



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105377253 A

(43) 申请公布日 2016. 03. 02

(21) 申请号 201480040148. 6

代理人 张世俊

(22) 申请日 2014. 07. 16

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

A61K 31/353(2006. 01)

61/846, 997 2013. 07. 16 US

61/991, 417 2014. 05. 09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016. 01. 14

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/046829 2014. 07. 16

(87) PCT国际申请的公布数据

W02015/009812 EN 2015. 01. 22

(71) 申请人 奇尼塔公司

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 肖恩·P·艾度纳托

克利斯汀·M·毕达德

凯利·W·佛勒

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限

责任公司 11287

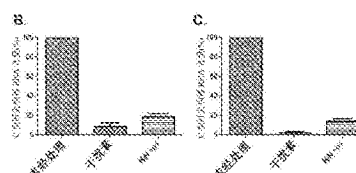
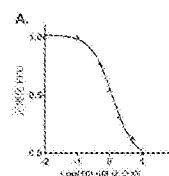
权利要求书9页 说明书54页 附图9页

### (54) 发明名称

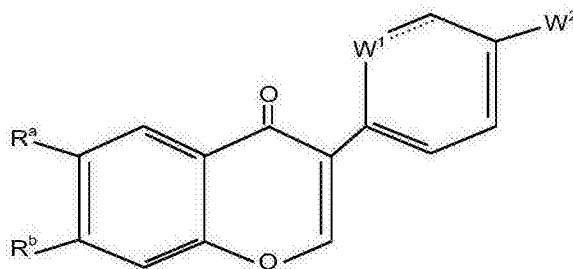
抗病毒化合物、医药组合物和其使用方法

### (57) 摘要

本发明揭示用于治疗病毒感染（包括 RNA 病毒感染）的化合物、医药组合物和方法，以及用于调节个体和/或细胞中的 RIG-I 路径的化合物、医药组合物和方法。这些化合物是通常在 3 位处经芳基取代且在 7 位处经杂官能团取代的异黄酮衍生物。



1. 一种化合物,其具有以下结构:



其中

$W^1$ 为 CH、 $CH_2$ 、N 或 NH;

$W^2$ 为 Br、Cl、F、苯基、 $CF_3$ 、低碳数烷基、 $C(CH_3)_3$ 、杂芳基、环烷基、 $OW^a$ 、 $OCH_2W^a$ 、 $OCH_2W^b$ 或  $NHSO_2W^b$ 、 $NW^cSO_2W^c$ ;

$W^a$ 为 Br、芳基、 $CF_3$ 、低碳数烷基、环烷基、杂环烷基、 $CHF_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 或  $NHSO_2W^b$ ;

$W^b$ 为苯基、环烷基、杂环烷基或低碳数烷基;

$W^c$ 为低碳数烷基;

$R^a$ 为 H、低碳数烷基或  $OR^c$ , 其中  $R^c$ 为 H 或低碳数烷基;

$R^b$ 为苯基、苯酚、 $OR^d$ 、 $NR^d$ 、 $OR^dR^e$ 或  $NR^dR^e$

$R^d$ 为低碳数烷基、烷基磺酰基、 $SO_2CH_3$ 、烷基羰基、 $CF_2$ 、 $C(=O)NHR^e$ 、 $CH_2C(=O)R^f$ 、 $CH_2C(=O)R^fR^g$ 、 $CH_2R^h$ 、 $CH_2CH_2R^f$ 、 $CH_2CH_2R^fR^g$ 、 $CH_2CH_2R^fR^i$ ,

$R^e$ 为羟基、低碳数烷基、烷基磺酰基或  $NHR^c$ ;

$R^f$ 为杂芳基或杂环烷基,

$R^g$ 为烷基羰基、烷基磺酰基或低碳数烷基,

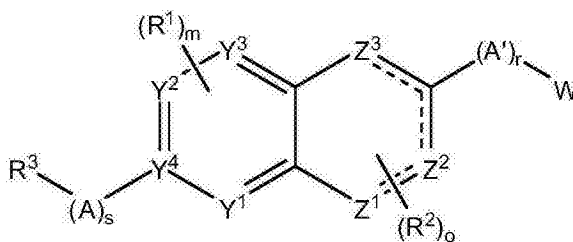
$R^h$ 为炔基, 且

虚线代表存在或不存在双键。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中  $W^2$ 为 Br、 $CF_3$ 、 $OCF_3$ 或  $C(CH_3)_3$ 且  $R^b$ 为  $OR^j$ , 其中  $R^j$ 为磺酰基。

3. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中  $W^2$ 为  $C(CH_3)_3$ 且  $R^b$ 为  $NCH_3R^j$ , 其中  $R^j$ 为磺酰基。

4. 一种化合物,其具有以下结构:



其中

$R^1$ 和  $R^2$ 各自独立地选自 H、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、 $NH_2$ 、OH、CN、 $NO_2$ 、 $OCF_3$ 、 $CF_3$ 、Br、Cl、F、1- 甲脒基、2- 甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、N- 烷基哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑、异噻唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑 S- 氧化物、噻二唑 S, S- 二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、

嘧啶基、喹啉、异喹啉、 $SR^4$ 、 $SOR^4$ 、 $SO_2R^4$ 、 $CO_2R^4$ 、 $COR^4$ 、 $CONR^4R^5$ 、 $CH_2CONR^4R^5$ 、 $NR^4SO_2R^5$ 、 $CSNR^4R^5$ 或 $SO_mNR^4R^5$ ;

$R^3$ 为H、 $R^1$ 、烷基磺酰基、 $NR^4SO_2R^5$ 、 $SO_mNR^4R^5$ 、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、卤烷基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、芳基磺酰基或杂环烷基烷基;

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自H、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、 $NH_2$ 、 $OH$ 、 $CN$ 、 $NO_2$ 、 $OCF_3$ 、 $CF_3$ 、 $Br$ 、 $Cl$ 、 $F$ 、1-甲脒基、2-甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、N-烷基哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑、异噻唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑S-氧化物、噻二唑S、S-二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、喹啉或异喹啉;

A和A'各自独立地选自O、S或 $NR'$ ，其中 $R'$ 为H、低碳数烷基或 $R^3$ ，或 $R'$ 和 $R^3$ 或 $R'$ 和W可在一起形成未经取代或经取代的杂环基环或杂芳基环;

W为芳基、经取代的芳基、杂芳基、经取代的杂芳基、烷基、经取代的烷基、环烷基、经取代的环烷基、杂烷基、经取代的杂烷基、杂环烷基、经取代的杂环烷基、芳基烷基或杂芳基烷基;

$Z^1$ 、 $Z^2$ 和 $Z^3$ 各自独立地选自C、O、NH、S、 $C=O$ 、 $S=O$ 或 $SO_2$ ;

$Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$ 和 $Y^4$ 各自独立地选自C或N，前提条件是当 $Y^4$ 为N时，则 $R^3-(A)_s$ 不存在;

虚线代表存在或不存在双键;

m为1或2;

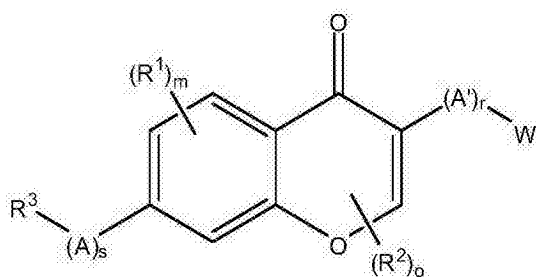
n为0、1、2或3;

o为0、1、2或3;

s为0或1;并且

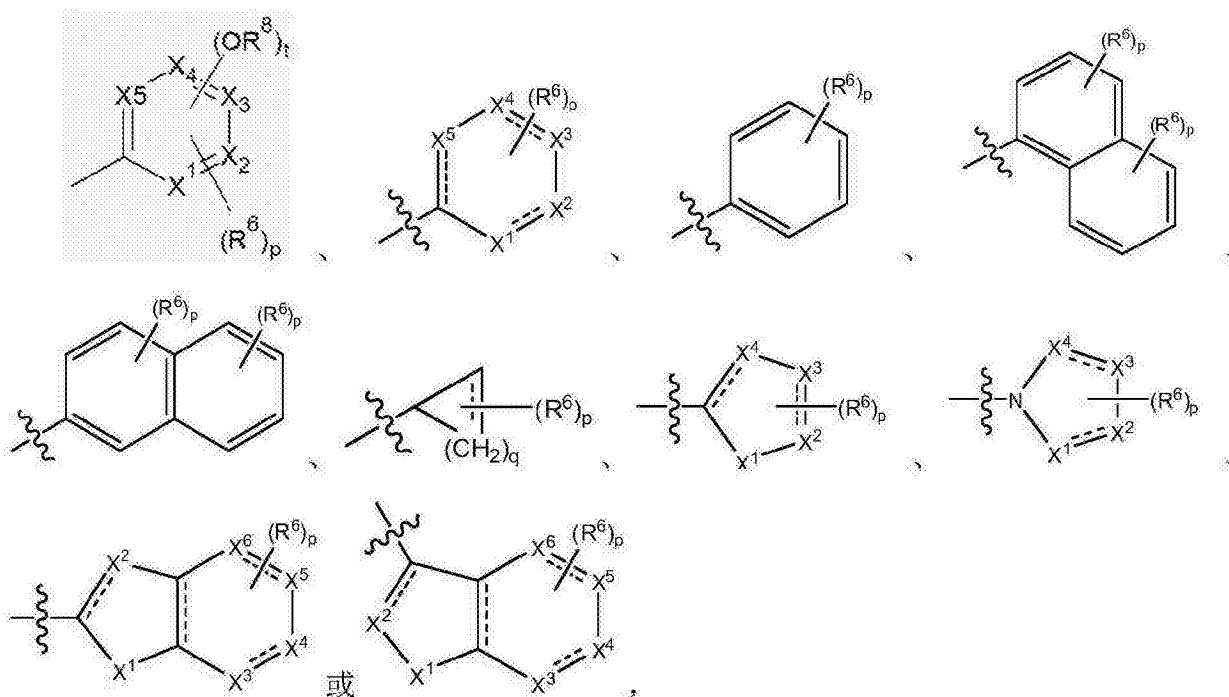
r为0或1。

5. 根据权利要求4所述的化合物，其中所述化合物具有以下结构:



6. 根据权利要求4所述的化合物，其中 $Y^4$ 为N。

7. 根据权利要求4所述的化合物，其中W具有选自以下的结构:



其中

$X^1, X^2, X^3, X^4, X^5$ 和 $X^6$ 中的每一者独立地选自 C、O、NH、NR<sup>6</sup>、S、C=O、S=O或SO<sub>2</sub>;

每一 R<sup>6</sup>独立地选自 H、低碳数烷基、卤烷基、环烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、NH<sub>2</sub>、OH、CN、NO<sub>2</sub>、OCF<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub>、Br、Cl、F、1- 甲脒基、2- 甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑、异噻唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑 S- 氧化物、噻二唑 S, S- 二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、N- 烷基哌嗪基、喹啉、异喹啉、SR<sup>4</sup>、SOR<sup>4</sup>、SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>、CO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>、COR<sup>4</sup>、CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>、NR<sup>4</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>、CSNR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>或 SO<sub>m</sub>NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>，或两个相邻 R<sup>6</sup>基团可在一起形成稠合 5 或 6 元环烷基环、杂环烷基环、亚甲基二氧代基环、亚乙基二氧代基环、芳基环或杂芳基环；

每一 R<sup>8</sup>独立地选自 H、烷基、卤烷基、环烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基烷基芳基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、CF<sub>3</sub>、烷基羰基、四唑基、噻唑、异噻唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑 S-氧化物、噻二唑 S, S- 二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、喹啉、异喹啉、CO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>、COR<sup>4</sup>、CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>、SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 或两个相邻 R<sup>8</sup>基团可在一起形成稠合 5 或 6 元环烷基环、杂环烷基环、亚甲基二氧代基环、亚乙基二氧代基环、芳基环或杂芳基环；

p 和 t 各自独立地为 0、1、2、3、4 或 5,前提条件是  $p+t \leq 5$ ;并且

q 为 1、2、3 或 4。

8. 根据权利要求7所述的化合物, 其中  $R^6$  为 H、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、Cl、Br、 $CF_3$ 、 $OCF_3$  或  $-NHSO_2R^7$ , 其中  $R^7$  为低碳数烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。

9. 根据权利要求 8 所述的化合物, 其中  $R^7$  为 N- 哌啶基、N- 吗啉基、N- 烷基 -N- 哌嗪基或苯基。

10. 根据权利要求7所述的化合物, 其中r为0且W为1-萘基、环戊基、2-噻唑基、2-吡嗪基、2-苯并噁唑基或4-R<sup>6</sup>-1-苯基且R<sup>6</sup>为叔丁基、Br、OCF<sub>3</sub>或-NHSO<sub>2</sub>R<sup>7</sup>, 其中R<sup>7</sup>为N-哌啶

基或苯基 ;或

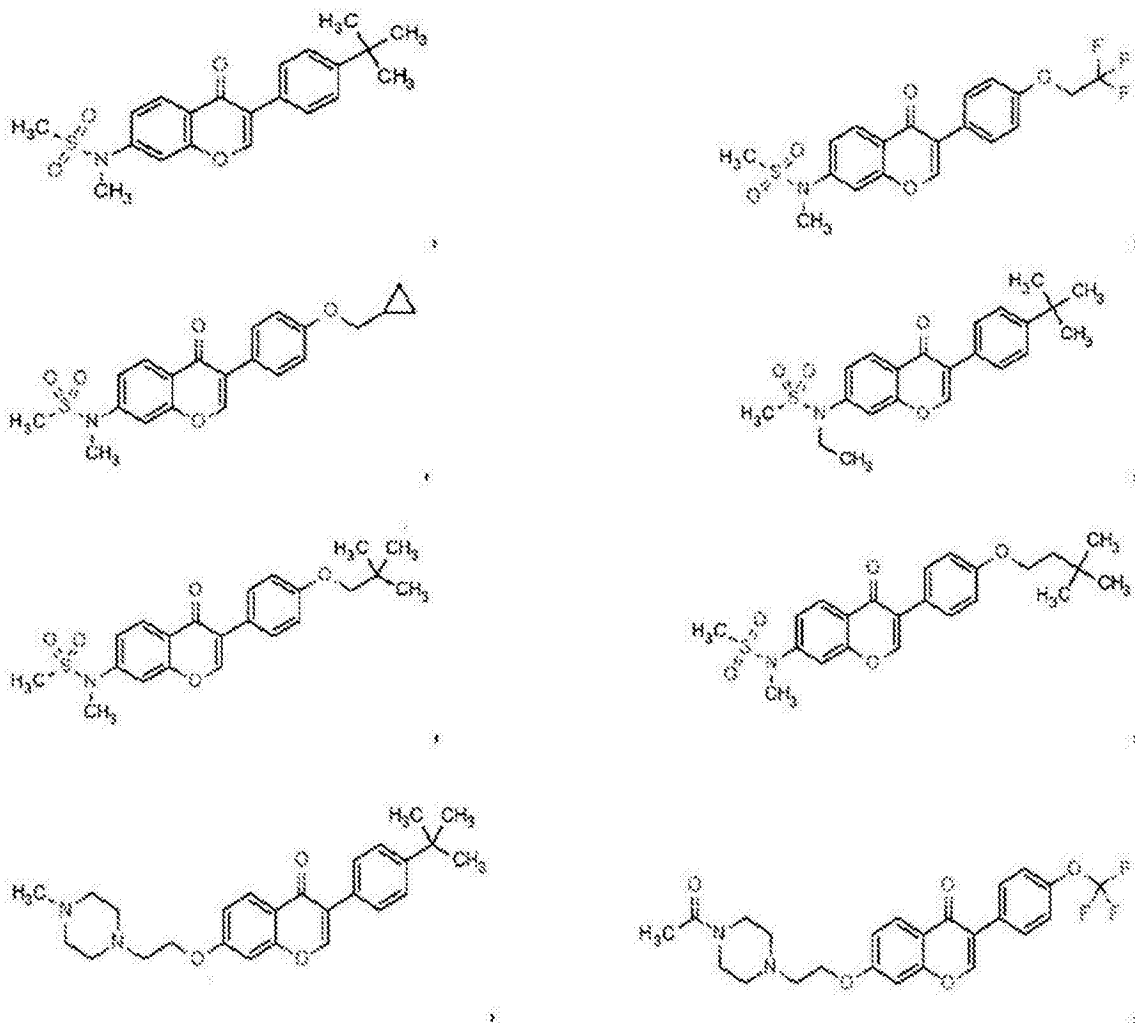
r 为 1,且 W 为苯基。

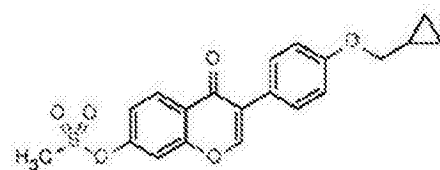
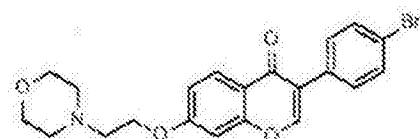
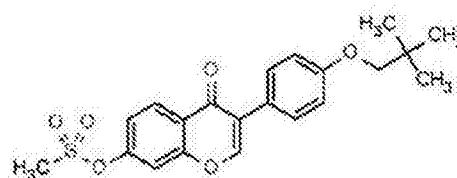
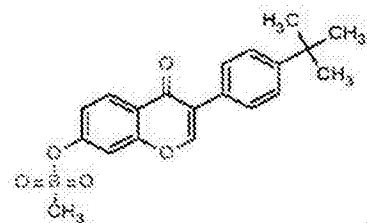
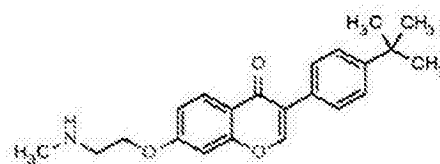
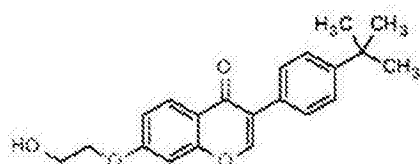
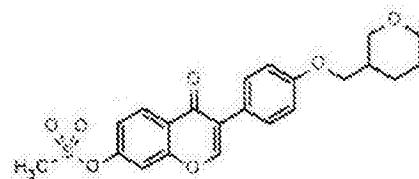
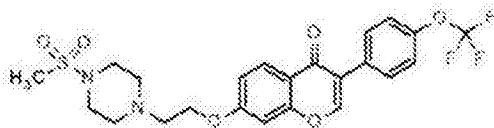
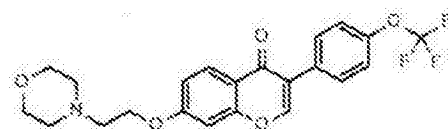
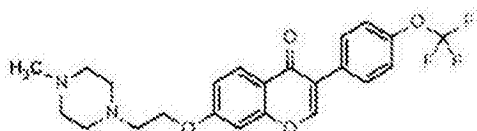
11. 根据权利要求 7 所述的化合物,其中 r 为 0 且 W 为 4-(OR<sup>8</sup>)-1- 苯基且 (OR<sup>8</sup>) 为三氟甲氧基、丁氧基、环丙基甲氧基、二甲基丙氧基、三氟乙氧基、二氟甲氧基、氧杂环己基甲氧基、氧杂环己基甲氧基或二甲基丁氧基。

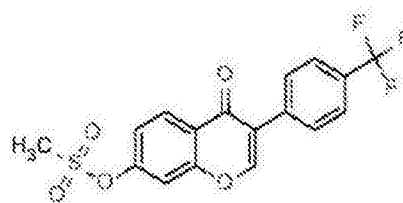
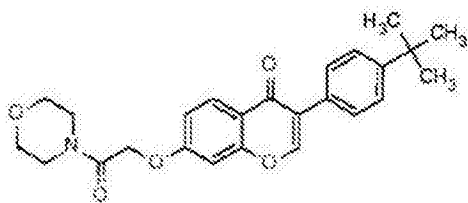
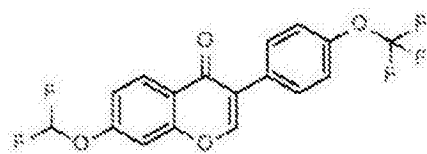
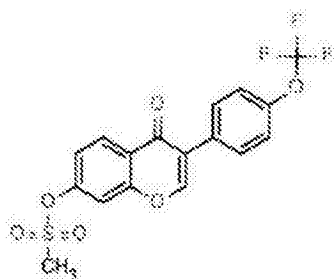
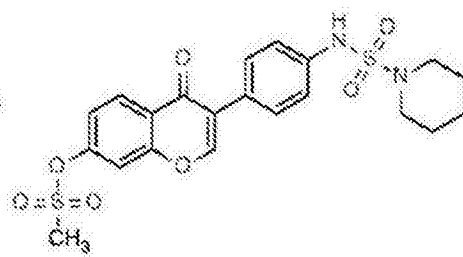
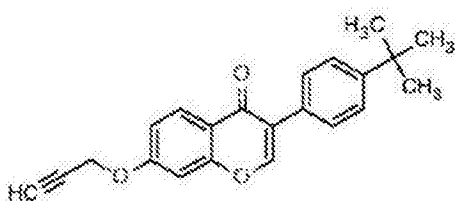
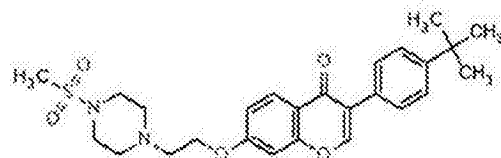
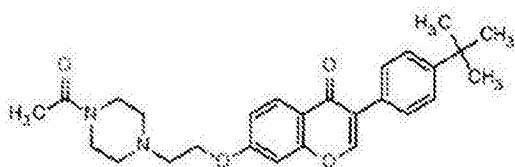
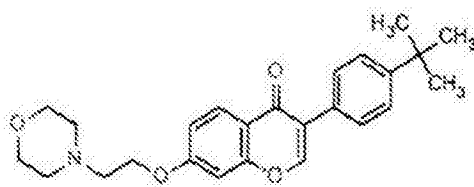
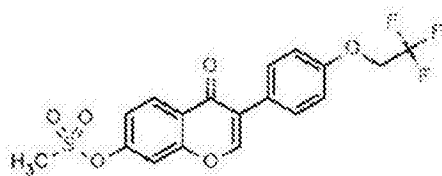
12. 根据权利要求 4 所述的化合物,其中 s 为 1,A 为 O 或 NR',其中 R' 为 H 或低碳数烷基,且 R<sup>3</sup> 为 H、3- 丙炔基、SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、CF<sub>2</sub>H、CF<sub>3</sub>、CONHCH<sub>3</sub>或 CH<sub>2</sub>CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>;其中 R<sup>4</sup>与 R<sup>5</sup>在一起形成吗啉基环、N- 乙酰基哌嗪基环、N- 甲烷磺酰基哌嗪基环或 N- 甲基哌嗪基环 ;或

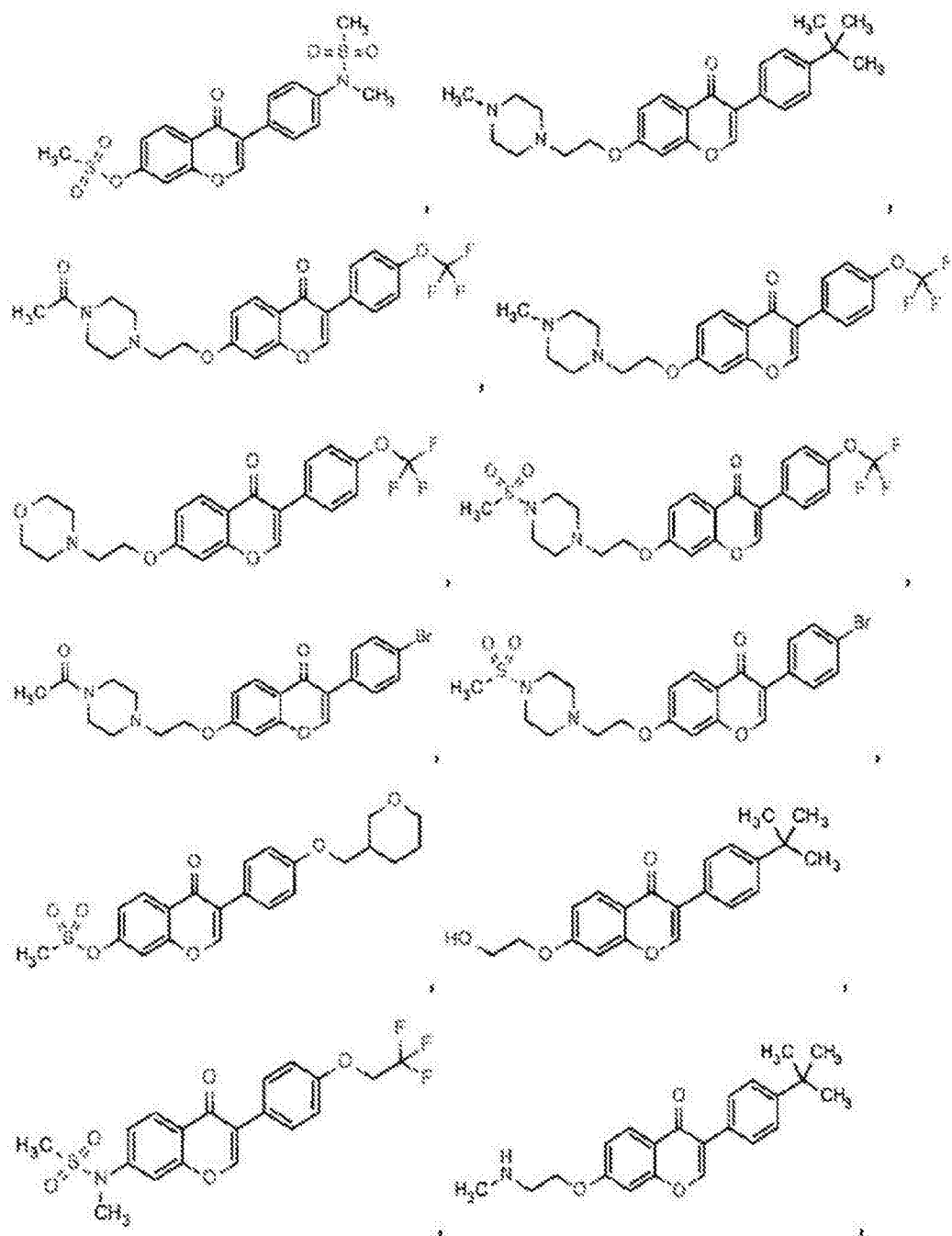
s 为 0 且 R<sup>3</sup>为 SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、COR<sup>4</sup>、CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>、N- 咪唑啉基或 N- 马来酰亚胺基。

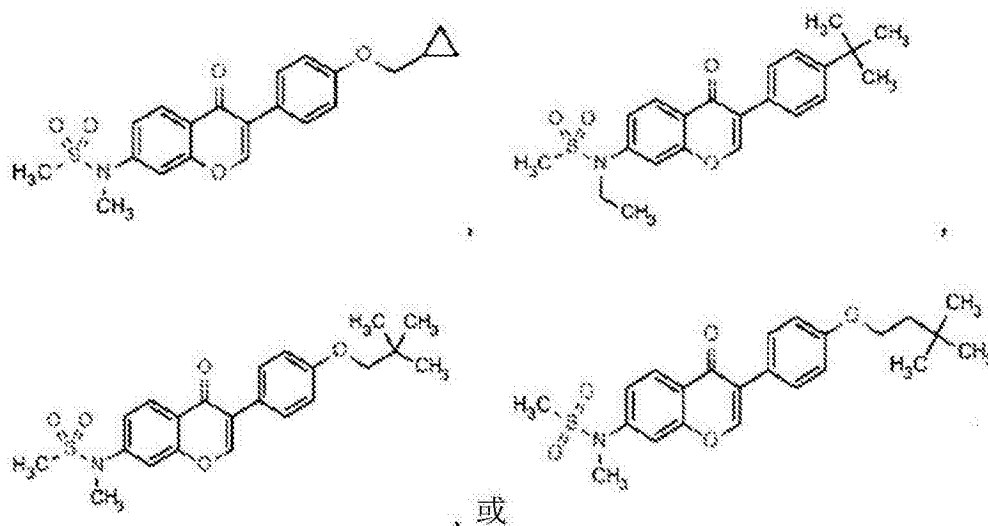
13. 根据权利要求 4 所述的化合物,其中所述化合物具有选自以下的结构 :











14. 一种医药组合物,其包含根据权利要求 1 到 13 中任一权利要求所述的化合物。

15. 根据权利要求 14 所述的医药组合物,其用于疗法中。

16. 根据权利要求 14 所述的医药组合物,其用于治疗或预防个体中的病毒感染;任选地,其中所述病毒感染是由以下家族中的一或多者的病毒引起:沙粒病毒科、动脉炎病毒、星状病毒科、双核糖核酸病毒科、雀麦花叶病毒科、本扬病毒科、杯状病毒科、修道院病毒科、豇豆镶嵌病毒科、冠状病毒科、囊状噬菌体科、黄病毒科、弯曲病毒科、肝脱氧核糖核酸病毒科、肝炎病毒、疱疹病毒科、光滑病毒科、黄症病毒科、中等套病毒科、单股反链病毒目、嵌纹病毒、网巢病毒目、野田病毒科、正粘液病毒科、乳头瘤病毒科、副粘液病毒科、小双核糖核酸病毒科、小双核糖核酸病毒、小核糖核酸病毒科、马铃薯 Y 病毒科、呼肠孤病毒科、逆转录病毒科、杆套病毒科、随伴病毒科、纤细病毒属、披衣病毒科、番茄丛矮病毒科、整体病毒科和芜菁变黄镶嵌病毒科;任选地,其中所述病毒感染是阿尔弗病毒、班齐病毒、牛腹泻病毒、屈公病病毒、登革热病毒 DNV、B 型肝炎病毒 HBV、C 型肝炎病毒 HCV、人类巨细胞病毒 hCMV、人类免疫缺陷病毒 HIV、伊列乌斯病毒、流行性感冒病毒(包括禽类和猪分离株)、日本脑炎病毒、科科百拉病毒、库京病毒、科萨努森林病病毒、绵羊跳跃病病毒、麻疹病毒、MERS-冠状病毒 MERS、间质肺炎病毒、嵌纹病毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒、副流行性感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒、布氏病毒、呼吸道合胞体病毒 RSV、罗西奥病毒、SARS-冠状病毒 SARS、圣路易脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、西尼罗河病毒 WNV 和黄热病毒。

17. 根据权利要求 15 所用的医药组合物,其中所述化合物具有根据权利要求 13 中所示的结构。

18. 根据权利要求 15 所用的医药组合物,其中所述医药组合物是作为预防性或治疗性疫苗的佐剂投与;任选地,其中所述使用包含通过另外投与对抗以下病毒的疫苗对个体进行接种:阿尔弗病毒、班齐病毒、牛腹泻病毒、屈公病病毒、DNV、HBV、HCV、hCMV、HIV、伊列乌斯病毒、流行性感冒病毒(包括禽类和猪分离株)、日本脑炎病毒、科科百拉病毒、库京病毒、科萨努森林病病毒、绵羊跳跃病病毒、麻疹病毒、MERS、间质肺炎病毒、嵌纹病毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒、副流行性感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒、布氏病毒、RSV、罗西奥病毒、SARS、圣路易脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、WNV 和黄热病毒。

19. 根据权利要求 1 所述的化合物,其用于调节真核细胞中的先天性免疫反应,所述使用包含将所述化合物投与给所述真核细胞。

20. 根据权利要求 19 所用的化合物,其中所述化合物具有根据权利要求 13 所示的结构。

21. 一种治疗个体的病毒感染的方法,其包含向所述个体投与治疗有效量的根据权利要求 14 所述的医药组合物,由此治疗所述个体中的所述病毒感染。

22. 根据权利要求 21 所述的方法,其中所述病毒感染是由以下家族中的一或多者的病毒引起:沙粒病毒科、动脉炎病毒、星状病毒科、双核糖核酸病毒科、雀麦花叶病毒科、本扬病毒科、杯状病毒科、修道院病毒科、豇豆镶嵌病毒科、冠状病毒科、囊状噬菌体科、黄病毒科、弯曲病毒科、肝脱氧核糖核酸病毒科、肝炎病毒、疱疹病毒科、光滑病毒科、黄症病毒科、中等套病毒科、单股反链病毒目、嵌纹病毒、网巢病毒目、野田病毒科、正粘液病毒科、乳头瘤病毒科、副粘液病毒科、小双核糖核酸病毒科、小双核糖核酸病毒、小核糖核酸病毒科、马铃薯 Y 病毒科、呼肠孤病毒科、逆转录病毒科、杆套病毒科、随伴病毒科、纤细病毒属、披衣病毒科、番茄丛矮病毒科、整体病毒科和芜菁变黄镶嵌病毒科。

23. 根据权利要求 21 所述的方法,其中所述病毒感染是由以下病毒中的一或多者引起:流行性感感冒病毒、阿尔弗病毒、班齐病毒、牛腹泻病毒、屈公病病毒、登革热病毒 DNV、B 型肝炎病毒 HBV、C 型肝炎病毒 HCV、人类巨细胞病毒 hCMV、人类免疫缺陷病毒 HIV、伊列乌斯病毒、流行性感感冒病毒(包括禽类和猪分离株)、日本脑炎病毒、科科百拉病毒、库京病毒、科萨努森林病病毒、绵羊跳跃病病毒、麻疹病毒、MERS- 冠状病毒 MERS、间质肺炎病毒、嵌纹病毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒、副流行性感感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒、布氏病毒、呼吸道合胞体病毒 RSV、罗西奥病毒、SARS- 冠状病毒 SARS、圣路易脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、西尼罗河病毒 WNV 和黄热病毒。

24. 根据权利要求 21 所述的方法,其中所述医药组合物是作为预防性或治疗性疫苗的佐剂投与。

25. 根据权利要求 24 所述的方法,其中所述方法包含通过另外投与对抗以下病毒的疫苗对个体进行接种:阿尔弗病毒、班齐病毒、牛腹泻病毒、屈公病病毒、DNV、HBV、HCV、hCMV、HIV、伊列乌斯病毒、流行性感感冒病毒(包括禽类和猪分离株)、日本脑炎病毒、科科百拉病毒、库京病毒、科萨努森林病病毒、绵羊跳跃病病毒、麻疹病毒、MERS、间质肺炎病毒、嵌纹病毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒、副流行性感感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒、布氏病毒、RSV、罗西奥病毒、SARS、圣路易脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、WNV 和黄热病毒。

26. 一种调节真核细胞中的先天性免疫反应的方法,其包含向所述细胞投与根据权利要求 4 所述的化合物。

27. 根据权利要求 26 所述的方法,其中所述细胞是在活体内。

28. 根据权利要求 26 所述的方法,其中所述细胞是在活体外。

## 抗病毒化合物、医药组合物和其使用方法

[0001] 相关申请案的交叉参考

[0002] 本申请案主张对 2013 年 7 月 16 日提出申请的美国临时专利申请案第 61/846,997 号和 2014 年 5 月 9 日提出申请的美国临时专利申请案第 61/991,417 号的优先权,此二者的整体内容以引用的方式并入本文中。

[0003] 政府权益的声明

[0004] 本发明是根据美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health) 合同第 AI081335 号在政府支持下作出的。政府拥有本发明的某些权利。

### 技术领域

[0005] 本发明除其它用途外还提供化合物、医药组合物和用于治疗病毒感染的方法。这些化合物调节视黄酸可诱导基因 1 (RIG-I) 途径。

### 背景技术

[0006] 病毒 (例如 RNA 病毒) 代表了美国和全世界的巨大公共卫生问题。众所周知的 RNA 病毒包括流行性感病毒 (包括禽类和猪分离株;也称为流感)、C 型肝炎病毒 (HCV)、西尼罗河病毒 (West Nile virus, WNV)、SARS 冠状病毒 (SARS)、呼吸道合胞体病毒 (RSV) 和人类免疫缺陷病毒 (HIV)。

[0007] 作为一个实例,全世界有超过 170 百万人感染 HCV,且其中 130 百万人是处于发展慢性肝病 (肝硬化、恶性肿瘤和肝衰竭) 风险的慢性带菌者。同样地,HCV 是发达国家中所有肝移植中三分之二的原因。最近研究显示,由于慢性感染患者的年龄增加,HCV 感染的死亡率正在上升。作为第二实例,季节性流感每年感染 5-20% 的人口,此导致每年 200,000 人住院治疗且 36,000 人死亡。

[0008] 与 HCV 和流行性感病毒相比,WNV 造成的感染数目最低,2010 年在美国有 981 人感染。然而,20% 受感染的患者发展成严重形式的疾病,导致 4.5% 死亡率。与 HCV 和流行性感病毒不同,还没有经批准用于治疗 WNV 感染的疗法,且由于 WNV 作为生物恐怖剂 (bioterrorist agent) 的可能性而成为药物研发的高优先等级的病原体。

[0009] 在所列举的病毒中,仅存在针对流行性感病毒的疫苗。因此,药物疗法是减轻与这些病毒相关联的显著发病率和死亡率所必需的。不幸地,抗病毒药物的数目有限,许多有效性较差,且几乎所有均受病毒抗性的快速进化和有限的作用谱困扰。而且,用于急性 HCV 和流行性感病毒感染的治疗仅中等有效。对于 HCV 感染的标准照护聚乙二醇化干扰素和利巴韦林 (ribavirin) 仅在 50% 患者中有效,且存在许多与组合疗法相关联的剂量限制性负效应。两种类型的急性流行性感病毒抗病毒剂金刚烷和神经胺糖苷酶抑制剂仅在感染后的前 48 小时内有效,由此限制治疗时机窗。对金刚烷的高抗性已限制其使用,并且神经胺糖苷酶抑制剂的大量累积最终将导致过度使用和出现流行性感病毒的抗性菌株。

[0010] 大多数针对病毒的药物研发计划均以病毒蛋白为目标。这是目前药物的作用谱窄且受到出现病毒抗性影响的主要原因。由于大多数 RNA 病毒具有小的基因组且许多编码少

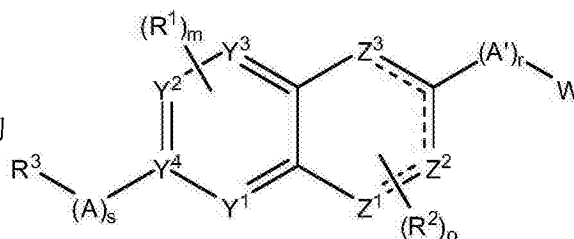
于 12 种蛋白质,因此病毒靶标是有限的。基于前述,业内存在巨大且未满足的对病毒感染(包括 RNA 病毒感染)的有效治疗的需求。

## 发明内容

[0011] 本文所揭示的化合物、医药组合物和方法使病毒药物研发的重点从靶向病毒蛋白离开而转向靶向并且增强宿主的先天性抗病毒免疫反应。所述化合物、医药组合物和方法可能更有效,较不易出现病毒抗性,引起较少的负效应,且有效的对抗一系列不同病毒。塔恩 S. L. (Tan, S. L.) 等人, (2007) 系统生物学和病毒感染的宿主反应 (Systems biology and the host response to viral infection), 自然·生物技术 (Nat Biotechnol) 25, 1383-1389。

[0012] 视黄酸可诱导基因 1 (RIG-I) 路径密切涉及调控对病毒感染(包括 RNA 病毒感染)的先天性免疫反应。RIG-I 激动剂预计可用于治疗许多病毒,其尤其包括 C 型肝炎病毒 (HCV)、流行性感冒病毒和西尼罗河病毒 (WNV)。因此,本发明涉及用以治疗病毒感染(包括 RNA 病毒感染)的化合物、包括所述化合物的医药组合物和相关使用方法,其中所述化合物调节 RIG-I 路径。

[0013] 化合物具有以下一般化学结构



[0014] 如实施方式中更全面地描述。

## 附图说明

[0015] 图 1A、1B 和 1C 显示化合物 KIN100 和 KIN101 对抗 HCV 的抗病毒活性。(A) 在用 KIN100 预处理 24 小时并用 HCV2a 以 0.5 的感染倍数 (MOI) 感染 48 小时的 Huh7 细胞中实施的 HCV 病灶形成分析。通过用病毒特异性血清进行免疫荧光染色检测 HCV 蛋白并将病灶正规化为未进行药物处理的阴性对照细胞 (等于 1)。(B) 通过在用 KIN101 预处理 18 小时并用 HCV2a 以 1.0 的 MOI 感染 72 小时的 Huh7 细胞中实施的实时定量 PCR (RT-qPCR) 的 HCV 病毒 RNA 的定量。将病毒 RNA 分离并在经感染培养物的上清液中进行定量。(C) 通过在用 HCV2a 以 1.0 的 MOI 感染 4 小时且然后用 KIN101 处理的 Huh7 细胞中实施的 RT-qPCR 的 HCV 病毒 RNA 的类似定量。

[0016] 图 2A 和 2B 显示化合物 KIN101 对抗 RSV 的抗病毒活性。(A) 用 RSV A2 感染并用 KIN101 处理后的细胞存活力。(B) 在用 KIN101 处理的细胞中 KIN101 处理减少感染 48 小时后的 RSV 病毒 RNA。

[0017] 图 3A、3B 和 3C 显示流行性感冒病灶形成分析的结果。将病灶的减少以病毒感染受化合物的抑制百分比作图。(A) KIN101 在 293 细胞中显示病毒感染的剂量依赖性减少;衍生物 KIN134、KIN263、KIN267、KIN269、KIN282、KIN291、KIN308 和 KIN306 提高此抗病毒活性,如由减少的病毒滴度所示。(B) KIN328、KIN371、KIN372、KIN376、KIN385、KIN392、KIN269、KIN394、KIN395 和 KIN299 在 293 细胞中显示病毒感染的剂量依赖性减少。(C) 在

流行性感胃抗病毒分析中实例性衍生化合物的测定 IC<sub>50</sub> 值。

[0018] 图 4A 和 4B 显示所选化合物对抗登革热病毒 (Dengue virus, DNV) 的抗病毒活性。(A) 用 DNV 感染且用增加量的 KIN101 处理的细胞中病毒蛋白的剂量依赖性减少。(B) 针对抗病毒活性的 DNV 病灶形成分析的结果。将病灶的减少以病毒感染受化合物的抑制百分比作图。化合物 KIN101 (黑色虚线)、KIN134、KIN269、KIN328、KIN372、KIN376 和 KIN385 显示 Huh7 细胞中病毒感染的剂量依赖性减少。显示 IC<sub>50</sub> 值 (以 M 计)。

[0019] 图 5A 和 5B 显示所选化合物对抗人类巨细胞病毒 (hCMV) 的抗病毒活性。(A) hCMV 的剂量依赖性减少,如通过用 KIN385、KIN392、KIN394 和 KIN395 处理的试样中的病灶 (FFU/mL) 所测量。(B) hCMV 的剂量依赖性减少,如通过用 KIN269、KIN134、KIN372、KIN328 和 KIN376 处理的试样中的病灶 (FFU/mL) 所测量。

[0020] 图 6 显示在 293 细胞中干扰素调控因子 -3 (IRF-3) 响应化合物 KIN269 诱导的基因表达。流行性感胃感染作为诱导基因表达的阳性对照。

[0021] 图 7A-7E 显示 KIN269 的活体内广谱抗病毒活性和生物利用度。KIN269 (10mg/kg 于 10% HPBCD 中) 鼻内治疗降低流行性感胃 (A) 小鼠肝炎病毒 (MHV) (B) 在肺中的复制和滴度。(C) 当以 10mg/kg 经由腹膜内注射或静脉内注射投药时,随时间的 KIN269 血清含量。(D) KIN269 抑制 DNV,如当 IP 以 10mg/kg/天投药时在血清中所测量。(E) 当在用 PR8 流感进行致死性感染前 -24 小时 (预防性) 或之后 +24 小时 (治疗性) 通过鼻内滴注投与时, KIN269 (20mg/kg) 抑制流感在肺中的复制。在感染后 72 小时收获肺组织并通过 PCR 定量流感 RNA。

## 具体实施方式

[0022] 本发明提供使病毒治疗的重点自靶向病毒蛋白离开而转向靶向并且增强宿主 (个体) 的先天性抗病毒免疫反应的化合物、医药组合物和方法。所述化合物、医药组合物和方法可能更有效,较不易出现病毒抗性,引起较少的负效应,且有效的对抗一系列不同病毒。塔恩 S. L. 等人, (2007) 系统生物学和病毒感染的宿主反应, 自然·生物技术 25, 1383-1389。

[0023] 视黄酸可诱导基因 1 (RIG-I) 路径密切涉及调控对病毒感染 (包括 RNA 病毒感染) 的先天性免疫反应。RIG-I 是触发对宽范围 RNA 病毒的免疫力所必需的细胞溶质病原体识别受体。李 K. (Li, K.) 等人, (2005) 导致肝细胞中干扰素 - $\beta$  产生的独特的聚 (I-C) 和病毒活化的信号传导路径 (Distinct poly (I-C) and virus-activated signaling pathways leading to interferon-beta production in hepatocytes), 生物化学杂志 (J Biol Chem) 280, 16739-16747; 洛 Y. M. (Loo, Y. M.) 等人, (2008) 先天免疫中通过 RNA 病毒进行的独特 RIG-I 和 MDA5 信号传导 (Distinct RIG-I and MDA5 signaling by RNA viruses in innate immunity), 病毒学杂志 (J Virol) 82, 335-345; 洛 Y. M. 等人, (2006) 在 C 型肝炎病毒感染期间的病毒和 IFN- $\beta$  启动子刺激剂 1 的治疗控制 (Viral and therapeutic control of IFN-beta promoter stimulator 1 during hepatitis C virus infection), 美国国家科学院院刊 (Proc Natl Acad Sci U S A) 103, 6001-6006; 齐藤 T. (Saito, T.) 等人, (2007) 在 RIG-I 和 LGP2 中通过共享阻遏结构域调节先天抗病毒防御 (Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG-I and

LGP2), 美国国家科学院院刊 104, 582-587。RIG-I 是结合到 RNA 病毒基因组内的基序以尿苷或聚合 U/A 基序的均聚伸展为特征的双链 RNA 解旋酶。齐藤 T. 等人, (2008) 由组成依赖性 RIG-I 识别 C 型肝炎病毒 RNA 诱导的先天性免疫 (Innate immunity induced by composition-dependent RIG-I recognition of hepatitis C virus RNA), 自然 (Nature) 454, 523-527。结合到 RNA 诱导构象变化, 此解除自体阻遏结构域的 RIG-I 信号传导阻遏, 由此允许 RIG-I 通过其串列卡斯蛋白酶 (caspase) 活化和募集结构域 (CARD) 向下游传导信号。约翰逊 C. L. (Johnson, C. L.) 等人, (2006) 病毒与宿主之间的 CARD 比赛获得新的参与者 (CARD games between virus and host get a new player), 免疫学趋势 (Trends Immunol) 27, 1-4。RIG-I 信号传导依赖于其 NTPase 活性, 但不需要解旋酶结构域。桑普特 R., Jr. (Sumpter, R., Jr.) 等人, (2005) 通过细胞 RNA 解旋酶 RIG-I 调节细胞内抗病毒防御并许可 C 型肝炎病毒 RNA 复制 (Regulating intracellular antiviral defense and permissiveness to hepatitis C virus RNA replication through a cellular RNA helicase, RIG-I), 病毒学杂志 79, 2689-2699; 米山 M. (Yoneyama, M.) 等人, (2004) RNA 解旋酶 RIG-I 在双链 RNA 诱导的先天性抗病毒反应中具有基本作用 (The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses), 自然·免疫学 (Nat Immunol) 5, 730-737。RIG-I 信号传导在静息细胞中是沉默的, 且阻遏结构域用作响应于病毒感染管控信号传导的通断开关。齐藤, 美国国家科学院院刊 104, 582-587。

[0024] 不受限于理论或特定作用机制, RIG-I 信号传导是借助 IPS-1 (也称为 Cardif、MAV 和 VISA) 转导, IPS-1 是一种驻留在外粒线体膜中的基本衔接子蛋白。卡瓦依 T. (Kawai, T.) 等人, (2005) IPS-1, 一种触发 RIG-I- 和 Mda5 介导的 I 型干扰素诱导的衔接子 (an adaptor triggering RIG-I-and Mda5-mediated type I interferon induction), 自然·免疫学 6, 981-988; 梅兰 E. (Meylan, E.) 等人, (2005) Cardif 是 RIG-I 抗病毒路径中的衔接子蛋白且由 C 型肝炎病毒触发 (Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus), 自然 437, 1167-1172; 赛斯 R. B. (Seth, R. B.) 等人, (2005) MAVS (一种活化 NF- $\kappa$ B 和 IRF 3 的线粒体抗病毒信号传导蛋白) 的鉴别和表征 (Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-kappaB and IRF 3), 细胞 (Cell) 122, 669-682; 徐 L. G. (Xu, L. G.) 等人, (2005) VISA 是病毒触发的 IFN- $\beta$  信号传导所需的衔接子蛋白 (VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN-beta signaling), 分子细胞 (Mol Cell) 19, 727-740。IPS-1 募集大分子信号传导复合物, 所述复合物刺激干扰素调控因子 -3 (IRF-3) (一种诱导 I 型干扰素 (IFN) 和控制感染的病毒反应性基因的表达的转录因子) 的下游活化。文卡塔拉曼 T. (Venkataraman, T.) 等人, (2007) DExD/H 盒 RNA 解旋酶 LGP2 的丧失证明不同的抗病毒反应 (Loss of DExD/H box RNA helicase LGP2 manifests disparate antiviral responses), 免疫学杂志 (J Immunol) 178, 6444-6455。直接或通过 RIG-I 路径组份 (包括 IRF-3) 的调节触发 RIG-I 信号传导的化合物作为抗病毒剂和免疫调节剂呈现有吸引力的治疗应用。

[0025] 使用高通量筛选途径来鉴别调节 RIG-I 路径的化合物。在特定实施例中, 经验证的 RIG-I 激动剂先导化合物经证实具体地活化 IRF-3。在额外实施例中, 这些具有以下优点

中的一或多者；其诱导干扰素刺激基因（ISG）的表达，其在基于细胞的分析中具有低细胞毒性，其适用于类似物研发和 QSAR 研究，其具有类似药物的生理化学性质，和 / 或其具有对抗病毒（包括流行性感冒 A 病毒、呼吸道合胞体病毒（RSV）和 / 或 C 型肝炎病毒（HCV））的抗病毒活性。在某些实施例中，化合物展示所有这些特性。

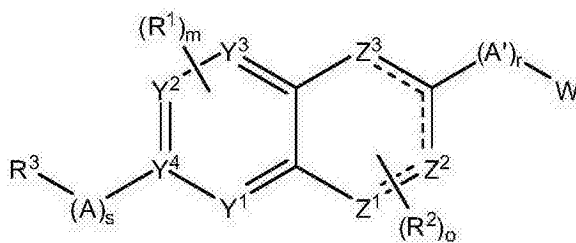
[0026] 所揭示化合物代表一类新的抗病毒治疗剂。尽管本发明并不受化合物在活体内的具体作用机制的约束，但化合物是针对其对 RIG-I 路径的调节来选择。在某些实施例中，调节是 RIG-I 路径的活化。本文所揭示的化合物、医药组合和方法用于治疗个体，减少病毒蛋白，减少病毒 RNA，和 / 或在病毒感染的实验室模型中减少传染性病毒。

#### [0027] I. 化合物

[0028] 在一个实施例中，本文所述的化合物是抗病毒化合物。在另一实施例中，化合物是先天性免疫调节化合物。在另一实施例中，化合物是先天性免疫活化化合物。在另一实施例中，化合物是先天性免疫激动剂。

[0029] 在一个实施例中，本发明化合物具有以下结构：

[0030]



[0031] 根据某些实施例，化合物可具有取代模式，其中基团如本文所定义。根据具体实施例，化合物可具有结构，其中  $R^1$  和  $R^2$  可各自独立地选自 H、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、卤烷基、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{CN}$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{CF}_3$ 、 $\text{Br}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $\text{F}$ 、1- 甲脒基、2- 甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、N- 烷基哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑基、异噻唑基、咪唑基、噻二唑基、噻二唑 S- 氧化物、噻二唑 S、S- 二氧化物、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、吡啶基、嘧啶基、喹啉基、异喹啉基、 $\text{SR}^4$ 、 $\text{SOR}^4$ 、 $\text{SO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{CO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{COR}^4$ 、 $\text{CONR}^4\text{R}^5$ 、 $\text{CH}_2\text{CONR}^4\text{R}^5$ 、 $\text{NR}^4\text{SO}_2\text{R}^5$ 、 $\text{CSNR}^4\text{R}^5$  或  $\text{SO}_m\text{NR}^4\text{R}^5$ 。  $R^3$  可为 H、烷基磺酰基、 $\text{NR}^4\text{SO}_2\text{R}^5$ 、 $\text{SO}_m\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $\text{CF}_2\text{H}$ 、 $\text{CF}_3$ 、 $\text{CONHCH}_3$ 、3- 丙炔基、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、卤烷基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、芳基磺酰基、杂环烷基烷基、N- 咪唑啉基、N- 马来酰亚胺基，或可为针对  $R^1$  或  $R^2$  所阐释的基团中的任一者。对于  $R^1$ 、 $R^2$  和  $R^3$  的各个实施例，基团可具有以下结构： $R^4$  和  $R^5$  可各自独立地选自 H、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{CN}$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{CF}_3$ 、 $\text{Br}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $\text{F}$ 、1- 甲脒基、2- 甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、N- 烷基哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑基、异噻唑基、咪唑基、噻二唑基、噻二唑 S- 氧化物、噻二唑 S、S- 二氧化物、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、吡啶基、嘧啶基、喹啉基或异喹啉基。A 和 A' 是分别在核心双环结构与取代基  $R^3$  或 W 之间的可选链接基团。换言之，A 和 / 或 A' 各自可存在或不存在，此取决于化合物的特定实施例，如由 s 和 r 的值所示，即，当 s 或 r 为 1 时，则相应基团 A 或 A' 存在，且当 s 或 r 为 0 时，则相应基团 A 或 A' 不存在。在某些实施例中，A 和

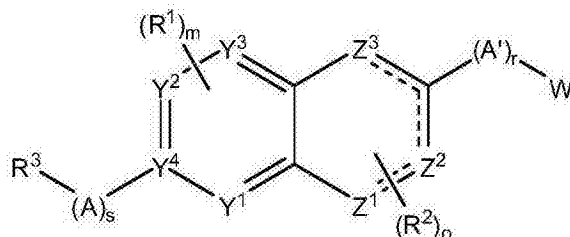
A'可各自独立地选自 O、S 或 NR', 其中 R' 为 H、低碳数烷基或针对 R<sup>3</sup>所示基团中的任一者。根据其它实施例, R' 和 R<sup>3</sup>或 R' 和 W 可在一起形成未经取代或经取代的杂环基环或杂芳基环。W 可为选自以下的基团: 芳基、经取代的芳基、杂芳基、经取代的杂芳基、烷基、经取代的烷基、环烷基、经取代的环烷基、杂烷基、经取代的杂烷基、杂环烷基、经取代的杂环烷基、芳基烷基或杂芳基烷基, 如本文所定义。Z<sup>1</sup>、Z<sup>2</sup>和 Z<sup>3</sup>可各自独立地选自 C、O、NH、S、C=O、S=O 或 SO<sub>2</sub>。根据某些实施例, Z<sup>1</sup>可为 O, Z<sup>2</sup>可为 C(通过单键或双键连接到相邻碳), 且 Z<sup>3</sup>可为 C=O。Y<sup>1</sup>、Y<sup>2</sup>、Y<sup>3</sup>和 Y<sup>4</sup>可各自独立地选自 C 或 N, 前提条件是当 Y<sup>4</sup>为 N 时, 则 R<sup>3</sup>-(A)<sub>s</sub>不存在。举例来说, 在某些实施例中, Y<sup>1</sup>、Y<sup>2</sup>、Y<sup>3</sup>和 Y<sup>4</sup>可各自为碳, 由此形成苯基环。在其它实施例中, Y<sup>1</sup>、Y<sup>2</sup>、Y<sup>3</sup>和 Y<sup>4</sup>中的一或多者可为 N。如应了解, 当 Y<sup>4</sup>为 N 时, 则氮的化合价将充满且基团 R<sup>3</sup>-(A)<sub>s</sub>将不存在。根据各个实施例, 虚线代表存在或不存在双键。换言之, 通过实线与虚线的组合连接的两个原子理解为通过单键(σ 键)或双键(自 σ 键与 π 键的组合形成)连接。对于在这些实施例中所呈现的各种取代基, 结构可具有以下整数值, 其中: m 可为 1 或 2; n 可为 0、1、2 或 3; o 可为 0、1、2 或 3; s 可为 0 或 1; 且 r 可为 0 或 1。如所属领域的技术人员所了解, 尽管取代基的各种组合是可能的, 但仅化学上相容的那些组合在本发明化合物的各个实施例的范围内。

[0032] 在一个实施例中, 一个 R<sup>1</sup>和 R<sup>3</sup>可一起形成芳基、环烷基、亚甲基二氧代基、亚乙基二氧代基、杂芳基或杂环烷基。

[0033] 在实施例中, R<sup>4</sup>与 R<sup>5</sup>在一起形成吗啉基环或 N-甲基哌嗪基环。

[0034] 在另一实施例中, 化合物具有以下结构:

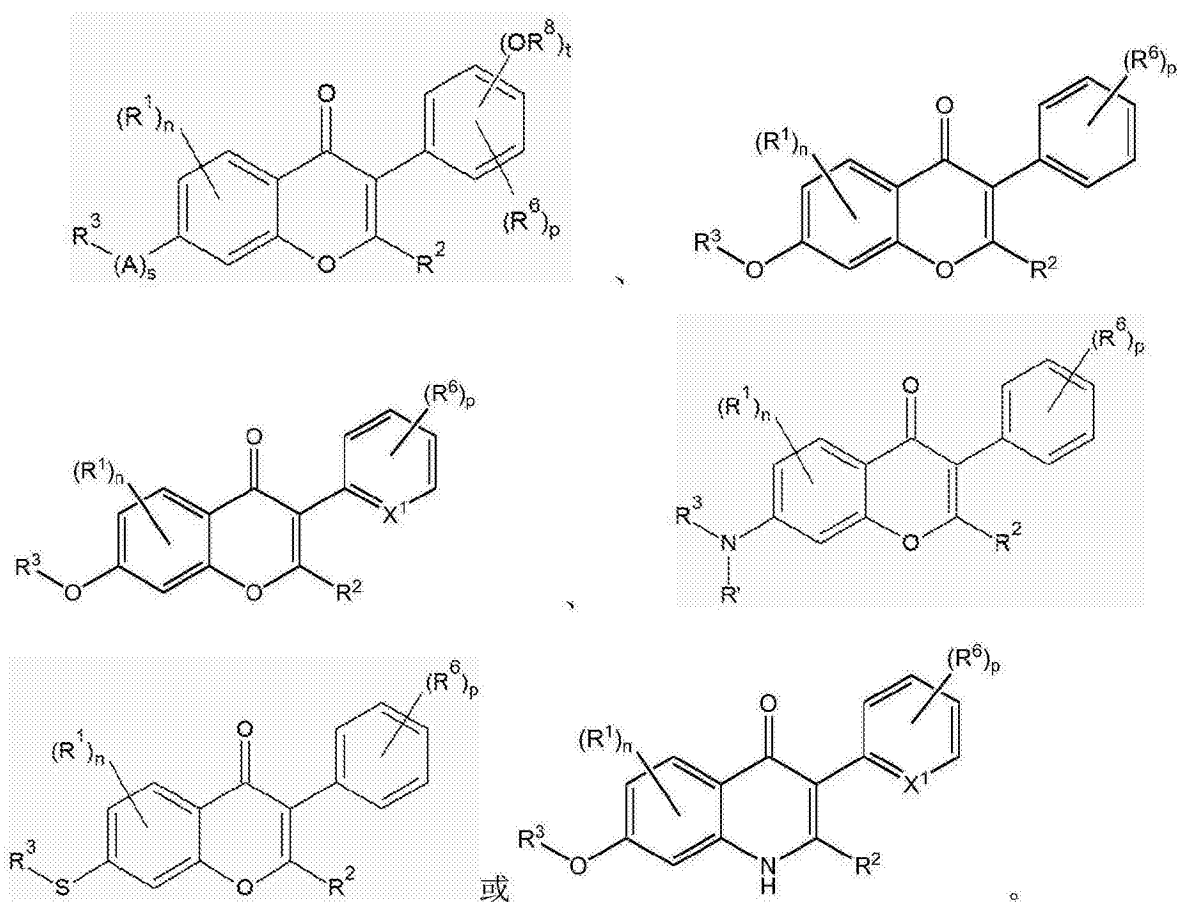
[0035]



[0036] 其中环结构上的取代基可包括以下群组: 其中 s 可为 1, A 可为 O 且 R<sup>3</sup>可为 H; 3-丙炔基; SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; CF<sub>2</sub>H; CF<sub>3</sub>; CONHCH<sub>3</sub>或 CH<sub>2</sub>CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, 其中 R<sup>4</sup>与 R<sup>5</sup>在一起形成吗啉基环或 N-甲基哌嗪基环; 或另一选择为其中 s 可为 0 且 R<sup>3</sup>可为 SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、COR<sup>4</sup>、CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>、N-咪唑啉基或 N-马来酰亚胺基; 且其中 r 可为 0 且 W 可为 1-萘基、环戊基、2-噻唑基、2-吡嗪基、2-苯并噻唑基或 4-R<sup>6</sup>-1-苯基且 R<sup>6</sup>为叔丁基、Br、OCF<sub>3</sub>或 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>7</sup>, 其中 R<sup>7</sup>为 N-哌啶基或苯基; 或另一选择为, 其中 r 可为 1, 且 W 可为苯基。

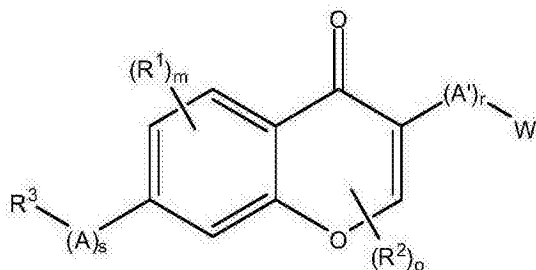
[0037] 其它实例化合物具有结构:

[0038]



[0039] 根据具体实施例,本发明化合物可具有以下结构:

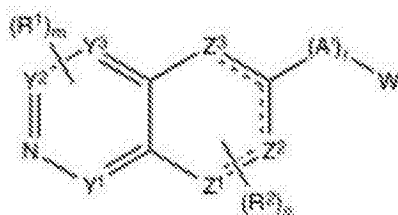
[0040]



[0041] 换言之,根据这些实施例,基团  $Z^1$  为 O,  $Z^2$  为 C(通过双键连接到相邻碳)且  $Z^3$  为  $C=O$ ;  $Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$  和  $Y^4$  各自为碳,由此形成稠合至含 Z 原子的环的苯基环。

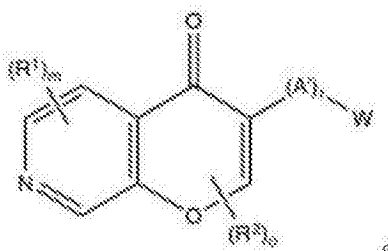
[0042] 根据其它实施例,本发明化合物可具有其中  $Y^4$  为 N 的结构且化合物可具有以下结构:

[0043]



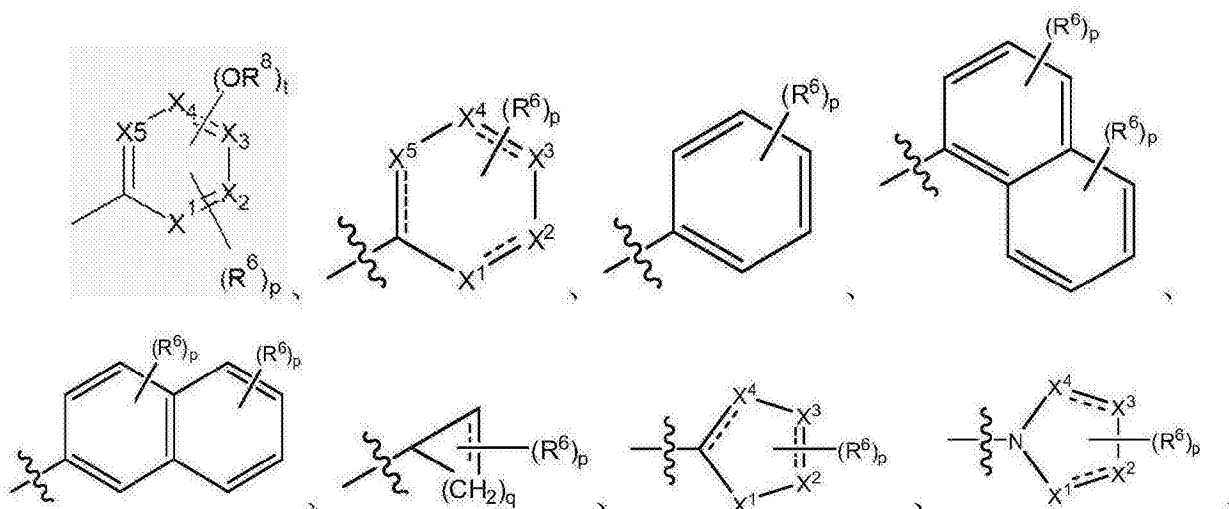
[0044] 根据其中  $Y^4$  为 N 的某些实施例,化合物可具有以下结构:

[0045]

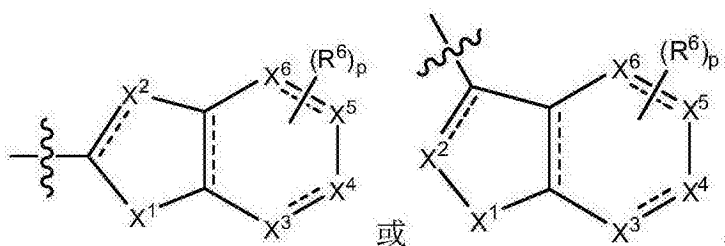


[0046] 在具体实施例中，W 基团可具有选自以下的结构：

[0047]



[0048]



[0049] 根据 W 基团的各个实施例，基团可具有本文所示的结构，其中  $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$  和  $X^6$  中的每一者可独立地选自 C、O、NH、 $NR^6$ 、S、C=O、S=O 或  $SO_2$ 。因此，根据以上所呈现的结构特征，W 基团通常可为经取代或未经取代的碳环基、杂环基、芳基或杂芳基结构。根据某些实施例，W 的结构可包括经取代或未经取代的 6 元杂环基环、碳环基环、苯基环或杂芳基环。根据其它实施例，W 的结构可包括经取代或未经取代的萘基环。其它稠合芳香族和非芳香族多环系统也可能用于 W 的结构且在本发明的范围内。在某些实施例中，W 的结构可包括具有介于 3 到 6 个之间的环原子（即，其中 q 可为 1、2、3 或 4）且在环内任选地具有一或多个双键的经取代或未经取代的碳环基环，或另一选择为 W 可包括具有介于 3 至 7 个之间的环原子的经取代或未经取代的杂环基环，其中环原子中的一或多者可独立地选自 O、NH、 $NR^6$ 、S、C=O、S=O 或  $SO_2$ 。在一些实施例中，W 可为 1-萘基、环戊基、2-噁唑基、2-吡嗪基、2-苯并噁唑基或 4- $R^6$ -1-苯基。根据其中 W 基团经取代的某些实施例，W 基团可经一或多个  $R^6$  和 / 或  $R^8$  基团取代，其中 W 基团上的一或多个 H 原子经  $R^6$  或  $R^8$  基团替代。W 基团可具有多个独立选择的  $R^6$  和 / 或  $R^8$  基团，其中 W 基团上的一个或多达所有 H 原子经  $R^6$  或  $R^8$  取代基替代。根据包括具有一或多个  $R^6$  取代基的 W 基团的那些实施例， $R^6$  可独立地

选自 H、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、低碳数烷基、卤烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环烷基、环杂烷基、酰基、 $\text{NH}_2$ 、OH、CN、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{CF}_3$ 、Br、Cl、F、 $-\text{NHSO}_2\text{R}^7$ 、1- 甲脒基、2- 甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑、异噻唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑 S- 氧化物、噻二唑 S、S- 二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、N- 烷基哌嗪基、喹啉、异喹啉、 $\text{SR}^4$ 、 $\text{SOR}^4$ 、 $\text{SO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{CO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{COR}^4$ 、 $\text{CONR}^4\text{R}^5$ 、 $\text{NR}^4\text{SO}_2\text{R}^5$ 、 $\text{CSNR}^4\text{R}^5$  或  $\text{SO}_m\text{NR}^4\text{R}^5$ 。在实施例中， $\text{R}^7$  是烷基、环烷基、杂环烷基、苯基、芳基、杂芳基、N- 哌啶基、N- 吗啉基、N- 烷基-N- 哌嗪基、N- 吡咯啉基、N- 吡咯烷基或苯基。在其中 W 环原子具有至少两个开放化合价（即，可具有两个附接到所述环原子的取代基）的某些实施例中， $\text{R}^6$  基团可包括不饱和基团，例如  $=\text{O}$ 、 $=\text{NR}^6$ 、 $=\text{S}$  或类似物。在某些实施例中，W 基团可包括多环结构，例如其中两个相邻  $\text{R}^6$  基团可在一起形成稠合 5 或 6 元环烷基环、杂环烷基环、亚甲基二氧代基环、亚乙基二氧代基环、芳基环或杂芳基环。在其中两个相邻  $\text{R}^6$  基团在一起形成稠合 5 或 6 元环的那些实施例中，稠合环可包括一或多个位于所形成稠合环上离开 W 环结构的额外  $\text{R}^6$  取代基。根据本文所述的经取代 W 基团的某些实施例，W 基团可具有 0 至 5 个  $\text{R}^6$  取代基，其中每一 p 可独立地为 0、1、2、3、4 或 5；且在包括环烷基环的那些实施例中，q 可为 1、2、3 或 4。

[0050] 根据包括具有一或多个  $\text{R}^8$  取代基的 W 基团的那些实施例，每一  $\text{R}^8$  独立地选自 H、烷基、卤烷基、环烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基烷基芳基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、 $\text{CF}_3$ 、烷基羰基、四唑基、噻唑、异噻唑基、1,3-oxazolinone、噻二唑、噻二唑 S- 氧化物、噻二唑 S、S- 二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、1,3-oxazolinone、异喹啉、 $\text{CO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{COR}^4$ 、 $\text{CONR}^4\text{R}^5$ 、 $\text{SO}_2\text{CH}_3$ ，或两个相邻  $\text{R}^8$  基团可在一起形成稠合 5 或 6 元环烷基环、杂环烷基环、亚甲基二氧代基环、亚乙基二氧代基环、芳基环或杂芳基环。根据本文所述的经取代 W 基团的某些实施例，W 基团可具有 0 至 5 个选自  $\text{R}^6$  和  $\text{R}^8$  中任一者的取代基，其中 p 和 t 可各自独立地为 0、1、2、3、4 或 5，以使得  $p+t \leq 5$ ；并且在包括环烷基环的那些实施例中，q 可为 1、2、3 或 4。

[0051] 根据本发明化合物的具体实施例，化合物可具有其中 r 为 0 且 W 为 1- 萘基、环戊基、2- 噻唑基、2- 吡嗪基、2- 苯并噁唑基或 4- $\text{R}^6$ -1- 苯基且  $\text{R}^6$  为叔丁基、Br、 $\text{OCF}_3$  或  $-\text{NHSO}_2\text{R}^7$ （其中  $\text{R}^7$  为 N- 哌啶基或苯基）的结构。根据本发明化合物的其它实施例，化合物可具有其中 r 为 0 且 W 为 4-( $\text{OR}^8$ )-1- 苯基且 ( $\text{OR}^8$ ) 为三氟甲氧基、丁氧基、环丙基甲氧基、二甲基丙氧基、三氟乙氧基、二氟甲氧基、氧杂环己基甲氧基、氧杂环己基甲氧基或二甲基丁氧基的结构。根据本发明化合物的再其它实施例，化合物可具有其中 r 为 1 且 W 为苯基的结构。

[0052] 实例化合物包括其中 r 为 0 且 W 为 1- 萘基、环戊基、2- 噻唑基、2- 吡嗪基、2- 苯并噁唑基或 4- $\text{R}^6$ -1- 苯基且  $\text{R}^6$  为叔丁基、Br、 $\text{OCF}_3$  或  $-\text{NHSO}_2\text{R}^7$ ，其中  $\text{R}^7$  为 N- 哌啶基或苯基；或 r 为 1，且 W 为苯基。

[0053] 其它实例化合物包括其中 s 为 1，A 为 0 且  $\text{R}^3$  为 H、3- 丙炔基、 $\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $\text{CF}_2\text{H}$ 、 $\text{CF}_3$ 、 $\text{CONHCH}_3$ 、 $\text{C}_2\text{H}_4\text{NR}^4\text{R}^5$  或  $\text{CH}_2\text{CONR}^4\text{R}^5$ ；其中  $\text{R}^4$  与  $\text{R}^5$  在一起形成吗啉基环或 N- 取代的哌嗪基环；或 s 为 0 且  $\text{R}^3$  为  $\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $\text{COR}^4$ 、 $\text{CONR}^4\text{R}^5$ 、N- 咪唑啉基或 N- 马来酰亚胺基。另外，有时对于任一化合物来说，r 为 0 且 W 为 1- 萘基、环戊基、2- 噻唑基、2- 吡嗪基、2- 苯并噁唑基或

4- $R^6$ -1- 苯基且  $R^6$  为叔丁基、Br、 $OCF_3$  或  $-NHSO_2R^7$ , 其中  $R^7$  为 N- 哌啶基或苯基 ; 或  $r$  为 1, 且  $W$  为苯基。

[0054] 其它实例化合物包括其中  $s$  为 1,  $A$  为  $NR'$ , 其中  $R'$  为 H、甲基或乙基 ;  $R^3$  为 H、3- 丙炔基、 $SO_2CH_3$ 、 $CF_2H$ 、 $CF_3$ 、 $CONHCH_3$ 、 $C_2H_4NR^4R^5$  或  $CH_2CONR^4R^5$ ; 其中  $R^4$  与  $R^5$  在一起形成吗啉基环、N- 乙酰基哌嗪基环、N- 甲烷磺酰基哌嗪基环或 N- 甲基哌嗪基环 ; 或  $s$  为 0 且  $R^3$  为  $SO_2CH_3$ 、 $COR^4$ 、 $CONR^4R^5$ 、N- 咪唑啉基或 N- 马来酰亚胺基。另外, 有时对于任一化合物来说,  $r$  为 0 且  $W$  为 1- 萘基、环戊基、2- 噻唑基、2- 吡嗪基、2- 苯并噁唑基或 4- $R^6$ -1- 苯基且  $R^6$  为叔丁基、Br、 $OCF_3$  或  $-NHSO_2R^7$ , 其中  $R^7$  为 N- 哌啶基或苯基 ; 或  $r$  为 1, 且  $W$  为苯基。

[0055] 其它实例化合物包括其中  $r$  为 0 且  $W$  为 4-( $OR^8$ )-1- 苯基且 ( $OR^8$ ) 为三氟甲氧基、丁氧基、环丙基甲氧基、二甲基丙氧基、三氟乙氧基、二氟甲氧基、氧杂环己基甲氧基、氧杂环己基甲氧基或二甲基丁氧基。

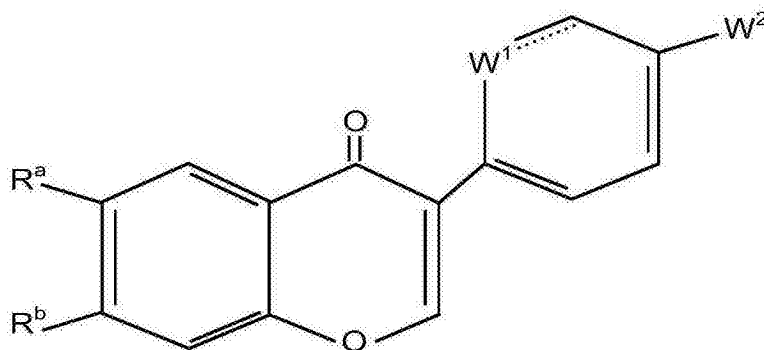
[0056] 在本文所述的化合物的再其它实施例中,  $R^3$  基团可具有选自以下的结构 : H ; 3- 丙炔基 ;  $SO_2CH_3$  ;  $CF_2H$  ;  $CF_3$  ;  $CONHCH_3$  ;  $COR^4$  ; N- 咪唑啉基 ; N- 马来酰亚胺基 ; 或  $CONR^4R^5$  或  $CH_2CONR^4R^5$ , 其中  $R^4$  如先前所述或  $R^4$  与  $R^5$  在一起形成吗啉基环或 N- 烷基哌嗪基环。在具体实施例中, 化合物可包括具有以下结构的化合物 : 其中  $s$  为 1,  $A$  为 0 且  $R^3$  为 H ; 3- 丙炔基 ;  $SO_2CH_3$  ;  $CF_2H$  ;  $CF_3$  ;  $CONHCH_3$  或  $CH_2CONR^4R^5$ , 其中  $R^4$  与  $R^5$  在一起形成吗啉基环或 N- 甲基哌嗪基环。根据其它实施例, 化合物可包括具有以下结构的化合物 : 其中  $s$  为 0 且  $R^3$  为  $SO_2CH_3$ 、 $COR^4$ 、 $CONR^4R^5$ 、N- 咪唑啉基或 N- 马来酰亚胺基。

[0057] 在具体实施例中, 本文所述的化合物可包括以下结构的化合物 : 其中  $s$  为 1,  $A$  为 0 且  $R^3$  为 H ; 3- 丙炔基 ;  $SO_2CH_3$  ;  $CF_2H$  ;  $CF_3$  ;  $CONHCH_3$  或  $CH_2CONR^4R^5$ , 其中  $R^4$  与  $R^5$  在一起形成吗啉基环或 N- 甲基哌嗪基环 ; 或另一选择为  $s$  为 0 且  $R^3$  为  $SO_2CH_3$ 、 $COR^4$ 、 $CONR^4R^5$ 、N- 咪唑啉基或 N- 马来酰亚胺基 ; 且其中  $r$  为 0 且  $W$  为 1- 萘基、环戊基、2- 噻唑基、2- 吡嗪基、2- 苯并噁唑基或 4- $R^6$ -1- 苯基且  $R^6$  为叔丁基、Br、 $OCF_3$  或  $-NHSO_2R^7$ , 其中  $R^7$  为 N- 哌啶基或苯基 ; 或另一选择为  $r$  为 1, 且  $W$  为苯基。

[0058] 实例化合物包括  $R^6$  为 H、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、Cl、Br、 $CF_3$ 、 $OCF_3$  或  $-NHSO_2R^7$ , 其中  $R^7$  为低碳数烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。在许多情形中,  $R^7$  为 N- 哌啶基、N- 吗啉基、N- 烷基、N- 哌嗪基或苯基。

[0059] 在特定实施例中, 本文所述的化合物可具有以下结构 :

[0060]



[0061] 在实施例中,  $W^1$  可为 CH、 $CH_2$ 、N 或 NH, 且  $W^2$  可为 Br、Cl、F、苯基、 $CF_3$ 、低碳数烷基、杂芳基、环烷基、 $OW^a$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 $OCH_2W^a$ 、或  $OCH_2W^b$ 、 $NHSO_2W^b$  或  $NW^cSO_2W^c$ 。  $W^b$  可为 Br、芳基、 $CF_3$ 、

低碳数烷基、环烷基、杂环烷基、 $\text{CHF}_2$ 、 $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ 、 $\text{NHSO}_2\text{W}^b$ ； $\text{W}^b$ 可为苯基、环烷基、杂环烷基或低碳数烷基；且 $\text{W}^c$ 可为低碳数烷基。此外， $\text{R}^a$ 可为H、低碳数烷基或 $\text{OR}^c$ ，其中 $\text{R}^c$ 为H或低碳数烷基且 $\text{R}^b$ 可为苯基、苯酚、 $\text{OR}^d$ 、 $\text{NR}^d$ 、 $\text{OR}^d\text{R}^e$ 或 $\text{NR}^d\text{R}^e$ 。在一些实施例中， $\text{R}^d$ 为低碳数烷基、烷基磺酰基、 $\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、烷基羰基、 $\text{CF}_2$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NHR}^e$ 、 $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{R}^f$ 、 $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{R}^f\text{R}^g$ 、 $\text{CH}_2\text{R}^h$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}^f$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}^f\text{R}^g$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}^f\text{R}^i$ ，其中 $\text{R}^e$ 可为羟基、低碳数烷基、烷基磺酰基或 $\text{NHR}^e$ 。在实施例中， $\text{R}^f$ 可为杂芳基或杂环烷基； $\text{R}^g$ 可为烷基羰基、烷基磺酰基或低碳数烷基；且 $\text{R}^h$ 可为炔基。

[0062] 以下定义适用于化合物的描述：

[0063] 无论单独或组合，“烷基氧基”或“烷氧基”是指包括烷基醚基团的官能团。烷氧基的实例包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、伯丁氧基、叔丁氧基和类似物。

[0064] “烷基”、“烯基”和“炔基”是指经取代和未经取代的烷基、烯基和炔基。

[0065] 无论单独或组合，术语“烷基”是指包括含有1到20个碳原子的仅通过单键链接且不具有任何环状结构的直链或具支链烃的官能团。“低碳数烷基”是指含有1至6个碳原子的官能团。烷基可如本文所定义任选地经取代。烷基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、异戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基、十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基、十八烷基、十九烷基、二十烷基和类似物。

[0066] 无论单独或组合，术语“烯基”是指包括含有2至20个碳原子且具有一或多个碳碳双键且不具有任何环状结构的直链或具支链烃的官能团。烯基可如本文所定义任选地经取代。烯基的实例包括乙烯、丙烯、2-甲基丙烯、1-丁烯、2-丁烯、戊烯、1-戊烯、2-戊烯、己烯、庚烯、辛烯、壬烯、癸烯、十一碳烯、十二碳烯、十三碳烯、十四碳烯、十五碳烯、十六碳烯、十七碳烯、十八碳烯、十九碳烯、二十碳烯和类似物。

[0067] 无论单独或组合，“炔基”是指包括含有2至20个碳原子且具有一或多个碳碳三键且不具有任何环状结构的直链或具支链烃的官能团。炔基可如本文所定义任选地经取代。炔基的实例包括乙炔基、丙炔基、羟基丙炔基、丁炔基、丁炔-1-基、丁炔-2-基、3-甲基丁炔-1-基、戊炔基、戊炔-1-基、己炔基、己炔-2-基、庚炔基、辛炔基、壬炔基、癸炔基、十一碳炔基、十二碳炔基、十三碳炔基、十四碳炔基、十五碳炔基、十六碳炔基、十七碳炔基、十八碳炔基、十九碳炔基、二十碳炔基和类似物。

[0068] 无论单独或组合，经取代的烷基、烯基和炔基是指经1到5个来自包括以下的群组的取代基取代的烷基、烯基和炔基：H、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{CN}$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{CF}_3$ 、 $\text{F}$ 、1-甲脒、2-甲脒、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑基、异噻唑基、咪唑基、噻二唑基、噻二唑S-氧化物、噻二唑S、S-二氧化物、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、吡啶基、嘧啶基、喹啉基、异喹啉基、SR、SOR、 $\text{SO}_2\text{R}$ 、 $\text{CO}_2\text{R}$ 、COR、CONR'R''、CSNR'R''或 $\text{SO}_n\text{NR}'\text{R}''$ ，其中R'和R''可独立地为（例如） $\text{R}^4$ 和 $\text{R}^5$ 。

[0069] “亚烷基”单独或组合是指衍生自直链或具支链饱和烃在两个或以上位置处附接的饱和脂肪族基团，例如亚甲基（ $-\text{CH}_2-$ ）。除非另有说明，否则术语“烷基”可包括“亚烷基”。

[0070] 无论单独或组合，“烷基羰基”或“烷酰基”是指包括借助羰基附接到母体分子部分的烷基的官能团。烷基羰基的实例包括甲基羰基、乙基羰基和类似物。

[0071] 无论单独或组合,“亚炔基”是指在两个位置处附接的碳碳三键,例如亚乙炔基( $-\text{C}::\text{C}-$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}-$ )。除非另有说明,否则术语“炔基”可包括“亚炔基”。

[0072] 无论单独或组合,“芳基”、“烃基芳基”或“芳基烃”是指包括具有 3 到 12 个碳原子的共轭环状分子环结构的经取代或未经取代的芳香族烃的官能团。芳基可为单环、双环或多环,且可任选地包括 1 到 3 个额外环结构,例如环烷基、环烯基、杂环烷基、杂环烯基或杂芳基。术语“芳基”包括苯基(苯次甲基)、噻吩基、吡啶基、萘基、甲苯基、二甲苯基、蒽基、菲基、萘基、联苯基、萘基、1-甲基萘基、二氢萘基、萘基、蒽基、芴基、茚基、菲基、苯并[a]蒽基、苯并[c]菲基、1,2-苯并菲基、荧蒽基、芘基、并四苯基(萘并萘基)、三亚苯基、蒽嵌蒽基、苯并芘基、苯并[a]芘基、苯并[e]荧蒽基、苯并[ghi]花基、苯并[j]荧蒽基、苯并[k]荧蒽基、碗烯基、蒎基、二蒎基、螺烯基、并七苯基、并六苯基、卵苯基、并五苯基、苈基、茈基和亚四苯基。经取代的芳基是指经 1 到 5 个来自包括以下的群组的取代基取代的芳基: H、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、 $\text{NH}_2$ 、OH、 $\text{CN}$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{CF}_3$ 、Br、Cl、F、1-甲脒基、2-甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑、异噻唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑 S-氧化物、噻二唑 S、S-二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、喹啉、异喹啉、SR、SOR、 $\text{SO}_2\text{R}$ 、 $\text{CO}_2\text{R}$ 、COR、CONRR、CSNRR 和  $\text{SOmNRR}$ , 其中每一 R 可独立地选自(例如)  $\text{R}^4$  或  $\text{R}^5$ 。

[0073] 无论单独或组合,“羧基(carboxyl 或 carboxy)”是指官能团  $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$  或相应“羧酸根”阴离子  $\text{C}(=\text{O})\text{O}^-$ 。实例包括甲酸、乙酸、草酸和苯甲酸。“O-羧基”是指具有通式  $\text{RCOO}$  的羧基,其中 R 是有机部分或基团。“C-羧基”是指具有通式  $\text{COOR}$  的羧基,其中 R 是有机部分或基团。

[0074] 无论单独或组合,“环烷基”、“碳环基烷基”和“碳环烷基”是指包括具有 3 到 12 个碳原子且在碳环结构中仅利用碳碳单键链接的非共轭环状分子环结构的经取代或未经取代的非芳香族烃的官能团。环烷基可为单环、双环或多环,且可任选地包括 1 到 3 个额外环结构,例如芳基、杂芳基、环烯基、杂环烷基或杂环烯基。

[0075] 无论单独或组合,“低碳数环烷基”是指包括具有 3 到 6 个碳原子在碳环结构中仅利用碳碳单键链接的非共轭环状分子环结构的单环经取代或未经取代的非芳香族烃的官能团。低碳数环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基和环己基。

[0076] 无论单独或组合,“杂烷基”是指包括含有 1 到 20 个原子且仅通过单键链接的直链或具支链烃的官能团,其中链中的至少一个原子为碳且链中的至少一个原子为 O、S、N 或其任一组合。杂烷基可为完全饱和或含有 1 到 3 个不饱和度。非碳原子可在杂烷基的任一内部位置处,且最多两个非碳原子可是连续的,例如  $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 。另外,非碳原子可任选地经氧化且氮可任选地经四级铵化。

[0077] 无论单独或组合,“杂芳基”是指包括具有 3 到 12 原子的共轭环状分子环结构的经取代或未经取代的芳香族烃的官能团,其中环结构中的至少一个原子为碳且环结构中的至少一个原子为 O、S、N 或其任一组合。杂芳基可为单环、双环或多环,且可任选地包括 1 到 3 个额外环结构,例如芳基、环烷基、环烯基、杂环烷基或杂环烯基。杂芳基的实例包括吡啶基、苯并吡啶基、苯并咪唑基、苯并异噻唑基、苯并二氧杂环己烯基、二氢苯并二氧杂环己烯基、苯并间二氧杂环戊烯基、1,3-苯并间二氧杂环戊烯基、苯并呋喃基、苯并异噻唑

基、苯并吡喃基、苯并噻吩基、苯并 [c] 噻吩基、苯并三唑基、苯并噁二唑基、苯并噁唑基、苯并噻二唑基、苯并噻唑基、苯并噻吩基、呋唑基、色酮基、噌啉基、二氢噌啉基、香豆素基、二苯并呋喃基、呋喃并吡啶基、呋喃基、吡啶基、吡啶基、二氢吡啶基、咪唑基、吡唑基、异苯并呋喃基、异吡啶基、异吡啶基、二氢异吡啶基、异噻啉基、二氢异噻啉基、异噁唑基、异噻唑基、噁唑基、噁二唑基、菲咯啉基、菲啶基、嘌呤基、吡喃基、吡啶基、吡唑基、吡啶基、噻啶基、吡啶基、吡咯啉基、吡咯基、吡咯并吡啶基、噻啉基、噻啉基、噻啉基、四氢噻啉基、四唑并吡啶基、四氢异噻啉基、噻吩基、噻唑基、噻二唑基、噻吩并吡啶基、噻吩基 (thienyl、thiophenyl)、三唑基、咕吨基和类似物。

[0078] 无论单独或组合,“羟基”是指官能团羟基 (-OH)。

[0079] 无论单独或组合,“氧代基”是指官能团 = O。

[0080] “官能团”是指每当其出现在不同化合物中时具有相似化学性质的一个原子或一群原子,且同样地官能团定义有机化合物家族的特性物理和化学性质。

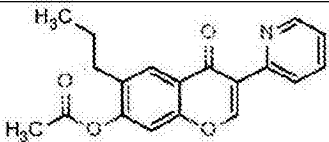
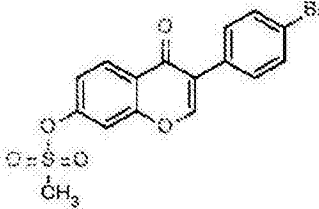
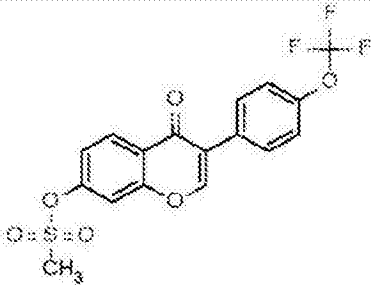
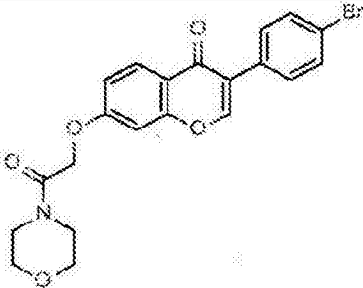
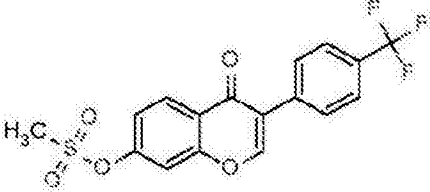
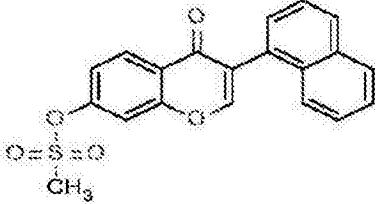
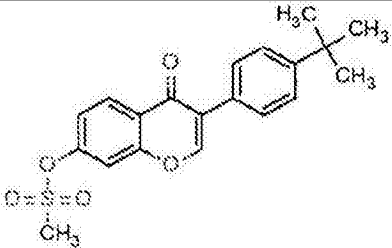
[0081] 除非另有说明,否则当任何化合物或化学结构特征 (例如,烷基、芳基等) 称为“任选地经取代”时,化合物可不具有取代基 (在此情况中其“未经取代”),或其可包括一或多个取代基 (在此情况中其“经取代”)。术语“取代基”具有所属领域的技术人员已知的通常含义。在一些实施例中,取代基可为此项技术中已知的通常有机部分,其分子量 (例如,取代基的原子的原子质量总和) 可为 15g/mol 到 50g/mol、15g/mol 到 100g/mol、15g/mol 到 150g/mol、15g/mol 到 200g/mol、15g/mol 到 300g/mol 或 15g/mol 到 500g/mol。在一些实施例中,取代基包括: 0-30、0-20、0-10 或 0-5 个 C 原子; 和 / 或包括 N、O、S、Si、F、Cl、Br 或 I 的 0-30、0-20、0-10 或 0-5 个杂原子; 前提条件是在经取代化合物中取代基包括至少一个原子,包括 C、N、O、S、Si、F、Cl、Br 或 I。取代基的实例包括烷基、烯基、炔基、杂烷基、杂烯基、杂炔基、芳基、杂芳基、羟基、烷氧基、芳基氧基、酰基、酰氧基、烷基羧酸酯、硫醇、烷硫基、氰基、卤基、硫羰基、O- 胺甲酰基、N 胺甲酰基、O 硫代胺甲酰基、N 硫代胺甲酰基、C 酰胺基、N 酰胺基、S- 磺酰胺基、N 磺酰胺基、异氰酸基、氰硫基、异氰硫基、硝基、硅烷基、砷烯基、亚磺酰基、磺酰基、卤烷基、卤烷氧基、三卤基甲烷磺酰基、三卤基甲烷磺酰胺基、氨基等。

[0082] 为方便起见,术语“分子量”涉及化合物的一部分或部分用以指示化合物的此一部分或部分中原子的原子质量的总和,即使其可能并非完整化合物。

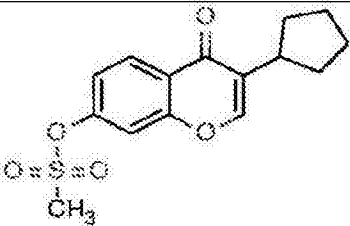
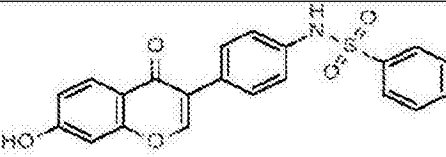
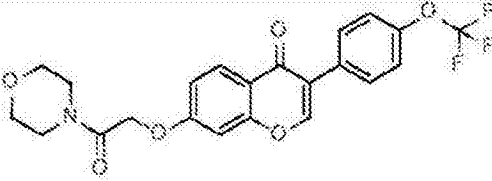
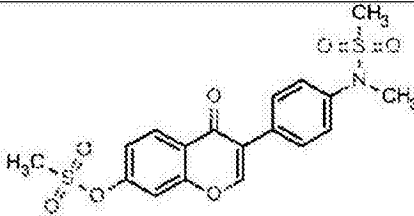
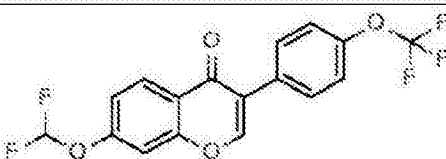
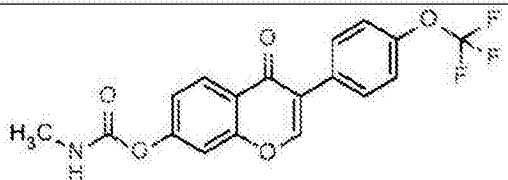
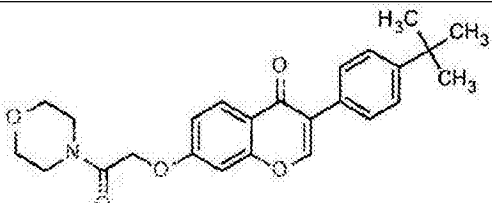
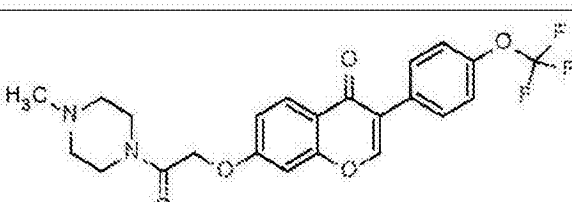
[0083] 本文所揭示化合物的具体实施例具有下表 1 所示的结构。

[0084] 表 1. 本发明的所选化合物。

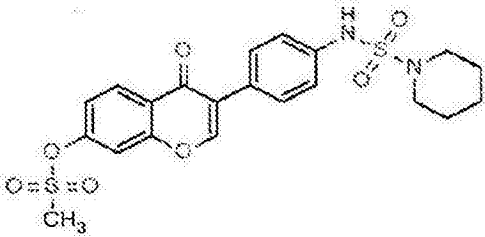
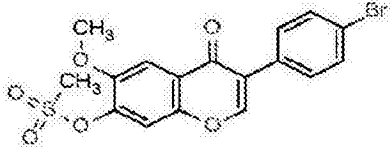
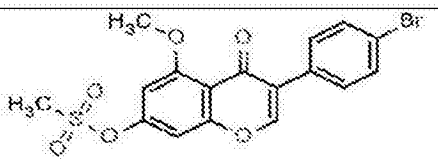
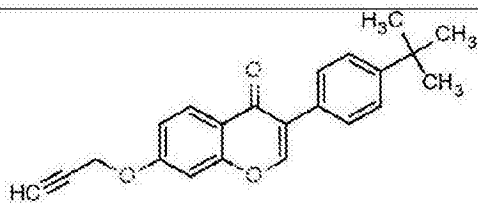
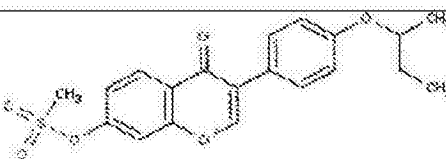
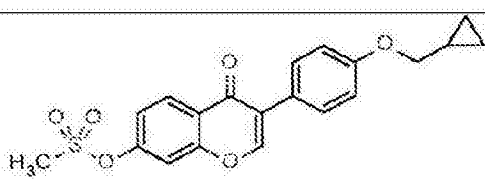
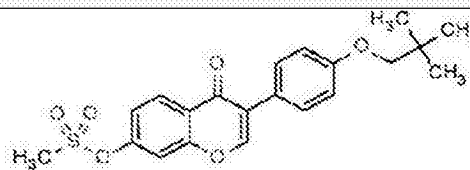
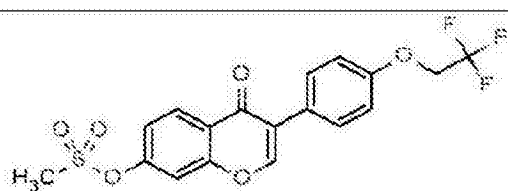
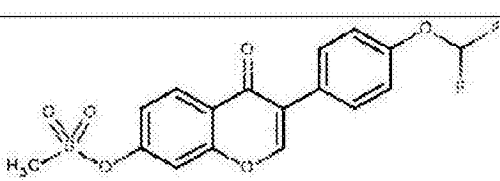
[0085]

|                                                                                     |        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|    | KIN100 |
|    | KIN101 |
|    | KIN134 |
|   | KIN238 |
|  | KIN263 |
|  | KIN267 |
|  | KIN269 |

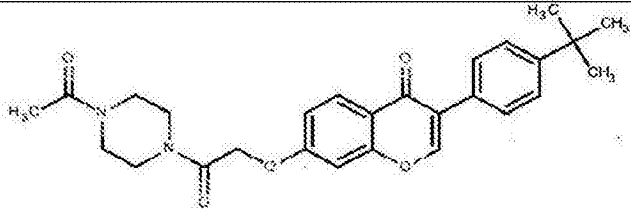
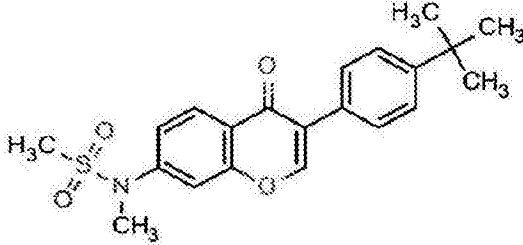
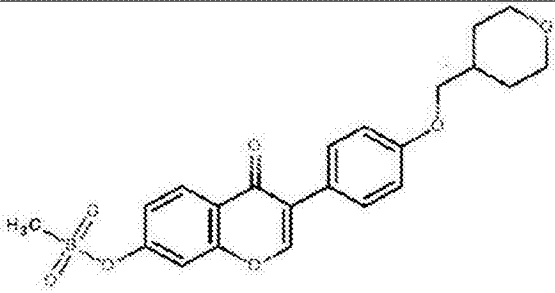
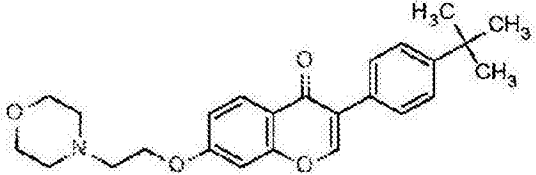
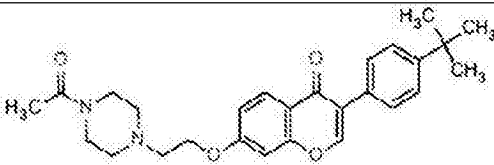
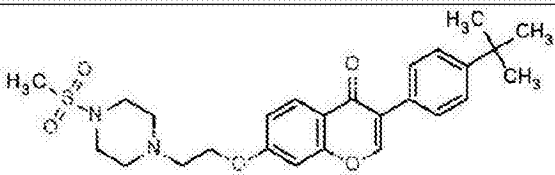
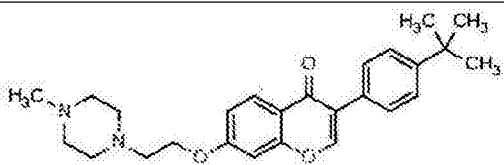
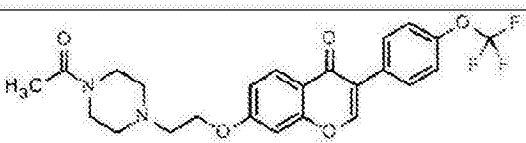
[0086]

|                                                                                     |        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|    | KIN282 |
|    | KIN286 |
|    | KIN290 |
|   | KIN291 |
|  | KIN299 |
|  | KIN302 |
|  | KIN306 |
|  | KIN307 |

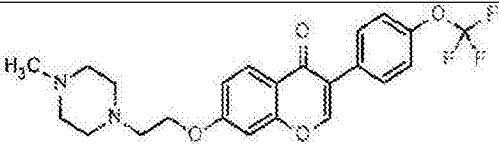
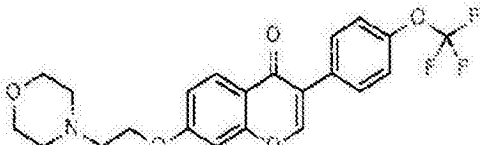
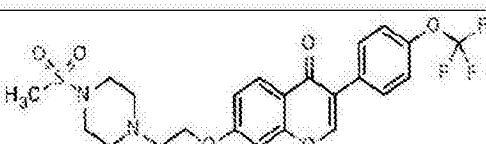
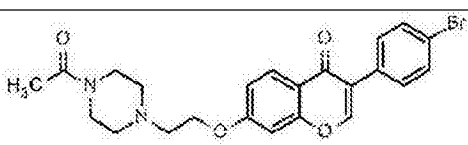
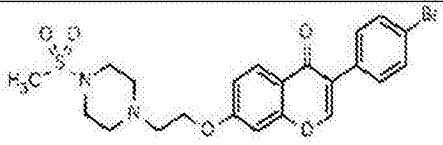
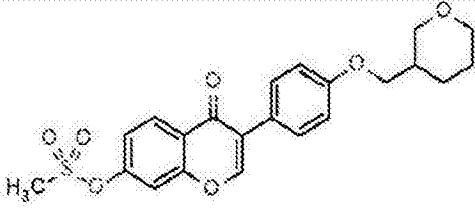
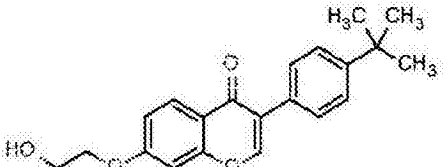
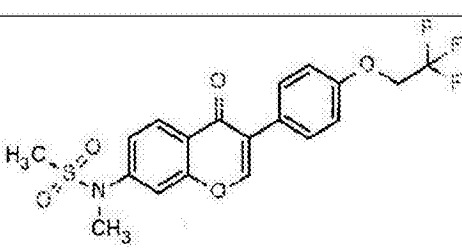
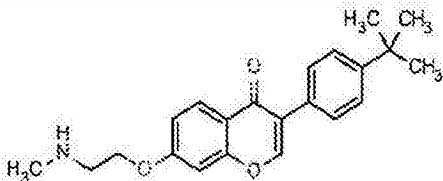
[0087]

|                                                                                     |        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|    | KIN308 |
|    | KIN320 |
|    | KIN321 |
|    | KIN328 |
|   | KIN346 |
|  | KIN371 |
|  | KIN372 |
|  | KIN376 |
|  | KIN378 |

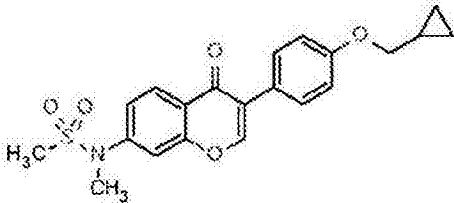
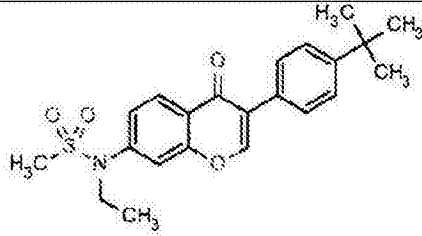
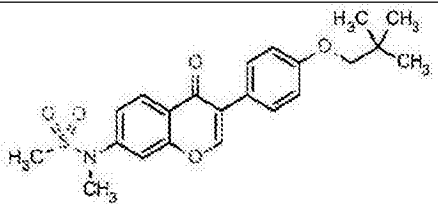
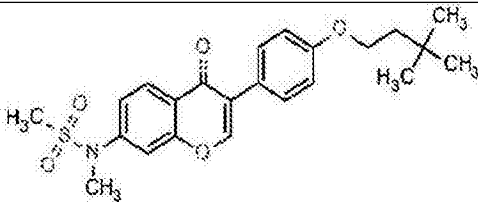
[0088]

|                                                                                     |        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|    | KIN380 |
|    | KIN385 |
|    | KIN389 |
|   | KIN392 |
|  | KIN394 |
|  | KIN395 |
|  | KIN807 |
|  | KIN814 |

[0089]

|                                                                                     |        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|    | KIN823 |
|    | KIN824 |
|    | KIN826 |
|    | KIN844 |
|    | KIN848 |
|  | KIN850 |
|  | KIN851 |
|  | KIN857 |
|  | KIN861 |

[0090]

|                                                                                    |        |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|   | KIN865 |
|   | KIN866 |
|   | KIN867 |
|  | KIN882 |

[0091] 除非明确绘示立体化学, 否则化合物的任何结构、式或名称可是指化合物的任何立体异构体或立体异构体的任何混合物。

[0092] 化合物也可作为替代固体形式提供, 例如多晶型物、溶剂合物、水合物等; 互变异构体; 或在如本文所述使用化合物的条件下可迅速转化为本文所述化合物的任何其它化学物质。化合物还包括化合物的医药上可接受的盐。

[0093] 本文所用术语“医药上可接受的盐”是指在正确医学判断范围内适用于接触个体的组织而无过度毒性、刺激和过敏反应且具有相当的合理效益/风险比的医药盐。医药上可接受的盐为此项技术所熟知。在一个实施例中, 医药上可接受的盐是硫酸盐。举例来说, S. M. 贝尔赫 (S. M. Berge) 等人在药学科学杂志 (J. Pharm. Sci.), 1977, 66: 1-19 中描述医药上可接受的盐。

[0094] 适宜医药上可接受的酸加成盐可自无机酸或有机酸制备。所述无机酸的实例是氢氯酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、碳酸、硫酸和磷酸。适当有机酸可选自脂肪族、环脂肪族、芳香族、芳基脂肪族、杂环基、羧酸和磺酸类有机酸, 其实例是甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、葡萄糖酸、马来酸、双羟萘酸 (帕莫酸 (pamoic))、甲磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、泛酸、苯磺酸、甲苯磺酸、磺胺酸、甲基磺酸、环己基氨基磺酸、硬脂酸、褐藻酸、β-羟基丁酸、丙二酸、半乳酸 (galactic) 和半乳糖醛酸。医药上可接受的酸性/阴离子盐还包括乙酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、碳酸氢盐、酒石酸氢盐、溴化物、依地酸钙 (calcium edetate)、樟脑磺酸盐、碳酸盐、氯化物、柠檬酸盐、二盐酸盐、依地酸盐、乙二磺酸盐、依托酸盐 (estolate)、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡萄糖酸盐、谷氨酸盐、乙醇酰基对氨基苯基砷酸盐

(glycollylarsanilate)、己基间苯二酚盐 (hexylresorcinate)、氢溴酸盐、氢氯酸盐、羟基萘甲酸盐、碘化物、羟乙磺酸盐、乳酸盐、乳糖醛酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐 (mesylate)、甲基硫酸盐、粘酸盐 (mucate)、萘磺酸盐、硝酸盐、双羟萘酸盐、泛酸盐、磷酸盐 / 磷酸氢盐、聚半乳糖醛酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、次乙酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、鞣酸盐、酒石酸盐、8- 氯茶酸盐 (teoclata)、甲苯磺酸盐和三乙基碘化物盐。

[0095] 适宜医药上可接受的碱加成盐包括 (但不限于) 自铝、钙、锂、镁、钾、钠和锌制得的金属盐或自 N, N' - 二苄基乙二胺、氯普鲁卡因 (chloroprocaine)、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、N- 甲基葡糖胺、离氨酸、精氨酸和普鲁卡因制得的有机盐。所有这些盐可通过常规方式自所揭示化合物代表的相应化合物通过 (例如) 用适当酸或碱处理所揭示化合物来制备。医药上可接受的碱性 / 阳离子盐还包括二乙醇胺、铵、乙醇胺、哌嗪和三乙醇胺盐。

[0096] 医药上可接受的盐包括保持母体化合物的活性且为医药用途所接受的任一盐。医药上可接受的盐也指可由于投与酸、另一盐或转化为酸或盐的前药而在活体内形成的任一盐。

[0097] 本文所揭示的化合物还包括前药。前药包括在投与后通过 (例如) 酯基团或一些其它生物学上不稳定基团的水解转化为治疗活性化合物的化合物。

[0098] II. 医药组合物

[0099] 根据其它实施例, 本发明提供包括任一本文所述化合物的医药组合物。

[0100] 医药组合物可通过将本文所揭示的化合物或其医药上可接受的前药或盐与适用于根据已知药物递送方法递送到个体的医药上可接受的载剂组合来形成。因此, “医药组合物” 包括至少一种本文所揭示的化合物连同一或多种医药上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂, 如适合于所选投与模式。

[0101] 包括本发明化合物的医药组合物可以各种形式进行调配, 此取决于所治疗的特定适应症且将为所属领域的技术人员显而易见。调配包括一或多种本发明化合物的医药组合物可采用简单的医药化学工艺。医药组合物可经历常规制药操作 (例如灭菌) 和 / 或可含有常规佐剂, 例如缓冲剂、防腐剂、等渗剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂等。

[0102] 缓冲剂有助于将 pH 维持在接近生理条件的范围中。其通常以医药组合物的 2mM 到 50mM 范围内的浓度存在。适宜缓冲剂包括有机酸和无机酸二者和其盐, 例如柠檬酸盐缓冲液 (例如, 柠檬酸单钠 - 柠檬酸二钠混合物、柠檬酸 - 柠檬酸三钠混合物、柠檬酸 - 柠檬酸单钠混合物等)、琥珀酸盐缓冲液 (例如, 琥珀酸 - 琥珀酸单钠混合物、琥珀酸 - 氢氧化钠混合物、琥珀酸 - 琥珀酸二钠混合物等)、酒石酸盐缓冲液 (例如, 酒石酸 - 酒石酸钠混合物、酒石酸 - 酒石酸钾混合物、酒石酸 - 氢氧化钠混合物等)、富马酸盐缓冲液 (例如, 富马酸 - 富马酸单钠混合物、富马酸 - 富马酸二钠混合物、富马酸单钠 - 富马酸二钠混合物等)、葡萄糖酸盐缓冲液 (例如, 葡萄糖酸 - 葡萄糖酸钠混合物、葡萄糖酸 - 氢氧化钠混合物、葡萄糖酸 - 葡萄糖酸钾混合物等)、草酸盐缓冲液 (例如, 草酸 - 草酸钠混合物、草酸 - 氢氧化钠混合物、草酸 - 草酸钾混合物等)、乳酸盐缓冲液 (例如, 乳酸 - 乳酸钠混合物、乳酸 - 氢氧化钠混合物、乳酸 - 乳酸钾混合物等) 和乙酸盐缓冲液 (例如, 乙酸 - 乙酸钠混合物、乙酸 - 氢氧化钠混合物等)。另外可能者是磷酸盐缓冲液、组氨酸缓冲液和三甲基胺盐 (例如 Tris)。

[0103] 防腐剂可添加到医药组合物以阻止微生物生长,且通常以 0.2% -1% (w/v) 的量添加。适宜防腐剂包括苯酚、苯甲醇、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、十八烷基二甲基苄基氯化铵、苯扎卤化物(例如,苯扎氯铵(benzalkonium chloride)、苯扎溴铵或苯扎碘铵)、氯化六甲双铵、对羟基苯甲酸烷基酯(例如,对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯)、邻苯二酚、间苯二酚、环己醇和 3-戊醇。

[0104] 等渗剂可添加到医药组合物以确保等渗。适当等渗剂包括多元糖醇、优选三元或更高元糖醇,例如丙三醇、赤藻糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇和甘露糖醇。多元醇可以介于 0.1 重量%与 25 重量%之间、通常计及其它成份的相对量以 1 重量%至 5 重量%的量存在。

[0105] 稳定剂是指广泛种类的赋形剂,其功能可在填充剂到稳定化合物或帮助防止变性或粘附到容器壁的添加剂的范围内。典型稳定剂可为多元糖醇;氨基酸,例如精氨酸、离氨酸、甘氨酸、谷酰胺酸、天冬酰胺、组氨酸、丙氨酸、鸟氨酸、L-亮氨酸、2-苯基丙氨酸、谷氨酸、苏氨酸等;有机糖或糖醇,例如乳糖、海藻糖、水苏糖、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、核糖醇、肌醇、卫矛醇、甘油和类似物,包括环多醇,例如环己六醇;聚乙二醇;氨基酸聚合物;含硫还原剂,例如脲、谷胱甘肽、硫辛酸、巯基乙酸钠、硫代甘油、 $\alpha$ -单硫代甘油和硫代硫酸钠;低分子量多肽(即,<10 个残基);蛋白质,例如人血清白蛋白、牛血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;单糖,例如木糖、甘露糖、果糖和葡萄糖;二糖,例如乳糖、麦芽糖和蔗糖;以及三糖,例如棉子糖;和多糖,例如葡聚糖。稳定剂通常基于化合物重量以 0.1 重量份数到 10,000 重量份数的范围存在。

[0106] 其它各种各样的赋形剂可包括螯合剂(例如,EDTA)、抗氧化剂(例如,抗坏血酸、甲硫氨酸和维生素 E)和共溶剂。

[0107] 特定实施例可包括以下中的一或多者:乙醇(<10%)、丙二醇(<40%)、聚乙二醇(PEG) 300 或 400(<60%)、N-N-二甲基乙酰胺(DMA, <30%)、N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP, <20%)、二甲基亚砷(DMSO, <20%)共溶剂或环糊精(<40%)且具有 3 至 9 的 pH。

[0108] 一般来说,医药组合物可制成固体形式(包括颗粒、粉末或栓剂)或液体形式(例如,溶液、悬浮液或乳液)。化合物可与佐剂(例如乳糖、蔗糖、淀粉粉末、链烷酸的纤维素酯、硬脂酸、滑石粉、硬脂酸镁、氧化镁、磷酸和硫酸的钠盐和钙盐、阿拉伯胶、明胶、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮和/或聚乙烯醇)混合,并制锭或囊封用于常规投与。另一选择为,其可溶解于生理盐水、水、聚乙二醇、丙二醇、乙醇、油(例如玉米油、花生油、棉籽油或芝麻油)、黄蓍胶和/或各种缓冲剂中。其它佐剂和投与方式已为医药技术所熟知。载剂或稀释剂可包括时间延迟材料,例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯单独或与蜡或此项技术中熟知的其它材料一起。

[0109] 医药组合物的经口投与是本发明的一种预期实践。对于经口投与,医药组合物可为固体或液体形式,例如呈胶囊、片剂、粉末、颗粒、悬浮液、乳液或溶液的形式。

[0110] 用于经口投与的固体剂型可包括胶囊、片剂、丸剂、粉末和颗粒。在所述固体剂型中,化合物可与至少一种惰性稀释剂(例如蔗糖、乳糖或淀粉)混合。在正常实践中,所述剂型也可包括除惰性稀释剂外的其它物质,例如润滑剂,例如硬脂酸镁。在胶囊、片剂和丸剂的情形中,剂型亦可包括缓冲剂。片剂和丸剂可另外制备有肠溶包衣。对于经颊投与来说,医药组合物可采取以常规方式调配的片剂或棱形片剂的形式。

[0111] 经口投与的本发明液体剂型可包括含有业内常用惰性稀释剂（例如水）的医药上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酞剂。所述医药组合物也可包括佐剂，例如润湿剂、甜味剂、矫味剂和香料。

[0112] 医药组合物可经调配用于通过注射（例如，通过快速注射或输注）不经肠投与。注射用调配物可以单位剂型呈现于（例如）玻璃安瓿或多剂量容器（例如玻璃小瓶）中。用于注射的医药组合物可采用诸如于油性或水性媒剂中的悬浮液、溶液或乳液等形式，且可含有调配剂，例如抗氧化剂、缓冲剂、非离子型洗涤剂、崩解剂、等渗剂、悬浮剂、稳定剂、防腐剂、分散剂和 / 或其它各种各样的添加剂。待用于活体内投与的不经肠调配物通常是无菌的。此可通过（例如）借助无菌过滤膜过滤来容易地达成。

[0113] 尽管在许多情形中以液体形式提供的医药组合物适合于立即使用，但所述不经肠调配物也可以冷冻或冻干形式提供。在前一种情形中，医药组合物在使用前必须解冻。通常使用后一种形式以增强医药组合物中所含有的化合物在较宽的各种储存条件下的稳定性，如由所属领域的技术人员所认识到冻干制剂通常比其液体对应物更稳定。不经肠制剂（parenterals）可通过（如果适当）将具有所需纯度的化合物与一或多种此项技术中通常采用的医药上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂（所有这些称为“赋形剂”）（例如，抗氧化剂、缓冲剂、非离子型洗涤剂、崩解剂、等渗剂、悬浮剂、稳定剂、防腐剂、分散剂和 / 或其它各种各样的添加剂）混合来制备用于作为冻干调配物储存。所述冻干制剂在使用前通过添加一或多种适宜的医药上可接受的稀释剂（例如注射用无菌无致热源水或无菌生理盐水溶液）进行重构。

[0114] 对于通过吸入（例如，鼻或肺）投与，医药组合物可方便地以气溶胶喷雾的形式自加压包或喷雾器和 / 或借助于适宜推进剂（例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它适宜气体或气体混合物）递送。

[0115] 除上述调配物以外，医药组合物也可调配成储积制剂。所述长效调配物可通过植入或肌内注射来投与。

[0116] 化合物也可陷获于（例如）通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中（例如羟甲基纤维素、明胶或聚 -（甲基丙烯酸甲酯）微胶囊），所述微胶囊呈胶体药物递送系统（例如脂质体、白蛋白微球体、微乳液、纳米粒子和纳米胶囊）或粗乳液形式。所述技术揭示于雷明顿 (Remington)，医药科学和实践 (The Science and Practice of Pharmacy)，第 21 版，利平科特利平科特 (Lippincott Williams&Wilkins)，威科集团公司 (A Wolters Kluwer Company) 出版，2005 中。

[0117] 持续释放制剂的其它适宜实例包括含有化合物的固体疏水性聚合物的半渗透基质，所述基质具有适宜形式，例如膜或微胶囊。持续释放基质的实例包括聚酯、水凝胶（例如，聚（甲基丙烯酸 2- 羟乙酯）或聚（乙烯醇））、聚交酯、L- 谷氨酸与 L- 谷氨酸乙酯的共聚物、不可降解的乙烯 - 乙酸乙烯酯、可降解的乳酸 - 乙醇酸共聚物（例如 PROLEASE® 技术（阿尔科姆斯 (Alkermes) 公司，马萨诸塞州剑桥 (Cambridge, MA)）或 LUPRON DEPOT® (Tap 医药产品 (Tap Pharmaceuticals Products) 公司；伊利诺依州森林湖 (Lake Forest, IL)；由乳酸 - 乙醇酸共聚物和乙酸亮丙瑞林 (leuprolide acetate) 组成的可注射微球体) 和聚 -D-(-)-3- 羟丁酸。尽管诸如乙烯 - 乙酸乙烯酯和乳酸 - 乙醇酸等聚合物能够长期释放分子（例如长达或超过 100 天），但某些水凝胶释放化合物持续较短时期。

### [0118] III. 使用方法

[0119] 本文所揭示的医药组合物可用于治疗个体的病毒感染；其中所述病毒感染是由来自以下家族中的一者的病毒引起：沙粒病毒科 (Arenaviridae)、动脉炎病毒 (Arterivirus)、星状病毒科 (Astroviridae)、双核糖核酸病毒科 (Birnaviridae)、雀麦花叶病毒科 (Bromoviridae)、本扬病毒科 (Bunyaviridae)、杯状病毒科 (Caliciviridae)、修道院病毒科 (Closteroviridae)、豇豆镶嵌病毒科 (Comoviridae)、冠状病毒科 (Coronaviridae)、囊状噬菌体科 (Cystoviridae)、黄病毒科 (Flaviviridae)、弯曲病毒科 (Flexiviridae)、肝脱氧核糖核酸病毒科 (Hepadnaviridae)、肝炎病毒 (Hepavirus)、疱疹病毒科 (Herpesviridae)、光滑病毒科 (Leviviridae)、黄症病毒科 (Luteoviridae)、中等套病毒科 (Mesoniviridae)、单股反链病毒目 (Mononegavirales)、嵌纹病毒 (Mosaic viruses)、网巢病毒目 (Nidovirales)、野田病毒科 (Nodaviridae)、正粘液病毒科 (Orthomyxoviridae)、乳头瘤病毒科 (Papillomaviridae)、副粘液病毒科 (Paramyxoviridae)、小双核糖核酸病毒科 (Picobirnaviridae)、小双核糖核酸病毒 (Picobirnavirus)、小核糖核酸病毒科 (Picornaviridae)、马铃薯 Y 病毒科 (Potyviridae)、呼肠孤病毒科 (Reoviridae)、逆转录病毒科 (Retroviridae)、杆套病毒科 (Roniviridae)、随伴病毒科 (Sequiviridae)、纤细病毒属 (Tenuivirus)、披衣病毒科 (Togaviridae)、番茄丛矮病毒科 (Tombusviridae)、整体病毒科 (Totiviridae) 和芜菁变黄镶嵌病毒科 (Tymoviridae)。

[0120] 根据更具体实施例，医药组合物可用于治疗由以下中的一或多者引起的病毒感染：阿尔弗病毒 (Alfuy virus)、班齐病毒 (Banzi virus)、牛腹泻病毒 (bovine diarrhea virus)、屈公病病毒 (Chikungunya virus)、登革热病毒 (DNV)、脑心肌炎病毒 (Encephalomyocarditis virus, EMCV)、B 型肝炎病毒 (HBV)、HCV、人类巨细胞病毒 (hCMV)、HIV、伊列乌斯病毒 (Ilheus virus)、流行性感冒病毒（包括禽类和猪分离株）、日本脑炎病毒 (Japanese encephalitis virus)、科科百拉病毒 (Kokobera virus)、库京病毒 (Kunjin virus)、科萨努森林病病毒 (Kysanur forest disease virus)、绵羊跳跃病病毒 (loup-ill virus)、麻疹病毒、MERS- 冠状病毒 (MERS)、间质肺炎病毒 (metapneumovirus)、嵌纹病毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒 (Murray Valley virus)、副流行性感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒 (poliovirus)、布氏病毒 (Powassan virus)、呼吸道合胞体病毒 (RSV)、罗西奥病毒 (Rocio virus)、SARS- 冠状病毒 (SARS)、圣路易脑炎病毒 (St. Louis encephalitis virus)、蜱传脑炎病毒 (tick-borne encephalitis virus)、WNV 和黄热病毒。

[0121] 许多 RNA 病毒共用生物化学、调控和信号传导路径。这些病毒包括流行性感冒病毒（包括禽类和猪分离株）、DNV、RSV、WNV、HCV、副流行性感冒病毒、间质肺炎病毒、屈公病病毒、SARS、MERS、脊髓灰白质炎病毒、麻疹病毒、黄热病毒、蜱传脑炎病毒、日本脑炎病毒、圣路易脑炎病毒、墨累谷脑炎病毒、布氏病毒、罗西奥病毒、绵羊跳跃病病毒、班齐病毒、伊列乌斯病毒、科科百拉病毒、库京病毒、阿尔弗病毒、牛腹泻病毒和科萨努森林病病毒。

[0122] 本文所揭示的方法包括利用本文所揭示的医药组合物治疗个体（人类、哺乳动物、自由放养的畜类、兽医动物（狗、猫、爬行动物、鸟类等）、农场动物和家畜（马、牛、山羊、猪、鸡等）和研究动物（猴子、大鼠、小鼠、鱼等））。治疗个体包括递送治疗有效量。治疗有

效量包括提供有效量、预防性治疗和 / 或治疗性治疗的量。

[0123] “有效量”是在个体中引起所要生理变化所需化合物的量。通常投与有效量用于研究目的。本文所揭示的有效量降低、控制或消除病毒感染的存在或活性和 / 或降低、控制或消除病毒感染的不希望负效应。举例来说,有效量可使得个体或研究中的病毒蛋白的降低、个体或研究中的病毒 RNA 的降低和 / 或细胞培养物中存在的病毒的降低。

[0124] “预防性治疗”包括投与给未展现病毒感染的迹象或症状或仅展现病毒感染的早期迹象或症状的个体的治疗,使得投与治疗用于减小、防止或减少病毒感染进一步发展的风险的目的。因此,预防性治疗起到对抗病毒感染的预防治疗的作用。预防性治疗也可包括本文其它地方所述的疫苗。预防性治疗可使得个体中病毒蛋白或 RNA 不再增加和 / 或病毒感染的临床指标不再增加,例如:在 HCV 的情形中食欲不振、疲乏、发烧、肌肉痛、恶心和 / 或腹部疼痛;在 WNV 的情形中发烧和 / 或头痛;和在 RSV 的情形中咳嗽、充血、发烧、咽喉痛和 / 或头痛。预防性治疗可投与给任一个体,无论是否存在病毒感染的迹象。在一些实施例中,预防性治疗可在旅行之前投与。

[0125] “治疗性治疗”包括投与给展现病毒感染的症状或迹象的个体的治疗,且投与给个体是用于减少或消除病毒感染的迹象或症状的目的。治疗性治疗可降低、控制或消除病毒的存在或活性和 / 或降低、控制或消除病毒的负效应。治疗性治疗可使得个体中的病毒蛋白或 RNA 减少和 / 或病毒感染的临床指标减少,例如:在 HCV 的情形中食欲不振、疲乏、发烧、肌肉痛、恶心和 / 或腹部疼痛;在 WNV 的情形中发烧和 / 或头痛;和在 RSV 的情形中咳嗽、充血、发烧、发绀、咽喉痛和 / 或头痛。

[0126] 对于投与来说,治疗有效量(在本文中也称为剂量)初始可基于来自活体外分析和 / 或动物模型研究的结果进行估计。举例来说,可在动物模型中调配剂量以达成循环浓度范围(包括 IC<sub>50</sub>),如在细胞培养物中针对特定靶标所测定。所述信息可用于更准确地确定在所关注个体中的有用剂量。

[0127] 投与给特定个体的实际剂量可由医师、兽医或研究者虑及诸如身体和生理学因素等参数来确定,包括目标、体重、病状的严重程度、病毒感染的类型、先前或并存的治疗性干预、个体的特发病和投与途径。

[0128] 医药组合物可经静脉内投与给个体用于以临床安全且有效的方式(包括组合物的一或多次分开投与)治疗病毒感染。举例来说,可将 0.05mg/kg 到 5.0mg/kg 每天以一或多个剂量投与给个体(例如,0.05mg/kg 每天一次(QD)、0.10mg/kg QD、0.50mg/kg QD、1.0mg/kg QD、1.5mg/kg QD、2.0mg/kg QD、2.5mg/kg QD、3.0mg/kg QD、0.75mg/kg 每天两次(BID)、1.5mg/kg BID 或 2.0mg/kg BID 的剂量)。对于某些抗病毒指标来说,化合物的总日剂量可为 0.05mg/kg 到 3.0mg/kg,经静脉内一天 1 到 3 次投与给个体,包括使用 60 分钟 QD、BID 或每天三次(TID)静脉内输注给药投与表 1 化合物的 0.05-3.0mg/kg/天、0.1-3.0mg/kg/天、0.5-3.0mg/kg/天、1.0-3.0mg/kg/天、1.5-3.0mg/kg/天、2.0-3.0mg/kg/天、2.5-3.0mg/kg/天和 0.5-3.0mg/kg/天的总日剂量。在一个特定实例中,抗病毒医药组合物可以(例如)1.5mg/kg、3.0mg/kg、4.0mg/kg 具有高达 92-98% wt/wt 的表 1 化合物的组合物的总日剂量静脉内 QD 或 BID 投与给个体。

[0129] 其它有用剂量通常可在 0.1  $\mu$ g/kg 到 5  $\mu$ g/kg 或 0.5  $\mu$ g/kg 到 1  $\mu$ g/kg 的范围内。在其它实例中,剂量可包括 1  $\mu$ g/kg、5  $\mu$ g/kg、10  $\mu$ g/kg、15  $\mu$ g/kg、20  $\mu$ g/kg、25  $\mu$ g/kg

kg、30  $\mu$ g/kg、35  $\mu$ g/kg、40  $\mu$ g/kg、45  $\mu$ g/kg、50  $\mu$ g/kg、55  $\mu$ g/kg、60  $\mu$ g/kg、65  $\mu$ g/kg、70  $\mu$ g/kg、75  $\mu$ g/kg、80  $\mu$ g/kg、85  $\mu$ g/kg、90  $\mu$ g/kg、95  $\mu$ g/kg、100  $\mu$ g/kg、150  $\mu$ g/kg、200  $\mu$ g/kg、250  $\mu$ g/kg、350  $\mu$ g/kg、400  $\mu$ g/kg、450  $\mu$ g/kg、500  $\mu$ g/kg、550  $\mu$ g/kg、600  $\mu$ g/kg、650  $\mu$ g/kg、700  $\mu$ g/kg、750  $\mu$ g/kg、800  $\mu$ g/kg、850  $\mu$ g/kg、900  $\mu$ g/kg、950  $\mu$ g/kg、1000  $\mu$ g/kg、0.1mg/kg 到 5mg/kg 或 0.5mg/kg 到 1mg/kg。在其它实例中，剂量可包括 1mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、55mg/kg、60mg/kg、65mg/kg、70mg/kg、75mg/kg、80mg/kg、85mg/kg、90mg/kg、95mg/kg、100mg/kg、150mg/kg、200mg/kg、250mg/kg、350mg/kg、400mg/kg、450mg/kg、500mg/kg、550mg/kg、600mg/kg、650mg/kg、700mg/kg、750mg/kg、800mg/kg、850mg/kg、900mg/kg、950mg/kg、1000mg/kg 或更多。

[0130] 治疗有效量可通过在治疗方案的过程期间投与单个或多个剂量来达成（例如，每天、每隔一天、每 3 天、每 4 天、每 5 天、每 6 天、每周、每 2 周、每 3 周、每个月、每 2 个月、每 3 个月、每 4 个月、每 5 个月、每 6 个月、每 7 个月、每 8 个月、每 9 个月、每 10 个月、每 11 个月或每年）。

[0131] 本发明医药组合物的投与可以各种方式实施，包括经口、经皮下、经静脉内、经脑内、经鼻内、经皮、经腹腔内、经肌内、经肺内、经鞘内、经阴道、经直肠、经眼内或任何其它可接受的方式。医药组合物可使用此项技术中熟知的技术（例如泵（例如，皮下渗透泵）或植入）通过输注连续投与，但快速注射是可接受的。在一些情形中，医药组合物可作为溶液或喷雾直接施加。

[0132] 本文所揭示的医药组合物可与目前在研发或使用中的其它疗法相加或协同作用。举例来说，利巴韦林和干扰素- $\alpha$  当组合使用时提供 HCV 感染的有效治疗。其组合功效可超过任一药物产品单独使用时的功效。本发明的医药组合物可单独或与干扰素、利巴韦林和 / 或各种小分子组合或联合投与，所述小分子是针对病毒靶标（病毒蛋白酶、病毒聚合酶和 / 或病毒复制复合物的组装）和宿主靶标（病毒处理所需的宿主蛋白酶、病毒靶标（例如 NS5A）的磷酸化所需的宿主激酶和有效利用病毒内部核糖体进入位点或 IRES 所需的宿主因素的抑制剂）二者所研发。

[0133] 本文所揭示的医药组合物可与以下组合或联合使用：金刚烷抑制剂、神经胺糖苷酶抑制剂、 $\alpha$  干扰素、非核苷或核苷聚合酶抑制剂、NS5A 抑制剂、抗组胺剂、蛋白酶抑制剂、螺旋酶抑制剂、P7 抑制剂、进入抑制剂、IRES 抑制剂、免疫刺激剂、HCV 复制抑制剂、亲环素 A 抑制剂、A3 腺苷激动剂和 / 或微 RNA 阻抑剂。

[0134] 可与本文所揭示的医药组合物组合或联合投与的细胞因子包括白介素 (IL)-2、IL-12、IL-23、IL-27 或 IFN- $\gamma$ 。

[0135] 已经用于或潜在的将可用于与本文所揭示医药组合物组合或联合投与的新 HCV 药物包括 ACH-1625(阿克莱恩公司 (Achillion))；糖基化干扰素 (阿利奥生物制药公司 (Alios Biopharma))；ANA598、ANA773(安那迪斯医药公司 (Anadys Pharm))；ATI-0810(阿瑞思医疗公司 (Arisyn Therapeutics))；AVL-181(阿维拉医疗公司 (Avila Therapeutics))；LOCTERON® (贝奥莱斯公司 (Bioplex))；CTS-1027(河尼蒂思公司 (Conatus))；SD-101(戴纳瓦克斯生物技术公司 (Dynavax Technologies))；克立咪唑 (Clemizole)(伊格尔生物制药公司 (Eiger Biopharmaceuticals))；

GS-9190(吉利德科学公司(Gilead Sciences));GI-5005(全球免疫生物医药公司(GlobalImmune BioPharma));雷西莫特(Resiquimod)/R-848(优雅制药公司(Graceway Pharmaceuticals));阿特费罗  $\alpha$ -2b(Albinterferon alpha-2b)(人类基因组科学公司(Human Genome Sciences));IDX-184、IDX-320、IDX-375(英迪尼克斯制药公司(Idenix));IM0-2125(艾德拉制药公司(Idera Pharmaceuticals));INX-189(英黑比特公司(Inhibitex));ITCA-638(英它西亚医疗公司(Intarcia Therapeutics));ITMN-191/RG7227(英特缪公司(Intermune));ITX-5061、ITX-4520(艾瑟克斯制药公司(iTherx Pharmaceuticals));MB11362(美达贝斯治疗公司(Metabasis Therapeutics));巴维昔单抗(Bavituximab)(游隼制药公司(Peregrine Pharmaceuticals));PSI-7977、RG7128、PSI-938(Pharmasset);PHX1766(弗尼米克斯公司(Phenomix));硝唑尼特(Nitazoxanide)/ALINIA®(勒马克实验室(Romark Laboratories));SP-30(沙马日天制药公司(Samaritan Pharmaceuticals));SCV-07(赛生药业公司(SciClone));SCY-635(西尼克斯公司(Scynexis));TT-033(塔斯瑞治疗公司(Tacere Therapeutics));维拉米定(Viramidine)/塔利韦林(taribavirin)(维冷特制药公司(Valeant Pharmaceuticals));特拉匹韦(Telaprevir)、VCH-759、VCH-916、VCH-222、VX-500、VX-813(乌替斯制药公司(Vertex Pharmaceuticals));和PEG-INF  $\lambda$  (Zymogenetics)。

[0136] 已经用于或潜在的将可用于与本文所揭示医药组合物组合或联合投与的新流行性感冒和 WNV 药物包括神经胺糖酸苷酶抑制剂(帕拉米韦(Peramivir)、那尼纳米韦(Laninamivir));三联疗法-神经胺糖酸苷酶抑制剂、利巴韦林和金刚烷胺(ADS-8902);聚合酶抑制剂(法匹拉韦(Favipiravir));逆转录酶抑制剂(ANX-201);吸入壳聚糖(ANX-211);进入/结合抑制剂(结合位点模拟物,复希得(Flucide));进入抑制剂(流感酶(Fludase));融合抑制剂(用于 WNV 的 MGAWN1);宿主细胞抑制剂(羊毛硫抗生素(lantibiotics));RNA 基因组的裂解(RNAi、RNAse L);免疫刺激剂(干扰素阿尔费龙(Alferon)-LD0;神经激肽 1 激动剂、霍尔佩拉(Homspera)、用于 WNV 的干扰素阿尔费龙 N);和 TG21。

[0137] 可用于潜在的与医药组合物组合或联合投与的用于治疗流行性感冒和/或肝炎的其它药物包括那些提供于表 2 中者。

[0138] 表 2. 肝炎和流行性感冒药物

[0139]

| 商品名             | 通用名                  | 批准适应症   |
|-----------------|----------------------|---------|
| 派罗欣(Pegasys)    | 聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a | HCV、HBV |
| 佩乐能(Peg-Intron) | 聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2b | HCV     |
| 库佩斯(Copegus)    | 利巴韦林                 | HCV     |
| 瑞比达(Rebetol)    | 利巴韦林                 | HCV     |
| -----           | 利巴韦林                 | HCV     |

|               |                    |             |
|---------------|--------------------|-------------|
| 特敏福 (Tamiflu) | 奥司他韦 (Oseltamivir) | 流行性感冒 A、B、C |
| 瑞乐沙 (Relenza) | 扎那米韦 (Zanamivir)   | 流行性感冒 A、B、C |
| -----         | 金刚烷胺               | 流行性感冒 A     |
| -----         | 金刚乙胺 (Rimantadine) | 流行性感冒 A     |

[0140] 化合物或医药组合物可与其它化合物或医药组合物相加或协同以能够进行疫苗研发。由于其抗病毒和免疫增强性质,化合物可用于影响预防性或治疗性接种。化合物无需与其它疫苗化合物同时或组合投与便可有效。化合物的疫苗应用并不限于治疗病毒感染,而是由于化合物所引发的免疫反应的一般性质也可涵盖所有治疗性和预防性疫苗应用。

[0141] “疫苗”是用于在个体中诱导免疫反应的免疫原性制剂。疫苗可具有一种以上免疫原性的组分。疫苗可用于预防性和 / 或治疗性目的。疫苗不一定必须防止病毒感染。不受限于理论,所揭示疫苗可以使得当如本文所述投与疫苗时病毒感染以较小量 (包括完全没有) 发生或使得改善病毒感染的生物或生理学效应的方式影响个体的免疫反应。如本文所用,疫苗包括用于治疗个体 (包括脊椎动物) 病毒感染目的的制剂,其包括含化合物的单独或与抗原组合的医药组合物。

[0142] 本发明提供化合物和医药组合物作为佐剂的用途。佐剂增强、加强和 / 或加速另一种所投与治疗剂的有益效应。在特定实施例中,术语“佐剂”是指改良其它药剂对免疫系统的效应的化合物。具有此功能的佐剂也可无机或有机化学品、大分子或某些已杀死细菌的整个细胞,其增强对抗原的免疫反应。其可包括于疫苗中以增强受体对所提供抗原的免疫反应。

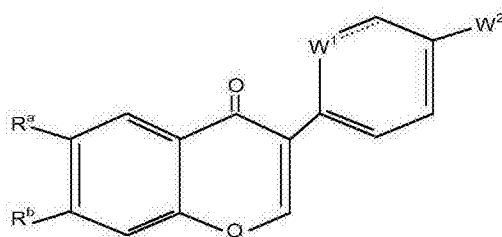
[0143] 如所属领域的技术人员所理解,疫苗可对抗病毒、细菌、感染、癌症等且可包括以下中的一或多者:活的减毒疫苗 (LAIV)、不活化疫苗 (IIV; 杀死的病毒疫苗)、亚单位 (裂解疫苗); 亚病毒粒子疫苗; 经纯化蛋白质疫苗; 或 DNA 疫苗。适当佐剂包括以下中的一或多者:水 / 油乳液、非离子型共聚物佐剂 (例如 CRL 1005 (Optivax; 维科塞尔有限公司 (Vaxcel Inc.)), 乔治亚州诺克斯 (Norcross, Ga.)), 磷酸铝、氢氧化铝、氢氧化铝与氢氧化镁的水性悬浮液、细菌内毒素、聚核苷酸、聚合电解质、亲脂性佐剂和合成胞壁酰二肽 (norMDP) 类似物,例如 N-乙酰基 - 去甲 - 胞壁酰基 -L-丙胺酰基 -D-异谷酰胺酸、N-乙酰基 - 胞壁酰基 - (6-O-硬脂酰基) -L-丙胺酰基 -D-异谷酰胺酸或 N-乙二醇 - 胞壁酰基 -L-α Abu-D-异谷酰胺酸 (汽巴嘉基有限公司 (Ciba-Geigy Ltd.))。

[0144] 本发明进一步包括化合物和医药组合物在活体外在许多应用中的用途和应用,所述应用包括研发对抗病毒感染的疗法和疫苗、研究真核细胞中先天性免疫反应的调节等。本发明化合物和医药组合物也可用于动物模型中。化合物和医药组合物的所述活体外和动物活体内使用的结果可 (例如) 告知其在人类中的活体内用途,或其可独立于任何人类治疗性或预防性用途而是有价值的。

[0145] 实例性实施例

[0146] 1. 一种化合物,其具有以下结构:

[0147]



[0148] 其中

[0149]  $W^1$  为 CH、 $CH_2$ 、N 或 NH；

[0150]  $W^2$  为 Br、Cl、F、苯基、 $CF_3$ 、低碳数烷基、 $C(CH_3)_3$ 、杂芳基、环烷基、 $OW^a$ 、 $OCH_2W^a$ 、 $OCH_2W^b$ 、或  $NHSO_2W^b$ 、 $NW^cSO_2W^c$ ；

[0151]  $W^a$  为 Br、芳基、 $CF_3$ 、低碳数烷基、环烷基、杂环烷基、 $CHF_2$ 、 $C(CH_3)_3$  或  $NHSO_2W^b$ ；

[0152]  $W^b$  为苯基、环烷基、杂环烷基或低碳数烷基；

[0153]  $W^c$  为低碳数烷基；

[0154]  $R^a$  为 H、低碳数烷基或  $OR^c$ ，其中  $R^c$  为 H 或低碳数烷基；

[0155]  $R^b$  为苯基、苯酚、 $OR^d$ 、 $NR^d$ 、 $OR^dR^e$  或  $NR^dR^e$ ；

[0156]  $R^d$  为低碳数烷基、烷基磺酰基、 $SO_2CH_3$ 、烷基羰基、 $CF_2$ 、 $C(=O)NHR^c$ 、 $CH_2C(=O)R^f$ 、 $CH_2C(=O)R^fR^g$ 、 $CH_2R^h$ 、 $CH_2CH_2R^f$ 、 $CH_2CH_2R^fR^g$ 、 $CH_2CH_2R^fR^i$ ，

[0157]  $R^e$  为羟基、低碳数烷基、烷基磺酰基或  $NHR^c$ ；

[0158]  $R^f$  为杂芳基或杂环烷基，

[0159]  $R^g$  为烷基羰基、烷基磺酰基或低碳数烷基，

[0160]  $R^h$  为炔基，且

[0161] 虚线代表存在或不存在双键。

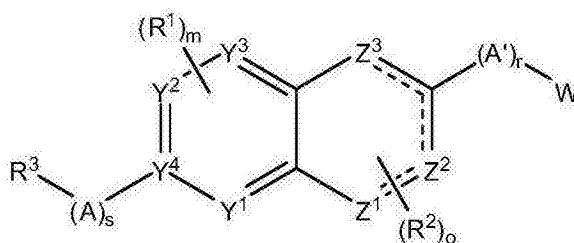
[0162] 2. 如实施例 1 所述的化合物，其中  $W^1$  为 N， $W^2$  为低碳数烷基，且  $R^b$  为  $OR^i$ ，其中  $R^i$  为烷基羰基。

[0163] 3. 如实施例 1 所述的化合物，其中  $W^2$  为 Br、 $CF_3$ 、 $OCF_3$  或  $C(CH_3)_3$  且  $R^b$  为  $OR^j$ ，其中  $R^j$  为磺酰基。

[0164] 4. 如实施例 1 所述的化合物，其中  $W^2$  为  $C(CH_3)_3$  且  $R^b$  为  $NCH_3R^j$ ，其中  $R^j$  为磺酰基。

[0165] 5. 一种化合物，其具有以下结构：

[0166]



[0167] 其中

[0168]  $R^1$  和  $R^2$  各自独立地选自 H、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、 $NH_2$ 、 $OH$ 、 $CN$ 、 $NO_2$ 、 $OCF_3$ 、 $CF_3$ 、Br、Cl、F、1-甲脒基、2-甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、N-烷基哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑、异噻

唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑 S-氧化物、噻二唑 S, S-二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、喹啉、异喹啉、SR<sub>4</sub>、SOR<sub>4</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、COR<sub>4</sub>、CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>、CH<sub>2</sub>CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>、NR<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>、CSNR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> 或 SOmNR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>；

[0169] R<sub>3</sub> 为 H、R<sub>1</sub>、烷基磺酰基、NR<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>、SOmNR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、卤烷基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、芳基磺酰基或杂环烷基烷基；

[0170] R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 各自独立地选自 H、低碳数烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、NH<sub>2</sub>、OH、CN、NO<sub>2</sub>、OCF<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub>、Br、Cl、F、1-甲脒基、2-甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、N-烷基哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑、异噻唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑 S-氧化物、噻二唑 S, S-二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、喹啉或异喹啉；

[0171] A 和 A' 各自独立地选自 O、S 或 NR'，其中 R' 为 H、低碳数烷基或 R<sub>3</sub>，或 R' 和 R<sub>3</sub> 或 R' 和 W 可在一起形成未经取代或经取代的杂环基环或杂芳基环；

[0172] W 为芳基、经取代的芳基、杂芳基、经取代的杂芳基、烷基、经取代的烷基、环烷基、经取代的环烷基、杂烷基、经取代的杂烷基、杂环烷基、经取代的杂环烷基、芳基烷基或杂芳基烷基；

[0173] Z<sub>1</sub>、Z<sub>2</sub> 和 Z<sub>3</sub> 各自独立地选自 C、O、NH、S、C=O、S=O 或 SO<sub>2</sub>；

[0174] Y<sub>1</sub>、Y<sub>2</sub>、Y<sub>3</sub> 和 Y<sub>4</sub> 各自独立地选自 C 或 N，前提条件是当 Y<sub>4</sub> 为 N 时，则 R<sub>3</sub>-(A)<sub>s</sub> 不存在；

[0175] 虚线代表存在或不存在双键；

[0176] m 为 1 或 2；

[0177] n 为 0、1、2 或 3；

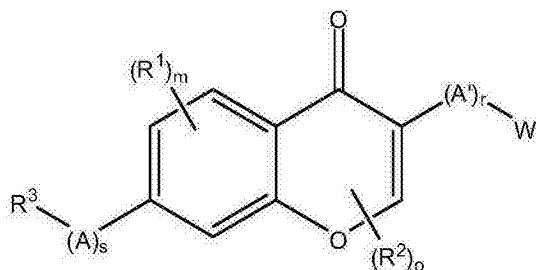
[0178] o 为 0、1、2 或 3；

[0179] s 为 0 或 1；并且

[0180] r 为 0 或 1。

[0181] 6. 如实施例 5 所述的化合物，其中所述化合物具有以下结构

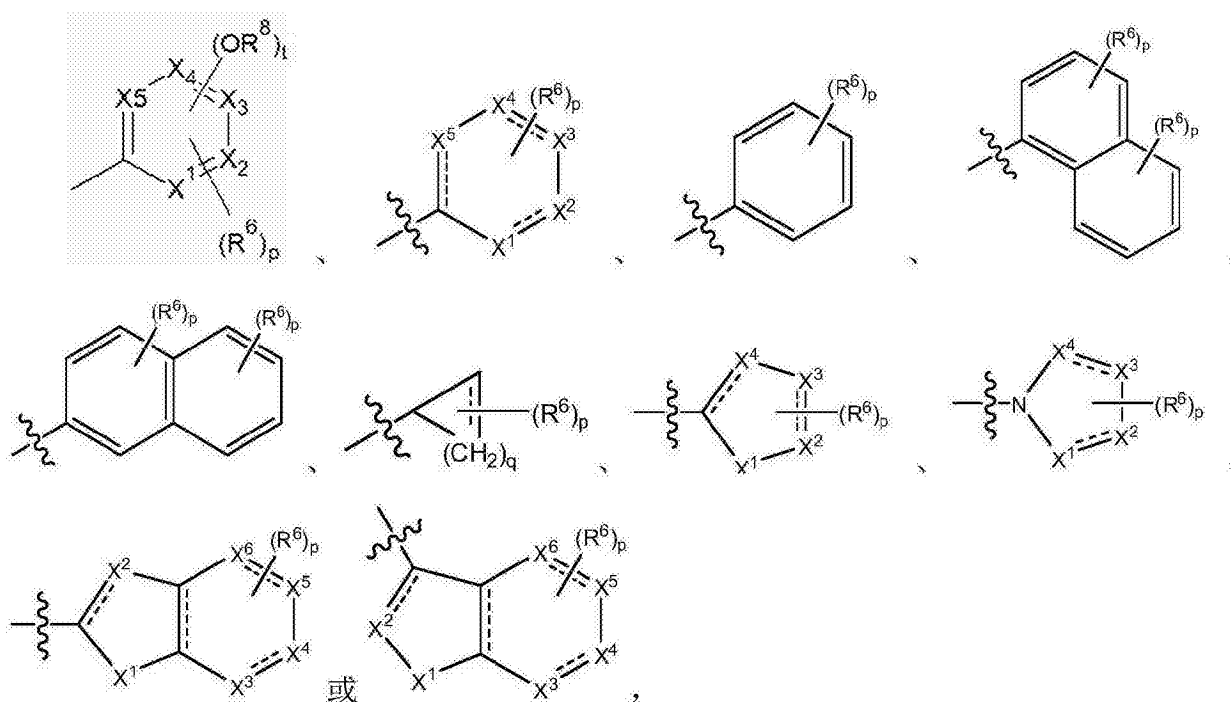
[0182]



[0183] 7. 如实施例 5 所述的化合物，其中 Y<sub>4</sub> 为 N。

[0184] 8. 如实施例 5 所述的化合物，其中 W 具有选自以下的结构：

[0185]



[0186] 其中

[0187] X1、X2、X3、X4、X5 和 X6 中的每一者独立地选自 C、O、NH、NR<sup>6</sup>、S、C=O、S=O 或 SO<sub>2</sub>；

[0188] 每一 R<sup>6</sup> 独立地选自 H、低碳数烷基、卤烷基、环烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基、芳基氧基、芳基烷氧基、烷氧基烷基芳基、烷基氨基、芳基氨基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、NH<sub>2</sub>、OH、CN、NO<sub>2</sub>、OCF<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub>、Br、Cl、F、1- 甲脒基、2- 甲脒基、烷基羰基、吗啉基、哌啶基、二噁烷基、吡喃基、杂芳基、呋喃基、噻吩基、四唑基、噻唑、异噻唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑 S- 氧化物、噻二唑 S、S- 二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、N- 烷基哌嗪基、喹啉、异喹啉、SR<sub>4</sub>、SOR<sub>4</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、COR<sub>4</sub>、CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>、NR<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>、CSNR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> 或 SO<sub>m</sub>NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>，或两个相邻 R<sup>6</sup> 基团可在一起形成稠合 5 或 6 元环烷基环、杂环烷基环、亚甲基二氧代基环、亚乙基二氧代基环、芳基环或杂芳基环；

[0189] 每一 R<sup>8</sup> 独立地选自 H、烷基、卤烷基、环烷基、芳基、烯基、炔基、烷基芳基、芳基烷基、烷氧基烷基芳基、杂烷基、杂芳基、环杂烷基、酰基、CF<sub>3</sub>、烷基羰基、四唑基、噻唑、异噻唑基、咪唑基、噻二唑、噻二唑 S- 氧化物、噻二唑 S、S- 二氧化物、吡唑基、噁唑、异噁唑、吡啶基、嘧啶基、喹啉、异喹啉、CO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>、COR<sub>4</sub>、CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>、SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>，或两个相邻 R<sup>8</sup> 基团可在一起形成稠合 5 或 6 元环烷基环、杂环烷基环、亚甲基二氧代基环、亚乙基二氧代基环、芳基环或杂芳基环；

[0190] p 和 t 各自独立地为 0、1、2、3、4 或 5，前提条件是 p+t ≤ 5；并且

[0191] q 为 1、2、3 或 4。

[0192] 9. 如实施例 8 所述的化合物，其中 R<sup>6</sup> 为 H、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、Cl、Br、CF<sub>3</sub>、OCF<sub>3</sub> 或 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>7</sup>，其中 R<sup>7</sup> 为低碳数烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。

[0193] 10. 如实施例 9 所述的化合物，其中 R<sup>7</sup> 为 N- 哌啶基、N- 吗啉基、N- 烷基 -N- 哌嗪基或苯基。

[0194] 11. 如实施例 8 所述的化合物, 其中  $r$  为 0 且  $W$  为 1-萘基、环戊基、2-噻唑基、2-吡嗪基、2-苯并噁唑基或 4-R6-1-苯基且  $R_6$  为叔丁基、Br、OCF<sub>3</sub> 或 -NHSO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, 其中  $R_7$  为 N-哌啶基或苯基; 或

[0195]  $r$  为 1, 且  $W$  为苯基。

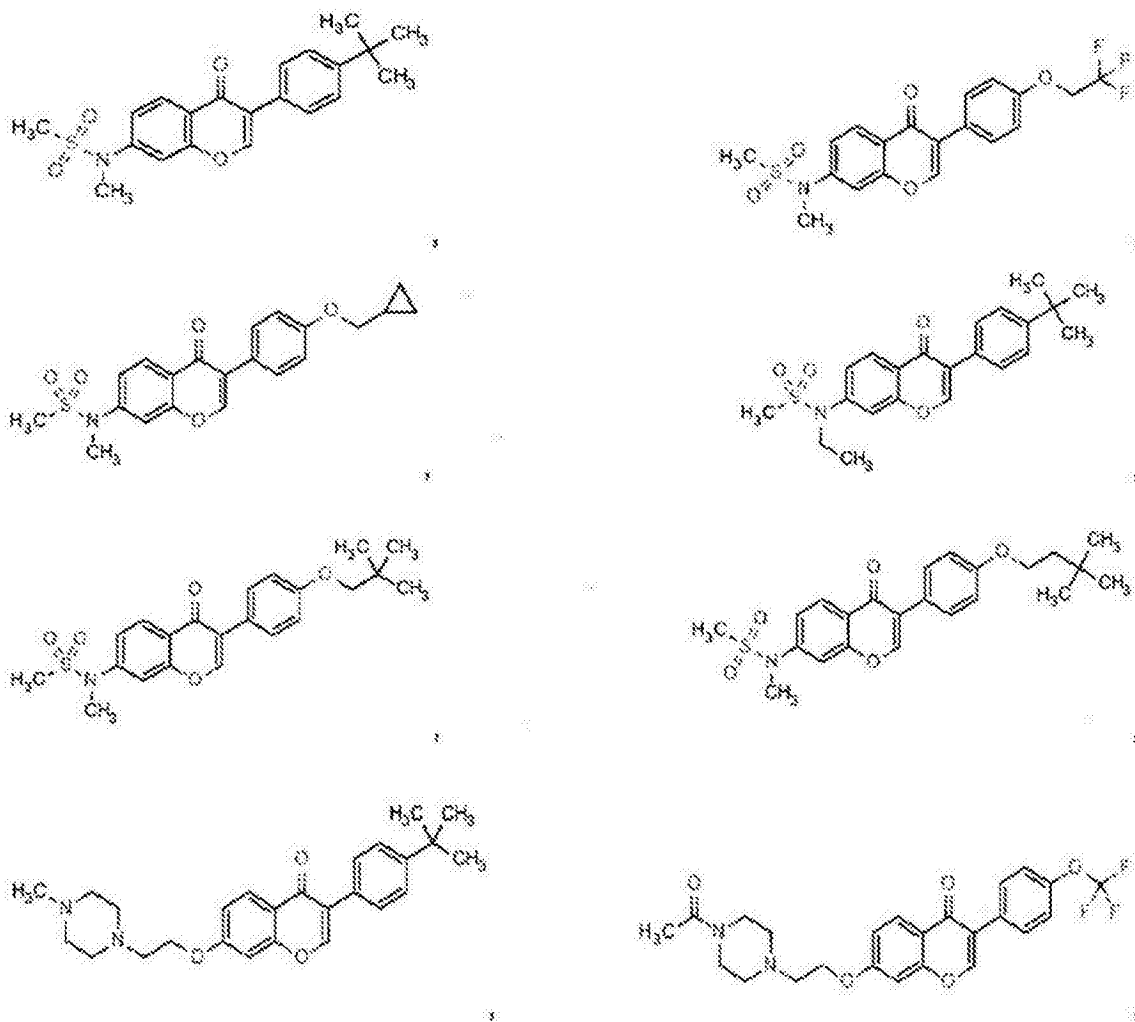
[0196] 12. 如实施例 8 所述的化合物, 其中  $r$  为 0 且  $W$  为 4-(OR8)-1-苯基且 (OR8) 为三氟甲氧基、丁氧基、环丙基甲氧基、二甲基丙氧基、三氟乙氧基、二氟甲氧基、氧杂环己基甲氧基、氧杂环己基甲氧基或二甲基丁氧基。

[0197] 13. 如实施例 5 所述的化合物, 其中  $s$  为 1,  $A$  为 0 或 NR', 其中  $R'$  为 H 或低碳数烷基, 且  $R_3$  为 H、3-丙炔基、SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、CF<sub>2</sub>H、CF<sub>3</sub>、CONHCH<sub>3</sub> 或 CH<sub>2</sub>CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>; 其中  $R_4$  与  $R_5$  在一起形成吗啉基环、N-乙酰基哌嗪基环、N-甲烷磺酰基哌嗪基环或 N-甲基哌嗪基环; 或

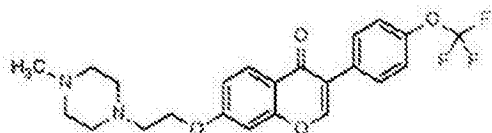
[0198]  $s$  为 0 且  $R_3$  为 SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、COR<sub>4</sub>、CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>、N-咪唑啉基或 N-马来酰亚胺基。

[0199] 14. 如实施例 5 所述的化合物, 其中所述化合物具有选自以下的结构:

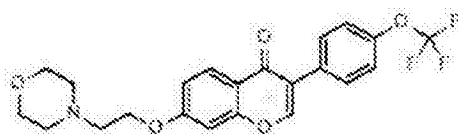
[0200]



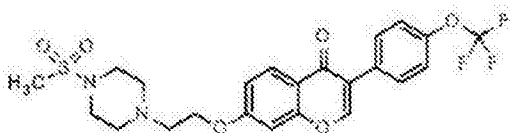
[0201]



x



x



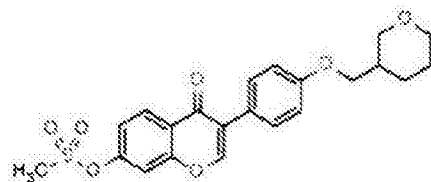
x



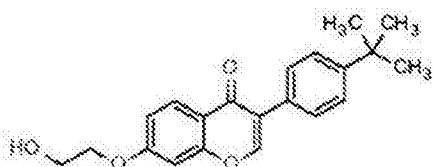
x



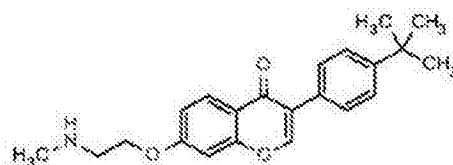
x



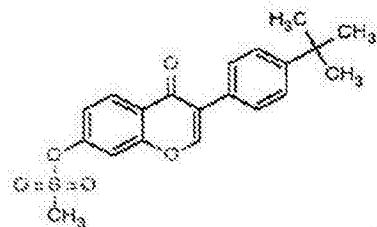
x



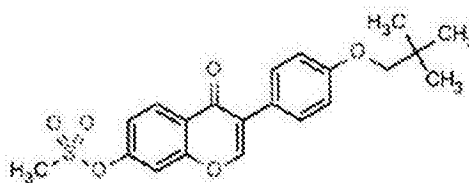
x



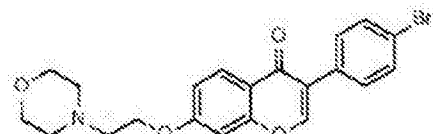
x



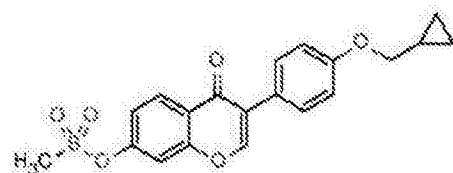
x



x

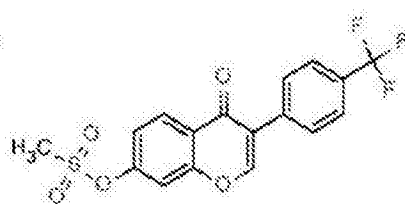
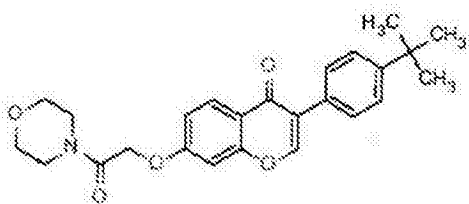
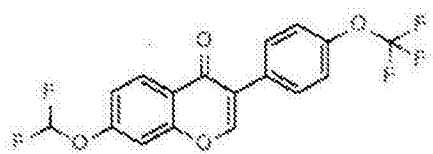
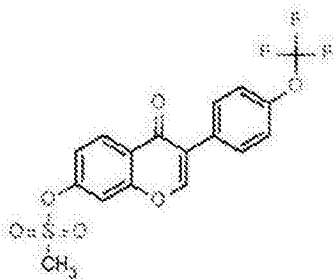
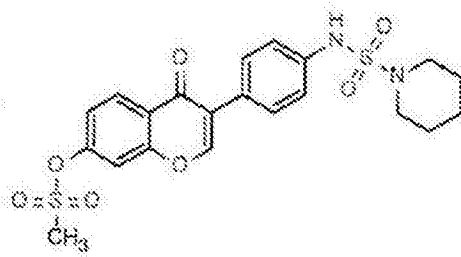
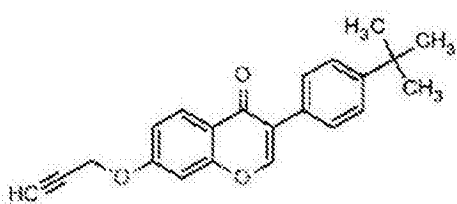
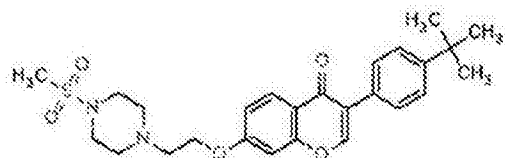
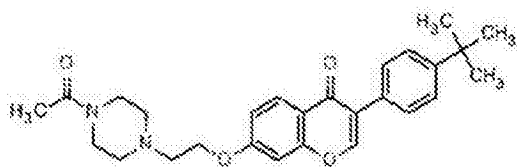
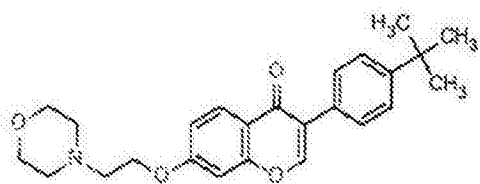
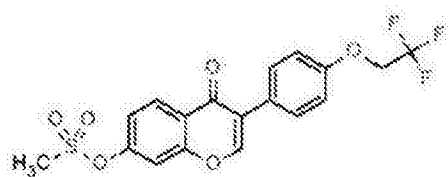


x

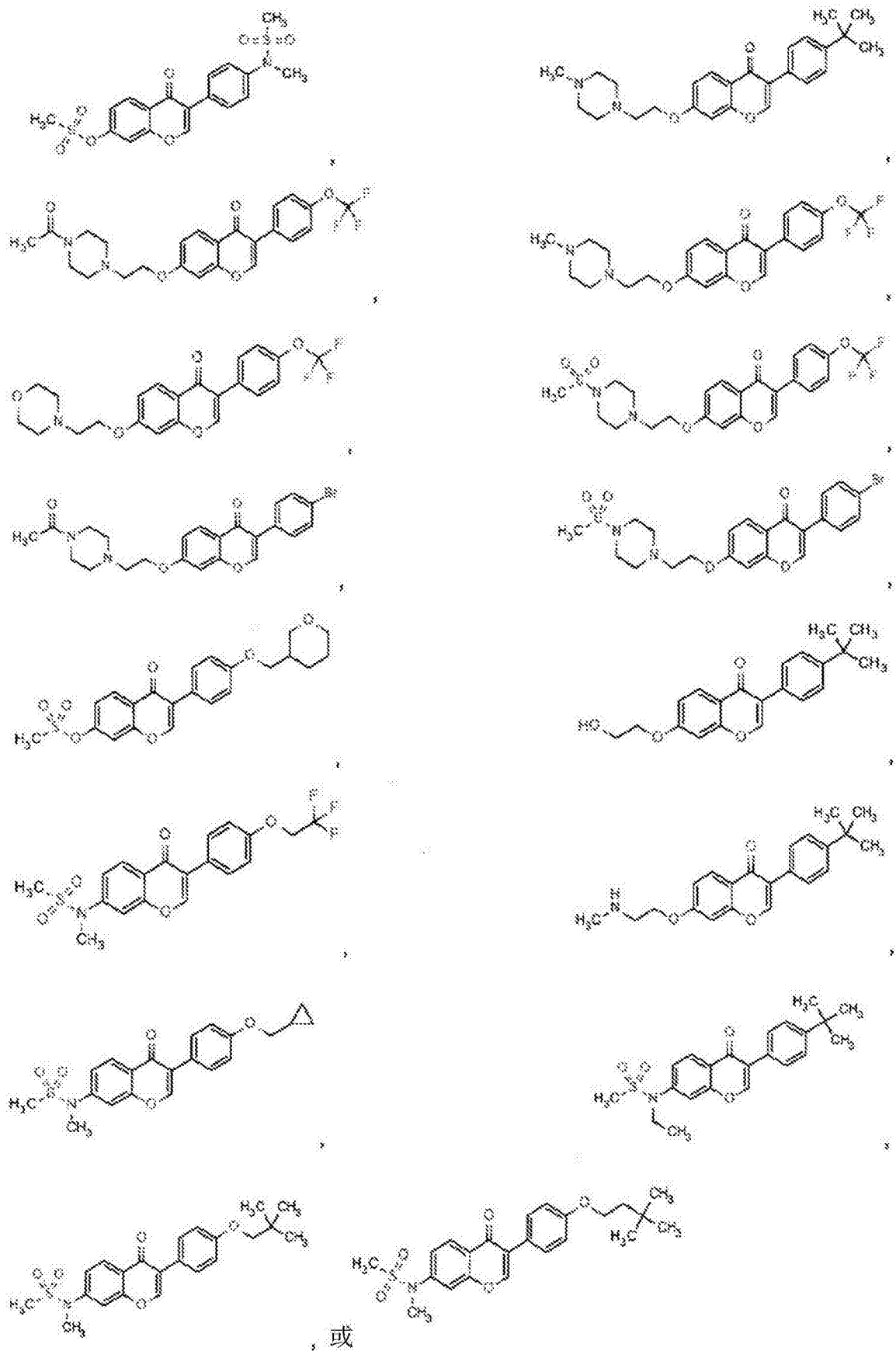


x

[0202]



[0203]



[0204] 15. 一种医药组合物,其包含如实施例 1 到 14 中任一者所述的化合物。

[0205] 16. 如实施例 15 所述的医药组合物,其用于疗法中。

[0206] 17. 如实施例 16 所用的医药组合物,其中所述化合物具有如实施例 14 中所示的结构。

[0207] 18. 如实施例 16 或 17 所用的医药组合物,其中所述医药组合物是作为预防性或治疗性疫苗的佐剂投与。

[0208] 19. 如实施例 18 所用的医药组合物,其中所述使用包含通过另外投与对抗以下病毒的疫苗对个体进行接种:阿尔弗病毒、班齐病毒、牛腹泻病毒、屈公病病毒、DNV、EMCV、HBV、HCV、hCMV、HIV、伊列乌斯病毒、流行性感冒病毒(包括禽类和猪分离株)、日本脑炎病毒、科科百拉病毒、库京病毒、科萨努森林病病毒、绵羊跳跃病病毒、麻疹病毒、MERS、间质肺炎病毒、嵌纹病毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒、副流行性感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒、布氏病毒、RSV、罗西奥病毒、SARS、圣路易脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、WNV 和黄热病毒。

[0209] 20. 如实施例 15 所述的医药组合物,其用于治疗个体的病毒感染。

[0210] 21. 如实施例 20 所用的医药组合物,其中所述病毒感染是由以下家族中的一或多者的病毒引起:沙粒病毒科、动脉炎病毒、星状病毒科、双核糖核酸病毒科、雀麦花叶病毒科、本扬病毒科、杯状病毒科、修道院病毒科、豇豆镶嵌病毒科、冠状病毒科、囊状噬菌体科、黄病毒科、弯曲病毒科、肝脱氧核糖核酸病毒科、肝炎病毒、疱疹病毒科、光滑病毒科、黄症病毒科、中等套病毒科、单股反链病毒目、嵌纹病毒、网巢病毒目、野田病毒科、正粘液病毒科、乳头瘤病毒科、副粘液病毒科、小双核糖核酸病毒科、小双核糖核酸病毒、小核糖核酸病毒科、马铃薯 Y 病毒科、呼肠孤病毒科、逆转录病毒科、杆套病毒科、随伴病毒科、纤细病毒属、披衣病毒科、番茄丛矮病毒科、整体病毒科和芜菁变黄镶嵌病毒科。

[0211] 22. 如实施例 17 或 18 所用的医药组合物,其中所述病毒感染是阿尔弗病毒、班齐病毒、牛腹泻病毒、屈公病病毒、登革热病毒(DNV)、脑心肌炎病毒(EMCV)、B 型肝炎病毒(HBV)、C 型肝炎病毒(HCV)、人类巨细胞病毒(hCMV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)、伊列乌斯病毒、流行性感冒病毒(包括禽类和猪分离株)、日本脑炎病毒、科科百拉病毒、库京病毒、科萨努森林病病毒、绵羊跳跃病病毒、麻疹病毒、MERS-冠状病毒(MERS)、间质肺炎病毒、嵌纹病毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒、副流行性感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒、布氏病毒、呼吸道合胞体病毒(RSV)、罗西奥病毒、SARS-冠状病毒(SARS)、圣路易脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、西尼罗河病毒(WNV) 和黄热病毒。

[0212] 23. 如实施例 20 到 22 中任一者所用的医药组合物,其中所述病毒感染是由 HCV 引起。

[0213] 24. 如实施例 20 到 22 中任一者所用的医药组合物,其中所述病毒感染是由 EMCV 引起。

[0214] 25. 如实施例 20 到 22 中任一者所用的医药组合物,其中所述病毒感染是由 RSV 引起。

[0215] 26. 如实施例 20 到 22 中任一者所用的医药组合物,其中所述病毒感染是由流行性感冒病毒引起。

[0216] 27. 如实施例 20 到 22 中任一者所用的医药组合物,其中所述病毒感染是由 DNV 引起。

[0217] 28. 如实施例 20 到 22 中任一者所用的医药组合物,其中所述病毒感染是由 hCMV 引起。

[0218] 29. 如实施例 20 所用的医药组合物,其中所述医药组合物是作为预防性或治疗性疫苗的佐剂投与。

[0219] 30. 如实施例 29 所用的医药组合物,其中所述使用包含通过另外投与对抗以下病毒的疫苗对个体进行接种:阿尔弗病毒、班齐病毒、牛腹泻病毒、屈公病病毒、DNV、HBV、HCV、hCMV、HIV、伊列乌斯病毒、流行性感冒病毒(包括禽类和猪分离株)、日本脑炎病毒、科科百拉病毒、库京病毒、科萨努森林病病毒、绵羊跳跃病病毒、麻疹病毒、MERS、间质肺炎病毒、嵌纹病毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒、副流行性感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒、布氏病毒、RSV、罗西奥病毒、SARS、圣路易脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、WNV 和黄热病毒。

[0220] 31. 如实施例 20 到 30 中任一者所用的医药组合物,其中所述化合物具有如实施例 14 中所示的结构。

[0221] 32. 一种治疗个体的病毒感染的方法,其包含向所述个体投与治疗有效量的如实施例 15 所述的医药组合物,由此治疗所述个体中的所述病毒感染。

[0222] 33. 如实施例 32 所述的方法,其中所述病毒感染是由以下家族中的一或多者的病毒引起:沙粒病毒科、动脉炎病毒、星状病毒科、双核糖核酸病毒科、雀麦花叶病毒科、本扬病毒科、杯状病毒科、修道院病毒科、豇豆镶嵌病毒科、冠状病毒科、囊状噬菌体科、黄病毒科、弯曲病毒科、肝脱氧核糖核酸病毒科、肝炎病毒、疱疹病毒科、光滑病毒科、黄症病毒科、中等套病毒科、单股反链病毒目、嵌纹病毒、网巢病毒目、野田病毒科、正粘液病毒科、乳头瘤病毒科、副粘液病毒科、小双核糖核酸病毒科、小双核糖核酸病毒、小核糖核酸病毒科、马铃薯 Y 病毒科、呼肠孤病毒科、逆转录病毒科、杆套病毒科、随伴病毒科、纤细病毒属、披衣病毒科、番茄丛矮病毒科、整体病毒科和芜菁变黄镶嵌病毒科。

[0223] 34. 如实施例 32 或 33 所述的方法,其中所述病毒感染是由以下中的一或多者引起:流行性感冒病毒、阿尔弗病毒、班齐病毒、牛腹泻病毒、屈公病病毒、DNV、EMCV、HBV、HCV、hCMV、HIV、伊列乌斯病毒、流行性感冒病毒(包括禽类和猪分离株)、日本脑炎病毒、科科百拉病毒、库京病毒、科萨努森林病病毒、绵羊跳跃病病毒、麻疹病毒、MERS、间质肺炎病毒、嵌纹病毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒、副流行性感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒、布氏病毒、RSV、罗西奥病毒、SARS、圣路易脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、WNV 和黄热病毒。

[0224] 35. 如实施例 32 到 34 中任一者所述的方法,其中所述病毒感染是由 HCV 引起。

[0225] 36. 如实施例 32 到 34 中任一者所述的方法,其中所述病毒感染是由 EMCV 引起。

[0226] 37. 如实施例 32 到 34 中任一者所述的方法,其中所述病毒感染是由 RSV 引起。

[0227] 38. 如实施例 32 到 34 中任一者所述的方法,其中所述病毒感染是由流行性感冒病毒引起。

[0228] 39. 如实施例 32 到 34 中任一者所述的方法,其中所述病毒感染是由 DNV 引起。

[0229] 40. 如实施例 32 到 34 中任一者所述的方法,其中所述病毒感染是由 hCMV 引起。

[0230] 41. 如实施例 32 到 34 中任一者所述的方法,其中所述医药组合物是作为预防性或治疗性疫苗的佐剂投与。

[0231] 42. 如实施例 41 所述的方法,其中所述方法包含通过另外投与对抗以下病毒的疫苗对个体进行接种:阿尔弗病毒、班齐病毒、牛腹泻病毒、屈公病病毒、DNV、HBV、HCV、hCMV、HIV、伊列乌斯病毒、流行性感冒病毒(包括禽类和猪分离株)、日本脑炎病毒、科科百拉病毒、库京病毒、科萨努森林病病毒、绵羊跳跃病病毒、麻疹病毒、MERS、间质肺炎病毒、嵌纹病

毒中的任一者、墨累谷脑炎病毒、副流行性感冒病毒、脊髓灰白质炎病毒、布氏病毒、RSV、罗西奥病毒、SARS、圣路易脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、WNV 和黄热病毒。

[0232] 43. 如实施例 32 到 42 中任一者所述的方法,其中所述化合物具有如实施例 14 中所示的结构。

[0233] 44. 如实施例 1 到 14 中任一者所述的化合物,其用于调节真核细胞中的先天性免疫反应,所述使用包含将所述化合物投与给所述真核细胞。

[0234] 45. 如实施例 44 所用的化合物,其中所述细胞是在活体内。

[0235] 46. 如实施例 44 所用的化合物,其中所述细胞是在活体外。

[0236] 47. 如实施例 44 或 46 所用的化合物,其中所述细胞为 Huh7 细胞。

[0237] 48. 如实施例 44 或 46 所用的化合物,其中所述细胞为海拉细胞 (HeLa cell)。

[0238] 49. 如实施例 44 或 46 所用的化合物,其中所述细胞为 293 细胞。

[0239] 50. 一种调节真核细胞中的先天性免疫反应的方法,其包含向所述细胞投与如实施例 1 到 14 中任一者所述的化合物。

[0240] 51. 如实施例 50 所述的方法,其中所述细胞是在活体内。

[0241] 52. 如实施例 50 所述的方法,其中所述细胞是在活体外。

[0242] 53. 如实施例 50 或 52 所述的方法,其中所述细胞为 Huh7 细胞。

[0243] 54. 如实施例 50 或 52 所述的方法,其中所述细胞为海拉细胞。

[0244] 55. 如实施例 50 或 52 所述的方法,其中所述细胞为 293 细胞。

[0245] 包含以下实例以阐释本发明的特定实施例。所属领域的技术人员根据本发明揭示内容应了解,可对所揭示具体实施例作出多种改变且仍获得相似或类似结果,而不背离本发明的精神和范围。举例来说,以下实例提供用于测试本发明化合物的活体外方法。其它活体外和 / 或活体内病毒感染模型包括黄病毒 (例如 DNV、牛腹泻病毒、WNV 和 GBV-C 病毒)、其它 RNA 病毒 (例如 RSV、SARS 和 HCV 复制子系统)。此外,用于病毒复制的任何适当培养的细胞组份均可用于抗病毒分析中。

[0246] 实例

[0247] 实例 1:本发明化合物的合成

[0248] 一般合成方案:本发明化合物可通过下文所述的方法连同所属领域的技术人员熟知的合成方法制备。本文所用的起始材料是从市场购得或可通过此项技术中已知的常规方法制备 (例如那些在标准参考书中所揭示者,例如有机合成方法概要 (COMPENDIUM OF ORGANIC SYNTHETIC METHODS),第 I-VI 卷 (威利在线期刊中心 (Wiley-Interscience) 出版))。优选方法包括那些下文所描述者。

[0249] 在任一以下合成序列期间,可需要和 / 或希望保护任一所关注分子上的敏感或反应性基团。此可借助常规保护基达成,例如那些描述于以下中者:T.W. 格林 (T.W. Greene),有机化学中的保护基团 (Protective Groups in Organic Chemistry),约翰威立父子公司 (John Wiley&Sons),1981;T.W. 格林和 P.G.M. 伍慈 (P.G.M. Wuts),有机化学中的保护基团,约翰威立父子公司,1991,和 T.W. 格林和 P.G.M. 伍慈,有机化学中的保护基团,约翰威立父子公司,1999。

[0250] 本发明化合物或其医药上可接受的盐可根据以下所讨论的合成方案制备。这些方法可以熟悉此项技术的化学家已知的方式经修改或改编以实现本发明范围内其它化合物

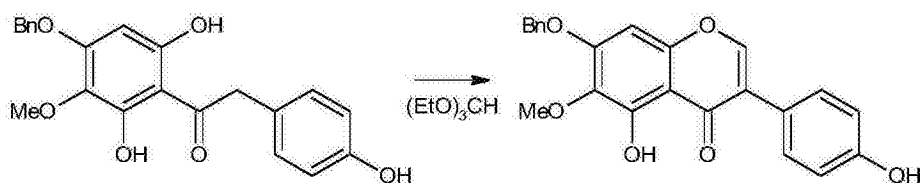
的合成。实施所述修改以合成如实例 2-4 中所述的本发明实例化合物。除非另有说明,否则方案中的取代基如上文所定义。产物的分离和纯化是通过所属领域的化学家已知的标准程序完成。

[0251] 所属领域的技术人员应了解,方案、方法和实例中所用的各种符号、上标和下标为方便起见是用于代表和 / 或反映其在方案中引入的顺序,且并不打算必定对应于所附权利要求书中的符号、上标或下标。方案是可用于合成本发明化合物的代表性方法。其并不以任何方式约束本发明的范围。

[0252] 异黄酮可通过出版物中所综述的宽范围方法来制备,包括 T.A. 盖思曼 (T.A. Geissman) 黄酮类化合物的化学 (The Chemistry of Flavonoid Compounds), 麦克米伦 (MacMillan), 纽约 (New York), 1962; P.M. 戴维克 (P.M. Dewick) 异黄酮类. 于黄酮类: 研究进展 (The Flavonoids: Advances in Research) 中, J.B. 哈本 (J.B. Harborne) 和 T.J. 马布里 (T.J. Mabry) 编辑, 查普曼和霍尔公司 (Chapman & Hall), 纽约, 1982; E. 汪 (E. Wong) 异黄酮类. 于黄酮类 (The Flavonoids) 中, J.B. 哈本、T.J. 马布里和赫尔加马布里 (Helga Mabry) 编辑, 学术出版社 (Academic Press), 纽约旧金山 (San Francisco), 1975; 保罗 M. 戴维克 (Paul M. Dewick) 异黄酮类. 在黄酮类: 自 1986 年以来的研究进展 (The Flavonoids: Advances in research since 1986) 中, J.B. 哈本编辑, 查普曼和霍尔公司, 伦敦 (London), 1993; 利瓦伊 A. (Lévai, A.) (2004), 异黄酮的合成 (Synthesis of isoflavones). 杂环化学杂志 (J. Heterocyclic Chem.), 41: 449-460; 约翰 A. 焦耳 (John A. Joule)、凯斯·米尔斯 (Keith Mills), 杂环化学 (Heterocyclic Chemistry), 威利父子公司 (Wiley & Sons), 第 5 版, 2009; 和马莫奥斯 A. 司乐波 (Mamoalosi A. Selepe) 和法尼 R. 范希尔登 (Fanie R. Van Heerden), 铃木-宫浦反应在黄酮类合成中的应用 (Application of the Suzuki-Miyaura reaction in the synthesis of flavonoids), 分子 (Molecules) (2013), 18, 4739-4765。下文所示的方案 1 到方案 7 汇总用于构造异黄酮的一些常用方法。本发明的 1-(2-羟基苯基)-2-苯基乙酮中间体可通过各种方法 (包括方案 8 中所示的那些) 酰化适宜经取代的苯酚来制备。

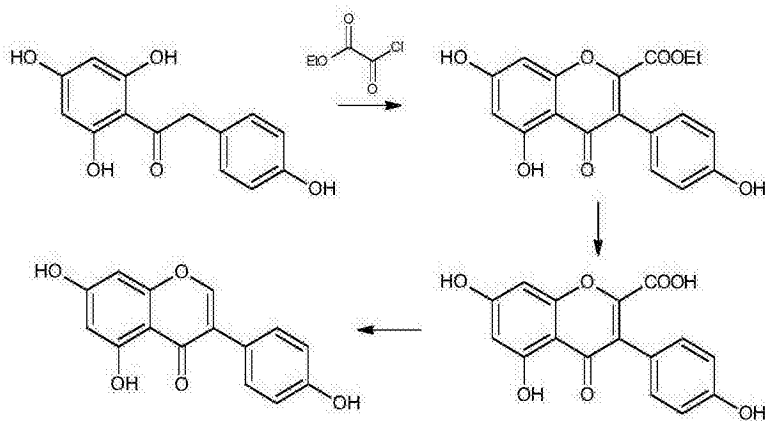
[0253] 方案 1: 文卡塔拉曼合成 (原甲酸乙酯方法)

[0254]



[0255] 方案 2: 贝克-奥雷斯 (Baker-Ollis) (草酰氯乙酯方法)

[0256]



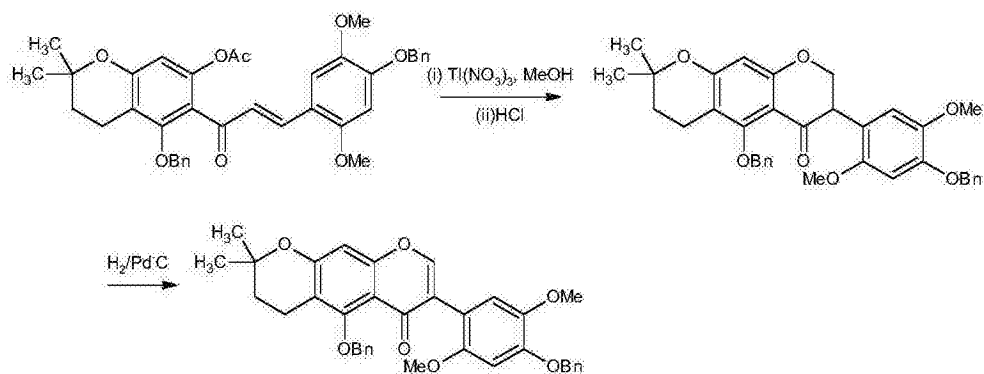
[0257] 方案3:维路斯梅尔-哈克 (Vilsmeier-Haack) 方法

[0258]



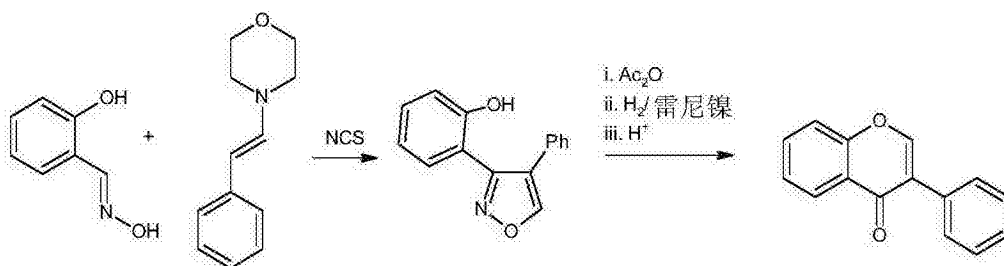
[0259] 方案4:查耳酮 (chalcone) 的环化

[0260]



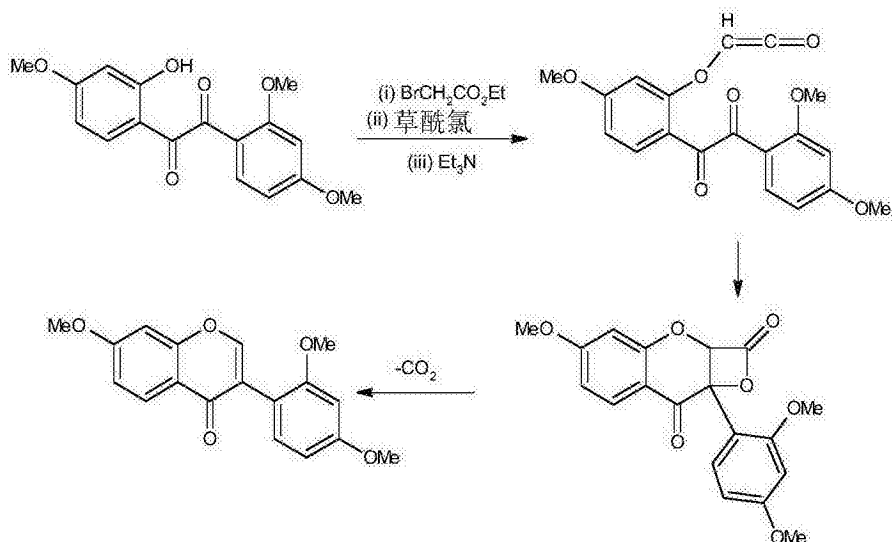
[0261] 方案5:偶极环加成和重排

[0262]



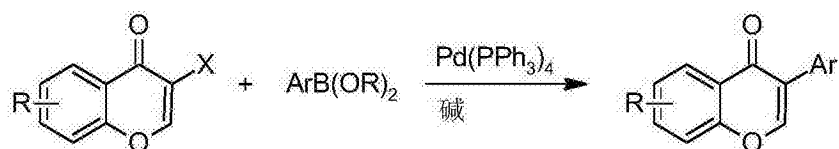
[0263] 方案6:内环加成和  $\text{CO}_2$  的消除

[0264]



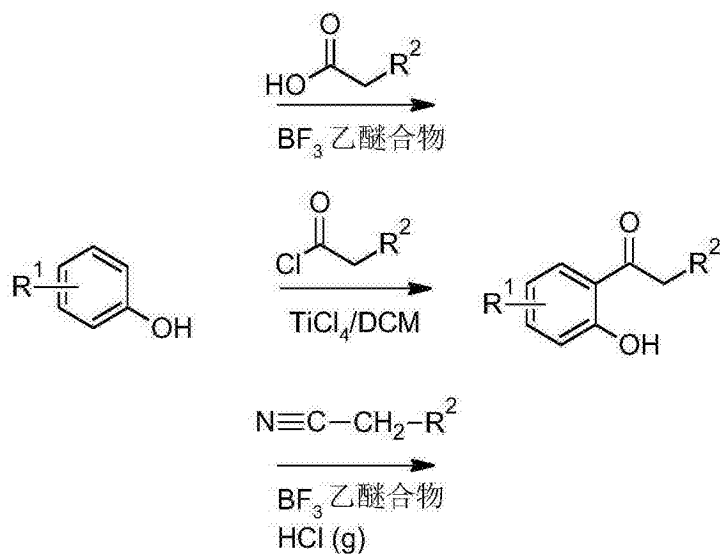
[0265] 方案 7 :铃木 - 宫浦反应

[0266]



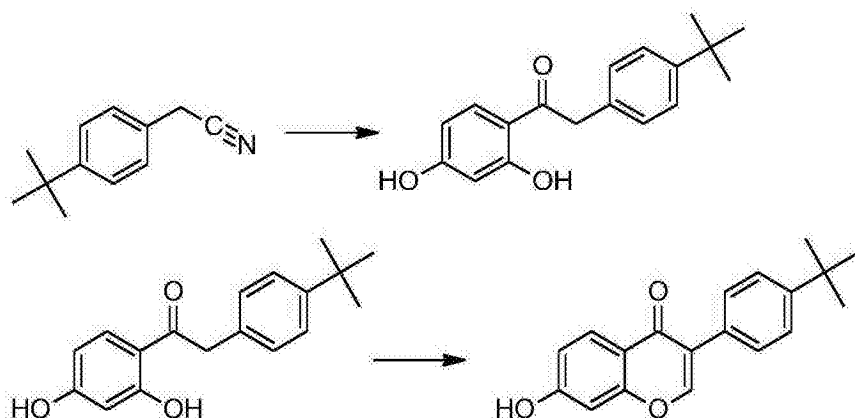
[0267] 方案 8 :1-(2-羟基苯基)-2-苯基乙酮中间体的制备

[0268]

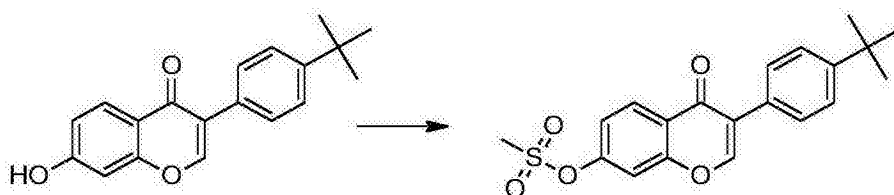


[0269] 实例 2. 甲烷磺酸 3-(4-叔丁基苯基)-4-氧代-4H-色烯-7-基酯的合成

[0270]



[0271]



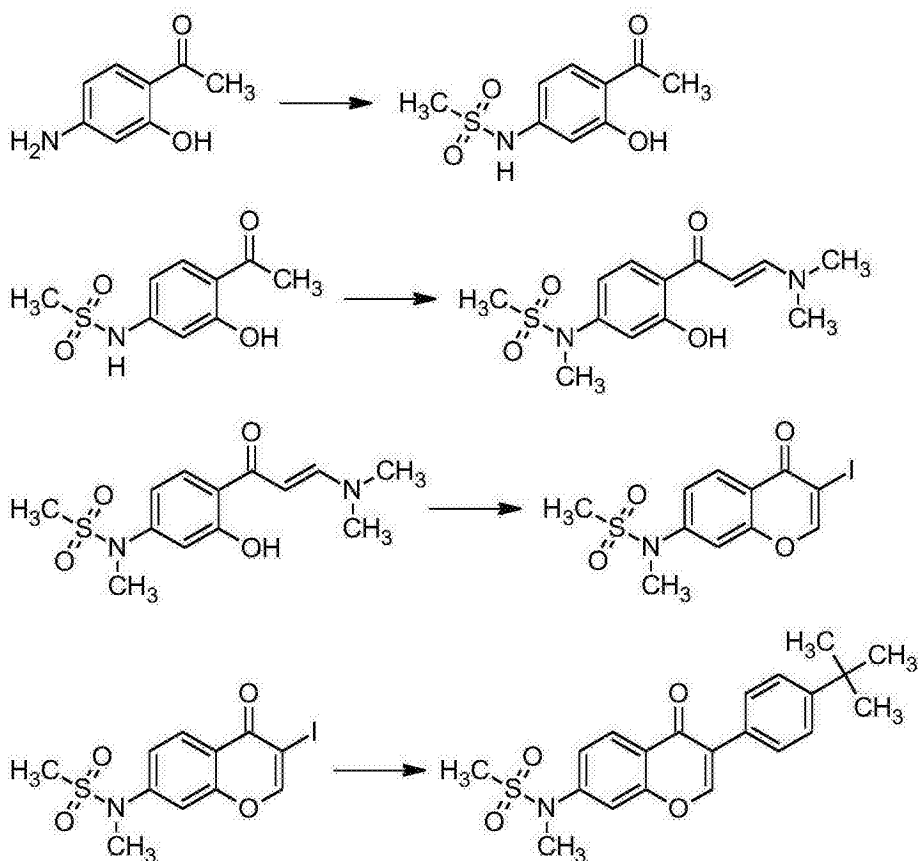
[0272] 步骤 1: 中间体 2-(4-叔丁基苯基)-1-(2,4-二羟基苯基)乙酮的合成。将 (4-叔丁基苯基) 乙腈 (10g, 0.058mol) 和 间苯二酚 (7.3g, 0.066mol) 添加到 40mL  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  中并使干燥 HCl 气体的流过夜穿过混合物。然后将溶液倾倒入 300mL 冷水中并搅拌 6 小时。将混合物用乙酸乙酯萃取并蒸发溶剂以获得油状物, 将其通过色谱纯化以在色谱后获得 0.68g 的 3-(4-叔丁基苯基)-7-羟基-4H-色烯-4-酮 (20%)。

[0273] 步骤 2: 3-(4-叔丁基苯基)-7-羟基-4H-色烯-4-酮的合成。将步骤 1 的中间体 (0.65g, 2.3mmol) 与 1:1 原甲酸三乙酯与无水吡啶和哌啶混合并于 120-130°C 下保持 4 小时。将混合物冷却并添加到水。滤除沉淀的固体并自氯仿重结晶, 以获得 0.324g 产物 (45%)。

[0274] 步骤 3: 甲烷磺酸 3-(4-叔丁基苯基)-4-氧代-4H-色烯-7-基酯的合成。将甲烷磺酰氯 (0.079mL, 1mmol) 逐滴添加到步骤 2 的产物 (0.15g, 0.5mmol) 和 0.2mL 三乙胺于 10mL 中的溶液中。将混合物于室温下搅拌 16 小时。将溶剂蒸发至干燥且残余物与甲醇一起研磨, 以获得甲烷磺酸酯 (0.16g, 84%)。

[0275] 实例 3. N-[3-(4-叔丁基苯基)-4-氧代-4H-色烯-7-基]-N-甲基甲烷磺酰胺的合成

[0276]



[0277] 步骤1:N-(4-乙酰基-3-羟基苯基)甲烷磺酰胺的合成。于0℃下将吡啶(1.6mL, 20mmol)添加到从市场购得的4'-氨基-2'-羟基苯乙酮(2g, 13mmol)和甲烷磺酰氯(1.6mL, 16mmol)于40mL无水二氯甲烷中的混合物中。将所得混合物在0℃到室温下搅拌过夜,然后用二氯甲烷稀释并用1M盐酸水溶液洗涤。在两个层之间的界面处出现不溶物质。使用二氯甲烷将水层反萃取两次。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并蒸发,以获得0.11g磺酰胺。将两个萃取层之间的界面处的不溶物质过滤并用二乙醚冲洗,获得1.3g磺酰胺(89%产率)。

[0278] 步骤2:N-{4-[(2E)-3-(二甲基氨基)丙-2-烯酰基]-3-羟基苯基}甲烷磺酰胺的合成。将2mL二甲基甲酰胺二甲基缩醛添加于步骤1的产物(0.5g, 2mmol)于1mL二甲基甲酰胺中的溶液中。将所得混合物于95℃下搅拌1小时,然后冷却至室温。逐滴加水直到形成黄色沉淀为止。将沉淀过滤,用水冲洗,并在真空下干燥,以获得0.17g产物(26%产率)。

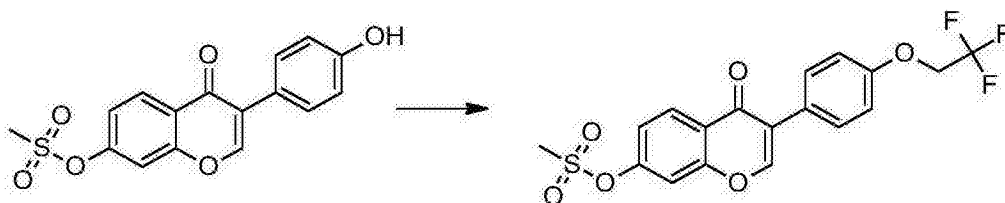
[0279] 步骤3:N-(3-碘-4-氧代-4H-色烯-7-基)-N-甲基甲烷磺酰胺的合成。于0℃下将碘(0.21g, 0.83mmol)添加于步骤2的产物(0.17g, 0.57mmol)于5mL氯仿中的溶液中。将所得混合物在0℃到室温下搅拌过夜,然后通过添加饱和硫代硫酸钠水溶液骤冷。使用二氯甲烷将水层反萃取两次。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并蒸发。将残余物吸收于乙酸乙酯中并将不溶物质过滤,用乙酸乙酯冲洗,并在真空下干燥,以获得0.14g碘色烯(65%产率)。

[0280] 步骤4:N-[3-(4-叔丁基苯基)-4-氧代-4H-色烯-7-基]-N-甲基甲烷磺酰胺的合成。将步骤3的产物(0.07g, 0.19mmol)、4-叔丁基苯基硼酸(0.043g, 0.24mmol)、10%碳上钯(0.01g)和碳酸钠(0.059g, 0.56mmol)于1.5mL 1,2-二甲氧基乙烷与水的1/1混合

物中的混合物于 45–50℃ 下搅拌 2 小时,然后在二氯甲烷与水之间分配。使用二氯甲烷将水层反萃取两次。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并蒸发。将残余物吸收于甲醇中并将不溶性物质过滤,用甲醇冲洗并在真空下干燥,以获得 0.052g 异黄酮 (73% 产率)。

[0281] 实例 4. 甲烷磺酸 4- 氧代 -3-[4-(2, 2, 2- 三氟乙氧基) 苯基]-4H- 色烯-7- 基酯的合成

[0282]



[0283] 通过本文所述的一般方法制备分子甲烷磺酸 3-(4- 羟基苯基)-4- 氧代 -4H- 色烯-7- 基酯;然后将此分子 (1.0g, 3.0mmol) 溶解于 10mL 无水二甲基甲酰胺 (DMF) 中并用稍微过量的于矿物油中的氢化钠处理。氢气停止逸出后,逐滴添加甲烷磺酸 2, 2, 2- 三氟乙酯 (1.0g, 5.6mmol) 并使混合物于室温下静置过夜。液相色谱-质谱 (LCMS) 分析显示 30% 所要单烷基化产物和其它产物的混合物 (包括来源于失去甲烷磺酸酯的二烷基化材料)。通过硅胶色谱分离所要产物。

[0284] 实例 5. KIN100 和 KIN101 的活体外抗病毒活性

[0285] 测定文库命中化合物 (library hit compound) KIN100 及 KIN101 的活体外抗病毒活性。在 HCV 病灶形成分析中,将 Huh7 细胞以  $2-5 \times 10^3$  个细胞 / 孔的密度接种于 96 孔板中。使细胞生长 16 小时并将在含有 0.5% 二甲基亚砜 (DMSO) 的培养基中稀释到 5uM、10uM、20uM 或 50uM 的化合物添加于每一孔。将细胞培育 18-24 小时且然后用 750pfu HCV2a 菌株感染。将经稀释病毒直接添加到孔中且不移除化合物。在化合物处理后使经感染细胞生长 24-72 小时且接着固定。将细胞用 4% 多聚甲醛固定并针对 HCV 蛋白质进行染色。使用以 1:3000 稀释的针对 HCV 的原代血清。偶联到 Alexa Fluor 488 染料 (英杰公司 (Invitrogen)) 和霍斯特 (Hoescht) 染料 (核染色) 的二级山羊抗人类抗体以 1:3000 稀释使用以检测 HCV 蛋白质和细胞核。培育二级抗体之后,将单层洗涤并置于 100  $\mu$ L PBS 中用于成像并使用荧光显微镜定量。

[0286] 图 1A-1C 显示 KIN100 和 KIN101 对抗 HCV 的抗病毒活性。图 1A 是在 Huh7 细胞中实施的 HCV 病灶形成分析的图形,所述 Huh7 细胞用 KIN100 预处理 24 小时并用 HCV2a 以 0.5 的感染倍数 (MOI) 感染 48 小时。通过利用病毒特异性血清进行免疫荧光染色检测 HCV 蛋白并将病灶正规化为未进行化合物处理的阴性对照细胞 (等于 1)。图 1B 显示通过在用 KIN101 预处理 18 小时并用 HCV2a 以 1.0 的 MOI 感染 72 小时的 Huh7 细胞中实施的 RT-qPCR 的 HCV 病毒 RNA 的定量。将病毒 RNA 分离并在感染培养物的上清液中进行定量。图 1C 显示通过在用 HCV2a 以 1.0 的 MOI 感染 4 小时且然后用 KIN101 处理的 Huh7 细胞中实施的 RT-qPCR 的 HCV 病毒 RNA 的类似定量。

[0287] 在脑心肌炎病毒 (EMCV) 活体外抗病毒分析中,使 Huh7 细胞在正常生长条件下生长并用所指示量的于含有 0.5% DMSO 的培养基中的 KIN101 处理。使细胞在化合物的存在下生长 5 小时且然后用 250pfu 自 ATCC#VR-129B 获得的鼠科动物 EMCV 感染。使经感染细胞再生长 18 小时且然后使用 MTS 分析测量细胞存活力。阴性对照细胞用仅含 0.5% DMSO

的缓冲液处理。使用干扰素处理作为病毒抑制的阳性对照并类似于化合物处理以 10IU/mL 干扰素- $\alpha$  :内含子 A(来自先灵葆雅公司 (Schering-Plough)) 的浓度添加。细胞存活力是使用 MTS 分析, CellTiter 96® 水性单溶液 (Aqueous One Solution) 细胞增殖分析 (MTS), 来自普洛麦格公司 (Promega) #G3580 来测量。在用 EMCV 感染之后, KIN101 保护细胞存活力。分析结果显示如下。

[0288] 表 3. EMCV 感染后的细胞存活力

[0289]

| 添加 (化合物或对照)  | 感染后之细胞存活力    |
|--------------|--------------|
| 阴性对照         | ~ 0.7 - 0.75 |
| 5 单位干扰素      | ~ 1.7        |
| 10 单位干扰素     | ~ 2.0        |
| 20 单位干扰素     | ~ 2.25       |
| 5 单位 KIN101  | ~ 0.7        |
| 10 单位 KIN101 | ~ 1.2        |
| 20 单位 KIN101 | ~ 1.45       |

[0290] KIN101 对抗 RSV 的抗病毒活性是通过基于免疫荧光的病灶形成分析来测量。将经培养的人类海拉细胞以  $4 \times 10^5$  个细胞 / 孔的密度接种于 6 孔组织培养板并生长 24 小时。将细胞用 RSV A2Long 菌株 (ATCC VR-26) 以 0.1 的 MOI 感染 2 小时且然后移除。在 0.5% DMSO 中制备化合物稀释液且用于以 0.001  $\mu$ M / 孔到 10  $\mu$ M / 孔的范围内的化合物最终浓度处理细胞。媒剂对照孔含有 0.5% DMSO 且用于与化合物处理的细胞进行比较。使化合物处理之后的 RSV 感染进行 48 小时。然后收获病毒上清液并用于感染以  $8 \times 10^3$  个细胞 / 孔的密度接种于 96 孔组织培养板中的新的海拉细胞单层。将新感染的细胞培育过夜 (18-24 小时) 并通过病毒蛋白的免疫荧光染色用于测量初始上清液中的传染性病毒的含量。将细胞用冰冷的 1:1 甲醇和丙酮溶液固定并针对 RSV F 蛋白质进行染色。使用 1:2000 稀释的一级小鼠抗 RSV 单株抗体 (EMD 密理博 (EMD Millipore))。使用 1:3000 稀释的偶联到 Alexa Fluor 488 染料 (英杰公司) 和霍斯特染料 (核染色) 的二级山羊抗小鼠抗体以检测 RSV 蛋白质和细胞核。培育二级抗体之后, 将单层洗涤且然后置于 100  $\mu$ L PBS 中用于成像并使用 Cellomics ArrayScan HCS 仪器定量。

[0291] 图 2A 显示用 RSV A2 感染并用 KIN101 处理后的细胞存活力。图 2B 显示 KIN101 处理减少细胞感染 48 小时后的 RSV 病毒 RNA。

[0292] 实例 6. KIN269 和其它所选化合物的活体外抗病毒活性

[0293] 测量 KIN269 和其它所选化合物的活体外对抗流行性感冒病毒的抗病毒活性。将经培养的人类 293 细胞以  $3 \times 10^5$  个细胞 / 孔的密度接种于 6 孔组织培养板中用于流感病灶形成分析并生长 24 小时。将细胞用流行性感冒病毒 A/ 乌隆 (Udorn) / 72 H3N2 菌株以 0.1

的 MOI 感染 2 小时且然后移除。在 0.5% DMSO 中制备化合物稀释液且用于以 0.001  $\mu$ M/ 孔到 10  $\mu$ M/ 孔的范围内的化合物最终浓度处理细胞。媒剂对照孔含有 0.5% DMSO 且用于与化合物处理的细胞进行比较。然后使复制进行 24 小时。然后收获病毒上清液且用于感染容许性 MDCK 细胞的新的单层,所述细胞在此之前在 96 孔组织培养板中以  $1.5 \times 10^4$  个细胞 / 孔的密度接种 24 小时。将新感染的细胞培育过夜 (18-24 小时) 并通过病毒蛋白的免疫荧光染色用于测量初始上清液中的传染性病毒的含量。将细胞用冰冷的 1:1 甲醇和丙酮溶液固定并针对流行性感冒核蛋白 (NP) 染色。使用 1:3000 稀释的一级小鼠抗 NP 单株抗体 (日本化工 (Chemicon))。使用 1:3000 稀释的偶联到 Alexa Fluor 488 染料 (英杰公司) 和霍斯特染料 (核染色) 的二级山羊抗小鼠抗体以检测 RSV 蛋白质和细胞核。培育二级抗体之后,将单层洗涤且然后置于 100  $\mu$ L PBS 中用于成像并使用 Cellomics ArrayScan HCS 仪器定量。

[0294] 图 3A、3B 和 3C 显示以病毒感染受化合物的抑制百分比作图的病灶减少。KIN101 在 293 细胞中显示病毒感染的剂量依赖性减少;化合物 KIN134、KIN263、KIN267、KIN269、KIN282、KIN291、KIN308 和 KIN306 对此抗病毒活性进行改良,如由减少的病毒滴度所示。(图 3A)。KIN328、KIN371、KIN372、KIN376、KIN385、KIN392、KIN269、KIN394、KIN395 和 KIN299 显示 293 细胞的病毒感染剂量依赖性减少 (图 3B)。图 3C 显示在流行性感冒抗病毒分析中实例性所选化合物的 IC<sub>50</sub> 值。

[0295] 测量 KIN269 和其它所选化合物的活体外对抗 DNV 的抗病毒活性。将经培养的人类 Huh7 细胞以  $4 \times 10^5$  个细胞 / 孔的密度接种于 6 孔组织培养板用于 DNV 病灶形成分析并生长 24 小时。将细胞用 DNV 2 型菌株以 0.1 的 MOI 感染 2 小时且然后移除。在 0.5% DMSO 中制备化合物稀释液且用于以 0.001  $\mu$ M/ 孔到 10  $\mu$ M/ 孔的范围内的化合物最终浓度处理细胞。媒剂对照孔含有 0.5% DMSO 且用于与化合物处理的细胞进行比较。然后使复制进行 48 小时。然后收获病毒上清液且用于感染容许性 Vero 细胞的新的单层,所述细胞在此之前在 96 孔组织培养板中以  $8 \times 10^3$  个细胞 / 孔的密度接种 24 小时。将新的经感染细胞培育 24 小时并通过病毒蛋白的免疫荧光染色用于测量初始上清液中的传染性病毒的含量。将细胞用冰冷的 1:1 甲醇和丙酮溶液固定并针对 DNV 融合蛋白染色。使用以 1:2000 稀释的对抗 DNV 融合蛋白的一级小鼠单株抗体 (密理博)。使用 1:3000 稀释的偶联到 Alexa Fluor 488 染料 (英杰公司) 和霍斯特染料 (核染色) 的二级山羊抗小鼠抗体以检测 DNV 蛋白质和细胞核。培育二级抗体之后,将单层洗涤且然后置于 100  $\mu$ L PBS 中用于成像并使用 Cellomics ArrayScan HCS 仪器定量。

[0296] 图 4A 显示用 DNV 感染且用增加量的 KIN101 处理的细胞中病毒蛋白的剂量依赖性减少。针对抗病毒活性的 DNV 病灶形成分析的结果显示于图 4B 中。将病灶的减少以病毒感染受化合物的抑制百分比作图。化合物 KIN101 (黑色虚线)、KIN134、KIN269、KIN328、KIN372、KIN376 和 KIN385 显示 Huh7 细胞中病毒感染的剂量依赖性减少。显示 IC<sub>50</sub> 值 (以 M 计)。

[0297] 所选化合物的其它病毒的计算 IC<sub>50</sub> 值显示于表 4 中。

[0298] 表 4. 在实例活体外病毒系统中所选先导化合物的 IC<sub>50</sub> 值。

[0299]

|        | 流感 IC50 (μM) | DNV IC50 (μM) |
|--------|--------------|---------------|
| KIN101 | 2            | >5            |
| KIN134 | 0.45         | 3.97          |
| KIN238 | 1.2          | 1.182         |
| KIN263 | 0.8          | 1.386         |
| KIN269 | 0.145        | 0.542         |
| KIN290 | 1.53         | 3.1           |
| KIN299 | 0.709        | >5            |
| KIN306 | 0.88         | 2.81          |
| KIN308 | 0.108        | 4.16          |
| KIN328 | 0.286        | 1.34          |
| KIN371 | 0.156        | >5            |
| KIN372 | 0.037        | 1.69          |
| KIN376 | 0.103        | 5             |
| KIN378 | 0.6          | >5            |
| KIN385 | 0.009        | 0.293         |
| KIN389 | 0.2          | >5            |
| KIN392 | 0.009        | 0.65          |
| KIN394 | 0.07         | 0.94          |
| KIN395 | 0.057        | 1.97          |
| KIN807 | 0.143        | 0.13          |
| KIN814 | 0.062        | 0.187         |
| KIN823 | 0.153        | 0.371         |
| KIN824 | 0.076        | 0.217         |
| KIN826 | 0.014        | 0.196         |
| KIN844 | 0.002        | 0.316         |
| KIN848 | 0.004        | 0.258         |
| KIN850 | 0.002        | 1.35          |

[0300]

|        |       |       |
|--------|-------|-------|
| KIN851 | 0.417 | 1.187 |
| KIN857 | 0.065 | 0.182 |
| KIN861 | 0.405 | >5    |
| KIN865 | 0.234 | 0.176 |
| KIN866 | 0.027 | 0.507 |
| KIN867 | 0.007 | 0.304 |
| KIN882 | 0.03  | 0.216 |

[0301] 实例 7. KIN385 和其它所选化合物的活体外抗病毒活性

[0302] 测量活体外对抗 hCMV 的抗病毒活性。将初始人类包皮纤维原细胞 (HFF ;ATCC) 以  $1.5 \times 10^5$  个细胞 / 孔的密度接种于 24 孔组织培养板并生长 24 小时。将细胞用 hCMVAD169 菌株 (ATCC) 以 0.1 的 MOI 感染 4 小时且然后移除。在 0.5% DMSO 中制备化合物稀释液且用于以 0.001  $\mu$ M/ 孔到 10  $\mu$ M/ 孔的范围内的化合物最终浓度处理细胞。媒剂对照孔含有 0.5% DMSO 且用于与化合物处理的细胞进行比较。然后使复制进行 48-96 小时。在 48、72 和 96 小时收获病毒上清液且用于感染新的 HFF 单层, 其在此之前在 96 孔组织培养板中以  $3 \times 10^4$  个细胞 / 孔的密度接种 24 小时。将新的经感染细胞培育 24 小时并通过病毒蛋白的免疫荧光染色用于测量初始上清液中的传染性病毒的含量。将细胞用冰冷的 1:1 甲醇和丙酮溶液固定并针对 hCMV IE1 蛋白以类似于先前针对其它活体外病毒系统所述的方法进行染色。

[0303] 图 5A 显示 hCMV 的剂量依赖性减少, 如通过在用 KIN385、KIN392、KIN394 和 KIN395 处理的试样中的病灶 (FFU/mL) 所测量。图 4B 显示 hCMV 的剂量依赖性减少, 如通过在用 KIN269、KIN134、KIN372、KIN328 和 KIN376 处理的试样中的病灶 (FFU/mL) 所测量。

[0304] 实例 8. 通过 KIN269 的活体外 IRF-3 活化

[0305] 通过分析 IRF-3 依赖性信号传导的活化测量 KIN269 的 RIG-I 信号传导路径活化。此是通过在经化合物处理的细胞中通过 RT-qPCR 测量 IRF-3 依赖性基因表达来实施。将经培养的人类细胞用 0.001-10  $\mu$ M 的 KIN269 或 DMSO 媒剂对照处理并培育长达 24 小时。在处理后将细胞从 4 小时到 24 小时的多个时间点处收获细胞。使用熟知技术实施 RNA 分离、逆转录和 qPCR。使用自市场购得的经验证 TaqMan 基因表达分析 (应用生物系统公司 (Applied Biosystems)/ 生命技术公司 (Life Technologies)) 根据制造商说明书实施 PCR 反应。使用相对表达分析 ( $\Delta \Delta$  Ct) 测量含量基因表达。

[0306] 图 6 显示在 293 细胞中由化合物 KIN269 诱导的基因表达。已知为 IRF-3 依赖性或涉及抗病毒反应的基因在用 KIN269 治疗后显示经诱导。

[0307] 实例 9. KIN269 的活体外生物利用度和抗病毒活性

[0308] 使用小鼠流行性感冒模型测量 KIN269 的抗病毒活性。利用非手术滴注流行性感冒病毒菌株 A/ 波多黎各 (Puerto Rico)/8/1934 (PR8) 实现病毒感染。KIN269 是在整个感染期间每天通过鼻内投与于 10% 羟基丙基 -  $\beta$  - 环糊精 (HPBCD) 中的 10mg/kg 或仅媒剂对照来投与。针对研究终点对动物进行评估, 包括每天临床观察结果、死亡率、体重和体温。在肺组织中测量病毒滴度。

[0309] KIN269 的抗病毒活性是使用小鼠冠状病毒 (MHV) 模型测量。病毒感染是使用非手术鼻内滴注 MHV 来达成。KIN269 是在整个感染期间每天通过鼻内投与于 10% 羟基丙基-β-环糊精 (HPBCD) 中的 10mg/kg 或仅媒剂对照来投与。针对研究终点对动物进行评估,包括每天临床观察结果、死亡率、体重和体温。在肺组织中测量病毒滴度。

[0310] KIN269 的抗病毒活性是使用小鼠 DNV 模型测量。病毒感染是使用腹膜内注射 DNV2 型菌株达成。KIN269 是在整个感染期间 IP 注射 10mg/kg 来投与或仅投与媒剂对照。针对研究终点对动物进行评估,包括每天临床观察结果、死亡率、体重和体温。在血清中测量病毒 RNA。

[0311] 在初步小鼠 PK 研究中,通过静脉内和腹膜内投与途径二者投与 10mg/kg KIN269。在投药之前且在投药后长达 4 小时的多个时间点处通过眼窝后窦收集血液试样。根据特定针对 KIN269 所研发的生物方法测量化合物浓度。

[0312] 图 7A-7E 显示 KIN269 的活体内广谱抗病毒活性和生物利用度。KIN269 (10mg/kg 于 10% HPBCD 中) 鼻内治疗降低流行性感冒病毒 (图 7A) 和小鼠肝炎病毒 (MHV) (图 7B) 在肺中的复制和滴度。图 7C 显示当以 10mg/kg 经由腹膜内注射或静脉内注射投药时,随时间 KIN269 血清含量。图 7D 显示 KIN269 抑制 DNV,如当 IP 以 10mg/kg/天投药时在血清中所测量。图 7E 显示当在用 PR8 流感进行致死性感染前 -24 小时 (预防性) 或之后 +24 小时 (治疗性) 通过鼻内滴注投与时, KIN269 (20mg/kg) 抑制流感在肺中的复制。在感染后 72 小时收获肺组织并通过 PCR 对流感 RNA 进行定量。

[0313] 实例 10. 使用定量结构-活性关系 (QSAR) 研究的抗病毒活性和药理性质

[0314] 此实例描述使用本文针对抗病毒作用所述化合物的 QSAR 途径的模拟化合物设计。QSAR 研究经设计以提供具有皮摩尔到毫微摩尔效能的先导化合物。化合物的最优化着重于产生结构多样性并评估核心变化形式和基团修饰。测试类似物对抗若干病毒的抗病毒活性 (包括本文所述的病毒分析模型)。另外,在一或多个细胞系或外周血单核细胞中测试类似物的细胞毒性。显示经改良功效和低细胞毒性的最优化化合物进一步通过额外测量活体外和活体内毒理学和吸收、分布、代谢和消除 (ADME) 来表征。还研究抗病毒活性的作用机制和广度。

[0315] QSAR 研究中的化学设计。实施药物类性质、代谢不稳定性和毒性可能性的分析以推动模拟化合物设计。药物类性质 (如通过利平斯基规则 (Lipinski's Rules) (利平斯基 C. A. 等人, (2001) 在药物发现和开发设置中估计溶解性和可渗透性的实验和计算方法 (Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings), 先进药物递送评论 (Adv Drug Deliv Rev) 46, 3-26) 所测量) 和相关生理化学性质是生物可利用度的主要指标。暗示代谢和毒理学可能性的结构特征可指示有限稳定性、降低的半衰期、反应性中间体或特异毒性且因此将被移除。构造 5 到 10 个化合物类似物设置以移除或改变化学反应性或代谢敏感性结构特征,由此研发初步 QSAR。

[0316] 本文所揭示的化合物描述为异黄酮化合物。异黄酮作为自豆科植物 (Leguminosae, legume) 家族分离的天然产物为人熟知且通常经多羟基化且作为植物性雌激素和抗氧化剂具有药理学活性。此类别的大多数可识别成员是染料木黄酮,其已经报告具有抗癌活性且诱导哺乳动物中胸腺和免疫变化 (班纳吉 S. (Banerjee, S.) 等人,

(2008) 癌症通过染料木黄酮的多阶段疗法 (Multi-targeted therapy of cancer by genistein), 癌症快讯 (Cancer Lett) 269, 226-242)。其与自然癌症研究所 (Natural Cancer Institute, NCI) 天然产物文库揭露的染料木黄酮作为经验证命中物 (hit) 用于干扰素刺激基因 (ISG) 诱导的初步筛选相关。此相关证实官能团修饰和类似物设计的潜在宽灵活性且同时保留生物活性。

[0317] 对于每一类似物来说, 使用基于 (高效液相色谱) HPLC- 和 / 或 HPLC- 质谱的分析方法来评估化合物和代谢物在各种测试系统中的浓度。尽管针对每一化合物最优化具体分析方法, 但反相色谱可单独或与四极质谱组合以表征若干种先导化合物的身份和纯度。最初, 将通过 HPLC 评估化合物随在来自哺乳动物物种 (例如小鼠、食蟹猴和人类) 的血清、血浆和全血中的增加的浓度时间的稳定性, 且将测定半衰期。在一些情形中, 通过质谱表征重要代谢物。

[0318] 实例 11. 活体外生物活性

[0319] 测试本文所述的化合物 (包括表 1 中所列示的化合物) 的生物活性, 其包括: 靶标路径 (包括免疫反应路径) 的活化、对抗各种病毒的抗病毒活性、低细胞毒性和大于 10 的治疗指数。

[0320] RIG-I 信号传导路径由化合物活化。测量 RIG-I 路径活化的一个分析实例是在经化合物处理的细胞中通过 RT-qPCR 测量下游基因表达。转录因子 IRF-3 是借助 RIG-I 信号传导活化且 IRF-3 依赖性基因的表达增加指示 RIG-I 路径的活化。还测量与宿主先天性免疫抗病毒反应相关联的其它基因作为化合物活性的指示剂。

[0321] 将经培养的人类细胞用 0.001-10  $\mu$ M 的化合物或 DMSO 媒介对照处理并培育长达 24 小时。在处理后将细胞在 4 小时到 24 小时的多个时间点处收获细胞。使用熟知技术实施 RNA 分离、逆转录和 qPCR。PCR 反应是使用自市场购得的经验证 TaqMan 基因表达分析 (应用生物系统公司 / 生命技术公司) 根据制造商说明书来实施。使用相对表达分析 ( $\Delta \Delta$ Ct) 测量基因表达含量。

[0322] 基因表达可类似地在多种细胞类型中进行分析, 包括: 原代血液单核细胞、人类巨噬细胞、THP-1 细胞、Huh7 细胞、A549 细胞、MRC5 细胞、大鼠脾细胞、大鼠胸腺细胞、小鼠巨噬细胞、小鼠脾细胞和小鼠胸腺细胞。可如本文所述分析其它所关注基因的表达。另外, 基因表达可在病毒的存在下分析以测定活跃病毒感染的情形下的化合物活性。

[0323] 化合物诱导的先天性免疫反应。可在原代免疫细胞中分析化合物的活性以测定化合物治疗是否刺激免疫反应路径。一个实例是在经培养的人类原代血液细胞 (例如树突细胞) 中分析细胞因子表达。将细胞接种于组织培养皿中并用 0.001-10  $\mu$ M 化合物的范围内的化合物处理。为分析细胞因子产生, 在化合物处理 24-48 小时之后将经处理孔的上清液分离并测试细胞因子蛋白质的含量。使用偶联到磁性珠粒的特异性抗体和与链霉亲和素 / 藻红蛋白反应以产生荧光信号的二级抗体检测细胞因子。使用 MAGPIX® (路明克斯 (Luminex) 公司) 仪器检测所结合珠粒并量化, 但可使用此项技术中已知的类似技术来测量荧光蛋白产生 (例如 ELISA)。

[0324] 可测量细胞因子分泌的其它细胞包括 (例如) 人类外周血单核细胞、人类巨噬细胞、小鼠巨噬细胞、小鼠脾细胞、大鼠胸腺细胞和大鼠脾细胞。

[0325] 使用标准活体外分析 (包括 MTS 分析和卡斯蛋白酶分析) 评估细胞毒性。实施

所述分析的方案已为所属领域的技术人员已知且有若干种自市场购得的试剂盒用以测量分析读出,例如用以测量 MTS 至甲臆 (formazan) 的转化的基于比色的分析 (Cell Titer One, 普洛麦格公司) 和用以测量经活化卡斯蛋白酶-3 的含量的基于夹心 ELISA 的分析 (PATHSCAN® 裂解卡斯蛋白酶-3 (Asp175) 夹心 ELISA 试剂盒 #7190, 细胞信号技术公司 (Cell Signaling Technology) 公司, 马萨诸塞州丹弗斯 (Danvers, MA))。将经培养的人类细胞用自 0 至高达至少 50  $\mu\text{M}$  的增加量的化合物或稀释于培养基中的相等量的 DMSO 处理以评估其对细胞存活力的效应。用于此分析中的经培养的人类细胞系包括 Huh7、PH5CH8、A549 或海拉细胞。

[0326] 活体外药理学和毒理学。毒理学分析的此描述是实例性的。实施活体外研究以在小肠渗透力、代谢稳定性和毒性的一或多个分析中测量大多数有希望类似物的性能。这些研究可包括血浆蛋白结合;在人类和模型有机体中的血清、血浆和全血稳定性;小肠渗透力;内在清除率;人类醚-à-go-go (hERG) 通道抑制用于测试潜在心脏毒性;和使用 (例如) 反向突变分析 (埃姆斯 (Ames) 测试) 和 / 或微核形成分析的基因毒性。将使用平衡透析通过分割分析评估人类血浆蛋白结合。对于小肠渗透力建模,在人类上皮细胞系 (例如 Caco-2 或 TC7) 中评估顶端至基底端 (apical-to-basolateral) 通量。针对最有希望的类似物的子集通过测量母体化合物在培育期间人类肝脏微粒体中的消失速率评估肝清除率。可分离特定代谢物并进行表征。

[0327] 实例 12. 使用活体外模型分析抗病毒活性

[0328] 本文所揭示的化合物具有在活体外对抗若干种病毒的有效活性。为进一步表征最优化化合物的抗病毒活性的广度,使用细胞培养物感染模型来分析不同病毒以及相同病毒的不同菌株 (表 4)。本文描述用以测量化合物对抗这些病毒中的若干种的抗病毒活性的分析。

[0329] 研究包括在感染前 2-24 小时用化合物处理细胞和 / 或在感染后 2-8 小时处理细胞。以自 0.001  $\mu\text{M}$  到 10  $\mu\text{M}$  的范围内的不同浓度投与化合物。所用的阳性对照处理包括干扰素、利巴韦林、奥司他韦 (oseltamivir) 或其它已知抑制具体病毒的感染的处理。在一段时间内评价病毒产生和细胞 ISG 表达以分析每一化合物的抗病毒活性 (表 4)。病毒产生是通过病灶形成或溶菌斑分析测量。

[0330] 在经培养的人类海拉细胞中实施基于免疫荧光的病灶形成分析以测量对抗 RSV 的抗病毒活性。实验条件如同实例 5 中所述的那些一样或实质上与那些类似。

[0331] 活体外对抗流行性感冒病毒的抗病毒活性是通过基于免疫荧光的病灶形成分析来测量。此分析中所用的流行性感冒 A 病毒株包括 A/ 乌隆 /72 H3N2 菌株和 A/ 加利福尼亚 (California) /04/09 H1N1 菌株。实验条件如同实例 6 中所述的那些一样或实质上与那些类似。

[0332] 活体外对抗 DNV 的抗病毒活性是通过基于免疫荧光的病灶形成分析来测量。实验条件如同实例 6 中所述的那些一样或实质上与那些类似。

[0333] 活体外对抗 hCMV 的抗病毒活性是通过基于免疫荧光的病灶形成分析来测量。实验条件如同实例 7 中所述的那些一样或实质上与那些类似。

[0334] 在平行试验中,通过 qPCR 和免疫印迹分析测量病毒 RNA 和细胞 ISG 表达。这些试验经设计以验证病毒感染期间的化合物信号传导作用,并评价化合物对对抗病毒的各种菌

株和在病毒对抗的环境中的直接先天性免疫抗病毒程序的作用。在每一病毒感染系统中实施每一化合物的详细剂量反应分析以测定对于处理前和处理后感染模型二者与对照细胞相比抑制病毒产生的 50% (IC50) 和 90% (IC90) 的有效剂量。

[0335] 所选化合物的广谱抗病毒活性显示于图 2A 和 2B (RSV) ;图 3A、3B 和 3C (流感) ;图 4A 和 4B (DNV) ;且图 5A 和 5B (hCMV) 中。

[0336] 可通过活体外分析的感染模型包括 WNV、HBV、EMCV 和 SARS。

[0337] 表 5. 实例性病毒系统和用于抗病毒分析的研究设计

[0338]

| 病毒  | 病毒菌株                             | 研究设计                    |
|-----|----------------------------------|-------------------------|
| HCV | H77 (基因型 1a)                     | 分析<br>溶菌斑或病灶形成分析(传染性病毒) |
|     | JFH1 (基因型 2a)                    |                         |
| RSV | A2 long 菌株                       | qPCR (RNA 含量)           |
| FLU | 小鼠中的高致病性                         | 免疫印迹和 ELISA (蛋白质含量)     |
|     | A/PR/8/34 (H1N1 小鼠适应型病毒)         | 研究设计                    |
|     | A/WSN/33 (H1N1 小鼠适应型神经毒性病毒)      | 细胞感染前及感染后的化合物处理         |
|     | 小鼠中的低致病性                         | 测定 IC50 和 IC90          |
|     | A/德克萨斯州(Texas)/36/91 (H1N1 循环病毒) | 抑制病毒生命周期                |
|     | A/乌隆/72 (H3N2)                   |                         |
|     | A/加利福尼亚/07/09 (H1N1)             |                         |
| DNV | 2 型                              |                         |
| WNV | TX02 (谱系 1)                      |                         |
|     | MAD78 (谱系 2)                     |                         |

[0339] 实例 13. 最优化化合物在临床前动物模型中的活体内药代动力学和毒理学概况

[0340] 临床前药代动力学 (PK) 和耐受性概况分析。评估最优化化合物的活体内 PK 概况和耐受性 / 毒性以在病毒感染的动物模型中实施抗病毒活性的进一步表征。小鼠和大鼠是用于这些研究的所选测试物种,此乃因存在各种已确立的小鼠中的病毒模型和大鼠中的 PK、毒理学和免疫学模型。

[0341] 使用反相 HPLC-MS/MS 检测方法以检测和定量每一化合物在生物试样 (包括血浆和靶标组织试样) 中的浓度。在 PK 概况分析之前,使用主要集中于在少数储存条件下的最大化水性溶解性和稳定性的有限医药组合物组份筛选,研发针对每一化合物的初始经口和可注射医药组合物。使用此项技术中已知的现有分析方法来测量医药组合物性能。根据三分层策略研发每一化合物的医药组合物。层 1 :pH (pH 3 至 9)、缓冲液和摩尔渗透压浓度调节;层 2 :添加乙醇 (<10%)、丙二醇 (<40%) 或聚乙二醇 (PEG) 300 或 400 (<60%) 共溶剂以增强溶解性;层 3 :添加 N-N- 二甲基乙酰胺 (DMA, <30%)、N- 甲基 -2- 吡咯烷酮 (NMP, <20%) 和 / 或二甲基亚砷 (DMSO, <20%) 共溶剂或环糊精 (<40%) (视需要) 以进

一步改良溶解性。

[0342] 在初步小鼠 PK 研究中,在化合物通过至少 2 种投与途径(包括经口和 i. v.)投与之后评价以下准则:口服生物利用度、 $C_{max}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $Cl$ 、 $V_d$ 、 $AUC_{0-24, 0-\infty}$ 。在过夜禁食之后,每一化合物作为单一剂量通过口服管饲(高达 10mg/kg)或静脉内快速注射(高达 5mg/kg)投与给动物。每一剂量群组对多个动物进行投药,使得在同一时间点可对 3 只动物进行取样。在投药之前且在投药后 5 分钟、15 分钟和 30 分钟、和 1 小时、2 小时、4 小时、8 小时和 24 小时通过眼窝后窝收集血样试样。在最后血液收集的时间点处还收集靶标组织,包括肺、肝和淋巴结。根据先前所研发的生物分析方法测量化合物浓度。使用 WinNonlin 软件评估 PK 参数。

[0343] 基于在探索性 PK 研究中的性能,进一步评估化合物在小鼠中的初步耐受性和毒性,随后在抗病毒模型中表征化合物。耐受性研究分两个阶段实施:初始剂量递增阶段,其包括至多 5 个剂量的上升剂量,每一者由 5 天清除期隔开,以测定最大耐受剂量(MTD;阶段 1);此之后是 MTD 的 7 次每天投与以评估急性毒性(阶段 2)。在耐受性研究中,所有剂量均通过口服管饲投与。在此实验中,在阶段 1 中放置每一性别 5 只动物进行研究且在阶段 2 中 15 只动物/性别/剂量组。研究终点包括 MTD 的测定、急性毒性的检查、身体检查、临床观察结果、血液学、血清化学和动物体重。对所有动物(无论为发现死亡、濒死时或在预期试验结束时实施安乐死)实施整体病理学。毒理学研究本质上主要为探索性的且意欲鉴别早期毒物学终点,且推动用于抗病毒动物模型的先导化合物的选择。

[0344] 实例 14. 最优化化合物在临床前动物模型中的活体内抗病毒性质

[0345] 此实例描述使用小鼠感染模型评价抗病毒性质和免疫保护。基于化合物 PK、抗病毒和先天性免疫作用选择最优化化合物用于在感染的临床前小鼠模型中进一步评估。测量化合物的先天性免疫作用,并评价其保护小鼠免于 WNV 和流行性感冒病毒攻击的能力。对于 WNV 感染模型来说,利用 WNV(WNV-TX)的毒力谱系 1 菌株实施野生型 C57Bl/6 小鼠的皮下足垫感染(苏雷什 M. S. (Suthar, M. S.) 等人, (2010). IPS-1 是控制 WNV 感染和免疫所必需的(IPS-1 is essential for the control of WNV infection and immunity), 公共科学图书馆·病原学 (PLoS Pathog) 6, e1000757)。针对流行性感冒病毒菌株 A/PR/8/34、A/WSN/33 和 A/ 乌隆 /72 实施非手术导管滴注。

[0346] 这些试验中的流行性感冒病毒菌株包括至少两个不同亚型(例如, H1N1 和 H3N2)且在 C57Bl/6 小鼠中展现各种致病性质和临床表现(巴纳德 D. L. (Barnard, D. L.) (2009) 用于流行性感冒致病性和治疗的研究的动物模型 (Animal models for the study of influenza pathogenesis and therapy), 抗病毒研究 (Antiviral Res) 82, A110-122)。监测在一系列攻击剂量下(例如, 10pfu 到 1,000pfu 病毒)单独或与在感染前长达 24 小时或感染后长达 24 小时开始的化合物处理组合的小鼠的发病率和死亡率且每天持续进行化合物的血浆半衰期测定。实施化合物剂量反应分析和感染时间进程研究以评价化合物针对以下的功效:1) 限制血清病毒负载;2) 限制病毒在靶标器官中的复制和扩散;且 3) 保护免于病毒致病性。

[0347] 对于 WNV,除血清外,评价在淋巴结、脾和脑中的病毒负荷;对于流行性感冒病毒,评价在心脏、肺、肾、肝和脑中的病毒负荷。这些试验的设计中纳入测定在 100pfu 的 WNV-TX 或 1,000pfu 的流行性感冒病毒的标准攻击之后每一化合物用于 50%和 90%血清病毒负载

抑制 (ED50 和 ED90) 的有效剂量。血清病毒负载是在化合物处理之后以 24 小时间隔通过病毒 RNA 的 qPCR 来测定。使用感染的 WNV 神经入侵 (neuroinvasion) 模型在限制脑神经系统中的 WNV 致病性的 ED50 及 ED90 下测试化合物作用 (戴菲斯 S. (Daffis, S.) 等人, (2008) 类铯样受体 3 具有针对西尼罗河病毒感染的保护性作用 (Toll-like receptor 3 has a protective role against West Nile virus infection), 病毒学杂志 82, 10349-10358)。在 1pfu 的 WNV-MAD 单独或与在感染后 24 小时开始的化合物处理组合的标准颅内攻击之后监测小鼠发病率和死亡率。

[0348] 对于这些和其它活体内病毒感染模型, 化合物 (或医药组合物, 如果适当) 可经由若干途径投与, 包括经口、经鼻、经粘膜、静脉内、经腹膜内、经皮下或经肌内。可用于评价化合物抗病毒活性的其它活体内病毒感染模型包括 SARS、DNV、MCMV 或 EMCV。

[0349] 如所属领域的技术人员应了解, 本文所揭示的每一实施例可包含其特别阐明的元素、步骤、成份或组份, 基本上由其组成或由其组成。因此, 术语“包括 (include 或 including)”应解释为叙述: “包含、由... 组成或基本上由... 组成”。过渡词“包含 (comprise 或 comprises)”意指包括 (但不限于), 且允许包括未指明的元素、步骤、成份或组份, 即使这些是大量的。过渡性词语“由... 组成”排除未指明的任何元素、步骤、成份或组份。过渡性词语“基本上由... 组成”将实施例的范围限于指明的元素、步骤、成份或组份和那些不会实质上影响实施例者。如本文所用, 材料影响将导致所揭示化合物或医药组合物的治疗个体的病毒感染; 降低个体或分析中的病毒蛋白; 降低个体或分析中的病毒 RNA 或降低细胞培养物中的病毒的能力的统计学显著降低。

[0350] 除非另有说明, 否则应了解说明书和权利要求书中所用的所有数字在所有情形中均由术语“约”修饰。因此, 除非说明相反情况, 否则, 说明书和所附权利要求书中所列示数字参数均为可随本发明寻求获得的所要性质而变化的近似值。最低限度地且并非试图限制权利要求书的等效项的准则的应用, 每一数字参数均应至少根据所报告有效数字的数值且通过应用普通舍入技术来解释。在需要进一步明确时, 术语“约”当与所规定数值或范围联合使用时具有所属领域的技术人员合理地归于其的含义, 即, 表示比规定值或范围稍微多或稍微少, 至以下范围内:  $\pm 20\%$  的规定值;  $\pm 19\%$  的规定值;  $\pm 18\%$  的规定值;  $\pm 17\%$  的规定值;  $\pm 16\%$  的规定值;  $\pm 15\%$  的规定值;  $\pm 14\%$  的规定值;  $\pm 13\%$  的规定值;  $\pm 12\%$  的规定值;  $\pm 11\%$  的规定值;  $\pm 10\%$  的规定值;  $\pm 9\%$  的规定值;  $\pm 8\%$  的规定值;  $\pm 7\%$  的规定值;  $\pm 6\%$  的规定值;  $\pm 5\%$  的规定值;  $\pm 4\%$  的规定值;  $\pm 3\%$  的规定值;  $\pm 2\%$  的规定值; 或  $\pm 1\%$  的规定值。

[0351] 尽管描述本发明宽范围的数值范围和参数是近似值, 但在具体实例中所描述的数值尽可能准确地报告。然而, 每一数值固有地含有必然由其各自测试测量中存在的准则偏差所引起的必然误差。

[0352] 除非本文另有说明或上下文明显矛盾, 否则在描述本发明的上下文 (尤其在所附权利要求书的上下文) 中所用术语“一 (a, an)”、“所述”和相似指示物均应理解为涵盖单数与复数二者。本文列举的数值范围仅打算作为个别查阅此范围内各单独值的速记方法。除非本文另有说明, 否则各个别值均如同其在本文中个别引用一般并入本说明书中。除非本文另有说明或上下文另外明显矛盾, 否则, 本文所描述的所有方法可以任何适宜顺序实施。本文所提供的任何和所有实例或实例性语言 (例如, “例如”) 的使用仅打算用以更好地说

明本发明且并不对以其它方式主张的本发明范围加以限制。本说明书中的任何语言均不应解释为指示任何未主张要素对本发明实践是必不可少的。

[0353] 本文所揭示本发明的替代要素或实施例的分组不应解释为具有限制性。各群组成员均可个别地或以与所述群组的其它成员或本文所发现的其它要素的任一组合提及并主张。预计出于便利性和 / 或可专利性的原因,可在群组中纳入群组的一或多个成员或自群组删除群组的一或多个成员。当进行任一此纳入或删除时,认为说明书含有所修改的群组,由此实现所附权利要求书中所用所有马库西群组 (Markush group) 的书面说明。

[0354] 本文描述了本发明的某些实施例,包括本发明者已知用于实施本发明的最佳模式。当然,那些所属领域的技术人员在阅读上述说明后将明了所述所述实施例的变化。本发明者期望所属领域的技术人员适当采用此等变化,且发明者打算本发明可以不同于本文具体描述的方式来实施。因此,本发明包括适用法律所允许的本文所附权利要求书中所引述标的所有修改形式和等效形式。此外,除非本文另有说明或上下文另外明显矛盾,否则在其所有可能的变化中,上述元素的任何组合均涵盖于本发明中。

[0355] 另外,在整个说明书中大量引用了出版物、专利和 / 或专利申请案 (统称为“参考文献”)。每一所引用参考文献针对其特定引用教导以引用的方式个别地并入本文中。

[0356] 本文所示的详情是作为实例且仅用于说明性讨论本发明的优选实施例的目的且为了提供据信是最有用且易于理解本发明各个实施例的原理和概念性态样的描述而呈现。为此,仅详细地展示为了基本上理解本发明所必需的本发明的结构细节,结合附图和 / 或实例进行的说明可使所属领域的技术人员明了如何在实践中体现本发明的若干种形式。

[0357] 除非清晰且明确地在实例中修改或当含义的应用使得任何构造无意义或基本上无意义,否则本发明中所用的定义和解释意欲且打算在任何未来构造中进行控制。在术语的构造使得其无意义或基本上无意义的情形中,定义应来自韦氏辞典 (Webster's Dictionary), 第 3 版或所属领域的技术人员已知的辞典,例如,牛津生物化学与分子生物学词典 (Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology) (编者安东尼·史密斯 (Anthony Smith), 牛津大学出版社 (Oxford University Press), 牛津, 2004)。

[0358] 最后,应了解,本文所揭示的本发明实施例是本发明原理的说明。可采用的其它修改属于本发明范围内。因此,举例来说 (但不限于),可根据本文教导内容利用本发明的替代配置。因此,本发明并不限于所准确显示和描述者。

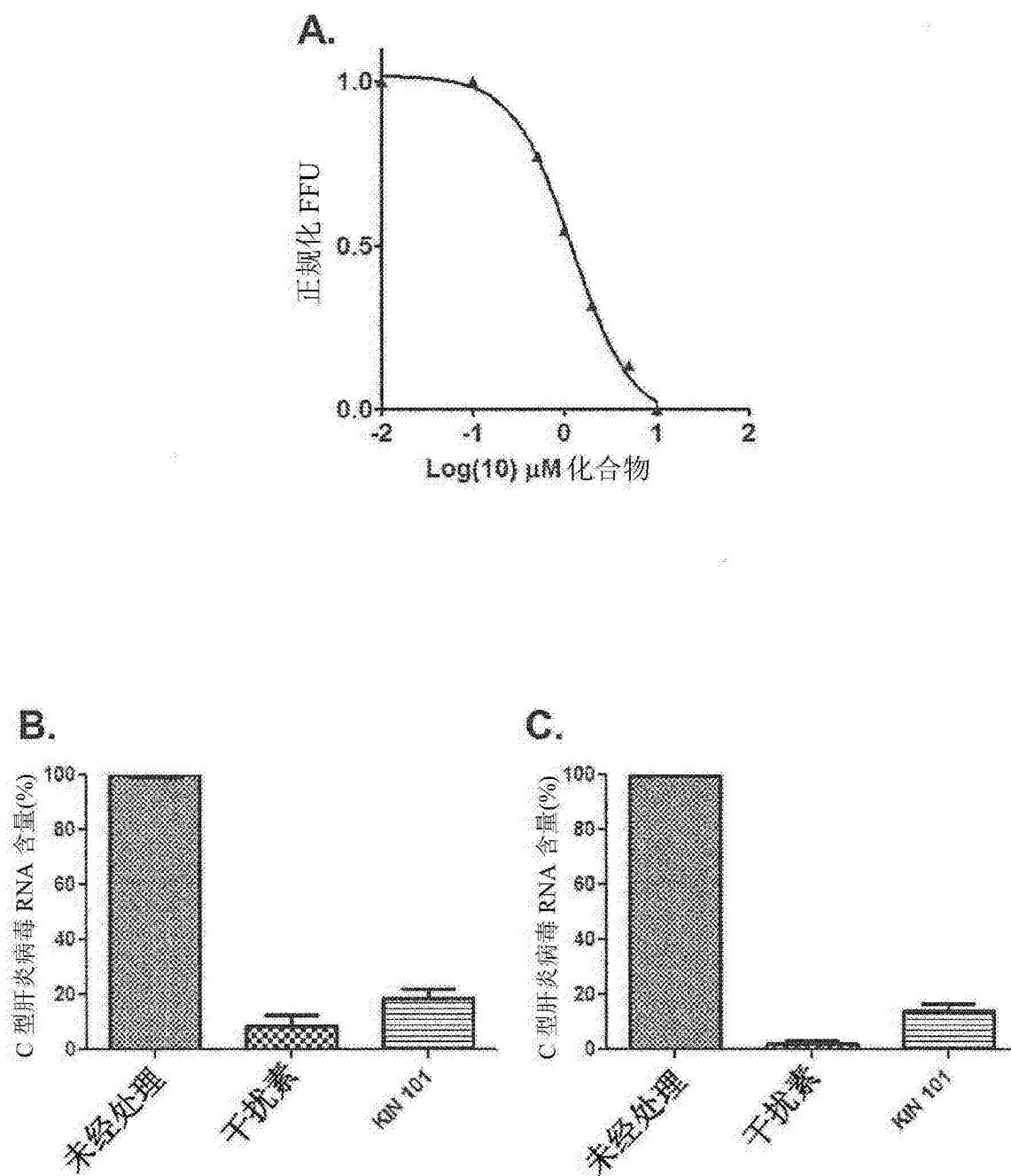
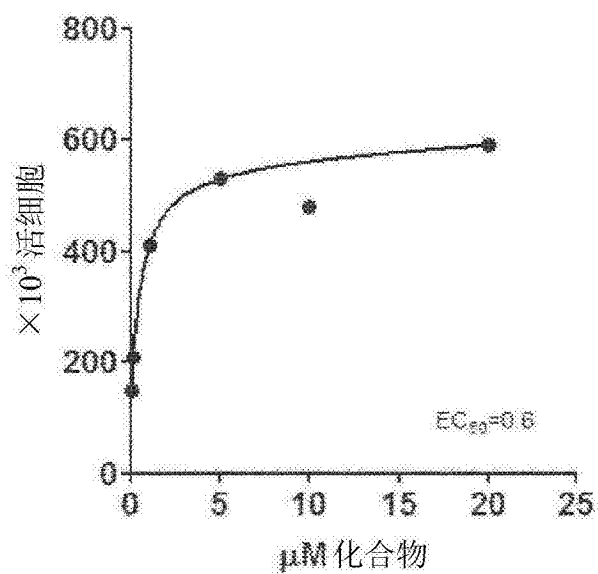


图 1

**A.** 呼吸道合胞体病毒 A2 KIN101  
(在 48 小时约 75%死亡)



**B.**

感染后 48 小时的呼吸道合胞体病毒 A2 病毒 RNA

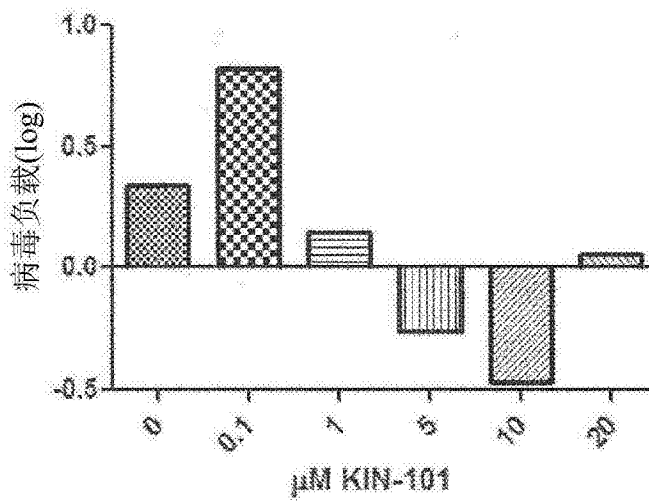


图 2

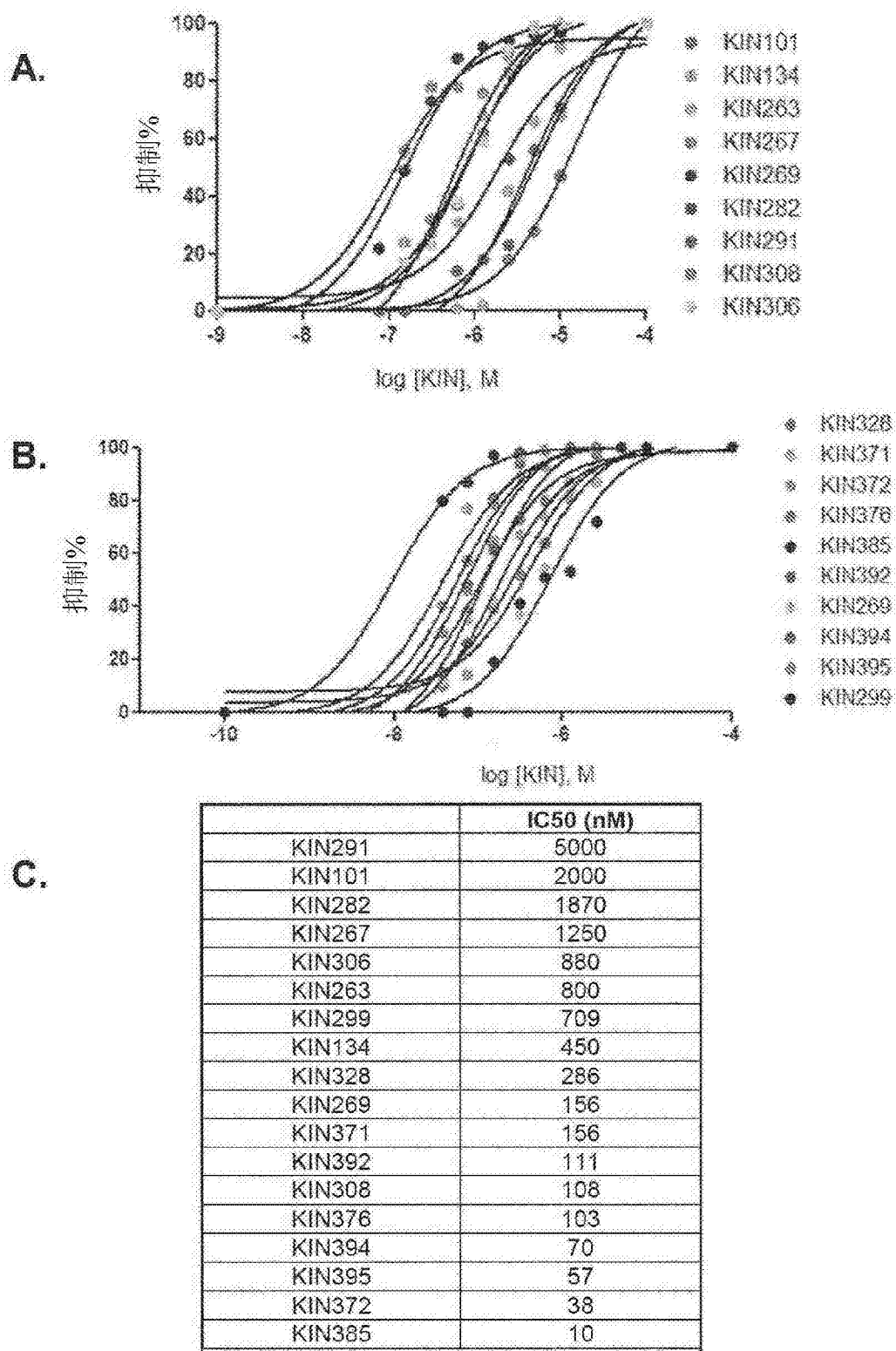


图 3

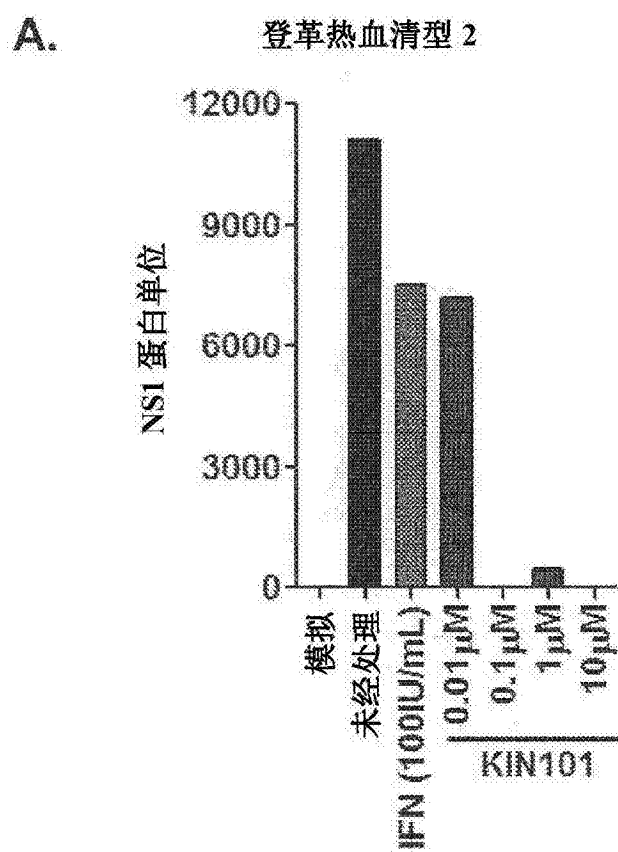


图 4

B.

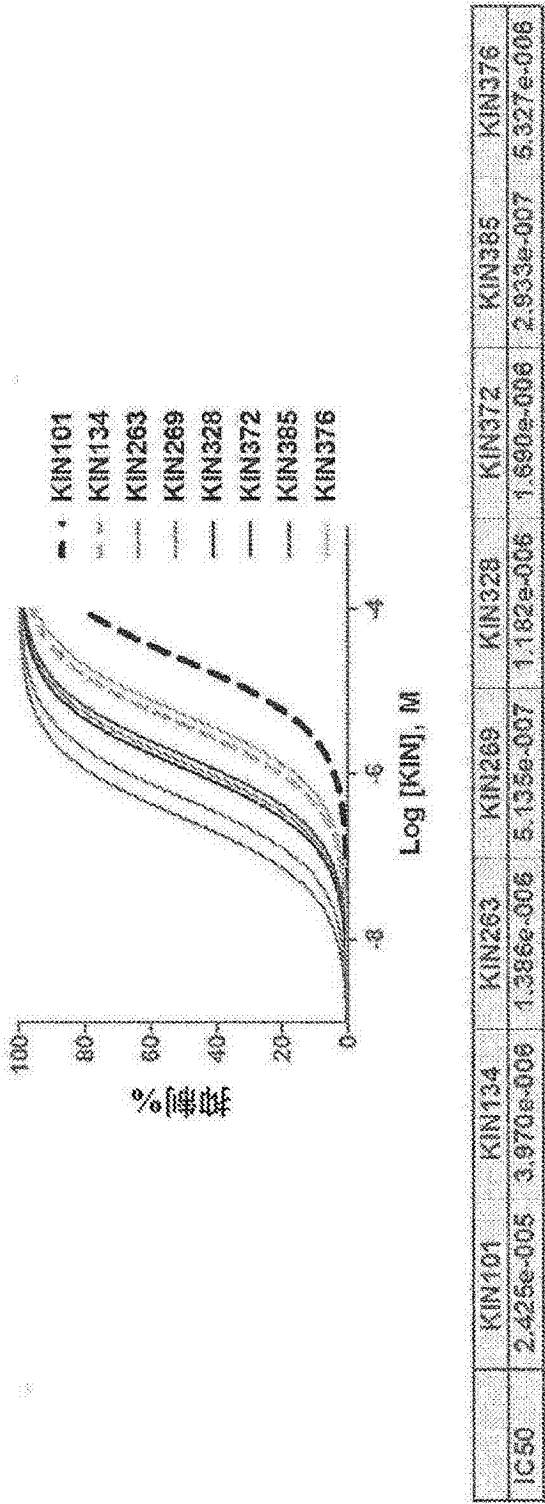
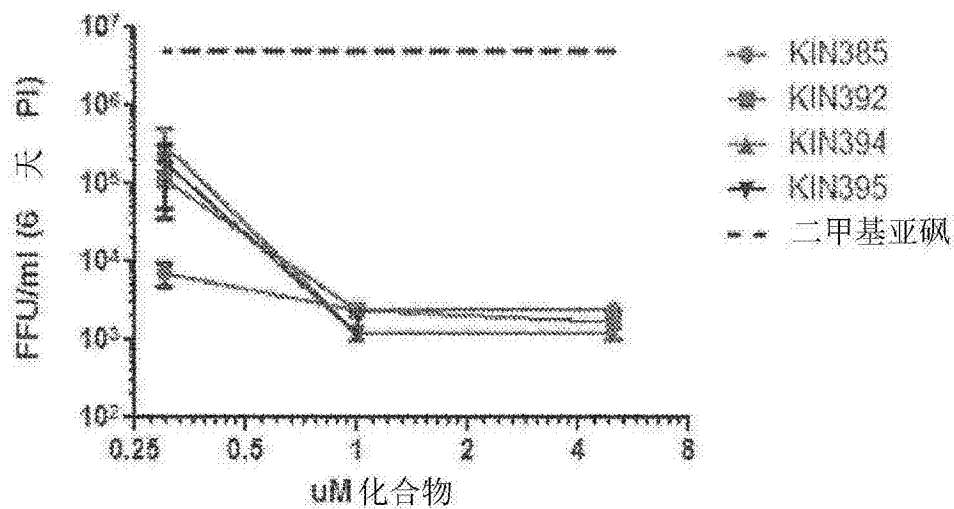


图 4(续)

A.



B.

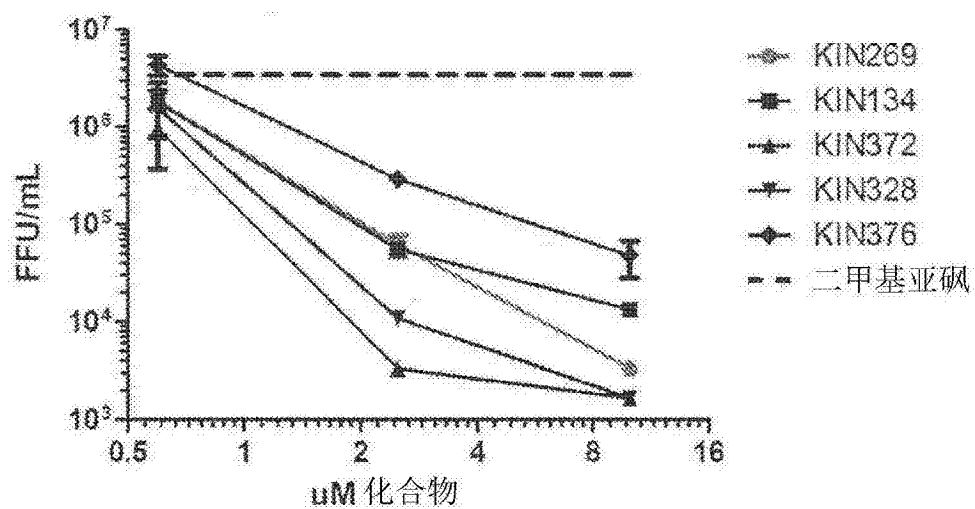


图 5

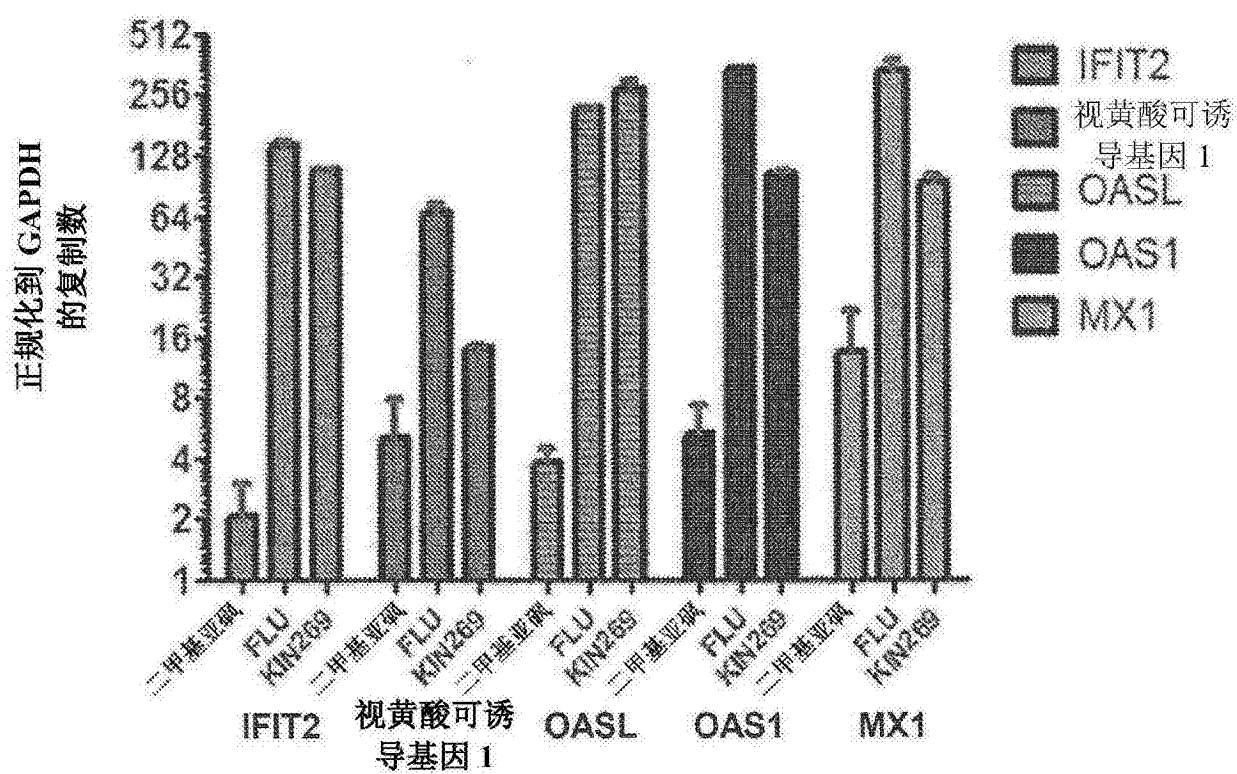


图 6

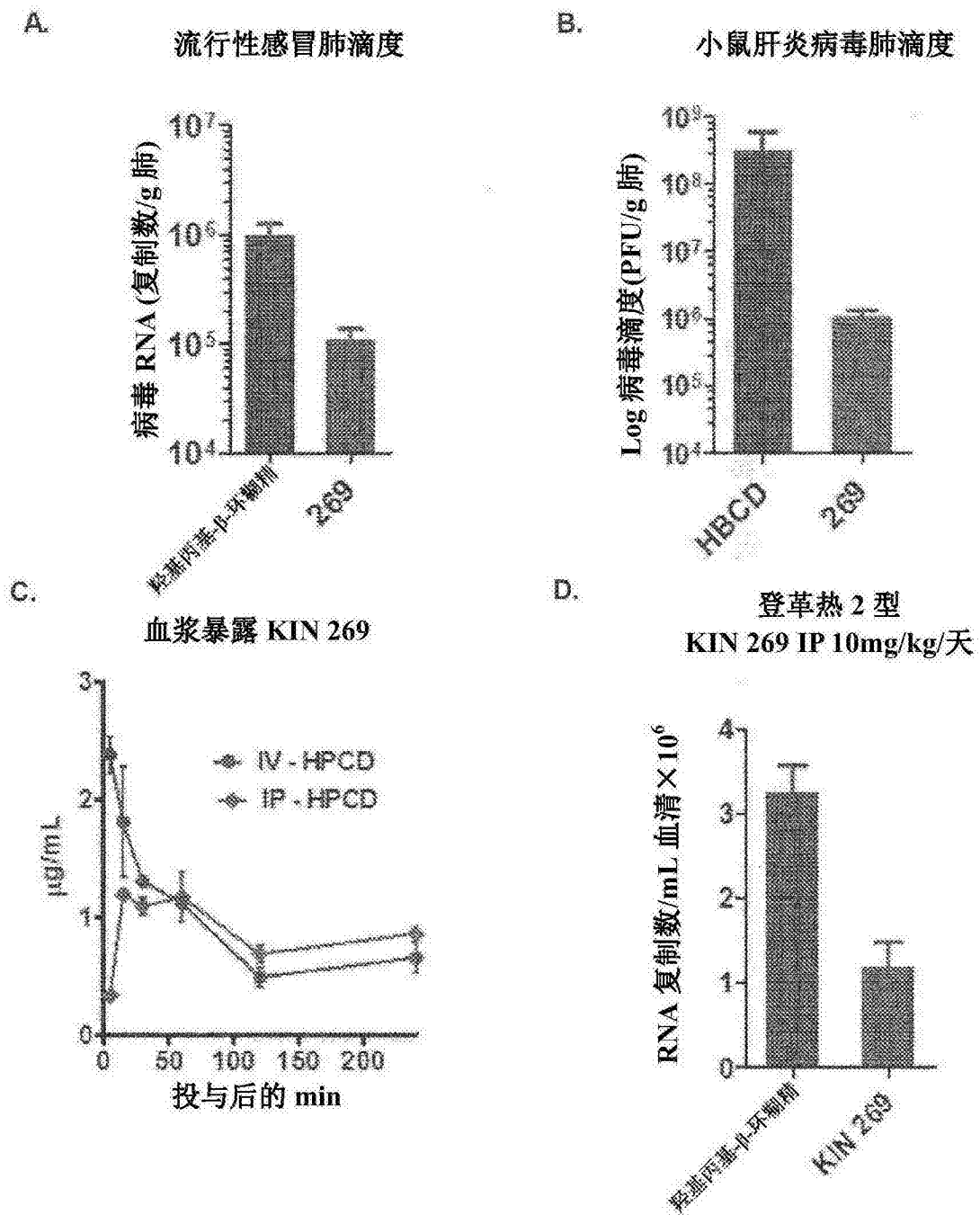


图 7

E.

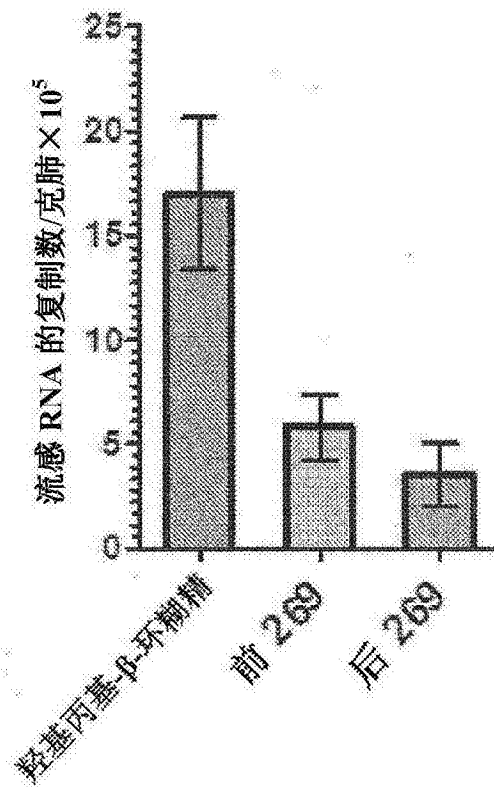


图 7(续)