(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119585271 A
(43)申请公布日 2025.03.07

(21)申请号 202380054756.1
(22)申请日 2023.07.19
(30)优先权数据
22186134.7 2022.07.21 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2025.01.17
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2023/069977 2023.07.19
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2024/017924 EN 2024.01.25
(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司
地址 瑞士巴塞尔
(72)发明人 L·A·布什 W·古帕 G·耶施克
S·K·梅施 A·帕蒂尼-阿达姆
C·施尼德 S·斯坦纳
A·M·托斯托夫
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 郜红
(51)Int.Cl.
C07D 471/04(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61P 11/06(2006.01)
A61K 31/53(2006.01)

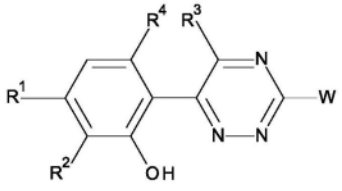
权利要求书4页 说明书21页

(54)发明名称

NLRP3抑制剂

(57)摘要

本发明涉及具有通式(I)的新颖化合物，

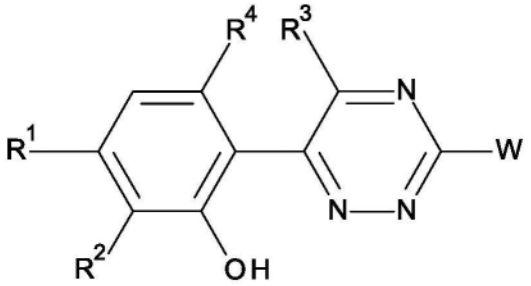


(I)

其中R^1、R^2、R^3、R^4和W如本文所述；包括所述化合物的组合物；以及使用所述化合物的方法。

CN 119585271 A

1.一种式I化合物,



I

R^1为H、卤素、烷基、卤代烷基、卤代烷氧基或氰基;

R^2为H;

或者R^1和R^2以及它们所键合的原子形成4元至6元环烷基或4元至6元杂环,其中所述环烷基和所述杂环任选地经一个或两个独立地选自卤素、烷基或氧代的取代基取代;

R^3选自H、烷基、氰基或卤代烷基,并且R^4选自H、烷基、卤素、氰基或-CH_2-烷氧基,其中R^3和R^4不都是H;

W为8元至10元“N-连接的”双环环系或8元至10元“N-连接的”螺环环系,其中所述N-连接的双环环系或N-连接的螺环环系包含至少2个N杂原子并且可以任选地经最多四个独立地选自羟基、烷基、卤素或氰基的取代基取代;

及其药用盐。

2.根据权利要求1所述的化合物,R^1为氰基或卤代烷基并且R^2为H,或者R^1和R^2以及它们所键合的原子形成包含单个O杂原子的4元至6元杂环,所述杂环任选地经一个或两个独立地选自卤素或烷基的取代基取代。

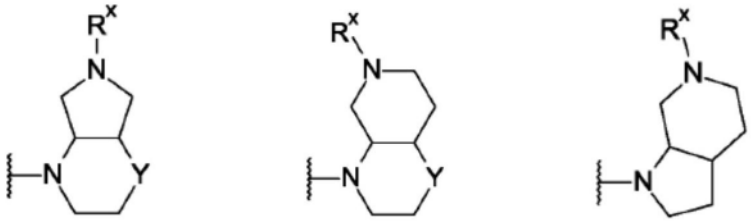
3.根据权利要求1或权利要求2所述的化合物,其中R^1为氰基并且R^2为H,或者R^1和R^2以及它们所键合的原子形成包含单个O杂原子的5元杂环。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中R^3为H或烷基。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的化合物,其中R^3为烷基。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的化合物,其中R^4为H。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的化合物,其中W选自环系A、B或C,



A、B、C

其中

Y为CH_2、O或NR^y;

R^y为H或烷基;

R^x为H或烷基;

并且所述环系A、B或C能够进一步经一个氰基或最多两个卤素取代基取代。

8.根据权利要求7所述的化合物,其中Y为CH_2或O并且R^x为H或烷基。

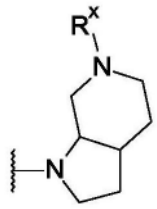
9.根据权利要求1所述的化合物,其中

R^1为氰基并且R^2为H,或者R^1和R^2以及它们所键合的原子形成包含单个O杂原子的5元杂环;

R^3为烷基;

R^4为H;

W为环系C



C

R^x为烷基;

及其药用盐。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的化合物,其中所述化合物选自5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

4-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈;

4-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈;

5-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

5-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

4-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-

2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈;

4-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈;

及其药用盐。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的化合物,其中所述化合物选自

5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

4-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈;

5-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

4-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈;

及其药用盐。

12.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其用作治疗活性物质。

13.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其用于治疗或预防疾病、疾患或病症,其中所述疾病、疾患或病症对NLRP3抑制有应答。

14.一种药物组合物,其包含根据权利要求1至11中任一项所述的化合物以及治疗惰性载体。

15.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物用于治疗或预防疾病、疾患或病症的用途,其中所述疾病、疾患或病症对NLRP3抑制有应答。

16.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其用于治疗或预防选自哮喘或COPD的疾病、疾患或病症。

17.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其用于治疗或预防选自帕金森病或阿尔茨海默病的疾病、疾患或病症。

18.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物在治疗或预防选自哮喘或COPD的疾病、疾患或病症中的用途。

19.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物在治疗或预防选自帕金森病或阿尔茨

海默病的疾病、疾患或病症中的用途。

20.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗或预防选自哮喘或COPD的疾病、疾患或病症。

21.根据权利要求1至11中任一项所述的化合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗或预防选自帕金森病或阿尔茨海默病的疾病、疾患或病症。

22.一种抑制NLRP3的方法,所述方法包括施用有效量的如权利要求1至11中任一项中所请求保护的化合物以抑制NLRP3。

23.一种治疗或预防疾病、疾患或病症的方法,所述方法包括施用有效量的根据权利要求1至171中任一项所述的化合物,其中所述疾病、疾患或病症选自哮喘或COPD。

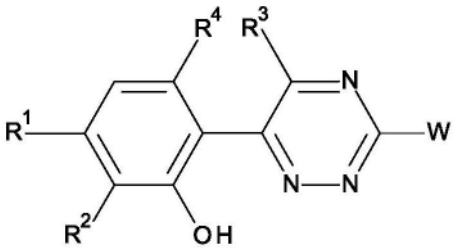
24.一种治疗或预防疾病、疾患或病症的方法,所述方法包括施用有效量的根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其中所述疾病、疾患或病症选自帕金森病或阿尔茨海默病。

NLRP3抑制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及可用于哺乳动物的治疗和/或预防的有机化合物,并且特别地涉及调节NLRP3抑制的化合物。

[0002] 本发明提供式I的新颖化合物,

[0003] 

I

[0004] 其中

[0005] R^1为H、卤素、烷基、卤代烷基、卤代烷氧基或氰基;

[0006] R^2为H;

[0007] 或者R^1和R^2以及它们所键合的原子形成4元至6元环烷基或4元至6元杂环,其中环烷基和杂环任选地经一个或两个独立地选自卤素、烷基或氧代的取代基取代;

[0008] R^3选自H、烷基、氰基或卤代烷基,并且R^4选自H、烷基、卤素、氰基或-CH_2-烷氧基,其中R^3和R^4不都是H;

[0009] W为8元至10元N-连接的双环环系或8元至10元N-连接的螺环环系,其中N-连接的双环环系或N-连接的螺环环系包含至少2个N杂原子并且可以任选地经最多四个独立地选自羟基、烷基、卤素或氰基的取代基取代;

[0010] 及其药用盐。

[0011] 此外,本发明包括所有外消旋混合物、它们的全部相应对映体和/或光学异构体。

背景技术

[0012] NOD样受体(NLR)家族(含pyrin结构域的蛋白3(NLRP3)炎性体)为炎症过程的组分,并且其异常活性在遗传性疾患诸如Cryopyrin相关的周期性综合征(CAPS)和复杂疾病诸如多发性硬化症、2型糖尿病、阿尔茨海默病和动脉粥样硬化中具有致病性。

[0013] NLRP3是一种细胞内信号分子,可感知许多病原体来源、环境和宿主来源的因素。活化后,NLRP3与凋亡相关斑点样蛋白结合,该蛋白含有胱天蛋白酶活化和募集结构域(ASC)。然后,ASC聚合形成大的聚集体,称为ASC斑点。聚合ASC继而与半胱氨酸蛋白酶胱天蛋白酶-1相互作用,以形成称为炎性体的络合物。这导致胱天蛋白酶-1的活化,其裂解促炎症性细胞因子IL-1β和IL-18的前体形式(分别称为pro-IL-1β和pro-IL-18),从而活化这些细胞因子。胱天蛋白酶-1还介导一种类型的称为细胞焦亡的炎症细胞死亡。ASC斑点也可募集并且活化胱天蛋白酶-8,后者可处理pro-IL-1β和pro-IL-18并且触发凋亡细胞死亡。

[0014] 胱天蛋白酶-1将pro-IL-1β和pro-IL-18裂解为其活性形式,这些活性形式由细胞分泌。活性胱天蛋白酶-1还裂解gasdermin-D以触发细胞焦亡。胱天蛋白酶-1也可通过控制

焦亡细胞死亡通路来介导警报蛋白分子诸如IL-33和高迁移率族蛋白1(HMGB1)的释放。胱天蛋白酶-1还裂解细胞内IL-1R2,导致其降解并且使IL-1α释放。在人体细胞中,胱天蛋白酶-1还可控制IL-37的加工和分泌。胱天蛋白酶-1的许多其他底物诸如细胞骨架和糖酵解通路的组分可能导致胱天蛋白酶-1依赖性炎症。

[0015] NLRP3依赖性ASC斑点释放到细胞外环境中,在那里该斑点可活化胱天蛋白酶-1、诱导胱天蛋白酶-1底物的加工并且传播炎症。

[0016] 来源于NLRP3炎性体活化的活性细胞因子是炎症的重要驱动因素,并且与其他细胞因子通路相互作用以形成对感染和损伤的免疫应答。例如,IL-1β信号传导诱导促炎症性细胞因子IL-6和TNF的分泌。IL-1β和IL-18与IL-23协同作用以诱导记忆性CD4 Th17细胞和γδT细胞在缺乏T细胞受体参与的情况下产生IL-17。IL-18和IL-12也协同以诱导来自记忆性T细胞和NK细胞产生IFN-γ,驱动Th1应答。

[0017] 遗传性CAPS疾病Muckle-Wells综合征(MWS)、家族性寒冷型自身炎症综合征(FCAS)和新生儿发作的多系统炎症性疾病(NOMID)由NLRP3的功能获得型突变引起,因此将NLRP3定义为炎症过程的关键组分。NLRP3也与许多复杂疾病的发病机理有关,这些疾病特别地包括代谢疾患诸如2型糖尿病、动脉粥样硬化、肥胖症和痛风。

[0018] NLRP3在中枢神经系统疾病中的作用正在显现,并且肺部疾病也被证明受到NLRP3的影响。此外,NLRP3在肝病、肾病和衰老的发展中具有作用。这些关联中的许多是使用$Nlrp3^{-/-}$小鼠来定义的,但是也有关于这些疾病中NLRP3特异性活化的见解。在2型糖尿病(T2D)中,胰岛淀粉样蛋白多肽在胰腺中的沉积活化NLRP3和IL-1β信号传导,从而导致细胞死亡和炎症。

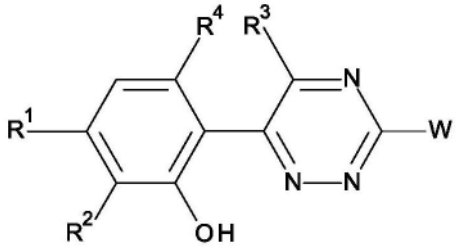
[0019] 数种小分子已证明用于抑制NLRP3炎性小体。格列本脲响应于NLRP3而不是NLRC4或NLRP1的活化,在微摩尔浓度下抑制IL-1β产生。其他先前表征的弱NLRP3抑制剂包括小白菊内酯、3,4-亚甲二氧基-β-硝基苯乙烯和二甲基亚砜(DMSO),尽管这些药剂具有有限的效力并且是非特异性的。

[0020] 目前针对NLRP3相关疾病的治疗包括靶向IL-1的生物药剂。这些是重组IL-1受体拮抗剂阿那白滞素、中和IL-1β抗体卡那单抗(canakinumab)和可溶性诱饵IL-1受体利纳西普(rilonacept)。这些方法已被证明可以成功治疗CAPS,并且这些生物药剂已用于针对其他IL-1β相关疾病的临床试验。

[0021] 需要提供具有改善的药理和/或生理和/或理化特性的化合物,和/或为已知化合物提供有用的替代品的化合物。

发明内容

[0022] 本发明提供了式I的新颖化合物:

[0023] 

I

[0024] 其中

[0025] R^1为H、卤素、烷基、卤代烷基、卤代烷氧基或氰基；

[0026] R^2为H；

[0027] 或者R^1和R^2以及它们所键合的原子形成4元至6元环烷基或4元至6元杂环，其中环烷基和杂环任选地经一个或两个独立地选自卤素、烷基或氧代的取代基取代；

[0028] R^3选自H、烷基、氰基或卤代烷基，并且R^4选自H、烷基、卤素、氰基或-CH_2-烷氧基，其中R^3和R^4不都是H；

[0029] W为8元至10元“N-连接的”双环环系或8元至10元“N-连接的”螺环环系，其中N-连接的双环环系或N-连接的螺环环系包含至少2个N杂原子并且可以任选地经最多四个独立地选自羟基、烷基、卤素或氰基的取代基取代；

[0030] 及其药用盐。

[0031] 术语“烷基”表示具有1至6个碳原子的单价直链或支链饱和烃基。在一些实施例中，如果没有另行说明，则烷基包含1个至6个碳原子(C_{1-6}-烷基)或1个至4个碳原子(C_{1-4}-烷基)。C_{1-6}-烷基的实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基和戊基。特别的烷基包括甲基和乙基。当指出具有特定碳数的烷基残基时，可涵盖具有该碳数的所有几何异构体。因此，例如“丁基”可包括正丁基、仲丁基、异丁基和叔丁基，并且“丙基”可包括正丙基和异丙基。

[0032] 术语“烷氧基”表示式-O-R’的基团，其中R’为C_{1-6}-烷基基团。C_{1-6}-烷氧基基团的实例包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基和叔丁氧基。

[0033] 术语“氰基”表示-C≡N基团。

[0034] 术语“环烷基”表示单环或多环饱和或部分不饱和的非芳族烃。在一些实施例中，除非另外描述，否则环烷基包含3个至8个碳原子、3个至6个碳原子或3个至5个碳原子。在一些实施例中，环烷基为饱和单环或多环烃。在其他实施例中，环烷基包含一个或多个双键(例如稠合至芳基或杂芳基环的环烷基，或包含一个或两个双键的非芳族单环烃)。环烷基基团的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、八氢并环戊二烯基、螺[3.3]庚烷基等。单环环烷基的实例为环丙基、环丁基、环戊基、环己基或环庚基。

[0035] 术语“卤素”、“卤化物”和“卤代”在本文中可互换使用并且表示氟、氯、溴或碘。

[0036] 术语“卤代烷基”表示其中C_{1-6}-烷基基团的至少一个氢原子已被相同或不同的卤素原子替换的C_{1-6}-烷基基团。

[0037] 术语“卤代烷氧基”表示其中C_{1-6}-烷氧基基团的至少一个氢原子已被相同或不同的卤素原子替换的C_{1-6}-烷氧基基团。

[0038] 术语“杂环”表示4至10个环原子或4至9个环原子的单价饱和或部分不饱和的单环或双环体系，其包含1、2或3个选自N、O和S的环杂原子，剩余的环原子是碳。单环饱和杂环的实例是氧杂环丁烷基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、吡唑烷基、咪唑烷基、噁唑烷基、异噁唑烷基、噻唑烷基、哌啶基、四氢吡喃基、四氢噻喃基或哌嗪基。部分不饱和杂环的实例是二氢呋喃基、咪唑啉基、二氢噁唑基、四氢吡啶基或二氢吡喃基。杂环的特定实例是四氢呋喃。

[0039] 术语“N-连接的双环环系”表示包含两个共有两个碳原子的环的最多10个环原子的杂环系统，其中该双环环系通过N-杂原子连接至分子的其余部分。N-连接的双环环系的

实例包括(6-乙基)-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基。

[0040] 术语“N-连接的螺环环系”表示包含在单个碳原子处结合的两个环的最多10个环原子的杂环系统,并且其中螺环环系通过N-杂原子连接至分子的其余部分。

[0041] 术语“羟基”表示-OH基团。

[0042] 术语“氧代”表示双键氧(=O),即羰基基团。

[0043] 术语“药用盐”是指保留游离碱或游离酸的生物效果和性质的那些盐,这些盐在生物学或其他方面不是不合需要的。这些盐用无机酸诸如三氟乙酸、盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸(特别是盐酸)和有机酸诸如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸、N-乙酰基半胱氨酸形成。另外,这些盐可通过将无机碱或有机碱加入游离酸中来制备。衍生自无机碱的盐包括但不限于钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐。衍生自有机碱的盐包括但不限于以下物质的盐:伯胺、仲胺和叔胺,包括天然存在的取代胺的取代胺,环胺和碱性离子交换树脂,如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、赖氨酸、精氨酸、N-乙基哌啶、哌啶、多胺树脂。式I化合物也可以两性离子的形式存在。特别优选的式I化合物的药用盐是与甲酸形成的盐和与盐酸形成的盐,产生盐酸盐、二盐酸盐或三盐酸盐。

[0044] 缩写uM意指微摩尔,并且与符号μM等同。

[0045] 缩写uL意指微升,并且与符号μL等同。

[0046] 缩写ug意指微克,并且与符号μg等同。

[0047] 式I化合物可以含有若干不对称中心,并且可以以光学纯对映体、对映体的混合物(例如外消旋体)、光学纯非对映体、非对映体的混合物、非对映外消旋体或非对映外消旋体的混合物存在。

[0048] 根据Cahn-Ingold-Prelog规范,不对称碳原子可以是"R"或"S"构型。

[0049] 本发明的另一实施例提供如本文所述的根据式I的化合物及其药用盐或酯,特别是如本文所述的根据式I的化合物及其药用盐,更特别地是如本文所述的根据式I的化合物。

[0050] 本发明的一实施例提供如本文所述的根据式I的化合物,其中R^1为氰基且R^2为H,或者R^1和R^2以及它们所键合的原子形成包含单个O杂原子的4元至6元杂环,该杂环任选地经一个或两个独立地选自卤素或烷基的取代基取代。

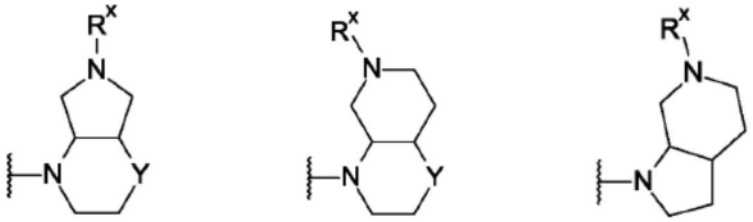
[0051] 本发明的一实施例提供如本文所述的根据式I的化合物,其中R^1为氰基且R^2为H,或者R^1和R^2以及它们所键合的原子形成包含单个O杂原子的5元杂环。

[0052] 本发明的一实施例提供如本文所述的根据式I的化合物,其中R^3为H或烷基。

[0053] 本发明的一实施例提供如本文所述的根据式I的化合物,其中R^3为烷基。

[0054] 本发明的一实施例提供如本文所述的根据式I的化合物,其中R^4为H。

[0055] 本发明的一实施例提供如本文所述的根据式I的化合物,其中W选自环系A、B或C,

[0056] 

A 、 B 、 C

[0057] 其中

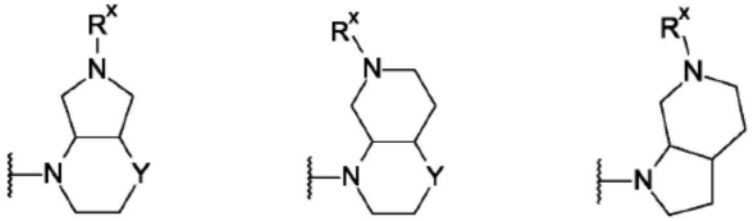
[0058] Y为CH_2、O或NR^y;

[0059] R^y为H或烷基;

[0060] R^x为H或烷基;

[0061] 并且环系A、B或C能够进一步经一个氰基或最多两个卤素取代基取代。

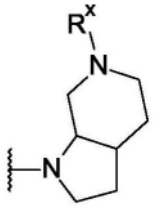
[0062] 本发明的一实施例提供如本文所述的根据式I的化合物,其中W选自环系A、B或C,

[0063] 

A 、 B 、 C

[0064] 其中Y为CH_2或O并且R^x为H或烷基。

[0065] 本发明的一实施例提供如本文所述的根据式I的化合物,其中W为环系C

[0066] 

C

[0067] 其中R^x为烷基。

[0068] 本发明的一实施例提供根据式I的化合物,

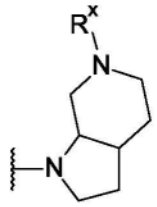
[0069] 其中

[0070] R^1为氰基且R^2为H,或者R^1和R^2以及它们所键合的原子形成包含单个O杂原子的5元杂环;

[0071] R^3为烷基;

[0072] R^4为H;

[0073] W为环系C

[0074] 

C

[0075] R^x为烷基；

[0076] 及其药用盐。

[0077] 如本文所述的式I化合物的特别的实例选自

[0078] 5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇；

[0079] 5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇；

[0080] 4-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈；

[0081] 4-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈；

[0082] 5-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇；

[0083] 5-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇；

[0084] 4-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈；

[0085] 4-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈；

[0086] 及其药用盐。

[0087] 如本文所述的式I化合物的优选实例选自

[0088] 5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

[0089] 5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

[0090] 4-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈或4-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈;

[0091] 5-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇或5-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇;

[0092] 及其药用盐。

[0093] 制造如本文所述的式I化合物的方法是本发明的目的。

[0094] 本发明的另一实施例提供一种含有本发明化合物和治疗惰性载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物或药物,以及使用本发明化合物来制备此类组合物和药物的方法。在一个实例中,式I化合物可通过在环境温度在适当的pH和期望的纯度下与生理学上可接受的载体(即在所用剂量和浓度下对接受者无毒的载体)混合而配制为盖伦(galenical)施用形式。配制物的pH主要取决于化合物的具体用途和浓度,但优选地在约3至约8的范围内。在一个实例中,将式I化合物在pH 5的乙酸盐缓冲液中配制。在另一实例中,式I化合物为无菌的。化合物可以例如作为固体或无定形组合物、作为冻干配制物或作为水溶液储存。

[0095] 以与良好医学实践一致的方式配制、计量和施用组合物。在这种情况下需要考虑的因素包括所治疗的特定疾患、所治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床病症、疾患的原因、药剂的递送部位、施用方法、施用的时间安排,以及执业医师已知的其他因素。

[0096] 本发明的化合物可通过任何适合的方式施用,包括口服、局部(包括颊和舌下)、直肠、阴道、经皮、肠胃外、皮下、腹膜内、肺内、皮内、鞘内和硬膜外和鼻内,以及(如果需要用于局部治疗)病灶内施用。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。

[0097] 本发明化合物可以任何方便的施用形式施用,例如,片剂、粉剂、胶囊剂、溶液剂、分散剂、混悬剂、糖浆剂、喷雾剂、栓剂、凝胶剂、乳剂、贴剂等。此类组合物可以包含药物制剂中常规的组分,例如,稀释剂、载体、pH调节剂、甜味剂、填充剂和其他活性剂。

[0098] 通过混合本发明的化合物和载体或赋形剂来制备通常的配制物。适合的载体和赋形剂为本领域技术人员熟知的,并且在例如Ansel,Howard C.等人,Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems.Philadelphia:Lippincott,Williams和Wilkins,2004;Gennaro,Alfonso R.等人Remington:The Science and Practice of Pharmacy.Philadelphia:Lippincott,Williams和Wilkins,2000;以及Rowe,Raymond C.Handbook of Pharmaceutical Excipients.Chicago,Pharmaceutical

Press,2005中有详细描述。配制物还可以包含一种或多种缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、润湿剂、润滑剂、乳化剂、悬浮剂、防腐剂、抗氧化剂、不透明剂、助流剂、加工助剂、着色剂、甜味剂、加香剂、调味剂、稀释剂和其他已知的添加剂,以提供美观的药物(例如,本发明的化合物或其药物组合物)展示或有助于药物产品(例如,药物)的制备。

[0099] 式I化合物及其药用盐可与药学上惰性的无机或有机助剂一起加工,以用于生产片剂、包衣片剂、糖衣丸、硬明胶胶囊、注射液或局部制剂。例如,可使用乳糖、玉米淀粉或其衍生物、滑石粉、硬脂酸或其盐等作为片剂、糖衣丸和硬明胶胶囊的此类助剂。

[0100] 用于软明胶胶囊的合适的助剂为例如植物油、蜡、脂肪、半固体物质和液体多元醇等。

[0101] 用于制备溶液和糖浆的合适的助剂为例如水、多元醇、蔗糖、转化糖、葡萄糖等。

[0102] 用于注射液的合适的助剂为例如水、醇、多元醇、甘油、植物油等。

[0103] 用于栓剂的合适的助剂为例如天然或硬化油、蜡、脂肪、半固体或液体多元醇等。

[0104] 用于局部眼用制剂的合适的助剂为例如环糊精、甘露醇或本领域已知的许多其他载体和赋形剂。

[0105] 此外,药物制剂可以含有防腐剂、增溶剂、增粘物质、稳定剂、润湿剂、乳化剂、甜味剂、着色剂、香料、用于改变渗透压的盐、缓冲剂掩模剂或抗氧化剂。它们还可以含有其他有治疗价值的物质。

[0106] 剂量可以在宽范围内变化,当然将适合每种特定情况下的各种要求。一般而言,在口服施用的情况下,每kg体重约0.1mg至20mg、优选地每kg体重约0.5mg至4mg(例如每人约300mg)的日剂量应当是合适的,其优选地分为1至3个单独的剂量(可由例如相同的量组成)。在局部施用的情况下,配制物可包含按重量计0.001%至15%的药物,并且所需剂量可以为0.1mg至25mg,每天或每周单次施用、或每天多次施用(2至4次),或每周多次施用。但是,显而易见的是,当显示为适用时,可超过本文中给出的上限或下限。

[0107] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物,其用作治疗活性物质。

[0108] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物,其用于治疗或预防疾病、疾患或病症,其中该疾病、疾患或病症对NLRP3抑制有应答。

[0109] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物,其用于治疗或预防疾病、疾患或病症,其中该疾患或病症对NLRP3抑制有应答。

[0110] 如本文所用,术语“NLRP3抑制”是指NLRP3活性水平的完全或部分降低,并且包括例如抑制活性NLRP3和/或抑制NLRP3的活化。

[0111] 有证据表明NLRP3诱导的IL-1和IL-18在与多种不同疾患相关或由多种不同疾患引起的炎症应答中发挥作用(Menu等人,Clinical and Experimental Immunology,166:1-15,2011;Strowig等人,Nature,481:278-286,2012)。

[0112] 在一个实施例中,疾病、疾患或病症选自:

[0113] (i)炎症;

[0114] (ii)自身免疫性疾病;

[0115] (iii)癌症;

[0116] (iv)感染;

[0117] (v)中枢神经系统疾病;

[0118] (vi)代谢疾病;

[0119] (vii)心血管疾病;

[0120] (viii)呼吸道疾病;

[0121] (ix)肝脏疾病;

[0122] (x)肾脏疾病;

[0123] (xi)眼部疾病;

[0124] (xii)皮肤疾病;

[0125] (xiii)淋巴病症;

[0126] (xiv)心理紊乱;

[0127] (xv)移植物抗宿主病;

[0128] (xvi)异常性疼痛;

[0129] (xvii)与糖尿病相关的病症;以及

[0130] (xviii)已确定个体携带NLRP3中种系或体细胞非沉默突变的任何疾病

[0131] 在另一个实施例中,疾病、疾患或病症选自:

[0132] (i)癌症;

[0133] (ii)感染;

[0134] (iii)中枢神经系统疾病;

[0135] (iv)心血管疾病;

[0136] (v)肝脏疾病;

[0137] (vi)眼部疾病;或

[0138] (vii)皮肤疾病。

[0139] 在本发明的再一个典型实施例中,疾病、疾患或病症是炎症。可以治疗或预防的炎症的实例包括与以下疾病相关或由以下疾病引起的炎症应答:

[0140] (i)皮肤病,诸如接触性超敏反应、大疱性类天疱疮、晒伤、牛皮癣、特应性皮炎、接触性皮炎、过敏性接触性皮炎、脂溢性皮炎、扁平苔藓、硬皮病、天疱疮、大疱性表皮松解症、荨麻疹、红斑或脱发;

[0141] (ii)关节病,诸如骨关节炎、系统性幼年特发性关节炎、成人发作的斯蒂尔病、复发性多软骨炎、类风湿性关节炎、幼年慢性关节炎、痛风或血清阴性脊柱关节病(例如强直性脊柱炎、银屑病关节炎或赖特尔病);

[0142] (iii)肌肉疾病,诸如多发性肌炎或重症肌无力;

[0143] (iv)胃肠道疾病,诸如炎症性肠病(包括克罗恩病和溃疡性结肠炎)、结肠炎、胃溃疡、乳糜泻、直肠炎、胰腺炎、嗜酸性胃肠炎、肥大细胞增多症、抗磷脂综合征,或可能对肠道以外产生影响的食物相关过敏(例如偏头痛、鼻炎或湿疹);

[0144] (v)呼吸系统疾病,诸如慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘(包括嗜酸粒细胞性哮喘、支气管哮喘、过敏性哮喘、内源性哮喘、外源性哮喘或粉尘性哮喘,且特别是慢性或顽固性哮喘,诸如晚期哮喘和气道高反应性)、支气管炎、鼻炎(包括急性鼻炎、过敏性鼻炎、萎缩性鼻炎、慢性鼻炎、干酪性鼻炎、肥厚性鼻炎、脓疱性鼻炎、干燥性鼻炎、药物性鼻炎、膜性鼻炎、季节性鼻炎例如花粉热和血管舒缩性鼻炎)、鼻窦炎、特发性肺纤维化(IPF)、结节病、农民肺、矽肺、石棉肺、火山灰引起的炎症、成人呼吸窘迫综合征、过敏性肺炎或特发性间质性肺

炎;

[0145] (vi)血管疾病,诸如动脉粥样硬化、白塞氏病、血管炎或韦格氏肉芽肿病;

[0146] (vii)自身免疫性疾病,诸如系统性红斑狼疮、干燥综合征、系统性硬化症、桥本甲状腺炎、I型糖尿病、特发性血小板减少性紫癜或格雷夫斯病;

[0147] (viii)眼部疾病,诸如葡萄膜炎、过敏性结膜炎或春季结膜炎;

[0148] (ix)神经疾病,诸如多发性硬化症或脑脊髓炎;

[0149] (x)感染或感染相关疾病,诸如获得性免疫缺陷综合征(AIDS)、急性或慢性细菌感染、急性或慢性寄生虫感染、急性或慢性病毒感染、急性或慢性真菌感染、脑膜炎、肝炎(甲型、乙型或丙型或其他病毒性肝炎)、腹膜炎、肺炎、会厌炎、疟疾、登革出血热、利什曼病、链球菌性肌炎、结核分枝杆菌(包括结核分枝杆菌和HIV合并感染)、胞内鸟分枝杆菌、卡氏肺囊虫肺炎、睾丸炎/附睾炎、军团菌、莱姆病、甲型流感、EB病毒感染、病毒性脑炎/无菌性脑膜炎或盆腔炎性疾病;

[0150] (xi)肾脏疾病,诸如系膜增生性肾小球肾炎、肾病综合征、肾炎、肾小球肾炎、肥胖相关性肾小球病、急性肾衰竭、急性肾损伤、尿毒症、肾病综合征、肾纤维化(包括慢性晶体肾病)或肾性高血压;

[0151] (xii)淋巴疾病,诸如Castleman病;

[0152] (xiii)免疫系统的疾病或涉及免疫系统的疾病,诸如高IgE综合征、麻风病、家族性噬血细胞性淋巴组织细胞增多症或移植物抗宿主病;

[0153] (xiv)肝脏疾病,诸如慢性活动性肝炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、酒精性肝炎、非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)、酒精性脂肪性肝病(AFLD)、酒精性脂肪性肝炎(ASH)、原发性胆汁性肝硬化、暴发性肝炎、肝纤维化或肝功能衰竭;

[0154] (xv)癌症,包括上面列出的那些癌症;

[0155] (xvi)烧伤、创伤、外伤、出血或中风;

[0156] (xvii)辐射暴露;

[0157] (xviii)代谢性疾病,诸如2型糖尿病(T2D)、动脉粥样硬化、肥胖、痛风或假性痛风;和/或

[0158] (xix)疼痛,诸如炎症性痛觉过敏、盆腔疼痛、异常性疼痛、神经性疼痛或癌症引起的骨痛。

[0159] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物在治疗或预防选自阿尔茨海默病和帕金森病的疾病、疾患或病症中的用途。

[0160] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物用于治疗或预防选自哮喘或COPD的疾病、疾患或病症的用途。

[0161] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物用于治疗或预防选自炎症性肠病(包括克罗恩病和溃疡性结肠炎)的疾病、疾患或病症的用途。

[0162] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物,其用于治疗或预防选自阿尔茨海默病和帕金森病的疾病、疾患或病症。

[0163] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物,其用于治疗或预防选自哮喘或COPD的疾病、疾患或病症。

[0164] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物,其用于治疗或预防选自炎

症性肠病(包括克罗恩病和溃疡性结肠炎)的疾病、疾患或病症。

[0165] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物用于制备药物的用途,该药物用于治疗或预防选自阿尔茨海默病和帕金森病的疾病、疾患或病症。

[0166] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物用于制备药物的用途,该药物用于治疗或预防选自哮喘或COPD的疾病、疾患或病症。

[0167] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物用于制备药物的用途,该药物用于治疗或预防选自炎症性肠病(包括克罗恩病和溃疡性结肠炎)的疾病、疾患或病症。

[0168] 本发明的一实施例是一种治疗或预防选自阿尔茨海默病和帕金森病的疾病、疾患或病症的方法,该方法包括施用有效量的如本文所述的根据式I的化合物。

[0169] 本发明的一实施例是一种治疗或预防选自哮喘或COPD的疾病、疾患或病症的方法,该方法包括施用有效量的如本文所述的根据式I的化合物。

[0170] 本发明的一实施例是一种治疗或预防选自炎症性肠病(包括克罗恩病和溃疡性结肠炎)的疾病、疾患或病症的方法,该方法包括施用有效量的如本文所述的根据式I的化合物。

[0171] 本发明的一实施例涉及一种抑制NLRP3的方法,该方法包括施用有效量的如本文所述的根据式I的化合物。

[0172] 本发明的又一实施例是如本文所述的式I化合物,其根据所述方法中的任一者进行制造。

[0173] 本发明的一实施例是一种药物组合物,其包含如本文所述的根据式I的化合物以及治疗惰性载体。

[0174] 本发明的一实施例是如本文所述的根据式I的化合物,其用于治疗或预防选自以下的疾病、疾患或病症:

[0175] (i)炎症;

[0176] (ii)自身免疫性疾病;

[0177] (iii)癌症;

[0178] (iv)感染;

[0179] (v)中枢神经系统疾病;

[0180] (vi)代谢疾病;

[0181] (vii)心血管疾病;

[0182] (viii)呼吸道疾病;

[0183] (ix)肝脏疾病;

[0184] (x)肾脏疾病;

[0185] (xi)眼部疾病;

[0186] (xii)皮肤疾病;

[0187] (xiii)淋巴病症;

[0188] (xiv)心理紊乱;

[0189] (xv)移植物抗宿主病;

[0190] (xvi)异常性疼痛;

[0191] (xvii)与糖尿病相关的病症;以及

[0192] (xviii)已确定个体携带NLRP3中种系或体细胞非沉默突变的任何疾病。

[0193] 测定程序

[0194] NLRP3和细胞焦亡

[0195] 众所周知,NLRP3的活化会导致细胞焦亡,并且这一特征在临床疾病的表现中发挥着重要作用(Yan-gang Liu等人,Cell Death&Disease,2017,8(2),e2579;Alexander Wree等人,Hepatology,2014,59(3),898-910;Alex Baldwin等人,Journal of Medicinal Chemistry,2016,59(5),1691-1710;Ema Ozaki等人,Journal of Inflammation Research,2015,8,15-27;Zhen Xie和Gang Zhao,Neuroimmunology Neuroinflammation,2014,1(2),60-65;Mattia Cocco等人,Journal of Medicinal Chemistry,2014,57(24),10366-10382;T.Satoh等人,Cell Death&Disease,2013,4,e644)。因此,预计NLRP3的抑制剂将阻止细胞焦亡以及促炎症性细胞因子(例如IL-1β)从细胞的释放。

[0196] THP-1细胞:培养和制备

[0197] 将THP-1细胞(ATCC#TIB-202)在含有L-谷氨酰胺(Gibco#11835)并补充有1mM丙酮酸钠(Sigma#S8636)和青霉素(100单位/ml)/链霉素(0.1mg/ml)(Sigma#P4333)在10%胎牛血清(FBS)(Sigma#F0804)的RPMI中生长。细胞按常规传代并生长至汇合(约10^6个细胞/ml)。实验当天,收获THP-1细胞并重悬于RPMI培养基(不含FBS)中。然后对细胞进行计数并通过台盼蓝(Sigma#T8154)检查活力(>90%)。进行适当稀释以得到625,000个细胞/ml的浓度。向该稀释的细胞溶液中添加LPS(Sigma#L4524)以得到1μg/ml最终测定浓度(FAC)。将40μl最终制剂等分到96孔板的每个孔中。由此制备的板用于化合物筛选。

[0198] THP-1细胞焦亡测定

[0199] 按照以下方法分步测定进行化合物筛选。

[0200] 1.将含有1.0μg/ml LPS的THP-1细胞(25,000个细胞/孔)接种在40μl RPMI培养基(不含FBS)中,置于涂有聚D-赖氨酸(VWR#734-0317)的96孔、黑壁、透明底部细胞培养板中

[0201] 2.将5μl化合物(8点半对数稀释,10μM最高剂量)或媒介物(DMSO 0.1%FAC)添加到适当的孔中

[0202] 3.在37℃,5%CO_2孵育3小时

[0203] 4.将5μl尼日利亚菌素(Sigma#N7143)(FAC 5μM)添加到所有孔中

[0204] 5.在37℃,5%CO_2孵育1hr

[0205] 6.孵育期结束时,以300xg旋转板3分钟并除去上清液

[0206] 7.然后添加50μl刃天青(Sigma#R7017)(FAC 100μM刃天青,溶于不含FBS的RPMI培养基),并在37℃和5%CO_2将板再孵育1-2小时

[0207] 8.在Envision读取器中以Ex 560nm和Em 590nm读取板

[0208] 9.IC_{50}数据适合非线性回归方程(对数抑制剂与响应变量斜率4参数)细胞焦亡测定的结果总结于下表1中,为THP IC_{50}。

[0209] 人全血IL-1β释放测定

[0210] 对于全身递送,当化合物存在于血流中时抑制NLRP3的能力非常重要。由于这个原因,根据以下方案研究了人全血中多种化合物的NLRP3抑制活性。

[0211] 锂肝素管中的人全血取自来自志愿者供体小组的健康供体。

[0212] 1.将80μl含有1μg/ml LPS的全血放入96孔透明底细胞培养板(Corning#3585)中

[0213] 2.将10μl化合物(8点半对数稀释,10μM最高剂量)或媒介物(DMSO 0.1%FAC)添加到适当的孔中

[0214] 3.在37℃,5%CO_2孵育3小时

[0215] 4.将10μl尼日利亚菌素(Sigma#N7143)(10μM FAC)添加到所有孔中

[0216] 5.在37℃,5%CO_2孵育1hr

[0217] 6.孵育期结束时,以300xg旋转板5分钟以沉淀细胞并除去20μl上清液,且添加到96孔V形底板中进行IL-1β分析(注意:含有上清液的这些板可以储存在-80℃稍后进行分析)

[0218] 7.IL-1β根据制造商方案(Perkin Elmer-AlphaLisa IL-1Kit AL220F-5000)进行测量

[0219] 8.IC_{50}数据适合非线性回归方程(对数抑制剂与响应变量斜率4参数)人全血测定的结果总结于下表1中,为HWB IC_{50}。

[0220] 表1:NLRP3抑制活性

[0221]

实例编号	THP-1 细胞焦亡测定 IC_{50} (nM)	人全血 IL-1β 测定 IC_{50} (nM)

[0222]

1A	1.8	12
1B	64.4	375
2A	36.4	38
2B	>1000	--
3A	1.9	7
3B	52.2	115
4A	47.4	41
4B	>1000	--

[0223] 现在将通过以下实例说明本发明,所述实例不具有限制性。

[0224] 如果制备例以对映异构体的混合物的形式获得,则纯对映异构体可通过本文所述的方法或本领域的技术人员所知的方法诸如例如手性色谱或结晶来获得。

[0225] 实例

[0226] 如果没有另行说明,则所有实例和中间体在氮气气氛下制备。

[0227] 缩写

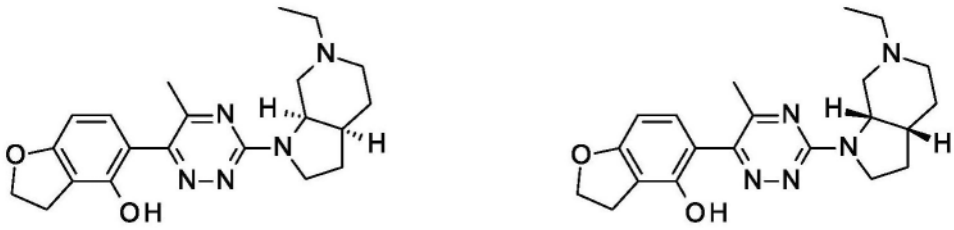
[0228]

eq	当量
ESI	电喷射离子化
LCMS	液相色谱质谱
SFC	超临界流体色谱

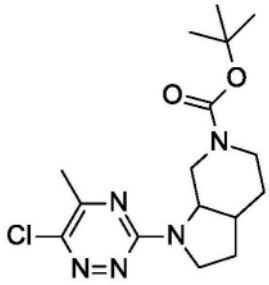
[0229] 实例1A和1B:

[0230] 5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-

5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇和5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇

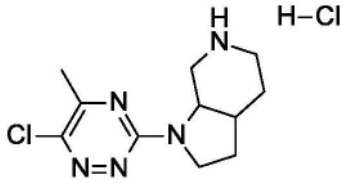
[0231] 

[0232] 步骤A:1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-甲酸叔丁酯

[0233] 

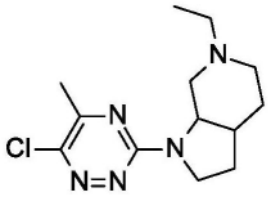
[0234] 向3,6-二氯-5-甲基-1,2,4-三嗪(CAS号132434-82-3,500mg,3.05mmol,1.00eq)和1,2,3,3a,4,5,7,7a-八氢吡咯并[2,3-c]吡啶-6-甲酸叔丁酯(CAS#1196147-27-9,898mg,3.97mmol,1.30eq)在1,4-二噁烷(9.0mL)中的混合物添加N,N-二异丙基乙胺(414mg,0.56mL,3.21mmol,1.05eq)。将反应混合物在室温搅拌16小时。将反应混合物用乙酸乙酯和水萃取。用乙酸乙酯反萃取水层。有机层用盐水洗涤。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗品通过快速色谱法(硅胶,40g,庚烷中的梯度0%至30%乙酸乙酯)纯化以得到呈黄色油状物形式的标题化合物(952mg,产率84%)。LCMS:m/z 354.2 $[M+H]^+$,ESI pos。

[0235] 步骤B:1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-2,3,3a,4,5,6,7,7a-八氢吡咯并[2,3-c]吡啶盐酸盐

[0236] 

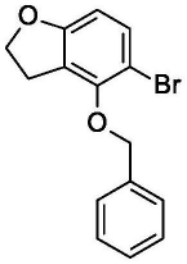
[0237] 向1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-6-甲酸叔丁酯(实例1,步骤A)(938mg,2.52mmol,1.00eq)在二氯甲烷(8.0mL)和甲醇(4.0mL)中的溶液中逐滴添加4M HCl的二噁烷溶液(6mL,24mmol,9.53eq)。将反应混合物在室温搅拌2小时。将反应混合物在真空中浓缩,以得到呈橙色泡沫的标题化合物(1.09g,产率97%,纯度65%),其不经进一步纯化即使用。LCMS:m/z 254.2$[M+H]^+$,ESI pos。

[0238] 步骤C:1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶

[0239] 

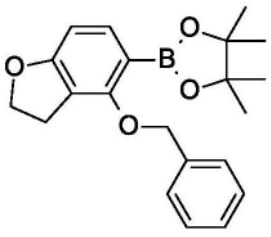
[0240] 向1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-2,3,3a,4,5,6,7,7a-八氢吡咯并[2,3-c]吡啶盐酸盐(实例1,步骤B)(500mg,1.12mmol,1.00eq,纯度65%)在二氯甲烷(7.0mL)中的悬浮液添加乙醛(125mg,0.160mL,2.83mmol,2.53eq),然后在冰浴冷却下添加乙酸钠(185mg,2.26mmol,2.01eq)。在0℃分三份添加三乙酰氧基硼氢化钠(358mg,1.69mmol,1.51eq)。添加完成后,除去冰浴,并将反应混合物在室温搅拌1小时。用饱和$NaHCO_3$水溶液小心淬灭反应混合物,并且用二氯甲烷萃取三次。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗品吸附在ISOLUTE HM-N上并通过快速色谱法(硅胶,12g,二氯甲烷中的梯度0%至5%甲醇)纯化以得到呈黄色油状物形式的标题化合物(246mg,产率74%)。LCMS:m/z 282.2$[M+H]^+$,ESI pos。

[0241] 步骤D:4-苄基氧基-5-溴-2,3-二氢苯并呋喃

[0242] 

[0243] 向5-溴香豆满-4-醇(CAS#2279149-27-6,4.59g,20.3mmol,1.00eq)在乙腈(40mL)中的溶液中添加碳酸钾(5.60g,40.5mmol,2.00eq),然后是苄基溴(4.89g,3.4mL,28.6mmol,1.41eq)。将反应混合物在室温搅拌2小时。将反应混合物用乙酸乙酯和水萃取。用乙酸乙酯反萃取水层。将有机层用水和盐水洗涤。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗品吸附在ISOLUTE HM-N上并通过快速色谱法(硅胶,220g,庚烷中的梯度0%至10%乙酸乙酯)纯化以得到呈无色油状物形式的标题化合物(6.17g,产率95%)。LCMS:m/z 305.1/307.0$[M+H]^+$,ESI pos。

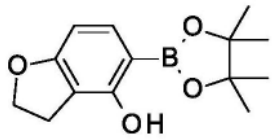
[0244] 步骤E:2-(4-苄基氧基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷

[0245] 

[0246] 在-76℃在40分钟内向4-苄基氧基-5-溴-2,3-二氢苯并呋喃(实例1,步骤D)(6.16g,19.2mmol,1.00eq)和2-异丙氧基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷(CAS#61676-62-8,5.47g,6.0mL,29.41mmol,1.53eq)在四氢呋喃(80mL)中的溶液中逐滴添加正丁基锂1.6M的己烷溶液(19mL,30.4mmol,1.59eq)。在-76℃搅拌2.5小时。将反应混合物温

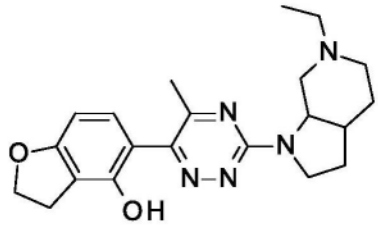
热至-60℃,在-60℃用饱和NH_4Cl水溶液淬灭,温热至室温,且然后用乙酸乙酯和饱和NH_4Cl水溶液萃取。用乙酸乙酯反萃取水层。有机层用盐水洗涤。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗品吸附在ISOLUTE HM-N上并通过快速色谱法(硅胶,120g,庚烷中的梯度0%至10%乙酸乙酯)纯化以得到呈无色油状物形式的标题化合物(5.78g,产率81%)。LCMS:m/z 353.1$[M+H]^+$,ESI pos。

[0247] 步骤F:5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇

[0248] 

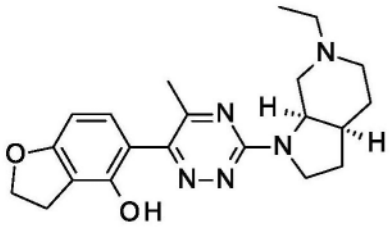
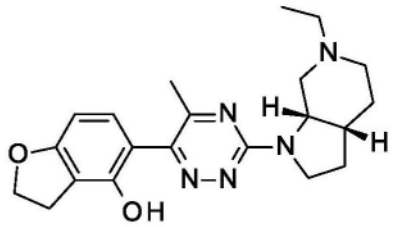
[0249] 将2-(4-苯酰氧基香豆满-5-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷(5.77g,15.56mmol,1.00eq)在乙酸乙酯(70mL)中的溶液三次交替抽真空和用氩气冲洗。小心添加活性炭载钯,10%Pd基(577mg,0.54mmol,0.03eq)。将反应烧瓶抽真空,用氩气冲洗,抽真空,并用氢气冲洗。在室温下,将反应混合物在氢气氛(气球)下搅拌3小时。添加甲醇(10mL)。将反应烧瓶三次交替抽真空和用氩气冲洗,抽真空且然后用氢气冲洗。在室温将反应混合物在氢气气氛(气球)下搅拌1小时。滤出反应混合物,并且用乙酸乙酯/甲醇充分冲洗。将滤液在真空中浓缩,以得到呈灰白色固体的标题化合物(4.22g,产率98%),其不经进一步纯化即使用。LCMS:m/z 263.2$[M+H]^+$,ESI pos。

[0250] 步骤G:5-[3-(6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇

[0251] 

[0252] 将1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶(实例1,步骤C)(120mg,0.40mmol,1.00eq)、5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇(实例1,步骤F)(179mg,0.65mmol,1.60eq)、碳酸钾(257mg,1.86mmol,4.60eq)和1,1'-双(二苯基膦)二茂铁-二氯化钯(II)二氯甲烷络合物(49mg,0.06mmol,0.15eq)在1,4-二噁烷(2.6mL)和水(1.3mL)中的混合物用氩气冲洗,并在95℃搅拌16小时。将反应混合物冷却至室温,然后用乙酸乙酯和水萃取。用乙酸乙酯反萃取水层。将有机层用水和盐水洗涤。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗品吸附在ISOLUTE HM-N上并通过快速色谱法(硅胶,12g,二氯甲烷中的梯度0%至10%甲醇)纯化以得到呈深棕色泡沫形式的标题化合物(151mg,产率88%,纯度90%)。LCMS:m/z 382.2$[M+H]^+$,ESI pos。

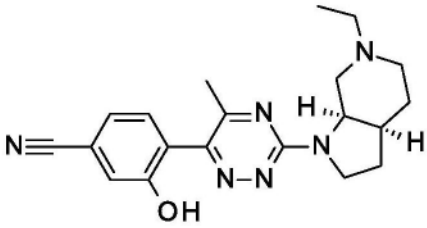
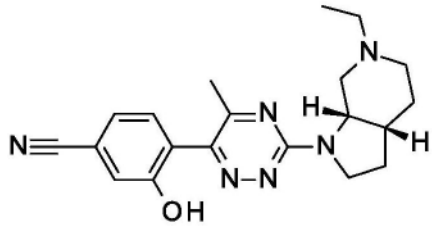
[0253] 步骤H:5-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇和5-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇

[0254]  

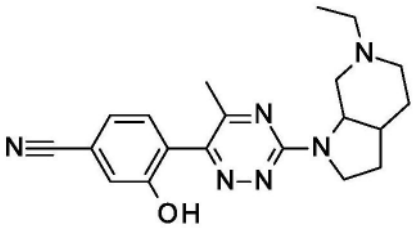
[0255] 通过SFC(色谱柱手性IK,洗脱液B:36%甲醇+0.2%二乙胺)手性分离5-[3-(6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇(实例1,步骤G)(145mg,0.34mmol,1.00eq)以得到两种对映体:呈黄色泡沫形式的实例1A(第一次洗脱,Rt=2.92分钟)(63mg,产率46%);LCMS:m/z 382.3[M+H]$^+$,ESI pos;以及呈黄色泡沫形式的实例1B(第二次洗脱,Rt=3.21分钟)(53mg,产率39%);LCMS:m/z 382.3[M+H]$^+$,ESI pos。

[0256] 实例2A和2B:

[0257] 4-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈和4-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈

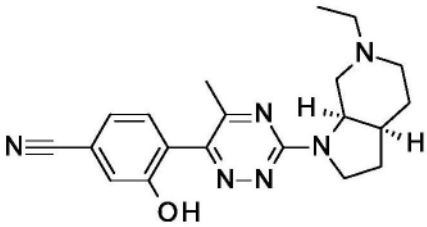
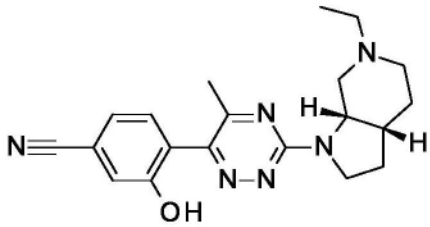
[0258]  

[0259] 步骤A:4-[3-(6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈

[0260] 

[0261] 将1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶(实例1,步骤C)(99mg,0.33mmol,1.00eq)、(4-氰基-2-羟基-苯基)硼酸(市售,无CAS,88mg,0.54mmol,1.62eq)、碳酸钾(212mg,1.53mmol,4.60eq)和1,1'-双(二苯基膦)二茂铁-二氯化钯(II)二氯甲烷络合物(41mg,0.05mmol,0.15eq)在1,4-二噁烷(2.0mL)和水(1.0mL)中的混合物用氩气冲洗,并在90℃搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,且然后用乙酸乙酯和半饱和NH_4Cl溶液萃取。用乙酸乙酯反萃取水层。将有机层用水和盐水洗涤。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗品吸附在ISOLUTE HM-N上并通过快速色谱法(硅胶,12g,二氯甲烷中的梯度0%至10%甲醇)纯化以得到呈黄色泡沫形式的标题化合物(62mg,产率48%)。LCMS:m/z 365.2[M+H]$^+$,ESI pos。

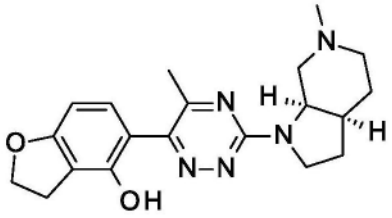
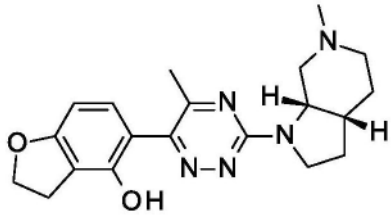
[0262] 步骤B:4-[3-[(3aS,7aR)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈和4-[3-[(3aR,7aS)-6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈

[0263]  

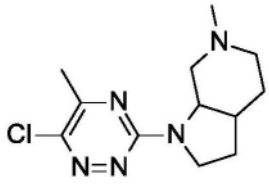
[0264] 通过SFC(色谱柱手性IK,洗脱液B:40%甲醇+0.2%二乙胺)手性分离4-[3-(6-乙基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈(实例2,步骤A)(62mg,0.16mmol,1.00eq)以得到两种对映体:呈棕色泡沫形式的实例2A(第一次洗脱,Rt=2.41分钟)(28mg,产率45%);LCMS:m/z 365.2[M+H]$^+$,ESI pos;以及呈棕色泡沫形式的实例2B(第二次洗脱,Rt=3.36分钟)(28mg,产率45%);LCMS:m/z 365.2[M+H]$^+$,ESI pos。

[0265] 实例3A和3B:

[0266] 5-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇和5-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇

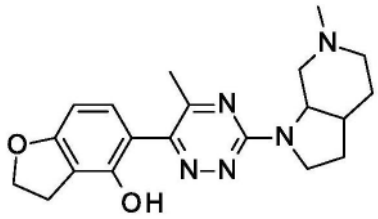
[0267]  

[0268] 步骤A:1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶

[0269] 

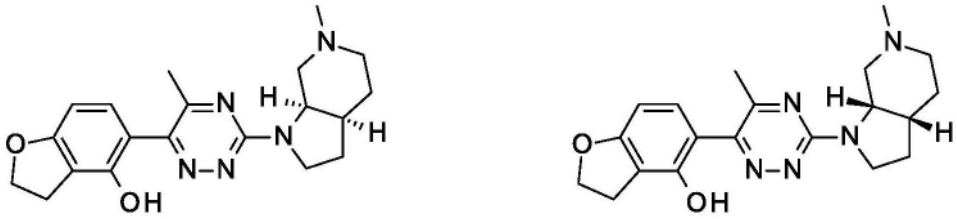
[0270] 向1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-2,3,3a,4,5,6,7,7a-八氢吡咯并[2,3-c]吡啶盐酸盐(实例1,步骤B)(578mg,1.29mmol,1.00eq,纯度65%)在1,2-二氯乙烷(12mL)中的悬浮液中添加三乙胺(203mg,0.280mL,2.01mmol,1.55eq)。在室温搅拌5分钟。添加37%甲醛水溶液(218mg,0.20mL,2.69mmol,2.07eq),然后分批添加三乙酰氧基硼氢化钠(1.10g,5.18mmol,4.00eq)。将反应混合物在室温搅拌1.5小时。用饱和$NaHCO_3$水溶液小心淬灭反应混合物,并且用二氯甲烷萃取四次。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗品吸附在ISOLUTE HM-N上并通过快速色谱法(硅胶,12g,二氯甲烷中的梯度0%至10%甲醇)纯化以得到呈黄色油状物形式的标题化合物(335mg,产率92%)。LCMS:m/z 268.1[M+H]$^+$,ESI pos。

[0271] 步骤B:5-[5-甲基-3-(6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇

[0272] 

[0273] 将1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶(实例3,步骤A)(160mg,0.57mmol,1.00eq)、5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇(实例1,步骤F)(251mg,0.91mmol,1.60eq)、碳酸钾(360mg,2.60mmol,4.59eq)和1,1'-双(二苯基膦)二茂铁-二氯化钯(II)二氯甲烷络合物(70mg,0.09mmol,0.15eq)在1,4-二噁烷(3.6mL)和水(1.8mL)中的混合物用氩气冲洗,并在95℃搅拌16小时。将反应混合物冷却至室温,然后用乙酸乙酯和水萃取。用乙酸乙酯反萃取水层。将有机层用水和盐水洗涤。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗品吸附在ISOLUTE HM-N上并通过快速色谱法(硅胶,25g,二氯甲烷中的梯度0%至10%甲醇)纯化以得到呈深棕色泡沫形式的标题化合物(173mg,产率75%,纯度90%)。LCMS:m/z 368.3[M+H]$^+$,ESI pos。

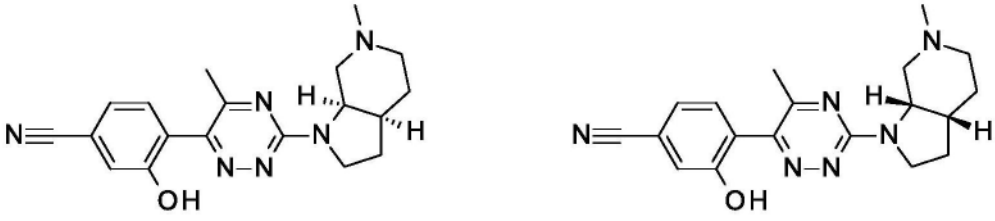
[0274] 步骤C:5-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇和5-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇

[0275] 

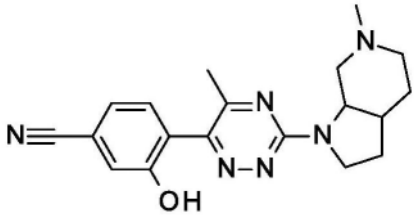
[0276] 通过SFC(色谱柱手性IK,洗脱液B:33%甲醇+0.2%二乙胺)手性分离5-[5-甲基-3-(6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-1,2,4-三嗪-6-基]-2,3-二氢苯并呋喃-4-醇(实例3,步骤B)(173mg,0.42mmol,1.00eq,纯度90%)以得到两种对映体:呈黄色泡沫形式的实例3A(第一次洗脱,Rt=2.37分钟)(60mg,产率37%);LCMS:m/z368.2[M+H]$^+$,ESI pos;以及呈黄色泡沫形式的实例3B(第二次洗脱,Rt=2.55分钟)(58mg,产率35%);LCMS:m/z 368.3[M+H]$^+$,ESI pos。

[0277] 实例4A和4B:

[0278] 4-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈和4-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈

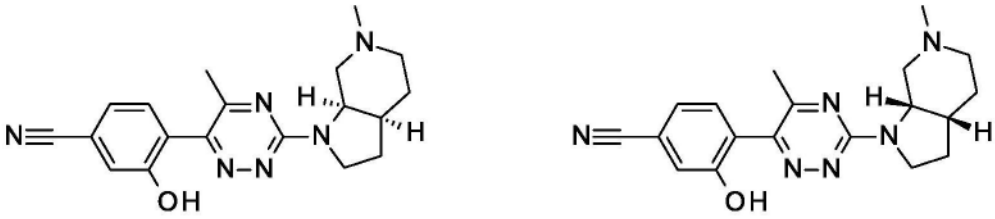
[0279] 

[0280] 步骤A:3-羟基-4-[5-甲基-3-(6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-1,2,4-三嗪-6-基]苯甲腈

[0281] 

[0282] 将1-(6-氯-5-甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶(实例3,步骤A)(160mg,0.57mmol,1.00eq)、(4-氰基-2-羟基-苯基)硼酸(市售,无CAS,150mg,0.92mmol,1.62eq)、碳酸钾(360mg,2.60mmol,4.59eq)和1,1'-双(二苯基膦)二茂铁-二氯化钯(II)二氯甲烷络合物(70mg,0.09mmol,0.15eq)在1,4-二噁烷(3.6mL)和水(1.8mL)中的混合物用氩气冲洗,并在95℃搅拌16小时。将反应混合物冷却至室温,且然后用乙酸乙酯和半饱和NH_4Cl溶液萃取。用乙酸乙酯反萃取水层。将有机层用水和盐水洗涤。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗品吸附在ISOLUTE HM-N上并通过快速色谱法(硅胶,25g,二氯甲烷中的梯度0%至10%甲醇)纯化以得到呈棕色泡沫形式的标题化合物(112mg,产率53%)。LCMS:m/z 351.2$[M+H]^+$,ESI pos。

[0283] 步骤B:4-[3-[(3aS,7aR)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈和4-[3-[(3aR,7aS)-6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基]-5-甲基-1,2,4-三嗪-6-基]-3-羟基-苯甲腈

[0284] 

[0285] 通过SFC(色谱柱:非手性Torus2Pic,洗脱液B:45%甲醇+0.2%二乙胺)手性分离3-羟基-4-[5-甲基-3-(6-甲基-3,3a,4,5,7,7a-六氢-2H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基)-1,2,4-三嗪-6-基]苯甲腈(实例4,步骤A)(112mg,0.30mmol,1.00eq)以得到两种对映体:呈棕色泡沫形式的实例4A(第一次洗脱,Rt=2.75分钟)(52mg,产率46%);LCMS:m/z 351.2$[M+H]^+$,ESI pos;以及呈棕色泡沫形式的实例4B(第二次洗脱,Rt=3.20分钟)(47mg,产率42%);LCMS:m/z 351.3$[M+H]^+$,ESI pos。

[0286] 实例A

[0287] 式I化合物可以以本身已知的方式用作生产以下组成的片剂的活性成分:

	每个片剂
活性成分	200 mg
微晶纤维素	155 mg
玉米淀粉	25 mg
滑石	25 mg
羟丙基甲基纤维素	20 mg
	425 mg

[0289] 实例B

[0290] 式I化合物可以以本身已知的方式用作生产以下组成的胶囊的活性成分：

	每个胶囊
活性成分	100 mg
玉米淀粉	20.0 mg
乳糖	95.0 mg
滑石	4.5 mg
硬脂酸镁	0.5 mg
	220.0 mg