

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 31/401 (2006.01)

A61K 31/551 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580022887.3

[43] 公开日 2007 年 6 月 13 日

[11] 公开号 CN 1980658A

[22] 申请日 2005.5.27

[21] 申请号 200580022887.3

[30] 优先权

[32] 2004.5.27 [33] US [31] 60/574,993

[86] 国际申请 PCT/US2005/018949 2005.5.27

[87] 国际公布 WO2005/117846 英 2005.12.15

[85] 进入国家阶段日期 2007.1.8

[71] 申请人 沃泰克斯药物股份有限公司

地址 美国马萨诸塞

[72] 发明人 J·C·R·兰德尔

[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

代理人 李华英

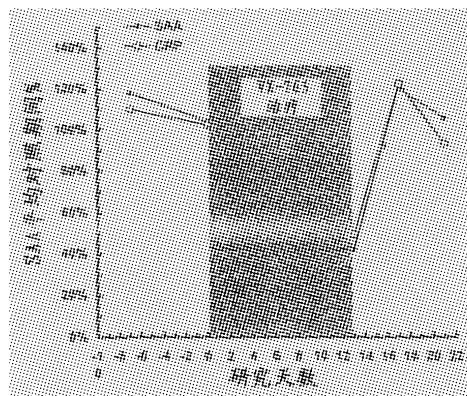
权利要求书 4 页 说明书 42 页 附图 5 页

[54] 发明名称

治疗自身炎症性疾病的 ICE 抑制剂

[57] 摘要

本发明涉及治疗自身炎症性疾病的方法和组合
物。本发明也涉及评价 ICE 抑制剂治疗自身炎症疾
病的能力的测定法。



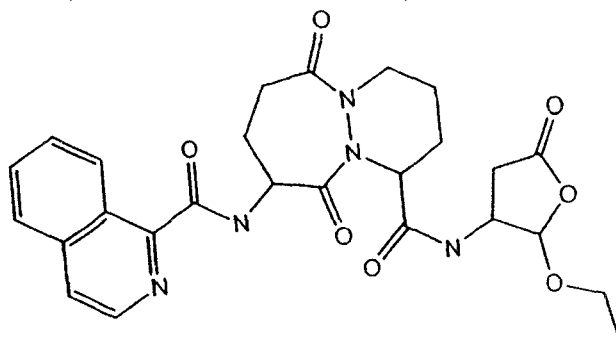
1、改善、治疗或预防受治疗者自身炎症性疾病的方法，包含对所述受治疗者给予抑制 ICE 的化合物或者包含所述化合物的药物组合物。

2、改善、治疗或预防受治疗者 cryopyrin-有关的周期综合征、Muckle-Wells 综合征 (MWS)、家族性寒性自身炎症综合征 (FCAS) (也被称为家族性冷性荨麻疹或 FCU)、家族性地中海热 (FMF)、慢性婴儿神经性皮肤与关节综合征 (CINCAS)、a. k. a. 始于新生期的多系统炎症性疾病 (NOMID)、TNFR1-有关的周期综合征 (TRAPS)、超 IgD 周期热综合征 (HIDS)、Blau 氏综合征、全身起始性青少年自发性关节炎 (斯提尔氏病) 或巨噬细胞活化综合征的方法，包含对所述受治疗者给予抑制 ICE 的化合物或者包含所述化合物的药物组合物。

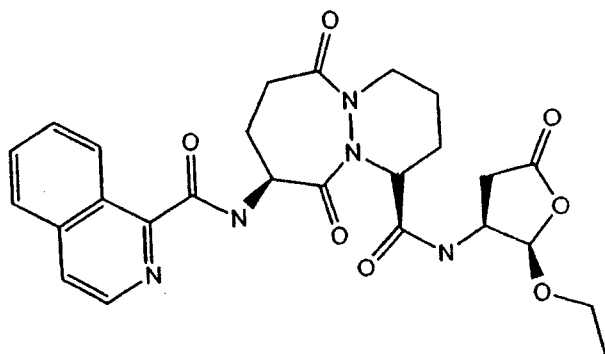
3、根据权利要求 1 或权利要求 2 的方法，其中所述化合物是根据任意 WO 00/55114, WO 00/55127, WO 00/61542, WO 00/61542, WO 01/05772, WO 01/10383, WO 01/16093, WO 01/42216, WO 01/72707, WO 01/90070, WO 01/94351, 美国公报 2003/0092703, WO 02/094263, 美国公报 2002/0169177, 美国专利 6,184,210, 美国专利 6,184,244, 美国专利 6,187,771, 美国专利 6,197,750, 美国专利 6,242,422, April 2001 American Chemical Society (ACS) meeting in San Diego, California, USA, WO 02/22611, 美国公报 2002/0058630, 美国公报 2003/0096737, WO 95/35308, WO 97/22619, WO 99/47545 和 WO 01/90063 的。

4、根据权利要求 3 的方法，其中所述化合物是根据任意 WO 95/35308, WO 97/22619, WO 99/47545 和 WO 01/90063 的。

5、根据权利要求 1 的化合物，其中所述化合物是：

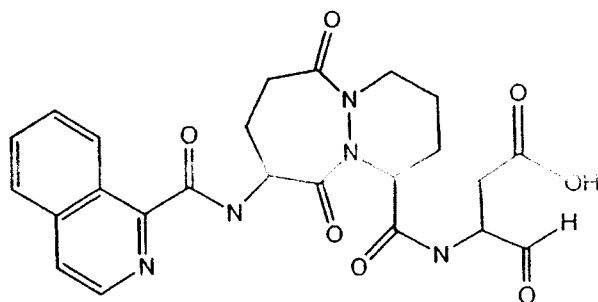


及其每种立体异构体, 包括:

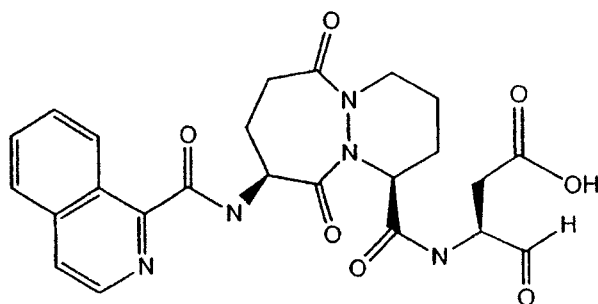


(化合物 6)。

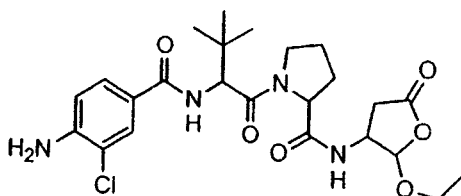
6、根据权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物是:



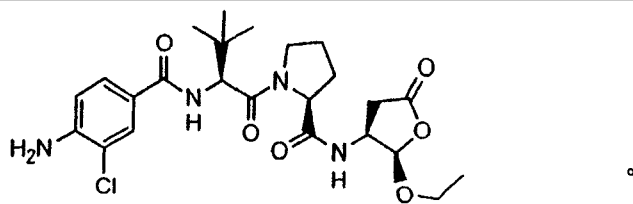
及其每种立体异构体, 包括:



7、根据权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物是:

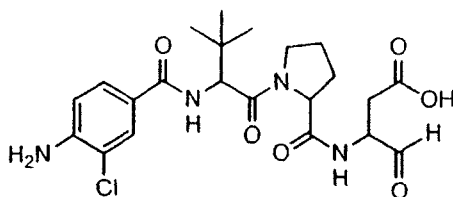


及其每种立体异构体, 包括:

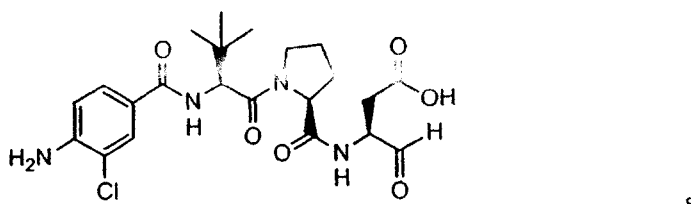


(化合物 7)

8、根据权利要求 1 的化合物，其中所述化合物是：



及其每种立体异构体，包括：



(化合物 8)

9、鉴定改善、治疗或预防受治疗者自身炎症性疾病的化合物的方法，包括给予抑制 ICE 的化合物或者包含所述化合物的药物组合物，并且比较该受治疗者用所述化合物治疗前后的 ICE 抑制作用。

10、鉴定改善、治疗或预防受治疗者自身炎症性疾病的化合物的方法，包括给予抑制 ICE 的化合物或者包含所述化合物的药物组合物，并且比较所述受治疗者用所述化合物治疗前后的所述自身炎症性疾病的生物标志。

11、根据权利要求 10 的方法，其中所述生物标志选自：白介素-1 β 、白介素-6、白介素-8、白介素-18、血清淀粉样蛋白 A、C-反应性蛋白、红细胞沉降率 (ESR)、结合珠蛋白、TNF α 、免疫球蛋白、铁蛋白、白细胞数、血小板数和血红蛋白。

12、改善、治疗或预防受治疗者自身炎症性疾病的药物组合物，包含

抑制 ICE 的化合物和药学上可接受的载体。

13、根据权利要求 12 的药物组合物或者根据权利要求 9-11 任意一项的方法，其中所述化合物是如权利要求 3-8 任意一项所引用的。

14、根据权利要求 1 的方法，其中对受治疗者给予化合物的剂量选自：

- (a) 每次给药约 300mg 至约 2,400mg 之间；
- (b) 每次给药约 600mg 至约 1,800mg 之间；和
- (c) 每次给药约 900mg。

15、根据权利要求 1 的方法，其中对受治疗者给予化合物的剂量选自：

- (a) 每天约 2mg/kg 体重至约 200mg/kg 体重之间；
- (b) 每天约 6mg/kg 体重至约 100mg/kg 体重之间；和
- (c) 每天约 25mg/kg 体重至约 75mg/kg 体重之间。

16、减少患有自身炎症性疾病的受治疗者中 IL-1 β 、IL-18 或其他生物标志的方法，包括对所述受治疗者给予抑制 ICE 的化合物或者包含所述化合物的药物组合物的步骤。

治疗自身炎症性疾病的 ICE 抑制剂

相关申请的交叉参考

本申请根据 35 U.S.C. 119(e) 要求 2004 年 5 月 27 日提交的美国临时专利申请 No. 60/574,993 的利益,其公开内容引用在此作为参考。

背景技术

自身炎症性疾病是一组相关的病症,包括 Muckle-Wells 综合征(MWS)、家族性寒性自身炎症综合征(FCAS)(也被称为家族性冷性荨麻疹或 FCU)、家族性地中海热(FMF)、慢性婴儿神经性皮肤与关节综合征(CINCAS)、a. k. a. 始于新生期的多系统炎症性疾病(NOMID)、TNFR1-有关的周期综合征(TRAPS)、超 IgD 周期热综合征(HIDS)和 Blau 氏综合征(Gumucio 等人, Clin. Exp. Rheumatol. 20: S-45 - S-53, 2002)。

这些病症具有不同的遗传和表型特征,但是都具有一些临床表现特性,包括发热、荨麻疹、关节痛、浆膜炎、系统性淀粉样变性作为共同的并发症、强烈的急性期响应和病患组织中突出的中性白细胞增多。

这些病症是由编码各种参与细胞信号传导的蛋白质的基因的突变所导致的,主要是参与白介素-1 β 转化酶(ICE, a. k. a. 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1)活化调节的那些。ICE 是转化无活性前体白介素-1 β 原(pro-IL-1 β)为活性细胞因子白介素-1 β (IL-1 β)以及 pro-IL-18 为成熟活性 IL-18 的蛋白酶。在这些调控性基因和蛋白质中,例如有基因 CAIS1,它编码蛋白质 cryopyrin。这种基因的突变和 cryopyrin 的变化改变 ICE 活化、随后 pro-IL-1 β 原加工为 IL-1 β ,导致 MWS 和 FCAS (Hoffman 等人, Nat. Genet. 29: 301-305, 2001)。

IL-1 β 在 MWS(根据推断,以及 FCAS、FMF、CINCAS、NOMID、TRAPS、

HIDS 和其他自身炎性疾病与病症)病因中的关键作用得到 MWS 患者对重组人白介素-1 受体拮抗剂(rhuIL-1Ra, anakinra)治疗的应答的证明, 戏剧性地、迅速而持续地减少临床炎症症状、减少血清淀粉样蛋白 A (急性期炎症反应物)和淀粉样蛋白的尿排泄。这种治疗尽管有效, 不过其应用有限, 因为它需要每日注射治疗剂。

响应于阿那白滞素(anakinra)的深刻临床改善可能表明 IL-1 是作为疾病状态基础的关键炎症细胞因子, 而且的确这类疾病状态在事实上是其遗传基础尚未被确定的自身炎症综合征。实例包括全身起始性青少年自发性关节炎(soJIA), 也被称为斯提尔氏病, 和巨噬细胞活化综合征。本发明也涵盖这些适应症。

本发明描述 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 (caspase) 抑制剂的用途, 无论是 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 选择性的还是对一些其他天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(2 - 14)有广泛活性。这种治疗通过抑制 ICE 和抑制 IL-1 β 产生, 将减少 MWS、FCAS、FMF、CINCAS、NOMID、TRAPS、HIDS 和其他自身炎性疾病、病症或综合征的症状和其他疾病条件。

尽管阿那白滞素已经显示在治疗 Muckle-Wells 综合征、家族性寒性自身炎症综合征、超 IgD 综合征和全身起始性青少年自发性关节炎上是有效的, 不过阿那白滞素是一种蛋白质, 因此不具备理想的药性质。因此, 需要治疗某些疾病的小分子、口服活性 ICE 抑制剂。这类化合物将极为有用于治疗 ICE 在其中起作用的上述疾病状态。

发明内容

本发明涉及治疗某些与自身炎性疾病(有时称之为自身炎症发热综合征)有关的疾病、cryopyrin-有关的周期综合征和相关综合征的化合物, 例如 Muckle-Wells 综合征(MWS)、家族性寒性自身炎症综合征(FCAS)(也被称为家族性冷性荨麻疹或 FCU)、家族性地中海热(FMF)、慢性婴儿神经性皮肤与关节综合征(CINCAS)、a. k. a. 始于新生期的多系统炎性疾病(NOMID)、TNFR1-有关的周期综合征(TRAPS)、超

IgD 周期热综合征 (HIDS) 和 Blau 氏综合征。本发明也涉及治疗某些表现响应于阿那白滞素的深刻临床改善的疾病的化合物。本发明也涉及治疗上述疾病的方法。

本发明也涉及鉴定可用于治疗这些疾病的成分的方法。

附图说明

图 1A - 1C 描绘化合物 7 对 FCAS 患者全血产生 IL-1 β 和 IL-18 的体外抑制作用，与健康志愿者比较。参见实施例 18。

图 2 描绘化合物 7 对 MWS 患者全血产生 IL-1 β 的体外抑制作用，与健康志愿者比较。参见实施例 19。

图 3A - 3C 描绘 MWS 患者对 900mg 化合物 7 治疗 14 天的临床响应，每天给药三次。图 3A 中，血清白介素-18 在第 14 天平均减少 55%。图 3B 中，血清急性期反应物蛋白质血清淀粉样蛋白 A (SAA) 和 C-反应性蛋白 (CRP) 分别平均减少 75% 和 65%。图 3C 中，自我报告的患者总体症状在治疗期间平均减少 60%。参见实施例 21。

发明详细说明

本发明提供本文公开的化合物及其药学上可接受的衍生物，它们特别有效地改善、治疗和/或预防某些与自身炎性综合征和相关综合征有关的疾病，包括但不限于 Muckle-Wells 综合征 (MWS)、家族性寒性自身炎性综合征 (FCAS) (也被称为家族性冷性荨麻疹或 FCU)、家族性地中海热 (FMF)、慢性婴儿神经性皮肤与关节综合征 (CINCA)、a. k. a. 始于新生期的多系统炎性疾病 (NOMID)、TNFR1-有关的周期综合征 (TRAPS)、超 IgD 周期热综合征 (HIDS) 和 Blau 氏综合征，以及全身起始性青少年自发性关节炎 (也被称为斯提尔氏病) 和巨噬细胞活化综合征。与这些疾病有关的症状包括但不限于发热、荨麻疹、关节炎、浆膜炎、系统性淀粉样变性、强烈的急性期响应和病患组织中突出的中性白细胞增多。

根据本发明的化合物可以用于治疗哺乳动物的这些疾病状态。任

何抑制 ICE 的化合物都可以用在本发明的方法和组合物中。这类化合物包括选择性抑制 ICE 的那些化合物和抑制天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶或 ICE/CED-3 家族中的一种或多种酶的那些。

本发明的化合物抑制 ICE 和/或降低 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 水平。这些化合物能够测定例如它们抑制 ICE、IL-1 β 和/或 IL-18 产生、调节 IL-1 和/或 IL-18 水平和/或影响 IL-1 β 和/或 IL-18 活性的能力。测试每种这些活性的测定法是本领域已知的(参见本文实施例、WO 95/35308、WO 97/22619、WO 99/47545 或 WO 01/90063)。因此,这些化合物能够靶向和抑制本文所述 ICE 和/或 IL-1 介导疾病中的事件。

可以用于本发明的化合物包括但不限于下列文献的化合物: WO 04/058718, WO 04/002961, WO 03/088917, WO 03/068242, WO 03/042169, WO 98/16505, WO 93/09135, WO 03/106460, WO 03/103677, WO 03/104231, WO 02/085899, WO 00/55114, WO 00/55127, WO 00/61542, WO 01/05772, WO 01/10383, WO 01/16093, WO 01/42216, WO 01/72707, WO 01/90070, WO 01/94351, WO 02/094263, WO 02/42278, 美国专利 6,184,210, 美国专利 6,184,244, 美国专利 6,187,771, 美国专利 6,197,750, 美国专利 6,242,422, April 2001 American Chemical Society (ACS) meeting in San Diego, California, USA, WO 02/22611, US 2002/0058630, WO 02/12638, WO 95/35308, 美国专利 5,716,929, WO 97/22619, 美国专利 6,204,261, WO 99/47545, WO 01/90063, 美国专利公报 2004/0014753, 美国专利公报 2004/0009966, 美国专利公报 2003/0236296, 美国专利公报 2003/0096737, 美国专利公报 2003/0092703, 美国专利公报 2002/0169177, 美国专利 6,693,096, 美国专利 6,610,683, 美国专利 6,531,467, 美国专利 6,528,506, 美国专利 6,200,969, WO 2003/072528, WO 2003/032918, WO 01/00658, WO 98/10778, 美国专利 6,716,818, 美国专利 6,620,782, 美国专利 6,566,338, 美国专利 6,495,522, 美国专利 6,355,618, 6,153,591, WO 2005/003100, WO

2004/002401, WO 00/61542, WO 00/55114, WO 99/47154, 美国专利 6,083,981, 美国专利 5,932,549, 美国专利 5,919,790, 美国专利 5,744,451, WO 2002/089749, WO 99/36426, WO 98/16505, WO 98/16504, WO 98/16502, 美国专利 6,316,415, 美国专利 5,932,549, 美国专利 5,919,790, 美国专利 5,744,451, EP 1082127, EP 1049703, EP 0932600, EP 0932598, WO 99/56765, WO 93/05071, EP 0600880 和 EP 1378573 (如本文所述, 它们都引用在此作为参考)。在一种实施方式中, 用在本发明中的化合物包括下列那些: WO 00/55114, WO 00/55127, WO 00/61542, WO 00/61542, WO 01/05772, WO 01/10383, WO 01/16093, WO 01/42216, WO 01/72707, WO 01/90070, WO 01/94351, 美国公报 2003/0092703, WO 02/094263, 美国公报 2002/0169177, 美国专利 6,184,210, 美国专利 6,184,244, 美国专利 6,187,771, 美国专利 6,197,750, 美国专利 6,242,422, April 2001 American Chemical Society (ACS) meeting in San Diego, California, USA, WO 02/22611, 美国公报 2002/0058630, 美国公报 2003/0096737, WO 95/35308, WO 97/22619, WO 99/47545 和 WO 01/90063。在另一种实施方式中, 用在本发明中的化合物包括下列那些: WO 04/058718, WO 04/002961, WO 95/35308, WO 97/22619, WO 99/47545 和 WO 01/90063。或者, 用在本发明中的化合物包括下列那些: WO 95/35308, WO 97/22619, WO 99/47545 和 WO 01/90063。优选的化合物是在本文权利要求书中引用的那些。这些化合物可以借助技术人员已知的方法和在本文引用文献中公开的方法获得。

本发明的药物组合物和方法因此将可用于体外或体内控制 IL-1 β 、IL-18 和其它生物标志物的水平和/或活性。本发明的组合物和方法因而将可用于体内控制 IL-1 β 、IL-18 和其它生物标志物的水平, 治疗某些病症或者减少其进展、严重性或后果, 包括本文所述疾病、病症或后果。

按照另一种实施方式, 本发明提供组合物, 包含如上所述本发明化合物或其药学上可接受的衍生物(例如盐)和药学上可接受的载体。

按照另一种实施方式,本发明的组合物可以进一步包含另一种治疗剂。这类成分包括但不限于溶栓剂,例如组织纤溶酶原激活物和链激酶;抗炎剂;基质金属蛋白酶抑制剂;脂氧合酶抑制剂;细胞因子拮抗剂(包括但不限于对抗 TNF、IL-1、IL-6、IL-12、IL-18 或它们受体的抗体或结合蛋白);趋化因子拮抗剂;免疫抑制剂;抗癌剂;抗病毒剂;细胞因子(包括但不限于白介素-1 受体拮抗剂或阿那白滞素);生长因子;免疫调控剂(例如溴隐亭、抗人 α 干扰素抗体、IL-2、GM-CSF、甲硫氨酸脑啡肽、干扰素 α 、二硫代氨基甲酸二乙酯、肿瘤坏死因子、纳曲酮和 rEP0);前列腺素;或抗血管过度增殖化合物。

术语“药学上可接受的载体”表示无毒性载体,它可以与本发明化合物一起对患者给药,并且不会破坏其药理活性。

可以用在这些组合物中的药学上可接受的载体包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白质(例如人血清白蛋白)、缓冲物质(例如磷酸盐)、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质(例如硫酸鱼精蛋白)、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素类物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡类、聚乙烯-聚丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

在仅包含本发明化合物作为活性组分的药物组合物中,给予这些组合物的方法可以另外包含对受治疗者给予附加成分的步骤。这类成分包括但不限于溶栓剂,例如组织纤溶酶原激活物和链激酶;抗炎剂;基质金属蛋白酶抑制剂;脂氧合酶抑制剂;细胞因子拮抗剂,包括但不限于对抗 TNF、IL-1、IL-6、IL-12、IL-18 或它们受体的抗体或结合蛋白;趋化因子拮抗剂;免疫抑制剂;抗癌剂;抗病毒剂;细胞因子,包括但不限于白介素-1 受体拮抗剂或阿那白滞素;生长因子;免疫调控剂,例如溴隐亭、抗人 α 干扰素抗体、IL-2、GM-CSF、甲硫氨酸脑啡肽、干扰素 α 、二硫代氨基甲酸二乙酯、肿瘤坏死因子、纳曲酮和 rEP0;前列腺素;或抗血管过度增殖化合物。当使用第二成分时,该第二成分可以以单独的剂型或者作为单一剂型的一部分与本发明化

合物或组合物一起给药。

化合物在上述组合物中的含量应当足以导致疾病的严重性或者 ICE 抑制、IL-1 β 、IL-18 或其他生物标志的水平或者 IL-1 β 、IL-18 或其他生物标志的活性有可检测的降低。

如果在这些组合物中采用本发明化合物的药学上可接受的盐，这些盐优选地是从无机或有机酸和碱衍生的。这样的酸式盐包括如下：乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、扑酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐和十一烷酸盐。碱盐包括铵盐、碱金属盐（例如钠和钾盐）、碱土金属盐（例如钙和镁盐）、有机碱的盐（例如二环己胺盐、N-甲基-D-葡萄糖胺盐）和氨基酸（例如精氨酸、赖氨酸）的盐等。

而且，碱性含氮基团可以用下列试剂季铵化，例如低级烷基卤化物，例如甲基、乙基、丙基和丁基的氯化物、溴化物和碘化物；硫酸二烷基酯，例如硫酸的二甲基、二乙基、二丁基和二戊基酯；长链卤化物，例如癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基的氯化物、溴化物和碘化物；芳烷基卤化物，例如苄基和苯乙基的溴化物和其他。由此得到水-或油-可溶性或可分散性产物。

用在本发明组合物和方法中的化合物也可以通过附加适当的官能团加以修饰，以增强选择性生物性质。这类修饰是本领域已知的，包括增加进入给定生物系统（例如血液、淋巴系统、中枢神经系统）的生物渗透性、增加口服可利用性、增加溶解度以便注射给药、改变代谢和/或改变排泄速率。

按照优选的实施方式，可以将本发明的组合物配制成对受治疗者给药，例如哺乳动物，优选人类。这类药物组合物用于改善、治疗或

预防受治疗者的自身炎症性疾病，包含抑制 ICE 的化合物和药学上可接受的载体。

本发明的这类药物组合物可以被口服、肠胃外、通过吸入喷雾、局部、直肠、鼻、口腔、阴道或经由植入药库给药。本文所用的术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、伤口内与颅内注射或输注技术。优选地，组合物是口服或静脉内给药的。

本发明组合物的无菌可注射形式可以是水性或油性混悬剂。这些混悬剂可以按照本领域已知的技术、利用适合的分散或润湿剂和悬浮剂加以配制。无菌的可注射制剂还可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液剂或混悬剂，例如在 1,3-丁二醇中的溶液。可以采用的可接受的载体和溶剂有水、林格氏溶液和等渗的氯化钠溶液。另外，无菌的不挥发油也经常被用作溶剂或悬浮介质。为此，可以采用任何温和的不挥发油，包括合成的单-或二-甘油酯。脂肪酸、例如油酸及其甘油酯衍生物可用于制备注射剂，它们是天然的药学上可接受的油，例如橄榄油或蓖麻油，尤其是它们的聚氧乙基化形式。这些油溶液剂或混悬剂还可以含有长链醇稀释剂或分散剂，例如羧甲基纤维素或相似的分散剂，它们普遍用于配制药学上可接受的剂型，包括乳剂和混悬剂。出于制剂的目的，还可以使用其他常用的表面活性剂，例如吐温类、司盘类，和其他乳化剂或生物利用度增强剂，它们普遍用在药学上可接受的固体、液体或其他剂型的制造中。

如果使用固体载体，制剂可以被压片，放置在硬明胶胶囊中，为粉末或颗粒的形式，或者为片剂或锭剂的形式。固体载体的量例如将从约 25mg 至 800mg，优选 25mg 至 400mg。当使用液体载体时，制剂例如可以是糖浆、乳液、软明胶胶囊、无菌可注射液体的形式，例如安瓿或非水性液体悬液。若组合物为胶囊的形式，任何常规的包封法都是适合的，例如在硬明胶胶囊外壳中使用上述载体。

糖浆制剂可以由化合物在液体载体中的悬液或溶液组成，所述液体载体例如乙醇、甘油或水，含有矫味剂或着色剂。气雾剂制剂可以

由化合物在液体载体中的溶液或悬液组成，所述液体载体例如水、乙醇或甘油；在干粉气雾剂中，制剂可以包括例如湿润剂。

本发明的制剂包含活性成分以及一种或多种可接受的载体和可选的任何其他治疗成分。在与制剂其他成分相容并且对其接受者无害的意义上，载体必须是“可接受的”。

本发明的药物组合物可以按任意口服可接受的剂型口服给药，包括但不限于胶囊剂、片剂、水性混悬剂或溶液剂。在口服用片剂的情况下，常用的载体包括乳糖和玉米淀粉。通常还加入润滑剂，例如硬脂酸镁。就按胶囊剂型口服给药而言，有用的稀释剂包括乳糖和干燥的玉米淀粉。当口服用需要水性混悬剂时，活性成分是与乳化和悬浮剂联用的。如果需要的话，还可以加入某些甜味剂、矫味剂或着色剂。

或者，本发明药物组合物可以按栓剂形式直肠给药。它们可以如下制备，将药物与适合的无刺激性赋形剂混合，所述赋形剂在室温下是固体，但是在直肠温度下是液体，因此将在直肠内融化，释放药物。这类材料包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

本发明药物组合物还可以被局部给药，尤其当治疗靶包括容易为局部用药接近的区域或器官时，包括眼、皮肤或下部肠道的疾病。适合的局部制剂容易根据每种这些区域或器官加以制备。

下部肠道的局部用药可以按直肠栓剂（见上）或适合的灌肠剂进行。还可以使用局部透皮贴剂。

就局部用药而言，可以将药物组合物配制成适合的软膏剂，其中含有悬浮或溶解在一种或多种载体中的活性组分。用于本发明化合物局部给药的载体包括但不限于矿物油、液体凡士林、白凡士林、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。或者，可以将药物组合物配制成适合的洗剂或霜剂，其中含有悬浮或溶解在一种或多种药学上可接受的载体中的活性组分。适合的载体包括但不限于矿物油、脱水山梨醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯 60、鲸蜡酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二烷醇、苧醇和水。

就眼用而言，可以将药物组合物配制成在等渗的经过 pH 调节的无

菌盐水中的微粉化混悬剂,或者优选为在等渗的经过 pH 调节的无菌盐水中的溶液,其中含有或没有防腐剂,例如苯扎氯铵。或者,就眼用而言,可以将药物组合物配制成软膏剂,例如凡士林。

本发明药物组合物还可以借助鼻气雾剂或吸入给药。这类组合物是按照药物制剂领域熟知的技术制备的,可以制成在盐水中的溶液剂,其中采用苯甲醇或其他适合的防腐剂、增强生物利用度的吸收增强剂、碳氟化合物和/或其他常规的增溶或分散剂。

本领域技术人员将认识到,药学上可接受的载体或稀释剂的形式和特征取决于与之组合的活性成分的量、给药的途径和其他熟知的变量。

上述化合物和组合物也可用于涉及某些疾病的治疗应用。

这类某些疾病包括自身炎性综合征,例如 cryopyrin-有关的周期综合征(包括 Muckle-Wells 综合征、家族性寒性自身炎性综合征(FCAS)(也被称为家族性冷性荨麻疹或 FCU)、慢性婴儿神经性皮肤与关节综合征(a.k.a. 始于新生期的多系统炎性疾病))、家族性地中海热、TNFR1-有关的周期综合征(TRAPS)、超 IgD 周期热综合征(HIDS)和 Blau 氏综合征。其他遗传基础尚未被确定的自身炎性综合征可以包括全身起始性青少年自发性关节炎(soJIA),也被称为斯提尔氏病,和巨噬细胞活化综合征。

本发明的化合物能够抑制 IL-1、特别是 IL-1 β 和/或 IL-18 的释放,因而能够用于抑制或阻滞本文所述某些疾病的若干病理生理学后果。

本发明也涉及治疗某些疾病的治疗方法,该方法(1)抑制 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 从细胞中释放,和/或(2)预防 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 在哺乳动物(包括人类)中的过高组织水平的不希望的、有毒的或致命的后果。这种方法包含对哺乳动物给予有效的 ICE 抑制量的一种或多种 ICE/CED-3 抑制剂。这种方法也能够用于某些适用于此的疾病的预防性处置或预防,包括 Muckle-Wells 综合征(MWS)、家族性寒性自身炎性综合征(FCAS)(也被称为家族性冷性荨麻疹或

FCU)、家族性地中海热(FMF)、慢性婴儿神经性皮肤与关节综合征(CINCAS)、a.k.a.始于新生期的多系统炎性疾病(NOMID)、TNFR1-有关的周期综合征(TRAPS)、超 IgD 周期热综合征(HIDS)、Blau 氏综合征、全身起始性青少年自发性关节炎、斯提尔氏病和巨噬细胞活化综合征。本发明提供治疗这些病症的方法,该方法对有需要的哺乳动物(包括人类)给予有效量的这类化合物。

这些化合物通过抑制 ICE 和阻滞 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 的释放或者降低 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 水平和活性,以及在每种这些环境中过量 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 水平的病理生理学作用,直接促进某些疾病的停止或消散,促进正常功能的恢复。总之,这些作用涉及它们在治疗某些疾病中的新用途。

ICE 抑制作用可以借助本领域已知的方法加以测量,本文有更充分的描述。

术语“抑制 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 的释放”表示: a)降低哺乳动物、例如人类的体内 IL-1 β 和/或 IL-18 水平; b)减量调节体外或体内 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 水平;或者 c)通过直接抑制体内或体外 IL-1 β 和 IL-18 合成或转译后事件,以及间接抑制 IL-1 α ,减量调节 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 活性。

这些化合物可以用于抑制 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 被单核细胞、巨噬细胞、神经元细胞、内皮细胞、表皮细胞、间质细胞(例如:成纤维细胞、骨骼肌细胞、平滑肌细胞、心肌细胞)和很多其他细胞类型所释放。

术语“病症”或“状态”表示在受治疗者中产生有害生物学后果的任何疾病、病症或效应。

患者血液或细胞或者细胞培养物中(也就是细胞或细胞培养基内) IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 蛋白的水平可以如下测定,例如测定与 IL-1 β 或 IL-18 或者其他已知作为活性 IL-1 β 和 IL-18 存在的结果而产生的蛋白质、包括但不限于 IL-1 α 的免疫特异性结合。这类方法是本领域已知的。例如,可以使用的免疫测定法包括但不限于竞争性与非

竞争性测定系统、蛋白质印迹、放射性免疫测定法、ELISA（酶联免疫吸附测定法）、“三明治”免疫测定法、免疫沉淀测定法、沉淀素反应、凝胶扩散沉淀素反应、免疫扩散测定法、凝集作用测定法、补体-固定测定法、免疫放射测定法、荧光免疫测定法、A 蛋白免疫测定法和带有标记抗体的 FACS 分析。这类测定法是本领域熟知的（例如参见 Ausubel et al, eds., 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York, 其全文引用在此作为参考）。

也可以利用竞争性结合测定法测定 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 的水平。竞争性结合测定法的一个实例是放射性免疫测定法，包含在递增量未标记 IL-1 β 或 IL-18 的存在下温育来自表达 IL-1、特别是 IL-1 β 和 IL-18 的细胞的带标记蛋白（例如 ^3H 或 ^{125}I ）与 IL-1 β 或 IL-18 抗体，再检测与带标记 IL-1 β 或 IL-18 结合的 IL-1 β 或 IL-18 抗体。借助 Scatchard 图分析可以从该数据测定有关抗体对特定抗原的亲合性和结合率。利用放射性免疫测定法也可以测定第二抗体的竞争性。在这种情况下，在递增量未标记第二抗体的存在下将抗原与有关抗体温育，所述抗体与带标记化合物（例如 ^3H 或 ^{125}I ）缀合。

也可以借助活性测定 IL-1 β 或 IL-18 水平，例如，借助能够检测细胞因子、象 IL-1 β 或 IL-18 或者生长因子的生物活性水平的细胞系可以测定 IL-1 水平。按照一种实施方式，通过温育用异丙基- β -D-硫代吡喃半乳糖苷遗传加工的细胞系，检测生物样品中生物活性 IL-1 β 的水平。将细胞系与供试样品温育，通过测定蓝色的强度监测细胞系中的细胞死亡，蓝色是所测试样品中生物活性细胞因子或生长因子的指征。例如另见 Burns (1994) 20(1): 40-44 关于患者血清的 IL-1 活性测定法。

可用于单一疗法的活性成分化合物的剂量水平为约 0.01 与约 100mg/kg 体重每天之间，优选约 0.5 与约 75mg/kg 体重每天之间，最优选约 1 与约 50mg/kg 体重每天之间。

在另一种实施方式中，可用于单一疗法的活性成分化合物的剂量

水平为约 2 与约 200mg/kg 体重每天之间，优选约 6 与约 100mg/kg 体重每天之间，最优选约 25 与约 100mg/kg 体重每天之间。

按照本发明的一种实施方式，本发明的活性成分化合物对受治疗者给药的剂量为约 20mg 至约 10,000mg 每次给药之间。在另一种实施方式中，本发明的活性成分化合物对受治疗者给药的剂量为约 300mg 至约 2,400mg 每次给药之间。在另一种实施方式中，本发明的活性成分化合物对受治疗者给药的剂量为约 600mg 至约 1,800mg 每次给药之间。在优选的实施方式中，本发明的化合物对受治疗者给药的剂量为约 900mg 每次给药。

通常，本发明的药物组合物将以每天约 1 至 5 次给药，或者，作为连续输注给药。这类给药可以用作慢性或急性疗法。活性成分可以与载体材料组合形成单一剂型的量将因所治疗的宿主和特定的给药模式而异。典型的制剂将含有约 5%至约 95%活性化合物(w/w)。优选地，这类制剂含有约 20%至约 80%活性化合物。

当本发明组合物包含本发明化合物与一种或多种附加治疗剂的组合时，该化合物和该附加成分都应当以在单一疗法方案中正常给予剂量的约 10%至约 80%存在。

一旦患者的状态有所改进，可以给予本发明的化合物、组合物或组合的维持剂量，如果必要的话。随后，给药的剂量或频率或此二者可以作为症状的函数减少至保持已改善的条件水平，当症状已经减轻至所需水平时，治疗可以停止。不过，一旦疾病症状有任何复发，患者可能需要在长期基础上的间歇性治疗。

也应当理解，就任意特定患者而言的具体剂量和治疗制度将依赖于多种因素，包括所采用的具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药时间、排泄速率、药物组合、特定疾病的严重性与过程、患者对所治疗疾病的素因和主治医师的判断。活性成分的量也将依赖于特定的化合物和组合物中的其他治疗剂，如果有的话。

因此，在受治疗者中治疗或预防本发明疾病的方法包含对该受治

疗者给予本文所述任何化合物、药物组合物或组合的步骤。

在优选的实施方式中，本发明提供治疗患有上述疾病之一的哺乳动物的方法，包含对所述哺乳动物给予上述药学上可接受的组合物的步骤。在这种实施方式中，如果患者也被给予另一种治疗剂，它可以与本发明化合物一起在单一剂型中被递送，或者作为分开的剂型被递送。当作为分开的剂型给药时，该另一种治疗剂可以在包含本发明化合物的药学上可接受的组合物的给药之前、同时或之后给药。

鉴定化合物或组合物治疗根据本发明的疾病的方法包括筛选大量化合物或组合物改善某些疾病后果和改进患有本发明某些疾病的患者条件的能力。按照本发明的一种实施方式，高通量筛选可以如下实现，在微量滴定平板的大量小孔中放入细胞培养物，向每孔加入不同的化合物或组合物，对比每一细胞培养物中的 ICE 抑制作用和/或 IL-1 水平和/或活性与对照孔细胞培养基中的水平或活性。对照可用于根据本发明的对比步骤，包括没有用化合物或组合物处理的细胞或受试材料和已经用已知对 ICE 抑制作用或活性没有影响的化合物或组合物处理的细胞或受试材料。按照本发明的一种实施方式，高通量筛选是自动化的，以便包括向平板加入细胞直到化合物或组合物加入后的数据收集和分析步骤都是由机器进行的。可用于本发明对比步骤的仪器、例如能够检测带标记对象（例如放射性标记、荧光或有色对象）或者本身是可检测的对象的仪器是商业上可获得的和/或本领域已知的。因此，能够快速和高效地筛选可用于治疗本文公开的某些疾病的根据本发明的化合物和组合物。

在本发明的另一种实施方式中，鉴定改善、治疗或预防受治疗者自身炎症性疾病的化合物或组合物的方法包含对所述受治疗者给予抑制 ICE 的化合物或者包含该化合物的药物组合物，再比较用该化合物治疗前后该受治疗者的 ICE 抑制作用。在替代的实施方式中，本发明提供鉴定改善、治疗或预防受治疗者自身炎症性疾病的化合物或组合物的方法，包含对所述受治疗者给予抑制 ICE 的化合物或者包含该化合物的药物组合物，再比较用所述化合物治疗前后所述受治疗者的自身炎

性疾病生物标志。

术语“生物标志 (biomarker)”是生理或疾病过程的物理、功能或生化指标，例如特定代谢产物的存在。按照本发明，炎症的某些生物标志可以用于评价患有本文所列自身炎症性疾病的患者对于抑制 ICE 的化合物的响应。这些炎症生物标志包括但不限于白介素-1、白介素-6 (全自身炎症性疾病)、白介素-8 (全自身炎症性疾病)、白介素-18、血清淀粉样蛋白 A、C-反应性蛋白、红细胞沉降率 (ESR)、结合珠蛋白、TNF α 、免疫球蛋白 (特别是 IgD)、铁蛋白、白细胞数、血小板数和血红蛋白。

因此，本发明也提供减少自身炎症性疾病受治疗者中 IL-1 β 、IL-18 或其他生物标志的方法，包含对所述受治疗者给予抑制 ICE 的化合物或者包含所述化合物的药物组合物的步骤。在一种实施方式中，化合物或组合物在受治疗者中的血浆浓度大约等于或大于按照本发明所教导的 IC₅₀ 值 (例如参见实施例 18 和 19)。在另一种实施方式中，化合物或组合物在受治疗者中的血浆浓度为约 0.2 μ M 至约 50 μ M 之间，或者约 0.8 μ M 至约 6 μ M。在另一种实施方式中，受治疗者中 IL-1 β 、IL-18 或其他生物标志的减少是如下测量的，比较 (a) 用所述化合物或组合物治疗前后所述受治疗者中的 IL-1 β 、IL-18 或其他生物标志浓度，与 (b) 用所述化合物或组合物治疗期间所述受治疗者中的 IL-1 β 、IL-18 或其他生物标志浓度。按照本发明，受治疗者中 IL-1 β 、IL-18 或其他生物标志的减少百分比选自下组：(a) 减少至少约 50% 至约 100%；(b) 减少至少约 50% 至约 90%；和 (c) 减少至少约 60% 至约 90%。

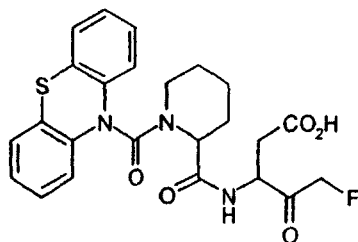
本文公开的所有申请、专利和参考文献都引用在此作为参考。为了更加充分地理解本发明，陈述下列制备和测试实施例。这些实施例仅供阐述的目的，不被解释为以任何方式限制本发明的范围。

实施例

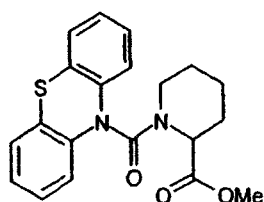
实施例 1

[3S/R, (2S)]-5-氟-4-氧代-3-{[1-(吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰

基]氨基}-戊酸



方法 A: (S)-(1-吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羧酸甲基酯

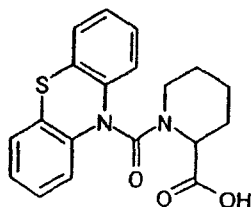


向搅拌着的哌可酸甲酯盐酸盐 (1g, 5.57mmol) 的 THF (10ml) 溶液加入吩噻嗪碳酰氯 (1.457g, 5.57mmol), 继之以二异丙基乙胺 (2.02ml, 11.68mmol)。将所得溶液搅拌 16h (小时), 然后在乙酸乙酯与 NH_4Cl 饱和水溶液之间分配。将有机层用盐水洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤, 蒸发。残余物经过快速色谱纯化 (15% 乙酸乙酯的己烷溶液), 得到小标题化合物, 为无色的油, 放置后结晶 (1.823g, 89%): ^1H

NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1.13-1.48 (3H, m), 2.57-2.69 (2H, m), 2.16 (1H, m), 3.00 (1H, m), 3.74 (4H, s+m), 5.00 (1H, m), 7.11 (2H, t), 7.22-7.34 (4H, m), 7.76 (2H, d);

^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 21.3 (CH_2), 24.8 (CH_2), 27.3 (CH_2), 44.9 (CH_2), 52.5 (CH_3), 55.9 (CH), 122.8 (CH), 125.5 (CH), 127.8 (CH), 128.0 (CH), 129.2 (C), 141.7 (C), 158.4 (C), 172.2 (C).

方法 B: (S)-(1-吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羧酸

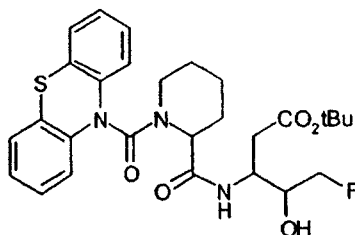


向搅拌着的(S)-(1-吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羧酸甲基酯(0.912g)的 THF (15ml)与水(8ml)溶液加入 2M NaOH (3.71ml), 将反应混合物搅拌 16 小时。将反应混合物倒入碳酸氢钠溶液(50ml)中, 用乙酸乙酯(40ml)萃取。调节水相为酸性, 用乙酸乙酯萃取(2 x 75ml)。合并有机萃取液, 干燥(MgSO₄), 浓缩, 得到小标题化合物, 为白色固体(0.709g, 81%):

¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ

0.99-1.72 (5H, m), 2.23 (1H, m), 2.97 (1H, m), 3.58 (1H, m), 4.93 (1H, m), 7.16 (2H, t), 7.28 (2H, t), 7.37 (2H, d), 7.78 (2H, d); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ 21.0 (CH₂), 24.2 (CH₂), 26.7 (CH₂), 45.7 (CH₂), 56.0 (CH), 123.8 (CH), 126.0 (CH), 127.9 (CH), 128.1 (CH), 130.3 (C), 141.2 (C), 160.1 (C), 175.9 (C).

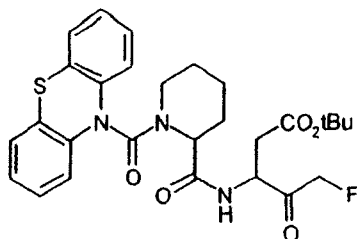
方法 C: [3S/R, 4S/R (2S)]-5-氟-4-羟基-3-{[1-(吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰基]氨基}-戊酸叔丁基酯



将搅拌着的(S)-(1-吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羧酸(233mg, 0.658mmol)、3-氨基-5-氟-4-羟基-戊酸叔丁基酯(150mg, 0.724mmol)、HOBt (98mg, 0.724mmol)、DMAP (88mg, 0.724mmol)与无水 THF (10ml)的混合物冷却至 0°C, 然后加入 EDC (139mg, 0.724mmol)。使混合物在 16h 内升温至室温, 然后在减压下浓缩。残余物经过快速色谱纯化(50%乙酸乙酯的己烷溶液), 得到小标题化合物, 为淡粉红色泡沫(294mg, 82%):

¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 1.96 (1H, m), 1.18-1.60 (13H, m), 2.10-2.25 (1H, m), 2.48-2.70 (2H, m), 2.78-2.94 (1H, m), 3.51-4.72 (7H, m), 7.03-7.36 (7H, m), 7.71-7.76 (2H, m); ¹⁹F (376MHz, CDCl₃) δ -228.9 (t), -229.3 (t), -230.1 (t), -230.2 (t).

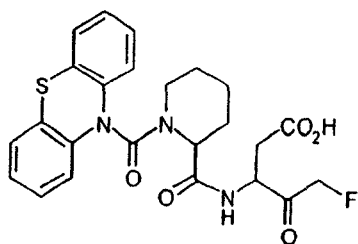
方法 D: [3S/R, (2S)]-5-氟-4-氧代-3-{[1-(吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰基]氨基}-戊酸叔丁基酯



在 0°C 下, 将搅拌着的 [3S/R, 4S/R (2S)]-5-氟-4-羟基-3-{[1-(吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰基]氨基}-戊酸叔丁基酯 (294mg, 0.541mmol) 的无水 DCM (10mL) 溶液用 1,1,1-三乙酰氧基-1,1-二氢-1,2-benziodoxol-3(1H)-酮 (344mg, 0.812mmol) 处理。使所得混合物历经 2h 升温至室温, 用乙酸乙酯稀释, 然后倒入饱和碳酸氢钠水溶液与饱和硫代硫酸钠水溶液的 1:1 混合物中。除去有机层, 水层用乙酸乙酯反萃取。合并有机萃取液, 干燥 (Na₂SO₄), 浓缩。残余物经过快速色谱纯化 (30% 乙酸乙酯的己烷溶液), 得到小标题化合物, 为淡粉红色泡沫 (220mg, 75%) :

¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 0.84-0.96 (1H, m), 1.20-1.40 (10H, m+2s), 1.51-1.56 (3H, m), 2.20-2.27 (1H, m), 2.70-2.98 (3H, m), 3.49-3.63 (1H, m), 4.74-5.24 (4H, m), 7.14-7.18 (2H, m), 7.28-7.38 (4H, m), 7.48-7.79 (3H, m); ¹³C (100MHz, CDCl₃) δ 20.8/21.0 (CH₂), 23.7/23.9 (CH₂), 25.8/25.9 (CH₂), 28.2/28.3 (CH₃), 36.8/36.9 (CH₂), 46.0/46.1 (CH₂), 52.9 (CH), 56.8 (CH), 82.6 (C), 84.4/84.5 (2d, J 184.0/183.3, CH₂F), 123.7/123.8 (CH), 126.1 (CH), 128.0/128.1 (CH), 128.2/128.3 (CH), 130.4/130.5 (C), 141.4 (C), 160.0 (C), 170.0 (C), 171.7 (C), 202.9 (C); ¹⁹F (376MHz, CDCl₃) δ -231.9 (t), -232.2 (t).

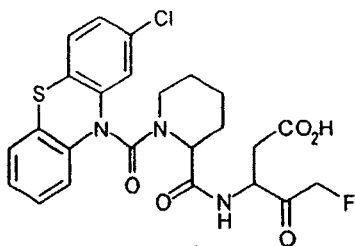
方法 E: [3S/R, (2S)]-5-氟-4-氧代-3-{[1-(吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰基]氨基}-戊酸



将三氟乙酸(5mL)加入到搅拌着的冰冷却的[3S/R, (2S)]-5-氟-4-氧代-3-{[1-(吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰基]氨基}-戊酸叔丁基酯(130mg, 0.24mmol)的无水 DCM (5mL) 溶液中。将混合物在 0°C 下搅拌 0.5h, 然后在室温下搅拌 0.5h。在减压下浓缩混合物, 然后将残余物溶于无水 DCM。这种过程重复若干次, 目的是除去过量三氟乙酸。将胶状物从 HPLC 级水中冻干两次, 得到标题化合物, 为白色粉末(77mg, 66%) : IR (固体) 1670, 1716, 1782 cm^{-1} ; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO) δ 0.96-0.99 (1H, m), 1.23-1.26 (2H, m), 1.42-1.44 (1H, m), 1.60 (1H, m), 1.91-1.98 (1H, m), 2.51-2.89 (2H, m), 3.11-3.22 (1H, m), 3.57-3.60 (1H, m), 4.30-4.72 and 5.05-5.29 (4H, 2m), 7.11-7.17 (2H, m), 7.24-7.30 (2H, m), 7.34-7.38 (2H, m), 7.57-7.63 (2H, m), 8.07-8.61 (1H, m); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO) δ (DMSO+TFA) 18.8/18.9 (CH_2), 22.2/22.3 (CH_2), 25.8/26.1 (CH_2), 31.5/33.2 (CH_2), 43.2 (CH_2), 50.6/51.1 (CH), 54.4/54.5 (CH), 82.8/82.9 (2d, J 178.6/178.1, CH_2F), 119.9/120.0 (CH), 120.4/120.5 (CH), 124.0/124.1 m(CH), 125.9/126.0 (C), 126.4/126.5 (CH), 139.6/139.7 (C), 156.0/156.4 (CO), 170.3 (CO), 170.7/170.8 (CO), 202.2/202.3 (2d, J 14.6/15.1, CO).; ^{19}F (376MHz, DMSO) δ 化学漂移 (多态性, 相对强度) -226.7 (t, 3), -226.9 (t, 3), -230.4 (t, 1), -231.2 (t, 1), -232.7 (t, 10), -233.0 (t, 10).

实施例 2

[3S/R, (2S)]-3-{[1-(2-氟吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰基]氨基}-4-氟-4-氧代-戊酸

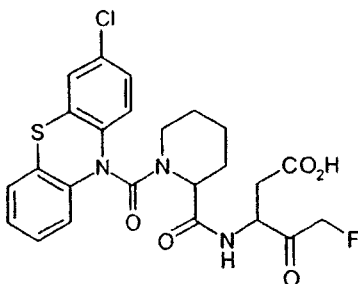


利用与上文方法 A-E 所述那些相似的工艺, 从 2-氯吩噻嗪碳酰氯制备之 (73mg, 69%) :

IR (固体, cm^{-1}) 1738, 1660, 1555, 1363, 1224 ; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 0.98-1.61 (4H, m), 1.94-2.03 (1H, m), 2.53-2.89 (2H, m), 3.12-3.24 (1H, m), 3.51-3.61 (1H, m), 4.31-4.73 and 5.10-5.24 (4H, 2m), 7.15-7.49 (6H, m), 7.77-7.81 (1H, m), 8.13-8.64 (1H, m); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO+TFA) δ 18.7/18.8 (CH_2), 22.3/22.6 (CH_2), 25.9/26.2 (CH_2), 31.5/33.2 (CH_2), 43.0/43.2 (CH_2), 50.6/51.1 (CH), 54.4/54.5 (CH), 82.8/82.9 (2d, J 178.7/178.3, CH_2F), 119.3/119.8 (CH), 120.2/120.3 (CH), 123.6/123.7 (CH), 124.4/124.5 (CH), 124.6/124.8 (C), 126.6 (CH), 126.9 (CH), 127.5 (CH), 131.0 (C), 139.2/139.2 (C), 140.7/140.7 (C), 155.5/155.9 (C), 170.1/170.2 (C), 170.7/170.8 (C), 201.2/201.3 (2d, J 14.3/13.9, CO); ^{19}F NMR (376MHz, DMSO+TFA) δ -226.7 (t), -226.9 (t), -230.3 (t), -232.7 (t), -233.0 (t).

实施例 3

[3S/R, (2S)]-3-{[1-(3-氯吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰基]氨基}-4-氟-4-氧代-戊酸

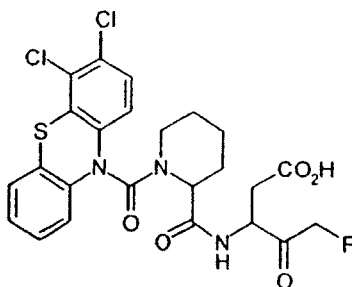


利用与上文方法 A-E 所述那些相似的工艺, 从 3-氯吩噻嗪碳酰氯制备之 (108mg, 65%) :

IR (固体, cm^{-1}) 1737, 1655, 1455, 1373, 1224 ; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 0.99-1.61 (5H, m), 1.91-2.04 (1H, m), 2.54-2.90 (2H, m), 3.12-3.24 (1H, m), 3.48-3.60 (1H, m), 4.26-5.28 (4H, m), 7.15-7.68 (7H, m), 8.10-8.62 (1H, m); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO+TFA) δ 18.8 (CH_2), 22.2/22.3 (CH_2), 25.8 (CH_2), 33.1/33.2 (CH_2), 43.2 (CH_2), 50.6/51.0 (CH), 54.3/54.4 (CH), 82.7/82.8 (2d, CH_2F), 120.2/120.3 (CH), 121.3/121.4 (CH), 124.2/124.3 (CH), 124.8/125.0 (C), 125.7 (CH), 126.3 (CH), 126.6 (CH), 126.8 (CH), 127.7/127.9 (C), 127.9/128.0 (C), 138.5 (C), 139.3 (C), 156.0 (CO), 170.1 (CO), 170.6/170.7 (CO), 201.1/201.2 (2d, CO); ^{19}F NMR (376MHz, DMSO+TFA) δ -226.6 (t), -226.9 (t), -232.6 (t), -232.9 (t).

实施例 4

[3S/R, (2S)]-3-{[1-(3,4-二氯吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰基]氨基}-4-氟-4-氧代-戊酸



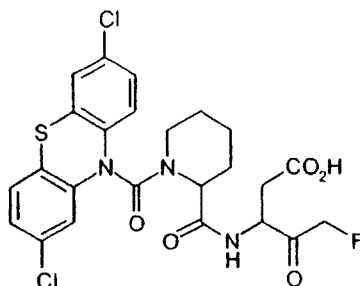
利用与上文方法 A-E 所述那些相似的工艺, 从 3,4-二氯吩噻嗪碳酰氯制备之 (91mg, 66%) :

IR (固体, cm^{-1}) 1737, 1439, 1363, 1219; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.03-1.62 (5H, m), 1.97-2.06 (1H, m), 2.54-2.86 (2H, m), 3.14-3.28 (1H, m), 3.59-3.66 (1H, m), 4.30-5.26 (4H, m), 7.15-7.68 (6H, m), 8.14-8.96 (1H, m); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO+TFA) δ 20.2 (CH_2), 23.8 (CH_2), 27.3 (CH_2), 34.6/34.7 (CH_2), 44.5 (CH_2), 52.1/52.5 (CH), 55.7/55.9 (CH), 84.2/84.3 (2d, CH_2F), 120.2/120.3 (CH), 120.8/120.9 (CH), 124.2/124.4 (C), 125.9 (CH), 127.7/127.8 (C), 128.2 (CH),

128.4/128.5 (C), 128.8 (CH), 128.9 (CH), 140.0 (C),
140.1 (C), 140.6 (C), 156.8/156.8 (CO), 171.5 (CO),
172.1/172.1 (CO), 202.6/202.7 (2d, CO); ^{19}F NMR (376MHz,
DMSO+TFA) δ -226.6 (t), -226.8 (t), -232.6 (t), -232.9
(t).

实施例 5

[3S/R, (2S)]-3-[[1-(2,6-二氯吩噻嗪-10-羰基)哌啶-2-羰基]
氨基]-4-氟-4-氧代-戊酸

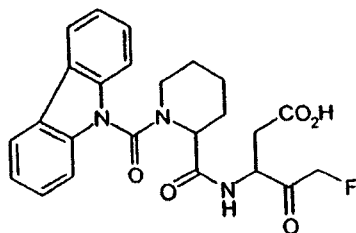


利用与上文方法 A-E 所述那些相似的工艺, 从 2.7g 二氯吩噻嗪
碳酰氯制备之 (91mg, 70%) :

IR (固体, cm^{-1}) 1737, 1660, 1550
1363, 1224; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.02-1.62
(5H, m), 1.91-2.02 (1H, m), 2.53-2.90 (2H, m), 3.13-
3.25 (1H, m), 3.51-3.62 (1H, m), 4.31-5.29 (4H, m),
7.22-7.75 (6H, m), 8.18-8.65 (1H, m); ^{13}C NMR (100MHz,
DMSO+TFA) δ 20.2 (CH_2), 23.8 (CH_2), 27.3 (CH_2), 34.6
(CH_2), 44.7 (CH_2), 52.5 (CH), 55.8 (CH), 84.3 (d, J
178.2, CH_2F), 120.7/121.2 (CH), 122.7/122.8 (CH),
124.7/125.1 (C), 125.3/125.4 (CH), 127.4 (CH), 128.1
(CH), 128.7/128.9 (C), 129.1 (CH), 129.8 (C), 132.7
(C), 139.5/139.6 (C), 141.8/141.9 (C), 157.0 (CO),
171.5 (CO), 172.1 (CO), 202.6 (d, J 14.3, CO); ^{19}F
NMR (376MHz, DMSO+TFA) δ -226.6 (t), -226.9 (t), -232.6
(t), -232.9 (t).

实施例 6

[3S/R, (2S)]-3-[1-(呋唑-9-羰基)哌啶-2-羰基]氨基]-4-氟-4-
氧代-戊酸



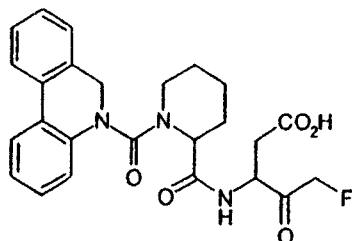
利用与上文方法 A-E 所述那些相似的工艺, 从 9-咔唑碳酰氯制备之 (180mg, 75%) :

IR (固体, cm^{-1})

1737, 1655, 1419, 1373, 1224 ; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.36-1.65 (6H, m), 1.94-1.99 (1H, m), 2.12-2.21 (1H, m), 2.59-2.89 (2H, m), 4.32-5.27 (4H, m), 7.30-7.36 (2H, m), 7.48-7.54 (2H, m), 7.63-7.76 (2H, m), 8.17-8.72 (3H, m); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO+TFA) δ 19.0 (CH_2), 23.7/23.8 (CH_2), 26.5/26.8 (CH_2), 33.3/33.5 (CH_2), 44.1 (br, CH_2), 50.9/51.4 (CH), 54.5 (br, CH), 82.9/83.1 (2d, J 178.7/178.7, CH_2F), 111.0/111.1 (CH), 111.9 (CH), 119.5/119.7 (CH), 120.6/120.7 (CH), 122.5/122.7 (C), 125.8/125.9 (CH), 137.1/137.4 (C), 153.2/153.3 (C), 170.3/170.4 (C), 170.8/170.9 (C), 201.4/201.5 (2d, J 14.6/14.6, CO); ^{19}F NMR (376MHz, DMSO+TFA) δ d (J, %I) -226.6 (t, 3), -226.8 (t, 3), -230.0 (t, 1), -232.7 (t, 10), -232.7 (t, 10).

实施例 7

[3S/R, (2S)]-5-氟-4-氧代-3-[[1-(6H-菲啶-5-羰基)-哌啶-2-羰基]氨基]-戊酸

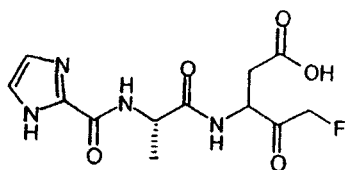


利用与上文方法 A-E 所述那些相似的工艺, 从 9,10-二氢菲啶碳酰氯制备之 (115mg, 61%) : IR (固体, cm^{-1}) 1731, 1419, 1363, ^1H NMR (δ 1219; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO+TFA) δ 1.27-1.69 (5H, m),

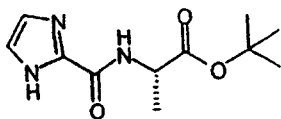
1.90-2.06 (1H, m), 2.55-2.87 (2H, m), 3.13-3.21 (2H, m), 4.31-5.26 (6H, m), 7.12-7.48 (6H, m), 7.84-7.86 (2H, m), 8.08-8.58 (1H, m); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO+TFA) δ 20.5 (CH_2), 24.2 (CH_2), 27.73 (CH_2), 34.6/34.8 (CH_2), 44.9 (CH_2), 48.5/48.7 (CH), 52.1/52.5 (CH), 55.4/55.7 (CH), 84.2 (d, CH_2F), 120.2 (CH), 123.3 (CH), 123.6 (CH), 124.7 (CH), 126.1 (C), 126.3 (CH), 128.0 (CH), 128.3 (CH), 128.7 (CH), 131.6 (C), 134.6 (C), 140.2 (C), 172.1/172.2 (CO), 172.4/172.4 (CO), 203.0 (d, CO); ^{19}F NMR (376MHz, DMSO+TFA) δ -226.8 (t), -226.9 (t), -232.7 (t), -232.9 (t).

实施例 8

[3S/R, (2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰氨基}-4-氧代-戊酸, 三氟乙酸盐 (化合物 1)



方法 A: (2S)-2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酸叔丁基酯

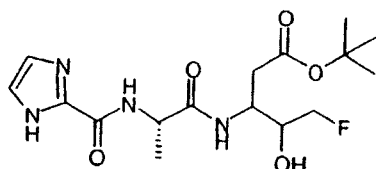


向 1H-咪唑-2-羧酸 (0.17g) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) (3mL) 溶液加入丙氨酸叔丁酯盐酸盐 (0.22g)、二异丙基乙胺 (0.27mL) 和 HOBT (0.41g), 然后冷却至 0°C, 然后将反应混合物用 EDC HCl (0.32g) 处理。除去冷却浴, 将反应混合物在环境温度下搅拌 18hr (小时), 然后用乙酸乙酯稀释, 用水和盐水洗涤, 干燥 (MgSO_4), 在减压下浓缩。残余物经过硅胶色谱纯化 (30% 乙酸乙酯的己烷溶液), 得到小标题化合物, 为无色的油 (0.263g, 73%):

^1H NMR 400 MHz CDCl_3

1.50 (9H, s), 1.51 (3H, d, J 7.2), 3.70 (1H, m), 7.28 (2H, s), 7.78 (1H, d, J 7.6), 11.49 (1H, br s).

方法 B: [3S/R, 4S/R, (2S)]-5-氟-4-羟基-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰氨基}-戊酸叔丁基酯

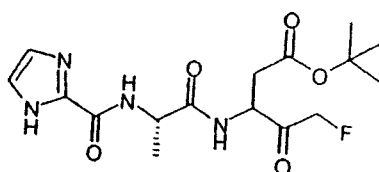


将 (2S)-2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酸叔丁基酯 (0.257g) 的二氯甲烷 (2ml) 溶液冷却至 0°C , 然后滴加三氟乙酸, 将反应混合物升温至室温, 搅拌 2hr, 然后在减压下蒸发。使残余物与二氯甲烷 (两次) 和甲苯 (两次) 共蒸发, 留下所需的 (2S)-2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酸, 无需进一步纯化即可使用 (0.40g)。

将 (2S)-2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酸与 3-氨基-5-氟-4-羟基-戊酸叔丁基酯 (0.254g) 的 THF (7mL) 溶液冷却至 0°C , 然后加入 DMAP (0.151g)、二异丙基乙胺 (0.56mL)、HOBt (0.16g) 和 EDC HCl (0.23g)。将反应混合物在环境温度下搅拌 18hr, 然后在减压下浓缩。残余物经过硅胶色谱纯化 (5% 甲醇的二氯甲烷溶液), 得到小标题化合物, 为无色固体 (0.386g, 97%): ^1H NMR 400MHz

$\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 1.40 (12H, m), 3.92 (1H, m), 4.20-4.55 (4H, m), 7.11 (2H, d, J 15); ^{19}F NMR CDCl_3 -229.74 (m), -229.84 (m), -230.54 (m), -230.87 (m).

方法 C: [3S/R, (2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)氨基]-丙酰氨基}-4-氧代-戊酸叔丁基酯

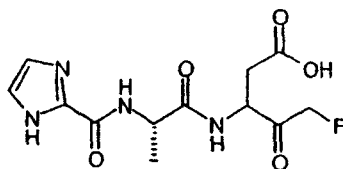


将[3S/R, (2S)]-5-氟-4-羧基-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰氨基}-戊酸叔丁基酯(0.381g)的二氯甲烷溶液冷却至 0°C, 然后加入 1,1,1-三乙酰氧基-1,1-二氢-1,2-benziodoxol-3(1H)-酮(0.476g)。将混合物在室温下搅拌 2h, 然后加入另一部分 1,1,1-三乙酰氧基-1,1-二氢-1,2-benziodoxol-3(1H)-酮(0.05g), 然后将反应混合物搅拌 90min (分钟), 然后在减压下浓缩。将残余物溶于乙酸乙酯, 用 NaHSO₄ 水溶液与 Na₂S₂O₃ 水溶液的 1:1 混合物洗涤。收集有机层, 干燥(MgSO₄), 浓缩。残余物经过快速色谱纯化(5%甲醇的二氯甲烷溶液), 得到小标题化合物, 为无色泡沫(319mg, 84%):

¹H NMR 400MHz CDCl₃ 1.37+1.43 (9H, 2xs), 1.54 (3H, m), 2.85 (1H, m), 3.03 (1H, m), 4.85-5.30 (4H, m), 7.18 (2H, d, J 16), 7.90 (1H, m), 7.98 (1H, m), 11.37+11.45 (1H, 2xs); ¹⁹F NMR 376 MHz CDCl₃ -231.85 (t, J 48), -232.12 (t, J 48).

方法 D:

化合物 1



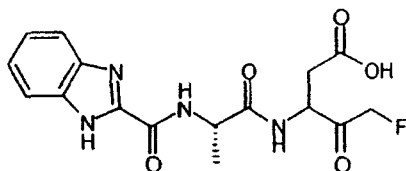
将[3S/R, (2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰氨基}-4-氧代-戊酸叔丁基酯(0.31g)的二氯甲烷(2ml)溶液冷却至 0°C, 然后滴加三氟乙酸, 将反应混合物升温至室温, 搅拌 2hr, 然后在减压下蒸发。使残余物与二氯甲烷共蒸发(两次), 在醚中研制, 得到标题化合物, 为无色固体(0.35g):

IR 1785.7, 1730.1, 1653.7, 1538.1, 1458.2, 1384.2, 1268.7, 1188.4, 1150.9, 1053.3, 992.13, 931.8, 867.9, 847.0, 768.5 cm⁻¹; ¹H NMR 400MHz DMSO-d₆ 1.37 (3H, d), 2.40-2.85 (2H, m, asp CH₂), 4.34-4.75 (2.5H, m, 2xCH+0.5CH₂F),

5.13-5.41 (1.5H, m, CH₂F), 7.50 (2H, s, 咪唑 CHs), 8.58-8.79 (2H, m, NHs), ¹³C NMR 100 MHz DMSO-d₆ 18.13, 18.85 (ala CH₃); 33.13, 34.75 (asp CH₂), 48.68, 52.41 (CHs), 83.46, 85.21 (CH₂F), 123.67 (CH 咪唑), 139.57, 158.86, 172.35 (m) (C=Os), 202.70 (5 峰酮); ¹⁹F NMR 376 MHz DMSO-d₆ 解偶联 -75.19 (3F, s, CF₃COOH), - (226.89, 226.96, 230.80, 231.59, 232.95, 233.06 (1F, 6xs, COCH₂F 打开的环和闭合的环)).

实施例 9

[3S/R, (2S)]-3-{2-[(1H-苯并咪唑-2-羰基)-氨基]-丙酰氨基}-5-氟-4-氧代-戊酸, 三氟乙酸盐 (化合物 2)



利用与上文方法 A-D 所述那些相似的工艺, 从 1H-苯并咪唑-2-羧酸制备之 (142mg, 90% 最后一步收率): (作为 TFA 盐所分离的化合物) 灰白色固体;

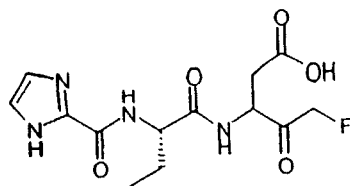
IR (固体, cm⁻¹) 3277.9, 1654.6, 1526.6, 1188.6, 1142.5, 1050.4, 927.5, 748.2, 712.4; ¹H NMR (DMSO-d₆) 1.42 (3H, d), 2.51-2.95 (2H, m), 4.21-4.75 (2H, m), 4.76-5.60 (3H, brm), 7.41 (2H, m), 7.65 (2H, m), 8.21-9.05 (2H, m); ¹³C NMR (DMSO-d₆) 18.0, 18.7, 18.8 (Ala CH₃), 37.2, 34.6, 34.7 (Asp CH₂), 47.6, 48.8, 48.85, 49.1 (Asp CH), 52.0, 52.5 (Ala CH), 83.5, 85.2, 85.3, 103.8, 106.0 (CH₂F), 116.6, 123.9 (芳基 CH), 145.3, 145.4, (Aryl C), 158.4, 158.7, 158.8, 172.1, 172.2, 172.4, 172.5, 172.6, 172.7, 173.2 (NC=O), 202.6, 202.7, 202.8, 202.9 (C=O); 实测值 M⁺ 364.1177. C₁₆H₁₇FN₄O₅

计算值 M⁺ 364.1183 (1.8 ppm).

实施例 10

[3S/R, (2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羰基)-氨基]-丁酰氨基}

基}-4-氧代-戊酸, 三氟乙酸盐 (化合物 3)

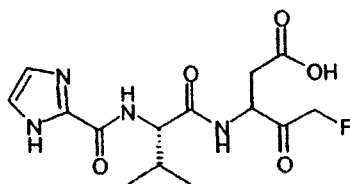


利用与上文方法 A-D 所述那些相似的工艺, 从 1H-苯并咪唑-2-羧酸制备之 (147mg, 64%最后一步收率) :

IR (cm⁻¹) 3280.0, 1659.5, 157.9, 1192.5, 1141.6, 784.7, 721.1; ¹H NMR 400MHz DMSO-d₆ 0.95 (3H, m), 1.78 (2H, m), 2.58-2.98 (2H, m), 4.30-4.78 (2.5H, m), 5.10-5.42 (1.5H, m), 7.41 (2H, s), 8.44+8.75 (2H, 2xm); ¹³C NMR 100 MHz DMSO-d₆ 10.19, 10.29, 15.52 (CH₃), 25.42, 25.49, 26.03, 33.06, 33.13, 34.65, 34.80 (CH₂), 47.45, 47.53, 52.0, 53.96, 54.13 (CH) 65.27 (CH₂), 84.36 (d, J 177, CH₂F), 103.81, 104.00 (C), 123.89 (CH), 139.74 (C=O), 156.90, 158.39, 158.74, 171.51, 171.80, 171.83, 172.02, 173.11 (C=O), 202.51, 202.66, 202.76, 202.90 (CH₂FC=O); ¹⁹F NMR 376 MHz DMSO-d₆ -226.82 (t, J 45), -226.84 (t, J 45), -230.67 (t, J 45), -231.43 (t, J 45), -232.79 (t, J 45), -232.82 (t, J 45).

实施例 11

[3S/R, (2S)]-5-氟-3-{2-[(1H-咪唑-2-羧基)-氨基]-3-甲基-丁酰氨基}-4-氧代-戊酸 (化合物 4)

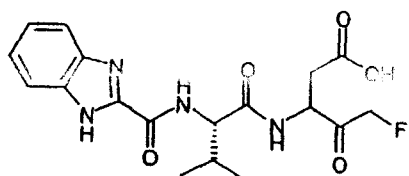


利用与上文方法 A-D 所述那些相似的工艺, 从 1H-苯并咪唑-2-羧酸制备之 (80g, 85%最后一步收率) : 白色粉末, IR (固体, cm⁻¹)

IR (固体, cm^{-1}) 1736, 1649, 1557, 1511, 1455, 1434, 1393; ^1H NMR (DMSO+TFA) 0.92-0.95 (6H, m), 2.06-2.15 (1H, m), 2.56-2.90 (2H, m), 4.33-5.36 (4H, m), 7.79 (2H, s), 8.58-8.90 (2H, m); ^{19}F NMR (DMSO+TFA) -226.8 (t), -230.6 (t), -231.0 (t), -232.5 (t), -232.6 (t); ^{13}C NMR (DMSO+TFA) 18.1/18.4 (CH_3), 19.2/19.3 (CH_3), 34.5/34.8 (CH_2), 51.9/52.2 (CH), 58.5/58.8 (CH), 84.3/84.4 (2d, J 178.7/178.7, CH_2F), 122.0 (CH), 137.5 (C), 153.7 (C), 170.6 (C), 171.9/172.0 (C), 202.5/202.8 (2d, J 14.6/14.6, CO).

实施例 12

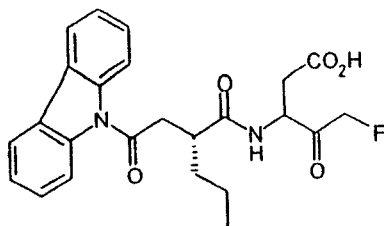
[3S/R, (2S)]-3-[2-[(1H-苯并咪唑-2-羰基)-氨基]-3-甲基丁酰氨基]-5-氟-4-氧代-戊酸 (化合物 5)



利用与上文方法 A-D 所述那些相似的工艺, 从 1H-苯并咪唑-2-羧酸制备之 (90mg, 87% 最后一步收率): 白色粉末,

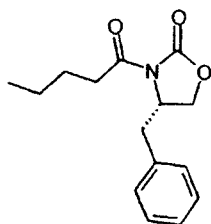
IR (固体, cm^{-1}) 1737, 1665, 1527, 1373, 1194, 1137; ^1H NMR (DMSO- d_6) 0.90-0.95 (6H, m), 2.15-2.18 (1H, m), 2.59-2.92 (2H, m), 4.33-4.76 and 5.12-5.38 (4H, 2m), 7.31-7.35 (2H, m), 7.66-7.68 (2H, m), 8.36-8.82 (2H, m); ^{19}F NMR (DMSO+TFA) -226.7 (t), -226.9 (t), -232.4 (t), -232.6 (t); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) 18.3/18.4/18.5/18.7 (CH_3), 19.4/19.5 (CH_3), 31.0/31.1/31.6 (CH), 34.7/34.8 (CH_2), 51.8/52.1 (CH), 57.9/58.3/58.6 (CH), 84.3/84.4 (2d, J 178.7/178.7, CH_2F), 124.0 (CH), 145.2/145.2 (C), 158.4/158.5/158.7/158.8 (C), 170.9/171.1/171.2 (C), 172.0/172.0 (C), 173.1 (C), 173.9 (C), 202.06/202.6 (2d, J 13.8, CO).

实施例 13



[3S/R(2S)]-3-[2-(噻唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酰氨基]-5-氟-4-氧代-戊酸

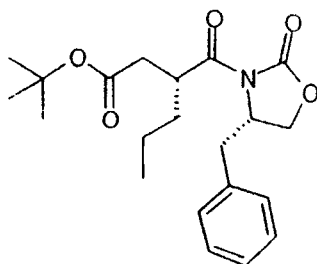
方法 A: (4S)-苄基-3-戊酰基-噁唑烷-2-酮



在 -78°C 下, 将 4(S)-(-)-苄基-2-噁唑烷酮(10g, 56.43mmol)的无水 THF (200ml) 溶液用 2.5M 正丁基锂的己烷溶液(23.70ml, 59.26mmol)处理, 同时搅拌。将反应混合物在 -78°C 下搅拌 30min, 然后加入戊酰氯(7.57ml, 62.10mmol)。然后使反应混合物历经 15h 升温至环境温度, 然后用 NH_4Cl 溶液稀释, 用乙酸乙酯稀释, 用盐水洗涤。将有机相干燥(Na_2SO_4), 浓缩得到胶状物。经过快速色谱纯化(10% EtOAc 的 40/60 己烷溶液), 得到小标题化合物(14.61g, 99%), 为无色的油:

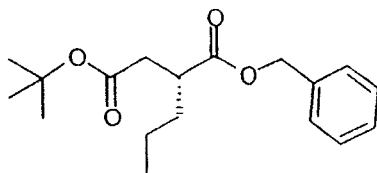
^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 0.94-1.20 (3H, m), 1.35-1.50 (2H, m), 1.62-1.80 (2H, m), 2.74-2.84 (1H, m), 2.86-3.08 (2H, m), 3.27-3.39 (1H, m), 4.11-4.26 (2H, m), 4.62-4.76 (1H, m), 7.18-7.40 (5H, m).

方法 B: [4S(3R)]-3-(4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3 羰基)-己酸叔丁基酯



在 -78°C 下, 将(4S)-苄基-3-戊酰基-噁唑烷-2-酮(14.20g, 54.34mmol)的 THF (100ml)溶液用 1M 双(三甲基甲硅烷基)氨基钠的 THF 溶液(59.80ml, 59.77mmol)处理 10min, 同时搅拌。将反应混合物在 -78°C 下搅拌 30min, 然后加入溴乙酸叔丁酯(10.43ml, 70.64mmol)。然后将反应混合物在 -78°C 下搅拌另外 3.5h, 然后用 NH_4Cl 溶液稀释, 用乙酸乙酯稀释, 先后用 NaHCO_3 溶液和盐水洗涤。将有机相干燥(Na_2SO_4), 浓缩得到胶状物。放置后生成白色固体, 从 40/60 DCM/己烷中重结晶, 得到小标题化合物(14.62g, 72%), 为白色固体: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 0.81-1.20 (3H, m), 1.21-1.76 (13H, m), 2.41-2.55 (1H, m), 2.66-2.92 (2H, m), 3.27-3.40 (1H, m), 4.05-4.26 (2H, m), 4.61-4.72 (1H, m), 7.12-7.40 (5H, m).

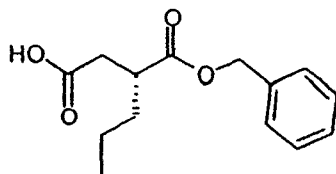
方法 C: (2R)-2-丙基-琥珀酸 1-苄基酯 4-叔丁基酯



在 -20°C 下, 将苄醇(4.62ml, 44.64mmol)的 THF (80ml)溶液用 2.5M 正丁基锂的己烷溶液(13.36ml, 33.48mmol)处理, 同时搅拌。使反应混合物历经 40min 升温至 -5°C , 然后加入[4S(3R)]-3-(4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-羰基)-己酸叔丁基酯(8.38g, 22.32mmol)的 THF (20ml)溶液。使反应混合物历经 15h 升温至环境温度, 然后用 NH_4Cl 溶液和乙酸乙酯稀释, 用盐水洗涤。将有机相干燥(Na_2SO_4), 浓缩得到胶状物。经过快速色谱纯化(11% EtOAc 的 40/60 己烷溶液), 得到小标题化合物(4.56g, 67%), 为无色的油:

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 0.83-1.00 (3H, m), 1.21-1.71 (13H, m), 2.34-2.45 (1H, m), 2.75-2.95 (1H, m), 5.09-5.25 (2H, m), 7.30-7.43 (5H, m).

方法 D: (2R)-2-丙基-琥珀酸 1-苄基酯

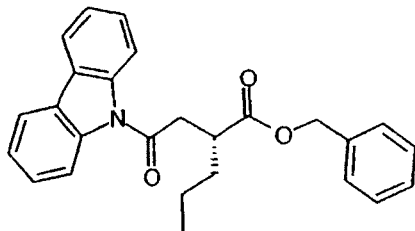


在 0°C 下, 将搅拌着的 (2R)-2-丙基-琥珀酸 1-苄基酯 4-叔丁基酯 (4.56g, 14.88mmol) 的无水 DCM (20ml) 溶液用三氟乙酸 (10ml) 的无水 DCM (10ml) 溶液处理。使反应混合物历经 3h 升温至环境温度, 然后在减压下浓缩。将残余物溶于无水 DCM, 然后再次浓缩。这种过程重复若干次, 目的是除去过量三氟乙酸, 留下小标题化合物 (3.70g, 99%), 为胶状物:

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ

0.82-0.99 (3H, m), 1.21-1.76 (4H, m), 2.45-2.60 (1H, m), 2.76-3.00 (2H, m), 5.10-5.21 (2H, m), 7.28-7.43 (5H, m), 7.83-8.18 (1H, m).

方法 E: (2R)-2-(2-咪唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酸苄基酯



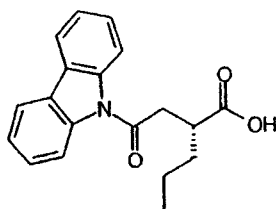
在 -78°C 下, 将搅拌着的咪唑 (2.49g, 14.88mmol) 的无水 THF (30ml) 溶液用 1.0M 双(三甲基甲硅烷基)氨基锂的 THF 溶液 (14.88ml, 14.88mmol) 处理。使反应混合物历经 2h 升温至环境温度, 然后重新冷却至 -78°C。

将在 0°C 下搅拌着的 (2R)-2-丙基-琥珀酸 1-苄基酯 (3.70g, 14.78mmol) 的无水 DCM (20ml) 溶液用草酰氯 (1.43ml, 16.37mmol) 和 DMF (14 滴) 处理。将反应混合物在 0°C 下搅拌 1h, 然后在真空中浓缩。将残余物溶于无水 THF (10mL), 在 -78°C 下加入到预先制备的咪唑的锂阴离子中。使反应混合物历经 40h 升温至环境温度, 然后用 NH_4Cl 溶液和乙酸乙酯稀释, 先后用 2N HCl、 NaHCO_3 溶液和盐水洗涤。将有机相干燥 (Na_2SO_4), 浓缩, 得到胶状物, 经过快速色谱纯化 (10% EtOAc

的 40/60 己烷溶液), 得到小标题化合物 (4.50g, 76%), 为半固体/油, 也含有咔唑:

¹H
NMR (400MHz, CDCl₃) δ 0.82-1.05 (3H, m), 1.11-1.99 (4H, m), 3.18-3.38 (2H, m), 3.56-3.71 (1H, m), 5.10-5.30 (2H, m), 7.11-7.60 (9H, m), 7.92-8.29 (4H, m).

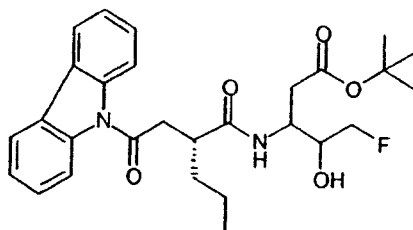
方法 F: (2R)-2-(2-咔唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酸



将搅拌着的 (2R)-2-(2-咔唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酸苄基酯 (4.50g, 11.26mmol) 的 EtOAc (60ml) 溶液用 10% 披钨碳 (~400mg) 处理, 然后将反应混合物置于氢气氛下。1h 后加入另外的 10% 披钨碳 (~300mg), 将反应混合物置于氢下另外 3h, 同时搅拌, 然后通过 C 盐垫过滤反应混合物, 浓缩, 得到小标题化合物 (2.94g, 84%), 为白色固体, 也含有咔唑:

¹H
NMR (400MHz, CDCl₃) δ 0.92-1.04 (3H, m), 1.32-2.00 (4H, m), 3.19-3.34 (2H, m), 3.58-3.70 (1H, m), 7.30-7.53 (4H, m), 8.00-8.30 (4H, m).

方法 G: [3S/R, 4S/R, (2R)]-3-[2-(2-咔唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酰氨基]-5-氟-4-羟基-戊酸叔丁基酯

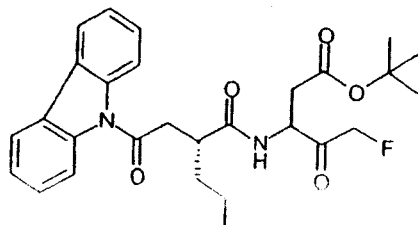


将搅拌着的 (2R)-2-(2-咔唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酸 (2.94g, 9.50mmol)、3-氨基-5-氟-4-羟基-戊酸叔丁基酯 (2.07g, 9.99mmol)、HOBT (1.41g, 10.43mmol)、DMAP (1.34g, 10.97mmol) 与无水 THF (40ml) 的混合物冷却至 0°C, 然后加入 EDC (2.00g, 10.43mmol)。使混合物

在 16h 内升温至室温，然后在减压下浓缩。残余物经过快速色谱纯化 (33% EtOAc 的 40/60 己烷溶液)，得到小标题化合物 (2.51g, 53%)，为泡沫：

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 0.90-1.03 (3H, m), 1.20-1.90 (13H, m), 2.50-3.00 (3H, m), 3.12-3.26 (1H, m), 3.59-3.80 (2H, m), 4.00-4.68 (3H, m), 6.53-6.89 (1H, m), 7.30-7.52 (4H, m), 7.95-8.05 (2H, m), 8.15-8.26 (2H, m); ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) -229.10, -229.34, -230.95, -231.09.

方法 H: [3S/R, (2R)]-3-[2-(2-咪唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酰氨基]-5-氟-4-氧代-戊酸叔丁基酯

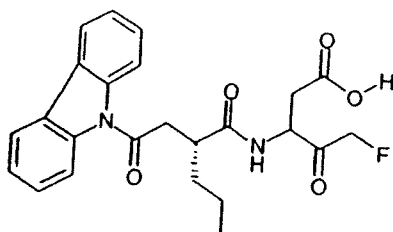


在 0°C 下，将搅拌着的 [3S/R, 4S/R, (2R)]-3-[2-(2-咪唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酰氨基]-5-氟-4-羟基-戊酸叔丁基酯 (2.51g, 5.03mmol) 的无水 DCM (60ml) 溶液用 1,1,1-三乙酰氧基-1,1-二氢-1,2-benziodoxol-3(1H)-酮 (2.35g, 5.53mmol) 处理。将所得混合物在 0°C 下保持 3h，用 DCM 稀释，然后先后用饱和硫代硫酸钠水溶液、 NaHCO_3 溶液和盐水洗涤。将有机相干燥 (Na_2SO_4)，浓缩。残余物经过快速色谱纯化 (25% 乙酸乙酯的 40/60 己烷溶液)，得到小标题化合物，为灰白色固体 (1.437g, 57%)： IR (固体, cm^{-1}) 1722,

1689, 1636, 1531, 1441, 1365, 1279, 1155; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 0.85-1.50 (3H, m), 1.35-1.54 (11H, m), 1.55-1.69 (1H, m), 1.78-1.95 (1H, m), 2.67-3.28 (4H, m), 3.60-3.79 (1H, m), 4.80-5.59 (3H, m), 6.89-7.04 (1H, m), 7.33-7.54 (4H, m), 7.98-8.04 (2H, m), 8.15-8.28 (2H, m); ^{13}C (100MHz, CDCl_3) δ 14.12, 14.40, 14.47, 14.60, 20.78, 20.84, 21.47, 28.32, 28.42, 28.48, 29.77, 33.63, 34.58, 34.91, 40.05, 43.05, 43.26, 43.29, 52.60, 53.00, 53.64, 66.90, 66.99, 82.62, 82.69, 85.53,

116.88, 116.94, 120.28, 120.31, 124.27, 127.76, 127.86,
128.69, 128.77, 128.99, 138.80, 171.21, 171.29, 172.21,
172.25, 175.53, 176.03, 203.04, 203.20, 203.30, 203.46;
 ^{19}F (376MHz, CDCl_3) δ -232.12, -233.24.

方法 I: [3S/R, (2R)]-3-[2-(2-咔唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酰氨基]-5-氟-4-氧代-戊酸

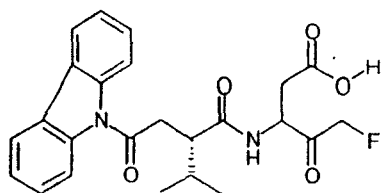


将 [3S/R, (2R)]-3-[2-(2-咔唑-9-基-2-氧代-乙基)-戊酰氨基]-5-氟-4-氧代-戊酸叔丁基酯 (1.43g, 2.88mmol) 的无水 DCM (20ml) 溶液用 TFA (10ml) 的无水 DCM (10ml) 溶液处理, 同时搅拌。将混合物在 0°C 下搅拌 2h, 然后在室温下搅拌 2h。在减压下浓缩混合物, 然后将残余物溶于无水 DCM。这种过程重复若干次, 目的是除去过量三氟乙酸。使灰白色固体从 $\text{Et}_2\text{O}/40/60$ 己烷中重结晶, 得到标题化合物, 为白色粉末 (71mg):

IR

(固体, cm^{-1}) 1746, 1689, 1641, 1541, 1436, 1374, 1284,
1207, 1160 cm^{-1} ; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO) δ 0.80-1.00
(3H, m), 1.20-1.76 (4H, m), 2.30-2.90 (2H, m), 2.95-
3.24 (1H, m), 3.26-3.59 (2H, m), 4.25-4.79 (1.5H, m),
5.02-5.43 (1.5H, m), 7.36-7.58 (4H, m), 8.10-8.30 (4H,
m), 8.54-8.91 (1H, m); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO) δ 14.31,
20.03, 20.13, 21.92, 22.51, 34.36, 34.77, 41.20, 41.62,
44.06, 51.77, 52.84, 83.45, 85.22, 116.70, 120.54,
123.91, 124.01, 127.85, 126.01, 138.20, 172.15, 172.36,
172.96, 173.00, 175.32, 175.48, 202.60, 203.10; ^{19}F
(376MHz, DMSO) δ -226.68, -226.73, -231.21, -232.95, -
233.38, -233.52.

实施例 14



[3S/R (2S)]-3-[2-(2-咪唑-9-基-2-氧代-乙基)-3-甲基-丁酰氨基]-5-氟-4-氧代-戊酸

利用与上文方法 A-I 所述那些相似的工艺制备之。分离产物，为白色固体 (71% 最后一步收率)：

IR

(固体, cm^{-1}) 1739, 1682, 1646, 1545, 1447, 1381, 1290, 1209, 1170 cm^{-1} ; ^1H NMR (400MHz, DMSO + TFA) δ 0.79-1.08 (6H, m), 1.89-2.15 (1H, m), 2.31-3.60 (5H, m), 4.21-4.78 (1.25H, m), 4.98-5.45 (1.75H, m), 7.38-7.60 (4H, m), 8.14-8.35 (4H, m), 8.56-8.90 (1H, m); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO) δ 20.46, 20.84, 21.04, 21.21, 30.77, 30.85, 33.37, 34.83, 35.24, 38.16, 38.89, 47.67, 48.23, 52.19, 53.43, 83.96, 84.01, 85.72, 85.77, 117.16, 121.02, 124.43, 126.42, 126.52, 128.42, 138.75, 172.64, 172.90, 173.85, 173.90, 174.74, 174.93, 175.16, 202.91, 203.04, 203.51, 203.65; ^{19}F (376MHz, DMSO) δ -226.63, -226.68, -231.24, -233.16, -233.38, -233.55.

生物学方法

实施例 15

借助本领域已知的方法可以测量 ICE 抑制作用。

借助两项研究可以证明 ICE 抑制剂有效治疗 MWS、FCU、FMF、CINCAS、NOMID、TRAPS、HIDS、全身起始性青少年自发性关节炎、斯提尔氏病和巨噬细胞活化综合征以及其他自身炎症性疾病、病症或综合征：

实施例 16

从 MWS、FCU、FMF、CINCAS、NOMID、TRAPS、HIDS、全身起始性

青少年自发性关节炎、斯提尔氏病和巨噬细胞活化综合征或者其他自身炎性疾病或病症患者收集血样，体外培养全血或者加工为外周血单核细胞(PBMC)制备物。在正常未受刺激条件下或者在刺激物(例如脂多糖、金黄色葡萄球菌、尼日利亚菌素或佛波醇肉豆蔻酸酯)的存在下，评价 IL-1 β 的产生。向培养物加入浓度 1-100,000nM 的 ICE 抑制剂，以证明它们抑制 MWS、FCU、FMF、CINCAS、NOMID、TRAPS、HIDS、全身起始性青少年自发性关节炎、斯提尔氏病和巨噬细胞活化综合征或者其他自身炎性疾病、病症或综合征患者细胞产生 IL-1 β 和/或 IL-18 的能力。

实施例 17

MWS、FCU、FMF、CINCAS、NOMID、TRAPS、HIDS、全身起始性青少年自发性关节炎、斯提尔氏病和巨噬细胞活化综合征或者其他自身炎性疾病或病症患者参加接受 ICE 抑制剂治疗的临床试验。借助适当的途径(口服、静脉内、皮下等)以 10-10,000mg 的剂量给予药物，给药频率为 1-4 次/天或者根据需要，以控制该疾病、病症或综合征的症状和其他表现。治疗持续时间可以从每一天或多天定期使用直到在患者生命期间每天使用。借助它们减少临床指征和症状的能力来证明功效，例如发热、荨麻疹、关节痛、浆膜炎、全身淀粉样变性、强烈的急性期响应和病患组织的突出的中性白细胞增多。

实施例 18

化合物 7 对 LPS-刺激的 FCAS 患者 PBMC 释放 IL-1 β 和 IL-18 的抑制作用，与健康对照相比

CAIS1 基因在 FCAS 中突变，由该基因编码的蛋白质 cryopyrin 调控 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 活化和其加工 pro-IL-1 β 为活性 IL-1 β 以及加工 pro-IL-18 为活性 IL-18。可以预期突变的 cryopyrin 蛋白将以不同方式干扰 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1，可能以改变 ICE 抑制剂化合物与 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 相互作用的方式改变 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 构型，从而减少该化合物抑制 ICE 活化和 IL-1 β 与 IL-18 加工的能力。

因此,进行本例实验以证实化合物 7 能够抑制 FCAS 患者细胞中的 ICE。

研究了来自 3 个家族的 FCAS 患者以及健康对照。FCAS 患者表达 3 种不同的 CIAS1 基因突变。五名有亲属关系的患者(母亲、两名女儿、孙女和男性远亲)在 cryopyrin 中具备共同的 L353P 祖传突变,这在以前已有描述(Johnstone RF, Dolen WK, Hoffman HM. A large kindred with familial cold autoinflammatory syndrome. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003; 90 (2): 233-7)。其他患者具备尚未报道过的新颖突变。两名患者(母亲和女儿)在 CIAS1 基因的核苷酸 1976 上具有 T 到 A 的转变,引起 cryopyrin 中的 M659K 取代。一名患者在 CIAS1 基因的核苷酸 1573 上具有 G 到 A 的转变,生成尚未报道过的 E525K 氨基酸取代,以及 V198M 变化,这在以前若干具有不同表型的患者中已有描述,但是在正常对照中也是如此。所有突变都位于外显子 3 中,它编码 NBS (NACHT)结构域或 NBS 有关的结构域,并且都在其他已报道过的突变的 3 种氨基酸内,与提示突变热点的研究是一致的(Neven B, Callebaut I, Prieur AM, Feldmann J, Bodemer C, Lepore L, Derfalvi B, Benjaponpitak S, Vesely R, Sauvain MJ, Oertle S, Allen R, Morgan G, Borkhardt A, Hill C, Gardner-Medwin J, Fischer A, de Saint Basile G. Molecular basis of the spectral expression of CIAS1 mutations associated with phagocytic cell-mediated autoinflammatory disorders CINCA/NOMID, MWS, and FCU. *Blood.* 2004; 103(7): 2809-15)。

从 FCAS 患者和健康志愿者对照收集全血样品,体外培养。在正常未受刺激条件下和在浓度为 10^{-10} ng/mL 的脂多糖的存在下评价 IL-1 β 的产生。向培养物加入浓度为 30^{-30} nM 的化合物 7,以观察其抑制 FCAS 患者或健康志愿者细胞产生 IL-1 β 和 IL-18 的能力。图 1 阐述这些实验的结果。

具体而言,在图 1A 中,在递增浓度化合物 7 ($0.03 - 30 \mu\text{M}$) 的存在下,将来自 FCAS 患者和正常对照的 PBMC 与 10 ng/mL LPS 温育 24 小时。借助 ELISA 测量细胞培养基中的 IL-1 β ,使每名受试者的结果

正常化为在没有化合物 7 存在下的 IL-1 β 释放水平。结果以平均 $\pm$ SEM 报道,就 3 名 FCAS 患者和 5 名对照患者而言。化合物 7 抑制 LPS-刺激的 IL-1 β 的效力非常相似于来自正常受试者的 PBMC (IC₅₀ 值 $\sim$ 1 μ M)。

图 1B 阐述在有或没有 10 μ M 化合物 7 的存在下、在暴露于 LPS 达 24 小时后来自 FCAS 患者或对照受试者的 PBMC 中 IL-1 β 的释放。结果以平均 $\pm$ SEM 报道,就 7 名 FCAS 患者和 5 名对照患者而言。LPS 刺激 FCAS 患者 PBMC 比正常受试者释放更大量的 IL-1 β , FCAS PBMC 响应于更低浓度的 LPS。尽管如此,10 μ M 化合物 7 抑制 LPS-刺激的 IL-1 β ,相似于来自正常受试者的 PBMC。

图 1C 阐述在有或没有 10 μ M 化合物 7 的存在下、在暴露于 LPS 达 24 小时后来自 FCAS 患者或对照受试者的 PBMC 中 IL-18 的释放。结果以平均 $\pm$ SEM 报道,就 3 名 FCAS 患者和 3 名对照患者而言。LPS 刺激 FCAS 患者 PBMC 比正常受试者释放更大量的 IL-18, FCAS PBMC 响应于更低浓度的 LPS。尽管如此,10 μ M 化合物 7 抑制 LPS-刺激的 IL-18 到相似于来自正常受试者的 PBMC 的程度。

这些数据证明,FCAS 患者表现出明显的 IL-1 β 和 IL-18 分泌对 LPS 刺激的响应性过高,但是没有证据表明这些细胞因子的基础分泌增加或者基础性或受刺激的 pro-IL-1 β 水平改变。化合物 7 阻滞 IL-1 β 和 IL-18 分泌(图 1),在来自 FCAS 和对照受试者的 LPS-刺激细胞中的效力相等。此外,本文所列 FCAS 患者数据提示,FCAS 患者中的 CAIS1 基因突变及其所编码的 cryopyrin 蛋白不改变 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 对 ICE 抑制剂(如化合物 7)的敏感性。

实施例 19

化合物 7 对 LPS-刺激的来自 4 名 MWS 患者的 PBMC 释放 IL-1 β 的抑制作用,该 PBMC 在递增浓度化合物 7 (0.03 - 10 μ M)的存在下与 10ng/mL LPS 温育 24 小时

如实施例 18 所述,可以预见突变的 cryopyrin 蛋白将以不同方式干扰 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1,并且可能以改变 ICE 抑制剂化合物与 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 相互作用的方

式改变 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 构型,从而减少该化合物抑制 ICE 活化和 IL-1 β 与 IL-18 加工的能力。因此,进行本例实验,以证实化合物 7 能够抑制 MWS 患者细胞中的 ICE。

研究四名 MWS 患者,其中三名具备 262 位精氨酸对色氨酸的替换 (R262W),一名具备 350 位苏氨酸对甲硫氨酸的替换 (T350M)。

从 MWS 患者收集全血样品,体外培养。在正常未受刺激的条件和在浓度为 10 - 10,000ng/mL 的脂多糖的存在下评价 IL-1 β 的产生。向培养物加入浓度为 30 - 10,000nM 的化合物 7,以观察其抑制 MWS 患者或健康志愿者细胞产生 IL-1 β 的能力。图 2 阐述这些实验的结果。

具体而言,在图 2 中,借助 ELISA 测量细胞培养基中的 IL-1 β ,使每名受试者的结果正常化为在没有化合物 7 存在下的 IL-1 β 释放水平。结果以平均 $\pm$ SEM 报道,就 4 名 MWS 患者的每一名而言。化合物 7 抑制 LPS-刺激的 MWS 患者 PBMC 释放 IL-1 β 的效力相似于来自正常受试者的 PBMC (正如在实施例 18 中所观察到的)。这表明三名 MWS 患者中的 cryopyrin 突变不以其改变化合物 7 的活性代谢产物(化合物 8)与 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 相互作用的效力的方式改变 ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 活化。

实施例 20

片剂制备

表 1 提供用在下文实施例 21 中的化合物 7 片剂的组成。配制药物产品,得到每片 300mg 化合物 7。

表 1: 化合物 7 300mg 片的组成

组分	量(mg/片)	功能
化合物 7	300	活性成分
微晶纤维素 (NF)	277.50	填充剂
预胶化淀粉 (NF)	131.25	崩解剂
淀粉羟乙酸钠 (NF)	15.00	崩解剂
胶体二氧化硅 (NF)	11.25	助流剂
滑石 (USP)	7.50	助流剂
硬脂酸镁 (NF)	7.50	润滑剂
总计	750	

实施例 21

4 名 MWS 患者对每天口服给予 900mg 化合物 7 达 14 天的临床响应

四名 MWS 患者参加开放标记的临床试验，接受化合物 7 治疗。三名患者具备 262 位精氨酸对色氨酸的替换(R262W)，一名患者具备 350 位苏氨酸对甲硫氨酸的突变(T350M)。

每天 3 次口服给予剂量 900mg 的化合物 7 达 14 天。在治疗阶段血清白介素-18、淀粉样蛋白 A 和 C-反应性蛋白水平的明显减少证明化合物 7 在 MWS 患者中的抗炎活性（参见图 3）。由患者报告的临床症状减少证明化合物 7 的临床功效，在图 3 中被阐述为症状总和，包括皮疹、发热/发冷、关节痛/肌痛、眼不适、疲劳（参见图 3）。在 14 天的治疗阶段化合物 7 也被四名患者所良好耐受。

具体而言，在图 3A 中，在用化合物 7 治疗之前（第-9 天和第 0 天（第一点））、期间（第 0 天（第二点）、第 7 天和第 14 天（第三点））和之后（第 14 天（第二点）和第 21 天）测量血清白介素-18 (IL-18)。平均而言，血清 IL-18 水平在第 14 天减少 55%。数据以来自 4 名患者的平均 $\pm$ SEM 报道。血清 IL-18 的基线水平为 170 - 370pg/mL，相对于健康对照受试者观测值而言仅有略微升高。

在图 3B 中，在用化合物 7 治疗之前、期间和之后测量血清淀粉样蛋白 A (SAA) 和 C-反应性蛋白 (CRP)，SAA 和 CRP 的量分别平均减少 75% 和 65%。SAA 的基线水平为 150 - 650mg/L，CRP 的基线水平为 20 - 90mg/L，相对于健康对照受试者而言都有明显升高。

图 3C 阐述自我报告的患者总体症状得分在治疗期间平均减少 60%。患者每天评价单个症状（皮疹、发热/发冷、关节痛/肌痛、眼不适、疲劳）为不存在(0)、微小(1)、轻微(2)、中等(3)或严重(4)，计算总分，为单个症状得分之和(0 - 20)。患者在治疗之初经历轻微-中等的症状(10 - 15 分)，在用化合物 7 治疗期间减少至微小水平(约 5 分)。

因而，在本例中我们证明，ICE/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1 抑制剂化合物 7 在自身炎症性疾病、特别是 Muckle-Wells 综合征的

治疗中是有效的和有益的，因为化合物 7 的给药降低炎症的标志，包括血清白介素-18、血清淀粉样蛋白 A 和血清 C-反应性蛋白，并且减少由患者所经历的 MWS 症状。

尽管我们已经描述了本发明的大量实施方式，不过显然可以改变我们的基本实施例，以提供其他采用本发明化合物和方法的实施方式。因此将领会到，本发明的范围受到权利要求书、而非具体实施方式的限定，后者仅供举例说明。

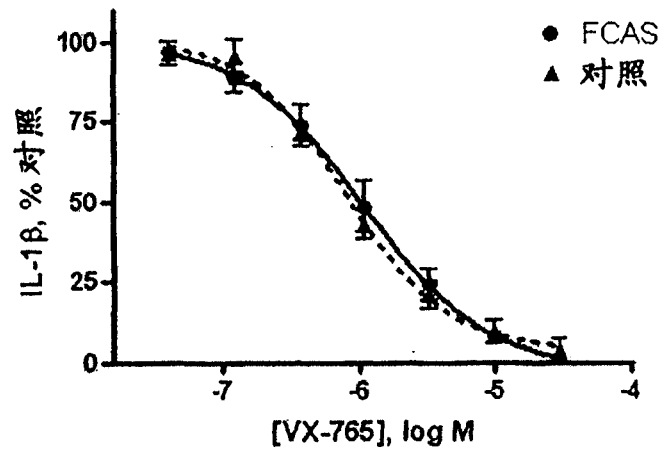


图 1A

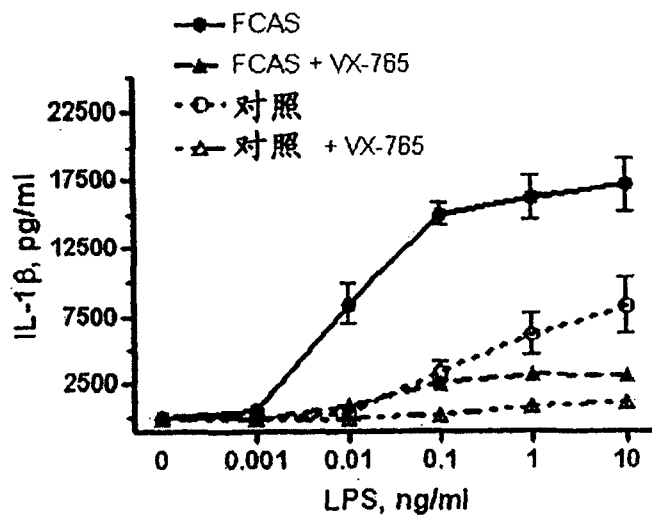


图 1B

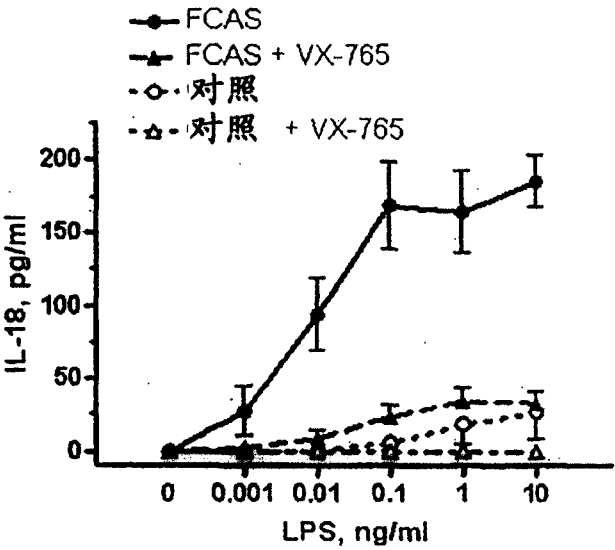


图1C

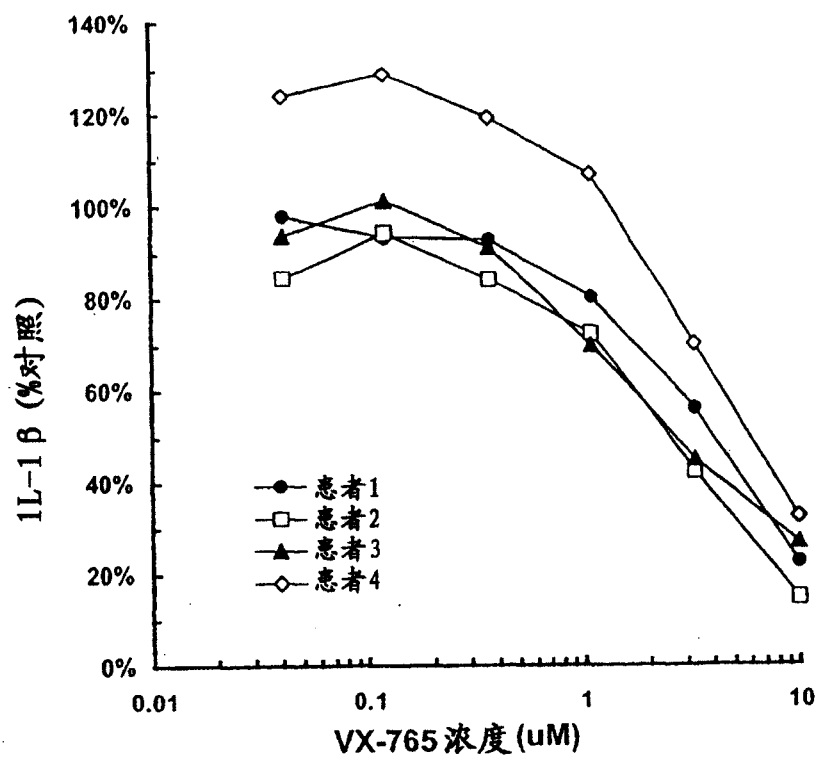


图 2

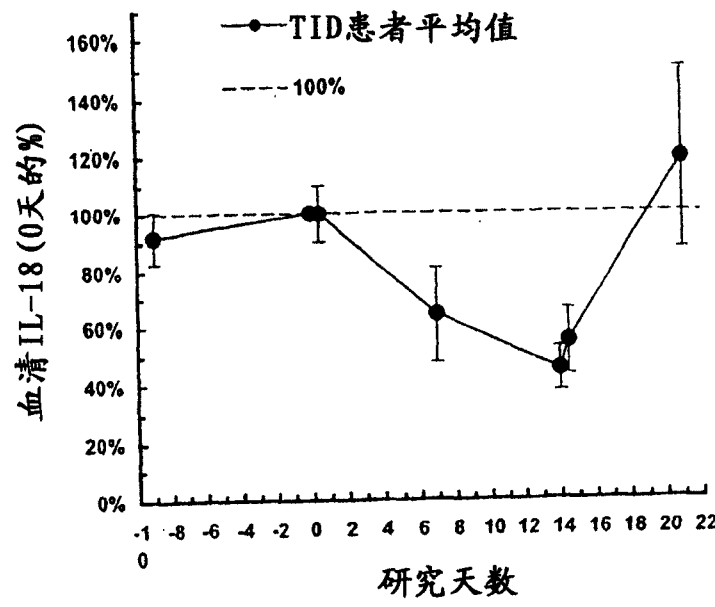


图 3A

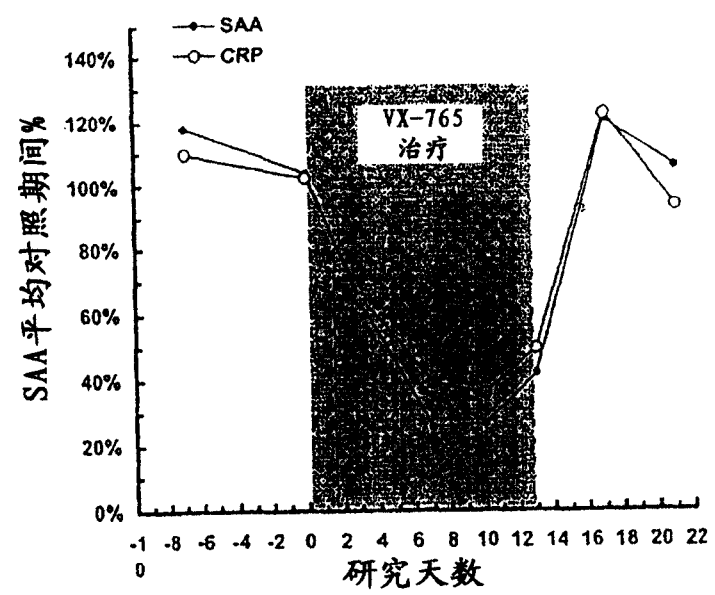


图 3B

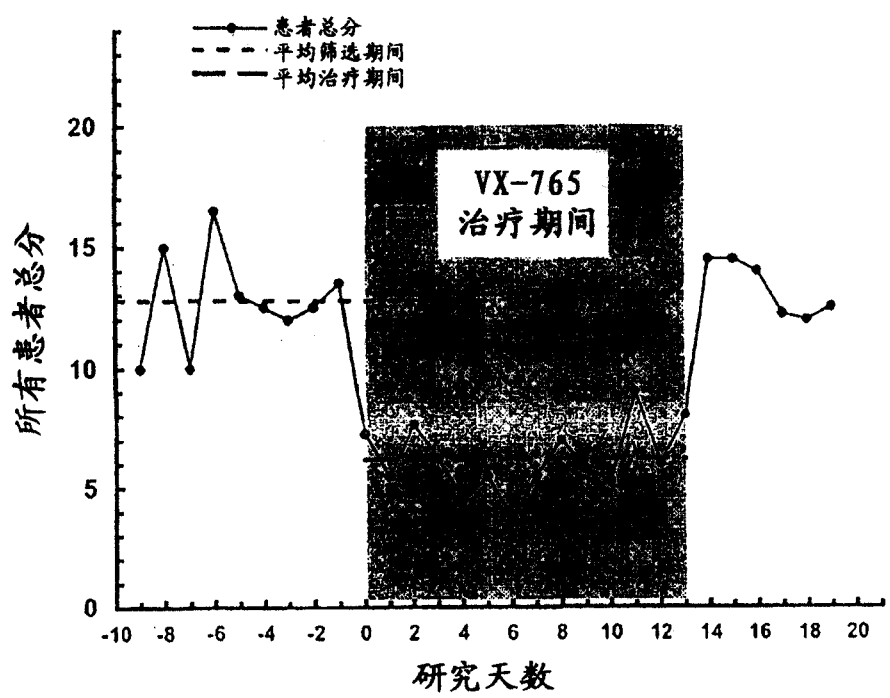


图 3C