

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680014034. X

[51] Int. Cl.

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008年4月23日

[11] 公开号 CN 101166739A

[22] 申请日 2006.4.26

[21] 申请号 200680014034. X

[30] 优先权

[32] 2005.4.26 [33] FR [31] 0504173

[86] 国际申请 PCT/FR2006/000925 2006.4.26

[87] 国际公布 WO2006/114520 法 2006.11.2

[85] 进入国家阶段日期 2007.10.25

[71] 申请人 艾文蒂斯药品公司

地址 法国安东尼

[72] 发明人 M·塔巴特 E·巴克奎 F·哈利

B·罗南 P·德斯马佐

F·维维安尼 C·索艾尔

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘维升 段家荣

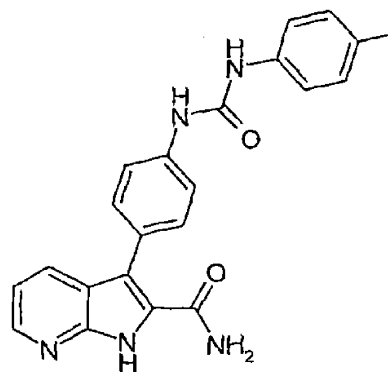
权利要求书 8 页 说明书 51 页

[54] 发明名称

取代的吡咯并吡啶，含有它们的组合物，其制备方法与用途

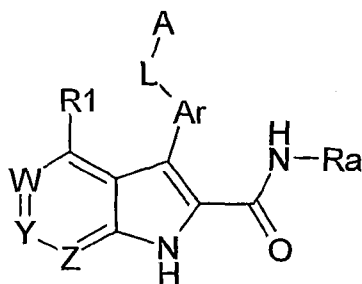
[57] 摘要

本发明涉及取代吡咯-吡啶，含有它们的组合物，以及它们的生产方法和用途。本发明特别涉及吡咯-吡啶、含有它们的组合物的制备，它们的制备方法和它们作为药物，特别作为抗癌剂的用途。



式(I)

1、符合下式(I)的产品



式(I)

式中:

1) A 和 Ar 独自地选自: 芳基、杂芳基、取代芳基、取代杂芳基、环烷基、取代环烷基;

2) L 选自: 键、CO、NH、CO-NH、NH-CO、NH-SO、NH-SO₂、SO₂NH、NH-CH₂、CH₂-NH、CH₂-CO-NH、NH-CO-CH₂、NH-CH₂-CO、CO-CH₂-NH、NH-CO-NH、NH-CS-NH、NH-CO-O、O-CO-NH;

3) Y 和 Z 中的一个选自 N 和 NO, 且 Y 和 Z 中的另一个是 C(R5), 和 W 是 C(R6);

4) R1、R5 和 R6 每个都独自地选自: H、卤素、R2、CN、O(R2)、OC(O)(R2)、OC(O)N(R2)(R3)、OS(O₂)(R2)、N(R2)(R3)、N=C(R2)(R3)、N(R2)C(O)(R3)、N(R2)C(O)O(R3)、N(R4)C(O)N(R2)(R3)、N(R4)C(S)N(R2)(R3)、N(R2)S(O₂)(R3)、C(O)(R2)、C(O)O(R2)、C(O)N(R2)(R3)、C(=N(R3))(R2)、C(=N(OR3))(R2)、S(R2)、S(O)(R2)、S(O₂)(R2)、S(O₂)O(R2)、S(O₂)N(R2)(R3); 式中每个 R2、R3、R4 独自地选自 H、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基、取代烷基、取代烯基、取代炔基、取代芳基、取代杂芳基、取代环烷基、取代杂环基、烯基、取代烯基、取代炔基; 式中当 R2 和 R3 同时在 R1、R5 和 R6 中的一个上时, 它们可以彼此连接构成环;

5) Ra 选自 H、(C1-C4)烷基、(C3-C4)环烷基。

2、根据权利要求 1 所述的产品, 式中 Ra 是 H。

3、根据权利要求 1 所述的产品, 式中 R1、R5 和 R6 选自 H、卤素、OMe 和甲基。

4、根据权利要求 3 所述的产品, 式中 R1、R5 和 R6 选自 H 和 F。

5、根据权利要求4所述的产品，式中 R1、R5 和 R6 是 H。

6、根据权利要求5所述的产品，式中 Y 是 N。

7、根据权利要求5所述的产品，式中 Y 是 NO。

8、根据权利要求5所述的产品，式中 Z 是 N。

9、根据权利要求5所述的产品，式中 Z 是 NO。

10、根据权利要求1所述的产品，式中 Ar 选自苯基、吡啶基、噻吩基、呋喃基和吡咯基，该 Ar 基被 R11 取代，式中 R11 具有与 R5 相同的意义。

11、根据权利要求10所述的产品，式中 R11 选自 H、F、Cl、甲基、NH₂、OCF₃ 和 CONH₂。

12、根据权利要求10所述的产品，式中 Ar 是未取代的苯基。

13、根据权利要求1-12 中任一项权利要求所述的产品，式中 L-A 选自 NH-CO-NH-A 和 NH-SO₂-A。

14、根据权利要求13所述的产品，式中 L-A 是 NH-CO-NH-A。

15、根据权利要求1所述的产品，式中 A 选自苯基、吡啶基、嘧啶基、噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、异噻唑基、吡唑基、咪唑基、吡啶基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并噁唑基和苯并噻唑基；它任选地被取代。

16、根据权利要求15所述的产品，式中 A 选自苯基、吡唑基和异噁唑基；它任选地被取代。

17、根据权利要求16所述的产品，式中 A 是苯基。

18、根据权利要求13-17 中任一项权利要求所述的产品，式中 A 被选自下述第一取代基取代：烷基、卤代烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、O-烷基、O-芳基、O-杂芳基、S-烷基、S-芳基、S-杂芳基，每个任选地被下述取代基取代：(C1-C3)烷基、卤素、O-(C1-C3)烷基。

19、根据权利要求13-18 中任一项权利要求所述的产品，式中 A 被选自下述第二取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、SH、SO₃M、COOM、CN、NO₂、CON(R8)(R9)、N(R8)CO(R9)、(C1-C3)烷基-OH、(C1-C3)烷基-N(R8)(R9)、(C1-C3)烷基-(R10)、(C1-C3)烷基-COOH、N(R8)(R9)；式中 R8 和 R9 各自选自 H、(C1-C3)烷基、(C1-C3)烷基 OH、(C1-C3)卤代烷基、(C1-C3)烷基 NH₂、(C1-C3)烷基 COOM、(C1-C3)烷基 SO₃M；式中当 R8 和 R9 同时不是 H 时，它们可以连接构成 5-7 个链节的环，该

环含有 0-3 个选自 O、N 和 S 的杂原子；式中 M 是 H 或选自 Li、Na 和 K 的碱金属阳离子；式中 R10 是 H 或任选地被取代的非芳族杂环，它含有 2-7 个碳原子和 1-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子。

20、根据权利要求 13-19 中任一项权利要求所述的产品，式中 A 是苯基、吡唑基或异噁唑基，它被卤素、(C1-C4)烷基、(C1-C3)卤代烷基、O-(C1-C4)烷基、S-(C1-C4)烷基、O-(C1-C4)卤代烷基、S-(C1-C4)卤代烷基取代，式中当 A 被双取代时，这两个取代基可以彼此连接构成 5-7 个链节的环，它含有 0-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子。

21、根据前述权利要求中任一项权利要求所述的产品，其特征在于它可以呈下述形式：

- 1) 非手性，或
- 2) 外消旋，或
- 3) 富含立体异构体，或
- 4) 富含对映异构体；

并可任选地成盐。

22、根据前述权利要求中任一项权利要求所述的产品，其特征在于它选自：

3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(2-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(2-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(4-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(2-氯-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(2-氟-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(3-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(4-三氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3,4-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(2,5-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3,4-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(2-甲氧基-5-甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-[4-(3-m-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(4-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-[4-(3-p-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(4-甲基-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(4-二氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(2,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(2-甲氧基-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3-乙基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺。

23、根据上述权利要求中任一项权利要求所述的产品，其特征在于它选自：

3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-7-氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺。

24、根据上述权利要求中任一项权利要求所述的产品，其特征在于它选自：

3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(2-甲氧基-5-甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(3-氯-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐，

3-{4-[3-(3-氯-4-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐，

3-{4-[3-(2-氟-5-甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐，

3-[4-(3-m-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐，

3-{4-[3-(2-乙酰基氨基-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐，

3-{4-[3-(2-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(2-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(4-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(4-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，

3-[4-(3-p-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，

3-{4-[3-(2-氯-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(4-三氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(4-二氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3,4-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(2,5-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(2-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(2-氟-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(4-甲基-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐,

3-{4-[3-(3,4-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐,

3-{4-[3-(2,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐,

3-[4-(3-*o*-甲基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(4-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3-氯-4-二氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡

啉-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3,5-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啉-2-甲酰胺,

3-{4-[3-(3-乙基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啉-2-甲酰胺。

25、药物,其特征在于它含有根据权利要求 1-24 中任一项权利要求所述的式(I)产品,或该化合物与在药物上可接受的酸的加成盐,或式(I)产品的水合物或溶剂化物。

26、含有上述权利要求中任一项权利要求所述的产品以及在药物上可接受赋形剂的药物组合物。

27、根据权利要求 1-24 中任一项权利要求所述的产品作为激酶催化的反应的抑制剂的用途。

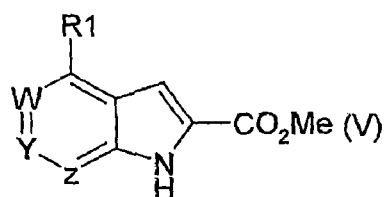
28、根据权利要求 27 所述的用途,其中激酶选自 FAK、KDR、Tie2、Aurora A、Aurora B, 和 CDK2。

29、根据权利要求 28 所述的用途,其中激酶选自 KDR 和 Tie2。

30、根据权利要求 1-24 中任一项权利要求所述的产品在制备用于治疗病理状况的药物中的用途。

31、根据权利要求 30 所述的用途,其特征不在于病理状况是癌。

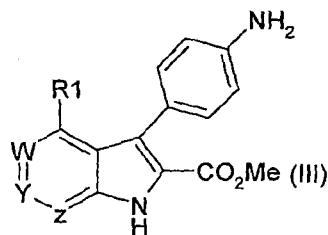
32、根据权利要求 1 所述的通式(I)产品的制备方法,其特征不在于下式(V)产品:



进行下述步骤:

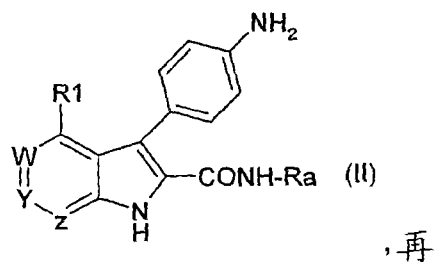
a) 在 3 位卤化, 然后

b) 在 3 位进行 Suzuki 偶联反应, 得到下式(III)的产品:



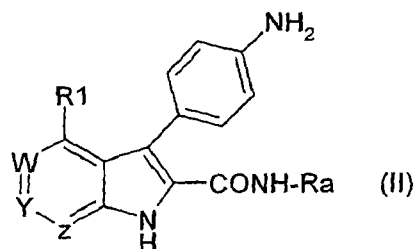
,再

c) 在 2 位进行酯的酰胺化反应, 得到下式(II)的产品:



d) 在 3 位上进行氨基-苯基基团的酰化反应。

33、下式(II)化合物, 作为中间产品:



式中 R1、Ra、Z、Y、W 是如前面所定义的, 用于制备根据权利要求 1 所述的式(I)产品。

取代的吡咯并吡啶，含有它们的组合物，其制备方法与用途

本发明特别地涉及新的化学化合物，特别涉及取代吡咯并吡啶，含有它们的组合物，以及它们作为药物的用途。

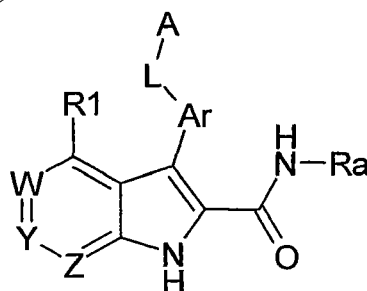
更特别地，根据第一个方面，本发明涉及新的特定吡咯并吡啶，它们通过调节蛋白质，特别地激酶的活性而具有抗癌活性。

迄今为止，化疗中使用的大多数商品化合物具有副作用和病人耐药性等重要问题。只要使用的药物对这些癌细胞(健康细胞除外)选择性地起作用，这些作用可能会受到限制。因此，限制化疗不利作用的其中一个解决方法，在于使用对代谢途径或这些途径构成元素起作用的药物，它们主要在这些癌细胞中被表达，而在这些健康细胞中不表达或表达不多。

这些蛋白激酶是一组酶，它们催化蛋白质特定残基(例如酪氨酸、丝氨酸或苏氨酸残基)中的羟基磷酸化作用。这样一些磷酸化作用可以极大地改变蛋白质的功能；因此，这些蛋白激酶在调节大量细胞过程中起到重要作用，这些细胞过程特别地包括新陈代谢、细胞增殖、细胞分化、细胞迁移或细胞存活。在涉及蛋白激酶活性的这些不同细胞功能中，某些过程成为治疗这些癌疾病以及其它疾病的有吸引力的目标。

因此，本发明的其中一个目的是提供一些组合物，它们特别地通过对激酶起作用而具有抗癌活性。在寻求调节活性的这些激酶中，KDR 和 Tie2 是优选的。

这些产品符合下式(I):



式(I)

式中:

1) A 和 Ar 独自地选自: 芳基、杂芳基、杂环基、环烷基、取代芳

基、取代杂芳基、取代杂环基、取代环烷基；

2) L选自：键、CO、NH、CO-NH、NH-CO、NH-SO、NH-SO₂、SO₂NH、NH-CH₂、CH₂-NH、CH₂-CO-NH、NH-CO-CH₂、NH-CH₂-CO、CO-CH₂-NH、NH-CO-NH、NH-CS-NH、NH-CO-O、O-CO-NH；

3) Y和Z的其中之一选自N和NO，且Y和Z的另一个是C(R5)，和W是C(R6)；

4) R1、R5和R6每个都独自地选自：H、卤素、R2、CN、O(R2)、OC(O)(R2)、OC(O)N(R2)(R3)、OS(O₂)(R2)、N(R2)(R3)、N=C(R2)(R3)、N(R2)C(O)(R3)、N(R2)C(O)O(R3)、N(R4)C(O)N(R2)(R3)、N(R4)C(S)N(R2)(R3)、N(R2)S(O₂)(R3)、C(O)(R2)、C(O)O(R2)、C(O)N(R2)(R3)、C(=N(R3))(R2)、C(=N(OR3))(R2)、S(R2)、S(O)(R2)、S(O₂)(R2)、S(O₂)O(R2)、S(O₂)N(R2)(R3)；式中每个R2、R3、R4独自地选自H、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基、取代烷基、取代烯基、取代炔基、取代芳基、取代杂芳基、取代环烷基、取代杂环基、烯基、取代烯基、取代炔基；式中当R2和R3同时存在于R1、R5和R6中的一个上时，它们可以彼此连接构成环；

5) Ra选自H、(C1-C4)烷基、(C3-C4)环烷基。

Ra有利地是H。

R1、R5和R6选自H、卤素、OMe和甲基；优选地选自H和F。而更优选地R1、R5和R6是H。取代基的可接受组合包括其中R1、R5和R6是H，而Y和Z之一选自N和NO的组合。

本发明的取代基Ar可以选自苯基、吡啶基、噻吩基、呋喃基和吡咯基，它被R11取代，式中R11具有与R5相同的意义。R11优选地选自H、F、Cl、甲基、NH₂、OCF₃和CONH₂。取代基Ar优选地是未取代苯基。

本发明的取代基L-A可以选自NH-CO-NH-A和NH-SO₂-A，特别地NH-CO-NH-A。

本发明的取代基A可以选自苯基、吡啶基、嘧啶基、噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、异噻唑基、吡唑基、咪唑基、吲哚基、吲唑基、苯并咪唑基、苯并噁唑基和苯并噻唑基；它任选地被取代。

优选取代基A选自苯基、吡唑基和异噁唑基；它任选地被取代。更

优选的取代基 A 是苯基。

A 有利地被选自下述第一取代基取代：烷基、卤代烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、O-烷基、O-芳基、O-杂芳基、S-烷基、S-芳基、S-杂芳基，每个任选地被下述取代基取代：(C1-C3)烷基、卤素、O-(C1-C3)烷基、N(R8)(R9)；式中 R8 和 R9 独自选自 H、(C1-C3)烷基、(C1-C3)烷基 OH、(C1-C3)卤代烷基、(C1-C3)烷基 NH₂、(C1-C3)烷基 COOM、(C1-C3)烷基 SO₃M；式中当 R8 和 R9 同时不是 H 时，它们可以连接构成 5-7 个链节的环，该环含有 0-3 个选自 O、N 和 S 的杂原子，式中 M 是 H 或选自 Li、Na 和 K 的碱金属阳离子。

另外，A 也有利地被选自下述第二取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、SH、SO₃M、COOM、CN、NO₂、CON(R8)(R9)、N(R8)CO(R9)、(C1-C3)烷基-OH、(C1-C3)烷基-N(R8)(R9)、(C1-C3)烷基-(R10)、(C1-C3)烷基-COOH、N(R8)(R9)；式中 R8 和 R9 独自选自 H、(C1-C3)烷基、(C1-C3)烷基 OH、(C1-C3)卤代烷基、(C1-C3)烷基 NH₂、(C1-C3)烷基 COOM、(C1-C3)烷基 SO₃M；式中当 R8 和 R9 同时不是 H 时，它们可以连接构成 5-7 个链节的环，该环含有 0-3 个选自 O、N 和 S 的杂原子；式中 M 是 H 或选自 Li、Na 和 K 的碱金属阳离子；以及式中 R10 是 H 或任选地被取代的非芳族杂环，它含有 2-7 个碳原子，和 1-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子。

当 A 被双取代时，这两个取代基可以彼此连接构成 5-7 个链节的环，该环含有 0-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子。

根据优选实施方式，A 是苯基、吡唑基或异噁唑基，它被至少一个选自下述的基团取代：卤素、(C1-C4)烷基、(C1-C3)卤代烷基、O-(C1-C4)烷基、S-(C1-C4)烷基、O-(C1-C4)卤代烷基、S-(C1-C4)卤代烷基，式中当 A 被双取代时，这两个取代基可以彼此连接构成 5-7 个链节环，该环含有 0-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子。

本发明的产品可以呈下述形式：

- 1) 非手性，或
- 2) 外消旋，或
- 3) 富含立体异构体，或
- 4) 富含对映异构体；

并可任选地成盐。

本发明的产物可以用于生产用于治疗病理状态，特别地癌症的药物。

本发明还涉及含有本发明的产物的药物，和治疗组合物，它们含有本发明产品，根据所选给药方式并用在药物上可接受的赋形剂。该药物组合物可以呈固体、液体形式或脂质体形式。

在这些固体组合物中，可以列举粉剂、胶囊和片剂。在口服剂型中，还可以包括防止胃酸性介质侵蚀的固体剂型。这些固体剂型使用的载体特别地是由无机载体(如磷酸盐、碳酸盐)或有机载体(如乳糖、纤维素、淀粉或聚合物)组成的。这些液体剂型是由溶液、悬液或分散体构成的。它们含有水或有机溶剂(乙醇、NMP等)或表面活性剂和溶剂或络合剂和溶剂的混合物作为分散载体。

这些液体剂型优选地是可注射的，因此，应有这样一种应用可接受的配方。

可接受注射的给药途径包括静脉内、腹膜内、肌内和皮下途径，静脉内途径通常是优选的。

由医生根据病人的给药途径和所述病人的情况调节本发明化合物的给药剂量。

本发明的化合物可以单独给药或与其它抗癌剂混合给药。在这些可能的并用中，可以列举：

- 烷化剂，特别地环磷酰胺、马法兰、异环磷酰胺、苯丁酸氮芥、白消安、噻替哌、泼尼齐、卡氮芥、洛莫司汀、司莫司汀、链脲佐菌素、氮烯咪胺、替莫唑胺、甲基苄胍和六甲蜜胺

- 铂衍生物，特别地如顺铂、卡铂或奥沙利铂

- 抗生素，特别地如博莱霉素、丝裂霉素或更生霉素

- 抗微管剂，特别地如长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨、紫杉烷类(紫杉醇和多西紫杉醇)

- 蒽环类药物，特别地如阿霉素、柔红霉素、去甲氧柔红霉素、表阿霉素、米托蒽醌或洛索蒽醌(losoxantrone)

- 组 I 和 II 拓扑异构酶抑制剂，如足叶乙甙、替尼泊甙、安吡啶、伊立替康、拓普替康和托姆特斯(tomodex)

- 氟嘧啶类，如 5-氟脲嘧啶、UFT、氟尿苷

- 胞苷类似物，如 5-氮杂胞苷、阿糖胞苷、吉西他滨、6-巯基妙莲

(mercaptomurine)或 6-巯基鸟嘌呤

- 腺苷类似物，如喷司他丁、阿糖胞苷或磷酸氟达拉滨
- 氮甲嘌呤和亚叶酸
- 各种各样的酶和化合物，如 L-天门冬酰胺酶、羟基脲、反式维甲酸、苏拉明、右雷佐生、氨磷汀、赫赛汀以及雌激素和雄激素
- 血管生成抑制剂，如考布他丁的衍生物，例如 CA4P，查耳酮或秋水仙素的衍生物，例如 ZD6126，和它们的药物前体。

放射疗法与本发明的化合物结合也是可能的。这些治疗可以同时、单独或顺序给药。医生根据待治疗疾病调整这些疗法。

本发明的产物可用作激酶，特别地 FAK，KDR，Tie2，Aurora A，Aurora B 和 CDK2 催化反应的抑制剂。FAK、KDR 和 Tie2 是本发明产品特别用作抑制剂的激酶。

选择下面这些激酶的理由如下：

FAK

FAK 是一种细胞质酪氨酸激酶，它在由整合素传送的信号转导中起到重要的作用，是细胞粘附的异源二聚受体家族。FAK 和整合素共存于称之为粘着斑的膜部结构中。在许多细胞种类中已显示，FAK 对酪氨酸残基的活化及其磷酸化作用，尤其是其对酪氨酸 397 的自磷酸化，取决于整合素与它们的细胞外配体连接，因此在细胞粘着时受到诱导[Kornberg L, 等人, 《J. Biol. Chem.》, 267(33): 23439-442.(1992)]。FAK 在酪氨酸 397 上的自磷酸化说明了另一种酪氨酸激酶 Src 通过其 SH2 域的结合位点[Schaller 等人, 《Mol. Cell. Biol.》, 14: 1680-1688, 1994; Xing 等人, 《Mol. Cell. Biol.》, 5: 413-421, 1994]。然后 Src 能够使 FAK 在酪氨酸 925 上进行磷酸化，从而补充 Grb2 衔接蛋白，诱发在某些细胞中在细胞增殖控制下涉及 ras 和 MAP 激酶途径的激活[Schlaepfer 等人, 《自然》(Nature); 372: 786-791, 1994; Schlaepfer 等人, 《Prog. Biophys. Mol. Biol.》, 71: 435-478, 1999; Schlaepfer 和 Hunter, 《J. Biol. Chem.》, 272: 13189-13195, 1997]。FAK 激活还能引起 jun NH₂-末端激酶(JNK)信号传导通路, 导致细胞发展成细胞周期的 G1 期[Otkay 等人, 《J. Cell. Biol.》, 145: 1461-1469, 1999]。磷脂酰肌醇-3-OH 激酶(PI3-激酶)也在酪氨酸 397 上与 FAK 结合, 对于 PI3-激酶激活来说, 这种相互作用是必要的[Chen 和 Guan, 《Proc. Nat. Acad. Sci. USA》, 91:

10148-10152, 1994; Ling 等人, 《J. Cell, Biochem.》, 73: 533-544, 1999]。FAK/Src 配合物使各种各样的基质(如桩蛋白和成纤维细胞中的 p130CAS)发生磷酸化[Vuori 等人, 《Mol. Cell. Biol.》, 16: 2606-2613, 1996]。

许多研究成果支持 FAK 抑制剂可用于治疗癌症的假说。研究表明, FAK 可在活体外细胞增殖和/或存活中起到重要的作用。例如, 某些作者已证明, 在 CHO 细胞中 p125FAK 过表达导致加速 G1 到 S 的过渡, 表明 p125FAK 促进细胞增殖[Zhao J.-H 等人, 《J. Cell. Biol.》, 143: 1997-2008, 1998]。其它作者已指出用 FAK 反义寡核苷酸治疗的肿瘤细胞失去其附着力, 开始凋亡(Xu 等人, 《Cell growth Differ.》, 4: 413-418, 1996)。人们还证明 FAK 促进体外细胞迁移。因此, FAK 表达的缺陷成纤维细胞(FAK “敲除”小鼠)具有圆形形态, 和细胞迁移对趋化信号反应的缺陷, FAK 再表达消除了这些缺陷[DJ. Sieg 等人, J. Cell, Science. 112: 2677-91, 1999]。FAK 的 C 端域(FRNK)的过表达阻断了粘附细胞拉长, 减少细胞体外迁移[Richardson A. 和 Parsons J.T. 《自然》, 380: 538-540, 1996]。FAK 在细胞 CHO、COS 或在人星形细胞瘤细胞中过度表达促进细胞迁移。在活体外, 在许多细胞种类中促进细胞增殖和迁移涉及 FAK, 表明 FAK 在肿瘤过程中具有潜在作用。最近的研究已有力地证明在人星形细胞瘤细胞中引入 FAK 表达后, 体内肿瘤细胞增殖增加[Cary L.A. 等人, 《J. Cell Sci.》, 109: 1787-94, 1996; Wang D 等人, 《J. Cell Sci.》, 113: 4221-4230, 2000]。此外, 人活组织检查的免疫组织化学研究已证明, FAK 在前列腺癌、乳腺癌、甲状腺癌、结肠癌、黑色素瘤、脑癌和肺癌中过度表达, FAK 的表达水平与最具有侵袭表型的肿瘤直接相关 [Weiner TM 等人, 《柳叶刀》(Lancet)342(8878): 1024-1025, 1993; Owens 等人, 《癌症研究》(Cancer Research)55: 2752-2755, 1995; Maung K. 等人, 《癌基因》(Oncogene)18: 6824-6828, 1999; Wang D 等人, J. Cell Sci. 113: 4221-4230, 2000]。

KDR

KDR(激酶插入域受体)(也称之为 VEGF-R2(血管内皮生长因子受体 2))基本上在内皮细胞中表达。这种受体固定血管生成因子 VEGF, 从而通过激活其细胞内激酶域起到转导信号媒介的作用。直接抑制 VEGF-R2 的激酶活性能够减少在外生 VEGF(血管内皮生长因子)存在下的血管生

成现象(Strawn 等人,《癌症研究》(*Cancer Research*), 1996, 第 56 期, 第 3540-3545 页)。特别借助 VEGF-R2 突变体证明了这个过程(Millauer 等人,《癌症研究》, 1996, 第 56 期, 第 1615-1620 页)。VEGF-R2 受体似乎对除了与 VEGF 血管生成活性有关的成人不起任何作用。因此, VEGF-R2 的激酶活性的选择性抑制剂仅应该证明毒性不大。

除了在该动态血管生成过程中这个主要作用外, 近来的结果表明, VEGF 的表达有助于肿瘤细胞在化疗和放疗后的存活, 因此强调了 KDR 抑制剂与其它剂的潜在协同效应(Lee 等人,《癌症研究》, 2000, 第 60 期, 第 5565-5570 页)。

Tie2

Tie-2(TEK)是内皮细胞特异的酪氨酸激酶受体族的一员。Tie2 是第一种具有酪氨酸激酶活性的受体, 人们同时知道其刺激受体自磷酸化和细胞信号的激动剂(血管生成素 1 或 Ang1)[S. Davis 等人(1996),《细胞》(*Cell*)87, 1161-1169]与拮抗剂(血管生成素 2 或 Ang2)[P.C. Maisonpierre 等人(1997),《科学》(*Science*)227,55-60]。血管生成素 1 与 VEGF 在新血管形成最终期内可以起协同作用[Asahara T.,《Circ. Res.》, (1998), 233-240]。Tie2 表达或 Ang1 表达的敲除实验和转基因操作得到具有血管形成缺陷的动物[D.J. Dumont 等人(1994), *Genes Dev.* 8, 1897-1909 和 C. Suri(1996),《细胞》87, 1171-1180]。Ang1 与其受体连接导致 Tie2 激酶区自磷酸化, 这对于新血管形成以及对于血管与周细胞和平滑肌细胞的恢复和相互作用是必要的; 这些现象有助于新形成血管的成熟和稳定[P.C. Maisonpierre 等人(1997),《科学》227, 55-60]。Lin 等人(1997)*J. Clin. Invest.* 100, 8: 2072-2078 和 Lin P.(1998)*PNAS* 95,8829-8834 已证明, 腺病毒感染或 Tie-2 细胞外域(Tek)注入乳腺肿瘤和黑色素瘤的干片摄影模型时, 肿瘤生长和血管形成的抑制作用以及肺转移降低。

Tie2 抑制剂可以用于不适当地发生新血管形成的情形中(即在糖尿病视网膜病、慢性炎症、牛皮癣、多发性出血性肉瘤、黄斑变性造成的慢性血管形成、类风湿关节炎、婴幼儿血管瘤和癌症中)。

细胞周期的进展常常由周期蛋白依赖性激酶(CDK)调控, 它们通过与属于周期蛋白族的蛋白质相互作用而被激活, 这种激活终止于基质磷酸化, 最后终止于细胞分裂。并且, 受到激活的 CDK 内生抑制剂(INK4 和 KIP/CIP 族)反向调节 CDK 活性。正常细胞的生长是由 CDK 活化剂(周

期蛋白)与 CDK 内生抑制剂之间的平衡造成的。在许多类型的癌中,描述了这些细胞周期调节剂中多种调节剂的异常表达或活性。

周期蛋白 E 激活激酶 Cdk2, 它然后在使蛋白 pRb(视网膜母细胞瘤蛋白)磷酸化中起作用, 导致参与不可逆的细胞分裂和向 S 期过渡(PL Toogood, 《Médicinal Research Reviews》, (2001), 21(6); 487-498)。激酶 CDK2 和可能的 CDK3 对于在 G1 期中发展并进入 S 期是必不可少的。在与周期蛋白 E 生成配合物时, 它们保持 pRb 过磷酸化, 从而有助于从 G1 期发展到 S 期。在与周期蛋白 A 的配合物中, CDK2 对 E2F 失活起作用, 并且对于实现 S 期是必不可少的(TD. Davies 等人(2001), 《Structure》, 9, 389-3)。

CDK1/周期蛋白 B 配合物调节 G2 期与 M 期之间的细胞周期发展。CDK/周期蛋白 B 配合物的负调节阻止正常细胞在适当并完全达到 G2 期之前进入 S 期(K.K. Roy 和 E.A. Sausville, 《Current Pharmaceutical Design》, 2001, 7, 1669-1687)。

存在着 CDK 活性的调节水平。周期蛋白依赖性激酶(CAK)活化剂具有积极的 CDK 调节作用。CAK 使在苏氨酸残基上的 CDK 磷酸化, 从而使靶酶完全变得是活性的。

在细胞周期涉及的这些分子中存在的缺陷促使 CDK 激活和周期发展, 通常期望抑制 CDK 酶的活性, 以阻断癌细胞的细胞生长。

已经在酵母和果蝇中鉴定出在染色体分离与纺锤体连接中涉及的许多蛋白。这些蛋白的破坏导致染色体不分离, 并得到单极或被破坏的纺锤体。在这些蛋白中, 某些激酶, 其中包括 Aurora 和 Ipl1, 分别来自果蝇和酿酒酵母, 这些激酶对于染色体分离和中心体分离是必要的。最近克隆了酵母 Ipl1 的人的类似物, 并不同实验室进行了表征。命名为 Aurora 2、STK15 或 BTAK 的这些激酶属于丝氨酸/苏氨酸激酶一族。Bischoff 等人证明了 Aurora 2 致癌, 并且在人结肠癌中扩增(EMBO J, 1998, 17, 3052-3065)。使用涉及如乳腺癌的上皮肿瘤的癌举例说明了这一点。

定义

术语“卤素”系指选自 F、Cl、Br 和 I 的元素。

术语“烷基”系指有 1-12 个碳原子的直链或支链饱和烃取代基。烷基取代基实例是甲基、乙基、丙基、1-甲基乙基、丁基、1-甲基丙基、

2-甲基丙基、1,1-二甲基乙基、戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、1-乙基丁基、2-乙基丁基、3,3-二甲基丁基、庚基、1-乙基戊基、辛基、壬基、癸基、十一烷基和十二烷基取代基。

术语“烯基”系指有一个或多个不饱和性的有 2-12 个碳原子的直链或支链烃取代基。这些取代基实例是乙烯基、1-甲基乙烯基、丙-1-烯基、丙-2-烯基、Z-1-甲基丙-1-烯基、E-1-甲基丙-1-烯基、Z-1,2-二甲基丙-1-烯基、E-1,2-二甲基丙-1-烯基、丁-1,3-二烯基、1-亚甲基(methyldényl)-丙-2-烯基、Z-2-甲基-丁-1,3-二烯基、E-2-甲基丁-1,3-二烯基、2-甲基-1-亚甲基丙-2-烯基、十一碳-1-烯基和十一碳-10-烯基取代基。

术语“炔基”系指有 2-12 个碳原子的直链或支链烃取代基，它的一对相邻碳原子有至少两个不饱和性。炔基取代基的实例是乙炔基、丙-1-炔基、丙-2-炔基、和丁-1-炔基取代基。

术语“芳基”系指有 6-14 个碳原子的单环或多环芳族取代基。苯基、萘-1-基、萘-2-基、蒽-9-基、1,2,3,4-四氢萘-5-基和 1,2,3,4-四氢萘-6-基取代基是芳基取代基的实例。

术语“杂芳基”系指有 1-13 个碳原子和 1-4 个杂原子的单环或多环杂芳族取代基。吡咯-1-基、吡咯-2-基、吡咯-3-基、咪唑基、噻吩基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、异噻唑基、1,2,4-三唑基、噁二唑基、噻二唑基、四唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、1,3,5-三嗪基、吲哚基、苯并[b]咪唑基、苯并[b]噻吩基、吡唑基、苯并咪唑基、氮杂吡唑基、喹啉基、异喹啉基、吡唑基和吡啶基取代基是杂芳基取代基的实例。

术语“杂原子”本文系指与碳不同的至少二价原子。N; O; S; 和 Se 是杂原子的实例。

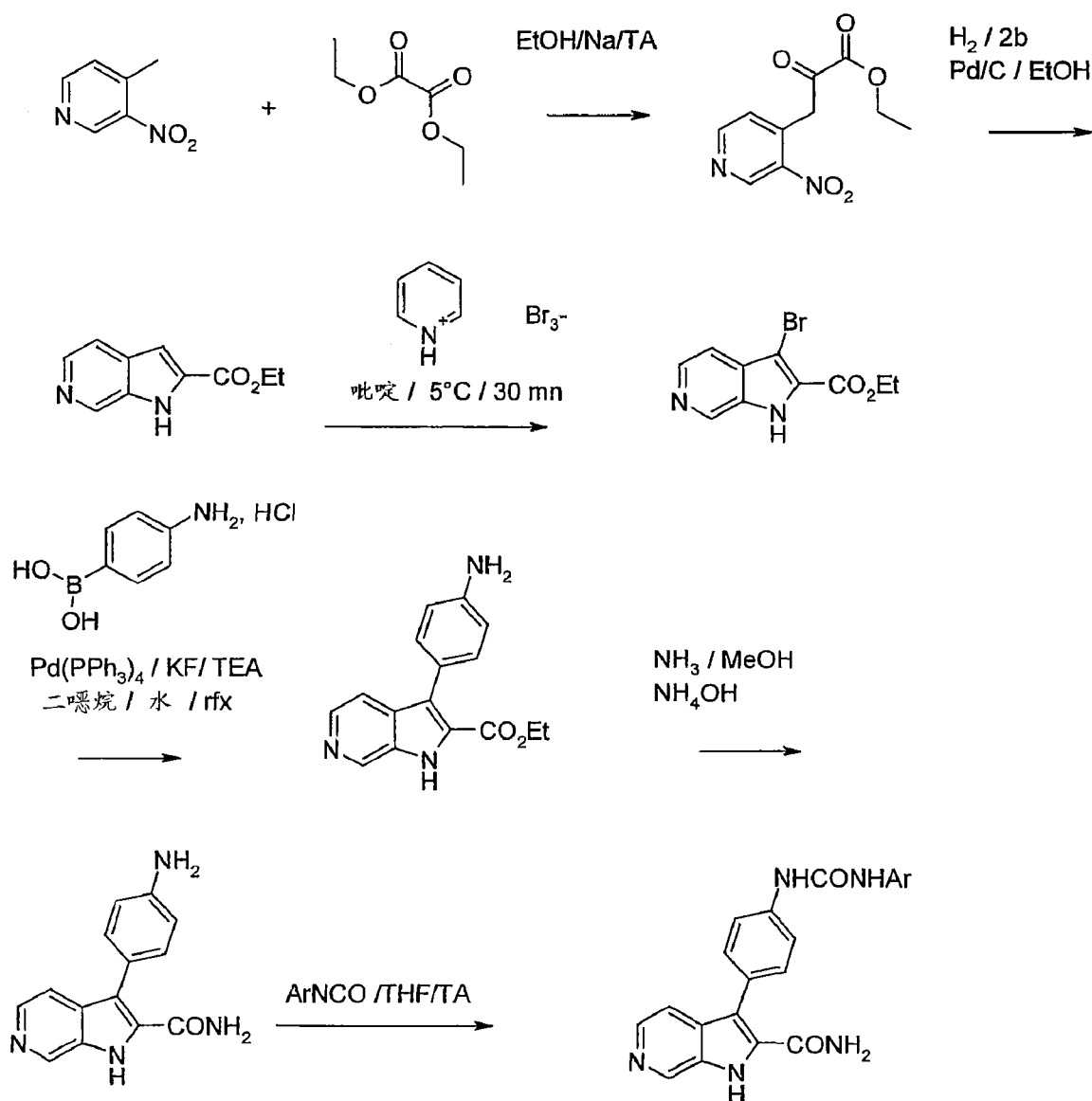
术语“环烷基”系指有 3-12 个碳原子的饱和或部分不饱和环状烃取代基。环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环戊二烯基、环己基、环己烯基、环庚基、双环[2.2.1]庚基、环辛基、双环[2.2.2]辛基、金刚基和全氢萘基取代基是环烷基取代基的实例。

术语“杂环基”系指有 1-13 个碳原子和 1-4 个杂原子的饱和或部分不饱和的环烃取代基。优选地，该饱和或部分不饱和的环状烃取代基应是单环的，含有 4 或 5 个碳原子和 1-3 个杂原子。

术语“取代的”系指与H不同的一个或多个取代基，例如卤素；烷基；芳基；杂芳基，环烷基；杂环基；烯基；炔基；OH；O-烷基；O-烯基；O-芳基；O-杂芳基；NH₂；NH-烷基；NH-芳基；NH-杂芳基；N-烷基-烷基；SH；S-烷基；S-芳基；S(O₂)H；S(O₂)-烷基；S(O₂)-芳基；SO₃H；SO₃-烷基；SO₃-芳基；CHO；C(O)-烷基；C(O)-芳基；C(O)OH；C(O)O-烷基；C(O)O-芳基；OC(O)-烷基；OC(O)-芳基；C(O)NH₂；C(O)NH-烷基；C(O)NH-芳基；NHCHO；NHC(O)-烷基；NHC(O)-芳基；NH-环烷基；NH-杂环基。

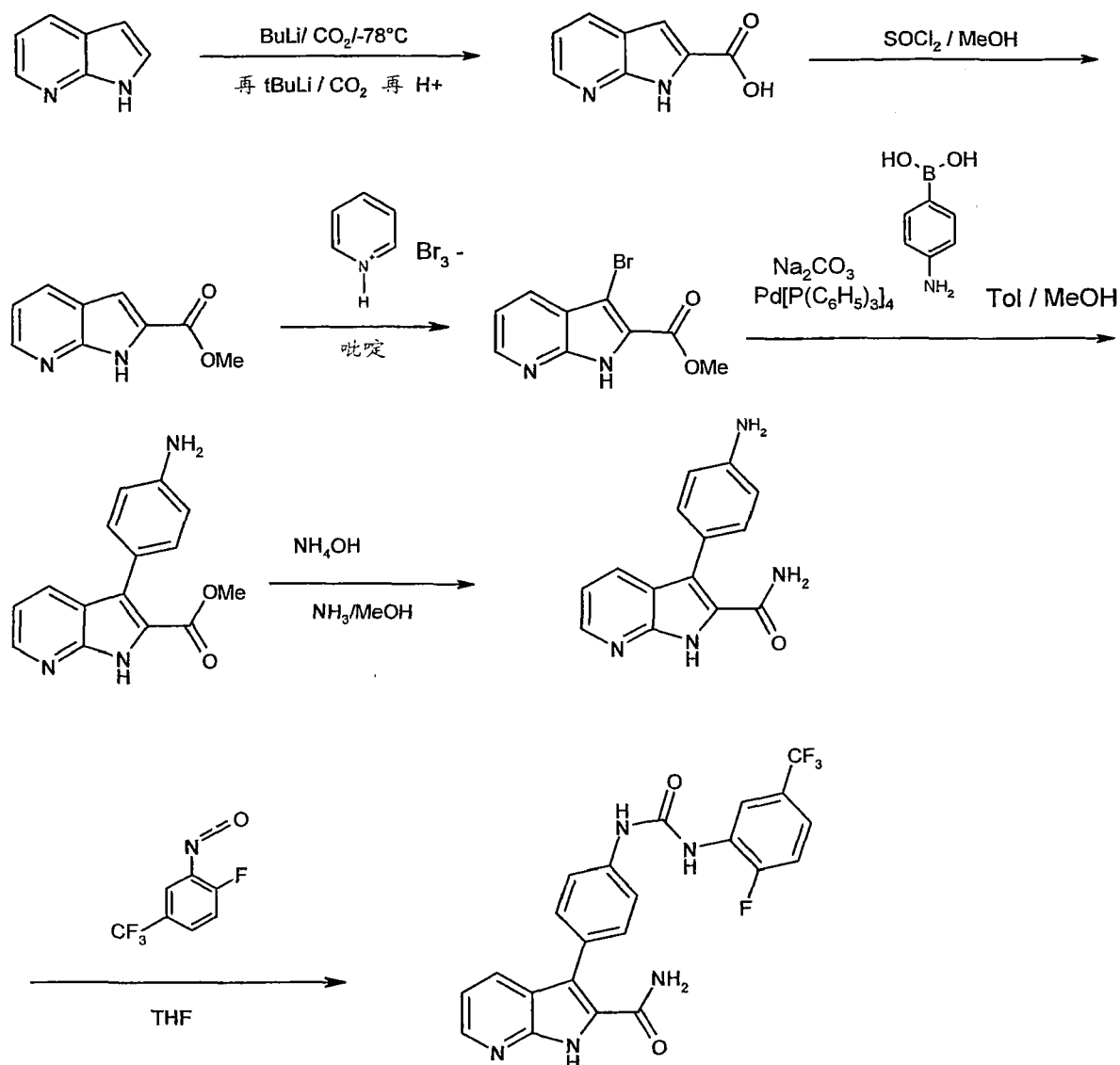
可以采用有机化学的常规方法制备本发明的产品。下述流程图1说明了有关取代的6-氮杂-吲哚的实施例1制备所采用的方法。在这方面，它们不应构成本发明涉及要求保护化合物制备方法保护范围的限制。3位上的取代的6-氮杂-吲哚-2-甲酰胺的衍生物的制备：

流程图 1



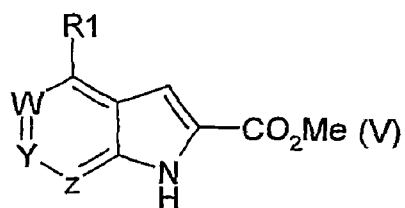
下述流程图 2 说明了有关取代的 7-氮杂-吲哚的实施例，特别地实施例 7 制备所采用的方法。在这方面，它们不应构成本发明涉及要求保护化合物制备方法保护范围的限制。3 位上的取代的 7-氮杂-吲哚-2-甲酰胺的衍生物的制备：

流程图 2



通式(I)的产物，其中 Ra 不是 H，可根据本技术领域的技术人员书籍的常规方法得到，例如用相应的烷基伯氨取代氨基分解中的氨。

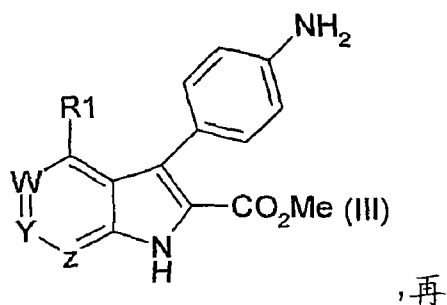
本发明的目的还在于如前所定义的式(I)产物的制备方法，其特征在于下式(V)的产物：



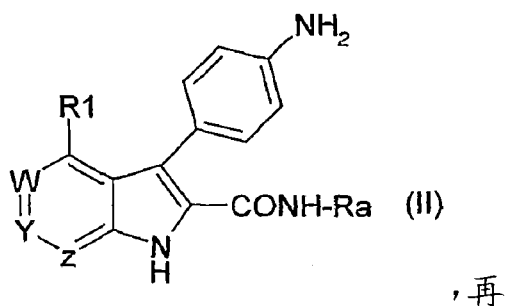
进行以下步骤：

a)在 3 位上卤化，然后

b)在 3 位进行 Suzuki 偶联反应, 得到下式(III)的产物:

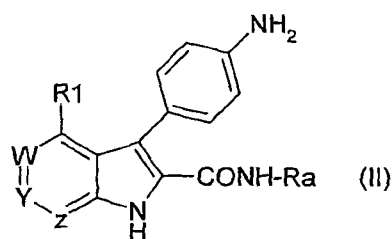


c)在 2 位进行酯的酰胺化反应, 得到下式(II)的产物:



d)在 3 位上进行氨基-苯基基团的酰化反应。

本发明的目的还在于中间产物, 下式(II)的化合物:



式中 Z、Y、W 是如前面所定义的, 用于通式(I)的产物的制备。

使用联用的 Micromass 型 LCT 与 HP 1100 设备进行 LC/MS 分析。使用波长范围 200-600nm 的 HP G1315A 二极管阵列检测器和 Sedex 65 光分散检测器测定了产物丰度。采集了在范围 180-800 内的质谱。这些数据利用 Micromass MassLynx 软件进行分析。使用 Hypersil BDS C18, 3 μ m(50 \times 4.6mm)柱进行分离, 使用 5-90%在含有 0.05%(v/v)TFA 的水中乙腈溶液, 该乙腈含有 0.05%(v/v)三氟乙酸(TFA), 在 3.5 分钟内以 1mL/mn 流量进行线性梯度洗脱。包括柱再平衡时间的总分析时间是 7 分钟。

采用电喷雾技术(ES^+), 使用 Platform II 设备(Micromass)测定 MS 谱。描述了观察到的主要离子。

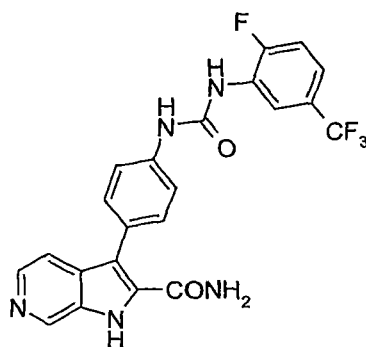
采用毛细技术, 使用 Mettler FP62 设备, 以每分钟升温 $2^{\circ}C$ 在 30-300 $^{\circ}C$ 范围内测定了这些熔点。

采用 LC/MS 纯化:

采用 LC/MS, 使用 Waters FractionsLynx 系统可以纯化这些产物, 该系统由 Waters 600 型梯度泵、Waters 515 型再生泵、Waters Reagent Manager 稀释泵、Waters 2700 型自动注射仪、两台 Rheodyne LabPro 型阀、Waters 996 型二极管阵列检测器、Waters ZMD 型质谱仪和 Gilson 204 型馏分收集器组成。该系统用 Waters FractionLynx 软件进行控制。使用两个 Waters Symmetry 柱(C_{18} , $5\mu m$, $19\times 50mm$, 目录参考 186000210)交替地进行分离, 一个柱用于使用含有 0.07%(v/v)三氟乙酸的水/乙腈混合物 95/5(v/v)的再生过程, 同时另一个柱用于分离过程。使用 5-95%含有 0.07%(v/v)三氟乙酸的乙腈水溶液的线性梯度, 该乙腈含有 0.07%(v/v)三氟乙酸, 以流量 10ml/min 洗脱这些柱。在分离柱的出口处, 使用 LC Packing Accurate 分离出千分之一的流出物, 用甲醇以流量 0.5ml/min 稀释, 再送到检测器, 其中 75%送到二极管阵列检测器, 其余 25%送到质谱仪。流出物的剩余部分(999/1000)送到馏分收集器, 在收集器中 FractionLynx 软件没有检测到期望产物质量时, 则弃去该流。把期望产物的分子式提供给 FractionLynx 软件, 检测的质量信号相应于离子 $[M+H]^+$ 和/或 $[M+Na]^+$ 时, 该软件启动收集该产物。在某些情况中, 取决于 LC/MS 分析结果, 检测到相应于 $[M+2H]^{++}$ 的强离子时, 相应于计算分子量一半($MW/2$)的值也提供给 FractionLynx 软件。在这些条件下, 检测到离子 $[M+2H]^{++}$ 和/或 $[M+Na+H]^{++}$ 的质量信号时, 也启动收集。在已标皮重的玻璃管中收集这些产物。收集后, 在 Savant AES 2000 或 Genevac HT8 离心蒸发器中蒸去这些溶剂, 称量蒸去溶剂后的试管重量可以确定产物的质量。

本发明的另一个目的涉及非限制性说明本发明的以下实施例的产品。

实施例 1: 3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



往 90mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺在 5mL 四氢呋喃中的溶液里，滴加 50 μ L 2-氟-5-(三氟甲基)苯基异氰酸酯。该反应混合物在室温与氩气氛下搅拌 16 小时，然后减压浓缩。得到的残留物搅拌在 2mL 二氯甲烷中 30 分钟。过滤悬浮的固体，和脱水。在 40 $^{\circ}$ C 下真空干燥后，得到 115mg 3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，其特征如下：IR(KBr): 3455; 1661; 1602; 1542; 1444; 1341; 1312; 1127; 1070 和 819 cm^{-1} ^1H R.M.N.: 6.98(宽 s, 1H); 7.39(宽 m, 1H); 7.42-7.56(m, 4H); 7.60(宽 d, J=8.0Hz, 2H); 7.74(宽 s, 1H); 8.17(d, J=6.0Hz, 1H); 8.65(宽 d, J=7.5Hz, 1H); 8.82(s, 1H); 8.94(宽 s, 1H); 9.31(s, 1H); 12.15(宽 s, 1H)。

质谱(ES^+): $m/z=458[\text{M}+\text{H}]^+$

熔点: 286 $^{\circ}$ C(Köfler)。

3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺:

往 600mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酸乙酯在 62mL 3N 氨的甲醇溶液里，添加 11mL 22% 氨水溶液。该反应混合物在 80 $^{\circ}$ C (12 巴) 高压釜中搅拌 20 小时，然后减压浓缩。得到的残留物用 100mL 甲醇稀释，用炭黑处理，再回流加热 30 分钟。该混合物用硅藻土过滤至干，然后用 2 \times 10mL 甲醇漂洗。滤液进行减压浓缩，得到 490mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，呈拷蛋白(meringue)状，其特征如下：质谱(EI) $m/z=252[\text{M}]^+$ ， $m/z=235[\text{M}-\text{NH}_3]^+$ 。

3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酸乙酯:

往 1g 3-溴-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酸乙酯在 100mL 二噁烷中的溶液里，添加 773mg 4-氨基苯基-硼酸的盐酸盐、9mL 水中的 1.1g 氟化钾。该反应混合物在氩气氛下搅拌 15 分钟。添加 425mg 四(三苯基膦)钨(0)

和 630 μ L 三乙胺。该反应混合物在回流下搅拌 17 小时。用炭黑处理后，再用 célite® 过滤，滤液进行减压浓缩。残留物采用(60; 35-70 μ M)硅胶柱闪式色谱法进行纯化，用二氯甲烷、甲醇和乙腈的混合物(90/5/5(体积))洗脱。得到 600mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酸乙酯，其特征如下：

质谱(EI)m/z=281[M]⁺， m/z=235[M-OEt]⁺

3-溴-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酸乙酯：

在 5 $^{\circ}$ C 下，往 2.24g 1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酸乙酯在 150mL 吡啶中的溶液里，滴加 3.53g 三溴吡啶在 30mL 吡啶中的溶液。然后在温度约 20 $^{\circ}$ C 下，该反应混合物搅拌 16 小时，再用 500mL 冰冷的水洗涤。悬浮液进行过滤。得到的固体用水洗涤，然后在 40 $^{\circ}$ C 与真空下干燥至干，得到 1.97g 3-溴-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酸乙酯，其特征如下：

质谱(EI)m/z=269[M]⁺， m/z=189[M-Br]⁺， m/z=144[M-OEt]⁺

1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酸乙酯：

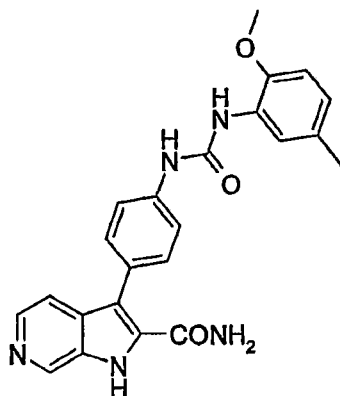
往高压釜中添加 1.8g 10%钯/碳，然后添加惰性氩气流。添加 6g 3-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代-丙酸乙酯在 72mL 纯乙醇中的溶液。然后该反应介质在 20 $^{\circ}$ C 下在 2 巴氢压力下搅拌 3 小时。然后混合物用 célite® 过滤。滤液进行减压浓缩，在 40 $^{\circ}$ C 下干燥至干，得到 4g 1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酸乙酯，其特征如下：

质谱(EI)m/z=190[M]⁺， m/z=144[M-OEt]⁺

3-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代-丙酸乙酯：

往 50mL 纯乙醇中的 930mg 钠里，迅速添加 26mL 草酸二乙酯。该反应介质在 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 15 分钟。然后在 1 小时内滴加 50mL 纯乙醇中的 3.8g 4-甲基-3-硝基吡啶。该反应混合物在温度约 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 4 小时，然后减压浓缩。残留物溶于 100mL 乙醚，然后过滤。固体用 40mL 5N 盐酸搅拌，然后过滤，用水洗涤，在 40 $^{\circ}$ C 下真空干燥，得到 6.2g 3-(3-硝基吡啶-4-基)-2-氧代-丙酸乙酯，其特征如下：质谱(EI)m/z=238[M]⁺。

实施例 2： 3-{4-[3-(2-甲氧基-5-甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺

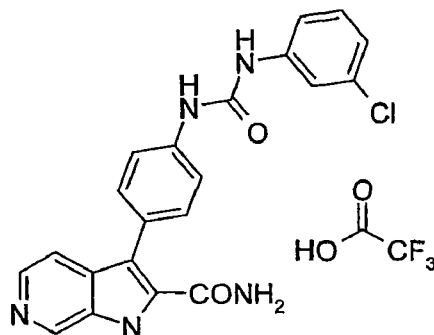


往 100mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺在 5mL 四氢呋喃中的溶液里，滴加 54.4 μ L 2-甲氧基-5-甲基苯基异氰酸酯。该反应混合物在室温与氩气氛下搅拌 16 小时，然后减压浓缩。得到的残留物在 2mL 二氯甲烷中搅拌 30 分钟。过滤悬浮的固体，用水洗涤，脱水。在 40 $^{\circ}$ C 下真空干燥后，得到 40mg 3-{4-[3-(2-甲氧基-5-甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，其特征如下：IR(KBr), 3458; 3331; 1664; 1595; 1537; 1315; 1285; 1213; 1135; 1033 cm^{-1} ^1H R.M.N.: 2.24(s, 3H); 3.86(s, 3H); 6.75(宽 d, J=8.5Hz, 1H); 6.85-6.95(m, 2H); 7.43(宽 d, J=8.5Hz, 2H); 7.46(d, J=5.5Hz, 1H); 7.58(宽 d, J=8.5Hz, 2H); 7.73(宽 s, 1H); 8.02(宽 s, 1H); 8.16(d, J=5.5Hz, 1H); 8.22(s, 1H); 8.82(s, 1H); 9.44(宽 s, 1H); 12.1(宽 s, 1H)。

质谱(EI): $m/z=415[\text{M}^{+\circ}]$

熔点: 227 $^{\circ}$ C

实施例 3: 3-{4-[3-(3-氯苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐



往 100mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺在 5mL 四氢呋喃中的溶液里，滴加 45.2 μ L 3-氯苯基异氰酸酯。该反应混合物在室温与氩气氛下搅拌 16 小时，然后减压浓缩。得到的残留物在 2mL 二氯

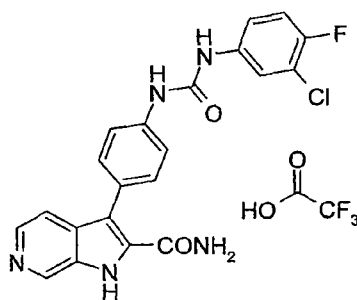
甲烷中搅拌 30 分钟。过滤悬浮的固体,用水洗涤,脱水。用制备的 LC/MS 进行最后过滤,在 40℃下真空干燥后得到 70mg 3-{4-[3-(3-氯-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,呈三氟乙酸盐形式,其特征如下:

IR(KBr): 3390; 1672; 1592; 1537; 1483; 1203; 1138; 836; 722 cm^{-1}
 $^1\text{H R.M.N.}$: 7.03(m, 1H); 7.26-7.34(m, 2H); 7.42-7.52(m, 3H); 7.63(宽 d, $J=8.5\text{Hz}$, 2H); 7.74(宽 s, 1H); 7.97(d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H); 8.06(宽 s, 1H); 8.31(d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H); 9.03(宽 s, 2H); 9.13(s, 1H); 13.35(展开的 m, 1H)。

质谱(ES^+): $m/z=406[\text{MH}^+]$

熔点: 221℃

实施例 4: 3-{4-[3-(3-氯-4-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐



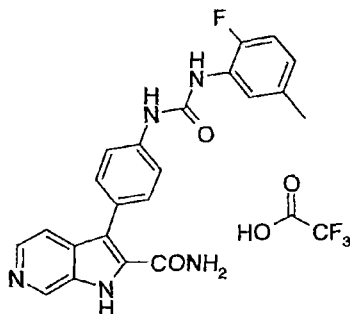
往 100mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺在 5mL 四氢呋喃中的溶液里,滴加 46.2 μL 3-氯-4-氟苯基异氰酸酯。该反应混合物在室温与氩气氛下搅拌 16 小时,然后减压浓缩。得到的残留物在 2mL 二氯甲烷中搅拌 30 分钟。过滤悬浮的固体,用水洗涤,脱水。用制备的 LC/MS 进行最后过滤,在 40℃下真空干燥后得到 105mg 3-{4-[3-(3-氯-4-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺,呈三氟乙酸盐的形式,其特征如下:

IR(KBr): 3452; 1673; 1601 ; 1544; 1500; 1208; 1143; 836; 803; 722 cm^{-1}
 $^1\text{H R.M.N.}$: 7.32-7.38(m, 2H); 7.44-7.54(m, 3H); 7.64(宽 d, $J=8.5\text{Hz}$, 2H); 7.84(宽 d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H); 8.01(d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H); 8.09(宽 s, 1H); 8.32(d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H); 9.10(宽 s, 2H); 9.16(s, 1H); 13.4(展开的 m, 1H)。

质谱(ES^+): $m/z=424[\text{MH}^+]$

熔点: 214°C

实施例 5: 3-{4-[3-(2-氟-5-甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐



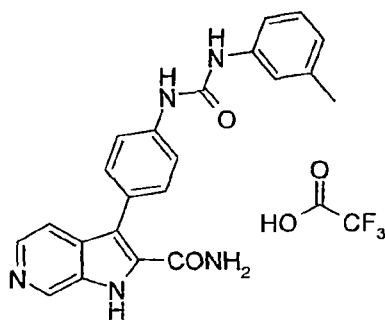
往 100mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺在 5mL 四氢呋喃中的溶液里, 滴加 48.3 μ L 2-氟-5-甲基苯基异氰酸酯。该反应混合物在室温与氩气氛下搅拌 16 小时, 然后减压浓缩。得到的残留物在 2mL 二氯甲烷中搅拌 30 分钟。过滤悬浮的固体, 用水洗涤, 脱水。用制备的 LC/MS 进行最后过滤, 在 40°C 下真空干燥后, 得到 36mg 3-{4-[3-(2-氟-5-甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈三氟乙酸盐的形式, 其特征如下:

IR(KBr): 3452; 1675; 1603; 1544; 1314; 1202; 1144; 836; 805; 722 cm^{-1} ^1H R.M.N.: 2.29(s, 3H); 6.82(m, 1H); 7.12(dd, J=8.5 和 11.5Hz, 1H); 7.46-7.51(m, 3H); 7.62(宽 d, J=8.5Hz, 2H); 7.97-8.03(m, 2H); 8.08(宽 s, 1H); 8.32(d, J=6.5Hz, 1H); 8.54(宽 d, J=2.5Hz, 1H); 9.15(s, 1H); 9.25(s, 1H); 13.4(展开的 m, 1H)。

质谱(ES^+): $m/z=404[\text{MH}^+]$

熔点: 222°C

实施例 6: 3-[4-(3-m-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐



往 100mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺在 5mL 四

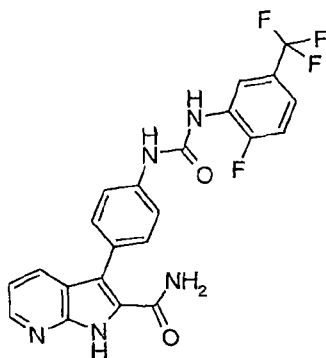
氢吡喃中的溶液里，滴加 47.8 μ L m-甲苯基异氰酸酯。该反应混合物在室温与氩气氛下搅拌 16 小时，然后减压浓缩。得到的残留物在 2mL 二氯甲烷中搅拌 30 分钟。过滤悬浮的固体，用水洗涤，脱水。用制备的 LC/MS 进行最后过滤，在 40 $^{\circ}$ C 下真空干燥后，得到 40mg 3-[4-(3-m-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺，呈三氟乙酸盐的形式，其特征如下：

IR(KBr): 3408; 1699; 1595; 1526; 1203; 1138; 834; 797; 724 cm^{-1}

^1H R.M.N.: 2.29(s, 3H); 6.81(宽 d, J=7.5Hz, 1H); 7.17(t, J=7.5Hz, 1H); 7.25(宽 d, J=7.5Hz, 1H); 7.32(宽 s, 1H); 7.44(宽 s, 1H); 7.47(宽 d, J=8.5Hz, 2H); 7.62(宽 d, J=8.5Hz, 2H); 7.96(宽 m, 1H); 8.06(宽 s, 1H); 8.30(d, J=6.0Hz, 1H); 8.67(s, 1H); 8.86(s, 1H); 9.12(s, 1H); 13.3(展开的 m, 1H)。

质谱(ES^+): m/z=386[MH $^+$]

实施例 7: 3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



往 130mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺在 5mL 四氢吡喃中的溶液里，滴加 85 μ L 2-氟-5-(三氟甲基)苯基异氰酸酯。然后该反应混合物在室温与氩气氛下搅拌 16 小时，然后减压浓缩。得到的残留物采用硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷-甲醇 9-1(体积)洗脱)。含有期望产物的馏分进行减压浓缩。得到 237mg 3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，呈白色固体状，其特征如下：IR(KBr): 1659; 1623; 1542; 1443; 1339; 1316; 1119 cm^{-1}

^1H R.M.N.: 7.08(展开的 m, 1H); 7.14(dd, J=5.0 和 8.0Hz, 1H); 7.40(m, 1H); 7.46(宽 d, J=8.5Hz, 2H); 7.51(m, 1H); 7.57(宽 d, J=8.5Hz, 2H); 7.55-7.60(掩蔽的 m, 1H); 7.92(宽 d, J=8.0Hz, 1H); 8.38(宽 d,

J=5.0Hz, 1H); 8.64(宽 d, J=7.5Hz, 1H); 9.01(宽 s, 1H); 9.36(宽 s, 1H); 12.1(宽 s, 1H)。

质谱(ES^+): $m/z=458[M+H^+]$

熔点: 232°C(Köfler)。

3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺:

往 260mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸甲酯在 30mL 7N 氨的甲醇溶液中的溶液里, 添加 5mL 22% 氨水溶液。然后该反应混合物在 80°C (12.6 巴) 高压釜中搅拌 20 小时, 然后减压浓缩。得到的残留物采用硅胶柱色谱法纯化(洗脱液二氯甲烷-甲醇 9-1(体积))。含有期望产物的馏分进行减压浓缩。得到 140mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状, 其特征如下: 熔点: 139°C

3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸甲酯:

往 0.64g 3-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸甲酯在 50mL 甲苯和 50ml 甲醇中的溶液里, 添加 1.08g 4-氨基苯基硼酸的盐酸盐和 0.9ml 三乙胺。然后该反应混合物在氩气氛下搅拌 15 分钟。相继添加 144mg 四(三苯基磷)-钨(0)、0.3g 氯化锂、0.66g 碳酸钠和 7.5mL 蒸馏水。该反应混合物在回流下搅拌 8 小时。用 celite® 过滤后, 滤液进行减压浓缩。残留物采用硅胶柱色谱法纯化, 用乙酸乙酯和环己烷(7-3(体积))的混合物洗脱。得到 400mg 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸甲酯, 呈黄色固体状, 其特征如下:

熔点: 236°C

3-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸甲酯:

往 3.2g 1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸甲酯盐酸盐在 165mL 吡啶中的溶液里, 在 0°C 与氩气氛下滴加 5.04g 三溴吡啶在 35mL 吡啶中的溶液。然后该反应混合物在 0°C 下进行搅拌, 然后倒入 250g 碎冰和 750ml 蒸馏水的混合物中。该悬浮液进行过滤, 固体用蒸馏水洗涤 2 次, 每次 25mL, 然后在流动空气中进行干燥。得到 0.87g 3-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸甲酯, 呈浅灰褐色固体状, 其特征如下:

质谱(ES^+): $m/z=256[M+H^+]$

1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸甲酯盐酸盐:

往 4g 1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸盐酸盐在 100mL 甲醇中的溶液里, 在室温下滴加 6mL 亚硫酸氯。然后该反应混合物在室温下搅拌 5

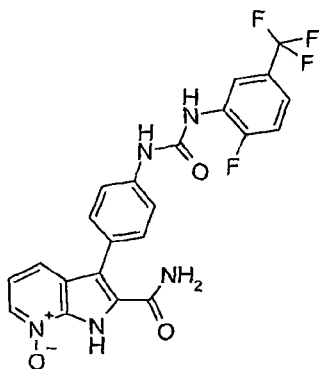
小时，然后减压浓缩。得到的残留物在 50mL 乙醚中进行研磨，然后在 40℃ 下真空干燥。得到 3.22g 1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸甲酯盐酸盐，呈浅黄色固体状，用于以下的步骤中。

1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸盐酸盐

往-70℃ 下冷却的 6.03g 1H-吡咯并[2,3-b]吡啶在 75ml 无水 THF 中的溶液里，滴加 33mL 1.6M n-丁基锂在己烷中的溶液。在-70℃ 下搅拌 15 分钟后，往该溶液里添加 20g 块状干冰。然后使其回到室温，再减压浓缩。得到 8.4g 白色固体，再溶于 175mL 四氢呋喃中。该溶液冷却到-70℃，再滴加 35mL 1.5M t-丁基锂在己烷中的溶液。在-70℃ 下搅拌 30min 后，往该溶液中添加 20g 块状干冰。然后将其回到室温，把该反应混合物倒入 0℃ 下冷却的 50mL 蒸馏水中。减压蒸去四氢呋喃。残留的水溶液用 150mL 蒸馏水稀释，用二氯甲烷洗涤 2 次，每次 100mL，添加 30mL 5N 盐酸水溶液酸化到 pH1，再减压浓缩。得到 10.01g 糊状固体，在 50mL 甲醇中进行再结晶。得到的固体用 50mL 7N 盐酸异丙醇和 50mL 异丙醚的混合物处理。在空气中干燥后，得到 5.71g 1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酸盐酸盐，呈奶油色固体状。

质谱(EI): $m/z=162[M^+]$

实施例 8: 3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-7-氧基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



在 0℃ 下往 50mg 3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺在 2mL 氯仿中的溶液里，滴加 0.31mL 0.7M 间氯过苯甲酸在氯仿中的溶液。该溶液在 0℃ 下搅拌 4 小时，再在室温下搅拌 16 小时。该反应混合物用 3mL 二氯甲烷稀释，用 4 号烧结玻璃过滤器过滤，得到的固体用二氯甲烷洗涤 2 次，每次 3mL，再用空气干燥。得到 40mg 3-{4-[3-(2-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-7-氧基-1H-

吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，呈浅黄色固体状，其特征如下：

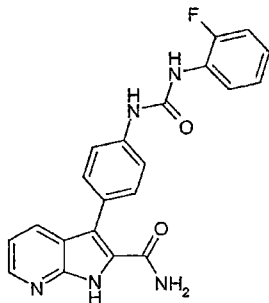
IR(KBr): 3352; 1671; 1609; 1545; 1442; 1340; 1315; 1239; 1119; 1069 和 885 cm^{-1}

^1H R.M.N.: 7.16(m, 1H); 7.35-7.58(m, 7H); 7.63(展开的 m, 1H); 7.77(展开的 m, 1H); 8.31(宽 d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H); 8.65(宽 d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H); 8.94(宽 s, 1H); 9.29(s, 1H); 12.5-13.2(非常展开的 m, 1H)。

质谱(ES^+): $m/z=474[\text{M}+\text{H}^+]$ 。

熔点: 220°C (Köfler)。

实施例 9: 3-{4-[3-(2-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



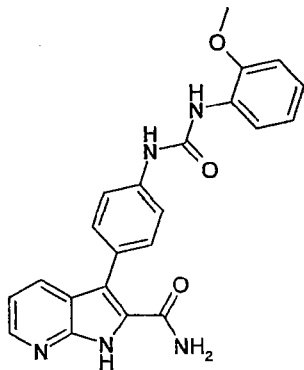
如实施例 7 描述的那样，由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 2-氟-苯基异氰酸酯，制备 66.6mg 3-{4-[3-(2-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺，呈浅灰褐色固体状。

熔点= 268.7°C (Büchi)

质谱(ES^+): $[\text{M}+\text{H}]^+=390$

保留时间(min): 3.71

实施例 10: 3-{4-[3-(2-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



如实施例 7 所描述的，由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 2-甲氧基-苯基异氰酸酯，制备 83.6mg 3-{4-[3-(2-甲氧基-苯基)-

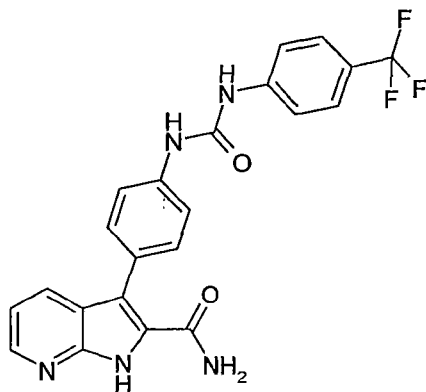
脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅灰褐色固体状。

熔点: 227.1°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=402$

保留时间(min): 3.77

实施例 11: 3-{4-[3-(4-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



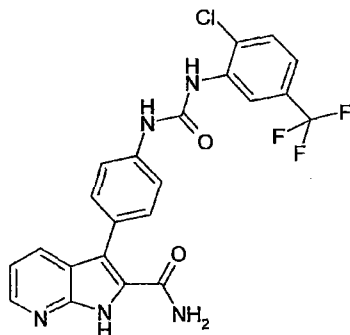
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 4-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 77.6mg 3-{4-[3-(4-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈白色固体状。

熔点: 296.2°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=440$

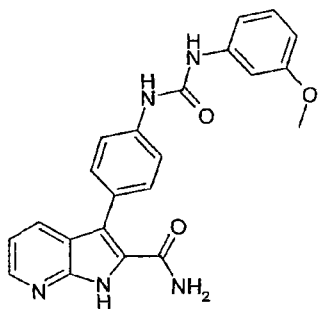
保留时间(min): 4.24

实施例 12: 3-{4-[3-(2-氯-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺。



如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 2-氯-5-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 40.56mg 3-{4-[3-(2-氯-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈白色固体状。

熔点: 188.3°C(Büchi)



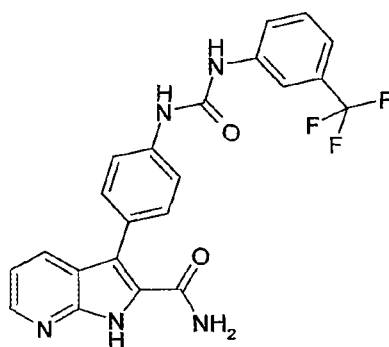
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 3-甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 55.5mg 3-{4-[3-(3-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅灰褐色固体状。

熔点: 306.2°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=402$

保留时间(min): 3.39

实施例 20: 3-{4-[3-(3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



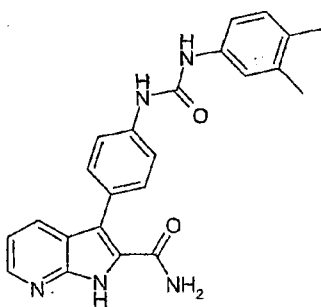
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 3-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 56.5mg 3-{4-[3-(3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈白色固体状。

熔点: 263.6°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=440$

保留时间(min): 3.95

实施例 21: 3-{4-[3-(3,4-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



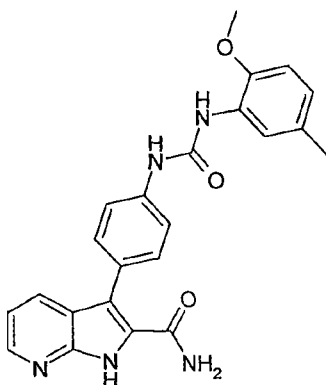
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 3,4-二甲基-苯基异氰酸酯, 制备 45.2mg 3-{4-[3-(3,4-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈白色固体状。

熔点: 274.7°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=400$

保留时间(min): 3.75

实施例 22: 3-{4-[3-(2-甲氧基-5-甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺。



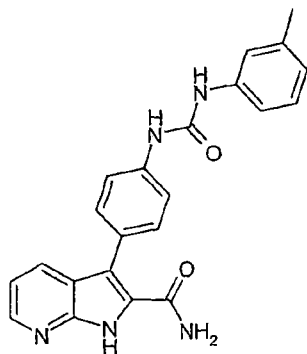
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 2-甲氧基-5-甲基-苯基异氰酸酯, 制备 44.9mg 3-{4-[3-(2-甲氧基-5-甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅灰褐色固体状。

熔点: 327.7°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=416$

保留时间(min): 3.76

实施例 23: 3-[4-(3-m-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



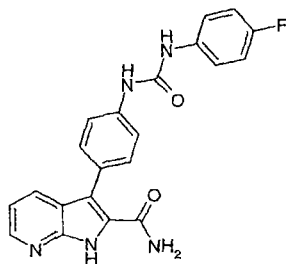
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 m-甲苯基异氰酸酯, 制备 62.5mg 3-[4-(3-m-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅灰褐色固体状。

熔点: 266°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=386$

保留时间(min): 3.60

实施例 24: 3-{4-[3-(4-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



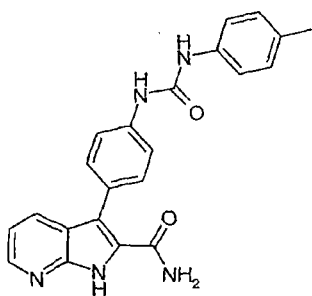
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 4-氟-苯基异氰酸酯, 制备 49.7mg 3-{4-[3-(4-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅灰褐色固体状。

熔点: 299.9°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=390$

保留时间(min): 3.45

实施例 25: 3-[4-(3-p-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



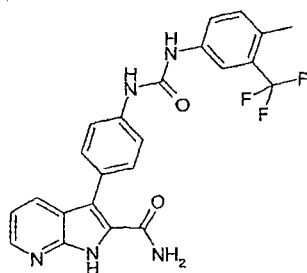
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 p-甲苯基异氰酸酯, 制备 68.4mg 3-[4-(3-p-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅灰褐色固体状。

熔点: 293°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=386$

保留时间(min): 3.58

实施例 26: 3-{4-[3-(4-甲基-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



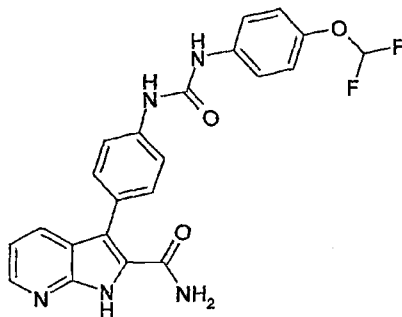
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 4-甲基-3-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 47.1mg 3-{4-[3-(4-甲基-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈白色固体状。

熔点: 285°C

质谱(ES^+): $[M+H]^+=454$

保留时间(min): 4.10

实施例 27: 3-{4-[3-(4-二氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



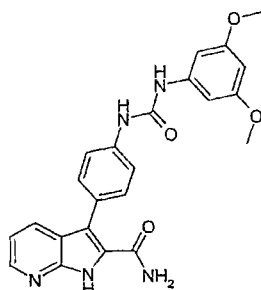
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 4-二氟甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 47.5mg 3-{4-[3-(4-二氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈白色固体状。

熔点: 283.5°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=438$

保留时间(min): 3.64

实施例 28: 3-{4-[3-(3,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



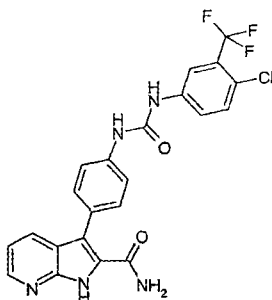
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 3,5-二甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 59.2mg 3-{4-[3-(3,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅灰褐色固体状。

熔点: 266.5°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=432$

保留时间(min): 3.45

实施例 29: 3-{4-[3-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 4-氯-3-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 29.8mg 3-{4-[3-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈白色固体状。

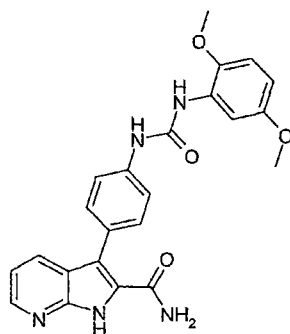
熔点: 311.1°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=474$

保留时间(min): 4.22

实施例 30: 3-{4-[3-(2,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并

[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺

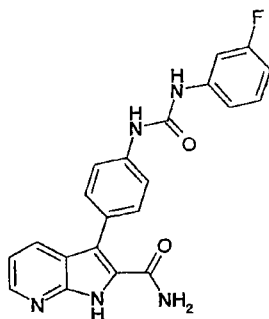


如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 2,5-二甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 33.1mg 3-{4-[3-(2,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色冻干产品状。

质谱: LC-MS-DAD-ELSD: 432(+)=(M+H)(+);
430(-)=(M-H)(-)

保留时间(min): 3.53

实施例 31: 3-{4-[3-(3-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺

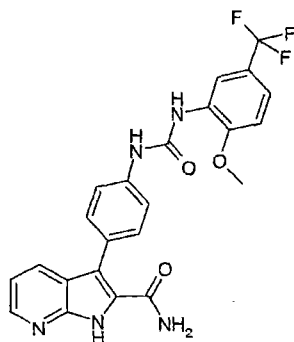


如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 3-氟-苯基异氰酸酯, 制备 31.5mg 3-{4-[3-(3-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈白色冻干产品状。

质谱 LC-MS-DAD-ELSD: 390(+)=(M+H)(+);
388(-)=(M-H)(-)

保留时间(min): 3.55

实施例 32: 3-{4-[3-(2-甲氧基-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



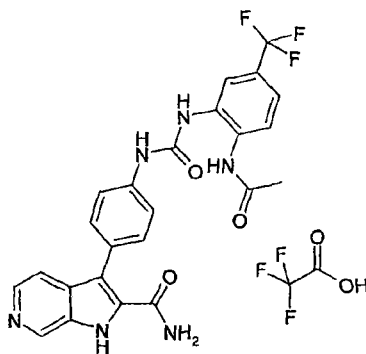
如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 2-甲氧基-5-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 50mg 3-{4-[3-(2-甲氧基-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅灰褐色固体状。

熔点: 221°C(Köfler-升华)

质谱 LC-MS-DAD-ELSD: 470(+)=(M+H)(+)

468(-)=(M-H)(-)

实施例 33: 3-{4-[3-(2-乙酰基氨基-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐。

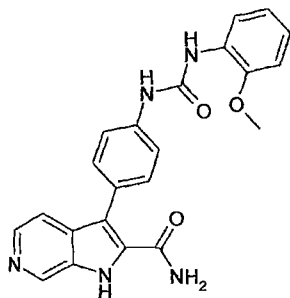


如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 2-乙酰基氨基-5-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 12mg 3-{4-[3-(2-乙酰基氨基-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐, 呈黄色固体状。

质谱(ES⁺): [M+H]⁺=497

保留时间(min): 2.63

实施例 34: 3-{4-[3-(2-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



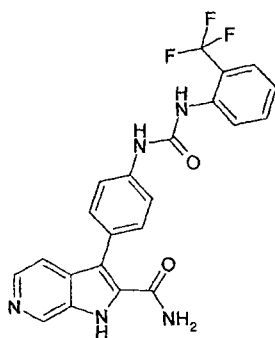
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 2-甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 25mg 3-{4-[3-(2-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 216°C(Köfler)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=402$

保留时间(min): 3.06

实施例 35: 3-{4-[3-(2-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺。



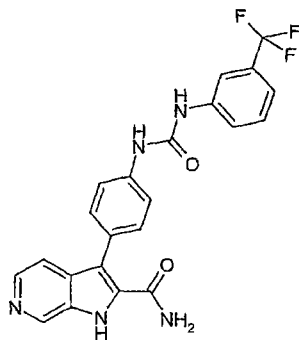
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 2-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 80mg 3-{4-[3-(2-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 228°C(Köfler)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=440$

保留时间(min): 3.17

实施例 36: 3-{4-[3-(3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



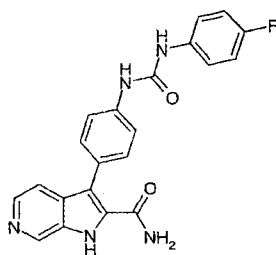
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 77mg 3-{4-[3-(3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 256°C (Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=440$

保留时间(min): 3.48

实施例 37: 3-{4-[3-(4-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



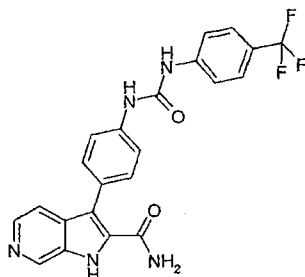
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 4-氟-苯基异氰酸酯, 制备 73mg 3-{4-[3-(4-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 271°C (Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=390$

保留时间(min): 2.93

实施例 38: 3-{4-[3-(4-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



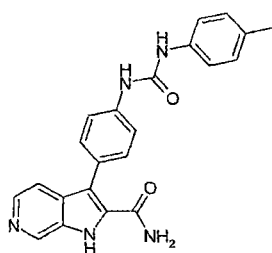
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 4-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 91mg 3-{4-[3-(4-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 289°C

质谱(ES^+): $[M+H]^+=440$

保留时间(min): 3.48

实施例 39: 3-[4-(3-p-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



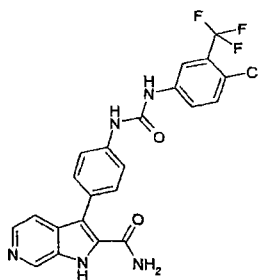
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 p-甲苯基异氰酸酯, 制备 76mg 3-[4-(3-p-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 277°C (Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=386$

保留时间(min): 3.13

实施例 40: 3-{4-[3-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



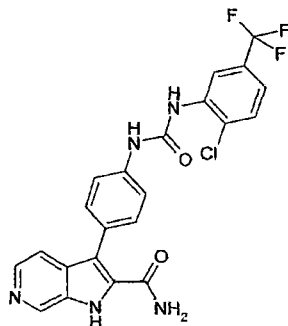
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 4-氯-3-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 103mg 3-{4-[3-(4-氯-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 228°C (Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=474$

保留时间(min): 3.64

实施例 41: 3-{4-[3-(2-氯-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



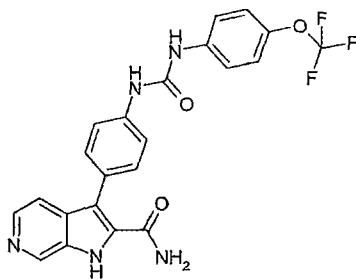
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 2-氯-5-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 76mg 3-{4-[3-(2-氯-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 243°C (Büchi B-545)

质谱(ES⁺): [M+H]⁺=474

保留时间(min): 3.56

实施例 42: 3-{4-[3-(4-三氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



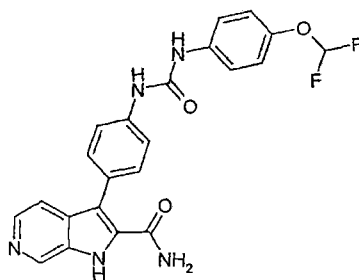
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 4-三氟甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 94mg 3-{4-[3-(4-三氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 276°C (Büchi B-545)

质谱(ES⁺): [M+H]⁺=456

保留时间(min): 3.63

实施例 43: 3-{4-[3-(4-二氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



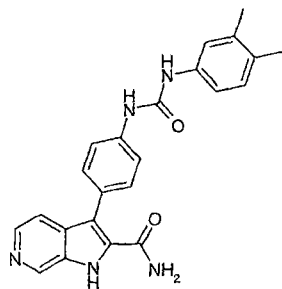
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 4-二氟甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 87mg 3-{4-[3-(4-二氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 257°C

质谱(ES^+): $[M+H]^+=438$

保留时间(min): 3.23

实施例 44: 3-{4-[3-(3,4-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



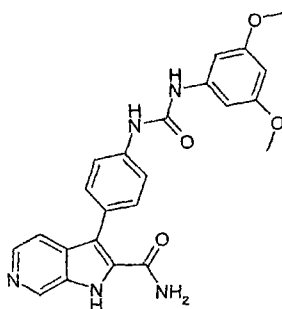
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3,4-二甲基-苯基异氰酸酯, 制备 82mg 3-{4-[3-(3,4-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 230°C (Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=400$

保留时间(min): 3.32

实施例 45: 3-{4-[3-(3,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



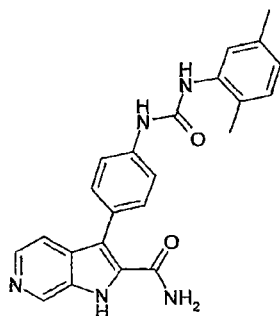
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3,5-二甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 87mg 3-{4-[3-(3,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 225°C(Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=432$

保留时间(min): 3.07

实施例 46: 3-{4-[3-(2,5-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



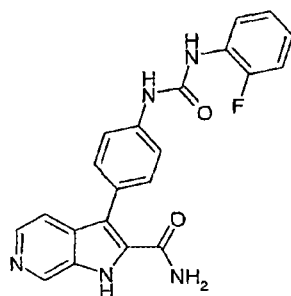
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 2,5-二甲基-苯基异氰酸酯, 制备 87mg 3-{4-[3-(2,5-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈黄色固体状。

熔点: 261°C(Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=400$

保留时间(min): 3.25

实施例 47: 3-{4-[3-(2-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



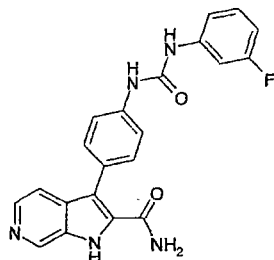
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 2-氟-苯基异氰酸酯, 制备 59mg 3-{4-[3-(2-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 242°C(Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=390$

保留时间(min): 2.41

实施例 48: 3-{4-[3-(3-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



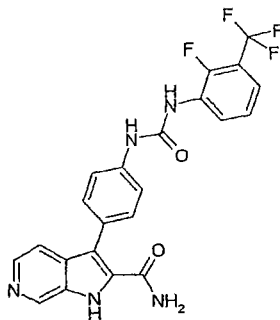
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3-氟-苯基异氰酸酯, 制备 63mg 3-{4-[3-(3-氟-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 252°C(Büchi B-545)

质谱(ES⁺): [M+H]⁺=390

保留时间(min): 2.55

实施例 49: 3-{4-[3-(2-氟-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



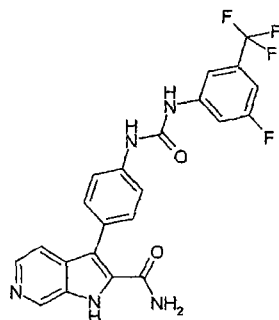
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 2-氟-3-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 69mg 3-{4-[3-(2-氟-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 240°C(Büchi B-545)

质谱(ES⁺): [M+H]⁺=458

保留时间(min): 2.75

实施例 50: 3-{4-[3-(3-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



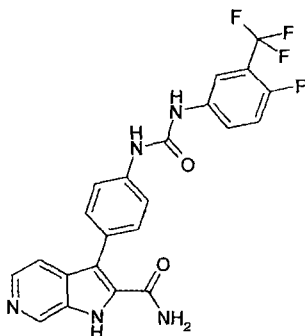
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3-氟-5-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 69mg 3-{4-[3-(3-氟-5-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 261°C (Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=458$

保留时间(min): 2.88

实施例 51: 3-{4-[3-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



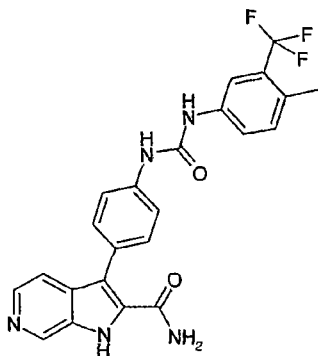
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 4-氟-3-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 56mg 3-{4-[3-(4-氟-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 201°C (Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=458$

保留时间(min): 2.85

实施例 52: 3-{4-[3-(4-甲基-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



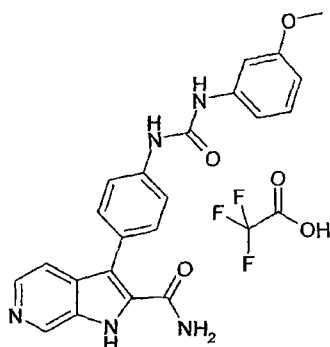
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 4-甲基-3-三氟甲基-苯基异氰酸酯, 制备 61mg 3-{4-[3-(4-甲基-3-三氟甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 199°C

质谱(ES^+): $[M+H]^+=454$

保留时间(min): 2.84

实施例 53: 3-{4-[3-(3-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸酯

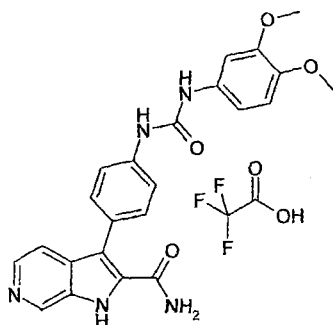


如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3-甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 33.3mg 3-{4-[3-(3-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸酯, 呈黄色冻干产品状。

质谱(ES^+): $[M+H]^+=402$

保留时间(min): 2.60

实施例 54: 3-{4-[3-(3,4-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸酯

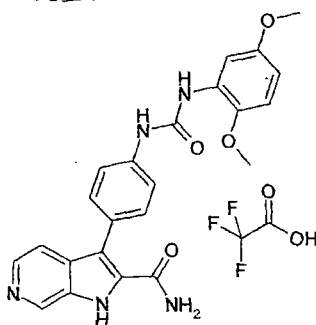


如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3,4-二甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 80.5mg 3-{4-[3-(3,4-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸酯, 呈黄色冻干产品状。

质谱(ES^+): $[M+H]^+=432$

保留时间(min): 2.27

实施例 55: 3-{4-[3-(2,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸盐

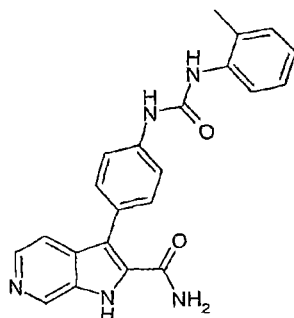


如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 2,5-二甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 90.7mg 3-{4-[3-(2,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺三氟乙酸酯, 呈浅黄色冻干产品状。

质谱(ES^+): $[M+H]^+=432$

保留时间(min): 2.62

实施例 56: 3-[4-(3-o-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



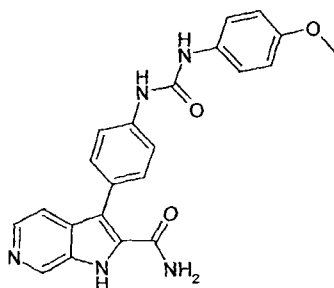
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 *o*-Tolyl 异氰酸酯, 制备 75.3mg 3-[4-(3-*o*-甲苯基-脲基)-苯基]-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 270°C (Büchi B-545)

质谱(ES⁺): [M+H]⁺=386

保留时间(min): 2.54

实施例 57: 3-{4-[3-(4-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



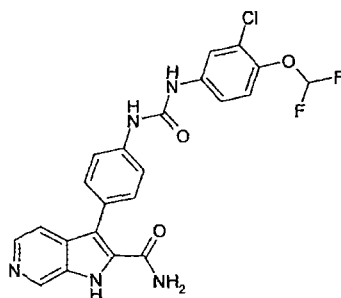
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 4-甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 51.1mg 3-{4-[3-(4-甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 275°C (Büchi B-545)

质谱(ES⁺): [M+H]⁺=402

保留时间(min): 2.28

实施例 58: 3-{4-[3-(3-氯-4-二氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



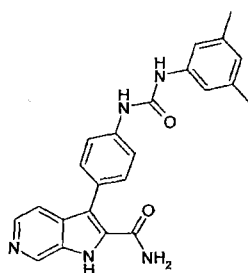
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3-氯-4-二氟甲氧基-苯基异氰酸酯, 制备 93mg 3-{4-[3-(3-氯-4-二氟甲氧基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 267°C(Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=472$

保留时间(min): 2.90

实施例 59: 3-{4-[3-(3,5-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



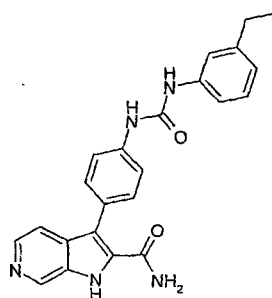
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3,5-二甲基-苯基异氰酸酯, 制备 61mg 3-{4-[3-(3,5-二甲基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 188°C(Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=400$

保留时间(min): 2.68

实施例 60: 3-{4-[3-(3-乙基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺



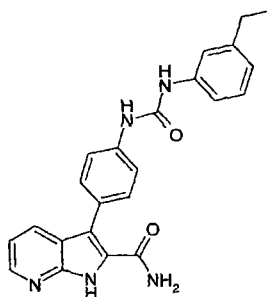
如实施例 1 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺和 3-乙基-苯基异氰酸酯, 制备 61mg 3-{4-[3-(3-乙基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶-2-甲酰胺, 呈浅黄色固体状。

熔点: 257°C(Büchi B-545)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=400$

保留时间(min): 2.97

实施例 61: 3-{4-[3-(3-乙基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺



如实施例 7 所描述的, 由 3-(4-氨基苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺和 3-甲基-苯基异氰酸酯, 制备 0.8mg 3-{4-[3-(3-乙基-苯基)-脲基]-苯基}-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲酰胺, 呈白色固体状。

熔点: 254°C(Büchi)

质谱(ES^+): $[M+H]^+=400$

保留时间(min): 7.18

测定化合物的活性—实验方案

1、FAK

利用在当时确定的荧光试验(HTRF), 通过测定酶的自体磷酸化抑制作用, 确定化合物对 FAK 的抑制活性。

其 N-末端用组氨酸标记的人类 FAK 的完全 DNAC, 已在杆状病毒 pFastBac HTc 表达的媒介物中进行克隆。蛋白质已表达并纯化到约 70% 均匀性。

在 50 mM Hepes pH=7.2、10mM $MgCl_2$ 、100 μ M Na_3VO_4 、15 μ M ATP 的缓冲溶液中, 这种酶(6.6 μ g/ml)与不同浓度的待试验化合物在 37°C 培养 1 小时, 确定激酶活性。通过添加含有 0.4mM KF、133mM EDTA、0.1%BSA 的缓冲液 Hepes pH=7.0, 停止这个酶反应, 并且往这种缓冲溶液中添加用 XL665 标记的抗组氨酸抗体, 和与钷穴状化合物(Eu-K)共轭的酪氨酸磷酸特效单克隆抗体, 在室温下进行标记 1-2 小时。在 G. Mathis 等人, 《抗癌研究》(Anticancer Research), 1997, 17, 第 3011-3014 页中可获得两种荧光团的特征。从激发钷穴状化合物到 XL665 受体的能量转移与 FAK 的自体磷酸化程度成比例。使用 Packard Discovery 牌计数

器测定 XL665 的特定长时间信号。所有这些试验进行两次，计算两次试验的平均值。以没有试验化合物时测定其活性的对照相比，以抑制百分数表示本发明化合物对 FAK 自体磷酸化活性的抑制作用。为了计算抑制%，考虑比[在 665nm 的信号/在 620nm 的信号]。

2、KDR

采用闪烁技术(96-孔板, NEN), 使用活体外 KDR 酶通过基质的磷酸化试验测定化合物的抑制作用。

在 pFastBac 杆状病毒表达的媒介中, 以 GST 融合形式克隆了人 KDR 酶的细胞质域。在这些 SF21 细胞中表达了这种蛋白质, 并纯化到约 60% 均匀度。

在 10mM MgCl₂、100μM Na₃VO₄、1mM NaF 的存在下, 在 20mM MOPS、10mM MgCl₂、10mM MnCl₂、1mM DTT、2.5mM EGTA、10mM b-甘油磷酸盐, pH=7.2 中测定 KDR 的激酶活性。在 4℃下, 往 70μl 含有 100ng KDR 酶的激酶缓冲液里添加 10μl 该化合物。通过添加含有 2μg 基质(以 GST 融合蛋白质形式表达的 PLCγ 的 SH2-SH3 片段)、2μCi γ³³P[ATP]和 2μM 冷 ATP 的 20μl 溶液起动该反应。在 37℃培养 1 小时后, 通过添加 1 个体积(100μl) 200mM EDTA 使该反应停止。除去培养缓冲液, 这些孔用 PBS 洗涤三次, 每次 300μl。使用 Top Count NXT 放射性计数器(Packard)测定每个孔中的放射性。

通过测定只是装有放射性 ATP 和基质的四个不同孔的放射性, 测定背景噪音。

在装有所有这些反应物(γ³³P-[ATP]、KDR 和 PLCγ 基质)但没有化合物的四个不同孔中测定了总活性对照。

以没有化合物时所测定对照活性抑制百分数表示本发明化合物抑制 KDR 活性的抑制作用。

每个板中包括化合物 SU5614(Calbiochem)(1μM)作为抑制对照。

3、Tie2

使用由人胎盘分离的 cDNA 作为模型, 采用 PCR 产生了相应于细胞内域氨基酸 776-1124 的人 Tie2 编码序列。该序列已加到呈 GST 融合蛋白质形式的杆状病毒 pFastBacGT 表达载体中。

在约 80%均匀度的纯化 GST-Tie2 存在下, 通过用 Tie2 使 PLC 磷酸化的试验, 确定分子的抑制作用。该基质是由以 GST 融合蛋白质形式表

达的 PLC 的 SH2-SH3 片段组成的。

在 20mM MOPS 缓冲液, pH7.2 中测定 Tie2 的激酶活性, 该缓冲液含有 10mM MgCl₂、10mM MnCl₂、1mM DTT 和 10mM 磷酸甘油。在放在冰上的 96-孔 FlashPlate 板中, 每个孔放入由 70μl 含有 100ng GST-Tie2 酶的激酶缓冲液组成的反应混合物。然后添加 10μl 稀释在 DMSO 中的待试验分子, 其最大浓度为 10%。对于一定的浓度, 每次测定分四个样品进行。添加含有 2μg GST-PLC、2μM 冷 ATP 和 1μCi³³P[ATP]的 20μl 溶液起该反应。在 37°C 培养 1 小时后, 添加 1 个体积(100μl) 200mM EDTA 停止该反应。除去培养缓冲液, 这些孔用 PBS 洗涤三次, 每次 300μl。使用 Wallac MicroBeta 1450 测定放射性。

计算 Tie2 活性的抑制, 并以没有化合物时测定对照活性计以抑制百分数表示。

4、Aurora 1 和 Aurora 2

通过使用放射性检测的酶试验, 确定化合物对激酶 Aurora 1 和 Aurora 2 的抑制作用。

在放射标记的 ATP([³³P]ATP)存在下, 使用微板表面固定镍-螯合物的 96-孔 FlashPlate 板, 通过 Numa-组氨酸基质磷酸化作用, 评定 Aurora 1 和 Aurora 2 的激酶活性。加到基质 NuMA 中的 ³³P 磷酸盐量与 Aurora 1 或 Aurora 2 酶活性成正比。

蛋白:

在 Sanofi-Aventis 集团的蛋白生产实验室中生产这些蛋白。

Aurora 1: Aurora-B/INCENP-C3 重组配合物, 它纯化到约 50%, 其 Aurora-B 的 N-末端已用组氨酸标记。

Aurora 2: 含有 N-末端组氨酸尾的整个重组蛋白在 E.coli 中表达并纯化到 82%以上。

NuMA(与有丝分裂器并用的核蛋白): 在 E.coli 中表达的 424 个氨基酸片段, 其 N-末端已用组氨酸标记, 并用作两种 Aurora 酶的基质。

方案:

使用的微板是 Flash-Plate 板, 96 孔, 镍螯合物(Perkin Elmer, SMP107 型)。

在每孔 100μl 反应体积中, 在 10nM Aurora 1 或 Aurora 2、在缓冲液中的 500nM NuMA 基质存在下, 在 37°C 下培养待评价产品, 该缓冲液

由 50mM Tris/HCl(pH 7.5)、50mM NaCl、5mM MgCl₂(Aurora-B)或 10mM MgCl₂(Aurora-A)和 1mM DTT 组成。

在每个孔中分配 80μl 酶/基质培养缓冲液，然后再分配 10μl 不同浓度的待评价产品。通过添加含有 0.2μCi [³³P]ATP(10μl)的最终 1μM ATP 引发该反应。培养 30 分钟后，通过简单除去反应缓冲液停止该反应，每个孔用 Tris/HCl 缓冲液洗 2 次，每次 300μl。借助 Packard Top count 型闪烁仪器测定每个孔中的放射性。

Aurora 对照酶活性使用在扣出背景噪音(不含酶的反应混合物)后在 30 分钟内得到的每分钟计数表达。各种试验产品的评定用相对于对照物的 Aurora 活性抑制百分数表示。

5、CDK2/周期蛋白 E:

采用 IMAC(固定金属亲和性色谱)纯化 CDK2/周期蛋白 E-(His)₆ 配合物:

带有 CDK2 和周期蛋白 E(后者包括在 C 末端的六组氨酸图案)分别编码的人类序列的两种重组杆状病毒，用于共感染昆虫细胞 Sf21。开始共感染后 2-3 天，通过离心收集这些细胞，然后在 -40℃ 下储存直到使用。细胞解冻和机械溶解后，溶解上清液中的配合物采用镍亲和性色谱法(IMAC)进行纯化，然后储存在 -80℃ 下。

96 孔规格的 CDK2/周期蛋白 E Flashplate 试验

使用涂有抗生蛋白链菌素的 96 孔规格板用于检测化合物对 CDK2/周期蛋白 E 激酶活性的活性。

为了进行该试验，含生物素的肽基质、蛋白 pRb 片段、(生物素-SACPLNLPLQNNHTAADMVLSVRSPPKKGSTTR-OH)在激酶缓冲液中溶解达到浓度 1mM(HEPES/NaOH 50mM, NaCl 1mM, MgCl₂ 5mM, pH 7.5)，以便构成储存于 -20℃ 下储备溶液，为 110μl 等份试样形式。在试验当天，一份这种溶液解冻并稀释在激酶缓冲液中，该激酶缓冲液含有临时添加到该缓冲液中的 1mM 二硫苏糖醇，以便达到浓度 14.3μM。在每个 Flashplate 孔中添加 70μl 这种溶液，以便达到 10μM 最终基质浓度，这时在 100μl 最终反应介质的体积内进行酶反应(参见下文)。

使用在分开试管中的 10mM 储备溶液，制备在 DMSO 中不同浓度的抑制剂(本发明产品)中间稀释液。这样制备出 1000μM、333.3μM、111.1μM、37.03μM、12.35μM、4.11μM 和 1.37μM 稀释液。1μl 各种溶

液(或 1 μ l DMSO 为对照)转移到试验板的这些孔中。

在每个孔中添加 19 μ l 三磷酸腺苷(ATP)与 ATPy³³P 的混合物在激酶缓冲液中的溶液,其浓度是 5.26 μ M 总 ATP 和 52.6 μ Ci/ml ³³P。每个孔添加 10 μ l 200nM CDK2/周期蛋白 E 在激酶缓冲液中的溶液起酶反应,该激酶缓冲液含有 1mM 二硫苏糖醇(或含有 1mM 二硫苏糖醇的 10 μ l 激酶缓冲液,作为反应空白)

添加了各种反应物后,每个孔的最终体积是 100 μ l,基质的最终浓度是 10 μ M,抑制剂最终浓度是 10 μ M、3.33 μ M、1.11 μ M、0.37 μ M、0.123 μ M、0.041 μ M 和 0.014 μ M(根据中间稀释液的浓度),最终 ATP 浓度是 1 μ M,最终 ³³P 的量是 1 μ Ci/孔,最终 CDK2/周期蛋白 E 配合物浓度是 20nM。

添加了所有这些反应物之后,在 650rpm 轨道搅拌下,在 30 $^{\circ}$ C 下培养试验板。

培养结束时,该板用 PBS(磷酸盐缓冲盐水, pH=7.4, 无钙也无镁,参考号 10010-015, Gibco BRL)洗涤三次,每次每个孔 300 μ l。使用 Packard Topcount.NXT 仪器采用闪烁计数法定量测定加到肽的 ³³P 量。通过测定能使酶活性降低 50%的抑制剂浓度(CI50),评定本发明产品的抑制活性。

结果: 表 1:

实施例	IC 50(nM)					
	FAK	KDR	TIE2	Aurora A	Aurora B	CDK2
1	164	29	4	172	138	
2	299	150	21	222	196	
5	249	258	47	131	67	
7	184	34	9	553	133	