



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113767104 A

(43) 申请公布日 2021.12.07

(21) 申请号 202180002279.5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2021.07.30

C07D 493/04 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 31/4035 (2006.01)

63/058,512 2020.07.30 US

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.08.31

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2021/109492 2021.07.30

(71) 申请人 百放英库医药科技(北京)有限公司

地址 100094 北京市海淀区永腾北路9号院

贝伦产业园16号楼

(72) 发明人 黄政 马天伟

(74) 专利代理机构 成都七星天知识产权代理有

限公司 51253

代理人 倪娜

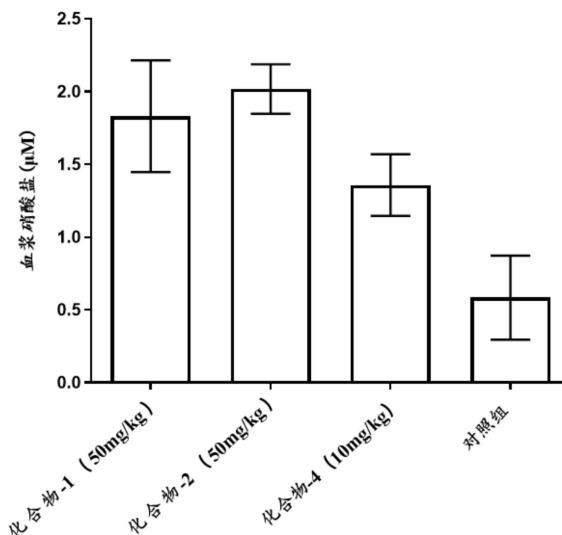
权利要求书3页 说明书20页 附图11页

(54) 发明名称

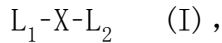
双功能化合物及其使用方法

(57) 摘要

本申请提供一种化合物,当施用于对象时,所述化合物用于释放一氧化氮(NO)并抑制磷酸二酯酶(PDE)的活性。所述化合物可以包括L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>。L<sub>1</sub>可以包括作为NO释放剂的一部分或全部的官能团。L<sub>2</sub>可以包括作为PDE抑制剂的部分或全部的官能团。所述化合物还可包括连接L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>的键或双自由基。本申请还提供使用所述化合物或包含所述化合物的组合物来治疗或预防疾病的方法。



1. 一种化合物,由式(I)表示:



其中,当施用于对象时,所述化合物用于释放一氧化氮(NO)并抑制磷酸二酯酶(PDE)的活性,

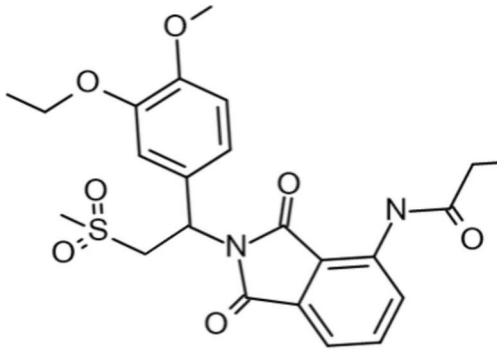
其中 $L_1$ 包括作为NO释放剂的一部分或全部的官能团;

$L_2$ 包括作为PDE抑制剂的部分或全部的官能团;以及

-X-是连接 $L_1$ 和 $L_2$ 的共价键、非共价键或双自由基。

2. 如权利要求1的所述的化合物,其中所述 $L_2$ 衍生自阿普斯特。

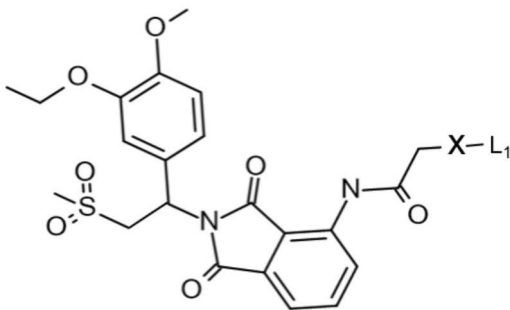
3. 如权利要求1或2所述的化合物,其中所述 $L_2$ 是



4. 如权利要求1-3中任一项所述的化合物,其中 $L_1$ 是 $-C(CH_3)_2-CH_2-ONO_2$ 。

5. 如权利要求1-3中任一项所述的化合物,其中 $L_1$ 是 $-C(CH_3)(CH_2-ONO_2)_2$ 。

6. 一种化合物,由式(II)表示:



(II),

其中-X-是共价键、非共价键或双价键;以及

$L_1$ 包括作为一氧化氮(NO)释放剂的一部分或全部的官能团。

7. 如权利要求6所述的化合物,其中所述X包括O、C、N、S或P。

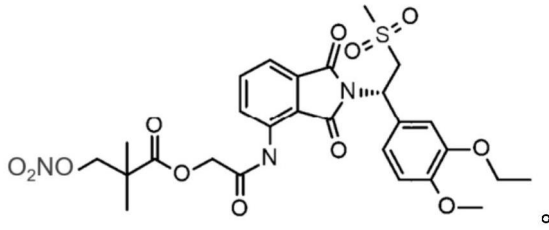
8. 如权利要求6或7所述的化合物,其中所述X包括0-10个原子。

9. 如权利要求6-8中任一项所述的化合物,其中所述-X-包括酯键、酰胺键、磺酰胺键、硫酸盐键、磷酰胺键、磷酸酯键、酮键或亚芳基。

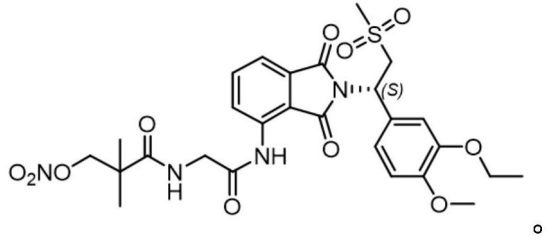
10. 如权利要求6-9中任一项所述的化合物,其中所述 $L_1$ 包括一个或多个 $-ONO_2$ 基团。

11. 如权利要求10所述的化合物,其中所述 $L_1$ 是 $-C(CH_3)_2-CH_2-ONO_2$ 。

12. 如权利要求11所述的化合物,其中所述化合物是

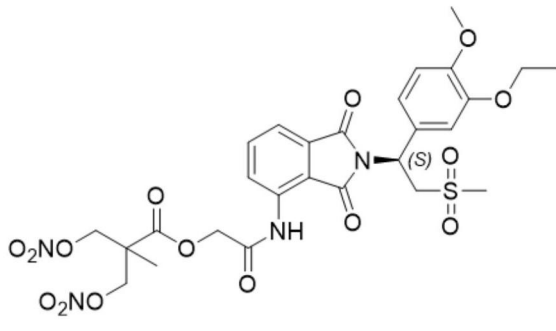


13. 如权利要求11所述的化合物,其中所述化合物是

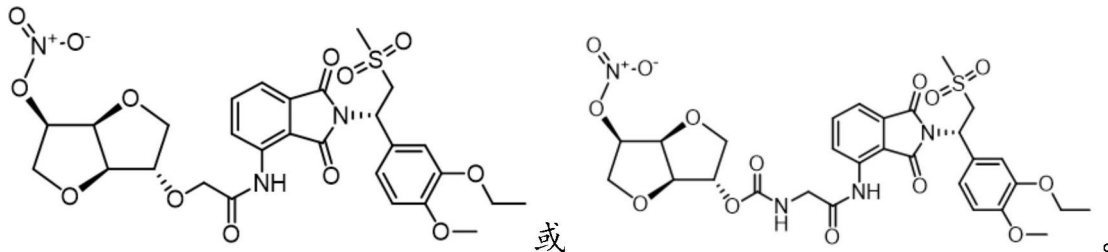


14. 如权利要求10所述的化合物,其中所述L<sub>1</sub>是 -C(CH<sub>3</sub>)-(CH<sub>2</sub>-ONO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>。

15. 如权利要求14所述的化合物,其中所述化合物是



16. 如权利要求10所述的化合物,其中所述化合物是



17. 如权利要求6-10中任一项所述的化合物,其中所述NO释放剂是硝酸甘油(GTN)、硝酸异山梨酯(ISDN)或四硝酸季戊四醇酯(PETN)。

18. 如权利要求6-17中任一项所述的化合物,其中当施用于对象时,所述化合物用于释放NO并抑制磷酸二酯酶(PDE)的活性。

19. 如权利要求13所述的化合物,其中所述PDE包括PDE4。

20. 一种组合物,所述组合物包含权利要求1-19中任一项所述的化合物和药学上可接受的载体。

21. 如权利要求20所述的组合物,其中所述组合物被配制成片剂、胶囊、颗粒、粉末、胶束、液体、悬浮液、乳霜、泡沫、凝胶、乳液、糊剂或软膏。

22. 如权利要求20或21所述的组合物,其中所述组合物通过口服给药、注射给药或局部给药中的至少一种方式被施用给对象。

23. 如权利要求1-19中任一项所述的化合物用于治疗或预防对象的磷酸二酯酶 (PDE) 相关疾病的用途。

24. 如权利要求1-19中任一项所述的化合物用于治疗或预防对象的癌症的用途。

25. 如权利要求1-19中任一项所述的化合物用于治疗或预防急性肺损伤 (ALI) 或急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的用途。

26. 如权利要求25所述的用途, 其中在将所述化合物施用于对象后, 所述化合物释放NO并抑制局部组织中磷酸二酯酶 (PDE) 的活性。

27. 如权利要求26所述的用途, 其中所述化合物还被用于利用可调节的一氧化氮释放特性来调节PDE4抑制剂向脉管系统或脉管系统附近空间的递送。

28. 一种治疗或预防对象的急性肺损伤 (ALI) 或急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的方法, 所述方法包括: 向所述对象施用药学有效量的如权利要求1-19中任一项所述的化合物。

29. 一种治疗或预防对象的磷酸二酯酶 (PDE) 相关疾病的方法, 所述方法包括: 向所述对象施用药学有效量的如权利要求12-15中任一项所述的化合物。

30. 一种治疗或预防对象的磷酸二酯酶-4 (PDE4) 相关疾病的方法, 所述方法包括: 向所述对象施用药学有效量的如权利要求1-19中任一项所述的化合物。

31. 如权利要求28-30中任一项所述的方法, 其中向所述对象施用所述药学有效量的所述化合物包括以0.01-50mg/kg向所述对象口服施用所述化合物。

32. 如权利要求28-30中任一项所述的方法, 其中向所述对象施用所述药学有效量的所述化合物包括以1-50mg/kg向所述对象口服施用所述化合物。

33. 如权利要求28-30中任一项所述的方法, 其中向所述对象施用所述药学有效量的所述化合物包括以5-50mg/kg向所述对象口服施用所述化合物。

34. 如权利要求31-33中任一项所述的方法, 其中所述化合物表现出小于720nM的抑制PDE4A的半数抑制浓度 (IC50)。

35. 如权利要求31-33中任一项所述的方法, 其中所述化合物表现出小于200nM的抑制PDE4A的半数抑制浓度 (IC50)。

36. 如权利要求31-33中任一项所述的方法, 其中所述化合物表现出小于2.3 $\mu$ M的抑制PDE4C的半数抑制浓度 (IC50)。

37. 如权利要求31-33中任一项所述的方法, 其中所述化合物表现出小于0.7 $\mu$ M的抑制PDE4C的半数抑制浓度 (IC50)。

38. 如权利要求28-37中任一项所述的方法, 其中, 在将所述化合物施用于所述对象之后, 所述对象的血浆硝酸盐水平增加。

## 双功能化合物及其使用方法

对相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求于2020年7月30日提交的编号为63/058,512的美国临时申请的优先权,其全部内容通过引用并入本文。

### 技术领域

[0002] 本申请涉及双功能化合物及其使用方法,特别是涉及一种能够释放一氧化氮(NO)并抑制磷酸二酯酶(PDE)活性的化合物以及使用该化合物治疗疾病或病症的方法。

### 背景技术

[0003] 急性肺损伤(ALI)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)由于其高发病率和死亡率而成为临床上重要的疾病。ARDS是呼吸衰竭的常见原因,其特点是快速进行性肺水肿、肺顺应性降低和低氧血症。ARDS通常是由感染、损伤或创伤引起的,包括病毒性和细菌性肺炎、神经源性水肿、病毒或细菌性败血症(例如,来源于腹膜,尿路或软组织)、胰腺炎、移植后的移植物功能障碍等。并且,反复发生的严重病毒感染导致死亡的主要原因之一就是ARDS,例如严重的流感、严重的急性呼吸综合症冠状病毒1(SARS-CoV-1)、中东呼吸综合症(MERS)和SARS-CoV-2。此外,患有新型冠状病毒(COVID-19)的患者死亡率很高,尤其是那些还患有微血管疾病的老年人,包括糖尿病、慢性肾脏病、心脏病和/或其他疾病。现有的方法中用于治疗或预防ARDS的治疗方法的功效是有限的。因此,需要开发更有效的治疗药物和用于治疗ARDS的方法。

### 发明内容

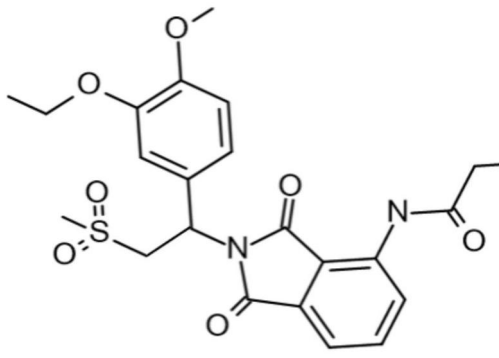
[0004] 根据本申请的一个方面,提供一种化合物。所述化合物可以由式(I)表示:



其中当施用于对象时,所述化合物可以用于释放一氧化氮(NO)并抑制磷酸二酯酶(PDE)的活性。 $L_1$ 可以包括作为NO释放剂的一部分或全部的官能团。 $L_2$ 可以包括部分或全部来自PDE抑制剂的官能团。 $-X-$ 可以是连接 $L_1$ 和 $L_2$ 的共价键,非共价键或双自由基。

[0005] 在一些实施例中, $L_2$ 可以来源于自阿普斯特。

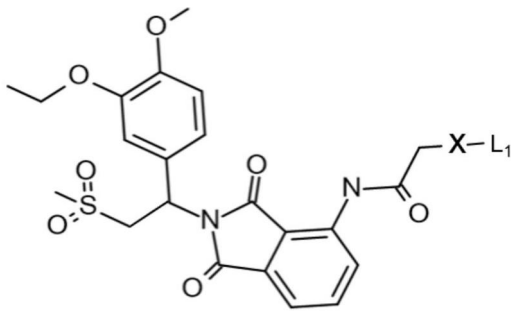
[0006] 在一些实施例中, $L_2$ 可以是



[0007] 在一些实施例中,  $L_1$  可以是  $-C(CH_3)_2-CH_2-ONO_2$ 。

[0008] 在一些实施例中,  $L_1$  可以是  $-C(CH_3)-(CH_2-ONO_2)_2$ 。

[0009] 根据本申请的另一面, 提供一种由式 (II) 表示的化合物。-X- 可以是共价键、非共价键或双价键。 $L_1$  可以包括一氧化氮 (NO) 释放剂的一部分或全部的官能团。



(II)。

[0010] 在一些实施例中, X 可以包括 O、C、N、S 或 P。

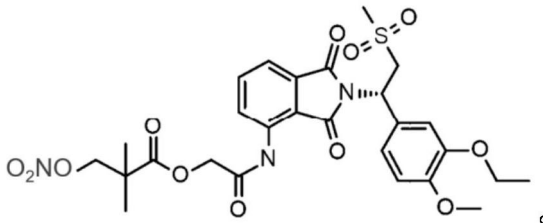
[0011] 在一些实施例中, X 可以包括 0-10 个原子。

[0012] 在一些实施例中, -X- 可以包括酯键、酰胺键、磺酰胺键、硫酸盐键、磷酰胺键、磷酸酯键、酮键或亚芳基。

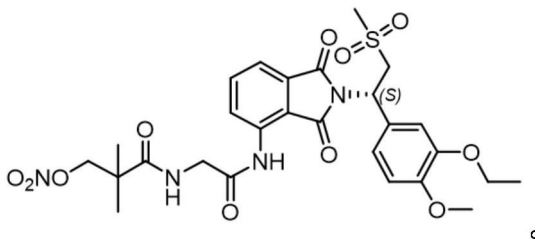
[0013] 在一些实施例中,  $L_1$  可以包括一个或多个  $-ONO_2$  基团。

[0014] 在一些实施例中,  $L_1$  可以是  $-C(CH_3)_2-CH_2-ONO_2$ 。

[0015] 在一些实施例中, 所述化合物可以是

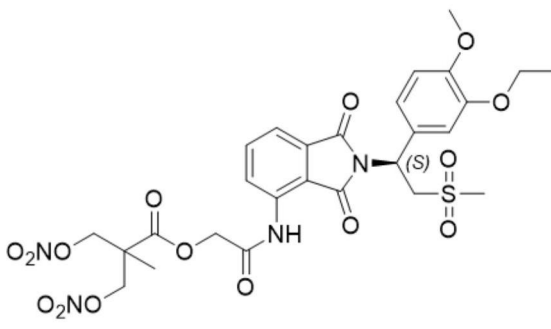


[0016] 在一些实施例中, 所述化合物可以是

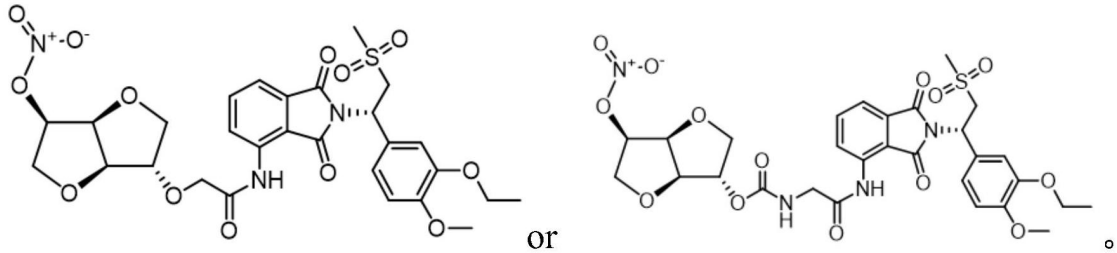


[0017] 在一些实施例中,  $L_1$  可以是  $-C(CH_3)-(CH_2-ONO_2)_2$ 。

[0018] 在一些实施例中, 所述化合物可以是



[0019] 在一些实施例中,所述化合物可以是



[0020] 在一些实施例中,NO释放剂可以是硝酸甘油 (GTN)、硝酸异山梨醇酯 (ISDN) 或四硝酸季戊四醇酯 (PETN)。

[0021] 在一些实施例中,当所述化合物施用于对象时,可以用于释放NO并抑制磷酸二酯酶 (PDE) 的活性。

[0022] 在一些实施例中,PDE可以包括PDE4。

[0023] 根据本申请的另一面,提供包含上述任一项的化合物和药学上可接受的载体的组合物。

[0024] 在一些实施例中,所述组合物可以配制成片剂、胶囊、颗粒、粉末、胶束、液体、悬浮液、乳霜、泡沫、凝胶、乳液、糊剂或软膏。

[0025] 在一些实施例中,所述组合物可以通过口服给药、注射给药或局部给药中的至少一种施用给对象。

[0026] 根据本申请的另一面,提供上述任一项的化合物用于治疗或预防对象的磷酸二酯酶 (PDE) 相关疾病的用途。

[0027] 根据本申请的另一面,提供上述任一项的化合物用于治疗或预防对象的癌症的用途。

[0028] 根据本申请的另一面,提供上述任一项的化合物用于治疗或预防急性肺损伤 (ALI) 或急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的用途。

[0029] 在一些实施例中,在将化合物施用于对象后,所述化合物可以释放NO并抑制局部组织中磷酸二酯酶 (PDE) 的活性。

[0030] 在一些实施例中,所述化合物可以被进一步用于使用可调节的一氧化氮释放特性来调节PDE4抑制剂向脉管系统或靠近脉管系统空间的递送。

[0031] 根据本申请的另一面,提供一种治疗或预防对象的急性肺损伤 (ALI) 或急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的方法,该方法可以包括向对象施用药学有效量的上述任一项的化合物。

[0032] 根据本申请的另一面,提供一种治疗或预防对象的磷酸二酯酶 (PDE) 相关疾病的方法。该方法可以包括向对象施用药学有效量的上述任一种化合物。

[0033] 根据本申请的另一面,提供一种治疗或预防对象的磷酸二酯酶-4 (PDE4) 相关疾病的方法。该方法可以包括向对象施用药学有效量的上述任一项的化合物。

[0034] 在一些实施例中,向对象施用药学有效量的化合物可以包括以0.01-50mg/kg向对象口服施用化合物。

[0035] 在一些实施例中,向对象施用药学有效量的化合物可以包括以1-50mg/kg向对象口服施用化合物。

[0036] 在一些实施例中,向对象施用药学有效量的化合物可以包括以5-50mg/kg向对象口服施用化合物。

[0037] 在一些实施例中,所述化合物对PDE4A的半数最大抑制浓度(IC50)可以小于720nM。

[0038] 在一些实施例中,所述化合物对PDE4A的半数最大抑制浓度(IC50)可以小于200nM。

[0039] 在一些实施例中,所述化合物对PDE4C的半数最大抑制浓度(IC50)可以小于2.3 $\mu$ M。

[0040] 在一些实施例中,所述化合物对PDE4C的半数最大抑制浓度(IC50)可以小于0.7 $\mu$ M。

[0041] 在一些实施例中,在向对象施用化合物后,可以增加对象的血浆硝酸盐水平。

[0042] 一些附加特征将在下面的描述中部分地阐述,并且对于本领域技术人员而言,在审阅本申请及附图之后将变得显而易见。或者可以通过示例的生产或操作来获悉。本申请的特征可以通过实践或使用在下面讨论的详细示例中阐述的方法,手段和组合的各个方面来实现和获得。

#### 附图说明

[0043] 根据示例性实施例进一步描述本申请。参照附图详细描述了这些示例性实施例。应当注意,附图未按比例绘制。这些实施例是非限制性的示例性实施例,其中对于附图的所有视图,相同的附图标记表示相同的结构,并且其中:

[0044] 图1A-1B是根据本申请的一些实施例所示的可以释放NO的有机硝酸盐的结构式示意图;

[0045] 图1C是根据本申请的一些实施例所示的包括作为有机硝酸盐的一部分或全部的官能团的L<sub>1</sub>的结构式示意图;

[0046] 图1D是根据本申请的一些实施例所示的NO释放剂释放NO的示意图;

[0047] 图2是根据本申请的一些实施例所示的PDE4抑制剂和PDE3抑制剂的结构式示意图;

[0048] 图3是根据本申请的一些实施例所示的新型NO释放PDE4抑制剂的结构式的示意图;

[0049] 图4是根据本申请的一些实施例所示的新型NO释放PDE4抑制剂的示意图;

[0050] 图5是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物-1的示例性流程图;

[0051] 图6是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物-2的示例性流程图;

[0052] 图7是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物-3的示例性流程图;

[0053] 图8是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物-4的示例性流程图;

[0054] 图9是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物-5的示例性流程图;

[0055] 图10是根据本申请的一些实施例所示的对小鼠给药化合物-1后产生的化合物6的血液水平的分析图;

[0056] 图11是根据本申请的一些实施例所示的对小鼠给药化合物1小时后血浆中硝酸盐水平的分析图。



## 具体实施方式

[0057] 以下描述以使本领域的技术人员能够制作和使用本申请,并且在特定应用及其要求的上下文中提供相应描述。对于所公开的实施例的各种修改对于本领域技术人员将是显而易见的,并且在不脱离本申请的精神和范围的情况下,本文中定义的一般原理可以应用于其他实施例和应用。因此,本申请不限于所示的实施例,而是应被赋予与权利要求一致的最宽范围。

[0058] 在此使用的术语仅是为了描述特定的示例实施例,而不是限制性的。如本文所使用的,除非上下文另外明确指出,单数形式的“一”,“一个”和“该”也可以包括复数形式。进一步地,当在本说明书中使用时,术语“包括”,“包含”,“包括”和/或“包括”指定存在所述特征,整数,步骤,操作,元素和/或组件,但不排除存在或添加一个或多个其他特征,整数,步骤,操作,元素,组件和/或其组。

[0059] 在考虑以下描述时,本申请的这些特征和其他特征以及特性以及结构的相关元件的操作和功能以及部件的组合和制造的经济性可以变得更加明显。参照附图,所有这些构成本说明书的一部分。然而,应明确地理解,附图仅出于说明和描述的目的,无意于限制本申请的范围。应当理解,附图未按比例绘制。

[0060] 如本申请所使用的,与参考数值及其语法等价物相关的术语“约”及其语法等价物可包括该值的正负10%的值范围,例如与该值相差10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%的一系列值。例如,数量“约10”包括从9到11的数量。

[0061] 根据本申请的一个方面,提供了一种或多种化合物。当施用于对象时,代表性化合物可用于释放一氧化氮(NO)并抑制磷酸二酯酶(PDE)的活性。在一些实施例中,对象可以是人。在一些实施例中,对象可以是非人类动物。在一些实施例中,对象可以是男性。在一些实施例中,对象可以是女性。在一些实施例中,对象患有疾病或病理症状。

[0062] 在一些实施例中,化合物可由式(I)表示:



[0063] 其中 $L_1$ 可以包括作为NO释放剂的一部分或全部的官能团; $L_2$ 可以包括作为PDE抑制剂的一部分或全部的官能团;-X-可以是连接 $L_1$ 和 $L_2$ 的键或双自由基。如本文所述的,“NO释放剂”是指能够以受控或非受控方式释放NO的试剂;“PDE抑制剂”是指能够抑制PDE活性的分子或药剂。 $L_1$ 可以使化合物通过生物活化释放NO。 $L_2$ 可以使化合物抑制PDE的活性。在一些实施例中, $L_1$ 和 $L_2$ 可以通过-X-连接。例如,-X-可以是共价键或非共价键。非共价键可以包括离子键、金属键、氢键、疏水相互作用等,或它们的任何组合。再例如,-X-可以是连接 $L_1$ 和 $L_2$ 的双自由基。双自由基可以是支链或未支链、饱和或不饱和、取代或未取代的烃基(例如 $C_{1-50}$ 链)。在一些实施例中,如果烃基被取代,则烃基可以被一个或多个杂原子取代,例如N、P、S、O等,或其任意组合。例如,取代的烃基可以被杂链基团(例如 $-NH_3$ 、 $-COOH$ 或 $-OH$ )或杂环基团(例如酚基、苯胺基)取代。在一些实施例中,-X-可以是芳族部分、稠合的芳族部分、糖、寡糖、乙二醇、聚乙二醇、肽键等。

[0064] 一氧化氮(NO)是血流和血流动力学的主要内源性调节剂之一。例如,NO可以促进血管舒张,改善缺氧状态下的毛细血管血流量和氧气供应。NO还可以保护血管系统损伤并帮助修复血管损伤。NO还抑制病毒或细菌感染。然而,NO在体内的半衰期很短(只有几毫秒),这极大地限制了外源性NO在治疗病毒或细菌感染、修复血管损伤相关疾病方面的应

用。此外,吸入NO对ARDS的疗效有限,因为其组织渗透性差。高剂量吸入的NO与活性氧(ROS)反应并产生的有毒活性氮(RNS)代谢物,可以导致血管损伤和过度炎症。

[0065] 由于 $L_1$ 包括作为NO释放剂的一部分或全部的官能团,本申请公开的示例性化合物可以通过生物活化(或代谢活化)在局部组织中持续释放NO。例如,由于一种或多种还原酶如脱氢酶、谷胱甘肽S-转移酶(GST)、P450的还原作用,化合物可释放NO。

[0066] 在一些实施例中,NO释放剂可以是有机硝酸盐。有机硝酸盐是NO的前体药物。包括 $L_1$ 的化合物(包括有机硝酸盐的一部分或全部的官能团)可以通过生物活化连续释放NO,释放的NO可以渗透到附近的组织中。有机硝酸盐是指醇基的硝酸酯。常用的有机硝酸盐包括三硝酸甘油酯(GTN)、二硝酸甘油酯(GDN)、单硝酸甘油酯(GMN)、四硝酸季戊四醇(PETN)、三硝酸季戊四醇(PETriN)、二硝酸季戊四醇(PEDN)、单硝酸季戊四醇(ISDN)、单硝酸异山梨醇酯(ISMN)、尼古兰地、硝酸丙酯、西硝地尔、替尼曲明、曲硝酸酯等。图1A-1B是根据本申请的一些实施例所示的可释放NO的有机硝酸盐的结构式示意图。例如,GDN可以包括结构异构体例如GDN(1,3)、GDN(1,2)和立体异构体,如图1A所示。GMN也可以包括一些立体异构体。再例如,PETriN、PEDN和PEMN可以分别包括结构异构体,如图1B所示。 $L_1$ 还可以包括作为有机硝酸盐结构异构体或立体异构体的一部分或全部的官能团。

[0067] 在一些实施例中, $L_1$ 可以由通式 $L_3-ONO_2$ 表示。 $L_3$ 可以是例如芳基、苄基或伯、仲或叔烷基。 $L_3$ 可以未被取代或被一个或多个杂原子取代。再例如, $L_3$ 可以是饱和的或不饱和的。当 $L_3$ 不饱和时, $L_3$ 可以包括一个或多个双键和/或一个或多个三键。示例性地, $L_3$ 可以是未被取代或被一个或多个杂原子例如N、P、S、O等取代的 $C_{1-99}$ 碳链。例如,如果 $L_3$ 被取代,则 $L_3$ 可以被取代由杂链基团(例如 $-NH_3$ 、 $-COOH$ 或 $-OH$ )或杂环基团(例如酚基、苯胺基)组成。再例如, $L_3$ 可以是分支的或不分支的。在一些实施例中, $L_3$ 可以包括一个或多个 $-ONO_2$ 基团。图1C是根据本申请的一些实施例所示的包括作为有机硝酸盐一部分或全部官能团的 $L_1$ 的结构式示意图。如图1B所示, $R_1-R_{12}$ 可以分别是支链或未支链、饱和或不饱和、取代或未取代的烃基。

[0068] 图1D是根据本申请的一些实施例所示的NO释放剂释放NO的示意图。NO释放分子可以通过细胞或组织中的生物活化(例如,通过还原酶)释放一个或多个NO分子。如图1D所示,GTN分子可以释放NO分子并转化为GDN分子。GDN分子可以释放NO分子并转化为GMN分子。类似地,ISDN分子可以释放NO分子并转化为ISMN分子。一个PETN分子可以逐渐释放4个NO分子并转化为PETriN、PEDN和PEMN,如图1D所示。在一些实施例中, $L_1$ 可以包括与NO释放相关的多个官能团。这些化合物可以在局部组织中持续释放NO。例如, $L_1$ 可包括1个硝酸酯基团、2个硝酸酯基团、3个硝酸酯基团或4个硝酸酯基团。再例如, $L_1$ 可以包括5个硝酸酯基团。再例如, $L_1$ 可以包括无机硝酸盐。例如,无机硝酸盐可以包括硝酸盐,例如硝酸钾、硝酸钠等。 $L_1$ 可以是亚硝酸盐或亚硝酸盐。

[0069] 3',5'-环核苷酸磷酸二酯酶(PDE)降解第二信使环磷酸腺苷(cAMP)和环磷酸鸟苷(cGMP)。PDE包含11个基因家族(PDE1、PDE2、PDE3、PDE4、PDE5、PDE6、PDE7、PDE8、PDE9、PDE10和PDE11)。PDE酶家族的每个成员都有自己对cAMP和/或cGMP的底物偏好、组织分布,并受特定辅助因子和激活剂的调节。PDE1、PDE2、PDE3、PDE10和PDE11会同时降解cAMP和cGMP。PDE4、PDE7和PDE8选择性地降解cAMP。PDE5、PDE6和PDE9选择性地降解cGMP。

[0070] 在一些实施例中, $L_2$ 可以包括作为抑制PDE活性的PDE抑制剂的部分或全部的官能团。如本申请所述,术语酶的“活性”是指区域(例如细胞区域)或组织中的任何分子(例如

酶)的功能能力(例如催化)。活性可以受分子表达水平变化的影响,或受每单位分子功能水平变化的影响,或两者都有。例如,可以通过降低PDE的表达和/或阻碍PDE的功能来抑制PDE的活性。

[0071] 在一些实施例中,PDE抑制剂可以是抑制PDE家族的特定成员的选择性抑制剂。在一些实施例中,PDE抑制剂可以抑制PDE家族的多个成员。

[0072] 在一些实施例中,PDE可以是PDE4,并且PDE抑制剂可以是PDE4抑制剂。在一些实施方案中,PDE4抑制剂是特异性高于预定阈值的特异性抑制剂。

[0073] 在一些实施例中,PDE可以是PDE3,并且PDE抑制剂可以是PDE3抑制剂。在一些实施例中,PDE可以是PDE5,并且PDE抑制剂可以是PDE5抑制剂。

[0074] 在一些实施例中,PDE抑制剂可以是PDE1抑制剂、PDE2抑制剂、PDE4抑制剂、PDE5抑制剂、PDE6抑制剂、PDE7抑制剂、PDE8抑制剂、PDE9抑制剂、PDE10抑制剂、PDE11抑制剂等等,或其任意组合。

[0075] 在一些实施例中,PDE抑制剂可以是双重PDE3/PDE4抑制剂。在一些实施例中,PDE抑制剂可以是双重PDE4/PDE5抑制剂。在一些实施例中,PDE抑制剂可以是双重PDE4/PDE7抑制剂。在一些实施例中,PDE抑制剂可以是双重PDE4/PDE8抑制剂。在一些实施例中,PDE抑制剂可以是双重PDE4/9抑制剂。在一些实施例中,PDE抑制剂可以是双重PDE4/PDE10抑制剂。在一些实施例中,PDE抑制剂可以是双重PDE4/PDE11抑制剂。在一些实施例中,PDE抑制剂可以是双重PDE 4/PDE 1抑制剂。在一些实施例中,PDE抑制剂可以是双重PDE 4/PDE 2抑制剂。

[0076] PDE4是肺泡内皮和上皮细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞等的主要cAMP降解酶之一。PDE4抑制剂延长cAMP介导的信号传导,减少多种炎症介质、促炎细胞因子、以及炎症细胞向肺泡的浸润,刺激上皮粘液的分泌,促进微生物和细胞碎片的清除。PDE4抑制剂在ARDS模型中有效,可用于治疗慢性阻塞性肺病(COPD)、银屑病和湿疹。例如,PDE4抑制剂可包括罗氟司特、阿普司特、Crisaborole、西洛米司特、CDP-840、MK0359、MK0873、MK0952、异丁司特、CHF6001、Ronomilast、Oglemilast、替托司特、GSK256066、656066、YM95-G516-1616-M97-1616-161M97、ASP3258、E6005、GW842470X、OPA-15406、Leo-29102、HFP034、CBS3596、Revamilast(GRC4039)、NCS613、FCPP03、BAY19-8004、L-6,4,7205、L-6,4,818 976、咯利普兰、HT-0712、ABI-4、FCPR03、E6005(RVT-501)、GW842470X、OPA-15406、DRM02、HFP034等,或其任意组合。

[0077] 在一些实施例中,PDE4抑制剂可以抑制PDE4A、PDE4B、PDE4C或PDE4D中至少一种的效力。

[0078] PDE5抑制剂可以阻断PDE5对环GMP的降解作用,例如,供应各种组织的血管的内层平滑肌细胞。PDE5抑制剂可以用作血管扩张剂以改善血流动力学调节,从而治疗人类和动物的血管收缩性疾病。PDE5抑制剂如西地那非(万艾可)、他达拉非(希爱力)、阿伐那非(Stendra)和伐地那非(Levitra)在临床上被用于治疗勃起功能障碍。西地那非和他达拉非也适用于治疗某些亚型肺动脉高压,而他达拉非也被批准用于治疗良性前列腺增生。其他示例性PDE5抑制剂可包括米洛地那非、乌地那非、洛地那非、扎普司特、淫羊藿苷等。

[0079] PDE3抑制剂可以用于治疗心脏病和外周动脉疾病。PDE3抑制剂可以包括例如米力农和西洛他唑、氨力农和依诺昔酮。其他PDE抑制剂,包括PDE7抑制剂,可以用于治疗炎症性

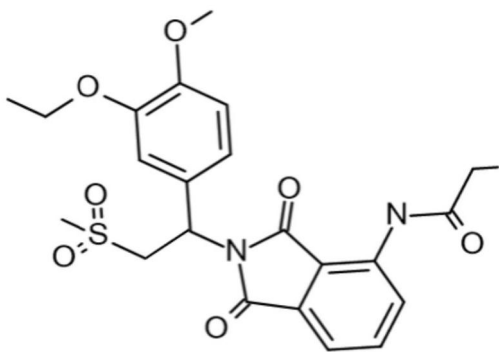
疾病或用作神经保护剂。

[0080] 图2是根据本申请一些实施例所示的PDE4抑制剂和PDE3抑制剂的结构式示意图。图2中所示罗氟司特可以用于治疗重度COPD,阿普司特可以用于治疗银屑病关节炎(PsA),西洛司特可以用于治疗哮喘和COPD等呼吸系统疾病,己酮可可碱可以用于治疗改善血液循环,西洛他唑可以用于治疗周围血管疾病。

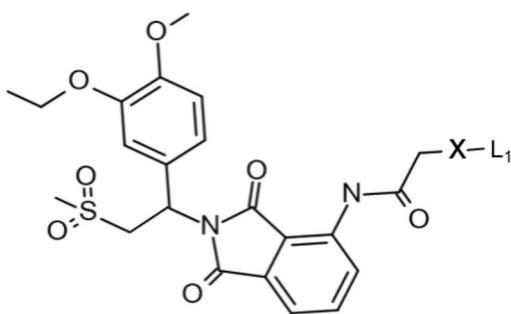
[0081] 在一些实施例中,-X-可以是连接 $L_1$ 和 $L_2$ 的键或双自由基,并且所述化合物可以基于涉及NO释放一部分和PDE抑制部分的化学反应产生。例如,所述化合物可以基于加成反应、消除反应、取代反应、周环反应、重排反应、光化学反应、氧化还原反应等或其任意组合来生产。

[0082] 在一些实施例中,可以使用核心支架生产化合物。在一些实施例中,核心支架不包括 $L_1$ 或 $L_2$ 。可以通过将 $L_1$ 和 $L_2$ 接枝到核心支架上来生成所述化合物。例如,核心支架可以是有分支或没有分支、饱和或不饱和、取代或未取代的化合物。在一些实施例中,核心支架可包括 $L_1$ 或 $L_2$ 。例如,包括 $L_2$ 的PDE4抑制剂可用作核心支架。 $L_1$ 可以接枝到PDE4抑制剂上以产生化合物。类似地,包括 $L_1$ 的NO释放化合物可用作核心支架。 $L_2$ 可以接枝到释放NO的化合物上以产生该化合物。

[0083] 在一些实施例中, $L_2$ 可以来源于阿普斯特(Apremilast)。在一些实施例中, $L_2$ 可以是



[0084] 在一些实施例中,化合物可以由式(II)表示:



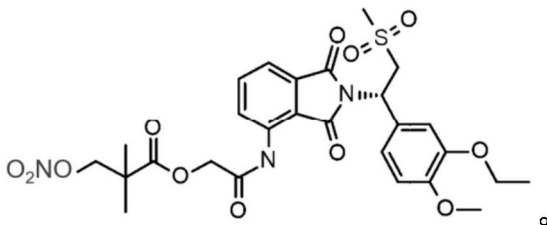
其中-X-是共价键、非共价键或双价键; $L_1$ 可以包括作为NO释放剂的一部分或全部的官能团。关于NO释放剂的更多内容可以参见以上所述。

[0085] 在一些实施例中,NO释放剂可以是硝酸甘油(GTN)、硝酸异山梨醇酯(ISDN)或四硝酸季戊四醇酯(PETN)。

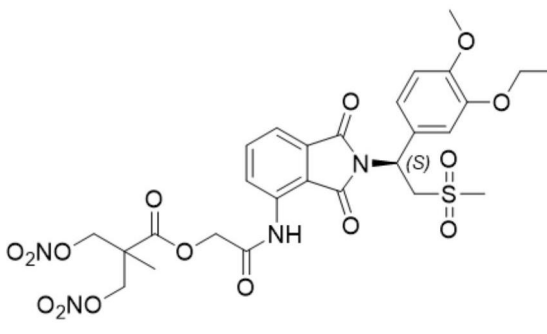
[0086] 在一些实施例中, $L_1$ 可以包括一个或多个- $ONO_2$ 基团。例如, $L_1$ 可以包括一个、两个或三个- $ONO_2$ 基团。在一些实施例中, $L_1$ 可以是- $C(CH_3)_2-CH_2-ONO_2$ 、- $C(CH_3)-(CH_2-ONO_2)_2$ 等。

[0087] 在一些实施例中,X可以包括O、C、N、S或P。在一些实施例中,X可以包括0-10个原子。在一些实施例中,-X-可以包括酯键、酰胺键、磺酰胺键、硫酸盐键、磷酰胺键、磷酸酯键、酮键或亚芳基。

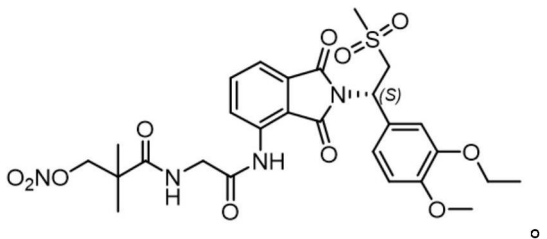
[0088] 在一些实施例中,化合物可以是(S)-2-((2-(1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧乙基-2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酸酯,也称为“化合物-1”,其具有以下结构:



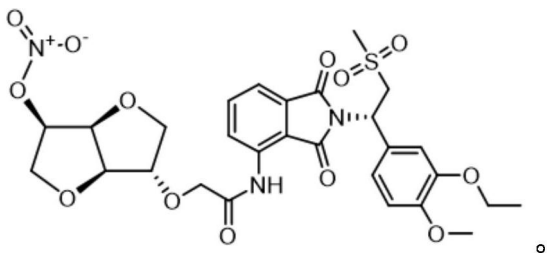
[0089] 在一些实施例中,化合物可以是(S)-2-((2-(1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧乙基-2-甲基-3-(硝基氧基)-2-(硝基氧基)甲基丙酸酯,也称为“化合物-2”,其结构如下:



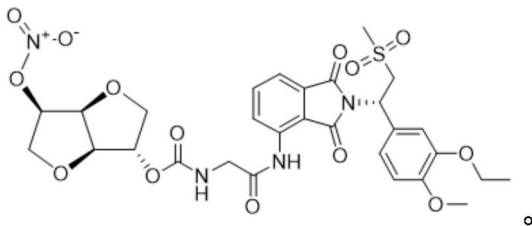
[0090] 在一些实施例中,化合物可以是(S)-3-((2-((2-(1-(3-ethoxy-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-2-oxoethyl)amino)-2,2-二甲基-3-氧代丙基硝酸酯,也称为“化合物-3”,其具有以下结构:



[0091] 在一些实施例中,化合物可以是(3R,3aS,6S,6aR)-6-(2-((2-((S)-1-(3-ethoxy-4-甲氧基苯基)-2-(methylsulfonyl)ethyl)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧代乙氧基)六氢咪喃[3,2-b]咪喃-3-基硝酸盐,也称为“化合物-4”,其具有以下结构:



[0092] 在一些实施例中,化合物可以是(3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢呋喃[3,2-b]呋喃-3-基(2-((2-((S)-1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧乙基)氨基甲酸酯,也称为“化合物-5”,其具有以下结构:



[0093] 图3是根据本申请一些实施例所示的新型NO释放PDE4抑制剂的结构式的示意图。在一些实施例中,图3中所示的X可以是O、S或CH<sub>2</sub>等。在一些实施例中,n的范围可以从1到20。在一些实施例中,图3中所示的Y可以是O、N、S或CH<sub>2</sub>等。例如,X可以是CH<sub>2</sub>,Y可以是N。又例如,X可以是CH<sub>2</sub>,Y可以是O。图3中所示的化合物A-G具有NO释放特性和PDE4抑制特性。例如,化合物D包括两个-ONO<sub>2</sub>基团。一个化合物D分子可以通过生物活化释放两个NO分子。示例性地,化合物A-G可以用于治疗或预防病毒或细菌感染、脉管系统损伤相关疾病、银屑病、银屑病关节炎或其他免疫系统相关炎性疾病。

[0094] 图4是根据本申请一些实施例所示的新型NO释放PDE4抑制剂示意图。在一些实施例中,化合物A和B可以用于治疗或预防病毒或细菌感染、脉管系统损伤相关疾病、银屑病、银屑病关节炎或其他免疫系统相关炎性疾病。

[0095] 根据本申请的另一方面,提供所述化合物的用途。所述化合物可以用于治疗或预防一些人类疾病或动物疾病。在一些实施例中,如文中所述,或如文中所述的化合物的相关机制和功能的描述所述,本发明涉及本申请中提供的化合物在制备用于治疗或预防某些人或动物疾病的药物中的用途,。

[0096] 在一些实施例中,所述化合物可以用于治疗PDE相关疾病。在一些实施例中,所述化合物可以用于以比PDE抑制剂本身(其包括L<sub>2</sub>中能够抑制PDE的官能团)更大的治疗窗来治疗PDE相关疾病。如本申请所述,术语“治疗窗”是指可有效治疗疾病而不引起不想要的不良反应(例如毒性作用)或引起低于预定毒性作用水平的毒性作用的药物剂量范围。

[0097] 在一些实施例中,PDE相关疾病可以包括PDE4相关疾病。具体地,PDE4相关疾病可以包括但不限于PDE4A相关疾病、PDE4B相关疾病、PDE4C相关疾病或PDE4D相关疾病。在一些实施例中,化合物可以表现出小于720nM的抑制PDE4A的半数最大抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。在一些实施例中,所述化合物可表现出小于200nM的IC<sub>50</sub>抑制PDE4A。在一些实施例中,所述化合物可以表现出小于2.3μM的抑制PDE4C的IC<sub>50</sub>。在一些实施例中,所述化合物可表现出小于0.7μM的IC<sub>50</sub>抑制PDE4C。

[0098] 例如,化合物可以是化合物-2,并且可以表现出小于320nM、小于315nM或小于310nM的抑制PDE4A的IC<sub>50</sub>。化合物-2可表现出小于2.5μM、小于2.3μM或小于2.275μM的抑制PDE4C的IC<sub>50</sub>。再例如,化合物可以是化合物-1,并且可以表现出小于200nM、小于190nM或小于180nM的抑制PDE4A的IC<sub>50</sub>。化合物-1可表现出小于2.5μM、小于2.3μM或小于2.24μM的抑制PDE4C的IC<sub>50</sub>。再例如,化合物可以是化合物3。化合物3可以表现出小于250nM、小于230nM或小于220nM的抑制PDE4A的IC<sub>50</sub>。化合物3抑制PDE4C的IC<sub>50</sub>小于1.2μM或小于1.1μM。再例如,化合物可以是化合物4。化合物4可以表现出小于750nM、小于730nM或小于720nM的IC<sub>50</sub>

抑制PDE4A。化合物4可以表现出小于300nM、小于150nM或小于120nM的IC50抑制PDE4C。再例如,化合物可以是化合物5。化合物5可以表现出小于100nM、小于80nM或小于45nM的抑制PDE4A的IC50。化合物5可以表现出小于1000nM、小于900nM或小于850nM的抑制PDE4A的IC50。

[0099] 在一些实施例中,所述化合物可以进一步用于改善微循环、减少炎症、改善免疫调节或刺激内皮损伤修复。

[0100] 在一些实施例中,所述化合物还可以用于同时改善微循环、减少炎症、改善免疫调节和刺激内皮损伤修复以治疗对象的相关病症。

[0101] 在一些实施例中,当所述化合物施用于对象时,可以进一步用于释放NO并抑制局部组织中PDE的活性。例如,在向对象施用化合物后,对象的血浆硝酸盐水平可能增加。

[0102] 在一些实施例中,所述化合物可以进一步用于增强对脉管系统和亚脉管系统空间的PDE4抑制,以增强治疗相关疾病的治疗窗。

[0103] 在一些实施例中,该化合物可以进一步用于治疗炎症、免疫或脉管系统疾病。

[0104] 在一些实施例中,所述化合物可以进一步用于拥有/利用可调的NO释放特性。在一些实施例中,可调节的NO释放特性可以用于调节PDE4抑制剂向脉管系统/脉管系统附近空间的递送。化合物的NO释放特性可以通过改变化合物L<sub>1</sub>中NO释放基团的数量来调节。例如,通过增加化合物L<sub>1</sub>中NO释放基团的数量,化合物可以释放更多的NO分子,从而增加局部组织中NO的浓度。此外,也可以通过增加化合物的L<sub>1</sub>中NO释放基团的数量,使得化合物可以更长时间地连续释放NO。

[0105] 根据本申请的另一方面,提供一种治疗或预防疾病或病症的方法。所述方法可以包括向对象施用药学有效量的上述化合物。例如,所述方法可以包括通过口服给药、注射给药、局部给药等或其任意组合将组合物施用给对象。

[0106] 根据本申请的另一方面,可以配制包含所述化合物的组合物并用于治疗或预防疾病或病症。在一些实施例中,药物组合物还可以包括赋形剂。

[0107] 在一些实施例中,组合物也可以包括药学上可接受的载体。例如,载体可以包括涂层、胶囊、微胶囊、纳米胶囊等,或其的任意组合。需要注意的是,载体可能需要是无毒的,并且可能不会对药物组合物中的关键成分(例如,上述化合物)的活性产生显著影响。在一些实施例中,载体可以为关键成分提供保护以防止一些不期望的条件,例如关键成分的氧化、分解或失活。例如,胃中的酶或相对较低的pH值可以导致关键成分的分解或失活。载体可以通过保护药物组合物中的关键成分来帮助维持或增加药物组合物的功效。在一些实施例中,载体可以用于关键成分的控释。控释可以包括但不限于缓释、持续释放、靶向释放等。例如,载体可以包括由胶原、明胶、壳聚糖、藻酸盐、聚乙烯醇、聚环氧乙烷、淀粉、交联淀粉等或其任意组合制成的水凝胶胶囊、微胶囊或纳米胶囊。在一些实施例中,载体可以促进药物组合物中关键成分的控释。

[0108] 在一些实施例中,组合物可以配制成片剂、胶囊、颗粒、粉末、胶束、液体、悬浮液、乳霜、泡沫、凝胶、乳液、糊剂或软膏。

[0109] 在一些实施例中,组合物可以通过口服给药、注射给药或局部给药施用给对象。在一些实施例中,注射给药可以包括皮下注射、肌肉注射、静脉内注射等。在一些实施例中,注射给药可以包括将组合物注射到肿瘤或靠近肿瘤的区域中。在一些实施例中,注射给药可

以包括将组合物注射到肾脏、肝脏、心脏、甲状腺或关节中。在一些实施例中，局部给药可以包括将组合物应用于皮肤以减轻癌症，例如皮肤癌、淋巴瘤。在一些实施例中，局部给药可以包括阴道给药、直肠给药、鼻腔给药、耳部给药、髓内给药、关节内给药、胸膜内给药等，或其任意组合。在一些实施例中，组合物可以通过不同给药方式的组合施用于对象。在一些实施例中，所述方法可以包括将组合物每天三次、每天两次、每天一次、每两天一次等施用于对象。

[0110] 在一些实施例中，所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物，可以用于治疗或预防急性肺损伤 (ALI) 或急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由SARS-CoV-2引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由其他冠状病毒感染引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由其他病毒感染引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由细菌感染引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由寄生虫感染引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由真菌感染引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由外伤引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由手术引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由高原性气道水肿引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由药物诱发的损伤引起的ARDS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由败血症引起的ARDS。

[0111] 在一些实施例中，所述方法通过对对象施用药物有效量的本申请披露的化合物，可以用于治疗或预防支气管炎、哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、特发性肺纤维化 (IPF)、高原肺水肿或囊性纤维化。

[0112] 在一些实施例中，所述方法可以用于通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物来改善细胞因子风暴管理。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由SARS-CoV-2引起的细胞因子风暴。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由PD-1或PD1-1抗体引起的细胞因子风暴。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由靶向T细胞、B细胞、中性粒细胞、巨噬细胞或单核细胞的治疗性抗体引起的细胞因子风暴。

[0113] 在一些实施例中，所述方法可以用于通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物来治疗或预防中风。

[0114] 在一些实施例中，所述方法通过向对象给予药学有效量的本申请化合物，可以用于治疗或预防急性肾损伤 (AKI)、慢性肾病、各种类型的肾炎或局灶节段性肾小球硬化 (FSGS)、特发性FSGS。在一些实施例中，所述方法可以用于治疗或预防由癌症药物使用引起的AKI。

[0115] 在一些实施方案中，所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物，可以用于治疗或预防非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、原发性胆汁性胆管炎 (PBC)、肝硬化、1型糖尿病、2型糖尿病或糖尿病并发症。例如，糖尿病并发症可包括但不限于糖尿病足、糖尿病神经痛、糖尿病神经病变、糖尿病肾病、糖尿病酮症酸中毒或其他糖尿病血管并发症。

[0116] 在一些实施方案中，所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物，可以用于治疗或预防过敏反应或炎症。在一些实施例中，所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物，可以用于治疗或预防眼病，包括葡萄膜炎、干眼症、眼过敏、黄斑变性



(AMD)或青光眼。

[0117] 在一些实施例中,所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物,可以用于治疗或预防外周免疫障碍,包括类风湿性关节炎(RA)、炎症性肠病(IBD)、白塞综合征、溃疡性结肠炎、强直性脊柱炎、外阴痛、痤疮、扁平苔藓、痒疹结节病、盘状红斑狼疮或克罗恩病。

[0118] 在一些实施例中,所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物,可以用于治疗或预防自身免疫性疾病,包括系统性红斑狼疮(SLE)。

[0119] 在一些实施例中,所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物,可以用于治疗、预防或减缓中枢神经系统疾病,包括阿尔茨海默病、帕金森病或中风。

[0120] 在一些实施例中,所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物,可以用于治疗或预防癌症。例如,癌症可以是白血病、乳腺癌、非小细胞肺癌、胃癌、卵巢癌、胰腺癌、炎性乳腺癌、前列腺癌、膀胱癌、结肠癌、肝癌、肾癌或腹膜癌。在一些实施方案中,白血病可以是急性髓性白血病、急性淋巴细胞白血病、急性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病或慢性髓性白血病。

[0121] 在一些实施例中,所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物,可以用于治疗或预防多发性硬化症。

[0122] 在一些实施方案中,所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物,可以用于治疗或预防移植排斥。

[0123] 在一些实施方案中,所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物,可以用于治疗或预防败血症、高原肺水肿、哮喘或支气管炎。

[0124] 在一些实施方案中,所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物,可以用于治疗或预防过敏性鼻炎、糖尿病、糖尿病性神经病变、过敏性结膜炎、糖尿病性黄斑变性、慢性肾病、牛皮癣、特应性皮炎、嗜酸性肉芽肿、骨关节炎、结肠炎或胰腺炎。

[0125] 在一些实施方案中,所述方法通过向对象施用药学有效量的本申请的化合物,可以用于治疗或预防皮肤病。例如,皮肤病可包括牛皮癣、特应性皮炎、嗜酸性肉芽肿或牛皮癣。

[0126] 根据本申请的另一方面,提供了一种治疗或预防ALI或ARDS的方法。所述方法可以包括向对象施用药学有效量的所述化合物。所述方法可以包括通过口服给药、注射给药、局部给药等或其任意组合向对象给药一种或多种化合物(例如,包括一种或多种化合物和药学上可接受的载体的组合)以治疗ARDS。在一些实施方案中,化合物可以是化合物-1、化合物-2、化合物-3、化合物-4或化合物-5。

[0127] 根据本申请的另一方面,提供了一种治疗或预防对象的PDE相关疾病的方法。例如,PDE相关疾病可包括PDE4相关疾病,例如PDE4A相关疾病、PDE4B相关疾病、PDE4C相关疾病或PDE4D相关疾病等,或其任意组合。在一些实施例中,所述方法可以包括通过口服给药、注射给药、局部给药等或其任何组合,将一种或多种化合物(例如,包括一种或多种化合物和药学上可接受的载体的组合)施用给对象以治疗ARDS。在一些实施方案中,所述化合物可以是化合物-1、化合物-2、化合物-3、化合物-4或化合物-5。

[0128] 示例性地,用于治疗或预防ALI、ARDS或PDE相关疾病的方法可以包括以0.01-50mg/kg向对象口服施用所述化合物。例如,所述方法可以包括将化合物以1-50mg/kg口服

给药于对象。再例如,所述方法可以包括以5-50mg/kg向对象口服施用该化合物。在一些实施例中,所述方法可以包括以约5mg/kg、10mg/kg、50mg/kg向对象口服施用化合物-1、化合物-2、化合物-3、化合物-4或化合物-5或其任意组合。

[0129] 在一些实施例中,提供了所述化合物用于治疗或预防ALI或ARDS的用途。例如,化合物可以包括化合物-1、化合物-2、化合物-3、化合物-4或化合物-5中的一种或多种。

[0130] 根据本申请的另一方面,提供所述化合物用于治疗或预防癌症的用途。例如,化合物可以包括化合物-1、化合物-2、化合物-3、化合物-4或化合物-5中的一种或多种。

[0131] 根据本申请的另一方面,提供所述化合物用于治疗或预防PDE相关疾病的用途。例如,化合物可以包括化合物-1、化合物-2、化合物-3、化合物-4或化合物-5中的一种或多种。

[0132] 在一些实施例中,可以在施用用于治疗疾病或病症的其他药物组合物之前或之后向对象施用包含所述化合物的组合物。或者,组合物和其他药物组合物可以同时施用于对象以治疗疾病或病症。

[0133] 根据以下实施例进一步披露本申请,其不应被解释为限制本公开的范围。

### 实施例

实施例1-(S)-2-((2-(1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧乙基2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酸酯(也称为化合物-1)的制备

[0134] 按以下步骤制备化合物-1。图5是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物-1的示例性流程图。

[0135] 步骤1,制备2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酸甲酯(图5中所示的产物2):

[0136] 将HNO<sub>3</sub>(0.2mL)连续加入到3-羟基-2,2-二甲基丙酸甲酯(2mL)在乙酸酐(10mL)中的溶液中。将反应混合物在氮气中,0℃以下搅拌2小时(hrs)。加入水(20mL),并用EA(20mL×2)萃取混合物。合并的有机层用饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液(20mL×2)和饱和盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后过滤所得物以收集滤液。将滤液浓缩以提供呈浅黄色油状的产物2(2.2g,84%产率)。对所得化合物进行核磁共振光谱分析,测试结果如下:1H NMR(300MHz, CDC13) δ4.49(s,2H),3.71(s,3H),1.46-1.10(m,6H)。

[0137] 步骤2,制备2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酸(图5中所示的产物3):

[0138] 向2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酸甲酯(2.2g,0.012mol)在MeOH(20mL)的溶液中加入NaOH(2.5M,20mL)。将溶液在氮气下,室温搅拌16小时。在真空下除去MeOH。添加水(30mL),用5N HCl水溶液酸化至pH 3-4,用EA(30mL×3)萃取。有机层用盐水(30mL)洗涤,浓缩至干,得到呈浅黄色油状的产物3(2g,89%产率)。对所得化合物进行核磁共振波谱分析,测试结果如下:1H NMR(300MHz, CDC13) δ11.04(s,1H),4.48(d,J=19.8Hz,2H),1.40-1.28(m,6H)。

[0139] 步骤3,制备2,2-二甲基-3-硝基氧基-丙酰氯(图5所示的产物4):

[0140] 向2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酸(200mg,1.23mmol)在DCM(10mL)的溶液中加入草酰氯(0.17mL,1.84mmol)、0.05mL二甲基甲酰胺(DMF)。2小时后,将溶液减压浓缩,粗产物用EA(20mL×3)萃取。有机层用盐水(20mL)洗涤,浓缩至干,得到呈浅黄色油状的产物4(200mg,90%产率)。

[0141] 步骤4,制备(S)-2-((2-(1-(3-ethoxy-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,

3-二氧异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧乙基2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酸酯(化合物-1):

[0142] 向2,2-二甲基-3-硝基氧基-丙酰氯(150mg,0.83mmol)和TEA(251mg,2.47mmol)在二氯甲烷(DCM)(10mL)中的溶液中加入溶液N-{2-[(1S)-1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-甲磺酰基乙基]-1,3-二氧异吲哚啉-4-基}-2-羟基乙酰胺(也称为化合物-6)在DCM中。将溶液在氮气下在室温搅拌1小时。加入水(20mL),混合物用DCM(20mL×2)萃取。合并的有机层用饱和盐水(20mL×2)洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后过滤所得物以收集滤液。浓缩滤液。通过硅胶柱色谱法(PE/EA=1:1)纯化粗产物以提供呈浅黄色固体状的化合物-1(90mg,17%产率)。对所得化合物进行质谱和核磁共振光谱分析,测试结果如下:质量(m/z):643.9[M+Na]<sup>+</sup>.<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sup>6</sup>)δ10.04(s,1H),8.53(d,J=8.4Hz,1H),7.82(t,J=7.8Hz,1H),7.61(d,J=7.4Hz,1H),7.07(s,1H),7.00(d,J=8.4Hz,1H),6.93(d,J=8.4Hz,1H),5.77(dd,J=11.2,4.8Hz,1H),4.85(s,2H),4.74(s,2H),4.32(dd,J=14.0,10.8Hz,1H),4.15(dd,J=14.2,4.2Hz,1H),4.01(q,J=6.8Hz,2H),3.73(s,3H),3.01(s,3H),1.35-1.31(m,9H)。

实施例2-((2-[(1S)-1-(3-ethoxy-4-甲氧基苯基)-2-甲磺酰基乙基]-1,3-二氧异吲哚啉-4-基)氨基甲酰基)甲基2-甲基-3-(硝基氧基)-2-[(硝基氧基)甲基]丙酸酯(也称为化合物-2)的制备

[0143] 按以下步骤制备化合物-2。图6是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物-2的示例性流程图。

[0144] 步骤1,制备2-甲基-3-(硝基氧基)-2-[(硝基氧基)甲基]丙酸(图6所示的产物-2):

[0145] 将HNO<sub>3</sub>(0.5mL)连续加入到3-羟基-2-(羟甲基)-2-甲基丙酸(2mL)在乙酸酐(20mL)中的溶液中。将反应混合物在氮气下,室温搅拌2小时。加入水(20mL),并用EA(20mL×2)萃取混合物。合并的有机层用饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液(20mL×2)和饱和盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后过滤所得物以收集滤液。将滤液浓缩以提供呈浅黄色油状的化合物-2(2.9g,50%产率)。对所得化合物进行核磁共振波谱分析,测试结果如下:<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO)δ13.41(s,1H),4.68(d,J=2.0Hz,4H),1.32-1.21(m,3H)。

[0146] 步骤2,制备2-甲基-3-(硝基氧基)-2-[(硝基氧基)甲基]丙酰氯:

[0147] 向2-甲基-3-(硝基氧基)-2-[(硝基氧基)甲基]丙酸(500mg,2.23mmol)在DCM(15mL)的溶液中加入草酰氯(0.43mL,3.34mmol),0.1mL DMF。2小时后,将溶液减压浓缩,粗产物用EA(20mL×3)萃取。有机层用盐水(20mL)洗涤,浓缩至干,得到呈浅黄色油状的产物4(500mg,74%产率)。

[0148] 步骤3,制备(S)-2-((2-(1-(3-ethoxy-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧乙基2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酸酯(化合物-2):

[0149] 向2-甲基-3-(硝基氧基)-2-[(硝基氧基)甲基]丙酰氯(210mg,0.87mmol)和TEA(251mg,2.47mmol)的DCM(10mL)溶液中加入添加N-{2-[(1S)-1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-甲磺酰基乙基]-1,3-二氧异吲哚啉-4-基}-2-羟基乙酰胺(500mg,1.05mmol)的DCM(2mL)。将反应混合物在氮气下,室温搅拌1小时。加入水(20mL),混合物用DCM(20mL×2)萃取。合并的有机层用饱和盐水(20mL×2)洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后过滤所得物以收集滤液。浓缩滤液。通过硅胶柱色谱法(PE/EA=2:1)纯化粗产物以提供呈浅黄色固体状的化合物-2(400mg,67%产率)。对所得化合物进行质谱和核磁共振光谱分析,测试结果如下:质量(m/

$z$ ): 704.8  $[M+Na]^+$ .  $^1H$ NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.07 (s, 1H), 8.51 (d,  $J=8.4$ Hz, 1H), 7.84 (t,  $J=7.8$ Hz, 1H), 7.63 (d,  $J=7.2$ Hz, 1H), 7.07 (d,  $J=1.8$ Hz, 1H), 7.00 (dd,  $J=8.4, 1.8$ Hz, 1H), 6.94 (d,  $J=8.4$ Hz, 1H), 5.77 (dd,  $J=11.2, 3.2$ Hz, 1H), 4.92 (d,  $J=0.5$ Hz, 2H), 4.87 (d,  $J=4.2$ Hz, 4H), 4.33 (dd,  $J=14.2, 10.8$ Hz, 1H), 4.15 (dd,  $J=14.4, 4.2$ Hz, 1H), 4.07-3.97 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.01 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.33 (t,  $J=7.0$ Hz, 3H)。

实施例3- (S)-3-((2-((2-(1-(3-ethoxy-4-甲氧基苯基)-2-(甲磺酰基)乙基)-1,3-二氧异吲哚啉-4-基)氨基)-2-oxoethyl)amino)-2,2-二甲基-3-氧代丙基硝酸酯(也称为化合物-3)的制备

[0150] 按以下步骤制备化合物3。图7是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物3的示例性流程图。

[0151] 步骤1, 制备2,2-二甲基-3-硝基氧基-丙酰氯:

[0152] 向2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酸(318mg, 1.95mmol)在DCM(10mL)中的溶液中加入(COCl) $_2$ (297mg, 2.34mmol)和DMF(50mg)。将混合物在室温下搅拌1小时,然后浓缩得到2,2-二甲基-3-硝基氧基-丙酰氯(0.4g, 99%产率),为白色固体,直接用于下一步。

[0153] 步骤2, 制备(2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酰基)甘氨酸甲酯:

[0154] 向2,2-二甲基-3-硝基氧基-丙酰氯(0.4g, 1.95mmol)在DCM(20mL)中的溶液中加入甘氨酸甲酯·HCl(295mg, 2.34mmol)和三乙胺(591mg, 5.85mmol)。将溶液在室温搅拌2小时。加入水(30mL)并用DCM(20mL $\times$ 3)萃取混合物。合并的有机层用盐水(20mL $\times$ 3)洗涤,经Na $_2$ SO $_4$ 干燥。然后过滤所得物以收集滤液。浓缩滤液。通过快速色谱法(PE/EA=2:1)纯化粗产物以提供无色油状的(2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酰基)甘氨酸甲酯(0.384g, 84%产率)。

[0155] 步骤3, 制备(2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酰基)甘氨酸:

[0156] 向(2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酰基)甘氨酸甲酯(0.384g, 1.64mmol)在THF(10mL)中的溶液中加入H $_2$ O(6mL)和LiOH(157mg, 6.56mmol)。将溶液在室温搅拌16小时。使用1N HCl调节pH=2-3,加入水(30mL)并用EA(20mL $\times$ 3)萃取混合物。合并的有机层用盐水(20mL $\times$ 3)洗涤,经Na $_2$ SO $_4$ 干燥。然后过滤所得物以收集滤液。将滤液浓缩以提供呈黄色油状的(2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酰基)甘氨酸(0.4g, 99%产率)。对所得化合物进行质谱分析,测试结果如下:质量(m/z): 439.1[2M-H] $^+$ 。

[0157] 步骤4, 制备(2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酰基)甘氨酸酰氯:

[0158] 向(2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酰基)甘氨酸(0.4g, 1.64mmol)在DCM(10mL)的溶液中加入(COCl) $_2$ (352mg, 2.77mmol)和DMF(50mg)。将混合物在室温下搅拌1小时,然后浓缩得到白色油状的(2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酰基)甘氨酸酰氯(0.5g, 99%产率),将其直接用于下一步。

[0159] 步骤5, 制备(S)-3-((2-((2-(1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲磺酰基)乙基)-1,3-二氧异吲哚啉-4-基))氨基)-2-氧乙基)氨基)-2,2-二甲基-3-氧代丙基硝酸酯:

[0160] 向(2,2-二甲基-3-(硝基氧基)丙酰基)甘氨酸酰氯(0.5g, 1.64mmol)在DCM(20mL)中的溶液中加入(S)-4-氨基-2-(1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲磺酰基)乙基)异二氢吲哚-1,3-二酮(330mg, 0.79mmol)和三乙胺(591mg, 5.85mmol)。将溶液在室温搅拌2小时。加入水(30mL)并用DCM(20mL $\times$ 3)萃取混合物。合并的有机层用盐水(20mL $\times$ 3)洗涤,经

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后过滤所得物以收集滤液。浓缩滤液。粗产物通过快速色谱法(PE/EA=1:1)纯化得到(S)-3-((2-((2-(1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲磺酰))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基)-2,2-二甲基-3-氧代丙基硝酸酯(144mg,14%产率),为黄色固体。对所得化合物进行质谱分析,测试结果如下:质量(m/z):621.2[M+H]<sup>+</sup>。

实施例4-(3R,3aS,6S,6aR)-6-(2-((2-((S)-1-(3-ethoxy-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基))-1,3-二氧异吡啶啉-4-基)氨基)-2-氧代乙氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基硝酸酯(也称为化合物-4)的制备

[0161] 按以下步骤制备化合物-4。图8是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物-4的示例性流程图。

[0162] 步骤1,制备2-(((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)乙酸叔丁酯:

[0163] 向(3R,3aS,6S,6aR)-6-羟基六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基硝酸酯(1g,5.24mmol)在THF(60mL)中的溶液中加入NaH(60%,230mg,5.76mmol),并将混合物在室温搅拌1小时。将2-溴乙酸叔丁酯(1.12g,5.76mmol)加入混合物中。将混合物在室温下进一步搅拌16小时。加入水(30mL)并用EA(30mL×3)萃取混合物。合并的有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后过滤所得物以收集滤液。浓缩滤液。粗产物通过快速色谱法(PE/EA=4:1)纯化,得到叔丁基2-(((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)乙酸酯(0.8g,50%产率),呈浅黄色油状。

[0164] 步骤2,制备2-((((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)乙酸:

[0165] 向2-(((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)乙酸叔丁酯(0.8g,2.62mmol)在DCM(10mL)的溶液中加入TFA(3mL)。将混合物在室温搅拌16小时并浓缩,以提供2-((((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)乙酸(0.9g,99%产率),呈浅黄色油。

[0166] 步骤3,制备2-((((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)乙酰氯:

[0167] 向2-(((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)乙酸(0.9g,2.62mmol)在DCM(10mL)的溶液中加入(COCl)<sub>2</sub>(0.4g,3.12mmol)和DMF(50mg)。将混合物在室温搅拌1小时。浓缩得到2-((((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)乙酰氯(1.0g,99%产率),为淡黄色油状。直接用于下一步。

[0168] 步骤4,制备(3R,3aS,6S,6aR)-6-(2-((2-((S)-1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲磺酰基)乙基))-1,3-二氧异吡啶啉-4-基)氨基)-2-氧代乙氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基硝酸酯:

[0169] 向2-((((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)乙酰氯(1.0g,2.62mmol)在DCM(20mL)的溶液中加入(S)-4-氨基-2-(1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)异二氢吡啶-1,3-二酮(125mg,0.299mmol)和三乙胺(1.32g,13.1mmol)。将溶液在室温搅拌2小时。加入水(30mL)并用DCM(20mL×3)萃取混合物。合并的有机层用盐水(20mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后过滤所得物以收集滤液。浓缩滤液。粗产物通过制备型HPLC(ACN-H<sub>2</sub>O,0.1%FA)纯化,得到(3R,3aS,6S,6aR)-6-(2-((2-((S)-1-(3-

ethoxy)-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧代乙氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基硝酸酯(20mg,10%产率),为白色固体。对所得化合物进行质谱分析,测试结果如下:质量(m/z):650.2[M+H]<sup>+</sup>。

实施例5-(3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基(2-((2-((S)-1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧乙基)氨基甲酸酯(化合物-5)

[0170] 按以下步骤制备化合物-5。图9是根据本申请的一些实施例所示的制备化合物5的示例性流程图。

[0171] 步骤1,制备2-异氰酸根合乙酸叔丁酯:

[0172] 向甘氨酸叔丁酯(300mg,2.29mmol)在DCM(20mL)中的溶液中加入三光气(238mg,0.80mmol)和NEt<sub>3</sub>(692mg,6.86mmol)。将混合物在0℃下搅拌1小时并浓缩以提供呈淡黄色固体状的2-异氰酸根合乙酸叔丁酯(0.4g,99%产率)。

[0173] 步骤2,制备(((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)羰基)甘氨酸叔丁酯:

[0174] 向2-异氰酸根合乙酸叔丁酯(411mg,2.62mmol)在DCM(30mL)的溶液中加入(3R,3aS,6S,6aR)-6-羟基六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-硝酸酯(291mg,1.53mmol)、NEt<sub>3</sub>(770mg,7.62mmol)和DMAP(62mg,0.51mmol)。将混合物在室温搅拌4小时。加入水(30mL)并用DCM(30mL×3)萃取混合物。合并的有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后过滤所得物以收集滤液。浓缩滤液。粗产物通过快速色谱法(PE/EA=1:1)纯化,得到(((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)羰基)甘氨酸叔丁酯(0.6g混合物,含有50%(3R,3aS,6S,6aR)-6-羟基六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-硝酸酯,产率32%),为无色油。

[0175] 步骤3,((((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)羰基)甘氨酸的制备:

[0176] 向(((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)羰基)甘氨酸叔丁酯(0.6g,0.86mmol)在DCM(10mL)的溶液中加入TFA(3mL)。将混合物在室温搅拌16小时,然后浓缩以提供(((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)羰基)甘氨酸(0.7g,产率99%),呈淡黄色油状。对所得化合物进行质谱分析,测试结果如下:质量(m/z):583.1[2M-H]<sup>-</sup>。

[0177] 步骤4,(3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基(2-氧乙基)氨基甲酰氯的制备:

[0178] 向(((3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基)氧基)羰基)甘氨酸(0.7g,0.86mmol)在DCM(10mL)的溶液中加入(COCl)<sub>2</sub>(164mg,1.29mmol)和DMF(50mg)。将混合物在室温搅拌1小时。浓缩得到(3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基(2-氧乙基)氨基甲酰氯(1.0g,99%产率)作为一种白色固体。直接用于下一步。

[0179] 步骤5,(3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基(2-((2-((S)-1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧异吲哚啉-4-基)氨基)-2-氧乙基)氨基甲酸酯的制备:

[0180] 向(3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基(2-氧乙基)氨基甲酰氯(1.0g,0.86mmol)在DCM(20mL)的溶液中加入(S)-4-氨基-2-(1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)异二氢吡啶-1,3-二酮(200mg,0.478mmol)和三乙胺(1.32g,13.1mmol)。将溶液在室温搅拌2小时。加入水(30mL)并用DCM(20mL×3)萃取混合物。合并的有机层用盐水(20mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后过滤所得物以收集滤液。浓缩滤液。粗产物通过制备型HPLC(ACN-H<sub>2</sub>O,0.1%FA)纯化,得到(3S,3aR,6R,6aS)-6-(硝基氧基)六氢吡喃[3,2-b]吡喃-3-基(2-((2-((S)-1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基)-1,3-二氧异吡啶啉-4-基)氨基)-2-氧乙基)氨基甲酸酯(实施例5)(8.5mg,1.4%产率),为白色固体。对所得化合物进行质谱分析,测试结果如下:质量(m/z):693.2[M+H]<sup>+</sup>。

#### 实施例6-化合物抑制PDE的活性

[0181] 按照提供的程序,使用来自BPS Bioscience(圣地亚哥,美国)的检测试剂盒,监测化合物(例如化合物-1、化合物-2、化合物-3、化合物-4、化合物-5和化合物-6)对PDE4(例如PDE4A、PDE4C)活性的抑制。该测定基于由来自FAM-cAMP的PDE产生的荧光染料FAM标记的AMP与其结合珠的选择性结合。

[0182] 简而言之,在384孔板中,将化合物(2.5uL,稀释在分析缓冲液中的不同的浓度)与12.5uL FAM-cAMP底物(200nM分析缓冲液)混合,加入10uL人重组PDE4A(BPS,目录号60340)或PDE4C(BPS,目录号60384)。将板在室温下温育1小时。添加50uL的FAM-AMP结合剂。混合物在室温下温育20分钟。在Envision光谱仪上通过荧光偏振法测量结合FAM-AMP的结合剂的量。示例化合物的效力(IC<sub>50</sub>值,表1)是使用4参数非线性回归拟合程序从剂量反应曲线计算的。结果表明化合物-1、化合物-2、化合物-3、化合物-4和化合物-5能够有效抑制PDE4。

表1.PDE4A和PDE4C抑制效力(IC<sub>50</sub>,nM)

化合物	抑制PDE4A的IC <sub>50</sub>	抑制PDE4C的IC <sub>50</sub>
化合物-1	178	2230
化合物-2	308	2262
化合物-3	215	1025
化合物-4	710	109
化合物-5	38	826
化合物-6	214	734

#### 实施例7-化合物抑制TNF-α和IFN-γ的产生

[0183] 本申请提供的化合物对外周血单核细胞或血液中肿瘤坏死因子α(TNF-α)和干扰素γ(IFN-γ)产生的抑制通过遵循Claveau等人的方案进行监测(JPET,310,752-760,2004)。所述化合物可以抑制TNF-α和IFN-γ的表达。

#### 实施例8-化合物抑制小鼠急性肺损伤

[0184] 使用1%甲基纤维素作为载体的化合物以10mL/kg的剂量给小鼠(C57B16饲料)口服给药。30分钟后,LPS(30ug/kg)经鼻滴注以诱发炎症和急性气道损伤。在LPS攻击24小时后监测血浆中的TNF-α水平和BALF中的细胞浸润。这些化合物可以减轻小鼠的急性长期损伤。

#### 实施例9-在小鼠口服化合物-1后产生化合物-6

[0185] 图10显示了对小鼠给药化合物-1后产生的化合物-6的血液水平。示例性化合物-1

(在0.5%羧甲基纤维素(CMC)/0.25%Tween-80水溶液中配制为0.5mg/mL悬浮液)以5mg/kg口服给药至4只小鼠。口服给药后,化合物-1在小鼠体内迅速被生物活化,在每只小鼠体内均形成PDE4抑制性代谢物化合物-6。在15分钟时在血液中检测到大约200ng/mL的化合物-6。化合物-6的血液水平在1到2小时之间达到约250ng/mL的峰值,并在6小时时清除大部分至约25ng/mL。如图10所示,血液中化合物-6水平的变化趋势相对稳定。所述化合物-6血液水平的动力学特征提供了在不直接给药化合物-6的情况下治疗对化合物-6有响应的疾病的机会,例如减少直接给药化合物-6的预期高C<sub>max</sub>引起的副作用。

实施例10-通过对化合物-1、化合物-2和化合物-4的生物活化来生成一氧化氮

[0186] 化合物-1和化合物-2以5mg/ml,化合物-4以1mg/ml配制在1%CMC/0.5%吐温-80水溶液中作为载体。使用一氧化氮测定试剂盒(ab65327, AbCam)按照提供的方案对血浆中的总硝酸盐和总亚硝酸盐水平进行定量。数据是平均值(±SEM, 3只小鼠/组)。

[0187] 图11显示了对小鼠给药化合物1小时后血浆中的硝酸盐水平。检测到每种化合物的血浆硝酸盐含量明显高于使用载体处理后的小鼠。数据表明口服给药后每种化合物都发生了快速生物活化。

[0188] 需要说明的是,以上描述仅用于说明的目的,并不用于限制本申请的范围。对于本领域普通技术人员来说,在本申请的指导下可以做出多种变化和修改。然而,这些变化和修改不脱离本申请的范围。

[0189] 上文已对基本概念做了描述,显然,对于本领域技术人员来说,上述详细披露仅仅作为示例,而并不构成对本说明书的限定。虽然此处并没有明确说明,本领域技术人员可能会对本说明书进行各种修改、改进和修正。该类修改、改进和修正在本说明书中被建议,所以该类修改、改进、修正仍属于本说明书示范实施例的精神和范围。

[0190] 同时,本说明书使用了特定词语来描述本说明书的实施例。如“一个实施例”、“一实施例”、和/或“一些实施例”意指与本说明书至少一个实施例相关的某一特征、结构或特点。因此,应强调并注意的是,本说明书中在不同位置两次或多次提及的“一实施例”或“一个实施例”或“一个替代性实施例”并不一定是指同一实施例。此外,本说明书的一个或多个实施例中的某些特征、结构或特点可以进行适当的组合。

[0191] 此外,除非权利要求中明确说明,本说明书所述处理元素的顺序或序列、数字字母的使用、或其他名称的使用,并非用于限定本说明书流程和方法的顺序。尽管上述披露中通过各种示例讨论了一些目前认为有用的发明实施例,但应当理解的是,该类细节仅起到说明的目的,附加的权利要求并不仅限于披露的实施例,相反,权利要求旨在覆盖所有符合本说明书实施例实质和范围的修正和等价组合。例如,虽然以上所描述的系统组件可以通过硬件设备实现,但是也可以只通过软件的解决方案得以实现,如在现有的服务器或移动设备上安装所描述的系统。

[0192] 同理,应当注意的是,为了简化本说明书披露的表述,从而帮助对一个或多个发明实施例的理解,前文对本说明书实施例的描述中,有时会将多种特征归并至一个实施例、附图或对其的描述中。但是,这种披露方法并不意味着本说明书对象所需要的特征比权利要求中提及的特征多。实际上,实施例的特征要少于上述披露的单个实施例的全部特征。



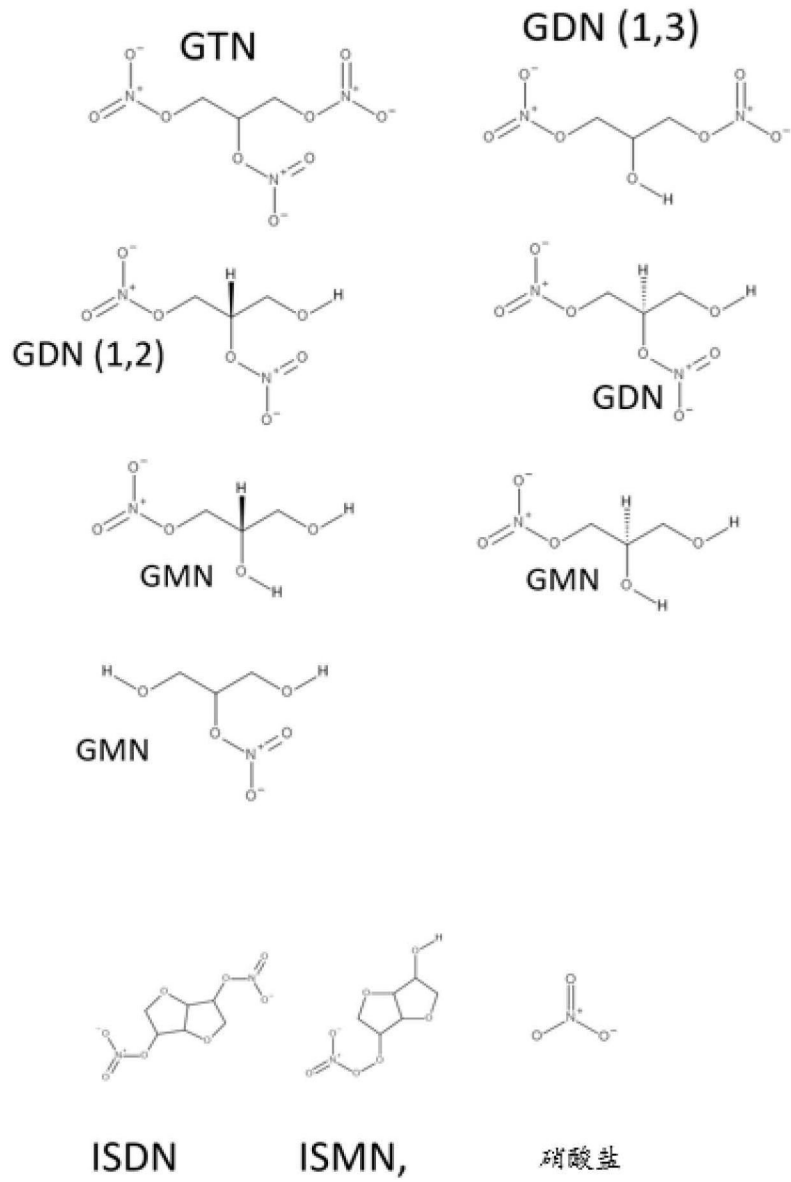


图1A

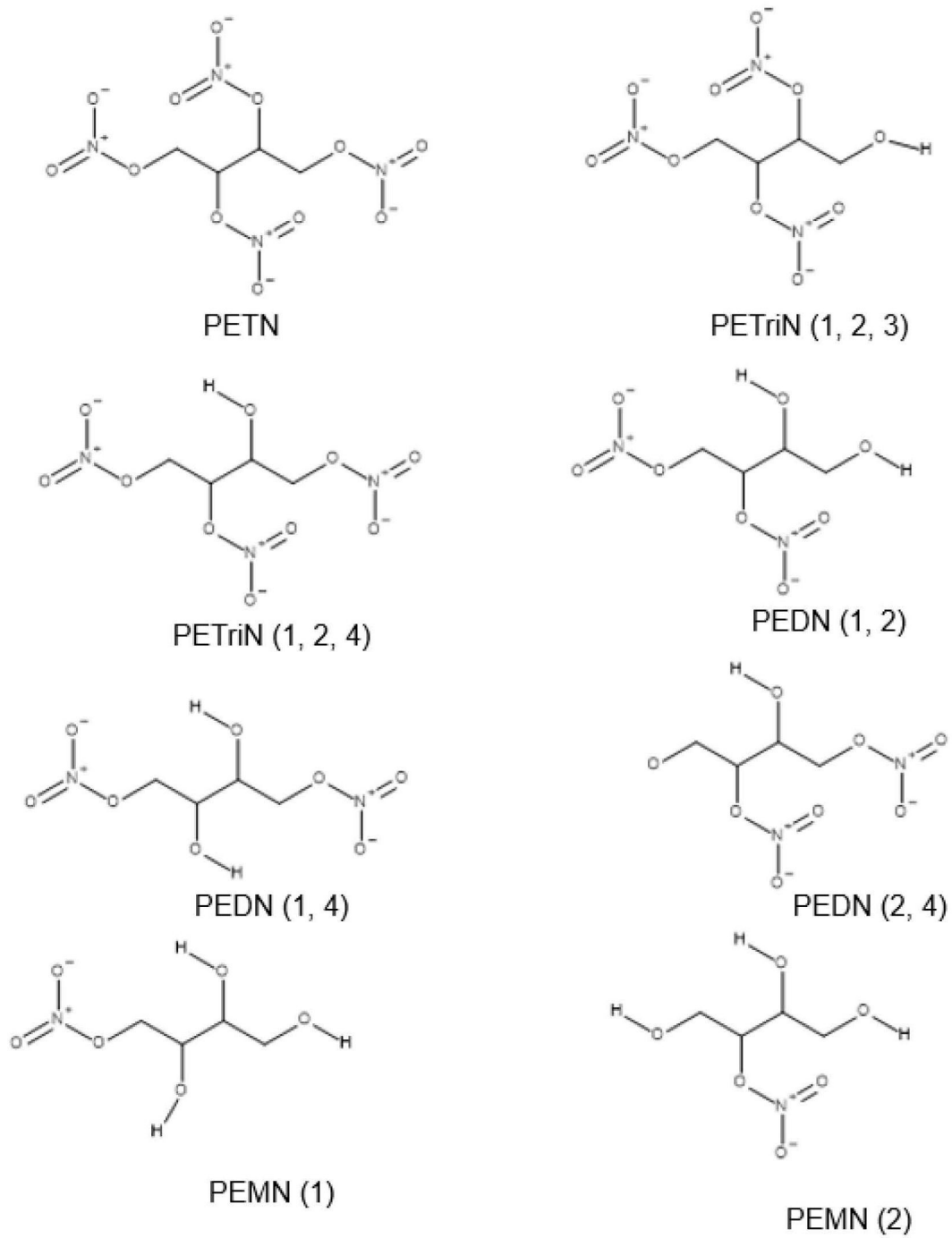


图1B

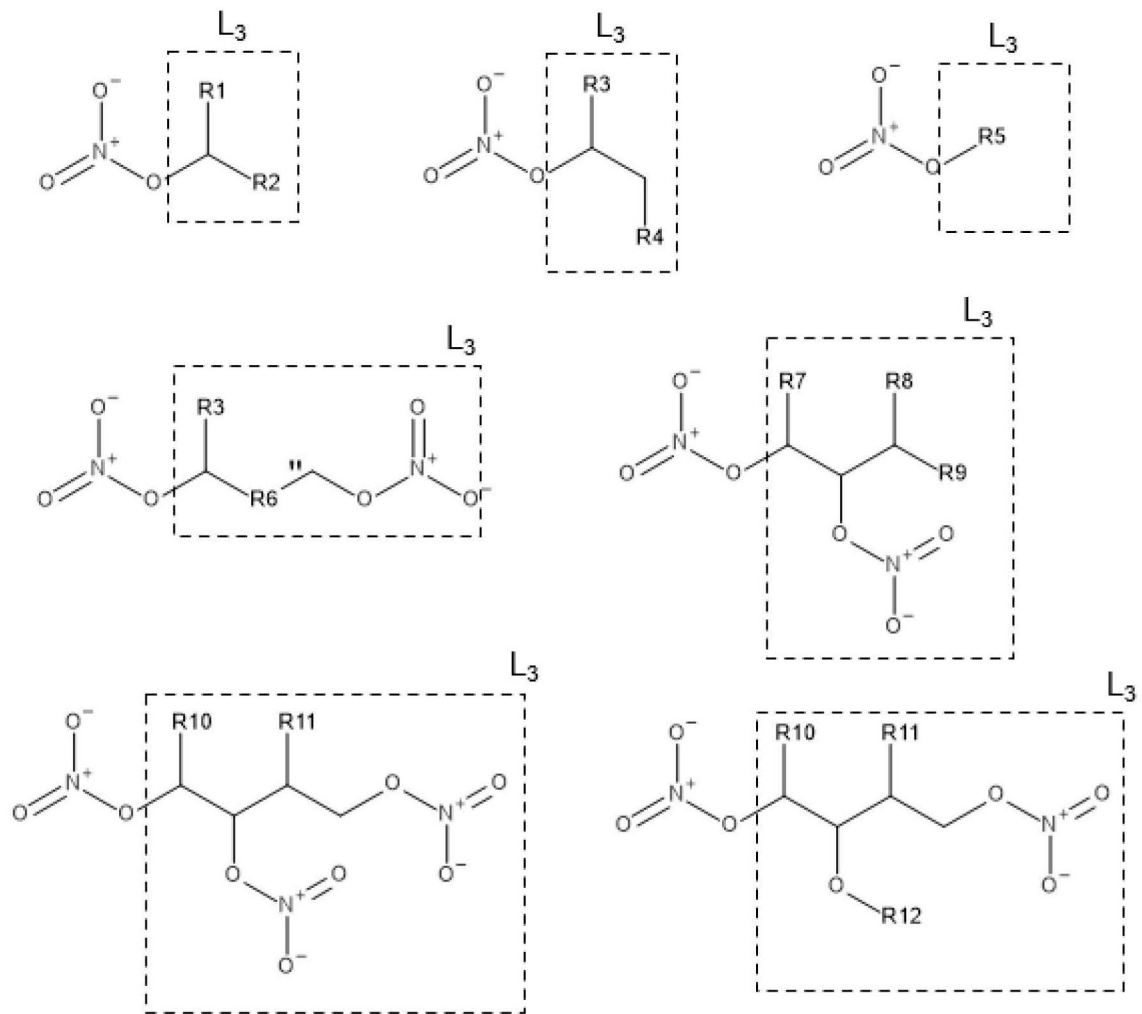


图1C

还原酶

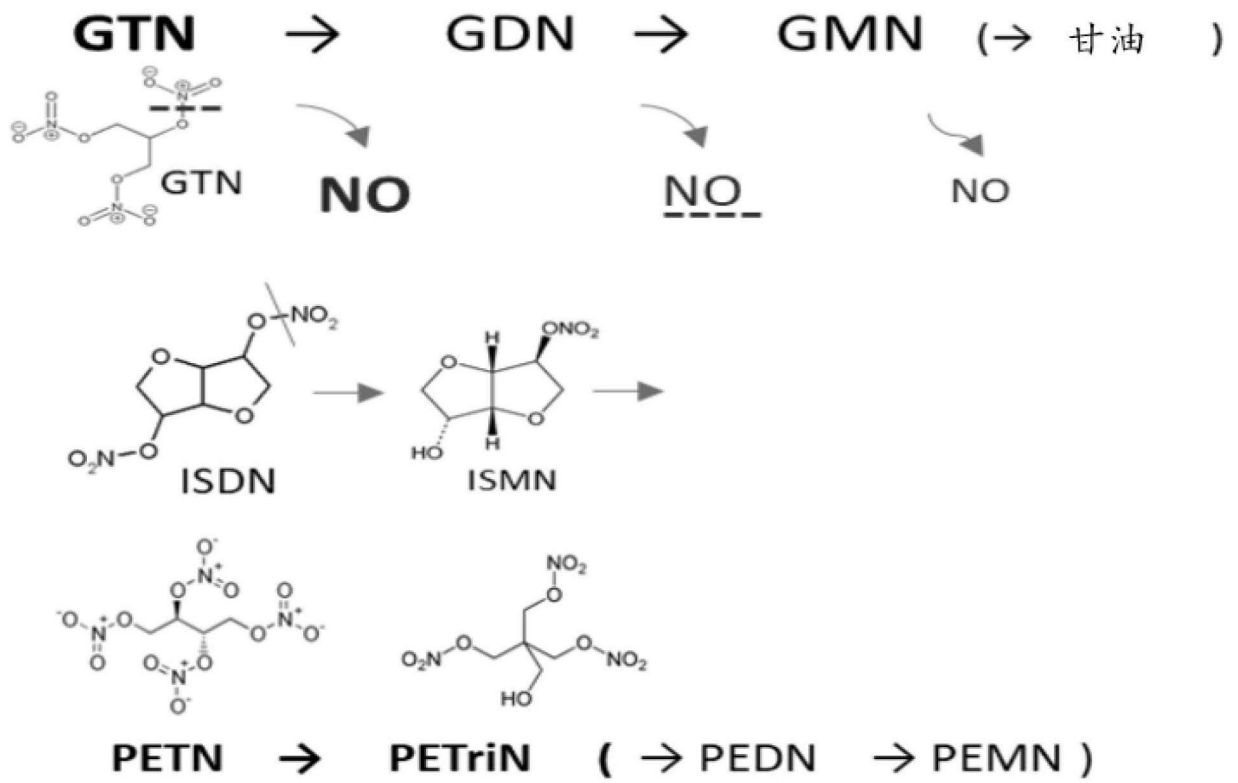
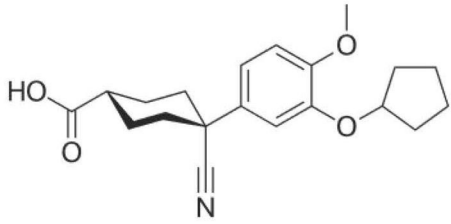
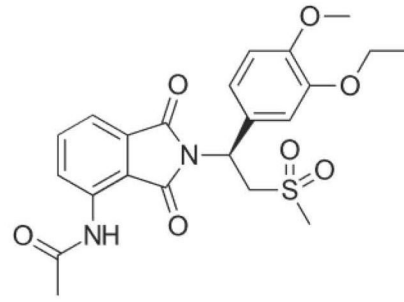


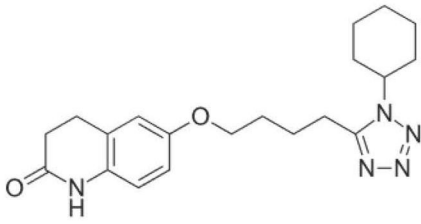
图1D



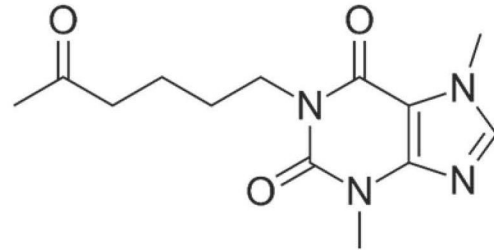
西洛司特



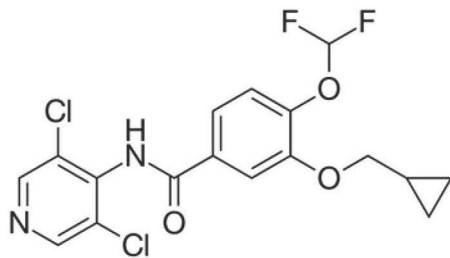
阿普斯特



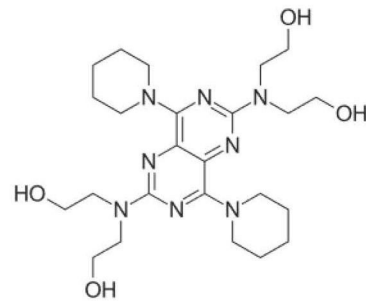
西洛他唑



己酮可可碱



罗氟斯特



双嘧达莫

图2

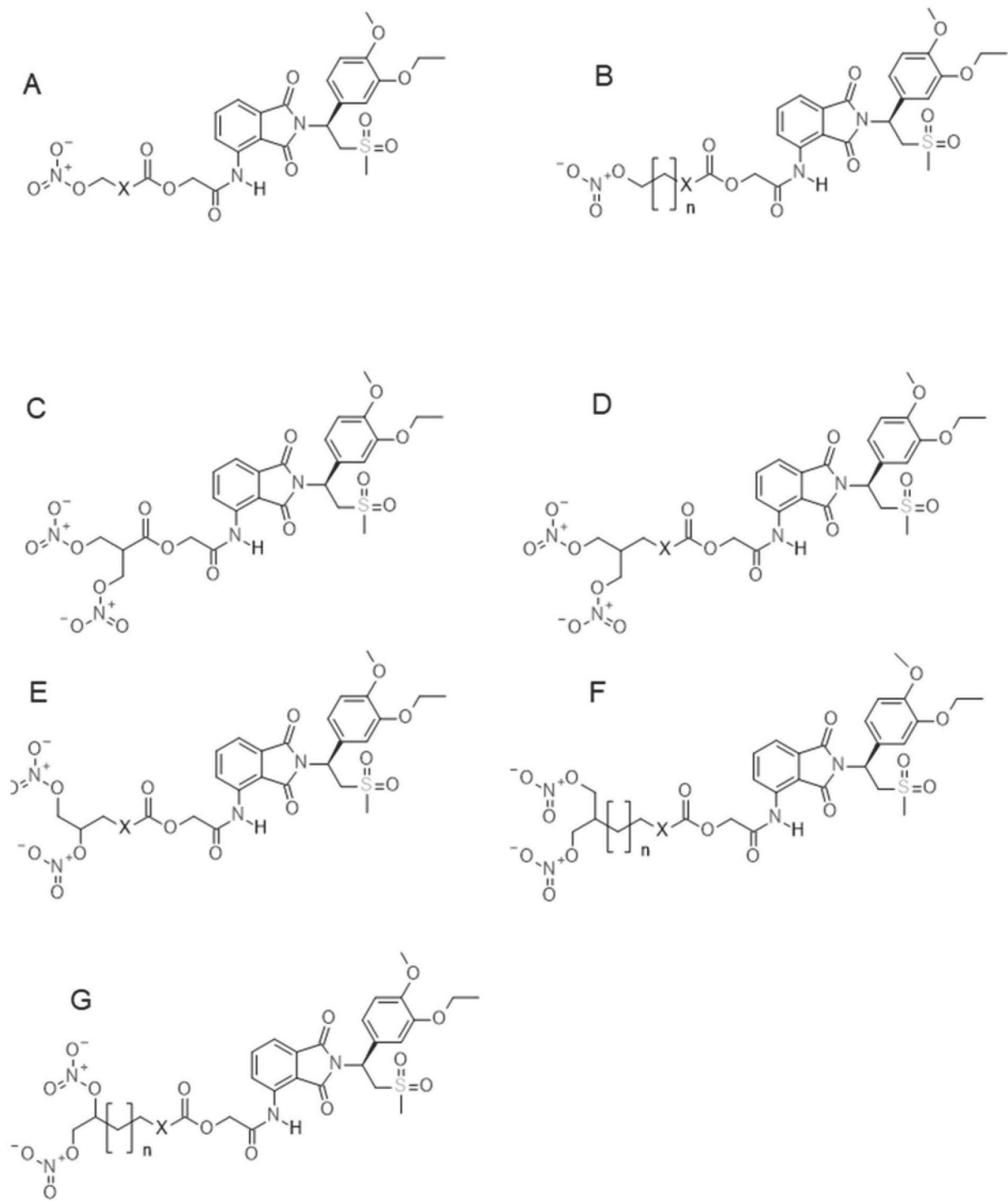


图3

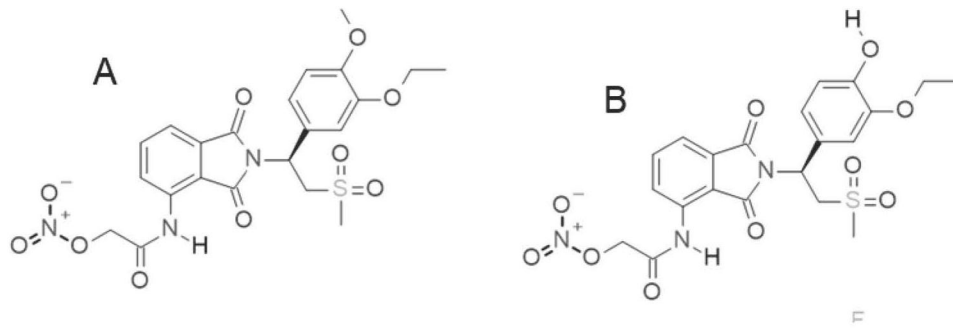


图4

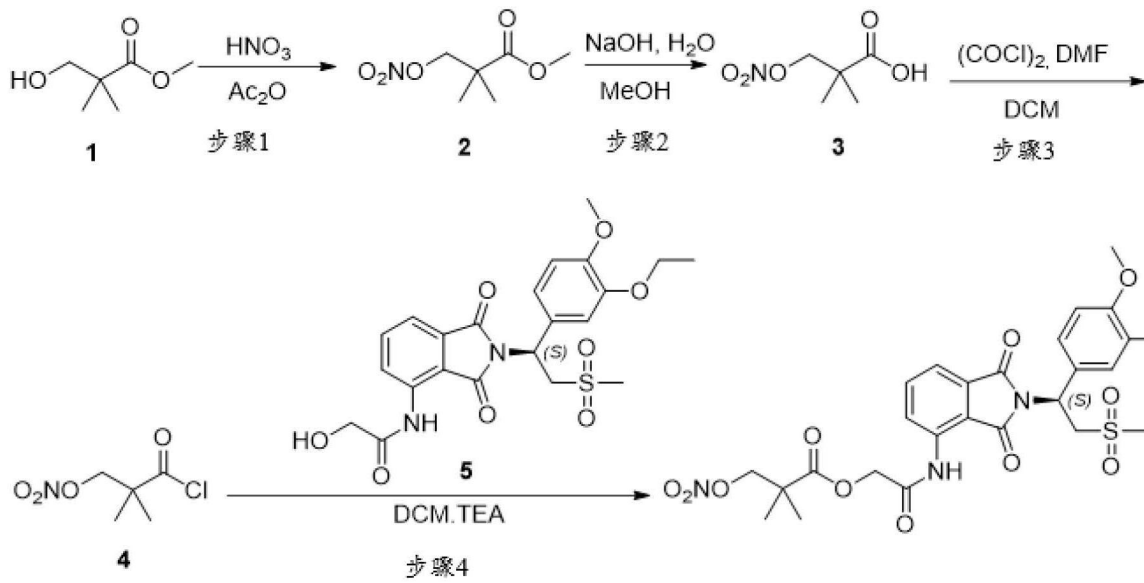


图5

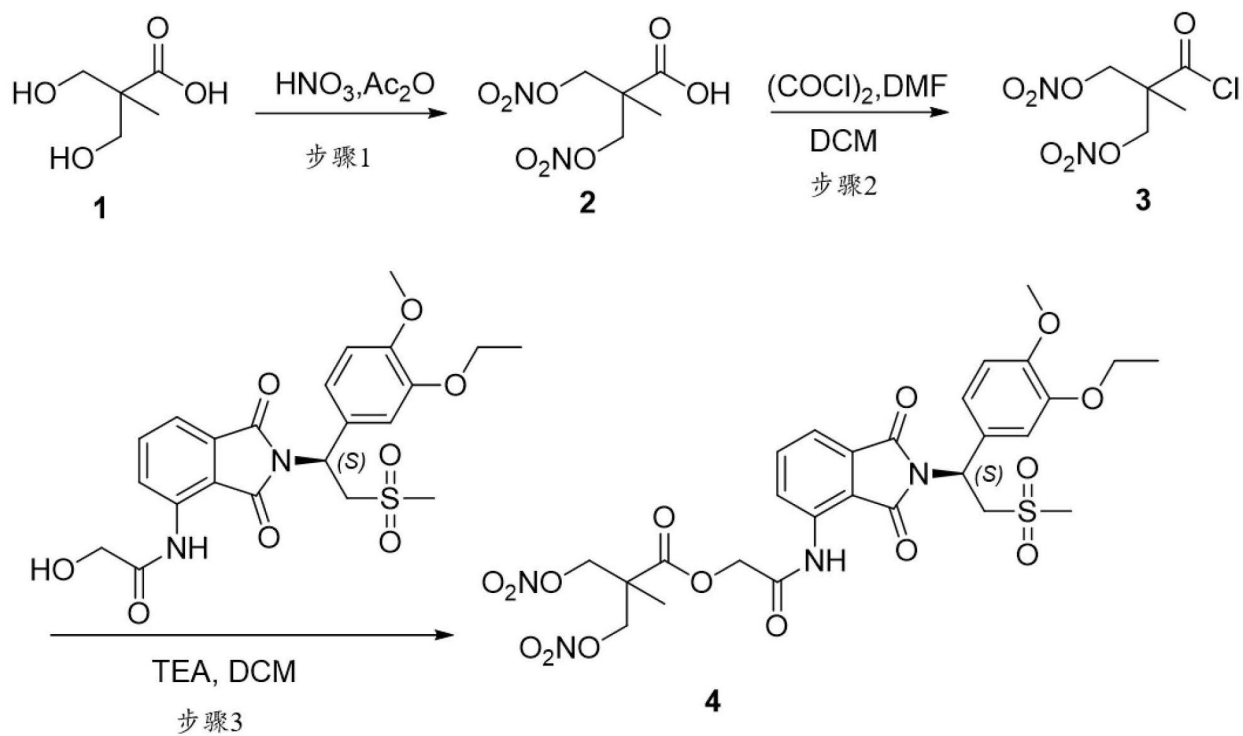


图6

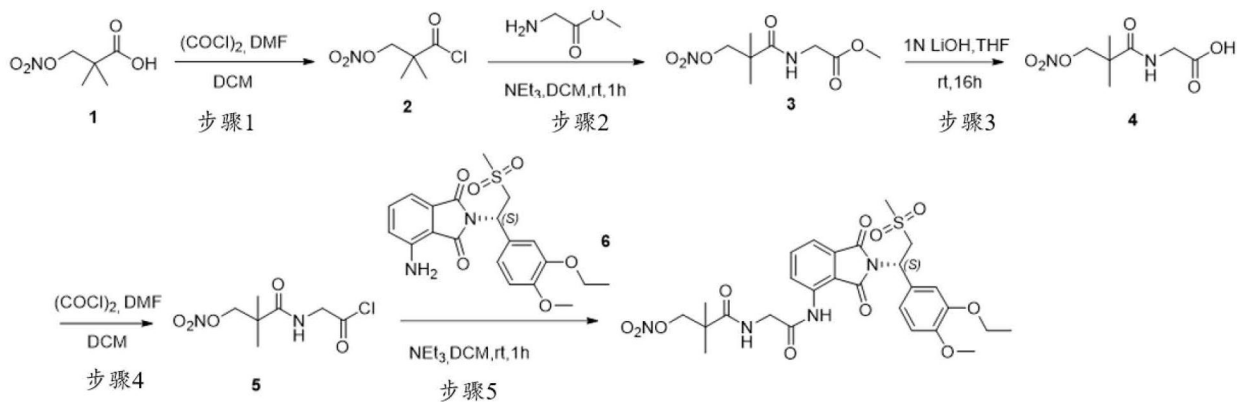


图7



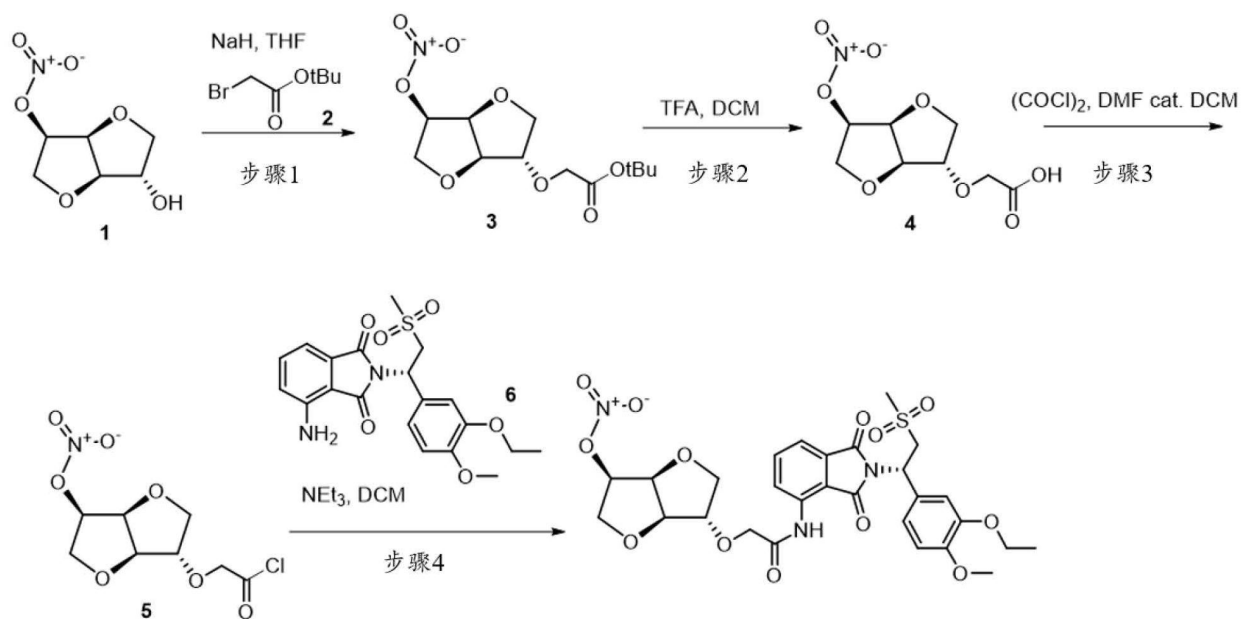


图8

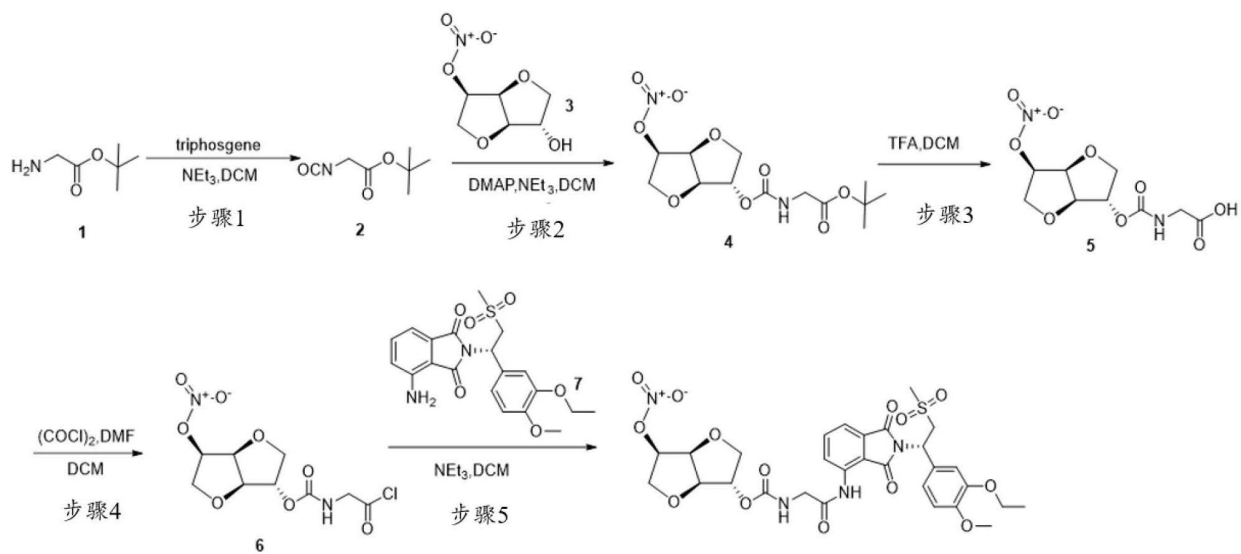


图9

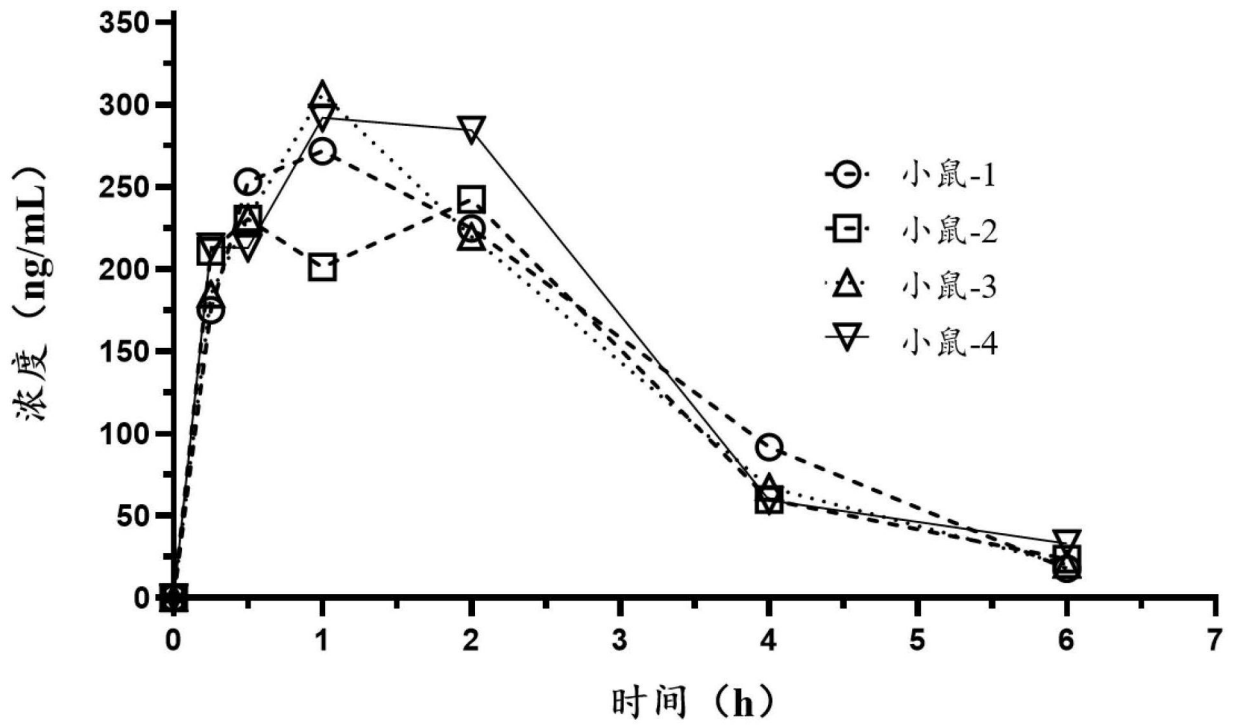


图10

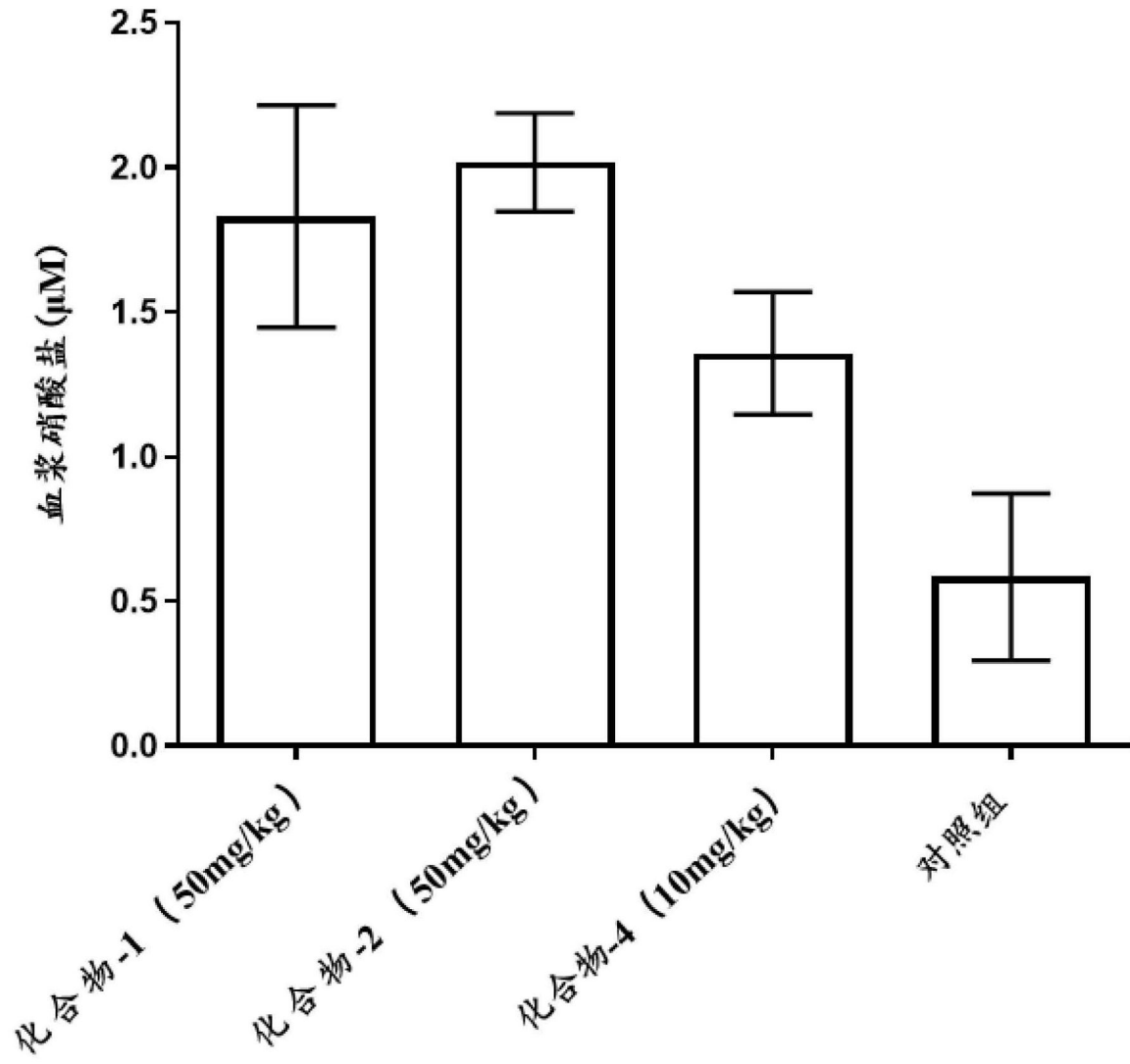


图11