(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117529317 A
(43)申请公布日 2024.02.06

(21)申请号 202280024110.4
(22)申请日 2022.01.25
(30)优先权数据
21305085.9 2021.01.25 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.09.22
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2022/051650 2022.01.25
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/157392 EN 2022.07.28
(71)申请人 海洋生命公司
地址 法国罗斯科夫
申请人 国家科学研究中心 索邦大学
国家健康科学研究所
里昂第一大学 雷恩大学

(72)发明人 S·巴赫 A·孔德 C·戴勒霍兹
M-T·迪芒什-波埃尔 P·高简

(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
专利代理师 程伟 刘彬娜
(51)Int.Cl.
A61K 31/437(2006.01)

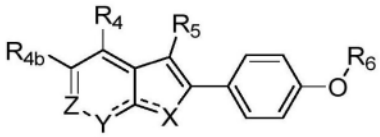
权利要求书11页 说明书53页 附图21页

(54)发明名称

吲哚、6-和7-氮杂吲哚衍生物作为铁死亡调节的细胞死亡的抑制剂的用途

(57)摘要

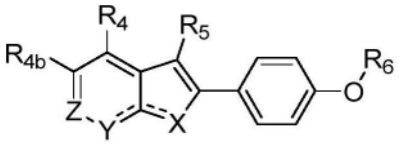
本发明涉及一种以下通式(I)化合物或其药学上可接受的盐和/或溶剂化物,其用作抑制铁死亡的药物的用途。



(I)

CN 117529317 A

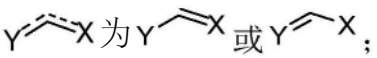
1.一种以下通式(I)化合物：



(I)

或其药学上可接受的盐和/或溶剂化物，

其中：

■  ；

(iii)当  时，

X为N,Y为N(R_2),Z为C(H)；

(iv)当  时，

-X为N(R_1),和

-Y为N或$N^+(O^-)$,Z为C(R_3),或

Y为CH,Z为N,或

Y和Z为CH；

其中：

■R_1和R_2各自独立地表示氢原子、CN、NO_2、OR_7、SR_8、NR_9R_{10}、C(O)R_{11}、CO_2R_{12}、OC(O)R_{13}、NR_{14}C(O)R_{15}、C(O)$NR_{16}R_{17}$、S(O)R_S、SO_2R_S'、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{18}、SR_{19}、$NR_{20}R_{21}$、C(O)R_{22}、CO_2R_{23}、OC(O)R_{24}、NR_{25}C(O)R_{26}、C(O)$NR_{27}R_{28}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代；

■R_3、R_4、R_{4b}和R_5各自独立地表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、C(O)R_{33}、CO_2R_{34}、OC(O)R_{35}、NR_{36}C(O)R_{37}、C(O)$NR_{38}R_{39}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述烷基或卤代烷基任选地被一个或多个选自OR_{40}、SR_{41}和$NR_{42}R_{43}$的取代基所取代,所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、C(O)R_{48}、CO_2R_{49}、OC(O)R_{50}、NR_{51}C(O)R_{52}、C(O)$NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代；

■R_6表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基-(C_1-C_6)烷基,或任选地被一个或多个选自OH、SH、NH_2、(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_6)巯基烷氧基、(C_1-C_6)烷基氨基和二((C_1-C_6)烷基)氨基的取代基所取代的(C_1-C_6)烷基羰基；

■R_S和R_S'各自独立地表示(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基；

■R_7-R_{10}、R_{12}、R_{14}和R_{16}-R_{17}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基；

■R_{11}、R_{13}和R_{15}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基、芳基-(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_6)烷基氨基或二((C_1-C_6)烷基)氨基；

■R_{18}至R_{28}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基；

■R_{29}至R_{39}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,所述芳基任

选地被一个或多个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{55}、SR_{56}、$NR_{57}R_{58}$、$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$OC(O)R_{61}$、$NR_{62}C(O)R_{63}$、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代;

■R_{40}至R_{43}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基;

■R_{44}至R_{54}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基;和

■R_{55}至R_{65}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基;

其用作抑制铁死亡的药物的用途。

2.根据权利要求1所述的用途的化合物,其用于预防和/或治疗与铁死亡相关的疾病。

3.根据权利要求1或2所述的用途的化合物,其中:

■R_1表示氢原子、CN、NO_2、OR_7、SR_8、NR_9R_{10}、$C(O)R_{11}$、CO_2R_{12}、$OC(O)R_{13}$、$NR_{14}C(O)R_{15}$、$C(O)NR_{16}R_{17}$、$S(O)R_S$、SO_2R_S'、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{18}、SR_{19}、$NR_{20}R_{21}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代,

优选地R_1表示氢原子、CN、OR_7、$C(O)R_{11}$、CO_2R_{12}、$OC(O)R_{13}$、SO_2R_S'、(C_1-C_6)烷基、杂环基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述杂环基任选地被NO_2取代;

■R_S和R_S'各自独立地表示(C_1-C_6)烷基或芳基,优选芳基;

和

■R_{18}至R_{21}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基。

4.根据权利要求1或2所述的用途的化合物,其中:

■R_2表示$C(O)R_{11}$、CO_2R_{12}、$C(O)NR_{16}R_{17}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{18}、SR_{19}、$NR_{20}R_{21}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代,

优选地R_2表示CO_2R_{12}、$C(O)NR_{16}R_{17}$或芳基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{18}、SR_{19}和$NR_{20}R_{21}$,尤其是OR_{18}的取代基所取代;

和

■R_{18}至R_{21}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基。

5.根据权利要求1至3中任一项所述的用途的化合物,其中:

■R_3表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、$C(O)R_{33}$、CO_2R_{34}、$OC(O)R_{35}$、$NR_{36}C(O)R_{37}$、$C(O)NR_{38}R_{39}$、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代,优选氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、$OC(O)R_{35}$、$NR_{36}C(O)R_{37}$、杂环基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$和(C_1-C_6)烷基的取代基所取代,更优选氢原子、卤原子、CN、$NR_{31}R_{32}$、$OC(O)R_{35}$、杂环基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述杂环基任选地被一个或多个选自OR_{44}、SR_{45}和$NR_{46}R_{47}$,尤其是OR_{44}的取代基所取代;

■R_{29}至R_{37}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基;

和

■R_{44}至R_{47}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的用途的化合物,其中:

■R_4表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂

环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$OC(O)R_{50}$、$NR_{51}C(O)R_{52}$、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代；

优选地R_4表示氢原子、卤原子、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、芳基或杂环基，其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代；

更优选地R_4表示氢原子、卤原子、$NR_{31}R_{32}$、芳基或杂环基，其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自$C(O)R_{48}$和(C_1-C_6)烷基的取代基所取代；

■R_{4b}表示氢原子、卤原子、OR_{29}或$NR_{31}R_{32}$，优选氢原子、卤原子或OR_{29}，更优选氢原子；

■R_{29}至R_{32}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基，所述芳基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{55}、SR_{56}、$NR_{57}R_{58}$、$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$OC(O)R_{61}$、$NR_{62}C(O)R_{63}$、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，尤其是$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，特别是$C(O)R_{59}$的取代基所取代；

■R_{48}表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基，尤其是芳基；

和

■R_{55}至R_{65}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基，尤其是芳基。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的用途的化合物，其中：

■R_5表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，其中所述烷基或卤代烷基任选地被一个或多个选自OR_{40}、SR_{41}和$NR_{42}R_{43}$的取代基所取代，所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代，

优选地R_5表示氢原子、卤原子、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，其中所述烷基或卤代烷基任选地被一个或多个选自OR_{40}、SR_{41}和$NR_{42}R_{43}$的取代基所取代，所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代，

更优选地R_5表示氢原子、卤原子、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，所述烷基或卤代烷基任选地被OR_{40}所取代，所述杂环基任选地被一个或多个(C_1-C_6)烷基所取代，特别地R_5表示氢原子；

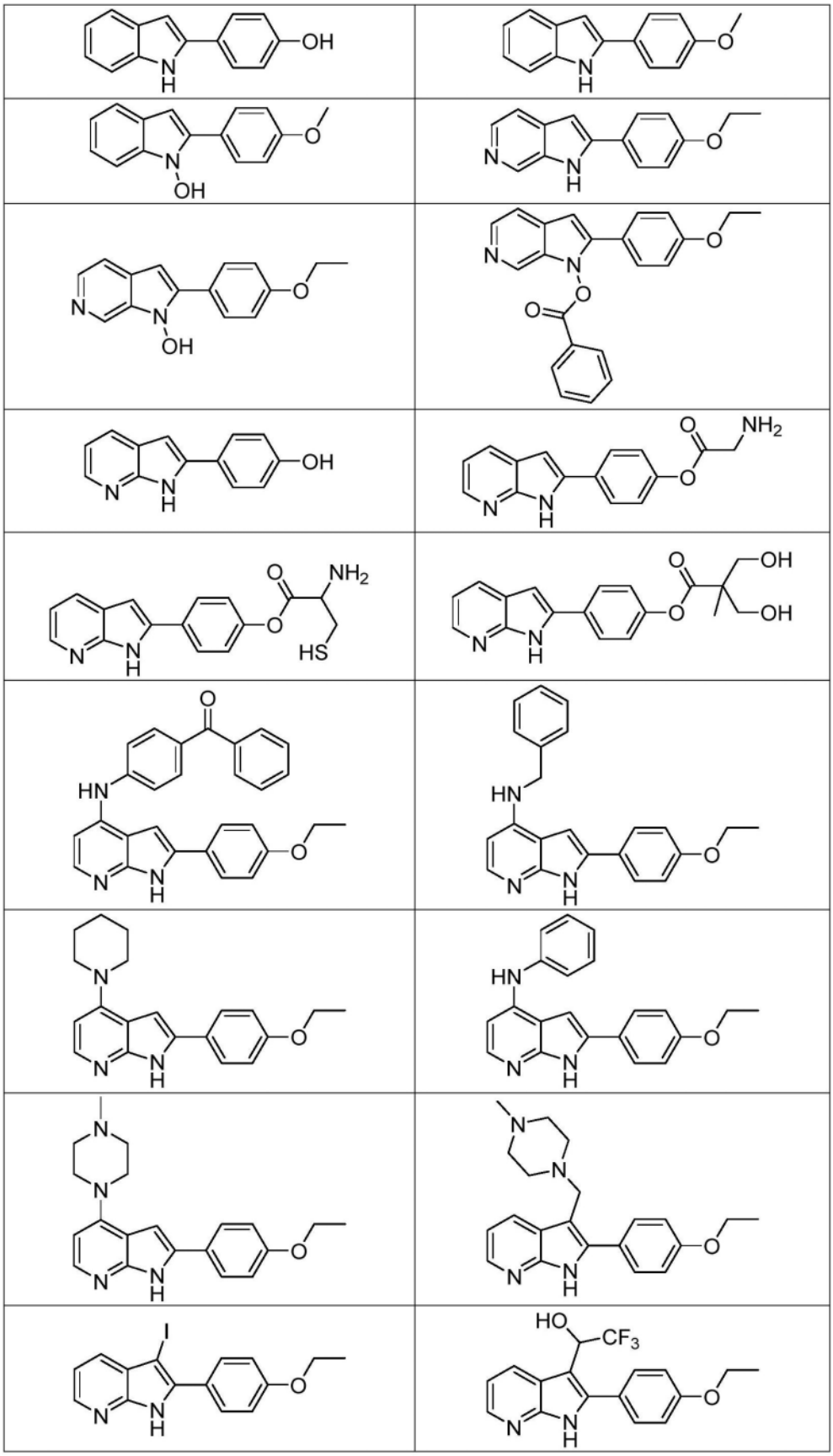
■R_{29}至R_{32}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基；

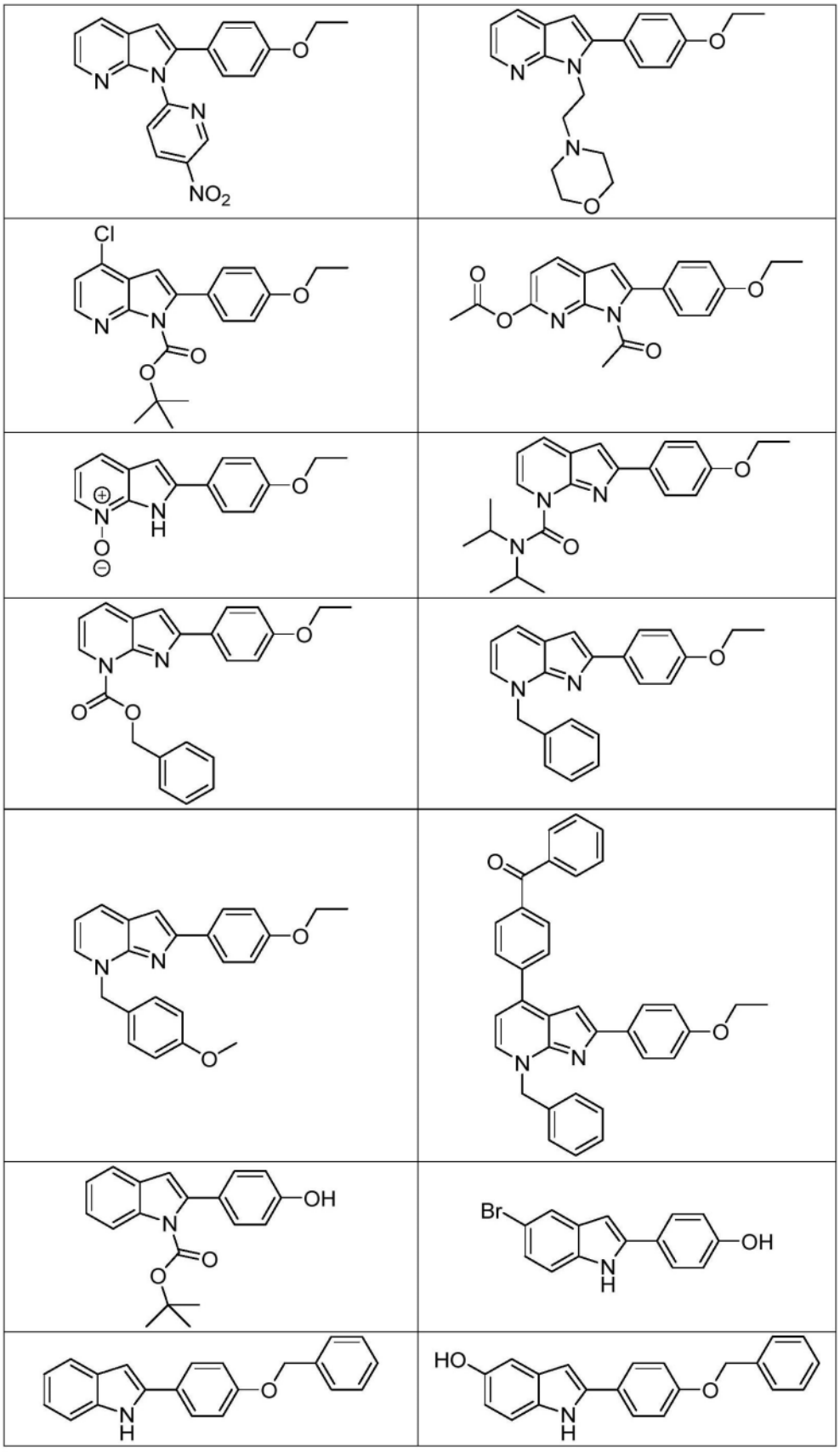
和

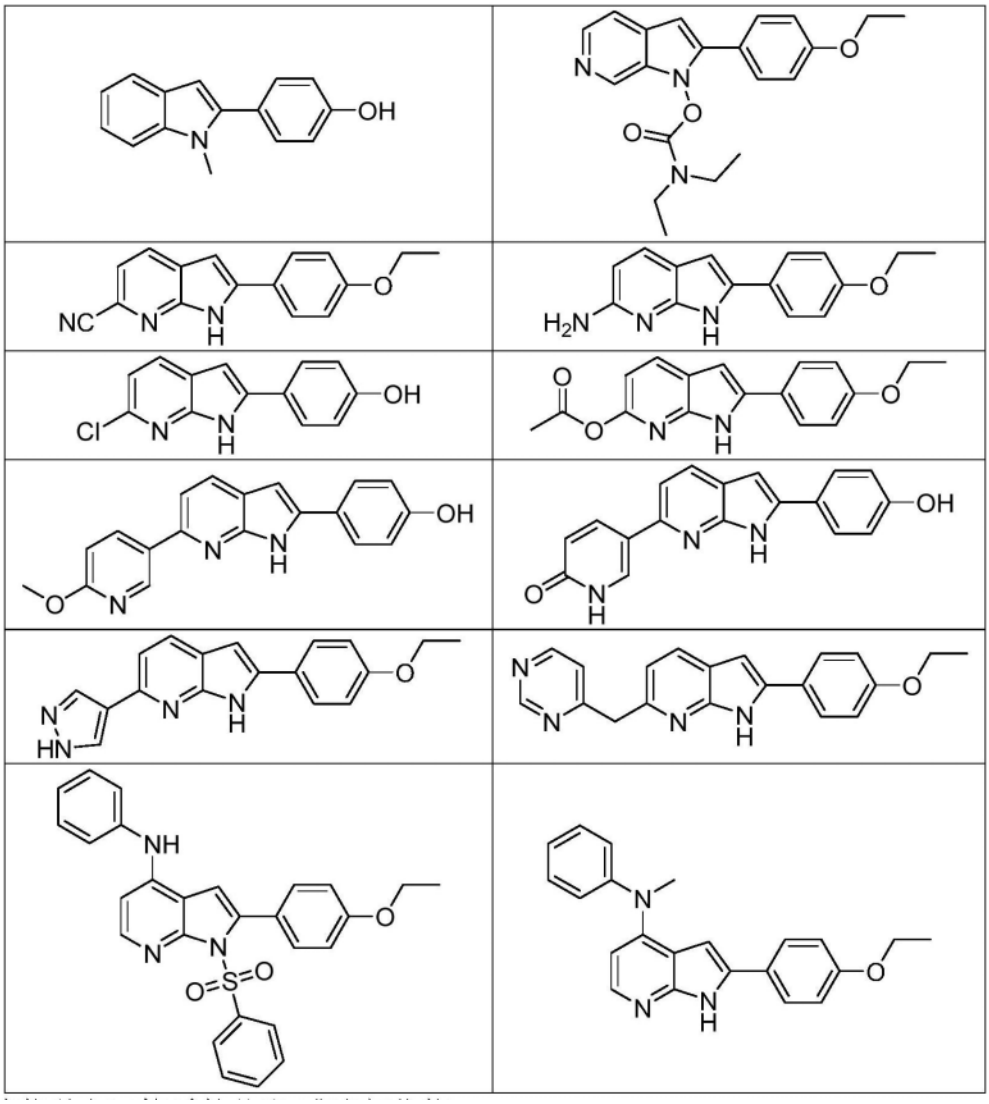
■R_{40}至R_{43}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基，尤其是氢原子。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的用途的化合物，其中R_6表示氢原子、(C_1-C_3)烷基或芳基-(C_1-C_3)烷基，或任选地被一个或多个选自OH、SH、NH_2、(C_1-C_3)烷氧基、(C_1-C_3)巯基烷氧基和(C_1-C_3)烷基氨基的取代基所取代的(C_1-C_6)烷基羰基，优选地R_6表示氢原子、甲基、乙基、苄基或任选地被一个或多个选自OH、NH_2和巯基甲基的取代基所取代的(C_1-C_6)烷基羰基，特别地R_6表示氢原子或乙基，尤其是乙基。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的用途的化合物，其中其选自：

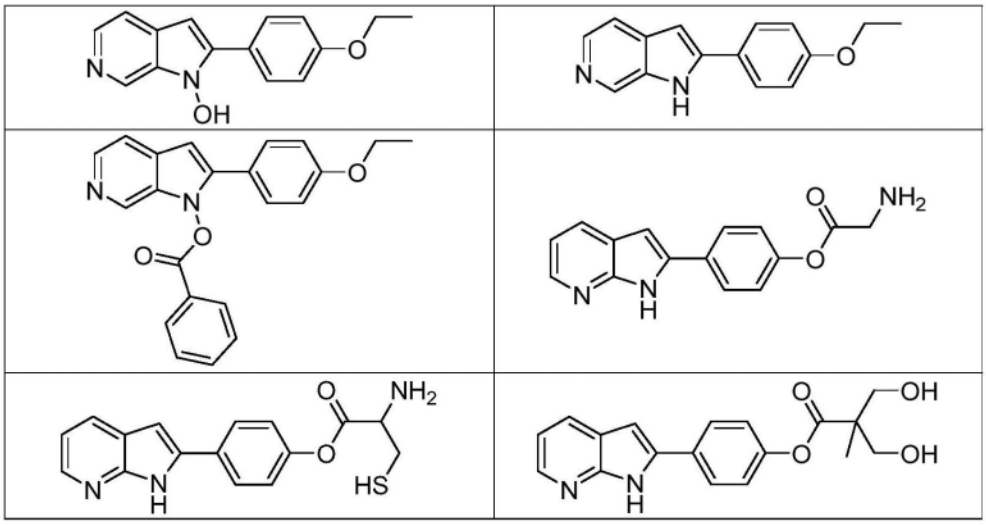


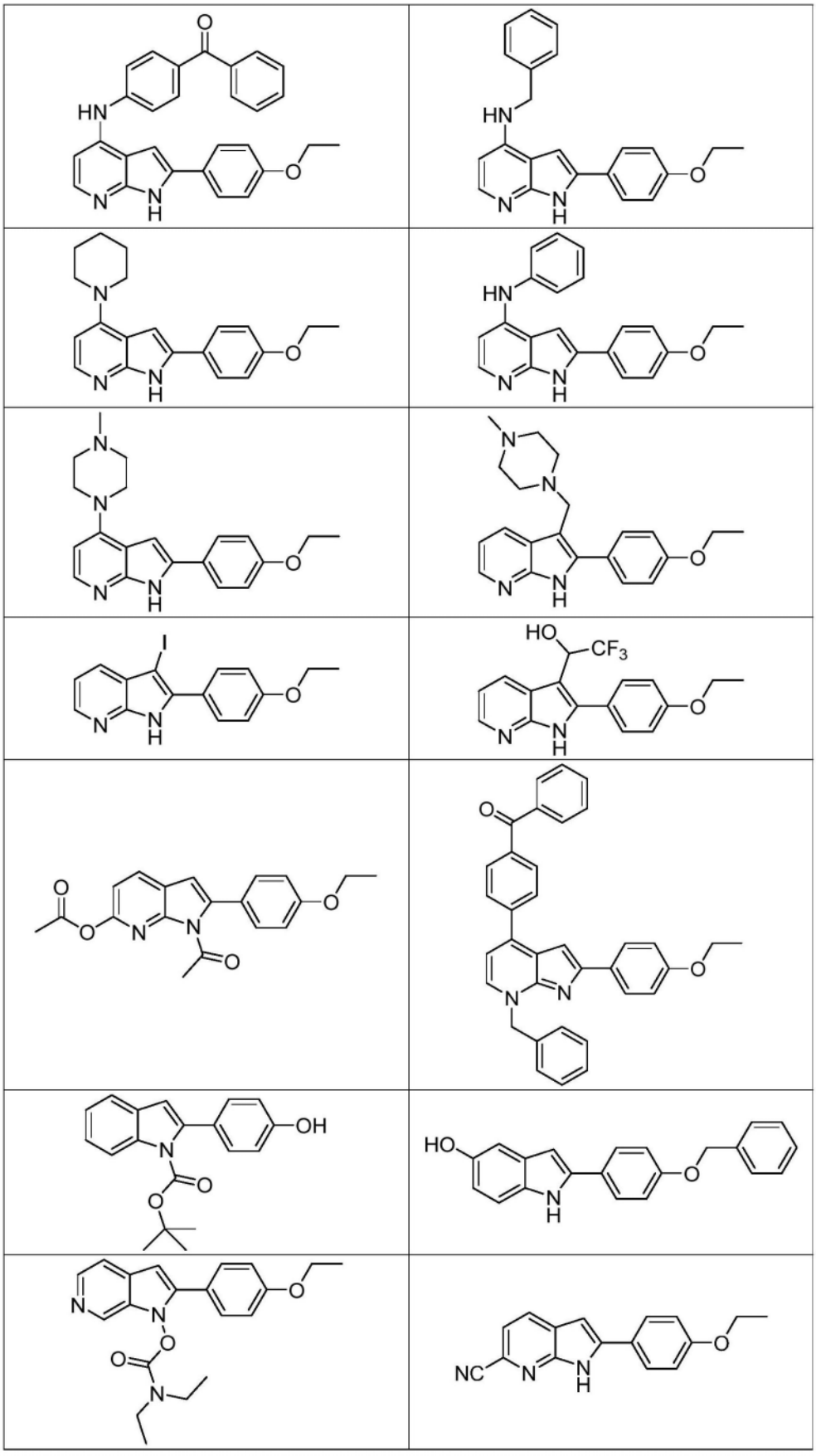


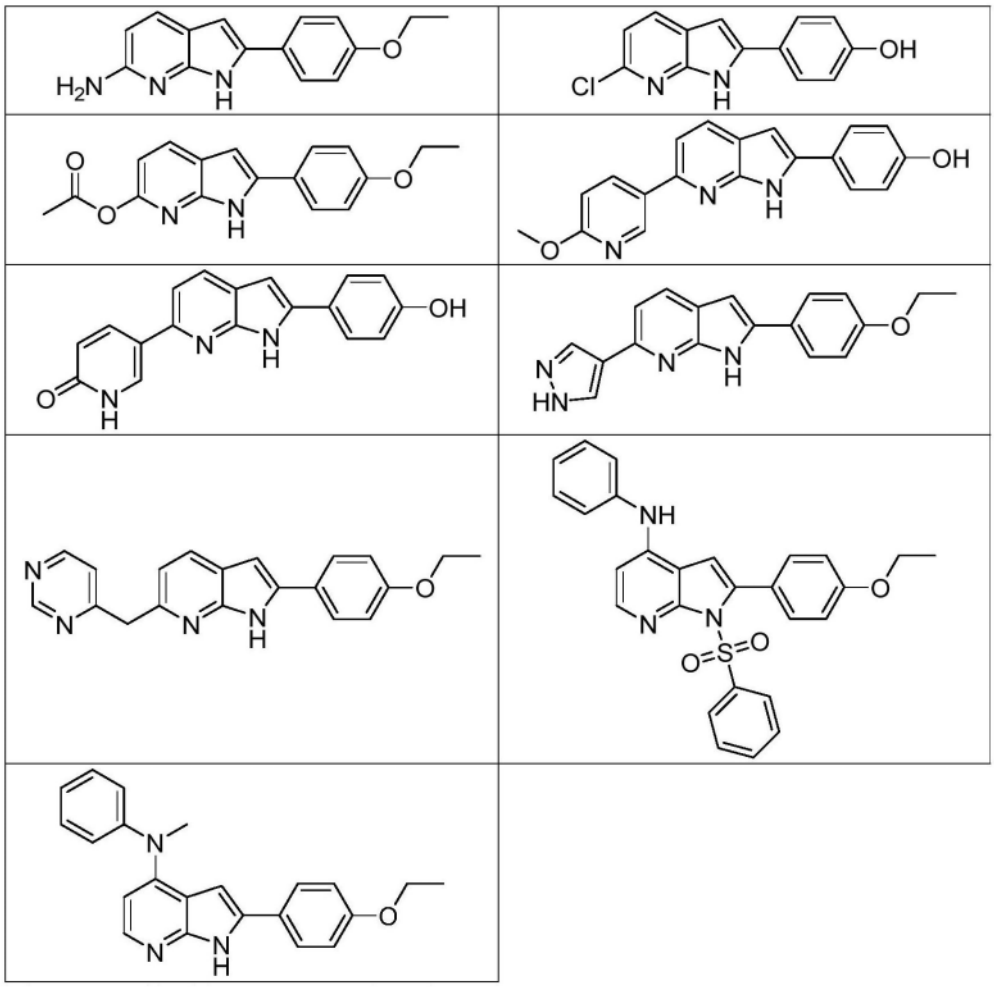


及其药学上可接受的盐和/或溶剂化物。

10.根据权利要求9所述的用途的化合物,其中其选自:







及其药学上可接受的盐和/或溶剂化物。

11.根据权利要求2至10中任一项所述的用途的化合物,其中所述与铁死亡相关的疾病选自心肌缺血再灌注损伤,尤其是在动脉结扎后发生的;心肌病,尤其是阿霉素诱导的心肌病;中风,尤其是缺血性中风或出血性中风;创伤性脑损伤;脊髓挫伤;神经变性疾病,特别是慢性神经变性疾病,更特别是阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化症(夏科氏病)、弗里德赖希共济失调和痴呆;视网膜疾病,尤其是斯塔加特氏病或年龄相关性黄斑变性(AMD),特别是干性AMD;慢性肝病,尤其是非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、慢性感染如肝炎和酒精性肝病;急性肝功能衰竭,尤其是由药物诱导的肝损伤(DILI)引起的,如对乙酰氨基酚(APAP)诱导的肝损伤,或由脓毒症或失血性休克诱导的缺血再灌注损伤引起的;皮肤炎性疾病,如银屑病;中毒性表皮坏死松解症(莱尔综合征);急性肾损伤(AKI),如草酸、叶酸(FA)和顺铂诱导的AKI、肾缺血再灌注损伤和急性肾小管坏死;慢性阻塞性肺疾病(COPD);支气管哮喘;细菌感染引起的肺损伤,尤其是铜绿假单胞菌或结核分枝杆菌感染引起的;肺纤维化,如辐射诱导的肺纤维化(RILF)和百草枯诱导的肺损伤;坏死性小肠结肠炎;炎性肠病,如克罗恩病;血色病;溶血性疾病;病毒感染期间的细胞分裂素风暴;辐射诱导的坏死;类风湿关节炎;I型糖尿病;与肥胖相关的胰岛素抵抗;癫痫,包括线粒体疾病相关性癫痫和难治性癫痫;和与压力诱导的组织过早衰老相关的病理,如动脉粥样硬化、高血压和II型糖尿病。

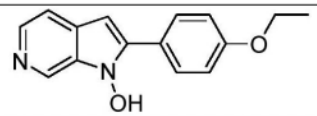
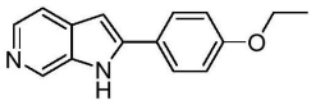
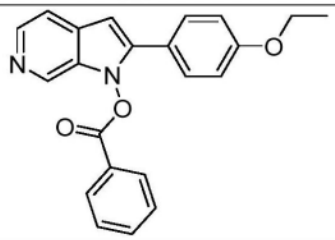
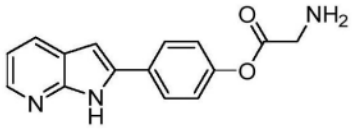
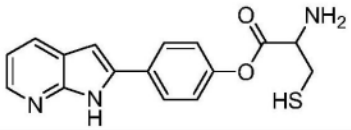
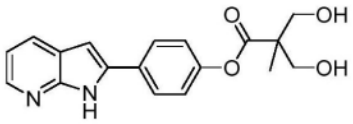
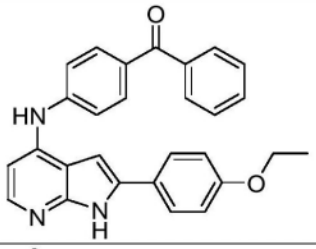
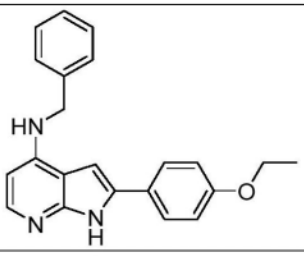
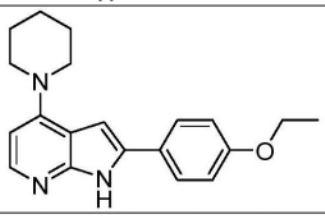
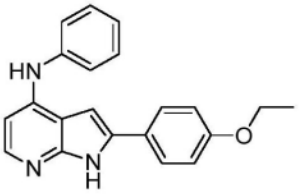
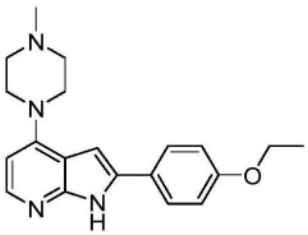
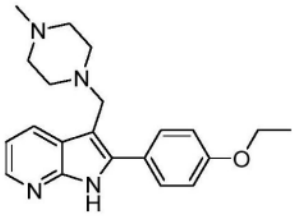
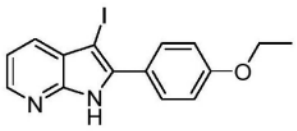
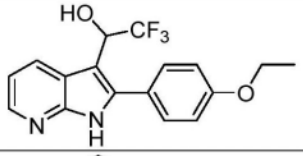
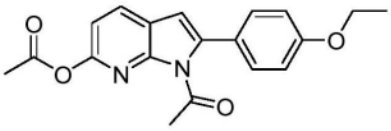
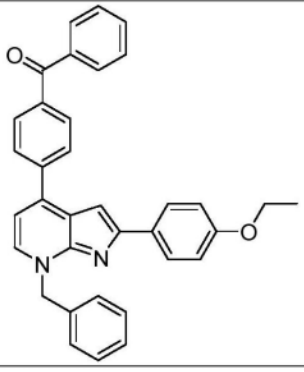
12.根据权利要求2至11中任一项所述的用途的化合物,其中所述与铁死亡相关的疾病

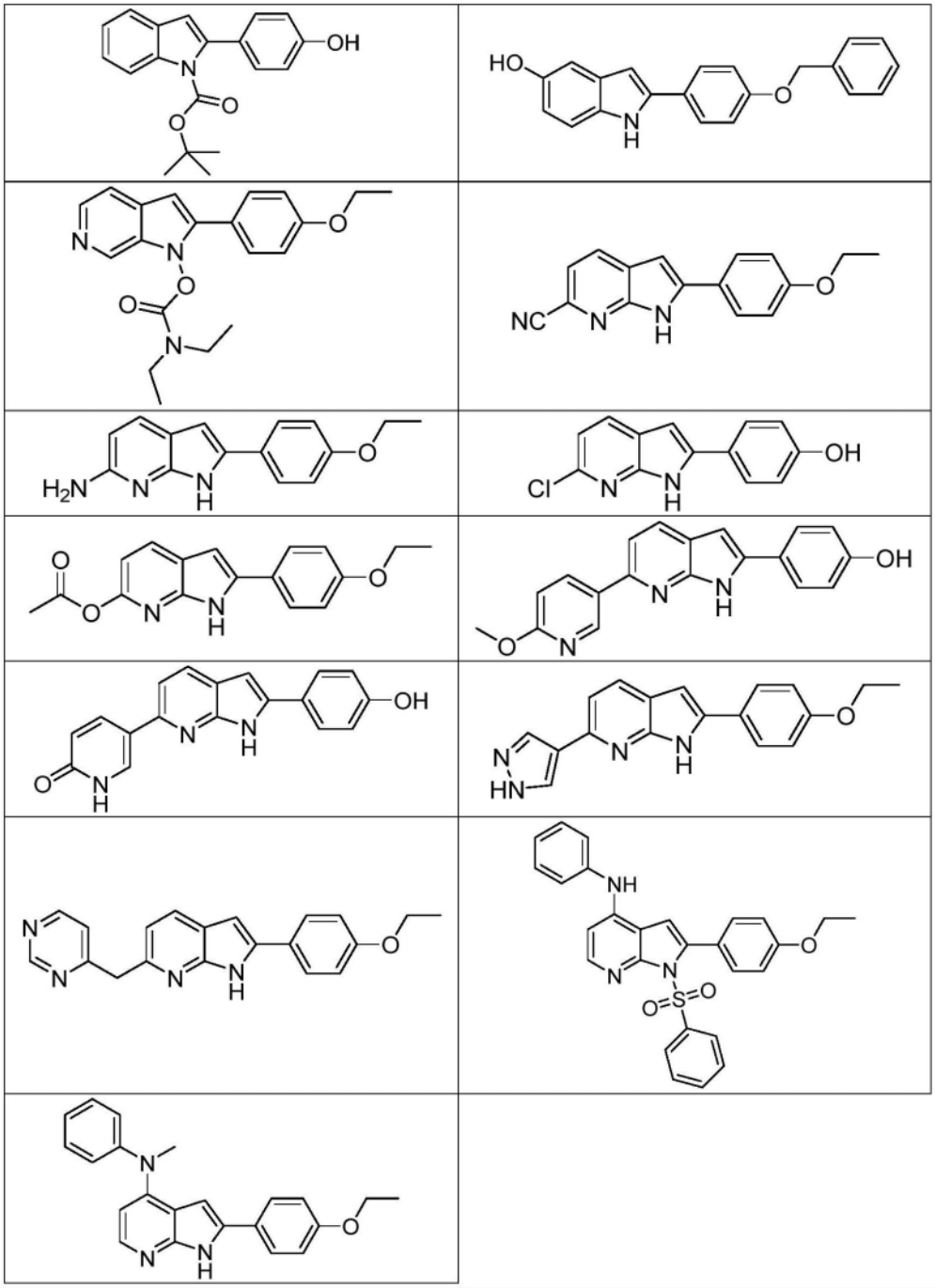
选自心肌病,尤其是阿霉素诱导的心肌病;脊髓挫伤;神经变性疾病,特别是慢性神经变性疾病,更特别是阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化症(夏科氏病)、弗里德赖希共济失调和痴呆;视网膜疾病,尤其是斯塔加特氏病或年龄相关性黄斑变性(AMD),特别是干性AMD;急性肝功能衰竭,尤其是由药物诱导的肝损伤(DILI)引起的,如对乙酰氨基酚(APAP)诱导的肝损伤,或由脓毒症或失血性休克诱导的缺血再灌注损伤引起的;皮肤炎性疾病,如银屑病;中毒性表皮坏死松解症(莱尔综合征);急性肾损伤(AKI),如草酸、叶酸(FA)和顺铂诱导的AKI;支气管哮喘;细菌感染引起的肺损伤,尤其是铜绿假单胞菌或结核分枝杆菌感染引起的;肺纤维化,如辐射诱导的肺纤维化(RILF)和百草枯诱导的肺损伤;坏死性小肠结肠炎;血色病;溶血性疾病;病毒感染期间的细胞分裂素风暴;辐射诱导的坏死;类风湿关节炎;I型糖尿病;与肥胖相关的胰岛素抵抗;癫痫,包括线粒体疾病相关性癫痫和难治性癫痫;和与压力诱导的组织过早衰老相关的病理,如高血压和II型糖尿病。

13.根据权利要求2至11中任一项所述的用途的化合物,其中所述与铁死亡相关的疾病选自心肌缺血再灌注损伤,尤其是在动脉结扎后发生的;中风,尤其是缺血性中风或出血性中风;创伤性脑损伤;神经变性疾病,特别是慢性神经变性疾病,更特别是阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病和肌萎缩侧索硬化症(夏科氏病);视网膜疾病,尤其是斯塔加特氏病或年龄相关性黄斑变性(AMD),特别是干性AMD;慢性肝病,尤其是非酒精性脂肪性肝炎(NASH);急性肝功能衰竭,尤其是由药物诱导的肝损伤(DILI)引起的,如对乙酰氨基酚(APAP)诱导的肝损伤,或由脓毒症或失血性休克诱导的缺血再灌注损伤引起的;和急性肾损伤(AKI),如叶酸(FA)诱导的AKI和顺铂诱导的AKI,肾缺血再灌注损伤和急性肾小管坏死。

14.根据权利要求1至10中任一项所述的化合物作为用于抑制生物材料如细胞样品或组织样品中铁死亡诱导的细胞死亡的试剂的体外用途。

15.一种化合物,其选自:



及其药学上可接受的盐和/或溶剂化物。

16.根据权利要求15所述的化合物,其作为药物的用途。

吲哚、6-和7-氮杂吲哚衍生物作为铁死亡调节的细胞死亡的抑制剂的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种化合物,其用作抑制铁死亡,更特别地用于预防和/或治疗与铁死亡相关的疾病的药物的用途。

背景技术

[0002] 铁死亡是一种新型的非细胞凋亡调节的细胞死亡,于2012年首次被描述,通常涉及细胞内高水平的游离铁和脂质过氧化。这种死亡通路与细胞(尤其是经由脂质修复酶谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)的活性)调节其内部氧化应激的能力直接相关。谷胱甘肽依赖性抗氧化防御的缺乏导致基于脂质的活性氧(ROS)的积累,这尤其是由于Fe^{2+}通过芬顿反应导致脂质过氧化,导致膜损伤和细胞死亡。

[0003] 最近的研究表明,铁死亡涉及许多人类疾病的病理生理学(Li等人,Cell Death Dis.,2020,11(88);Tang等人,Cell Research,2021,31:107-125;Sun等人,Biomed.Pharmacother.,2020,127,110108),影响心脏、大脑、眼睛、肝脏、皮肤、肾脏、肺、肠道或全身。铁死亡涉及三种主要代谢,包括硫醇、脂质和铁,导致铁依赖性脂质过氧化的产生,并最终导致细胞死亡。

[0004] 铁死亡的标志被用作定义铁死亡相关疾病生物标志物的关键要素。铁死亡是一种铁依赖性调节的组织坏死,主要由不受限制的脂质过氧化和随后的膜损伤引起。据报道,以下组分的生理水平的改变与铁死亡相关:铁、活性氧、ROS(包括脂质ROS,如4-羟基壬烯醛(4-HNE)和丙二醛(MDA),和氧化磷脂酰乙醇胺(oxPE)物质,然后是氧化磷脂酰丝氨酸(oxPS)和氧化磷脂酰肌醇(oxPI)(Wiernicki等人,Cell Death Dis.,2020,11(922))),和相关的过氧化物解毒分子(包括含巯基的化合物谷胱甘肽、GSH、或辅酶Q10,也称为泛醌),和长链脂肪酸CoA连接酶4(ACSL4)(Chen X.等人,Front.in Cell and Dev.Biol.,2021,9(637162))。这些关键的生化铁死亡生物标志物可以通过体液(血液、血浆、血清、尿液、脑脊液)中的测试来测量和量化,或者通过对受损组织的活组织检查进行免疫组织化学标记来突出显示。

[0005] 根据病理学和受损器官,一些铁死亡相关生物标志物相对于正常生理阈值的数量和/或活性可能会发生变化(增加>或减少<)。这里我们只描述血清的参考值:

[0006] (1)铁代谢(通过测量血清中的铁和铁蛋白水平)超过生理阈值(血清铁,男性>180μg/dl,女性>160μg/dl(Pagana等人,Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference-Elsevier eBook on VitalSource,第14版,Elsevier,2019,ISBN:9780323609678);铁蛋白,男性>300ng/ml,女性>200ng/ml(Wang等人,Biochim Biophy.Acta,2010,1800(8):760-769));

[0007] (2)谷胱甘肽氧化还原状态(通过使用ELISA测量血浆中还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)以及谷胱甘肽过氧化物酶活性(GPx))(GSH<717μmol/L,GSSG>5.32μmol/L;GSH/GSSG比例<156;GPx,男性<20UI/gHb,女性<26UI/gHb)(Haleng J.等人,

Rev.Med.Liege,2007);

[0008] (3)氧化应激(通过测量血浆中总Q10以及Q10的还原形式和活性形式(Q10H2)的水平)(男性Q10<3.44μmol/l和Q10H2<3.04μmol/l;女性Q10<1.88μmol/l和Q10H2<1.64μmol/l)(Kaikkonen等人,Scand J Clin Lab Invest,1999,59:457-466);

[0009] (4)脂质过氧化(通过检测4-羟基壬烯醛(4-HNE)和丙二醛(MDA)加合物来测量)超过生理阈值(4-HNE>10μmol/L(Chen和Niki,IUBMB Life,2008,58(372-373)),和使用巯基巴比妥酸法MDA>3μmol/L(Banjare等人,J.Sci.Soc.,2017;44(137-9)))。

[0010] 此处需注意,受损器官组织中ACSL4酶水平的上调也被报道为铁死亡的假定生物标志物(ACSL4表达可以通过转录组学和蛋白质组学方法监测)。

[0011] 与影响心脏的铁死亡相关的病理学包括心肌缺血再灌注损伤(尤其是在动脉结扎后发生的)和心肌病(尤其是阿霉素诱导的心肌病(Li等人,2020))等(Li等人,Free Radic.Biol.Med.,2020,160,303-318;Qin等人,Biomed.Pharmacother.,2021,141,111872)。

[0012] 与影响大脑的铁死亡相关的病理学包括中风(尤其是缺血性中风(Li等人,2020)或出血性中风(Li等人,JCI Insight,2017,2(7):e90777))、创伤性脑损伤(Xie等人,CNS Neurosci Ther.,2019,25:465-475)、挫伤性脊髓损伤(Zhang等人,Neural Regen.Res.,2019,14(3):532)和神经变性疾病,特别是慢性神经变性疾病,更特别是阿尔茨海默病(Li等人,2020)、亨廷顿病(Mi等人,Neuromolecular Med.,2019,21,110-119)、帕金森病(Do Van等人,Neurobiol Dis.,2016,94:169-78)、肌萎缩侧索硬化症(夏科氏病)(Li等人,2020)、弗里德赖希共济失调(Cotticelli等人,JPharmacol Exp Ther.,2019,369(1):47-54)、脑室周围白质软化症(Skouta等人,J.Am.Chem.Soc.,2014,136,4551-4556)和痴呆,这些可能与先前的一种或多种病理学有关。

[0013] 与影响眼睛的铁死亡相关的病理学包括视网膜疾病,尤其是斯塔加特病和年龄相关性黄斑变性(AMD),特别是干性AMD(Sun等人,Invest Ophth Vis Sci.,2018,59(9),2482;Chen等人,J.Biol.Chem.,2021,296,100187)。

[0014] 与影响肝脏的铁死亡相关的病理学包括慢性肝病和急性肝衰竭。在慢性肝病中,应提及的是非酒精性脂肪性肝炎(NASH)(Qi等人,Am J Pathol.,2020,190(1))、慢性感染(如乙型和丙型肝炎)(Cappelletti等人,Int J Mol Sci.,2020,21(14)))和酒精性肝病(Zhou等人,Hepatol Commun.,2019,3(5))。急性肝衰竭可能尤其由药物诱导的肝损伤(DILI),如对乙酰氨基酚(APAP)诱导的肝损伤(Yamada等人,Cell Death Dis.,2020,11(2))引起,或由脓毒症或失血性休克引起的缺血再灌注损伤(Friedmann Angeli等人,Nat Cell Biol.,2014,16(12):1180-91)引起。

[0015] 与影响皮肤的铁死亡相关的病理学包括皮肤炎性疾病,如银屑病(Li等人,Cell Death Dis.,2020,11(88))和中毒性表皮坏死松解症(莱尔综合征)(Zhang等人,JInvest Dermatol.,2020,140(7),S79)。

[0016] 与影响肾脏的铁死亡相关的病理学包括急性肾损伤(AKI)(如晶体(草酸盐)诱导的AKI、叶酸(FA)诱导的AKI)(Martin-Sanchez等人,2017)和顺铂诱导的AKI(Deng等人,J Clin Invest.,2019,129(11);Mishima等人,J Am Soc Nephrol.,2020,31(2);Hu等人,Cell Death Dis.,2020,11(1)))、肾缺血再灌注损伤(Li等人,2020)、和急性肾小管坏死

(Friedmann Angeli等人,2014)。

[0017] 与影响肺的铁死亡相关的病理学包括慢性阻塞性肺病(COPD)(Yoshida等人,Nat Commun.,2019,10,3145)、支气管哮喘(Tao等人,Oxid Med Cell Longev.,2020)、细菌感染(尤其是铜绿假单胞菌(Dar等人,J Clin Invest.,2018,128(10),4639-4653)或结核分枝杆菌(Amaral等人,J Exp Med.,2019,216(3):556-570))引起的肺损伤和肺纤维化,如辐射诱导的肺纤维化(RILF)(Li等人,J Inflamm.,2019,16:11)和百草枯诱导的肺损伤(Rashidipour等人,Toxicology,2020,433-434:152407)。

[0018] 与影响肠道的铁死亡相关的病理学包括坏死性小肠结肠炎(Subramanian等人,Acta Physiologica Sinica,2020,72(3))和炎性肠病,如克罗恩病(Mayr等人,Nat Commun.,2020,11(1))。

[0019] 与影响全身的铁死亡相关的病理学包括血色素沉着症(Imoto等人,Transfus Apher Sci.,2018,57(4),524-531)、溶血性疾病(Youssef等人,2019,Ferroptosis in Hemolytic Disorders.In:Tang D.(eds)Ferroptosis in Health and Disease.Springer,Cham.)、病毒感染期间的细胞分裂素风暴(Edeas等人,Int J Infect Dis.,2020,97;Yang和Lai,Cell Death Discov.,2020,6)、辐射诱导的坏死(Wu等人,Front Oncol.,2020,10)、类风湿性关节炎(Xie等人,Inflammation.,2020,doi:10.1007/s10753-020-01338-2)、I型糖尿病(Bruni等人,Cell Transplant.,2018,27(6))、与肥胖相关的胰岛素抵抗、癫痫(包括线粒体疾病相关的癫痫和难治性癫痫)(Kahn-Kirby等人,PLoS One.,2019,14(3))和与应激诱导的过早组织衰老相关的病理学,如动脉粥样硬化(Bai等人,Free Radic Biol Med.,2020,160)、高血压(Yang等人,Clin Exp Hypertens.,2020,42(8))和II型糖尿病(Li等人,Nutrients.,2020,12(10))。

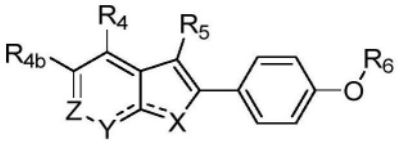
[0020] 因此,抑制铁死亡是上述疾病的一种新的且有吸引力的治疗策略。

[0021] 因此,需要一种具有高潜力、良好稳定性和低毒性的新型铁死亡抑制剂。

[0022] 本发明人已经发现了铁死亡调节的细胞死亡的新型抑制剂,其对于预防和/或治疗与铁死亡相关的病症似乎非常有吸引力。

发明内容

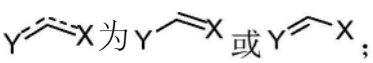
[0023] 因此,本发明涉及一种以下通式(I)化合物:

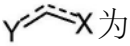
[0024] 

(I)

[0025] 或其药学上可接受的盐和/或溶剂化物,

[0026] 其中:

[0027] ■  ;

[0028] (i)当时,

[0029] X为N,Y为N(R_2),且Z为C(H);

[0030] (ii)当为时,

[0031] -X为$N(R_1)$,和

[0032] -Y为N或$N^+(O^-)$且Z为$C(R_3)$,或

[0033] Y为CH且Z为N,或

[0034] Y和Z为CH;

[0035] 其中:

[0036] ■R_1和R_2各自独立地表示氢原子、CN、NO_2、OR_7、SR_8、NR_9R_{10}、$C(O)R_{11}$、CO_2R_{12}、$OC(O)R_{13}$、$NR_{14}C(O)R_{15}$、$C(O)NR_{16}R_{17}$、$S(O)R_S$、SO_2R_S'、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{18}、SR_{19}、$NR_{20}R_{21}$、$C(O)R_{22}$、CO_2R_{23}、$OC(O)R_{24}$、$NR_{25}C(O)R_{26}$、$C(O)NR_{27}R_{28}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代;

[0037] ■R_3、R_4、R_{4b}和R_5各自独立地表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、$C(O)R_{33}$、CO_2R_{34}、$OC(O)R_{35}$、$NR_{36}C(O)R_{37}$、$C(O)NR_{38}R_{39}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述烷基或卤代烷基任选地被一个或多个选自OR_{40}、SR_{41}和$NR_{42}R_{43}$的取代基所取代,所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$OC(O)R_{50}$、$NR_{51}C(O)R_{52}$、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代;

[0038] ■R_6表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基-(C_1-C_6)烷基,或任选地被一个或多个选自OH、SH、NH_2、(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_6)巯基烷氧基、(C_1-C_6)烷基氨基和二((C_1-C_6)烷基)氨基的取代基所取代的(C_1-C_6)烷基羰基;

[0039] ■R_S和R_S'各自独立地表示(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基;

[0040] ■R_7-R_{10}、R_{12}、R_{14}和R_{16}-R_{17}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基;

[0041] ■R_{11}、R_{13}和R_{15}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基、芳基-(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_6)烷基氨基或二((C_1-C_6)烷基)氨基;

[0042] ■R_{18}至R_{28}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基;

[0043] ■R_{29}至R_{39}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,所述芳基任选地被一个或多个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{55}、SR_{56}、$NR_{57}R_{58}$、$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$OC(O)R_{61}$、$NR_{62}C(O)R_{63}$、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代;

[0044] ■R_{40}至R_{43}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基;

[0045] ■R_{44}至R_{54}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基;和

[0046] ■R_{55}至R_{65}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基;

[0047] 其用作抑制铁死亡的药物的用途。

[0048] 出于本发明的目的,术语"药学上可接受的"是指对于药物组合物的制备是有用的,并且对于药物用途通常是安全且无毒的。

[0049] 在本发明的范围内,术语"药学上可接受的盐或溶剂化物"是指如上文所定义的药学上可接受的化合物的盐或溶剂化物,并且其具有相应化合物的药理学活性。

[0050] 药学上可接受的盐包含:

[0051] (1)与无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等形成的酸加成盐;或者与有机酸

如乙酸、苯磺酸、富马酸、葡庚酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基萘酸、2-羟基乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、粘康酸、2-萘磺酸、丙酸、琥珀酸、二苯甲酰基-L-酒石酸、酒石酸、对甲苯磺酸、三甲基乙酸、三氟乙酸等形成的酸加成盐,和

[0052] (2)当化合物中存在的酸质子被金属离子如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子取代时形成的碱加成盐;或与有机或无机碱配位形成的碱加成盐。可接受的有机碱包括二乙醇胺、乙醇胺、N-甲基葡糖胺、三乙醇胺、氨丁三醇等。可接受的无机碱包括氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化钾、碳酸钠和氢氧化钠。

[0053] 用于本发明化合物的治疗用途的可接受的溶剂化物包括常规溶剂化物,如在制备本发明化合物的最后步骤期间由于溶剂的存在而形成的那些。

[0054] 本发明中使用的术语“卤素”是指氟、溴、氯或碘原子。

[0055] 本发明中使用的术语“(C_1-C_6)烷基”是指含有1至6个碳原子的直链或支链饱和烃链,包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基等。

[0056] 本发明中使用的术语“(C_1-C_6)卤代烷基”是指如上定义的(C_1-C_6)烷基,其中部分或全部氢原子被如上定义的卤原子取代。这意味着(C_1-C_6)烷基被至少一个卤原子取代。它可以是例如三氟甲基。

[0057] 本发明中使用的术语“芳基”是指包含优选6至10个碳原子并包含一个或多个,尤其是1或2个稠合环的芳香族烃基,例如,苯基或萘基,有利地苯基。

[0058] 本发明中使用的术语“杂环”是指饱和、不饱和(即非芳香族)或芳香族单环基团或包含两个稠环、桥环或螺环,优选稠环的双环基团,每个环有利地包含5至10个,尤其是5或6个原子,其中环的原子包含一个或多个,有利地1至3个选自O、S和N,优选O和N的杂原子,其余为碳原子。

[0059] 饱和杂环基团更特别地是5元或6元饱和单环杂环基团,如吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、噻唑烷基、异噻唑烷基、噁唑烷基、异噁唑烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、三唑烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基或硫基吗啉基。

[0060] 不饱和杂环基团更特别地是不饱和单环或双环杂环基团,每个环包含5或6元,如吡咯啉基、二氢呋喃基、二氢噻吩基、噻唑啉基、异噻唑啉基、噁唑啉基、异噁唑啉基、咪唑啉基、吡唑啉基、三唑啉基、二氢吡啶基、四氢吡啶基、二氢嘧啶基、四氢嘧啶基、二氢哒嗪基、四氢哒嗪基、二氢吡嗪基、四氢吡嗪基、二氢三嗪基、四氢三嗪基、二氢吲哚基、2,3-二氢苯并呋喃基、2,3-二氢苯并噻吩基、1,3-苯并间二氧杂环戊烯基、1,3-苯并氧杂硫杂环戊基(1,3-benzoxathiolyl)、苯并噁唑啉基、苯并噻唑啉基、苯并咪唑啉基、色满基或色烯基。

[0061] 芳香族杂环基团,也称为杂芳基,更特别地是芳香族单环或双环杂环基团,每个环包含5或6元,如吡咯基、呋喃基、噻吩基、噻唑基、异噻唑基、噁唑基、异噁唑基、咪唑基、吡唑基、三唑基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、三嗪基(如1,3,5-三嗪基)、吲哚基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、苯并咪唑基、吲唑基、苯并三唑基、嘌呤基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、喹唑啉基或喹喔啉基。

[0062] 本发明中使用的术语“芳基-(C_1-C_6)烷基”是指经由如上定义的(C_1-C_6)烷基与分子结合的如上定义的芳基。特别地,-(C_1-C_6)烷基-芳基为苄基。

[0063] 本发明中使用的术语“杂环基-(C_1-C_6)烷基”是指经由如上定义的(C_1-C_6)烷基与

分子结合的如上定义的杂环基。特别地，-(C_1-C_6)烷基-杂环基为经由如上定义的(C_1-C_6)烷基与分子结合的如上定义的5或6元饱和单环杂环基团。

[0064] 本发明中使用的术语“(C_1-C_6)烷基羰基”是指经由-C(=O)-基团与分子结合的如上定义的(C_1-C_6)烷基，包括但不限于乙酰基、丙酰基、丁酰基、戊酰基、己酰基等。

[0065] 本发明中使用的术语“(C_1-C_6)烷氧基”是指经由氧原子与分子结合的如上定义的(C_1-C_6)烷基，包括但不限于甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基、正己氧基等。

[0066] 本发明中使用的术语“(C_1-C_6)巯基烷氧基”是指经由硫原子与分子结合的如上定义的(C_1-C_6)烷基，包括但不限于巯基甲氧基、巯基乙氧基、巯基正丙氧基、巯基异丙氧基、巯基正丁氧基、巯基异丁氧基、巯基仲丁氧基、巯基叔丁氧基、巯基正戊氧基、巯基正己氧基等。

[0067] 本发明中使用的术语“(C_1-C_6)烷基氨基”是指-NHAlk基团，其中Alk表示如上定义的(C_1-C_6)烷基，包括但不限于甲基氨基、乙基氨基、正丙基氨基、异丙基氨基、正丁基氨基、异丁基氨基、仲丁基氨基、叔丁基氨基、正戊基氨基、正己基氨基等。

[0068] 本发明中使用的术语“二(C_1-C_6)烷基氨基”是指-NAlk_1Alk_2基团，其中Alk_1和Alk_2各自独立地表示如上定义的(C_1-C_6)烷基，包括但不限于二甲基氨基、二乙基氨基、乙基甲基氨基等。

[0069] 根据本发明的一个特别的实施方案，R_1表示氢原子、CN、NO_2、OR_7、SR_8、NR_9R_{10}、C(O)R_{11}、CO_2R_{12}、OC(O)R_{13}、NR_{14}C(O)R_{15}、C(O)$NR_{16}R_{17}$、S(O)R_S、SO_2R_S’、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，其中所述芳基或杂环基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{18}、SR_{19}、$NR_{20}R_{21}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，尤其是卤原子、NO_2、OR_{18}、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，特别是NO_2和OR_{18}的取代基所取代，其中R_{18}至R_{21}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基。

[0070] 根据本发明的另一个特别的实施方案，R_1表示氢原子、CN、NO_2、OR_7、SR_8、NR_9R_{10}、C(O)R_{11}、CO_2R_{12}、OC(O)R_{13}、NR_{14}C(O)R_{15}、C(O)$NR_{16}R_{17}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个如上面所定义的取代基所取代。

[0071] 根据本发明的另一个特别的实施方案，R_1表示氢原子、CN、OR_7、C(O)R_{11}、CO_2R_{12}、OC(O)R_{13}、SO_2R_S’、(C_1-C_6)烷基、杂环基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，其中所述杂环基(其可以是杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{18}、SR_{19}、$NR_{20}R_{21}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，尤其是卤原子、NO_2、OR_{18}、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，特别是NO_2和OR_{18}的取代基所取代，优选地所述杂环基任选地被NO_2取代，其中R_{18}至R_{21}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基。

[0072] 根据本发明的另一个特别的实施方案，R_1表示氢原子、CN、OR_7、C(O)R_{11}、CO_2R_{12}、OC(O)R_{13}、杂环基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，其中所述杂环基任选地被一个或多个如上面所定义的取代基取代。

[0073] 在上面的实施方案中，(C_1-C_6)烷基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为(C_1-C_3)烷基。

[0074] 在上面的实施方案中,芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基。

[0075] 在上面的实施方案中,杂环基(其可以是杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)特别是5或6元、饱和、不饱和(即非芳香族)或芳香族,尤其是饱和或芳香族单环基团,其中环的原子包含一个或多个,有利地1至3个选自O、S和N,优选O和N的杂原子,其余为碳原子,如吗啉基、吡啶基或哌嗪基,例如吗啉基或吡啶基。

[0076] 在上面的实施方案中,R_S和R_S'各自独立地表示(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,尤其是(C_1-C_6)烷基或芳基,特别是芳基,如苯基。

[0077] 在上面的实施方案中,R_7-R_{10}、R_{12}、R_{14}和R_{16}-R_{17}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,R_{11}、R_{13}和R_{15}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基、芳基-(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_6)烷基氨基或二((C_1-C_6)烷基)氨基,尤其是氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基、(C_1-C_6)烷基氨基或二((C_1-C_6)烷基)氨基,特别是(C_1-C_3)烷基、芳基如苯基、(C_1-C_3)烷基氨基或二((C_1-C_3)烷基)氨基。

[0078] 特别地,在上面的实施方案中,R_7至R_{17}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,尤其是氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基,典型地为氢原子、(C_1-C_3)烷基或芳基,其中芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基。

[0079] 根据本发明的一个特别的实施方案,R_2表示氢原子、CN、NO_2、OR_7、SR_8、NR_9R_{10}、$C(O)R_{11}$、CO_2R_{12}、$OC(O)R_{13}$、$NR_{14}C(O)R_{15}$、$C(O)NR_{16}R_{17}$、$S(O)R_S$、SO_2R_S'、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{18}、SR_{19}、$NR_{20}R_{21}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,尤其是卤原子、NO_2、OR_{18}、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,特别是NO_2和OR_{18}的取代基所取代,其中R_{18}至R_{21}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基。

[0080] 在上面的实施方案中,R_S和R_S'各自独立地表示(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,尤其是(C_1-C_6)烷基或芳基,特别是芳基,如苯基。

[0081] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_2表示氢原子、CN、NO_2、OR_7、SR_8、NR_9R_{10}、$C(O)R_{11}$、CO_2R_{12}、$OC(O)R_{13}$、$NR_{14}C(O)R_{15}$、$C(O)NR_{16}R_{17}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个如上面所定义的取代基所取代。

[0082] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_2表示$C(O)R_{11}$、CO_2R_{12}、$C(O)NR_{16}R_{17}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、OR_{18}、SR_{19}、$NR_{20}R_{21}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代,其中R_{18}至R_{21}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基。

[0083] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_2表示CO_2R_{12}、$C(O)NR_{16}R_{17}$、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,尤其是CO_2R_{12}、$C(O)NR_{16}R_{17}$或芳基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、OR_{18}、SR_{19}和$NR_{20}R_{21}$,尤其是OR_{18}的取代基所取代,其中R_{18}至R_{21}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基。

[0084] 在上面的实施方案中,(C_1-C_6)烷基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为(C_1-C_3)烷基。

[0085] 在上面的实施方案中,芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基。

[0086] 在上面的实施方案中,杂环基(其可以是杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)特别是5或6元、饱和、不饱和(即非芳香族)或芳香族,尤其是饱和单环基团,其中环的原子包含一个或多个,有利地1至3个选自O、S和N,优选O和N的杂原子,其余为碳原子,如吗啉基、吡啶基或哌嗪基,尤其是哌嗪基。

[0087] 在上面的实施方案中,R_7-R_{10}、R_{12}、R_{14}和R_{16}-R_{17}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,R_{11}、R_{13}和R_{15}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基、芳基-(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_6)烷基氨基或二((C_1-C_6)烷基)氨基,尤其是氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基、(C_1-C_6)烷基氨基或二((C_1-C_6)烷基)氨基,特别是(C_1-C_3)烷基、芳基如苯基、(C_1-C_3)烷基氨基或二((C_1-C_3)烷基)氨基。

[0088] 特别地,在上面的实施方案中,R_7至R_{17}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,尤其是氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基-(C_1-C_6)烷基,典型地为氢原子、(C_1-C_3)烷基或芳基,其中芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基。

[0089] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_3表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、$C(O)R_{33}$、CO_2R_{34}、$OC(O)R_{35}$、$NR_{36}C(O)R_{37}$、$C(O)NR_{38}R_{39}$、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基的取代基所取代,其中R_{29}至R_{39}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,尤其是氢原子或(C_1-C_6)烷基,典型地为氢原子或(C_1-C_3)烷基。

[0090] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_3表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、$C(O)R_{33}$、CO_2R_{34}、$OC(O)R_{35}$、$NR_{36}C(O)R_{37}$或$C(O)NR_{38}R_{39}$,其中R_{29}至R_{39}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,尤其是氢原子或(C_1-C_6)烷基。

[0091] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_3表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、$OC(O)R_{35}$、$NR_{36}C(O)R_{37}$、杂环基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$和(C_1-C_6)烷基的取代基取代,优选地R_3表示氢原子、卤原子、CN、$NR_{31}R_{32}$、$OC(O)R_{35}$、杂环基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述杂环基任选地被一个或多个选自OR_{44}、SR_{45}和$NR_{46}R_{47}$,尤其是OR_{44}的取代基所取代,其中R_{29}至R_{37}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,尤其是氢原子或(C_1-C_6)烷基,特别是氢原子或(C_1-C_3)烷基。

[0092] 在上面的实施方案中,R_{44}至R_{47}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基,尤其是氢原子或(C_1-C_3)烷基。

[0093] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_3表示氢原子、卤原子、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、$C(O)R_{33}$、CO_2R_{34}、$OC(O)R_{35}$、$NR_{36}C(O)R_{37}$或$C(O)NR_{38}R_{39}$,优选氢原子、卤原子、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、$OC(O)R_{35}$或$NR_{36}C(O)R_{37}$,更优选氢原子或$OC(O)R_{35}$,其中R_{29}至R_{37}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,尤其是氢原子或(C_1-C_6)烷基,典型地为氢原子或(C_1-C_3)烷基。

[0094] 在上面的实施方案中,芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基。

[0095] 在上面的实施方案中,杂环基(其可以是杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)特别是5或6元、饱和、不饱和(即非芳香族)或芳香族,尤其是芳香族单环基团,其中环的原子包含一个或多个,有利地1至3个选自O、S和N,优选O和N的杂原子,其余为碳原子,如吡啶基、嘧啶基、

吡唑基、哌嗪基或哌啶基,例如吡啶基、嘧啶基或吡唑基。

[0096] 在上面的实施方案中,(C_1-C_6)烷基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为(C_1-C_3)烷基。

[0097] 根据本发明的一个特别的实施方案,R_4表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$OC(O)R_{50}$、$NR_{51}C(O)R_{52}$、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,尤其是卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,特别是$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,优选$C(O)R_{48}$和(C_1-C_6)烷基的取代基所取代。

[0098] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_4表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个如上面所定义的取代基所取代。

[0099] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_4表示氢原子、卤原子、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、芳基或杂环基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,特别是$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,优选$C(O)R_{48}$和(C_1-C_6)烷基的取代基所取代。

[0100] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_4表示氢原子、卤原子、$NR_{31}R_{32}$、芳基或杂环基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个尤其是一个选自$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,优选$C(O)R_{48}$和(C_1-C_6)烷基的取代基取代。

[0101] 在上面的实施方案中,芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基。

[0102] 在上面的实施方案中,杂环基(其可以是杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)特别是5或6元、饱和、不饱和(即非芳香族)或芳香族,尤其是饱和单环基团,其中环的原子包含一个或多个,有利地1至3个选自O、S和N,优选O和N的杂原子,其余为碳原子,如哌嗪基、哌啶基、吡啶基、嘧啶基或吡唑基,例如哌嗪基或哌啶基。

[0103] 在上面的实施方案中,R_{29}至R_{32}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,所述芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基,并且任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{55}、SR_{56}、$NR_{57}R_{58}$、$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$OC(O)R_{61}$、$NR_{62}C(O)R_{63}$、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,有利地卤原子、OR_{55}、SR_{56}、$NR_{57}R_{58}$、$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$OC(O)R_{61}$、$NR_{62}C(O)R_{63}$、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,尤其是$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,特别是$C(O)R_{59}$的取代基所取代,其中R_{55}至R_{65}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基,尤其是芳基,优选苯基。

[0104] 在上面的实施方案中,R_{44}至R_{54}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基,尤其是芳基,优选苯基。

[0105] 在上面的实施方案中,(C_1-C_6)烷基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为(C_1-C_3)烷基。

[0106] 根据本发明的一个特别的实施方案,R_{4b}表示氢原子、卤原子、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其

中所述芳基或杂环基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$OC(O)R_{50}$、$NR_{51}C(O)R_{52}$、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,尤其是卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,特别是$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,优选$C(O)R_{48}$和(C_1-C_6)烷基的取代基所取代。

[0107] 根据本发明的一个特别的实施方案,R_{4b}表示氢原子、卤原子、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、芳基或杂环基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,特别是$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,优选$C(O)R_{48}$和(C_1-C_6)烷基的取代基所取代。

[0108] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_{4b}表示氢原子、卤原子、$NR_{31}R_{32}$、芳基或杂环基,其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个尤其是一个选自$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,优选$C(O)R_{48}$和(C_1-C_6)烷基的取代基所取代。

[0109] 根据本发明的另一个特别的实施方案,R_{4b}表示氢原子、卤原子、OR_{29}或$NR_{31}R_{32}$,优选氢原子、卤原子或OR_{29},更优选氢原子。

[0110] 在上面的实施方案中,芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基。

[0111] 在上面的实施方案中,杂环基(其可以是杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)特别是5或6元、饱和、不饱和(即非芳香族)或芳香族,尤其是饱和单环基团,其中环的原子包含一个或多个,有利地1至3个选自O、S和N,优选O和N的杂原子,其余为碳原子。

[0112] 在上面的实施方案中,R_{29}至R_{32}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基,所述芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基,并且任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{55}、SR_{56}、$NR_{57}R_{58}$、$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$OC(O)R_{61}$、$NR_{62}C(O)R_{63}$、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,有利地卤原子、OR_{55}、SR_{56}、$NR_{57}R_{58}$、$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$OC(O)R_{61}$、$NR_{62}C(O)R_{63}$、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,尤其是$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基,特别是$C(O)R_{59}$的取代基所取代,其中R_{55}至R_{65}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基,尤其是芳基,优选苯基。优选地,R_{29}至R_{32}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基,尤其是氢原子。

[0113] 在上面的实施方案中,R_{44}至R_{54}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基,尤其是芳基,优选苯基。

[0114] 在上面的实施方案中,(C_1-C_6)烷基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为(C_1-C_3)烷基。

[0115] 在本发明的一个特别的实施方案中,R_4如上面所定义,R_{4b}表示氢原子、卤原子、OR_{29}或$NR_{31}R_{32}$,其中R_{29}至R_{32}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基,尤其是氢原子,优选地R_{4b}表示氢原子、卤原子或OR_{29},更优选地氢原子。

[0116] 在本发明的一个特别的实施方案中,R_5表示氢原子、卤原子、CN、OR_{29}、SR_{30}、$NR_{31}R_{32}$、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基、芳基、杂环基、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基,其中所述烷基或卤代烷基任选地被一个或多个选自OR_{40}、SR_{41}和$NR_{42}R_{43}$的取代基取代,所述芳基或杂环基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$OC(O)R_{50}$、$NR_{51}C(O)$

R_{52}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，尤其是卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、$C(O)R_{48}$、CO_2R_{49}、$C(O)NR_{53}R_{54}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，特别是卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，尤其是卤原子、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，优选(C_1-C_6)烷基的取代基所取代。

[0117] 在上面的实施方案中，R_{29}至R_{32}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基、芳基或芳基-(C_1-C_6)烷基，所述芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基，并且任选地被一个或多个尤其是一个选自卤原子、CN、NO_2、OR_{55}、SR_{56}、$NR_{57}R_{58}$、$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$OC(O)R_{61}$、$NR_{62}C(O)R_{63}$、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，有利地卤原子、OR_{55}、SR_{56}、$NR_{57}R_{58}$、$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$OC(O)R_{61}$、$NR_{62}C(O)R_{63}$、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，尤其是$C(O)R_{59}$、CO_2R_{60}、$C(O)NR_{64}R_{65}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，特别是$C(O)R_{59}$的取代基所取代，其中R_{55}至R_{65}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基，尤其是芳基，优选苯基。优选地，R_{29}至R_{32}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基。

[0118] 在本发明的另一个特别的实施方案中，R_5表示氢原子、卤原子、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基(所述烷基或卤代烷基任选地被一个或多个尤其是一个选自OR_{40}、SR_{41}和$NR_{42}R_{43}$的取代基取代)、芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，其中所述芳基或杂环基任选地被一个或多个选自卤原子、OR_{44}、SR_{45}、$NR_{46}R_{47}$、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，尤其是卤原子、(C_1-C_6)烷基和(C_1-C_6)卤代烷基，优选(C_1-C_6)烷基的取代基所取代。

[0119] 在本发明的另一个特别的实施方案中，R_5表示氢原子、卤原子、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)卤代烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基，所述烷基或卤代烷基任选地被OR_{40}取代，所述杂环基任选地被一个或多个(C_1-C_6)烷基取代。

[0120] 优选地，R_5表示氢原子。

[0121] 在上面的实施方案中，芳基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为苯基。

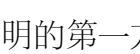
[0122] 在上面的实施方案中，杂环基(其可以是杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)特别是5或6元、饱和、不饱和(即非芳香族)或芳香族，尤其是饱和单环基团，其中环的原子包含一个或多个，有利地1至3个选自O、S和N，优选O和N的杂原子，其余为碳原子，如哌嗪基。

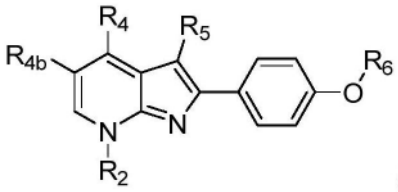
[0123] 在上面的实施方案中，R_{40}至R_{43}各自独立地表示氢原子或(C_1-C_6)烷基，尤其是氢原子。

[0124] 在上面的实施方案中，R_{44}至R_{54}各自独立地表示氢原子、(C_1-C_6)烷基或芳基，尤其是芳基，优选苯基。

[0125] 在上面的实施方案中，(C_1-C_6)烷基(其可以是芳基-(C_1-C_6)烷基或杂环基-(C_1-C_6)烷基的一部分)优选为(C_1-C_3)烷基。

[0126] 在本发明的一个特别的实施方案中，R_6表示氢原子、(C_1-C_3)烷基或芳基-(C_1-C_3)烷基，或任选地被一个或多个选自OH、SH、NH_2、(C_1-C_3)烷氧基、(C_1-C_3)巯基烷氧基和(C_1-C_3)烷基氨基的取代基所取代的(C_1-C_6)烷基羰基，优选地R_6表示氢原子、甲基、乙基、苄基或任选地被一个或多个选自OH、NH_2和SH的取代基所取代的(C_1-C_6)烷基羰基，特别地R_6表示氢原子或乙基，尤其是乙基。

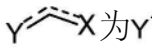
[0127] 在本发明的第一方面中，为，X为N，Y为$N(R_2)$，Z为C(H)，因此，根据本发明的用途的化合物具有以下通式(I.i)：

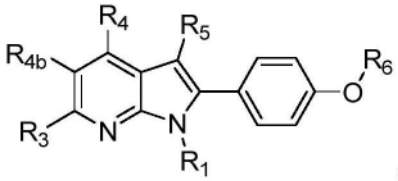
[0128] 

(I.i)

[0129] 其中R_2、R_4、R_{4b}、R_5和R_6如上述任一实施方案中所定义。

[0130] 特别地，R_6表示氢原子或$(C_1\text{-}C_6)$烷基，优选$(C_1\text{-}C_3)$烷基，尤其是甲基或乙基，有利地R_6表示乙基。

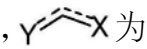
[0131] 在本发明的第二方面中，为，X为$N(R_1)$，Y为N，Z为$C(R_3)$，因此，根据本发明的用途的化合物具有以下通式(I.ii.a)：

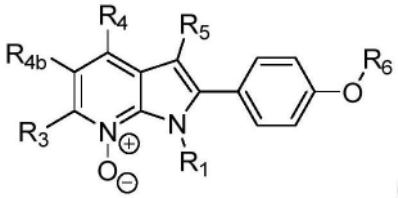
[0132] 

(I.ii.a)

[0133] 其中R_1、R_3、R_4、R_{4b}、R_5和R_6如上述任一实施方案中所定义。

[0134] 特别地，R_6表示氢原子、乙基或任选地被一个或多个选自OH、NH_2和SH的取代基所取代的$(C_1\text{-}C_6)$烷基羰基，有利地R_6表示氢原子或乙基，尤其是乙基。

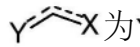
[0135] 在本发明的第三方面中，为，X为$N(R_1)$，Y为$N^+(O^-)$，Z为$C(R_3)$，因此，根据本发明的用途的化合物具有以下通式(I.ii.b)：

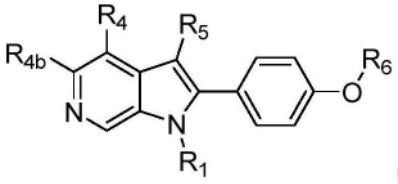
[0136] 

(I.ii.b)

[0137] 其中R_1、R_3、R_4、R_{4b}、R_5和R_6如上述任一实施方案中所定义。

[0138] 特别地，R_6表示氢原子或$(C_1\text{-}C_6)$烷基，优选$(C_1\text{-}C_3)$烷基，尤其是甲基或乙基，有利地R_6表示乙基。

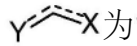
[0139] 在本发明的第四方面中，为，X为$N(R_1)$，Y为CH，Z为N，因此，根据本发明的用途的化合物具有以下通式(I.ii.c)：

[0140] 

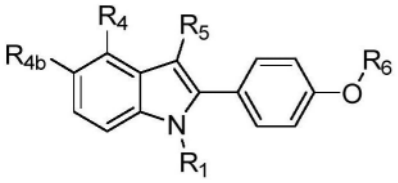
(I.ii.c)

[0141] 其中R_1、R_4、R_{4b}、R_5和R_6如上述任一实施方案中所定义。

[0142] 特别地，R_6表示氢原子或$(C_1\text{-}C_6)$烷基，优选$(C_1\text{-}C_3)$烷基，尤其是甲基或乙基，有利地R_6表示乙基。

[0143] 在本发明的第五方面中，为，X为$N(R_1)$，Y和Z为CH，因此，根据本发明

的用途的化合物具有以下通式(I.ii.d)：

[0144] 

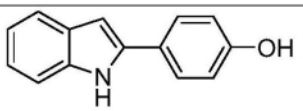
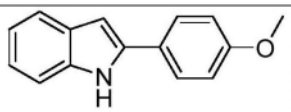
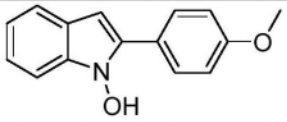
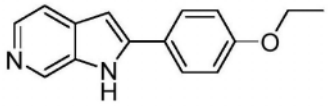
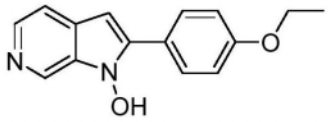
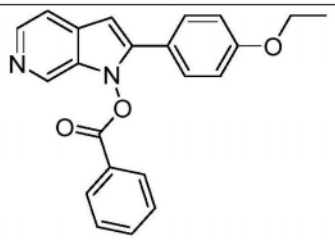
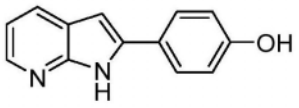
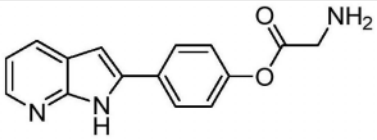
(I.ii.d)

[0145] 其中R_1、R_4、R_{4b}、R_5和R_6如上述任一实施方案中所定义。

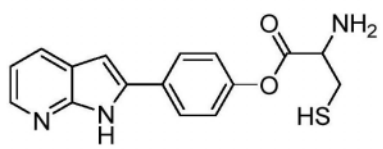
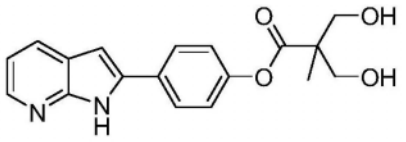
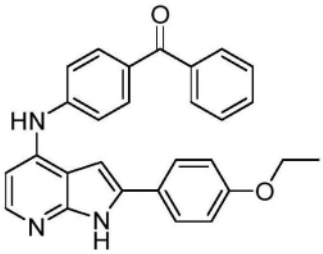
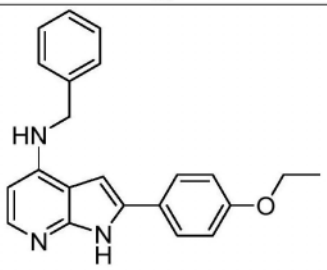
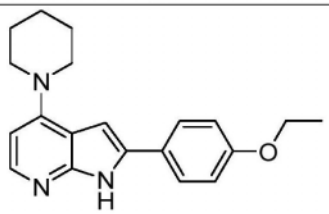
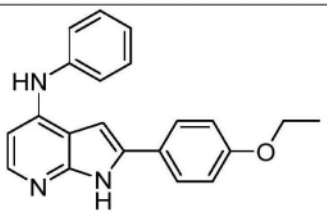
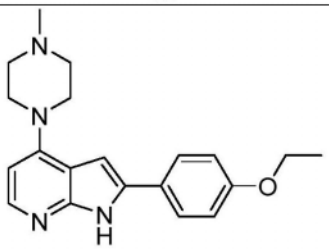
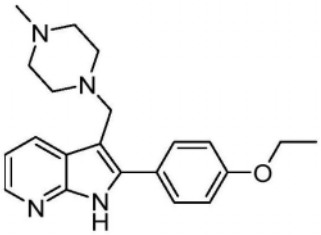
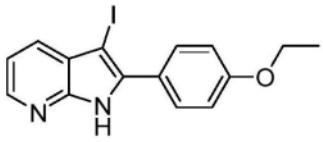
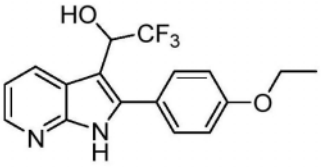
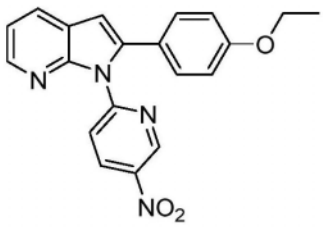
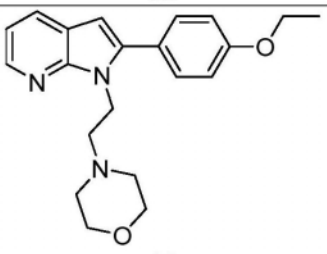
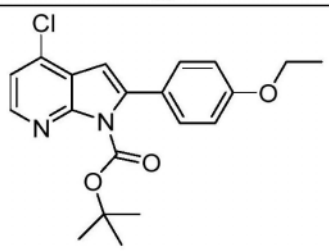
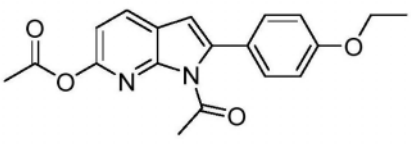
[0146] 特别地，R_6表示氢原子、$(C_1\text{-}C_6)$烷基或芳基-$(C_1\text{-}C_6)$烷基，优选氢原子、$(C_1\text{-}C_3)$烷基或芳基-$(C_1\text{-}C_3)$烷基，尤其是氢原子、甲基、乙基或苄基，有利地R_6表示氢原子、乙基或苄基，典型地为氢原子或乙基。

[0147] 根据本发明的用途的化合物可以尤其选自如下所示的化合物1至44及其药学上可接受的盐和/或溶剂化物。

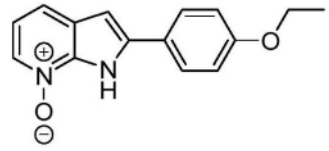
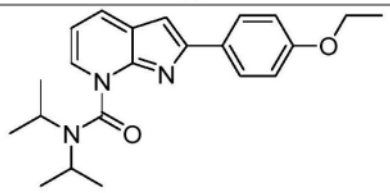
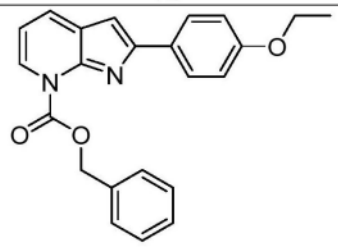
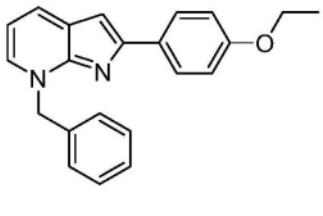
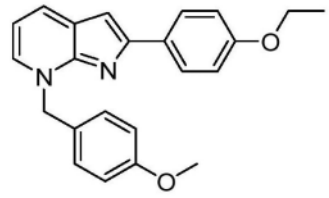
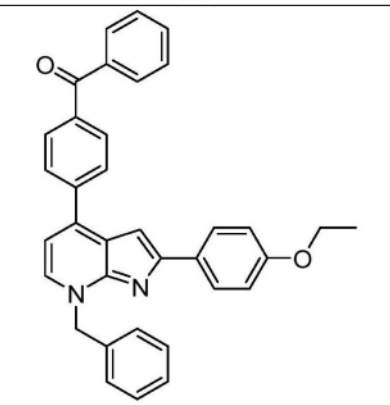
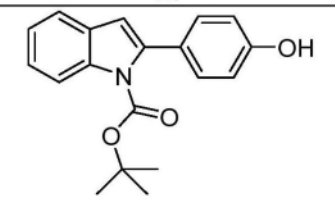
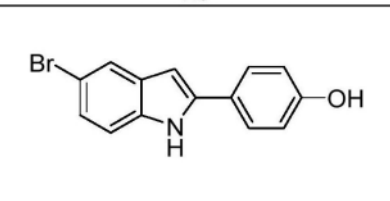
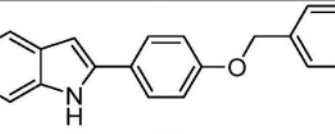
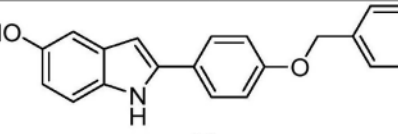
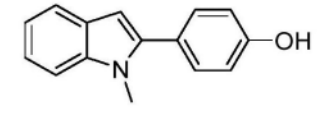
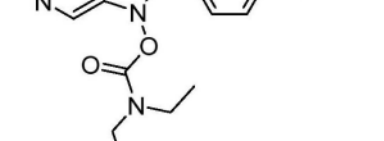
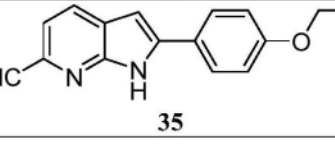
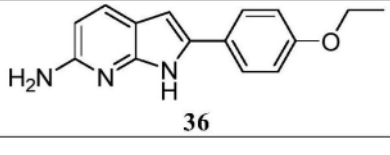
[0148]

 **1**	 **2**
 **3**	 **4**
 **5**	 **6**
 **7**	 **8**

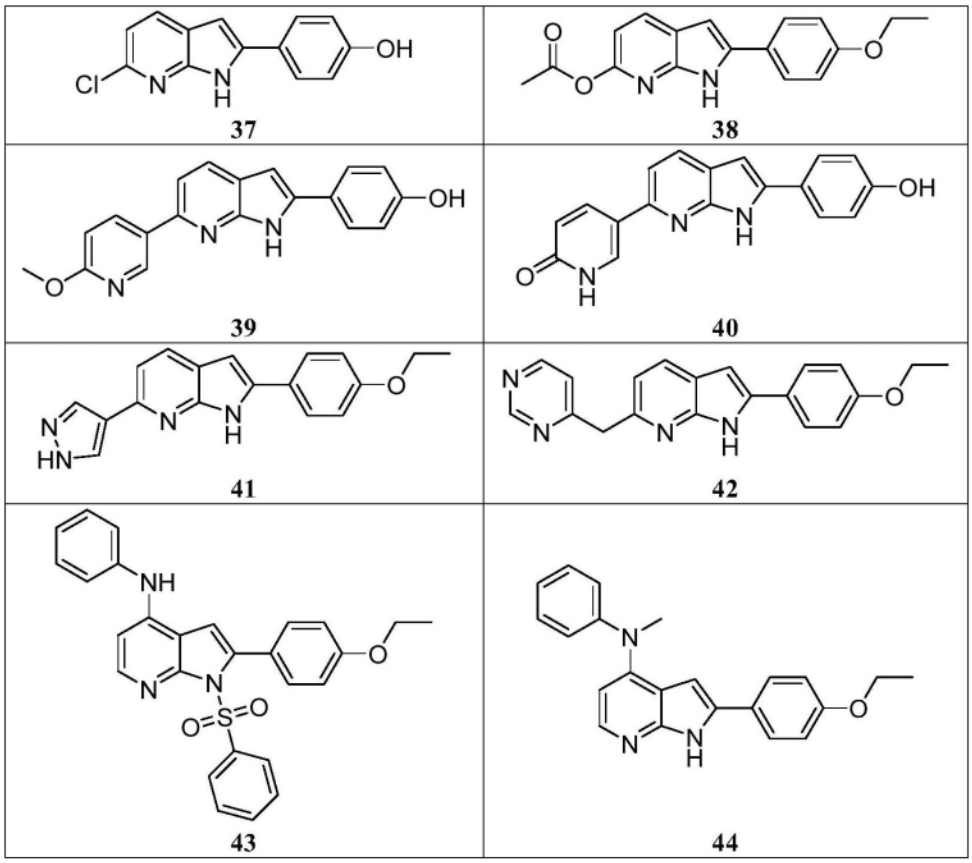
[0149]

 9	 10
 11	 12
 13	 14
 15	 16
 17	 18
 19	 20
	

[0150]

21	22
	
23	24
	
25	26
	
27	28
	
29	30
	
31	32
	
33	34
	
35	36

[0151]



[0152] 特别地,根据本发明的用途的化合物可以选自化合物1至28及其药学上可接受的盐和/或溶剂化物。

[0153] 在一个特别的实施方案中,根据本发明的用途的化合物选自化合物4-6、8-18、22、28、29、32、34-44,特别是4-6、8-18、22、28、34-44,尤其是4-6、8-18、22、28及其药学上可接受的盐和/或溶剂化物。

[0154] 本发明还涉及如上面所定义的通式(I)化合物,其用于预防和/或治疗与铁死亡相关的疾病。

[0155] 与铁死亡相关的疾病可以为心肌缺血再灌注损伤,尤其是在动脉结扎后发生的;心肌病,尤其是阿霉素诱导的心肌病;中风,尤其是缺血性中风或出血性中风;创伤性脑损伤;脊髓挫伤;神经变性疾病,特别是慢性神经变性疾病,更特别是阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化症(夏科氏病)、弗里德赖希共济失调和痴呆;视网膜疾病,尤其是斯塔加特氏病或年龄相关性黄斑变性(AMD),特别是干性AMD;慢性肝病,尤其是非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、慢性感染如肝炎和酒精性肝病;急性肝功能衰竭,尤其是由药物诱导的肝损伤(DILI)引起的,如对乙酰氨基酚(APAP)诱导的肝损伤,或由脓毒症或失血性休克诱导的缺血再灌注损伤引起的;皮肤炎性疾病,如银屑病;中毒性表皮坏死松解症(莱尔综合征);急性肾损伤(AKI),如草酸、叶酸(FA)和顺铂诱导的AKI,肾缺血再灌注损伤和急性肾小管坏死;慢性阻塞性肺疾病(COPD);支气管哮喘;细菌感染引起的肺损伤,尤其是铜绿假单胞菌或结核分枝杆菌感染引起的;肺纤维化,如辐射诱导的肺纤维化(RILF)和百草枯诱导的肺损伤;坏死性小肠结肠炎;炎性肠病,如克罗恩病;血色病;溶血性疾病;病毒感染期间的细胞分裂素风暴;辐射诱导的坏死;类风湿关节炎;I型糖尿病;与肥胖相关的胰岛素抵

抗;癫痫,包括线粒体疾病相关性癫痫和难治性癫痫;和与压力诱导的组织过早衰老相关的病理,如动脉粥样硬化、高血压和II型糖尿病。

[0156] 在一个特别的实施方案中,与铁死亡相关的疾病选自心肌病,尤其是阿霉素诱导的心肌病;脊髓挫伤;神经变性疾病,特别是慢性神经变性疾病,更特别是阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化症(夏科氏病)、弗里德赖希共济失调和痴呆;视网膜疾病,尤其是斯塔加特氏病或年龄相关性黄斑变性(AMD),特别是干性AMD;急性肝功能衰竭,尤其是由药物诱导的肝损伤(DILI)引起的,如对乙酰氨基酚(APAP)诱导的肝损伤,或由脓毒症或失血性休克诱导的缺血再灌注损伤引起的;皮肤炎性疾病,如银屑病;中毒性表皮坏死松解症(莱尔综合征);急性肾损伤(AKI),如草酸、叶酸(FA)和顺铂诱导的AKI;支气管哮喘;细菌感染引起的肺损伤,尤其是铜绿假单胞菌或结核分枝杆菌感染引起的;肺纤维化,如辐射诱导的肺纤维化(RILF)和百草枯诱导的肺损伤;坏死性小肠结肠炎;血色病;溶血性疾病;病毒感染期间的细胞分裂素风暴;辐射诱导的坏死;类风湿关节炎;I型糖尿病;与肥胖相关的胰岛素抵抗;癫痫,包括线粒体疾病相关性癫痫和难治性癫痫;和与压力诱导的组织过早衰老相关的病理,如高血压和II型糖尿病。

[0157] 优选地,与铁死亡相关的疾病选自心肌缺血再灌注损伤,尤其是在动脉结扎后发生的;中风,尤其是缺血性中风或出血性中风;创伤性脑损伤;神经变性疾病,特别是慢性神经变性疾病,更特别是阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病和肌萎缩侧索硬化症(夏科氏病);视网膜疾病,尤其是斯塔加特氏病或年龄相关性黄斑变性(AMD),特别是干性AMD;慢性肝病,尤其是非酒精性脂肪性肝炎(NASH);急性肝功能衰竭,尤其是由药物诱导的肝损伤(DILI)引起的,如对乙酰氨基酚(APAP)诱导的肝损伤,或由脓毒症或失血性休克诱导的缺血再灌注损伤引起的;和急性肾损伤(AKI),如叶酸(FA)诱导的AKI、顺铂诱导的AKI,肾缺血再灌注损伤和急性肾小管坏死。

[0158] 特别地,与铁死亡相关的疾病选自神经变性疾病,特别是慢性神经变性疾病,更特别是阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病和肌萎缩侧索硬化症(夏科氏病);视网膜疾病,尤其是斯塔加特氏病或年龄相关性黄斑变性(AMD),特别是干性AMD;急性肝功能衰竭,尤其是由药物诱导的肝损伤(DILI)引起的,如对乙酰氨基酚(APAP)诱导的肝损伤,或由脓毒症或失血性休克诱导的缺血再灌注损伤引起的;和急性肾损伤(AKI),如叶酸(FA)诱导的AKI和顺铂诱导的AKI。

[0159] 本发明还涉及一种用于抑制铁死亡的方法,其包括向有需要的人施用有效剂量的如上面所定义的式(I)化合物。特别地,本发明涉及一种用于预防和/或治疗如上面所定义的与铁死亡相关的疾病的方法,其包括向有需要的人施用有效剂量的如上面所定义的式(I)化合物。

[0160] 本发明还涉及如上面所定义的式(I)化合物在制备用于抑制铁死亡的药物中的用途。特别地,本发明还涉及如上面所定义的式(I)化合物在制备用于预防和/或治疗如上面所定义的与铁死亡相关的疾病的药物中的用途。

[0161] 本发明还涉及如上面所定义的式(I)化合物用于在体外保存和/或保护生物材料,如细胞、组织、体液和器官的用途,特别是非治疗用途。

[0162] 在本发明的上下文下,“体外”是指在生物材料来源的生物体之外。

[0163] 如本文所使用,表述“保存和/或保护生物材料”是指改善所述生物材料的存活,使

得其能够随着时间的推移而保存。从本说明书中可以清楚地看出,这种改善的存活是通过防止所述生物材料中铁死亡诱导的细胞死亡而获得的。

[0164] 因此,本发明还涉及如上面所定义的式(I)化合物作为用于抑制生物材料中铁死亡诱导的细胞死亡的试剂的体外用途。

[0165] 本发明还涉及一种用于抑制生物材料中铁死亡诱导的细胞死亡的方法,其包括将所述生物材料暴露于如上面所定义的式(I)化合物。

[0166] 在本发明的上述方面中,生物材料优选为细胞样品或组织样品。

[0167] 本发明还涉及一种药物组合物,其包含至少一种如上面所定义的式(I)化合物和至少一种药学上可接受的赋形剂,其用作抑制铁死亡,特别是用于预防和/或治疗如上面所定义的与铁死亡相关的疾病的药物的用途。

[0168] 在本发明的范围中,术语"药学上可接受的赋形剂"是指如上面所定义的药学上可接受的物质,其与药物组合物的活性成分一起配制,用于长期稳定,将含有少量有效活性成分的固体制剂进行体积增大,改善最终剂型中的活性成分的治疗效果(如促进药物吸收、降低粘度或增强溶解性),或增强药物组合物的味道或外观的目的。技术人员可以容易且明智地选择合适的赋形剂,特别考虑剂型和施用途径。

[0169] 根据本发明的用途的药物组合物可以配制尤其用于口服施用、局部施用或注射,其中所述组合物旨在用于哺乳动物,包括人类。

[0170] 药物组合物可以以固体或液体(溶液或混悬液)形式口服施用。

[0171] 固体组合物可以是片剂、明胶胶囊、粉末、颗粒剂等形式。当以片剂形式制备固体组合物时,将主要活性成分与药物载体如明胶、淀粉、乳糖、硬脂酸镁、滑石粉、阿拉伯树胶等混合。片剂可以用蔗糖或其他合适的材料包衣,或者可以以这样的方式处理它们,使得它们具有延长的或延迟的活性,并且使得它们连续地释放预定量的活性成分。在粉末或颗粒剂中,活性成分可以与分散剂、润湿剂或混悬剂以及矫味剂或甜味剂混合或造粒。在明胶胶囊中,活性成分可以以粉末或颗粒的形式(如前面提到的)或以液体组合物的形式(如下面提到的)引入到软或硬明胶胶囊中。

[0172] 液体组合物可以在溶剂如水中含有活性成分以及甜味剂、味道增强剂或合适的着色剂。还可以通过将如上面所述的粉末或颗粒剂混悬或溶解在液体如水、果汁、牛奶等中来获得液体组合物。其例如可以为糖浆或酏剂。

[0173] 对于局部施用,药物组合物可以是能够应用于皮肤或粘膜表面的任何形式:霜剂、凝胶剂、软膏剂、贴剂等。

[0174] 对于通过注射施用,使用含有药理学相容的分散剂和/或润湿剂的水混悬液、等渗盐水溶液或无菌注射溶液。

[0175] 作为活性成分的本发明的化合物可以以每天0.01mg至2,000mg的剂量使用,每天一次以单一剂量施用或全天以多个剂量施用,例如以等剂量每天两次。每天施用的剂量有利地为5mg至500mg,甚至更有利地为10mg至200mg。典型地在施用于患者之前,将本发明的化合物配制为如上所述的药物组合物。活性成分的有效剂量可以由本领域技术人员通过常规测试来确定,包括评估活性成分的施用对通过所述施用寻求预防和/或治疗的疾病的效果。例如,这些测试可以通过分析施用不同量的活性成分对所述疾病的一组标志物(生物学和/或临床)特征(特别是来自人的生物样品)的定量和定性作用来实施。此外,如本领域技

术人员所熟知的,用于治疗给定患者的给定疾病的合适剂量和相关给药方案将取决于多种其他因素,如疾病的阶段以及患者的身体状况和医疗状况。

[0176] 本发明还涉及如上面所定义的式(I)化合物或药物组合物,其用作有此需要的人的组合或附加治疗方案中的治疗活性成分,特别是用于抑制铁死亡,更特别是用于预防和/或治疗与铁死亡相关的疾病的用途。

[0177] 在一些实施方案中,本发明的式(I)化合物与第二活性成分同时、分别或相继施用至有需要的人。

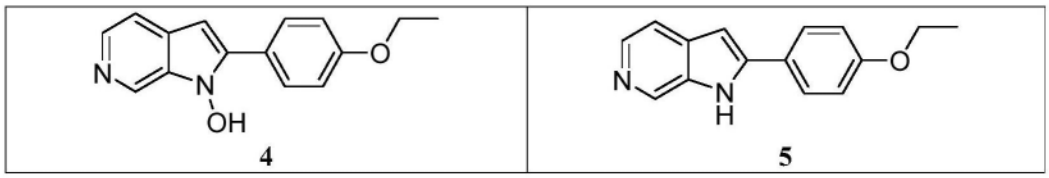
[0178] 如上面所定义的式(I)化合物和/或药物组合物可以以组合产品提供,所述组合产品包含另外的产品,特别是第二活性成分,特别旨在同时、分别或相继施用。

[0179] 第二活性成分通常与待预防和/或治疗的疾病相关。

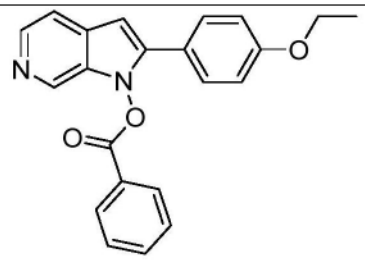
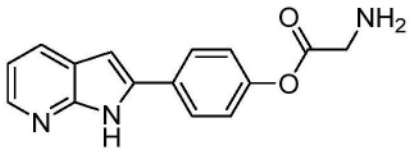
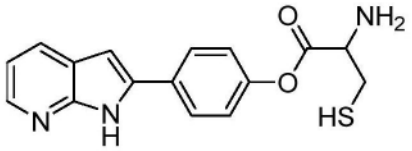
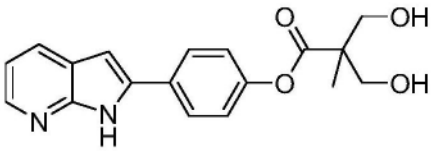
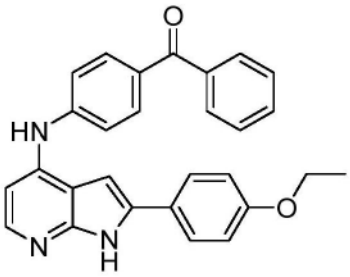
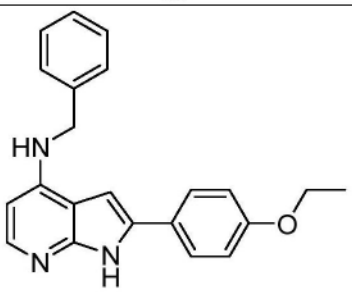
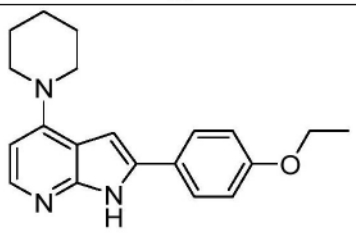
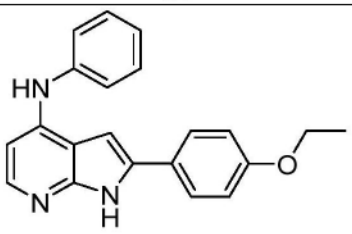
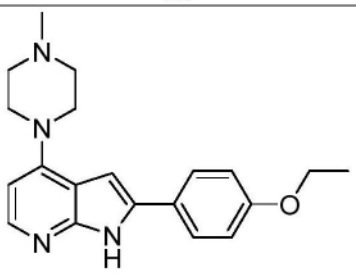
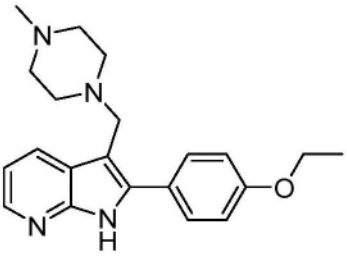
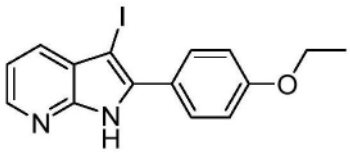
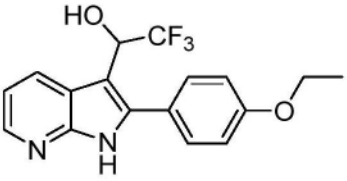
[0180] 本发明还涉及一种试剂盒,其包含如上面所定义的药物组合物和递送装置(能够施用所述组合物的装置),特别适合于肠胃外、肠内施用或局部施用。递送装置的示例包括但不限于自动注射器,特别是多室注射器、透皮贴剂、预填充注射器或无针装置。

[0181] 本发明还涉及一种化合物,其选自:

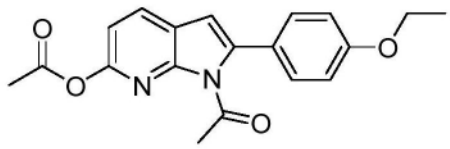
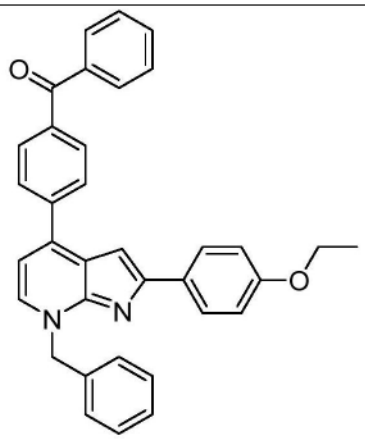
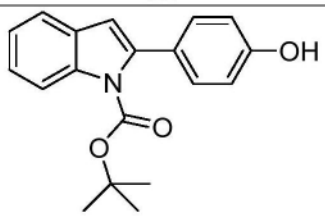
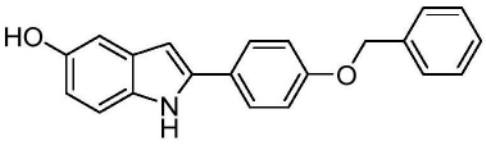
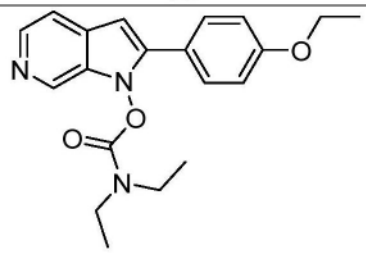
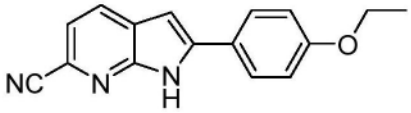
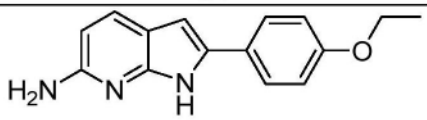
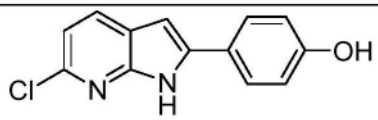
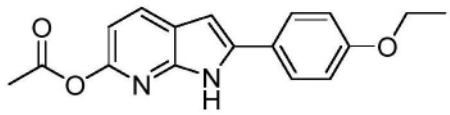
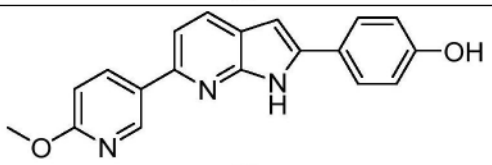
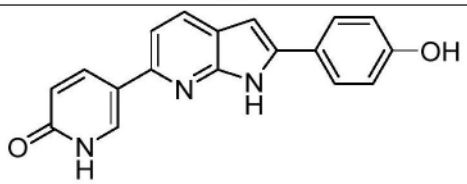
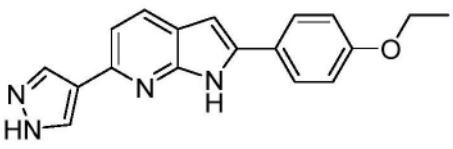
[0182]

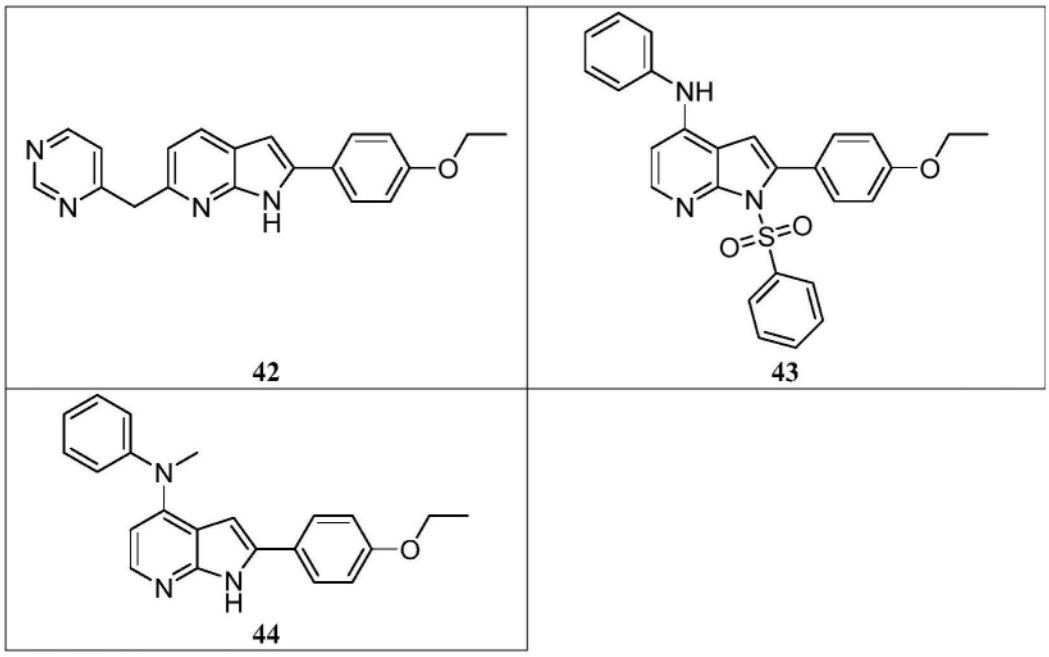


[0183]

 6	 8
 9	 10
 11	 12
 13	 14
 15	 16
 17	 18

[0184]

 22	 28
 29	 32
 34	 35
 36	 37
 38	 39
 40	 41

[0185] 

[0186] 及其药学上可接受的盐和/或溶剂化物。

[0187] 特别地,根据本发明的化合物选自化合物4-6、8-18、22、28、34-44,尤其是4-6、8-18、22、28,及其药学上可接受的盐和/或溶剂化物。

[0188] 本发明还涉及一种化合物,其用作药物,其选自化合物4-6、8-18、22、28、29、32、34-44,尤其是4-6、8-18、22、28、34-44,特别是4-6、8-18、22、28,及其药学上可接受的盐和/或溶剂化物。

附图说明

[0189] 图1表示化合物6对小鼠海马神经元细胞系HT22的由铁死亡诱导剂(Era)、谷氨酸(Glu)或RSL3((1S,3R)-RAS选择性致死)诱导的铁死亡的剂量依赖性保护。

[0190] 图2A表示化合物6对人神经母细胞瘤细胞系SH-SY5Y的由铁死亡诱导剂(Era)诱导的铁死亡的剂量依赖性保护。

[0191] 图2B表示化合物25对人神经母细胞瘤细胞系SH-SY5Y的由铁死亡诱导剂(Era)或RSL3((1S,3R)-RAS选择性致死)诱导的铁死亡的剂量依赖性保护。

[0192] 图3表示实施例II.2中使用的缺血-再灌注模型。

[0193] 图4至图16表示用递增浓度的化合物1、27、5、26、25、14、11、6、12、15、13、22和20处理的人肾小球内皮细胞(hRGEC)在低氧冷藏(4℃,24小时)和复氧步骤(37℃,6小时)后的活力。

[0194] 图17至图18表示用递增浓度的化合物24和7处理的人肾小球内皮细胞(hRGEC)在低氧冷藏(4℃,24小时)和复氧步骤(37℃,4小时(灰色)和6小时(黑色))后的活力。

[0195] 图19至图24表示用递增浓度的24种本发明化合物处理的大鼠肾细胞(NRK-52E)在用200μm顺铂处理24小时后的活力。

[0196] 图25表示化合物7、1、8、9、27、25、22和24对人视网膜色素上皮细胞(ARPE-19细胞系)对抗$NaIO_3$诱导的视网膜细胞死亡的剂量依赖性保护。

[0197] 图26至图28表示化合物16、17和18对人神经母细胞瘤细胞系SH-SY5Y的由铁死亡

诱导剂(Era)诱导的铁死亡的剂量依赖性保护。

[0198] 图29显示与藏花酸(CRO)、阳性对照(CONT-A2E)和阴性对照(CONT+A2E)相比,在光毒性诱导之前用化合物1(SBL-02)处理后RPE细胞的细胞存活。

[0199] 图30显示在玻璃体内(IVT)用化合物1(SBL2)或其载体处理的小鼠中以30cd.s/m2的强度测量的明视ERG。I:注射的眼睛,NI:未注射的眼睛,NINI:未经处理且未注射的小鼠。N=4VEH小鼠,n=5SBL2小鼠,n=5NINI小鼠。

[0200] 图31和图32显示在接受IVT化合物1(SBL2 I)或其载体(VEH I)的小鼠中在五种递增的光强度下测量的暗视ERG A(图31)和B(图32)。同一小鼠的未注射眼睛作为对照(SBL2 NI和VEH NI)。未注射且未照亮的(unlit)小鼠(NINI)作为阳性对照。N=4VEH小鼠,n=5SBL2小鼠,n=5NINI小鼠。

[0201] 图33显示接受或未接受用化合物1(SBL2)在玻璃体内处理的小鼠的视网膜厚度(表示为距视神经的距离)的量化。

[0202] 图34和图35显示在用化合物7(SBL1)、其安慰剂(VEH)和未注射未照亮(NINI)处理的小鼠中在五种递增的光强度下测量的暗视ERG A(图34)和B(图35)。N=3只小鼠每注射组,对于NINI,n=5。

[0203] 图36显示接受或未接受用化合物7(SBL2)腹膜内处理的小鼠的视网膜厚度的定量。

[0204] 图37至图39显示化合物7(SBL-01)、1(SBL-02)、14(SBL-571)、22(SBL-962)和3(SBL-1495)对6-OHDA损伤后的多巴胺能神经元(TH染色)存活的作用。

[0205] 图40和图41显示在接受或未接受用化合物7(西伯利啉(sibiriline))处理的情况下,由大鼠短暂双侧肾动脉闭塞诱导的缺血性急性肾衰竭的麻醉大鼠模型中的肌酸酐和尿素血浆水平。

具体实施方式

[0206] 实施例

[0207] 以下实施例中使用了本领域中常用的以下缩写:

[0208]

A2E	:*N*-亚视黄基-*N*-视黄基乙醇胺
BDNF	:脑源性神经营养因子
BLD	:蓝光伤害
BOC	:叔丁氧基羰基
BSA	:牛血清白蛋白
nBuLi	:正丁基锂

[0209]

BUN	：血尿素氮
CD	：环糊精
DDQ	：2,3-二氯-5,6-二氰基-对苯醌
DIMAP	：4-二甲基氨基吡啶
DMEM	：Dulbecco 改良 Eagle 介质
DMF	：二甲基甲酰胺
DMSO	：二甲亚砜
EC_{50}	：半数最大有效浓度
EDCI	：1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺
ENT	：耳、鼻、喉
ERG	：视网膜电图
Et	：乙基 (CH_2CH_3)
EtOAc	：乙酸乙酯
FBS	：胎牛血清
FCS	：胎犊血清
HRGEC	：人肾小球内皮细胞
hRPE-1	：人视网膜色素上皮细胞系
IP	：腹膜内
IVT	：玻璃体内
LDA	：二异丙基氨基锂
Me	：甲基 (CH_3)
Bis-MPA	：2,2-双(羟甲基)丙酸
MsCl	：甲磺酰氯
MTS	：3-[4,5-二甲基噻唑-2-基]-5-[3-羧基甲氧基-苯基]-2-[4-磺基苯基]-2H-四唑
n	：实验中的重复次数
NMR	：核磁共振
OCT	：光学相干断层扫描
6-OHDA	：6-羟基多巴胺
PBS	：磷酸盐缓冲液
PE	：石油醚
PMBCl	：4-甲氧基氯苄
iPrOH	：异丙醇
nPrOH	：正丙醇
RBF	：圆底烧瓶

[0210]

ROS	：活性氧
RPE	：视网膜色素上皮
r.t.	：室温
SD	：标准差
TH	：酪氨酸羟化酶
THF	：四氢呋喃
TLC	：薄层色谱法
XTT	：2,3-双-(2-甲氧基 4-硝基-5-磺基苯基)-2H-四唑鎓 5-甲酰苯胺盐

[0211] I.根据本发明的化合物的合成

[0212] 按照下面详述的一般程序A和B来制备根据本发明的多种化合物。

[0213] 一般程序A:4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的Buchwald-HartwigC-N偶联

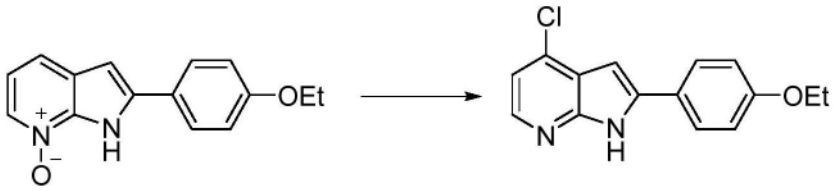
[0214] 将4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.18mmol)与Pd_2dba_3(17mg,0.1当量,0.018mmol)、XPhos(17mg,0.2当量,0.036mmol)、tBuONa(45mg,3当量,0.54mmol)和相应的胺(1.3当量,0.23mmol)装入小瓶中。将小瓶置于氩气下,加入干燥的二氧六环,然后在100℃搅拌16小时。冷却后,将反应用EtOAc稀释,在硅藻土垫上过滤并浓缩。通过快速色谱法纯化粗产物,获得期望的化合物。

[0215] 一般程序B:4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的直接胺化

[0216] 将4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(30mg,0.11mmol)与苯酚(21mg,2当量,0.22mmol)和相应的胺(2当量,0.22mmol)装入0.5ml微波小瓶中。将小瓶置于氩气下,在Biotage Initiator微波反应器中加热至150℃(纯净)30分钟。冷却后,将反应用EtOAc稀释,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法纯化粗产物,获得期望的化合物。

[0217] 两种程序均依赖于使用4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶作为起始原料。使用另一种关键化合物制备根据本发明的一些化合物,即2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。

[0218] 4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的合成:

[0219] 

[0220] 在氩气下将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-氧化物(化合物23)(1g,4.1mmol)溶解在无水DMF(10ml)中,滴加MsCl(487μl,6.15mmol,1.5当量)。将反应加热至80℃并搅拌6小时,然后用冰浴冷却以产生沉淀。加入水(40ml)并过滤黄色固体,用更多的水洗涤并真空干燥(696mg,65%)。^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6):1.35(t,J=7.0Hz,3H),4.09(q,J=7.0Hz,2H),6.85(d,J=2.1Hz,1H),7.02(d,J=8.8Hz,2H),7.17(d,J=5.2Hz,1H),7.92(d,J=8.8Hz,2H),8.12(d,J=5.2Hz,1H),12.39(bs,1H)。

[0221] 2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的合成:

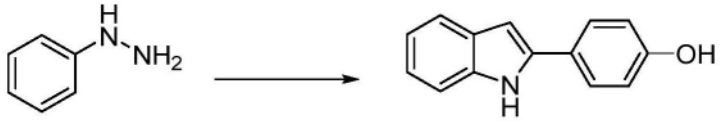
[0222] 

[0223] 通过在-5℃将nBuLi的已烷溶液(54ml,2.5M,135mmol)滴加到二异丙基胺(19ml,135mmol)的无水THF(150ml)溶液中并搅拌20分钟来新鲜制备LDA。然后,在0℃滴加3-甲基吡啶(7g,75mmol,1当量)的无水THF(100ml)溶液,将橙色混合物搅拌20分钟,然后滴加4-乙氧基苯甲腈(11.1g,75mmol,1当量)的无水THF(100ml)溶液。在0℃持续1小时后,滴加更多的LDA的THF(150ml)溶液(135mmol,由54ml正丁基锂和19ml二异丙胺制备),将反应在1小时内缓慢升温至室温,然后在水浴中加热回流2小时。冷却后,用饱和NH_4Cl(100ml)小心地淬灭黄色溶液,并加入水(250ml)。过滤沉淀物,用乙醚和水洗涤,真空干燥,获得浅黄色固体(11g,61%)。

[0224] ^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6):1.35(t,J=7.1Hz,3H),4.07(q,J=7.1Hz,2H),6.78(d,J=2.2Hz,1H),7.00-7.05(m,3H),7.85-7.89(m,3H),8.15(dd,J=4.7,1.6Hz,1H),12.0(bs,1H)。

[0225] 下面详述的合成中的其他起始原料或者是市售可得的,或者可以根据本领域技术人员熟知的方法容易地制备。

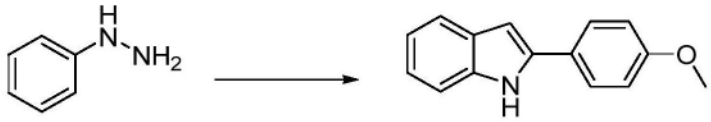
[0226] 化合物1:4-(1H-吲哚-2-基)苯酚

[0227] 

[0228] 如Eur.J.Med.Chem.,2014,74,477-490所描述,使用苯肼和4-羟基苯乙酮为原料,通过Fisher吲哚合成法获得4-(1H-吲哚-2-基)苯酚。获得期望的化合物,为棕色固体(68%)。

[0229] ^{1}H NMR(300MHz;DMSO-d_6):11.30(br s,1H),9.62(br s,1H);7.69(d,2H,J=7.2Hz);7.45(d,1H,J=7.7Hz);7.34(d,1H,J=7.7Hz);7.06-6.93(m,2H);6.82(d,2H,J=7.2Hz);6.68(s,1H)。

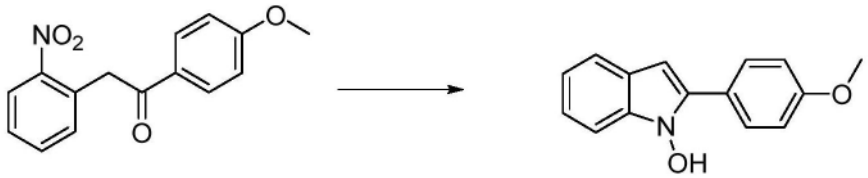
[0230] 化合物2:2-(4-甲氧基苯基)-1H-吲哚

[0231] 

[0232] 如Bioorg.Med.Chem.Lett.,2013,23,2671-2674所描述,使用苯肼和4-甲氧基苯乙酮为原料,通过Fisher吲哚合成法获得2-(4-甲氧基苯基)-1H-吲哚。获得期望的化合物,为浅棕色固体(56%)。

[0233] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):8.50(br s,1H),7.61-7.58(m,3H),7.39(d,J=7.2Hz,1H),7.17(dt,J=7.2Hz,1.3Hz,1H),7.10(dt,J=7.2Hz,1.3Hz,1H),6.98(d,J=8.7Hz,2H),6.71(s,1H),3.87(s,3H)。

[0234] 化合物3:2-(4-甲氧基苯基)-1H-吲哚-1-醇

[0235] 

[0236] 将1-(4-甲氧基苯基)-2-(2-硝基苯基)乙烷-1-酮(500mg,1.84mmol)溶解在EtOAc:EtOH(9:1,10ml)中,一次性加入氯化锡(1.47g,4.2当量,7.74mmol),将混合物在室温搅拌48小时。加入盐水,用EtOAc(2×30ml)萃取水相,用水洗涤多次,经$MgSO_4$干燥并浓缩成红色油状物。通过快速色谱法进行纯化(纯EtOAc,然后80:20至50:50EtOAc:MeOH梯度)。将获得的固体混悬在水中,超声处理,过滤并用水彻底洗涤。真空干燥获得浅米色固体(313mg,71%)。

[0237] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)11.11(s,1H),7.81(d,J=9.0Hz,2H),7.50(d,J=7.8Hz,1H),7.39(d,J=7.8Hz,1H),7.18-7.11(m,1H),7.12-6.94(m,3H),6.52(d,J=0.8Hz,1H),3.81(s,3H)。

[0238] 化合物4:2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶

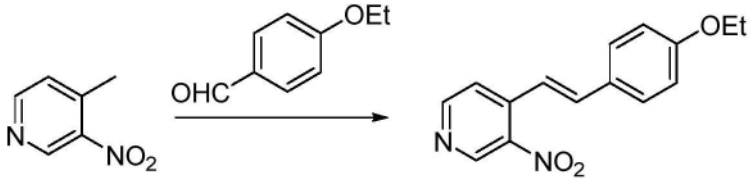
[0239] 

[0240] 将2-(4-乙氧基苯基)-1H吡咯并[2,3-c]吡啶-1-醇(50mg,0.2mmol)混悬于乙酸和乙醇的混合物(1:2,9ml)中,加入铁粉(220mg,20当量,3.9mmol)。将混悬液加热回流1小时并冷却至室温。小心地加入饱和$NaHCO_3$,将反应混合物用EtOAc(3×20ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱法(100:0至90:10CH_2Cl_2:MeOH)纯化粗产物,获得浅黄色固体(31mg,63%)。

[0241] ^1H NMR(300MHz,甲醇-d_4):8.71(s,1H),8.06(d,J=6.0Hz,1H),7.92-7.80(m,2H),7.75(d,J=6.0Hz,1H),7.13-7.03(m,2H),7.00(s,1H),4.11(q,J=7.0Hz,2H),1.42(t,J=7.0Hz,3H)。

[0242] 化合物5:2-(4-乙氧基苯基)-1H吡咯并[2,3-c]吡啶-1-醇

[0243] -4-(4-乙氧基苯乙烯基)-3-硝基吡啶的合成:

[0244] 

[0245] 将4-甲基-3-硝基吡啶(7g,51mmol)和4-乙氧基苯甲醛(8g,1.05当量,54mmol)置于120ml压力管中并溶解在EtOH(60ml)中。加入催化量的哌啶,将反应在110℃搅拌直至起始原料耗尽(约72至96小时)。将混合物冷却至室温,浓缩至约25ml体积并置于冰箱中,形成黄色晶体。过滤并用最少量冷的EtOH洗涤,获得固体,通过在已烷:EtOAc(9:1)的混合物中重结晶来纯化所述固体。过滤晶体,用已烷洗涤并真空干燥,获得亮黄色固体(11.3g,82%)。

[0246] ^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ9.14(s,1H),8.69(d,J=5.4Hz,1H),7.66(d,J=5.4Hz,

1H),7.55-7.44(m,3H),7.31(d,J=16.1Hz,1H),6.92(d,J=6.8Hz,2H),4.08(q,J=7.0Hz,2H),1.44(t,J=7.0Hz,3H)。

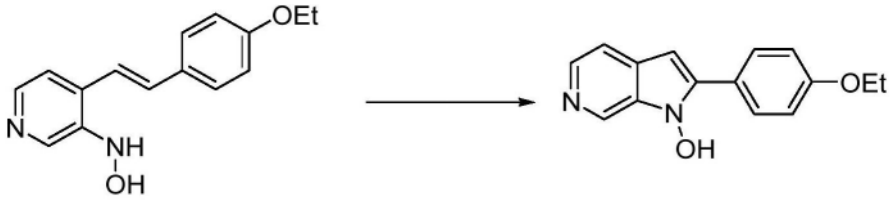
[0247] -N-(4-(4-乙氧基苯乙烯基)吡啶-3-基)羟胺的合成:

[0248] 

[0249] 将4-(4-乙氧基苯乙烯基)-3-硝基吡啶(11g,41mmol)溶解在THF:MeOH混合物(1:1,600ml)中并冷却至0℃。加入乙酸钠(55.8g,10当量,410mmol),随后分批加入氯化锡(46.3g,5当量,205mmol)。将反应搅拌5小时,同时返回至室温,产生粘稠的橙色浆液。TLC分析显示没有起始原料,将混合物倒入冰冷的饱和$NaHCO_3$(1.5L)中。用EtOAc:iPrOH(8:2,4×600ml)萃取混悬液,将有机萃取物用饱和$NaHCO_3$、盐水洗涤并经$MgSO_4$干燥。去除溶剂获得浅黄色固体(8.9g,85%)。

[0250] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ8.64(s,1H),8.54(d,J=1.8Hz,1H),8.38(s,1H),8.00(d,J=5.0Hz,1H),7.58(d,J=8.8Hz,2H),7.44(d,J=5.0Hz,1H),7.27(d,J=16.2Hz,1H),7.15(d,J=16.2Hz,1H),6.96(d,J=8.8Hz,2H),4.06(q,J=7.0Hz,2H),1.34(t,J=7.0Hz,3H)。

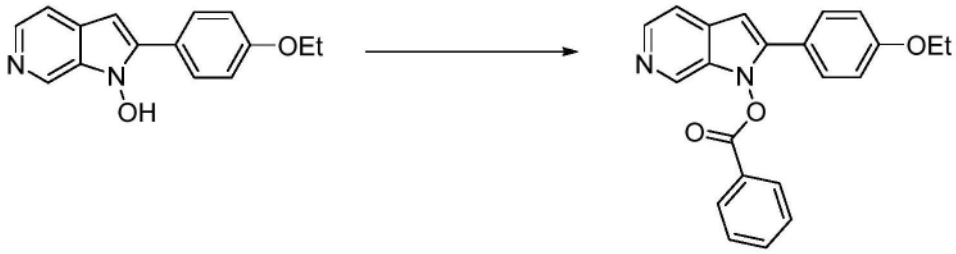
[0251] -2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-醇的合成:

[0252] 

[0253] 将N-(4-(4-乙氧基苯乙烯基)吡啶-3-基)羟胺(9g,35mmol)混悬于MeCN:H_2O:AcOH(10:2:1,390ml)的混合物中并冷却至-5至0℃。分小份加入DDQ(7.94g,1当量,35mmol)以获得深红色溶液,搅拌30分钟,然后进行TLC分析,其显示没有剩余起始原料。将粗品通过加入1N HCl(100ml)淬灭,用Et_2O(300ml)稀释。用1N HCl萃取有机相,用Et_2O:PE(1:1)洗涤合并的水层,直至没有萃取出DDQ副产物(3×500ml)。然后,将水层转移至Erlenmeyer并在剧烈搅拌下用饱和$NaHCO_3$碱化。将沉淀物过滤,用水、EtOAc洗涤,最后用Et_2O洗涤,然后真空干燥,获得棕色固体(7.11g,80%)。

[0254] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.79(s,1H),8.73(s,1H),8.10(d,J=5.4Hz,1H),7.88(d,J=8.8Hz,2H),7.46(dd,J=5.4,1.0Hz,1H),7.06(d,J=8.8Hz,2H),6.59(s,1H),4.10(q,J=7.0Hz,2H),3.16(d,J=4.9Hz,1H),1.36(t,J=7.0Hz,4H)。

[0255] 化合物6:2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基苯甲酸酯

[0256] 

[0257] 将(2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-醇(化合物5)(1.95g,7.7mmol)置于氩气下并溶解在无水CH_2Cl_2(50ml)中。加入无水吡啶(1.81g,1.8ml,23mmol),将混合物冷却至约-15℃,滴加苯甲酰氯(1.33ml,1.6g,12mmol)。将混合物搅拌1小时,同时返回至0℃,TLC分析显示完全转化。将反应在0℃用饱和$NaHCO_3$淬灭,用CH_2Cl_2(2×50ml)萃取,经$MgSO_4$干燥并浓缩获得棕色油状物。通过快速色谱法(Et_3N中和的硅胶,CH_2Cl_2:MeOH梯度)纯化产物,获得1.2g被杂质污染的产物。通过溶解在最少量的Et_2O中,加入PE并摇动超声处理直到形成沉淀来进行进一步纯化。将混悬液过滤并真空干燥以获得棕褐色固体(912mg,32%)。^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$)δ8.67(s,1H),8.35(s,1H),8.12(d,J=7.2Hz,2H),7.73-7.65(m,1H),7.62(d,J=8.8Hz,2H),7.52(t,J=7.8Hz,3H),6.91(d,J=8.8Hz,2H),6.62(s,1H),4.02(q,J=7.0Hz,2H),1.39(t,J=7.0Hz,3H)。

[0258] 化合物7:4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯酚

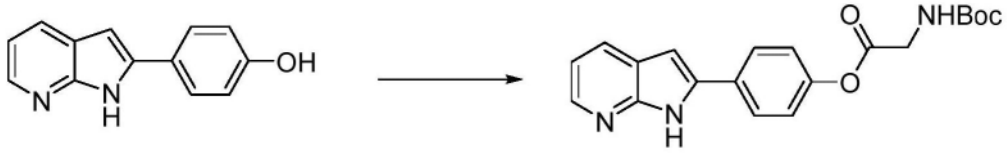
[0259] 

[0260] 将2-(4-甲氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(1.06g,47.2mmol)置于配备有氩气入口和温度计的250ml三颈RBF中,混悬于无水CH_2Cl_2(50ml)中,冷却至-78℃。滴加三溴化硼(1M的CH_2Cl_2溶液,141.7mmol,3当量),将深棕色混合物搅拌6小时,同时缓慢温热至室温。将反应小心地用饱和$NaHCO_3$溶液(20ml)淬灭并冷却至0℃,然后加入2M NaOH直至沉淀的固体大部分溶解(50ml)。将溶液搅拌10分钟,然后装入分液漏斗中并用二氯甲烷洗涤。然后在搅拌下滴加6M HCl来中和水相。过滤获得棕色固体,用饱和$NaHCO_3$溶液和水洗涤,在hivac干燥后获得828mg粗产物。通过在nPrOH中重结晶进行纯化,向其中加入少量已烷(8ml和3ml),然后加热回流。将溶液冷却至室温并置于-20℃过夜。过滤获得浅棕色固体(535mg,54%)。

[0261] ^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):6.70(d,J=2.0Hz,1H),6.85(d,J=8.7Hz,2H),7.02(dd,J=7.8,4.7Hz,1H),7.76(d,J=8.7Hz,2H),7.85(dd,J=7.8,1.3Hz,1H),8.14(dd,J=4.7,1.3Hz,1H),9.71(bs,1H),11.93(bs,1H)。

[0262] 化合物8:4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯基甘氨酸酯

[0263] -4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯基(叔丁氧基羰基)甘氨酸酯:

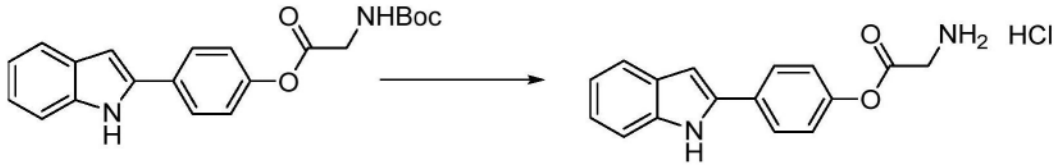
[0264] 

[0265] 将4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯酚(化合物7)(180mg,0.87mmol)混悬于CH_2Cl_2(6ml)中,加入DMAP(138mg,1.3当量,1.13mmol)、Boc-Gly-OH(182mg,1.2当量,1.04mmol)和EDCI-HCl(210mg,1.3当量,1.13mmol)。将混合物在室温搅拌16小时,然后加入

水和EtOAc(各15ml)。将粗混合物萃取(2×15ml),用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩成固体。通过快速色谱法(80:20至0:100PE:EtOAc)进行纯化,获得白色固体(120mg,37%)。

[0266] ^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.15(s,1H),8.22(dd,J=4.7,1.6Hz,1H),8.06-7.88(m,3H),7.44(t,J=5.3Hz,1H),7.23(d,J=8.8Hz,2H),7.07(dd,J=7.8,4.7Hz,1H),6.92(d,J=2.1Hz,1H),4.00(d,J=6.0Hz,2H),1.42(s,9H)。

[0267] -4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯基甘氨酸酯盐酸盐的合成:

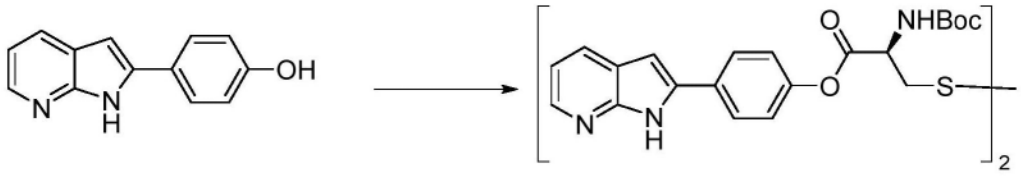
[0268] 

[0269] 将4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯基(叔丁氧基羰基)甘氨酸酯(110mg,0.29mmol)溶解在无水二氧六环(5ml)中,滴加干燥HCl(4M二氧六环溶液,2.9ml,40当量,11.6mmol)。将混悬液在室温搅拌16小时并过滤。将所得的糊状物用EtOAc、CH_2Cl_2洗涤并真空干燥,获得含有残余二氧六环的白色固体(100mg,定量)。

[0270] ^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)12.77(s,1H),8.64(br s,3H),8.30(dd,J=5.0,1.5Hz,1H),8.18(d,J=7.9Hz,1H),8.08(d,J=8.8Hz,2H),7.33(d,J=8.8Hz,2H),7.24(dd,J=7.9,5.0Hz,1H),7.07(d,J=1.8Hz,1H),4.13(d,J=5.6Hz,2H)。

[0271] 化合物9:4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯基L-半胱氨酸酯

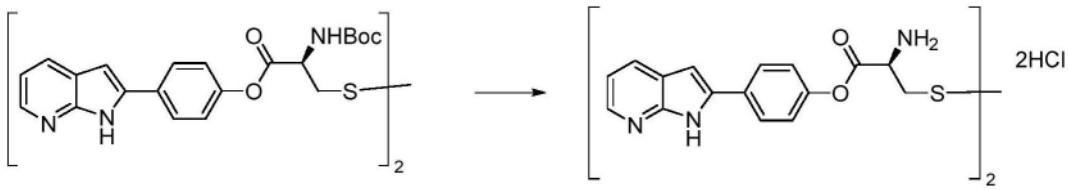
[0272] -4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯基(叔丁氧基羰基)-L-半胱氨酸酯:

[0273] 

[0274] 将4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯酚(化合物7)(50mg,2当量,0.24mmol)混悬在CH_2Cl_2(5ml)中,加入DMAP(35mg,2.4当量,0.29mmol)、$(Boc-Cys-OH)_2$(52mg,1当量,0.12mmol)和EDCI-HCl(59mg,2.4当量,0.29mmol)。将混合物在室温搅拌16小时,然后浓缩溶剂并加入水(20ml)。将所得的混悬液超声处理,过滤并用水、EtOAc、CH_2Cl_2和MeOH洗涤。真空干燥获得浅米色固体(52mg,53%),以二硫化物形式分离。

[0275] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ12.15(s,2H),8.21(d,J=4.5Hz,2H),7.98(d,J=8.5Hz,4H),7.92(d,J=8.0Hz,2H),7.78-7.68(m,2H),7.22(d,J=8.5Hz,4H),7.06(dd,J=8.0,4.5Hz,2H),6.90(d,J=1.5Hz,2H),4.55(br s,2H),3.37(t,J=11.6Hz,2H,被水峰遮挡),3.17(t,J=11.6Hz,2H),1.43(s,18H)。

[0276] -4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯基L-半胱氨酸酯二盐酸盐的合成:

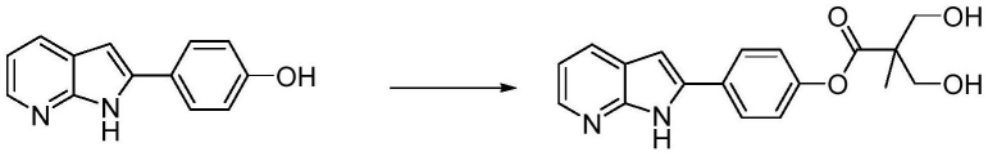
[0277] 

[0278] 将4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯基(叔丁氧基羰基)-L-半胱氨酸酯(60mg,0.07mmol)溶解在无水二氧六环(5ml)中,滴加干燥HCl(4M二氧六环溶液,720μl,40当量,

2.9mmol)。将混悬液在室温搅拌16小时并过滤。将所得的糊状物用CH_2Cl_2、EtOAc、丙酮、MeOH洗涤并真空干燥,获得米色固体,对应于氧化形式的化合物9(45mg,90%)。

[0279] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.53(s,2H),9.11(s,6H),8.27(dd,J=4.9,1.5Hz,2H),8.06(d,J=8.8Hz,6H),7.37(d,J=8.8Hz,4H),7.17(dd,J=7.8,4.9Hz,2H),6.99(d,J=1.8Hz,2H),3.65-3.58(m,4H)。

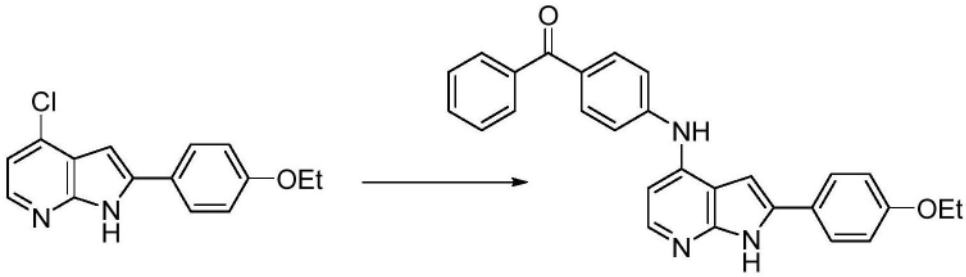
[0280] 化合物10:4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯基3-羟基-2-(羟甲基)-2-甲基丙酸酯

[0281] 

[0282] 将4-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯酚(化合物7)(20mg,0.09mmol)混悬于CH_2Cl_2(5ml)中,加入DMAP(14mg,1.2当量,0.11mmol)、2,2,5-三甲基-1,3-二氧六环-5-羧酸(17mg,1当量,0.09mmol)和EDCI-HCl(22mg,1.2当量,0.11mmol)。将混合物在室温搅拌16小时,然后浓缩溶剂,加入水(10ml)和EtOAc(10ml)。将混合物用EtOAc萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩,获得受保护的双-MPA酯,为白色固体(40mg),其不经进一步纯化而使用。将粗产物溶解在含有HCl水溶液(200μl,过量)的THF(5ml)中,在室温搅拌1小时。将反应物用饱和$NaHCO_3$淬灭,用EtOAc(2×20ml)萃取,将有机相用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法(100:0至90:10CH_2Cl_2:MeOH梯度)进行纯化,以获得白色固体(15mg,48%)。

[0283] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.14(s,1H),8.21(dd,J=4.7,1.6Hz,1H),8.07-7.86(m,3H),7.18(d,J=8.7Hz,2H),7.07(dd,J=7.8,4.7Hz,1H),6.92(d,J=2.1Hz,1H),4.95(t,J=5.5Hz,2H),3.70(dd,J=10.5,5.5Hz,2H),3.55(dd,J=10.5,5.5Hz,2H),1.23(s,3H)。

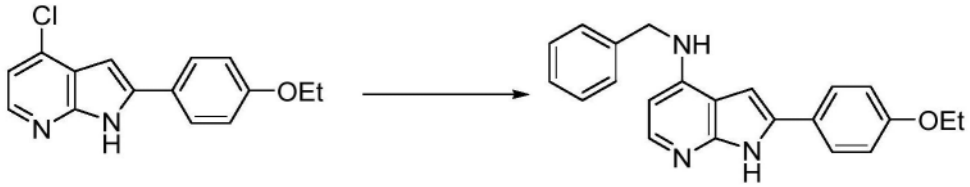
[0284] 化合物11:(4-((2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)氨基)苯基)(苯基)甲酮

[0285] 

[0286] 按照一般程序A,使用4-氨基二苯甲酮(37mg,46%)。

[0287] ^1H-NMR(300MHz,DMSO-d_6):1.35(t,J=7.0Hz,3H),4.08(q,J=7.0Hz,2H),6.89(d,J=2.1Hz,1H),6.97(d,J=5.5Hz,1H),7.02(d,J=8.9Hz,2H),7.40(d,J=8.8Hz,2H),7.51-7.69(m,3H),7.71-7.82(m,6H),8.02(d,J=5.5Hz,1H),9.23(bs,1H),11.95(bs,1H)。

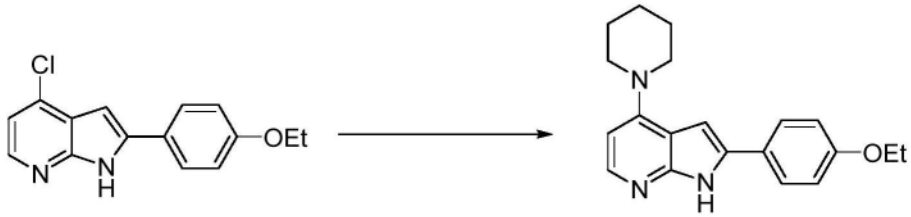
[0288] 化合物12:N-苄基-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-胺

[0289] 

[0290] 按照一般程序A,使用苄胺(32mg,51%)。

[0291] ^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6):1.35(t,J=7.0Hz,3H),4.07(q,J=7.0Hz,2H),4.49(d,J=6.0Hz,2H),6.05(d,J=5.6Hz,1H),6.90(d,J=1.9Hz,1H),6.99(d,J=8.9Hz,2H),7.19-7.25(m,2H),7.30-7.42(m,4H),7.65-7.78(m,3H),11.58(bs,1H)。

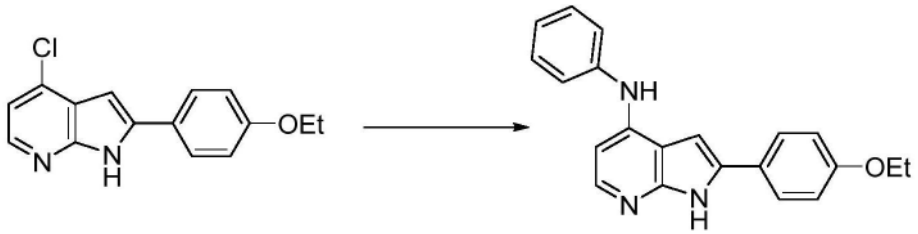
[0292] 化合物13:2-(4-乙氧基苯基)-4-(哌啶-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶

[0293] 

[0294] 按照一般程序B,使用哌啶(11mg,31%)。

[0295] ^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6):1.34(t,J=7.0Hz,3H),1.60-1.72(m,6H),3.36-3.41(m,4H),4.07(q,J=7.0Hz,2H),6.39(d,J=5.5Hz,1H),6.78(s,1H),6.98(d,J=8.8Hz,2H),7.84(d,J=8.8Hz,2H),7.90(d,J=5.5Hz,1H),11.77(bs,1H)。

[0296] 化合物14:2-(4-乙氧基苯基)-N-苯基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-胺

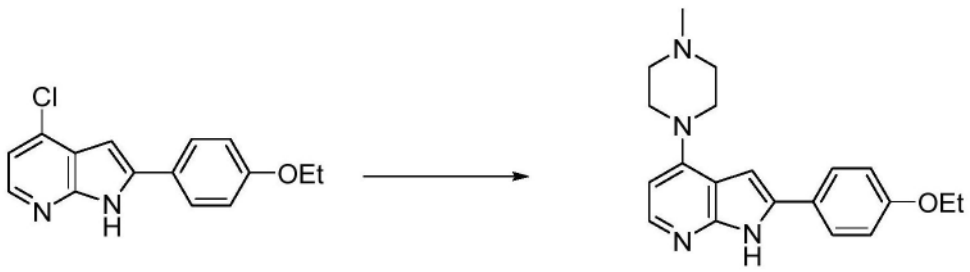
[0297] 

[0298] 按照一般程序A,使用苯胺(18mg,30%)。

[0299] ^{1}H-NMR(300MHz,MeOD-d_4):1.43(t,J=7.0Hz,3H),4.10(q,J=7.0Hz,2H),6.75(d,J=5.9Hz,1H),6.82(s,1H),7.00(d,J=8.8Hz,2H),7.13(t,J=6.8Hz,1H),7.32-7.45(m,4H),7.72(d,J=8.9Hz,2H),7.85(d,J=5.9Hz,1H)。

[0300] 化合物15:

[0301] 2-(4-乙氧基苯基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶

[0302] 

[0303] 按照一般程序B,使用N-甲基哌嗪(5mg,13%)。

[0304] ^{1}H-NMR(300MHz,MeOD-d_4):1.41(t,J=6.9Hz,3H),2.41(s,3H),2.69-2.73(d,J=

4.5Hz,4H),3.51-3.56(d,J=4.5Hz,4H),4.08(q,J=6.9Hz,2H),6.50(s,1H),6.72(s,1H),6.98(d,J=8.7Hz,2H),7.73(d,J=8.7Hz,2H),7.92(s,1H)。

[0305] 化合物16:

[0306] 2-(4-乙氧基苯基)-3-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶

[0307] 

[0308] 将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(100mg,0.42mmol)加入到N-甲基哌嗪(235μL,5当量,2.1mmol)和甲醛(37%水溶液,170μL,5当量,2.1mmol)的乙酸(5ml)溶液中。将溶液加热至70℃并搅拌18小时。将混合物真空浓缩并用饱和$NaHCO_3$淬灭。将残余物用CH_2Cl_2(3×30ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩获得黄色糊状物。通过快速色谱法(98:2至92:8CH_2Cl_2:MeOH)进行纯化,获得浅米色固体(85mg,58%)。

[0309] ^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)11.39(s,1H),8.18(d,J=3.8Hz,1H),8.05(d,J=7.9Hz,1H),7.76(d,J=8.7Hz,2H),7.16-7.01(m,3H),4.14(q,J=7.0Hz,2H),3.81(br s,2H),2.79(br s,8H),2.52(s,3H),1.49(t,J=7.0Hz,3H)。

[0310] 化合物17:2-(4-乙氧基苯基)-3-碘-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶

[0311] 

[0312] 在0℃将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(400mg,1.67mmol)混悬于CH_2Cl_2(10ml)中,分批加入N-碘代琥珀酰亚胺(415mg,1.1当量,1.84mmol)。将混合物搅拌同时返回至室温持续2小时,并真空浓缩。将残余物混悬于水(20ml)中,过滤,用CH_2Cl_2、Et_2O、水洗涤并真空干燥,获得棕色固体(220mg,36%)。

[0313] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)8.25(d,J=4.7Hz,1H),7.79(d,J=8.0Hz,2H),7.68(d,J=7.8Hz,1H),7.20-6.99(m,3H),4.12(q,J=7.0Hz,2H),1.37(t,J=7.0Hz,3H)。

[0314] 化合物18:

[0315] 1-(2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-2,2,2-三氟乙-1-醇

[0316] -1-(2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-2,2,2-三氟乙-1-酮:

[0317] 

[0318] 将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(400mg,1.67mmol)溶解在无水DMF(10ml)中,在室温滴加三氟乙酸酐(700μL,3当量,5.03mmol),将混合物加热至70℃持续48小时。TLC分析显示有残留的起始原料,加入更多的三氟乙酸酐(3当量),加热24小时。将反应冷却至室温,通过滴加水(10ml)淬灭并真空浓缩。将残余物混悬在水中,用EtOAc(3×20ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩获得棕色固体。通过快速色谱法(90:10至60:

40EtOAc:PE)进行纯化,获得浅棕色固体(480mg,86%)。

[0319] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)10.85(br s,1H),8.79(d,J=8.1Hz,1H),8.28(d,J=5.3Hz,1H),7.66(d,J=8.7Hz,2H),7.57-7.53(m,1H),7.03(d,J=8.7Hz,2H),4.13(q,J=7.0Hz,2H),1.46(t,J=7.0Hz,3H)。

[0320] -1-(2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-2,2,2-三氟乙-1-醇:

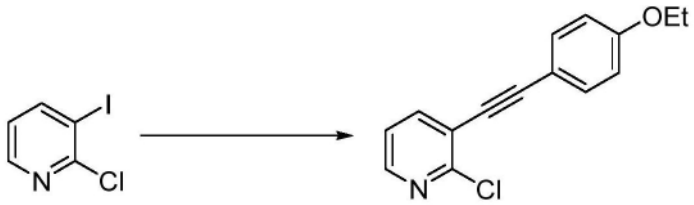
[0321] 

[0322] 将1-(2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-2,2,2-三氟乙-1-酮(50mg,0.15mmol)混悬于甲醇(5ml)中,冷却至0℃,加入硼氢化钠(6mg,1当量,0.15mmol)。将反应搅拌3小时,同时返回至室温,用水淬灭并用EtOAc(2×10ml)萃取。将有机相用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩获得白色固体(47mg,95%)。

[0323] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)8.40(d,J=7.8Hz,3H),8.14-8.05(m,1H),7.50(d,J=8.7Hz,2H),7.23-7.16(m,1H),7.01(d,J=8.7Hz,2H),5.41(q,J=7.2Hz,1H),4.11(q,J=7.0Hz,2H),1.47(t,J=7.0Hz,3H)。

[0324] 化合物19:2-(4-乙氧基苯基)-1-(5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶

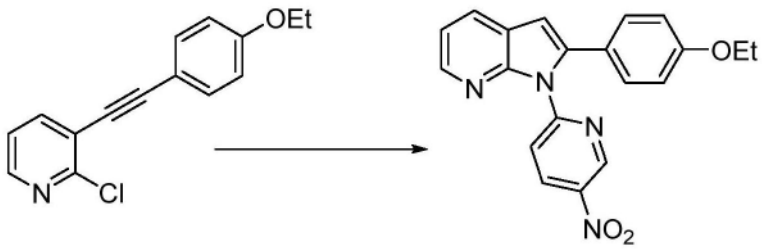
[0325] -2-氯-3-((4-乙氧基苯基)乙炔基)吡啶的合成:

[0326] 

[0327] 将2-氯-3-碘吡啶(500mg,2.09mmol)置于氩气下并溶解在无水THF(10ml)中。加入Et_3N(1.44ml,5当量,10mmol)和1-乙氧基-4-乙炔基苯(365mg,1.2当量,2.5mmol),然后加入CuI(10mg,0.025当量,0.05mmol)和$PdCl_2(PPh_3)_2$(37mg,0.025当量,0.05mmol)。将深棕色混合物在室温搅拌3小时,然后加入水(20ml)和CH_2Cl_2(20ml)。将水层用CH_2Cl_2萃取,将有机萃取物用水和盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法(PE:EtOAc 85:15)纯化粗产物,获得期望的化合物(440mg,82%)。

[0328] ^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):1.43(t,J=7.0Hz,3H),4.06(q,J=7.0Hz,2H),6.87(d,J=8.8Hz,2H),7.22(dd,J=7.7,4.8Hz,1H),7.49(d,J=8.8Hz,2H),7.82(dd,J=7.7,1.9Hz,1H),8.31(dd,J=4.8,1.9Hz,1H)。

[0329] -2-(4-乙氧基苯基)-1-(5-硝基吡啶-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的合成:

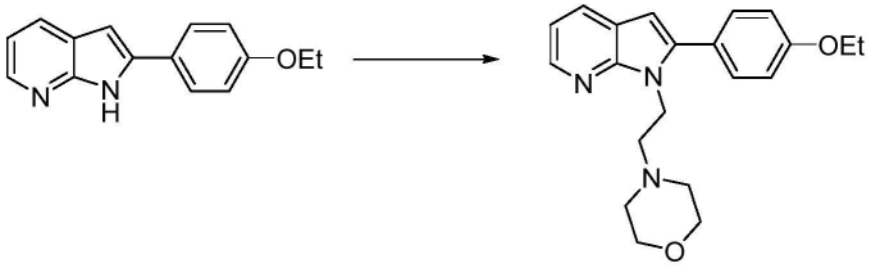
[0330] 

[0331] 将2-氯-3-((4-乙氧基苯基)乙炔基)吡啶(50mg,0.19mmol)与Pd_2dba_3(18mg,0.1当量,0.019mmol)、XantPhos(22mg,0.2当量,0.036mmol)、Cs_2CO_3(189mg,3当量,0.58mmol)和2-氨基-5-硝基吡啶(34mg,1.3当量,0.25mmol)装入小瓶中。将小瓶置于氩气下,加入无水二氧六环,然后在100℃搅拌16小时。冷却后,将反应用EtOAc稀释,在硅藻土垫上过滤并浓缩。通过快速色谱法(90:10EtOAc:PE)纯化粗产物,获得黄色固体(17mg,24%)。

[0332] ^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):1.45(t,J=7.0Hz,3H),4.06(q,J=7.0Hz,2H),6.74(s,1H),6.81-6.90(m,2H),7.15-7.28(m,3H),7.95-8.02(m,2H),8.34(d,J=4.1Hz,1H),8.63(dd,J=8.9,2.8Hz,1H),9.27(d,J=2.4Hz,1H)。

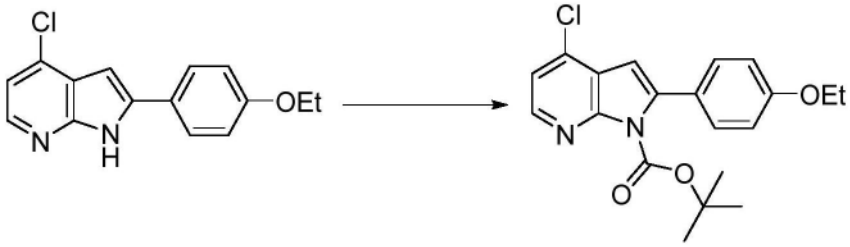
[0333] 化合物20:

[0334] 4-(2-(2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)乙基)吗啉

[0335] 

[0336] 在氩气下将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.21mmol)溶解在无水DMF(2ml)中,用K_2CO_3(145mg,5当量,1.05mmol)处理,在室温搅拌15分钟,然后加入4-(2-氯乙基)吗啉盐酸盐(58mg,1.5当量,0.32mmol)。将混合物在70℃搅拌18小时,真空浓缩,将残余物通过快速色谱法(98:2CH_2Cl_2:MeOH)纯化,获得N1-区域异构体,为黄色油状物(19mg,26%)。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$)对于N1取代的化合物:1.46(t,J=7.0Hz,3H),2.23-2.39(m,4H),2.63(t,J=6.9Hz,2H),3.46-3.62(m,4H),4.10(q,J=7.0Hz,2H),4.46(t,J=6.9Hz,2H),6.41(s,1H),6.95-7.03(m,2H),7.06(dd,J=7.8,4.8Hz,1H),7.44-7.51(m,2H),7.87(dd,J=7.8,1.6Hz,1H),8.30(dd,J=4.8,1.6Hz,1H)。

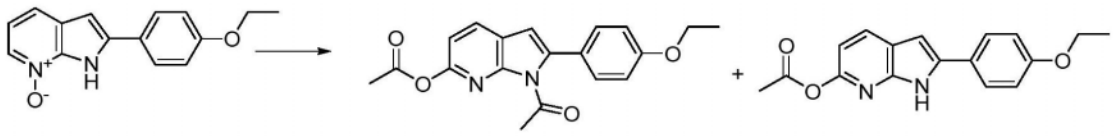
[0337] 化合物21:4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-甲酸叔丁酯

[0338] 

[0339] 在氩气下将4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.18mmol)混悬于无水CH_2Cl_2(5ml)中,加入DMAP(5mg),然后加入Et_3N(28μL,1.1当量,0.20mmol)和Boc_2O(43mg,1.1当量,0.20mmol),将混合物在室温搅拌4小时,然后加入水。将有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱法(90:10PE:EtOAc)纯化粗产物,获得白色固体(45mg,71%)。

[0340] ^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):1.32(s,9H),1.45(t,J=7.0Hz,3H),4.09(q,J=7.0Hz,2H),6.56(s,1H),6.96(d,J=8.8Hz,2H),7.21(d,J=5.3Hz,1H),7.36(d,J=8.8Hz,2H),8.36(d,J=5.3Hz,1H)。

[0341] 化合物22和38:1-乙酰基-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-6-基乙酸酯

[0342] 

[0343] 将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-氧化物(化合物23)(100mg,0.39mmol)混悬于乙酸酐(3ml)中,在回流下搅拌16小时。将溶液冷却至室温,缓慢加入饱和$NaHCO_3$以淬灭过量试剂。将混合物用EtOAc(2×20ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩获得油状物。通过快速色谱法(70:30PE:EtOAc)进行纯化,获得白色固体(54mg,41%)。^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)7.91(d,J=8.2Hz,1H),7.32(d,J=8.8Hz,2H),6.96-6.91(m,3H),6.52(s,1H),4.07(q,J=7.0Hz,2H),2.99(s,3H),2.38(s,3H),1.44(t,J=7.0Hz,3H)。

[0344] 继续洗脱(50:50PE:EtOAc),获得第二产物(化合物38,仅含有O-乙酸酯),为浅黄色泡沫(23mg,20%)。^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ9.17(s,1H),7.93(dd,J=8.2,0.7Hz,1H),7.57(d,J=8.8Hz,2H),6.98(d,J=8.8Hz,2H),6.83(d,J=8.2Hz,1H),6.66(d,J=2.2Hz,1H),4.09(q,J=7.0Hz,2H),2.29(s,3H),1.45(t,J=7.0Hz,3H)。

[0345] 化合物23:2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-氧化物

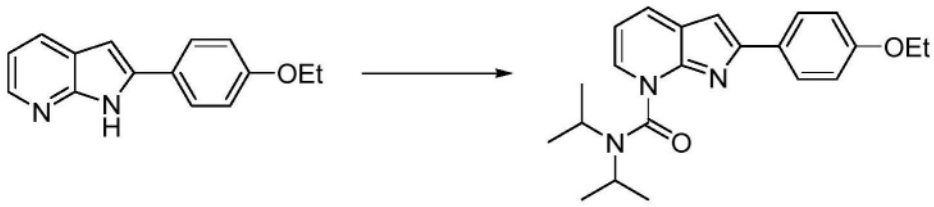
[0346] 

[0347] 在氩气下将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(2g,8.4mmol)混悬于EtOAc(10ml)和已烷(40ml)的混合物中,冷却至0℃。分批加入mCPBA(2.7g,12.6mmol,1.5当量),将反应缓慢温热至室温并搅拌12小时。真空去除溶剂,将残余物混悬在饱和K_2CO_3溶液(50ml)中,剧烈搅拌30分钟,过滤并用水洗涤,获得黄色固体,将其真空干燥(1.5g,70%)。

[0348] ^1H-NMR(300MHz,DMSO-d_6):1.35(t,J=7.1Hz,3H),4.08(q,J=7.1Hz,2H),6.92(s,1H),6.99-7.09(m,3H),7.56(d,J=7.1Hz,1H),7.96(d,J=8.8Hz,2H),8.08(d,J=6.3Hz,1H),12.7(bs,1H)。

[0349] 化合物24:

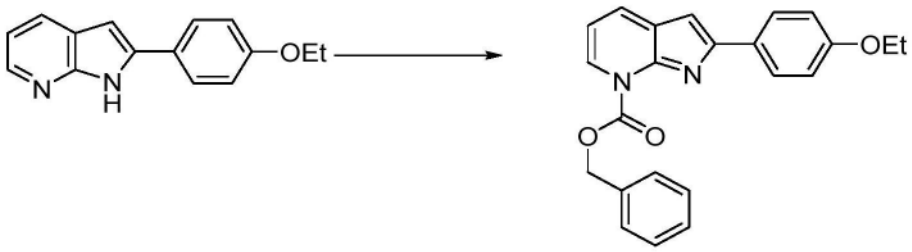
[0350] 2-(4-乙氧基苯基)-N,N-二异丙基-7H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-甲酰胺

[0351] 

[0352] 将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.21mmol)溶解在干燥DMF(2ml)中,在室温加入NaH(60%分散体,25mg,3当量,0.63mmol)。15分钟后,一次性加入N,N-二异丙基氨基甲酰氯(41mg,1.2当量,0.25mmol),将混合物搅拌16小时。加入更多的亲电子试剂(1.2当量),将反应搅拌16小时,然后用水淬灭,用EtOAc(2x10 ml)萃取。将萃取物用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱法(90:10至80:20PE:EtOAc)纯化粗产物,获得黄色固体(8mg,5%)。

[0353] ^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):1.08(d,J＝6.6Hz,3H),1.29(d,J＝6.6Hz,3H),1.43(t,J＝7.0Hz,3H),1.63(d,J＝6.7Hz,3H),1.77(d,J＝6.7Hz,3H),3.25-3.39(m,1H),3.66-3.78(m,1H),4.08(q,J＝7.0Hz,2H),6.81(dd,J＝7.3,6.4Hz,1H),6.89(s,1H),6.93(d,J＝8.9Hz,2H),7.51(dd,J＝6.4,1.1Hz,1H),7.93(dd,J＝7.3,1.1Hz,1H),8.06(d,J＝8.9Hz,2H)。

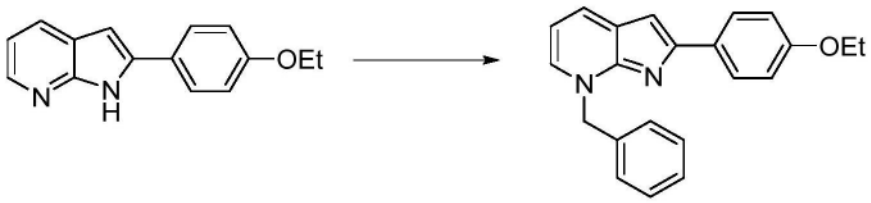
[0354] 化合物25:2-(4-乙氧基苯基)-7H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-羧酸苄酯

[0355] 

[0356] 在氩气下将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.21mmol)溶解在无水DMF(2ml)中,用粉状KOH(35mg,3当量,0.63mmol)处理,在室温搅拌15分钟,然后加入氯甲酸苄酯(36μL,1.2当量,0.25mmol)。将混合物在室温搅拌18小时,真空浓缩,将残余物通过快速色谱法(CH_2Cl_2)纯化,获得棕色固体(13mg,17%)。

[0357] ^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):1.44(t,J＝7.0Hz,3H),4.10(q,J＝7.0Hz,2H),5.93(s,2H),6.74(dd,J＝7.3,6.4Hz,1H),6.92(s,1H),6.97(d,J＝8.9Hz,2H),7.31-7.50(m,6H),7.92(dd,J＝7.4,1.0Hz,1H),8.11(d,J＝8.9Hz,2H)。

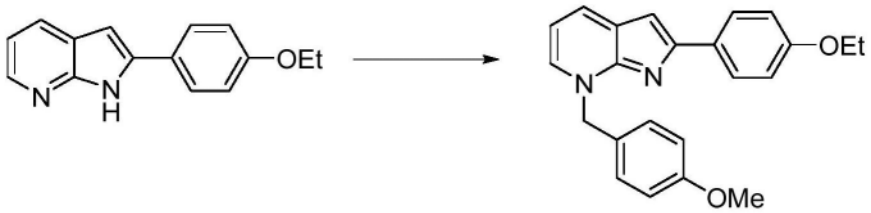
[0358] 化合物26:7-苄基-2-(4-乙氧基苯基)-7H-吡咯并[2,3-b]吡啶

[0359] 

[0360] 在氩气下将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.21mmol)溶解在无水DMF(2ml)中,用粉状KOH(35mg,3当量,0.63mmol)处理,在室温搅拌15分钟,然后加入BnBr(30μL,1.2当量,0.25mmol)。将混合物在室温搅拌12小时,用饱和NH_4Cl淬灭并用CH_2Cl_2(2×10ml)萃取。将有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱法(60:40PE:EtOAc)纯化粗产物,获得N7-区域异构体,为黄色固体(26mg,38%)。

[0361] ^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):1.45(t,J＝7.0Hz,3H),4.10(q,J＝7.0Hz,2H),5.92(s,2H),6.72(dd,J＝7.4,6.3Hz,1H),6.93(s,1H),6.95-7.03(m,2H),7.31-7.51(m,6H),7.91(dd,J＝7.4,1.1Hz,1H),8.07-8.18(m,2H)。

[0362] 化合物27:2-(4-乙氧基苯基)-7-(4-甲氧基苄基)-7H-吡咯并[2,3-b]吡啶

[0363] 

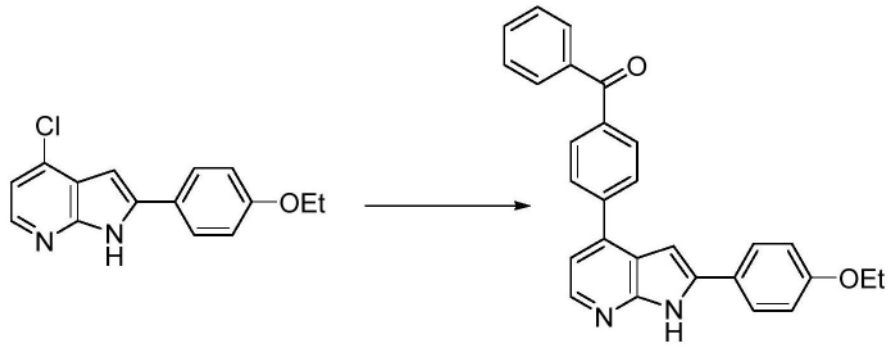
[0364] 在氩气下将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.21mmol)溶解在

无水DMF(2ml)中,加入nBu_4NI(8mg,0.1当量,0.021mmol),将反应用NaH(42mg,5当量,1.05mmol)处理,在室温搅拌15分钟,然后加入PMBCl(36mg,1.1当量,0.23mmol)。将混合物在室温搅拌12小时,用水淬灭并用EtOAc(2x10 ml)萃取。将有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱法(60:40PE:EtOAc)纯化粗产物,获得N7-区域异构体,为黄色油状物(16mg,20%)。

[0365] ^1H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):1.45(t,J=7.0Hz,3H),3.81(s,3H),4.10(q,J=7.0Hz,2H),5.85(s,2H),6.72(dd,J=7.4,6.3Hz,1H),6.83-6.90(m,2H),6.91(s,1H),6.97(d,J=8.9Hz,2H),7.39(dd,J=6.3,1.1Hz,1H),7.44(d,J=8.7Hz,2H),7.90(dd,J=7.4,1.1Hz,1H),8.11(d,J=8.9Hz,2H)。

[0366] 化合物28:(4-(7-苄基-2-(4-乙氧基苯基)-7H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)苯基)(苯基)甲酮

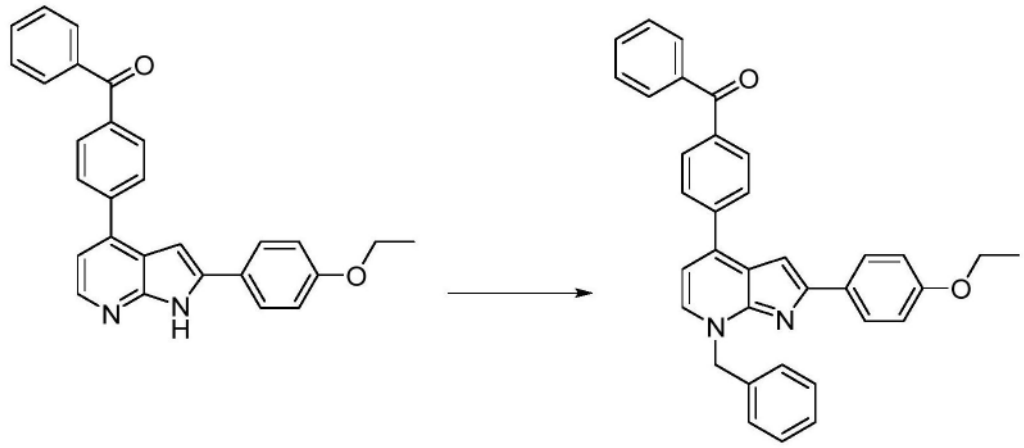
[0367] -(4-(2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)苯基)(苯基)甲酮:

[0368] 

[0369] 将4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.18mmol)与$Pd(OAc)_2$(4mg,0.1当量,0.018mmol)、SPhos(15mg,0.2当量,0.036mmol)、K_2CO_3(65mg,3当量,0.54mmol)和(4-苯甲酰苯基)硼酸(49mg,1.2当量,0.22mmol)装入小瓶中。将小瓶置于氩气下,加入二氧六环(1.8ml)和水(0.2ml)的混合物,然后在100℃搅拌16小时。冷却后,将反应物用EtOAc和水稀释,用EtOAc(3×10ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱法(70:30PE:EtOAc)纯化粗产物,获得黄色固体(50mg,65%)。

[0370] ^1H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):1.47(t,J=7.0Hz,1H)1.47(t,J=7.0Hz,3H),4.13(q,J=7.0Hz,2H),6.90(s,1H),7.05(d,J=8.8Hz,2H),7.23(d,J=5.1Hz,1H),7.54(t,J=7.4Hz,2H),7.62(d,J=5.0Hz,1H),7.86-8.01(m,8H),8.33(d,J=5.0Hz,1H),12.53(s,1H)。

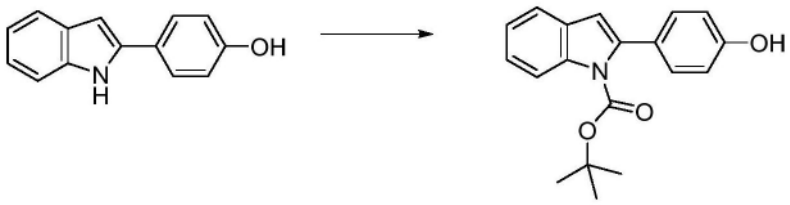
[0371] -化合物28的合成:

[0372] 

[0373] 将(4-(2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-基)苯基)(苯基)甲酮(30mg,0.07mmol)溶解在干燥DMF(1ml)中,加入NaH(60%分散体,12mg,3当量,0.22mmol)。15分钟后,加入溴苄(10μL,1.2当量,0.08mmol),将反应在室温搅拌16小时。将混合物用水淬灭并用EtOAc(2×10ml)萃取。将有机层用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱法(60:40PE:EtOAc)纯化粗产物,获得N7-区域异构体,为橙色油状物(12mg,32%)。

[0374] 1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)8.16(d,J=8.8Hz,2H),8.03-7.83(m,6H),7.66-7.47(m,6H),7.39-7.34(m,3H),7.12(s,1H),7.03-6.92(m,3H),6.06(s,2H),4.10(q,J=7.0Hz,2H),1.44(t,J=7.0Hz,3H)。

[0375] 化合物29:2-(4-羟基苯基)-1H-吲哚-1-羧酸叔丁酯

[0376] 

[0377] 在氩气下将4-(1H-吲哚-2-基)苯酚(200mg,0.96mmol,1当量)置于25ml烧瓶中,混悬于CH_2Cl_2(10ml)中并冷却至0℃。加入DMAP(12mg,0.09mmol,0.1当量),随后加入Boc_2O(250mg,1.14mmol,1.2当量),将混合物搅拌,同时返回至室温持续4小时。加入水,将混合物用EtOAc(2×20ml)萃取,用水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法(90:10PE:EtOAc)纯化,获得棕色固体(177mg,60%)。

[0378] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ8.33(s,1H),7.72-7.62(m,3H),7.42(dd,J=8.0,1.0Hz,1H),7.33-7.11(m,4H),6.81(dd,J=2.2,0.9Hz,1H),1.61(s,9H)。

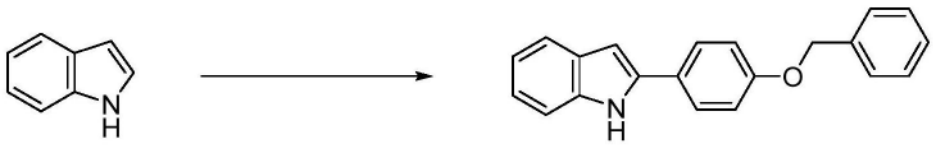
[0379] 化合物30:4-(5-溴-1H-吲哚-2-基)苯酚

[0380] 

[0381] 将4-溴苯肼盐酸盐(5g,22.4mmol,1当量)和4-羟基苯乙酮(3.2g,23.5mmol,1.05当量)溶解在EtOH(50ml)中,并加热回流4小时。将混合物真空浓缩以获得中间体腙,将其在氩气下混悬于MsOH(40ml)中。将混悬液加热至90℃持续7小时,冷却至室温,并通过小心加入饱和$NaHCO_3$淬灭。将产物用EtOAC:iPrOH(8:2,3x 100ml)的混合物萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥,并浓缩获得黑色固体。将粗产物在甲苯:EtOAc(95:5)的混合物中重结晶,冷却至-20℃并过滤。对浓缩的母液重复该过程,并将两批产物合并,获得灰色固体(3.9g,60%)。

[0382] ^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.53(s,1H),9.68(s,1H),7.70-7.63(m,3H),7.30(d,J=8.5Hz,1H),7.14(dd,J=8.5,2.0Hz,1H),6.85(d,J=8.7Hz,2H),6.67(d,J=2.1Hz,1H)。

[0383] 化合物31:2-(4-(苄氧基)苯基)-1H-吲哚

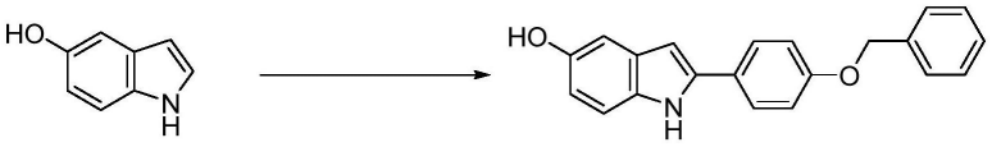
[0384] 

[0385] 将吲哚(274mg,2.34mmol,1当量)和4-苄氧基苯基硼酸(800mg,3.5mmol,1.5当量)

置于25ml烧瓶中,并溶解在乙酸(10ml)中。加入$Pd(OAc)_2$(52mg,0.23mmol,0.1当量),并将混合物在室温在空气下剧烈搅拌20小时。将反应通过小心加入饱和$NaHCO_3$淬灭,并用EtOAc萃取。将有机萃取物用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩获得棕色油状物。通过快速色谱法纯化(100:0至90:10CH_2Cl_2:MeOH),获得浅棕色固体(380mg,54%)。

[0386] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6):δ11.40(s,1H),7.79(d,J=8.9Hz,2H),7.50-7.34(m,7H),7.11(d,J=8.9Hz,2H),7.08-7.02(m,1H),7.00-6.94(m,1H),6.76(d,J=1.4Hz,1H),5.17(s,2H)。

[0387] 化合物32:2-(4-(苄氧基)苯基)-1H-吲哚-5-醇

[0388] 

[0389] 将5-羟基吲哚(311mg,2.34mmol,1当量)和4-苄氧基苯基硼酸(800mg,3.5mmol,1.5当量)置于25ml烧瓶中,并溶解在乙酸(10ml)中。加入$Pd(OAc)_2$(52mg,0.23mmol,0.1当量),并将混合物在室温在空气下剧烈搅拌20小时。将反应通过小心加入饱和$NaHCO_3$淬灭,并用EtOAc:iPrOH(8:2)的混合物萃取。将有机萃取物用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩获得黑色固体。通过快速色谱法纯化(100:0至80:20CH_2Cl_2:MeOH),获得被杂质污染的浅棕色固体。将混合物在CH_2Cl_2(5ml)中研磨并过滤,获得灰白色固体(115mg,16%)。

[0390] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.07(d,J=2.2Hz,1H),8.61(s,1H),7.73(d,J=8.7Hz,2H),7.50-7.33(m,5H),7.15(d,J=8.6Hz,1H),7.10(d,J=8.7Hz,2H),6.80(d,J=2.3Hz,1H),6.60-6.55(m,2H),5.15(s,2H)。

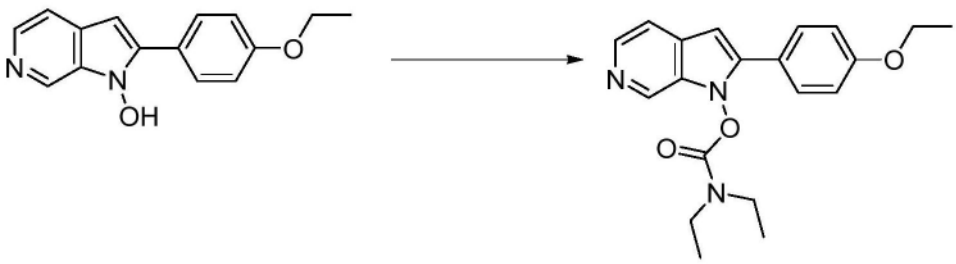
[0391] 化合物33:4-(1-甲基-1H-吲哚-2-基)苯酚

[0392] 

[0393] 在氩气下,将N-甲基吲哚(190μL,1.52mmol,1当量)与$Pd(OAc)_2$(17mg,0.08mmol,0.05当量)、Ag_2O(283mg,1.22mmol,0.8当量)、4-碘苯酚(669mg,3.04mmol,2当量)和2-硝基苯甲酸(381mg,2.28mmol,1.5当量)置于25ml烧瓶中。加入干燥DMF(8ml),并将反应在室温搅拌16小时。将混合物在硅藻土上过滤,用EtOAc洗涤,并加入盐水。将水相用EtOAc(2×30ml)萃取,将有机萃取物用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法(95:5至80:20PE:EtOAc)纯化,获得米色蜡状固体(139mg,36%)。

[0394] ^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ7.65-7.60(m,1H),7.38(d,J=8.6Hz,2H),7.26-7.20(m,1H),7.16-7.10(m,1H),6.93(d,J=8.6Hz,2H),6.50(d,J=0.8Hz,1H),3.72(s,3H)。

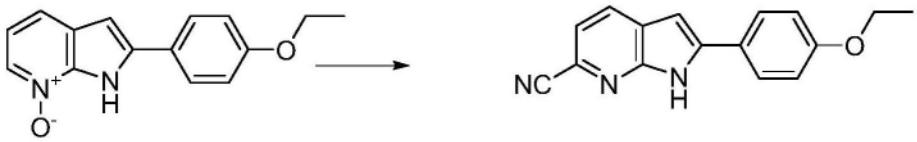
[0395] 化合物34:2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-基二乙基氨基甲酸酯

[0396] 

[0397] 在氩气下,将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-1-醇(125mg,0.5mmol,1当量)混悬于干燥CH_2Cl_2(50ml)中,并冷却至0℃。加入DIPEA(130μL,0.75mmol,1.5当量),随后加入N,N-二乙基氨基甲酰氯(75μL,0.6mmol,1.2当量),并将混合物搅拌16小时,同时返回至室温。将反应通过加入水淬灭,用CH_2Cl_2(2×20ml)萃取,用水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法纯化(80:20至50:50EtOAc:CH_2Cl_2),获得红色油状物,其静置时固化(106mg,61%)。

[0398] ^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ8.58(s,1H),8.22(d,J=5.5Hz,1H),7.51(d,J=8.8Hz,2H),7.39(dd,J=5.5,1.0Hz,1H),6.90(d,J=8.8Hz,2H),6.44(d,J=0.8Hz,1H),4.01(q,J=7.0Hz,2H),3.34(q,J=7.3Hz,2H),3.24(q,J=7.3Hz,2H),1.37(t,J=7.0Hz,3H),1.14(t,J=7.3Hz,3H),1.07(t,J=7.3Hz,3H)。

[0399] 化合物35:2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-6-甲腈

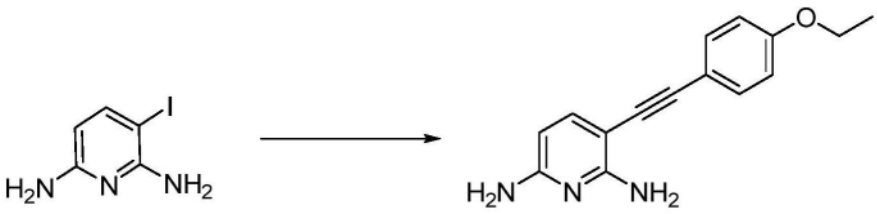
[0400] 

[0401] 在置于氩气下的25ml压力管中,将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-氧化物(190mg,0.75mmol,1当量)混悬于干燥MeCN(5ml)中。加入硫酸二甲酯(105mg,0.83mmol,1.1当量),并将混合物加热至60℃过夜。第二天,加入更多的硫酸二甲酯(1当量),并将混合物加热16小时。在冷却至室温后,加入KCN(147mg,2.25mmol,3当量)和饱和NH_4Cl(5ml),并将双相混合物在50℃剧烈搅拌48小时。将反应用饱和$NaHCO_3$淬灭,用EtOAc(2×20ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法(100:0至90:10CH_2Cl_2:EtOAc)进行纯化,获得浅橙色固体(62mg,32%)。

[0402] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.61(s,1H),8.09(d,J=8.1Hz 1H),7.94(d,J=8.7Hz,2H),7.60(d,J=8.1Hz,1H),7.07(d,J=8.7Hz,2H),7.00(s,1H),4.11(q,J=7.3Hz,2H),1.35(t,J=7.3Hz,2H)。

[0403] 化合物36:2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-6-胺

[0404] -3-((4-乙氧基苯基)乙炔基)吡啶-2,6-二胺:

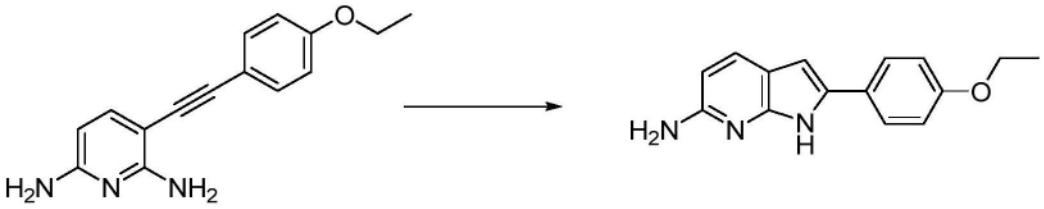
[0405] 

[0406] 将3-碘吡啶-2,6-二胺(根据WO2019149965由2,6-二氨基吡啶合成)(2g,8.51mmol,1当量)置于氩气下,并溶解在无水THF(20ml)中。加入Et_3N(5.9ml,5当量,42.5mmol)和1-乙氧基-4-乙炔基苯(1.49ml,1.2当量,10.2mmol),然后加入CuI(40mg,0.025当量,0.21mmol)和$PdCl_2(PPh_3)_2$(150mg,0.025当量,0.21mmol)。将深棕色混合物在室温搅拌16小时,然后加入水(20ml)和CH_2Cl_2(20ml)。将水层用CH_2Cl_2萃取,将有机萃取物用水和盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法纯化(CH_2Cl_2:EtOAc 90:10至0:100),获得期望的化合物,为棕色固体(1.95g,90%)。

[0407] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ7.43(d,J=8.8Hz,2H),7.19(d,J=8.2Hz,1H),6.91(d,

J＝8.8Hz,2H),5.88(s,2H),5.83-5.61(m,3H),4.04(q,J＝7.0Hz,2H),1.33(t,J＝7.0Hz,3H)。

[0408] -化合物36的合成:

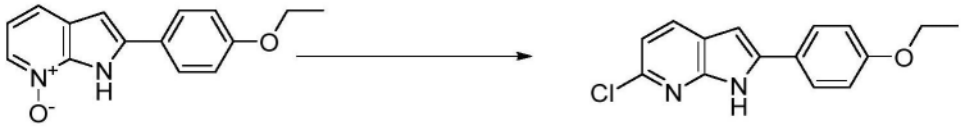
[0409] 

[0410] 将3-((4-乙氧基苯基)乙炔基)吡啶-2,6-二胺(200mg,0.79mmol,1当量)溶解在干燥DMSO(8ml)中,一次性加入^{t}BuOK(220mg,1.97mmol,2.5当量),将棕色混合物加热至65℃持续16小时。将反应用饱和NH_4Cl淬灭,并用EtOAc和iPrOH(8:2,3x 50ml)的混合物萃取。将有机萃取物经$MgSO_4$干燥并浓缩获得黑色固体。通过快速色谱法纯化(98:2至95:5CH_2Cl_2:MeOH),获得不纯的产物,将其通过混悬在Et_2O/EtOAc中并超声处理进一步纯化。过滤所得的红色固体,用Et_2O洗涤并真空干燥(25mg,12%)。

[0411] ^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.23(s,1H),7.69(d,J＝8.3Hz,2H),7.50(d,J＝8.6Hz,1H),6.92(d,J＝8.3Hz,2H),6.50(s,1H),6.25(d,J＝8.3Hz,1H),5.61(s,2H),4.05(q,J＝6.9Hz,4H),1.34(t,J＝6.9Hz,5H)。

[0412] 化合物37:4-(6-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯酚

[0413] -6-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶:

[0414] 

[0415] 在氩气下,将2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-氧化物(4g,16mmol,1当量)混悬于干燥THF(60ml)中,并冷却至0℃。一次性加入HMDS(2.6g,16mmol,1当量),然后滴加氯甲酸乙酯(4.34g,40mmol,2.5当量)。将反应物搅拌16小时,同时返回至室温,再冷却至0℃,并加入更多的HMDS(0.5当量)和氯甲酸乙酯(1.25当量)。在16小时后,将混合物用饱和$NaHCO_3$淬灭,并在真空下去除THF。将所得的红色油状物溶解在MeOH(50ml)中,并加入NaOH(2N,50ml)。在5小时后,加入饱和NH_4Cl并在真空下去除MeOH。将混合物用EtOAc(3×100ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩,获得异构体的混合物。通过快速色谱法(90:10EtOAc:CH_2Cl_2)进行纯化,获得6-氯氮杂吲哚异构体,为棕褐色固体(1.4g,36%)。

[0416] ^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.28(s,1H),7.91(d,J＝8.2Hz,1H),7.83(d,J＝8.8Hz,2H),7.09(d,J＝8.2Hz,1H),7.00(d,J＝8.8Hz,2H),6.79(d,J＝2.1Hz,1H),4.05(q,J＝7.0Hz,2H),1.33(t,J＝7.0Hz,3H)。

[0417] -化合物37的合成:

[0418] 

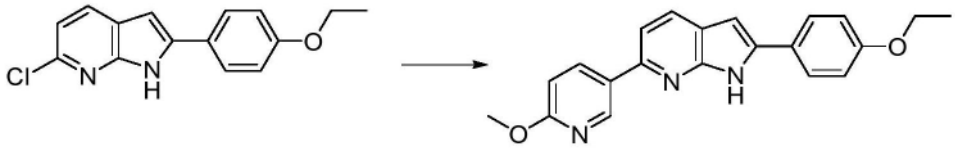
[0419] 在氩气下,将6-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(150mg,0.55mmol,1当量)混悬于无水CH_2Cl_2(10ml)中,并冷却至-78℃。滴加三溴化硼(1M的CH_2Cl_2溶液,

1.65ml,1.65mmol,3当量),将深棕色混合物搅拌6小时,同时缓慢温热至室温。将反应用饱和$NaHCO_3$溶液(10ml)小心地淬灭,并冷却至0℃,然后加入2M NaOH(10ml)。将溶液搅拌10分钟,然后装入分液漏斗中并用二氯甲烷洗涤。然后在搅拌下滴加6M HCl中和水相。将固体过滤,用饱和$NaHCO_3$、水洗涤并真空干燥,获得纯度令人满意的棕色粉末(130mg,定量)。

[0420] ^{1}H-NMR(300MHz,DMSO-d_6):δ12.18(s,1H),9.76(s,1H),7.92(d,J=8.1Hz,1H),7.73(d,J=8.7Hz,2H),7.08(d,J=8.1Hz,1H),6.86(d,J=8.7Hz,2H),6.76(d,J=1.7Hz,1H)。

[0421] 化合物39和40:4-(6-(6-甲氧基吡啶-3-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)苯酚和5-(2-(4-羟基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-6-基)吡啶-2-醇

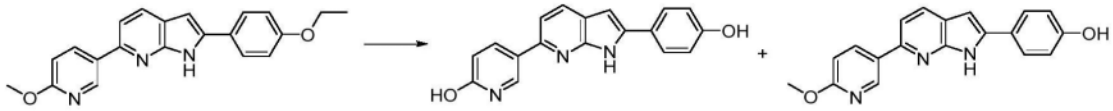
[0422] -2-(4-乙氧基苯基)-6-(6-甲氧基吡啶-3-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶

[0423] 

[0424] 在氩气下,将6-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.20mmol,1当量)与K_2CO_3(83mg,0.6mmol,3当量)、SPhos(16mg,0.04mmol,0.2当量)、$Pd(OAc)_2$(4.5mg,0.020mmol,0.1当量)和(6-甲氧基吡啶-3-基)硼酸(43mg,0.28mmol,1.4当量)置于25ml的schlenk烧瓶中。加入二氧六环(4.5ml)和水(0.5ml),并将混合物加热至100℃持续4小时。冷却至室温后,加入水,将混合物用EtOAc(2×10ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法纯化(100:0至70:30CH_2Cl_2:EtOAc),获得棕色固体(44mg,63%)。

[0425] ^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.12(s,1H),8.88(d,J=2.5Hz,1H),8.39(dd,J=8.7,2.5Hz,1H),7.96(d,J=8.1Hz,1H),7.89(d,J=8.8Hz,2H),7.63(d,J=8.1Hz,1H),7.02(d,J=8.8Hz,2H),6.94(d,J=8.7Hz,1H),6.82(s,1H),4.09(q,J=7.0Hz,2H),3.92(s,3H),1.35(t,J=7.0Hz,3H)。

[0426] -化合物39和40的合成:

[0427] 

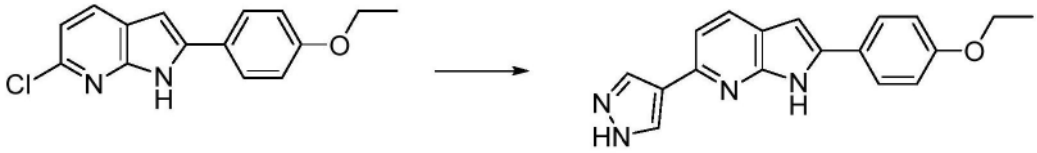
[0428] 在氩气下,将2-(4-乙氧基苯基)-6-(6-甲氧基吡啶-3-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(24mg,0.07mmol,1当量)溶解在干燥CH_2Cl_2(5ml)中,并冷却至0℃。加入$AlCl_3$(55mg,0.28mmol,4当量),并将混合物搅拌16小时,同时返回至室温。第二天,加入更多的$AlCl_3$(4当量),并将混合物加热至回流8小时并在室温下搅拌过夜。将反应用饱和$NaHCO_3$淬灭,用EtOAc(2×50ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法纯化,获得两种产物:第一种用98:2CH_2Cl_2:MeOH洗脱,获得黄色固体,经鉴定为单醚39(8mg,36%)。

[0429] ^{1}H NMR(300MHz,甲醇-d_4)δ8.80(d,J=2.5Hz,1H),8.33(dd,J=8.7,2.5Hz,1H),7.89(d,J=8.2Hz,1H),7.68(d,J=8.7Hz,2H),7.48(d,J=8.2Hz,2H),6.90-6.86(m,3H),6.65(s,1H),3.96(s,3H)。

[0430] 用95:5CH_2Cl_2:MeOH继续洗脱,获得橙色固体,经鉴定为完全脱烷基化的产物40(7mg,33%)。^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.93(s,1H),11.84(s,2H),9.71(s,1H),8.23(dd,J=9.6,2.7Hz,1H),8.09(s,1H),7.88(d,J=8.2Hz,1H),7.76(d,J=8.6Hz,2H),7.47(d,J=

8.2Hz,1H),6.85(d,J=8.7Hz,2H),6.71(d,J=2.1Hz,1H),6.47(d,J=9.6Hz,1H)。

[0431] 化合物41:2-(4-乙氧基苯基)-6-(1H-吡唑-4-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶

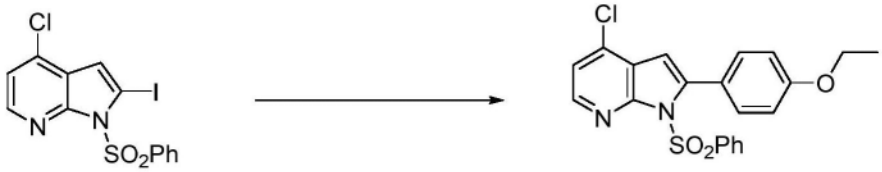
[0432] 

[0433] 在氩气下,将6-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50mg,0.20mmol,1当量)与K_2CO_3(83mg,0.6mmol,3当量)、Dppf(22mg,0.04mmol,0.2当量)、$Pd(OAc)_2$(4.5mg,0.020mmol,0.1当量)和4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂硼烷-2-基)-1H-吡唑(54mg,0.28mmol,1.4当量)置于25ml的schlenk烧瓶中。加入二氧六环(4.5ml)和水(0.5ml),并将混合物加热至100℃持续4小时。冷却至室温后,加入水,将混合物用EtOAc(2×10ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法纯化(100:0至92:8CH_2Cl_2:MeOH),获得棕色固体(25mg,41%)。

[0434] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ12.97(s,1H),12.00(s,1H),8.26(s,1H),8.05(s,1H),7.88-7.83(m,3H),7.40(d,J=8.1Hz,1H),7.01(d,J=8.9Hz,2H),6.75(d,J=2.1Hz,1H),4.09(q,J=7.0Hz,2H),1.36(t,J=7.0Hz,3H)。

[0435] 化合物43:2-(4-乙氧基苯基)-N-苯基-1-(苯磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-胺

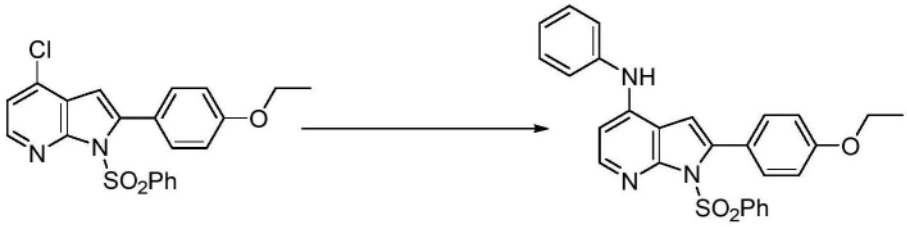
[0436] -4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1-(苯磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶:

[0437] 

[0438] 在氩气下,将4-氯-2-碘-1-(苯磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(根据WO2019058132由4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶合成)(1.5g,3.5mmol,1当量)与4-乙氧基苯基硼酸(0.7g,4.2mmol,1.2当量)、Na_2CO_3(1.1g,10.5mmol,3当量)和$Pd(PPh3)_2Cl_2$(0.12g,0.18mmol,0.05当量)置于100ml的schlenk烧瓶中。加入二氧六环(50ml)和水(15ml)的混合物,并将反应加热至70℃持续4小时。冷却至室温后,加入水,将混合物用EtOAc(2×50ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法(90:10至70:30PE:EtOAc)纯化,获得橙色泡沫(1.21g,84%)。

[0439] ^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ8.34(d,J=5.3Hz,1H),7.86-7.83(m,2H),7.53-7.36(m,5H),7.20(d,J=5.3Hz,1H),6.97(d,J=8.7Hz,2H),6.56(s,1H),4.12(q,J=7.0Hz,2H),1.47(t,J=7.0Hz,3H)。

[0440] -化合物43的合成:

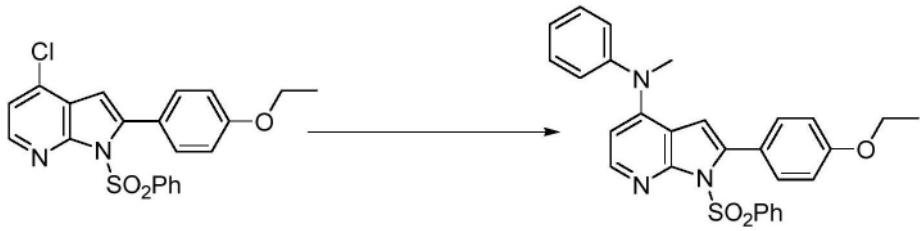
[0441] 

[0442] 在氩气下,将4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1-(苯磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(100mg,0.24mmol,1当量)与Cs_2CO_3(156mg,0.48mmol,2当量)、XPhos(23mg,0.048mmol,0.2当量)和Pd_2dba_3(22mg,0.024mmol,0.1当量)置于25ml的schlenk烧瓶中。加入二氧六环(10ml),随后加入苯胺(32mg,0.34mmol,1.4当量),并将混合物加热至100℃持续4小时。冷却至室温后,加入水,将混合物用EtOAc(2×50ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法纯化(90:10至70:30PE:EtOAc),获得黄色油状物(87mg,79%)。

[0443] ^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ8.20(d,J=5.6Hz,1H),7.88(d,J=7.8Hz,2H),7.58-7.33(m,7H),7.26-7.12(m,3H),6.97(d,J=7.8Hz,2H),6.85(d,J=5.6Hz,1H),6.37(d,J=0.8Hz,1H),6.15(s,1H),4.14(q,J=7.0Hz,2H),1.49(t,J=7.0Hz,3H)。

[0444] 化合物44:2-(4-乙氧基苯基)-N-甲基-N-苯基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-胺

[0445] -2-(4-乙氧基苯基)-N-甲基-N-苯基-1-(苯磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-胺:

[0446] 

[0447] 在氩气下,将4-氯-2-(4-乙氧基苯基)-1-(苯磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(100mg,0.24mmol,1当量)与Cs_2CO_3(156mg,0.48mmol,2当量)、XPhos(23mg,0.048mmol,0.2当量)和Pd_2dba_3(22mg,0.024mmol,0.1当量)置于25ml的schlenk烧瓶中。加入二氧六环(10ml),随后加入N-甲基苯胺(36mg,0.34mmol,1.4当量),并将混合物加热至100℃持续4小时。冷却至室温后,加入水,将混合物用EtOAc(2×50ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法纯化(90:10至70:30PE:EtOAc),获得黄色油状物(67mg,55%)。

[0448] -化合物44的合成:

[0449] 

[0450] 在氩气下,将2-(4-乙氧基苯基)-N-甲基-N-苯基-1-(苯磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-胺(66mg,0.14mmol,1当量)溶解在THF(5ml)和MeOH(5ml)的混合物中。加入NaOH(140μL,2M,2当量),并将反应加热至55℃过夜。冷却至室温后,加入饱和NH_4Cl(10ml),将产物用EtOAc(3×10ml)萃取,用盐水洗涤,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过快速色谱法纯化(80:20至0:100CH_2Cl_2:EtOAc),获得黄色固体(17mg,35%)。

[0451] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6)δ11.75(s,1H),7.99(d,J=5.5Hz,1H),7.50(d,J=8.8Hz,2H),7.42-7.37(m,2H),7.26-7.16(m,3H),6.93(d,J=8.8Hz,2H),6.55(d,J=5.5Hz,1H),5.50(d,J=2.3Hz,1H),4.03(q,J=7.0Hz,2H),3.46(s,3H),1.32(t,J=7.0Hz,3H)。

[0452] II.根据本发明的化合物的生物活性

[0453] 在体外病理学细胞模型上评价了化合物对抗铁死亡的活性。铁死亡涉及机体的多种病理或功能障碍,尤其是与缺血再灌注相关的急性肾损伤或抗癌化疗期间(特别是在治疗头颈(ENT)癌、肺癌、子宫内膜癌或膀胱癌期间)施用顺铂引起的急性肾损伤。铁死亡还涉及神经变性疾病(如帕金森病)的病理生理学,或与兴奋性毒性相关的神经系统疾病(如创伤和中风)。

[0454] II.1.神经毒性和兴奋性毒性测定

[0455] 模型

[0456] 所使用的兴奋性毒性模型是用谷氨酸酯处理的小鼠海马神经元HT22细胞[Dixon等人,Cell,2012,149(5),1060-1072]。铁死亡和氧化应激都与谷氨酸酯诱导的细胞死亡有关[Chu等人,Neural Regen.Res.,2020,15(3),528-536]。还使用另外的细胞死亡诱导剂、铁死亡诱导剂(erastin)和RSL3((1S,3R)-Ras-选择性致死)在HT22和SH-SY5Y(人神经母细胞瘤细胞)中进行表型筛选。铁死亡诱导剂和RSL3是被充分描述的分子,用作研究铁死亡调节和神经元病理学的化学工具[Lewerenz等人,Front.Neurosci.,2018,12:214;Reichert等人,Int.J.Mol.Sci.,2020,21,8765]。

[0457] 材料和方法

[0458] 小鼠海马神经元细胞系(HT22,ATCC)和人神经母细胞瘤细胞系(SH-SY5Y,ATCC)在补充有10%胎牛血清(FBS,Gibco)的Dulbecco改良Eagle介质(DMEM,Gibco)中于37℃、5% CO_2气氛下生长。神经毒性由铁死亡诱导剂或RSL3诱导,兴奋性毒性由谷氨酸酯诱导。将HT22和SH-SY5Y细胞系的细胞分别以5,000个和10,000个细胞/孔接种在96孔板中。在递增浓度的抑制剂的存在下,将细胞用0.5-1μM铁死亡诱导剂(HT22细胞)或10μM铁死亡诱导剂(SH-SY5Y细胞)或5-10mM谷氨酸酯(HT22细胞)或0.5μM RSL3(HT22细胞)或5μM RSL3(SH-SY5Y细胞)处理24小时。仅用DMSO处理的细胞用作对照。通过MTS测定(CellTiter 96AQueous One Solution Cell Proliferation assay,Promega)评估细胞活力。

[0459] 结果

[0460] 在图1、图2A和图2B中,在存在或不存在细胞死亡诱导剂(铁死亡诱导剂、谷氨酸酯或RSL3)的情况下,将抑制剂加入到HT22(图1:化合物6)或SH-SY5Y(图2A:化合物6;图2B:化合物25)细胞中。曲线显示处理24小时并加入四唑盐后测量的细胞活力(CellTiter 96AQueous One Solution Cell Proliferation Assay(MTS),#G3582,Promega)。在没有细胞死亡诱导剂的情况下获得的结果显示了分子单独的潜在细胞毒性作用。可以注意到,化合物6和25在测试剂量(最大50或100μM)下对细胞活力没有影响。在铁死亡诱导剂的存在下获得的结果表明,递增浓度的化合物6增加细胞活力,直到10μM时对HT22细胞达到几乎完全抑制(EC_{50}=2.05μM(存在1μM铁死亡诱导剂时)、1.64μM(存在10mM谷氨酸酯时)和2.31μM(存在0.5μM RSL3时)),或者直到1μM时对SH-SY5Y细胞达到几乎完全抑制(EC_{50}=0.18μM)。类似地,递增浓度的化合物25增加细胞活力,直到10μM时对SH-SY5Y细胞达到几乎完全抑制(EC_{50}=1.4μM(存在10μM铁死亡诱导剂时)和5.25μM(存在5μM RSL3时))。

[0461] 使用Graphpad Prism软件根据剂量反应曲线计算化合物1至28的EC_{50}值。结果报告于下表1中。

[0462] 表1:使用表型测定获得的结果计算出的EC_{50}HT-22+谷氨酸酯,铁死亡诱导剂或RSL3和SH-SY5Y+铁死亡诱导剂或RSL3

[0463]

化合物	EC_{50} HT22 谷氨酸酯	EC_{50} HT22 铁死亡诱导剂	EC_{50} HT22 RSL3	EC_{50} SH-SY5Y 铁死亡诱导剂	EC_{50} SH-SY5Y RSL3
1	2.55 μM	2.9 μM	3.27 μM	1.06 μM	ND
2	2.66 μM	7.92 μM	46 μM	2.9 μM	7.43 μM
3	1.13 μM	0.92 μM	0.32 μM	ND	ND
4	> 25 μM	> 25 μM	27.8 μM	7.66 μM	5.42 μM
5	3.6 μM	3.23 μM	2.79 μM	0.52 μM	ND
6	1.64 μM	2.05 μM	2.31 μM	0.18 μM	ND
7	> 25 μM	> 25 μM	14.55 μM	12.4 μM	1.36 μM
8	> 25 μM	> 25 μM	> 50 μM	21.52 μM	5.98 μM
9	> 25 μM	> 25 μM	1.43 μM	10.64 μM	ND
10	> 25 μM	> 25 μM	> 50 μM	13.7 μM	ND
11	0.14 μM	0.32 μM	1.16 μM	0.15 μM	ND
12	0.50 μM	0.91 μM	0.94 μM	0.43 μM	ND
13	0.92 μM	3.62 μM	44.06 μM	1.11 μM	9.25 μM
14	0.55 μM	1.52 μM	0.76 μM	1.11 μM	ND
15	0.5 μM	1.54 μM	7.19 μM	2.45 μM	ND
16	ND	ND	ND	> 50 μM	ND
17	ND	ND	ND	> 50 μM	ND
18	ND	ND	ND	> 50 μM	ND
19	12.75 μM	23.27 μM	22.06 μM	14.35 μM	5.6 μM
20	11.13 μM	5.14 μM	16.66 μM	21.41 μM	27.4 μM
21	> 25 μM	> 25 μM	ND	> 25 μM	ND
22	5.31 μM	5.53 μM	9.09 μM	1.16 μM	0.79 μM
23	> 25 μM	> 25 μM	9.93 μM	26.26 μM	2.64 μM
24	> 50 μM	> 50 μM	21 μM	10.97 μM	3.43 μM
25	1.65 μM	3.39 μM	19.04 μM	1.4 μM	5.25 μM
26	0.82 μM	12.66 μM	ND	9.94 μM	33.66 μM
27	1.5 μM	3.9 μM	9.93 μM	2.46 μM	ND
28	14.83 μM	23.87 μM	17.3 μM	31.34 μM	15.80 μM
29	5.5 μM	8.3 μM	3.96 μM	ND	1.46 μM
30	ND	7.5 μM	7.5 μM	ND	ND
31	ND	> 25 μM	> 15 μM	ND	ND
32	ND	2 μM	1 μM	ND	ND
33	16 μM	32 μM	10.78 μM	ND	ND
34	ND	> 50 μM	16.76 μM	ND	6.62 μM
35	ND	17.02 μM	5.4 μM	5.95 μM	1.03 μM
36	ND	0.32 μM	0.27 μM	0.23 μM	0.07 μM
37	ND	11.84 μM	9.11 μM	7.13 μM	1.22 μM
38	ND	6.78 μM	2.56 μM	1.61 μM	0.2 μM
39	ND	16.12 μM	16.1 μM	5.83 μM	1.47 μM

[0464]

40	ND	13.27 μM	4.98 μM	5.06 μM	0.95 μM
41	ND	ND	6.5 μM	3.68 μM	2.21 μM
42	ND	8.04 μM	7.06 μM	3.62 μM	1.84 μM
43	ND	0.53 μM	2.35 μM	1.64 μM	1.35 μM
44	ND	0.43 μM	7.12 μM	4.43 μM	2.66 μM

[0465] II.2.体外冷缺氧/复氧测定

[0466] 模型

[0467] 缺血再灌注期间发生的肾小管坏死是铁死亡引起的细胞死亡[Linkermann等人,PNAS,2014,11(47)16836-16841]。为了模拟在移植过程中器官中发生的缺血再灌注,我们用在威斯康星大学(UW)溶液中稀释的浓度递增的目标化合物处理肾细胞,然后将细胞在4℃在95%N_2/5%CO_2气氛中孵育24小时。此处需注意,UW是医院移植前保存器官最常用的溶液。24小时后,用PBS缓冲溶液或推荐用于这些肾细胞的培养介质替换培养介质。然后,将细胞在37℃在氧气和5%CO_2的存在下在培养箱中孵育6小时。使用MTS还原测定对剩余的细胞活力进行定量。然后,通过量化细胞活力的下降来估计缺氧诱导的细胞死亡率。如果这些分子在缺氧休克后维持高且显著水平的细胞活力,则它们被认为是有效的。

[0468] 材料和方法

[0469] 人肾小球内皮细胞(hRGEC)生长至80%汇合,然后使用FBS(胎牛血清)耗尽介质同步化16小时(M200介质+2%血清)。对于低温/缺氧,将细胞用PBS洗涤两次,然后于4℃在95%N_2/5%CO_2(Bactal 2gaz,Air Liquide France)气氛中在UW溶液中孵育24小时。在缺氧步骤中用递增浓度的抑制剂处理细胞。对于复氧步骤,将细胞洗涤,并在PBS+2%血清或M200介质+4%血清中在5%CO_2和21%O_2气氛中于37℃孵育6小时。对照为不接受该方案的细胞,并且持续充氧,在补充有2%FBS的PBS中孵育。在复氧6小时后,通过XTT测试(Sigma-Aldrich,St Quentin-Fallavier,法国)评价细胞活力。

[0470] 结果

[0471] 在此模型上测试的14种化合物中的每一种都具有剂量依赖性细胞保护作用,如图4至图18所示。

[0472] II.3.顺铂诱导的肾毒性

[0473] 模型

[0474] 与使用顺铂治疗各种癌症(特别是ENT癌和肺癌)相关的肾毒性是由于顺铂在清除之前在肾脏中积累所致。已知肾脏中的高顺铂浓度会引发细胞铁死亡,导致急性肾小管坏死,从而导致急性肾损伤[Hu等人,Cell Death Dis.,2020,11:73]。

[0475] 为了模拟这种病理学,我们使用非癌性大鼠近端肾小管肾细胞(NRK-52E),在递增剂量的抑制剂的存在下,向细胞中加入高剂量的顺铂(200μM)。我们使用ferrostatin-1(Fer-1)作为铁死亡抑制的阳性对照。在处理24小时后,进行细胞活力测定(MTS)。

[0476] 材料和方法

[0477] 大鼠肾近端肾小管上皮细胞系(NRK-52E)在补充有5%FBS的高葡萄糖Dulbecco改良Eagle介质(DMEM、ATCC)中生长。细胞维持在37℃,5%CO_2气氛下。将NRK-52E细胞以10,000个细胞/孔接种在96孔板中。在递增剂量的抑制剂或用于对照细胞的DMSO的存在下,用200μM顺铂(Sigma)处理细胞24小时。通过MTS测定(CellTiter 96AQueous One Solution

Cell Proliferation assay,Promega)评估细胞活力。

[0478] 结果

[0479] 在该模型上测试的24种化合物中的每一种都对顺铂诱导的细胞死亡具有剂量依赖性细胞保护作用,如图19至图24所示。

[0480] II.4.年龄相关性黄斑变性(AMD)的细胞模型

[0481] 模型

[0482] 年龄相关性黄斑变性(AMD)的特征在于由于视网膜中央细胞(称为黄斑)变性而导致视力丧失。氧化应激已被证明在视网膜细胞的损失中发挥重要作用,尤其是通过引发铁死亡[Totsuka等人,Exp.Eye Res.,2019,181-316-324]。用于研究视网膜细胞死亡的一个模型是人ARPE-19细胞系,一种色素性视网膜上皮细胞系,在碘酸钠($NaIO_3$,一种强氧化剂)的存在下[Hanus等人Cell Death Discov.2016,2,16054][Chan等人,J.Biomed.Sci.,2019,26:40]。白藜芦醇被用作阳性对照,因为它通过发挥其作为抗氧化剂的证据充分的(well-documented)作用来抑制铁死亡。

[0483] 材料和方法

[0484] 将ARPE-19细胞以10,000个细胞/孔接种在96孔板中。在递增剂量的抑制剂的存在下,用10mM的$NaIO_3$处理细胞,或者用白藜芦醇或ferrostatin-1处理对照细胞。通过MTS测定(CellTiter 96AQueous One Solution Cell Proliferation assay,Promega)评估细胞活力。

[0485] 结果

[0486] 如图25所示,测试化合物对ARPE-19细胞显示出显著的对抗$NaIO_3$诱导的死亡的保护作用(n＝3,平均±SD,***P<0.001)。

[0487] II.5.视网膜色素上皮(RPE)光毒性的细胞模型

[0488] 材料和方法

[0489] 每周制备猪RPE的原代培养物,在体外一周后在96孔培养板上运行。将细胞与该分子一起孵育10分钟,然后诱导光毒性。在用配备蓝光发射LED(λ＝430nM)的设备照射细胞之前19小时,将A2E(30μM)加入到培养介质中。诱导光毒性24小时后,通过用Hoechst(核标记物)和乙锭(死细胞核标记物)对细胞进行染色来检测细胞存活和死亡。每个孔的图像均在配备有由Metamorph软件驱动的电动载物台的荧光显微镜上获取,并通过内部程序对细胞存活进行量化。分子在10和30μM进行测试,除非在此浓度下有毒性。阴性对照对应于用A2E和载体处理的细胞。阳性对照对应于照射前48小时用A2E和藏红花酸(100μM)处理的细胞。处理一式四份,实验进行4次。

[0490] 结果

[0491] 图29所示的测试结果表明,化合物1(图29中命名为SBL-02)能够在10和30μM显著保护RPE细胞对抗光毒性。

[0492] II.6.斯塔加特病和年龄相关性黄斑变性(AMD)的体内模型

[0493] 模型

[0494] 如Parmar等人,Invest Ophthalmol Vis Sci.,2016,57(7)所描述,缺乏ATP结合盒转运蛋白4(ABCA4)和视黄醇脱氢酶8(RDH8)的小鼠模拟了人斯塔加特病和年龄相关性黄斑变性的特征。

[0495] 强光照射可以加速Abca4$^{-/-}$Rdh8$^{-/-}$小鼠的视网膜变性。

[0496] 实验方案

[0497] 在7周龄的Abca4-/-Rdh8-/-小鼠上进行蓝光损伤(BLD)实验。使动物适应低光照水平(4000勒克斯,30分钟)。在BLD六天后,对每只眼睛进行光学相干断层扫描(OCT)检查,提供活体小鼠视网膜细胞层的状态的“快照”。OCT基于低相干干涉仪的使用。这种成像技术能够以几微米的分辨率拍摄体内组织的横截面图像。它在轻气体麻醉下进行(诱导时5%异氟烷,维持期间2%),并且是非侵入性的。用0.5%Midriaticum放大小鼠的瞳孔。提取每只眼睛的代表性图像,并将其包含在单独的报告文件中(4个OCT附件)。第二天,通过测量暗视和明视视网膜电图(ERG)来测量视网膜的电活动。在黑暗中过夜后进行暗视ERG,以测量代表小鼠97%感光细胞的视杆细胞的电应答。在较高的强度下,视锥细胞也做出应答。其后为明视ERG,仅记录视锥细胞的应答。获得与1)视杆细胞和视锥细胞光感受器的活动、2)内部视网膜双极细胞的活动和3)仅视锥细胞的活动相对应的三个测量值。然后,采集眼睛,并准备用于随后的组织学分析。在IP实验中,解剖一只眼睛,并将视网膜和RPE分别冷冻。这些组织可以用于进一步的测量。

[0498] 用化合物1进行玻璃体内处理

[0499] 将粉末形式的化合物1溶解在DMSO中以获得20mM的溶液。将这些溶液储存在-20℃,并临时解冻以制备在PBS中稀释89倍的溶液。这些溶液使化合物1在眼中的最终浓度约为50μM,且获得0.25%DMSO。用纯DMSO制备载体,以达到玻璃体中最终0.25%。在IVT过程中,用异氟烷对小鼠进行轻度麻醉。将1.5μL体积注射到左眼玻璃体中。

[0500] ERG的结果

[0501] 玻璃体内施用化合物1(在图30至图32中命名为SBL2)对Abca4-/-Rdh8-/-小鼠暗视和明视ERG测量中诱导的视网膜光毒性的作用表明,在Abca4-/-Rdh8-/-小鼠中玻璃体内注射50μM化合物1似乎可以保留视网膜细胞的电应答。图30显示了以暗视和明视ERG的强度直方图表示的结果。当注射SBL2的眼睛(SBL2 I)的暗视A波与未注射的眼睛(SBL2 NI)的暗视A波进行比较时,在10和30cd.s/m2处存在明显差异(图31)。当比较注射载体的眼睛(VEH I)和未注射的眼睛(VEH NI)时,也观察到了这一点。当将注射SBL2的眼睛的应答与注射载体的眼睛的应答进行比较时,观察到明显的差异,并且当将SBL2 I与VEH NI在10cd.s/m2处进行比较时,差异变得显著(P=0.0206)。在SBL2处理的小鼠中,与未注射的眼睛相比,暗视B波似乎在注射的眼睛中得以保留(图32)。在30cd.s/m2处,SBL2 I(p=0.048)与VEH NI相比存在显著差异。在30cd.s/m2处,SBL2 I的B波幅度非常接近NINI(未处理且未注射)小鼠的B波幅度。与未注射的眼睛相比,注射的眼睛的明视ERG被部分地保留(图30)。与VEH I相比,SBL2 I也是如此。

[0502] 通过OCT量化整个视网膜厚度

[0503] 为了测量视网膜和光感受器层的厚度,使用Image J软件进行图像处理。整个视网膜的厚度是在外节层和神经节细胞层之间测量的。光感受器层的厚度是在外丛状层和外段层之间测量的。沿着表示上半部或下半部视网膜的OCT图像的长度进行平均6次测量。为了制备来自SBL2 IVT实验的眼睛的切片板,在低温恒温器上切割对应于每种条件的一只眼睛,即,一只NINI眼睛和注射SBL2的小鼠的双眼(I和NI)。

[0504] 对SBL2 IVT处理的小鼠的视网膜厚度进行定量显示,同一小鼠注射SBL2的眼睛与

未注射的眼睛的厚度存在显著差异。所得结果如图33所示。

[0505] 用化合物7的腹膜内处理

[0506] 溶液是由化合物7(SBL1)-环糊精(最终CD浓度,15%)和相应安慰剂的水溶性冻干物临时制备的。通过将预定体积的0.9%NaCl注入小瓶中来制备溶液。然后,将小瓶涡旋混合,并将溶液过滤到新的无菌管中。两组每组3只小鼠用于这些测试。小组接受SBL1(20mg/kg)(n=3)或安慰剂-SBL1(n=3)。注射体积根据小鼠的体重计算,相当于10ml/kg。在BLD开始前3小时和1小时以及开始后1小时和3小时对小鼠进行注射。

[0507] ERG的结果

[0508] 暗视和明视ERG的测量表明,与给予安慰剂的小鼠相比,在Abca4-/-Rdh8-/-小鼠中在BLD诱导前后多次注射20mg/kg的SBL1轻微地保护视网膜细胞的电应答。观察到响应30cd.s/m2闪光强度的保护趋势,其对应于具有高比例视锥细胞的混合的"视杆细胞-视锥细胞"应答(图34和图35)。在暗视B波强度较高时(对应于内视网膜的应答,特别是双极细胞的应答),观察到保护趋势。这对应于混合光感受器应答刺激的内视网膜的应答(图35)。

[0509] 通过OCT量化整个视网膜厚度

[0510] SBL1 IP处理的小鼠的视网膜厚度的量化显示,注射的小鼠和未注射的小鼠的整个视网膜之间存在差异(图36)。

[0511] II.7.化合物对6-OHDA损伤后大鼠原代多巴胺能神经元存活的保护作用

[0512] 模型

[0513] 如Ding等人,J.Neurochem.,2004,(89)所解释,施用6-羟基多巴胺(6-OHDA,一种神经毒素)已被广泛用于在体外和体内模型中引起多巴胺(DA)神经元的选择性变性。这些模型被用作帕金森病模型,其特征在于黑质DA神经元的渐进性丧失。

[0514] 材料和方法

[0515] 如Schinelli等人,J Neurochem.,1988,50(6)所描述培养大鼠多巴胺能神经元。将细胞以40000个细胞/孔的密度接种在96孔板(预涂有聚D-赖氨酸;Greiner,参考号:655940,批号:E20093UL)中,在37℃湿润空气(95%)/CO_2(5%)气氛中培养。每2天用新鲜介质更换一半介质。在这些条件下,培养5天后,星形胶质细胞出现在培养物中并释放生长因子,从而使神经元分化。在这种条件下,2%到5%的神经元为多巴胺能神经元。

[0516] 将6-OHDA(Sigma,参考号:162957,批号MKCK5243)在特定培养介质中以40μM(储备溶液)进行复溶。在相同条件下制备对照介质。在培养7天后,将原代中脑神经元用测试化合物或参比化合物(BDNF,50ng/mL)预处理1小时,然后用最终浓度为20μM的6-OHDA中毒(intoxicated)孵育2天,以诱导约50%+/-5%的神经元细胞死亡。

[0517] 在存在或不存在测试化合物的情况下中毒2天后,将细胞用4%多聚甲醛溶液(Sigma,参考号6148,批号:SZBE2390V)在室温固定20分钟,将对照条件也按照相同的程序固定。然后,对细胞进行透化,用含有0.1%皂苷(Sigma;参考号:S7900,批号:BCBL8667V)和1%FCS的磷酸盐缓冲盐水(PBS;PanBiotech;参考号:P04-36500,批号:7701020)溶液在室温封闭非特异性位点15分钟。将细胞与小鼠单克隆抗-酪氨酸羟化酶(TH,1/10000,Sigma;参考号:T1299,批号:014M4835)抗体在PBS溶液中在4℃孵育过夜。抗TH抗体使多巴胺能神经元染色。加入含有1%FCS和0.1%皂苷的Alexa Fluor 488山羊抗小鼠IgG(1/400,Molecular probe,参考号:A11001,批号:2247988)的PBS溶液,室温1小时,即可显示染色。

在同一溶液中,通过荧光标记物(Hoechst,Sigma;参考号:B1155,批号:046M4048V)标记细胞核。对于每种条件,使用InCell AnalyzerTM 2200(GE Healthcare)以20倍放大倍数拍摄每孔20张图像。每个培养孔的图像都是在相同条件下拍摄的。使用Developer软件(GE Healthcare)对TH阳性神经元的细胞体进行分析。每个实验条件总共提供了6个数据。

[0518] 结果

[0519] 如图37所示,20μM的6-OHDA诱导多巴胺能神经元存活的显著下降(48%的细胞死亡,p<0.0001)。正如预期的那样,50ng/mL的参比分子BDNF能够部分地挽救神经元免于细胞死亡(15%的细胞死亡,p<0.0001)。这些结果能够验证培养条件。在6-OHDA暴露前1小时和暴露2天期间,用化合物7(SBL-01)进行处理,在10μM、1μM和0.1μM的每个测试浓度都能够部分且显著地挽救多巴胺能神经元免于细胞死亡(分别为16%,p<0.001,24%,p<0.001)。类似地,在6-OHDA损伤前1小时和损伤2天期间,用化合物1(SBL-02)进行处理,在10μM、1μM和0.1μM的每个测试浓度都能够部分且显著地挽救多巴胺能神经元免于细胞死亡(分别为25%,p<0.001)。

[0520] 使用化合物14(SBL-571)、22(SBL-962)和3(SBL-1495)获得的结果如图38和图39所示(平均值±s.e.m;*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001,****p<0.0001相对于6-OHDA的统计数据;单向方差分析和随后的Dunnett检验。#表示中毒的状态)。

[0521] II.8.大鼠双侧肾动脉短暂闭塞诱导的缺血性急性肾衰竭体内模型

[0522] 材料和方法

[0523] 该实验使用雄性Wistar大鼠(Janvier Labs,C.S.4105,Saint-Berthevin F-53941,法国)进行,手术当天体重为200至260g。在手术前,将动物2至4只一组饲养在聚砜笼中(占地面积=1500cm^2),提供标准条件:室温(22±2℃)、湿度(55±10%)、明/暗循环(12h/12h)、空气置换(15-20体积/小时)、水和食物(SAFE,参考号A04)自由获得。实验前,让动物适应环境条件至少5天。将大鼠用戊巴比妥钠(60mg/kg i.p.)麻醉,并放置在伺服控制的加热台上以维持直肠温度接近37℃。气管插管后,对动物进行机械通气。通过内侧剖腹术暴露腹腔,识别左肾动脉和右肾动脉,小心地从肾静脉解剖并夹闭40分钟。在此夹闭期间,腹腔保持关闭。松开夹子,重新建立肾脏灌注,并缝合腹腔。根据目测判断,再灌注不完全的动物被排除。每天两次皮下施用丁丙诺啡(10 50μg/kg,sc)持续2天(包括手术当天),以确保术后镇痛。在手术后,将动物单独饲养。每天观察动物并称重,检查缝线,并根据需要用抗菌溶液(聚维酮碘)消毒。

[0524] 对所有动物在手术当天和缺血后7天内的体重和死亡率进行跟踪记录。为了测定血浆中的肌酐和血尿素氮(BUN)浓度,从每只动物采集至少0.3mL的6个血液样本:在手术前,以及手术后第1、2、3天(载体/SBL01施用前)、4和7天。测量以下参数:血浆肌酐浓度、血尿素氮浓度和体重。

[0525] 施用方案:使用n=10的组规模,动物接受以下处理:载体1(5%吐温80的磷酸盐缓冲溶液,IP)/化合物7(15mg/kg,IP)。

[0526] 所有处理均经由腹腔途径施用,施用体积为5mL/kg。进行施用:缺血前10分钟(=T-10min:在夹闭肾动脉之前将处理直接施用于腹腔内),再灌注后立即(=T45min:在缝合腹腔之前将处理直接施用于腹腔内),以及缺血开始后3小时、24小时和48小时。在实验结束时,通过颈脱位处死深度麻醉的动物。在作为载体的5%吐温的磷酸盐缓冲溶液中制备化合

物7。

[0527] 结果

[0528] 如图40和图41所示,在施用化合物7(西伯利啉(sibiriline))后第2天,肌酐和尿素血浆水平显著降低。

[0529] 这些结果凸显了化合物7在动脉闭塞期间对肾功能的保护作用,因此与载体相比具有对肾缺血性衰竭的保护作用。

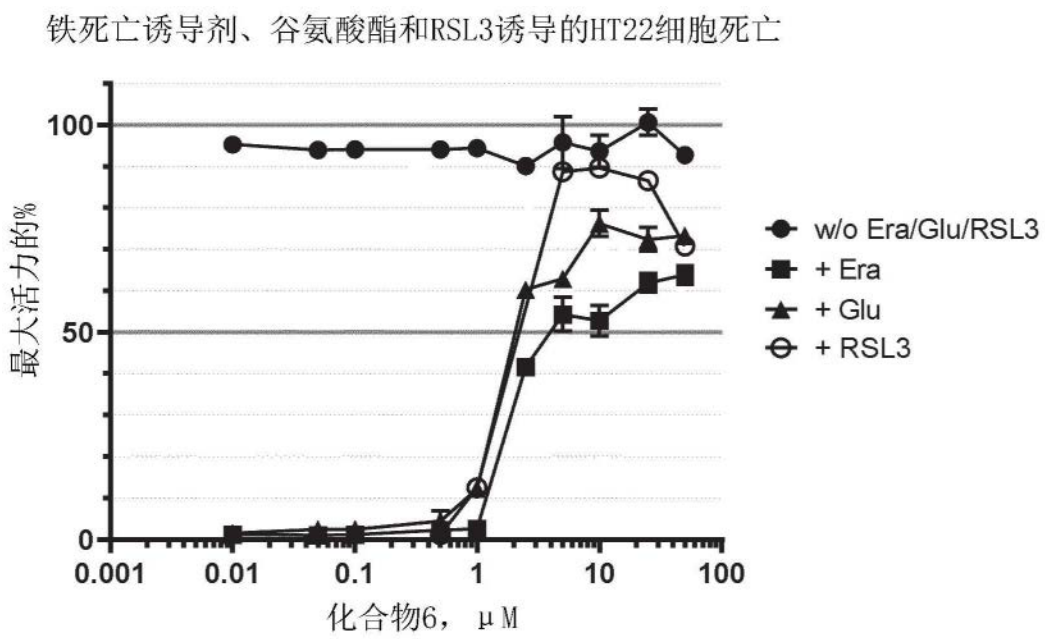

铁死亡诱导剂、谷氨酸酯和RSL3诱导的HT22细胞死亡
最大活力的%
100
50
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
化合物6，μM
w/o Era/Glu/RSL3
+ Era
+ Glu
+ RSL3

图1

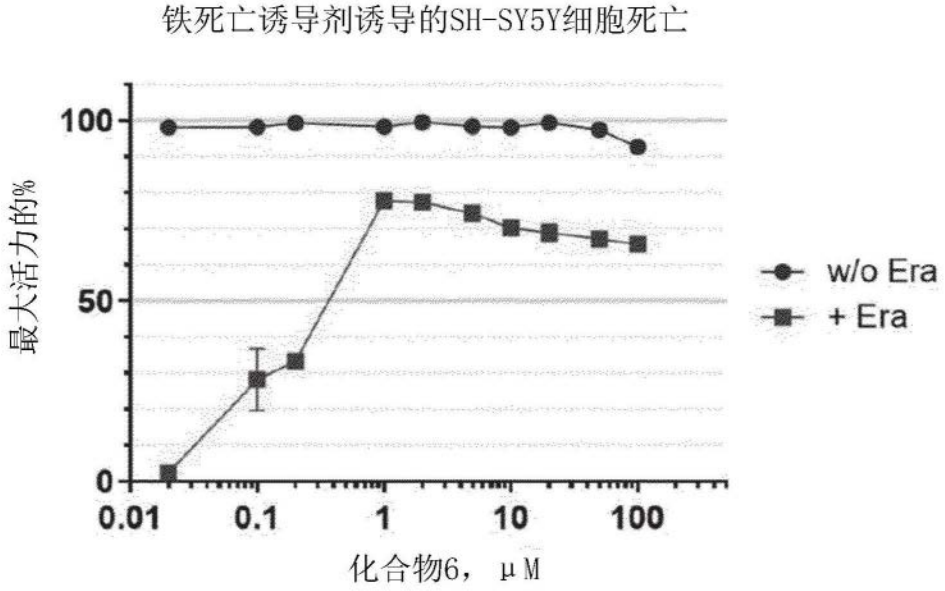

铁死亡诱导剂诱导的SH-SY5Y细胞死亡
最大活力的%
100
50
0
0.01
0.1
1
10
100
化合物6，μM
w/o Era
+ Era

图2A

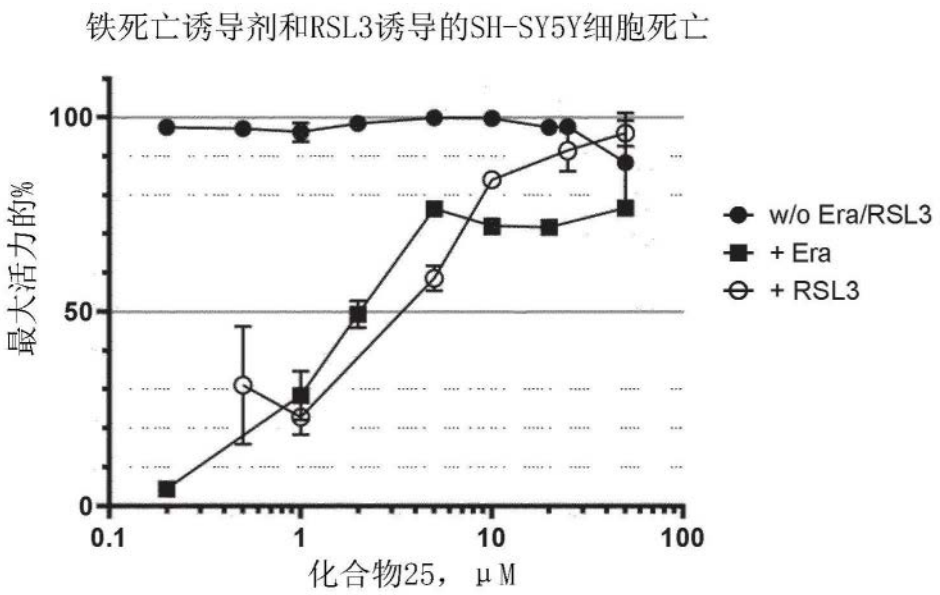

铁死亡诱导剂和RSL3诱导的SH-SY5Y细胞死亡
最大活力的%
100
50
0
0.1
1
10
100
化合物25，μM
w/o Era/RSL3
+ Era
+ RSL3

图2B

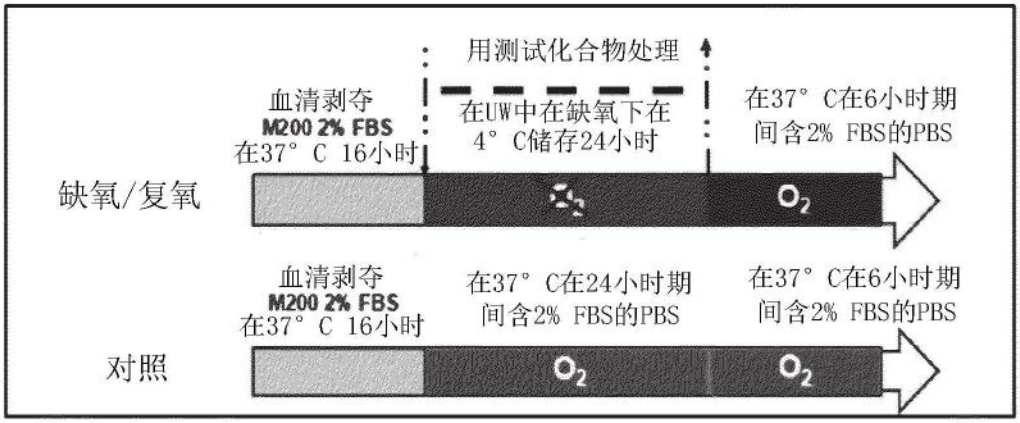

用测试化合物处理
血清剥夺
M200 2% FBS
在37° C 16小时
在UW中在缺氧下在
4° C储存24小时
在37° C在6小时期
间含2% FBS的PBS
缺氧/复氧
O2
O2
血清剥夺
M200 2% FBS
在37° C 16小时
在37° C在24小时期
间含2% FBS的PBS
在37° C在6小时期
间含2% FBS的PBS
对照
O2
O2

图3

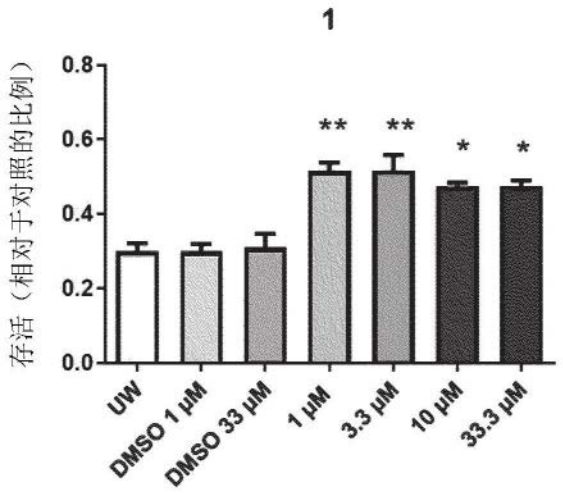

1
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
**
**
*
*
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图4

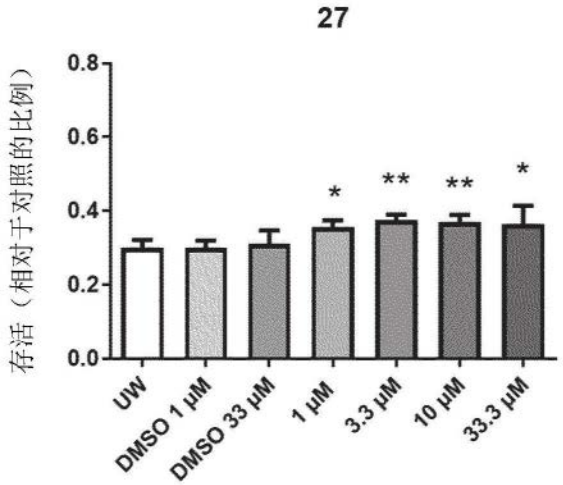

27
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
**
**
*
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图5

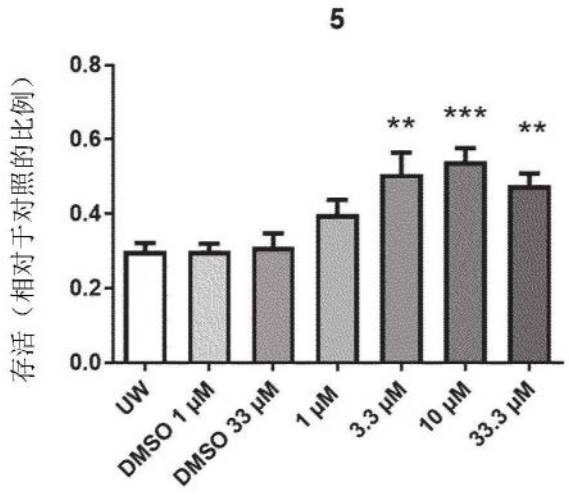

5
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
**
***
**
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图6

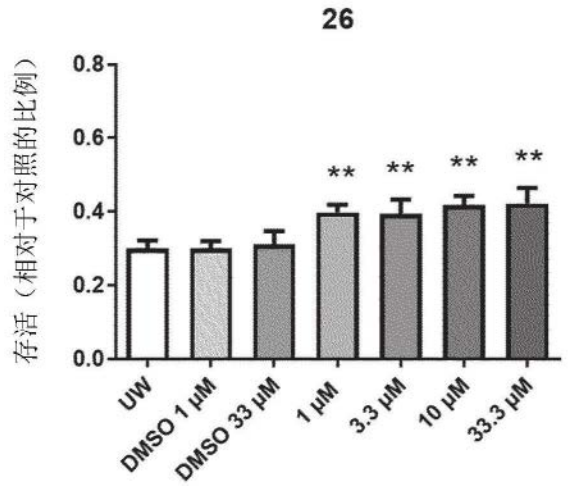

26
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
**
**
**
**
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图7

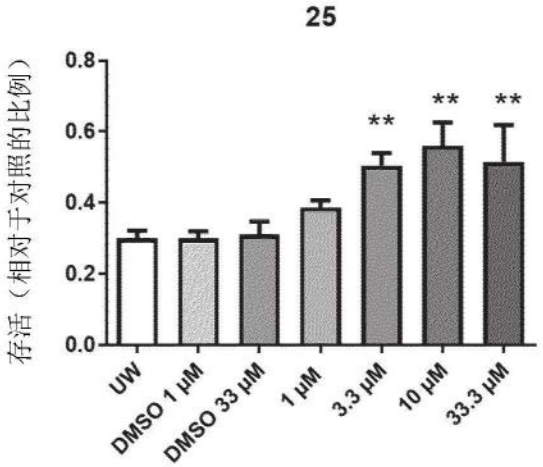

25
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
**
**
**
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图8

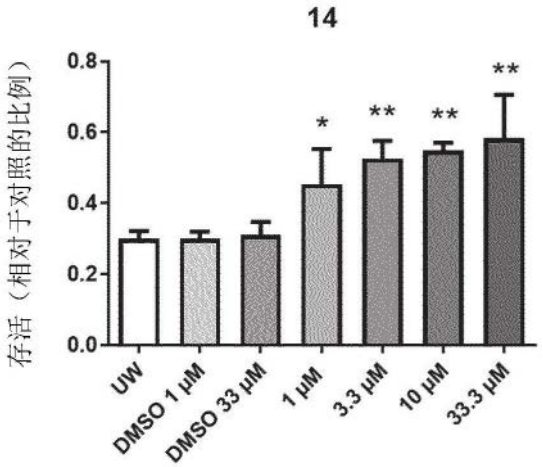

14
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
**
**
**
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图9

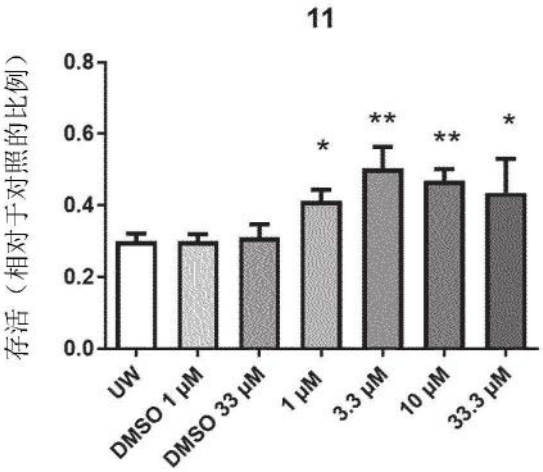

11
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
**
**
*
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图10

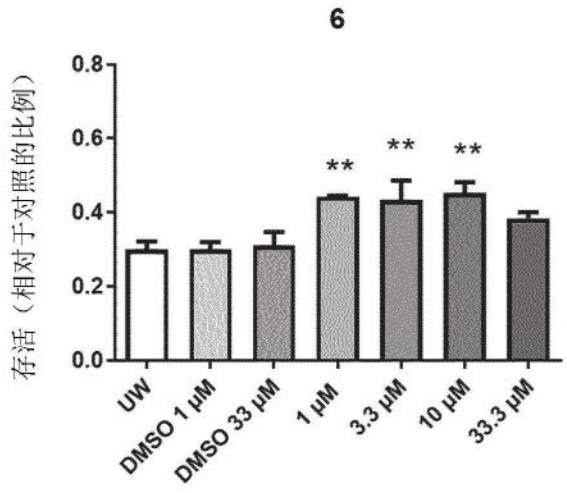

6
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
**
**
**
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图11

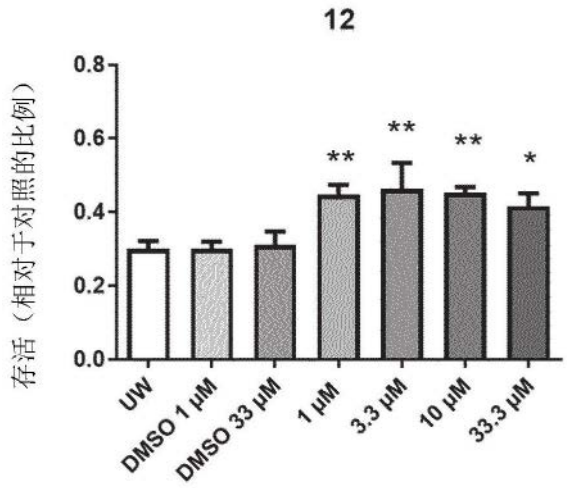

12
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
**
**
**
*
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图12

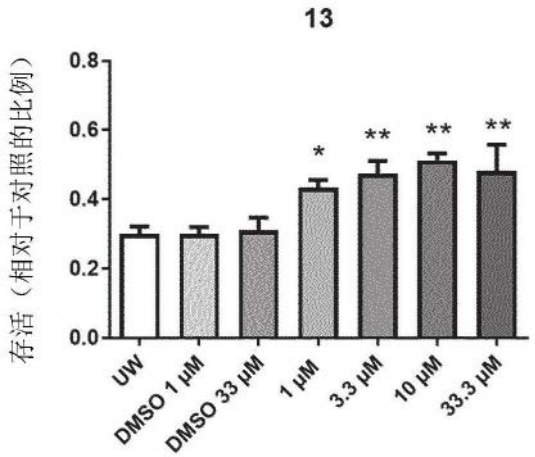

13
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
**
**
**
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图13

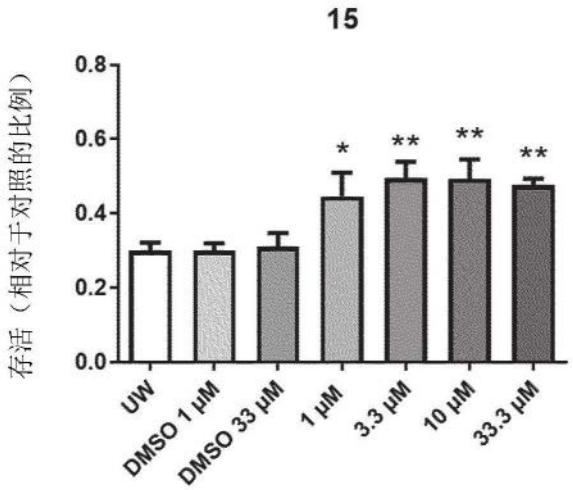

15
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
**
**
**
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图14

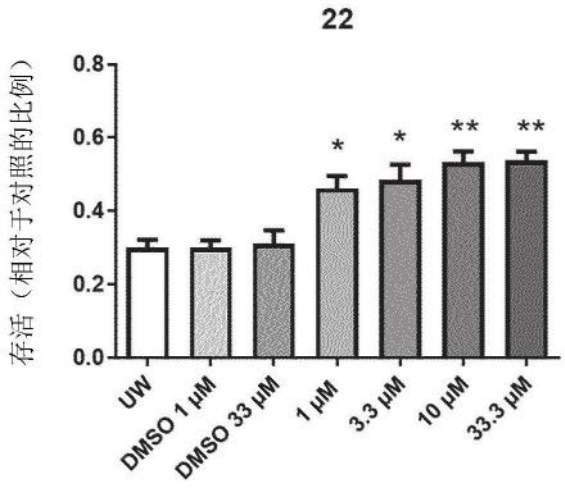

22
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
*
**
**
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图15

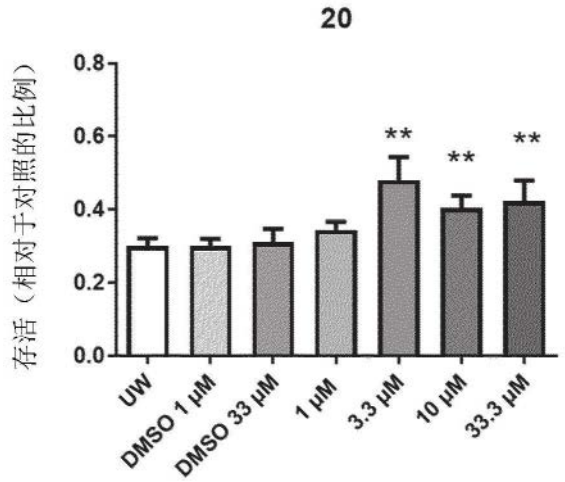

20
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
**
**
**
UW
DMSO 1 μM
DMSO 33 μM
1 μM
3.3 μM
10 μM
33.3 μM

图16

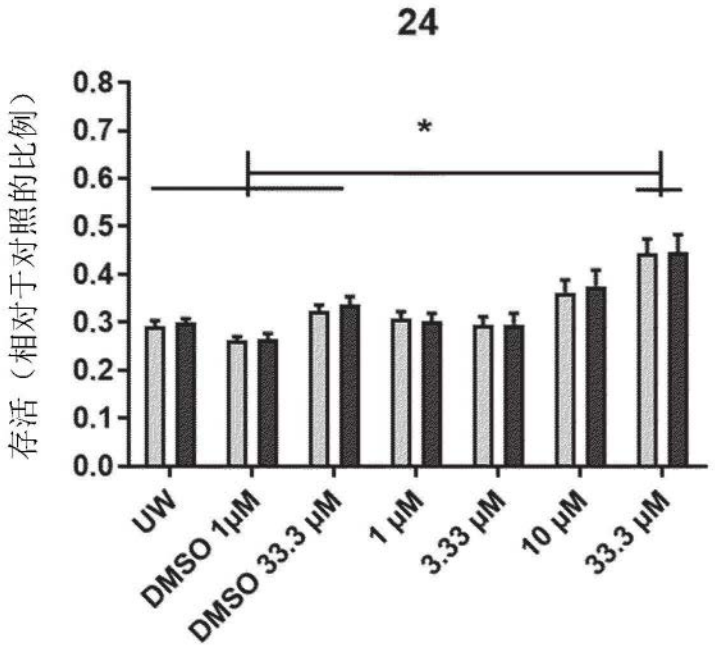

24
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
*
UW
DMSO 1μM
DMSO 33.3 μM
1 μM
3.33 μM
10 μM
33.3 μM

图17

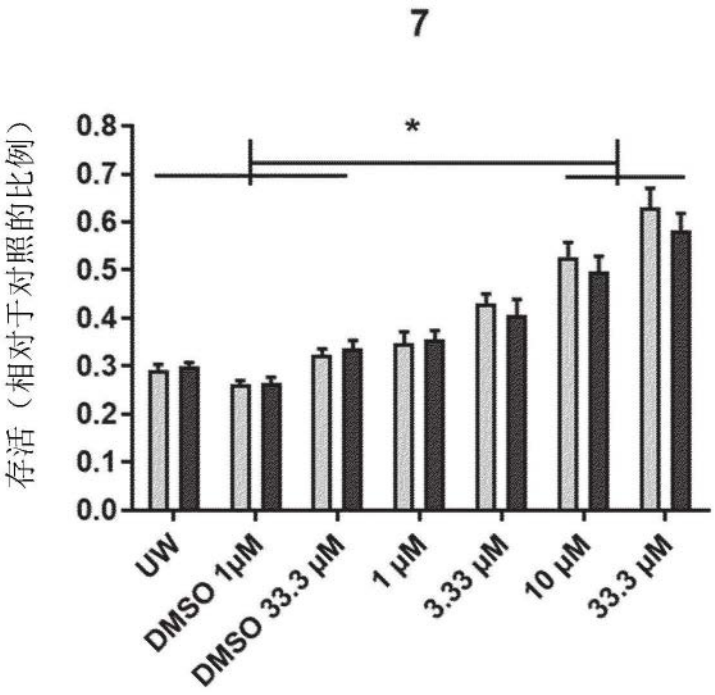

7
存活（相对于对照的比例）
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
*
UW
DMSO 1μM
DMSO 33.3 μM
1 μM
3.33 μM
10 μM
33.3 μM

图18

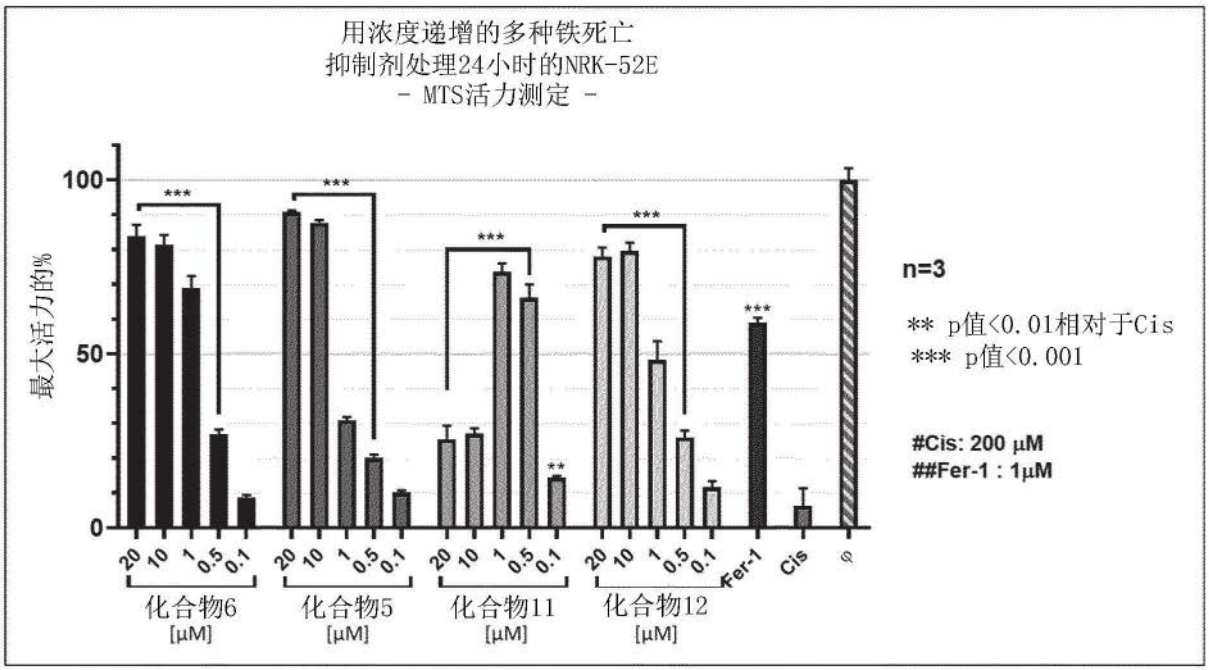

用浓度递增的多种铁死亡
抑制剂处理24小时的NRK-52E
- MTS活力测定 -
最大活力的%
100
50
0
***
**
20 10 1 0.5 0.1
Fer-1
Cis
化合物6 [μM]
化合物5 [μM]
化合物11 [μM]
化合物12 [μM]
n=3
** p值<0.01相对于Cis
*** p值<0.001
#Cis: 200 μM
##Fer-1 : 1μM

图19

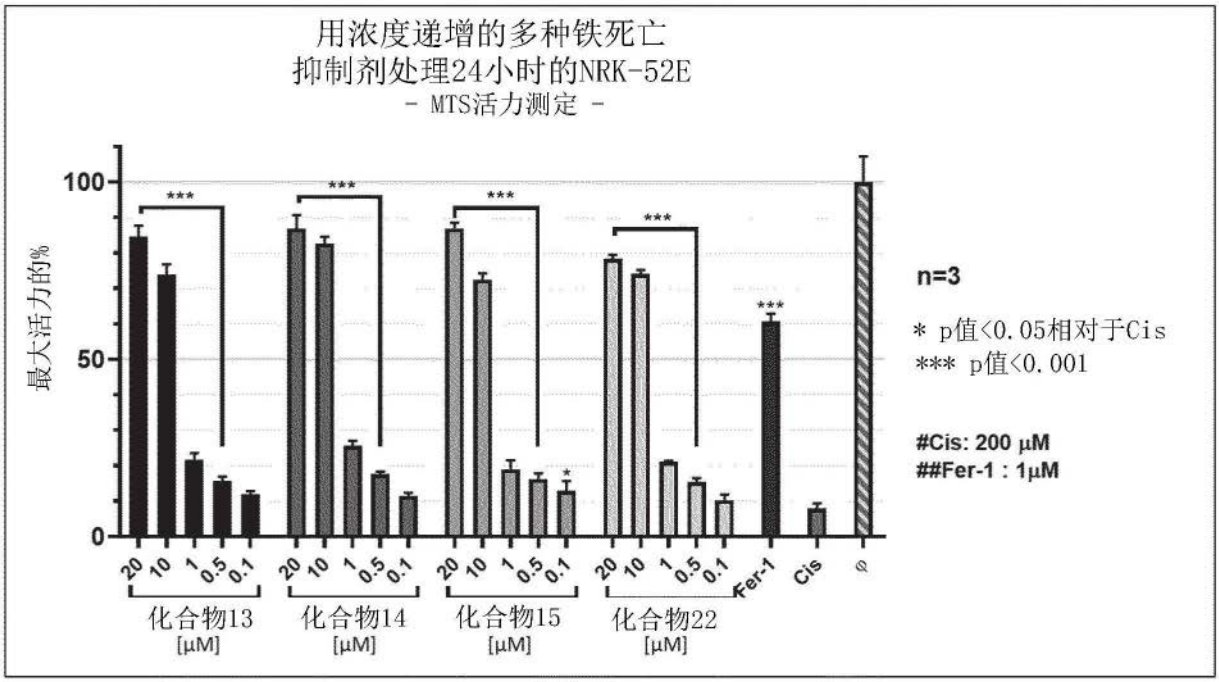

用浓度递增的多种铁死亡
抑制剂处理24小时的NRK-52E
- MTS活力测定 -
最大活力的%
100
50
0
***
*
20 10 1 0.5 0.1
Fer-1
Cis
化合物13 [μM]
化合物14 [μM]
化合物15 [μM]
化合物22 [μM]
n=3
* p值<0.05相对于Cis
*** p值<0.001
#Cis: 200 μM
##Fer-1 : 1μM

图20

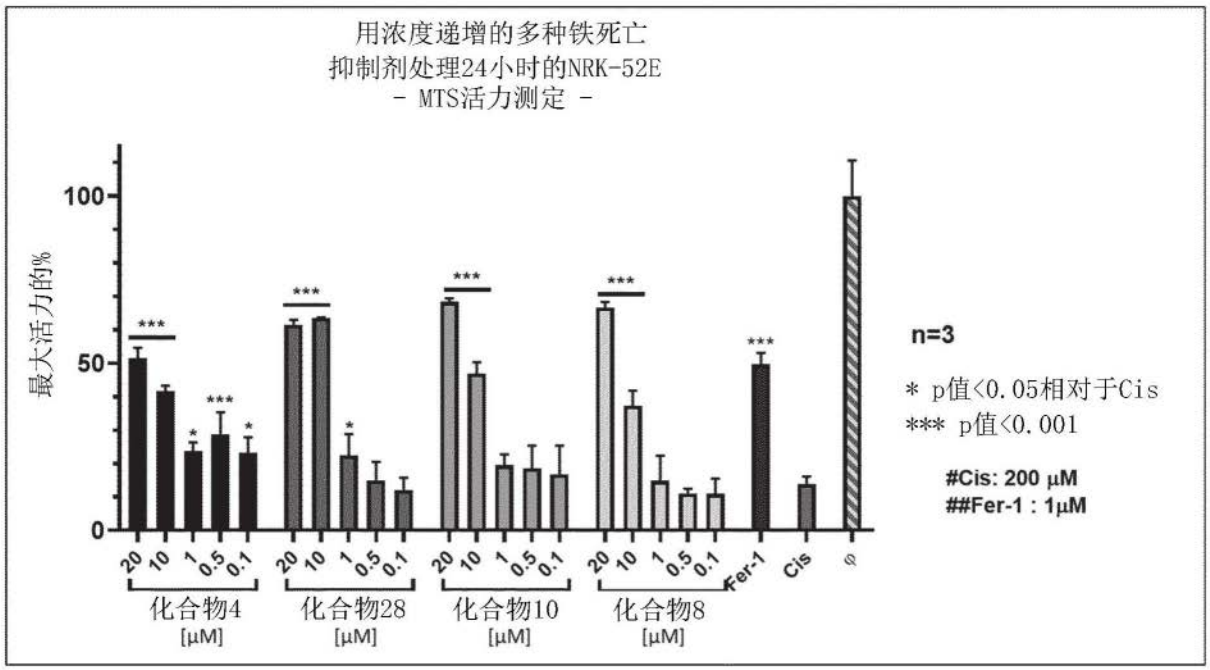

用浓度递增的多种铁死亡
抑制剂处理24小时的NRK-52E
- MTS活力测定 -
最大活力的%
100
50
0
20 10 1 0.5 0.1
化合物4 [μM]
化合物28 [μM]
化合物10 [μM]
化合物8 [μM]
Fer-1
Cis
n=3
* p值<0.05相对于Cis
*** p值<0.001
#Cis: 200 μM
##Fer-1 : 1μM

图21

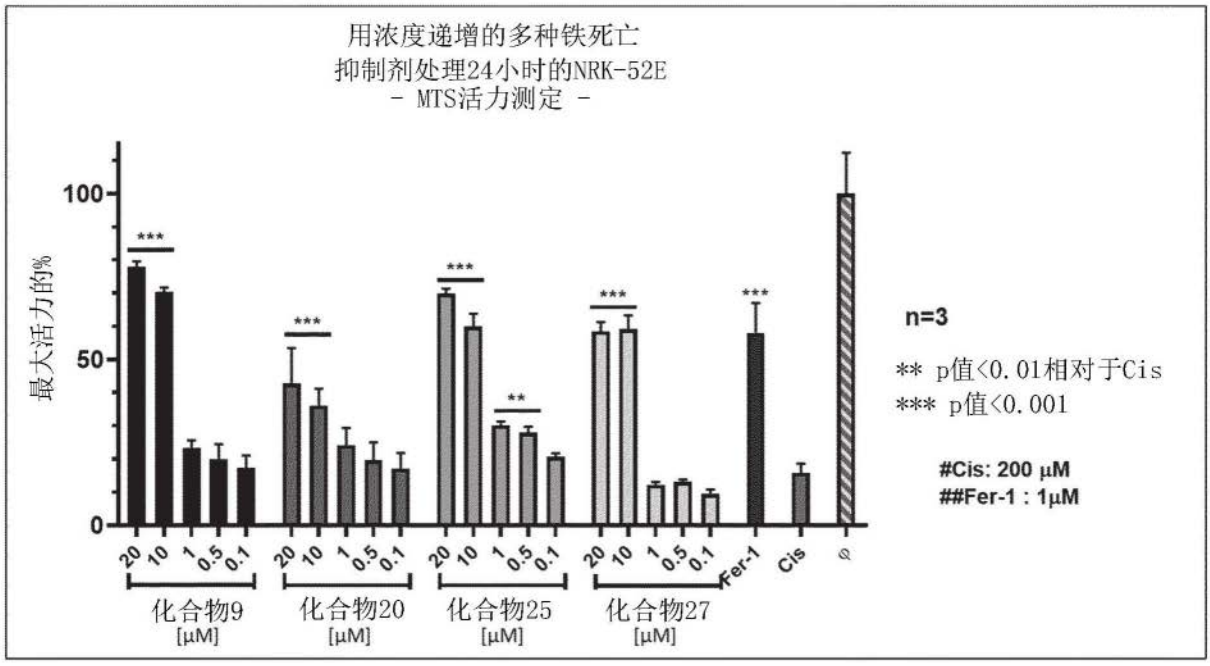

用浓度递增的多种铁死亡
抑制剂处理24小时的NRK-52E
- MTS活力测定 -
最大活力的%
100
50
0
20 10 1 0.5 0.1
化合物9 [μM]
化合物20 [μM]
化合物25 [μM]
化合物27 [μM]
Fer-1
Cis
n=3
** p值<0.01相对于Cis
*** p值<0.001
#Cis: 200 μM
##Fer-1 : 1μM

图22

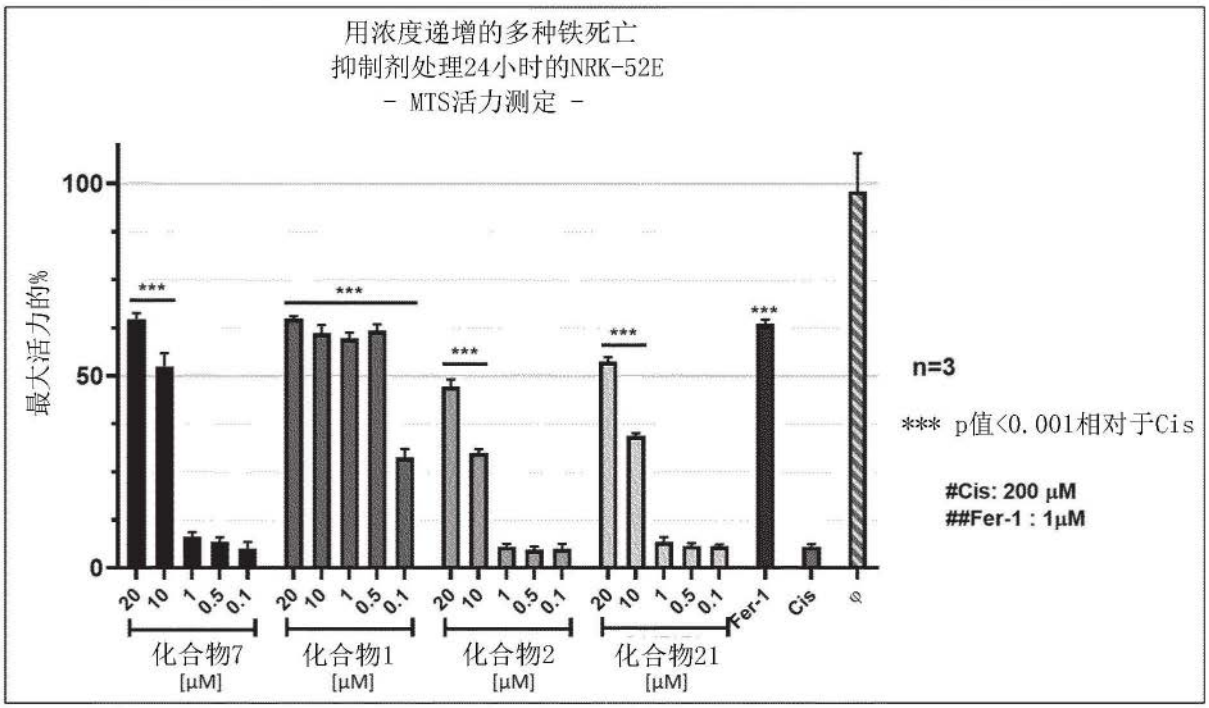

用浓度递增的多种铁死亡
抑制剂处理24小时的NRK-52E
- MTS活力测定 -
最大活力的%
100
50
0
***
20 10 1 0.5 0.1
Fer-1
Cis
化合物7
化合物1
化合物2
化合物21
[μM]
n=3
*** p值<0.001相对于Cis
#Cis: 200 μM
##Fer-1 : 1μM

图23

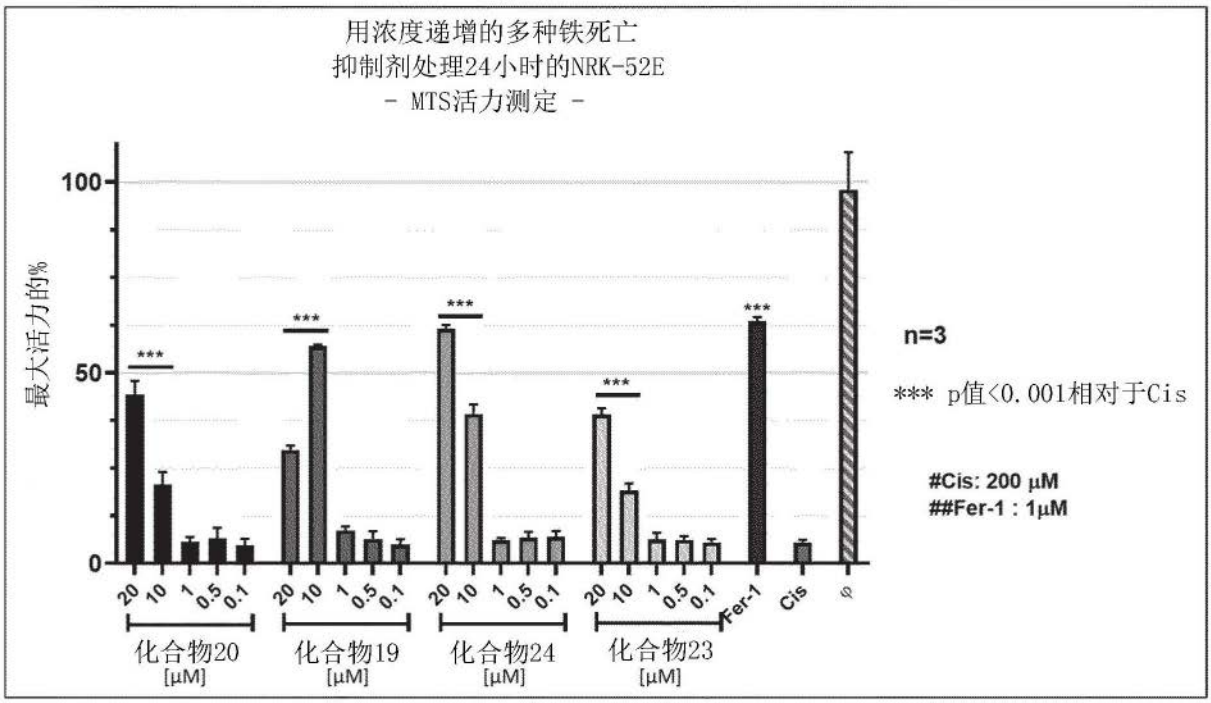

用浓度递增的多种铁死亡
抑制剂处理24小时的NRK-52E
- MTS活力测定 -
最大活力的%
100
50
0
***
20 10 1 0.5 0.1
Fer-1
Cis
化合物20
化合物19
化合物24
化合物23
[μM]
n=3
*** p值<0.001相对于Cis
#Cis: 200 μM
##Fer-1 : 1μM

图24

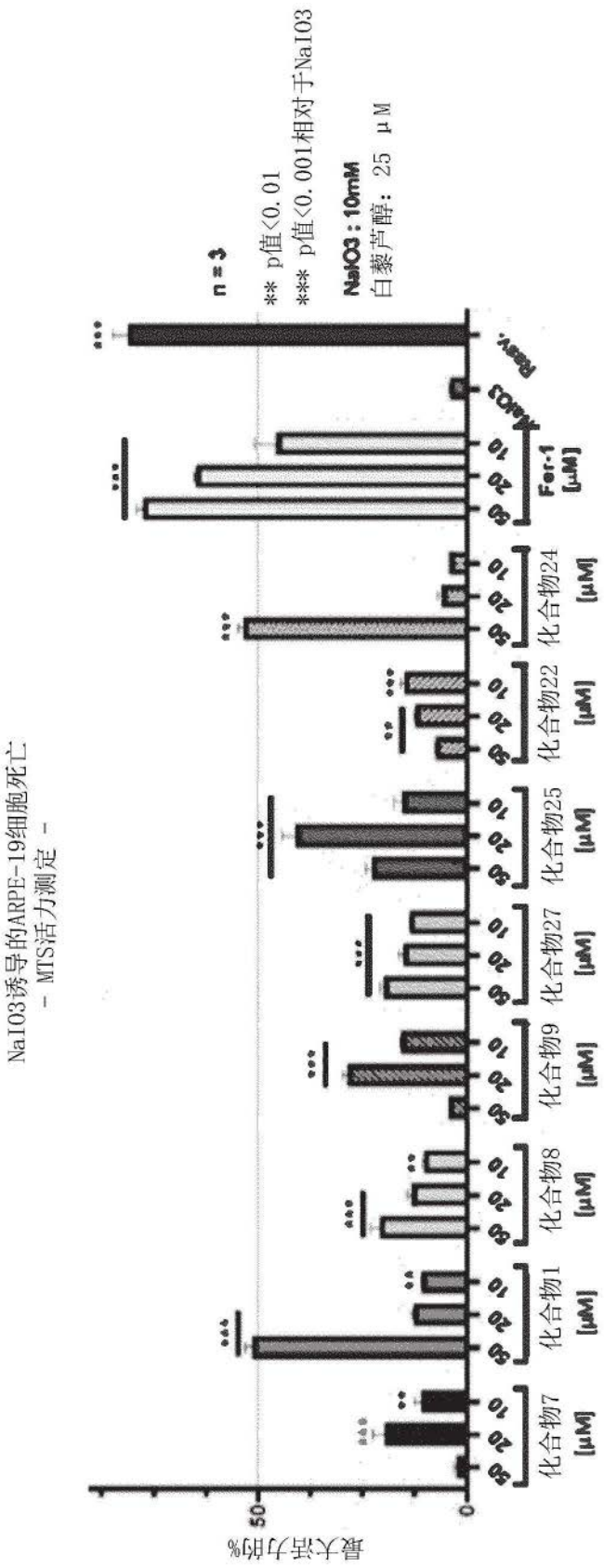

NaIO3诱导的ARPE-19细胞死亡
- MTS活力测定 -
最大活力的%
n = 3
** p值<0.01
*** p值<0.001相对于NaIO3
NaIO3 : 10mM
白藜芦醇：25 μM
Ferr.-1
[μM]
化合物7
化合物1
化合物8
化合物9
化合物27
化合物25
化合物22
化合物24

图25

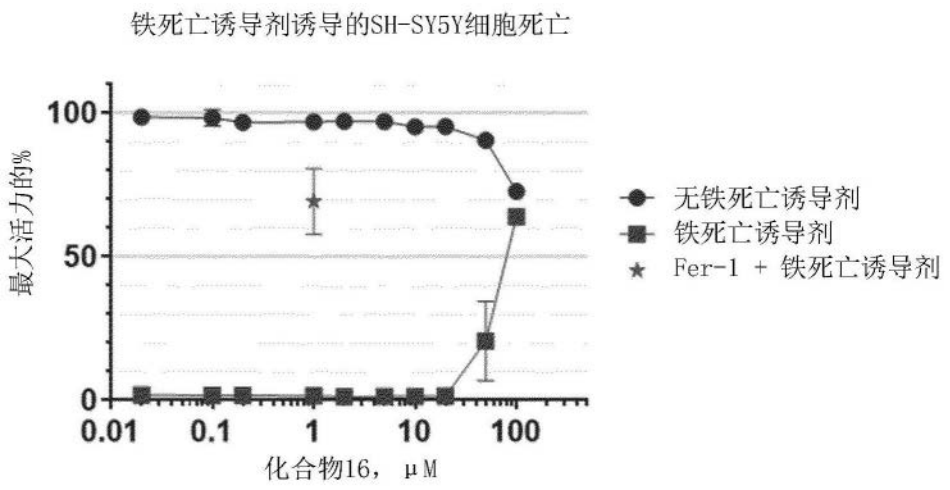

铁死亡诱导剂诱导的SH-SY5Y细胞死亡
最大活力的%
100
50
0
0.01
0.1
1
10
100
化合物16，μM
无铁死亡诱导剂
铁死亡诱导剂
Fer-1 + 铁死亡诱导剂

图26

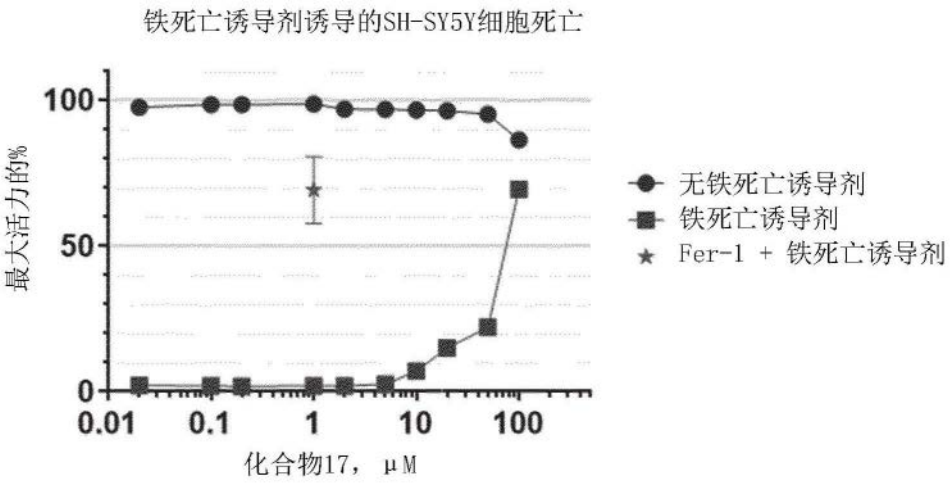

铁死亡诱导剂诱导的SH-SY5Y细胞死亡
最大活力的%
100
50
0
0.01
0.1
1
10
100
化合物17，μM
无铁死亡诱导剂
铁死亡诱导剂
Fer-1 + 铁死亡诱导剂

图27

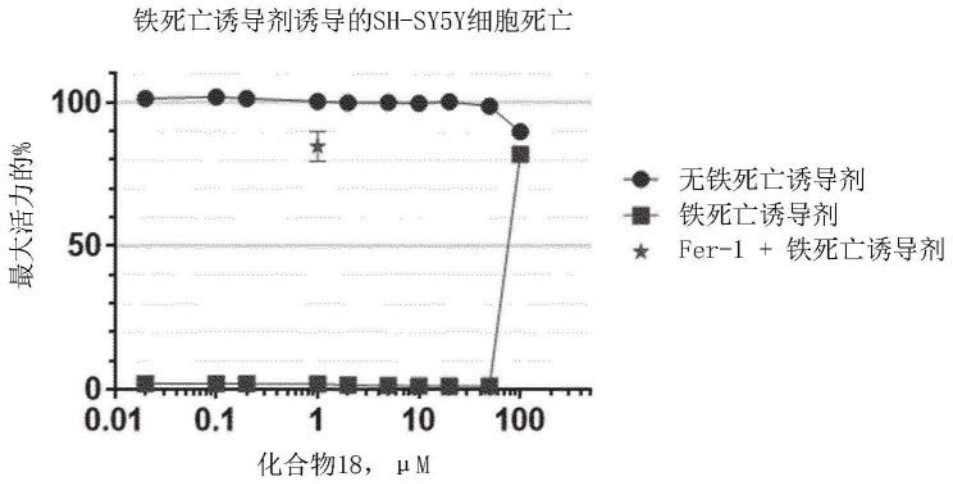
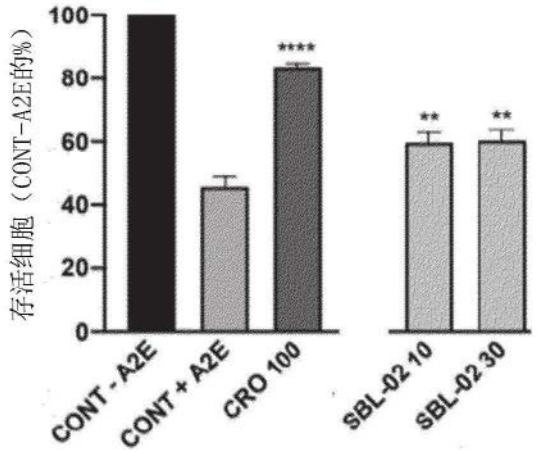


图28



方差分析+Dunett检验：****p<0.0001；**p<0.01相比于CONT + A2E

图29

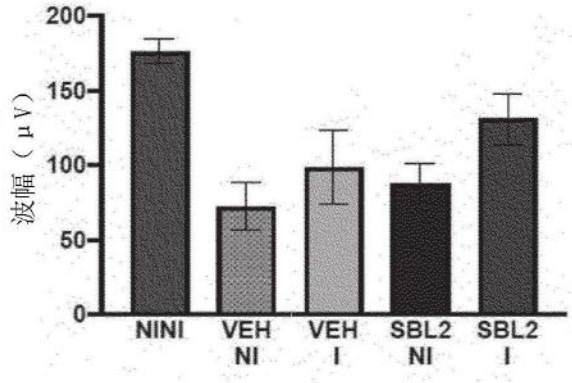


图30

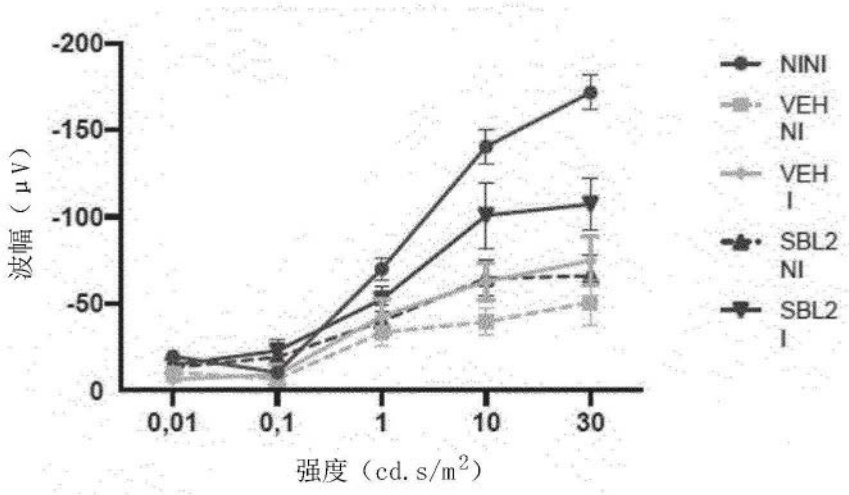

-200
-150
-100
-50
0
波幅（μV）
0,01
0,1
1
10
30
强度（cd.s/m2）
NINI
VEHNI
VEHI
SBL2NI
SBL2I

图31

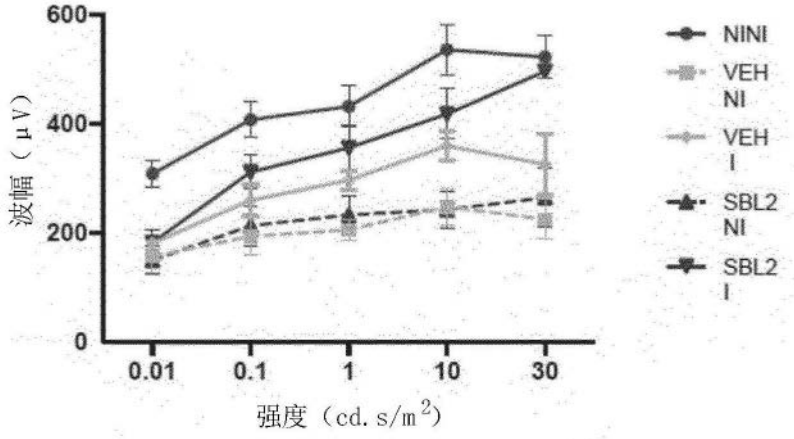

600
400
200
0
波幅（μV）
0.01
0.1
1
10
30
强度（cd.s/m2）
NINI
VEHNI
VEHI
SBL2NI
SBL2I

图32

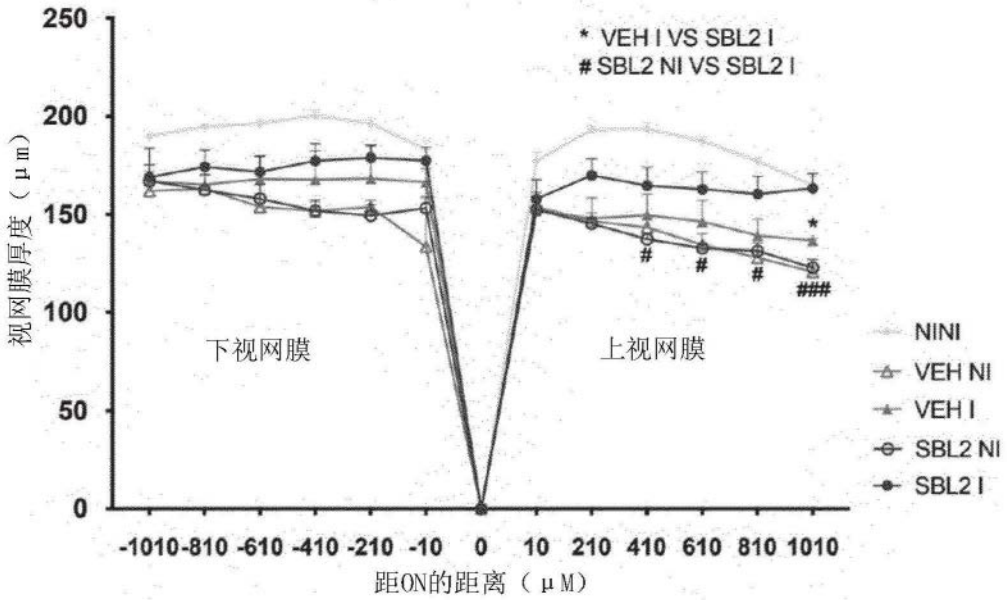

* VEH I VS SBL2 I
# SBL2 NI VS SBL2 I
视网膜厚度（μm）
250
200
150
100
50
0
下视网膜
上视网膜
-1010 -810 -610 -410 -210 -10 0 10 210 410 610 810 1010
距ON的距离（μM）
NINI
VEH NI
VEH I
SBL2 NI
SBL2 I

图33

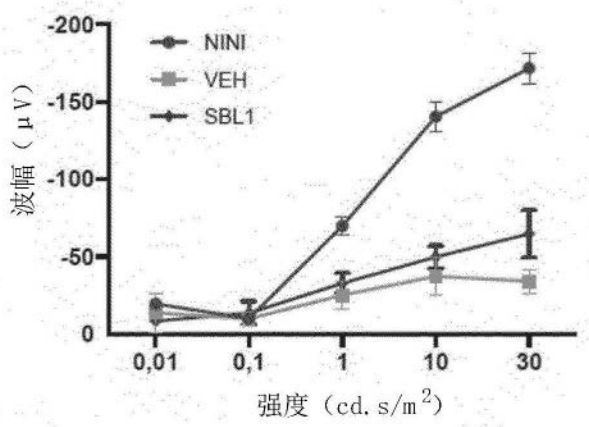

-200
-150
-100
-50
0
波幅（μV）
NINI
VEH
SBL1
0,01
0,1
1
10
30
强度（cd.s/m²）

图34

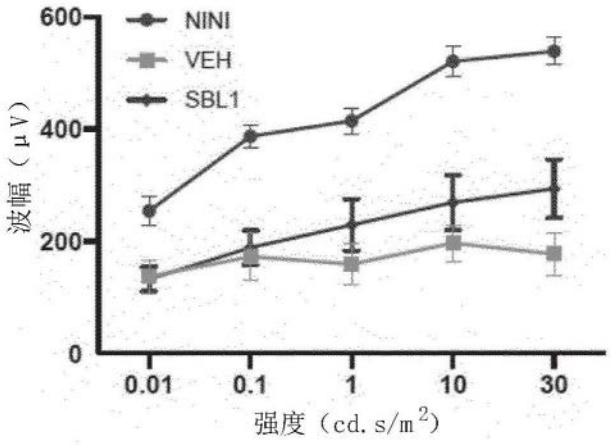

600
400
200
0
波幅（μV）
NINI
VEH
SBL1
0.01
0.1
1
10
30
强度（cd.s/m²）

图35

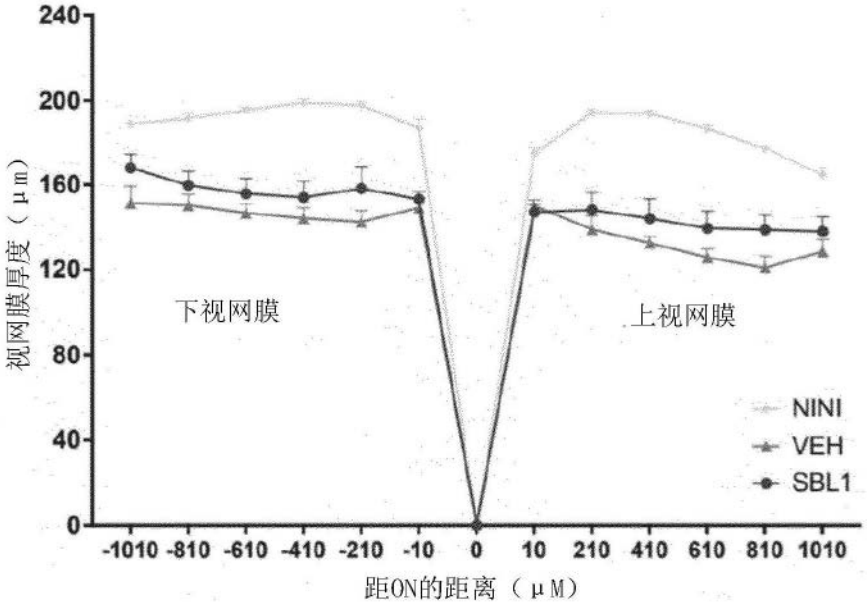

240
200
160
120
80
40
0
视网膜厚度（μm）
下视网膜
上视网膜
NINI
VEH
SBL1
-1010 -810 -610 -410 -210 -10 0 10 210 410 610 810 1010
距ON的距离（μM）

图36

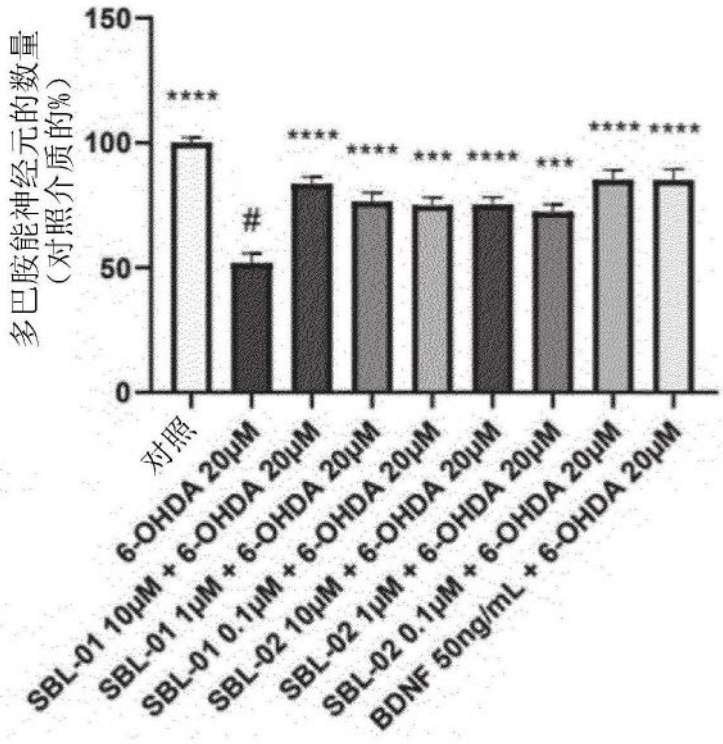

多巴胺能神经元的数量
（对照介质的%）
150
100
50
0
****
#
****
****
***
****
***
****
****
对照
6-OHDA 20μM
SBL-01 10μM + 6-OHDA 20μM
SBL-01 1μM + 6-OHDA 20μM
SBL-01 0.1μM + 6-OHDA 20μM
SBL-02 10μM + 6-OHDA 20μM
SBL-02 1μM + 6-OHDA 20μM
SBL-02 0.1μM + 6-OHDA 20μM
BDNF 50ng/mL + 6-OHDA 20μM

图37

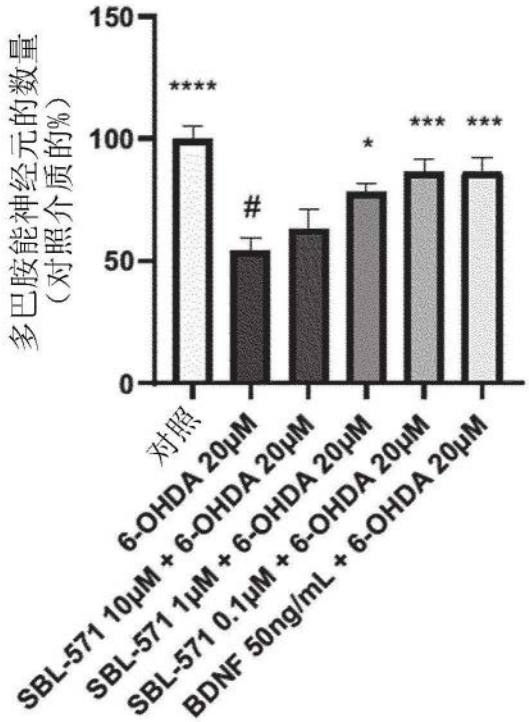

多巴胺能神经元的数量
（对照介质的%）
150
100
50
0
****
#
*
***
***
对照
6-OHDA 20μM
SBL-571 10μM + 6-OHDA 20μM
SBL-571 1μM + 6-OHDA 20μM
SBL-571 0.1μM + 6-OHDA 20μM
BDNF 50ng/mL + 6-OHDA 20μM

图38

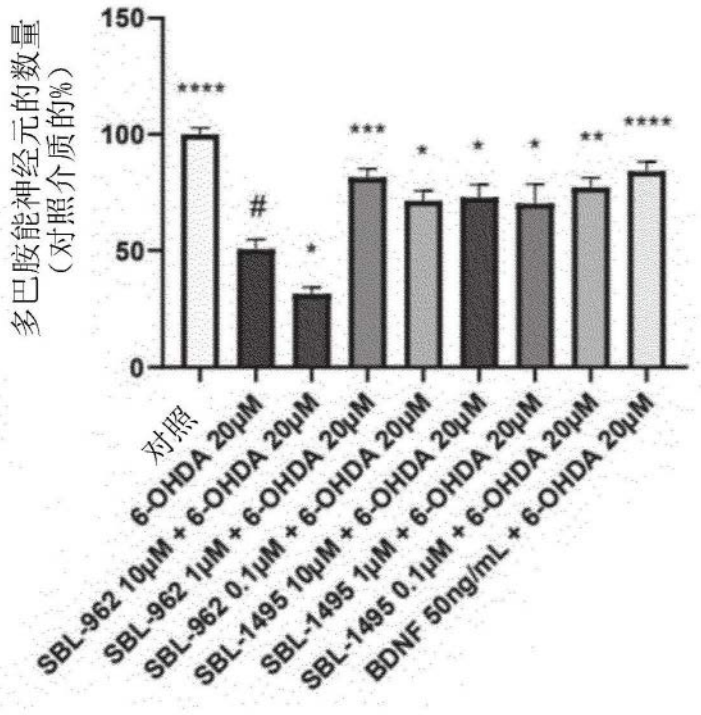

多巴胺能神经元的数量
（对照介质的%）
150
100
50
0
****
#
*
***
*
*
*
**
****
对照
6-OHDA 20μM
SBL-962 10μM + 6-OHDA 20μM
SBL-962 1μM + 6-OHDA 20μM
SBL-962 0.1μM + 6-OHDA 20μM
SBL-1495 10μM + 6-OHDA 20μM
SBL-1495 1μM + 6-OHDA 20μM
SBL-1495 0.1μM + 6-OHDA 20μM
BDNF 50ng/mL + 6-OHDA 20μM

图39

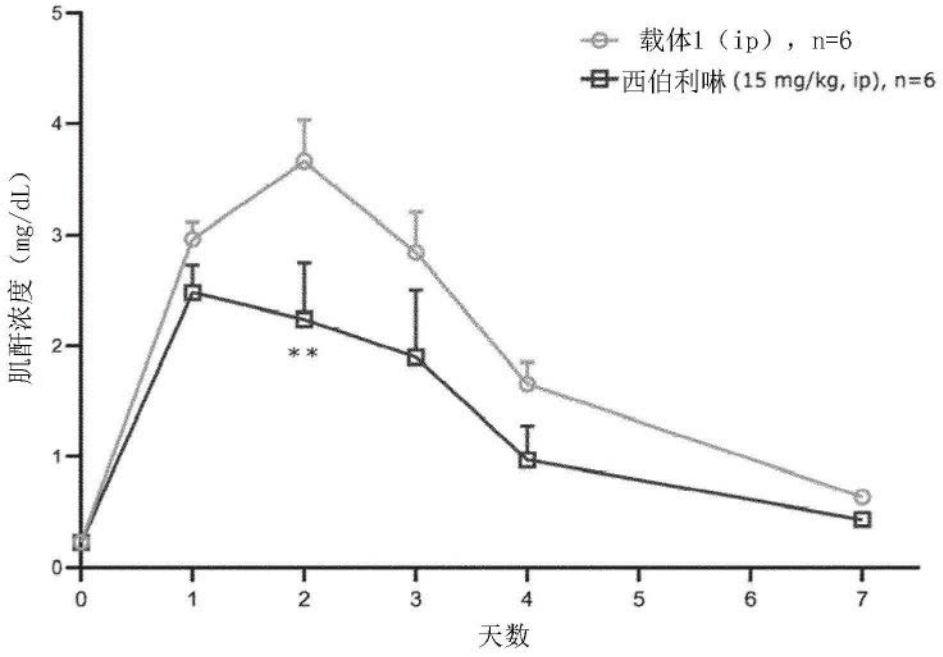

载体1（ip），n=6
西伯利啉 (15 mg/kg, ip), n=6
肌酐浓度（mg/dL）
5
4
3
2
1
0
**
0
1
2
3
4
5
6
7
天数

图40

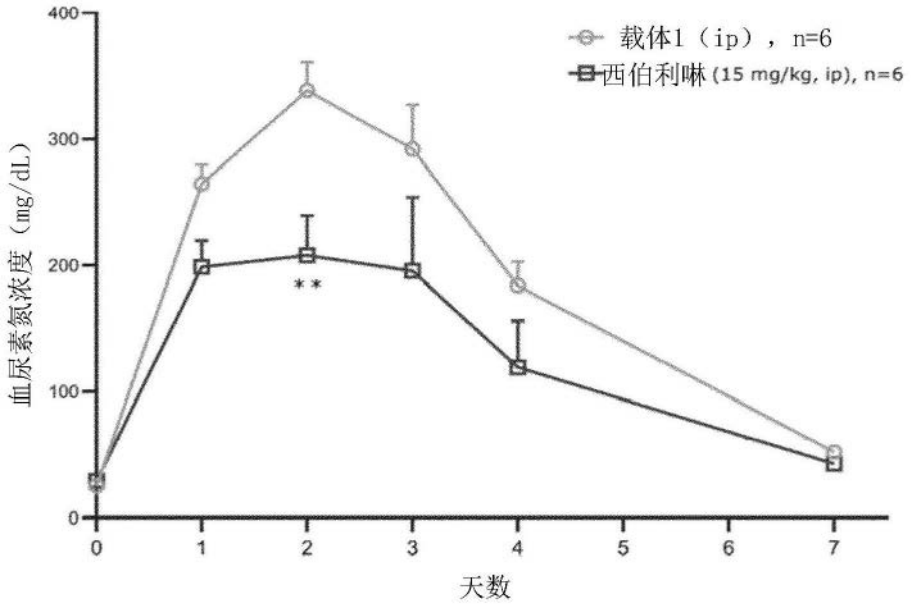

载体1（ip），n=6
西伯利啉(15 mg/kg, ip), n=6
血尿素氮浓度（mg/dL）
400
300
200
100
0
**
0
1
2
3
4
5
6
7
天数

图41