



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105073117 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 18

(21) 申请号 201480009539. 1

(22) 申请日 2014. 02. 19

(30) 优先权数据

61/766, 387 2013. 02. 19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 08. 19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/017127 2014. 02. 19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/130534 EN 2014. 08. 28

(71) 申请人 西奈山伊坎医学院

地址 美国纽约州

(72) 发明人 迈克尔·奥尔迈尔

大卫·卡斯特里斯基

(74) 专利代理机构 北京润平知识产权代理有限公司 11283

代理人 严政 李婉婉

(51) Int. Cl.

A61K 31/542(2006. 01)

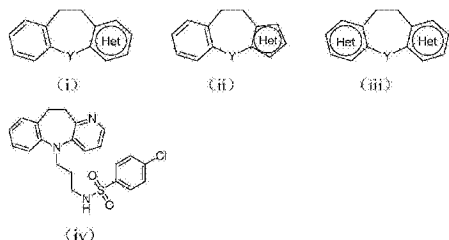
权利要求书11页 说明书49页

(54) 发明名称

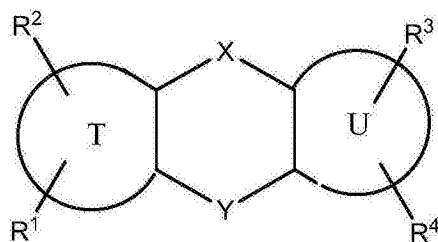
作为抗癌剂的三环杂环化合物

(57) 摘要

本发明公开了一种 FOXO 转录因子蛋白质的三环化学调节剂。该化合物能有效治疗癌症、年龄引发蛋白质毒性、压力引起的抑郁、炎症和痤疮。该化合物具有以下和类似的物类 (i)、(ii) 和 (iii), 其中, Het 为芳香族杂环且 Y 为多种侧链和环的连接点。这样的化合物的例子为 4-氯-N-(3-(10, 11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2, 3-f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺 (iv)。



1. 一种式 (I) 的化合物：



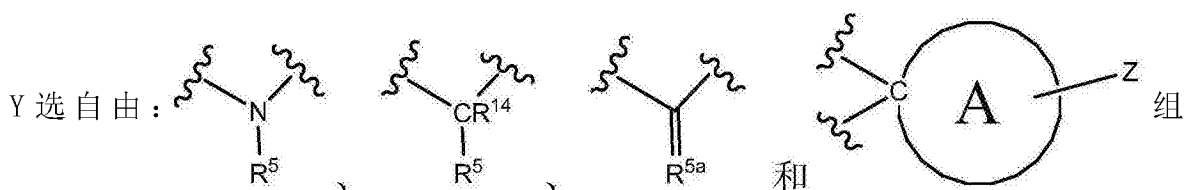
其中：

T 为苯环或五元或六元的杂芳环；

U 为苯环或五元或六元的杂芳环；

附带条件是 T 和 U 中至少一个是五元或六元的杂芳环；

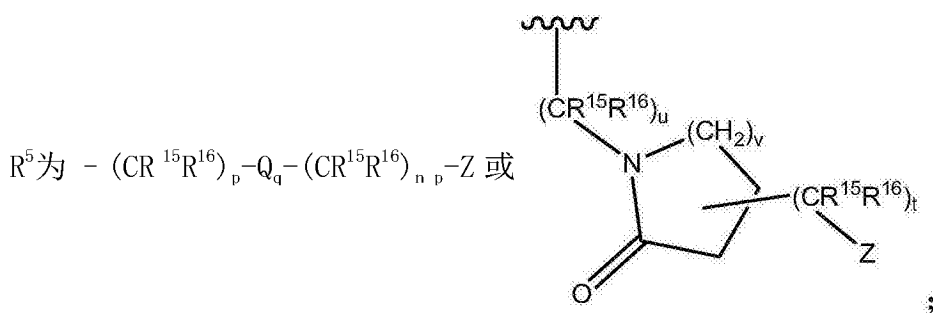
X 选自： $-S-$ 、 $-(CH_2-CH_2)-$ 和 $-CH=CH-$ 组成的组中；



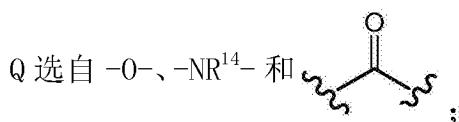
成的组中；

A 是附加在 Y 处作为螺环的 3-6 元的脂肪族碳环或杂环，并且 A 可以另外地被选自 OH、F、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基中的一种或两种取代基取代；

R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 独立地选自： H 、卤素、 $-N_3$ 、 $-NR^6R^7$ 、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_1-C_6) 卤代烷基、 $-OR^6$ 、 $-C(O)R^6$ 、 $-OC(O)R^6$ 、 $-C(O)NR^6R^7$ 、 $-C(O)OR^6$ 、 $-SR^6$ 、 $-SO_2R^6$ 和 $-SO_2NR^6R^7$ 组成的组中；



R^{5a} 为 $=CR^{14}(CR^{15}R^{16})_p-Q_q-(CR^{15}R^{16})_m-p-Z$ ；



R^6 和 R^7 各自独立地选自： H 和 (C_1-C_6) 烷基组成的组中；

R^{14} 为 H 或 (C_1-C_3) 烷基；

R^{15} 和 R^{16} ，在每次出现时独立地选自 H 、OH、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基，或者， R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 中的两个可以共同形成 3-7 元的杂环或非芳香碳环，其中，所述 3-7 元的碳环或杂环

可以另外地被选自 OH、F、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基中的一种或两种取代基取代；

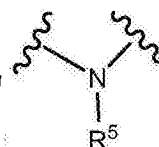
m 为 1 到 3 的整数；

n 为 2 到 4 的整数；

p 为 0、1 或 2；

q 为 0 或 1；

t 为 0、1 或 2；

u 为 0、1 或 2, 附带条件是当 Y 为  时, u 为 2；

v 为 1、2 或 3；

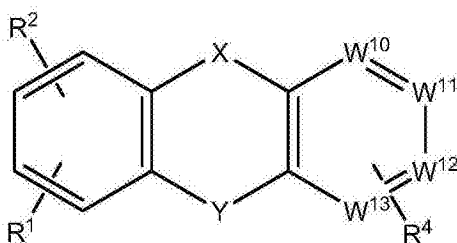
附带条件是当 q 为 0 且 R^{15} 和 R^{16} 在所有情况下都为 H 时, n 不为 4；

Z 选自由： $-\text{NHSO}_2R^{17}$ 、 $-\text{NHC}(O)NR^8R^9$ 、 $-\text{NHC}(O)OR^8$ 、 $-\text{S}(O)_2NR^8R^9$ ，取代或未取代的环状氨基甲酸酯，取代或未取代的环脲、环状酰亚胺和氰基胍组成的组中；

R^8 和 R^9 独立地选自 H、取代或未取代的 (C_1-C_6) 烷基、取代或未取代的 (C_3-C_7) 环烷基和取代或未取代的 (C_5-C_{14}) 芳基；以及

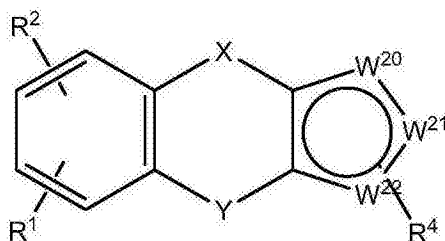
R^{17} 选自苯基和单环杂芳基，所述苯基和单环杂芳基任选地被选自 OH、卤素、氰基、硝基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 酰胺基、 (C_1-C_3) 烷基磺酰基、 (C_1-C_3) 烷基硫基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基中的一种或两种取代基取代。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中，所述化合物的结构式为



其中， W^{10} 、 W^{11} 、 W^{12} 和 W^{13} 各自独立地选自 N、CH 和 $C-R^3$ 。

3. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中，所述化合物的结构式为

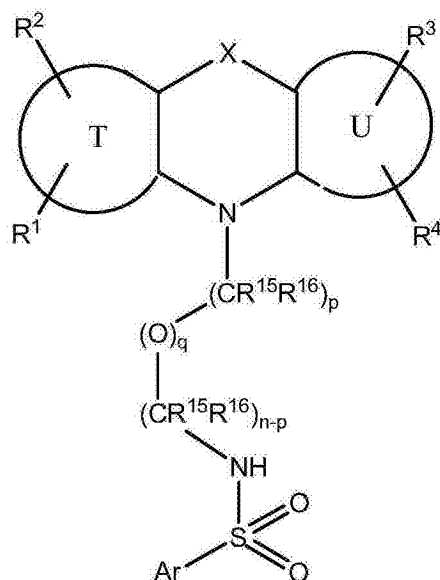


其中， W^{20} 、 W^{21} 和 W^{22} 各自独立地选自 S、O、NH、CH 和 $C-R^3$ 。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中，Z 选自由 $-\text{NHSO}_2R^{17}$ 、 $-\text{NHC}(O)NR^8R^9$ 和 $-\text{NHC}(O)OR^8$ 组成的组中。

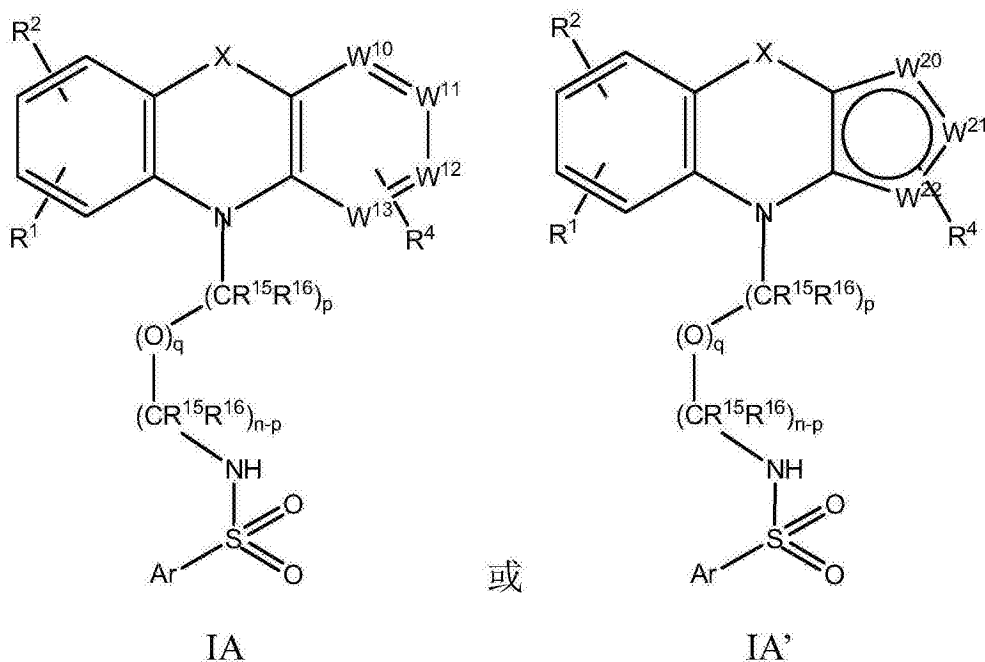
5. 根据权利要求 4 所述的化合物，其中，Z 为 $-\text{NHSO}_2R^{17}$ 。

6. 根据权利要求 5 所述的化合物，其中，所述化合物的结构式为：



其中, Ar 为取代或未取代的苯基、噻吩基、呋喃基或吡咯基。

7. 根据权利要求 6 所述的化合物, 其中, 所述化合物的结构式为:



其中,

W^{10} 、 W^{11} 、 W^{12} 和 W^{13} 各自独立地选自 N、CH 和 $C-R^3$;

W^{20} 、 W^{21} 和 W^{22} 各自独立地选自 S、O、NH、CH 和 $C-R^3$;

R^1 和 R^3 独立地选自由 :H 和 卤素组成的组中;

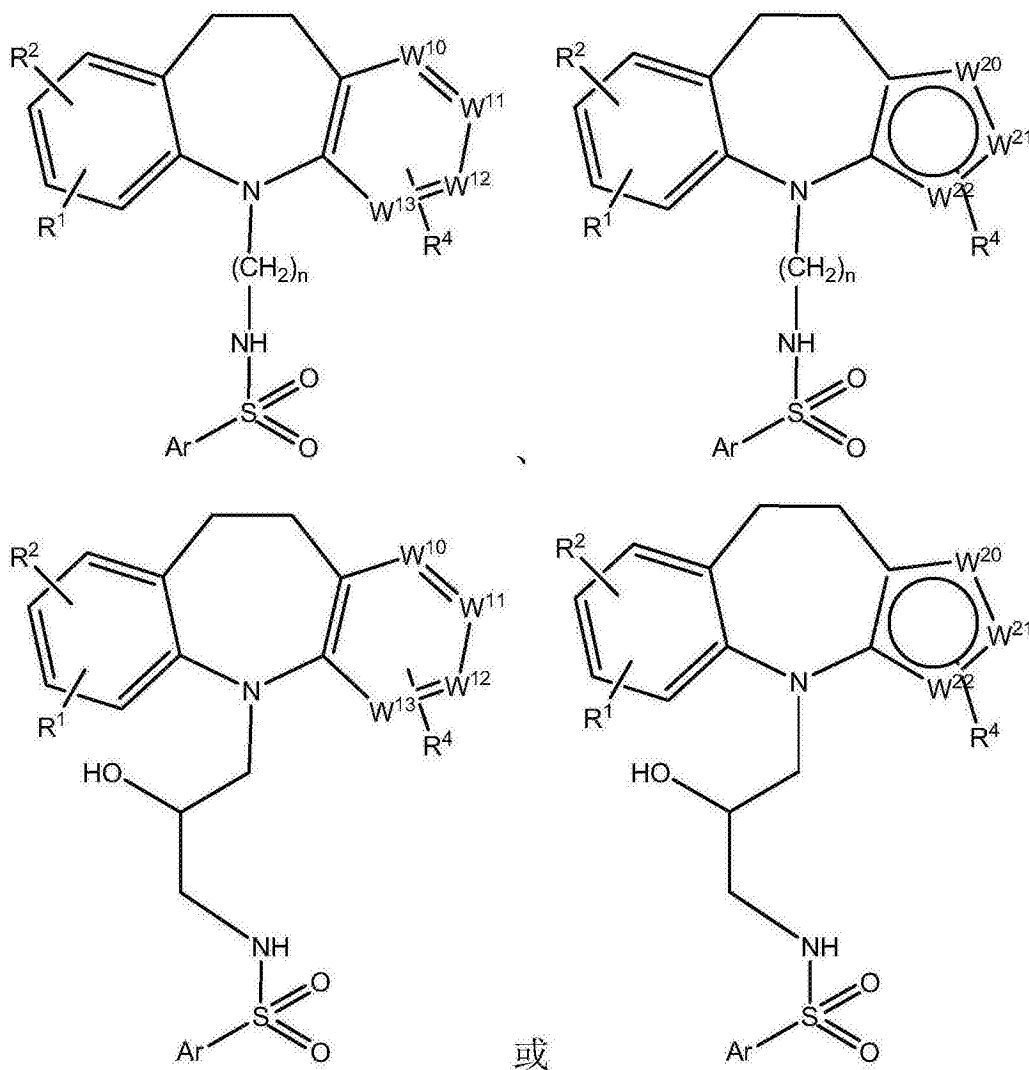
以及

R^2 和 R^4 为 H。

8. 根据权利要求 7 所述的化合物, 其中, X 为 $-CH=CH-$ 或 $-CH_2CH_2-$ 。

9. 根据权利要求 7 所述的化合物, 其中, p 和 q 都是零, R^{15} 为 H 且 R^{16} 选自 H 和 OH。

10. 根据权利要求 9 所述的化合物, 其中, 所述化合物的结构式为:



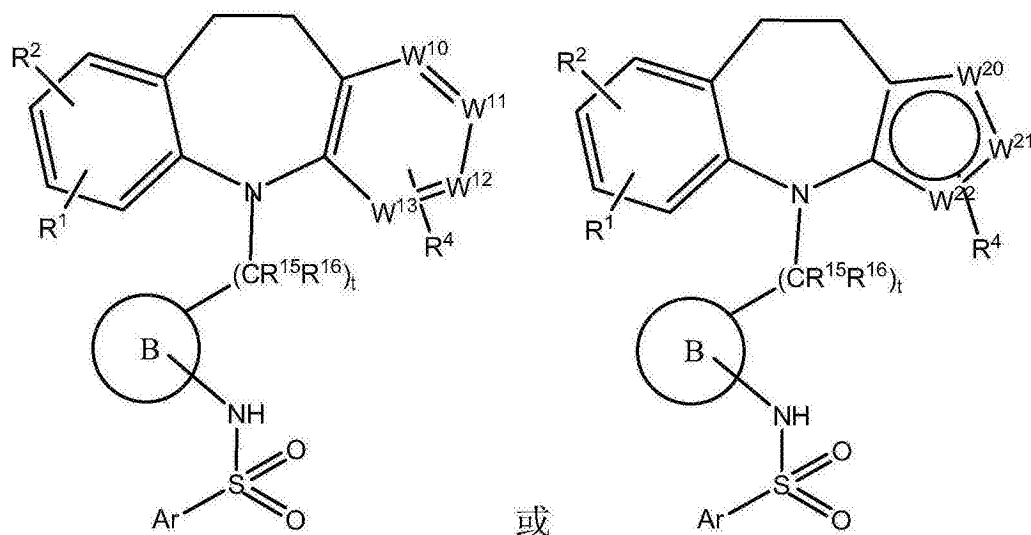
其中：

R^1 和 R^3 独立地选自由H和卤素组成的组中；

以及

R^2 和 R^4 为H。

11. 根据权利要求7所述的化合物，其中， R^{15} 或 R^{16} 两者共同形成3-7元的碳环或杂环B，其中，所述3-7元的碳环或杂环B可以另外地被选自OH、F、氰基、氨基、 $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ 烷基氨基、 $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ 二烷基氨基、 $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ 烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ 卤代烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ 卤代烷氧基和 $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ 烷氧基中的一种或两种取代基取代，所述化合物的结构式为：



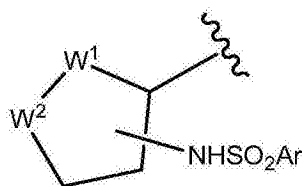
其中,

t 为 0、1 或 2 ;并且

Ar 为取代或未取代的苯基、噻吩基、呋喃基或吡咯基。

12. 根据权利要求 11 所述的化合物,其中,

(a) B 为以下结构式所示的五元环:



其中,在该五元环中:

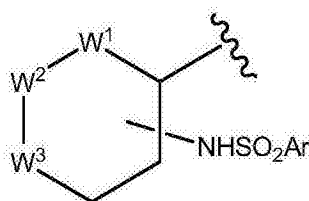
W^1 和 W^2 均为 $-\text{CH}_2-$,或

W^1 和 W^2 中一个为 $-\text{O}-$ 且另一个为 $-\text{CH}_2-$,或

W^1 和 W^2 中一个为 $-\text{CH}(\text{OH})-$ 且另一个为 $-\text{CH}_2-$,

并且一个 CH_2 基团上的一个 H 被芳基磺酰胺取代 ;或

(b) B 为以下结构式所示的六元环:



其中,在该六元环中:

W^1 、 W^2 和 W^3 均为 $-\text{CH}_2-$,或

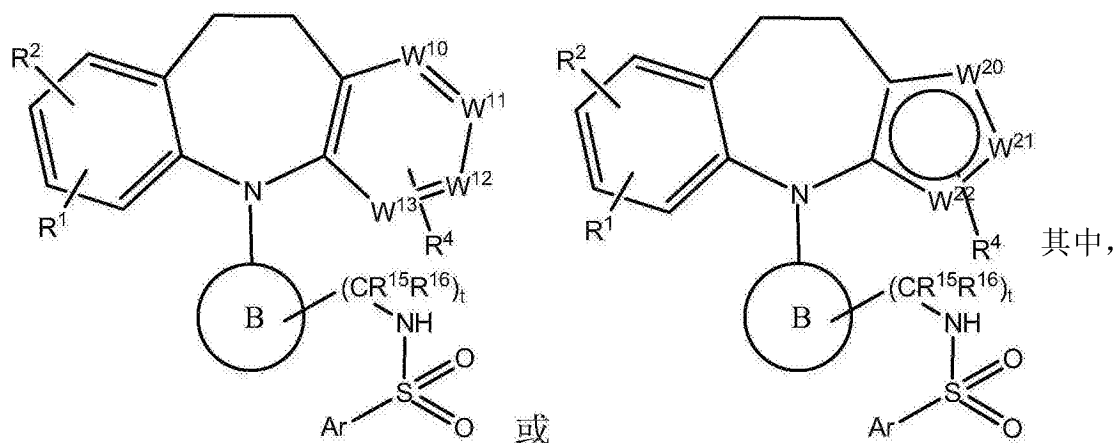
W^1 、 W^2 和 W^3 中一个为 $-\text{O}-$ 且另两个为 $-\text{CH}_2-$,或

W^1 、 W^2 和 W^3 中一个为 $-\text{CH}(\text{OH})-$ 且另两个为 $-\text{CH}_2-$,

并且一个 CH_2 基团上的一个 H 被芳基磺酰胺取代。

13. 根据权利要求 7 所述的化合物,其中, R^{15} 或 R^{16} 两者共同形成 3-7 元的碳环或杂环 B,其中,所述 3-7 元的碳环或杂环 B 可以另外地被选自 OH、F、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基

中的一种或两种取代基取代,所述化合物的结构式为:

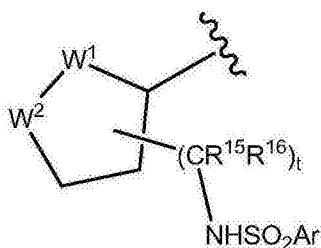


t 为 0、1 或 2 ;并且

Ar 为取代或未取代的苯基、噻吩基、呋喃基或吡咯基。

14. 根据权利要求 13 所述的化合物,其中,

(a) B 为以下结构式所示的五元环:



其中,在该五元环中:

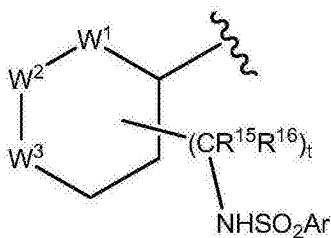
W¹和 W²均为 -CH₂-,或

W¹和 W²中一个为 -O- 且另一个为 -CH₂-,或

W¹和 W²中一个为 -CH(OH)- 且另一个为 -CH₂-,

并且一个 CH₂基团上的一个 H 被芳基磺酰胺取代 ;或

(b) B 为以下结构式所示的六元环:



其中,在该六元环中:

W¹、W²和 W³均为 -CH₂-,或

W¹、W²和 W³中一个为 -O- 且另两个为 -CH₂-,或

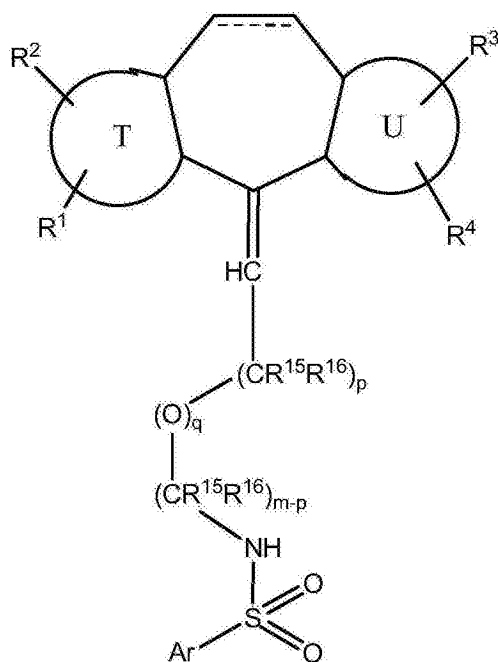
W¹、W²和 W³中一个为 -CH(OH)- 且另两个为 -CH₂-,

并且一个 CH₂基团上的一个 H 被芳基磺酰胺取代。

15. 根据权利要求 7-14 中任意一项所述的化合物,其中,Ar 为苯基或噻吩基,任选地被选自 (C₁-C₃) 烷基、卤素、氰基、硝基、(C₁-C₃) 卤代烷基、(C₁-C₃) 烷基磺酰基、(C₁-C₃) 卤代烷

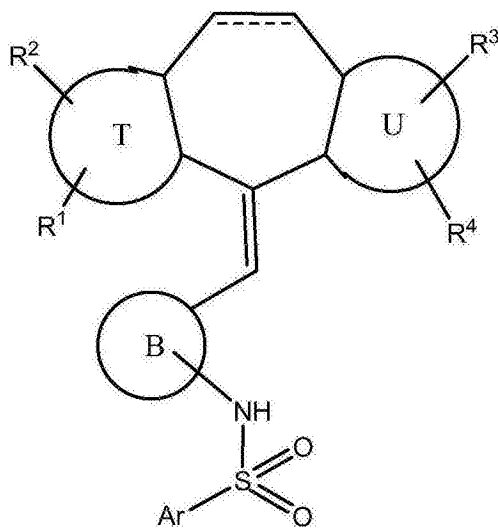
氧基和乙酰氨基中的一种或两种取代基取代。

16. 根据权利要求 1 所述的化合物,其中,所述化合物的结构式为:

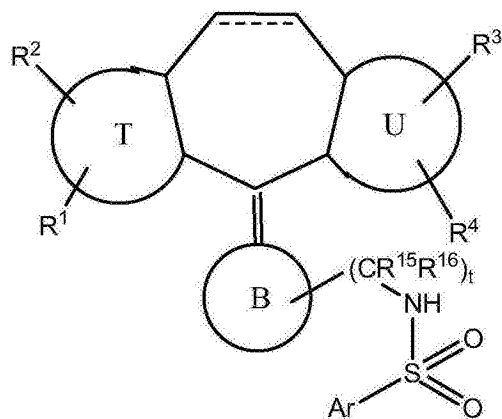


其中,Ar 为取代或未取代的苯基、噻吩基、呋喃基或吡咯基,并且虚线表示任选的双键。

17. 根据权利要求 16 所述的化合物,其中, R^{15} 或 R^{16} 两者共同形成 3-7 元的碳环或杂环 B,其中,所述 3-7 元的碳环或杂环 B 可以另外地被选自 OH、F、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基中的一种或两种取代基取代,所述化合物的结构式为:



18. 根据权利要求 1 所述的化合物,其中, R^{14} 或 R^{15} 两者共同形成 3-7 元的碳环或杂环 B,其中,所述 3-7 元的碳环或杂环 B 可以另外地被选自 OH、F、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基中的一种或两种取代基取代,所述化合物的结构式为:



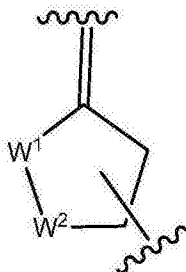
其中，

t 为 0、1 或 2；并且

Ar 为取代或未取代的苯基、噻吩基、呋喃基或吡咯基。

19. 根据权利要求 18 所述的化合物，其中，

(a) B 为以下结构式所示的五元环：



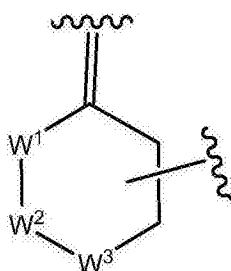
其中：

W^1 和 W^2 均为 $-\text{CH}_2-$ ；或

W^1 和 W^2 中一个为 $-\text{O}-$ 且另一个为 $-\text{CH}_2-$ ；或

W^1 和 W^2 中一个为 $-\text{CH}(\text{OH})-$ 且另一个为 $-\text{CH}_2-$ ；或

(b) B 为以下结构式所示的六元环：



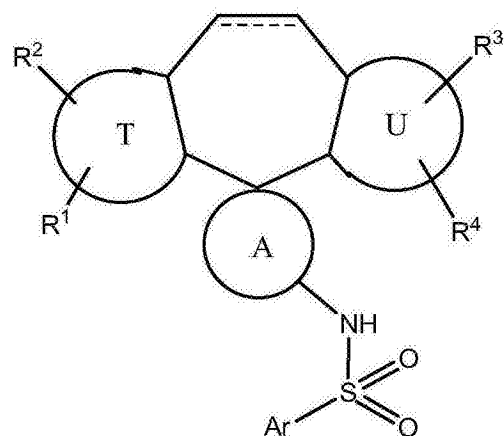
其中：

W^1 、 W^2 和 W^3 均为 $-\text{CH}_2-$ ；或

W^1 、 W^2 和 W^3 中一个为 $-\text{O}-$ 且另两个为 $-\text{CH}_2-$ ；或

W^1 、 W^2 和 W^3 中一个为 $-\text{CH}(\text{OH})-$ 且另两个为 $-\text{CH}_2-$ 。

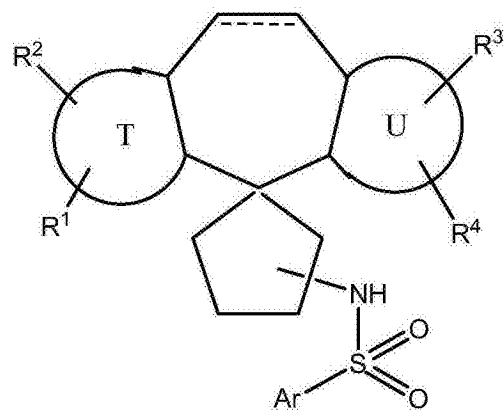
20. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中，所述化合物的结构式为：



其中, Ar 为取代或未取代的苯基、噻吩基、呋喃基或吡咯基, 并且虚线表示任选的双键。

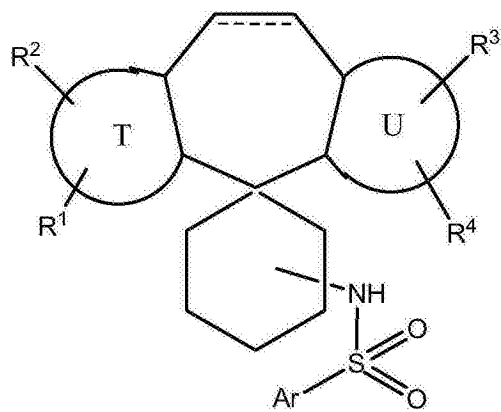
21. 根据权利要求 20 所述的化合物, 其中,

(a) A 为五元环, 所述化合物具有结构式:



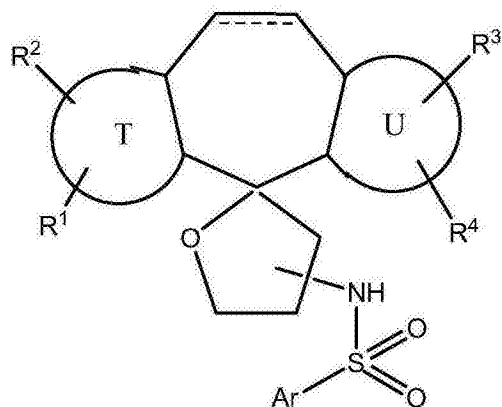
或

(b) A 为六元环, 所述化合物具有结构式:



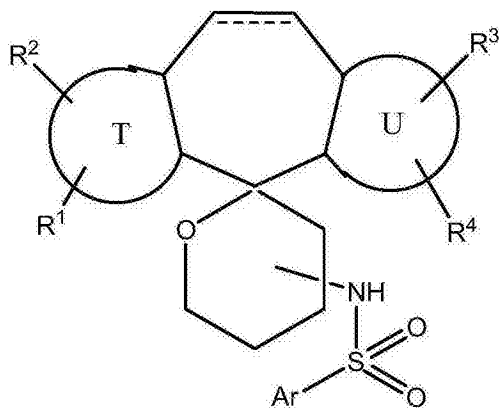
22. 根据权利要求 20 所述的化合物, 其中,

(a) A 为四氢呋喃, 所述化合物具有结构式:

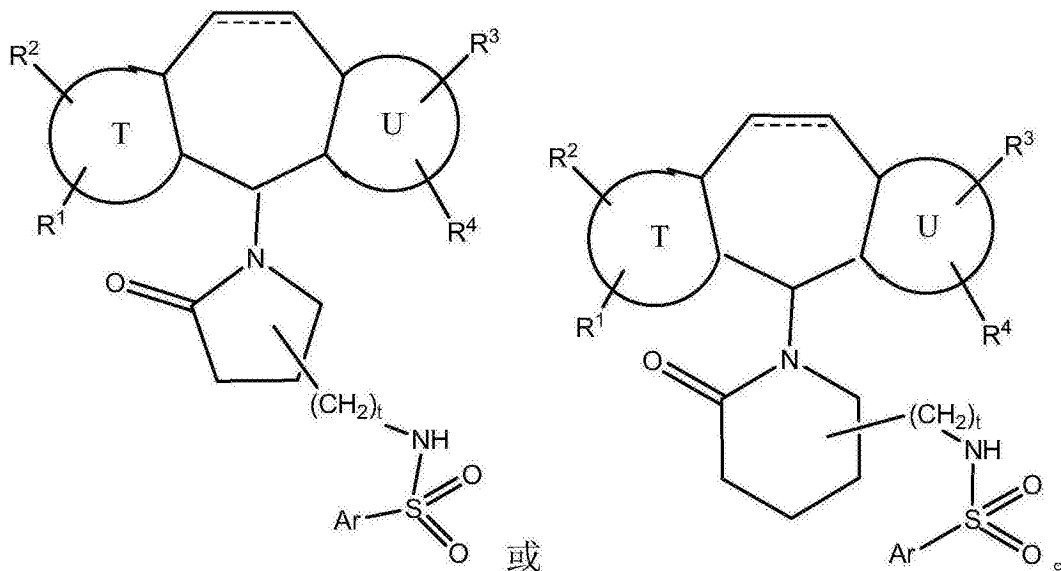


或

(b) A 为四氢吡喃, 所述化合物具有结构式:



23. 根据权利要求 3 所述的化合物的结构式为:



24. 根据权利要求 1-5、11-14、18、19 或 23 中任意一项所述的化合物, 其中, t 为零。

25. 根据权利要求 2 或 7-14 中任意一项所述的化合物, 其中, W^{10} 、 W^{11} 、 W^{12} 和 W^{13} 中一个为 N, 其余三个为 CH。

26. 根据权利要求 2 或 7-14 中任意一项所述的化合物, 其中, W^{10} 、 W^{11} 、 W^{12} 和 W^{13} 中两个为 N, 其余两个为 CH。

27. 根据权利要求 3 或 7-14 中任意一项所述的化合物, 其中, W^{20} 、 W^{21} 和 W^{22} 中一个为 S,

其余两个为 CH。

28. 根据权利要求 6-14 或 16-23 中任意一项所述的化合物,其中,Ar 为苯基或噻吩基,任选地被选自甲基、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、甲基磺酰基、三氟甲氧基和乙酰氨基中的一种或两种取代基取代。

29. 根据权利要求 28 所述的化合物,其中,Ar 为苯基,任选地在 3、4 或 5 号位被选自甲基、卤素、氰基、三氟甲基和三氟甲氧基中的一种或两种取代基取代;

R^1 和 R^3 独立地选自由 H 和卤素组成的组中;

以及

R^2 和 R^4 为 H。

30. 权利要求 1-14 或 16-23 中任意一项所述的化合物在医药中的应用。

31. 权利要求 1-14 或 16-23 中任意一项所述的化合物在治疗选自以下疾病中的应用:

- (a) 癌症
- (b) 糖尿病
- (c) 自体免疫性疾病
- (d) 年龄引发蛋白质毒性疾病
- (e) 情绪失调
- (f) 寻常痤疮
- (g) 实体器官移植排斥反应;
- (h) 移植物抗宿主病;和
- (i) 心脏肥大。

32. 根据权利要求 31 所述的治疗癌症的应用,其中,所述癌症选自由:卵巢癌、胰腺癌、肾细胞癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、肝细胞癌、神经胶质瘤、白血病、淋巴瘤、结直肠癌和肉瘤组成的组中。

33. 根据权利要求 32 所述的应用,其中,该方法进一步包括给药一种或多种癌症化疗剂。

34. 根据权利要求 33 所述的应用,其中,所述一种或多种癌症化疗剂为 EGFR 抑制剂。

35. 根据权利要求 34 所述的应用,其中,所述化疗剂为埃罗替尼或吉非替尼。

36. 权利要求 1-14 或 16-23 中任意一项所述的化合物在癌症治疗中恢复对一种或多种化疗剂的敏感性中的应用。

37. 根据权利要求 31 所述的治疗年龄引发蛋白质毒性疾病的应用,其中,所述疾病选自由:阿尔茨海默病、帕金森氏病、亨廷顿病和肌萎缩性侧索硬化症组成的组中。

38. 根据权利要求 31 所述的治疗移植物抗宿主病的应用。

39. 根据权利要求 31 所述的治疗自体免疫性疾病的应用,其中,所述疾病为炎症性肠病。

40. 一种药物组合物,包括药学上可接受的载体和根据权利要求 1-14 或 16-23 中任意一项所述的化合物。

作为抗癌剂的三环杂环化合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2013 年 2 月 19 日提交的美国临时申请 61/766,387 的优先权,通过引用将其所有内容并入本发明中。

技术领域

[0003] 本申请涉及三环杂环化合物(FOXO 转录因子蛋白质的调节剂)在治疗癌症、年龄引发蛋白质毒性疾病、压力引起的疾病、抑郁症、炎症和痤疮中的应用。

背景技术

[0004] FOXO(叉头(Forkhead)转录因子, O 类)蛋白是一类参与控制多种生理、代谢和发育途径的转录因子。它们是在多种信号通路(包括胰岛素和成长因子信号)中的下游效应分子;还受到氧化应激和营养不足的调控。细胞进程(Cellular processes),包括细胞周期控制、分化、增值和凋亡,受到 FOXO 活性的影响。FOXO 调控的过程的失调与一些病变相关,如肿瘤发生、炎症、糖尿病和其他病变中的神经退行性病症(neurodegenerative conditions)。FOXO 转录因子的活性被它们的亚细胞定位(尤其是它们从细胞质到细胞核的定位)和随后的转录激活部分地控制。

[0005] 四种指定为 FOXO1、FOXO3a、FOXO4 和 FOXO6 的 FOXO 蛋白存在于人类细胞中,并且它们的活性受各种机制的调控,包括稳定性(溶蛋白性裂解)、亚细胞定位和转录激活。该家族中前三种的活性,尤其是 FOXO1,是由胞核易位(cytosolic-nuclear translocation)所调控,其中细胞核 FOXO1 直接通过其靶基因的转录激活或者间接通过与其他转录因子的相互作用而发挥作用。

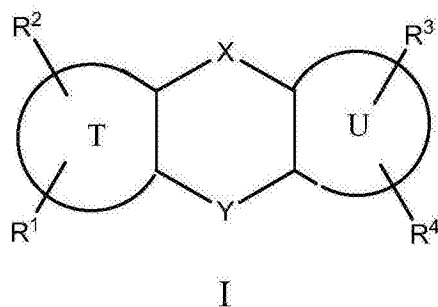
[0006] 本发明所描述的化合物,是基于三环骨架,具有抗增殖作用,可用作癌症治疗中的单药治疗剂。另外,它们可以与其他药物组合使用,以在耐药性已经建立的情况下恢复对化疗的敏感性。

发明内容

[0007] 三环类物质现在已经被发现能够诱导 FOXO1 转录因子易位到细胞核。本发明描述的化合物表现出抗增殖的作用,并且在多种疾病的治疗中是有用的,包括在癌症治疗中作为单药治疗剂,或与其他药物结合使用以在耐药性已经建立的情况下恢复对化疗的敏感性。

[0008] 在第一方面,本发明涉及式(I)的化合物:

[0009]



[0010] 其中：

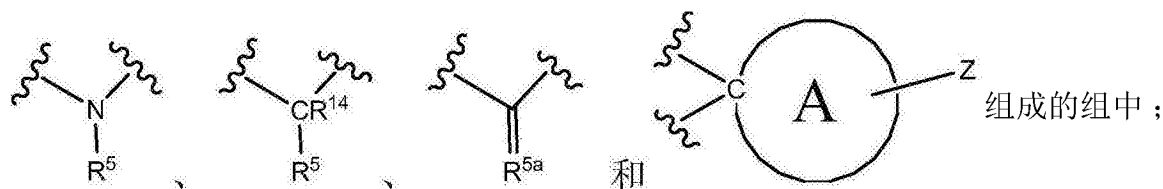
[0011] T 为苯环或五元或六元的杂芳环 (heteroaromatic ring)；

[0012] U 为苯环或五元或六元的杂芳环；

[0013] 附带条件是 T 和 U 中至少一个不是苯环；

[0014] X 选自自由： $-S-$ 、 $-(CH_2-CH_2)-$ 和 $-CH=CH-$ 组成的组中；

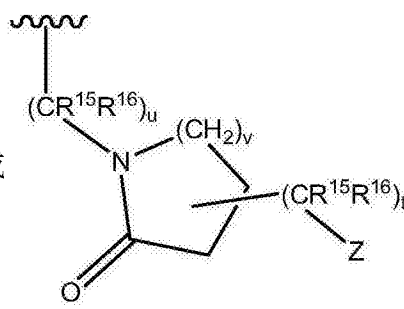
[0015] Y 选自自由：



[0016] A 是附加在 Y 处作为螺环 (spiro ring) 的 3-6 元的脂肪族碳环或杂环，并且 A 可以另外地被选自 OH、F、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基 (haloalkyl)、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基 (haloalkoxy) 和 (C_1-C_3) 烷氧基中的一种或两种取代基取代；

[0017] R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 独立地选自自由：H、卤素 (halo)、 $-N_3$ 、 $-NR^6R^7$ 、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_1-C_6) 卤代烷基、 $-OR^6$ 、 $-C(O)R^6$ 、 $-OC(O)R^6$ 、 $-C(O)NR^6R^7$ 、 $-C(O)OR^6$ 、 $-SR^6$ 、 $-SO_2R^6$ 和 $-SO_2NR^6R^7$ 组成的组中；

[0018] R^5 为 $-(CR^{15}R^{16})_p-Q_q-(CR^{15}R^{16})_n-p-Z$ 或



[0019] R^{5a} 为 $=CR^{14}(CR^{15}R^{16})_p-Q_q-(CR^{15}R^{16})_m-p-Z$ ；

[0020] Q 选自 $-O-$ 、 $-NR^{14}-$ 和 ；

[0021] R^6 和 R^7 各自独立地选自自由：H 和 (C_1-C_6) 烷基组成的组中；

[0022] R^{14} 为 H 或 (C_1-C_3) 烷基；

[0023] R^{15} 和 R^{16} ，在每次出现时独立地选自 H、OH、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基，或者，

R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 中的两个可以共同形成 3-7 元的碳环或杂环,其中,所述 3-7 元的碳环或杂环可以另外地被选自 OH、F、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基中的一种或两种取代基取代;

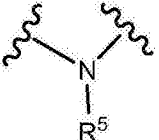
[0024] m 为 1 到 3 的整数;

[0025] n 为 2 到 4 的整数;

[0026] p 为 0、1 或 2;

[0027] q 为 0 或 1;

[0028] t 为 0、1 或 2;

[0029] u 为 0、1 或 2,附带条件是当 Y 为  时, u 为 2;

[0030] v 为 1、2 或 3;

[0031] Z 选自由: $-NHSO_2R^{17}$, $-NHC(O)NR^8R^9$, $-NHC(O)OR^8$, $-S(O)_2NR^8R^9$, 取代或未取代的环状氨基甲酸酯,取代或未取代的环脲(cyclic urea)、环状酰亚胺(cyclic imide)、氰基胍(cyanoguanidine)组成的组中;

[0032] R^8 和 R^9 独立地选自 H、取代或未取代的 (C_1-C_6) 烷基和取代或未取代的 (C_3-C_7) 环烷基;以及

[0033] R^{17} 选自苯基和单环杂芳基(monocyclic heteroaryl),所述苯基和单环杂芳基任选地被选自 OH、卤素、氰基、硝基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 酰胺基、 (C_1-C_3) 烷基磺酰基(alkylsulfonyl)、 (C_1-C_3) 烷基硫基(alkylthio)、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基中的一种或两种取代基取代。

[0034] 在第二方面,本发明涉及上述化合物在医药中的方法和应用,尤其是用于选自以下的疾病的治疗:(a) 癌症、(b) 糖尿病、(c) 自体免疫性疾病、(d) 年龄引发蛋白质毒性疾病(age onset proteotoxic disease)、(e) 情绪失调(mood disorder)、(f) 寻常痤疮(acne vulgaris)、(g) 实体器官移植排斥反应(solid organ transplant rejection)、(h) 移植抗宿主病(graft vs host disease)和(i) 心脏肥大(cardiac hypertrophy)。

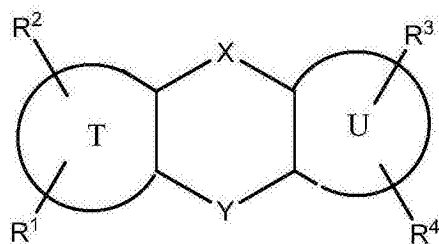
[0035] 在第三方面,本发明涉及含有上述化合物的药物组合物。

具体实施方式

[0036] 当被引入时取代基为常规的定义,并在整个说明书和所有的独立权利要求中保留该定义。

[0037] 在合成物方面,本发明涉及式(I)的化合物:

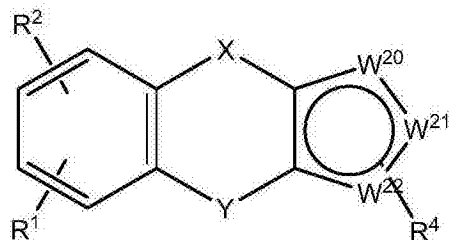
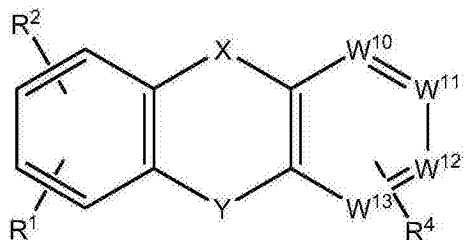
[0038]



I

[0039] 如上所述。结构式 I 的亚类包括下列物质：

[0040]

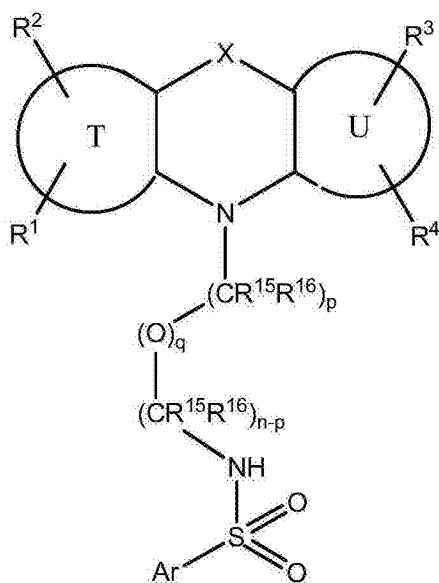


[0041] 其中 W^{10} 、 W^{11} 、 W^{12} 和 W^{13} 各自独立地选自 N、CH 和 $C-R^3$ ，并且 W^{20} 、 W^{21} 和 W^{22} 各自独立地选自 S、O、NH、CH 和 $C-R^3$ 。

[0042] 在一些亚类中，Z 选自 $-NHSO_2R^{17}$ 、 $-NHC(O)NR^8R^9$ 和 $-NHC(O)OR^8$ 。

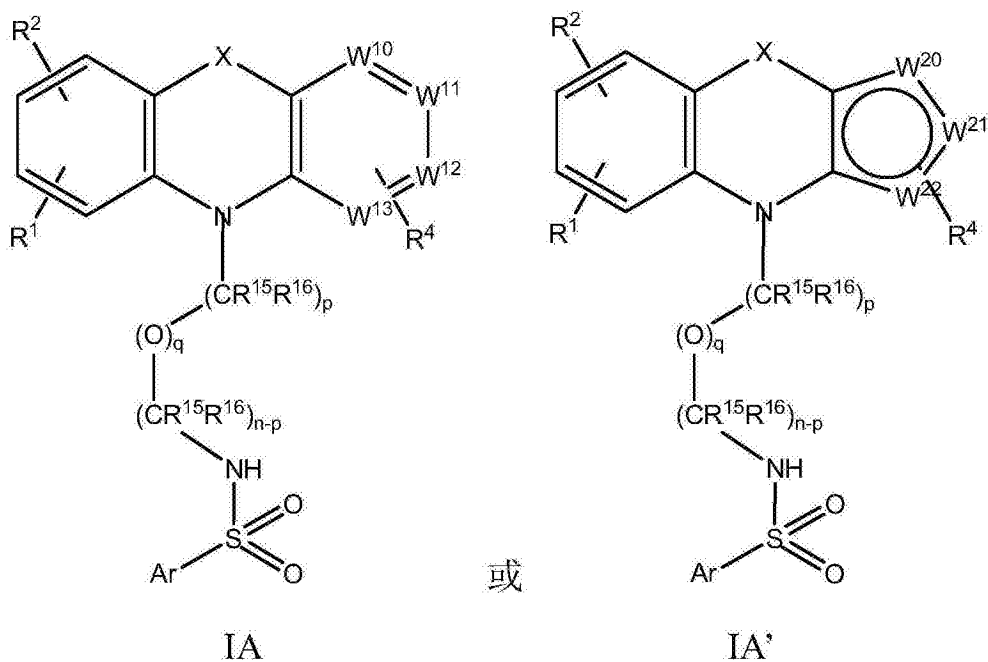
[0043] 在当 Z 为 $-NHSO_2R^{17}$ 的亚类中，某些化合物的结构式为：

[0044]



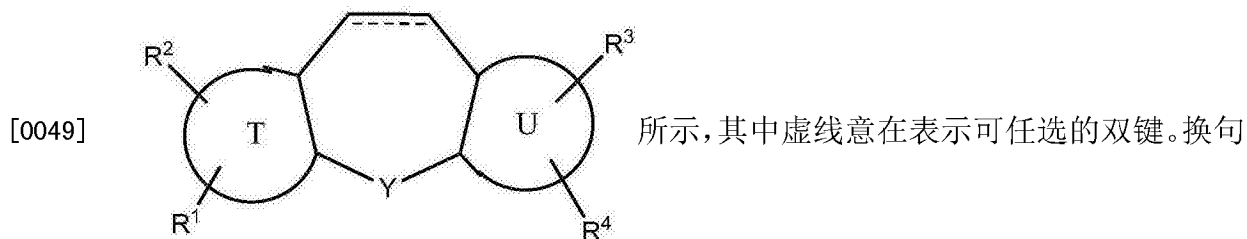
[0045] 其中 Ar 为取代或未取代的苯基、噻吩基、呋喃基或吡咯基。并且，特别地，它们可以为结构式 (IA) 或 (IA') 所示：

[0046]



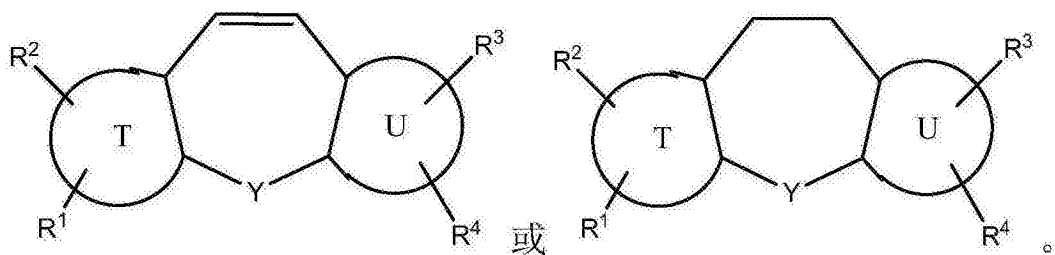
[0047] 其中 R^1 和 R^4 独立地选自 H 和卤素; 且 R^2 为 H。

[0048] 在某些实施方式中, X 为 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。它们的结构式如



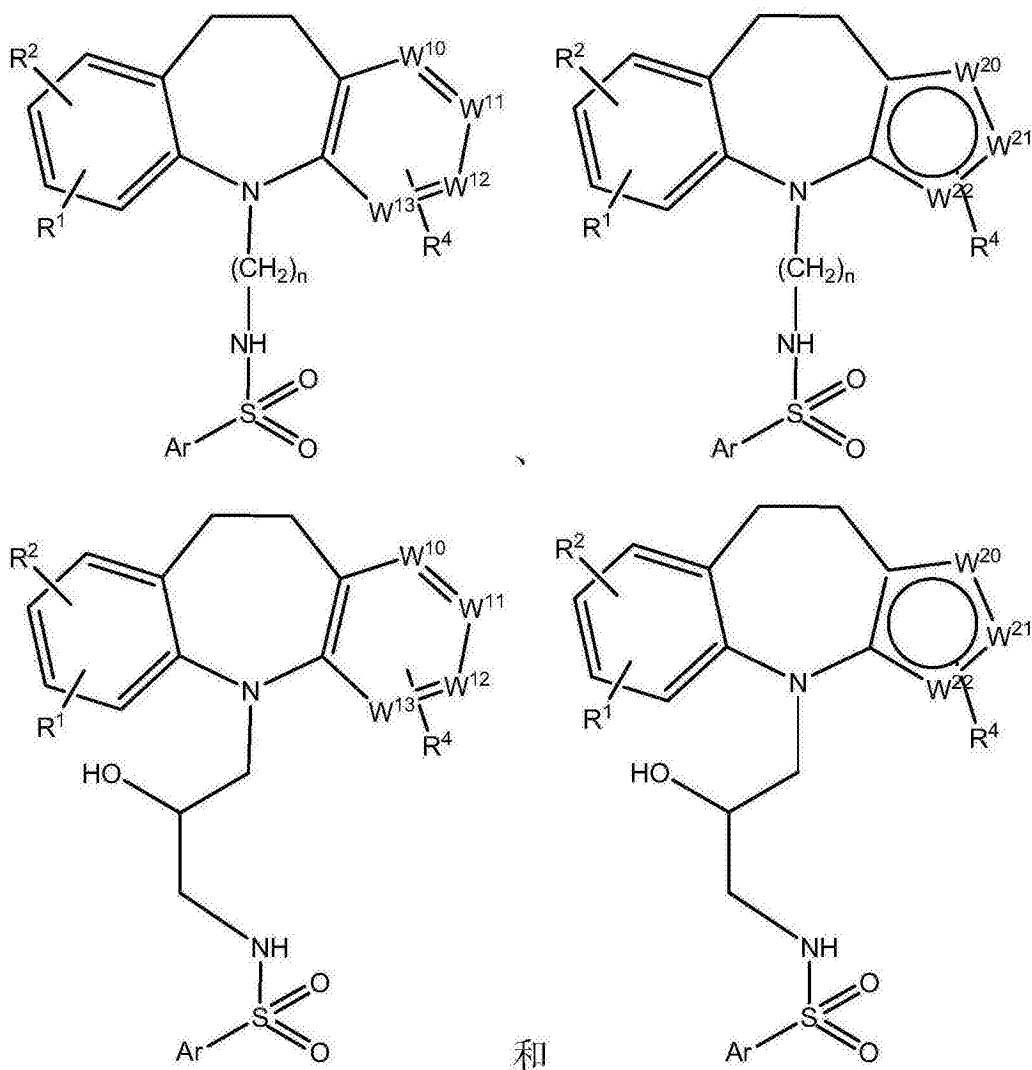
话说,前述结构式代表

[0050]



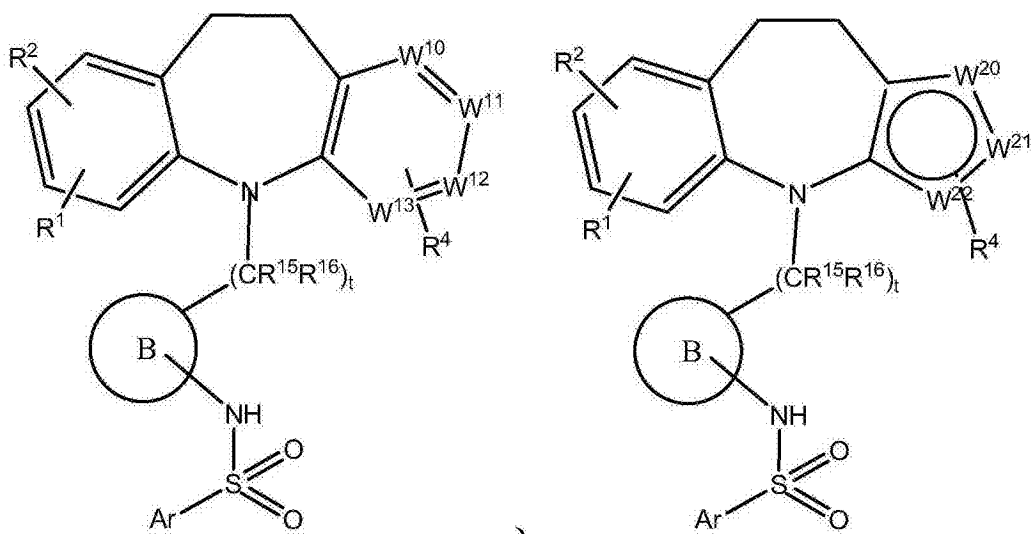
[0051] 在某些实施方式中, p 和 q 都是零, R^{15} 为 H 且 R^{16} 选自 H 和 OH。这样的亚类 (其中 Y 为 N) 的例子包括:

[0052]

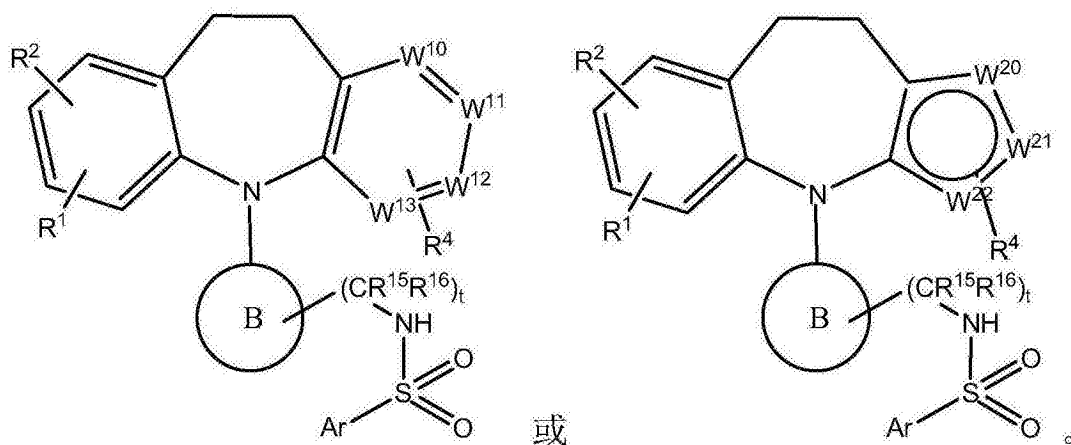


[0053] 该类物质的其他化合物 (其中 Z 为 $\text{-NHSO}_2\text{R}^{17}$ 且 Y 为 N) 是结构式如下所示的亚类:

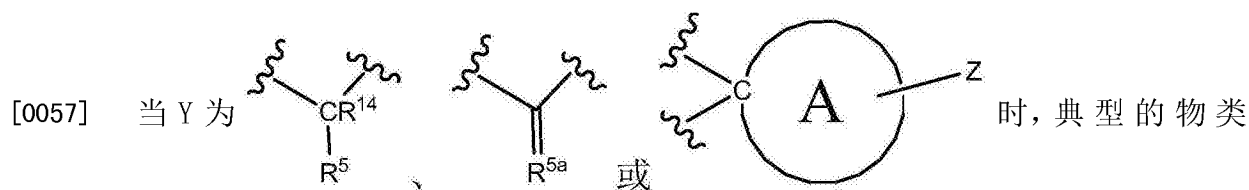
[0054]



[0055]

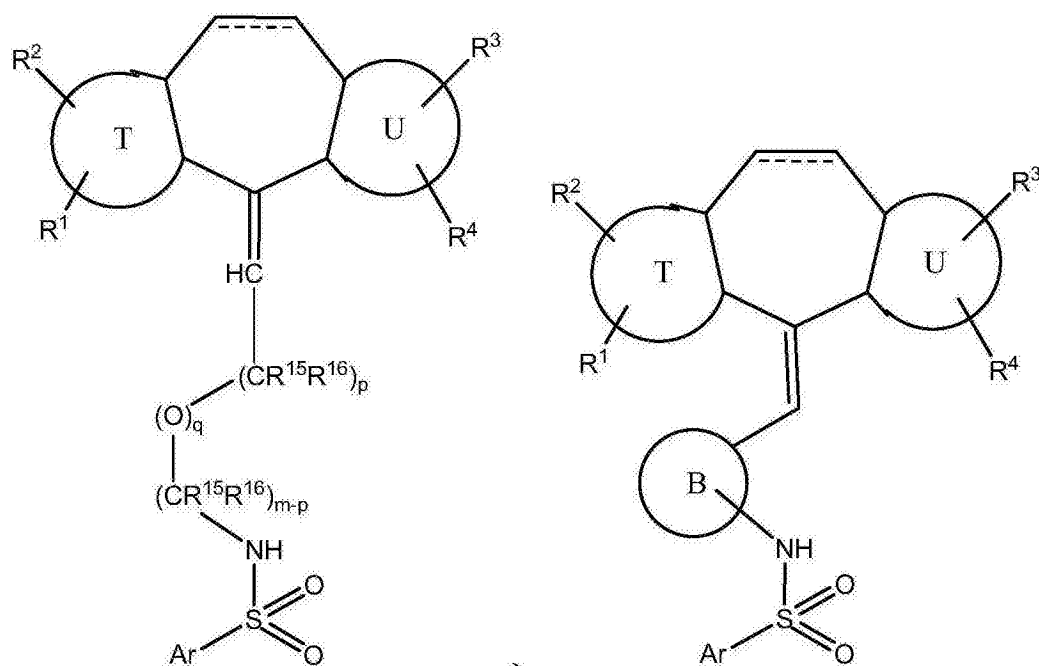


[0056] 在这些化合物中, B 为 3-7 元的碳环或杂环, 可以另外地被 OH、F、氰基、氨基、 (C_1-C_3) 烷基氨基、 (C_1-C_3) 二烷基氨基、 (C_1-C_3) 烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷基、 (C_1-C_3) 卤代烷氧基和 (C_1-C_3) 烷氧基中的一种或两种取代基取代。并且 t 为 0、1 或 2。

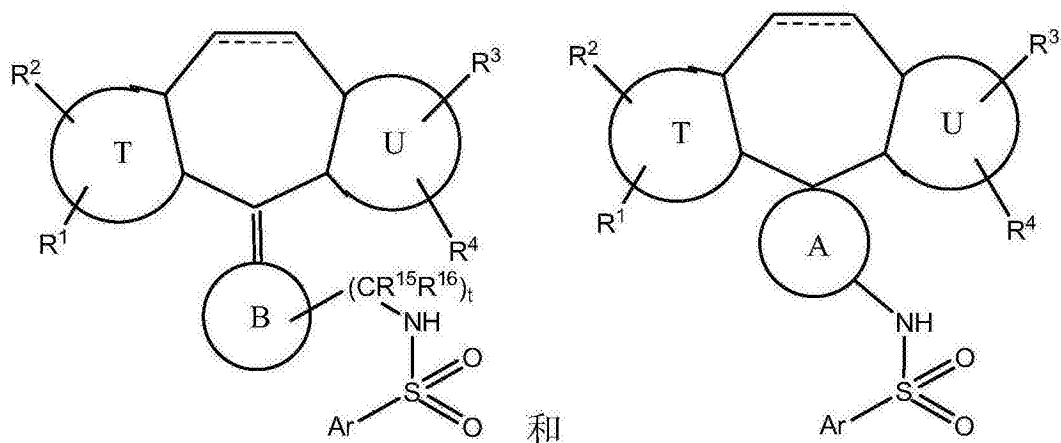


(genera) 包括:

[0058]



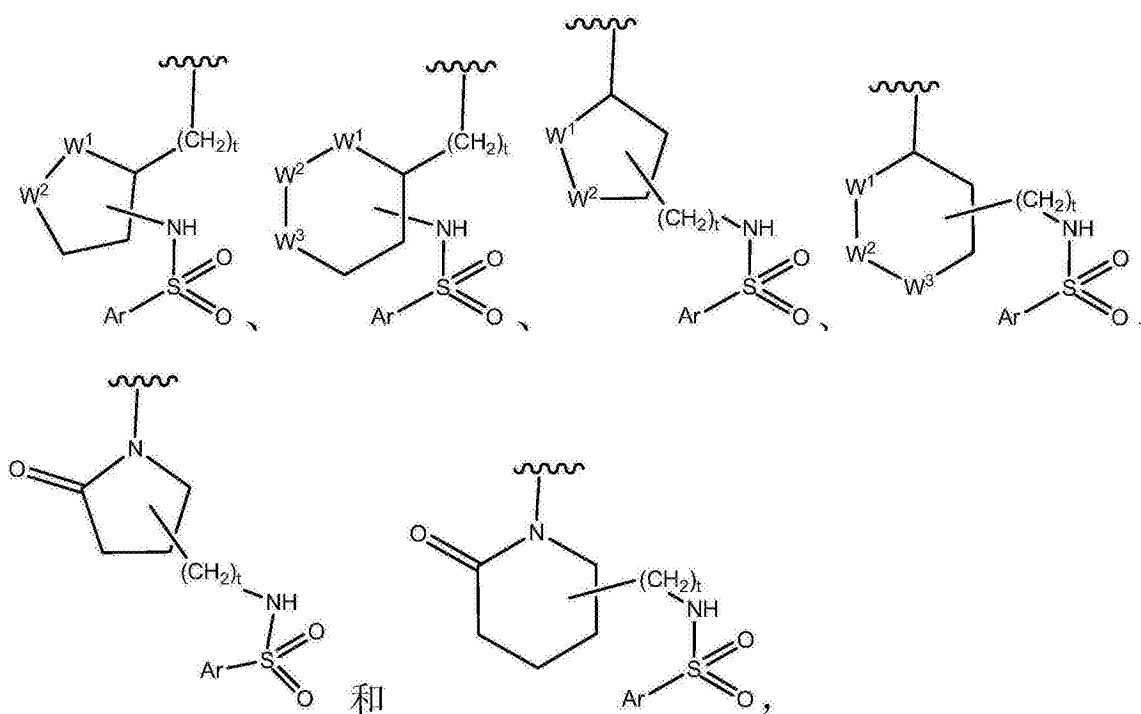
[0059]



[0060] 环“A”和“B”的例子包括环戊基、环己基、四氢呋喃基 (tetrahydrofuranyl)、四氢吡喃基 (tetrahydropyranyl)、吡咯烷基 (pyrrolidinyl)、哌啶基 (piperidinyl) 和哌嗪基 (piperazinyl), 各自可被氧代 (oxo) 或羟基取代。Ar 通常为取代或未取代的苯基、噻吩基、呋喃基或吡咯基。在这些亚类中, 与其他亚类相同, t 可以为零。

[0061] 含有“B”环的取代基 R^5 的特定实施方式为, 例如:

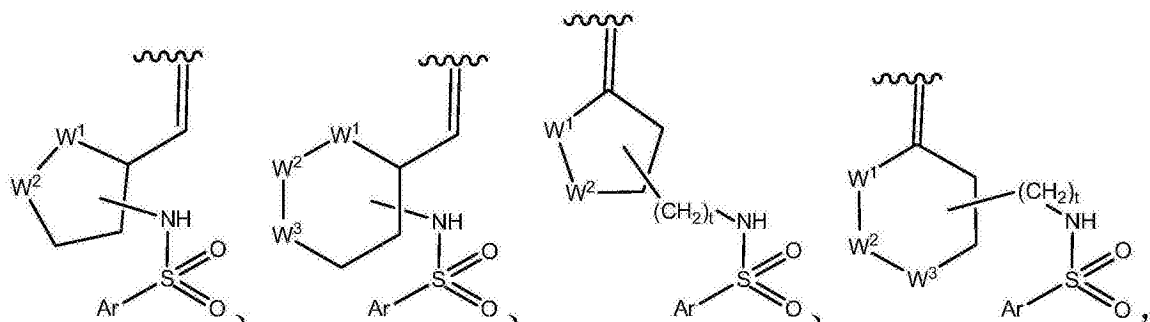
[0062]



[0063] 其中, 波浪线表示 R^5 在定义为“Y”的环节点上的连接点, 可以为母结构 (parent structure) I 中的 N 或 CR^{14} 。

[0064] 含有“B”环的取代基 R^{5a} 的特定实施方式为, 例如:

[0065]

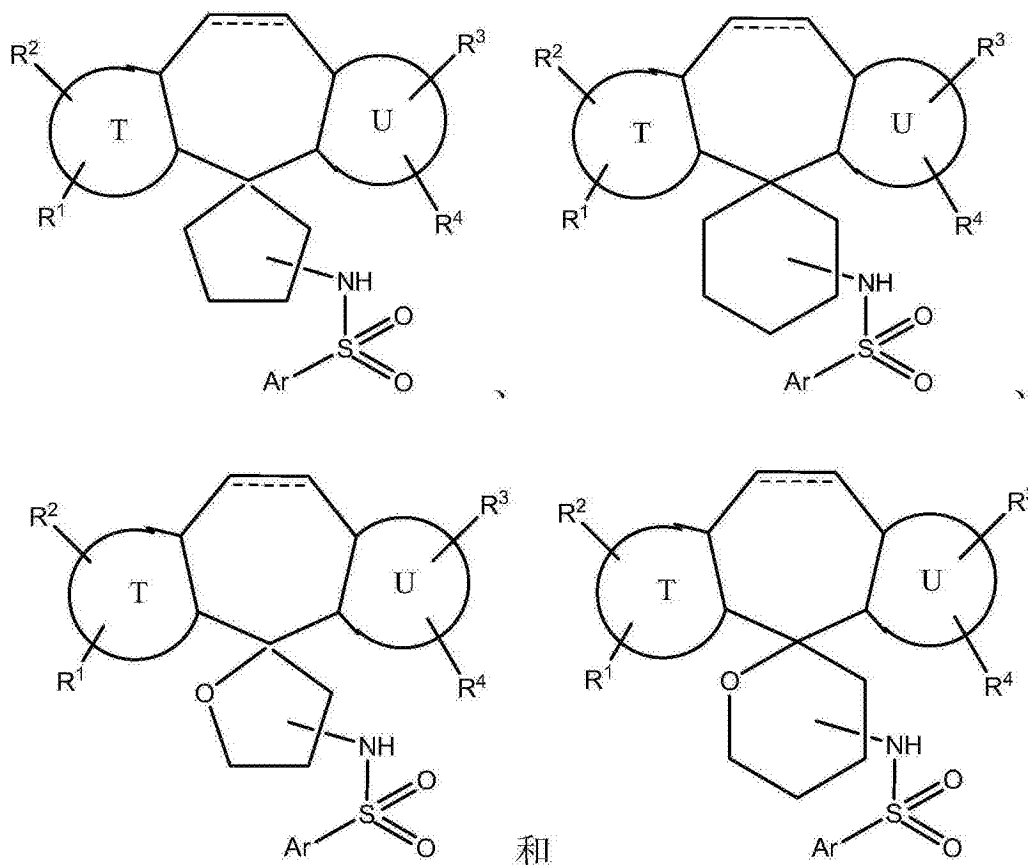


[0066] 其中,波浪线表示 R^{5a} 在母结构 I 中定义为“Y”的环节点上的连接点。

[0067] 当 Y 为含有“A”环的  时的特定实施方式为,例如螺[环戊烷]、螺

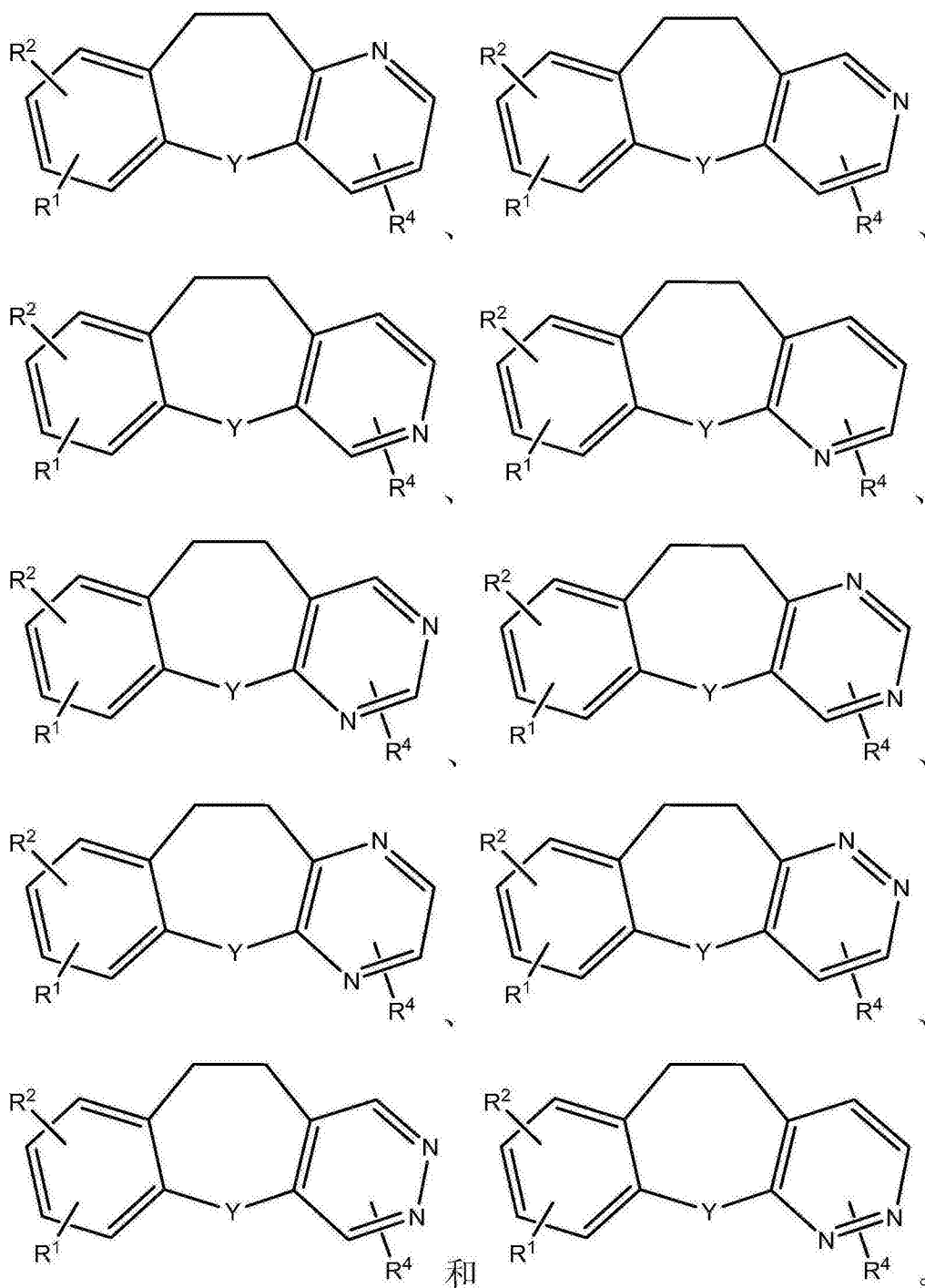
[环己烷],和四氢螺[呋喃]和螺[吡喃]:

[0068]



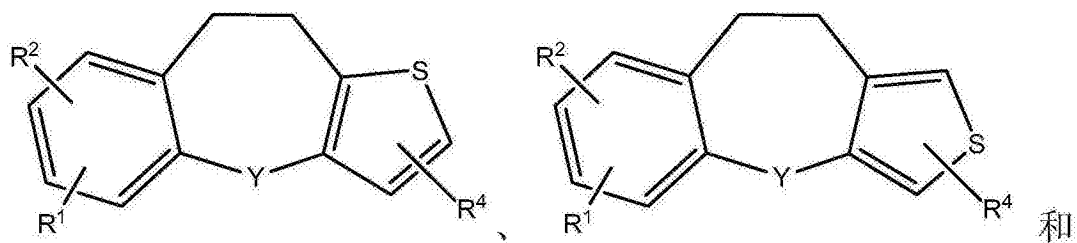
[0069] 前述的亚类为那些 T 和 U 中一个为苯基且 T 和 U 中另一个为吡啶、嘧啶、吡嗪或哒嗪的亚类,例如:

[0070]

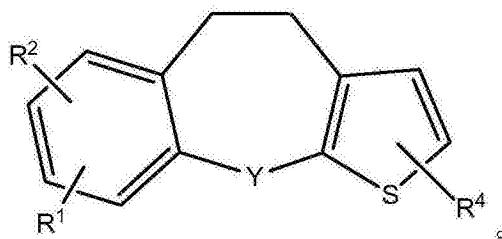


[0071] 前述的另一些亚类为那些 T 和 U 中一个为苯基且 T 和 U 中另一个为噻吩的亚类：

[0072]



[0073]



[0074] 在某些实施方式中, Ar 为苯基或噻吩基, 任选地被选自甲基、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、甲基磺酰基 (methylsulfonyl)、三氟甲氧基 (trifluoromethoxy) 和乙酰氨基中的一种或两种取代基取代。在本发明的化合物中, Ar 被限定为单环芳基和杂芳基, 因为在所测试的双环的实例中, 极少或几乎没有观察到活性。在本发明的某些实施方式中, 一个或两个取代基位于与 Ar 和磺酰胺 (sulfonamide) 的连接点不相邻的位置。举例说明, 当 Ar 为噻吩基时, 3-氯-2-噻吩基具有临近连接点的卤素取代基, 而 4-氯-2-噻吩基没有。在某些实施方式中, Ar 为苯基, 任选地在 3、4 或 5 位置上被选自甲基、卤素、氰基、三氟甲基和三氟甲氧基中的一种或两种取代基取代。在 R^5 为 $-(CR^{15}R^{16})_p-Q_q-(CR^{15}R^{16})_n-Z$ 且 p 和 q 为零的实施方式中, 当 R^{15} 和 R^{16} 在所有情况下为 H 时, n 可以为 2 或 3。

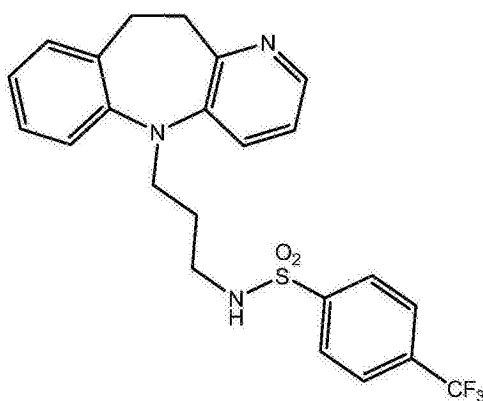
[0075] 在一种亚类中 Z 选自 $-NHC(O)NR^8R^9$ 和 $-NHC(O)OR^8$, R^9 为氢且 R^8 为 (C_1-C_6) 烷基。

[0076] 在多种实施方式中, R^1 和 R^3 独立地选自由 H 和卤素组成的组中, 并且 R^2 和 R^4 为 H。

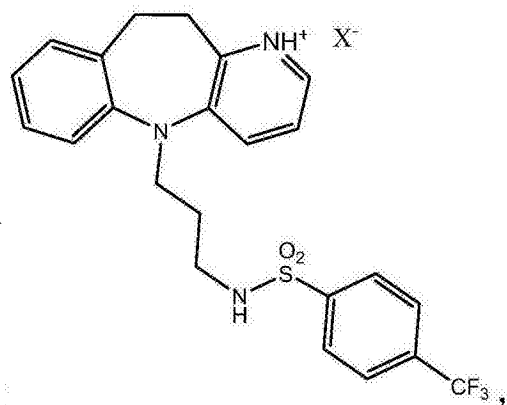
[0077] 经过审查可能发现, 本申请没有排除的化合物或方法对于本申请的发明人来说并不具有可专利性。在任何情况下, 在申请人提供的权利要求书中所排除的种类 (species) 和物类应当被认为是专利申请过程的人为结果, 而不反映发明人的理念或他们的发明的描述, 其包括不为公众所占有的物类 I 内的所有种类。

[0078] 如本发明所使用的, 并且能够被本领域技术人员所理解的, 术语“化合物”- 除非明确做进一步限定 - 意在包涵盖该化合物的盐。因此, 例如, 术语“结构式所示的化合物”

[0079]



[0080] 上述化合物也包括吡啶氮被质子化的盐



其

中 X 为任意的平衡离子。在一种特定的实施方式中,术语“式 I 的化合物”指的是化合物或它的药学上可接受的盐。除非另有说明,否则本发明所描述的结构也意指包括该结构的所有立体异构(例如,对映体的、非对映体的和顺-反异构的)形式,例如,每一个不对称中心的 R 和 S 构象, (Z) 和 (E) 双键异构体和 (Z) 和 (E) 构象异构体。因此,本发明化合物的单一立体化学的同分异构体以及对映体的、非对映体的和顺-反异构的(或构象的)混合物都在本发明的范围内。本文所描述的任何碳-碳双键的结构只是选择的方便,并不是为了指定特定的结构;因此,本文中反复描述的作为反式的碳-碳双键可以为顺式、反式,或两者以任何比例的混合。除非另有说明,本发明的化合物的所有互变异构形式均在本发明的范围内。

[0081] 本发明也提供了一种包括式 (I) 化合物的药物组合物,或它的药学上可接受的盐形式,以及药学上可接受的载体或稀释剂。

[0082] 术语“药学上可接受的盐”指的是由药学上可接受的无毒酸或碱(包括无机酸和碱以及有机酸和碱)制备的盐。当本发明的化合物是碱性时,盐可以由药学上可接受的无毒酸(包括无机酸和有机酸)制备。对于本发明的化合物来说,用于形成盐的合适的药学上可接受的酸包括乙酸、己二酸(adipic)、海藻酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯磺酸(苯磺酸盐)(benzenesulfonic(besylate))、苯甲酸(benzoic)、硼酸(boric)、丁酸(butyric)、樟脑酸(camphoric)、樟脑磺酸(camphorsulfonic)、碳酸(carbonic)、柠檬酸(citric)、乙二磺酸(ethanedisulfonic)、乙磺酸(ethanesulfonic)、乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic)、甲酸、富马酸(fumaric)、葡庚糖酸(glucoheptonic)、葡萄糖酸(gluconic)、谷氨酸、氢溴酸(hydrobromic)、盐酸、氢碘酸(hydroiodic)、羟基萘酸(hydroxynaphthoic)、羟乙磺酸(isethionic)、乳酸(lactic)、乳糖酸(lactobionic)、月桂基磺酸(laurylsulfonic)、马来酸(maleic)、苹果酸(malic)、扁桃酸(mandelic)、甲磺酸(methanesulfonic)、粘酸(mucic)、亚萘磺酸(naphthylenesulfonic)、硝酸(nitric)、油酸(oleic)、扑酸(pamoic)、泛酸(pantothenic)、磷酸(phosphoric)、新戊酸(pivalic)、聚半乳糖醛酸(polygalacturonic)、水杨酸(salicylic)、硬脂酸(stearic)、琥珀酸(succinic)、硫酸(sulfuric)、单宁酸(tannic)、酒石酸(tartaric acid)、替奥克莱酸(teoclatic)、对甲苯磺酸(p-toluenesulfonic)等。当所述化合物含有酸性侧链时,对于本发明的化合物来说,合适的药学上可接受的碱式盐(base addition salts)包括,但不限于,由铝、钙、锂、镁、钾、钠和锌制得的金属盐,或者由赖氨酸、精氨酸、N,N'-二苄基乙二胺(N,N'-dibenzylethylenediamine)、氯普鲁卡因(chlorprocaine)、胆碱(choline)、

二乙醇胺 (diethanolamine)、乙二胺 (ethylenediamine)、葡甲胺 (N-甲基葡糖胺) (meglumine (N-methylglucamine)) 和普鲁卡因 (procaine) 制得的有机盐。其它药学上可接受的盐包括, 恰当的, 连接到具有 1-20 个碳原子的烷基上的无毒的铵阳离子和羧酸盐、磺酸盐和膦酸根阴离子。

[0083] 虽然式 (I) 化合物可能会被用作化工原料, 更优选地, 将它们用作药物组合物。根据进一步的方面, 本发明提供了一种含有式 (I) 化合物的药物组合物或它的药学上可接受的盐, 以及一种或多种它的药学上的载体, 以及可选的一种或多种其他的治疗成分。所述载体必须为在与制剂中的其他成分相兼容的意义上是“可接受的”, 并且不会对其受体有害。

[0084] 所述制剂包括适用于口服、肠胃外 (包括皮下、皮内、肌肉、静脉和关节)、直肠和局部 (包括皮肤、口腔、舌下和眼内) 给药的制剂。最合适的途径可能取决于受体的状况和病症。该制剂可以方便地以单位剂量的形式存在, 并可以通过药学领域所熟知的任意方法制备。所有的方法都包括引入将式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐 (“活性组分”) 与构成一种或多种辅助成分的载体相结合的步骤。通常, 所述制剂通过将活性组分与液体载体或磨碎的固体载体或两者一起均匀且紧密地相结合而制得, 然后, 如果必要的话, 将产物塑造成所需的剂型。

[0085] 本发明的适用于口服给药的制剂可能的存在形式为离散单元形式 (例如含有预定量的活性组分的胶囊、扁囊 (cachets) 或片剂)、粉末或颗粒、溶液或含水液体或不含水液体的悬浮物、或水包油乳化液或油包水乳化液。活性成分也可以以大药丸、干药糖剂 (electuary) 或膏状的形式存在。

[0086] 片剂可以通过加压或模压制成, 可任选地伴有一种或多种辅助成分。加压片剂可以通过在合适的仪器中对自由流动形式的活性组分 (例如粉末或颗粒) 进行压缩而制得, 可任选地将活性组分与粘合剂、润滑剂 (lubricant)、惰性稀释剂、润滑油 (lubricating)、表面活性剂或分散剂进行混合。模压片剂可以通过在合适的仪器中将惰性液体稀释剂湿润的粉末化合物模塑成型而制得。所述片剂可以任选地被涂覆或刻痕 (scored), 并可以被配制从而使活性组分持续、延迟或受控地释放。

[0087] 用于肠胃外给药的制剂包括含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和溶质 (使制剂与目的受体的血液等渗) 的含水的和不含水的无菌注射液。用于肠胃外给药的制剂还包括含水的和不含水的无菌悬浮物, 其可以含有悬浮剂和增稠剂。所述制剂可以以多剂量容器中的单位剂量的形式存在, 例如密封的安瓿 (ampoules) 和小瓶 (vials), 并可以储存在冷冻干燥 (冻干) 的条件下, 只需要在使用前即时加入无菌的液体载体, 例如生理盐水、磷酸盐缓冲液 (PBS) 等。即时的注射溶液和悬浮物可以由前面所述的无菌粉末、颗粒和片剂制得。

[0088] 应当认识到的是, 本发明的化合物可以放射性标记的形式存在, 即, 该化合物可以含有一种或多种原子, 该一种或多种原子具有与通常在自然界存在的原子质量或质量数有所不同的原子质量或质量数。氢、碳、磷、氟和氯的放射性同位素分别包括 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{18}F 和 ^{36}Cl 。含有这些放射性同位素和 / 或其他原子的其他放射性同位素的化合物都在本发明的范围内。氚 (即 ^3H) 和碳-14 (即 ^{14}C), 由于它们易于制备和检测而是特别优选的。含有同位素 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 和 ^{18}F 的化合物特别适合用于正电子发射断层扫描 (positron emission tomography)。本发明的式 I 的放射性标记的化合物及其前体药物 (prodrugs) 通常可以通过本领域技术人员已知的方法进行制备。这些放射性标记的化合物可以通过用

容易得到的放射性标记试剂代替非放射性标记试剂而按照实施例和方案中公开的步骤进行制备。

[0089] 本发明所提供的化合物可用于患者的癌症治疗中,该方法包括对患者给药治疗有效量的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐形式。在某些实施方式中,癌症的特点是 PI3K-AKT-FOXO 信号通路失调。例如,癌症可以选自:卵巢癌、胰腺癌、肾细胞癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、肝细胞癌、神经胶质瘤、白血病、淋巴瘤 (lymphoma)、结直肠癌 (colorectal cancers) 和肉瘤 (sarcomas) 组成的组中。

[0090] 在某些实施方式中,所述方法进一步包括给药一种或多种癌症化疗剂。在某些实施方式中,所述一种或多种癌症化疗剂为 EGFR 抑制剂。例如,所述化疗剂可以为埃罗替尼 (erlotinib) 或吉非替尼 (gefitinib)。

[0091] 在某些实施方式中,癌症是耐化疗的癌症。在某些实施方式中,所述方法进一步包括给药一种或多种癌症化疗剂。在某些实施方式中,所述一种或多种癌症化疗剂为 EGFR 抑制剂。例如,所述化疗剂可以为埃罗替尼或吉非替尼。

[0092] 在某些实施方式中,式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐的给药可以在患者已经对一种或多种化疗剂建立耐药性的情况下恢复患者对一种或多种化疗剂的敏感性。

[0093] 本发明还提供了一种治疗患者的糖尿病的方法,该方法包括对患者给药治疗有效量的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐形式。

[0094] 本发明还提供了一种治疗患者的自体免疫性疾病的方法,该方法包括对患者给药治疗有效量的式 (I) 化合物。所述自体免疫性疾病可以为,例如,炎症性肠病 (IBD)。免疫反应受到不断地和严格地调控并且一种用于维持自身耐受性 (即自体免疫的预防) 和良性共生的肠道菌群的耐受性的重要细胞成分为调节性 T 细胞 (Treg)。Treg 可细分为多种表型,但最常见的是表达转录因子 Foxp3 的 CD4+CD25+T 细胞。Foxp3 是 FoxO 蛋白 (尤其是 FOXO1 和 FOXO3) 的直接转录靶标。因此,FOXO 蛋白在原位 (naïve) T- 细胞中的活化促进和引导了分化以维持 Treg 细胞的数量。

[0095] 急性免疫介导的排斥反应和慢性免疫介导的排斥反应是成功的实体器官移植的主要障碍。据认为,这些形式的排斥反应可以通过扩大 Treg 数目和 / 或功能而被预防 / 克服。同样地,用于治疗多种恶性的或非恶性的病症的异体造血细胞移植 (Allo-HCT) 的普通和病态的并发症,为移植物抗宿主病,其中来自供体的移植免疫细胞会损伤受体的多种器官 (最显著的是皮肤、肠道和肝脏)。越来越多的实验和临床数据表明, Tregs 可以用来预防和 / 或治疗这种疾病进程。

[0096] 因此,本发明的化合物通过激活 FOXO 蛋白和诱导 T 细胞分化成 Tregs 而有效地治疗自体免疫性疾病和相关疾病。所述化合物可以在治疗时直接向受试者给药,或者,可以如 Taylor 等人 [Blood 99, 3493-3499 (2002)] 所述的从受试者身上采集 T 细胞并离体 (ex vivo) 分化为 Tregs。本发明的化合物可单独使用或与传统的免疫抑制药物 (如环孢霉素、FK506 和雷帕霉素及其类似物) 结合使用。另外,本发明的化合物可以与组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (histone deacetylase inhibitors, HDACi) 共同给药,HDACi 被示出能够通过维持 Foxp3 的乙酰化作用和活性而增强 Treg 的功能。

[0097] 本发明的方面包括以 Treg 功能缺陷为特点的治疗自体免疫性疾病的方法,该方法包括给药治疗有效量的式 I 化合物,可任选地与 HDAC 抑制剂结合。该方法也可以包括从

患者体内提取原位的 T 细胞,通过用本发明的式 I 化合物并任选地辅以 HDACi 进行处理而使 T 细胞离体分化为 Tregs,然后将 Tregs 给药给患者并选择性地给药之前将式 I 化合物与 Tregs 分离。如上所述,自体免疫性疾病(包括 IBD、实体器官移植排斥反应和异体 HCT 移植抗宿主病(GvHD in allo-HCT))都可以通过对供体细胞进行接种治疗有效量的式 I 化合物的处理而进行治疗。

[0098] 在某些实施方式中,所述化合物可以被给药于患者以治疗自体免疫失调症,例如,艾迪生氏病(Addison's disease)、肌萎缩侧索硬化症(Amyotrophic Lateral Sclerosis)、腹腔疾病(celiac disease)、克罗恩病(Crohns disease)、糖尿病、嗜酸性筋膜炎(eosinophilic fasciitis)、吉兰-巴雷综合征(Guillain-Barré syndrome, GBS)、格雷夫斯病(Graves' disease)、红斑狼疮(Lupus erythematosus)、米勒费雪综合征(Miller-Fisher syndrome)、牛皮癣(psoriasis)、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis)、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)和血管炎(vasculitis)。

[0099] 在某些实施方式中,本文提供的化合物可用于治疗患者的疾病或病症,其中,所述疾病或病症包括过度或失调的细胞增值,所述方法包括向患者给药治疗有效量的式(I)化合物。本发明还提供了一种治疗患者的疾病或病症的方法,其中,所述疾病或病症包括 pi3K-AKT-FOXO 信号通路的失调,该方法包括向患者给药治疗有效量的式(I)化合物。

[0100] 本发明还提供了一种治疗患者的疾病方法,其中,所述疾病的特点为年龄引发蛋白质毒性,该方法包括向患者给药治疗有效量的式(I)化合物。在某些实施方式中,该疾病选自:阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、帕金森氏病(Parkinson's disease)、亨廷顿病(Huntington's disease)和肌萎缩性侧索硬化症组成的组中。

[0101] 本发明提供的化合物进一步可以用于治疗患者的情绪失调的方法中,该方法包括向患者给药治疗有效量的式(I)化合物。在某些实施方式中,所述情绪失调为压力引起的抑郁。

[0102] 本发明还提供了一种治疗患者的寻常痤疮的方法,该方法包括向患者给药治疗有效量的式(I)化合物。

[0103] 本发明进一步提供了治疗患者的心脏肥大的方法,该方法包括向患者给药治疗有效量的式(I)化合物。在某些实施方式中,心脏肥大与选自高血压、心肌梗死(myocardial infarction)和心脏瓣膜病(valvular heart disease)的疾病相关。

[0104] 本发明所描述的化合物能够诱导 FOXO1 转录因子易位到细胞核。它们表现出抗增殖作用,只有最小的多巴胺结合,从而可能降低 GPCR- 介导的 CNS 和 CV 副作用。这些药剂对治疗多种病症是有用的,包括作为在癌症治疗中的单药治疗,或与其他药物结合使用以在耐药性已经建立的情况下恢复对化疗的敏感性。

[0105] 更具体地,可以通过本发明所描述的化合物、组合物和方法进行治疗的癌症包括,但不限于,下述的癌症:

[0106] 贍门癌,包括,例如肉瘤(sarcoma),如血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤和脂肪肉瘤,黏液瘤(myxoma),横纹肌瘤,纤维瘤,脂肪瘤和畸胎瘤(teratoma);

[0107] 肺癌,包括,例如支气管癌(bronchogenic carcinoma),如鳞状细胞、未分化的小细胞、未分化的大细胞和腺癌(adenocarcinoma),肺泡和细支气管肺泡癌(alveolar and bronchiolar carcinoma),支气管腺瘤(bronchial adenoma),肉瘤,淋巴瘤,软骨错构瘤

(chondromatous hamartoma), 以及间皮瘤 (mesothelioma) ;

[0108] 胃肠道癌, 包括, 例如食管癌, 如鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤和淋巴瘤; 胃癌, 如肿瘤、淋巴瘤、平滑肌肉瘤; 胰腺癌, 如导管腺癌 (ductal adenocarcinoma)、胰岛瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤 (gastrinoma)、类癌瘤 (carcinoid tumors) 和舒血管肠肽瘤 (vipoma); 小肠癌, 如腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波济肉瘤 (Kaposi's sarcoma)、平滑肌瘤 (leiomyoma)、血管瘤 (hemangioma)、脂肪瘤、神经纤维瘤和纤维瘤; 大肠癌, 如腺癌、管状腺瘤 (tubular adenoma)、绒毛状腺瘤 (villous adenoma)、错构瘤和平滑肌瘤;

[0109] 泌尿生殖道癌, 包括, 例如肾癌, 如腺癌、肾母细胞瘤 (Wilm's tumor, 肾胚细胞瘤)、淋巴瘤和白血病; 膀胱和尿道癌, 如鳞状细胞癌、移行细胞癌 (transitional cell carcinoma)、腺癌; 前列腺癌, 如腺癌和肉瘤; 睾丸癌, 如精原细胞瘤 (seminoma)、畸胎瘤、胚胎癌 (embryonal carcinoma)、畸胎癌 (teratocarcinoma)、绒毛膜上皮癌 (choriocarcinoma)、肉瘤、间质细胞癌 (interstitial cell carcinoma)、纤维瘤、纤维腺瘤 (fibroadenoma)、腺瘤样瘤 (adenomatoid tumors) 和脂肪瘤;

[0110] 肝癌, 包括, 例如肝细胞瘤 (hepatoma), 如肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma)、胆管癌、肝母细胞瘤 (hepatoblastoma)、血管肉瘤、肝细胞腺瘤 (hepatocellular adenoma) 和血管瘤;

[0111] 骨癌, 包括, 例如, 骨源性肉瘤 (osteogenic sarcoma) (骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤 (chondrosarcoma)、尤因氏肉瘤 (Ewing's sarcoma)、恶性淋巴瘤 (网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤 (malignant giant cell tumor)、脊索瘤 (chordoma)、骨软骨瘤 (osteochondroma, 骨软骨外生骨疣 (osteochondilagenous exostoses))、良性软骨瘤、软骨母细胞瘤、软骨肌瘤样纤维瘤 (chondromyxofibroma)、骨样骨瘤 (osteoid osteoma) 和骨巨细胞瘤;

[0112] 神经系统癌, 包括, 例如头骨癌 (cancers of the skull), 如脑壳瘤 (osteoma)、血管瘤、肉芽肿 (granuloma)、黄色瘤 (xanthoma) 和变形性骨炎 (osteitis deformans); 脑膜癌, 如脑膜瘤 (meningioma)、脑膜肉瘤 (meningiosarcoma) 和神经胶质瘤 (gliomatosis); 脑癌, 例如, 星形细胞瘤 (astrocytoma)、髓母细胞瘤 (medulloblastoma)、胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤 (松果体瘤)、多形性胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiform)、少突胶质细胞瘤 (oligodendroglioma)、神经鞘瘤、视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma) 和先天性肿瘤 (congenital tumors); 以及脊髓癌, 如神经纤维瘤、脑膜瘤、胶质瘤和肉瘤;

[0113] 妇科癌症 (gynecological cancers), 包括, 例如, 子宫癌, 如子宫内膜癌; 宫颈的癌症, 如宫颈癌 (cervical carcinoma) 和前肿瘤宫颈发育不良 (pre tumor cervical dysplasia); 卵巢的癌症, 如卵巢癌 (ovarian carcinoma), 包括浆液性囊腺癌 (serous cystadenocarcinoma)、粘液性囊腺癌 (mucinous cystadenocarcinoma)、未分类癌 (unclassified carcinoma)、卵巢卵泡膜细胞瘤 (granulosa thecal cell tumors)、Sertoli Leydig细胞瘤、无性细胞瘤和恶性畸胎瘤 (malignant teratoma); 阴户癌, 如鳞状细胞癌、上皮内癌 (intraepithelial carcinoma)、腺癌、纤维肉瘤和黑色素瘤; 阴道癌, 如明细胞癌 (clear cell carcinoma)、鳞状细胞癌、葡萄状肉瘤 (botryoid sarcoma) 和胚胎性横纹肌肉瘤; 输卵管癌, 如癌 (carcinoma);

[0114] 血液癌 (hematologic cancers), 包括, 例如, 血癌 (cancers of the blood), 如急

性髓性白血病、慢性髓性白血病、急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia)、慢性淋巴细胞白血病、骨髓增生性疾病 (myeloproliferative diseases)、多发性骨髓瘤 (multiple myeloma) 和骨髓增生异常综合征 (myelodysplastic syndrome)、霍奇金淋巴瘤 (Hodgkin's lymphoma)、非霍奇金淋巴瘤 (恶性淋巴瘤) 和瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症 (Waldenström's macroglobulinemia) ;

[0115] 皮肤癌, 包括, 例如, 恶性黑色素瘤, 基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波济肉瘤 (Kaposi's sarcoma)、发育不良的痣 (moles dysplastic nevi)、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤、瘢痕瘤 (keloids)、牛皮癣; 以及肾上腺癌, 包括, 例如, 神经母细胞瘤 (neuroblastoma)。

[0116] 癌症可以为能够转移的也可以为不能够转移的实体瘤。癌症也可以以扩散性组织的形式发生, 例如白血病。

[0117] 本发明所描述的化合物也可以与现有治疗癌症的方法相结合进行给药, 例如, 通过化疗、放疗或手术治疗。因此, 本发明进一步提供了一种治疗癌症的方法, 包括向患者给药有效量的根据式 (I) 的化合物, 或其药学上可接受的盐形式, 其中, 也向患者给药治疗有效量的一种或多种另外的癌症化疗剂。合适的化疗剂的例子包括 EGFR 抑制剂, 例如埃罗替尼或吉非替尼。

[0118] 除非另外定义, 本发明所使用的所有技术上和科技上的术语都与本申请所属领域的普通技术人员所理解的常规含义相同。有机化学家 (即本领域普通技术人员) 所使用的缩写词的详细列表在有机化学杂志 (Journal of Organic Chemistry) 的每一卷的第一期都有记载。通过引用将该列表 (通常记载在标题为“缩写词的标准列表 (Standard List of Abbreviations)”的表格中) 的内容并入本文。如果本发明所引用的术语有多种定义, 以本文中的为准, 除非另有说明。

[0119] 如本发明所使用的, 术语“包括 (comprising)”或“含有 (including)”或其语法变体都用于说明所阐述的特征、整体 (integers)、步骤或成分, 而不适用于排除一种或多种另外的特征、整体、步骤或成分的加入。该术语还涵盖了术语“由...组成”和“基本上由...组成”。

[0120] 当本发明使用术语“基本上由...组成”或其语法变体时, 是用于说明所阐述的特征、整体、步骤或成分, 而不适用于排除一种或多种另外的特征、整体、步骤、成分或组群的加入, 只有当其另外的特征、整体、步骤、成分或组群不能够从实质上改变所要求保护的组合物或方法的基本和新颖性特征时除外。

[0121] 如本发明所使用的, “患者”包括人和其它动物, 特别是哺乳动物。因此, 本发明的方法适用于人的治疗和兽医应用。在某些实施方式中, 患者为哺乳动物, 例如灵长类动物。在某些实施方式中, 患者为人。

[0122] 治疗可以包括将本发明所描述的化合物给药于被诊断患有疾病的患者, 也可以包括将该化合物给药于不具有活性症状 (active symptoms) 的患者。相反地, 治疗可以包括将组合物给药于有患特定疾病风险的患者, 或给药于表现出一种或多种疾病的生理学症状的患者, 即便可能还没有作出疾病的诊断。

[0123] 本文所述的化合物的“治疗有效”量通常为一种充足的量, 能够达到所期望的效果, 且可以根据病情的性质和严重性以及化合物的效力而改变。应该理解的是, 不同的浓度可用于预防和治疗活动性疾病。获得了治疗上的益处, 实现了一种或多种与潜在病症有关

的生理症状的缓解,从而在患者身上观察到了改善,尽管患者可能仍然被潜在病症所折磨。

[0124] 关于 FOXO 转录因子蛋白的术语“调节”指的是 FOXO 转录因子蛋白的活化和其与 FOXO 路径相关的生物活性。FOXO 转录因子蛋白的调节包括上调(即激动(agonizing)、激活(activation)或刺激(stimulation))。FOXO 调节子的作用模式可以是直接的,例如,通过作为配位体与 FOXO 转录因子蛋白结合。调节也可以是间接的,例如,通过结合和/或修饰其他的分子,否则所述其他的分子与 FOXO 转录因子蛋白结合并将其激活。

[0125] 除非另有说明,本文所用的烷基旨在包括线状、支链或环状烃结构及它们的组合。直链烷基包括甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基和正癸基,且支链烷基包括异丙基、叔丁基(tert-butyl)、异丁基、仲丁基(sec-butyl)和新戊基。组合形式可以是,例如,环丙烷甲基(cyclopropylmethyl)。低级烷基是指 1-6 个碳原子的烷基。低级烷基的例子包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基(s-butyl)和叔丁基(t-butyl)等。优选的烷基为 C_{20} 以下的烷基。如本文所使用,环烷基是烷基的下位概念并包括 3-8 个碳原子的环状烃基。在一些分类或命名系统中,例如 IUPAC,环烷基与烷基是区分开的,并非为下位概念。为了适应这种分类,或以使读者明白提供直链的主体,术语烷基下的支链和环烷基是不一致的,这里所说的烷基可以被称为“饱和烃基”或“烷基/环烷基”。环烷基的例子包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、降冰片基(norbornyl)等。在某些实施方式中,直链或支链烷基在其骨架中具有 6 个或更少的碳原子(例如,直链为 C_{16} ,支链为 C_3)。术语 C_{16} 包括含有 1 至 6 个碳原子的烷基。在某些实施方式中,环烷基在其环结构中具有 3-8 个碳原子,例如,它们可以在其环结构中具有 3 个、4 个、5 个或 6 个碳原子。

[0126] C_1 到 C_{20} 的烃基包括烷基、环烷基、多环烷基(polycycloalkyl)、烯基、炔基、芳基以及它们的组合。例子包括苄基、苯乙基、环己烷甲基(cyclohexylmethyl)、樟脑基(camphoryl)和萘乙基(naphthylethyl)。烃基是指含有氢和碳作为仅有的元素组分的任何取代基。

[0127] 除非另有说明,术语“碳环”旨在包括环系,其中,环原子全部是碳原子除非是氧化态。因此(C_3 - C_{10})碳环是指非芳香族和芳香族系统(system),包括如环丙烷、苯和环己烯这样的系统;(C_8 - C_{12})碳多环(carbopolycycle)指降冰片烷(norbornane)、萘烷(decalin)、二氢化茚(indane)和萘(naphthalene)这样的系统。如果没有另外限定,碳环指的是单环、双环和多环。碳环可被划分成的脂肪族(即非芳香族)碳环和芳香族碳环。芳香族碳环包括苯(苯基)和萘(萘基);脂肪族碳环包括环烷基,如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和不饱和的碳环,如环己烯、环戊烯、环庚烯和环庚二烯(cycloheptadiene)。

[0128] 烷氧基或烷氧基的指的是通过氧连接到母体结构的 1-8 个碳原子的直链、支链或环状结构及它们的组合。例子包括甲氧基、乙氧基、丙氧基(propoxy)、异丙氧基、环丙氧基(cyclopropyloxy)、环己氧基(cyclohexyloxy)等。

[0129] 除非另有限定,酰基是指通过羰基官能团连接到母体结构的甲酰基(formyl)和有 1、2、3、4、5、6、7 和 8 个碳原子的直链、支链、环状结构、饱和的、不饱和的和芳香的基团以及它们的组合。例子包括乙酰基、苯甲酰基、丙酰基、异丁酰基等。当被看做自身的取代基时,双键氧被称为“氧代(oxo)”。

[0130] 在一般情况下,芳基和杂芳基是指(i)苯基(或苯)或含有 1-4 个选自 O、N 或 S 的

杂原子的单环的 5- 或 6- 元杂芳环 ;(ii) 含有 0-4 个选自 O、N 或 S 的杂原子的双环的 9- 或 10- 元芳香环或杂芳环体系 ;或 (iii) 含有 0-5 个选自 O、N 或 S 的杂原子的三环的 13- 或 14- 元芳香环或杂芳环体系。芳香族 6- 至 14- 元碳环包括,例如,苯、萘、二氢化茚、四氢化萘 (tetralin) 和茚 (fluorene),以及 5- 至 10- 元芳香族杂环包括,例如,咪唑、吡啶、吡咯、噻吩、苯并吡喃酮 (benzopyranone)、噻唑、呋喃、苯并咪唑、喹啉、异喹啉、喹喔啉、嘧啶、吡嗪、四唑和吡唑。本文所用的关于取代基 Ar、芳基和杂芳基均指单环残基。

[0131] 芳基烷基 (Arylalkyl) 是指其中的芳基残基通过烷基连接到母体结构的取代基。例子为苄基、苯乙基等。杂芳基烷基是指其中杂芳基残基通过烷基连接到母体结构的取代基。在一种实施方式中,芳基烷基或杂芳基烷基的烷基为 1-6 个碳原子的烷基。例子包括,例如,吡啶基甲基 (pyridinylmethyl)、嘧啶基乙基 (pyrimidinylethyl) 等。

[0132] 杂环指其中 1-4 个碳被选自由 N、O 和 S 组成的组中的杂原子替换的脂环族或芳基碳环残基。氮和硫杂原子可任选地被氧化,并且氮杂原子可任选地被季铵化 (quaternized)。除非另外指明,杂环可以是非芳香族或芳香族的。杂环的例子包括吡咯烷、吡唑、吡咯、咪唑、喹啉、异喹啉、四氢异喹啉 (tetrahydroisoquinoline)、苯并呋喃、苯并二噁烷 (benzodioxan)、苯并二茂 (benzodioxole)、四唑、吗啉、噻唑、吡啶、吡嗪、哒嗪、嘧啶、噻吩、呋喃、噁唑、噁唑啉、异噁唑、二噁烷、四氢呋喃和四氢吡喃等。应当注意的是,杂芳基是杂环的下位概念,其中,所述杂环是芳香族的。氧杂环是在环中含有至少一个氧的杂环;它可以含有额外的氧以及其他杂原子。硫杂环是在环中含有至少一个硫的杂环;它可以含有额外的硫以及其它杂原子。氧杂芳基是氧杂环的下位概念,例子包括呋喃和噁唑。硫杂芳基是硫杂环的下位概念,例子包括噻吩和噻嗪。氮杂环是在环中含有至少一个氮的杂环;它可以含有额外的氮以及其他杂原子。例子包括哌啶、哌嗪、吗啉、吡咯烷和硫代吗啉 (thiomorpholine)。氮杂芳基是氮杂环的下位概念,例子包括吡啶、吡咯和噻唑。

[0133] 如本文所使用的,术语“任选取代的”可以与“未取代或取代的”互换使用。术语“取代的”是指以特定的原子团替换特定的官能团中一个或多个氢原子。“氧代”也可以被包括在“任选取代的”所指的取代基中,这能够被本领域技术人员所理解,因为氧是一个二价基团,在有些情况下它不会是适当的取代基(例如在苯基上)。在一种实施方式中,1、2 或 3 个氢原子被指定的基团替换。在烷基和环烷基的情况中,三个以上的氢原子可以被氟取代;事实上,所有可用的氢原子都可以被氟取代。

[0134] 术语“卤代烷基”和“卤代烷氧基”是指烷基或烷氧基分别被一个或多个卤素原子取代。术语“烷羰基 (alkylcarbonyl)”和“烷氧羰基 (alkoxycarbonyl)”分别是指 $-C(=O)$ 烷基或 $-C(=O)O$ 烷基。

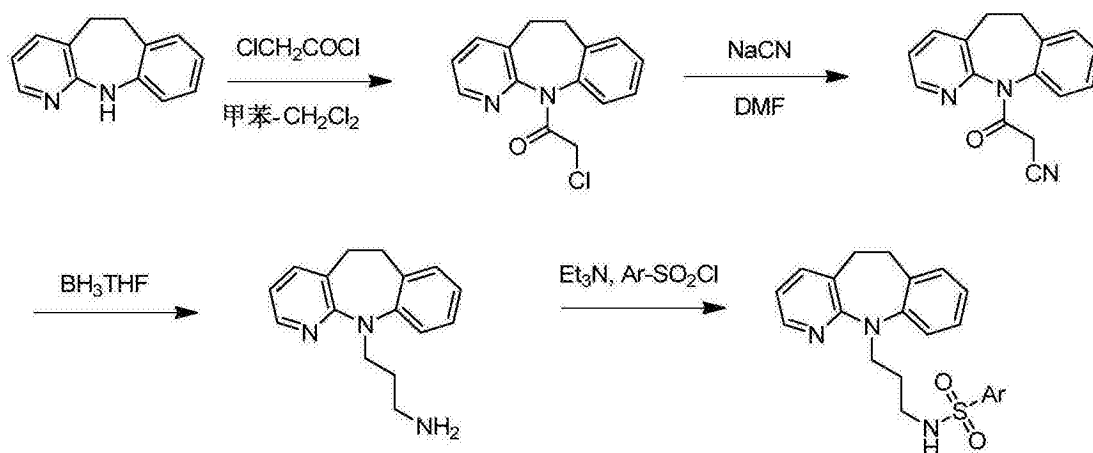
[0135] 术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。在一种实施方式中,卤素可为氟或氯。

[0136] 化合物的制备可涉及多种化学基团的保护和去保护。进行保护和去保护的需要,和适当的保护基的选择,可以由本领域技术人员很容易地确定。用于上述目的的合适的基团在化学领域的标准教科书中有记载,如 T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts [John Wiley & Sons, New York, 1999], 在 Protecting Group Chemistry, 第一版,牛津大学出版社,2000,以及 March's Advanced Organic chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 第一版, Wiley-Interscience 出版,2001 记载的有机合成中的保护基团 (Protective Groups in Organic Synthesis)。

[0137] 根据本发明的化合物可以按照如以下方案所示的方法制备。

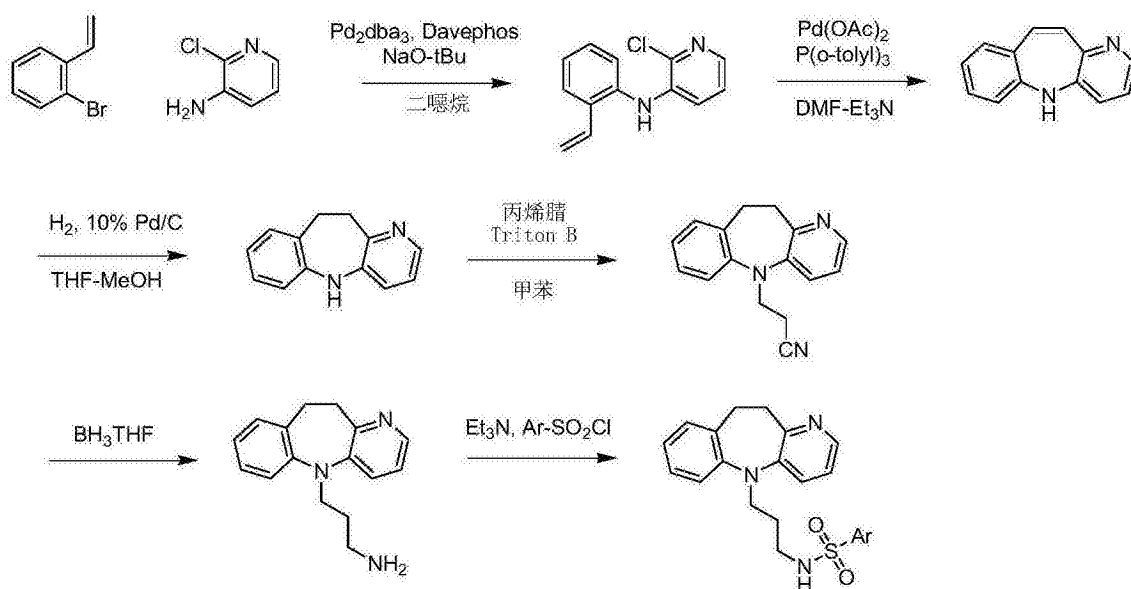
[0138] 方案 1

[0139]



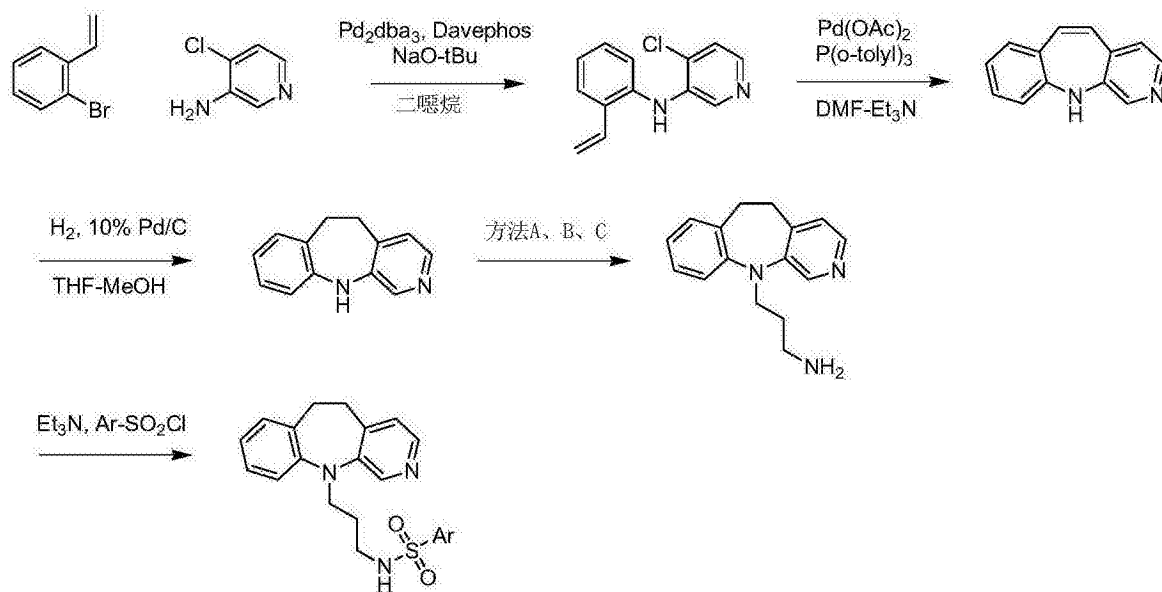
[0140] 方案 2

[0141]



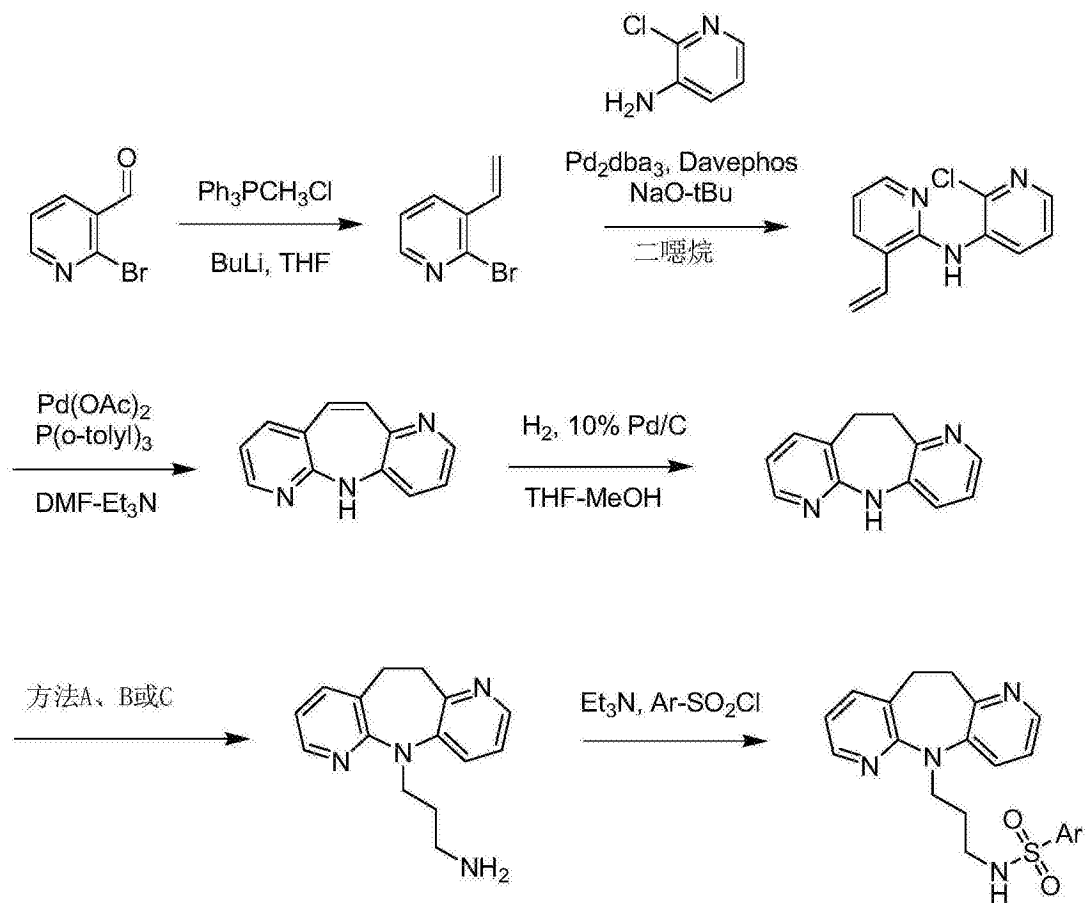
[0142] 方案 3

[0143]



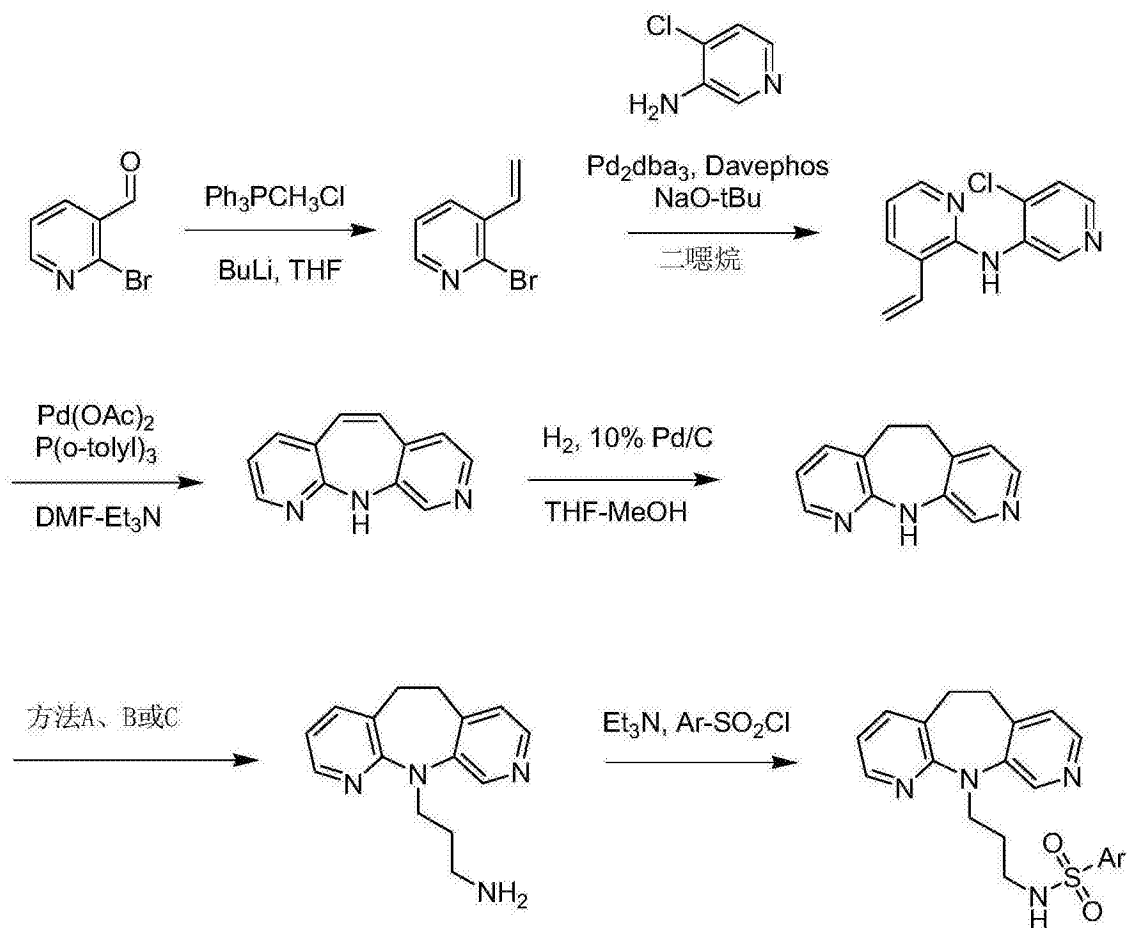
[0144] 方案 4

[0145]



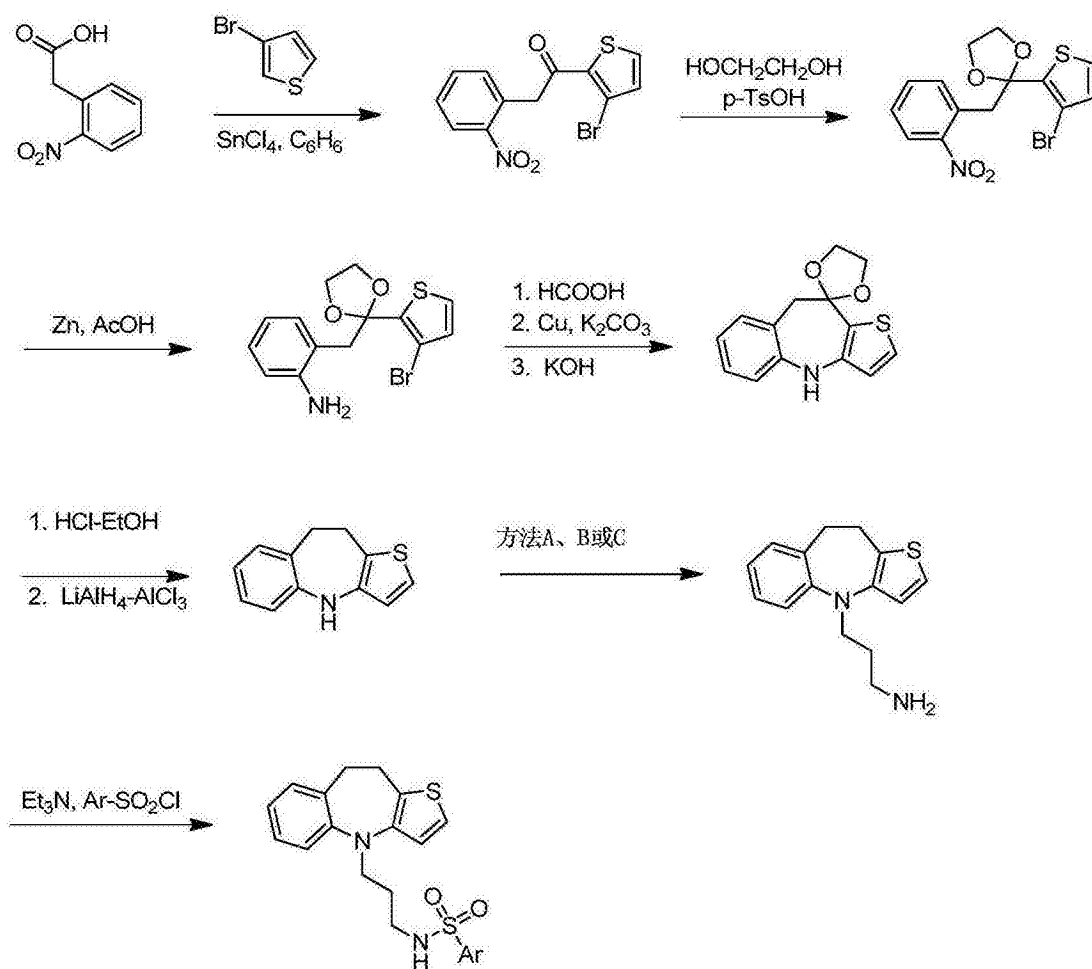
[0146] 方案 5

[0147]



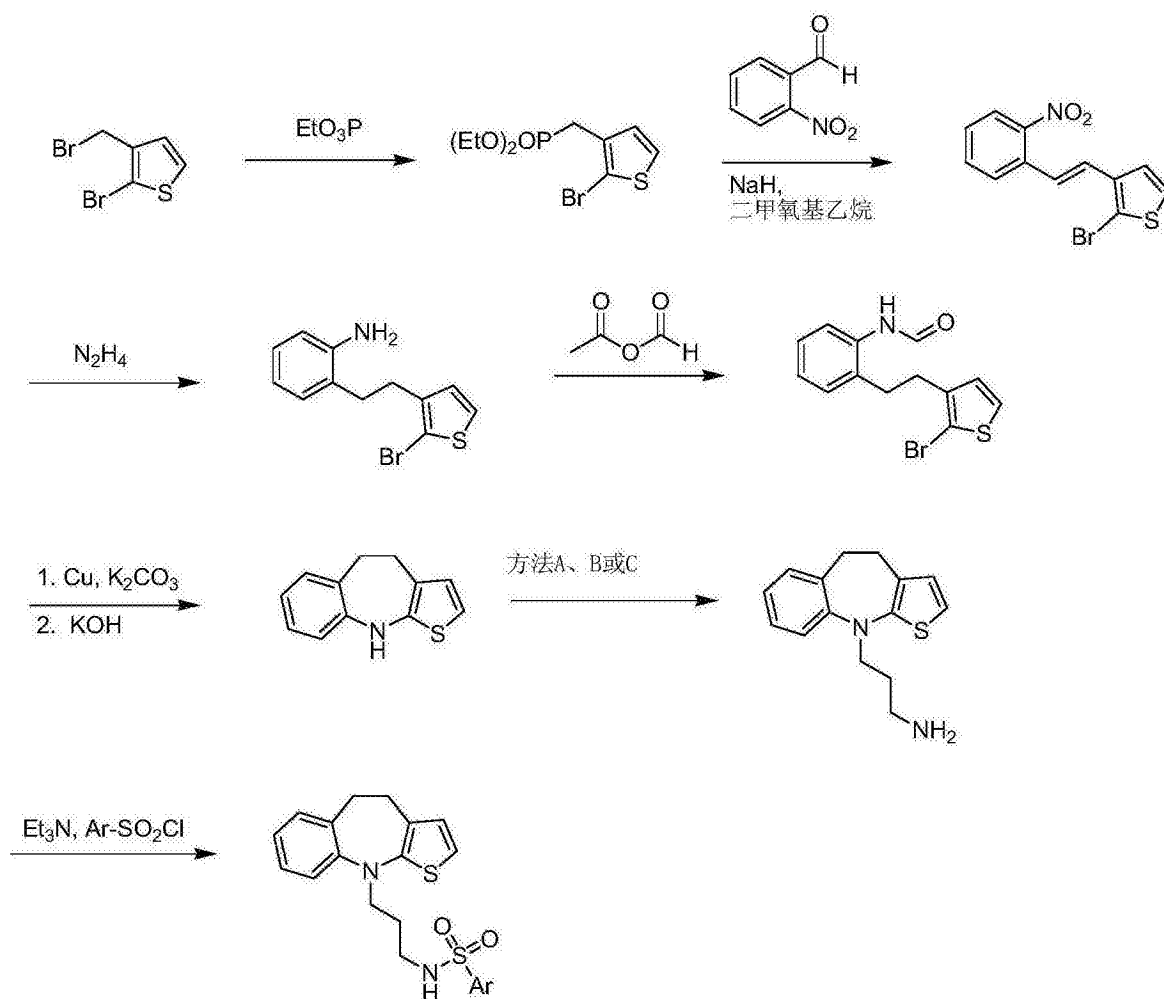
[0148] 方案 6

[0149]



[0150] 方案 7

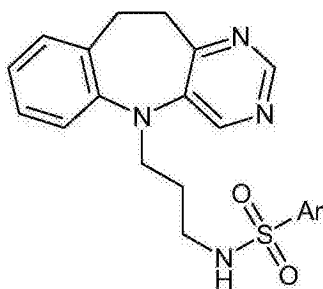
[0151]



[0152] 以上方案 3-7 中提到的方法 A、B 和 C 为三种不同的烷基化氮杂环的氮的方法。方法 A 示于方案 1 中,通过用氯乙酰氯 (chloroacetyl chloride) 酰化、用氰化物 (cyanide) 取代以及还原而实现。方法 B 示于方案 2 中,通过加入丙烯腈和还原而实现。方法 C 示于 PCT US2012/051097 中,其合成方案和实验描述的内容都通过引用并入本发明。在方法 C 中,氮杂环的氮用 N-(4-溴丙基)邻苯二甲酰亚胺 (N-(4-bromopropyl)phthalimide) 烷基化,且邻苯二甲酰亚胺被肼 (hydrazine) 裂解。

[0153] 通过将方案 2、3、4 和 5 中的邻氯氨基吡啶 (ortho-chloroaminopyridines) 替换为相应的已知的或市售的邻氯氨基杂环 (ortho-chloroaminoheterocycles),可以使其它的环系取代吡啶环。例如,通过用 5-氨基-4-氯嘧啶取代方案 3 中的 3-氨基-4-氯吡啶,可以得到该系列的化合物:

[0154]

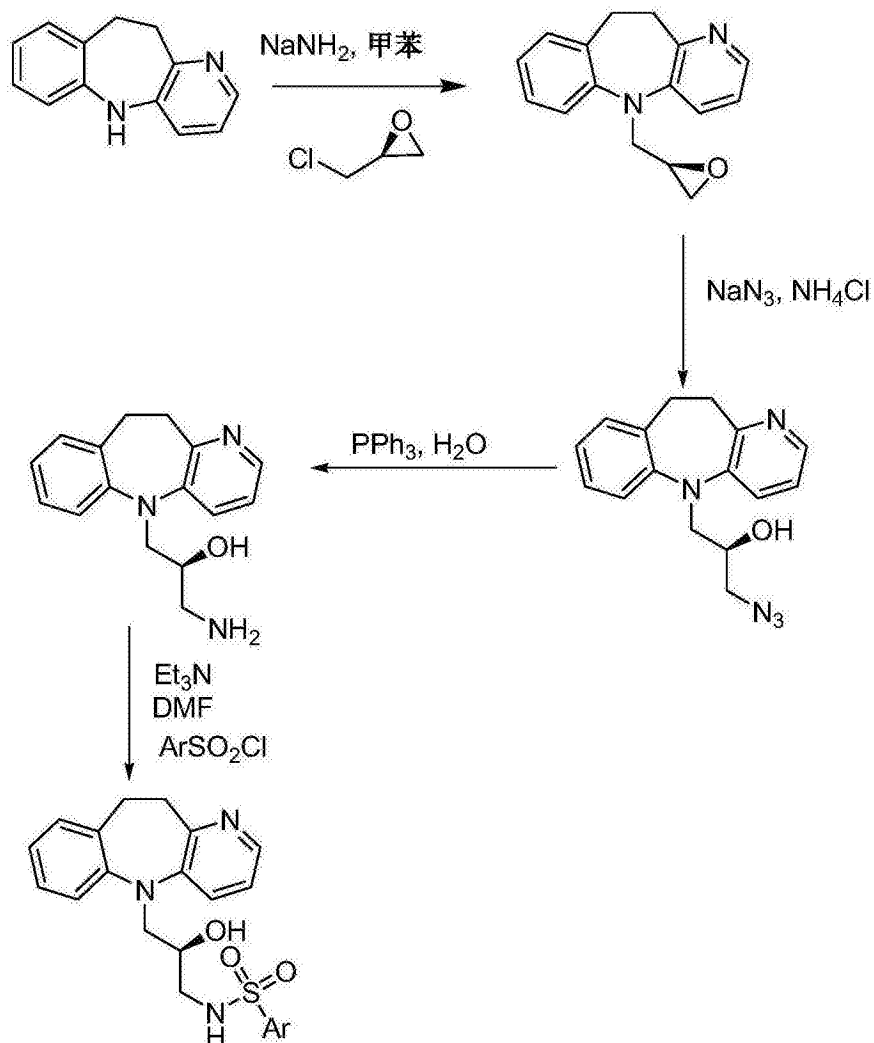


[0155] 另外的市售的可用于提供相应的二嗪苯并吡庚因 (diazinobenzazepines) 的邻氯氨基二嗪 (ortho-chloroaminodiazines) 包括: 2-氨基-3-氯吡嗪、4-氨基-3-氯哒嗪、5-氨基-4-氯哒嗪和 4-氨基-5-氯嘧啶。

[0156] 其中侧链被羟基化的化合物可以根据方案 8 来合成:

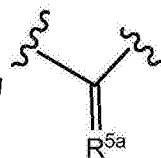
[0157] 方案 8

[0158]



[0159] 其中 Y 不为氮的式 I 环系的合成可以通过本领域已知的方法来实现, 优选通过类似于 PCT US2012/051097、W02006/116157 和 W02003/022835 中所记载的合成方案和实验描述实现, 它们的合成方案和实验描述的内容通过引用并入本发明。

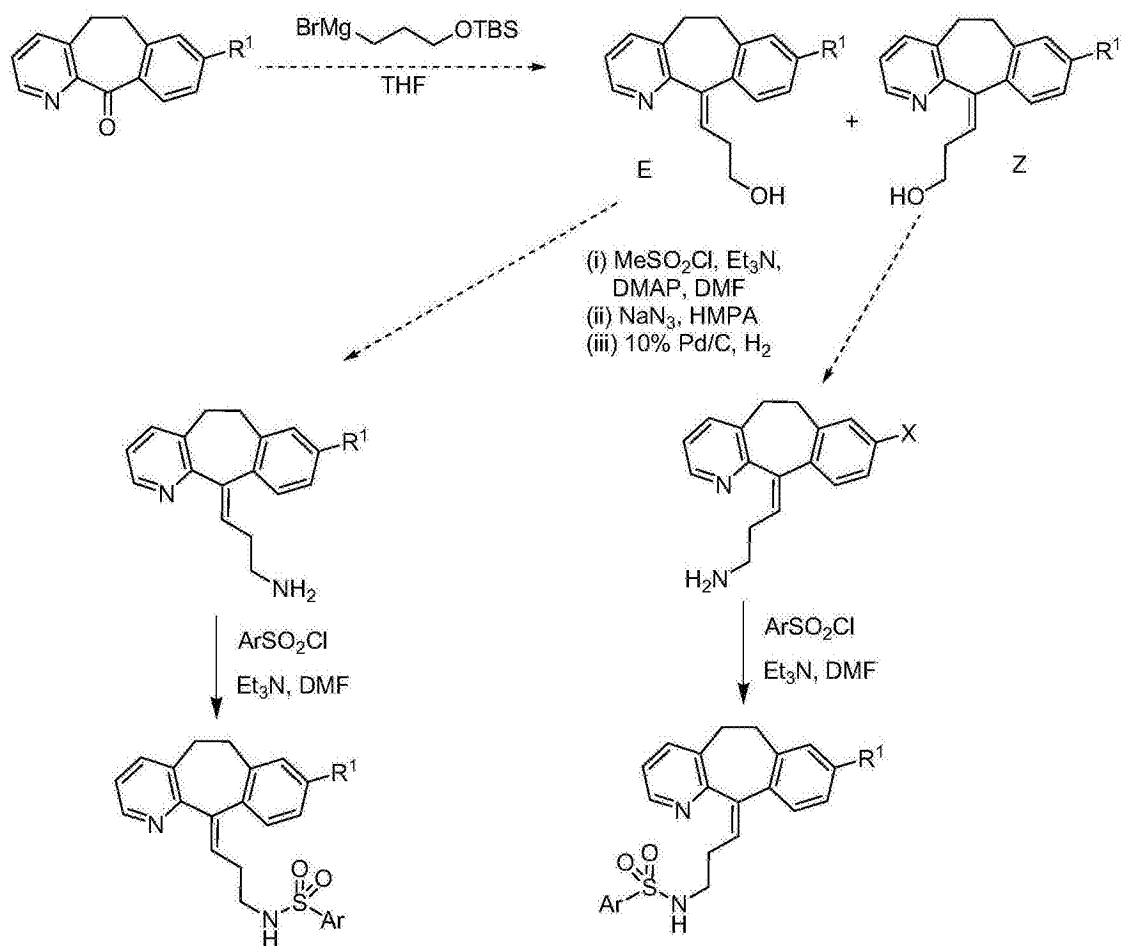
[0160] 通过方案 9 和 10 的方法, 可以合成其中 Y 为



的化合物。

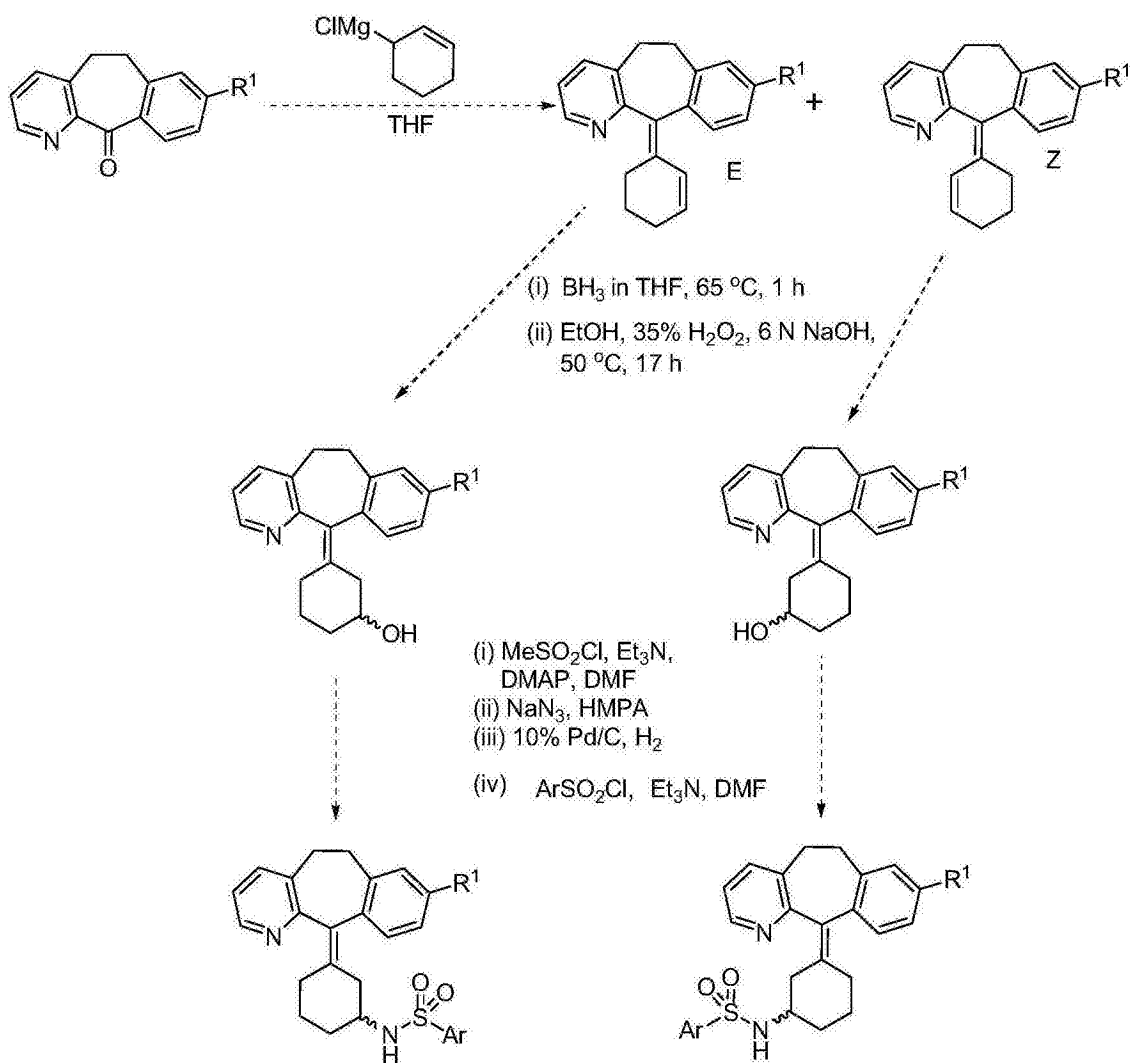
[0161] 方案 9

[0162]



[0163] 方案 10

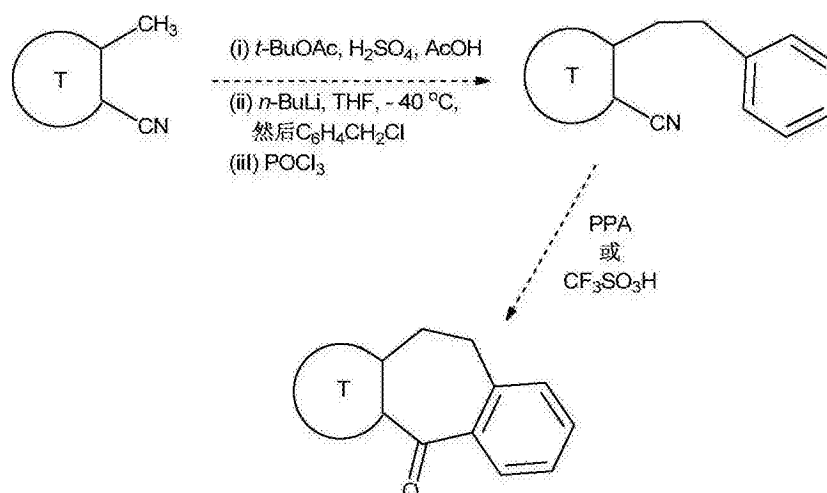
[0164]



[0165] 方案 9 和 10 所用的原料酮可以根据方案 11 由已知的邻 - 甲基腈 (ortho-methyl nitriles) 制得：

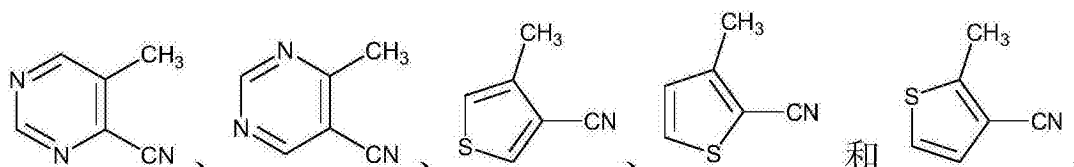
[0166] 方案 11

[0167]



[0168] 本领域已知的且适用于方案 11 的邻 - 氨基腈包括：

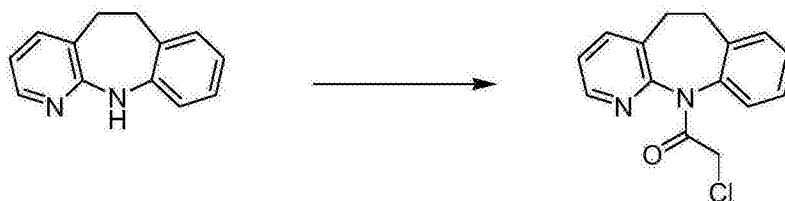
[0169]



[0170] 实施例

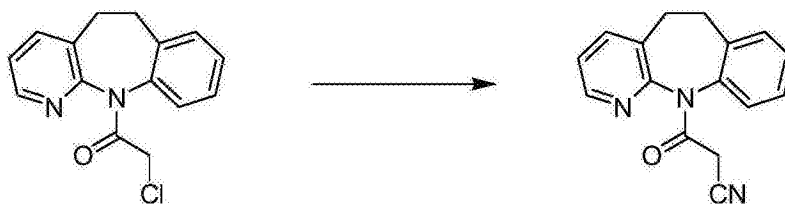
[0171] 实施例 100

[0172]



[0173] 1-(5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂-11(6H)-基)-2-氯乙酮 (1-(5H-Benzo[b]pyrido[3,2-f]azepin-11(6H)-yl)-2-chloroethanone)。将根据文献的方法 (Villani, F. J.; Mann, T. A. J. Med. Chem. 1968, 11(4), 894-5) 制得的 6,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂 (0.150g, 0.764mmol) 的 1:1 甲苯-CH₂Cl₂ 溶液, 用氯乙酰氯 (85.1 μL, 1.07mmol) 进行处理并加热至 100℃ 保持 1h。将该混合物冷却至 25℃, 在真空中浓缩以除去大部分溶剂。将残余物悬浮在最少量的 CH₂Cl₂ 中, 并通过快速色谱法 (SiO₂, 0-25% 己烷-乙酸乙酯) 进行纯化, 得到米黄色油状的目标化合物 (0.053g, 25%)。¹H NMR (600MHz, CDCl₃) δ (旋转异构体的混合物) 9.15 (0.5H, d, J = 4.8Hz), 8.24 (1H, d, J = 4.8Hz), 8.01 (0.5H, d, J = 7.2Hz), 7.63 (0.5H, br s), 7.48 (1H, dd, J = 7.8, 1.2Hz), 7.44 (0.5H, t, J = 6.6Hz), 7.35-7.37 (1H, m), 7.17-7.20 (2H, m), 7.15 (1H, dd, J = 7.2, 4.2Hz), 6.05 (1H, br s), 4.23, (2H, br s), 3.05 (4H, br s); LCMS m/z 273.1306 ([M+H]⁺, C₁₅H₁₃ClN₂O 分子量 (requires) 273.0789)。

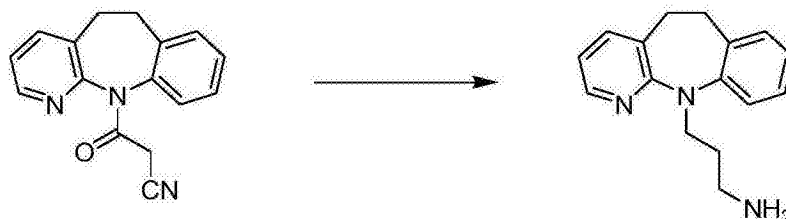
[0174]



[0175] 3-(5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂-11(6H)-基)-3-氧代丙腈 (3-(5H-Benzo[b]pyrido[3,2-f]azepin-11(6H)-yl)-3-oxopropanenitrile)。将 1-(5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂-11(6H)-基)-2-氯乙酮 (1.45g, 5.32mmol) 在 DMF (5.0mL) 中的溶液冷却至 0℃ 并用磨细的氰化钠 (0.518g, 10.6mmol) 处理。将该混合物在 25℃ 下搅拌 14 小时。将该溶液用 CH₂Cl₂ (500mL) 稀释, 并用 H₂O (3×200mL) 和饱和 NaCl 水溶液 (200mL) 洗涤, 干燥 (Na₂SO₄), 并真空浓缩。将残余物悬浮在最少量的 CH₂Cl₂ 中, 并通过快速色谱法 (SiO₂, 0-40% 己烷-乙酸乙酯) 进行纯化, 得到米黄色固态的目标化合物 (0.560g, 40%)。¹H NMR (600MHz, CDCl₃) δ (旋转异构体的混合物) 8.34 (1H, d, J = 3.6Hz), 7.57 (1H, d, J = 7.8Hz), 7.42-7.43 (1H, m), 7.26-7.30 (3H, m), 7.25 (1H, dd, J = 8.4, 5.4Hz), 3.78 (2H, br s), 3.41 (2H, br s), 2.95 (2H, br s); ¹³C NMR (150MHz, CDCl₃) δ 162.1, 151.0, 147.0, 141.1,

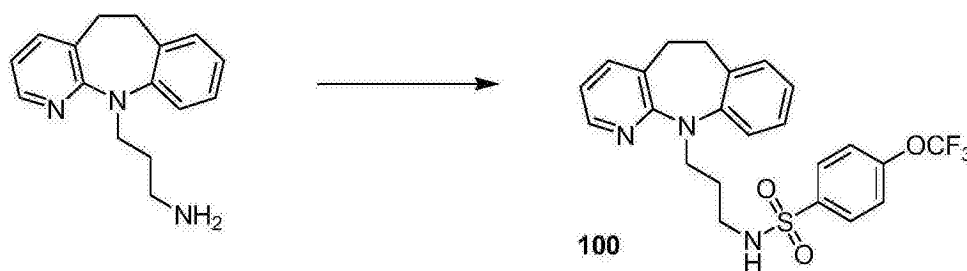
139.7, 136.3, 131.1, 129.7, 129.0, 128.3, 127.6, 124.3, 113.9, 31.4, 29.4, 26.7; LCMS m/z 264.2823 ($[M+H]^+$, $C_{16}H_{13}N_3O$ 分子量 264.1131)。

[0176]



[0177] 3-(5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂-11(6H)-基)丙-1-胺 (3-(5H-Benzo[b]pyrido[3,2-f]azepin-11(6H)-yl)propan-1-amine)。将 3-(5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂-11(6H)-基)-3-氧代丙腈 (0.560g, 2.13mmol) 在 THF (10.0mL) 中的溶液冷却至 0℃ 并用 BH_3 -THF (1M 的 THF 溶液, 8.50mL, 8.50mmol) 处理。将烧瓶密封, 加热至 70℃ 并保持 5h, 然后冷却至 0℃。将该溶液缓慢地处理, 逐滴滴加 1M 的 HCl 水溶液 (8.5mL), 在 0℃ 下额外搅拌 0.5h, 然后加热至 70℃ 保持 1h。将该混合物冷却至 25℃, 用 4M 的 NaOH 水溶液处理直至 pH>8, 并用 THF (3×100mL) 进行萃取。合并的萃取物被浓缩至干燥。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-50% 己烷-乙酸乙酯以除去非极性的杂质, 之前用 17:2:1 的 CH_2Cl_2 :MeOH: NH_4OH 洗提产物) 进行纯化。将纯化的产物的合并部分进行浓缩, 用甲苯共沸干燥, 以得到干净的油状的目标化合物 (0.267g, 49%)。¹H NMR (600MHz, $CDCl_3$) δ 8.09 (1H, dd, $J = 4.8, 1.8$ Hz), 7.25 (1H, dd, $J = 7.2, 1.2$ Hz), 7.17-7.18 (2H, m), 7.14 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.02-7.04 (1H, m), 6.70 (1H, dd, $J = 7.8, 4.8$ Hz), 4.09 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.09-3.11 (2H, m), 3.06-3.07 (2H, m), 2.98 (2H, m), 2.75 (2H, (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 1.78 (2H, 重复五次 (quintet), $J = 6.6$ Hz)。¹³C NMR (150MHz, $CDCl_3$) δ 156.3, 147.4, 144.8, 139.5, 138.3, 128.3, 126.9, 124.4, 124.0, 122.9, 116.2, 47.6, 39.8, 34.7, 31.7, 30.8; LCMS m/z 254.2144 ($[M+H]^+$, $C_{16}H_{19}N_3$ 分子量 254.1652)。

[0178]

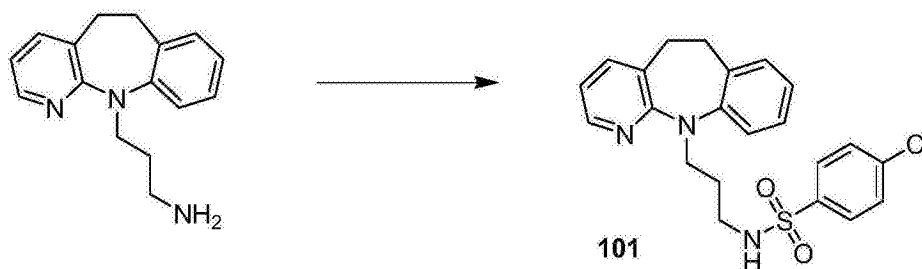


[0179] N-(3-(5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂-11(6H)-基)丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺 (N-(3-(5H-Benzo[b]pyrido[3,2-f]azepin-11(6H)-yl)propyl)-4-(trifluoromethoxy)benzenesulfonamide)。将 3-(5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂-11(6H)-基)丙-1-胺 (0.080g, 0.316mmol) 在 DMF (1.0mL) 中的溶液冷却至 0℃, 用 Et_3N (48.0 μ L, 0.348mmol) 和 4-三氟甲氧基苯磺酰氯化物 (4-trifluoromethoxybenzenesulfonyl chloride) (56.0 μ L, 0.332mmol) 处理。将所得混合物加温至 25℃, 并搅拌 2h。该混合物被分配在饱和 NaCl 水溶液 (50mL) 和 CH_2Cl_2 (100mL) 之间。将有机层用饱和 NaCl 水溶液洗涤 (3×50mL), 干燥 (Na_2SO_4), 并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通

过快速色谱法 (SiO_2 , 0-30% 己烷-乙酸乙酯) 进行纯化。合并纯化的各部分, 溶解于最少量的乙酸乙酯中, 并通过加入己烷进行沉淀, 以得到白色固态的目标化合物 (0.078g, 52%)。
 ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 8.02 (1H, dd, $J = 4.8, 1.8\text{Hz}$), 7.74 (2H, d, $J = 7.2\text{Hz}$), 7.16-7.18 (3H, m), 7.07 (1H, td, $J = 7.2\text{Hz}$), 7.03 (1H, d, $J = 7.2\text{Hz}$), 6.94-6.97 (2H, m), 6.64 (1H, dd, $J = 7.2, 4.8\text{Hz}$), 6.22 (1H, br s), 3.86 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 2.93-2.95 (2H, m), 2.91-2.93 (2H, m), 2.89-2.91 (2H, m), 1.74 (2H, 重复五次, $J = 6.6\text{Hz}$) ; ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ 155.6, 152.0, 147.3, 144.5, 140.0, 138.6, 138.2, 129.3, 128.3, 127.1, 124.8, 124.0, 122.8, 121.0, 119.6, 116.2, 47.8, 41.5, 35.1, 30.9, 28.3 ; LCMS m/z 478.7886 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ 分子量 478.1407)。

[0180] 实施例 101

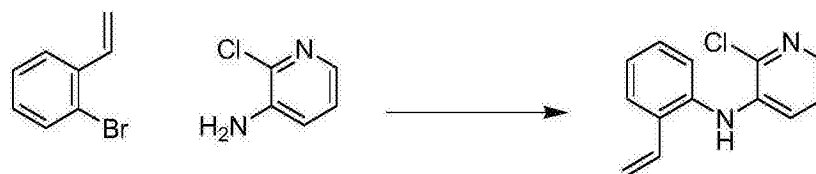
[0181]



[0182] N-(3-(5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂-11(6H)-基)丙基)-4-氯苯磺酰胺 (N-(3-(5H-Benzo[b]pyrido[3,2-f]azepin-11(6H)-yl)propyl)-4-chlorobenzenesulfonamide)。将 3-(5H-苯并[b]吡啶并[3,2-f]氮杂-11(6H)-基)丙-1-胺 (0.0800g, 0.316mmol) 在 DMF (1.0mL) 中的溶液冷却至 0℃, 用 Et_3N (48.0 μL , 0.348mmol) 和 4-氯苯磺酰氯化物 (4-chlorobenzenesulfonyl chloride) (0.0700g, 0.348mmol) 处理。将所得混合物加温至 25℃ 并搅拌 2h。该混合物被分配在饱和 NaCl 水溶液 (50mL) 和 CH_2Cl_2 (100mL) 之间。将有机层用饱和 NaCl 水溶液洗涤 (3×50mL), 干燥 (Na_2SO_4), 并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-30% 己烷-乙酸乙酯) 进行纯化。合并纯化的部分, 溶解于最少量的乙酸乙酯中, 并通过加入己烷进行沉淀, 以得到白色固态的目标化合物 (0.067g, 49%)。
 ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 7.61 (2H, dd, $J = 9.0, 1.8\text{Hz}$), 7.28 (2H, dd, $J = 8.5, 1.6\text{Hz}$), 7.17 (1H, d, $J = 7.2\text{Hz}$), 7.07 (1H, tt, $J = 8.4, 1.8\text{Hz}$), 7.03 (1H, td, $J = 7.2, 1.8\text{Hz}$), 6.96 (1H, t, $J = 1.2\text{Hz}$), 6.94 (1H, d, $J = 1.8\text{Hz}$), 6.63-6.65 (1H, m), 6.11 (1H, br s), 3.84 (2H, t, $J = 6.0\text{Hz}$), 2.93-2.94 (2H, m), 2.90-2.93 (2H, m), 2.87-2.90 (2H, m), 1.71 (2H, 重复五次, $J = 6.6\text{Hz}$) ; ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ 155.6, 147.2, 144.5, 139.9, 138.9, 138.7, 138.2, 129.4, 128.7, 128.3, 127.1, 124.7, 124.0, 122.8, 116.2, 47.7, 41.4, 35.1, 30.9, 28.3 ; LCMS m/z 428.4579 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ 分子量 428.1194)。

[0183] 实施例 102

[0184]



[0185] 2-氯-N-(2-乙烯基苯基)吡啶-3-胺 (2-Chloro-N-(2-vinylphenyl)pyridin-3-amine)。将 2-氯吡啶-3-胺 (2-chloropyridin-3-amine, 5.43g, 42.2mmol) 在二噁烷 (80.0mL) 中的溶液用 2-溴苯乙烯 (2-bromostyrene) (5.20mL, 40.2mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.277g, 0.302mmol) 和 Davephos (0.356g, 0.905mmol) 处理。将所得溶液用 Ar(g) 脱气几分钟并加热至 110℃ 保持 14h。将溶液冷却至 25℃, 真空下浓缩, 然后在饱和 NaCl 水溶液 (500mL) 和 CH_2Cl_2 (1000mL) 之间分配。将有机相用饱和 NaCl 水溶液洗涤 (3×200mL), 干燥 (Na_2SO_4), 并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-10% 己烷-乙酸乙酯) 进行纯化, 以得到目标化合物 (在静置得到米黄色固体时缓慢结晶, 3.59g, 39%)。 ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 7.84 (1H, q, $J = 1.8\text{Hz}$), 7.61 (1H, d, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.31 (1H, t, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.21-7.25 (2H, m), 7.02-7.06 (2H, m), 6.83 (1H, dd, $J = 17.4, 11.4\text{Hz}$), 6.02 (1H, s), 5.76 (1H, d, $J = 18.0\text{Hz}$), 5.34 (1H, d, $J = 11.4\text{Hz}$); ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ 139.95, 138.89, 138.1, 137.1, 133.4, 132.4, 129.1, 127.3, 125.9, 124.5, 123.3, 121.1, 117.1; LCMS m/z 231.1964 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClN}_2$ 分子量 231.0684)。

[0186]



[0187] 5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂 (5H-Benzo[b]pyrido[2,3-f]azepine)。将 2-氯-N-(2-乙烯基苯基)吡啶-3-胺 (1.46g, 6.33mmol) 在 1:1 的 DMF- Et_3N (6.0mL) 中的溶液用 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.142g, 0.633mmol) 三-邻甲苯基膦 (tri-*o*-tolylphosphine) (0.578g, 1.90mmol) 处理。所得溶液在微波炉中加热至 150℃ 2h, 然后冷却至 25℃。将混合物在饱和 NaCl 水溶液 (100mL) 和 CH_2Cl_2 (300mL) 之间分配。将有机层用饱和 NaCl 水溶液洗涤 (3×200mL), 干燥 (Na_2SO_4), 并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-30% 己烷-乙酸乙酯) 进行纯化。合并纯化的部分, 溶解于最少量的乙酸乙酯中, 并通过加入己烷进行沉淀, 以得到黄色固态的目标化合物 (0.579g, 47%)。 ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 8.06 (1H, d, $J = 4.8\text{Hz}$), 7.05 (2H, td, $J = 9.0, 1.2\text{Hz}$), 6.49 (1H, d, $J = 7.8\text{Hz}$), 6.47 (1H, d, $J = 3.6\text{Hz}$), 4.84 (1H, br s); ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ 149.7, 148.1, 144.8, 143.9, 135.2, 133.5, 131.4, 130.2, 129.4, 126.0, 123.8, 123.7, 119.5; LCMS m/z 195.1824 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_2$ 分子量 195.0917)。

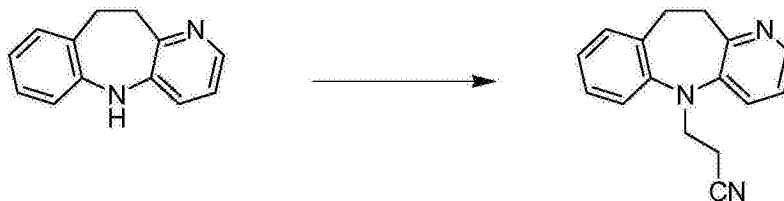
[0188]



[0189] 10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂 (10,11-Dihydro-5H-benzo[b]

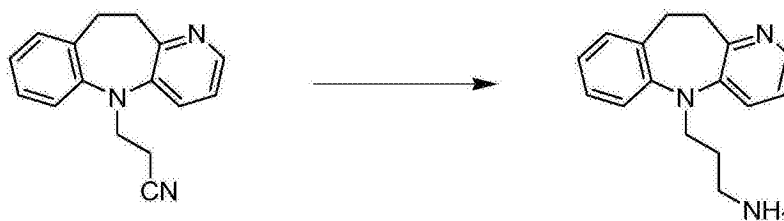
pyrido[2,3-f]azepine)。将 5H- 苯并 [b] 吡啶并 [2,3-f] 氮杂 (1.60g, 8.23mmol) 在 1:1 的 THF-MeOH(10.0mL) 中的溶液用 10% Pd/C(0.712g, 0.823mmol) 处理, 置于 $H_2(g)$ 气氛下在 25℃ 下搅拌 6h。混合物通过 Celite 过滤并在真空下浓缩。残余物溶解于最少量的 Et_2O 中并通过加入己烷进行沉淀, 以得到米黄色固态的目标化合物 (1.55g, 96%)。 1H NMR(600MHz, $CDCl_3$) δ 8.03(1H, d, $J = 1.8Hz$), 7.10-7.12(2H, m), 7.03-7.05(2H, m), 6.85(1H, d, $J = 7.2Hz$), 6.79(1H, d, $J = 7.8Hz$), 6.00(1H, s), 3.32(2H, t, $J = 5.4Hz$), 3.13(2H, t, $J = 5.4Hz$); ^{13}C NMR(150MHz, $CDCl_3$) δ 147.7, 142.1, 139.9, 139.0, 130.7, 129.8, 127.2, 124.8, 122.0, 120.8, 118.4, 38.5, 33.2; LCMS m/z 197.1975 ($[M+H]^+$, $C_{13}H_{12}N_2$ 分子量 197.1073)。

[0190]



[0191] 3-(10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂-5-基)丙腈 (3-(10,11-Dihydro-5H-benzo[b]pyrido[2,3-f]azepin-5-yl)propanenitrile)。将 10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂 (1.00g, 5.09mmol) 在甲苯 (5.0mL) 中的溶液用丙烯腈 (5.0mL) 和 Triton B(0.5mL) 处理, 并加热至 80℃ 保持 2h。将混合物冷却至 25℃, 在 $N_2(g)$ 气流下浓缩, 在最少量的甲苯中再次悬浮并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-25% 己烷-乙酸乙酯) 进行纯化。合并纯化的部分, 溶解于最少量的乙酸乙酯中, 并通过加入己烷进行沉淀, 以得到白色固态的目标化合物 (0.400g, 32%)。 1H NMR(600MHz, $CDCl_3$) δ 7.35-7.36(1H, m), 7.29(1H, dd, $J = 8.4, 1.2Hz$), 7.25(1H, d, $J = 7.2Hz$), 7.20(1H, td, $J = 7.2, 1.2Hz$), 7.08-7.10(2H, m), 7.05(1H, d, $J = 8.4Hz$), 4.06(2H, t, $J = 6.6Hz$), 3.33-3.36(2H, m), 3.29-3.31(2H, m), 2.62(2H, t, $J = 6.6Hz$); ^{13}C NMR(150MHz, $CDCl_3$) δ 153.4, 146.5, 143.2, 137.9, 129.9, 128.7, 127.2, 125.9, 125.2, 121.6, 120.6, 118.2, 46.6, 36.5, 30.0, 17.3; LCMS m/z 250.1808 ($[M+H]^+$, $C_{16}H_{15}N_3$ 分子量 250.1339)。

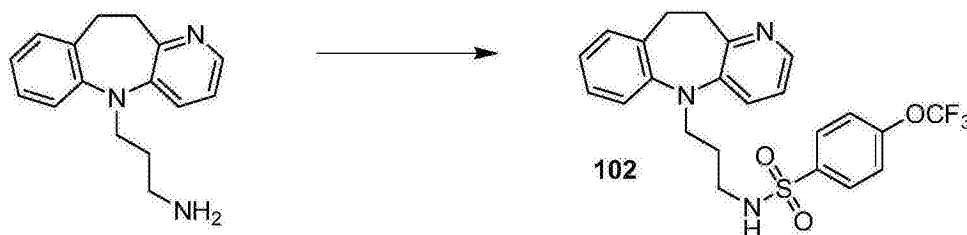
[0192]



[0193] 3-(10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂-5-基)丙-1-胺 (3-(10,11-dihydro-5H-benzo[b]pyrido[2,3-f]azepin-5-yl)propan-1-amine)。将 3-(10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂-5-基)丙腈 (0.400g, 1.60mmol) 在 THF(10.0mL) 中的溶液冷却至 0℃ 并用 BH_3-THF (1M 的 THF 中的溶液, 6.40mL, 6.40mmol) 处理。将烧瓶密封, 加热至 70℃ 保持 5h 然后冷却至 0℃。将该溶液缓慢地处理, 逐滴滴加 1M 的 HCl 水溶液 (6.40mL), 在 0℃ 下额外搅拌 0.5h, 然后加热至 70℃ 保持 1h。将该混合物冷却至 25℃, 用 4M 的 NaOH 水溶液处理直至 $pH > 8$, 然后用 THF ($3 \times 100mL$) 萃取。合并的萃取

物被浓缩至干燥。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中,并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-50% 己烷-乙酸乙酯以除去非极性的杂质,之前用 17:2:1 的 CH_2Cl_2 :MeOH: NH_4OH 洗提产物) 进行纯化。将纯化的产物的合并部分进行浓缩,用甲苯共沸干燥,以得到干净的油状的目标化合物 (0.181g, 45%)。 ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 8.07 (1H, dd, $J = 4.2, 1.2\text{Hz}$), 7.32 (1H, dd, $J = 8.4, 1.2\text{Hz}$), 7.14-7.18 (2H, m), 7.06 (1H, d, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.02 (1H, dd, $J = 8.4, 4.2\text{Hz}$), 7.00 (1H, td, $J = 7.8, 0.6\text{Hz}$), 3.77 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 3.29 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 3.19 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 2.71 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 2.17 (2H, br s), 1.70 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$); ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ 152.6, 148.2, 144.2, 141.9, 136.8, 129.2, 126.8, 126.1, 124.0, 121.4, 120.9, 47.8, 39.8, 36.6, 31.3, 30.2; LCMS m/z 254.2198 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3$ 分子量 254.1652)。

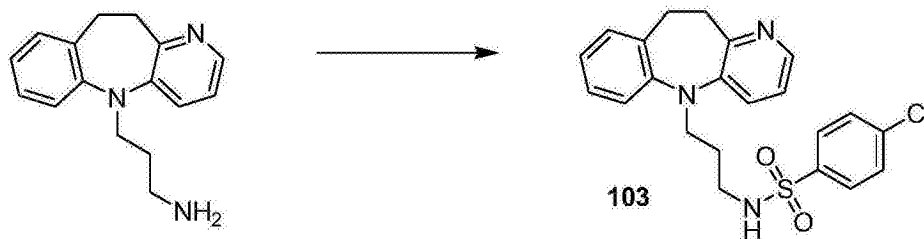
[0194]



[0195] N-(3-(10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂-5-基)丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺 (N-(3-(10,11-Dihydro-5H-benzo[b]pyrido[2,3-f]azepin-5-yl)propyl)-4-(trifluoromethoxy)benzenesulfonamide)。将 3-(10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂-5-基)丙-1-胺 (0.060g, 0.237mmol) 在 DMF (1.0mL) 中的溶液冷却至 0°C , 用 Et_3N (36.0 μL , 0.261mmol) 和 4-三氟甲氧基苯磺酰氯化物 (42.0 μL , 0.249mmol) 处理。将所得混合物加温至 25°C , 并搅拌 2h。该混合物被分配在饱和 NaCl 水溶液 (50mL) 和 CH_2Cl_2 (100mL) 之间。将有机层用饱和 NaCl 水溶液洗涤 ($3 \times 50\text{mL}$), 干燥 (Na_2SO_4), 并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-30% 己烷-乙酸乙酯) 进行纯化。合并纯化的部分, 溶解于最少量的乙酸乙酯中, 并通过加入己烷进行沉淀, 以得到白色固态的目标化合物 (0.065g, 57%)。 ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 8.04 (1H, dd, $J = 4.6, 1.0\text{Hz}$), 7.80 (2H, d, $J = 7.2\text{Hz}$), 7.28 (1H, d, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.26 (2H, d, $J = 9.0\text{Hz}$), 7.15-7.18 (2H, m), 7.02-7.04 (3H, m), 5.40 (1H, s), 3.75 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 3.19 (2H, t, $J = 6.0\text{Hz}$), 3.04 (2H, t, $J = 6.0\text{Hz}$), 3.00 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 1.78 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$); ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ 152.5, 152.2, 147.5, 144.2, 142.2, 138.5, 136.8, 129.5, 129.3, 127.1, 126.1, 124.5, 121.6, 121.4, 121.1, 120.8, 46.9, 41.0, 36.4, 30.1, 27.7; LCMS m/z 478.3604 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ 分子量 478.1407)。

[0196] 实施例 103

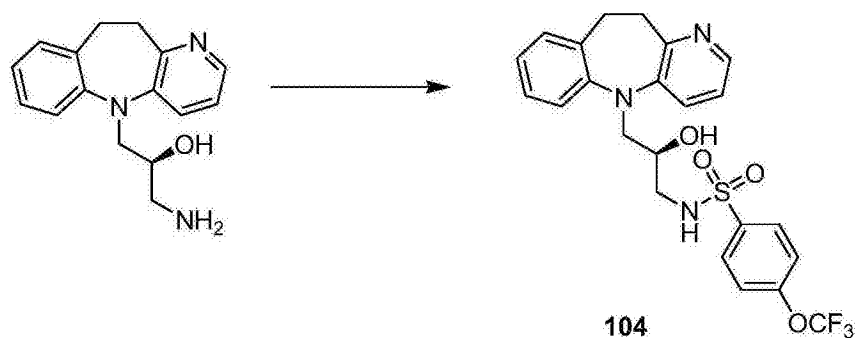
[0197]



[0198] 4-氯-N-(3-(10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺(4-Chloro-N-(3-(10,11-dihydro-5H-benzo[b]pyrido[2,3-f]azepin-5-yl)propyl)benzenesulfonamide)。将3-(10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂-5-基)丙-1-胺(0.0600g, 0.237mmol)在DMF(1.0mL)中的溶液冷却至0℃,用Et₃N(36.0μL, 0.261mmol)和4-氯苯磺酰氯化物(0.0530g, 0.249mmol)处理。将所得混合物加温至25℃,并搅拌2h。该混合物被分配在饱和NaCl水溶液(50mL)和CH₂Cl₂(100mL)之间。将有机层用饱和NaCl水溶液洗涤(3×50mL),干燥(Na₂SO₄),并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的CH₂Cl₂中,并通过快速色谱法(SiO₂, 0-30%己烷-乙酸乙酯)进行纯化。合并纯化的部分,溶解于最少量的乙酸乙酯中,并通过加入己烷进行沉淀,以得到白色固态的目标化合物(0.059g, 58%)。¹H NMR(600MHz, CDCl₃) δ 8.06(1H, dd, J = 4.8, 1.2Hz), 7.68(2H, d, J = 8.4Hz), 7.40(2H, d, J = 8.4Hz), 7.26(1H, d, J = 7.8Hz), 7.15-7.17(2H, m), 7.02-7.05(2H, m), 7.02(1H, s), 5.22(1H, t, J = 5.4Hz), 3.73(2H, t, J = 6.6Hz), 3.19(2H, t, J = 6.0Hz), 3.04(2H, t, J = 6.6Hz), 2.98(2H, q, J = 6.0Hz), 1.75(2H, 重复五次, J = 6.0Hz); ¹³C NMR(150MHz, CDCl₃) δ 152.6, 147.5, 144.2, 142.2, 139.3, 138.6, 136.8, 129.6, 129.5, 128.6, 127.0, 126.0, 124.5, 121.6, 120.8, 46.9, 41.0, 36.5, 30.2, 27.7; LCMS m/z 428.2336([M+H]⁺, C₂₂H₂₂ClN₃O₂S 分子量 428.1194)。

[0199] 实施例 104

[0200]

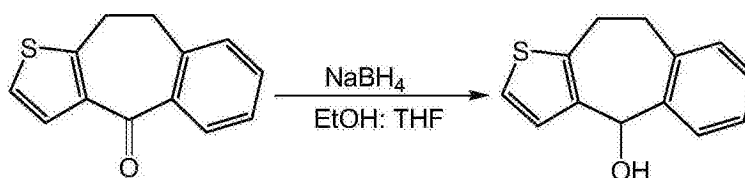


[0201] (R)-N-(3-(10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂-5-基)-2-羟丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺((R)-N-(3-(10,11-dihydro-5H-benzo[b]pyrido[2,3-f]azepin-5-yl)-2-hydroxypropyl)-4-(trifluoromethoxy)benzenesulfonamide)。将(S)-1-氨基-3-(10,11-二氢-5H-苯并[b]吡啶并[2,3-f]氮杂-5-基)丙-2-醇((S)-1-amino-3-(10,11-dihydro-5H-benzo[b]pyrido[2,3-f]azepin-5-yl)propan-2-ol)(0.056g, 0.208mmol)在DMF(1.0mL)中的溶液冷却至0℃,用Et₃N(30.0μL, 0.218mmol)和4-三氟甲氧基苯磺酰氯化物(37.0μL, 0.218mmol)处理。将所得混合物加温至25℃,并搅拌2h。该混合物被分配在饱和NaCl水溶液(50mL)和CH₂Cl₂(100mL)之间。将

有机层用饱和 NaCl 水溶液洗涤 (3×50mL), 干燥 (Na_2SO_4), 并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-30% 己烷-乙酸乙酯) 进行纯化。合并纯化的部分, 溶解于最少量的乙酸乙酯中, 并通过加入己烷进行沉淀, 以得到透明膜状的目标化合物 (0.061g, 59%)。 ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 7.97 (1H, d, $J = 4.8\text{Hz}$), 7.78 (2H, d, $J = 6.6\text{Hz}$), 7.30 (1H, d, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.21 (2H, d, $J = 8.4\text{Hz}$), 7.10-7.14 (2H, m), 7.01-7.04 (2H, m), 6.97 (1H, dd, $J = 7.8, 4.8\text{Hz}$), 6.28 (1H, br s), 3.81 (1H, dd, $J = 6.0, 3.0\text{Hz}$), 3.77 (1H, d, $J = 6.6\text{Hz}$), 3.69 (1H, dd, $J = 12.6, 6.0\text{Hz}$), 3.17-3.20 (1H, m), 3.12-3.14 (2H, m), 3.05-3.07 (2H, m), 2.92-2.95 (1H, m); ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ 152.4, 152.1, 147.7, 144.0, 142.1, 138.4, 136.6, 129.4, 129.2, 127.2, 126.5, 124.8, 121.7, 121.2, 121.1, 120.8, 67.1, 54.0, 47.1, 36.7, 36.2; LCMS m/z 494.6078 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ 分子量 494.5061)。

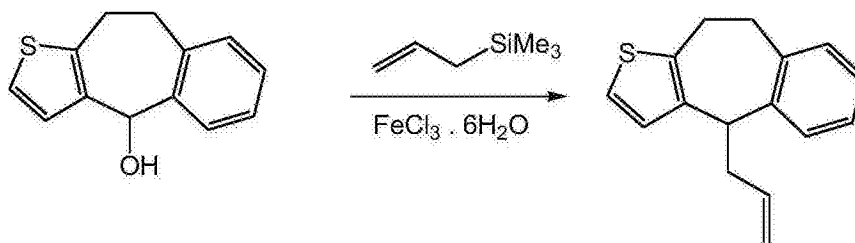
[0202] 实施例 105

[0203]



[0204] 9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-醇 (9,10-dihydro-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-ol)。向 9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-酮 (9,10-dihydro-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-one) (5.70g, 26.6mmol) 在乙醇 (106mL) 和 THF (42mL) 的溶液中缓慢加入硼氢化钠 (4.02g, 106mmol)。将反应混合物煮沸然后在 80°C 下搅拌 10min, 并在密闭容器中在室温 (RT) 下放置 18h。混合物被倒入冰水中, 用 NH_4Cl 饱和水溶液处理, 浓缩以除去乙醇 (EtOH) 和 THF, 用 DCM 萃取, 浓缩以得到 9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-醇 (5.69g, 99%)。 ^1H NMR (600MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.39-7.38 (1H, m), 7.24-7.23 (1H, m), 7.20-7.17 (2H, m), 7.06 (1H, d, $J = 5.4\text{Hz}$), 5.89-5.87 (2H, m), 3.34-3.30 (1H, m), 3.12-3.02 (2H, m), 2.97-2.92 (1H, m); ^{13}C NMR (150MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 145.1, 140.3, 139.2, 136.7, 129.5, 129.1, 127.6, 126.5, 125.3, 121.9, 69.4, 31.1, 29.1。

[0205]

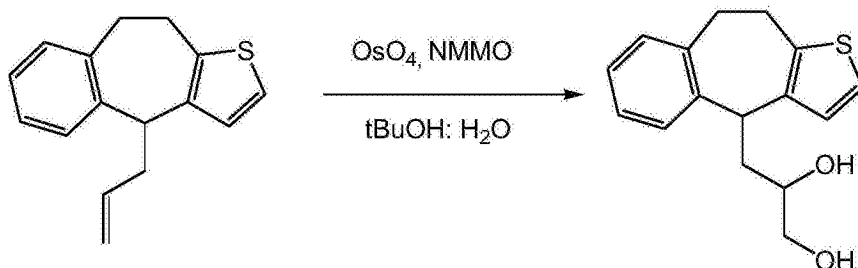


[0206] 4-烯丙基-9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩 (4-allyl-9,10-dihydro-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophene)。向 9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-醇 (0.101g, 0.481mmol) 在干燥的 DCM (1mL) 中的 0°C 的溶液中加入烯丙基三甲基硅烷 (allyltrimethylsilane) (0.109g, 0.962mmol) 和六水氯化铁 (III) (0.007g, 0.024mmol)。将混合物在室温下、氩气中搅拌 30 分钟。减压条件下除去溶剂,

并将残余物通过快速色谱(SiO_2 , 0% 己烷中的乙酸乙酯为)进行纯化,以得到黄色油状的 4-烯丙基-9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩(0.050g, 43%)。

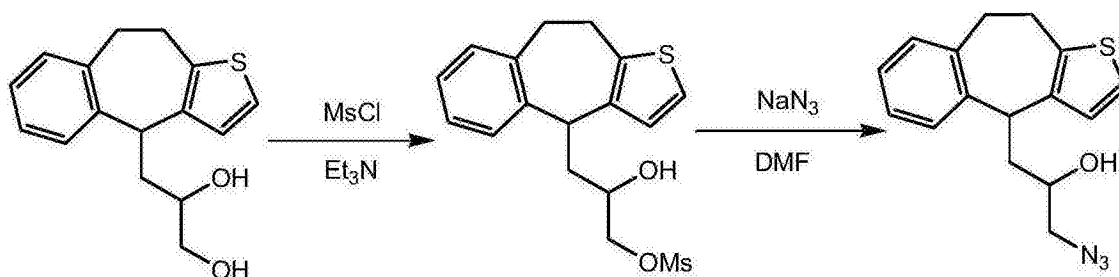
[0207] ^1H NMR(600MHz, CDCl_3) δ 7.23-7.13(4H, m), 7.06-7.04(1H, m), 6.85-6.84(1H, m), 5.79-5.73(1H, m), 5.03-4.98(2H, m), 4.11(1H, t, $J = 7.8\text{Hz}$), 3.52-3.48(1H, m), 3.29-3.25(1H, m), 3.03-2.98(2H, m), 2.81-2.77(2H, m); ^{13}C NMR(150MHz, CDCl_3) δ 142.3, 140.2, 137.7, 130.6, 130.1, 129.7, 127.0, 126.4, 121.2, 116.3, 48.8, 42.5, 33.4, 29.1.

[0208]



[0209] 3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)丙烷-1,2-二醇(3-(9,10-dihydro-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yl)propane-1,2-diol)。将 4-烯丙基-9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩(0.025g, 0.104mmol)、四氧化锇(0.012mL, 0.001mmol, 2.5% 叔丁醇中)和 N-甲基吗啉-N-氧化物(N-methylmorpholine N-oxide, 0.013g, 0.114mmol)在叔丁醇:水(0.5mL:1mL)中的溶液在室温下搅拌 14h。将反应混合物用固体亚硫酸氢钠处理 1h, 浓缩, 用快速色谱法(SiO_2 , 2%-10% 甲醇-二氯甲烷)进行纯化, 以得到 3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)丙烷-1,2-二醇(0.027g, 96%)。通过 ^1H NMR 分析测得非对映体的比值为 1:1.2。 ^1H NMR(600MHz, CDCl_3) δ 7.24-7.15(4H, m), 7.05-7.03(1H, m), 1H[6.90(d, $J = 5.4\text{Hz}$), 6.86(d, $J = 4.8\text{Hz}$)], 1H[4.38(dd, $J = 10.2, 4.2\text{Hz}$), 4.32-4.31(m)], 1H[3.78-3.76(m), 3.63(dd, $J = 10.3, 3.0\text{Hz}$)], 3.52-3.37(3H, m), 3.26-3.24(1H, m), 2.96-2.92(2H, m), 2.18-1.98(4H, m); ^{13}C NMR(150MHz, CDCl_3) δ 143.0, 141.3, 140.4, 140.3, 138.1, 137.5, 137.4, 137.0, 131.0, 130.4, 129.2, 127.3, 127.0, 126.6, 121.8, 121.4, 70.7, 70.1, 67.3, 67.1, 44.8, 44.4, 41.4, 33.6, 33.3, 29.0; LCMS m/z 275.1161 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_2\text{S}$ 分子量 275.3853)。

[0210]



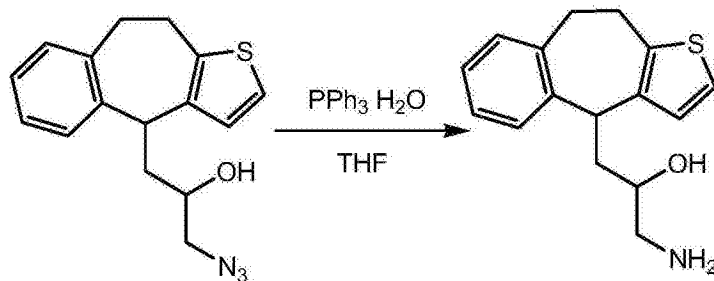
[0211] 1-叠氮基-3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)丙-2-醇(1-azido-3-(9,10-dihydro-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yl)propan-2-ol)。

[0212] 在 0℃ 下, 在氩气氛围中, 向 3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻

吩-4-基)丙-1,2-二醇(2.50g, 9.11mmol)和三乙胺(triethylamine)(2.50mL, 18.2mmol)在DCM(9.0mL)的溶液中加入甲烷磺酰氯(methane sulfonyl chloride)(1.48mL, 0.843mmol)。将混合物在室温下搅拌21h。将反应混合物用1N的HCl处理,用DCM萃取,将有机层用盐水(brine)洗涤,浓缩,得到的残余物用快速色谱法(SiO_2 , 25% -50% 乙酸乙酯-己烷)进行纯化,以得到无需进一步纯化而直接送入下一步骤的粗3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)-2-羟丙基甲磺酸酯(0.429g)。

[0213] 将3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)-2-羟丙基甲磺酸酯(0.429g, $\sim 1.22\text{mmol}$)和叠氮化钠(0.095g, 1.46mmol)在DMF(0.3mL)中的溶液在密闭容器中加热至70℃保持1h。将混合物冷却至25℃,加入盐水,用DCM萃取,在真空下浓缩,用快速色谱法(SiO_2 , 10% -20% 乙酸乙酯-己烷)进行纯化,以得到1-叠氮基-3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)丙-2-醇(0.204g, 经过两步为8%)。通过 ^1H NMR分析测得非对映体的比值为1:1.2。 ^1H NMR(600MHz, CDCl_3) δ 7.25-7.18(4H, m), 7.08-7.06(1H, m), 1H[6.91(d, $J = 5.4\text{Hz}$), 6.89(d, $J = 4.8\text{Hz}$)], 1H[4.41(dd, $J = 11.4, 4.8\text{Hz}$), 4.33(d, $J = 9.6, 6.6\text{Hz}$)], 1H[3.85-3.81(m), 3.56-3.53(m)], 3.51-3.35(2H, m), 3.32-3.18(2H, m), 2.98-2.93(2H, m), 2.38-2.13(2H, m), 2.10-2.04(1H, m); ^{13}C NMR(150MHz, CDCl_3) δ 142.9, 141.0, 140.4, 140.3, 137.8, 137.7, 137.5, 136.7, 130.9, 130.5, 130.4, 130.3, 129.2, 127.5, 127.4, 127.1, 126.6, 121.9, 121.6, 69.3, 68.7, 57.7, 57.5, 44.7, 44.4, 42.6, 33.6, 33.3, 29.0; LCMS m/z 272.1137 ($[\text{M}-\text{N}_2+\text{H}^+]$, $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NOS}$ 分子量 272.3847)。

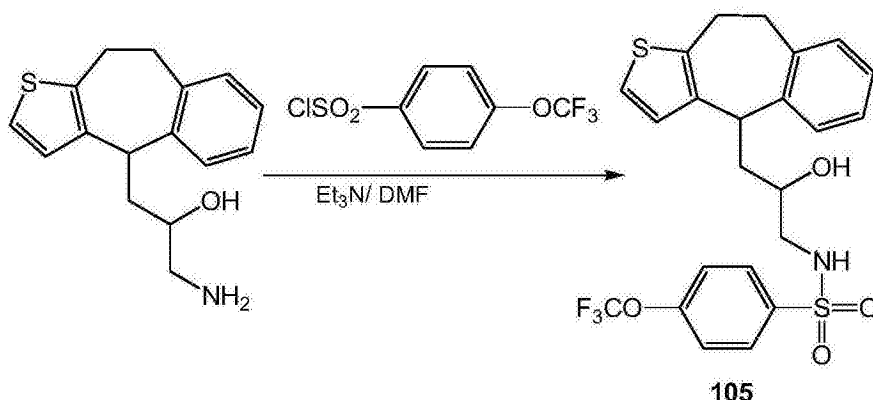
[0214]



[0215] 1-氨基-3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)丙-2-醇。将1-叠氮基-3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)丙-2-醇(0.153g, 0.511mmol)在THF(1mL)中的溶液冷却至0℃,用PPh₃(0.147g, 0.562mmol)、H₂O(0.055mL, 3.06mmol)处理,并在室温下搅拌12h。将溶液浓缩为干燥状态,溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中,用快速色谱法(SiO_2 , 100%己烷,50%乙酸乙酯-己烷,5%,甲醇-二氯甲烷,17:2:1的二氯甲烷:甲醇:35%的氢氧化铵)进行纯化,以得到1-氨基-3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)丙-2-醇(0.109g, 78%)。通过 ^1H NMR分析测得非对映体的比值为1:1.2。 ^1H NMR(600MHz, CDCl_3) δ 7.27-7.25(1H, m), 7.22-7.14(3H, m), 7.04-7.02(1H, m), 1H[6.94(d, $J = 5.4\text{Hz}$), 6.88(d, $J = 4.8\text{Hz}$)], 1H[4.43(dd, $J = 11.4, 4.2\text{Hz}$), 4.36(dd, $J = 9.6, 6.0\text{Hz}$)], 3.56-3.42(2H, m), 3.28-3.24(1H, m), 2.99-2.91(2H, m), 1H[2.82(d, $J = 10.8\text{Hz}$), 2.69(d, $J = 10.8\text{Hz}$)], 2.53-2.46(1H, m), 2.14-.05(1H, m), 1.97-1.91(4H, m); ^{13}C NMR(150MHz, CDCl_3) δ 143.6, 141.5, 140.4, 140.2, 138.5, 137.4, 137.2, 131.3, 130.6, 130.2, 129.2, 127.1, 126.9, 126.4, 121.6, 121.1, 70.0, 69.5, 47.8, 47

. 7, 44. 7, 44. 6, 43. 3, 43. 2, 33. 6, 33. 3, 29. 0 ;LCMS m/z 274. 2863 ($[M+H]^+$, $C_{16}H_{20}NOS$ 分子量 274. 4006)。

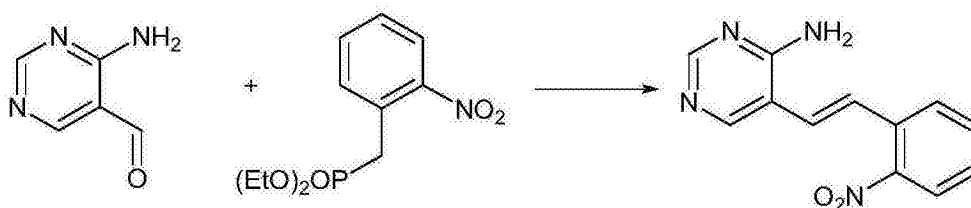
[0216]



[0217] N-(3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)-2-羟丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺 (N-(3-(9,10-dihydro-4H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-4-yl)-2-hydroxypropyl)-4-(trifluoromethoxy)benzenesulfonamide)。将 1-氨基-3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)丙-2-醇 (0.041g, 0.150mmol) 在 DMF (1.0mL) 中的溶液冷却至 0℃, 用 Et_3N (0.021mL, 0.150mmol) 和 4-(三氟甲氧基)苯-1-磺酰氯 (4-(trifluoromethoxy)benzene-1-sulfonyl chloride) (0.025mL, 0.150mmol) 处理。将所得混合物加温至室温并搅拌 18h。该混合物被分配在水 (10mL) 和 CH_2Cl_2 (10mL) 之间。将有机层用饱和 NaCl 水溶液洗涤 (30mL×3) 以除去 DMF, 并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通过快速色谱法 (SiO_2 , 20% -50% 乙酸乙酯-己烷) 进行纯化, 以得到 N-(3-(9,10-二氢-4H-苯并[4,5]芳庚并[1,2-b]噻吩-4-基)-2-羟丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺 (105) (0.065g, 88%)。通过 1H NMR 分析测得非对映体的比值为 1:1.2。 1H NMR (600MHz, CD_3OD) δ 7.93-7.86 (2H, m), 7.42-7.37 (2H, m), 7.17-7.04 (5H, m), 1H[6.87 (d, $J = 4.8Hz$), 6.81 (d, $J = 5.4Hz$)], 1H[4.31 (dd, $J = 11.4, 3.6Hz$), 4.27 (d, $J = 9.0, 6.0Hz$)], 3.54-3.17 (4H, m), 2.93-2.78 (5H, m), 1H[2.49-2.20 (m), 2.17-2.13 (m)], 1.82-1.78 (1H, m); ^{13}C NMR (150MHz, CD_3OD) δ 151.7, 143.4, 141.2, 140.5, 140.3, 139.8, 139.7, 138.3, 137.0, 136.7, 130.6, 130.0, 129.9, 129.8, 129.0, 128.7, 126.8, 126.7, 126.4, 126.0, 121.1, 121.0, 120.8, 67.9, 67.6, 49.1, 48.7, 44.0, 43.7, 42.6, 42.4, 33.1, 32.8, 28.6; LCMS m/z 498. 1076 ($[M+H]^+$, $C_{23}H_{23}F_3NO_4S_2$ 分子量 498. 5577)。

[0218] 实施例 106 和 107

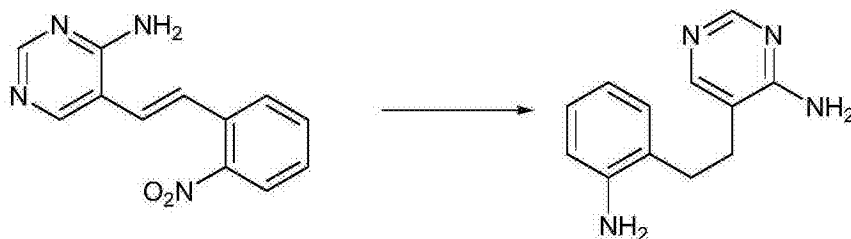
[0219]



[0220] (E)-5-(2-硝基苯乙烯基)嘧啶-4-胺 ((E)-5-(2-nitrostyryl)pyrimidin-4-amine)。将 4-氨基嘧啶-5-甲醛 (4-aminopyrimidine-5-carbaldehyde) (1.00g, 8.12mmol) 在 DMF (10.0mL) 中的溶液用甲醇钠 (0.527g, 9.75mmol) 和二乙基 2-硝

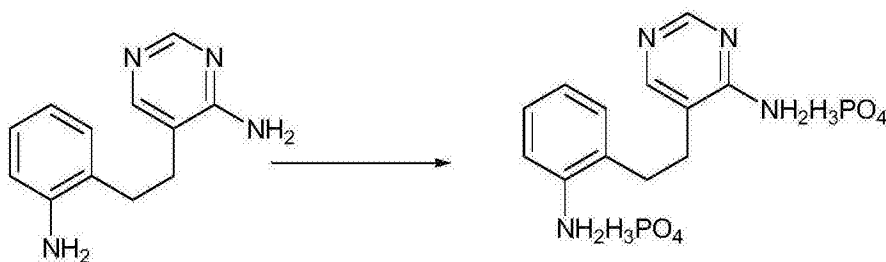
基苄基膦酸盐 (diethyl 2-nitrobenzylphosphonate) (2.22g, 8.12mmol) 处理,并在 25℃ 下搅拌过夜。将混合物倒入甲醇 (100mL) 中,并通过过滤收集形成的白色固体,以得到目标化合物 (1.61g, 82%)。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 8.40 (1H, d, J = 3.6Hz), 8.34 (1H, d, J = 4.2Hz), 8.03-8.04 (1H, m), 7.99-8.00 (1H, m), 7.75-7.77 (1H, m), 7.53-7.55 (1H, m), 7.37 (1H, dd, J = 15.6, 3.6Hz), 7.28 (1H, dd, J = 16.2, 4.2Hz), 7.16 (2H, br s); ¹³C NMR (150MHz, DMSO-d₆) δ 160.7, 157.7, 151.9, 147.8, 133.4, 131.9, 128.7, 128.6, 125.6, 124.5, 124.3, 113.5; LCMS m/z 243.2593 ([M+H]⁺, C₁₂H₁₀N₄O₂ 分子量 243.2408)。

[0221]



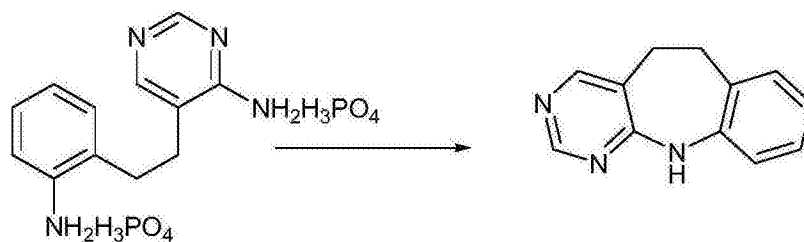
[0222] 5-(2-氨基苯乙基)嘧啶-4-胺 (5-(2-aminophenethyl)pyrimidin-4-amine)。将 (E)-5-(2-硝基苯乙烯基)嘧啶-4-胺 (1.61g, 6.65mmol) 在 DMF:MeOH (1:1, 10.0mL) 中的溶液用 10% 的 Pd/C (0.353g) 处理,置于 H₂(g) 气氛下,并在 25℃ 下搅拌 14h。混合物通过 Celite 过滤并在真空下浓缩。将残余物用水 (50mL) 处理并通过过滤收集形成的白色固体,以得到目标化合物 (1.06g, 74%)。¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 8.22 (1H, s), 7.90 (1H, s), 6.93 (1H, d, J = 7.2Hz), 6.89 (1H, d, J = 7.2, 1.2Hz), 6.69 (4H, br s), 6.61 (1H, d, J = 7.8Hz), 6.48 (1H, d, J = 7.2Hz), 2.65-2.68 (2H, m), 2.60-2.62 (2H, m); ¹³C NMR (150MHz, DMSO-d₆) δ 161.8, 156.1, 153.4, 146.1, 129.0, 126.6, 124.4, 116.6, 116.1, 114.6, 28.6, 26.4; LCMS m/z 215.2180 ([M+H]⁺, C₁₂H₁₄N₄O 分子量 215.1291)。

[0223]



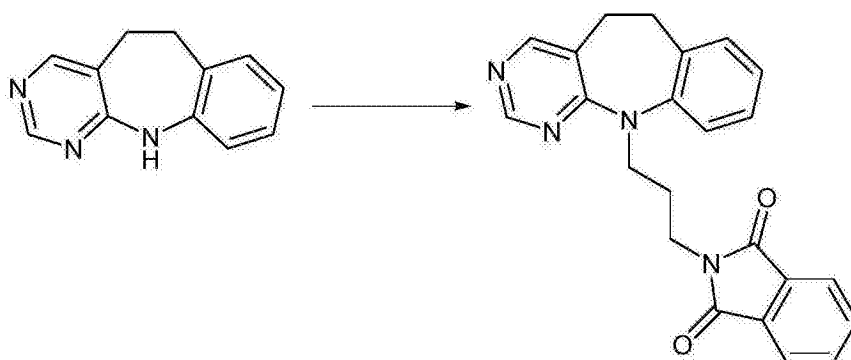
[0224] 5-(2-氨基苯乙基)嘧啶-4-胺磷酸盐。将 5-(2-氨基苯乙基)嘧啶-4-胺 (1.06g, 4.93mmol) 在 EtOH (10.0mL) 中的溶液冷却至 0℃ 并用磷酸 (85%, 0.67mL, 9.86mmol) 处理。将溶液加温至 25℃ 并搅拌 1h。通过过滤收集形成的白色固体以得到白色固态的目标化合物 (1.91g, 99%)。¹H NMR (600MHz, CD₃OD) δ 8.40 (1H, s), 7.76 (1H, s), 6.98 (1H, td, J = 7.8, 1.8Hz), 6.88 (1H, dd, J = 7.2, 1.2Hz), 6.74 (1H, dd, J = 7.8, 0.6Hz), 6.62 (1H, td, J = 7.8, 1.2Hz), 2.85-2.88 (2H, m), 2.80-2.83 (2H, m)。

[0225]



[0226] 6,11-二氢-5H-苯并[b]嘧啶并[5,4-f]氮杂(6,11-dihydro-5H-benzo[b]pyrimido[5,4-f]azepine)。将5-(2-氨基苯乙基)嘧啶-4-胺磷酸盐(7.72g, 19.5mmol)在二甲苯(20mL)中的悬浮液加热至200℃保持2h。将混合物冷却至25℃并在碳酸氢钠饱和水溶液(200mL)和乙酸乙酯(200mL)之间分配。将有机相干燥(Na_2SO_4)并在真空下浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中,并通过快速色谱法(SiO_2 , 0-50%乙酸乙酯-己烷)进行纯化。合并纯化的部分,在真空下浓缩,置于最少量的乙醚(diethyl ether)中悬浮,并通过加入己烷进行沉淀,以得到米黄色固态的目标化合物(3.26g, 85%)。 ^1H NMR(600MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.48(1H, s), 8.17(1H, s), 7.28(1H, d, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.16(1H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 7.14(1H, d, $J = 7.2\text{Hz}$), 6.91(1H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 2.99-3.00(2H, m), 2.88-2.90(2H, m); ^{13}C NMR(150MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 158.4, 156.1, 155.9, 139.3, 130.6, 130.1, 126.9, 121.7, 120.0, 118.0, 33.9, 31.0; LCMS m/z 198.1862($[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_3$ 分子量198.2432)。

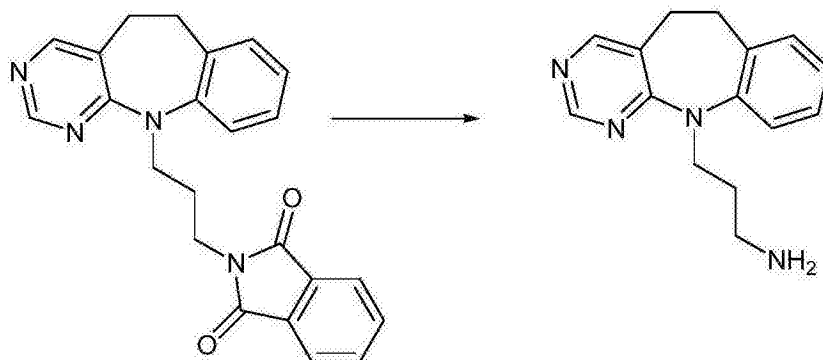
[0227]



[0228] 2-(3-(5H-苯并[b]嘧啶并[5,4-f]氮杂-11(6H)-基)丙基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-(3-(5H-benzo[b]pyrimido[5,4-f]azepin-11(6H)-yl)propyl)isoindoline-1,3-dione)。将6,11-二氢-5H-苯并[b]嘧啶并[5,4-f]氮杂(1.00g, 5.07mmol)在DMF(10mL)中的溶液冷却至0℃,用NaH(60%, 0.304g, 7.60mmol)和N-(3-溴丙基)邻苯二甲酰亚胺(N-(3-bromopropyl)phthalimide)(2.04g, 7.60mmol)处理。将溶液加温至25℃并搅拌14h。将混合物倒入NaCl饱和水溶液(100mL)中并用 CH_2Cl_2 (3×100mL)萃取。将合并的萃取物用NaCl饱和水溶液(3×100mL)洗涤、干燥(Na_2SO_4)并在真空下浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中并用快速色谱法(SiO_2 , 0-75%乙酸乙酯-己烷)进行纯化,以得到褐色油状的目标化合物(1.60g, 82%)。 ^1H NMR(600MHz, CDCl_3) δ 8.45(1H, s), 8.09(1H, s), 7.81(2H, dd, $J = 5.4, 3.0\text{Hz}$), 7.70(2H, dd, $J = 5.4, 2.4\text{Hz}$), 7.21(2H, d, $J = 3.6\text{Hz}$), 7.14(1H, d, $J = 7.2\text{Hz}$), 7.08-7.11(1H, m), 4.27(2H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 3.71(2H, t, $J = 7.2\text{Hz}$), 3.13-3.15(2H, m), 2.96-2.98(2H, m), 2.06(2H, 重复五次, $J = 6.6\text{Hz}$); ^{13}C NMR(150MHz, CDCl_3) δ 168.5, 159.9, 157.4, 155.5, 144.6, 138.6, 134.1, 132.3, 128.7, 127.3, 125.6, 123.9, 123.4, 119.6, 48.3, 36

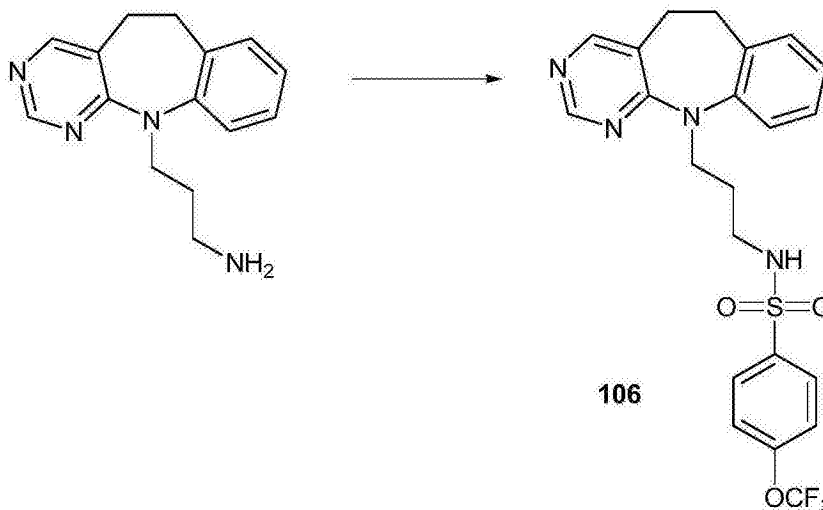
. 1, 33. 7, 31. 6; LCMS m/z 385. 2550 ($[M+H]^+$), $C_{23}H_{20}N_4O_2$ 分子量 385. 1659)。

[0229]



[0230] 3-(5H-苯并[b]嘧啶并[5,4-f]氮杂-11(6H)-基)丙-1-胺(3-(5H-benzo[b]pyrimido[5,4-f]azepin-11(6H)-yl)propan-1-amine)。将2-(3-(5H-苯并[b]嘧啶并[5,4-f]氮杂-11(6H)-基)丙基)异吲哚啉-1,3-二酮(1.60g, 4.16mmol)在EtOH(10.0mL)中的溶液用 $NH_2NH_2 \cdot H_2O$ (0.41mL, 8.32mmol)处理并加热至90℃保持1h。将混合物冷却至25℃、过滤并在真空下干燥。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中并用快速色谱法(SiO_2 , 17:2:1 CH_2Cl_2 :MeOH: NH_4OH)进行纯化。将纯化的部分浓缩,用甲苯共沸干燥,以得到米黄色油状的目标化合物(0.335g, 32%)。 1H NMR(600MHz, $CDCl_3$) δ 8.60(1H, s), 8.09(1H, s), 7.23-7.24(2H, m), 7.14(1H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.09-7.11(1H, m), 4.27(2H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.04-3.06(2H, m), 2.95-2.97(2H, m), 2.71(2H, t, $J = 6.6$ Hz), 1.79(2H, 重复五次, $J = 6.6$ Hz); ^{13}C NMR(150MHz, $CDCl_3$) δ 160.1, 157.3, 155.6, 144.8, 138.5, 128.5, 127.3, 125.5, 124.1, 119.5, 48.5, 40.0, 33.7, 32.4, 31.6; LCMS m/z 255. 1636 ($[M+H]^+$), $C_{15}H_{18}N_4$ 分子量 255. 1604)。

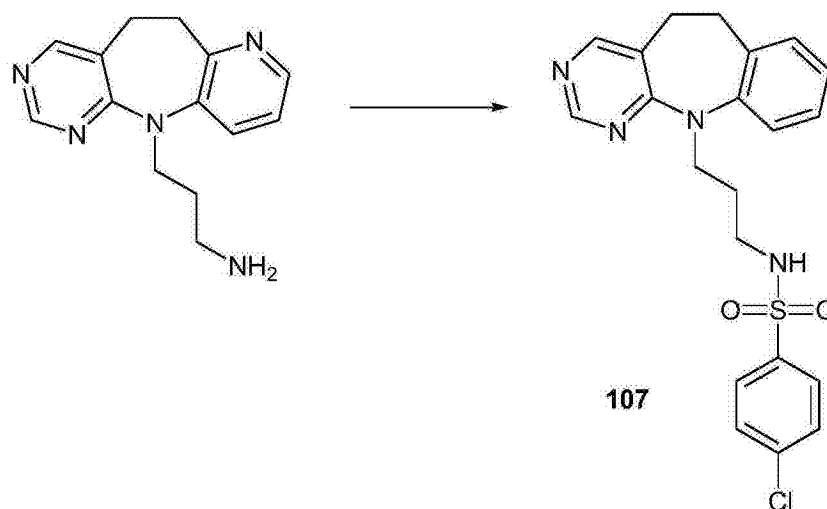
[0231]



[0232] N-(3-(5H-苯并[b]嘧啶并[5,4-f]氮杂-11(6H)-基)丙基)-4-(三氟甲氧基)-苯磺酰胺(N-(3-(5H-benzo[b]pyrimido[5,4-f]azepin-11(6H)-yl)propyl)-4-(trifluoromethoxy)-benzenesulfonamide)。将3-(5H-苯并[b]嘧啶并[5,4-f]氮杂-11(6H)-基)丙-1-胺(0.068g, 0.267mmol)在DMF(1.0mL)中的溶液冷却至0℃,用 Et_3N (37.0 μ L, 0.267mmol)和4-三氟甲氧基苯磺酰氯化物(45.0 μ L, 0.267mmol)处理。将所得混合物加温至25℃,并搅拌2h。该混合物被分配在饱和NaCl水溶液(50mL)

和 CH_2Cl_2 (100mL) 之间。将有机层用饱和 NaCl 水溶液洗涤 ($3 \times 50\text{mL}$), 干燥 (Na_2SO_4), 并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-50% 乙酸乙酯-己烷) 进行纯化。合并纯化的部分, 浓缩, 并将残余物溶解于最少量的乙酸乙酯中, 并通过加入己烷进行沉淀, 以得到白色固态的目标化合物 (106) (0.0608g, 48%)。 ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 8.61 (1H, s), 8.10 (1H, s), 7.84 (2H, d, $J = 8.4\text{Hz}$), 7.30 (2H, d, $J = 8.4\text{Hz}$), 7.21-7.24 (1H, m), 7.16 (1H, d, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.10-7.14 (2H, m), 5.79 (1H, t, $J = 5.4\text{Hz}$), 4.16 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 3.01 (2H, q, $J = 6.6\text{Hz}$), 2.92-2.96 (4H, m), 1.92 (2H, 重复五次, $J = 6.6\text{Hz}$); ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ 159.6, 157.5, 155.3, 152.2, 144.4, 138.5, 138.2, 129.3, 128.8, 127.5, 125.9, 123.8, 121.2, 119.7, 119.6, 48.3, 41.2, 33.8, 31.8, 28.5; LCMS m/z 479.2451 ($[\text{M}+\text{H}^+]$, $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ 分子量 479.1359)。

[0233]



[0234] N-(3-(5H-苯并[b]嘧啶并[5,4-f]氮杂-11(6H)-基)丙基)-4-氯苯-磺酰胺 (N-(3-(5H-benzo[b]pyrimido[5,4-f]azepin-11(6H)-yl)propyl)-4-chlorobenzene-sulfonamide)。将 3-(5H-苯并[b]嘧啶并[5,4-f]氮杂-11(6H)-基)丙-1-胺 (0.068g, 0.267mmol) 在 DMF (1.0mL) 中的溶液冷却至 0°C , 用 Et_3N (37.0 μL , 0.267mmol) 和 4-氯苯磺酰氯化物 (0.056g, 0.267mmol) 处理。将所得混合物加温至 25°C , 并搅拌 2h。该混合物被分配在饱和 NaCl 水溶液 (50mL) 和 CH_2Cl_2 (100mL) 之间。将有机层用饱和 NaCl 水溶液洗涤 ($3 \times 50\text{mL}$), 干燥 (Na_2SO_4), 并在真空中浓缩。将残余物溶解于最少量的 CH_2Cl_2 中, 并通过快速色谱法 (SiO_2 , 0-50% 乙酸乙酯-己烷) 进行纯化。合并纯化的部分, 浓缩, 并将残余物溶解于最少量的乙酸乙酯中, 并通过加入己烷进行沉淀, 以得到白色固态的目标化合物 (107) (0.0647g, 56%)。 ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 8.59 (1H, s), 8.10 (1H, s), 7.73 (2H, d, $J = 8.4\text{Hz}$), 7.44 (2H, d, $J = 8.4\text{Hz}$), 7.22 (1H, td, $J = 7.8, 1.8\text{Hz}$), 7.14 (1H, d, $J = 8.4\text{Hz}$), 7.11-7.13 (2H, m), 5.75 (1H, br s), 4.14 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 3.00 (2H, q, $J = 6.0\text{Hz}$), 2.93 (4H, br s), 1.92 (2H, 重复五次, $J = 6.6\text{Hz}$); ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ 159.6, 157.5, 155.3, 144.3, 139.2, 138.6, 138.2, 129.6, 128.8, 128.7, 127.5, 125.8, 123.7, 119.7, 48.1, 41.1, 33.8, 31.7, 28.4; LCMS m/z 429.1644 ($[\text{M}+\text{H}^+]$, $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$ 分子量 429.1147)。

[0235] 细胞活力的测定 (IC_{50} 检测)

[0236] 根据 Denizot, F. 和 R. Lang, Journal of Immunological

Methods, 1986. 89(22):p. 271 - 277 上记载的方法进行细胞活力的测定。将 H1650 肺癌细胞以每孔 150,000 个细胞分配于 12 孔板上。分配后二十四小时,按照描述将细胞用逐渐增加的药物浓度和对照进行处理。药物处理后四十八小时,将细胞用 100 μ L 的 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑溴化物 (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT) 进行处理,并在 37°C 下温育 2 小时。然后将 MTT 溶液替换为 300 μ L 的丙醇并再次等分至 96 孔板中。使用 96 孔板读数器一式三份地在 600nm 处对每个溶液进行分光光度分析。结果如表 1 所示。在下表 1 中直至编号 80 的实例都取自 2013 年 2 月 21 日公布的 PCT W02013/025882。它们示出了具有三环骨架的化合物的生物活性。

[0237] 表 1 细胞活力数据

[0238]

实例#	IC ₅₀ (μ M)
3. N-(3-(2-氯-10H-吩噻嗪-10-基)丙基)-4-甲基苯磺酰胺 (N-(3-(2-chloro-10H-phenothiazin-10-yl)propyl)-4-methylbenzenesulfonamide)	20
4. 甲基(3-(2-氯-10H-吩噻嗪-10-基)丙基)氨基甲酸酯 (carbamate)	10
8. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-甲基苯磺酰胺 (methylbenzenesulfonamide)	20
9. 甲基(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)氨基甲酸酯	30
10. 3-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-1,1-二甲基脲 (dimethylurea)	20
13. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-3,5-二氟苯磺酰胺 (difluorobenzenesulfonamide)	18 μ M

[0239]

14. N-(3-(2-氯-10H-吩噻嗪-10-基)丙基)-4-氰基苯磺酰胺 (cyanobenzenesulfonamide)	40μM
15. 4-氯-N-(3-(2-氯-10H-吩噻嗪-10-基)丙基)苯磺酰胺 (benzenesulfonamide)	20μM
17. 3-(3-(2-氯-10H-吩噻嗪-10-基)丙基)-1,1-二甲基脲	>50
18. N-(2-(2-氯-10H-吩噻嗪-10-基)乙基)-4-甲基苯磺酰胺	24.4μM
20. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-氟苯磺酰胺 (fluorobenzenesulfonamide)	>40μM
21. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-(三氟甲基)苯磺酰胺	15.3μM
22. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-氰基苯磺酰胺	11.1μM
23. 4-氯-N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺	~25μM
24. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-(甲基磺酰基)苯磺酰胺	15.1μM
25. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-甲氧基苯磺酰胺 (methoxybenzenesulfonamide)	<40μM
26. 2,4-二氯-N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺	>40μM
27. 4-氯-N-(2-(2-氯-10H-吩噻嗪-10-基)乙基)苯磺酰胺	20μM
28. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-氯-2-氟苯磺酰胺	无活性
29. 3,4-二氯-N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺	~25μM
30. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	12.6μM
33. 4-氯-N-(2-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)乙基)苯磺酰胺	~20μM
34. N-(2-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)乙基)-4-(三氟甲基)苯磺酰胺	~20μM
35. 4-氯-N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺	~20μM
36. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-(三氟甲基)苯磺酰胺	~15μM
37. N-(2-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)乙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	~25μM

[0240]

38. N-(3-(2-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-(三氟甲基)苯磺酰胺	~10μM
39. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-3-三氟甲基苯磺酰胺	~10μM
40. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-硝基苯磺酰胺 (nitrobenzenesulfonamide)	~15μM
41. 4-三氟甲基-N-(2-(2-氯-10H-吩噻嗪-10-基)乙基)苯磺酰胺	~25μM
42. 4-三氟甲氧基-N-(2-(2-氯-10H-吩噻嗪-10-基)乙基)苯磺酰胺	~25μM
43. N-(3-(3-氨基-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-(三氟甲基)苯磺酰胺	~35
44. N-(3-(3-叠氮基-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-(三氟甲基)苯磺酰胺 (N-(3-(3-azido-10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,f]azepin-5-yl)propyl)-4-(trifluoromethyl)benzenesulfonamide)	~30
45. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺	~25μM
46. N-(2-(10H-吩噻嗪-10-基)乙基)-4-三氟甲氧基苯磺酰胺 (trifluoromethoxybenzenesulfonamide)	~30μM
47. N-(2-(10H-吩噻嗪-10-基)乙基)-4-氯苯磺酰胺 (chlorobenzenesulfonamide)	~30μM
50. N-(3-(9H-噻吨-9-亚基)丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺 (N-(3-(9H-thioxanthen-9-ylidene)propyl)-4-(trifluoromethoxy)benzenesulfonamide)	~15μM
51. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[a,d][7]轮烯-5-亚基)丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺 (N-(3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-ylidene)propyl)-4-(trifluoromethoxy)benzenesulfonamide)	~20μM
52. 4-氯-N-(3-(2,8-二氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺	~10μM
53. 4-三氟甲氧基-N-(3-(2,8-二氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺	~10μM
54. N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-3-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	~15μM
55. 4-氯-N-(2-((10,11-二氢-5H-二苯并[a,d][7]轮烯-5-基)氨基)乙基)苯磺酰胺	~25μM
56. 4-三氟甲氧基-N-(2-((10,11-二氢-5H-二苯并[a,d][7]轮烯-5-基)氨基)乙基)苯磺酰胺	~25μM
57. 4-氯-N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)-2-羟丙基)苯磺酰胺	~10μM

[0241]

58. 4-三氟甲氧基-N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)-2-羟丙基)苯磺酰胺	~5μM
59. 4-氯-N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)-2-羟丙基)苯磺酰胺	~25μM
60. 4-三氟甲氧基-N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)-2-羟丙基)苯磺酰胺	~15μM
61. 4,5-二氯-N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)噻吩-2-磺酰胺	~20μM
62. 2,5-二氯-N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)噻吩-3-磺酰胺	~25μM
63. 5-溴-6-氯-N-(3-(3-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)吡啶-3-磺酰胺 (5-Bromo-6-chloro-N-(3-(3-chloro-10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,f]azepin-5-yl)propyl)pyridine-3-sulfonamide)	65%@20 μM
64. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)-2-氧代丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺 (N-(3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,f]azepin-5-yl)-2-oxopropyl)-4-(trifluoromethoxy)benzenesulfonamide)	~35μM
65. N-(2-氰基-3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	~15μM
66. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)吡啶-3-磺酰胺	N/A
67. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)-2-甲基丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺 (N-(3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,f]azepin-5-yl)-2-methylpropyl)-4-(trifluoromethoxy)benzenesulfonamide)	~20μM
68. 4-氯-N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)-2-甲基丙基)苯磺酰胺	~20μM
69. N-(3-(4-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	~20μM
70. 4-氯-N-(3-(4-氯-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)丙基)苯磺酰胺	~20μM
71. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[a,d][7]轮烯-5-亚基)丙基)-4-氰基苯磺酰胺	25
72. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[a,d][7]轮烯-5-亚基)丙基)-4-氟苯磺酰胺	20
73. 反式-N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)环己基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	15
73. 顺式-N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)环己基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	5

[0242]

74. (S)-N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)-2-羟丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	~15 μ M
75. (R)-N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)-2-羟丙基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	~15 μ M
76. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-基)环戊基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺 (N-(3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,f]azepin-5-yl)cyclopentyl)-4-(trifluoromethoxy)benzenesulfonamide)	20
77. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[a,d][7]轮烯-5-亚基)环己基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	15
78. N-(3-(10,11-二氢-5H-二苯并[a,d][7]轮烯-5-亚基)环己基)-4-氯苯磺酰胺	15
79. N-(4-(10,11-二氢-5H-二苯并[a,d][7]轮烯-5-亚基)环己基)-4-(三氟甲氧基)苯磺酰胺	~20
80. N-(4-(10,11-二氢-5H-二苯并[a,d][7]轮烯-5-亚基)环己基)-4-氯苯磺酰胺	~20
100	20 μ M
101	25 μ M
102	30 μ M
103	30 μ M

[0243] 菌落形成分析。该分析根据 Sangodkar et al. J Clin Invest 2012 ;122:2637-51 进行。

[0244] 细胞培养和染色：针对 A549luc 和 H292 细胞，向 6 孔板的每个孔中各接种 500 个细胞，并在药物处理之前先允许其附着 24 小时。次日，将这些细胞用合适计量的药物或者等体积的 DMSO（各条件下进行两个平行处理）进行处理。对于每种条件，在初始处理的四天之后将耗尽的培养基更换为含有相等药剂量的新鲜培养基。初始处理 7 天（A549luc）或 8 天（H292）之后收获细胞。简言之，将培养基从各孔中吸出，并将细胞用冰冷的 PBS 洗涤两次，然后板被置于室温下干燥 4 小时。将细胞在由 10% 甲醇和 10% 冰醋酸在蒸馏水中组成的固定液中固定 1 小时，然后在 1%（w/v）的溶解于甲醇中的结晶紫中染色过夜。第二天，将染色溶液从孔中吸出并将板温和地用蒸馏水洗涤，以在菌落计数前除去过量的染色剂。将菌落在 ChemiDoc XRS+ (Bio-Rad) 上成像并将图片以 8-bit TIFF 文件输出。菌落用 ImageJ 中的 Colony Counter 插件进行计数，并将菌落尺寸定义为 4 至 400 方形像素点且最小的圆设定为 0.6。将平行孔取平均值以得到各个条件下的单个值。A549luc 细胞的结果（菌落数）示于表 2 且 H292 细胞的结果（菌落数）示于表 3：

[0245] 表 2

[0246]

实例 #	5 μ M	7.5 μ M	10 μ M

DMSO 空白	146	159	161.5
30	116	111.5	67.5
60	126.5	118.5	56
74	135.5	118.5	96
75	133.5	105	63.5
73	2	0	0

[0247] 表 3

[0248]

实例 #	5 μ M	7.5 μ M	10 μ M
DMSO 空白	111	108	120
30	95	74.5	61
60	107	105	42
74	85.5	65.5	46.5
75	109.5	80	47
73	40.5	16.5	7

[0249] 体内癌症模型 (In vivo cancer model)

[0250] 体内肺癌模型在 Politi et al., Genes Dev. June 1, 2006 20:1496-1510 中有记载。对 EGFR-L858R/CCSP 小鼠喂食强力霉素浸渍过的食物颗粒以诱导肿瘤形成。8-12 周后,用 Bruker 4.7T Biospec 扫描仪对小鼠成像以确认肺部结瘤的发育。在肿瘤确认后,将实例 30 的化合物用 DMSO(Sigma) 制备并每隔一天以 100mg/kg 进行 i. p. 给药两周。处理后,用 MRI 对小鼠再次成像,并对每张轴向照片用 Osirix4.1.1 通过可见的肺部不透明物体的存在计算得到处理前和处理后的肺体积。在两周的处理期内,DMSO 对照动物表现出肿瘤体积 20% 的增长。在两周的处理期内,用实例 30 的化合物处理的动物表现出肿瘤体积 60% 的减小。

[0251] 如上所述,CD4+Foxp3+ 调节性 T 细胞 (Tregs) 对自身耐受性是必需的且对动物的同种异体移植的耐受性诱导是重要的。所需要用于治疗自体免疫和预防移植排斥的免疫抑制药物 (包括钙调神经磷酸酶抑制剂 (calcineurin inhibitors)) 会非特异性抑制所有的 T 细胞,包括 Treg。这种对 Treg 的药理学抑制作用阻止了,而不是促进了,同种异体移植的耐受性,使个体受制于长期免疫抑制的毒害,包括由于抗肿瘤免疫监管受阻而造成恶性肿瘤发展的风险增加。因此,对于患有免疫介导疾病 (包括移植排斥) 的患者的护理,能够促进 Treg 诱导和功能并同时能预防恶性肿瘤的免疫抑制剂具有改革性。

[0252] 经测试,实例 30 具有从原位 CD4T 细胞中诱导 Treg 的能力。这些实验表明,实例 30 在原位多细胞系中促进了 Foxp3 的上调,所述多细胞系用在共刺激阻断期间在体内刺激的 TGF β 和 TCR 转基因 T 细胞进行了处理,且在抑制试验中被诱导的 Treg 功能性抑制了同种异体 T 细胞。将 5 万个 CD 原位细胞 (CD62Lhi、CD25 低、CD4 阳性) 与 2ng/mL TGF β 、1 μ g/mL 抗 -CD3、100ng/mL IL-2 一起进行温育,每孔 50000APCs 且化合物的浓度为 10 μ M、5 μ M 和 2.5 μ M。将这些细胞温育 3 天,然后染色以研究 CD4 和 Foxp3 的表达。表达的结果随在对照 (DMSO) 孔 (通常 20-25% Foxp3+) 中诱导的 % 而成倍增加。AKTi,一种小分子的 AKT 抑制剂,被用作阳性对照 ;它诱导了大约四倍的增加。氟哌啶醇 (Haloperidol) 被用作特异性对照 ;它没有诱导统计学上显著的增加。实例 30 表现出在 2.5 μ M 时 iTregd 的大于 2 倍的增加。实例 27 显示出在 5 μ M 时 iTreg 的 2 倍的增加。当 TGF β 浓度降低时,实例 30 对 iTreg 诱导的效应增大。使用或不使用实例 30 诱导的 iTreg 的抑制试验的结果表现出相等的抑制能力,以在没有 Treg 的情况下诱导的最大增殖的 % 抑制表示。

[0253] 为了测试临床相关的体内效应, BALB/c 小鼠的心脏被移植到完全同种异体的 B6 受体中。而未经处理的动物以 8 天 $n = 4$ 的程度排斥它们的移植物,而用实例 30 以 100mg/kg i.p. 处理的小鼠的移植物持续了 18 天 $n = 4$, $p < 0.05$ vs 对照,有统计学和临床上的显著效果。