



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108473430 B

(45) 授权公告日 2021.05.25

(21) 申请号 201680043514.2
 (22) 申请日 2016.06.03
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 108473430 A
 (43) 申请公布日 2018.08.31
 (30) 优先权数据
 15170763.5 2015.06.05 EP
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2018.01.24
 (86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/EP2016/062696 2016.06.03
 (87) PCT国际申请的公布数据
 W02016/193459 EN 2016.12.08
 (73) 专利权人 领先制药控股公司
 地址 荷兰奈梅亨
 专利权人 赛诺菲
 (72) 发明人 J·M·G·B·卡尔斯 V·德金伯
 S·B·纳博斯
 (74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
 代理人 陈桢

(51) Int.Cl.
 C07D 213/75 (2006.01)
 C07D 215/08 (2006.01)
 C07D 231/40 (2006.01)
 C07C 317/32 (2006.01)
 C07D 261/08 (2006.01)
 C07D 261/14 (2006.01)
 C07D 207/325 (2006.01)
 C07D 285/135 (2006.01)
 C07D 211/16 (2006.01)
 C07D 307/52 (2006.01)
 A61K 31/10 (2006.01)
 A61P 37/00 (2006.01)
 A61P 29/00 (2006.01)
 C07D 277/46 (2006.01)

(56) 对比文件
 CN 1726197 A, 2006.01.25
 WO 2011156655 A2, 2011.12.15
 WO 2014125426 A1, 2014.08.21
 WO 2012166951 A9, 2013.02.21
 WO 2013029338 A1, 2013.03.07
 WO 2013171729 A2, 2013.11.21
 审查员 王沙沙

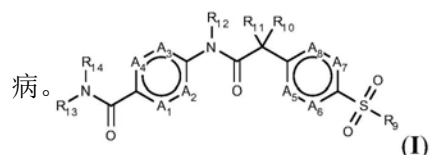
权利要求书4页 说明书22页

(54) 发明名称

ROR γ 调节剂

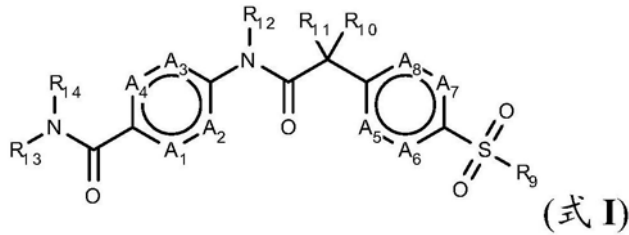
(57) 摘要

本发明涉及式I的化合物或其药用盐。所述化合物可以用作ROR γ 的抑制剂并且用于治疗ROR γ 介导的疾病诸如自身免疫性疾病和炎性疾



CN 108473430 B

1. 式I的化合物或其药用盐



其中：

-A₁-A₈分别是N或CR₁-CR₈，条件是A₁-A₄中的四个位置A中的不超过两个可以同时是N并且A₅-A₈中的四个位置A中的不超过两个可以同时是N；

-R₁-R₈独立地是H、卤素或C(1-6)烷基；

-R₉是C(1-6)烷基；

-R₁₀和R₁₁独立地是H、F、甲基、乙基、羟基或甲氧基，所有烷基如果存在则任选被一个或多个F取代；

-R₁₂是H或C(1-6)烷基；

-R₁₃是C(3-6)环烷基、C(3-6)环烷基C(1-3)烷基、C(2-5)杂环烷基、C(2-5)杂环烷基C(1-3)烷基、C(6-10)芳基、C(6-10)芳基C(1-3)烷基、C(1-9)杂芳基或C(1-9)杂芳基C(1-3)烷基，所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代；

-R₁₄是H、C(1-6)烷基、C(2-6)烯基、C(3-6)环烷基、C(3-6)环烷基C(1-3)烷基、C(2-5)杂环烷基、C(2-5)杂环烷基C(1-3)烷基、C(6-10)芳基、C(6-10)芳基C(1-3)烷基、C(1-9)杂芳基或C(1-9)杂芳基C(1-3)烷基，所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代；

-或者通过将为C(1-6)烷基或C(2-6)烯基的R₁₃与R₁₄定义内的独立取代基连接来使R₁₃和R₁₄耦合并形成具有5至7个原子的环，所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代；并且进一步地，其中：

i) 术语C(1-9)杂芳基是指具有1至9个碳原子和1至4个杂原子的芳族基团，所述基团可经由碳原子或可行的氮原子连接，并且在所述基团中所有碳原子可任选被一个或多个卤素或甲基取代；

ii) 术语C(2-5)杂环烷基是指具有2-5个碳原子和1-3个杂原子的饱和环状烃基团，所述基团可经由碳原子或可行的氮原子连接，并且在所述基团中所有碳原子可以任选被一个或多个卤素或甲基取代；且

iii) 术语杂原子是指氮、硫或氧原子。

2. 权利要求1的化合物或其药用盐，其中A₁-A₈中的所有位置A是CR₁-CR₈。

3. 权利要求1的化合物或其药用盐，其中A₁-A₈中的一个位置A是N，剩余的位置A是CR₁-CR₈。

4. 权利要求1的化合物或其药用盐，其中位置A₁或A₂是N且A₁-A₈中的剩余的位置A是CR₁-CR₈。

5. 权利要求1的化合物或其药用盐,其中位置 A_6 或 A_7 是N且 A_1-A_8 中的剩余的位置A是 CR_1-CR_8 。

6. 权利要求1的化合物或其药用盐,其中 R_1-R_8 独立地是H、卤素或甲基。

7. 权利要求1的化合物或其药用盐,其中 R_9 是C(1-3)烷基。

8. 权利要求1的化合物或其药用盐,其中 R_{10} 和 R_{11} 两者均是H。

9. 权利要求1的化合物或其药用盐,其中 R_{12} 是H。

10. 权利要求1的化合物或其药用盐,其中 R_{13} 是C(3-6)环烷基、C(3-6)环烷基C(1-3)烷基、C(2-5)杂环烷基、C(4)杂环烷基-C(1-3)烷基、C(6)芳基、C(6)芳基C(1-3)烷基、C(1-5)杂芳基或C(1-5)杂芳基-C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代。

11. 权利要求1的化合物或其药用盐,其中 R_{14} 是H、C(1-6)烷基、C(2-6)烯基、C(3-6)环烷基、C(3-6)环烷基C(1-3)烷基、C(4)杂环烷基、C(2-5)杂环烷基C(1-3)烷基、C(6)芳基、C(6)芳基C(1-3)烷基、C(1-5)杂芳基或C(1-5)杂芳基C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代;且

术语C(1-5)杂芳基是指具有1-5个碳原子和1-4个杂原子的芳族基团,其可以经由碳原子或可行的氮原子连接,其中在所述基团中所有碳原子可任选被一个或多个卤素或甲基取代。

12. 权利要求1的化合物或其药用盐,其中通过将为C(1-6)烷基或C(2-6)烯基的 R_{13} 与选自以下的独立的 R_{14} 取代基连接来使 R_{13} 和 R_{14} 耦合并形成具有5至7个原子的环:C(3-6)环烷基、C(3-6)环烷基C(1-3)烷基、C(2-5)杂环烷基、C(2-5)杂环烷基-C(1-3)烷基、C(6)芳基、C(6)芳基C(1-3)烷基、C(1-5)杂芳基或C(1-5)杂芳基-C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代;且

术语C(1-5)杂芳基是指具有1-5个碳原子和1-4个杂原子的芳族基团,其可以经由碳原子或可行的氮原子连接,其中在所述基团中所有碳原子可任选被一个或多个卤素或甲基取代。

13. 权利要求1的化合物,其选自:

4- {2- [4- (乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} -N-甲基-N- (5-甲基-1,2-噁唑-3-基) 苯甲酰胺;
N- (1,3-二甲基-1H-吡唑-5-基) -4- {2- [4- (乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} -N-乙基苯甲酰胺;

4- {2- [4- (乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} -N-乙基-N- (3-甲基-1,2-噁唑-5-基) 苯甲酰胺;
4- {2- [4- (乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} -N-乙基-N- (5-甲基-1,3,4-噁二唑-2-基) 苯甲酰胺;

4- {2- [4- (乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} -N- (5-甲基-1,2-噁唑-3-基) -N-丙基苯甲酰胺;
N- (1,3-二甲基-1H-吡唑-5-基) -4- {2- [4- (乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} -N-丙基苯甲酰胺;

4- {2- [4- (乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} -N-乙基-2-氟-N-苯基苯甲酰胺;

4- {2- [4- (乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} -N-乙基-3-氟-N-苯基苯甲酰胺;

2-氯-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基-N-苯基苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基-N-(1,2-噁唑-3-基)苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-苯基-N-(2,2,2-三氟乙基)苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基-3-甲基-N-苯基苯甲酰胺；
N-(4-甲基-5-甲基-1,3-噁唑-2-基)-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基苯甲酰胺；
N-(二甲基-1,2-噁唑-4-基)-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基-2-甲基-N-苯基苯甲酰胺；
N-叔丁基-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-苯基苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-(4-甲基苯基)-N-[2-(氧杂环戊烷-2-基)丙-2-基]苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-[2-(氧杂环戊烷-2-基)丙-2-基]-N-苯基苯甲酰胺；
N-环丙基-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-苯基苯甲酰胺；
N-环丁基-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-苯基苯甲酰胺；
N-(3,3-二氟环丁基)-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-苯基苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-苯基-N-(1,1,1-三氟丙-2-基)苯甲酰胺
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-甲基-N-(吡啶-2-基)苯甲酰胺；
6-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基-N-苯基吡啶-3-甲酰胺；
N-苄基-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-丙基苯甲酰胺；
N-苄基-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-甲基苯甲酰胺；
N-(环丙基甲基)-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-丙基苯甲酰胺；
2-[4-(乙磺酰基)苯基]-N-[4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基)苯基]乙酰胺；
2-[4-(乙磺酰基)苯基]-N-[4-(2-苯基吡咯烷-1-羰基)苯基]乙酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-甲基-N-苯基苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-丙基-N-(吡啶-3-基)苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基-N-(吡啶-3-基)苯甲酰胺；
2-[4-(乙磺酰基)苯基]-N-[4-(2-苯基哌啶-1-羰基)苯基]乙酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基-N-苯基苯甲酰胺；
N,N-二环丁基-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-乙基-N-[(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)甲基]苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-(呋喃-2-基甲基)-N-甲基苯甲酰胺；
N,N-二苄基-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-(氧杂环戊烷-3-基)-N-(吡啶-2-基)苯甲酰胺；
N-环丙基-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-(吡啶-2-基)苯甲酰胺；
N-环丁基-4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-(吡啶-2-基)苯甲酰胺；
4-[2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基]-N-(1-羟基-2-甲基丙-2-基)-N-(4-甲基苯基)

苯甲酰胺；

4- {2- [6- (乙磺酰基) 吡啶-3-基] 乙酰氨基} -N-乙基-2-氟-N-苯基苯甲酰胺；
N-叔丁基-4- {2- [6- (乙磺酰基) 吡啶-3-基] 乙酰氨基} -N-苯基苯甲酰胺和
2-氯-4- {2- [6- (乙磺酰基) 吡啶-3-基] 乙酰氨基} -N-乙基-N-苯基苯甲酰胺。

14. 权利要求1-13中的任一项的化合物或其药用盐在制备用于治疗ROR γ 介导的疾病或病症的药物中的用途。

15. 药物组合物, 其包含权利要求1-13中的任一项的式I的化合物或其药用盐和一种或多种药用赋形剂。

16. 权利要求15的药物组合物, 其进一步包含至少一种另外的治疗活性剂。

17. 权利要求1-13中的任一项的化合物或其药用盐在制备用于治疗类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、克罗恩病或多发性硬化的药物中的用途。

18. 权利要求1-13中的任一项的化合物或其药用盐在制备用于治疗骨关节炎或哮喘的药物中的用途。

19. 权利要求1-13中的任一项的化合物或其药用盐在制备用于治疗粘膜利什曼病的药物中的用途。

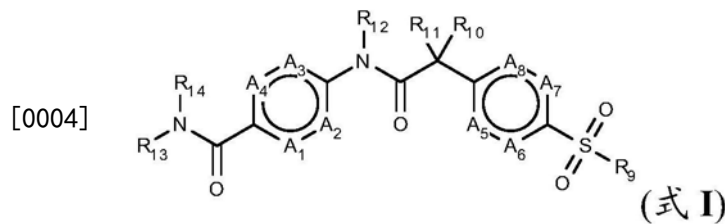
20. 权利要求1-13中的任一项的化合物或其药用盐在制备用于治疗川崎病或桥本氏甲状腺炎的药物中的用途。

ROR γ 调节剂

[0001] 维甲酸受体相关性孤儿受体 γ t (ROR γ t) 不但充当 T_H17 细胞发育的主调节因子, 还充当非 T_H17 IL-17 产生细胞例如 γ δ T 细胞中的关键组件。ROR 基因家族为核激素受体超家族的一部分, 并由三个成员 (ROR α 、ROR β 和 ROR γ) 组成。各基因在不同亚型中表达, 主要区别在于其 N 末端序列。已鉴定了 ROR γ 的两种亚型: ROR γ 1 和 ROR γ 2 (还称作 ROR γ t)。术语 ROR γ 在本文中用于描述 ROR γ 1 和/或 ROR γ 2 二者。

[0002] 本发明涉及含有 4-[2-(4-磺酰基苯基) 乙酰氨基] 苯甲酰胺结构骨架的新 ROR γ 调节剂化合物、包含其的药物组合物以及所述化合物用于治疗 ROR γ 介导的疾病或病症特别是自身免疫性疾病和炎症疾病的用途。

[0003] 本发明涉及式 I 的化合物



[0005] 或其药用盐, 其中:

[0006] $-A_1-A_8$ 分别是 N 或 CR_1-CR_8 , 条件是 A_1-A_4 中的四个位置 A 中的不超过两个可以同时是 N 并且 A_5-A_8 中的四个位置 A 中的不超过两个可以同时是 N;

[0007] $-R_1-R_8$ 独立地是 H、卤素、氨基、C (1-3) 烷氧基、(二) C (1-3) 烷基氨基或 C (1-6) 烷基;

[0008] $-R_9$ 是 C (1-6) 烷基;

[0009] $-R_{10}$ 和 R_{11} 独立地是 H、F、甲基、乙基、羟基或甲氧基或 R_{10} 和 R_{11} 一起为羰基, 所有烷基如果存在则任选被一个或多个 F 取代;

[0010] $-R_{12}$ 是 H 或 C (1-6) 烷基;

[0011] $-R_{13}$ 是 C (3-6) 环烷基、C (3-6) 环烷基 C (1-3) 烷基、C (2-5) 杂环烷基、C (2-5) 杂环烷基 C (1-3) 烷基、C (6-10) 芳基、C (6-10) 芳基 C (1-3) 烷基、C (1-9) 杂芳基或 C (1-9) 杂芳基 C (1-3) 烷基, 所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C (1-3) 烷氧基、C (1-3) 烷氧基羰基、(二) C (1-3) 烷基氨基或 C (1-3) 烷基取代;

[0012] $-R_{14}$ 是 H、C (1-6) 烷基、C (2-6) 烯基、C (3-6) 环烷基、C (3-6) 环烷基 C (1-3) 烷基、C (2-5) 杂环烷基、C (2-5) 杂环烷基 C (1-3) 烷基、C (6-10) 芳基、C (6-10) 芳基 C (1-3) 烷基、C (1-9) 杂芳基或 C (1-9) 杂芳基 C (1-3) 烷基, 所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C (1-3) 烷氧基、C (1-3) 烷氧基羰基、(二) C (1-3) 烷基氨基或 C (1-3) 烷基取代;

[0013] - 或者通过将为 C (1-6) 烷基或 C (2-6) 烯基的 R_{13} 与 R_{14} 定义内的独立取代基连接来使 R_{13} 和 R_{14} 耦合并形成具有 5 至 7 个原子的环, 所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C (1-3) 烷氧基、C (1-3) 烷氧基羰基、(二) C (1-3) 烷基氨基或 C (1-3) 烷基取代。

[0014] 如本文所使用的术语 C (1-6) 烷基是指具有 1-6 个碳原子的支化或非支化的烷基, 例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、叔丁基、正戊基和正己基。所有碳原子可任选地被一个或多个卤素取代。

[0015] 本文使用的术语C(1-3)烷基是指具有1-3个碳原子的烷基,即甲基、乙基、丙基或异丙基。所有碳原子可以任选被一个或多个卤素取代。

[0016] 本文使用的术语C(2-6)烯基是指具有2-6个碳原子的支化或非支化的烯基,例如4-己烯基、丁-2-烯基、1-亚甲基丙基、2-丙烯基(烯丙基)和乙烯基(乙烯基)。所有碳原子可任选被一个或多个卤素取代。

[0017] 如本文所使用的术语C(6-10)芳基是指具有6-10个碳原子的芳族烃基,例如苯基或萘基。所有碳原子可任选地被一个或多个卤素取代。

[0018] 如本文所使用的术语C(6-10)芳基C(1-3)烷基是指连接至C(1-3)烷基的C(6-10)芳基,两者均具有如前所定义的含义。

[0019] 如本文所使用的术语C(6)芳基是指具有6个碳原子的芳族烃基,即苯基。所有碳原子可任选地被一个或多个卤素取代。

[0020] 如本文所使用的术语C(6)芳基C(1-3)烷基是指连接至C(1-3)烷基的C(6)芳基,两者均具有如前所定义的含义。

[0021] 如本文所使用的术语杂原子是指氮、硫或氧原子。

[0022] 本文使用的术语氨基是指 NH_2 基团。

[0023] 本文使用的术语C(1-9)杂芳基是指具有1至9个碳原子和1至4个杂原子的芳族基团,其可以经由氮原子(如果可行)或碳原子连接。实例包括咪唑基、噻二唑基、吡啶基、嘧啶基、呋喃基、吡唑基、异噁唑基、四唑基、噁唑、噻唑基和喹啉基。所有碳原子可任选被一个或多个卤素或甲基取代。

[0024] 本文使用的术语C(1-9)杂芳基C(1-3)烷基指连接到C(1-3)烷基上的C(1-9)杂芳基,二者具有与前面所述相同的定义。

[0025] 本文使用的术语C(1-5)杂芳基是指具有1-5个碳原子和1-4个杂原子的芳族基团,其可以经由氮原子(如果可行)或碳原子连接。实例包括咪唑基、噻二唑基、吡啶基、嘧啶基、呋喃基、吡唑基、异噁唑基和四唑基。所有碳原子可任选被一个或多个卤素或甲基取代。

[0026] 本文使用的术语C(1-5)杂芳基C(1-3)烷基是指连接到C(1-3)烷基上的C(1-5)杂芳基,二者具有与前面所述相同的定义。

[0027] 本文使用的术语C(3-6)环烷基是指具有3-6个碳原子的饱和环状烃,即环丙基、环丁基、环戊基或环己基。所有碳原子可任选被一个或多个卤素或甲基取代。

[0028] 本文使用的术语C(3-6)环烷基C(1-3)烷基是指连接到C(1-3)烷基上的C(3-6)环烷基,二者具有与前面所述相同的定义。一个实例是环丙基甲基。

[0029] 本文使用的术语C(2-5)杂环烷基是指具有2-5个碳原子和1-3个杂原子的饱和环状烃,其可以经由氮原子(如果可行)或碳原子连接。实例包括哌嗪基、吡唑烷基、哌啶基、吗啉基、氧杂环戊烷基和吡咯烷基。所有碳原子可以任选被一个或多个卤素或甲基取代。

[0030] 本文使用的术语C(4)杂环烷基是指具有4个碳原子和1-3个杂原子的饱和环状烃,其可以经由氮原子(如果可行)或碳原子连接。实例包括哌嗪基、氧杂环戊烷基和吡咯烷基。所有碳原子可以任选被一个或多个卤素或甲基取代。

[0031] 本文使用的术语C(2-5)杂环烷基C(1-3)烷基是指连接到C(1-3)烷基上的C(2-5)杂环烷基,二者具有与前面所述相同的定义。

[0032] 本文使用的术语C(4)杂环烷基C(1-3)烷基是指连接到C(1-3)烷基上的C(4)杂环

烷基,二者具有与前面所述相同的定义。

[0033] 本文使用的术语(二)C(1-3)烷基氨基是指被C(1-3)烷基单取代或二取代的氨基,所述C(1-3)烷基具有与前述定义相同的含义。

[0034] 术语C(1-3)烷氧基是指具有1-3个碳原子的烷氧基,该烷基是支化或非支化的。所有碳原子任选被一个或多个F取代。

[0035] 术语C(1-3)烷氧基羰基是指被C(1-3)烷氧基取代的羰基,所述C(1-3)烷氧基具有与前面所述相同的定义。

[0036] 本文使用的术语卤素是指Cl或F。

[0037] 在以上具有多官能团的定义中,连接位点是在最后的基团。

[0038] 当在取代基的定义中指出所述取代基的“所有烷基”被任选取代时,其还包括烷氧基的烷基部分。

[0039] 术语“取代的”是指一个或多个指定原子上的一個或多个氢被指示基团的选择所取代,条件是不超出现有环境下指定原子的正常化合价,以及所述取代导致稳定化合物。取代基和/或变量的组合只有在此组合导致稳定化合物的情况下才是可允许的。“稳定化合物”或“稳定结构”被定义为从反应混合物分离至有用纯度以及配制为有效治疗剂时足够稳固以继续存在的化合物或结构。

[0040] 术语“任选取代的”是指被指定基团、原子团或部分任选取代。

[0041] 术语药用盐表示以下那些盐类:其是在医学判断的范围内,适用于与人和低等动物的组织接触使用而无异常毒性、刺激性、过敏反应等,并与合理的收益/风险比相称。药用盐是本领域熟知的。它们可在本发明化合物的最终分离和纯化期间获得,或通过使游离碱官能团与适当的无机酸如盐酸、磷酸或硫酸反应,或者与有机酸如抗坏血酸、柠檬酸、酒石酸、乳酸、马来酸、丙二酸、富马酸、乙醇酸、琥珀酸、丙酸、乙酸、甲磺酸等反应而单独获得。酸官能团可与有机或无机碱如氢氧化钠、氢氧化钾或氢氧化锂反应。

[0042] 在一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中:

[0043] $-A_1-A_4$ 分别是 CR_1-CR_4 ;

[0044] -或 A_1 和 A_4 分别是 CR_1 和 CR_4 且 A_2 或 A_3 是N,剩余的位置A是 CR_2 或 CR_3 ;

[0045] $-A_5-A_8$ 分别是 CR_5-CR_8 ;

[0046] -或 A_5 和 A_8 分别是 CR_1 和 CR_4 且 A_6 或 A_7 是N,剩余的位置A是 CR_6 或 CR_7 ;

[0047] $-R_1-R_4$ 独立地是H、卤素或C(1-6)烷基;

[0048] $-R_5-R_8$ 独立地是H;

[0049] $-R_9$ 是C(1-3)烷基;

[0050] $-R_{10}$ 和 R_{11} 独立地是H;

[0051] $-R_{12}$ 是H;

[0052] $-R_{13}$ 是C(3-6)环烷基、C(3-6)环烷基C(1-3)烷基、C(2-5)杂环烷基C(1-3)烷基、C(6-10)芳基、C(6-10)芳基C(1-3)烷基、C(1-9)杂芳基或C(1-9)杂芳基C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个(1-3)烷基取代;

[0053] $-R_{14}$ 是C(1-6)烷基、C(2-6)烯基、C(3-6)环烷基、C(2-5)杂环烷基、C(6-10)芳基或C(6-10)芳基C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个卤素、羟基或C(1-3)烷基取代;

[0054] -或者通过将为C(1-6)烷基或C(2-6)烯基的 R_{13} 与为C(6-10)芳基或C(6-10)芳基C

(1-3) 烷基的 R_{14} 定义内的独立取代基连接来使 R_{13} 和 R_{14} 稠合并形成具有5至7个原子的环。

[0055] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中:

[0056] $-A_1-A_4$ 分别是 CR_1-CR_4 ;

[0057] -或 A_1 和 A_4 分别是 CR_1 和 CR_4 且 A_2 或 A_3 是N,剩余的位置A是 CR_2 或 CR_3 ;

[0058] $-A_5-A_8$ 分别是 CR_5-CR_8 ;

[0059] -或 A_5 和 A_8 分别是 CR_1 和 CR_4 且 A_6 或 A_7 是N,剩余的位置A是 CR_6 或 CR_7 ; R_1-R_4 独立地是H、Cl、F或甲基;

[0060] $-R_5-R_8$ 独立地是H;

[0061] $-R_9$ 是乙基;

[0062] $-R_{10}$ 和 R_{11} 独立地是H;

[0063] $-R_{12}$ 是H;

[0064] $-R_{13}$ 是环丁基、环丙基甲基、氧杂环戊烷基丙基、苯基、苄基、噁唑基、吡唑基、噻二唑基、噻唑基、吡啶基、噁唑基甲基或呋喃基甲基,所有基团任选被一个或多个甲基取代;

[0065] $-R_{14}$ 是甲基、乙基、叔丁基、羟基丙基、丙基、环丙基、环丁基、氧杂环戊烷基、苯基或苄基,所有基团任选被一个或多个F或甲基取代;

[0066] -或者 R_{13} 和 R_{14} 稠合并形成1,2,3,4-四氢喹啉、苯基吡咯烷或苯基哌啶。

[0067] 在一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中:

[0068] $-A_1-A_4$ 分别是 CR_1-CR_4 ;

[0069] $-A_5$ 和 A_8 分别是 CR_5 和 CR_8 ;

[0070] $-A_6$ 或 A_7 是N,剩余的位置A是 CR_6 或 CR_7 ;

[0071] $-R_1-R_4$ 独立地是H或卤素;

[0072] $-R_5-R_8$ 独立地是H;

[0073] $-R_9$ 是C(1-3)烷基;

[0074] $-R_{10}$ 和 R_{11} 独立地是H;

[0075] $-R_{12}$ 是H;

[0076] $-R_{13}$ 是C(6-10)芳基;

[0077] -且 R_{14} 是C(1-6)烷基。

[0078] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中:

[0079] $-A_1-A_4$ 分别是 CR_1-CR_4 ;

[0080] $-A_5$ 和 A_8 分别是 CR_5 和 CR_8 ;

[0081] $-A_6$ 或 A_7 是N,剩余的位置A是 CR_6 或 CR_7 ;

[0082] $-R_1-R_4$ 独立地是H、Cl或F;

[0083] $-R_5-R_8$ 独立地是H;

[0084] $-R_9$ 是乙基;

[0085] $-R_{10}$ 和 R_{11} 独立地是H;

[0086] $-R_{12}$ 是H;

[0087] $-R_{13}$ 是苯基;

[0088] -且 R_{14} 是乙基或叔丁基。

[0089] 在一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中 A_1-A_4 中的所有位置A是 CR_1-

CR₄。

[0090] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中A₅-A₈中的所有位置A是CR₅-CR₈。

[0091] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中A₁-A₈中的所有位置A是碳。

[0092] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中A₁-A₈中的一个位置A是N,剩余的位置A是碳。在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中位置A₁或A₂是N且A₁-A₈中的剩余的位置A是CR₁-CR₈。

[0093] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中位置A₆或A₇是N且A₁-A₈中的剩余的位置A是CR₁-CR₈。在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁-R₈独立地是H、卤素、甲氧基或甲基。

[0094] 在又另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁-R₈独立地是H、卤素或甲基。

[0095] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁-R₄中的所有位置R是H。

[0096] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁-R₄中的所有位置R是卤素或甲基。

[0097] 在又另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₈是甲基且R₅-R₇中的所有位置R是H。

[0098] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₅-R₈中的所有位置R是H。

[0099] 在又另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁-R₈中的所有位置R是H。

[0100] 在一个实施方案中,本发明还涉及式I的化合物,其中R₉是C(1-3)烷基。

[0101] 在另一个实施方案中,本发明还涉及式I的化合物,其中R₉是乙基。

[0102] 在一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁₀和R₁₁独立地是H、甲基或羟基。

[0103] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁₀和R₁₁两者均是H。

[0104] 本发明还涉及式I的化合物,其中R₁₂是H或C(1-3)烷基。

[0105] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁₂是H。

[0106] 在一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁₃是C(3-6)环烷基、C(3)环烷基C(1-3)烷基、C(2-5)杂环烷基、C(4)杂环烷基C(1-3)烷基、C(6)芳基、C(6)芳基C(1-3)烷基、C(1-5)杂芳基或C(1-5)杂芳基C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代。

[0107] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁₃是C(3-6)环烷基、C(3)环烷基C(1-3)烷基、C(4)杂环烷基C(1-3)烷基、C(6)芳基、C(6)芳基C(1-3)烷基、C(1-5)杂芳基或C(1-5)杂芳基C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个C(1-3)烷基取代。

[0108] 在又另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁₄是H、C(1-6)烷基、C(2-6)烯基、C(3-6)环烷基、C(3-6)环烷基C(1-3)烷基、C(4)杂环烷基、C(2-5)杂环烷基C(1-3)烷基、C(6)芳基、C(6)芳基C(1-3)烷基、C(1-5)杂芳基或C(1-5)杂芳基C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代。

[0109] 在又另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中R₁₄是C(1-6)烷基、C(3-6)

环烷基、C(4)杂环烷基、C(6)芳基或C(6)芳基C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个卤素、羟基或C(1-3)烷基取代。

[0110] 在另一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中 R_{14} 是H或C(1-6)烷基,所有烷基链任选被一个或多个卤素取代。

[0111] 在又一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中通过将为C(1-6)烷基或C(2-6)烯基的 R_{13} 与选自以下的独立的 R_{14} 取代基连接来使 R_{13} 和 R_{14} 稠合并形成具有5至7个原子的环:C(3-6)环烷基、C(3-6)环烷基C(1-3)烷基、C(2-5)杂环烷基、C(2-5)杂环烷基-C(1-3)烷基、C(6)芳基、C(6)芳基C(1-3)烷基、C(1-5)杂芳基或C(1-5)杂芳基-C(1-3)烷基,所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代。

[0112] 在又一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中通过将为丙基的 R_{13} 与选自以下的 R_{14} 连接来使 R_{13} 和 R_{14} 稠合并形成具有5至7个原子的环:C(1-6)烷基、C(2-6)烯基、C(2-5)杂环烷基、C(2-5)杂环烷基C(1-3)烷基、C(6)芳基、C(6)芳基C(1-3)烷基、C(1-5)杂芳基或C(1-5)杂芳基C(1-3)烷基,其中所有基团任选被一个或多个卤素、氨基、羟基、氰基、C(1-3)烷氧基、C(1-3)烷氧基羰基、(二)C(1-3)烷基氨基或C(1-3)烷基取代。

[0113] 在又一个实施方案中,本发明涉及式I的化合物,其中通过将为丙基的 R_{13} 与选自C(6)芳基或C(6)芳基C(1-3)烷基的 R_{14} 连接来使 R_{13} 和 R_{14} 稠合并形成具有5至7个原子的环。本发明还涉及那些化合物,其中 A_1 至 A_8 、 R_1 至 R_{14} 以及本文以上定义的在本发明各方面中的所有取代基的具体定义可在式I化合物的定义内以任意组合出现。

[0114] 在另一方面中,本发明涉及式I化合物,其具有5或更高的pIC50。在又另一方面中,本发明涉及式I的化合物,其具有超过6的pIC50。在又另一方面中,本发明涉及式I的化合物,其具有超过7的pIC50。在又另一方面中,本发明涉及式I的化合物,其具有超过8的pIC50。

[0115] 在又另一方面,本发明在于如实施例1-45中所述选择的式I的化合物。

[0116] 式I化合物可形成盐,其也在本发明的范围内。除非另有说明,否则提及本文中式I化合物被理解为包括提及其盐。

[0117] 式I化合物可包含不对称或手性中心,且因此以不同立体异构形式存在。意图使式I化合物的所有立体异构形式以及其混合物(包括外消旋混合物)形成本发明的部分。

[0118] 可基于非对映异构混合物的物理化学差异,通过本领域技术人员熟知的方法例如色谱和/或分步结晶将其分离为其个体非对映体。对映异构体的分离可通过与适当光学活性化合物(例如手性助剂如手性醇或Mosher酰氯)的反应将对映异构体混合物转化为非对映异构混合物,分离非对映体并将个体非对映体转化(例如水解)为相应的纯净对映异构体。对映异构体的分离还可通过使用手性HPLC柱。

[0119] 技术人员将会意识到期望的IC50值取决于所测试化合物。例如,IC50值小于 10^{-5} M的化合物将通常被考虑为药物筛选的候选物。优选地,此值小于 10^{-6} M。然而,具有较高IC50值但对特定受体具有选择性的化合物可能是甚至更好的候选物。

[0120] 本发明化合物抑制ROR γ 活性。ROR γ 活性调节的测量可使用例如生物物理学(天然)配体替代研究、生化AlphaScreen或FRET测定、细胞GAL4报告基因测定、细胞IL-17启动子报告基因测定或功能性IL-17 ELISA测定,使用例如在 T_H17 极化条件下培养的小鼠脾细

胞或人外周血单核细胞(PBMC)。

[0121] 在所述测定中,配体与ROR γ 相互作用的测定可通过测量例如辅因子来源肽与ROR γ 配体结合域的配体调节相互作用,或者使用例如荧光素酶报告基因测定或IL-17 ELISA测定测量配体调节ROR γ 介导的转录的基因产物。

[0122] 本发明还涉及药物组合物,其包含与药用赋形剂以及任选的其它治疗活性剂混合的具有通式I的化合物或其药用盐。

[0123] 本发明还涉及药物组合物,其包含与药用赋形剂和一种或多种药用赋形剂混合的具有通式I的化合物或其药用盐。

[0124] 就与组合物的其它组分相容并对其接受者无毒的意义上而言,所述赋形剂必须是“可接受的”。

[0125] 本发明还涉及包含至少一种另外的治疗活性剂的药物组合物。

[0126] 本发明另外包含与一种或多种其它药物组合的式I化合物。

[0127] 组合物包括例如适用于口服、舌下、皮下、静脉内、肌内、经鼻、局部或直肠给药等的那些,所有均为用于给药的单位剂型形式。

[0128] 对于口服给药,活性成分可呈现为离散单元,例如片剂、胶囊、粉末、颗粒、溶液、悬浮液等。

[0129] 对于肠胃外给药,本发明药物组合物可呈现在单位剂量或多剂量容器中,例如预设量的注射液体,例如在密封小瓶或安瓶中,并还可贮存在仅需在使用前加入无菌液体载体例如水的冷冻干燥(冻干)条件下。

[0130] 与所述药用赋形剂混合,活性剂可被压制为固体剂量单位,例如丸剂、片剂,或被加工成胶囊或栓剂。借助于药用液体,可将活性剂应用为流体组合物,例如溶液、悬浮液、乳液形式的注射制剂,或应用为喷雾剂例如鼻用喷雾。

[0131] 对于制备固体剂量单位,预期使用常规添加剂例如填充剂、着色剂、聚合物粘合剂等。通常,可使用不干扰活性化合物功能的任何药用添加剂。可与本发明活性剂一起给药为固体组合物的适当载体包括以适当量使用的乳糖、淀粉、纤维素衍生物等,或其混合物。对于肠胃外给药,可使用水性悬浮液、等渗盐溶液和无菌注射溶液,其包含药用分散剂和/或润湿剂,例如丙二醇或丁二醇。

[0132] 本发明另外包含如上文所述的药物组合物,其与适用于所述组合物的包装材料组合,所述包装材料包括使用用于如上文所述用途的组合物的说明。

[0133] 活性成分或其药物组合物的精确给药剂量和方案可伴随着特定化合物、给药途径以及给药药物的个体受试者的年龄和状况而有所不同。

[0134] 通常,肠胃外给药相比于更加依赖吸收的其它给药方法需要较少的剂量。然而,人用剂量优选包含0.0001-100mg/kg体重。期望剂量可呈现为一个剂量或在全天以适当间隔给药的多个亚剂量。

[0135] 本发明化合物可以用于治疗。

[0136] 本发明的一个另外方面在于根据本发明的化合物或其药用盐用于治疗ROR γ 介导的疾病或者ROR γ 介导的病症的用途。

[0137] 本发明的另一方面在于具有通式I的化合物或其药用盐用于治疗自身免疫疾病,具体为表达T_H17标志细胞因子的T_H17细胞和非T_H17细胞发挥显著作用的那些疾病的用途。

这些用途包括但不限于治疗治疗类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、克罗恩病和多发性硬化。

[0138] 在另一方面中,具有通式I的化合物或其药用盐可用于治疗表达 T_H17 标志细胞因子的 T_H17 细胞和/或非 T_H17 细胞发挥显著作用的炎性疾病,其例如但不限于呼吸系统疾病、骨关节炎和哮喘。而且,具有通式I的化合物或其药用盐可用于治疗表达 T_H17 标志细胞因子的 T_H17 细胞和/或非 T_H17 细胞发挥显著作用的传染疾病,其例如但不限于粘膜利什曼病。

[0139] 具有通式I的化合物或其药用盐还可用于治疗表达 T_H17 标志细胞因子的 T_H17 细胞和/或非 T_H17 细胞发挥显著作用的其它疾病,其例如但不限于川崎病和桥本氏甲状腺炎。

[0140] 本发明的又另一方面在于具有通式I的化合物用于治疗以下疾病的用途:多发性硬化、炎性肠病、克罗恩病、银屑病、类风湿性关节炎、哮喘、骨关节炎、川崎病、桥本氏甲状腺炎、癌症和粘膜利什曼病。

[0141] 在另一方面中,根据本发明的化合物可用于治疗或预防以下疾病的疗法中:多发性硬化、炎性肠病、克罗恩病、银屑病和类风湿性关节炎、哮喘、骨关节炎、川崎病、桥本氏甲状腺炎、癌症和粘膜利什曼病。

[0142] 在另一方面中,根据本发明的化合物可用于治疗或预防银屑病。

[0143] 在又另一方面中,根据本发明的化合物可用于治疗炎性肠病。

[0144] 通过以下实施例示例说明本发明。

[0145] 示例

[0146] 如以下实施例中所述的,在某些示例性实施方案中,根据以下一般操作制备化合物。应该理解的是,虽然一般方法描述了本发明的某些化合物的合成,但是可以将以下一般方法和本领域技术人员已知的其它方法应用于如本文所述的所有化合物和亚类和这些化合物中的每一种。

[0147] 一般制备方法

[0148] 包括通式I的化合物的本文所述的化合物可以容易地根据以下反应方案和实施例或其修改形式,使用容易获得的起始物质、试剂和常规合成操作来制备。许多反应也可以在微波条件下或使用常规加热或利用其它技术如固相试剂/清除剂或流式化学进行。在这些反应中,也可以使用本身为本领域技术人员已知但没有更详细地提及的变化形式。例如,在提及具体的酸、碱、试剂、偶联剂、溶剂等的情况下,应理解的是,可以使用其它合适的酸、碱、试剂、偶联剂、溶剂等并且包括在本发明的范围内。此外,根据以下反应方案和实施例,用于制备本发明化合物的其它方法对于本领域技术人员将是显而易见的。在合成中间体和最终产物含有潜在反应性官能团(例如可干扰所需反应的氨基、羟基、巯基和羧酸基团)的情况下,使用中间体的保护形式可能是有利的。用于选择、引入和随后移去保护基的方法是本领域技术人员公知的。通过使用一般反应顺序获得的化合物可能纯度不够。可以使用任何有机化合物的纯化方法,例如结晶或硅胶或氧化铝柱色谱,使用不同的溶剂,以合适的比例来纯化化合物。所有可能的立体异构体都视为在本发明的范围内。在下面的讨论中,除非另有说明,否则变量具有上述含义。

[0149] 这些实验细节中使用的缩写在下面列出,并且附加的缩写应被认为是合成化学领域的技术人员已知的。

[0150] 本文使用的缩写如下:r. t.:室温;HATU:2-(7-氮杂-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,

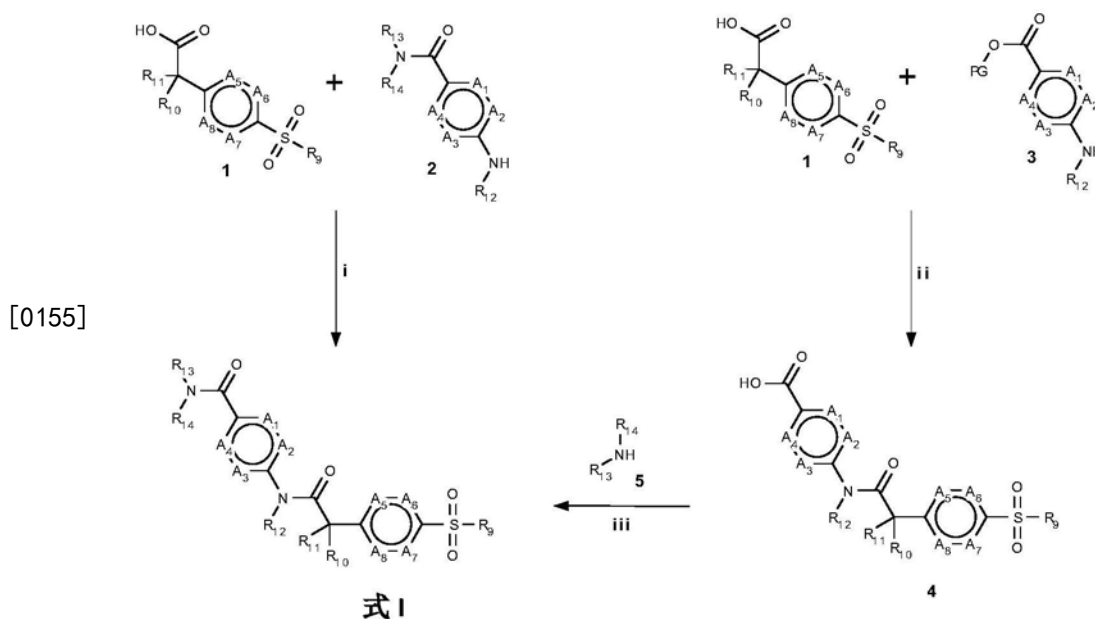
3-四甲基脲鎗六氟磷酸盐;DMF:二甲基甲酰胺;DiPEA:二异丙基乙胺;DMAP:4-(二甲基氨基)吡啶;DCC:N,N'-二环己基碳二亚胺;mCPBA:3-氯过氧苯甲酸;TFA:三氟乙酸;THF:四氢呋喃;DMSO:二甲基亚砜;PyBOP:(苯并三唑-1-基氧基)三吡咯烷子基鎗六氟磷酸盐;EtOH:乙醇;EDCI:1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺;AIBN:偶氮二异丁腈;NBS:N-溴琥珀酰亚胺;TBAF:四正丁基氟化铵;TMSCN:三甲基甲硅烷基氰化物。

[0151] 化学名称是优选的IUPAC名称,使用MarvinSketch版本6.3.0生成。

[0152] 如果使用化学结构和化学名称提及化学化合物,并且结构与名称之间存在模糊性,则以结构为主。

[0153] 一般操作

[0154] 方案1:

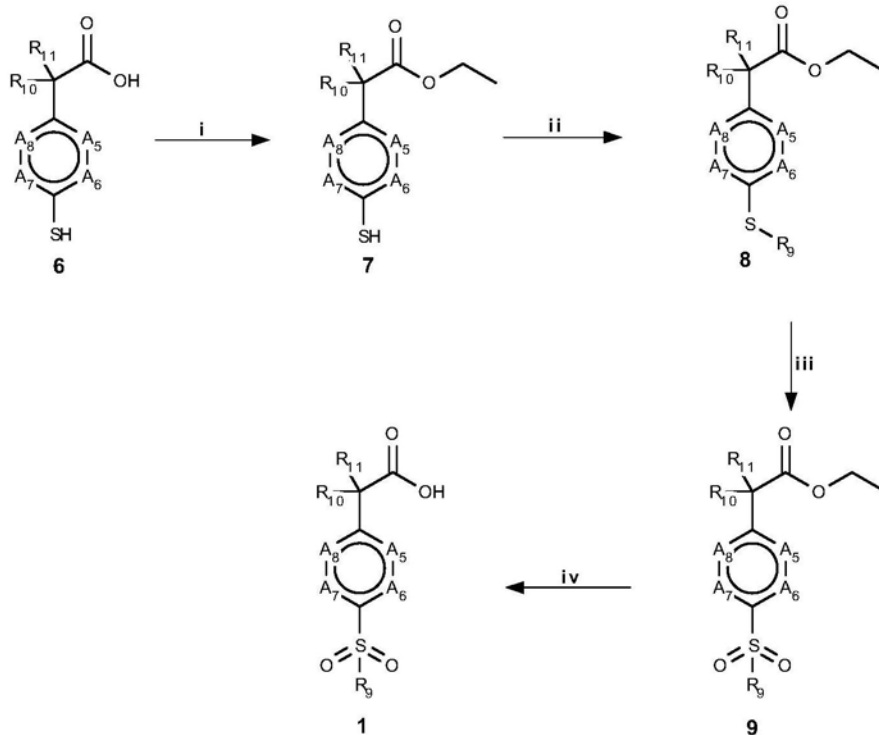


[0156] 如方案1所示,具有式I的本发明的衍生物可以通过有机化学领域已知的方法制备。本发明的化合物可以例如通过(杂)芳基乙酸衍生物₁(其中A₅、A₆、A₇、A₈、R₉、R₁₀和R₁₁具有如前所述的含义)与(杂)芳基氨基衍生物₂(其中A₁、A₂、A₃、A₄、R₁₂、R₁₃和R₁₄具有如前所述的含义)之间的酰胺偶联反应获得,其可以由有机化学领域的技术人员使用偶联试剂诸如EDCI、HATU、DCC或PyBOP等在合适的碱诸如DiPEA或催化剂诸如DMAP的存在下容易地制备。

[0157] 以另一种方式,可以使用例如SOCl₂或草酰氯,将(杂)芳基乙酸衍生物₁转化为酰氯,然后在适宜的碱诸如Et₃N等存在下将其与(杂)芳基氨基衍生物₂偶联,得到式I的衍生物。

[0158] 或者,使用如上所述的方法,可以使(杂)芳基乙酸衍生物₁与合适的酸保护的(杂)芳基氨基衍生物₃缩合,其中A₁、A₂、A₃、A₄和R₁₂具有如前所述的含义。在移去保护基之后,可以使用前述方法使得到的羧酸衍生物₄与合适的胺₅缩合,其中R₁₃和R₁₄具有如前所述的含义,得到式I的衍生物。

[0159] 方案2:



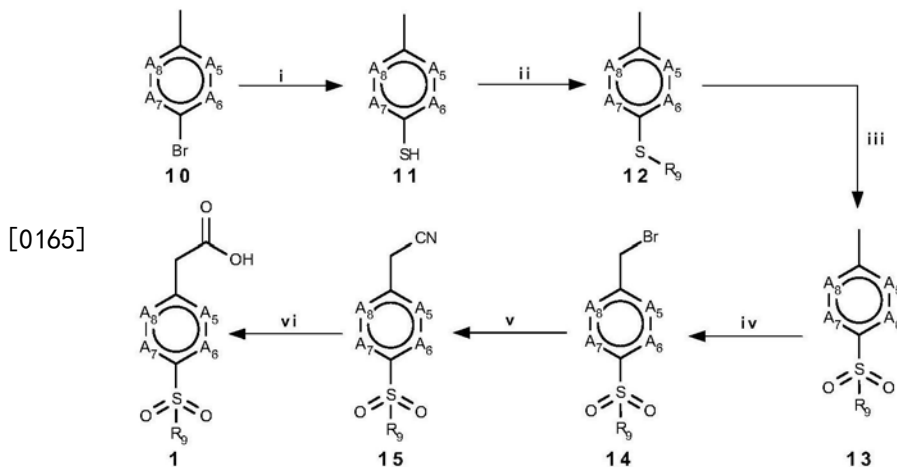
[0160]

[0161] 条件: i) H_2SO_4 , EtOH, $60^\circ C$; ii) 烷基卤化物, K_2CO_3 , CH_3CN , r. t.; iii) mCPBA, CH_2Cl_2 , r. t.; iv) 2N NaOH, EtOH, r. t.。

[0162] 方案2示例说明了用于制备构造块1的2-[4-(烷基磺酰基)苯基]乙酸衍生物的一般方法,其中 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 A_5 、 A_6 、 A_7 和 A_8 具有如前所述的含义。

[0163] 在酸性条件下使用例如 H_2SO_4 在乙醇中的溶液酯化4-巯基苯基乙酸衍生物6,得到2-(4-巯基苯基)乙酸乙酯衍生物7。在碱诸如 K_2CO_3 存在下使用烷基卤化物对巯基进行烷基化,得到相应的2-[4-(烷基硫基)苯基]乙酸乙酯衍生物8。使用例如mCPBA氧化,得到2-(4-烷基磺酰基苯基)乙酸乙酯衍生物9,其在碱性条件(例如NaOH在乙醇中的溶液)下将酯基团皂化后,得到相应的2-[4-(烷基磺酰基)苯基]乙酸衍生物1。

[0164] 方案3:



[0165]

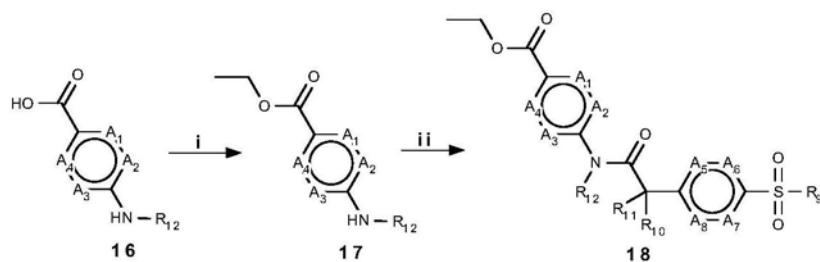
[0166] 条件 ($A_6=N$): i) 硫脲, HCl (aq), 回流; ii) 烷基卤化物, K_2CO_3 , CH_3CN , r. t.; iii) mCPBA, CH_2Cl_2 , $0^\circ C \rightarrow RT$; iv) NBS, AIBN, CH_3CN , $60^\circ C$; v) TMS-CN, TBAF, CH_3CN , 回流; vi) NaOH, EtOH, 回流。

[0167] 方案3显示了用于制备构造块1的2-(6-烷基磺酰基吡啶-3-基)乙酸衍生物的一般方法,其中A₆是N并且R₉、R₁₀、R₁₁、A₅、A₇和A₈具有如前所述的含义。

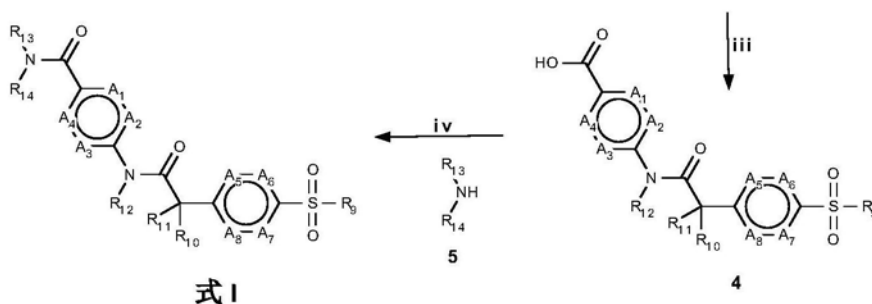
[0168] 2-溴-5-甲基吡啶衍生物10与硫脲在酸性条件下反应,得到5-甲基吡啶-2-硫醇衍生物11,其可以在合适的碱诸如碳酸钾存在下烷基化,得到相应的2-(烷基硫基)-5-甲基吡啶衍生物12。使用例如mCPBA氧化成相应的砜衍生物13,其在自由基引发剂诸如AIBN存在下用NBS进行自由基溴化后提供5-(溴甲基)-2-(乙基硫基)吡啶衍生物14。这些溴化物衍生物可以通过用氰化物源诸如TMSCN或氰化钾等处理而转化成相应的腈衍生物15。如果使用TMSCN,则需要加入氟化物源诸如TBAF等以原位生成氰化物亲核试剂。腈衍生物15的水解可以提供相应的构造块1的羧酸衍生物,其中A₆是N。

[0169] 一些构造块1是可商购的、已知的或根据本领域技术人员已知的方法制备的。

[0170] 方案4:



[0171]

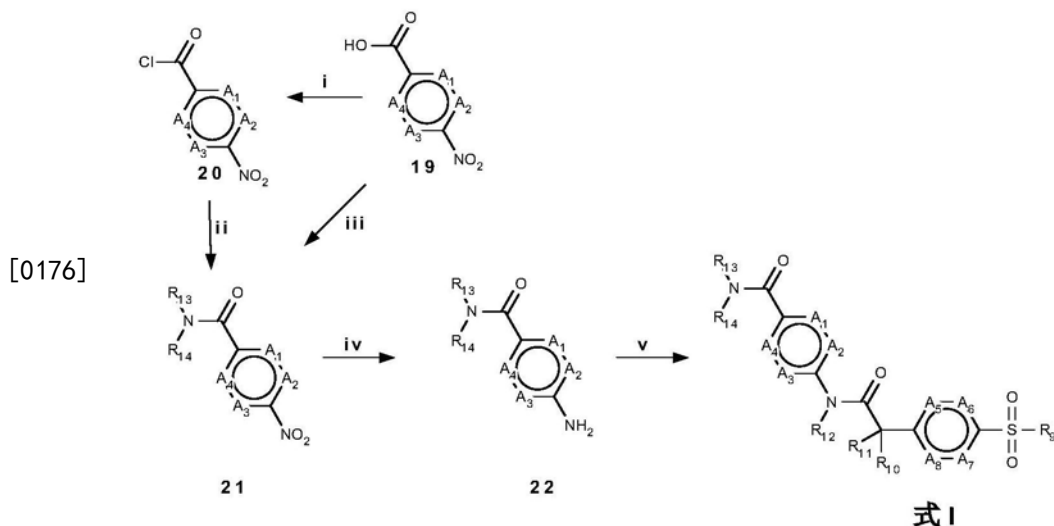


[0172] 条件:i) 乙醇, HCl_(cat), r. t.; ii) 合适的衍生物1, EDCI, DMAP, CH₂Cl₂, 60°C; iii) 2N NaOH, EtOH, 回流; iv) 合适的胺5, EDCI, DMAP, CH₂Cl₂, 60°C。

[0173] 方案4显示了用于制备式I酰胺衍生物的一般方法,其中R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄、A₁、A₂、A₃、A₄、A₅、A₆、A₇和A₈具有如前所述的含义。

[0174] 在酸性条件下,使羧酸衍生物16与乙醇反应,得到相应的乙酯衍生物17,其可以与2-[4-(烷基磺酰基)苯基]乙酸衍生物1在例如EDCI和DMAP存在下缩合,得到衍生物18。在碱性条件下,通过使用例如在乙醇中的NaOH将酯基团皂化后,可以在例如EDCI和DMAP的存在下将得到的衍生物4与胺衍生物5缩合,得到式I的衍生物。

[0175] 方案5:



[0177] 条件: i) SOCl_2 , CH_2Cl_2 , r. t.; ii) 合适的胺5, 三乙胺, CH_2Cl_2 , r. t.; iii) 合适的胺5, EDCI, DMAP, CH_2Cl_2 , 60°C ; iv) 锌粉, NH_4Cl , THF、水 65°C ; v) 合适的衍生物1, EDCI, DMAP, CH_2Cl_2 , 60°C 。

[0178] 方案5示出了用于制备式I酰胺衍生物的另一途径, 其中 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 A_1 、 A_2 、 A_3 、 A_4 、 A_5 、 A_6 、 A_7 和 A_8 具有如前所述的含义。

[0179] 在例如EDCI和DMAP存在下, 4-硝基苯甲酸衍生物19可以与合适的胺缩合, 得到4-硝基苯甲酰胺衍生物21。或者, 通过使用例如 SOCl_2 或草酰氯, 可以容易地将4-硝基苯甲酸衍生物转化为相应的4-硝基苯甲酰氯衍生物20, 然后在碱诸如 Et_3N 等的存在下将其与合适的胺偶联。

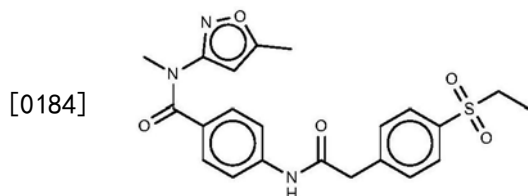
[0180] 在锌或铁存在下, 通过使用例如 NH_4Cl , 可以还原衍生物21的硝基, 得到4-氨基苯甲酰胺衍生物22, 其可以在存在例如EDCI和DMAP的情况下与衍生物1缩合, 得到其中 R_{12} 是氢的式I衍生物。

实施例

[0181] 所用的所有构造块都是可商购的、已知的或根据本领域技术人员已知的方法制备的。

[0182] 实施例1-45

[0183] 1:4- {2- [4- (乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} -N-甲基-N- (5-甲基-1,2-噁唑-3-基) 苯甲酰胺。



[0185] i) 向N,5-二甲基-1,2-噁唑-3-胺 (0.5g) 和三乙胺 (1.9mL) 于 CH_2Cl_2 (5mL) 中的溶液中加入4-硝基苯甲酰氯 (0.91g) 于 CH_2Cl_2 (5mL) 中的溶液。将反应混合物在室温在氮气气氛下搅拌过夜。将反应混合物用水、1M HCl水溶液、水、饱和 NaHCO_3 水溶液、水、盐水洗涤并经 MgSO_4 干燥。将合并的有机层减压浓缩并将残余物在 SiO_2 上纯化, 使用0%至6% CH_3OH /乙酸

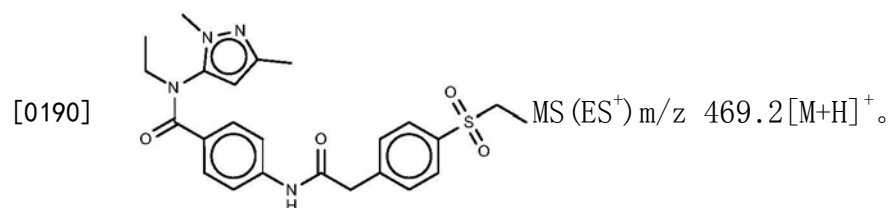
乙酯(1:1)于 CH_2Cl_2 中的溶液作为洗脱剂,得到N-甲基-N-(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)-4-硝基苯甲酰胺(824mg)。

[0186] ii) 向前述步骤所得产物(0.82g)于乙醇(20mL)中的溶液中加入 SnCl_2 (2.99g)。将反应混合物在70℃搅拌1小时。冷却至室温后,通过将其倒在冰上将反应混合物淬灭并通过加入2M NaOH水溶液将pH设定至14。将水层用乙酸乙酯洗涤并将合并的有机层用盐水洗涤并经 MgSO_4 干燥。减压除去溶剂,得到4-氨基-N-甲基-N-(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)苯甲酰胺(687mg)。产物不经进一步纯化即用于下一步。

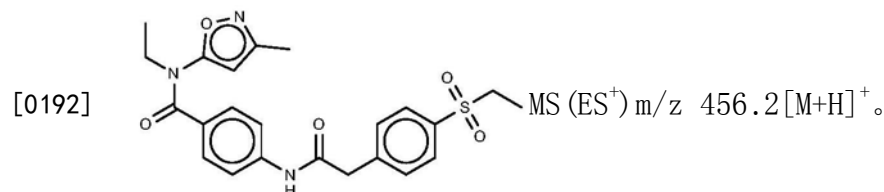
[0187] iii) 在0℃向前述步骤所得产物(45mg)、2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酸(54mg)和DMAP(5mg)于 CH_2Cl_2 (2mL)中的溶液中逐滴加入EDCI(45mg)于 CH_2Cl_2 中的溶液。将反应混合物在室温搅拌过夜。将有机层用饱和 NaHCO_3 水溶液、水、然后盐水洗涤,经 MgSO_4 干燥并减压浓缩。将残余物在 SiO_2 上纯化,使用1%至10%甲醇于 CH_2Cl_2 中的溶液作为洗脱剂,得到标题化合物4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-甲基-N-(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)苯甲酰胺(42mg),为白色固体。MS(ES^+) m/z 442.1 ($\text{M}+\text{H}^+$)。

[0188] 按照与实施例1所述类似的操作,制备以下化合物。

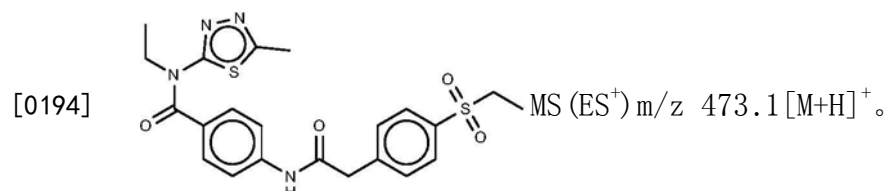
[0189] 2:N-(1,3-二甲基-1H-吡唑-5-基)-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基苯甲酰胺。



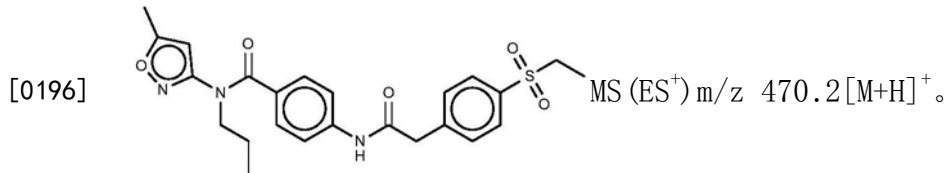
[0191] 3:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基-N-(3-甲基-1,2-噁唑-5-基)苯甲酰胺。



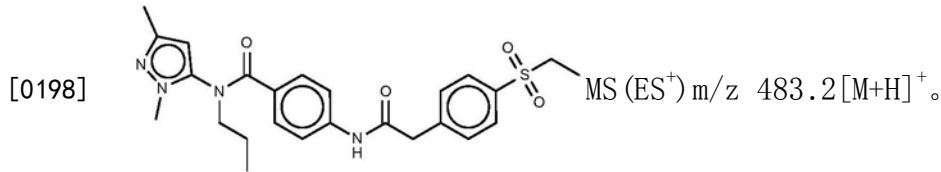
[0193] 4:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基-N-(5-甲基-1,3,4-噁二唑-2-基)苯甲酰胺。



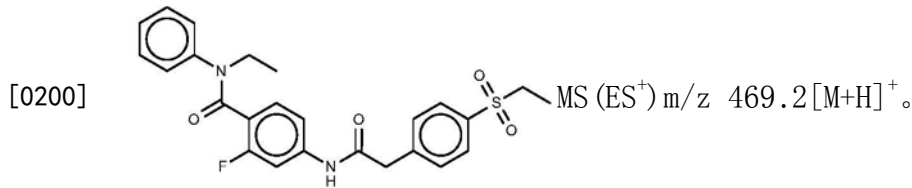
[0195] 5:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)-N-丙基苯甲酰胺。



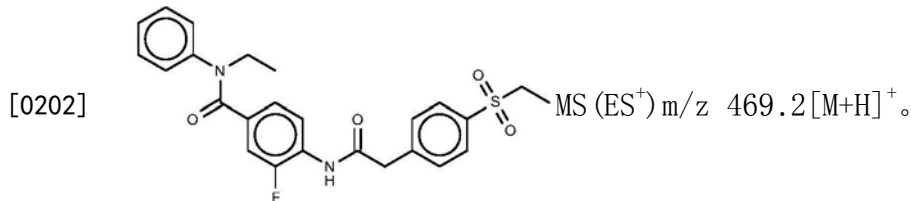
[0197] 6:N-(1,3-二甲基-1H-吡唑-5-基)-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-丙基苯甲酰胺。



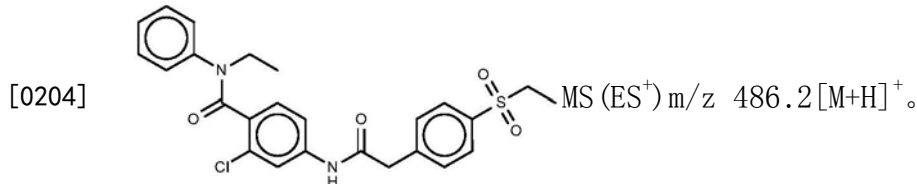
[0199] 7:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基-2-氟-N-苯基苯甲酰胺。



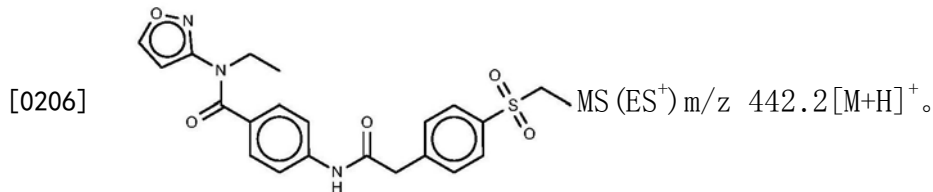
[0201] 8:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基-3-氟-N-苯基苯甲酰胺。



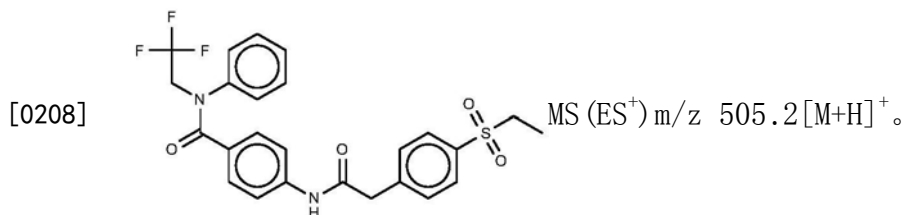
[0203] 9:2-氯-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基-N-苯基苯甲酰胺。



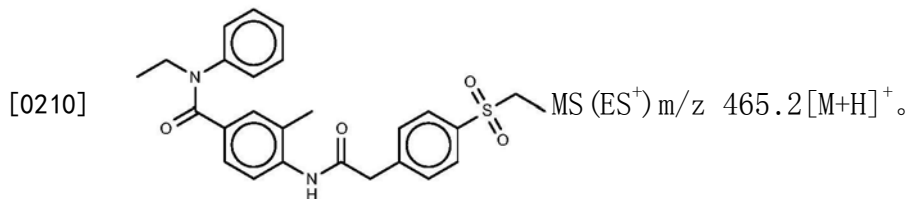
[0205] 10:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基-N-(1,2-噁唑-3-基)苯甲酰胺。



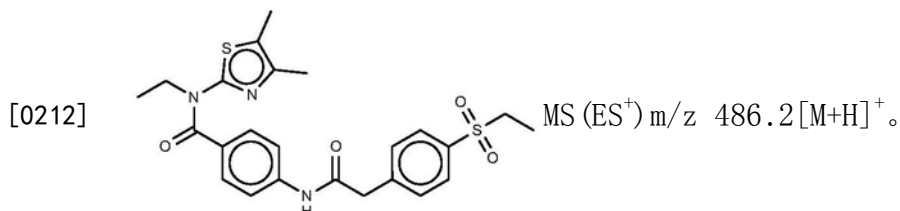
[0207] 11:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-苯基-N-(2,2,2-三氟乙基)苯甲酰胺。



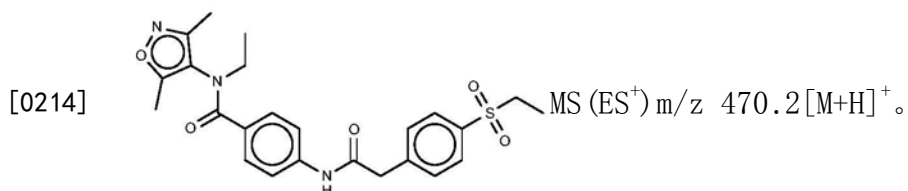
[0209] 12:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基-3-甲基-N-苯基苯甲酰胺。



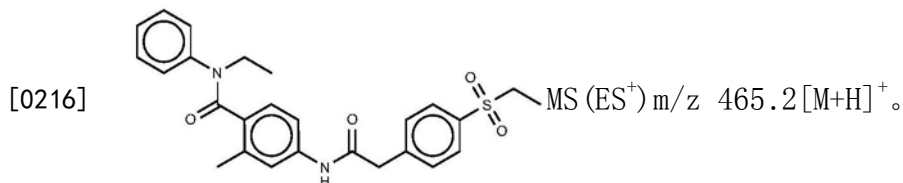
[0211] 13:N-(4-甲基-5-甲基-1,3-噁唑-2-基)-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基苯甲酰胺。



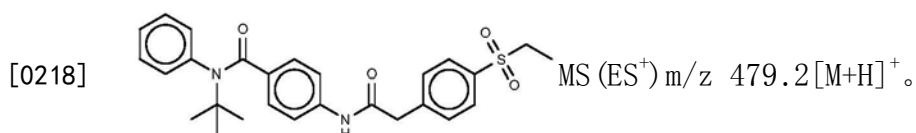
[0213] 14:N-(二甲基-1,2-噁唑-4-基)-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基苯甲酰胺。



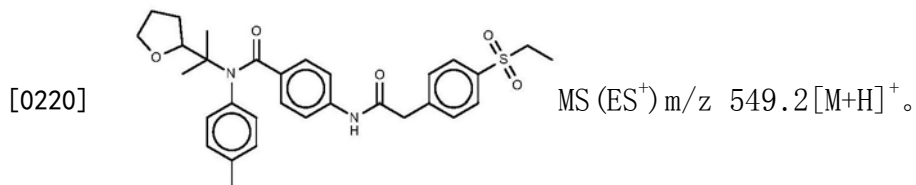
[0215] 15:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-乙基-2-甲基-N-苯基苯甲酰胺。



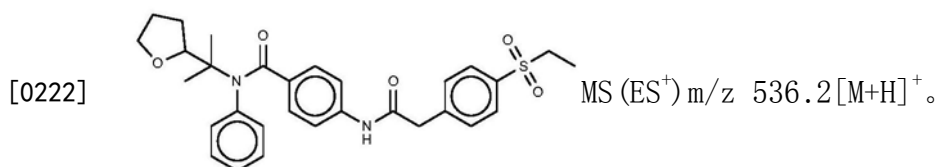
[0217] 16:N-叔丁基-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-苯基苯甲酰胺。



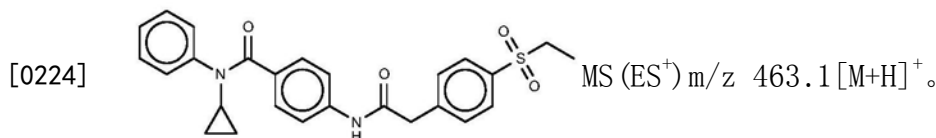
[0219] 17:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-(4-甲基苯基)-N-[2-(氧杂环戊烷-2-基)丙-2-基]苯甲酰胺。



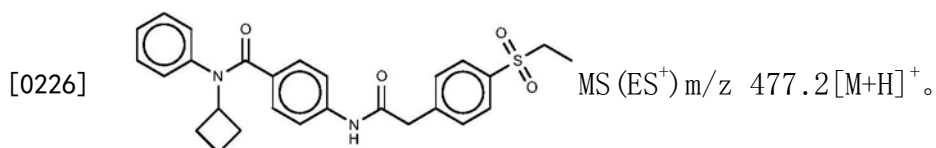
[0221] 18:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-[2-(氧杂环戊烷-2-基)丙-2-基]-N-苯基苯甲酰胺。



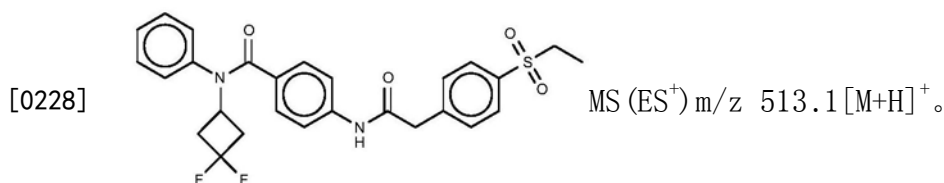
[0223] 19: N-环丙基-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-苯基苯甲酰胺。



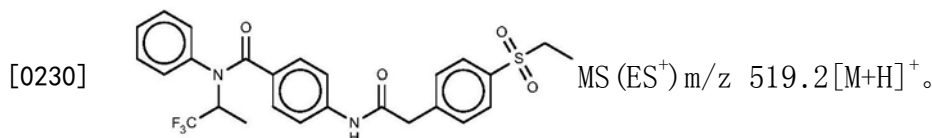
[0225] 20: N-环丁基-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-苯基苯甲酰胺。



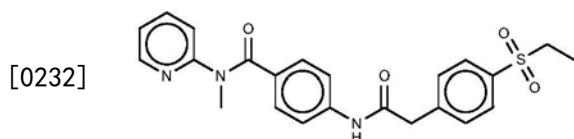
[0227] 21: N-(3,3-二氟环丁基)-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-苯基苯甲酰胺。



[0229] 22: 4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-苯基-N-(1,1,1-三氟丙-2-基)苯甲酰胺。



[0231] 23: 4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-甲基-N-(吡啶-2-基)苯甲酰胺。



[0233] i) 向4-氨基苯甲酸(20g)于甲醇(150mL)中的混悬液中加入浓HCl(25mL)并将所得混合物在室温搅拌过夜。通过加入饱和NaHCO₃水溶液将反应混合物淬灭。减压除去有机溶剂并将水层用乙酸乙酯萃取。将合并的有机相用水、盐水洗涤,经MgSO₄干燥并减压浓缩,得到4-氨基苯甲酸甲酯,为灰白色固体(20g)。产物不经进一步纯化即用于下一步。

[0234] ii) 按照类似于实施例1,步骤iii中所述的操作,使用前述步骤所得产物(390mg)和2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酸(500mg)作为起始物质,合成4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}苯甲酸甲酯(560mg)。

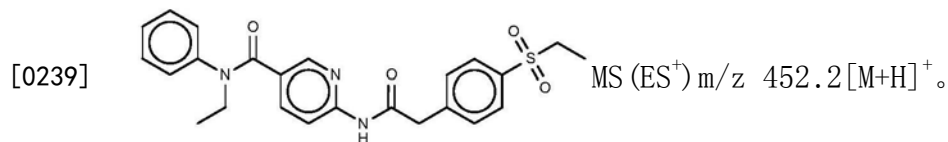
[0235] iii) 向前述步骤所得产物(560mg)于乙醇中的溶液中加入2N NaOH水溶液(5mL)并将所得混合物在室温搅拌过夜。加入水(100mL)后将混合物用CH₂Cl₂洗涤并通过加入6M HCl水溶液酸化至pH=6。将析出物滤出,用水洗涤并在40℃减压干燥。得到的4-{2-[4-(乙磺酰

基) 苯基] 乙酰氨基} 苯甲酸 (390mg) 不经进一步纯化即用于下一步。

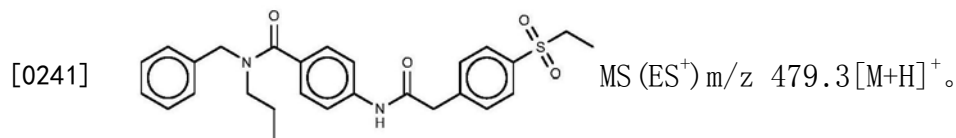
[0236] iv) 按照类似于实施例1, 步骤iii中所述的操作, 使用前述步骤所得产物 (40mg) 和 2-(甲基氨基) 吡啶 (15mg) 作为起始原料, 合成4-[2-[4-(乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基} 苯甲酸甲酯 (19mg)。MS (ES⁺) m/z 438.2[M+H]⁺。

[0237] 按照与实施例23所述类似的操作, 制备以下化合物。

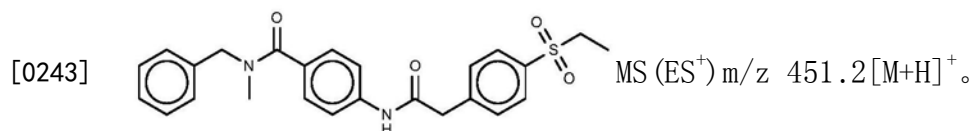
[0238] 24: 6-[2-[4-(乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基]-N-乙基-N-苯基吡啶-3-甲酰胺。



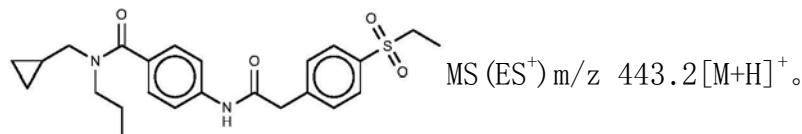
[0240] 25: N-苄基-4-[2-[4-(乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基]-N-丙基苯甲酰胺。



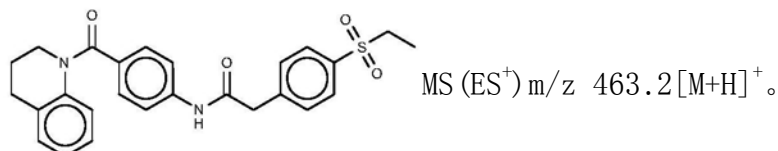
[0242] 26: N-苄基-4-[2-[4-(乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基]-N-甲基苯甲酰胺。



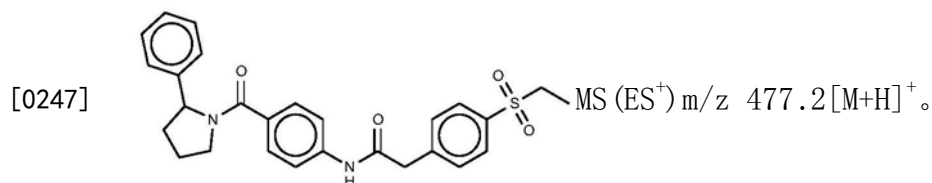
[0244] 27: N-(环丙基甲基)-4-[2-[4-(乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基]-N-丙基苯甲酰胺。



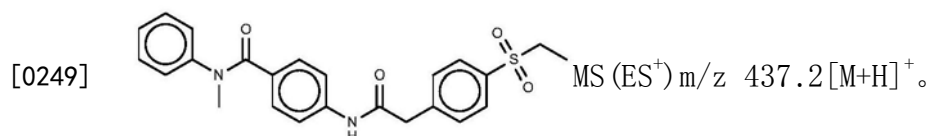
[0245] 28: 2-[4-(乙磺酰基) 苯基]-N-[4-(1,2,3,4-四氢喹啉-1-羰基) 苯基] 乙酰胺。



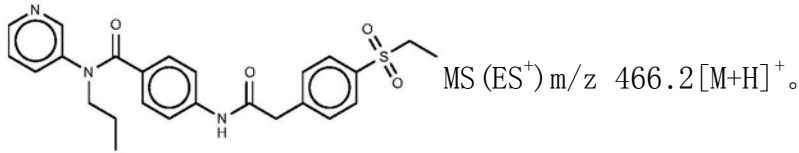
[0246] 29: 2-[4-(乙磺酰基) 苯基]-N-[4-(2-苯基吡咯烷-1-羰基) 苯基] 乙酰胺。



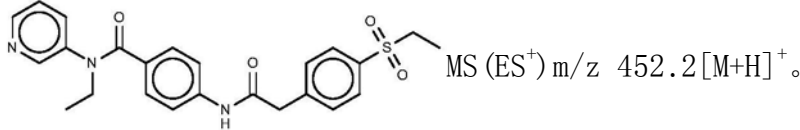
[0248] 30: 4-[2-[4-(乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基]-N-甲基-N-苯基苯甲酰胺。



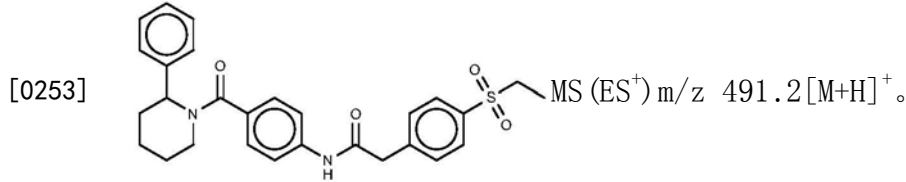
[0250] 31: 4-[2-[4-(乙磺酰基) 苯基] 乙酰氨基]-N-丙基-N-(吡啶-3-基) 苯甲酰胺。



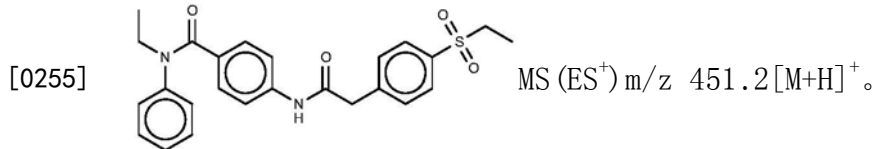
[0251] 32:4- {2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基} -N-乙基-N-(吡啶-3-基)苯甲酰胺。



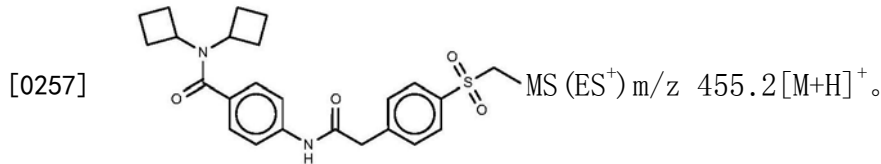
[0252] 33:2- [4-(乙磺酰基)苯基] -N-[4-(2-苯基哌啶-1-羰基)苯基]乙酰胺。



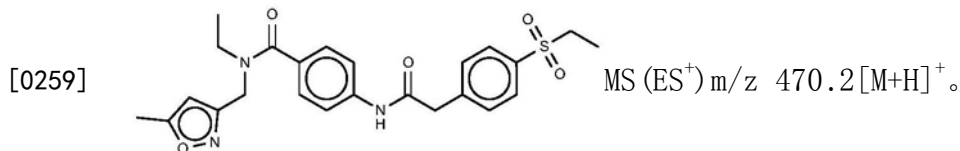
[0254] 34:4- {2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基} -N-乙基-N-苯基苯甲酰胺。



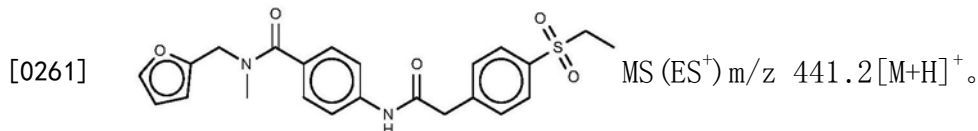
[0256] 35:N,N-二环丁基-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}苯甲酰胺。



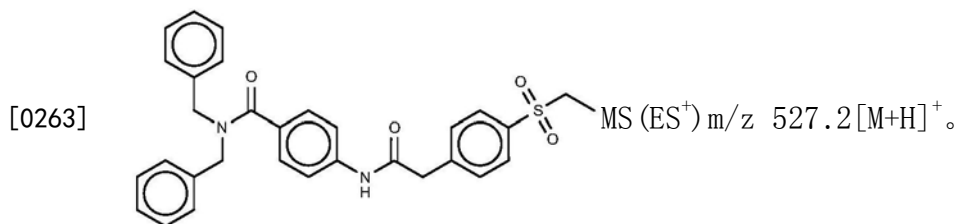
[0258] 36:4- {2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基} -N-乙基-N-[(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)甲基]苯甲酰胺。



[0260] 37:4- {2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基} -N-(呋喃-2-基甲基) -N-甲基苯甲酰胺。

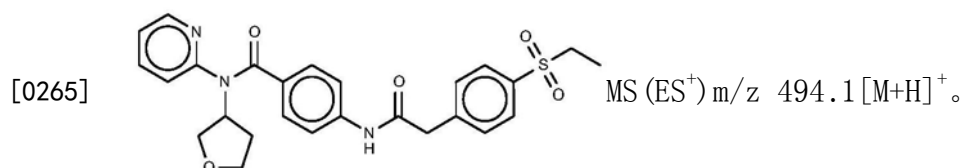


[0262] 38:N,N-二苄基-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}苯甲酰胺。

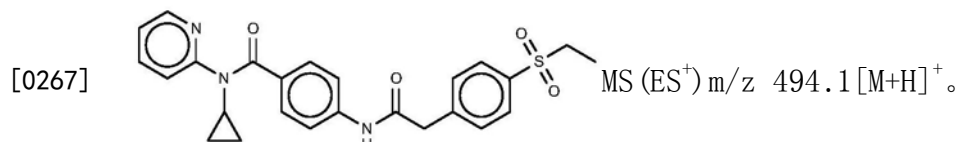


[0263] 37:4- {2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基} -N-(呋喃-2-基甲基) -N-甲基苯甲酰胺。

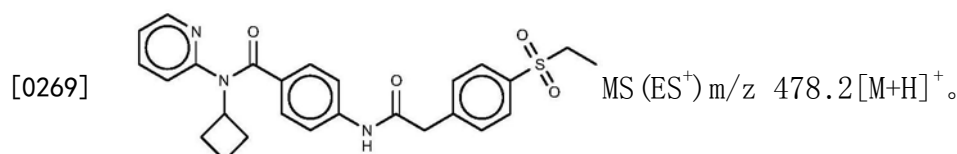
[0264] 39:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-(氧杂环戊烷-3-基)-N-(吡啶-2-基)苯甲酰胺。



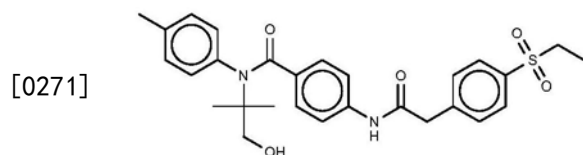
[0266] 40:N-环丙基-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-(吡啶-2-基)苯甲酰胺。



[0268] 41:N-环丁基-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-(吡啶-2-基)苯甲酰胺。



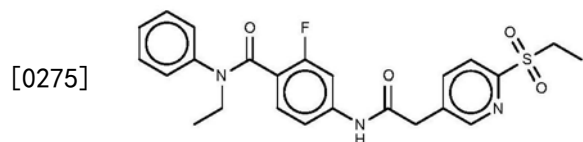
[0270] 42:4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-(1-羟基-2-甲基丙-2-基)-N-(4-甲基苯基)苯甲酰胺。



[0272] i) 按照与实施例1所述类似的操作,使用合适的起始物质,制备N-{1-[(叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基]-2-甲基丙-2-基}-4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-(4-甲基苯基)苯甲酰胺。

[0273] ii) 将前述步骤所得产物(82mg)和NH₄F(41mg)于甲醇(20mL)中的混悬液在60℃搅拌过夜。将反应混合物在真空下浓缩并将残余物溶解于乙酸乙酯。将该溶液用水、盐水洗涤,经硫酸镁干燥并在真空下减压浓缩。将残余物在反相HPLC上纯化,得到标题化合物4-{2-[4-(乙磺酰基)苯基]乙酰氨基}-N-(1-羟基-2-甲基丙-2-基)-N-(4-甲基苯基)苯甲酰胺(10mg)。MS (ES⁺) m/z 509.2 (M+H)⁺。

[0274] 43:4-{2-[6-(乙磺酰基)吡啶-3-基]乙酰氨基}-N-乙基-2-氟-N-苯基苯甲酰胺。



[0276] i) 在室温向2-溴-5-甲基吡啶(10g)于水(70ml)中的混悬液中加入25% HCl水溶液,之后加入硫脲(9.6)直到反应混合物变成澄清溶液。将反应混合物在回流温度搅拌48小时,在此期间分批加入更多的硫脲(7.3g),直至完全转化。将反应混合物冷却至0℃并通过加入4N NaOH水溶液(51ml)淬灭。将形成的析出物溶解于CH₂Cl₂(200mL)并将有机层用水洗涤。将水层酸化至pH=3并用CH₂Cl₂萃取3次。将合并的有机层经MgSO₄干燥并在真空下浓缩。将残余物从乙醇中重结晶,得到5-甲基吡啶-2-硫醇(4.5g),为白色固体。

[0277] ii) 在室温向前述步骤所得产物 (2.3g) 和 K_2CO_3 (600mg) 于乙腈 (45mL) 中的混悬液中加入溴乙烷 (1.7mL)。搅拌后17小时, 将反应混合物过滤并将滤液减压浓缩。经由酸-碱萃取纯化粗产物 (2.8g)。将有机层在 $MgSO_4$ 上干燥并减压浓缩, 得到 2-(乙基磺基)-5-甲基吡啶 (2.6g)。

[0278] iii) 将 m-CPBA (8.9g) 加入至前述步骤所得产物 (2.6g) 于 CH_2Cl_2 (75mL) 中的冰冷溶液中。在室温搅拌反应混合物过周末后, 将反应混合物过滤并将滤液用饱和 $NaHCO_3$ 水溶液、水和盐水洗涤。将有机层在 $MgSO_4$ 上干燥并减压浓缩。将粗产物在 SiO_2 上纯化, 使用 0% 至 50% 乙酸乙酯于庚烷中的溶液作为洗脱剂, 得到 2-(乙磺酰基)-5-甲基吡啶 (2.0g), 为白色固体。

[0279] iv) 向前述步骤所得产物 (990mg) 于乙腈 (25mL) 中的溶液中加入 NBS (950mg) 和 AIBN (44mg)。将反应混合物在回流温度在氮气气氛下搅拌 17 小时。冷却后, 将反应混合物过滤并将滤液减压浓缩。将粗产物在 SiO_2 上纯化, 使用 0% 至 50% 乙酸乙酯于庚烷中的溶液作为洗脱剂, 得到 5-(溴甲基)-2-(乙磺酰基)吡啶 (817mg)。

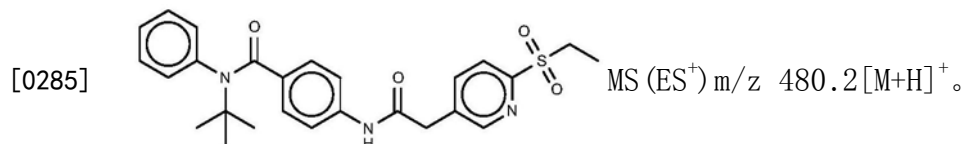
[0280] v) 将前述步骤所得产物 (684mg) 加入至三甲基甲硅烷基氰化物 (486uL) 和 TBAF (3375uL) 于乙腈 (25mL) 中的氮气净化的溶液中。将反应混合物在 $85^\circ C$ 在微波反应器中搅拌 4 小时。冷却至室温后, 将反应混合物用 CH_2Cl_2 和 2-丙醇的 3:1 混合物稀释。将所得混合物用水、盐水洗涤, 在 $MgSO_4$ 上干燥, 过滤并将滤液减压浓缩。将粗产物在 SiO_2 上纯化, 使用 0% 至 70% 乙酸乙酯于庚烷中的溶液作为洗脱剂, 得到 2-[6-(乙磺酰基)吡啶-3-基]乙腈 (315mg), 为白色固体。

[0281] vi) 向前述步骤所得产物 (315mg) 于乙醇 (3mL) 中的溶液中加入 2N NaOH 水溶液。将反应混合物在微波反应器中在 $100^\circ C$ 搅拌 2 小时。冷却至室温后, 将反应混合物用 CH_2Cl_2 洗涤。将水层酸化至 pH=3 并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用水、盐水洗涤, 在 $MgSO_4$ 上干燥, 过滤并减压浓缩, 得到 2-[6-(乙磺酰基)吡啶-3-基]乙酸, 为粗产物。将产物不经进一步纯化即用于下一步。

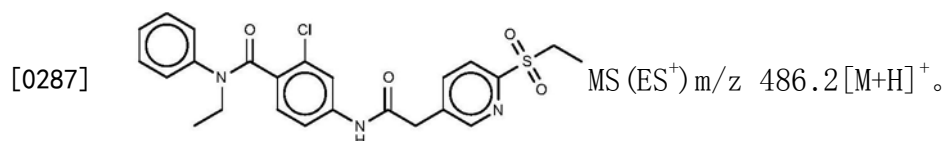
[0282] vii) 按照与实施例 1 所述类似的操作, 使用前述步骤所得产物和适当的起始物质, 制备标题化合物 4-{2-[6-(乙磺酰基)吡啶-3-基]乙酰氨基}-N-乙基-2-氟-N-苯基苯甲酰胺 (61mg)。MS (ES^+) m/z 470.2 (M+H)⁺。

[0283] 按照与实施例 43 所述类似的操作, 制备以下化合物。

[0284] 44: N-叔丁基-4-{2-[6-(乙磺酰基)吡啶-3-基]乙酰氨基}-N-苯基苯甲酰胺。



[0286] 45: 2-氯-4-{2-[6-(乙磺酰基)吡啶-3-基]乙酰氨基}-N-乙基-N-苯基苯甲酰胺。



[0288] 实施例 46

[0289] ROR γ GAL4 报告基因测定

[0290] 在ROR γ GAL4报告基因测定中测试实施例抑制剂1-45的抑制ROR γ 活性的能力。测定操作和结果如下所述。

[0291] ROR γ GAL4报告基因测定描述

[0292] 建立使用荧光素酶读数的GAL4单杂交报告系统以测定293FT细胞中的ROR γ 抑制。将ROR γ 配体结合域 (LBD) 融合至酵母GAL4DNA结合域 (DBD) 并置于人巨细胞病毒 (CMV) 立即早期启动子控制下,其使用表达载体pFN26A (Promega) 和标准重组DNA克隆方法。为充当测定对照而产生相似载体,其中GAL4-DBD融合至单纯疱疹病毒蛋白16 (VP16),所述蛋白是一种构成性转录激活因子。

[0293] 为监控化合物对于ROR γ 的抑制效应,使用转录报告基因构建体。pGL4.35载体 (Promega) 包含9拷贝的GAL4上游激活序列 (UAS)。该序列响应结合含有GAL4DNA结合域的融合蛋白而驱动荧光素酶报告基因luc2P的转录,所述融合蛋白如例通过上述GAL4-ROR γ -LBD和GAL4-VP16表达载体所表达。为使GAL4融合蛋白驱动荧光素酶报告基因的表达,使用标准转染技术在293FT细胞中整体转染pGL4.35表达载体和适当的GAL4融合蛋白表达载体。

[0294] 转染后第二天,将细胞置于96孔板中,加入测试化合物并培养板过夜。随后,使用荧光素酶检测试剂和发光读数定量萤火虫荧光素酶活性。

[0295] 详细测定描述

[0296] 采用GAL4融合蛋白表达载体 (如上所述) 和转录报告基因构建体 (pGL4.35, Promega) 转染293FT细胞 (Invitrogen)。将60 μ L TransIT-293转染试剂 (Mirus Bio) 滴加至1500 μ l Opti-MEM I减血清培养基 (Reduced Serum Medium, Invitrogen) 并在室温 (RT) 培养5至20分钟。将1500 μ L该试剂混合物加至5 μ g GAL4融合蛋白表达载体以及5 μ g转录报告基因构建体,并在室温培养20分钟。

[0297] 为从T75烧瓶收获293FT细胞,首先使培养基脱离细胞。随后,用磷酸盐缓冲盐水 (PBS) (Lonza) 洗涤细胞,之后除去PBS。为分离细胞,将1ml TrypLE Express (Invitrogen) 加至烧瓶,然后在室温培养直至可看到细胞开始分离。将细胞收集在5mL测定培养基 (DMEM培养基 (Lonza), 10% 透析FBS (Invitrogen) 和Pen/Strep (Lonza)) 中以实现单细胞悬液。旋下 10×10^6 个细胞并将其再悬于10mL测定培养基中。随后,将细胞悬浮液加至转染混合管,并接着总体转移至T75烧瓶 (Greiner), 然后在37 $^{\circ}$ C和5%CO₂下过夜 (16-24小时) 培养。

[0298] 对于化合物筛选,收获细胞 (如上所述) 并计数。旋下 13×10^6 个细胞,抽吸上清液并将细胞再悬于17.3mL测定培养基中以获得 0.75×10^6 个细胞/mL的细胞悬浮液。以80 μ L细胞悬浮液 (60,000细胞) /孔将其置于白色、平底、组织培养处理的、96孔筛选板 (Greiner) 中。

[0299] 从10mM DMSO储备溶液开始稀释测试化合物至DMSO中500x最终测试浓度的连续稀释液。随后,在测定培养基中的两个10倍稀释步骤将这些溶液稀释至5x最终测试浓度。5x测试化合物溶液的最终DMSO浓度为1%。将20 μ L 5x测试化合物溶液加至之前用80 μ l细胞悬浮液点板的96孔板的各测试孔,导致最终测试浓度为0.2%DMSO。

[0300] 37 $^{\circ}$ C和5%CO₂下培养板过夜 (16-24小时)。

[0301] 对于荧光素酶读数,使荧光素酶试剂 (Britelite Plus, Perkin Elmer) 达到室温。向筛选板的各测试孔中加入100 μ L 2.5倍稀释的Britelite Plus试剂,然后在室温培养10分钟。使用Wallac Victor酶标仪 (Perkin Elmer) 测量荧光素酶发光信号。

[0302] 使用GraphPad Prism软件 (GraphPad Software) 由荧光素酶信号计算测试化合物

的半数最大抑制浓度 (IC_{50}) 值。

[0303] 发现所有示例性的式I的化合物(实施例1-45)均具有大于5的平均 pIC_{50} 值。

[0304] 发现实施例1-22、23-35、37、38和实施例40-44具有大于或等于6的平均 pIC_{50} 值。

[0305] 发现实施例2、3、5、6、7-9、11、13、16-22、25、28、30、31、33、34、38、42和44具有大于或等于7的平均 pIC_{50} 值。

[0306] 发现实施例11、13、16、18和34具有大于或等于8的平均 pIC_{50} 值。

[0307] 实施例47

[0308] 外周血单核细胞 (PBMC) IL-17测定

[0309] 在抗CD3/抗CD28刺激的由人血分离的外周血单核细胞 (PBMC) 中测试实施例抑制剂2、5、6、11、13、16、17、18、21和44的抑制IL-17A产生的能力。以下描述了测定操作和结果。

[0310] PBMC IL-17测定描述

[0311] 设计该测定以测量由抗CD3/抗CD28刺激的PBMC分泌的IL-17A的水平,目的在于测量ROR γ 介导的IL-17A产生抑制。

[0312] 测定培养基组成为90%RPMI 1640 (Lonza)、10%热灭活的胎牛血清 (FBS, Lonza) 和100U/mL青霉素/链霉素溶液。

[0313] 测定描述

[0314] 在PBS (Lonza) 中将抗CD3抗体 (BD Pharmingen) 稀释至10 μ g/ml。除任何阴性对照孔外,将30 μ L 10 μ g/ml抗CD3溶液加至96孔细胞培养处理U底板 (Greiner) 的内部60孔。37 $^{\circ}$ C和5%CO₂下培养板过夜(16-24小时)。

[0315] 根据制造商方案使用Ficoll-Paque PREMIUM分离介质 (GE Healthcare Life Sciences) 从血沉棕黄层 (Sanquin) 分离外周血单核细胞并将其再悬在37 $^{\circ}$ C测定培养基中。

[0316] 从10mM二甲基亚砜 (DMSO) 储备溶液开始稀释测试化合物至DMSO中200x最终测试浓度的连续稀释液。随后,在测定培养基中的两步稀释将这些溶液稀释至10x最终测试浓度。10x测试化合物溶液的DMSO浓度为5%。

[0317] 在PBS中将抗CD28抗体 (BD Pharmingen) 稀释至20 μ g/mL。在37 $^{\circ}$ C测定培养基中将PBMC稀释至2.5x10⁶细胞/mL的浓度。

[0318] 对于化合物筛选,用PBS洗涤抗CD3涂覆的板三次,随后使用真空抽吸各孔。向各筛选孔80 μ L PBMC悬浮液中加入10 μ L抗CD28溶液和10 μ L10x测试化合物溶液,导致最终测试浓度0.5%DMSO。用测定培养基填充所有外孔以防止蒸发。37 $^{\circ}$ C和5%CO₂下培养板5天。

[0319] 培养后在1500rpm将板旋下4分钟并收集上清液。随后,根据制造商方案使用IL-17 ELISA试剂盒 (人IL-17 DuoSet, R&D systems) 测定上清液中的IL-17A水平。

[0320] 使用GraphPad Prism软件 (GraphPad Software) 由IL-17A信号计算测试化合物的半数最大抑制浓度 (IC_{50}) 值。

[0321] 发现测试的实施例2、5、6、11、13、16、17、18、21和44具有大于或等于7的平均 pIC_{50} 值。

[0322] 发现测试的实施例11和16具有大于或等于8的平均 pIC_{50} 值。