



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104619687 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 13

(21) 申请号 201380033704. 2

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 05. 31

C07D 231/56(2006. 01)

(30) 优先权数据

C07D 235/26(2006. 01)

61/654, 398 2012. 06. 01 US

C07D 235/30(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 31/4184(2006. 01)

2014. 12. 25

A61K 31/4162(2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61P 17/06(2006. 01)

PCT/EP2013/061328 2013. 05. 31

A61P 19/02(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/178815 EN 2013. 12. 05

(71) 申请人 诺格拉制药有限公司

地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 D·霍姆斯 A·维哈尔

G·范登布林克 F·维蒂

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 王贵杰

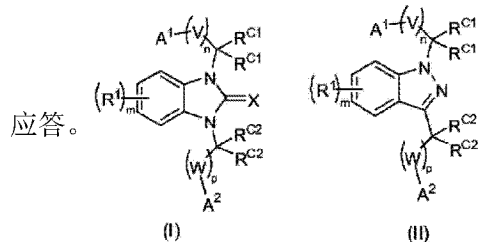
权利要求书9页 说明书29页 附图12页

(54) 发明名称

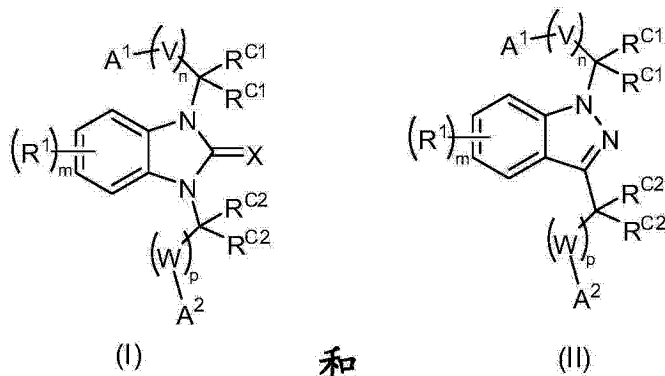
能够调节 T- 细胞应答的双环杂环及其使用方法

(57) 摘要

本公开部分涉及双环杂环, 例如如本文公开的式 I、IA、IB、II 或 IIA 表示的化合物, 及其在治疗医学障碍中的用途, 所述的医学障碍例如免疫炎性障碍, 例如克罗恩病、溃疡性结肠炎、风湿病、银屑病和变态反应。关注所述化合物调节 T- 细胞



1. 杂环化合物,选自:



其中

A^1 选自 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基、 C_{1-6} 烷基、羟基、 $-NR'R'$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-U-C_{3-6}$ 环烷基、 $-U-$ 杂环基、 $-U-$ 苯基、 $-U-$ 萘基、 $-U-$ 杂芳基、苯基烷基、萘基烷基、杂环烷基和杂芳基烷基;其中 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基和 C_{1-6} 烷基任选地被 1、2、3 或更多个各自选自 R^{A1} 的取代基取代;

A^2 选自 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基、 $-NR'R'$ 、 $U-C_{3-6}$ 环烷基、 $-U-$ 杂环基、 $-U-$ 苯基、 $-U-$ 萘基、 $-U-$ 杂芳基、苯基烷基、萘基烷基、杂环烷基和杂芳基烷基;其中 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基和杂芳基任选地被 1、2、3 或更多个各自选自 R^{A2} 的取代基取代;

U 选自 $-S-$ 、 $-NR'-$ 、 $-O-$ 或 C_{1-6} 烷基;

X 选自 O 、 S 和 NR' ;

V 在每次出现时独立地选自 O 、 S 、 NR' 和 $CR^{C3}R^{C3}$;

W 在每次出现时独立地选自 O 、 S 、 NR' 和 $CR^{C4}R^{C4}$;

R^{C1} 、 R^{C2} 、 R^{C3} 和 R^{C4} 在每次出现时独立地选自氢、卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基和杂芳基;

或两个 R^{C3} 取代基或两个 R^{C4} 取代基可以一起形成氧代、亚氨基或亚硫烷基;

或两个 R^{C1} 取代基、两个 R^{C2} 取代基、两个 R^{C3} 取代基或两个 R^{C4} 取代基可以与它们所连接的原子一起形成 C_{3-6} 环烷基、苯基、萘基或具有 1、2 或 3 个独立地选自 N 、 O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-6 元单环或 10-12 元双环杂环;

或一个 R^{C1} 取代基和一个 R^{C3} 取代基或一个 R^{C2} 取代基和一个 R^{C4} 取代基可以与它们所连接的原子一起形成 C_{3-6} 环烷基、苯基、萘基或具有 1、2 或 3 个独立地选自 N 、 O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-6 元单环或 10-12 元双环杂环;

R^1 在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、氰基、硝基、烷氧基、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、杂芳基和苯基;

R^{A1} 在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、氧代、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、杂芳基和苯基;

R^{A2} 在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、氧代、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、杂芳基和苯基；

R' 在每次出现时独立地选自氢或 C_{1-6} 烷基；其中 C_{1-6} 烷基任选地被 1、2、3 或更多个各自选自 R^{A1} 的取代基取代；

或两个 R' 可以与它们所连接的原子一起形成具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-7 元单环或 10-15 元双环杂环；

n 选自 0、1、2、3 和 4；

p 选自 0、1、2、3 和 4；

m 选自 0、1、2 和 3；或

其药学上可接受的盐或立体异构体。

2. 权利要求 1 的杂环化合物，其中 A^1 选自 C_{3-6} 环烷基和杂环基。

3. 权利要求 1 的杂环化合物，其中 A^1 是 C_{3-6} 环烷基。

4. 权利要求 1-3 任一项的杂环化合物，其中 A^2 选自 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基和 $-NR'R'$ 。

5. 权利要求 1-3 任一项的杂环化合物，其中 A^2 选自杂环基和杂芳基。

6. 权利要求 1-5 任一项的杂环化合物，其中 X 是 NH。

7. 权利要求 1-6 任一项的杂环化合物，其中 V 选自 $C(O)$ 和 CH_2 。

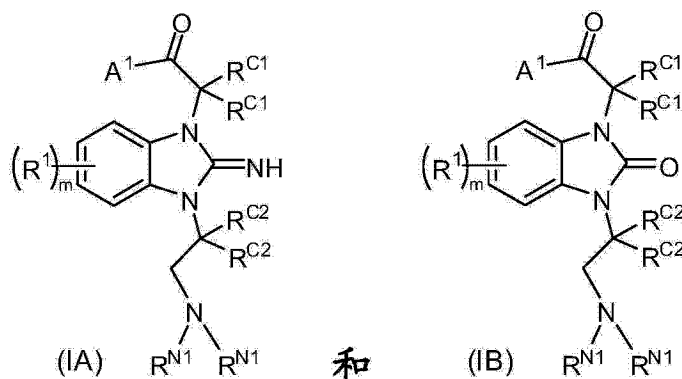
8. 权利要求 1-7 任一项的杂环化合物，其中 W 是 CH_2 。

9. 权利要求 1-8 任一项的杂环化合物，其中 R^{C1} 和 R^{C2} 是氢。

10. 权利要求 1-9 任一项的杂环化合物，其中 n 选自 1 和 2。

11. 权利要求 1-10 任一项的杂环化合物，其中 p 选自 1 和 2。

12. 杂环化合物，选自：



其中

A^1 选自 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基、 C_{1-6} 烷基、羟基、 $-NR'R'$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-U-C_{3-6}$ 环烷基、 $-U-$ 杂环基、 $-U-$ 苯基、 $-U-$ 萘基、 $-U-$ 杂芳基、苯基烷基、萘基烷基、杂环烷基和杂芳基烷基；其中 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基和 C_{1-6} 烷基任选地被 1、2、3 或更多个各自选自 R^{A1} 的取代基取代；

U 选自 $-S-$ 、 $-NR'-$ 、 $-O-$ 或 C_{1-6} 烷基；

R^{C1} 和 R^{C2} 在每次出现时独立地选自氢、卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟

基、C₁₋₆烷基、卤代 C₁₋₆烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、C₃₋₆环烷基、杂环基、苯基、萘基和杂芳基；

或两个 R^{C1}取代基或两个 R^{C2}取代基可以与它们所连接的原子一起形成 C₃₋₆环烷基、苯基、萘基或具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-6 元单环或 10-12 元双环杂环；

R¹在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、C₁₋₆烷基、卤代 C₁₋₆烷基、羧基、-C(O)O-C₁₋₆烷基、-OC(O)O-C₁₋₆烷基、-OC(O)NR'R'、-N(R')C(O)NR'R'、-N(R')C(O)O-C₁₋₆烷基、氰基、硝基、烷氧基、C₃₋₆环烷基、杂环基、杂芳基和苯基；

R^{A1}在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、C₁₋₆烷基、卤代 C₁₋₆烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、-C(O)O-C₁₋₆烷基、-OC(O)O-C₁₋₆烷基、-OC(O)NR'R'、-N(R')C(O)NR'R'、-N(R')C(O)O-C₁₋₆烷基、氧代、C₃₋₆环烷基、杂环基、杂芳基和苯基；

R^{N1}和 R' 在每次出现时独立地选自氢和 C₁₋₆烷基；其中 C₁₋₆烷基任选地被 1、2、3 或更多个在每次出现时独立地选自 R^{A1}的取代基取代；

或两个 R^{N1}取代基或两个 R' 取代基可以与它们所连接的氮一起形成具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-7 元单环或 10-15 元双环杂环；

m 选自 0、1、2 和 3；或

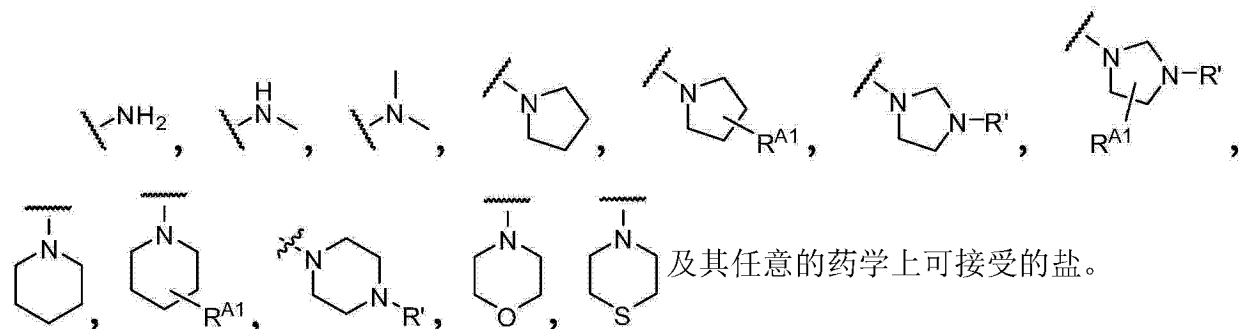
其药学上可接受的盐或立体异构体。

12. 权利要求 11 的杂环化合物，其中 A¹是 C₃₋₆环烷基。

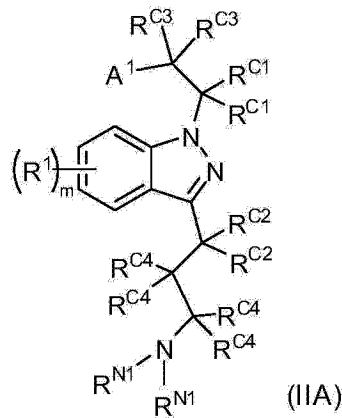
13. 权利要求 12 的杂环化合物，其中 A¹选自环己基、环己烯基、环戊基、环戊烯基、环丁基、环丙基及其任意的桥连、螺或稠合变体。

14. 权利要求 11-13 任一项的杂环化合物，其中 R^{C1}和 R^{C2}是氢。

15. 权利要求 11-14 任一项的杂环化合物，其中 $\begin{matrix} \text{R}^{\text{N1}} \\ | \\ \text{---N} \\ | \\ \text{R}^{\text{N1}} \end{matrix}$ 选自：



16. 杂环化合物，表示为：



其中

A^1 选自 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基、 C_{1-6} 烷基、羟基、 $-NR'R'$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-U-C_{3-6}$ 环烷基、 $-U-$ 杂环基、 $-U-$ 苯基、 $-U-$ 萘基、 $-U-$ 杂芳基、苯基烷基、萘基烷基、杂环烷基和杂芳基烷基；其中 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基和 C_{1-6} 烷基任选地被 1、2、3 或更多个各自选自 R^{A1} 的取代基取代；

U 选自 $-S-$ 、 $-NR'-$ 、 $-O-$ 或 C_{1-6} 烷基；

R^{C1} 、 R^{C2} 、 R^{C3} 和 R^{C4} 在每次出现时独立地选自氢、卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基和杂芳基；

或两个 R^{C3} 取代基或两个 R^{C4} 取代基可以一起形成氧代、亚氨基或亚硫烷基；

或两个 R^{C1} 取代基、两个 R^{C2} 取代基、两个 R^{C3} 取代基或两个 R^{C4} 取代基可以与它们所连接的原子一起形成 C_{3-6} 环烷基、苯基、萘基或具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-6 元单环或 10-12 元双环杂环；

或一个 R^{C1} 取代基和一个 R^{C3} 取代基或一个 R^{C2} 取代基和一个 R^{C4} 取代基可以与它们所连接的原子一起形成 C_{3-6} 环烷基、苯基、萘基或具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-6 元单环或 10-12 元双环杂环；

R^1 在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、氰基、硝基、烷氧基、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、杂芳基和苯基；

R^{A1} 在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、氧代、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、杂芳基和苯基；

R^{N1} 和 R' 在每次出现时独立地选自氢和 C_{1-6} 烷基；其中 C_{1-6} 烷基任选地被 1、2、3 或更多个在每次出现时独立地选自 R^{A1} 的取代基取代；

或两个 R^{N1} 取代基或两个 R' 取代基可以与它们所连接的氮一起形成具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-7 元单环或 10-15 元双环杂环；

或一个 R^{N1} 取代基和一个 R^{C4} 取代基可以与它们所连接的原子一起形成具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-7 元单环或 10-15 元双环杂环；

m 选自 0、1、2 和 3；或

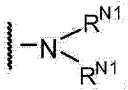
其药学上可接受的盐或立体异构体。

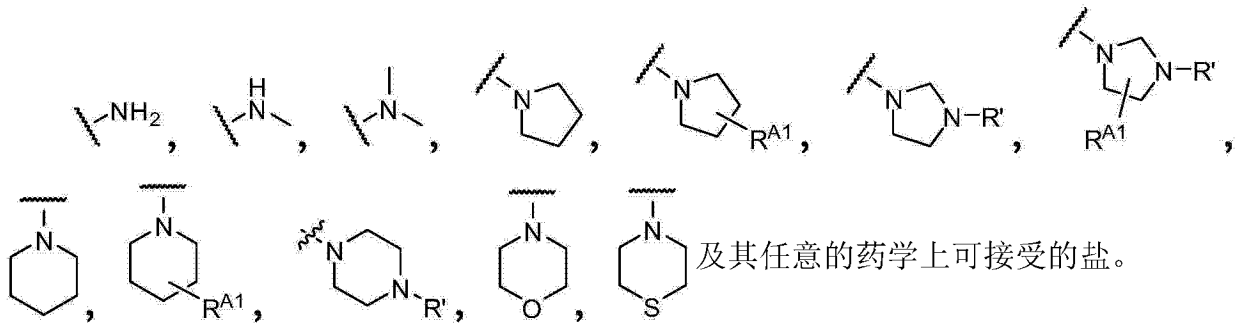
17. 权利要求 16 的杂环化合物, 其中 A¹ 是 C₃₋₆ 环烷基。

18. 权利要求 17 的杂环化合物, 其中 A¹ 选自环己基、环己烯基、环戊基、环戊烯基、环丁基、环丙基及其任意的桥连、螺或稠合变体。

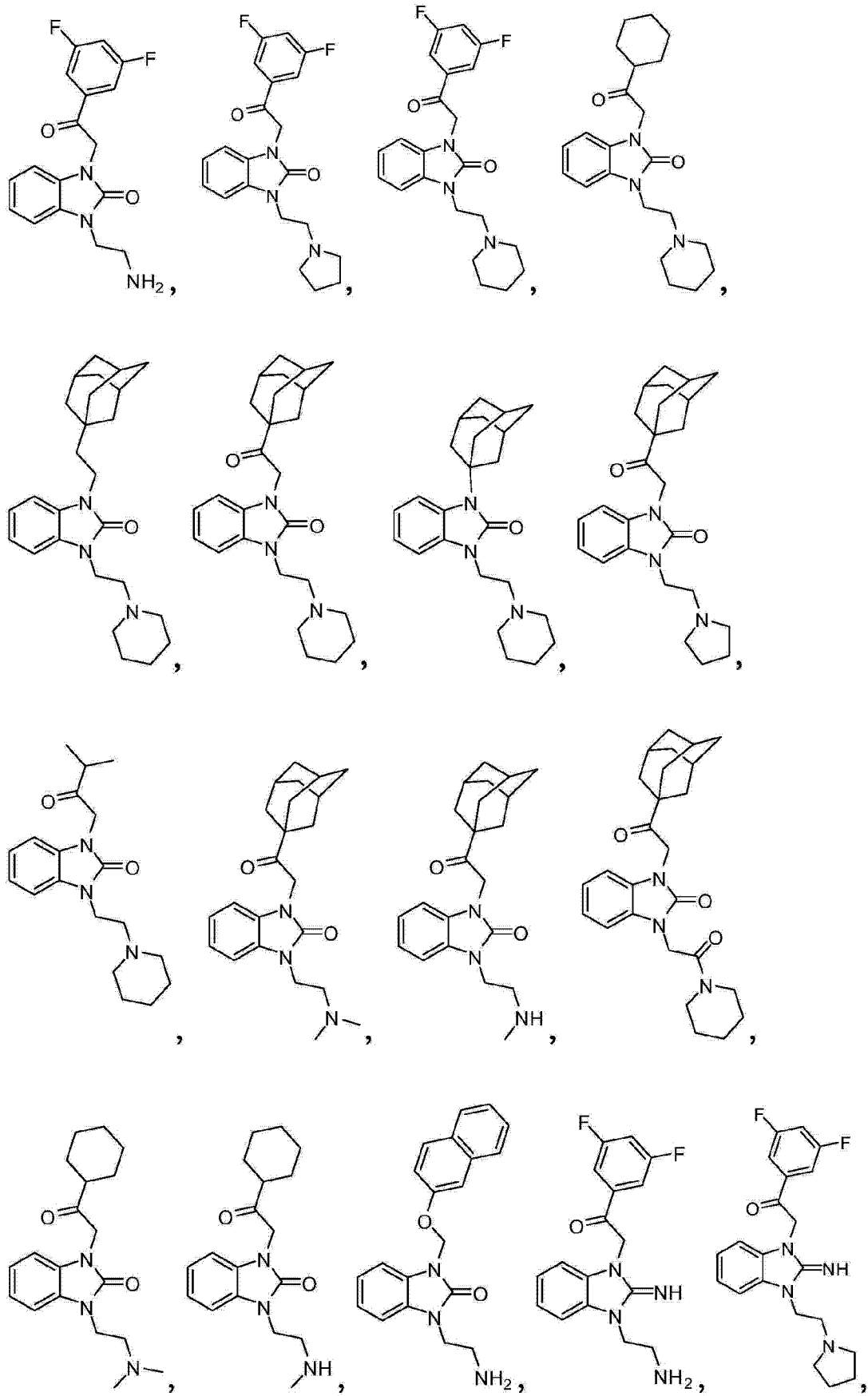
19. 权利要求 16-18 任一项的杂环化合物, 其中 R^{C1} 和 R^{C2} 是氢。

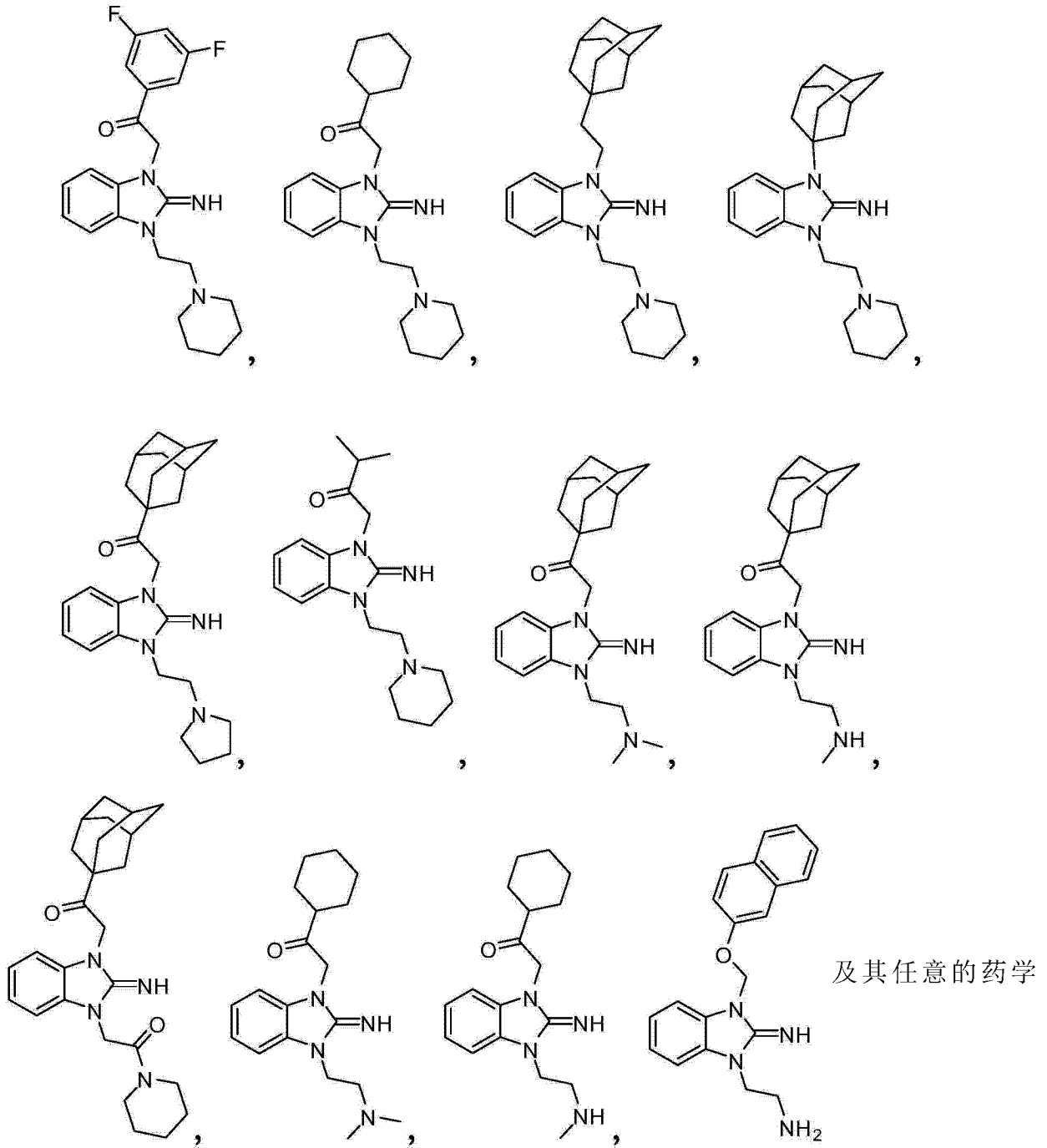
20. 权利要求 16-19 任一项的杂环化合物, 其中 R^{C3} 和 R^{C4} 是氢; 或两个 R^{C3} 取代基或两个 R^{C4} 取代基一起形成氧代。

21. 权利要求 16-20 任一项的杂环化合物, 其中  选自:



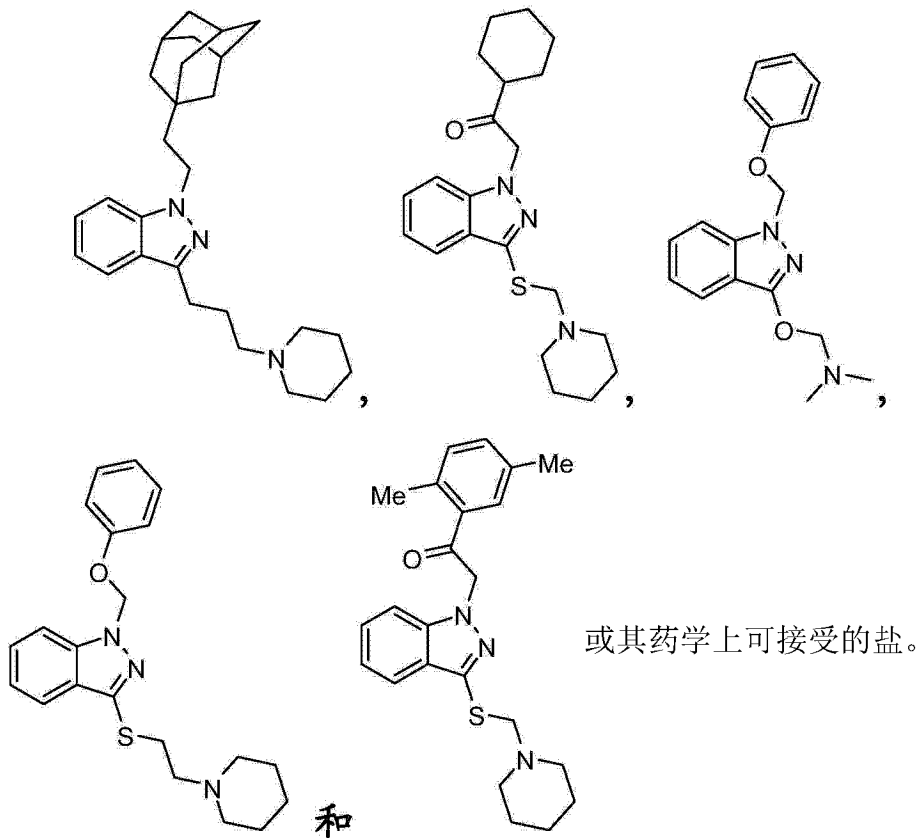
22. 杂环化合物, 选自:





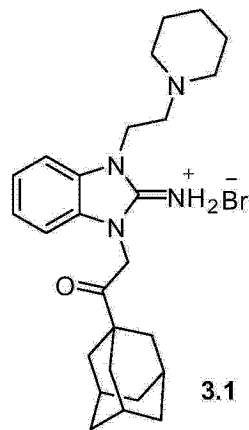
上可接受的盐。

23. 杂环化合物,选自:



24. 治疗免疫炎性疾病或障碍的方法,包括给予药学有效量的权利要求 1-23 任一项的化合物。

25. 治疗免疫炎性疾病或障碍的方法,包括给予药学有效量的表示为下式的化合物:



26. 权利要求 24 或 25 的方法,其中所述免疫炎性障碍选自克罗恩病、溃疡性结肠炎、风湿病、银屑病和变态反应。

27. 权利要求 1-23 任一项的化合物,用于治疗免疫炎性疾病或障碍。

28. 权利要求 27 的化合物,其中所述免疫炎性障碍选自克罗恩病、溃疡性结肠炎、风湿病、银屑病和变态反应。

29. 权利要求 1-23 任一项的化合物在治疗免疫炎性疾病或障碍中的用途。

30. 权利要求 29 的化合物的用途,其中所述免疫炎性障碍选自克罗恩病、溃疡性结肠炎、风湿病、银屑病和变态反应。

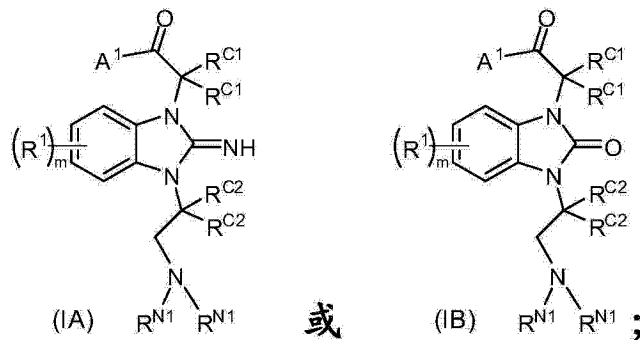
31. 药物组合物, 包含权利要求 1-23 任一项的化合物和药学上可接受的佐剂或赋形剂。

32. 权利要求 1-23 任一项的化合物在制备用于治疗免疫炎性疾病或障碍的药物中的用途。

33. 权利要求 32 的化合物的用途, 其中所述免疫炎性障碍选自克罗恩病、溃疡性结肠炎、风湿病、银屑病和变态反应。

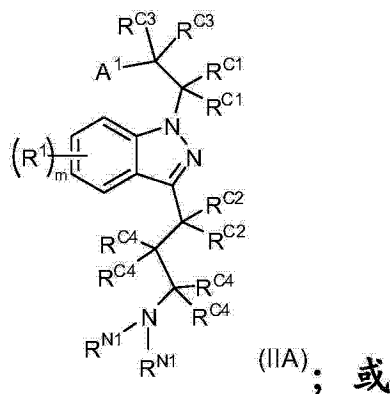
[0013] 式 IA 或 IB :

[0014]



[0015] 式 IIA :

[0016]



[0017] 其药学上可接受的盐,其中变量如详细描述中所定义。

[0018] 本文还提供了治疗选自急性和慢性免疫炎症性障碍的疾病或障碍的方法,所述疾病或障碍例如克罗恩病、溃疡性结肠炎、风湿病、银屑病和变态反应和肠癌,所述方法包括给予药学有效量的本文所述的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。

[0019] 附图简述

[0020] 图 1(A)、(B) 和 (C) 描述了所公开的化合物对 T 淋巴细胞增殖的作用。

[0021] 图 2(A) 描述了化合物 S3.1 和 S3.4 对 T 淋巴细胞信号转导的作用,且 (B) 描述了化合物 S3.1 和 S3.4 对淋巴细胞-特异性蛋白酪氨酸激酶 (LCK) 与其伴侣蛋白 Hsp90 之间相互作用的作用。

[0022] 图 3 描述了化合物 S3.1 和 S3.4 在 MTS 存活试验中对 HELA 宫颈癌细胞的作用。

[0023] 图 4(A) 和 (B) 描述了化合物 S3.1 和 S3.4 对成纤维细胞分化成脂肪细胞的作用。

[0024] 图 5(A) 和 (B) 描述了化合物 S3.1 和 S3.4 对肌纤维厚度的作用。

[0025] 图 6 描述了化合物 3.1 的 NMR 光谱。

[0026] 图 7 显示所公开的化合物在淋巴细胞增殖试验中的抑制百分比。

[0027] 图 8 描述了所公开的化合物的 NMR。

[0028] 详细描述

[0029] 本公开文本部分基于如下发现:本文公开的一些化合物具有调节 T- 细胞受体活性的能力。

[0030] 在进一步描述前,本处收集了说明书、实施例和所附权利要求中使用的某些术语。

应根据本公开文本的其余部分解读这些定义并且如本领域技术人员所理解。除非另有定义，否则本文所用的全部技术和科学术语都具有本领域技术人员通常所理解的相同的含义。

[0031] “治疗”包括任何效果，例如，导致病况、疾病、障碍等的改善的减轻、降低、调节或消除。

[0032] 本文所用的术语“烯基”是指具有至少一个碳-碳双键的不饱和的直链或支链烃。示例性烯基基团包括，但不限于2-6或3-4个碳原子的直链或支链基团，其在本文中分别称作 C_{2-6} 烯基和 C_{3-4} 烯基。示例性烯基基团包括，但不限于乙烯基、烯丙基、丁烯基、戊烯基等。

[0033] 本文所用的术语“烷氧基”是指连接至氧的直链或支链烷基基团（烷基-O-）。示例性烷氧基基团包括，但不限于，具有1-6或2-6个碳原子的烷氧基，其在本文中分别称作 C_{1-6} 烷氧基和 C_{2-6} 烷氧基。示例性烷氧基基团包括，但不限于甲氧基、乙氧基、异丙氧基等。

[0034] 本文所用的术语“烷氧基烷基”是指连接至氧的直链或支链烷基基团，所述氧连接至第二个直链或支链烷基基团（烷基-O-烷基-）。示例性烷氧基烷基基团包括，但不限于：烷氧基烷基，其中烷基基团各自独立地包含1-6个碳原子，其在本文中称作 C_{1-6} 烷氧基- C_{1-6} 烷基。示例性烷氧基烷基基团包括，但不限于甲氧基甲基、2-甲氧基乙基、1-甲氧基乙基、2-甲氧基丙基、乙氧基甲基、2-异丙氧基乙基等。

[0035] 本文所用的术语“烷氧基羰基”是指连接至氧的直链或支链烷基基团，所述氧连接羰基（烷基-O-C(O)-）。示例性烷氧基羰基包括，但不限于，1-6个碳原子的烷氧基羰基，其在本文中称作 C_{1-6} 烷氧基羰基。示例性烷氧基羰基基团包括，但不限于，甲氧基羰基、乙氧基羰基、叔丁氧基羰基等。

[0036] 本文所用的术语“烯基氧基”是指连接至氧的直链或支链烯基（烯基-O-）。示例性烯基氧基基团包括，但不限于，3-6个碳原子的烯基，其在本文中称作 C_{3-6} 烯基氧基。示例性“烯基氧基”基团包括，但不限于，烯丙基氧基、丁烯基氧基等。

[0037] 本文所用的术语“炔基氧基”是指连接至氧的直链或支链炔基（炔基-O-）。示例性炔基氧基基团包括，但不限于，3-6个碳原子的炔基，其在本文中称作 C_{3-6} 炔基氧基。示例性“炔基氧基”基团包括，但不限于，丙炔基氧基、丁炔基氧基等。

[0038] 本文所用的术语“烷基”是指饱和的直链或支链烃。示例性烷基基团包括，但不限于，1-6、1-4或1-3个碳原子的直链或支链烃，其在本文中分别称作 C_{1-6} 烷基、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-3} 烷基。示例性烷基基团包括，但不限于，甲基、乙基、丙基、异丙基、2-甲基-1-丁基、3-甲基-2-丁基、2-甲基-1-戊基、3-甲基-1-戊基、4-甲基-1-戊基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、2,2-二甲基-1-丁基、3,3-二甲基-1-丁基、2-乙基-1-丁基、丁基、异丁基、叔-丁基、戊基、异戊基、新戊基、己基等。

[0039] 本文所用的术语“烷基羰基”是指连接至羰基的直链或支链烷基基团（烷基-C(O)-）。示例性烷基羰基基团包括，但不限于，1-6个原子的烷基羰基，其在本文中称作 C_{1-6} 烷基羰基。示例性烷基羰基基团包括，但不限于，乙酰基、丙酰基、异丙酰基、丁酰基等。

[0040] 本文所用的术语“炔基”是指具有至少一个碳-碳三键的不饱和的直链或支链烃。示例性炔基基团包括，但不限于，2-6或3-6个碳原子的直链或支链基团，其在本文中分别称作 C_{2-6} 炔基和 C_{3-6} 炔基。示例性炔基基团包括，但不限于，乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、甲基丙炔基等。

- [0041] 本文所用的术语“羰基”是指基团 $-C(O)-$ 。
- [0042] 本文所用的术语“氰基”是指基团 $-CN$ 。
- [0043] 本文所用的术语“环烷氧基”是指连接至氧的环烷基（环烷基 $-O-$ ）。示例性环烷氧基基团包括，但不限于，3-6 个碳原子的环烷氧基，其在本文中称作 C_{3-6} 环烷氧基。示例性环烷氧基基团包括，但不限于，环丙氧基、环丁氧基、环己氧基等。
- [0044] 本文所用的术语“环烷基”或“碳环基”是指例如 3-6 或 4-6 个碳的饱和或部分不饱和烃基，其在本文中分别称作 C_{3-6} 环烷基或 C_{4-6} 环烷基。示例性环烷基基团包括，但不限于，环己基、环戊基、环戊烯基、环丁基或环丙基。
- [0045] 本文所用的术语“卤代”或“卤素”是指 F、Cl、Br 或 I。
- [0046] 本文所用的术语“杂芳基”或“杂芳族基团”是指包含一个或多个杂原子、例如 1 至 3 个杂原子、例如氮、氧和硫的单环芳族 5-6 元环系。如果可能，所述杂芳基环可以通过碳或氮连接相邻基团。杂芳基环的实例包括，但不限于，呋喃、噻吩、吡咯、噻唑、噁唑、异噻唑、异噁唑、咪唑、吡唑、三唑、吡啶或嘧啶等。
- [0047] 术语“杂环基”或“杂环基团”是本领域公认的且指的是饱和或部分不饱和 4-7 元环结构，其环结构包括 1 至 3 个杂原子，例如氮、氧和硫。如果可能，杂环基环可以通过碳或氮连接相邻基团。杂环基的实例包括，但不限于，吡咯烷、哌啶、吗啉、硫吗啉、哌嗪、氧杂环丁烷、氮杂环丁烷、四氢呋喃或二氢呋喃等。
- [0048] 本文所用的术语“杂环氧基”是指连接至氧的杂环基（杂环基 $-O-$ ）。
- [0049] 本文所用的术语“杂芳氧基”是指连接至氧的杂芳基（杂芳基 $-O-$ ）。
- [0050] 本文所用的术语“羟基”是指基团 $-OH$ 。
- [0051] 本文所用的术语“氧代”是指基团 $=O$ 。
- [0052] “药学上或药理学上可接受的”包括在给予动物或人时不产生不良、过敏或其它不利反应的分子本体和组合物。对于人体给药，制剂应满足如 FDA Office of Biologics 标准所要求的无菌性、致热原性和全身安全性和纯度标准。
- [0053] 本文所用的术语“药学上可接受的载体”或“药学上可接受的赋形剂”是指任何和所有溶剂、分散介质、包衣、等渗和吸收延迟剂等，其与药物给药相容。这类介质和试剂对药理学活性物质的用途是本领域众所周知的。组合物也可以含有提供补充的、附加的或增强的治疗功能的其它活性化合物。
- [0054] 本文所用的术语“药物组合物”是指包含至少一种本文公开的与一种或多种药学上可接受的载体一起配制的化合物的组合物。
- [0055] “个体”、“患者”或“受试者”可互换使用，且包括任何动物，所述动物包括哺乳动物，例如小鼠、大鼠、其它啮齿动物、兔、狗、猫、猪、牛、绵羊、马或灵长类动物和人。在一个实施方案中，所述患者是人。可以将本文关注的化合物给予哺乳动物，例如人，但是也可以给予其它哺乳动物，例如需要兽医治疗的动物，例如，家畜（例如狗、猫等）、耕作动物（例如牛、绵羊、猪、马等）和实验动物（例如大鼠、小鼠、豚鼠等）。在本文关注的方法中所治疗的哺乳动物合乎需要地是需要治疗肥胖或体重减轻的哺乳动物。“调节”包括拮抗（例如抑制）、激动、部分拮抗和 / 或部分激动。
- [0056] 在本说明书中，术语“治疗有效量”是指将引发组织、系统或动物（例如哺乳动物或人）的生物学或医学反应的受试化合物的量，其是被研究者、兽医、医生或其他临床医师

寻求的。以治疗有效量给予本文关注的化合物以治疗疾病或障碍。可代替地,化合物的治疗有效量是达到所期望的治疗性和/或预防性效果所需要的量,例如导致体重减轻的量。

[0057] 本文使用的术语“药学上可接受的盐”是指酸性或碱性基团的盐,所述酸性或碱性基团可以存在于用于所述组合物中的化合物中。包含于本发明组合物的性质是碱性的化合物能够与不同的无机和有机酸形成多种盐。可用于制备这类碱性化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸是形成非毒性酸加成盐的那些,即,含有药理学可接受的阴离子的盐,包括但不限于苹果酸盐、草酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、单宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、葡糖醛酸盐、糖质酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐(即,1,1'-亚甲基-双(2-羟基-3-萘甲酸盐))。包含于本发明组合物的性质是酸性的化合物能够与不同药学可接受的阳离子形成碱盐。这类盐的实例包括碱金属或碱土金属盐,特别是,钙盐、镁盐、钠盐、锂盐、锌盐、钾盐和铁盐。存在于本发明组合物中包括碱性或酸性部分的化合物还可以与不同氨基酸形成药学上可接受的盐。本公开文本的化合物可以包含酸性和碱性基团;例如,一个氨基和一个羧酸基团。在这种情况下,化合物可以作为酸加成的盐、两性离子或碱盐存在。

[0058] 本公开文本的化合物可以含有一个或多个手性中心,因此,其作为立体异构体而存在。本文使用的术语“立体异构体”由所有对映异构体或非对映异构体组成。可以根据围绕可产生立体异构的碳原子的取代基的构型通过符号“(+)”、“(-)”、“R”或“S”将这些化合物命名,但本领域技术人员认可结构可以隐含地表示手性中心。本公开文本包含这些化合物的不同立体异构体及其混合物。在命名法中对映异构体或非对映异构体的混合物可以命名为“(±)”,但是技术人员将认可结构可以隐含地表示手性中心。

[0059] 本公开文本的化合物的单独的对映异构体和非对映异构体可以从含有不对称或立体异构中心的商购可获得的原料合成制备,或通过制备外消旋混合物接着用对那些本技术领域的普通技术人员众所周知的拆分方法而制备。通过(1)将对映异构体的混合物连接于手性助剂,通过重结晶或色谱法分离所得的非对映异构体的混合物,从助剂中释放光学纯的产物,(2)采用光学活性拆分试剂形成盐,(3)在手性色谱柱上直接分离光学对映异构体的混合物,或(4)采用立体选择性化学或酶试剂的动力学拆分,举例说明这些拆分方法。也可以通过众所周知的方法将外消旋混合物拆分为它们的成分的对映异构体,所述方法例如手性-相液相色谱法或手性溶剂中结晶化合物。立体选择性合成、化学或酶反应(其中单一反应剂在生成新的立体中心过程中或转化预先存在的立体中心的过程中形成立体异构体的不等混合物)在本领域中是众所周知的。立体选择性合成包括对映异构-和非对映异构选择性转化,并且可以包括应用手性助剂。例如,参见 Carreira 和 Kvaerno, *Classics in Stereoselective Synthesis*, Wiley-VCH:Weinheim, 2009。

[0060] 本文公开的化合物可以以与药学上可接受的溶剂例如水、乙醇等的溶剂化和非溶剂化形式存在,且指定本公开文本包括溶剂化和非溶剂化形式。在一个实施方案中,所述化合物是无定形的。在一个实施方案中,所述化合物是单一多晶型物。在另一个实施方案中,所述化合物是多晶型物的混合物。在另一个实施方案中,所述化合物是结晶形式。

[0061] 本公开文本也包括本公开文本的同位素标记的化合物,其与本文描述的那些相

同,除了一个或多个原子被原子质量或质量数与自然界中通常发现的原子质量或质量数不同的原子替代。可以并入本公开文本的化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯的同位素,分别例如²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F和³⁶Cl。例如,本公开文本的化合物可以具有一个或多个被氘替代的H原子。

[0062] 某些同位素标记的公开的化合物(例如,那些用³H和¹⁴C标记的)适用于化合物和/或底物组织分布测试。由于其易于制备和检测,氘化的(即,³H)和碳-14(即,¹⁴C)同位素可以是有用的。此外,用较重同位素,例如氘(即,²H)取代,由于更高的代谢稳定性(例如,体内半衰期增加或所需剂量降低),可以取得某些治疗优势,因此在某些情况下可以是优选的。通过按照与在例如本文的实施例中公开的那些相似的方法,通过将非同位素标记的试剂替换为同位素标记的试剂,通常可以制备同位素标记的本文关注的化合物。

[0063] 术语“前药”是指在体内转化得到公开的化合物或化合物的药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物的化合物。转化可以通过不同机制(例如通过酯酶、酰胺酶、磷酸酶、氧化和或还原代谢)在不同位置(例如在肠腔中或在肠、血液或肝运输时)发生。在一个实施方案中,转化可以通过例如化学水解或酶攻击发生。前药是本领域众所周知的(例如,参见Rautio, Kumpulainen等人, Nature Reviews Drug Discovery 2008, 7, 255)。例如,如果本文关注的化合物或化合物的药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物含有羧酸官能团,前药可以包括酯,其如下形成,通过将酸性基团的氢原子替换为如下基团,例如(C₁₋₈)烷基、(C₂₋₁₂)烷酰氧基甲基、具有4至9个碳原子的1-(烷酰氧基)乙基、具有5至10个碳原子的1-甲基-1-(烷酰氧基)-乙基、具有3至6个碳原子的烷氧基羰基氧基甲基、具有4至7个碳原子的1-(烷氧基羰基氧基)乙基、具有5至8个碳原子的1-甲基-1-(烷氧基羰基氧基)乙基、具有3至9个碳原子的N-(烷氧基羰基)氨基甲基、具有4至10个碳原子的1-(N-(烷氧基羰基)氨基)乙基、3-酞基、4-巴豆酰内酯基(crotonolactonyl)、γ-丁内酯-4-基、二-N,N-(C₁₋₂)烷基氨基(C₂₋₃)烷基(例如β-二甲基氨基乙基)、氨基甲酰基-(C₁₋₂)烷基、N,N-二(C₁₋₂)烷基氨基甲酰基-(C₁₋₂)烷基和哌啶子基-、吡咯烷子基-或吗啉代(C₂₋₃)烷基。

[0064] 类似地,如果本文关注的化合物含有醇官能团,通过将醇基团的氢原子用下述基团代替,可以形成前药:例如(C₁₋₆)烷酰氧基)甲基、1-((C₁₋₆)烷酰氧基)乙基、1-甲基-1-((C₁₋₆)烷酰氧基)乙基(C₁₋₆)烷氧基羰基氧基甲基、N-(C₁₋₆)烷氧基羰基氨基甲基、琥珀酰基、(C₁₋₆)烷酰基、α-氨基(C₁₋₄)烷酰基、芳基酰基和α-氨基酰基或α-氨基酰基-α-氨基酰基,其中各α-氨基酰基基团各自独立选自天然存在的L-氨基酸、-P(O)(OH)₂、-P(O)(O(C₁₋₆)烷基)₂或糖基(将半缩醛形式的碳水化合物的羟基基团移除得到的残基)。

[0065] 如果本文关注的化合物引入了胺官能团,例如,可以通过生成酰胺或氨基甲酸酯、N-酰氧基烷基衍生物、(氧代间二氧杂环戊烯基)甲基衍生物、N-Mannich碱、亚胺或烯胺形成前药。此外,仲胺可以通过代谢被裂解成生物活性伯胺,或叔胺可以通过代谢被裂解成生物活性伯胺或仲胺。例如,参见Simplicio等人, Molecules 2008, 13, 519和其中的参考文献。

[0066] 衍生物或前药可以对靶器官具有增强的渗透性。根据本公开文本,前药具有增强的渗透性,条件是在给予活生物体前药或其衍生物后,较高量的化合物达到靶器官,导致与

基；

[0083] R^{A1} 在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、氧代、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、杂芳基和苯基；

[0084] R^{A2} 在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、氧代、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、杂芳基和苯基；

[0085] R' 在每次出现时独立地选自氢或 C_{1-6} 烷基；其中 C_{1-6} 烷基任选地被1、2、3或更多个各自选自 R^{A1} 的取代基取代；

[0086] 或两个 R' 可以与它们所连接的原子一起形成具有1、2或3个独立地选自N、O和S的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和4-7元单环或10-15元双环杂环；

[0087] n 选自0、1、2、3和4；

[0088] p 选自0、1、2、3和4；

[0089] m 选自0、1、2和3；或

[0090] 其药学上可接受的盐或立体异构体。

[0091] 在一些实施方案中， A^1 可以选自 C_{3-6} 环烷基和杂环基。例如， A^1 可以是 C_{3-6} 环烷基。

[0092] 在一个实施方案中， A^2 可以选自 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基和 $-NR'R'$ 。例如， A^2 可以选自杂环基和杂芳基。

[0093] 在另一个实施方案中，X可以是NH。

[0094] 在一些实施方案中，V可以选自C(O)和 CH_2 。

[0095] 在一个实施方案中，W可以是 CH_2 。

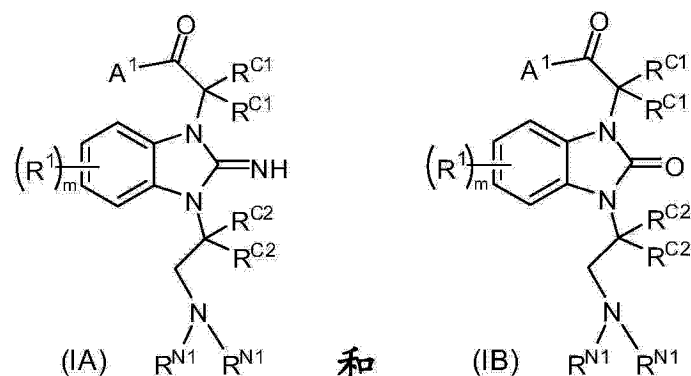
[0096] 在其它实施方案中， R^{C1} 和 R^{C2} 是氢。

[0097] 在一些实施方案中， n 选自1和2。

[0098] 在一个实施方案中， p 选自1和2。

[0099] 在另一个方面中，提供了式IA或IB的杂环化合物：

[0100]



[0101] 其中

[0102] A^1 选自 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基、 C_{1-6} 烷基、羟基、 $-NR'R'$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷

基、-S-C₁₋₆烷基、U-C₃₋₆环烷基、-U-杂环基、-U-苯基、-U-萘基、-U-杂芳基、苯基烷基、萘基烷基、杂环烷基和杂芳基烷基；其中C₃₋₆环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基和C₁₋₆烷基任选地被1、2、3或更多个各自选自R^{A1}的取代基取代；

[0103] U选自-S-、-NR'-、-O-或C₁₋₆烷基；

[0104] R^{C1}和R^{C2}在每次出现时独立地选自氢、卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、C₁₋₆烷基、卤代C₁₋₆烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、C₃₋₆环烷基、杂环基、苯基、萘基和杂芳基；

[0105] 或两个R^{C1}取代基或两个R^{C2}取代基可以与它们所连接的原子一起形成C₃₋₆环烷基、苯基、萘基或具有1、2或3个独立地选自N、O和S的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和4-6元单环或10-12元双环杂环；

[0106] R¹在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、C₁₋₆烷基、卤代C₁₋₆烷基、羧基、-C(O)O-C₁₋₆烷基、-OC(O)O-C₁₋₆烷基、-OC(O)NR'R'、-N(R')C(O)NR'R'、-N(R')C(O)O-C₁₋₆烷基、氰基、硝基、烷氧基、C₃₋₆环烷基、杂环基、杂芳基和苯基；

[0107] R^{A1}在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、C₁₋₆烷基、卤代C₁₋₆烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、-C(O)O-C₁₋₆烷基、-OC(O)O-C₁₋₆烷基、-OC(O)NR'R'、-N(R')C(O)NR'R'、-N(R')C(O)O-C₁₋₆烷基、氧代、C₃₋₆环烷基、杂环基、杂芳基和苯基；

[0108] R^{N1}和R'在每次出现时独立地选自氢和C₁₋₆烷基；其中C₁₋₆烷基任选地被1、2、3或更多个在每次出现时独立地选自R^{A1}的取代基取代；

[0109] 或两个R^{N1}取代基或两个R'取代基可以与它们所连接的氮一起形成具有1、2或3个独立地选自N、O和S的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和4-7元单环或10-15元双环杂环；

[0110] m选自0、1、2和3；或

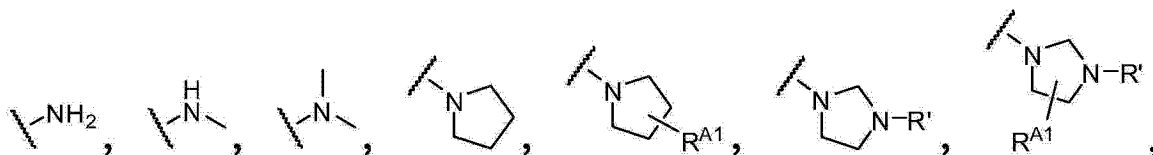
[0111] 其药学上可接受的盐或立体异构体。

[0112] 在一个实施方案中，A¹可以是C₃₋₆环烷基。例如，A¹可以选自环己基、环己烯基、环戊基、环戊烯基、环丁基、环丙基及其任意桥连、螺或稠合变体。

[0113] 在一些实施方案中，R^{C1}和R^{C2}可以是氢。

[0114] 在其它实施方案中， $\begin{matrix} \text{R}^{\text{N1}} \\ | \\ \text{---N} \\ | \\ \text{R}^{\text{N1}} \end{matrix}$ 可以选自：

[0115]

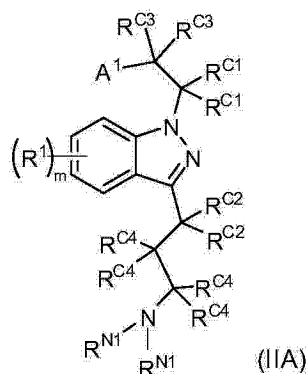


[0116] 及其任意的药学上可接受的

盐。

[0117] 在另一个方面中,提供了式 IIA 的杂环化合物:

[0118]



[0119] 其中

[0120] A^1 选自 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基、 C_{1-6} 烷基、羟基、 $-NR'R'$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-U-C_{3-6}$ 环烷基、 $-U-$ 杂环基、 $-U-$ 苯基、 $-U-$ 萘基、 $-U-$ 杂芳基、苯基烷基、萘基烷基、杂环烷基和杂芳基烷基;其中 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基、杂芳基和 C_{1-6} 烷基任选地被 1、2、3 或更多个各自选自 R^{A1} 的取代基取代;

[0121] U 选自 $-S-$ 、 $-NR'-$ 、 $-O-$ 或 C_{1-6} 烷基;

[0122] R^{C1} 、 R^{C2} 、 R^{C3} 和 R^{C4} 在每次出现时独立地选自氢、卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、苯基、萘基和杂芳基;

[0123] 或两个 R^{C3} 取代基或两个 R^{C4} 取代基可以一起形成氧代、亚氨基或亚硫烷基;

[0124] 或两个 R^{C1} 取代基、两个 R^{C2} 取代基、两个 R^{C3} 取代基或两个 R^{C4} 取代基可以与它们所连接的原子一起形成具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的 C_{3-6} 环烷基、苯基、萘基或饱和、部分饱和或不饱和 4-6 元单环或 10-12 元双环杂环;

[0125] 或一个 R^{C1} 取代基和一个 R^{C3} 取代基或一个 R^{C2} 取代基和一个 R^{C4} 取代基可以与它们所连接的原子一起形成 C_{3-6} 环烷基、苯基、萘基或具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-6 元单环或 10-12 元双环杂环;

[0126] R^1 在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、氰基、硝基、烷氧基、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、杂芳基和苯基;

[0127] R^{A1} 在每次出现时独立地选自卤素、羟基、氨基、酰氨基、磺酰基、磺酰胺、硫羟基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羧基、氰基、硝基、烷氧基、 $-C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)O-C_{1-6}$ 烷基、 $-OC(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)NR'R'$ 、 $-N(R')C(O)O-C_{1-6}$ 烷基、氧代、 C_{3-6} 环烷基、杂环基、杂芳基和苯基;

[0128] R^{N1} 和 R' 在每次出现时独立地选自氢和 C_{1-6} 烷基;其中 C_{1-6} 烷基任选地被 1、2、3 或更多个在每次出现时独立地选自 R^{A1} 的取代基取代;

[0129] 或两个 R^{N1} 取代基或两个 R' 取代基可以与它们所连接的氮一起形成具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-7 元单环或 10-15 元双环杂环;

[0130] 或一个 R^{N1} 取代基和一个 R^{C4} 取代基可以与它们所连接的原子一起形成具有 1、2 或 3 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子的饱和、部分饱和或不饱和 4-7 元单环或 10-15 元双环杂环；

[0131] m 选自 0、1、2 和 3；或

[0132] 其药学上可接受的盐或立体异构体。

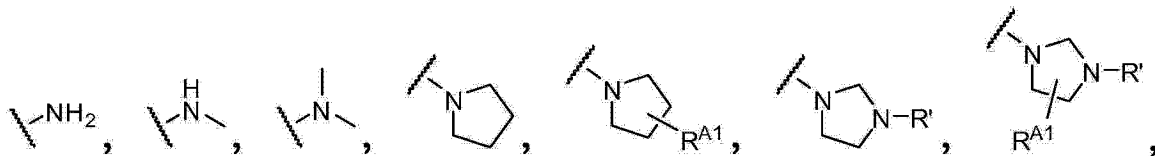
[0133] 在一个实施方案中， A^1 可以是 C_{3-6} 环烷基。例如， A^1 可以选自环己基、环己烯基、环戊基、环戊烯基、环丁基、环丙基及其任意桥连、螺或稠合变体。

[0134] 在另一个实施方案中， R^{C1} 和 R^{C2} 可以是氢。

[0135] 在一些实施方案中， R^{C3} 和 R^{C4} 可以是氢；或两个 R^{C3} 取代基或两个 R^{C4} 取代基一起形成氧代。

[0136] 在其它实施方案中， $\begin{matrix} \text{---} \\ | \\ \text{---N---} \\ | \\ \text{---} \end{matrix} \begin{matrix} \text{R}^{N1} \\ / \\ \text{R}^{N1} \end{matrix}$ 可以选自：

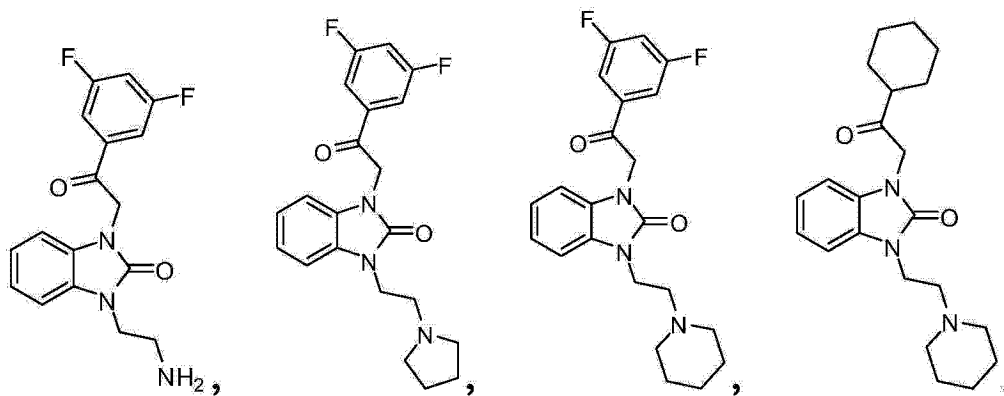
[0137]



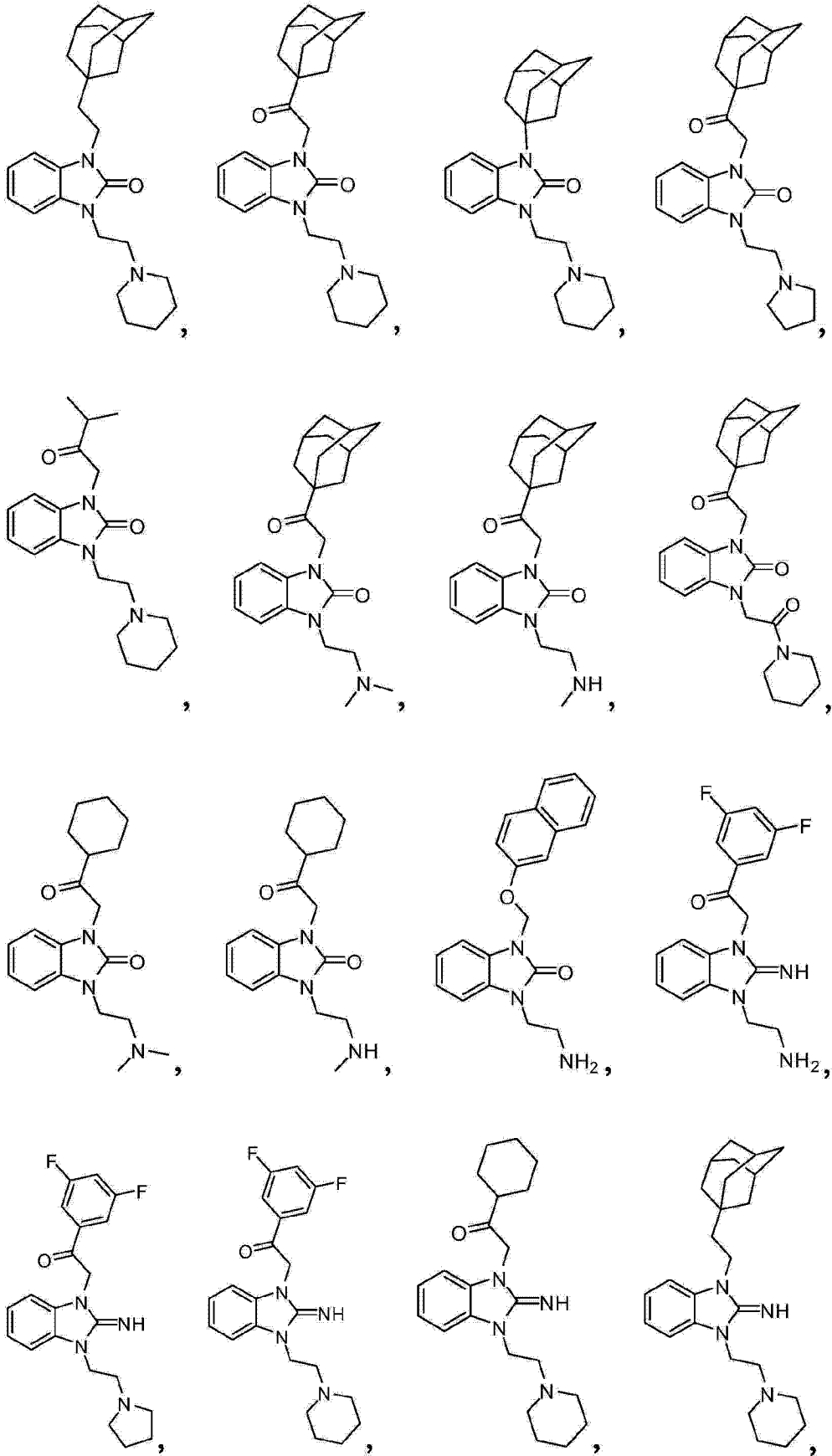
[0138] 及其任意的药学上可接受的盐。

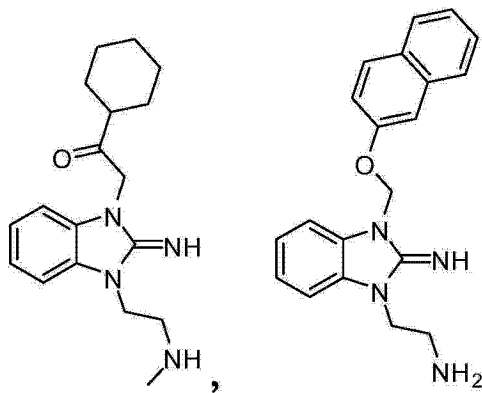
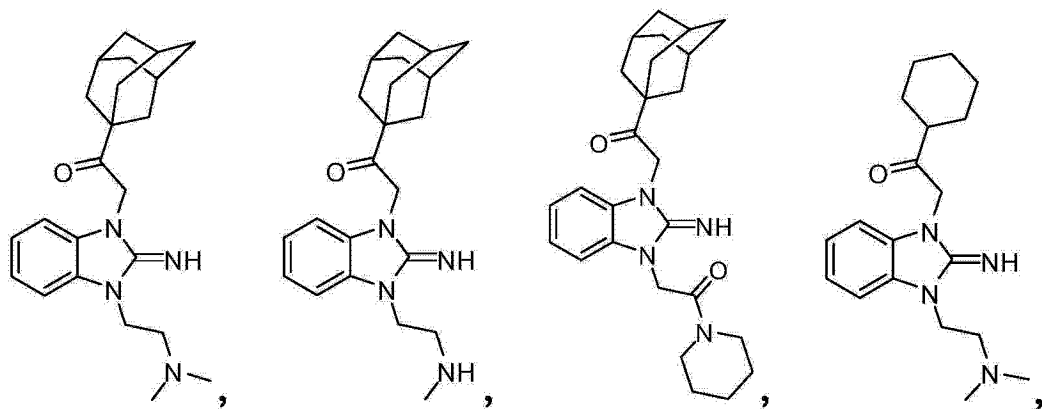
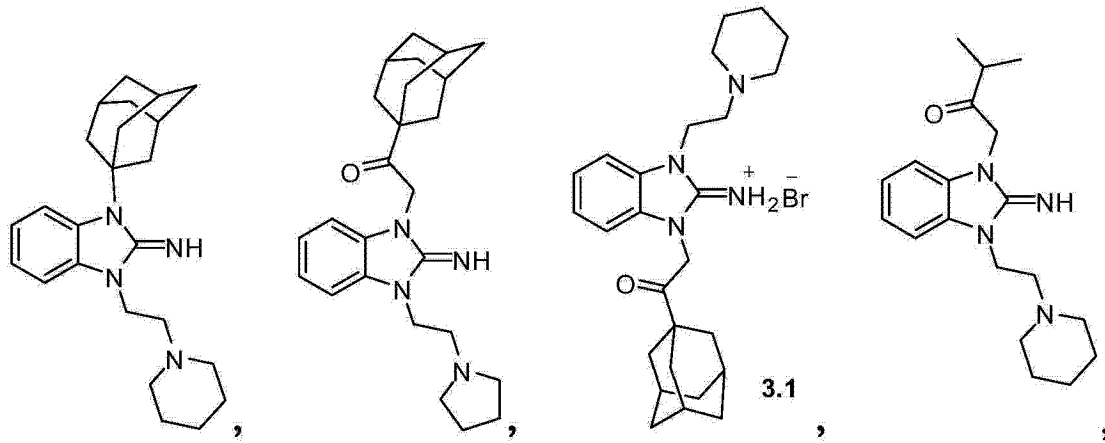
[0139] 在另一个方面中，提供了杂环化合物，其中该杂环化合物选自：

[0140]



[0141]

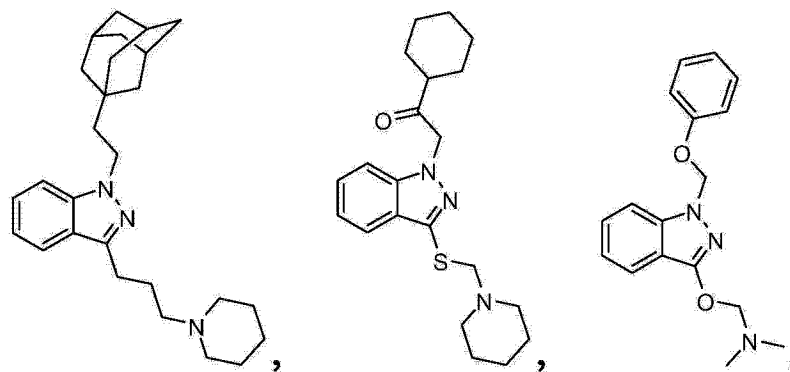


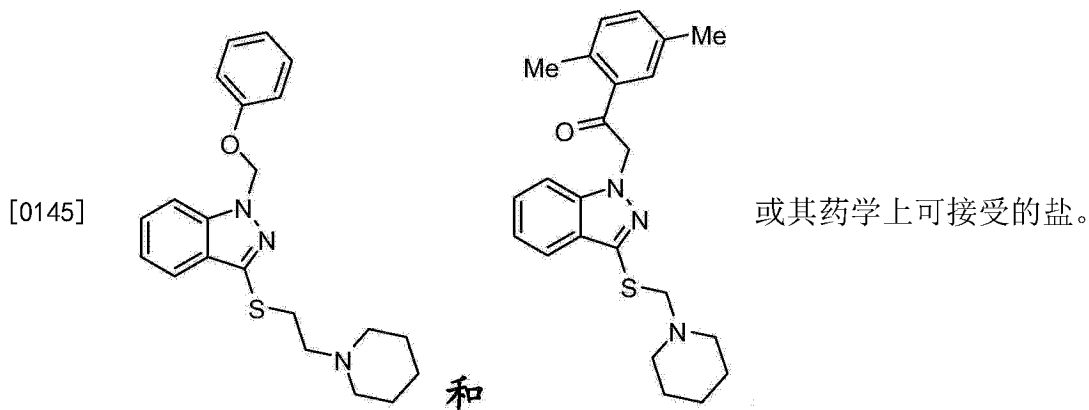


及其任意的药学上可接受的盐。

[0143] 在另一个方面中,提供了杂环化合物,其中该杂环化合物选自:

[0144]





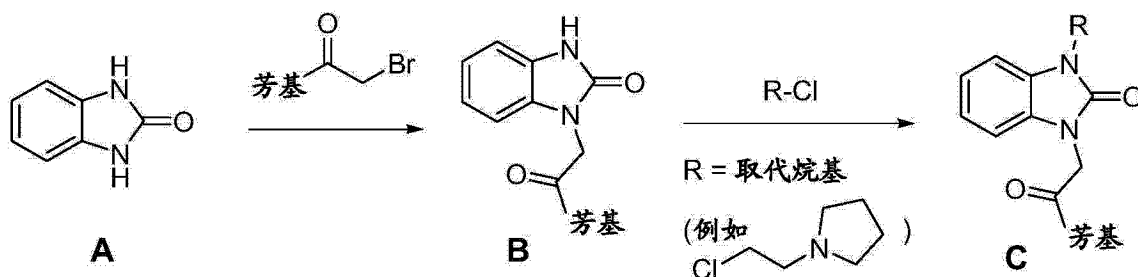
[0146] 下文提供了制备本文所述的化合物的方法。在下述反应中,可能需要保护反应官能团(例如羟基、氨基、硫代或羧基)以避免它们参与不需要的反应。这种基团的并入以及引入和除去它们所需的方法是本领域技术人员公知的(例如,参见 Greene, Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 第2版.(1999))。脱保护步骤可以在合成的最终步骤中,使得除去保护基得到本文公开的式 I 的化合物。用于如下方案的原料可以商购或通过化学文献中所述的方法或其适当的改进、使用本领域技术人员公知的方法制备。所进行的步骤顺序可以根据引入的基团和所用的试剂的不同而改变,但对本领域技术人员而言显而易见。

[0147] 实施例中提供了本文所述化合物的多种制备方法。用于制备本文所述的化合物的另外的合成方法由如下方案提供。给出这些方案的目的在于示例本发明,而不用于限定本发明的范围或精神。方案中所示的原料可以得自商品来源或可以基于文献中所述的方法制备。

[0148] 方案 1 中的合成路线示例了用于制备苯并咪唑酮衍生物的一般方法。该方法包括连接期望的取代基至苯并咪唑酮核的氮。可以通过使苯并咪唑酮 A 与 α -溴羰基底物反应安装连接在苯并咪唑酮的 1-位上的期望的烷基,得到单取代的 B。可以通过使 B 与适合的亲电试剂(例如 R-Cl)反应安装连接在苯并咪唑酮的 3-位上的期望的官能团,得到终产物 C。

[0149] 方案 1

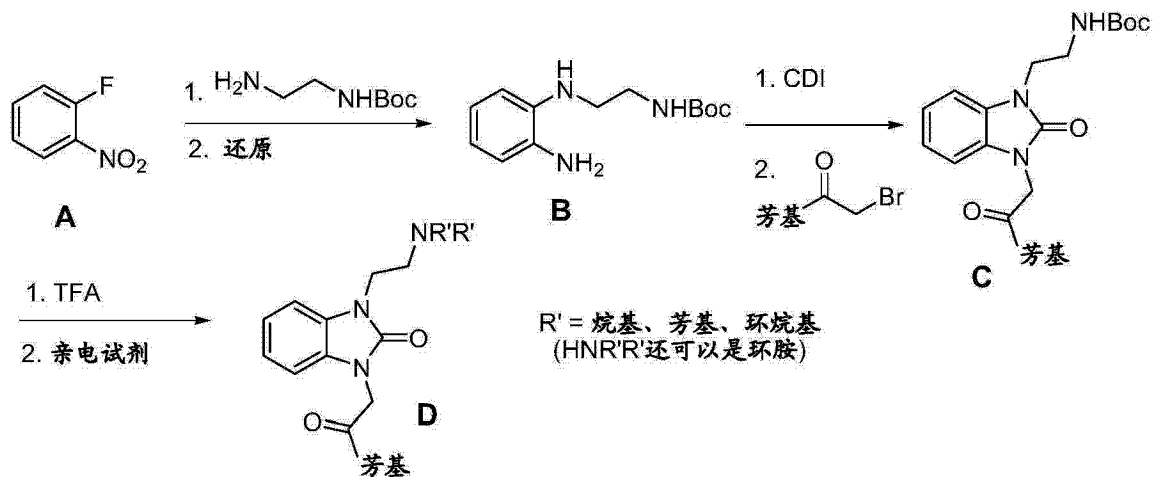
[0150]



[0151] 方案 2 提供了用于制备在苯并咪唑酮环的 3-位上带有不同官能团(例如烷基氨基)的苯并咪唑酮衍生物的更详细描述示例性合成方法。可以使用 boc-保护的乙二胺、然后还原硝基将芳基 A 转化成苯胺 B。可以与羰基二咪唑(CDI)反应安装苯并咪唑酮核。可以通过与适合的 α -溴羰基反应安装在 1-位上的取代基,得到化合物 C。使 boc-保护的氨基脱保护,然后与适合的亲电试剂反应,得到最终二取代的化合物 D。

[0152] 方案 2

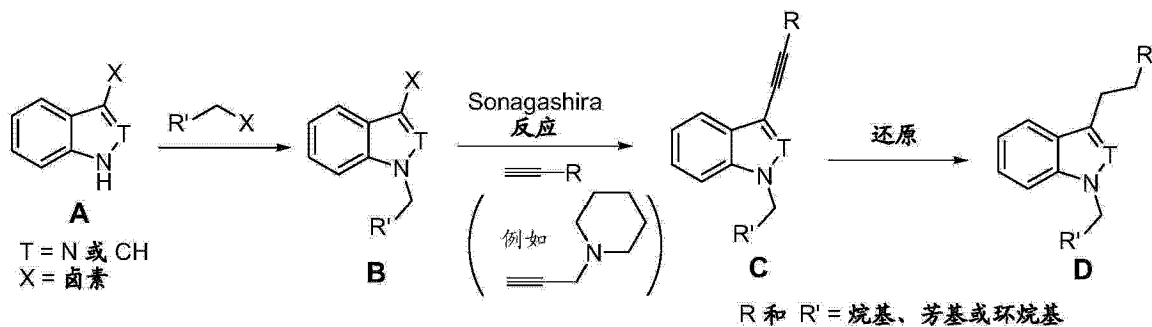
[0153]



[0154] 方案 3 中的合成路线示例用于制备杂双环衍生物的一般方法。该方法包括连接期望的取代基至杂环核。可以通过使 A 与适合的亲电试剂反应安装连接在杂环 A 的氮上的期望的烷基, 得到单取代的 B。可以通过使 B 在 Sonogashira 反应条件下反应安装连接在杂环核的 3- 位上的炔基, 得到炔 C。还原该炔, 得到二烷基取代的终产物 D。

[0155] 方案 3

[0156]



[0157] 方法

[0158] 本公开文本的一个方面提供了调节 T 细胞受体活性的方法, 所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物。在一些实施方案中, 上述方法的一种或多种使用的化合物是本文所述的组、亚组或具体化合物之一, 例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。本文所述的化合物调节或抑制 T 细胞受体的能力可以通过本领域公知和 / 或本文所述的方法评价。本公开文本的另一个方面提供了治疗与 T 细胞受体表达或活性相关的疾病的方法, 所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物, 例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。

[0159] 在一些实施方案中, 本发明提供了治疗疾病或障碍的方法, 所述疾病或障碍选自急性和慢性免疫炎性障碍, 例如克罗恩病、溃疡性结肠炎、风湿病、银屑病和变态反应, 所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物, 例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。

[0160] 提供了治疗胃肠疾病的方法, 所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物, 例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。所关注的方法包括, 例如, 治

疗炎性肠疾病例如溃疡性结肠炎、克罗恩病、未定型结肠炎和憩室炎的方法。

[0161] 本文还提供了治疗内分泌紊乱的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。例如,提供了治疗先天性肾上腺增生、与癌症相关的高钙血症和非化脓性甲状腺炎的方法。

[0162] 提供了治疗风湿病的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。例如,所关注的方法包括治疗如下疾病的方法:牛皮癣关节炎;类风湿性关节炎,包括幼年型类风湿性关节炎;强直性脊柱炎;急性和亚急性滑囊炎;急性非特异性腱鞘炎;急性痛风性关节炎;创伤后骨关节炎;骨关节炎的滑膜炎;和上髌炎。例如,该治疗可以包含短期给药的辅助疗法,其中需要的患者具有急性发作或恶化。在另一个实例中,所选择的方法,例如,治疗类风湿性关节炎的方法可能需要低剂量维持疗法。

[0163] 本文提供了治疗胶原病的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。所关注的方法包括,例如,治疗系统性红斑狼疮、系统性皮炎(例如多肌炎)和急性风湿性心脏炎的方法。例如,该治疗可以作为维持疗法给予和/或在需要的患者具有急性发作或恶化的时给予。

[0164] 本文提供了治疗皮肤病的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。所关注的方法包括,例如,治疗如下疾病的方法:天疱疮;大疱性疱疹样皮炎;多形红斑,例如斯-约二氏综合征;剥脱性皮炎;蕈样真菌病;银屑病;和脂溢性皮炎。

[0165] 提供了治疗变应性病症的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。所关注的方法包括,例如,治疗如下疾病的方法:季节性或全年性变应性鼻炎;支气管哮喘;接触性皮炎;特应性皮炎;血清病;和药物过敏性反应。例如,这些方法包括控制难以用常规治疗控制的严重性或致残性变应性病症。

[0166] 本文提供了治疗眼病的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。所关注的方法包括,例如,治疗如下疾病的方法:涉及眼和/或其附件的急性和慢性变应性和炎性过程,例如:变应性角膜边缘溃疡;眼部带状疱疹;前段炎症;葡萄膜炎、巩膜炎、表层巩膜炎和脉络膜炎;交感性眼炎;变应性结膜炎;角膜炎;脉络膜视网膜炎;视神经炎;虹膜炎和虹膜睫状体炎。

[0167] 提供了治疗呼吸系统疾病的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。所关注的方法包括,例如,治疗如下疾病的方法:有症状的结节病;吕弗勒综合征;铍中毒;暴发性或播散性肺结核,例如,其中该治疗可以由同时给予所公开的化合物和适合的抗结核化疗组成;和吸入性肺炎。

[0168] 本文还提供了治疗血液病的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。例如,所关注的方法包括,治疗如下疾病的方法:特发性血小板减少性紫癜;继发性血小板减少症;获得性(自身免疫性)溶血性贫血;幼红细胞减少症(RBC 贫血);和先天性(红细胞)再生不良性贫血。

[0169] 本文提供了治疗肿瘤病的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量

的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。所关注的方法包括,例如,治疗白血病和淋巴瘤的方法,包括治疗儿童中的急性白血病的方法。

[0170] 本文还提供了治疗水肿状态的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。所关注的方法包括,例如,诱导特发型或归因于红斑狼疮的肾病综合征(没有尿毒症)中的利尿或消除蛋白尿的方法。

[0171] 本文提供了治疗神经系统疾病和/或障碍的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。所关注的方法包括,例如,治疗多发性硬化的方法。

[0172] 本文还提供了:治疗带有蛛网膜下腔阻滞或即将来临的阻滞的结核性脑膜炎的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物,同时给予适合的抗结核化疗;和治疗牵连神经学或心肌的旋毛虫病的方法,所述方法包括对有此需要的患者给予药学有效量的所公开的杂环化合物,例如式 I、IA、IB、II 或 IIA 的化合物。

[0173] 药物组合物和给药

[0174] 本公开文本提供了药物组合物,其包含治疗有效量的与一种或多种药学上可接受的载体(添加剂)和/或稀释剂一起配制的上述化合物的一种或多种。特别地可以将所述药物组合物配制成固体或液体形式,包括适用于如下的那些:(1)口服给药,例如,兽用顿服药(水性或非水溶液或混悬液),片剂,例如靶向口含、舌下和全身吸收的那些,大丸剂、粉末、颗粒、施用于舌的糊剂;(2)胃肠外给药,例如,通过皮下、肌内、静脉内或硬膜外注射,例如,为无菌溶液或混悬液或缓释制剂;(3)局部施用,例如,为霜剂、软膏剂或控释贴剂或喷雾施用于皮肤;(4)阴道内或直肠内,例如,为阴道栓、霜剂或泡沫体;(5)舌下;(6)眼;(7)透皮;或(8)鼻部;或用作气雾剂和/或喷雾剂的其它制剂。

[0175] 另一个方面提供了包含治疗有效量的与一种或多种另外的治疗剂例如作为联合治疗的组成部分一起配制的所公开的化合物的一种或多种的药物组合物。

[0176] 在一个实施方案中,可以通过口服给予本公开文本的药物组合物。然而,可以通过胃肠外,通过吸入喷雾、局部、鼻部、口含、阴道或通过植入的储库给予所述药物组合物。所关注的非胃肠外给药包括口服、口含、透皮(例如通过皮肤贴片)、局部、吸入或舌下给药,或,例如眼、肺、鼻、直肠或阴道给药。例如,所关注的药物组合物可以通过口服、腹膜内或静脉内给予。

[0177] 药物组合物的无菌可注射形式可以是水或油混悬液。可以根据本领域公知的技术、使用适合的分散剂或湿润剂和助悬剂配制这些混悬液。无菌可注射制剂还可以是在无毒性胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或混悬液,例如作为在 1,3-丁二醇中的溶液。在可以使用的可接受的媒介物和溶剂中有水、林格液和等渗氯化钠溶液。此外,固定油常用作溶剂或助悬介质。

[0178] 为了该目的,可以使用任意温和的固定油,包括合成的单酸甘油酯或甘油二酯类。脂肪酸,例如油酸及其甘油酯衍生物用于制备可注射制剂,因为它们天然药学上可接受的油,例如橄榄油或蓖麻油,尤其是以其聚乙氧基化形式。这些油溶液或混悬液还可以包含长链醇稀释剂或分散剂,例如羧甲基纤维素或类似的常用于药学上可将该所和的剂型包括

乳剂和混悬液配制的分散剂。常用于制备药学上可接受的固体、液体或其它剂型的其它常用的表面活性剂例如 Tweens、Spans 和其它乳化剂或生物利用度增强剂也可以用于配制目的。

[0179] 可以以口服可接受的剂型口服给予本公开文本的药物组合物,包括,但不限于,固体剂型,例如胶囊、片剂、丸剂、粉末和颗粒,可以使用本领域公知的任意适合的方法制备它们。例如,可以将所公开的化合物与肠溶材料混合并且压制成片剂。在口服应用的情况下,常用载体包括微晶纤维素、乳糖和玉米淀粉。典型地还加入润滑剂,例如硬脂酸镁。

[0180] 或者,可以将本公开文本的制剂并入咀嚼片、可压碎的片剂、快速溶于口腔内的片剂或口腔洗剂。

[0181] 用于口服或其它给药的液体剂型包括药学可接受的乳剂、微乳、溶液、混悬剂、糖浆剂和酏剂。除活性剂外,液体剂型还可以包含本领域常用的惰性稀释剂,如水或其他溶剂、增溶剂和乳化剂如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苄醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和山梨聚糖的脂肪酸酯类及其混合物。除惰性稀释剂外,眼用、口服或其它全身递送的组合物还可以包括,例如湿润剂和乳化剂和助悬剂。如果需要,则还可以加入一些甜味剂、矫味剂或着色剂。

[0182] 还可以通过鼻腔喷雾或吸入给予本公开文本的药物组合物。这种组为组合物根据药物制剂领域众所周知的技术制备并且可以制成在盐水中的溶液,其中使用苄醇或其它适合的防腐剂、提高生物利用度的吸收促进剂、氟碳化合物和/或其它常用增溶剂或分散剂。

[0183] 例如,对于肺(例如支气管内)给药,可以用常用的赋形剂配制所公开的化合物,以制备细粉或可喷雾液体形式的可吸入组合物。对于眼部给药,可以用常用赋形剂配制所公开的化合物,例如为滴眼液或眼部植入物形式。在用于滴眼液的赋形剂中有增粘剂或胶凝剂,以便将通过眼内改善的保留将流泪导致的损耗减小到最低限度。

[0184] 局部或透皮给药应是期望的,可以使用本领域技术人员通常公知的任意方法进行。用于发明药物组合物局部或透皮给药的剂型包括,但不限于,软膏剂、糊剂、霜剂、凝胶、粉末、溶液、喷雾剂、吸入剂或贴剂。在无菌条件下混合活性剂与药学上可接受的载体并且可能需要任意需要的防腐剂或缓冲剂。例如,使用水性滴剂、合剂、乳剂或霜剂实现皮肤给药途径。

[0185] 透皮贴剂可以具有附加的优点,即提供活性成分受控递送至身体。可以通过将化合物溶于或分散于适当的介质制备这种机型。吸收促进剂也可以用于增加化合物流过皮肤。通过提供速率控制膜或通过将化合物分散于聚合物基质或凝胶控制这种速率。

[0186] 用于直肠或阴道给药的组合物可以是栓剂,可以通过将所公开的化合物与适合的无刺激性赋形剂或载体混合制备,所述适合的无刺激性赋形剂或载体包含,例如,可可脂、聚乙二醇或栓剂蜡,其在室温下是固体,而在体温下是液体,且由此在直肠或阴道腔中融化并且释放活性剂。或者,可以通过在将内窥镜插入受试者直肠后从内窥镜腔中释放给予所关注的制剂。

[0187] 可以与载体材料合并产生单一机型形式的药物组合物的所公开的化合物的量根据所治疗的宿主和特定给药方式的不同而改变。应理解,针对任何特定患者的具体剂量和治疗方案取决于各种因素,包括所用具体化合物的活性、体重、一般健康状况、性别、膳食、

给药时间、排泄速率、药物组合和主治医师的判断以及所治疗特定疾病的严重性。尽管其各种各样,但是为选择适合的剂量或治疗方案的这些因素的解释可以不会超过常规的实验。

[0188] 可以将另外的活性剂,即非所公开的化合物的活性剂与本公开文本的治疗剂分开给予,作为多剂量方案的组成部分。或者,那些活性剂可以是单一剂型的组成部分,与本公开文本的治疗剂一起混入单一药物组合物。如果作为多剂量方案的组成部分给予,则可以将两种活性剂同时、依次或在一定时间期限内相互给予。可以与载体材料合并产生单一剂型的两种治疗剂即本公开文本公开的化合物和另外的治疗剂的量将根据所治疗宿主和特定给药方式以及本公开文本的治疗剂和另外的治疗剂的性质的不同而改变。

[0189] 所关注的方法可以包括给予包含所公开的化合物的组合物,例如,每小时 1 次,每小时 2 次,每 3 至 4 小时 1 次,每日 1 次,每日 2 次,每周 1、2、3 或 4 次,每 3 至 4 天 1 次,每周 1 次或每 2 周 1 次,视特定组合物或抑制剂的半衰期和清除率而定。

[0190] 治疗可以根据需要持续较长或较短的期限。可以使用例如每天 1 至 4 次或多次的方案给予所述组合物。适合的治疗期限可以是,例如,至少约一周、至少约两周、至少约一个月、至少约 6 个月、至少约 1 年或不定期。例如,当治疗代谢紊乱时,治疗期限可以是至少约一个月或至少约 6 个月或至少约一年或不定期。

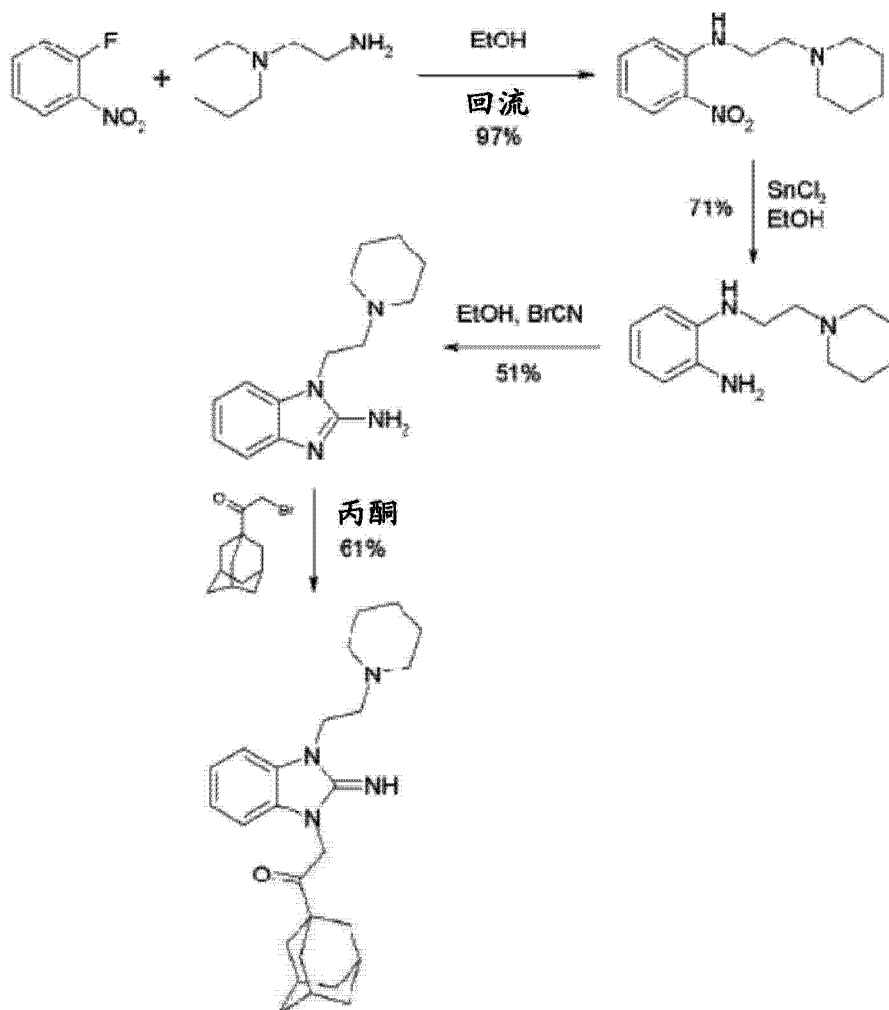
实施例

[0191] 本公开文本进一步提供下列实施例示例。提供下列实施例仅用于示例目的,而不预以以任何方式限定本公开文本的范围或内容。

[0192] 实施例 1 :化合物 S3. 1

[0193] 使用下列方案合成化合物 S3. 1 :

[0194]

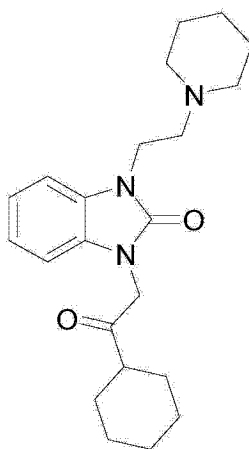


[0195] NMR 光谱如图 6 中所示。

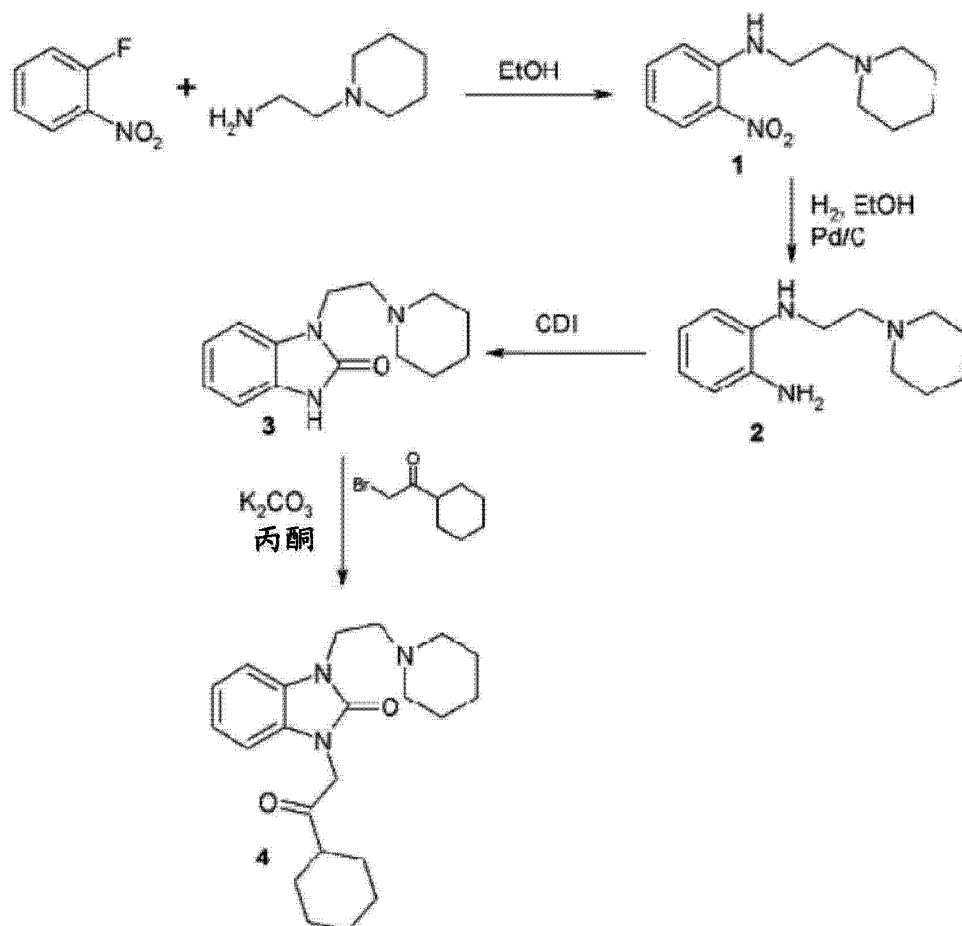
[0196] 实施例 2 : 1-(2-环己基-2-氧代乙基)-3-(2-(哌啶-1-基)乙基)-1H-苯并[d]咪唑-2(3H)-酮

[0197] 使用下列方案制备如下命名的化合物：

[0198]



[0199]

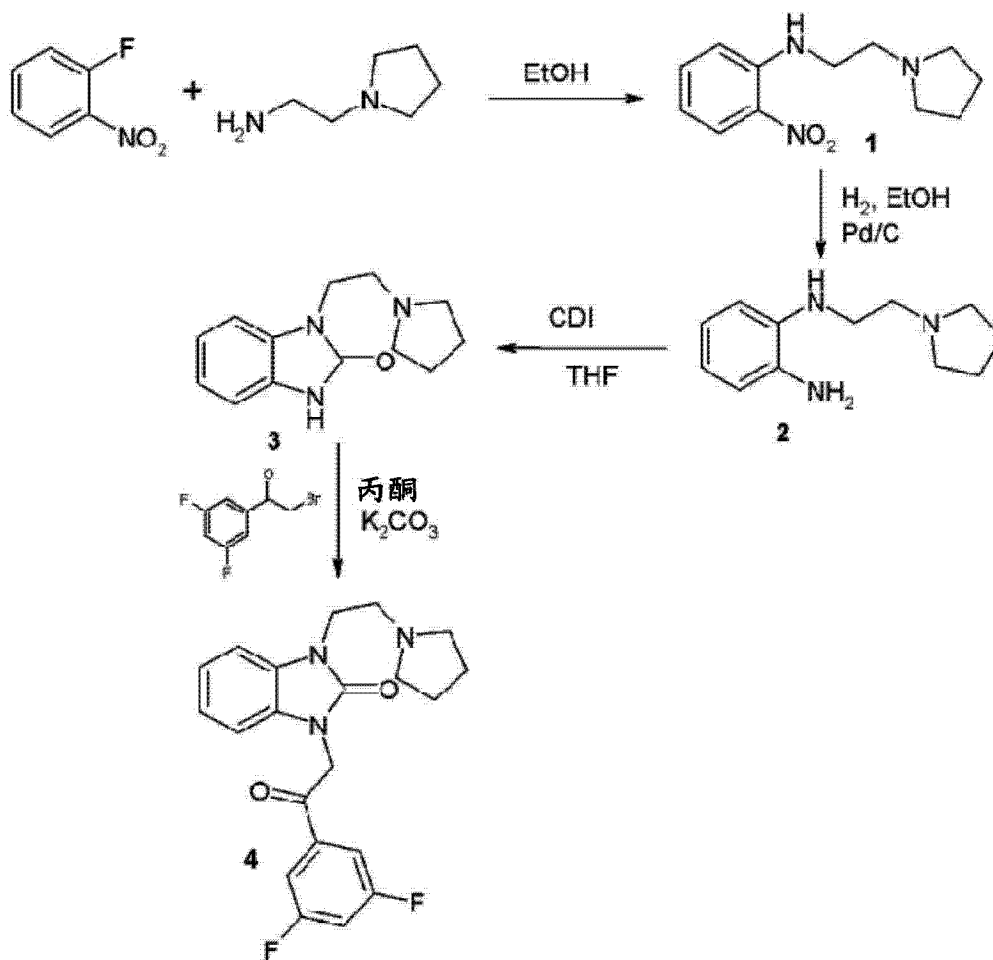


[0200] 第一步, S_NAr 反应实现了 74% 的收率。硝基还原得到化合物 2 基本上是定量的。化合物 3 环化实现了良好收率。最终的烷基化得到产物 4, 收率为 23%。

[0201] 实施例 3:

[0202] 使用下列方案制备化合物:

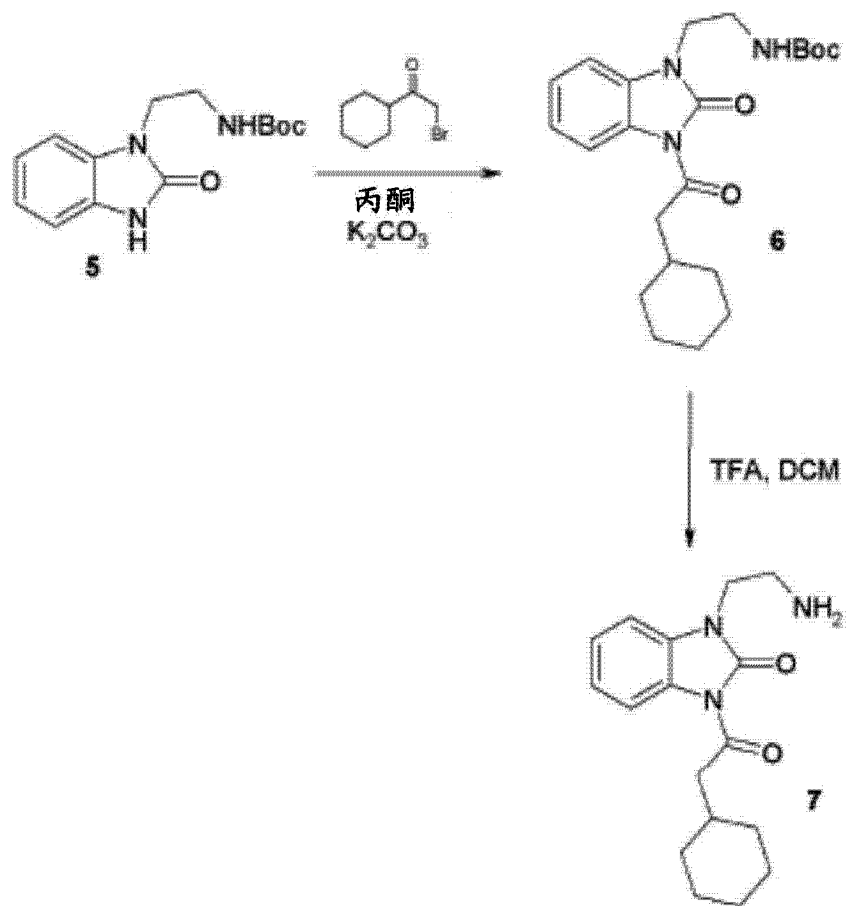
[0203]



[0204] 第一步 S_NAr 反应实现了良好收率,得到化合物 1。硝基还原在氢化下进行,接近定量收率。然后双苯胺 2 参与环化,形成苯并咪唑环 3。该反应也是高度可再现的,收率良好。烷基化以较大规模重复进行几次,并且在纯化后,回收了洁净的足量产物。

[0205] 实施例 4

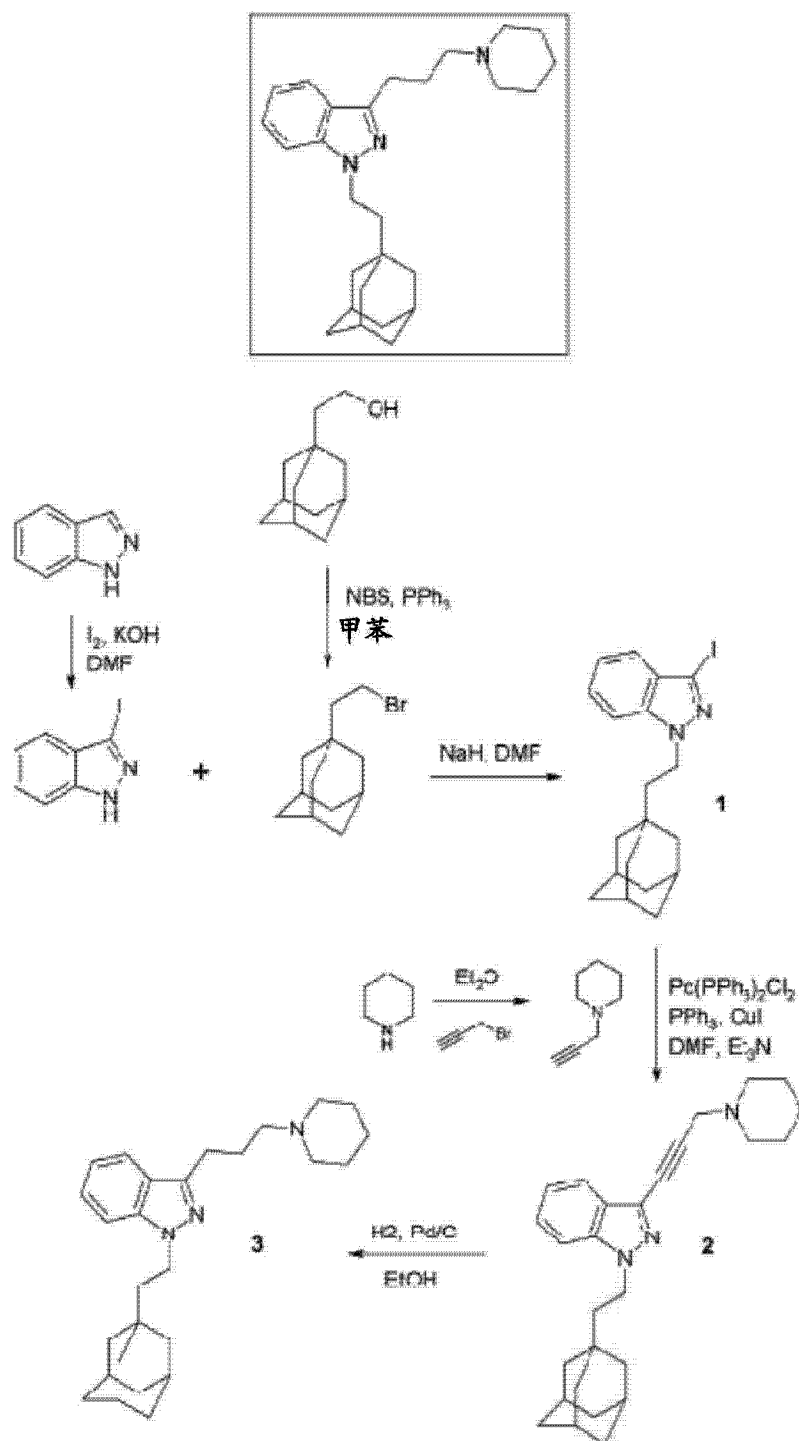
[0206]



[0207] 以在合成化合物 22187 过程中得到的苯并咪唑酮 5 为原料, 烷基化实现了 42% 的收率。该产物用于 Boc 脱保护步骤, 得到化合物 7。

[0208] 实施例 5

[0209]

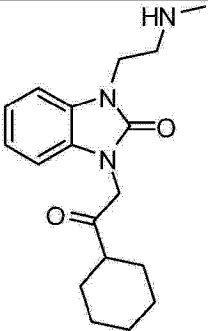
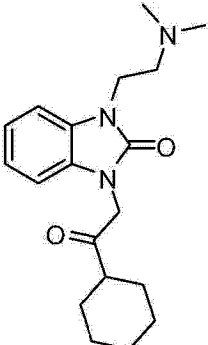
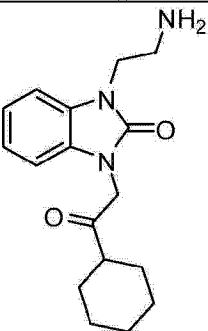
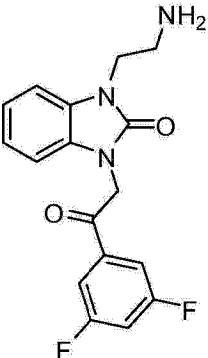


[0210] 合成从吡唑的亲电碘化开始。纯化后得到产物，收率为87%。平行地，由衍生物制备金刚烷乙基溴，收率良好。吡唑的脱保护/烷基化能够回收期望的产物1，收率为68%。还制备了炔丙基哌啶，得到了62%的良好收率。在标准条件下进行Sonogashira反应，得到化合物2，收率为82%。在氢化条件下还原，纯化后得到终产物3，收率为55%。

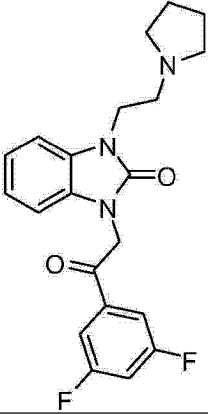
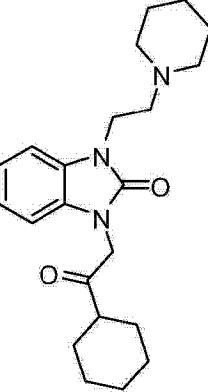
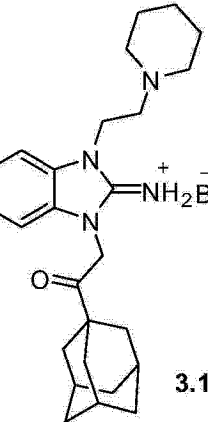
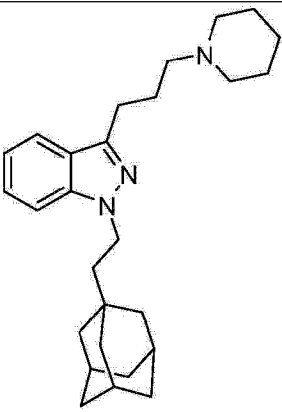
[0211] 实施例6

[0212] 使用与本文所述的那些类似的方法制备表1中列出的化合物。NMR光谱如图8中所示。

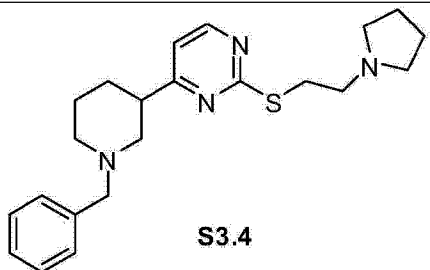
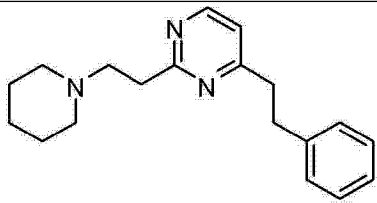
[0213]

实施例 编号	化合物结构	MS 计算值 M^+	MS 测定值 M^+1	保留 时间
1		315.42	316.2	4.82min
2		329.45	330.2	5.11min
3		301.39	302.1	3.53min
4		331.32	332.1	4.67min

[0214]

5		385.42	386.2	3.29min
6		369.51	370.2	5.36min
7		420.60	421.2	3.21min
8		405.63	406.2	7.26min

[0215]

	 <p style="text-align: center;">S3.4</p>			
	 <p style="text-align: center;">化合物 4.4</p>			

[0216] 实施例 7:T 淋巴细胞增殖的抑制

[0217] 筛选选择的化合物在抑制 T 淋巴细胞增殖中的能力。

[0218] 人外周血淋巴细胞 (PBLs) 通过 Ficol 1-Isopaque 梯密度离心法分离自健康志愿者的全血。洗涤后,通过珀可梯密度离心法将淋巴细胞与单核细胞分离。在补充了 10% 热灭活胎牛血清的 IMDM(Gibco, Verviers, Belgium) 中培养淋巴细胞。

[0219] 将细胞接种在 96 孔培养板中,并且用 PHA(10 μ g/ml) 和相应浓度的药物刺激。24 小时后,向每个孔中加入氘化胸腺嘧啶并且保持过夜。第二天早晨用 microbeta 计数器测定增殖。使用设定在百分之一百的未处理条件绘制示意图。

[0220] 正如图 1A 和 1B 中所示,将化合物 S3. 1、S3. 4、S4. 1 和 S4. 4 与糖皮质激素类例如泼尼松龙、地塞米松和氢化可的松的抗增殖作用比较。为了测试化合物的潜能,对已知皮质类固醇绘制增殖抑制(图 1A)。地塞米松是用于本实验的最强有力的皮质类固醇并且也是已知的最有效抗炎药之一。泼尼松龙是更为常用的皮质类固醇且氢化可的松与肾上腺皮质中产生的类固醇等效。

[0221] 图 1B 比较了化合物 (S4. 1 和 S4. 4) 与化合物 (S3. 1 和 S3. 4) 在不同浓度下的淋巴细胞增殖抑制。

[0222] 将使用植物凝集素 (phytohemagglutinin) (PHA) 的淋巴细胞体外刺激与超抗原肠毒素 B(SEB) 刺激的 T 淋巴细胞比较。评价化合物完全抑制 PHA 刺激的淋巴细胞增殖和 SEB 刺激的部分增殖的能力。

[0223] 将淋巴细胞接种在 6 孔培养板 (1, 0 \cdot 10⁷/孔) 上,用 S3. 1、S3. 4 或地塞米松预处理 10 分钟并且用 PHA 刺激 10 分钟。通过将大体积的冰冷 PBS 添加到各孔中终止实验。将混悬液转入试管,短暂地在离心机中旋转沉降并且除去上清液。通过添加冷裂解缓冲液 (0, 1% NP40, 50mM TrisHCl, 1mM EDTA, 1mM EGTA, 150mM NaCl, 200 μ M Na₃VO₄, 10mM NaF 和蛋白酶抑制剂) 并且在冰上温育 20 分钟溶解沉淀。

[0224] 为了研究受 S3. 1 和 S3. 4 处理影响的细胞信号传导事件,给裂解物补充样品缓冲液 (188mM Tris-Cl (pH 6.8), 3% SDS, 30% 甘油, 0. 01% 溴酚蓝, 15% β - 巯基乙醇), 加热至 95 $^{\circ}$ C 5 分钟,在冰上冷却并且超声处理。然后在 10% SDS-PAGE 凝胶上旋转样品,印迹至 PVDF 膜,并且与用于 phospho-Zap70(Cell Signaling Technology (Beverly, MA)) 和

phospho-LAT(Cell Signaling Technology(Beverly, MA)) 的抗体一起温育。为了显示样品的等量加载,将印迹与定向于 β -肌动蛋白(Santa Cruz Biotechnology(Heidelberg, Germany)) 的抗体一起温育。

[0225] 激酶 Lck 作为 T 细胞受体 (TCR) 相关信号传导的看门者起作用,因为它是刺激 TCR 时被活化的前和大部分上游激酶之一。因为 TCR 的下游信号传导被 S3.1 和 S3.4 处理抑制,所以通过免疫沉淀 Lck 和印迹 Hsp90 研究与 Lck 的相互作用。对于免疫沉淀实验,每种条件使用 $1,0 \cdot 10^7$ 个细胞。沉淀细胞,并且如上所述裂解。通过在 4°C 添加 $10 \mu\text{l}$ 蛋白质 A/G UltraLink 树脂 (Pierce Biotechnology, Rockford, USA) 30 分钟预澄清上清液。旋转沉降珠并且弃去。将样品与 $2 \mu\text{g}$ 初级抗体和 $25 \mu\text{l}$ 珠一起在 4°C 温育 2 小时。用 PBS 洗涤珠,加入样品缓冲液并且加热至 95°C 5 分钟。

[0226] 通过蛋白质印迹研究化合物 S3.1 和 S3.4 的抗增殖作用在 T-细胞受体 (TCR) 相关信号传导缺失中进一步反映出来(参见图 2A 和 2B)。激酶 Zap70 和支架蛋白 LAT 与刺激的未处理对照组相比显示较低的磷酸化水平(图 2A)。与糖皮质激素(GC)地塞米松处理类似,淋巴细胞-特异性蛋白质酪氨酸激酶(LCK)及其伙伴蛋白 Hsp90 的相互作用缺失(图 2B)。这种相互作用防止 LCK 降解。综上所述,这证实了对 TCR-近端信号传导的作用,从而影响 LCK 和下游信号传导事件,其最终导致增殖缺失,且由此降低了细胞因子水平。

[0227] 实施例 8:毒性评价(对 HELA 宫颈癌细胞的 MTS 存活力测定)

[0228] 使用 MTS 存活力试验对多种癌细胞系(HCT116, HeLa, 293T) 测试化合物 S3.1 和 S3.4 以评价毒性。在 $10 \mu\text{M}$ 将细胞系处理 3 天。以多种浓度将细胞接种在 96 孔培养板的 $100 \mu\text{l}$ 培养基中。第二天,将 S3.1 或 S3.4 以 $10 \mu\text{M}$ 的浓度加入到每个孔中。为了测试细胞存活力,向每个孔中加入 $20 \mu\text{l}$ MTS 溶液(Promega, Madison, USA) 并且温育 4 小时。通过使用 96-孔平板读出器在 490nm 测定吸光度确定蓝色甲口(formazan) 形成。当 MTS 因细胞减少时,产生甲口。MTS 更新于细胞存活力相关。

[0229] 正如图 3 中观察到的,所述化合物不会导致对存活力或增殖的任何负面效应。

[0230] 实施例 9:与糖皮质激素类的对比和副作用的评价

[0231] 因为选择与附带严重不需要的副作用的 GC 处理和 GC 处理类似作用的化合物,所以筛选这些化合物诱导 GC 调节基因的能力。试验使用包含 GRE-荧光素酶报道构建体的细胞系进行。GRE 是指糖皮质激素反应元件,即特异性 DNA 序列,配体结合的糖皮质激素受体与之结合且荧光素酶是编码可以催化荧光素氧化的蛋白质的基因,所述催化荧光素氧化是伴随生物发光的反应。

[0232] 293GRE 癌细胞购自 Panomics(Vignate-Milano, Italy)。将细胞以 $1 \cdot 10^5$ 细胞/孔接种在 24 孔培养板上。48 小时后,用化合物或地塞米松将细胞处理过夜。抽吸各孔,并且通过向每个孔中添加 $100 \mu\text{l}$ 裂解缓冲液(Promega, Madison, USA) 裂解细胞。向 $100 \mu\text{l}$ 荧光素酶底物中添加 $10 \mu\text{l}$ 裂解物。用发光计测定产生的光。为了显示不存在 GR 调节基因的反式激活(在属于一般 GR 配体的情况中),研究皮质类固醇处理的两种众所周知的副作用。

[0233] 图 4a/4b 脂肪生成:图 4A/4B 显示在 DMEM+10% FCS 中培养 3T3-L1 小鼠成纤维细胞后的结果。在达到完全融合后,给培养基补充胰岛素($1,6 \mu\text{M}$)、IBMX($0,5\text{mM}$) 和地塞米松或 S3.1 或 S3.4($0,25 \mu\text{M}$)。两天后,用包含胰岛素的生长培养基替代所述培养基。6 天后,

用生长培养基替代该培养基。1周后,通过油红O染色使形成的脂滴显影并且定量。简言之;用4%低聚甲醛将细胞固定15分钟,用PBS洗涤,在4,4mM油红O/异丙醇溶液中温育10分钟,用H₂O洗涤2x10分钟并且在甘油中固定。图5a/5b显示在DMEM+5%FCS中培养肌萎缩C2C12小鼠肌细胞后的结果。当细胞达到90%融合率时,用补充了5%HS和1μM胰岛素的DMEM替代培养基。2天后,用4μg/ml AraC处理细胞。1周后,用10μM地塞米松或S3.1或S3.4将细胞处理24小时。通过将细胞在冷2%戊二醛溶液中固定过夜终止实验。该固定方法导致自体荧光,从而能够使细胞显影。测定形成的肌纤维的厚度并且使用Adobe photoshop CS4定量。

[0234] 在体外小鼠肌细胞细胞系C2C12试验中,化合物无一诱导成纤维细胞分化成脂细胞(图4A和4B)或导致肌纤维厚度缺失(图5A和5B),它们各自是所报道的GC处理的副作用。

[0235] 并入参考

[0236] 为所有目的将本文提及的专利对比文件和科学论文的全部公开内容并入参考。

[0237] 等效方案

[0238] 本发明可以在不脱离其精神或主要特征的情况下以其它具体形式示例。上述实施方案由此在所有方面被视为示例性的,而非对本文所述的本发明进行限定。本发明的范围由此由待批权利要求而非上述描述表示,且属于权利要求含义和范围内的所有改变均予以包括在其中。

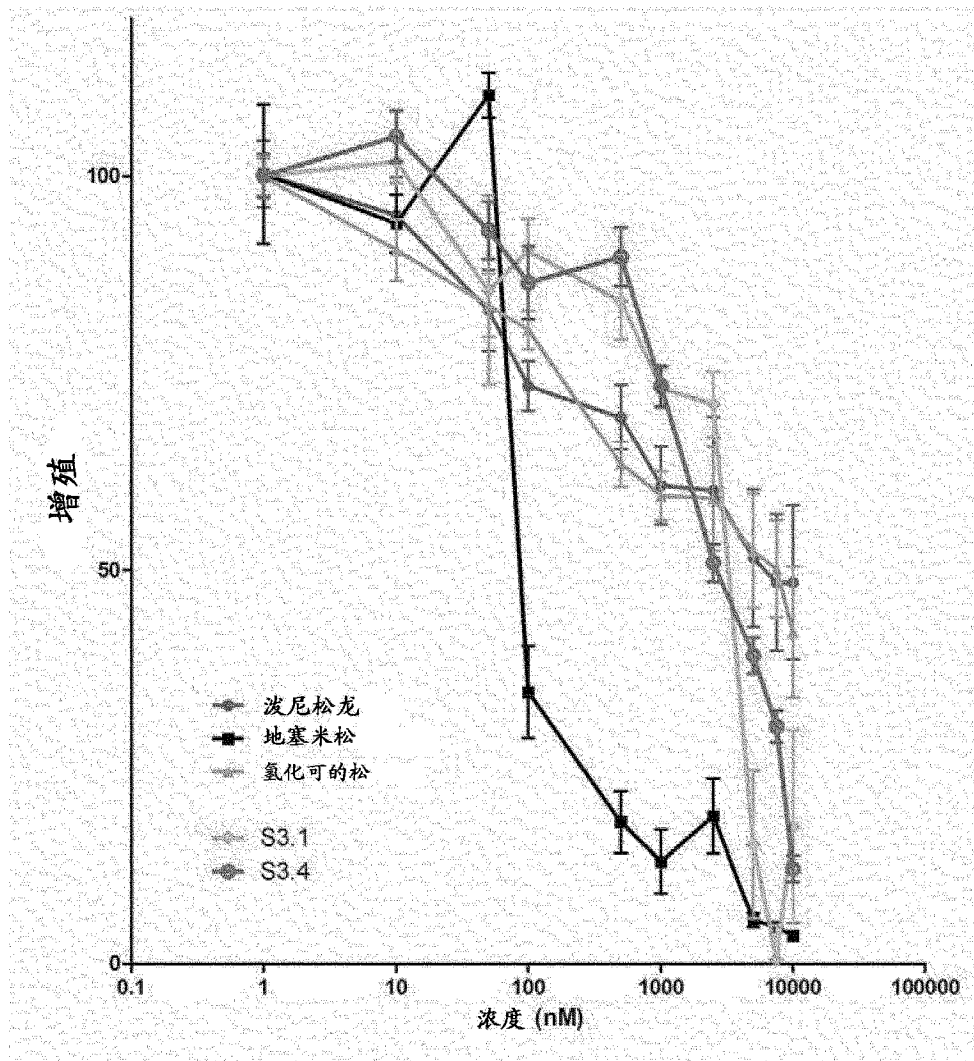


图 1A

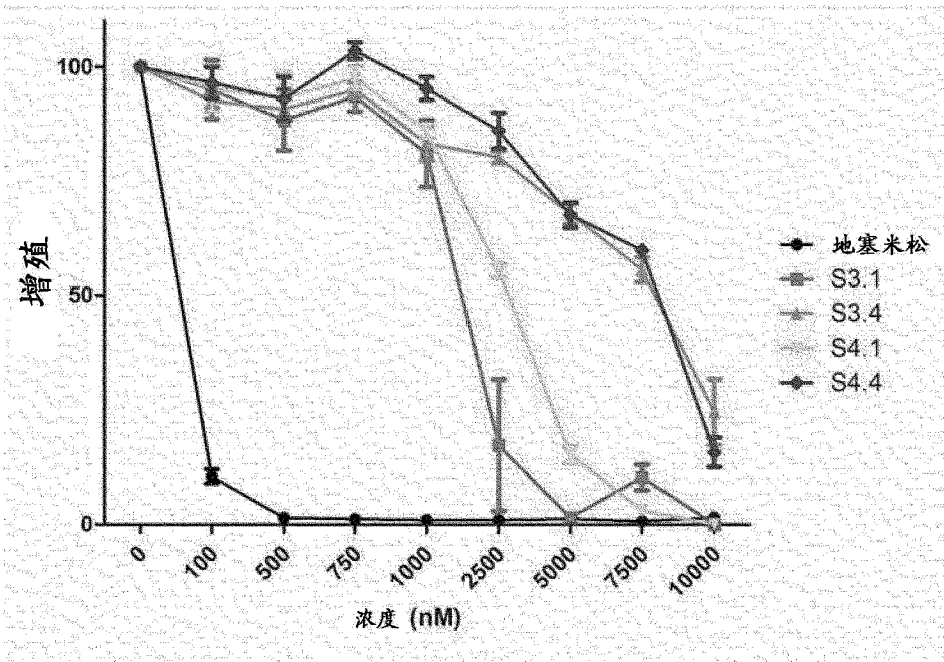


图 1B

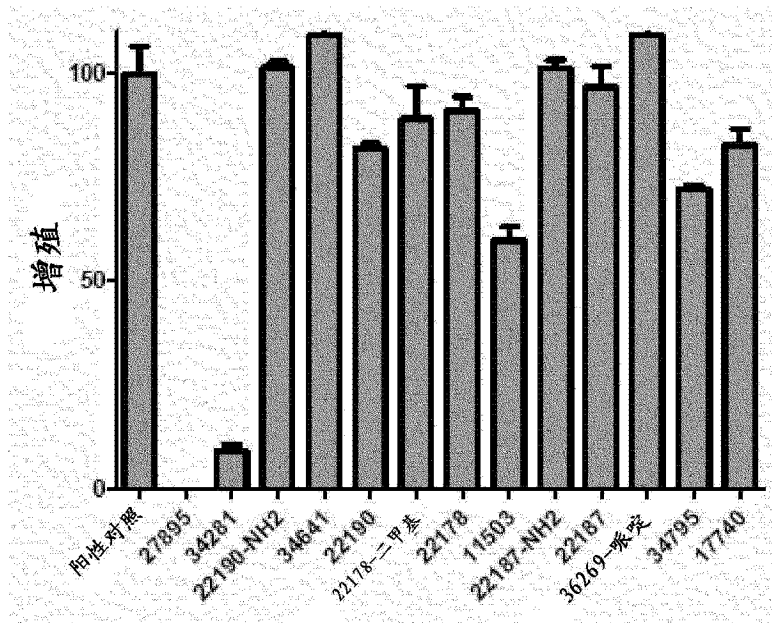


图 1C

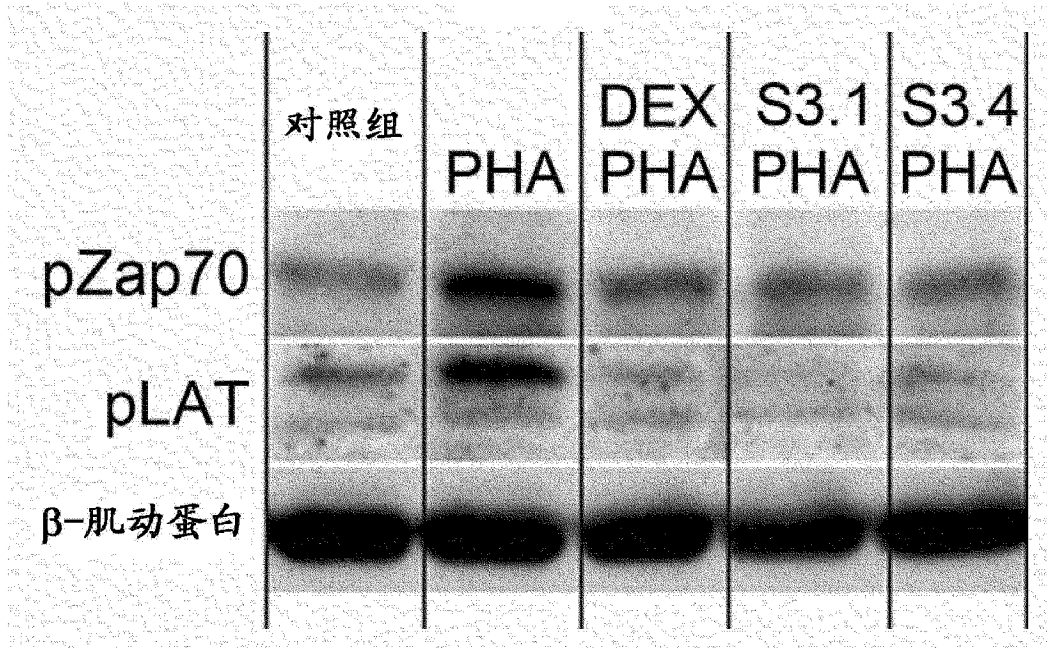


图 2A

GIJ-029PR

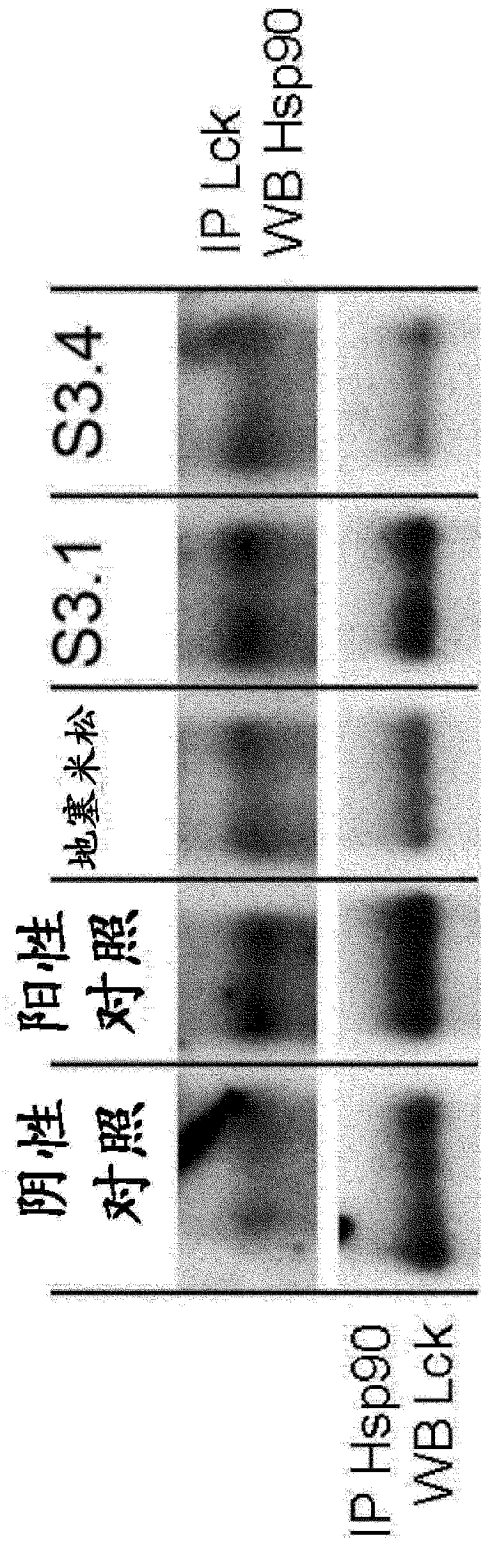


图 2B

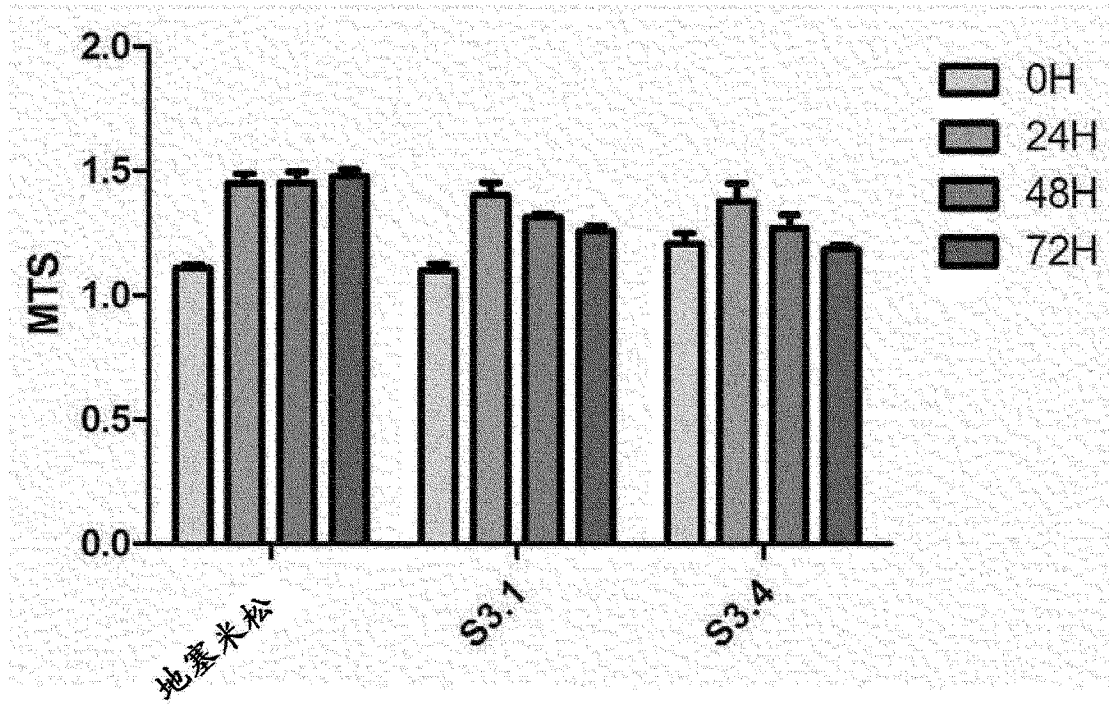


图 3

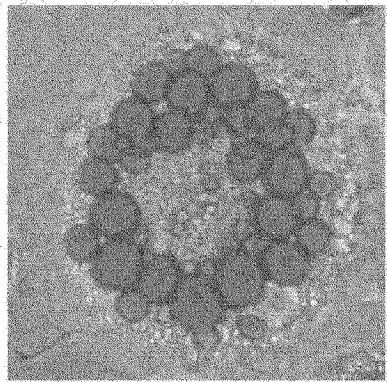


图 4A

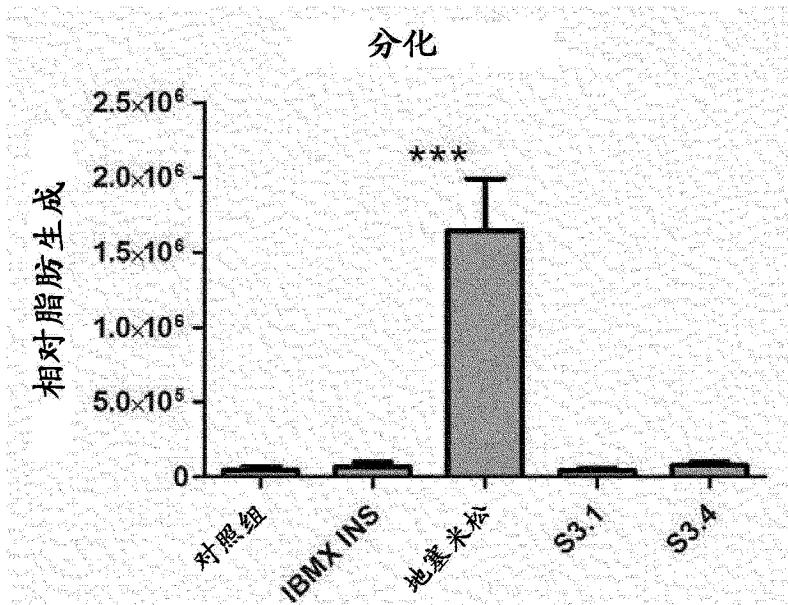


图 4B

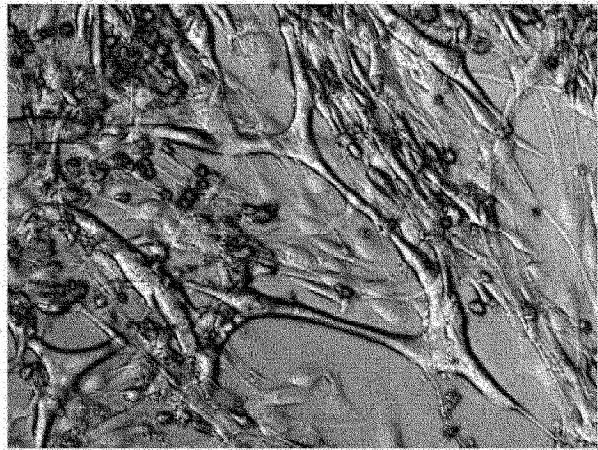


图 5A

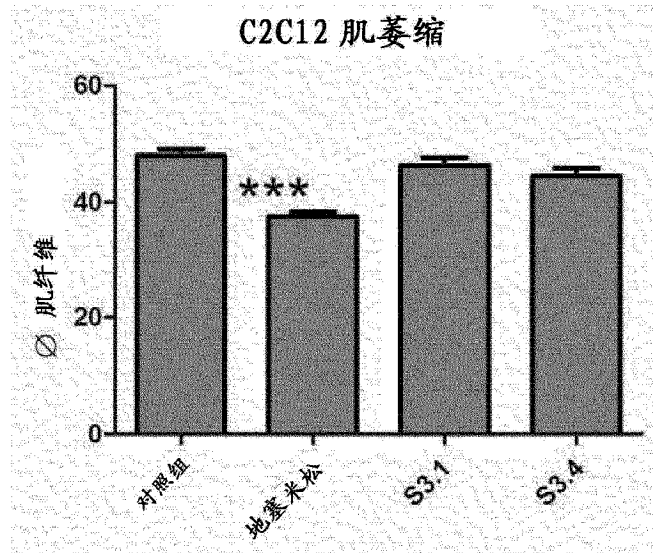


图 5B

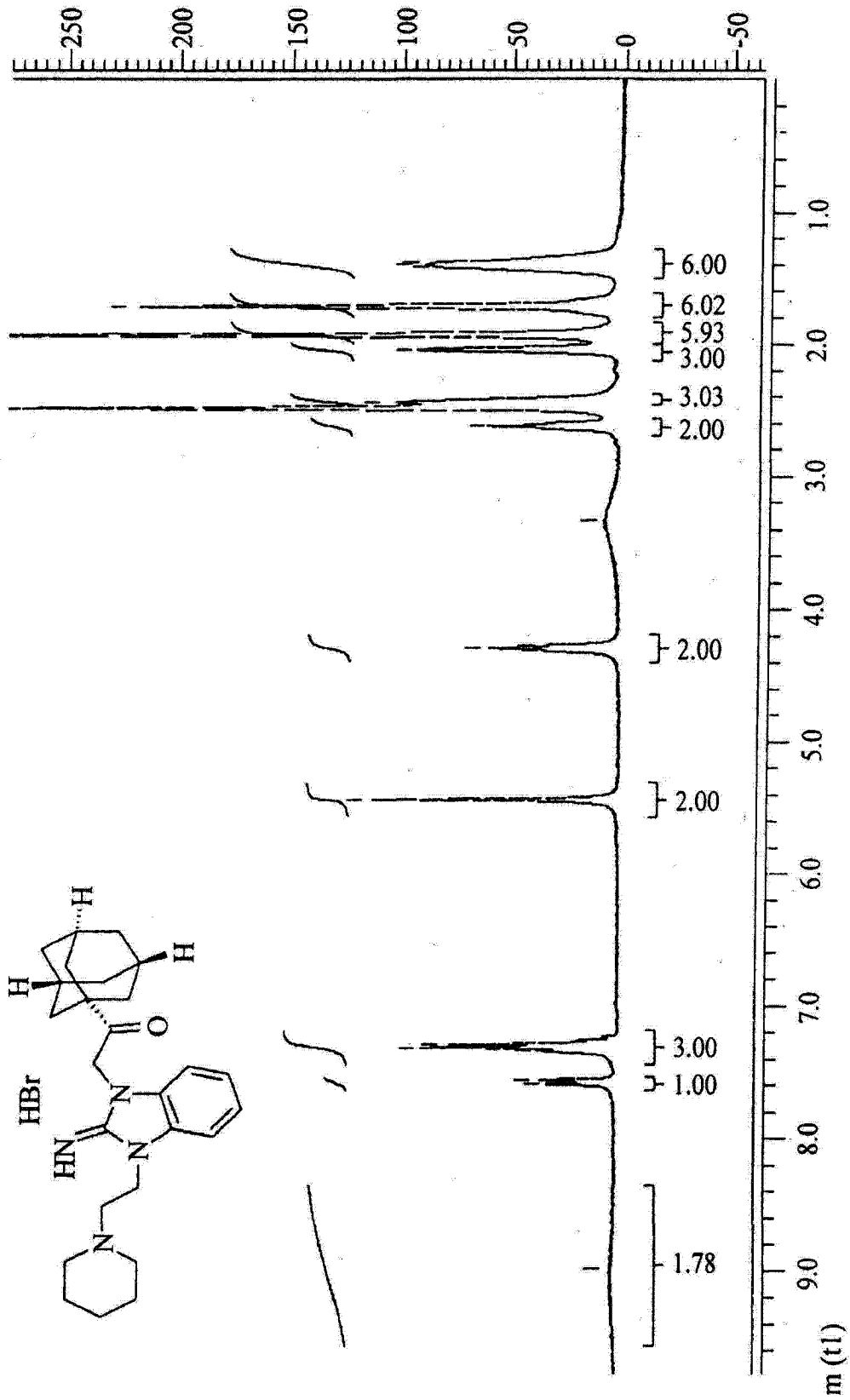


图 6

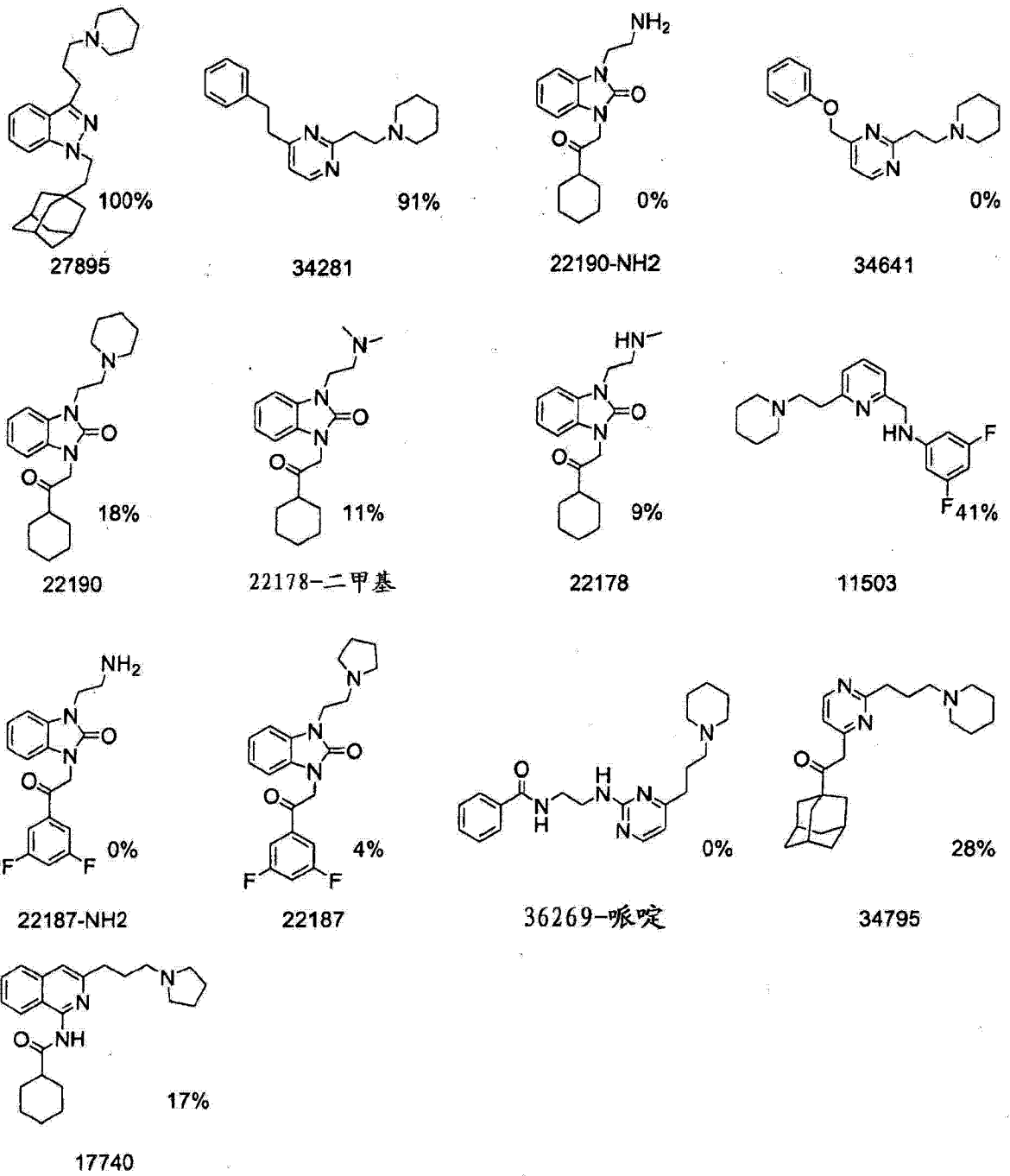


图 7

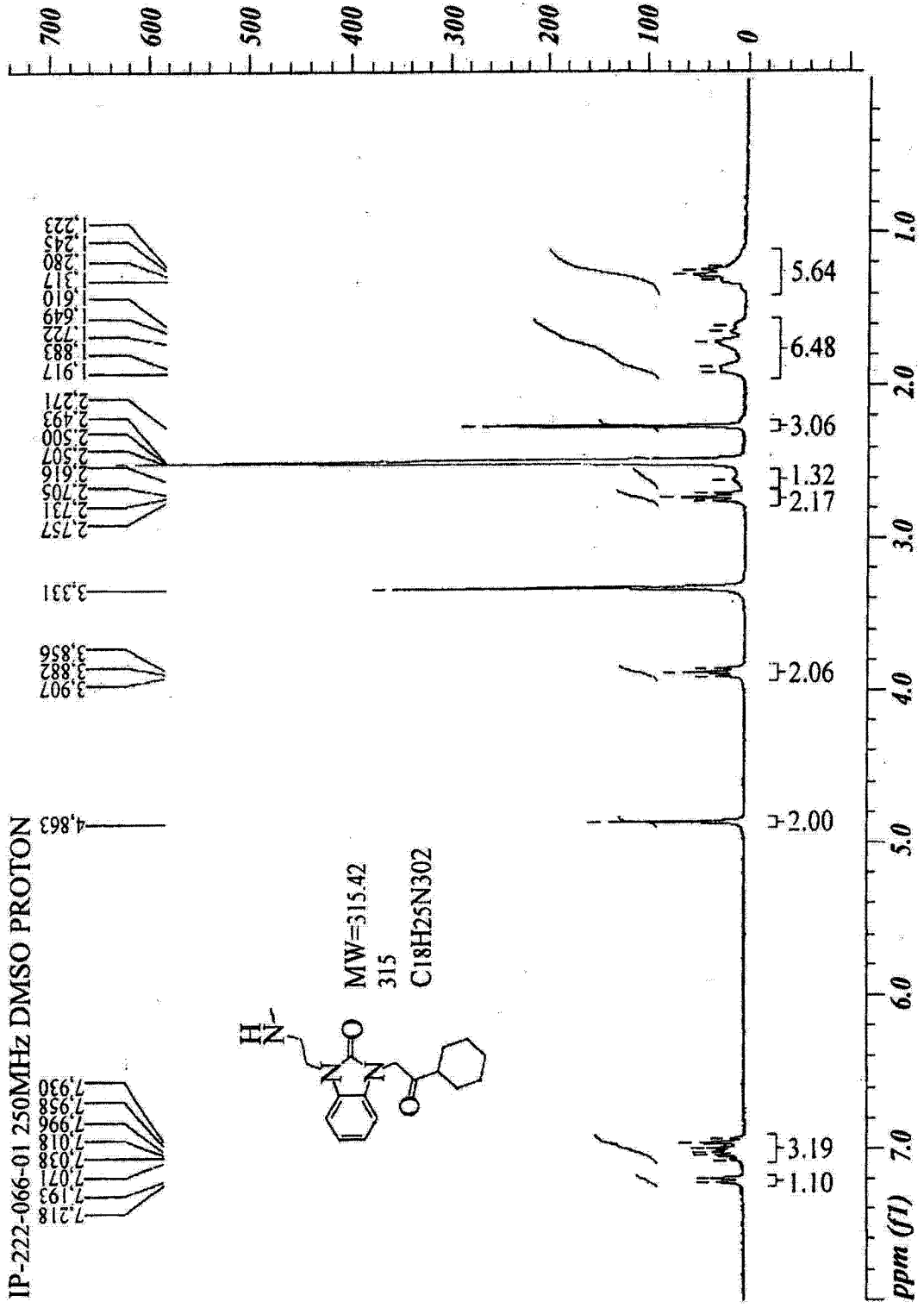


图 8A

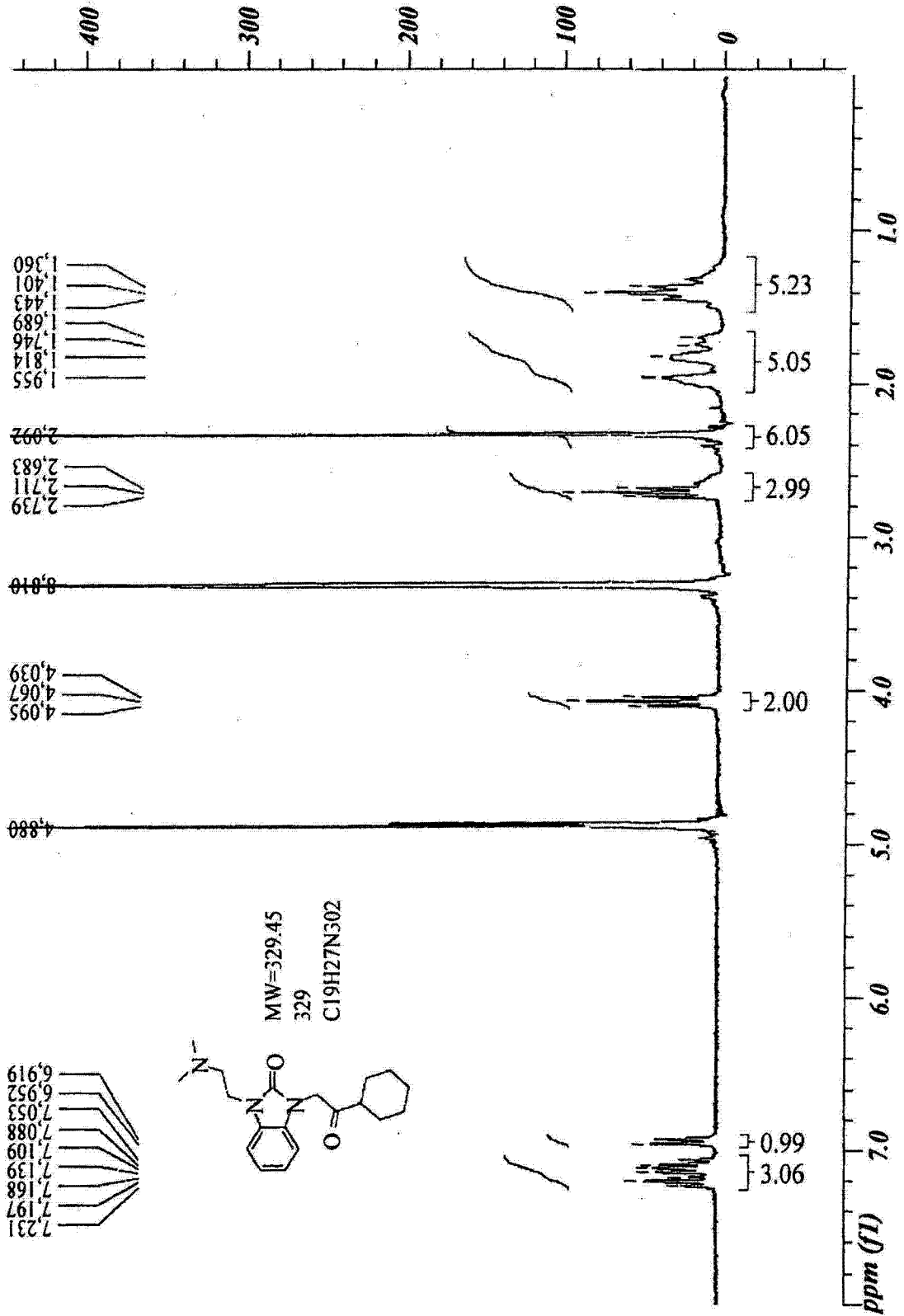


图 8B

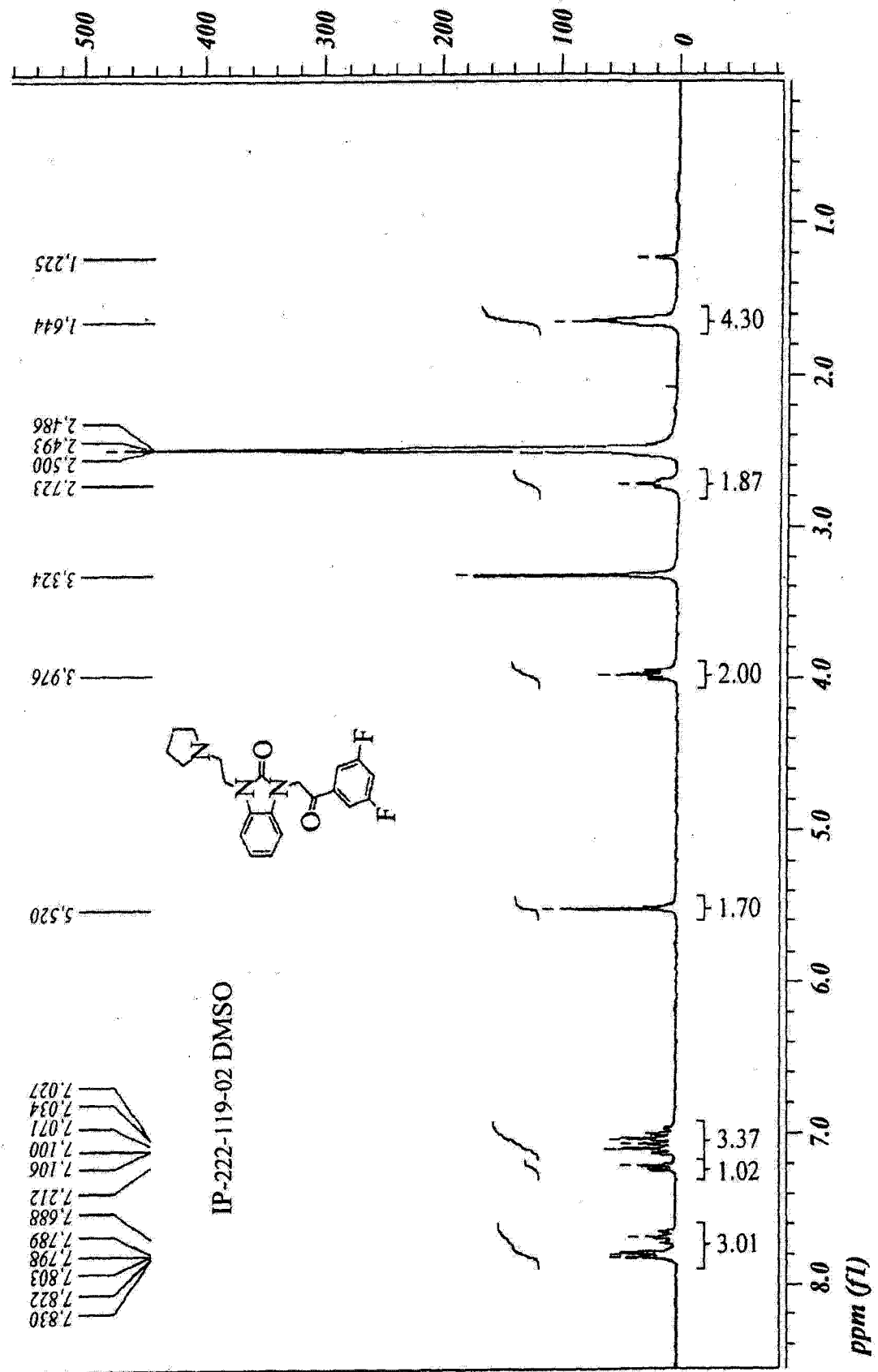


图 8C

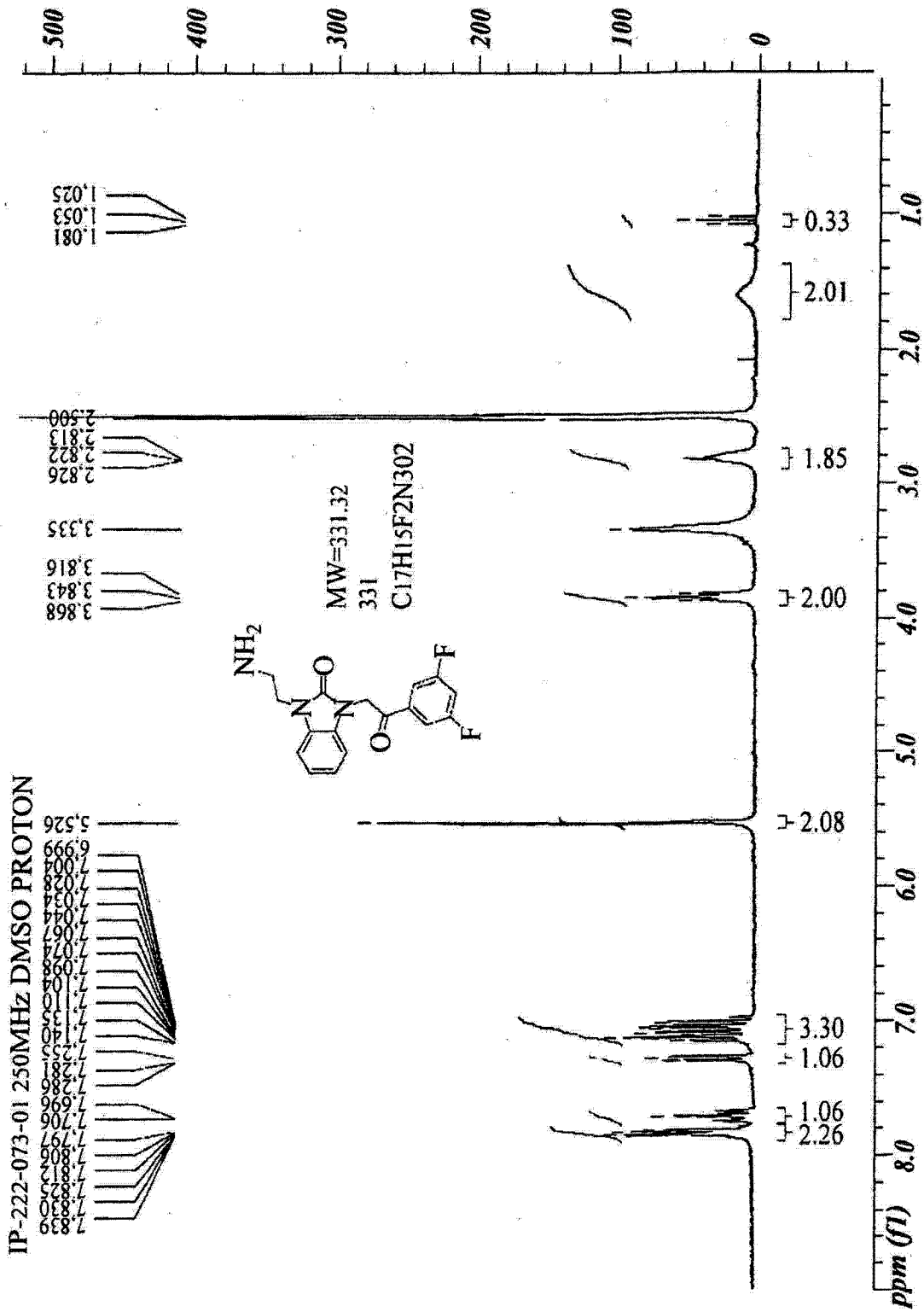


图 8D