基) 丙-2-胺反应制备的) 反应以产生作为白色固体的标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.67-7.26 (m, 7H), 7.02 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.50-4.33 (m, 1H), 4.08 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.14-2.18 (m, 8H), 2.04 (quin, J=6.7Hz, 2H), 1.94-1.70 (m, 11H) ppm. ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ 157.7, 154.5, 146.8, 137.4, 132.7, 127.6, 125.7, 125.2, 120.2, 114.9, 70.0, 65.8, 55.4, 54.2, 46.9, 45.9, 29.4, 25.3, 24.7, 24.2, 19.2, 13.4 ppm. 纯度: 100%, 98.9% (210和254nm) UPLCMS; 保留时间: 0.88min; (M+H⁺) 448.6。

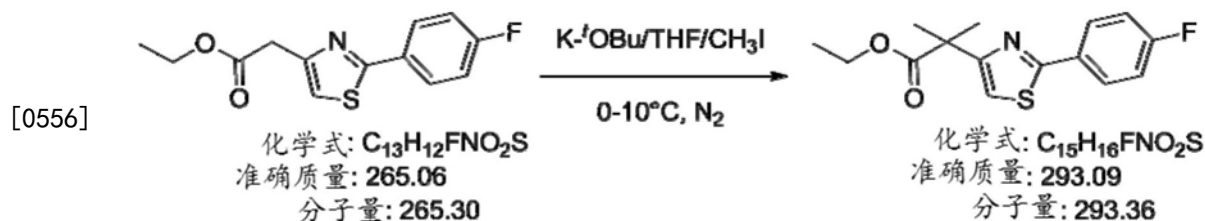
[0552] 奎宁环-3-基 (2-(4'-(氰基甲氧基)-[1,1'-联苯]-4-基) 丙-2-基) 氨基甲酸酯 (化合物23)

[0553] 使用一般程序 E 和反应输入物奎宁环-3-基 (2-(4-溴苯基) 丙-2-基) 氨基甲酸酯 (通过使用一般程序 F 使奎宁环-3-醇和 2-(4-溴苯基) 丙-2-胺反应制备的) 和 4-(氰基甲氧基) 苯基硼酸制备作为淡琥珀色固体的标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.65 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.60-7.31 (m, 5H), 7.15 (d, J=8.9Hz, 2H), 5.21 (s, 2H), 4.53-4.30 (m, 1H),

3.18-2.19 (m, 6H), 2.05-1.18 (m, 11H) ppm. ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) δ 155.8, 154.6, 147.2, 137.2, 134.4, 127.8, 126.0, 125.3, 116.7, 115.3, 70.0, 55.4, 54.2, 53.5, 46.9, 45.9, 29.4, 25.2, 24.2, 19.2 ppm. 纯度: 100%, 100% (210和254nm) UPLCMS; 保留时间: 0.85min; ($\text{M}+\text{H}^+$) 420.3。

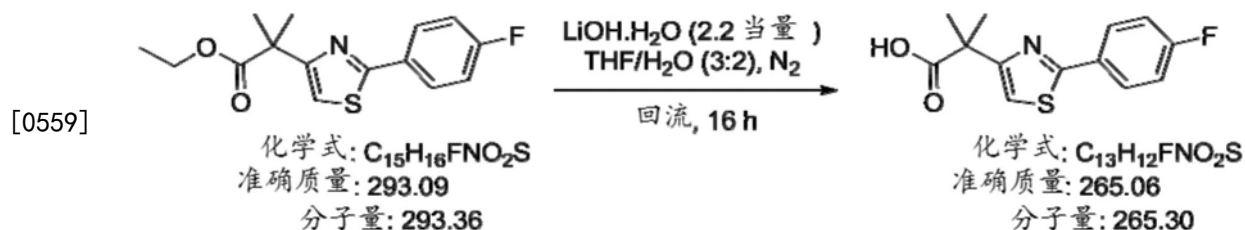
[0554] 实施例2: (S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯游离碱的制备

[0555] 步骤1: 用碘甲烷进行二甲基化



[0557] 3N RB烧瓶配备有温度计、加料漏斗和氮气入口。用氮气冲洗烧瓶, 并称取叔丁醇钾(MW 112.21, 75.4mmol, 8.46g, 4.0当量, 白色粉末), 并经由粉末漏斗将其添加至烧瓶, 接着添加THF (60mL)。将大部分叔丁醇钾溶解以得到浑浊的溶液。将该混合物在冰水浴中冷却至0-2°C (内部温度)。在单独的烧瓶中, 将起始酯(MW 265.3, 18.85mmol, 5.0g, 1.0当量) 溶解在THF (18mL+2mL作为漂洗剂) 中, 并转移至加料漏斗中。将该溶液经25-30min的时间逐滴添加至冷却的混合物中, 在添加过程中保持内部温度低于5°C。将反应混合物冷却回0-2°C。在单独的烧瓶中, 制备碘甲烷(MW 141.94, 47.13mmol, 6.7g, 2.5当量) 在THF (6mL) 中的溶液, 并将其转移至加料漏斗中。然后将含有碘甲烷溶液的烧瓶用THF (1.5mL) 冲洗, 然后将其转移至已经含有碘甲烷在THF中的透明无色溶液的加料漏斗中。将该溶液经30-40min的时间小心地逐滴添加至深棕色反应混合物中, 在添加过程中始终保持内部温度低于10°C。添加完成后, 将轻微混浊的混合物再搅拌1小时, 在此期间内部温度降至0-5°C。在0-5°C下搅拌1小时后, 通过经5-7min的时间缓慢逐滴添加5.0M HCl水溶液 (8mL) 将反应混合物淬灭。在此添加过程中, 内部温度保持低于20°C。添加后, 添加水 (14mL) 并将混合物搅拌2-3min。停止搅拌并使两层分离。然后将两层转移至250mL 1N RB烧瓶中, 并尽可能在真空中蒸发THF以获得THF/产物和水的三相层。将两层分离。在下一个反应中使用步骤1产物的THF溶液。

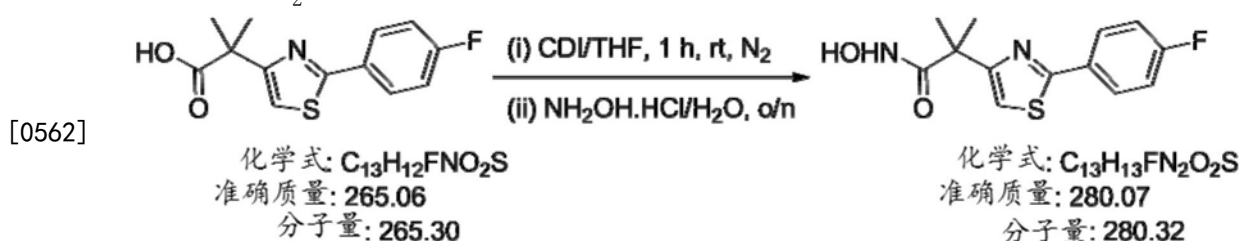
[0558] 步骤2: 用LiOH一水合物水解乙酯



[0560] 将THF中的粗酯添加至反应烧瓶中。单独地, 称取LiOH·H₂O (MW 41.96, 75.0mmol, 3.15克, 2.2当量) 在添加了搅拌棒的100mL烧杯中。添加水 (40mL) 并搅拌混合物直至所有固体溶解以得到透明的无色溶液。然后将该水溶液添加至含有酯在四氢呋喃 (THF) 中的溶液的250mL RB烧瓶中。将冷凝器附接至烧瓶的颈部, 并将氮气入口附接至冷凝器的顶部。将混合物在回流下加热16小时。16小时后, 停止加热, 并将混合物冷却至室温。在真空中蒸发THF

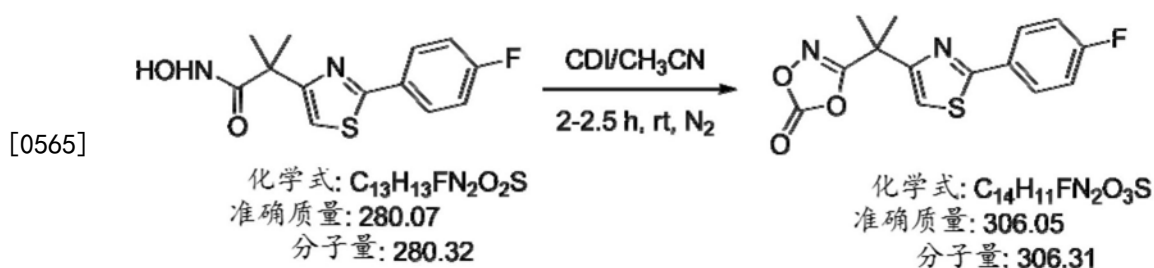
以获得棕色溶液。通过HPLC和LC/MS分析棕色水溶液的等分试样的完全乙酯水解。添加水(15mL),并将该碱性水溶液用TBME(2x40mL)萃取以去除叔丁酯。将碱性水溶液层在冰水浴中冷却至0-10℃,并通过在搅拌下逐滴添加浓HCl至pH为约1进行酸化。向酸性水溶液中的该胶状固体中添加TBME(60mL),并摇动混合物,然后剧烈搅拌以将所有酸溶解至TBME层中。将两层转移至分液漏斗中,然后分离出TBME层。用TBME(40mL)重新萃取淡黄色酸性水溶液,分离TBME层并与先前的TBME层合并。丢弃酸性水层。将合并的TBME层经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中蒸发以去除TBME,并获得作为橙色/深黄色油的粗酸,在高真空下固化为脏黄色固体。将粗酸称重,并通过将其在庚烷/TBME(3:1,5mL/g粗品)中加热而结晶以得到作为黄色固体的酸。

[0561] 步骤3:用NH₂OH.HCl形成异羟肟酸



[0563] 称取羧酸(MW 265.3, 18.85mmol, 5.0g, 1.0当量)并在氮气下转移至25mL 1N RB烧瓶中。添加THF(5.0mL),并将酸容易地溶解以得到透明的深黄色至棕色溶液。将溶液在冰浴中冷却至0-2℃(浴温),并经10-15分钟的时间以小份缓慢添加N,N'-羰基二咪唑(CDI; MW 162.15, 20.74mmol, 3.36g, 1.1当量)。去除冰浴,并将溶液在室温下搅拌1h。搅拌1h后,将溶液再次在冰水浴中冷却至0-2℃(浴温)。将盐酸羟胺(NH₂OH.HCl; MW 69.49, 37.7mmol, 2.62g, 2.0当量)作为固体以小份经3-5分钟缓慢添加,因为这种添加是放热的。添加完成后,将水(1.0mL)经2分钟的时间逐滴添加至非均相混合物中,并将反应混合物在冰水浴中在0-10℃下搅拌5分钟。去除冷却浴,并将反应混合物在室温下在氮气下搅拌过夜20-22h。当所有NH₂OH.HCl溶解时,溶液变得透明。20-22h后,通过高压液相色谱(HPLC)分析反应混合物的等分试样。然后在真空中蒸发THF,并将残余物溶于二氯甲烷(120mL)和水(60mL)中。将混合物转移至分液漏斗中,在其中摇动并使两层分离。丢弃水层,并用1N盐酸盐(HCl; 60mL)洗涤二氯甲烷层。丢弃酸层。将二氯甲烷层经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中蒸发溶剂以获得作为淡黄色固体的粗异羟肟酸,将其在高真空下干燥过夜。

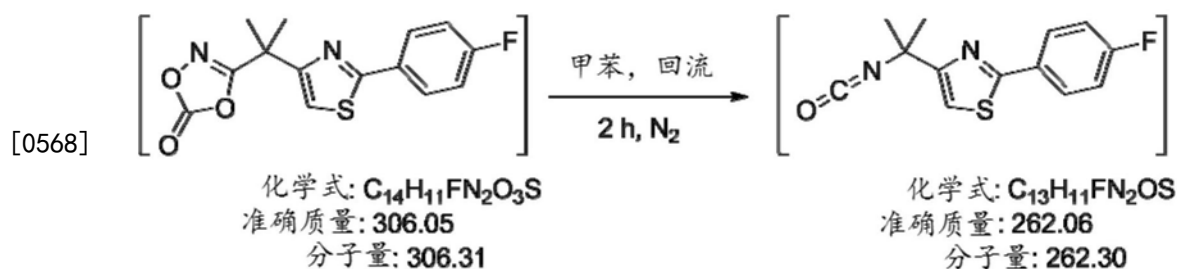
[0564] 步骤3续:将异羟肟酸转化为环状中间体(未分离)



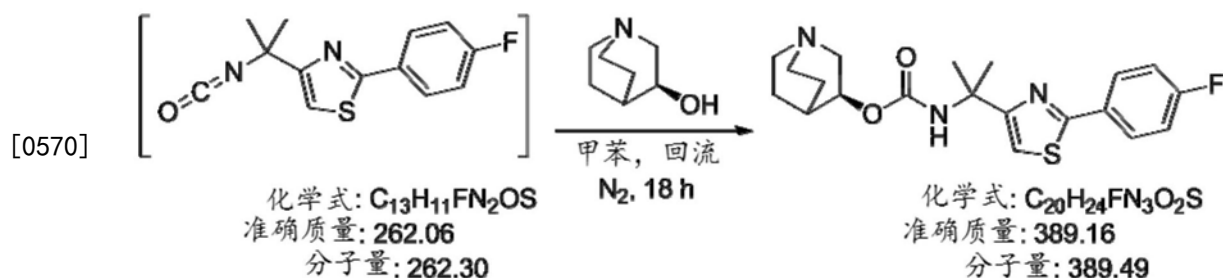
[0566] 将粗异羟肟酸(MW 280.32, 5.1g)转移至具有氮气入口的250mL 1N RB烧瓶中。添加搅拌棒,接着添加乙腈(50mL)。固体不溶于乙腈。将黄色非均相混合物在氮气下搅拌2-3分钟,并在室温下以单份添加CDI(MW 162.15, 20.74mmol, 3.36g, 1.1当量)。未观察到放热。固体立即溶解,并且将透明黄色溶液在室温下搅拌2-2.5h。2-2.5h后,通过HPLC和LC/MS分

析等分试样,其显示异羟肟酸转化为所需的环状中间体。

[0567] 然后在真空中蒸发乙腈以得到作为红色稠油的粗环状中间体。将油溶于甲苯(60mL)中,并将红色混合物加热至回流2小时,在此期间环状中间体释放CO₂并重排成异氰酸酯(见下文)。



[0569] 步骤3续:将异氰酸酯转化为游离碱



[0571] 将反应混合物冷却至50-60℃,并将(S) - (+) - 奎宁环醇(MW 127.18, 28.28mmol, 3.6g, 1.5当量)作为固体以单份添加至混合物中。将混合物重新加热至回流18h。18h后,通过HPLC和LC/MS分析等分试样,其显示异氰酸酯完全转化为所需产物。将反应混合物转移至分液漏斗中并添加甲苯(25mL)。将混合物用水(2x40mL)洗涤,并分离水层。将合并的水层用甲苯(30mL)重新萃取,并丢弃水层。将合并的甲苯层用1N HCl(2x60mL)萃取,并丢弃甲苯层(含有O-酰基杂质)。将合并的HCl层转移至配备有搅拌棒的500mL锥形瓶中。通过逐滴添加50%w/w NaOH水溶液将该搅拌的透明黄色/红橙色溶液碱化至pH为10-12。将所需的游离碱从溶液中沉淀为脏黄色胶状固体,其可能会困住搅拌棒。向该混合物中添加乙酸异丙酯(100mL),并且当胶状固体进入乙酸异丙酯时,将混合物剧烈搅拌5分钟。停止搅拌并使两层分离。分离黄色的乙酸异丙酯层,并用乙酸异丙酯(30mL)重新萃取碱性水层。丢弃碱性水层,并将合并的乙酸异丙酯层经无水Na₂SO₄干燥,将其过滤至预称重的RB烧瓶中,并在真空中蒸发溶剂以获得作为米色至棕褐色固体的粗游离碱,将其在高真空下干燥过夜。

[0572] 步骤3续:将粗游离碱重结晶

[0573] 将米色至棕褐色的粗游离碱称重,并从庚烷/乙酸异丙酯(3:1, 9.0mL溶剂/g粗游离碱)重结晶。将适量的庚烷/乙酸异丙酯与搅拌棒一起添加至粗游离碱中,并将混合物加热至回流10min(游离碱最初是部分可溶的,但当加热至回流时溶解以得到透明的红橙色溶液)。去除热源,并且当形成白色沉淀时,在搅拌下使混合物冷却至室温。在室温下搅拌3-4h后,使用布氏漏斗在操作室真空下过滤出沉淀物,用庚烷(20mL)洗涤,并在布氏漏斗上在操作室真空下干燥过夜。将沉淀物转移至结晶盘中,并在真空烘箱中在55℃下干燥过夜。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ8.04-7.83(m, 2H), 7.20-6.99(m, 3H), 5.53(s, 1H), 4.73-4.55(m, 1H), 3.18(dd, J=14.5, 8.4Hz, 1H), 3.05-2.19(m, 5H), 2.0-1.76(m, 11H) ppm. ¹³C NMR(100MHz, CDCl₃) δ166.38, 165.02, 162.54, 162.8-155.0(d, C-F), 130.06, 128.43, 128.34, 116.01,

115.79, 112.46, 71.18, 55.70, 54.13, 47.42, 46.52, 27.94, 25.41, 24.67, 19.58 ppm。

[0574] 实施例3: (S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯盐的结晶形式的制备

[0575] 可以如实施例23中所述制备(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯的结晶盐。

[0576] 例如,将(S)-奎宁环-3-基(2-(2-(4-氟苯基)噻唑-4-基)丙-2-基)氨基甲酸酯(约50mmol)在室温下溶解在IPA(140ml)中并过滤。将滤液添加至1L配备有顶置搅拌器和氮气进/出口的r.b.烧瓶中。将左旋苹果酸(约50mmol)在室温下溶解在IPA(100+30ml)中并过滤。将滤液添加至上述1升烧瓶中。将所得的溶液在室温下(有或没有引晶)在氮气下搅拌4至24小时。在此时间段内形成晶体。通过过滤收集产物并将其用少量IPA(30ml)洗涤。将结晶固体在55°C下在真空烘箱中干燥72小时以产生所需的苹果酸盐。

[0577] 其他盐的晶型(例如与琥珀酸或HCl的酸加成盐)可以以类似的方式来制备。

[0578] 实施例4: 化合物1对纤毛结构和信号传导的影响

[0579] 小鼠模型

[0580] Bbs2^{-/-}小鼠模型已由DY等人(Proc Natl Acad Sci, 101:16588-16593(2004))描述,其中Bbs2的外显子5-14已被新霉素盒代替。将小鼠回交至129/SvJ背景。从1月龄至6月龄,将处理的Bbs2^{-/-}小鼠用饮食中掺入的0.033%w/w化合物1随意喂养。将Bbs2^{-/-}和Wt对照动物用常规5053饲料(LabDiet)喂养。为了建立代谢疾病,Bbs2^{-/-}小鼠未经治疗直至四月龄,然后用掺入饮食中的化合物1治疗持续第五个月和第六个月。

[0581] 细胞培养和初级纤毛染色

[0582] 如前所述建立并维持野生型和Bbs2^{-/-}肾上皮细胞系(参见Natoli T等人,Nat Med, 16:788-792(2010);以及Humes HD.等人,Am J Kidney Dis, 39:1078-1087(2002))。在含有1%青霉素/链霉素、10%FBS的DMEM中,在胶原I包被的载玻片上培养细胞。为了确定化合物对纤毛和脂质定位的影响,将细胞在无血清培养基中培养24小时,接着添加化合物1持续6-24小时。然后用4%多聚甲醛固定细胞,接着用抗GM3(Creative Biolabs)、抗神经酰胺(Sigma Aldrich)、抗GM1(Invitrogen)和抗乙酰化微管蛋白(Cell Signaling)抗体进行免疫荧光分析。使用Metamorph软件定量纤毛长度。

[0583] 讨论和结果

[0584] 为了研究如本文所述的奎宁环化合物对纤毛结构和信号传导的作用机制,我们使用了来自Wt和Bbs2^{-/-}小鼠的永生化肾上皮细胞。首先,分析了突变对纤毛长度的影响,并且发现与Wt细胞相比,Bbs2^{-/-}细胞具有更短的纤毛(图1A)。接下来,研究了Wt和Bbs2^{-/-}细胞中鞘糖脂(GSL)、GM3、GM1和神经酰胺的特定水平。免疫荧光分析显示GM3和神经酰胺位于初级纤毛(图1B)。与Wt相比,GM3在Bbs2^{-/-}细胞的初级纤毛中富集。还发现与Wt小鼠相比,Bbs2^{-/-}细胞的细胞质中神经酰胺水平升高。GM1不位于纤毛,而是位于细胞内的囊泡区室(图1B)。

[0585] 最后,研究了采用化合物1的治疗对Wt和Bbs2^{-/-}细胞中GSL分布的影响。化合物1的这种治疗对GM3的分布有最深远的影响。所述治疗延长纤毛并恢复GM3定位,类似于在Wt细胞中观察到的(图1C)。总的来说,该数据证明,与野生型细胞相比,Bbs2^{-/-}细胞的特征在于较短的纤毛,错误定位的GSL,并且采用奎宁环化合物(如化合物1)的治疗可以恢复类似于在野生型细胞中观察到的纤毛长度和GM3定位。

[0586] 实施例5:化合物1的临床前体内功效研究

[0587] 评估GL1水平

[0588] GL1分析

[0589] 通过液相色谱和串联质谱(LC/MS)对糖基神经酰胺进行定量分析。简而言之,用Mini Beadbeater (BioSpec Products, Inc., 俄克拉何马州巴特尔斯维尔)将100mg组织在1ml水中匀浆化。将10 μ l的匀浆用1ml 90%的96:2:1:1乙腈/甲醇/乙酸/水(v/v/v/v)(流动相A)和10%的98:1:1甲醇/乙酸/水(v/v/v)(流动相B)萃取;两者均含有5mM乙酸铵。将样品置于VX-2500管涡旋振荡器(VWR International, LLC, 马萨诸塞州)上5min,然后以8,400rpm离心(Beckman Coulter, Inc., 印第安纳州)4min。将所得上清液转移至HPLC小瓶中以进行分析。使用与AB Sciex API 5000三重四极杆质谱仪(Applied Biosystems, 加利福尼亚州福斯特城)偶联的Acquity UPLC(Waters Corp., 马萨诸塞州米尔福德)收集糖基神经酰胺。使用2.1mm x 150mm Waters Atlantis HILIC二氧化硅柱通过正相LC分离葡萄糖神经酰胺(GL1)和半乳糖基神经酰胺。使用GL1标准品(葡萄糖脑苷脂,戈谢病脾脏;Matreya, LLC, 宾夕法尼亚州Pleasant Gap)进行定量。

[0590] 讨论和结果

[0591] 用化合物1在Bbs2^{-/-}小鼠BBS模型中进行了临床前体内功效研究。Bbs2^{-/-}小鼠BBS模型概括了人BBS的主要临床特征,包括肥胖、视网膜变性、神经和骨骼异常、肝脏表现和嗅觉缺失。为了确定如本文所述的奎宁环化合物在治疗BBS中的治疗益处,从1至6月龄使用饮食中的0.033%w/w化合物1治疗Bbs2^{-/-}小鼠。这种治疗导致脑、肾脏、肝脏和血清中GL1的水平降低,表明了充分的靶标接合(图2)(*p<0.05)。

[0592] 实施例6:化合物1对代谢参数的影响

[0593] 身体组成

[0594] 使用EchoMRITM分析身体组成。记录脂肪质量和瘦肉质量的测量结果,并计算身体脂肪的百分比。使用以下公式计算身体组分:脂肪质量/(脂肪质量+瘦肉质量)。

[0595] 食物消耗量

[0596] 从食物料斗和垫层记录食物重量。使用以下公式估计每只动物每天的平均食物消耗量:[(时间段开始时的食物重量-时间段结束时料斗中的食物重量-时间段结束时垫层中的食物重量)]/笼子中的动物数量/观察天数。

[0597] 血清瘦素

[0598] 在尸检过程中收集血液,并在室温下孵育15分钟以形成凝块。通过以15,000rpm离心5分钟去除凝块以收集血清。根据制造商的说明书使用瘦素ELISA试剂盒(R&D Systems)测量瘦素浓度。

[0599] 实时定量PCR

[0600] 使用TRIzol和氯仿萃取剂接着RNAeasy Mini Kit Purification(Qiagen)从在6月龄小鼠中解剖的匀浆化脂肪组织分离总RNA,将其使用NanoDrop 2300系统进行定量,并使用High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit(Applied Biosystems)逆转录。Fas和Srebf1的引物购自Applied Biosystems。根据制造商的说明书,使用Taqman Universal Master Mix(Thermo Fisher)在Applied Biosystems RT-PCR机器上对每个样品一式两份地进行定量PCR。使用用于定量的比较CT方法确定mRNA的相对量,并将其针对

GAPDH mRNA水平进行归一化。

[0601] 细胞体积的计算

[0602] 使用Visiopharm Image Analysis软件(DK-2970Hoersholm,丹麦,6.9.1版)对整个脂肪组织进行自动化数字图像分析。为每个数字图像创建并连续运行两个特定编写的应用程序。第一个应用程序使用阈值分类检测脂肪组织,并将所述区域概述为目标区(ROI)。第二个应用程序使用阈值将ROI内部的组织分为三类:细胞质(细胞质膜)、脂肪(脂肪细胞)和其他(不希望的伪影、大血管、其他组织)。后处理步骤包括用细胞质包封脂肪,并通过去除形状因子小于0.5的任何脂肪来选择足够的脂肪细胞进行计数。

[0603] 免疫荧光

[0604] 切开Wt和Bbs2^{-/-}小鼠的脑组织的石蜡包埋样品,并在高压锅中的抗原修复溶液(DAKO)中煮沸4微米切片以揭露抗原。将切片用3%BSA封闭1小时,接着与在3%BSA中稀释的针对腺苷环化酶III的一抗(Santa Cruz Biotechnology)在4℃下一起孵育过夜。以1:1000的稀释度使用Alexa Fluor 488二抗(Invitrogen)。使用Leica Application Suite Advance Fluorescence软件(Leica Microsystems)在装有x40和x60物镜的Leica DM5500B显微镜上获取图像。

[0605] 讨论和结果

[0606] 我们评价了如本文所述的奎宁环化合物对Bbs2^{-/-}小鼠中代谢参数的影响。BBS患者的代谢异常是患病的主要原因之一,并且已知会导致所述疾病的许多次要特征。本实施例说明采用化合物1的治疗导致食物消耗量、体重和身体脂肪的显著降低(图3A) (*p<0.05)。

[0607] 与野生型动物相比,Bbs2^{-/-}小鼠中的血清瘦素(一种由脂肪组织排泄的激素)升高。采用化合物1的治疗后,血清瘦素降至野生型水平(图3A)。

[0608] 已经提出,BBS中的肥胖与两种组分即周围组分和CNS相关组分相关(参见Marion V.等人,Cell Met.,16:363-377(2012))。为了分析周围系统组分在BBS相关肥胖中的作用,检查了治疗对Bbs2^{-/-}小鼠中脂肪形成的影响。对来自Bbs2^{-/-}小鼠的白色脂肪组织的分析提供了与野生型对照相比脂肪细胞大小显著增加的异质性脂肪细胞群体。采用化合物1的治疗导致脂肪细胞大小降低(图3B) (*p<0.05)。Bbs2^{-/-}小鼠中脂肪细胞大小的增加与促脂肪形成基因Srebf1的表达增加相关,其在治疗后被校正至在Wt对照中观察到的水平(图3C) (*p<0.05)。

[0609] 为了确定采用本文所述的奎宁环化合物的治疗是否对患有已建立疾病的动物中的代谢参数有影响,从4月龄开始用含有0.033%w/w化合物1的饮食治疗Bbs2^{-/-}小鼠两个月。

[0610] 如图4A所示,与未治疗的对照动物相比,该治疗在治疗一个月后导致体重、身体脂肪和血清瘦素降低。在两个月治疗后的最后时间点的脂肪组织分析也提供了脂肪细胞大小的减小(图4B) (*p<0.05)。这些数据表明,治疗可以在患有已建立疾病的患者群体中产生效果,例如在肥胖患者中产生效果。

[0611] 已经提出肥胖的CNS组分与下丘脑中的纤毛丧失有关,所述纤毛丧失导致瘦素信号传导的减少和食物消耗量的增加(参见Guo等人,PLOS.,DOI:10.1371(2016))。鉴于此,还对下丘脑中的纤毛进行了分析。与野生型相比,发现Bbs2^{-/-}小鼠中的纤毛丧失。这一发现与

在该小鼠模型中观察到的食物消耗量增加一致(同上)。此外,发现采用化合物1的治疗在Bbs2^{-/-}小鼠中保留了下丘脑纤毛(图5)。综合起来,这些数据表明治疗可以对与BBS相关的肥胖的周围和CNS组分产生作用。

[0612] 实施例7:化合物1对Bbs2^{-/-}小鼠脂肪组织中基因表达的影响

[0613] RNA萃取、下一代测序文库构建和数据分析

[0614] 使用TRIzol(Thermo Fisher Scientific)和氯仿萃取剂从在1至6月龄使用在饮食中的0.033%w/w化合物1(Bbs+Cmpd1#1-4)治疗的四只六月龄Wt(Wt#1-4)、Bbs2^{-/-}(Bbs#1-4)或Bbs2^{-/-}中解剖的先前快速冷冻的脂肪组织分离总RNA。将RNA样品用RNAeasy Mini Kit(Qiagen)进一步纯化以去除基因组DNA。使用NanoDrop 8000显微分光光度计(Thermo Fisher Scientific)评估RNA的浓度和纯度。然后用4200TapeStation System(Agilent Technologies)评价RNA完整性。

[0615] 根据制造商的建议(Illumina),使用TruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit产生测序文库。使用High Output NextSeq 500/550v2.5试剂盒在Illumina NextSeq 500平台(2x75bp配对端读数)上进行测序。

[0616] 使用Array Studio V10.1(Omicsoft Corporation,Qiagen公司)进行数据分析,并将其映射至Genome Reference Consortium Mouse Build 38。根据软件开发者(Omicsoft),使用Center Scale归一化算法对中值归一化Log₂表达值生成热图。

[0617] 讨论和结果

[0618] 肥胖是诸如BBS的纤毛疾病的主要临床特征(Beales,P.,Curr.Opin.Genet.Dev.,15:315-323(2005))。为了更好地了解化合物1对脂肪形成的影响,对来自Wt、Bbs2^{-/-}和用化合物1治疗的Bbs2^{-/-}的脂肪组织进行RNA测序分析。在来自Wt、Bbs2^{-/-}和Bbs2^{-/-}+化合物1组的脂肪组织中差异表达的mRNA的热图分析显示出在脂肪形成途径中81个差异表达的基因。

[0619] 对参与鞘糖脂途径的基因和参与初级纤毛的形成和内稳态(在本文中也称为纤毛形成)的基因进行了类似的分析。热图显示,在鞘糖脂和纤毛途径中分别有33个和52个差异表达基因。

[0620] 这些数据表明,采用化合物1的治疗使失调的参与脂肪形成、纤毛形成的途径中的基因的表达正常化,以及参与和BBS相关的在脂肪组织中失调的鞘脂内稳态的基因的表达正常化。

[0621] 实施例8:GCS抑制对肝脏异常的影响

[0622] ALT和甘油三酯水平的测量

[0623] 使用VetACETM分析仪(Alfa Wasserman,West Coldwell,新泽西州)测量甘油三酯和ALT水平。

[0624] 讨论和结果

[0625] 还研究了采用化合物1的治疗对Bbs2^{-/-}小鼠中的肝脏异常的影响。研究显示,BBS患者产生了与肥胖密切相关的肝脏表型(参见Day等人,Clin.Genet.,89:507-509(2015))。与这些患者类似,Bbs2^{-/-}小鼠被表征为具有若干种肝脏异常,包括肝脏重量、血清ALT和甘油三酯升高,所述肝脏异常在采用化合物1的治疗后正常化(图6)。这些数据表明,采用如本文所述的奎宁环化合物治疗的效果也可以改善与肥胖相关的肝脏表型。

[0626] 实施例9:化合物1对视网膜变性的影响

[0627] 视网膜变性

[0628] 使用非侵入性成像技术(即使用Bioptigen Envisu R2200仪器的光学相干断层扫描(OCT))生成具有2微米分辨率的视网膜横截面图像以测量体内视网膜细胞层的厚度。

[0629] 免疫荧光

[0630] 制备来自Wt和Bbs2^{-/-}小鼠的眼睛的石蜡包埋样品,并如上文所述进行分析。使用的一抗是视紫红质(Thermo Scientific)和视锥抑制蛋白(EMD Millipore)。

[0631] 讨论和结果

[0632] 若干个小鼠BBS模型已显示出进行性视网膜变性,其导致生命早期失明(参见Tobin JL等人,Pediatr.Nephrol.,7:926-936(2007)和Nishimura DY等人,同上)。已发现如由Nishimura所描述的Bbs2^{-/-}小鼠模型的特征还在于外核层(ONL)的巨大变性、视杆和视锥的数量减少以及视网膜中细胞凋亡水平的增加。在Bbs2^{-/-}动物中发现这些变化是进行性的,并且在早期阶段观察到(图7A)。从一月龄开始用化合物1治疗5个月导致ONL的厚度增加约2倍(图7B)(*p<0.05)。在采用化合物1治疗的情况下还观察到通过部分恢复/保留视杆视锥特异性染色(图7C)所证明的视网膜细胞结构的改善。

[0633] 实施例10:化合物1对主要嗅觉上皮(MOE)的影响

[0634] 嗅觉

[0635] 使用从Yang M.等人(Curr Protoc Neurosci,DOI:10.1002/0471142301.ns0824s48(2009))修改的方案测试动物嗅觉。在测试之前,使动物适应三天,然后在具有Alpha Dri垫层的笼子里禁食18小时。将甜食(Bioserv Supreme Mini-Treats,巧克力风味)埋藏在具有3cm厚垫层的干净笼子的1cm深处。将动物置于笼子里,并且记录发现并咬到甜食时的时间。如果受试者在10分钟过去后未能找到埋藏的食物,则停止测试,并将等待期得分记录为10min。

[0636] 免疫荧光

[0637] 制备来自Wt和Bbs2^{-/-}小鼠的鼻腔的石蜡包埋样品,并如上文所述进行分析。使用的一抗是乙酰化微管蛋白(Cell Signaling Technology)、细胞角蛋白14(Protein Tech)、SRY-Box 2(Cell Signaling Technology)、双皮质素(Cell Signaling Technology)和嗅觉标记蛋白(Wako)。

[0638] 讨论和结果

[0639] 发现采用如本文所述的奎宁环化合物的治疗保留了主要嗅觉上皮(MOE)中的纤毛。使用基于确定找到埋藏甜食的时间的嗅觉功能测试在体内评估嗅觉的改善。与Wt动物相比,Bbs2^{-/-}小鼠具有嗅觉缺陷,其通过用化合物1治疗而恢复(图8A)(*p<0.05)。

[0640] 在组织学检查和免疫荧光分析后,观察到与Wt对照相比,Bbs2^{-/-}小鼠中MOE中的纤毛特异性染色(acTubulin)显著降低(图8B)。在Bbs2^{-/-}小鼠中未发现明显的呼吸上皮异常(数据未示出)。

[0641] 采用化合物1的治疗导致嗅觉改善,这与MOE中纤毛的保留/恢复相关(图8B)。与体内数据一致,Bbs2^{-/-}小鼠的MOE的特征在于腺苷酸环化酶III(ACIII)的量减少,所述酶引发气味信号传导级联。治疗导致ACIII增加,这表明气味信号传导级联的激活(图8C)。

[0642] 沿着这些相同路线的进一步研究还提供了采用如本文所述的奎宁环化合物的治

疗对MOE中细胞分化的影响。主要嗅觉上皮是由四个不同的细胞层构成的多细胞层：基底细胞(干细胞)、支持细胞、未成熟神经元和成熟神经元，所述成熟神经元能够通过干细胞分化为成熟神经元而再生(McIntyre J等人,Nat Med,18:1423-1428(2012))。这种分化过程在Bbs2^{-/-}小鼠中受损，如通过未成熟神经元的积累和成熟神经元的减少所证明的。采用化合物1的治疗导致这种表型被校正为类似于野生型动物的表型(图9)。这些数据表明，如本文所述的奎宁环化合物的作用机制是通过调节分化。

[0643] 上述实施例中呈现的结果提供了如本文所述的奎宁环化合物对体内纤毛疾病的作用，并且成功地证明了施用本文所述的奎宁环化合物对治疗纤毛疾病的治疗潜力。

[0644] 实施例11：化合物1对脂肪细胞分化的影响

[0645] 体外脂肪细胞分化测定

[0646] 为了检查化合物1对其他突变的影响，我们开发了在人前脂肪细胞中的体外分化测定。使用siRNA在细胞中敲低BBS基因BBS1、BBS2或BBS10。为此，将人前脂肪细胞SQ细胞(Lonza)以30,000个细胞/cm²的密度铺板于PGM-2前脂肪细胞生长培养基-2BulletKit(Lonza)中，并在37°C下生长过夜。第二天，将细胞用BBS1、BBS2或BBS10特异性siRNA在OptiMem(Invitrogen)中在存在Lipofectamine 2000(Invitrogen)的情况下转染，并在RDM-2培养基(Lonza)中在存在或没有1.25、1.5、5.0和10μM浓度的化合物1(在100%乙醇中制备化合物1的原液并将其用RDM-2培养基稀释至终浓度，然后添加至细胞中)的情况下分化10天。非特异性siRNA(乱序)的混合物用作阴性对照。在脂肪细胞分化的第0、5、7和10天，用Quantikine ELISA试剂盒(RnD Systems, Inc.)收获培养基以进行瘦素分析。显微照相术(Axiovert 25, Zeiss与LASv4.2, Leica)用于定量脂质积累，这通过细胞中脂质液泡的大小和数量来证明。

[0647] 讨论和结果

[0648] 我们评价了如本文所述的奎宁环化合物对脂肪细胞分化的影响，如通过脂质积累和瘦素分泌所测量的。BBS基因敲低对脂肪细胞分化的影响通过细胞中脂质积累的增加(图10A)和瘦素向培养基中分泌的增加(图10B)来证明。显示出采用化合物1的治疗抑制脂肪形成，导致以剂量依赖性方式减少脂质积累(图10C)和瘦素分泌(图10D)。

[0649] 实施例12：体外GCS抑制(化合物1和类似物)

[0650] 葡糖神经酰胺合酶活性的抑制可以用一种或多种测定来测量。第一种测定是通过HPLC直接测量神经酰胺向葡糖神经酰胺的转化的微粒体测定。微粒体是微粒体测定中葡糖神经酰胺合酶活性的来源。第二种测定是基于细胞的表型测定，其通过抗体介导的免疫荧光来监测下游脂质GM3的细胞表面表达。如下提供了具体方案。

[0651] 葡糖神经酰胺合酶活性微粒体测定：

[0652] 一种使用微粒体作为葡糖神经酰胺合酶活性的来源的酶测定。荧光神经酰胺底物作为与白蛋白的络合物被递送至膜结合酶。反应后，通过具有荧光检测的反相HPLC分离并定量神经酰胺和葡糖神经酰胺。使用荧光标记的底物和作为葡糖神经酰胺合酶的来源的微粒体来评估酶活性。将C₆-NBD-神经酰胺与白蛋白络合以用于递送至根据以下所述的程序分离的微粒体。原液中C₆-NBD-神经酰胺的终浓度为0.5mM；BSA的终浓度为0.5mM。底物和产物(葡糖神经酰胺)的分离和定量通过具有荧光检测的反相HPLC来实现。

[0653] 从A375人黑色素瘤细胞制备微粒体

[0654] 从A375人黑色素瘤细胞分离微粒体。通过胰蛋白酶消化收获八百万至一千万个细胞,并将其用冰冷PBS洗涤。将细胞重悬于含有蛋白酶抑制剂的冰冷裂解缓冲液中。使用探针超声波仪在冰上对细胞裂解物进行超声处理。超声处理后,通过在4℃下以10,000g离心10分钟,将细胞裂解物与碎片。移取上清液,并通过在4℃下以100,000g另外离心1小时来澄清。然后将沉淀物重悬于裂解缓冲液中,等分并在使用前在-80℃下储存。

[0655] 葡糖神经酰胺合酶测定

[0656] 为了确定葡糖神经酰胺合酶的抑制,将其 K_m 的2倍的底物(荧光神经酰胺和UDP-葡萄糖分别为 $3\mu\text{M}$ 和 $4\mu\text{M}$)和微粒体(1:50稀释度)1:1合并,并在室温下在黑暗中在平板摇床上孵育1小时。通过添加150 μL 的在50%异丙醇水溶液中的100 μM C_8 -神经酰胺来终止反应;在HPLC(具有荧光检测器)上分析10 μL 最终混合物。流动相是1%甲酸添加至81%甲醇/19%水中,其流速为0.5mL/min。在 $\lambda_{\text{ex}}=470\text{nm}$ 和 $\lambda_{\text{em}}=530\text{nm}$ 的情况下检测荧光。在这些条件下,NBD- C_6 -GluCer具有约1.7min的保留时间,并且在约2.1min后从柱洗脱NBD- C_6 -Cer。两个峰彼此分开并与基线分开,并且通过HPLC软件自动积分。底物到产物的转化百分比用作抑制剂测试的读数。

[0657] GM3荧光连接的免疫吸附测定(FLISA):

[0658] 这是一种表型分析,其测量在采用测试化合物治疗后B16小鼠黑色素瘤或C32人黑色素瘤细胞中的GM3表达。细胞表面GM3表达通过抗体介导的荧光来测定。

[0659] 将化合物在介质中稀释并铺板于384孔板中的DMSO中。分别以每孔20,000个细胞/ml和62,500个细胞/ml的密度测定B16和C32细胞。每个滴定曲线含有10个点,在每次测试运行时一式两份对其进行测定。将板在37℃、5%CO₂下孵育48小时,然后用TBS洗涤一次。将抗GM3抗体添加至每个孔中,然后将板在室温下再孵育1小时。随后将板洗涤两次,并用标记的二抗再孵育一个小时。在最终孵育后,将板洗涤两次,并且在荧光读取器上检测 $\lambda_{\text{ex}}=640/20\text{nm}$ 和 $\lambda_{\text{em}}=657\text{nm}$ 处的荧光。

[0660] 测定结果

[0661] 这些测定中某些示例性化合物的单独测定结果呈现在下表中。微粒体测定的结果表示为“GCS IC_{50} ”,其表示引起葡糖神经酰胺合酶活性的50%抑制的化合物浓度。对于B16测定和C32测定,基于细胞的测定的结果分别表示为“GM3 B16 IC_{50} ”或“GM3 C32 IC_{50} ”。这些值表示引起细胞表面GM3表达的50%抑制的化合物浓度。

化合物 编号	GCS IC ₅₀ (mM)	GM3 B16 IC ₅₀ (mM)	GM3 C32 IC ₅₀ (mM)
1	0.0019	0.0156	0.0021
2	0.0601	0.1068	0.0096
3	0.00414	0.0437	0.00131
4	0.0015	0.0116	0.0008
5	0.0012	0.0193	0.0003
6	0.0028	0.0181	0.0006
7	0.0014	0.0081	0.0004
8	0.0010	0.0075	0.0004
9	0.0014	0.0168	0.0004
10	0.0064	0.0213	0.0022
[0662] 11	0.0149	0.0819	0.0018
12	0.0203	0.0878	0.0037
13	0.0035	0.0386	0.0007
14	0.0104	0.1096	0.0053
15	0.0267	0.0295	0.0049
16	0.0024	0.0666	0.0016
17	0.4544	0.8786	0.0216
18	0.1480	0.6555	0.0223
19	0.1701	0.1972	0.0426
20	0.3601	0.1065	0.0198
21	0.0506	0.2658	0.0111
22	0.0096	0.0865	0.0032
23	0.0026	0.0477	0.0008

[0663] 这些比较结果证明,根据本公开文本的化合物具有与GCS的抑制剂可比较的体外活性,并且因此预期显示出类似的体内益处。

[0664] 实施例13:化合物2在健康人志愿者中的药代动力学

[0665] 进行两项1期临床研究以评估在存在和不存在食物的情况下,在健康人志愿者中化合物2的药代动力学、药效动力学、安全性和耐受性。化合物2也称为文鲁司他(venglutat)。

[0666] 研究1

[0667] 研究1是在健康成年男性志愿者中2部分单中心试验。部分1是针对安全性、耐受性和PK的化合物2的盲、随机化、安慰剂对照的依序递增单剂量研究。部分2是针对PK的在餐和没有高脂肪餐食的情况下化合物2的开放标签、单群组、随机化、2序列、2阶段、2治疗交叉研究。

[0668] 研究的部分1登记并随机化55名健康男性(安慰剂,n=14;2、5、15、25、50和100mg剂量,各剂量n=6;150mg剂量,n=5)。八名健康男性参加部分2。

[0669] 在部分1中,在禁食至少10小时后的第一天早晨将受试者随机化以接受2、5、15、25、50、100或150mg的化合物2(左旋苹果酸盐形式)或匹配的安慰剂。在部分2中,将受试者随机化以在禁食的同时(施用前禁食至少10小时且施用后禁食4小时)或标准化高脂肪早餐(约815kcal)后30分钟接受5mg化合物2的单次口服剂量。在7天的洗脱期之后,使参与者交换为另一种条件。

[0670] 在研究1的部分1中,在研究药物施用时(0小时)以及给药后0.5、1、2、3、4、5、6、8、10、12、16、24、48、72和96小时针对化合物2的血浆浓度进行血液采样。从研究药物施用前2小时开始直到之后48小时,收集尿液样品以分析化合物2浓度。

[0671] 在研究1的部分2中,在给药后0、0.5、1、2、3、4、5、6、8、10、12、16、24和48小时,针对化合物2的血浆浓度进行血液采样。

[0672] 从部分1发现,在单次口服剂量2至150mg剂量的化合物2后,最大血浆浓度(C_{max})发生在血浆浓度开始以指数方式下降之前的3-5.5小时的中值时间,其中几何平均 $t_{1/2}$ 为28.9小时。在整个剂量范围内,暴露量接近于与剂量成比例增加:75倍剂量增加导致几何平均 C_{max} 、 $AUC_{最后}$ 和 AUC_{inf} 值分别为97.3倍、89.2倍和85.9倍增加。PK结果如下表所示(AUC =时间浓度曲线下的面积,到最后可测量浓度或外推至无穷大; $t_{1/2}$ =末端半衰期; CL/F =表观血浆总清除率; CV =变异系数; SD =标准差; t_{max} =到 C_{max} 的时间; V_{ss}/F =稳态下的表观分布体积):

参数	2 mg (N=6)	5 mg (N=6)	15 mg (N=6)	25 mg (N=6)	50 mg (N=6)	100 mg (N=6)	150 mg (N=5)
C_{max} , ng/mL							
平均值 (SD)	5.7 (1.2)	14.7 (1.61)	53.0 (16.7)	84.4 (31.8)	181 (56)	374 (38)	529 (109)

[0674]

几何平均值 (CV)	5.6 (21.4)	14.6 (10.9)	50.7 (31.5)	79.9 (37.7)	173 (31)	372 (10.3)	520 (21)
t_{\max} , 中值h(范围)	3.50 (3.00-8.00)	5.50 (4.00-8.00)	3.50 (2.00-5.00)	5.00 (4.00-8.00)	4.00 (3.00-6.00)	3.00 (2.00-4.00)	4.00 (1.00-8.00)
AUC_{最后}, ng•h/mL							
平均值 (SD)	214 (52)	560 (71)	1,830 (520)	3,380 (1100)	6,310 (1880)	13,000 (2330)	18,600 (5480)
几何平均值 (CV)	209 (24.3)	556 (12.7)	1,760 (29)	3,240 (33)	6,070 (30)	12,800 (18)	18,000 (30)
AUC_{inf}, ng•h/mL							
平均值 (SD)	243 (61)	652 (122)	2,070 (600)	3,810 (1,080)	7,130 (2,320)	14,400 (3,010)	20,600 (6,640)
几何平均值 (CV)	237 (25)	643 (19)	1,990 (29)	3,690 (28)	6,800 (33)	14,100 (21)	19,900 (32)
$t_{1/2}$, h							
平均值 (SD)	29.2 (43)	33.3 (8.1)	29.7 (7.1)	30.2 (5.5)	28.9 (5.3)	27.8 (3.6)	26.9 (5.7)
几何平均值 (CV)	28.9 (14.8)	32.5 (24.4)	29.0 (24.0)	29.8 (18.1)	28.5 (18.4)	27.6 (12.8)	26.4 (21.3)
CL/F, L/h							
平均值 (SD)	6.43 (1.41)	5.86 (1.01)	5.85 (1.89)	5.18 (1.31)	5.75 (2.01)	5.38 (1.25)	5.80 (1.55)
几何平均值 (CV)	6.3 (22.0)	5.8 (17.3)	5.6 (32.2)	5.0 (25.3)	5.5 (34.9)	5.3 (23.4)	5.6 (26.7)
V_{ss}/F, L							
平均值 (SD)	275 (54)	274 (30)	245 (81)	240 (78)	239 (62)	213 (22)	228 (50)
几何平均值 (CV)	270 (20)	273 (11)	233 (33)	228 (33)	232 (26)	212 (10)	223 (22)

[0675] 从部分2发现,与空腹条件相比,与高脂肪餐食一起施用5mg剂量对化合物2暴露量没有影响。无论进食还是禁食,中值 t_{\max} 为6.00小时。对于 C_{\max} 和AUC_{最后}的进食/禁食几何平均比率分别为0.92和0.91。受试者内可变性(即进食与禁食)占总受试者可变性的不到一半。

[0676] 研究2

[0677] 研究2是在健康成年男性和女性志愿者中的化合物2的安全性、耐受性、PK和药效动力学的单中心、双盲、随机化、安慰剂对照、依序递增重复剂量研究。

[0678] 所述研究登记并随机化36名健康成人(19名男性和17名女性)(每组n=9)。将受试者随机化以在至少10小时禁食后接受每天一次剂量为5、10或20mg的化合物2(以左旋苹果酸盐形式的5mg胶囊提供)或安慰剂,持续14天。

[0679] 针对化合物2的血浆浓度如下进行血液采样:第1天,给药后0、0.5、1、2、3、4、5、6、

8、10、12和16小时；在第2-5、8、11和13天，在0小时；在第14天，在给药后0.5、1、2、3、4、5、6、8、10、12小时；在第15-17天，分别在第14天给药后24、48和72小时。在第1天（给药后0小时）收集尿液样品以及在第14天从给药后0-24小时连续收集尿液样品以分析化合物2浓度。药效动力学终点（血浆GL-1、GL-3和GM3浓度）在如下时间点进行评估：第1-5、8、11、13和14天，在给药后0小时；以及在第15天，在第14天给药后24小时。

[0680] 发现在每天一次接受5、10或20mg化合物2持续14天的受试者中，血浆 C_{max} 发生在第1和14天给药后2-5小时的中值时间。 $C_{谷}$ 值在第5天后达到平稳状态。在5-20mg的剂量范围内，化合物2暴露量接近于与剂量成比例增加；这种4倍剂量增加导致在第14天几何平均 C_{max} 和 AUC_{0-24} 值分别为3.76倍和3.69倍增加。下表中总结了来自研究2的PK结果：

第1天			
参数	5 mg (N=9)	10 mg (N=9)	20 mg (N=9)
C_{max} , ng/mL			
平均值(SD)	18.5 (3.2)	38.5 (7.4)	68.0 (15.7)
几何平均值(CV)	18.2 (17.3)	37.8 (19.3)	66.5 (23.1)
t_{max} , 中值h(范围)	5.00 (2.00-8.17)	3.00 (2.00-5.00)	3.07 (2.00-6.00)
AUC_{0-24} , ng•h/mL			
平均值(SD)	296 (54)	635 (132)	1,100 (211)
几何平均值(CV)	292 (18)	623 (21)	1,080 (19)
第14天			
C_{max} , ng/mL			
平均值(SD)	37.0 (6.4)	89.7 (29.1)	142 (40)
几何平均值(CV)	36.5 (17.2)	86.0 (32.5)	137 (28.3)
t_{max} , 中值h(范围)	3.00 (2.00-6.00)	2.00 (2.00-6.00)	3.00 (2.00-8.00)
AUC_{0-24} , ng•h/mL			
平均值(SD)	642 (121)	1,550 (464)	2,420 (705)
几何平均值(CV)	632 (19)	1,490 (30)	2,340 (29)
$C_{谷}$, ng/mL			
平均值(SD)	19.4 (4.0)	49.9 (19.3)	73.3 (24.4)
几何平均值(CV)	19.0 (20.5)	47.5 (38.7)	69.9 (33.2)
$t_{1/2}$, h			
平均值(SD)	29.3 (4.6)	31.3 (3.3)	35.0 (6.3)
几何平均值(CV)	29.0 (15.8)	31.2 (10.5)	34.5 (18.0)
CL_{ss}/F , L/h			
平均值(SD)	5.98 (1.17)	5.13 (1.25)	6.58 (1.70)
几何平均值(CV)	5.9 (19.5)	5.0 (24.4)	6.4 (25.8)
$CL_{R(0-24)}$, L/h			
平均值(SD)	1.55 (0.68)	1.49 (0.41)	2.07 (0.58)
几何平均值(CV)	NA ^a (44.0)	1.4 (27.7)	2.0 (28.0)

[0682] 14次化合物2的每日一次剂量后，其24小时不变的尿排泄分数（平均 e_{0-24} ）在26.3%与33.1%之间的范围内，没有任何明显的剂量相关性。平均 $CL_{R(0-24)}$ 在1.49L/h与2.07L/h之间，其比观察到的血浆 CL/F 低约3.18-3.86倍。

[0683] 安慰剂接受者中的血浆GL-1、GL-3和GM3始终与基线类似，而血浆GL-1和GM3水平在3个化合物2剂量组中从基线呈时间和剂量依赖性下降，如下表所示（在重复递增剂量研

究中在第15天葡萄糖神经酰胺 (GL-1)、三己糖神经酰胺 (GL-3) 和GM3神经节苷脂 (GM3) 的治疗比率的点估计):

参数	比较	估计	90%置信区间
GL-1	5 mg与安慰剂	0.39	0.29–0.50
	10 mg与安慰剂	0.32	0.25–0.42
	20 mg与安慰剂	0.23	0.17–0.30
GL-3	5 mg与安慰剂	0.61	0.47–0.79
	10 mg与安慰剂	0.69	0.53–0.89
	20 mg与安慰剂	0.67	0.51–0.89
GM3	5 mg与安慰剂	0.56	0.45–0.70
	10 mg与安慰剂	0.49	0.39–0.60
	20 mg与安慰剂	0.40	0.32–0.50

[0686] 对GL-1的最大持续影响发生在5和10mg组中的第11天以及20mg组中的第8天。在相应的5、10和20mg组中,在第15天相比于基线的平均计算GL-1减少为41.9%、69.6%和74.6%。在基线处1名5mg化合物2接受者中以及在第15天分别在5、10和20mg组中的3、5和9名受试者中,GL-1值低于下定量限 (LLOQ)。

[0687] 从第13天开始,所有化合物2剂量组中均出现最大持续GM3下降。对于5、10和20mg剂量组,平均第15天血浆GM3水平分别为基线的42.7%、49.4%和57.8%。分别在10和20mg剂量组中的1和2名受试者中,GM3在第15天低于LLOQ。

[0688] 在所有化合物2剂量组中,血浆GL-3也随时间降低,但相对于LLOQ的可变和低基线GL-3值限制了平均计算GL-3降低。在安慰剂、5、10和20mg剂量组中,在基线处分别在1、3、1和6名受试者中以及在第15天分别在4、9、7和9名受试者中GL-3值低于LLOQ。

[0689] 在5、10和20mg剂量组(分别为19.0、47.5和69.9ng/mL)中,归因于化合物2 $C_{\text{谷}}$ 的相比于基线的平均估计血浆GL-1降低(90%CI)分别为67.0%(54.4%-79.7%)、74.4%(63.7%-85.2%)和76.3%(64.8%-87.8%)。

[0690] 结论

[0691] 在这些研究中,当以范围为2-150mg的单次剂量或以重复的范围为5-20mg的每日一次剂量持续14天时,健康受试者中的化合物2暴露量(C_{max} 和AUC)接近于与剂量成比例。与禁食相比,高脂肪餐食对接受过单次5mg剂量的受试者中的暴露量没有影响。在重复的5-20mg每日一次剂量的情况下,在5天内达到稳定状态;年龄和性别均不影响积累。在药效动力学上,重复的每日一次剂量的化合物2以时间和剂量依赖性方式降低GL-1和GM3的血浆浓度,这与化合物2介导的GCS抑制一致,但基线GL-3水平太低而不能用作药效动力学生物标记物。剂量依赖性GL-1降低证实了化合物2的预期作用机制:抑制通过GCS从神经酰胺形成GL-1。

[0692] 在所有研究中,通过监测治疗期间出现的不良事件 (TEAE) (包括严重不良事件 [SAE])、ECG监测、实验值和身体检查一直到研究药物最后一次剂量后10天来评估安全性特征。

[0693] 在任何研究中,没有死亡、SAE、严重TEAE或TEAE导致的研究中止。

[0694] 在任何研究中均未报告临床相关的血液学或生化异常。在任何研究中,生命体征未显示出与基线相比的相关变化。在单次递增剂量和食物影响研究中,ECG参数未显示出相

关变化；在多重递增剂量研究中，在任何剂量的化合物2的接受者中，ECG参数相比于平均基线与安慰剂无统计学上的显著变化。

[0695] 应理解，虽然已经结合以上实施方案，对本发明进行了描述，但前面的描述和实施例旨在说明而非限制本发明的范围。其他方面，在本发明的范围内的优点和修改对于本发明所属领域的技术人员将是清楚的。

[0696] 另外，当本发明的特征或方面以马库什组 (Markush group) 描述时，本领域技术人员将意识到本发明还由此以马库什组的任何单独的成员或成员子组描述。

[0697] 将本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献均通过引用以其整体明确地并入，其程度如同通过单独引用并入。在矛盾的情况下，以包括定义在内的本说明书为准。

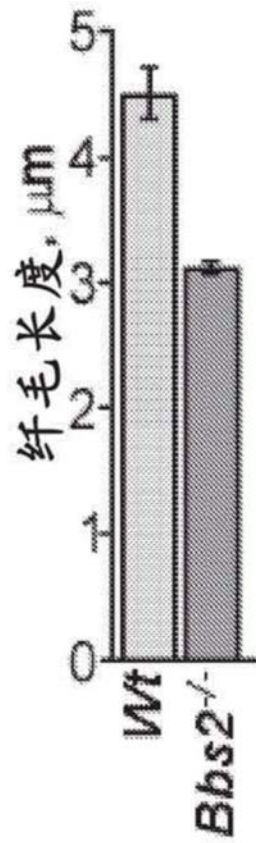


图1A

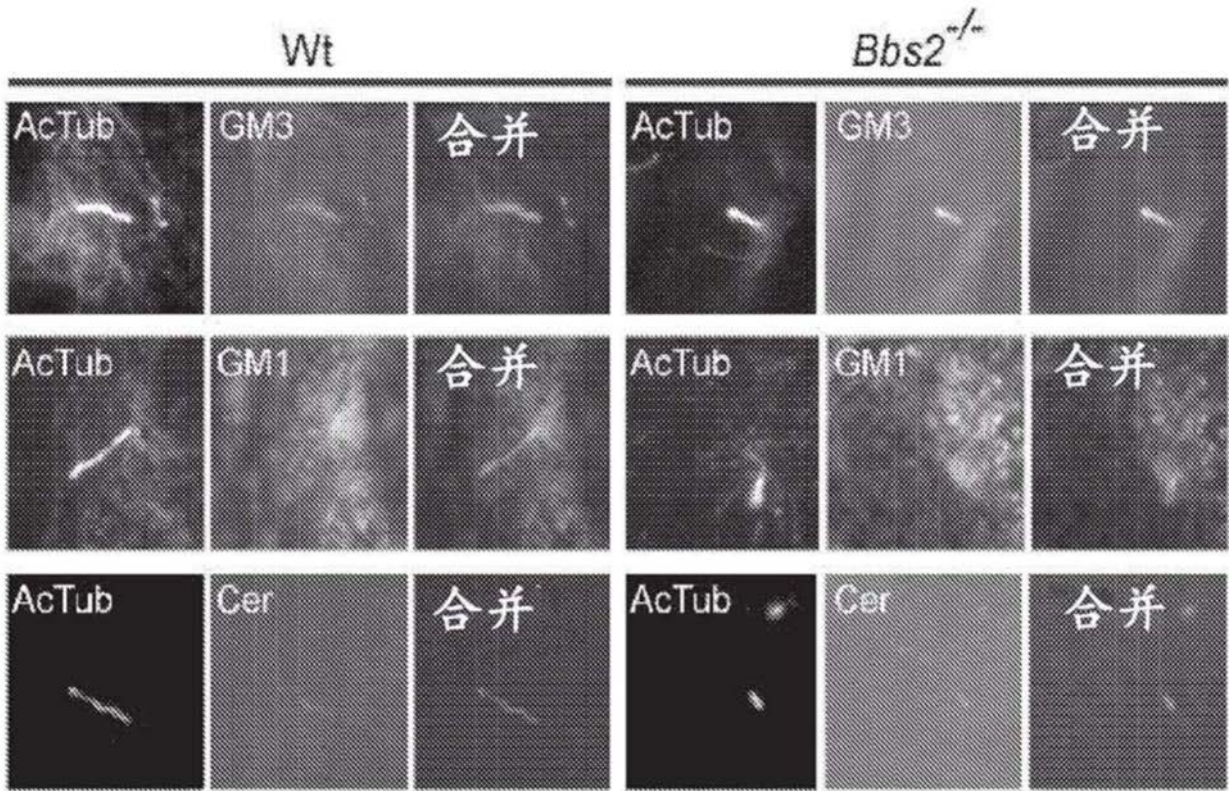


图1B

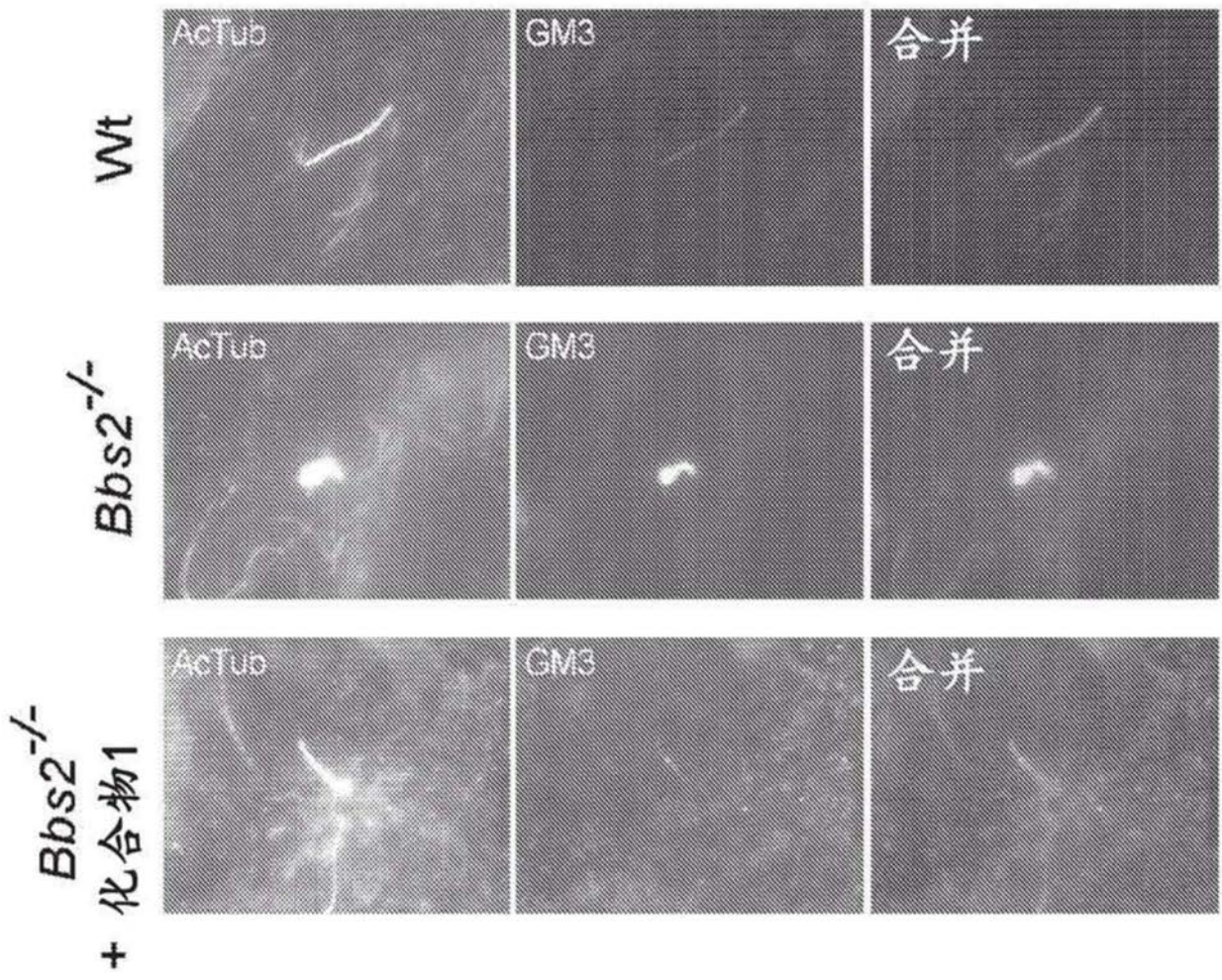


图1C

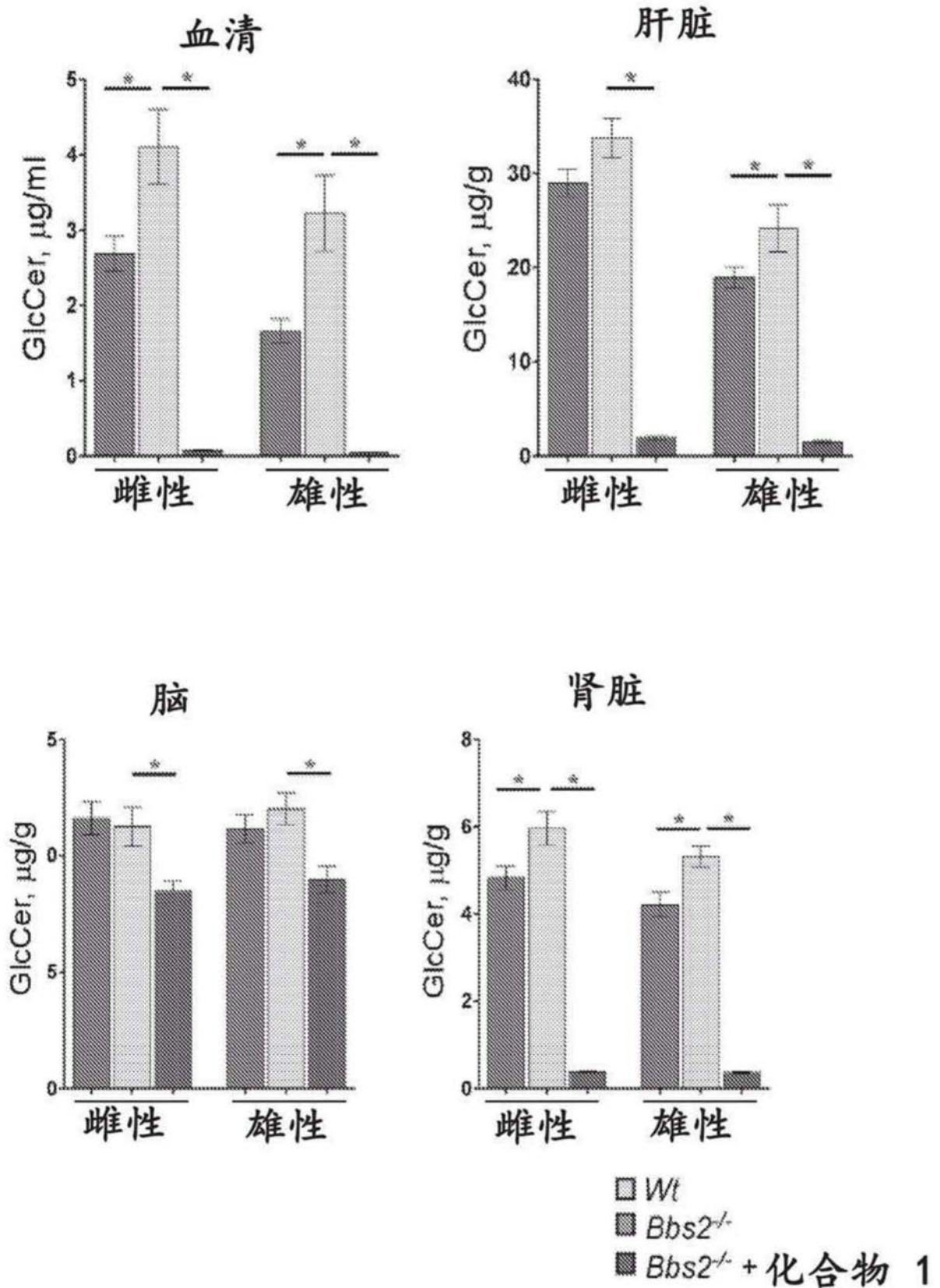


图2

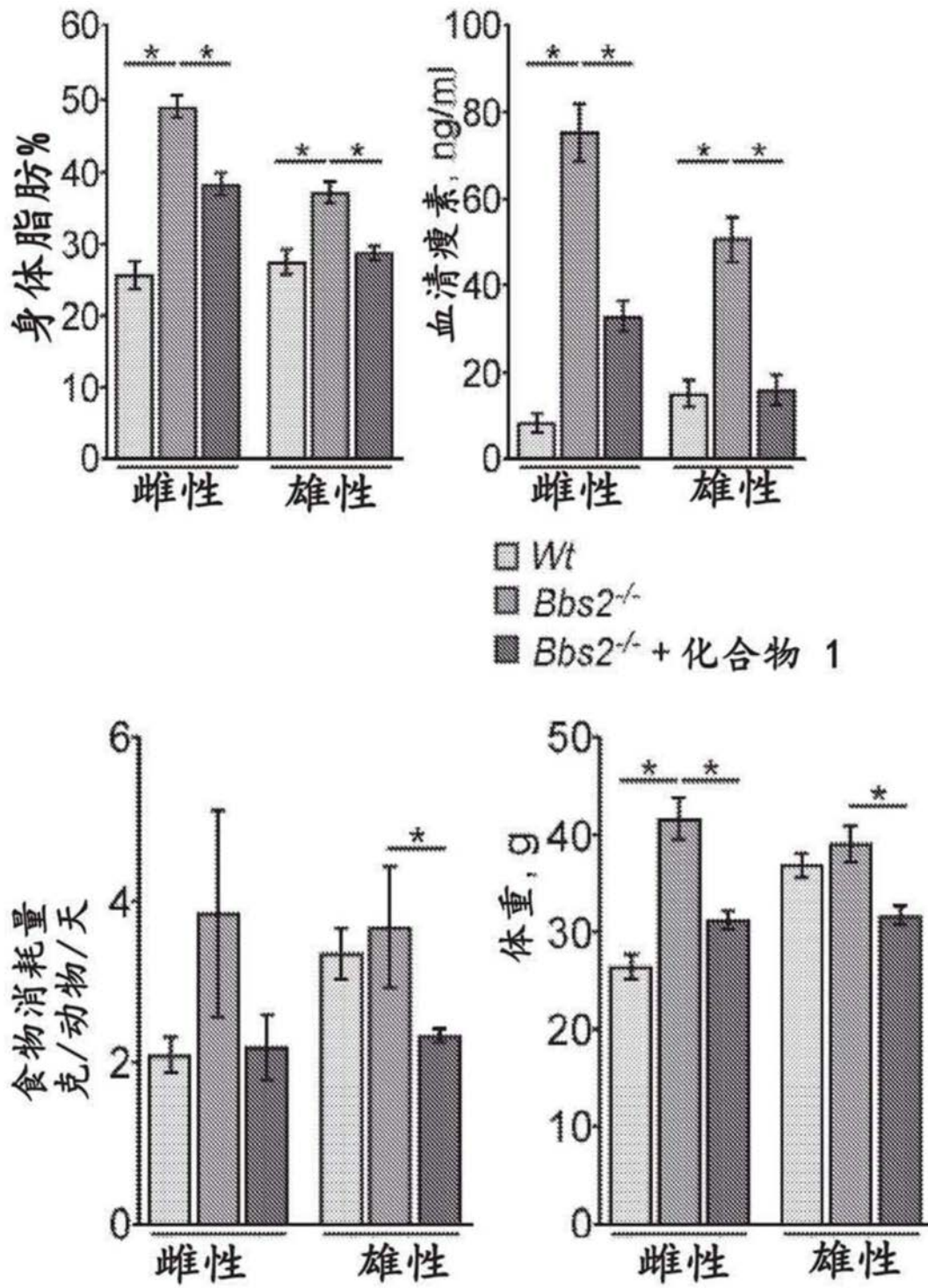


图3A

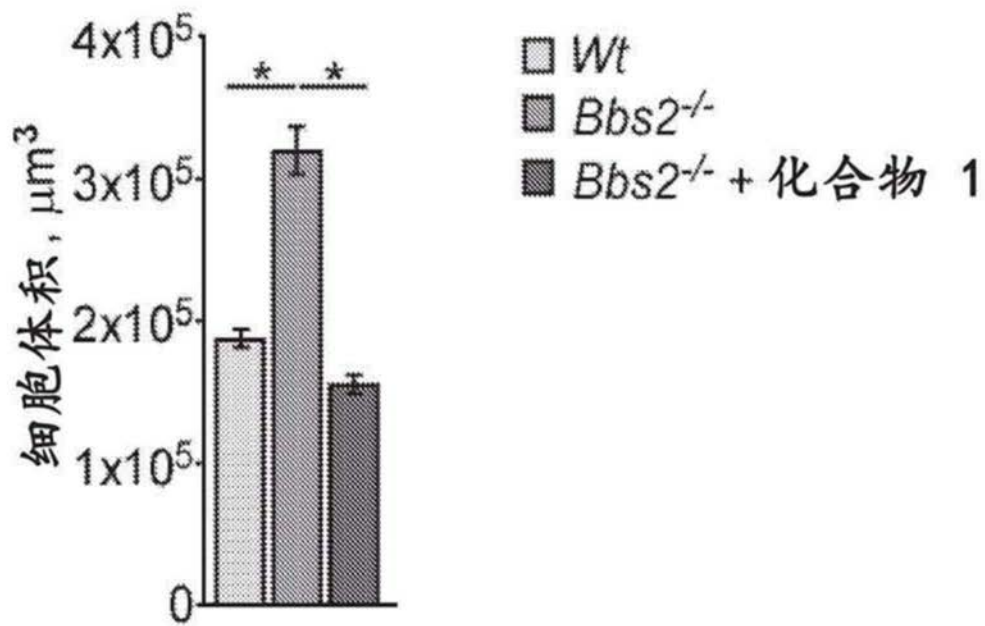
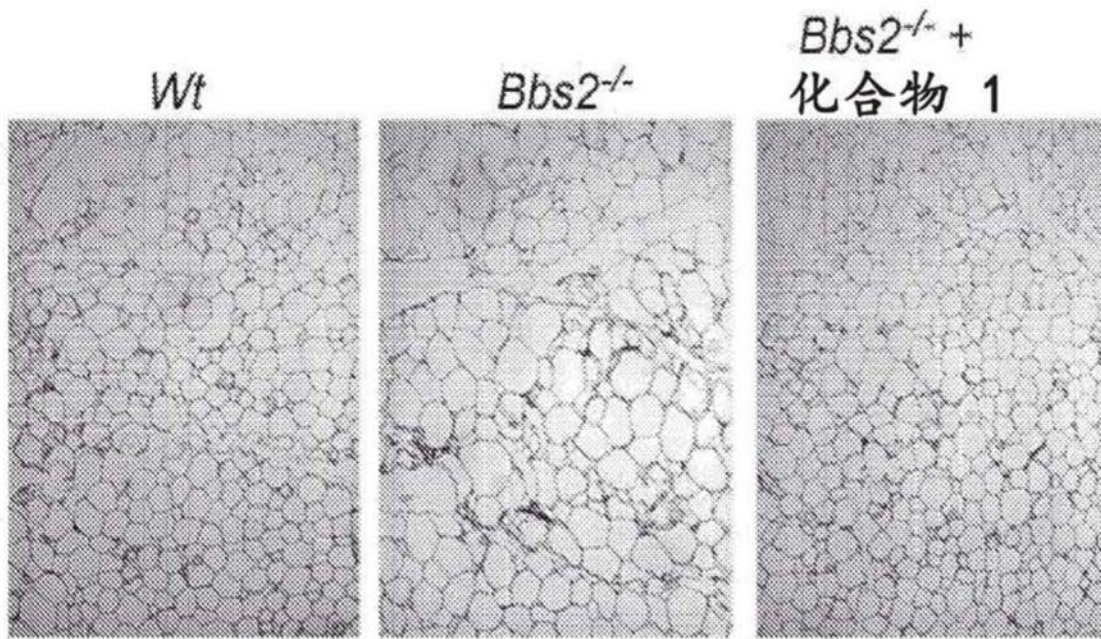


图3B

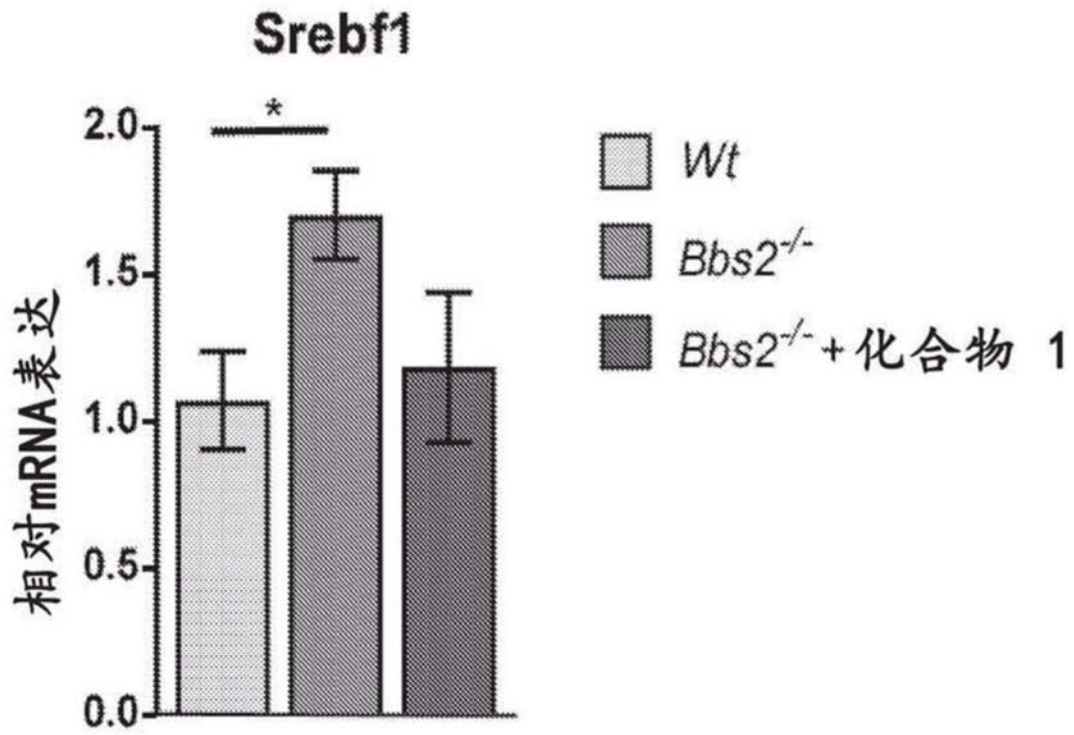


图3C

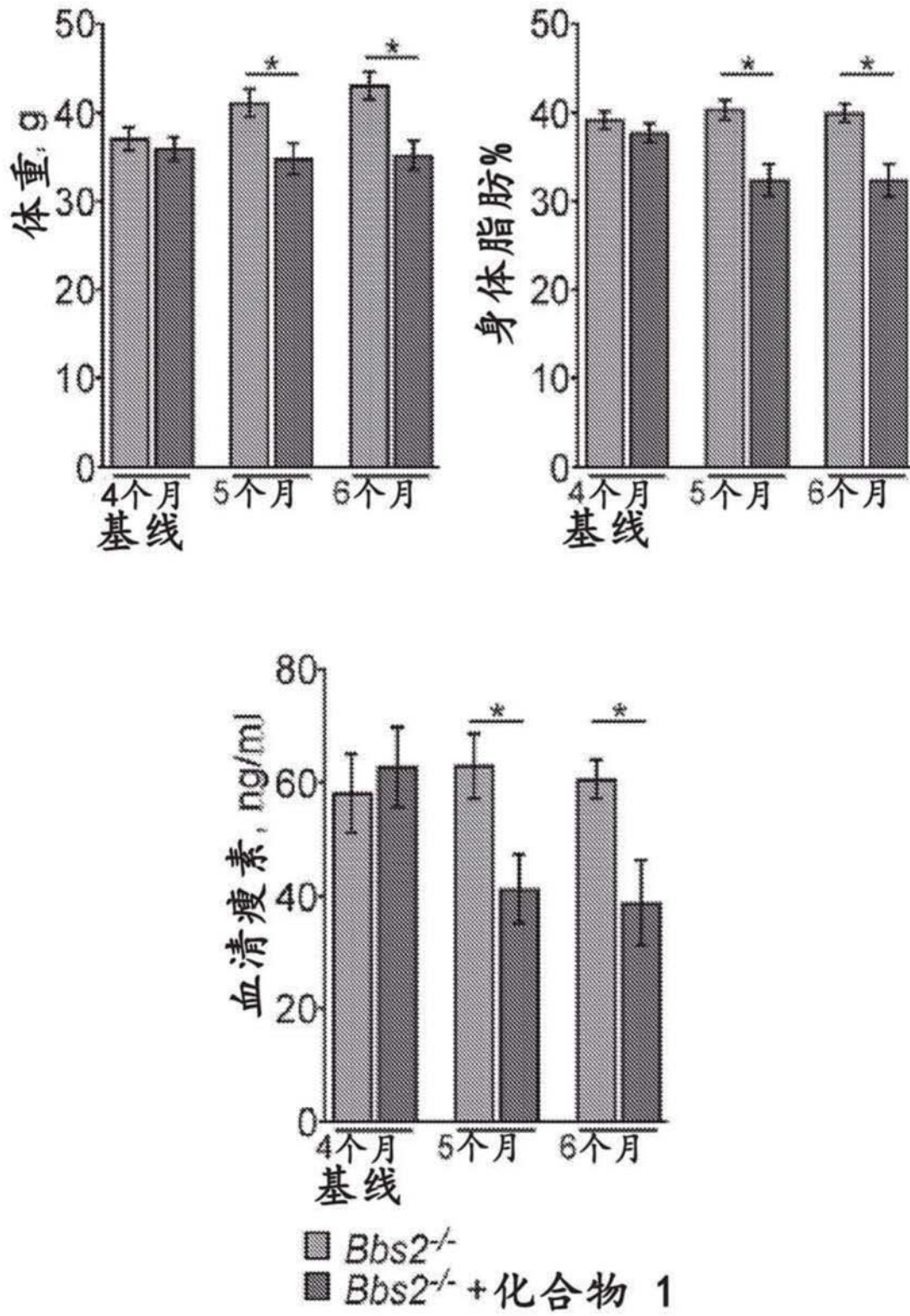


图4A

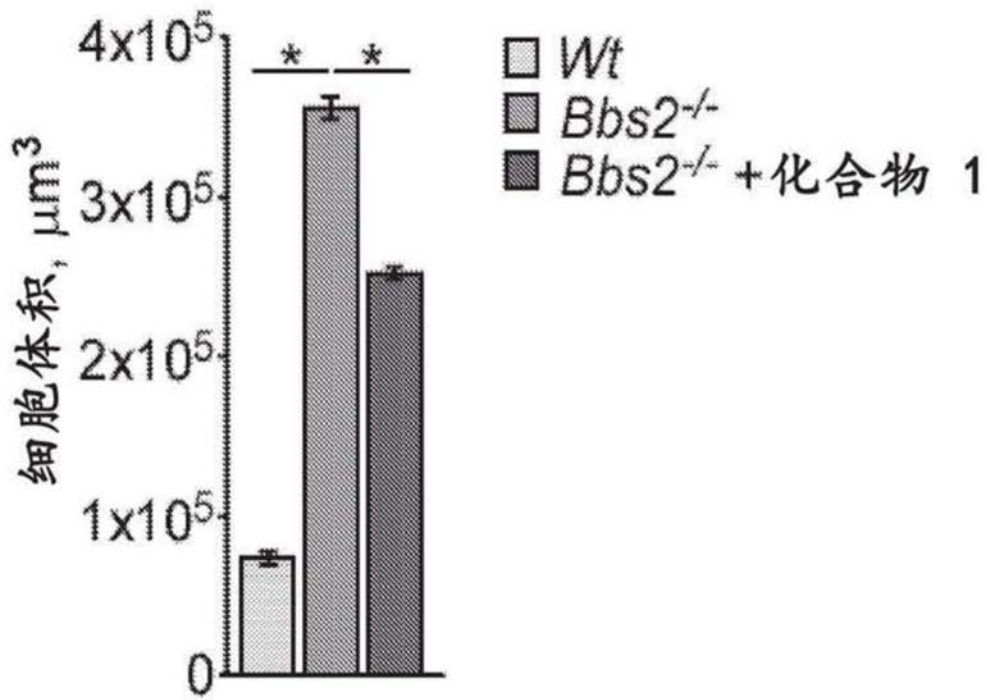
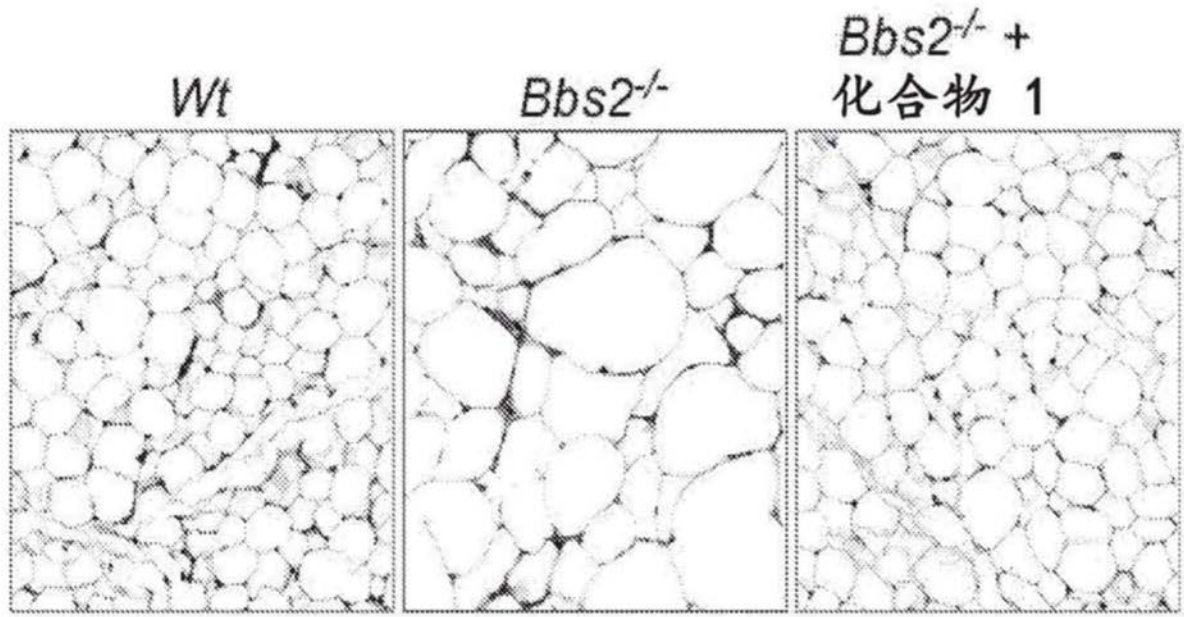


图4B

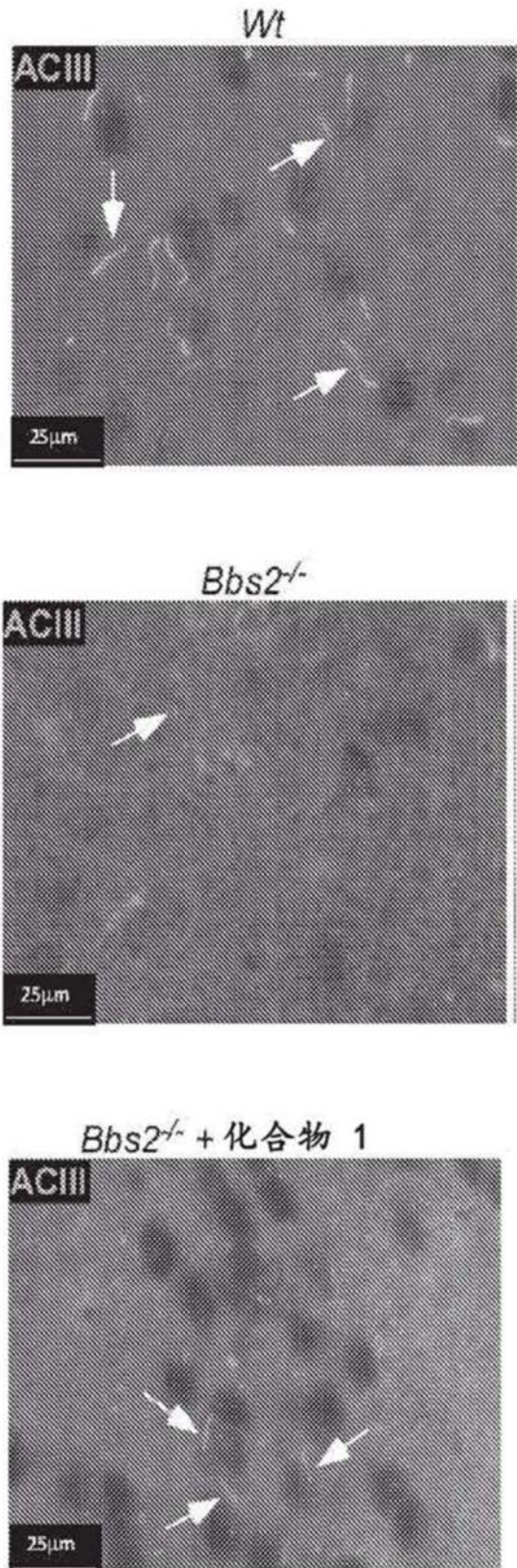


图5

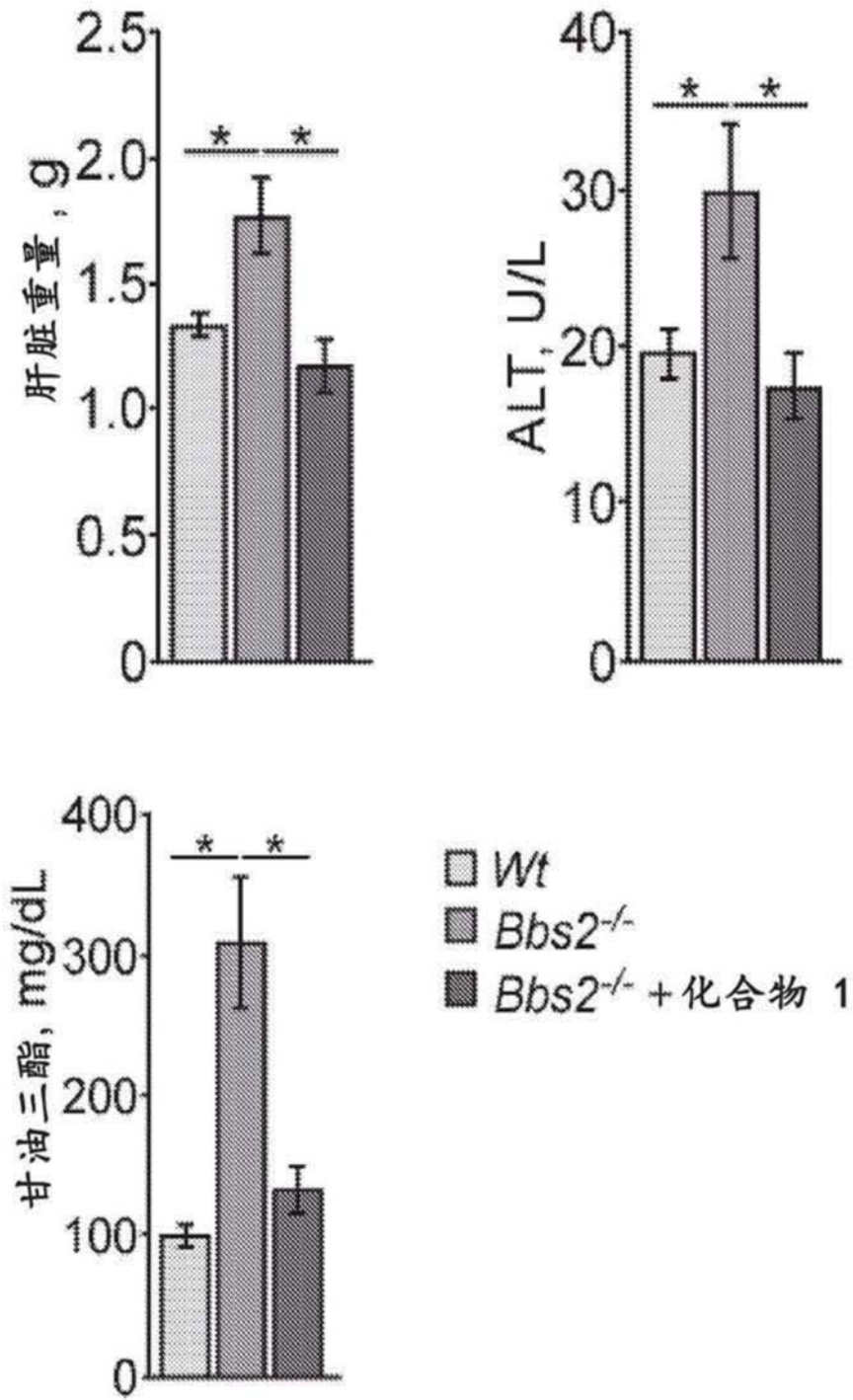


图6

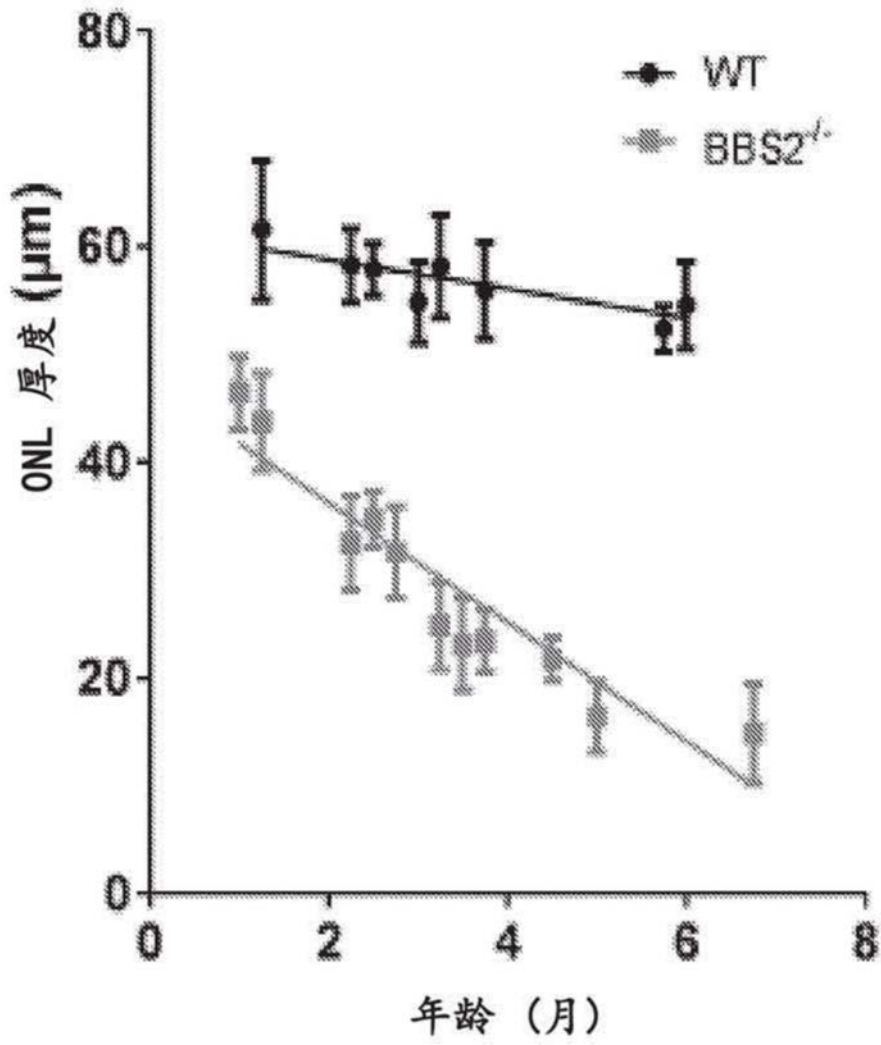


图7A

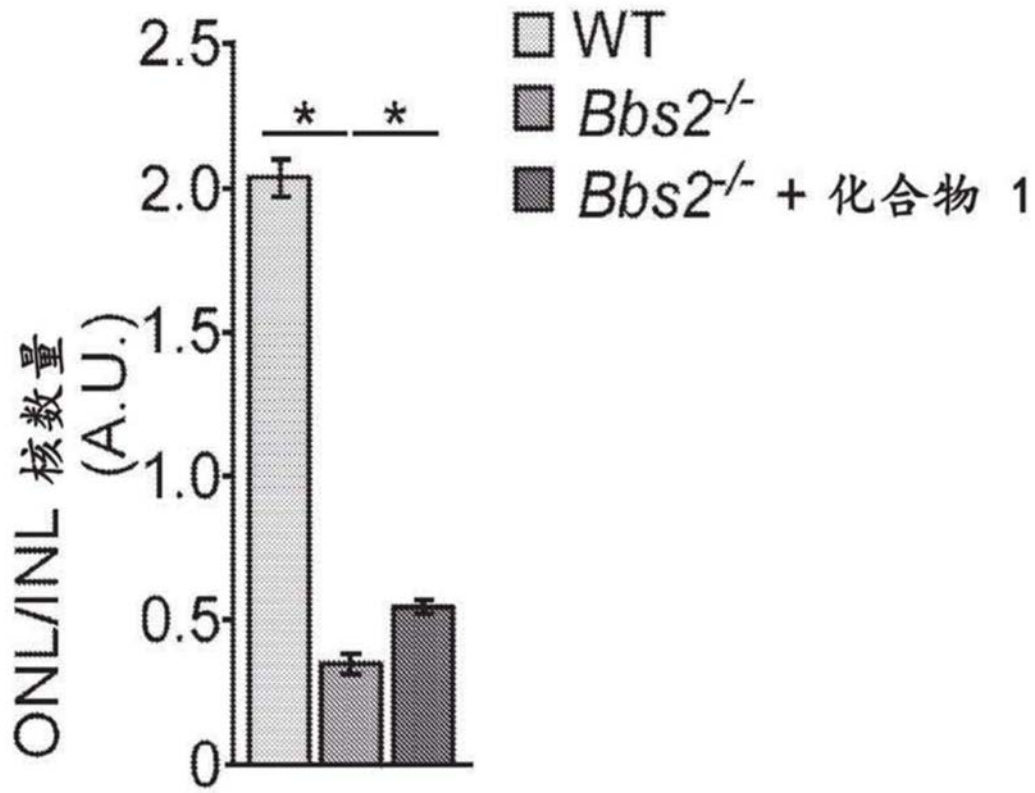


图7B

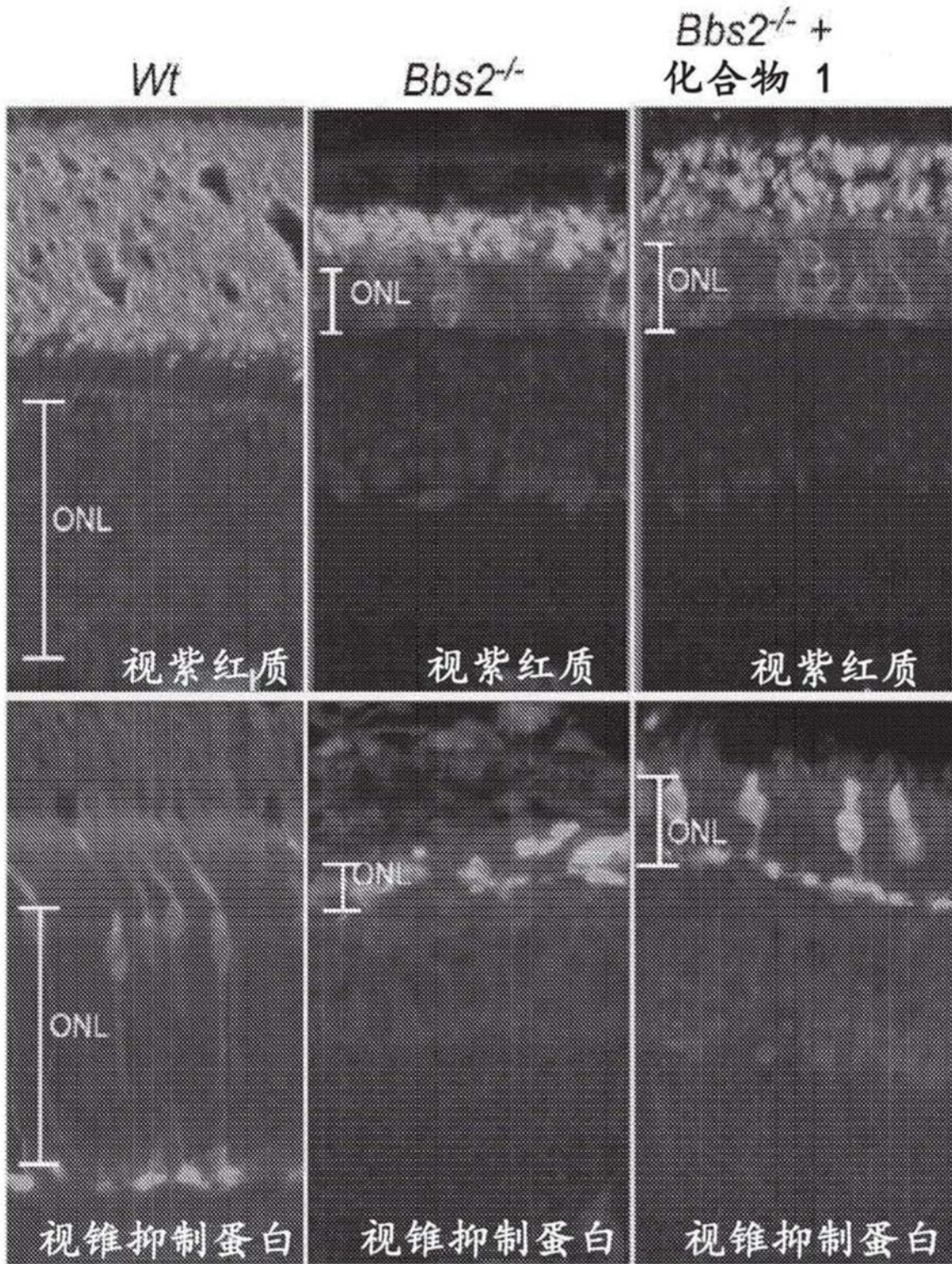


图7C

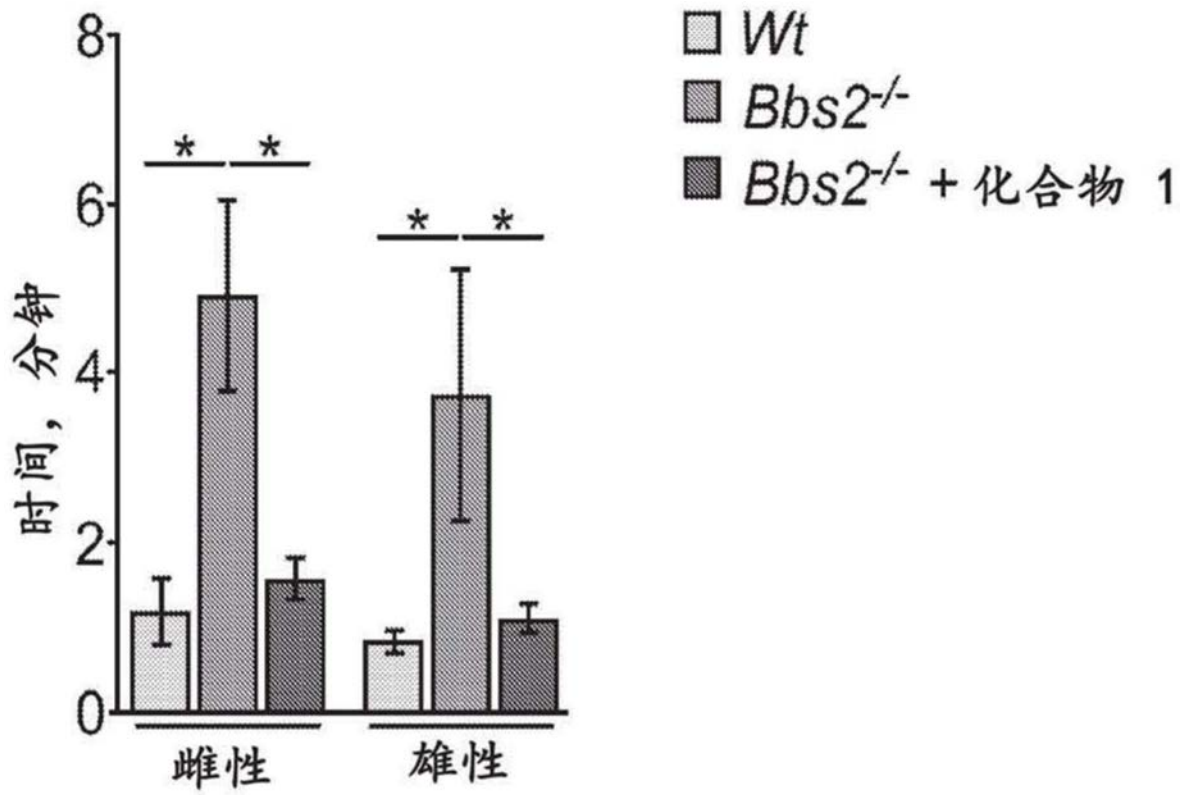


图8A

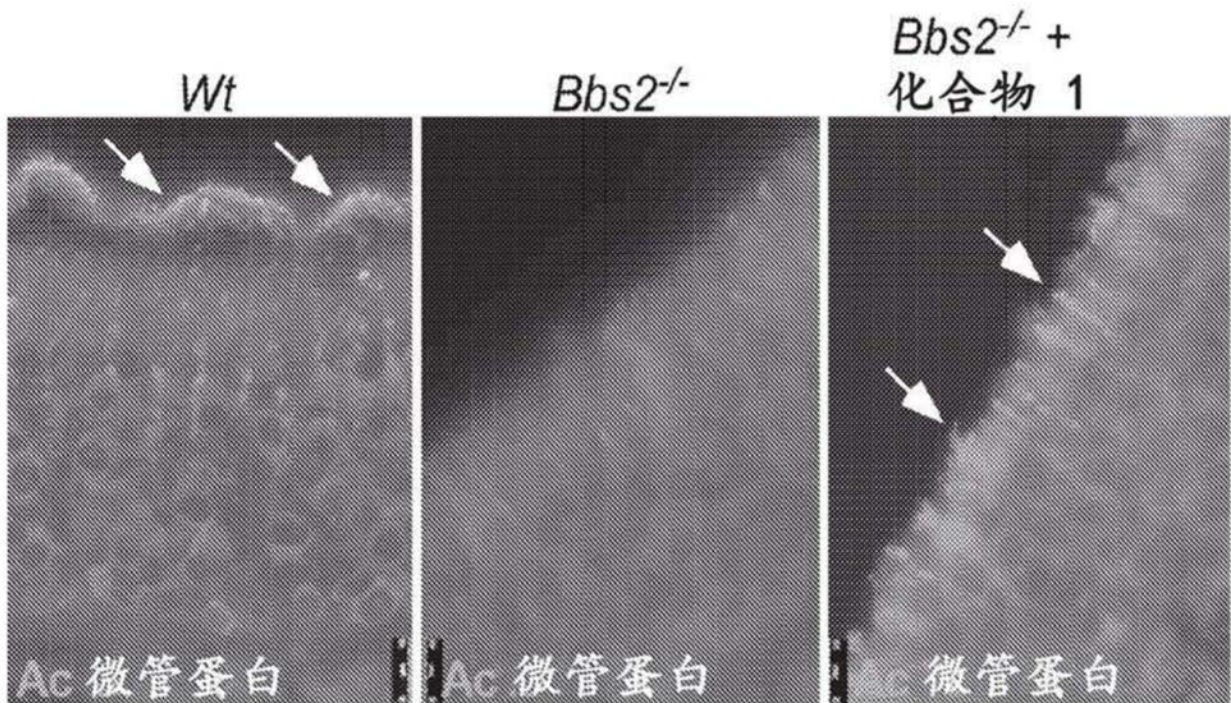


图8B

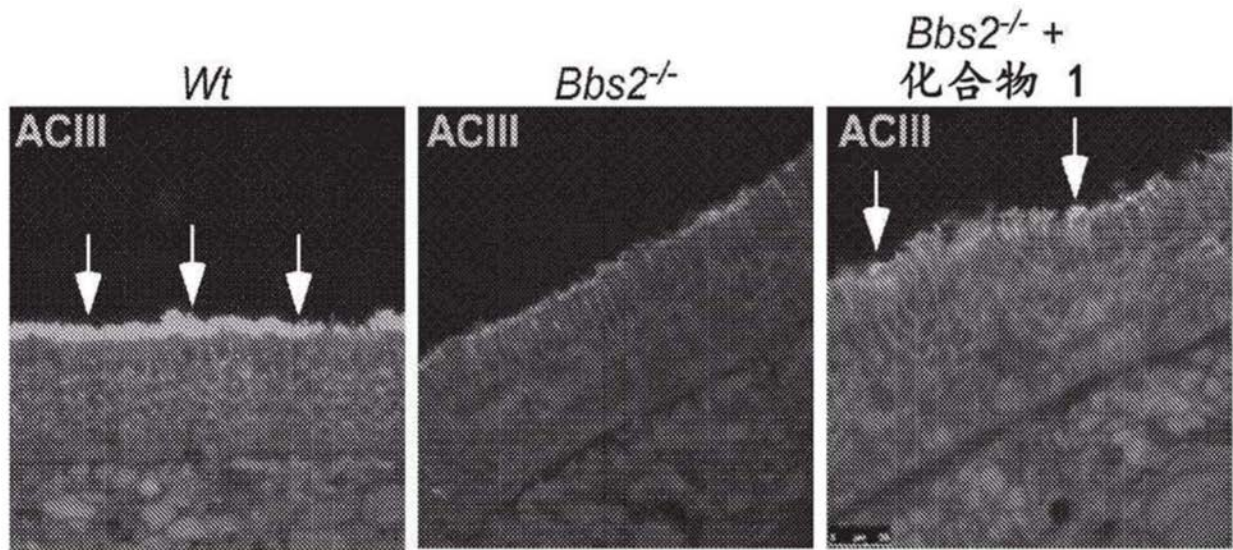


图8C

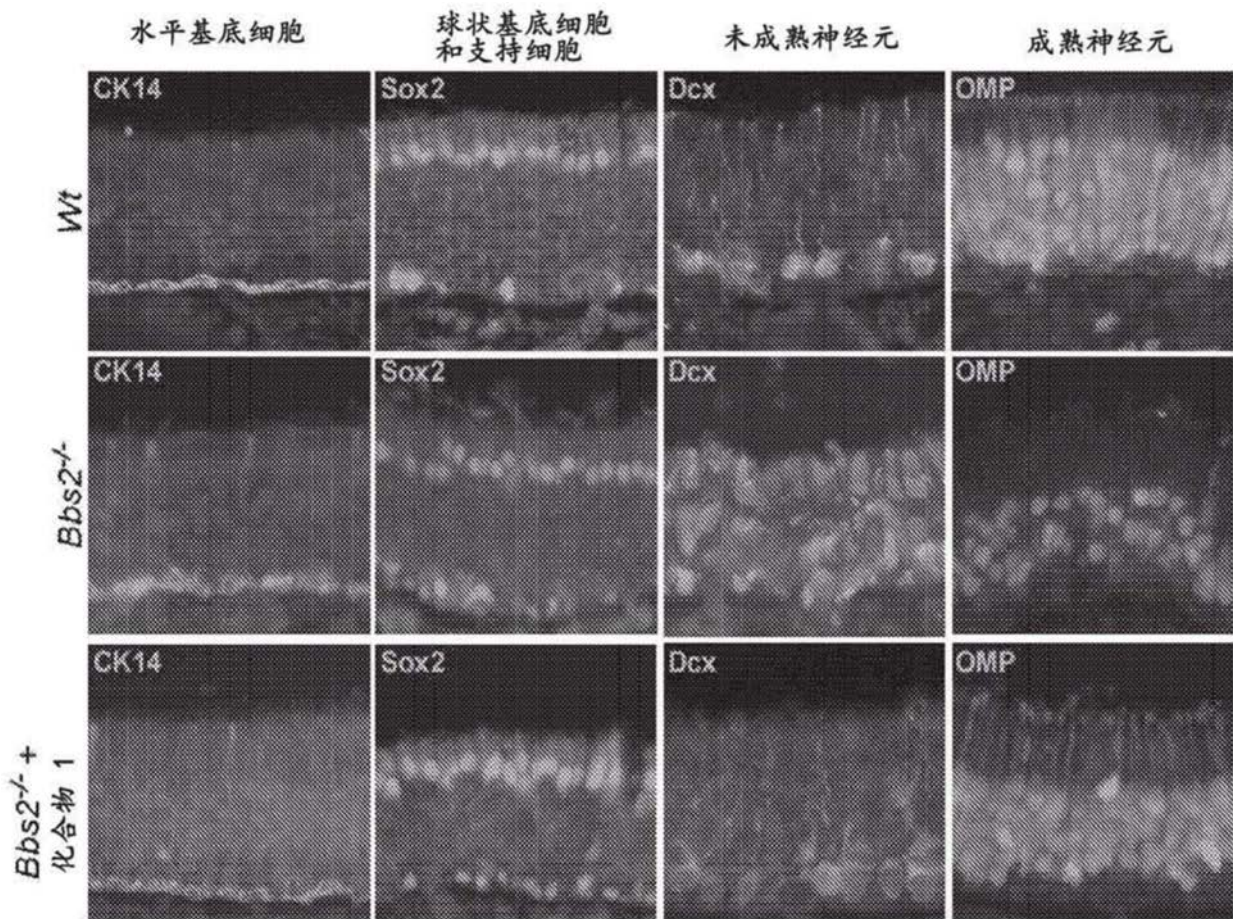


图9

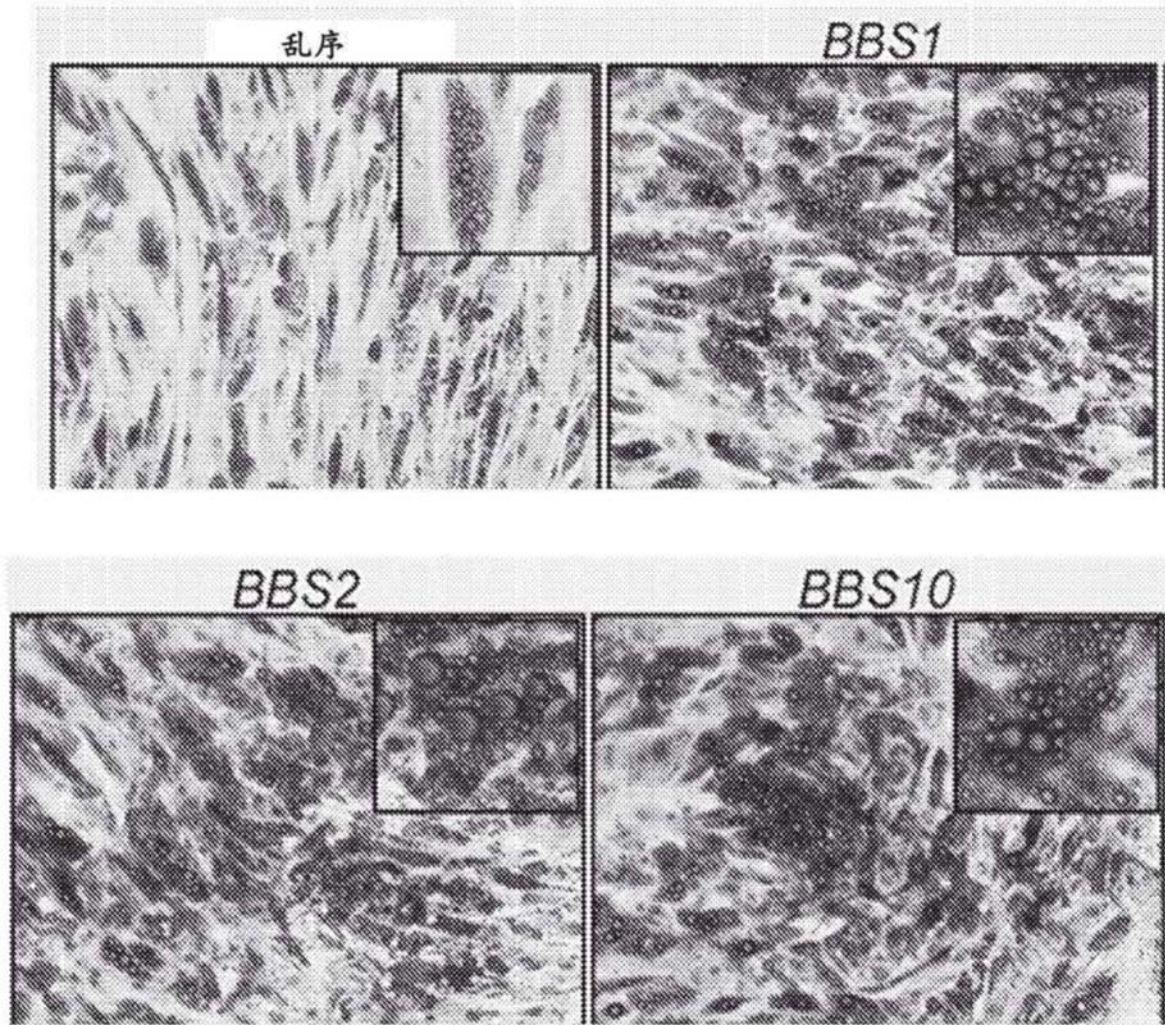


图10A

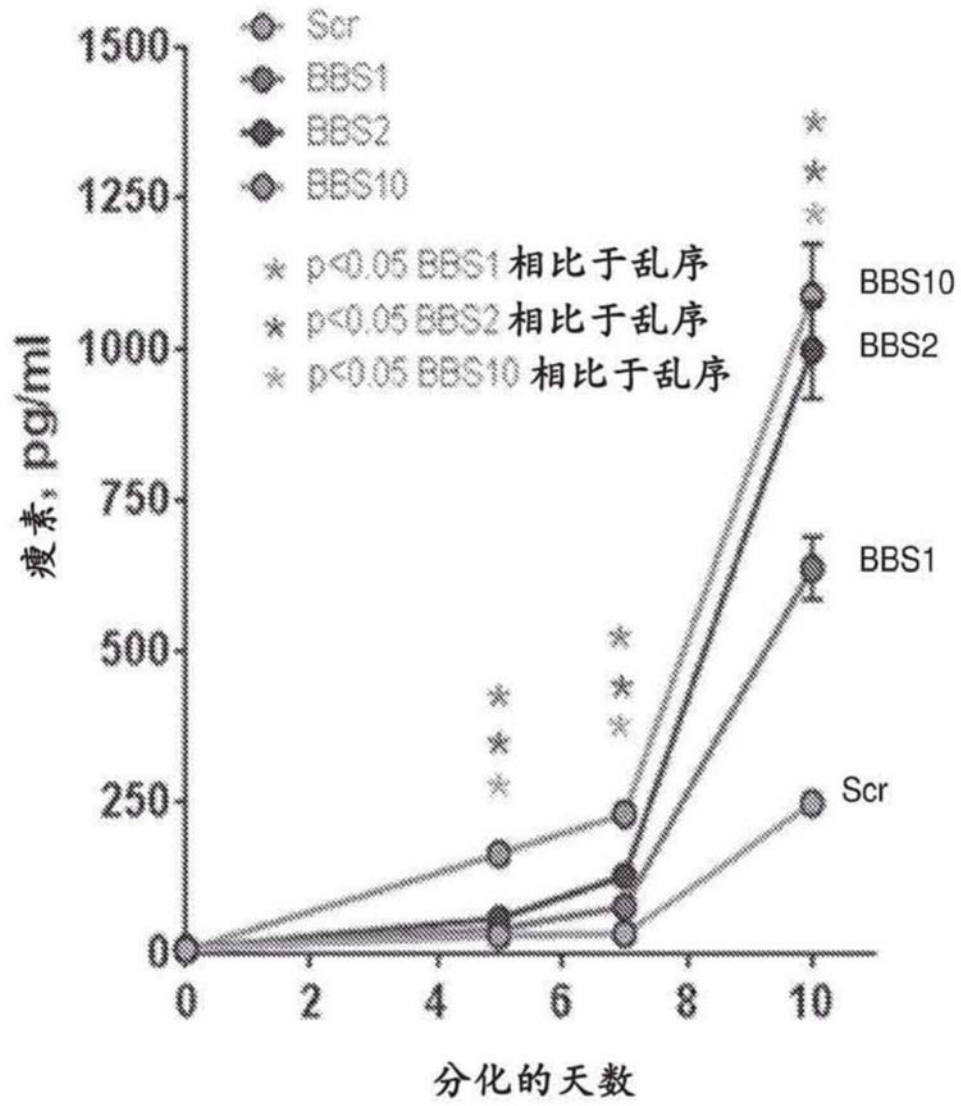


图10B

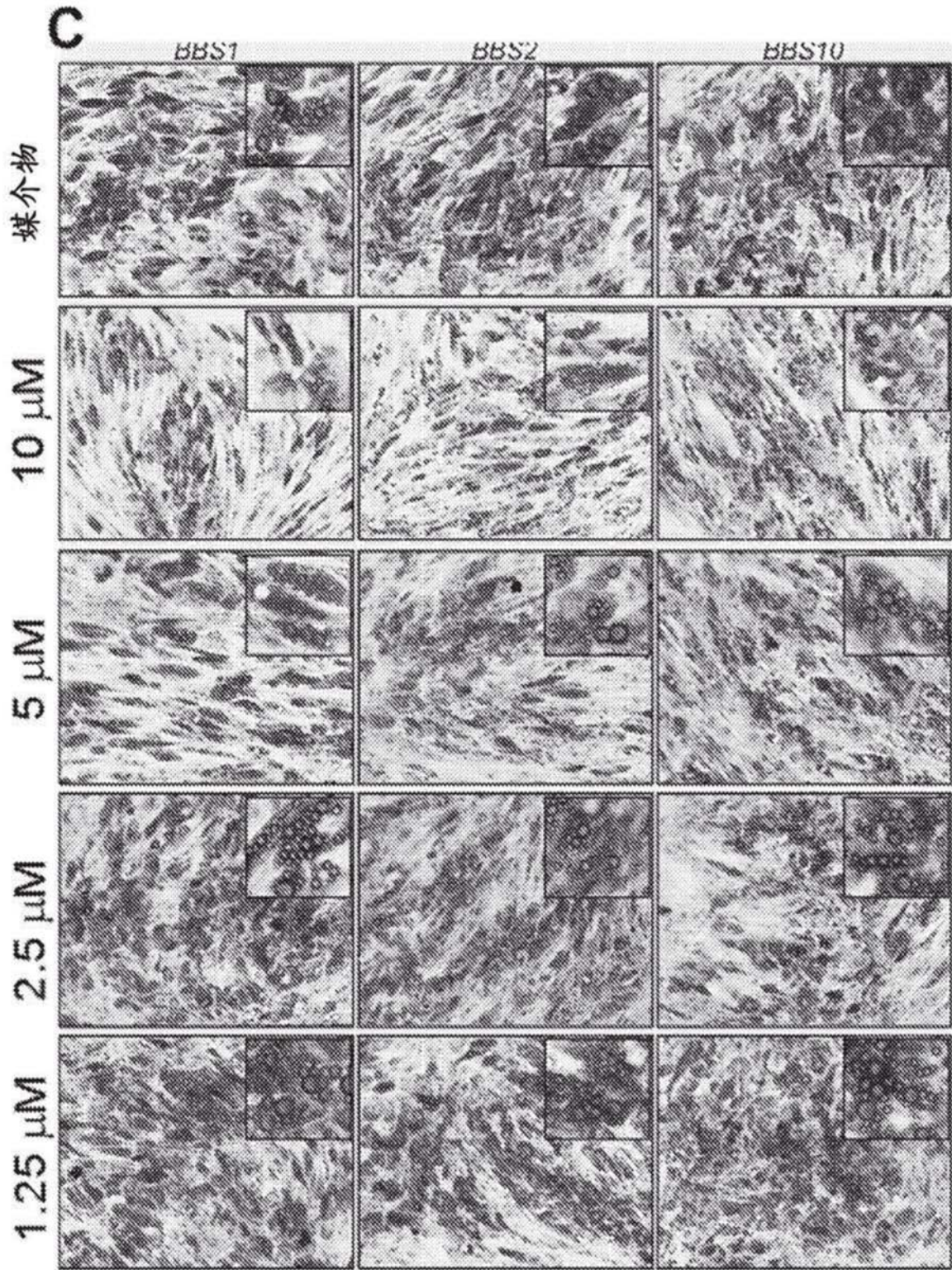


图10C

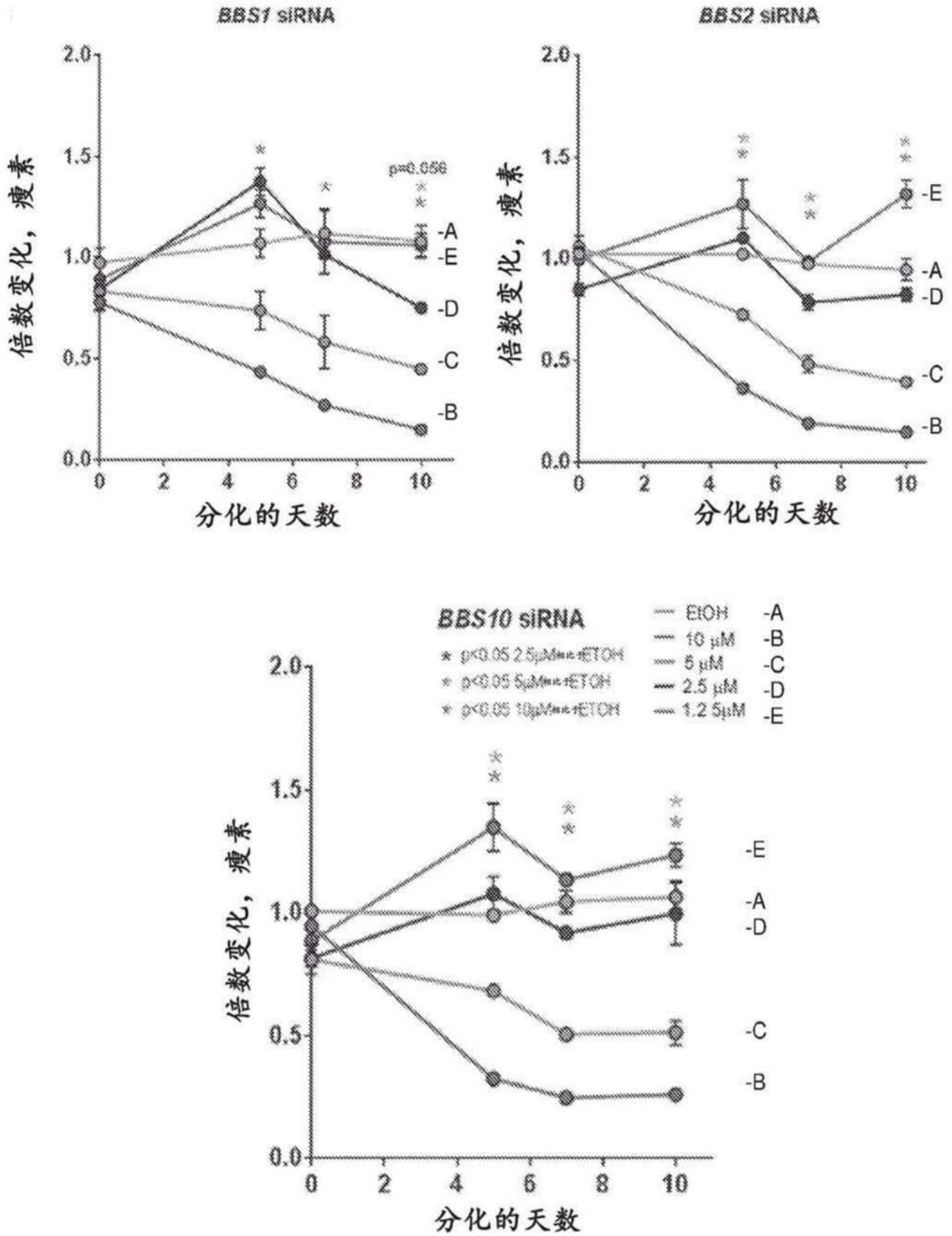


图10D