



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103562201 B

(45)授权公告日 2016.10.19

(21)申请号 201280012944.X

H·W·杨

(22)申请日 2012.01.12

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 103562201 A

代理人 韦东

(43)申请公布日 2014.02.05

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

C07D 403/10(2006.01)

61/432,070 2011.01.12 US

C07D 403/12(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2013.09.11

C07D 223/14(2006.01)

A61K 31/55(2006.01)

A61P 37/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2012/021116 2012.01.12

(56)对比文件

CN 101309906 A,2008.11.19,说明书第4页
第1行至第8页第10行,实施例10.

(87)PCT国际申请的公布数据
W02012/097177 EN 2012.07.19

CN 101309906 A,2008.11.19,说明书第4页
第1行至第8页第10行,实施例10.

(73)专利权人 帆德制药股份有限公司
地址 美国华盛顿州
专利权人 阵列生物制药公司

EP 0825186 A1,1998.02.25,说明书第1页
第5行至第5页第40行,实施例18.

WO 2010/054215 A1,2010.05.14,说明书第
0004,00038-00044段,附图1.

(72)发明人 J·J·霍伯特 R·赫什伯格
L·E·伯吉斯 G·A·多亨帝
C·T·厄里 R·D·格罗内伯格
Z·琼斯 J·P·利斯卡托斯

审查员 韩涛

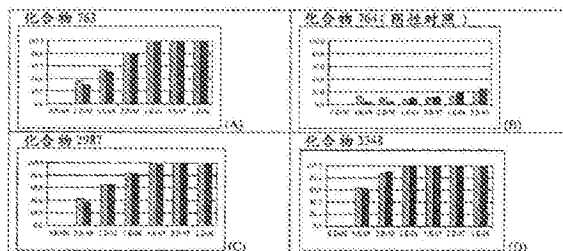
权利要求书4页 说明书47页 附图1页

(54)发明名称

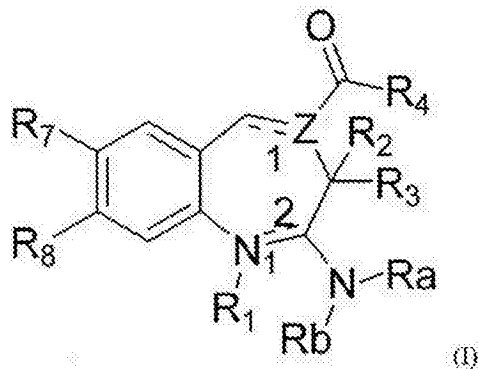
作为TOLL样受体调节剂的取代的苯并氮杂卓

(57)摘要

本发明提供了可用于调节通过Toll样受体TLR7和/或TLR8的信号传导的组合物和方法。所述组合物和方法用于治疗或预防疾病,包括癌症、自身免疫性疾病、纤维化疾病、心血管疾病、感染性疾病、炎性疾病、移植排斥和移植抗宿主病。



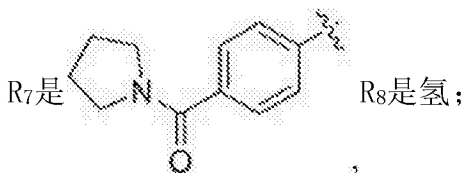
1. 一种具有式I的化合物或其药学上可接受的盐：



其中

==== 为双键或单键；

R_2 和 R_3 独立地选自H和 C_1-C_6 烷基，或 R_2 和 R_3 与其相连接的碳原子一起形成具有3至7个环成员的饱和碳环；



R_4 为 $-NR_cR_d$ 或 $-OR_{10}$ ；

R_c 和 R_d 为任选地被一个或多个 $-OH$ 取代的 C_1-C_6 烷基；

R_{10} 为任选地被一个或多个 $-OH$ 取代的 C_1-C_{12} 烷基；

Z 为C而 ==== 为双键，或 Z 为N而 ==== 为单键；

R_a 和 R_b 独立地选自H、 C_1-C_{12} 烷基、 C_2-C_{10} 烯基、 C_2-C_{12} 炔基和 R_e ，其中所述 C_1-C_{12} 烷基任选地被一个或多个 $-OR_{10}$ 或 R_e 取代；

R_e 选自 $-NH_2$ 、 $-NH(C_1-C_{12} \text{烷基})$ 和 $-N(C_1-C_{12} \text{烷基})_2$ ；且

R_1 在 ==== 为双键时不存在，或者当 ==== 为单键时， N_1-R_1 和 R_a 或 R_b 之一相连接形成饱和的、部分不饱和的或不饱和的具有5-7个环成员的杂环而 R_a 或 R_b 的另一个可以为氢或因必须适应环不饱和度而不存在。

2. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R_a 和 R_b 的至少一者不为氢。

3. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R_a 和 R_b 之一为 C_1-C_{12} 烷基，而 R_a 和 R_b 的另一者为氢。

4. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R_a 和 R_b 之一为被 R_e 取代的 C_1-C_{12} 烷基。

5. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R_a 和 R_b 均为 C_1-C_{12} 烷基。

6. 根据权利要求1所述的化合物，其中 R_a 和 R_b 之一为 R_e ，而 R_a 和 R_b 的另一者为氢。

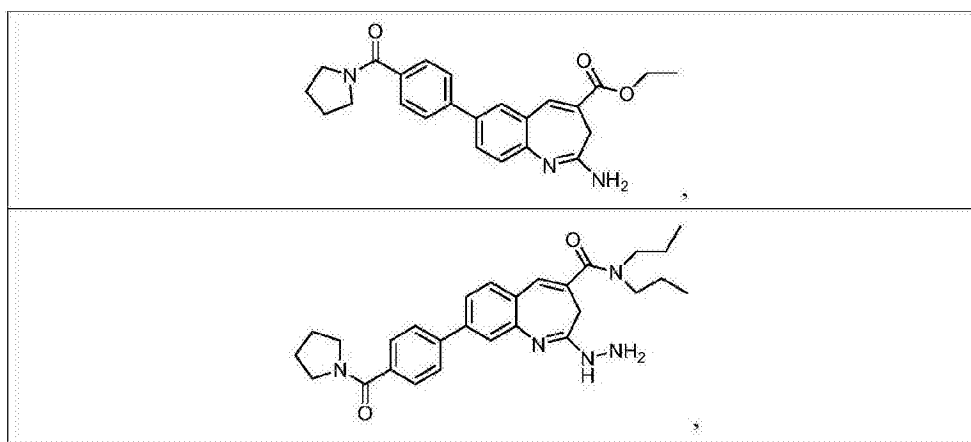
7. 根据权利要求1所述的化合物，其中 N_1-R_1 和 R_a 或 R_b 之一相连接形成饱和的、部分不饱和的或不饱和的具有5-7个环成员的杂环，而 R_a 或 R_b 的另一者为氢，或因必须适应环不饱和度而不存在。

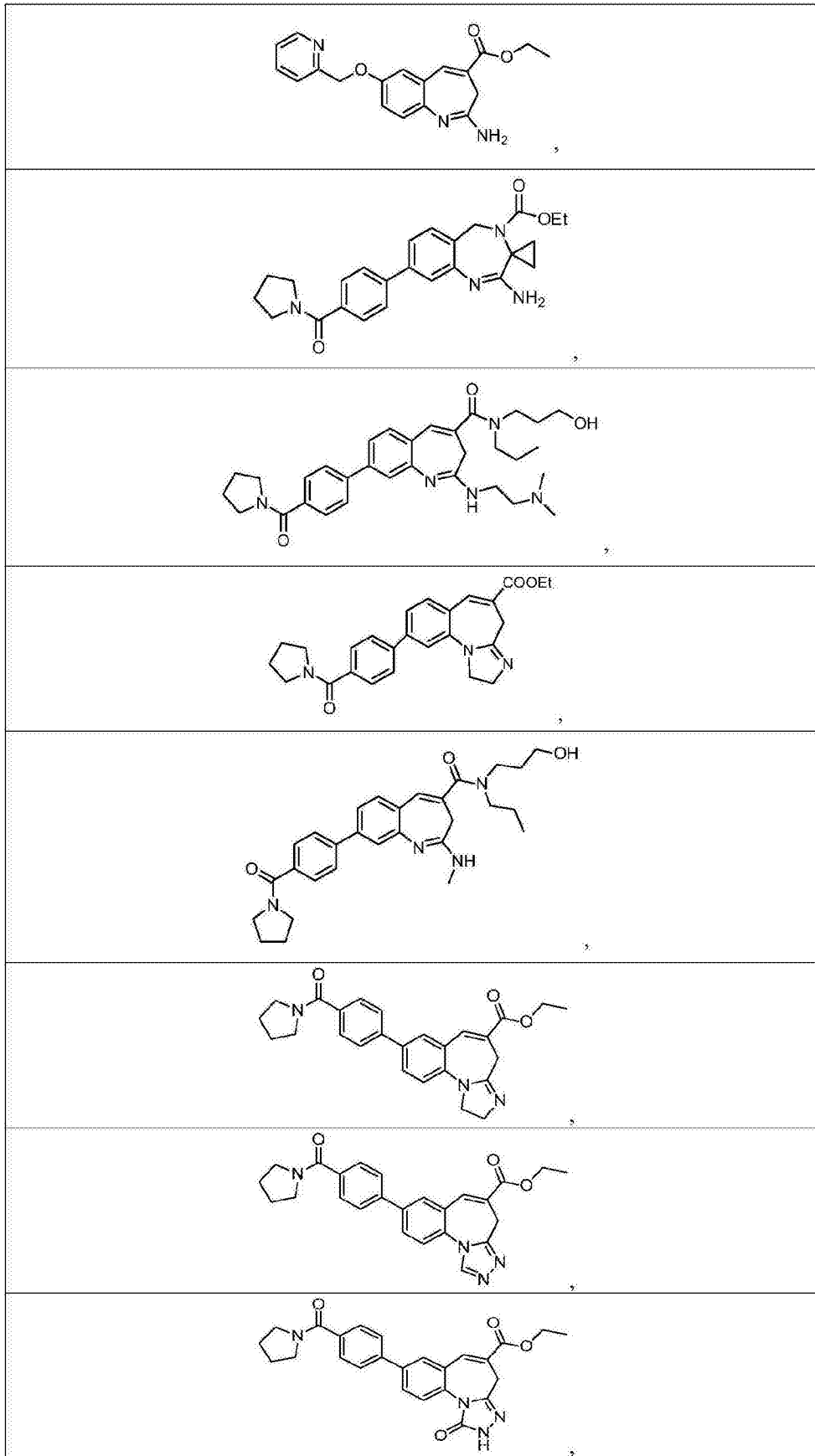
8. 根据权利要求7所述的化合物，其中 N_1-R_1 和 R_a 或 R_b 之一相连接形成饱和的、部分不饱和的或不饱和的具有5个环成员的杂环。

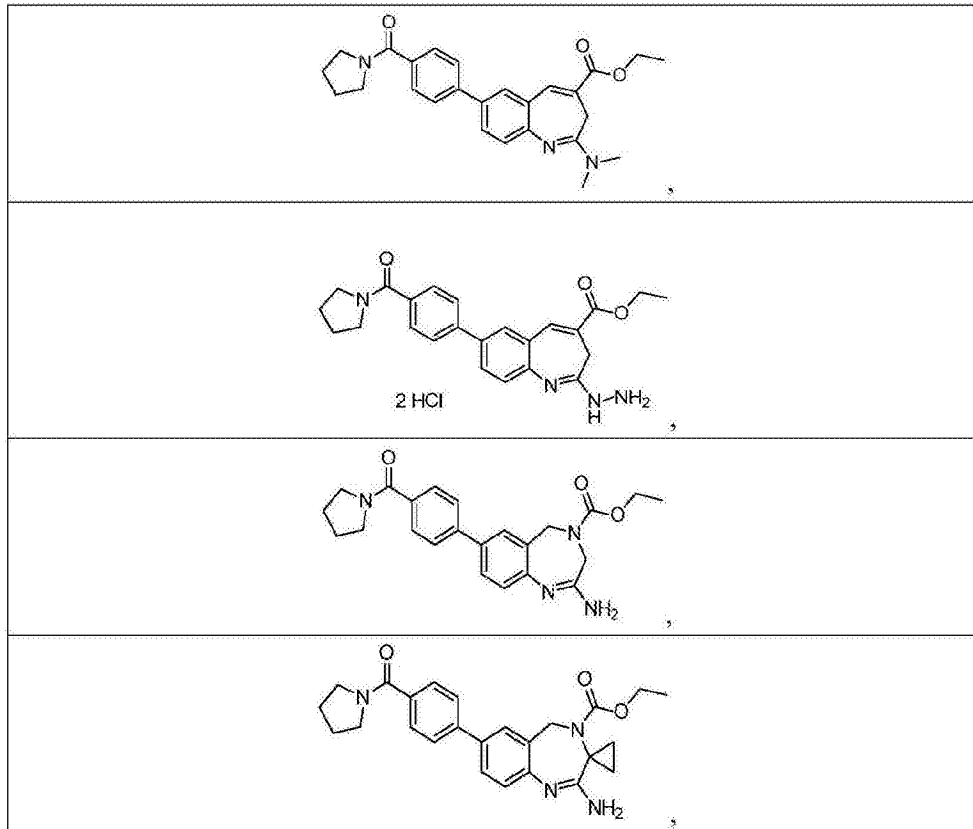
9. 根据权利要求8所述的化合物，其中 N_1-R_1 和 R_a 或 R_b 之一相连接形成



10. 根据权利要求1所述的化合物,其中R₂和R₃的至少一者不为氢。
11. 根据权利要求1所述的化合物,其中R₂和R₃与其相连接的碳原子一起形成饱和碳环。
12. 根据权利要求11所述的化合物,其中R₂和R₃与其相连接的碳原子一起形成环丙基。
13. 根据权利要求1所述的化合物,Z为N。
14. 根据权利要求1所述的化合物,其中R₄为-OR₁₀而R₁₀为C₁-C₁₂烷基。
15. 根据权利要求14所述的化合物,其中R₄为-O-乙基。
16. 根据权利要求1所述的化合物,其中R₄为-NR_cR_d并且R_c和R_d均为C₁-C₆烷基。
17. 根据权利要求16所述的化合物,其中R₄为-N(丙基)₂。
18. 一种化合物,其选自

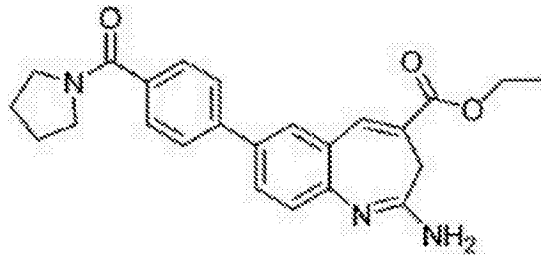






及其药学上可接受的盐。

19. 如权利要求1所述的化合物,其具有以下结构:



或其药学上可接受的盐。

20. 一种包含权利要求1-19任一项的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体的药物组合物。

21. 权利要求1-19任一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗TLR7和/或TLR8介导的病症的药物中的应用。

22. 如权利要求21所述的应用,其特征在于,所述TLR7-和/或TLR8-介导的病症选自:癌症、免疫复合体相关疾病、自身免疫性疾病、感染疾病、炎症疾病、免疫缺陷、移植排斥、移植抗宿主病、过敏、心血管疾病、纤维化疾病、哮喘、和脓毒病。

23. 权利要求1-19任一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗自身免疫病症的药物中的应用。

作为TOLL样受体调节剂的取代的苯并氮杂卓

[0001] 相关申请案

[0002] 该申请要求2011年1月12日递交的美国临时专利申请第61/432,070号的优先权和权益,上述申请的整个内容通过引用以其全部结合到本文中。

技术领域

[0003] 本发明涉及用于调节免疫功能的方法和组合物。更具体地讲,本发明涉及用于调节TLR7和/或TLR8介导的信号转导的组合物和方法。

[0004] 发明背景

[0005] 免疫系统的刺激,其包括先天性免疫与获得性免疫中的任何一种或两者的刺激,是能导致对宿主的保护性或不良生理结果的复杂现象。近年来,人们对基于先天性免疫的机制的兴趣已经增大,其被确认为启动并支持适应性免疫。该兴趣已经部分地受到最近发现的称为Toll样受体(TLR)的高度保守模式识别受体蛋白家族的推动,其确信作为病原体相关分子模式(PAMP)的受体参与先天性免疫。因此,可用于调节先天性免疫的组合物和方法具有很大的重要性,因为它们可影响对涉及自身免疫、炎症、过敏、哮喘、移植排斥、移植物抗宿主病(GvHD)、感染、癌症和免疫缺陷的病症的治疗途径。

[0006] Toll样受体(TLR)为I型跨膜蛋白,其使得生物体(包括哺乳动物)能够检测微生物和启动先天性免疫反应(Beutler, B., Nature 2004, 430:257-263)。它们含有同源胞质域和富亮氨酸的胞外域,并且通常形成感测胞外(或内化)信号的同源二聚体并随后借助衔接分子(adaptor molecule)比如MyD88(髓样分化因子88)启动信号转导级联。在TLR的胞质域内存在这样的高同源性,最初,提示类似的信号传导途径存在于所有的TLR(Re, F., Strominger, J.L., Immunobiology 2004, 209:191-198)。的确,所有的TLR均可激活NF- κ B和MAP激酶;然而,细胞因子/趋化因子源于TLR激活的释放分布似乎对每一个TLR都是独特的。另外,TLR刺激的信号转导途径非常类似于细胞因子受体IL-1R诱导的途径。这可能是由于这些受体共有的同源性,即TIR(Toll/IL-1R同源性)域。TIR域在TLR中被激活并且MyD88被募集后,丝氨酸/苏氨酸的IRAK家族的激活导致其最终促进I κ -B的降解和NF- κ B的激活(Means T.K., et al. Life Sci. 2000, 68:241-258)。尽管看来该级联被设计为使得胞外刺激能够促进胞内事件,但是有证据表明,一些TLR迁移至其中信号转导也可被启动的核内体。该过程可使得与吞噬的微生物密切接触并与这些受体在先天性免疫反应中所起的作用相符(Underhill, D.M., et al., Nature 1999, 401:811-815)。该过程也可使得因损伤的组织(例如,在炎性疾病中)或凋亡而释放的宿主核酸能够借助内体递呈(endosomal presentation)而触发反应。在哺乳动物中,存在11种协调该快速反应的TLR。几年前提出的假设现在已被证实(Janeway, C.A., Jr., Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 1989, 54:1-13),即先天性免疫反应通过由微生物引起的TLR激活模式启动获得性免疫反应。因此,由不同群体的传染性生物体呈现的病原体相关分子模式(PAMP)导致涉及某些细胞因子、趋化因子和生长因子的先天性免疫反应,随后为借助导致抗体产生和细胞毒性T细胞生成的抗原递呈调整适应于感染性病原体的精确获得性免疫反应。

[0007] 革兰阴性菌脂多糖(LPS)已经长期被理解为佐剂和免疫刺激物以及作为用于诱导类似于感染性休克的哺乳动物体内炎性反应的药理学工具。使用遗传学方法,TLR4被确定为LPS的受体。LPS为TLR4激动剂的发现阐明了TLR调节对于疫苗和人类疾病疗法的有用性(Aderem,A.;Ulevitch,R.J.,Nature2000,406:782-787)。目前已意识到,除了调节某些细胞类型的增殖和凋亡外,各种TLR激动剂还可激活B细胞、中性粒细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、内皮细胞和几种类型的上皮细胞。

[0008] 迄今,有些类似的TLR7和TLR8已经被鉴定为内体隔室中发现的单链RNA的受体,并因此被认为对病毒挑战的免疫反应是重要的。咪喹莫德,一种被批准的局部抗病毒/抗癌药物,最近已经被描述为已经证实在某些皮肤疾病中具有临床疗效的TLR7激动剂(Miller R.L.,et al.,Int.J.Immunopharm.1999,21:1-14)。该小分子药物已经被描述为ssRNA的结构模拟物。TLR8在2000年第一次被描述(Du,X.,et al.,European Cytokine Network2000(Sept.),11(3):362-371)并且迅速被认为参与了对病毒感染的先天性免疫反应(Miettinen,M.,et al.,Genes and Immunity2001(Oct.),2(6):349-355)。

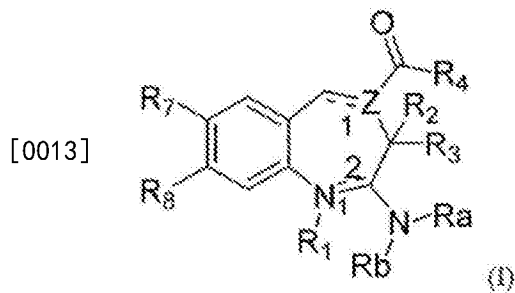
[0009] 最近报道某些具有抗病毒活性的咪唑并喹啉化合物为TLR7和TLR8的配体(Hemmi H.,et al.(2002)Nat.Immunol.3:196-200;Jurk M.,et al.(2002)Nat.Immunol.3:499)。咪唑并喹啉是具有抗病毒和抗肿瘤性能的免疫细胞的强效合成激活剂。使用来自野生型和缺乏MyD88的小鼠的巨噬细胞,Hemmi等最近报道两种咪唑并喹啉即咪喹莫德和瑞喹莫德(R848)诱导肿瘤坏死因子(TNF)和白细胞介素-12(IL-12)并仅激活野生型细胞内与通过TLR激活一致的NF- κ B(Hemmi H.,et al.(2002)Nat.Immunol.3:196-200)。来自缺乏TLR7而非其他TLR的小鼠的巨噬细胞产生了不能检测的应答于这些咪唑并喹啉的细胞因子。另外,咪唑并喹啉诱导了脾脏B细胞的剂量依赖性增殖和来自野生型而非TLR7/-小鼠的细胞中胞内信号转导级联的激活。荧光素酶分析证实了在人类胚胎肾细胞内表达人TLR7而非TLR2或TLR4导致应答于瑞喹莫德的NF- κ B激活。因此,Hemmi等的发现结果提示这些咪唑并喹啉化合物是可通过TLR7诱导信号转导的TLR7的非天然配体。最近报道R848也是人TLR8的配体(Jurk M.,et al.(2002)Nat.Immunol.3:499)。

[0010] 鉴于调节to11样受体的化合物的巨大治疗潜力,并且尽管已经完成的工作,还是存在拓展其用途和治疗益处的实质性持续需要。

发明概要

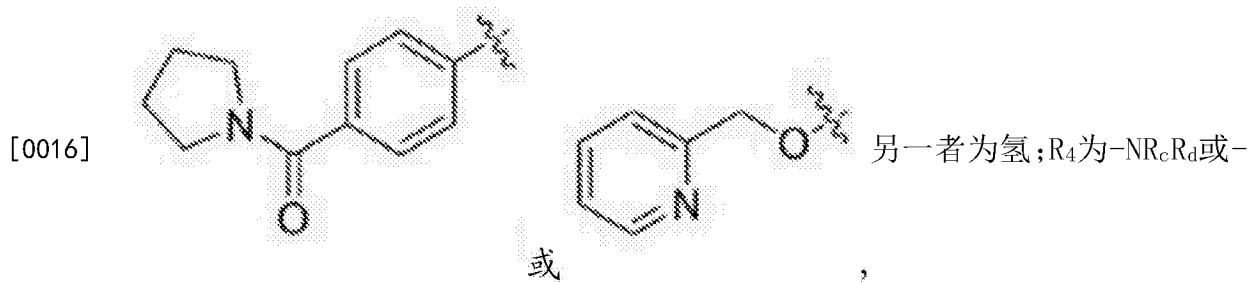
[0011] 本文所述的组合物可用于在体外和体内调节免疫反应。这样的组合物将在多种临床应用中,比如在用于治疗或预防涉及不需要的免疫活性的病症,包括炎性和自身免疫性疾病的方法中发现用途。

[0012] 具体地讲,本发明涉及具有式I的化合物:



[0014] 或其盐,其中 --- 为双键或单键;R₂和R₃独立地选自H和低级烷基,或R₂和R₃相连接形成具有3至7个环成员的饱和碳环;

[0015] R₇和R₈之一为



OR₁₀;R_c和R_d为低级烷基,其中烷基任选地被一个或多个-OH取代;R₁₀为烷基,其中烷基任选地被一个或多个-OH取代;Z为C而 --- 为双键,或Z为N而 --- 为单键;R_a和R_b独立地选自H、烷基、烯基、炔基和R_e,其中烷基任选地被一个或多个-OR₁₀或R_e取代,R_e选自-NH₂、-NH(烷基)和-N(烷基)₂;R₁在 --- 为双键时不存在,或当 --- 为单键时,N₁-R₁和R_a或R_b之一相连接形成饱和的、部分不饱和的或不饱和的具有5-7个环成员的杂环而R_a或R_b的另一者可以为氢或因必须适应不饱和度而不存在;并且以下A-D中的至少一项适用:A)R₇不为氢;B)R₈不为氢并且R_a和R_b至少之一不为氢;C)Z为N;或D)N₁-R₁和R_a或R_b之一相连接形成不饱和的、部分不饱和的或不饱和的具有5-7个环成员的杂环。

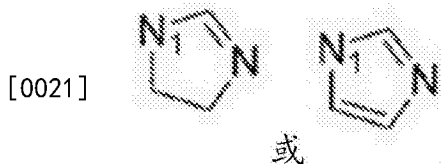
[0017] 在一个实施方案中,式(I)的化合物的R₇为



[0019] 或为  另外,R_a和R_b的至少一者在式(I)的化合物中不为氢,或者例如R_a

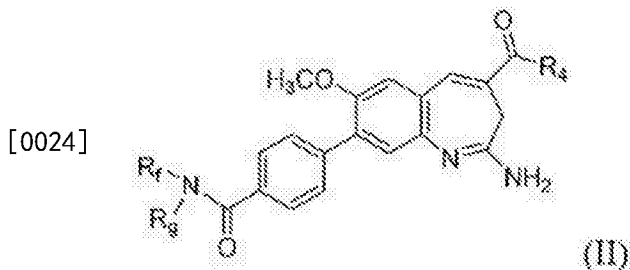
和R_b之一为烷基而R_a和R_b的另一者为氢。另外,式(I)的烷基被R_e取代。在一个不同的实施方案中,R_a和R_b均为烷基,或者R_a和R_b之一为R_e而R_a和R_b的另一者为氢。例如,式(I)的R₈不为氢。

[0020] 在一个可供选择的实施方案中,式(I)的N₁和R_a或R_b之一相连接形成饱和的、部分不饱和的或不饱和的具有5-7个环成员的杂环而R_a或R_b的另一者为氢,或因必须适应环不饱和度而不存在,其中环为5元环,或者例如环为:



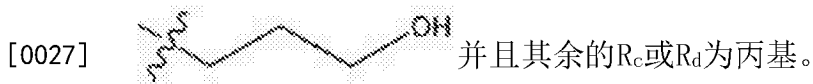
[0022] 在某一实施方案中, R_2 和 R_3 的至少一者在式(I)的化合物中不为氢, 或者例如 R_2 和 R_3 相连接形成饱和碳环, 其中饱和碳环为环丙基。作为另外一种选择, Z 在式(I)的化合物中为N。

[0023] 本发明还涉及具有式II的化合物:

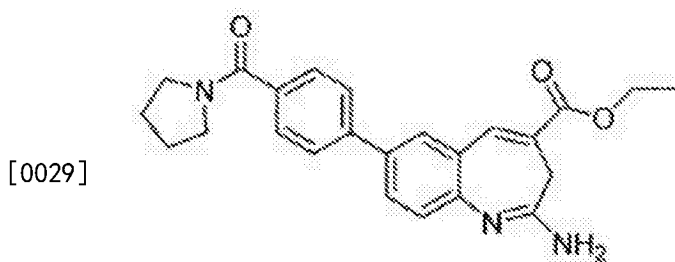


[0025] 或其盐, 其中 R_4 选自 $-NR_cR_d$ 和 $-OR_{10}$; R_c 和 R_d 为低级烷基, 其中烷基任选地被一个或多个 $-OH$ 取代; R_{10} 为烷基, 其中烷基任选地被一个或多个 $-OH$ 取代; R_f 和 R_g 为低级烷基或者 R_f 和 R_g 与它们连接的氮原子一起形成具有4-6个环成员的饱和杂环。例如, 式(II)化合物中的 R_f 和 R_g 与它们连接的氮原子一起形成饱和杂环, 其中杂环为吡咯烷。

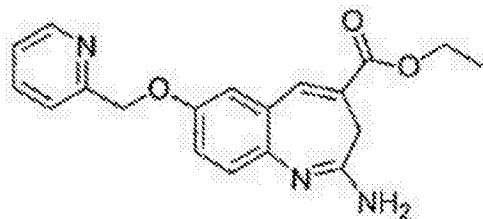
[0026] 在一个可供选择的实施方案中, 式(I)或式(II)任一者的 R_4 为 $-OR_{10}$, 其中 R_{10} 为烷基或乙基。在另一个实施方案中, 式(I)或式(II)任一者的 R_4 为 $-NR_cR_d$, 其中两者均为烷基或两者均为丙基。此外, 在某些实施方案中, R_c 或 R_d 的至少一者为被一个 $-OH$ 取代的烷基, 而 R_c 和 R_d 的至少一者为



[0028] 在一些实施方案中, 本发明涉及选自以下的化合物

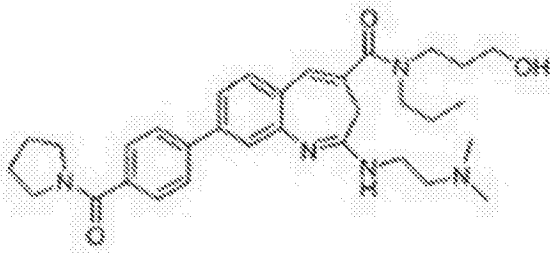
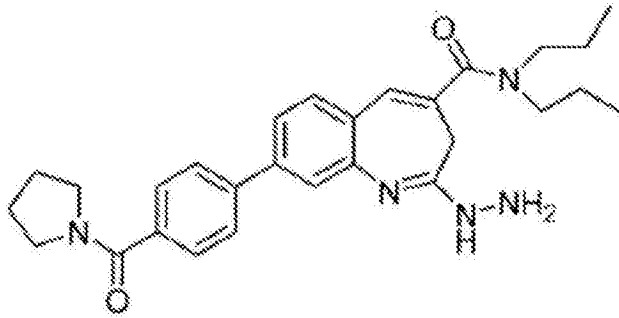


和

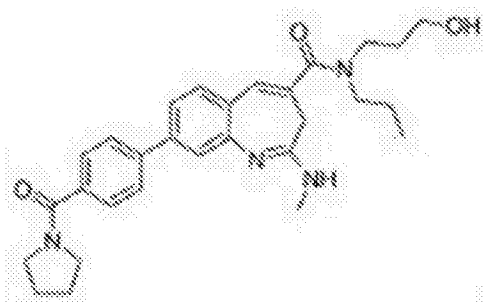


[0030] 及其盐。

[0031] 作为另外一种选择,该化合物选自

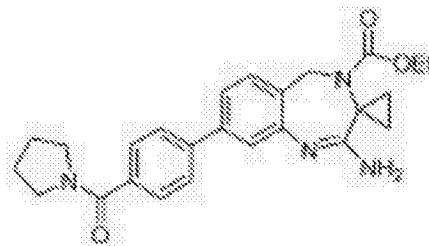


和

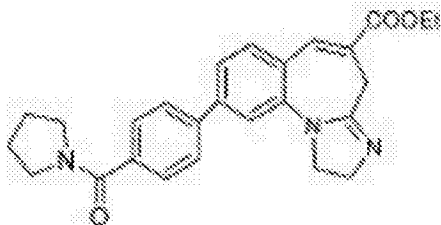


[0032] 及其盐。

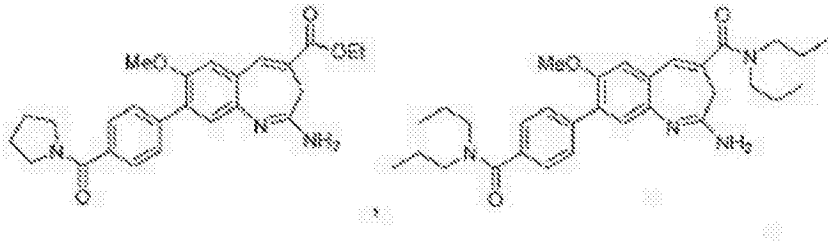
[0033] 在又一个实施方案中,该化合物为



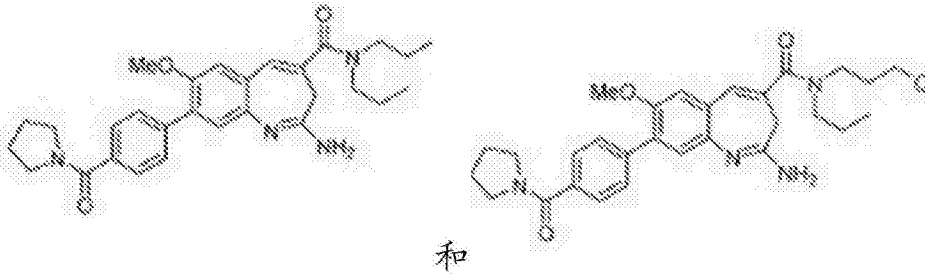
及其盐或



及其盐。作为另外一种选择,本发明涉及选自



的化合物及其盐。



[0034] 在一个实施方案中,该化合物为  或其盐。在某些实施方案中,

本发明的化合物的盐为药学上可接受的盐。另外,该化合物为TLR8拮抗剂。

[0035] 本发明的另一方面包括用于治疗TLR7和/或TLR8介导的病症的药剂盒,该药剂盒包含:含有上下文所述的本发明化合物的第一药物组合物和任选的使用说明。另外,该药剂盒包含第二药物组合物,其中第二药物组合物包含用于治疗TLR7和/或TLR8介导的病症的第二化合物。该药剂盒还包含同时、依序或分开给予有此需要的患者所述第一和第二药物组合物的说明。

[0036] 本文所述的发明还涉及药物组合物,其包含与药学上可接受的稀释剂或载体一起的如上下文所述的化合物或其盐。另外,将本发明的化合物用作在人或动物中治疗TLR7和/或TLR8介导的病症的药物,其中治疗TLR7和/或TLR8介导的病症的方法包括给予有此需要的患者有效量的本文所述的化合物。此外,在某些实施方案中,将化合物用于制造治疗人或动物中的自身免疫病症的药物。在一个可供选择的实施方案中,本发明涉及调节患者免疫系统的方法,该方法包括给予有此需要的患者有效量的上下文所述的化合物。

[0037] 例如,本发明的化合物为TLR8拮抗剂。TLR8拮抗剂的特征在于能够以25 μ M或更小的IC₅₀抑制TLR8受体的激活。例如,TLR8拮抗剂以约25 μ M、15 μ M、10 μ M、7.5 μ M、5 μ M、2.5 μ M、1.5 μ M、1 μ M、0.5 μ M、0.25 μ M、0.1 μ M、0.01 μ M或约0.001 μ M的IC₅₀抑制TLR8受体的激活。

[0038] 例如,本发明的化合物为TLR7拮抗剂。TLR7拮抗剂的特征在于能够以25 μ M或更小的IC₅₀抑制TLR7的激活。例如,TLR7拮抗剂以约25 μ M、15 μ M、10 μ M、7.5 μ M、5 μ M、2.5 μ M、1.5 μ M、1 μ M、0.5 μ M、0.25 μ M、0.1 μ M、0.01 μ M或约0.001 μ M的IC₅₀抑制TLR7受体的激活。

[0039] 例如,本发明的化合物为TLR7/8拮抗剂。TLR7/8拮抗剂的特征在于能够以25 μ M或更小的IC₅₀独立地抑制TLR7和TLR8受体两者的激活。例如,TLR7/8拮抗剂以约25 μ M、15 μ M、10 μ M、7.5 μ M、5 μ M、2.5 μ M、1.5 μ M、1 μ M、0.5 μ M、0.25 μ M、0.1 μ M、0.01 μ M或约0.001 μ M的IC₅₀抑制TLR7和TLR8受体两者的激活。

[0040] 本发明的化合物可与其他已知治疗剂联合使用。因此,本发明也涉及包含与第二种治疗剂联合的治疗有效量的本发明化合物或其盐的药物组合物。

[0041] 本发明还提供调节TLR7和/或TLR8介导的信号转导的方法,该方法包括使表达TLR7和/或TLR8的细胞与有效量的本发明化合物或其盐接触。在一个方面,该方法抑制TLR7和/或TLR8介导的免疫刺激性信号转导。

[0042] 本发明还提供在受试者中调节TLR7和/或TLR8介导的免疫刺激的方法,该方法包括以在受试者中有效抑制TLR7和/或TLR8介导的免疫刺激的量给予具有或处于发生TLR7和/或TLR8介导的免疫刺激风险的患者本发明的化合物或其盐。

[0043] 本发明还提供通过调节TLR7和/或TLR8介导的细胞活性治疗或预防疾病或病症的方法,该方法包括给予具有或处于发展所述疾病或病症风险的温血动物,比如哺乳动物,例如人本发明的化合物或其盐。

[0044] 本发明还提供调节哺乳动物免疫系统的方法,该方法包括以有效调节所述免疫系统的量给予哺乳动物本发明的化合物或其盐。

[0045] 进一步提供本发明化合物或其盐用作在患有这样的疾病或病症的哺乳动物例如人中治疗本文所述疾病或病症的药物。也提供本发明化合物、其盐在制备用于在患有这样的疾病或病症的哺乳动物例如人中治疗本文所述疾病和病症的药物中的用途。

[0046] 进一步提供本发明的化合物或其盐用作在暴露于或易患所述疾病或病症,但是哺乳动物尚未经历或呈现这样疾病或病症的症状的哺乳动物例如人中预防本文所述疾病或病症的药物。也提供本发明化合物、其盐在制备用于在患有这样的疾病或病症的哺乳动物例如人中治疗本文所述疾病和病症的药物中的用途。

[0047] 疾病或病症选自例如癌症、自身免疫性疾病、感染性疾病、炎性疾病、移植排斥和移植物抗宿主病。

[0048] 本发明还提供包含一种或多种本发明化合物或其盐的药剂盒。药剂盒可进一步包含第二化合物或包含第二药剂的制剂。

[0049] 本发明另外的有利条件和新特征将在随后的描述中部分地得到阐述,并且对本领域技术人员在审查以下说明书时将部分地变得显而易见,或者可通过本发明的实践而得知。本发明的有利条件可通过在所附权利要求书中特别指出的仪器、组合、组合物和方法来实现和获得。

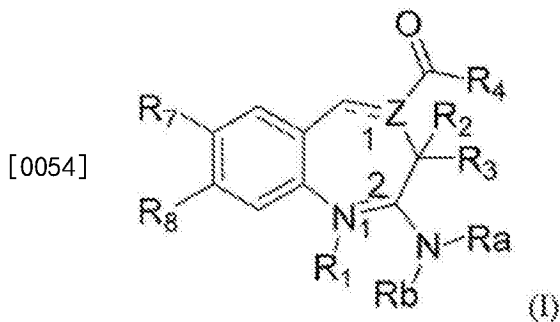
[0050] 附图简述

[0051] 图1是示出了在给予本文所述的某些化合物后在通过CL075刺激的人PBMC中对IL-8产生情况的剂量依赖性抑制的坐标图。

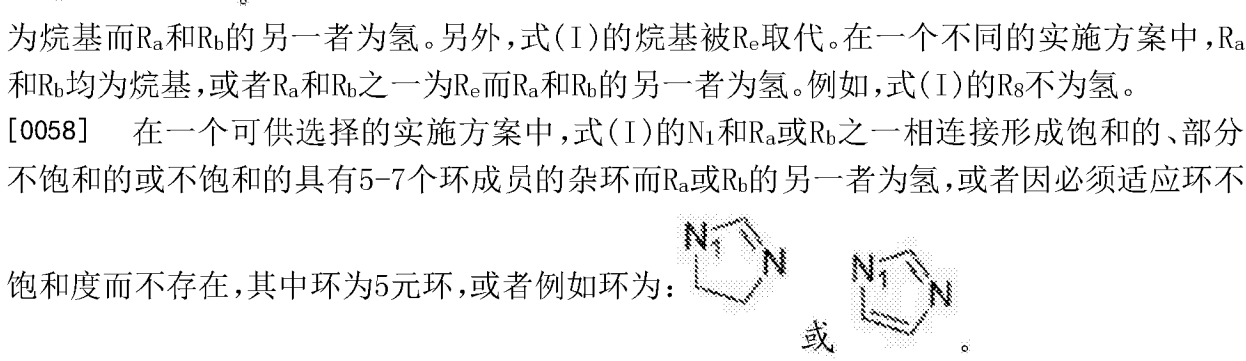
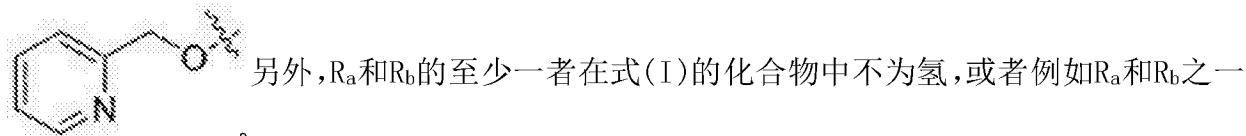
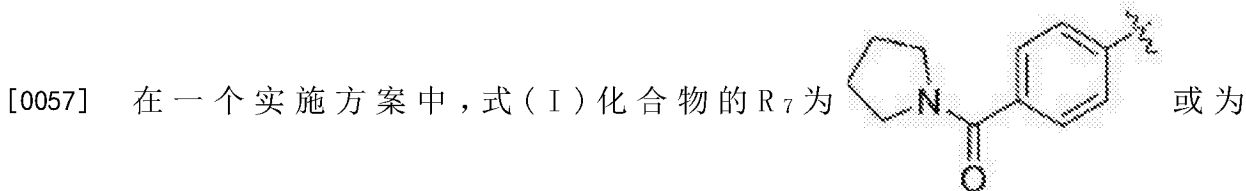
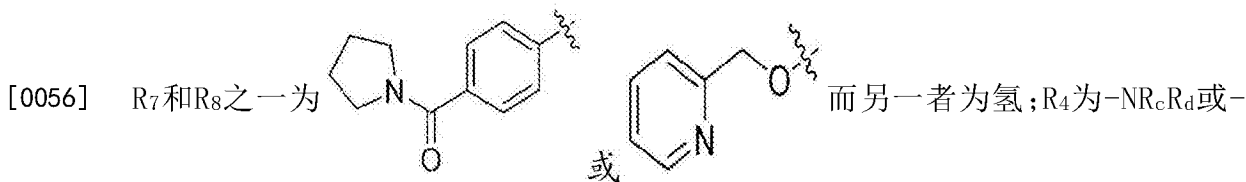
[0052] 图2是示出了在给予本文所述的某些化合物后在通过CL075刺激的人PBMC中对IL-8产生情况的剂量依赖性抑制的十一幅坐标图。

具体实施方式

[0053] 在某些方面,本发明提供可用于调节TLR7和/或TLR8介导的信号转导的组合物和方法。更具体地讲,本发明的一个方面提供具有式I的化合物:

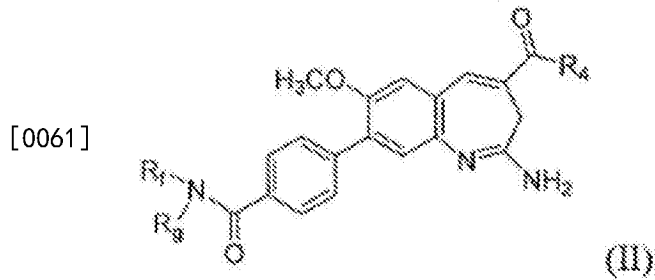


[0055] 或其盐,其中 $\text{---}\text{Z}\text{---}$ 为双键或单键;R₂和R₃独立地选自H和低级烷基,或者R₂和R₃相连接形成具有3至7个环成员的饱和碳环;




R₃相连接形成饱和碳环,其中饱和碳环为环丙基。作为另外一种选择,Z在式(I)的化合物中为N。

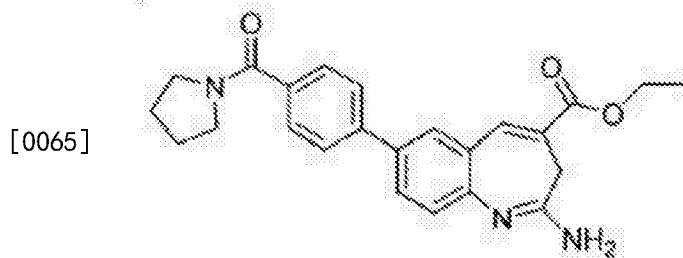
[0060] 本发明还涉及具有式II的化合物:



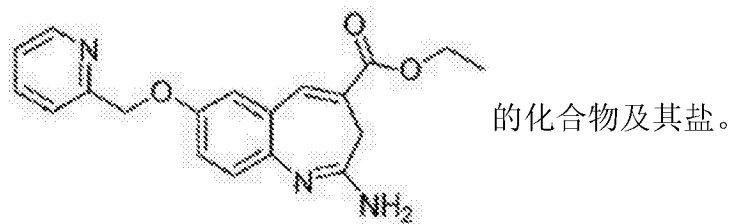
[0062] 或其盐,其中R₄选自-NR_cR_d和-OR₁₀;R_c和R_d为低级烷基,其中烷基任选地被一个或多个-OH取代;R₁₀为烷基,其中烷基任选地被一个或多个-OH取代;R_f和R_g为低级烷基或者R_f和R_g与它们连接的氮原子一起形成具有4-6个环成员的饱和杂环。例如,式(II)化合物中的R_f和R_g与它们连接的氮原子一起形成饱和杂环,其中杂环为吡咯烷。

[0063] 在一个可供选择的实施方案中,式(I)或式(II)任一者的R₄为-OR₁₀,其中R₁₀为烷基或为乙基。在另一个实施方案中,式(I)或式(II)任一者的R₄为-NR_cR_d,其中两者均为烷基或两者均为丙基。此外,在某些实施方案中,R_c或R_d的至少一者为被一个-OH取代的烷基,而R_c和R_d的至少一者为  并且其余的R_c或R_d为丙基。

[0064] 例如,本发明涉及选自

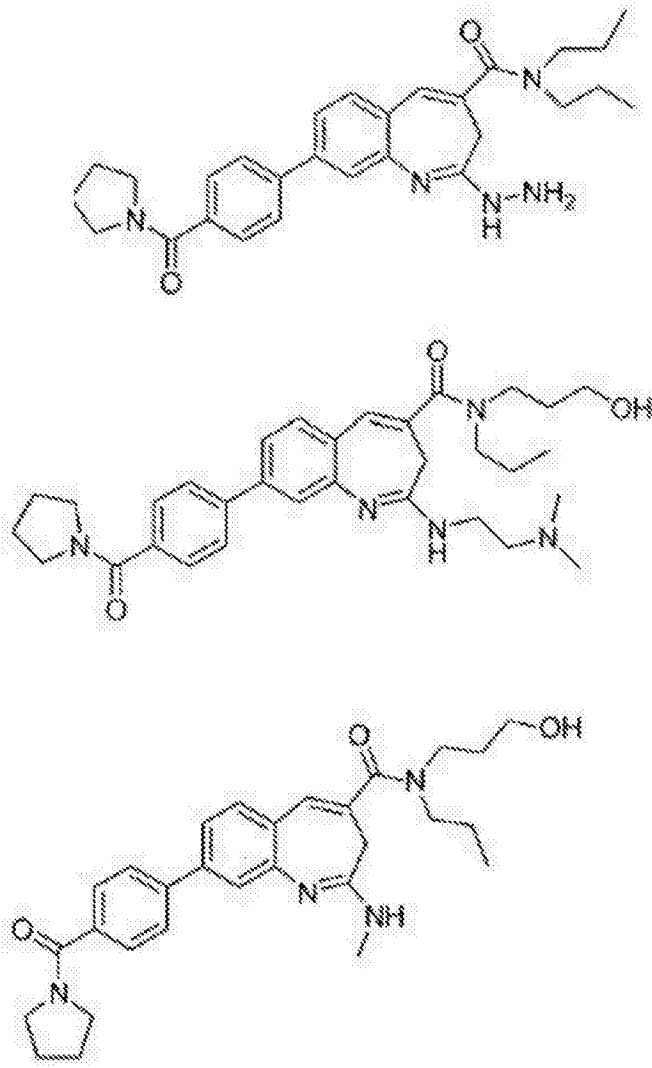


和



[0066] 作为另外一种选择,该化合物选自

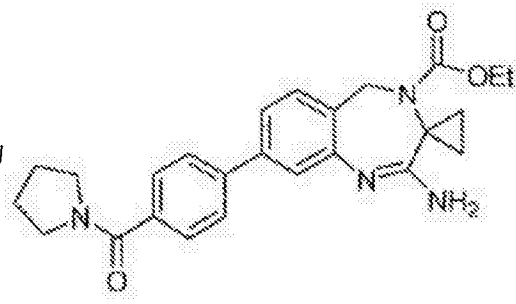
[0067]



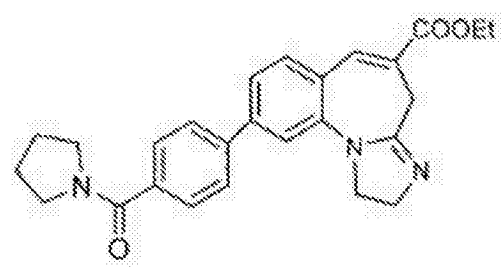
及其盐。

和

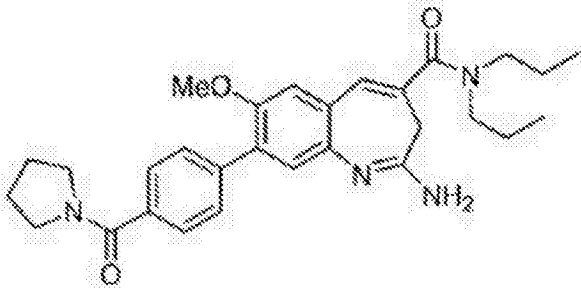
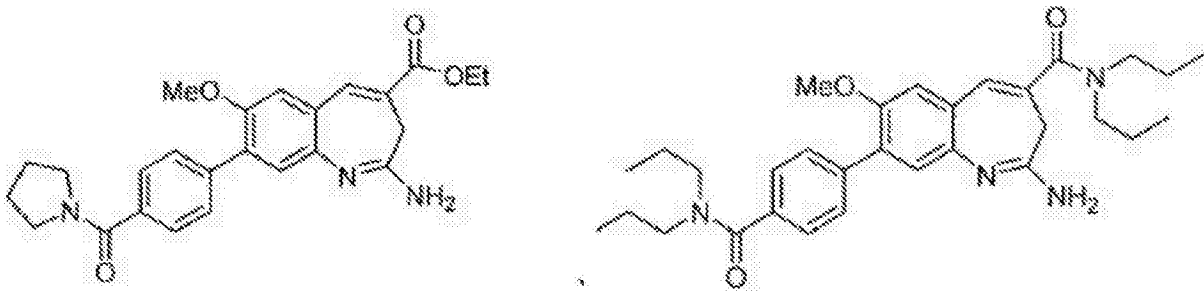
[0068] 在又一个实施方案中,该化合物为



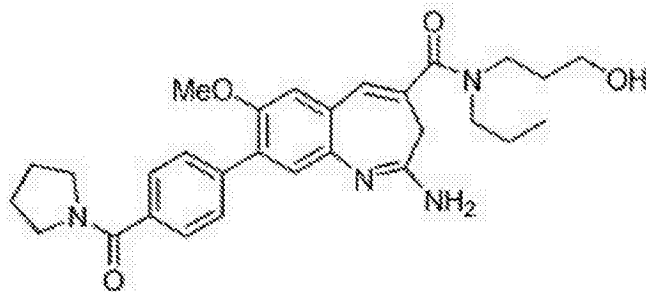
及其盐或



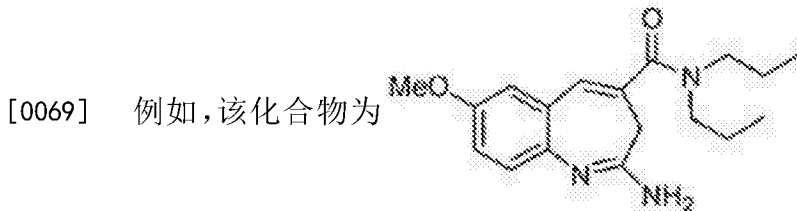
及其盐。作为另外一种选择,本发明涉及选自



和



的化合物及其盐。



[0069] 例如,该化合物为 或其盐。在某些实施方案中,本

发明的化合物的盐为药学上可接受的盐。另外,该化合物为TLR8拮抗剂。

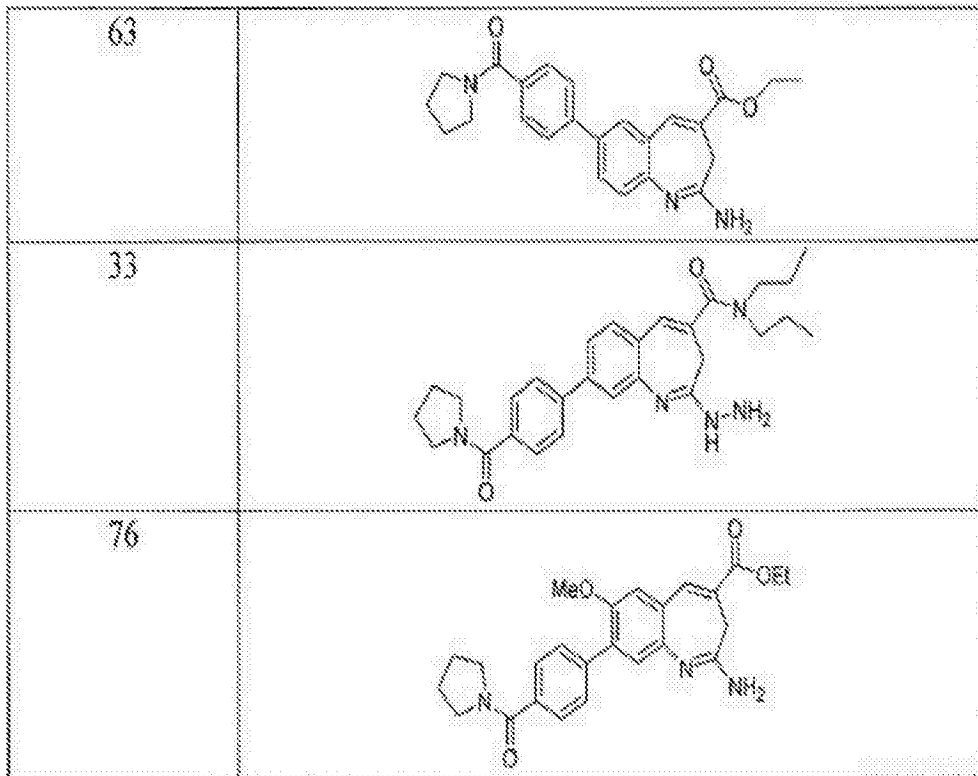
[0070] 本发明的另一方面包括用于治疗TLR7和/或TLR8介导的病症的药剂盒,该药剂盒包含:含有上下文所述的本发明化合物的第一药物组合物和任选的使用说明。另外,该药剂盒包含第二药物组合物,其中第二药物组合物包含用于治疗TLR7和/或TLR8介导的病症的第二化合物。该药剂盒还包含同时、依序或分开给予有此需要的患者所述第一和第二药物组合物的说明。

[0071] 本文所述的发明还涉及药物组合物,其包含与药学上可接受的稀释剂或载体一起的如上下文所述的化合物或其盐。另外,将本发明的化合物用作在人或动物中治疗TLR7和/或TLR8介导的病症的药物,其中治疗TLR7和/或TLR8介导的病症的方法包括给予有此需要的患者有效量的本文所述的化合物。此外,在某些实施方案中,将化合物用于制造治疗人或动物中的自身免疫病症的药物。在一个可供选择的实施方案中,本发明涉及调节患者免疫系统的方法,该方法包括给予有此需要的患者有效量的上下文所述的化合物。

[0072] 本发明的一个方面涉及本发明化合物的盐,其中盐为药学上可接受的盐。

[0073] 例如,本发明的化合物为TLR8拮抗剂。TLR8拮抗剂的特征在于能够以25μM或更小

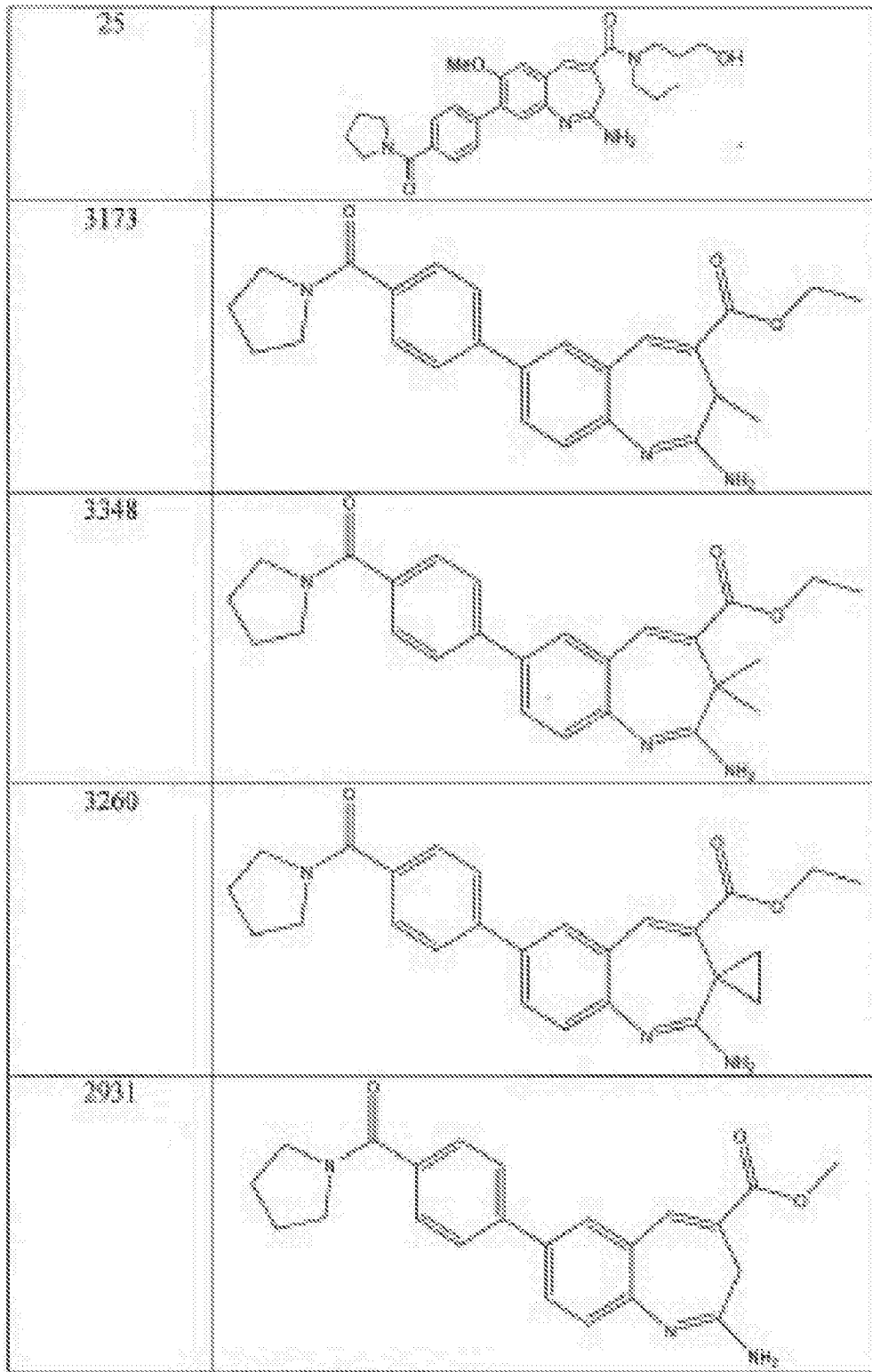
[0087]



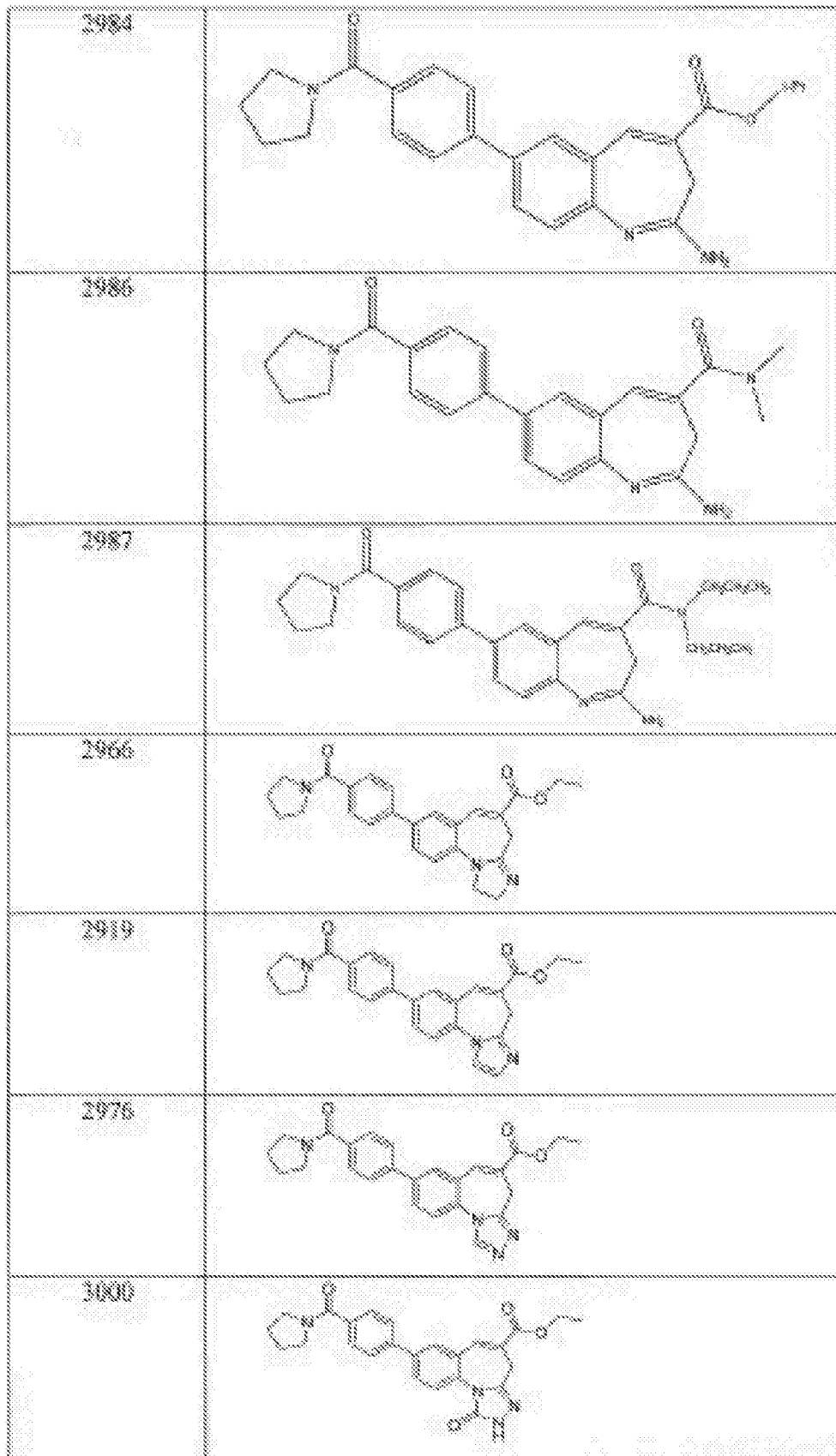
[0088]

12	
63	
74	
88	
47	
90	
46	
70	

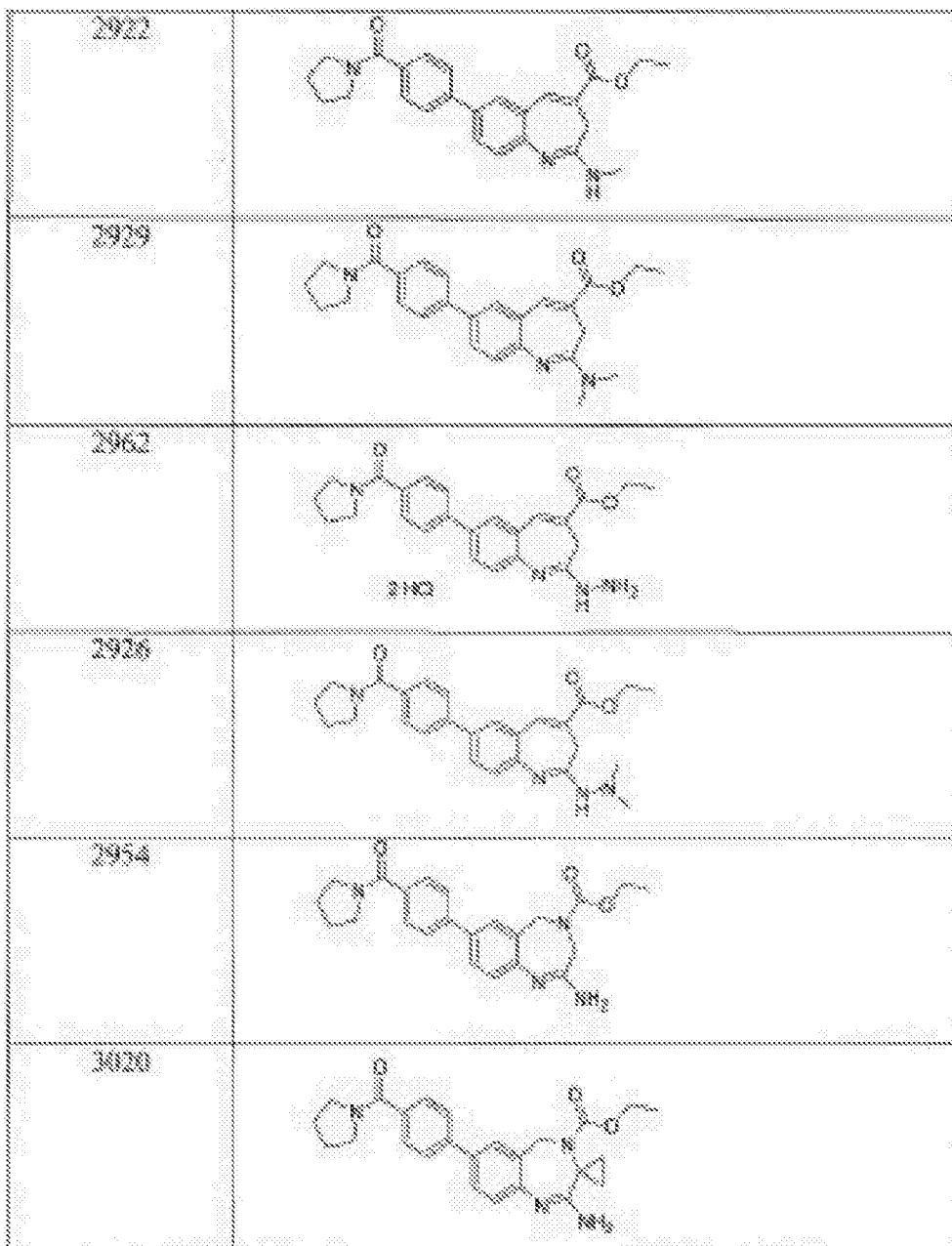
[0089]



[0090]



[0091]



[0092] 一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 25\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 15\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 10\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 7.5\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 5\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 2.5\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 1.5\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 1\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 0.5\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 0.25\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 0.1\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 0.01\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR8的 IC_{50} 值 $\leq 0.001\mu M$ 的化合物或其盐。

[0093] 一方面,本发明包括对于TLR7的 IC_{50} 值 $\leq 25\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的 IC_{50} 值 $\leq 15\mu M$ 的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的 IC_{50} 值 \leq

10 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 7.5 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 5 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 2.5 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 1.5 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 1 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 0.5 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 0.25 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 0.1 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 0.01 μ M的化合物或其盐。另一方面,本发明包括对于TLR7的IC₅₀值 \leq 0.001 μ M的化合物或其盐。

[0094] 一方面,本发明不含对于TLR7的IC₅₀ $>$ 25 μ M的化合物或其盐。一方面,本发明不含对于TLR8的IC₅₀ $>$ 25 μ M的化合物或其盐。一方面,本发明不含对于TLR7以及对于TLR8的IC₅₀ $>$ 25 μ M的化合物或其盐。

[0095] 在一个实施方案中,相对于已知TLR7、TLR8或TLR7/8激动剂的活性测量本发明化合物的TLR7、TLR8或TLR7/8拮抗剂活性。参见例如在PCT公开W02007/024612中所述的化合物。

[0096] 术语“本发明的化合物”是指例证说明的化合物和在本文所述的结构式下包含的化合物。

[0097] 本文使用的术语“取代的”意指所指定原子上的任何一个或多个氢原子被选自指定的基团替代,条件是不超过所指定原子的正常价态,并且取代导致稳定的化合物。当取代基为酮基(即=O)时,则所述原子上的2个氢被替代。如本文所用的环双键是在两个相邻环原子之间形成的双键(例如C=C、C=N或N=N)。

[0098] 对于化学键显示虚线表示的化学结构指所述键任选地存在。例如,紧挨实线单键画出的虚线表示所述键可为或者单键或者双键。

[0099] 本文使用的术语“烷基”是指具有1-12个,包括1-10个碳原子(C₁-C₁₀)、1-6个碳原子(C₁-C₆)和1-4个碳原子(C₁-C₄)的饱和直链或支链一价烃基,其中烷基可独立地用一个或多个下述取代基任选取代。低级烷基意指具有1-6个碳原子(C₁-C₆)的烷基。烷基的实例包括烃部分,诸如但不限于:甲基(Me、-CH₃)、乙基(Et、-CH₂CH₃)、1-丙基(n-Pr、正丙基、-CH₂CH₂CH₃)、2-丙基(i-Pr、异丙基、-CH(CH₃)₂)、1-丁基(n-Bu、正丁基、-CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-甲基-1-丙基(i-Bu、异丁基、-CH₂CH(CH₃)₂)、2-丁基(s-Bu、仲丁基、-CH(CH₃)CH₂CH₃)、2-甲基-2-丙基(t-Bu、叔丁基、-C(CH₃)₃)、1-戊基(正戊基、-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-戊基(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃)、3-戊基(-CH(CH₂CH₃)₂)、2-甲基-2-丁基(-C(CH₃)₂CH₂CH₃)、3-甲基-2-丁基(-CH(CH₃)CH(CH₃)₂)、3-甲基-1-丁基(-CH₂CH₂CH(CH₃)₂)、2-甲基-1-丁基(-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃)、1-己基(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)、2-己基(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃)、3-己基(-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃))、2-甲基-2-戊基(-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃)、3-甲基-2-戊基(-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃)、4-甲基-2-戊基(-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂)、3-甲基-3-戊基(-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂)、2-甲基-3-戊基(-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂)、2,3-二甲基-2-丁基(-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂)、3,3-二甲基-2-丁基(-CH(CH₃)C(CH₃)₃)、1-庚基和1-辛基。

[0100] 在“取代的”基团上替代氢原子的部分包括例如卤素、低级烷基、低级烷氧基、酮基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、三氟甲基、芳基、杂芳基和羟基。

[0101] 术语“烯基”指具有2-10个碳原子(C₂-C₁₀)、包括2-6个碳原子(C₂-C₆)和2-4个碳原

子(C₂-C₄)和至少一个双键的直链或支链一价烃基,并且包括但不限于乙烯基、丙烯基、1-丁-3-烯基、1-戊-3-烯基、1-己-5-烯基等,其中烯基可独立地用一个或多个本文所述的取代基任选取代,并且包括具有“顺式”和“反式”取向或者“E”和“Z”取向的基团。术语“烯基”包括烯丙基。

[0102] 术语“炔基”是指2-12个碳原子(C₂-C₁₂),包括2-10个碳原子(C₂-C₁₀)、2-6个碳原子(C₂-C₆)和2-4个碳原子(C₂-C₄),含有至少一个三键的直链或支链一价烃基。实例包括但不限于乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔-2-基等,其中炔基可独立地用一个或多个本文所述的取代基任选取代。

[0103] 术语“碳环”、“碳环基”或“环烷基”在本文可互换使用并指具有3-12个碳原子(C₃-C₁₂),包括3-10个碳原子(C₃-C₁₀)和3-6个碳原子(C₃-C₆)的饱和或部分不饱和的环烃基。术语“环烷基”包括单环和多环(例如双环和三环)的环烷基结构,其中多环结构任选地包括稠合于饱和或部分不饱和的环烷基或杂环烷基环或芳基或杂芳基环的饱和或部分不饱和的环烷基。环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等。双环碳环具有7-12个环原子,例如排列为双环[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]体系,或者排列为双环[5,6]或[6,6]体系的9或10个环原子,或者排列为桥接体系比如双环[2.2.1]庚烷、双环[2.2.2]辛烷和双环[3.2.2]壬烷。环烷基可独立地在一个或多个可取代的位置用一个或多个本文所述的取代基任选取代。这样的环烷基可用例如一个或多个独立地选自以下的基团任选取代:C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、卤素、羟基、氰基、硝基、氨基、单(C₁-C₆)烷基氨基、二(C₁-C₆)烷基氨基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆卤代烷基、C₁-C₆卤代烷氧基、氨基(C₁-C₆)烷基、单(C₁-C₆)烷基氨基(C₁-C₆)烷基和二(C₁-C₆)烷基氨基(C₁-C₆)烷基。

[0104] 术语“杂环烷基”、“杂环”和“杂环基”在本文可互换使用并指3-8个环原子的饱和或部分不饱和碳环基团,其中至少一个环原子为选自氮、氧和硫的杂原子,其余环原子为C,其中一个或多个环原子可独立地用一个或多个下文所述的取代基任选取代。所述基团可为碳基或杂原子基。术语“杂环”包括杂环烷氧基。该术语进一步包括稠合环系,其包括稠合于芳基的杂环。“杂环烷基”也包括其中杂环基与芳族或杂芳族环稠合的基团。杂环烷基环的实例包括但不限于吡咯烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、四氢噻喃基、哌啶子基、吗啉代、硫代吗啉代、噻噁烷基、哌嗪基、高哌嗪基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基(thietanyl)、高哌啶基、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基、氧氮杂基、二氮杂基、硫氮杂基、1,2,3,6-四氢吡啶基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、二氢吡啶基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二氧六环基、1,3-二氧戊环基、吡唑啉基、二噻烷基、二硫戊环基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二氢呋喃基、吡唑烷基咪唑啉基、咪唑烷基、3-氮杂双环[3.1.0]己烷基、3-氮杂双环[4.1.0]庚烷基、氮杂双环[2.2.2]己烷基、3H-吡啶基喹啉基和N-吡啶基脲。螺部分也包括在该定义的范围。前述基团当源于以上列出的基团时在可能时可为C-连接或N-连接的。例如,源于吡咯的基团可为吡咯-1-基(N-连接的)或吡咯-3-基(C-连接的)。进一步地,源于咪唑的基团可为咪唑-1-基(N-连接的)或咪唑-3-基(C-连接的)。其中2个环碳原子用氧(=O)部分取代的杂环基团的实例为1,1-二氧代-硫代吗啉基。本文的杂环基团为未取代的或者如所指定的那样在一个或多个可取代的位置用各种基团取代。例如,这样的杂环基团可用例如一个或多个独立地选自以下的基团任选取代:C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、卤素、羟基、氰基、硝基、氨基、单(C₁-C₆)烷基氨基、二(C₁-C₆)烷基氨基、C₂-C₆烯基、

C₂-C₆炔基、C₁-C₆卤代烷基、C₁-C₆卤代烷氧基、氨基(C₁-C₆)烷基、单(C₁-C₆)烷基氨基(C₁-C₆)烷基或二(C₁-C₆)烷基氨基(C₁-C₆)烷基。

[0105] 语“芳基”是指具有单环(例如苯基)、多环(例如联苯基)或其中至少一个为芳族的多元稠合环(例如1,2,3,4-四氢萘基、萘基等)的一价芳族碳环基团,其被一个或多个独立地选自以下的取代基任选取代:例如卤素、低级烷基、低级烷氧基、三氟甲基、芳基、杂芳基和羟基。

[0106] 术语“杂芳基”指5-、6-或7-元环的一价芳族基团并且包括含有至少一个并且最多4个选自氮、氧和硫的杂原子的5-10个原子的稠合环系(其中至少一个为芳族)。杂芳基的实例为吡啶基、咪唑基、噻啶基、吡唑基、三唑基、吡嗪基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异噻唑基、噻唑基、噁唑基、异噻唑基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噌啉基、吲唑基、吲嗪基、酞嗪基、哒嗪基、三嗪基、异吲哚基、蝶啶基、嘌呤基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、噻二唑基、呋咱基、苯并呋咱基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹啉基、喹喔啉基、萘啶基、异苯并呋喃-1(3H)-酮和呋喃并吡啶基。螺部分也包括在该定义的范围。杂芳基被一个或多个独立地选自以下的取代基任选取代:例如卤素、低级烷基、低级烷氧基、卤代烷基、芳基、杂芳基和羟基。

[0107] 本发明的化合物可具有一个或多个不对称中心;这样的化合物可因此作为单独的(R)-或(S)-立体异构体或作为其混合物而产生。除非另外指明,说明书和权利要求中具体化合物的描述或命名打算包括两种单独的对映体、其非对映体混合物、外消旋的或其他的等。因此,本发明也包括所有这样的异构体,包括化合物的非对映体混合物、纯的非对映体和纯的对映体。

[0108] 非对映体混合物可经本领域技术人员已知的方法例如经色谱法或分级结晶基于其物理化学差异分离为其单独的非对映体。对映体可通过以下方法分离:与合适的光学活性化合物(例如醇)反应将对映体混合物转化为非对映体混合物,分离非对映体并转化(例如水解)单独的非对映体为相应纯的对映体。对映体也可通过使用手性HPLC柱而分离。用于立体异构体的立体化学测定和分离的方法为本领域熟知的(参见Chapter 4 of "Advanced Organic Chemistry", 4th edition, J. March, John Wiley and Sons, New York, 1992中的讨论)。

[0109] 在本文所示的结构中,当任何具体手性原子的立体化学未指定时,则所有立体异构体被考虑并作为本发明化合物包括在内。当立体化学由表示具体构型的实心楔形或虚线指定时,则所述立体异构体被如此指定并限定。

[0110] 单一的立体异构体例如对映体,基本上不含其立体异构体,可通过使用方法比如使用光学活性拆分剂形成非对映体拆分外消旋混合物而分离(Elieil, E. and Wilen, S. Stereochemistry of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994; Lochmuller, C. H., (1975) J. Chromatogr., 113(3):283-302)。本发明手性化合物的外消旋混合物可经任何合适的方法得到分开和分离,包括:(1)与手性化合物形成离子的非对映体盐并经分级结晶或其他方法分离,(2)用手性衍生化试剂形成非对映体化合物,分离非对映体并转化为纯的立体异构体,和(3)直接在手性条件下分离基本上纯的或富集的立体异构体。参见Drug Stereochemistry, Analytical Methods and Pharmacology, Irving W. Wainer, Ed., Marcel Dekker, Inc., New York (1993)。

[0111] 在方法(1)下,非对映体盐可通过使对映体纯的手性碱比如马钱子碱、奎宁、麻黄碱、士的宁、 α -甲基-13-苯基乙胺(安非他明)等与具有酸性官能度比如羧酸和磺酸的不对称化合物反应而形成。非对映体盐可经分级结晶或离子色谱法得到诱导分离。为了分离氨基化合物的光学异构体,加入手性羧酸或磺酸比如樟脑磺酸、酒石酸、扁桃酸或乳酸可导致形成非对映体盐。

[0112] 作为另外一种选择,通过方法(2),使欲拆分的底物与手性化合物的一种对映体反应以形成非对映体对(E. and Wilen, S. "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., 1994, p. 322)。非对映体化合物可通过使不对称化合物与对映体纯的手性衍生试剂比如薄荷基衍生物反应,随后分离非对映体并水解以得到纯的或富集的对映体而形成。测定光学纯度的方法包括制备外消旋混合物的手性酯例如薄荷酯比如在碱存在下的(-)薄荷基氯甲酸酯,或Mosher酯: α -甲氧基- α -(三氟甲基)苯基乙酸酯(Jacob III, (1982) J. Org. Chem. 47:4165),并对于两种阻转异构的对映体或非对映体的存在分析NMR光谱。阻转异构化合物的稳定非对映体可经正和反相色谱法,随后经分离阻转异构的萘基-异喹啉的方法(W096/15111)得到分开和分离。通过方法(3),两种对映体的外消旋混合物可经使用手性固定相的色谱法(Chiral Liquid Chromatography(1989)W. J. Lough, Ed., Chapman and Hall, New York; Okamoto, (1990) J. of Chromatogr. 513:375-378)而分离。富集或纯的对映体可通过用于区分其他手性分子与不对称碳原子的方法比如旋光度和圆二色光谱得到辨别。

[0113] 本发明打算包括在本发明化合物中存在的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子数但是不同质量数的那些原子。通过普通实例并且不加限定,氢的同位素包括氘和氚,碳的同位素包括C-13和C-14。

[0114] 除了本发明化合物以外,本发明也包括此类化合物的药学上可接受的盐。

[0115] “药学上可接受的盐”除非另外指明包括保持所指定化合物的游离酸和碱的生物有效性并且不为生物或其他方面不合需要的盐。本发明化合物可具有足够的酸性、足够的碱性或这两种官能团,并且因此与任何数目的无机或有机碱和无机和有机酸反应,以形成药学上可接受的盐。药学上可接受盐的实例包括通过本发明化合物与矿物或有机酸或无机碱反应而制备的那些盐,这样的盐包括硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、富马酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯代苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯基乙酸盐、苯基丙酸盐、苯基丁酸盐、枸橼酸盐、乳酸盐、 γ -羟基丁酸盐、乙醇酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、丙磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐和扁桃酸盐。由于单一的本发明化合物可包括多于一个酸性或碱性部分,因此本发明化合物可包括单一化合物的一、二或三盐。

[0116] 如果本发明化合物为碱,则所需的药学上可接受的盐可通过本领域可得到的任何合适的方法制备,例如用酸性化合物特别是无机酸,比如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等,或用有机酸,比如乙酸、马来酸、琥珀酸、扁桃酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、吡喃糖苷酸(pyranosidyl acid)比如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸、 α 羟基酸比如枸橼酸

或酒石酸、氨基酸比如天冬氨酸或谷氨酸、芳酸比如苯甲酸或肉桂酸、磺酸比如对甲苯磺酸或乙磺酸等处理游离碱。

[0117] 如果本发明化合物为酸,则所需的药学上可接受的盐可通过任何合适的方法制备,例如用无机或有机碱处理游离酸。合适的无机盐的实例包括用碱和碱土金属比如锂、钠、钾、钡和钙形成的那些盐。合适有机碱盐的实例包括例如铵、二苄基铵、苄基铵、2-羟基乙基铵、双(2-羟基乙基)铵、苄基乙基苄基胺、二苄基乙二胺等盐。酸性部分的其他盐可包括例如用普鲁卡因、奎宁和N-甲基葡萄糖胺形成的那些盐,加上用碱性氨基酸比如甘氨酸、鸟氨酸、组氨酸、苄基甘氨酸、赖氨酸和精氨酸形成的盐。

[0118] 本发明也提供其不必为药学上可接受的盐,但是其可用作制备和/或纯化本发明化合物和/或分离本发明化合物对映体的中间体的本发明化合物的盐。

[0119] 需要指出的是本文所述的本发明化合物的一些制备可能需要保护远处官能度。对于这样保护的需要可根据官能度的性质和用于制备方法的条件而变化并可容易地由本领域技术人员确定。这样的保护/脱保护方法为本领域技术人员熟知的。

[0120] 本发明的化合物在多种应用中发现具有用途。例如,在本发明的某些方面提供用于调节TLR7和/或TLR8介导的信号转导的方法。本发明方法例如当需要改变对合适的TLR7和/或TLR8配体或TLR7和/或TLR8信号转导激动剂有反应的TLR7和/或TLR8介导的信号转导时为有用的。

[0121] 本文使用的术语“TLR7和/或TLR8配体”、“针对TLR7和/或TLR8的配体”和“TLR7和/或TLR8信号转导激动剂”是指除了本发明化合物外直接或间接与TLR7和/或TLR8相互作用并诱导TLR7和/或TLR8介导的信号转导的分子。在某些实施方案中,TLR7和/或TLR8配体为天然配体,即发现于自然界中的TLR7和/或TLR8配体。在某些实施方案中,TLR7和/或TLR8配体是指除了TLR7和/或TLR8的天然配体以外的分子,例如经人类活动制备的分子。

[0122] 本文使用的关于TLR7和/或TLR8受体的术语“调节”意指在受试者中经以下方式调节药效动力学反应:(i)抑制受体,或(ii)直接或间接影响受体活性的正常调节。

[0123] 术语“激动剂”指与受体(例如TLR)组合可产生细胞反应的化合物。激动剂可为直接结合于受体的配体。作为另外一种选择,激动剂可通过例如以下方式间接与受体结合:(a)与直接结合于受体的另一种分子形成复合物,或者(b)否则导致改变另一种化合物以使其他化合物直接结合于受体。激动剂可称为具体TLR的激动剂(例如TLR7和/或TLR8激动剂)。术语“部分激动剂”是指产生部分但不是完全细胞反应的化合物。

[0124] 本文使用的术语“拮抗剂”是指与激动剂或部分激动剂竞争对受体的结合,从而阻断激动剂或部分激动剂对受体作用的化合物。更具体地讲,拮抗剂为分别在TLR7或TLR8受体抑制TLR7或TLR8活性的化合物。“抑制”指生物活性的任何可测量的减少。因此,本文使用的“抑制”或“抑制作用”可称为活性正常水平的百分数。

[0125] 在本发明的一个方面,治疗或预防可通过在受试者中调节TLR7和/或TLR8介导的细胞活性治疗的病症或障碍的方法包括给予所述受试者包含有效治疗或预防所述病症或障碍的量的本发明化合物的组合物。术语“TLR7和/或TLR8介导的”是指由TLR7和/或TLR8功能引起的生物或生化活性。

[0126] 可经本发明方法治疗的病症和障碍包括但不限于癌症、免疫复合体相关疾病、自身免疫性疾病或障碍、炎性疾病、免疫缺陷、移植排斥、移植物抗宿主病、过敏、心血管疾病、

纤维化疾病、哮喘、感染和脓毒病。更具体地讲,可用于治疗这些病症的方法将采用抑制TLR7和/或TLR8介导信号转导的本发明化合物。在一些情况中,组合物可用于抑制对TLR7和/或TLR8配体或信号转导激动剂有反应的TLR7和/或TLR8介导的信号转导。在其他情况中,组合物可用于在受试者中抑制TLR7和/或TLR8介导的免疫刺激。

[0127] 本文使用的术语“治疗”除非另外指明意指至少减轻疾病或病症并且包括但不限于调节和/或抑制存在的疾病或病症,和/或缓解这样术语适用的疾病或病症,或者这样疾病或病症的一种或多种症状。本文使用的术语“治疗”除非另外指明是指如以上刚刚定义的“治疗”的治疗活动。治疗性治疗指在观察到症状和/或怀疑暴露于疾病或病症致病因子之后开始的治疗。通常,治疗性治疗可降低/缩短与疾病或病症相关的症状的严重性和/或持续时间。

[0128] 本文使用的“预防”意指引起疾病或病症的临床症状不出现,即在可能暴露于或易于发生疾病或病症,但是仍然未经历或呈现疾病或病症的症状的受试者中抑制疾病或病症的起病。预防性治疗意指在观察到症状和/或怀疑暴露于病症致病因子(例如病原体或致病物质)之前给予受试者本发明化合物。通常,预防性治疗可降低/缩短:(a)接受治疗的受试者发病的可能性,和/或(b)如果受试者出现病症则为症状的持续时间和严重性。

[0129] 本文使用的术语“自身免疫性疾病”、“自身免疫性紊乱”和“自身免疫性”是指免疫介导的源于宿主的组织或器官急性或慢性损伤。该术语包括细胞和抗体介导的自身免疫性现象两者以及器官特异性和器官非特异性自身免疫性。自身免疫性疾病包括胰岛素依赖型糖尿病、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化症、动脉粥样硬化和炎症肠疾病。自身免疫性疾病还包括但不限于强直性脊柱炎、自身免疫性溶血性贫血、白塞氏综合征、古德帕斯丘氏综合征、格雷夫斯氏病、格林巴利综合征(Guillain Barre syndrome)、桥本氏甲状腺炎、特发性血小板减少、重症肌无力、恶性贫血、结节性多动脉炎、多发性肌炎/皮肌炎、原发性胆管硬化、牛皮癣、肉状瘤病、硬化性胆管炎、干燥综合征、系统性硬化症(硬皮病和CREST综合征)、高安氏动脉炎(Takayasu's arteritis)、颞动脉炎和韦格纳氏肉芽肿。自身免疫性疾病也包括某些免疫复合体相关疾病。

[0130] 本文使用的术语“纤维化疾病”指在影响肺、肾、眼、心、肝和皮肤的多种慢性疾病中涉及与器官衰竭有关的瘢痕组织过度或持久形成的疾病或障碍。尽管组织重塑和结疤为正常伤口愈合过程的部分,但是重复伤害或损害可导致持久性和过度结疤并导致最终器官衰竭。

[0131] 纤维化病症包括弥漫性肺纤维化疾病、慢性肾病,包括糖尿病性肾病;肝纤维化(例如由来自以下病因的连续和反复性肝损害引起的慢性肝病(CLD):比如病毒性乙型和丙型肝炎、酒精性肝硬化或非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)或原发性硬化性胆管炎(PSC),一种其特征在于肝内部和外部胆管纤维性炎症破坏的罕见病,导致胆汁郁积,肝纤维化和最终导致肝硬化及终末期肝病);肺纤维化(例如特发性肺纤维化(IPF))和系统性硬化症(其中过度纤维化发生于多器官系统包括皮肤、血管、心、肺和肾的退行性疾病)。

[0132] 其他实例包括胰腺和肺的囊性纤维化;注射纤维化,其可作为肌肉注射尤其在儿童的并发症发生;心内膜心肌纤维化、纵隔纤维化、骨髓纤维化、腹膜后纤维化、进行性块状纤维化、煤矿工人尘肺病并发症、肾性系统性纤维化和某些类型外科植入物的并发症(例如发生于试图产生用于治疗糖尿病的人工胰脏)。

[0133] 本文使用的术语“心血管疾病”指涉及炎性成分和/或斑块积聚的心血管系统疾病或障碍,包括但不限于冠状动脉疾病、脑血管疾病、外周动脉疾病、动脉粥样硬化和动脉硬化。

[0134] 本文使用的术语“癌症”和“肿瘤”指其中宿主起源的异常细胞复制以可检测到的量存在于患者中的病症。癌症可为恶性或非恶性癌症。癌症或肿瘤包括但不限于胆道癌、脑癌、乳腺癌、宫颈癌、绒毛膜癌、结肠癌、子宫内膜癌、食道癌、胃癌、上皮内肿瘤、白血病、淋巴瘤、肝癌、肺癌(例如小细胞和非小细胞)、黑色素瘤、成神经细胞瘤、口腔癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、直肠癌、肾癌、肉瘤、皮肤癌、睾丸癌、甲状腺癌以及其他癌和肉瘤。癌症可为原发性或转移性的。

[0135] 本文使用的术语“炎性疾病”和“炎性障碍”是指其特征在于炎症的病症例如组织对刺激、损伤或感染的局部保护性反应,其特征在于疼痛、发红、肿胀和有时丧失功能。炎性疾病或障碍包括例如过敏、哮喘和过敏性皮疹。

[0136] 本文使用的术语“免疫复合体相关疾病”指其特征在于免疫复合体的产生和/或组织沉积的任何疾病(即包括抗体和由抗体特异性结合的抗原的任何复合物),包括但不限于系统性红斑狼疮(SLE)和相关结缔组织疾病、类风湿性关节炎、丙型肝炎和乙型肝炎相关的免疫复合体疾病(例如冷球蛋白血症)、白塞氏综合征、自身免疫性肾小球肾炎和与LDL/抗LDL免疫复合体的存在相关的血管病变。

[0137] 本文使用的“免疫缺陷”指其中受试者的免疫系统不起正常能力作用的或其中有用的是提高受试者的免疫反应,例如在受试者中消除肿瘤或癌症(例如脑、肺(例如小细胞和非小细胞)、卵巢、乳腺、前列腺、结肠的肿瘤以及其他癌和肉瘤)或感染的疾病或障碍。免疫缺陷可为获得性或者其可为先天性的。

[0138] 本文使用的“移植排斥”指对源于除宿主以外来源的组织或器官免疫介导的超急性、急性或慢性损伤。该术语因此包括细胞和抗体介导的排斥两者以及同种异体移植物和异种移植物两者的排斥。

[0139] “移植物抗宿主病”(GvHD)为捐赠骨髓对患者自身组织的反应。GVHD最常见于当血液骨髓捐赠者与患者不相关或者捐赠者与患者相关但是不完全匹配的情况下。存在两种形式的GVHD:称为急性GVHD的早期形式,其发生于移植之后不久白细胞增长时,和称为慢性GVHD的晚期形式。

[0140] T_H2 介导的特应性疾病包括但不限于特应性皮炎或湿疹、嗜酸性粒细胞增多、哮喘、过敏、过敏性鼻炎和Ommen氏综合征。

[0141] 本文使用的“过敏”指对物质(过敏原)的获得性过敏。过敏性病症包括湿疹、过敏性鼻炎或鼻炎、枯草热、哮喘、荨麻疹(麻疹)和食物过敏及其他特应性病症。

[0142] 本文使用的“哮喘”指其特征在于炎症、气道狭窄和对吸入剂气道反应性增大的呼吸系统障碍。哮喘为频发的,尽管不专门与特应性或变应性症状相关。例如,哮喘可通过暴露于过敏原、暴露于冷空气、呼吸道感染和费力而造成。

[0143] 本文使用的术语“感染”和等同地“感染性疾病”指其中传染性生物体或试剂以可检测到的量存在于受试者的血液或通常不育组织或通常无菌室的病症。传染性生物体和因素包括病毒、细菌、真菌和寄生虫。该术语包括急性和慢性感染两者以及脓毒症。

[0144] 本文使用的术语“脓毒症”是指在机体的血液(败血症)或其他组织中存在细菌(菌

血症)或其他传染性生物体或其毒素。

[0145] 进一步提供用作在患有这样疾病或病症的哺乳动物例如人中治疗以上所述疾病或病症的药物的本发明化合物或其盐。也提供本发明化合物或其盐在制备用于在患有这样疾病的哺乳动物例如人中治疗以上所述疾病和病症的药物中的用途。

[0146] 本发明也包括含有本发明化合物的药物组合物以及通过经给予有此需要的患者包含本发明化合物或其盐的药物组合物,调节TLR7和/或TLR8介导的细胞活性治疗或预防病症和障碍的方法。

[0147] 为了使用本发明的化合物或其盐用于治疗性治疗(包括预防性治疗)包括人在内的哺乳动物,通常根据标准药理学实践配制为药物组合物。

[0148] 依据本发明的该方面,提供包含与药学上可接受的稀释剂或载体结合的如上文所定义的本发明化合物或其盐的药物组合物。

[0149] 为了制备依据本发明的药物组合物,治疗或预防有效量的本发明化合物或其盐(单独或与如本文所公开的另外治疗剂一起)例如根据产生剂量的常规药物混合技术与药学上可接受的载体紧密混合。载体可根据给药所需的制剂形式而采用广泛的形式,例如,口服或非肠道。合适的载体的实例包括任何和所有的溶剂、分散介质、佐剂、包衣剂、抗菌和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂、甜味剂、稳定剂(以促进长期储存)、乳化剂、粘合剂、增稠剂、盐、防腐剂、溶剂、分散介质、包衣剂、抗菌和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂、矫味剂和各种各样材料比如为制备具体的治疗组合物可需要的缓冲剂和吸收剂。这样的介质和具有药用活性物质的药物的用途为本领域熟知的。除非任何常规介质或药物与本发明化合物不相容,否则均考虑了其在治疗性组合物和制剂中的用途。补充活性成分也可结合到如本文所述的组合物和制剂中。

[0150] 本发明的组合物可以适合于口服使用(例如作为片剂、锭剂、硬或软胶囊、水或油混悬剂、乳剂、可分散粉末或颗粒剂、糖浆剂或酞剂)、局部使用(例如作为霜剂、软膏剂、凝胶剂或水或油溶液剂或混悬剂)、吸入给药(例如作为细微分散粉末或液体气溶胶)、吹入给药(例如作为细微分散粉末)或非肠道给药(例如作为用于静脉、皮下或肌肉给予的灭菌水或油溶液剂或者作为用于直肠给药的栓剂)的形式存在。例如,打算用于口服使用的组合物可包含例如一种或多种着色剂、甜味剂、矫味剂和/或防腐剂。

[0151] 用于片剂制剂的合适的药学上可接受的赋形剂包括例如惰性稀释剂比如乳糖、碳酸钠、磷酸钙或碳酸钙;制粒和崩解剂比如玉米淀粉或藻酸;粘合剂比如淀粉;润滑剂比如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉;防腐剂比如对羟基苯甲酸乙酯或丙酯以及抗氧化剂比如抗坏血酸。片剂制剂可为未包衣或包衣以或者改变其崩解和活性成分随后在胃肠道内吸收,或者改进其稳定性和/或外观,在每一种情况下,使用常规包衣剂和本领域熟知的程序。

[0152] 用于口服使用的组合物可以硬明胶胶囊的形式存在,其中活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合,或者作为软明胶胶囊的形式,其中活性成分与水或油比如花生油、液体石蜡或橄榄油混合。

[0153] 水混悬剂通常含有与一种或多种助悬剂比如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄耆胶和阿拉伯胶;分散剂或润湿剂比如卵磷脂或环氧烷与脂肪酸的缩合产物(例如聚氧乙烷硬脂酸酯)、或环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物例如十七碳亚乙基氧基鲸蜡醇(heptadecaethyleneoxycetanol)、或环氧乙烷与衍生

于脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物比如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯、或环氧乙烷与衍生于脂肪酸和己糖醇酸酐的偏酯的缩合产物例如聚乙烯失水山梨醇单油酸酯一起的以细粉状形式存在的活性成分。水混悬剂也可含有一种或多种防腐剂(比如对羟基苯甲酸乙酯或丙酯)、抗氧化剂(比如抗坏血酸)、着色剂、矫味剂和/或甜味剂(比如蔗糖、糖精或阿斯巴甜)。

[0154] 油混悬剂可通过使活性成分悬浮于植物油(例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油)或矿物油(比如液体石蜡)中而配制。油混悬剂也可含有增稠剂比如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可加入甜味剂例如以上列出的那些和矫味剂以提供可口的口服制剂。这些组合物可通过加入抗氧化剂比如抗坏血酸得到防腐。

[0155] 适合于通过加入水而制备水混悬剂的可分散粉剂和颗粒剂通常含有与分散或润湿剂、助悬剂和一种或多种防腐剂一起的活性成分。合适的分散或润湿剂和助悬剂通过以上已经提及的那些举例说明。另外的赋形剂比如甜味剂、矫味剂和着色剂也可存在。

[0156] 本发明的药物组合物也可以水包油乳剂的形式存在。油相可为植物油,比如橄榄油或花生油,或者矿物油,比如液体石蜡或任何这些的混合物。合适的乳化剂可为例如天然来源的树胶比如阿拉伯胶或黄蓍胶、天然来源的磷脂比如大豆、卵磷脂、衍生于脂肪酸和己糖醇酸酐的酯或偏酯(例如失水山梨醇单油酸酯)和所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物比如聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯。乳剂也可含有甜味剂、矫味剂和防腐剂。

[0157] 糖浆剂和酞剂可与甜味剂比如甘油、丙二醇、山梨醇、阿斯巴甜或蔗糖一起配制并且也可含有缓和剂、防腐剂、矫味剂和/或着色剂。

[0158] 药物组合物也可以无菌注射水或油混悬剂的形式存在,其可按照已知方法使用一种或多种以上已经提及的合适分散剂或润湿剂和助悬剂配制。对于非肠道制剂,载体将通常含有无菌水、氯化钠水溶液、1,3-丁二醇或任何其他合适的非毒性非肠道可接受的稀释剂或溶剂。其他成分(包括帮助分散的那些成分)也可被包括在内。当然,如果无菌水打算被使用并保持为无菌时,组合物和载体也必须灭菌。也可制备注射用混悬剂,在这种情况下可采用合适的液体载体、助悬剂等。

[0159] 栓剂可通过使活性成分与合适的在常温下为固体但在直肠温度下为液体并因此在直肠融化以释放药物的非刺激性赋形剂混合而制备。合适的赋形剂包括例如可可脂和聚乙二醇。

[0160] 使用本领域熟知的常规方法,通过使活性成分与常规、局部可接受的媒介物或稀释剂一起配制通常可得到局部制剂,比如霜剂、膏剂、凝胶剂和水或油溶液剂或混悬剂。

[0161] 用于经吹入给药的组合物可以含有平均直径为例如30微米或小得多的颗粒的细分散粉末形式存在,粉末本身包含或者单独的活性成分,或者用一种或多种生理学上可接受的载体比如乳糖稀释的活性成分。用于吹入的粉末然后便利地保留在含有例如1-50mg活性成分的胶囊中用于涡轮吸入器(turbo-inhaler)装置,比如用于吹入已知药物色甘酸钠。

[0162] 用于经吸入给药的组合物可以将活性成分排列分配为含有细分散固体或液滴的气溶胶的常规加压气溶胶形式存在。可使用常规气溶胶抛射剂比如挥发性氟代烃或烃,并且气溶胶装置被便利地安排以分配计量的量的活性成分。

[0163] 用于经皮给药的组合物可以本领域普通技术人员熟知那些经皮贴剂形式存在。其他传递系统可包括定时释放、延迟释放或持续释放传递系统。这样的系统可避免反复给予化合物,对于受试者和医生增加便利。许多类型的释放传递系统为本领域普通技术人员可

得到的和已知的。它们包括聚合物基质系统比如聚(丙交酯-乙交酯)、共聚草酸酯、聚己内酯、聚酯酰胺、聚原酸酯、聚羟基丁酸和聚酸酐。含有药物的上述聚合物的微囊在例如美国专利第5,075,109号中有所描述。传递系统也包括非聚合物系统,它们是:包括甾醇比如胆固醇、胆固醇酯和脂肪酸的类脂或中性脂肪例如单、二和三甘油酸酯;水凝胶释放系统;硅橡胶系统;基于肽的系统;蜡包衣;使用常规粘合剂和赋形剂的压制片剂;部分融合的植入剂等。具体实例包括但不限于:(a)侵蚀系统,其中本发明的药物以一定的形式包含在基质内,例如在美国专利第4,452,775、4,675,189和5,736,152号中描述的那些基质,和(b)扩散系统,其中活性成分在受控速率下从聚合物比如在美国专利第3,854,480、5,133,974和5,407,686号中描述的聚合物中弥散。另外,可使用基于泵的硬件传递系统,其中一些适合于植入。

[0164] 组合物可以溶液的形式给药,例如水或等渗盐水、缓冲或非缓冲的,或者作为混悬剂用于作为滴剂或作为喷雾剂鼻内给药。优选地,这样的溶液剂或悬浮剂相对于鼻分泌物为等渗的并具有大约相同的pH,范围例如为约pH4.0至约pH7.4或pH6.0至pH7.0。缓冲剂应为生理上相容的并以举例的方式包括磷酸盐缓冲液。例如,代表性的鼻减充血剂被描述为缓冲至约6.2的pH(Remington's Pharmaceutical Sciences, Ed. By Arthur Osol, p.1445 (1980))。当然,普通技术人员可容易地确定用于鼻给药的无害含水载体的合适含盐量和pH。

[0165] 含有组合物的鼻内剂型的其他非限制性实例包括粘度为例如约10至约3000cps、或约2500至6500cps或更大的鼻凝胶剂、霜剂、糊剂或软膏剂,其可提供与鼻粘膜表面更持久的接触。这样的载体粘性制剂以举例的方式可基于聚合物载体例如烷基纤维素和/或本领域熟知的其他高粘度生物相容性载体(参见例如Remington's, 以上引用)。含有组合物的载体也可浸泡在纤维材料比如纱布中,它们可应用于鼻粘膜表面以使得活性物质能够以分开的部分渗透到粘膜。

[0166] 其他成分,比如本领域已知的防腐剂、着色剂、润滑剂或粘性矿物油或植物油、香味剂、天然或合成植物提取物比如芳香油和湿润剂及粘度增强剂比如甘油,也可包括在内以便为剂型提供另外的粘度、保湿性和愉快的质地和气味。

[0167] 此外,对于组合物的溶液剂或混悬剂的鼻内给药,用于产生滴剂、液滴和喷雾剂的各种装置为本领域可得到的。例如,包含分开部分的溶液剂可借助包括玻璃、塑料或金属分配管在内的简单滴管(或吸管),从中内容物借动手动动力泵例如连接到一端的可伸缩橡皮袋提供的空气压力逐滴驱动给予鼻道。通过本领域熟知的手动或电动鼻内泵分散器或塑料挤瓶可提供细小的液滴和喷雾剂,例如其被设计成将空气和细微液滴的混合物吹入鼻腔。

[0168] 与一种或多种赋形剂结合以产生单一剂型的本发明化合物的量将根据所治疗的受试者、障碍或病症的严重性、给药速率、化合物的性质和开具处方医师的判断而进行必要变化。然而,有效剂量在以单次或分开的剂量每天约0.001至约100mg每kg体重,例如约0.05至约35mg/kg/天的范围内。对于70kg的人,剂量为约0.0005至2.5g/天。例如,剂量为约0.0005至约1g/天。在一些情况下,低于上述范围下限的剂量水平可为更加足够的,而在其他情况下仍可采用更大剂量而不引起任何有害的副作用,条件是这样的更大剂量首先被分为若干小剂量用于全天给药。

[0169] 关于给药途径和剂量方案的更多信息,参见Comprehensive Medicinal

Chemistry(Corwin Hansch;Chairman of Editorial Board),Pergamon Press1990的第5卷第25.3章,其通过引用特别地结合到本文中。

[0170] 根据熟知的医学原理,用于本发明化合物治疗性或预防性目的的剂量大小将根据病症的性质和严重性、动物或患者的年龄和性别及给药途径自然变化。应该理解用于任何具体受试者的具体剂量水平和给药频率可以变化并将根据包括本发明具体化合物的活性、受试者物种、年龄、体重、一般健康、性别和饮食、给药方式和时间、排泄速率、药物组合和具体病症的严重性在内的多种因素而定,但是不过可由本领域技术人员常规确定。

[0171] 本发明化合物或其盐在一些方面与另一种治疗剂联合(例如以相同制剂或以分开的制剂)给予受试者(“联合疗法”)。本发明化合物与另一种治疗剂混合给药或以分开的制剂给药。当以分开的制剂给药时,本发明化合物和另一种治疗剂基本上同时或依序给药。一方面,本发明化合物与另一种用于治疗病症或疾病的治疗剂联合给予受试者。一方面,本发明化合物与另一种用于预防病症或疾病的治疗剂联合给予受试者。一方面,本发明化合物与用于预防病症或疾病的疫苗联合给予受试者。一方面,本发明化合物与感染性疾病疫苗联合给予受试者。一方面,本发明化合物与癌症疫苗联合给予受试者。

[0172] 本发明化合物也可有助于具有削弱的免疫功能的个体。例如,本发明化合物可用于治疗或预防例如在移植患者、癌症患者和HIV患者中于抑制细胞介导的免疫力之后发生的机会性感染和肿瘤。

[0173] 这样的联合疗法除本发明化合物以外还可包括常规手术或放射疗法或化学疗法。这样的化学疗法可包括一种或多种以下种类的抗肿瘤药物:(i)抗增殖/抗肿瘤药及其组合;(ii)细胞生长抑制剂;(iii)抑制癌细胞侵袭的药物;(iv)生长因子功能抑制剂;(v)抗血管生成药物;(vi)血管损伤剂;(vii)反义疗法;(viii)基因治疗方法;(ix)干扰素;和(x)免疫治疗方法。

[0174] 可在本发明方法中与本发明化合物组合给药的用于治疗或预防呼吸道疾病的治疗剂包括但不限于 β 肾上腺素能药物,其包括支气管扩张剂包括沙丁胺醇、硫酸异丙肾上腺素、奥西那林、硫酸特布他林、乙酸吡布特罗和沙美特罗、富美特罗;类固醇类包括二丙酸倍氯米松、氟尼缩松、氟替卡松、布地奈德和曲安奈德。与治疗或预防呼吸道疾病联合使用的抗炎药包括甾体类比如二丙酸倍氯米松、曲安奈德、氟尼缩松和氟替卡松。其他抗炎药包括色甘酸盐类例如色甘酸钠。其他作为支气管扩张剂的呼吸道药物包括抗胆碱能药物,包括异丙托溴铵。抗组胺药包括但不限于苯海拉明、卡比沙明、氯马斯汀、茶苯海明、吡拉明(pryilamine)、曲吡那敏、氯苯那敏、溴苯那敏、羟嗪、赛克利嗪、美克洛嗪、氯环嗪、异丙嗪、多西拉敏、氯雷他定和特非那定。具体的抗组胺药包括氮斯汀(Astelina®)、氯雷他定(Claritin®)、开瑞坦D(Claritin D®)、非索非那定(Allegra®)、Zyrtec®和伯克纳(beconase)。

[0175] 在一些实施方案中,本发明化合物作为与干扰素- γ (IFN- γ)、肾上腺皮质激素比如泼尼松、泼尼松龙、甲基泼尼松龙、氢化可的松、可的松、地塞米松、倍他米松等或其组合的联合疗法给药,用于治疗或预防间质性肺疾病比如特发性肺纤维化。

[0176] 在一些实施方案中,本发明化合物以具有用于治疗囊性纤维化(“CF”)的已知治疗剂的联合疗法给药。用于治疗CF的治疗剂包括但不限于抗生素、抗炎药、DNase(例如重组人

DNase、pulmozyme、阿法链道酶)、粘液溶解药(例如N-乙酰半胱氨酸、Mucomyst™、Mucosil™)、减充血剂、支气管扩张剂(例如茶碱、异丙托溴铵)等。

[0177] 在一些实施方案中,本发明的化合物被预防性给药用于预防心血管疾病,例如动脉粥样硬化。

[0178] 在本发明的另一个实施方案中,提供制造制品,或者含有可用于治疗或预防上述疾病的物质的“药剂盒”。

[0179] 在一个实施方案中,药剂盒包含含有本发明组合物或其药学上可接受盐的容器。在一个实施方案中,本发明提供用于治疗或预防TLR7和/或TLR8介导的障碍的药剂盒。在另一个实施方案中,本发明提供用于可通过选择性调节患者体内免疫系统而治疗的病症或障碍的药剂盒。药剂盒可进一步包含在容器上或与容器有关的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、泡罩包装等。容器可由诸如玻璃或塑料的多种材料形成。容器容纳有以有效治疗或预防病症的量存在的本发明化合物或其药用制剂,并可具有无菌入口(例如容器可为静脉输液袋或具有可经皮下注射针头刺破的塞子的小瓶)。标签或包装插页表明组合物用于治疗或预防选择的病症。在一个实施方案中,标签或包装插页表明包含本发明化合物的组合物可用于例如治疗或预防可通过调节TLR7和/或TLR8介导的细胞活性而治疗的障碍。标签或包装插页也可表明组合物可用于治疗或预防其他障碍。作为另外一种选择或除此以外,药剂盒可进一步包含第二个包含药学上可接受的缓冲剂比如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液的容器。其可进一步包括自商业和用户观点来看为合乎需要的其他材料,包括其他缓冲剂、稀释剂、滤膜、针和注射器。

[0180] 药剂盒可进一步包含用于给予本发明化合物的用法说明,并且如果存在,还包含第二药物制剂。例如,如果药剂盒包含第一种包含本发明化合物的组合物和第二药物制剂,则药剂盒可进一步包含用于同时、依序或分开给予有此需要的患者第一和第二药物组合物的用法说明。

[0181] 在另一个实施方案中,药剂盒适合于传递本发明化合物的固体口服形式,例如片剂或胶囊剂。这样的药剂盒包括例如一定数目的单位剂量。此类药剂盒可包括具有按预期用途的顺序排列剂量的卡片。这样的药剂盒的实例为“泡罩包装”。泡罩包装为包装工业熟知的并且广泛用于包装药物单位剂型。如果需要,可提供记忆辅助工具,例如以数字、字母或其他标记的形式存在或用日历插页,指定其中可给予剂量的治疗程序中的日期。

[0182] 根据一个实施方案,药剂盒可包含(a)具有其中所含的本发明化合物的第一个容器,和任选地(b)具有其中所含的第二药物制剂的第二个容器,其中第二药物制剂包含第二种可通过选择性调节TLR7和/或TLR8介导的细胞活性有效治疗或预防病症或障碍的化合物。作为另外一种选择或除此以外,药剂盒可进一步包含第三个包含药学上可接受的缓冲剂,例如灭菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液的容器。其可进一步包括自商业和用户观点来看为合乎需要的其他材料,包括其他缓冲剂、稀释剂、滤膜、针和注射器。

[0183] 在某些其他实施方案中,其中药剂盒包含本发明化合物的药物制剂和第二种包含第二种治疗剂的制剂,药剂盒可包含用于容纳分开的制剂的容器,比如分开的瓶或分开的铝箔包装;然而,分开的组合物也可包含在单一的、未分开的容器中。通常,药剂盒包含用于给予分开组分的用法说明。当分开的组分以不同剂型(例如口服和非肠道)给药时,以不同

剂量间隔给药时,或当开具处方的医师要求调整组合的各组分时,药剂盒形式是特别有利的。

[0184] 在整个说明书中,如果将组合物描述为具有、包含或含有具体的组分,则应考虑到组合物也基本上由所列组分或由所列组分组成。相似地,如果将方法或工艺描述为具有、包括具体的工艺步骤,则工艺也基本上由所列的工艺步骤或由所列的工艺步骤组成。另外,应当理解,步骤顺序或用于执行某些操作的顺序不是重要的,只要本发明仍然可行即可。此外,两个或更多个步骤或操作可同时进行。

[0185] 本发明的合成工艺可容忍广泛的官能团;因此可以使用多种取代的原料。工艺通常在整个工艺结束时或快要结束时提供所需的最终化合物,但是在一些情况下可能所需的是进一步将化合物转化成药学上可接受的盐、酯或其前药。

[0186] 本发明的化合物可以多种方式使用市售原料、文献中已知的化合物或通过容易制得的中间体借助本领域技术人员已知的或技术人员根据本文的教导将显而易见的标准合成方法和程序制备。用于有机分子制备以及官能团转化和操纵的标准合成方法和程序可得自本领域相关的科学文献或得自标准教科书。虽然不限于任何一种或多种来源,但是以引用方式并入本文的经典书籍比如Smith, M.B., March, J., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 5th edition, John Wiley & Sons: New York, 2001和Greene, T.W., Wuts, P.G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons: New York, 1999是可用的并被认为是本领域技术人员已知的有机合成的参考教科书。以下合成方法描述被设计为阐述而非限制用于制备本发明化合物的一般程序。

[0187] 本发明的化合物可便利地通过本领域技术人员熟悉的多种方法制备。带有本文所述的各化学式的本发明的化合物可根据以下程序通过市售原料或可使用文献程序制备的原料而制备。这些程序显示了本发明的代表性化合物的制备。

[0188] 通过上述方法设计、选择和/或优化的化合物在产生后可采用本领域技术人员已知的多种试验来表征,以确定化合物是否具有生物活性。例如,分子可通过常规试验包括但不限于下文所述的那些试验来表征,以确定它们是否具有预测的活性、结合活性和/或结合特异性。

[0189] 此外,可将高通量筛选用于加速使用此类试验的分析。因此,可能的是使用本领域已知的技术快速筛选本文所述分子的活性。用于执行高通量筛选的一般方法例如在Devlin (1998) *High Throughput Screening*, Marcel Dekker和美国专利第5,763,263号中有所描述。高通量试验可使用一种或多种不同的测定技术,包括但不限于下文所述的那些。

[0190] 本文引用的所有出版物和专利文献以引用方式结合到本文中,如同这样的出版物或文献各自具体和单独地表明以引用方式结合到本文中一样。引用出版物和专利文献不意味着承认任何一者为相关现有技术,也绝不是承认所述出版物和文献的内容或日期。现在已通过书面说明描述了本发明,本领域的技术人员将认识到,本发明可以多种实施方案加以实践并且之前的描述和下文的实施例是出于举例说明的目的而非限制后续权利要求。

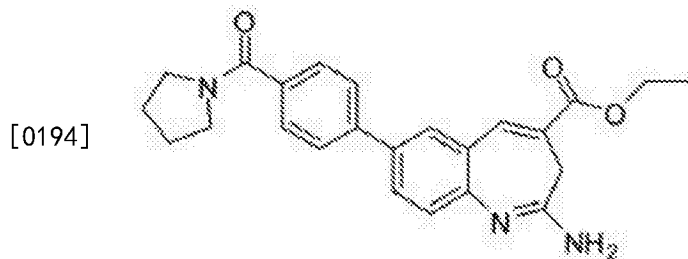
实施例

[0191] 为阐明本发明,以下实施例被包括在内。然而,应该理解这些实施例不限制本发明

并且任意欲提示实践本发明的方法。

[0192] 实施例1合成程序

[0193] 化合物63的合成



[0195] (1E,4E)-2-氨基-7-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯。

[0196] 步骤A:将硝酸钾(49.2g,0.486mol)加入三颈圆底烧瓶中的240g冷却硫酸中,保持温度低于25℃。然后缓慢添加3-溴苯甲醛(30.0g,0.162mol)。完成添加后,让混合物逐渐升至室温过夜。然后将混合物倒入500mL冰水中,得到浅黄色沉淀。通过过滤收集固体,在真空下干燥数小时。粗产物的纯化按以下方式进行:将收集的固体分成两批,每批使用两根串联的340g Biotage Snap柱以3:1己烷:EtOAc作为洗脱剂而纯化。得到了20g浅黄色固体5-溴-2-硝基苯甲醛(54%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ10.42(s,1H),8.07,(d,1H),8.03,(d,1H),7.89(dd,1H)。

[0197] 步骤B:将α-氰甲基羧乙氧基亚乙基(α-Cyanomethylcarboethoxyethylidene)(37g,0.096mol)和5-溴-2-硝基苯甲醛(20g,0.087mol)与400mL无水甲苯合并,并加热至回流。10小时后,将混合物冷却到室温,然后减压浓缩。将所得的粗料分成两批,每批使用两根串联的340g Biotage Snap柱以3:1己烷:EtOAc作为洗脱剂而纯化。得到了22.9g(78%)浅黄色固体(E)-3-(5-溴-2-硝基苯基)-2-(氰甲基)丙烯酸乙酯。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ8.13-8.16(m,2H),7.77(dd,1H),7.59(d,1H),4.39(q,1H),3.34(s,2H),1.40(t,3H)。

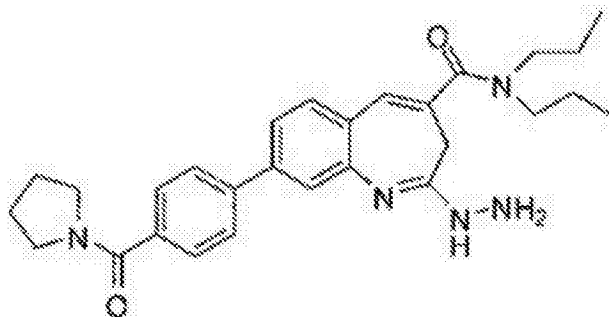
[0198] 步骤C:将(E)-3-(5-溴-2-硝基苯基)-2-(氰甲基)丙烯酸乙酯(22.0g,0.065mol)置于250mL乙酸中,将混合物升至80℃,得到溶液。向其中加入铁粉(21.7g,0.389mol),将混合物在80℃下搅拌2小时,其间混合物变成稠浆液。然后将混合物冷却到室温,再进行过滤。将收集的固体用EtOAc冲洗,将滤液减压浓缩。将所得的深色粗料置于25%IPA/DCM(~500mL)中,将残余的乙酸用1M碳酸钠水溶液(~500mL)猝灭。将该物料转移到2升分液漏斗中,在分离有机物/含水物料后,在有机层中形成了黄色沉淀。将有机物分离,通过过滤收集固体,在高真空下干燥过夜,得到13.6g浅黄色固体(1E,4E)-2-氨基-7-溴-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(第1批)。将滤液经硫酸钠干燥,浓缩得到6g更黄/橙的固体(第2批-经HPLC/NMR分析不如第1批干净)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ7.70(m,1H),7.64(d,1H),7.39(dd,1H),6.95-6.99(m,3H),4.24(q,2H),2.86(s,2H),1.29(t,3H);m/z(APCI-pos)M+1=309.1,311.1。

[0199] 步骤D:将(1E,4E)-2-氨基-7-溴-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(0.150g,0.485mmol)、4-(吡咯烷-1-羰基)苯基硼酸(0.181g,0.825mmol)、Pd(PPh₃)₄(0.056g,0.0458mmol)和2M碳酸钾水溶液(0.728mL,1.46mmol)在微波反应小瓶中的4mL乙腈中合并。将其在微波中加热到100℃维持45分钟。将混合物用EtOAc稀释,用盐水洗涤,干燥并浓缩。100g Snap Cartridge Biotage(7%MeOH/DCM/0.5%NH₄OH)得到了80mg(41%)橙色固体(1E,

4E)-2-氨基-7-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.86-7.88(m, 1H), 7.59-7.67(m, 6H), 7.32-7.36(m, 1H), 4.29-4.37(m, 2H), 3.64-3.72(m, 2H), 3.47-3.54(m, 2H), 3.03(s, 2H), 1.86-2.01(m, 4H), 1.36-1.43(m, 3H); m/z(APCI-pos)M+1=404.2。

[0200] 化合物33的合成

[0201]



[0202] (1E, 4E)-2-肼基-N,N-二丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺

[0203] 步骤A: (E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷的制备: 将4-溴-2-硝基甲苯(100g, 463mmol)、吡咯烷(46.2mL, 565mmol)和N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛(75.6mL, 565mmol)的溶液在110℃下回流4小时。将反应混合物冷却到室温, 减压浓缩, 得到不进一步纯化而直接使用的粗(E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷。

[0204] 步骤B: 4-溴-2-硝基苯甲醛的制备: 在0℃下, 向高碘酸钠(298g, 1.40mol)在THF-H₂O中的溶液(4L, 1:1)加入(E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷(138g, 464mmol)。将混合物搅拌15h, 然后过滤以除去固体沉淀。将滤液中的含水层分离, 用EtOAc(4×200mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(2×200mL)洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤并减压浓缩得到粗产物, 通过硅胶快速柱色谱(5%EtOAc的己烷溶液)纯化得到91g(86%)4-溴-2-硝基苯甲醛。

[0205] 步骤C: 3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛的制备: 在室温下, 向4-溴-2-硝基苯甲醛(20.2g, 87.9mmol)、4-(吡咯烷-1-羰基)苯基硼酸(21.2g, 96.7mmol)和Pd(PPh₃)₄(508mg, 0.440mmol)在甲苯(200mL)中的溶液加入EtOH(40mL)然后加入Na₂CO₃(70.0mL, 140mmol, 2M水溶液)。将所得的混合物在100℃加热18h。将反应混合物冷却到室温, 并分离有机层。将含水层用EtOAc(300mL)萃取。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤并减压浓缩得到粗料, 将粗料与得自相同反应规模的附加运行中的另一批粗料合并。将合并的粗料通过硅胶快速柱色谱(CH₂Cl₂至1%MeOH的CH₂Cl₂溶液)纯化得到51g(90%)3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛。

[0206] 步骤D: (E)-2-(氰甲基)-3-(3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)丙烯酸乙酯的制备: 将3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛(20.0g, 61.7mmol)和α-氰甲基羰乙氧基亚乙基三苯基膦(26.3g, 67.8mmol)在甲苯(200mL)中的混合物温和回流2.5h。将反应混合物冷却到室温, 减压浓缩得到不进一步纯化而直接使用的粗(E)-2-(氰甲基)-3-(3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)丙烯酸乙酯。

[0207] 步骤E: (1E, 4E)-2-氨基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯的制备: 在室温下, 向粗(E)-2-(氰甲基)-3-(3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)丙烯酸乙酯在AcOH(650mL)中的溶液加入铁(29.1g, 521mmol)。将所得的混合物在85℃

加热4h。将反应混合物冷却到室温，用CH₂Cl₂(250mL)稀释。滤除固体，用CH₂Cl₂(200mL)洗涤。将滤液减压浓缩得到粗料，将粗料再次用CH₂Cl₂(250mL)稀释。在用力搅拌下向该混合物中缓慢加入饱和Na₂CO₃(~330mL)水溶液，直到其变为碱性(pH~9-10)。将所得的混合物滤除，用CH₂Cl₂(~250mL)洗涤。将含水层分离，用CH₂Cl₂(2×150mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤，经MgSO₄干燥，过滤得到粗料，将粗料用EtOAc(70mL)稀释。将混合物在室温下保持16h。对悬浮液进行过滤。将滤除的固体用EtOAc(100mL)洗涤，得到粗产物，将粗产物用少量CH₂Cl₂洗涤，得到20g(基于95%纯度，收率为62%)(1E,4E)-2-氨基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯。

[0208] 步骤F：(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯的制备：在室温下，向(1E,4E)-2-氨基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(9.60g,23.8mmol)在CH₂Cl₂(100mL)中的混合物加入Boc₂O(5.97mg,27.4mmol)。将反应混合物搅拌3天。将所得的混合物用饱和NaHCO₃水溶液和盐水洗涤。将有机层分离，经MgSO₄干燥，过滤并减压浓缩，得到12.7g不进一步纯化而直接使用的粗(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯。MSAPCI(+)检测值m/z504(M+1)。

[0209] 步骤G：(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸的制备：在0℃下，向(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(12.0g,23.8mmol)在THF-EtOH中的溶液(60mL/60mL)加入4N LiOH水溶液(23.8mL,95.3mmol)。将反应混合物升至室温并搅拌21h。在21h和24h后两次加入另外6mL 4N LiOH水溶液。再搅拌6h后，将所得的混合物减压浓缩，得到粗料，将粗料用水(50mL)稀释并用1N磷酸水溶液(~450mL)酸化至~3.5的pH。将~250mL CH₂Cl₂在酸化过程中加入以将粗料从稠悬浮液中提取出来。将酸化过程中形成的固体使用充填有Celite的玻璃过滤器滤除。将含水层分离，用CH₂Cl₂(3×100mL)萃取。将合并的有机层经MgSO₄干燥，过滤并减压浓缩，得到10.2g(90%)不进一步纯化而直接使用的粗(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸。MSAPCI(+)检测值m/z476(M+1)。

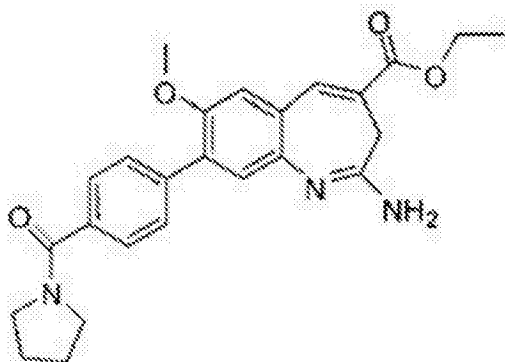
[0210] 步骤H：将(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸(0.5g,1.05mmol)、HOBT(0.213g,1.58mmol)和EDCI(0.213g,1.58mmol)置于10mL二氯甲烷中，并在室温下搅拌1小时。然后将二丙胺(0.216mL,1.58mmol)和三乙胺(0.293mL,2.103mmol)加入，将混合物搅拌一小时，然后用二氯甲烷稀释，用饱和氯化铵、盐水洗涤，经硫酸钠干燥并浓缩。Biotage纯化(50g Snap柱,1:1EtOAc:己烷)得到了0.2g(34%)(1E,4E)-4-(二丙基氨基甲酰基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-2-基氨基甲酸叔丁酯。m/z(APCI-pos)M+1=558.9。

[0211] 步骤I：在反应小瓶中将(1E,4E)-4-(二丙基氨基甲酰基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-2-基氨基甲酸叔丁酯(0.075g,0.134mmol)溶于1.5mL乙醇中。向该溶液中加入脒(0.0215mL,0.671mmol)，将小瓶密封，然后将混合物加热到80℃维持30分钟。然后将混合物用EtOAc稀释，用1M碳酸钠水溶液、水洗涤两次，经硫酸钠干燥，并减压浓缩。制备型薄层色谱(0.5mm板,5%MeOH/DCM/0.5%NH₄OH)得到了黄色固体(1E,4E)-2-脒基-N,N-二丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺(39%)。¹HNMR

(400MHz, DMSO- d_6) δ 7.59-7.66(m, 5H), 7.28-7.31(m, 2H), 6.76(s, 1H), 3.63-3.71(m, 4H), 3.47-3.52(m, 2H), 3.29-3.42(m, 4H), 1.87-2.02(m, 4H), 1.56-1.68(m, 4H), 0.80-0.97(m, 6H); m/z(APCI-pos)M+1=474.2。

[0212] 化合物76的合成

[0213]



[0214] (1E, 4E)-2-氨基-7-甲氧基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯

[0215] 步骤A:向-30℃下的4-(苄氧基)-3-甲氧基苯甲醛(2.00g, 8.090mmol)在1,2-二氯乙烷(8mL)中的溶液加入发烟硝酸(4.00mL, 88.21mmol)同时维持-15℃的温度3小时。将反应混合物倒入水中并用EtOAc(2×25mL)萃取。将合并的有机层经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到粗料,将粗料用EtOAc和己烷的混合溶剂研磨,得到1.81g(78%)4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲醛。将滤液再次减压浓缩,得到另外615mg(基于91%的纯度,收率为24%)的所需产物。在考虑纯度后,总共得到了2.37g产物。产物似乎为所需产物与O-苄基上过度硝化的产物的混合物。两批均直接使用,不进一步纯化。

[0216] 步骤B:将4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲醛(1.81g, 6.30mmol)在TFA(11mL)中的混合物在60℃加热20小时,然后回流5小时。将反应混合物减压浓缩得到粗料,将粗料通过硅胶快速柱色谱(0.5%MeOH的CH₂Cl₂溶液)纯化得到236mg(19%)4-羟基-5-甲氧基-2-硝基苯甲醛。

[0217] 步骤C:在室温下向4-羟基-5-甲氧基-2-硝基苯甲醛(0.2358g, 1.196mmol)和1,1,1-三氟-N-苄基-N-(三氟甲基磺酰基)甲烷磺胺(0.5341g, 1.495mmol)在CH₂Cl₂(2.5mL)中的溶液加入TEA(0.2513mL, 1.794mmol)。反应混合物变为深红,在室温下搅拌23小时。将反应混合物用CH₂Cl₂(25mL)稀释,用饱和NaHCO₃水溶液(15mL)然后用盐水(15mL)洗涤。将有机层经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到粗料,将粗料通过硅胶快速柱色谱(5至10%EtOAc的己烷溶液)纯化得到224mg(57%)4-甲酰基-2-甲氧基-5-硝基苯基三氟甲磺酸酯。

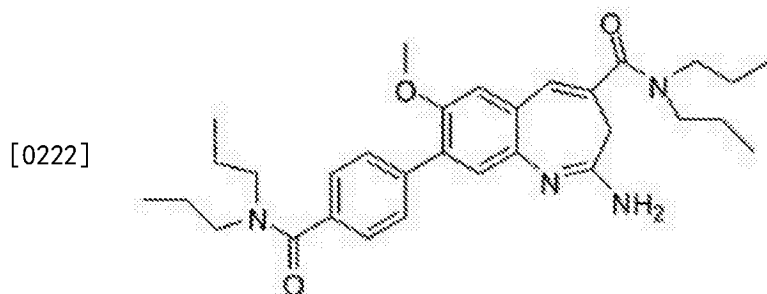
[0218] 步骤D:根据“化合物47的合成”的步骤D用4-甲酰基-2-甲氧基-5-硝基苯基三氟甲磺酸酯替换3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛制备了2-(氰甲基)-3-(5-甲氧基-2-硝基-4-(三氟甲基磺酰氧基)苯基)丙烯酸乙酯(81%)。

[0219] 步骤E:根据“化合物47的合成”的步骤E用2-(氰甲基)-3-(5-甲氧基-2-硝基-4-(三氟甲基磺酰氧基)苯基)丙烯酸乙酯替换(E)-2-(氰甲基)-3-(3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)丙烯酸乙酯制备了(1E, 4E)-2-氨基-7-甲氧基-8-(三氟甲基磺酰氧基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(49%)。m/z(APCI-pos)M+1=409.0。

[0220] 步骤F:向装有(1E, 4E)-2-氨基-7-甲氧基-8-(三氟甲基磺酰氧基)-3H-苯并[b]氮

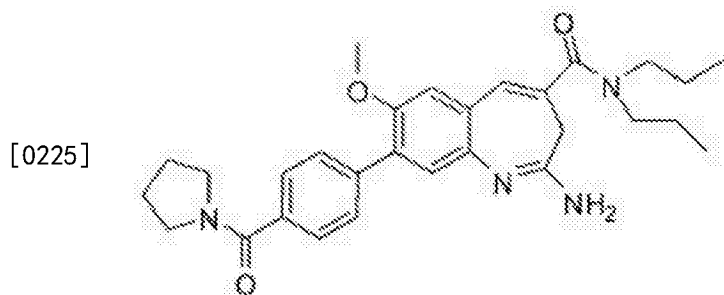
杂卓-4-羧酸乙酯(0.107g, 0.262mmol)、4-(吡咯烷-1-羰基)苯基硼酸(0.117g, 0.524mmol)、Pd(OAc)₂(0.00600g, 0.262mmol)、4,4'-(苯基磷烯)二(苯磺酸)二钾盐水合物(0.0289g, 0.0524mmol)、Na₂CO₃(0.0842g, 0.786mmol)和磁力搅拌棒的小瓶加入MeCN-H₂O(2.5mL/1.2mL)。将反应混合物用N₂鼓泡1分钟,在65℃加热2小时。将反应混合物冷却到室温,将固体物料滤除。将滤液用EtOAc(3×15mL)萃取。将合并的有机层经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到粗料,将粗料通过硅胶快速柱色谱(3至7%MeOH的CH₂Cl₂溶液,梯度)纯化得到仍含有硼酸的所需产物。将混合物再次溶于CH₂Cl₂(15mL),用饱和Na₂CO₃水溶液(3×20mL)洗涤,经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到59mg(52%)(1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯。¹H NMR(400MHz, CDCl₃)δ7.80(s, 1H), 7.60-7.63(m, 2H), 7.55-7.58(m, 2H), 7.24(s, 1H), 6.91(s, 1H), 4.88(br s, 2H), 4.29-4.37(m, 2H), 3.83(s, 3H), 3.64-3.69(m, 2H), 3.50-3.55(m, 2H), 2.97(s, 2H), 1.85-2.01(m, 4H), 1.36-1.42(m, 3H); m/z(APCI-pos)M+1=434.2。

[0221] 化合物12和65的合成



[0223] (1E,4E)-2-氨基-8-(4-(二丙基氨基甲酰基)苯基)-7-甲氧基-N,N-二丙基-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺

[0224] 和



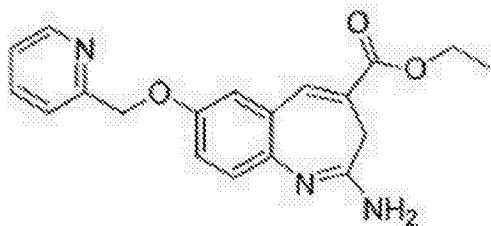
[0226] (1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-N,N-二丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺

[0227] 步骤A:根据“化合物70的合成”的步骤E用(1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(化合物76)替换(1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯制备了(1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-N,N-二丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺(20%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃)δ7.54-7.62(m, 4H), 7.28(s, 1H), 6.79-6.82(m, 2H), 3.82(s, 3H), 3.64-3.70(m, 2H), 3.39-3.55(m, 6H), 2.89(s, 2H), 1.85-2.01(m, 4H), 1.61-1.71(m, 4H), 0.87-0.98(m, 6H); m/z(APCI-pos)M+1=489.2。还从反应混合物中分离了(1E,4E)-2-氨基-8-(4-(二丙基氨基甲酰基)苯基)-7-甲氧基-N,N-二丙基-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺(19%)。¹H NMR(400MHz,

CDCl_3) δ 7.55-7.60(m, 2H), 7.37-7.41(m, 2H), 7.33(s, 1H), 6.81-6.84(m, 2H), 3.82(s, 3H), 3.38-3.53(m, 6H), 3.20-3.29(m, 2H), 2.98(s, 2H), 1.52-1.77(m, 8H), 0.75-1.03(m, 12H); m/z (APCI-pos) $M+1=519.3$ 。

[0228] 化合物74的合成

[0229]



[0230] (1E, 4E)-2-氨基-7-(吡啶-2-基甲氧基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯

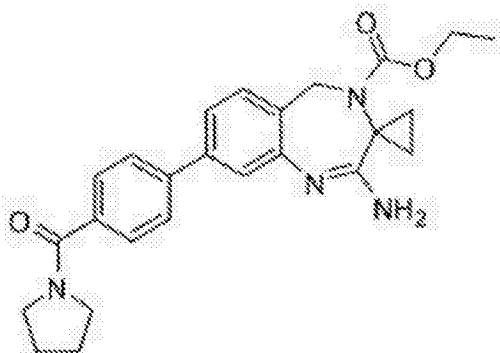
[0231] 步骤A:将5-羟基-2-硝基苯甲醛(7.44g, 44.5mmol)溶于60mLDMF。向该溶液中加入碳酸钾(13.0g, 93.5mmol),得到了橘红色混合物。在室温下搅拌5分钟后,接着将2-氯甲基吡啶盐酸盐(6.25g, 49.0mmol)加入,将混合物升至65℃保持16小时。然后将反应混合物减压浓缩,并将所得的粗料置于二氯甲烷中,用水、饱和碳酸氢钠溶液、盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并减压浓缩。得到了10.45g(91%)2-硝基-5-(吡啶-2-基甲氧基)苯甲醛。

[0232] 步骤B:根据“化合物63的合成”的步骤B用2-硝基-5-(吡啶-2-基甲氧基)苯甲醛替换5-溴-2-硝基苯甲醛制备了(E)-2-(氰甲基)-3-(2-硝基-5-(吡啶-2-基甲氧基)苯基)丙烯酸乙酯(99%)。

[0233] 步骤C:根据“化合物63的合成”的步骤C用(E)-2-(氰甲基)-3-(2-硝基-5-(吡啶-2-基甲氧基)苯基)丙烯酸乙酯替换(E)-3-(5-溴-2-硝基苯基)-2-(氰甲基)丙烯酸乙酯制备了(1E, 4E)-2-氨基-7-(吡啶-2-基甲氧基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(19%)。 ^1H NMR(400MHz, MeOH- d_4) δ 8.55(d, 1H), 7.88(t, 1H), 7.74(s, 1H), 7.63(d, 1H), 7.38(t, 1H), 7.05-7.13(m, 2H), 7.01-7.03(m, 1H), 5.19(s, 2H), 4.29(q, 2H), 2.96(s, 2H), 1.36(t, 3H)。

[0234] 化合物88的合成

[0235]



[0236] (E)-2-氨基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)螺[苯并[e][1,4]二氮杂卓-3,1'-环丙烷]-4(5H)-羧酸乙酯

[0237] 步骤A:步骤A:(E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷的制备:将4-溴-2-硝基甲苯(100g, 463mmol)、吡咯烷(46.2mL, 565mmol)和N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛(75.6mL, 565mmol)的溶液在110℃下回流4小时。将反应混合物冷却到室温,减压浓缩得到不进一步纯化而直接使用的粗(E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷。

[0238] 步骤B:4-溴-2-硝基苯甲醛的制备:在0℃下,向高碘酸钠(298g, 1.40mol)在THF-

H₂O中的溶液(4L, 1:1)加入(E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷(138g, 464mmol)。将混合物搅拌15h, 然后过滤以除去固体沉淀。将滤液中的含水层分离, 用EtOAc(4×200mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(2×200mL)洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤并减压浓缩得到粗产物, 通过硅胶快速柱色谱(5%EtOAc的己烷溶液)纯化得到91g(86%)4-溴-2-硝基苯甲醛。

[0239] 步骤C: 3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛的制备: 在室温下向4-溴-2-硝基苯甲醛(20.2g, 87.9mmol)、4-(吡咯烷-1-羰基)苯基硼酸(21.2g, 96.7mmol)和Pd(PPh₃)₄(508mg, 0.440mmol)在甲苯(200mL)中的溶液加入EtOH(40mL)然后加入Na₂CO₃(70.0mL, 140mmol, 2M水溶液)。将所得的混合物在100℃加热18h。将反应混合物冷却到室温, 并分离有机层。将含水层用EtOAc(300mL)萃取。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤, 经MgSO₄干燥, 过滤并减压浓缩得到粗料, 将粗料与得自相同反应规模的附加运行中的另一批粗料合并。将合并的粗料通过硅胶快速柱色谱(CH₂Cl₂至1%MeOH的CH₂Cl₂溶液)纯化得到51g(90%)3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛。

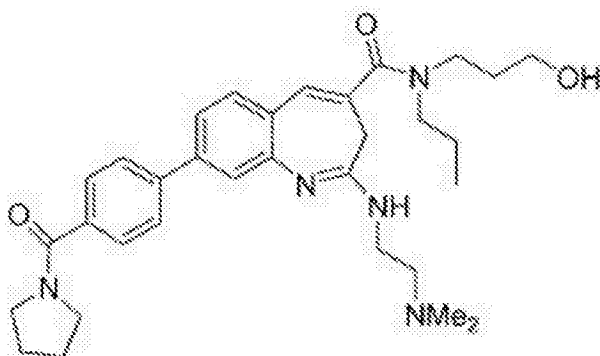
[0240] 步骤D: 将3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛(0.410g, 1.27mmol)溶于10ml甲醇。向其中加入1-氨基环丙腈盐酸盐(0.150g, 1.27mmol)然后加入氰基硼氢化钠(0.0954g, 1.52mmol), 将混合物在室温下搅拌16小时。然后将混合物减压浓缩, 将所得的残余物置于EtOAc中, 用饱和碳酸氢钠洗涤两次, 经硫酸钠干燥并浓缩得到0.145g粗1-((3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)甲基氨基)环丙烷甲腈(29%)。m/z(APCI-pos)M+1=391.2。

[0241] 步骤E: 将1-((3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)甲基氨基)环丙烷甲腈(0.100g, 0.256mmol)溶于3ml无水二氯甲烷并冷却到0℃。向其中加入吡啶(0.0518ml, 0.640mmol)然后加入氯甲酸乙酯(0.0488ml, 0.512mmol), 然后让混合物在16小时内升至室温。然后将混合物用DCM(50ml)稀释, 用1N HCl水溶液、饱和碳酸氢钠洗涤一次, 经硫酸钠干燥并浓缩。快速色谱(Flash40Biotage40M柱; 1:1EtOAc:己烷至100%EtOAc)得到了0.045g(38%)1-氰基环丙基((3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)甲基)氨基甲酸乙酯。m/z(APCI-pos)M+1=463.3。

[0242] 步骤F: 将1-氰基环丙基((3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)甲基)氨基甲酸酯(0.040g, 0.0865mmol)溶于3ml乙酸中。向其中加入铁粉(0.0241g, 0.432mmol), 将混合物升至90℃保持30分钟。将混合物冷却至室温, 然后倒入饱和碳酸氢钠溶液(100ml)中, 再加入50ml EtOAc。然后将该混合物通过GF/F滤纸过滤, 分离有机物, 经硫酸钠干燥, 并减压浓缩。制备型薄层色谱(2×0.5mm板, 10%MeOH/DCM/0.5%NH₄OH)得到了12mg(32%)(E)-2-氨基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)螺[苯并[e][1,4]二氮杂卓-3,1'-环丙烷]-4(5H)-羧酸乙酯。¹H NMR(400MHz, CDCl₃)δ7.56-7.66(m, 4H), 7.21-7.29(m, 3H), 4.56(s, 2H), 4.21(q, 2H), 3.64-3.70(m, 2H), 3.46-3.53(m, 2H), 1.86-2.01(m, 4H), 4.31(t, 3H), 1.08-1.12(m, 2H), 0.95-1.00(m, 2H); m/z(APCI-pos)M+1=433.2。

[0243] 化合物47的合成

[0244]



[0245] (1E, 4E)-2-(2-(二甲基氨基)乙基氨基)-N-(3-羟基丙基)-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺

[0246] 步骤A:(E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷的制备:将4-溴-2-硝基甲苯(100g, 463mmol)、吡咯烷(46.2mL, 565mmol)和N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛(75.6mL, 565mmol)的溶液在110℃下回流4小时。将反应混合物冷却到室温,减压浓缩得到不进一步纯化而直接使用的粗(E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷。

[0247] 步骤B:4-溴-2-硝基苯甲醛的制备:在0℃下,向高碘酸钠(298g, 1.40mol)在THF-H₂O中的溶液(4L, 1:1)加入(E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷(138g, 464mmol)。将混合物搅拌15h,然后过滤以除去固体沉淀。将滤液中的含水层分离,用EtOAc(4×200mL)萃取。将合并的有机层用H₂O(2×200mL)洗涤,经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到粗产物,通过硅胶快速柱色谱(5%EtOAc的己烷溶液)纯化得到91g(86%)4-溴-2-硝基苯甲醛。

[0248] 步骤C:3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛的制备:在室温下向4-溴-2-硝基苯甲醛(20.2g, 87.9mmol)、4-(吡咯烷-1-羰基)苯基硼酸(21.2g, 96.7mmol)和Pd(PPh₃)₄(508mg, 0.440mmol)在甲苯(200mL)中的溶液加入EtOH(40mL)然后加入Na₂CO₃(70.0mL, 140mmol, 2M水溶液)。将所得的混合物在100℃加热18h。将反应混合物冷却到室温,并分离有机层。将含水层用EtOAc(300mL)萃取。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤,经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到粗料,将粗料与得自相同反应规模的附加运行中的另一批粗料合并。将合并的粗料通过硅胶快速柱色谱(CH₂Cl₂至1%MeOH的CH₂Cl₂溶液)纯化得到51g(90%)3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛。

[0249] 步骤D:(E)-2-(氰甲基)-3-(3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)丙烯酸乙酯的制备:将3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛(20.0g, 61.7mmol)和α-氰甲基羰乙氧基亚乙基三苯基膦(26.3g, 67.8mmol)在甲苯(200mL)中的混合物温和回流2.5h。将反应混合物冷却到室温并减压浓缩,得到不进一步纯化而直接使用的粗(E)-2-(氰甲基)-3-(3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)丙烯酸乙酯。

[0250] 步骤E:(1E, 4E)-乙基2-氨基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸酯的制备:在室温下向粗(E)-乙基2-(氰甲基)-3-(3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)丙烯酸酯在AcOH(650mL)中的溶液加入铁(29.1g, 521mmol)。将所得的混合物在85℃加热4h。将反应混合物冷却到室温,用CH₂Cl₂(250mL)稀释。滤除固体,用CH₂Cl₂(200mL)洗涤。将滤液减压浓缩得到粗料,将粗料再次用CH₂Cl₂(250mL)稀释。在用力搅拌下向该混合物中缓慢加入饱和Na₂CO₃水溶液(~330mL),直到其变为碱性(pH~9-10)。将所得的混合物滤除,用CH₂Cl₂(~250mL)洗涤。将含水层分离,用CH₂Cl₂(2×150mL)萃取。将合并的有机层用

盐水洗涤,经MgSO₄干燥,过滤得到粗料,将粗料用EtOAc(70mL)稀释。将混合物在室温下保持16h。对悬浮液进行过滤。将滤除的固体用EtOAc(100mL)洗涤,得到粗产物,将粗产物用少量CH₂Cl₂洗涤,得到20g(基于95%纯度,收率为62%)(1E,4E)-2-氨基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯。

[0251] 步骤F:(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯的制备:在室温下向(1E,4E)-2-氨基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(9.60g,23.8mmol)在CH₂Cl₂(100mL)中的混合物加入Boc₂O(5.97mg,27.4mmol)。将反应混合物搅拌3天。将所得的混合物用饱和NaHCO₃水溶液和盐水洗涤。将有机层分离,经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩,得到12.7g不进一步纯化而直接使用的粗(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯。MSAPCI(+)检测值m/z504(M+1)。

[0252] 步骤G:(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸的制备:在0℃下向(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(12.0g,23.8mmol)在THF-EtOH中的溶液(60mL/60mL)加入4N LiOH水溶液(23.8mL,95.3mmol)。将反应混合物升至室温并搅拌21h。在21h和24h后两次加入另外6mL 4N LiOH水溶液。再搅拌6h后,将所得的混合物减压浓缩,得到粗料,将粗料用水(50mL)稀释并用1N磷酸水溶液(~450mL)酸化至~3.5的pH。将~250mL CH₂Cl₂在酸化过程中加入以将粗料从稠悬浮液中提取出来。将酸化过程中形成的固体使用充填有Celite的玻璃过滤器滤除。将含水层分离,用CH₂Cl₂(3×100mL)萃取。将合并的有机层经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩,得到10.2g(90%)不进一步纯化而直接使用的粗(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸。MSAPCI(+)检测值m/z476(M+1)。

[0253] 步骤H:将3-(丙基氨基)丙-1-醇(7.80g,66.6mmol)和三乙胺(11.1ml,79.9mmol)溶于600ml二氯甲烷中并冷却到0℃。向该混合物中加入TBDMSCl(11.0g,73.2mmol),并将混合物在16小时的时间段内逐渐升至室温。然后将混合物用饱和碳酸氢钠溶液洗涤(3X),经硫酸钠干燥并浓缩得到16g(定量)3-(叔丁基二甲基硅氧基)-N-丙基丙-1-胺。

[0254] 步骤I:在室温下向(1E,4E)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸(0.100g,0.210mmol)和HOBT(0.0426g,0.315mmol)在CH₂Cl₂(1mL)中的浆液加入EDCI(0.0605g,0.315mmol)。将反应混合物搅拌50分钟。在室温下向该混合物中加入3-(叔丁基二甲基硅氧基)-N-丙基丙-1-胺(0.0690ml,0.252mmol)和TEA(0.0586ml,0.421mmol)。将所得的混合物搅拌1.5h。将反应混合物用EtOAc(10mL)稀释并用饱和NH₄Cl水溶液(5mL)洗涤。将有机层分离。将含水层再次用EtOAc(10mL)萃取。将合并的有机层用盐水(5mL)、饱和NaHCO₃水溶液(5mL)和盐水(5mL)洗涤。将有机层经MgSO₄干燥,过滤,并减压浓缩得到~168mg粗(1E,4E)-4-((3-(叔丁基二甲基硅氧基)丙基)(丙基)氨基甲酰基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-2-基氨基甲酸叔丁酯。m/z(APCI-pos)M+1=689.1。

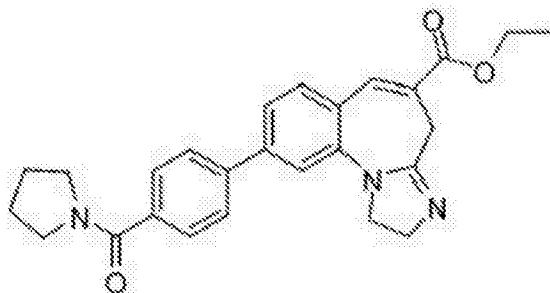
[0255] 步骤J:将(1E,4E)-4-((3-(叔丁基二甲基硅氧基)丙基)(丙基)氨基甲酰基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-2-基氨基甲酸叔丁酯(0.075g,0.109mmol)、N1,N1-二甲基乙烷-1,2-二胺(0.0250ml,0.218mmol)和TEA(0.040ml,

0.286mmol)在DMF(2mL)中的混合物在密封小瓶中在65℃下加热2.5h。再加入另外0.020mL(0.17mmol)N1,N1-二甲基乙烷-1,2-二胺。将所得的混合物在65℃再加热2.5h。将反应混合物冷却到室温,用EtOAc(15mL)稀释,然后用盐水(2×15mL)洗涤。将有机层经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到不进一步纯化而直接使用的粗(1E,4E)-N-(3-(叔丁基二甲基硅氧基)丙基)-2-(2-(二甲基氨基)乙基氨基)-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺(m/z(APCI-pos)M+1=660.4)。

[0256] 步骤K:在室温下向(1E,4E)-N-(3-(叔丁基二甲基硅氧基)丙基)-2-(2-(二甲基氨基)乙基氨基)-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺(0.0718g,0.109mmol)在THF(2mL)中的溶液加入HCl(4M的二噁烷溶液)(0.0952mL,0.381mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2h。将反应混合物用EtOAc(15mL)稀释,再用饱和NaHCO₃水溶液(10mL)洗涤。将含水层分离,用EtOAc(2×15mL)萃取。将合并的有机层用饱和NaHCO₃水溶液(4×10mL)洗涤,经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到粗料,将粗料通过硅胶快速柱色谱(5%MeOH的CH₂Cl₂溶液至NH₄OH-MeOH-CH₂Cl₂混合溶液(1/5/95))纯化得到21mg(两步36%)(1E,4E)-2-(2-(二甲基氨基)乙基氨基)-N-(3-羟基丙基)-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺(36%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ7.68-7.72(m,2H),7.58-7.62(m,2H),7.50-7.53(m,1H),7.30-7.33(m,1H),7.23-7.27(m,1H),6.84(s,1H),3.58-3.71(m,6H),3.40-3.53(m,6H),2.84(s,2H),2.47-2.54(m,2H),2.27(s,6H),1.94-2.02(m,2H),1.87-1.93(m,2H),1.87-1.93(m,2H),1.77-1.85(m,2H),1.61-1.72(m,2H),0.84-0.94(m,3H);m/z(APCI-pos)M+1=546.3。

[0257] 化合物90的合成

[0258]



[0259] (E)-9-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-2,4-二氢-1H-苯并[f]咪唑并[1,2-a]氮杂卓-5-羧酸乙酯

[0260] 步骤A:向0℃下的4-溴-1-甲基-2-硝基苯(300g,1.38mol)在乙酸酐(2400mL)中的溶液缓慢加入浓硫酸(324mL),然后加入三氧化铬(384g,3.84mol)在乙酸酐(2160mL)中的溶液。将内部温度控制在10℃以下。搅拌1小时后,将烧瓶中的内容物倒入冰和水的混合物中。将固体过滤并用水洗涤,直到洗涤液无色。在搅拌下将产物悬浮在1800mL12%的碳酸钠水溶液中。彻底混合后,将固体过滤,用水洗涤,然后减压干燥。

[0261] 将二醋酸盐在1360mL浓盐酸、1250mL水和480mL乙醇的混合物中的悬浮液回流45分钟。然后将混合物冷却到室温,将固体过滤并用水洗涤。不进一步纯化得到了棕色固体4-溴-2-硝基苯甲醛(147g,两步45%)。

[0262] 步骤B:将4-溴-2-硝基苯甲醛(25.45g,0.11mol)和α-氰甲基羰乙氧基亚乙基(50g,0.129mol)在甲苯(800mL)中的混合物温和回流2.5小时。将反应混合物冷却到室温,

减压浓缩得到不进一步纯化而直接使用的粗(E)-3-(4-溴-2-硝基苯基)-2-(氰甲基)丙烯酸乙酯。

[0263] 步骤C:在室温下向粗(E)-3-(4-溴-2-硝基苯基)-2-(氰甲基)丙烯酸乙酯在AcOH(500mL)中的溶液加入铁(40g,0.716mol)。将所得的混合物在85℃加热6小时。将反应混合物冷却到室温,用CH₂Cl₂稀释。将所得的混合物过滤,将固体用CH₂Cl₂洗涤。减压浓缩滤液得到粘稠油。向粗料中加入CH₂Cl₂,并在搅拌下将Na₂CO₃加入,直到其pH变为9-10。将混合物滤除,用CH₂Cl₂洗涤。将有机层分离。将含水层用CH₂Cl₂萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。将溶剂减压浓缩得到粗料,将粗料通过硅胶快速柱色谱(PE100%至PE/EA2/1)纯化得到20g(两步58.8%)(1E,4E)-2-氨基-8-溴-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯和(E)-8-溴-2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(2g)。

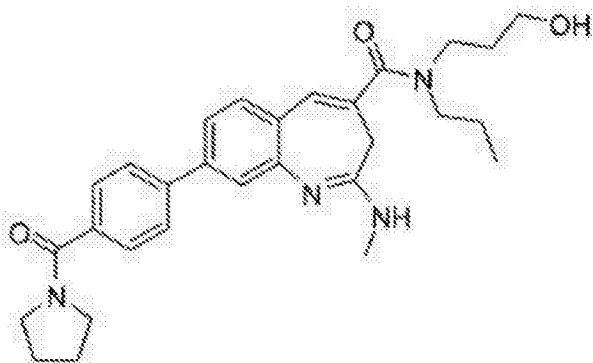
[0264] 步骤D:将(E)-8-溴-2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(0.25g,1.0mmol)和劳森试剂(0.45g,1.1mmol)在二噁烷(20mL)中的溶液回流16小时。将反应混合物浓缩,通过快速色谱(PE100%至PET:EA=5:1)纯化得到0.149g(58%)(E)-8-溴-2-硫氧-2,3-二氢-1H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯。

[0265] 步骤E:在80℃下向(E)-8-溴-2-硫氧-2,3-二氢-1H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(2g,8mmol)和2-溴乙胺氢溴酸盐(11.5g,88mmol)在500ml THF中的溶液加入HgCl₂(2.3g,8mmol)。将混合物回流1小时。将THF减压除去,将残余物悬浮在DCM中。将固体通过过滤器除去,然后将有机层用0.2M Na₂S₂O₃水溶液洗涤以除去未反应的HgCl₂。经K₂CO₃干燥后,将有机层减压蒸发。将粗化合物通过硅胶柱(从1:1PET:EA至5:1DCM:MeOH)纯化,得到了1.8g(86.9%)的(E)-9-溴-2,4-二氢-1H-苯并[f]咪唑并[1,2-a]氮杂卓-5-羧酸乙酯。

[0266] 步骤F:在氮气氛围下,将(E)-9-溴-2,4-二氢-1H-苯并[f]咪唑并[1,2-a]氮杂卓-5-羧酸乙酯(0.41g,10mmol)、4-(吡咯烷-1-羰基)苯基硼酸(0.44g,20mmol)、Cs₂CO₃(0.61g,20mmol)和Pd(PPh₃)₄(0.1g,10mol%)溶于50ml EtOH中。将混合物回流,直到TLC表明反应完成(通常为2小时)。冷却后,将反应混合物倒入水中并用EtOAc萃取。将合并的有机层经MgSO₄干燥,真空浓缩,将粗产物通过硅胶色谱(EA100%至1:10MeOH:EA)纯化得到0.3g(60%)的(E)-9-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-2,4-二氢-1H-苯并[f]咪唑并[1,2-a]氮杂卓-5-羧酸乙酯。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ 7.79(s,1H),7.62-7.64(m,4H),7.38-7.41(m,1H),7.14-7.16(m,1H),4.28-4.34(m,2H),3.97-4.03(m,2H),3.85-3.91(m,2H),3.65-3.70(m,2H),3.47-3.52(m,4H),1.87-2.02(m,4H),1.35-1.40(m,3H);m/z(APCI-pos)M+1=430.3。

[0267] 化合物46的合成

[0268]



[0269] (1E,4E)-N-(3-羟基丙基)-2-(甲基氨基)-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-

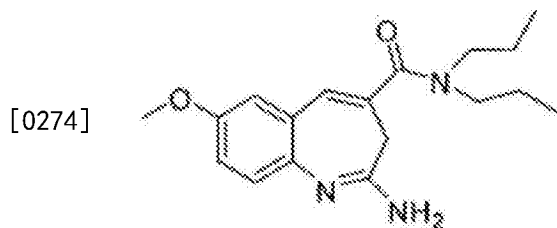
3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺

[0270] 步骤A:根据“化合物33的合成”的步骤H用3-(叔丁基二甲基硅氧基)-N-丙基丙-1-胺替换二丙胺制备了(1E,4E)-4-((3-(叔丁基二甲基硅氧基)丙基)(丙基)氨基甲酰基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-2-基氨基甲酸叔丁酯(59%)。m/z(APCI-pos)M+1=689.0。

[0271] 步骤B:向(1E,4E)-4-((3-(叔丁基二甲基硅氧基)丙基)-(丙基)氨基甲酰基)-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-2-基氨基甲酸叔丁酯(0.145g, 0.210mmol)、甲胺(2M的THF溶液)(0.210mL, 0.421mmol)和TEA(0.0590mL, 0.421mmol)在DMF(2mL)中的混合物在密封小瓶中在65℃加热1.5h。再加入0.11mL(0.22mmol)MeNH₂,将所得的混合物在65℃再加热3h。将反应混合物冷却到室温,用EtOAc(15mL)稀释,用饱和NaHCO₃水溶液然后用盐水洗涤。将有机层经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到粗料,将粗料通过硅胶快速柱色谱(1至5%MeOH的CH₂Cl₂溶液)纯化得到48mg(两步38%)(1E,4E)-N-(3-(叔丁基二甲基硅氧基)丙基)-2-(甲基氨基)-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺。m/z(APCI-pos)M+1=603.3。

[0272] 步骤C:在室温下向(1E,4E)-N-(3-(叔丁基二甲基硅氧基)丙基)-2-(甲基氨基)-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺(0.045g, 0.0746mmol)在THF(2mL)中的溶液加入HCl(4M的二噁烷溶液)(0.0467mL, 0.187mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1h。将反应混合物用醚(10mL)稀释并用饱和NaHCO₃水溶液(3×10mL)洗涤。将有机层经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到粗料,将粗料通过硅胶快速柱色谱(5至7%MeOH的CH₂Cl₂溶液)纯化得到19mg(53%)(1E,4E)-N-(3-羟基丙基)-2-(甲基氨基)-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)-苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.71(d, 2H), 7.60(d, 2H), 7.56(m, 1H), 7.30-7.35(m, 1H), 7.25-7.29(m, 1H), 6.85(s, 1H), 4.92(br s, 1H), 3.57-3.71(m, 6H), 3.44-3.54(m, 4H), 2.98(s, 3H), 2.79(s, 2H), 1.80-2.03(m, 6H), 1.58-1.75(m, 2H), 0.89-0.96(m, 3H); m/z(APCI-pos)M+1=489.2。

[0273] 化合物70的合成



[0275] (1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-N,N-二丙基-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺

[0276] 步骤A:根据“化合物47的合成”的步骤A用4-甲氧基-2-甲基-1-硝基苯替换4-溴-2-硝基甲苯制备了(E)-1-(5-甲氧基-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷(100%),并且不进一步纯化而使用。

[0277] 步骤B:根据“化合物47的合成”的步骤B用(E)-1-(5-甲氧基-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷替换(E)-1-(4-溴-2-硝基苯乙烯基)吡咯烷制备了5-甲氧基-2-硝基苯甲醛(97%),并且不进一步纯化而使用。

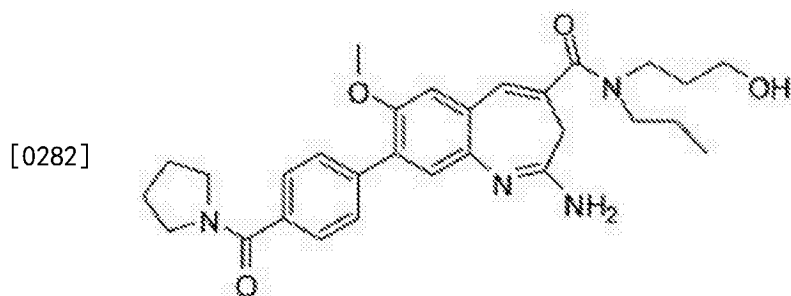
[0278] 步骤C:根据“化合物47的合成”的步骤D用5-甲氧基-2-硝基苯甲醛替换3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯基-4-甲醛制备了(E)-2-(氰甲基)-3-(5-甲氧基-2-硝基苯基)丙

烯酸乙酯(100%),并且不进一步纯化而使用。

[0279] 步骤D:根据“化合物47的合成”的步骤E用(E)-2-(氰甲基)-3-(5-甲氧基-2-硝基苯基)丙烯酸乙酯替换(E)-2-(氰甲基)-3-(3-硝基-4'-(吡咯烷-1-羰基)联苯-4-基)丙烯酸乙酯制备了(1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(60%)。m/z (APCI-pos)M+1=261.1。

[0280] 步骤E:向0℃下的二丙胺(0.105ml,0.768mmol)在甲苯(2mL)中的溶液加入AlMe₃(2M的甲苯溶液)(0.960ml,1.92mmol)。将所得的混合物升至室温。向该混合物中分批加入(1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(0.100g,0.384mmol)。将反应混合物在100℃加热21h。将反应混合物冷却到室温并倒入0.5N罗谢尔盐(Rochelle's salt)水溶液中。将所得的混合物用力搅拌20分钟,然后用EtOAc(3×20mL)萃取。将合并的有机层经MgSO₄干燥,过滤并减压浓缩得到粗料,将粗料通过硅胶快速柱色谱(3至9%MeOH的CH₂Cl₂溶液,梯度)纯化得到46mg(38%)(1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-N,N-二丙基-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ7.16-7.19(m,1H),6.93-6.96(m,1H),6.72-6.76(m,2H),4.82(br s,2H),3.83(s,3H),3.37-3.49(m,4H),2.75(s,2H),1.60-1.70(m,4H),0.86-0.97(m,6H);m/z(APCI-pos)M+1=316.2。

[0281] 化合物25的合成



[0283] (1E,4E)-2-氨基-N-(3-羟基丙基)-7-甲氧基-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺

[0284] 步骤A:根据“化合物70的合成”的步骤E用3-(丙基氨基)丙-1-醇替换二丙胺以及用(1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯(化合物76)替换(1E,4E)-2-氨基-7-甲氧基-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酸乙酯制备了(1E,4E)-2-氨基-N-(3-羟基丙基)-7-甲氧基-N-丙基-8-(4-(吡咯烷-1-羰基)苯基)-3H-苯并[b]氮杂卓-4-羧酰胺(25%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ7.54-7.63(m,4H),7.24(s,1H),6.83(s,1H),6.80(s,1H),4.90(br s,2H),3.81(s,3H),3.58-3.70(m,6H),3.44-3.55(m,4H),2.81(s,2H),1.80-2.00(m,6H),1.66-1.75(m,2H),0.82-0.97(m,3H);m/z(APCI-pos)M+1=505.2。

[0285] 实施例2

[0286] HEK/TLR试验

[0287] 本发明化合物的活性可通过以下试验测定。

[0288] HEK-293hTLR转染试验采用HEK293细胞,所述细胞通过各种hTLR稳定转染并经含有NF-κB驱动分泌胚胎碱性磷酸(SEAP)报道基因的质粒瞬时共转染。TLR的刺激激活其下游信号转导途径并诱导转录因子NF-κB核易位。然后使用分光光度法试验测量了报道基因活

性。

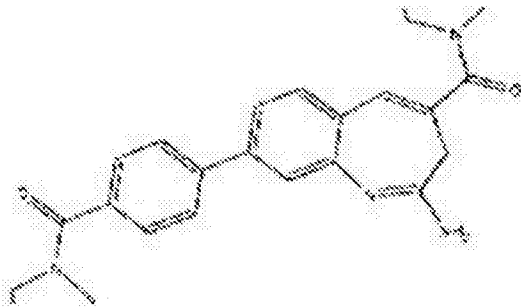
[0289] 为了测量激动剂活性,按照供应商说明制备人类胚胎肾(HEK)细胞(例如可得自InvivoGen, San Diego, CA的293XL-hTLR8细胞)并用各种浓度的供试化合物孵育过夜。所诱导的荧光素酶量通过读取650nm下的吸光度而测量。本发明的激动剂化合物具有25 μ M或更小的MC₅₀,其中MC₅₀定义为观察到最大诱导的50%的浓度。

[0290] 对于TLR8拮抗剂试验,将细胞根据供应商说明用报道基因在第1天进行瞬时转染。在第2天,在添加TLR8激动剂大约2小时后将拮抗剂化合物加入培养物中。将培养物孵育过夜,在第3天测量SEAP活性。

[0291] 在典型的试验中,按每个培养孔50,000个HEK239hTLR8细胞接种,然后用SEAP报道基因瞬时转染。在0.1纳摩尔至10微摩尔的浓度范围内,将拮抗剂加入培养基和>1%DMSO的培养物中。在2小时后以固定的浓度(例如1微摩尔或10微摩尔化合物A)将TLR8激动剂加入培养物中,然后将培养物在潮湿的CO培养箱中在37°C下孵育16-24小时。还在不存在激动剂的情况下评估了拮抗剂。

[0292] TLR8激动剂化合物A具有以下结构

[0293]



参见W02007/024612。

[0294] 在25 μ M下TLR8拮抗剂的活性在表2中给出,其中+表示20-39的%抑制,++表示40-59的%抑制,+++表示60-79的%抑制,而++++表示80-99的%抑制。在一些情况下,在较低的浓度下,例如在8.3、2.8或低于1 μ M的浓度下评估了拮抗剂活性。

[0295] 表2

[0296]

化合物	%抑制
47	+
88	+
90	+++
76	+++
33	++++
63	++++
74	+++
46	++
70	++
25	+
65	+++
76	++++

[0297] 在测量IC₅₀值的hTLR8试验中测量了TLR8拮抗剂活性。将化合物用hTLR8报告细胞孵育两小时,然后将1μM化合物A加入以诱导TLR8过夜。然后计算了IC₅₀。

[0298] IC₅₀结果在下表3中示出,其中+表示大于或等于10μM的IC₅₀,++表示5-10的值,+++表示1-5的值,而++++表示小于1的值。

[0299] 表三

[0300]

化合物	IC ₅₀ (μM)
88	++
76	+
33	+++
63	++++
74	+++
65	++
12	+++

[0301] IC₅₀结果在下表4中示出,其中+表示大于或等于10,000的IC₅₀(nM),++表示1,000-10,000的值,+++表示小于1,000的值。

[0302] 表4

化合物 编号	IC ₅₀ , nM, vs.				
	VTX-378			3M002	
	0.5μM	1μM	10μM	1μM	10μM
3173	+++	+++			
3348	+++	+++			+++

[0303]

[0304]	3260	+++	+++			+++
	2931		+++	++		
	2984		+++	++		
	2986		+++	+		
	2987		+++	++		
	2966		+	+		
	2919		+	+		
	2976		+	+		
	3000		+	+		
	2922		++	+		
	2929		+	+		
	2962		+	+		
	2926		++	+		
	2954		+	+		
	3020		+	+		

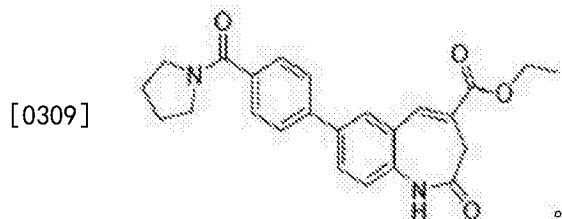
[0305] 实施例3

[0306] 人PBMC试验

[0307] 使用人外周血单核细胞(PBMC)进一步证实了本发明化合物的拮抗剂活性。PBMC包含表达TLR8的细胞(包括单核细胞和髓样树突状细胞(mDC))的混合物。当通过小分子TLR8激动剂刺激时, PBMC产生升高水平的IL-8。评估了TLR8拮抗剂抑制TLR8在人PBMC中的产生的能力。当将细胞用CL075刺激时观察到了剂量依赖性抑制, CL075是一种结构不同的噻唑喹啉(thiazoquinoline)TLR8激动剂。图1显示了在用CL075刺激的人PBMC中IL-8产生情况的剂量依赖性抑制。图1中所示的数据是得自在平行培养孔中评价的一个供体的代表性实验。将渐增浓度(从3至1000nM)的化合物3348、2987、3261、3387和3448(在图1中标记为VTX-3348、VTX-2987、VTX-3261、VTX-3387、VTX-3448)加到人PBMC中(在RPMI中50,000个细胞/孔)并在37℃下在潮湿的CO₂培养箱中孵育2小时。将CL075(Invivogen)加入达到100ng/ML(400nM)的最终浓度,将细胞孵育过夜。在孵育结束时,将细胞离心,将细胞培养上清通过ELISA(eBioscience试剂盒)根据制造商的说明分析IL-8。代表IL-8水平的吸光度(OD450nm)在图1的y轴上示出。在不存在任何TLR8激动剂或拮抗剂(NS)的情况下, OD为0.417, 而添加CL075将OD增至1.3777(图1左侧的前两个竖条)。如图1中所示, 在存在渐增浓度的TLR8拮抗剂的情况下, IL-8水平以剂量依赖性方式降低。

[0308] 将图1所示的实验在多个供体中重复并采用另外的TLR8拮抗剂分子(参见图2)。将

细胞用CL075(100ng/mL)刺激,并如图1所述测量了IL-8产生情况的抑制。在图2中,抑制百分比显示在y轴上,TLR8拮抗剂的浓度(3-1000nM)显示在x轴上。化合物764种具有以下结构:



[0310] 前述说明被视为仅举例说明本发明的原理。另外,由于众多的修改和变化对本领域技术人员而言是显而易见的,因此不打算使本发明局限于如上所述的准确构造和工艺。因此,所有合适的修改和等价形式可诉诸于落入如以下权利要求书限定的本发明范围内。

[0311] 词语“包含”、“包括”、“含有”当在本说明书和以下权利要求书中使用时欲指所述特征、整数、组分或步骤的存在性,但它们不排除存在或添加一个或多个其他特征、整数、组分、步骤或它们的组。

[0312] 以引用的方式并入

[0313] 本文提及的专利文献和科学论文的每一者的整个公开内容以引用方式并入以用于所有目的。

[0314] 等价形式

[0315] 本发明可在不脱离其精神或本质特征的情况下体现为其他具体的形式。前述具体实施方案因此被视为在所有方面均为示例性的而非限制本文所述的发明。本发明的范围因此由所附权利要求书而不是前述说明指定,并且落在权利要求书等价形式的含义和范围内的所有变化也旨在包括在其中。

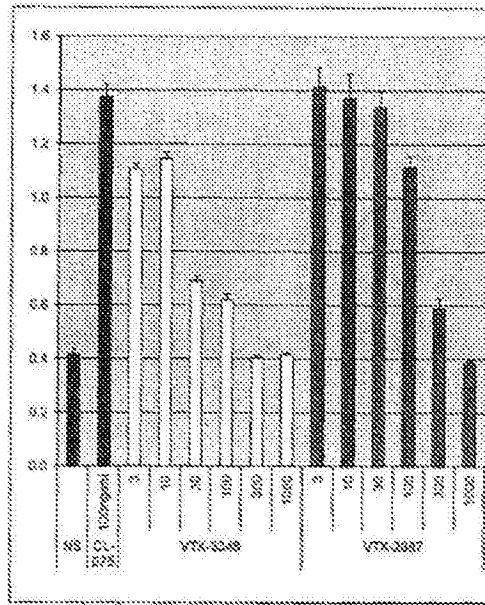


图1

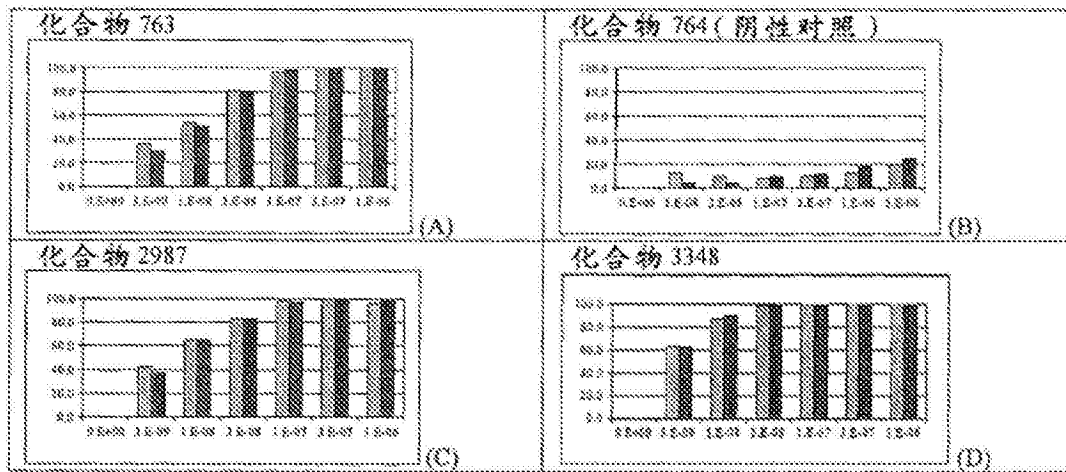


图2