

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02826139.9

[51] Int. Cl.

C07D 403/14 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/4166 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07D 241/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2006 年 12 月 20 日

[11] 授权公告号 CN 1290844C

[51] Int. Cl. (续)

C07D 209/00 (2006.01)

C07D 207/00 (2006.01)

[22] 申请日 2002.12.20 [21] 申请号 02826139.9

[30] 优先权

[32] 2001.12.27 [33] US [31] 60/343,746

[32] 2001.12.27 [33] US [31] 60/343,813

[86] 国际申请 PCT/US2002/041252 2002.12.20

[87] 国际公布 WO2003/057690 英 2003.7.17

[85] 进入国家阶段日期 2004.6.25

[73] 专利权人 施万制药

地址 美国加利福尼亚

[72] 发明人 J·H·格里芬 R·布里泽维兹

J·W·雷

审查员 李亚林

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利

商标事务所

代理人 郭建新

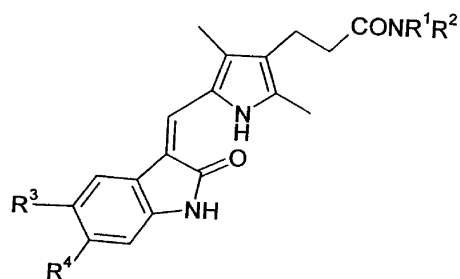
权利要求书 5 页 说明书 30 页

[54] 发明名称

用作蛋白激酶抑制剂的二氢吡啶酮衍生物

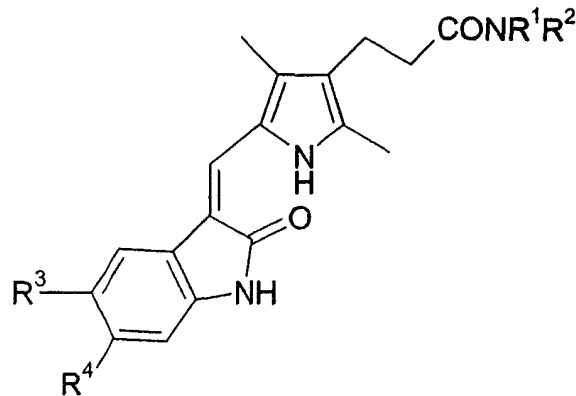
[57] 摘要

式(I)的化合物, 其中, R^1 , R^2 , R^3 和 R^4 具有说明书中给定的含义, 是适用于处理增生障碍(例如, 癌)的受体酪氨酸激酶抑制剂。



(I)

1. 式(I)的化合物:



(I)

其中:

(i) R^1 表示氢原子或(1-4C)烷基; 而且 R^2 表示式 $-A^1-NR^5R^6$ 的基, 其中, R^5 和 R^6 各自独立表示氢原子或(1-4C)烷基, 而且 A^1 表示 $(CH_2)_m$, $(CH_2)_n-A^2-(CH_2)_p$ 或 $(CH_2CH_2O)_qCH_2CH_2$, 其中, m 是 2 ~ 10 的整数, n 和 p 各自是 1 ~ 6 的整数, A^2 是 $CH=CH$, 亚苯基, 亚联苯基, 亚环己基或亚哌嗪基, 而且, q 是 1, 2 或 3;

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-A^3-NR^7-A^4-$, 其中, A^3 和 A^4 各自独立表示 $(CH_2)_r$ 或 $(CH_2CH_2O)_sCH_2CH_2$, 其中, r 是 2 ~ 6 的整数, s 是 1, 2 或 3, 而且 R^7 表示氢原子或(1-4C)烷基;

(iii) R^1 和 R^2 与它们连接的氮原子一起表示哌啶基, 该哌啶基在 4 位具有一个式 $-A^5-R^8$ 的取代基, 其中, A^5 表示(1-4C)亚烷基, 而且 R^8 表示哌啶-4-基; 或者

(iv) R^1 和 R^2 与它们连接的氮原子一起表示吡咯烷基, 哌啶基或吗啉代基; 以及

R^3 和 R^4 各自独立表示氢原子, 卤原子, (1-4C)烷基, (1-4C)烷氧基, 未取代的或者被一个或两个独立选自卤原子、(1-4C)烷基和(1-4C)烷氧基的取代基取代的苯基, 式 $R^8S(O)_2NR^9-$ 的基, 式 $R^{10}N(R^{11})S(O)_2-$ 的基, 式 $R^{12}C(O)N(R^{13})-$ 的基或式 $R^{14}N(R^{15})C(O)-$ 的基, 其中, R^8 , R^{10} ,

R^{12} 和 R^{14} 各自独立表示 (1-4C) 烷基或者未取代的或被一个或两个独立选自卤原子、(1-4C) 烷基和 (1-4C) 烷氧基的取代基取代的苯基, 而且, R^9 , R^{11} , R^{13} 和 R^{15} 各自独立表示氢原子或 (1-4C) 烷基;

或其药物上可接受的盐。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中:

(i) R^1 表示甲基; 而且 R^2 表示式 $-A^1-NR^5R^6$ 的基, 其中, R^5 表示氢原子, R^6 表示甲基, 而且 A^1 表示 $(CH_2)_m$, 其中, m 是 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 或 10; $(CH_2)_n-A^2-(CH_2)_p$, 其中, n 和 p 各自是 1, 而且, A^2 是 $CH=CH$, 1, 3-亚苯基, 1, 4-亚苯基, 2, 2'-亚联苯基或 1, 3-亚环己基; $(CH_2)_n-A^2-(CH_2)_p$, 其中, n 和 p 各自是 2, 而且, A^2 是 1, 4-亚哌嗪基; 或者 $(CH_2CH_2O)_qCH_2CH_2$, 其中, q 是 2 或 3;

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_3)-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_2CH_3)-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_3-$, $-(CH_2CH_2O)_2CH_2CH_2-NH-(CH_2CH_2O)CH_2CH_2-$; 或者

(iii) R^1 和 R^2 与它们连接的氮原子一起表示哌啶基, 该哌啶基在 4 位具有一个式 $-A^5-R^8$ 的取代基, 其中, A^5 表示亚丙基, 而且 R^8 表示哌啶-4-基。

3. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其中, R^3 和 R^4 各自独立表示氢原子、溴原子、 $CH_3C(O)NH$ 或 $C_6H_5C(O)NH$ 。

4. 权利要求 1 的化合物, 其中,

(i) R^1 表示甲基, 而且 R^2 表示式 $-A^1-NHCH_3$ 的基, 其中, A^1 表示 $(CH_2)_m$, $CH_2CH=CHCH_2$, CH_2 -亚苯基- CH_2 , 或 CH_2 -亚环己基- CH_2 , 其中, m 是 2~8 的整数; 或者

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_3)-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_2CH_3)-(CH_2)_2-$ 或 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_3-$; 以及

R^3 和 R^4 各自独立是氢。

5. 权利要求 4 的化合物, 其中,

(i) R^1 表示甲基, 而且 R^2 表示式 $-A^1-NHCH_3$ 的基, 其中, A^1 表示 $(CH_2)_m$, $CH_2CH=CHCH_2$, 或 $CH_2-(1,4\text{-亚苯基})-CH_2$, 其中, m 是 2 或 3; 或者

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_3)-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_2CH_3)-(CH_2)_2-$ 或 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_3-$ 。

6. 权利要求 1 的化合物, 它选自下列化合物:

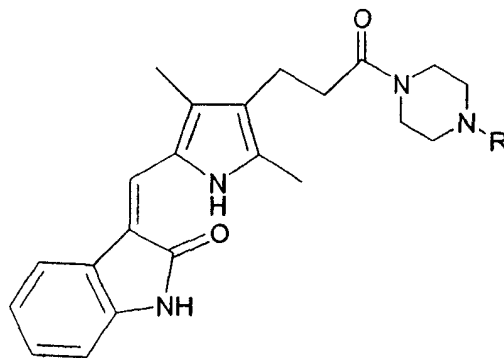
3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌嗪-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮;

3-[3,5-二甲基-4-[3-氧代-3-(4-乙基)哌嗪-1-基丙基]-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮;

3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-高哌嗪-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮;

及其药物上可接受的盐。

7. 权利要求 1 的化合物, 它是式 (I a) 的化合物:



(Ia)

其中, R 是氢, 甲基或乙基;
或其药物上可接受的盐。

8. 权利要求 7 的化合物, 它选自下列化合物:

3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌嗪-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮;

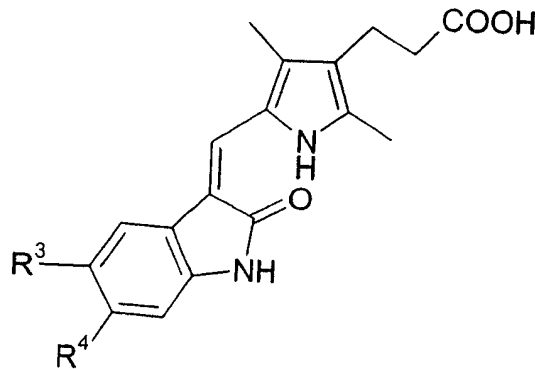
3-[3,5-二甲基-4-[3-氧代-3-(4-乙基)哌嗪-1-基丙基]-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮;

及其药物上可接受的盐。

9. 权利要求 8 的化合物, 它是 3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌嗪-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮或其药物上可接受的盐。

10. 一种制备权利要求 1 ~ 9 任一项的化合物的方法, 它包括:

(a) 将式 (II) 的化合物



(II)

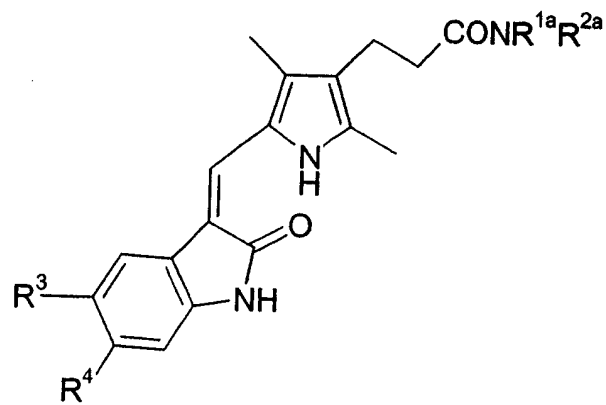
或其活性衍生物, 与式 (III) 的化合物



(III)

或其盐反应, 其中, R^1 , R^2 , R^3 和 R^4 如权利要求 1 中定义, 或者

(b) 对于其中 R^5 或 R^7 表示氢原子的式 (I) 化合物, 将式 (IV) 的化合物去保护



(IV)

其中，R^{1a}和R^{2a}如权利要求1中关于R¹和R²的定义，不同的是，R⁵或R⁷分别被基R^{5a}或R^{7a}代替，其中，R^{5a}和R^{7a}各自表示胺保护基，而且R³和R⁴如权利要求1中定义；

如果需要药物上可接受的盐，随后形成药物上可接受的盐。

11. 一种药物组合物，它包含治疗有效量的权利要求1~9任一项的化合物，以及药物上可接受的稀释剂或载体。

12. 权利要求1~9任一项的化合物在生产用来处理响应酪氨酸激酶抑制剂的状况的药物中的应用。

13. 一种用于处理响应酪氨酸激酶抑制剂的状况的药物组合物，它包含权利要求1~9任一项的化合物。

用作蛋白激酶抑制剂的二氢吡啶酮衍生物

发明领域

本发明涉及适用作药物的新型二氢吡啶酮衍生物，制备该化合物的方法，适用于制备该化合物的中间体，包含该化合物的药物组合物，以及该化合物作为药物的应用。

发明背景

WO 96/40116 公开了，某些吡咯取代的 2-二氢吡啶酮衍生物是适用于处理响应受体酪氨酸激酶抑制剂的状况（例如，诸如癌症这样的增生障碍）的受体酪氨酸激酶抑制剂。第 17 页公开的一种优选的化合物是 3-(2,3-二甲基吡咯-5-基)亚甲基]-2-二氢吡啶酮（也称为 SU5416）。遗憾的是，发现该化合物表现出差的水溶性以及经口和静脉内施用时的生物利用率。

WO 99/61422 进一步公开了作为受体酪氨酸激酶抑制剂的、吡咯取代的 2-二氢吡啶酮衍生物。第 214 页作为化合物 5 公开的一种优选化合物是 3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢亚吡啶-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]丙酸（也称为 SU6668）。发现这个化合物比 SU5416 具有更好的经口活性，但据报导缺乏那个化合物抑制受体酪氨酸激酶 Flt-3 的能力（摘要 497，Anne-Marie O'Farrell 等，美国血液学协会会员会议（America Society of Hematology Meeting），Orlando, Florida, USA, 2001 年 12 月 7 ~ 11 日）。Flt-3 是酪氨酸激酶抑制剂的一个重要的靶，特别是对于处理急性骨髓白血病（AML），因为已发现约 30% 的 AML 患者具有 Flt-3 的突变形式，它们导致 Flt-3 的组成型酪氨酸磷酸化 [Levis 等，血液 (Blood), 2001 年 8 月 1 日，Vol. 98, No. 3, pp885 ~ 887]。

WO 01/60814 公开了作为受体酪氨酸激酶抑制剂的吡咯取代的 2-

二氢吡啶酮衍生物,它们具有一些与吡咯环直接连接的酰氨基取代基。

WO 02/055517 公开了在 4 位被芳基取代基取代的二氢吡啶酮类,它们表现出蛋白激酶调节能力。

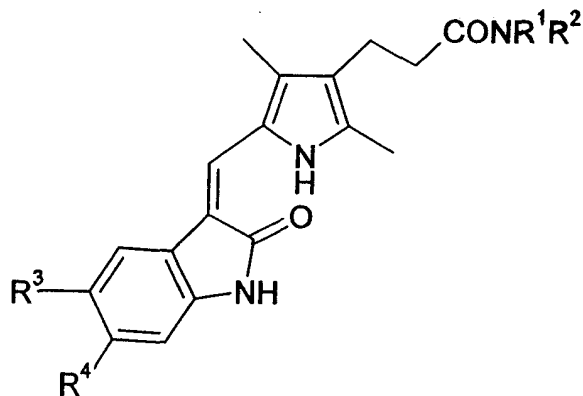
WO 01/42243 公开了,一些含有两个或更多个吡咯取代的 2-二氢吡啶酮基(它们通过每个吡咯的 3 位由一个或多个连接基共价连接在一起)的化合物也适用作受体酪氨酸激酶抑制剂。

不过,鉴于响应受体酪氨酸激酶抑制剂的状况的严重性和近来对于特异性激酶抑制剂靶的鉴定,仍需要具有不同性能的新型受体酪氨酸激酶抑制剂。

发明概述

现已发现了,在吡咯上的 4 位具有一些酰胺基乙基的吡咯取代 2-二氢吡啶酮衍生物是具有特别需要的性能的受体酪氨酸激酶抑制剂。

因此,本发明提供了式(I)的化合物:



其中:

(I)

(i) R^1 表示氢原子或 (1-4C) 烷基; 而且 R^2 表示式 $-A^1-NR^5R^6$ 的基, 其中, R^5 和 R^6 各自独立表示氢原子或 (1-4C) 烷基, 而且 A^1 表示 $(CH_2)_m$, $(CH_2)_n-A^2-(CH_2)_p$ 或 $(CH_2CH_2O)_qCH_2CH_2$, 其中, m 是 2 ~ 10 的整数, n 和 p 各自是 1 ~ 6 的整数, A^2 是 $CH=CH$, 亚苯基, 亚联苯基, 亚环己基或亚哌嗪基, 而且, q 是 1, 2 或 3;

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-A^3-NR^7-A^4-$, 其中, A^3 和 A^4 各自独立表示 $(CH_2)_r$, 或 $(CH_2CH_2O)_sCH_2CH_2$, 其中, r 是 2 ~ 6 的整数, s 是 1, 2 或 3, 而且

R^7 表示氢原子或 (1-4C) 烷基;

(iii) R^1 和 R^2 与它们连接的氮原子一起表示哌啶基, 该哌啶基在 4 位具有一个式 $-A^5-R^8$ 的取代基, 其中, A^5 表示 (1-4C) 亚烷基, 而且 R^8 表示哌啶-4-基; 或者

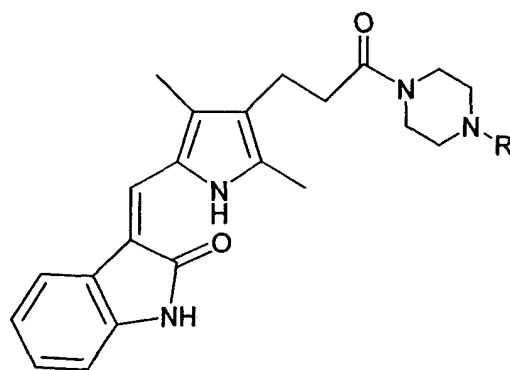
(iv) R^1 和 R^2 与它们连接的氮原子一起表示吡咯烷基, 哌啶基或吗啉代基; 以及

R^3 和 R^4 各自独立表示氢原子, 卤原子, (1-4C) 烷基, (1-4C) 烷氧基, 未取代的或者被一个或两个独立选自卤原子, (1-4C) 烷基和 (1-4C) 烷氧基的取代基取代的苯基, 式 $R^9S(O)_2NR^{10}$ -的基, 式 $R^{11}N(R^{12})S(O)_2$ -的基, 式 $R^{13}C(O)N(R^{14})$ -的基或式 $R^{15}N(R^{16})C(O)$ -的基, 其中, R^9 , R^{11} , R^{13} 和 R^{15} 各自独立表示 (1-4C) 烷基或者未取代的或被一个或两个独立选自卤原子, (1-4C) 烷基和 (1-4C) 烷氧基的取代基取代的苯基, 而且, R^{10} , R^{12} , R^{14} 和 R^{16} 各自独立表示氢原子或 (1-4C) 烷基;

或其药物上可接受的盐。

发现了式 (I) 的化合物是全细胞分析中受体酪氨酸激酶 PDGFR (血小板衍生的生长因子), c-Kit, VEGFR (血管内皮生长因子) 和 Flt-3 中一个或多个的有效和选择性的抑制剂。

本发明还提供了式 (Ia) 的化合物:



其中, R 是氢, 甲基或乙基;

(Ia)

或其药物上可接受的盐。

本发明还提供了包含本发明化合物或其药物上可接受的盐和药物上可接受的载体的药物组合物。

此外, 本发明提供了一种处理响应酪氨酸激酶抑制剂的状况的方

法，该方法包括对需要处理的患者施用有效量的本发明化合物。

另外，本发明提供了如本文所述用于医疗的本发明化合物，以及本发明的化合物在生产用于处理响应酪氨酸激酶抑制剂的疾病或状况的制剂或药剂中的应用。

详细描述

本发明提供了新型吡咯取代的 2-二氢吡啶衍生物，它们在吡咯环的 4 位被酰胺基乙基取代基取代了。

如本文应用的术语烷基或亚烷基表示支化或非支化的基。然而，具体的基的名称，例如，乙基，亚乙基，丙基，亚丙基，丁基或亚丁基，都表示非支化的基，否则另外说明，例如，丙-2-基。烷基的实例有甲基，乙基，丙基，丙-2-基和丁基。亚烷基的实例有亚甲基，亚乙基，亚丙基和亚丁基。

术语卤原子包括氟，氯和溴。

术语“治疗有效量”表示当对需要处理的患者施用时足以进行处理的量。

如本文应用的术语“处理”表示对例如哺乳动物(特别是人)这样的患者的疾病或医疗状况的处理，而且包括：

- (a) 预防疾病或医疗状况的发生，即，患者的预防性处理；
- (b) 缓解疾病或医疗状况，即，消除患者的疾病或医疗状况或引起其消退；
- (c) 抑制疾病或医疗状况，即，减慢或阻止患者的疾病或医疗状况进展；或者
- (d) 缓解患者的疾病或医疗状况的症状。

术语“药物上可接受的盐”表示从可对患者(例如，哺乳动物)施用的碱或酸制备的盐。这样的盐可得自药物上可接受的无机或有机酸。

得自药物上可接受的酸的盐包括乙酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、谷氨酸盐、

氢溴酸盐、盐酸盐、乳酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、粘酸盐、硝酸盐、泛酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、对甲苯磺酸盐、昔萘酸(1-羟基-2-萘甲酸)盐等。特别优选的是得自富马酸、氢溴酸、盐酸、乙酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、昔萘酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、马来酸、琥珀酸和苯甲酸的盐。

式(I)的化合物一个优选的亚组是, 其中:

(i) R^1 表示氢原子或(1-4C)烷基; 而且 R^2 表示式 $-A^1-NR^5R^6$ 的基, 其中, R^5 和 R^6 各自独立表示氢原子或(1-4C)烷基, 而且 A^1 表示 $(CH_2)_m$, $(CH_2)_n-A^2-(CH_2)_p$ 或 $(CH_2CH_2O)_qCH_2CH_2$, 其中, m 是 2 ~ 10 的整数, n 和 p 各自是 1 ~ 6 的整数, A^2 是 $CH=CH$, 亚苯基, 亚联苯基, 亚环己基或亚哌嗪基, 而且, q 是 1, 2 或 3;

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-A^3-NR^7-A^4-$, 其中, A^3 和 A^4 各自独立表示 $(CH_2)_r$ 或 $(CH_2CH_2O)_sCH_2CH_2$, 其中, r 是 2 ~ 6 的整数, s 是 1, 2 或 3, 而且 R^7 表示氢原子或(1-4C)烷基; 或者

(iii) R^1 和 R^2 与它们连接的氮原子一起表示哌啶基, 该哌啶基在 4 位具有一个式 $-A^5-R^8$ 的取代基, 其中, A^5 表示(1-4C)亚烷基, 而且 R^8 表示哌啶-4-基。

发现了属于上述优选的亚组的化合物表现出良好的水溶性和经口施用良好的吸收。

在该亚组化合物中, 优选的是,

(i) R^1 表示氢原子或(1-4C)烷基; 而且 R^2 表示式 $-A^1-NR^5R^6$ 的基, 其中, R^5 和 R^6 各自独立表示氢原子或(1-4C)烷基, 而且 A^1 表示 $(CH_2)_m$, $(CH_2)_n-A^2-(CH_2)_p$ 或 $(CH_2CH_2O)_qCH_2CH_2$, 其中, m 是 2 ~ 10 的整数, n 和 p 各自是 1 ~ 6 的整数, A^2 是 $CH=CH$, 1, 3-亚苯基, 1, 4-亚苯基, 2, 2'-亚联苯基, 1, 3-亚环己基或 1, 4-亚哌嗪基, 而且, q 是 1, 2 或 3;

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-A^3-NR^7-A^4-$, 其中, A^3 和 A^4 各自独立表示 $(CH_2)_r$ 或 $(CH_2CH_2O)_sCH_2CH_2$, 其中, r 是 2 ~ 6 的整数, s 是 1, 2 或 3, 而且 R^7 表示氢原子或(1-4C)烷基; 或者

(iii) R^1 和 R^2 与它们连接的氮原子一起表示哌啶基, 该哌啶基在 4 位具有一个式 $-A^5-R^8$ 的取代基, 其中, A^5 表示 (1-4C) 亚烷基, 而且 R^8 表示哌啶-4-基。

优选地,

(i) R^1 表示甲基; 而且 R^2 表示式 $-A^1-NR^5R^6$ 的基, 其中, R^5 表示氢原子, R^6 表示甲基, 而且 A^1 表示 $(CH_2)_m$, $(CH_2)_n-A^2-(CH_2)_p$ 或 $(CH_2CH_2O)_qCH_2CH_2$, 其中, m 是 2 ~ 10 的整数, n 和 p 各自是 1 或 2, A^2 是 $CH=CH$, 1, 3-亚苯基, 1, 4-亚苯基, 2, 2'-亚联苯基, 1, 3-亚环己基或 1, 4-亚哌嗪基, 而且, q 是 1, 2 或 3;

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-A^3-NR^7-A^4-$, 其中, A^3 和 A^4 各自独立表示 $(CH_2)_r$ 或 $(CH_2CH_2O)_sCH_2CH_2$, 其中, r 是 2 ~ 6 的整数, s 是 1 或 2, 而且 R^7 表示氢原子或 (1-4C) 烷基; 或者

(iii) R^1 和 R^2 与它们连接的氮原子一起表示哌啶基, 该哌啶基在 4 位具有一个式 $-A^5-R^8$ 的取代基, 其中, A^5 表示亚丙基, 而且 R^8 表示哌啶-4-基。

更优选地,

(i) R^1 表示甲基; 而且 R^2 表示式 $-A^1-NR^5R^6$ 的基, 其中, R^5 表示氢原子, R^6 表示甲基, 而且 A^1 表示 $(CH_2)_m$, 其中, m 是 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 或 10; $(CH_2)_n-A^2-(CH_2)_p$, 其中, n 和 p 各自是 1, 而且, A^2 是 $CH=CH$, 1, 3-亚苯基, 1, 4-亚苯基, 2, 2'-亚联苯基或 1, 3-亚环己基; $(CH_2)_n-A^2-(CH_2)_p$, 其中, n 和 p 各自是 2, 而且, A^2 是 1, 4-亚哌嗪基; 或者 $(CH_2CH_2O)_qCH_2CH_2$, 其中, q 是 2 或 3;

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_3)-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_2CH_3)-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_3-$, 或 $-(CH_2CH_2O)_2CH_2CH_2-NH-(CH_2CH_2O)CH_2CH_2-$, 或者

(iii) R^1 和 R^2 与它们连接的氮原子一起表示哌啶基, 该哌啶基在 4 位具有一个式 $-A^5-R^8$ 的取代基, 其中, A^5 表示亚丙基, 而且 R^8 表示哌啶-4-基。

特别优选的一个亚组的化合物是, 其中, R^1 表示甲基, 而且 R^2 表

示式 $-A^1-NR^5R^6$ 的基，其中， R^5 表示氢原子， R^6 表示甲基，而且 A^1 表示 $(CH_2)_m$ 或 $CH_2-CH=CH-CH_2$ ，其中， m 是2~6的整数。

发现了属于该亚组的化合物作为上述受体酪氨酸激酶中一种或多种的抑制剂表现出特别好的效能。

在该亚组中，优选地， A^1 表示 $(CH_2)_m$ 或 $CH_2-CH=CH-CH_2$ ，其中， m 是2, 3或4。

更优选地， A^1 表示 $(CH_2)_2$ 、 $(CH_2)_3$ 或 $CH_2-CH=CH-CH_2$ 。

特别优选的是这样的化合物，其中， A^1 表示 $(CH_2)_2$ 。

另一优选的亚组的化合物是，其中，

R^1 和 R^2 一起表示 $-A^3-NR^7-A^4-$ ，其中， A^3 和 A^4 各自独立表示 $(CH_2)_r$ 或 $(CH_2CH_2O)_sCH_2CH_2$ ，其中， r 是2~6的整数， s 是1, 2或3，而且 R^7 表示氢原子或(1-4C)烷基。

同样发现了属于该亚组的化合物表现出特别好的效能。

在该亚组中，优选地， R^1 和 R^2 一起表示 $-(CH_2)_2-NR^7-(CH_2)_2-$ 或 $-(CH_2)_2-NR^7-(CH_2)_3-$ ，特别是 $-(CH_2)_2-NR^7-(CH_2)_2-$ 。

R^7 的特定基团实例是氢、甲基、乙基、丙基、丙-2-基和丁基。

其中 R^7 表示氢的化合物是特别优选的。

至于 R^3 和 R^4 ，具体的基团实例是：

氢；

关于卤原子：氟，氯或溴，特别是溴；

关于(1-4C)烷基：甲基；

关于(1-4C)烷氧基：甲氧基；

关于未取代的或取代的苯基：苯基；

关于 R^8 ， R^{10} ， R^{12} 和 R^{14} ：甲基或苯基；

关于 R^9 ， R^{11} ， R^{13} 和 R^{15} ：氢；以及

关于式 $R^{12}C(O)N(R^{13})-$ 的基： $CH_3C(O)NH-$ 和 $C_6H_5C(O)NH-$ 。

优选的是， R^3 和 R^4 各自独立表示氢原子、溴原子、 $CH_3C(O)NH-$ 或 $C_6H_5C(O)NH-$ 。更优选的是， R^3 和 R^4 各自独立表示氢原子。

另一优选组的式(I)化合物是这样的化合物，其中：

(i) R^1 表示甲基, 而且 R^2 表示式 $-A^1-NHCH_3$ 的基, 其中, A^1 表示 $(CH_2)_m$, $CH_2CH=CHCH_2$, CH_2 -亚苯基- CH_2 , 或 CH_2 -亚环己基- CH_2 , 其中, m 是 2 ~ 8 的整数; 或者

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_3)-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_2CH_3)-(CH_2)_2-$ 或 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_3-$; 以及

R^3 和 R^4 各自独立是氢。

发现了上述亚组的化合物作为一种或多种受体酪氨酸激酶的抑制剂表现出特别好的效能。具体地说, 证实了这类化合物在下述细胞内 Ca^{2+} FLIPR 或免疫沉淀检测中抑制 VEGFR 酪氨酸激酶的 IC_{50} 值小于 1 μM 。

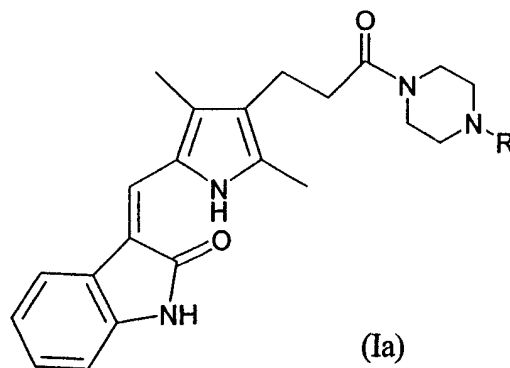
属于上述亚组的一个更优选亚组的化合物是这样的化合物, 其中:

(i) R^1 表示甲基, 而且 R^2 表示式 $-A^1-NHCH_3$ 的基, 其中, A^1 表示 $(CH_2)_m$, $CH_2CH=CHCH_2$, 或 CH_2 -(1,4-亚苯基)- CH_2 , 其中, m 是 2 或 3; 或者

(ii) R^1 和 R^2 一起表示 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_3)-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-N(CH_2CH_3)-(CH_2)_2-$ 或 $-(CH_2)_2-NH-(CH_2)_3-$ 。

证实了属于该更优选亚组化合物的化合物在下述细胞内 Ca^{2+} FLIPR 或免疫沉淀检测中抑制 VEGFR 和 PDGFR 酪氨酸激酶两者的 IC_{50} 值小于 1 μM 。

一个特别优选的亚组的式 (I) 化合物是式 (I a) 的化合物:



其中, R 是氢, 甲基或乙基, 及其药物上可接受的盐。

值得特别提及的式 (I a) 的化合物是:

3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌嗪-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮 和

3-[3,5-二甲基-4-[3-氧代-3-(4-乙基)哌嗪-1-基丙基]-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮。

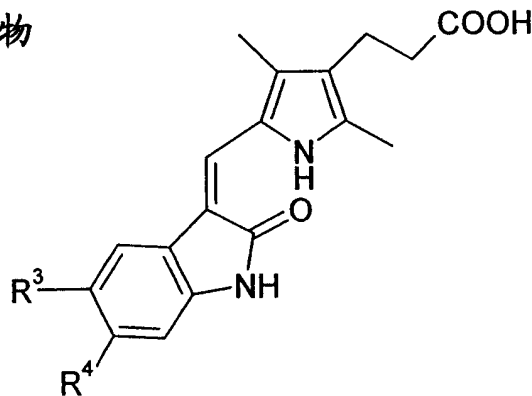
特别优选的是化合物 3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌嗪-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮及其药物上可接受的盐。已发现该化合物是 PDGFR、c-Kit、VEGFR 和 Flt-3 的高效、选择性抑制剂。还发现了它具有高水溶性和经口对大鼠施药时具有优异的吸收性。

特别值得一提的另一种式 (I) 的化合物是 3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-高哌嗪 (homopiperazin)-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮。

式 (I) 的化合物适用作处理增生障碍的受体酪氨酸激酶抑制剂，例如，包括但不限于下列的癌形式：急性骨髓白血病、小细胞肺癌、前列腺癌、胃肠道癌、乳腺癌和脑癌，以及其它增生障碍（例如，再狭窄）。所述化合物还可适用于限制实体瘤的生长。

根据另一方面，本发明提供了制备式 (I) 化合物的方法，它包括：

(a) 将式 (II) 的化合物



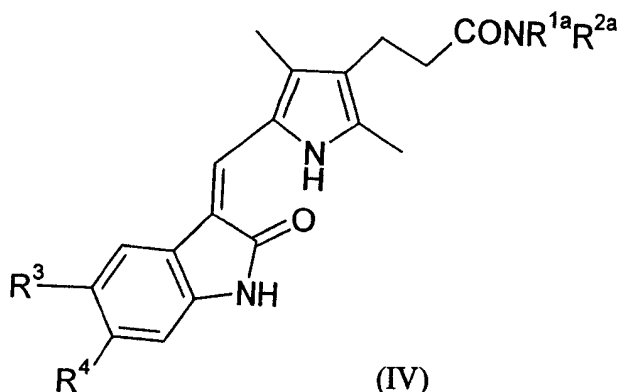
或其活性衍生物，与式 (III) 的化合物^(II)



(III)

或其盐反应，其中， R^1 ， R^2 ， R^3 和 R^4 如前述定义，或者

(b) 对于其中 R^5 或 R^7 表示氢原子的式 (I) 化合物，将式 (IV) 的化合物去保护



其中， R^{1a} 和 R^{2a} 如前述关于 R^1 和 R^2 的定义，不同的是， R^5 或 R^7 分别被 R^{5a} 或 R^{7a} 代替，其中， R^{5a} 和 R^{7a} 各自表示胺保护基，而且 R^3 和 R^4 如前述定义；

如果需要药物上可接受的盐，随后形成药物上可接受的盐。

在方法(a)中，式(II)的化合物与式(III)的化合物的反应可以就便利利用常规酰胺偶合法进行。例如，可在碱(例如，N,N-二异丙基乙胺和1-羟基-7-氮杂苯并三唑(HOAt))存在下，用偶联剂[例如，苯并三唑-1-基-氧基-三吡咯烷基磷六氟磷酸(PyBOP)或邻-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲磷六氟磷酸(HATU)]处理式(II)的酸，接着，添加式(III)的化合物。常规溶剂包括极性非质子有机溶剂(例如，二甲基甲酰胺)。温度就便在 $0 \sim 50^\circ\text{C}$ 范围内。备选地，可将式(II)的化合物转化为酰基卤(例如，酰基氯)，再与式(III)的化合物反应。

在方法(b)中，由 R^{5a} 或 R^{7a} 表示的胺保护基可以是常规胺保护基。胺保护基的实例描述于Greene和Wuts, 有机合成中的保护基(Protecting Groups in Organic Synthesis), 第2版, John Wiley & Sons, NY, 1991 以及McOmie, 有机化学中的保护基(Protecting Groups in Organic Chemistry), Plenum Press, NY, 1973。胺保护基的实例包括酰基, 例如, (1-6C)烷酰基, 例如乙酰基; (1-6C)烷氧羰基, 例如叔丁氧羰基; 以及芳基甲氧基羰基, 例如苄氧羰基; 以及芳基甲基, 例如苄基。

酰基胺保护基可以方便地通过用酸(例如三氟乙酸)处理而除去。

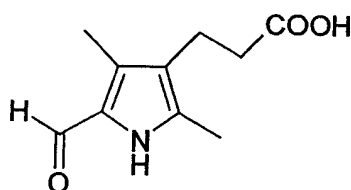
式(IV)的化合物可按照方法步骤(a)的方法, 通过将式(II)的化合物与式(V)的胺反应来制备



(V)

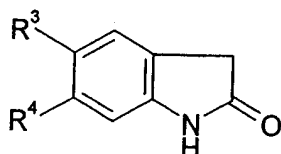
其中， R^{1a} 和 R^{2a} 如前述定义。

式(II)的化合物是已知的，例如，从WO 99/61422得知。它们还可通过将式(VI)的化合物



(VI)

与式(VII)的化合物



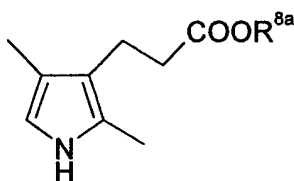
(VII)

反应来制备。

该反应就便在碱(例如哌啶)存在下，在有机溶剂(例如乙醇)中回流下进行。

式(VII)的化合物是已知的，例如，从WO 99/61422得知。

式(VI)的化合物可通过下列方法来制备，即，将式(VIII)的化合物



(VIII)

其中， R^{8a} 表示羧基保护基，例如(1-6C)烷基(例如甲基)，与磷酰氯和二甲基甲酰胺反应，随后除去保护基 R^{8a} ，例如，通过碱解除去。

式(VIII)的化合物可根据附后的实施例中所述方法，通过相应的羧酸(R^{8a} 是氢)来制备。

我们认为本文描述的一些中间体是新型的，例如，式(IV)的化合物。所以这些新型中间体都作为本发明的进一步方面提供。

药物组合物

当用作药物时，通常将以药物组合物形式施用本发明的化合物。所述组合物包含作为活性组分的本发明化合物，以及药物上可接受的稀释剂或载体。可为任何施药途径配制所述组合物，具体地为经口、经直肠、经皮、皮下、静脉内、肌内或鼻内施用。所述组合物可呈任何常规形式配制，例如，作为片剂、胶囊、溶液、悬浮液、分散液、糖浆剂、喷剂、凝胶、栓剂、贴剂和乳液。

用于特定施药方式的适当药物组合物的制备完全在药物领域技术人员的能力范围内。另外，这类组合物的配料是可商购的，例如，可从 Sigma (St. Louis, MO) 商购。作为进一步的阐述，常规配制技术描述于 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第 20 版, Lippincott Williams & White, Baltimore, MD (2000); 以及 H. C. Ansel 等, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 第 7 版, Lippincott Williams & White, Baltimore, MD (1999)。

根据另一方面，本发明提供了一种药物组合物，它包含治疗有效量的式 (I) 化合物或其药物上可接受的盐，以及有药物上可接受的稀释剂或载体。

在一个优选的实施方案中，本发明的药物组合物适合经口施用。适合经口施用的适当药物组合物可呈下列形式：胶囊，片剂，丸剂，锭剂，扁囊剂，糖衣丸，散剂，颗粒剂，或者作为液体中的溶液或悬浮液等；各自包含预定量作为活性组分的本发明化合物。呈片剂形式的组合物可利用任何常用于制备固体组合物的合适的药物载体来制备。这样的载体实例包括硬脂酸镁、淀粉、乳糖、蔗糖、微晶纤维素和粘结剂，例如聚乙烯吡咯烷酮。此外，所述活性化合物可呈控释剂型作为包含亲水性或疏水性基质的片剂配制。

呈胶囊形式的组合物可利用常规包胶方法制备，例如，通过将活性化合物和赋形剂掺入硬明胶胶囊。备选地，可制备活性化合物和高分子量聚乙二醇的半固态基质，再填入硬明胶胶囊；或者可配制活性

化合物在聚乙二醇中的溶液或在食用油中的悬浮液，再填入软明胶胶囊。

在另一个优选的实施方案中，可配制供注射（例如，静脉内注射）的本发明化合物。供静脉内注射的典型组合物由无菌等渗水溶液构成，它包含例如活性化合物和葡萄糖或氯化钠，或者葡萄糖和氯化钠的混合物。合适的赋形剂的其它实例包括乳酸盐林格氏注射液，乳酸盐林格氏加葡萄糖注射液，Normosol-M 和葡萄糖，Isolyte E，乙酰化林格氏注射液等。任选地，可在制剂中包含助溶剂，例如聚乙二醇；螯合剂，例如乙二胺四乙酸；稳定剂，例如环糊精；以及抗氧化剂，例如偏亚硫酸钠。

根据另一方面，本发明提供了用于治疗式(I)化合物或其药物上可接受的盐。

式(I)的化合物适用作受体酪氨酸激酶抑制剂。因此，根据另一方面，本发明提供了式(I)的化合物或其药物上可接受的盐在生产用来处理响应酪氨酸激酶抑制剂的状态的药物中的应用。

根据又一方面，本发明提供了一种用来处理响应酪氨酸激酶抑制剂的状态的药物组合物，它包含式(I)的化合物或其药物上可接受的盐。

本发明还提供了一种用来处理响应酪氨酸激酶抑制剂的状态的方法，它包括对需要处理的患者施用有效量的式(I)化合物或其药物上可接受的盐。

所述患者例如可能是哺乳动物（例如，宠物），而优选是人。

对患者施用的化合物剂量（或有效量）将取决于很多因素，包括使用的具体化合物，被处理的状态的性质和严重性，患者的物种，患者的体重和施药途径。通常，将施用在 0.01-100 $\mu\text{M}/\text{kg}$ 体重范围内的剂量。

下列非限制性的实施例阐释了本发明代表性的药物组合物。

制剂实施例 A

口服硬明胶胶囊制备如下:

<u>配料</u>	<u>量</u>
本发明的化合物	250 mg
乳糖(喷雾干燥的)	200 mg
硬脂酸镁	10 mg

代表性的操作方法: 将配料充分掺合, 然后填入硬明胶胶囊(每颗胶囊 460 mg 组合物)

制剂实施例 B

口服硬明胶胶囊制备如下:

<u>配料</u>	<u>量</u>
本发明的化合物	20 mg
淀粉	89 mg
微晶纤维素	89 mg
硬脂酸镁	10 mg

代表性的操作方法: 将配料充分掺合, 然后通过 No. 45 目美国筛过筛, 再填入硬明胶胶囊(每颗胶囊 200 mg 组合物)

制剂实施例 C

口服胶囊制备如下:

<u>配料</u>	<u>量</u>
本发明的化合物	100 mg
聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯	50 mg
淀粉粉末	250 mg

代表性的操作方法: 将配料充分掺合, 然后填入硬明胶胶囊(每颗胶囊

300 mg 组合物)

制剂实施例 D

口服片剂制备如下:

<u>配料</u>	<u>量</u>
本发明的化合物	250 mg
微晶纤维素	400 mg
热解法二氧化硅	10 mg
硬脂酸	5 mg

代表性的操作方法: 将配料充分掺合, 然后填入硬明胶胶囊 (每颗胶囊 460 mg 组合物)

制剂实施例 E

一种注射制剂配制如下:

<u>配料</u>	<u>量</u>
本发明的化合物	0.2 g
乙酸钠缓冲液 (0.4 M)	400 mg
HCl (0.5 N) 或 NaOH (0.5 N)	适量到 pH 4
水 (蒸馏的, 无菌)	适量到 20 mL

代表性的操作方法: 将上述配料掺合, 再用 0.5 N HCl 或 0.5 N NaOH 调节 pH 到 4 ± 0.5 。

合成实施例

提供了下列合成实施例以阐释本发明, 但不能认为以任何方式限制本发明的范围。

概述

除非另外说明，试剂和溶剂从供应商处获得后直接用。全部反应都在室温下和不完全排除常压下进行(除非另外说明)。离子喷雾质谱(IS-MS)是应用 PE Sciex API 150EX 质谱仪测得的。核磁共振(NMR)谱是在 300 MHz 记录的。化学位移(δ)是在四甲基硅烷的低场以每百万的份数报导的。分析反相 HPLC(RP-HPLC)是应用 2.1 mm \times 50 mm, 3.5 μ m C₁₈ Zorbax Plus Bonus-RP 柱在 HP 1100 装置上进行的。至于分析分离, 0.5 分钟等度洗脱期之后是 0.5 mL/min 的流速下 4.5 分钟 0.1% 三氟乙酸/乙腈(ACN)于 0.1% 水中的梯度。制备性 RP-HPLC 是应用三氟乙酸(TFA)缓冲的 ACN/水梯度在 Varian ProStar 系统上进行的, 分别应用 2.5-或 10 cm \times 25 cm, 8 μ m C₁₈ Rainin Dynamax 柱和 10-或 50 mL/min 的流速。

中间体的制备

中间体 1

2-羧乙基-3,5-二甲基-1H-吡咯-4-羧酸

将 3,5-二甲基-2,4-吡咯二羧酸, 乙醚(200 g, 836 mmol)放入 1 L 烧杯中, 用 400 mL 浓硫酸(H₂SO₄)处理。搅拌混合物, 利用加热枪(heat gun)加热到 45C, 然后保持在 36 ~ 42C 达 25 分钟。将反应混合物倾入 3 L 碎冰中, 搅拌 30 分钟。通过过滤回收黄色固体, 用 200 mL 水洗涤。将固体物转移到 4 L 锥形瓶中, 先后用 2 L 1 N 氢氧化钠溶液(NaOH)和 100 mL 10 N NaOH 处理。将该碱性混合物过滤, 弃去黄色固体残余物。用 H₂SO₄酸化滤液。通过吸滤回收形成的固体, 用 2 \times 500 mL 水洗涤。抽吸干燥后, 将物料转移到 6 L 锥形瓶中, 用 4 L 丙酮中短暂地消化。在室温(RT)下放置一夜后, 通过过滤收集固体, 在真空保干器中干燥而得 139 g, 659 mmol, 79% 的标题化合物。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 4.22(q, 2H), 2.44(s, 3H), 2.38(s, 3H), 1.27(t, 3H)。

中间体 2

2-羧乙基-3,5-二甲基-1H-吡咯

将中间体 1 (137 g, 650 mmol) 放入 500 mL 锥形瓶中, 用乙醇胺 (80 g, 1.3 mol) 处理。然后, 在电热包中将混合物加热到 220C, 经大约 30 分钟形成棕色溶液, 此时气体的放出基本停止。将反应物加热 30 分钟以上, 随后倾入 2 L 冰水中。通过吸滤收集粗产物, 然后在 700 mL 95 % 乙醇 (EtOH) 中消化。将混合物趁热过滤, 将滤液缓慢地冷却到 RT, 再冷却到 -20C。通过吸滤收集形成的晶体, 在真空保干器内干燥而得 75.6 g, 453 mmol, 70 % 标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 5.72 (s, 1H), 4.17 (q, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.25 (t, 3H)。

中间体 3

2-羧乙基-3,5-二甲基-1H-吡咯-4-甲醛

将中间体 2 (75.6 g, 453 mmol) 放入干燥的 1 L 三颈圆底烧瓶中。用无水 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF, 43.8 mL, 566 mmol) 处理该固体。振荡烧瓶使 DMF 分布在固体中。在冰浴中冷却烧瓶, 通过滴液漏斗在 30 分钟内往混合物中添加磷酰氯 (POCl₃, 52.7 mL, 566 mmol)。振荡烧瓶使试剂均匀地分布。然后, 将烧瓶浸入 100C 油浴, 在磁力搅拌下加热 6 小时。在冰水浴中冷却形成的深红色混合物, 用 200 mL 冰水处理, 导致剧烈的放热反应。添加另外 200 mL 冰水后, 用饱和乙酸钠 (NaOAc) 溶液将混合物调节到 pH 5。通过吸滤分离粗产物, 从 700 mL 热的 1:1 EtOH: 水中重结晶而得 65.8 g, 337 mmol, 74 % 深色针状标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9.88 (s, 1H), 4.23 (q, 2H), 2.46 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 1.28 (t, 3H)。

中间体 4

3-(5-羧乙基-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-基) 丙烯酸

将中间体 3 (65.8 g, 337 mmol) 和丙二酸 (39.0 g, 375 mmol) 放入一个 500 mL 单颈圆底烧瓶中, 用 350 mL 绝对 EtOH 处理, 并且使其回流 30 分钟。往形成的深色溶液中添加苯胺 (34.0 mL, 375 mmol), 再次将混合物回流另外 5 小时。在减压下除去溶剂, 用 400 mL 2.5 M 盐酸

(HCl)处理残余物，温热，然后使它冷却到 RT。通过吸滤收集紫色固体物，转移到 1 L 烧杯中，在搅拌下用 250 mL 2N NaOH 处理。将形成的浆状物过滤，用 100 mL 稀碱洗涤固体物。弃去紫色固体物。在冰浴中冷却红色滤液，搅拌，用大约 70 mL 6 M HCl 酸化。通过吸滤收集形成的白色粘稠浆料，用水洗涤，风干而得标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 7.52 (d, 1H), 5.93 (d, 1H), 4.22 (q, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 1.28 (t, 3H)。

中间体 5

3-(2-羧乙基-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-基)丙酸

将中间体 4 溶于 220 mL 2 N NaOH 并与 3.5 g 10% 披钼活性炭合并。在 50 psi 下将混合物氢化 28 小时，然后在硅藻土上抽吸过滤。用 50 mL 水洗涤该硅藻土。将等份滤液蒸发至干，彻底还原成标题化合物是通过 ¹H NMR (D₂O) δ 4.07 (q, 2H), 2.46 (t, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (t, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.13 (t, 3H) 证实的。没有进一步处理而将残余滤液用于下一步。

中间体 6

3-(2,4-二甲基-1H-吡咯-3-基)丙酸

用 30 mL 10 N NaOH 处理来自前一步含中间体 6 的滤液并加热回流 20 小时。酸化等份反应混合物并蒸发至干。通过下列数据的 ¹H NMR (DMSO-d₆) 证实完全水解/脱羧成标题化合物：δ 9.86 (s, 1H), 6.18 (2, 2H), 2.42 (m, 2H), 2.03 (s, 3H), 1.93 (m, 2H), 1.87 (s, 3H)。没有进一步处理而将反应混合物用于下一步。

中间体 7

3-(2,4-二甲基-1H-吡咯-3-基)丙酸甲酯

在 60°C 减压下将来自上一步的中间体 6 溶液浓缩到约 200 mL，在冰水浴中冷却，用大约 50 mL 50% H₂SO₄ 酸化到 pH 2。通过玻璃料过

滤形成的混合物。用 2×100 mL 乙醚 (Et_2O) 提取滤液, 再用 3×100 mL Et_2O 提取残余物。用 2×100 mL 水洗涤合并的红色有机提取液, 转移到 2 L 锥形瓶中, 在搅拌下用 680 mL 重氮甲烷的乙醚溶液处理。在 RT 下搅拌 30 分钟后, 用冰乙酸 (HOAc) 猝灭过量的重氮甲烷。用 2×200 mL 饱和碳酸氢钠 (NaHCO_3) 水溶液提取反应混合物, 在无水硫酸镁 (MgSO_4) 上干燥, 过滤, 再蒸发而给出 52.6 g 粗红色油。通过在 145C 和 0.2 mmHg 压力下鼓泡 (bulb-to-bulb) 蒸馏对其进行纯化而给出标题化合物 (38.4 g, 211 mmol, 63% 从中间体 3 计算的总产率)。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 9.92 (s, 1H), 6.22 (s, 1H), 3.54 (s, 3H), 2.52 (t, 2H), 2.32 (t, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.87 (s, 3H)。

中间体 8

3-(5-甲酰-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-基)丙酸

在一个干燥的 250 mL 三颈圆底烧瓶中添加无水 DMF (13.8 g, 189 mmol)。将其在冰水浴中冷却, 在 10 分钟内滴加 POCl_3 (15.0 mL, 160 mmol) 进行处理。用 120 mL 无水 1,2-二氯乙烷 (DCE) 稀释该混合物, 暖至 RT, 产生淡橙色溶液。在冰盐水浴中将该混合物冷却到 -10C, 此时形成沉淀。在 10 分钟内滴加溶于 30 mL DCE 的中间体 7 (14.5 g, 80.0 mmol)。从冷却浴中移走反应混合物, 在 RT 下搅拌 10 分钟, 然后在 30C 减压下蒸发。用大约 100 mL 甲醇 (MeOH) 将残余物转移到 2 L 烧杯, 用 800 mL 2 N NaOH 处理, 加热到 90C, 随后让它冷却到 RT。用 2×200 mL Et_2O 提取该橙色溶液, 加热到 50C, 用活性炭处理, 冷却到 RT, 再通过硅藻土垫过滤。在冰水浴中将滤液冷却, 用约 120 mL 6 N HCl 酸化到 pH 3。通过吸滤收集形成的固体, 用 3×40 mL 水洗涤, 再风干而给出 11.2 g, 57.0 mmol, 72% 标题化合物, 为带棕色的粉末。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 9.40 (s, 1H), 2.52 (t, 2H), 2.29 (t, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.14 (s, 3H)。

中间体 9

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]丙酸

将中间体 8 (11 g, 57 mmol) 和羟吲哚 (7.6 g, 57 mmol) 合并于 200 mL 圆底烧瓶中, 在 150 mL EtOH 中形成浆料, 用哌啶 (8.5 mL, 86 mmol) 处理, 加热到回流达 4 小时。将反应混合物冷却到 RT, 用 HOAc (14.4 mL, 250 mmol) 处理, 短暂反回回流, 再次冷却和过滤。通过吸滤收集橙色固体, 先后用 100 mL 热的 1:1 HOAc:EtOH 和 100 mL 热的 EtOH 洗涤, 然后风干而给出 15 g, 50 mmol, 87% 的标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 10.8 (s, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.95 (t, 1H), 6.96 (d, 1H), 2.63 (t, 2H), 2.33 (t, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.25 (s, 3H)。

中间体 10

4-{3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]丙酰}-哌嗪-1-羧酸叔丁酯

将中间体 9 (6.2 g, 20 mmol)、单 Boc 哌嗪 (4.1 g, 22 mmol) 和 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAT, 3.0 g, 22 mmol) 溶于 50 mL 无水 DMF, 先后用 N,N-二异丙基乙胺 (DIEA, 3.5 mL, 20 mmol) 和苯并三唑-1-基-氧基-三吡咯烷磷六氟磷酸 (PyBOP, 11.4 g, 22 mmol) 处理。在 RT 下将形成的混合物搅拌一夜, 沉积黄色固体。通过吸滤收集该固体, 用 DMF 和 ACN 洗涤, 干燥而给出 1.3 g 中间体 10。将滤液蒸发, 通过色谱法在 700 cc 硅胶上分级, 使用 5% MeOH 的二氯甲烷 (DCM) 溶液作洗脱剂。合并含产品的各级分并蒸发, 然后在 100 mL ACN 中消化。冷却到 RT 后, 通过吸滤收集细黄色固体, 用 2 × 20 mL ACN 洗涤, 干燥后又给出 5.7 g 标题化合物。总计获得 7.0 g, 15 mmol, 75% 的产品。

¹H NMR (DMSO-d₆)

δ 10.7 (s, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.95 (t, 1H), 6.84 (d, 1H), 3.41-3.19 (m, 8H), 2.62 (t, 2H), 2.43 (t, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.35 (s, 9H)。

IS-MS, 关于 C₂₇H₃₄N₄O₄ [M]⁺ 计算的 m/z: 478, 实测 478.2。

实施例 1

3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌嗪-1-基-丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮, 三氟乙酸盐

将中间体 10 (4.78 g, 10.0 mmol) 在 20 mL DCM 中变成浆料, 在室温下用 20 mL TFA 处理。30 分钟后, 在减压下蒸发反应混合物, 然后溶于 20 mL 氯仿, 重蒸发两次。将残余物再次溶于 20 mL 氯仿, 滴加到 200 mL Et₂O 中。通过吸滤收集形成的黄色固体, 用 3 × 20 mL Et₂O 洗涤, 干燥后给出 4.8 g, 9.7 mmol, 97% 标题化合物。

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 10.8 (s, 1H), 8.74 (br s, 2H), 7.71 (d, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.96 (t, 1H), 6.85 (d, 1H), 3.62 (br s, 4H), 3.02 (br s, 4H), 2.62 (t, 2H), 2.5 (t, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.25 (s, 3H).

IS-MS, 关于 C₂₂H₂₆N₄O₂ [M+H]⁺ 计算的 m/z: 379.2, 实测 379.0。

实施例 1a (备选的制备)

3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌嗪-1-基-丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮, 三氟乙酸盐

将中间体 9 (0.31 g, 1.0 mmol) 溶于 3 mL 无水 DMF, 先后用 HOAT (0.14 g, 1.0 mmol) 和 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸 (HATU, 0.38 g, 1.0 mmol) 处理。在 RT 下搅拌 10 分钟后, 将反应混合物加到哌嗪溶液 (0.17 g, 2.0 mmol) 中并搅拌两天。然后, 通过制备性反相 HPLC 将反应混合物分级。合并适当的级分并冻干而得 0.16 g, 0.34 mmol, 34% 的标题化合物。

实施例 2

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(2-甲氨基乙基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐

将中间体 10 (0.062 g, 0.20 mmol) 溶于 0.67 mL 无水 DMF 并用 HOAT (0.030 g, 0.22 mmol) 和 HATU (0.084 g, 0.22 mmol) 处理。在 RT 下搅拌 15 分钟后, 将该活化的酸加到盛有 N,N'-二甲基乙二胺 (0.043 mL, 0.40 mmol) 的 0.50 mL 无水 DMF 溶液的小瓶中。在轨道式振荡器

(orbiting shaker)上将反应混合物搅拌一夜，然后用 0.50 mL 30% TFA 水溶液稀释，过滤，通过制备性反相 HPLC 分级。合并适当的级分并冻干而得 0.005 g, 0.010 mmol, 5% 的标题化合物。IS-MS, 关于 $C_{22}H_{28}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 381.2, 实测 381.0。

实施例 3 ~ 24

按照与实施例 1a 和 2 中描述相似的方法，将中间体 10 和其它胺偶联而给出实施例 3 ~ 24 的化合物。

实施例 3

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(3-甲氨基丙基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐
IS-MS, 关于 $C_{23}H_{30}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 395.2, 实测 395.0。

实施例 4

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(4-甲氨基丁基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐
IS-MS, 关于 $C_{24}H_{32}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 409.3, 实测 409.0。

实施例 5

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(5-甲氨基戊基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐
IS-MS, 关于 $C_{25}H_{34}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 423.3, 实测 423.2。

实施例 6

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(6-甲氨基己基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐
IS-MS, 关于 $C_{26}H_{36}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 437.3, 实测 437.2。

实施例 7

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吡啶-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(7-甲氨基庚基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{27}H_{38}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 451.3, 实测 451.2。

实施例 8

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吡啶-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(8-甲氨基辛基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{28}H_{40}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 465.3, 实测 465.2。

实施例 9

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吡啶-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(9-甲氨基壬基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{29}H_{42}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 479.3, 实测 479.2。

实施例 10

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吡啶-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(10-甲氨基癸基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{30}H_{44}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 493.4, 实测 492.8。

实施例 11

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吡啶-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(12-甲氨基十二烷基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{32}H_{48}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 521.4, 实测 520.8。

实施例 12

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吡啶-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(4-甲氨基丁-2-烯基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{24}H_{30}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 407.2, 实测 407.0。

实施例 13

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(8-甲氨基-3,6-二氧杂辛基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐
IS-MS, 关于 $C_{26}H_{36}N_4O_4 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 469.3, 实测 469.0。

实施例 14

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(11-甲氨基-3,6,9-三氧杂十一烷基)丙酰胺, 三氟乙酸盐
IS-MS, 关于 $C_{28}H_{40}N_4O_5 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 513.3, 实测 512.8。

实施例 15

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(3-甲氨基甲基苯基-甲基)丙酰胺, 三氟乙酸盐
IS-MS, 关于 $C_{28}H_{32}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 457.3, 实测 457.0。

实施例 16

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(4-甲氨基甲基苯基-甲基)-丙酰胺, 三氟乙酸盐
IS-MS, 关于 $C_{28}H_{32}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 457.3, 实测 457.2。

实施例 17

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(3-甲氨基甲基环己基-甲基)丙酰胺, 三氟乙酸盐
IS-MS, 关于 $C_{28}H_{38}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 463.3, 实测 463.0。

实施例 18

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯

-3-基]-N-甲基-N-[2'-甲氨基甲基联苯-2-基甲基]丙酰胺, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{34}H_{36}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 533.3, 实测 533.2。

实施例 19

3-[2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢-亚吲哚-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]-N-甲基-N-(3-[4-(3-甲氨基丙基)-哌嗪-1-基]丙基)丙酰胺, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{30}H_{44}N_6O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 521.4, 实测 521.2。

实施例 20

3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌啶-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{23}H_{27}N_3O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 378.2, 实测 378.0。

实施例 21

3-[3,5-二甲基-4-[3-氧代-3-(哌啶-4-基丙基)哌啶-1-基丙基]-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{31}H_{42}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 503.3, 实测 503.2。

实施例 22

3-[3,5-二甲基-4-[3-氧代-3-(4-乙基)哌嗪-1-基丙基]-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{24}H_{30}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 407.2, 实测 407.0。

实施例 23

3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-高哌嗪-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮, 三氟乙酸盐

IS-MS, 关于 $C_{23}H_{28}N_4O_2 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 393.2, 实测 393.0。

实施例 24

3-[3,5-二甲基-4-[3-氧代-3-(1,4,10-三氧杂-7,13-二氮杂环十五烷-1-基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮, 三氟乙酸盐 IS-MS, 关于 $C_{28}H_{38}N_4O_5 [M+H]^+$ 计算的 m/z : 511.3, 实测 511.0。

根据实施例 1a 和 2 的方法, 还制备了下列化合物:

5-溴-3-[3,5-二甲基-4-[3-氧代-3-(4-丙-2-基)哌嗪-1-基丙基]-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮, 三氟乙酸盐和

5-溴-3-[3,5-二甲基-4-(3-氧代-3-[4-丙-2-基]高哌嗪-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮, 三氟乙酸盐。

生物测定

在下列测定中阐释了试验化合物抑制受体酪氨酸激酶的能力。

缩写词

HEPES	4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸
EDTA	乙二胺四乙酸
PDGF	血小板衍生生长因子
PDGFR	血小板衍生生长因子受体
VEGF	血管内皮生长因子
VEGFR	血管内皮生长因子受体
HEK 细胞	人胚胎肾细胞
F1t-3	fms 相关的酪氨酸激酶 3
BSA	牛血清白蛋白
AML	急性骨髓白血病
ITD	内在串联重复
MTT	3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-联苯基溴化四唑
HUVEC	人脐静脉上皮细胞

Ca²⁺ 释放测定 (FLIPR 测定)

生长因子与它们各自的受体的结合导致受体的自磷酸化。这是导致从内在贮藏所释放 Ca²⁺和胞外 Ca²⁺的流入的信号级联放大中的第一步。

胞内 Ca²⁺的升高是通过用生长因子刺激以前在细胞中掺入荧光染料随后用荧光成像板读出器 (FLIPR) 估测荧光信号而量化的。能渗透细胞膜的激酶抑制剂抑制受体自磷酸化, 于是, 减少了或消除了 Ca²⁺ 释放。

为了测定试验化合物在 FLIPR 测定中对 VEGFR 的 IC₅₀, 应用了 HUVECs (Walkersville, MD)。关于对 PDGFR 的 IC₅₀ 测定, 应用了表达人 PDGFR 的 HEK 细胞系。在 96 孔板中每孔放置 40 ~ 50000 个细胞。将细胞温育 3 ~ 4 小时使它们粘附在平板上。随后, 用 FLIPR 缓冲液 (1X HBS, 2 mM CaCl₂, 10 mM HEPES, pH 7.4, 2.5 mM 丙磺舒, 0.1% BSA) 将细胞洗涤两次。第二次洗涤后, 往每孔残余的 50 μL 缓冲液中添加 50 μL Ca²⁺ 敏感性染料 FLUO-3 (FLUO-3 (AM) TEF Labs, 50 μg 于 10 mL FLIPR 缓冲液中)。掺入细胞一小时后, 将细胞洗涤两次, 作为 2X 溶液以 50 μL 的量向每孔 50 μL 缓冲液中添加试验化合物。将细胞与化合物一起温育 30 分钟, 然后, 为 VEGFR 添加 VEGF (40 ng/mL, BioSource International) 或为 PDGFR 添加 PDGF (40 ng/mL, BioSource International)。用荧光成像板读出器 (FLIPR) (Molecular Devices) 测定了荧光强度。

增殖和生存力测定 (MTT)

突变 F1t-3 ITD 的抑制有望影响带有该突变的 AML 细胞的增殖和生存力。为了估测试验化合物的活性, 用称为 MV4-11 的 AML 细胞系进行了 MTT 增殖和生存力测定 (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, IN)。MV4-11 细胞表达 F1t-3 ITD。以每孔处于 100 μL 培养基中的 50,000 个细胞被铺板于 96 孔板中并与

递增浓度的化合物一起温育 48 小时。该温育期后，添加 10 μL MTT 标记反应物达 4 小时。通过存活的细胞将该 MTT 标记试剂代谢为甲臆（一种不溶性蓝色盐）。为了使甲臆盐溶解，添加 100 μL 增溶溶液。将平板在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下温育 24 小时，然后，用分光光度法测定 550 nm 处各孔的光密度。孔中溶液的光密度反映了化合物对细胞生存力的影响。

免疫沉淀/Western (IP/Western)

生长因子与受体酪氨酸激酶（例如，F1t-3 或 PDGFR）的结合导致受体的自磷酸化。自磷酸化的抑制是使用激酶抑制剂追求的目标。通过进行 IP/Western 试验，可直接估测受体自磷酸化的水平。

在 2.5 mL 培养基中将 5×10^6 个细胞（用于 PDGFR 的 HEK PDGFR 细胞系，用于 c-Kit 的 HEK c-Kit，以及用于 F1t-3 的 THP-1、HL-60 或 MV4-11）与一定浓度的试验化合物一起温育 30 分钟。为了刺激受体自磷酸化，添加生长因子（分别为 PDGF、SCF 或 F1t-3 配体，50 ng/mL, BioSource International, Camarillo, CA）达 5 分钟。然后，将细胞离心，在 500 μL 裂解缓冲液（50 mM Tris pH 7.4, 1% NP-40, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM Na_3VO_4 ）中裂解。将裂解液离心，往上清液中添加 10 μL 抗各自的受体的抗体（抗-PDGFR (P20), 抗-c-Kit (C-19) 和抗-F1t-3 (S18), Santa Cruz Biotechnology, Inc.）。用蛋白质 G 珠（Sigma, St. Louis, MO）离析免疫复合体并且进行了 PAGE。应用抗磷酸酪氨酸残基的抗体 (4G10, Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY) 进行了蛋白质印迹。相应于各种药物浓度的磷酸酪氨酸信号的强度提供了测定试验化合物抑制自磷酸化的 IC_{50} 。

总体说来，发现了本文列举的化合物在上述测定中的一个或多个中表现的 IC_{50} 小于 10 μM 。

药物动力学

为了评价药物动力学，通过以 1 mg/kg 浓度的静脉内 (IV) 施药，以及 10 mg/kg 浓度的经口 (PO) 施药对雄性 Sprague Dawley 大鼠 (CD

品系, Charles River Laboratories, Wilmington, MA) 施用试验化合物。在施药前, 以及在施药后 2、5、15 和 30 分钟, 1、2、4、6、8 和 24 小时从动物采集血样。通过液相色谱-质谱(LC-MS) (MDS SCIEX API 4000, Applied Biosystems, Foster City, CA) 测定了血浆浓度。利用 WinNonlin 3.2 版软件包(Pharsight, Mountain View, CA) 通过非间隔法(non-compartmental methods) 估测了标准药物动力学参数。以 PO 施药的血浆浓度比时间图中曲线下方的面积(AUC) 与 IV 施药的相应量的比率测定了经口生物利用率。例如, 通过该方法测定的 3-[3, 5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌嗪-1-基丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1, 3-二氢吡啶-2-酮在大鼠中的经口生物利用率是 50.6%。

对比测定结果

表 1 列出了本发明两种化合物, 即, 实施例 1 的化合物 3-[3, 5-二甲基-4-(3-氧代-3-哌嗪-1-基-丙基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1, 3-二氢吡啶-2-酮三氟乙酸盐和实施例 22 的化合物 3-[3, 5-二甲基-4-[3-氧代-3-(4-乙基)哌嗪-1-基丙基]-1H-吡咯-2-基亚甲基]-1, 3-二氢吡啶-2-酮三氟乙酸盐的测定结果。为了对比, 表 1 还列出了对于两种现有技术化合物, 即, 标记为 SU6668 的 3-[2, 4-二甲基-5-(2-氧代-1, 2-二氢亚吡啶-3-基甲基)-1H-吡咯-3-基]丙酸和标记为 SU5416 的 3-(2, 3-二甲基吡咯-5-基)亚甲基]-2-二氢吡啶酮的测定结果。前一现有技术化合物的制备已在前文作为中间体 9 描述了。后一化合物的制备描述于 Sun 等, 医用化学杂志(J. Med. Chem.) 1998, Vol. 41, No. 14, pp. 2588 ~ 2603。在细胞毒性测定中测试了试验化合物抑制突变型 F1t-3 ITD 的能力。在 Ca^{2+} FLIPR 测定中测试了 VEGFR 和 PDGFR 激酶的抑制, 指出的除外。如下所示, 实施例 1 和 22 的化合物在 F1t-3、VEGFR 和 PDGFR 测定中显示了亚微摩尔活性。

表 1

	F1t-3 EC ₅₀ (μM)	VEGFR IC ₅₀ (μM)	PDGFR IC ₅₀ (μM)
本发明			
实施例 1	0.24	0.02	0.03 [#]
实施例 22	0.22	0.03	0.09
对比化合物			
SU6668	没有活性 [*]	没有活性 ^{**}	没有活性 ^{**#}
SU5416	~ 1 - 10	0.05	0.06

* 测试的最高浓度 10 μm

**测试的最高浓度 1 μm

免疫沉淀/Western (IP) 检测