(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108463462 B
(45)授权公告日 2021.06.22

(21)申请号 201680058504.6
(22)申请日 2016.08.04
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108463462 A
(43)申请公布日 2018.08.28
(30)优先权数据
2015903111 2015.08.04 AU
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.04.04
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/AU2016/050703 2016.08.04
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/020086 EN 2017.02.09
(73)专利权人 催化剂治疗私人有限公司
地址 澳大利亚维多利亚州
(72)发明人 C·伯恩斯 J-M·加尼叶
P·P·夏普 J·福特里利 (续)
(74)专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266
代理人 陆凤 刘妍珺
(51)Int.Cl.
C07D 487/04(2006.01) (续)
(56)对比文件
WO 2012068149 A1,2012.05.24
WO 2012151512 A2,2012.11.08
Majumdar, K. C.,等.Catalyst-free 1,3-dipolar cycloaddition: an efficientroute for the formation of the 1,2,3-triazole-fused diazepinone framework.《Synthesis》.2009,(第5期),858-862.
Irini Akritopoulou-Zanze,等.A versatile synthesis of fused triazolo derivatives by sequential Ugi/alkyne-azide cycloaddition reactions.《Tetrahedron Letters》.2004,第45卷(第46期),8439-8441. (续)
审查员 孙静

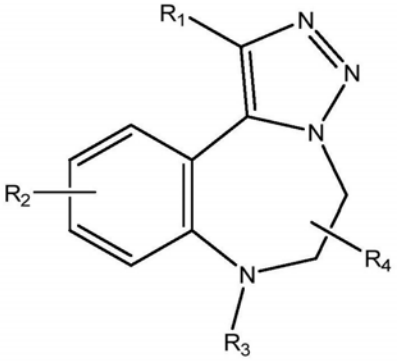
权利要求书4页 说明书93页

(54)发明名称

苯二氮䓬类作为溴结构域抑制剂

(57)摘要

本发明提供了新的式I苯并二氮䓬衍生物或其药学上可接受的衍生物、多晶型物、盐或前药。所述化合物具有作为溴结构域(BRD)抑制剂的潜力。



I

CN 108463462 B

[转续页]

[接上页]

(72)发明人 A·卡佐普

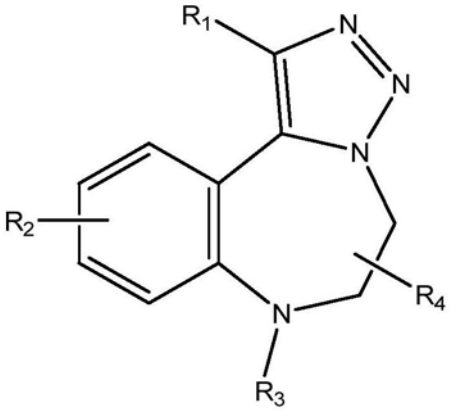
(51)Int.Cl.
A61K 31/5517(2006.01)

(56)对比文件

Wenyuan Qian,等.One-Pot Synthesis of 3-Triazolyl-2-iminochromenes via a Catalytic Three Component Cascade Reaction.《ORGANIC LETTERS》.2013,第15卷(第12期),2986-2989.

MOLTENI, G.,等.Three-Step Synthesis of Triazolobenzodiazepinones via Sonogashira/Huisgen Protocol..《Heterocycles》.2013,第87卷(第8期),1765-1773.

1.式I化合物或其药学上可接受的盐



I

其中：

R_1选自H、C_{1-4}烷基、CF_3、CF_2H、C_{1-4}烷基XH、C_{1-4}烷基$OCOR_5$；其中X＝O、S；

R_2为0-3个独立地选自下组的取代基：C_{1-4}烷基、CN、Cl、Br、I、杂环基、OC_{1-4}烷基、杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基杂芳基、羟基、硝基、COR_6、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、SO_2NHCOR_5、$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6、C_{1-4}烷基OR_6、NR_5R_6、NR_5COR_6、$NR_7CONR_5R_6$和$NR_5CO_2R_6$；

R_3选自C_{1-4}烷基、C_{3-10}环烷基、杂环基、C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基；

R_4为相同或相邻碳原子上的0至2个选自下组的基团：氧代基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷基OH、C_{1-4}烷基$OCOR_5$、C_{1-4}烷基$CONR_5R_6$、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基杂芳基；

R_5和R_6独立地选自氢、C_{1-4}烷基、C_{3-10}环烷基、杂环基、C_{6-10}芳基、杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基和C_{1-4}烷基杂芳基；

或者R_5和R_6与相同的原子连接并形成大小为4至10个碳原子的任选取代的环，其中一个或多个碳原子任选地被O、S、S(O)、SO_2、或NR_7取代；其中，所述环任选地被一个或多个各自独立选自下组的取代基所取代：C_1-C_3烷基、C_{2-3}烯基、C_3-C_6环烷基、C_6芳基、杂环基、杂芳基、C_1-C_3烷基OH、氧代基、烷基芳基、OH、OC_1-C_3烷基、卤素、CN、NO_2、CO_2H、CO_2C_1-C_3烷基、$CONH_2$、CONH(C_1-C_3烷基)、CON(C_1-C_3烷基)$_2$、三氟甲基、NH_2、NH(C_1-C_3烷基)或N(C_1-C_3烷基)$_2$；和

R_7选自氢和C_{1-4}烷基；

各个杂芳基为5元或6元杂芳环，其可与5或6元芳环或杂芳环稠合形成双环芳族环体系；

各个杂环基是3-6元杂环；

并且每个烷基、环烷基、杂环基、杂芳基、和芳基是任选取代的，其中各个可选的取代基独立选自下组：C_1-C_3烷基、C_{2-3}烯基、C_3-C_6环烷基、C_6芳基、杂环基、杂芳基、C_1-C_3烷基OH、氧代基、烷基芳基、OH、OC_1-C_3烷基、卤素、CN、NO_2、CO_2H、CO_2C_1-C_3烷基、$CONH_2$、CONH(C_1-C_3烷基)、CON(C_1-C_3烷基)$_2$、三氟甲基、NH_2、NH(C_1-C_3烷基)、N(C_1-C_3烷基)$_2$和CH(OH)CRR’(OH)，其中R和R’各自独立地为H或C_{1-4}烷基。

2.如权利要求1所述式I化合物或其药学上可接受的盐

其中，

R_1选自C_{1-4}烷基、CF_3、CF_2H、C_{1-4}烷基XH；其中X＝O、S；

R_2为0-3个独立地选自下组的取代基：取代的C_{1-4}烷基、CN、Cl、Br、I、杂环基、杂芳基、C_{1-4}

烷基杂芳基、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6、C_{1-4}烷基OR_6；其中，所述取代的C_{1-4}烷基被一个或多个独立地选自下组的取代基所取代：杂环基、卤素、OH；

R_3选自C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基；其中，所述C_{6-10}芳基或所述C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基的C_{6-10}芳基部分任选地被一个或多个独立地选自下组的取代基所取代：C_1-C_3烷基、C_{2-3}烯基、C_1-C_3烷基OH、OH、OC_1-C_3烷基、卤素、CN、NO_2、CO_2H、CO_2C_1-C_3烷基、$CONH_2$、CONH(C_1-C_3烷基)、CON(C_1-C_3烷基)$_2$、三氟甲基、NH_2、NH(C_1-C_3烷基)、N(C_1-C_3烷基)$_2$和CH(OH)CRR'(OH)，其中R和R'各自独立地为H或C_{1-4}烷基；

R_4为相同或相邻碳原子上的0至2个选自下组的基团：C_{1-4}烷基、和C_{1-4}烷基OH；

R_5和R_6独立地选自氢、C_{1-4}烷基、C_{3-10}环烷基、杂环基、C_{6-10}芳基、杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基和C_{1-4}烷基杂芳基；

或者，R_5和R_6与相同的原子连接并形成大小为4至10个碳原子的任选取代的环，其中一个或多个碳原子任选地被O、S、S(O)、SO_2、或NR_7取代；其中，所述环任选地被一个或多个各自独立选自下组的取代基所取代：C_1-C_3烷基、C_{2-3}烯基、C_3-C_6环烷基、C_6芳基、杂环基、杂芳基、C_1-C_3烷基OH、氧代基、烷基芳基、OH、OC_1-C_3烷基、卤素、CN、NO_2、CO_2H、CO_2C_1-C_3烷基、$CONH_2$、CONH(C_1-C_3烷基)、CON(C_1-C_3烷基)$_2$、三氟甲基、NH_2、NH(C_1-C_3烷基)或N(C_1-C_3烷基)$_2$；和

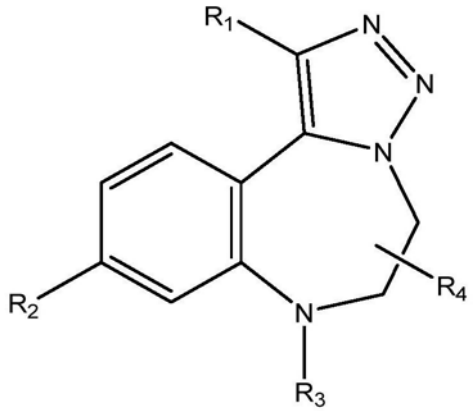
R_7选自氢和C_{1-4}烷基；

各个杂芳基为5元或6元杂芳环；

其中各个杂环基是3-6元杂环；

并且，每个烷基、环烷基、杂环基、杂芳基、和芳基是任选取代的，并且各个可选的取代基独立选自下组：C_1-C_3烷基、C_{2-3}烯基、C_3-C_6环烷基、C_6芳基、杂环基、杂芳基、C_1-C_3烷基OH、氧代基、烷基芳基、OH、OC_1-C_3烷基、卤素、CN、NO_2、CO_2H、CO_2C_1-C_3烷基、$CONH_2$、CONH(C_1-C_3烷基)、CON(C_1-C_3烷基)$_2$、三氟甲基、NH_2、NH(C_1-C_3烷基)、N(C_1-C_3烷基)$_2$和CH(OH)CRR'(OH)，其中R和R'各自独立地为H或C_{1-4}烷基。

3.如权利要求1所述式I化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述的式I化合物为式II化合物：



II

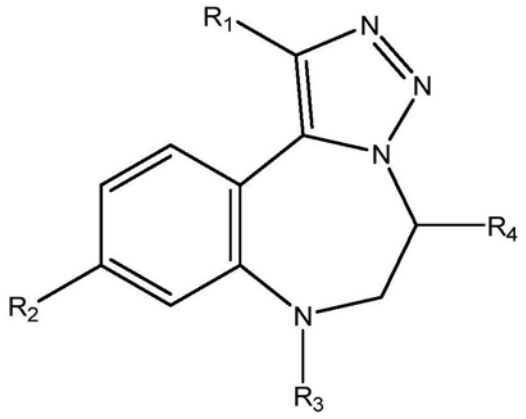
其中，

R_1、R_3和R_4如权利要求1中所定义；

R_2为0-1个选自下组的取代基：C_{1-4}烷基、CN、Cl、Br、I、杂环基、OC_{1-4}烷基、杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基杂芳基、羟基、硝基、COR_6、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、SO_2NHCOR_5、

$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6、C_{1-4}烷基OR_6、NR_5R_6、NR_5COR_6、$NR_7CONR_5R_6$和$NR_5CO_2R_6$。

4.如权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述的式I化合物为式III化合物：



III

其中，

R_1和R_3如权利要求1中所定义；

R_2为0-1个选自下组的取代基：C_{1-4}烷基、CN、Cl、Br、I、杂环基、OC_{1-4}烷基、杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基杂芳基、羟基、硝基、COR_6、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、SO_2NHCOR_5、$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6、C_{1-4}烷基OR_6、NR_5R_6、NR_5COR_6、$NR_7CONR_5R_6$和$NR_5CO_2R_6$

R_4为0至1个选自下组的基团：氧代基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷基OH、C_{1-4}烷基$OCOR_5$、C_{1-4}烷基$CONR_5R_6$、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基杂芳基。

5.如权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，

其中

R_1选自H或C_{1-4}烷基，

R_2为0-3个独立地选自下组的取代基：C_{1-4}烷基、CN、Cl、Br、I、杂环基、OC_{1-4}烷基、杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基杂芳基、羟基、硝基、COR_6、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、SO_2NHCOR_5、$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6、C_{1-4}烷基OR_6、NR_5R_6、NR_5COR_6、$NR_7CONR_5R_6$、和$NR_5CO_2R_6$；

R_3为C_{6-10}芳基；

R_4为相同或相邻碳原子上的0至2个选自下组的基团C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷基OH、C_{1-4}烷基$OCOR_5$、C_{1-4}烷基$CONR_5R_6$、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基杂芳基；

R_5和R_6独立地选自氢、C_{1-4}烷基、C_{3-10}环烷基、杂环基、C_{6-10}芳基、杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基和C_{1-4}烷基杂芳基；

或者R_5和R_6与相同的原子连接并形成大小为4至10个碳原子的任选取代的环，其中一个或多个碳原子任选地被O、S、S(O)、SO_2、或NR_7取代；其中，所述环任选地被一个或多个各自独立选自下组的取代基所取代：C_1-C_3烷基、C_{2-3}烯基、C_3-C_6环烷基、C_6芳基、杂环基、杂芳基、C_1-C_3烷基OH、氧代基、烷基芳基、OH、OC_1-C_3烷基、卤素、CN、NO_2、CO_2H、CO_2C_1-C_3烷基、$CONH_2$、CONH(C_1-C_3烷基)、CON(C_1-C_3烷基)$_2$、三氟甲基、NH_2、NH(C_1-C_3烷基)或N(C_1-C_3烷基)$_2$；和

R_7选自氢和C_{1-4}烷基

各个杂芳基为5元或6元杂芳环，其可与5或6元芳环或杂芳环稠合形成双环芳族环体系；

各个杂环基是3-6元杂环；

并且，每个烷基、环烷基、杂环基、杂芳基、和芳基是任选取代的，并且各个可选取代基独立选自下组的取代基所取代：C_1-C_3烷基、C_{2-3}烯基、C_3-C_6环烷基、C_6芳基、杂环基、杂芳基、C_1-C_3烷基OH、氧代基、烷基芳基、OH、OC_1-C_3烷基、卤素、CN、NO_2、CO_2H、CO_2C_1-C_3烷基、$CONH_2$、CONH(C_1-C_3烷基)、CON(C_1-C_3烷基)$_2$、三氟甲基，NH_2、NH(C_1-C_3烷基)、N(C_1-C_3烷基)$_2$和CH(OH)CRR'(OH)，其中R和R'各自独立地为H或C_{1-4}烷基。

6.如权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_3为C_6芳基。

7.如权利要求6所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_3是间位或对位取代的。

8.如权利要求7所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_3是对位取代的。

9.如权利要求7所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_3的取代基选自Cl、F、Br、CN、CH(OH)CRR'(OH)，其中R和R'各自独立地为H或C_{1-4}烷基。

10.如权利要求9所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，

其中R_1为C_{1-4}烷基。

11.如权利要求10所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，

其中R_1为甲基。

12.如权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_4选自H、烷基、CH_2CONR(R)、CH_2CO_2R、CH_2NHCOR、$(CH_2)_n$杂芳基，其中，R各自独立地为H或C_{1-4}烷基，n＝1-4。

13.如权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_2选自CN、杂芳基、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6。

14.如权利要求13所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中R_2选自CN、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、$CONR_5OR_6$和杂芳基。

15.如权利要求13所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_2为$CONR_5R_6$，R_5为H和R_6为C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基。

16.如权利要求15所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_6为1,1-乙苯。

17.如权利要求13所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_2为杂芳基。

18.如权利要求17所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，其中R_2为四唑或3-氧代基-1,2,4-异恶唑。

19.一种组合物，其包含如权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的盐，和药学上可接受的赋形剂。

20.权利要求1-18中任一项所述的式I化合物或其药学上可接受的盐或权利要求19所述组合物在制备用于对有需要的患者治疗含溴结构域蛋白介导疾病的药物中的用途。

21.如权利要求20所述的用途，其中所述的含溴结构域蛋白介导疾病选自下组：白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、实体瘤、肝炎、克罗恩氏病、肠易激综合征、组织移植排斥、多发性硬化症、帕金森病、阿尔茨海默氏病、I型糖尿病、类风湿性关节炎、银屑病关节炎和骨关节炎，或它们的组合。

22.如权利要求21所述的用途，其中所述实体瘤选自下组：非小细胞肺癌、骨肉瘤和成胶质细胞瘤，或它们的组合。

苯二氮䓬类作为溴结构域抑制剂

技术领域

[0001] 本发明提供了新型苯二氮䓬类衍生物。所述化合物具有作为溴结构域(BRD)抑制剂的潜力。

背景技术

[0002] 存在于一些蛋白质中的溴结构域(BRD)是一种与各类蛋白质的N-乙酰化赖氨酸残基结合的保守结构基序。BRD作为功能不同的模块出现在多种蛋白质中,包括核染色 质相关蛋白,组蛋白乙酰转移酶和转录激活因子。针对溴结构域与其同源N-乙酰化蛋 白结合配体之间相互作用的抑制剂被认为可用于治疗多种疾病或病症,例如癌症以及 慢性自身免疫性和炎性病症。

[0003] 溴结构域和超碳末端域(BET)蛋白家族由四个成员组成(BRD2,BRD3,BRD4和BRDT)。BRD2,BRD3和BRD4广泛表达,而BRDT的表达主要限于睾丸。BET家族的 每个成员都拥有两个溴结构域基序,它们与组蛋白的氨基末端尾部N-乙酰化赖氨酸残 基结合。这些蛋白一旦结合,通过影响核染色质状态并将转录因子募集到核染色质内 的特定基因组位置来调节基因表达。例如,BRD4和BRDT分别募集CDK9和细胞周期 蛋白T1,它们一起构成正性转录延伸因子b(P-TEFb)的催化亚基。这导致RNA聚合酶II 的羧基末端结构域(CTD)七肽重复区的磷酸化,从而促进参与细胞周期进展的基因子 集的转录延伸和表达。BRD2和BRD3已显示与几种转录共激活因子和/或共抑制物相 关,其调节包括细胞周期蛋白A和细胞周期蛋白D1的各种基因的转录控制。此外,据 报道BRD2和BRD4具有非典型激酶活性,并且BRD4也被报道与乙酰化的RelA,一种 NF-κB亚单元结合。

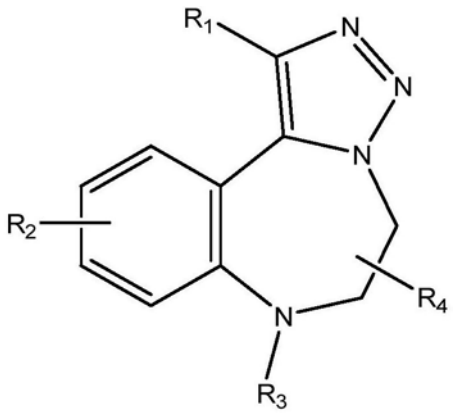
[0004] BET家族成员最近被证明参与了几种癌症类型的维持和进展,包括白血病,淋巴瘤,多发性骨髓瘤和实体瘤如非小细胞肺癌,骨肉瘤和成胶质细胞瘤。BRD4(和较少 程度的BRD3)与睾丸基因中核蛋白(NUT)之间的融合导致了鳞状细胞癌,称为NUT中 线癌(NMC)。BET家族成员还牵涉介导急性炎症反应和HIV相关肾病。BRD2功能也与 肥胖和II型糖尿病有关。人类免疫缺陷病毒利用BRD4从稳定完整的病毒DNA中启动病 毒RNA的转录。BET溴结构域抑制剂也显示在潜伏性T细胞感染和潜伏性单核细胞感 染模型中重新激活HIV转录。BRDT在精子形成以及对乙酰化组蛋白和BRDT的正常结 合的阻断中均具有重要作用,这可能具有作为男性避孕药的效用。

[0005] 因此,目前有持续的医疗需求来开发新的药物以治疗涉及溴结构域功能,包括BET溴结构域功能的疾病和适应症。

[0006] 对本说明书中包含的文件,行为,材料,设备,文章等的任何讨论不应被视为承 认这些事件中的任何一个或全部构成现有技术基础的一部分或者是本申请每个权利 要求优先权日之前存在的本申请相关领域中的普通常识。

发明内容

[0007] 一方面,提供了式I化合物或其药学上可接受的衍生物、多晶型物、盐或前药

[0008] 

I

[0009] 其中：

[0010] R_1选自H、C_{1-4}烷基、CF_3、CF_2H、C_{1-4}烷基XH、C_{1-4}烷基$OCOR_5$；其中X＝O、S；

[0011] R_2为0-3个独立的选自下组的取代基：C_{1-4}烷基、CN、Cl、Br、I、C_{3-10}杂环基、OC_{1-4}烷基、C_{5-10}杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{5-10}杂芳基、羟基、硝基、COR_6、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、SO_2NHCOR_5、$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6、C_{1-4}烷基OR_6、NR_5R_6、NR_5COR_6、$NR_7CONR_5R_6$和$NR_5CO_2R_6$；

[0012] R_3选自C_{1-4}烷基、C_{3-10}环烷基、C_{3-10}杂环基、C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基；

[0013] R_4为相同或相邻碳原子上的1至2个选自下组的基团：氧代基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷 基OH、C_{1-4}烷基$OCOR_5$、C_{1-4}烷基$CONR_5R_6$、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{5-10}杂芳基；

[0014] R_5和R_6独立地选自下组：氢、C_{1-4}烷基、C_{3-10}环烷基、C_{3-10}杂环基、C_{6-10}芳基、C_{5-10}杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基和C_{1-4}烷基C_{5-10}杂芳基；

[0015] 或者R_5和R_6与相同的原子连接并形成大小为4至10个碳原子的任选取代的环，其中一个或多个碳原子任选地被O、S、S(O)、SO_2、或NR_7取代；和

[0016] R_7选自氢和C_{1-4}烷基

[0017] 并且进一步地，除非另有说明，每个烷基、环烷基、杂环基、杂芳基、和芳基任 选被取代。

[0018] 另一方面，提供了包含本发明化合物和药学上可接受的赋形剂的组合物。

[0019] 另一方面，本发明提供了一种对有需要的患者治疗含溴结构域蛋白介导的疾病的方法，包括步骤：给予所述患者本发明化合物或组合物。

[0020] 又一方面，提供了一种用于对有需要的患者治疗含溴结构域蛋白介导的疾病的本发明化合物或组合物。

[0021] 另一方面，提供了本发明的化合物或组合物在制备用于对有需要的患者治疗含溴结构域蛋白介导的疾病的药物中的用途。

[0022] 详细描述

[0023] 表观遗传学是研究由基础DNA序列变化以外的机制引起的基因表达中可遗传变化。在表观遗传调控中发挥作用的分子机制包括DNA甲基化和核染色质/组蛋白修饰。核染色质的识别尤其在许多表观遗传现象中至关重要。

[0024] 核染色质是核DNA和组蛋白有组织的组装体，是许多重要核过程的基础，包括对转录、复制、DNA损伤修复和贯穿细胞周期进程的调节。许多因素，例如核染色质修 饰酶，已

被确定在维持核染色质的动态平衡方面发挥重要作用(Margueron等(2005) Curr.Opin.Genet.Dev.15:163-176)。

[0025] 组蛋白是核染色质的主要蛋白质组分。它们充当DNA卷绕的绕线轴,并且它们在基因调节中发挥作用。总共有六类组蛋白(H1,H2A,H2B,H3,H4和H5)组成两个超 级类别:核心组蛋白(H2A,H2B,H3和H4)和接头组蛋白(H1和H5)。核染色质的基本 单元是核小体,其由包裹在组蛋白八聚体周围的约147个DNA碱基对组成,每个核心 组蛋白H2A,H2B,H3和H4由两个拷贝组成(Luger等(1997)Nature 389:251-260)。

[0026] 组蛋白,特别是组蛋白H3和H4的氨基末端以及组蛋白H2A,H2B和H1的氨基和 羧基末端的残基易受各种翻译后修饰的影响,包括乙酰化,甲基化,磷酸化,核糖基 化类泛素化,泛素化,瓜氨酸化,和生物素化。组蛋白H2A和H3的核心也可以被修饰。 组蛋白修饰对于多种生物过程是必不可少的,例如基因调控,DNA修复和染色体浓缩。

[0027] 一类组蛋白修饰,即赖氨酸乙酰化,被含溴结构域的蛋白识别。含溴结构域的蛋白质是转录因子复合物的组成部分并且是表观遗传记忆的决定因子(Dey等(2009) Mol.Biol.Cell 20:4899-4909)。迄今为止,共发现了46种、共含有57个溴结构域的人 蛋白质。一类含溴结构域的蛋白家族,BET蛋白(BRD2,BRD3,BRD4和BRDT)已被 用于建立靶向表观遗传“阅读者”的蛋白-蛋白相互作用的概念验证,而不是核染色质修 饰酶或所谓的表观遗传“书写者”和“清除者”(Filippakopoulos等"选择性抑制BET溴结 构域"Nature 2010、468、1067;Nicodeme等"通过合成的组蛋白模拟物对炎症的抑制 "Nature 2010、468、1119)。

[0028] 乙酰化组蛋白识别和含溴结构域蛋白(如BET蛋白)已涉及增殖性疾病。BRD4基因敲除小鼠在移植后不久即死亡,并且其维持内部细胞群的能力受到连累,并且杂合子 显示出与增殖速率降低相关的出生前和出生后的生长缺陷。BRD4调节在M/G1期间表 达的基因,包括生长相关基因,并且在整个细胞周期中仍与核染色质结合(Dey等(2009) Mol.Biol.Cell 20:4899-4909)。BRD4还与中介物和P-TEFb(CDK9/细胞周期蛋白T1) 物理性相关以促进转录延伸(Yang等(2005)Oncogene 24:1653-1662;Yang等(2005) Mol.Cell 19:535-545)。CDK9是慢性淋巴细胞白血病(CLL)中的有效靶标,并且与 c-Myc依赖性转录相关(Phelps等Blood 113:2637-2645;Rahl等(2010)Cell 141: 432-445)。

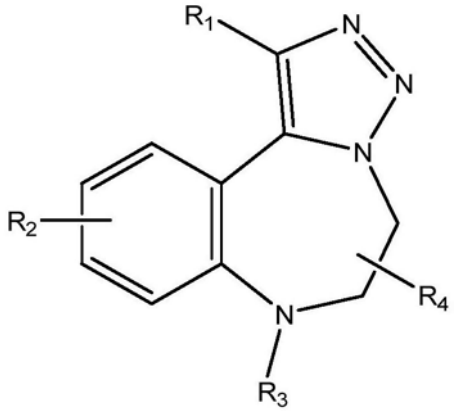
[0029] BRD4在致命中线癌(一种人类鳞状细胞癌的侵袭形式)患者的NUT蛋白中异位 (French等(2001)Am.J.Pathol.159:1987-1992;French等(2003)Cancer Res.63: 304-307)。用RNAi体外分析支持了BRD4在这种复发性(15;19)染色体易位中的因果作 用。BRD4溴结构域的药理学抑制导致了BRD4-NUT细胞系在体外和体内的生长停滞/ 分化(Filippakopoulos等"选择性抑制BET溴结构域"Nature 2010、468、1067)。

[0030] 含溴结构域的蛋白(如BET蛋白质)也与炎症性疾病有关。BET蛋白(例如BRD2, BRD3,BRD4和BRDT)调节了控制炎性基因表达的组蛋白乙酰化依赖性核染色质复合 物的组装(Hargreaves等(2009)Cell 138:129-145;LeRoy等(2008)Mol.Cell 30:51-60; Jang等(2005)Mol.Cell 19:523-534;Yang等(2005)Mol.Cell 19:535-545)。BET亚 家族的溴结构域一经抑制,关键炎症基因(二级应答基因)则下调,并且非应答基因(一 级应答基因)准备转录。BET溴结构域的抑制在体内可防止LPS诱导的内毒素休克和细 菌诱导的败血症(Nicodeme等"通过合成的组蛋白模拟物对炎症的抑制"Nature(2010 年11月10日在线发

布))。

[0031] 含溴结构域蛋白(如BET蛋白)也在病毒性疾病中发挥作用。例如,BRD4涉及人乳头瘤病毒(HPV)。在基底上皮细胞的HPV感染主要阶段,病毒基因组保持在染色体外 附加体中。在一些HPV菌株中,与HPV E2蛋白结合的BRD4起到将病毒基因组连接到 染色体的作用。E2对于E6/E7的抑制以及HPV病毒基因的激活都是至关重要的。BRD4 或BRD4-E2相互作用的破坏阻断了E2依赖性基因活化。BRD4还起到将其他种类的病 毒基因组连接到宿主核染色质(例如,疱疹病毒,Epstein-Barr病毒)的作用。事实上, 小分子BET抑制剂已显示能够从含有潜伏病毒的细胞潜伏中重新激活HIV(J.Leukoc. Biol.2012、92、1147;Cell Cycle、2013、12、452)。

[0032] 一方面,提供了式I化合物或其药学上可接受的衍生物、多晶型物、盐或前药

[0033] 

I

[0034] 其中:

[0035] R_1选自H、C_{1-4}烷基、CF_3、CF_2H、C_{1-4}烷基XH、C_{1-4}烷基$OCOR_5$;其中X=O、S;

[0036] R_2为0-3个独立的选自下组的取代基:C_{1-4}烷基、CN、Cl、Br、I、C_{3-10}杂环基、OC_{1-4}烷基、C_{5-10}杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{5-10}杂芳基、羟基、硝基、COR_6、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、SO_2NHCOR_5、$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6、C_{1-4}烷基OR_6、NR_5R_6、NR_5COR_6、$NR_7CONR_5R_6$和$NR_5CO_2R_6$;

[0037] R_3选自C_{1-4}烷基、C_{3-10}环烷基、C_{3-10}杂环基、C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基;

[0038] R_4为相同或相邻碳原子上的1至2个选自下组的基团:氧代基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷 基OH、C_{1-4}烷基$OCOR_5$、C_{1-4}烷基$CONR_5R_6$、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{5-10}杂芳基;

[0039] R_5和R_6独立地选自下组:氢、C_{1-4}烷基、C_{3-10}环烷基、C_{3-10}杂环基、C_{6-10}芳基、C_{5-10}杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基和C_{1-4}烷基C_{5-10}杂芳基;

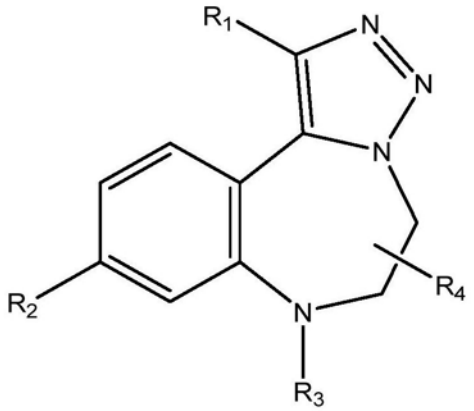
[0040] 或者R_5和R_6与相同的原子连接并形成大小为4至10个碳原子的任选取代的环,其中一个或多个碳原子任选地被O、S或NR_7取代;和

[0041] R_7选自氢和C_{1-4}烷基

[0042] 并且进一步地,除非另有说明,每个烷基、环烷基、杂环基、杂芳基、和芳基任 选被取代。

[0043] 在另一个实施方案中,式I化合物是式II化合物或其药学上可接受的衍生物、多晶型物、盐或前药。

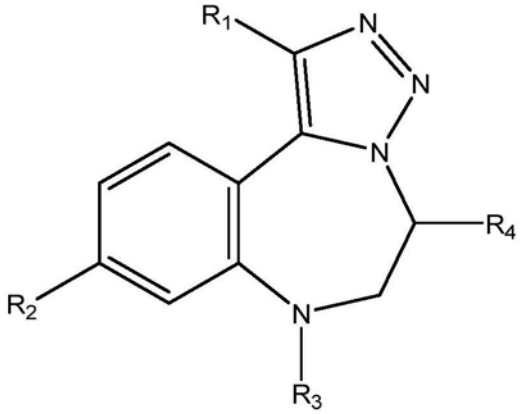
[0044]



II

[0045] 在另一个实施方案中，式I化合物是式III化合物或其药学上可接受的衍生物、多晶 型物、盐或前药

[0046]



III

[0047] 前提是R_4限制为0到1个基团。

[0048] 进一步提供了式I、II或III的化合物或其药学上可接受的衍生物、多晶型物、盐或前药

[0049] 其中

[0050] R_1选自H或C_{1-4}烷基；

[0051] R_2为0-3个独立地选自下组的取代基：C_{1-4}烷基、CN、Cl、Br、I、C_{3-10}杂环基、OC_{1-4}烷基、C_{5-10}杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{5-10}杂芳基、羟基、硝基、COR_6、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、SO_2NHCOR_5、$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6、C_{1-4}烷基OR_6、NR_5R_6、NR_5COR_6、$NR_7CONR_5R_6$、和$NR_5CO_2R_6$；

[0052] R_3为C_{6-10}芳基；

[0053] R_4为相同或相邻碳原子上的0至2个选自下组的基团：C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷基OH、C_{1-4}烷基$OCOR_5$、C_{1-4}烷基$CONR_5R_6$、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基、C_{1-4}烷基C_{5-10}杂芳基；

[0054] R_5和R_6独立地选自氢、C_{1-4}烷基、C_{3-10}环烷基、C_{3-10}杂环基、C_{6-10}芳基、C_{5-10}杂芳基、C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基和C_{1-4}烷基C_{5-10}杂芳基；

[0055] 或者R_5和R_6与相同的原子连接并形成大小为4至10个碳原子的任选取代的环，其中一个或多个碳原子任选地被O、S、S(O)、SO_2、或NR_7取代；和

[0056] R_7选自氢和C_{1-4}烷基

[0057] 并且进一步地，除非另有说明，每个烷基、环烷基、杂环基、杂芳基、和芳基任 选被取代。

[0058] 优选地，R_3为C_{6-10}芳基。

[0059] 更优选地，R_3是间位或对位取代的。

[0060] 更优选地，R_3是对位取代的。

[0061] 在优选的形式中，R_3的取代基选自下组：Cl、F、Br、CN、CH(OH)CRR'(OH)，其中R和R'＝H或C_{1-4}烷基。

[0062] 在进一步的优选形式中，R_1为C_{1-4}烷基，优选甲基。

[0063] 在优选的形式中，R_4选自下组：H、烷基、CH_2CONR_2(R＝H、C_{1-4}烷基)、CH_2CO_2R (R＝H、C_{1-4}烷基)、CH_2NHCOR、$(CH_2)_n$杂芳基(hetaryl)(其中n＝1-4)。

[0064] 在优选的形式中，R_2选自下组：CN、C_{5-10}杂芳基、CO_2R_6、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、$CONR_5OR_6$、C_{1-4}烷基NR_5R_6。

[0065] 在进一步的优选形式中，R_2选自CN、$CONR_5R_6$、$CONHSO_2R_5$、$CONR_5OR_6$和 C_{5-10}杂芳基。

[0066] 在另一实施例中，R_2为$CONR_5R_6$，R_5为H和R_6为C_{1-4}烷基C_{6-10}芳基。

[0067] 在另一实施例中，R_6为1,1-二乙基苯。

[0068] 在一种形式中，R_2为C_{5-10}杂芳基。优选地，R_2为四唑或3-氧代基-1,2,4-异恶唑。

[0069] 本发明还包括含有式I化合物前药的药物组合物。具有游离氨基、酰胺基、羟基或羧基的式I化合物可以转化成前药。

[0070] 前药包括化合物，其中存在于式I化合物的游离氨基、羟基或酸部分通过与上述取代基共价连接而衍生成官能团，例如碳酸酯，氨基甲酸酯，酰胺和烷基酯。前药还包 括通过与式I化合物游离羟基连接的磷氧键连接的式I化合物磷酸酯衍生物(例如酸，酸 的盐或酯)。制备这种前药衍生物以改变化合物分子性质，例如改善母体药物的水溶性 或细胞渗透性，或允许母体药物在需要的作用部位释放。在体内特定条件的存在下，前药部分经切割以释放母体药物。因此，例如，异羟肟酸部分可以通过游离羟基的酯 化而衍生以改善细胞渗透性。细胞内的酯部分断裂后，游离药物释放。同样，氨基或 羟基可以经氧甲基酯衍生以产生具有溶解度或细胞渗透性改善的物质，其一经断裂，便释放游离药物。氨基也可以衍生为苄基氨基甲酸酯，其中苄基具有对羟基部分：羟 基基团的酯化产生具有细胞渗透性改善的衍生物，其一经酯裂解后释放氨基甲酸酯保 护基团，由此释放母体药物。

[0071] 前药进一步包括化合物，其氨基酸残基或与式I化合物的游离氨基、羟基和羧酸基团共价连接的两个或更多个(例如2,3或4个)氨基酸残基的多肽链。氨基酸残基包括通 常由三个字母符号表示的20种天然存在的氨基酸，并且还包括4-羟基脯氨酸，羟赖氨 酸，锁链素，异锁链素，3-甲基组氨酸，戊氨酸，β-丙氨酸，γ-氨基丁酸，瓜氨酸，高半胱氨酸，高丝氨酸，鸟氨酸和甲硫氨酸砜。前药还包括化合物，其碳酸酯，氨基 甲酸酯，酰胺和烷基酯通过羰基碳前药侧链共价键合到式I上述取代基上。前药还包括 通过磷-氧键与式I化合物的游离羟基连接的式I化合物磷酸酯衍生物(例如酸，酸的盐或 酯)。

[0072] 还将认识到，式I化合物可以具有不对称中心，因此能够以多于一种立体异构形式存在。因此，本发明还涉及在一个或多个不对称中心(例如大于约90％ee，如约95％ 或97％ee或大于99％ee)具有基本上纯的异构体形式的化合物，以及其混合物，包括 外消旋混合物。这样的异构体可以通过不对称合成来制备，例如使用手性中间体或通 过手性拆分。

[0073] 如本文所用，术语“卤代”或“卤素”是指氟(氟代)，氯(氯代)，溴(溴代)或碘(碘代)。

[0074] 如本文所用，术语“烷基”和“亚烷基”单独或在化合物术语例如NH(烷基)或N(烷基)$_2$中使用，分别指单价和二价直链或支链烃基，根据情况不同具有1至3，1至4，1 至6，或1至10个碳原子。例如，合适的烷基包括但不限于甲基，乙基，丙基，异丙基， 正丁基，仲丁基，叔丁基，戊基，2-甲基丁基，3-甲基丁基，正己基，2-，3-或4-甲基 戊基，2-乙基丁基，正己基或2-，3-，4-或5-甲基戊基。

[0075] 如本文所用，术语“烯基”是指在碳原子之间具有一个或多个双键的直链或支链烃基。合适的烯基包括但不限于乙烯基，烯丙基，丙烯基，异丙烯基，丁烯基，戊烯基 和己烯基。

[0076] 如本文所用，术语“环烷基”是指环烃基。合适的环烷基基团包括但不限于环丙基，环丁基，环戊基和环己基。

[0077] 如本文所用，术语“芳基”是指C_6-C_{10}芳香族烃基，例如苯基或萘基。

[0078] 术语“烷基芳基”包括例如苄基。

[0079] 术语“杂环”当单独或组合使用时，包括单环，多环，稠合或共轭烃残基，优选C_{3-6}，其中一个或多个碳原子(如果适当，氢原子与其连接)被杂原子替换以形成非芳香族残 基。原子之间的键可以是饱和的或不饱和的。合适的杂原子包括O，N和S。当两个或 更多个碳原子被替换时，可以是两个或更多个相同的杂原子或不同的杂原子。合适的 杂环基实例可包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、喹啉基、异喹啉基、硫代吗 啉基、二恶烷基、2,2’-二甲基-[1,3]-二氧代基丙烯基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四 氢吡咯基等。

[0080] 术语“杂芳基”包括含有一个或多个选自O，N和S杂原子的5元或6元杂芳环。杂芳基合适的实例包括呋喃基、噻吩基、四唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、咪唑基、 吡唑基、吡啶基、嘧啶基、恶唑基、恶二唑基、噻唑基、噻二唑基等。杂芳环可与5 或6元芳族或杂芳族环稠合形成双环芳族环体系如苯并呋喃。

[0081] 除非另有说明，否则每个烷基，亚烷基，环烷基，烷基芳基，芳基，杂环基或杂 芳基可以任选地被一个或多个C_1-C_3烷基、C_3-C_6环烷基、C_6芳基、杂环基、杂芳基、 C_1-C_3烷基OH、氧代基、烷基芳基、OH、OC_1-C_3烷基、卤代、CN、NO_2、CO_2H、CO_2C_1-C_3烷基、$CONH_2$、CONH(C_1-C_3烷基)、CON(C_1-C_3烷基)$_2$，三氟甲基，NH_2、NH(C_1-C_3烷基)或N(C_1-C_3烷基)$_2$取代。例如，任选取代的芳基可以是4-甲基苯基或4-羟基苯基， 并且任选取代的烷基可以是2-羟基乙基，三氟甲基或二氟甲基。每个任选的烷基，环 烷基，烷基芳基，芳基，杂环基或杂芳基取代基也可以任选地被取代。

[0082] 任选取代基的实例还包括合适的氮保护基(参见“有机合成中的保护基”Theodora Greene和Peter Wuts，第四版，Wiley Interscience，2006)。

[0083] 式I化合物的盐优选为药学上可接受的，但应理解，非药学上可接受的盐也落入本发明的范围内，因为它们可用作制备药学上可接受的盐的中间体。

[0084] 术语“药学上可接受的衍生物”可以包括任何药学上可接受的盐、水合物或前药或任何其它化合物，其在给予患者时能够(直接或间接)提供式I化合物或其活性代谢物或 残基。

[0085] 合适的药学上可接受的盐包括但不限于药学上可接受的无机酸如盐酸，硫酸，磷

酸，硝酸，碳酸，硼酸，氨基磺酸和氢溴酸的盐，或药学上可接受的有机酸如乙酸、丙酸、丁酸、酒石酸、马来酸、羟基马来酸、富马酸、苹果酸、柠檬酸、乳酸、粘酸、葡萄糖酸、苯甲酸、琥珀酸、草酸、苯乙酸、甲磺酸、甲苯磺酸、苯磺酸、水杨酸、对氨基苯磺酸、天冬氨酸、谷氨酸、依地酸、硬脂酸、棕榈酸、油酸、月桂酸、泛酸、单宁酸、抗坏血酸和戊酸的盐。

[0086] 碱盐包括但不限于与药学上可接受的阳离子所形成的那些盐，如钠、钾、锂、钙、镁、锌、铵，与烷基铵如由三乙胺形成的盐，与烷氧基铵如由乙醇胺形成的盐，和由乙二胺、胆碱或氨基酸如精氨酸、赖氨酸或组氨酸形成的盐。关于药学上可接受的盐的类型及其形成的一般信息是本领域技术人员已知的，并且在一般教科书中描述的，例如“药用盐：性质，选择和使用”P.H.斯塔尔，C，G。Wermuth，2011年第2版，Wiley-VCH。

[0087] 可用诸如甲基、乙基、丙基、和丁基氯化物、溴化物和碘化物之类的低级烷基卤化物，二烷基硫酸盐如硫酸二甲酯和硫酸二乙酯等试剂使碱性含氮基团季铵化。

[0088] 羟基可以用包括低级烷基羧酸如乙酸和2,2-二甲基丙酸的基团酯化，或用包括烷基磺酸如甲基磺酸的基团磺化。

[0089] 本发明还包括本发明化合物的多晶型物，术语多晶型物包括不同的晶体结构，但也包括溶剂化物，例如其水合物和甲醇盐。

[0090] 化合物用途

[0091] 在另一方面，本发明提供了一种抑制生物样品中含溴结构域蛋白或其突变体活性的方法，包括使所述生物样品与本发明化合物(例如本文中的任何化学式)接触的步骤。

[0092] 在一个实施方案中，含溴结构域蛋白是BET蛋白。

[0093] 在另一个实施方案中，BET蛋白是BRD4。

[0094] 在另一方面，本发明提供了一种抑制患者中含溴结构域蛋白或其突变体活性的方法，包括步骤：向所述患者给予本发明化合物(例如本文的任何化学式)。

[0095] 在一个实施方案中，含溴结构域蛋白是BET蛋白。

[0096] 在其他实施方案中，BET蛋白质是BRD4。

[0097] 在另一方面，本发明提供了一种用于对有需要的患者治疗含溴结构域蛋白介导疾病的方法，包括步骤：给予所述患者本发明化合物(例如本文中的任何化学式)。

[0098] 在另一方面，提供了本发明化合物在制备用于对有需要的患者治疗含溴结构域蛋白介导疾病的药物中的用途。

[0099] 在另一方面，提供了用于对有需要的患者治疗含溴结构域蛋白介导疾病的本发明化合物。

[0100] 在一个实施方案中，含溴结构域蛋白是BET蛋白。

[0101] 在另一个实施方案中，BET蛋白是BRD4。

[0102] 在另一个实施例中，所述疾病为增殖性疾病，炎性疾病，败血症，自身免疫疾病或病毒感染。

[0103] 在另一个实施方案中，所述增殖性病症为癌症。

[0104] 在某些实施方案中，所述癌症为腺癌，成人T细胞白血病/淋巴瘤，膀胱癌，母细胞瘤，骨癌，乳腺癌，脑癌，癌，髓样肉瘤，宫颈癌，结直肠癌，食管癌，胃肠癌，多形性成胶质细胞瘤，胶质瘤，胆囊癌，胃癌，头和颈癌，霍奇金淋巴瘤，非霍奇金淋巴瘤，肠癌，肾癌，喉癌，白血病，肺癌，淋巴瘤，肝癌，小细胞肺癌，非小细胞肺癌，间皮瘤，多发性骨髓瘤，眼癌，视

神经肿瘤，口腔癌，卵巢癌，垂体瘤，原发 性中枢神经系统淋巴瘤，前列腺癌，胰腺癌，咽癌，肾细胞癌，直肠癌，肉瘤，皮肤 癌，脊柱肿瘤，小肠癌，胃癌，T细胞淋巴瘤，睾丸癌，甲状腺癌，喉癌，泌尿生殖 器癌，尿路上皮癌，子宫癌，阴道癌或维尔姆斯氏瘤。

[0105] 本文所述的化合物和组合物通常用于抑制参与表观遗传调节的一种或多种蛋白的活性。因此，在一些实施方案中，本发明提供了一种通过施用本发明的化合物或组 合物抑制参与表观遗传调控的一种或多种蛋白质的方法，所述蛋白质包含乙酰-赖氨酸 识别基序的蛋白质，也称为溴结构域(例如BET蛋白，如BRD2，BRD3，BRD4和/或 BRDT)。

[0106] 如本文所用，术语“疗法”，“治疗”和“医治”是指逆转、缓解、延缓如本文所述的 疾病或病症或其一种或多种症状的发作，或抑制疾病或病症或其一种或多种症状的进 展。在一些实施方案中，可以在一种或多种症状已经发展之后实施治疗。在其他实施 方案中，可以在没有症状的情况下实施治疗。例如，可以在症状发作之前(例如，根据 症状的历史和/或根据遗传或其他敏感性因素)对敏感个体实施治疗。也可以在症状缓 解后继续进行治疗，例如预防或延缓其复发。

[0107] 术语“有效量”是指将引起研究人员，兽医，医生或其他临床医师正在寻找的组织，系统，动物或人的生物或医学反应的主题组合物的量。

[0108] 术语“给药”和/或“给予”化合物应理解为向需要治疗的个体提供本发明的化合物。

[0109] 在某些实施方案中，本发明化合物抑制一种或多种BRD2，BRD3，BRD4，BRDT， 和/或含溴结构域蛋白或其突变体的另一成员。在一些实施方案中，本发明的化合物抑 制两种或更多种BRD2，BRD3，BRD4，BRDT，和/或含溴结构域蛋白或其突变体的 另一成员。本发明的化合物是一种或多种含溴结构域蛋白例如BRD2，BRD3，BRD4 和/或BRDT的抑制剂，因此可用于治疗一种或多种与一种或多种含溴结构域蛋白，如 BRD2，BRD3，BRD4和/或BRDT活性相关的疾病。因此在某些实施方案中，本发明 提供了一种用于治疗含溴结构域蛋白介导的(如BET介导的，BRD2介导的，BRD3介 导的，BRD4介导的)疾病和/或BRDT介导的疾病的方法，包括步骤：向有需要的患 者施用本发明化合物或其药学上可接受的组合物抑制含溴结构域蛋白，如BET蛋白， 如BRD2，BRD3，BRD4和/或BRDT或其突变体。

[0110] 如本文所用，术语“含溴结构域蛋白介导的”，“BET介导的”，“BRD2介导的”， “BRD3介导的”，“BRD4介导的”和/或“BRDT介导的”疾病或病症是指已知一种或多种 含溴结构域蛋白，如BET蛋白，如BRD2，BRD3，BRD4和/或BRDT或其突变体发挥作 用的任何疾病或其他有害病症。因此，本发明的另一个实施方案涉及治疗或减轻一种 或多种疾病的严重性，其中已知有一种或多种含溴结构域蛋白如BET蛋白，如BRD2， BRD3，BRD4和/或BRDT或其突变体在发挥作用。

[0111] 根据本发明方法可治疗的疾病和病症包括但不限于癌症和其他增殖性病症，炎症性疾病，败血症，自身免疫病和病毒感染。因此，一个方面是治疗患有疾病，病症或 其症状的患者的方法，所述方法包括将本文的化合物或组合物施用于该患者。在一个 实施方案中，用本发明化合物和药学上可接受的载体，佐剂或辅料治疗人类患者，其 中所述化合物以可测定地抑制患者中含溴结构域蛋白活性的量存在(例如BET蛋白，例 如BRD2，BRD3，BRD4和/或BRDT)。

[0112] 本发明进一步涉及通过将有效量的本发明化合物给予哺乳动物，特别是需要这种

治疗的人，来治疗或改善癌症或其他增殖性疾病的方法。在本发明的一些方面，通过 本发明方法治疗的疾病是癌症。使用本文所述的化合物和方法治疗的癌症的实例包括 但不限于肾上腺癌、腺泡细胞癌、听神经瘤、肢端雀斑状黑素瘤、肢端汗腺瘤、急性 嗜酸细胞性白血病、急性红细胞性白血病、急性成淋巴细胞性白血病、急性成巨核细 胞白血病、急性单核细胞白血病、急性早幼粒细胞白血病、腺癌、腺样囊性癌、腺瘤、 牙源性腺样瘤、腺鳞癌、脂肪组织瘤、肾上腺皮质癌、成人T细胞白血病/淋巴瘤、侵 袭性NK细胞白血病、AIDS-相关淋巴瘤、肺泡状横纹肌肉瘤、肺泡软组织肉瘤、成釉 细胞纤维瘤、间变性大细胞淋巴瘤、未分化甲状腺癌、血管免疫母细胞性T细胞淋巴 瘤、血管平滑肌脂肪瘤、血管肉瘤、星形细胞瘤、非典型畸胎样横纹肌样瘤、B-细胞 慢性淋巴细胞白血病、B-细胞幼淋巴细胞性白血病、B细胞淋巴瘤、基底细胞癌、胆 道癌、膀胱癌、胚细胞瘤、骨癌、布伦纳瘤、布朗瘤、伯基特氏淋巴瘤、乳腺癌、脑 癌、癌、原位癌、癌肉瘤、骨软骨瘤、牙骨质瘤、髓样肉瘤、软骨瘤、脊索瘤、绒毛 膜癌、脉络丛乳头状瘤、肾透明细胞肉瘤、颅咽管瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、宫颈癌、 结直肠癌、原发性进行性动脉闭塞症、促纤维增生小细胞叶瘤、弥漫性大B细胞淋巴 瘤、胚胎发育不良性神经上皮肿瘤、无性细胞瘤、胚胎癌、内分泌腺肿瘤、内胚窦瘤、 肠病相关T细胞淋巴瘤、食道癌、寄生胎、纤维瘤、纤维肉瘤、滤泡性淋巴瘤、滤泡 状甲状腺癌、神经节细胞瘤、胃肠癌、胚胎细胞肿瘤、妊娠性绒癌、巨细胞成纤维细 胞瘤、骨巨细胞瘤、神经胶质瘤、多形性成胶质细胞瘤、胶质瘤、大脑胶质瘤病、胰 高血糖素瘤、性腺母细胞瘤、卵巢颗粒细胞瘤、两性母细胞瘤、胆囊癌、胃癌、毛细 胞白血病、血管母细胞瘤、头颈癌、血管外皮细胞瘤、血液恶性肿瘤、肝母细胞瘤、 肝脾T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、浸润性小叶癌、肠癌、肾癌、 喉癌、恶性雀斑样痣、致死性中线癌、白血病、间质细胞瘤、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴 管瘤、淋巴管肉瘤、淋巴上皮瘤、淋巴瘤、急性淋巴细胞白血病、急性骨髓性白血病、 慢性淋巴细胞性白血病、肝癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、MALT淋巴瘤、恶性纤 维组织细胞瘤、恶性外周神经鞘瘤、恶性蝾螈瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴 瘤、肥大细胞白血病、纵隔生殖细胞肿瘤、乳腺髓样癌、甲状腺髓样癌、成神经管细 胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、默克尔细胞癌、间皮瘤、转移性尿路上皮癌、混合缪氏肿 瘤、粘液瘤、多发性骨髓瘤、肌肉组织肿瘤、蕈样肉芽肿、粘液样脂肪肉瘤、粘液瘤、 鼻咽癌、神经瘤、神经母细胞瘤、神经纤维瘤、神经瘤、结节性黑素瘤、眼癌、少突 星形细胞瘤、少突神经胶质瘤、大嗜酸粒细胞瘤、视神经鞘脑膜瘤、视神经肿瘤、口 腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、Pancoast肿瘤、甲状腺乳头状癌、副神经节瘤、松果体母细 胞瘤、松果体细胞瘤、垂体细胞瘤、垂体腺瘤、垂体瘤、浆细胞瘤、多胚瘤、前体T- 淋巴母细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、原发性腹膜 癌、前列腺癌、胰腺癌、咽癌、腹膜假性粘液瘤、肾细胞癌、肾髓样癌、视网膜母细 胞瘤、横纹肌瘤、横纹肌肉瘤、里希特转化、直肠癌、肉瘤、神经鞘瘤、精原细胞瘤、 支持细胞瘤、性腺间质肿瘤、印戒细胞癌、皮肤癌、小蓝细胞肿瘤、小细胞癌、软组 织肉瘤、生长抑素瘤、煤烟疣、脊柱肿瘤、脾边缘区淋巴瘤、鳞状细胞癌、滑膜肉瘤、 塞扎里氏病、小肠癌、鳞状细胞癌、胃癌、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、卵泡膜、甲状腺 癌、移行细胞癌、喉癌、脐尿管癌、泌尿生殖系统癌、尿路上皮癌、葡萄膜黑色素瘤、 子宫癌、疣状癌、视觉通路胶质瘤、外阴癌、阴道癌、华氏巨球蛋白血症、沃辛氏瘤 和维尔姆斯瘤。

[0113] 在一些实施方案中，本发明提供了治疗良性增殖性病症的方法。这种良性增殖性病症包括但不限于良性软组织肿瘤、骨肿瘤、脑和脊柱肿瘤、眼睑和眼眶肿瘤、肉芽 肿、脂

肪瘤、脑膜瘤、多发性内分泌瘤、鼻息肉、垂体肿瘤、泌乳素瘤、假性脑肿瘤、 皮脂溢性角化病、胃息肉、甲状腺结节、胰腺囊性肿瘤、血管瘤、声带结节、息肉和 囊肿、巨大淋巴结增生症、慢性皮肤病、皮肤纤维瘤、毛发囊肿、化脓性肉芽肿和幼 年性息肉病综合征。

[0114] 本发明进一步涉及通过将有效量的本发明化合物给予需要这种治疗的哺乳动物(特别是人),来治疗感染性和非感染性炎症情况以及自身免疫和其他炎性疾病的方法。使用本文所述化合物和方法治疗的自身免疫和炎性疾病,病症和综合征的实例包括炎 性骨盆疾病、尿道炎、皮肤晒伤、鼻窦炎、肺炎、脑炎、脑膜炎、心肌炎、肾炎、骨 髓炎、肌炎、肝炎、胃炎、肠炎、皮炎、牙龈炎、阑尾炎、胰腺炎、胆囊炎、血中丙 球蛋白贫乏、牛皮癣、变态反应、克罗恩氏病、肠易激综合征、溃疡性结肠炎、干燥 综合症、组织移植排斥、移植器官超急性排斥、哮喘、变应性鼻炎、慢性阻塞性肺病 (COPD)、自身免疫性多腺病(也称为自身免疫性多腺体综合征)、自身免疫性脱发、恶 性贫血、肾小球肾炎、皮肌炎、多发性硬化症、硬皮病、血管炎、自身免疫性溶血和 血小板减少症状、肺出血肾炎综合症、动脉粥样硬化、爱迪生氏病、帕金森病、阿尔 茨海默氏病、I型糖尿病、感染性休克、系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎、银 屑病关节炎、幼年型关节炎、骨关节炎、慢性特发性血小板减少性紫癜、华氏巨球蛋 白血症、重症肌无力、桥本氏甲状腺炎、特应性皮炎、退行性关节病、白癜风、自身 免疫垂体机能减退症、格林-巴利综合征、白塞病、硬皮病、蕈样霉菌病、急性炎症反 应(如急性呼吸窘迫综合征和局部缺血/再灌注损伤)和格雷夫斯病。

[0115] 在一些实施方案中,本发明提供了通过给哺乳动物、特别是需要这种治疗的人施用有效量的本发明化合物来治疗全身炎症反应综合征例如LPS诱导的内毒素休克和/ 或细菌诱导的败血症的方法。

[0116] 本发明进一步涉及通过将有效量的本发明化合物给予哺乳动物,特别是需要这种治疗的人,来治疗病毒感染和疾病的方法。使用本文所述的化合物和方法治疗的病毒 感染和疾病的实例包括基于游离基因的DNA病毒,包括但不限于人乳头瘤病毒,疱疹 病毒,Epstein-Barr病毒,人免疫缺陷病毒(HIV),乙肝病毒和丙肝病毒。

[0117] 本发明还提供了治疗患有上述症状、症侯、病症或疾病之一的患者(如人)的方法。该方法包括给需要这种治疗的患者施用治疗有效量的一种或多种本发明的化合物,所 述化合物通过抑制溴结构域和通常通过调节基因表达来发挥功能,以诱导各种细胞效 应,特别是诱导或抑制基因表达、阻止细胞增殖、诱导细胞分化和/或诱导细胞凋亡。

[0118] 本发明进一步提供了调节上述疾病,特别是癌症、炎性疾病和/或病毒疾病的体内基因表达、细胞增殖、细胞分化和/或细胞凋亡的治疗方法,包括向需要这种治疗的患 者施用一种或多种药理学活性和治疗有效量的本发明化合物。

[0119] 本发明进一步提供了通过使细胞与本发明的化合物接触来调节内源或异源启动子活性的方法。

[0120] 在某些实施方案中,本发明提供了治疗患者病症(如上所述)的方法,包括向鉴定为有需要的患者施用本发明的化合物。对需要治疗上述病症的那些患者的鉴定完全在 本领域技术人员的能力和知识范围内。用于鉴别具有以上疾病风险且能够采用所述方 法治疗的患者的方法,在现有医学知识中可以获知,如家族史,以及在患者中与该疾 病状态发展有关的风险因素。本领域的临床医生可以通过使用例如临床测试、体格检 查和医疗/家族史来容易地鉴别这些患者。

[0121] 评估患者治疗功效的方法包括通过本领域众所周知的方法确定疾病的预治疗程度(例如,确定肿瘤大小或筛选肿瘤标志物,其中细胞增殖性疾病是癌症),然后向患 者施用治疗有效量的本发明化合物。在化合物给药后的适当时间段后(例如1天、1周、 2周、1个月、6个月),再次测定病症的程度。病症程度或侵袭性的调节(例如降低)表 明了治疗的功效。可以在整个治疗过程中定期确定病症的程度或侵袭性。例如,可以 每几小时、几天或几周检查病症的程度或侵袭性,以评估治疗的进一步功效。该病症 程度或侵袭性的降低表明该治疗是有效的。所描述的方法可用于筛选或选择可能受益 于用本发明化合物治疗的患者。

[0122] 本发明进一步涉及本发明化合物在制备用于治疗和/或预防和/或改善本文所述疾 病、病症、症状和/或状况的药物组合物中的用途。

[0123] 本发明进一步涉及本发明化合物在生产药物组合物中的用途,所述药物组合物用于治疗和/或预防对抑制含溴结构域蛋白响应或敏感的疾病和/或病症,特别是上面提 到的那些疾病,例如癌症、炎性疾病、病毒性疾病。

[0124] 本发明的另一个目的是本文所述的化合物(例如本文的任何化学式)在制备用于治 疗本文中的病症或疾病的药物中的用途。本发明的另一目的是本文所述的化合物(例如本文任何化学式)用于治疗本文中的病症或疾病的用途。

[0125] 本文所述的化合物或组合物可以使用有效治疗或减轻癌症或其他增殖性病症的严重程度的任意量和任意给药途径来施用。所需的确切量将根据受试者的人种、年龄 和一般状况、感染的严重程度、特定试剂、其施用模式等随受试者而变化。本发明化 合物优选以单位剂量形式配制以易于给药和使剂量均匀。如本文所用的表述“单位剂 型”是指适合于待治疗患者的物理离散剂量单位。然而,应理解的是,本发明的化合 物和组合物的总日用量将由主治医师在合理的医学判断的范围内决定。任何特定患者 或生物体的具体有效剂量水平将取决于多种因素,包括所治疗的疾病和疾病的严重程 度;所使用的具体化合物的活性;所采用的具体组合物;年龄,体重,一般健康,性 别和饮食;施用时间,施用途径和所用特定化合物的排泄速率;治疗持续时间;与所 用具体化合物组合或同时使用的药物,以及在医药领域已知的类似因素。

[0126] 根据一些实施方案,本发明涉及抑制生物样品中含溴结构域蛋白的方法,包括步骤:使所述生物样品与本发明化合物或其组合物接触。

[0127] 根据一些实施方案,本发明涉及抑制生物样品中含溴结构域蛋白,例如BET蛋白,如BRD2,BRD3,BRD4和/或BRDT或其突变体活性的方法,包括步骤:将所述生物 样品与本发明化合物或其组合物接触。

[0128] 如本文所用,术语“生物样品”包括但不限于细胞培养物或其提取物,从哺乳动物获得的活检材料或其提取物,以及血液、唾液、尿液、粪便、精液、眼泪或其他体液, 或其提取物。

[0129] 生物样品中蛋白质,例如含溴结构域蛋白,如BET蛋白质,如BRD2,BRD3,BRD4 和/或BRDT或其突变体的活性抑制可用于本领域技术人员已知的多种目的。这种目的 的例子包括但不限于输血,器官移植,生物标本储存和生物测定。

[0130] 根据另一个实施方案,本发明涉及一种抑制患者中一种或多种含溴结构域蛋白(如 BET蛋白质如BRD2,BRD3,BRD4和/或BRDT)或其突变体活性的方法,包括步骤: 向所述

患者施用本发明化合物或包含所述化合物的组合物。在某些实施方案中，本发 明提供了对有需要的患者中由一种或多种含溴结构域蛋白(例如BET蛋白质，如BRD2， BRD3，BRD4和/或BRDT)或其突变体介导的病症进行治疗的方法，包括步骤：给予所 述患者本发明化合物或其药学上可接受的组合物。这些病症在本文中进行详细描述。

[0131] 根据待治疗的具体病症或疾病，为治疗该病症而通常给予的另外治疗剂也可以存在于本发明的组合物中或作为剂量方案的一部分分开施用。如本文所用，通常施用以 治疗特定疾病或病症的另外治疗剂被认为是“适合于正在治疗的疾病或病症”。

[0132] 在一些实施方案中，另外的治疗剂是表观遗传学药物。如本文所用，术语“表观 遗传药物”是指靶向于表观遗传调节剂的治疗剂。表观遗传调节剂的实例包括组蛋白 赖氨酸甲基转移酶，组蛋白精氨酸甲基转移酶，组蛋白脱甲基酶，组蛋白脱乙酰酶， 组蛋白乙酰化酶和DNA甲基转移酶。组蛋白脱乙酰酶抑制剂包括但不限于伏立诺他。

[0133] 其他疗法，化学治疗剂或其他抗增殖剂可以与本发明的化合物组合以治疗增殖性疾病和癌症。可与式I化合物组合使用的治疗剂或抗癌剂的实例包括手术、放射疗法(例 如γ-辐射、中子束放射疗法、电子束放射疗法、质子疗法、近距离放射疗法和系统性 放射性同位素)，内分泌疗法，生物反应调节剂(例如，干扰素，白细胞介素，肿瘤坏 死因子(TNF)，高温和冷冻疗法，减轻任何副作用的药剂(例如止吐剂)和任何其他经批 准的化学治疗药物)。

[0134] 本发明的化合物还可以有利地与一种或多种抗增殖化合物组合使用。这样的抗增殖化合物包括芳香酶抑制剂；抗雌激素药；抗雄激素药；戈那瑞林激动剂；拓扑异构 酶I抑制剂；拓扑异构酶II抑制剂；微管活性剂；烷基化剂；类维生素A，类胡萝卜素， 或生育酚；环氧合酶抑制剂；MMP抑制剂；mTOR抑制剂；抗代谢物；铂化合物；甲 硫氨酸氨肽酶抑制剂；双膦酸盐；抗增殖抗体；乙酰肝素酶抑制剂；Ras致癌异构体 抑制剂；端粒酶抑制剂；蛋白酶体抑制剂；用于治疗血液恶性肿瘤的化合物；Hsp90 抑制剂；HDAC抑制剂；驱动蛋白纺锤蛋白抑制剂；抗肿瘤抗生素；亚硝基脲；靶向/ 降低蛋白质或脂质激酶活性化合物；靶向/降低蛋白质或脂质磷酸酶活性化合物，或任 何其他抗血管生成化合物。

[0135] 示例性的芳香酶抑制剂包括类固醇，如阿他美坦，依西美坦和福美坦，以及非甾体类，如氨鲁米特、洛太米特、吡鲁米特、曲洛斯坦、睾内酯、酮康唑、伏氯唑、法 倔唑、阿纳托司唑和来曲唑。

[0136] 示例性抗雌激素包括他莫昔芬，氟维司群，雷洛昔芬和雷洛昔芬盐酸盐。抗雄激素包括但不限于比卡鲁胺。促性激素释放素激动剂包括但不限于阿巴瑞克，戈舍瑞林 和醋酸戈舍瑞林。

[0137] 示例性的拓扑异构酶I抑制剂包括拓扑替康，吉马替康，伊立替康，喜树碱及其类似物，9-硝基喜树碱和大分子喜树碱缀合物PNU-166148。拓扑异构酶II抑制剂包括但 不限于蒽环类如多柔比星，柔红霉素，表柔比星，伊达比星和奈莫柔比星，蒽醌类米 托蒽醌和洛索蒽醌，以及鬼臼毒素类依托泊苷和替尼泊苷。

[0138] 示例性的微管活性剂包括微管稳定化，微管去稳定化合物和微管聚合抑制剂，包括但不限于紫杉烷如紫杉醇和多西他赛；长春花生物碱如长春碱或硫酸长春花碱，长 春新碱或长春新碱硫酸盐和长春瑞滨；淅皮海绵内酯；秋水仙碱和埃坡霉素及其衍 生物。

[0139] 示例性的烷基化剂包括环磷酰胺，异环磷酰胺，美法仑或亚硝基脲，如卡莫司汀

和洛莫司汀。

[0140] 示例性环加氧酶抑制剂包括Cox-2抑制剂,5-烷基取代的2-芳基氨基苯乙酸及衍生 物,例如塞来昔布,罗非考昔,艾托考昔,伐地考昔或5-烷基-2-芳基氨基苯基乙酸, 例如罗美昔布。

[0141] 示例性的基质金属蛋白酶抑制剂(“MMP抑制剂”)包括胶原肽模拟物和非肽模拟物抑制剂,四环素衍生物,巴马司他,马马司他,普啉司他,美他司他(metastat), BMS-279251,BAY 12-9566,TAA211,MMI270B和AAJ996。

[0142] 示例性的mTOR抑制剂包括抑制雷帕霉素(mTOR)的哺乳动物靶标并具有抗增殖 活性的化合物,例如西罗莫司,依维莫司,CCI-779和ABT578。

[0143] 示例性的抗代谢物包括5-氟尿嘧啶(5-FU),卡培他滨,吉西他滨,DNA脱甲基化 化合物如5-氮杂胞苷和地西他滨,甲氨蝶呤和依达曲沙,以及叶酸拮抗剂如培美曲塞。

[0144] 示例性的铂化合物包括卡铂,顺铂,顺铂和奥沙利铂。

[0145] 示例性甲硫氨酸氨肽酶抑制剂包括泵阿米德或其衍生物和PPI-2458。

[0146] 示例性的双膦酸盐包括羟乙磷酸,氯膦酸,替鲁膦酸,帕米膦酸,阿仑膦酸,伊 班膦酸,利塞膦酸和唑来膦酸。

[0147] 示例性抗增殖抗体包括曲妥珠单抗,曲妥珠单抗-DM1西妥昔单抗,贝伐单抗, 利妥昔单抗,PR064553和2C4。术语“抗体”意在包括完整的单克隆抗体、多克隆抗体、 由至少两种完整抗体形成的多特异性抗体和抗体片段,只要它们表现出期望的生物学 活性即可。

[0148] 示例性乙酰肝素酶抑制剂包括靶向、降低或抑制硫酸肝素降解的化合物,如PI-88和OGT2115。

[0149] 如本文所用,术语“Ras致癌同种型的抑制剂”,如H-Ras,K-Ras或N-Ras,是指靶向、降低或抑制Ras致癌活性的化合物;例如法尼基转移酶抑制剂如L-744832, DK8G557,替比法尼和洛那法尼。

[0150] 示例性的端粒酶抑制剂包括靶向、降低或抑制端粒酶活性的化合物,如抑制端粒酶受体的化合物,如端粒酶抑制剂。

[0151] 示例性蛋白酶体抑制剂包括靶向、降低或抑制蛋白酶体活性的化合物,包括但不限于硼替佐米和卡非佐米。

[0152] 如本文所用,短语“用于治疗血液恶性肿瘤的化合物”包括FMS样酪氨酸激酶抑制剂,其是靶向、降低或抑制FMS样酪氨酸激酶受体(Flt-3R),干扰素,1-β-D-阿拉伯呋 喃甲基胞嘧啶(ara-c)和白消安的化合物;低甲基化剂如地西他滨和氮杂胞苷;BTK抑 制剂如依鲁替尼;PI3Kγ和PI3Kδ抑制剂,如艾代拉利司(idelalisib)和得伐利司 (duvelisib);SYK抑制剂如恩托思普替尼(entospletinib);和ALK抑制剂,其靶向、降低 或抑制间变性淋巴瘤激酶。

[0153] 示例性的Flt-3抑制剂包括喹唑替尼,PKC412,米哚妥林,星形孢菌素衍生物, SU11248和MLN518。

[0154] 示例性HSP90抑制剂包括靶向、降低或抑制HSP90的内在ATP酶活性的化合物; 通过泛素蛋白酶体途径降解,靶向、降低或抑制HSP90客户蛋白。靶向、降低或抑制 HSP90的内在ATP酶活性的化合物尤其是抑制HSP90的ATP酶活性的化合物,蛋白质或 抗体,例如17-烯丙基氨基,17-去甲氧基格尔德霉素(17AAG),格尔德霉素衍生物; 其他格尔德霉素相关化

合物;和根赤壳。

[0155] 示例性的HDAC抑制剂包括伏立诺他,曲古抑菌素A,罗米地辛,帕比司他,恩 替司他,美科替诺司他(mocetinostat),贝利司他和罗西司他。

[0156] 本文使用的短语“靶向/降低蛋白质或脂质激酶活性的化合物”包括蛋白酪氨酸激酶和/或丝氨酸和/或苏氨酸激酶抑制剂或脂质激酶抑制剂,例如a)靶向、降低或抑制激 酶ALK如赛瑞替尼和克唑替尼的活性的化合物;b)靶向、降低或抑制激酶MEK如曲美 替尼活性的化合物;c)RAF抑制剂,如达拉菲尼和威罗菲尼;d)靶向、降低或抑制受 体酪氨酸激酶(EGFR,ErbB2,ErbB3,ErbB4作为同型或异型二聚体)的表皮生长因子 家族活性的化合物和它们的突变体,如曲妥珠单抗,西妥昔单抗,吉非替尼,厄洛替 尼,拉帕替尼,阿法替尼,奈拉替尼;e)靶向、降低或抑制受体酪氨酸激酶(JAK1,JAK2, JAK3,TYK2)的JAK家族的活性的化合物,如托法替尼,鲁索替尼,莫米替尼,巴利 替尼;f)靶向、降低或抑制c-Abl家族成员,其基因融合产物(例如,Bcr-Abl激酶)和突 变体活性的化合物,例如伊马替尼或尼罗替尼,达沙替尼,波舒替尼;g)多激酶抑制 剂,例如索拉非尼,舒尼替尼,卡博替尼,瑞格非尼,凡德他尼;和h)mTOR抑制剂, 如依维莫司和西罗莫司。

[0157] 靶向、降低或抑制蛋白或脂质磷酸酶活性的示例性化合物包括磷酸酶1,磷酸酶2A或CDC25抑制剂,例如冈田酸或其衍生物。

[0158] 抗血管生成化合物进一步包括具有与蛋白质或脂质激酶抑制无关的其他活性机制的化合物,如沙利度胺,来那度胺和TNP-470。

[0159] 一种或多种可与本发明化合物组合使用的另外的示例性化学治疗化合物包括:柔红霉素、阿霉素、阿糖胞苷、VP-16、替尼泊苷、米托蒽醌、伊达比星、卡铂、PKC412、6-巯基嘌呤(6-MP)、磷酸氟达拉滨、奥曲肽、SOM230、FTY720、6-硫鸟嘌呤、克拉 屈滨、6-巯基嘌呤、喷司他丁、羟基脲、血管抑素、内皮抑制素、邻氨基苯甲酸酰胺、 贝伐单抗、rhuMAb、rhuFab、macugen;FLT-4抑制剂、FLT-3抑制剂、VEGFR-2IgG1 抗体、RPI 4610、贝伐单抗、卟吩姆钠、阿奈可他、曲安西龙、氢化可的松、11-α-表 氢皮质醇、11-脱氧皮醇(cortexolone)、17α羟孕酮、皮质酮、去氧皮质酮、睾酮、 雌酮、地塞米松、氟轻松、植物生物碱、激素化合物和/或拮抗剂,生物反应调节剂如 淋巴因子或干扰素,反义寡核苷酸或寡核苷酸衍生物,shRNA或siRNA,或具有其他 化合物的杂化化合物或未知作用机制的化合物。

[0160] 有关更新的癌症疗法的更全面讨论,请参见默克手册,第十七版,1999。其全部 内容通过引用并入于此。另见美国国家癌症研究所(CNI)网站(www.nci.nih.gov)和美国 食品和药物管理局(FDA)网站上的FDA批准的肿瘤药物清单。

[0161] 本发明化合物也可与一种或多种试剂组合,该试剂的其它实例包括阿尔茨海默氏病的治疗,例如多奈哌齐和利凡斯的明;帕金森氏病的治疗,例如L-DOPA/卡比多巴、 恩他卡朋、罗匹尼罗、普拉克索、溴隐亭、培高利特、苯海索和金刚烷胺;用于治疗 多发性硬化症(MS)的试剂,例如β干扰素(例如Avonex® 和Rebif®),醋酸格拉替雷和 米托蒽醌;用于哮喘的治疗例如沙丁胺醇和孟鲁司特;治疗精神分裂症的试剂,例如 再普乐,维思通,思瑞康和氟哌啶醇;抗炎剂如皮质类固醇、TNF阻断剂、IL-1RA、 硫唑嘌呤、环磷酰胺和柳氮磺吡啶;免疫调节剂,包括免疫抑制剂例如环孢菌素、他 克莫司、雷帕霉素、麦考酚酸莫酯、干扰素、皮质类固醇、环磷酰胺、硫唑嘌呤和柳 氮磺吡啶;神经营养因子如乙酰胆碱酯酶抑制剂,MAO抑制剂,干扰素,抗惊厥药, 离子通道阻断剂,利鲁唑或抗帕金森病药;用于治疗心

血管疾病的药物，例如β-阻断 剂，ACE抑制剂，利尿剂，硝酸盐，钙通道阻断剂或他汀类药物；肝病治疗剂如皮质 类固醇，考来烯胺，干扰素，抗病毒剂等；血液病治疗剂如皮质类固醇，抗白血病药 物或生长因子；或用于治疗免疫缺陷病症如γ球蛋白的药物。

[0162] 上述化合物中的一种或多种可以与本发明的化合物组合使用，可以按照本领域的描述进行制备和给药。

[0163] 本发明化合物可单独或与一种或多种其它治疗化合物联合给药，采用固定组合形式的可能联合疗法或本发明化合物和一种或多种其它治疗化合物交错给药或彼此独 立给药，或固定组合和一种或多种其他治疗化合物的联合给药。本发明化合物额外或 另外可以特别用于与化学疗法、放射疗法、免疫疗法、光疗法、手术干预或这些的组 合联合的肿瘤治疗。如上所述，长期治疗与其他治疗策略中的辅助治疗同样可行。其 他可能的治疗方法是在肿瘤消退后维持患者状态的疗法，或甚至为化学预防疗法，例 如处于风险中的患者。

[0164] 作为多剂量方案的一部分，这种另外的试剂可以与含有本发明化合物的组合物分开施用。或者，这些试剂可以是单一剂型的一部分，与单一组合物中的本发明化合物 一起混合。如果作为多剂量方案的一部分施用，则两种活性剂可以同时递送，按顺序 递送或在通常在彼此相隔五小时之内的时间段内递送。

[0165] 当患者的状况得以改善，如需要的话，可以施用维持剂量的本发明化合物，组合物或组合的维持剂量。随后，作为症状的函数，可以将施用的剂量或频率或两者降低 至保持改善病症的水平，当症状缓解到期望水平时，治疗应当停止。然而一旦任何疾 病症状复发，患者可能需要进行长期间歇治疗。

[0166] 然而，应理解的是，本发明的化合物和组合物的总日用量将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。任何特定患者的特异性抑制剂量取决于多种因素，包括所治疗 的疾病和疾病的严重程度；所用特定化合物的活性；所使用的特定组合物；年龄，体 重，一般健康状况，性别和所用患者的饮食；给药时间，给药途径和所用具体化合物 的排泄速率；治疗持续时间；与所用具体化合物组合或同时使用的药物；以及医学领 域众所周知的类似因素。

[0167] 如本文所用，术语“组合”，“联合”和相关术语是指同时或顺序施用本发明的治疗剂。例如，本发明的化合物可以与另一种治疗剂同时或依次以分开的单位剂型或一起 以单一单位剂型给药。因此，本发明的一个实施方案提供了用于本发明方法的单一剂 型单位，其包含本发明化合物，另外的治疗剂和药学上可接受的载体，佐剂或媒介物。

[0168] 存在于本发明组合物中另外的治疗剂的量将不超过在包含该治疗剂作为唯一活性剂的组合物中通常施用的量。优选地，目前公开的组合物中另外治疗剂的量将在通 常存在于包含作为唯一治疗活性剂的组合物中的量的约50％至100％范围内。

[0169] 本发明的化合物或其药物组合物也可以掺入到组合物中用于涂覆植入式医疗装置，例如假体，人造瓣膜，血管移植物，支架和导管。例如，血管支架已被用于克服 再狭窄(损伤后血管壁再狭窄)。然而，使用支架或其他植入式装置的患者有血块形成 或血小板活化的风险。通过预涂具有含本发明化合物的药学上可接受组合物的装置可 以防止或减轻这些不需要的影响。涂有本发明化合物的可植入装置是本发明的另一个 实施方案。

[0170] 在本文变量的任何定义中所列化学基团的叙述包括将该变量定义为任何单个基团或所列基团的组合。本文对变量的实施例的叙述包括该实施例作为任何单个实施例 或

与任何其他实施例或其部分的组合。本文中的实施例的叙述包括实施例作为任何单 个实施例或与任何其他实施例或其部分的组合。

[0171] 在另一方面，本发明提供了合成如本文所述的任意化学式的化合物的方法。另一个实施方案是使用本文描述反应中的任何一个或其组合来制备本文任何化学式的化 合物的方法。该方法可以包括使用本文描述的一种或多种中间体或化学试剂。

[0172] 组合物和施用

[0173] 在另一方面，本发明提供了一种组合物，其包含本文任何化学式的化合物和药学上可接受的赋形剂，例如佐剂，载体或运载体。

[0174] 在一个实施方案中，本发明提供了与另外的治疗剂组合的组合物。

[0175] 根据另一个实施方案，本发明提供了使用包含本发明化合物或其药学上可接受的衍生物和药学上可接受的载体，佐剂或媒介物的组合物来抑制含溴结构域蛋白(例如 BET蛋白，例如BRD2、BRD3、BRD4和/或BRDT)的方法，在提供的组合物中本发明 化合物的量是有效可测定地抑制生物样品或患者中的一种或多种含溴结构域蛋白(诸 如BET蛋白，例如BRD2、BRD3、BRD4和/或BRDT)，或其突变体。在某些实施方案 中，提供的组合物中化合物的量有效可测量地抑制了生物样品或患者中的一种或多种 含溴结构域蛋白(诸如BET蛋白，例如BRD2、BRD3、BRD4和/或BRDT)，或其突变体。 在某些实施方案中，提供的组合物被配制用于施用于需要这种组合物的患者。在一些 实施方案中，提供的组合物被配制用于口服给予患者。

[0176] 如本文所用，术语“患者”是指动物，例如哺乳动物，例如人。

[0177] 除了灵长类例如人类以外，可以根据本发明的方法治疗各种其他哺乳动物。例如，可以治疗哺乳动物，包括但不限于奶牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、豚鼠、大鼠或其 它牛科、绵羊、马类、犬科、猫科动物、啮齿类动物或鼠科动物。然而，该方法也可 以在其他物种中实施，例如禽类(例如鸡)。

[0178] 术语“药学上可接受的赋形剂”是指不破坏与其配制的化合物的药理学活性的无毒 赋形剂。可用于本发明组合物中的药学上可接受的赋形剂例如载体、佐剂或运载体包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白如人血清白蛋白，缓 冲物质例如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、 水、盐或电解质，如鱼精蛋白硫酸盐、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶态 二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮，基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维 素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

[0179] 用于施用本发明化合物的药物组合物可以方便地以单位剂量形式存在，并且可以通过制药领域中公知的任何方法制备。所有的方法都包括使活性成分与构成一种或多 种辅助成分的载体结合的步骤。通常，药物组合物通过将活性成分与液体载体或细碎 的固体载体或两者均匀且紧密地结合来制备，然后如果需要，将产品成形为所期望的 制剂。在药物组合物中，活性目标化合物的含量足以对疾病的过程或状况产生所需的 效果。如本文所用，术语“组合物”旨在涵盖包含特定量的特定成分的产品，以及由特 定量的特定成分的组合直接或间接得到的任何产品。

[0180] 本文所述的组合物可以通过口服，肠胃外，通过吸入喷雾，局部，直肠，鼻腔， 口腔，阴道或经由植入的储存器来施用。本文使用的术语“肠胃外”包括皮下，静脉内， 肌内，

关节内，滑膜内，胸骨内，鞘内，肝内，病灶内和颅内注射或输注技术。

[0181] 用于口服给药的液体剂型包括但不限于药学上可接受的乳剂，微乳剂，溶液剂，混悬剂，糖浆剂和酏剂。除了活性化合物以外，液体剂型还可以含有本领域常用的惰 性稀释剂，例如水或其它溶剂，增溶剂和乳化剂，例如乙醇，异丙醇，碳酸乙酯，乙 酸乙酯，苄基乙醇，苯甲酸苄酯，丙二醇，1,3-丁二醇，二甲基甲酰胺，油(特别是棉 籽油，花生油，玉米油，胚芽油，橄榄油，蓖麻油和芝麻油)，甘油，四氢糠醇，聚乙 二醇和脂肪酸酯脱水山梨糖醇，及其混合物。除了惰性稀释剂之外，口服组合物还可 以包含佐剂，例如润湿剂，乳化和悬浮剂，甜味剂，调味剂和芳香剂。

[0182] 可注射制剂，例如无菌可注射水性或油性悬浮液可根据已知技术使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂配制。无菌注射制剂也可以是在肠胃外可接受的无毒稀释剂或溶 剂中的无菌注射溶液、悬浮液或乳剂，例如在1,3-丁二醇中的溶液。在可接受的载体 和溶剂中可以使用的是水，林格氏液，U.S.P.和等渗氯化钠溶液。另外，无菌的固定 油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的，可以使用任何温和的固定油，包括合成的甘 油单酯或甘油二酯。此外，脂肪酸如油酸用于制备注射剂。

[0183] 药物组合物可以是无菌注射水性或油性混悬液的形式。该悬浮液可根据已知技术使用上文已提及的那些合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。无菌注射制剂也可以 是在肠胃外可接受的无毒稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液或悬浮液，例如在1,3-丁二 醇中的溶液。在可接受的载体和溶剂中可以使用的是水，林格氏液和等渗氯化钠溶液。 另外，无菌的固定油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的，可以使用任何温和的固定 油，包括合成的甘油单酯或甘油二酯。另外，脂肪酸如油酸可用于制备注射剂。

[0184] 注射制剂可以通过例如细菌保留过滤器过滤或通过掺入无菌固体组合物形式的灭菌剂来灭菌，所述灭菌剂可以在使用前溶解或分散于无菌水或其它无菌可注射介质 中。

[0185] 为了延长本发明化合物的作用，通常需要减缓化合物从皮下或肌内注射的吸收。这可以通过使用水溶性差的晶体或无定形材料的液体悬浮液来完成。化合物的吸收速 率取决于其溶出速率，而溶出速率又取决于晶体尺寸和结晶形式。或者，肠胃外给药 的化合物形式的延迟吸收通过将化合物溶解或悬浮于油性载体中来完成。通过在可生 物降解的聚合物如聚丙交酯-聚乙交酯中形成化合物的微胶囊基质来制备药性持久的 注射形式。根据化合物与聚合物的比例和所用特定聚合物的性质，可以控制化合物释 放的速率。其他生物可降解聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。药性持久的可注 射制剂也可以通过将化合物包埋在与身体组织相容的脂质体或微乳液中来制备。

[0186] 用于直肠或阴道给药的组合物优选为栓剂，其可通过将本发明化合物与合适的无刺激性赋形剂或载体如可可脂，聚乙二醇或栓剂蜡混合来制备，所述赋形剂或载体在 环境温度下为固体但在体温下为液体并因此在直肠或阴道腔中融化并释放活性化合 物。

[0187] 口服给药的固体剂型包括胶囊剂，片剂，丸剂，粉剂和颗粒剂。在这样的固体剂 型中，将活性化合物与至少一种惰性的药学上可接受的赋形剂或载体如柠檬酸钠或磷 酸二钙和/或a)填充料或增容剂如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和硅酸，b)粘 合剂，例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶，c)湿 润剂如甘油，d)崩解剂如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和 碳酸钠，e)溶液阻滞剂如石蜡，f)吸收促进剂如季铵化合物，g)润湿剂如鲸蜡醇和甘油 单硬脂酸酯，h)吸收剂如高岭

土和膨润土，和i)润滑剂，例如滑石、硬脂酸钙、硬脂 酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠、及其混合物。在胶囊、片剂和丸剂的情况下，剂型还可以包含缓冲剂。

[0188] 类似类型的固体组合物也可通过使用诸如乳糖或奶糖以及高分子量的聚乙二醇等的赋形剂来用作软硬填充明胶胶囊中的填充剂。片剂、糖锭剂、胶囊剂、丸剂和颗 粒剂的固体剂型可以用包衣和外壳(例如肠溶衣和药物制剂领域公知的其他包衣)制 备。它们可以任选地含有不透明剂并且还可以具有这样的组成，即它们仅仅或优先在 肠道的某个部分释放活性成分，任选地以延迟的方式释放活性成分。可以使用的包埋 组合物的实例包括聚合物质和蜡。类似类型的固体组合物也可通过使用诸如乳糖或奶 糖以及高分子量的聚乙二醇等的赋形剂用作软硬填充明胶胶囊中的填充剂。

[0189] 如上所述，本发明的化合物也可以用一种或多种赋形剂以微胶囊形式存在。片剂，糖衣丸，胶囊剂，丸剂和颗粒剂的固体剂型可以用包衣和外壳例如肠溶衣，释放控制 包衣和药物制剂领域公知的其它包衣制备。在这种固体剂型中，活性化合物可以与至 少一种惰性稀释剂例如蔗糖，乳糖或淀粉混合。正常情况下，此类剂型还可以包含除 惰性稀释剂例如压片润滑剂和其他压片助剂，如硬脂酸镁和微晶纤维素以外的其他物 质。在胶囊，片剂和丸剂的情况下，剂型还可以包含缓冲剂。它们可以任选地含有不 透明剂并且还可以具有这样的组成，即它们仅仅或优先在肠道的某个部分释放活性成 分，任选地以延迟的方式释放活性成分。可以使用的包埋组合物的实例包括聚合物质 和蜡。

[0190] 用于本发明化合物局部或透皮施用的剂型包括软膏剂，糊剂，乳膏剂，洗剂，凝 胶剂，粉剂，溶液剂，喷雾剂，吸入剂或贴剂。活性组分在无菌条件下与药学上可接 受的载体和任何需要的防腐剂或缓冲剂按需要混合。眼用制剂，滴耳剂和滴眼剂也被 认为是在本发明的范围内。另外，本发明考虑使用透皮贴剂，其具有提供化合物向身 体的受控递送的附加优点。这种剂型可以通过将化合物溶解或分散在合适的介质中来 制备。吸收促进剂也可用于增加化合物穿过皮肤的通量。可以通过提供速率控制膜或 通过将化合物分散在聚合物基质或凝胶中来控制速率。

[0191] 本文提供的药学上可接受的组合物还可以通过鼻腔气雾剂或吸入给药。这些组合物根据药物制剂领域熟知的技术制备，并且可以使用苯甲醇或其他合适的防腐剂，增 强生物利用度的吸收促进剂，碳氟化合物和/或其它常规增溶剂或分散剂制备成盐水溶 液。

[0192] 本文提供的药学上可接受的组合物可以配制用于口服给药。这种制剂可以与食物一起或不与食物一起给药。在一些实施方案中，本发明的药学上可接受的组合物在没 有食物下施用。在其他实施方案中，本发明的药学可接受组合物与食物一起施用。

[0193] 适宜的剂量水平通常为每公斤患者体重每天约0.01至500mg，其可以单剂量或多剂量施用。优选地，剂量水平将为每天约0.1至约250mg/kg；更优选每天约0.5至约100 mg/kg。合适的剂量水平可以是每天约0.01至250mg/kg，每天约0.05至100mg/kg或每 天约0.1至50mg/kg。在此范围内，剂量可以是0.05至0.5，0.5至5或5至50mg/kg每天。 对于口服给药，组合物优选以含有1.0至1000mg活性成分，特别是1.0，5.0，10.0，15.0， 20.0，25.0，50.0，75.0，100.0，150.0，200.0，250.0，300.0，400.0，500.0，600.0， 750.0，800.0，900.0和1000.0mg有效成分，用于对待治疗患者的剂量进行症状调整。化合物可以每天1至4次，优选每天一次或两次施用。

[0194] 然而，应该理解的是，对于任何特定患者的特定剂量水平和剂量频率可以变化，

并将取决于多种因素，包括所用特定化合物的活性，代谢稳定性和该化合物作用的时 间长度，年龄，体重，一般健康状况，性别，饮食，给药方式和时间，排泄速率，药 物组合，特定病症的严重程度以及接受治疗的宿主。组合物中本发明化合物的量也将 取决于组合物中的具体化合物。

[0195] 如本文所用，除上下文另有要求外，术语“包含”和该术语的变化例如“包含”，“包括”和“含有”不旨在排除其他添加剂、组分、整体或步骤。

[0196] 根据通过实施例方式给出的以下描述，本发明的其他方面以及前面段落中所描述方面的进一步实施例将变得清楚。

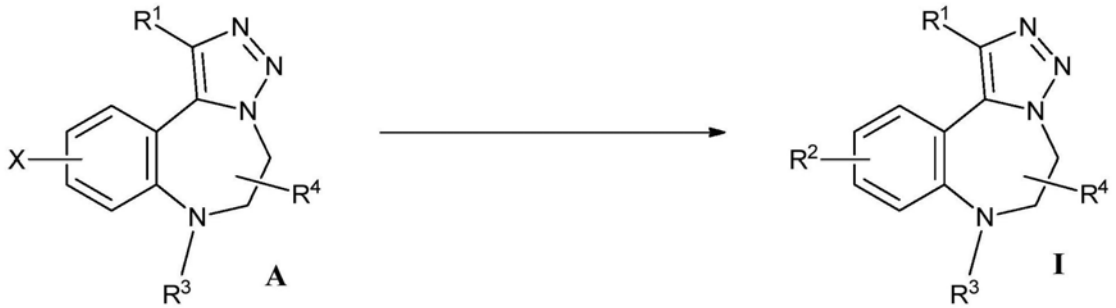
[0197] 化学

[0198] 化学概述

[0199] 本申请的6,7-二氢-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬I化合物可以通过以下说 明性途径制备。

[0200] 适当取代的6,7-二氢-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬A，其中X优选为碘， 溴或三氟甲磺酸酯，转化成取代的衍生物I可以通过与适当官能化的偶联配体发生金属 介导的交叉偶联反应来实现。典型的金属催化剂是钯物质，并且典型的偶联配体是硼酸或酯(Suzuki偶联：Chem Rev.1995、95、2457)，锡烷(Stille偶联：合成Synthesis 1992、803-815.)，格氏试剂(Kumada偶联：Org Synth.1988、Coll.Vol.6、407)，有机锌物质(Negishi偶联：J.Organomet Chem.2002、653、34)，烯烃(Heck反应：四面体2001,57,7449)或炔烃(Sonogashira偶联：Synlett 2009、2896)。Suzuki偶联是优选的偶联方法，并且 通常在诸如DME，THF，DMF，乙醇，丙醇，甲苯或1,4-二氧六环的溶剂中，在碱例 如K_2CO_3、LiOH、Cs_2CO_3、NaOH、KF或K_3PO_4的存在下进行。该反应可以在升高 的温度下进行，并且所用的钯催化剂可以选自$Pd(PPh_3)_4$、$Pd(OAc)_2$、$[PdCl_2(dppf)]$、$Pd_2(dba)_3$。

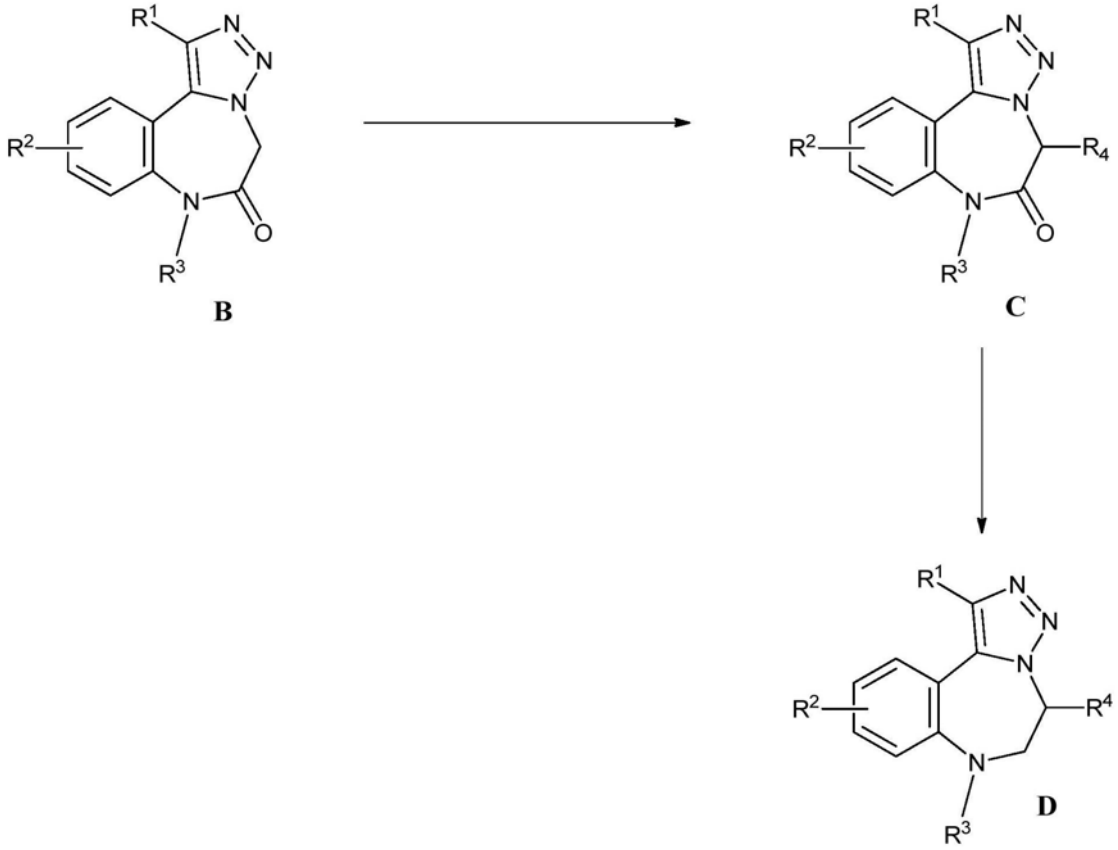
[0201]



[0202] 可以通过苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬-6(7H)-酮衍生物B的烷基化将取 代基R^4引入到6,7-二氢-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬衍生物D中，这种烷基化 α到酰胺羰基的条件是本领域技术人员众所周知的，并且涉及苯并[f][1,2,3]三唑并 [1,5-d][1,4]二氮䓬-6(7H)-酮衍生物B与碱的反应以及由此在溶剂中用烷基化试剂生成 阴离子的反应。优选的碱包括六甲基二硅基氨基钠，六甲基二硅基氨基钾，二异丙基 氨基锂和氢氧化钠。优选的烷基化试剂包括取代的烷基碘化物、取代的烷基溴化物和取代的烷基氯化物。优选的溶剂包括四氢呋喃，二甲基甲酰胺，HMPA和乙腈，温度 为-80℃至回流。取代的苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬-6(7H)-酮衍生物C可以 在上述条件下被进一步烷基化或通过在合适的溶剂中暴露于还原剂来转化为6,7-二氢 -苯并

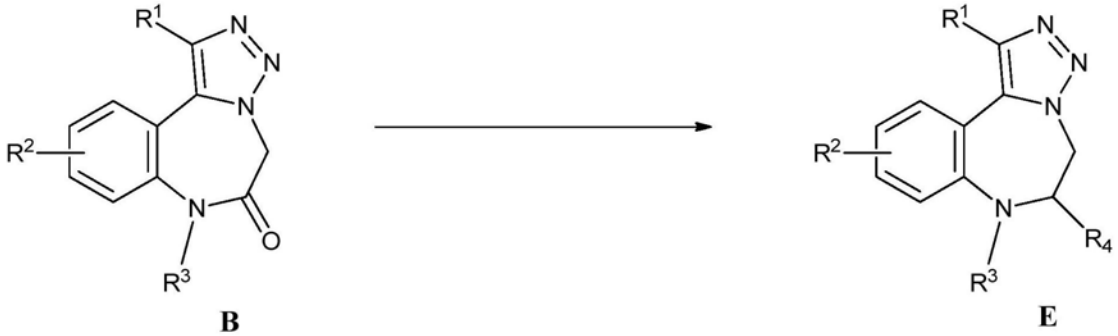
[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草衍生物D。优选的还原剂包括硼烷，氢化铝锂，DIBAL-H，硼氢化锂和含有添加剂如TFA的硼氢化钠。优选溶剂包括四氢呋喃。

[0203]



[0204] 或者可以通过苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮衍生物B的还原性 烷基化将取代基R^4引入到6,7-二氢-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草衍生物E中。此类转化方法是本领域技术人员已知的，优选的方法包括将B暴露于2,6-二叔丁基-4- 甲基吡啶和三氟甲磺酸酐，接着用格氏试剂处理(J.Org.Chem.2013、78、8305-8311)。

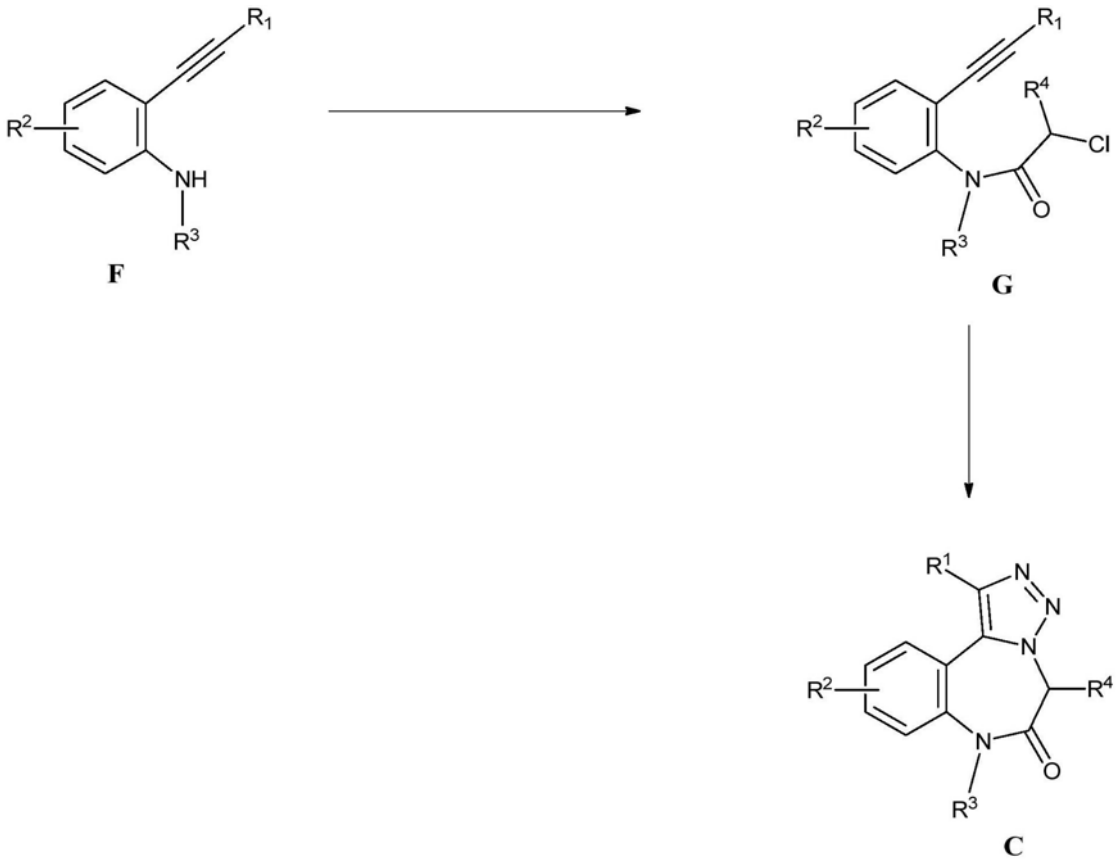
[0205]



[0206] 苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮衍生物I可以由苯胺F逐步制备，包 括苯胺氮与α-氯乙酰氯的酰化反应，随后与叠氮化钠反应，然后加热。F的酰化在本 领域技术人员公知的条件下进行，并且典型地包括苯胺和α-氯乙酰氯或其取代形式在非质子溶剂(如二氯甲烷、甲苯或四氢呋喃)中，在碱(如三乙胺或碳酸钾)的存在下反应。可以加入亲核性酰化催化剂如DMAP以辅助反应。然后将由此形成的氯化物G与叠氮 化物源如叠氮化钠在惰性溶剂如甲苯、二甲基甲酰胺或N-甲基吡咯烷酮中反应以产生 叠氮基中

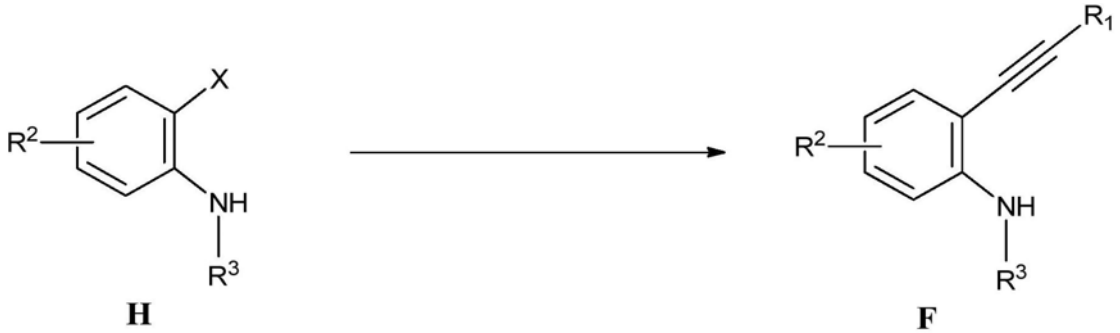
间体，随后将其加热以实现[3+2]环加成反应，由此产生苯并[f][1,2,3]三唑 并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮C。

[0207]



[0208] 苯胺F可以是市售的或者通过苯胺衍生物H，与末端乙炔衍生物在合适的金属催化剂存在下反应来制备，其中X优选为溴，碘或三氟甲磺酸酯。优选的方法是Sonogashira 偶联(Comp.Org.Syn.1991、3、551-561)，其中乙炔铜化合物由末端乙炔和铜(I)盐如 碘化亚铜，使用钯催化剂如$(PPh_3)_2PdCl_2$在胺碱如三乙胺存在下反应。

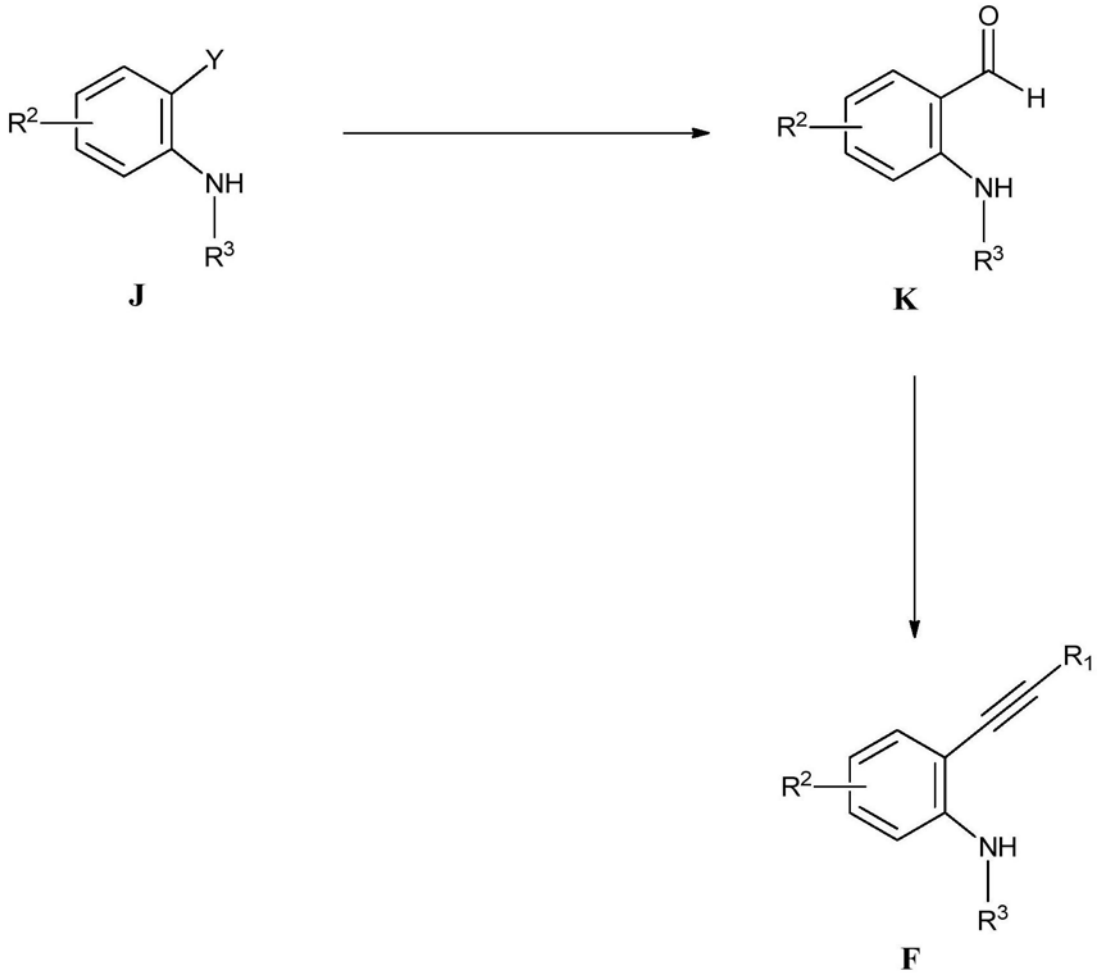
[0209]



[0210] 或者苯胺F可以从苯胺J以分步方式获得，其中Y优选为氰基，酯，酸，酰卤或酰 氨基。在本领域技术人员熟知的条件下还原基团Y将产生醛K，然后在本领域技术人 员已知的条件下将醛K转化为所需炔烃衍生物F。还原J的优选方法包括DIBAL-H，三 (叔丁氧基氢化铝)锂，或者可以还原成相应的醇(例如使用氢化铝锂)，随后氧化成醛 J(例如使用Swern氧化，TPAP或二氧化锰)。还原反应优选在溶剂如四氢呋喃中进行。将醛J转化为炔F的优选方法包括反应如Seyferth-Gilbert同系化反应(J.Org.Chem.、 1982、47、1837-1845)，使用Bestmann-Ohira试剂或其变体。由这些反应(R^1=H)形成 的末端乙炔可以进一步变为复杂

($R^1 \neq H$)，使用诸如Corey-Fuchs反应等方法。产生炔 F(其中R^1＝Me)的优选方法包括将乙基苯基砜的阴离子加成到醛K上，并且通过用 ClP(O)(OEt)$_2$和t-BuOK一锅法依次处理来实现双重消除过程(Synlett 2007、1909-1912)。本领域技术人员将认识到，在上述某些情况下，苯胺需要被衍生化(即被 保护)以使反应以合理的产率和效率进行。适当的保护基是本领域技术人员熟知的，并 且可以在教科书中找到，例如参见Theodora Greene和Peter Wuts，第四版，Wiley Interscience，2006中的“有机合成中的保护基”。

[0211]



[0212] 苯胺H和J通过相应的伯苯胺在各种条件下反应引入R^3而获得。这种转化的常用方法包括用烷基卤化物进行烷基化；用合适的醛形成亚胺然后进行还原(即还原胺化)；或与芳基或烷基硼酸衍生物(或锡烷，硅氧烷，碘鎓盐)在合适的金属催化剂例如Cu(II) 盐(例如Chan-Lam偶联：Tetrahedron 2012、68、7735)的存在下进行偶联反应。或者，可以通过过渡金属催化的胺化反应(Buchwald-Hartwig反应)引入R^3。用于这种转化的典 型催化剂包括Pd(OAc)$_2$/P(t-Bu)$_3$，Pd$_2$(dba)$_3$/Xantphos和Pd(OAc)$_2$/BINAP。这些反应 通常在溶剂如甲苯或二氧六环中，在碱如碳酸铯或叔丁醇钠或叔丁醇钾的存在下，在 室温至回流的温度范围内进行(例如Hartwig、J.F.、Angew.Chem.Int.Ed.1998、37、 2046)。

[0213] 应该理解，上述方法是说明性的，并且反应顺序可以以与上述相同的替代顺序进行。如上所述制备的化合物的进一步加工也可以使用本领域技术人员公知的方法进 行，以制备本发明的化合物。

[0214] 一般化学方法

[0215] 除非另有说明，核磁共振(^{1}H NMR、600MHz和300MHz和^{13}C NMR，150MHz 和75MHz)谱以$CDCl_3$作溶剂在300K获得。化学位移在δ刻度上以ppm表示并且以适当 的溶剂峰值为参考。薄层色谱分析(TLC)在Merck硅胶60F 254铝背板上进行并用短波 长UV(254nm)吸光度观察。使用预填充硅胶柱(粒度为0.040-0.063mm)的 CombiFlash®Rf纯化系统(Teledyne，ISCO，Lincoln，NE，USA)，或使用带有硅胶60(粒 度0.040-0.063mm)的玻璃柱的快速色谱进行色谱分析。使用自动溶剂纯化系统(MBraun SPS，Garching，德国)干燥无水溶剂。所有商业试剂都按收到的使用。

[0216] 使用两种不同方法之一进行液相色谱质谱(LCMS)操作；方法A)使用反相高效液相色谱(HPLC)分析的Finnigan LCQ Advantage Max(柱：Gemini 3μC18 20x 4.0mm 110A)溶剂A：水0.1％甲酸，溶剂B：乙腈0.1％甲酸，梯度：经10分钟10-100％B检 测：100-600nm和电喷雾电离(ESI)，阳极模式，源温度300℃。方法B)(5分钟方法)：LC型号：Agilent 1200(泵类型：二元泵，检测器类型：DAD)MS型号：Agilent G6110A 四极杆。柱：Xbridge-C18，2.5μm，2.1×30mm。柱温：30℃。获得波长：214nm，254nm。 流动相：A：0.07％HCOOH水溶液，B：MeOH。运行时间：5分钟。MS：离子源： ES+(或ES-)。MS范围：50～900 m/z。碎裂电压：60.干燥气流量：10L/min。雾化 器压力：35psi。干燥气体温度：350℃。Vcap：3.5kV。

[0217] 制备质量定向的LC

[0218] 方法A：

[0219] 仪器：Waters ZQ 3100-Mass检测器，Waters 2545-泵，Waters SFO System Fluidics Organizer，Waters 2996二极管阵列检测器，Waters 2767样品

[0220] 管理

[0221] LC条件：反相HPLC分析。色谱柱：XBridge™C18 5μm19x 50mm。注射体积500μL； 溶剂A：水0.1％甲酸。溶剂B：MeCN 0.1％甲酸；梯度：4分钟内5％B，然后8分钟内 5-100％B，然后4分钟内100％B；流速：19mL/min。检测：100-600nm。MS条件： 离子源：单四极；离子模式：ES正。源温度：150℃；去溶剂化温度：350℃。检测： 离子计数。毛细管(KV)-3.00。锥体(V)：30提取器(V)：3RF镜头(V)：0.1扫描范围： 100-1000Amu扫描时间：0.5秒；采集时间：10分钟

[0222] 气体流量：去溶剂L/小时-650；锥体L/小时-100

[0223] 方法B：

[0224] 仪器类型：VARIAN 940LC。泵类型：二元泵。检测器类型：PDA

[0225] LC条件：柱：Waters SunFire prep C18OBD，5μm，19×100mm。采集波长：214nm，254nm。流动相：A：0.07％TFA水溶液，B：MeOH，0.07％TFA。

[0226] 缩写

[0227] ACN 乙腈

[0228] AD-mix AD-mix-阿尔法

[0229] EA 乙酸乙酯

[0230] cHex 环己烷

[0231] DAST 二乙胺基三氟化硫

[0232] DCM 二氯甲烷

[0233] DIPEA 二异丙基乙胺

[0234] DME 1,2-二甲氧基乙烷

[0235] DMF N,N-二甲基甲酰胺

[0236] DMSO 二甲亚砜

[0237] EtOAc 乙酸乙酯

[0238] K_3PO_4 磷酸三钾

[0239] Lawesson试剂 2,4-双(4-甲氧苯基)-1,3,2,4-二硫代二磷-2,4-二硫酮

[0240] $LiAlH_4$ 氢化铝锂

[0241] m-CPBA 间氯过氧苯甲酸

[0242] MeOH 甲醇

[0243] MsCl 甲磺酰氯

[0244] MW 微波

[0245] HATU (O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐)

[0246] PE 石油醚

[0247] RT 室温

[0248] TFA 2,2,2-三氟乙酸

[0249] THF 四氢呋喃

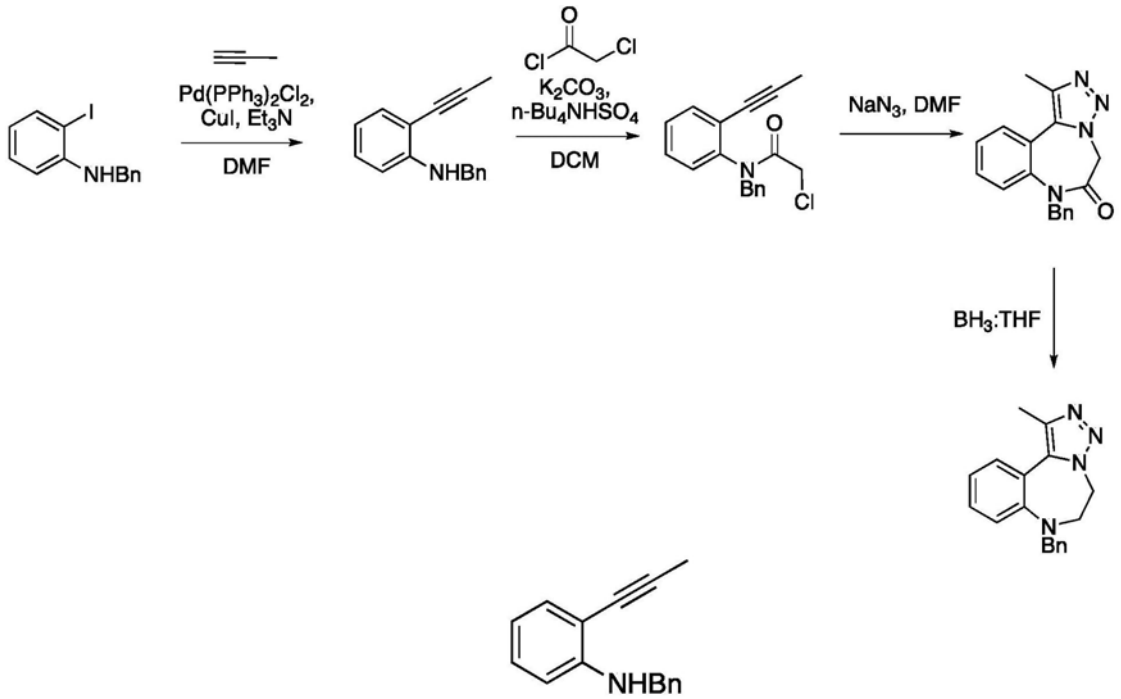
[0250] TBAF 四正丁基氟化铵

[0251] Xantphos 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽

[0252] Xphos 2-二环己基磷-2′,4′,6′-三异丙基联苯

具体实施例

[0253]



[0254] 步骤1:N-苄基-2-(丙-1-炔-1-基)苯胺

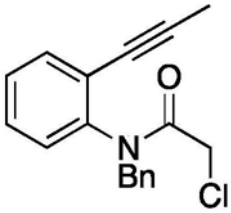
[0255] 向螺旋盖反应容器中装载搅拌棒,N-苄基-2-碘苯胺[Org.Lett.、2013、15(13)、3274-3277](1.00g,3.23mmol),Pd(PPh_3)$2Cl_2$(50mg,0.07mmol)和CuI(40mg,0.2mmol)。将容器抽空并用氮气填充(3次),然后加入三乙胺(5mL)和DMF(2.5mL),将混合物冷却 至-78

℃。然后通过预先冷却的针(通过置换测量体积)将丙炔(3.8mL,4.8mmol)压缩到 混合物中。然后用螺帽快速密封反应容器,并移除冷却浴,混合物在RT下搅拌过夜。 然后将反应混合物倒入乙醚(10mL)中并用水(3×5mL)洗涤。然后用乙醚(3×5mL)萃取水 相,然后将合并的有机相用盐水(5mL)洗涤,用$MgSO_4$干燥,过滤并减压浓缩。然后 通过快速色谱法(梯度洗脱2:98至5:95,v/v,EtOAc:环己烷)纯化粗产品,得到 N-苄基-2-(丙-1-炔-1-基)苯胺(690mg,98%),为粘稠的棕色油状物。

[0256] LCMS(方法C):6.00分钟

[0257] m/z[MH]$^+$=222.3;

[0258] ^{1}H-NMR(600MHz、$CDCl_3$):δ7.35(m、5H)、7.27(m、1H)、7.10-7.07(m、1H)、 6.61-6.58(m、1H)、6.52(d、J=8.3Hz、1H)、4.42(s、2H)、2.10(s、3H).

[0259] 

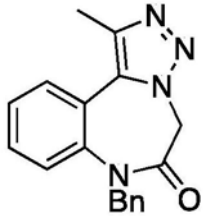
[0260] 步骤2:N-苄基-2-氯-N-(2-(丙-1-炔-1-基)苯基)乙酰胺

[0261] 向磁力搅拌下的氯乙酰氯(540μL,6.80mmol)的DCM(20mL)溶液中加入N-苄基 -2-(丙-1-炔-1-基)苯胺(1.00mg,4.50mmol)的DCM溶液(20毫升)。然后加入四正丁基 硫酸氢铵(200μL约55%的水溶液),随后加入碳酸钾(940mg,6.80mmol)。1小时后,将 反应混合物用HCl(2×10mL的1M溶液),然后用NaOH(2×10mL的1M溶液)洗涤。合并的 水相用EtOAc(3×5mL)萃取,合并的有机相用盐水(10mL)洗涤,用$MgSO_4$干燥,过滤 并减压浓缩。将粗产品通过快速色谱法(梯度洗脱,5:95至1:9,v/v,EtOAc:环 己烷)纯化,得到N-苄基-2-氯-N-(2-(丙-1-炔-1-基)苯基)乙酰胺(1.22g,91%),为粘稠 的黄色油状物。

[0262] LCMS(方法B):6.80分钟

[0263] m/z[MH]+=298.1;

[0264] ^{1}H-NMR(600MHz、$CDCl_3$):δ7.44(d、J=7.7Hz、1H)、7.28-7.23(m、4H)、 7.20-7.16(m、3H)、6.83(d、J=7.9Hz、1H)、5.36(d、J=14.3Hz、1H)、4.41(d、J= 14.2Hz、1H)、3.92-3.90(m、1H)、3.81(dd、J=13.7、1.3Hz、1H)、2.00(s、3H).

[0265] 

[0266] 步骤3:7-苄基-1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**䓬**-6(7H)-酮

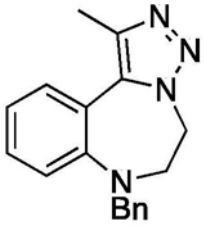
[0267] 向磁性搅拌下的N-苄基-2-氯-N-(2-(丙-1-炔-1-基)苯基)乙酰胺(34mg, 0.11mmol) 的DMF(0.5mL)溶液中加入叠氮化钠(18mg,0.29mmol)。将混合物加热至100℃1小时, 将温度升至140℃2小时。将反应混合物倒入EtOAc(5mL)中,用水(5mL)洗涤,有机相用Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。通过快速色谱法(洗脱,1:9,v/v,EtOAc/环己 烷)纯化粗产

品，得到7-苄基-1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)- 酮(18mg，54%)，为白色固体。

[0268] LCMS(方法B)：6.27分钟

[0269] m/z[MH]$^+$＝305.3

[0270] ^{1}H-NMR(600MHz、$CDCl_3$)：δ7.46-7.43(m、3H)、7.35-7.33(m、1H)、7.18-7.16 (m、3H)、6.90(dd、J＝6.4、2.4Hz、2H)、5.47(d、J＝14.1Hz、1H)、5.19(d、J＝15.5 Hz、1H)、4.90(d、J＝15.5Hz、1H)、4.62(d、J＝14.1Hz、1H)、2.46(s、3H).

[0271] 

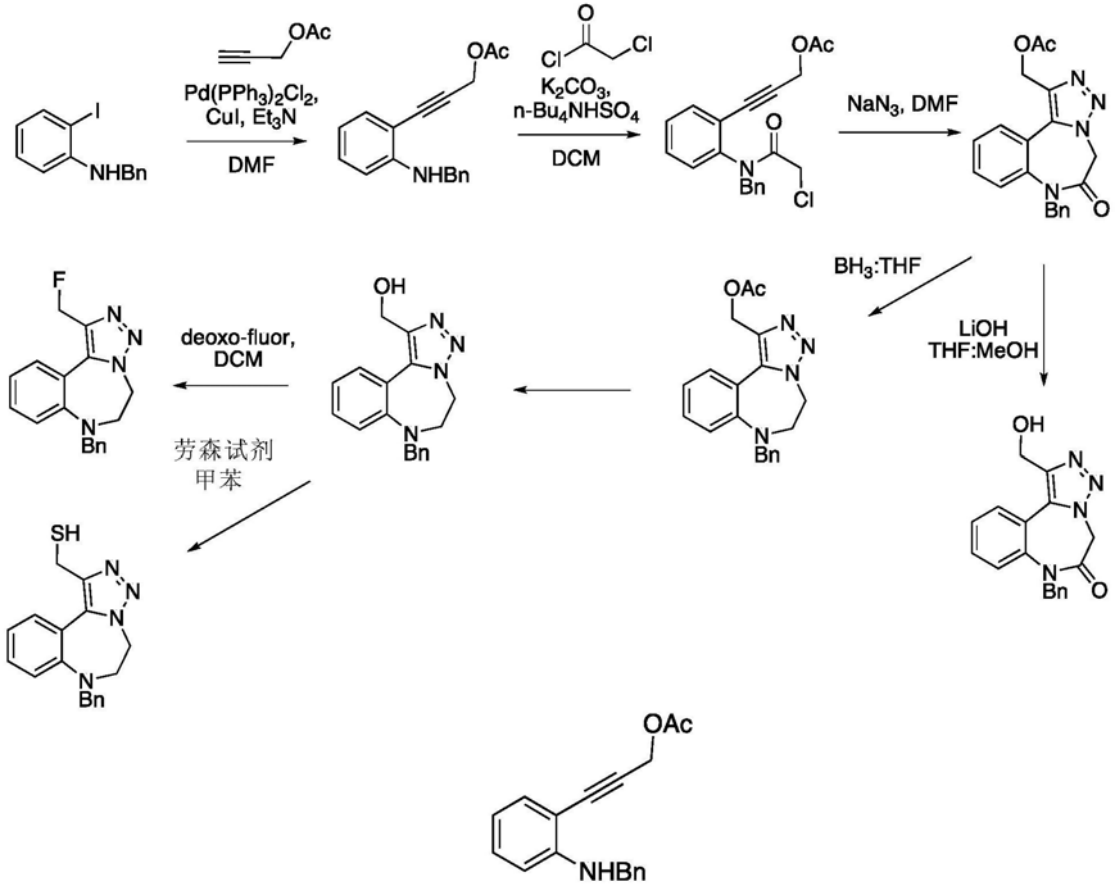
[0272] 步骤4：7-苄基-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草

[0273] 向磁力搅拌下的7-苄基-1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)- 酮(80mg 0.26mmol)的THF(1mL)溶液中加入硼烷(1.3mL 1M的THF溶液，1.3mmol)，将 混合物加热回流16小时。将混合物冷却并加入MeOH(2mL)，将溶液减压浓缩。该过程 再重复2次。通过快速色谱法(梯度洗脱，1:9至1:4，v/v，EtOAc:环己烷)纯化粗 产品，得到7-苄基-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(44mg， 57%)，为白色固体。

[0274] LCMS(方法B)：7.11分钟

[0275] m/z[MH]$^+$＝291.3；

[0276]



[0277] 步骤1:乙酸3-(2-(苄基氨基)苯基)丙-2-炔-1-基酯

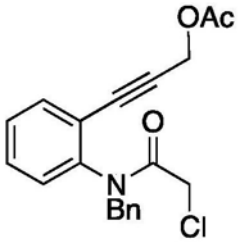
[0278] 向100mL烧瓶中加入Pd(PPh$_3$)$_4$(654mg,0.57mmol)和CuI(216mg,1.13mmol),然 后将烧瓶抽空并用氮气填充。然后加入N-苄基-2-碘苯胺[Org.Lett.、2013、15、 3274-3277](3.50g、11.32mmol)的THF溶液,接着加入乙酸炔丙酯(1.69mL,16.98mmol) 和三乙胺(5mL)。将混合物在室温下搅拌2小时,然后浓缩到SiO$_2$上。将所得固体进行 快速色谱(梯度洗脱,0:1至1:4,v/v,EtOAc:环己烷),得到乙酸3-(2-(苄基氨基) 苯基)丙-2-炔-1-基酯(2.87g,98%),为粘稠的橙色油状物。

[0279] LCMS(方法b):5.10分钟

[0280] m/z[MH]$^+$=279.0

[0281] ^{1}H-NMR(600MHz、CDCl$_3$):δ7.36-7.28(m、6H)、7.16-7.13(m、1H)、6.63(t、 J=7.5Hz、1H)、6.56(d、J=8.3Hz、1H)、4.92(s、2H)、4.43(s、2H)、2.08(d、J= 0.7Hz、3H).

[0282]



[0283] 步骤2:乙酸3-(2-(N-苄基-2-氯乙酰氨基)苯基)丙-2-炔-1-基酯

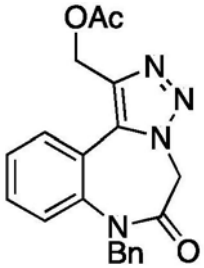
[0284] 向磁力搅拌下的乙酸3-(2-(苄基氨基)苯基)丙-2-炔-1-基酯(2.85g,10.2mmol) 的 DCM(100mL)溶液中加入氯乙酰氯(1.217mL,15.3mmol),随后加入四丁基硫酸氢铵 (tetra-npbutylammonium hydrogensulfate)(1.0mL约55%水溶液)和碳酸钾(2.12g,

15.3mmol)。剧烈搅拌混合物2小时，然后用HCl(2×30mL的0.1M溶液)，接着用 $NaHCO_3$(2×30mL饱和水溶液)洗涤有机相。有机相用$MgSO_4$干燥，过滤并减压浓缩。通过快速色谱法(梯度洗脱，0:1至2:3，v/v，EtOAc:环己烷)纯化粗物质，得到乙 酸3-(2-(N-苄基-2-氯乙酰氨基)苯基)丙-2-炔-1-基酯(3.06g，84%)，为橙色油状物。

[0285] LCMS(方法A):5.55分钟

[0286] m/z$[MH]^+$=355.7

[0287] ^{1}H-NMR(600MHz、$CDCl_3$):δ7.50(d、J=7.5Hz、1H)、7.31(d、J=7.4Hz、 1H)、7.27-7.23(m、4H)、7.18(t、J=3.3Hz、2H)、6.88(d、J=7.8Hz、1H)、5.31(d、 J=14.3Hz、1H)、4.79(d、J=1.2Hz、2H)、4.44(d、J=14.3Hz、1H)、3.89(d、J= 13.5Hz、1H)、3.78(d、J=13.5Hz、1H)、2.14(s、3H).

[0288] 

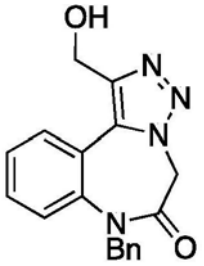
[0289] 步骤3:乙酸(7-苄基-6-氧代基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮 **草**-1-基)甲基酯

[0290] 将磁力搅拌下的乙酸3-(2-(N-苄基-2-氯乙酰氨基)苯基)丙-2-炔-1-基酯(3.00g， 8.43mmol)和叠氮化钠(1.37g，21.08mmol)的DMF(25mL)溶液加热至100℃1小时，然 后将温度升至115℃3小时。浓缩冷却的混合物，并将残余物置于EtOAc(50mL)中，并 用水(2×5mL)洗涤。有机相用$MgSO_4$干燥，过滤并减压浓缩。通过快速色谱法(梯度洗 脱，0:1至1:0，v/v，EtOAc:环己烷)纯化粗产品，得到乙酸(7-苄基-6-氧代基-6,7- 二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**-1-基)甲基酯(2.14g，70%)，为棕色固 体。

[0291] LCMS(方法A)5.02分钟

[0292] m/z$[MH]^+$=363.1

[0293] ^{1}H-NMR(600MHz、$CDCl_3$):δ7.56(dd、J=7.8、0.9Hz、1H)、7.49-7.45(m、 2H)、7.37-7.34(m、1H)、7.16(dt、J=3.1、1.6Hz、3H)、6.90-6.88(m、2H)、5.52(d、 J=14.2Hz、1H)、5.42(d、J=12.9Hz、1H)、5.23(d、J=15.5Hz、1H)、5.04(d、J= 12.9Hz、1H)、4.88(d、J=15.5Hz、1H)、4.64(d、J=14.2Hz、1H)、2.07(s、3H).

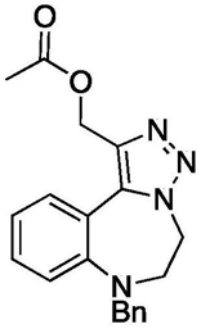
[0294] 

[0295] 步骤4:7-苄基-1-(羟甲基)-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**-6(7H)-酮

[0296] 向磁力搅拌下的乙酸(7-苄基-6-氧代基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并

[1,5-d] [1,4]二氮草-1-基)甲基酯(60mg,0.17mmol)的THF溶液(2mL)和水(0.5mL)溶液中加入氢 氧化锂一水合物(58mg,1.4mmol)。将混合物在室温下搅拌4天,然后用HCl(1M)中和, 减压除去溶剂。将残余物溶于EtOAc(5mL)中并用水(2mL)洗涤。有机相用$MgSO_4$干燥,过滤并减压浓缩,得到7-苄基-1-(羟甲基)-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 -6(7H)-酮(54mg,99%),为白色固体。

[0297] ^{1}H-NMR(600MHz、CD_3OD):δ7.28(dt、J=17.7、8.4Hz、4H)、7.19-7.16(m、 2H)、7.08(d、J=7.3Hz、1H)、6.69(t、J=7.4Hz、1H)、6.60(d、J=8.3Hz、1H)、 4.76(q、J=18.0Hz、2H)、4.54(q、J=17.2Hz、2H)、4.28(s、2H).

[0298] 

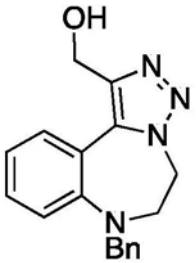
[0299] 步骤5:乙酸(7-苄基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**-1-基)甲 基酯

[0300] 向磁力搅拌下的乙酸(7-苄基-6-氧代基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮草-1-基)甲基酯(1.00g,2.76mmol)的THF(27mL)溶液中加入硼烷(27mL 1M THF溶液,27.59mmol)。将混合物加热至90℃16小时,然后减压浓缩。将残余物溶于 甲醇(10mL)中并加热回流2h,然后减压浓缩。通过快速色谱法(梯度洗脱,0:1至1:0, v/v, EtOAc/环己烷)纯化粗产品,得到乙酸(7-苄基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑 并[1,5-d][1,4]二氮草-1-基)甲基酯(570mg,58%),为浅黄色固体。

[0301] LCMS(方法A)5.02分钟

[0302] m/z$[MH]^+$=363.1;

[0303] ^{1}H-NMR(600MHz、$CDCl_3$):δ7.47(dd、J=7.7、1.3Hz、1H)、7.40-7.37(m、 1H)、7.30-7.27(m、2H)、7.25(d、J=7.2Hz、1H)、7.18(d、J=8.2Hz、1H)、7.15(d、 J=7.4Hz、2H)、7.10(t、J=7.5Hz、1H)、5.32(s、2H)、4.55(t、J=5.9Hz、2H)、 4.41(s、2H)、3.63(t、J=5.9Hz、2H)、2.14(s、3H).

[0304] 

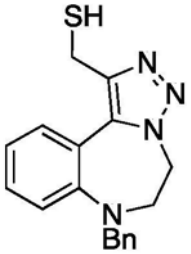
[0305] 步骤6:(7-苄基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**-1-基)甲醇

[0306] 向磁力搅拌下的乙酸(7-苄基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,

4]二氮 草-1-基)甲基酯(560mg,1.62mmol)的甲醇:THF(1:4.5mL)溶液中加入氢氧化锂一水合物 (326mg,8.17mmol)。混合物在室温下搅拌2小时,然后减压除去溶剂,并将残余物分配于EtOAc(10mL)和水(5mL)中。分离水相并用EtOAc(3×15mL)萃取,合并的有机部分 用$MgSO_4$干燥,过滤并减压浓缩,得到(7-苄基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-1-基)甲醇(440mg,88%),为白色固体。

[0307] LCMS(方法A)5.06分钟

[0308] m/z$[MH]^+$=306.9

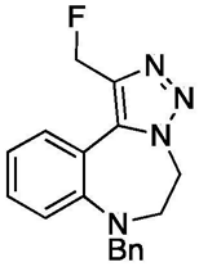
[0309] 

[0310] 步骤7:(7-苄基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-1-基)甲硫醇

[0311] 向磁力搅拌下的(7-苄基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-1- 基)甲醇(50mg,0.16mmol)的甲苯(2mL)溶液中加入劳森试剂(40mg,0.10mmol)。将混合物在回流下搅拌24小时,然后冷却并浓缩到SiO_2上,并将所得粉末进行快速色谱 法(梯度洗脱,0:1至1:0,v/v,EtOAc/环己烷)得(7-苄基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3] 三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-1-基)甲硫醇(28mg,58%),为无色固体。

[0312] LCMS(方法B)6.43分钟

[0313] m/z$[MH]^+$=323.4

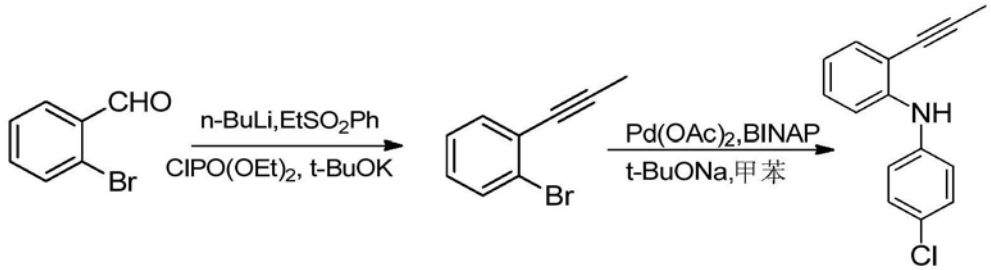
[0314] 

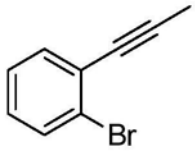
[0315] 步骤8:7-苄基-1-(氟甲基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草

[0316] 在0℃氮气气氛下,向磁力搅拌下的7-苄基-6,7-二氢-5H-苯并[f]的[1,2,3]三唑并 [1,5-d][1,4]二氮草-1-基)甲醇(220mg,0.72mmol)的DCM(5mL)溶液中逐滴加入脱氧氟(331μL,1.80mmol)。将混合物加热至室温并搅拌16小时,然后用$NaHCO_3$(5mL饱和水 溶液)淬灭。水相用DCM(3×5mL)萃取,将合并的有机部分用$MgSO_4$干燥,过滤并减压 浓缩。通过快速色谱法(梯度洗脱,0:1至1:1,v/v,EtOAc/环己烷)纯化粗产品,得到 7-苄基-1-(氟甲基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(56mg,25%), 为无色固体。

[0317] LCMS(方法B)6.43分钟

[0318] m/z$[MH]^+$=309.3

[0319] 

[0320] 

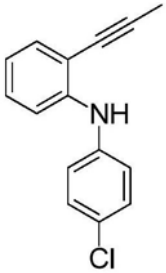
[0321] 步骤1:1-溴-2-(丙-1-炔-1-基)苯

[0322] 在-78℃下,向$EtSO_2Ph$(1.1g,6.5mmol)的THF(20mL)溶液中加入n-BuLi(1.3M,5.0mL,6.5mmol)。混合物在氮气气氛下搅拌30分钟。在-78℃下加入另一份2-溴苯甲 醛(1.0g,5.4mmol)的THF溶液(5mL),混合物搅拌30分钟。在-78℃下加入 $ClPO(OEt)_2$(1.2g,6.5mmol),并将混合物搅拌3小时。在-78℃下加入t-BuOK(3.0g, 27mmol),并将该混合物在35℃下搅拌过夜。除去溶剂。加入水和乙酸乙酯。将有机 层分离并将水层萃取两次。将有机层合并并用盐水洗涤,干燥并浓缩,得到残余物, 将其通过柱色谱(洗脱液:石油醚)纯化,得到1-溴-2-(丙-1-炔-1-基)苯(600mg,60%), 为黄色油状物。

[0323] LCMS(方法B):2.86分钟

[0324] m/z$[MNa]^+$=217.1;^1H NMR(400MHz、$CDCl_3$)

[0325] ^1H NMRδppm 2.14(s、3H)7.12(td、J=8.0Hz,1.6Hz 1H)7.25(td、J=7.6Hz,1.2Hz 1H)7.45(dd、J=7.6Hz,1.6Hz 1H)7.58(d、J=7.2Hz 1H).

[0326] 

[0327] 步骤2:N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔-1-基)苯胺

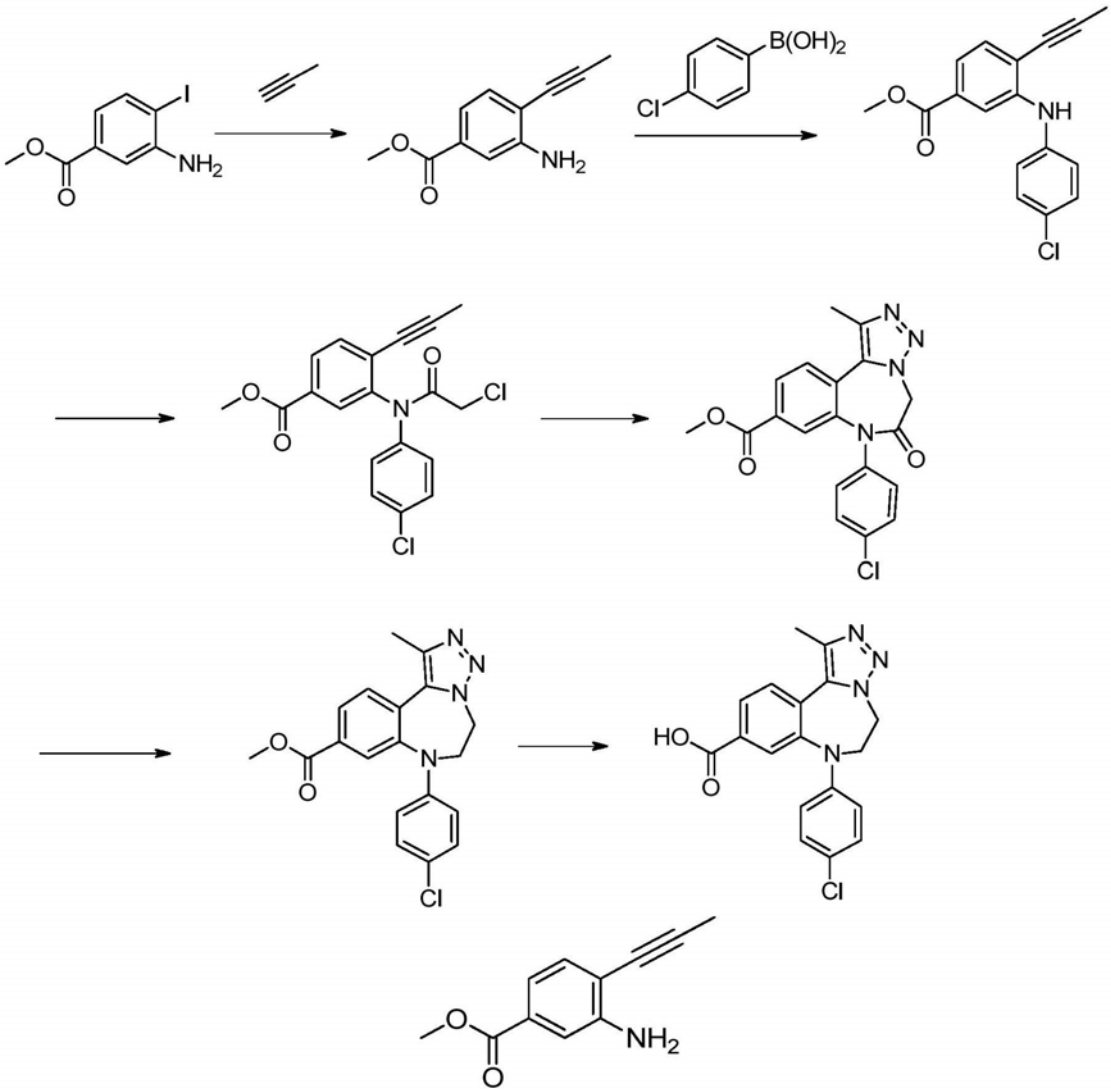
[0328] 向$Pd(OAc)_2$(18mg,0.082mmol)和rac-BINAP(62mg,0.1mmol),t-BuONa(148mg,1.54mmol)的甲苯(20mL)溶液中加入1-溴-3-(丙-1-炔-1-基)苯(200mg,1.03mmol)和4-氯苯胺(130mg,1.03mmol)。将所得混合物在110℃下搅拌48小时。用乙酸乙酯(50mL) 稀释混合物,用饱和Na_2CO_3溶液(50mL)洗涤,干燥并减压浓缩,得到残余物,通过柱 色谱法(洗脱液:石油醚/乙酸乙酯=100:1),得到黄色固体N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔-1- 基)苯胺(140mg,58%)。

[0329] LCMS(方法B):3.54分钟

[0330] m/z$[MH]^+$=242.1

[0331] ^1H NMR(400MHz、$CDCl_3$)δppm 2.32(s、3H)6.43(s、1H)7.11(m、3H)7.31(dd、J=6.4Hz,2.0Hz 2H)7.53(dd、J=6.4Hz,2.0Hz 2H)7.59(m、1H).

[0332]

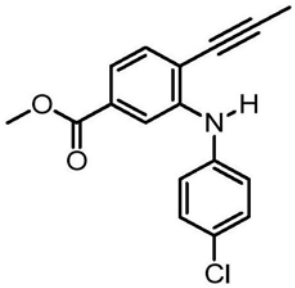


[0333] 步骤1:3-氨基-4-丙-1-炔基苯甲酸甲酯

[0334] 向2-颈烧瓶中加入3-氨基-4-碘苯甲酸甲酯(5000mg,18.05mmol)，$(C_6H_5)_3P]_2PdCl_2$(316,68mg,0.45mmol),碘化铜(1718.48mg,9.02mmol),无水Et_3N(50mL) 和无水DMF(30mL)。反应混合物冷却至-78℃,通过将气体冷凝至装有3mL DMF的预 冷的(-78℃)量筒中进行测量浓缩的丙炔(1.00mL,1.3当量),将其插入反应混合物中。将反应混合物在室温下搅拌13小时。然后蒸发溶剂,加入乙酸乙酯和水,并用乙酸乙 酯萃取(2次)来处理混合物。有机相用盐水洗涤,用$MgSO_4$干燥并减压浓缩。通过Combi Flash(环已烷/EtOAc:100/0至80/20)纯化粗油状物,得到2210mg(64.7%)的3-氨基-4- 丙-1-炔基苯甲酸甲酯,为黄色固体。

[0335] LCMS(方法A):5.85分钟

[0336] m/z$[MH]^+$=190.3

[0337] 

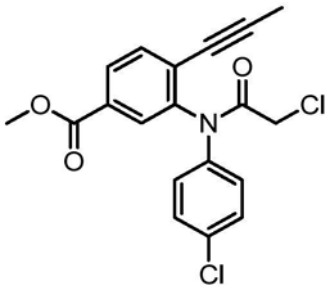
[0338] 步骤2:3-(4-氯苯胺基)-4-丙-1-炔基苯甲酸甲酯

[0339] 将3-氨基-4-丙-1-炔基苯甲酸甲酯(1150mg,6.08mmol)在室温下溶于二氯甲烷中。加入(4-氯苯基)硼酸(1900mg,12,16mmol),吡啶(0.98ml,12,16mmol)和二乙酰氧基铜(2208mg,12,16mmol),并将反应混合物在室温下在O_2气氛(气球)下搅拌16小时。将反 应混合物在柠檬酸水溶液/二氯甲烷之间分配。有机相用盐水洗涤,用$MgSO_4$干燥并减 压浓缩。在Combi Flash(环己烷/EtOAc:100/0至70/30)上干燥装载粗制油状物,得到 1350mg(74.1%)的3-(4-氯苯胺基)-4-丙-1-炔基苯甲酸甲酯,为白色固体。

[0340] LCMS(方法B):7.48分钟

[0341] ^{1}H NMR(600MHz、氯仿-d):δppm 2.15(s、3H)、3.85(s、3H)、7.12(d、J=8.8 Hz、2H)、7.37(d、J=8.0Hz、1H)、7.43(dd、J=8.0Hz和1.5Hz、1H)、7.76(d、 J=1.5Hz、1H).

[0342] m/z$[MH]^+$=300.2

[0343] 

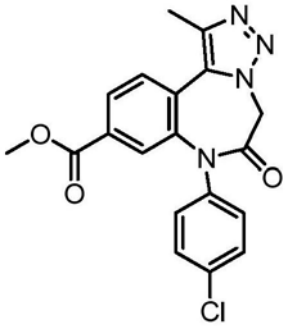
[0344] 步骤3:3-(4-氯-N-(2-氯乙酰基)苯胺基)-4-丙-1-炔基苯甲酸甲酯

[0345] 在室温下,将3-(4-氯苯胺基)-4-丙-1-炔基苯甲酸甲酯(910mg,3.04mmol)溶于甲苯 (15mL)中,并将溶液冷却至0℃。滴加2-氯乙酰氯(0.36ml,4.55mmol),将反应混合物 在80℃加热16小时,冷却至室温,并在H_2O和EtOAc之间分配。有机物用盐水洗涤, 干燥($MgSO_4$)并减压浓缩。通过Combi Flash(环己烷/EtOAc:95/5至60/40)纯化粗油状 物,得到880mg(77%)的3-(4-氯-N-(2-氯乙酰基)苯胺基)-4-丙-1-炔基-苯甲酸甲酯,为 白色固体。

[0346] LCMS(方法A):6.96分钟

[0347] m/z$[MH]^+$=376.2-378.2.

[0348] ^{1}H NMR(600MHz、氯仿-d):δppm 2.06(br s、3H)、3.90(s、3H)、3.99-4.06(m、 2H)、5.56(d、J=14.1Hz、1H)、7.30(br m、2H)、7.55(br m、2H)、7.91(m、1H)、 7.95(m、1H)、8.0(m、1H).

[0349] 

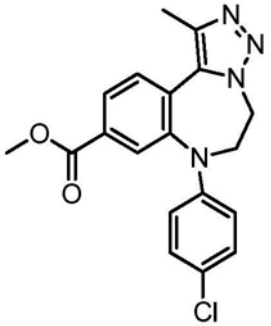
[0350] 步骤4:7-(4-氯苯基)-1-甲基-5,6,7a,11a-四氢三唑并[1,5-d][1,4]苯并二氮**草**-9-羧酸 甲酯

[0351] 在N_2和室温下,将3-(4-氯-N-(2-氯乙酰基)苯胺基)-4-丙-1-炔基-苯甲酸甲酯(200mg,0.53mmol)溶于DMF(5mL)中。加入NaN_3(104mg,1,59mmol),并将反应混合 物在室温下搅拌16小时。将混合物在EtOAc和H_2O之间分配。将有机物用盐水洗涤, 干燥($MgSO_4$)并减压浓缩。将粗制油状物重新溶解于DMF(2mL)中,并将反应混合物在 150℃加热4h,冷却至室温,并在二氯甲烷和H_2O之间分配。有机物用盐水洗涤,干燥 ($MgSO_4$)并浓缩。通过Combi Flash(二氯甲烷/MeOH 100/0至90/10)纯化粗制油状物, 得到163mg(80.1%)7-(4-氯苯基)-1-甲基-5,6,7a,11a-四氢三唑并[1,5-d][1,4]苯并二氮草 -9-羧酸甲酯,为淡黄色固体。

[0352] LCMS(方法A):5.94分钟

[0353] ^{1}H NMR(600MHz、氯仿-d):δppm 2.64(s、3H)、3.88(s、3H)、4.71(d、J=14.1 Hz、1H)、5.56(d、J=14.1Hz、1H)、7.06(d、J=8.9Hz、2H)、7.37(d、J=8.9Hz、 2H)、7.65(s、1H)、7.67(m、2H).

[0354] m/z$[MH]^+$=387.1.

[0355] 

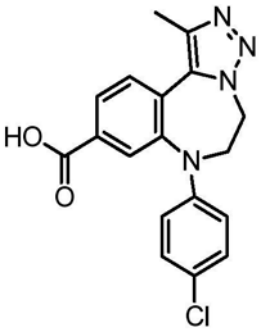
[0356] 步骤5:7-(4-氯苯基)-1-甲基-5,6-二氢三唑并[1,5-d][1,4]苯并二氮**草**-9-羧酸甲酯

[0357] 将7-(4-氯苯基)-1-甲基-5,6,7a,11a-四氢三唑并[1,5-d][1,4]苯并二氮草-9-羧酸甲酯 (160mg,0.42mmol)溶于/悬浮于无水THF(5mL)中,冷却至0℃,加入1M BH_3 THF (1.25ml)。将混合物先在室温下然后在50℃搅拌4h。小心加入MeOH(10mL)并蒸发 溶剂。将粗固体溶于二氯甲烷(5mL-在50℃加热20分钟),然后加入THF(5mL)以形成澄 清溶液。加入BH3.THF(3当量),并将溶液在60℃加热16小时。小心加入MeOH(5mL), 蒸发溶剂。将粗制油状物重新溶解于MeOH(10mL)中,回流30min,除去溶剂。重复2 次。粗固体通过Combi Flash(环己烷/EtOAc:80/20至20/80)纯化,得到90mg(58.4 %)7-(4-氯苯基)-1-甲基-5,6-二氢

三唑并[1,5-d][1,4]苯并二氮䓬-9-羧酸甲酯,为黄色固 体。

[0358] LCMS(方法A):5.95分钟

[0359] m/z[MH]$^{+}$=369.2.

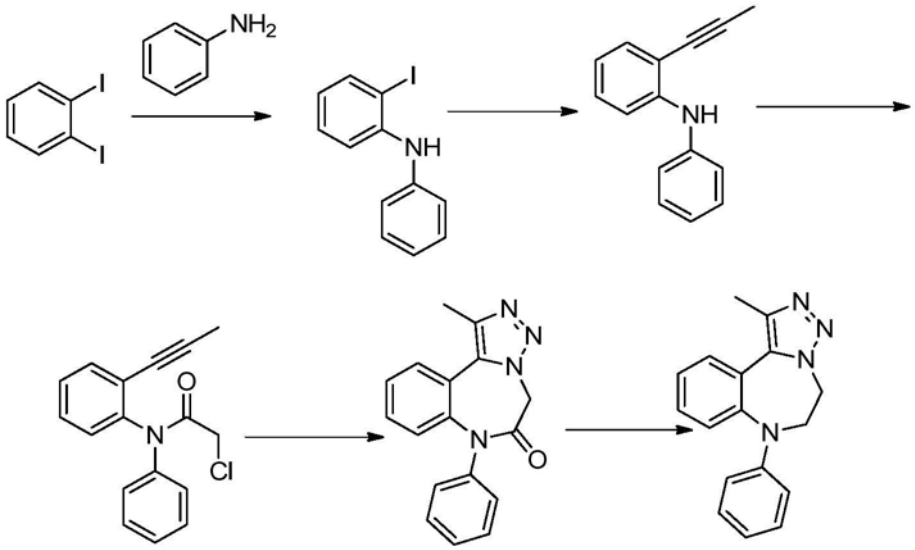
[0360] 

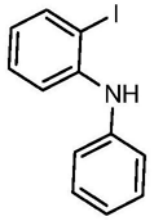
[0361] 步骤6:7-(4-氯苯基)-1-甲基-5,6-二氢三唑并[1,5-d][1,4]苯并二氮**䓬**-9-羧酸

[0362] 将7-(4-氯苯基)-1-甲基-5,6-二氢三唑并[1,5-d][1,4]苯并二氮䓬-9-羧酸甲酯(83mg, 0.23mmol)溶于THF/MeOH(2mL,1/1)混合物中。加入NaOH(2M)并将反应混合物在 40℃搅拌2h。减压除去溶剂,并将粗品油状物在EtOAc/HCl(1M)之间分配。将有机物 分离,用盐水洗涤,干燥($MgSO_4$)并减压浓缩。粗品油状物通过Combi Flash(二氯甲烷 /MeOH 100/0至90/10)纯化,得到72mg(90.2%)7-(4-氯苯基)-1-甲基-5,6-二氢三唑并 [1,5-d][1,4]苯并二氮䓬-9-羧酸,为浅黄色固体。

[0363] LCMS(方法A):5.53分钟

[0364] m/z[MH]$^{+}$=355.2.

[0365] 

[0366] 

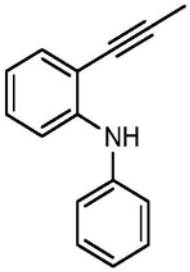
[0367] 步骤1:2-碘-N-苯基苯胺

[0368] 向1,2-二碘苯(5.0g,15.16mmol,1.0当量),苯胺(1.4g,15.16mmol,1.0当量)

(1.0g，15.16mmol,1.0eq)的甲苯(100mL)混合物中加入Cs_2CO_3(6.0g,18.50mmol,1.22当量)，Pd(dba)$_2$(106.4mg,0.15mmol,0.01当量)和Xantphos(440mg,0.76mmol,0.05当量)。混合物在N_2气氛下在110℃下搅拌过夜。将混合物冷却至室温,用乙酸乙酯(100mL) 稀释,用水(3×100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),浓缩,通过硅胶柱色谱法(石油醚)纯化，得到2-碘代-N-苯基苯胺(1.2g,27%),为棕色油状物。

[0369] LCMS(方法B):3.19分钟

[0370] m/z[MH]$^+$=296.0.

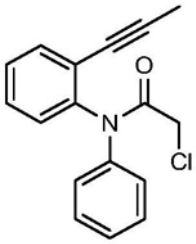
[0371] 

[0372] 步骤2:N-苯基-2-(丙-1-炔基)苯胺

[0373] 向2-碘-N-苯基苯胺(1.2g,4.07mmol,1.0当量),三甲基(丙-1-炔基)硅烷(1.83g,16.28mmol,4.0当量)的甲苯(15mL)和THF(5mL)混合物中加入TBAF.3H_2O(2.6g，8.14mmol,2.0当量),TEA(1.2g,12.21mmol,3.0当量),CuI(233mg,1.22mmol,0.3 当量)和Pd(PPh$_3$)$_4$(235mg,,0.05当量)。在N_2气氛下将该混合物在70℃下搅拌过夜。将混合物冷却至室温,用乙酸乙酯(100mL)稀释,用水(3×100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4)，减压浓缩,通过硅胶柱色谱法(100%石油醚)纯化,得到为黄色油状物N-苯基-2-(丙-1- 炔基)苯胺(700mg,84%)。

[0374] LCMS(方法B):3.24分钟

[0375] m/z[MH]$^+$=208.1.

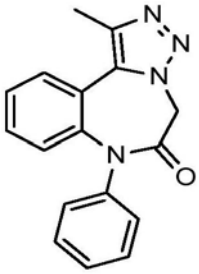
[0376] 

[0377] 步骤3:2-氯-N-苯基-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)乙酰胺

[0378] 向N-苯基-2-(丙-1-炔基)苯胺(700mg,3.40mmol,1.0当量)的二氯甲烷溶液中加入 K_2CO_3(1.4g,10.2mmol,3.0当量)和2-氯乙酰氯(768mg,6.8mmol,2.0当量)。在N_2气 氛下,将混合物在45℃下搅拌过夜。将混合物冷却至室温,用二氯甲烷(100mL)稀释，用水(3×100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),减压浓缩并通过硅胶柱色谱纯化(石油醚/乙酸乙酯=100/0～10：1),得到黄色油状的2-氯-N-苯基-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)乙酰胺(600mg,64%)。

[0379] LCMS(方法B):2.61分钟

[0380] m/z[MH]$^+$=284.1

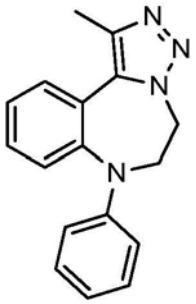
[0381] 

[0382] 步骤4:1-甲基-7-苯基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**-6(7H)-酮

[0383] 向2-氯-N-苯基-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)乙酰胺(600mg,2.10mmol,1.0当量)的DMF(10mL)溶液中加入叠氮化钠(412mg,6.3mmol,3.0当量)。混合物在100℃N_2气氛 下搅拌过夜,然后加热至140℃2小时。将混合物冷却至室温,用乙酸乙酯(100mL)稀 释,用水(3×100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),减压浓缩,并通过制备型HPLC纯化,得到 1-甲基-7-苯基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮(80mg,13%),为 白色固体。

[0384] LCMS(方法B):2.25分钟

[0385] m/z$[MH]^+$=291.1.

[0386] 

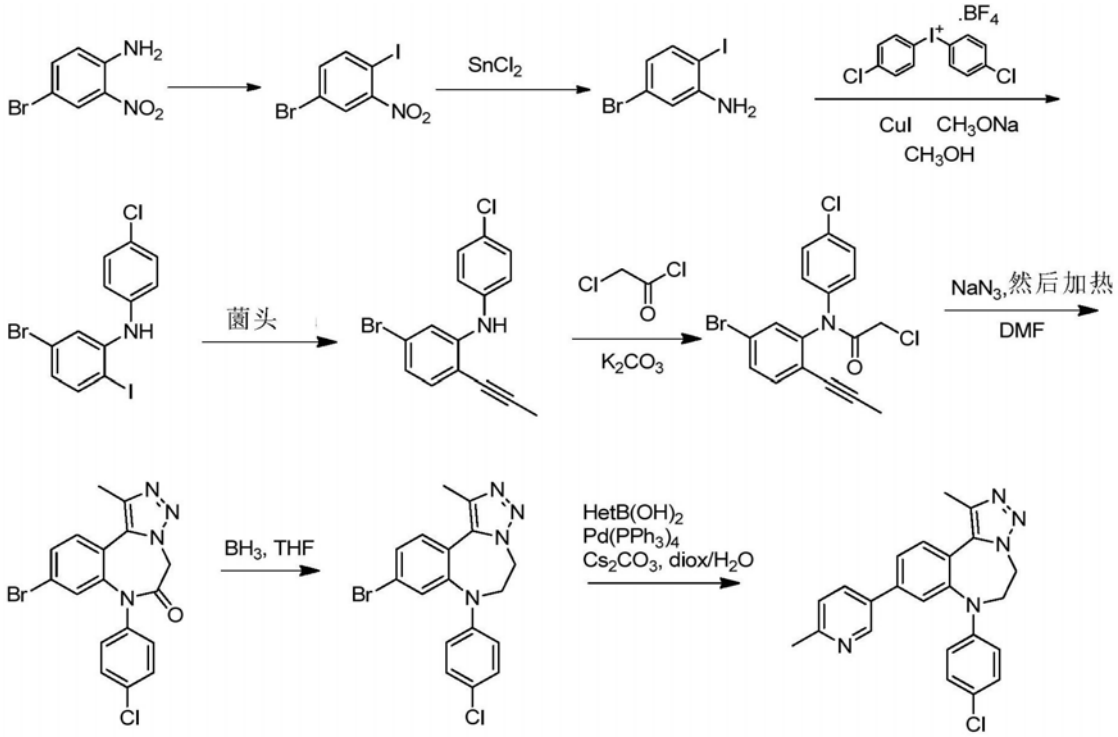
[0387] 步骤5:1-甲基-7-苯基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**

[0388] 向1-甲基-7-苯基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮(20.0mg, 0.07毫摩尔,1.0当量)的THF(2毫升)溶液中加入硼烷的THF溶液(1M,0.7毫升,10.0当 量)。混合物在70℃和N_2气氛下搅拌2小时。将混合物冷却至室温,用乙酸乙酯(100mL) 稀释,用水(100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),减压浓缩并通过制备型TLC纯化,得到1-甲基-7-苯基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(16mg,88%),为白色 固体。

[0389] LCMS(方法B):2.64分钟

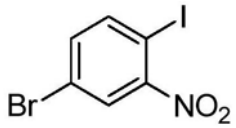
[0390] m/z$[MH]^+$=277.2

[0391]



[0392] 9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**

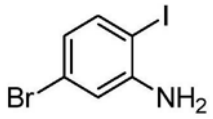
[0393]



[0394] 步骤1:4-溴-1-碘-2-硝基苯

[0395] 向BF_3/Et_2O(125mL,0.97mol)溶液中加入4-溴-2-硝基苯胺(50g,0.23mol)的 THF(750mL)溶液,随后在-50℃下加入亚硝酸叔丁酯(102毫升,0.86毫摩尔)的THF(750 毫升)溶液。然后使反应升温至-5℃。加入乙醚(1.5L),并将反应混合物在-5℃下搅拌 15分钟直至沉淀出淡黄色固体。收集黄色固体并溶于乙腈(750mL)中,然后向上述混 合物中加入碘化钾(55g,0.33mmol),碘(42g,0.16mmol)。所得混合物在室温下搅拌 15分钟。将混合物在亚硫酸钠水溶液(饱和,1L)和二氯甲烷(1L)之间分配。将有机层 分离,用硫酸钠干燥,减压浓缩,得到粗黄色固体4-溴-1-碘-2-硝基苯(66g,88%)。

[0396]

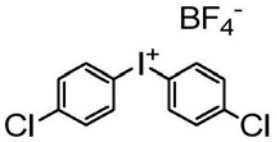


[0397] 步骤2:5-溴-2-碘苯胺

[0398] 在0℃向4-溴-1-碘-2-硝基苯(66g,0.2mol)的MeOH(700mL)溶液中加入氯化亚锡(226g,1mol)。将所得混合物加热回流(80℃)4小时。减压除去溶剂,然后将残余物用 乙酸乙酯(1L)稀释,用H_2O(1L)洗涤,用硫酸钠干燥,浓缩,得到残余物,通过柱色谱 法(洗脱剂:石油醚乙醚:乙酸乙酯=20:1),得到5-溴-2-碘苯胺(39g,65%),为白色 固体。

[0399] LCMS(方法B):2.27分钟

[0400] m/z$[MH]^+$=298.1;300.1.

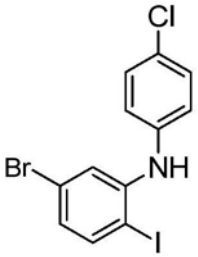
[0401] 

[0402] 步骤3:双(4-氯苯基)碘鎓四氟硼酸盐

[0403] 将m-CPBA(2.06g,12mmol)溶于二氯甲烷(50mL)中。向该溶液中加入1-氯-4-碘苯(2.57g,10.8mmol),然后在室温下加入$BF_3.OEt_2$(3.4mL,27.2mmol)。所得混合物在室 温下在氮气气氛下搅拌30分钟,然后冷却至0℃。加入(4-氯苯基)硼酸(1.87g,12mmol)。 将所得混合物在室温下搅拌15分钟,此后TLC分析表明反应完成。减压除去溶剂,得 到的残余物用柱色谱纯化(洗脱液:二氯甲烷:MeOH=20:1),得到白色固体双(4-氯苯 基)碘鎓四氟硼酸盐(1.10g,28.7%)。

[0404] LCMS(方法B):1.68分钟

[0405] m/z$[MH]^+$=348.9;350.9.

[0406] 

[0407] 步骤4:5-溴-N-(4-氯苯基)-2-碘苯胺

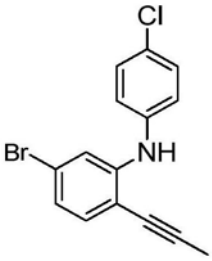
[0408] 室温下向双(4-氯苯基)碘鎓四氟硼酸盐(145mg,0.33mmol),碳酸钠(71mg, 0.67mmol)和碘化亚铜(I)(6.3mg,0.033mmol)的二氯甲烷(5mL)混合物中加入5-溴-2-碘 苯胺(149mg,0.5mmol)。将所得混合物在室温下搅拌过夜。混合物用二氯甲烷(10mL) 稀释,用水(10mL)洗涤。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压浓缩,得到粗产物,将 其通过柱色谱(洗脱液:100%石油醚)纯化,得到5-溴-N-(4-氯苯基)-2-碘苯胺(80mg, 39%),为黄色固体。

[0409] LCMS(方法B):2.72分钟

[0410] $[MH]^+$=408.1;410.1.

[0411] ^{1}H NMR(400MHz、DMSO-d_6)δppm 6.96(dd、J=8.4Hz,2.0Hz 1H)7.00(dd、J= 6.8Hz,2.0Hz 2H)7.22(d、J=2.2Hz 1H)7.29(dd、J=6.8Hz,2.0Hz 2H)7.70(s、1 H)7.77 (d、J=8.4Hz 1H).

[0412] m/z$[MH]^+$=408.1;410.1.

[0413] 

[0414] 步骤5:5-溴-N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔-1-基)苯胺

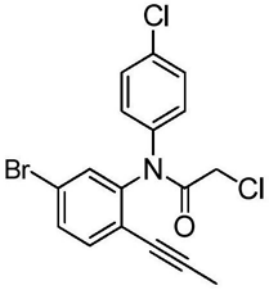
[0415] 将5-溴-N-(4-氯苯基)-2-碘苯胺(80mg,0.2mmol),三甲基(丙-1-炔-1-基)硅烷

(88mg, 0.8mmol),Pd(PPh$_3$)$_4$(12mg,0.01mmol),TBAF.H$_2$O(13mg,0.04mmol),Et$_3$N(6mg,0.06mmol),碘化铜(I)(1mg,0.006mmol)的甲苯(4mL)和THF(2mL)混合物在70℃N$_2$下搅拌过夜。减压除去溶剂,得到的残余物用柱色谱纯化(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯 =50:1),得到5-溴-N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-苯-1-基)苯胺(20mg,31%),为白色固体。

[0416] LCMS(方法B):2.54分钟

[0417] ^{1}H NMR(400MHz、CDCl$_3$)δppm 2.15(s、3H)6.39(s、1H)6.90(dd、J=8.2Hz、1.9Hz 1H)7.15(dd、J=6.8Hz、2.4Hz 2H)7.20(d、J=8.0Hz 1H)7.23(d、J=2.0Hz 1H)7.34(dd、J=6.8Hz、2.4Hz 2H).

[0418] m/z[MH]$^+$=320.2;322.2.

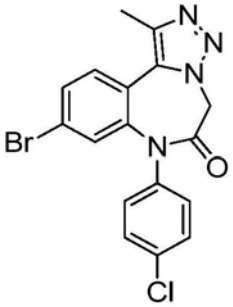
[0419] 

[0420] 步骤6:N-(5-溴-2-(丙-1-炔-1-基)苯基)-2-氯-N-(4-氯苯基)乙酰胺

[0421] 在0℃下向5-溴-N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔-1-基)苯胺(600mg,1.89mmol)的甲苯(15mL)溶液中加入2-氯乙酰氯(318mg,2.82mmol)和碳酸钾(774mg,5.64mmol)。将所 得混合物加热至80℃4小时,然后用水淬灭。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压浓 缩。通过柱色谱法(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=50:1)纯化粗产物,得到N-(5-溴-2-(丙 -1-炔-1-基)苯基)-2-氯-N-(4-氯苯基)乙酰胺(550mg,73%收率),为灰色油状物。

[0422] LCMS(方法B):3.11分钟

[0423] m/z[MH]$^+$=396.1;398.1;400.1.

[0424] 

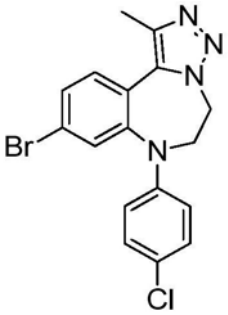
[0425] 步骤7:9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草** -6(7H)-酮

[0426] 将N-(5-溴-2-(丙-1-炔-1-基)苯基)-2-氯-N-(4-氯苯基)乙酰胺(650mg,1.64mmol)和 叠氮化钠(319mg,4.91mmol)在室温下溶于DMF(12mL)中。将该混合物搅拌4小时。 用乙酸乙酯(30mL)稀释混合物,用水(10mL)洗涤,并减压浓缩。将粗中间体(250mg,0.62mmol)重新溶于DMF(2.5mL)中,并将混合物加热至150℃达5小时。然后将混合物 冷却至室温,用乙酸乙酯(10mL)稀释并用水(10mL)洗涤。有机层用硫酸钠干燥,减压 浓缩。通过柱色谱(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=2:1)纯化粗产物,得到9-溴-7-(4-氯 苯基)-1-甲基-

5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮(250mg,39%),为 灰色油状物。

[0427] LCMS(方法B):2.40分钟

[0428] m/z[MH]$^+$=403.1;405.1.

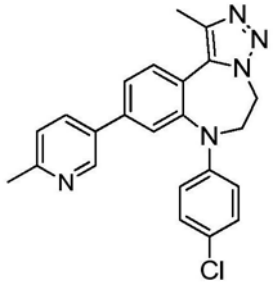
[0429] 

[0430] 步骤8:9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]] 二氮**草**

[0431] 向9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮 (1.4g,3.50mmol)的THF(150mL)溶液中加入BH_3的THF溶液(1M,45mL,45mmol)。将反应混合物在室温下搅拌4小时,然后通过缓慢加入甲醇淬灭。除去溶剂,得到的残 余物用乙酸乙酯(100mL)稀释,用水(50mL)洗涤。用硫酸钠干燥有机层,浓缩得到粗 产物,将其用石油醚(20mL)冲洗,得到9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f] [1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]]二氮草(650mg,48%收率),为黄色固体。

[0432] LCMS(方法B):3.31分钟.

[0433] m/z[MH]$^+$=389.1;391.1.

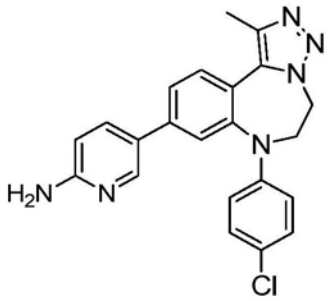
[0434] 

[0435] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-9-(6-甲基吡啶-3-基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮草

[0436] 将9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]]二氮 草(80mg,0.2mmol),(6-甲基吡啶-3-基)硼酸(28mg,0.2mmol),$Pd(PPh_3)_4$(24mg,0.02mmol),K_3PO_4(168mg,0.63mmol)的DME(16mL)和H_2O(0.2mL)的混合物在N_2下 在120℃搅拌1h。减压除去溶剂,得到残余物,将其通过制备性TLC(洗脱液:石油醚: 乙酸乙酯=1:1)纯化,得到7-(4-氯苯基)-1-甲基-9-(6-甲基吡啶-3-基)-6,7-二氢-5H-苯 并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(8mg,10%),为白色固体。

[0437] LCMS(方法B):3.07分钟

[0438] m/z[MH]$^+$=402.1、404.1.

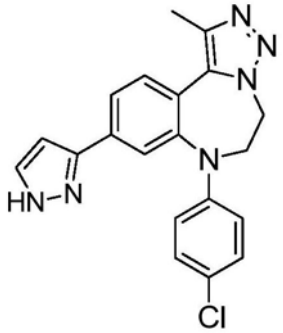
[0439] 

[0440] 5-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬-9基) 吡啶-2-胺

[0441] 将9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]]二氮 䓬(80mg,0.2mmol),5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡啶-2-胺(45mg, 0.2mmol),Pd$(PPh_3)_4$(24mg,0.02mmol)和K_3PO_4(168mg,0.63mmol)的DME(16mL)和H_2O(0.2mL)的混合物在120℃N_2下搅拌1h。减压除去溶剂,得到残余物,将其通过制 备型HPLC纯化,得到5-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬-9-基)吡啶-2-胺(7mg,8%),为白色固体。

[0442] LCMS(方法B):2.38分钟

[0443] m/z$[MH]^+$=403.1.

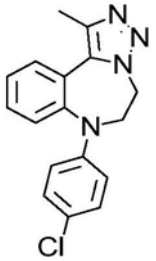
[0444] 

[0445] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-9-(1H-吡唑-3-基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮䓬

[0446] 将9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]]二氮 䓬(400mg,1.05mmol),3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑 (205mg,1.05mmol),Pd$(PPh_3)_4$(125mg,0.1mmol)和K_3PO_4(665mg,3.15mmol)的 DME(16mL)和H_2O(0.2mL)的混合物在120℃N_2下搅拌1h。减压除去溶剂,得到残余物, 将其通过制备型HPLC纯化,得到7-(4-氯苯基)-1-甲基-9-(1H-吡唑-3-基)-6,7-二氢-5H- 苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬(20mg,5%),为白色固体。

[0447] LCMS(方法B):2.80分钟

[0448] m/z$[MH]^+$=377.1、379.1.

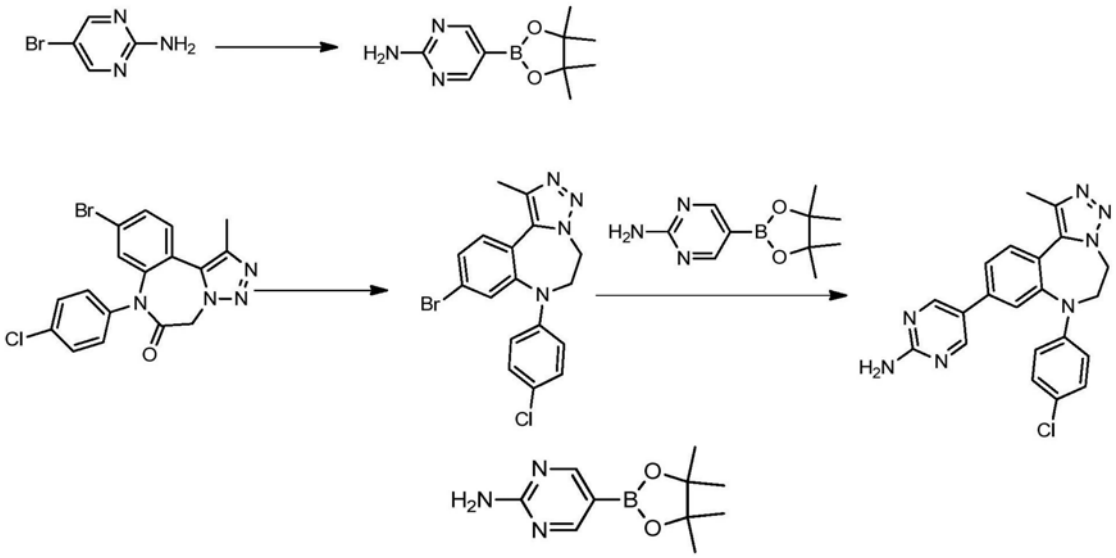
[0449] 

[0450] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草

[0451] 将9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]]二氮 草(400mg,0.1mmol),Pd$(PPh_3)_4$(125mg,0.1mmol)和K_3PO_4(665mg,3.2mmol)的 DME(5mL)和H_2O的混合物在120℃N_2的微波条件下搅拌1小时。将溶液冷却至室温，过滤并减压除去溶剂,得到残余物,将其通过制备型HPLC纯化,得到7-(4-氯苯基)-1- 甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(20mg,5%),为白色固体。

[0452] LCMS(方法B):2.93分钟

[0453] m/z$[MH]^+$=311.1.

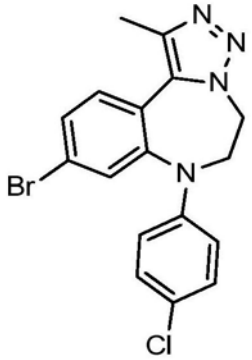
[0454] 

[0455] 步骤1:5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)嘧啶-2-胺

[0456] 向5-溴嘧啶-2-胺(500mg,2.9mmol,1.0当量),4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-二(1,3,2- 二氧杂硼烷)(1.47g,5.8mmol,2.0当量)的二氧六环(20ml)混合物中加入KOAc(865mg, 8.7mmol,0.1当量)和Pd(dppf)Cl_2(212mg,0.29mmol,0.1当量)。混合物在N_2气氛下 在115℃搅拌过夜。将混合物冷却至室温,用乙酸乙酯(100mL)稀释,用水(3×100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),减压浓缩并通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚至二氯甲烷:MeOH =20:1),得到黄色油状的5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)嘧啶-2-胺(300mg,75%)。

[0457] LCMS(方法B):0.51分钟

[0458] m/z$[MH]^+$=139.1(硼酸).

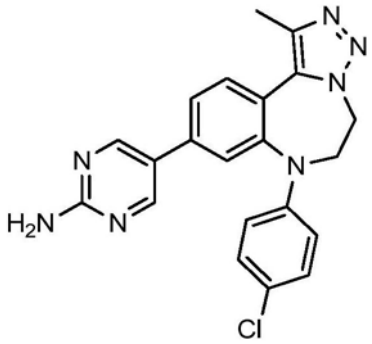
[0459] 

[0460] 步骤2:9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]] 二氮**草**

[0461] 向9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮 (200mg,0.49mmol,1.0当量)的THF(5mL)溶液中加入硼烷THF溶液(1M,4.9mL,10.0eq)。将混合物在室温N_2气氛下搅拌过夜。用乙酸乙酯(100mL)稀释混合物,用水(100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),减压浓缩并通过硅胶柱色谱法(PE:EA=10:1至1:1) 得到9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(120mg,63%),为白色固体。

[0462] LCMS(方法B):3.23分钟

[0463] m/z$[MH]^+$=389.0、391.0.

[0464] 

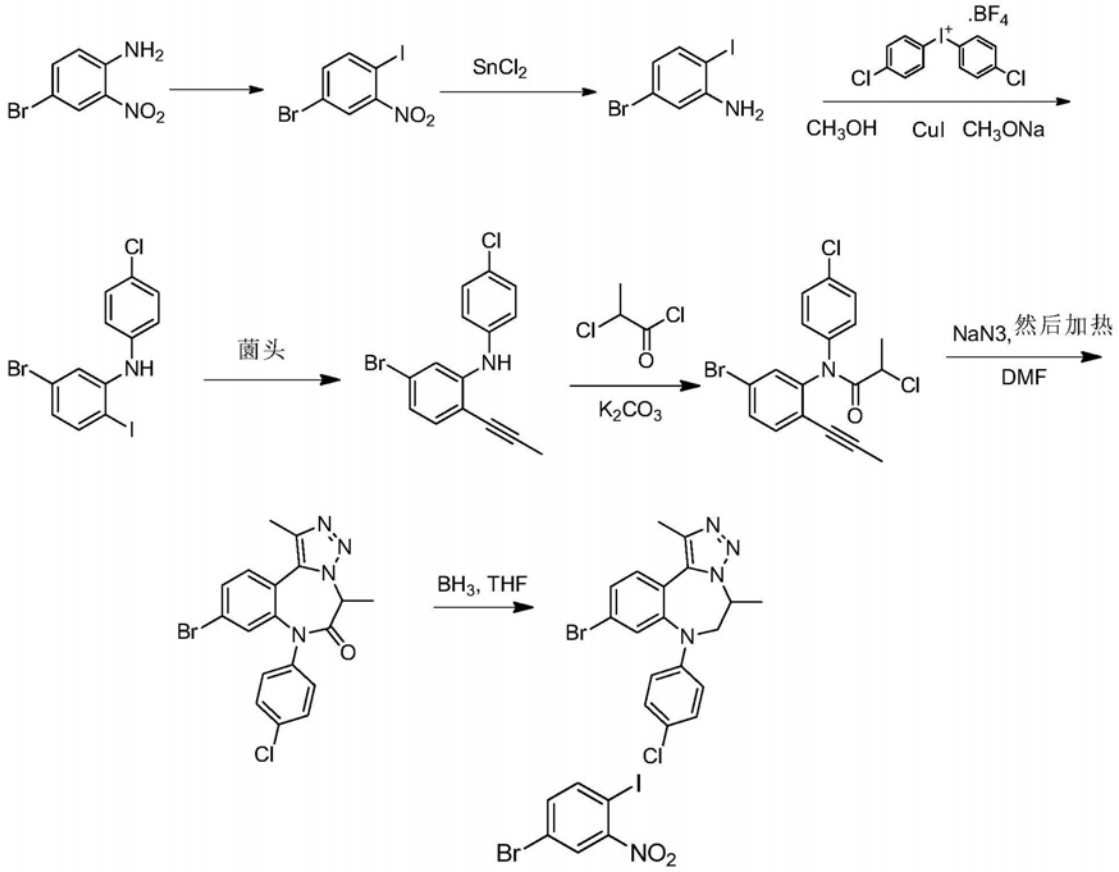
[0465] 步骤3:5-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮 **草**-9-基)嘧啶-2-胺

[0466] 向9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 (80mg,0.20mmol,1.0当量),5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)嘧啶-2- 胺(60mg,0.40mmol,2.0当量)的DME(15mL)和H_2O(5滴)的混合物中加入$K_3PO_4.3H_2O$(160mg,0.6mmol,3.0当量)和$Pd(PPh_3)_4$(25mg,0.02mmol,0.1当量)。混合物在80℃ 微波下搅拌1小时。将混合物冷却至室温,用乙酸乙酯(50mL)稀释,用水(100mL)洗涤, 干燥(Na_2SO_4),减压浓缩,并通过硅胶柱色谱法(石油醚至二氯甲烷:MeOH=20: 1)得到5-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,5-4]二氮草 -9-基)嘧啶-2-胺(30mg,37%)。

[0467] LCMS(方法B):2.60分钟$[MH]^+$=404.1

[0468] m/z$[MH]^+$=404.1

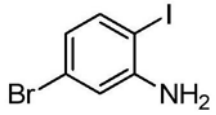
[0469]



[0470] 步骤1:4-溴-1-碘-2-硝基苯

[0471] 向BF_3/Et_2O(125mL,0.97mol)溶液中加入4-溴-2-硝基苯胺(50g,0.23mol)的 THF(750mL)溶液,然后在-50℃下加入亚硝酸叔丁酯(102mL,0.86mmol)的THF(750mL) 溶液中。使反应升温至-5℃,加入二乙醚(1.5L),将反应混合物在-5℃下搅拌15分钟直 至沉淀出浅黄色固体。收集黄色固体并溶解于乙腈(750mL)中,加入KI(55g,0.33mmol), I_2(42g,0.16mmol)。将所得混合物在室温下搅拌15分钟,在Na_2SO_3水溶液(1L)和二氯 甲烷(1L)之间分配。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压浓缩,得到黄色固体的粗产 物(66g,88%)。

[0472]



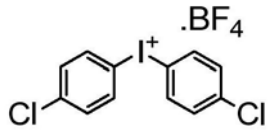
[0473] 步骤2:5-溴-2-碘苯胺

[0474] 在0℃下,向4-溴-1-碘-2-硝基苯(66g,0.2mol)的MeOH(700mL)溶液中加入 $SnCl_2$(226g,1mol)。在80℃下反应4小时后,减压下除去溶剂。将残余物用乙酸乙酯 (1L)稀释并用H_2O(1L)洗涤。分离有机层,用硫酸钠干燥,减压浓缩,得到的残余物用 柱色谱纯化(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=20:1),得到白色固体(39g,65%)。

[0475] LCMS(方法B):3.08分钟

[0476] m/z$[MH]^+$=298.1;300.1

[0477]

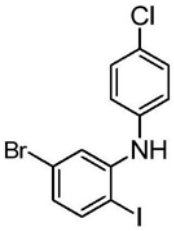


[0478] 步骤3:双(4-氯苯基)碘鎓四氟硼酸盐

[0479] 在室温下,向m-CPBA(2.06g,12mmol)的二氯甲烷(50mL)溶液中加入1-氯-4-碘苯(2.57g,10.8mmol),然后在室温下加入$BF_3.OEt_2$(1.84g,13mmol)。将所得混合物在氮 气气氛下在室温下搅拌30分钟,并冷却至0℃。加入(4-氯苯基)硼酸(1.87g,12mmol), 将反应混合物在室温下搅拌15分钟。溶液减压浓缩得到残余物,将其通过柱色谱(洗脱 液:二氯甲烷:MeOH=20:1)纯化,得到白色固体(1.1g,28.7%)。

[0480] LCMS(方法B):1.68分钟

[0481] m/z$[MH]^+$=348.9

[0482] 

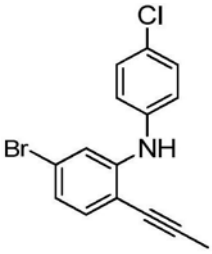
[0483] 步骤4:5-溴-N-(4-氯苯基)-2-碘苯胺

[0484] 在室温下,向双(4-氯苯基)碘鎓四氟硼酸盐(来自步骤3,145mg,0.33mmol)的二氯甲烷(5mL)溶液中加入Na_2CO_3(71mg,0.67mmol),CuI(6.3mg,0.033mmol)和5-溴-2- 碘苯胺(149mg,0.5mmol)。将所得混合物在室温下搅拌过夜。用二氯甲烷(10mL)稀释 混合物,用H_2O(10mL)洗涤,分离有机层,用硫酸钠干燥,减压浓缩。通过柱色谱法(洗 脱液:石油醚)纯化粗产物,得到标题化合物(80mg,39%),为黄色固体。

[0485] LCMS(方法B):2.81分钟

[0486] ^{1}H NMR(400MHz、DMSO-d_6)δppm 7.00(d、J=8.80Hz 3H)7.22(d、J=2.20Hz 1H) 7.29(d、J=8.80Hz 2H)7.70(s、1H)7.77(d、J=8.40Hz 1H).

[0487] m/z$[MH]^+$=408;410;

[0488] 

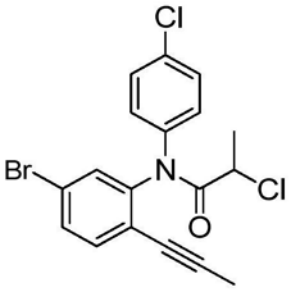
[0489] 步骤5:5-溴-N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔-1-基)苯胺

[0490] 将5-溴-N-(4-氯苯基)-2-碘苯胺(80mg,0.2mmol),三甲基(丙-1-炔-1-基)硅烷(88mg, 0.8mmol),$Pd(PPh_3)_4$(12mg,0.01mmol),TBAF.H_2O(13mg,0.04mmol),Et_3N(6mg, 0.06mmol),CuI(1mg,0.006mmol)的甲苯(4mL)和THF(2mL)的混合物在N_2下在70℃下 搅拌过夜。减压除去溶剂,残余物通过柱色谱法(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=50:1) 纯化,得到标题化合物(20mg,31%)作为白色固体。

[0491] LCMS(方法B):3.82分钟

[0492] ^{1}H NMR(400MHz、$CDCl_3$)δppm 2.15(s、3H)6.39(s、1H)6.90(dd、J_1=8.20Hz J_2= 1.90Hz 1H)7.20(m、4H)7.35(d、J=2.00Hz 2H).

[0493] m/z$[MH]^+$=320;322.

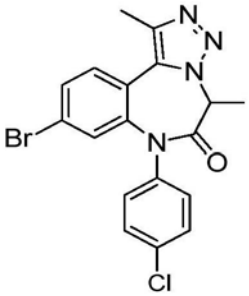
[0494] 

[0495] 步骤6:N-(5-溴-2-(丙-1-炔-1-基)苯基)-2-氯-N-(4-氯苯基)丙酰胺

[0496] 在0℃下向5-溴-N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔-1-基)苯胺(600mg,1.89mmol)的甲苯(15mL)溶液中加入2-氯丙酰氯(318mg,2.82mmol)和K_2CO_3(774mg,5.64mmol)。在80℃ 反应4小时后,混合物用H_2O淬灭。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压浓缩。通过柱 色谱法(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=50:1)纯化粗产物,得到所需产物(550mg,73% 产率),为灰色油状物。

[0497] LCMS(方法B):3.42分钟

[0498] m/z$[MH]^+$=412;

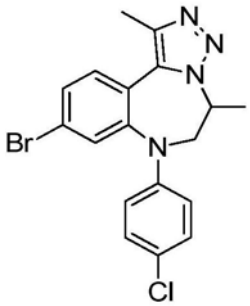
[0499] 

[0500] 步骤7:9-溴-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草** -6(7H)-酮

[0501] 向N-(5-溴-2-(丙-1-炔基)苯基)-2-氯-N-(4-氯苯基)丙酰胺(20.0mg,0.05mmol)的 DMF(5mL)溶液中加入NaN_3(9.5mg,0.15mmol),将所得混合物在氮气气氛下于130℃ 搅拌45分钟。TLC分析表明反应完成。将反应混合物在水和乙酸乙酯之间分配。将有 机层分离并将水层用乙酸乙酯萃取两次。将有机层干燥并减压浓缩。通过柱色谱法(洗 脱液:石油醚:乙酸乙酯=5:1)纯化残余物,得到灰色油状的标题化合物(11mg,50 %)。

[0502] LCMS(方法B):2.82分钟

[0503] m/z$[MH]^+$=419

[0504] 

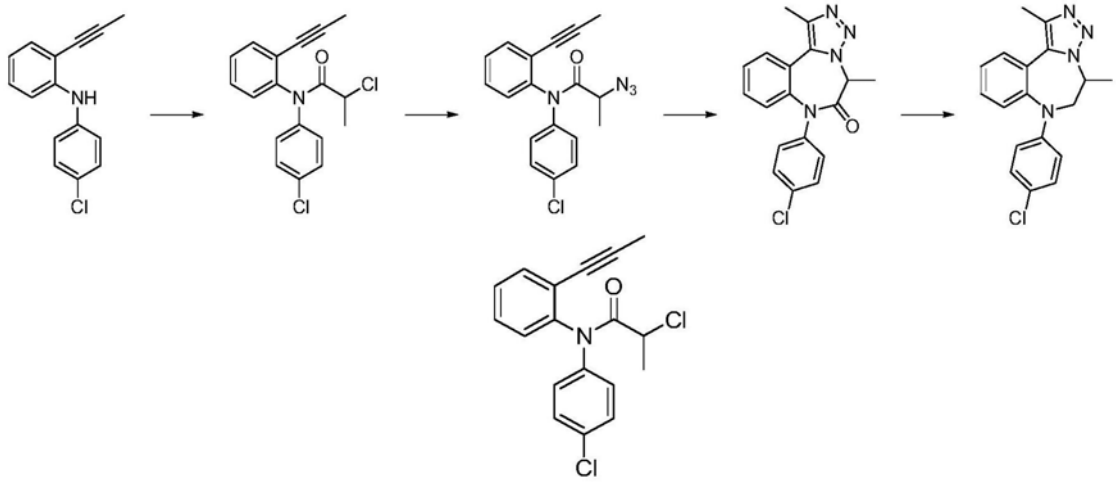
[0505] 步骤8:9-溴-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮**草**

[0506] 在0℃下向N-(5-溴-2-(丙-1-炔基)苯基)-2-氯-N-(4-氯苯基)丙酰胺(17.0mg,0.04mmol)的THF(3mL)溶液中加入BH_3·THF(0.60mL,0.61mmol)。将所得混合物在40℃ 下搅拌6小时,冷却至室温,并在水和乙酸乙酯之间分配。将有机层分离并将水层用 乙酸乙酯萃取两次。将有机层干燥并减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:石油醚:乙酸 乙酯=1:1)纯化残余物,得到标题化合物(8mg,50%),为灰色油状物。

[0507] LCMS(方法B):3.32分钟

[0508] m/z[MH]+=405

[0509]



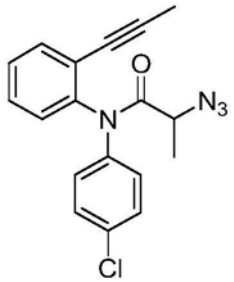
[0510] 步骤1:2-氯-N-(4-氯苯基)-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)丙酰胺

[0511] 向N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔基)苯胺(200mg,0.83mmol,1.0当量)的二氧六环(5mL) 溶液中加入碳酸钾(345mg,2.5mmol,3.0eq)和2-氯丙酰氯(160mg,1.25mmol,1.5当量)。混合物在微波下于110℃搅拌2小时。将混合物冷却至室温,用二氯甲烷(100mL) 稀释,用水(3×100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),减压浓缩,并通过硅胶柱色谱法纯化(石 油醚至石油醚:乙酸乙酯=10:1),得到黄色油状的2-氯-N-(4-氯苯基)-N-(2-(丙-1-炔基) 苯基)丙酰胺(110mg,40%)。

[0512] LCMS(方法B):2.98分钟

[0513] m/z$[MH]^+$=332.2、334.2

[0514]

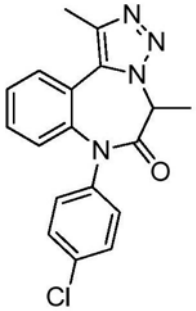


[0515] 步骤2:2-叠氮基-N-(4-氯苯基)-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)丙酰胺

[0516] 向2-氯-N-(4-氯苯基)-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)丙酰胺(100mg,0.30mmol,1.0当量) 的无水DMF(6mL)溶液中加入NaN_3(60mg,0.9mmol,3.0当量)。将混合物在室温下搅 拌过夜。该混合物不经进一步纯化即用于下一步。

[0517] LCMS(方法B):3.09分钟

[0518] m/z$[MH]^+$=339.1、341.1

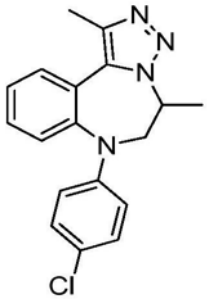
[0519] 

[0520] 步骤3:7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 -6(7H)-酮

[0521] 将叠氮基-N-(4-氯苯基)-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)丙酰胺(0.30mmol)的DMF(6mL)溶 液在110℃下在N_2气氛下搅拌2h,然后冷却至室温。用乙酸乙酯(100mL)稀释得到的混合物用水(100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),浓缩,并通过硅胶柱色谱法(石油醚~石油醚:乙酸乙酯=1: 1)得到7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮草-6(7H)-酮(30mg,30%),为黄色固体。

[0522] LCMS(方法B):2.57分钟

[0523] m/z$[MH]^+$=339.1、341.1

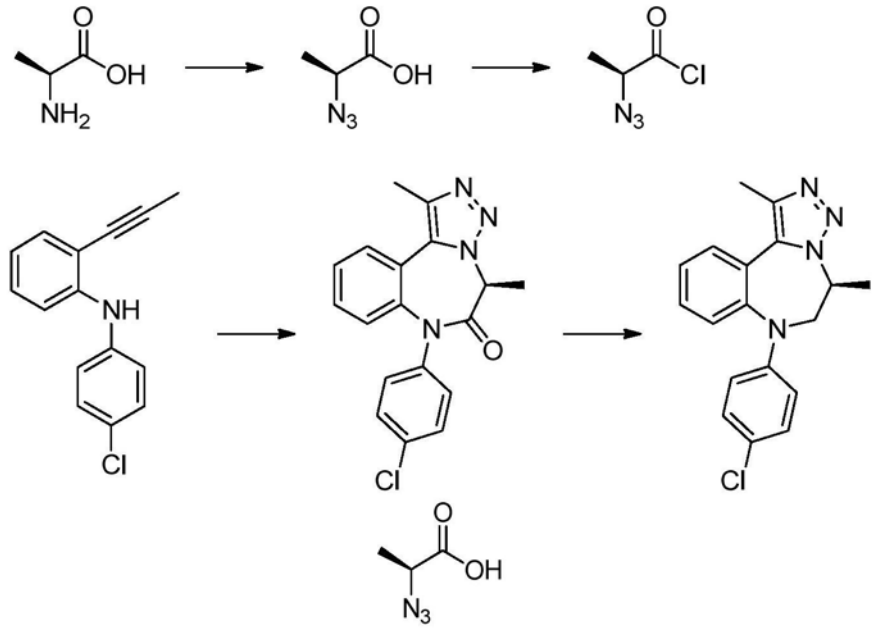
[0524] 

[0525] 步骤4:7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮草

[0526] 向7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮 (30.0mg,0.09mmol,1.0当量)的THF(2mL)溶液中加入硼烷THF溶液(1M,0.9mL,10.0 当量)。混合物在室温和N_2气氛下搅拌20小时。用乙酸乙酯(100mL)稀释混合物,用水(100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),减压浓缩,并通过制备型TLC(洗脱液:石油醚/乙酸乙 酯=2/1)纯化,得到标题化合物(15mg,54%),为白色固体。

[0527] LCMS(方法B):3.00分钟

[0528] m/z$[MH]^+$=325.1、327.1

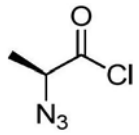
[0529] 

[0530] 步骤1：(S)-2-叠氮基丙酸

[0531] 将叠氮化钠(9.05g，13.93mmol，10.0当量)溶于蒸馏水(22.5mL)中，并加入到二氯甲烷(35mL)中，冷却至0℃(冰浴)。经10分钟缓慢加入三氟甲磺酸酐(4.7mL，27.86mmol，2.0当量)，反应混合物搅拌2小时。将混合物置于分液漏斗中，并除去二氯甲烷相。含 水部分用二氯甲烷(2×7.5mL)萃取。含有三氟甲磺酰叠氮的有机相部分用饱和Na_2CO_3洗涤一次，不经进一步纯化便进行使用。将(S)-2-氨基丙酸(1.24g，13.93mmol，1.0当 量)与K_2CO_3(2.88g，20.90mmol，1.5当量)和$CuSO_4.5H_2O$(35mg，0.14mmol，0.01当量) 的蒸馏水(18mL)和CH_3OH(36mL)合并。加入三氟甲磺酸叠氮化物的二氯甲烷溶液。混合物在温和的温度和压力下搅拌过夜。随后在减压下除去有机溶剂，含水浆液用 H_2O(50mL)稀释。用浓盐酸将其酸化至pH＝6。用乙酸乙酯(3×100mL)萃取。将水相酸 化至pH＝2，并用乙酸乙酯(3×100mL)萃取。将合并的萃取物干燥并减压浓缩，得到 浅黄色油状的(S)-2-叠氮基丙酸(1.3g，81％)。

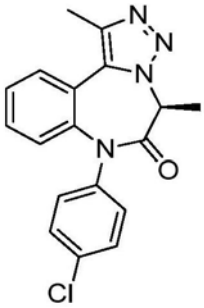
[0532] LCMS(方法B)：0.44分钟

[0533] m/z$[MH]^+$＝116.1

[0534] 

[0535] 步骤2：(S)-2-叠氮基丙酰氯

[0536] 向(S)-2-叠氮基丙酸(1.4g，12.4mmol，1.0当量)的二氯甲烷溶液中加入DMF(5滴)。缓慢加入草酰氯(0.53ml，6.2mmol，0.5当量)。混合物在N_2气氛下室温搅拌2h，减压浓缩，得到标题化合物(12.4mmol)，其不经进一步纯化用于下一步。

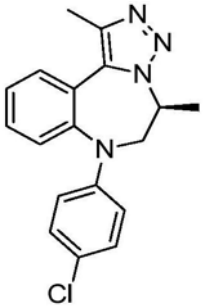
[0537] 

[0538] 步骤3：(5S)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草** -6(7H)-酮

[0539] 在微波管中，将N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔基)苯胺(300mg，1.24mmol，1.0当量)溶于二氧六环(5mL)中，随后加入K_2CO_3(514mg，3.72毫摩尔，3.0当量)。缓慢加入(S)-2- 叠氮基丙酰氯(12.4mmol)。混合物在120℃微波下搅拌1h，冷却至室温，用乙酸乙酯 (100mL)稀释，用水(100mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)并减压浓缩。通过硅胶柱色谱法(石油 醚至石油醚：乙酸乙酯＝1:1)纯化粗油状物，得到(5S)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-5H- 苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮(80mg，24%)，为黄色油状。

[0540] LCMS(方法B)：2.54分钟

[0541] m/z$[MH]^+$＝339.1、341.1

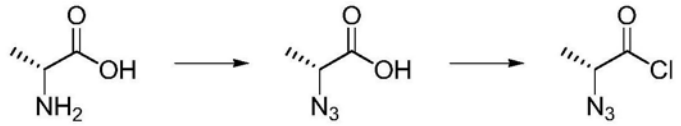
[0542] 

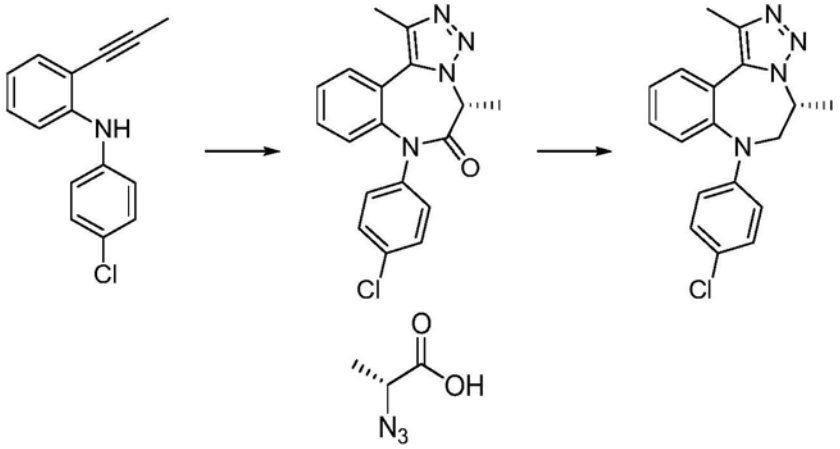
[0543] 步骤4：(5S)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1，4]二氮**草**

[0544] 向(5S)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 -6(7H)-酮(80.0mg，0.24mmol，1.0当量)的THF(2mL)溶液中加入硼烷THF溶液(1M，2.4mL，10.0当量)。混合物在室温和N_2气氛下搅拌20小时。用乙酸乙酯(100mL)稀释混 合物，用水(100mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，减压浓缩并通过制备型TLC(洗脱液：石油 醚/乙酸乙酯＝2/1)纯化，得到(5S)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3] 三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(20mg，26%)，为白色固体。

[0545] LCMS(方法B)：2.97分钟

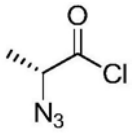
[0546] m/z$[MH]^+$＝325.1、327.1



[0547] 

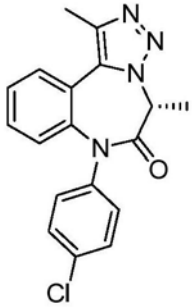
[0548] 步骤1：(R)-2-叠氮基丙酸

[0549] 将叠氮化钠(9.05g，13.93mmol，10.0当量)溶于蒸馏水(22.5mL)中，并加入到二氯甲烷(35mL)中，冷却至0℃(冰浴)。经10分钟缓慢加入三氟甲磺酸酐(4.7mL，27.86mmol，2.0当量)，反应混合物搅拌2小时。将混合物置于分液漏斗中，并除去二氯甲烷相。含 水部分用二氯甲烷(2×7.5mL)萃取。含有三氟甲磺酰叠氮的有机相部分用饱和Na_2CO_3洗涤一次，不经进一步纯化使用。将(R)-2-氨基丙酸(1.24g，13.93mmol，1.0当量)与 K_2CO_3(2.88g，20.90mmol，1.5当量)和$CuSO_4.5H_2O$(35mg，0.14mmol，0.01当量)的蒸 馏水(18mL)和CH_3OH(36mL)合并。加入三氟甲磺酸叠氮化物的二氯甲烷溶液。混合物 在温和的温度和压力下搅拌过夜。随后在减压下除去有机溶剂，并将含水浆液用 H_2O(50mL)稀释。用浓盐酸将其酸化至pH＝6。用乙酸乙酯(3×100mL)萃取。将水相酸 化至pH＝2，并用乙酸乙酯(3×100mL)萃取。将合并的萃取物干燥并减压浓缩，得到 浅色油状的(R)-2-叠氮基丙酸(1.2g，75%)。

[0550] 

[0551] 步骤2：(R)-2-叠氮基丙酰氯

[0552] 向(R)-2-叠氮基丙酸(238mg，2.07mmol，1.0当量)的二氯甲烷溶液中加入DMF(5滴)。缓慢加入草酰氯(132mg，1.04mmol，0.5当量)。在N_2气氛下，将混合物在室温下 搅拌2小时。然后将混合物减压浓缩，得到标题化合物(2.07mmol)，其不经进一步纯化 用于下一步。

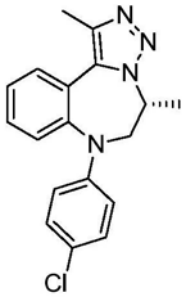
[0553] 

[0554] 步骤3：(5R)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**䓬** -6(7H)-酮

[0555] 在微波管中，将N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔基)苯胺(100mg，0.41mmol，1.0当量)溶于二氧六环(5mL)中，随后加入K_2CO_3(170mg，1.23mmol，3.0当量)。缓慢加入(R)-2- 叠氮基丙酰氯(2.07mmol)。混合物在150℃下在微波下搅拌1小时。将混合物冷却至室 温，用乙酸乙酯(100mL)稀释，用水(100mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，减压浓缩。通过柱 色谱法(石油醚至石油醚/乙酸乙酯＝1/1)纯化粗油，得到(5R)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基 -5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬-6(7H)-酮(50mg，36%)，为黄色固体。

[0556] LCMS(方法B)：2.55分钟

[0557] m/z$[MH]^+$＝339.1、341.1

[0558] 

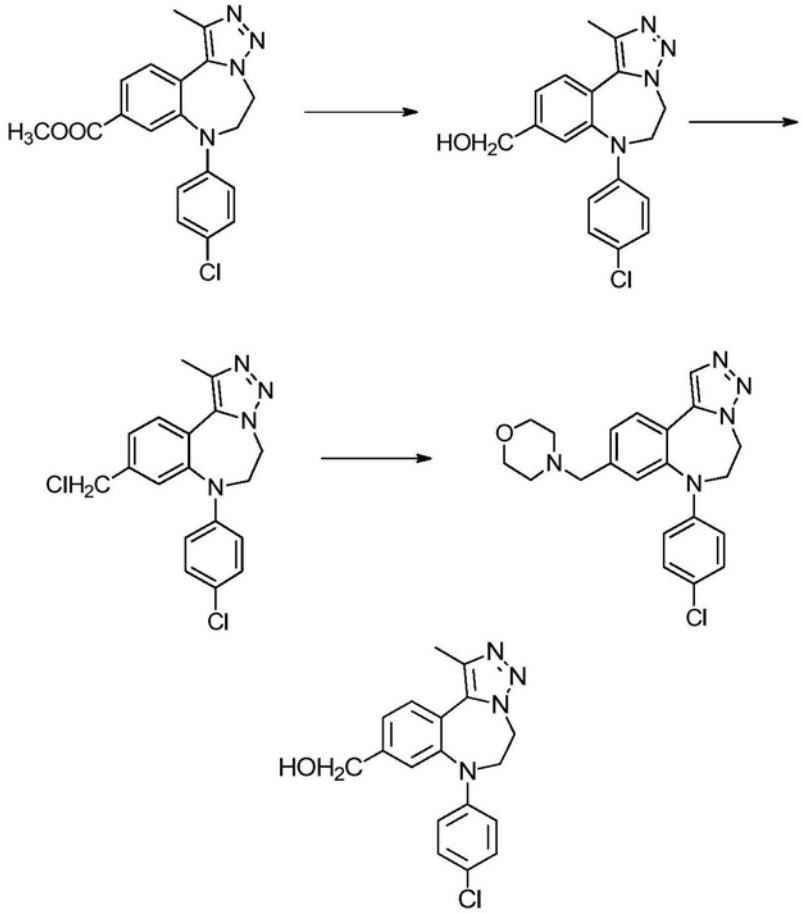
[0559] 步骤4：(5R)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1，4]二氮**䓬**

[0560] 向(5R)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬-6(7H) 酮(50.0mg，0.15mmol，1.0当量)的THF(2mL)溶液中加入硼烷THF溶液(1M，1.5mL，10.0当量)。混合物在N_2气氛下在40℃搅拌过夜。然后将混合物用乙酸乙酯(100mL)稀 释，用水(100mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，减压浓缩并通过制备HPLC纯化，得到(5R)-7-(4-氯苯基)-1,5-二甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬(30mg，64%)，为白色固体。

[0561] LCMS(方法B)：2.99分钟

[0562] m/z$[MH]^+$＝325.1、327.1

[0563]



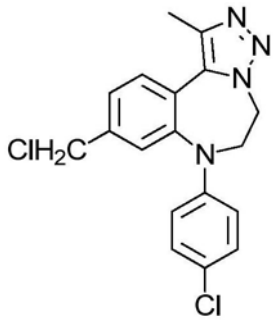
[0564] 步骤1:(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草** -9-基)甲醇

[0565] 在0℃下向7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮草-9-羧酸甲酯(170mg,0.46mmol)的THF(5mL)溶液中加入LiAlH4(87mg,2.3mmol)，反应混合物在室温下搅拌16小时。加入H_2O(10mL),减压浓缩混合物以除去大部分 THF。将混合物用乙酸乙酯(50mL)稀释并用H_2O(25mL)洗涤。将有机层分离,用硫酸 钠干燥,减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=2:1)纯化粗产物，得到(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-基) 甲醇(90mg,48%),为无色油状。

[0566] LCMS(方法B):2.60分钟

[0567] m/z$[MH]^+$=341.1

[0568]



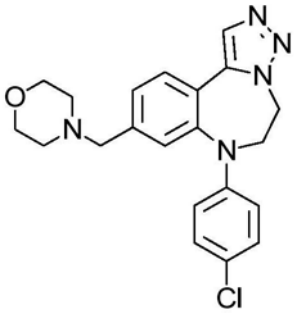
[0569] 步骤2:9-(氯甲基)-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并

[1,5-d] [1,4]二氮**䓬**

[0570] 在0℃下向(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮䓬-9-基)甲醇(100mg,0.29mmol)的DCM(20mL)溶液中加入Et_3N(58mg,0.58mmol) 和MsCl(50mg,0.44mmol),反应混合物在室温下搅拌12小时。加入H_2O(10mL),分离 有机层,用硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=30: 1)纯化粗制残余物,得到9-(氯甲基)-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三 唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬(70mg,60%收率),为无色油状物。

[0571] LCMS(方法B):3.08分钟

[0572] m/z$[MH]^+$=359.1

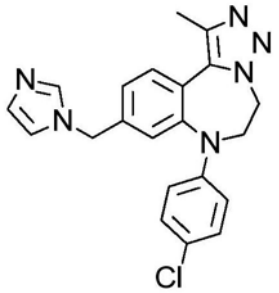
[0573] 

[0574] 步骤3:4-((7-(4-氯苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**䓬**-9- 基)甲基)吗啉

[0575] 在0℃下向9-(氯甲基)-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并 [1,5-d][1,4]二氮䓬(20mg,0.06mmol)的CH_3CN(2ml)溶液中加入吗啉(14.5mg,0.17mmol) 和Na_2CO_3(17mg,0.17mmol),反应混合物在室温下搅拌12小时。加入H_2O(2mL)并将 混合物减压浓缩。通过制备型HPLC纯化,得到4-((7-(4-氯苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬-9-基)甲基)吗啉(5mg,22%产率),为无色油状物。

[0576] LCMS(方法B):2.04分钟

[0577] m/z$[MH]^+$=410.2

[0578] 

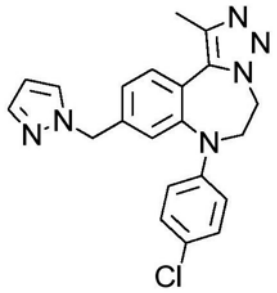
[0579] 9-((1H-咪唑-1-基)甲基)-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1, 5-d][1,4]二氮䓬

[0580] 在0℃下向9-(氯甲基)-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并 [1,5-d][1,4]二氮䓬(25mg,0.07mmol)的CH_3CN(2mL)溶液中加入1H-咪唑(7.5mg,0.11mmol)和Et_3N(14mg,0.14mmol),反应混合物在室温搅拌12小时。加入H_2O(2mL) 并将混合物减压浓缩。通过制备型HPLC纯化,得到9-((1H-咪唑-1-基)甲基)-7-(4-氯苯 基)-1-甲

基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(5mg,19%收率),为 白色固体。

[0581] LCMS(方法B):1.99分钟

[0582] m/z[MH]$^+$=391.1

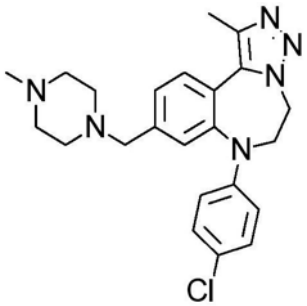
[0583] 

[0584] 9-((1H-吡唑-1-基)甲基)-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并 [1,5-d][1,4]二氮草

[0585] 在0℃下向9-(氯甲基)-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并 [1,5-d][1,4]二氮草(40mg,0.06mmol)的DMF(2mL)溶液中加入1H-吡唑(12.0mg,0.18mmol)和Na_2CO_3(24mg,0.22mmol),反应混合物在室温搅拌12小时。加入H_2O(2mL) 并将混合物减压浓缩。通过制备型HPLC纯化,得到9-((1H-吡唑-1-基)甲基)-7-(4-氯苯 基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(4mg,9%收率),为白 色固体。

[0586] LCMS(方法B):2.67分钟

[0587] m/z[MH]$^+$=391.1

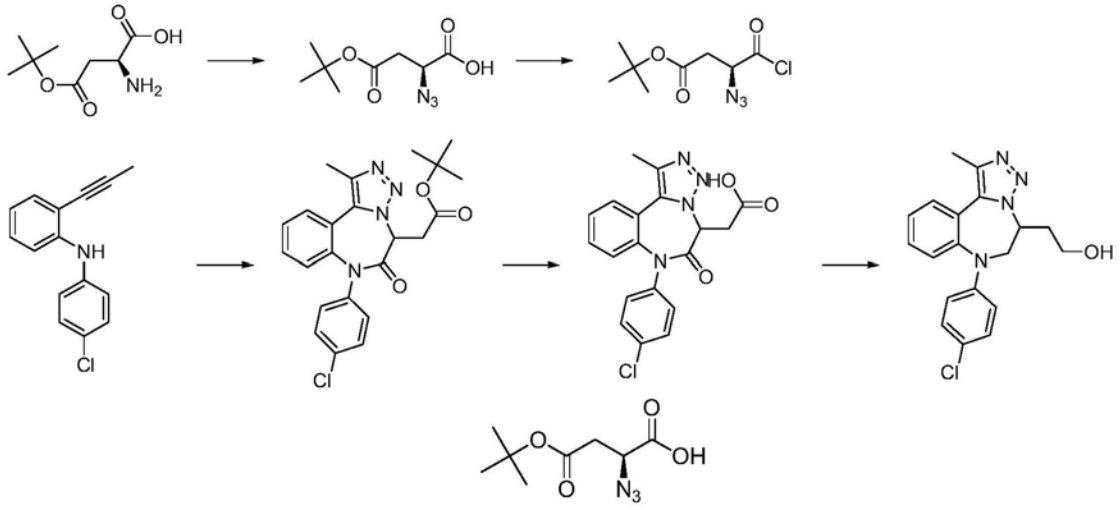
[0588] 

[0589] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-9-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑 并[1,5-d][1,4]二氮草

[0590] 在0℃下向9-(氯甲基)-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并 [1,5-d][1,4]二氮草(39mg,0.09mmol)的CH_3CN(2mL)溶液中加入1-甲基哌嗪(13mg,0.13mmol)和Et_3N(17mg,0.17mmol),反应混合物在室温下搅拌12小时。加入H_2O(2mL) 并将混合物减压浓缩。通过制备型HPLC纯化,得到7-(4-氯苯基)-1-甲基-9-((4-甲基哌 嗪-1-基)甲基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(10mg,28%收率),为白色固体。

[0591] LCMS(方法B):1.95分钟

[0592] m/z[MH]$^+$=423.2

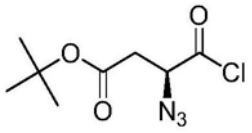
[0593] 

[0594] 步骤1：(S)-2-叠氮基-4-叔丁氧基-4-氧代基丁酸

[0595] 将叠氮化钠(10.0g，154mmol，7.3当量)溶于蒸馏水(22.5mL)中，并加入到二氯甲烷(35mL)中，将混合物冷却至0℃(冰浴)。经10分钟缓慢加入三氟甲磺酸酐(7.0mL，42.0mmol，2.0当量)，混合物连续搅拌2小时。将混合物置于分液漏斗中并收集有机相。水相用二氯甲烷(2×12.5mL)萃取。含有三氟甲磺酰叠氮的有机部分用饱和Na_2CO_3洗涤 一次，不经进一步纯化即进行使用。将(S)-2-氨基-4-叔丁氧基-4-氧代基丁酸(4.0g，21mmol，1.0当量)与K_2CO_3(4.3g，31.5mmol，1.5当量)和$CuSO_4.5H_2O$(55mg，0.21mmol，0.01当量)的蒸馏水(18mL)和CH_3OH(36mL)合并。加入三氟甲磺酸叠氮化物的二氯甲 烷。混合物室温搅拌过夜。随后减压除去有机溶剂，剩余的含水浆液用H_2O(50mL)稀 释。用浓盐酸将其酸化至pH＝6。用乙酸乙酯(3×100mL)萃取以除去磺酰胺副产物。水相酸化至pH＝2。产物由另一次乙酸乙酯萃取(3×100mL)获得，干燥，减压浓缩，得到(S)-2-叠氮基-4-叔丁氧基-4-氧代基丁酸(3.9g，87%)，为浅色油状物。

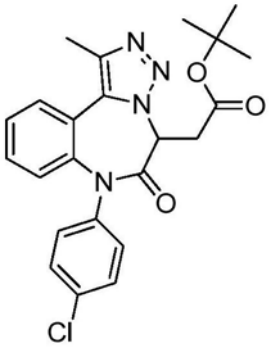
[0596] LCMS(方法B)：2.20分钟

[0597] m/z$[MNa]^+$＝238.1

[0598] 

[0599] 步骤2：(S)-3-叠氮基-4-氯-4-氧代基丁酸叔丁酯

[0600] 向(S)-2-叠氮基-4-叔丁氧基-4-氧代基丁酸(668mg，3.1mmol，1.0当量)的二氯甲烷 (5mL)溶液中加入DMF(5滴)。在室温下缓慢加入草酰氯(0.27mL，3.1mmol，1当量)。在此温度下反应5分钟后，混合物在N_2气氛下在40℃搅拌5分钟。然后将混合物减压浓 缩。残余物(3.1mmol)不经进一步纯化用于下一步骤。

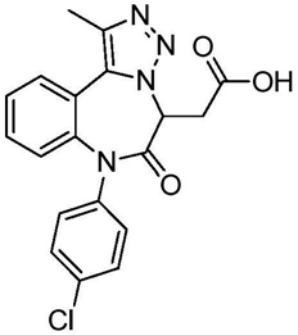
[0601] 

[0602] 步骤3:2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6-氧代基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮**草**-5-基)乙酸叔丁酯

[0603] 将N-(4-氯苯基)-2-(丙-1-炔基)苯胺(250mg,1.03mmol,1.0当量)溶于甲苯(5mL)中，随后加入碳酸钾(428mg,3.1mmol,3.0当量)。然后缓慢加入(S)-3-叠氮基-4-氯-4-氧代 基丁酸叔丁酯(步骤2,3.1mmol)。混合物在N_2气氛下在室温下搅拌2小时,在40℃搅拌过夜,然后在130℃下搅拌3小时。将混合物冷却至室温,用乙酸乙酯(100mL)稀释， 用水(100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),减压浓缩并通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚至石油 醚/乙酸乙酯＝1:1),得到2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6-氧代基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3] 三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-5-基)乙酸叔丁酯(100mg,22%),为黄色油状物。

[0604] LCMS(方法B):2.91分钟

[0605] m/z$[MH]^+$＝439.1

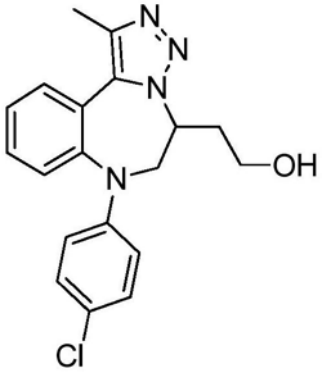
[0606] 

[0607] 步骤4:2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6-氧代基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮**草**-5-基)乙酸

[0608] 将TFA(1mL)逐滴加入到冰浴下的2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6-氧代基-6,7-二氢-5H- 苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-5-基)乙酸叔丁酯(50mg,0.11mmol,1.0当量) 的二氯甲烷(1mL)溶液中。混合物在室温下搅拌过夜,用二氯甲烷(30mL)稀释,用H_2O(2×30mL)洗涤,干燥并减压浓缩,得到2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6-氧代基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-5-基)乙酸(43mg,100%),为黄色油状物。

[0609] LCMS(方法B):2.51分钟

[0610] m/z$[MH]^+$＝383.1、385.1

[0611] 

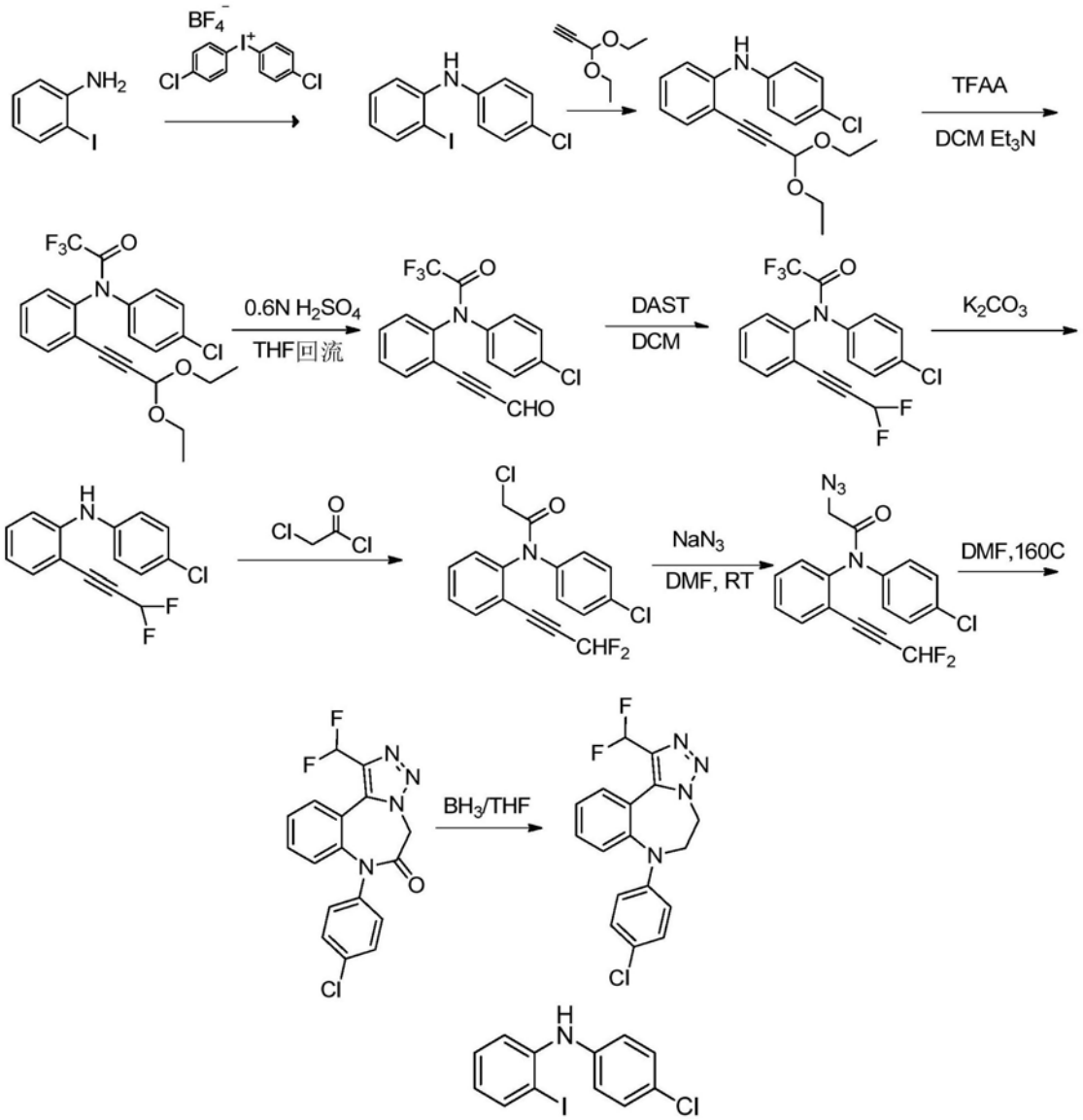
[0612] 步骤5:2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮 **草**-5-基)乙醇

[0613] 向2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6-氧代基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮草-5-基)乙酸(43.0mg,0.0.11mmol,1.0当量)的THF(1mL)溶液中加入硼烷THF溶 液(1M,1.1mL,10.0eq)。混合物在室温和N_2气氛下搅拌20小时。用乙酸乙酯(100mL)稀释混合物,用水(100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),减压浓缩并通过制备型HPLC纯化, 得到2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-5-基)乙醇(20mg,51%),为白色固体。

[0614] LCMS(方法B):2.90分钟

[0615] m/z$[MH]^+$=355.1、357.1

[0616]



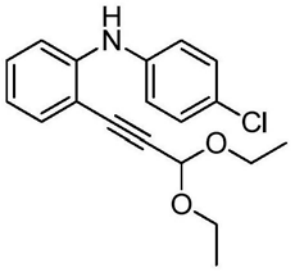
[0617] 步骤1:N-(4-氯苯基)-2-碘苯胺

[0618] 将双(4-氯苯基)碘鎓四氟硼酸盐(5.00g,11.4mmol),2-碘苯胺(3.76g,17.2mmol),CuI(214mg,1.1mmol)和Na_2CO_3(2.43g,22.9mmol)加入二氯甲烷(100ml)中。将所得混 合物在氮气气氛下室温搅拌过夜。加入水(50mL)。将有机层分离,干燥并减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:纯石油醚)纯化残余物,得到无色油状的N-(4-氯苯基)-2-碘苯 胺(3.50g,92%)。

[0619] LCMS(方法B):

[0620] m/z 3.48min$[MH]^+$=329.9.

[0621]

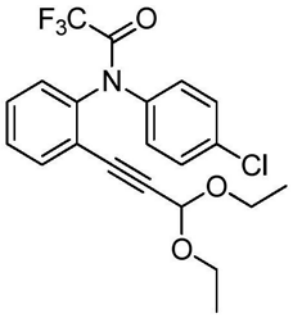


[0622] 步骤2:N-(4-氯苯基)-2-(3,3-二乙氧基丙-1-炔-1-基)苯胺

[0623] 向N-(4-氯苯基)-2-碘苯胺(990mg,3.0mmol)的THF(25mL)溶液中加入3,3-二乙氧基 丙-1-炔(770毫克,6.0毫摩尔),CuI(57毫克,6.0毫摩尔),Et_3N(909mg,9.0mmol)和 $PdCl_2(PPh_3)_2$(105mg,0.15mmol),混合物在75℃在氮气气氛下搅拌过夜。混合物用乙 酸乙酯稀释,所得混合物用水和盐水洗涤。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压除去 溶剂。通过硅胶柱色谱(石油醚/乙酸乙酯=20/1)纯化残余物,得到N-(4-氯苯基)-2-(3,3- 二乙氧基丙-1-炔-1-基)苯胺(720mg,73%),为黄色油状物。

[0624] LCMS(方法B):2.49分钟

[0625] m/z$[MNa]^+$=352.2

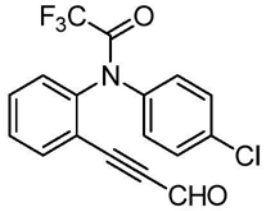
[0626] 

[0627] 步骤3:N-(4-氯苯基)-N-(2-(3,3-二乙氧基丙-1-炔-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙酰胺

[0628] 向N-(4-氯苯基)-2-(3,3-二乙氧基丙-1-炔-1-基)苯胺(200mg,0.6mmol)的二氯甲烷 (10mL)溶液中加入三乙胺(10mg,1.8mmol)和2,2,2-三氟乙酸酐(189mg,0.9mmol)。混合物在室温下搅拌12小时,并将所得混合物用水和盐水洗涤。将有机层分离,用硫 酸钠干燥并减压浓缩,得到的残余物经硅胶柱色谱(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化,得 到N-(4-氯苯基)-N-(2-(3,3-二乙氧基丙-1-炔-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙酰胺(70mg,28%), 为黄色油状物。

[0629] LCMS(方法B):3.31分钟

[0630] m/z$[MNa]^+$=448.1;

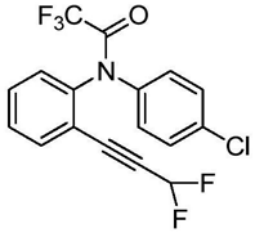
[0631] 

[0632] 步骤4:N-(4-氯苯基)-2,2,2-三氟-N-(2-(3-氧代基丙-1-炔-1-基)苯基)乙酰胺

[0633] 在室温下,向N-(4-氯苯基)-N-(2-(3,3-二乙氧基丙-1-炔-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙酰 胺(70mg,0.16mmol)的THF(1.6mL)和H_2O(1.6mL)溶液中加入浓H_2SO_4(66μL)。反应混合物在100℃搅拌3小时。用乙酸乙酯稀释混合物,并用饱和碳酸钠水溶液洗涤。将有 机层分离,用硫酸钠干燥并减压浓缩。通过硅胶柱色谱(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化 残余物,得到N-(4-氯苯基)-2,2,2-三氟-N-(2-(3-氧代基丙-1-炔-1-基)苯基)乙酰胺(27mg, 48%),为黄色油状物。

[0634] LCMS(方法B):2.74分钟

[0635] m/z[MH]$^+$＝352.2

[0636] 

[0637] 步骤5:N-(4-氯苯基)-N-(2-(3,3-二氟丙-1-炔-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙酰胺

[0638] 室温下向N-(4-氯苯基)-2,2,2-三氟-N-(2-(3-氧代基丙-1-炔-1-基)苯基)乙酰胺 (27mg,0.08mmol))的二氯甲烷(3mL)溶液中加入DAST(25mg,0.15mmol)。反应混合 物在室温下搅拌1小时。混合物用H_2O洗涤。将有机层分离,干燥(Na_2SO_4)并减压浓缩。通过制备型TLC(石油醚/乙酸乙酯＝10/1)纯化残余物,得到N-(4-氯苯基)-N-(2-(3,3-二 氟丙-1-炔-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙酰胺(25mg,86%),为黄色油状物。

[0639] LCMS(方法B):3.03分钟

[0640] m/z[MH]$^+$＝374.2

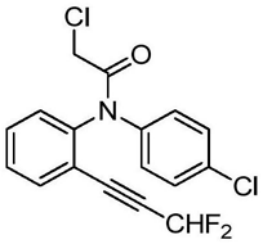
[0641]

[0642] 步骤6:N-(4-氯苯基)-2-(3,3-二氟丙-1-炔-1-基)苯胺

[0643] 在室温下,向N-(4-氯苯基)-N-(2-(3,3-二氟丙-1-炔-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙酰胺 (25mg,0.07mmol)的MeOH(5mL)溶液中加入K_2CO_3(19mg,0.14mmol)的H_2O(1mL)溶 液。反应混合物在室温下搅拌4小时。减压除去溶剂,得到的残余物用乙酸乙酯稀释 并用H_2O洗涤。将有机层分离,用硫酸钠干燥并减压浓缩。通过制备型TLC(石油醚/ 乙酸乙酯＝10/1)纯化残余物,得到N-(4-氯苯基)-2-(3,3-二氟丙-1-炔-1-基)苯胺(15mg, 81%),为白色固体。

[0644] LCMS(方法B):3.34分钟

[0645] m/z[MH]$^+$＝278.1

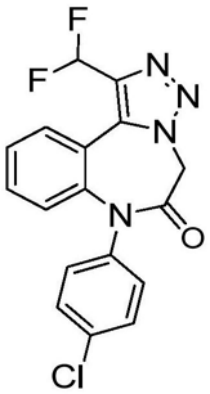
[0646] 

[0647] 步骤7:2-氯-N-(4-氯苯基)-N-(2-(3,3-二氟丙-1-炔-1-基)苯基)乙酰胺

[0648] 在0℃下,向N-(4-氯苯基)-2-(3,3-二氟丙-1-炔-1-基)苯胺(450mg,1.62mmol)的甲 苯(10mL)溶液中加入2-氯乙酰氯(310mg,2.74mmol)和K_2CO_3(370mg,2.68mmol)。该混合物加热至80℃4小时,冷却至室温,加入H_2O(10mL)。分离有机层,用硫酸钠 干燥,减压浓缩,得到粗产物,将其通过柱色谱(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯＝50:1) 纯化,得到2-氯-N-(4-氯苯基)-N-(2-(3,3-二氟丙-1-炔-1-基)苯基)乙酰胺(100mg,47%), 为黄色油状物。

[0649] LCMS(方法B):2.89分钟

[0650] m/z[MH]$^+$=354.0.

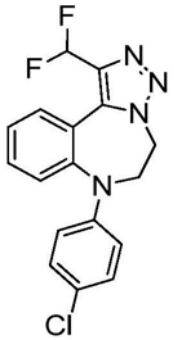
[0651] 

[0652] 步骤8:7-(4-氯苯基)-1-(二氟甲基)-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草** -6(7H)-酮

[0653] 将2-氯-N-(4-氯苯基)-N-(2-(3,3-二氟丙-1-炔-1-基)苯基)乙酰胺(50mg,0.14mmol) 和NaN_3(28mg,0.42mmol)加入到DMF(5mL)中,并将所得混合物在室温下搅拌过夜。用乙酸乙酯(30mL)稀释混合物并用H_2O(10mL)洗涤。分离有机层,减压浓缩得到叠氮中间体。将叠氮化物中间体(50mg,0.14mmol)再溶解于DMF(2.5mL)中,并将混合物 加热至155℃6小时。冷却至室温,混合物用乙酸乙酯(10mL)稀释并用水(10mL)洗涤。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压浓缩。通过制备型TLC(洗脱液:石油醚:乙酸乙 酯=4:1)纯化粗油,得到7-(4-氯苯基)-1-(二氟甲基)-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮草-6(7H)-酮(25mg,50%),为白色固体。

[0654] LCMS(方法B):2.67分钟

[0655] m/z[MH]$^+$=361.1.

[0656] 

[0657] 步骤9:7-(4-氯苯基)-1-(二氟甲基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮**草**

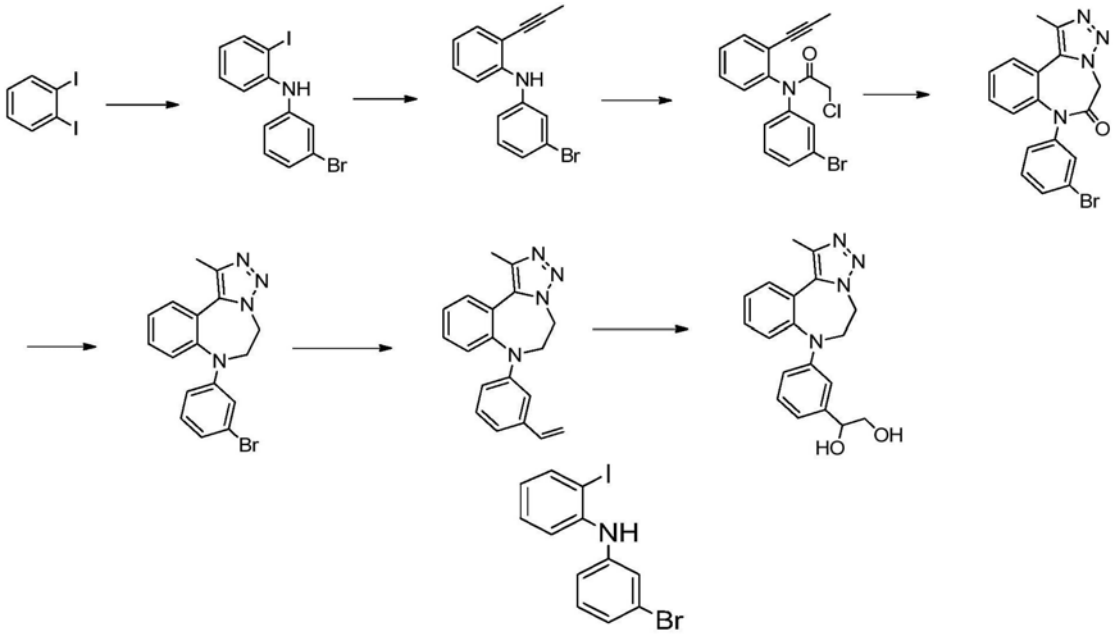
[0658] 向7-(4-氯苯基)-1-(二氟甲基)-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)- 酮(25mg,0.07mmol)的THF(0.5mL)溶液中加入BH_3的THF溶液(1M,0.42mL,0.42mmol)。混合物在室温下搅拌4小时,然后用甲醇猝灭。将反应混合物浓缩,得到 的残余物用乙酸乙酯(10mL)稀释,用H_2O(5mL)洗涤。将有机层分离,用硫酸钠干燥, 减压浓缩。粗制原油状物通过制备型TLC(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=4:1)纯化。得 到7-(4-氯苯基)-1-(二氟甲基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 (12.5mg,50%),

为白色固体。

[0659] LCMS(方法B):2.93分钟

[0660] m/z[MH]$^{+}$=347.1;

[0661]



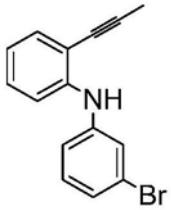
[0662] 步骤1:3-溴-N-(2-碘苯基)苯胺

[0663] 向1,2-二碘苯(659.8mg,2.0mmol)和3-溴苯胺(344mg,2.0mmol)的甲苯(20mL)混合 物中加入碳酸铯(759mg,2.5mmol)、$Pd_2(dba)_3$(14mg,0.02mmol)和Xantphos(57.8mg,0.1mmol)。所得混合物在110℃下氮气气氛下搅拌过夜。用乙酸乙酯(10mL)稀释混合 物,用水(10mL)洗涤。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱 液:石油醚:乙酸乙酯=10:1)纯化粗产物,得到黄色油状的3-溴-N-(2-碘苯基)苯胺 (105mg,14%)。

[0664] LCMS(方法B):3.46分钟

[0665] m/z[MH]+=375;377

[0666]

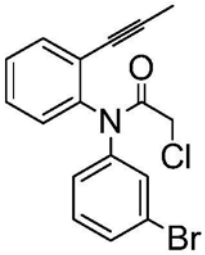


[0667] 步骤2:3-溴-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)苯胺

[0668] 将3-溴-N-(2-碘苯基)苯胺(4.0g,10.7mmol),三甲基(丙-1-炔-1-基)硅烷(4.8g,42.8mmol),$Pd(PPh_3)_4$(618mg,0.54mmol),TBAF.H_2O(3.4g,10.7mmol),Et_3N(323mg,3.2mmol),CuI(61.1mg,0.32mmol)的甲苯(100mL)和THF(50mL)的混合物在室温N_2下 搅拌过夜。用乙酸乙酯(10mL)稀释该混合物,并用H_2O(10mL)洗涤。将有机层分离, 用硫酸钠干燥,减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=50:1)纯化粗产 物以得到3-溴-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)苯胺(85mg,29%),为黄色油状物。

[0669] LCMS(方法B):3.57分钟

[0670] m/z[MH]+=286;288.

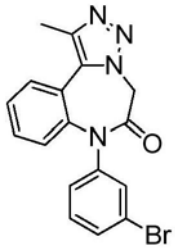
[0671] 

[0672] 步骤3:N-(3-溴苯基)-2-氯-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)乙酰胺

[0673] 在0℃下向3-溴-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)苯胺(400mg,1.4mmol)的甲苯(15mL)溶液 中加入2-氯乙酰氯(630mg,5.6mmol)和三乙胺(430mg,4.2mmol)。所得混合物在110℃氮气气氛下搅拌4小时。混合物用水淬灭。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯=10:1)纯化粗产物,得到N-(3-溴苯基)-2- 氯-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)乙酰胺(115mg,23%),为黄色油状物。

[0674] LCMS(方法B):2.93分钟

[0675] m/z[MH]+=362;364.

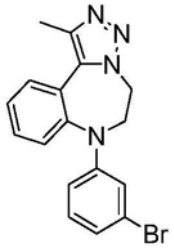
[0676] 

[0677] 步骤4:7-(3-溴苯基)-1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**-6(7H)-酮

[0678] 向N-(3-溴苯基)-2-氯-N-(2-(丙-1-炔基)苯基)乙酰胺(60.0mg,0.18mmol)的DMF(5mL)溶液中加入NaN_3(33mg,0.54mmol)。所得混合物在室温氮气气氛下搅拌2 小时。然后过滤反应混合物并加入DMF(5mL)。所得混合物在氮气气氛下于150℃搅拌 4小时。向混合物中加入水和乙酸乙酯。分离有机层,水层用乙酸乙酯(2×)萃取。将有 机层干燥并浓缩,得到残余物,将其通过柱色谱(洗脱液:二氯甲烷:MeOH=30:1)纯 化,得到7-(3-溴苯基)-1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-6(7H)-酮 (39mg,59%),为黄色油状物。

[0679] LCMS(方法B):2.52分钟

[0680] m/z[MH]+=369;371.

[0681] 

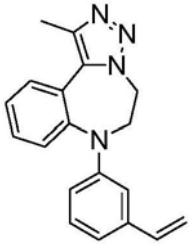
[0682] 步骤5:7-(3-溴苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**

[0683] 在0℃下向7-(3-溴苯基)-1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮

草 -6(7H)-酮(150mg,0.4mmol)的THF(8mL)溶液中加入BH_3的THF溶液(1M,6.1ml,6.1mmol)。所得混合物在室温下搅拌4h,并在水和乙酸乙酯之间分配。分离有机层，水层用乙酸乙酯(2×)萃取。将有机层干燥并减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:石油醚：乙酸乙酯＝1:1)纯化残余物,得到7-(3-溴苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三 唑并[1,5-d][1,4]二氮草(100mg,69%),为灰色油状物。

[0684] LCMS(方法B):2.93分钟

[0685] m/z[MH]+＝355.0、357.0;

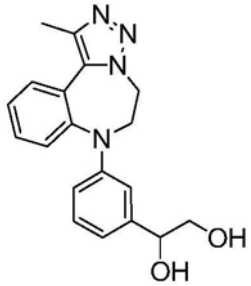
[0686] 

[0687] 步骤6:1-甲基-7-(3-乙烯基苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮**草**

[0688] 向7-(3-溴苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 (100.0mg,0.28mmol)的THF(3ml)和n-PrOH(10ml)的溶液中加入乙烯基三氟硼酸钾(75.4mg,0.56mmol),$PdCl_2$(dppf)(8.2mg,0.012mmol)和三乙胺(56.6mg,0.56mmol)。所得混合物在100℃下在氮气气氛下搅拌过夜。TLC分析表明反应完成。将反应混合物 在水和乙酸乙酯之间分配。分离有机层,水层用乙酸乙酯(2×)萃取。将有机层干燥并 减压浓缩,得到的残余物经柱色谱法(洗脱液:石油醚:乙酸乙酯＝1:1)纯化,得到1- 甲基-7-(3-乙烯基苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草(70mg,70 %),为灰色油状物。

[0689] LCMS(方法B):2.91分钟

[0690] m/z[MH]+＝303;

[0691] 

[0692] 步骤7:1-(3-(1-甲基-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草**-7(6H)-基)苯基) 乙烷-1,2-二醇

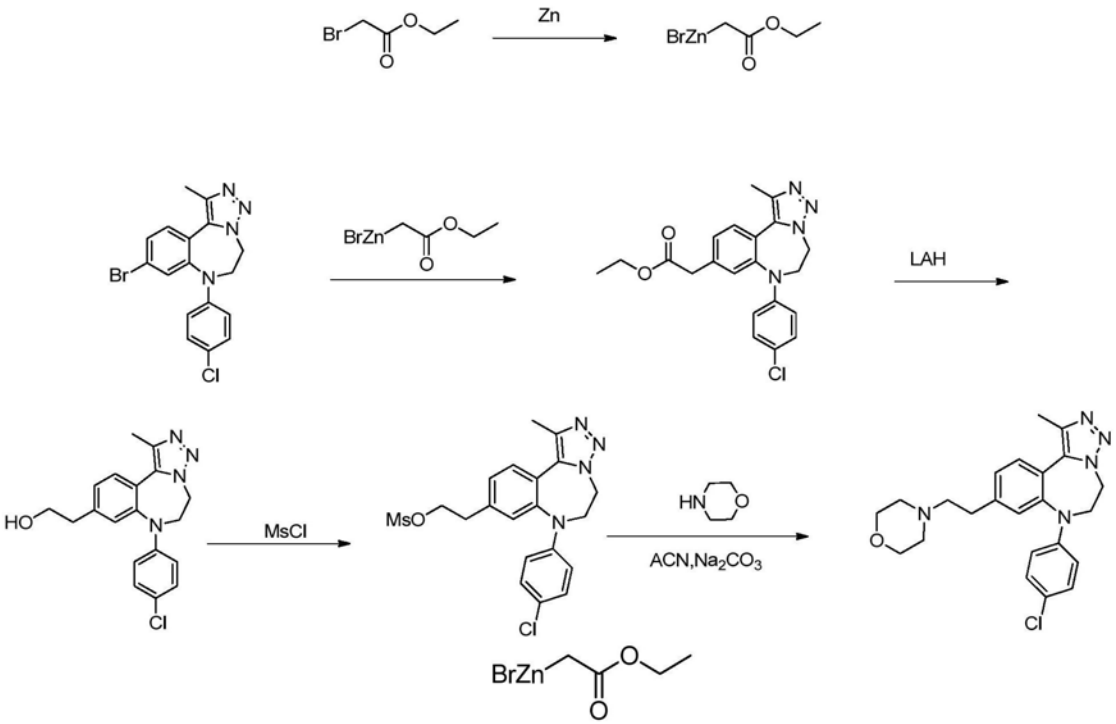
[0693] 将AD-混合物(327mg)的t-BuOH(10mL)溶液和H_2O(10mL)在室温下搅拌15分钟,然后冷却至0℃。加入1-甲基-7-(3-乙烯基苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮草(70.0mg,0.23mmol)。所得混合物在0℃下搅拌6小时,并在水和乙酸乙酯之间分配。分离有机层,水层用乙酸乙酯(2×)萃取。将有机层干燥并减压浓缩得到残 余物,将其通过柱色谱法(二氯甲烷-二氯甲烷:MeOH＝10:1)纯化,得到1-(3-(1-甲 基-5H-苯

并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-7(6H)-基)苯基)乙烷-1,2-二醇(46mg,60 %)，为白色固体。

[0694] LCMS(方法B):2.26分钟

[0695] m/z[MH]+＝337.2；

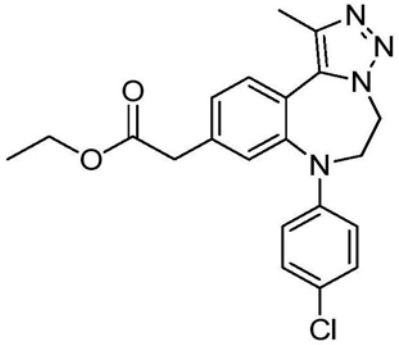
[0696]



[0697] 步骤1:(2-乙氧基-2-氧代基乙基)溴化锌(II)

[0698] 在氮气气氛下,将锌粉(50.0g,458mmol)悬浮于THF(50mL)中,并在室温下滴加Me_3SiCl(3.0mL,22.9mmol)。所得混合物在40℃下搅拌30分钟。在室温下将2-溴乙酸 乙酯(25.4mL,229mmol)的THF(100mL)溶液加入到上述反应混合物中。将所得混合物 在室温下搅拌过夜,然后在室温下放置1小时。过滤混合物,滤液不经进一步纯化即 用于下一步。

[0699]



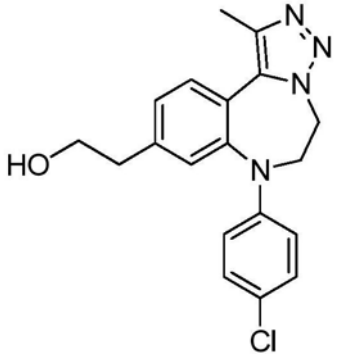
[0700] 步骤2:2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]]二 氮**草**-9-基)乙酸乙酯

[0701] 室温下在氮气气氛下向9-溴-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑 并[1,5-d][1,4]二氮草(500mg,1.3mmol),XPhos(62mg,0.13mmol),$Pd_2(dba)_3$(118mg， 0.13mmol)的甲苯(15mL)溶液中加入(2-乙氧基-2-氧代基乙基)溴化锌(II)(1.5M,2.6mL， 3.9mmol)的THF溶液。所得混合物在110℃下搅拌超过12小时。用乙酸乙酯

(20mL)稀释 混合物并用H_2O(20mL)洗涤。将有机层分离,干燥并减压浓缩。通过硅胶柱色谱法(石 油醚/乙酸乙酯=10:1)纯化残余物,得到2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f] [1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]]二氮䓬-9-基)乙酸乙酯(65mg,12%),为无色油状物。

[0702] LCMS(方法B):2.98分钟

[0703] m/z$[MH]^+$=397.1.

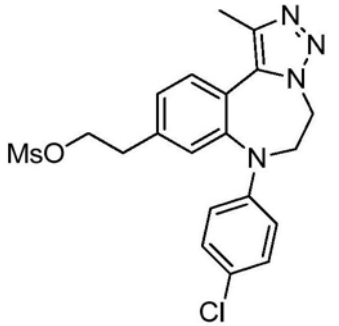
[0704] 

[0705] 步骤3:2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮 **䓬**-9-基)乙醇

[0706] 在0℃氮气气氛下,向2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并 [1,5-d][1,4]4]二氮䓬-9-基)乙酸甲酯(65mg,0.16mmol)的THF(5mL)溶液中加入$LiAlH_4$(25mg,0.64mmol)。混合物在室温下搅拌6小时。加入H_2O(1mL)以猝灭反应, 并在减压下除去有机溶剂。残余物用乙酸乙酯萃取。有机层用水,盐水洗涤,干燥并 减压浓缩。通过硅胶柱色谱法(石油醚/乙酸乙酯=10:1)纯化残余物,得到2-(7-(4-氯 苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬-9-基)乙醇(65mg, 12%),为无色油状物。

[0707] LCMS(方法B):2.64分钟

[0708] m/z$[MH]^+$=355.1.

[0709] 

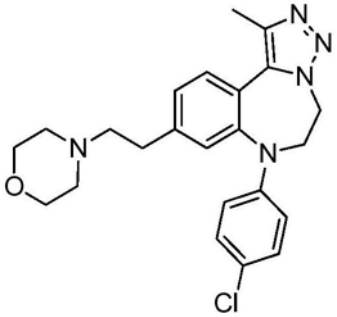
[0710] 步骤4:2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮**䓬**-9-基)乙基甲磺酸酯

[0711] 室温下向2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]] 二氮䓬-9-基)乙醇(30mg,0.085mmol)的二氯甲烷(5mL)溶液中加入甲磺酰氯(15mg, 0.13mmol)和TEA(17mg,0.17mmol)。反应混合物在室温下搅拌4小时。LCMS和TLC 分析表明反应完成。混合物用乙酸乙酯稀释,并用1M HCl水溶液和饱和Na_2CO_3水溶 液洗涤。将

所得有机层用硫酸钠干燥并减压浓缩，得到2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二 氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-基)乙基甲磺酸酯(35mg，98%)，为 无色油状物。

[0712] LCMS(方法B)：2.6分钟

[0713] m/z[MH]$^+$＝433.1.

[0714] 

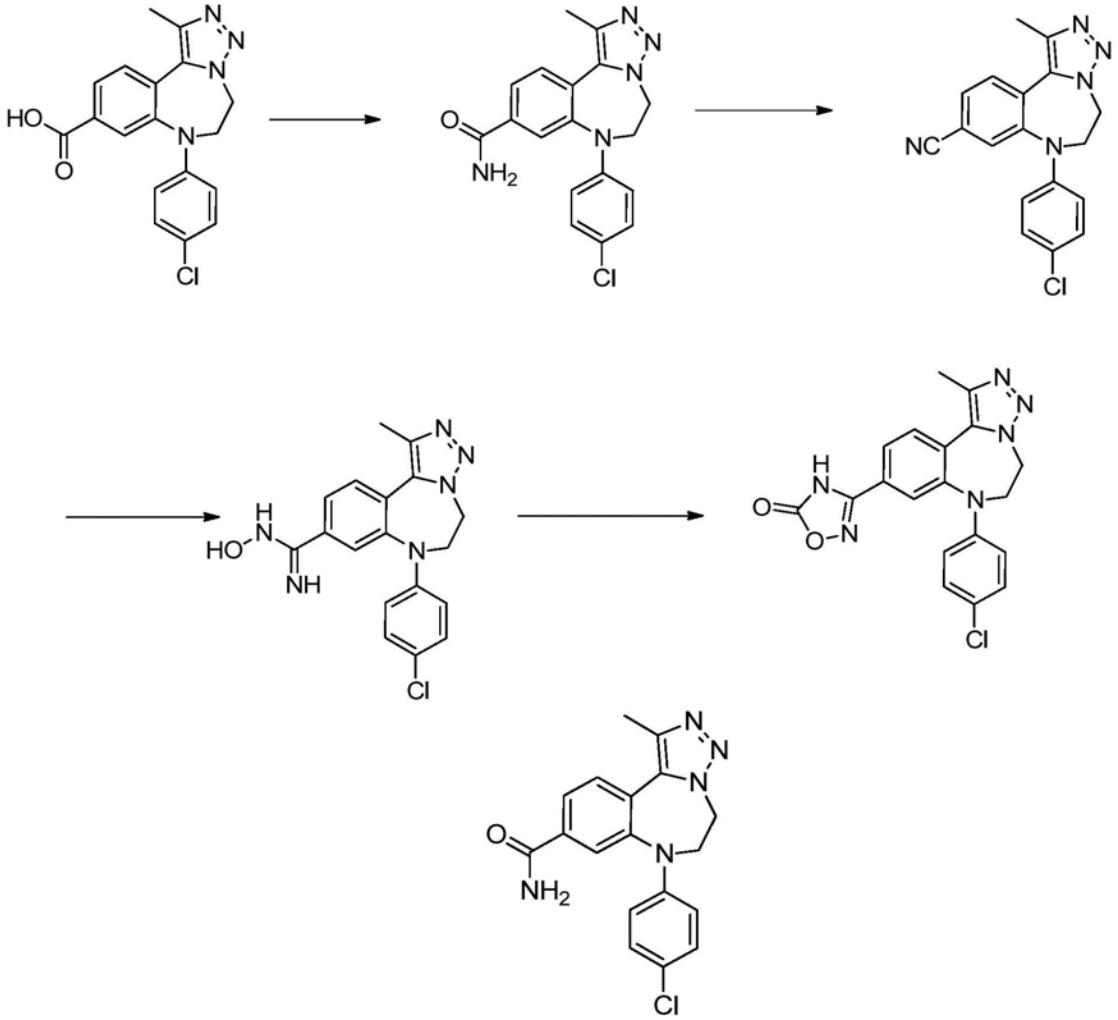
[0715] 步骤5：4-(2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮**草**-9-基)乙基)吗啉

[0716] 室温下向2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]] 二氮草-9-基)乙基甲磺酸酯(35mg，0.081mmol)的CH_3CN(5mL)溶液中加入吗啉(21mg， 0.24mmol)和Na_2CO_3(26mg，0.24mmol)。反应混合物在室温下搅拌过夜。混合物用乙酸乙酯稀释并用水洗涤。得有机层用硫酸钠干燥并减压浓缩。通过制备型TLC(洗脱液： 乙酸乙酯)纯化粗产物，得到4-(2-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑 并[1,5-d][1,4]二氮草-9-基)乙基)吗啉(10mg，29%)，为白色固体。

[0717] LCMS(方法B)：2.07分钟

[0718] m/z[MH]$^+$＝424.2.

[0719]

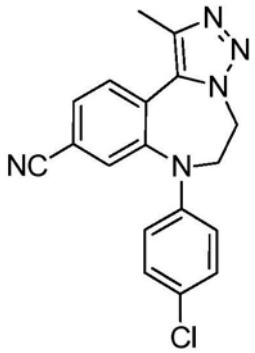


[0720] 步骤1:7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草** -9-甲酰胺

[0721] 在0℃向7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 -9-羧酸(0.9g,2.8mol)的THF(5mL)溶液中加入HATU(2.1g,5.6mmol)和Et_3N(0.5g, 5.6mol)。在室温下反应1小时后,加入25%$NH_3.H_2O$(0.5mL,7.5mmol)。反应混合物在室温下搅拌过夜。减压除去溶剂。用乙酸乙酯(20mL)稀释获得残余物并用H_2O(10mL) 洗涤。将有机层分离,用硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:DCM:MeOH =50:1)纯化残余物,得到7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮草-9-甲酰胺(500mg,50%),为白色固体。

[0722] LCMS(方法B):2.53分钟

[0723] m/z$[MH]^+$=354.1.

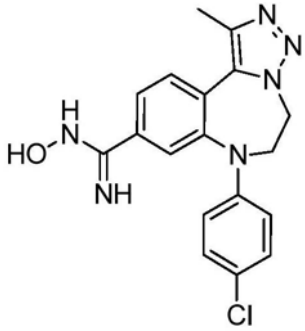
[0724] 

[0725] 步骤2:7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**草** -9甲腈

[0726] 室温下向7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮 草-9-甲酰胺(500mg,1.4mmol)的无水DMF(5mL)溶液中加入$SOCl_2$(330mg,2.8mmol)。反应混合物在120℃下搅拌3小时。用乙酸乙酯(10mL)稀释混合物,用H_2O(10mL)洗涤。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:DCM:MeOH=100:1)纯化粗产物,得到7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮草-9甲腈(210mg,45%),为白色固体。

[0727] LCMS(方法B):2.79分钟

[0728] m/z$[MH]^+$=336.1.

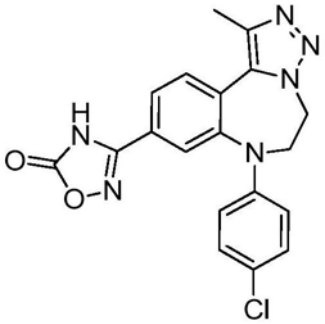
[0729] 

[0730] 步骤3:7-(4-氯苯基)-N-羟基-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮**草**-9-甲脒

[0731] 将7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-甲 腈(200mg,0.6mmol),羟基胺·HCl(63mg,1.2mmol)和K_2CO_3(124mg,0.9mmol)在MeOH(10mL)中合并,并将混合物在45℃下搅拌6小时。减压除去溶剂,得到的残余物 用乙酸乙酯(20mL)稀释并用H_2O(10mL)洗涤。有机层用硫酸钠干燥并减压浓缩。通过 柱色谱法(洗脱液:DCM:MeOH=20:1)纯化残余物,得到7-(4-氯苯基)-N-羟基-1-甲基 -6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-甲脒(0.1g,45%),为白色固体。

[0732] LCMS(方法B):2.42分钟

[0733] m/z$[MH]^+$=369.1.

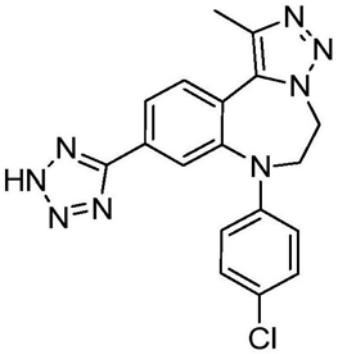
[0734] 

[0735] 步骤4:3-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮 草-9-基)-1,2,4-恶二唑-5(4H)-酮

[0736] 将7-(4-氯苯基)-N-羟基-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮草-9-甲脒(100mg,0.27mmol),CDI(53mg,0.33mmol)和K_2CO_3(56mg,0.4mmol)在DMSO(3毫升)中合并并在室温搅拌过夜。用乙酸乙酯(20mL)稀释混合物,用H_2O(10mL) 洗涤,并将有机层用硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱法(洗脱液:DCM:MeOH= 20:1)纯化残余物,得到3-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮草-9-基)-1,2,4-恶二唑-5(4H)-酮(60mg,56%),为白色固体。

[0737] LCMS(方法B):2.75分钟

[0738] m/z$[MH]^+$=395.2.

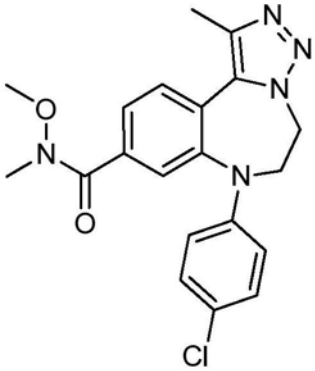
[0739] 

[0740] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-9-(2H-四唑-5-基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮草

[0741] 将7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9- 甲腈(134mg,0.4mol),NaN_3(52mg,0.8mmol)和NH_4Cl(42mg,0.8mol)的DMF(3mL)混合物在150℃下搅拌24小时。将反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(20mL)稀释 并用H_2O(10mL)洗涤。将有机层分离,用硫酸钠干燥,减压浓缩。通过制备型HPLC 纯化残余物,得到7-(4-氯苯基)-1-甲基-9-(2H-四唑-5-基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三 唑并[1,5-d][1,4]二氮草(12mg,8%),为白色固体。

[0742] LCMS(方法B):2.65分钟

[0743] m/z$[MH]^+$=379.1

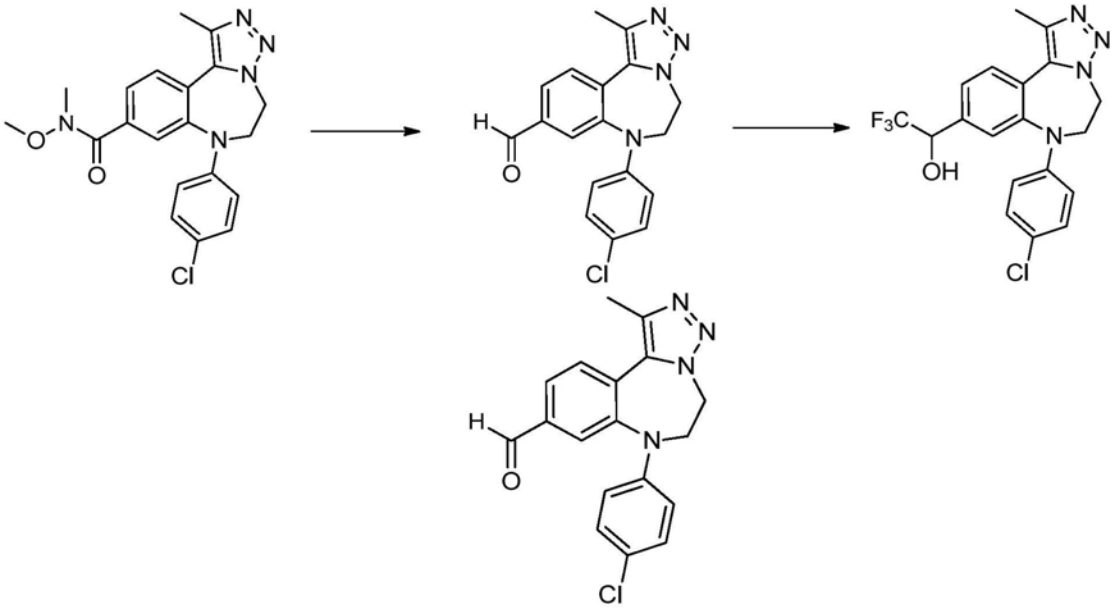
[0744] 

[0745] 7-(4-氯苯基)-N-甲氧基-N,1-二甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮䓬-9-甲酰胺

[0746] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮䓬-9-羧酸 (170mg,0.45mmol)和HATU(256mg,0.67mmol)在THF(5mL)中合并,并在室温下搅拌 15分钟。然后加入N-甲氧基甲胺盐酸盐(38mg,0.7mmol)和TEA(136.5mg,1.35mmol)。所得混合物在室温下搅拌4小时。过滤混合物,在乙酸乙酯和水之间分配,分离有机 相并用Na_2SO_4干燥。减压蒸发溶剂,并通过快速色谱法(洗脱液:DCM:MeOH=20:1) 纯化残余物,得到7-(4-氯苯基)-N-甲氧基-N,1-二甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑 并[1,5-d][1,4]二氮䓬-9-甲酰胺(30mg,16%),为黄色油状物。

[0747] LCMS(方法B):2.62分钟

[0748] m/z$[MH]^+$=398.3.

[0749] 

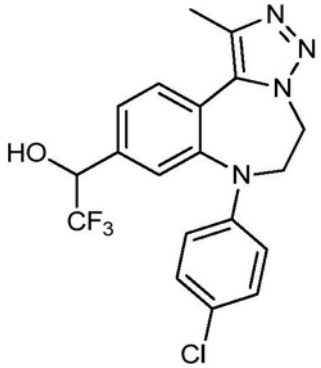
[0750] 步骤1:7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮**䓬** -9甲醛

[0751] 向7-(4-氯苯基)-N-甲氧基-N,1-二甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮䓬-9-甲酰胺(50mg,0.13mmol)的THF(5mL)溶液中加入$LiAlH_4$(6mg,0.15mmol)。反应混合物在N_2下在室温下搅拌过夜。反应用H_2O淬灭,然后用乙酸乙酯 萃取并用Na_2SO_4干燥。减压蒸发溶剂,并通过快速色谱法(洗脱液,DCM:MeOH=20:1) 纯化残余物,

得到7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮草-9甲醛(30mg,68%),为黄色油状。

[0752] LCMS(方法B):2.75分钟

[0753] m/z[MH]$^+$=339.1.

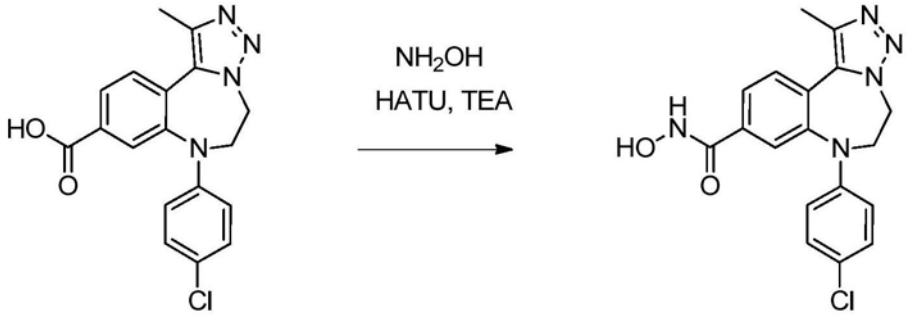
[0754] 

[0755] 步骤2:1-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮 草-9-基)-2,2,2-三氟乙醇

[0756] 将7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-甲 醛(60mg,0.18mmol)和三甲基(三氟甲基)硅烷(32mg,0.23mmol)的无水DCM(8mL)溶 液冷却至-78℃,然后加入四丁基氟化铵的THF溶液(1M,0.1毫升),并将混合物搅拌 过夜。反应用水淬灭,水层用乙酸乙酯萃取,用Na_2SO_4干燥并减压浓缩。通过快速色 谱法(石油醚:乙酸乙酯=5:1)纯化残余物,得到1-(7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H- 苯并[f]2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-基)-2,2,2-三氟乙醇(20mg,27%),为黄色固体。

[0757] LCMS(方法B):2.87分钟

[0758] m/z[MH]$^+$=409.1.

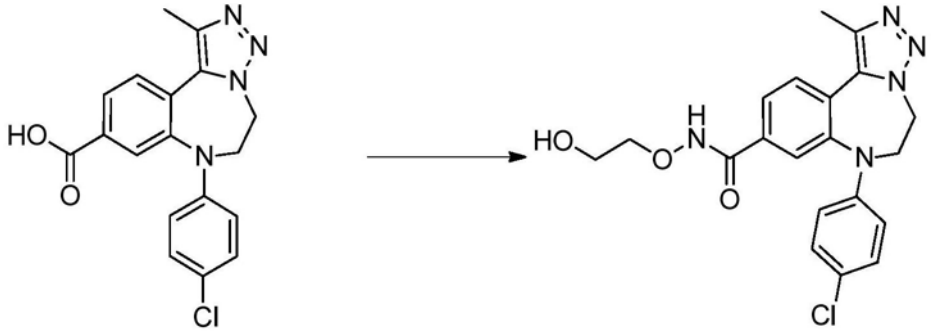
[0759] 

[0760] 7-(4-氯苯基)-N-羟基-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 -9-甲酰胺

[0761] 在0℃下向7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮草-9-羧酸(93.1mg,0.26mmol)的THF(4mL)溶液中加入HATU(149.7mg,0.394mmol), 反应混合物搅拌30分钟。然后加入三乙胺(79.6mg,0.788mmol)和羟基胺盐酸盐 (27.4mg,0.394mmol)。所得混合物在室温下搅拌过夜,并在水和DCM之间分配。有 机物用DCM(3×20mL)萃取,合并的有机层用盐水(2×30mL)洗涤,干燥并减压浓缩。通过制备型TLC(DCM:MeOH=10:1)纯化粗产物,得到7-(4-氯苯基)-N-羟基-1-甲基 -6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-甲酰胺(20mg,21%),为黄色 固体。

[0762] LCMS(方法B):RT 2.40分钟

[0763] m/z 370.3[M+H]$^{+}$.

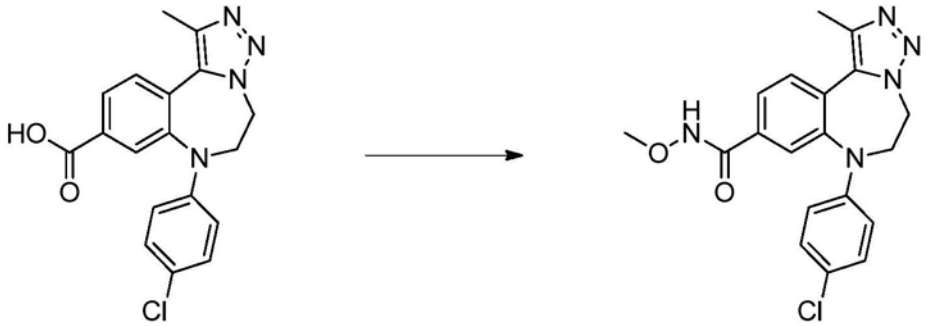
[0764] 

[0765] 7-(4-氯苯基)-N-(2-羟基乙氧基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮草-9-甲酰胺

[0766] 在0℃下向7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮草-9-羧酸(55.6mg,0.157mmol)的THF(4mL)溶液中加入HATU(89.4mg,0.235mmol)，反应混合物搅拌30分钟。然后加入三乙胺(47.4mg,0.470mmol)和2-(氨氧基)乙醇 (18.1mg,0.235mmol)。所得混合物在室温下搅拌过夜,并在水和DCM之间分配。有 机物用DCM(3×20mL)萃取并将合并的有机层用盐水(2×30mL)洗涤,干燥并减压浓缩。通过制备型TLC(DCM:MeOH=10:1)纯化粗产物,得到7-(4-氯苯基)-N-(2-羟基乙氧 基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-甲酰胺(18mg,28 %)。

[0767] LCMS(方法B):RT 2.48分钟

[0768] m/z 414.1[M+H]$^{+}$

[0769] 

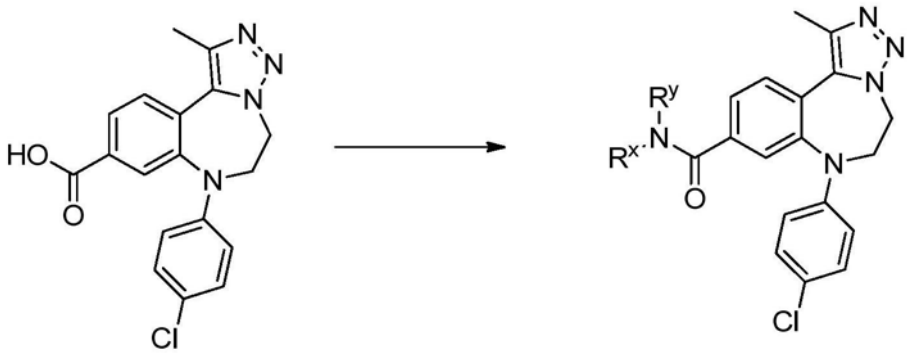
[0770] 7-(4-氯苯基)-N-甲氧基-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮 草-9-甲酰胺

[0771] 在0℃下向7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮 草-9-羧酸(81.1mg,0.229mmol)的DCM(4mL)溶液中加入HATU(130.4mg,0.343mmol)，混合物搅拌30分钟。向混合物中加入三乙胺(69.3mg,0.686mmol)和O-甲基羟基胺盐酸 盐(28.6mg,0.343mmol)。所得混合物在室温下搅拌过夜,并在水和DCM之间分配。有机物用DCM(3×20mL)萃取并将合并的有机层用盐水(2×30mL)洗涤,干燥并减压浓 缩。通过制备型TLC(DCM:MeOH=10:1)纯化粗产物,得到7-(4-氯苯基)-N-甲氧基 -1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-甲酰胺(30mg,34%)，为黄色固体。

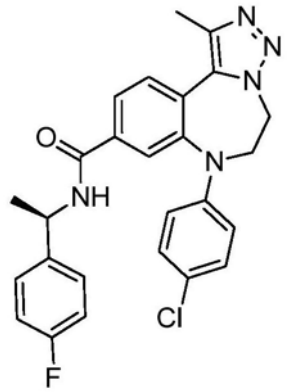
[0772] LCMS(方法B):RT 2.55分钟

[0773] m/z 384.1[M+H]$^+$.

[0774] 酰胺化反应的一般方法

[0775] 

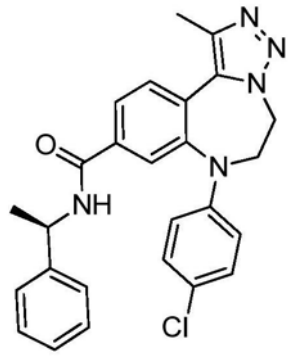
[0776] 将7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草-9-羧 酸(0.1mmol),TEA(0.3mmol)和HATU(0.2mmol)合并并溶于DCM(2mL)中。反应混合 物在室温下搅拌20分钟,并加入胺(0.2mmol)的DCM(0.5mL)溶液。反应混合物在室温 下搅拌16小时或至完成(通过HPLC评估)。加入饱和NH_4Cl水溶液,分离有机物,减压 浓缩。粗制油状物经制备性HPLC纯化,得到标题化合物。

[0777] 

[0778] 7-(4-氯苯基)-N-((R)-1-(4-氟苯基)乙基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并 [1,5-d][1,4]二氮草-9-甲酰胺

[0779] LCMS(方法A):6.53分钟

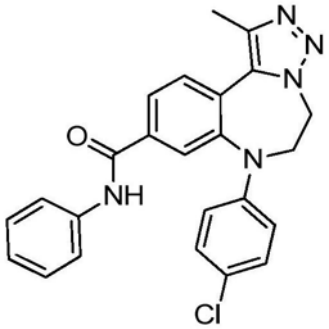
[0780] m/z[MH]$^+$=476.25.

[0781] 

[0782] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-N-((R)-1-苯乙基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮草-9-甲酰胺

[0783] LCMS(方法A):5.55分钟

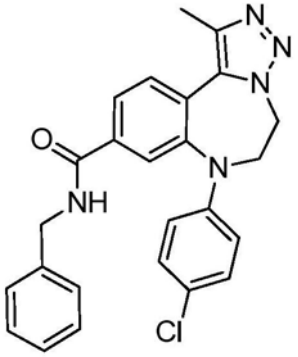
[0784] m/z[MH]$^{+}$＝458.0

[0785] 

[0786] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-N-苯基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 -9-甲酰胺

[0787] LCMS(方法A):5.60分钟

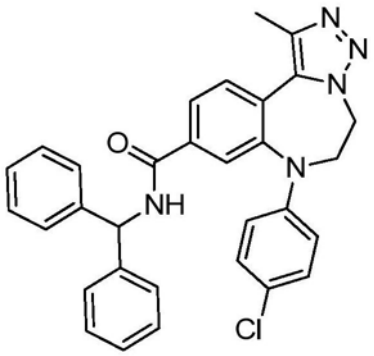
[0788] m/z[MH]$^{+}$＝430.1

[0789] 

[0790] N-苄基-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二氮草 -9-甲酰胺

[0791] LCMS(方法A):5.49分钟

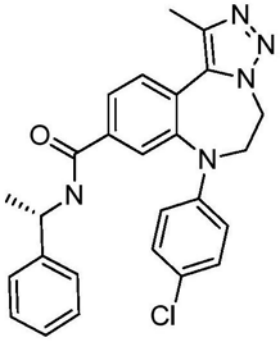
[0792] m/z[MH]$^{+}$＝444.0

[0793] 

[0794] N-二苯甲基-7-(4-氯苯基)-1-甲基-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4]二 氮草-9-甲酰胺

[0795] LCMS(方法A):5.49分钟

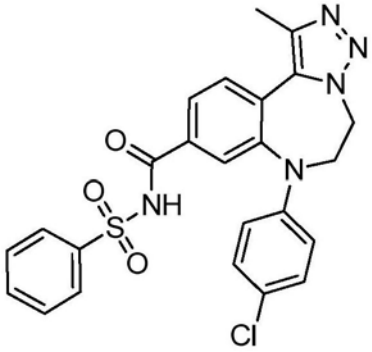
[0796] m/z[MH]$^{+}$＝444.0

[0797] 

[0798] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-N-((S)-1-苯乙基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d] [1,4]二氮䓬-9-甲酰胺

[0799] LCMS(方法A):5.56分钟

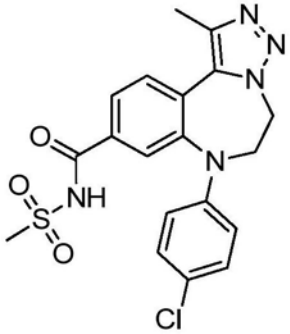
[0800] m/z[MH]$^{+}$=458.0

[0801] 

[0802] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-N-(苯磺酰基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮杂-9-甲酰胺

[0803] LCMS(方法A):5.60分钟

[0804] m/z[MH]$^{+}$=494.0

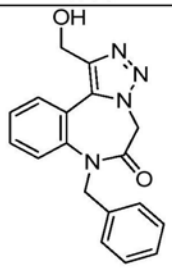
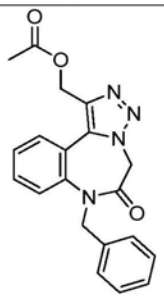
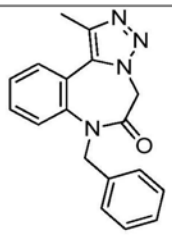
[0805] 

[0806] 7-(4-氯苯基)-1-甲基-N-(甲基磺酰基)-6,7-二氢-5H-苯并[f][1,2,3]三唑并[1,5-d][1,4] 二氮䓬-9-甲酰胺

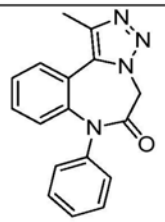
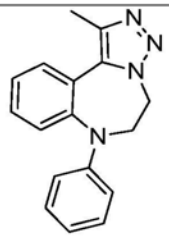
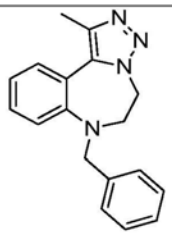
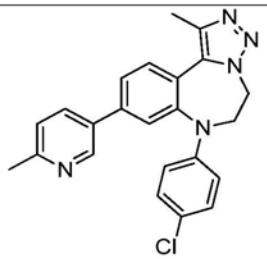
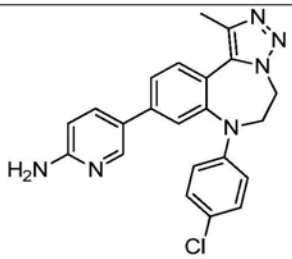
[0807] LCMS(方法A):5.56分钟

[0808] m/z[MH]$^{+}$=430.1

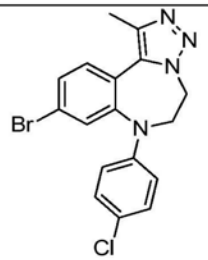
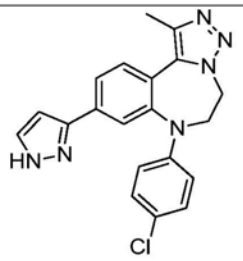
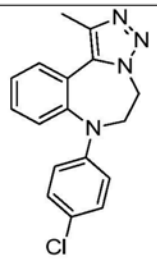
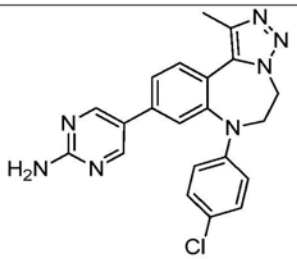
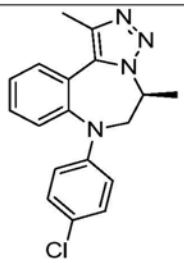
[0809]

实施例	结构	^{1}H-NMR
1		(600 MHz, CD_3OD): δ 7.28 (dt, *J* = 17.7, 8.4 Hz, 4H), 7.19-7.16 (m, 2H), 7.08 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.69 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.76 (q, *J* = 18.0 Hz, 2H), 4.54 (q, *J* = 17.2 Hz, 2H), 4.28 (s, 2H).
2		(600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.56 (dd, *J* = 7.8, 0.9 Hz, 1H), 7.49-7.45 (m, 2H), 7.37-7.34 (m, 1H), 7.16 (dt, *J* = 3.1, 1.6 Hz, 3H), 6.90-6.88 (m, 2H), 5.52 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 5.42 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 5.23 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 5.04 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 4.88 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 4.64 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 2.07 (s, 3H).
3		(600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.46-7.43 (m, 3H), 7.35-7.33 (m, 1H), 7.18-7.16 (m, 3H), 6.90 (dd, *J* = 6.4, 2.4 Hz, 2H), 5.47 (d, *J* = 14.1 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 4.90 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 4.62 (d, *J* = 14.1 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H).

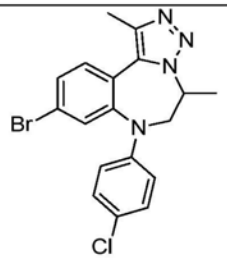
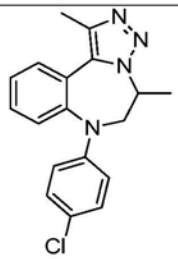
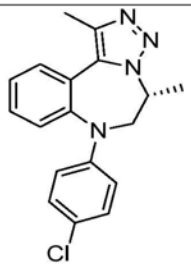
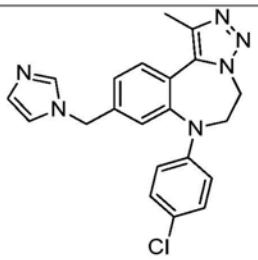
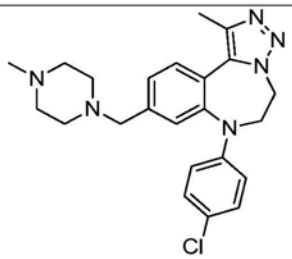
[0810]

实施例	结构	^{1}H-NMR
4		
5		(400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.55 (s, 3 H) 4.17 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.63 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.73 (dd, *J*= 8.8 Hz 2 H) 6.86 (m, 1 H) 7.18 (m, 2 H) 7.35 (m, 3 H) 7.52 (dd, *J*= 8.4 Hz 1 H).
6		(600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.41-7.38 (m, 1H), 7.36-7.31 (m, 1H), 7.30-7.22 (m, 3H), 7.18-7.12 (m, 2H), 7.11-7.07 (m, 1H), 4.51-4.47 (m, 2H), 4.40-4.38 (m, 1H), 3.58-3.56 (m, 2H), 2.53 (s, 3H).
7		(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.52 (s, 3 H) 2.57 (s, 3 H) 4.18 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H), 4.5-5.5 (m, 2 H, 被水覆盖) 6.75 (dd, J= 6.8, 2.0 Hz, 2 H) 7.14 (dd, J= 6.8, 2.0 Hz, 2 H) 7.38 (d, J= 8.0 Hz, 1 H) 7.53 (d, J= 2.0 Hz, 1 H) 7.73 (dd, J= 8.0, 1.6 Hz, 1 H) 7.78 (d, J= 8.0 Hz, 1 H) 7.96 (dd, J= 8.0, 2.8 Hz, 1 H) 8.59 (d, J= 2.0 Hz, 1 H).
8		(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.50 (s, 3 H) 4.14 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.67(t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.75 (dd, *J*= 6.8 Hz, 2.0 Hz 2 H) 7.10 (d, *J*= 9.6 Hz 1 H) 7.15 (dd, *J*= 6.8 Hz, 2.0 Hz 2 H) 7.55 (d, *J*= 8.00 Hz 1 H) 7.65 (d, *J*= 2.00 Hz 1 H) 7.75 (d, *J*= 2.00 Hz 1 H) 8.07 (d, *J*= 1.60 Hz 1 H) 8.20 (dd, *J*= 9.6 Hz, 2.4 Hz 1 H).

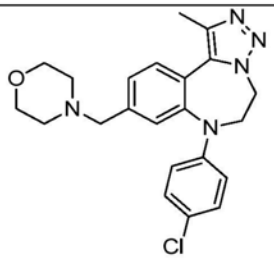
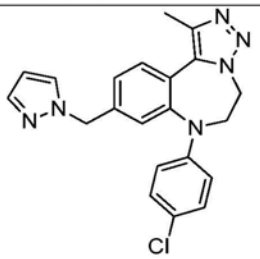
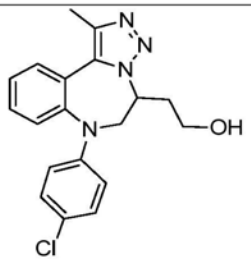
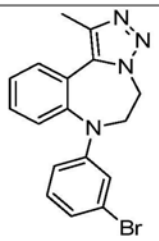
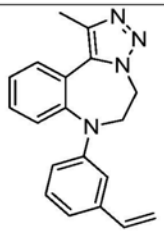
[0811]

实施例	结构	^{1}H-NMR
9		(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.49 (s, 3 H) 4.14 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.67 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.77 (dd, *J*= 6.8 Hz, 2.0 Hz 2 H) 7.20 (dd, *J*= 6.8 Hz, 2.0 Hz 2 H) 7.42 (s, 1 H) 7.56 (d, *J*= 1.6 Hz 2 H).
10		(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.53 (s, 3 H) 4.19 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.69 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.69 (d, *J*= 2.4 Hz 1 H) 6.76 (d, *J*= 9.2 Hz 2 H) 7.15 (d, *J*= 9.2 Hz 2 H) 7.69 (d, *J*= 2.4 Hz 1 H) 7.71 (s, 1 H) 7.77 (d, *J*= 2.4 Hz 1 H) 7.86 (dd, *J*= 8 Hz, 2Hz 1 H).
11		(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.49 (s, 3 H) 4.14 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.64 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.77 (d, *J*= 9.2 Hz, 2 H) 7.12 (d, *J*= 9.2 Hz, 2 H) 7.33 (dd, *J*= 8.0 Hz, 2.0 Hz 1 H) 7.47 (m, 2 H) 7.65 (dd, *J*= 8.0 Hz, 2.0 Hz 1 H).
12		(400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.60 (s, 3 H) 4.19 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.69 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.74 (d, *J*= 8.8 Hz 2 H) 7.19 (d, *J*= 8.8 Hz 2 H) 7.37 (d, *J*= 1.6 Hz 1 H) 7.44 (dd, *J*= 8 Hz 2 Hz 1 H) 7.50 (br s 2 H) 7.67 (d, *J*= 8.0 Hz 1 H) 8.55 (s, 2 H).
13		(400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.83 (d, *J*= 6.4 Hz 3 H) 2.53 (s, 3 H) 3.77 (t, *J*= 11.6 Hz 1 H) 4.14 (dd, *J*= 12.0 Hz 4.0 Hz 1 H) 4.66 (m, 1 H) 6.65 (d, *J*= 8.4 Hz 2 H) 7.12 (d, *J*= 8.4 Hz 2 H) 7.26-7.39 (m, 3 H) 7.52 (d, *J*= 7.2 Hz 1 H)

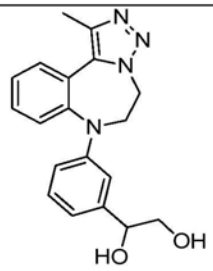
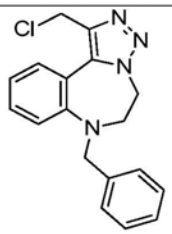
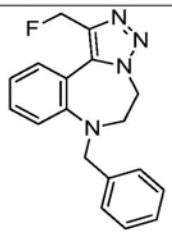
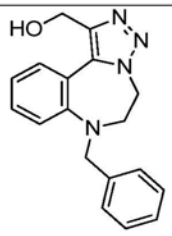
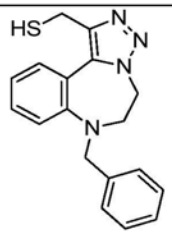
[0812]

实施例	结构	^{1}H-NMR
14		^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.83 (d, J = 6.7 Hz, 1H),2.52 (s, 1H),3.76 (m, 1H),4.14 (dd, J = 12.1, 4.2 Hz, 0H), 4.67 (m, 1H), 6.73 (d, J = 9.0 Hz, 1H),7.19 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.39 (m, 1H),δ 7.45 (dd, J = 8.3, 1.9 Hz, 1H).
15		^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.88 (br s, 3 H) 2.75 (br s, 3 H) 3.88 (br s, 1 H) 4.24 (br s, 1 H) 4.79 (br s, 1 H) 7.71 (d, *J*= 8.0 Hz 2 H) 7.18 (d, *J*= 8.0 Hz 2 H) 7.35 (m, 1 H) 7.49-7.57 (m, 3 H)
16		^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 1.77 (d, *J*= 6.8 Hz 3 H) 2.49 (s, 3 H) 3.78 (dd, *J* = 12.4, 11.2 Hz 1 H) 4.26 (dd, *J* = 12.4, 4.8 Hz 1 H) 4.76 (m, 1 H) 6.73 (m, 2 H) 7.14 (m, 2 H) 7.30 (m, 1 H) 7.47 (m, 2 H) 7.66 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz 1 H)
17		^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.50 (s, 3 H) 4.15 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.68 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 5.46 (s, 2 H) 6.74 (d, *J*= 8.8 Hz, 2 H) 7.14 (d, *J*= 8.8 Hz, 2 H) 7.36 (d, *J*= 1.6 Hz, 1 H) 7.46 (dd, *J*= 8.0 Hz, 1.6 Hz 1 H) 7.61 (s, 1 H) 7.64 (s, 1 H) 7.72 (d, *J*= 8.0 Hz, 1 H) 9.05 (s, 1 H).
18		^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.50 (s, 3 H) 2.90 (s, 3 H) 3.00 (br, 4 H) 3.40 (br, 4 H) 3.80 (s, 2 H) 4.13 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.66 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.72 (d, *J*= 8.8 Hz, 2 H) 7.16 (d, *J*= 8.8 Hz, 2 H) 7.37 (s, 1 H) 7.46 (dd, *J*= 8.0 Hz, 1.2 Hz 1 H) 7.66 (d, *J*= 8.0 Hz, 1 H).

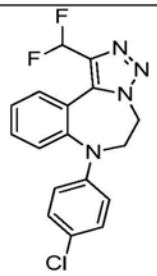
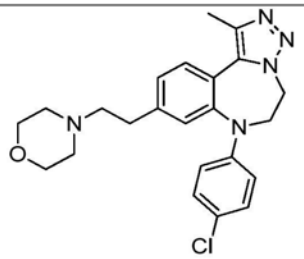
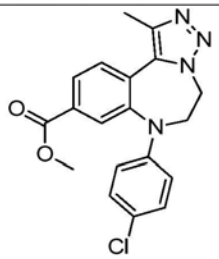
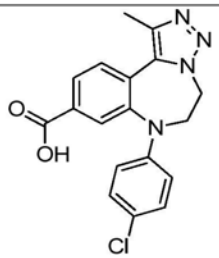
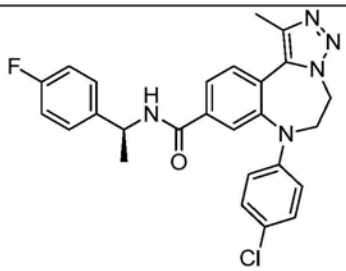
[0813]

实施例	结构	^{1}H-NMR
19		(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.52 (s, 3 H) 3.20 (s, 2 H) 3.37 (s, 2 H) 3.75 (s, 2 H) 4.06 (s, 2 H) 4.19 (t, J= 6.0 Hz 2 H) 4.36 (s, 2 H) 4.69 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.79 (d, *J*= 7.2 Hz, 2 H) 7.18 (d, *J*= 7.2 Hz, 2 H) 7.46 (d, *J*= 1.2 Hz, 1 H) 7.55 (dd, *J*= 8.0 Hz, 1.6 Hz 1 H) 7.76 (d, J= 8.0 Hz, 1 H).
20		(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.48 (s, 3 H) 4.13 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.62 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 5.37 (s, 2 H) 6.33 (t, *J*= 2.0 Hz 1 H) 6.69 (d, *J*= 6.8 Hz, 2 H) 7.12 (d, *J*= 6.8 Hz, 2 H) 7.26 (dd, *J*= 8.0 Hz, 1.6 Hz 1 H) 7.52 (d, *J*= 1.6 Hz, 1 H) 7.62 (d, *J*= 8.0 Hz, 1 H) 7.72 (d, *J*= 2.4 Hz, 1 H).
21		(400 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 2.18 (m, 1 H) 2.47 (s, 3 H) 2.63 (m, 1 H) 3.71 (m, 2 H) 3.87 (dd, *J*= 12.40 Hz 10.8 Hz 1 H) 4.27 (dd, *J*= 12.40 Hz 5.2 Hz 1 H) 4.85 (m, 1 H, covered by water) 6.70 (m, 2 H) 7.12 (m, 2 H) 7.30 (dd, *J*= 8.00 Hz 5.2 Hz 1 H) 7.47 (m, 2 H) 7.63 (d, *J*= 7.60 Hz 1 H).
22		(400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.42 (s, 3 H), 4.11 (t, J = 6.0 Hz, 2 H), 4.59 (t, J = 6.0 Hz, 2 H), 6.63 (m, 1 H) , 6.80 (d, J = 2.0 Hz, 1 H), 6.92 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 7.08 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.34 (m, 1 H), 7.49 (m, 2 H), 7.67 (dd, J = 7.5, 1.6 Hz, 1 H).
23		(400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.56 (s, 3 H), 4.18 (t, J = 6.0 Hz, 2 H), 4.64 (t, J = 6.0 Hz, 2 H), 5.22 (d, J = 11.0 Hz, 1 H), 5.66 (d, J = 17.6 Hz,1 H), 6.62 (m, 2 H), 6.76 (s,1 H), 6.94 (d, J = 7.6 Hz, 1 H), 7.14 (t, J = 7.9 Hz, 1 H), 7.38 (m, 3 H), 7.54 (m, 1 H).

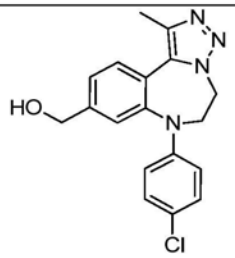
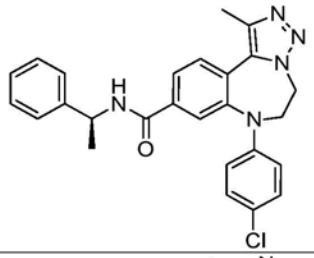
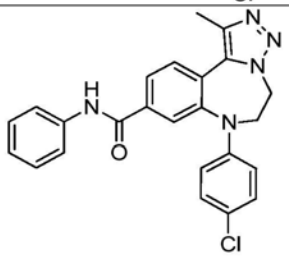
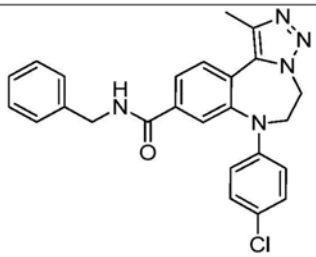
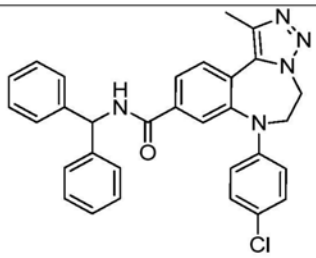
[0814]

实施例	结构	^{1}H-NMR
24		(400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.29 (s,1 H), 2.53 (s, 3 H), 2.79 (s, 1 H), 3.62 (m, 1 H), 3.72 (m, 1 H), 4.17 (t, J = 6.0 Hz, 2 H), 4.62 (t, J = 6.0 Hz, 2 H), 4.73 (m, 1 H), 6.62 (dd, J = 8.0, 2.2 Hz,1 H), 6.75 (s, 1 H), 6.80 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.14 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.37 (m, 3 H), 7.52 (dd, J = 7.4, 1.7 Hz, 1 H).
25		
26		(600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.62 (dd, J = 7.6, 1.1 Hz, 1H), 7.40-7.37 (m, 1H), 7.29-7.23 (m, 4H), 7.18 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.16-7.11 (m, 2H), 5.55 (d, $J_{H\text{-}F}$ = 49.4 Hz, 2H), 4.56 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 4.41 (s, 2H), 3.62 (t, J = 5.8 Hz, 2H).
27		(600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.67 (dd, J = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 7.42-7.39 (m, 1H), 7.31 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 7.28-7.26 (m, 2H), 7.20-7.18 (m, 2H), 7.15-7.13 (m, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.57 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.63 (t, J = 5.8 Hz, 2H).
28		(600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.54 (dd, J = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.37-7.34 (m, 1H), 7.26-7.24 (m, 3H), 7.21 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.13-7.10 (m, 2H), 4.50 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 4.38 (s, 2H), 3.97 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 3.59 (t, J = 5.9 Hz, 2H).

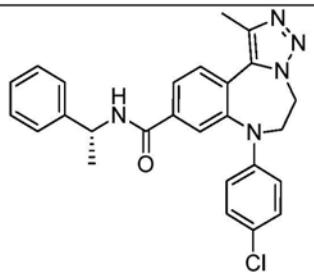
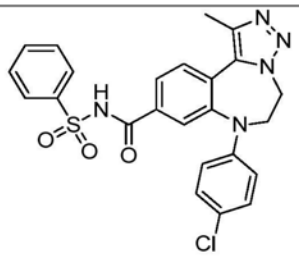
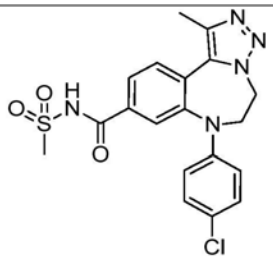
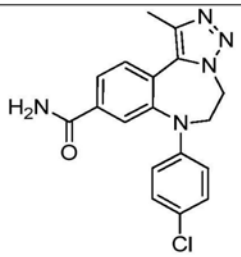
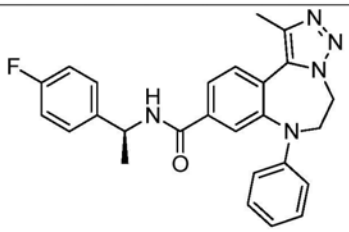
[0815]

实施例	结构	^{1}H-NMR
29		(400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 4.17 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.67 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.63 (dd, *J*= 6.8 Hz,2.0 Hz 2 H) 6.88 (s, 0.4 H) 7.01 (s, 0.6 H) 7.14 (dd, *J*= 6.8 Hz, 2.4 Hz 2 H) 7.30 (d, *J*= 7.2 Hz 1 H) 7.40 (t, *J*= 7.6 Hz, 2.0 Hz 1 H) 7.48 (td, *J*= 7.6 Hz, 2.0 Hz 1 H) 7.75 (d, *J*= 7.0 Hz 1 H).
30		(400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2.50 (s, 3 H) 2.66 (m, 6 H) 2.82 (m, 2 H) 3.77 (m, 4 H) 4.11 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.61 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.64 (d, *J*= 8.6 Hz 2 H) 7.13 (m, 3 H) 7.20 (dd, *J*= 7.9 Hz,1.6Hz 1 H) 7.44 (d, *J*= 8.0 Hz 1 H).
31		(600 MHz, 氯仿-d)： *δ* ppm 2.53 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 4.12 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.60 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 6.62 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.58 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.92 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.97 (dd, *J* = 8.1 Hz 和 1.5 Hz, 1H).
32		(600 MHz, MeOH-d4)： *δ* ppm 2.50 (s, 3H), 4.15 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.85 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 6.73 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.14 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.99 (dd, *J* = 7.7 Hz 和 1.5 Hz, 1H).
33		(600 MHz, 氯仿-d)： *δ* ppm 1.58 (d, J = 6.96 Hz, 3H), 2.51 (s, 3H), 4.11 (t, *J* = 7.0Hz, 2H), 4.61 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 5.25 (q, *J* = 7.1 Hz, 1H), 6.26 (br s, 1H) 6.62 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.02 (m, 2H) 7.12 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.32 (m, 2H), 7.63 (dd, *J* = 8.1 Hz, *J* = 1.8 Hz 1H), 7.69 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H).

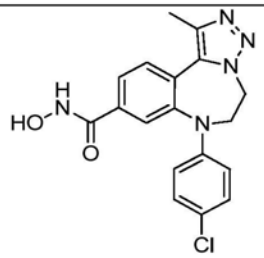
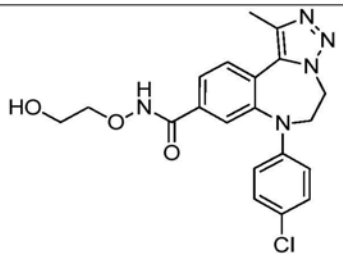
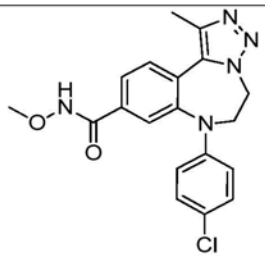
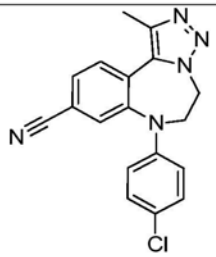
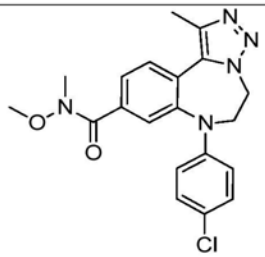
[0816]

实施例	结构	^{1}H-NMR
34		(600 MHz, 氯仿-d): δ ppm 2.49 (s, 3H), 4.08 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.57 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.88 (s, 2H), 6.62 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.09 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.32 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.9 Hz 1H).
35		(600 MHz, 氯仿-d): δ ppm 1.58 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 2.50 (s, 3H), 4.10 (t, *J* = 7.0Hz, 2H), 4.58 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 5.28 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H), 6.28 (br s, 1H), 6.62 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.12 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H) 7.28 (m, 1H), 7.34-7.36 (m, 4H), 7.54 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.69 (dd, *J* = 8.1 Hz, *J* = 1.7 Hz, 1H). 7.70 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H)
36		(600 MHz, 氯仿-d): δ ppm 2.54 (s, 3H), 4.14 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.62 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 6.88 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H) 7.14 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.36 (m, 2H), 7.59 (d, *J* = 7.6 Hz 2H), 7.62 (d, *J* = 7.6 Hz 1H), 7.72 (br s, 1H) 7-76-7.79 (m, 2H).
37		(600 MHz, 氯仿-d): δ ppm 2.51 (s, 3H), 4.10 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.57 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.61 (br d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 6.38 (br d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 6.62 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H) 7.11 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.28-7.34 (m, 5H), 7.55 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.0 Hz 1H), 7.71 (s, 1H).
38		(600 MHz, 氯仿-d): δ ppm 2.50 (s, 3H), 4.11 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.59 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 6.39 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 6.64 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.11 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.25-7.31 (m, 6H), 7.32-7.36 (m, 4H), 7.55 (d, *J* = 7.7 Hz 1H), 7.69 (dd, *J* = 7.7 Hz *J* = 1.7 Hz 1H), 7.75 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H).

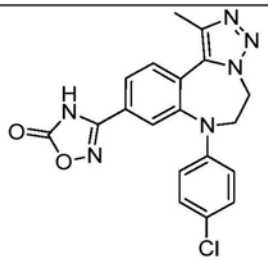
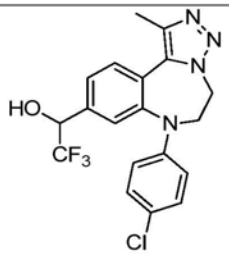
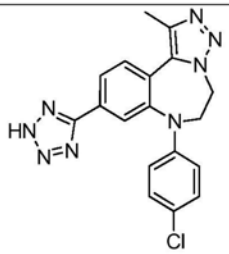
[0817]

实施例	结构	^{1}H-NMR
39		(600 MHz, 氯仿-d): δ ppm 1.58 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 2.50 (s, 3H), 4.10 (t, *J* = 7.0Hz, 2H), 4.58 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 5.28 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H), 6.28 (br s, 1H), 6.62 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.12 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H) 7.28 (m, 1H), 7.34-7.36 (m, 4H), 7.54 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.69 (dd, *J* = 8.1 Hz, *J* = 1.7 Hz, 1H). 7.70 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H)
40		(400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.51 (s, 3 H), 4.09 (t, *J*= 6.1 Hz 2 H) 4.57 (t, *J*= 6.1 Hz 2 H), 6.61 (d, *J*= 8.9 Hz 2 H), 7.09 (d, *J*= 8.9 Hz 2 H) 7.54-7.58 (m, 3 H) 7.65-7.71 (m, 3 H), 8.11 (d, *J*= 8.1 Hz, 2H).
41		(400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.54 (s, 3 H) 3.38 (s, 3H), 4.13 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.61 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H), 6.65 (d, *J*= 8.8 Hz 2 H) 7.14 (d, *J*= 8.8 Hz 2 H) 7.62 (d, *J*= 8.0 Hz 1 H) 7.74-7.79 (m, 2 H).
42		(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.51 (s, 3 H) 4.16 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.67 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.73 (d, *J*= 8.8 Hz 2 H) 7.14 (d, *J*= 8.8 Hz 2 H) 7.74 (d, *J*= 8.0 Hz 1 H) 7.84 (d, *J*= 1.6 Hz 1 H) 7.91 (dd, *J*= 8.4, 2.0 Hz 1 H).
43		(600 MHz, 氯仿-d): δ ppm 1.57 (d, J = 6.96 Hz, 3H), 2.51 (s, 3H), 4.15 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.61 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 5.26 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 6.18 (br s, 1H) 6.72 (d, *J* =7.9 Hz, 2H), 6.87 (t, *J* = 7.4 Hz 1H) 7.02 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.18 (t, *J* = 8.7 Hz 2H), 7.32 (dd, *J* = 5.1 Hz, *J* = 3.4 Hz 1H), 7.56 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.64 (dd, *J* = 8.1 Hz, *J* = 1.6 Hz 1H), 7.70 (d, *J* = 1.6 Hz 1H).

[0818]

实施例	结构	^{1}H-NMR
44		(400 MHz, 甲醇-d_4) δ 7.79 – 7.73 (m, 2H), 7.72 (s, 1H), 7.17 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.75 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.68 (m, 2H), 4.18 (m, 2H), 2.52 (s, 3H).
45		(400 MHz, CD3Cl) δ 7.74 (m,1 H), 7.71 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.67 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.63 (m, 2H), 4.15 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 3.80 (m,2H), 3.50 (s, 1H), 2.55 (s, 3H).
46		(400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.74 (m, 2H), 7.58 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.65 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.61 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.14 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.53 (s, 3H).
47		(400 MHz, CDCl3) δ ppm 2.57 (s, 3 H) 4.16 (t, J= 6.0 Hz 2 H) 4.69 (t, J= 6.0 Hz 2 H) 6.75 (d, J= 8.8 Hz 2 H) 7.24 (d, J= 8.8 Hz 2 H) 7.53 (s, 1 H) 7.56 (d, J= 8.0 Hz 1 H) 7.63 (d, J= 8.0 Hz 1 H).
48		(400 MHz, CDCl3) δ ppm 2.62 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 4.16 (br s, 2H), 4.66 (br s, 2H), 6.68 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.15 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 7.56-7.67 (m, 3H).

[0819]

实施例	结构	^{1}H-NMR
49		(400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2.54 (s, 3 H) 4.16 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.67 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.79 (d, *J*= 8.8 Hz 2 H) 7.24 (d, *J*= 8.8 Hz 2 H) 7.73 (d, *J*= 1.6 Hz 1 H) 7.81 (dd, *J*= 8.4, 1.6 Hz 1 H) 7.87 (d, *J*= 8.4 Hz 1 H).
50		(400 MHz, CDCl3) δ ppm 2.58 (s, 3H), 4.17 (t, J= 5.6 Hz, 2H), 4.64-4.68 (m, 2H), 5.01-5.06 (m, 1H), 6.67 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.15 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.44 (s, 1H), 7.47(d , J = 8.0 Hz,1H) ,7.57 (d, J = 8.0 Hz, 1H).
51		(400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2.47 (s, 3 H) 4.16 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 4.67 (t, *J*= 6.0 Hz 2 H) 6.82 (d, *J*= 9.2 Hz 2 H) 7.24 (d, *J*= 9.2 Hz 2 H) 7.90 (d, *J*= 8.0 Hz 1 H) 7.96 (d, *J*= 1.6 Hz 1 H) 8.04 (dd, *J*= 8.0 Hz,1.6 Hz 1 H).

[0820] 生物学表征

[0821] 试验条件

[0822] 结合测试

[0823] 通过利用AlphaScreen®技术(Perkin Elmer),测量生物素化的乙酰基组蛋白H4肽 (Anaspec#64989)与BRD靶蛋白的相互作用,来评估BRD结合和抑制。在白色384孔低 容量板(Greiner#784076)中,将100nL一系列化合物在DMSO的溶液(终浓度0.5%)加入 到BRD靶蛋白(最终浓度为80nM)中。室温孵育30分钟后,加入H4肽至终浓度为2.5nM。 加入AlphaScreen链亲和素供体珠和AlphaScreen镍螯合物受体珠,使各自的终浓度为 10μg/mL,并使其在室温下在黑暗环境中孵育1小时。在EnVision平板读数器(Perkin Elmer)上读板,并使用四参数非线性曲线拟合计算IC_{50}值。

[0824] 除了对于BRD2D2使用160nM蛋白和1.25nM肽之外,这些条件对于被筛选的所有BRD都是相同的。

[0825] 结合亲和力

[0826]

实施例	BRD-2 (结构域1) IC50	BRD-2 (结构域 2) IC50	BRD-3 (结构域 1) IC50	BRD-4 (结构域 1) IC50	BRD-4 (结构域 2) IC50
5	B	A	A	A	A
6	C	C	ND	C	C
7	A	A	A	A	A
8	A	A	A	A	A
10	A	A	A	A	A
11	B	A	A	A	A
12	A	A	A	A	A
13	A	A	A	A	A
16	A	A	A	A	A
20	B	B	A	A	A
21	B	A	A	A	A
22	B	A	A	A	A
23	B	A	A	A	A
24	A	A	A	A	A
29	C	B	ND	B	B
30	B	B	B	B	B
31	B	A	A	A	A
32	B	A	A	A	A
33	A	A	A	A	A
34	B	A	A	A	A
35	A	A	A	A	A
36	A	A	A	A	A
37	B	A	A	A	A
38	B	A	A	A	A
39	A	A	A	A	A
40	A	A	A	A	A
41	A	A	ND	A	A
42	A	A	ND	A	A
43	A	A	ND	A	A
44	A	A	ND	A	A
45	A	A	ND	A	A
46	A	A	ND	A	A
47	A	A	ND	A	A
48	A	A	ND	A	A
49	A	A	ND	A	A
50	B	B	ND	A	A
51	A	A	ND	A	A

[0827] 其中A<100nM;B为100nM-1μM;C为>1μM;ND＝未确定

[0828] 细胞增殖测定

[0829] 细胞以需要的方式制备(悬浮或贴壁)。首先将细胞在其将被最终处理的培养基中洗涤一次。在这之后,加入10ml测试培养基和细胞。将混合物轻轻用移液器吸取数次。

[0830] 对细胞进行计数,然后将体积旋转减少至细胞总数所需的必要体积。然后将细胞重悬于合适的测试培养基中至所需浓度。通常,非贴壁细胞的最终浓度为$2x10^5$个细胞 / ml,即每50μl有10,000个细胞。一旦达到所需浓度,将50μl细胞加入到适当的孔中，并将细胞在37℃温育72小时。

[0831] CellTiter-Glo发光测试(试剂盒G7571-有关其他详细信息,参阅Promega使用说明 书):

[0832] 两种试剂都预热至室温。缓冲液在37℃水浴中解冻直至完全解冻。然后在室温于板上放置至少30分钟。此后将底物和缓冲液混合在一起。为了确保底物溶解,将混合 物颠倒数次。

[0833] 将细胞培养板从培养箱中取出,然后使其调节至室温至少30分钟。

[0834] 之后,将40μL的试剂加入到100μL的培养基中。在室温下将这些混合物在轨道平板振荡器上混合2分钟,适当注意确保介质不会溢出每个孔。然后在平台上孵育平板 10分钟。然后可以使用发光板阅读器读取荧光。

[0835] 细胞活性

[0836]

实施例	HL-60 IC_{50} (μM)	MV4；11 IC_{50} (μM)
7	A	A
8	A	A
10	A	A
11	B	ND
12	A	ND
13	A	ND
14	A	ND
16	A	ND
21	B	ND
22	B	ND
23	B	ND
24	B	ND
30	B	ND
31	A	A
32	C	A
35	A	A
36	A	A
39	A	A
40	C	B
41	B	A
43	A	A
45	A	A
46	A	A

[0837]

实施例	HL-60 IC_{50} (μM)	MV4；11 IC_{50} (μM)
49	C	A
51	C	A

[0838] 其中A<1μM;B为1μM-5μM;C>5μM;ND＝未确定

[0839] 体内活性评估

[0840] 从生病(脾肿大和淋巴结肿大)的Eμ-myc小鼠上收获骨髓和脾细胞。制备单细胞悬液,并通过静脉注射将一百万个BM细胞移植到每只WT C57/BL6小鼠中。小鼠从第3 天起通过腹膜内注射给予日剂量的化合物。当小鼠生病时,将其安乐死,并称重脾脏 和肝脏,通过组织学检查,取血作血液学分析。

[0841] 血液分析:通过使用配备有小鼠分析软件模块(Bayer,Tarrytown,NY)的ADVIA 120血液分析仪进行外周血分析。

[0842] 组织学分析:在处死时收集来自药物处理或载体处理的小鼠的脾脏和肝脏,并储存在福尔马林中。进行石蜡包埋切片和苏木精加曙红(H&E)染色。使用Axiovision(4.8 版)软件,在配有ZEISS AxioCam MRC5相机的Nikon Eclipse E600显微镜上拍摄照片。

[0843] 应理解,本说明书中所公开的发明应扩展到文本中提及或显而易见的两个或更多个单独特征的所有替代组合。所有这些不同的组合构成了本发明的各种不同的替代形 式。