

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 97199129.4

C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01)
C07D 243/00 (2006.01)
C07D 209/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 8 月 8 日

[11] 授权公告号 CN 1330653C

[22] 申请日 1997.10.22 [21] 申请号 97199129.4

[30] 优先权

[32] 1996.11.1 [33] US [31] 08/743,443

[86] 国际申请 PCT/US1997/018918 1997.10.22

[87] 国际公布 WO1998/020011 英 1998.5.14

[85] 进入国家阶段日期 1999.4.26

[73] 专利权人 惠氏公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 E·J·特布斯基

A·J·莫利纳里 J·F·伯格利

M·A·阿什韦尔

T·J·卡吉安努

[56] 参考文献

CN1106812A 1995.8.16

审查员 刘姝晶

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 温宏艳

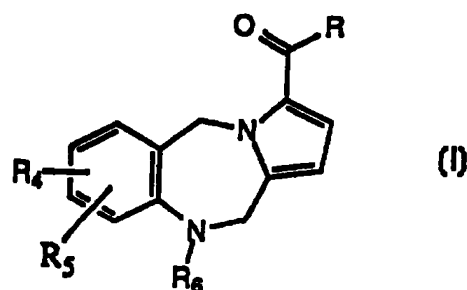
权利要求书 12 页 说明书 49 页

[54] 发明名称

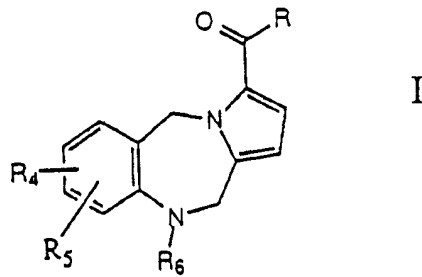
5H-吡咯并[2,1-C][1,4]-苯并二氮杂
草的 3-甲酰胺衍生物

[57] 摘要

本发明涉及三环非肽血管加压素拮抗剂,它们可以用于治疗需要降低血管加压素水平的疾病,例如充血性心力衰竭,过量肾水再吸收疾病和血管阻力增加以及冠状血管收缩增加的疾病,所述化合物具有通式(I)结构。

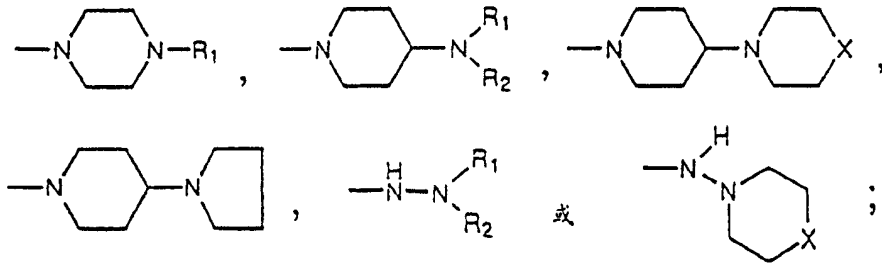


1. 式 I 的化合物或其药学上可接受的盐或酯:



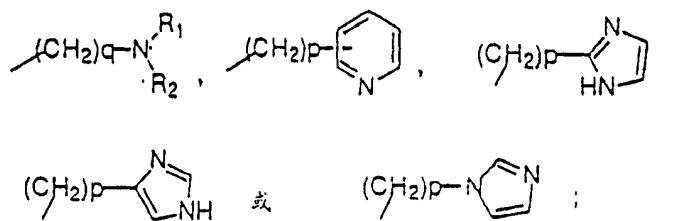
其中:

R 选自 -OH、-NR₁R₃、-NHR₁、-NH-(CH₂)-COOH、



R₁ 和 R₂ 独立为氢或低级烷基;

R₃ 选自:



X 为 CH₂、NR₁、O、S;

p 为 1-4;

q 为 2-4;

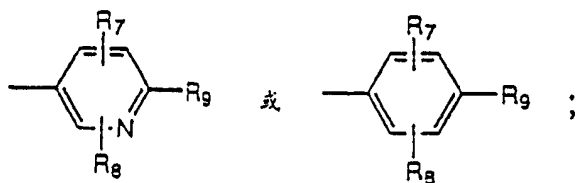
R₄ 和 R₅ 独立选自氢、低级烷基、卤素、氨基、氰基、三氟甲基、羟基

或低级烷氧基;

R₆为下式的部分:

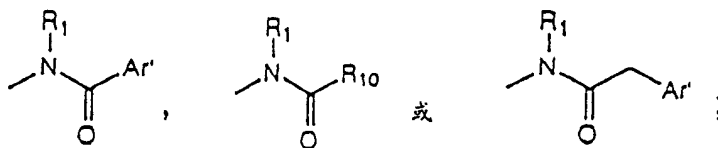


Ar选自:

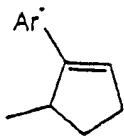


R₇和R₈独立选自氢、卤素、氟基、低级烷基、低级烷氧基、羟基或三氟甲基;

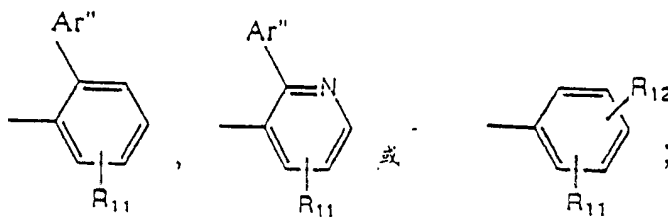
R₉为下式的部分:



R₁₀选自 C₃-C₇环烷基、环戊烯基、环己烯基或下式部分:



Ar'选自



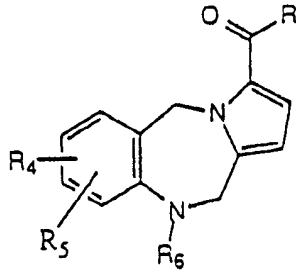
R_{11} 和 R_{12} 独立选自氢、F、Cl、Br、氟基、低级烷基、低级烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基或三氟甲基；

Ar'' 选自

- a) 苯基；
- b) 具有一个或两个选自 N、O、S 的杂原子的 5 元芳杂环；
- c) 具有三个或四个氮原子的 5 元芳杂环；或
- d) 具有一个、两个或三个氮原子的 6 元芳杂环；

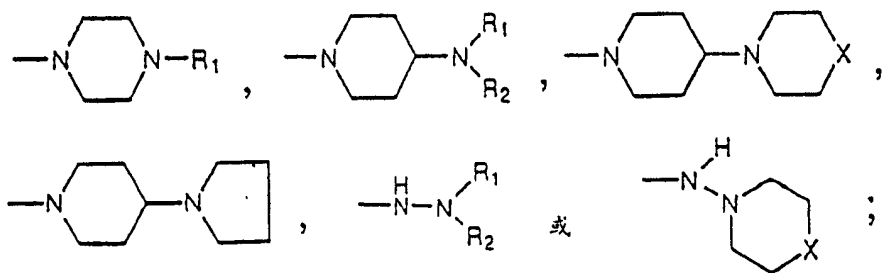
且 Ar'' 可任选被卤素、低级烷基、羟基、低级烷氧基或三氟甲基取代。

2. 具有下式的权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐或酯



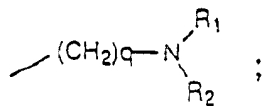
其中：

R 选自 -OH、 $-NR_1R_3$ 、 $-NH-(CH_2)-COOH$ 、



R_1 和 R_2 独立为氢或低级烷基；

R_3 为：



X 为 CH_2 、 NR_1 、O、S;

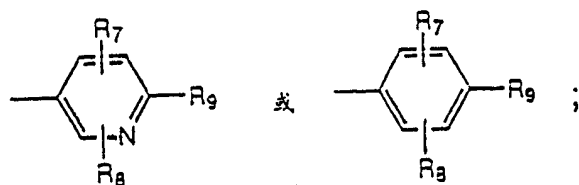
q 为 2-4;

R_4 和 R_5 独立选自氢、低级烷基、卤素、氨基、羟基、氰基、三氟甲基或低级烷氧基;

R_6 为下式的部分:

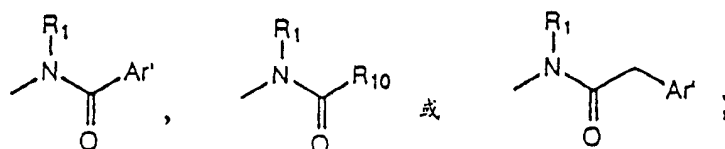


Ar 选自:

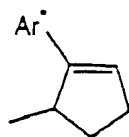


R_7 和 R_8 独立选自氢或卤素、低级烷氧基;

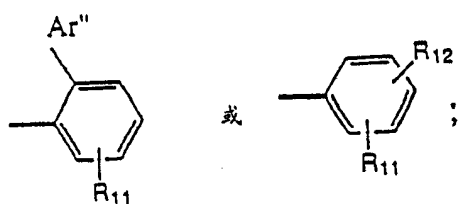
R_9 为下式的部分:



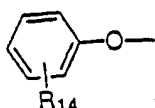
R_{10} 为下式部分:



Ar' 选自



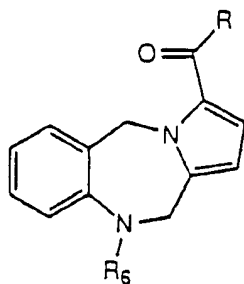
R_{11} 和 R_{12} 独立选自氢、F、Cl、Br、氟基、低级烷基、低级烷氧基、三氟甲基、苯氧基或具有下式的取代的苯氧基；



其中 R_{14} 选自氢、卤素、氟基、低级烷基、低级烷氧基、羟基或三氟甲基；

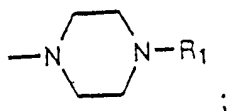
Ar'' 选自苯基 2-吡啶基或具有一个或两个选自 N、O、S 的杂原子的 5 元芳杂环。

3. 具有下式的权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐或酯



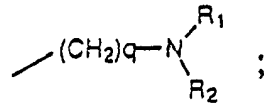
其中：

R 选自 -OH、-NR₁R₃ 或



R_1 和 R_2 独立选自氢或低级烷基;

R_3 为:

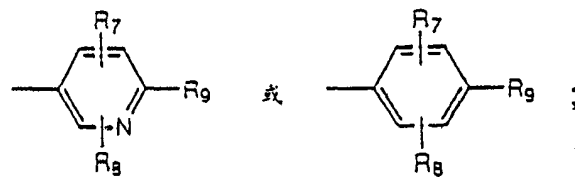


q 为 2-4;

R_6 为下式的部分:

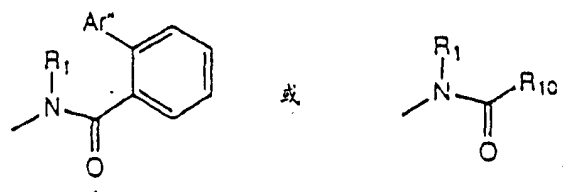


Ar 选自:

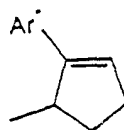


R_7 和 R_8 独立选自氢或卤素;

R_9 为下式的部分:



R_{10} 为下式的部分:



Ar'' 选自苯基或具有一个或两个选自 N、O、S 的杂原子的 5 元芳杂环。

4. 权利要求1的化合物为10-[2-氯代-4-(5-氟代-2-甲基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸或其药学上可接受的盐或酯。

5. 权利要求1的化合物为10-[2-氯代-4-(5-氟代-2-甲基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸, 钾盐(1:1)。

6. 权利要求1的化合物为N-{3-氯代-4-[3-(N',N'-二甲基-胍基羰基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基]-苯基}-5-氟代-2-甲基-苯甲酰胺。

7. 权利要求1的化合物为2-[[10-[2-氯代-4-[(5-氟代-2-甲基苯甲酰基)氨基]苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-基]羰基]-1,1,1-三甲基碘化铍。

8. 权利要求1的化合物为2-[[10-[2-氯代-4-[(5-氟代-2-甲基苯甲酰基)氨基]苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-基]羟基亚甲基]-1,1,1-三甲基铍内盐。

9. 权利要求1的化合物为N-[5-[3-三氯代甲基羰基]-[5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10(11H)-基]羰基]-2-氯代苯基]-2-苯基-苯甲酰胺。

10. 权利要求1的化合物为10-{4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基}-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂草-3-甲酸。

11. 权利要求1的化合物为10-(4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基)-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂草-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺。

12. 权利要求1的化合物为10-{4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基}-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-甲基-酰胺。

13. 权利要求1的化合物为联苯基-2-羧酸{3-氯代-4-[3-(4-哌啶基-

哌啶-1-羰基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基]-苯基}-酰胺。

14. 权利要求 1 的化合物为联苯基-2-羧酸{3-氯代-4-[3-(4-二甲基氨基-哌啶-1-羰基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基]-苯基}-酰胺。

15. 权利要求 1 的化合物为联苯基-2-羧酸{3-氯代-4-[3-(4-甲基-哌嗪-1-氨基羰基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基]-苯基}-酰胺。

16. 权利要求 1 的化合物为 10-{4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基}-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-酰胺。

17. 权利要求 1 的化合物为联苯基-2-羧酸{3-氯代-4-[3-(4-吗啉代-哌啶-1-羰基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基]-苯基}-酰胺。

18. 权利要求 1 的化合物为 10-(4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-甲氧基-苯甲酰基)-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂草-3-甲酸哌嗪-N-甲基酰胺。

19. 权利要求 1 的化合物为 10-(4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-甲氧基-苯甲酰基)-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂草-3-甲酸-1,1-二甲基酰肼。

20. 权利要求 1 的化合物为 10-{4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基}-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸(甘氨酸基)-酰胺。

21. 权利要求 1 的化合物为 10-[2-氯代-4-(2-噻吩-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸-1,1-二甲基酰肼。

22. 权利要求 1 的化合物为 10-[2-氯代-4-(3-吡啶-2-基-苯甲酰氨基

基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺。

23. 权利要求 1 的化合物为 10-[2-氯代-4-(4-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-甲基-酰胺。

24. 权利要求 1 的化合物为 10-[2-氯代-4-(2-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺。

25. 权利要求 1 的化合物为 10-[2-溴代-4-(2-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸-1,1-二甲基酰肼。

26. 权利要求 1 的化合物为 10-[2-氯代-4-(8-喹啉基氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺。

27. 权利要求 1 的化合物为 2-苯基-环戊-1-烯甲酸[3-氯代-4-(3-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-甲基-酰胺-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羧基)-苯基]-酰胺。

28. 用于治疗哺乳动物以过量肾水再吸收为特征的疾病的药用组合物, 该药用组合物包含有效量的权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐或酯以及适当的药用载体。

29. 权利要求 28 的药用组合物, 其中所述哺乳动物的以过量肾水再吸收为特征的疾病为充血性心力衰竭、肾病综合征、低钠血、冠状血管痉挛、心肌缺血、肾血管痉挛、肝硬变、不适当的抗利尿激素分泌综合征、脑水肿、脑缺血或脑出血性休克。

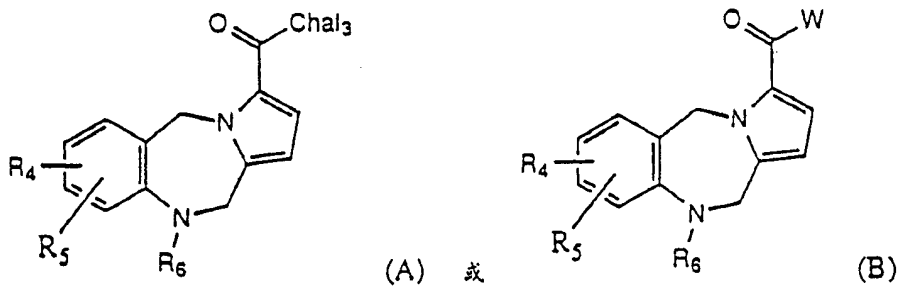
30. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐或酯在制备用于治疗哺乳动物的以过量肾水再吸收为特征的疾病的药物中的应用。

31. 权利要求 30 的应用, 其中所述哺乳动物的以过量肾水再吸收

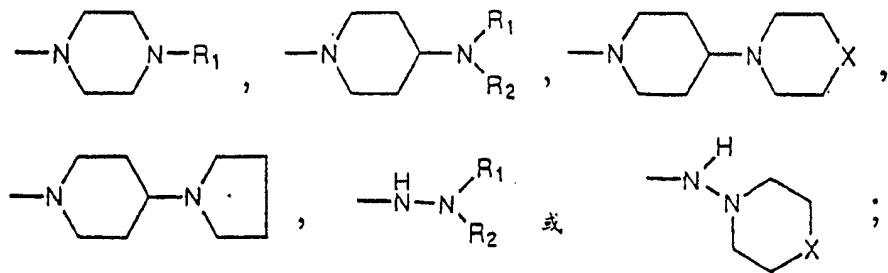
为特征的疾病为充血性心力衰竭、肾病综合征、低钠血、冠状血管痉挛、心肌缺血、肾血管痉挛、肝硬变、不适当的抗利尿激素分泌综合征、脑水肿、脑缺血或脑出血性休克。

32. 制备权利要求 1 所定义的式 I 化合物的方法，该方法包括下列步骤之一：

a) 使下式的化合物：

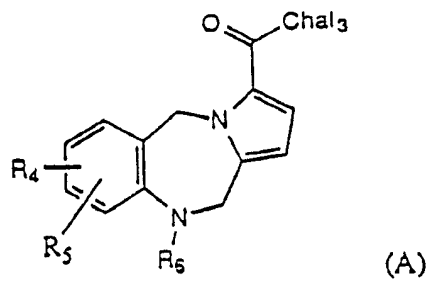


其中 R_4 、 R_5 和 R_6 与权利要求 1 定义相同，hal 为卤素，与式 HNZ_1Z_2 的胺反应，其中 $-\text{NZ}_1\text{Z}_2$ 可以为 $-\text{NR}_1\text{R}_3$ 、 NHOR_1 、 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ 、



其中 n 、 X 、 R_1 、 R_2 和 R_3 与权利要求 1 定义相同，得到相应的式 I 化合物，其中 R 与权利要求 1 定义相同；
或

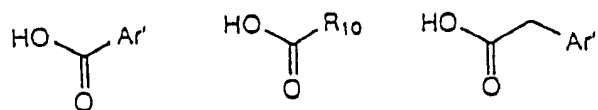
b) 用碱水溶液处理下式的化合物：



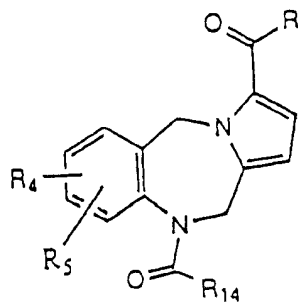
其中 R_4 、 R_5 和 R_6 与权利要求 1 定义相同， hal 为卤素，得到相应的式 I 化合物，其中 R 为 OH ；

或

c) 用下式的酸：

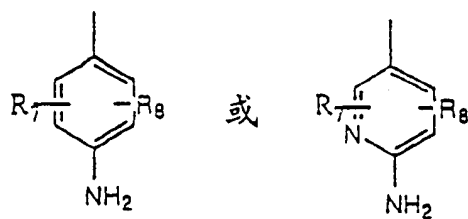


或其酰卤或酸酐，使下式的化合物酰化：



其中 R 、 R_4 和 R_5 与权利要求 1 定义相同，但是 R 不为 OH ；

R_{14} 为：



其中 R₇ 和 R₈ 与权利要求 1 定义相同，得到相应的式 I 化合物，其中 R₉ 与权利要求 1 定义相同。

33. 权利要求 32 的方法，其中步骤 a) 和 b) 中的卤素为氯。

5H-吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂革
的 3-甲酰胺衍生物

本发明涉及新的三环非肽血管加压素拮抗剂，它们可以用于治疗需要降低血管加压素作用的疾病，例如充血性心力衰竭、过量肾水再吸收疾病和血管阻力增加以及冠状血管收缩增加的疾病。

本发明的背景

血管加压素是由垂体后叶相应于脑渗透压感受器检测的血浆渗透性的增加或低压容量感受器以及动脉压力感受器感觉的血容量和血压的降低而释放的。该激素通过两种明确定义的受体亚型，即血管 V_{1a} 受体和肾上皮 V_2 受体而起作用。血管加压素诱导的抗利尿作用(由肾上皮 V_2 受体介导)有助于维持正常的血浆渗透性、血容量和血压。

血管加压素与部分充血性心力衰竭有关，在该病中外周阻力增加， V_{1a} 受体拮抗剂可以降低系统性血管阻力、增加心输出量并预防血管加压素诱导的冠状血管收缩。因此，对于血管加压素诱导的总外周阻力增加和局部血流改变的疾病， V_{1a} 受体拮抗剂可以作为有效的治疗药物。 V_{1a} 受体拮抗剂可以降低血压、诱导低血压作用，因此可以有效治疗部分类型的高血压。

阻断 V_2 受体可以用于治疗以自由水的过量肾再吸收为特征的疾病。抗利尿作用是由下丘脑释放的血管加压素(抗利尿激素)调节的，该激素可以与肾集合小管细胞上的特异受体结合。此种结合可以刺激腺苷酸环化酶，并促进 cAMP-介导的水渗透入这些细胞的腔表面。 V_2 拮抗剂可以校正充血性心力衰竭、肝硬化、肾病综合征、中枢神经系统损伤、肺病和低钠血症中的流体潴流。

血管加压素水平升高发生于充血性心力衰竭的病人中，在具有慢

性心力衰竭的老年病人中更普遍。在低钠血的充血性心力衰竭和血管加压素水平升高的病人中， V_2 拮抗剂通过拮抗抗利尿激素的作用可以有助于促进自由水的排泄。基于该激素的生化和药理作用，预期血管加压素拮抗剂可以有效治疗和/或预防高血压、心机能不全、冠状血管痉挛、心肌缺血、肾血管痉挛、肝硬变、不适当的抗利尿激素分泌综合征(SIADH)、充血性心力衰竭、肾病综合征、脑水肿、脑缺血、脑出血性休克、血栓形成-出血和异常水潴流。

下列先有技术文献描述肽血管加压素拮抗剂：M. Manning等的J. Med. Chem., 35, 382 (1992); M. Manning等的J. Med. Chem., 35, 3895 (1992); H. Gavras和B. Lammek的美国专利 5,070,187 (1991); M. Manning和W. H. Sawyer的美国专利 5,055,448 (1991); F. E. Ali的美国专利 4,766,108 (1988); R. R. Ruffolo等的Drug News and Perspective, 4(4), 217, (5月)(1991)。P. D. Williams等报道有效的六肽催产素拮抗剂[J. Med. Chem., 35, 3905 (1992)]，该激素与 V_1 和 V_2 受体结合也显示微弱的血管加压素拮抗剂活性。肽血管加压素拮抗性不具有口服活性和选择性。某些显示部分激动剂活性。

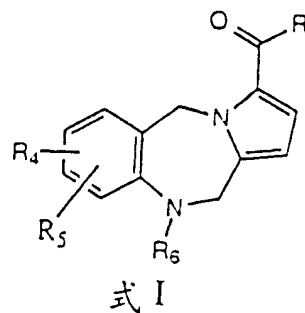
最近已经公开了非肽血管加压素拮抗剂，见Y. Yamamura等的Science, 252, 579 (1991); Y. Yamamura等的Br. J. Pharmacol, 105, 787 (1992); J. D. Albright等的美国专利 5,536,718A，美国专利 5,532,235A，美国专利 5,516,774A，美国专利 5,512,563A，美国专利 5,459,131A；A. Venkatessan等的美国专利 5,521,173A；Ogawa等(Otsuka Pharm Co., LTD) EP 0514667-A1、EPO 382185-A2、WO 9105549和U. S. 5,258,510、WO 9404525；Yamanouchi Pharm. Co., Ltd., WO 9420473、WO 9412476、WO 9414796；Fujisawa Co. Ltd., EP 620216-A1；Ogawa等(Otsuka Pharm. Co.)，EP 470514A公开喹诺酮衍生物以及含有它们的药用组合物。已公开了非肽催产素和血管加压素拮抗剂，见Merck and Co.; M. G. Bock和P. D. Williams, EP 0533242A；M. G. Bock等的EP 0533244A；J. M. Erb, D. F. Verber, P. D.

Williams 的 EP 0533240A; K. Gilbert 等的 EP 0533243A。美国专利 5,436,333 (Venkatesan 等) 提出制备三环杂环类化合物的方法, 该类化合物可以用作生产心血管药物的中间体。

本发明涉及新的三环衍生物, 这些衍生物体外对 V_2 受体显示血管加压素拮抗剂活性, 体内显示血管加压素拮抗剂活性。此外, 与以前所述的 3-酰基吡咯并苯并二氮杂萘衍生物相比, 这些化合物水溶性增加。

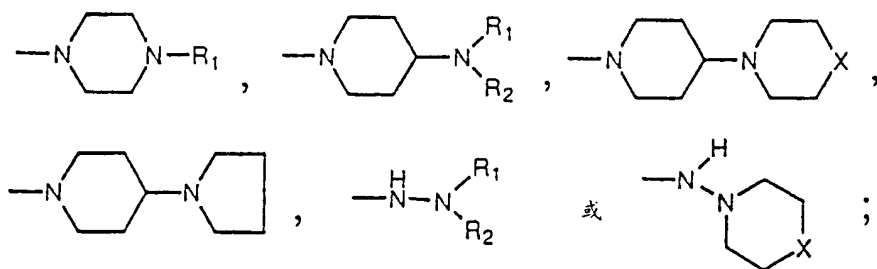
本发明的简述

本发明涉及选自通式 I 的新化合物或其药学上可接受的盐、酯或前体药物形式:



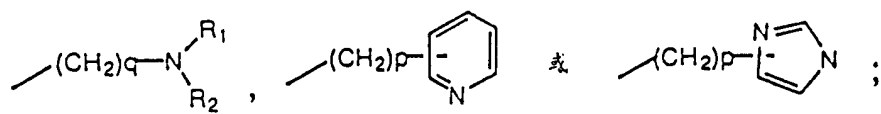
其中:

R 选自 -OH、 $-NR_1R_3$ 、 $-NHR_1$ 、 $-NH-(CH_2)-COOH$ 、



R_1 和 R_2 独立为氢或低级烷基;

R_3 为:



X 为 CH_2 、 NR_1 、 O 、 S ;

n 为 1 - 4;

p 为 1 - 4;

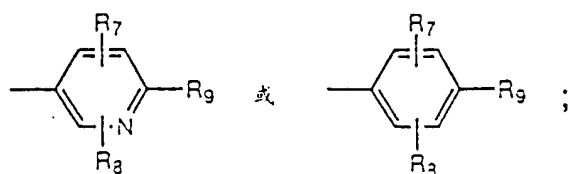
q 为 2 - 4;

R_4 和 R_5 独立选自氢、低级烷基、卤素、氟基、三氟甲基、氨基、羟基或低级烷氧基;

R_6 为下式的部分:

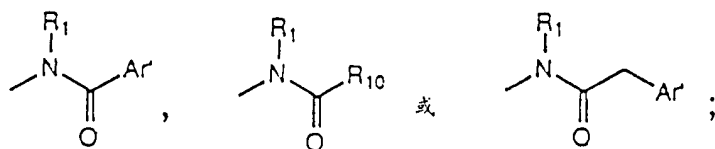


Ar 选自:

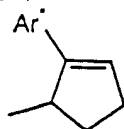


R_7 和 R_8 独立选自氢、卤素、氟基、低级烷基、低级烷氧基、羟基或三氟甲基;

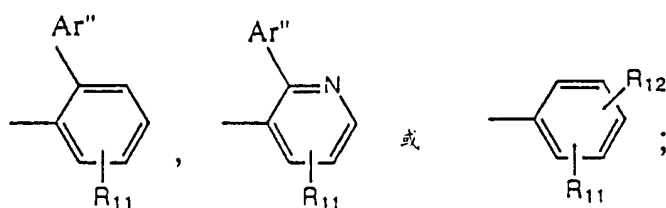
R_9 为下式的部分:



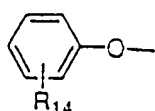
R_{10} 选自 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 环烷基、环戊烯基、环己烯基或下式部分:



Ar'选自:



R₁₁和R₁₂独立选自氢、F、Cl、Br、氟基、低级烷基、低级烷氧基、三氟甲基、苯氧基或如下式的取代的苯氧基:



其中R₁₄选自氢、卤素、氟基、低级烷基、低级烷氧基、羟基或三氟甲基;

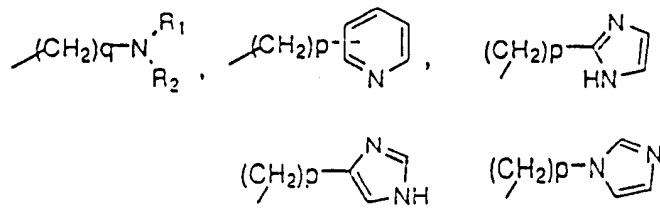
Ar''选自

- 苯基;
- 具有一个或两个选自N、O、S的杂原子的5元芳(不饱和)杂环;
- 具有三个或四个氮原子的5元芳(不饱和)杂环; 或
- 具有一个、两个或三个氮原子的6元芳(不饱和)杂环;

且A''可任选被卤素、低级烷基、羟基、低级烷氧基或三氟甲基取代。

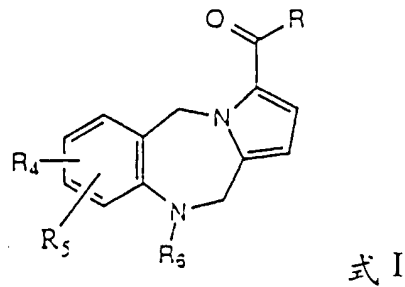
在本说明书中, 低级烷基指C₁-C₆、优选C₁-C₄的直链或支链烷基, 例如甲基、乙基、正丁基、叔丁基, 低级烷氧基指C₁-C₆、优选C₁-C₄的直链或支链烷氧基, 例如甲氧基、乙氧基、正丁氧基或叔丁氧基。卤素为氟、氯、溴或碘。环烷基指C₃-C₇单环环烷基部分。

还可以理解上述对R₃的定义包括下列结构部分:



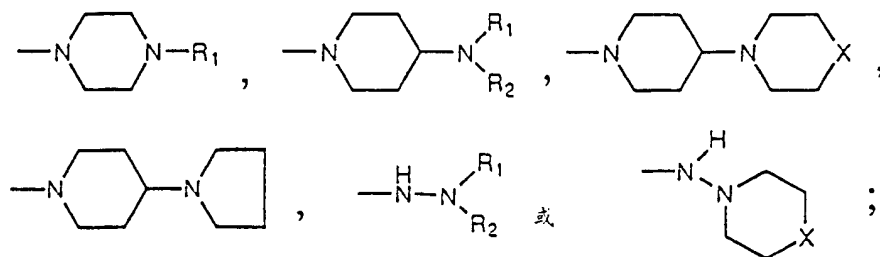
可以理解本发明的为具有一个或两个选自 N、O、S 杂原子的 5 元芳(不饱和)杂环的 Ar'' 取代基包括(但不限于)噻吩基、呋喃基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、异噻唑基、异咪唑基和咪唑基。具有三个或四个氮原子的含有 5 元芳(不饱和)杂环的 Ar'' 基团包括三唑基和四唑基部分。具有一个、两个或三个氮原子的含有 6 元芳(不饱和)杂环的 Ar'' 基团包括(但不限于)吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、1,2,3-三嗪基、1,2,4-三嗪基和 1,3,5-三嗪基。

本发明更优选的化合物为具有下列式 I 的化合物或其药学上可接受的盐、酯或前体药物形式:



其中:

R 选自 -OH、-NR₁R₃、-NH-(CH₂)-COOH、



R₁ 和 R₂ 独立为氢或低级烷基;

R₃ 为:



X 为 CH₂、NR₁、O、S;

n 为 1 - 4;

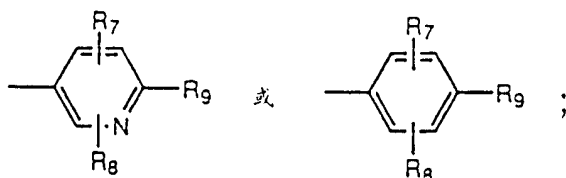
q 为 2 - 4;

R₄ 和 R₅ 独立选自氢、低级烷基、卤素、氨基、羟基、氰基、三氟甲基或低级烷氧基;

R₆ 为下式的部分:

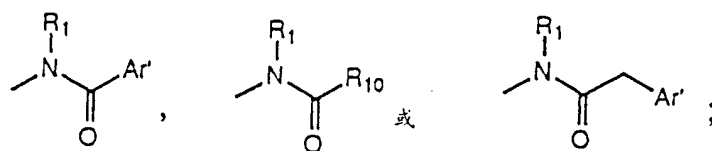


Ar 选自:

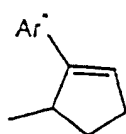


R₇ 和 R₈ 独立选自氢或卤素;

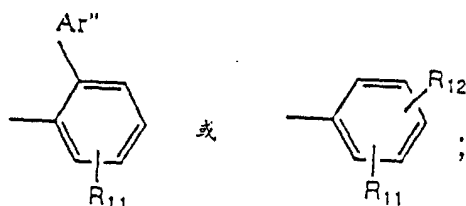
R₉ 为下式的部分:



R₁₀ 为 Ar'' 式的部分:



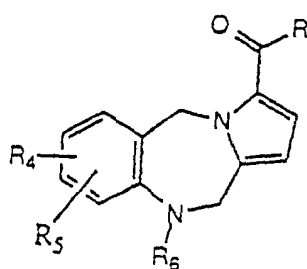
Ar'选自:



R₁₁ 和 R₁₂ 独立选自氢、F、Br、Cl 或低级烷基;

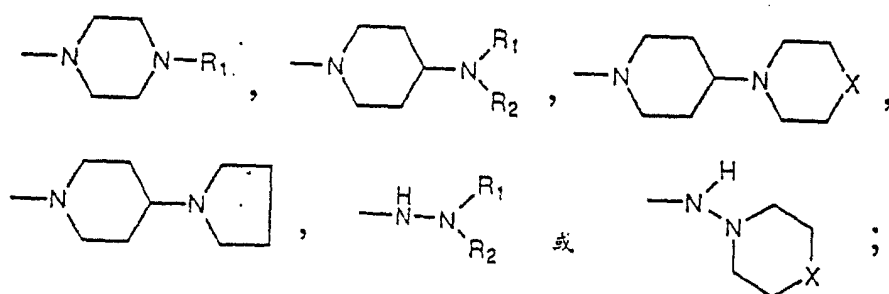
Ar'' 选自苯基或具有一个或两个选自 N、O、S 的杂原子的 5 元芳(不饱和)杂环。

本发明更优选的化合物为具有下式的化合物或其药学上可接受的盐或酯:



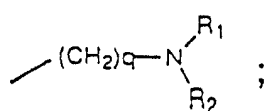
其中:

R 选自 -OH、-NR₁R₃、-NH-(CH₂)-COOH、



R₁ 和 R₂ 独立为氢或低级烷基;

R₃ 为:



X 为 CH₂、NR₁、O、S;

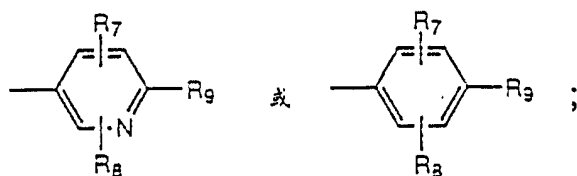
q 为 2-4;

R₄ 和 R₅ 独立选自氢、低级烷基、卤素、氨基、羟基、氰基、三氟甲基或低级烷氧基;

R₆ 为下式的部分:

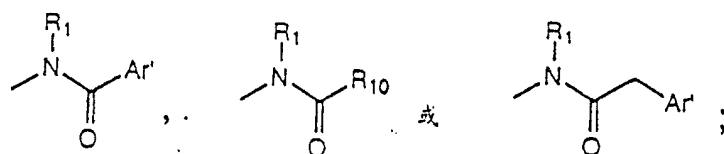


Ar 选自:



R₇ 和 R₈ 独立选自氢或卤素、低级烷氧基;

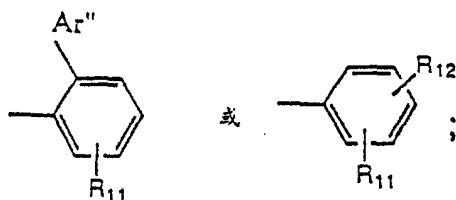
R₉ 为下式的部分:



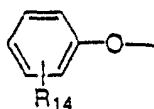
R₁₀ 为下式部分:



Ar'选自



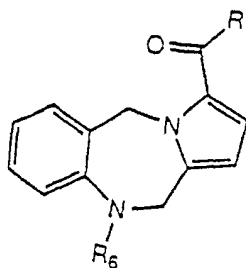
R₁₁ 和 R₁₂ 独立选自氢、F、Cl、Br、氟基、低级烷基、低级烷氧基、三氟甲基、苯氧基或具有下式的取代的苯氧基；



其中 R₁₄ 选自氢、卤素、氟基、低级烷基、低级烷氧基、羟基或三氟甲基；

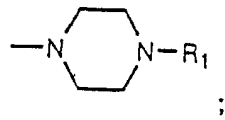
Ar''选自苯基 2-吡啶基或具有一个或两个选自 N、O、S 的杂原子的 5 元芳杂环。

本发明更优选的化合物为具有下式的化合物或其药学上可接受的盐或酯：



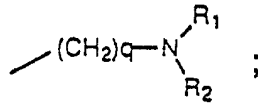
其中：

R 选自 -OH、-NR₁R₃ 或



R₁ 和 R₂ 独立选自氢或低级烷基；

R₃ 为：

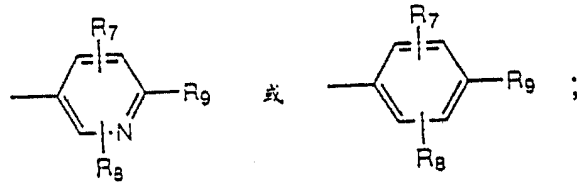


q 为 2-4；

R₆ 为下式的部分：

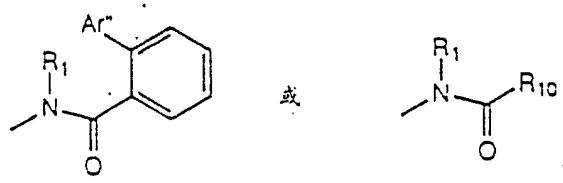


Ar 选自：

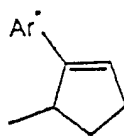


R₇ 和 R₈ 独立选自氢或卤素；

R₉ 为下式的部分：

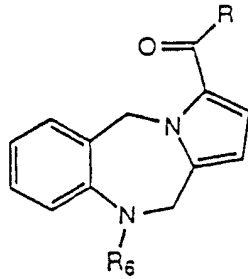


R₁₀ 为下式的部分：



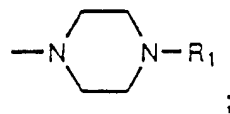
Ar”选自苯基或具有一个或两个选自 N、O、S 的杂原子的 5 元芳杂环。

本发明更优选的化合物为具有下式的化合物或其药学上可接受的盐、酯或前体药物形式:

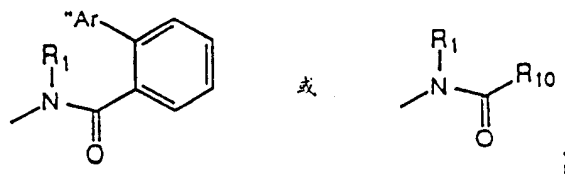


其中:

R 选自 -OH、-NR₁R₃ 或



R₉ 为:



R₁₀ 为 2-Ar''-环戊烯基;

且 R₁、R₂、R₃、R₆、R₇、R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂、X、n、p、q、Ar、Ar' 和 Ar'' 与上述大类的定义系统, 更优选与亚类的定义相同。

本发明的详述

本发明包括上述的化合物以及含有这些化合物和一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂等药用组合物。本发明也包括治疗哺乳动物、优选人类的疾病的方法, 在所述疾病中需要降低血管加压素的作用, 该方法包括给予需要的哺乳动物治疗有效量的一种或多种本发明的化合物。

本发明的化合物可以以药学上或生理上可接受的酸或碱衍生的盐的形式使用。这些盐包括(但不限于): 根据具体情况, 与无机酸例如盐酸、硫酸、硝酸、磷酸形成的盐, 与有机酸如乙酸、草酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸和马来酸形成的盐。其它的盐包括碱金属盐或碱土金属盐, 例如钠盐、钾盐、钙盐或镁盐或与有机碱形成的盐。这些化合物也可以以酯、氨基甲酸酯以及其它的常规前体药物的形式使用, 当以此类形式给药时, 在体内可以转化为活性部分。当将这些化合物用于上述用途时, 可以将它们与一种或多种药学上可接受的赋形剂或载体, 例如溶剂、稀释剂等混合, 可以例如以片剂、胶囊剂、分散粉剂、颗粒剂或含有如约 0.05-5% 悬浮剂的悬浮液、含有如约 10-50% 糖的糖浆剂和含有如约 20-50% 乙醇的酞剂等形式经口给药, 或者以无菌注射液或在等渗介质中含有约 0.05-5% 悬浮剂的悬浮液形式经胃肠外给药, 此类药用制剂可以含有如约 25-约 90% 的活性组分以及载体, 更常见为约 5%-60%(重量)。

使用的活性组分的有效剂量可以根据使用的特定化合物、给药方式、治疗的疾病的严重程度而改变。但是，一般而言，当以约 0.5-约 500 mg/kg 哺乳动物体重、优选在一天中分两次至四次的日剂量或以缓释形式给予本发明的化合物时即可获得令人满意的结果。对于大部分大的哺乳动物而言，总日剂量为约 1-100mg、优选约 2-80mg。适合内服的剂型包含约 0.5-500mg 与固体或液体药学上可接受的载体紧密混合的活性化合物。可以调整该剂量方案以得到最佳治疗反应。例如，可以每日给予数个分剂量，或者可以根据治疗的紧迫性按比例降低剂量。

这些活性化合物可以经口给予，也可以经静脉、肌肉或皮下途径给予。固体载体包括淀粉、乳糖、磷酸二钙、微晶纤维素、蔗糖和高岭土，而液体载体包括无菌水、聚乙二醇、非离子表面活性剂和食用油例如玉米油、花生油和芝麻油，只要它们与活性组分的性质和所需的给药形式相符即可。制备药用组合物中通常使用的辅助剂最好包括如矫味剂、着色剂、防腐剂 and 抗氧化剂如维生素 E、抗坏血酸、BHT 和 BHA。

从易于制备和给药的观点来看，优选的药用组合物为固体组合物，特别是片剂和硬填充的或液体填充的胶囊剂。优选化合物口服给药。

这些活性化合物也可以胃肠外给药或腹膜内给药。可以制备这些活性化合物的以游离碱或药理上可接受的盐在适当与表面活性剂如羟丙基纤维素混合的水中的溶液或悬浮液。也可以制备在甘油、液体聚乙二醇以及它们在油中的混合物中的分散液。在通常的储存和使用条件下，这些制剂含有防腐剂以防止微生物的生长。

适合注射使用的药用形式包括无菌水溶液或分散液以及临时制备无菌注射溶液或分散液的无菌粉末。在所有这些情况下，该剂型必须是无菌的，并且必须为流体以存在易注射性。在生产和储存条件下，该剂型必须稳定，并且必须可以不受微生物例如细菌和真菌的污染作

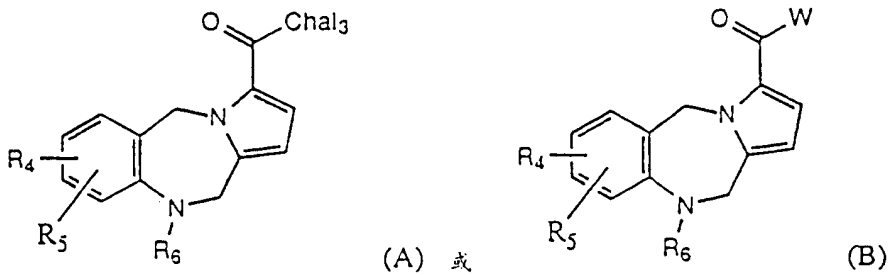
用。所述载体可以为溶剂或分散介质，包括如水、醇(如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇)、它们的适当的混合物和植物油。

如上所述，本发明的新的三环非肽血管加压素拮抗剂可以用于治疗需要降低血管加压素作用的疾病，例如充血性心力衰竭，过量肾水再吸收疾病和血管阻力增加以及冠状血管收缩增加的疾病。

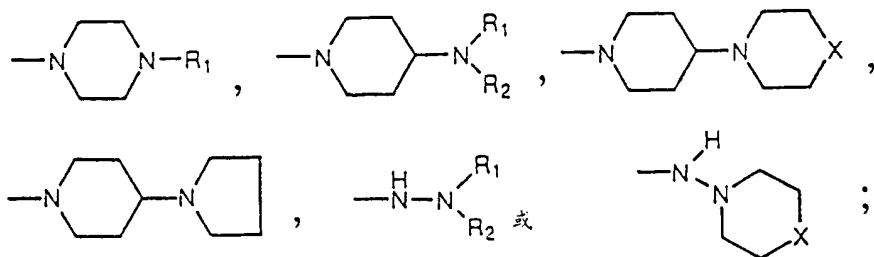
具体地讲，本发明的血管加压素拮抗剂可以有效治疗和/或预防高血压、心机能不全、冠状血管痉挛、心肌缺血、肾血管痉挛、肝硬变、不适当的抗利尿激素分泌综合征(SIADH)、充血性心力衰竭、肾病综合征、脑水肿、脑缺血、脑出血性休克、血栓形成-出血和异常水潴流。

本发明也提供制备上述定义的通式 I 化合物的方法。更具体地讲，本发明提供制备式 I 化合物的方法，该方法包括下列步骤之一：

a) 使下式的化合物：



其中 R_4 、 R_5 和 R_6 与上述定义相同， hal 为卤素，例如氯，与式 HNZ_1Z_2 的胺反应，其中 $-NZ_1Z_2$ 可以为 $-NR_1R_3$ 、 $NHOR_1$ 、 $-NH-(CH_2)_n-COOH$ 、

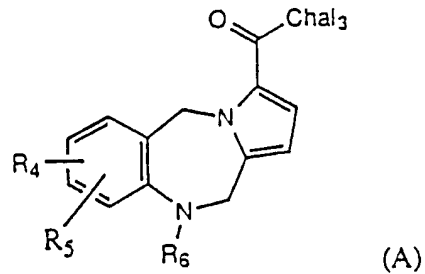


其中 n 、 X 、 R_1 、 R_2 和 R_3 与上述定义相同，得到相应的式 I 化合物，

其中 R 与上述定义相同;

或

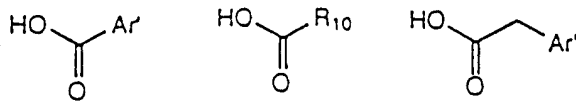
b) 用碱水溶液处理下式的化合物:



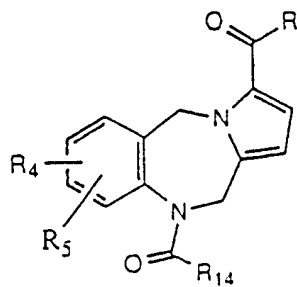
其中 R_4 、 R_5 和 R_6 与上述定义相同, hal 为卤素, 如氯, 得到相应的式 I 化合物, 其中 R 为 OH;

或

c) 用下式的酸:

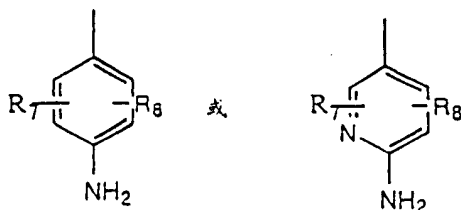


或其活性衍生物, 如酰卤或酸酐, 使下式的化合物酰化:



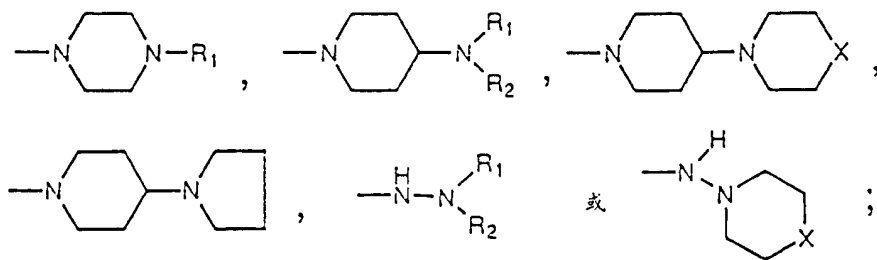
其中 R、 R_4 和 R_5 与上述定义相同, 但是 R 不为 OH;

R_{14} 为:



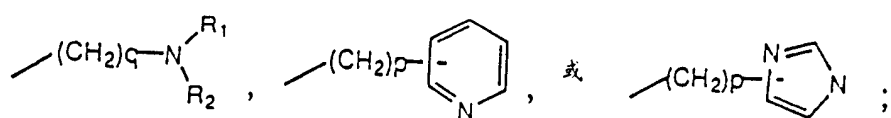
其中 R_7 和 R_8 与上述定义相同, 得到相应的式 I 化合物, 其中 R_9 与上述定义相同。

在本发明的化合物中, 3-酰化的吡咯并苯并二氮杂萘衍生物 7(流程 I)可以由相同的 3-三卤代甲基酮衍生物(如 4)用两种方法制备。该中间体和其前体的合成已有描述(EP 636625 A2)。使 3-三卤代甲基酮衍生物 4 直接与伯胺或仲胺反应得到所需产物 7。或者, 用碱水溶液例如氢氧化钠水溶液处理 3-三卤代甲基酮衍生物 4, 在酸化后得到相应的羧酸 5。通过转化为酰氯、酰溴或酸酐, 或者首先与活化试剂例如 N,N-二环己基碳二亚胺、氨基磷酸二乙酯以及在“肽酰胺键”形成中使用的相关的活化试剂反应使该羧酸活化以进行偶合。根据与分子中其它取代基团的配伍性选择活化这些酸的方法。一个实例为用草酰氯/二甲基甲酰胺处理酸 5 得到酰氯 6, 当用伯胺或仲胺处理时, 得到所需产物 7, 其中 $-NZ_1Z_2$ 可以为 $-NR_1R_3$ 、 $NHOR_1$ 、 $-N-(CH_2)_n-COOH$ 、



R_1 和 R_2 独立为氢或低级烷基;

R_3 为



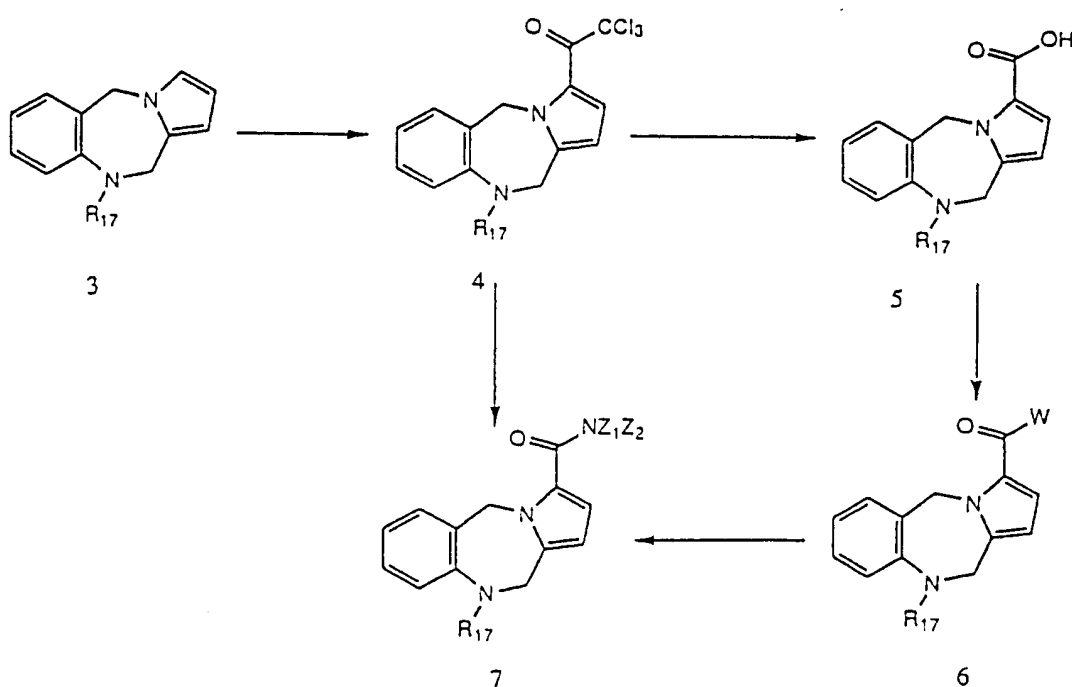
X 为 CH_2 、 NR_1 、 O 、 S ;

n 为 1 - 4;

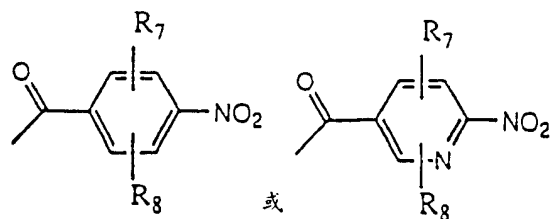
p 为 1 - 4;

q 为 2 - 4;

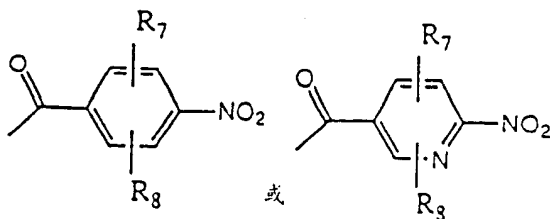
流程 I



用适当的三卤代乙酰卤试剂使吡咯并苯并二氮杂草的 3 - 位酰化得到 3-三卤代甲基酮衍生物 4。3-位未取代的化合物 3 为完全组合的目标化合物，其中 R_{17} 选自式 I 或者中间体的 R_6 ，其中 R_{17} 为



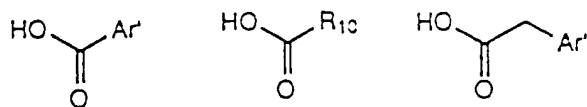
当 R_{17} 为



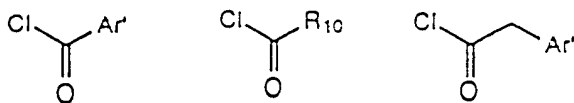
时, 可以根据流程 II 所述方法制备该化合物, 然后进行流程 I 的适当步骤。

可以根据流程 II 所示制备通式 4a 和 4b 的化合物。使三环衍生物 1 与取代或未取代的 4-硝基芳基碳酰氯或 6-硝基吡啶-3-碳酰氯反应得到中间体 8a 或 8b。使中间体 8a 和 8b 的硝基还原得到相应的氨基衍生物 9a 和 9b。8a 和 8b 的硝基还原可以在催化还原(即氢/Pd/C, 肼-乙醇/Pd/C)条件下, 或者在化学还原(即氯化亚锡/乙醇, 锌/乙酸-三氯化钛)条件下或本领域已知的相关还原条件下进行。根据保持分子中其它官能团的配伍性选择将硝基转化为氨基的条件。

通过转化为酰氯、酰溴或酸酐, 或者首先与活化试剂例如 N,N-二环己基碳二亚胺、氨基磷酸二乙酯以及在“肽酰胺键”形成中使用的相关的活化试剂反应使下式的吡啶和芳基羧酸试剂被活化以进行偶合:

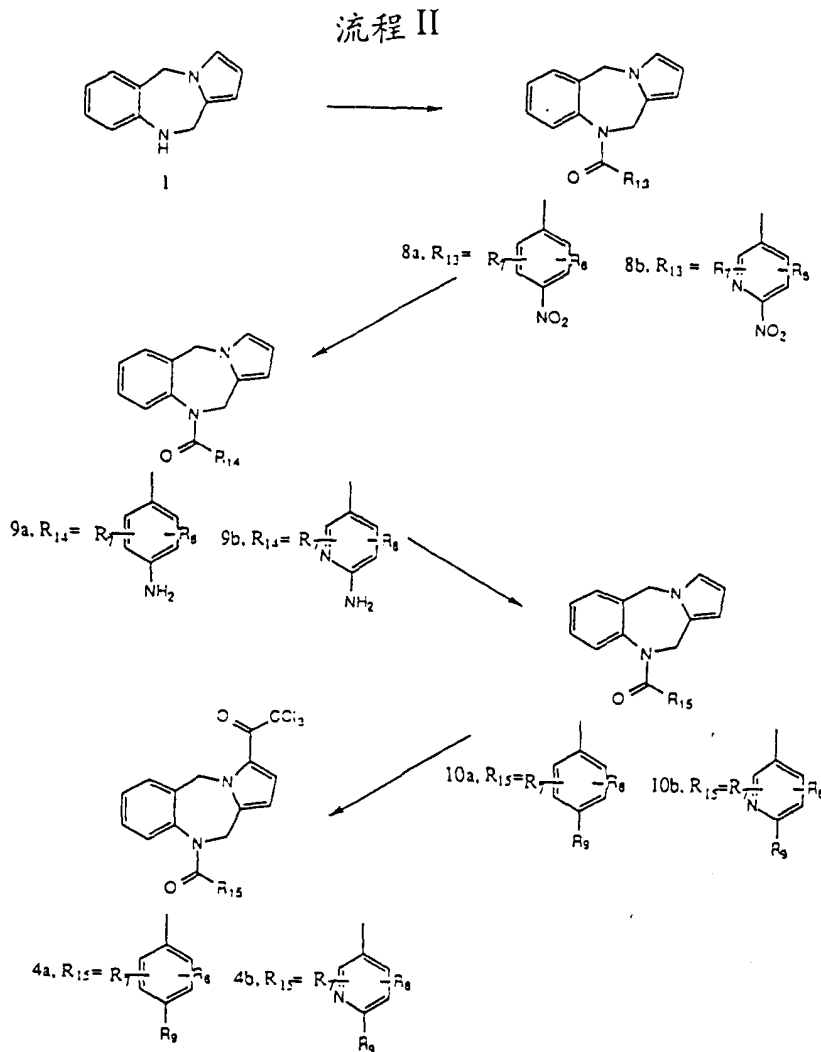


。根据与分子中其它取代基的配伍性选择活化这些酸以进行三环衍生物 9a 和 9b 偶合的方法。选择的方法是将羧酸转化为相应的酰氯, 根据本领域已知的标准方法, 例如与亚硫酸酰氯、草酰氯等反应可以制备所述酰氯:



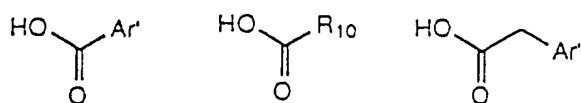
。所述偶合反应在卤化了的溶剂例如氯仿、二氯甲烷，醚溶剂如二氧六环、四氢呋喃或烃类溶剂如甲苯中，在吡啶或叔胺碱如三乙胺等存在下进行。另外，由羧酸制备的酰氯可以在有或无 4-(二甲基氨基)吡啶存在的吡啶中与衍生物 9a 和 9b 反应得到化合物 10a 和 10b。

式 9a 和 9b 化合物与芳酰氯、芳基乙酰氯或环烯基碳酰氯或相应的活化羧酸在卤化了的溶剂例如氯仿、二氯甲烷，醚溶剂如二氧六环、四氢呋喃或烃类溶剂如甲苯中，在叔胺碱例如三乙胺、二异丙基乙胺或吡啶等的存在下反应得到衍生物 10a 和 10b。在惰性溶剂例如氯仿、二氯甲烷或醚溶剂例如四氢呋喃中、于 0 °C 至溶剂的回流温度下，衍生物 10a 和 10b 与三卤代甲基酰氯反应得到三卤代甲基酮衍生物 4a 和 4b。

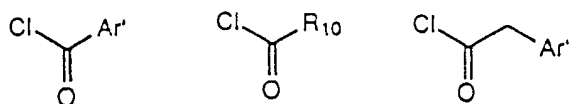


如流程 IIb 所示可以用另外的步骤顺序制备目标化合物。中间体 12a 和 12b(其中 $-NZ_1Z_2$ 可以为 $-NR_1R_3$ 、 $NHOR_1$ 、 $-N-(CH_2)_n-COOH$ 、 R_7 和 R_8 独立选自氢、卤素、氟基、低级烷基、低级烷氧基、羟基或三氟甲基)中的硝基还原得到相应的氨基衍生物 13a 和 13b。12a 和 12b 中的硝基还原可以在催化还原(即氢/Pd/C, 肼-乙醇/Pd/C)条件下, 或者在化学还原(即氯化亚锡/乙醇, 锌/乙酸-三氯化钛)条件下或本领域已知的相关还原条件下进行。根据保持分子中其它官能团的配伍性选择将硝基转化为氨基的条件。用适当取代和活化的吡啶和芳基羧酸使氨基衍生物 13a 和 13b 酰化得到目标化合物 14a 和 14b。

通过转化为酰氯、酰溴或酸酐, 或者首先与活化试剂例如 N,N-二环己基碳二亚胺、氟基磷酸二乙酯以及在“肽酰胺键”形成中使用的相关的活化试剂反应使下式的吡啶和芳基羧酸试剂活化以进行偶合:

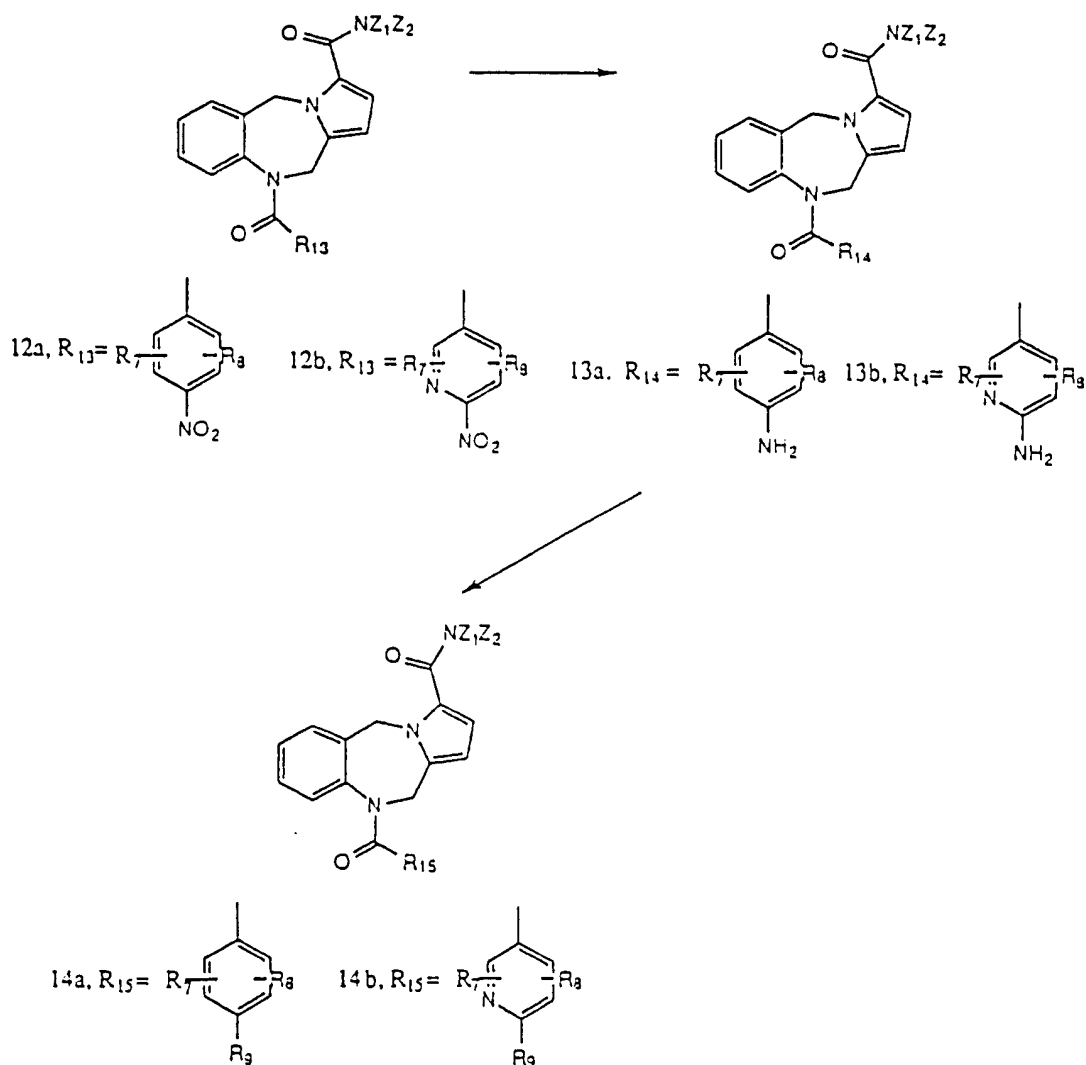


。根据与分子中其它取代基的配伍性选择活化这些酸以进行三环衍生物 13a 和 13b 偶合的方法。选择的方法是将羧酸转化为相应的酰氯。根据本领域已知的标准方法, 例如与亚硫酸氯、草酰氯等反应可以制备所述酰氯:



。所述偶合反应在溶剂如卤代烃、甲苯、二甲苯、四氢呋喃或二氧六环中，在吡啶或叔胺碱如三乙胺等存在下进行。另外，由羧酸制备的酰氯可以在有或无 4-(二甲基氨基)吡啶存在的吡啶中与衍生物 13a 和 13b 反应得到化合物 14a 和 14b。

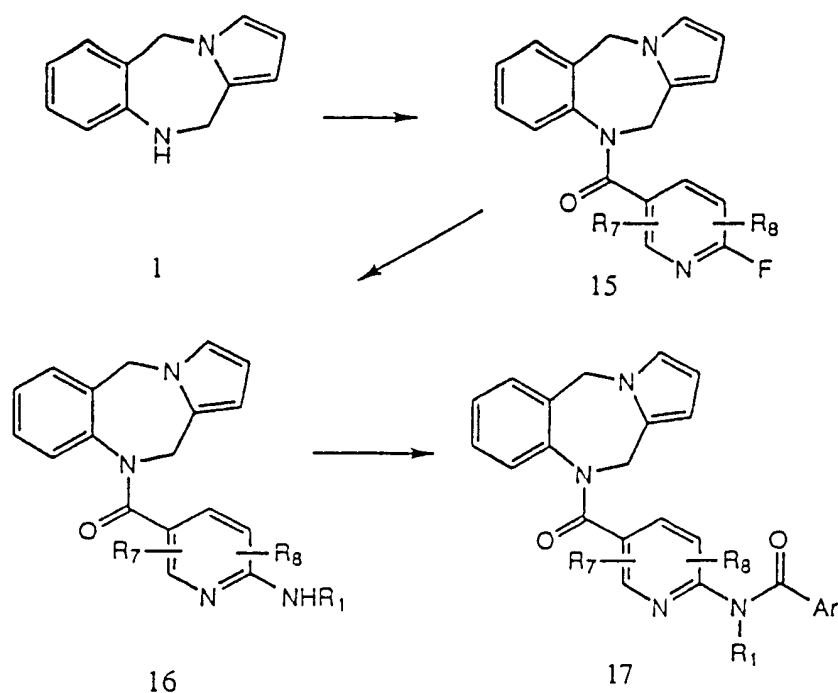
流程 IIb



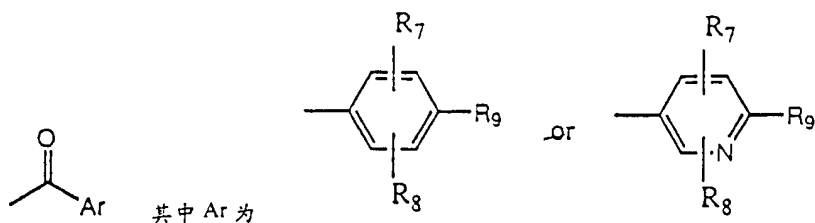
另外，可以将中间体 1(流程 III)转化为更具活性的氟化物衍生物 15。15 与取代的胺 NHR_1 ($R_1 =$ 低级烷基)反应得到相应的氨基烟碱基 (nicotinyI)衍生物 16。这些衍生物 16 的酰化得到目标分子 17。可以

用三卤代甲基乙酰氯处理该化合物得到流程 II 的式 4b 的相应产物。

流程 III



合成如式 I 所示的本发明化合物，其中 R_6 如下所示：



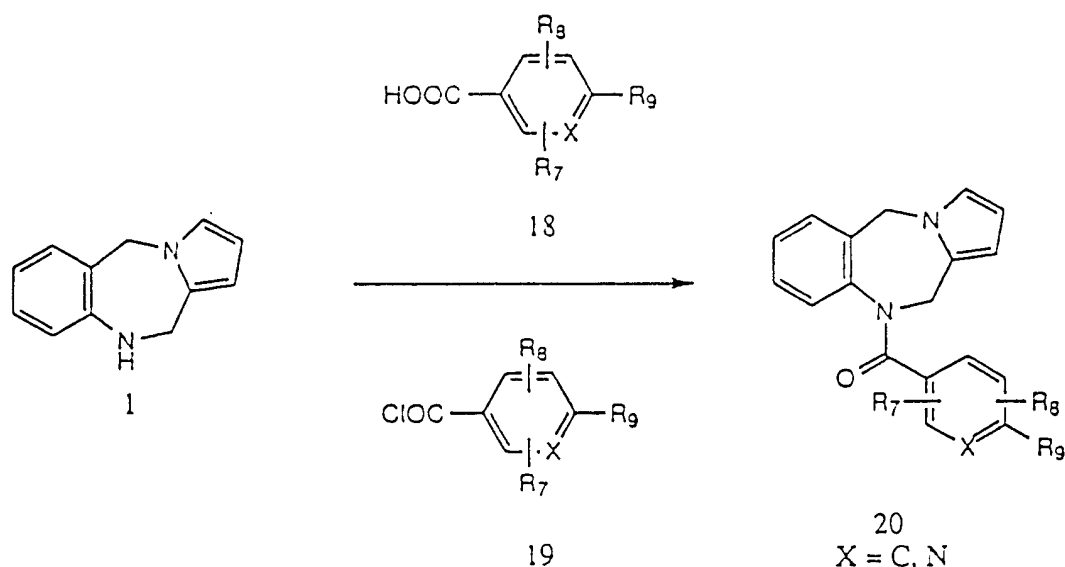
的另外的方法为使通式 18 的吡啶基或芳基羧酸与三环衍生物 1 偶合得到目标化合物 20，然后与三卤代甲基乙酰氯反应时得到流程 I 的中间体 4。

通过转化为酰氯、酰溴或酸酐，或者首先与活化试剂例如 N,N-二环己基碳二亚胺、氨基磷酸二乙酯以及在“肽酰胺键”形成中使用的相关的活化试剂反应使所述的吡啶和芳基羧酸活化以进行偶合。根据与分子中其它取代基的配伍性选择活化这些酸 18 以进行三环衍生

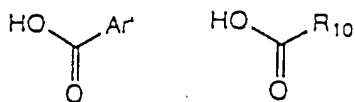
物 1(流程 IV)偶合的方法。选择的方法是将羧酸 18 转化为相应的酰氯 19。根据本领域已知的标准方法,例如与亚硫酸酰氯、草酰氯等反应可以制备酰氯 19。偶合反应在卤化了的溶剂例如氯仿、二氯甲烷,醚溶剂例如二氧六环、四氢呋喃或烃溶剂如甲苯中,在吡啶或叔胺碱如三乙胺等存在下进行(流程 IV)。另外,由羧酸制备的酰氯 19 可以在有或无 4-(二甲基氨基)吡啶存在的吡啶中与衍生物 1 反应。

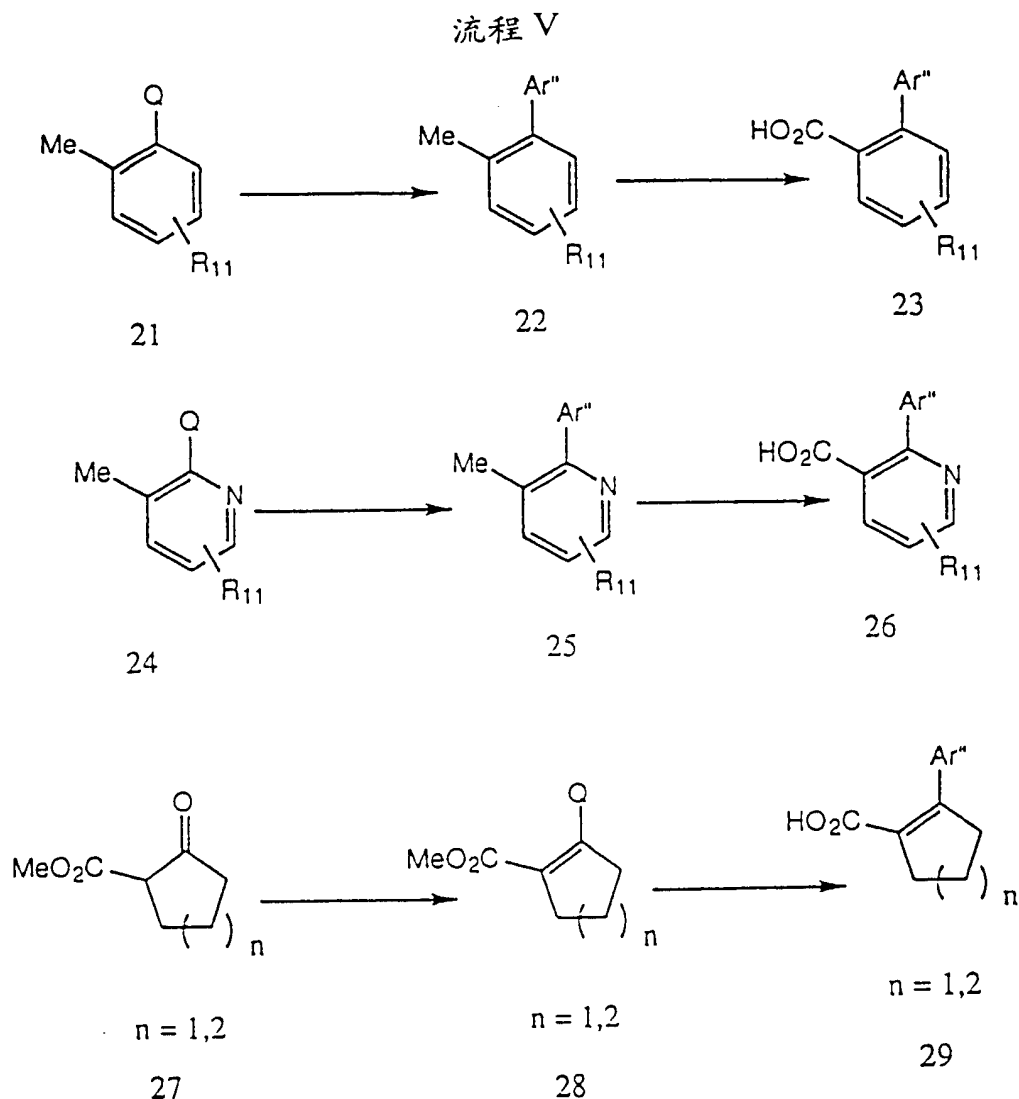
一般而言,当酸 18 用“肽型”活化试剂活化时,比用酰氯所需的温度高。

流程 IV



如流程 V 所示的方法可以制备下式酸(由 23、26、29 部分代表):



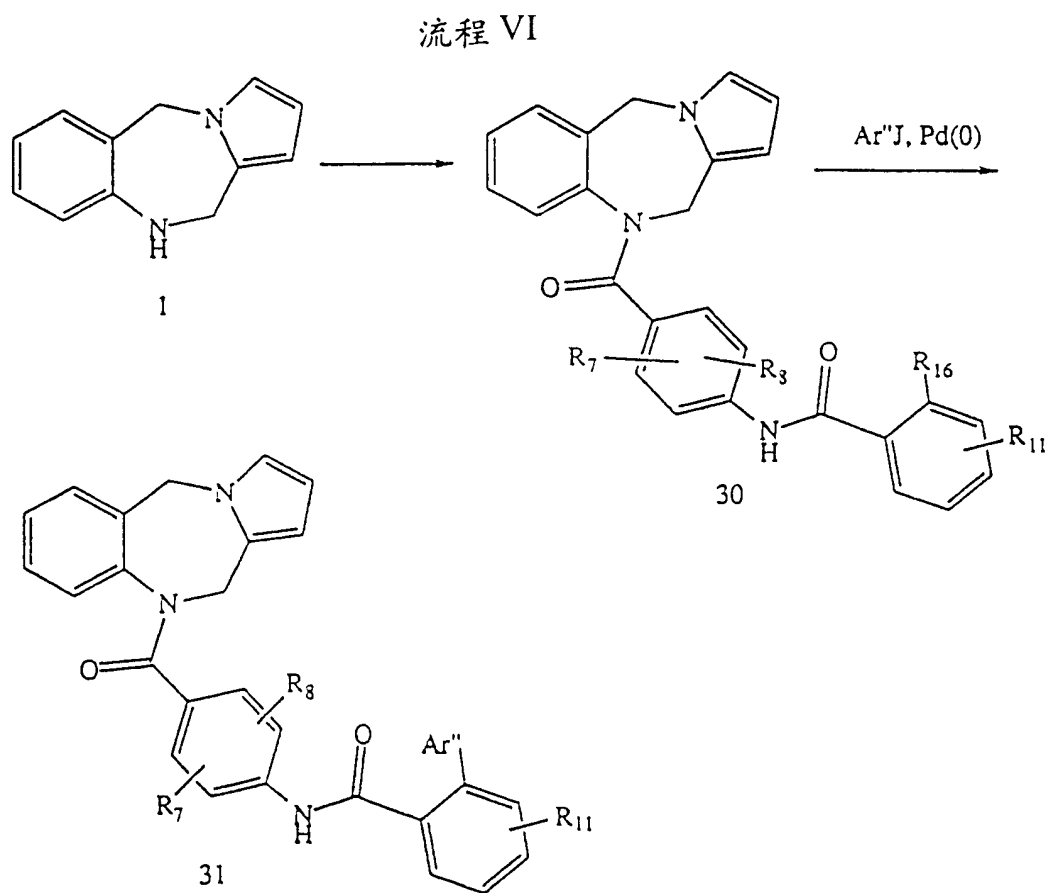


用零价钯或镍催化剂、在存在或不存在配位配体如三苯膦和有机或无机碱下，使芳基(或杂芳基)硼烷、硼酸酯、镁、三烷基锡或锌试剂与芳基 21 或吡啶基 24 化合物偶合，其中 Q 选自溴、碘、氟代磺酸酯或三氟甲基磺酸酯，R₁₁ 为氢、氟、氯或溴。然后用试剂例如高锰酸钾氧化产生的甲基双芳基(杂芳基芳基)22 或芳基吡啶基(杂芳基吡啶基)25 化合物得到相应的羧酸 23 和 26。在零价钯催化剂存在下，用相应的低级烷基硼烷处理 23 和 26 的甲酯可以制备 23 和 26 的衍生物，其中 R₁₁ 为低级烷基。

若为环烷基，则化合物 29 可以由适当的酮酯 27 开始制备。酮酯 27 与如三卤(溴、碘)化磷或三氟甲磺酸酐反应得到相应的β-卤代或β-

三氟甲基磺酸酯化合物 28，在零价钯或镍催化剂和有机或无机碱存在下，使化合物 28 与芳基(杂芳基)硼烷、硼酸酯、镁、三烷基锡或锌试剂反应得到为酯的目标化合物 29，用碱金属氢氧化物在醇水溶液或醚溶剂中水解 29 的酯部分得到羧酸 29。

另外，可以根据流程 VI 所示对通式 I 的化合物进行加工，其中 J 选自 $B(OH)_2$ 、 $Sn(\text{低级烷基})_3$ ， R_{16} 选自 Br、I、 OSO_2CF_3 ， Ar'' 如上述定义选择。



分别在 Stille 或 Suzuki 条件下，用零价钯催化剂，在存在或不存在配位配体和碱下，使中间体 30 与芳基锡或硼试剂偶合得到通式 31 的化合物。

参照下列非限定性实施例可以进一步理解本发明。

实施例 1

10-[2-氯代-4-(5-氟代-2-甲基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸

步骤 a) N-{3-氯代-4-[3-(三氯代羰基)-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-5-氟代-2-甲基-苯甲酰胺

于室温、氮气下，将 N-{3-氯代-4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-5-氟代-2-甲基-苯甲酰胺(4.73g, 10 mmol)的二氯甲烷(300ml)悬浮液与三氯代乙酰氯(1.81g, 10 mmol)一起搅拌6小时。加入第二份量的三氯代乙酰氯(1.81g, 10 mmol)，于室温下搅拌该反应物过夜。用二氯甲烷(500ml)稀释后，通过硅胶塞柱(2x)过滤该反应混合物，滤液真空蒸发成残留物。将该残留物再溶于二氯甲烷(300ml)中，用0.5N氢氧化钠和水洗涤，干燥(硫酸镁)。通过硅胶塞柱(2x)过滤，真空蒸发滤液，得到6.2g(10 mmol)3-三氟甲基酮，为褐色无定形粉末，将其不经进一步纯化用于实施例1步骤b中。

步骤 b) 10-[2-氯代-4-(5-氟代-2-甲基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸

于室温、氮气下，将 N-{3-氯代-4-[3-(三氯代羰基)-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-5-氟代-2-甲基-苯甲酰胺(1.22g, 2 mmol)在丙酮(5ml)中与2.5N氢氧化钠(1.6ml, 4 mmol)一起搅拌45分钟。用2N盐酸(2ml, 4 mmol)将该反应混合物中和至pH 7.0。加入水(10ml)后，过滤沉淀，顺序用冷水、乙醇和乙醚洗涤，空气干燥后得到粗品产物，为无色粉末(750mg, 72%)。使粗品产物从甲醇-水(3:1, 10ml)中重结晶，于25℃真空干燥3小时后得到为均一无色结晶固体的目标化合物600mg(1.2 mmol)，m.p. 218℃(分解)。MS(+FAB), m/z: 520/518 (M+H)。

$C_{23}H_{21}ClFN_3O_4 \cdot 0.62 H_2O$ 分析计算值: C, 63.55; H, 4.24; N, 7.94。

实测值: C, 63.53; H, 4.21; N, 7.82。

实施例 2

10-[2-氯代-4-(5-氟代-2-甲基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-

5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸, 钾盐(1:1)

用 1N 氢氧化钾(1ml, 1 mmol)处理实施例 1 步骤 b 产物 10-[2-氯代-4-(5-氟代-2-甲基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸(517mg, 1 mmol)的甲醇(10ml)中的悬浮液并过滤。真空蒸发溶剂后, 将残留物再溶于丙酮(50ml)中, 再过滤(2x), 浓缩至小体积(20ml)。加入乙醚并冷却, 过滤固体并于 70 °C 真空干燥 3 小时后得到 270mg (0.49 mmol)该酸的钾盐, 为微带色的无定形粉末, m.p. 195-205 °C。

MS (+FAB), m/z: 520/518 (M+H).

$C_{28}H_{20}ClFN_3O_4 \cdot 3.2 H_2O$ 分析计算值: C, 60.48; H, 3.63; N, 7.56。

实测值: C, 59.22; H, 4.03; N, 7.30。

实施例 3

N-{3-氯代-4-[3-(N',N'-二甲基-胍基羰基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基]-苯基}-5-氟代-2-甲基-苯甲酰胺

于 60 °C、氮气下, 将 N-{3-氯代-4-[3-(三氯代羰基)-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基]-苯基}-5-氟代-2-甲基-苯甲酰胺 (1.86g, 3 mmol)与过量的 N,N-二甲基胍(5ml)一起搅拌 3 小时。高真空下去除过量的 N,N-二甲基胍。将残留物溶于乙酸乙酯中, 通过短硅胶塞柱过滤, 真空蒸发滤液, 得到 1.63g (2.9 mmol, 97%)粗品产物。经硅胶(150g)快速柱层析纯化, 用乙酸乙酯洗脱, 于 25 °C 真空干燥过夜后得到 1.15g (2.1 mmol)目标化合物, 为淡黄色无定形粉末, 保留 0.33mol 乙酸乙酯, m.p. 133-135 °C。

MS (-ESI), m/z: 560/558 (M-H)⁻.

$C_{30}H_{27}ClFN_5O_3 \cdot 0.33 C_4H_8O_2$ 分析计算值: C, 63.85; H, 5.07; N, 11.88。

实测值: C, 63.17; H, 5.10; N, 11.77。

实施例 4

2-[[10-[2-氯代-4-[(5-氟代-2-甲基苯甲酰基)氨基]苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-基]羰基]-1,1,1-三甲基碘化

铍

用过量的碘代甲烷(5g, 35 mmol)在二氯甲烷(100ml)中处理实施例3的产物 N-{3-氯代-4-[3-(N',N'-二甲基-胍基羰基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-10-羰基]-苯基}-5-氟代-2-甲基-苯甲酰胺(700mg, 1.25 mmol), 并于室温、氮气下搅拌60小时。过滤沉淀, 顺序用冷的二氯甲烷和乙醚洗涤, 于25℃、真空干燥过夜后得到700mg (1.0 mmol)目标化合物, 为无色无定形粉末, m.p. (188) 193℃。

MS (-ESI), m/z: 828 (MI+I)⁻

MS (+FAB), m/z: 574 (M+H)⁺

C₃₁H₃₀ClFIN₅O₃·H₂O·0.6CH₂Cl₂分析计算值: C, 49.23; H, 4.34; N, 9.08; I, 16.47。

实测值: C, 48.83; H, 4.00; N, 9.11; I,

17.02。

实施例5

2-[[10-[2-氯代-4-[(5-氟代-2-甲基苯甲酰基)氨基]苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-3-基]羟基亚甲基]-1,1,1-三甲基铍内盐

用0.1N氢氧化钠(5.7ml, 0.57 mmol)在甲醇-水(10ml:10滴)混合液中处理实施例4的产物2-[[10-[2-氯代-4-[(5-氟代-2-甲基苯甲酰基)氨基]苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-3-基]羰基]-1,1,1-三甲基碘化铍(400mg, 0.57 mmol)。真空浓缩后, 再加入水。过滤沉淀, 顺序用水、冷甲醇和乙醚洗涤, 于25℃、真空干燥5小时后得到160mg (0.28 mmol)目标化合物, 为无色无定形粉末, m.p. 255℃。MS (+ESI), m/z: 576/574 (M+H)⁺

C₃₁H₂₉ClFIN₅O₃分析计算值: C, 64.86; H, 5.09; N, 12.20。

实测值: C, 63.44; H, 5.09; N, 12.15。

实施例6

N-[5-[3-三氯代甲基羰基]-[5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-

10-(11H)-基]羰基]-2-氯代苯基]-2-苯基-苯甲酰胺

于氮气下，向搅拌的 2-苯基-N-[4-(5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10(11H)-基-羰基]-2-氯代苯基]-苯甲酰胺(5.00g, 9.7 mmol)的二氯甲烷(55ml)溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺(3.39ml, 19.4 mmol)，接着用 5 分钟滴加三氯乙酰氯(3.25ml, 29.1 mmol)。于室温下将该反应混合物搅拌过夜。用水将该反应混合物洗涤三次。用二氯甲烷回洗合并的水萃取物，干燥有机萃取物，去除溶剂得到粗品产物(8.05g)。从乙酸乙酯-己烷中结晶得到纯品产物(5.12g)。重结晶后得到分析样品：m.p. 168-170 °C。MS (+ESI), m/z: 663 M⁺。

C₃₄H₂₇N₃O₅·分析计算值：C, 61.56; H, 3.49; N, 6.33。

实测值：C, 61.28; H, 3.22; N, 6.32。

实施例 7

10-{4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基)-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂革-3-甲酸

向 N-[5-[3-三氯甲基羰基]-[5H-吡咯并-[2,1-c]-[1,4]苯并二氮杂革-10(11H)-基]羰基]-2-氯代苯基]-2-苯基苯甲酰胺(2.24g, 3.4 mmol)的丙酮(22ml)溶液中加入氢氧化钠水溶液(2.48ml, 2.5N, 6.2 mmol)，于室温下将该反应物搅拌 1.25 小时。用盐酸(3.47ml, 2N)酸化该反应物，真空去除溶剂。使残留物分配于乙酸乙酯-水之间，干燥并去除溶剂，得到粗品产物(2.41g)。用乙醚-己烷研磨得到固体(1.9g)。使样品从氯仿-甲醇-乙醚中结晶 m.p. 216-218 °C。MS (+FAB), m/z: 562/564 (M+H)⁺。

C₃₄H₂₇N₃O₅·分析计算值：C, 70.52; H, 4.30; N, 7.48。

实测值：C, 69.25; H, 4.39; N, 7.14。

实施例 8

10-(4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基)-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂革-3-甲酸-1,1-二甲基胍

向 N-[5-[3-三氯甲基羰基]-[5H-吡咯并-[2,1-c]-[1,4]苯并二氮杂革-

10-(11H)-基]羰基-2-氯代苯基]-2-苯基苯甲酰胺(0.941g, 1.5 mmol)的二氯甲烷(2ml)悬浮液中加入 1,1-二甲基胍(1.1ml, 15 mmol), 将该反应物搅拌 24 小时。该固体溶于溶液中, 然后变为悬浮液。蒸发溶剂, 真空去除过量的胍。残留物经硅胶柱甲醇-乙酸乙酯(1:20)中层析纯化, 用相同的溶剂洗脱, 得到 0.8g 化合物。从甲醇-乙醚中结晶两次得到 0.454g 纯品, m.p. 173-176 °C。MS (+FAB), m/z: 604 (M+H)⁺。

C₃₄H₂₇N₃O₃ 分析计算值: C, 69.59; H, 5.01; N, 11.59。

实测值: C, 69.40; H, 5.01; N, 11.60。

实施例 9

10-(4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基)-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺

方法 A: 于氮气下, 将所述羧酸(实施例 7)(4g, 7.12 mmol)的二氯甲烷(27ml)和二甲基甲酰胺(0.66ml, 8.54 mmol)悬浮液冷却至约 0 - 5 °C。逐渐加入在二氯甲烷(3ml)中的草酰氯(0.75ml, 8.54 mmol)。于室温下, 将该混合物搅拌 1.5 小时。于氮气下, 用约 15 分钟向 N-甲基哌嗪(3.2ml, 28.5 mmol)的含有二异丙基乙胺(7.45ml, 42.72 mmol)的二氯甲烷(30ml)溶液中加入新制备的酰氯溶液。于室温下, 将该反应物搅拌 1.5 小时。用二氯甲烷(20ml)稀释该混合物, 用水、5%碳酸氢钠和 25%盐水洗涤该混合物。用二氯甲烷回洗水溶液萃取物, 干燥合并的有机溶液, 真空去除溶剂, 得到粗品产物(5.8g)。残留物经硅胶(140g)柱在甲醇-乙酸乙酯(1:20)中层析纯化。用甲醇-乙酸乙酯(1:10)洗脱产物, 得到为灰白色泡沫状物的纯品化合物。将样品(0.97g, 1.51 mmol)溶于甲醇-乙醚(1:1, 6ml)混合液中, 加入甲醇制氯化氢(1N, 2ml, 1.96mM)。搅拌 45 分钟后, 真空去除所有溶剂。用含数毫升甲醇的乙醚将残留物研磨过夜。过滤产生的无定形固体, 得到粗品盐酸盐(0.876g)。从乙醇-乙醚中再沉淀得到其盐(0.516g)。MS (EI) m/z: 604 (M+H)⁺。

C₃₃H₃₄ClN₅O₃·HCl·1.5H₂O 分析计算值: C, 64.44; H, 5.22; N, 9.89。

实测值: C, 64.15; H, 5.39; N, 9.61。

方法 B: 向实施例 7 产物(2.0g, 3.56 mmol)的二氯甲烷(150ml)悬浮液中顺序加入 N-甲基哌嗪(0.414ml, 3.74 mmol)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.716g, 3.74 mmol)和 4-二甲基氨基吡啶(催化量)。于室温下, 将该反应物搅拌 36 小时, 用二氯甲烷稀释, 用水、氢氧化钠(1N)、盐水洗涤, 干燥(硫酸镁)。经快速层析(硅胶, 洗脱溶剂为氯仿-甲醇 50:1, 然后为 20:1)纯化, 得到白色泡沫状物(1.55g)。

实施例 10

10-{4-[(联苯基-2-羧基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基}-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-甲基-酰胺

用与实施例 9 方法 A 所述相同的方法, 制备实施例 10 的化合物, 但是用 N,N,N'-三甲基乙二胺代替 N-甲基哌嗪。得到为灰白色无定形固体的目标化合物。m.p. 100-120 °C, MS (+FAB), m/z: 646 (M+H)⁺。

实施例 11

联苯基-2-羧酸{3-氯代-4-[3-(4-哌啶基-哌啶-1-羧基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羧基]-苯基}-酰胺

用与实施例 9 方法 A 所述相同的方法, 制备实施例 11 的化合物, 但是用 4-哌啶基-哌啶代替 N-甲基哌嗪。得到为灰白色无定形固体的目标化合物。m.p. 209-219 °C, MS (+FAB), m/z: 712/714 (M+H)⁺。

实施例 12

联苯基-2-羧酸{3-氯代-4-[3-(4-二甲基氨基-哌啶-1-羧基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羧基]-苯基}-酰胺

用与实施例 9 方法 A 所述相同的方法, 制备实施例 12 的化合物, 但是用 4-二甲基氨基-哌啶代替 N-甲基哌嗪。得到为棕色无定形固体的目标化合物。m.p. 138-152 °C, MS (+FAB), m/z: 672 (M+H)⁺。

$C_{40}H_{38}ClN_5O_3 \cdot HCl \cdot H_2O$ 分析计算值: C, 66.04; H, 5.64; N, 9.63。

实测值: C, 65.22; H, 5.49; N, 9.32。

实施例 13

联苯基-2-羧酸{3-氯代-4-[3-(4-甲基-哌嗪-1-氨基羰基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基]-苯基}-酰胺

用与实施例 9 方法 A 所述相同的方法, 制备实施例 13 的化合物, 但是用 4-N-甲基-N-氨基哌嗪代替二甲基胍。得到为淡黄色固体的目标化合物。 m.p. 172-182 °C, MS (+FAB), m/z: 660 (M+H)⁺。

实施例 14

10-{4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基}-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-酰胺

用与实施例 9 方法 A 所述相同的方法, 制备实施例 14 的化合物, 但是用 N,N-二甲基乙二胺代替 N-甲基哌嗪。得到为白色固体的目标化合物。 m.p. 85-94 °C, MS (+FAB) m/z: 632 (M+H)⁺。

$C_{37}H_{34}ClN_5O_3 \cdot 2H_2O$ 分析计算值: C, 66.45; H, 5.69; N, 10.47。

实测值: C, 64.57; H, 5.50; N, 9.28。

实施例 15

联苯基-2-羧酸{3-氯代-4-[3-(4-吗啉代-哌啶-1-羰基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基]-苯基}-酰胺

用与实施例 9 方法 A 所述相同的方法, 制备实施例 15 的化合物, 但是用 4-吗啉代-哌啶代替 N-甲基哌嗪。得到为无定形固体的目标化合物。 MS (+FAB), m/z: 714 (M+H)⁺。

实施例 16

10-(4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-甲氧基-苯甲酰基)-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂草-3-甲酸哌嗪-N-甲基酰胺

步骤 a) 2-甲氧基-4-硝基苯甲酸甲酯

通过注射器向 4-硝基-2-甲氧基苯甲酸(50g, 250 mmol)和甲醇于室温下搅拌的溶液中加入亚硫酸氯(13.9ml, 190 mmol)。于室温下将该

反应物搅拌 16 小时。真空去除挥发物。将残留物溶于二氯甲烷中。用氢氧化钠(1N)洗涤, 分离有机层并干燥(硫酸镁)。真空蒸发得到淡黄色固体(50g), mp 80-81 °C, 将其直接用于下一步骤。

$C_9H_9NO_5$ 分析计算值: C, 51.19; H, 4.30; N, 6.63。

实测值: C, 50.97; H, 4.11; N, 6.51。

步骤 b) 4-氨基-2-甲氧基苯甲酸甲酯

于室温、50psi 氢气下, 将 2-甲氧基-4-硝基苯甲酸甲酯(12g, 57 mmol)、钯(10%在活性炭上)和乙醇(150ml)的混合物振摇 2 小时。通过硅藻土过滤该反应物, 用氯仿洗涤硅藻土。蒸发氯仿洗涤液得到黄色固体。经结晶纯化得到淡黄色结晶固体(8.76g), mp 148-149 °C。

$C_9H_{11}NO_3$ 分析计算值: C, 59.66; H, 6.12; N, 7.73。

实测值: C, 59.42; H, 6.02; N, 7.69。

步骤 c) 4-[(联苯基-2-羧基)-氨基]-2-甲氧基-苯甲酸甲酯

向回流的 2-联苯基羧酸(9.2g, 46 mmol)的二氯甲烷溶液中加入二甲基甲酰胺(0.1ml, 1.4 mmol), 然后通过注射器加入纯品草酰氯(8.1ml, 92 mmol)。将该反应物回流 10 分钟, 然后真空去除挥发物。将残留物再溶于二氯甲烷中, 浓缩并高真空下干燥 15 分钟。将该酰氯溶于二氯甲烷(50ml)中, 并加至 0 °C 的 4-氨基-2-甲氧基-苯甲酸甲酯(8.4g, 46 mmol)、二异丙基乙胺(10.5ml, 60 mmol)和二氯甲烷(200ml)溶液中。将该反应物温热至室温并搅拌 16 小时。用二氯甲烷稀释该反应物, 用水、(1N)氢氧化钠、(1N)盐酸和盐水洗涤, 干燥(硫酸镁), 蒸发得到黄色泡沫状物, 使其从甲醇中结晶得到淡黄色固体(16.08g), mp 141-142 °C。

$C_{22}H_{19}NO_4$ 分析计算值: C, 73.12; H, 5.30; N, 3.88。

实测值: C, 72.93; H, 5.20; N, 3.83。

步骤 d) 4-[(联苯基-2-羧基)-氨基]-2-甲氧基-苯甲酸

将氢氧化钠(1N, 38ml, 38 mmol)加至回流的 4-[(联苯基-2-羧基)-氨基]-2-甲氧基-苯甲酸甲酯(11.6g, 32 mmol)的甲醇(200ml)溶液中。将

该反应物回流 2 小时。真空去除挥发物，残留物溶于乙酸乙酯/HCl(水溶液)中。用乙酸乙酯再萃取水溶液层，合并有机萃取物并干燥(硫酸镁)。蒸发得到淡橙色泡沫状物，使其从甲醇中结晶得到白色固体(9.33g), mp 158-159 °C。

$C_{21}H_{17}NO_4$ 分析计算值: C, 72.61; H, 4.93; N, 4.03。

实测值: C, 72.20; H, 4.61; N, 3.96。

步骤 e) [3-甲氧基-4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-联苯基-2-甲酰胺(carboxylic acid-amide)

向回流的 4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-甲氧基-苯甲酸(3.29g, 9.5 mmol)的二氯甲烷(50ml)溶液中加入二甲基甲酰胺(0.02ml, 0.28 mmol)，然后通过注射器加入纯品草酰氯(0.87ml, 10 mmol)。将该反应物回流 10 分钟，然后真空去除挥发物。将残留物再溶于二氯甲烷中，蒸发并高真空下干燥 15 分钟。将该酰氯溶于二氯甲烷(50ml)中，并加至 0 °C 的 10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草(1.57g, 8.55 mmol)、N,N-二异丙基乙胺(1.93ml, 12.35 mmol)和二氯甲烷(200ml)溶液中。将该反应物温热至室温并搅拌 2 小时。用二氯甲烷稀释该反应混合物，用水、(1N)氢氧化钠、(1N)盐酸和盐水洗涤，干燥(硫酸镁)。蒸发得到黄色泡沫状物，使其从甲醇中结晶得到白色固体(2.05g), mp 224-226 °C。

$C_{33}H_{27}N_3O_3$ 分析计算值: C, 76.87; H, 5.35; N, 8.07。

实测值: C, 76.82; H, 5.23; N, 8.04。

步骤 f) N-[5-[3-三氯甲基羰基]-[5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10(11H)-基]羰基]-2-甲氧基苯基]-2-苯基苯甲酰胺

于 0 °C，通过注射器向实施例 357 步骤 e 产物(2.5g, 4.87 mmol)的二氯甲烷(50ml)溶液中加入三氯乙酰氯(1.09ml, 9.74 mmol)，于室温下将该反应物搅拌 4 小时。用二氯甲烷稀释该反应物，用碳酸氢钠和盐水洗涤，干燥(硫酸镁)有机萃取物，蒸发并通过硅胶垫过滤残留物，用乙酸乙酯/己烷 1:1 洗脱，得到为白色泡沫状物的所需产物(1.5g), mp

139-143 °C.

$C_{35}H_{26}Cl_3N_3O_4 + 0.25H_2O$ 分析计算值: C, 63.36; H, 4.03; N, 6.33.

实测值: C, 63.05; H, 4.03; N, 6.21.

步骤 g) 10-{4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-甲氧基苯甲酰基}-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-3-甲酸

将氢氧化钠(1N, 2.0ml, 1.92 mmol)加至室温下的 N-[5-[3-三氯甲基羰基]-[5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-10(11H)-基]羰基]-2-甲氧基苯基]-2-苯基苯甲酰胺(0.8g, 1.2 mmol)的四氢呋喃(10ml)溶液中, 将该反应物搅拌 1.5 小时。加入盐酸(1N), 用冰稀释该反应物。真空去除挥发物, 过滤白色固体, 干燥得到 0.8g 目标化合物, mp 149-151 °C.

$C_{34}H_{27}N_3O_5$ 分析计算值: C, 70.21; H, 5.14; N, 7.22.

实测值: C, 70.20; H, 4.89; N, 7.31.

步骤 h) 10-(4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-甲氧基-苯甲酰基)-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-3-甲酸哌嗪-N-甲基酰胺

于室温下, 将 10-{4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-甲氧基苯甲酰基}-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-3-甲酸(0.434g, 0.778 mmol)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.157g, 0.817 mmol)、4-二甲基氨基吡啶(催化量)和 N-甲基哌嗪(.091ml, 0.817 mmol)的二氯甲烷溶液搅拌 3.5 小时。用二氯甲烷稀释该反应物, 用水和盐水洗涤。干燥(硫酸镁)有机萃取物, 浓缩得到白色泡沫状物。经快速层析(硅胶, 洗脱剂为氯仿-甲醇 50:1, 然后为 20:1)纯化, 并从乙醇中结晶得到白色固体(0.23g), mp 139-140 °C.

$C_{39}H_{37}N_5O_4 + 1.0H_2O$ 分析计算值: C, 71.21; H, 5.98; N, 10.65.

实测值: C, 71.25; H, 5.99; N, 10.64.

实施例 17

10-(4-[(联苯基-2-羰基)-氨基]-2-甲氧基-苯甲酰基)-10,11-二氢-5H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-3-甲酸-1,1-二甲基胍

于 0 °C, 通过注射器向实施例 16 步骤 h 的产物(1.0g, 1.947 mmol) 的二氯甲烷(20ml)溶液中加入三氯乙酰氯(0.434ml, 3.89 mmol), 于室温下将该反应物搅拌 4 小时。用二氯甲烷稀释该反应物, 用碳酸氢钠和盐水洗涤, 干燥(硫酸镁)有机萃取物。蒸发并通过硅胶垫过滤残留物, 用乙酸乙酯-己烷 1:1 洗涤, 得到三氯代酮, 浓缩时为白色泡沫状物。于室温下, 将该泡沫状物溶于纯 N,N-二甲基胍中, 然后回流下加热 25 分钟。真空去除挥发物, 将残留物吸附于硅胶上, 经快速层析纯化(洗脱溶剂为乙酸乙酯-己烷 1:1, 然后为乙酸乙酯-甲醇 4:1)。从乙醇中结晶得到褐色固体(0.23g), mp 164-165 °C。

$C_{36}H_{33}N_5O_4+1.0H_2O$ 分析计算值: C, 70.0; H, 5.71; N, 11.34。

实测值: C, 70.01; H, 5.62; N, 11.29。

实施例 18

10-{4-[(联苯基-2-羧基)-氨基]-2-氯代-苯甲酰基}-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸(甘氨酸基)-酰胺

用与实施例 8 所述相同的方法, 但是用叔丁基甘氨酸代替二甲基胍作为反应物制备实施例 18 的化合物。于室温下, 通过用甲酸(2.3ml)处理, 将产生的目标化合物的叔丁酯(0.725g)处理 48 小时得到目标化合物, 为白色无定形固体。mp 176-186 °C。MS (ESI) m/z 617 (M-H)⁺。

$C_{36}H_{30}N_4O_6$ 分析计算值: C, 67.9; H, 4.40; N, 9.05。

实测值: C, 66.51; H, 4.23; N, 8.44。

实施例 19

10-[2-氯代-4-(2-噻吩-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸-1,1-二甲基酰胺

N-[3-氯代-4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羧基)-苯基]-2-噻吩-2-基-苯甲酰胺

步骤 a) 2-溴代苯甲酰氯

于氮气下, 向溴代苯甲酸(1.88g, 9.35 mmol)的无水四氢呋喃(20ml)

溶液中加入 1 滴二甲基甲酰胺，接着加入草酰氯(1ml, 11.4 mmol)。于室温下，搅拌该混合物至不再产生气体，然后加热至回流。将该溶液冷却至室温，然后真空浓缩得到金黄色油状物(1.87g)，将其不经进一步纯化使用。

步骤 b) 2-溴代-N-[3-氯代-4-(10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-苯甲酰胺

于氮气下，向搅拌的 10,11-二氢-10-(2-氯代-4-氨基苯甲酰基)-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草(2.25g, 6.66 mmol)的二氯甲烷(40ml)溶液中加入三乙胺(1.19ml, 8.53 mmol)。将该混合物冷却至 0 °C，然后滴加 2-溴代苯甲酰氯(1.87g, 8.52 mmol)的二氯甲烷(20ml)溶液。去除冷却浴，继续搅拌 14 小时。将该反应混合物倾至水中。分离有机层，顺序用水、饱和的碳酸氢钠水溶液和水洗涤，然后干燥(硫酸钠)。过滤该物质，真空浓缩得到淡橙色泡沫状物(2.00g)。经硅胶快速层析纯化，用己烷-乙酸乙酯(1:1)作为流动相，得到白色粉末(1.39g), mp 188-189 °C。MS (EI) m/z 519 (M)⁺。

$C_{26}H_{19}BrClN_3O_2 + 0.5H_2O$ 分析计算值: C, 58.93; H, 3.80; N, 7.93。

实测值: C, 59.12; H, 3.62; N, 7.75。

步骤 c) N-[3-氯代-4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-2-噻吩-2-基-苯甲酰胺

将 2-溴代-N-[3-氯代-4-(10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-苯甲酰胺(1.04g, 2.0 mmol)、噻吩-2-硼酸(boronic acid)(0.32g, 2.4 mmol)和氢氧化钡八水合物(0.88g, 2.8 mmol)悬浮于乙二醇二甲醚(28.8ml)和水(4.8ml)中。于室温下搅拌该不均一的混合物，通入氮气 10 分钟，然后加入双(三苯膦)氯化钯(II) (0.17g, 0.24 mmol)，将该反应物置于氮气压力下。将该反应物于 70 °C 油浴上加热。20 小时后，再向该反应物中加入噻吩-2-硼酸(0.13g, 1 mmol)。共反应 24 小时后，再向反应烧瓶中加入双(三苯膦)氯化钯(II) (84mg, 0.12 mmol)。将该反应物冷却至室温，将混合物萃取入苯中。用盐水洗涤

合并的有机萃取物，干燥(硫酸镁)，过滤并真空浓缩，得到棕色固体(1.42g)。用乙酸乙酯研磨该固体并过滤。滤液经硅胶快速层析纯化，用己烷-乙酸乙酯(1:1)作为流动相，得到淡黄色固体，于78℃、真空下干燥两天(0.59g)，mp 132-136℃。MS (EI) m/z 523 (M)⁺。

C₃₀H₂₂ClN₃O₂S+0.5H₂O 分析计算值：C, 67.53; H, 4.36; N, 7.88。

实测值：C, 67.53; H, 4.08; N, 7.90。

步骤 d) N-[3-氯代-4-[3-(三氯代羰基)-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基]-苯基]-2-噻吩-2-基-苯甲酰胺

根据实施例1步骤A所示的方法，将步骤C的产物转化为相应的三氯代酮。

步骤 e) 10-[2-氯代-4-(5-噻吩-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸

根据实施例1步骤B所示的方法，将步骤D制备的三氯代酮水解为目标酸。

步骤 f) 10-[2-氯代-4-(2-噻吩-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸-1,1-二甲基胍

根据实施例8的方法，使步骤D制备的三氯代酮与N,N-二甲基胍反应。

实施例 20

10-[2-氯代-4-(3-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺

N-[3-氯代-4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-3-吡啶-2-基-苯甲酰胺

步骤 a) 用与实施例19步骤19a和19b所述相同的方法制备实施例20a化合物。在步骤19a中，用2-(吡啶-3-基)-苯甲酸代替2-溴代苯甲酸。2-(吡啶-3-基)-苯甲酸的制备根据Timari等(Chem. Ber. 1992, 125, 929)所述方法进行，用3-溴代吡啶代替2-溴代吡啶。得到为灰白色粉末的目标化合物(0.21g)，mp 155-158℃。

$C_{31}H_{23}ClN_4O_2+0.85H_2O$ 分析计算值: C, 69.68; H, 4.66; N, 10.49.

实测值: C, 69.69; H, 4.70; N, 10.16.

N-{3-氯代-4-[3-(三氯代羰基)-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-3-吡啶-2-基-苯甲酰胺

步骤 b) 根据实施例 1 步骤 A 所示方法, 将步骤 A 的产物转化为相应的三氯代酮。

10-[2-氯代-4-(3-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸

步骤 c) 根据实施例 1 步骤 B 所示方法, 将步骤 B 制备的三氯代酮水解为目标酸。

10-[2-氯代-4-(3-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺

步骤 d) 用实施例 9 的方法 A 将步骤 C 制备的酸转化为酰胺。

实施例 21

10-[2-氯代-4-(4-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-3-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-甲基-酰胺

N-[3-氯代-4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-2-吡啶-4-基-苯甲酰胺

步骤 a) 用与实施例 19 步骤 19a 和 19b 所述相同的方法制备实施例 21a 化合物。在步骤 19a 中, 用 2-(吡啶-4-基)-苯甲酸代替 2-溴代苯甲酸。2-(吡啶-4-基)-苯甲酸的制备根据 Timari 等(Chem. Ber. 1992, 125, 929)所述方法进行, 用 4-溴代吡啶盐酸盐和增加量的碱代替 2-溴代吡啶。得到为淡黄色固体的目标化合物(1.21g), mp 165-168 °C。

$C_{31}H_{23}ClN_4O_2+0.47H_2O$ 分析计算值: C, 70.59; H, 4.57; N, 10.62.

实测值: C, 70.58; H, 4.50; N, 10.33.

N-{3-氯代-4-[3-(三氯代羰基)-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羰基)-苯基]-2-吡啶-4-基-苯甲酰胺

步骤 b) 根据实施例 1 步骤 A 所示方法, 将步骤 A 的产物转化为相应的三氯代酮。

10-[2-氯代-4-(4-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸

步骤 c) 根据实施例 1 步骤 B 所示方法, 将步骤 B 制备的三氯代酮水解为目标酸。

10-[2-氯代-4-(4-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸(2-二甲基氨基乙基)-甲基-酰胺

步骤 d) 用实施例 10 的方法将步骤 C 制备的酸转化为其 2-二甲基氨基-乙基-甲基酰胺。

实施例 22

10-[2-氯代-4-(2-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺

N-[4-(3-甲氧基-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基)-苯基]-2-吡啶-2-基-苯甲酰胺

步骤 a) 2-甲氧基-4-[(2-吡啶-2-基苯甲酰基)氨基]苯甲酰氯

于氮气下, 向 2-甲氧基-4-[(2-吡啶-2-基苯甲酰基)氨基]苯甲酸(0.92g, 2.64 mmol)的无水四氢呋喃(25ml)溶液中加入 1 滴二甲基甲酰胺, 接着加入草酰氯(0.28ml, 3.17 mmol)。于室温下, 搅拌该混合物至气体不再产生。真空浓缩该溶液, 得到褐色固体(1.16g), 将其不经纯化使用。

步骤 b) N-[4-(3-甲氧基-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基)-苯基]-2-吡啶-2-基-苯甲酰胺

于氮气下, 向搅拌的 10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革(0.405g, 2.20 mmol)的二氯甲烷(30ml)溶液中加入三乙胺(0.37ml, 2.64 mmol)。将该混合物冷却至 0 °C, 滴加粗品 2-甲氧基-4-[(2-吡啶-2-基苯甲酰基)氨基]苯甲酰氯(1.16g)的二氯甲烷(30ml)溶液。5 小时

后, 将该反应混合物倾至水中, 分离有机层, 顺序用水和碳酸氢钠水溶液洗涤两次, 用水洗涤一次, 干燥(硫酸钠)。过滤该物质并真空浓缩得到栗色(marron)固体(1.1g)。经硅胶快速层析纯化, 用己烷-乙酸乙酯-二氯甲烷-甲醇(3:6:2:0.5)作为流动相, 接着真空浓缩, 得到淡紫色固体(0.88g), mp 138-140 °C。MS (FAB) m/z 515 (M+H)。

$C_{32}H_{26}N_4O_3 + 0.43H_2O$ 分析计算值: C, 73.58; H, 5.18; N, 10.73。

实测值: C, 73.59; H, 5.05; N, 10.47。

N-{3-氯代-4-[3-(三氯代羰基)-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基)-苯基]-2-吡啶-2-基-苯甲酰胺

步骤 c) 根据实施例 1 步骤 A 所示方法, 将步骤 B 的产物转化为相应的三氯代酮。

10-[2-氯代-4-(2-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸

步骤 d) 根据实施例 1 步骤 B 所示方法, 将步骤 C 制备的三氯代酮水解为目标酸。

10-[2-氯代-4-(2-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺

步骤 d) 根据实施例 9 的方法 B, 将步骤 D 制备的酸转化为其 N-甲基哌嗪酰胺。

实施例 23

10-[2-溴代-4-(2-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸-1,1-二甲基胍

N-[3-溴代-4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基)-苯基]-2-吡啶-2-基-苯甲酰胺

步骤 a) 2-溴代-4-氨基苯甲酸甲酯

用 1 滴二甲基胍处理 2-(吡啶-2-基)苯甲酸(2.85g, 14.3 mmol)的无水四氢呋喃(20ml)溶液, 接着用草酰氯(1.5ml, 17.1 mmol)的无水四氢呋喃(5ml)溶液处理。当不再产生气体时, 将该混合物温热至回流

5 分钟, 冷却至室温, 真空浓缩得到亮黄色固体。将该固体用四氢吡喃(20ml)制成淤浆, 再次浓缩。将粗品酰氯不经进一步纯化用于下一步骤。

步骤 b) 2-溴代-4-[(2-吡啶-2-基-苯甲酰基)氨基]苯甲酸甲酯

将 2-溴代-4-氨基苯甲酸甲酯(3g, 13 mmol)和三乙胺(2.5ml, 18 mmol)的二氯甲烷(50ml)溶液冷却至 0 °C, 用 2-(吡啶-2-基)苯甲酰氯的二氯甲烷(20ml)淤浆处理。于室温下搅拌 4 小时。用 20% 乙酸骤冷该反应物, 顺序用饱和的碳酸氢钠水溶液、水和饱和的盐水洗涤。干燥(硫酸镁), 过滤并真空浓缩, 得到 5.23g 白色泡沫状物。MS (+FAB) m/z 411/413 (M+H)⁺。

C₂₀H₁₅BrN₂O₃ 分析计算值: C, 58.41; H, 3.68; N, 6.81。

实测值: C, 57.73; H, 3.66; N, 6.54。

步骤 c) 2-溴代-4-[(2-吡啶-2-基-苯甲酰基)氨基]苯甲酸

用 1N 氢氧化钠(15ml, 1.2eq)处理 2-溴代-4-[(2-吡啶-2-基-苯甲酰基)氨基]苯甲酸甲酯的甲醇(100ml)溶液。将该溶液温热至回流 3.5 小时, 再加入 1N 氢氧化钠(10.4ml, 共 2eq)。再回流 2 小时, 于室温下将该反应物搅拌过夜。真空浓缩样品得到淤浆, 用水稀释。用乙酸乙酯洗涤水溶液, 用乙酸将水层的 pH 调至 4.5-5。产物沉淀, 过滤并空气中干燥, 得到棕色固体(4.43g)。MS (EI) m/e: 397/399 (M+)

步骤 d) 2-溴代-4-[(2-吡啶-2-基-苯甲酰基)氨基]苯甲酰氯

于氮气下, 向 2-溴代-4-[(2-吡啶-2-基-苯甲酰基)氨基]苯甲酸(1.4g, 3.52 mmol)的无水四氢吡喃(25ml)溶液中加入 1 滴二甲基甲酰胺, 接着加入草酰氯(0.37ml, 4.23 mmol)。于室温下搅拌该混合物至无气体产生, 然后加热至回流。将该反应混合物冷却至室温, 真空浓缩得到棕色固体(1.385g), 将其不经进一步纯化使用。

步骤 e) N-[3-溴代-4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基)-苯基]-2-吡啶-2-基-苯甲酰胺

于氮气下, 向搅拌的 10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂

萘(0.54g, 2.93 mmol)的二氯甲烷(35ml)溶液中加入三乙胺(0.49ml, 3.52 mmol)。将该混合物冷却至 0 °C, 然后滴加粗品 2-甲氧基-4-[(2-吡啶-2-基-苯甲酰基)氨基]苯甲酰氯(1.4g)的二氯甲烷(5ml)的悬浮液。加入完毕后, 将该反应混合物温热至室温。18 小时后, 将该反应混合物倾至水中, 顺序用水、饱和的碳酸氢钠水溶液、10%乙酸水溶液(两次)、饱和的碳酸氢钠水溶液(一次)和水(一次)洗涤。干燥(硫酸钠)有机溶液, 过滤并真空浓缩, 得到深紫色泡沫状物(1.73g)。经硅胶快速层析纯化, 用己烷-乙酸乙酯(1:2)作为流动相, 然后真空浓缩, 得到白色固体(1.23g), mp 227.5-229 °C。MS (ESI) m/z 563 (M)⁺。

C₃₁H₂₃BrN₄O₂ 分析计算值: C, 66.08; H, 4.11; N, 9.94。

实测值: C, 65.84; H, 3.86; N, 9.85。

N-[3-溴代-4-[3-(三氯代羰基)-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-10-羰基)-苯基]-2-吡啶-2-基-苯甲酰胺

步骤 f) 根据实施例 1 步骤 A 所示方法, 将步骤 E 的产物转化为相应的三氯代酮。

10-[2-溴代-4-(2-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-3-甲酸

步骤 g) 根据实施例 1 步骤 B 所示方法, 将步骤 F 制备的三氯代酮水解为目标酸。

10-[2-溴代-4-(2-吡啶-2-基-苯甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-3-甲酸-1,1-二甲基胍

步骤 h) 根据实施例 8 所示方法, 用 1,1-二甲基胍处理步骤 F 制备的三氯代酮。

实施例 24

10-[2-氯代-4-(8-喹啉基(quinolinoilyl)氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺

喹啉-8-羧酸[4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂萘-10-羰基)-3-氯代-苯基]-酰胺

步骤 a) 用与实施例 19 步骤 19a 和 19b 所述相同的方法, 制备实施例 24 的化合物。在步骤 19a 中, 用喹啉-8-羧酸代替 2-溴代苯甲酸。得到为白色粉末的目标化合物(0.69g), mp 230-231 °C。

$C_{29}H_{21}ClN_4O_2 + 0.33H_2O$ 分析计算值: C, 69.81; H, 4.38; N, 11.23。

实测值: C, 69.81; H, 4.09; N, 11.14。

喹啉-8-羧酸-4-[3-(三氯代羰基)(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基)-3-氯代-苯基]-酰胺

步骤 b) 根据实施例 1 步骤 a 所示方法, 将步骤 A 的产物转化为相应的三氯代酮。

10-[2-氯代-4-(8-喹啉甲酰氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸

步骤 c) 根据实施例 1 步骤 b 所示方法, 将步骤 B 制备的三氯代酮水解为目标酸。

10-[2-氯代-4-(8-喹啉基氨基)-苯甲酰基]-10,11-二氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-3-甲酸-哌嗪-N-甲基酰胺

步骤 d) 根据实施例 9 的方法 B, 将步骤 c 制备的酸转化为 N-甲基哌嗪酰胺。

实施例 25

2-苯基-环戊-1-烯甲酸[3-氯代-4-(3-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-甲基-酰胺-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基)-苯基]-酰胺

步骤 a) [2-苯基-环戊-1-烯羧酸]

将氢氧化钠(1N, 10.7 ml, 11.8 mmol)加至回流的 2-苯基-环戊-1-烯羧酸甲酯(2.32g, 10.7 mmol)(Lin 等, J. Chin. Chem. Soc., 1993, 40, 273-282)的甲醇(40ml)溶液中。将该反应物回流 2 小时。真空去除挥发物, 式残留物分配于乙酸乙酯和盐酸(1N)之间。用乙酸乙酯再萃取水层, 合并有机萃取物, 干燥(硫酸镁)。真空蒸发溶液得到淡黄色固体, 使其从丙酮/己烷中重结晶得到白色固体(1.27g), mp 145-146 °C。

$C_{12}H_{12}O_2$ 分析计算值: C, 76.57; H, 6.43; N,

实测值: C, 76.47; H, 6.35; N,

步骤 b) 2-苯基-环戊-1-烯碳酰氯

通过注射器向 2-苯基-环戊-1-烯羧酸(0.43g, 2.28 mmol)的二氯甲烷(20ml)溶液中加入二甲基甲酰胺(1 滴), 然后加入纯品草酰氯(0.4ml, 4.56 mmol)。于室温下, 将该反应物搅拌 2 小时, 然后真空去除挥发物。将残留物再溶于二氯甲烷中, 真空浓缩, 在高真空下干燥 15 分钟, 得到琥珀色油状物, 将其不经进一步纯化直接用于下一步骤。

步骤 c) 2-苯基-环戊-1-烯羧酸[4-(5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羧基)-3-氯代-苯基]-酰胺

将实施例 25 步骤 b 的产物 2-苯基-环戊-1-烯碳酰氯溶于二氯甲烷(20ml)中, 于室温下加至 10,11-二氢-10-(2-氯代-4-氨基苯甲酰基)-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草(0.77g, 2.28 mmol)、4-二甲基氨基吡啶(催化量)的二氯甲烷(20ml)溶液中。然后通过注射器加入三乙胺(0.38ml, 2.74 mmol)。将该反应物搅拌 16 小时, 用二氯甲烷稀释, 用碳酸氢钠、盐酸(1N)和盐水洗涤。干燥(硫酸镁)二氯甲烷溶液, 真空浓缩得到黄色固体。经快速层析纯化(洗脱溶剂氯仿/甲醇 50/1 和己烷/乙酸乙酯 2/1), 得到白色固体(0.70g), mp 121-122 °C。

$C_{31}H_{26}ClN_3O_2$ 分析计算值: C, 73.29; H, 5.16; N, 8.27。

实测值: C, 73.18; H, 5.02; N, 8.11。

2-苯基-环戊-1-烯甲酸[3-氯代-4-(3-三氯代羧基)-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羧基)-苯基]-酰胺

步骤 d) 根据实施例 1 步骤 A 所示方法, 将步骤 C 的产物转化为相应的三氯代酮。

2-苯基-环戊-1-烯甲酸[3-氯代-4-(3-羧酸-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂草-10-羧基)-苯基]-酰胺

步骤 e) 根据实施例 1 步骤 B 所示方法, 将步骤 D 制备的三氯代酮水解为目标酸。

2-苯基-环戊-1-烯甲酸[3-氯代-4-(3-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-甲

基-酰胺-5H,11H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂革-10-羰基)-苯基]-酰胺
步骤 f) 根据实施例 10 所示方法, 使上述步骤 e 制备的酸反应制备目标酰胺。

对在实验前(但在不是在实验中)可以自由饮水的清醒大鼠中内源性精氨酸血管加压素抗利尿(V_2)反应的拮抗作用的影响

给雄性或雌性血压正常的 Sprague-Dawley 大鼠(Charles River Laboratories, Inc., Kingston, NY)(体重 400-450g)供应 Laboratory Rodent 食料 5001 号(PMI Feeds, Inc., Richmond, IN), 水随意。在实验当天, 将大鼠单独置于配有不锈钢网(以分离粪便和尿)和收集尿的漏斗的代谢笼中。以各种口服剂量给予溶媒或参照药物。在试验过程中, 不给大鼠提供水或食物。给予受试化合物后收集尿 4 小时。4 小时后, 测定尿体积。用 Fiske One-Ten 渗透压计(Fiske Associates, Norwood, MA, 02062)或 Advanced CRYOMATIC 渗透压计(3C2 型, Advanced Instruments, Norwood, MA)测定尿重量摩尔渗透压浓度。 Na^+ 、 K^+ 和 Cl^- 离子的测定用 Beckman SYNCHRON EL-ISE Electrolyte System analyzer 离子特异性电极进行。在下列结果中, 相对于 AVP-对照尿体积增加和重量摩尔渗透压浓度降低表明有活性。本发明代表性化合物的该实验结果列于表 5 中。

与用表达人 V_2 血管加压素受体的 cDNA 转染的小鼠成纤维细胞系(LV-2)细胞膜的结合

细胞膜的制备

吸出含有生长至汇合的贴壁细胞的 175ml 容量的烧瓶中的培养液。用 2 x 5ml 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤含有贴壁细胞的烧瓶, 每次吸出液体。最后, 加入 5ml 不含酶的 Hank 氏基的溶液(Specialty Media, Inc., Lafayette, NJ), 使烧瓶静置 2 分钟。将所有烧瓶中的内容物倾至离心管中, 于 300 x g 使细胞沉淀 15 分钟。吸出 Hank 氏基溶液, 将细胞在含有 0.25M 蔗糖和 1.0mM EDTA、pH 为 7.4 的 10.0mM

Tris.HCl 缓冲液中, 用 polytron 匀化 10 秒钟, 设置为 6 号。将匀浆于 1500 x g 离心 10 分钟以去除空胞膜。将上清液于 100,000 x g 离心 60 分钟以沉淀受体蛋白。离心后, 将该沉淀再悬浮于少量的 pH 为 7.4 的 50.0mM Tris.HCl 缓冲液中。用 Lowry 法测定蛋白含量, 将受体膜悬浮于含有 0.1mM 苯基甲基磺酰氟(PMSF)和 0.2%牛血清清蛋白(BSA)的 50.0 mM Tris.HCl 缓冲液中, 使每毫升悬浮液中含有 2.5mg 受体蛋白。

受体结合

在进行结合实验时, 将下列物质以毫升为单位加至微量滴定板的 96 孔内: 含有 0.2%热灭活的 BSA、 10.0 mM 氯化镁和下列蛋白酶抑制剂的 100.0ml 的 100.0 mM Tris.HCl 缓冲液: 亮抑蛋白酶肽, 1.0 mg %; 抑酶肽, 1.0 mg %; 1,10-二氮杂菲, 2.0mg %; 胰蛋白酶抑制剂, 10.0mg%和 0.1mM PMSF; 20.0ml [³H]精氨酸⁸, 血管加压素(S. A. 75.0Ci/ mmol)0.8nM, 并加入 80.0ml 组织膜(200.0mg 组织蛋白)开始反应。将所述滴定板置于桌面上静置 120 分钟以达到平衡。非特异性结合在 1.0mM 未标记的配体(以体积 20ml 加入)存在下测定。对于受试化合物而言, 将其溶于 50%二甲基亚砷(DMSO)中, 以体积 20.0ml 加入, 至最终孵化体积为 200ml。结合完成后, 用 Brandel[®]细胞捕获仪(Gaithersburg, MD)过滤收集每孔的内容物。由配体-受体配合物捕获于滤膜上的放射活性在 Packard LS 计数器上液体闪烁计数测定, 氚的效能为 65%。用 LUNDON-2 的竞争程序(LUNDON SOFTWARE, OH)分析数据得到 IC₅₀ 值。

本发明的代表性化合物在该实验中的结果示于表 5 中。

表 5

大鼠尿体积数据*和与用表达人 V₂ 受体的 cDNA 转染的小鼠成纤维细胞系(LV-2)膜的结合测定

实施例号	尿体积(ml/4hr)	血管加压素人 V ₂
结合受体	10mg/kg 大鼠口服	nM
实施例 1	13.2	14
实施例 2	11.5	
实施例 3	22	15
实施例 4	9.2	60
实施例 5	9.1	60
实施例 6		5.6
实施例 7	19.2	4.3
实施例 8	40.9	8.6
实施例 9	23.7	3.3
实施例 10	22.2	5.5
实施例 11	20.5	9.3
实施例 12	21.4	
实施例 13	16.8	
实施例 14	11.3	
实施例 15	19.3	10.7
实施例 16	24.3	
实施例 17	9.4	
实施例 18	7.8	7.6

*口服给予大鼠 10mg/kg 剂量后 4 小时产生的尿体积