(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113840597 A
(43)申请公布日 2021.12.24

(21)申请号 202080016491.2

(22)申请日 2020.02.24

(30)优先权数据
62/810,324 2019.02.25 US
62/943,643 2019.12.04 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.08.24

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/019552 2020.02.24

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/176428 EN 2020.09.03

(71)申请人 普拉西斯生物技术有限责任公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 S·伯纳勒斯
L·M·德尔加多·奥亚尔佐
G·E·努涅斯·瓦斯克斯
G·A·乌拉塔·迪亚兹
B·普加拉 D·潘帕蒂尔

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
A61K 31/075(2006.01)
C07D 207/02(2006.01)
C07D 207/04(2006.01)
A61K 31/16(2006.01)
A61K 31/40(2006.01)

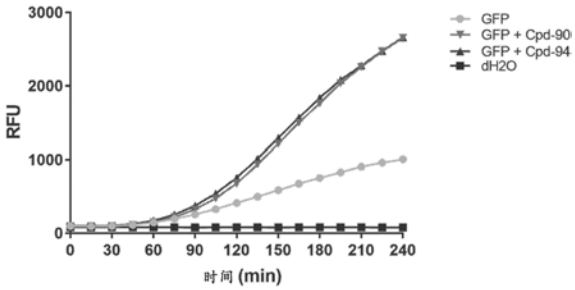
权利要求书13页 说明书132页 附图1页

(54)发明名称

整合应激反应通路抑制剂

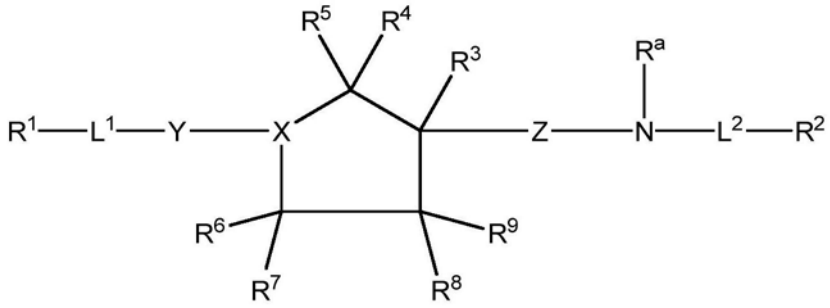
(57)摘要

本公开文本总体上涉及可用作整合应激反应(ISR)通路抑制剂的治疗剂。本文详述的化合物和组合物,诸如含有本文提供的任何式的化合物或其盐和药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物,可以用于如本文提供的施用和治疗方法中。



CN 113840597 A

1.一种式(I)的化合物



(I)

或其药学上可接受的盐，

其中：

X是N或CR^{12}；

Y是键、NR^a、或NR^aNR^a；条件是：

(a)当X是N时，则Y是键或NR^a；并且

(b)当X是CR^{12}时，则Y是NR^a或NR^aNR^a；

Z是键、C(=O)、$CR^{10}R^{11}$或NR^a；

L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-OCH_2C(=O)-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2$C(=O)-#1、*1-OCH_2CH(OH)CH_2-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；

其中*1表示与R^1的附接点，并且#1表示与所述分子的其余部分的附接点；

L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2O-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-CH_2CH(OH)CH_2O-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2；

其中*2表示与R^2的附接点，并且#2表示与所述分子的其余部分的附接点；

R^1选自：

被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的C_6-C_{14}芳基；和

被一个或多个卤基取代并且任选被一个或多个R^b取代的5-14元杂芳基；

R^2选自：

被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的C_6-C_{14}芳基；和

被一个或多个卤基取代并且任选被一个或多个R^b取代的5-14元杂芳基；

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；或R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；

R^4、R^5、R^6、R^7、R^8和R^9彼此独立地选自氢、卤素、和C_1-C_6烷基；

R^{10}和R^{11}彼此独立地选自氢、卤素、和C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；或R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；

R^{13}和R^{14}彼此独立地选自氢、卤素、和C_1-C_6烷基；

R^a彼此独立地是卤素或C_1-C_6烷基；

R^b在每次出现时独立地选自NO_2、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、OH、O(C_1-C_6烷基)、O(C_1-C_6卤代烷基)、SH、S(C_1-C_6烷基)、S(C_1-C_6卤代烷基)、NH_2、NH(C_1-C_6烷基)、NH(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)$_2$、N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、NR^cR^d、CN、C(O)OH、C(O)O(C_1-C_6烷

基)、C(O)O(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)NH_2、C(O)NH(C_1-C_6烷基)、C(O)NH(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)N(C_1-C_6烷基)$_2$、C(O)N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、C(O)$NR^{14-a}R^{14-b}$、S(O)$_2$OH、S(O)$_2$O(C_1-C_6烷基)、S(O)$_2$O(C_1-C_6卤代烷基)、S(O)$_2$$NH_2$、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$烷基)、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$卤代烷基)、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$烷基)$_2$、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$卤代烷基)$_2$、S(O)$_2$$NR^cR^d$、OC(O)H、OC(O)($C_1$-$C_6$烷基)、OC(O)($C_1$-$C_6$卤代烷基)、N(H)C(O)H、N(H)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(H)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)H、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)H、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、和N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)，

其中R^c和R^d与它们附接的氮原子一起形成3-10元杂环；并且条件是：

(i)当X是CR^{12}，Y是NR^a，Z是键，L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时；则：

(i-1)R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素；或

(i-2)R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；

(ii)当X是CR^{12}，Y是NR^a，Z是键并且R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$时；则：

(ii-1)L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2$C(=O)-#1、*1-OCH_2CH(OH)CH_2-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；或

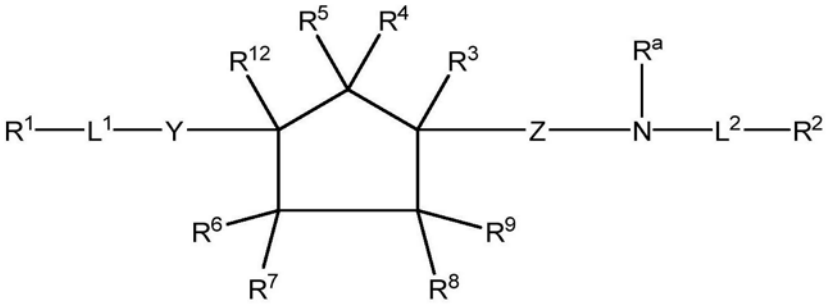
(ii-2)L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-CH_2CH(OH)CH_2O-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2；并且

(iii)当X是N并且Y是键时，则：

L^1选自*1-OCH_2CH(OH)CH_2-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；并且

进一步的条件是当Z是$CR^{10}R^{11}$时，则R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

2.根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(I)的化合物是式(II)的化合物



(II)

条件是：

(i)当Y是NR^a，Z是键，L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时；则：

(i-1)R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素；或

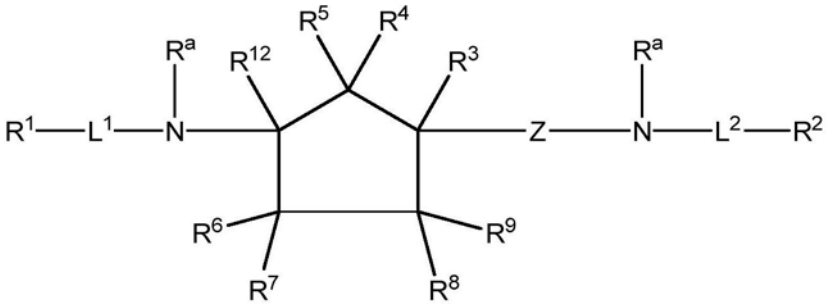
(i-2)R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；并且

(ii)当Y是NR^a,Z是键并且R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$时;则:

(ii-1)L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C$(=O)-#1、*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1;或

(ii-2)L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-$CH_2CH(OH)CH_2O$-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2。

3.根据权利要求2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(II)的化合物是式(IV)的化合物



(IV)

条件是:

(i)当Z是键,L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时;则:

(i-1)R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素;或

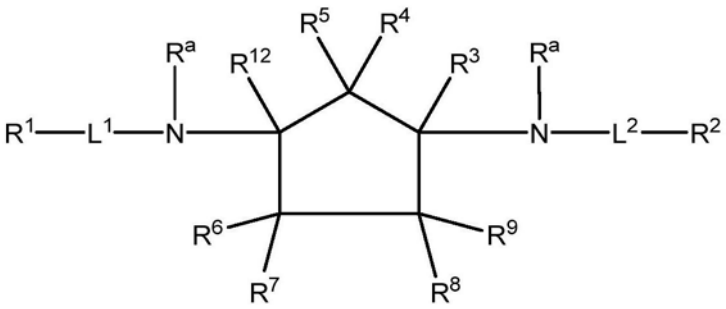
(i-2)R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团;并且

(ii)当Z是键并且R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$时;则:

(ii-1)L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C$(=O)-#1、*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1;或

(ii-2)L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-$CH_2CH(OH)CH_2O$-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2。

4.根据权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(IV)的化合物是式(IV-a)的化合物



(IV-a)

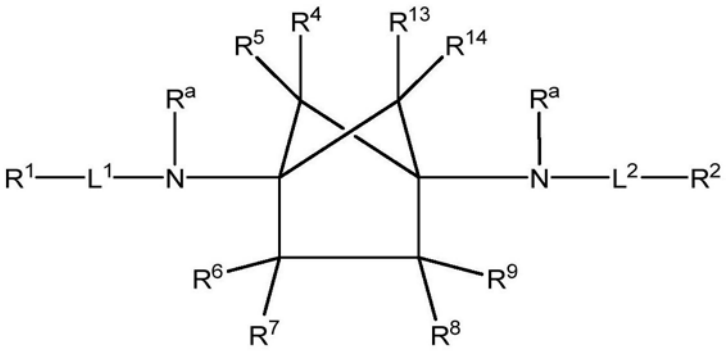
其中:

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

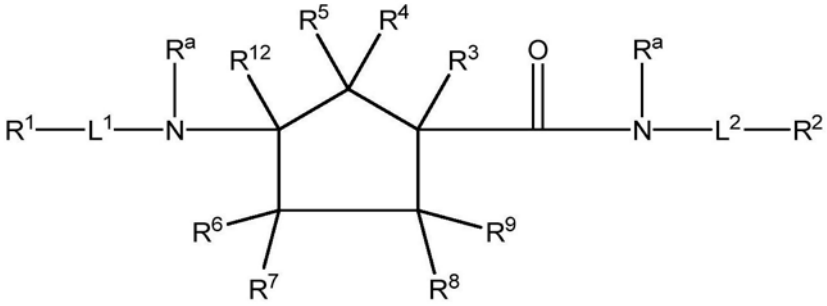
条件是当L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时；则R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素。

5.根据权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(IV)的化合物是式(IV-b)的化合物



(IV-b)。

6.根据权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(IV)的化合物是式(IV-c)的化合物



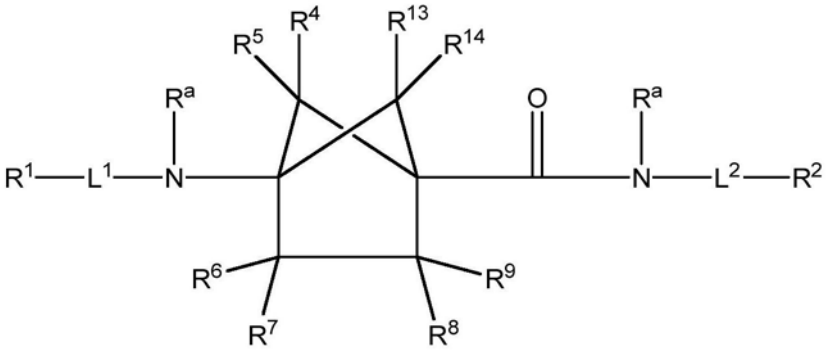
(IV-c)

其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

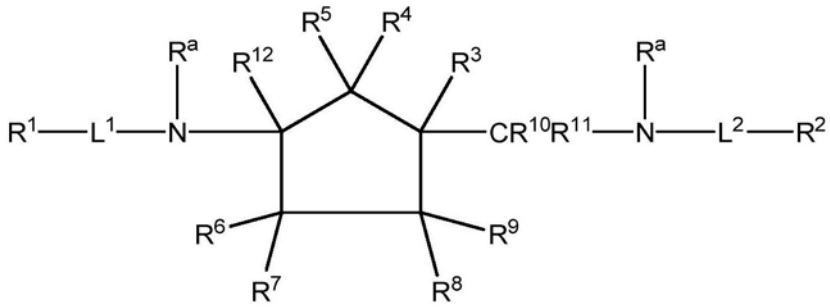
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

7.根据权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(IV)的化合物是式(IV-d)的化合物



(IV-d)。

8.根据权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(IV)的化合物是式(IV-e)的化合物



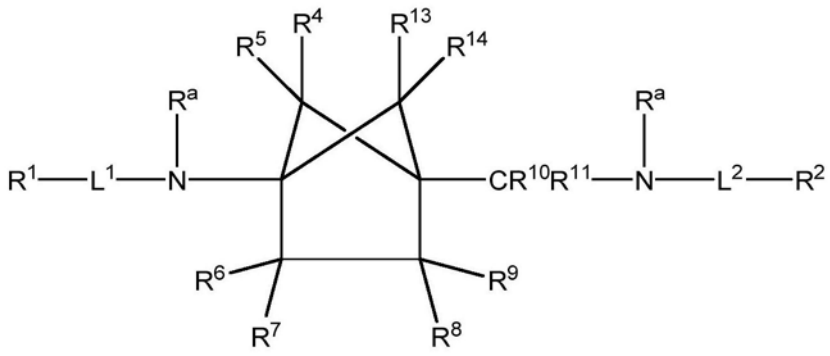
(IV-e)

其中:

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基;并且

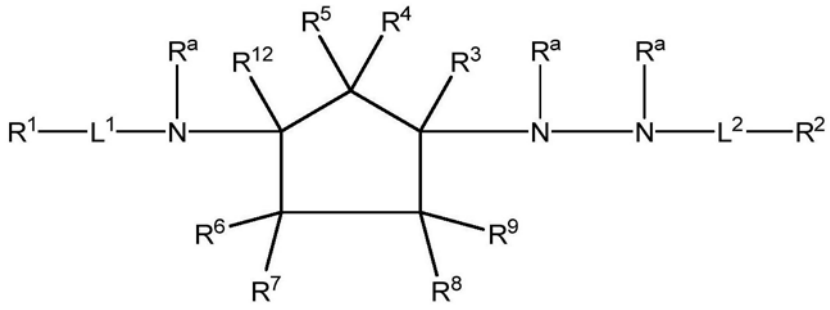
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

9.根据权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(IV)的化合物是式(IV-f)的化合物



(IV-f)。

10.根据权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(IV)的化合物是式(IV-g)的化合物



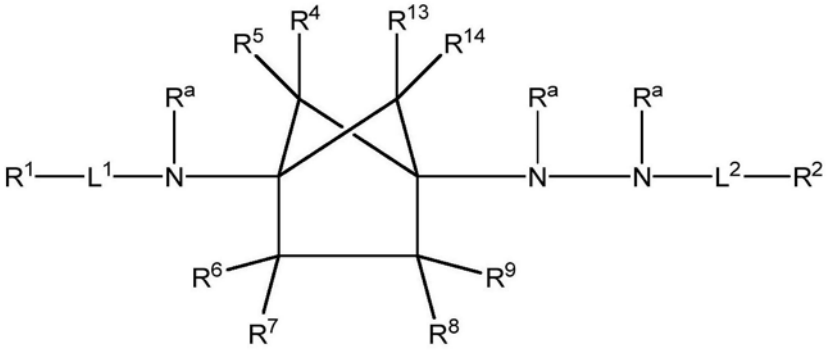
(IV-g)

其中:

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基;并且

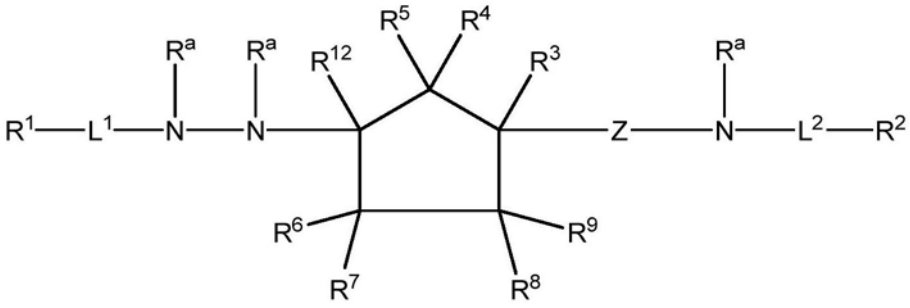
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

11.根据权利要求3所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(IV)的化合物是式(IV-h)的化合物



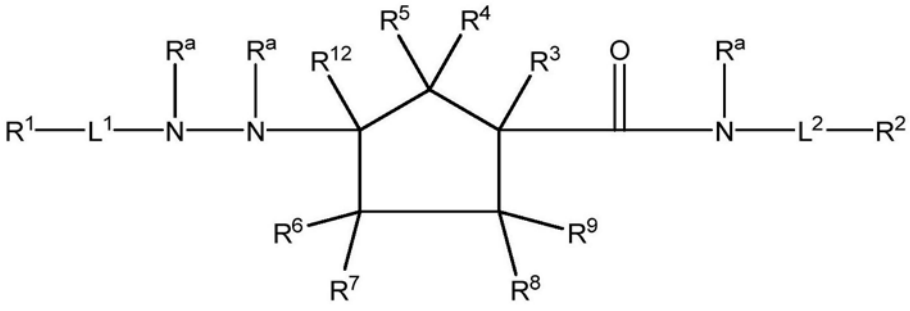
(IV-h)。

12.根据权利要求2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(II)的化合物是式(V)的化合物



(V)。

13.根据权利要求12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-a)的化合物



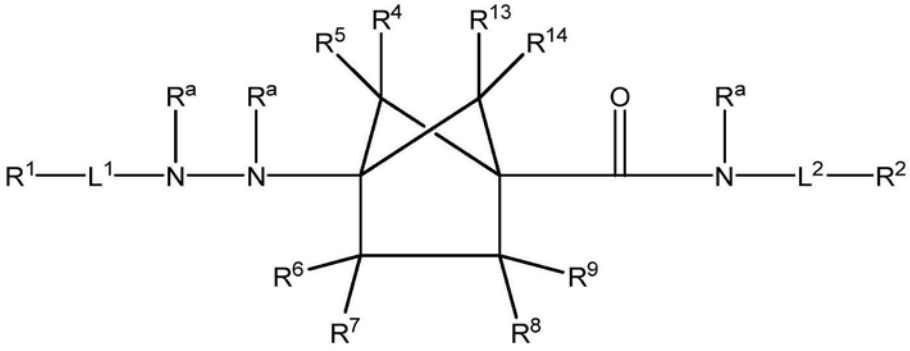
(V-a)

其中:

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基;并且

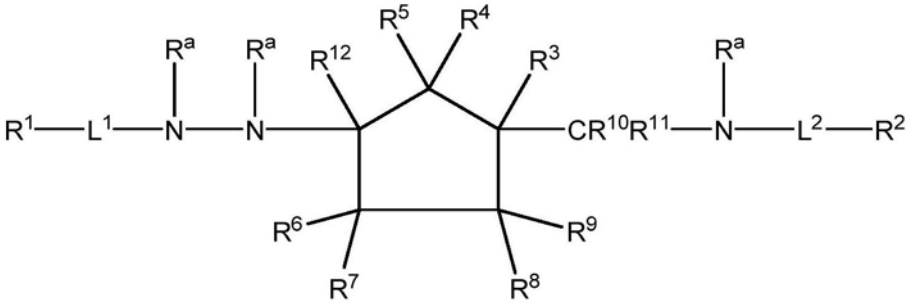
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

14.根据权利要求12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-b)的化合物



(V-b)。

15.根据权利要求12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-c)的化合物



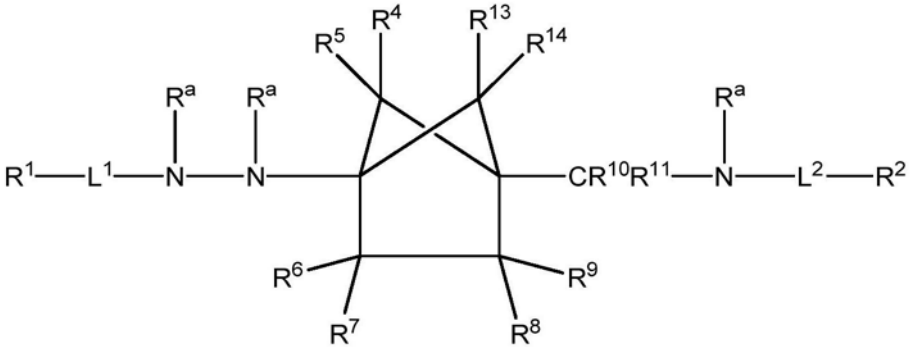
(V-c)

其中:

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基;并且

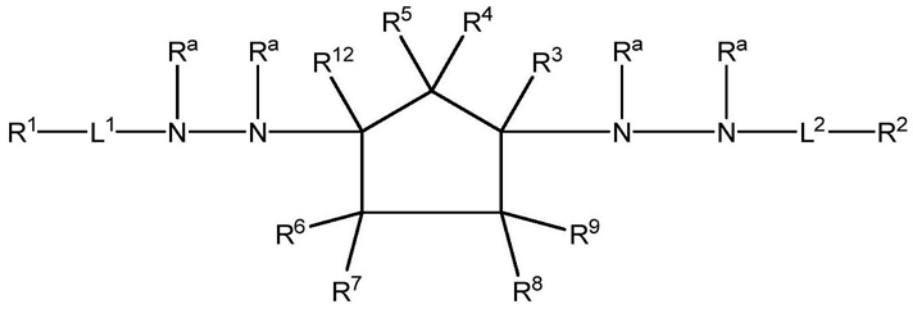
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

16.根据权利要求12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-d)的化合物



(V-d)。

17.根据权利要求12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-e)的化合物



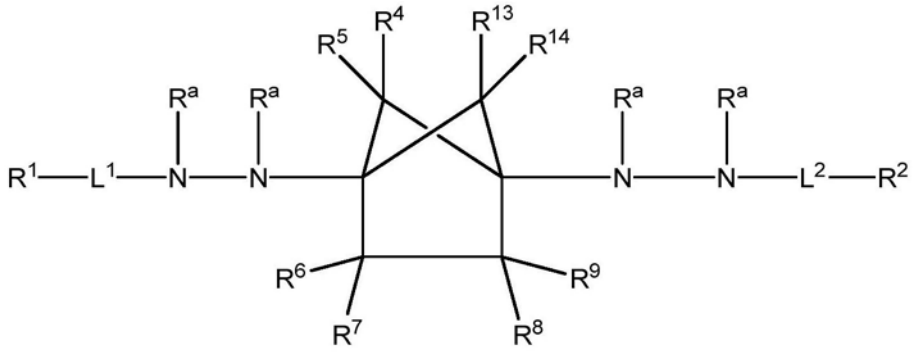
(V-e)

其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

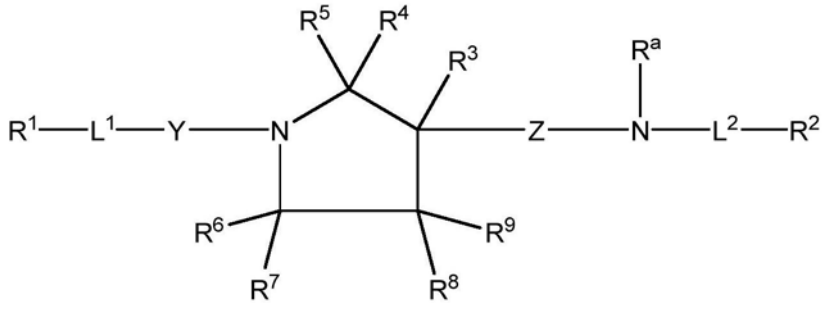
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

18.根据权利要求12所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(V)的化合物是式(V-f)的化合物



(V-f)。

19.根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(I)的化合物是式(III)的化合物



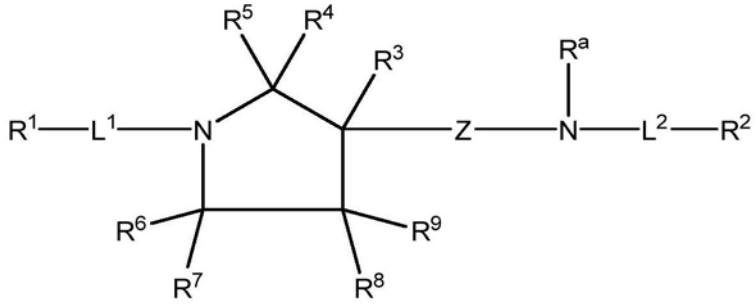
(III)

条件是当Y是键时；则：

L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；并且

进一步的条件是当Z是$CR^{10}R^{11}$时，则R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

20.根据权利要求19所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(III)的化合物是式(VI)的化合物

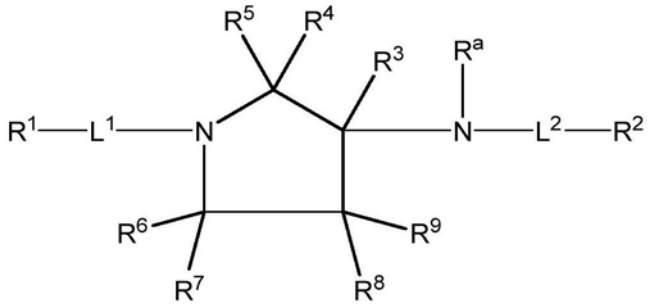


(VI)

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；并且

进一步的条件是当Z是$CR^{10}R^{11}$时，则R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

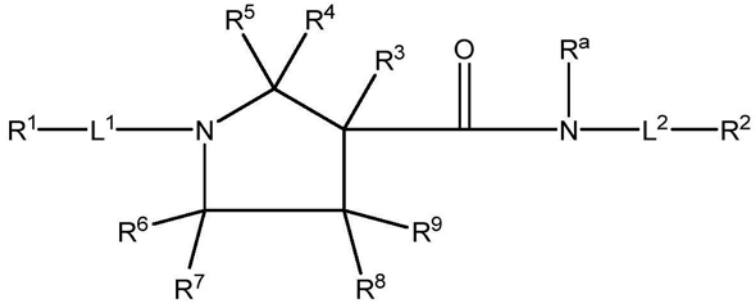
21.根据权利要求20所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(VI)的化合物是式(VI-a)的化合物



(VI-a)

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。

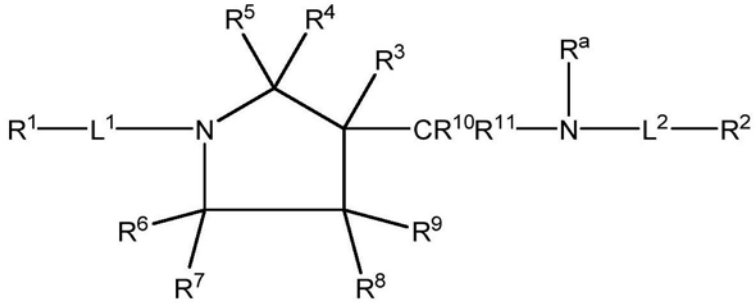
22.根据权利要求20所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(VI)的化合物是式(VI-b)的化合物



(VI-b)

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。

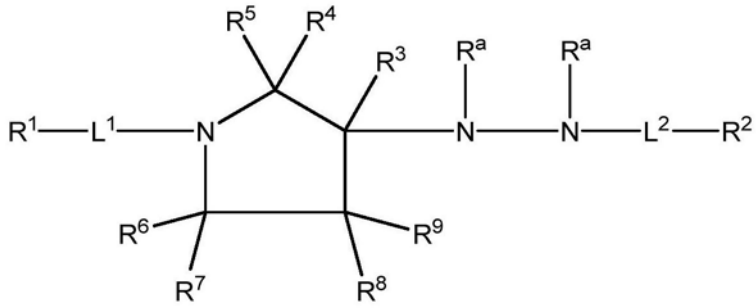
23.根据权利要求20所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(VI)的化合物是式(VI-c)的化合物



(VI-c)

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；并且R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

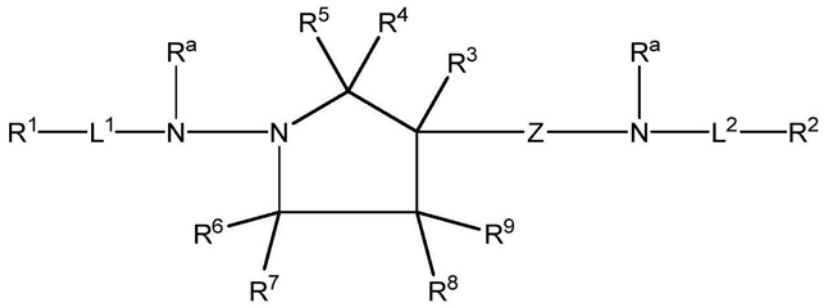
24.根据权利要求20所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(VI)的化合物是式(VI-d)的化合物



(VI-d)

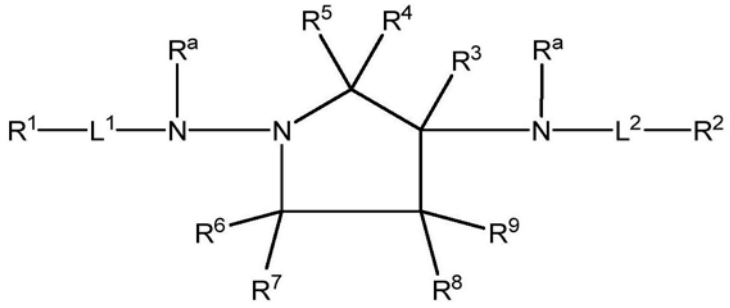
条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。

25.根据权利要求19所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(III)的化合物是式(VII)的化合物



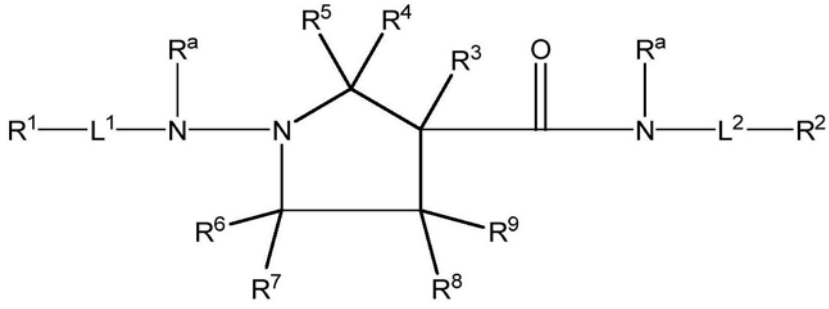
(VII)。

26.根据权利要求25所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(VII)的化合物是式(VII-a)的化合物



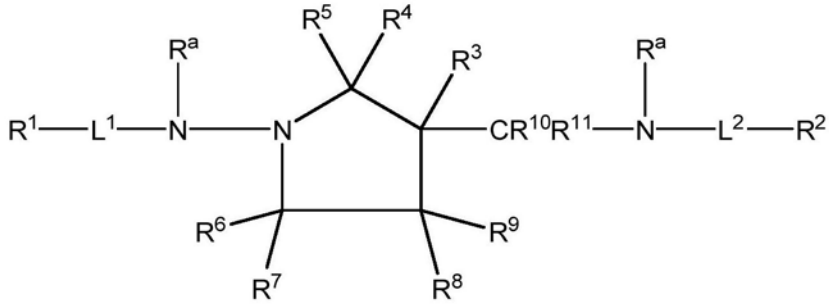
(VII-a)。

27.根据权利要求25所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VII)的化合物是式(VII-b)的化合物



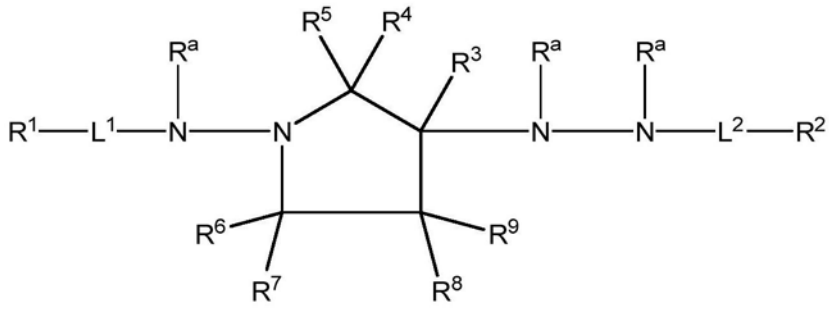
(VII-b)。

28.根据权利要求25所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VII)的化合物是式(VII-c)的化合物



(VII-c)。

29.根据权利要求25所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VII)的化合物是式(VII-d)的化合物



(VII-d)。

30.一种选自表1的化合物的化合物或其药学上可接受的盐。

31.一种药物组合物,其包含根据前述权利要求中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体。

32.一种治疗有需要的个体的由整合应激反应(ISR)通路介导的疾病或障碍的方法,其包括向所述个体施用治疗有效量的根据权利要求1至30中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或者治疗有效量的根据权利要求31所述的药物组合物。

33.根据权利要求32所述的方法,其中将所述化合物、所述药学上可接受的盐或所述药物组合物与治疗有效量的一种或多种另外的抗癌剂组合施用。

34.根据权利要求32所述的方法,其中所述疾病或障碍是由eIF2α的磷酸化和/或eIF2B的鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)活性介导的。

35.根据权利要求32-34中任一项所述的方法,其中所述疾病或障碍是由蛋白质合成的降低介导的。

36.根据权利要求32-35中任一项所述的方法,其中所述疾病或障碍是由ATF4、CHOP或BACE-1的表达介导的。

37.根据权利要求32-36中任一项所述的方法,其中所述疾病或障碍是神经变性疾病、炎性疾病、自身免疫性疾病、代谢综合征、癌症、血管疾病、眼部疾病或肌肉骨骼疾病。

38.根据权利要求37所述的方法,其中所述疾病是消融性白质病、儿童性共济失调伴CNS髓鞘形成不足、智力残疾综合征、阿尔茨海默病、朊病毒病、克雅二氏病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化(ALS)病、认知损害、额颞叶痴呆(FTD)、创伤性脑损伤、术后认知功能障碍(PCD)、神经耳科综合征、听力损失、亨廷顿病、中风、慢性创伤性脑病、脊髓损伤、痴呆或认知损害、关节炎、银屑病性关节炎、银屑病、幼年特发性关节炎、哮喘、过敏性哮喘、支气管哮喘、肺结核、慢性气道障碍、囊性纤维化、肾小球性肾炎、膜性肾病、结节病、血管炎、鱼鳞病、移植排斥、间质性膀胱炎、特应性皮炎或炎性肠病、克罗恩病、溃疡性结肠炎、乳糜泻、系统性红斑狼疮、1型糖尿病、多发性硬化、类风湿性关节炎、酒精性肝脂肪变性、肥胖症、葡萄糖耐受不良、胰岛素抵抗、高血糖症、脂肪肝、血脂异常、高脂血症、2型糖尿病、胰腺癌、乳腺癌、肾癌、膀胱癌、前列腺癌、睾丸癌、尿路上皮癌、子宫内膜癌、卵巢癌、子宫颈癌、肾脏癌、食道癌、胃肠道间质瘤(GIST)、多发性骨髓瘤、分泌细胞癌、甲状腺癌、胃肠道癌、慢性粒细胞白血病、肝细胞癌、结肠癌、黑色素瘤、恶性胶质瘤、胶质母细胞瘤、多形性胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、小脑发育不良性神经节细胞瘤、尤文氏肉瘤、横纹肌肉瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、导管腺癌、腺鳞癌、肾母细胞瘤、腺泡细胞癌、肺癌、非霍奇淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、慢性淋巴细胞癌、意义未明的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、浆细胞瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤、急性成淋巴细胞性白血病、佩梅氏病、动脉粥样硬化、腹主动脉瘤、颈动脉疾病、深静脉血栓形成、伯格氏病、慢性静脉高压、血管钙化、毛细管扩张或淋巴水肿、青光眼、年龄相关性黄斑变性、炎性视网膜病、视网膜血管疾病、糖尿病性视网膜病、葡萄膜炎、酒渣鼻、干燥综合征或增殖性视网膜病中的新血管形成、高同型半胱氨酸血症、骨骼肌萎缩、肌病、肌肉萎缩症、肌肉消瘦、少肌症、杜兴氏肌肉萎缩症(DMD)、贝克氏病、肌强直性营养不良、X连锁扩张型心肌病、或脊髓性肌萎缩症(SMA)。

39.一种生产蛋白质的方法,其包括使包含编码所述蛋白质的核酸的真核细胞与根据权利要求1-30中任一项所述的化合物或盐接触。

40.根据权利要求39所述的方法,其包括在包含所述化合物或盐的体外培养基中培养

所述细胞。

41.一种培养包含编码蛋白质的核酸的真核细胞的方法,其包括使所述真核细胞与包含根据权利要求1-30中任一项所述的化合物或盐的体外培养基接触。

42.根据权利要求39-41中任一项所述的方法,其中编码所述蛋白质的所述核酸是重组核酸。

43.根据权利要求39-42中任一项所述的方法,其中所述细胞是人胚肾(HEK)细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

44.一种生产蛋白质的方法,其包括使包含真核起始因子2(eIF2)和编码蛋白质的核酸的无细胞蛋白质合成(CFPS)系统与根据权利要求1-30中任一项所述的化合物或盐接触。

45.根据权利要求39-44中任一项所述的方法,其中所述蛋白质是抗体或其片段。

46.根据权利要求39-45中任一项所述的方法,其包括纯化所述蛋白质。

47.一种体外细胞培养基,其包含根据权利要求1-30中任一项所述的化合物或盐和用于细胞生长的营养物。

48.根据权利要求47所述的细胞培养基,其包含含有编码蛋白质的核酸的真核细胞。

49.根据权利要求47或48所述的细胞培养基,其进一步包含用于诱导蛋白质表达的化合物。

50.根据权利要求47-49中任一项所述的细胞培养基,其中编码所述蛋白质的所述核酸是重组核酸。

51.根据权利要求47-50中任一项所述的细胞培养基,其中所述蛋白质是抗体或其片段。

52.根据权利要求47-51中任一项所述的细胞培养基,其中所述真核细胞是人胚肾(HEK)细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

53.一种无细胞蛋白质合成(CFPS)系统,其包含真核起始因子2(eIF2)和编码蛋白质的核酸与根据权利要求1-30中任一项所述的化合物或盐。

54.根据权利要求53所述的CFPS系统,其包含含有eIF2的真核细胞提取物。

55.根据权利要求53或54所述的CFPS系统,其进一步包含eIF2B。

56.根据权利要求53-55中任一项所述的CFPS系统,其中所述蛋白质是抗体或其片段。

整合应激反应通路抑制剂

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求2019年2月25日提交的美国临时专利申请号62/810,324和2019年12月4日提交的62/943,643的优先权权益,将所述临时专利申请的公开内容特此通过引用以其整体并入本文。

技术领域

[0002] 本公开文本总体上涉及可用作整合应激反应(ISR)通路抑制剂的治疗剂。

背景技术

[0003] 多样的细胞条件和应激会激活一种广泛保守的信号传导通路,称为整合应激反应(ISR)通路。ISR通路在响应于内在和外在应激时被激活,所述内在和外在应激诸如病毒感染、缺氧、葡萄糖和氨基酸缺乏、致癌基因激活、UV辐射和内质网应激。在这些因子中的一种或多种激活ISR后,真核起始因子2(eIF2,由三个亚基α、β和γ构成)在其α亚基中被磷酸化并且通过与eIF2B复合体结合而快速地减少总体蛋白质翻译。这种磷酸化会抑制eIF2B介导的GDP交换为GTP(即,鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)活性),将eIF2B隔离在与eIF2的复合物中并且减少细胞中大多数mRNA的一般蛋白质翻译。矛盾地,eIF2α磷酸化还增加mRNA子集的翻译,所述mRNA在其5'非翻译区(UTR)中含有一个或多个上游开放阅读框(uORF)。这些转录物包括转录调节因子激活转录因子4(ATF4)、转录因子CHOP、生长停滞和DNA损伤诱导蛋白GADD34和β-分泌酶BACE-1。

[0004] 在动物中,ISR会调节广泛的翻译和转录程序,其涉及多样的过程,诸如尤其是学习记忆、免疫、中间代谢、胰岛素产生和对内质网中未折叠蛋白应激的抵抗等。ISR通路的激活还与许多病理病症相关,所述病理病症包括癌症、神经变性疾病、代谢疾病(代谢综合征)、自身免疫性疾病、炎性疾病、肌肉骨骼疾病(诸如肌病)、血管疾病、眼部疾病和遗传障碍。通过eIF2α磷酸化进行的异常蛋白质合成也是其他若干种人类遗传障碍、囊性纤维化、肌萎缩侧索硬化、亨廷顿病和朊病毒病的特征。

发明内容

[0005] 描述了整合应激反应(ISR)通路抑制剂,以及制造和使用所述化合物或其盐的方法。

附图说明

[0006] 图1示出了由用或不用化合物90和化合物94处理的无细胞蛋白质表达系统产生的GFP的相对荧光强度(RFU)。

具体实施方式

[0007] 本文描述了可以抑制ISR通路的化合物,包括治疗剂。这些化合物可以用于预防

和/或治疗如本文所述的某些病理病症和/或用于将受益于增加的蛋白质翻译的生物技术应用。

定义

[0008] 对于本文的使用，除非另有明确指示，否则术语“一个”、“一种”等的使用是指一个/种或多个/种。

[0009] 本文对“约”某一值或参数的提及包括(并且描述)针对该值或参数本身的实施方案。例如，提及“约X”的描述包括“X”的描述。

[0010] 除非另有说明，否则如本文所用的“烷基”是指并且包括饱和直链(即，未支链)或支链单价烃链或其组合，具有指定的碳原子数(即，C_1-C_{10}意指1至10个碳原子)。具体的烷基是具有1至20个碳原子(“C_1-C_{20}烷基”)、具有1至10个碳原子(“C_1-C_{10}烷基”)、具有6至10个碳原子(“C_6-C_{10}烷基”)、具有1至6个碳原子(“C_1-C_6烷基”)、具有2至6个碳原子(“C_2-C_6烷基”)或具有1至4个碳原子(“C_1-C_4烷基”)的那些。烷基的例子包括但不限于诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基等基团。

[0011] 如本文所用的“亚烷基”是指与烷基相同但具有二价的残基。具体的亚烷基是具有1至20个碳原子(“C_1-C_{20}亚烷基”)、具有1至10个碳原子(“C_1-C_{10}亚烷基”)、具有6至10个碳原子(“C_6-C_{10}亚烷基”)、具有1至6个碳原子(“C_1-C_6亚烷基”)、1至5个碳原子(“C_1-C_5亚烷基”)、1至4个碳原子(“C_1-C_4亚烷基”)或1至3个碳原子(“C_1-C_3亚烷基”)的那些。亚烷基的例子包括但不限于诸如亚甲基(-CH_2-)、亚乙基(-CH_2CH_2-)、亚丙基(-$CH_2CH_2CH_2$-)、异亚丙基(-$CH_2CH(CH_3)$-)、亚丁基(-$CH_2(CH_2)_2CH_2$-)、异亚丁基(-$CH_2CH(CH_3)CH_2$-)、亚戊基(-$CH_2(CH_2)_3CH_2$-)、亚己基(-$CH_2(CH_2)_4CH_2$-)、亚庚基(-$CH_2(CH_2)_5CH_2$-)、亚辛基(-$CH_2(CH_2)_6CH_2$-)等基团。

[0012] 除非另有说明，否则如本文所用的“烯基”是指并且包括不饱和的线性(即，未支化的)或支化的单价烃链或其组合，其具有至少一个烯属不饱和位点(即，具有至少一个式C=C的部分)并且具有指定的碳原子数(即，C_2-C_{10}意指2至10个碳原子)。烯基可以具有“顺式”或“反式”构型，或者可替代地具有“E”或“Z”构型。具体的烯基是具有2至20个碳原子(“C_2-C_{20}烯基”)、具有6至10个碳原子(“C_6-C_{10}烯基”)、具有2至8个碳原子(“C_2-C_8烯基”)、具有2至6个碳原子(“C_2-C_6烯基”)或具有2至4个碳原子(“C_2-C_4烯基”)的那些。烯基的例子包括但不限于诸如乙烯基(ethenyl)(或乙烯基(vinyl))、丙-1-烯基、丙-2-烯基(或烯丙基)、2-甲基丙-1-烯基、丁-1-烯基、丁-2-烯基、丁-3-烯基、丁-1,3-二烯基、2-甲基丁-1,3-二烯基、戊-1-烯基、戊-2-烯基、己-1-烯基、己-2-烯基、己-3-烯基等基团。

[0013] 如本文所用的“亚烯基”是指与烷基相同但具有二价的烯基。具体的亚烯基是具有2至20个碳原子(“C_2-C_{20}亚烯基”)、具有2至10个碳原子(“C_2-C_{10}亚烯基”)、具有6至10个碳原子(“C_6-C_{10}亚烯基”)、具有2至6个碳原子(“C_2-C_6亚烯基”)、2至4个碳原子(“C_2-C_4亚烯基”)或2至3个碳原子(“C_2-C_3亚烯基”)的那些。亚烯基的例子包括但不限于诸如亚乙烯基(ethenylene)(或亚乙烯基(vinylene))(-CH=CH-)、亚丙烯基(-CH=$CHCH_2$-)、1,4-丁-1-亚烯基(-CH=CH-CH_2CH_2-)、1,4-丁-2-亚烯基(-CH_2CH=$CHCH_2$-)、1,6-己-1-亚烯基(-CH=CH-$(CH_2)_3CH_2$-)等基团。

[0014] 除非另有说明，否则如本文所用的“炔基”是指并且包括不饱和的线性(即，未支化的)或支化的单价烃链或其组合，其具有至少一个炔属不饱和位点(即，具有至少一个式C≡

C的部分)并且具有指定的碳原子数(即,C_2-C_{10}意指2至10个碳原子)。具体的炔基是具有2至20个碳原子("C_2-C_{20}炔基")、具有6至10个碳原子("C_6-C_{10}炔基")、具有2至8个碳原子("C_2-C_8炔基")、具有2至6个碳原子("C_2-C_6炔基")或具有2至4个碳原子("C_2-C_4炔基")的那些。炔基的例子包括但不限于诸如乙炔基(ethynyl)(或乙炔基(acetylenyl))、丙-1-炔基、丙-2-炔基(或炔丙基)、丁-1-炔基、丁-2-炔基、丁-3-炔基等基团。

[0015] 如本文所用的"亚炔基"是指与炔基相同但具有二价的残基。具体的亚炔基是具有2至20个碳原子("C_2-C_{20}亚炔基")、具有2至10个碳原子("C_2-C_{10}亚炔基")、具有6至10个碳原子("C_6-C_{10}亚炔基")、具有2至6个碳原子("C_2-C_6亚炔基")、2至4个碳原子("C_2-C_4亚炔基")或2至3个碳原子("C_2-C_3亚炔基")的那些。亚炔基的例子包括但不限于诸如亚乙炔基(ethynylene)(或亚乙炔基(acetylenylene))(-C≡C-)、亚丙炔基(-C≡CCH_2-)等基团。

[0016] 除非另有说明,否则如本文所用的"环烷基"是指并且包括饱和环状单价烃结构,其具有指定的碳原子数(即,C_3-C_{10}意指1至10个碳原子)。环烷基可以由一个环(诸如环己基)或多个环(诸如金刚烷基)组成。包含多于一个环的环烷基可以是稠合的、螺环的或桥连的、或其组合。具体的环烷基是具有从3至12个环碳原子的那些。优选的环烷基是具有从3至8个环碳原子("C_3-C_8环烷基")、具有3至6个碳原子("C_3-C_6环烷基")、或具有从3至4个环碳原子("C_3-C_4环烷基")的环烃。环烷基的例子包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、降冰片基等。

[0017] 如本文所用的"亚环烷基"是指与环烷基相同但具有二价的残基。亚环烷基可以由一个环或多个环组成,所述环可以是稠合的、螺环的或桥连的、或其组合。具体的亚环烷基是具有从3至12个环碳原子的那些。优选的亚环烷基是具有从3至8个环碳原子("C_3-C_8亚环烷基")、具有3至6个碳原子("C_3-C_6亚环烷基")、或具有从3至4个环碳原子("C_3-C_4亚环烷基")的环烃。亚环烷基的例子包括但不限于亚环丙基、亚环丁基、亚环戊基、亚环己基、亚环庚基、亚降冰片烯等。亚环烷基可以经由相同的环碳原子或不同的环碳原子附接到其余结构上。当亚环烷基经由两个不同的环碳原子与其余结构附接时,连接键可以是彼此顺式或反式的。例如,亚环丙基可以包括1,1-亚环丙基和1,2-亚环丙基(例如,顺式-1,2-亚环丙基或反式-1,2-亚环丙基)或其混合物。

[0018] 除非另有说明,"环烯基"是指并且包括不饱和环状非芳族单价烃结构,其具有至少一个烯属不饱和位点(即,具有至少一个式C=C的部分)并且具有指定的碳原子数(即,C_2-C_{10}意指2至10个碳原子)。环烯基可以由一个环(诸如环己烯基)或多个环(诸如降冰片烯基)组成。优选的环烯基是具有从3至8个环碳原子的不饱和环烃("C_3-C_8环烯基")。环烯基的例子包括但不限于环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环己烯基、降冰片烯基等。

[0019] 如本文所用的"亚环烯基"是指与环烯基相同但具有二价的残基。

[0020] 如本文所用的"芳基"或"Ar"是指具有单环(例如,苯基)或多个稠环(例如,萘基或蒽基)的不饱和芳族碳环基团,所述稠环可以是或可以不是芳族的。具体的芳基是具有从6至14个环碳原子的那些("C_6-C_{14}芳基")。具有多于一个环的芳基可以在芳族环位置或非芳族环位置连接至母体结构,其中至少一个环是非芳族的。在一个变型中,具有多于一个环的芳基在芳族环位置连接至母体结构,其中至少一个环是非芳族的。

[0021] 如本文所用的"亚芳基"是指与芳基相同但具有二价的残基。具体的亚芳基是具有从6至14个环碳原子的那些("C_6-C_{14}亚芳基")。

[0022] 如本文所用的“杂芳基”是指具有从1至14个环碳原子和至少一个环杂原子(包括但不限于杂原子,诸如氮、氧和硫)的不饱和芳族环状基团。杂芳基可以具有单环(例如,吡啶基、呋喃基)或多个稠环(例如,吲嗪基、苯并噻吩基),所述稠环可以是或不是芳族的。具体的杂芳基是具有1至12个环碳原子和1至6个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的5至14元环,具有1至8个环碳原子和1至4个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的5至10元环,或具有1至5个环碳原子和1至4个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的5、6或7元环。在一个变型中,具体的杂芳基是具有从1至6个环碳原子和1至4个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的单环芳族5、6或7元环。在另一个变型中,具体的杂芳基是具有从1至12个环碳原子和1至6个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的多环芳族环。具有多于一个环的杂芳基可以在芳族环位置或非芳族环位置连接至母体结构,其中至少一个环是非芳族的。在一个变型中,具有多于一个环的杂芳基在芳族环位置连接至母体结构,其中至少一个环是非芳族的。杂芳基可以在环碳原子或环杂原子处连接至母体结构。

[0023] 如本文所用的“杂亚芳基”是指与杂芳基相同但具有二价的残基。

[0024] 如本文所用的“杂环”、“杂环的”或“杂环基”是指具有单环或多个稠环并且具有从1至14个环碳原子和从1至6个环杂原子(诸如氮、硫或氧)的饱和或不饱和非芳族环状基团等。包含多于一个环的杂环可以是稠合的、桥连的或螺环的、或其任何组合,但不包括杂芳基。杂环基可以任选地独立地被本文所述的一个或多个取代基取代。具体的杂环基是具有1至13个环碳原子和1至6个独立地选自氮、氧和硫的环状杂原子的3至14元环,具有1至11个环碳原子和1至6个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的3至12元环,具有1至9个环碳原子和1至4个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的3至10元环,具有1至7个环碳原子和1至4个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的3至8元环,或具有1至5个环碳原子和1至4个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的3至6元环。在一个变型中,杂环基包括具有从1至2、1至3、1至4、1至5或1至6个环碳原子和1至2、1至3或1至4个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的单环3、4、5、6或7元环。在另一个变型中,杂环基包括具有从1至12个环碳原子和1至6个独立地选自氮、氧和硫的环杂原子的多环非芳族环。

[0025] 如本文所用的“杂亚环基”是指与杂环基相同但具有二价的残基。

[0026] “卤基”或“卤素”是指具有9至85的原子序数的17族系列元素。优选的卤素基团包括氟、氯、溴和碘的基团。当残基被多于一个卤素取代时,它可以通过使用对应于所附接的卤素部分的数量的前缀来指代,例如,二卤代芳基、二卤代烷基、三卤代芳基等是指被两个(“二”)或三个(“三”)卤素基团取代的芳基和烷基,所述卤素基团可以是但不一定是相同的卤素;因此4-氯-3-氟苯基在二卤代芳基的范围内。其中每个氢被卤素基团替代的烷基被称为“全卤代烷基”。优选的全卤代烷基是三氟甲基(-CF_3)。类似地,“全卤代烷氧基”是指其中卤素替代构成烷氧基的烷基部分的烃中的每个H的烷氧基。全卤代烷氧基的例子是三氟甲氧基(-OCF_3)。

[0027] “羰基”是指基团C=O。

[0028] “硫代羰基”是指基团C=S。

[0029] “氧代基”是指部分=O。

[0030] 除非另有指定,否则“任选经取代的”意指基团可以是未经取代的或被针对该基团列出的取代基中的一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)取代,其中所述取代基可以相同或不

同。在一个实施方案中，任选经取代的基团具有一个取代基。在另一个实施方案中，任选经取代的基团具有二个取代基。在另一个实施方案中，任选经取代的基团具有三个取代基。在另一个实施方案中，任选经取代的基团具有四个取代基。在一些实施方案中，任选经取代的基团具有1至2、1至3、1至4、1至5、2至3、2至4或2至5个取代基。在一些实施方案中，任选经取代的基团是未经取代的。

[0031] 除非另有明确指示，否则如本文所用的“个体”意图指哺乳动物，包括但不限于灵长类动物、人、牛、马、猫、犬或啮齿动物。在一个变型中，个体是人。

[0032] 如本文所用，“治疗”(“treatment”或“treating”)是用于获得有益或所希望的结果(包括临床结果)的方法。出于本公开文本的目的，有益或所希望的结果包括但不限于以下中的一种或多种：减少所述疾病所致的一种或多种症状、减小所述疾病的范围、稳定所述疾病(例如，预防或延迟所述疾病的恶化)、预防或延迟所述疾病的扩散、延迟所述疾病的发生或复发、延迟或减慢所述疾病的进展、改善所述疾病状态、提供所述疾病的缓解(部分或完全)、减小治疗所述疾病所需的一种或多种其他药物的剂量、增强另一种药物的作用、延迟所述疾病的进展、提高生活质量和/或延长存活期。本公开文本的方法考虑了这些治疗方面中的任何一个或多个。

[0033] 如本文所用，术语“有效量”意图指以给定治疗形式应该有效的本发明化合物的量。如本领域所理解的，有效量可以是一个或多个剂量，即可能需要单剂量或多剂量以达到所希望的治疗终点。可以在施用一种或多种治疗剂(例如，化合物或其药学上可接受的盐)的背景下考虑有效量，并且如果与一种或多种其他药剂组合可以实现或实现所希望的或有益的结果，则可以考虑以有效量来给予单一药剂。由于化合物的组合作用(例如，加成或协同作用)，任何共施用的化合物的合适剂量可以任选地降低。

[0034] “治疗有效量”是指足以产生所希望的治疗结局的化合物或其盐的量。

[0035] 如本文所用，“单位剂型”是指适合作为单位剂量的物理上离散的单位，每个单位含有经计算以与所需的药物载体结合产生所希望的治疗作用的预定量的活性成分。单位剂型可以含有单一或组合疗法。

[0036] 如本文所用，“药学上可接受的”或“药理学上可接受的”意指不是生物学上或其他方面不希望的材料，例如，所述材料可以掺入被施用于患者的药物组合物中而不会引起任何显著不希望的生物学作用或以有害方式与含有它的组合物的任何一种其他组分相互作用。药学上可接受的载体或赋形剂优选满足毒理学和生产测试的要求标准和/或包含在由美国食品和药物管理局(U.S.Food and Drug administration)编制的非活性成分指南(Inactive Ingredient Guide)中。

[0037] “药学上可接受的盐”是保留游离(非盐)化合物的至少一些生物活性并且可以作为药物(drug)或药物(pharmaceutical)施用于个体的那些盐。此类盐例如包括：(1)与无机酸诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等形成或与有机酸诸如乙酸、草酸、丙酸、琥珀酸、马来酸、酒石酸等形成的酸加成盐，(2)当母体化合物中存在的酸质子被金属离子(例如，碱金属离子、碱土金属离子或铝离子)替代或与有机碱配位而形成的盐。可接受的有机碱包括乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺等。可接受的无机碱包括氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化钾、碳酸钠、氢氧化钠等。药学上可接受的盐可以在制造过程中原位制备，或者通过分开地使呈其游离酸或碱形式的本公开文本的纯化化合物分别与合适的有机或无机碱或酸反应并且在后续

纯化过程中分离如此形成的盐来制备。

[0038] 如本文所用的术语“赋形剂”意指可以用于生产药物(drug)或药物(pharmaceutical)的惰性或无活性物质,诸如含有本公开文本的化合物作为活性成分的片剂。术语赋形剂可以包括各种物质,包括但不限于用作粘合剂、崩解剂、包衣、压缩/包囊助剂、乳膏或洗剂、润滑剂、用于肠胃外施用的溶液、用于咀嚼片的材料、甜味剂或调味剂、悬浮剂/胶凝剂或湿法制粒剂的任何物质。粘合剂包括例如卡波姆、聚维酮、黄原胶等;包衣包括例如乙酸邻苯二甲酸纤维素、乙基纤维素、结冷胶、麦芽糊精、肠溶衣等;压缩/包囊助剂包括例如碳酸钙、右旋糖、果糖dc(dc=“可直接压缩的”)、蜂蜜dc、乳糖(无水物或一水合物;任选地与阿斯巴甜、纤维素或微晶纤维素组合)、淀粉dc、蔗糖等;崩解剂包括例如交联羧甲基纤维素钠、结冷胶、羟基乙酸淀粉钠等;乳膏或洗剂包括例如麦芽糖糊精、角叉菜胶等;润滑剂包括例如硬脂酸镁、硬脂酸、硬脂富马酸钠等;用于咀嚼片的材料包括例如右旋糖、果糖dc、乳糖(一水合物,任选与阿斯巴甜或纤维素组合)等;悬浮剂/胶凝剂包括例如角叉菜胶、羟基乙酸淀粉钠、黄原胶等;甜味剂包括例如阿斯巴甜、右旋糖、果糖、山梨糖醇、蔗糖dc等;并且湿法制粒剂包括碳酸钙、麦芽糊精、微晶纤维素等。

[0039] 应理解,本文描述为“包含”的方面和实施方案包括“由.....组成”和“基本上由.....组成”实施方案。

[0040] 当组合物被描述为“基本上由”所列出的组分“组成”时,所述组合物含有明确列出的组分,并且可以含有基本上不影响所治疗的疾病或病症的其他组分,诸如痕量杂质。然而,所述组合物不含除明确列出的那些组分之外的显著影响所治疗的疾病或病症的任何其他组分;或者,如果所述组合物确实含有除列出的显著影响所治疗的疾病或病症的那些之外的额外组分,则所述组合物不含足以显著影响所治疗的疾病或病症的足够浓度或量的那些额外组分。当方法被描述为“基本上由”所列出的步骤“组成”时,所述方法含有所列出步骤,并且可能含有不显著影响所治疗的疾病或病症的其他步骤,但所述方法不含除了明确列出的那些步骤之外的显著影响所治疗疾病或病症的任何其他步骤。

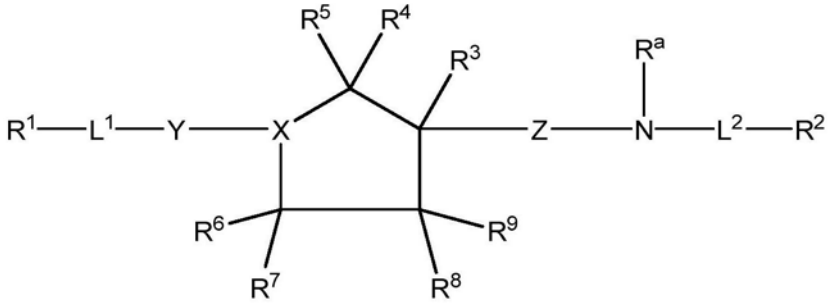
[0041] 当部分被指示为被“至少一个”取代基取代时,这也包括确切地一个取代基的公开。

[0042] 本文的术语“抗体”以最广泛的含义使用,并且包括多种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)和只要展现出所希望的抗原结合活性的抗体片段。

[0043] “抗体片段”是指不同于完整抗体的分子,其包含完整抗体的结合完整抗体所结合的抗原的一部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv、Fab、Fab’、Fab’-SH、F(ab’)2;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如,scFv);和从抗体片段形成的多特异性抗体。

化合物

[0044] 在一个方面,提供了一种式(I)的化合物:



(I)

或其药学上可接受的盐，

其中：

X是N或CR^{12}；

Y是键、NR^a、或NR^aNR^a；条件是：

(a)当X是N时，则Y是键或NR^a；并且

(b)当X是CR^{12}时，则Y是NR^a或NR^aNR^a；

Z是键、C(=O)、$CR^{10}R^{11}$或NR^a；

L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-OCH_2C(=O)-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C$(=O)-#1、*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；

其中*1表示与R^1的附接点，并且#1表示与所述分子的其余部分的附接点；

L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2O-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-$CH_2CH(OH)CH_2O$-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2；

其中*2表示与R^2的附接点，并且#2表示与所述分子的其余部分的附接点；

R^1选自：

被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的C_6-C_{14}芳基；和

被一个或多个卤基取代并且任选被一个或多个R^b取代的5-14元杂芳基；

R^2选自：

被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的C_6-C_{14}芳基；和

被一个或多个卤基取代并且任选被一个或多个R^b取代的5-14元杂芳基；

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；或R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；

R^4、R^5、R^6、R^7、R^8和R^9彼此独立地选自氢、卤素、和C_1-C_6烷基；

R^{10}和R^{11}彼此独立地选自氢、卤素、和C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；或R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；

R^{13}和R^{14}彼此独立地选自氢、卤素、和C_1-C_6烷基；

R^a彼此独立地是卤素或C_1-C_6烷基；

R^b在每次出现时独立地选自NO_2、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、OH、O(C_1-C_6烷基)、O(C_1-C_6卤代烷基)、SH、S(C_1-C_6烷基)、S(C_1-C_6卤代烷基)、NH_2、NH(C_1-C_6烷基)、NH(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)$_2$、N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、NR^cR^d、CN、C(O)OH、C(O)O(C_1-C_6烷基)、C(O)O(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)NH_2、C(O)NH(C_1-C_6烷基)、C(O)NH(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)

N(C_1-C_6烷基)$_2$、C(O)N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、C(O)N$R^{14-a}R^{14-b}$、S(O)$_2$OH、S(O)$_2$O(C_1-C_6烷基)、S(O)$_2$O(C_1-C_6卤代烷基)、S(O)$_2$$NH_2$、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$烷基)、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$卤代烷基)、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$烷基)$_2$、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$卤代烷基)$_2$、S(O)$_2NR^cR^d$、OC(O)H、OC(O)($C_1$-$C_6$烷基)、OC(O)($C_1$-$C_6$卤代烷基)、N(H)C(O)H、N(H)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(H)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)H、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)H、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、和N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)，

其中R^c和R^d与它们附接的氮原子一起形成3-10元杂环；并且

条件是：

(i)当X是CR^{12}，Y是NR^a，Z是键，L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时；则：

(i-1)R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素；或

(i-2)R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；

(ii)当X是CR^{12}，Y是NR^a，Z是键并且R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$时；则：

(ii-1)L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2$C(=O)-#1、*1-OCH_2CH(OH)CH_2-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；或

(ii-2)L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-CH_2CH(OH)CH_2O-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2；并且

(iii)当X是N并且Y是键时，则：

L^1选自*1-OCH_2CH(OH)CH_2-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；并且

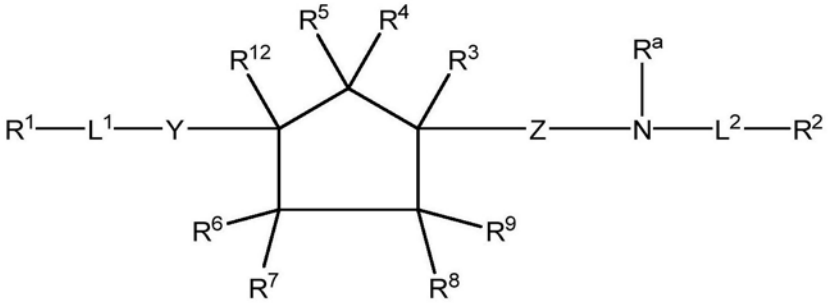
进一步的条件是当Z是$CR^{10}R^{11}$时，则R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

[0045] 在式(I)的化合物的一些实施方案中，X是N。在一些实施方案中，X是CR^{12}。

[0046] 在一些实施方案中，Y是键。在一些实施方案中，Y是NR^a。在一些实施方案中，Y是NR^a，其中R^a是氢。在一些实施方案中，Y是NR^a，其中R^a是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，Y是NR^aNR^a。在一些实施方案中，Y是N(C_1-C_6烷基)NH。在一些实施方案中，Y是N(H)N(C_1-C_6烷基)。在一些实施方案中，Y是N(C_1-C_6烷基)N(C_1-C_6烷基)。在一些实施方案中，Y是NHNH。

[0047] 在一些实施方案中，Z是键。在一些实施方案中，Z是$CR^{10}R^{11}$。在一些实施方案中，Z是NR^a。在一些实施方案中，Z是NR^a，其中R^a是氢。在一些实施方案中，Z是NR^a，其中R^a是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，Z是C(=O)。

[0048] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(II)的化合物：



(II),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{12}、R^a、L^1、L^2、Y和Z是如式(I)的化合物中所定义的，

条件是：

(i)当Y是NR^a，Z是键，L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时；则：

(i-1)R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素；或

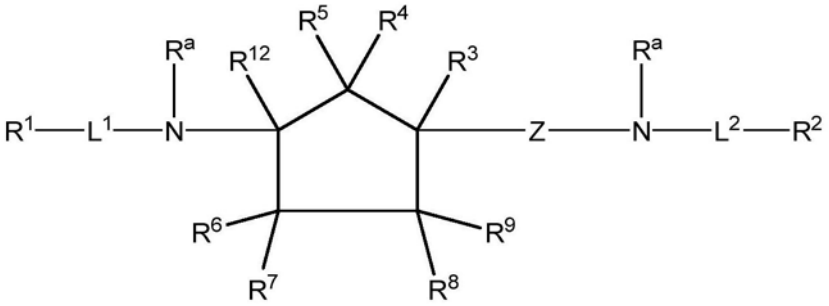
(i-2)R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；并且

(ii)当Y是NR^a，Z是键并且R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$时；则：

(ii-1)L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C$(=O)-#1、*1-OCH_2CH(OH)CH_2-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；或

(ii-2)L2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH2-*2、#2-CH2CH2-*2、#2-CH2CH2CH2-*2、#2-C(=O)CH2CH2O-*2、#2-C(=O)CH2CH2CH2O-*2、#2-CH2CH(OH)CH2O-*2、#2-CH2O-*2、#2-CH2CH2O-*2和#2-CH2CH2CH2O-*2。

[0049] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(IV)的化合物：



(IV),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{12}、R^a、L^1、L^2和Z是如式(I)的化合物中所定义的，

条件是：

(i)当Z是键，L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时；则：

(i-1)R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素；或

(i-2)R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；并且

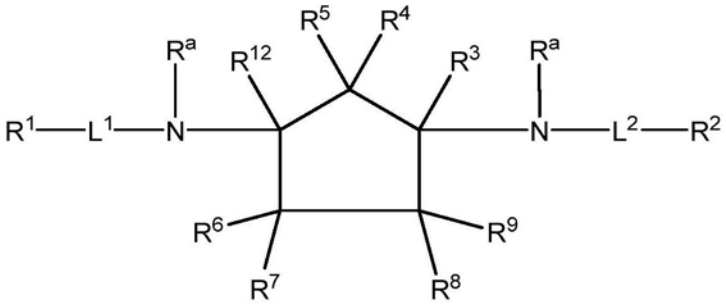
(ii)当Z是键并且R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$时；则：

(ii-1)L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-

$OCH_2CH_2C(=O)$-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C(=O)$-#1、*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1;或

(ii-2)L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-$CH_2CH(OH)CH_2O$-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2。

[0050] 在一些实施方案中,式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(IV-a)的化合物:



(IV-a),

或其药学上可接受的盐,

其中:

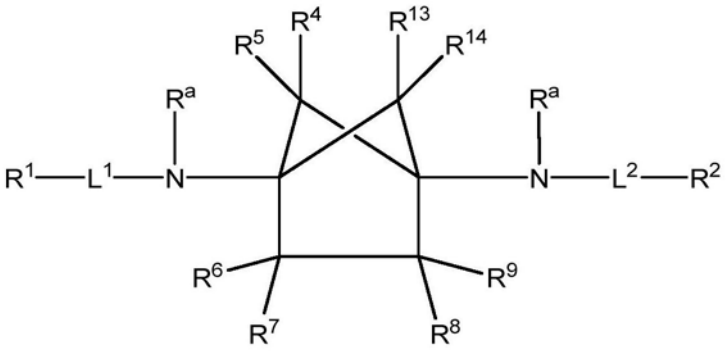
R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基;

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基;并且

条件是当L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时;则R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素;并且

R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0051] 在一些实施方案中,式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(IV-b)的化合物

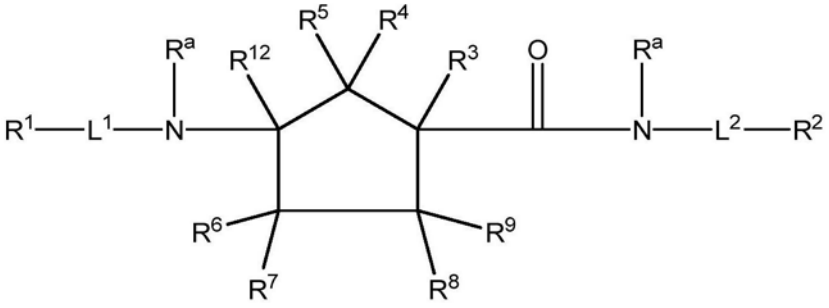


(IV-b),

或其药学上可接受的盐,

其中R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{13}、R^{14}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0052] 在一些实施方案中,式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(IV-c)的化合物



(IV-c),

或其药学上可接受的盐，

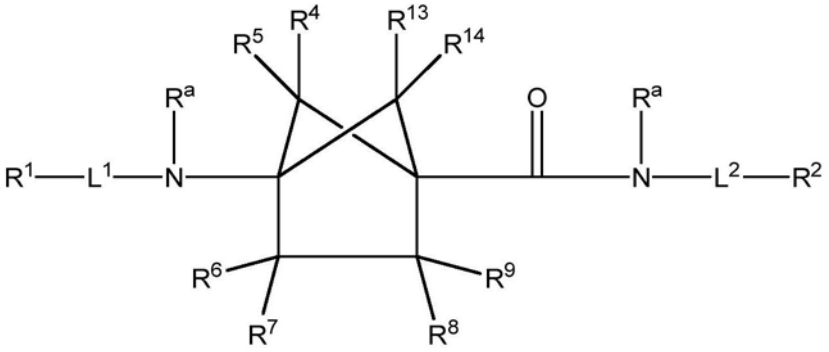
其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0053] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(IV-d)的化合物

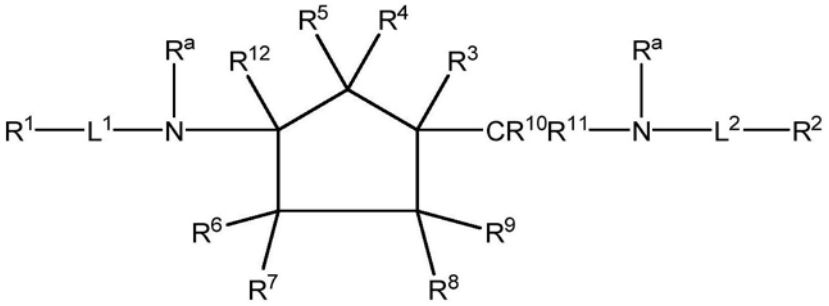


(IV-d),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{13}、R^{14}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0054] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(IV-e)的化合物



(IV-e),

或其药学上可接受的盐，

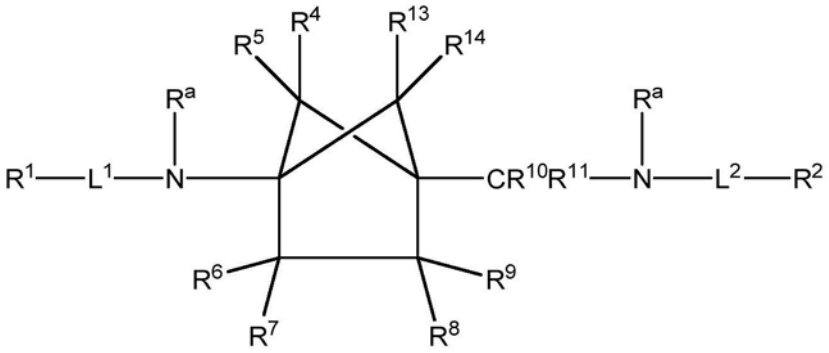
其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0055] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(IV-f)的化合物

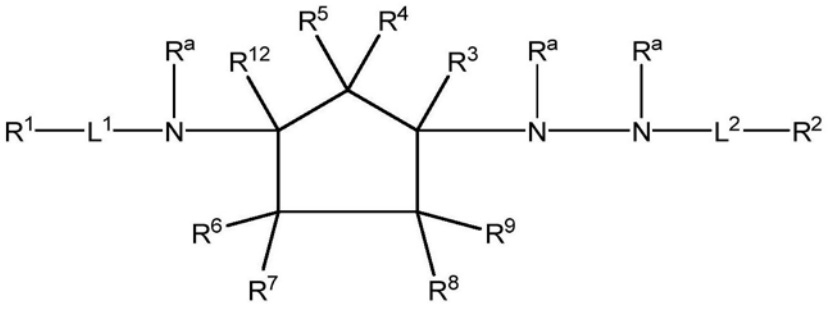


(IV-f)，

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{13}、R^{14}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0056] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(IV-g)的化合物



(IV-g)，

或其药学上可接受的盐，

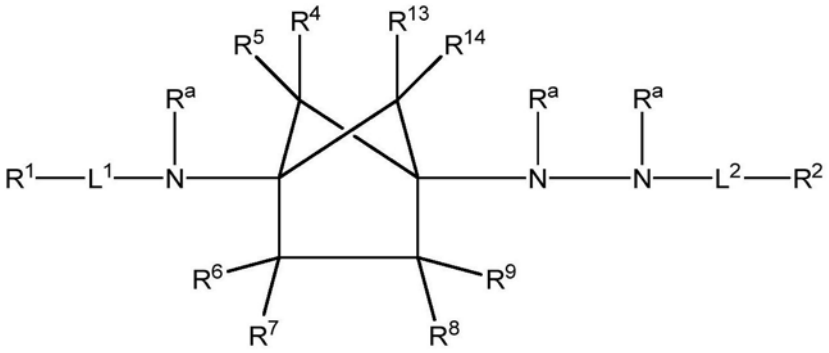
其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0057] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(IV-h)的化合物

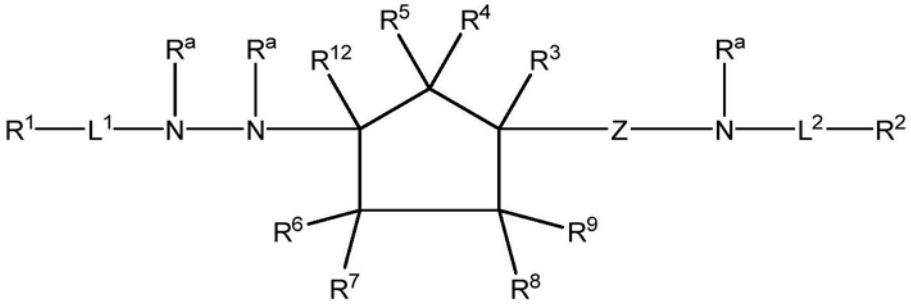


(IV-h)，

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{13}、R^{14}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0058] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(V)的化合物

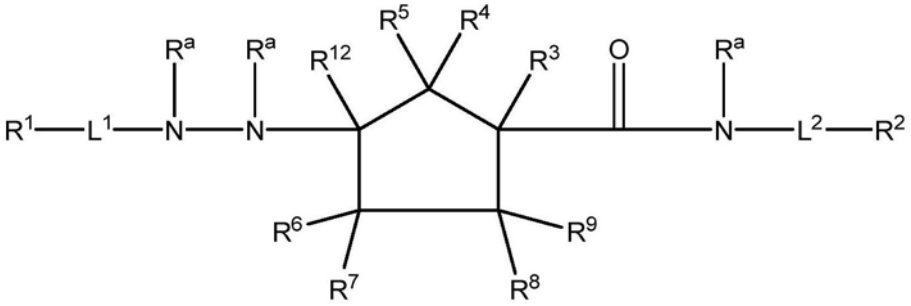


(V)，

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{12}、R^a、Z、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0059] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(V-a)的化合物



(V-a)，

或其药学上可接受的盐，

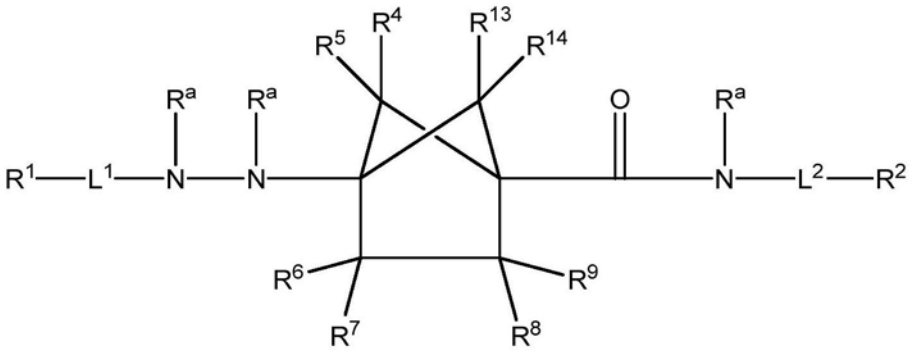
其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0060] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(V-b)的化合物

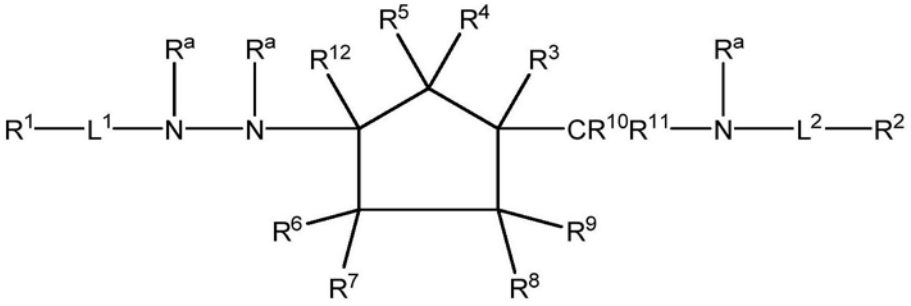


(V-b)，

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{13}、R^{14}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0061] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(V-c)的化合物



(V-c),

或其药学上可接受的盐，

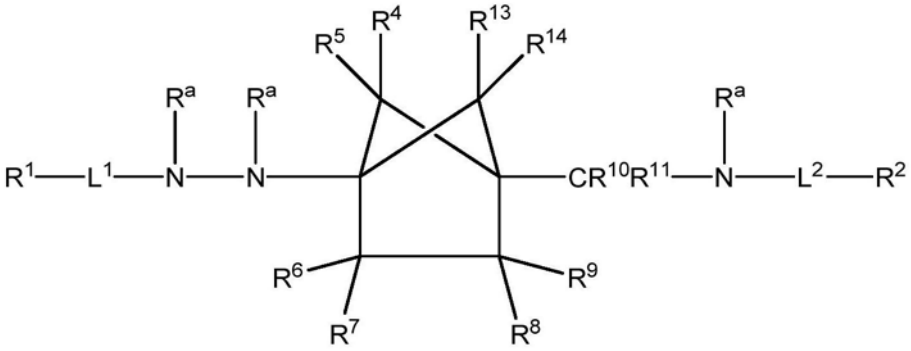
其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0062] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(V-d)的化合物

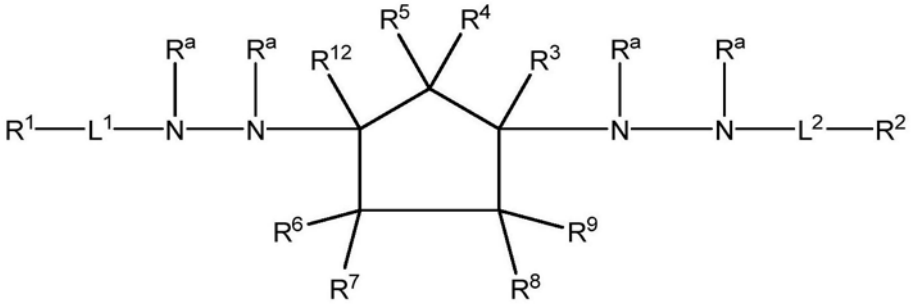


(V-d),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{13}、R^{14}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0063] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(V-e)的化合物



(V-e),

或其药学上可接受的盐，

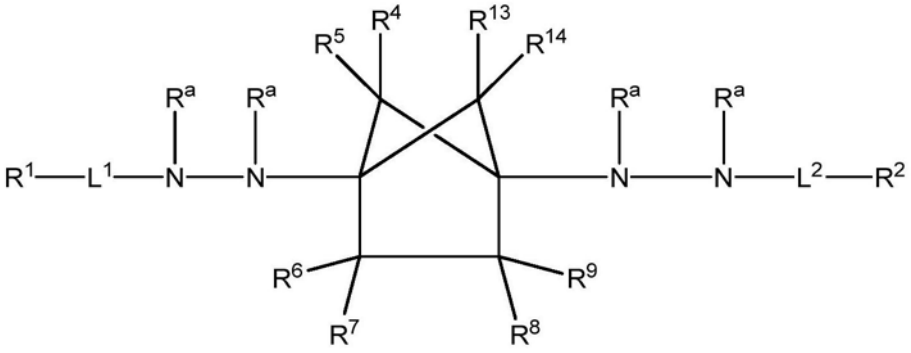
其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0064] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(V-f)的化合物

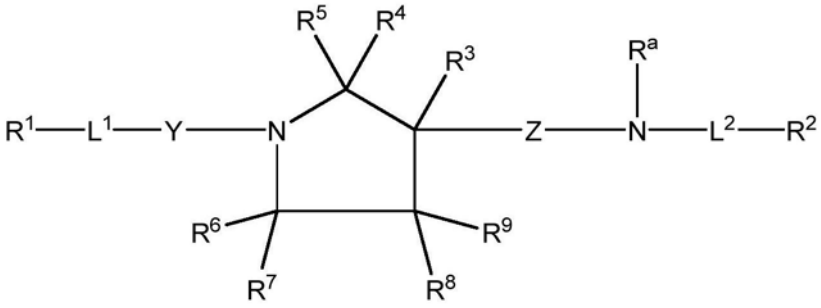


(V-f)，

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{13}、R^{14}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0065] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(III)的化合物



(III)，

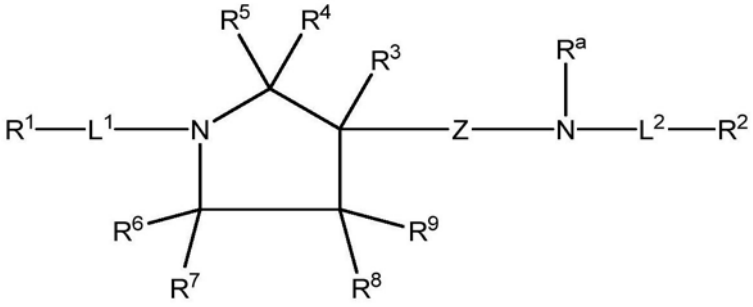
或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、Y、Z、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的，条件是当Y是键时；则：

L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；并且

进一步的条件是当Z是$CR^{10}R^{11}$时，则R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

[0066] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VI)的化合物



(VI)，

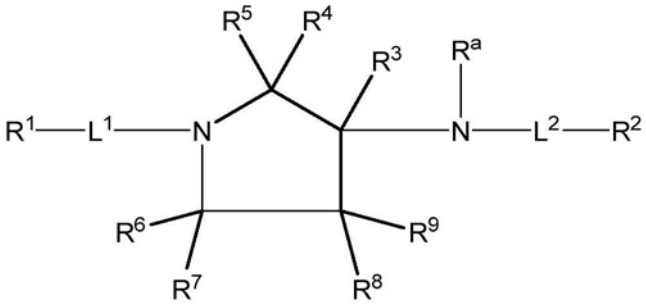
或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、Z、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的，

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；并且

进一步的条件是当Z是$CR^{10}R^{11}$时，则R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

[0067] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VI-a)的化合物



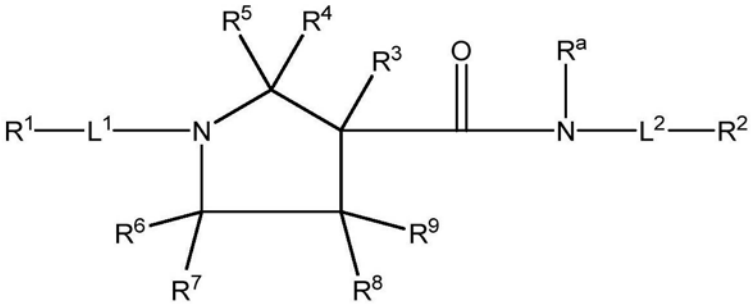
(VI-a)，

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的，

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。

[0068] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VI-b)的化合物



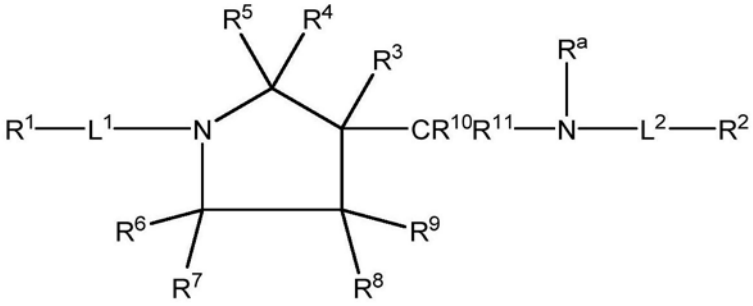
(VI-b)，

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的，

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。

[0069] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VI-c)的化合物



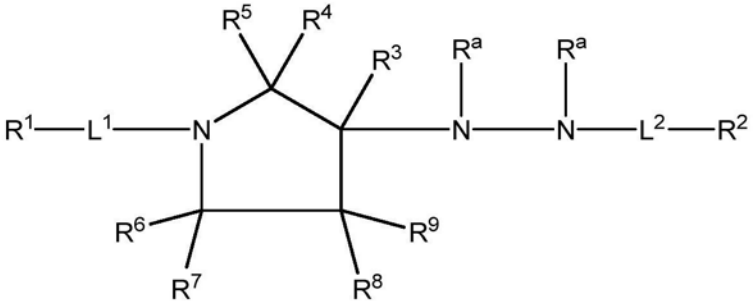
(VI-c),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的，

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；并且R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

[0070] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VI-d)的化合物



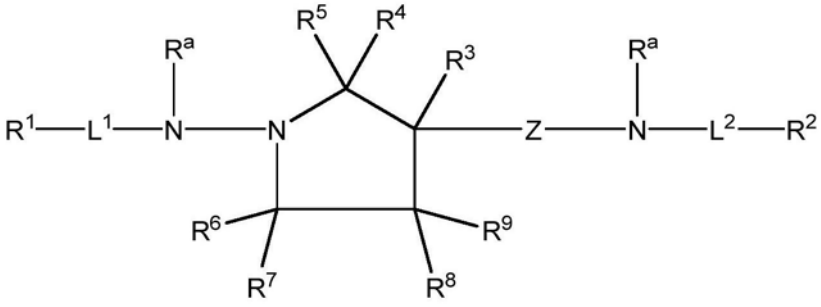
(VI-d),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的，

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。

[0071] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VII)的化合物

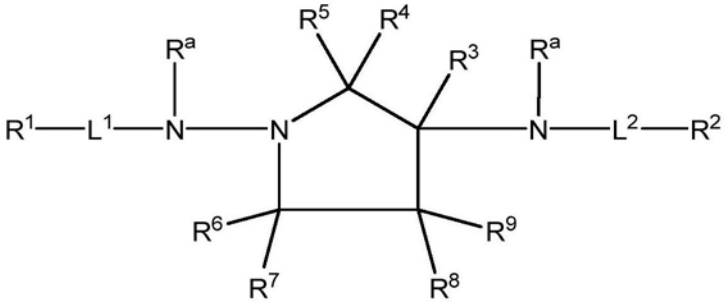


(VII),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、Z、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0072] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VII-a)的化合物

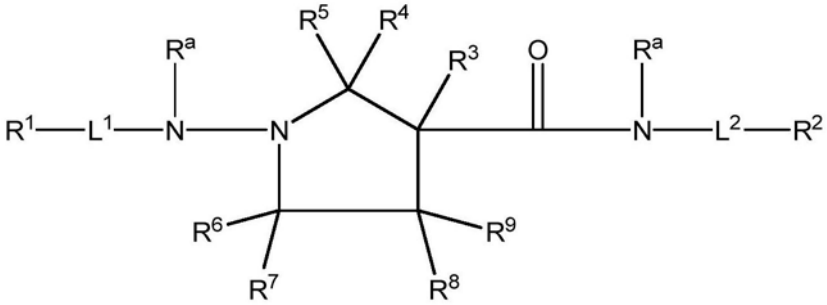


(VII-a),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0073] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VII-b)的化合物

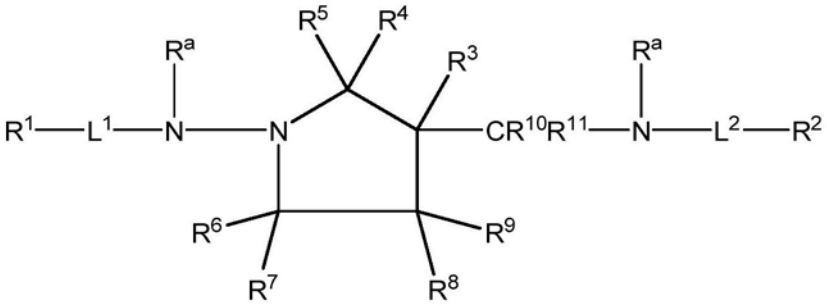


(VII-b),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0074] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VII-c)的化合物

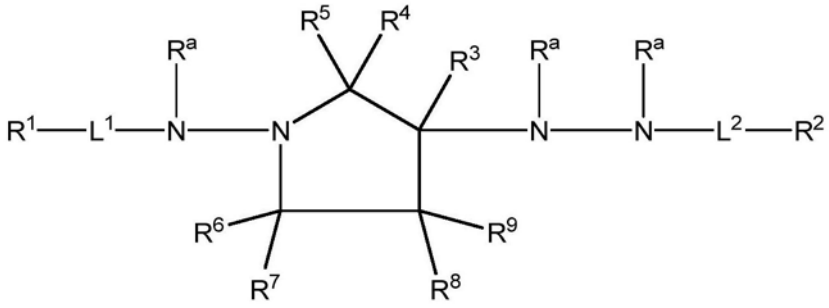


(VII-c),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0075] 在一些实施方案中，式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(VII-d)的化合物



(VII-d),

或其药学上可接受的盐，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^a、L^1和L^2是如式(I)的化合物中所定义的。

[0076] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^3是氢。在一些实施方案中，R^3是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^3是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^3是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团。

[0077] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^4是氢。在一些实施方案中，R^4是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^4是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^4是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。

[0078] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^5是氢。在一些实施方案中，R^5是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^5是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^5是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。

[0079] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^6是氢。在一些实施方案中，R^6是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^6是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^6是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。

[0080] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^7是氢。在一些实施方案中，R^7是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^7是C_1-C_6烷基，

诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^7是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。

[0081] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^8是氢。在一些实施方案中，R^8是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^8是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^8是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。

[0082] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^9是氢。在一些实施方案中，R^9是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^9是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^9是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。

[0083] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8和R^9都是氢。在一些实施方案中，R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；并且R^4、R^5、R^6、R^7、R^8和R^9都是氢。在一些实施方案中，R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8和R^9中的至少1、2、3、4、5或6个是氢。在一些实施方案中，R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；并且R^4、R^5、R^6、R^7、R^8和R^9中的至少1、2、3、4或5个都是氢。

[0084] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^{10}是氢。在一些实施方案中，R^{10}是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^{10}是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^{10}是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。

[0085] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^{11}是氢。在一些实施方案中，R^{11}是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^{11}是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^{11}是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^{10}和R^{11}都是氢。

[0086] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^{12}是氢。在一些实施方案中，R^{12}是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^{12}是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^{12}

是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团。在式(I)的化合物的一些实施方案中，R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9和R^{12}都是氢。

[0087] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^{13}是氢。在一些实施方案中，R^{13}是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^{13}是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^{13}是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。

[0088] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^{14}是氢。在一些实施方案中，R^{14}是卤素，诸如氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中，R^{14}是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^{14}是氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^{13}和R^{14}都是氢。在一些实施方案中，R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；并且R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{13}和R^{14}都是氢。

[0089] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^a在每种情况下是氢。在一些实施方案中，至少1、2或3个R^a是氢。在一些实施方案中，R^a彼此独立地是C_1-C_6烷基，诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。在一些实施方案中，R^a彼此独立地是氢、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基或仲丁基。

[0090] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，L^1是*1-C(=O)-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-CH_2-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-CH_2CH_2-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-OCH_2C(=O)-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-$OCH_2CH_2CH_2C$(=O)-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-OCH_2-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-OCH_2CH_2-#1。在一些实施方案中，L^1是*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。如本文所提供的，*1表示与R^1的附接点，并且#1表示与所述分子的其余部分的附接点；

[0091] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，L^2是#2-C(=O)-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-CH_2-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-CH_2CH_2-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-C(=O)CH_2O-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-C(=O)

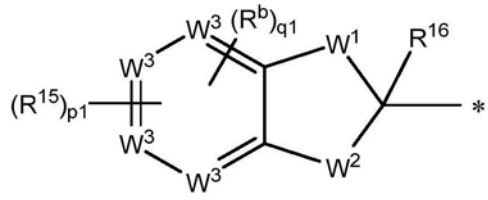
$CH_2CH_2CH_2O$-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-$CH_2CH(OH)CH_2O$-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-CH_2O-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-CH_2CH_2O-*2。在一些实施方案中，L^2是#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2。如本文所提供的，*2表示与R^2的附接点，并且#2表示与所述分子的其余部分的附接点；

[0092] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^1的C_6-C_{14}芳基是苯基。在一些实施方案中，R^1的C_6-C_{14}芳基是双环C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代的C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^1是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^1是被2个卤基取代的C_6-C_{14}芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^1是被3个卤基取代的C_6-C_{14}芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代的苯基。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的苯基。在一些实施方案中，R^1是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的苯基。在一些实施方案中，R^1是被2个卤基取代的苯基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^1是被3个卤基取代的苯基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代的双环C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的双环C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^1是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的双环C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^1是被2个卤基取代的双环C_6-C_{14}芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^1是被3个卤基取代的双环C_6-C_{14}芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。

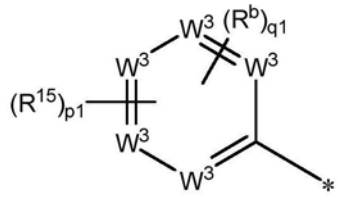
[0093] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1的5-14元杂芳基是单环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1的5-14元杂芳基是双环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代的5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1是被2个卤基取代的5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^1是被3个卤基取代的5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代的单环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的单环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的单环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1是被2个卤基取代的单环5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^1是被3个卤基取代的单环5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代的双环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的双环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的双环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^1是被2个卤基取代的双环5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实

施方案中，R^1是被3个卤基取代的双环5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。

[0094] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^1是选自以下的取代基：



(R¹-a) 和



(R¹-b)，

其中：

*表示与分子其余部分的附接点；

W^1选自-C($R^{W1-1}R^{W1-2}$)-、-N(R^{W1-2})-、-C($R^{W1-1}R^{W1-2}$)N(R^{W1-2})-、-N(R^{W1-2})C($R^{W1-1}R^{W1-2}$)-、-C(R^{W1-2})=N-、-N=C(R^{W1-2})-、-O-、-C($R^{W1-1}R^{W1-2}$)O-、-OC($R^{W1-1}R^{W1-2}$)-、-S-、-C($R^{W1-1}R^{W1-2}$)S-、-SC($R^{W1-1}R^{W1-2}$)-、和-CR^{W1-1}=CR^{W1-2}-，

其中R^{W1-1}是H、R^{15}或R^b，并且R^{W1-2}是H、R^{15}或R^b；

W^2选自-C($R^{W2-1}R^{W2-2}$)-、-N(R^{W2-2})-、-C($R^{W2-1}R^{W2-2}$)N(R^{W2-2})-、-N(R^{W2-2})C($R^{W2-1}R^{W2-2}$)-、-C(R^{W2-2})=N-、-N=C(R^{W2-2})-、-O-、-C($R^{W2-1}R^{W2-2}$)O-、-OC($R^{W2-1}R^{W2-2}$)-、-S-、-C($R^{W2-1}R^{W2-2}$)S-、-SC($R^{W2-1}R^{W2-2}$)-和-CR^{W2-1}=CR^{W2-2}-，

其中R^{W2-1}是H、R^{15}或R^b，并且R^{W2-2}是H、R^{15}或R^b；

W^3彼此独立地是CR^{W3}或N，其中R^{W3}是H、R^{15}或R^b；

R^{15}是卤素；

p1是1、2、3或4；

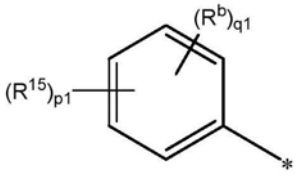
R^b在每次出现时独立地选自NO_2、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、OH、O(C_1-C_6烷基)、O(C_1-C_6卤代烷基)、SH、S(C_1-C_6烷基)、S(C_1-C_6卤代烷基)、NH_2、NH(C_1-C_6烷基)、NH(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)$_2$、N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、NR^cR^d、CN、C(O)OH、C(O)O(C_1-C_6烷基)、C(O)O(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)NH_2、C(O)NH(C_1-C_6烷基)、C(O)NH(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)N(C_1-C_6烷基)$_2$、C(O)N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、C(O)$NR^{14-a}R^{14-b}$、S(O)$_2$OH、S(O)$_2$O(C_1-C_6烷基)、S(O)$_2$O(C_1-C_6卤代烷基)、S(O)$_2$$NH_2$、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$烷基)、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$卤代烷基)、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$烷基)$_2$、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$卤代烷基)$_2$、S(O)$_2$$NR^cR^d$、OC(O)H、OC(O)($C_1$-$C_6$烷基)、OC(O)($C_1$-$C_6$卤代烷基)、N(H)C(O)H、N(H)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(H)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)H、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)H、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、和N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)，

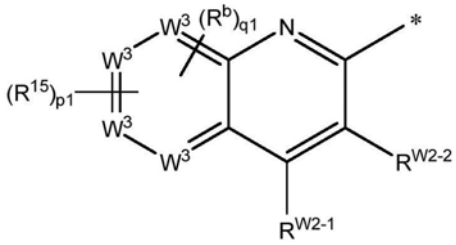
其中R^c和R^d与它们附接的氮原子一起形成3-10元杂环；

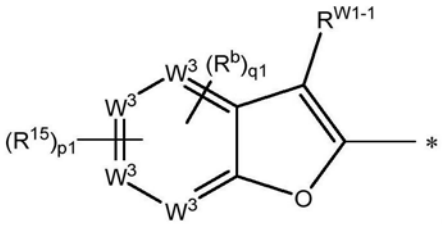
q1是0、1、2、3或4;并且

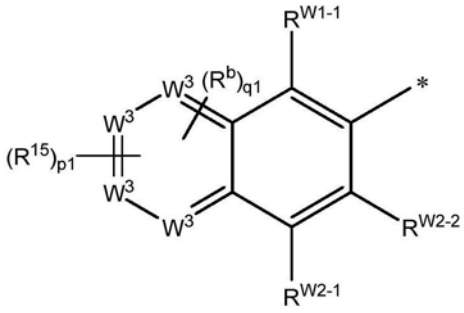
R^{16}是氢、R^{15}或R^{b},或者R^{16}和R^{W1-2}一起在带有R^{16}和W^{1}的碳原子之间形成双键,或者R^{16}和R^{W2-2}一起在带有R^{16}和W^{2}的碳原子之间形成双键。

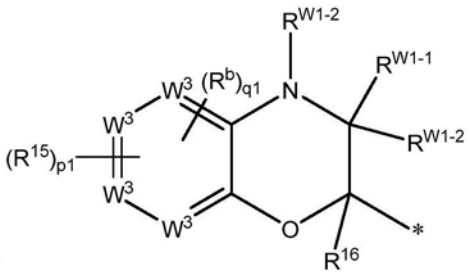
[0095] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中,R^{1}是选自以下的取代基:


;


;

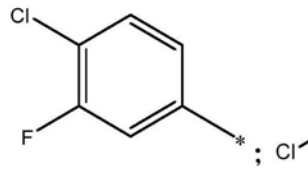
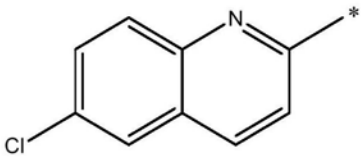
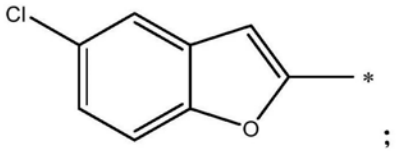
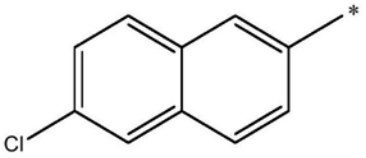
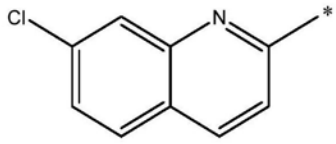
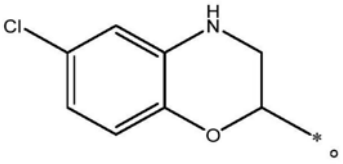
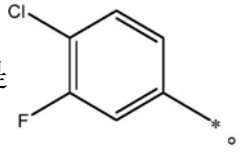
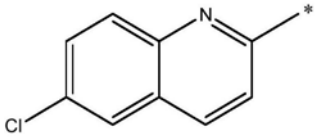
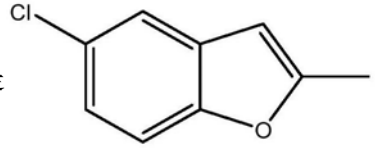
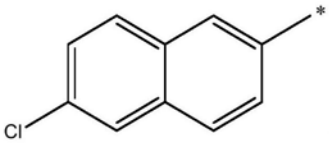
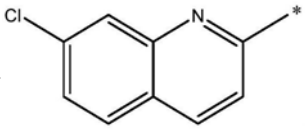
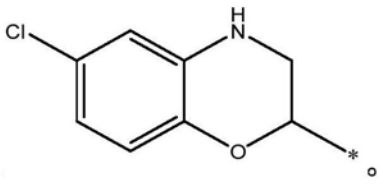

;


; 和


。

[0096] 在式(R^{1}-a)或式(R^{1}-b)或任何相关式的取代基的一些实施方案中,R^{15}是氟或氯。在一些实施方案中,p1是1。在一些实施方案中,p1是2。在一些实施方案中,p1是3。在一些实施方案中,p1是4。在一些实施方案中,q1是0。在一些实施方案中,q1是1。在一些实施方案中,q1是2。在一些实施方案中,q1是3。在一些实施方案中,q1是4。在一些实施方案中,p1是1并且q1是0。在一些实施方案中,p1是2并且q1是0。

[0097] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中,R^{1}是选自以下的取代基:

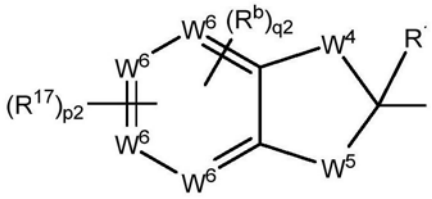

；
；
；
；
；和
在一些实施方案中，R^1是
。在一些实施方案中，R^1是
。在一些实施方案中，R^1是
。在一些实施方案中，R^1是
。在一些实施方案中，R^1是
。在一些实施方案中，R^1是
。

[0098] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^2的C_6-C_{14}芳基是苯基。在一些实施方案中，R^2的C_6-C_{14}芳基是双环C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代的C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^2是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^2是被2个卤基取代的C_6-C_{14}芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被3个卤基取代的C_6-C_{14}芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代的苯基。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的苯基。在一些实施方案中，R^2是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的苯基。在一些实施方案中，R^2是被2个卤基取代的苯基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被3个卤基取代的苯基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代的双环C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的双环C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^2是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的双环C_6-C_{14}芳基。在一些实施方案中，R^2是被2个卤基取代的双环C_6-C_{14}芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被3个卤基取代的双环

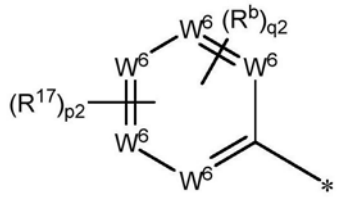
C_6-C_{14}芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。

[0099] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2的5-14元杂芳基是单环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R2的5-14元杂芳基是双环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代的5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2是被2个卤基取代的5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被3个卤基取代的5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代的单环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的单环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的单环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2是被2个卤基取代的单环5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被3个卤基取代的单环5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代的双环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2是被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的双环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2是被1个卤基(诸如氟、氯或溴)取代的双环5-14元杂芳基。在一些实施方案中，R^2是被2个卤基取代的双环5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。在一些实施方案中，R^2是被3个卤基取代的双环5-14元杂芳基，所述卤基中的每个独立地是氟、氯或溴。

[0100] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^2是选自以下的取代基：



(R²-a) 和



(R²-b)，

其中：

*表示与分子其余部分的附接点；

W^4选自-C($R^{W4-1}R^{W4-2}$)-、-N(R^{W4-2})-、-C($R^{W4-1}R^{W4-2}$)N(R^{W4-2})-、-N(R^{W4-2})C($R^{W4-1}R^{W4-2}$)-、-C(R^{W4-2})=N-、-N=C(R^{W4-2})-、-O-、-C($R^{W4-1}R^{W4-2}$)O-、-OC($R^{W4-1}R^{W4-2}$)-、-S-、-C($R^{W4-1}R^{W4-2}$)S-、-SC($R^{W4-1}R^{W4-2}$)-和-CR^{W4-1}=CR^{W4-2}-，

其中R^{W4-1}是H、R^{17}或R^b，并且R^{W4-2}是H、R^{17}或R^b；

W^5选自-C($R^{W5-1}R^{W5-2}$)-、-N(R^{W5-2})-、-C($R^{W5-1}R^{W5-2}$)N(R^{W5-2})-、-N(R^{W5-2})C($R^{W5-1}R^{W5-2}$)-、-C(R^{W5-2})=N-、-N=C(R^{W5-2})-、-O-、-C($R^{W5-1}R^{W5-2}$)O-、-OC($R^{W5-1}R^{W5-2}$)-、-S-、-C($R^{W5-1}R^{W5}$

$^{-2}$)S-、-SC($R^{W5-1}R^{W5-2}$)-和-CR^{W5-1}=CR^{W5-2}-，

其中R^{W5-1}是H、R^{17}或R^{b}，并且R^{W5-2}是H、R^{17}或R^{b}；

W^{6}彼此独立地是CR^{W6}或N，其中R^{W6}是H、R^{17}或R^{b}；

R^{17}是卤素；

p2是1、2、3或4；

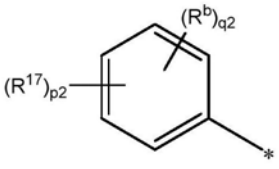
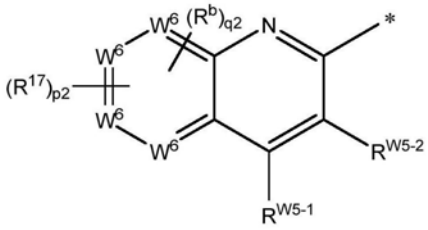
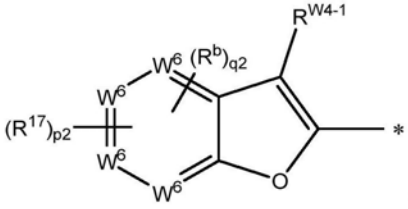
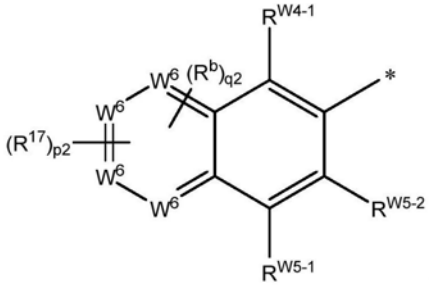
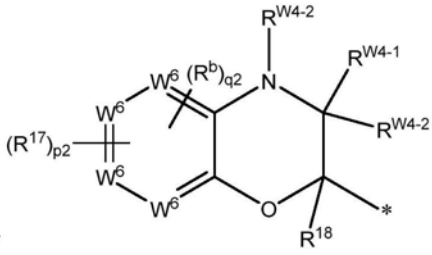
R^{b}在每次出现时独立地选自NO_2、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、OH、O(C_1-C_6烷基)、O(C_1-C_6卤代烷基)、SH、S(C_1-C_6烷基)、S(C_1-C_6卤代烷基)、NH_2、NH(C_1-C_6烷基)、NH(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)$_2$、N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、$NR^{c}R^{d}$、CN、C(O)OH、C(O)O(C_1-C_6烷基)、C(O)O(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)NH_2、C(O)NH(C_1-C_6烷基)、C(O)NH(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)N(C_1-C_6烷基)$_2$、C(O)N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、C(O)$NR^{14-a}R^{14-b}$、S(O)$_2$OH、S(O)$_2$O(C_1-C_6烷基)、S(O)$_2$O(C_1-C_6卤代烷基)、S(O)$_2$$NH_2$、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$烷基)、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$卤代烷基)、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$烷基)$_2$、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$卤代烷基)$_2$、S(O)$_2$$NR^{c}R^{d}$、OC(O)H、OC(O)($C_1$-$C_6$烷基)、OC(O)($C_1$-$C_6$卤代烷基)、N(H)C(O)H、N(H)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(H)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)H、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)H、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、和N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)，

其中R^{c}和R^{d}与它们附接的氮原子一起形成3-10元杂环；

q2是0、1、2、3或4；并且

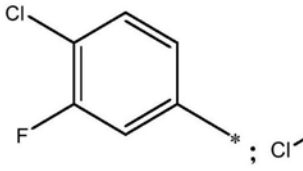
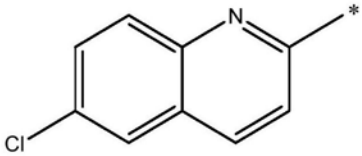
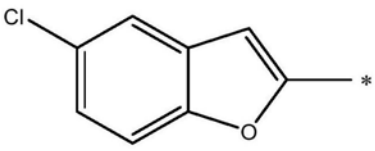
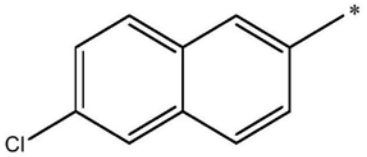
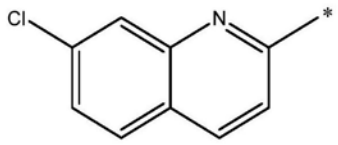
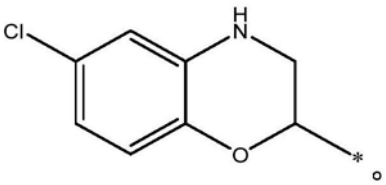
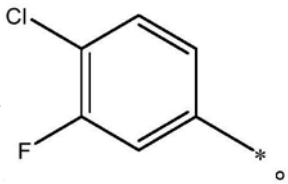
R^{18}是氢、R^{17}或R^{b}，或者R^{18}和R^{W4-2}在带有R^{18}和W^{4}的碳原子之间一起形成双键，或者R^{18}和R^{W5-2}在带有R^{18}和W^{5}的碳原子之间一起形成双键。

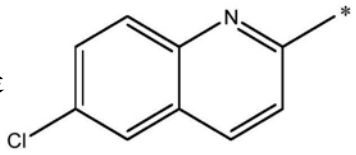
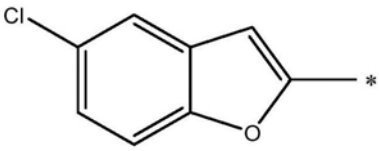
[0101] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，R^{2}是选自以下的取代基：

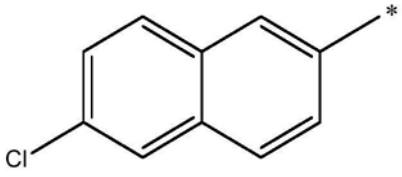
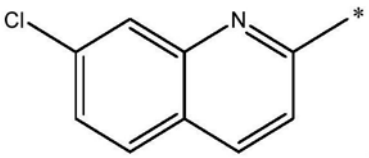
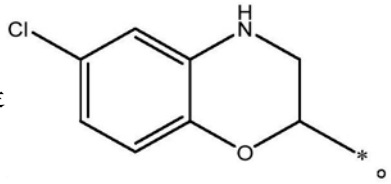






[0102] 在式(R^2-a)或式(R^2-b)或任何相关式的取代基的一些实施方案中,R^{17}是氟或氯。在一些实施方案中,p2是1。在一些实施方案中,p2是2。在一些实施方案中,p2是3。在一些实施方案中,p2是4。在一些实施方案中,q2是0。在一些实施方案中,q2是1。在一些实施方案中,q2是2。在一些实施方案中,q2是3。在一些实施方案中,q2是4。在一些实施方案中,p2是1并且q2是0。在一些实施方案中,p2是2并且q2是0。

[0103] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中,R^{2}是选自以下的取代基:







在一些实施方案中,R^{2}是

在一些实施方案

中，R^2是。在一些实施方案中，R^2是。

在一些实施方案中，R^2是。在一些实施方案中，R^2是。在一些实施方案中，R^2是。

[0104] 在式(I)、(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)的化合物的一些实施方案中，所述化合物具有以下特征中的至少1、2、3、4、5或6个：

(a) R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9和R^{12}都是氢；

(b) R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团，其中R^{13}和R^{14}都是氢，并且R^4、R^5、R^6、R^7、R^8和R^9都是氢；

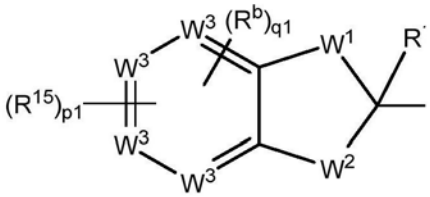
(c) R^a在每次出现时是氢；

(d) R^{10}和R^{11}都是氢；

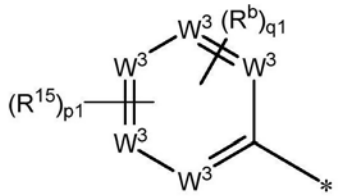
(e) L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-OCH_2C(=O)-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C$(=O)-#1、*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1，其中*1表示与R^1的附接点，并且#1表示与所述分子的其余部分的附接点；

(f) L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2O-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-$CH_2CH(OH)CH_2O$-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2，其中*2表示与R^2的附接点，并且#2表示与所述分子的其余部分的附接点；

(g) R^1是选自以下的取代基：

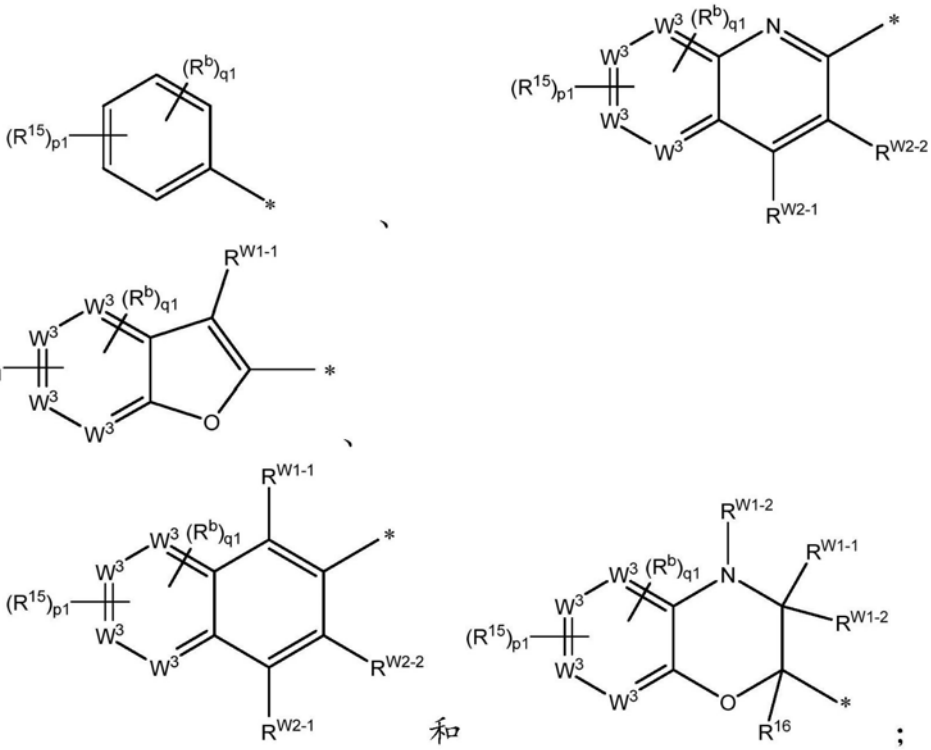


(R^1-a) 和

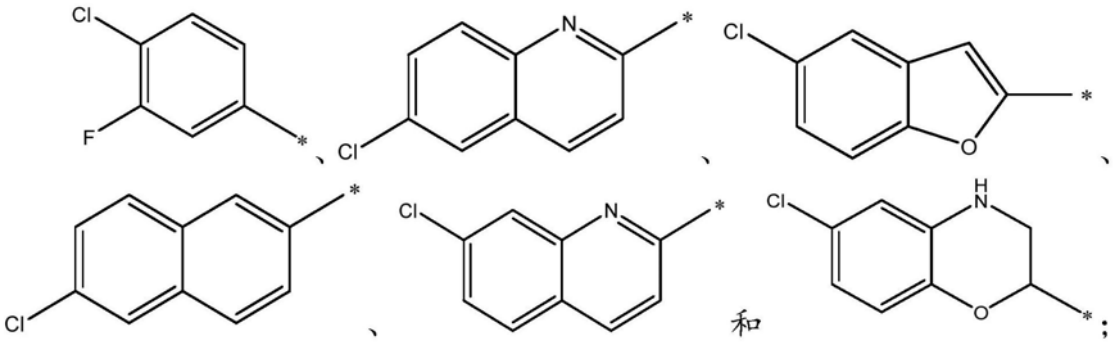


(R^1-b)；

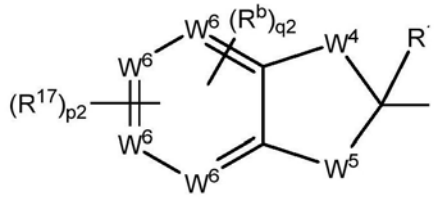
(h) R^1是选自以下的取代基：



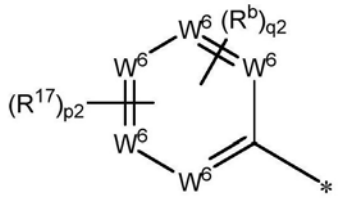
(i)R^1是选自以下的取代基：



(j)R^2是选自以下的取代基：

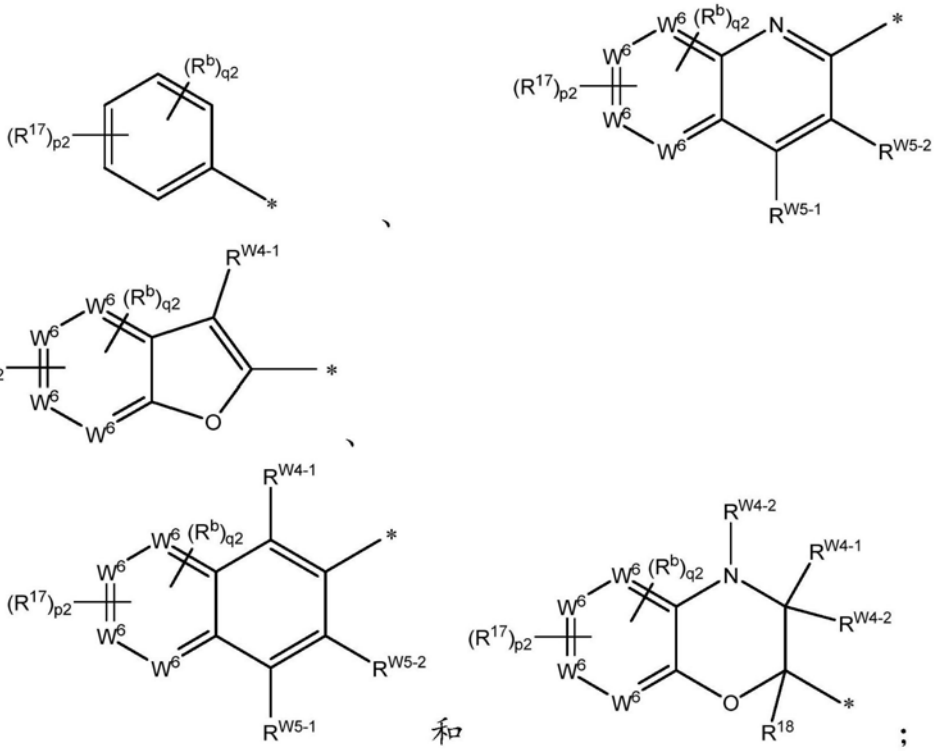


$(R^2\text{-a})$ 和

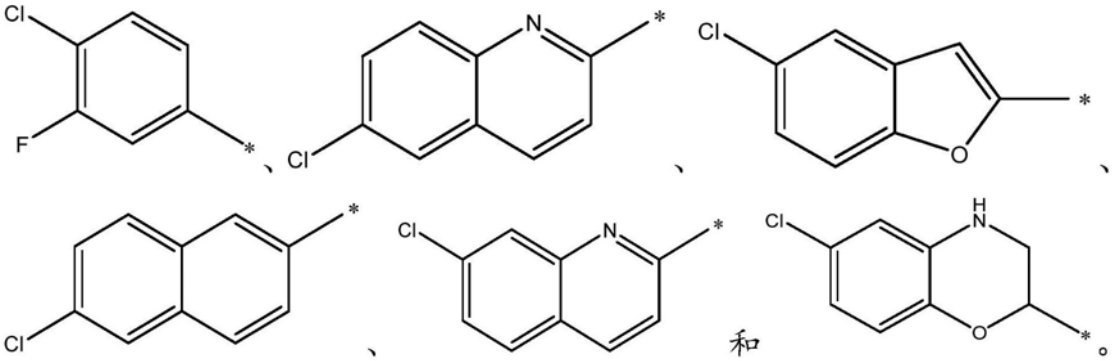


$(R^2\text{-b})$；

(k)R^2是选自以下的取代基：



(1)R^2是选自以下的取代基：



[0105] 在本文的描述中，应理解部分的每个描述、变化、实施方案或方面可以与其他部分的每个描述、变化、实施方案或方面组合，就好像描述的每一种组合被具体地且单独地列出一样。例如，本文提供的关于式(I)的X的每个描述、变化、实施方案或方面可以R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{13}、R^{14}、R^a、L^1、L^2、Y和Z的每一个描述、变化、实施方案或方面组合，就好像每一种组合都被具体地且单独列出一样。还应理解，式(I)的所有描述、变化、实施方案或方面在适用的情况下同样适用于本文详述的其他式，并且被同等描述，就好像每一个描述、变化、实施方案或方面是对于所有式单独且独立地列出的。例如，式(I)的所有描述、变化、实施方案或方面在适用的情况下同样适用于如本文中详述的式(II)、(III)、(IV)、(IV-a)、(IV-b)、(IV-c)、(IV-d)、(IV-e)、(IV-f)、(IV-g)、(IV-h)、(V)、(V-a)、(V-b)、(V-c)、(V-d)、(V-e)、(V-f)、(VI)、(VI-a)、(VI-b)、(VI-c)、(VI-d)、(VII)、(VII-a)、(VII-b)、(VII-c)和(VII-d)中的任一个，并且被同等描述，就好像每一个描述、变化、实施方案或方面是对于所有式单独且独立地列出的。

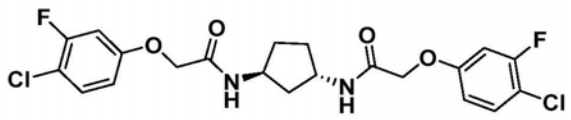
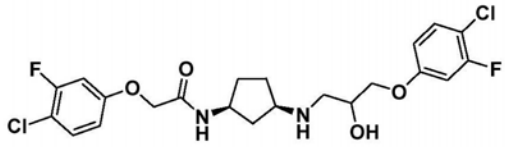
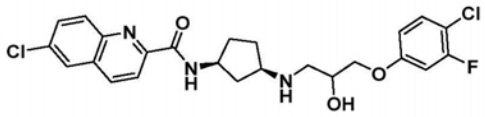
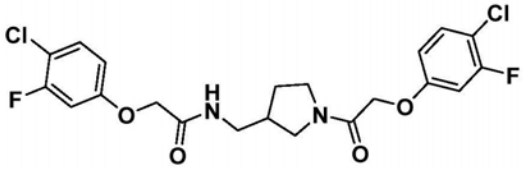
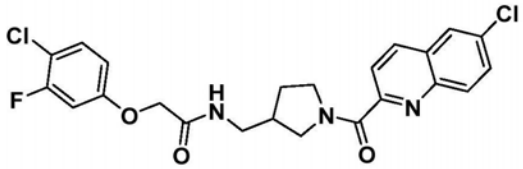
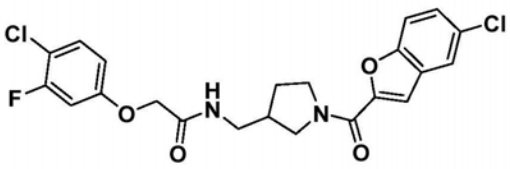
[0106] 还提供了本文提及的化合物的盐，诸如药学上可接受的盐。本公开文本还包括任何或所有立体化学形式，包括任何对映异构体或非对映异构体形式，以及所描述的化合物

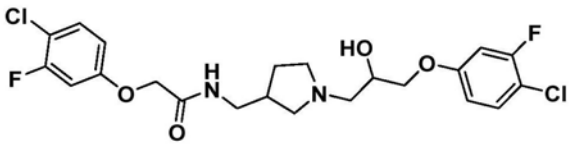
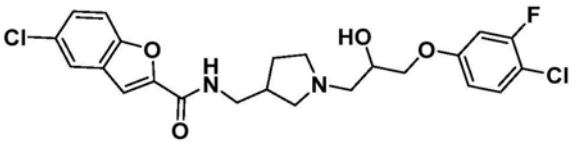
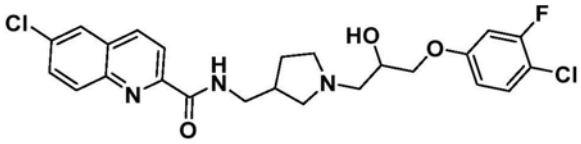
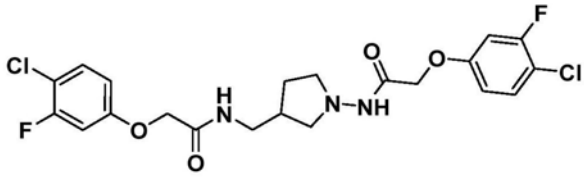
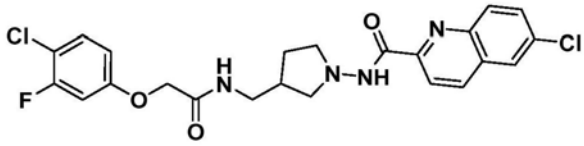
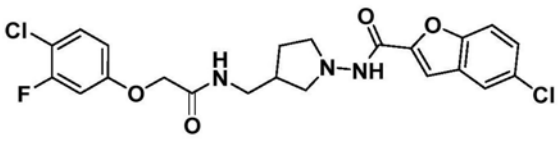
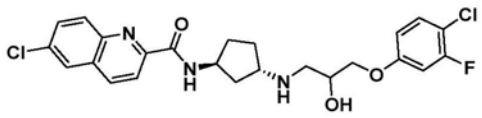
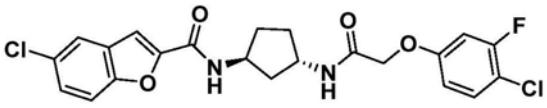
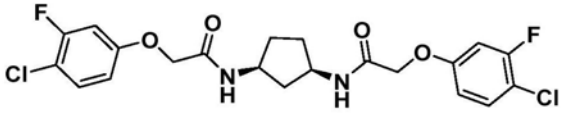
的任何互变异构体或其他形式。因此，如果对给定化合物描述了具体的立体化学形式，诸如特定的对映异构体形式或非对映异构体形式，则应理解本文描述并且本发明包括任何相同化合物的任何或所有立体化学形式，包括任何对映异构体或非对映异构体形式，以及任何互变异构体或其他形式。

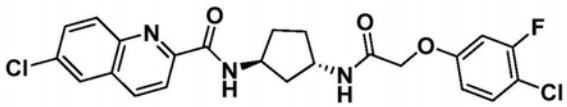
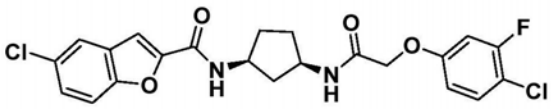
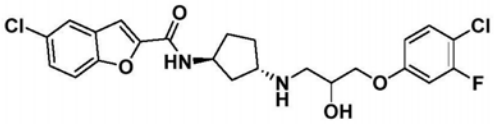
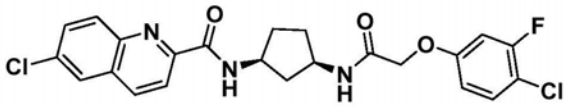
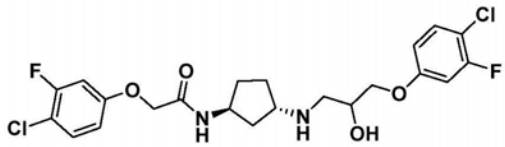
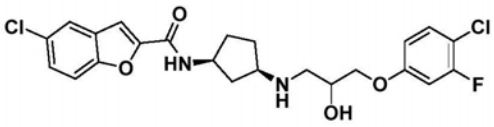
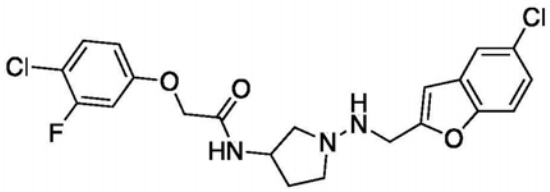
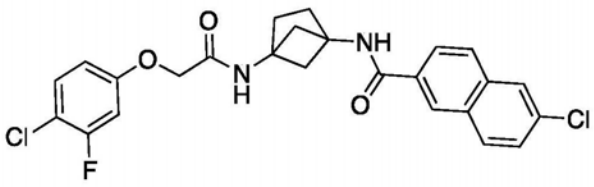
[0107] 在一方面，如本文详述的化合物可以呈纯化形式，并且本文详述了包含呈纯化形式的化合物的组合物。提供了包含如本文详述的化合物或其盐的组合物，诸如基本上纯的化合物的组合物。在一些实施方案中，含有如本文详述的化合物或其盐的组合物是基本上纯的形式。除非另有规定，否则“基本上纯的”意图指含有不超过35％杂质的组合物，其中杂质是指除构成组合物大部分的化合物或其盐以外的化合物。在一些实施方案中，提供了一种基本上纯的化合物或其盐的组合物，其中所述组合物含有不超过25％、20％、15％、10％或5％的杂质。在一些实施方案中，提供了一种基本上纯的化合物或其盐的组合物，其中所述组合物含有或不超过3％、2％、1％或0.5％的杂质。

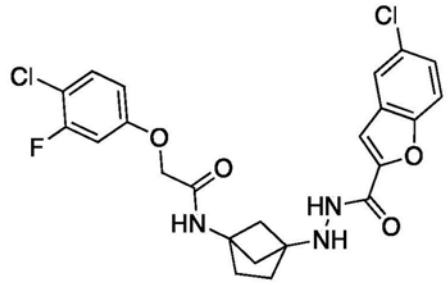
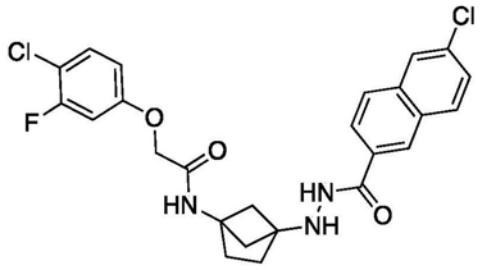
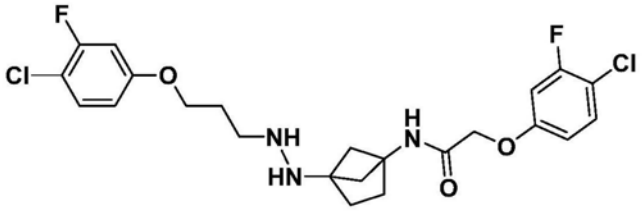
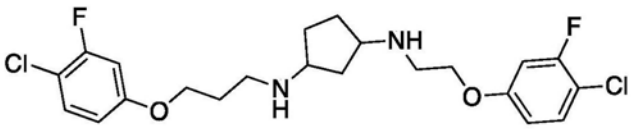
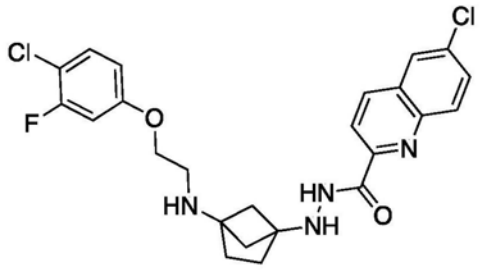
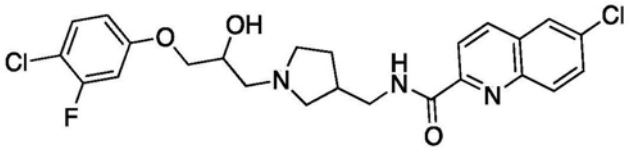
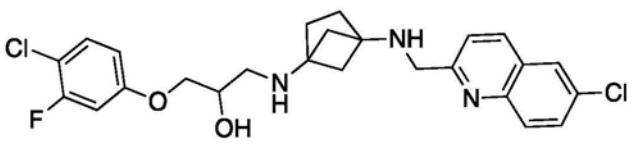
[0108] 在一些实施方案中，提供了选自表1中的化合物的化合物或其立体异构体、互变异构体、溶剂化物、前药或盐。尽管表1中描述的某些化合物以特定立体异构体和/或非立体化学形式呈现，但应理解本文描述了表1的任何化合物的任何或所有立体化学形式，包括任何对映异构体或非对映异构体形式，以及任何互变异构体或其他形式。

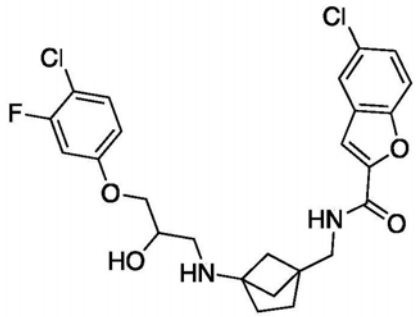
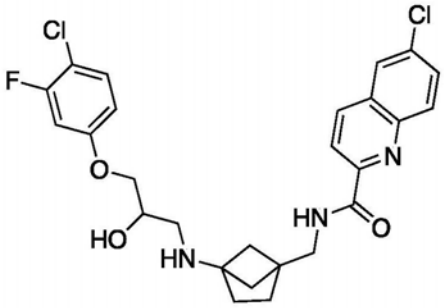
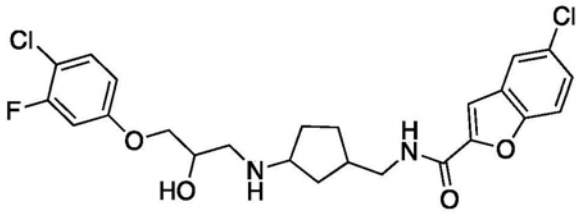
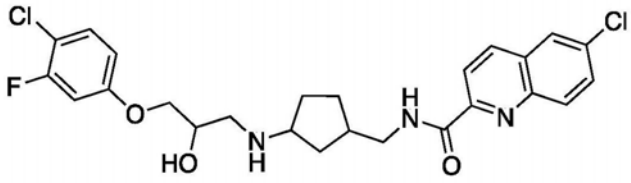
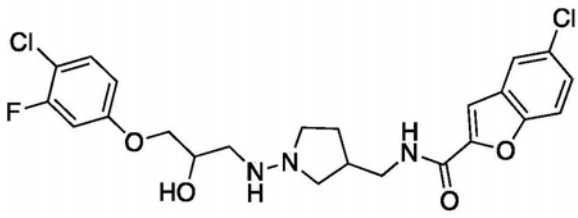
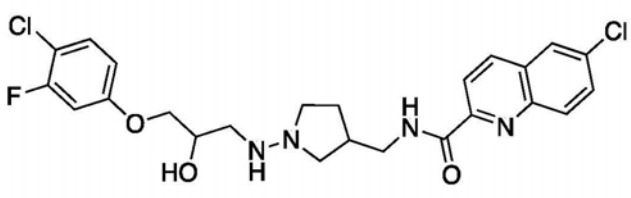
表1

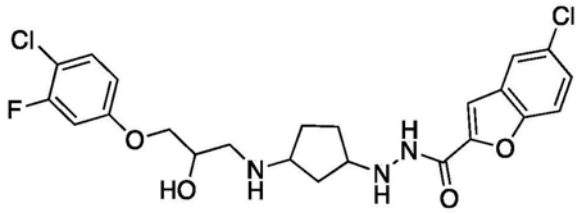
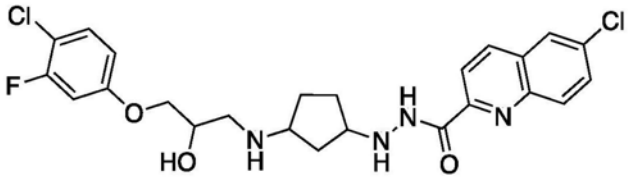
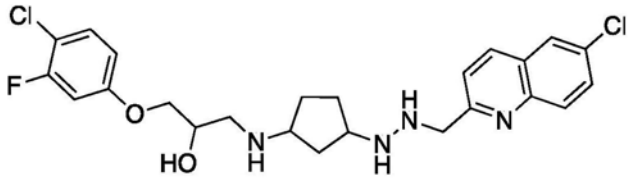
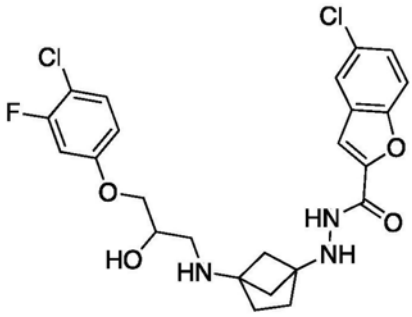
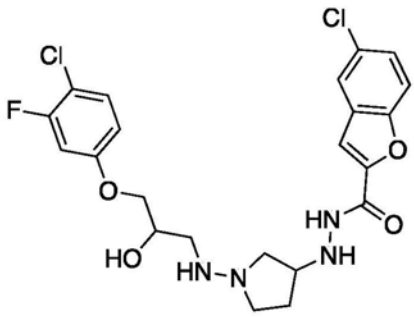
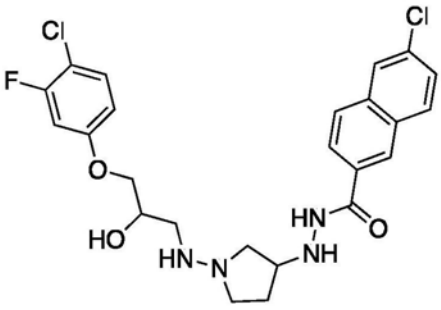
化合物	结构
1	
2	
3	
4	
5	
6	

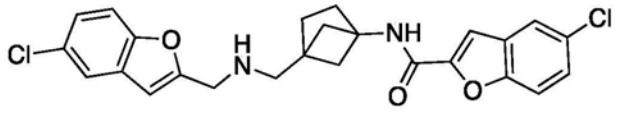
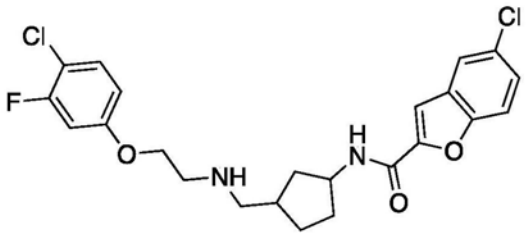
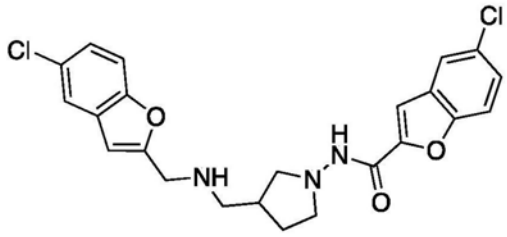
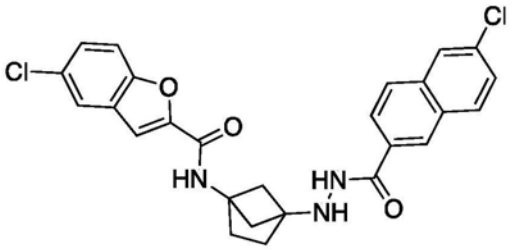
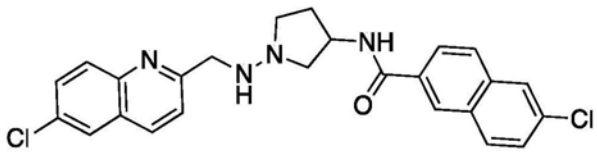
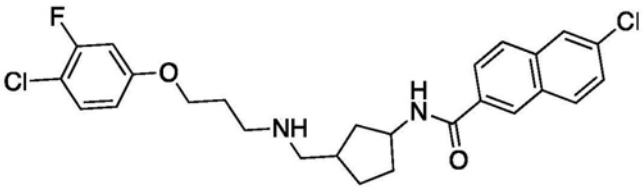
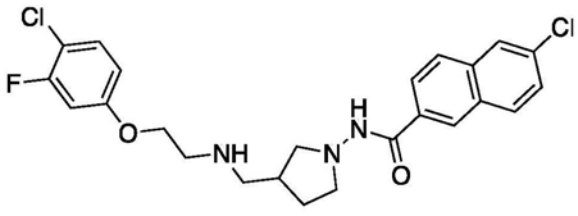
化合物	结构
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	

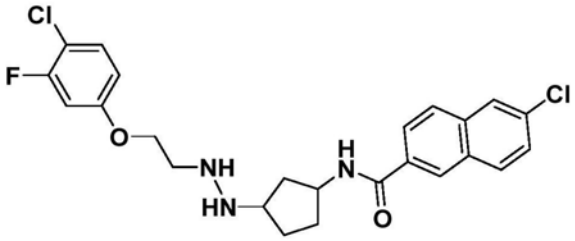
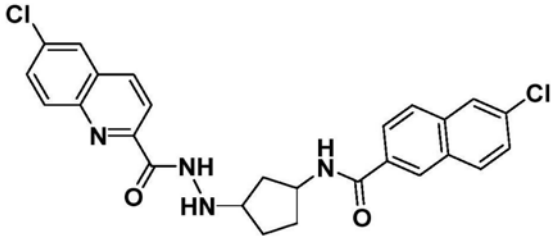
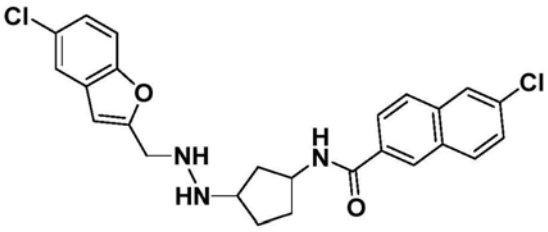
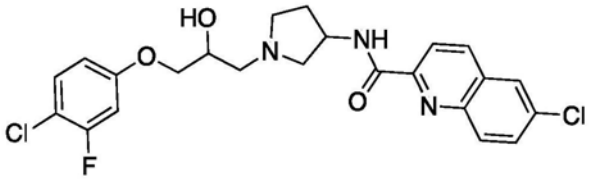
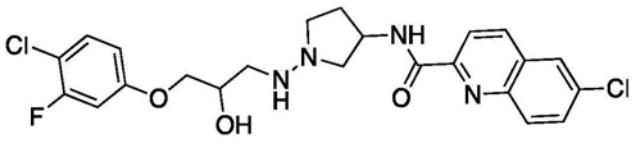
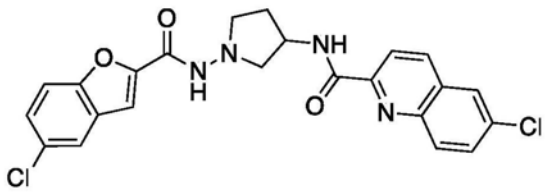
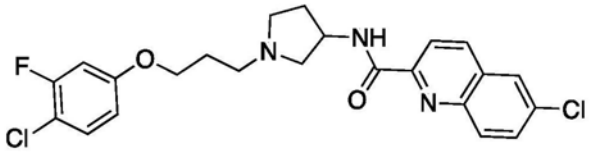
化合物	结构
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	

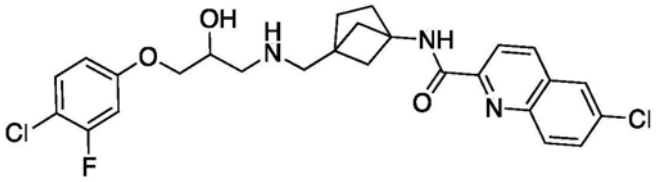
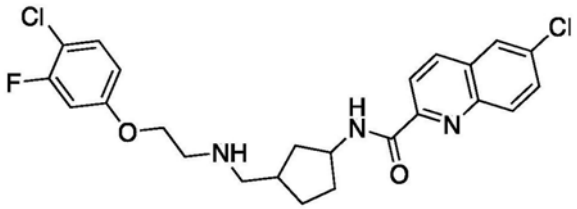
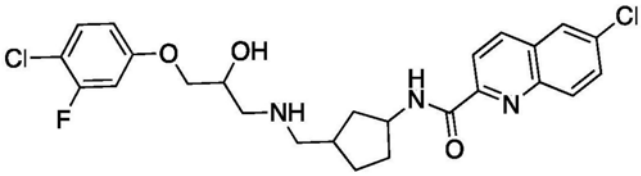
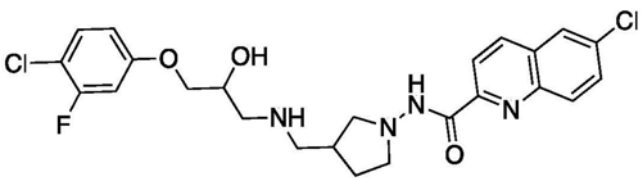
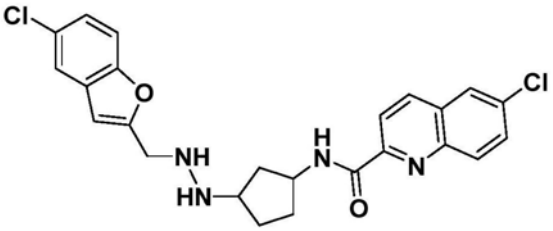
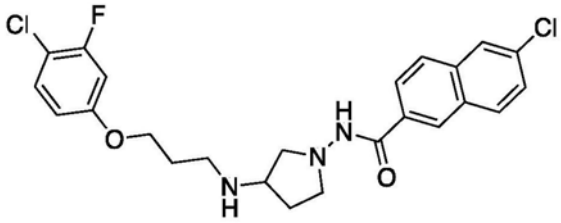
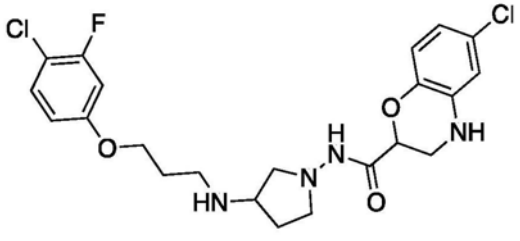
化合物	结构
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	

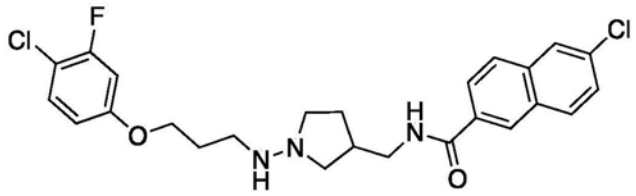
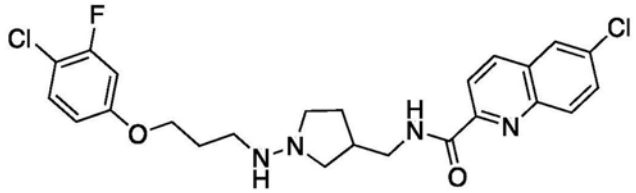
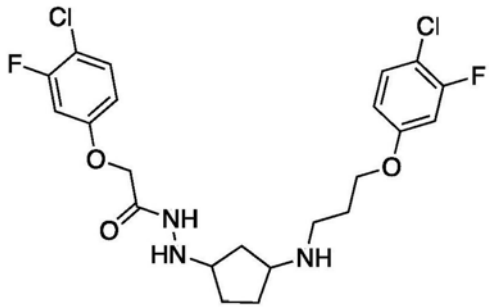
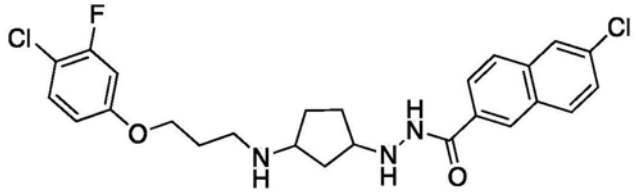
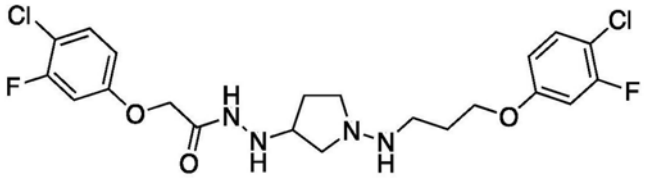
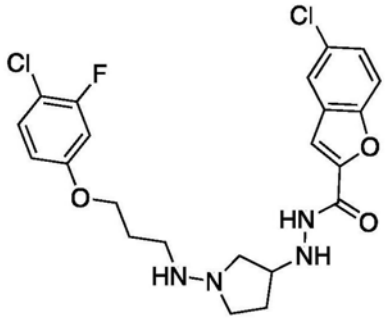
化合物	结构
31	
32	
33	
34	
35	
36	

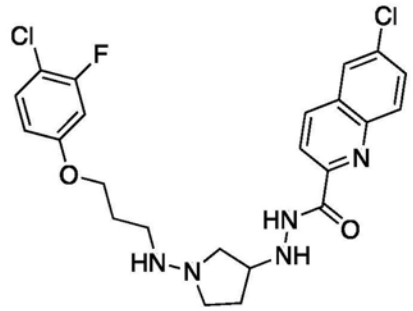
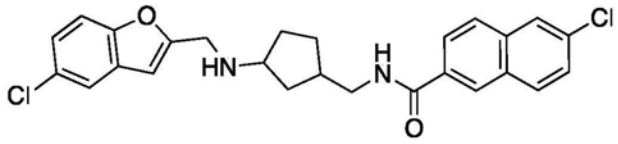
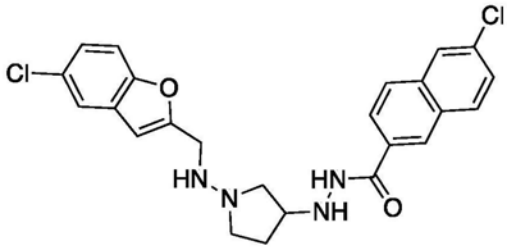
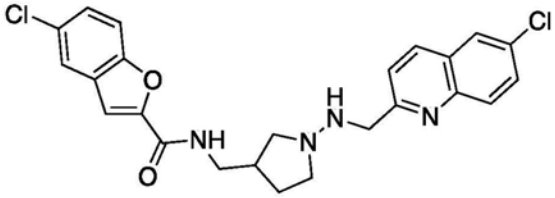
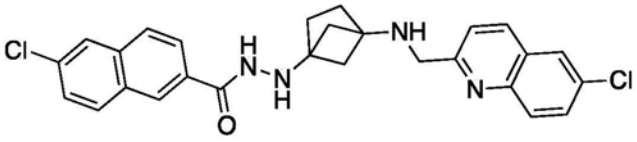
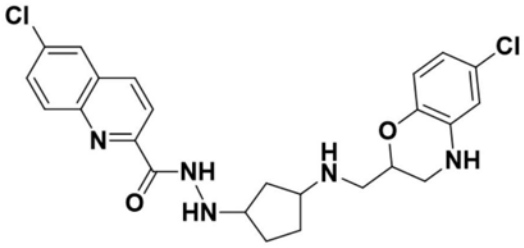
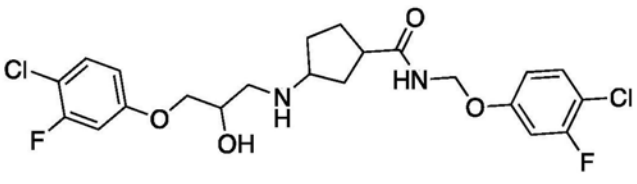
化合物	结构
37	
38	
39	
40	
41	
42	

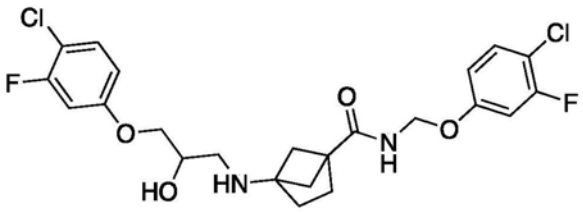
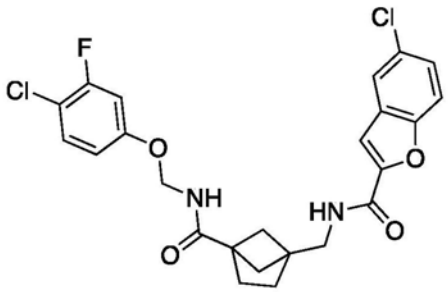
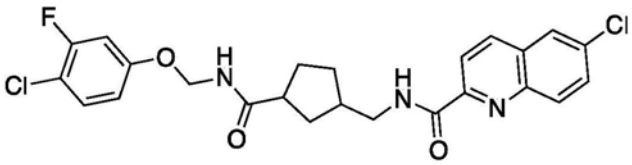
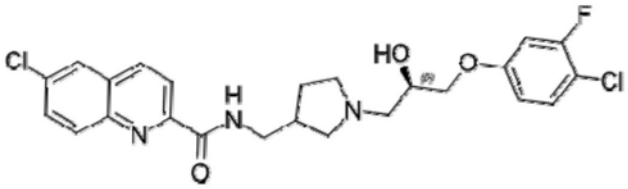
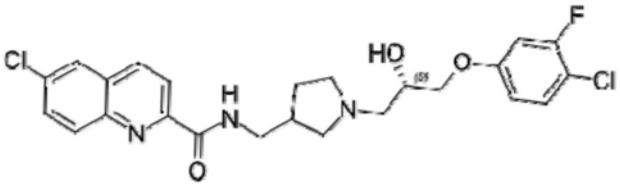
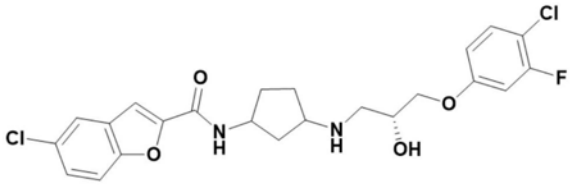
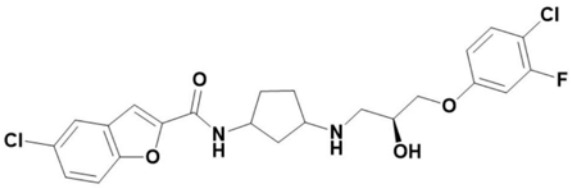
化合物	结构
43	
44	
45	
46	
47	
48	
49	

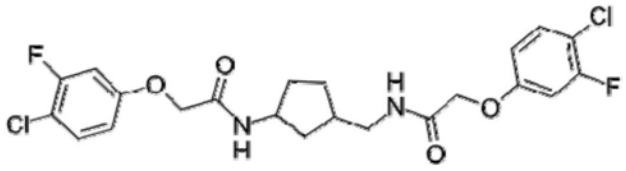
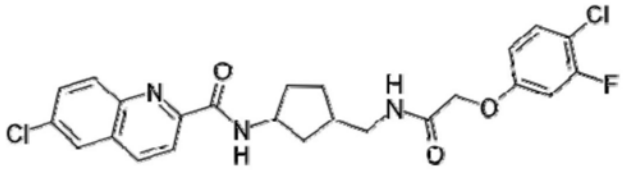
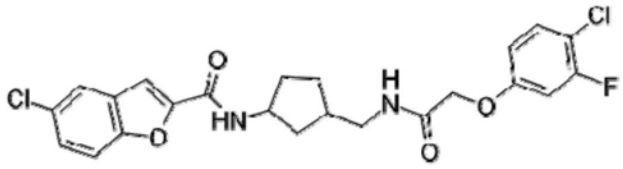
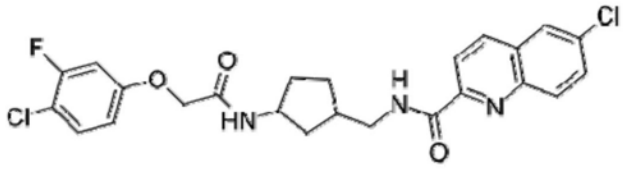
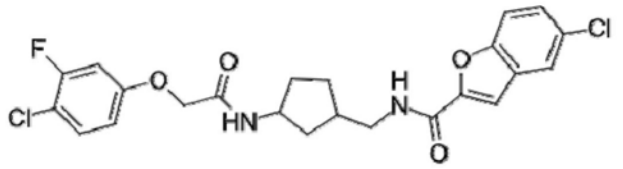
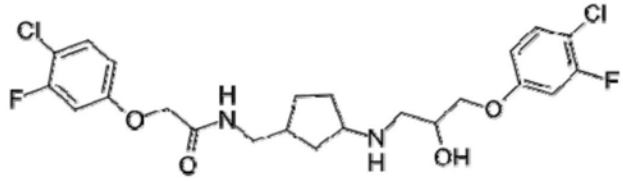
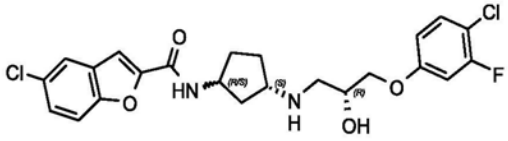
化合物	结构
50	
51	
52	
53	
54	
55	
56	

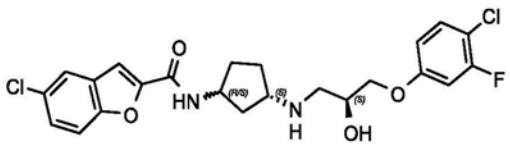
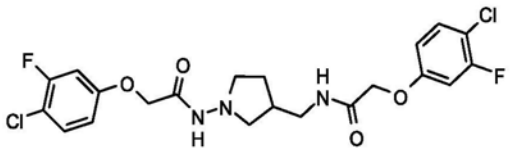
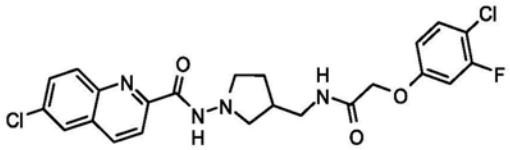
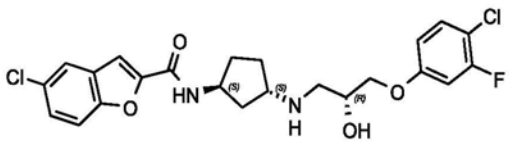
化合物	结构
57	
58	
59	
60	
61	
62	
63	

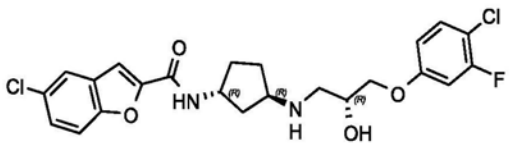
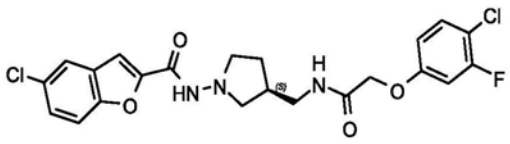
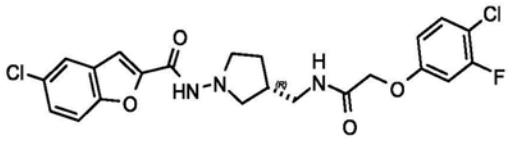
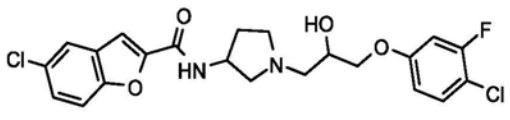
化合物	结构
64	
65	
66	
67	
68	
69	

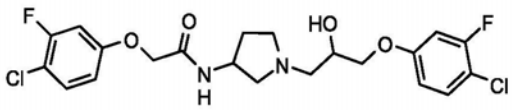
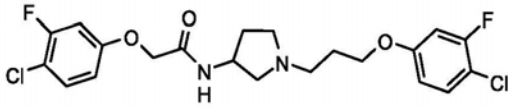
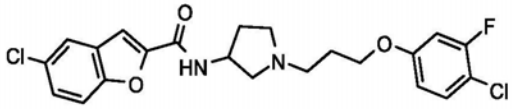
化合物	结构
70	
71	
72	
73	
74	
75	
76	

化合物	结构
77	
78	
79	
80	
81	
82	
83	

化合物	结构
84	
85	
86	
87	
88	
89	
90	

化合物	结构
91	
92	
93	
94	

化合物	结构
95	
96	
97	
98	

化合物	结构
99	
100	
101	

药物组合物和配制品

[0109] 本公开文本包括本文详述的任何化合物的药物组合物。因此，本公开文本包括包含如本文详述的化合物或其盐和药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物。在一方面，药学上可接受的盐是酸加成盐，诸如与无机或有机酸形成的盐。药物组合物可以采用适用于口服、经颊、肠胃外、鼻、局部或直肠施用的形式或适用于通过吸入施用的形式。

[0110] 在一方面，如本文详述的化合物可以呈纯化形式，并且本文详述了包含呈纯化形式的化合物的组合物。提供了包含如本文详述的化合物或其盐的组合物，诸如基本上纯的化合物的组合物。在一些实施方案中，含有如本文详述的化合物或其盐的组合物是基本上纯的形式。

[0111] 在一个变型中，本文的化合物是制备用于施用于个体的合成化合物。在另一个变型中，提供了包含呈基本上纯形式的化合物的组合物。在另一个变型中，本公开文本包括包含本文详述的化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。在另一个变型中，提供了施用化合物的方法。纯化形式、药物组合物和施用化合物的方法适用于本文详述的任何化合物或其形式。

[0112] 本文详述的化合物或其盐可以配制用于任何可用的递送途径，包括口服、粘膜(例如，鼻、舌下、阴道、经颊或直肠)、肠胃外(例如，肌内、皮下或静脉内)、局部或经皮递送形式。可以将化合物或其盐与合适的载体一起配制以提供递送形式，包括但不限于片剂、囊片、胶囊(诸如硬明胶胶囊或软弹性明胶胶囊)、扁囊剂、糖锭剂、锭剂、胶质、分散体、栓剂、软膏、巴布剂(cataplasm)(泥敷剂)、糊剂、粉剂、敷料、乳膏、溶液、贴剂、气雾剂(例如，鼻喷雾剂或吸入器)、凝胶、悬浮液(例如，水性或非水性液体悬浮液、水包油乳液或油包水液体乳液)、溶液和酏剂。

[0113] 本文所述的一种或若干种化合物或其盐可以用于通过将作为活性成分的所述化合物或其盐与药学上可接受的载体(诸如上述那些)组合来制备配制品，诸如药物配制品。取决于系统的治疗形式(例如，透皮贴剂与口服片剂)，载体可以呈各种形式。另外，药物配制品可以含有防腐剂、增溶剂、稳定剂、再润湿剂、乳化剂、甜味剂、染料、调节剂和用于调节渗透压的盐、缓冲剂、包衣剂或抗氧化剂。包含所述化合物的配制品还可以含有具有有价值的治疗特性的其他物质。药物配制品可以通过已知的药物方法来制备。合适的配制品可以在例如Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Company,宾夕法尼亚州费城,第20版.(2000)中找到，将其通过引用并入本文。

[0114] 如本文所述的化合物可以以普遍接受的口服组合物的形式施用于个体，诸如片剂、包衣片剂和在硬壳或软壳中的凝胶胶囊、乳液或悬浮液。可以用于制备此类组合物的载体的例子是乳糖、玉米淀粉或其衍生物、滑石、硬脂酸脂或其盐等。软壳凝胶胶囊可接受的载体是例如植物油、蜡、脂肪、半固体和液体多元醇等。另外，药物配制品可以含有防腐剂、增溶剂、稳定剂、再润湿剂、乳化剂、甜味剂、染料、调节剂和用于调节渗透压的盐、缓冲剂、包衣剂或抗氧化剂。

[0115] 可以将本文所述的任何化合物配制成呈所描述的任何剂型的片剂，例如，如本文所述的化合物或其盐可以配制成10mg片剂。

[0116] 还描述了包含本文提供的化合物的组合物。在一个变型中，所述组合物包含化合物或其盐和药学上可接受的载体或赋形剂。在另一个变型中，提供了一种基本上纯的化合物的组合物。在一些实施方案中，所述组合物用作人用或兽用药剂。在一些实施方案中，所述组合物用于本文所述的方法中。在一些实施方案中，所述组合物用于治疗本文所述的疾病或障碍。

使用方法和用途

[0117] 本文详述的化合物和组合物，诸如含有本文提供的任何式的化合物或其盐和药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物，可以用于如本文提供的施用和治疗方法中。所述化合物和组合物也可以用于体外方法，诸如将化合物或组合物施用于细胞用于筛选目的和/或进行质量控制测定的体外方法。

[0118] 本文提供了一种治疗有需要的个体的疾病或障碍的方法，其包括施用本文所述的

化合物或其任何实施方案、变体或方面或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中，根据本文所述的施用剂量和/或方法将所述化合物、其药学上可接受的盐或组合物施用于个体。

[0119] 据信本文所述的化合物或其盐和本文所述的组合物有效地治疗多种疾病和障碍。在一些实施方案中，本文所述的化合物或其盐或本文所述的组合物可以用于治疗由整合应激反应(ISR)通路介导的疾病或障碍的方法。在一些实施方案中，所述疾病或障碍是由真核翻译起始因子2α(eIF2α)或真核翻译起始因子2B(eIF2B)介导的。在一些实施方案中，所述疾病或障碍是由eIF2α的磷酸化和/或eIF2B的鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)活性介导的。

[0120] 在一些实施方案中，本文所述的化合物或其盐或本文所述的组合物可以用于治疗疾病或障碍的方法，其中所述疾病或障碍是神经变性疾病、炎性疾病、自身免疫性疾病、代谢综合征、癌症、血管疾病、肌肉骨骼疾病(诸如肌病)、眼部疾病或遗传障碍。

[0121] 在一些实施方案中，所述疾病或障碍是变性疾病。在一些实施方案中，所述变性疾病是消融性白质病、儿童性共济失调伴CNS髓鞘形成不足、智力残疾综合征、阿尔茨海默病、朊病毒病、克雅二氏病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化(ALS)病、佩梅氏病、认知损害、创伤性脑损伤、术后认知功能障碍(PCD)、神经耳科综合征、听力损失、亨廷顿病、中风、慢性创伤性脑病、脊髓损伤、痴呆、额颞叶痴呆(FTD)、抑郁、或社会行为障碍。在一些实施方案中，认知损害由衰老、辐射、败血症、惊厥、心脏病发作、心脏手术、肝功能衰竭、肝性脑病、麻醉、脑损伤、脑手术、缺血、化疗、癌症治疗、危重病患、脑震荡、纤维肌痛或抑郁触发。在一些实施方案中，神经变性疾病是阿尔茨海默病。在一些实施方案中，神经变性疾病是衰老相关认知损害。在一些实施方案中，神经变性疾病是创伤性脑损伤。

[0122] 在一些实施方案中，本文所述的化合物或其盐或本文所述的组合物可以用于治疗阿尔茨海默病的方法。在一些实施方案中，神经变性、认知损害和/或淀粉样化降低。

[0123] 在一些实施方案中，所述疾病或障碍是炎性疾病。在一些实施方案中，所述炎性疾病是关节炎、银屑病性关节炎、银屑病、幼年特发性关节炎、哮喘、过敏性哮喘、支气管哮喘、肺结核、慢性气道障碍、囊性纤维化、肾小球性肾炎、膜性肾病、结节病、血管炎、鱼鳞病、移植排斥、间质性膀胱炎、特应性皮炎、或炎性肠病。在一些实施方案中，所述炎性肠病是克罗恩病、溃疡性结肠炎、或乳糜泻。

[0124] 在一些实施方案中，所述疾病或障碍是自身免疫性疾病。在一些实施方案中，所述自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、多发性硬化、或类风湿性关节炎。

[0125] 在一些实施方案中，所述疾病或障碍是代谢综合征。在一些实施方案中，所述代谢综合征是酒精性肝脂肪变性、肥胖症、葡萄糖耐受不良、胰岛素抵抗、高血糖症、脂肪肝、血脂异常、高脂血症、高同型半胱氨酸血症、或2型糖尿病。

[0126] 在一些实施方案中，所述疾病或障碍是癌症。在一些实施方案中，所述癌症是胰腺癌、乳腺癌、肾癌、膀胱癌、前列腺癌、睾丸癌、尿路上皮癌、子宫内膜癌、卵巢癌、子宫颈癌、肾脏癌、食道癌、胃肠道间质瘤(GIST)、多发性骨髓瘤、分泌细胞癌、甲状腺癌、胃肠道癌、慢性粒细胞白血病、肝细胞癌、结肠癌、黑色素瘤、恶性胶质瘤、胶质母细胞瘤、多形性胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、小脑发育不良性神经节细胞瘤、尤文氏肉瘤、横纹肌肉瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、导管腺癌、腺鳞癌、肾母细胞瘤、腺泡细胞癌、成神经细胞瘤、或肺癌。在一些实施方案中，所述分泌细胞癌是非霍奇淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、慢性淋巴细胞癌、意义未明的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、浆细胞瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤或急性成淋巴细胞性白血

病。

[0127] 在一些实施方案中，所述疾病或障碍是肌肉骨骼疾病(诸如肌病)。在一些实施方案中，所述肌肉骨骼疾病是肌病、肌肉萎缩症、肌肉萎缩、肌肉消瘦、或少肌症。在一些实施方案中，所述肌肉萎缩症是杜兴氏肌肉萎缩症(DMD)、贝克氏病(Becker's disease)、肌强直性营养不良、X连锁扩张型心肌病、脊髓性肌萎缩症(SMA)、或Schmid型干骺端软骨发育异常(MCDS)。在一些实施方案中，所述肌病是骨骼肌萎缩。在一些实施方案中，所述肌肉骨骼疾病(诸如骨骼肌萎缩)由衰老、慢性疾病、中风、营养失调、卧床、骨科损伤、骨折、恶病质、饥饿、心力衰竭、阻塞性肺病、肾功能衰竭、获得性免疫缺陷综合症(AIDS)、败血症、免疫障碍、癌症、ALS、烧伤、去神经支配、糖尿病、肌肉废用、肢体制动、机械卸载(mechanical unload)、肌炎或营养不良触发。

[0128] 在一些实施方案中，所述疾病或障碍是遗传障碍，诸如唐氏综合征或MEHMO综合征(智力低下、癫痫发作、性腺机能减退、小头畸形、和肥胖症)。

[0129] 在一些实施方案中，本文所述的化合物或其盐或本文所述的组合物可以用于治疗肌肉骨骼疾病的方法。在一些实施方案中，骨骼肌质量、质量和/或强度增加。在一些实施方案中，肌肉蛋白质的合成增加。在一些实施方案中，骨骼肌纤维萎缩受到抑制。

[0130] 在一些实施方案中，所述疾病或障碍是血管疾病。在一些实施方案中，所述血管疾病是动脉粥样硬化、腹主动脉瘤、颈动脉疾病、深静脉血栓形成、伯格氏病(Buerger's disease)、慢性静脉高压、血管钙化、毛细管扩张或淋巴水肿。

[0131] 在一些实施方案中，所述疾病或障碍是眼部疾病。在一些实施方案中，所述眼部疾病是青光眼、年龄相关性黄斑变性、炎性视网膜病、视网膜血管疾病、糖尿病性视网膜病、葡萄膜炎、酒渣鼻、干燥综合征(Sjogren's syndrome)、或增殖性视网膜病中的新血管形成。

[0132] 在一些实施方案中，本文提供了一种抑制ISR通路的方法。据信本文所述的化合物或其盐和本文所述的组合物有效地抑制ISR通路。在一些实施方案中，所述抑制ISR通路的方法包括通过向细胞施用或递送本文所述的化合物或其药学上可接受的盐或本文所述的药物组合物来抑制细胞中的ISR通路。在一些实施方案中，所述抑制ISR通路的方法包括通过向个体施用本文所述的化合物或其药学上可接受的盐或本文所述的药物组合物来抑制个体中的ISR通路。ISR通路的抑制可以通过本领域已知的方法确定，所述方法诸如蛋白质印迹、免疫组织化学或报告细胞系测定。

[0133] 在一些实施方案中，ISR通路的抑制包括结合eIF2B。在一些实施方案中，ISR通路的抑制包括增加蛋白质翻译、增加eIF2B的鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)活性、延迟或防止细胞中凋亡和/或抑制一种或多种mRNA的翻译，所述mRNA包含含有至少一个上游开放阅读框(uORF)的5'非翻译区(5'UTR)。

[0134] 在一些实施方案中，本文提供了使用本文所述的化合物或盐增加蛋白质产量的方法。相对于没有化合物或盐的相同条件，蛋白质产量增加。可以在体内或体外增加蛋白质产量。例如，可以通过向个体施用化合物或盐来在体内增加蛋白质产量。在一些实施方案中，使用化合物或盐用无细胞蛋白质合成系统(CFPS)或基于细胞的蛋白质表达系统在体外增加蛋白质产量。产生的蛋白质可以是异源蛋白质(例如，重组蛋白质)或天然蛋白质。可以使用编码蛋白质的重组核酸实现异源蛋白质的产生。在一些实施方案中，产生的蛋白质是抗体或其片段。其他示例性蛋白质可以包括但不限于酶、致敏性肽或蛋白质(例如，用作疫

苗)、重组蛋白质、细胞因子、肽、激素、促红细胞生成素(EPO)、干扰素、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、抗凝剂和凝血因子。蛋白质产量的增加可以通过本领域已知的方法(诸如蛋白质印迹或免疫组织化学)确定。

[0135] 无细胞蛋白质合成(CFPS)系统是通常已知的,并且包括用于在体外环境中表达蛋白质的细胞机制。在一些实施方案中,CFPS系统包括细胞提取物(诸如真核细胞提取物),其包括蛋白质表达机制。在一些实施方案中,CFPS系统中的细胞机制包括真核细胞机制,诸如真核起始因子2(eIF2)和/或真核起始因子2B(eIF2B)或其一个或多个亚基。

[0136] 在一些实施方案中,存在一种无细胞蛋白质合成(CFPS)系统,其包含真核起始因子2(eIF2)和编码蛋白质的核酸与如本文所述的化合物或盐。在一些实施方案中,所述蛋白质是抗体或其片段。其他示例性蛋白质可以包括但不限于酶、致敏性肽或蛋白质(例如,用作疫苗)、重组蛋白质、细胞因子、肽、激素、促红细胞生成素(EPO)、干扰素、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、抗凝剂和凝血因子。在一些实施方案中,所述CFPS系统包含含有eIF2的细胞提取物。在一些实施方案中,所述CFPS系统进一步包含eIF2B。

[0137] 在一些实施方案中,存在一种生产蛋白质的方法,其包括使包含真核起始因子2(eIF2)和编码蛋白质的核酸的无细胞蛋白质合成(CFPS)系统与如本文所述的化合物或其盐接触。在一些实施方案中,所述蛋白质是抗体或其片段。其他示例性蛋白质可以包括但不限于酶、致敏性肽或蛋白质(例如,用作疫苗)、重组蛋白质、细胞因子、肽、激素、促红细胞生成素(EPO)、干扰素、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、抗凝剂和凝血因子。在一些实施方案中,所述CFPS系统包含含有eIF2的细胞提取物。在一些实施方案中,所述CFPS系统进一步包含eIF2B。在一些实施方案中,所述方法包括纯化所述蛋白质。

[0138] 在一些实施方案中,存在一种生产蛋白质的方法,其包括使包含编码蛋白质的核酸的真核細胞与如本文所述的化合物或盐接触。在一些实施方案中,所述方法包括在包含所述化合物或盐的体外培养基中培养所述细胞。在一些实施方案中,编码所述蛋白质的核酸是重组核酸。在一些实施方案中,所述真核细胞是人胚肾(HEK)细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。在其他实施方案中,所述真核细胞是酵母细胞(诸如酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)或毕赤酵母(Pichia pastoris))、小麦胚细胞、昆虫细胞、兔网织红细胞、子宫颈癌细胞(诸如HeLa细胞)、幼仓鼠肾细胞(诸如BHK21细胞)、鼠骨髓瘤细胞(诸如NSO或Sp2/0细胞)、HT-1080细胞)、PER.C6细胞)、植物细胞、杂交瘤细胞或人血来源的白细胞。在一些实施方案中,所述蛋白质是抗体或其片段。其他示例性蛋白质可以包括但不限于酶、致敏性肽或蛋白质(例如,用作疫苗)、重组蛋白质、细胞因子、肽、激素、促红细胞生成素(EPO)、干扰素、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、抗凝剂和凝血因子。在一些实施方案中,所述方法包括纯化所述蛋白质。

[0139] 在一些实施方案中,存在一种培养包含编码蛋白质的核酸的真核细胞的方法,其包括使所述真核细胞与包含如本文所述的化合物或盐的体外培养基接触。在一些实施方案中,编码所述蛋白质的核酸是重组核酸。在一些实施方案中,所述真核细胞是人胚肾(HEK)细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。在其他实施方案中,所述真核细胞是酵母细胞(诸如酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)或毕赤酵母(Pichia pastoris))、小麦胚细胞、昆虫细胞、兔网织红细胞、子宫颈癌细胞(诸如HeLa细胞)、幼仓鼠肾细胞(诸如BHK21细胞)、鼠骨髓瘤细胞(诸如NSO或Sp2/0细胞)、HT-1080细胞)、PER.C6细胞)、植物细胞、杂交瘤细胞或人血

来源的白细胞。在一些实施方案中，所述蛋白质是抗体或其片段。其他示例性蛋白质可以包括但不限于酶、致敏性肽或蛋白质(例如，用作疫苗)、重组蛋白质、细胞因子、肽、激素、促红细胞生成素(EPO)、干扰素、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、抗凝剂和凝血因子。在一些实施方案中，所述方法包括纯化所述蛋白质。

[0140] 在一些实施方案中，存在一种体外细胞培养基，其包含本文所述的化合物或盐以及用于细胞生长的营养物。在一些实施方案中，所述培养基包含含有编码蛋白质的核酸的真核细胞。在一些实施方案中，所述培养基进一步包含用于诱导蛋白质表达的化合物。在一些实施方案中，编码所述蛋白质的核酸是重组核酸。在一些实施方案中，所述蛋白质是抗体或其片段。其他示例性蛋白质可以包括但不限于酶、致敏性肽或蛋白质(例如，用作疫苗)、重组蛋白质、细胞因子、肽、激素、促红细胞生成素(EPO)、干扰素、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、抗凝剂和凝血因子。在一些实施方案中，所述真核细胞是人胚肾(HEK)细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。在其他实施方案中，所述真核细胞是酵母细胞(诸如酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)或毕赤酵母(Pichia pastoris))、小麦胚细胞、昆虫细胞、兔网织红细胞、子宫颈癌细胞(诸如HeLa细胞)、幼仓鼠肾细胞(诸如BHK21细胞)、鼠骨髓瘤细胞(诸如NSO或Sp2/0细胞)、HT-1080细胞)、PER.C6细胞)、植物细胞、杂交瘤细胞或人血来源的白细胞。

[0141] 在一些实施方案中，本文提供了一种增加细胞或无细胞表达系统中蛋白质翻译的方法。在一些实施方案中，在施用化合物、其盐或组合物之前对细胞进行应激。在一些实施方案中，蛋白质翻译增加至少约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、98％、100％、125％、150％、175％、200％、250％、或300％或更多。在一些实施方案中，蛋白质翻译增加10％至约300％(诸如约10％至约20％、约20％至约30％、约30％至约40％、约40％至约50％、约50％至约60％、约60％至约70％、约70％至约80％、约80％至约90％、约90％至约100％、约100％至约125％、约125％至约150％、约150％至约175％、约175％至约200％、约200％至约250％、或约250％至约300％)，在一些实施方案中，与施用化合物、其盐或组合物之前相比，蛋白质翻译增加。在一些实施方案中，与未应激细胞相比，蛋白质翻译增加，所述未应激细胞是细胞不经受激活ISR的特定应激的基础状态。在一些实施方案中，与其中ISR有活性的应激细胞相比，蛋白翻译增加。

[0142] 在ISR应激或非ISR应激条件下，本文所述的一些化合物增加细胞中的蛋白质合成而不完全抑制ATF4翻译。尽管ATF4参与各种病理，但ATF4蛋白是恢复受应激细胞内细胞稳态的重要因素，例如在氧化应激反应、胆固醇代谢、蛋白质折叠氨基酸合成和自噬期间。因此，对于某些治疗，可能优选的是限制ATF4抑制。在一些实施方案中，所述化合物用于使蛋白质合成增加约10％或更多、约20％或更多、约30％或更多、约40％或更多、约50％或更多、约60％或更多、约70％或更多、约80％或更多、约90％或更多、约100％或更多、约125％或更多、约150％或更多、约175％或更多、约200％或更多、约250％或更多、或约300％或更多，其中ATF4蛋白表达被抑制约75％或更少、约50％或更少、约40％或更少、约30％或更少、约20％或更少、约10％或更少、或约5％或更少。在一些实施方案中，所述化合物用于使蛋白质合成增加约10％至约300％(诸如约10％至约20％、约20％至约30％、约30％至约40％、约40％至约50％、约50％至约60％、约60％至约70％、约70％至约80％、约80％至约90％、约90％至约100％、约100％至约125％、约125％至约150％、约150％至约175％、约175％至约

200％、约200％至约250％、或约250％至约300％)，其中ATF4蛋白表达被抑制约75％或更少(诸如约50％或更少、约40％或更少、约30％或更少、约20％或更少、约10％或更少、或约5％或更少)。

[0143] 在一些实施方案中，本文提供了一种增加细胞中蛋白质翻译的方法。在一些实施方案中，在施用化合物、其盐或组合物之前对细胞进行应激。在一些实施方案中，蛋白质翻译增加至少约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、98％、100％、125％、150％、175％、200％、250％、或300％或更多。在一些实施方案中，与施用化合物、其盐或组合物之前相比，蛋白质翻译增加。在一些实施方案中，与未应激细胞相比，蛋白质翻译增加，所述未应激细胞是细胞不经受激活ISR的特定应激的基础状态。在一些实施方案中，与其中ISR有活性的应激细胞相比，蛋白翻译增加。

[0144] 在一些实施方案中，本文提供了一种增加细胞中eIF2B的鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)活性的方法。在一些实施方案中，本文提供了一种延迟或防止细胞中凋亡的方法。在一些实施方案中，本文提供了一种抑制一种或多种mRNA翻译的方法，所述mRNA包含含有至少一个上游开放阅读框(uORF)的5’非翻译区(5’UTR)，所述mRNA编码具有翻译偏向的蛋白质，包括但不限于ATF4、ATF2、ATF5、CHOP、GADD34、BACE-1、C/EBPα或MAP1LC3B。在一些实施方案中，所述mRNA编码ATF4、BACE-1、GADD34或CHOP。在一些实施方案中，所述mRNA编码ATF4。

[0145] 在一些实施方案中，ATF4、BACE-1、GADD34或CHOP的表达受到抑制。在一些实施方案中，ATF4的表达受到抑制。在一些实施方案中，Aβ的表达受到抑制。ATF4增加尤其是分别编码DDIT-1、p21和4E-BP1的GADD45A、CDKN1A和EIF4EBP1的表达。这些蛋白质诱导肌肉骨骼疾病(诸如骨骼肌萎缩)，并且可以通过抑制ATF4的表达来调节。因此，在一些实施方案中，CDKN1A、GADD45A或EIF4EBP1中的一种或多种的表达受到抑制。

[0146] 在一些实施方案中，所述化合物、其盐或组合物抑制一种或多种mRNA的翻译，所述mRNA包含含有至少一个上游开放阅读框(uORF)的5’非翻译区(5’UTR)，其IC_{50}小于约1μM，诸如小于约750nM、600nM、500nM、300nM、200nM、100nM、80nM、60nM、40nM、25nM或更小。在一些实施方案中，所述化合物、其盐或组合物抑制一种或多种mRNA的翻译，所述mRNA包含含有至少一个上游开放阅读框(uORF)的5’非翻译区(5’UTR)，其IC_{50}在约1nM与1μM之间，诸如在约10nM与600nM、15nM与200nM、或20nM与180nM之间。

[0147] 在一些实施方案中，所述化合物、其盐或组合物抑制ATF4的表达，其IC_{50}小于约1μM，诸如小于约750nM、600nM、500nM、300nM、200nM、100nM、80nM、60nM、40nM、25nM或更小。在一些实施方案中，所述化合物、其盐或组合物抑制ATF4的表达，其IC_{50}在约1nM与1μM之间，诸如在约2nM与800nM、10nM与600nM、15nM与200nM、或20nM与180nM之间。

[0148] 在一些方面，半数最大抑制浓度(IC_{50})是物质在抑制特定的生物功能或生化功能方面的有效性的量度。在一些方面，IC_{50}是一种定量量度，其指示将给定的生物过程或过程的组分(诸如酶、细胞、细胞受体或微生物)抑制一半需要多少抑制剂。体外和体内确定IC_{50}的方法是本领域已知的。

[0149] 在一些实施方案中，个体是哺乳动物。在一些实施方案中，所述个体是灵长类动物、牛、绵羊、猪、马、犬、猫、兔、或啮齿类动物。在一些实施方案中，所述个体是人。在一些实施方案中，所述个体患有本文公开的任何疾病或障碍。在一些实施方案中，所述个体具有发

展本文公开的任何疾病或障碍的风险。

[0150] 在一些实施方案中，所述个体是人。在一些实施方案中，所述人是至少约或是约21、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80或85岁中的任一个。在一些实施方案中，所述人是儿童。在一些实施方案中，所述人小于约或约21、18、15、12、10、8、6、5、4、3、2或1岁中的任一个。

[0151] 本文还提供了本文所述的化合物或其药学上可接受的盐或本文所述的药物组合物在制造药剂中的用途。在一些实施方案中，药剂的制造用于治疗本文所述的障碍或疾病。在一些实施方案中，药剂的制造用于预防和/或治疗由ISR通路介导的障碍或疾病。在一些实施方案中，药剂的制造用于预防和/或治疗由eIF2α或eIF2B介导的障碍或疾病。在一些实施方案中，药剂的制造用于预防和/或治疗由eIF2α的磷酸化和/或eIF2B的GEF活性介导的障碍或疾病。

组合

[0152] 在某些方面，将本文所述的化合物与一种或多种可治疗疾病的另外药剂组合施用于个体以治疗所述疾病。例如，在一些实施方案中，将有效量的化合物与一种或多种另外的抗癌剂组合施用于个体以治疗癌症。

[0153] 在一些实施方案中，所述另外的药剂(诸如另外的抗癌剂)的活性被激活的ISR通路抑制。ISR抑制剂，诸如本文所述的一种化合物，可以抑制ISR通路以增强另外的药剂的功能性。例如，某些BRAF抑制剂(例如，维莫非尼或达拉菲尼)通过ATF4的表达激活BRAF突变的黑色素瘤细胞中的ISR通路(例如，具有V600F突变的BRAF)。在一些实施方案中，存在一种治疗癌症的方法，其包括向患有癌症的个体施用有效量的本文所述化合物与有效量的BRAF抑制剂的组合。在一些实施方案中，存在一种治疗BRAF突变的黑色素瘤的方法，其包括向患有BRAF突变的黑色素瘤的个体施用有效量的本文所述化合物与有效量的BRAF抑制剂的组合。在一些实施方案中，存在一种治疗BRAF突变的黑色素瘤的方法，其包括向患有BRAF突变的黑色素瘤的个体施用有效量的本文所述化合物与有效量的维莫非尼或达拉菲尼的组合。

[0154] 作为另一个例子，某些抗癌剂(诸如泛素-蛋白酶体通路抑制剂(诸如硼替佐米)、Cox-2抑制剂(例如，塞来昔布)、基于铂的抗肿瘤药物(例如，顺铂)、蒽环类药物(例如，阿霉素)、或拓扑异构酶抑制剂(例如，依托泊苷))用于治疗癌症，但对实体瘤可能具有有限的功能。在某些实体瘤(例如，乳腺癌)中的抗性与ATF4稳定化和自噬诱导相关。在一些实施方案中，将有效量的如本文所述的ISR抑制剂化合物施用于患有癌症的个体以增加对一种或多种抗癌剂的敏感性。

[0155] 在一些实施方案中，存在一种治疗个体的难治性癌症(诸如实体瘤)的方法，其包括向个体施用有效量的本文所述化合物与有效量的抗癌剂的组合。在一些实施方案中，存在一种治疗个体的难治性癌症(诸如实体瘤)的方法，其包括向个体施用有效量的本文所述化合物与有效量的泛素-蛋白酶体通路抑制剂(例如，硼替佐米)、Cox-2抑制剂(例如，塞来昔布)、基于铂的抗肿瘤药物(例如，顺铂)、蒽环类药物(例如，阿霉素)或拓扑异构酶抑制剂(例如，依托泊苷)的组合。在一些实施方案中，难治性癌症是乳腺癌。在一些实施方案中，难治性癌症是黑色素瘤。

[0156] 在一些实施方案中，本文所述的化合物用于与一种或多种抗癌剂(诸如抗肿瘤剂、免疫检查点抑制剂或任何其他合适的抗癌剂)组合来治疗癌症。示例性免疫检查点抑制剂

包括抗PD-1、抗PD-L1、抗GITR、抗OX-40、抗LAG3、抗TIM-3、抗41BB、抗CTLA-4抗体。示例性抗肿瘤剂可以包括例如抗微管剂、铂配位复合物、烷基化剂、拓扑异构酶II抑制剂、拓扑异构酶I抑制剂、抗代谢药物、抗生素剂、激素和激素类似物、信号转导通路抑制剂、非受体酪氨酸激酶血管生成抑制剂、蛋白酶体抑制剂和癌症代谢抑制剂。其他抗癌剂可以包括免疫刺激剂、抗体或其片段(例如,抗CD20、抗HER2、抗CD52或抗VEGF抗体或其片段)或免疫毒素(例如,抗CD33抗体或其片段、抗CD22抗体或其片段、卡利奇霉素缀合物或假单胞菌外毒素缀合物)中的一种或多种。

[0157] ATF4介导的CHOP表达也已显示调节肿瘤中髓来源的抑制细胞(MDSC)的功能和积累。肿瘤中的MDSC会降低启动T细胞功能并且降低抗肿瘤或抗癌反应的能力。某些免疫治疗剂(诸如抗PD-1、抗PD-L1、抗GITR、抗OX-40、抗LAG3、抗TIM-3、抗41BB或抗CTLA-4抗体)用于加强对癌症的免疫反应。ATF4介导的AXL表达与在黑色素瘤中对抗PD1疗法的反应差相关。在一些实施方案中,将有效量的如本文所述的ISR抑制剂化合物施用于患有癌症的个体以增加对一种或多种免疫治疗剂的敏感性。在一些实施方案中,存在一种治疗个体的难治性癌症(诸如黑色素瘤)的方法,其包括向个体施用有效量的本文所述化合物与有效量的免疫治疗剂(例如,抗PD-1、PD-L1、抗GITR、抗OX-40、抗LAG3、抗TIM-3、抗41BB或抗CTLA-4抗体)的组合。在一些实施方案中,难治性癌症是黑色素瘤。

施用剂量和方法

[0158] 施用于个体(诸如人)的化合物的剂量可以随具体化合物或其盐、施用方法和所治疗的具体疾病(诸如癌症的类型和阶段)而变化。在一些实施方案中,化合物或其盐的量是治疗有效量。

[0159] 在一方面,化合物的有效量可以是在约0.01与约100mg/kg之间的剂量。本公开文本的化合物的有效量或剂量可以通过常规方法确定,所述常规方法诸如建模、剂量递增或临床试验,考虑常规因素,例如施用或药物递送的方式或途径、药剂的药代动力学、待治疗疾病的严重程度和病程、受试者的健康状态、状况和体重。示例性剂量在约从约0.7mg至7g/天或约7mg至350mg/天或约350mg至1.75g/天或约1.75至7g/天的范围内。

[0160] 在一方面,本文提供的任何方法可以包括向个体施用药物组合物,所述药物组合物含有有效量的本文提供的化合物或其盐和药学上可接受的赋形剂。

[0161] 本文提供的化合物或组合物可以在所希望的时间段或持续时间诸如至少约一个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月、或至少约12个月或更久(在一些变体中可能是个体生命的持续时间)内根据有效的给药方案施用于个体。在一个变型中,所述化合物以每日或间歇的时间表施用。所述化合物可以在一段时间内连续(例如,至少每天一次)施用于个体。给药频率也可以少于每天一次,例如约每周一次给药。给药频率可以是多于每天一次,例如每天两次或三次。给药频率也可以是间歇性的,包括'药物假期'(例如,每天一次给药持续7天,然后持续7天不给药,重复任何14天的时间段,诸如约2个月、约4个月、约6个月或更久)。任何给药频率可以使用本文所述的任何化合物以及本文所述的任何剂量。

制品和试剂盒

[0162] 本公开文本进一步提供了在合适的包装中包含本文所述的化合物或其盐、本文所述的组合物或一种或多种本文所述的单位剂量的制品。在某些实施方案中,所述制品用于本文所述的任何方法中。合适的包装是本领域已知的并且包括例如小瓶、器皿、安瓿、瓶、

罐、柔性包装等。可以进一步将所述制品灭菌和/或密封。

[0163] 本公开文本进一步提供了用于实施本公开文本的方法的试剂盒，其包含本文所述的一种或多种化合物或包含本文所述的化合物的组合物。所述试剂盒可以使用本文公开的任何化合物。在一个变型中，所述试剂盒使用本文所述的化合物或其盐。所述试剂盒可以用于本文所述的任何一种或多种用途，并且因此可以含有用于治疗任何疾病或本文所述(例如，用于治疗癌症)的说明书。

[0164] 试剂盒通常包含合适的包装。所述试剂盒可以包含一个或多个容器，其包含本文所述的任何化合物。每种组分(如果存在多于一种组分的话)可以包装在单独的容器中，或者在交叉反应和保质期允许的情况下，一些组分可以组合在一个容器中。

[0165] 所述试剂盒可以呈单位剂型、散装包装(例如，多剂量包装)或亚单位剂量。例如，可以提供试剂盒，其含有足够剂量的如本文公开的化合物和/或对本文详述的疾病有用的另外的药学活性化合物，以提供在延长的时间段(诸如一周、2周、3周、4周、6周、8周、3个月、4个月、5个月、7个月、8个月、9个月或更久中的任一个)内对个体的有效治疗。试剂盒还可以包含多个单位剂量的化合物和使用说明书，并且以足以在药房(例如，医院药房和复合药房)中储存和使用的数量进行包装。

[0166] 所述试剂盒可以任选地包含一组说明书，通常是书面说明书，尽管含有说明书的电子存储介质(例如，磁盘或光盘)也是可接受的，与本公开文本的方法的一种或多种组分的使用相关。试剂盒中包含的说明书通常包括有关组分及其对个体的施用的信息。

通用合成方法

[0167] 本公开文本的化合物可以通过如下文一般描述并且更具体地在下文实施例中(诸如在下文实施例中提供的方案)中描述的多种方法来制备。在以下方法描述中，当在所描绘的式中使用时，符号应理解为表示以上关于本文中的式所述的那些基团。

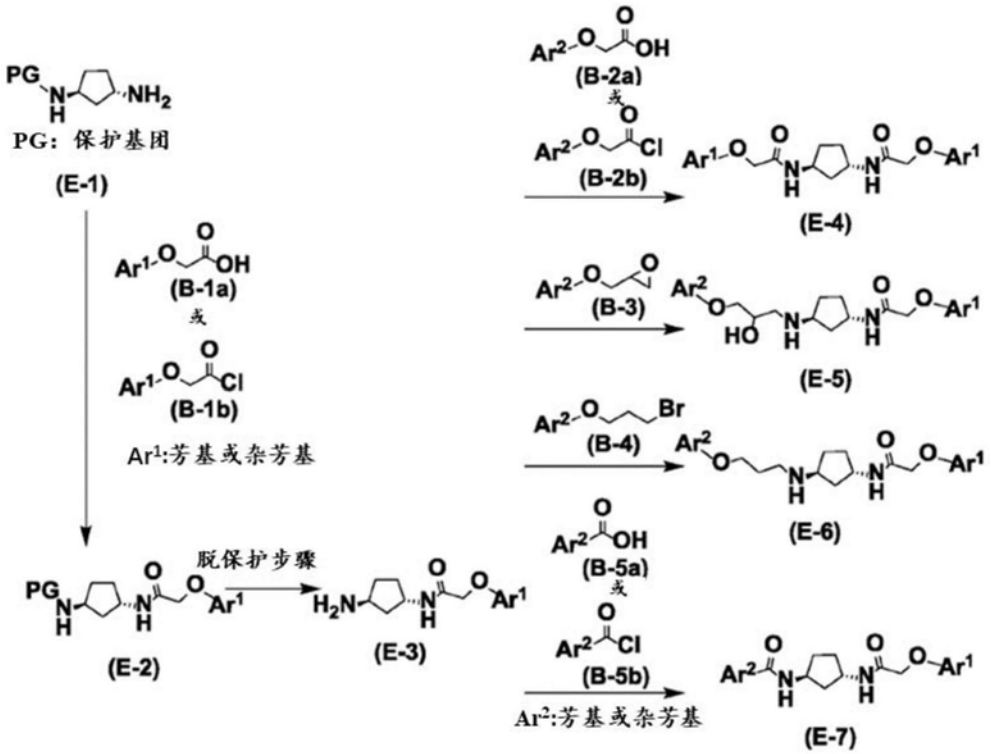
[0168] 在希望获得化合物的特定对映异构体的情况下，这可以从相应的对映异构体混合物使用用于分离或拆分对映异构体的任何合适的常规程序来实现。因此，例如，非对映异构衍生物可以通过对映异构体的混合物(例如，外消旋物)和合适的手性化合物的反应来生产。然后可以通过任何方便的手段(例如通过结晶并且回收所希望的对映异构体)分离非对映异构体。在另一种拆分方法中，可以使用手性高效液相色谱法来分离外消旋物。可替代地，如果希望，可以通过在所述方法之一中使用适当的手性中间体来获得具体的对映异构体。

[0169] 在希望获得化合物的特定异构体或以其他方式纯化反应产物的情况下，也可以对中间体或最终产物使用色谱法、重结晶和其他常规分离程序。

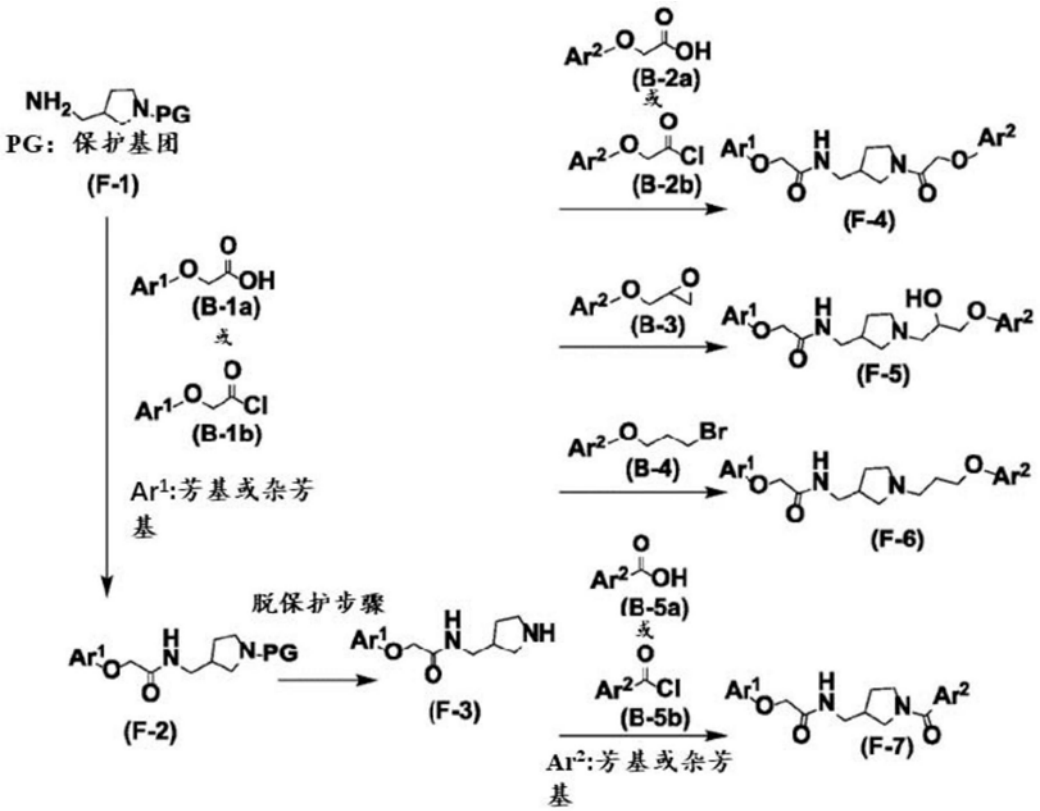
[0170] 还考虑了本文提供的化合物或其盐的溶剂合物和/或多晶型物。溶剂化物含有化学计量或非化学计量量的溶剂，并且通常在结晶过程中形成。当溶剂是水时形成水合物，或当溶剂是醇时形成醇化物。多晶型物包括化合物的相同元素组成的不同晶体堆积排列。多晶型物通常具有不同的X-射线衍射图谱、红外光谱、熔点、密度、硬度、晶体形状、光学和电学特性、稳定性和/或溶解度。诸如重结晶溶剂、结晶速率和储存温度的各种因素可能引起单晶形式占主导地位。

[0171] 在希望获得化合物的特定异构体或以其他方式纯化反应产物的情况下，也可以对中间体或最终产物使用色谱法、重结晶和其他常规分离程序。

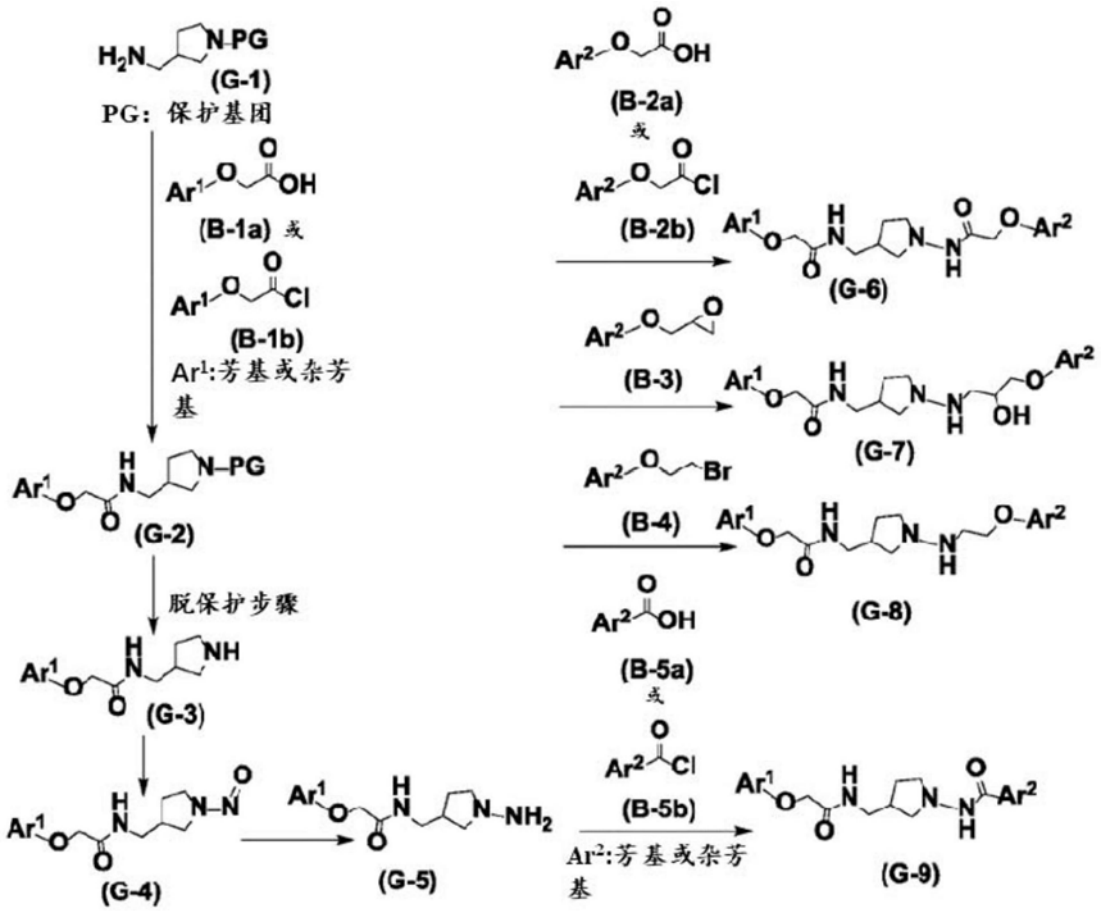
[0172] 制备根据本公开文本的化合物的通用方法在以下方案中描绘。



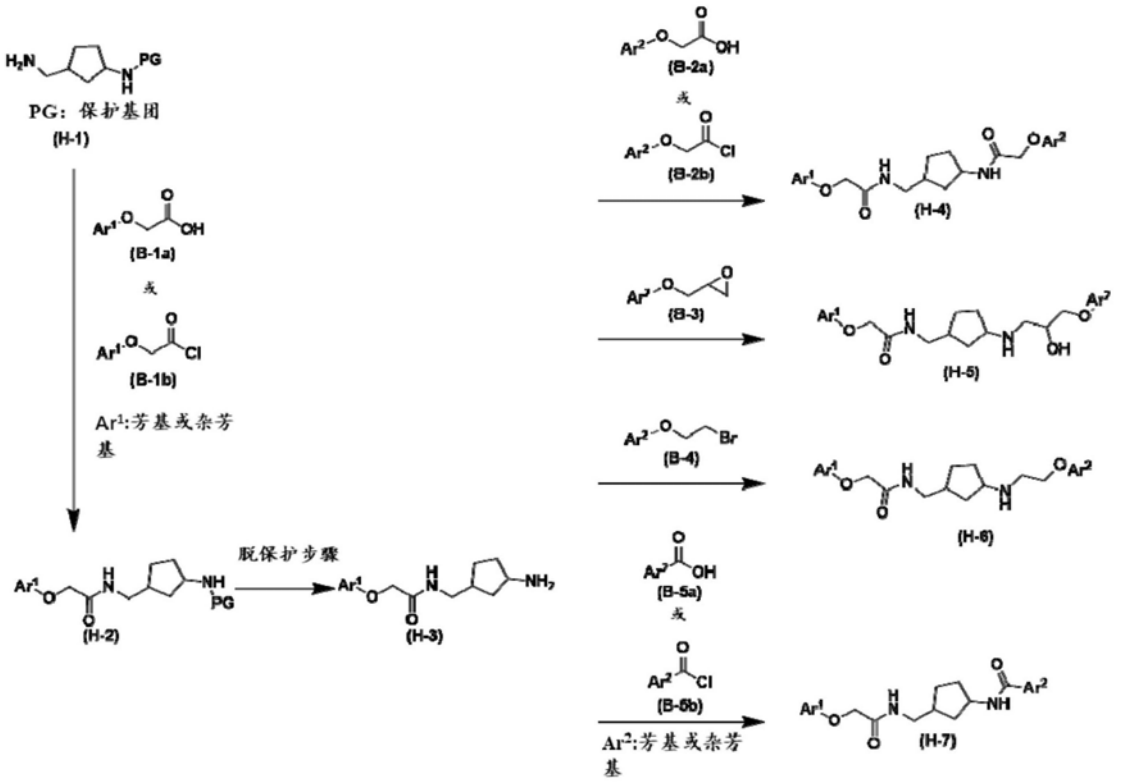
[0173] 本文公开的化合物(诸如式(E-4)、(E-5)、(E-6)和(E-7)的化合物)例如可以根据以上方案中描述的通用方法合成。使式(E-1)的化合物与羧酸(B-1a)或羧酸衍生物(例如,式(B-1b)的酰氯)在合适的条件下反应以得到式(E-2)的化合物。将式(E-2)的化合物脱保护以得到式(E-3)的化合物。使式(E-3)的化合物与羧酸(B-2a)或羧酸衍生物(例如,式(B-2b)的酰氯反应以得到式(E-4)的化合物。使式(E-3)的化合物与式(B-3)的环氧乙烷衍生物反应以得到式(E-5)的化合物。使式(E-3)的化合物与卤代烷基衍生物(诸如式(B-4)的溴烷基化合物)反应以得到式(E-6)的化合物。使式(E-3)的化合物与羧酸(B-5a)或羧酸衍生物(例如,式(B-5b)的酰氯)反应以得到式(E-7)的化合物。



[0174] 本文公开的化合物(诸如式(F-4)、(F-5)、(F-6)和(F-7)的化合物)例如可以根据以上方案中描述的通用方法合成。使式(F-1)的化合物与羧酸(B-1a)或羧酸衍生物(例如，式(B-1b)的酰氯)在合适的条件下反应以得到式(F-2)的化合物。将式(F-2)的化合物脱保护以得到式(F-3)的化合物。使式(F-3)的化合物与羧酸(B-2a)或羧酸衍生物(例如，式(B-2b)的酰氯反应以得到式(F-4)的化合物。使式(F-3)的化合物与式(B-3)的环氧乙烷衍生物反应以得到式(F-5)的化合物。使式(F-3)的化合物与卤代烷基衍生物(诸如式(B-4)的溴烷基化合物)反应以得到式(F-6)的化合物。使式(F-3)的化合物与羧酸(B-5a)或羧酸衍生物(例如，式(B-5b)的酰氯)反应以得到式(F-7)的化合物。



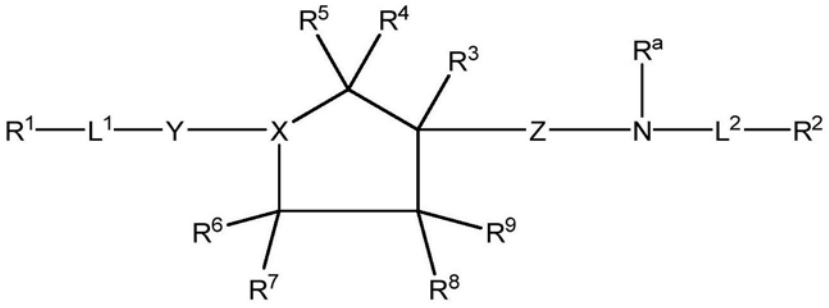
[0175] 本文公开的化合物(诸如式(G-6)、(G-7)、(G-8)和(G-9)的化合物)例如可以根据以上方案中描述的通用方法合成。使式(G-1)的化合物与羧酸(B-1a)或羧酸衍生物(例如,式(B-1b)的酰氯)在合适的条件下反应以得到式(G-2)的化合物。将式(G-2)的化合物脱保护以得到式(G-3)的化合物。使式(G-3)的化合物在合适的条件下经受亚硝化条件(例如,与亚硝酸钠反应)以得到式(G-4)的化合物。在合适的条件下还原式(G-4)的化合物(例如,用Zn粉)以得到式(G-5)的化合物。使式(G-5)的化合物与羧酸(B-2a)或羧酸衍生物(例如,式(B-2b)的酰氯反应以得到式(G-6)的化合物。使式(G-5)的化合物与式(B-3)的环氧乙烷衍生物反应以得到式(G-7)的化合物。使式(G-5)的化合物与卤代烷基衍生物(诸如式(B-4)的溴烷基化合物)反应以得到式(G-8)的化合物。使式(G-5)的化合物与羧酸(B-5a)或羧酸衍生物(例如,式(B-5b)的酰氯)反应以得到式(G-9)的化合物。



[0176] 本文公开的化合物(诸如式(H-4)、(H-5)、(H-6)和(H-7)的化合物)例如可以根据以上方案中描述的通用方法合成。使式(H-1)的化合物与羧酸(B-1a)或羧酸衍生物(例如，式(B-1b)的酰氯)在合适的条件下反应以得到式(H-2)的化合物。将式(H-2)的化合物脱保护以得到式(H-3)的化合物。使式(H-3)的化合物与羧酸(B-2a)或羧酸衍生物(例如，式(B-2b)的酰氯反应以得到式(H-4)的化合物。使式(H-3)的化合物与式(B-3)的环氧乙烷衍生物反应以得到式(H-5)的化合物。使式(H-3)的化合物与卤代烷基衍生物(诸如式(B-4)的溴烷基化合物)反应以得到式(H-6)的化合物。使式(H-3)的化合物与羧酸(B-5a)或羧酸衍生物(例如，式(B-5b)的酰氯)反应以得到式(H-7)的化合物。

列举的实施方案

[0177] 实施方案1.一种式(I)的化合物



(I)

或其药学上可接受的盐，

其中：

X是N或CR^{12}；

Y是键、NR^a、或NR^aNR^a；条件是：

(a)当X是N时，则Y是键或NR^a；并且

(b)当X是CR^{12}时，则Y是NR^a或NR^aNR^a；

Z是键、C(=O)、$CR^{10}R^{11}$或NR^a；

L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1*1-OCH_2C(=O)-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C$(=O)-#1、*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；

其中*1表示与R^1的附接点，并且#1表示与所述分子的其余部分的附接点；

L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2O-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-$CH_2CH(OH)CH_2O$-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2；

其中*2表示与R^2的附接点，并且#2表示与所述分子的其余部分的附接点；

R^1选自：

被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的C_6-C_{14}芳基；和

被一个或多个卤基取代并且任选被一个或多个R^b取代的5-14元杂芳基；

R^2选自：

被一个或多个卤基取代并且任选地被一个或多个R^b取代的C_6-C_{14}芳基；和

被一个或多个卤基取代并且任选被一个或多个R^b取代的5-14元杂芳基；

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；或R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；

R^4、R^5、R^6、R^7、R^8和R^9彼此独立地选自氢、卤素、和C_1-C_6烷基；R^{10}和R^{11}彼此独立地选自氢、卤素、和C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；或R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；

R^{13}和R^{14}彼此独立地选自氢、卤素、和C_1-C_6烷基；

R^a彼此独立地是卤素或C_1-C_6烷基；

R^b在每次出现时独立地选自NO_2、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、OH、O(C_1-C_6烷基)、O(C_1-C_6卤代烷基)、SH、S(C_1-C_6烷基)、S(C_1-C_6卤代烷基)、NH_2、NH(C_1-C_6烷基)、NH(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)$_2$、N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、NR^cR^d、CN、C(O)OH、C(O)O(C_1-C_6烷基)、C(O)O(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)NH_2、C(O)NH(C_1-C_6烷基)、C(O)NH(C_1-C_6卤代烷基)、C(O)N(C_1-C_6烷基)$_2$、C(O)N(C_1-C_6卤代烷基)$_2$、C(O)$NR^{14-a}R^{14-b}$、S(O)$_2$OH、S(O)$_2$O(C_1-C_6烷基)、S(O)$_2$O(C_1-C_6卤代烷基)、S(O)$_2$$NH_2$、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$烷基)、S(O)$_2$NH($C_1$-$C_6$卤代烷基)、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$烷基)$_2$、S(O)$_2$N($C_1$-$C_6$卤代烷基)$_2$、S(O)$_2$$NR^cR^d$、OC(O)H、OC(O)($C_1$-$C_6$烷基)、OC(O)($C_1$-$C_6$卤代烷基)、N(H)C(O)H、N(H)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(H)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)H、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)H、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)C(O)(C_1-C_6卤代烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、OS(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(H)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、N(C_1-C_6烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)、N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6烷基)、和N(C_1-C_6卤代烷基)S(O)$_2$(C_1-C_6卤代烷基)，

其中R^c和R^d与它们附接的氮原子一起形成3-10元杂环；并且

条件是：

(i)当X是CR^{12}，Y是NR^a，Z是键，L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时；则：

(i-1)R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素;或

(i-2)R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团;

(ii)当X是CR^{12},Y是NR^a,Z是键并且R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$时;则:

(ii-1)L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-$OCH_2CH_2C(=O)$-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C(=O)$-#1、*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1;或

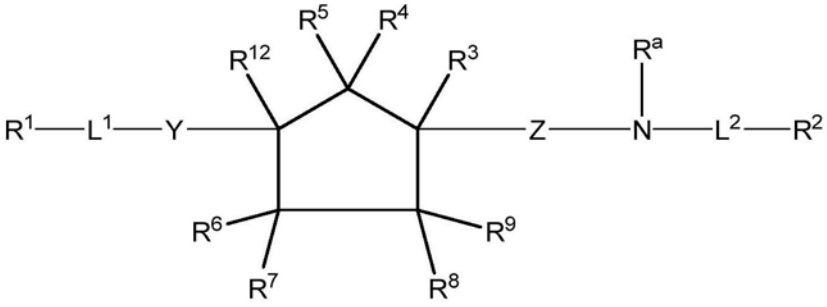
(ii-2)L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-$CH_2CH(OH)CH_2O$-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2;并且

(iii)当X是N并且Y是键时,则:

L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1;并且

进一步的条件是当Z是$CR^{10}R^{11}$时,则R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

[0178] 实施方案2.根据实施方案1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(I)的化合物是式(II)的化合物



(II)

条件是:

(i)当Y是NR^a,Z是键,L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时;则:(i-1)R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素;或

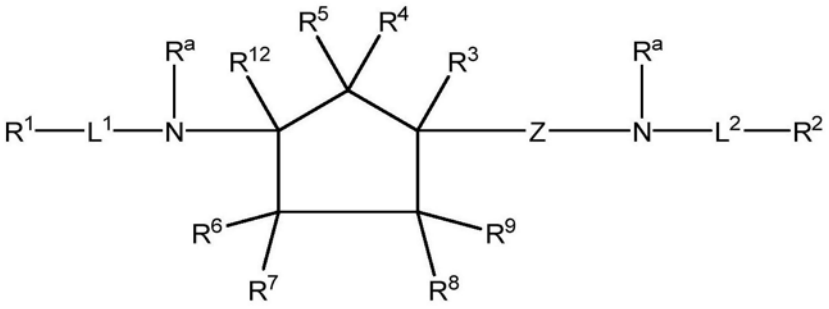
(i-2)R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团;并且

(ii)当Y是NR^a,Z是键并且R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$时;则:

(ii-1)L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-$OCH_2CH_2C(=O)$-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C(=O)$-#1、*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1;或

(ii-2)L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-$CH_2CH(OH)CH_2O$-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2。

[0179] 实施方案3.根据实施方案2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(II)的化合物是式(IV)的化合物



(IV)

条件是：

(i)当Z是键，L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时；则：

(i-1)R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素；或

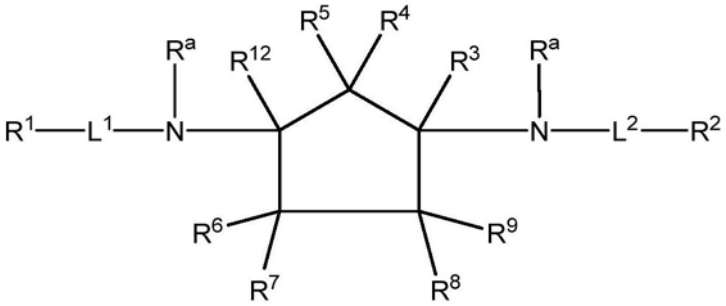
(i-2)R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$基团；并且

(ii)当Z是键并且R^3和R^{12}一起形成$CR^{13}R^{14}$时；则：

(ii-1)L^1选自*1-C(=O)-#1、*1-CH_2-#1、*1-CH_2CH_2-#1、*1-$CH_2CH_2CH_2$-#1、*1-OCH_2CH_2C(=O)-#1、*1-$OCH_2CH_2CH_2C$(=O)-#1、*1-OCH_2CH(OH)CH_2-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；或

(ii-2)L^2选自#2-C(=O)-*2、#2-CH_2-*2、#2-CH_2CH_2-*2、#2-$CH_2CH_2CH_2$-*2、#2-C(=O)CH_2CH_2O-*2、#2-C(=O)$CH_2CH_2CH_2O$-*2、#2-CH_2CH(OH)CH_2O-*2、#2-CH_2O-*2、#2-CH_2CH_2O-*2和#2-$CH_2CH_2CH_2O$-*2。

[0180] 实施方案4.根据实施方案3所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(IV)的化合物是式(IV-a)的化合物



(IV-a)

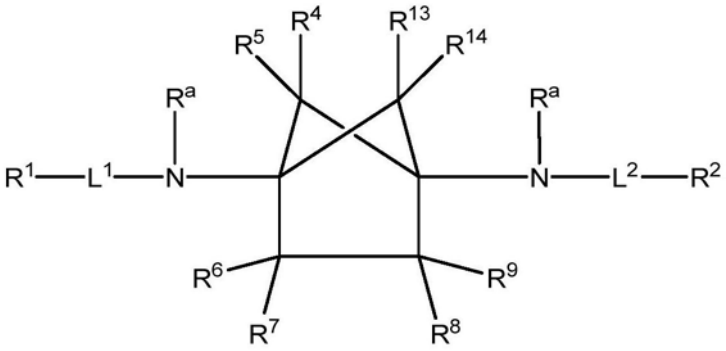
其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；

R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

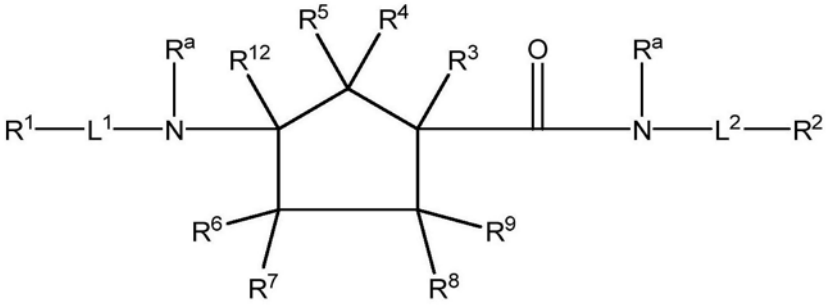
条件是当L^1是*1-CH_2-#1并且L^2是#2-CH_2-*2时；则R^3、R^4和R^5中的至少一个是卤素或卤素。

[0181] 实施方案5.根据实施方案3所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(IV)的化合物是式(IV-b)的化合物



(IV-b)。

[0182] 实施方案6.根据实施方案3所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(IV)的化合物是式(IV-c)的化合物



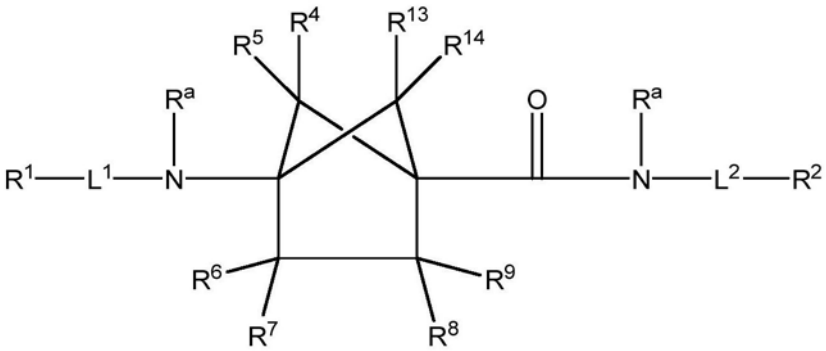
(IV-c)

其中:

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基;并且

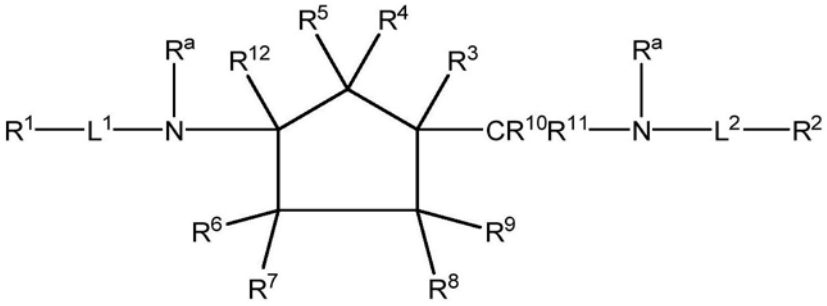
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

[0183] 实施方案7.根据实施方案3所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(IV)的化合物是式(IV-d)的化合物



(IV-d)。

[0184] 实施方案8.根据实施方案3所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(IV)的化合物是式(IV-e)的化合物



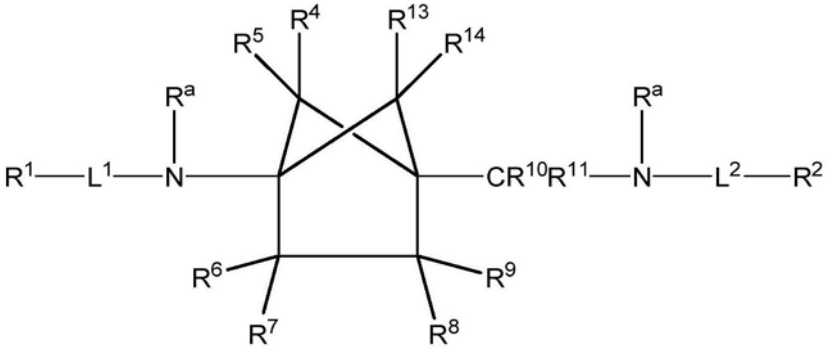
(IV-e)

其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

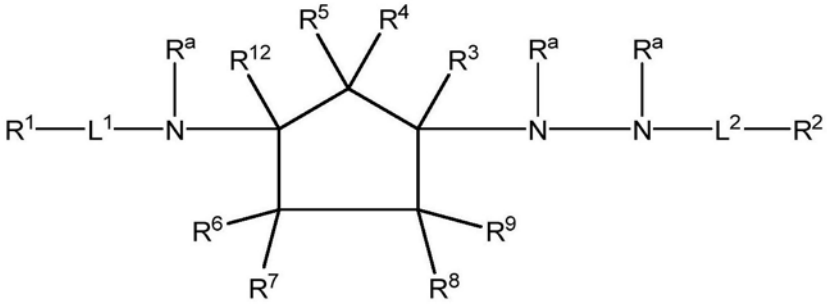
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

[0185] 实施方案9.根据实施方案3所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(IV)的化合物是式(IV-f)的化合物



(IV-f)。

[0186] 实施方案10.根据实施方案3所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(IV)的化合物是式(IV-g)的化合物



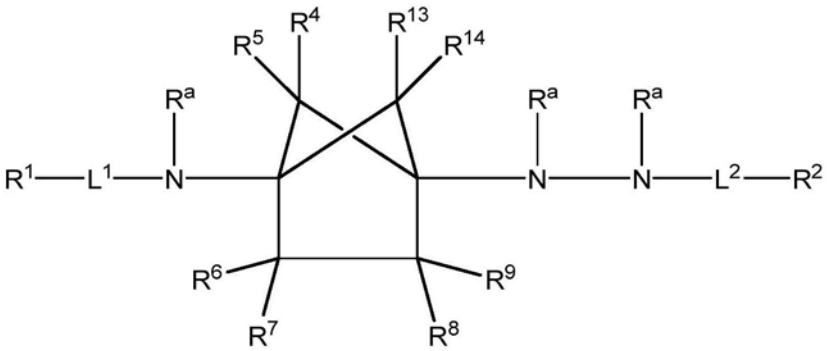
(IV-g)

其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

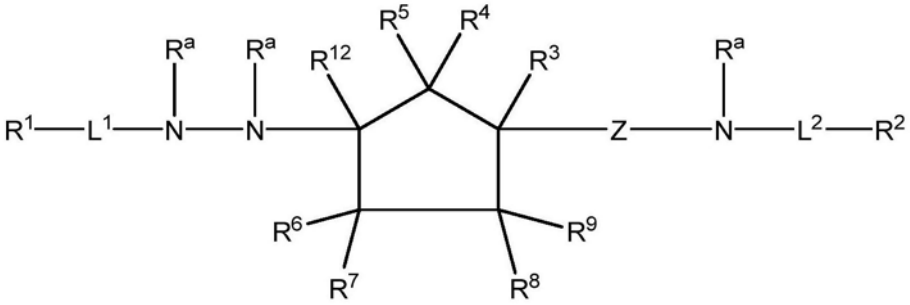
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

[0187] 实施方案11.根据实施方案3所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(IV)的化合物是式(IV-h)的化合物



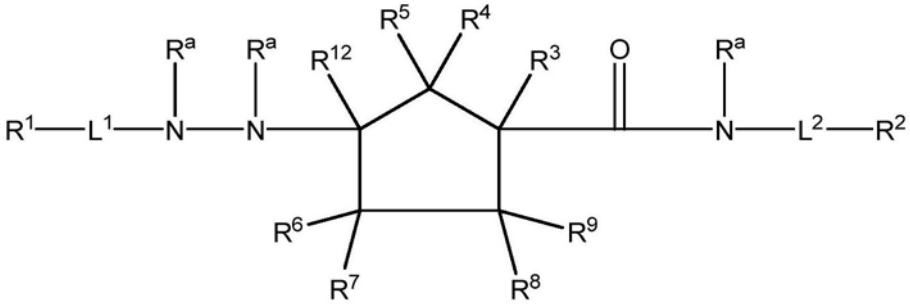
(IV-h)。

[0188] 实施方案12.根据实施方案2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(II)的化合物是式(V)的化合物



(V)。

[0189] 实施方案13.根据实施方案12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-a)的化合物



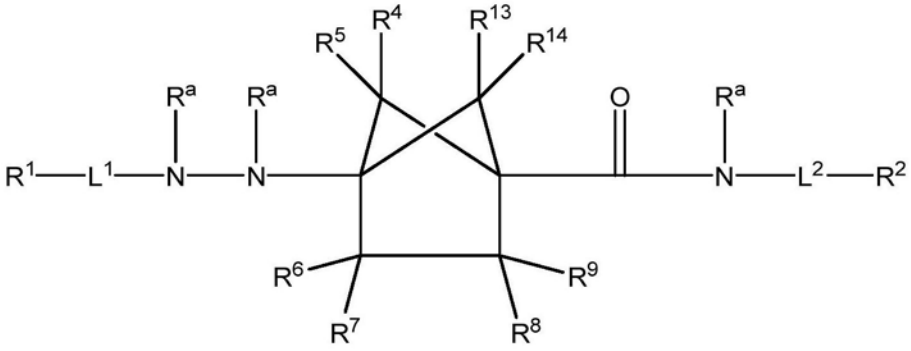
(V-a)

其中:

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基;并且

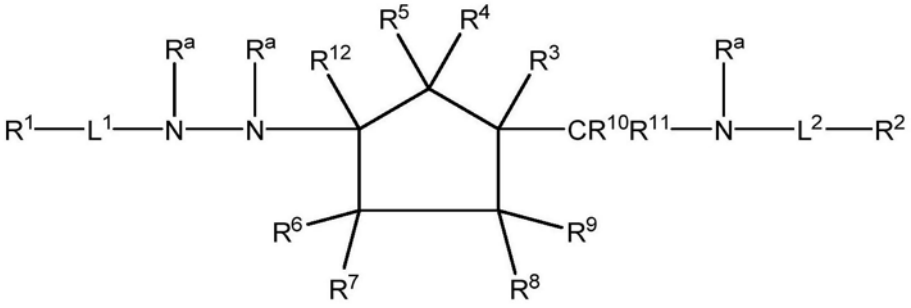
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

[0190] 实施方案14.根据实施方案12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-b)的化合物



(V-b)。

[0191] 实施方案15.根据实施方案12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-c)的化合物



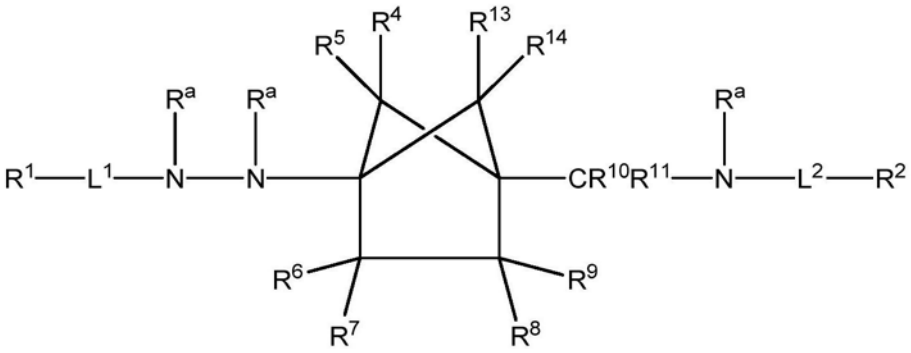
(V-c)

其中:

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基;并且

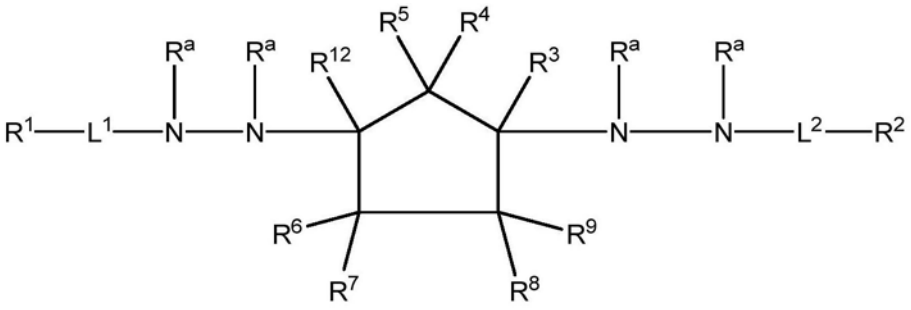
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

[0192] 实施方案16.根据实施方案12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-d)的化合物



(V-d)。

[0193] 实施方案17.根据实施方案12所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(V)的化合物是式(V-e)的化合物



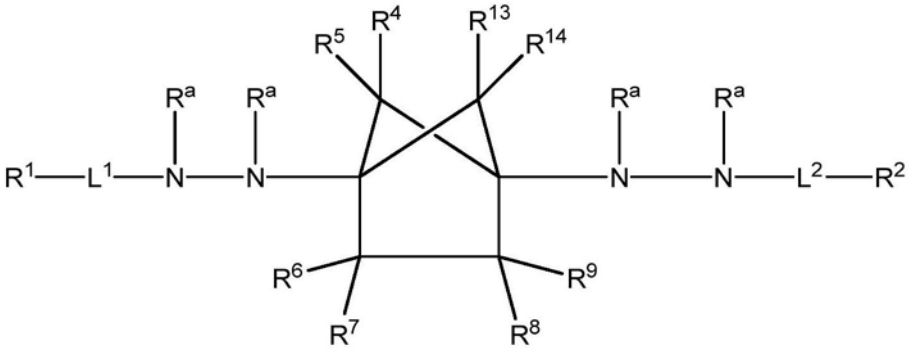
(V-e)

其中：

R^3是氢、卤素、或C_1-C_6烷基；并且

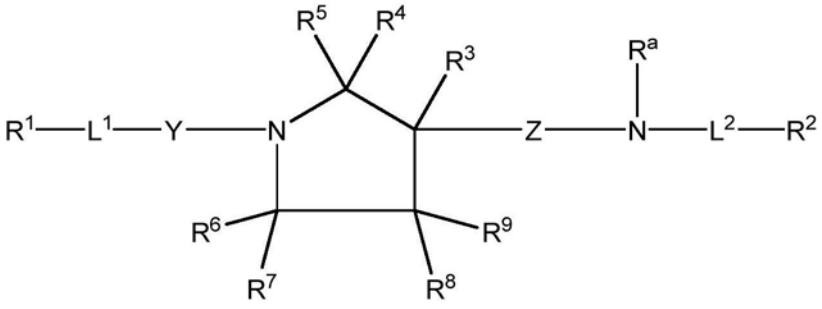
R^{12}是氢、卤素、或C_1-C_6烷基。

[0194] 实施方案18.根据实施方案12所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(V)的化合物是式(V-f)的化合物



(V-f)。

[0195] 实施方案19.根据实施方案1所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(I)的化合物是式(III)的化合物



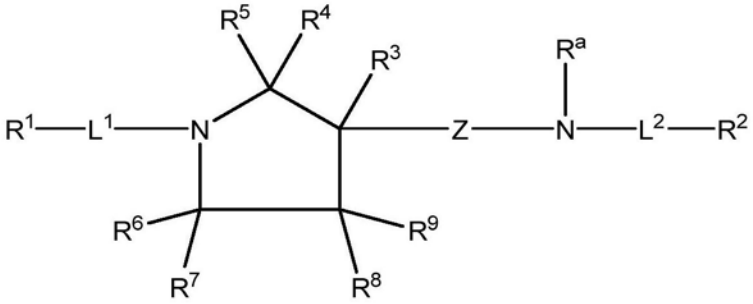
(III)

条件是当Y是键时；则：

L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1；并且

进一步的条件是当Z是$CR^{10}R^{11}$时，则R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

[0196] 实施方案20.根据实施方案19所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中所述式(III)的化合物是式(VI)的化合物

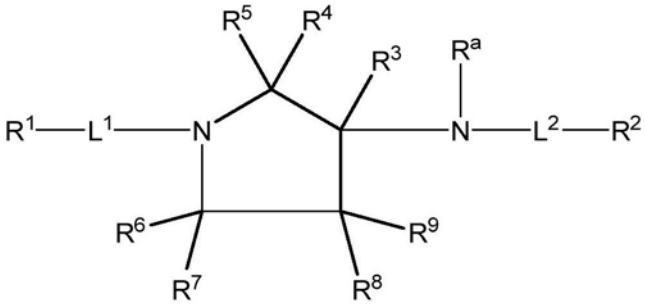


(VI)

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1;并且

进一步的条件是当Z是$CR^{10}R^{11}$时,则R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

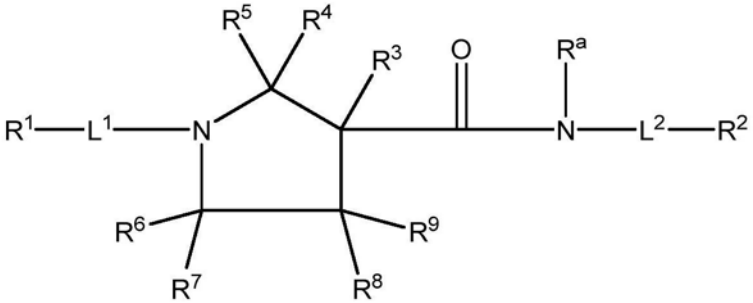
[0197] 实施方案21.根据实施方案20所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VI)的化合物是式(VI-a)的化合物



(VI-a)

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。

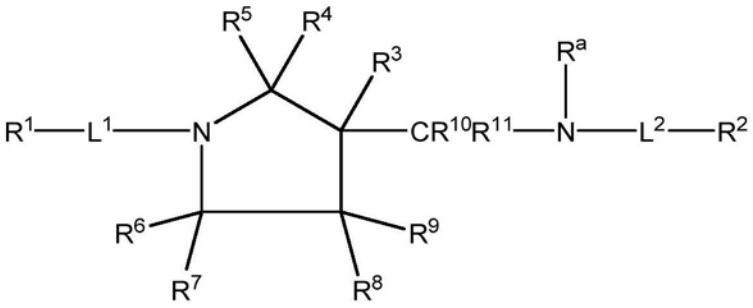
[0198] 实施方案22.根据实施方案20所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VI)的化合物是式(VI-b)的化合物



(VI-b)

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。

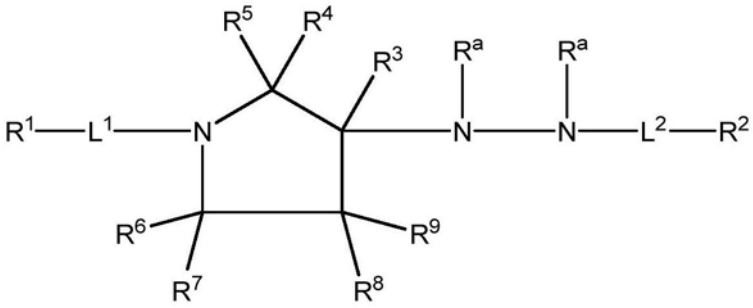
[0199] 实施方案23.根据实施方案20所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VI)的化合物是式(VI-c)的化合物



(VI-c)

条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1;并且R^1和R^2中的至少一个被两个或更多个卤素基团取代。

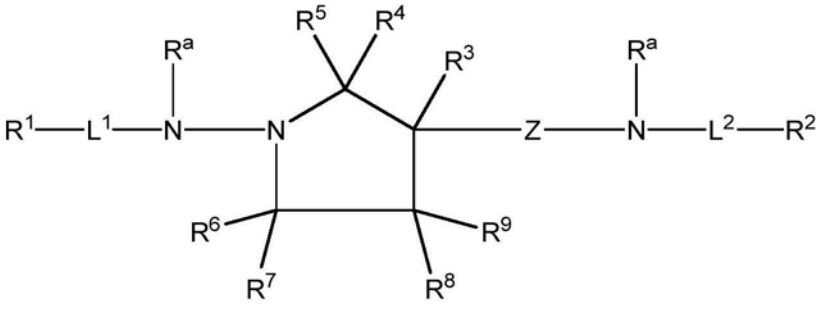
[0200] 实施方案24.根据实施方案20所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VI)的化合物是式(VI-d)的化合物



(VI-d)

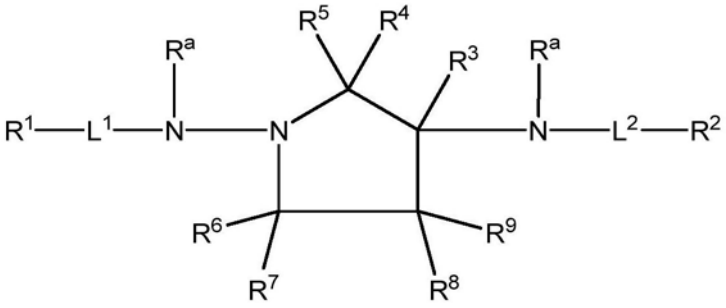
条件是L^1选自*1-$OCH_2CH(OH)CH_2$-#1、*1-OCH_2-#1、*1-OCH_2CH_2-#1和*1-$OCH_2CH_2CH_2$-#1。

[0201] 实施方案25.根据实施方案19所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(III)的化合物是式(VII)的化合物



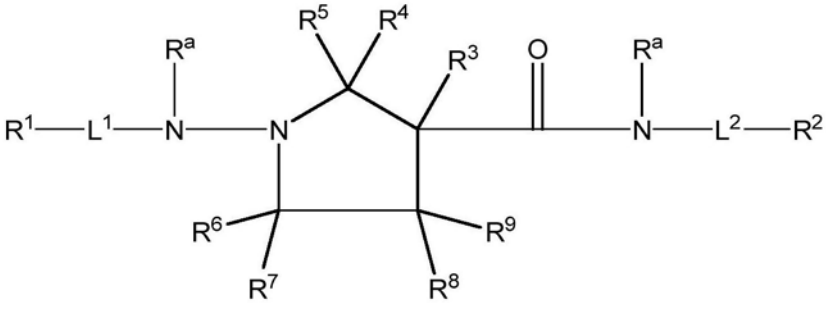
(VII)。

[0202] 实施方案26.根据实施方案25所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VII)的化合物是式(VII-a)的化合物



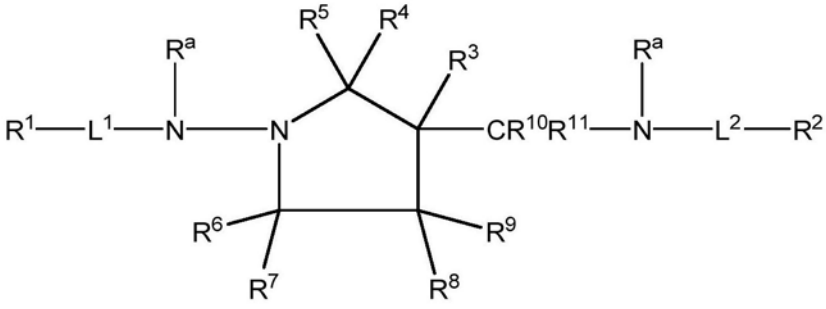
(VII-a)。

[0203] 实施方案27.根据实施方案25所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VII)的化合物是式(VII-b)的化合物



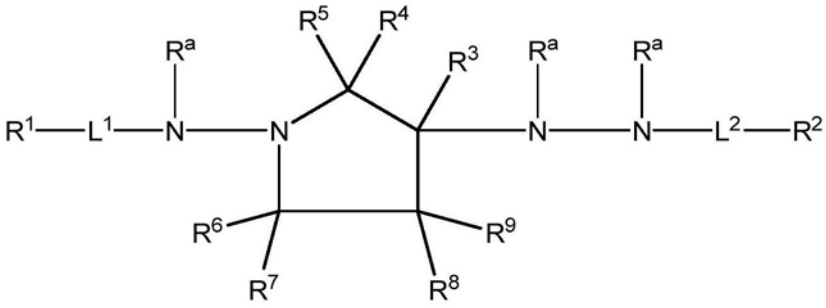
(VII-b)。

[0204] 实施方案28.根据实施方案25所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VII)的化合物是式(VII-c)的化合物



(VII-c)。

[0205] 实施方案29.根据实施方案25所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(VII)的化合物是式(VII-d)的化合物



(VII-d)。

[0206] 实施方案30.一种选自表1的化合物的化合物或其药学上可接受的盐。

[0207] 实施方案31.一种药物组合物,其包含根据前述实施方案中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体。

[0208] 实施方案32.一种治疗有需要的个体的由整合应激反应(ISR)通路介导的疾病或障碍的方法,其包括向所述个体施用治疗有效量的根据实施方案1至30中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或者治疗有效量的根据实施方案31所述的药物组合物。

[0209] 实施方案33.根据实施方案32所述的方法,其中将所述化合物、所述药学上可接受的盐或所述药物组合物与治疗有效量的一种或多种另外的抗癌剂组合施用。

[0210] 实施方案34.根据实施方案32所述的方法,其中所述疾病或障碍是由eIF2α的磷酸化和/或eIF2B的鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)活性介导的。

[0211] 实施方案35.根据实施方案32-34中任一项所述的方法,其中所述疾病或障碍是由蛋白质合成减少介导的。

[0212] 实施方案36.根据实施方案32-35中任一项所述的方法,其中所述疾病或障碍是由ATF4、CHOP或BACE-1的表达介导的。

[0213] 实施方案37.根据实施方案32-36中任一项所述的方法,其中所述疾病或障碍是神经变性疾病、炎性疾病、自身免疫性疾病、代谢综合征、癌症、血管疾病、眼部疾病或肌肉骨骼疾病。

[0214] 实施方案38.根据实施方案37所述的方法,其中所述疾病是消融性白质病、儿童性共济失调伴CNS髓鞘形成不足、智力残疾综合征、阿尔茨海默病、朊病毒病、克雅二氏病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化(ALS)病、认知损害、额颞叶痴呆(FTD)、创伤性脑损伤、术后认知功能障碍(PCD)、神经耳科综合征、听力损失、亨廷顿病、中风、慢性创伤性脑病、脊髓损伤、痴呆或认知损害、关节炎、银屑病性关节炎、银屑病、幼年特发性关节炎、哮喘、过敏性哮喘、支气管哮喘、肺结核、慢性气道障碍、囊性纤维化、肾小球性肾炎、膜性肾病、结节病、血管炎、鱼鳞病、移植排斥、间质性膀胱炎、特应性皮炎或炎性肠病、克罗恩病、溃疡性结肠炎、乳糜泻、系统性红斑狼疮、1型糖尿病、多发性硬化、类风湿性关节炎、酒精性肝脂肪变性、肥胖症、葡萄糖耐受不良、胰岛素抵抗、高血糖症、脂肪肝、血脂异常、高脂血症、2型糖尿病、胰腺癌、乳腺癌、肾癌、膀胱癌、前列腺癌、睾丸癌、尿路上皮癌、子宫内膜癌、卵巢癌、子宫颈癌、肾脏癌、食道癌、胃肠道间质瘤(GIST)、多发性骨髓瘤、分泌细胞癌、甲状腺癌、胃肠道癌、慢性粒细胞白血病、肝细胞癌、结肠癌、黑色素瘤、恶性胶质瘤、胶质母细胞瘤、多形性胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、小脑发育不良性神经节细胞瘤、尤文氏肉瘤、横纹肌肉瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、导管腺癌、腺鳞癌、肾母细胞瘤、腺泡细胞癌、肺癌、非霍奇淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、慢性淋巴细胞癌、意义未明的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、浆细胞瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤、急性成淋巴细胞性白血病、佩梅氏病、动脉粥样硬化、腹主动脉瘤、颈动脉疾病、深静脉血栓形成、伯格氏病、慢性静脉高压、血管钙化、毛细管扩张或淋巴水肿、青光眼、年龄相关性黄斑变性、炎性视网膜病、视网膜血管疾病、糖尿病性视网膜病、葡萄膜炎、酒渣鼻、干燥综合征或增殖性视网膜病中的新血管形成、高同型半胱氨酸血症、骨骼肌萎缩、肌病、肌肉萎缩症、肌肉消瘦、少肌症、杜兴氏肌肉萎缩症(DMD)、贝克氏病、肌强直性营养不良、X连锁扩张型心肌病、或脊髓性肌萎缩症(SMA)。

[0215] 实施方案39.一种生产蛋白质的方法,其包括使包含编码所述蛋白质的核酸的真核细胞与根据实施方案1-30中任一项所述的化合物或盐接触。

[0216] 实施方案40.根据实施方案39所述的方法,其包括在包含所述化合物或盐的体外培养基中培养所述细胞。

[0217] 实施方案41.一种培养包含编码蛋白质的核酸的真核细胞的方法,其包括使所述真核细胞与包含根据实施方案1-30中任一项所述的化合物或盐的体外培养基接触。

[0218] 实施方案42.根据实施方案39-41中任一项所述的方法,其中编码所述蛋白质的所述核酸是重组核酸。

[0219] 实施方案43.根据实施方案39-42中任一项所述的方法,其中所述细胞是人胚肾(HEK)细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

[0220] 实施方案44.一种生产蛋白质的方法,其包括使包含真核起始因子2(eIF2)和编码蛋白质的核酸的无细胞蛋白质合成(CFPS)系统与根据实施方案1-30中任一项所述的化合物或盐接触。

[0221] 实施方案45.根据实施方案39-44中任一项所述的方法,其中所述蛋白质是抗体或其片段。

[0222] 实施方案46.根据实施方案39-45中任一项所述的方法,其包括纯化所述蛋白质。

[0223] 实施方案47.一种体外细胞培养基,其包含根据实施方案1-30中任一项所述的化合物或盐和用于细胞生长的营养物。

[0224] 实施方案48.根据实施方案47所述的细胞培养基,其包含含有编码蛋白质的核酸的真核细胞。

[0225] 实施方案49.根据实施方案47或48所述的细胞培养基,其进一步包含用于诱导蛋白质表达的化合物。

[0226] 实施方案50.根据实施方案47-49中任一项所述的细胞培养基,其中编码所述蛋白质的所述核酸是重组核酸。

[0227] 实施方案51.根据实施方案47-50中任一项所述的细胞培养基,其中所述蛋白质是抗体或其片段。

[0228] 实施方案52.根据实施方案47-51中任一项所述的细胞培养基,其中所述真核细胞是人胚肾(HEK)细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

[0229] 实施方案53.一种无细胞蛋白质合成(CFPS)系统,其包含真核起始因子2(eIF2)和编码蛋白质的核酸与根据实施方案1-30中任一项所述的化合物或盐。

[0230] 实施方案54.根据实施方案53所述的CFPS系统,其包含含有eIF2的真核细胞提取物。

[0231] 实施方案55.根据实施方案53或54所述的CFPS系统,其进一步包含eIF2B。

[0232] 实施方案56.根据实施方案53-55中任一项所述的CFPS系统,其中所述蛋白质是抗体或其片段。

实施例

[0233] 尽管已经以一定程度的具体性对本发明进行了描述和说明,但是应当理解,本公开文本仅通过举例进行,并且在不背离如通过权利要求书所限定的本发明的精神和范围的情况下,本领域的技术人员可以寻求对部分的组合和安排进行多种改变。

[0234] 所描述的实施例中的化学反应可以容易地适于制备本文公开的许多其他化合物,并且用于制备本公开文本的化合物的替代方法被认为在本公开文本的范围内。例如,根据

本公开文本的非示例性化合物的合成可以成功地通过对于本领域技术人员显而易见的修改，例如通过适当地保护干扰基团，通过利用本领域已知的不同于所描述的试剂的其他合适的试剂，或通过对反应条件、试剂和起始材料进行常规修改来进行。可替代地，本文公开的或本领域已知的其他反应将被认为具有制备本公开文本的其他化合物的适用性。

[0235] 在一些情况下，将立体异构体分离以得到单一对映异构体或作为单一的未知的立体异构体的非对映异构体，并且任意地被绘制成单一异构体。在适当的情况下，给出了有关分离方法以及洗脱时间和顺序的信息。在生物学实施例中，测试的化合物是根据其中所述的合成程序制备的。对于任意指定立体化学且测量了特定旋光度和/或手性HPLC洗脱时间的未知绝对立体化学的任何给定化合物，使用与所述特定的旋光度和/或手性HPLC洗脱时间相关的对映异构体或非对映异构体获得针对该化合物报告的生物学数据。

[0236] 在一些情况下，旋光度是在Jasco DIP-360数字旋光仪上以589nm的波长(钠D线)确定的，并且报告对于给定温度T(以℃表示)的$[\alpha]_D^T$。在适当的情况下，给出了有关溶剂和浓度(以g/100mL表示)的信息。

[0237] 缩写：

br.s. 宽单峰

氯仿-d 氘化氯仿

甲醇-d_4 氘化甲醇

DIAD 偶氮二甲酸二异丙酯

DCM 二氯甲烷

DEA 二乙胺

DIPEA 二异丙基乙胺

DMF N,N-二甲基甲酰胺

DMSO-d_6 氘化二甲基亚砜

d 二重峰

EDC.HCl 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸

EtOAc 乙酸乙酯

EtOH 乙醇

g 克

HATU (O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐)

HOBT 羟基苯并三唑

HPLC 高效液相色谱法

L 升

LCMS 液相色谱质谱法

MeCN 乙腈

MeOH 甲醇

mg 毫克

mL 毫升

mmol 毫摩尔

m 多重峰

NMR 核磁共振

q 四重峰

RT 室温

s 单峰

SFC 超临界液相色谱法

TFA 三氟乙酸

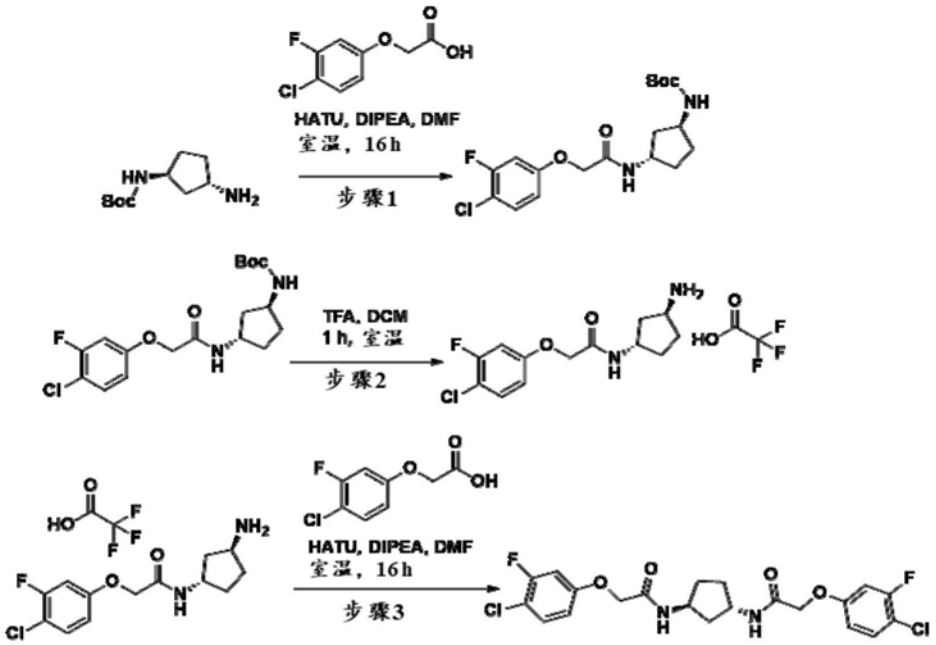
THF 四氢呋喃

TLC 薄层色谱法

t 三重峰

实施例1

N,N'-((1S,3S)-环戊烷-1,3-二基)双(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺)的合成



步骤-1:((1S,3S)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成:

[0238] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(1.000g,4.9mmol,1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加((1S,3S)-3-氨基环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.900g,4.9mmol,1.2当量)、HATU(2.793g,7.35mmol,1.5当量)和DIPEA(1.265g,9.8mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释并且形成沉淀物。将所得固体沉淀物滤出并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得呈灰白色固体的((1S,3S)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.700g,36%产率)。LCMS 387.1$[M+H]^+$,^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.07(d,J=7.9Hz,1H),7.49(t,J=8.8Hz,1H),7.06(dd,J=2.6,11.4Hz,1H),6.97-6.76(m,2H),4.48(s,2H),4.24-4.08(m,1H),3.90(d,J=6.6Hz,1H),1.92(dd,J=5.5,9.4Hz,2H),1.68(t,J=7.0Hz,2H),1.37(s,8H)。

步骤-2:N-((1S,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐的合成:

[0239] 向((1S,3S)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯

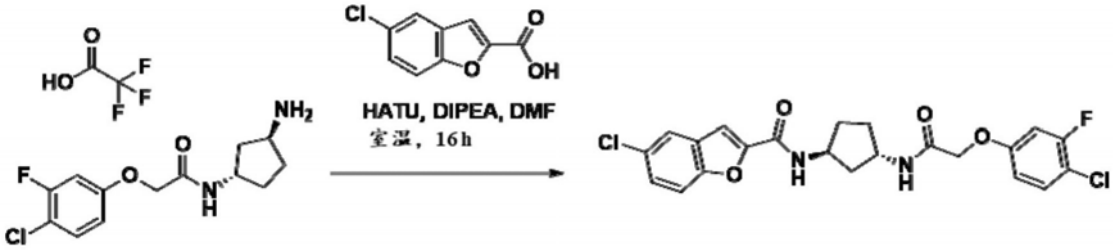
(0.700g,1.81mmol,1.0当量)在DCM(15ml)中的搅拌溶液中添加TFA(2ml)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将粗化合物通过在戊烷中并且然后在石油醚中磨碎来结晶以获得N-((1S,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(900mg,定量产率)。LCMS 287.1[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.17(d,J=7.5Hz,1H),7.79(br.s.,2H),7.50(t,J=8.8Hz,1H),7.06(dd,J=2.6,11.4Hz,1H),6.84(d,J=7.0Hz,1H),4.51(s,2H),4.30(d,J=7.5Hz,1H),3.62(br.s.,1H),2.07(br.s.,1H),2.00(d,J=6.1Hz,1H),1.92-1.73(m,2H),1.52(d,J=12.3Hz,2H)。

步骤-3:N,N'-((1S,3S)-环戊烷-1,3-二基)双(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺)的合成:

[0240] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.128g,0.63mmol,1.0当量)在DMF(4ml)中的搅拌溶液中添加N-((1S,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.304g,0.76mmol,1.2当量)、HATU(0.361g,0.95mmol,1.5当量)和DIPEA(0.163g,1.26mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释并且形成沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得呈灰白色固体的N,N'-((1S,3S)-环戊烷-1,3-二基)双(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺)(化合物1-0.170g,58%产率)。LCMS 473.1[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.13(d,J=7.7Hz,1H),7.49(t,J=8.8Hz,1H),7.06(dd,J=11.5,2.9Hz,1H),6.84(dd,J=9.0,2.9Hz,1H),4.49(s,2H),4.25(p,J=6.9Hz,1H),1.98(p,J=9.6Hz,1H),1.75(t,J=7.1Hz,1H),1.44(q,J=9.2,7.9Hz,1H)。

实施例2

5-氯-N-((1S,3S)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成

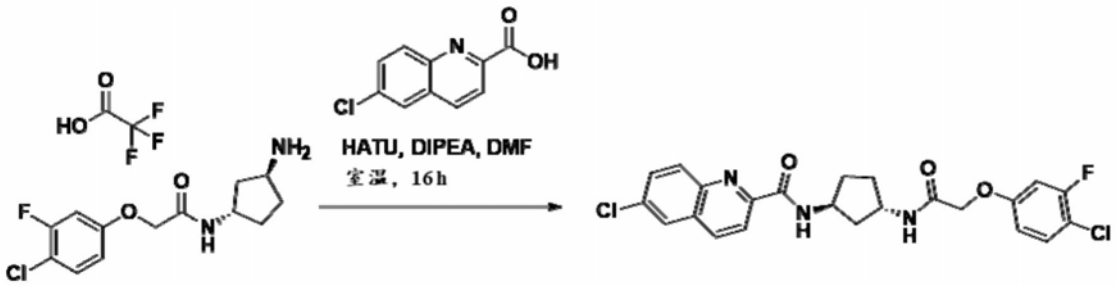


[0241] 向5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.124g,0.63mmol,1.0当量)在DMF(4ml)中的搅拌溶液中添加N-((1S,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.304g,0.76mmol,1.2当量)、HATU(0.361g,0.95mmol,1.5当量)和DIPEA(0.163g,1.26mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释并且形成沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得呈灰白色固体的5-氯-N-((1S,3S)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物14-0.070g,24%产率)。LCMS 464.1[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.77(d,J=7.6Hz,1H),8.17(d,J=7.5Hz,1H),7.88(d,J=2.3Hz,1H),7.70(d,J=8.8Hz,1H),7.53(s,1H),7.52-7.45(m,2H),7.08(dd,J=11.4,2.9Hz,1H),6.86(dd,J=9.0,2.9Hz,1H),4.52(s,2H),4.44(p,J=7.3Hz,1H),4.33(h,J=6.9Hz,1H),2.06(tp,J=

12.6,7.3,6.1Hz,2H),1.87(qt,J＝13.3,6.8Hz,2H),1.66-1.42(m,2H)。

实施例3

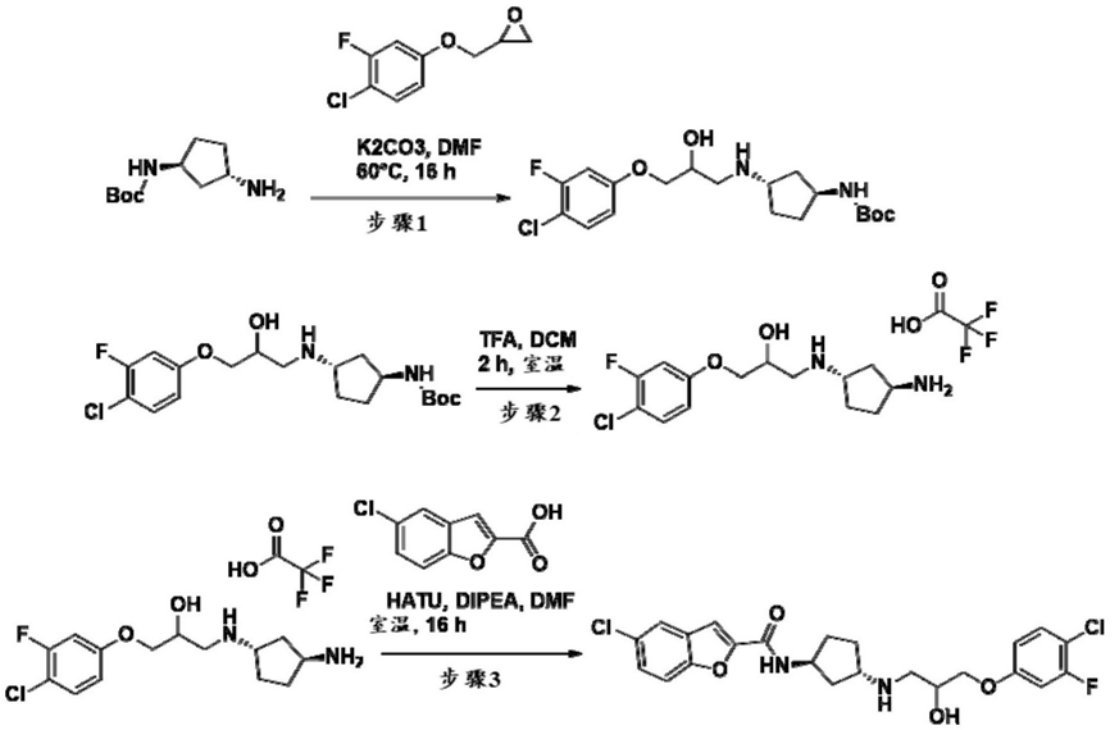
6-氯-N-((1S,3S)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺的合成



[0242] 向6-氯喹啉-2-甲酸(0.200g,0.97mmol,1.0当量)在DMF(6ml)中的搅拌溶液中添加N-((1S,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.466g,1.16mmol,1.2当量)、HATU(0.570g,1.5mmol,1.5当量)和DIPEA(0.250g,1.94mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过反相HPLC纯化以获得呈白色固体的纯6-氯-N-((1S,3S)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺(化合物16-0.260g,59％产率)。LCMS 476.2$[M+H]^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.86(d,J＝8.2Hz,1H),8.53(d,J＝8.6Hz,1H),8.24(d,J＝2.4Hz,1H),8.18(t,J＝8.6Hz,3H),7.88(dd,J＝9.1,2.4Hz,1H),7.50(t,J＝8.9Hz,1H),7.08(dd,J＝11.4,2.8Hz,1H),6.90-6.82(m,1H),4.52(s,3H),4.36(h,J＝7.3Hz,1H),2.16-1.82(m,4H),1.68(dq,J＝13.0,8.1Hz,1H),1.59-1.45(m,1H)。

实施例4

5-氯-N-((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



步骤-1:((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成:

[0243] 向((1S,3S)-3-氨基环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.990g,4.95mmol,1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(1.366g,9.9mmol,2.0当量),然后添加2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(1.000g,4.95mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在60℃下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释并且形成沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(1.100g)。LCMS 403.3$[M+H]^+$。

步骤-2:1-(((1S,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐的合成:

[0244] 向((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(1.100g,2.74mmol,1.0当量)在DCM(10ml)中的搅拌溶液中添加TFA(2ml)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS和NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将粗化合物通过在戊烷中并且然后在石油醚中磨碎来结晶以获得纯1-(((1S,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(1.100g,定量产率)。LCMS 303.2$[M+H]^+$。

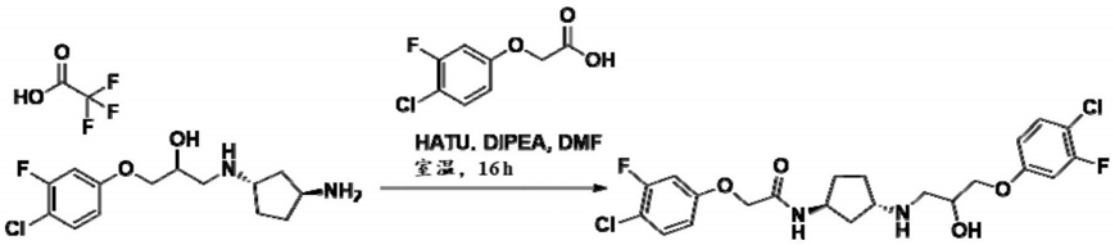
步骤-3:5-氯-N-((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成:

[0245] 向5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.140g,0.7mmol,1.0当量)在DMF(4ml)中的搅拌溶液中添加1-(((1S,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.350g,0.84mmol,1.2当量)、HATU(0.399g,1.05mmol,1.5当量)和DIPEA(0.181g,1.4mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗

涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过反相HPLC纯化以获得呈灰白色固体的5-氯-N-((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物18-0.090g，40.36％)。LCMS 481.2[M+H]$^+$，^{1}H NMR(400MHz，DMSO-d_6)δ8.66(d,J＝7.7Hz,1H)，7.86(d,J＝2.3Hz,1H)，7.69(d,J＝8.8Hz,1H)，7.55-7.34(m,3H)，7.07(dd,J＝11.7,2.9Hz,1H)，6.84(dd,J＝9.0,2.8Hz,1H)，5.01(s,1H)，4.45-4.26(m,1H)，4.00(dt,J＝9.3,3.0Hz,1H)，3.86(dt,J＝21.4,5.9Hz,2H)，3.17(q,J＝6.1Hz,1H)，2.63(d,J＝13.3Hz,1H)，1.97(dtt,J＝33.0,12.8,7.0Hz,2H)，1.74(t,J＝6.5Hz,2H)，1.66(d,J＝9.6Hz,1H)，1.54(dq,J＝11.8,8.0Hz,1H)，1.40-1.27(m,1H)。

实施例5

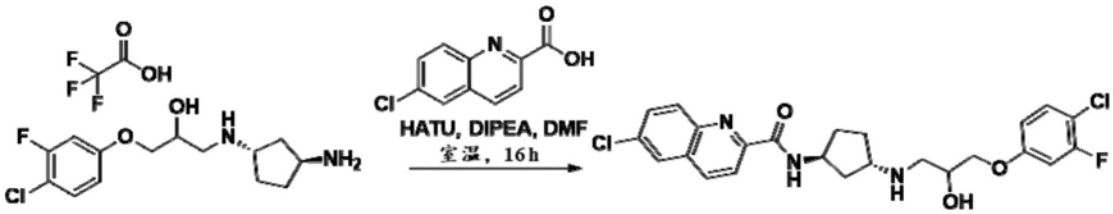
2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)乙酰胺的合成



[0246] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.120g，0.6mmol，1.0当量)在DMF(3ml)中的搅拌溶液中添加1-(((1S,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.300g，0.72mmol，1.2当量)、HAT U(0.342g，0.90mmol，1.5当量)和DIPEA(0.155g，1.2mmol，2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(25mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过反相HPLC纯化以获得呈灰白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)乙酰胺(化合物20-0.020g，6.96％)。LCMS 489.2[M+H]$^+$，^{1}H NMR(400M Hz，DMSO-d_6)δ8.03(d,J＝7.7Hz,1H)，7.47(dt,J＝16.9,8.8Hz,2H)，7.06(dd,J＝11.3,2.8Hz,2H)，6.88-6.80(m,2H)，4.48(s,2H)，4.20(h,J＝7.2Hz,1H)，3.99(dd,J＝10.0,4.0Hz,1H)，3.86(dt,J＝19.1,5.9Hz,2H)，3.14(p,J＝6.1Hz,1H)，2.67-2.51(m,1H)，2.00-1.81(m,3H)，1.64(th,J＝13.0,6.0Hz,2H)，1.34(dddd,J＝30.6,22.7,15.3,11.6Hz,2H)。

实施例6

6-氯-N-((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺的合成

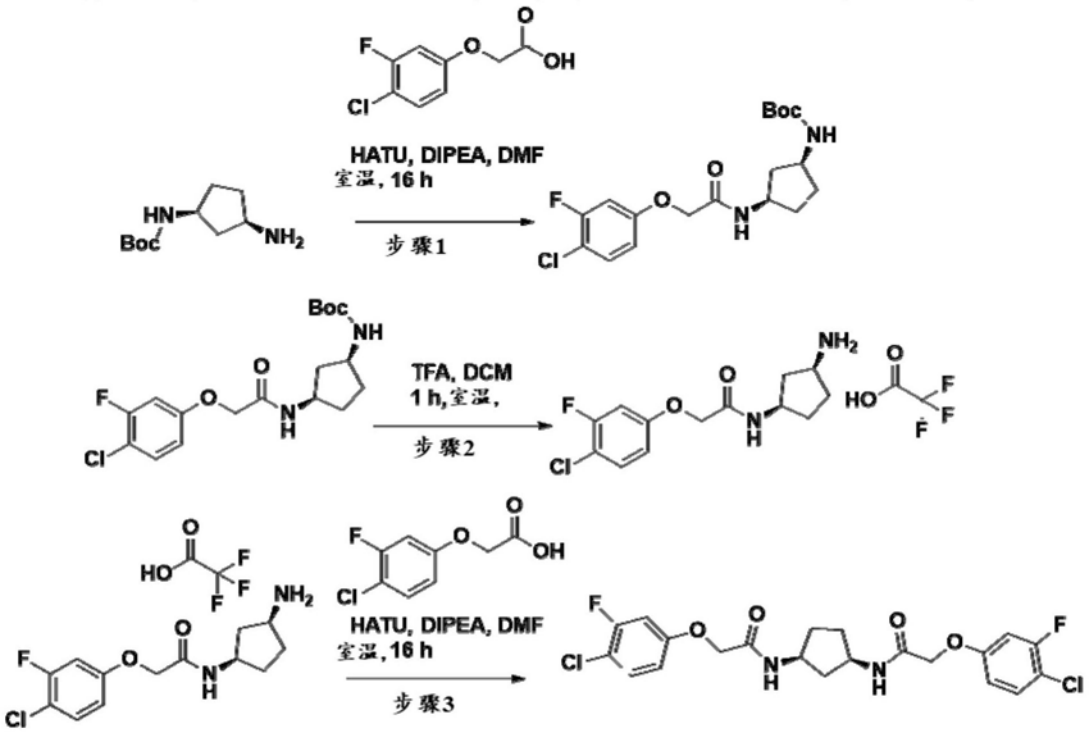


[0247] 向搅拌的在DMF(5ml)中的6-氯喹啉-2-甲酸(0.180g，0.87mmol，1.0当量)中添加1-(((1S,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.434g，1.044mmol，1.2当量)、HATU(0.496g，1.305mmol，1.5当量)和DIPEA(0.225g，

1.74mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(25mL)稀释并且用乙酸乙酯(40mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过反相HPLC纯化以获得呈灰白色固体的6-氯-N-((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺(化合物13-0.060g,14%)。LCMS 492.2[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ 8.72(d,J=8.2Hz,1H),8.53(d,J=8.6Hz,1H),8.24(d,J=2.5Hz,1H),8.17(dd,J=8.9,2.7Hz,2H),7.88(dd,J=9.0,2.5Hz,1H),7.45(t,J=8.9Hz,1H),7.07(dd,J=11.7,2.9Hz,1H),6.84(dd,J=9.2,2.9Hz,1H),5.04(s,1H),4.46(h,J=7.8Hz,1H),4.01(dt,J=9.8,3.2Hz,1H),3.88(dt,J=17.7,5.9Hz,2H),3.23(p,J=5.9,5.5Hz,1H),2.74-2.51(m,2H),2.04(tdd,J=20.0,9.5,5.7Hz,2H),1.82(q,J=6.7Hz,2H),1.62(dq,J=11.8,8.1Hz,1H),1.37(dt,J=15.3,7.2Hz,1H),1.23(s,1H)。

实施例7

N,N'-((1R,3S)-环戊烷-1,3-二基)双(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺)的合成



步骤-1:((1S,3R)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成:

[0248] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.202g,1.0mmol,1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加((1S,3R)-3-氨基环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.202g,1.0mmol,1.0当量)、HATU(0.57g,1.5mmol,1.0当量)和DIPEA(2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释,这产生了沉淀物。将所得固体滤出并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得呈白色固体的((1S,3R)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.32g,83.68%产率)。LCMS387.1[M+H]$^+$。

步骤-2:N-((1R,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐的合成:

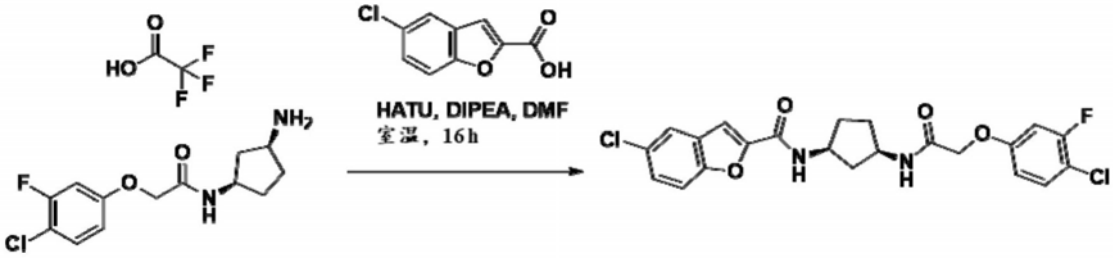
[0249] 向((1S,3R)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.32g,0.83mmol,1.0当量)在DCM(15ml)中的搅拌溶液中添加TFA(0.3ml)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将粗化合物通过在戊烷中并且然后在石油醚中结晶以获得呈灰白色固体的N-((1R,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.25g,75%产率)。LCMS287.1$[M+H]^+$。

步骤-3:N,N'-((1R,3S)-环戊烷-1,3-二基)双(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺)的合成:

[0250] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.126g,0.625mmol,1.0当量)在DMF(7ml)中的搅拌溶液中添加N-((1R,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.25g,0.625mmol,1.0当量)、HATU(0.36g,0.937mmol,1.5当量)和DIPEA(0.5mL,2.5mmol,4.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得呈白色固体的N,N'-((1R,3S)-环戊烷-1,3-二基)双(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺)(化合物15-0.17g,58%产率)。LCMS 473.1$[M+H]^+$.^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.19(d,J=7.0Hz,2H),7.49(t,J=8.8Hz,3H),7.05(d,J=2.6Hz,1H),7.08(d,J=2.6Hz,1H),6.85(dd,J=9.0,1.5Hz,3H),4.51(s,4H),4.05(d,J=6.6Hz,2H),2.09-2.27(m,2H),1.70-1.87(m,3H),1.60(d,J=5.3Hz,2H),1.33-1.49ppm(m,2H)。

实施例8

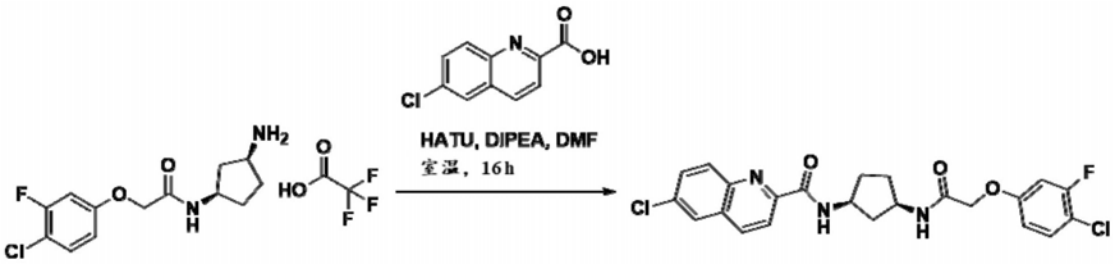
5-氯-N-((1S,3R)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



[0251] 向5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.070g,0.356mmol,1.0当量)在DMF(5ml)中的搅拌溶液中添加N-((1R,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.157g,0.391mmol,1.1当量)、HATU(0.203g,0.534mmol,1.5当量)和DIPEA(0.3mL,1.42mmol,4.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥并且用乙醚洗涤以获得呈白色固体的5-氯-N-((1S,3R)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物17-0.095g,57%产率)。LCMS 465.2$[M+H]^+$.^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.81(d,J=7.5Hz,1H),8.22(d,J=7.0Hz,1H),7.87(d,J=1.8Hz,1H),7.69(d,J=8.8Hz,1H),7.55-7.42(m,2H),7.09(dd,J=2.9,11.6Hz,1H),6.86(d,J=9.2Hz,1H),4.53(s,2H),4.33-4.16(m,1H),4.16-4.01(m,1H),2.39-2.22(m,1H),2.00-1.79(m,2H),1.74(d,J=8.3Hz,1H),1.70-1.51(m,2H)。

实施例9

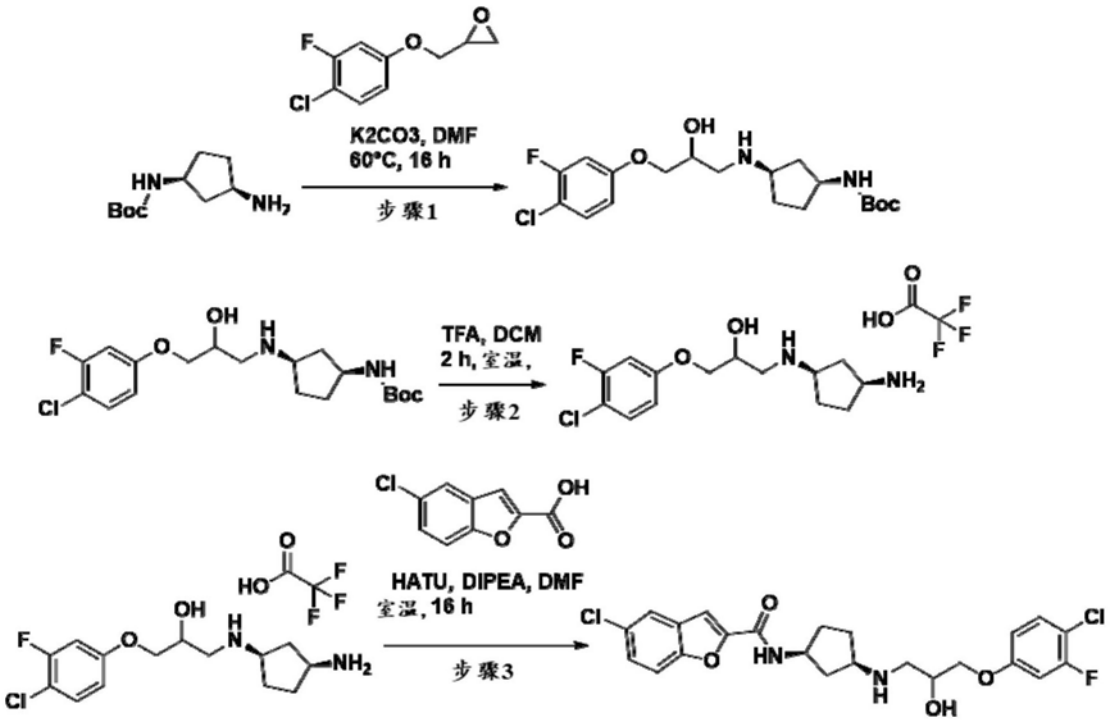
6-氯-N-((1S,3R)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺的合成



[0252] 向5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.070g,0.338mmol,1.0当量)在DMF(5ml)中的搅拌溶液中添加N-((1R,3S)-3-氨基环戊基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.148g,0.372mmol,1.1当量)、HATU(0.193g,0.534mmol,1.5当量)和DIPEA(0.25mL,1.352mmol,4.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥并且用乙醚洗涤以获得呈白色固体的6-氯-N-((1S,3R)-3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺(化合物19-0.080g,50%产率)。LCMS 476.2$[M+H]^+$.^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.91(d,J=7.9Hz,1H),8.55(d,J=8.8Hz,1H),8.36-8.23(m,1H),8.23-8.07(m,2H),7.88(dd,J=2.4,9.0Hz,1H),7.48(t,J=8.8Hz,1H),7.08(dd,J=2.6,11.4Hz,1H),6.86(d,J=9.2Hz,1H),4.55(s,2H),4.32(dd,J=6.8,14.7Hz,1H),4.20-4.02(m,1H),2.38-2.23(m,2H),2.01-1.73(m,3H),1.73-1.57(m,2H)。

实施例10

5-氯-N-((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



步骤-1:((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成:

[0253] 向((1S,3R)-3-氨基环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.2g,1mmol,1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(0.27g,1mmol,2.0当量),然后添加2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(0.2g,2mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在60℃下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得呈白色固体的((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.29g,72%产率)。LCMS 403.2$[M+H]^+$。

步骤-2:1-(((1R,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐的合成:

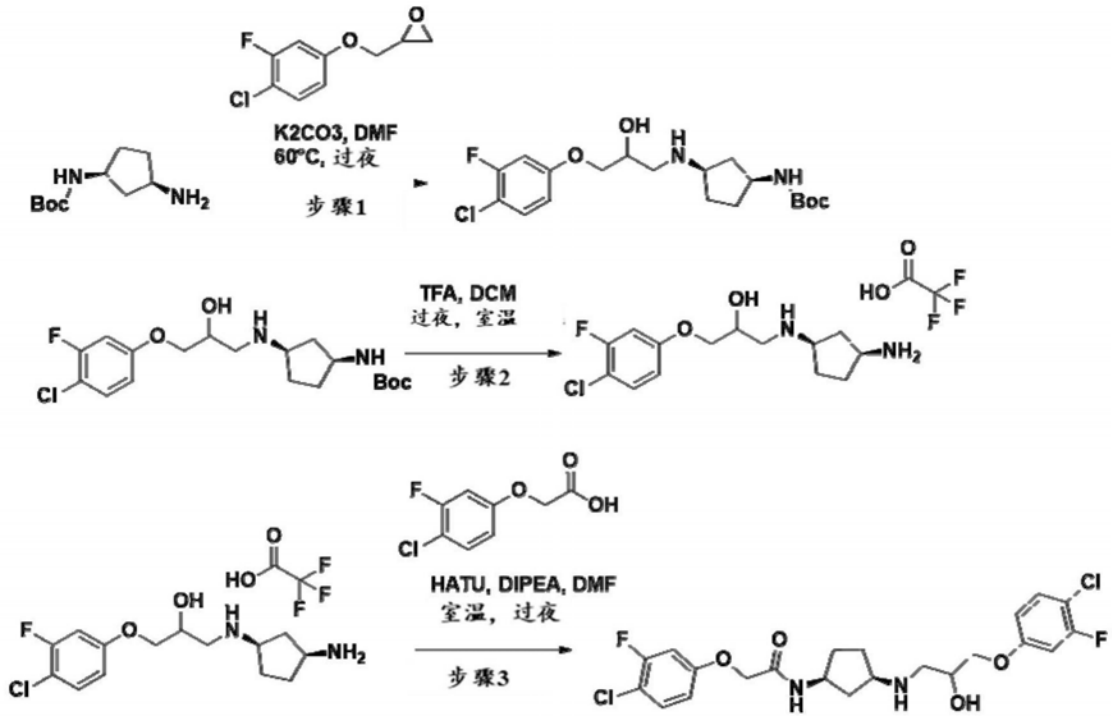
[0254] 向((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.29g,0.721mmol,1.0当量)在DCM(10ml)中的搅拌溶液中添加TFA(0.5ml)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS和NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以获得呈黄色半固体的1-(((1R,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.3g,100%产率)。LCMS 303.1$[M+H]^+$。

步骤-3:5-氯-N-((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成:

[0255] 向5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.095g,0.480mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加1-(((1R,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.2g,0.480mmol,1.0当量)、HATU(0.274g,0.72mmol,1.5当量)和DIPEA(0.4mL,mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过combiflash色谱法纯化(在DCM中的10%MeOH,作为洗脱液)以获得呈白色固体的5-氯-N-((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物21-0.070g,30%产率)。LCMS 481.2$[M+H]^+$.^{1}H NMR(DMSO-d_6,400MHz)δ8.82(d,J=7.5Hz,1H),7.86(s,1H),7.67(d,J=8.8Hz,1H),7.33-7.56(m,3H),7.02-7.13(m,1H),6.84(d,J=8.8Hz,1H),4.26(br.s.,1H),3.86-4.12(m,3H),3.45(br.s.,1H),2.99(br.s.,1H),2.87(br.s.,1H),1.84-2.06(m,2H),1.77(br.s.,2H),1.65ppm(br.s.,1H)。

实施例11

2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)乙酰胺的合成



步骤-1:((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0256] 向((1S,3R)-3-氨基环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.2g,1mmol,1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(0.27g,1mmol,2.0当量),然后添加2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(0.2g,2mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在60℃下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得呈白色固体的((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.29g,72%产率)。LCMS 403.2$[M+H]^+$

步骤-2:1-(((1R,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐的合成

[0257] 向((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.29g,0.721mmol,1.0当量)在DCM(10ml)中的搅拌溶液中添加TFA(0.5ml)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS和NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以获得呈黄色半固体的1-(((1R,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.300g,100%产率)。LCMS 303.1$[M+H]^+$

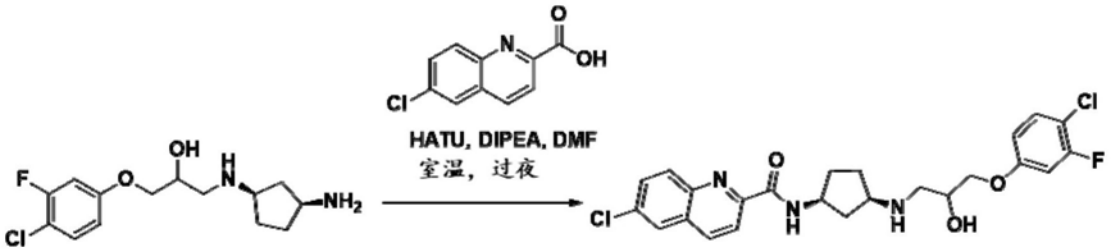
步骤-3:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)乙酰胺的合成

[0258] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.2g,0.47mmol,1.0当量)在DMF(5ml)中的搅拌溶液中添加1-(((1R,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.09g,0.479mmol,1.0当量)、HATU(0.364g,0.95mmol,2.0当量)和DIPEA(0.1mL,0.958mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(25mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将所获得的粗材料通过反相HPLC纯化以获得呈灰白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯

氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)乙酰胺(化合物2-0.047g,20%产率)。LCMS 489.2[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.14(d,J=7.45Hz,1H)7.33-7.51(m,2H)6.95-7.10(m,2H)6.75-6.88(m,2H)4.47(s,2H)4.13(br.s.,1H)3.98(br.s.,1H)3.89(d,J=7.89Hz,2H)3.11(br.s.,2H)2.67(br.s.,1H)2.02(br.s.,1H)1.79(d,J=6.14Hz,2H)1.54(d,J=5.70Hz,2H)1.35(br.s.,2H)。

实施例12

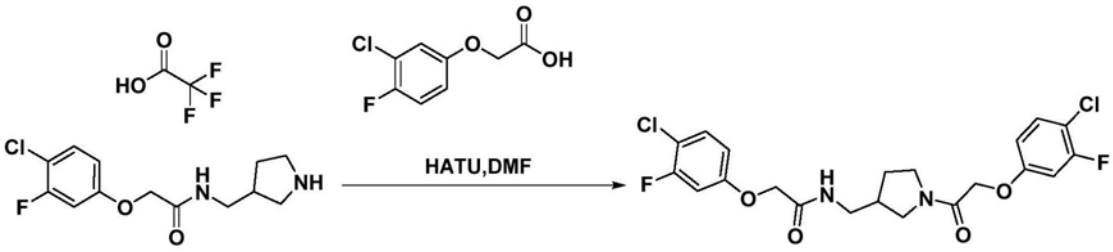
6-氯-N-((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺的合成



[0259] 向6-氯喹啉-2-甲酸(0.050g,0.242mmol,1.0当量)在DMF(3ml)中的搅拌溶液中添加1-(((1R,3S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.100g,0.242mmol,1.0当量)、HATU(0.138g,0.363mmol,1.5当量)和DIPEA(0.125g,0.968mmol,4.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(25mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将所获得的粗材料通过反相HPLC纯化以获得呈灰白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1S,3R)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)乙酰胺(化合物3-0.020g,16%产率)。LCMS 492.3[M+H]$^+$.^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.11(br.s.,1H),8.52(dd,J=4.2,8.6Hz,1H),8.24-8.11(m,1H),8.11-7.99(m,1H),7.86-7.71(m,1H),7.35(br.s.,1H),6.76-6.57(m,1H),4.42(br.s.,1H),4.17-3.90(m,3H),2.91-2.67(m,2H),1.98-1.87(m,1H),1.83(d,J=7.0Hz,1H),1.75(br.s.,2H)。

实施例13

2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成

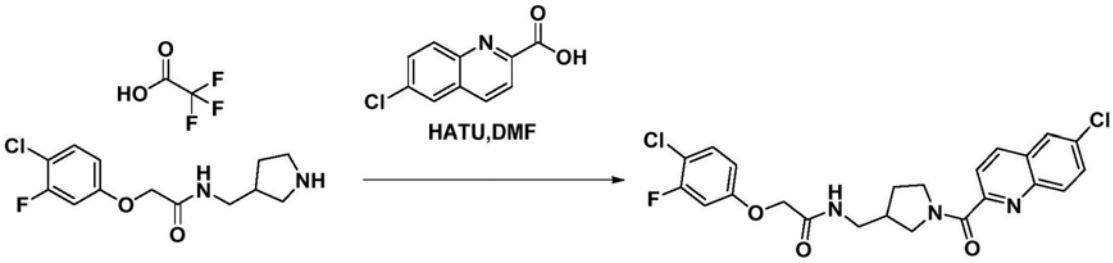


[0260] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.35g,0.875mmol,1.0当量)在DMF(5ml)中的搅拌溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.35g,0.875mmol,1.0当量)、HATU(0.5g,1.31mmol,1.5当量)和DIPEA(0.6mL,3.52mmol,4.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×4)洗涤。将有

机层经无水硫酸钠干燥，过滤并且浓缩。将所获得的粗材料通过反相HPLC纯化以获得呈白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺(化合物4-0.170g，41％产率)。LCMS 473.1[M+H]$^+$；^{1}H NMR(DMSO-d_6，400MHz)δ 8.29(d，J＝7.9Hz，1H)，7.39-7.54(m，2H)，6.95-7.14(m，2H)，6.75-6.92(m，2H)，4.69-4.84(m，2H)，4.55(d，J＝4.4Hz，2H)，3.39-3.60(m，3H)，3.12-3.29(m，3H)，3.02(dd，J＝12.3，7.0Hz，1H)，2.20-2.36(m，2H)，1.96(d，J＝6.6Hz，1H)，1.86(d，J＝6.1Hz，1H)，1.65(br.s.，1H)，1.55ppm(br.s.，1H)。

实施例14

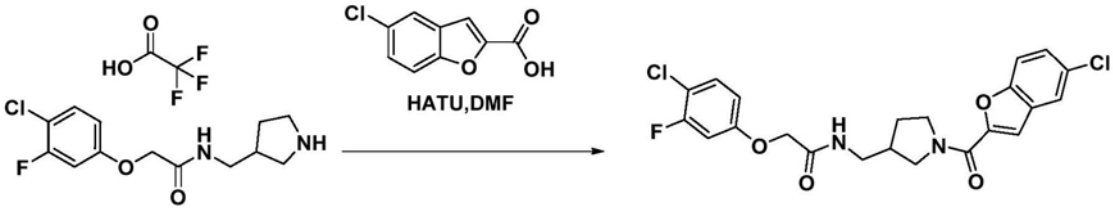
2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(6-氯喹啉-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成



[0261] 向6-氯喹啉-2-甲酸(1.0当量)在DMF(4ml)中的搅拌溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(1.2当量)、HATU(1.5当量)和DIPEA(2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释并且形成沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤，在真空下干燥以获得2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(6-氯喹啉-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺(化合物5)。

实施例15

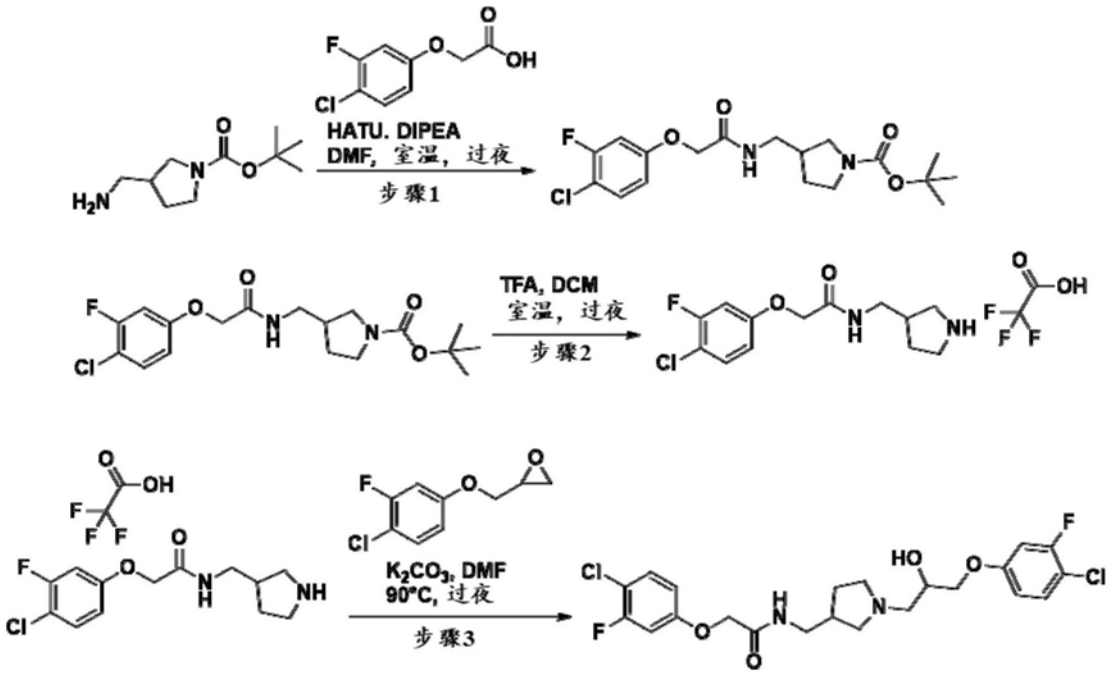
2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成



[0262] 向6-氯苯并呋喃-2-甲酸(1.0当量)在DMF(4ml)中的搅拌溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(1.2当量)、HATU(1.5当量)和DIPEA(2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释并且形成沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤，在真空下干燥以获得2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺(化合物6)。

实施例16

2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成



步骤-1:3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯的合成

[0263] 在室温下向3-(氨基甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1000mg,5.0mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(1025mg,5.0mmol,1.0当量)和HATU(3800mg,10.0mmol,2.0当量)。将所得反应混合物搅拌10min,添加DIPEA(2.59mL,15.0mmol,3.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并且浓缩以获得呈黄色半固体的3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1000mg,51%产率)。LCMS 387.1$[M+H]^+$

步骤-2:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐的合成

[0264] 向3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1000mg,2.58mmol,1.0当量)在DCM(15mL)中的搅拌溶液中添加TFA(5mL)。将所得反应混合物在氮气气氛下在室温下搅拌过夜。通过TLC和LCMS监测反应。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以获得呈棕色半固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(800mg,77%产率)。LCMS 287.1$[M+H]^+$

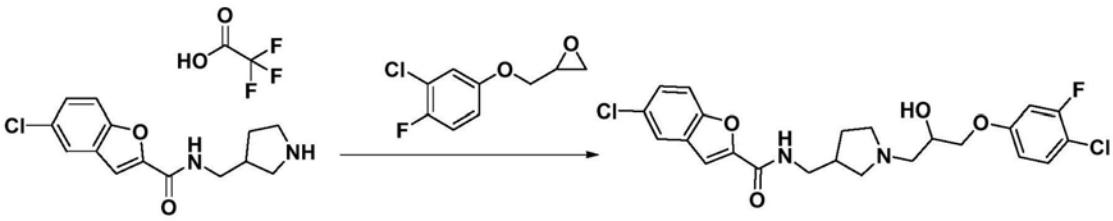
步骤-3:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成

[0265] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(800mg,2.08mmol,1.0当量)的搅拌溶液中添加在DMF(5mL)中的2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(424mg,2.08mmol,1.0当量),添加K_2CO_3(575mg,4.16mmol,2.0当量)。将所得反应混合物在90℃下加热过夜。通过TLC和LCMS监测反应。反应完成后,将反应混合物用水(200mL)稀释并且用EtOAc(200mL)萃取并且用水和盐水溶液(2×150mL)洗涤并且经无水硫酸钠干燥并且在减压下浓缩以获得粗品,将所述粗品通过反相HPLC纯化以获得呈淡黄色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)

乙酰胺(化合物7-200mg,20%产率)。LCMS 489.3[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.21(br.s.,1H)7.35-7.57(m,2H)7.03(s,1H)7.06(s,1H)6.83(br.s.,2H)4.53(s,2H)4.00(d,J=7.89Hz,1H)3.91(d,J=7.45Hz,2H)3.35(br.s.,2H)3.06-3.20(m,2H)2.74(br.s.,4H)2.34(br.s.,1H)1.84(br.s.,1H)1.45(br.s.,1H)。

实施例17

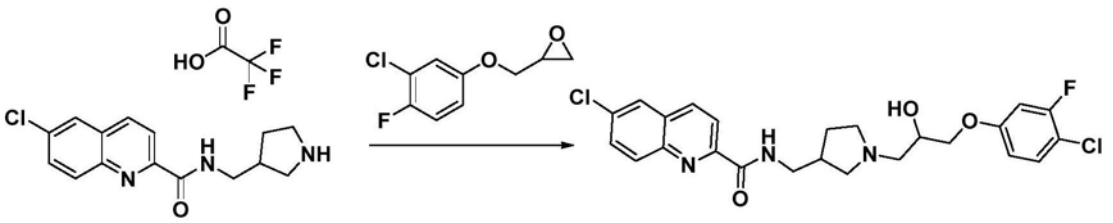
5-氯-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



[0266] 向5-氯-N-(吡咯烷-3-基甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(2.0当量),然后添加2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(1.0当量)。允许将反应混合物在60℃下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得5-氯-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物8)。

实施例18

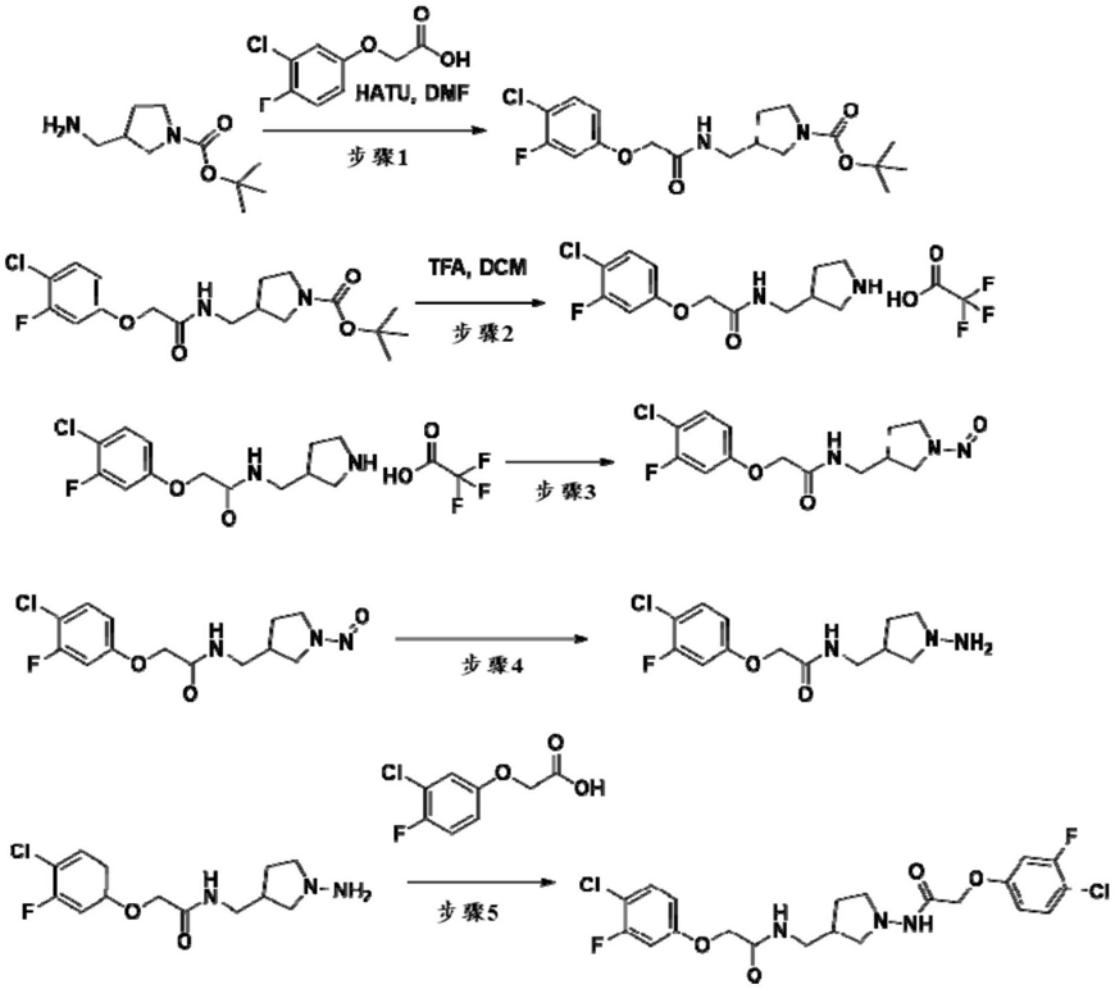
6-氯-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)喹啉-2-甲酰胺的合成



[0267] 向6-氯-N-(吡咯烷-3-基甲基)喹啉-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(2.0当量),然后添加2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(1.0当量)。允许将反应混合物在60℃下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释并且形成沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得6-氯-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)喹啉-2-甲酰胺(化合物9)。

实施例19

2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺的合成



步骤-1:3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯：

[0268] 在室温下向3-(氨基甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(1.0当量)和HATU(2.0当量)。将所得反应混合物搅拌10分钟并且添加DIPEA(3.00当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(20mL×4)洗涤，经无水硫酸钠干燥并且浓缩以获得3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯。

步骤-2:2 2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐的合成：

[0269] 向3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(2.5mmol)在DCM(15mL)中的搅拌溶液中添加TFA(1mL)。将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过NMR波谱法监测反应进程。反应完成后，将反应混合物在减压下浓缩以获得2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐。

步骤-3:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-亚硝基吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺：

[0270] 在室温下向2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(1.0当量)在水(30mL)中的搅拌溶液中添加乙酸(10mL)和亚硝酸钠(4.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且形成沉淀物。将所得固体滤出，用水(20mL×4)洗涤并且在真空下干燥以获得2-(4-氯-3-氟

苯氧基)-N-((1-亚硝基吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺。

步骤-4:N-((1-氨基吡咯烷-3-基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺:

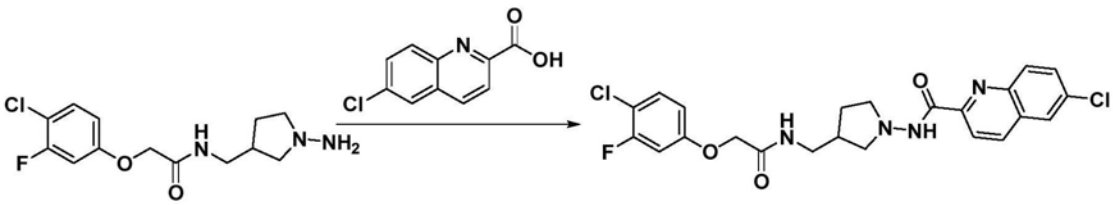
[0271] 在室温下向2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-亚硝基吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺(1.0当量)在水(5mL)中的溶液中添加乙酸(1mL)和Zn粉(10.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物通过Celite®过滤。将所得滤液通过液氨碱化并且用乙酸乙酯(50mL×2)萃取。将合并的有机层用水(20mL×4)洗涤,经无水硫酸钠干燥并且浓缩以获得N-((1-氨基吡咯烷-3-基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺。

步骤-5:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺的合成:

[0272] 在室温下向N-((1-氨基吡咯烷-3-基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺(1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加2-(3-氯-4-氟苯氧基)乙酸(1.0当量)和HATU(2.0当量)。将所得反应混合物搅拌10分钟并且添加DIPEA(3.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(50mL×2)萃取。将合并的有机层用水(20mL×4)洗涤,经无水硫酸钠干燥并且浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化以获得2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺(化合物10)。

实施例20

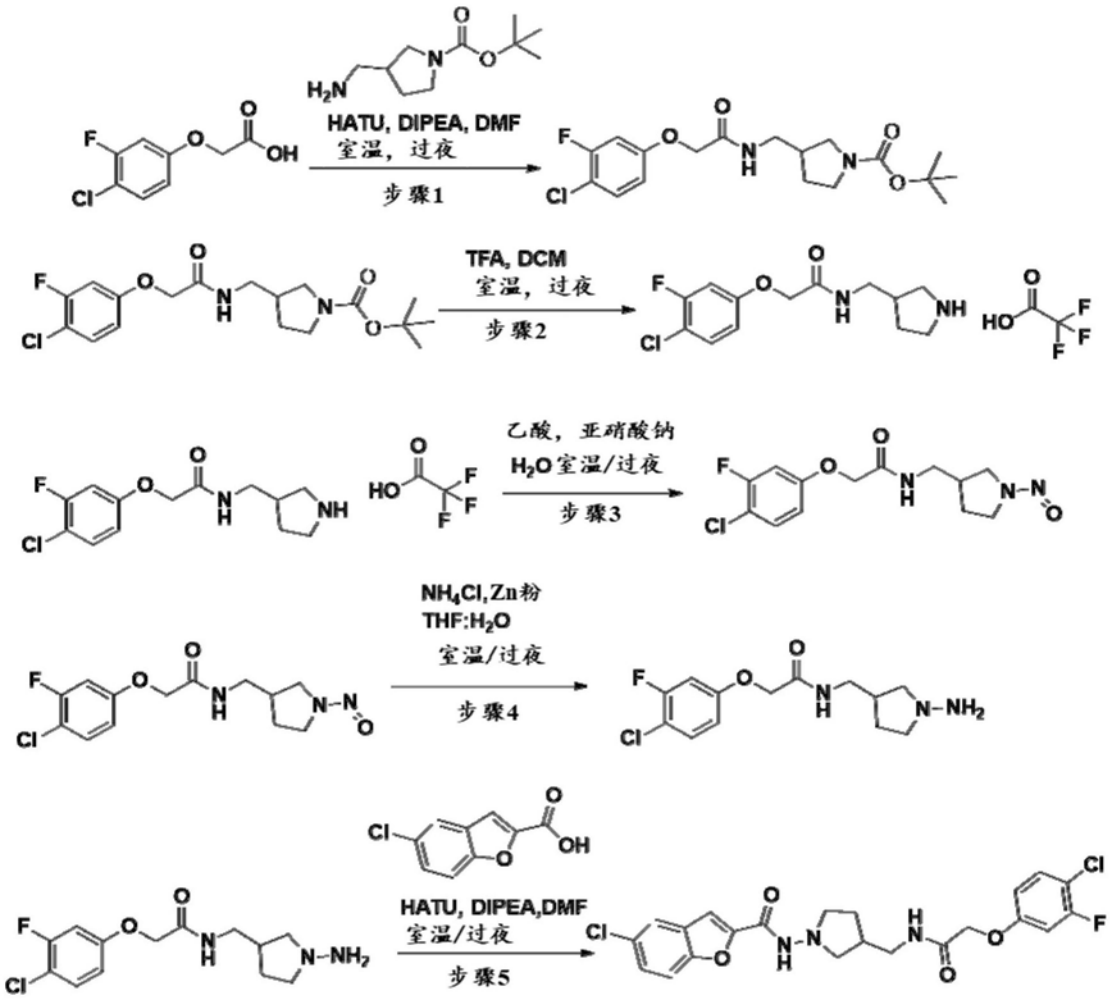
6-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)喹啉-2-甲酰胺的合成



[0273] 在室温下向N-((1-氨基吡咯烷-3-基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺(1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加6-氯喹啉-2-甲酸(1.0当量)和HATU(2.0当量)。将所得反应混合物搅拌10分钟并且添加DIPEA(3.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(50mL×2)萃取。将合并的有机层用水(20mL×4)洗涤,经无水硫酸钠干燥并且浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化以获得6-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)喹啉-2-甲酰胺(化合物11)。

实施例21

5-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



步骤-1:3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯的合成

[0274] 在室温下向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(1000mg,4.9mmol,1.0当量)在DMF(10ml)中的溶液中添加3-(氨基甲基)吡咯烷-1-甲酸酯(990mg,4.9mmol,1.0当量)和HATU(3700mg,9.9mmol,2.0当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加DIPEA(1.6mL,9.9mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(100mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(100mL×3)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩。其获得3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(2300mg,呈粘性黄色固体)。LCMS 386.14$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.25(br.s.,1H),7.45-7.51(m,1H),7.06(d,J=11.40Hz,1H),6.85(d,J=8.33Hz,1H),4.54(s,2H),3.11-3.20(m,2H),2.89(s,2H),2.65-2.78(m,3H),1.83(br.s.,1H),1.51(d,J=9.21Hz,1H),1.38(s,9H)。

步骤-2:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺三氟乙酸盐的合成

[0275] 在室温下向3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(2300mg,5.95mmol,1.0当量)在DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加TFA(2mL)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。在减压下除去DCM和过量TFA以获得呈黄色半固体的作为三氟乙酸盐的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺(定量产率)。LCMS 287.2$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.33(t,J=5.70Hz,1H),7.50(t,J=8.77Hz,1H),7.07(dd,J=2.85,11.18Hz,1H),6.85(dd,J=2.63,8.77Hz,1H),4.55(s,2H),3.38(q,J=7.02Hz,1H),

3.04-3.26(m,4H),2.75-2.90(m,2H),2.73(s,1H),1.89-2.02(m,1H),1.58(dd,J＝8.11,12.94Hz,1H)。

步骤-3:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-亚硝基吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成

[0276] 在室温下向作为三氟乙酸盐的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(吡咯烷-3-基甲基)乙酰胺(1800mg,4.5mmol,1.0当量)在水(20mL)中的溶液中添加乙酸(15mL)和亚硝酸钠(1200mg,18.0mmol,4.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(100mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水、盐水和NaHCO3(100mL×3)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩以获得呈黄色半固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-亚硝基吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺(1000mg,75%产率)。LCMS 316.0[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ8.32(d,J＝17.98Hz,1H),7.48-7.54(m,1H),6.98-7.13(m,1H),6.78-6.88(m,1H),4.56(d,J＝6.14Hz,2H),4.28-4.41(m,1H),4.15(br.s.,1H),3.93(br.s.,1H),3.54-3.64(m,1H),3.41(d,J＝7.45Hz,1H),3.10-3.22(m,2H),1.98-2.06(m,1H),1.64-1.76(m,1H)。

步骤-4:N-((1-氨基吡咯烷-3-基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺的合成

[0277] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-亚硝基吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺(500mg,1.58mmol,1.0当量)在THF:H2O(07:10mL)中的搅拌溶液中分批添加NH_4Cl(1370mg,25.39mmol,16.0当量)以及然后Zn粉(872mg,12.64mmol,8.0当量)。添加后,将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用水(100mL)稀释并且在硅藻土床上滤出,并且将滤液用DCM(100mL×2)萃取。将有机层分离并且经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩,以获得呈黄色半固体的N-((1-氨基吡咯烷-3-基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺(250mg)。LCMS 302.1[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.19(br.s.,1H),7.49(t,J＝8.99Hz,1H),7.06(td,J＝3.07,11.40Hz,1H),6.80-6.90(m,1H),4.45-4.57(m,2H),3.07-3.20(m,2H),2.70-2.86(m,2H),2.24-2.32(m,1H),1.71-1.86(m,4H),1.30-1.48(m,2H)。

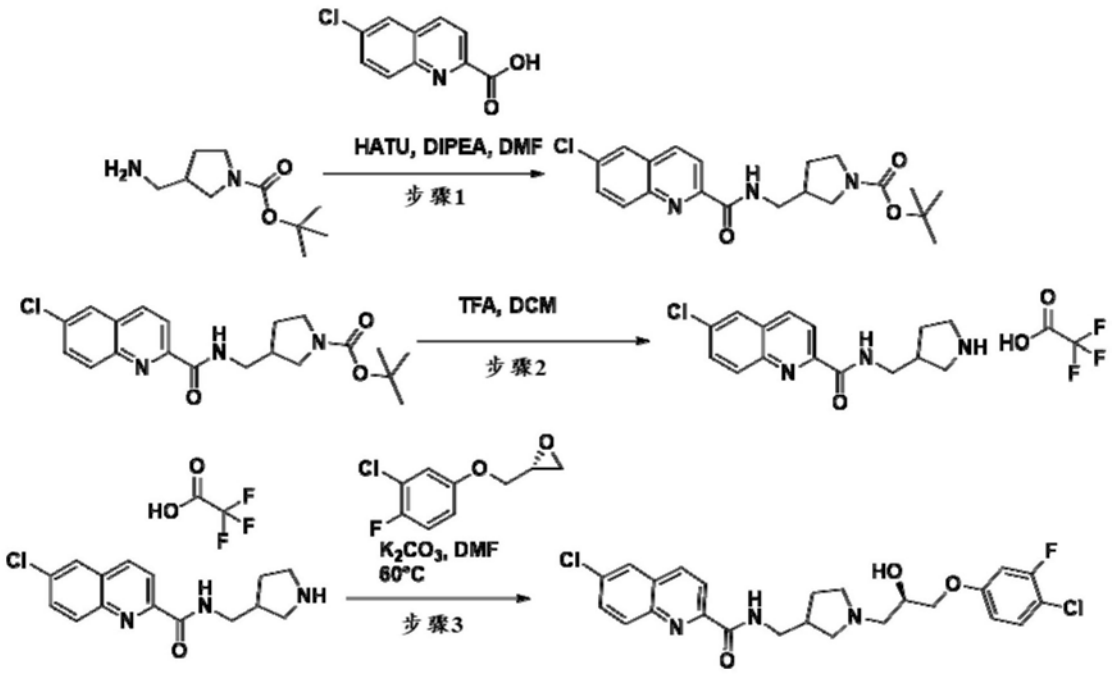
步骤-5:5-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)苯并呋喃-2-甲酰胺)的合成

[0278] 在室温下向N-((1-氨基吡咯烷-3-基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺(125mg,0.41mmol,1.0当量)在DMF(05mL)中的溶液中添加5-氯苯并呋喃-2-甲酸(80mg,0.41mmol,1.0当量)和HATU(313mg,0.82mmol,2.0当量)。将所得反应混合物搅拌10分钟;添加DIPEA(0.15mL,0.82mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩。将粗产物通过反向HPLC纯化为呈白色固体的5-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物12-25mg,12%产率)。LCMS 480.2[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.77(s,1H),8.25(br.s.,1H),7.87(d,J＝1.75Hz,1H),7.69(d,J＝8.77Hz,1H),7.42-7.55(m,2H),7.07(dd,J＝2.63,11.40Hz,1H),6.86(d,J＝7.45Hz,1H),4.54(s,2H),3.16(br.s.,2H),2.85-3.07(m,3H),2.09(s,1H),1.91(br.s.,2H),1.48(br.s.,2H)。

实施例22

6-氯-N-((1-((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)喹啉-2-

甲酰胺的合成



步骤-1:3-((6-氯喹啉-2-甲酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯的合成

[0279] 向6-氯喹啉-2-甲酸(0.510g,2.5mmol,1.0当量)在DMF(5ml)中的搅拌溶液中添加3-(氨基甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.50g,2.5mmol,1.0当量)、HATU(1.4g,3.75mmol,1.5当量)和DIPEA(0.2mL,1.0mmol,4.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且浓缩以获得粗品。将粗材料通过快速色谱法纯化(在DCM中的5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈黄色半固体的3-((6-氯喹啉-2-甲酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.9g,93%产率)。LCMS 390.2[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.11(br.s.,1H),8.55(d,J=8.8Hz,1H),8.32-8.09(m,3H),7.89(dd,J=2.2,9.0Hz,1H),3.37(d,J=6.8Hz,2H),3.22(d,J=8.3Hz,1H),3.04(dd,J=7.1,10.5Hz,1H),1.91(br.s.,1H),1.64(d,J=6.8Hz,1H),1.38(s,9H)。

步骤-2:6-氯-N-(吡咯烷-3-基甲基)喹啉-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐的合成

[0280] 向3-((6-氯喹啉-2-甲酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.9g,1.036mmol,1.0当量)在DCM(10ml)中的搅拌溶液中添加TFA(0.5ml)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以获得呈棕色油状物的6-氯-N-(吡咯烷-3-基甲基)喹啉-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.9g,96%产率)。LCMS 290.2[M+H]$^+$

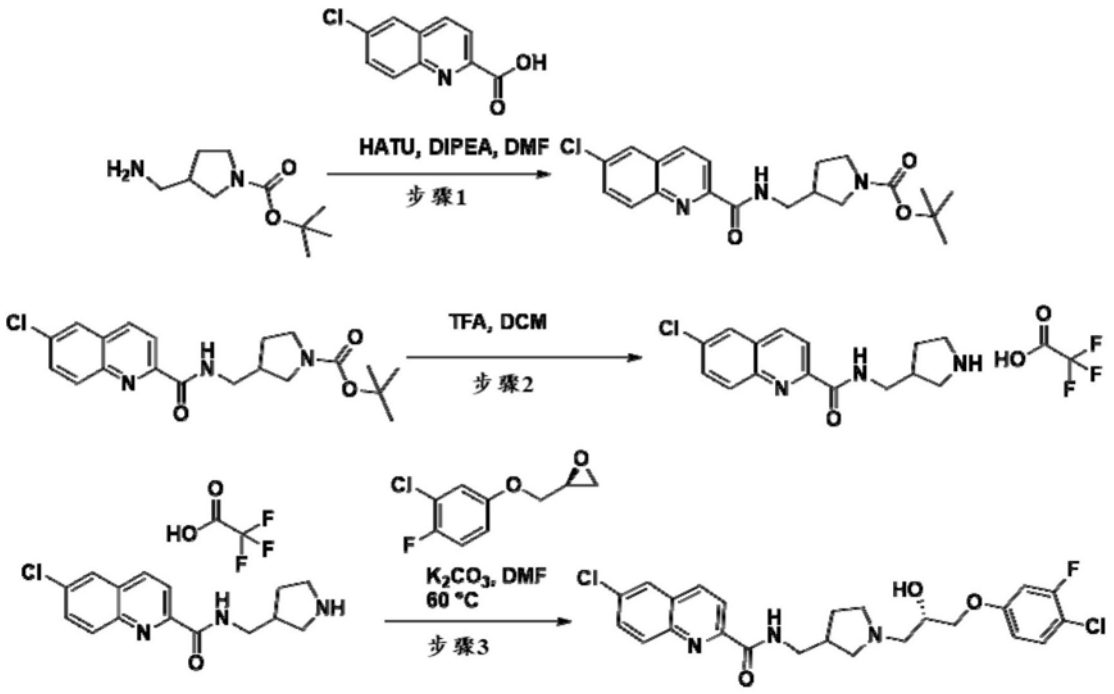
步骤-3:6-氯-N-((1-((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)喹啉-2-甲酰胺的合成

[0281] 向6-氯-N-(吡咯烷-3-基甲基)喹啉-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.2g,0.49mmol,1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(0.135g,0.98mmol,1.0当量),然后添加(R)-2-((3-氯-4-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(0.1g,0.49mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在60℃下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠

干燥，过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过combiflash色谱法纯化(在DCM中的5％MeOH，作为洗脱液)以获得呈黄色半固体的6-氯-N-((1-((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)喹啉-2-甲酰胺(化合物80-0.05g，21％产率)。LCMS 492.3[M+H]$^+$；^{1}H NMR(DMSO-d_6，400MHz)δ9.05(d，J＝8.8Hz，1H)，8.53(dd，J＝8.8，1.8Hz，1H)，8.23(d，J＝1.8Hz，1H)，8.16-8.21(m，1H)，8.06-8.16(m，1H)，7.85(dd，J＝9.0，2.4Hz，1H)，7.36-7.49(m，1H)，6.95-7.10(m，1H)，6.70-6.84(m，1H)，4.91-5.06(m，1H)，4.68(t，J＝5.7Hz，1H)，3.98-4.06(m，1H)，3.82-3.96(m，2H)，3.36(d，J＝6.1Hz，1H)，2.67(br.s.，2H)，1.88(br.s.，2H)，1.52(br.s.，2H)。

实施例23

6-氯-N-((1-((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)喹啉-2-甲酰胺的合成



步骤-1:3-((6-氯喹啉-2-甲酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯的合成

[0282] 向6-氯喹啉-2-甲酸(0.510g，2.5mmol，1.0当量)在DMF(5ml)中的搅拌溶液中添加3-(氨基甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.50g，2.5mmol，1.0当量)、HATU(1.4g，3.75mmol，1.5当量)和DIPEA(0.2mL，1.0mmol，4.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥，过滤并且浓缩以获得粗品。将粗材料通过快速色谱法纯化(在DCM中的5％MeOH，作为洗脱液)以获得呈黄色半固体的3-((6-氯喹啉-2-甲酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.9g，93％产率)。LCMS 390.2[M+H]$^+$；^{1}H NMR(400MHz，DMSO-d_6)δ9.11(br.s.，1H)，8.55(d，J＝8.8Hz，1H)，8.32-8.09(m，3H)，7.89(dd，J＝2.2，9.0Hz，1H)，3.37(d，J＝6.8Hz，2H)，3.22(d，J＝8.3Hz，1H)，3.04(dd，J＝7.1，10.5Hz，1H)，1.91(br.s.，1H)，1.64(d，J＝6.8Hz，1H)，1.38(s，9H)。

步骤-2:6-氯-N-(吡咯烷-3-基甲基)喹啉-2-甲酰胺2，2，2-三氟乙酸盐的合成

[0283] 向3-((6-氯喹啉-2-甲酰胺基)甲基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.9g，1.036mmol，1.0

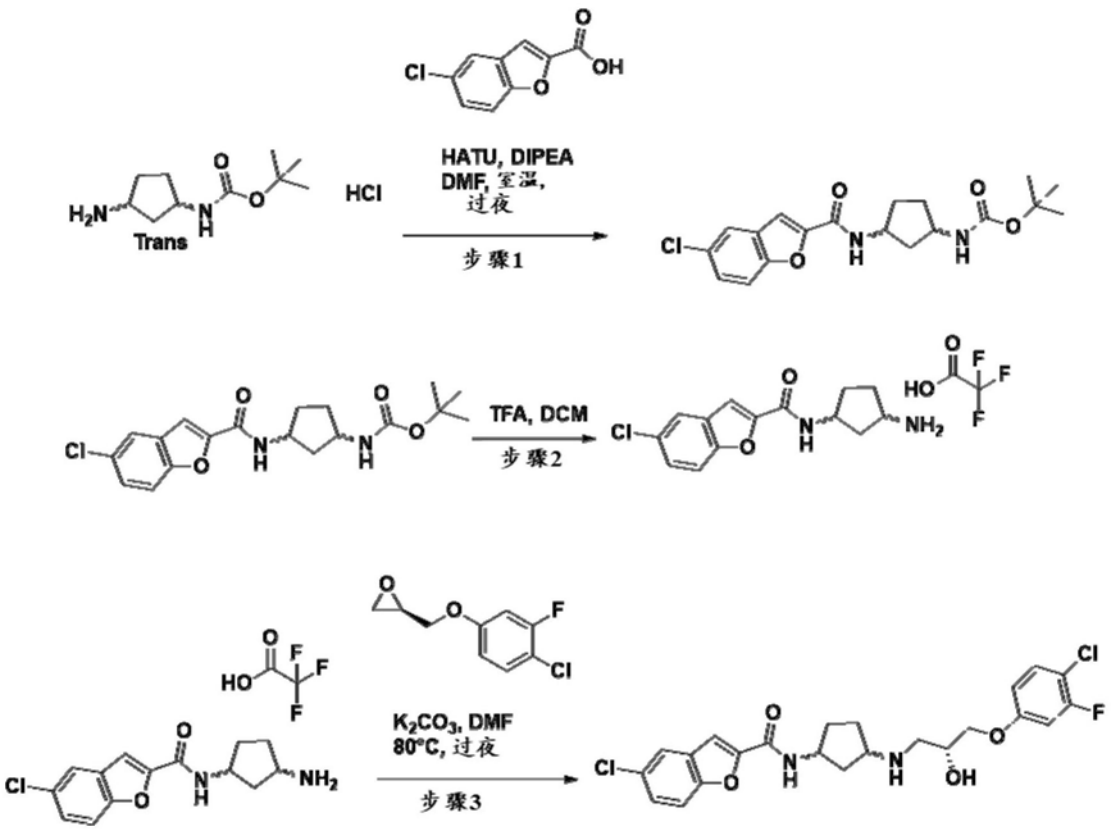
当量)在DCM(10ml)中的搅拌溶液中添加TFA(0.5ml)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以获得呈棕色油状物的6-氯-N-(吡咯烷-3-基甲基)喹啉-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.9g,96%产率)。LCMS 290.2[M+H]$^+$

步骤-3:6-氯-N-((1-((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)喹啉-2-甲酰胺的合成

[0284] 向6-氯-N-(吡咯烷-3-基甲基)喹啉-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.2g,0.49mmol,1.0当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(0.135g,0.98mmol,1.0当量),然后添加(S)-2-((3-氯-4-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(0.1g,0.49mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在60℃下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过快速色谱法纯化(在DCM中的5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈黄色半固体的6-氯-N-((1-((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)喹啉-2-甲酰胺(化合物81-0.05g,21%产率)。LCMS 492.3[M+H]$^+$;^{1}H NMR(DMSO-d_6,400MHz)δ9.05(br.s.,1H),8.53(d,J=7.0Hz,1H),8.23(s,1H),8.17-8.21(m,1H),8.07-8.17(m,1H),7.80-7.92(m,1H),7.41(br.s.,1H),7.01(d,J=7.9Hz,1H),6.79(br.s.,1H),4.91(br.s.,2H),4.02(d,J=7.9Hz,1H),3.91(br.s.,2H),1.91(br.s.,2H),1.51(br.s.,2H),1.35(s,1H),1.23ppm(br.s.,2H)。

实施例24

5-氯-N-(3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



步骤-1:(3-(5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0285] 在室温下向(3-氨基环戊基)氨基甲酸叔丁酯盐酸盐(1000mg,4.2mmol,1.0当量)在DMF(05mL)中的溶液中添加5-氯苯并呋喃-2-甲酸(834mg,4.2mmol,1.0当量)和HATU(834mg,8.4mmol,2.0当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加DIPEA(2.2mL,12.6mmol,3.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用水(200mL)稀释,并且将沉淀的固体滤出并且在真空下干燥以获得呈灰白色固体的(3-(5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(1200mg,75%产率)。LCMS 379.1$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.74(d,J=7.45Hz,1H),7.87(d,J=2.19Hz,1H),7.69(d,J=8.77Hz,1H),7.35-7.60(m,2H),6.99(d,J=7.02Hz,1H),4.24(dd,J=7.67,15.13Hz,1H),3.79(d,J=6.58Hz,1H),2.69-2.82(m,1H),2.23-2.33(m,1H),1.87(dd,J=5.26,12.28Hz,1H),1.77(dd,J=6.36,12.06Hz,1H),1.51-1.72(m,2H),1.28-1.51(m,9H)。

步骤-2:N-(3-氨基环戊基)-5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐的合成

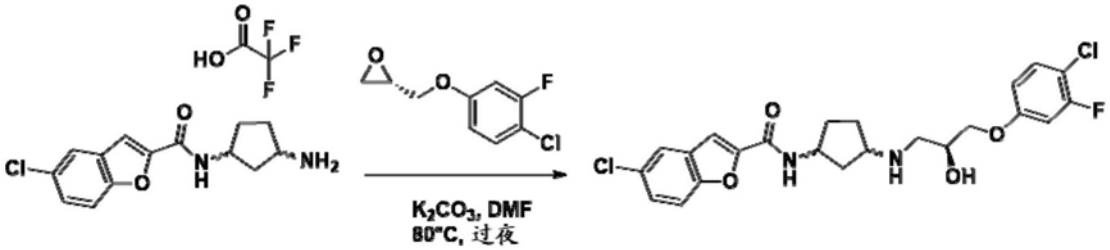
[0286] 在室温下向(3-(5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(500mg,1.31mmol,1.0当量)在DCM(15mL)中的搅拌溶液中添加TFA(5mL)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。将DCM和过量TFA在减压下除去以获得呈粘性固体的N-(3-氨基环戊基)-5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(300mg,100%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.82(d,J=7.45Hz,1H),7.89(d,J=2.19Hz,2H),7.70(d,J=8.77Hz,1H),7.44-7.61(m,2H),4.20-4.30(m,1H),3.34(m,1H),2.29-2.39(m,2H),1.91-2.02(m,2H),1.70-1.82(m,2H)。

步骤-3:5-氯-N-(3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成。

[0287] 向N-(3-氨基环戊基)-5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(100mg,0.26mmol,1.0当量)在DMF(05ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(72mg,0.52mmol,2.0当量),然后添加(R)-2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(54mg,0.26mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在80℃下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(100mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL)萃取。将合并的有机层用盐水和$NaHCO_3$(100mL×2)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过正向快速色谱法纯化(在DCM中的0-5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈白色固体的5-氯-N-(3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物82-40mg,32%)。LCMS 481.2$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.79-8.86(m,1H)7.84(br.s.,1H)7.62-7.70(m,1H)7.36-7.57(m,3H)7.04(t,J=10.96Hz,1H)6.82(d,J=8.33Hz,1H)4.28(br.s.,1H)4.03(d,J=5.70Hz,1H)3.95(br.s.,2H)3.20(br.s.,1H)2.73(br.s.,1H)2.12(br.s.,2H)1.86(br.s.,2H)1.70(br.s.,2H)1.60(br.s.,2H)。

实施例25

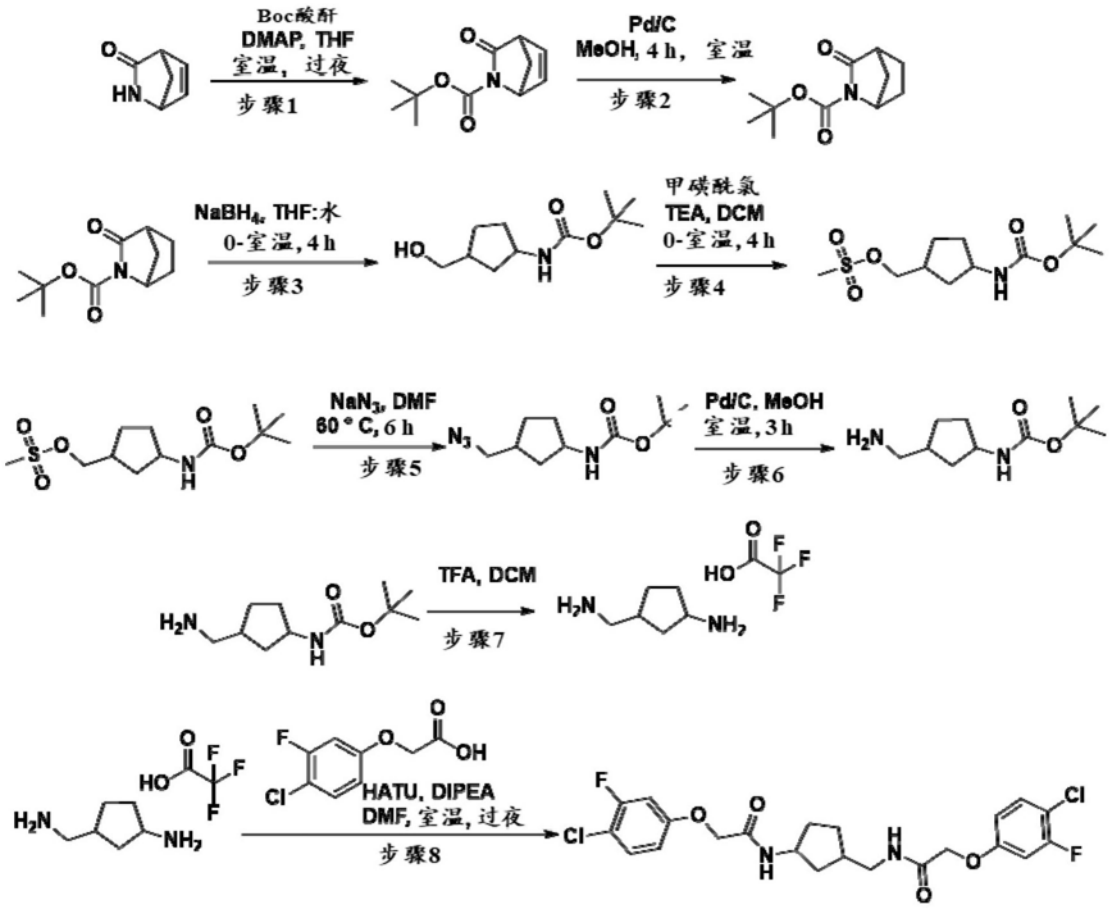
5-氯-N-(3-(((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



[0288] 向N-(3-氨基环戊基)-5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(100mg,0.26mmol,1.0当量)在DMF(05ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(72mg,0.52mmol,2.0当量),然后添加(S)-2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(54mg,0.26mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在80℃下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(100mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL)萃取。将合并的有机层用盐水和$NaHCO_3$(100mL×2)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过正向快速色谱法纯化(在DCM中的0-5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈白色固体的5-氯-N-(3-(((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物83-30mg,24%)。LCMS 481.2$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.79-8.86(m,1H)7.84(br.s.,1H)7.62-7.70(m,1H)7.36-7.57(m,3H)7.04(t,J=10.96Hz,1H)6.82(d,J=8.33Hz,1H)4.28(br.s.,1H)4.03(d,J=5.70Hz,1H)3.95(br.s.,2H)3.20(br.s.,1H)2.73(br.s.,1H)2.12(br.s.,2H)1.86(br.s.,2H)1.70(br.s.,2H)1.60(br.s.,2H)。

实施例26

2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)甲基)乙酰胺的合成



步骤-1:3-氧代-2-氮杂双环[2.2.1]庚-5-烯-2-甲酸叔丁酯的合成

[0289] 向2-氮杂双环[2.2.1]庚-5-烯-3-酮(10.0g,91.74mmol,1.0当量)在THF(200mL)中的搅拌溶液中添加DMAP(1.11g,9.17mmol,0.1当量)、三乙胺(39mL,275.22mmol,3.0当量),然后添加二碳酸二叔丁酯(24.0g,110mmol,1.2当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过TLC和NMR波谱法确认产物形成。反应完成后,在减压下蒸发溶剂,并且将残余物用EtOAc(800ml)稀释并且用水(3x500ml)和盐水(400ml)洗涤。将EtOAc萃取物经Na2SO4干燥并且在减压下蒸发。将粗产物通过快速色谱法纯化(在己烷中的0-30％乙酸乙酯,作为稀释液)以获得呈白色固体的3-氧代-2-氮杂双环[2.2.1]庚-5-烯-2-甲酸叔丁酯(19.0g,100％产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ6.89(dd,J＝2.2,5.3Hz,1H),6.65(ddd,J＝1.3,3.3,5.0Hz,1H),4.95(d,J＝1.8Hz,1H),3.43-3.29(m,1H),2.41-2.27(m,1H),2.24-2.08(m,1H),1.50(s,9H)。

步骤-2:3-氧代-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯的合成

[0290] 将3-氧代-2-氮杂双环[2.2.1]庚-5-烯-2-甲酸叔丁酯(10.0g,4.78mmol)溶解在MeOH(200mL)中,添加Pd/C(1.3g)。向混合物中鼓入氢气持续4h。通过NMR波谱法确认产物形成。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土床过滤并且将滤液浓缩以获得呈白色固体的3-氧代-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯(9.0g,90％产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ4.53(s,1H),2.91-2.81(m,1H),1.93-1.84(m,1H),1.84-1.71(m,1H),1.58(br.s.,2H),1.52(s,9H),1.43-1.32(m,2H)。

步骤-3:顺式-(3-(羟甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0291] 在0℃下向3-氧代-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯(4.5g,21.31mmol,1.0

当量)在THF:水(25:20mL)中的搅拌溶液中分批添加NaBH4(1.60g,42.26mmol,2.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌4h。通过TLC和NMR波谱法确认产物形成。反应完成后,将反应混合物用1M HCl淬灭并且用EtOAc(200mL×2)萃取。将合并的乙酸乙酯层经Na2SO4干燥并且在减压下蒸发。将粗产物在正戊烷中结晶以获得呈白色固体的顺式-(3-(羟甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(3.0g,65%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ4.71(br.s.,1H),3.94(br.s.,1H),3.57(d,J=4.4Hz,2H),2.31-2.06(m,2H),1.99-1.84(m,1H),1.80-1.68(m,1H),1.52-1.36(m,10H),1.16-1.00(m,1H)。

步骤-4:甲磺酸(3-((叔丁氧基羰基)氨基)环戊基)甲酯的合成

[0292] 在0℃下向顺式-(3-(羟甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(3.0g,13.9mmol,1.0当量)在DCM(60mL)中的溶液中添加TEA(4.02mL,27.9mmol,2.0当量),然后添加甲磺酰氯(1.4mL,18.13mmol,1.3当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌4h。通过NMR波谱法确认产物形成。反应完成后,将反应混合物用碳酸氢钠水溶液淬灭并且用DCM(50mL×3)萃取。将合并的DCM层经Na2SO4干燥并且在减压下蒸发。将粗产物在正戊烷中结晶以获得呈白色固体的甲磺酸(3-((叔丁氧基羰基)氨基)环戊基)甲酯(2.8g,70%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ4.52(br.s.,1H),4.14(d,J=6.6Hz,2H),3.96(br.s.,1H),3.01(s,3H),2.43-2.19(m,2H),2.06-1.94(m,1H),1.90-1.71(m,1H),1.58-1.32(m,12H),1.16(td,J=8.6,12.7Hz,1H)。

步骤-5:(3-(叠氮基甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0293] 向甲磺酸(3-((叔丁氧基羰基)氨基)环戊基)甲酯(2.8g,9.55mmol,1.0当量)在DMF(45mL)中的溶液中添加NaN3(1.24g,19.2mmol,2.0当量)。将反应混合物60℃加热6h。通过NMR波谱法确认产物形成。反应完成后,将反应混合物用水稀释并且用乙酸乙酯(100mL×3)萃取。将合并的有机层用水(100mL×3)洗涤,经Na2SO4干燥并且在减压下蒸发以获得呈油状物的(3-(叠氮基甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(2.5g,100%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)d=4.55(br.s.,1H),3.94(br.s.,1H),3.28(d,J=6.1Hz,2H),2.34-2.12(m,2H),2.00-1.86(m,1H),1.86-1.68(m,1H),1.52-1.35(m,9H),1.26(t,J=7.0Hz,1H),1.16-1.00(m,1H)。

步骤-6:(3-(氨基甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0294] 将(3-(叠氮基甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.500g,2.78mmol)溶解在MeOH(10mL)中,添加Pd/C(0.030g)。向混合物中鼓入氢气持续3h。通过NMR波谱法确认产物形成。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土床过滤并且将滤液浓缩以获得呈无色油状物的(3-(氨基甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.250g,56%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ4.75(br.s.,1H),4.00-3.83(m,1H),3.47(s,1H),2.72-2.59(m,2H),2.31-2.12(m,2H),2.09-1.87(m,3H),1.87-1.68(m,2H),1.55-1.32(m,12H),1.00(td,J=8.3,12.7Hz,1H)。

步骤-7:3-(氨基甲基)环戊-1-胺2,2,2-三氟乙酸盐的合成

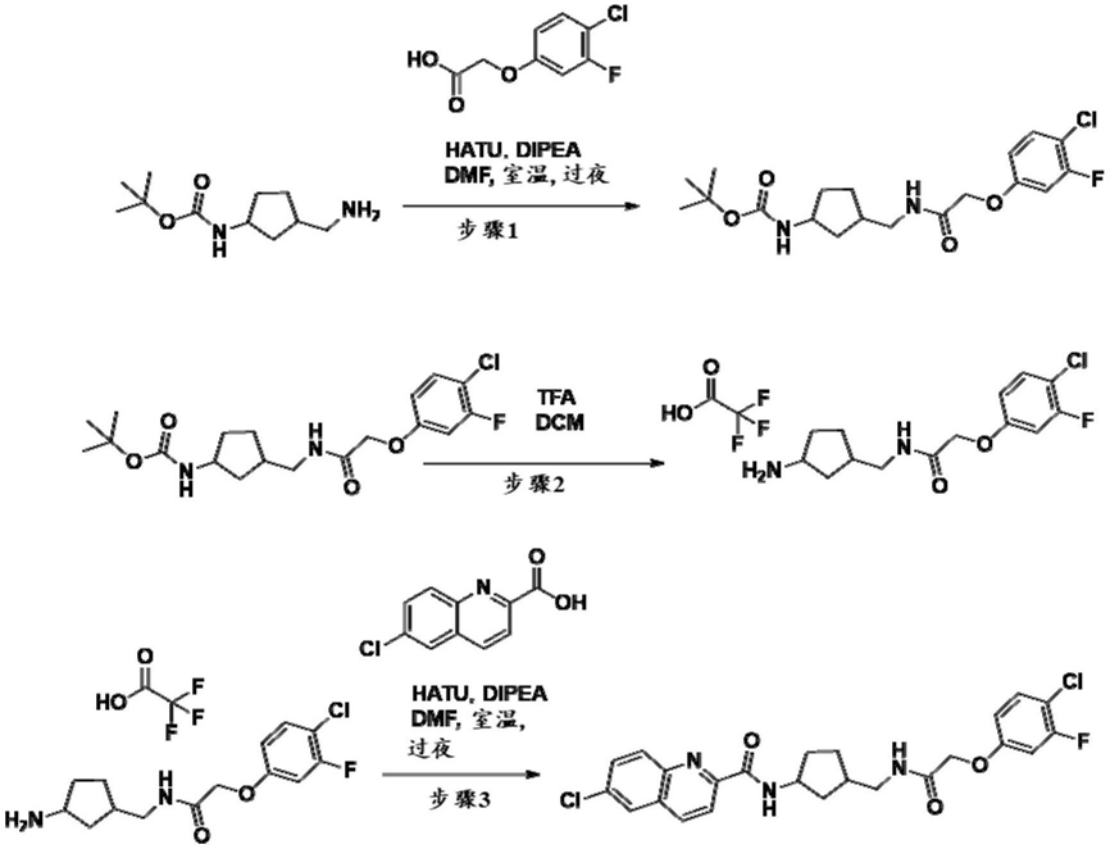
[0295] 向(3-(氨基甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.200g,0.934mmol)在DCM(5mL)中的溶液中添加TFA(0.5mL)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物浓缩以获得呈油状物的3-(氨基甲基)环戊-1-胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.130g),将其直接用于下一步。

步骤-8:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)甲基)乙酰胺的合成

[0296] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.100g,0.490mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加3-(氨基甲基)环戊-1-胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.067g,0.294mmol,0.6当量)、HATU(0.279g,0.735mmol,1.5当量)和DIPEA(0.25mL,1.47mmol,3.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释并且用乙酸乙酯(50mL×2)萃取。将合并的有机层用水(25mL×4)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩。将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的5%MeOH,作为稀释液)以获得呈白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)甲基)乙酰胺(化合物84-0.030g,13%产率)。LCMS 487[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.17(br.s.,1H),8.08(d,J=7.5Hz,1H),7.61-.41(m,2H),7.13-6.97(m,2H),6.84(d,J=8.3Hz,2H),4.51(d,J=18.9Hz,4H),4.05(dd,J=7.9,14.9Hz,1H),3.11(t,J=6.1Hz,2H),2.15-1.87(m,3H),1.81(dd,J=6.1,11.8Hz,1H),1.70-1.51(m,2H),1.51-1.40(m,1H),1.36(d,J=5.3Hz,1H),1.15-0.97(m,2H)。

实施例27

6-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺的合成



步骤-1:(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0297] 向2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.100g,0.490mmol,1.0当量)在DMF(1.5ml)中的搅拌溶液中添加(3-(氨基甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.104g,490mmol,1.0当量)、HATU(0.372g,0.980mmol,2.0当量)和DIPEA(0.27mL,1.47mmol,3.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释并且用乙酸乙酯(50mL×

2)萃取。将合并的有机层用水(20mL×4)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩。将粗产物通过快速色谱法纯化以获得呈灰白色固体的(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.100g,51%产率)。LCMS 401.1[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.11(br.s.,1H),7.49(t,J=8.8Hz,1H),7.06(dd,J=2.6,11.4Hz,1H),6.94-6.75(m,2H),4.52(s,2H),3.70(d,J=7.5Hz,1H),3.14-3.00(m,2H),2.06-1.89(m,2H),1.83-1.66(m,1H),1.44-1.35(m,9H),1.03-0.91(m,1H)。

步骤-2:N-((3-氨基环戊基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐的合成

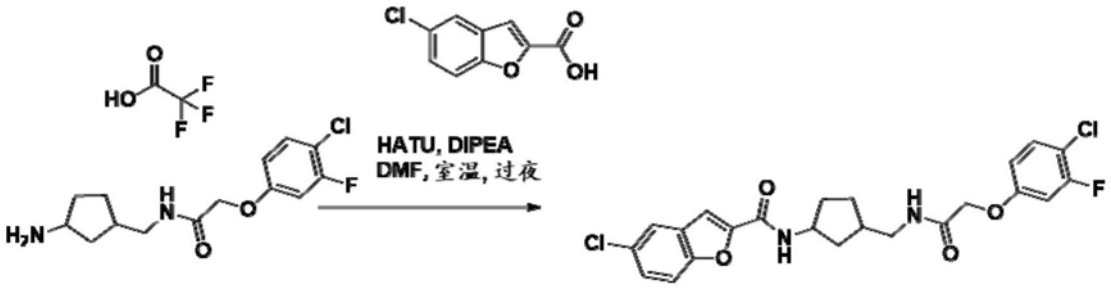
[0298] 向(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.600g,1.50mmol,1.0当量)在DCM(10ml)中的搅拌溶液中添加TFA(0.9ml)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将粗化合物通过在戊烷中并且然后在石油醚中磨碎来结晶以获得N-((3-氨基环戊基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.600g,定量产率);LCMS 300.1[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.23(t,J=5.7Hz,1H),7.83(br.s.,2H),7.50(t,J=9.0Hz,1H),7.06(dd,J=2.6,11.4Hz,1H),6.94-6.75(m,1H),4.53(s,2H),3.44(d,J=4.8Hz,1H),3.13(t,J=5.9Hz,2H),2.15-1.95(m,2H),1.88(dd,J=7.7,12.5Hz,1H),1.73-1.51(m,2H),1.40(dd,J=7.9,11.4Hz,1H),1.22-0.96(m,1H)。

步骤-3:6-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺的合成

[0299] 向N-((3-氨基环戊基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.100g,0.333mmol,1.0当量)在DMF(4ml)中的搅拌溶液中添加6-氯喹啉-2-甲酸(0.082g,0.400mmol,1.2当量)、DMAP(0.101g,0.833mmol,2.5当量)和EDC.HCl(0.127g,0.666mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得呈灰白色固体的6-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺(化合物85-0.040g,33%产率)。LCMS 490.3[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.75(d,J=7.9Hz,1H),8.53(d,J=8.8Hz,1H),8.24(d,J=2.2Hz,1H),8.16(dd,J=5.9,9.0Hz,2H),7.88(dd,J=2.2,9.2Hz,1H),7.48(t,J=9.0Hz,1H),7.06(dd,J=2.6,11.4Hz,1H),6.92-6.73(m,1H),4.54(s,2H),4.41-4.15(m,1H),3.18(t,J=5.9Hz,2H),2.21-2.01(m,2H),1.91(d,J=6.1Hz,1H),1.77-1.55(m,2H),1.46(d,J=3.9Hz,1H),1.42-1.20(m,1H)。

实施例28

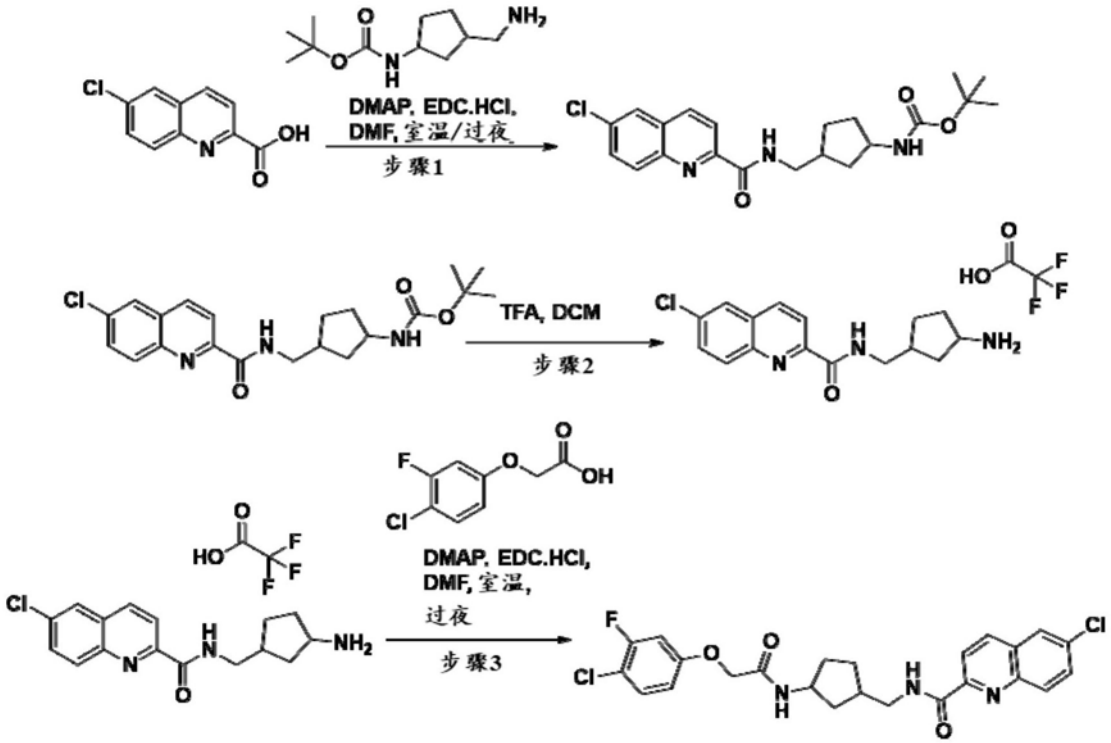
5-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



[0300] 向N-((3-氨基环戊基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.100g,0.241mmol,1.0当量)在DMF(4ml)中的搅拌溶液中添加5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.065g,0.241mmol,1.2当量)、DMAP(0.101g,0.833mmol,2.5当量)和EDC.HCl(0.127g,0.666mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物过滤并且用冰水洗涤,在真空下干燥以获得呈灰白色固体的6-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)环戊基)喹啉-2-甲酰胺(化合物86-0.040g,35%产率)。LCMS 479.3[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.70(d,J=7.9Hz,1H),8.18(br.s.,1H),7.86(d,J=1.8Hz,1H),7.68(d,J=8.8Hz,1H),7.55-7.42(m,2H),7.07(dd,J=3.1,11.4Hz,1H),6.85(d,J=8.8Hz,1H),4.54(s,2H),4.22(d,J=6.6Hz,1H),3.15(t,J=5.9Hz,2H),2.23-2.00(m,2H),1.88(br.s.,1H),1.64(d,J=7.5Hz,2H),1.42(br.s.,1H),1.25(d,J=12.3Hz,1H)。

实施例29

6-氯-N-((3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)甲基)喹啉-2-甲酰胺的合成



步骤-1:(3-((6-氯喹啉-2-甲酰胺基)甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0301] 在室温下向6-氯喹啉-2-甲酸(0.500g,2.41mmol,1.0当量)在DMF(20mL)中的溶液中添加(3-(氨基甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.518g,2.41mmol,1.0当量)和DMAP(0.737g,6.03mmol,2.5当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加EDC.HCl(0.926g,4.83mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩以获得呈灰白色固体的(3-((6-氯喹啉-2-甲酰胺基)甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.500g,50%产率)。LCMS 403.1[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.94(t,J=5.92Hz,1H),8.54(d,J=8.33Hz,1H),8.16-8.25(m,2H),7.88(dd,J

＝2.41,8.99Hz,1H),6.87(d,J＝7.45Hz,1H),3.68-3.80(m,1H),3.32-3.39(m,2H),2.94(s,1H),2.20(td,J＝7.56,15.57Hz,1H),1.93-2.04(m,1H),1.78(br.s.,1H),1.58-1.70(m,2H),1.33-1.51(m,9H),1.14(td,J＝8.93,12.39Hz,2H)。

步骤-2:N-((3-氨基环戊基)甲基)-6-氯喹啉-2-甲酰胺三氟乙酸盐的合成

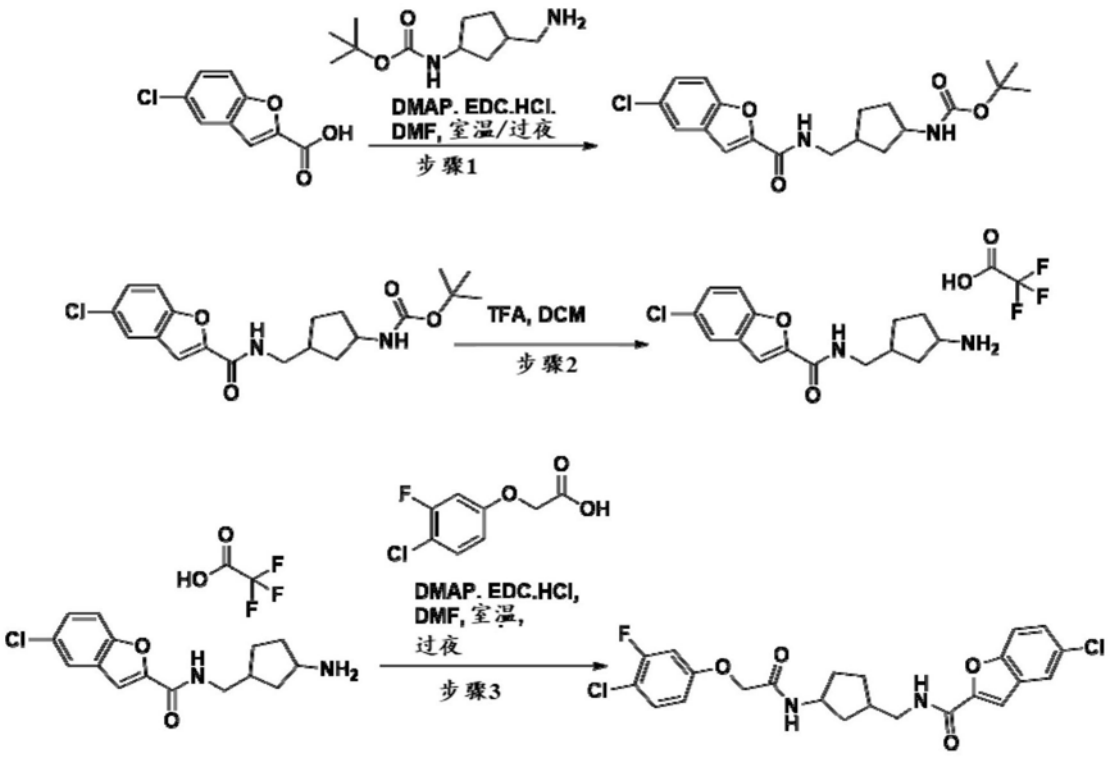
[0302] 在室温下向(3-((6-氯喹啉-2-甲酰胺基)甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.500g,1.31mmol,1.0当量)在DCM(15mL)中的搅拌溶液中添加TFA(05mL)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。将DCM和过量TFA在减压下除去以获得呈灰白色固体的N-((3-氨基环戊基)甲基)-6-氯喹啉-2-甲酰胺三氟乙酸盐(0.200g,定量产率)。LCMS 303.1$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.94(t,J＝5.92Hz,1H),8.54(d,J＝8.33Hz,1H),8.16-8.25(m,2H),7.88(dd,J＝2.41,8.99Hz,1H),6.87(d,J＝7.45Hz,1H),3.68-3.80(m,1H),3.32-3.39(m,2H),2.94(s,1H),2.20(td,J＝7.56,15.57Hz,1H),1.93-2.04(m,1H),1.78(br.s.,1H),1.58-1.70(m,2H),1.14(td,J＝8.93,12.39Hz,2H)。

步骤-3:6-氯-N-((3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)甲基)喹啉-2-甲酰胺的合成

[0303] 在室温下向N-((3-氨基环戊基)甲基)-6-氯喹啉-2-甲酰胺三氟乙酸盐(0.200g,0.46mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.114g,0.55mmol,1.2当量)和DMAP(0.201g,1.65mmol,2.5当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加EDC.HCl(0.253g,1.32mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩。将粗产物通过正相柱色谱法纯化以获得呈白色固体的6-氯-N-((3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)甲基)喹啉-2-甲酰胺(化合物87-0.150g,67％产率)。LCMS 490.3$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.99(t,J＝6.14Hz,1H),8.54(d,J＝8.77Hz,1H),8.06-8.34(m,4H),7.88(dd,J＝2.41,8.99Hz,1H),7.46-7.57(m,1H),7.07(dd,J＝2.63,11.40Hz,1H),6.84(dd,J＝1.75,8.77Hz,1H),4.49(s,2H),4.05-4.14(m,1H),3.35-3.44(m,2H),2.23-2.31(m,1H),1.99-2.08(m,1H),1.79-1.87(m,1H),1.66-1.71(m,1H),1.44-1.58(m,2H),1.15-1.28(m,1H)。

实施例30

5-氯-N-((3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



步骤-1:(3-((5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺基)甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0304] 在室温下向5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.500g,2.54mmol,1.0当量)在DMF(20mL)中的溶液中添加(3-(氨基甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.545g,2.54mmol,1.0当量)和DMAP(0.776g,6.35mmol,2.5当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加EDC.HCl(0.975g,5.08mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩以获得呈灰白色固体的(3-((5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺基)甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.500g,50%产率)。LCMS 392.1$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.79(br.s.,1H),7.87(d,J=2.19Hz,1H),7.69(d,J=8.77Hz,1H),7.42-7.55(m,2H),6.86(d,J=7.02Hz,1H),3.72(d,J=7.45Hz,1H),3.23(dq,J=6.58,13.30Hz,2H),2.09-2.17(m,1H),1.93-2.04(m,1H),1.76(d,J=7.02Hz,1H),1.54-1.63(m,1H),1.39-1.50(m,2H),1.37(s,9H),1.03-1.13(m,1H)。

步骤-2:N-((3-氨基环戊基)甲基)-5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺三氟乙酸盐的合成

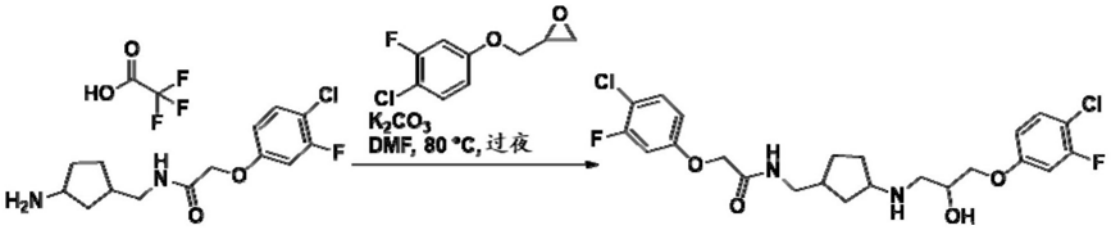
[0305] 在室温下向(3-((5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺基)甲基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.500g,1.31mmol,1.0当量)在DCM(15mL)中的搅拌溶液中添加TFA(02mL)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。将DCM和过量TFA在减压下除去以获得呈灰白色固体的N-((3-氨基环戊基)甲基)-5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺三氟乙酸盐(0.200g,定量产率)。LCMS 292.1$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.79(br.s.,1H),7.87(d,J=2.19Hz,1H),7.69(d,J=8.77Hz,1H),7.42-7.55(m,2H),6.86(d,J=7.02Hz,1H),3.72(d,J=7.45Hz,1H),3.23(dq,J=6.58,13.30Hz,2H),2.09-2.17(m,1H),1.93-2.04(m,1H),1.76(d,J=7.02Hz,1H),1.54-1.63(m,1H),1.39-1.50(m,2H),1.03-1.13(m,1H)。

步骤-3:5-氯-N-((3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成

[0306] 在室温下向N-((3-氨基环戊基)甲基)-5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺三氟乙酸盐(0.200g,0.49mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.120g,0.59mmol,1.2当量)和DMAP(0.203g,1.71mmol,2.5当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加EDC.HCl(0.262g,1.36mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩。将粗产物通过正相柱色谱法纯化以获得呈白色固体的5-氯-N-((3-(2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)环戊基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物88-0.130g,65%产率)。LCMS 478.0$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.84(t,J=5.92Hz,1H),8.11(d,J=7.89Hz,1H),7.87(d,J=2.19Hz,1H),7.69(d,J=9.21Hz,1H),7.42-7.57(m,3H),7.07(dd,J=2.63,11.40Hz,1H),6.85(d,J=1.75Hz,1H),4.49(s,2H),4.05-4.12(m,1H),3.27(t,J=6.58Hz,2H),2.12-2.20(m,1H),2.04(dd,J=7.24,12.50Hz,1H),1.83(dd,J=5.48,12.06Hz,1H),1.67(dd,J=5.92,12.06Hz,1H),1.39-1.57(m,2H),1.19(td,J=8.88,12.50Hz,1H)。

实施例31

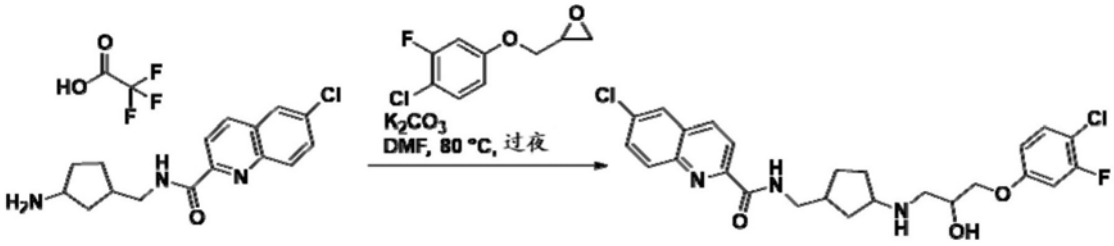
2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)甲基)乙酰胺的合成



[0307] 向N-((3-氨基环戊基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.200g,0.483mmol,1.0当量)在DMF(5ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(0.229g,1.66mmol,2.5当量),然后添加2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(0.148g,0.733mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在80℃下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过快速色谱法纯化(在DCM中的5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈灰白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)甲基)乙酰胺(化合物89-0.050g,21%产率)。LCMS 503.3$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.19(br.s.,1H),7.60-7.34(m,2H),7.04(d,J=2.6Hz,1H),7.07(d,J=2.6Hz,1H),6.89-6.73(m,2H),5.11(br.s.,1H),4.52(s,2H),3.98(d,J=7.9Hz,1H),3.94-3.77(m,2H),3.48-3.19(m,3H),3.19-2.90(m,3H),2.65(d,J=8.8Hz,1H),2.61-2.52(m,2H),2.11-1.82(m,3H),1.80-1.66(m,1H),1.66-1.51(m,1H),1.44-1.26(m,2H),1.03-0.93(m,1H)。

实施例32

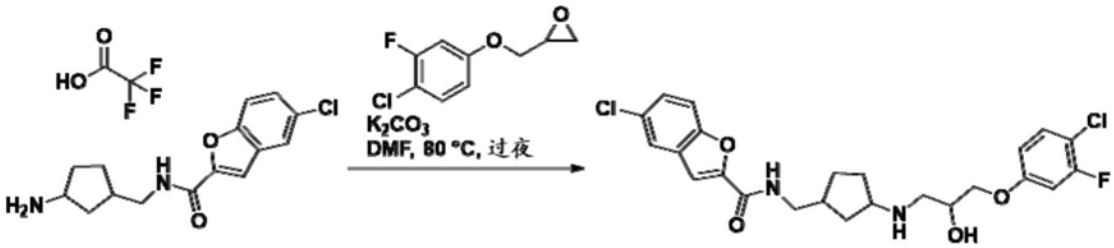
6-氯-N-((3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)甲基)喹啉-2-甲酰胺的合成



[0308] 向N-((3-氨基环戊基)甲基)-6-氯喹啉-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.200g,0.480mmol,1.0当量)在DMF(5ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(0.227g,01.65mmol,2.5当量),然后添加2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(0.146g,0.726mmol,1.0当量)。允许将反应混合物在80℃下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过快速色谱法纯化(在DCM中的5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈灰白色固体的6-氯-N-((3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)甲基)喹啉-2-甲酰胺(化合物34-0.090g,37%产率)。LCMS 506.2$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.03(d,J=6.6Hz,1H),8.54(d,J=8.3Hz,1H),8.31-8.06(m,2H),7.87(dd,J=2.2,9.2Hz,1H),7.44(t,J=8.6Hz,1H),7.04(dd,J=2.6,11.4Hz,1H),6.81(d,J=9.6Hz,1H),5.19(br.s.,1H),4.08-3.93(m,1H),3.90(d,J=6.1Hz,1H),3.13(br.s.,1H),2.72(br.s.,1H),2.67(br.s.,1H),2.33(br.s.,1H),2.30-2.21(m,1H),2.02(d,J=4.8Hz,1H),1.78(br.s.,1H),1.66(dd,J=8.6,15.6Hz,1H),1.48(br.s.,1H),1.16(br.s.,1H)。

实施例33

5-氯-N-((3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成

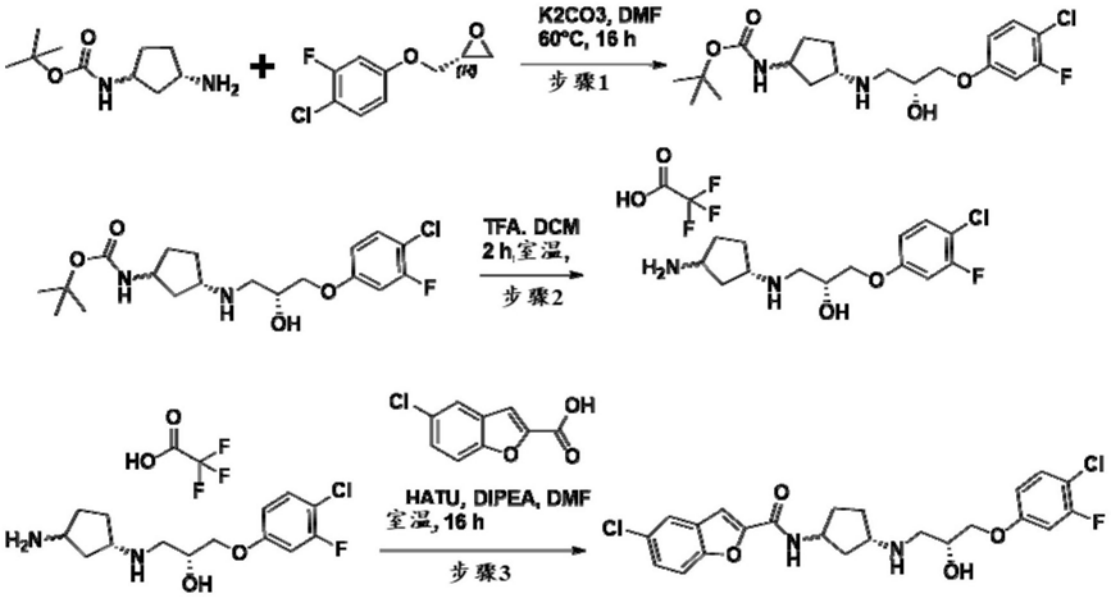


[0309] 向N-((3-氨基环戊基)甲基)-5-氯苯并呋喃-2-甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.200g,0.492mmol,1.0当量)在DMF(5ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(0.236g,1.70mmol,2.5当量),然后添加2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(0.152g,0.753mmol,1.1当量)。允许将反应混合物在80℃下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(30mL×6)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料通过快速色谱法纯化(在DCM中的5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈灰白色固体的5-氯-N-((3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物33-0.100g,41%产率)。LCMS 495.2$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.92(br.s.,1H),7.86(s,1H),7.69(d,J=8.8Hz,1H),7.54-7.36(m,2H),7.05(d,J=11.4Hz,1H),6.81(d,J=8.8Hz,1H),5.13(br.s.,1H),3.99(d,J=5.7Hz,1H),3.89(d,J=6.1Hz,2H),3.25(t,J=5.7Hz,2H),3.07(br.s.,1H),2.67(br.s.,1H),2.61(br.s.,1H),2.30-2.09(m,2H),1.99(dd,J=6.6,13.6Hz,2H),1.73(br.s.,1H),

1.71-1.54(m,1H),1.43(br.s.,2H),1.09(dd,J=7.5,12.3Hz,1H)。

实施例34

5-氯-N-((3S)-3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



步骤-1:((3S)-3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0310] 向((3S)-3-氨基环戊基)氨基甲酸叔丁酯(1.18g,5.94mmol,1.2当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(1.366g,9.90mmol,2.0当量),然后添加(R)-2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(1.000g,4.95mmol,1.0当量)。将反应混合物在60℃下加热16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物滤出并且用冰冷的水洗涤,在真空下干燥以获得呈白色固体的((3S)-3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.900g 45%产率)。LCMS 403.3$[M+H]^+$

步骤-2:(2R)-1-(((1S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐的合成

[0311] 向((3S)-3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.900g,2.24mmol,1.0当量)在DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加TFA(1.5mL)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS和NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将粗化合物在乙醚中结晶以获得呈灰白色固体的纯(2R)-1-(((1S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.760g,80%产率)。LCMS303.2$[M+H]^+$

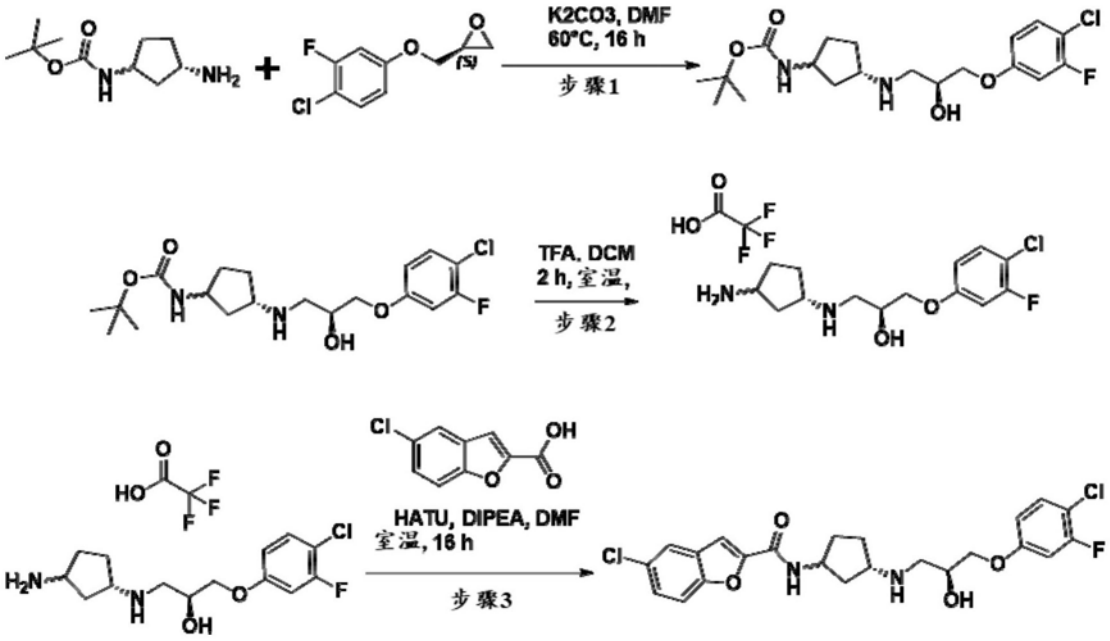
步骤-3:5-氯-N-((3S)-3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成

[0312] 向5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.173g,0.880mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加(2R)-1-(((1S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.367g,0.880mmol,1.0当量)、HATU(0.502g,1.32mmol,1.5当量)和DIPEA(0.227g,1.76mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应

混合物用水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(20mL×5)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化以获得呈灰白色固体的5-氯-N-((3S)-3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物90-0.065g,15%产率)。LCMS 481.2[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.66(d,J=7.45Hz,1H)7.86(d,J=2.19Hz,1H)7.69(d,J=9.21Hz,1H)7.38-7.58(m,3H)7.07(dd,J=11.62,2.41Hz,1H)6.84(dd,J=8.77,2.19Hz,1H)5.03(br.s.,1H)4.31-4.49(m,1H)3.98-4.06(m,1H)3.80-3.98(m,2H)3.07-3.28(m,2H)2.64(dd,J=11.84,4.82Hz,1H)2.56(d,J=4.82Hz,1H)1.87-2.12(m,2H)1.67-1.82(m,2H)1.47-1.61(m,1H)1.26-1.39(m,1H)。

实施例35

5-氯-N-((3S)-3-(((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



步骤-1:((3S)-3-(((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0313] 向((3S)-3-氨基环戊基)氨基甲酸叔丁酯(1.18g,5.94mmol,1.2当量)在DMF(10ml)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(1.366g,9.90mmol,2.0当量),然后添加(R)-2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(1.000g,4.95mmol,1.0当量)。将反应混合物在60℃下加热16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水稀释,这产生了沉淀物。将所得固体沉淀物滤出并且用冰冷的水洗涤,在真空下干燥以获得呈灰白色固体的((3S)-3-(((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.800g 40%产率)。LCMS 403.3[M+H]$^+$

步骤-2:(2S)-1-(((1S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐的合成

[0314] 向((1S,3S)-3-((3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)氨基甲酸叔丁酯(0.800g,2.24mmol,1.0当量)在DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加TFA(1.2mL)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS和NMR监测反应进程。反应完成后,将反应混合物在减压

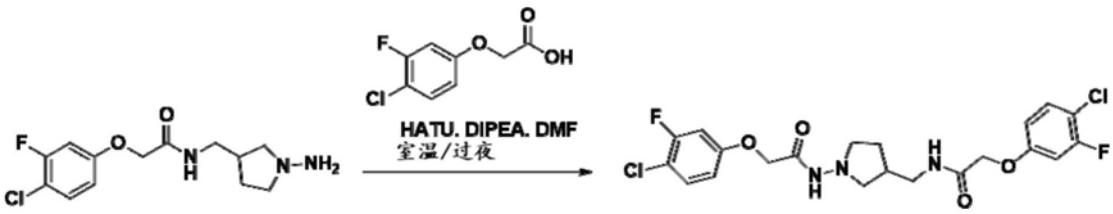
下浓缩。将粗化合物在乙醚中结晶以获得呈灰白色固体的纯(2S)-1-(((1S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.730g,88%产率)。LCMS303.2[M+H]$^+$

步骤-3:5-氯-N-((3S)-3-(((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成

[0315] 向5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.140g,0.720mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加(2S)-1-(((1S)-3-氨基环戊基)氨基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.300g,0.720mmol,1.0当量)、HATU(0.410g,1.08mmol,1.5当量)和DIPEA(0.186g,1.44mmol,2.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌16h。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将合并的有机层用水(20mL×5)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化以获得呈灰白色固体的5-氯-N-((3S)-3-(((S)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物91-0.104g,30%产率)。LCMS 481.2[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.66(d,J=7.45Hz,1H)7.86(d,J=2.19Hz,1H)7.69(d,J=9.21Hz,1H)7.38-7.58(m,3H)7.07(dd,J=11.62,2.41Hz,1H)6.84(dd,J=8.77,2.19Hz,1H)5.03(br.s.,1H)4.31-4.49(m,1H)3.98-4.06(m,1H)3.80-3.98(m,2H)3.07-3.28(m,2H)2.64(dd,J=11.84,4.82Hz,1H)2.56(d,J=4.82Hz,1H)1.87-2.12(m,2H)1.67-1.82(m,2H)1.47-1.61(m,1H)1.26-1.39(m,1H)。

实施例36

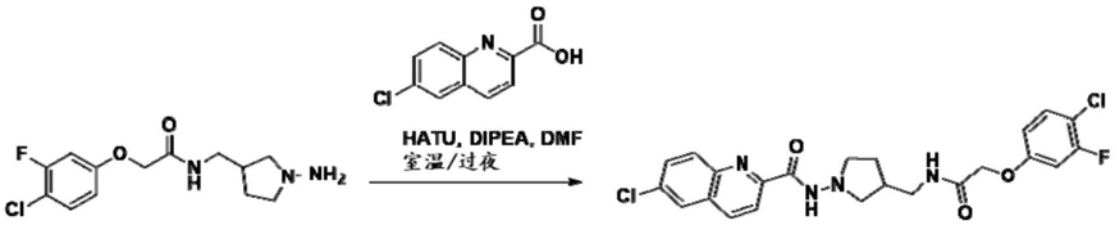
2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺的合成



[0316] 在室温下向N-((1-氨基吡咯烷-3-基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺(200mg,0.66mmol,1.0当量)在DMF(05mL)中的溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(134mg,0.66mmol,1.0当量)和HATU(501mg,1.32mmol,2.0当量)。将所得反应混合物搅拌10min.,然后添加DIPEA(0.4mL,1.98mmol,3.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化以获得呈白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺(化合物92-60mg,19%产率)。LCMS 487.09[M+H]$^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.09(br.s.,1H)8.65(br.s.,1H)8.20(br.s.,1H)7.47(t,J=8.33Hz,2H)7.03(s,1H)7.05(s,1H)6.83(br.s.,1H)4.90(d,J=12.28Hz,2H)4.51(br.s.,2H)4.45(br.s.,1H)3.11(br.s.,2H)2.83(d,J=6.58Hz,1H)2.62(d,J=17.98Hz,2H)1.81(br.s.,1H)1.41(br.s.,1H)。

实施例37

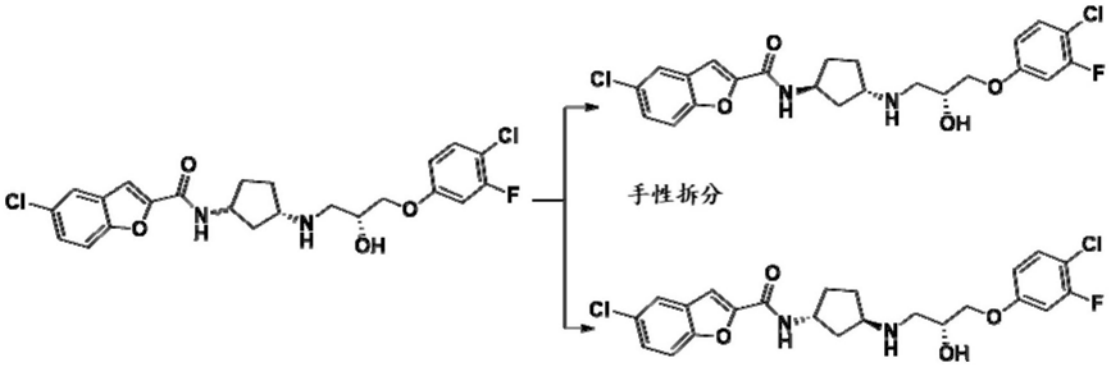
6-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)喹啉-2-甲酰胺的合成



[0317] 在室温下向N-((1-氨基吡咯烷-3-基)甲基)-2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺(200mg,0.66mmol,1.0当量)在DMF(05mL)中的溶液中添加6-氯喹啉-2-甲酸(137mg,0.66mmol,1.0当量)和HATU(501mg,1.32mmol,2.0当量)。将所得反应混合物搅拌10min.,然后添加DIPEA(0.4mL,1.98mmol,3.0当量)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤,经无水Na2SO4干燥并且浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化以获得呈白色固体的6-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)喹啉-2-甲酰胺(化合物93-130mg,40%产率)。LCMS 490.10$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.74(s,1H)8.51(d,J=8.33Hz,1H)8.20-8.31(m,2H)8.12(dd,J=8.77,2.63Hz,2H)7.86(d,J=6.58Hz,1H)7.47(t,J=8.77Hz,1H)7.04-7.11(m,1H)6.85(d,J=8.33Hz,1H)4.53(s,2H)3.17(br.s.,2H)2.97-3.07(m,2H)2.73-2.79(m,1H)2.31(br.s.,2H)1.87(br.s.,1H)1.49(d,J=13.59Hz,1H)。

实施例38

反式-5-氯-N-(3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺的手性拆分

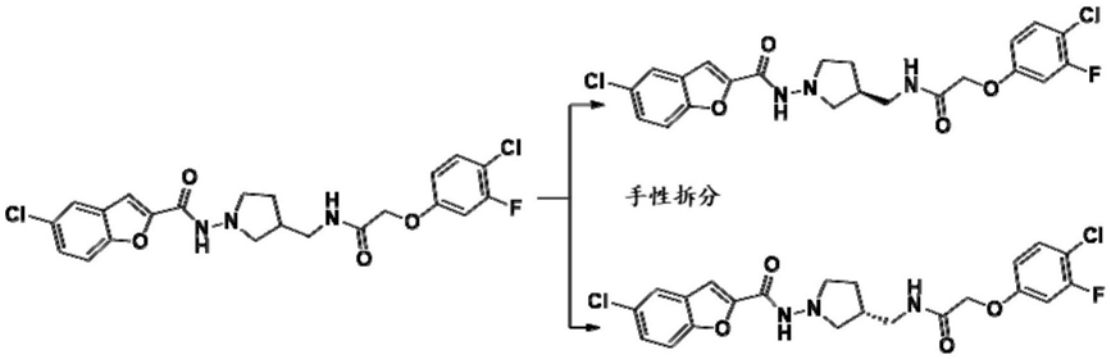


[0318] 将对映异构体5-氯-N-((1S,3S)-3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物94-$[\alpha]_D^{20}$=不可用,洗脱时间:26.78min)和5-氯-N-((1R,3R)-3-(((R)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)氨基)环戊基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物95-$[\alpha]_D^{20}$=不可用,洗脱时间:37.3min)通过手性SFC分离(Chiralpak-ADH,20×250mm,5μm)。用分析级液体二氧化碳(食品级)和在HPLC级甲醇中的0.2%DEA的等度程序。LCMS:481.4$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.66(d,J=7.89Hz,1H)7.87(d,J=2.19Hz,1H)7.69(d,J=8.77Hz,1H)7.36-7.55(m,2H)7.07(dd,J=11.62,2.85Hz,1H)6.75-6.89(m,1H)5.00(br.s.,1H)4.31-4.47(m,1H)4.01(dd,J=9.65,3.95Hz,1H)3.79-3.95(m,2H)3.01-3.23(m,1H)2.53-2.75(m,2H)1.84-2.14(m,2H)1.63-1.82(m,2H)1.54(dd,J=12.28,

7.89Hz,1H)1.25-1.38(m,1H)。

实施例39

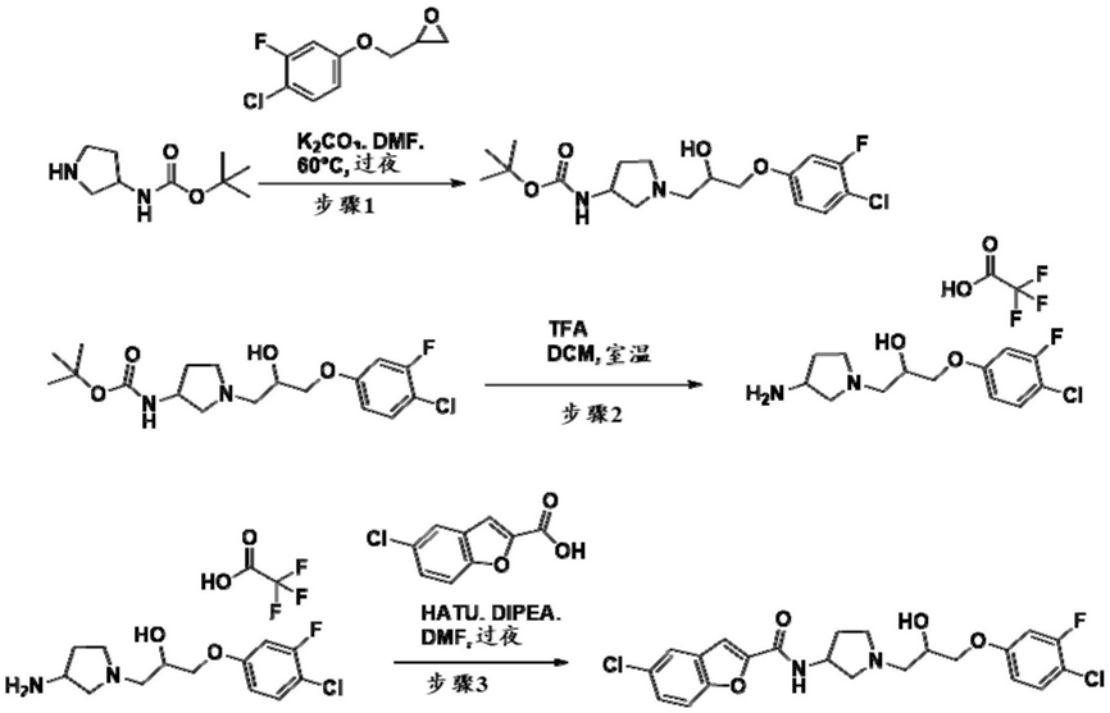
5-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)苯并呋喃-2-甲酰胺的手性拆分



[0319] 将对映异构体(S)-5-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物96-$[\alpha]_D^{20}$=不可用,洗脱时间:16.16min)和(R)-5-氯-N-(3-((2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物97-$[\alpha]_D^{20}$=不可用,洗脱时间:29.29min)通过手性SFC分离(Chiralpak ADH,250×20mm,5μ)。用分析级液体二氧化碳和在甲醇中的0.2%DEA的等度程序。LCMS:480.4$[M+H]^+$;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.77(s,1H)8.24(br.s.,1H)7.86(s,1H)7.69(d,J=8.77Hz,1H)7.35-7.56(m,3H)7.07(d,J=11.40Hz,1H)6.86(d,J=6.14Hz,1H)4.54(s,2H)3.17(br.s.,2H)2.87-3.11(m,2H)2.65-2.78(m,1H)2.35(d,J=19.29Hz,2H)1.88(br.s.,1H)1.39-1.57(m,1H)。

实施例40

5-氯-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



步骤-1:(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0320] 向吡咯烷-3-基氨基甲酸叔丁酯(200mg,1.074mmol,1当量)在DMF(2mL)中的搅拌溶液中添加K2CO3(296mg,2.147mmol,2.0当量),然后添加2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(195mg,0.97mmol,0.9当量)。将所得反应混合物在60℃下加热过夜。通过NMR确认产物形成。反应完成后,将反应混合物倒入冰冷的水(50ml)中,并且用EtOAc(2×30mL)萃取。将有机层用水(5×20mL)、盐水溶液(1×20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并且在减压下浓缩以获得呈黄色油状物的(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)氨基甲酸叔丁酯(350mg,84%产率)。LCMS 389.3[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.45(t,J=9.0Hz,1H),7.05(d,J=11.8Hz,1H),6.96(d,J=7.0Hz,1H),6.83(d,J=7.0Hz,1H),4.90(d,J=3.9Hz,1H),4.08-3.96(m,1H),3.95-3.73(m,2H),2.89(s,1H),2.82-2.63(m,1H),2.57(d,J=8.3Hz,1H),2.43-2.30(m,2H),2.08-1.86(m,2H),1.52(br.s.,2H),1.37(s,9H)。

步骤-2:1-(3-氨基吡咯烷-1-基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐的合成

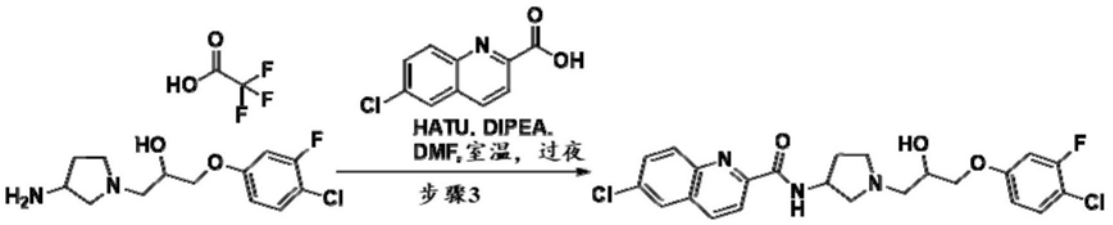
[0321] 向化合物(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)氨基甲酸叔丁酯(350mg,0.90mmol,1当量)在DCM(30mL)中的搅拌溶液中添加TFA(0.4mL),并且在氮气气氛下将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩以获得粘稠的粗化合物,将其在乙醚中结晶,在真空下干燥以获得呈棕色固体的1-(3-氨基吡咯烷-1-基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(280mg,77%产率)。LCMS 289.0[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.32(br.s.,2H),7.50(t,J=9.0Hz,1H),7.09(dd,J=2.6,11.4Hz,1H),6.85(dd,J=2.0,9.0Hz,1H),4.18(br.s.,1H),4.08-3.82(m,4H),3.64-3.47(m,2H),3.25(d,J=18.9Hz,1H),3.17(s,4H),2.09-1.86(m,1H)。

步骤-3:5-氯-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成

[0322] 向1-(3-氨基吡咯烷-1-基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(200mg,0.497mmol,1当量)在DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加5-氯苯并呋喃-2-甲酸(98mg,0.497mmol,1当量)、HATU(283mg,0.745mmol,1.5当量),然后添加DIPEA(0.55mL,1.988mmol,4.0当量),并且将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。反应完成后,将反应混合物倒入冰冷的水(50ml)中并且用EtOAc(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水(4×20mL)、盐水溶液(1×20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并且在减压下浓缩。将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈白色固体的5-氯-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物98-85mg,36%产率)。LCMS 467.3[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.84(br.s.,1H),7.88(d,J=1.8Hz,1H),7.69(d,J=8.8Hz,1H),7.55(s,1H),7.51-7.30(m,2H),7.14-6.98(m,1H),6.84(d,J=9.2Hz,1H),5.00(br.s.,1H),4.43(br.s.,1H),4.11-3.97(m,2H),3.93(br.s.,1H),2.87(br.s.,1H),2.78-2.64(m,2H),2.18(br.s.,1H),1.84(br.s.,1H),1.23(s,1H),1.16(d,J=14.0Hz,1H),0.76(br.s.,1H)。

实施例41

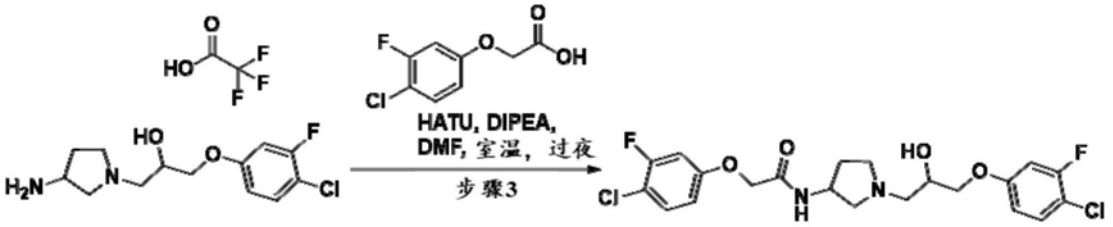
6-氯-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)喹啉-2-甲酰胺的合成



[0323] 向1-(3-氨基吡咯烷-1-基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(200mg,0.497mmol,1当量)在DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加6-氯喹啉-2-甲酸(103mg,0.497mmol,1当量)、HATU(283mg,0.745mmol,1.5当量),然后添加DIPEA(0.55mL,1.988mmol,4.0当量),并且将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。反应完成后,将反应混合物倒入冰冷的水(50ml)中并且用EtOAc(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水(4×20mL)、盐水溶液(1×20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并且在减压下浓缩。将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈白色固体的6-氯-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)喹啉-2-甲酰胺(化合物53-100mg,42.2%)。LCMS 478[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.89(br.s.,1H),8.55(d,J=8.3Hz,1H),8.26(d,J=2.2Hz,1H),8.18(d,J=8.8Hz,1H),8.10(s,1H),7.87(d,J=7.9Hz,1H),7.48-7.29(m,1H),7.09(td,J=3.1,11.4Hz,1H),6.85(d,J=7.9Hz,1H),5.04(br.s.,1H),4.53(br.s.,1H),4.05(d,J=9.6Hz,2H),3.96(br.s.,1H),2.69(s,3H),2.25(br.s.,2H),1.90(br.s.,2H),1.23(s,1H)。

实施例42

2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)乙酰胺的合成

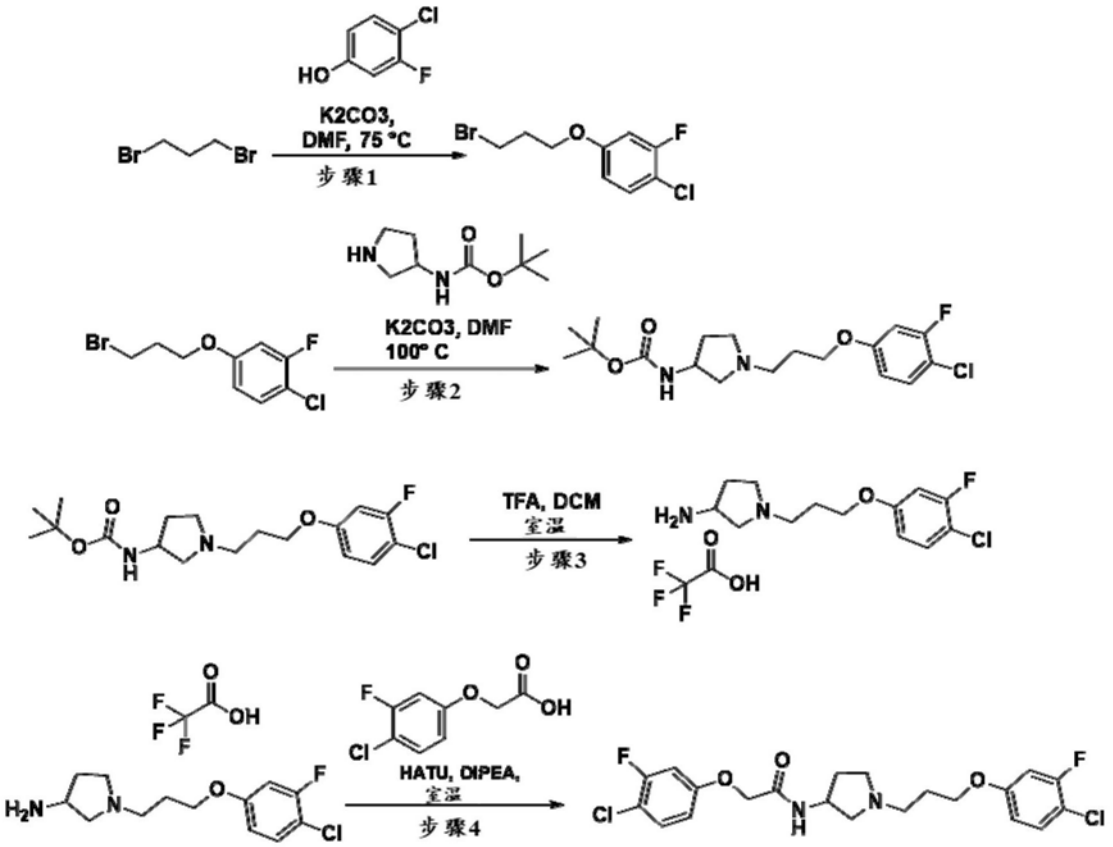


[0324] 向在DMF中的1-(3-氨基吡咯烷-1-基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(200mg,0.497mmol,1当量)在DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(101mg,0.497mmol,1当量)、HATU(283mg,0.745mmol,1.5当量),然后添加DIPEA(0.55mL,1.988mmol,4.0当量),并且将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS确认产物形成。反应完成后,将反应混合物倒入冰冷的水(50ml)中并且用EtOAc(2×50mL)萃取。将合并的有机层用水(4×20mL)、盐水溶液(1×20mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并且在减压下浓缩。将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈黄色半固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)乙酰胺(化合物99-140mg,59%产率)。LCMS 475.4[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.17(d,J=6.1Hz,1H),7.55-7.35(m,2H),7.20-7.00(m,2H),6.83(d,J=8.8Hz,2H),4.96(br.s.,1H),4.50(s,2H),4.22(br.s.,1H),4.01(dd,J=2.4,5.9Hz,1H),3.95-3.74(m,2H),2.71

(br.s.,2H),2.60(br.s.,1H),2.33(br.s.,3H),2.08(d,J＝5.7Hz,1H),1.62(br.s.,1H)

实施例43

2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)乙酰胺的合成



步骤-1:4-(3-溴丙氧基)-1-氯-2-氟苯的合成

[0325] 向3-氯-4-氟苯酚(0.500g,3.41mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加K_2CO_3(0.942g,6.82mmol,2.0当量),然后添加1,3-二溴丙烷(1.74mL,17.06mmol,5.0当量)。将所得反应混合物在75℃下加热4h。通过NMR波谱法确认产物形成。反应完成后,将反应混合物用水(25mL)稀释并且用乙酸乙酯(50mL×2)萃取。将合并的有机层用水(20mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩以获得粗化合物,将所述粗化合物通过快速色谱法纯化(在己烷中的0-10%乙酸乙酯,作为稀释液)以获得呈无色液体的4-(3-溴丙氧基)-1-氯-2-氟苯(0.500g,54.8%产率)。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.22-7.30(m,1H)6.72(dd,J＝10.74,2.85Hz,1H)6.65(ddd,J＝8.88,2.74,1.10Hz,1H)4.08(t,J＝5.70Hz,2H)3.46-3.69(m,2H)2.18-2.43(m,2H)。

步骤-2:(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0326] 向吡咯烷-3-基氨基甲酸叔丁酯(0.769g,4.13mmol,1.0当量)在DMF(15mL)中的溶液中添加K_2CO_3(0.519g,3.76mmol,1.0当量),然后添加4-(3-溴丙氧基)-1-氯-2-氟苯(1.0g,3.76mmol,1.0当量)。将所得反应混合物在80℃下加热过夜。通过NMR波谱法确认产物形成。反应完成后,将反应混合物用水(50mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(20mL×4)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩。将粗产物在乙醚中结晶以获得呈灰白色固体的(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)氨基甲酸叔丁

酯(0.750g,53%产率)。LCMS 374.2[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.19-7.31(m,1H)6.70(dd,J=10.74,2.85Hz,1H)6.58-6.66(m,1H)4.89(br.s.,1H)4.19(br.s.,1H)3.98(t,J=6.36Hz,1H)2.88(br.s.,1H)2.61(br.s.,2H)2.17-2.44(m,2H)1.88-2.06(m,2H)1.62(br.s.,2H)1.42(s.,9H)1.26(d,J=8.77Hz,1H)。

步骤-3:1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-胺2,2,2-三氟乙酸盐的合成

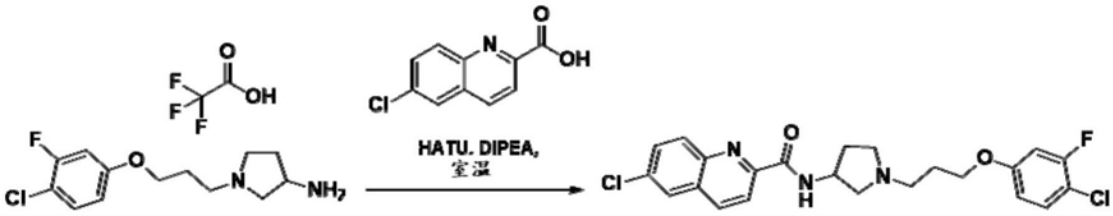
[0327] 在室温下向(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)氨基甲酸叔丁酯(0.250g,0.67mmol,1.0当量)在DCM(20mL)中的搅拌溶液中添加三氟乙酸(1mL)。允许将反应混合物在室温下搅拌过夜。在减压下除去DCM和过量三氟乙酸以获得呈固体的1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.260g,定量产率)。LCMS 273.2[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ10.72(br.s.,1H)8.41(br.s.,2H)7.48(t,J=8.77Hz,1H)7.06(dd,J=11.40,3.07Hz,1H)6.83(dd,J=8.77,1.75Hz,1H)4.08(t,J=5.92Hz,2H)3.98(br.s.,1H)3.62-3.86(m,2H)3.48-3.62(m,1H)3.27-3.47(m,3H)3.05-3.27(m,1H)2.33(br.s.,1H)1.90-2.20(m,1H)1.09(t,J=7.02Hz,2H)。

步骤-4:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)乙酰胺的合成

[0328] 在室温下向1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.200g,0.73mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.150g,0.73mmol,1.0当量)和HATU(0.418g,1.102mmol,1.5当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加DIPEA(0.36mL,2.20mmol,3.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用水(10mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩以获得粗化合物,将所述粗化合物通过反相HPLC纯化为呈灰白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)乙酰胺(化合物100-0.060g,17%产率)。LCMS 459.1[M+H]$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.20(d,J=7.45Hz,1H)7.45(t,J=8.99Hz,1H)7.48(t,J=8.99Hz,1H)7.04(t,J=2.85Hz,1H)7.07(t,J=2.85Hz,1H)6.69-6.94(m,2H)4.51(s,2H)4.14-4.34(m,1H)4.03(t,J=6.14Hz,2H)3.34(br.s.,2H)2.67(br.s.,2H)2.42(br.s.,2H)1.98-2.21(m,1H)1.86(五重峰,J=6.69Hz,2H)1.63(dd,J=11.84,5.70Hz,1H)。

实施例44

6-氯-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)喹啉-2-甲酰胺的合成

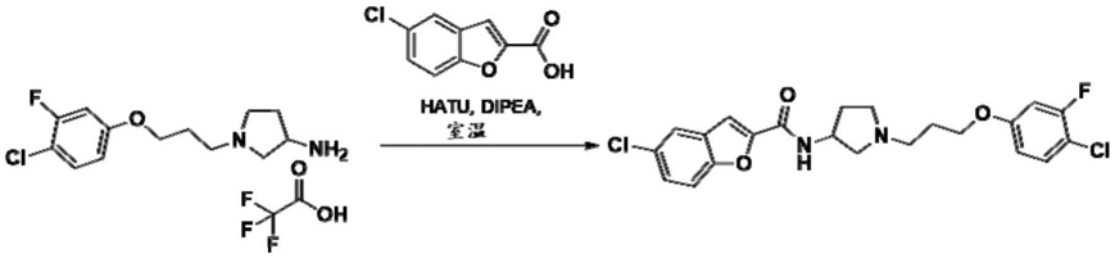


[0329] 在室温下向1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.150g,0.55mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加6-氯喹啉-2-甲酸(0.114g,0.73mmol,1.0当量)和HATU(0.380g,0.82mmol,1.5当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加DIPEA(0.27mL,2.20mmol,3.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通

过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用水(10mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤，经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩以获得粗化合物，将所述粗化合物通过反相HPLC纯化为呈灰白色固体的6-氯-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)喹啉-2-甲酰胺(化合物56-0.060g，23％产率)。LCMS 462.1$[M+H]^+$，^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.91(br.s.,1H)8.56(d,J＝8.77Hz,1H)8.26(d,J＝2.63Hz,1H)8.18(d,J＝8.33Hz,1H)8.13(d,J＝7.45Hz,1H)7.88(dd,J＝8.99,2.41Hz,1H)7.45(t,J＝8.77Hz,1H)7.08(dd,J＝11.40,2.63Hz,1H)6.74-6.95(m,1H)4.55(br.s.,1H)4.08(t,J＝6.14Hz,2H)2.99(br.s.,2H)2.79(br.s.,2H)2.67(br.s.,1H)2.33(br.s.,1H)2.27(br.s.,1H)1.97(br.s.,3H)。

实施例45

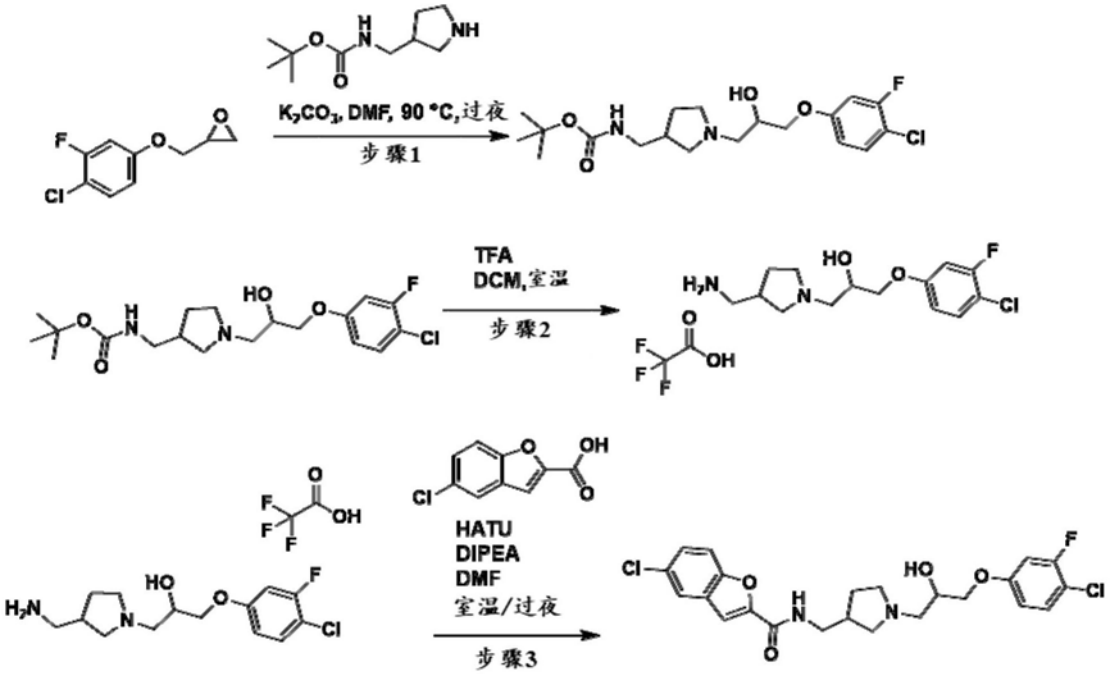
5-氯-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



[0330] 在室温下向1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-胺2,2,2-三氟乙酸盐(0.150g,0.55mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.114g,0.73mmol,1.0当量)和HATU(0.380g,0.82mmol,1.5当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加DIPEA(0.27mL,2.20mmol,3.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用水(10mL)稀释并且用乙酸乙酯(100mL×2)萃取。将合并的有机层用水(50mL×4)洗涤，经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩以获得粗化合物，将所述粗化合物通过反相HPLC纯化为呈灰白色固体的5-氯-N-(1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙基)吡咯烷-3-基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物101-0.080g，24％产率)。LCMS 451.10$[M+H]^+$，^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.97(br.s.,1H)7.89(d,J＝2.19Hz,1H)7.70(d,J＝8.77Hz,1H)7.59(s,1H)7.39-7.54(m,2H)7.08(dd,J＝11.40,2.63Hz,1H)6.76-6.92(m,1H)4.51(br.s.,1H)4.07(t,J＝6.14Hz,2H)2.94(br.s.,5H)2.33(br.s.,1H)2.25(br.s.,1H)2.00(br.s.,3H)。

实施例46

5-氯-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成



步骤-1:((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0331] 向(吡咯烷-3-基甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.500g,2.50mmol,1.0当量)和2-((4-氯-3-氟苯氧基)甲基)环氧乙烷(0.606g,3.00mmol,1.2当量)在DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(0.690g,5.00mmol,2.0当量)。将所得反应混合物在90℃下加热过夜。通过TLC和LCMS监测反应。反应完成后,将反应混合物用水(40mL)稀释并且用EtOAc(3×50mL)萃取并且用水(2×40mL)、盐水溶液(2×40mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并且在减压下浓缩以获得粗品。将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的0-5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈灰白色固体的((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.300g,30%产率)。LCMS 403.1$[M+H]^+$,^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.22-7.29(m,1H)6.74(dd,J=10.52,2.63Hz,1H)6.67(dd,J=8.77,2.63Hz,1H)4.76(br.s.,1H)4.04-4.15(m,1H)3.95(d,J=4.82Hz,2H)3.49(s,1H)3.14(br.s.,2H)2.79-2.92(m,2H)2.75(t,J=6.80Hz,1H)2.52-2.65(m,2H)2.34-2.52(m,2H)1.94-2.08(m,1H)1.54(dd,J=13.15,6.14Hz,1H)1.44(s,9H)。

步骤-2:1-(3-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐的合成

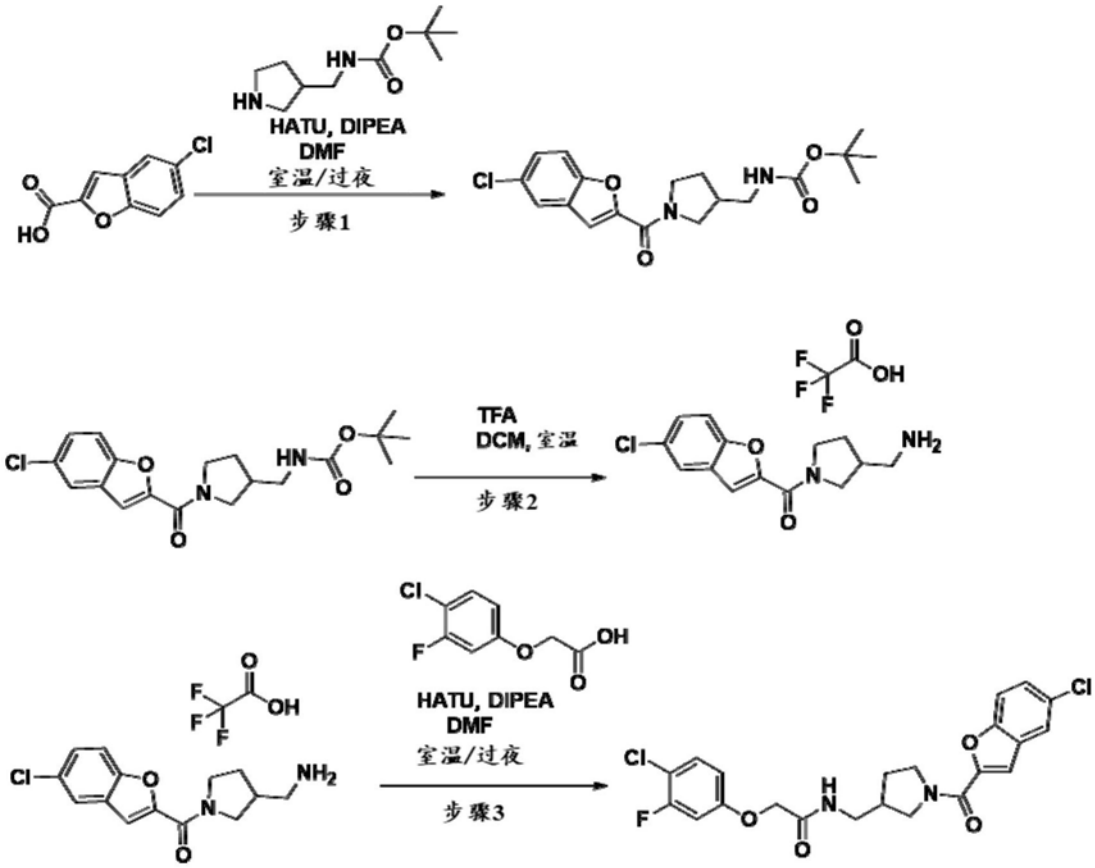
[0332] 向((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.300g,0.744mmol,1.0当量)在DCM(5mL)中的搅拌溶液中添加TFA(0.5mL),并且在氮气气氛下将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过TLC和LCMS监测反应。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩。将粗产物在乙醚中结晶并且在真空下干燥以获得呈灰白色固体的1-(3-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.250g,80%产率)。LCMS 303.2$[M+H]^+$

步骤-3:5-氯-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺的合成

[0333] 在室温下向1-(3-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)-3-(4-氯-3-氟苯氧基)丙-2-醇2,2,2-三氟乙酸盐(0.250g,0.600mmol,1.0当量)在DMF(05mL)中的溶液中添加5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.0.118g,0.600mmol,1.0当量)和HATU(0.342g,0.900mmol,1.5当量)。将反应混合物搅拌10分钟并且然后添加DIPEA(0.232mL,1.80mmol,3.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用水(15mL)稀释并且用乙酸乙酯(20mL×2)萃取。将合并的有机层用水(20mL×4)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩。将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的0-5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈灰白色固体的5-氯-N-((1-(3-(4-氯-3-氟苯氧基)-2-羟丙基)吡咯烷-3-基)甲基)苯并呋喃-2-甲酰胺(化合物8-0.080g,27%产率)。LCMS 481.4$[M+H]^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.92(br.s.,1H)7.87(d,J=1.75Hz,1H)7.69(d,J=8.77Hz,1H)7.35-7.58(m,3H)7.06(d,J=11.84Hz,1H)6.83(d,J=9.21Hz,1H)4.01(d,J=9.65Hz,2H)3.93(br.s.,1H)2.68(d,J=9.21Hz,2H)1.92(d,J=14.03Hz,2H)1.57(br.s.,2H)1.23(br.s.,1H)0.93(d,J=6.58Hz,1H)。

实施例47

2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成



步骤-1:((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0334] 在室温下向5-氯苯并呋喃-2-甲酸(0.250g,1.27mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加(吡咯烷-3-基甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.255g,1.27mmol,1.0当量)和HATU(0.965g,2.54mmol,2.0当量)。将反应混合物搅拌5分钟并且添加DIPEA(0.4mL,1.00mmol,

2.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用冷水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(60mL×2)萃取。将合并的有机层用冷水(20mL×4)、盐水(20mL×2)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩。将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的0-5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈棕色固体的((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(120mg,24.8%)。LCMS 379.0$[M+H]^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.83(d,J=1.75Hz,1H)7.67-7.77(m,1H)7.38-7.55(m,2H)7.03(d,J=15.79Hz,1H)3.82-3.99(m,1H)3.51-3.67(m,2H)2.91-3.10(m,2H)2.17-2.46(m,2H)1.83-2.05(m,1H)1.54-1.73(m,1H),1.39(s,9H)。

步骤-2:(3-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)(5-氯苯并呋喃-2-基)甲酮2,2,2-三氟乙酸盐的合成

[0335] 向((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.06g,0.158mmol,1当量)在DCM(30mL)中的搅拌溶液中添加TFA(0.5mL)并且将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩并且用水稀释。将水层用乙酸乙酯(10mL)洗涤。将水层分离并且在冻干器上冷冻干燥以获得呈黄色固体的(3-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)(5-氯苯并呋喃-2-基)甲酮2,2,2-三氟乙酸盐(60mg,定量产率)。LCMS 278.9$[M+H]^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.84(br.s.,2H)7.70(dd,J=8.33,3.51Hz,1H)7.39-7.52(m,1H)4.01(br.s.,1H)3.85(d,J=10.52Hz,1H)3.68-3.81(m,1H)3.32(d,J=6.58Hz,2H)2.83-2.99(m,2H)2.59-2.73(m,1H)2.52(br.s.,1H)2.06(br.s.,1H)1.77(br.s.,1H)。

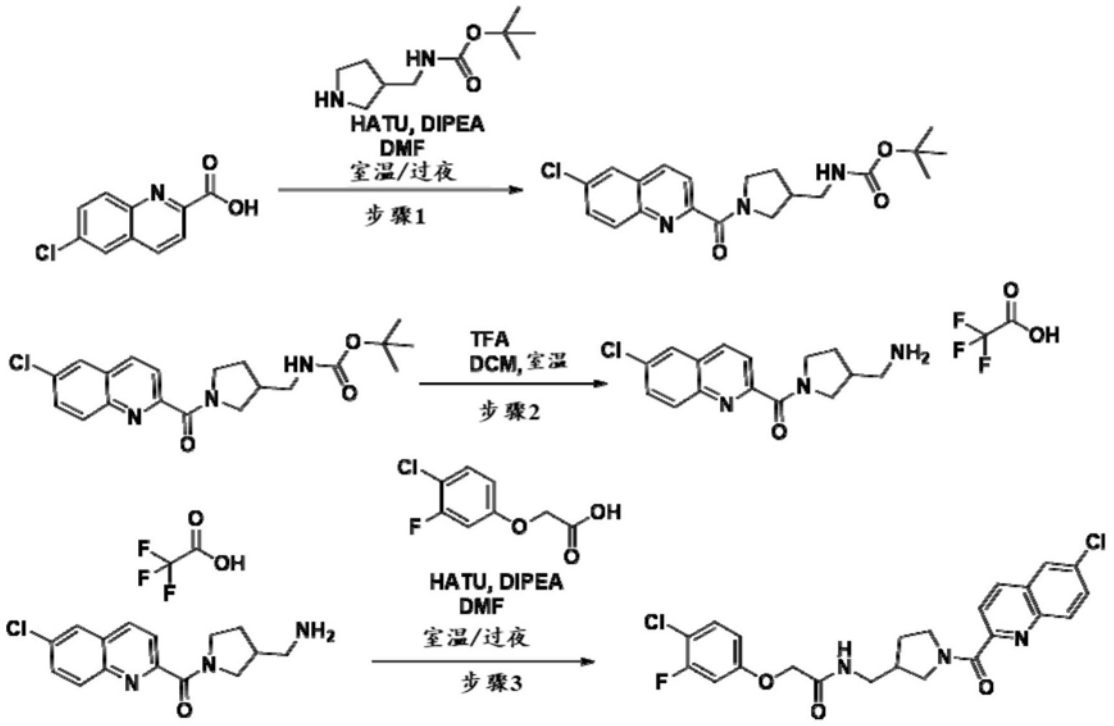
步骤-3:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成

[0336] 在室温下向(3-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)(5-氯苯并呋喃-2-基)甲酮2,2,2-三氟乙酸盐(0.06g,0.153mmol,1.0当量)在DMF(1.0mL)中的溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.031g,0.153mmol,1.0当量)和HATU(0.116g,0.306mmol,2.0当量)。将反应混合物搅拌5分钟并且然后添加DIPEA(0.039mL,1.00mmol,2.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用冷水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(60mL×2)萃取。将合并的有机层用冷水(20mL×4)、盐水(20mL×2)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩,将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的0-5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺(化合物6-45mg,75%产率)。

[0337] LCMS 465.4$[M+H]^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.32(d,J=6.14Hz,1H)7.83(d,J=2.19Hz,1H)7.71(t,J=8.77Hz,2H)7.46-7.54(m,1H)7.36-7.46(m,1H)7.01-7.17(m,1H)6.75-6.92(m,1H)4.56(d,J=10.09Hz,2H)3.80-3.99(m,1H)3.36-3.66(m,2H)3.04-3.29(m,2H)2.42(br.s.,1H)2.01(br.s.,1H)1.93(d,J=5.70Hz,1H)1.60-1.70(m,1H)。

实施例48

2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(6-氯喹啉-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成



步骤-1:((1-(6-氯喹啉-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯的合成

[0338] 在室温下向6-氯喹啉-2-甲酸(0.2g,0.966mmol,1.0当量)在DMF(1.5mL)中的溶液中添加(吡咯烷-3-基甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.270g,0.966mmol,1.0当量)和HATU(0.734g,1.93mmol,2.0当量)。将反应混合物搅拌5分钟并且然后添加DIPEA(0.4mL,1.93mmol,2.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用冷水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(60mL×2)萃取。将合并的有机层用冷水(20mL×4)、盐水(20mL×2)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩。将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的0-5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈黄色半固体((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.100g,26%产率)。LCMS 390.2$[M+H]^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.47(d,J=8.77Hz,1H)8.21(d,J=2.19Hz,1H)7.99-8.09(m,1H)7.78-7.93(m,2H)7.06(br.s.,1H),3.58-3.83(m,2H)3.45-3.57(m,2H)3.39(dd,J=11.18,6.36Hz,1H)2.82-3.08(m,1H)2.22-2.40(m,1H)1.97(dd,J=11.18,4.60Hz,1H)1.51-1.74(m,1H)1.17-1.31(s,9H)。

步骤-2:(3-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)(6-氯喹啉-2-基)甲酮2,2,2-三氟乙酸盐的合成

[0339] 向((1-(5-氯苯并呋喃-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.1g,0.257mmol,1当量)在DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加TFA(0.5mL)并且将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应。反应完成后,将反应混合物在减压下浓缩并且用水稀释。将水层用乙酸乙酯(10mL)洗涤。将水层分离并且在冻干器上冷冻干燥以获得呈棕色半固体的((1-(6-氯喹啉-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯2,2,2-三氟乙酸盐(100mg,97%)。LCMS 290.0$[M+H]^+$

步骤-3:2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(6-氯喹啉-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺的合成

[0340] 在室温下向(3-(氨基甲基)吡咯烷-1-基)(6-氯喹啉-2-基)甲酮2,2,2-三氟乙酸盐(0.05g,0.124mmol,1.0当量)在DMF(2mL)中的溶液中添加2-(4-氯-3-氟苯氧基)乙酸(0.025g,0.124mmol,1.0当量)和HATU(0.094g,0.248mmol,2.0当量)。将反应混合物搅拌5分钟并且然后添加DIPEA(0.015mL,0.248mmol,2.0当量)。允许将所得反应混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应的进程。将反应混合物用冷水(20mL)稀释并且用乙酸乙酯(60mL×2)萃取。将合并的有机层用冷水(20mL×4)、盐水(20mL×2)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥并且在减压下浓缩。将粗产物通过快速色谱法纯化(在DCM中的0-5%MeOH,作为洗脱液)以获得呈白色固体的2-(4-氯-3-氟苯氧基)-N-((1-(6-氯喹啉-2-羰基)吡咯烷-3-基)甲基)乙酰胺(化合物5-60mg,100%)。LCMS 476.3$[M+H]^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.47(d,J=8.77Hz,1H)8.34(br.s.,1H)8.18-8.27(m,1H)8.06(t,J=9.43Hz,1H)7.76-7.92(m,1H)7.50(t,J=8.99Hz,1H)7.37(t,J=8.77Hz,1H)6.94-7.01(m,1H)6.77(d,J=7.89Hz,1H)4.58(s,1H)4.49(s,1H)3.58-3.87(m,2H)3.47-3.58(m,1H)3.41(dd,J=11.62,7.24Hz,1H)3.03-3.32(m,2H)2.41(dd,J=12.72,6.58Hz,1H)1.83-2.05(m,1H)1.55-1.74(m,1H)。

生物学实施例

实施例B1-ATF4表达抑制测定

[0341] 通过在缺乏起始甲硫氨酸的萤火虫萤光素酶编码序列的上游融合ATF4(NCBI登录号BC022088.2)人全长5'UTR来制备ATF4报告基因。使用标准方法将融合序列克隆到pLenti-EF1a-C-Myc-DDK-IRES-Puro克隆载体(Origen#PS100085)中。通过使用Lenti-X™Packaging Single Shots Protocol(Clonetech#631276)进行病毒生产。使用病毒颗粒转导HEK293T细胞(ATCC#CRL-3216,ATCC马纳萨斯,维吉尼亚州),随后将所述细胞用嘌呤霉素进行选择以产生稳定的细胞系。将细胞维持在37℃和5%CO_2下在补充有10%热灭活胎牛血清(Gibco#16000-044)、2mM L-谷氨酰胺(Gibco#25030-081)、100U/ml青霉素和100μg/ml链霉素(Gibco#15140-122)的DMEM-F12(Hyclone#SH30023.02)中。

[0342] 将携带ATF4萤光素酶报告基因的HEK293T细胞以10,000个细胞/孔铺板到96孔板(Nunc)上。在用100nM毒胡萝卜素(Tg)(Sigma-Aldrich#T9033)接种后两天,在范围为从1nM至10μM的不同浓度的所选化合物的存在下将细胞处理。将未处理的细胞或仅用Tg处理的细胞用作对照。将含有细胞的测定板在37℃下孵育3小时。

[0343] 使用如制造商指定的萤光素酶测定系统(Promega#E1501)进行萤光素酶反应。使用Cytation-5多模式酶标仪(BioTek)以1s的积分时间和110的增益读取发光。将相对发光单位归一化为Tg处理(0%抑制)和未处理的细胞(100%抑制),并且计算ATF4抑制百分比。

[0344] 表2示出了对于ATF4蛋白水平增加的半数最大抑制浓度(IC_{50})。在ISR应激条件下(由用Tg的处理引起),ATF4表达通常上调。因此,作为测试化合物的结果的ATF4表达的抑制指示ISR通路的抑制。

表2

化合物编号	ATF4抑制IC_{50}（nM）
1	856
2	> 1000
3	248.6
4	> 100
5	> 100
6	> 100
7	> 100
8	>1000
12	3.58
13	> 100
14	216.7
15	> 100
16	134
17	102

化合物编号	ATF4抑制IC_{50}（nM）
18	177.6
19	> 100
20	> 100
21	> 1000
33	> 1000
34	> 1000
53	>1000
56	>1000
80	> 100
81	1000
82	> 1000
83	> 1000
84	> 100
85	< 1000
86	< 100
87	< 1000
88	< 1000
89	> 1000
90	57.8
91	1236
92	14.1
93	2.8
94	24.3
95	<1000
96	4.97
97	25.0
98	>100
99	>100
100	>100
101	>100

实施例B2-ATF4表达抑制测定

[0345] 将HEK293T细胞维持在37℃和5％CO_2下在补充有10％胎牛血清(FBS)、2mM L-谷氨酰胺、100U/ml青霉素和100μg/ml链霉素的杜尔贝科氏改良伊格培养基(DMEM)中。达到80％汇合后，将细胞脱离并且接种在6孔板上的完全培养基中，允许过夜恢复并且在100nM或1μM浓度的测试化合物(百分比抑制测定)或范围为从1nM至1μM的各种浓度(IC_{50}测定)的存在下用100nM毒胡萝卜素(Tg)处理3小时。将未处理的细胞或仅用Tg处理的细胞用作对照。

[0346] 用Tg和测试化合物处理3小时后，用SDS-PAGE裂解缓冲剂裂解细胞。将裂解物转移到1.5ml管中并且超声处理3min，并且使用BCA蛋白质检测试剂盒(Pierce)对总蛋白质量进行定量。将等量的蛋白质加载到SDS-PAGE凝胶上。将蛋白质转移到0.2μm PVDF膜(BioRad)

上,并且用在补充有0.1%Tween 20和3%牛血清白蛋白的Tris缓冲盐水中稀释的一抗进行探测。

[0347] 将ATF4(11815)抗体用作一抗(Cell Signaling Technologies)。使用辣根过氧化物酶(HRP)缀合的二抗(Rockland)来使用增强的化学发光(ECL蛋白质印迹底物,Pierce)检测免疫反应条带。使用ImageJ通过密度测定法完成蛋白质条带的定量。

[0348] 可以报告在100nM或1μM的某些测试化合物的存在下在用Tg的诱导后的ATF4抑制百分比。ATF4抑制百分比可以计算为归一化为Tg处理(0%抑制)和未处理细胞(100%抑制)的减少百分比。还可以报告测试化合物的计算IC_{50}。在ISR应激条件下(由用Tg的处理引起),ATF4表达通常上调。因此,作为测试化合物的结果的ATF4表达的抑制指示ISR通路的抑制。

实施例B3-蛋白质翻译测定

[0349] 将中国仓鼠卵巢(CHO)细胞维持在37℃和5%CO_2下在补充有10%胎牛血清、2mM L-谷氨酰胺、100U/ml青霉素和100μg/ml链霉素的杜尔贝科氏改良伊格培养基(DMEM)中。达到80%汇合后,将细胞脱离并且接种在6孔板上的完全培养基中,允许过夜恢复并且用1μM的测试化合物处理2小时(以评估无应激条件下的蛋白质合成水平)或在1μM的测试化合物的存在下用300nM Tg处理2小时(以评估应激条件下的蛋白质合成水平)。将单独的用Tg的细胞用作对照。

[0350] 处理2小时后,通过在完全培养基中添加10μg/ml嘌呤霉素(Sigma Aldrich#P8833)30min来更换培养基。去除培养基并且用SDS-PAGE裂解缓冲剂裂解细胞。将裂解物转移到1.5ml管中并且超声处理3min,并且使用BCA蛋白质检测试剂盒(Pierce)对总蛋白质量进行定量。将等量的蛋白质(30μg)加载到SDS-PAGE凝胶上。将蛋白质转移到0.2μm PVDF膜(BioRad)上,并且用在补充有0.1%Tween 20(Merck#S6996184 505)和3%牛血清白蛋白(Rockland#BSA-50)的Tris缓冲盐水中稀释的一抗进行探测。

[0351] 将嘌呤霉素(12D10)(Merck#MABE343)和β-肌动蛋白(Sigma Aldrich#A5441)抗体用作一抗。使用HRP缀合的二抗(Rockland)来使用增强的化学发光(ECL蛋白质印迹底物,Pierce)检测免疫反应条带。使用ImageJ软件通过密度测定法完成蛋白质条带的定量。

[0352] 表3中示出了在单独的培养基或某些测试化合物的存在下在未受应激细胞(未经Tg处理)中蛋白质合成的增加百分比。将百分比水平归一化为单独的培养基条件,这对应于100%的蛋白质合成。某些化合物刺激高于基线的蛋白质合成,表明这些测试化合物导致未受应激细胞中蛋白质合成增加。

[0353] 表3中还示出了由于1μM测试化合物而导致的在应激细胞(用Tg处理)中蛋白质合成的恢复百分比。将水平归一化为单独的培养基和单独的Tg条件,其分别对应于100%和0%。

表3

化合物编号	蛋白质合成的恢复%（1 μM测试化合物）	相对于未处理的蛋白质合成%（1 μM测试化合物）
1	n.d.	46.9
2	28.2	84.7
3	286	176.1
4	-53.2	76.1
5	0.00	94.2
6	0.00	81.2
7	-15.9	121.9
8	31.57	107.1
12	13	97.7
13	161.6	288.2
14	n.d.	65.9
15	-4.2	110.5
16	n.d.	95.4
17	22	78.4
18	n.d.	158.3
19	-1.3	76.1
20	52.5	122.6
21	54.6	140.6
33	101.1	147
34	122.6	166.1
53	37.93	101.9
56	32.73	100.5
80	23.9	152.7
81	38.7	133.6
82	176.4	159.7

化合物编号	蛋白质合成的恢复%（1 μM测试化合物）	相对于未处理的蛋白质合成%（1 μM测试化合物）
83	175.2	128.8
84	-87.4	80.3
85	-94.8	88
86	-97	94.2
87	-94.5	83.9
88	-28.1	76.4
89	42.5	118.7
90	269.7	210.4
91	209.4	190.4
92	45.8	93.6
93	51.4	101.8
94	298.3	169.2
95	170.5	186.1
96	24.5	109.9
97	-34.4	109.1
98	142.63	167.3
99	0.00	67.7
100	0.00	69.1
101	86.10	93.2

[0354] 表2和表3中汇总的数据显示，在ISR诱导的条件下，一些化合物在ATF4抑制和蛋白质合成方面具有不同的活性。即，一些化合物能够有效抑制ATF4表达，但不能恢复蛋白质合成。其他化合物有效地恢复蛋白质合成，但在ISR诱导条件下不抑制ATF4表达。仍有其他化合物抑制ATF4表达并且恢复蛋白质合成。

实施例B4-在Aβ刺激下的ATF4抑制测定

[0355] 将稳定表达结合有家族性阿尔茨海默病突变V717F的人APP751的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞用作Aβ单体和低n寡聚体的来源。将被称为7PA2 CHO细胞的这些细胞在具有含有10％胎牛血清、2mM L-谷氨酰胺、100U/ml青霉素和100μg/ml青霉素、链霉素和200μg/ml G418的杜尔贝科氏改良伊格培养基(DMEM)的100mm培养皿中培养。达到90％-100％汇合后，将细胞用5mL无谷氨酰胺且无血清的DMEM洗涤，并且在5mL相同DMEM中孵育大约16h。收集条件培养基(CM)。

[0356] 将SH-SY5Y细胞维持在37℃和5％CO_2下在补充有10％胎牛血清(FBS)、青霉素和链霉素的RPMI 1640培养基中。达到80％汇合后，将细胞脱离并且接种在6孔板中的完全培养基中，允许恢复48h并且在1μM所选化合物的存在下用来自WT CHO细胞或7PA2 CHO细胞的CM处理16小时。

[0357] 处理16小时后，除去培养基并且用SDS-PAGE裂解缓冲剂裂解细胞。将裂解物转移到1.5ml管中并且超声处理3min。使用BCA蛋白质检测试剂盒(Pierce)对总蛋白质量进行定量。将等量的蛋白质(30μg)加载到SDS-PAGE凝胶上。将蛋白质转移到0.2μm PVDF膜(BioRad)上，并且用在补充有0.1％Tween 20和3％牛血清白蛋白的Tris缓冲盐水中稀释的一抗进行探测。

[0358] 将ATF4(11815)抗体用作一抗(Cell Signaling Technologies)。将β-肌动蛋白抗体用作对照一抗。使用HRP缀合的二抗(Rockland)来使用增强的化学发光(ECL蛋白质印迹底物，Pierce)检测免疫反应条带。使用ImageJ通过密度测定法完成蛋白质条带的定量。

[0359] 可以报告在用来自7PA2 CHO细胞的CM孵育后在SH-SY5Y细胞中ATF4表达的抑制百分比作为测试化合物的结果。ATF4抑制百分比被计算为归一化为来自7PA2 CHO细胞处理(0％抑制)的CM和来自WT CHO细胞处理(100％抑制)的CM的减少百分比。

实施例B5-电生理学和长时程增强

[0360] 如Ardiles等人，Pannexin 1regulates bidirectional hippocampal synaptic plasticity in adult mice.Front Cell Neurosci，第8卷，art.326(2014)中所述制备海马切片。将6至11月龄WT C57BL/6或转基因APP/PS1小鼠(Jackson Lab 34829-JAX)用异氟烷深度麻醉，并且迅速去除它们的脑。使用振动切片机(Leica VT1200S，Leica Microsystems，德国努斯洛赫)在冰冷的解剖缓冲剂中解剖来自每只动物的5-10个切片(350μm)。在条件刺激前20min将切片用5μM ISRIB(反式-N,N'-1,4-环己烷二基双[2-(4-氯苯氧基)-乙酰胺)(所选化合物)或媒介物(含有0.1％DMSO的完全培养基)孵育。通过用经由同心双极刺激电极递送的0.2ms脉冲刺激Schaffer侧支来诱发突触反应，并且在CA1子场的放射层中进行细胞外记录。通过以0.1Hz递送的四θ短阵快速脉冲刺激(burst stimulation)(TBS)(10列100Hz的四个脉冲；5Hz短阵快速脉冲间隔(inter-burst interval))诱导长时程增强(LTP)。基于场兴奋性突触后电位(fEPSP)的LTP幅度计算为在条件刺激后60min记录的响应的平均值(均一化为基线)。可以使用测试化合物代替ISRIB进

行类似的实验。

实施例B6-老年小鼠的学习记忆

[0361] 在8臂辐射状水迷宫(RAWM)中使用野生型19月龄雄性C57Bl/6J小鼠来测量海马介导的学习记忆。所述迷宫涉及直径118.5cm并且高25cm的池和可以去除的逃生平台,所述池具有8个臂,每个臂长41cm。所述池填充有水,通过添加白色油漆(Crayola,54-2128-053)使水变得不透明。逃生平台在实验过程中保持隐藏。将视觉线索放置在房间周围,使得探索迷宫的动物可以看到它们。

[0362] 向9只小鼠腹腔内注射5mg/kg的在蒸馏水中的50%聚乙二醇(PEG-400)中配制的测试化合物,并且向其他9只动物腹腔内注射作为对照组的在蒸馏水中的50%PEG-400媒介物。动物每天运行6次试验,持续两天。允许动物1min定位逃生平台。成功找到平台后,动物将停留10秒钟,然后返回它们的保持笼。在失败的试验中,将动物引导到逃生平台,并且然后其在10秒后返回它们的保持笼。

[0363] 使用视频跟踪和分析设置(Ethovision XT 8.5,Noldus Information Technology)记录和评分行为测试。所述程序自动分析每次试验发生的不正确臂进入的数量(称为错误数目)。最后三个试验取平均值以确定训练后的学习记忆。

[0364] 在行为测试结束时,将动物处死,并且提取海马并且立即在液氮中冷冻并且储存在-80℃。然后将冷冻样品用在冰冷缓冲裂解剂(Cell Signaling 9803)中的T10基础ULTRA-TURRAX(IKa)以及蛋白酶和磷酸酶抑制剂(Roche)匀化。将裂解物超声3min,并且在4℃下以13,000rpm离心20分钟。使用BCA蛋白质测定试剂盒(Pierce)确定上清液中的蛋白质浓度。将等量的蛋白质加载到SDS-PAGE凝胶上。将蛋白质转移到0.2μm PVDF膜(BioRad)上,并且用在补充有0.1%Tween 20和3%牛血清白蛋白的Tris缓冲盐水中稀释的一抗进行探测。

[0365] 将ATF4(11815)抗体(Cell Signaling Technologies)和β-肌动蛋白(Sigma-Aldrich)抗体用作一抗。使用HRP缀合的二抗(Rockland)来使用增强的化学发光(ECL蛋白质印迹底物,Pierce)检测免疫反应条带。使用ImageJ软件通过密度测定法完成蛋白质条带的定量。

[0366] 可以报告RAWM任务的结果和归一化为海马中β-肌动蛋白表达的ATF4表达水平。

实施例B7-在创伤性脑损伤(TBI)后的学习记忆、长期记忆和社交行为

[0367] 将野生型三月龄雄性C57Bl/6J小鼠被随机分配到TBI或假手术。将动物麻醉并且维持在2%异氟烷并且固定在带有非创伤性耳棒的立体定位框架上。将他们头皮上的毛发去除,并且将眼软膏和必妥碘分别涂在他们的眼睛和头皮上。做出中线切口以暴露颅骨。使用受控皮质撞击模型在右顶叶中诱导单侧TBI(Nat Neurosci.2014年8月;17(8):1073-82)。小鼠接受使用电动微型钻的3.5mm直径颅骨切除术,即去除部分颅骨。颅骨切除术的坐标是:相对于前囟,前后-2.00mm和中间+2.00mm。颅骨切除术后,使用附接到电磁冲击器(Leica)的3mm凸形尖端诱导挫伤。将挫伤深度设置为距硬脑膜0.95mm,速度为4.0m/s,持续300ms。选择这些损伤参数以靶向但不穿透海马体。假动物接受颅骨切除术的手术,但没有局灶性损伤。局灶性TBI手术后,缝合头皮,并且允许动物在设置为37℃的孵育室中恢复。动物在显示出正常的行走和梳理行为后返回它们的居住笼。在整个实验的持续时间期间监测如通过正常行为和体重维持所展示的从手术程序的恢复。

[0368] 损伤后28天(dpi)后,在RAWM测定中测试动物(参见上文实施例B6)。动物在学习测试期间运行12次试验并且在记忆测试期间运行4次试验。学习测试的最后三个试验和记忆测试的所有四个试验取平均值以确定学习记忆(学习测试)和长期记忆(记忆测试)。

[0369] 从行为测试前一天(27dpi)开始、在学习测试日(28和29dpi)的每个最终试验之后并且在社会行为测试(42dpi,参见下文)之前以总共四次注射,向动物腹膜内注射5mg/kg的在蒸馏水中的50%PEG-400中配制的测试化合物(n=10)或媒介物(在蒸馏水中的50%PEG-400;对于TBI组,n=10并且对于假组,n=8)。在第35dpi日测试长期记忆时不给予注射。

[0370] 为了量化经处理的小鼠的社交倾向,在克劳利(Crawley)三室盒中测量与新型同种小鼠相处的时间(J Vis Exp.2011;(48):2473)。让经处理的动物自由探索所有三个空室10min以适应。将社交对小鼠放置于在设备一侧的住笼中,并且将经处理的动物放置在对面的室中,使得小鼠就可以自由地探索整个设备10min。记录与从未见过的动物相处的时间。将经处理的小鼠与住笼之间的直接接触或在住笼周围3-5cm区域中受试者小鼠的身体的伸展被计为主动接触。

[0371] 报告小鼠TBI后的学习记忆、长期记忆和社交行为。

实施例B8-禁食诱导的肌肉萎缩

[0372] 使用从智利Fundación Ciencia&Vida植物园(智利圣地亚哥)获得的野生型8周龄雄性Balb/c小鼠。将小鼠关在独立的塑料笼中,所述独立的塑料笼在保持25℃下具有12-h:12-h光:暗循环的房间中。

[0373] 在2天的禁食程序之前24小时和期间,动物接受经由饲管(15号)口服施用在蒸馏水中的媒介物(50%聚乙二醇400(Sigma-Aldrich P3265)或10mg/kg的配制在媒介物溶液中的测试化合物。

[0374] 禁食2天后,将动物处死并且从两个后肢去除肌肉。将随意进食和饮水的小鼠用作对照。

[0375] 对于蛋白质合成的体内测量,在200μL体积的PBS中以0.04μmol/g体重制备嘌呤霉素(Sigma-Aldrich,P8833),并且随后在肌肉收集之前30min经由IP注射施用于动物。

[0376] 收集后,将肌肉立即在液氮中冷冻并且然后储存在-80℃。然后将冷冻肌肉用在冰冷缓冲裂解剂(Cell Signaling 9803)中的T10基础ULTRA-TURRAX(IKa)以及蛋白酶和磷酸酶抑制剂(Roche)匀化。将裂解物超声3min,并且在4℃下以13,000rpm离心20分钟。使用BCA蛋白质测定试剂盒(Pierce)确定上清液中的蛋白质浓度。将等量的蛋白质加载到SDS-PAGE凝胶上。将蛋白质转移到0.2um PVDF膜(BioRad)上,并且用在补充有0.1%Tween 20和3%牛血清白蛋白的Tris缓冲盐水中稀释的一抗进行探测。

[0377] 将嘌呤霉素(12D10)(Merck Millipore)和β-肌动蛋白(Sigma-Aldrich)抗体用作一抗。使用HRP缀合的二抗(Rockland)来使用增强的化学发光(ECL蛋白质印迹底物,Pierce)检测免疫反应条带。使用ImageJ软件通过密度测定法完成蛋白质条带的定量。

[0378] 对于截面面积(CSA)的免疫组织化学分析,将来自对照(Fed)和禁食动物的肌肉独立地浸没在最佳切割温度(OCT)化合物(Tissue-Tek;Sakura)中处于静止长度,并且冷冻在用液氮冷却的异戊烷中。使用低温恒温器(Leica)获得来自肌肉中腹部的截切片(10-μm厚),并且用嘌呤霉素抗体(12D10)(Merck Millipore)进行免疫染色。使用HRP-聚合物缀合的二抗(Biocare Medical,MM620L),然后二氨基联苯胺底物孵育(ImmPACT DAB-Vector,

SK-4105),以检测CSA中的嘌呤霉素化结构。

[0379] 报告禁食肌肉中蛋白质合成的百分比。将水平归一化为β-肌动蛋白表达,并且百分比计算为相对于来自对照小鼠(Fed)的蛋白质合成水平(其对应于100%)的百分比。

[0380] 将肌肉纤维CSA用Zeiss Axio Lab.A1显微镜和Axiocam(Zeiss)数码相机进行可视化。可以报告CSA中的嘌呤霉素染色。

实施例B9-固定诱导的肌肉萎缩

[0381] 使用从智利Fundación Ciencia&Vida植物园(智利圣地亚哥)获得的野生型8周龄雄性Balb/c小鼠。将小鼠关在独立的塑料笼中,在保持25℃下具有12-h:12-h光:暗循环的房间中随意进食。

[0382] 在3天的固定程序之前24小时和期间,动物接受经由饲管(15号)口服施用在蒸馏水中的媒介物(50%聚乙二醇400(Sigma-Aldrich P3265)或10mg/kg的配制在媒介物中的测试化合物。

[0383] 将一个后肢用塑料棒固定,所述塑料棒放置在所述肢上和下方,并且用医用胶布绷带固定。每天监测动物。固定程序防止单独的固定的腿移动。3天后,将动物处死并且从双后肢去除腓肠肌、股四头肌和胫骨前肌,将对侧的非固定腿用作内部对照。

[0384] 对于蛋白质合成的体内测量,在200μL体积的PBS中以0.04μmol/g体重制备嘌呤霉素(Sigma-Aldrich,P8833),并且随后在肌肉收集之前30min经由腹膜内注射施用于动物。

[0385] 收集后,将肌肉立即在液氮中冷冻并且储存在-80℃。然后将冷冻肌肉用在冰冷缓冲裂解剂(Cell Signaling 9803)中的T10基础ULTRA-TURRAX(IKa)以及蛋白酶和磷酸酶抑制剂(Roche)匀化。将裂解物超声3min,并且在4℃下以13,000rpm离心20分钟。使用BCA蛋白质测定试剂盒(Pierce)确定上清液中的蛋白质浓度。将等量的蛋白质加载到SDS-PAGE凝胶上。将蛋白质转移到0.2um PVDF膜(BioRad)上,并且用在补充有0.1%Tween 20和3%牛血清白蛋白的Tris缓冲盐水中稀释的一抗进行探测。

[0386] 将嘌呤霉素(12D10)(Merck Millipore)和β-肌动蛋白(Sigma-Aldrich)抗体用作一抗。使用HRP缀合的二抗(Rockland)来使用增强的化学发光(ECL蛋白质印迹底物,Pierce)检测免疫反应条带。使用ImageJ软件通过密度测定法完成蛋白质条带的定量。

[0387] 可以报告来自腓肠肌、胫骨前肌和股四头肌的可移动和不可移动后肢切片中蛋白质合成的百分比。将水平归一化为β-肌动蛋白表达,并且百分比计算为相对于来自对照小鼠(媒介物处理)可移动肢的蛋白质合成水平(其对应于100%)的百分比。

实施例B10-恶病质诱导的肌肉萎缩

[0388] 使用从智利Fundación Ciencia&Vida植物园(智利圣地亚哥)获得的野生型6周龄雄性Balb/c小鼠。将小鼠关在独立的塑料笼中,所述独立的塑料笼在保持25℃下具有12-h:12-h光:暗循环的房间中。

[0389] 将$1x10^6$CT26结肠癌细胞系(ATCC#CRL-2638,ATCC马纳萨斯,维吉尼亚州)皮下注射到每只动物的右下侧腹,以诱导恶病质诱导的肌肉萎缩,如所述(Nat Commun.2012年6月12日;3:896)。将未注射的动物用作对照。在肿瘤细胞注射后第6天,将动物随机分为两组,并且通过每天口服强饲用10mg/kg的配制在蒸馏水中的50%聚乙二醇(PEG-400)中的测试化合物或媒介物(在蒸馏水中的50%PEG-400)处理13天。

[0390] 对于蛋白质合成的体内测量,在研究结束前30min,向动物腹膜内注射以0.04μ

mol/g体重在200μL体积的PBS中的嘌呤霉素(Sigma-Aldrich,P8833)。每日给药13天后,将动物处死,并且将腓肠肌、股四头肌和胫骨前肌解剖并且从双后肢称重以评估肌肉萎缩。

[0391] 收集后,将肌肉立即在液氮中冷冻并且然后储存在-80℃。然后将冷冻肌肉用在冰冷缓冲裂解剂(Cell Signaling 9803)中的T10基础ULTRA-TURRAX(IKa)以及蛋白酶和磷酸酶抑制剂(Roche)匀化。将裂解物超声3min,并且在4℃下以13,000rpm离心20分钟。使用BCA蛋白质测定试剂盒(Pierce)确定上清液中的蛋白质浓度。将等量的蛋白质加载到SDS-PAGE凝胶上。将蛋白质转移到0.2um PVDF膜(BioRad)上,并且用在补充有0.1%Tween 20和3%牛血清白蛋白的Tris缓冲盐水中稀释的一抗进行探测。

[0392] 将嘌呤霉素(12D10)(Merck Millipore)和β-肌动蛋白(Sigma-Aldrich)抗体用作一抗。使用HRP缀合的二抗(Rockland)来使用增强的化学发光(ECL蛋白质印迹底物,Pierce)检测免疫反应条带。使用ImageJ软件通过密度测定法完成蛋白质条带的定量。

[0393] 报告了来自注射有CT26肿瘤细胞并且用媒介物或测试化合物处理的动物的腓肠肌、股四头肌和胫骨前肌重量。

[0394] 还报告了来自注射有CT26肿瘤细胞并且用媒介物或测试化合物处理的动物的腓肠肌、股四头肌和胫骨前肌中的蛋白质合成的百分比。将水平归一化为β-肌动蛋白表达,并且百分比计算为相对于来自对照小鼠肌肉截切片的蛋白质合成水平(其对应于100%)的百分比。

实施例B11-肿瘤生长和密度模型

[0395] 使用从智利Fundación Ciencia&Vida植物园(智利圣地亚哥)获得的野生型6周龄雄性Balb/c小鼠。将小鼠关在独立的塑料笼中,所述独立的塑料笼在保持25℃下具有12-h:12-h光:暗循环的房间中。

[0396] 将$1x10^6$CT26结肠癌细胞系(ATCC#CRL-2638,ATCC马纳萨斯,维吉尼亚州)皮下注射到每只动物的右下侧腹,如所述(Nat Commun.2012年6月12日;3:896)。将未注射的动物用作对照。在肿瘤细胞注射后第6天,测量平均肿瘤体积,将动物称重并且随机分为两组,并且通过每天口服强饲用10mg/kg的配制在蒸馏水中的50%聚乙二醇(PEG-400)中的所选化合物或媒介物(在蒸馏水中的50%PEG-400)处理13天。

[0397] 在研究结束时,用数显卡尺测量肿瘤,并且用下式计算肿瘤体积,以mm^3表示:

肿瘤添加(mm^3)=(a x b^2)/2

其中"a"是最大垂直直径,并且"b"是最小直径。然后将动物处死,并且将肿瘤提取并且称重。报告了每只动物的肿瘤的体积和重量。肿瘤密度计算为每只动物的重量/体积比并且将其报告。使用GraphPad Prism软件进行统计分析,并且通过t检验评估显著差异(*<0.05)。

实施例B12-用无细胞系统的蛋白质合成

[0398] 使用基于HeLa细胞裂解物(ThermoFisher Scientific)的1步人体外蛋白表达试剂盒评价绿色荧光蛋白(GFP)的表达。将来自试剂盒的HeLa裂解物、辅助蛋白、反应混合物和pCFE-GFP质粒在冰中解冻。通过添加12.5μL HeLa裂解物、2.5μL辅助蛋白、5μL反应混合物、1μg pCFE-GFP质粒和在5μL中的1μM测试化合物或5μL蒸馏H_2O作为GFP(媒介物)的基础表达,在室温下在96孔光学板中制备反应。将用dH_2O代替pCFE-GFP质粒的孔用作反应的基础自发荧光。所有反应一式两份地进行。荧光强度通过多模式酶标仪(Synergy-4;Biotek)

在4小时处理期间并且使用485/20和528/20激发和发射滤光片以15分钟的间隔捕获荧光来测量。图1示出了用或不用测试化合物处理的GFP的相对荧光强度(RFU)。与单独使用试剂盒试剂获得的表达相比，将测试化合物添加到试剂盒的反应混合物中增加了GFP的表达并且因此增加了其荧光。

实施例B13-使用基于酵母细胞的测定的蛋白质合成

[0399] 使用在甲醇诱导型启动子(pAOX-PLC)或组成型启动子(pGAP-PLC)的控制下稳定表达磷脂酶C蛋白(PLC)的两种GS115H毕赤酵母菌株来评估PLC的分泌水平及其酶活性。将pAOX-PLC和pGAP-PLC酵母单菌落接种在2ml YPD(1％酵母提取物、2％蛋白胨、2％葡萄糖)中并且在30℃下在深24孔微板中在振荡培养箱中以250rpm生长16-18h。将这些培养物在2ml YPM(1％酵母提取物、2％蛋白胨、100mM磷酸盐缓冲剂pH 6和0.5％甲醇)或2ml含有10μM测试化合物的YPM中稀释至1的OD600以诱导基因表达，并且在30℃下在振荡培养箱中以250rpm孵育。每24h添加一次甲醇以保持0.5％的甲醇浓度。将没有测试化合物的条件用作基础分泌和随后的PLC活性评估的对照。诱导72h后，通过离心收获细胞，并且通过SDS-PAGE和PLC活性分析上清液的蛋白质表达。

[0400] 将凝胶用在10％乙酸、50％甲醇和40％H_2O中的0.1％考马斯蓝R250染色20分钟。然后将染色的凝胶用10％乙酸、50％甲醇和40％dH_2O洗涤两次持续2小时，直到考马斯蓝背景几乎清澈。在凝胶成像系统中拍摄凝胶的照片。

[0401] 在96孔微板中使用1mM O-(4-硝基苯基磷酰基)胆碱作为底物测量PLC活性。通过孵育10μL培养上清液、10μL 100mM NPPC和80μL 250mM HEPES pH 7、60％山梨糖醇、0.1mM $ZnCl_2$在96微孔板中在50℃下进行测定。在Synergy HT酶标仪(Biotek)中在50℃下每30s持续1h监测在405nm处的吸光度。1PLC单位定义为每分钟释放1nmol对硝基苯酚的酶量。

实施例B14-使用基于CHO细胞的测定的蛋白质合成

[0402] 将CHO细胞维持在37℃和5％CO_2下在补充有10％胎牛血清(FBS)、2mM L-谷氨酰胺、100U/ml青霉素和100μg/ml链霉素的DMEM中。达到80％汇合后，将细胞脱离并且接种在6孔板上的完全培养基中，使其恢复48h。然后将细胞用PBS洗涤三次，并且用在1mL不含FBS的培养基中的1μM、5μM或10μM的测试化合物处理24h。将用0.1％DMSO的处理用作对照(媒介物)。24h处理后，提取含有分泌蛋白的上清液(SN)并且将蛋白酶和磷酸酶抑制剂(Roche)添加到每个样品中。将SN以2,000g离心10min以丢弃任何细胞碎片，并且通过充分混合将900μL SN转移到含400μL甲醇的空微管中。将200μL氯仿添加到混合物中，并且然后将样品以14,000g离心2分钟。通过移液丢弃顶部水层，并且通过充分混合将400μL甲醇添加到每个样品中。然后将样品以17,000g离心8分钟，并且在不干扰蛋白质沉淀的情况下通过移液丢弃甲醇。将样品在室温下保持干燥，并且将沉淀用SDS-PAGE样品缓冲剂重新悬浮。通过SDS-PAGE和考马斯染色分析分泌的蛋白质。将凝胶用在10％乙酸、50％甲醇和40％H_2O中的0.1％考马斯蓝R250染色20分钟。然后将染色的凝胶用10％乙酸、50％甲醇和40％dH_2O洗涤两次持续2小时，直到考马斯蓝背景几乎清澈。在凝胶成像系统中拍摄凝胶的照片。

[0403] 将全文中的所有参考文献，诸如出版物、专利、专利申请和公开的专利申请，均通过引用以其整体并入本文。

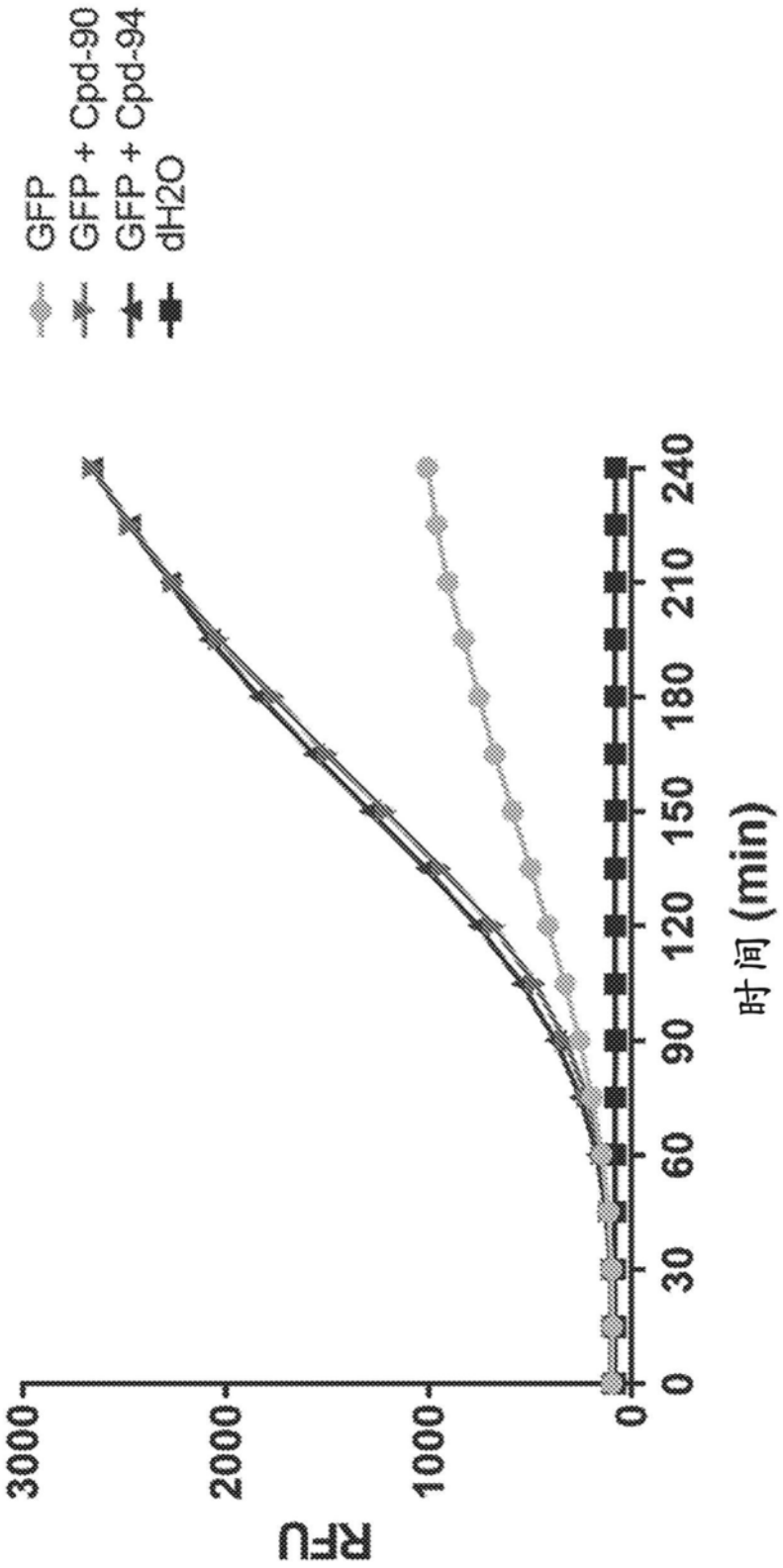

GFP
GFP + Cpd-90
GFP + Cpd-94
dH2O
RFU
3000
2000
1000
0
0
30
60
90
120
150
180
210
240
时间 (min)

FIG.1