

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A01N 43/62 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880012931.6

[43] 公开日 2010 年 3 月 3 日

[11] 公开号 CN 101662940A

[22] 申请日 2008.3.7

[21] 申请号 200880012931.6

[30] 优先权

[32] 2007. 3. 9 [33] US [31] 60/906,016

[86] 国际申请 PCT/US2008/056231 2008.3.7

[87] 国际公布 WO2008/112553 英 2008.9.18

[85] 进入国家阶段日期 2009.10.21

[71] 申请人 密执安州立大学董事会

地址 美国密执安

[72] 发明人 G·D·格里克

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所
代理人 唐晓峰

权利要求书 15 页 说明书 119 页

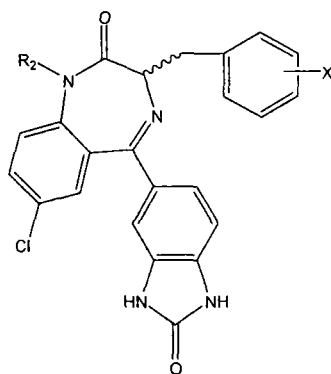
[54] 发明名称

与新化合物及其靶标有关的组合物和方法

[57] 摘要

本发明涉及新的化合物，发现它们的方法，和它们的治疗用途。特别地，本发明提供苯二氮草类化合物，结构和功能相关的化合物，使用这些化合物作为治疗剂治疗很多与程序性细胞死亡过程的错误调节、自身免疫性、炎症、过度增殖、血管异常等等有关的疾病的方法。

1. 下式所述的化合物:



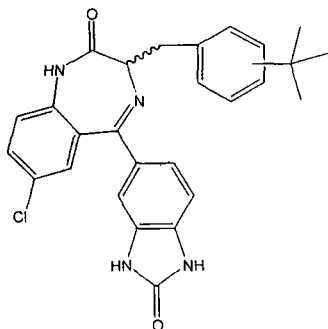
包括其盐、酯和前药；和

包括其 R 和 S 对映体形式和外消旋混合物；

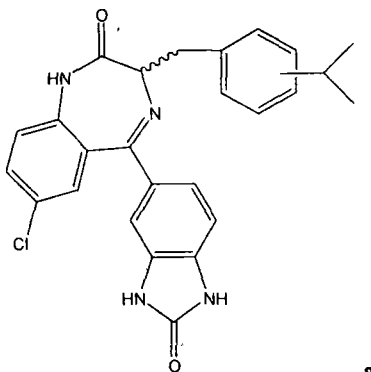
其中 X 选自卤素、烷基和取代的烷基；和

其中 R₂ 选自氢和直链或支链烷基。

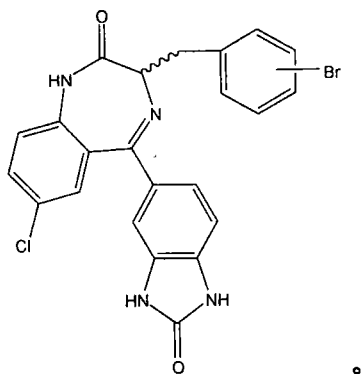
2. 权利要求 1 的化合物，其中所述化合物描述为:



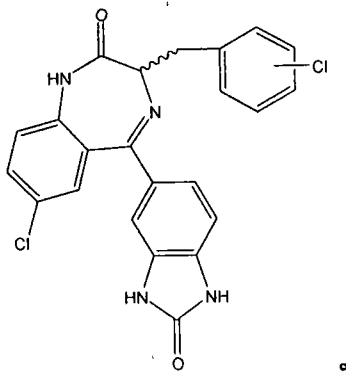
3. 权利要求 1 的化合物，其中所述化合物描述为:



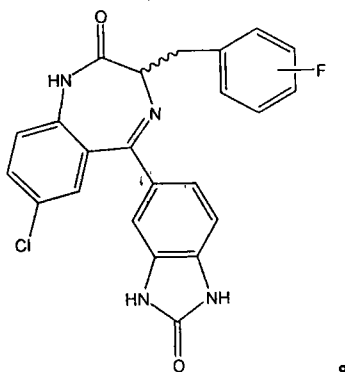
4. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物描述为:



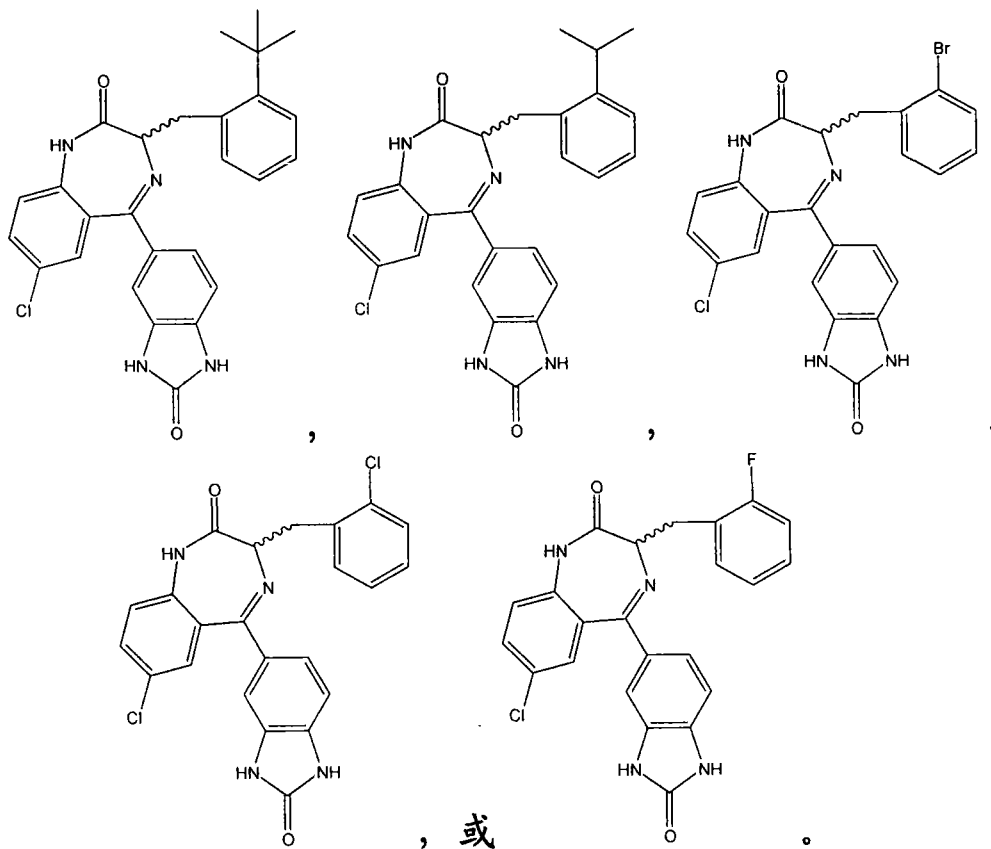
5. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物描述为:



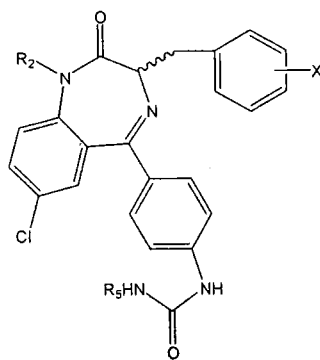
6. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物描述为:



7. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物是:



8. 下式所述的化合物:



包括其盐、酯和前药; 和

包括其 R 和 S 对映体形式和外消旋混合物;

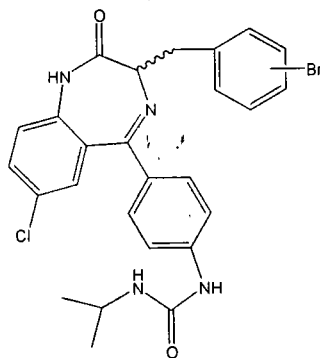
其中 X 选自卤素、烷基和取代的烷基;

其中 R₂ 选自氢和直链或支链烷基; 和

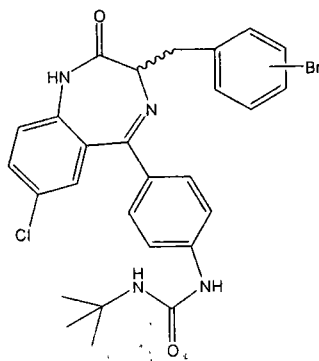
其中 R₅ 是烷基或取代的烷基。

9. 权利要求 8 的化合物, 其中 R₅ 是被一个或多个卤素、烷氧基、-NH₂、-N(H)(C₁-C₄ 烷基) 或 -N(C₁-C₄ 烷基)₂ 取代的烷基。

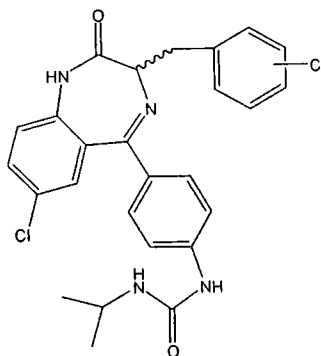
10. 权利要求 8 的化合物，其中所述化合物描述为：



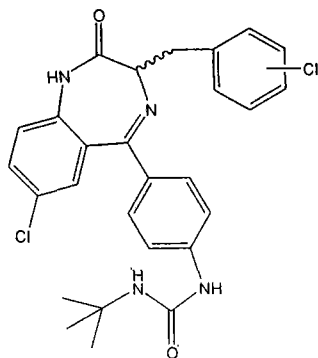
11. 权利要求 8 的化合物，其中所述化合物描述为：



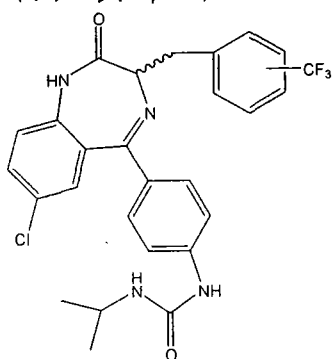
12. 权利要求 8 的化合物，其中所述化合物描述为：



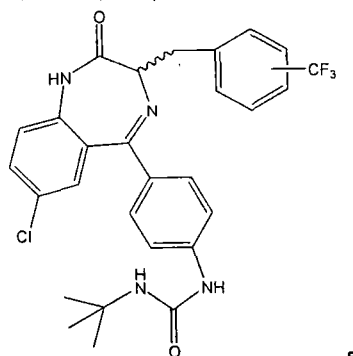
13. 权利要求 8 的化合物，其中所述化合物描述为：



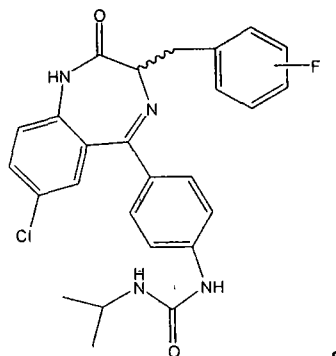
14. 权利要求 8 的化合物, 其中所述化合物描述为:



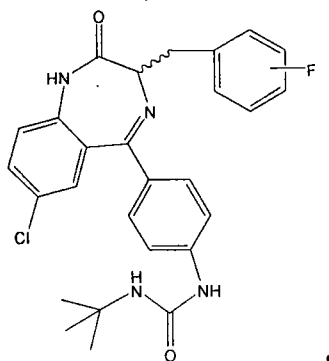
15. 权利要求 8 的化合物, 其中所述化合物描述为:



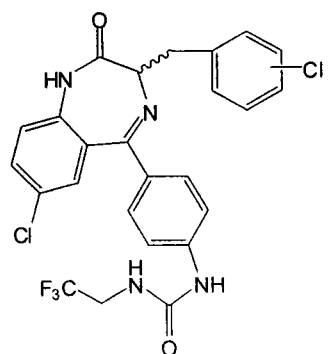
16. 权利要求 8 的化合物, 其中所述化合物描述为:



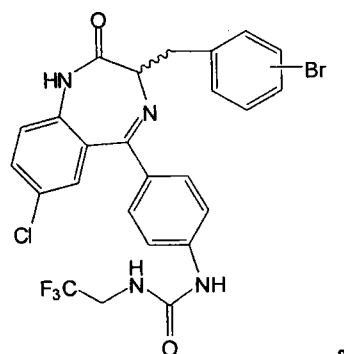
17. 权利要求 8 的化合物, 其中所述化合物描述为:



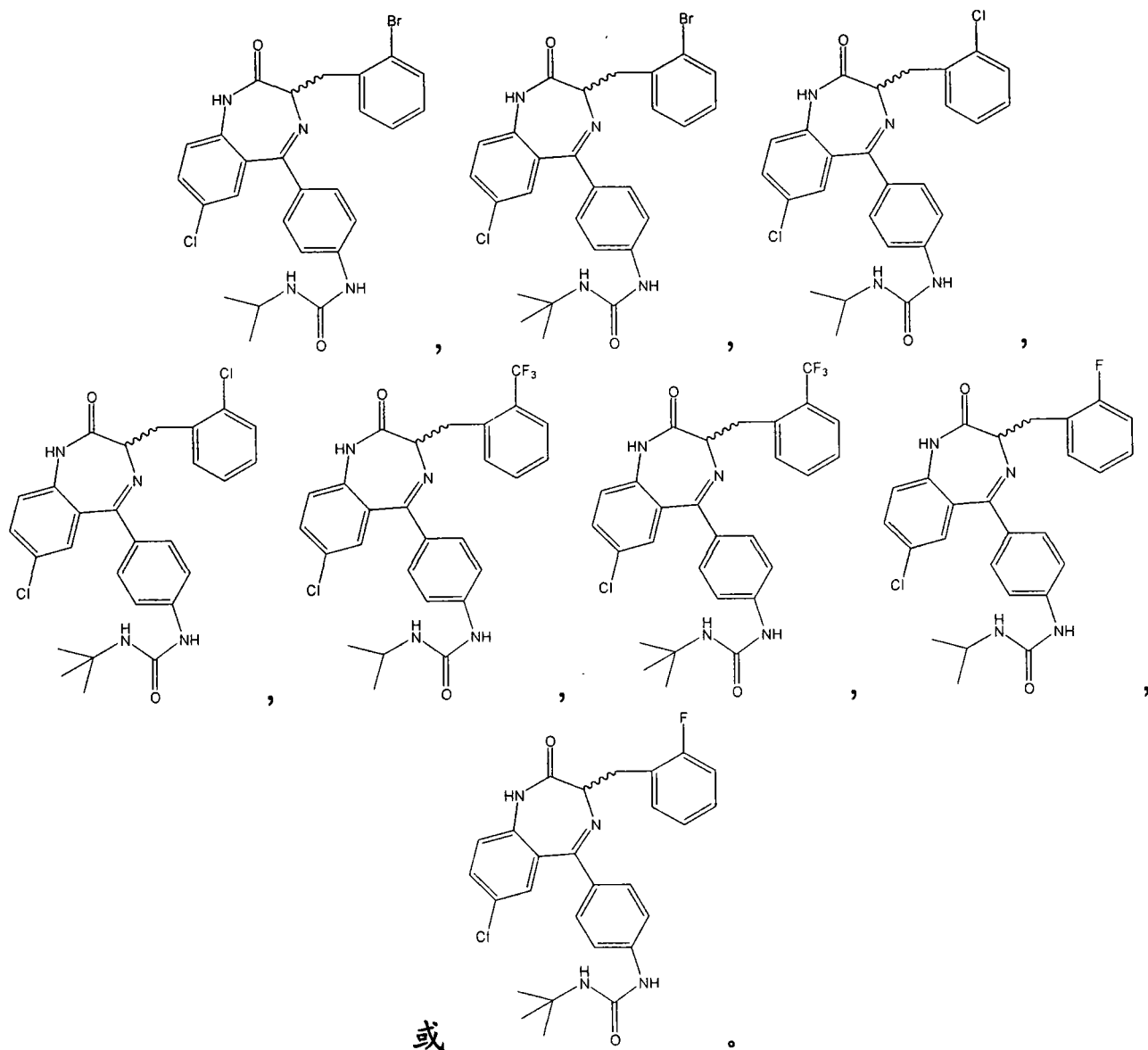
18. 权利要求 8 的化合物, 其中所述化合物描述为:



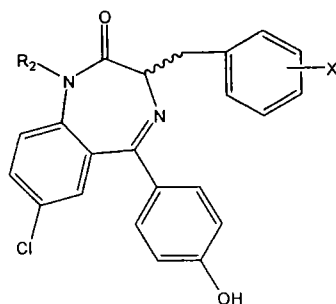
19. 权利要求 8 的化合物, 其中所述化合物描述为:



20. 权利要求 8 的化合物, 其中所述化合物是:

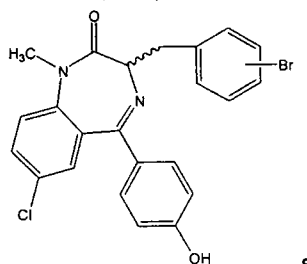


21. 下式所述的化合物:

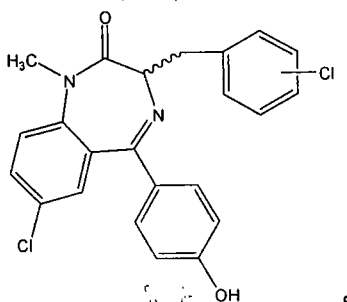


包括其盐、酯和前药；和
 包括其 R 和 S 对映体形式和外消旋混合物；
 其中 X 选自卤素、烷基和取代的烷基；和
 其中 R₂ 选自氢和直链或支链烷基。

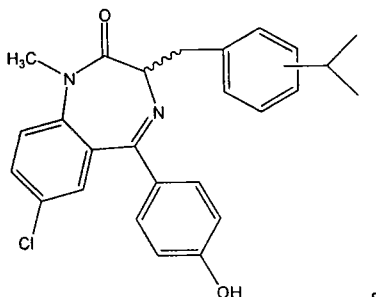
22. 权利要求 21 的化合物, 其中所述化合物描述为:



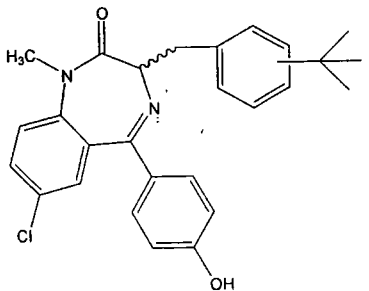
23. 权利要求 21 的化合物, 其中所述化合物描述为:



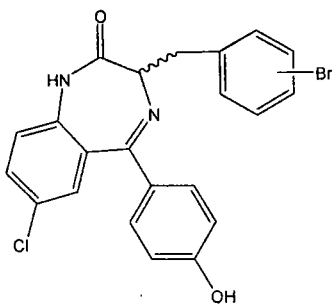
24. 权利要求 21 的化合物, 其中所述化合物描述为:



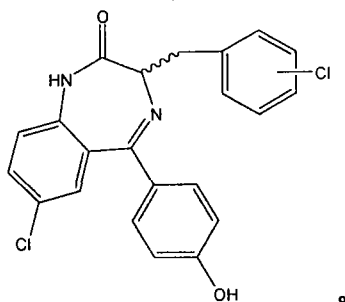
25. 权利要求 21 的化合物, 其中所述化合物描述为:



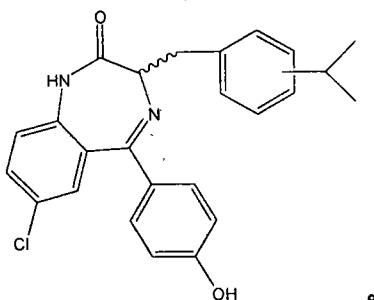
26. 权利要求 21 的化合物, 其中所述化合物描述为:



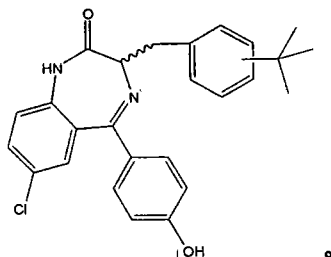
27. 权利要求 21 的化合物，其中所述化合物描述为：



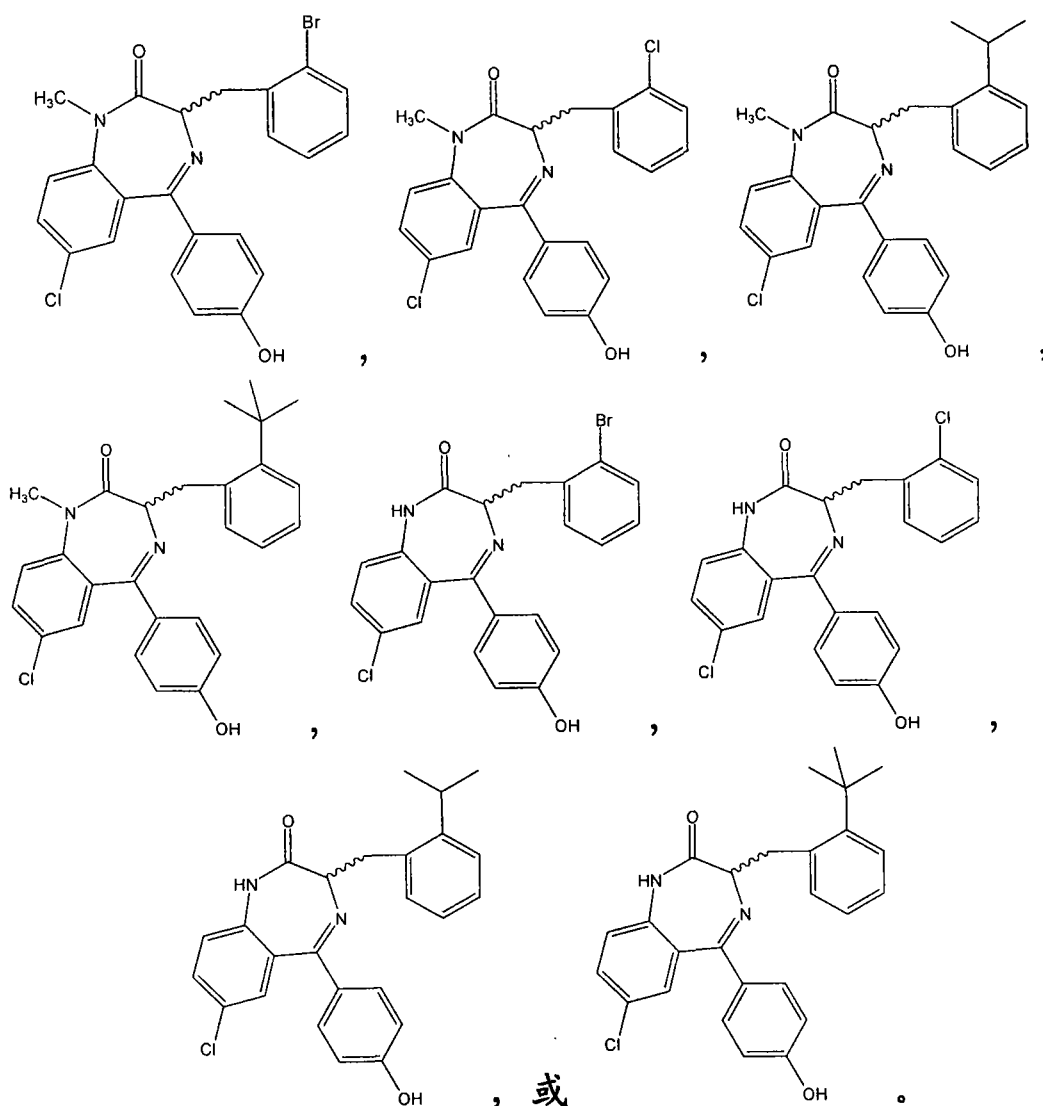
28. 权利要求 21 的化合物，其中所述化合物描述为：



29. 权利要求 21 的化合物，其中所述化合物描述为：



30. 权利要求 21 的化合物，其中所述化合物是：



31. 化合物，选自下组：

(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-异丙基脲；

(Z)-1-(4-(7-氯-2-氧代-3-(2-(三氟甲基)苄基)-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-异丙基脲；

(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氟苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-异丙基脲；

(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-异丙基脲；

(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-甲基脲；

(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-(二甲基氨基)乙基)脲;

(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)脲;

(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-环丙基脲;

(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-甲氧基乙基)脲;

(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-乙氧基乙基)脲;

(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-甲基脲;

(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-(二甲基氨基)乙基)脲;

(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)脲;

(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-环丙基脲;

(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-甲氧基乙基)脲;

(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-乙氧基乙基)脲;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(3-甲基苄基)-1H-苯并

[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-甲基苄基)-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(4-甲基苄基)-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(2-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(2-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(3-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(3-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(4-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(4-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-异丙基苄基)-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-异丙基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-异丙基苄基)-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-异丙基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(2-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-3-(2-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e] [1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-3-(2-溴苄基)-7-氯-1-甲基-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(4-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-3-(3-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-3-(4-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(3-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-3-(2-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮;

(Z)-7-氯-1-甲基-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-3-(2-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮; 和

(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-1-甲基-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮; 及其药学可接受的盐。

32. 一种药物组合物, 包含权利要求 1-31 任一项的化合物和药学可接受的载体。

33. 一种治疗疾病的方法, 包括给需要的受试者施用有效量的权利要求 32 的药物组合物。

34. 权利要求 33 的方法，其中所述疾病是免疫性疾病。

35. 权利要求 34 的方法，其中所述免疫性疾病是移植物抗宿主病、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化、克罗恩病、乳糜泻、或原发性血小板减少性血栓形成性紫癜。

36. 权利要求 33 的方法，其中所述疾病是过度增殖性疾病。

37. 权利要求 36 的方法，其中所述过度增殖性疾病是癌症。

38. 权利要求 37 的方法，其中所述癌症是肿瘤、赘生物、淋巴瘤或白血病。

39. 权利要求 33 的方法，其中所述疾病是慢性炎性疾病。

40. 权利要求 39 的方法，其中所述慢性炎性疾病是哮喘或炎症肠病。

41. 权利要求 33 的方法，其中所述疾病是牛皮癣。

42. 权利要求 34 的方法，还包括施用其他药物治疗所述免疫性疾病。

43. 权利要求 36 的方法，还包括施用其他药物治疗所述过度增殖性疾病。

44. 权利要求 39 的方法，还包括施用其他药物治疗所述慢性炎性疾病。

45. 权利要求 41 的方法，还包括施用其他药物治疗所述牛皮癣。

46. 权利要求33-45任一项的方法，其中受试者是人。

与新化合物及其靶标有关的组合物和方法

相关申请

本申请要求 2007 年 3 月 9 日提交的 U.S.S.N. 60/906, 016 的优先权, 通过参考将其内容引入本文。

发明领域

本发明涉及新的化合物, 发现它们的方法, 和它们的治疗用途。特别地, 本发明提供苯二氮革类化合物, 和结构和功能相关的化合物, 使用这些化合物作为治疗剂治疗很多与程序性细胞死亡过程的错误调节、自身免疫性、炎症、过度增殖、血管异常等等有关的疾病的方法。

发明背景

多细胞生物体对于细胞数量进行精确的控制。细胞增殖和细胞死亡之间的平衡实现了这种内环境稳定。通过坏死或通过细胞死亡的自杀形式, 称作细胞凋亡, 几乎每一种脊椎动物细胞类型都会发生细胞死亡。细胞凋亡是由各种细胞外和细胞内信号引起的, 这些信号引发了一种共同的遗传性程序性死亡机制。

多细胞生物体使用细胞凋亡来指示损坏的或非必要的细胞自我破坏以使该生物体获益。因此, 控制细胞凋亡过程对于正常的发育是非常重要的, 例如, 手指和脚趾的胎型发育需要通过细胞凋亡可控地除去过量的粘连生物体, 对于脑内神经突触的形成也同样如此。类似地, 可控地细胞凋亡会在月经初期引起子宫的内层(子宫内膜)的脱落。细胞凋亡不仅在组织成形和正常的细胞维持中发挥重要作用, 而且它也是对威胁生物体健康的细胞和侵入物(例如病毒)的主要防御措施。

不出所料, 很多疾病与细胞死亡的过程失调有关。实验模型已经确定了细胞凋亡调节异常与各种肿瘤、自身免疫性和病毒疾病的致病

性之间的因果关系。例如，在细胞介导的免疫应答中，效应细胞（例如，细胞毒性 T 淋巴细胞“CTLs”）通过诱导受感染细胞发生细胞凋亡而破坏感染病毒的细胞。接着当不再需要时，生物体依靠细胞凋亡过程破坏效应细胞。一般是通过 CTLs 互相甚至自身诱导的细胞凋亡来防止自身免疫。该过程中的缺陷与很多自身免疫性疾病例如红斑狼疮和类风湿关节炎有关。

多细胞生物体也使用细胞凋亡来指示具有受损的核酸（例如，DNA）的细胞在变成癌性前自我破坏。一些致癌病毒通过改变受感染（变异）的细胞中断正常的细胞凋亡过程来克服这种防护。例如，一些人乳头瘤病毒（HPVs）通过产生蛋白质（E6）抑制变异细胞的细胞凋亡性去除而引起宫颈癌，其中蛋白质（E6）使 p53 细胞凋亡促进子灭活。类似地，EB 病毒（EBV）是单核细胞增多症和伯基特淋巴瘤的致病因子，它们改变受感染的细胞以产生阻止异常细胞的正常细胞凋亡性除去的蛋白质，这样就使癌细胞增殖并扩散到整个生物体。

还有其他病毒会破坏性地操纵细胞的凋亡结构，但不直接导致癌症发生。例如，人们认为，在被人免疫缺陷病毒（HIV）感染的受试者中免疫系统的破坏会通过被感染的 CD4⁺ T 细胞（约 1/100,000）而发展，指导未感染的姐妹细胞发生凋亡。

通过非病毒方式而发生的一些癌症也会产生某些机制以避免细胞凋亡的破坏。例如，黑素瘤细胞通过抑制编码 Apaf-1 的基因表达而避免凋亡。其他癌症细胞，特别是肺和结肠癌细胞分泌高水平的可溶性诱饵分子，抑制了 CTL-介导的异常细胞的清除的发生。细胞凋亡结构的错误调节也与各种变性疾病和血管性疾病有关。

显然，可控地调节凋亡过程和它的细胞机制对于多细胞生物体的存活是非常重要的。典型地，细胞中发生的生化改变指示了在有序过程中发生细胞凋亡。但是，如上所示，细胞凋亡的调节缺陷会导致生物体中严重的有害作用。

已经做了各种努力以控制和恢复异常细胞（例如，癌细胞）中凋亡机制的调节。例如，做了很多工作来发展细胞毒素剂以在异常细胞增

殖前破坏它们。就此而论，细胞毒素剂已经广泛用于人和动物健康，代表了几乎所有形式的癌症和过度增殖性自身免疫性疾病例如红斑狼疮和类风湿关节炎的第一线治疗。

在临床应用中很多细胞毒素剂通过破坏 DNA (例如，顺-二氨基二 chroplatanim(II) 交联 DNA，相反博来霉素诱导链分裂) 发挥其效应。如果被细胞因子例如 p53 系统所识别，该核损坏的结果将引发凋亡级联，导致被损坏细胞的死亡。

然而，现有的细胞毒素化疗剂有严重的缺点。例如，很多已知的细胞毒素剂对于健康和患病细胞几乎不显示差异。缺乏特异性通常会导致严重的副作用，限制了效力和/或导致早期死亡率。此外，长期施用很多现有的细胞毒素剂导致了抗性基因的表达 (例如，bcl-2 族或多药耐药 (MDR) 蛋白)，使得需要更多地给药，否则有效性就会降低或变得无效。一些细胞毒素剂诱导突变成 p53 和相关蛋白。基于这些考虑，理想的细胞毒素药物应当仅杀灭患病细胞并且不易发生化学耐受性。

选择性地杀灭患病细胞或阻断它们生长的一个策略是发展出选择性地识别在患病细胞中表达的分子的药物。因此，有效的细胞毒化疗剂应当识别指示疾病的分子并诱导 (例如，直接或间接) 患病细胞的死亡。尽管已经鉴定出了一些类型的癌细胞上的标记，并用治疗性抗体和小分子靶向，但是，大多数癌症的诊断和治疗性应用的独特特性都是未知的。此外，对于疾病例如狼疮，还未鉴定出药物发展的特异性分子靶点。

需要的是改善的组合物和方法，以在被疾病和病症折磨的受试者中调节凋亡过程，其中所述疾病和病症的特征在于这些过程的错误调节 (例如，病毒感染、过度增殖性自身免疫性疾病、慢性炎性疾病和癌症)。

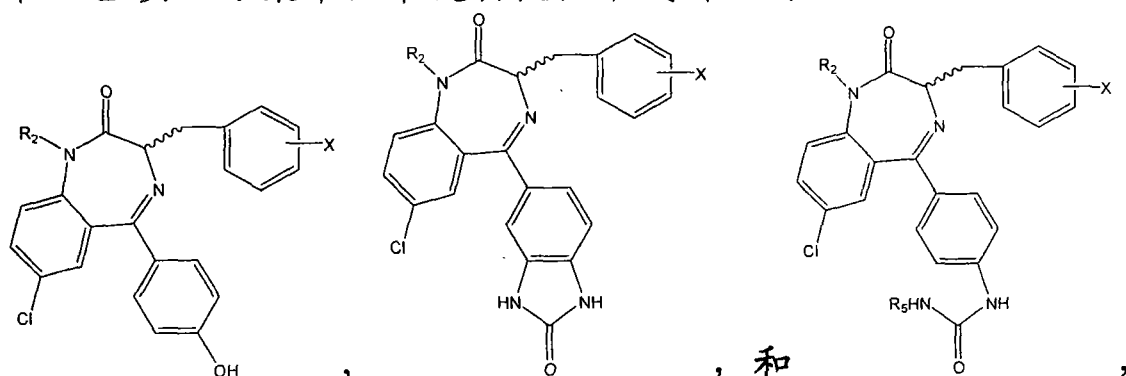
发明简述

本发明提供新的化合物，发现了其在治疗人和动物的很多疾病和病症中的应用，发现了其在探索、筛选化合物和诊断用途中的应用。

此外,本发明也提供了这些新化合物的应用,以及已知化合物的应用,它们引发了特定的生物反应(例如,与特定的靶分子结合和/或导致特定的细胞事件的化合物)。在整个说明书中描述了这样的化合物和应用,代表了不同类型的组合物和应用。

下文描述了某些优选的组合物和应用。本发明并不限于这些特定的组合物和应用。本发明提供了很多如整个说明书所述的有用的化合物。

在一些实施方案中,本发明提供下式所述的化合物:



包括其盐、酯和前药; 和

包括其 R 和 S 对映体形式和外消旋混合物;

其中

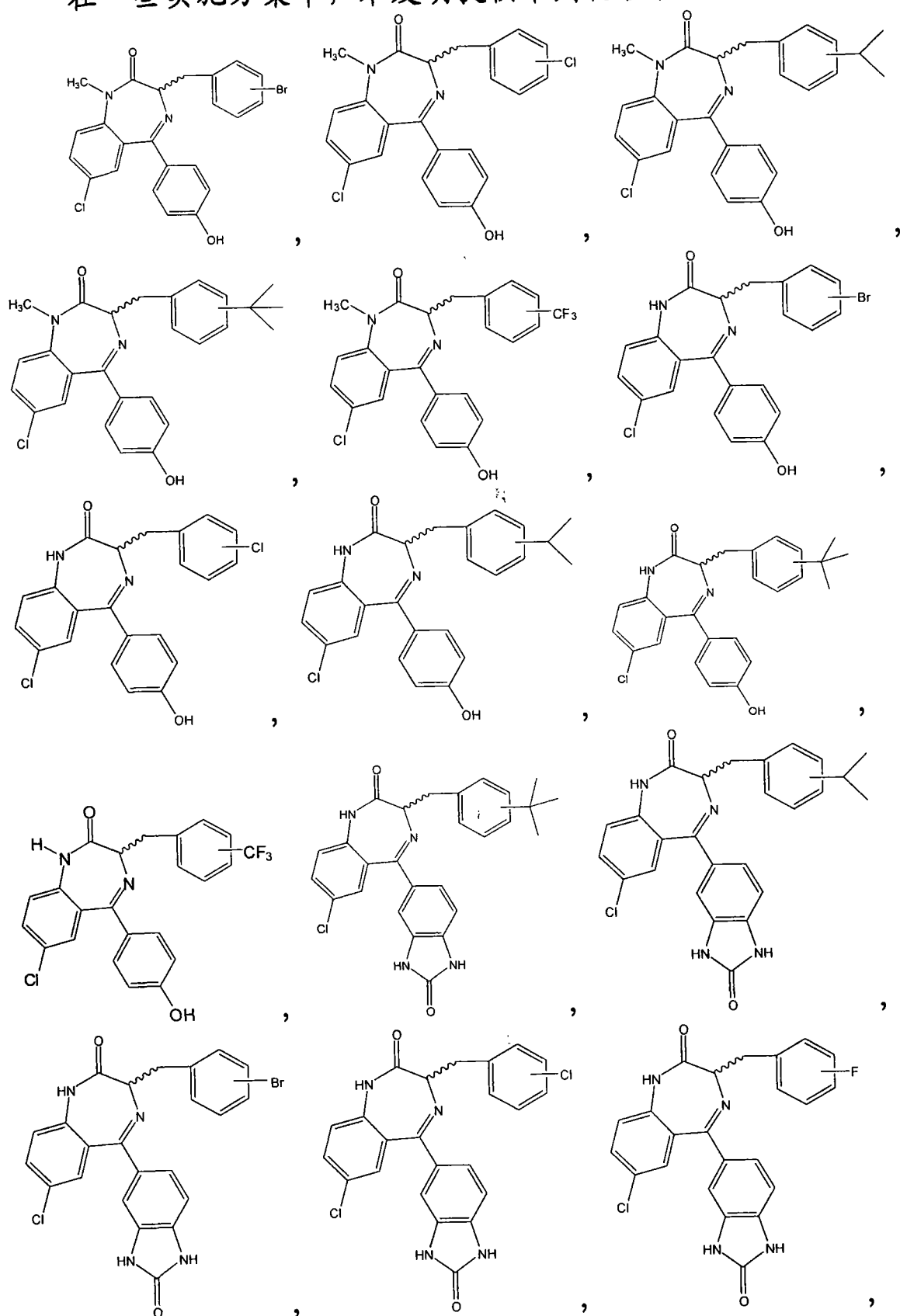
X 是卤素(例如, Br, Cl, F), 烷基(例如, 甲基、乙基、丙基(例如, 异丙基)、丁基(例如, 异丁基、仲丁基、叔丁基)、戊基、异戊基、新戊基、1-乙基丙基、3-甲基戊基、2, 2-二甲基丁基、庚基、己基、辛基、3-乙基丁基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基)或者取代的烷基;

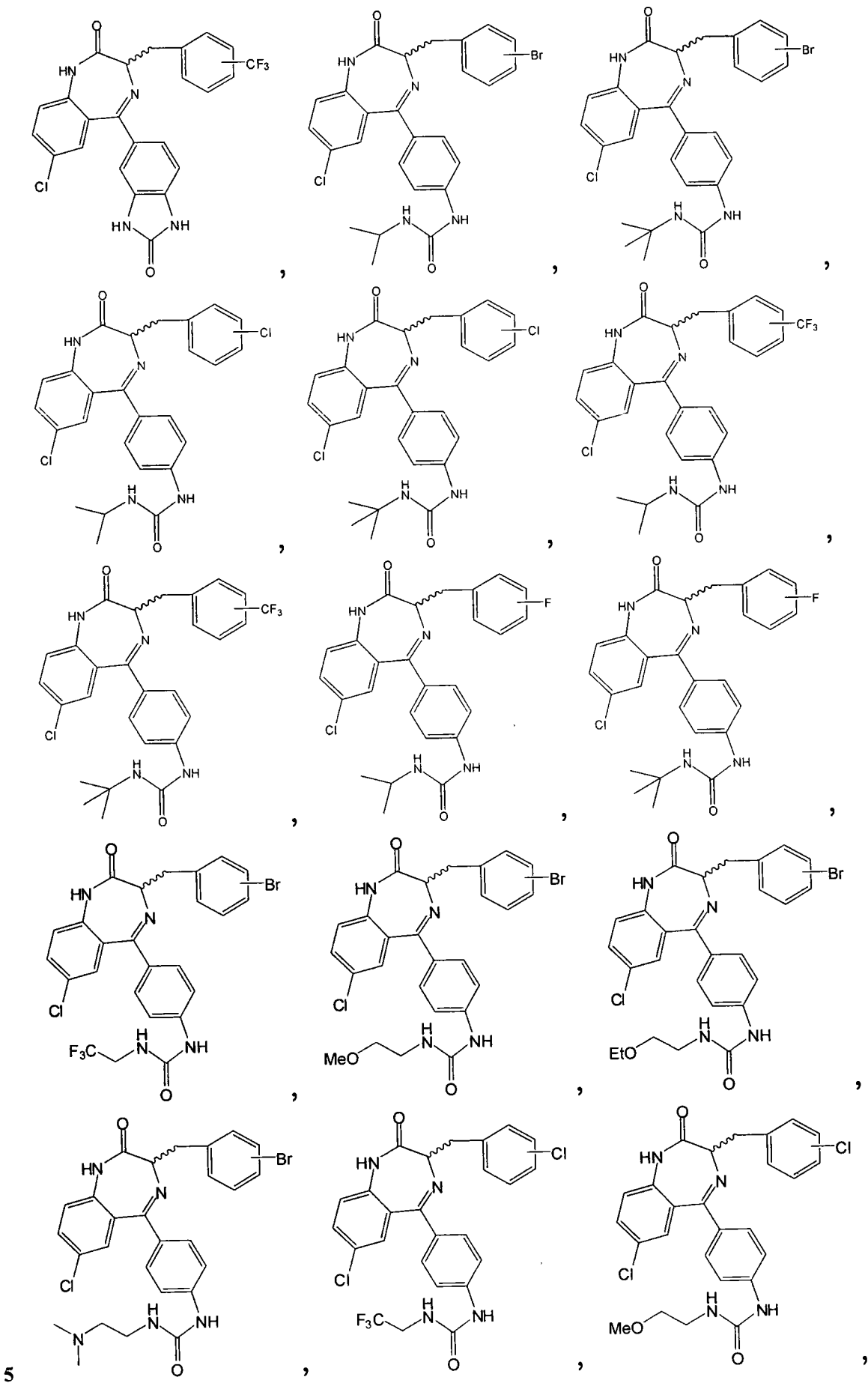
R₂ 是氢或者直链或支链烷基(例如, 甲基、乙基、丙基(例如, 异丙基)、丁基(例如, 异丁基、仲丁基、叔丁基)、戊基、异戊基、新戊基、1-乙基丙基、3-甲基戊基、2, 2-二甲基丁基、庚基, 己基, 辛基, 3-乙基丁基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基); 和

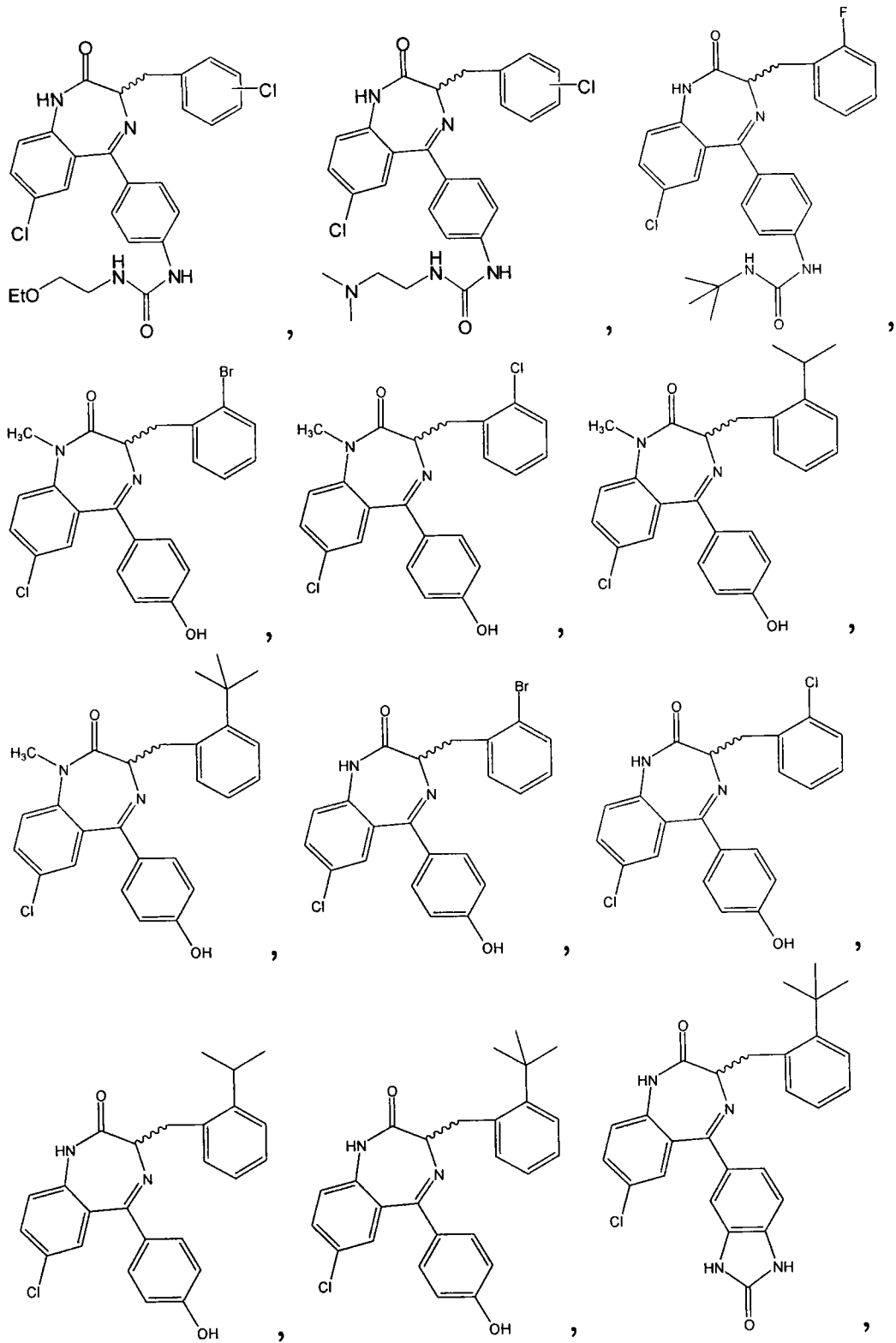
R₃ 是烷基(例如, 甲基、乙基、丙基(例如, 异丙基)、丁基(例如, 异丁基、仲丁基、叔丁基)、戊基、异戊基、新戊基、1-乙基丙基、3-甲基戊基、2, 2-二甲基丁基、庚基、己基、辛基、3-乙基丁基、环丙

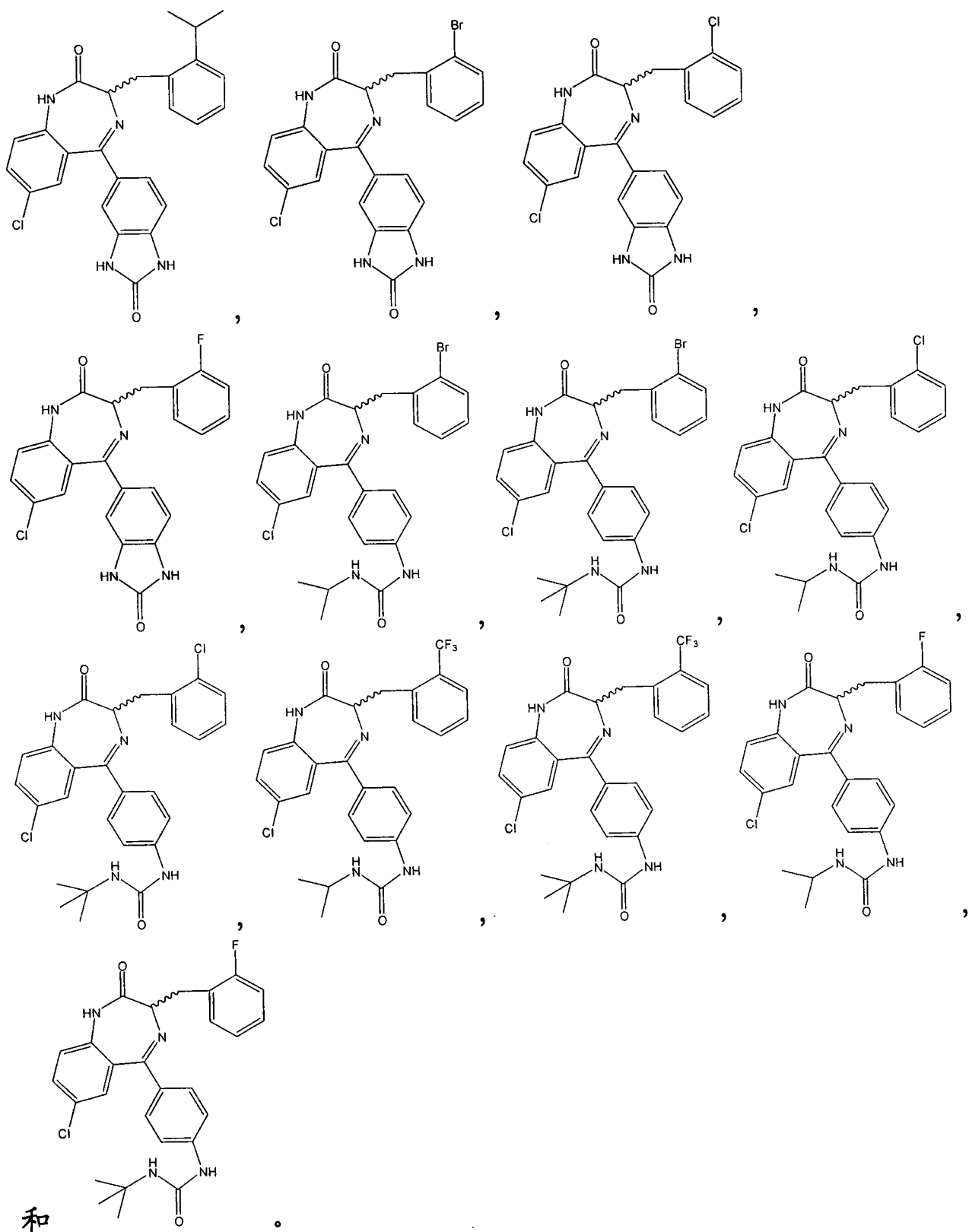
基、环丁基、环戊基、环己基)或取代的烷基。

在一些实施方案中, 本发明提供下列化合物:









在一些实施方案中, 该化合物选自 (Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-5-基) 苯基)-3-异丙基脲; (Z)-1-(4-(7-氯-2-氧代-3-(2-(三氟甲基)苄基)-2, 3-二氢

-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-异丙基脲; (Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氟苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-异丙基脲; (Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-异丙基脲;

(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-甲基脲; (Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-(二甲基氨基)乙基)脲; (Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)脲; (Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-环丙基脲; (Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-甲氧基乙基)脲; (Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-乙氧基乙基)脲; (Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-甲基脲; (Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-(二甲基氨基)乙基)脲; (Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)脲; (Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-环丙基脲; (Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-甲氧基乙基)脲; (Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苯基)-3-(2-乙氧基乙基)脲; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(3-甲基苄

基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-甲基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(4-甲基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(2-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(2-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(3-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(3-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(4-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(4-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-异丙基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-异丙基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-异丙基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-异丙基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(2-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-3-(2-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-3-(2-溴苄基)-7-氯-1-甲基-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(4-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-3-(3-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-3-(4-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(3-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘

-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮; 和 (Z)-7-氯-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-3-(2-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮; (Z)-7-氯-1-甲基-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-3-(2-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮; 和 (Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-1-甲基-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮; 及其药学可接受的盐。

在一些实施方案中, 本发明提供治疗细胞的方法, 包括 a) 提供 i) 靶细胞; 和 ii) 至少一种本发明的示例性化合物(参见, 例如, III 部分-示例性化合物)。在一些实施方案中, 该治疗包括在靶细胞中诱导细胞生长停止、在靶细胞中诱导细胞死亡和在靶细胞中诱导细胞凋亡中的一种或多种。在一些实施方案中, 靶细胞是在患有, 例如免疫性疾病(例如, 自身免疫性疾病)、过度增殖性疾病、表皮增生性疾病、色素疾病、心血管疾病和/或病毒性疾病的受试者中。在一些实施方案中, 靶细胞是体外细胞、体内细胞或来自活体的细胞。在其他优选的实施方案中, 靶细胞是癌细胞。在其他优选的实施方案中, 靶细胞是 B 细胞、T 细胞或粒细胞。

本发明还提供了治疗免疫性疾病的方法, 包括给受试者施用有效量的至少一种本发明的示例性化合物(参见, 例如, III 部分-示例性化合物)。在一些实施方案中, 免疫性疾病包括但不限于, 自身免疫溶血性疾病、自身免疫性肝炎、巴尔热疾病或 IgA 肾病、乳糜泻、慢性疲劳综合征、克罗恩病、皮炎、纤维肌痛、移植物抗宿主病、格雷夫斯氏病、桥本甲状腺炎、原发性血小板减少性紫癜、扁平苔藓、多发性硬化、重症肌无力、牛皮癣、风湿热、类风湿关节炎、硬皮病、Sjorgren 综合症、系统性红斑狼疮、1 型糖尿病、溃疡性肠炎、白癜风和原发性血小板减少性血栓形成性紫癜。

本发明还提供治疗癌症和/或与癌症相关的疾病的方法, 包括给受试者施用有效量的至少一种本发明的示例性化合物(参见, 例如, III

部分-示例性化合物)。本发明并不限于特定类型的癌症(例如,肿瘤、新生物、淋巴瘤或白血病)。在一些实施方案中,该组合物还包括抗癌剂。

在一些实施方案中,本发明提供了一种调节细胞死亡的方法,包括提供具有寡霉素敏感性参照蛋白和线粒体 F_1F_0 -ATP 酶的 F_1 亚单元的靶细胞;一种组合物,包括至少一种本发明的示例性化合物(参见,例如,III 部分-示例性化合物);和在一定条件下将细胞暴露于该组合物,以使该组合物与寡霉素敏感性参照蛋白结合,以在细胞中提高超氧化物水平或改变细胞 ATP 水平。在一些实施方案中,靶细胞是体外细胞、体内细胞或来自活体的细胞。在一些实施方案中,靶细胞是癌细胞。在一些实施方案中,靶细胞包括 B 细胞、T 细胞或粒细胞。在一些实施方案中,暴露步骤导致靶细胞的细胞死亡增加。

在一些实施方案中,本发明提供一种包含药物洗脱支架介质的组合物;其中该药物洗脱支架介质包括一种药物组合物,该药物组合物包含至少一种本发明的示例性化合物(参见,例如,III 部分-示例性化合物)。在一些实施方案中,本发明提供一种治疗血管的方法,包括将受试者的血管暴露于该组合物。在一些实施方案中,血管是封闭的血管和/或心血管。

在一些实施方案中,本发明提供一种调节过度增殖的上皮细胞的方法,包括提供含有过度增殖的上皮细胞的样品,和包含至少一种本发明的示例性化合物(参见,例如,III 部分-示例性化合物)的一种组合物;和将该组合物用于该样品。在一些实施方案中,该组合物用于该样品减少了样品中的 $Erk\ 1/2$ 激活。在一些实施方案中,该组合物用于该样品抑制了样品中的角化细胞的增殖。在一些实施方案中,该组合物还包含局部用皮质类固醇(例如,曲安奈德 0.1%乳膏和二丙酸倍他米松 0.05%乳膏)。在一些实施方案中,该组合物还包含煤焦油 2-10%。在一些实施方案中,该组合物还包含维生素 D-3 类似物(例如,卡泊三烯)。在一些实施方案中,该组合物还包含角质层分离剂(例如,地蒎酚 0.1-1%)。在一些实施方案中,该组合物还包含局部用类视色

素(例如, 维甲酸和他扎罗汀)。在一些实施方案中, 该样品是活的受试者。在一些实施方案中, 活的受试者是患表皮增生的人。在一些实施方案中, 活的受试者患有牛皮癣。

在一些实施方案中, 本发明提供了一种药物组合物, 包含至少一种本发明的示例性化合物(参见, 例如, III 部分-示例性化合物)和药学可接受的稀释剂或载体。在一些实施方案中, 该药物组合物还包括另一种治疗剂。

在一些实施方案中, 本发明的示例性化合物(参见, 例如, III 部分-示例性化合物)用于治疗与 F_1F_0 -ATP 水解酶有关的疾病。与 F_1F_0 -ATP 水解酶有关的疾病的例子包括但不限于, 心肌梗塞、心室肥大、冠状动脉疾病、非 Q-波 MI、充血性心力衰竭、心律失常、不稳定心绞痛、慢性稳定型心绞痛、普林兹迈托心绞痛、高血压、间歇性跛行、外周闭塞性动脉病、血栓栓子性中风的血栓性或血栓栓子性症状、静脉血栓形成、动脉血栓形成、脑血栓形成、肺动脉栓塞、脑动脉栓塞、血栓形成倾向、弥散性血管内凝血、再狭窄、心房纤维颤动、心室增大、动脉粥样硬化性血管病、粥样硬化斑块破裂、粥样硬化斑块形成、移植性动脉粥样硬化、血管重构性动脉粥样硬化、癌症、手术、炎症、全身性感染、人造表面、介入性心脏学、固定、妊娠和胎儿损伤, 以及糖尿病并发症包括视网膜病、肾病和神经病变。

在一些实施方案中, 本发明提供一种在患者中治疗与线粒体 F_1F_0 -ATP 水解酶有关的疾病的方法, 包括给需要这样治疗的患者施用有效量的至少一种本发明的示例性化合物(参见, 例如, III 部分-示例性化合物)。在一些实施方案中, 线粒体 F_1F_0 -ATP 水解酶疾病包括但不限于, 心肌梗塞、心室肥大、冠状动脉疾病、非 Q-波 MI、充血性心力衰竭、心律失常、不稳定心绞痛、慢性稳定型心绞痛、普林兹迈托心绞痛、高血压、间歇性跛行、外周闭塞性动脉病、血栓栓子性中风的血栓性或血栓栓子性症状、静脉血栓形成、动脉血栓形成、脑血栓形成、肺动脉栓塞、脑动脉栓塞、血栓形成倾向、弥散性血管内凝血、再狭窄、心房纤维颤动、心室增大、动脉粥样硬化性血管病、粥样硬

化斑块破裂、粥样硬化斑块形成、移植性动脉粥样硬化、血管重构性动脉粥样硬化、癌症、手术、炎症、全身性感染、人造表面、介入性心脏学、固定、妊娠和胎儿损伤，以及糖尿病并发症包括视网膜病、肾病和神经病变。

在一些实施方案中，本发明提供治疗提供治疗疾病的方法，包括通过将受影响的细胞暴露于组合物来抑制受疾病影响的细胞中 ATP 合酶复合物的活性，其中所述组合物能与该 ATP 合酶复合物的寡霉素敏感性参照蛋白结合，其中该疾病包括细菌感染、病毒感染、真菌感染、寄生虫感染、朊病毒疾病、与异常血管发生有关的疾病、与异常血压调节有关的疾病和与异常 HDL/LDL 调节有关的疾病。在一些实施方案中，该 ATP 合酶复合物是线粒体 F_1F_0 -ATP 酶复合物。

在一些实施方案中，本发明提供一种鉴定治疗组合物的方法，包括 a) 提供包含线粒体 F_1F_0 -ATP 酶的样品和分子模型软件；b) 用该分子模型软件鉴定候选的 F_1F_0 -ATP 酶抑制剂；c) 将该抑制剂与样品接触；d) 测定线粒体 F_1F_0 -ATP 酶的 k_{cat}/K_m ；和 e) 选择与大部分 F_1F_0 -ATP 酶-底物复合物结合并且在与线粒体 F_1F_0 -ATP 酶结合后不会改变线粒体 F_1F_0 -ATP 酶的 k_{cat}/K_m 比率的组合物作为治疗组合物。在一些实施方案中，该方法还包括步骤 f) 在动物中测定所选择的组合物以鉴定其低毒性和治疗免疫性疾病(例如，自身免疫性疾病)的能力。在一些实施方案中，该样品还包含线粒体。在一些实施方案中，该 F_1F_0 -ATP 酶是纯酶。在一些实施方案中，该 F_1F_0 -ATP 酶位于亚-线粒体颗粒。在一些实施方案中，通过测定作为 ATP 浓度和抑制剂浓度函数的 ATP 水解或合成的比例来测定 k_{cat}/K_m 比率。在其他优选的实施方案中，由 K_m V_{max} 和酶浓度计算 k_{cat}/K_m 比率。

在一些实施方案中，本发明的化合物可以用于治疗疾病，包括给需要的受试者，例如人施用有效量的化合物，其通常是在包含本发明的化合物和药学可接受的载体的药物制剂中。该化合物应当施用以缓解疾病的至少一种症状。通过本发明的一种或多种化合物可以治疗的示例性疾病包括但不限于，免疫性疾病、过度增殖性疾病和慢性炎性

疾病。至于免疫性疾病，该化合物可以用于治疗移植物抗宿主病、类风湿关节炎和系统性红斑狼疮。此外，该化合物可以用于减轻或消除移植过程后组织或器官的排斥反应。至于过度增殖性疾病，本发明的化合物可以用于治疗癌症，其可以是恶性的或良性的。可以治疗的示例性癌症包括，例如腺瘤、腺癌、癌、白血病、淋巴瘤、黑素瘤、骨髓瘤、肉瘤和畸胎瘤。此外，应当关注的是，本发明的化合物可以用于治疗膀胱和肾脏系统、脑、乳腺、子宫颈、结肠、肺、卵巢、前列腺、直肠的癌症。至于慢性炎性疾病，本发明的化合物可以用于治疗哮喘、牛皮癣和炎性肠病。

定义

为了易于理解本发明，下面定义了很多的术语和短语。

本文使用的术语“取代的脂肪烷基”是指具有少于 10 个碳的链烷基，其中至少一个脂肪族氢原子已经被卤素、氨基、羟基、烷氧基、硝基、硫、酮、醛、酯、酰胺、低级脂肪烷基、取代的低级脂肪烷基，或环(芳基、取代的芳基、环烷基或取代的环烷基等等)取代。其例子包括但不限于，1-氯乙基等等。

本文使用的术语“取代的芳基”是指芳环或者由至少一个是芳环的不超过 3 个稠合环组成的稠合芳环，其中环碳上的至少一个氢原子已经被卤素、氨基、羟基、烷氧基、硝基、硫、酮、醛、酯、酰胺、低级脂肪烷基、取代的低级脂肪烷基，或环(芳基、取代的芳基、环烷基或取代的环烷基等等)取代。其例子包括但不限于，羟基苯基等等。

本文使用的术语“环脂肪烷基”是指具有不超过 8 个碳的环烷或由不超过 3 个稠合脂肪环组成的稠合环系统。其例子包括但不限于，十氢萘等等。

本文使用的术语“取代的环脂肪烷基”是指具有不超过 10 个碳的环烷或由不超过 3 个稠合环组成的稠合环系统，其中至少一个脂肪氢原子已经被卤素、硝基、硫、酮、氨基、羟基、烷氧基、醛、酯、酰胺、低级脂肪烷基、取代的低级脂肪烷基，或环(芳基、取代的芳基、

环烷基或取代的环烷基等等)取代。其例子包括但不限于, 1-氯十氢萘基、二环-庚烷、辛烷和壬烷(例如, 冰片基)等等。

本文使用的术语“杂环”是指具有小于 8 个碳的环烷和/或芳环系统, 或者不超过 3 个稠合环的稠合环系统, 其中至少一个环碳原子被氧、氮或硫取代。其例子包括但不限于, 吗啉代等等。

本文使用的术语“取代的杂环”是指具有小于 8 个碳的环烷和/或芳环系统, 或者不超过 3 个稠合环的稠合环系统, 其中至少一个环碳原子被氧、氮或硫取代, 并且其中至少一个脂肪氢原子已经被卤素、羟基、硫、硝基、氨基、酮、醛、酯、酰胺、低级脂肪烷基、取代的低级脂肪烷基, 或环(芳基、取代的芳基、环烷基或取代的环烷基等等)取代。其例子包括但不限于 2-氯吡喃基。

术语“烷基”是本领域认可的, 是指饱和的脂肪族基团, 包括直链烷基、支链烷基、环烷基(脂环族)、烷基取代的环烷基和环烷基取代的烷基。在一些实施方案中, 直链或支链烷基在其骨架中具有约 8 或更少个碳原子(例如, 对于直链是 C_1-C_8 , 对于支链是 C_3-C_8), 并且可替代地, 具有约 4 或更少个。

术语“取代的烷基”是本领域认可的, 是指在烃骨架的一个或多个碳原子上具有取代氢原子的取代基的烷基部分。这些取代基可以包括, 例如, 烯基、炔基、卤素、羟基、烷基羰氧基、芳基羰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、羧酸根、烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫羰基、烷氧基、磷酸根、膦酸根、膦基、氰基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨甲酰基和脒基)、脒基、亚胺基、巯基、烷硫基、芳硫基、硫代羧酸根、硫酸根、烷基亚磺酰基、磺酸根、氨磺酰基、磺胺基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基, 或者芳香或杂芳香部分。在一个优选的实施方案中, 取代的烷基是在烃骨架的一个或多个碳原子上具有取代氢原子的氟原子的烷基部分, 例如, $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 等等。

本文使用的术语化合物的“衍生物”是指化学修饰的化合物，其中化学修饰发生在化合物的官能团或在芳香环上。

本文使用的术语“表皮增生”是指表皮组织的正常排列中，正常细胞的数目异常增多或增加。表皮增生是很多疾病，包括但不限于牛皮癣的特征。

本文使用的术语“角质化细胞”是指表皮的角质化层的皮肤细胞。

本文使用的术语“成纤维细胞”是指结缔组织的中胚层产生的固有细胞，它们分泌纤维溶胶原、纤维结合素和胶原酶。

本文使用的术语“色素疾病”是指与皮肤色素(例如，黑色素)有关的疾病。色素疾病的例子包括但不限于，所有形式的白化病、黑斑病、皮肤损伤后的色素损失和白癜风。

本文使用的术语“支架”或“药物洗脱支架”是指当置入与要治疗的内腔的壁的位点接触时其也会在内腔壁置入纤维蛋白并将其保留在内腔壁的任何装置。它特别可以包括经皮递送以治疗冠状动脉闭塞并封闭脾、颈动脉、髂骨和腘血管的切片或动脉瘤的装置。支架也可以具有可能的聚合或金属结构元件，纤维蛋白应用于其上，或者支架可以是纤维蛋白与聚合物混合在一起的复合物。例如，可变性的金属丝支架，例如在 U.S. 4, 886, 062 (通过参考引入本文) 中披露的那种，可以如上所述用纤维蛋白以一层或多层包衣包被(即，通过使用纤维蛋白原溶液和纤维蛋白原-凝固蛋白的溶液在金属骨架上使纤维蛋白聚合)或者具有附着的纤维蛋白预形成物例如纤维蛋白的环绕膜。然后将支架和纤维蛋白置于位于气囊式导管的远末端的气囊上，并通过常规的经皮方法(例如，以血管成形术操作)地送到要治疗的限定或封闭的位点上，然后通过给气囊加压它在这里膨胀，与身体内腔接触。然后可以撤出导管，将本发明的纤维蛋白支架保留在治疗位点。因此，支架可以在治疗位点给内腔提供支持结构，同时也在内腔壁上提供了支持安全放置纤维蛋白的结构。一般地，药物洗脱支架可以使特定的药物在支架的置入位点有效释放。

本文使用的术语“导管”一般是指用于插入体腔或血管的管。

本文使用的术语“瓣”或“血管”是指哺乳动物的任何内腔。例子包括但不限于，动脉、静脉、毛细血管和生物内腔。

本文使用的术语“再狭窄”是指变窄的任何瓣。例子包括但不限于，打开动脉的狭窄部分的作用力例如，动脉的气囊膨胀、切除、经皮腔内板块旋切或激光治疗导致的动脉损伤后周围或冠状动脉的再封闭。

本文使用的“血管成形术”或“气囊治疗”或“气囊血管成形术”或“经皮穿刺冠状动脉成形术”是指一种治疗血管疾病的方法，包括使用气囊导管来增大血管并由此改善血流。

本文使用的“心导管术”或“冠状动脉造影照片”是指一种使用导管插入技术诊断冠状动脉疾病的试验。这种技术可以包括，例如经导管向冠状动脉中注射对比染料，使变窄或阻塞的动脉显像。

本文使用的术语“受试者”是指通过本发明的方法治疗的生物体。这些生物体优选包括但不限于，哺乳动物(例如，鼠类、猿猴类、马类、牛类、猪类、犬类、猫科，等等)，最优选包括人。在本发明的上下文中，术语“受试者”一般是指由于特征在于细胞凋亡过程失调的疾病而将要接受或者已经接受治疗(例如，施用本发明的化合物和任选一种或多种其他药物)的受试者。

本文使用的术语“抗癌剂”或“常规抗癌剂”是指在癌症治疗中使用的任何化疗化合物、放射疗法或手术介入。

本文使用的术语“宿主细胞”是指任何的真核或原核细胞(例如，哺乳动物细胞、鸟类细胞、两栖动物细胞、植物细胞、鱼细胞和昆虫细胞)，不论是位于体外还是体内。

本文使用的术语“细胞培养”是指细胞的任何体外培养。该术语包括连续的细胞株(例如，具有永久表型)，原代细胞培养物、有限细胞株(例如，非转换细胞)，和其他任何保留在体外的细胞群，包括卵母细胞和胚胎。

在一些实施方案中，本发明的组合物和方法的“靶细胞”包括，涉及，但不限于，淋巴样细胞或癌细胞。淋巴样细胞包括 B 细胞、T

细胞和粒细胞。粒细胞包括嗜酸性粒细胞和巨噬细胞。在一些实施方案中，靶细胞是由受试者活组织检查获得的连续培养细胞或未培养细胞。

癌细胞包括肿瘤细胞、赘生细胞、恶性细胞、转移细胞和增生细胞。赘生细胞可以是良性的或恶性的。如果没有侵袭或转移，赘生细胞就是良性的。恶性细胞是能够侵袭和/或转移的。增生是细胞在组织或器官中的病理学蓄积，同时结构或功能没有显著的改变。

在一个具体的实施方案中，靶细胞显示病理学生长或增殖。本文使用的术语“病理学增殖或生长细胞”是指动物中局部的增殖细胞群，它们不通过正常生长的一般性限制来支配。

本文使用的术语“未激活的靶细胞”是指在 G₀ 期的细胞或还未使用刺激物的细胞。

本文使用的术语“激活的靶淋巴样细胞”是指已经用适当的刺激物预处理导致信号转导级联的淋巴样细胞，或者可替代地，不处于 G₀ 期的淋巴样细胞。激活的淋巴样细胞可以增殖，发生激活诱导的细胞死亡，或者产生一种或多种细胞毒素、细胞因子和具有其他相关的膜结合相关蛋白特征的细胞类型（例如，CD8⁺ 或 CD4⁺）。它们也能识别和结合任意的靶细胞，靶细胞在自身表面上显示特定的抗原，然后释放其效应分子。

本文使用的术语“激活的癌细胞”是指已经用适当的刺激物预处理导致信号转导的癌细胞。激活的癌细胞可以或可以不处于 G₀ 期。

激活剂是一种与靶细胞接触导致信号转导级联的刺激物。激活性刺激物的例子包括但不限于，小分子、放射能以及与细胞接合激活细胞表面受体的分子。激活性刺激物诱导的应答，其特征在于细胞内 Ca²⁺、超氧化物或羟基的水平；酶例如激酶或磷酸酶的活性；或细胞的能态的改变。对于癌细胞，激活剂也包括转化型肿瘤基因。

在一个方面，激活剂是与细胞表面激活受体结合的任意试剂。这些可以选自 T 细胞受体配体、B 细胞激活因子（“BAFF”）、TNF、Fas 配体（FasL）、CD40 配体、增殖诱导性配体（“APRIL”）、细胞因子、

趋化因子、激素、氨基酸(例如,谷氨酸)、甾类、B 细胞受体配体、 γ 辐射、UV 辐射、能增强细胞应激的试剂或条件、或者特异性识别并与细胞表面激活受体结合的抗体(例如, anti-CD4、anti-CD8、anti-CD20、anti-TACI、anti-BCMA、anti-TNF 受体、anti-CD40、anti-CD3、anti-CD28、anti-B220、anti-CD38、anti-CD19 和 anti-CD21)。BCMA 是 B 细胞成熟抗原受体, TACI 是跨膜激活子和 CAML 作用子(Gross, A. 等人(2000); Laabi, Y. 等人(1992)和 Madry, C. 等人(1998))。抗体包括单克隆的或多克隆的或其混合物。

T 细胞配体的例子包括但不限于, 与 MHC 分子结合的肽、肽 MHC 复合物、或识别 T 细胞受体组分的抗体。

B 细胞配体的例子包括但不限于, 结合或识别 B 细胞受体组分的分子或抗体。

与细胞表面激活受体结合的试剂的例子包括但不限于, 所产生的对抗它们这些受体的天然配体或抗体(例如, anti-CD20)。RITUXIN(Genentech, Inc., San Francisco, CA)是一种商业可购得的 anti-CD 20 嵌合单克隆抗体。

增强细胞应激的试剂或条件的例子包括, 加热、辐射、氧化应激或停用生长因子等等。生长因子的例子包括但不限于血清、IL-2、血小板衍生的生长因子(“PDGF”)等等。

本文使用的术语“有效量”是指足以产生有益的或所希望的结果的化合物(例如, 本发明的化合物)的量。有效量可以以一次或多次施用、应用或剂量来施用, 并不意欲限于特定的制剂或给药途径。

本文使用的术语“细胞死亡过程的失调”是指细胞通过坏死或凋亡发生细胞死亡的能力(例如, 倾向)的任何异常。细胞死亡失调与各种疾病有关, 或由其诱导产生, 这些疾病包括, 例如免疫性疾病(例如, 自身免疫性疾病)(例如, 系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、移植物抗宿主病、重症肌无力、Sjögren's 综合征等等), 慢性炎性疾病(例如, 牛皮癣, 哮喘和克罗恩病), 过度增殖性疾病(例如, 肿瘤、B 细胞淋巴瘤、T 细胞淋巴瘤等等), 病毒感染(例如, 疱疹、乳头瘤、HIV),

和其他疾病例如骨关节炎和动脉粥样硬化。

应当注意的是，当失调是由病毒感染诱导的或与之有关时，病毒感染可以或可以不在失调发生时检测到或观测到。也就是说，病毒诱导的失调甚至可以在病毒感染的症状消失后才发生。

本文使用的“过度增殖性疾病”是指其中动物中局部的增殖细胞群不通过正常生长的一般性限制来支配的任何疾病。过度增殖性疾病的例子包括肿瘤、赘生物、淋巴瘤等等。如果赘生物没有发生侵袭或转移，就称之为良性的，如果侵袭或转移则是恶性的。转移的细胞或组织是指细胞可以侵入并破坏邻近的身体结构。增生是细胞增殖的一种形态，它包括组织或器官中细胞数量的增加，同时结构或功能没有显著改变。组织变形是可控的细胞生长的一种形式，其中一种类型的全分化细胞取代了另一种类型的分化细胞。组织变形可以发生在上皮或结缔组织细胞中。典型的组织变形涉及某些无序的组织转化上皮。过度增殖性疾病包括癌症，例如骨髓瘤、膀胱癌和肾癌。

激活的淋巴样细胞的病理学生长常会导致免疫性疾病(例如，自身免疫性疾病)或慢性炎性疾病。本文使用的术语“自身免疫性疾病”是指其中生物体产生识别生物体自身的分子、细胞或组织的抗体或免疫细胞的任何疾病。自身免疫性疾病的非限制性例子包括自身免疫溶血性疾病、自身免疫性肝炎、巴尔热疾病或 IgA 肾病、乳糜泻、慢性疲劳综合征、克劳恩病、皮炎、纤维肌痛、格拉夫斯病、原发性血小板减少性血栓形成性紫癜、扁平苔藓、多发性硬化、重症肌无力、牛皮癣、风湿性发热、风湿性关节炎、硬皮病、Sjorgren 综合症、系统性红斑狼疮、1 型糖尿病、溃疡性肠炎、白癜风等等。移植物抗宿主病可以由对移植的组织、器官等等(例如，骨髓、实体器官、皮肤等等)的免疫反应而导致的。

本文使用的术语“慢性炎性疾病”是指其中生物体的免疫细胞被激活的疾病。这种疾病的特征在于具有病理学后遗症的持续炎性应答。这种状态的特征在于单核细胞的渗透、成纤维细胞和小血管的增殖、结缔组织增加和组织破坏。慢性炎性疾病的例子包括但不限于，克罗

恩病、牛皮癣、慢性阻塞性肺疾病、炎症肠病、多发性硬化和哮喘。免疫性疾病例如类风湿关节炎和系统性红斑狼疮也可以是由慢性炎性状态导致的。

本文使用的术语“联合施用”是指给受试者施用至少两种药物(例如,本发明的化合物)或疗法。在一些实施方案中,联合施用两种或多种药物/疗法是同时的。在其他实施方案中,第一药物/疗法是在第二药物/疗法前施用的。本领域技术人员了解,所使用的各种药物/疗法的制剂和/或给药途径可以不同。本领域技术人员很容易即可确定联合施用的适当剂量。在一些实施方案中,当联合施用药物/疗法时,各个药物/疗法是以低于单独施用的适当量施用的。因此,在降低已知可能的有害(例如,毒性)药物的必要剂量的联合施用药物/疗法的实施方案中,特别需要联合施用。

本文使用的术语“毒性”是指与施用有毒药物前的相同细胞或组织相比,对于细胞或组织的任何不利或有害效果。

本文使用的术语“药物组合物”是指活性剂与惰性或活性的载体的组合,组成特别适合体内或体外的诊断或治疗用途的组合物。

本文使用的术语“药学可接受的载体”是指任何的标准药物载体,例如磷酸盐缓冲盐水溶液、水、乳剂(例如,油/水型或水/油型乳剂),和各种类型的润湿剂。该组合物也可以包括稳定剂和防腐剂。载体、稳定剂和佐剂的例子(参见例如, Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA [1975])。

本文使用的术语“药学可接受的盐”是指本发明的化合物的任何药学可接受的盐(例如,酸或碱),当施用于受试者时,它能够为本发明的化合物或其活性代谢产物或残留物。如本领域技术人员所知,本发明的化合物的“盐”可以由无机或有机酸和碱产生的。酸的例子包括但不限于,盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、延胡索酸、马来酸、磷酸、羟乙酸、乳酸、水杨酸、琥珀酸、甲苯磺酸、酒石酸、乙酸、柠檬酸、甲磺酸、乙磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸、

苯磺酸等等。其他酸，例如草酸，尽管本身并不是药学可接受的，但是可以在获得本发明的化合物和它们的药学可接受的酸加成盐中，在制备盐时作为中间体。

碱的例子包括但不限于，碱金属(例如，钠)的氢氧化物、碱土金属(例如，镁)的氢氧化物、氨和式 NW_4^+ 的化合物，其中 W 是 C_{1-4} 烷基等等。

盐的例子包括但不限于：乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、重硫酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸盐、氟庚酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、巴莫酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、苯丙酸盐、苦味酸盐、特戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一酸盐等等。盐的其他例子包括本发明的化合物的阴离子与适当的阳离子例如 Na^+ 、 NH_4^+ 和 NW_4^+ (其中 W 是 C_{1-4} 烷基) 等等组成的化合物。

对于治疗用途，所关注的本发明的化合物的盐是药学可接受的。但是，发现非药学可接受的酸和碱的盐也可以用于药学可接受的化合物的制备或纯化。

本文所述的某些化合物可以以特定的几何或立体异构体的形式存在。本发明关注所有这些化合物，包括顺式-和反式-异构体、R-和 S-对映体、非对映体、(D)-异构体、(L)-异构体、其外消旋混合物及其他混合物，都落在本发明的范围内。在取代基例如烷基中可以存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及其混合物都意欲包括在本发明中。特别地，此处出现的一般化学结构可以包含不对称碳原子，和/或一般化学结构上的取代基可以包含不对称碳原子。一般化学结构包括所有异构形式的化合物，包括对映体、非对映体和外消旋混合物。

例如，如果需要本发明的化合物的特定对映体，可以通过不对称合成，或者通过用手性助剂衍生来制备，其中分离所得到的非对映体

混合物，分裂开辅助基团以提供纯净的所需对映体。可替代地，当该分子包含碱性官能团，例如氨基或者酸性官能团例如羧基时，可以用适当的光学活性的酸或碱来形成非对映体盐，然后由本领域公知的分步结晶或光谱方法拆分所形成的非对映体，随后回收纯净的对映体。

本文使用的术语“固相载体”或“固体载体”是以最广义使用的，是指很多的载体，其是本领域技术人员可用和已知的。固相载体包括但不限于，硅胶、树脂、衍生的塑料膜、玻璃珠、棉、塑料珠、氧化铝凝胶等等。本文使用的“固体载体”也包括合成的抗原呈递基质、细胞、脂质体等等。适当的固相载体可以基于所期望的最终应用和对各种方案的适合性来选择。例如，对于肽合成，固相载体可以是树脂例如聚苯乙烯（例如，来自 Bachem, Inc., Peninsula Laboratories 的 PAM-树脂）、POLYHIPE 树脂（得自 Aminotech, Canada）、聚酰胺树脂（得自 Peninsula Laboratories）、移植有聚乙二醇的聚乙烯树脂（TENTAGEL, Rapp Polymere, Tubingen, Germany）或聚二甲基丙烯酸酯树脂（得自 Milligen/Bioscience, California）。

本文使用的术语“病原体”是指在宿主内导致疾病状态（例如，感染、癌症等等）的生物制剂。“病原体”包括但不限于，病毒、细菌、古细菌、真菌、原虫、支原体、朊病毒和寄生虫。

术语“细菌”和“菌”是指所有的原核生物，包括原核生物界中所有门的那些。它是指，该术语包括所有被认为是细菌的微生物，包括支原体、衣原体、放线菌、链霉菌和立克次体。所有形式的细菌都包括在该定义内，包括球菌、杆菌、螺旋菌、球状体、原生质体等等。该术语也包括革兰氏阴性或革兰氏阳性的原核生物。“革兰氏阴性”和“革兰氏阳性”是指用本领域公知的革兰氏染色法时的染色模式。（参见例如，Finegold 和 Martin, Diagnostic Microbiology, 6th Ed., CV Mosby St. Louis, pp. 13-15 [1982]）。“革兰氏阳性菌”是在革兰氏染色中保留所使用的主要染料的细菌，使得染色的细胞在显微镜下呈深蓝色至紫色。“革兰氏阴性菌”在革兰氏染色中不保留所使用的主要染料，但是通过复染剂染色。因此，革兰氏阴性菌呈红色。

本文使用的术语“微生物”是指任何种类或类型的微生物，包括但不限于，细菌、古细菌、真菌、原虫、支原体和寄生虫。本发明注意到，所包括的很多微生物对于受试者也是致病性的。

本文使用的术语“真菌”参照用于真核生物，例如霉菌和酵母，包括双向型真菌。

本文使用的术语“病毒”是指微小的传染物，但也有某些例外，其通过光学显微镜不能观察到，没有独立的代谢，并且仅能在活的宿主细胞中复制。颗粒单体(即，病毒体)典型地是由核酸和蛋白质外鞘或外壳组成；一些病毒体也具有含脂的膜。术语“病毒”包括所有类型的病毒，包括动物、植物、噬菌体和其他病毒。

本文使用的术语“样品”是以其最广义使用的。怀疑指示特征在于凋亡动能失调的疾病的样品包括细胞、组织或液体、从细胞分离的同源染色体(例如，一系列的中期染色体)、染色体组的DNA(在溶液中或与固体载体结合例如用于Southern斑迹分析)、RNA(在溶液中或与固体载体结合例如用于Northern斑迹分析)、cDNA(在溶液中或与固体载体结合)等等。怀疑包含蛋白质的样品可以包括细胞、组织的一部分、包含一种或多种蛋白质的提取物等等。

本文使用的术语“纯化”或“以纯化”是指从样品中除去不希望有的组分。本文使用的术语“基本上纯净的”是指至少60%不是，优选75%不是，最优选90%或更多不是它们通常混合有的其他组分。

本文使用的术语“抗原结合蛋白”是指与特定抗原结合的蛋白。

“抗原结合蛋白”包括但不限于，免疫球蛋白包括多克隆、单克隆、嵌合体、单链和人化抗体、Fab片段、F(ab')₂片段和Fab表达库。使用本领域已知的各种方法来制备多克隆抗体。为制备抗体，可以通过用于所期望抗原表位对应的肽注射来使各种宿主动物免疫，包括但不限于兔、小鼠、大鼠、羊、山羊等等。在一个优选的实施方案中，肽结合到致免疫载体(例如，白喉类毒素、牛血清白蛋白(BSA)或钥孔戚血蓝素[KLH])上。根据宿主的种类，使用各种佐剂来增强免疫应答，包括但不限于，弗氏佐剂(完全和不完全)，矿物胶例如氢氧化铝，表

面活性物质例如溶血卵磷脂、pluronic 多元醇、聚阴离子、肽、油乳剂、钥孔戚血蓝素、二硝基酚和可能有用的人用佐剂例如 BCG (结核菌苗) 和短小棒状杆菌。

为制备单克隆抗体，可以使用任何技术，它用于通过在培养基中连续的细胞株产生抗体分子(参见，例如，Harlow 和 Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY)。这些技术包括但不限于，最初由 Köhler 和 Milstein 发展出来的细胞杂交技术(Köhler 和 Milstein, *Nature*, 256: 495-497 [1975])，以及三元杂交技术、人 B-细胞杂交技术(参见，例如，Kozbor 等人, *Immunol. Today*, 4: 72 [1983])，和产生人单克隆抗体的 EBV-杂交技术(Cole 等人, in *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96 [1985])。

根据本发明，所述用于制备单链抗体的技术(U.S. 4, 946, 778; 通过参考引入本文)可以适合制备所需的特定的单链抗体。本发明的另一个实施方案利用了本领域已知的技术来构造 Fab 表达库(Huse 等人, *Science*, 246: 1275-1281 [1989])，以快速和容易地鉴定具有所需特异性的单克隆 Fab 片段。

本文使用的术语“非特异性结合”和“背景结合”当用于抗体和蛋白质或肽的相互作用时，是指不依赖于特定结构的存在的相互作用(即，抗体一般性地与蛋白质结合，而不是依靠特定结构例如抗原表位)。

本文使用的术语“调节”是指化合物(例如，本发明的化合物)的活性影响(例如，促进或延缓)细胞功能的一个方面，包括但不限于，细胞生长、增殖、凋亡等等。

术语“受试化合物”是指任何化学受试者、药物、药物等等，其可以用于治疗或预防躯体功能的疾病、病、病症或障碍，或者改变样品的生理学或细胞状态(例如细胞或组织中凋亡的失调水平)。受试化合物包括已知和可能的治疗性化合物。可以通过使用本发明的筛选方法来确定受试化合物是治疗性的。“已知的治疗性化合物”是指在

该治疗或预防中已显示出是有效的(例如,通过动物实验或先前施用于人的实验)的治疗性化合物。在一些实施方案中,“受试化合物”是调节细胞凋亡的药物。

发明详述

本发明提供新的化合物,发现它们的方法,以及它们治疗、研究和诊断应用。特别地,本发明提供苯二氮革类化合物,以及使用苯二氮革类衍生物和相关化合物作为治疗剂治疗很多与程序性细胞死亡过程错误调节有关的疾病、自身免疫性疾病、炎症疾病和过度增殖性疾病的方法等等。

下面的部分中将会更详细地描述本发明的示例性组合物和方法:

I. 细胞死亡的调节剂; II. 细胞生长和增殖的调节剂; III. 示例性化合物; IV. 药物组合物、制剂、以及示例性给药途径和对剂量的考虑; V. 药物筛选; 和 VI. 治疗应用。

除非另有说明,实施本发明可以使用有机化学、药学、分子生物学(包括重组技术)、细胞生物学、生物化学和免疫学的常规技术,它们都是本领域的技术。在下列文献中完整地解释了这些技术,例如

“Molecular cloning: a laboratory manual” Second Edition(Sambrook 等人,1989); “Oligonucleotide synthesis”(M. J. Gait, ed., 1984); “Animal cell culture”(R. I. Freshney, ed., 1987); the series “Methods in enzymology”(Academic Press, Inc.); “Handbook of experimental immunology”(D. M. Weir & C. C. Blackwell, eds.); “Gene transfer vectors for mammalian cells”(J. M. Miller & M. P. Calos, eds., 1987); “Current protocols in molecular biology”(F. M. Ausubel 等人, eds., 1987, 和定期更新);

“PCR: the polymerase chain reaction”(Mullis 等人, eds., 1994); 和 “Current protocols in immunology”(J. E. Coligan 等人, eds., 1991), 将它们每一篇都以整体通过参考引入本文。

I. 细胞死亡的调节剂

可以通过检测细胞数量的任何变化来测定化合物的效果。可以如本文和本领域所述来测定细胞死亡。在一些实施方案中,将细胞株保持在适当的细胞培养条件下(例如,气体(CO_2),温度和培养基)适当的时间,以得到指数级的增殖,而且没有密度依赖的限制。用标准方法例如锥虫蓝排除/血细胞计量术或 MTT 染色变化分析来测定细胞数量和/或存活。可替代地,可以分析细胞的与凋亡或坏死异常有关的基因表达或基因产物。

在一些实施方案中,关注的是,将细胞暴露于本发明以诱导凋亡。在一些实施方案中,关注的是,本发明导致细胞 ROS 水平(例如, O_2^-)开始升高。在其他实施方案中,关注的是,将细胞暴露于本发明的化合物导致细胞 O_2^- 水平升高。在其他实施方案中,关注的是,本发明的化合物导致的细胞 O_2^- 水平升高是用氧化还原敏感性试剂可检测的,该试剂(例如,二氢乙啶(DHE))与 O_2^- 特异性反应。

在其他实施方案中,关注的是,本发明的化合物导致的细胞 O_2^- 水平升高在一段时间(例如,10分钟)后减小。在其他实施方案中,关注的是,本发明的化合物导致的细胞 O_2^- 水平升高在一段时间后减小,在更后的时间(例如,10小时)又升高。在其他实施方案中,关注的是,本发明的化合物导致的细胞 O_2^- 水平升高在1小时后减小,在4小时后又升高。在一些实施方案中,关注的是,本发明的化合物导致的细胞 O_2^- 水平先升高,然后细胞 O_2^- 水平降低,然后细胞 O_2^- 水平又一次升高时由于不同的细胞过程(例如,双峰的细胞机制)。

在一些实施方案中,关注的是,本发明导致细胞的线粒体 $\Delta\psi_m$ 断裂。在一些实施方案中,关注的是,本发明导致细胞的线粒体 $\Delta\psi_m$ 断裂是用线粒体-选择性电势测定探针(例如, DiOC_6)可检测的。在其他实施方案中,关注的是,本发明导致细胞的线粒体 $\Delta\psi_m$ 断裂是在细胞 O_2^- 水平开始升高后发生的。

在一些实施方案中,关注的是,本发明能使半胱天冬酶激活。在其他实施方案中,关注的是,本发明导致细胞色素 C 从线粒体中释放。

在其他实施方案中,关注的是,本发明改变细胞内的细胞色素 C 水平。在其他实施方案中,关注的是,本发明导致的细胞内的细胞色素 C 水平改变是通过免疫印迹的细胞内级分可检测的。在一些实施方案中,关注的是,本发明导致的细胞内的细胞色素 C 水平降低是在一段时间(例如,10 小时)后可检测的。在其他优选的实施方案中,关注的是,本发明导致的细胞内的细胞色素 C 水平降低是在 5 小时后可检测的。

在其他实施方案中,关注的是,本发明导致线粒体 PT 孔开放。在一些实施方案中,关注的是,本发明导致的细胞中细胞色素 C 释放是与线粒体 $\Delta\psi_m$ 的断裂一致的。在其他优选的实施方案中,关注的是,本发明导致在线粒体 $\Delta\psi_m$ 断裂和细胞色素 C 释放后,细胞 O_2^- 水平升高。在其他优选的实施方案中,关注的是,细胞 O_2^- 水平升高是由本发明所产生的线粒体 $\Delta\psi_m$ 断裂和细胞色素 C 释放所导致的。

在其他实施方案中,关注的是,本发明导致细胞的半胱天冬酶激活。在一些实施方案中,关注的是,本发明导致的半胱天冬酶激活是用全-半胱天冬酶敏感性荧光底物(例如, FAM-VAD-fmk)可检测的。在其他实施方案中,关注的是,本发明导致的半胱天冬酶激活可用线粒体 $\Delta\psi_m$ 的断裂来指示。在其他实施方案中,关注的是,本发明导致出现亚二倍体 DNA。在一些实施方案中,关注的是,半胱天冬酶激活稍微延迟了本发明导致的亚二倍体 DNA 的出现。

在一些实施方案中,关注的是,在线粒体内发现了本发明的分子靶点。在其他实施方案中,关注的是,本发明的分子靶点涉及线粒体 ATP 酶。细胞 ROS 的主要来源包括氧化还原酶和线粒体呼吸链(下文作 MRC)。在一些实施方案中,关注的是,细胞色素 C 氧化酶(MRC 的复合物 IV)抑制剂(例如, NaN_3)阻止了在细胞 ROS 水平中本发明依赖性的升高。在其他优选的实施方案中,关注的是, MRC 复合物 III 抑制剂(例如, FK506)的泛醇-细胞色素 C 还原酶组分阻止了在 ROS 水平中本发明依赖性的升高。

在一些实施方案中,关注的是,细胞 ROS 水平的升高是由本发明的化合物与线粒体内的靶点结合而导致的。在一些实施方案中,关注

的是,本发明的化合物氧化 2', 7'-二氯二氢荧光素(下文作 DCF)二乙酸盐为 DCF。DCF 是氧化还原活跃的物质,能够产生 ROS。在其他实施方案中,关注的是,本发明导致的 DCF 产生速率在延迟一段时间后增加。

抗霉素 A 通过抑制泛醇-细胞色素 C 还原酶而产生 O_2^- 。在一些实施方案中,关注的是,本发明以与抗霉素 A 相同的方式提高 ROS 产生的速率。在其他实施方案中,关注的是,本发明在支持状态 3 呼吸的好氧条件下以与抗菌素 A 相同的方式提高 ROS 产生的速率。在其他实施方案中,关注的是,本发明的化合物不能直接作用于 MPT 孔。在其他实施方案中,关注的是,本发明的化合物不能在亚细胞 S15 部分(例如,胞质溶胶;微粒体)中产生大量的 ROS (cytosol; microsomes)。在其他实施方案中,关注的是,如果线粒体不在状态 4 呼吸下,本发明的化合物不刺激 ROS。

MRC 复合物 I - III 是线粒体内 ROS 的主要来源。在一些实施方案中,关注的是,依赖本发明导致的细胞 ROS 水平升高的主要来源是这些复合物抑制线粒体 F_1F_0 -ATP 酶的结果。确实,在其他实施方案中,关注的是,本发明抑制牛亚-线粒体颗粒(下文作 SMPs)的线粒体 ATP 酶。在特别优选的实施方案中,关注的是,本发明的化合物与线粒体 F_1F_0 -ATP 酶的 OSCP 组分结合。

寡霉素是大环内酯类天然产物,其与线粒体 F_1F_0 -ATP 酶结合,诱导状态 3 向 4 转变,结果,产生了 ROS(例如, O_2^-)。在一些实施方案中,本发明的化合物与线粒体 F_1F_0 -ATP 酶的 OSCP 组分结合。在一些实施方案中,本发明的化合物与 OSCP 和线粒体 F_1F_0 -ATP 酶的 F_1 亚单元之间的接点结合。在一些实施方案中,本发明的化合物结合 F_1 亚单元。在一些实施方案中,本发明的筛选分析允许检测 OSCP、 F_1 或 OSCP/ F_1 接点的结合伴侣。OSCP 是一种真正的荧光蛋白。在一些实施方案中,将本发明的受试化合物的溶液滴定到过表达 OSCP 的大肠杆菌样品中导致原有的 OSCP 荧光消失。在其他实施方案中,荧光或放射性受试化合物可以用于直接的结合分析。在其他实施方案中,可以进行竞争

性结合实验。在该类型的分析中,分析受试化合物与 Bz-423 竞争结合例如 OSCP 的能力。在一些实施方案中,本发明的化合物通过调节 OSCP 基因(例如,改变 OSCP 基因的表达)导致细胞的 ROS 水平升高减小并减少细胞凋亡。在其他实施方案中,本发明的功能在于改变 ATP 酶的分子运动。

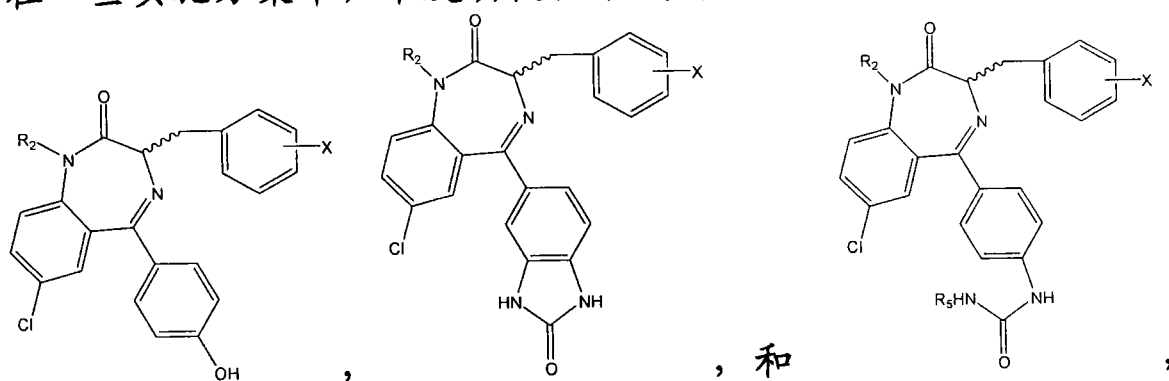
II. 细胞增殖和细胞生长的调节剂

在一些实施方案中,关注的是,本发明的化合物和方法导致细胞增殖减少。在其他实施方案中,关注的是,本发明的化合物和方法导致细胞增殖和凋亡减轻。

III. 示例性化合物

下文提供了本发明的示例性化合物。

在一些实施方案中,本发明提供下式所述的化合物:



包括其盐、酯和前药; 和

包括其 R 和 S 对映体形式和外消旋混合物;

其中

X 是卤素(例如, Br、Cl、F)、烷基(例如, 甲基、乙基、丙基(例如, 异丙基)、丁基(例如, 异丁基、仲丁基、叔丁基)、戊基、异戊基、新戊基、1-乙基丙基、3-甲基戊基、2, 2-二甲基丁基、庚基、己基、辛基、3-乙基丁基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基)或取代的烷基;

R₂ 是氢或直链或支链烷基(例如, 甲基、乙基、丙基(例如, 异丙基)、丁基(例如, 异丁基、仲丁基、叔丁基)、戊基、异戊基、新戊基、

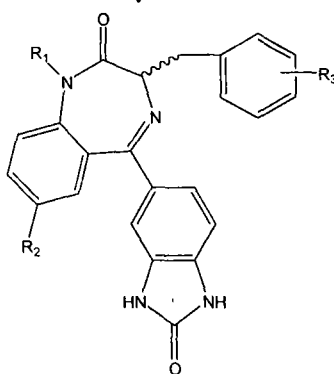
1-乙基丙基、3-甲基戊基、2, 2-二甲基丁基、庚基、己基、辛基、3-乙基丁基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基); 和

R_5 是烷基 (例如, 甲基、乙基、丙基 (例如, 异丙基), 丁基 (例如, 异丁基、仲丁基、叔丁基), 戊基、异戊基、新戊基、1-乙基丙基、3-甲基戊基、2, 2-二甲基丁基、庚基、己基、辛基、3-乙基丁基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基) 或取代的烷基。

在一些实施方案中, R_5 是被一个或多个卤素、烷氧基、 $-NH_2$, $-N(H)(C_1-C_4 \text{ 烷基})$ 或 $-N(C_1-C_4 \text{ 烷基})_2$ 取代的烷基。在一些实施方案中, R_5 是 $-(CH_2)_nN(R_6)_2$ 、 $-(CH_2)_nCF_3$ 或 $-(CH_2)_nO(R_6)_2$, 其中 n 是 1, 2, 3 或 4。

在一些实施方案中, 该化合物如下表所述。

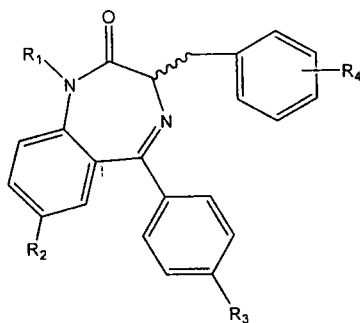
表 1.



化合物序号	R_1	R_2	R_3
1	H	卤素	卤素或烷基
2	烷基	卤素	卤素或烷基
3	H	Cl	Cl
4	H	Cl	Br
5	H	Cl	F
6	H	Cl	烷基
7	H	Cl	$-CH_3$
8	H	Cl	$-CH_2CH_3$
9	H	Cl	$-(CH_2)_2CH_3$
10	H	Cl	$-CH(CH_3)_2$
11	H	Cl	$-(CH_2)_3CH_3$
12	H	Cl	$-CH_2CH(CH_3)_2$

化合物序号	R ₁	R ₂	R ₃
13	H	C1	-C(CH ₃) ₃
14	H	C1	氟烷基
15	H	C1	-CF ₃
16	-CH ₃	C1	C1
17	-CH ₃	C1	Br
18	-CH ₃	C1	F
19	-CH ₃	C1	烷基
20	-CH ₃	C1	-CH ₃
21	-CH ₃	C1	-CH ₂ CH ₃
22	-CH ₃	C1	-(CH ₂) ₂ CH ₃
23	-CH ₃	C1	-CH(CH ₃) ₂
24	-CH ₃	C1	-(CH ₂) ₃ CH ₃
25	-CH ₃	C1	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂
26	-CH ₃	C1	-C(CH ₃) ₃
27	-CH ₃	C1	氟烷基
28	-CH ₃	C1	-CF ₃

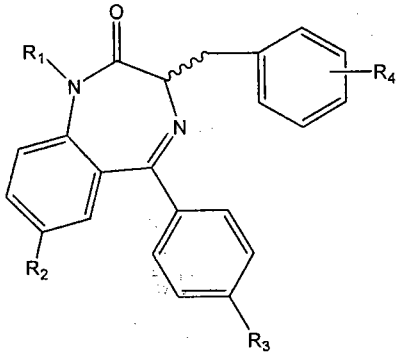
表 2.



化合物序号	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	H	卤素	OH	卤素或烷基
2	烷基	卤素	OH	卤素或烷基
3	H	卤素	烷氧基	卤素或烷基
4	烷基	卤素	烷氧基	卤素或烷基
5	H	C1	OH	C1
6	H	C1	OH	Br
7	H	C1	OH	F
8	H	C1	OH	烷基
9	H	C1	OH	-CH ₃

化合物序号	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
10	H	Cl	OH	-CH ₂ CH ₃
11	H	Cl	OH	-(CH ₂) ₂ CH ₃
12	H	Cl	OH	-CH(CH ₃) ₂
13	H	Cl	OH	-(CH ₂) ₃ CH ₃
14	H	Cl	OH	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂
15	H	Cl	OH	-C(CH ₃) ₃
16	H	Cl	OH	氟烷基
17	H	Cl	OH	-CF ₃
18	-CH ₃	Cl	OH	Cl
19	-CH ₃	Cl	OH	Br
20	-CH ₃	Cl	OH	F
21	-CH ₃	Cl	OH	烷基
22	-CH ₃	Cl	OH	-CH ₃
23	-CH ₃	Cl	OH	-CH ₂ CH ₃
24	-CH ₃	Cl	OH	-(CH ₂) ₂ CH ₃
25	-CH ₃	Cl	OH	-CH(CH ₃) ₂
26	-CH ₃	Cl	OH	-(CH ₂) ₃ CH ₃
27	-CH ₃	Cl	OH	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂
28	-CH ₃	Cl	OH	-C(CH ₃) ₃
29	-CH ₃	Cl	OH	氟烷基
30	-CH ₃	Cl	OH	-CF ₃

表 3.

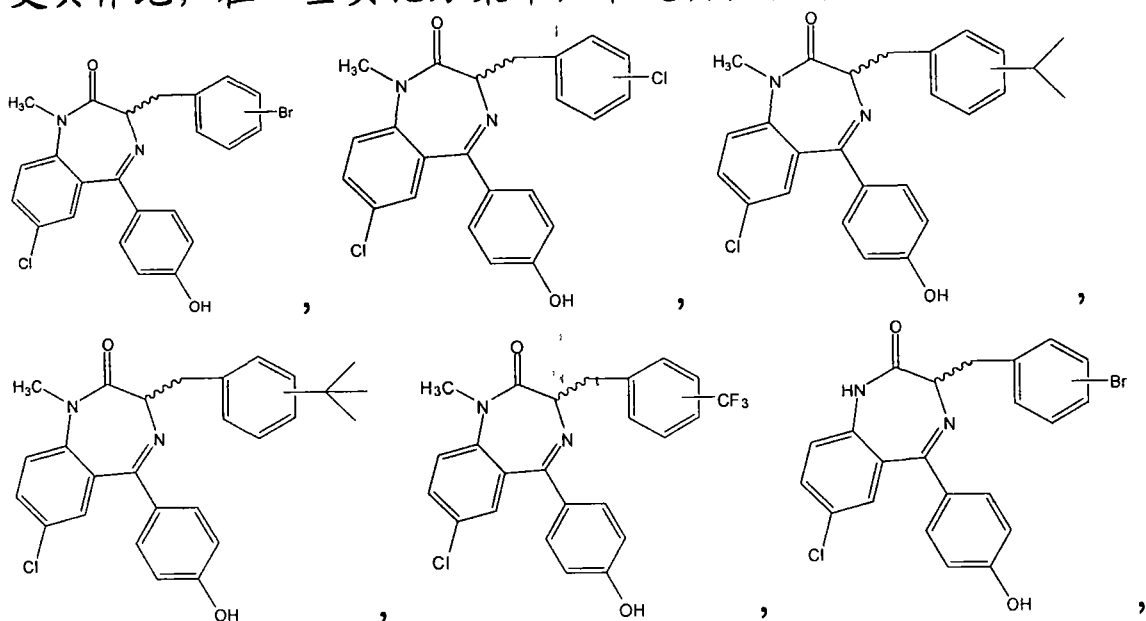


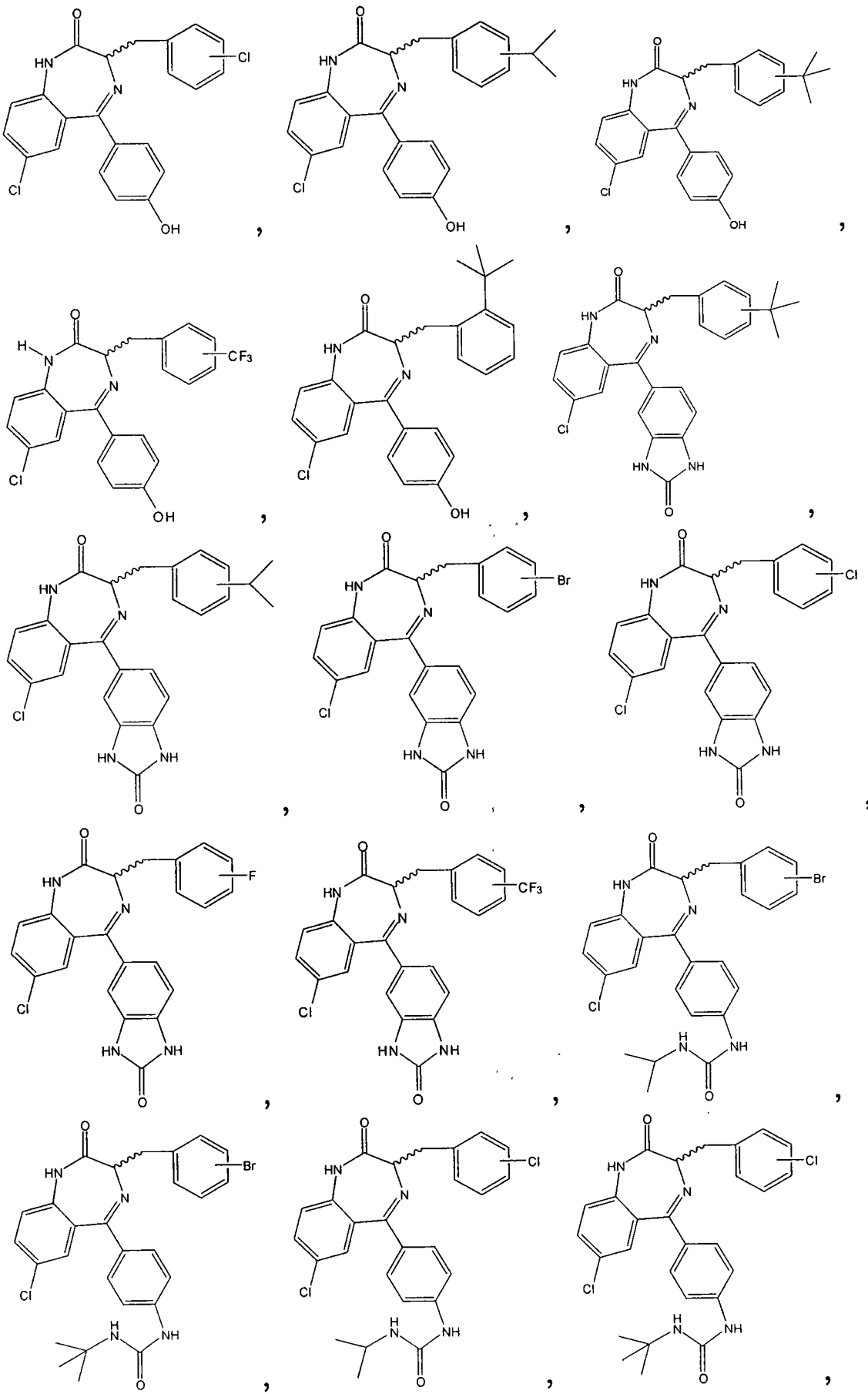
化合物序号	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)烷基	卤素或烷基

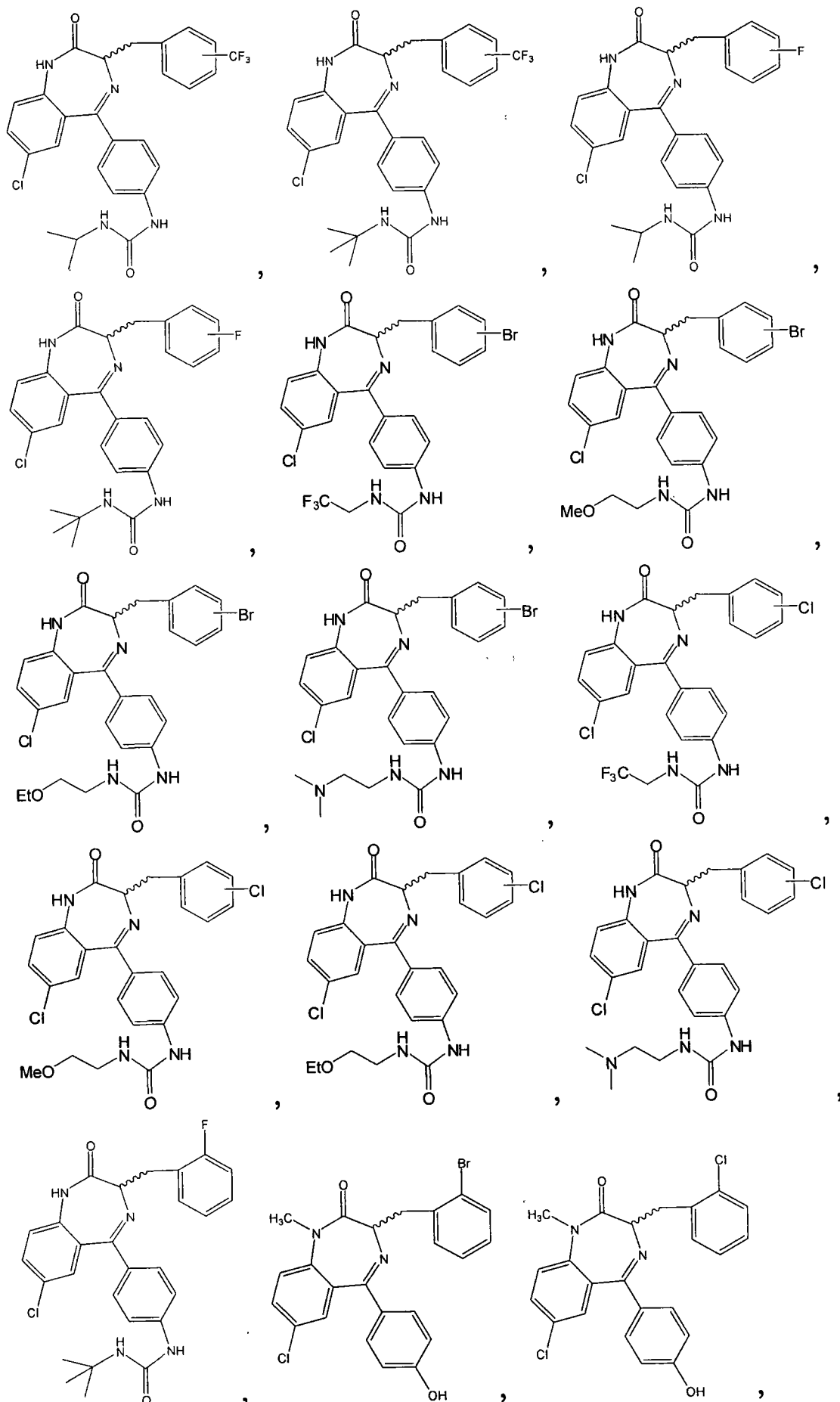
化合物序号	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
2	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)烷基	卤素或烷基
3	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₃	卤素
4	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₂ CH ₃	卤素
5	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)(CH ₂) ₂ CH ₃	卤素
6	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH(CH ₃) ₂	卤素
7	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)(CH ₂) ₃ CH ₃	卤素
8	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	卤素
9	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)C(CH ₃) ₃	卤素
10	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₃	卤素
11	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₂ CH ₃	卤素
12	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)(CH ₂) ₂ CH ₃	卤素
13	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH(CH ₃) ₂	卤素
14	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)(CH ₂) ₃ CH ₃	卤素
15	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	卤素
16	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)C(CH ₃) ₃	卤素
17	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₃	烷基
18	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₂ CH ₃	烷基
19	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)(CH ₂) ₂ CH ₃	烷基
20	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH(CH ₃) ₂	烷基
21	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)(CH ₂) ₃ CH ₃	烷基
22	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	烷基
23	H	卤素	-N(H)C(O)N(H)C(CH ₃) ₃	烷基
24	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₃	烷基
25	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₂ CH ₃	烷基
26	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)(CH ₂) ₂ CH ₃	烷基
27	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH(CH ₃) ₂	烷基
28	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)(CH ₂) ₃ CH ₃	烷基
29	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	烷基
30	烷基	卤素	-N(H)C(O)N(H)C(CH ₃) ₃	烷基
31	H	Cl	-N(H)C(O)N(H)烷基	Cl
32	H	Cl	-N(H)C(O)N(H)烷基	Br
33	H	Cl	-N(H)C(O)N(H)烷基	F
34	H	Cl	-N(H)C(O)N(H)烷基	烷基
35	H	Cl	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CH ₃
36	H	Cl	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CH ₂ CH ₃
37	H	Cl	-N(H)C(O)N(H)烷基	-(CH ₂) ₂ CH ₃

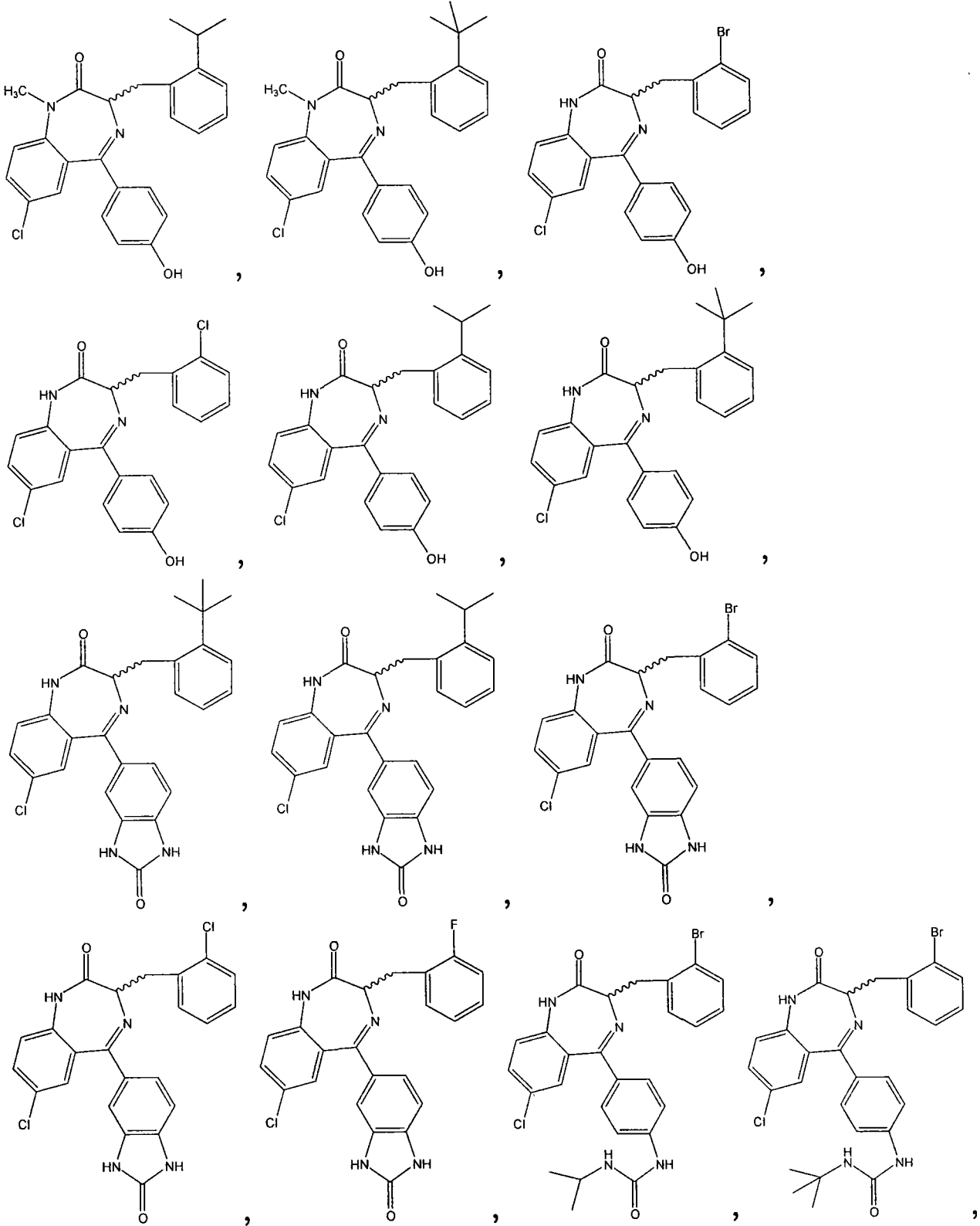
化合物序号	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
38	H	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CH(CH ₃) ₂
39	H	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-(CH ₂) ₃ CH ₃
40	H	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂
41	H	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-C(CH ₃) ₃
42	H	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	氟烷基
43	H	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CF ₃
44	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	C1
45	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	Br
46	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	F
47	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	烷基
48	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CH ₃
49	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CH ₂ CH ₃
50	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-(CH ₂) ₂ CH ₃
51	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CH(CH ₃) ₂
52	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-(CH ₂) ₃ CH ₃
53	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂
54	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-C(CH ₃) ₃
55	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	氟烷基
56	-CH ₃	C1	-N(H)C(O)N(H)烷基	-CF ₃

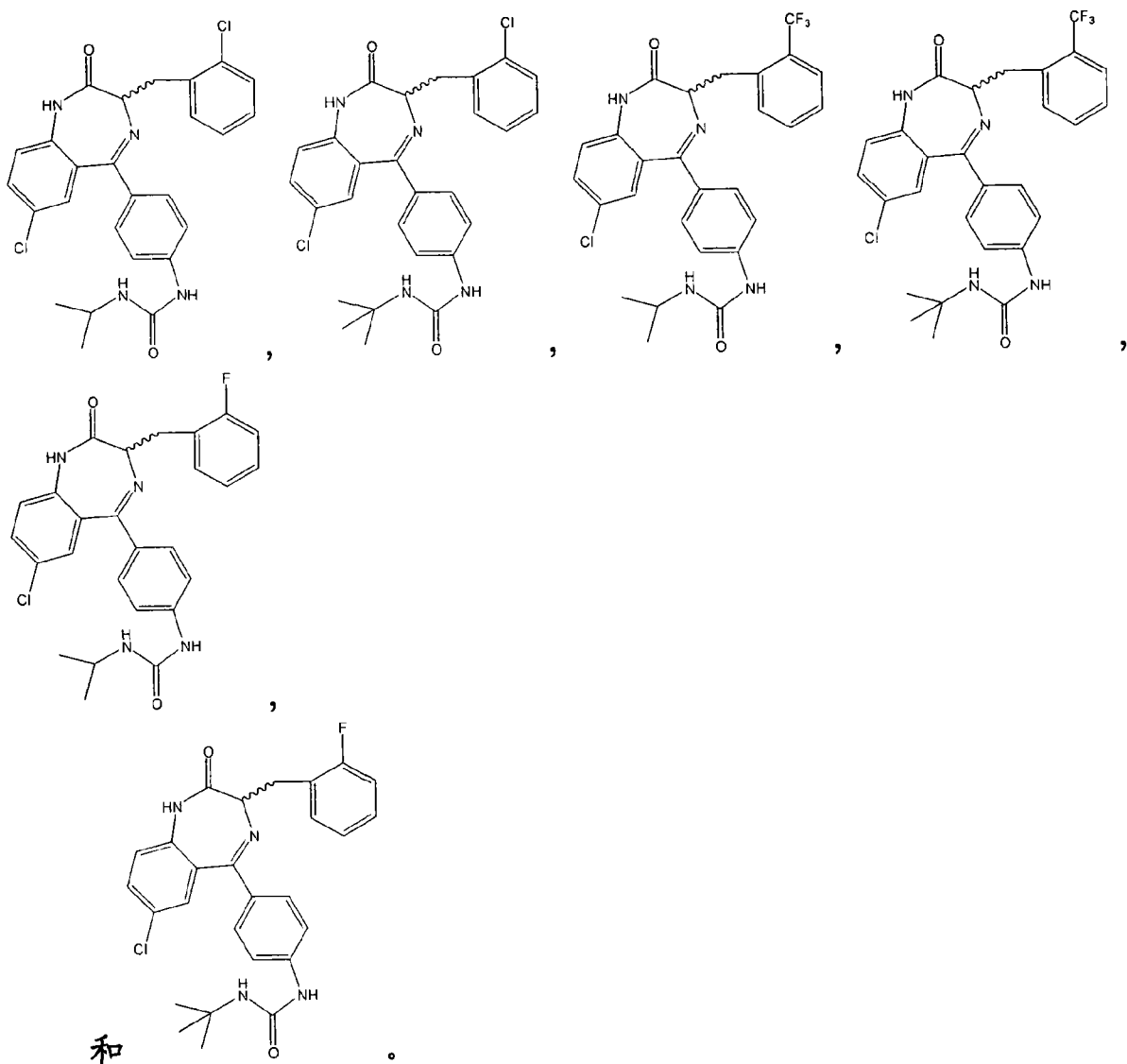
更具体地，在一些实施方案中，本发明提供下列化合物：











此外，众所周知，由于在杂环的 C_3 位引入了手性，很多苯二氮杂革存在旋光异构体。在文献中，有时候将旋光异构体描述为 L-或 D-异构体。可替代地，该异构体也称作 R-和 S-对映体。为了简便，这些异构体称作对映结构体或对映体。本文所述的苯二氮杂革类化合物(及相关化合物)包括它们的对映体形式以及外消旋混合物。因此，本文使用术语“苯二氮杂革或其对映体”或类似术语是指所述或所指的苯二氮杂革类(和/或相关化合物)，包括其所有对映结构体以及它们的外消旋混合物。

任意一种或多种该化合物可以用于治疗各种与如所述的细胞死亡有关的失调性疾病。此外，任意一种或多种这些化合物可以用于抑制 ATP 水解，而不影响细胞合成或细胞存活。此外，任意一种或多种这

些化合物可以在药物组合物中与药学可接受的载体或稀释剂一起，与至少一种其他治疗剂(例如，钾通道开放剂、钙通道阻滞剂、钠氢交换抑制剂、抗心律失常药、动脉粥样硬化剂、抗凝血剂、抗血栓形成剂、促血栓溶解剂、纤维蛋白原拮抗剂、利尿剂、抗高血压药、ATP 酶抑制剂、醛固酮受体拮抗剂、磷酸二酯酶抑制剂、抗糖尿病药、抗炎药、抗氧化剂、血管发生调节剂、抗骨质疏松剂、激素替代药物、激素受体调节剂、口服避孕药、抗肥胖剂、抗抑郁药、抗焦虑药、抗精神病药、抗增殖剂、抗肿瘤药物、抗溃疡与胃食管反流病药、生长激素药/或生长激素促分泌药、拟甲状腺药、抗感染药、抗病毒药、抗菌剂、抗真菌剂、降胆固醇/降脂剂和血脂治疗药、及模拟缺血预处理和/或心肌顿抑的药物、抗动脉粥样硬化剂、抗凝血剂、抗血栓剂、抗高血压药、抗糖尿病药物、和选自 ACE 抑制剂、AT₁ 受体拮抗剂、ET 受体拮抗剂、ET/AII 受体双重拮抗剂和血管肽酶抑制剂的抗高血压药，以及选自 GPIIb/IIIa 阻断剂、P2Y₁ 和 P2Y₁₂ 拮抗剂、血栓素受体拮抗剂的抗血小板剂及阿司匹林)联合使用。此外，任意一种或多种这些化合物可以用于治疗患者与线粒体 F₁F₀-ATP 水解酶有关的疾病(例如，心肌梗塞、心室肥大、冠状动脉疾病、非 Q 波 MI、充血性心力衰竭、心律失常、不稳定型心绞痛、慢性稳定型心绞痛、普林兹迈托心绞痛、高血压、间歇性跛行、外周闭塞性动脉病、血栓栓子性中风的血栓性或血栓栓子性症状、静脉血栓形成、动脉血栓形成、脑血栓形成、肺动脉栓塞、脑动脉栓塞、血栓形成倾向、弥散性血管内凝血、再狭窄、心房纤维颤动、心室增大、动脉粥样硬化性血管病、粥样硬化斑块破裂、粥样硬化斑块形成、移植性动脉粥样硬化、血管重构性动脉粥样硬化、癌症、手术、炎症、全身性感染、人造表面、介入性心脏学、固定、药物、妊娠和胎儿损伤，以及糖尿病并发症包括视网膜病、肾病和神经病变)。上述化合物还可用于药物筛选试验和其他诊断和研究方法。

在一些实施方案中，一种或多种示例性化合物可以与选自的下列药物的治疗剂联合使用：钾通道开放剂、钙通道阻滞剂、钠氢交换抑

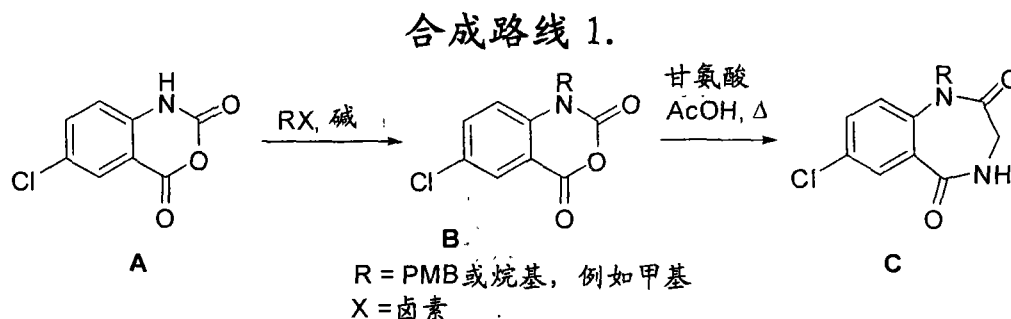
制剂、抗心律失常药(例如,索他洛尔、多非利特、胺碘酮、阿米利特、伊布利特、维拉帕米)、抗动脉粥样硬化剂、抗凝血剂、抗血栓形成剂、促血栓溶解剂、纤维蛋白原拮抗剂、利尿剂、抗高血压药(例如卡托普利、赖诺普利、佐芬普利、雷米普利、福辛普利、依那普利、ceranopril、西拉普利、地拉普利、喷托普利、喹那普利、奥马曲拉、gemopatrilat、氯沙坦、依贝沙坦、缬沙坦、sitaxsentan、阿曲生坦)、ATP 酶抑制剂、醛固酮受体拮抗剂、磷酸二酯酶抑制剂、抗糖尿病药物、抗炎剂、抗氧化剂、血管发生调节剂、抗骨质疏松剂、激素替代药、激素受体调节剂、口服避孕药、抗肥胖剂、抗抑郁药、抗焦虑药、抗精神病药、抗增殖剂、抗肿瘤药、抗溃疡与胃食管反流病药、生长激素剂和/或生长激素促分泌药、拟甲状腺药、抗感染药、抗病毒药、抗菌剂、抗真菌剂、降胆固醇/降脂剂和血脂治疗药、及模拟缺血预处理和/或心肌顿抑的药物、抗动脉粥样硬化剂、抗凝血剂、抗血栓剂、抗高血压药、抗糖尿病药物、和选自 ACE 抑制剂、AT-1 受体拮抗剂、ET 受体拮抗剂、ET/AII 受体双重拮抗剂和血管肽酶抑制剂的抗高血压药,以及抗血小板剂(血小板抑制剂)包括 GPIIb/IIIa 阻断剂、P2Y₁和 P2Y₁₂拮抗剂、血栓素受体拮抗剂、阿昔单抗、依替巴肽、替罗非班、氯吡格雷、toclopidine、CS 747、伊非曲班及阿司匹林。在某些情况下,治疗剂是普罗帕酮、普萘洛尔、索他洛尔、多非利特、胺碘酮、阿米利特、伊布利特、维拉帕米、卡托普利、赖诺普利、佐芬普利、雷米普利、福辛普利、依那普利、eranopril、西拉普利、地拉普利、喷托普利、喹那普利、奥马曲拉、gemopatrilat、氯沙坦、依贝沙坦、缬沙坦、sitaxsentan、阿曲生坦、维拉帕米、硝苯地平、地尔硫、氨氯地平及咪拉地尔、洋地黄、乌巴因、氯噻嗪、氢氯噻嗪、氟甲噻嗪、氢氟噻嗪、苄氟噻嗪、甲基氯噻嗪、三氯噻嗪、泊利噻嗪、甲氯噻嗪、依他尼酸替尼酸、氯噻酮、呋塞米、musolimine、布美他尼、triamtrenene、阿米洛利、螺内酯、apilirinone、潘生丁、西洛他唑、西地那非、伊非曲班、吡考他胺、酮色林、氯吡格雷、吡考他胺、罗苏伐他汀、atavastatin、visastatin、消胆胺、CP-529414、依诺肝素、依诺肝

素 dalteparinnadolol、卡维地洛、沙丁胺醇、特布他林、福莫特罗、沙美特罗、比托特罗、吡布特罗、非诺特罗、异丙托溴铵、二甲双胍、阿卡波糖、瑞格列奈、glimpepiride、格列本脲、格列本脲、格列吡嗪、格华止、曲格列酮、吡格列酮、GLP-1、奈法唑酮、舍曲林、地西泮、劳拉西泮、丁螺环酮、盐酸羟羧基茶碱、阿卡波糖、内皮抑素、普罗布考、BO-653、维生素 A、维生素 E、AGI-1067、阿仑膦酸盐、雷洛昔芬、奥利司他、环孢素 A、紫杉醇、FK506、阿霉素、法莫替丁、雷尼替丁、奥美拉唑、雌激素、雌二醇、潘生丁、西洛他唑、西地那非、酮色林、紫杉酚、顺铂、紫杉醇、阿霉素、埃博霉素、卡铂、色甘酸钠、奈多罗米、茶碱、齐留通、扎鲁司特、孟鲁司特、普仑司特、倍氯米松、曲安西龙、布地奈德、氟替卡松、氟尼缩松、泼尼松；地塞米松、依那西普、阿司匹林、消炎痛、普伐他汀、辛伐他汀、阿托伐他汀、氟伐他汀、西立伐他、AZ4522、伊伐他汀、罗苏伐他汀、atavastatin、visastatin、阿昔单抗、依替巴肽、替罗非班、氯吡格雷、噻氯匹定、CS 747、伊非曲班、阿司匹林；卡立泊来德、链激酶、瑞替普酶、活化酶、拉诺替普酶、尿激酶、prourokinase、替奈普酶、拉诺替普酶、阿尼普酶、依米那酶、来匹卢定、阿加曲班、XR-330、T686、抗 α -2-纤溶酶抗体、或 doesdipyridanmol。

在下面的合成路线中将会说明制备本文所述的苯二氮革类化合物的方法。下面给出合成路线是出于解释本发明的目的，而不是限制本发明的范围或精神。

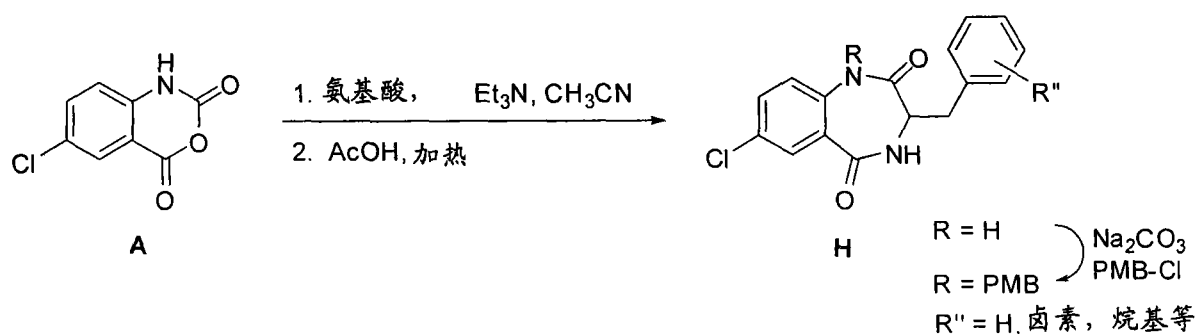
使用合成路线 1 和 2 所述的合成途径来构建苯二氮革核。这些途径的原料 5-氯靛红酸酐(A)是商业可购得的。合成路线 1 所述的合成途径是从在酰胺的氮原子上插入保护基(例如，对甲氧基苄基(PMB))开始的，或者可替代地，在苯二氮革类最终产物的该位置上将氮原子烷基化以插入所需的取代基。将 A 烷基化以得到中间体 B 可以通过用无机碱例如碳酸钠或氢氧化钠，和烷基或苄基卤化物处理 A 来实现。大量的烷基卤化物和苄基卤化物都是本领域已知的，我们认为它们可以用于该合成途径。

合成路线 1 所述的第二个步骤包括将靛红酸酐 B 与氨基酸例如甘氨酸在有机溶剂例如乙酸或 N, N-二甲基甲酰胺中混合, 加热该混合物至约 60-130 °C 范围的温度下约 12-36 小时。可替代地, 可以以两步法来进行该缩合反应。第一步包括将氨基酸例如苯丙胺衍生物与靛红酸酐 B 在含或不含水的溶剂例如吡啶或乙腈中混合约 12-18 小时, 温度范围为约 20-100 °C, 然后真空除去溶剂。第二步包括加入有机溶剂, 例如乙酸或 N, N-二甲基甲酰胺, 加热该混合物至温度范围为约 80-130 °C 约 12-24 小时。



合成路线 2 的合成途径描述了一种构建苯二氮革核并插入 C3-官能团的一步法。该反应包括将氨基酸例如甘氨酸与靛红酸酐例如 A 在有机溶剂例如乙酸或 N, N-二甲基甲酰胺中混合, 加热该混合物至温度范围为约 60-130 °C 约 12-36 小时。可替代地, 可以以两步法来进行该缩合反应。第一步包括将氨基酸例如苯丙胺衍生物与靛红酸酐在含或不含水, 包含三乙胺的溶剂例如吡啶或乙腈中混合约 12-18 小时, 温度范围为约 20-100 °C, 然后真空除去溶剂。第二步包括加入有机溶剂, 例如乙酸或 N, N-二甲基甲酰胺, 加热该混合物至温度范围为约 80-130 °C 约 12-24 小时以提供中间体 H。需要注意的是, 可以通过弱碱中间体 H 与对甲氧基苄基氯反应在 N1-位插入保护基。

合成路线 2.



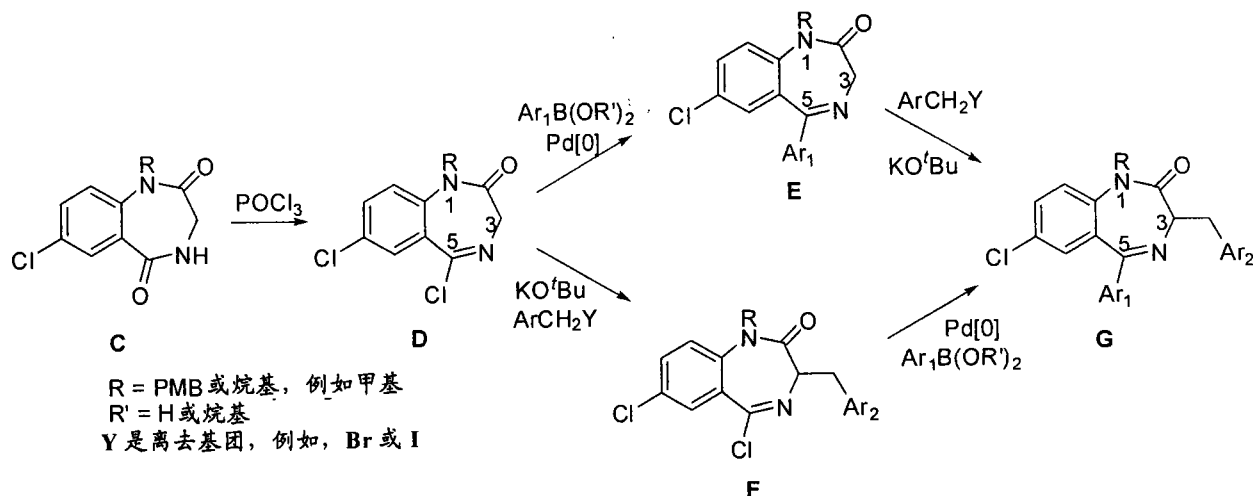
如合成路线 3 所示, 该合成的下一步包括插入 C3 和/或 C5 官能团。用氯化剂例如在用 N, N-二甲基苯胺缓冲的甲苯中的磷酰氯处理化合物 C, 得到酰亚胺氯 D。该反应一般是在较高温度(例如 90 °C)下进行数小时(例如, 4-18 小时)。其他氯化剂是本领域已知的, 我们认为其可以用于该合成途径。

可以由化合物 D, 使用合成路线 3 所示的两种合成策略中的一种来制备化合物 G。在第一个途径中, 用强碱例如, 叔丁氧钾处理化合物 D, 然后用苄基卤化物处理, 得到中间体 F。用 Suzuki 交联条件, 在适当的钯催化剂存在下使用硼酸或硼酸酯偶合伴侣可以将酰亚胺氯 F 转变为化合物 G。在 Suzuki 交联条件中使用的很多含硼试剂是本领域已知的, 我们认为其可以用于该合成途径。但是, 可以在标准条件下由必要的芳基卤化物(例如碘化物或溴化物)来制备无法商业购得的含硼试剂, 例如, 在包含催化量的钯催化剂的热 1, 4-二噁烷中用联(频那醇)二硼处理。

在第二个途径中, 在 Suzuki 交联条件下, 将化合物 D 与硼酸或硼酸酯偶合伴侣混合, 形成中间体 E。该方案使用在侧链上不包含酸性质子的芳基硼酸酯是特别好的。接着, 在 C3 位上将中间体 E 烷基化, 得到 C3-芳烷基。通过在较低温度例如, -78 °C 至 -20 °C 下用强碱例如, 叔丁氧钾处理中间体 E, 接着加入苄基卤化物来进行烷基化步骤。很多的苄基卤化物是本领域已知的, 我们认为其可以用于该合成途径。但是, 可以通过有机合成领域的技术人员熟悉的数种途径之一来制备不可商业购得的苄基卤化物: 例如, 还原商业可购得的羧酸(例如, 使用氢化锂铝还原)、形成适当的芳香缓和无, 然后以一步或两步来还原

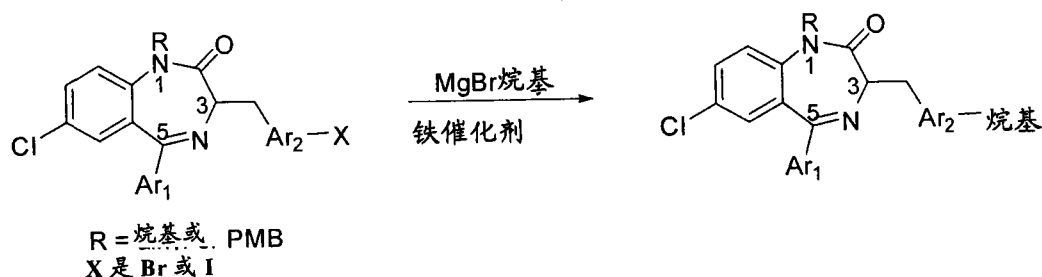
和转化所得到的醇得到卤化物，例如经磺酸酯。

合成路线 3.



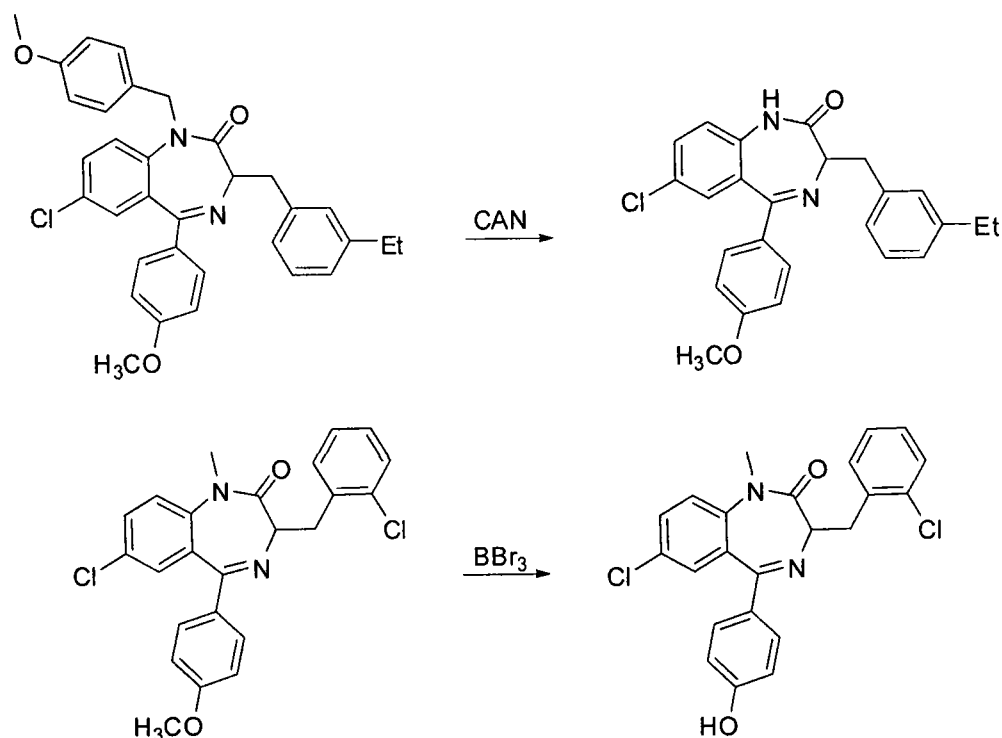
通过修饰与化合物 G 的 C3-芳烷基相连的官能团，可以将通过上述方法制备的化合物的宽度进一步扩展。例如，如合成路线 4 所示，关注的是，可以在铁催化剂存在下，使用烷基格氏试剂将与芳烷基相连的卤素原子转变为烷基。进行该类型反应的方法是本领域已知的。

合成路线 4.



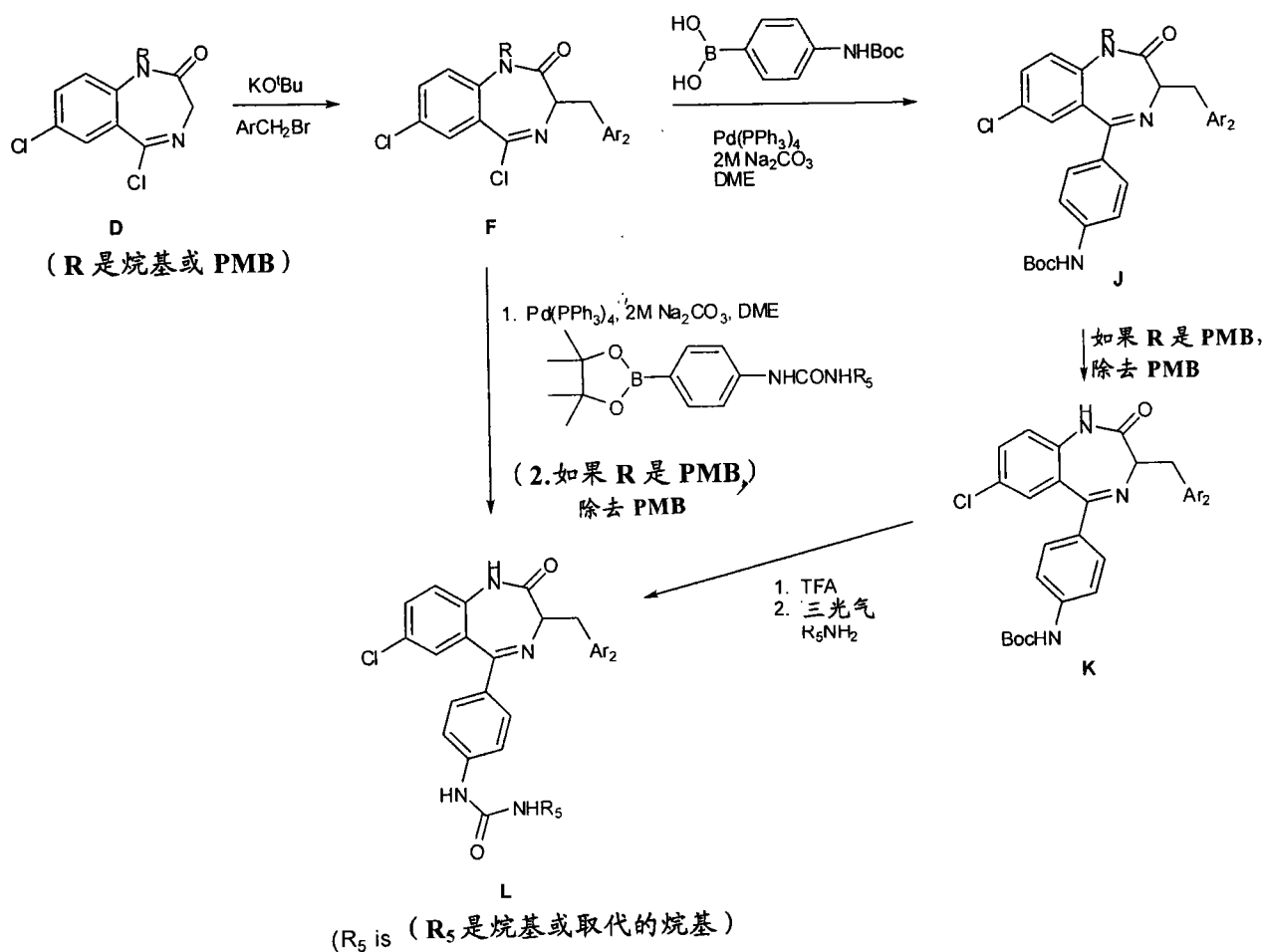
在其中化合物 G 包含一个或多个保护基的情况下，可以用本领域已知的标准脱保护方法除去保护基。参见，例如，Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed.; Wiley: New York, 1991。例如，使用 $AlCl_3$ 或硝酸铯铵 (CAN) 来进行 N_1 -位的氮保护基例如对甲氧基苄基 (PMB) 的除去。类似地，使用 BBr_3 、EtSH 或 $AlCl_3$ 产生酚来进行 Ar_1 基中苯酚醚的去甲基化或去苄基化。代表性的脱保护方法如合成路线 5 所示。

合成路线 5.



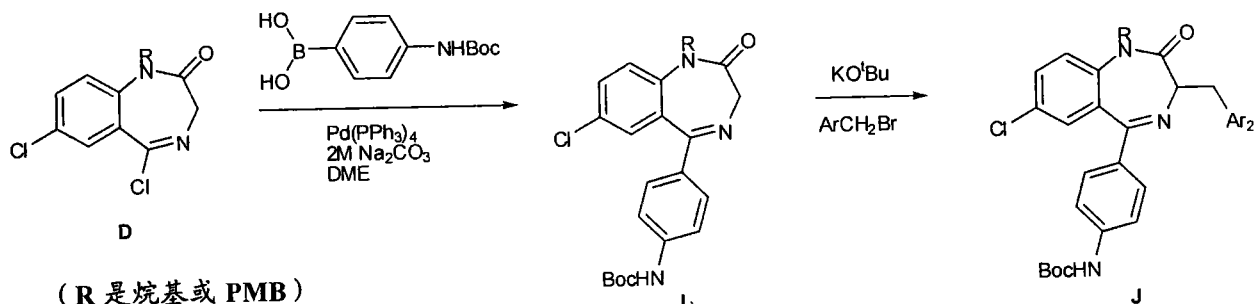
Ar₁基中具有芳基脲的化合物可以通过合成路线6和7所示的途径来制备。这两个合成路线的合成都是使用可以如上制备的化合物D开始的。在合成路线6中，酰亚胺氯D是通过在较低温度例如，-78 °C至-20 °C下用强碱例如，叔丁氧钾处理，接着加入苄基卤化物来处理的。然后在Suzuki交联条件下用芳基硼酸酯或硼酸处理中间体F，得到中间体J。在其中R基是保护基的情况下(例如，当制备N₁-H化合物时)，除去保护基，这些得到化合物K。最后，除去boc保护基，通过与三光气和烷基胺反应将对氨基苯基转变为对脲苯基。同时，如合成路线6所示，可以将脲基插入到Suzuki交联反应所使用的芳基硼酸酯或硼酸上，这是由酰亚胺氯F得到最终产物L的更为直接的途径。这些方法为在后续反应中转变R₅基提供了便利。

合成路线6.



在作为制备中间体 J 的可替代策略的合成路线 7 中, 在 Suzuki 交联条件下用芳基硼酸酯或硼酸处理酰亚胺氯 D, 得到中间体 I。然后, 在较低温度例如, -78°C 至 -20°C 下用强碱例如, 叔丁氧钾处理中间体 I, 接着加入苄基卤化物, 得到化合物 J。

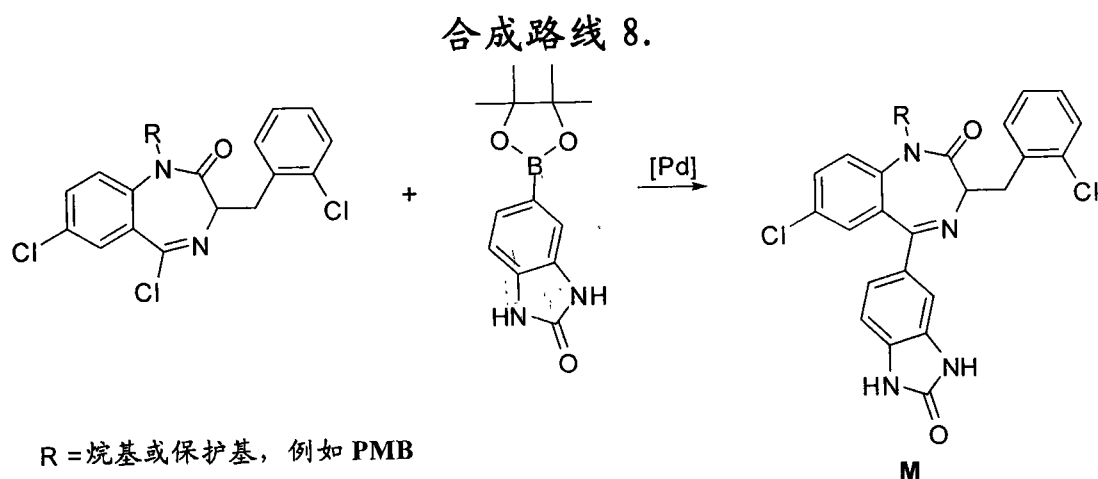
合成路线 7.



很多苄基卤化物是本领域已知的, 我们认为其可以用于该合成途径。但是, 可以通过有机合成领域的技术人员熟悉的数种途径之一来制备不可商业购得的苄基卤化物: 例如, 还原商业可购得的羧酸(例如,

使用氢化锂铝还原)、形成适当的芳香化合物,然后以一步或两步来还原和转化所得到的醇得到卤化物,例如经磺酸酯。类似地,在 Suzuki 交联条件中使用的很多含硼试剂是本领域已知的,我们认为其可以用于该合成途径。但是,可以在标准条件下由必要的芳基卤化物(例如碘化物或溴化物)来制备无法商业购得的含硼试剂,例如,在包含催化量的钯催化剂的热 1,4-二噁烷中用联(频那醇)二硼处理。

如合成路线 8 所示,可以用钯偶合条件来制备具有 C5-苯并[d]咪唑基的苯二氮杂革化合物。在其中 R 基是保护基的情况下,可以用脱保护剂处理化合物 M。例如,当 R 是 PMB 时,可以用 $AlCl_3$ 处理化合物 M,得到相应的酰胺。



IV. 药物组合物、制剂、和示例性给药途径和对剂量的考虑

下面提供各种所关注的药物和药物组合物的示例性的实施方案。

A. 制备药物

关注的是,本发明的化合物用于制备治疗各种与细胞死亡失调、异常细胞生长和增生有关的疾病的药物。

此外,关注的是,该化合物也用于制备治疗其他疾病的药物,其中该化合物的有效性是已知的或是可预测的。这些疾病包括但不限于,神经性疾病(例如,癫痫)或神经肌肉障碍。制备本发明的化合物的药

物的方法和技术是本领域公知的。下面描述示例性的药物制剂和递送途径。

本领域技术人员将会意识到，可以通过使用标准药物制备方法来制备本文所述的任意一种或多种化合物，包括很多特定的实施方案。这些药物可以通过药学领域公知的递送方法来递送给受试者。

B. 示例性的药物组合物和制剂

在本发明的一些实施方案中，该组合物单独施用，而在一些其他的实施方案中，该组合物优选存在于药物组合物中，该药物组合物包含至少一种如上定义的活性成分/剂，和固体载体，或者可替代地，与一种或多种药学可接受的载体和任选的其他治疗剂。各种载体在一定意义上必须是“可接受的”：它与制剂的其他成分相容并且对于受试者无害。

所关注的制剂包括适合口服、直肠、鼻腔、局部(包括经皮、口腔和舌下)、阴道、胃肠外(包括皮下、肌内、静脉和真皮内)和肺部施用的那些。在一些实施方案中，制剂便利地以单位剂型存在，并且通过药学领域的任何已知方法来制备。这些方法包括将活性成分与构成一种或多种助剂的载体结合的步骤。一般地，制备该制剂，包括均匀和直接地将活性成分与液体载体或精细分开的固体载体或两者结合(例如，混合)，然后如果必要将产品塑型。

适合口服的本发明的制剂可以作为分离的单位存在，例如胶囊、扁胶囊或片剂，其中每个优选包含预定量的活性成分；作为粉末或颗粒；作为在水性或非水性液体中的溶液或混悬液；作为水包油型液体乳剂或油包水型液体乳剂。在其他实施方案中，活性成分是作为大丸剂、药糖剂或糊剂等等存在。

在一些实施方案中，片剂包含至少一种活性成分和任选的一种或多种助剂/载体，通过压缩或模压各成分来制备。在一些实施方案中，制备压制片，包括在适当的机器中压制自由流动形式例如粉末或颗粒状的活性成分，任选与粘合剂(例如聚维酮、明胶、羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如，乙醇淀粉钠、交联聚维

酮、交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂混合。制备模压片,包括在适当及其中模压用惰性液体稀释剂润湿的粉末状的化合物(例如活性成分)。片剂可以任选包衣或刻痕,可以配制以缓释或控释活性成分,使用,例如不同份数的羟丙基甲基纤维素以得到期望的释放形式。片剂可以任选具有肠包衣,以在胃以外的消化道部分释放。

适合在口腔中局部施用的制剂包括锭剂,其包含在芳香基质,通常是蔗糖和阿拉伯胶或西黄蓍胶中的活性物质;软锭剂,其包含在惰性基质,例如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶中的活性物质;以及漱口剂,包含在适当液体载体中的活性成分。

根据本发明局部施用的药物组合物任选配制成软膏、乳膏、混悬液、洗剂、粉末、溶液、糊剂、凝胶、喷雾剂、气雾剂或油。在可替代的实施方案中,局部用制剂包括贴剂或敷料,例如用活性成分和任选的一种或多种赋形剂或稀释剂浸透的绷带或粘膏。在一些实施方案中,该局部用制剂包含增强活性成分通过皮肤或其他受影响区域吸收或渗透的化合物。这些皮肤渗透增强剂的例子包括二甲亚砜(DMSO)及相关类似物。

如果需要,乳膏基质的水相包括,例如至少约 30% w/w 的多元醇,即,具有 2 个或更多个羟基的醇例如丙二醇、丁-1,3-二醇、甘露醇、山梨醇、甘油和聚乙二醇及其混合物。

在一些实施方案中,本发明的油相乳剂是以已知方式由已知成分构成的。该相典型地包含单一的乳化剂(也称作利泻剂),在一些实施方案中也期望该相还包含至少一种乳化剂和脂肪或油或脂肪和油的混合物。

优选地,包括亲水性乳化剂和亲油性乳化剂以作为稳定剂。在一些实施方案中,优选包含油和脂肪。含或不含一种或多种稳定剂的一种或多种乳化剂构成所谓的乳化蜡,该蜡与油和/或脂肪构成所谓的乳化膏基质,形成了乳膏制剂的油分散相。

适合用于本发明的制剂的利泻剂和乳剂稳定剂包括吐温 60、司盘 80、鲸脂醇、肉豆蔻醇、硬脂酸甘油酯和十二烷基硫酸钠。

该制剂的适当的油和脂肪的选择是基于实现所期望的性质(例如, 化妆用的性质), 因为活性成分在大多数可能用于药物乳剂的油中的溶解性是非常低的。因此, 乳膏优选应当是非油腻的、未着色的和可洗的产品, 具有适当的粘性以避免从管或其他容器中泄露。可以使用直链或支链、单或二元烷基酯例如二异己二酸酯、硬脂酸异鲸蜡酯、椰子脂肪酸的丙二醇二酯、肉豆蔻酸异丙酯、油酸癸酯、棕榈酸异丙酯、硬脂酸丁酯、棕榈酸 2-乙基己酯或称作 Crodamol CAP 的支链酯的混合物, 后三种是优选的酯。根据所期望的性质, 这些可以单独或组合使用。可替代地, 可以使用高熔点的脂例如白软石蜡和/或液状石蜡或其他矿物油。

适合在眼部局部施用的制剂包括滴眼剂, 其中活性成分溶于或悬浮于适当的载体, 特别是该活性剂的水性溶剂中。

直肠施用的制剂可以作为栓剂存在, 其具有适当的基质, 包括例如可可脂或水杨酸酯。

适合阴道施用的制剂可以作为阴道栓剂、乳膏、凝胶剂、糊剂、泡沫或喷雾剂存在, 除了活性剂外, 还包含本领域已知的适当的载体。

适合鼻内施用的其中载体是固体的制剂包括粗粉, 其粒径范围是约 20 至约 500 微米, 以鼻嗅的方式施用, 即, 从靠近鼻子的粉末容器中通过鼻道迅速吸入(例如, 用力)。用于施用的其中载体是液体的其他适当制剂包括但不限于, 鼻喷雾剂、滴剂或通过喷雾器的喷雾剂、包含药物的水性或油性溶液。

适合胃肠外施用的已知包含水性和非水性的等张无菌注射溶液, 其包含抗氧化剂、缓冲剂、制菌剂和使制剂与预期的受者的血液等张的溶质; 以及水性和非水性的无菌混悬液, 其可以包含悬浮剂和增稠剂, 以及计划使化合物靶向于血液组分或者一个或多个器官的脂质体或其他微粒系统。在一些实施方案中, 制剂存在于/配制于单位剂量或多剂量的密封容器中, 例如安瓿和玻璃瓶中, 可以贮存在冷冻-干燥(冻干)条件下, 仅需要在使用前立即加入无菌液体载体, 例如注射用水。可以由上述种类的无菌粉末、颗粒和片剂来制备立即可用的注射溶液

和混悬液。

优选的单位剂量制剂是包含如上所述的每日剂量或单位，每日亚剂量或适当部分的药物的那些。

应当理解的是，除了上文特别提及的成分外，本发明的制剂可以包括本领域常规用于所讨论种类的制剂的其他试剂，例如，适合口服的试剂可以包括其他试剂，例如增甜剂、增稠剂和调味剂。同时可以预期的是，本发明的药物、组合物和方法可以与其他适当的组合物和疗法联合。任选的其他制剂包括食物添加剂(适当的增甜剂、调味剂、着色剂等等)、植物营养物(例如，亚麻种子油)、矿物质(例如，Ca、Fe、K 等等)、维生素和其他可接受的组合物(例如，共轭亚油酸)、填充剂和稳定剂等等。

在一些实施方案中，本发明的化合物以未溶解形式提供的，或者是在非水性溶液(例如，乙醇)中。可以这样产生化合物以通过产生特定的晶体多晶形物与制剂相容。

在一些实施方案中，本发明提供给受试者施用所述化合物的说明。在一些实施方案中，本发明提供使用包含在试剂盒中的组合物治疗特征在于细胞或组织中凋亡过程失调的疾病的说明(例如，提供剂量、给药途径、主治医生将患者的特定特征与治疗行动过程相联系的决策树)。在一些实施方案中，本发明提供使用包含在试剂盒中的组合物治疗免疫性疾病(例如，系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、移植物抗宿主病、重症肌无力、Sjögren's 综合征等等)、慢性炎性疾病(例如，牛皮癣、哮喘和克罗恩病)、过度增殖性疾病(例如，肿瘤、B 细胞淋巴瘤、T 细胞淋巴瘤等等)、病毒感染(例如，疱疹病毒、乳头瘤病毒、HIV)和其他疾病例如骨关节炎和动脉粥样硬化等等的说明。

C. 示例性给药途径和对剂量的考虑

各种递送系统都是已知的，可以用于施用本发明的治疗剂(例如，上述 III 部分所述的示例性化合物)。例如，包封在脂质体、微粒、微囊、载体介导的细胞摄粒作用等等。递送的方法包括但不限于，动脉

内、肌内、静脉内、鼻内和口腔途径。在特定的实施方案中，期望在需要治疗的区域局部施用本发明的药物组合物；这可以通过，例如但不限于，手术期间的局部注入、注射或通过导管。

关注的是，所鉴定的药物可以施用于易患或者有发生靶细胞病理学生长和相关疾病危险的受试者或个人。当将该药物施用于受试者例如小鼠、大鼠或人类患者时，可以将该药物加入到药学可接受的载体中，全身或局部施用于该受试者。为确定可以有利地治疗的患者，可以从患者身上取组织样本，分析细胞对于该药物的敏感性。

治疗量是根据经验确定的，随着要治疗的病理、要治疗的受试者以及药物的效力和毒性而各异。当递送给动物时，该方法用于进一步确认该药物的效力。动物模型的一个例子是 MLR/MpJ-1pr/1pr (“MLR-1pr”) (可购自 Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine)。MLR-1pr 小鼠发生系统性自身免疫性疾病。可替代地，可以通过诱导肿瘤生长来发展出其他动物模型，例如，通过给裸小鼠静脉接种本文所述的约 10^5 至约 10^9 的增殖性癌或靶细胞。当确定出现肿瘤时，将本文所述的化合物施用，例如通过静脉注射于肿瘤周围。使用 vernier 测径器每周 2 次在平面进行肿瘤测定以确定肿瘤大小的减小。如果适当也可以使用其他动物模型。用于上述疾病和病症的这些动物模型是本领域公知的。

在一些实施方案中，在整个治疗过程中，连续或间隔地一剂量体内施用是有效的。确定施用的最有效手段和剂量的方法是本领域技术人员公知的，根据用于治疗的组合物、治疗目的、要治疗的靶分子和要治疗的受试者而各异。通过主治医生选择的剂量水平和模式来进行单次或多次施用。

本领域技术人员很容易即可确定适当的给药制剂和施用该药物的方法。优选地，该化合物的施用量是约 0.01 mg/kg 至约 200 mg/kg，更优选约 0.1 mg/kg 至约 100 mg/kg，甚至更优选约 0.5 mg/kg 至约 50 mg/kg。当本文所述的化合物与其他药物（例如，作为致敏剂）联合施用时，有效量可以低于单独使用该药物时的量。

该药物组合物可以口服、鼻内施用、胃肠外施用或通过吸入疗法施用，可以采取片剂、锭剂、颗粒、胶囊、丸剂、安瓿、栓剂或气雾剂的形式。它们也可以采取活性成分在水性或非水性稀释剂中的混悬液、溶液和乳剂、颗粒或粉末的形式。除了本发明的药物外，该药物组合物也可以包含其他药学活性化合物或数种本发明的化合物。

更特别地，本发明的药物在本文中也可称作活性成分，可以通过任何适当的途径施用，包括但不限于，口服、直肠、鼻、局部(包括但不限于，经皮、气雾剂、口腔和舌下)、阴道、胃肠外(包括但不限于皮下、肌内、静脉和真皮内)和肺部。同时应当认识到，优选的途径根据受者的情况和年龄，以及要治疗的疾病而各异。

理想地，应当施用药物以在疾病位点实现活性化合物的峰浓度。这可以通过例如静脉注射任选在盐水中的该药物或口服，例如作为包含该活性成分的片剂、胶囊或糖浆来实现。

可以通过连续输注以在疾病组织内提供治疗量的活性成分来维持所期望的药物的血液水平。可以考虑使用操作组合来提供治疗性的组合，与单独施用各个治疗性化合物或药物时的所需量相比，其需要的各抗病毒剂组分的总剂量较低，因此减少了不良反应。

D. 示例性的联合施用途径和对剂量的考虑

本发明也包括涉及联合施用本文所述的化合物和一种或多种其他活性剂的方法。确实，本发明一个进一步的方面提供通过联合施用本发明的化合物增强现有技术的疗法的方法和/或药物组合物。在联合施用的方法中，可以同时或连续施用这些药物。在一个实施方案中，在施用其他活性剂前施用本文所述的化合物。药物制剂和施用的方式可以是任意的上述那些。此外，可以使用不同的方式或不同的制剂来分别施用两种或更多种联合施用的化学药物、生物制剂或放射。

要联合施用的一种或多种药物取决于要治疗的疾病的类型。例如，当要治疗的疾病是癌症时，其他药物可以是化疗剂或放射。当要治疗的疾病是免疫性疾病时，其他药物可以是免疫抑制剂或抗炎剂。当要治疗的疾病是慢性炎性疾病时，其他药物可以是抗炎剂。联合施用的

其他药物，例如抗癌剂、免疫抑制剂、抗炎剂是任何本领域公知的药物，包括但不限于当前在临床上使用的那些。确定放射治疗的适当类型和剂量也在本领域的技术范围内或者可以相对减轻来确定。

治疗各种与细胞凋亡异常有关的疾病一般会受到下面两种主要因素的限制：(1)产生药物耐受性和(2)已知治疗剂的毒性。在一些癌症中，例如，已经显示出对于化学药物和放射疗法的耐受与对细胞凋亡的抑制有关。一些治疗剂具有有害的副作用，包括非特异性淋巴细胞毒性、肾和骨髓毒性。

本文所述的方法解决了这些问题。关注的是，需要增加给药以实现治疗益处的药物耐受性是通过联合施用本文所述的化合物和已知药物来实现的。关注的是，本文所述的化合物使靶细胞对已知药物致敏(反之亦然)，因此，只需要较少的这些药物就能实现治疗益处。

关注的是，要求保护的化合物的致敏功能克服了与已知疗法的毒性效果相关的问题。在其中已知药物有毒性的情况中，在所有情况下都需要限制施用剂量，特别是在药物耐受性已经提高了必要的给药量的情况下。关注的是，当所要保护的化合物与已知药物联合施用，它们降低了所需的剂量，接着见底了有害效果。此外，由于所关注的要保护的化合物在大剂量时有效而且无毒性，因此与已知的有毒性疗法相比，联合施用相应的更多种这些化合物能实现期望的效果，同时减小毒性效果。

V. 药物筛选

在本发明的一些实施方案中，筛选本发明的化合物和其他可能有用的化合物与线粒体 ATP 合酶复合物的寡霉素敏感性参照蛋白(OSCP)部分的亲和力。在特别优选的实施方案中，通过测定它们与重组 OSCP 蛋白的亲和力来选择在本发明的方法中使用的化合物。很多测定药物和其他小分子与受体亲和力的适当筛选方法是本领域已知的。在一些实施方案中，亲和力筛选是在体外系统中构建的。在其他实施方案中，这些筛选是在体内或取自活体的系统中构建的。尽管在一些

实施方案中, 将施用本发明的化合物后 ATP 的细胞内水平定量提供了该方法效力的标志, 但本发明不需要细胞内 ATP 或 pH 水平的定量。

其他实施方案涉及测定细胞和/或组织中的超氧化物水平(例如, 细胞内)以测定本发明特别关注的方法和化合物的有效性。在该方面, 本领域技术人员将会意识到并且能够提供很多用于测定细胞和/或组织中的超氧化物水平的测定和方法。

在一些实施方案中, 关注基于结构的病毒筛选方法来预测本发明的化合物与 OSCP 的亲合力。在一些实施方案中, 由分子模拟软件(例如, MacroModel)来预测化合物结构。

可以使用任何适当的分析来测定本发明的示例性化合物与 OSCP 的结合或亲和力的比例。例子包括但不限于, 使用示例性的化合物竞争性结合、表面电浆子共振 (SPR) 和放射-免疫沉淀分析 (Lowman 等人, J. Biol. Chem. 266: 10982 [1991])。表面电浆子共振技术设计用传导性金属例如金、银、铬或铝的薄膜包被的表面, 其中可以以特定的角度(称作表面电浆子共振角)在金属玻璃界面上通过一束入射光来诱导电磁波(称作表面电浆子)。改变在捕获的大分子结合后在溶液和金属表面之间的界面区的屈光指数会导致可直接测定的 SPR 角的变化, 或者导致从金属表面之外入射的光量改变。这些改变可能与 SPR 装置表面结合的分子的质量和光学特性直接相关。已经公开了基于这些原理的数种生物传感器(参见例如, WO 90/05305)。还有几种商业可购得的 SPR 生物传感器(例如, BiaCore, Uppsala, Sweden)。

在一些实施方案中, 在细胞培养或体内(例如, 非人的哺乳动物或人)筛选化合物调节线粒体 ATP 合酶活性的能力。可以使用任何适当的测定, 包括但不限于, 细胞增殖分析(可购自例如, Promega, Madison, WI 和 Stratagene, La Jolla, CA)和基于细胞的二聚作用分析。(参见例如, Fuh 等人, Science, 256: 1677 [1992]; Colosi 等人, J. Biol. Chem., 268: 12617 [1993])。发现本发明的应用的其他分析方式包括但不限于, 测定细胞 ATP 水平和细胞超氧化物水平的分析。

本发明也提供改变和衍生本发明的组合物增强所期望的性质(例

如, 亲和力、活性等等)或减小不希望的性质(例如, 非特异性反应、毒性等等)的方法。化学衍生的原理是公知的。 在一些实施方案中, 使用反复设计和化学合成的途径由母体化合物产生衍生的子化合物库。在其他实施方案中, 在通过常规实验验证结果前, 使用合理的设计方法来预测并制作配体-受体相互作用的模型。

VI. 治疗应用

在一些实施方案中, 本发明提供调节细胞死亡的方法(例如, 治疗应用): a) 提供: i. 具有线粒体的靶细胞; 和 ii. 组合物(例如, 上述 III 部分所述的示例性化合物); 和 b) 在一定条件下将靶细胞暴露于该组合物以使这种暴露导致细胞死亡。在一些实施方案中, 该组合物与线粒体结合以提高靶细胞中超氧化物的水平或改变细胞的 ATP 水平。本发明的方法并不限于特定的靶细胞。在一些实施方案中, 靶细胞选自体外细胞、体内细胞、取自活体的细胞、癌细胞, B 细胞、T 细胞和粒细胞。本发明并不限于特定的治疗应用。在下节中将描述本发明的治疗应用的非限制性例子。

A. 一般性治疗应用

在特别优选的实施方案中, 关注的是, 本发明的组合物通过在受影响的细胞或组织中调节(例如, 抑制或促进)线粒体 ATP 合酶(称作线粒体 F_1F_0 -ATP 酶)复合物的活性, 为患很多疾病(例如, 特征在于细胞或组织中坏死和/或凋亡过程失调的疾病、特征在于细胞生长和/或增殖异常的疾病)中的任意一种或多种的患者提供了治疗性益处。在其他优选的实施方案中, 关注的是, 本发明的组合物用于治疗免疫性/慢性炎症性疾病(例如, 牛皮癣)。在其他实施方案中关注的是, 本发明的组合物用于与狭窄疗法结合治疗发生损害(例如, 闭塞)的血管。

在特别优选的实施方案中, 关注的是, 本发明的组合物通过与多亚单元的蛋白质复合物的特定亚单元结合抑制线粒体 ATP 合酶复合物的活性。尽管本发明并不限于任何特定的机制和对所施用药物活性的任何理解, 在一些实施方案中, 关注的是, 本发明的组合物结合线粒

体 ATP 合酶复合物的寡霉素敏感性参照蛋白 (OSCP) 部分, 结合 OSCP/F1 结合点或结合 F1 亚单元。此外, 还关注的是, 当本发明的组合物与 OSCP 结合时, 开始时的效果是完全抑制了线粒体 ATP 合酶复合物, 结合的后续影响是改变了 ATP 或 pH 水平和反应性氧(例如, O_2^-)的产生。在其他优选的实施方案中, 尽管本发明并不限于任何特定的机制和对所施用药物活性的任何理解, 关注的是, 产生自由基最终导致细胞被杀灭。在其他实施方案中, 尽管本发明并不限于任何特定的机制和对所施用药物活性的任何理解, 关注的是, 使用本发明的组合物和方法抑制线粒体 ATP 合酶复合物为细胞增殖提供了治疗上有用的抑制作用。

因此, 关注的是, 本发明实施的优选方法通过提供本发明的化合物为患者提供了治疗性益处, 其中所述化合物通过与线粒体 ATP 合酶复合物的寡霉素敏感性参照蛋白 (OSCP) 部分结合在受影响的细胞或组织中调节(例如, 抑制或促进) 线粒体 ATP 合酶复合物的活性。重要的是, OSCP、OSCP/F1 接点或 F1 亚单元本身没有生物活性。

因此, 从广义上来讲, 关注的是, 本发明的优选实施方案涉及下列发现: 很多特征在于细胞或组织中坏死和/或凋亡过程失调的疾病、特征在于细胞生长和/或增殖异常的疾病等等可以通过调节线粒体 ATP 合酶复合物的活性来治疗, 包括但不限于, 通过与其寡霉素敏感性参照蛋白 (OSCP) 组分结合。但是, 本发明并不限于实施本文明确所述的组合物和方法。的确, 本领域技术人员将会意识到, 本文没有特别描述的很多其他化合物也适合用于调节线粒体 ATP 合酶复合物的活性的本文所述的方法。

因此, 本发明特别关注的是, 任意数量的现有技术已知的或将来发现的适当化合物可以任选用于本发明的方法。例如, 这些化合物包括但不限于, 寡霉素、奥萨霉素、cytovaricin、apoptolidin、bafilomycin、白藜芦醇、piceatannol 和二环己基碳二亚胺 (DCCD) 等等可以用于本发明的方法。但是本发明并不意欲限于上述特定的方法或化合物。在一个实施方案中, 可能用于本发明的方法的化合物选

自在科学文献中所述的适当的那些。(参见 例如, K. B. Wallace 和 A. A. Starkov, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 40: 353-388 [2000]; A. R. Solomon 等人, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 97(26): 14766-14771 [2000]; 和 L. Galluzzi, N. Larochette, N. Zamzami 和 G. Kroemer, *Oncogene* 25: 4812-4830 [2006])。

在一些实施方案中, 通过对 National Cancer Institute's (NCI-60) 的癌细胞株的效力来筛选可能用于本发明的方法的化合物(参见 例如, A. Monks 等人, *J. Natl. Cancer Inst.*, 83: 757-766 [1991]; 和 K. D. Paull 等人, *J. Natl. Cancer Inst.*, 81: 1088-1092 [1989])。其他适当的筛选方法(例如, 自身免疫性疾病模型等等)在本领域的技术范围内。

在其他优选的实施方案中, 关注的是, 本发明的组合物用于治疗药物敏感性和/或药物耐受性结核分枝杆菌。

在其他优选的实施方案中, 关注的是, 本发明的组合物用于治疗血管发生。

在其他优选的实施方案中, 关注的是, 本发明的组合物用于治疗心血管疾病。

在其他优选的实施方案中, 关注的是, 本发明的组合物用于与狭窄疗法结合治疗发生损害(例如, 闭塞)的血管。在其他实施方案中, 关注的是, 本发明的组合物用于与狭窄疗法结合治疗发生损害的心血管。

血管狭窄是一种当血管(例如主动脉瓣)变得狭窄时发生的疾病。例如, 主动脉瓣狭窄是当心脏较低的左室(左心室)与称作主动脉的主要血管之间的瓣变得狭窄时发生的一种心脏疾病。这种变窄(例如, 狭窄)使得血液的空间太小而无法流向全身。正常时, 左心室将富氧血液通过主动脉泵到全身, 血液分流到遍布全身的动脉系统中。当心脏泵血时, 主动脉瓣的 3 个唇或小叶打开一条通道以使血液从心室流进动脉。在心搏之间, 唇闭合形成紧闭的密封以使血液不会通过动脉反向泄露。如果主动脉瓣受损, 它就会变窄(狭窄), 减少了流向身体器官

包括心脏本身的血流。一旦症状发展,主动脉瓣狭窄的人长期前景不容乐观。发生心力衰竭症状的未治疗主动脉瓣狭窄的人预期寿命只有3年或更短。

存在一些类型的治疗方法来治疗受损害的瓣(例如,气囊膨胀、切除、经皮腔内斑块旋切或激光治疗)。受损害的瓣膜的一种类型的治疗方法是血管成形术。血管成形术包括将顶端为气囊的管或导管插入到狭窄或阻塞的动脉中,尝试打开它。通过气囊加压和放气数次,医生一般能够将动脉变宽。

血管成形术或瓣扩大法的一个共同限制是再狭窄。再狭窄是打开动脉狭窄部分的努力例如,通过动脉的气囊膨胀、切除、经皮腔内斑块旋切或激光治疗导致的动脉损伤后,外周或冠状动脉的再闭合。对于这些血管成形术,根据定界、血管位置、损伤长度和很多其他形态学和临床变量,再狭窄的发生率是约20-50%。据信,再狭窄是对血管成形术导致的动脉壁损伤的天然愈合反应。该愈合反应是从损伤位点的血栓形成机制开始的。愈合过程的复杂步骤的最终结果可能是内膜增生、中层平滑肌细胞不受控制地迁移和增殖,还联合有它们细胞外基质的产生,直至动脉再度狭窄或闭合。

在预防再狭窄的努力中,将金属血管支架植入到了冠状或周围血管中。该支架典型地是通过导管插入到血管腔中,使之膨胀以与动脉壁的病变部分接触,因此提供了对该腔的机械支持。但是,已经发现,在这些支架的位置仍然会发生再狭窄。同时,支架本身会导致不希望有的局部血栓形成。为了解决血栓形成的问题,接受支架的人也接受抗凝血和抗血小板药的广泛性系统治疗。

为解决再狭窄的问题,人们已经提出用内皮细胞置入的支架(Dichek, D. A. 等人; *Circulation* 1989; 80: 1347-1353)。在那个实验中,羊内皮细胞已经发生了细菌 β -半乳糖苷酶或人组织性纤维蛋白溶酶原激活剂的逆转录病毒介导的基因转移,将该羊内皮细胞植入到不锈钢支架上并生长,直至覆盖该支架。因此,细胞能被递送到血管壁上,在此处它们可以提供治疗性蛋白质。也已经提出了通过支架

为血管壁提供治疗物质的其他方法(参见,例如,国际专利申请 WO 91/12779 和 WO 90/13332; 分别以整体通过参考引入本文)。在这些申请中,提出了可以将抗血小板剂、抗凝血剂、抗微生物剂、抗炎剂、抗代谢剂和其他药物提供到支架上以减小再狭窄的发生率。此外,也使用了其他血管反应剂例如氧化亚氮释放剂。

再狭窄的其他原因是所治疗组织的过度增殖。在一些实施方案中,关注的是,本发明的抗增殖性质抑制了再狭窄。药物洗脱型支架是本领域公知的(参见,例如, U.S. 专利: 5, 697, 967; U.S. 专利: 5, 599, 352; 和 U.S. 专利: 5, 591, 227; 分别通过参考引入本文)。在一些实施方案中,本发明的组合物是从治疗受损害(例如, 闭合)的血管的药物洗脱型支架中洗脱出来的。在其他实施方案中,本发明的组合物是从治疗受损害的心血管的药物洗脱型支架中洗脱出来的。

制备药物组合物和制剂领域的技术人员将会意识到, 当选择任选的化合物用于本文所述的方法时, 适当性的考虑包括但不限于, 该特定化合物的毒性、安全性、效力、可用性和成本。

在一些实施方案中, 该药物组合物包含本发明的化合物和例如治疗剂(例如动脉粥样硬化剂、抗凝血剂、抗血栓形成剂、抗高血压药、钾通道开放剂、钙通道阻滞剂、钠氢交换抑制剂、抗心律失常药、促血栓溶解剂、纤维蛋白原拮抗剂、利尿剂、ATP 酶抑制剂、醛固酮受体拮抗剂、磷酸二酯酶抑制剂、抗炎剂、抗氧化剂、血管发生调节剂、抗骨质疏松剂、激素替代药、激素受体调节剂、口服避孕药、抗肥胖剂、抗抑郁药、抗焦虑药、抗精神病药、抗增殖剂、抗肿瘤药物、抗溃疡与胃食管反流病的药物、生长激素药/或生长激素促分泌药、拟甲状腺药、抗感染药、抗病毒药、抗菌剂、抗真菌剂、降胆固醇/降脂剂和血脂治疗药、及模拟缺血预处理和/或心肌顿抑的药物和抗糖尿病药)。抗高血压剂包括但不限于, ACE 抑制剂、AT-1 受体拮抗剂、ET 受体拮抗剂、ET/AII 受体双重拮抗剂和血管肽酶抑制剂或者选自 GPIIb/IIIa 阻断剂、P2Y₁ 和 P2Y₁₂ 拮抗剂、血栓素受体拮抗剂的抗血小板剂及阿司匹林。

在一些实施方案中,本发明的化合物用于在患者中治疗与线粒体 F_1F_0 -ATP 水解酶有关的疾病(例如,心肌梗塞、心室肥大、冠状动脉疾病、非 Q 波 MI、充血性心力衰竭、心律失常、不稳定型心绞痛、慢性稳定型心绞痛、普林兹迈托心绞痛、高血压、间歇性跛行、外周闭塞性动脉病、血栓栓子性中风的血栓性或血栓栓子性症状、静脉血栓形成、动脉血栓形成、脑血栓形成、肺动脉栓塞、脑动脉栓塞、血栓形成倾向、弥散性血管内凝血、再狭窄、心房纤维颤动、心室增大、动脉粥样硬化性血管病、粥样硬化斑块破裂、粥样硬化斑块形成、移植性动脉粥样硬化、血管重构性动脉粥样硬化、癌症、手术、炎症、全身性感染、人造表面、介入性心脏学、固定、药物、妊娠和胎儿损伤,以及糖尿病并发症包括视网膜病、肾病和神经病变)。

B. 免疫性疾病、自身免疫性疾病和慢性炎性疾病的治疗应用

免疫性疾病和慢性炎性疾病通常是由细胞增殖调节和/或细胞凋亡调节功能失调导致的。线粒体在细胞凋亡的控制和实行中发挥着关键的作用。线粒体渗透转移孔(MPTP)是一种横跨线粒体内外的膜,在前凋亡颗粒的调节中发挥功能。MPTP 的暂时性开放导致细胞色素 C 和凋亡诱导因子从线粒体膜间隙释放,导致细胞凋亡。

寡霉素敏感性参照蛋白(OSCP)是 F_1F_0 线粒体 ATP 合酶/ATP 酶的一个亚单元,在横跨线粒体膜中的酶的 F_0 区的质子梯度的偶合中发挥功能。在一些实施方案中,关注的是,本发明的化合物结合 OSCP、OSCP / F_1 接点或 F_1 亚单元,提高超氧化物的和细胞色素 C 水平,增加细胞凋亡并抑制细胞增殖。腺嘌呤核苷酸转位分子(ANT)是一种 30kDa 的蛋白质,其横跨线粒体内膜,位于线粒体渗透转移孔(MPTP)的中心。硫醇氧化或烷基化剂是 MPTP 的有力激活剂,通过改变 ANT 基质侧的三种未配对半胱氨酸中的一种或多种来发挥作用。4-(N-(S-谷胱亚硫酰乙酰基)氨基)苯基氧化膦抑制 ANT。

在一些实施方案中,本发明提供一种治疗免疫性疾病(例如,移植抗宿主病、类风湿关节炎或系统性红斑狼疮)、过度增殖性疾病(例

如,癌症)或慢性炎性疾病(例如,哮喘或牛皮癣)的方法。在一些实施方案中,癌症是骨髓瘤、膀胱癌或肾癌。

C. 表皮增生的治疗

表皮增生(例如,角质化细胞过度增生)导致与增厚的表皮脱落有关表皮显著增厚,是疾病牛皮癣的一个特征(参见,例如, Krueger GC 等人, (1984) *J. Am. Acad. Dermatol.* 11: 937-947; Fry L. (1988), *Brit. J. Dermatol.* 119: 445-461; 分别以整体通过参考引入本文),也会在生理学条件下发生(例如,在伤口愈合期间)。

用全反式视黄酸(RA)或其前体,全反式视黄醇(ROL)对皮肤进行局部治疗也会导致表皮增生(参见,例如, Varani J 等人, (2001) *J. Invest. Dermatol.* 117: 1335-1341; 以整体通过参考引入本文)。尽管可能的病因是不同的,但所有这些过度增生具有共同的增殖的角质化细胞中表皮生长因子的激活的特点(参见,例如, Varani J 等人, (2001) *J. Invest. Dermatol.* 117: 1335-1341; Baker BS 等人, (1992) *Brit. J. Dermatol.* 126: 105-110; Gottlieb AB 等人, (1988) *J. Exp. Med.* 167: 670-675; Elder JT 等人, (1989) *Science* 243: 811-814; Piepkorn M 等人, (1998) *J Invest Dermatol* 111: 715-721; Piepkorn M 等人, (2003) *Arch Dermatol Res* 27: 27; Cook PW 等人, (1992) *Cancer Res* 52: 3224-3227; 分别以整体通过参考引入本文)。正常的表皮生长不会出现与畸形生长同样的对 EGF 受体功能的依赖(参见,例如, Varani J 等人, (2001) *J. Invest. Dermatol* 117: 1335-1341; Varani J 等人, (1998) *Pathobiology* 66: 253-259; 分别以整体通过参考引入本文)。此外,完整皮肤的表皮功能也不依赖于 EGF 受体的功能(参见,例如, Varani J 等人, (2001) *J. Invest. Dermatol* 117: 1335-1341; 以整体通过参考引入本文)。

EGF 受体在调节畸形表皮生长中的重要作用使得 EGF 受体酪氨酸激酶成为抗增殖剂的靶点。此外,与给受体下游有关的各系列信号分子成为了阻断角质化细胞生长的其他靶点。促分裂原活化蛋白激酶级

联是由 EGF 受体激活的(参见, 例如, Marques, S. A. 等人, (2002) *J Pharmacol Exp Ther* 300, 1026-1035; 以整体通过参考引入本文)。在过度增殖的表皮, 而不是正常的表皮中, 在基部或上基部的角质化细胞中激活了细胞外信号调节激酶 1/2 (Erk 1/2), 促发了表皮过度增殖(参见, 例如, Haase, I. 等人, (2001) *J Clin Invest* 108, 527-536; Takahashi, H. 等人, (2002) *J Dermatol Sci* 30, 94-99; 分别以整体通过参考引入本文)。在培养模型中, 通过 EGF 受体调节角质化细胞生长导致 MAPK 活性增强。在角质化细胞中, 生长因子刺激的 MAPK 活性也依赖于 integrin 的结合, 与 integrins 结合的细胞外基质分子能够独立地激活 MAPKs 并增加角质化细胞的增殖(参见, 例如, Haase, I. 等人, (2001) *J Clin Invest* 108, 527-536; 以整体通过参考引入本文)。其他皮肤细胞包括成纤维细胞的增殖较少依赖于 Erk 1/2 活性, 这使得抑制 Erk 可以特征性地用于评价前导化合物对表皮增生的可用性。

在一些实施方案中, 关注的是, 本发明的化合物用于治疗表皮增生。

在一些实施方案中, 关注的是, 本发明的化合物用于治疗牛皮癣。牛皮癣是常见和慢性的表皮增生。斑块状牛皮癣是最常见类型的牛皮癣, 其特征是被银色鳞屑覆盖的红色皮肤以及炎症。通常会在臂、腿、躯干或头皮上发现这些斑块, 但是也可以在皮肤的任何部分发现。最典型的区域是膝盖和肘。牛皮癣是不传染的, 并且可以遗传。环境因素, 例如吸烟、阳光照射、酒精中毒和 HIV 感染会影响牛皮癣发生的频率和疾病持续的时间。

牛皮癣的治疗包括局部用类固醇、煤焦油、角质层分离剂、维生素 D-3 类似物和局部用类视黄醇。局部用类固醇是用于减少斑块形成的药物。局部用类固醇具有抗炎效果, 可以导致深入和不同的代谢活性。此外, 局部用类固醇要改变身体对不同刺激物的免疫应答。局部用类固醇的例子包括但不限于, 曲安奈德(Artistocort, Kenalog) 0.1%乳膏和二丙酸倍他米松(Diprolene, Diprosone) 乳膏。煤焦油

是一种便宜的治疗药，在洗发液或洗剂中用作非处方药，用于所涉及的广泛区域。煤焦油特别是可用于有毛发的区域。煤焦油的例子是煤焦油 2-10% (DHS Tar, Doctar, Theraplex T) - 止痒剂。角质层分离剂用于去除斑块，平滑皮肤和治疗过度角化。角质层分离剂的一个例子是地蒽酚 0.1-1% (Drithocreme, Anthra-Derm)。维生素 D-3 类似物用于具有对老年治疗耐受的损害或在面部或皮肤变薄而出现化妆品问题的暴露区域的损害的患者。维生素 D-3 类似物的一个例子是卡泊三烯 (Dovonex)。局部用类视黄醇是减少滤泡上皮细胞粘附和刺激有丝分裂活性，导致滤泡上皮细胞循环增加的药物。局部用类视黄醇的例子包括但不限于，维甲酸 (Retin-A, Avita) 和他扎罗汀 (Tazorac)。

在美国，约有 1-2% 的人或 550 万人患有斑块状牛皮癣。高达 30% 的患斑块状牛皮癣的人也患牛皮癣性关节炎。患牛皮癣性关节炎的受试者关节发炎，还具有其他关节炎症状。有时，患斑块状牛皮癣会发展成更为严重的疾病，例如脓疱性牛皮癣或红皮性牛皮癣。在脓疱性牛皮癣中，皮肤上的红色区域包含有脓的水疱。在红皮性牛皮癣中典型地是区域广泛的红色和结垢皮肤，会痒和疼痛。本发明可以用于治疗其他类型的牛皮癣，包括但不限于滴状牛皮癣、指甲牛皮癣、皮褶牛皮癣和头皮牛皮癣。

在一些实施方案中，本发明的化合物用于治疗色素沉着性疾病 (例如，白化病、黑斑病和白癜风)。本发明并不限于治疗色素沉着性疾病的特定机制。在一些实施方案中，本发明的化合物通过靶向于 F_1F_0 -ATP 酶来治疗色素沉着性疾病。在其他实施方案中，本发明的化合物通过调节酪氨酸激酶来治疗色素沉着性疾病。在其他实施方案中，本发明的化合物通过靶向抑制来治疗色素沉着性疾病。

D. 狭窄治疗

在一些实施方案中，本发明的组合物用于与狭窄疗法结合治疗发生损害 (例如，闭塞) 的血管。在其他实施方案中，本发明的组合物用于与狭窄疗法结合治疗发生损害的心血管。

血管狭窄是一种当血管(例如主动脉瓣)变得狭窄时发生的疾病。例如,主动脉瓣狭窄是当心脏较低的左室(左心室)与称作主动脉的主要血管之间的瓣变得狭窄时发生的一种心脏疾病。这种变窄(例如,狭窄)使得血液的空间太小而无法流向全身。正常时,左心室将富氧血液通过主动脉泵到全身,血液分流到遍布全身的动脉系统中。当心脏泵血时,主动脉瓣的3个唇或小叶打开一条通道以使血液从心室流进动脉。在心搏之间,唇闭合形成紧闭的密封以使血液不会通过动脉反向泄露。如果主动脉瓣受损,它就会变窄(狭窄),减少了流向身体器官包括心脏本身的血流。一旦症状发展,主动脉瓣狭窄的人长期前景不容乐观。发生心力衰竭症状的未治疗主动脉瓣狭窄的人预期寿命只有3年或更短。

存在一些类型的治疗方法来治疗受损害的瓣(例如,气囊膨胀、切除、经皮腔内斑块旋切或激光治疗)。受损害的瓣膜的一种类型的治疗方法是血管成形术。血管成形术包括将顶端为气囊的管或导管插入到狭窄或阻塞的动脉中,尝试打开它。通过气囊加压和放气数次,医生一般能够将动脉变宽。

血管成形术或瓣扩大法的一个共同限制是再狭窄。再狭窄是打开动脉狭窄部分的努力例如,通过动脉的气囊膨胀、切除、经皮腔内斑块旋切或激光治疗导致的动脉损伤后,外周或冠状动脉的再闭合。对于这些血管成形术,根据定界、血管位置、损伤长度和很多其他形态学和临床变量,再狭窄的发生率是约20-50%。据信,再狭窄是对血管成形术导致的动脉壁损伤的天然愈合反应。该愈合反应是从损伤位点的血栓形成机制开始的。愈合过程的复杂步骤的最终结果可能是内膜增生、中层平滑肌细胞不受控制地迁移和增殖,还联合有它们细胞外基质的产生,直至动脉再度狭窄或闭合。

在预防再狭窄的努力中,将金属血管支架植入到了冠状或周围血管中。该支架典型地是通过导管插入到血管腔中,使之膨胀以与动脉壁的病变部分接触,因此提供了对该腔的机械支持。但是,已经发现,在这些支架的位置仍然会发生再狭窄。同时,支架本身会导致不希望

有的局部血栓形成。为了解决血栓形成的问题，接受支架的人也接受抗凝血和抗血小板药的广泛性系统治疗。

为解决再狭窄的问题，人们已经提出用内皮细胞置入的支架 (Dichek, D. A. 等人; Seeding of Intravascular Stents With Genetically Engineered Endothelial Cells; Circulation 1989; 80: 1347-1353)。在那个实验中，羊内皮细胞已经发生了细菌 β -半乳糖苷酶或人组织性纤维蛋白溶酶原激活剂的逆转录病毒介导的基因转移，将该羊内皮细胞植入到不锈钢支架上并生长，直至覆盖该支架。因此，细胞能被递送到血管壁上，在此处它们可以提供治疗性蛋白质。在国际专利申请 WO 91/12779 “Intraluminal Drug Eluting Prosthesis” 和 WO 90/13332 “Stent With Sustained Drug Delivery” 中也已经提出了通过支架为血管壁提供治疗物质的其他方法。在这些申请中，提出了可以将抗血小板剂、抗凝血剂、抗微生物剂、抗炎剂、抗代谢剂和其他药物提供到支架上以减小再狭窄的发生率。此外，也使用了其他血管反应剂例如氧化亚氮释放剂。

再狭窄的其他原因是所治疗组织的过度增殖。在一些实施方案中，本发明的抗增殖性质抑制了再狭窄。药物洗脱型支架是本领域公知的 (参见，例如，U.S. 专利: 5, 697, 967; U.S. 专利: 5, 599, 352; 和 U.S. 专利: 5, 591, 227; 分别通过参考引入本文)。在一些实施方案中，本发明的组合物是从治疗受损害 (例如，闭合) 的血管的药物洗脱型支架中洗脱出来的。在其他实施方案中，本发明的组合物是从治疗受损害的心血管的药物洗脱型支架中洗脱出来的。

E. 细菌感染的治疗

在一些实施方案中，该苯二氮革类化合物及相关化合物 (参见，例如，III 部分-示例性化合物) 用于治疗患细菌感染的受试者。在一些实施方案中，一种以上的本发明的化合物用于治疗患细菌感染的受试者。在一些实施方案中，本发明的化合物通过与 ATP 合酶复合物 (例如，线粒体 ATP 合酶复合物) 的寡霉素敏感性参照蛋白 (OSCP) 部分/ F1 结

合在受影响的细胞或组织中调节(例如,抑制或促进)该 ATP 合酶复合物(例如,线粒体 ATP 合酶复合物或生物体中没有线粒体的同系物)的活性,来治疗细菌感染。本发明并不限于特定类型的细菌感染。细菌感染的例子包括但不限于,炭疽、细菌性脑膜炎、布氏杆菌病、弯曲杆菌病、猫抓病、霍乱、白喉、流行性斑疹伤寒、淋病、脓疱病、军团病、麻风病(汉森氏病)、钩端螺旋体病、李氏杆菌病、莱姆病、类鼻疽病、MRSA 感染、奴卡氏菌病、百日咳(Whooping Cough)、鼠疫、肺炎球菌肺炎、鹦鹉热、Q 热、落基山斑点热(RMSF)、沙门氏菌病、猩红热、杆菌性痢疾、梅毒、破伤风、沙眼、结核病、伤寒、斑疹伤寒病和尿路感染。在一些实施方案中,本发明的化合物与至少一种目的在于治疗细菌感染的其他药物联合施用。目的在于治疗细菌感染的其他药物的例子包括但不限于,头孢菌素类、大环内酯类、青霉素类、喹诺酮类、磺胺类及相关化合物、和四环素。

F. 病毒感染的治疗

在一些实施方案中,该苯二氮革类化合物及相关化合物(参见,例如,III 部分-示例性化合物)用于治疗患病毒感染的受试者。在一些实施方案中,一种以上的本发明的化合物用于治疗患病毒感染的受试者。在一些实施方案中,本发明的化合物通过与 ATP 合酶复合物(例如,线粒体 ATP 合酶复合物)的寡霉素敏感性参照蛋白(OSCP)部分/F1 结合在受影响的细胞或组织中调节(例如,抑制或促进)该 ATP 合酶复合物(例如,线粒体 ATP 合酶复合物或生物体中没有线粒体的同系物)的活性,来治疗病毒感染。本发明并不限于特定类型的病毒感染。病毒感染的例子包括但不限于,AIDS、与 AIDS 有关的综合征、水痘(Varicella)、普通感冒、巨细胞病毒感染、科罗拉多蜱热、登革热、埃博拉出血热、流行性腮腺炎、手,足和口病、肝炎、单纯疱疹、带状疱疹、HPV 病毒流行性感(Flu)、拉沙热、麻疹、马尔堡出血热、传染性单核细胞增多症、流行性腮腺炎、脊髓灰质炎、渐进多病灶 leukencephalo pathy、狂犬病、麻疹、SARS、天花(Variola)、病毒

性脑炎、病毒性肠胃炎、病毒性脑膜炎、病毒性肺炎、西尼罗河病毒病和黄热病。在一些实施方案中，本发明的化合物与至少一种目的在于治疗病毒感染的其他药物联合施用。目的在于治疗病毒感染的其他药物的例子包括但不限于，更昔洛韦、干扰素- α -2b、阿昔洛韦、泛昔洛韦和伐昔洛韦。

G. 真菌感染的治疗

在一些实施方案中，该苯二氮革类化合物及相关化合物(参见，例如，III 部分-示例性化合物)用于治疗患真菌感染的受试者。在一些实施方案中，一种以上的本发明的化合物用于治疗患真菌感染的受试者。在一些实施方案中，本发明的化合物通过与 ATP 合酶复合物(例如，线粒体 ATP 合酶复合物)的寡霉素敏感性参照蛋白(OSCP)部分/ F1 结合在受影响的细胞或组织中调节(例如，抑制或促进)该 ATP 合酶复合物(例如，线粒体 ATP 合酶复合物或生物体中没有线粒体的同系物)的活性，来治疗真菌感染。本发明并不限于特定类型的真菌感染。真菌感染的例子包括但不限于，曲菌病、芽生菌病、念珠菌病、球孢子菌病、隐球菌病、组织胞浆菌病、足癣。在一些实施方案中，本发明的化合物与至少一种目的在于治疗真菌感染的其他药物联合施用。目的在于治疗真菌感染的其他药物的例子包括但不限于，倍他米松、布替萘芬、环吡酮、氯碘羟喹、氢化可的松、克霉唑、益康唑、氟胞嘧啶、灰黄霉素、卤丙炔氧苯、伊曲康唑、酮康唑、咪康唑、萘替芬、制霉菌素、曲安西龙、奥昔康唑、sulcanazole、特比萘芬、特康唑、托萘酯和伏立康唑。

H. 寄生虫感染的治疗

在一些实施方案中，该苯二氮革类化合物及相关化合物(参见，例如，III 部分-示例性化合物)用于治疗患寄生虫感染的患者。在一些实施方案中，一种以上的本发明的化合物是用于治疗患寄生虫感染的患者。在一些实施方案中，本发明的化合物通过与 ATP 合酶复合物(例

如,线粒体 ATP 合酶复合物)的寡霉素敏感性参照蛋白(OSCP)部分/F1 结合在受影响的细胞或组织中调节(例如,抑制或促进)该 ATP 合酶复合物(例如,线粒体 ATP 合酶复合物或生物体中没有线粒体的同系物)的活性,来治疗寄生虫感染。本发明并不限于特定类型的寄生虫感染。寄生虫感染的例子包括但不限于,非洲锥虫病、阿米巴病、蛔虫病、巴贝西虫病、南美锥虫病、肝吸虫病、隐孢子虫病、囊虫病、裂头绦虫病、龙线虫病、包虫病、蛲虫病、片吸虫病、姜片虫病、丝虫病、自由活动的阿米巴感染、贾第虫病、颚口线虫病、膜壳绦虫病、等孢子球虫病、黑热病、利什曼病、疟疾、后殖吸虫病、蝇蛆病、盘尾丝虫病、虱病、蛲虫感染、疥疮、血吸虫病、绦虫病、弓蛔虫病、弓形体病、旋毛虫病、毛线虫病、鞭虫病和锥虫病。在一些实施方案中,本发明的化合物与至少一种目的在于治疗寄生虫感染的其他药物联合施用。目的在于治疗寄生虫感染的其他药物的例子包括但不限于,驱虫药(例如,阿苯达唑(Albenza)、甲苯咪唑(Vermox)、氯硝柳胺(Niclocide)、奥沙尼喹(Vansil)、吡喹酮(Biltricide)、噻嘧啶(Antiminth)、羟萘酸噻嘧啶(Antiminth)、噻菌灵(Mintezol)、硫双二氯酚、伊维菌素、柠檬酸和枸橼酸乙胺嗪。

I. 朊病毒感染性疾病的治疗

在一些实施方案中,该苯二氮䓬类化合物及相关化合物(参见,例如,III 部分-示例性化合物)用于治疗患朊病毒感染性疾病的患者。在一些实施方案中,一种以上的本发明的化合物用于治疗患朊病毒感染性疾病的患者。在一些实施方案中,本发明的化合物通过与 ATP 合酶复合物(例如,线粒体 ATP 合酶复合物)的寡霉素敏感性参照蛋白(OSCP)部分/F1 结合在受影响的细胞或组织中调节(例如,抑制或促进)该 ATP 合酶复合物(例如,线粒体 ATP 合酶复合物或生物体中没有线粒体的同系物)的活性,来治疗朊病毒感染性疾病。本发明并不限于特定类型的朊病毒感染性疾病。朊病毒感染性疾病的例子包括但不限于,传染性海绵状脑病、牛海绵状脑病、克雅氏病和库鲁病。在一些

实施方案中，本发明的化合物与至少一种目的在于治疗朊病毒感染性疾病的其他药物联合施用。目的在于治疗朊病毒感染性疾病的其他药物的例子包括但不限于，刚果红和它的类似物、蒽环类抗生素、两性霉素 B 和它的类似物、硫酸多阴离子、和四吡咯。

J. 与血管发生异常有关的疾病的治疗

在一些实施方案中，该苯二氮革类化合物及相关化合物(参见，例如，III 部分-示例性化合物)用于治疗患与血管发生异常有关的疾病的受试者。在一些实施方案中，一种以上的本发明的化合物通过与 ATP 合酶复合物(例如，线粒体 ATP 合酶复合物)的寡霉素敏感性参照蛋白(OSCP)部分/ F1 结合在受血管发生异常影响的细胞或组织中调节(例如，抑制或促进)该 ATP 合酶复合物(例如，线粒体 ATP 合酶复合物)的活性，来治疗与血管发生异常有关的疾病。本发明并不限于特定类型的与血管发生异常有关的疾病。与血管发生异常有关的疾病的例子包括但不限于，癌症(例如，与实体瘤有关的癌症)、牛皮癣、糖尿病性视网膜病、黄斑变性、动脉粥样硬化和类风湿关节炎。

治疗与血管发生异常有关的疾病的其他药物的例子包括但不限于，alteparin、ABT-510、CNGRC 肽 TNF α 结合肽(NGR-TNF)、考不他汀 A4 磷酸盐、乙酸二甲基氧杂蒽酮、来那度胺、LY317615、PPI-2458、大豆异黄酮(染料木素；大豆蛋白分离物)、枸橼酸他莫昔芬、沙利度胺、ADH-1、AG-013736、AMG-706、抗 VEGF 抗体、AZD2171、Bay 43-9006、GW786034、CHIR-265、PI-88、PTK787/ZK 222584、RAD001、苏拉明、SU11248、XL184、ZD6474、ATN - 161、EMD 121974 和塞来昔布。治疗与血管发生异常有关的疾病的其他药物包括抗癌药物(例如阿西维辛；阿柔比星；盐酸阿考达唑；阿克罗宁；阿多来新；阿霉素；阿地白介素；阿利维 A 酸；别嘌呤醇钠；六甲蜜胺；安波霉素；醋酸阿美蒽醌；氨鲁米特；胺苯吡啶；阿那曲唑；番荔枝内酯；氨曲霉素；Asimicin；天冬酰胺酶；曲林菌素；阿扎胞苷；阿扎替派；阿佐霉素；Azetepa；巴马司他；苯佐替派；贝沙罗汀；比卡鲁胺；盐酸比生群；

二甲磺酸双奈法德; 比折来新; 硫酸博莱霉素; 布喹那钠; 溴匹立明; Bullatacin; 白消安; 卡麦角林; 放线菌素 C; 卡普睾酮; 卡醋酸; 卡贝替姆; 卡铂; 卡氮芥; 盐酸卡柔比星; 卡折来新; 西地芬戈; 塞来昔布; 苯丁酸氮芥; 西罗霉素; 顺铂; 克拉屈滨; 甲磺酸克立那托; 环磷酰胺; 阿糖胞苷; 达卡巴嗪; DACA (N-[2-(二甲基-氨基) 乙基] 吡啶-4-羧酰胺); 更生霉素; 盐酸柔红霉素; 柔红霉素; 地西他滨; 地尼白介素; 右奥马铂; 地扎胍宁; 甲磺酸地扎胍宁; 地吡酮; 紫杉醇; 阿霉素; 盐酸阿霉素; 屈洛昔芬; 柠檬酸屈洛昔芬; 丙酸屈他雄酮; 达佐霉素; 依达曲沙; 盐酸依氟鸟氨酸; 依沙芦星; 恩洛铂; 恩普氨酯; 依匹哌啶; 盐酸表阿霉素; 厄布洛唑; 盐酸依索比星; 雌莫司汀; 雌莫司汀磷酸钠; 依他硝唑; 乙碘油 I 131; 足叶乙甙; 依托泊磷酸盐; 氯苯乙嘧啶; 盐酸法尼唑; 法扎拉滨; 芬维 A 胺; 氟脲嘧啶脱氧核苷; 磷酸氟达拉滨; 氟脲嘧啶; 5-FdUMP; 氟西他滨; 磷喹酮; 福司曲星钠; FK-317; FK-973; FR-66979; FR-900482; 吉西他滨; 盐酸 Geimcitabine; 吉姆单抗; Gold Au 198; 醋酸戈舍瑞林; 胍那决尔; 羟基脲; 盐酸去甲氧柔红霉素; 环磷酰胺; 伊莫福新; 干扰素 α -2a; 干扰素 α -2b; 干扰素 α -n1; 干扰素 α -n3; 干扰素 β -1a; 干扰素 γ -1b; 异丙铂; 盐酸伊立替康; 醋酸兰瑞肽; 来曲唑; 醋酸亮丙瑞林; 盐酸利阿唑; 洛美曲索钠; 洛莫司汀; 盐酸洛索蒽醌; 马索罗酚; 美坦生; 氮芥盐酸; 醋酸甲地孕酮; 甲烯雌醋酸; 美法仑; 美诺立尔; 巯基嘌呤; 甲氧蝶呤; 甲氧蝶呤钠; 甲氧沙林; 氯苯氨啶; 美妥替哌; 米丁度胺; Mitocarcin; 丝裂红素; 米托洁林; 米托马星; 丝裂霉素; 丝裂霉素 C; 米托司培; 米托坦; 盐酸米托蒽醌; 霉酚酸; 诺考达唑; 诺拉霉素; 奥普瑞白介素; 奥马铂; 奥昔舒仑; 紫杉醇; 帕米膦酸二钠; 培门冬酶; 培利霉素; 溴新斯的明; 硫酸培洛霉素; 培磷酰胺; 哌泊溴烷; 哌泊舒凡; 盐酸吡罗蒽醌; 普卡霉素; 普洛美坦; 吡吩姆钠; 泊非霉素; 泼尼莫司汀; 盐酸甲基苄肼; 嘌呤霉素; 盐酸嘌呤霉素; Pyrazofurin; 利波腺苷; 利妥昔单抗; 罗谷亚胺; Rolliniastatin; 沙芬戈; 盐酸沙芬戈; 钆 / Lexidronam; 司莫司汀;

辛曲秦; Sparfosate 钠; 司帕霉素; 盐酸螺旋锗; 螺莫司汀; 螺铂; Squamocin; Squamotacin; 链黑霉素; 链脲霉素; 氯化锶 Sr 89; 磺氯苯脲; 他利霉素; 紫杉烷类; 紫杉烷; Tecogalan 钠; 替加氟; 盐酸替洛萸醌; 替莫泊芬; 替尼泊甙; 替罗昔隆; 鞣内酯; 替罗昔隆; 鸟嘌呤; 塞替派; Thymitaq; 噻唑呋林; 替拉扎明; 雷替曲塞; TOP-53; 盐酸拓扑替康; 枸橼酸托瑞米芬; 赫赛汀; 醋酸曲托龙; 磷酸曲西立滨; 曲美沙特; 糖醛酸曲美沙特; 曲普瑞林; 盐酸妥布氯唑; 乌拉莫司汀; 乌瑞替派; 戊柔比星; 伐普肽; 维替泊芬; 长春碱; 硫酸长春碱; 长春新碱; 硫酸长春新碱; 长春地辛; 硫酸长春地辛; 硫酸长春匹定; 硫酸长春甘酯; 硫酸长春罗新; 酒石酸长春瑞滨; 硫酸长春罗定; 硫酸长春利定; 伏氯唑; 折尼铂; 净司他丁; 盐酸佐柔比星; 2-氯脱氧腺苷; 2' --脱氧间型霉素; 9 -氨基喜树碱; 雷替曲塞; N-炔丙基- 5, 8-dideazafolic acid; 2 -氯-2'-树胶醛糖-氯- 2' -脱氧腺苷; 2 -氯-2'-脱氧腺苷; 茴香霉素; 曲古菌素 A; hPRL-G129R; CEP-751; hPRL-G129R; CEP-751; 芥子气; 氮芥(mechlorethamine); 环磷酰胺; 美法仑; 苯丁酸氮芥; 异环磷酰胺; 白消安; N-甲基-N-亚硝基(MNU); N, N'-二(2-氯乙基)-N-亚硝基亚硝基脲(BCNU); N-(2-氯乙基)-N'-环己基-N-亚硝基(CCNU); N-(2-氯乙基)-N的'-(反式-4-甲基氮-亚硝基脲(MeCCNU); N-(2-氯乙基)-N的'-(二乙基)乙基磷酸盐-N-亚硝基脲(福莫司汀); 链脲霉素; 达卡巴嗪(DTIC); 米托唑胺; 替莫唑; 噻替派; 丝裂霉素 C; AZQ; 阿多来新; 顺铂; 卡铂; 奥马铂; 奥沙利铂; C1-973; DWA 2114R; JM216; JM335; 双(铂); 雷替曲塞; 阿扎胞苷; 阿糖胞苷; 吉西他滨; 6-巯基嘌呤; 6-鸟嘌呤; 次黄嘌呤; 替尼泊苷; 9-氨基喜树碱; 拓扑替康; CPT-11; 阿霉素; 柔红霉素; 阿霉素; 依达比星; 米托蒽醌; 洛索蒽醌; 更生霉素(放线菌素 D); 安吖啶; 吡唑啉吖啶; 全反式视黄醇; 14-羟基-反式视黄醇; 全反式维甲酸; N-(4-羟基苯基)视黄酰胺; 13-顺维甲酸; 3-甲基 TTNEB; 9-顺视黄酸; 氟达拉滨(2-F-ara-AMP)和 2-氯脱氧腺苷(2-Cda)。其他抗癌剂包括但不限于, 抗增殖剂(例如异硫脲酸

吡曲克辛); 抗前列腺肥大剂 (例如, 西托糖苷); 良性前列腺增生症治疗剂 (例如盐酸坦索罗辛); 前列腺生长抑制剂药物 (例如, 喷托孟); 以及放射性物质: 纤维蛋白原 I 125; 脱氧葡萄糖 F 18; 氟多巴 F 18; 胰岛素 I 125; 胰岛素 I 131; 碘苄胍 I 123; 胆影钠 I 131; 碘安替比林 I 131; 碘化胆固醇 I 131; 碘马尿酸钠 I 123; 碘马尿酸钠 I 125; 碘马尿酸钠 I 131; 碘奥酮 I 125; 碘奥酮 I 131; 盐酸碘非他胺 I 123; Iomethin I 125; Iomethin I 131; 碘酞钠 I 125; 碘酞钠 I 131 碘酪氨酸 I 131; 碘塞罗宁 I 125; 碘塞罗宁 I 131; Merisoprol Acetate Hg 197; Merisoprol Acetate Hg 203; Merisoprol Hg 197; 硒蛋氨酸 Se 75; 锝 Tc 99m 三硫化二锝; 锝 Tc 99m 比西酯; 锝 Tc 99m 地索苯宁; 锝 Tc 99m Etidronate; 锝 Tc 99m 依沙美肟; 锝 Tc 99m Furifosmin; 锝 Tc 99m Gluceptate; 锝 Tc 99m 利多苯宁; 锝 Tc 99m 甲溴菲宁; 锝 Tc 99m 亚甲基二磷酸; 锝 Tc 99m 亚甲基二磷酸二钠; 锝 Tc 99m 巯替肽; 锝 Tc 99m 羧亚甲基二膦酸盐; 锝 Tc 99m 三胺五乙酸; 锝 Tc 99m 三胺五乙酸钙三钠; 锝 Tc 99m Sestamibi; 锝 Tc 99m 二巯丁二酸; 锝 Tc 99m 二巯丁二酸; 锝 Tc 99m 胶体硫; 锝 Tc 99m Teboroxime; 锝 Tc 99m 替曲膦; 锝 Tc 99m Tiatide; 甲状腺素 I 125; 甲状腺素 I 131; 碘苄聚乙烯吡咯烷酮 I 131; 三油精 I 125; 三油精 I 131。

其他抗癌剂包括但不限于抗癌增强剂: 三环抗抑郁药 (例如丙咪嗪; 地昔帕明; amitryptiline; 氯米帕明; 三甲丙咪嗪、多虑平、去甲替林、普罗替林、阿莫沙平和马普替林); 非三环类抗抑郁药物 (例如舍曲林、曲唑酮与西酞普兰); 钙拮抗剂 (例如, 维拉帕米、硝苯地平、尼群地平和卡罗维林); 钙调素抑制剂 (例如普尼拉明、三氟拉嗪与氯丙咪嗪); 两性霉素 B; 曲帕拉醇类似物 (例如他莫昔芬); 抗心律失常药物 (例如奎尼丁); 抗高血压药物 (例如利血平); 硫醇 depleters (例如, 丁硫氨酸和亚砷) 和多药耐药缓解剂如 Cremaphor EL。其他抗癌剂选自: annonaceous acetogenins; asimicin; rolliniastatin; guanacone, squamocin, bullatacin; squamotacin;

紫杉烷; 紫杉醇; 吉西他滨; 甲氨蝶呤 FR-900482; FK-973; FR-66979; FK-317; 5-FU; FUDR; FdUMP; 羟基脲; 多西紫杉醇; discodermolide; 埃博霉素; 长春新碱; 长春碱; 长春瑞滨; metapac; 依立替康、SN-38; 10-OH 依立替康; 拓扑替康; 依托泊苷; 阿霉素; 多柔比星; flavopiridol; 顺铂; 碳铂; 博莱霉素; 丝裂霉素 C; 普卡霉素; 卡培他滨、阿糖胞苷; 2-C1- 2' 脱氧腺苷; 氟达拉滨-PO₄、米托蒽醌; 米托唑胺、喷司他丁和雷替曲塞。一类特别优选的抗癌药物是紫杉烷类(例如, 紫杉醇和多西紫杉醇)。另一类重要的抗癌剂是 annonaceous acetogenin。

K. 血压调节

在一些实施方案中, 该苯二氮革类化合物及相关化合物(参见, 例如, III 部分-示例性化合物)是用于调节受试者的血压。在一些实施方案中, 一种以上的本发明的化合物用于治疗调节受试者的血压(例如, 维持受试者的血压在所期望的范围)。在一些实施方案中, 本发明的化合物通过与 ATP 合酶复合物(例如, 线粒体 ATP 合酶复合物)的寡霉素敏感性参照蛋白(OSCP)部分/ F1 结合在受影响的细胞或组织中调节(例如, 抑制或促进)该 ATP 合酶复合物(例如, 线粒体 ATP 合酶复合物)的活性, 来调节血压。在一些实施方案中, 本发明的化合物与至少一种其他目的在于调节受试者的血压的药物联合施用。其他目的在于调节受试者的血压的药物的例子包括但不限于, 噻嗪类及有关利尿药(例如, 氢氯噻嗪、氯噻酮)、 α/β -肾上腺素能阻断剂(例如卡维地洛)、 β -肾上腺素阻断剂(例如, 比索洛尔、阿替洛尔、美托洛尔)、血管紧张素转换酶抑制剂(例如卡托普利、福辛普利、苯那普利、喹那普利、雷米普利)、血管紧张素 II 受体拮抗剂(例如氯沙坦、缬沙坦、坎地沙坦、依贝沙坦、依普沙坦、和奥美)、钙通道阻滞剂-非二氢吡啶类(例如地尔硫和维拉帕米)、钙通道阻滞剂-二氢吡啶(例如, 氨氯地平、硝苯地平、非洛地平)、血管扩张剂-外周(例如肼苯哒嗪)、醛固酮拮抗剂(例如螺内酯)。

L. HDL / LDL 调节

在一些实施方案中，该苯二氮革类化合物及相关化合物(参见，例如，III 部分-示例性化合物)用于调节受试者的 HDL / LDL 水平。在一些实施方案中，一种以上的本发明的化合物是用于治疗调节受试者的 HDL / LDL 水平(例如，降低受试者的 LDL 水平，升高受试者的 HDL 水平)。在一些实施方案中，本发明的化合物通过与 ATP 合酶复合物(例如，线粒体 ATP 合酶复合物)的寡霉素敏感性参照蛋白(OSCP)部分/F1 结合在受影响的细胞或组织中调节(例如，抑制或促进)该 ATP 合酶复合物(例如，线粒体 ATP 合酶复合物)的活性，来调节 HDL / LDL 水平。在一些实施方案中，本发明的化合物与至少一种其他目的在于调节受试者的 HDL / LDL 水平的药物联合施用。出于调节受试者的 HDL / LDL 水平的其他药物的例子包括但不限于，降血脂药(例如，烟酸、烟酸、吉非罗齐、非诺贝特)和 HMG - CoA 还原酶(例如，阿托伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀、洛伐他汀、氟伐他汀，和还原酶抑制剂罗伐他汀)。

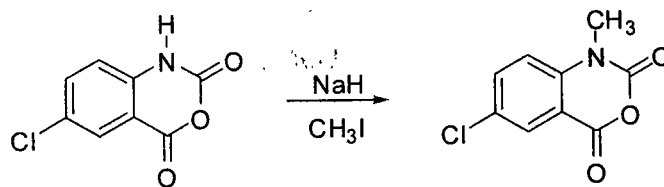
实施例

现在只是一般性地描述了本发明，参考下列实施例，本发明将变得更容易理解，但其所包括的内容仅是出于解释本发明的某些方面和实施方案的目的，而不是意欲限制本发明。

实施例 1.

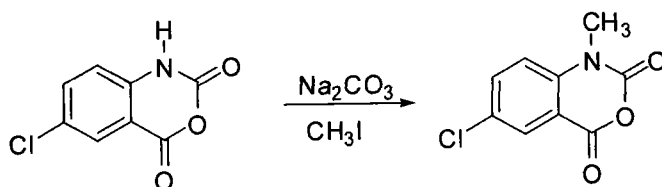
合成苯二氮革类核的代表性的一般方法。

I 部分:

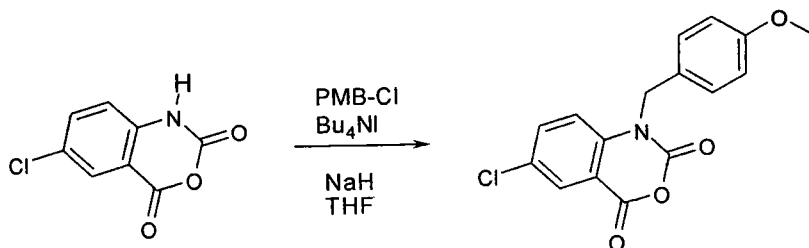


6-氯-1-甲基-1H-苯并[d][1,3]噁嗪-2,4-二酮(化合物 B, 其中 R = CH₃)。在配有机械搅拌、附加漏斗、热电偶和 N₂ 进气口的 3 L 的 3 颈 RBF 中，将 NaH(30.4 g) 悬浮于无水 THF(400 mL) 中。在室温下搅拌的同时，在 45 分钟内以分份方式加入 5-氯靛红酸酐的 THF(400 mL)

混悬液。将反应混合物搅拌 50 分钟(反应温度从 18 上升至 28 °C)。然后在 15 分钟内加入 CH₃I (285 g, 125 mL)。然后将该混合物在 42 °C 下搅拌 16 小时。由于 TLC 显示一些未反应的原料仍然保留在反应混合物中, 再加入 30 mL 的 CH₃I, 将反应混合物在 42 °C 下再搅拌 3 小时。冷却反应混合物(RT)并通过缓慢(40 分钟)加入 AcOH (55 mL) 使反应停止。浓缩反应混合物, 得到 275 g 的粘稠糖浆状产物, 其无需任何其他纯化即可使用。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.35 (s, 3 H), 7.54 (d, 1 H), 7.85 (d, 1 H), 7.90 (s, 1 H)。



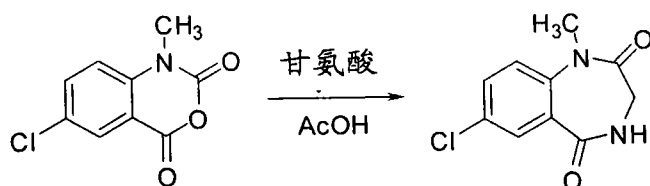
6-氯-1-甲基-1H-苯并[d][1,3]噁嗪-2,4-二酮(化合物 B, 其中 R = CH₃)。将 6-氯-1H 苯并[d][1,3]噁嗪-2,4-二酮(22.88 g, 116 mmol) 溶于二甲基甲酰胺(150 mL), 并加入碳酸钠(14.73 g, 139 mmol)。然后滴加甲基碘(10.86 mL, 174 mmol)。反应在室温下搅拌过夜。然后加入水(150 mL), 将混合物搅拌 1 小时。过滤收集固体。将该不纯的固体在甲基-叔丁基醚中声处理几分钟, 然后过滤收集, 得到呈白色固体的产物(19.38 g, 79%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 3.45 (s, 3H), 7.47 (d, 1H), 7.89 (dd, 1H), 7.94 (d, 1H)。



6-氯-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[d][1,3]噁嗪-2,4-二酮(化合物 B, 其中 R = PMB)。在配有机械搅拌、热电偶和 N₂ 进气口的 3 L,

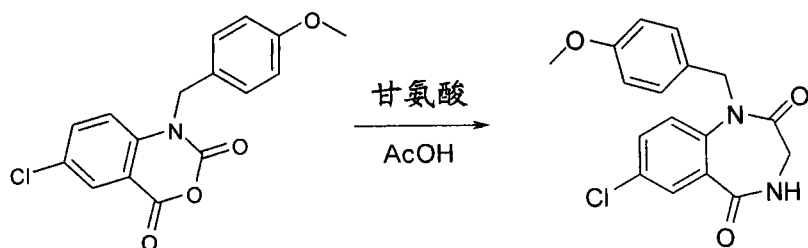
3-颈 RBF 中, 将 90 g (0.455 mol) 的 5-氯靛红酸酐悬浮于无水 THF (0.9 L) 中。在 N_2 下, 加入 4-甲氧基苄基氯 (75 g, 0.48 mol), 然后加入碘化四丁基铵 (84 g, 0.23 mol)。将反应混合物在室温下搅拌 5 分钟, 然后在 20 分钟内, 分份加入 20 g (0.5 mol) 的 NaH (由于放热, 反应温度升高至 $29^\circ C$, 因此将反应混合物置于水浴中保持温度低于 $30^\circ C$)。将反应搅拌 16 小时 (RT)。次日, HPLC 显示尚有 26% 未反应的 5-氯靛红酸酐。再加入 NaH (1 g), 将反应混合物加热至 $32^\circ C$, 再搅拌 5 小时。NMR 显示, 所有原料均已消耗完。通过缓慢加入 10 g 的冰醋酸停止反应, 然后搅拌 30 分钟。通过硅藻土过滤反应混合物, 用 THF 洗涤滤饼。浓缩滤液得到 280 g 的粗产物 (黄褐色固体), 其无需进一步纯化即可使用。 ^1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ 3.8 (s, 3 H), 5.25 (s, 2 H), 6.8 (d, 2 H), 7.2 (m, 3 H), 7.75 (d, 1 H), 7.9 (d, 1 H)。

部分 II:



7-氯-1-甲基-3,4-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2,5-二酮 (化合物 C, 其中 R = Me)。在配有机械搅拌、冷凝器和 N_2 进气口的 2 L RBF 中, 将甘氨酸 (38 g, 0.506 mol) 加入到粗 6-氯-1-甲基-1H-苯并[d][1,3]噁嗪-2,4-二酮 (107 g, 0.506 mol) 中, 然后加入 AcOH (500 mL)。将反应烧瓶在 $130^\circ C$ 油浴中加热 7 小时。加热 ($50-60^\circ C$) 抽吸下蒸发溶剂。向该粘稠糖浆状粗产物中加入 1L 的 EtOAc, 然后慢慢加入 $NaHCO_3$ (饱和) 水溶液以调节 pH 至 ~ 7 。然后加入 10 mL 的 2 M NaOH 调节 pH 至 $\sim 9-10$ 。该混合物得到了固体, 还有有机和水层。过滤固体, 得到含一些杂质的产物。固体在 400 mL DCM 和 200 mL $NaHCO_3$ 中分配, 搅拌该浆体 20 分钟, 然后过滤除去不溶的杂质。分离 DCM 层, 并用 3% $NaHCO_3$ 洗涤, 然后用盐水 (200 mL) 洗涤。干燥 DCM 层 ($MgSO_4$),

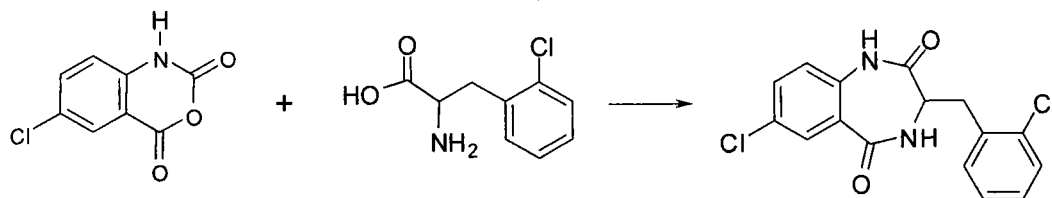
过滤并浓缩, 得到 50 g 的粗产物。浓缩 EtOAc 层, 得到 67 g 的含一些杂质的固体产物。用 EtOAc (2 x 400 mL) 萃取水层。用 Na_2SO_4 干燥合并的有机物, 过滤并浓缩, 得到另外 6.7 g 的粗产物。得到总共 123.4 g 的产物, 其中 50 g 是非常干净的。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.2 (s, 3 H), 3.5 (m, 1 H), 3.8 (m, 1 H), 7.35 (d, 1 H), 7.6 (m, 2 H), 8.8 (t, 1 H)。



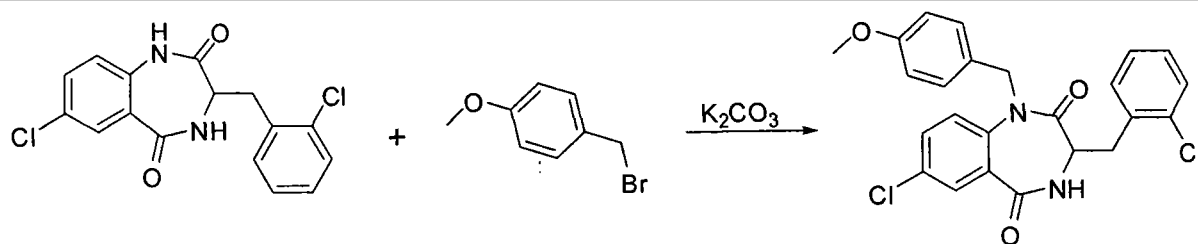
7-氯-1-(4-甲氧基苄基)-3, 4-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2, 5-二酮(化合物 C, 其中 R = PMB)。在配有机械搅拌、冷凝器和 N_2 进气口的 2 L RBF 中, 将甘氨酸 (34 g, 0.45 mol) 加入到 6-氯-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[d][1, 3]噁嗪-2, 4-二酮 (280 g) 中, 然后加入 AcOH (500 mL)。将反应烧瓶在 130°C 油浴中加热 8 小时。在 $50-60^\circ\text{C}$ 下, 在旋转蒸发器上除去溶剂。向该粘稠糖浆状粗产物中加入庚烷 (1 L) 和 H_2O (1 L), 然后加入 NaHCO_3 (以调节 pH 至 $\sim 8-9$)。该混合物得到了固体, 还有有机和水层。倒出有机和水层, 用 500 mL 的 5% NaHCO_3 溶液搅拌固体。倒出 NaHCO_3 层, 将粘稠的固体悬浮于悬浮于 700 mL EtOAc 和 300 mL 的二氯甲烷 (DCM) 中。搅拌该混合物 20 分钟, 过滤, 用 1 L 的 DCM 洗涤滤饼。浓缩滤液, 让残留物通过 330 g 硅胶塞, 使用 25/75 至 75/25 EtOAc/庚烷 (共 8 L)。合并干净的各部分, 得到 58 g 的粗产物。由脚步纯净的部分得到另外 13 g 的 $\sim 70\%$ 粗产物。两个步骤的收率是 47%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 3.45 (m, 1H), 3.6 (s, 3 H), 3.8 (m, 1H), 4.8 (d, 1H), 5.3 (d, 1H), 6.8 (d, 2 H), 7.1 (d, 2 H), 7.7-7.5 (m, 3 H), 8.9 (t, 1 H)。

实施例 2.

同时合成苯二氮革核和插入 C3 官能团的代表性的一般方法。



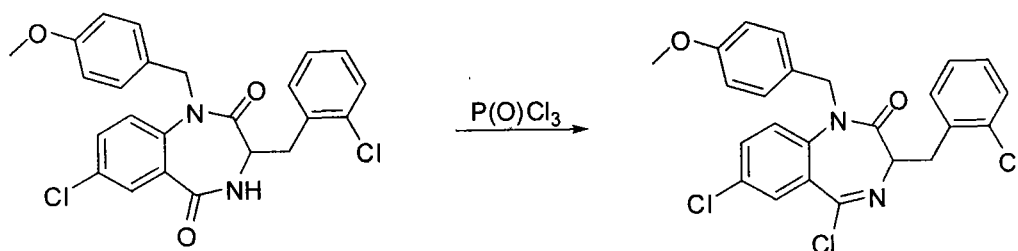
7-氯-3-(2-氯苄基)-3, 4-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2, 5-二酮。将盐酸 2-氨基-3-(2-氯苄基)丙酸 (3.0 g, 12.7 mmol) 悬浮于乙腈 (50 mL) 和水 (5 mL) 中, 加入三乙胺 (3.57 mL, 25.4 mmol) 导致形成沉淀和搅拌无效。加入水 (10 mL) 直至所有固体溶解。分份加入 5-氯靛红酸酐 (2.51 g, 12.7 mmol), 在加入下一份前等待至各个部分溶解。连续的各份需要越来越长的时间, 最后一份时需要长达 15 分钟。在加入最后一份时, 将该混悬液声处理数分钟, 然后在环境温度下搅拌过夜。真空浓缩该清澈溶液, 然后用丙酮共沸 2 次。将残留物再溶于乙酸 (30 mL), 并加热至 130 °C 6 小时。真空浓缩混合物成油, 用乙酸乙酯 (150 mL) 稀释, 用水 (3 x 50 mL), 然后用盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩成棕色固体。将该固体再悬浮于乙酸乙酯 (20 mL) 和己烷 (10 mL), 然后在环境温度下搅拌 30 分钟。过滤, 得到 7-氯-3-(2-氯苄基)-3, 4-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2, 5-二酮 (2.4 g, 56%)。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 2.97 (m, 1H), 3.23 (m, 1H), 4.00 (m, 1H), 7.12 (d, 1H, J = 8.79 Hz), 7.27 (m, 2H), 7.40 (m, 2H), 7.58 (dd, 1H, J₁ = 8.79 Hz, J₂ = 2.64 Hz), 7.67 (d, 1H, J = 2.64 Hz), 8.73 (d, 1H, J = 6.15 Hz), 10.59 (s, 1H); ESI m/z 335.0, 337.0。



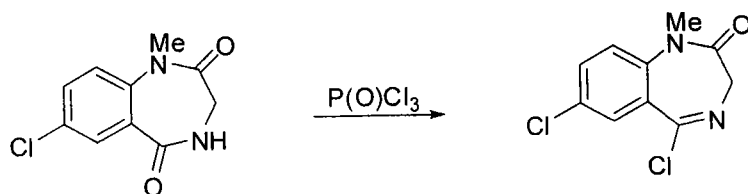
7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-3, 4-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2, 5-二酮。将 7-氯-3-(2-氯苄基)-3, 4-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2, 5-二酮(0.8 g, 2.39 mmol), 粉末状的碳酸钾(0.495 g, 3.58 mmol)和 4-甲氧基苄基氯(0.39 mL, 2.86 mmol)悬浮于 N, N-二甲基甲酰胺(20 mL)中, 并在环境温度下搅拌过夜。将该溶液倾倒入水(100 mL)和乙酸乙酯(150 mL)中。分离各层, 用水(2 x 100 mL), 然后用盐水洗涤有机层, 用硫酸钠干燥, 倒出并在硅胶存在下浓缩。通过柱色谱, 用 0-50%乙酸乙酯的己烷溶液洗脱来纯化产物, 得到 7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-3, 4-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2, 5-二酮(0.65 g, 60%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ3.06 (m, 1H), 3.30 (m, 2H), 3.66 (s, 3H), 4.13 (m, 1H), 4.82 (d, 1H), 5.34 (d, 1H), 6.76 (d, 2H, J = 8.79 Hz), 6.96 (d, 2H, J = 8.79 Hz), 7.21-7.29 (m, 2H), 7.36-7.45 (m, 2H), 7.54-7.61 (m, 3H), 8.97 (d, 1H, J = 5.86 Hz); ESI m/z 455.1。

实施例 3.

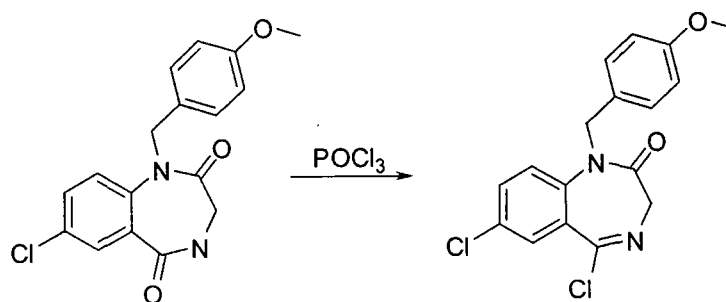
合成(E)-5, 7-二氯-苯二氮杂萘-2(3H)-酮中间体的代表性的一般方法。



(E)-5, 7-二氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮。在氮气大气下, 将 7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-3, 4-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2, 5-二酮 (0.65 g, 1.43 mmol) 悬浮于无水甲苯 (10 mL) 中。加入 N, N-二甲基苯胺 (0.36 mL, 2.9 mmol), 然后加入氯氧化磷 (0.20 mL, 2.1 mmol), 混合物在 90 °C 下加热 4 小时。在冷却至室温后, 用 40 mL 的乙酸乙酯: 己烷 (1: 2) 稀释该混合物, 用冰水 (10 mL)、冰冷的 1 M 盐酸 (2 x 10 mL) 和盐水洗涤, 然后用硫酸钠干燥, 倒出并真空浓缩。将残留物再溶解于少量的乙酸乙酯, 然后倾倒至硅石塞上。用 100 mL 的乙酸乙酯: 己烷 (1: 2) 洗脱产物, 得到 (E)-5, 7-二氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮 (680 mg, 100%), 其无需进一步纯化即可使用。



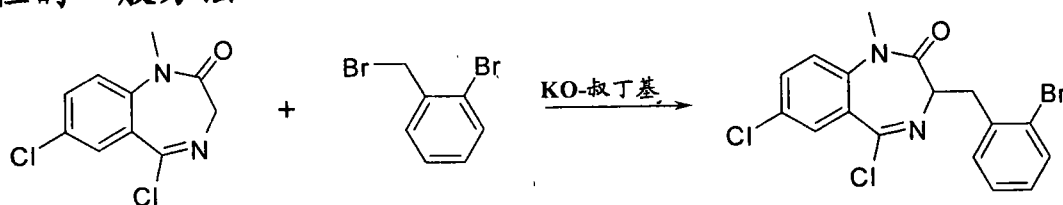
(E)-5, 7-二氯-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮 (化合物 D, 其中 R = Me)。在配有机械搅拌、冷凝器和 N₂ 进气口的 1 L 2 颈 RBF 中, 将 7-氯-1-甲基-3, 4-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2, 5-二酮 (42.5 g, 0.189 mol) 悬浮到 400 mL 的甲苯中。向其中加入 N, N-二甲基苯胺 (45.5 g, 0.375 mol), 然后加入 POCl₃ (29 g, 0.189 mol), 将反应混合物搅拌 3 分钟 (RT)。反应烧瓶置于 90 °C 油浴中, 将反应混合物搅拌/加热 7 小时, 然后在 RT 下 9 小时。通过加入 500 mL 的冰水并搅拌 15 分钟来使反应停止。分离有机层, 用冷 0.5 M HCl (300 mL), 冷水 (300 mL), 然后用冷饱和 NaHCO₃ (300 mL) 快速洗涤。干燥有机层 (MgSO₄), 过滤并在旋转蒸发器上浓缩, 得到 40 g 的黄色固体。收率 87.5%。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 3.25 (s, 3 H), 3.8-3.9 (s, 1 H, br), 4.3-4.4 (s, 1 H, br), 7.4 (d, 1 H), 7.7-7.8 (m, 2 H)。



(E)-5, 7-二氯-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。在配有磁力搅拌棒、冷凝器和 N_2 进气口的 1 L 3 颈 RBF 中, 将 7-氯-1-(4-甲氧基苄基)-3, 4-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2, 5-二酮(45 g, 0.136 mol) 悬浮于 400 mL 的甲苯中。向其中加入 N, N-二甲基苯胺(33 g, 0.272 mol), 然后加入 $POCl_3$ (23 g)。将反应搅拌 3 分钟(RT)。反应烧瓶置于 $90^\circ C$ 油浴中, 将反应混合物加热 5 小时, 然后冷却。通过加入 450 mL 的冰水并搅拌 15 分钟来使反应停止。分离有机层, 并用冷水(2 x 250 mL)和盐水(300 mL)快速洗涤。然后用 $MgSO_4$ 干燥有机层, 过滤并在旋转蒸发器上浓缩, 得到 57 g 的黑色粗产物。粗产物用于下一步骤而无须进一步纯化。收率 87.5%。

实施例 4.

在(E)-5, 7-二氯-苯二氮杂革-2(3H)-酮中间体上插入 C3-取代基的代表性的一般方法



(E)-3-(2-溴苄基)-5, 7-二氯-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。在氮气大气下将(E)-5, 7-二氯-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮(400 mg, 1.65 mmol)溶于无水四氢呋喃(5 mL)中, 冷却至 $-78^\circ C$, 然后滴加 1 M 叔丁基钾的四氢呋喃(1.7 mL, 1.7

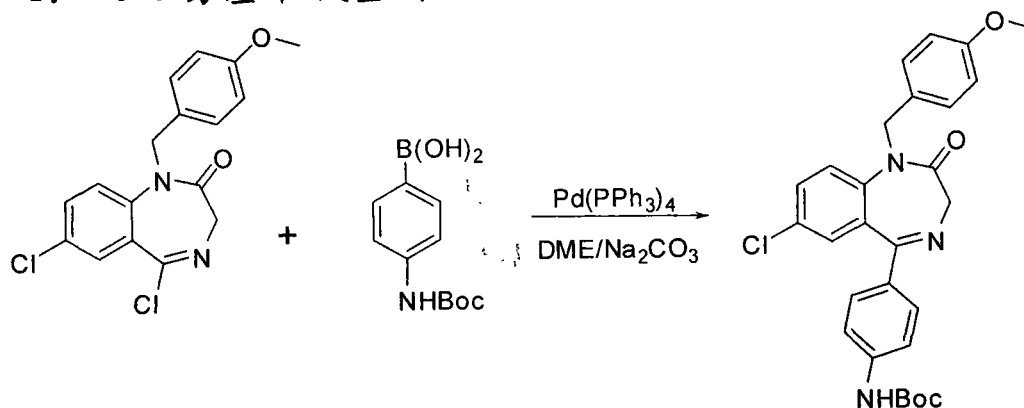
mmol) 溶液。将反应混合物搅拌 10 分钟, 然后滴加 2-溴苄基溴 (411 mg, 1.65 mmol) 的四氢呋喃 (2 mL) 溶液。将该混合物在 -78°C 下搅拌 20 分钟, 然后移去冷却浴, 加热该混合物至室温, 并在环境温度下搅拌 18 小时。加入哌嗪 (283 mg, 3.29 mmol) 以除去过量的 2-溴苄基溴, 在环境温度下将该混合物搅拌 30 分钟, 用乙酸乙酯稀释, 并用 1 M 冰盐酸 (2 x 40 mL) 洗涤。用硫酸钠干燥有机层, 倒出并真空浓缩成约 20 mL 的红色液体。在硅胶的短盒上纯化产物, 用 100 mL 的乙酸乙酯: 己烷 (1: 2) 洗脱, 得到 (E)-3-(2-溴苄基)-5, 7-二氯-1-甲基-1H-苯并 [e] [1, 4] 二氮杂革-2 (3H)-酮 (0.44 g, 65%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.40 (s, 3H) 3.75 (m, 2H), 4.15 (m, 1H), 7.05-7.55 (m, 7H)。

实施例 5.

由 (E)-5, 7-二氯-苯二氮杂革-2 (3H)-酮中间体合成 C5-芳基脲化化合物的代表性的一般方法。

方法 A:

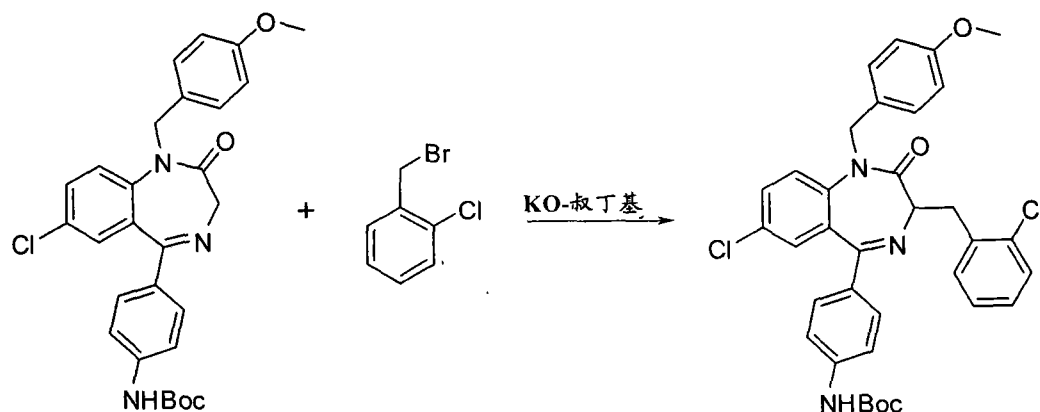
部分 I: C-5 芳基取代基的插入



(Z)-叔丁基-4-(7-氯-1-(4-甲氧基苄基)-2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并 [e] [1, 4] 二氮杂革-5-基) 苄基氨基甲酸酯。用 (4-叔丁氧基羰基氨基苄基) 硼酸 (3.72 g, 18.84 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.362 g, 0.314 mmol), 2N Na_2CO_3 (23.5 mL) 水溶液和 DME (2.5 mL) 处理酰亚胺氯 (5.5 g, 15.7 mmol), 用氮气除气并在 80°C 下加热 3 小时。冷却反应混合物, 用 EtOAc (200 mL) 稀释并倾倒入水 (200 mL) 中。分离各层, 用 EtOAc (100 mL) 萃取水层。用盐水 (200 mL) 洗涤合并的萃取液, 用 MgSO_4 干燥, 并

蒸发至干燥。通过快速柱色谱(用 20 % EtOAc 的己烷溶液洗脱)纯化粗物质, 得到呈灰白色固体的 (Z)-叔丁基 4-(7-氯-1-(4-甲氧基苄基)-2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-5-基) 苄基氨基甲酸酯 (3.4 g, 42.8 %). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.55 (s, 9H), 3.73 (s, 3H), 3.83 (d, 1H), 4.63 (d, 1H), 4.86 (d, 1H), 5.59 (d, 1H), 6.63 (d, 2H), 6.66 (d, 2H), 6.93 (d, 2H), 7.17 (s, 1H), 7.28 (s, 2H), 7.32–7.41 (m, 6H). MS m/z 507.3 $[\text{M} + 1]$

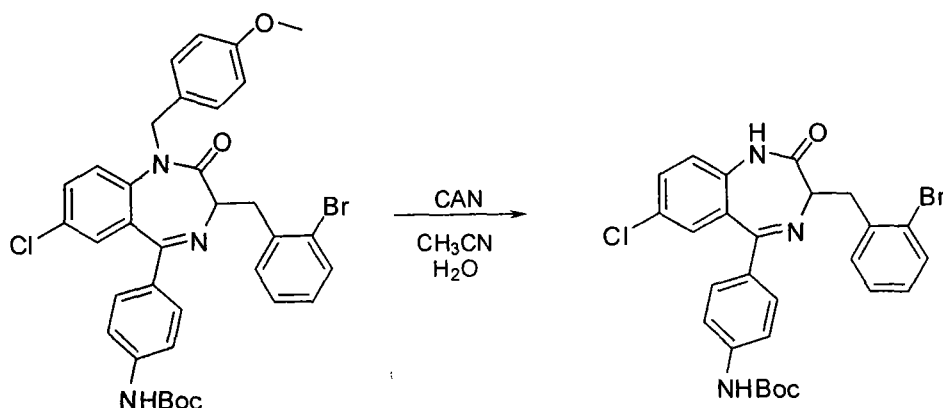
部分 II: C3-取代基的插入。



(Z)-叔丁基 7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-5-基) 苄基氨基甲酸酯。在 $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 和氮气大气下向 (Z)-叔丁基 4-(7-氯-1-(4-甲氧基苄基)-2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-5-基) 苄基氨基甲酸酯 (2 g, 3.95 mmol) 的溶液中加入叔丁氧钾 (1 M, 在 THF 中, 7.9 mL, 7.9 mmol) 的溶液。在加入完成后, 将反应混合物在 $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 下搅拌半小时, 并在 $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 下, 在 15 分钟内滴加 2-氯苄基溴 (0.570 mL, 4.34 mmol) 的 THF (10 mL) 溶液。将反应混合物在 $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 下再搅拌 2 小时, 然后将温度升高至室温。在 N_2 大气和室温下, 将反应混合物保持过夜。用水 (50 mL) 使反应混合物停止反应, 并用 EtOAc (3 x 50 mL) 萃取。用盐水 (100 mL) 洗涤合并的萃取液, 干燥 (MgSO_4) 并真空干燥。通过快速柱色谱(用 20 % EtOAc 的己烷溶液洗脱)纯化粗物质, 得到呈淡黄色固体的 (Z)-叔丁基 7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-5-基) 苄基氨基甲酸酯 (0.78 g, 31.3 %). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ

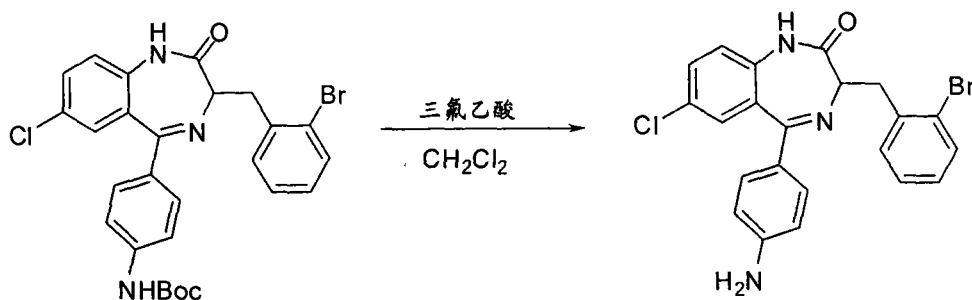
1.49 (s, 9 H), 3.32 (s, 3H), 3.55 (d, 2H), 3.59 (s, 3H) 3.90 (t, 1H), 4.78 (d, 1H), 5.47 (d, 1H), 6.64 (d, 2H), 6.82 (d, 2H), 7.06 (d, 2H), 7.10 (s, 1H), 7.21–7.30 (m, 3H), 7.32–7.62 (m, 3H), 7.64 (d, 1H), 7.75 (d, 1H), 9.61 (s, 1H)。MS m/z 631.36 $[M+1]$ 。

部分 III: 对甲氧基苄基的去除



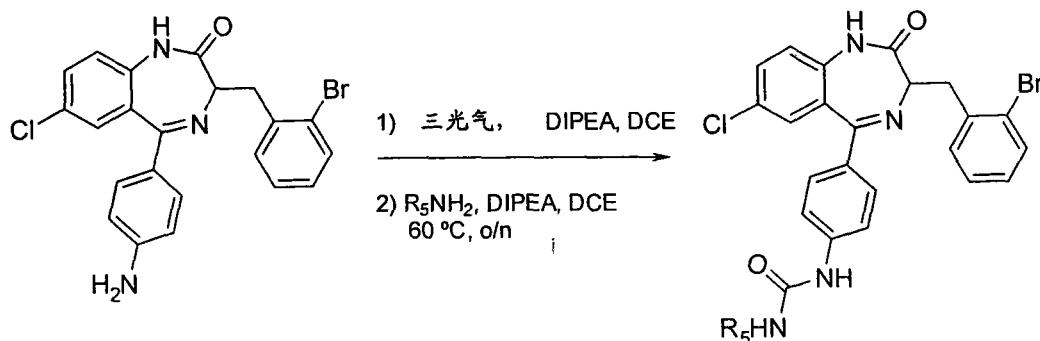
(Z)-叔丁基 4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基氨基甲酸酯。在-15 °C下,向 (Z)-叔丁基 7-氯-3-(2-溴苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基氨基甲酸酯(7.07 g, 10.47 mmol)的 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (250/83 mL) 混合物溶液中分份加入硝酸铈(IV)铵(45.9 g, 83.76 mmol)。反应混合物在-15 °C下搅拌1小时,将温度升高至室温,混合物在室温下保持2小时。然后用水(200 mL)和 EtOAc (200 mL) 稀释反应混合物。分离有机层并用 EtOAc (2x 200 mL) 萃取水层。用盐水(100 mL)洗涤合并的萃取液,干燥(MgSO_4)并真空干燥。通过快速柱色谱(用40% EtOAc 的己烷溶液洗脱)纯化粗物质,得到呈灰白色固体的 (Z)-叔丁基 4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基氨基甲酸酯(3.3 g, 56.8%)。MS m/z 555.25 $[M+1]$ 。

部分 IV: Boc 保护基的去除



(Z)-5-(4-氨基苯基)-3-(2-溴苄基)-7-氯-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。在 0 °C 下向 (Z)-叔丁基 4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基氨基甲酸酯 (3.3 g, 5.94 mmol) 的二氯甲烷 (45 mL) 溶液中滴加三氟乙酸 (15 mL)。在完成加入后, 将反应混合物在 0 °C 下搅拌 1 小时, 然后将温度升高至室温, 并保持在室温下 4 小时。将反应混合物冷却至 0 °C, 并用 10% NaOH 的水溶液处理, 直至达到 pH > 10。分离这两层。用水层萃取二氯甲烷 (2x 50 mL)。用盐水 (100 mL) 洗涤合并的萃取液, 干燥 (MgSO₄) 并真空蒸发。通过快速柱色谱 (用 40% EtOAc 的己烷溶液洗脱) 纯化粗物质, 得到呈淡黄色固体的 (Z)-5-(4-氨基苯基)-3-(2-溴苄基)-7-氯-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮 (2.35 g, 87%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3.45 (d, 2H), 3.71 (t, 1H), 5.62 (s, 2H), 6.53 (d, 2H), 7.10-7.17 (m, 3H), 7.22-7.25 (m, 2H), 7.33 (t, 1H), 7.46-7.61 (m, 3H), 10.64 (s, 1H)。MS, m/z 455.19 [M + 1]。

部分 V: 从 C5-氨基芳基中间体插入脲

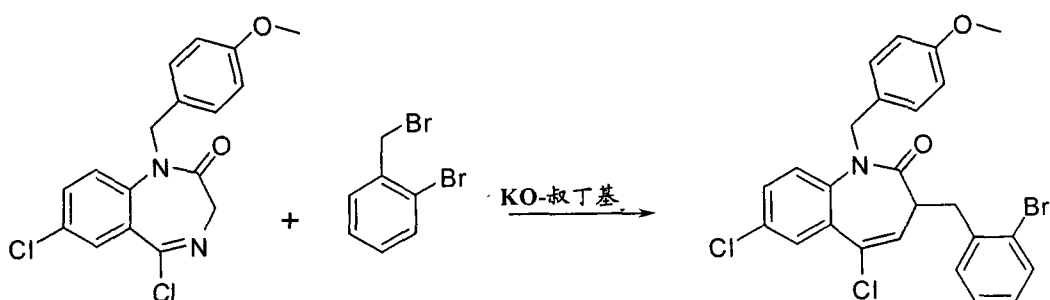


向三光气 (0.023 mg, 0.078 mmol) 的 1,2-二氯乙烷 (1 mL) 的溶液加入 (Z)-5-(4-氨基苯基)-3-(2-溴苄基)-7-氯-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮 (0.08 g, 0.195 mmol), 二异丙基乙胺 (0.051 mL,

0.2925 mmol)的二氯乙胺(1 mL)溶液。在室温下将反应混合物在封口的7 mL玻璃瓶中搅拌10分钟,然后用胺(R_5NH_2 , 0.468 mmol),二异丙基乙胺(0.051 mL, 0.2925 mmol)的1,2-二氯乙烷(1 mL)溶液处理。然后将反应混合物在60 °C下加热12小时。然后将反应混合物蒸发至干燥,通过自动高效液相色谱法纯化各个样品。

方法 B:

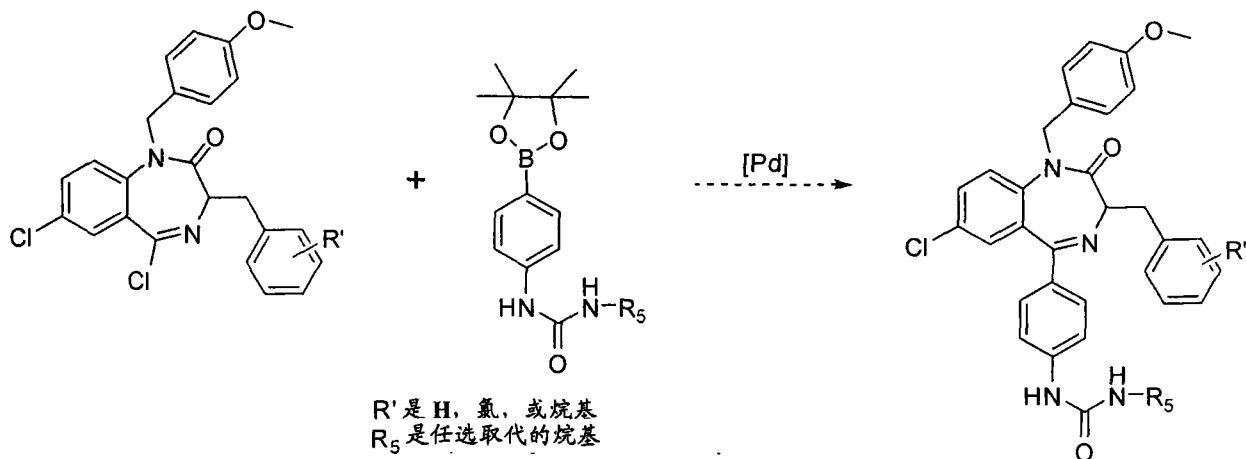
部分 I:



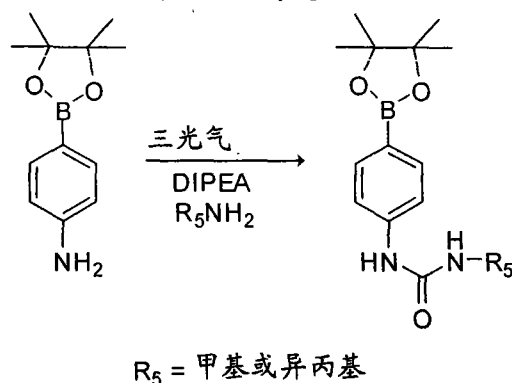
(E)-3-(2-溴苄基)-5,7-二氯-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[b]氮杂茛-2(3H)-酮。在-78 °C和 N_2 大气下,向(E)-5,7-二氯-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂茛-2(3H)-酮(0.45 g, 1.28 mmol)的无水 THF(20 mL)溶液中加入叔丁氧钾(1 M, 在 THF 中, 1.54 mL, 1.54 mmol)溶液。在完成加入后,将反应混合物在-78 °C下搅拌半小时,并在15分钟内在-78 °C下滴加2-溴苄基溴(0.386 mL, 1.54 mmol)的 THF(5 mL)溶液。将反应混合物在-78 °C下再搅拌2小时,然后将温度升高至室温。在 N_2 大气下,将反应混合物保持在室温下过夜。用饱和 NH_4Cl (50 mL)使反应混合物停止反应,并用 EtOAc(3 x 50 mL)萃取。用盐水(100 mL)洗涤合并的萃取液,干燥($MgSO_4$)并真空干燥。通过快速柱色谱(用20% EtOAc的己烷溶液洗脱)纯化粗物质,得到呈淡白色固体的(E)-3-(2-溴苄基)-5,7-二氯-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[b]氮杂茛-2(3H)-酮(0.49 g, 74%)。 ^1H NMR(400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 3.65(s, 3 H), 4.06-4.10(m, 2 H), 4.86(d, 1 H), 5.39(d, 1 H), 4.79(d, 2H), 6.92(d, 2 H), 7.12-7.39(m, 3 H), 7.54-7.56(m, 1 H), 7.67-7.82(m, 3H)。MS m/z 519.20 [$M + 1$]。

部分 II:

关注的是, 如下所述, 使用钯偶合反应可以将脲芳基硼酸酯与 5, 7-二氯-苯并[b]氮杂革-2(3H)-酮偶合。



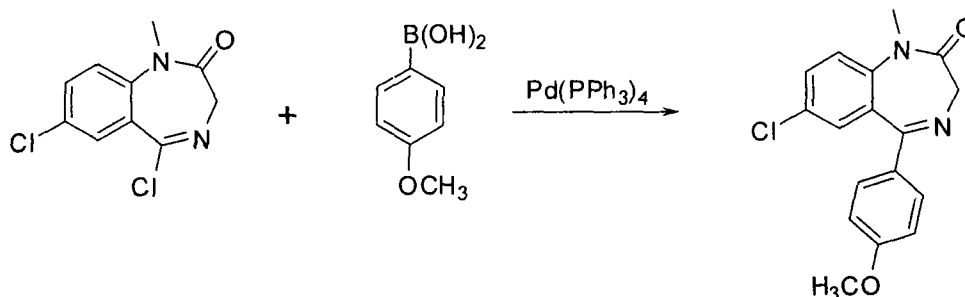
使用下述方法可以制备各种的脲芳基硼酸酯。



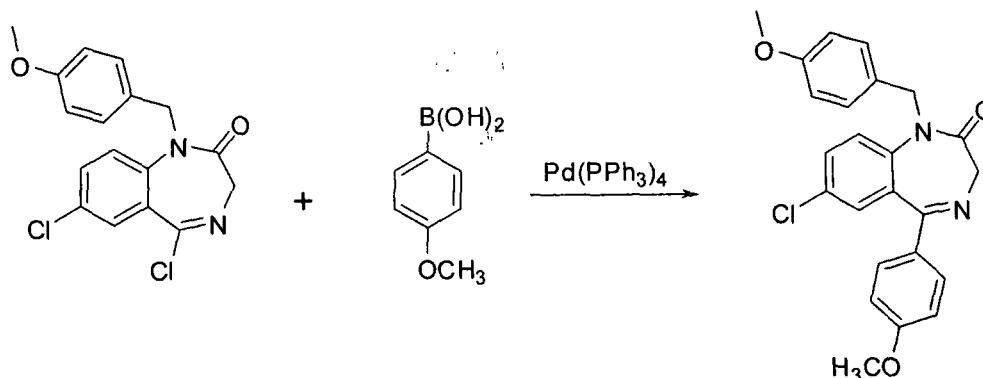
合成脲的一般性方法。在氮气下, 在干燥烧瓶中将三光气(0.3 倍当量)溶于无水二氯甲烷(20% v/v)。将氨基硼酸酯(1 倍当量)溶于二氯甲烷(20% v/v), 向其中加入二异丙基乙胺(1 倍当量)。在 1 小时的时间里向该搅拌的三光气溶液中滴加该混合物。再搅拌 5 分钟后, 整份加入伯胺(1 倍当量, R_5NH_2), 然后立即加入二异丙基乙胺(1 倍当量)。然后将该混合物搅拌过夜。加入水(20% v/v)并将该混合物搅拌 5 分钟。除去水层, 并再加入水。纯化各产物包括在水中沉淀或萃取到有机溶剂中。在一些情况中, 通过色谱进一步纯化也是必要的。典型地, 收率是 70-80%。

实施例 6.

由 (E)-5, 7-二氯-苯二氮杂革-2 (3H)-酮中间体合成 C5-烷氧基芳基化合物的代表性的一般方法。



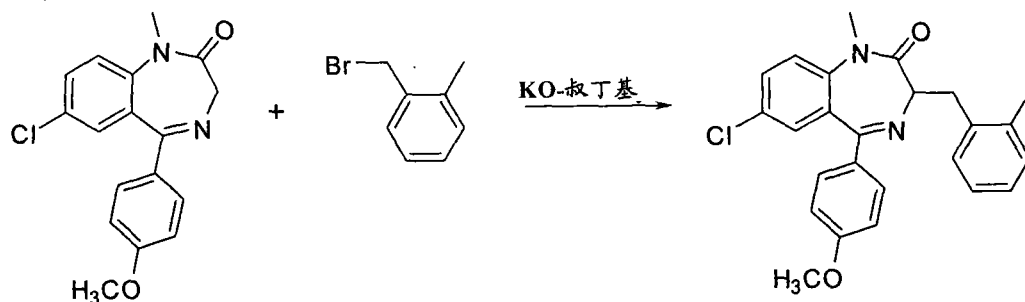
(Z)-7-氯-5-(4-甲氧基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2 (3H)-酮。在配有磁力搅拌棒、冷凝器、热电偶和 N_2 进气口的 1 L 3-颈 RBF 中，将粗 (E)-5, 7-二氯-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2 (3H)-酮 (30 g, 0.124 mol) 溶于 300 mL 的 DME。向其中加入 Na_2CO_3 (21 g, 0.2 mol) 的 200 mL H_2O 溶液，然后加入 4-甲氧基苯基硼酸酯 (22 g, 0.145 mol) 和 $Pd(PPh_3)_4$ (1.2 g, 8.3 mmol)。在 N_2 下，将反应混合物在 $85^\circ C$ 油浴中加热 2 小时，然后冷却至室温。向其中加入 200 mL 的 EtOAc 并将该混合物搅拌 5 分钟。分离有机层并用 H_2O (200 mL) 和盐水 (200 mL) 洗涤。用 $MgSO_4$ 干燥有机层然后浓缩至干燥，得到 53 g 的粗产物。使用 210 g 的硅胶和 EtOAc/庚烷 (12: 88 至 30: 70 至 50: 50 至 70: 30; 共 8 L 流动相) 进行硅胶色谱法。合并包含粗产物的部分并浓缩至干燥，得到 42.7 g 的粗产物 (定量)。 ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3.38 (s, 3 H), 3.73 (d, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 4.75 (d, 1 H), 6.9 (m, 2 H), 7.31 (m, 2 H), 7.48–7.58 (m, 3 H)。



(Z)-7-氯-1-(4-甲氧基苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。在配有磁力搅拌棒、冷凝器、热电偶和 N₂ 进气口的 1 L 3 颈 RBF 中, 将粗(E)-5, 7-二氯-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(54 g)溶于 360 mL 的 DME。向其中加入 Na₂CO₃(23 g, 0.15mol, 在 250 mL 的 H₂O 中)溶液, 然后加入 4-甲氧基苄基硼酸(22.7 g, 0.15 mol)和 Pd(PPh₃)₄(1.4 g, 1.2 mmol)。将反应混合物在 85 °C 油浴中加热 2 小时, 然后冷却(RT)。向其中加入 200mL 的 EtOAc 并将该混合物搅拌 5 分钟。分离有机层, 用 200 mL H₂O, 然后用盐水洗涤。浓缩有机层至干燥, 得到 68 g 的粗产物。使用 550 g 的硅胶和 25/75 至 60/40 EtOAc/庚烷进行柱色谱法。合并包含粗产物的部分, 得到 21 g 的粗产物, 包含少量杂质的其他部分(通过 TLC)得到另外的 20 g 产物, 尽管较为不纯。但是这两部分的 NMR 是相同的。共获得 41 g 的产物。两个步骤的收率是 72%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.7 (s, 3 H), 3.80 (d, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 4.57 (d, 1 H), 4.85 (d, 1H), 5.57 (d, 1 H), 6.63 (d, 2 H), 6.85-6.95 (m, 4 H), 7.16 (d, 1H), 7.3-7.44 (m, 4 H)。

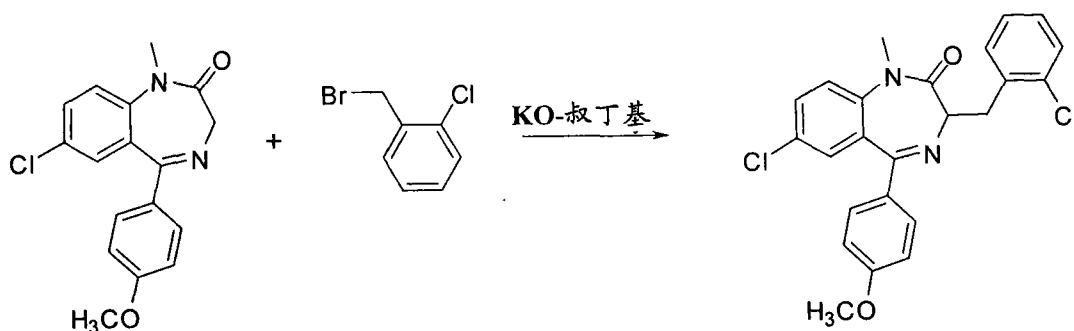
实施例 7.

在 C5-芳基-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮上插入 C3-取代基的代表性的一般方法



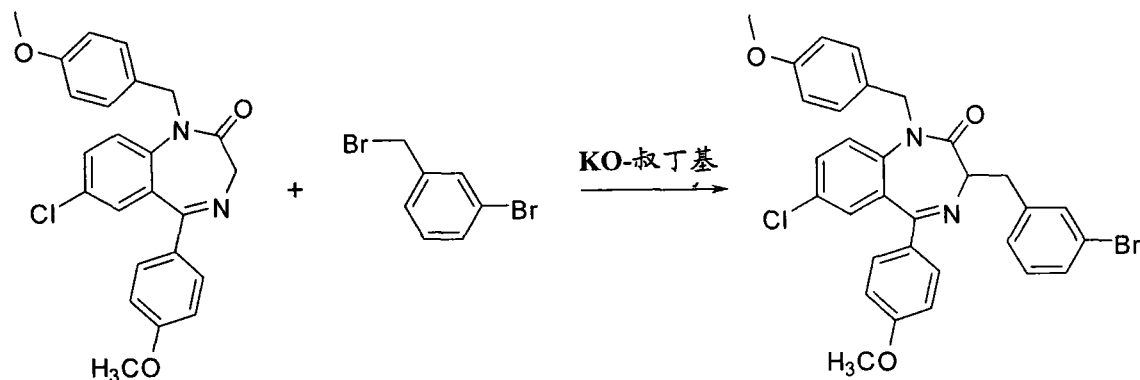
(Z)-7-氯-5-(4-甲氧基苄基)-1-甲基-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。向搅拌和冷却(干冰/丙酮浴)下的 (Z)-7-氯-5-(4-甲氧基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革

-2(3H)-酮(0.50 g, 1.59 mmol)的 THF(8 mL)溶液中缓慢加入 1 M KO^tBu(2.4 mL, 2.4 mmol, 1.5 倍当量)。在干冰/丙酮浴上将所得到的深红色混合物搅拌~10 分钟,然后缓慢加入 2-甲基苄基溴(0.46 g, 2.5 mmol, 1.5 倍当量)的 THF(2 mL)溶液。在-78℃下再搅拌~35 分钟后,用水使反应混合物停止反应,并用 EtOAc 稀释。干燥有机层(Na₂SO₄),过滤并蒸发(旋转,然后高真空)。使用 20-40% EtOAc/庚烷,在硅胶上进行色谱得到 0.56 g(收率的 84%)的标题产物[注意:当使用苄基氯作为烷化剂时,在低温下加入碘化四丁基铵和该烷化剂]。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ 2.38(s, 3 H), 3.41(s, 3 H), 3.5-3.65(m, 2 H), 3.74(dd, 1 H), 3.84(s, 3 H), 6.89(dt, 2 H), 7.05-7.15(m, 3 H), 7.25-7.35(m, 3 H), 7.45-7.5(m, 3 H)。

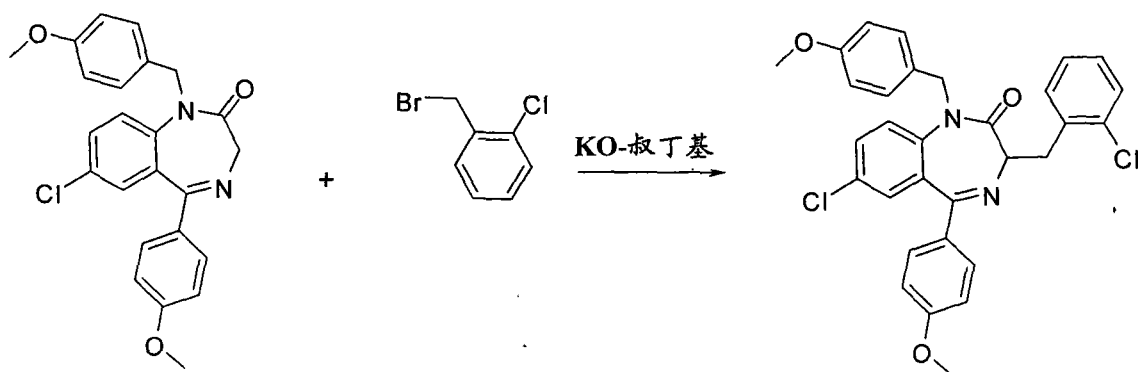


(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-甲氧基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。在氮气下,将(Z)-7-氯-5-(4-甲氧基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(0.2 g, 0.635 mmol)溶于干燥 THF(5 mL)并冷却至-78 °C。快速搅拌下,分两份加入呈固体的叔丁氧钾(86 mg, 0.762 mmol)。该混合物立即变色并迅速转变为深红色。5 分钟后,通过注射器滴加 2-氯苄基溴(107 μL, 0.836 mmol)。在氮气和-78 °C 下,将该混合物搅拌 1 小时。它变为淡褐色。TLC(1: 1 己烷: 乙酸乙酯)证明,没有原料剩余,主要是极性较小的产物以及或多或少的极性产物和 i 一些残留的 2-氯苄基溴。通过加入~2 mL 1: 1 甲醇: 水并冷却使反应停止。形成了黄色沉淀。移去冷浴,将混合物加热至室温。加入水和乙酸乙酯。分离有机层,用盐水洗涤一次,然后用硫酸镁干燥,过滤并蒸发溶剂。在 10 g 硅胶上

进行色谱, 用 30-50%梯度的乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 得到呈黄色油状的 (Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮 (232 mg, 0.528 mmol, 83%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.37 (s, 3H), 3.6-3.75 (m, 2H), 3.79-3.86 (m, 1H), 3.81 (s, 3H), 6.85 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.1-7.6 (m, 9H); ESI m/z 439.6 $[\text{M}+\text{H}^+]$ 。



(Z)-3-(3-溴苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-7-氯-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]-二氮杂萘-2(3H)-酮。向搅拌和冷却(干冰/丙酮浴)下的 (Z)-7-氯-1-(4-甲氧基苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮 (6.00 g, 14.2 mmol) 的 THF (80 mL) 溶液中缓慢加入 1 M KO^tBu (21 mL, 21 mmol, 1.5 倍当量)。在干冰/丙酮浴上将所得到的深红色混合物搅拌 ~ 10 分钟, 然后缓慢加入 3-溴苄基溴 (5.10 g, 21.4 mmol, 1.5 倍当量) 的 THF (15 mL) 溶液。在 -78°C 下再搅拌 ~ 45 分钟后, 用饱和盐水使反应混合物停止反应, 并用 EtOAc 稀释。干燥有机层 (Na_2SO_4), 过滤并蒸发(旋转, 然后高真空)。使用 10-30% EtOAc/庚烷, 在硅胶上进行色谱得到 7.08 g (收率的 84%) 的标题产物 [注意: 当使用苄基氯作为烷化剂时, 在低温下加入碘化四丁基铵和该烷化剂]。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.57 (d, 2 H), 3.70 (s, 3 H), 3.73 (t, 1 H), 3.83 (s, 3 H), 4.59 (d, 1 H), 5.62 (d, 1 H), 6.61 (d, 2 H), 6.8-6.9 (m, 4 H), 7.2-7.45 (m, 8 H), 7.63 (fine d, 1 H)。



(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。在氮气下，将(Z)-7-氯-1-(4-甲氧基苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(0.344 g, 0.817 mmol)溶于干燥THF(8 mL)并冷却至 -78°C 。整份加入叔丁氧钾(0.119 g, 1.063 mmol)。将反应混合物搅拌5分钟，变为深红色。5分钟后，通过注射器滴加2-氯苄基溴(0.128 mL, 0.981 mmol)。在 -78°C 下，将该混合物搅拌1.5小时。然后移去冷浴。1小时后，用甲醇使反应停止，并用乙酸乙酯稀释。以水洗涤有机层(2×)然后用盐水洗涤并干燥(MgSO_4)。用25-30%乙酸乙酯的己烷溶液洗脱，得到(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(128 mg, 29%)。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 3.6-3.8(m, 2H) 3.7(s, 3H), 3.8(s, 3H), 3.9-4.0(m, 1H), 4.55(d, 1H), 5.7(d, 1H), 6.6(d, 2H), 6.8-6.9(m, 4H), 7.1-7.4(m, 8H), 7.6(dd, 1H); ESI m/z.

基于上述方法制备下列化合物。

(Z)-7-氯-5-(4-甲氧基苄基)-3-(3-溴苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 3.40(s, 3H), 3.45-3.55(m, 2H), 3.67(dd, 1H), 3.86(s, 3H), 6.91(d, 2H), 7.14(t, 1H), 7.25-7.3(m, 3H), 7.33(ddd, 1H), 7.45-7.55(m, 4H)。

(Z)-7-氯-5-(4-甲氧基苄基)-3-(3-甲基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 2.31(s,

3 H), 3.38 (s, 3 H), 3.5–3.6 (m, 2 H), 3.68 (dd, 1 H), 3.82 (s, 3 H), 6.88 (d, 2 H), 6.99 (m, 1 H), 7.1–7.2 (m, 3 H), 7.2–7.3 (m, 3 H + CHCl₃), 7.4–7.53 (m, 3 H)。

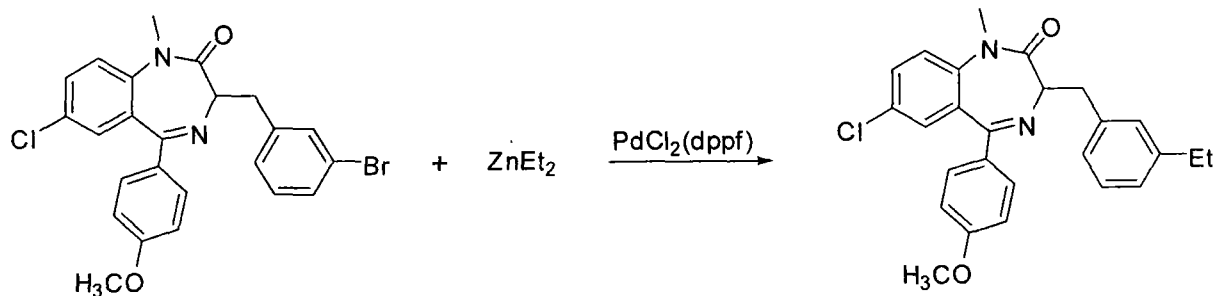
(Z)-7-氯-3-(3-异丙基苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.24/1.25 (2 重峰, 6 H), 2.88 (7 重峰, 1 H), 3.38 (s, 3 H), 3.5–3.6 (m, 2 H), 3.69 (t, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 6.89 (d, 2 H), 7.07 (dt, 1 H), 7.13 (dt, 1 H), 7.15–7.3 (m, 4 H; 包括 CHCl₃ 单峰), 7.47 (dd, 1 H), 7.52 (d, 2 H)。

(Z)-3-(4-异丙基苄基)-7-氯-5-(4-甲氧基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.23 (d, 6 H), 2.84 (7 重峰, 1 H), 3.39 (s, 3 H), 3.51 (m, 2 H), 3.69 (dd, 1 H), 3.85 (s, 1H), 6.89 (m, 2 H), 7.12 (m, 2 H), 7.26 (m, 4 H), 7.44–7.54 (m, 3 H)。

(Z)-3-(4-异丙基苄基)-7-氯-1-(4-甲氧基苄基)-5-(4-羟基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.15 (d, 6 H), 2.85 (7 重峰, 1 H), 3.25–3.45 (m, 3 H), 3.65 (s, 3 H), 3.75–3.85 (m, 4 H), 4.80 (d, 1 H), 5.45 (d, 1 H), 6.60 (m, 2 H), 6.85 (m, 2 H), 6.95 (m, 2 H), 7.0–7.3 (m, 6 H), 7.63 (dd, 1 H), 7.74 (d, 1 H)。

实施例 8.

由 C3-卤代芳烷基化合物合成 C3-烷基芳烷基化合物的代表性的
一般方法



(Z)-7-氯-3-(3-乙基苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。向搅拌和冷却(干冰/丙酮浴)下的(Z)-3-(3-溴苄基)-7-氯-5-(4-甲氧基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(1.21 g, 2.5 mmol)和 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ [0.22 g] 的干燥 THF(10 mL)溶液中加入 1 M Et_2Zn (9.3 mL, 10 mmol, 4 倍当量)。在加热至室温后, 将反应混合物在 50°C 下搅拌直至 HPLC 证明反应完全。在水处理后, 色谱法得到 0.95 g(收率的 88%)的标题产物。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 1.22(t, 3 H), 2.62(q, 2 H), 3.55(d, 2 H), 3.70(t, 1 H), 3.84(s, 3 H), 6.89(d, 2 H), 7.03(m, 1 H), 7.1-7.3(m, 5 H), 7.4-7.55(m, 3 H)。

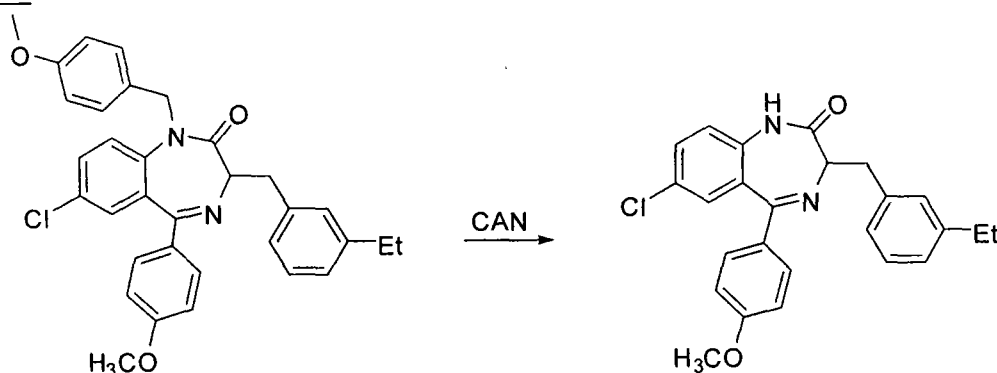
基于上述方法制备下列化合物:

(Z)-7-氯-3-(3-乙基苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 1.23(t, 3 H), 2.63(q, 2 H), 3.55-3.65(m, 2 H), 3.68(s, 3 H), 3.80(dd, 1 H), 3.83(s, 3 H), 4.59(d, 1 H), 5.63(d, 1 H), 6.61(d, 2 H), 6.85(d, 2 H), 6.88(d, 2 H), 7.04(dt, 1 H), 7.10(fine d, 1 H), 7.13-7.26(m, 5 H), 7.30(d, 1 H), 7.37(dd, 1 H)。

实施例 9。

酰胺氮原子脱保护的的代表性的一般方法。

方法 A:

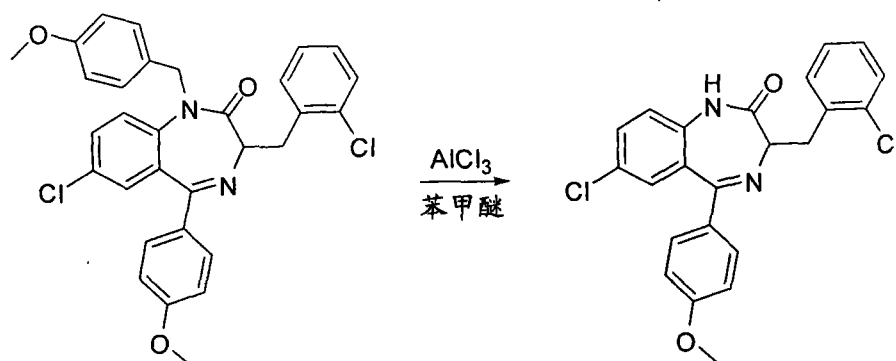


(Z)-3-(3-乙基苄基)-7-氯-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮。向 PMB-保护的苯二氮杂萘酮(1 g)的 MeCN(17 mL)和 H₂O(3 mL)溶液中加入硝酸铈(IV)铵(CAN)(7 g)。搅拌反应混合物,直至 TLC 显示反应完全,然后用水、EtOAc 和庚烷稀释。干燥有机层(Na₂SO₄),过滤并蒸发成粗固体。使用量逐渐增加的 DCM/EtOAc(1:1)的庚烷(至 25:25:50 DCM/EtOAc/庚烷)溶液进行色谱,得到 0.55 g(收率的 57%)的标题产物。¹H NMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.19(t, 3 H), 2.57(q, 2 H), 3.2-3.4(m, 2 H), 3.7-3.8(m, 4 H; 在 3.79 处包含 Ome 单峰), 7.0-7.1(m, 3 H), 7.1-7.35(m, 5 H), 7.39(d, 2 H), 7.71(dd, 1 H), 10.9(br s, 1 H)。

基于上述方法制备下列化合物:

(Z)-3-(4-异丙基苄基)-7-氯-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮。¹H NMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.15(d, 6 H), 2.85(7 重峰, 1 H), 3.25-3.38(m, 2 H), 3.8(br s, 4 H), 6.95-7.50(m, 10 H), 7.73(dd, 1 H), 10.9(s, 1H)。

方法B:



(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮。在氮气下将(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-甲氧基苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮(128 mg, 0.235 mmol)溶于苯甲醚(1 mL),整份加入AlCl₃(125 mg,

0.939 mmol)。将所得到的橙色溶液加热至85 °C 2小时。在将该混合物冷却至室温后，加入冰和乙酸乙酯，将该混合物搅拌30分钟。各层分段，用水，然后用盐水洗涤。用乙酸乙酯回提合并的水层，干燥合并的有机层(MgSO₄)，过滤并蒸发。残留物在硅胶上进行色谱，用5%，然后30% 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱，得到呈白色固体的(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-甲氧基苯基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮(99 mg, 99%)。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ 3.60-3.77(m, 2H), 3.84(s, 3H), 3.84-3.86(m, 1H), 6.88(dd, J = 7, 2 Hz, 2H), 7.08(d, J = 9 Hz, 1H), 7.15-7.33(m, 3H), 7.38(dd, J = 7, 2 Hz, 2H), 7.45(dd, J = 9, 2 Hz, 1H), 7.60(dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 8.59(s, 1H); ESI m/z 425.1.

实施例 10.

除去甲氧基保护基的代表性的一般方法。

方法 A:



(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。向(Z)-7-氯-5-(4-甲氧基苯基)-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮前体(0.6 g, 1.4 mmol)的CH₂Br₂(20 mL)溶液中加入 EtSH(7 mL)，然后加入 AlBr₃(1.7 g, 6.3 mmol, 4.5 倍当量)。将所得到的混合物搅拌过夜，然后用冰(20 g)处理，1小时后过滤。用50% DCM/庚烷研磨所得到的固体，然后真空干燥，得到呈淡黄色固体的445 mg(收率的80%)的(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ 2.31(s, 3 H), 3.25-3.45(m, 2 H), 3.73(dd,

1 H), 6.80 (d, 2 H), 7.02-7.18 (m, 3 H), 7.2-7.3 (m, 5 H), 7.64 (dd, 1 H), 10.0 (br s, 1 H), 10.7 (br s, 1 H)。MS, m/z 391.7 [M+1]。

基于上述方法制备下列化合物:

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(2-甲基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 2.32 (s, 3 H), 3.3-3.5 (m, 5 H; 在 3.36 处包含 NMe 的单峰), 3.90 (t, 1 H), 6.87 (d, 2 H), 7.05-7.15 (m, 3 H), 7.20 (m, 1 H), 7.29 (fine d, 1 H), 7.35 (d, 2 H), 7.65 (d, 1 H), 7.78 (dd, 1H), 9-11 (br s, 1 H)。MS, m/z 405.3 [M+1]。

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-甲基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 2.28 (s, 3 H), 3.2-3.4 (m, 2 H; 包含水的信号), 3.63 (t, 1 H), 6.79 (d, 2 H), 7.00 (d, 1H), 7.05-7.15 (m, 3 H), 7.20 (m, 1 H), 7.29 (fine d, 1 H), 7.31 (d, 2 H), 7.62 (dd, 1H), 9.95 (s, 1 H), 10.61 (s, 1 H)。MS, m/z 391.7 [M+1]。

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-甲基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 2.25 (s, 3 H), 3.25-3.45 (m, 5 H; 在 3.35 处包含 NMe 的单峰), 3.83 (t, 1 H), 6.87 (d, 2 H), 6.99 (d, 1 H), 7.05-7.2 (m, 3 H), 7.28 (fine d, 1 H), 7.38 (d, 2 H), 7.63 (d, 1 H), 7.77 (dd, 1H), 10.2 (br s, 1 H)。MS, m/z 405.3 [M+1]。

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-甲基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 2.23 (s, 3 H), 3.2-3.4 (m, 3 H), 3.80 (m, 1 H), 6.86 (d, 2 H), 7.09 (d, 2 H), 7.23 (d, 2 H), 7.25-7.35 (m, 4 H), 7.71 (dd, 1 H), 10.3 (br s, 1 H), 10.9 (br s, 1 H)。MS, m/z 391.8 [M+1]。

(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-甲基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 2.24 (s,

3 H), 3.25-3.4 (m, 5 H; 在 3.34 处包含 NMe 的单峰), 3.82 (t, 1 H), 6.87 (d, 2 H), 7.07 (d, 2 H), 7.19 (d, 2 H), 7.28 (fine d, 1 H), 7.37 (d, 2 H), 7.63 (d, 1 H), 7.76 (dd, 1 H), 9.5-11 (br s, 1 H). MS, m/z 405.3 [M+1].

(Z)-7-氯-3-(2-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.14 (t, 3 H), 2.72 (q, 2 H), 3.30-3.40 (m, 2 H), 3.66 (m, 1 H), 6.77 (m, 2 H), 7.08-7.26 (m, 8 H), 7.60 (d, 1 H), 9.93 (s, 1 H), 10.66 (s, 1 H). MS, m/z 405.6 [M+1].

(Z)-7-氯-3-(2-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.11 (t, 3 H), 2.69 (q, 2 H), 3.34 (m, 2 H), 3.74 (m, 1 H), 6.78 (m, 2 H), 7.08-7.32 (m, 7 H), 7.58 (d, 1 H), 7.67 (dd, 1 H), 9.98 (s, 1 H). MS, m/z 419.3 [M+1].

(Z)-3-(3-乙基苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.16 (t, 3 H), 2.57 (q, 2 H), 3.2-3.35 (m, 包含苄基质子和 H₂O 的信号), 3.60 (t, 1 H), 6.79 (d, 2 H), 7.02 (dt, 1 H), 7.07-7.31 (m, 7 H), 7.61 (dd, 1 H), 9.94 (s, 1 H), 10.62 (s, 1 H). MS, m/z 405.2 [M+1].

(Z)-3-(3-乙基苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.17 (t, 3 H), 2.57 (q, 2 H), 3.3-3.4 (m, 包含苄基质子和 NMe 的信号, 5 H), 3.81 (t, 1 H), 6.86 (d, 2 H), 7.02 (dt, 1 H), 7.08-7.20 (m, 3 H), 7.27 (fine d, 1 H), 7.38 (d, 2 H), 7.63 (d, 1 H), 7.73 (dd, 1 H), 9.5-11 (br s). MS, m/z 419.2 [M+1].

(Z)-3-(4-乙基苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.14 (t, 3 H), 2.58 (q, 2 H), 3.36-3.41 (m, 5 H), 3.95 (m, 1 H), 6.90 (m, 2 H), 7.10-7.42 (m, 7 H), 7.66 (d, 1 H), 7.83 (dd, 1 H), ~10.0 (br

s, 1H)。MS, m/z 419.3 [M+1]。

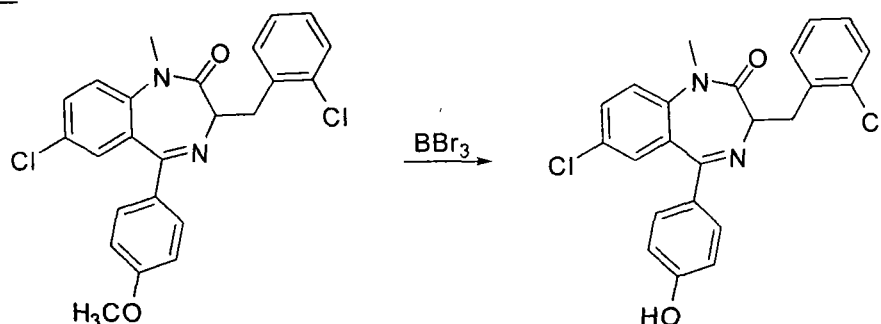
(Z)-3-(4-乙基苄基)-7-氯-5-(4-羟基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.14 (t, 3 H), 2.55 (q, 2 H), 3.21-3.68 (m, 2 H), 3.60 (m, 1 H), 6.79 (m, 2 H), 7.07-7.29 (m, 8 H), 7.60 (dd, 1 H), 9.94 (s, 1 H), 10.61 (s, 1 H)。MS, m/z 405.3 [M+1]。

(Z)-3-(3-异丙基苄基)-7-氯-5-(4-羟基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.18 和 1.21 (two d, 6 H), 2.84 (heptet, 1 H), 3.3-3.4 (m, 5 H; 在 3.34 处包含 NMe 的单峰), 3.82 (t, 1 H), 6.85 (d, 2 H), 7.0-7.3 (m, 5 H), 7.38 (d, 2 H), 7.64 (d, 1 H), 7.77 (dd, 1 H), 9-11 (br s, 1 H)。MS, m/z 433.2 [M+1]。

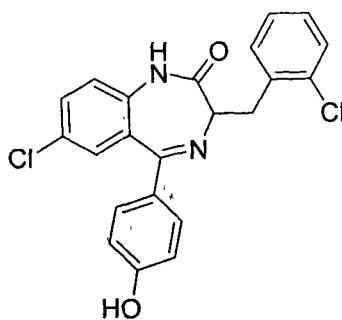
(Z)-3-(4-异丙基苄基)-7-氯-5-(4-羟基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.15 (d, 6 H), 2.82 (7 重峰, 1 H), 3.24-3.38 (m, 2 H), 3.63 (m, 1 H), 6.79 (m, 2 H), 7.10-7.30 (m, 8 H), 7.59 (dd, 1 H), 9.45 (s, 1 H), 10.61 (s, 1 H)。MS, m/z 419.3 [M+1]。

(Z)-3-(4-异丙基苄基)-7-氯-5-(4-羟基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.15 (d, 6 H), 2.84 (7 重峰, 1 H), 3.26-3.41 (m, 5 H), 3.77 (m, 1 H), 6.84 (m, 2 H), 7.10-7.40 (m, 7 H), 7.63 (d, 1 H), 7.73 (dd, 1 H), 10.2 (br s, 1 H)。MS, m/z 433.3 [M+1]。

方法 B:



(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。在氮气下,将(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-甲氧基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(230 mg, 0.524 mmol)溶于二氯甲烷(5 mL)并冷却至-78 °C。滴加三溴化硼(54 μ L 0.576 mmol)。混合物变橙色。将其保持在-78 °C下2小时,然后加热至室温。6小时后TLC表明已无反应。再加入相等量的三溴化硼。将反应混合物在室温下搅拌过夜。小心地加入水(2 mL),然后加入盐水(2 mL)。用二氯甲烷将水层萃取2次。用硫酸镁干燥合并的有机层,并蒸发溶剂。残留物在硅胶上进行色谱,用30-50% 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,得到呈黄色固体的(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.4 (s, 3H), 3.6-3.8 (m, 2H), 3.8-3.9 (m, 1H), 6.8 (d, 2H), 7.1-7.6 (m, 9H); ESI m/z 测定值425.0828 [M+H⁺], 计算值425.0824。



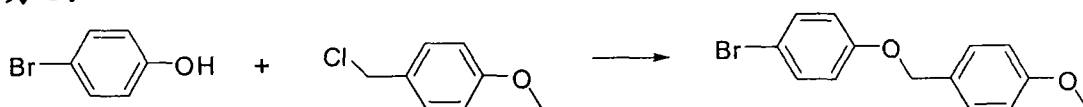
(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。在氮气下将(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-甲氧基苯基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(74 mg, 0.174 mmol)溶于二氯乙胺(1 mL),在室温下滴加BBr₃(1M,在二氯甲烷中,0.348 mL,0.348 mmol)(颜色立即从无色变为橙色)。反应混合物在室温下搅拌约5小时。再加入2倍当量的BBr₃的二氯甲烷溶液(0.348 mL,0.348 mmol),将混合物再搅拌约18小时。小心地用甲醇(放热)使反应停止,

然后用二氯甲烷稀释,并用水洗涤2次,然后用盐水洗涤1次(最后一次洗涤胶化,这样所加入的一些甲醇就分层)。干燥有机层(MgSO₄)。用20-40%乙酸乙酯的己烷溶液洗脱进行色谱,得到原料和呈黄色固体的(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(40 mg, 56%)。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ 3.59-3.89(m, 3H), 6.30(br s, 1H), 6.71(d, J = 8 Hz, 2H), 7.09-7.32(m, 4H), 7.44(dd, J = 9, 2 Hz, 1H), 7.58(d, J = 7 Hz, 1H), 9.13(s, 1H); ESI m/z 411.0。

实施例 11.

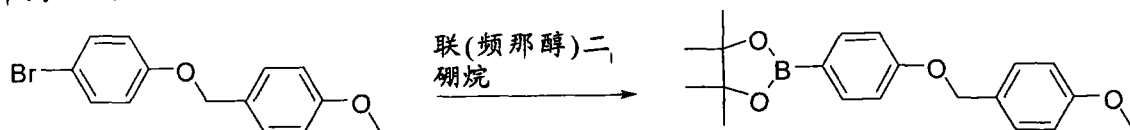
经溴-4-(烷氧基苄氧基)芳基和 5-氯苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮的钯偶合合成 C5-羟基苯基取代的苯二氮杂革的代表性的一般方法。

部分 I:



1-溴-4-(4-甲氧基苄氧基)苯。将 4-溴苯酚(25.00 g, 145 mmol), 对甲氧基苄基氯(24.89 g, 159 mmol), 碘化钾(2.17 g, 14.45 mmol)和碳酸钾(39.9 g, 289 mmol)在丙酮(600 mL)中加热至回流 18 小时。然后将粗反应混合物冷却至室温,通过烧结玻璃漏斗过滤。真空浓缩滤液,在乙醇中将白色固体重结晶,得到呈白色固体的产物(33.44 g, 79%)。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ 3.80(s, 3H), 4.95(s, 2H), 6.85(d, 2H), 6.92(d, 2H), 7.32-7.40(m, 4H)。

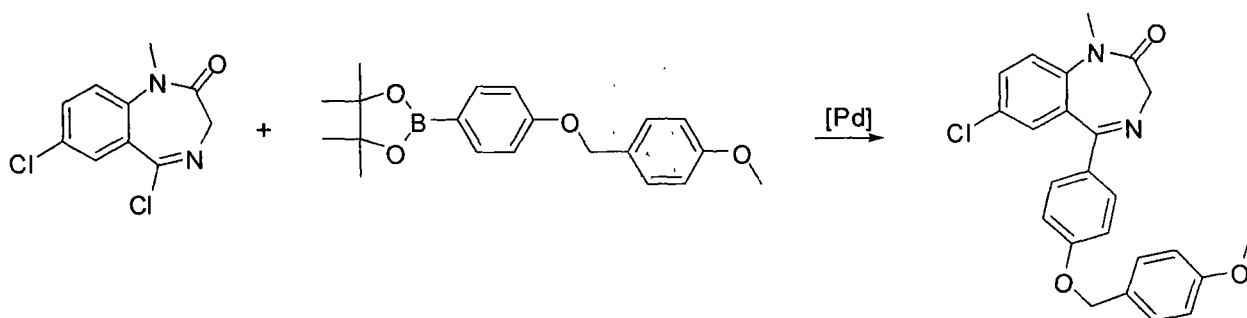
部分 II:



2-(4-(4-甲氧基苄氧基)苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环。1-溴-4-(4-甲氧基苄氧基)苯(10.00 g, 34.1 mmol)溶于二

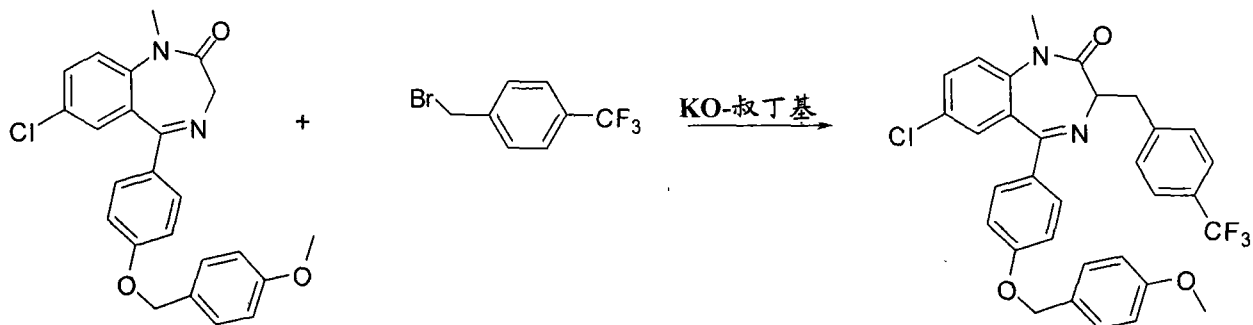
噶烷(250 mL), 并加入联(频那醇)二硼烷(11.26 g, 44.3 mmol), 和醋酸钾(10.04 g, 102 mmol)。将该混合物置于真空, 直至起泡, 然后引入氮气。将该除气过程重复两次, 然后加入四(三苯基膦)钯(0) (512 mg, 0.44 mmol), 然后将该反应加热至 90°C 3 小时。然后将该粗反应混合物冷却至室温, 然后用乙酸乙酯稀释, 用水, 然后用盐水洗涤该有机溶液, 然后用硫酸钠干燥, 并浓缩。通过硅胶塞过滤该粗残留物, 用 6: 4 乙酸乙酯: 己烷洗脱。然后浓缩滤液, 并用异丙醇(30 mL)洗涤, 过滤收集产物, 得到呈暗黄色固体的产物(9.85 g, 85%)。¹HNMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.34 (s, 12 H), 3.81 (s, 3H), 5.02 (s, 2H), 6.91 (d, 2H), 6.96 (d, 2H), 7.36 (d, 2H), 7.74 (d, 2H)。

部分III:

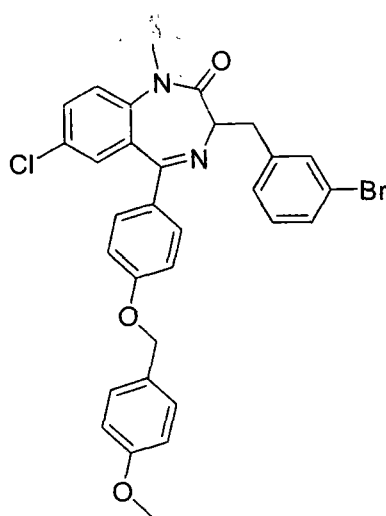


(Z)-7-氯-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。将(E)-5,7-二氯-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(5.00 g, 20.57 mmol), 氢氧化铯(6.91 g, 41.1 mmol), 和 2-(4-(4-甲氧基苄氧基)苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环(9.10 g, 26.7 mmol)溶于二噶烷/水(100 mL/30 mL), 将该混合物置于真空, 然后引入氮气。将该除气过程重复两次, 然后加入四(三苯基膦)钯(0) (475 mg, 0.41 mmol)。然后将该反应加热至 90°C 18 小时, 然后冷却至室温, 然后用乙酸乙酯稀释该粗混合物, 用水, 然后用盐水洗涤该有机溶液, 然后用硫酸钠干燥, 并浓缩。通过硅胶塞过滤该粗产物, 用 6: 4 乙酸乙酯: 己烷洗脱。浓缩滤液, 然后用甲基-叔丁基醚洗涤。过滤收集产物, 为淡黄色固体(5.13 g, 59%)。¹HNMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.36 (s, 3H), 3.73 (d, 1H), 3.81 (s,

3H), 4.77 (d, 1H), 5.03 (s, 2H), 6.91 (d, 2H), 6.98 (d, 2H), 7.27 (d, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.36 (d, 2H), 7.49 (dd, 1H), 7.55 (d, 2H)。

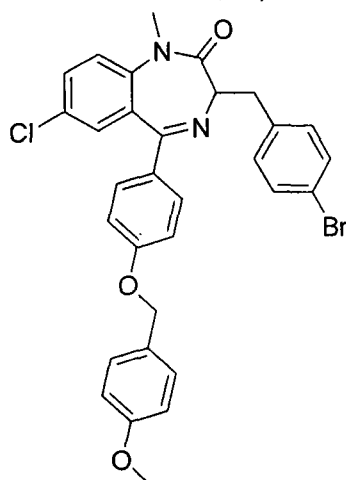


(Z)-7-氯-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苯基)-1-甲基-3-(4-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。在氮气大气下将 (Z)-7-氯-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮 (75 mg, 0.18 mmol) 溶于四氢呋喃 (4 mL)，将该溶液冷却至 -78°C 。滴加 1 M 叔丁氧钾的四氢呋喃 (267 μL , 0.267 mmol) 溶液，将该溶液搅拌 10 分钟。然后滴加 4-(三氟甲基)苄基溴 (64 mg, 0.267 mmol, 在 1 mL 四氢呋喃中的溶液)，然后移去冷却浴。将该反应在室温下搅拌 2 小时，然后用水使反应停止，混合物在水和乙酸乙酯之间分配。将水的部分再萃取到乙酸乙酯中，用硫酸钠干燥合并的有机萃取液，然后浓缩，通过色谱纯化 (梯度; 9:1 己烷: 乙酸乙酯至 6:4 己烷: 乙酸乙酯, 然后相等)，得到呈澄清残留物的产物 (50 mg, 49%)。

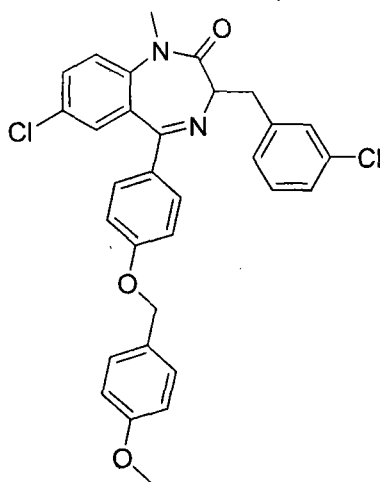


(Z)-3-(3-溴苄基)-7-氯-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。根据上述方法，由 3-溴苄基

溴得到呈无色固体的 (Z)-3-(3-溴苄基)-7-氯-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂茛-2(3H)-酮 (47 mg, 45%)。

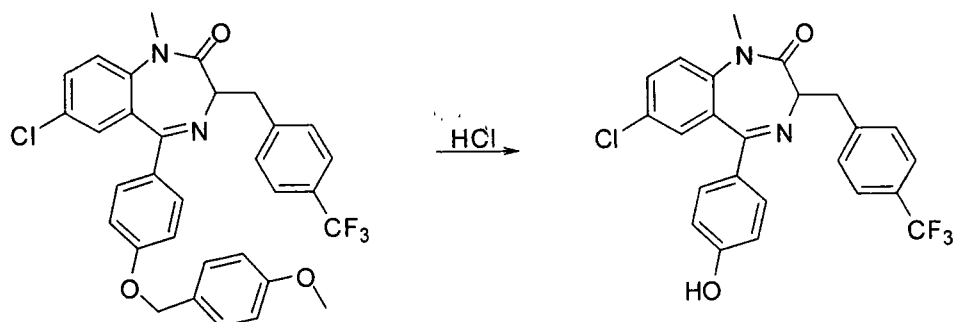


(Z)-3-(4-溴苄基)-7-氯-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂茛-2(3H)-酮。根据上述方法，由 4-溴苄基溴得到呈无色固体的 (Z)-3-(4-溴苄基)-7-氯-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂茛-2(3H)-酮 (22 mg, 21%)。



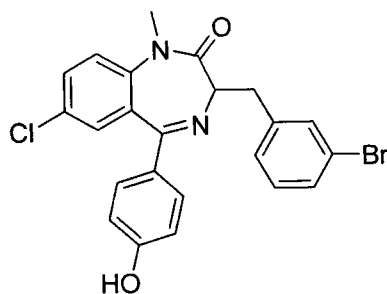
(Z)-7-氯-3-(3-氯苄基)-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂茛-2(3H)-酮。根据上述方法，由 3-氯苄基溴得到呈无色固体的 (Z)-7-氯-3-(3-氯苄基)-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂茛-2(3H)-酮 (24 mg, 25%)。

部分IV:

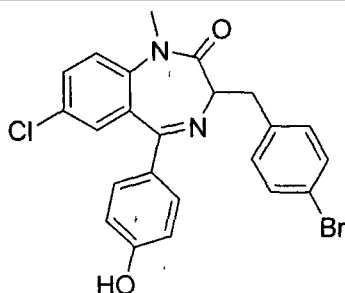


(Z)-7-氯-5-(4-羟基苄基)-1-甲基-3-(4-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。将(Z)-7-氯-5-(4-(4-甲氧基苄氧基)苄基)-1-甲基-3-(4-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮(50 mg, 0.086 mmol)溶于4 N HCl的二噁烷(3 mL)溶液并搅拌3小时。然后浓缩该溶液,在5 mL的二乙醚中处理。过滤收集产物,为嫩黄色固体(24.2 mg, 61%)。¹HNMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ 3.30(s, 3H), 3.32-3.43(m, 3H), 6.80(d, 2H), 7.22(d, 1H), 7.30-7.40(m, 2H), 7.50-7.78(m, 6H); ESI m/z 测定值 459.1078 [M+H⁺], 计算值 459.1087。

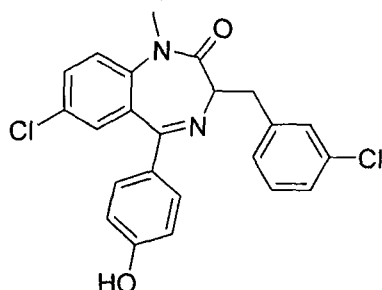
基于上述方法制备下列化合物:



(Z)-3-(3-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。获得呈黄色固体的产物(28.2 mg, 75%)。¹HNMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ 3.30-3.35(m, 5H), 3.82(t, 1H), 4.30-4.80(bs, 5H), 6.82(d, 2H), 7.18-7.26(m, 2H), 7.30-7.39(m, 4H), 7.55-7.63(m, 2H), 7.72(dd, 1H); ESI m/z 测定值 469.0314 [M+H⁺], 计算值 469.0318。



(Z)-3-(4-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。获得呈黄色固体的产物(7 mg, 40%)。¹HNMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ3.27-3.38(m, 5H), 6.80(d, 2H), 7.21-7.36(m, 5H), 7.42(d, 2H), 7.58(d, 1H), 7.70(dd, 1H); ESI m/z 测定值 469.0318 [M+H⁺], 计算值 469.0318.

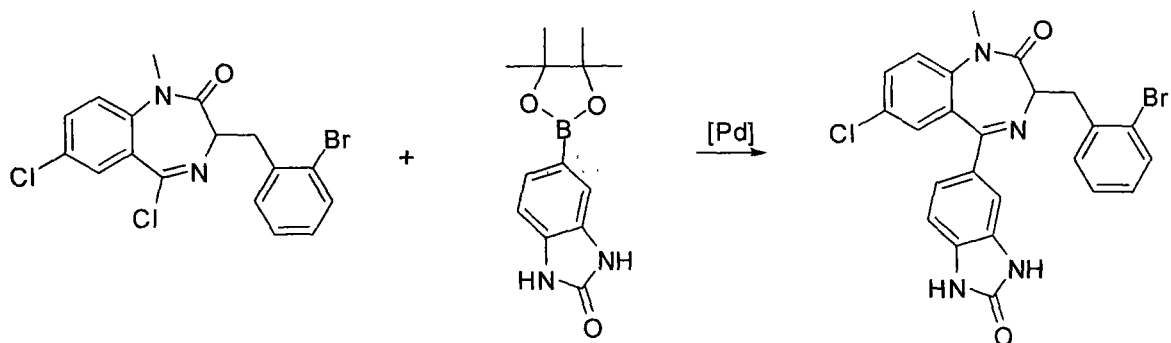


(Z)-7-氯-3-(3-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮。获得呈黄色固体的产物(4.5 mg, 24%)。¹HNMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ3.30-3.40(m, 5H), 4.70(q, 2H), 4.85(s, 1H), 6.82(d, 2H), 7.10-7.22(m, 2H), 7.29-7.50(m, 5H), 7.60(d, 1H), 7.70-7.80(m, 2H)。ESI m/z 测定值 425.1062 [M+H⁺], 计算值 425.0824.

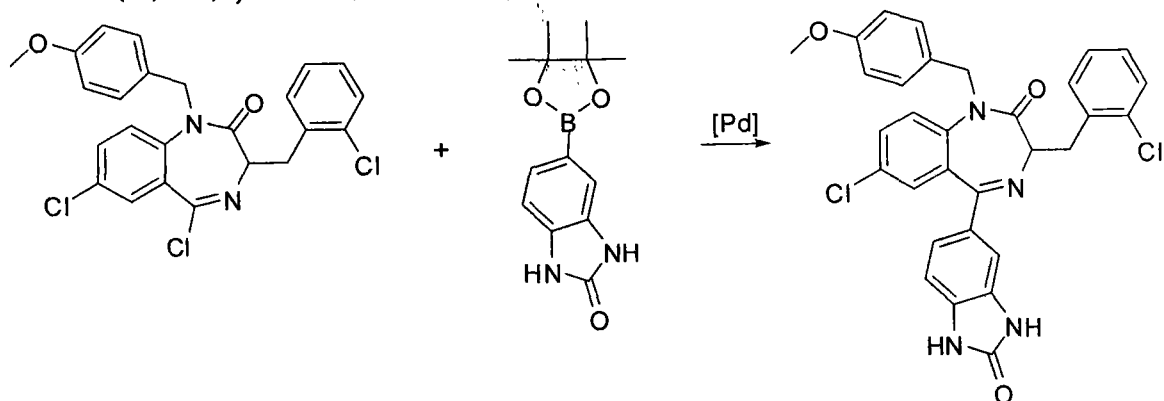
实施例 12.

合成苯并咪唑酮的代表性的一般方法。

部分 I:



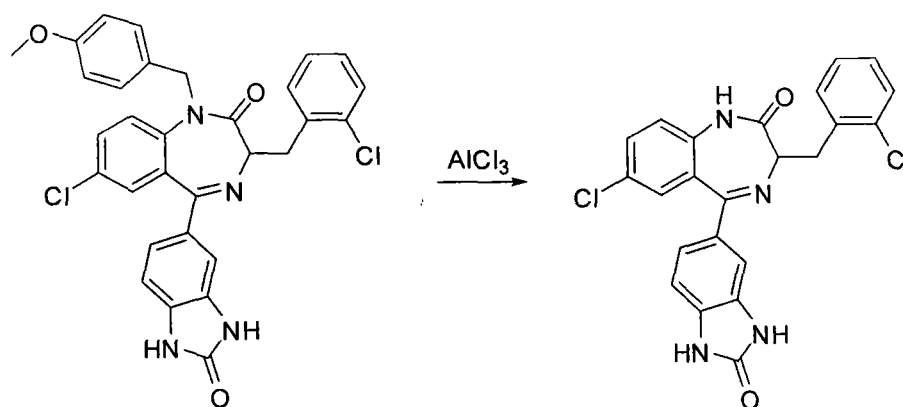
(Z)-3-(2-溴苄基)-7-氯-1-甲基-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮。将(E)-3-(2-溴苄基)-5, 7-二氯-1-甲基-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮(150 mg, 0.364 mmol), 5-(4, 4, 5, 5-四甲基-1, 3, 2-二氧硼戊环-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2(3H)-酮(95 mg, 0.364 mmol)和氯化锂(46 mg, 1.09 mmol)加入到1, 4-二噁烷(3 mL)中。随着试剂的加入, 氮气起泡进入该溶液。加入四(三苯基膦)钯(0)(42 mg, 0.036 mmol), 然后加入一水合氢氧化铯(183 mg, 1.09 mmol)和水(1 mL)。在氮气起泡5分钟后, 在氮气大气下将反应混合物加热至100 °C。在加热1小时后, 将反应混合物冷却至环境温度, 用乙酸乙酯(25 mL)稀释, 用水(2 x 20 mL), 然后用盐水(20 mL)洗涤, 用硫酸钠干燥, 然后倒出, 在硅石存在下浓缩。将干燥的与硅石结合的残留物干燥负载于硅胶柱上, 并用梯度60-100% 乙酸乙酯的己烷溶液, 然后用梯度为0-25%甲醇的乙酸乙酯溶液洗脱, 得到(Z)-3-(2-溴苄基)-7-氯-1-甲基-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮(35 mg, 19%)。¹H NMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ 3.32(s, 3H) 3.49(m, 2H), 3.82(t, 1H), 6.89-7.17(m, 3H), 7.28-7.71(m, 7H), 10.70(s, 1H), 10.87(s, 1H); ESI m/z 测定值509.0359 [M+H]⁺, 计算值509.0380。



(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮。将(E)-5, 7-二氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮(0.68 g, 1.44 mmol), 2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并咪唑-5-硼酸频那醇酯(0.37 g, 1.44 mmol)和氯化锂(0.183 g, 4.31

mmol)加入到 1, 4-二噁烷(12 mL)中。随着试剂的加入, 氮气起泡进入该溶液。加入四(三苯基膦)钼(0)(166 mg, 0.144 mmol), 然后加入一水合氢氧化铯(723 mg, 4.31 mmol)和水(1 mL)。在氮气起泡5分钟后, 在氮气大气下将反应混合物加热至 100 °C。在加热2小时后, 将反应混合物冷却至环境温度, 用乙酸乙酯(50 mL)稀释, 用水(2 x 40 mL), 然后用盐水(40 mL)洗涤, 用硫酸钠干燥, 然后倒出, 在硅石存在下浓缩。将干燥的与硅胶结合的残留物干燥负载于硅胶柱上, 并用梯度 0-100% 乙酸乙酯的己烷溶液, 洗脱, 得到(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮产物与 2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并咪唑-5-硼酸频那醇酯 2: 1 的混合物(200 mg, 24%)。ESI m/z 571.1, 573.1.

部分 II:



(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮。在氮气大气下将(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-1-(4-甲氧基苄基)-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1, 4]二氮杂萘-2(3H)-酮(200 mg, 0.35 mmol)溶于无水苯甲醚(4 mL), 加入氯化铝(280 mg, 2.1 mmol), 将该混合物加热至 85 °C 1小时。将该溶液冷却至环境温度, 倒到冰上, 用乙酸乙酯和水冲洗烧瓶。将该混合物搅拌10分钟。分离各层, 并用水层萃取乙酸乙酯。用盐水洗涤合并的有机层, 用硫酸钠干燥, 倒出

并在硅胶存在下浓缩。残留物在硅胶上进行色谱法,用70-100%乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,并转变为梯度0-10% 甲醇的乙酸乙酯溶液洗脱,得到(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-2(3H)-酮(70 mg, 44%)。¹H NMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ 3.46(d, 2H) 3.76(t, 1H), 6.90(m, 2H), 7.01(s, 1H) 7.21-7.64(m, 7H), 10.70(s, 1H), 10.74(s, 1H), 10.85(s, 1H); ESI m/z 测定值451.0736 [M+H⁺], 计算值451.0729。

实施例 13.

测定表 4 所列的化合物对于拉莫斯 (Ramos) 细胞中 F₁F₀-ATP 酶的活性和毒性。如 K. M. Johnson 等人, Chemistry & Biology 2005, 12, 485-496 所述测定对 ATP 合成和 F₁F₀-ATP 酶导致的水解的抑制。如 K. M. Johnson 等人, Chemistry & Biology 2005, 12, 485-496 所述或者如 Invitrogen(Carlsbad, CA) 提供和所述 (U. S. 5,501,959), 使用荧光检测的 alamarBlue™ 分析来测定拉莫斯细胞中的细胞毒性。

表 4.

No.	化合物名称	化合物结构	ATP 酶 IC ₅₀	拉莫斯 细胞 EC ₅₀
1	(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2, 3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苄基)-3-异丙基脲		++	+++
2	(Z)-1-(4-(7-氯-2-氧代-3-(2-(三氟甲基)苄基)-2, 3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-基)苄基)-3-异丙基脲		++	+++

No.	化合物名称	化合物结构	ATP 酶 IC ₅₀	拉莫斯 细胞 EC ₅₀
3	(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氟苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-异丙基脲		++	++
4	(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-异丙基脲		++	+++
5	(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-甲基脲		++	++
6	(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-(2-(二甲基氨基)乙基)脲		+	+++
7	(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)脲		+++	+++
8	(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-环丙基脲		++	+++

No.	化合物名称	化合物结构	ATP 酶 IC ₅₀	拉莫斯 细胞 EC ₅₀
9	(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-(2-甲氧基乙基)脲		++	+++
10	(Z)-1-(4-(7-氯-3-(2-氯苄基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-(2-乙氧基乙基)脲		++	+++
11	(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-甲基脲		++	+++
12	(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-(2-(二甲基氨基)乙基)脲		++	+++
13	(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-(2,2,2-三氟乙基)脲		+++	+++
14	(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-环丙基脲		++	+++

No.	化合物名称	化合物结构	ATP 酶 IC ₅₀	拉莫斯 细胞 EC ₅₀
15	(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-(2-甲氧基乙基)脲		++	+++
16	(Z)-1-(4-(3-(2-溴苄基)-7-氯-2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-基)苯基)-3-(2-乙氧基乙基)脲		++	+++
17	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
18	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(2-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+	+
19	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
20	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(3-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+	+

No.	化合物名称	化合物结构	ATP 酶 IC ₅₀	拉莫斯 细胞 EC ₅₀
21	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
22	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(4-甲基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+	+
23	(Z)-7-氯-3-(2-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
24	(Z)-7-氯-3-(2-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	+
25	(Z)-7-氯-3-(3-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
26	(Z)-7-氯-3-(3-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
27	(Z)-7-氯-3-(4-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++

No.	化合物名称	化合物结构	ATP 酶 IC ₅₀	拉莫斯 细胞 EC ₅₀
28	(Z)-7-氯-3-(4-乙基苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
29	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(3-异丙基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
30	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-异丙基苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
31	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(4-异丙基苄基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
32	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-3-(2-(三氟甲基)苄基)-1-甲基-3-(2-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	++
33	(Z)-3-(2-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		++	+++
34	(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+++	++

No.	化合物名称	化合物结构	ATP 酶 IC ₅₀	拉莫斯 细胞 EC ₅₀
35	(Z)-3-(2-溴苄基)-7-氯-1-甲基-5-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		NA	++
36	(Z)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-3-(4-(三氟甲基)苄基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+++	++
37	(Z)-3-(3-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+++	++
38	(Z)-3-(4-溴苄基)-7-氯-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+++	++
39	(Z)-7-氯-3-(3-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1-甲基-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+	+
40	(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(4-羟基苯基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+++	++
41	(Z)-7-氯-3-(2-氯苄基)-5-(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-2(3H)-酮		+++	+++

+++对应于 $<5\mu\text{M}$, ++对应于 $5-10\mu\text{M}$, +对应于 $>10\mu\text{M}$, NA 是指无数据可用。

通过参考引入

本文所涉及的各个专利文献和科技文章的全部内容都出于所有目的通过参考引入。

等价

本发明可以以其他具体的方式实施而不脱离其精神或本质特征。因此,从各个方面认为上述实施方案是说明性的而不是限制本文所述的本发明。因此,本发明的范围如附属的权利要求而不是如上述说明所示,在权利要求等价的含义和范围内的所有改变都意欲包括其中。