

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102239150 A

(43) 申请公布日 2011. 11. 09

(21) 申请号 200980148996. 8

(74) 专利代理机构 北京铭硕知识产权代理有限公司 11286

(22) 申请日 2009. 12. 04

代理人 韩明星 刘灿强

(30) 优先权数据

10-2008-0122999 2008. 12. 05 KR

(51) Int. Cl.

C07D 231/56 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 06. 07

(86) PCT申请的申请数据

PCT/KR2009/007247 2009. 12. 04

(87) PCT申请的公布数据

W02010/064875 EN 2010. 06. 10

(71) 申请人 韩国科学技术研究院

地址 韩国首尔市

申请人 韩国化学研究院

韩国生命工学研究院

(72) 发明人 沈台辅 孙正范 金焕 朴桐湜

崔焕根 咸泳播 河廷美 柳景昊

吴昌铉 李招夏 河在斗 赵成伦

权炳穆 韩东初

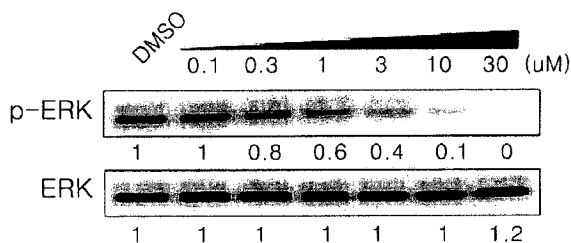
权利要求书 5 页 说明书 53 页 附图 1 页

(54) 发明名称

作为用于增殖性疾病治疗的蛋白激酶抑制剂的新型吡啶衍生物或其药学上可接受的盐以及含有其作为活性成分的药物组合物

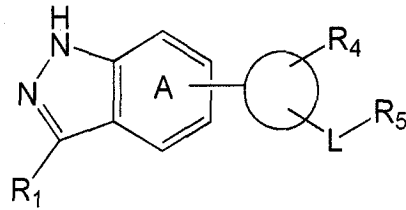
(57) 摘要

公开了由下面的化学式 1 表示的新型吡啶衍生物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物以及含有其作为活性成分的用于预防或治疗增殖性疾病的药物组合物。由于对诸如 b-raf、KDR、Fms、Tie2、SAPK2a 和 Ret 的蛋白激酶（这些蛋白激酶诱发由异常细胞增殖引起的疾病）具有有效的抑制作用，所以该新型吡啶衍生物可以用于预防或治疗由异常细胞增殖引起的疾病。



1. 一种由下面的化学式 1 表示的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐：

[化学式 1]



其中，

R_1 为 HOCH_2- 或 $\text{R}_2-\text{C}(=\text{O})-$;

R_2 为氢、羟基、 C_1-C_3 烷氧基或 $\text{R}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-$;

R_3 为氢、二甲胺、吗啉基、苯基、杂芳基、取代有 CF_3 的苯基，或 C_3-C_6 环烷基；

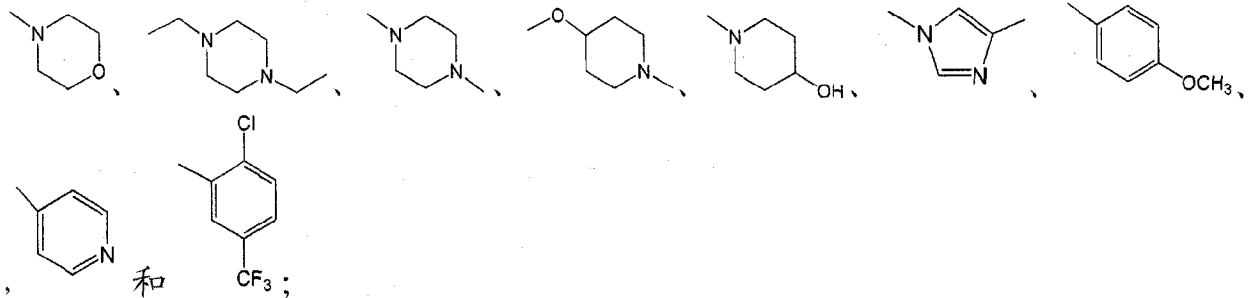
A 为取代有 R_4 和 LR_5 的 5-6 元芳基或杂芳基；

R_4 为氢或 C_1-C_3 烷基；

L 为 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ ；

R_5 为氢、 $-\text{C}(\text{O})-\text{R}_6$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{R}_6$ 或 $-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}_6$ ；

R_6 是从由苯基、苯甲基、5 元或 6 元杂芳基、萘基和苯并噁吩基组成的组中选择的一种，其中，每一种取代有从由以下取代基组成的组中选择一个或两个取代基：氢、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、



n 为 0、1 或 2。

2. 根据权利要求 1 所述的吡唑衍生物，其中， R_2 为氢、羟基、甲氧基、乙氧基或 $\text{R}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-$ 。

3. 根据权利要求 1 所述的吡唑衍生物，其中， R_3 为氢、二甲胺、吗啉基、苯基、取代有 CF_3 的苯基，或环丙基。

4. 根据权利要求 1 所述的吡唑衍生物，其中，A 为取代有 R_4 和 $-\text{NHR}_5$ 的苯基或噁吩基。

5. 根据权利要求 1 所述的吡唑衍生物，其中， R_4 为氢或甲基。

6. 根据权利要求 1 所述的吡唑衍生物，其中， R_6 的 5 元或 6 元杂芳基为噁吩基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、吡唑基、异噻唑基、吡啶基、哒嗪基或吡嗪基。

7. 根据权利要求 1 所述的吡唑衍生物，其中，所述 R_6 是苯基、(三氟甲基)苯基、4-硝基-3-(三氟甲基)苯基、3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基、4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯基、3,4-二氯苯基、4-氯-3-(三氟甲基)苯基、3,5-二(三氟甲基)苯基、3,4-二甲氧基苯基、3-吗啉代-5-(三氟甲基)苯基、2,3-二氯苯基、

2,4-二甲基苯基、4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基、4-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基、3-(4-羟基哌啶-1-基)-5-(三氟甲基)苯基、4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯基、苯甲基、3,4-二甲氧基苯甲基、噻吩基、5-溴噻吩基、吡嗪基、呋喃基、2,5-二甲基呋喃基、5-(4-甲氧基苯基)呋喃基、5-(2-氯-5-(三氟甲基)苯基)呋喃基、异噁唑基、5-甲基异噁唑基、吡唑基、1-(4-甲氧基苯基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑基、哒嗪基、吡啶基、3-氯吡啶基、噻唑基、4-(2-(吡啶-4-基)噻唑基)、萘基、4,7-二甲氧基萘基、苯并[b]噻吩基、嘧啶基、咪唑基、吡咯基、二氢吡咯基、噁唑基、三唑基、噁二唑基、苯并咪唑基、喹啉基、四氢喹啉基、苯并噻唑基、苯并噻唑苯基、苯并间二氧杂环戊烯基、吲唑基、吲哚基、二氢吲哚基或二氢苯并呋喃基。

8. 根据权利要求1所述的吲唑衍生物,所述吲唑衍生物选自于由以下物质组成的组:

- 1) 6-(4-氨基苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 2) 6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 3) 6-(4-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 4) 6-(4-(吡嗪-2-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 5) 6-(4-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 6) 6-(4-(2,5-二甲基呋喃-3-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 7) 6-(4-(5-甲基异噁唑-3-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 8) 6-(4-(1-(4-甲氧基苯基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 9) 6-(4-(4-硝基-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 10) 6-(4-(哒嗪-4-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 11) 6-(4-(2-(3,4-二甲氧基苯基)乙酰氨基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 12) 6-(4-(5-(4-甲氧基苯基)呋喃-2-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 13) 6-(4-(3-氯异烟酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 14) 6-(4-(噻唑-4-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 15) 6-(4-(4,7-二甲氧基-1-萘甲酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 16) 6-(4-(5-(2-氯-5-(三氟甲基)苯基)呋喃-2-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 17) 6-(4-(2-(吡啶-4-基)噻唑-4-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 18) 6-(4-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 19) 6-(4-(4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 20) 6-(4-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 21) 6-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 22) 6-(4-(3-(3,5-二(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 23) 6-(4-(3-(3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;
- 24) N-甲基-6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-酰胺;
- 25) 6-(4-(5-(4-甲氧基苯基)呋喃-2-酰胺基)苯基)-N-甲基-1H-吲唑-3-酰胺;

- 26) 6-(4-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-甲基-1H-吡啶-3-酰胺;
- 27) 6-(4-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-甲基-1H-吡啶-3-酰胺;
- 28) 6-(4-(3-(3,5-二(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-N-甲基-1H-吡啶-3-酰胺;
- 29) N-甲基-6-(4-(3-(3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 30) N-(2-吗啉代乙基)-6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 31) 6-(4-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 32) 6-(4-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 33) 6-(4-(2,5-二甲基咪唑-3-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 34) 6-(4-(1-(4-甲氧基苯基)-5-(三氟甲基)-1H-吡啶-4-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 35) 6-(4-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-(3-(三氟甲基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 36) 6-(4-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 37) N-甲基-6-(4-(哒嗪-4-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 38) 5-甲基-N-(4-(3-(甲基氨基甲酰基)-1H-吡啶-6-基)苯基)异噁唑-3-酰胺;
- 39) N-甲基-6-(4-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 40) N-甲基-6-(4-(4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 41) N-(4-(3-(甲基氨基甲酰基)-1H-吡啶-6-基)苯基)噁唑-4-酰胺;
- 42) 5-(4-氨基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯;
- 43) 5-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯;
- 44) 6-(3-氨基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯;
- 45) 6-(3-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯;
- 46) 6-(3-(5-甲基异噁唑-3-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯;
- 47) 6-(3-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯;
- 48) 6-(3-(2-(3,4-二甲氧基苯基)乙酰氨基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯;
- 49) 6-(3-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯;
- 50) N-(2-吗啉代乙基)-6-(3-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺;
- 51) 6-(3-氨基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯;
- 52) 6-(3-(3-吗啉代-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯;
- 53) 6-(5-氨基-2-甲基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯;
- 54) 6-(3-(3-(2,3-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯;
- 55) 6-(3-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯;
- 56) 6-(3-(3-(2,4-二甲基苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯;
- 57) 6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙

酯；

58) 6-(3-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；

59) 6-(3-(3-吗啉代-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；

60) 6-(3-(3-(2,3-二氯苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；

61) 6-(3-(3-(2,3-二氯苯基)脲基)苯基)-N-乙基-1H-吡啶-3-酰胺；

62) 6-(3-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-N-乙基-1H-吡啶-3-酰胺；

63) 6-(3-(3-(2,4-二甲基苯基)脲基)苯基)-N-乙基-1H-吡啶-3-酰胺；

64) 6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；

65) 6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-N-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；

66) 6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-N-环丙基-1H-吡啶-3-酰胺；

67) 6-(2-甲基-5-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；

68) 6-(3-(3-(三氟甲基)苯基亚磺酰氨基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；

69) 6-(3-(3-(4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；

70) 6-(3-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯；

71) 6-(2-甲基-5-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；

72) 5-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；

73) N-甲基-6-(2-甲基-5-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；

74) 6-(2-甲基-5-(3-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；

75) N-甲基-6-(2-甲基-5-(3-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；

76) 6-(3-(3-(4-羟基哌啶-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；

77) 6-(3-(3-(4-羟基哌啶-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；

78) 6-(3-(4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯；

79) 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(3-(3-(羟基甲基)-1H-吡啶-6-基)苯基)

脲；

80) 6-(5-(3-(三氟甲基)苯基氨基甲酰基)噻吩-3-基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯；或

81) 6-(4-(2,5-二甲基咪唑-3-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺盐酸盐。

9. 一种含有由权利要求 1 中的化学式 1 表示的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的用于预防或治疗由异常细胞增殖引起的疾病的药物组合物。

10. 根据权利要求 9 所述的药物组合物,其中,所述吡唑衍生物抑制从由 b-raf、KDR、Fms、Tie2、SAPK2a 和 Ret 组成的组中选择蛋白激酶。

11. 根据权利要求 9 所述的药物组合物,其中,由异常细胞增殖引起的疾病选自于由胃癌、肺癌、肝癌、结直肠癌、胰腺癌、脑癌、骨癌、黑素瘤、乳腺癌、结节性硬化病、子宫癌、子宫颈癌、头颈癌、食道癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾细胞癌、骨肉瘤、前列腺癌、尿道癌、膀胱癌、血癌、淋巴瘤、牛皮癣和纤维腺瘤组成的组。

12. 根据权利要求 11 所述的药物组合物,其中,所述血癌选自于由白血病、多发性骨髓瘤和骨髓增生异常综合症组成的组。

13. 根据权利要求 11 所述的药物组合物,其中,所述淋巴瘤是霍奇金病或非霍奇金淋巴瘤。

作为用于增殖性疾病治疗的蛋白激酶抑制剂的新型吡啶衍生物或其药学上可接受的盐以及含有其作为活性成分的药物组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及新型吡啶衍生物、其药学上可接受的盐、其制备方法和含有其作为活性成分的用于预防和治疗增殖性疾病的药物组合物。

背景技术

[0002] 对位于蛋白的酪氨酸和丝氨酸 / 苏氨酸残基中的羟基的磷酸化起催化作用的蛋白激酶起着对细胞的增殖、分化、存活、移植和入侵重要的作用。蛋白激酶是用于控制生物体内的信号转导系统的最重要指令者之一。

[0003] 活细胞中的信号转导系统应当适当地且顺畅地启动, 并用来维持生物体的体内稳态。但是特异的蛋白激酶的突变或过表达引起的坍塌的信号转导系统诱发各种疾病, 例如癌、炎症、代谢性疾病、大脑紊乱等。

[0004] 至今已经确定或提出了 518 种人类蛋白激酶, 这相当于人类总基因存在的大约 1.7%。其分为酪氨酸蛋白激酶 (超过 90 种) 和丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶。酪氨酸蛋白激酶可以分为由 58 种组成的作为受体酪氨酸激酶的 20 个亚族和由 32 种组成的属于细胞质 / 非受体酪氨酸激酶的 10 个亚族 (Manning 等, Science, 2002, 298, 1912)。受体酪氨酸激酶的细胞外结构域可容纳它们的配体, 例如生长因子, 位于细胞质中的它们的激酶结构域可以使特异的酪氨酸磷酸化。一旦配体正在结合到受体酪氨酸激酶的细胞外结构域, 受体酪氨酸激酶便被二聚化, 且细胞质结构域中的特异的酪氨酸变为自磷酸化。继而, 信令经历细胞质和细胞核中的下游蛋白的连续磷酸化, 该连续信令最终导致引起癌的转录因子被激活且过表达。

[0005] 属于丝氨酸 / 苏氨酸 (Ser/Thr) 蛋白激酶族的 Raf 负责将从细胞膜中的激活生长因子受体产生的信号转导至细胞核。首先确定的 raf 基因是致癌的 v-raf (Mark GE 等, 1984)。源自丝裂原活化的蛋白激酶 (MAPK) 的信号转导系统对于细胞增殖、分裂、存活、死亡和入侵以及转录调节和发展来说是必需的。MAPK 信令系统主要通过 MAPK 激酶激酶 (MAPKKK)、MAPK 激酶 (MAPKK) 和 MAPK 的顺序磷酸化过程来工作。Raf、MEK 和 ERK (细胞外信号调节激酶) 分别对应于 MAPK 激酶激酶 (MAPKKK, MAP3K)、MAPK 激酶 (MAPKK、MAP2K) 和 MAPK。

[0006] Ras (即, 由来自生长因子受体的信号激活的小 GTP 结合蛋白) 使得 Raf-MEK-ERK 顺序地磷酸化, 最后, 顺序的 MAPK 信令转导至细胞核。Raf 族激酶由 A-raf、B-raf 和 c-raf (raf-1) 组成。对于这三种 Raf 异形体, 已经最广泛地研究了 Raf-1。在结构上为活性的 Ras 肿瘤基因 (特别是 k-Ras) 证实与胰腺癌 (大约 90%)、直肠癌 (大约 45%)、肝癌 (大约 30%)、3 种非小细胞肺癌 (大约 35%)、肾癌 (大约 10%) 和其它各种实性肿瘤有关。

[0007] 一旦 Raf-1 的丝氨酸 338 被磷酸化, 与激活的 Ras 结合的 Raf-1 便可以激活

(Avruch, J. 等, Recent Progress in Hormone Research, 2001, 56, 127)。相反,与丝氨酸 259 被磷酸化的 Raf-1 组合的 14-3-3 蛋白使得 Raf-1 失活。

[0008] Raf 还涉及到信令通路的 NF- κ B (激活的 B 细胞的核因子 κ -轻链增强子),并且在免疫反应和炎症方面起着重要作用 (Caraglia, M. 等, Annals of Oncology, 2006, 17, 124)。Raf 使失活的 I κ Bs (κ B 的抑制子) 蛋白磷酸化,并诱发 NF κ B 位于细胞核中,并最终上调抑制细胞死亡的转录因子。

[0009] Raf 的抗凋亡的不同机理如下。Raf 结合到 Bcl-2,从而形成 Raf-Bcl-2 二聚物,并位移至线粒体。如果它在该位置使得 Bad 蛋白磷酸化,则 Bcl-2 的抗凋亡功能发挥作用。Raf 与 Bcl-2 发生免疫沉淀 (Yuryev, A. 等, Mol. Cell. Biol. 2000, 20, 4870)。Raf 蛋白的三种亚型 (A-Raf、B-Raf、C-Raf/Raf-1) 承载 N 端控制域,且在 C 端激酶结构域保存三个结构域 (CR1、CR2、CR3)。CR1 包括存在大量半胱氨酸的 Ras 结合域。另外,CR2 具有用于 14-3-3 蛋白 (即, Raf-1 的丝氨酸 259) 的结合位点。CR3 包含催化结构域 (Tran 等, J Biol Chem, 2005, 280, 16244),并拥有将被完全激活的自磷酸化位点。例如, Raf-1 的苏氨酸 491 和丝氨酸 494 的磷酸化 (Wellbrock, C. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2004, 5, 875) 能够使 Raf-1 被最大限度地激活。

[0010] Raf 蛋白的三种亚型在不同组织中被过表达。C-Raf 无所不在地几乎在所有组织中被表达,另一方面, A-Raf 主要在泌尿生殖系统 (肾、子宫和前列腺) 中被表达, B-Raf 主要在神经、脾和造血器官中被发现 (Jaiswal, R. K. 等, J. Biol. Chem. , 1966, 271, 23626)。

[0011] B-Raf 突变与人类的全部癌的大约 7% 有关。特别地,频繁地观察到 B-Raf 的突变,其在作为一种皮肤癌的黑素瘤中比较普遍 (大约 70%)。在黑素瘤中主要发现 B-raf-V600E 突变种 (大约 90%),在 B-raf-V600E 突变种中,位于 Exon 15 中的缬氨酸 600 由于点突变被谷氨酸取代 (Davies, H. 等, Nature 2002, 417, 949)。B-raf-V600E 的体外激酶活性是野生型 B-Raf 的体外激酶活性的大约 500 倍高。因此, B-raf-V600E 使得 MAPK 激酶信号转导系统被过激活,并诱发各种类型的癌。B-raf-V600E 的激酶活性比野生型 B-raf 的激酶活性高的原因如下。位于 B-Raf 激活段中的点突变的谷氨酸 600 的行为类似于磷酸化位点之间的磷酸盐基 (苏氨酸 598 至丝氨酸 601)。这种磷酸盐模仿诱发了构形变化,从而导致 B-Raf 激酶结构域在结构上被激活 (Tuveson, D. A. , Cancer Cell, 2003, 4, 95)。其间,到现在才确定出的 B-raf 突变种有大约 40 种。这些突变主要出现在存在大量甘氨酸的 G 环和激活段。除了 V600E 之外的其它突变种的产生频率显著地低。在结直肠癌中,在激酶结构域的 G 环中产生 B-Raf 突变种的大约 10% (Rajagopalan 等, Nature 2002 418, 934)。

[0012] 自体抑制 (自动抑制) 结构域存在于 B-Raf 的 N 端中。然而,一旦激活的 H-Ras 结合到 B-Raf, B-Raf 就变得总是活性的。这是通过丝氨酸 445 的磷酸化而形成的,这对应于 C-Raf 丝氨酸 338 的磷酸化。B-Raf V600E 突变种妨碍 B-Raf 的自体抑制,并致使 B-Raf 在结构上是活性的。

[0013] 此外,频繁地检测到 B-Raf-V600E 突变种,其在乳头状甲状腺癌中比较普遍 (大约 50%) (Salvatore, G. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004, 89, 5175)。B-Raf-V600E 突变种还与结肠癌 (大约 20%) 和子宫癌 (大约 30%) 有关。同时,在没有突变种的表达的情况下,分别以大约 50% 和几乎 100% 的频率在肾癌 (肾细胞癌) 和肝癌 (HCC) 中观察到 C-Raf 的过度活性。

[0014] 由 Bayer 和 Onyx 公司开发的 Sorafenib(索拉非尼)(BAY 43-9006/ 商标 Nexavar) 强力地抑制了 C-Raf、野生型 B-Raf 或突变种 B-Raf。此外,索拉非尼抑制包括血小板源生长因子受体、血管内皮生长因子(血管内皮生长因子受体 1/2/3)、纤维原细胞生长因子受体、Flt-3、c-Kit、RET 等的若干受体酪氨酸激酶的激酶活性。索拉非尼通过如下机理来抑制激酶活性,即,在所述机理中,索拉非尼使激酶结构域的 DGF 基元稳定化,从而具有失活的构形(非活性构形)(Wan, P. T. 等, Cell, 2004, 116, 855)。索拉非尼在 2005 年从 FDA 获得批准,作为用于进展期肾细胞癌的治疗剂。然而,与 soley Raf 抑制相比,索拉非尼治疗的临床优点是由包括血管内皮生长因子(血管内皮生长因子受体 1/2/3)的若干激酶的复合抑制引起的。在二期临床调查中,索拉非尼的 MTD(最大耐受剂量)为一天两次共 400mg。一天两次 600mg 索拉非尼的给药诱发 3 级的皮肤毒性副作用。手和足的皮肤脱皮,且索拉非尼的常见副作用是红斑以及水肿症状的手足综合症。

[0015] 同时,索拉非尼在 2008 年获得批准作为肝细胞癌(HCC)治疗剂。此外,在二期临床试验中,索拉非尼针对甲状腺癌、转移性前列腺癌和乳腺癌展现出合理的功效。同时,索拉非尼针对作为一种皮肤癌的黑素瘤显示出温和的治疗功效。同时,由 Plexxikon 开发的 PLX4-720(即,7-吡啶啉衍生物)诱使诸如 1205Lu(raf-V660E 过表达细胞株)的黑素瘤细胞系的细胞凋亡(Tsai, J. 等, PNAS, 2008, 105, 3041)。PLX-4720 强力地抑制 Raf-V660E 的激酶活性,其中 IC_{50} 值为 13nM,并针对 A375 黑素瘤细胞系(raf-V660E 过表达细胞株)展现出良好的抗增殖活性($IC_{50} = 0.5 \mu M$)。由 Novartis/Chiron 开发的 CHIR-265 强力地抑制若干种激酶,如 B-Raf-V600E($IC_{50} = 19nM$)、KDR($IC_{50} = 70nM$)、PDGFR-b($IC_{50} = 30nM$)和 c-Kit($IC_{50} = 20nM$)。CHIR-265 在用于黑素瘤治疗的一期临床调查下。

[0016] 近来,Raf 抑制剂的抗药性问题浮现出来。Montagut 和同事培育了在 Raf 抑制剂(AZ628)的存在下携带 B-Raf-V600E 突变种的 M14 细胞株(人体黑素瘤细胞系),并获得耐 Raf 抑制剂(AZ628)的克隆体。他们基于该实验解释了发生 Raf 抑制剂的耐药性的机理。如果抑制了 B-Raf,则 C-Raf 的蛋白表达水平提高,并且对 B-Raf-V600E 的药物抑制活性下降。但是格尔德霉素即 HSP90 抑制剂的敏感性在耐 Raf 抑制剂(AZ628)的黑素瘤细胞系上增加。因此,HSP90 抑制可以克服 Raf 抑制剂的耐药性问题(Montagut, C. Cancer Research, 2008, 68, 4853)。

[0017] 还被称作 KDR/Flk-1(含有激酶插入结构域的受体/胎肝激酶)的 VEGFR-2(血管内皮生长因子受体-2)属于受体酪氨酸激酶的 III 族类别,并且与最终导致从既存的血管形成新的血管的血管生成过程密切相关。血管生成与诸如癌、风湿性关节炎、糖尿病视网膜病变和新生血管性青光眼的病理状况相关。众所周知,VEGFR-2 的抑制作用抑制血管生成,VEGFR-2 已经被视为用于癌症治疗的有前景的分子靶。

[0018] VEGF 主要在血管内皮细胞、生血细胞和基质细胞中在缺氧状态下且通过 TGF、白介素和细胞生长因子如 PDGF 的刺激而生成。VEGF 结合到 VEGF 受体(VEGFR)-1、-2 和 -3。VEGFR 的信号特异性更加细致地由神经菌毛素(neurophilin)、硫酸乙酰肝素、包括钙粘素和整合素的共同受体(辅助受体)来控制。

[0019] VEGF 的生物学功能通过 III 型 RTK、VEGFR-1(Flt-1)、VEGFR-2(KDR/Flk-1)和 VEGFR-3(Flt-4)介导。VEGFR 变得与 Fms、Kit 和 PDGFR 密切相关。然而,VEGF-A 联合体与 VEGFR-1 和 -2 组合,VEGF-C 结合到 VEGFR-2 和 -3。然而,对于血管生成,优先地需要 VEGF-A

和 -B, VEGF-C 和 -D 对于淋巴血管生成是必需的。新生血管起到用于将营养物质和氧提供到肿瘤的通路角色,并起到癌细胞转移的作用,癌细胞转移对于癌细胞的增殖和入侵来说是必要的。在正常细胞的情况下,通过血管生成加速的物质(血管生成刺激物)和抑制血管生成的物质(血管生成抑制物)的相互调节,使血管生成在生物体内达到平衡,但是在癌细胞的情况下,这种平衡被破坏,且 VEGFR 被 VEGF(血管内皮生长因子)激活,VEGF 大多数对血管内皮细胞造成大的影响。已经在多方面研究和开发了对诸如 VEGFR 的受体酪氨酸激酶起到抑制作用的小分子抑制剂,发现这些抗血管生成剂能够用于治疗大多数实性肿瘤的可能性非常大。另外,与细胞毒素抗癌剂相比,它们的优点在于具有预期治疗功效,且副作用相对较小。

[0020] 已经确定并推行了大量小分子 VEGFR-2 抑制剂,这些中的一些当前正在临床研究中(Schenone 等,Curr. Med. Chem. 2007 ;14 :2495.)。作为包括 VEGFR-2 抑制的多靶点酪氨酸激酶抑制剂的索拉非尼和苏尼替尼(Sunitinib)已经展开。

[0021] 与血管生成有关的另一受体酪氨酸激酶是主要在血管内皮上表达的 Tie-2。还在造血细胞中发现 Tie-2。发现血管生成素 Ang1 和 Ang 2 作为 Tie-2 配体(Davis 等,Cell 1996 ;87 :1161.)。结合到 Tie-2 的细胞外结构域的 Ang 1 引起 Tie-2 激酶结构域的自磷酸化,但奇怪的是没有激活 MAPK,也没有刺激有丝分裂发生。看起来 Ang 2 在淋巴管系统中起到关键作用。已经证实,利用显性负的 Tie-2 受体的 Tie-2 抑制减少了小鼠的肿瘤血管生成和生长(Lin 等,Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1998 ;95 :8829.)。

[0022] 主要在神经和排泄系统中表达的 RET(在转染期间重排的)原癌基因属于受体酪氨酸激酶族。RET 的 N 端细胞外结构域由四个类钙粘素重复、钙结合位点、9 个 N-糖基化位点和半胱氨酸富集区域构成(Airaksinen 等,Nat. Rev. Neurosci. 2002 ;3 :383.)。至少 12 个酪氨酸自磷酸化位点位于 RET 异形体的细胞质结构域中(Liu, J. Biol. Chem. 1996 ;271 :5309.)。例如,在 RET9 异形体的细胞内激酶结构域中存在 16 种酪氨酸。结合到 RET 的细胞外部分的 GFL/GFR- α 复合体致使 RET 的激酶结构域自磷酸化和激活(Aiaksinen 等,Nat. Rev. Neurosci. 2002 ;3 :383.)。GDNF((源自神经胶质的亲神经因子)族配体,即 GFL 由 GDNF、artemin、neurturin 和 persephin 构成。由 4 个亚型(GFR- α 1-4)构成的 GDNF 族受体即 GFR- α 表示糖基化磷脂酰肌醇锚定共同受体。已经报道了 RET 对小鼠的副交感神经和肠神经系统以及肾的发育起到重要作用(Pachnis 等,Development 1993 ;119 :1005.)。失去由胚层突变引起的功能的 RET 与先天性巨结肠疾病相关(Manie 等,Trends Genet. 2001 ;17 :580.)。先天性巨结肠疾病被定义为末端肠道的先天性无神经节细胞症。相比之下,发现功能 RET 突变的获得与人类癌(例如,多发性内分泌瘤 2A 型(MEN2A)、MEN2B 和家族性甲状腺髓样癌(FMTC))相关联。具体地说,RET 证明是甲状腺癌治疗的有希望的分子靶(Cote 和 Gagel, N. Engl. J. Med. 2003 ;349 :1566.)。

[0023] 作为致癌融合酪氨酸激酶的 Bcr-Ab1 由位于染色体 22 上的 Bcr(断点簇区域)基因和来自染色体 9 的 Ab1(V-ab1 Abelson 鼠科白血病病毒致癌基因同源体)基因的异常移位产生。这种典型的染色体移位被称为 Philadelphia 染色体(Nowell 和 Hungerford, J. Natl. Cancer Inst. 1960 ;25 :85.)。Bcr-Ab1 融合蛋白的尺寸由 Bcr 室的断点来确定。除了与白血病有关的 Bcr-Ab1 的三种异形体(190、210、230kDa)之外,p210Bcr-Ab1 已经证实足以引起 CML(慢性骨髓白血病)。化学型为苯氨基嘧啶(PAP)的 Gleevec(甲磺酸伊马替尼

(Imatinib mesylate)) 在药物研发领域中开创了新纪元, 因为 Gleevec 是用于分子靶向治疗的首选药物。可惜 Gleevec 近来具有获得性耐药的缺点, 主要是由于已经在 Abl 的激酶结构域中出现的若干种点突变。虽然诸如 Nilotinib 和 Dasatinib 的第二代 Gleevec 已经投入市场, 但是, 下一代 Gleevec 明显需要通过抑制包括 T315I-Bcr-Abl 的所有临床相关的点突变来克服 Gleevec 耐药性。不幸的是, Nilotinib 和 Dasatinib 对包括被证实是在临床上最严重的点突变的 T315I-Bcr-Abl 在内的点突变是无活性的。

发明内容

[0024] 技术问题

[0025] 因此, 本发明的一个目的在于提供抑制诸如 RAF、KDR、FMS、Ret、Tie-2 和 SAPK 的蛋白激酶并具有用于癌症治疗的抗增殖活性的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐。

[0026] 本发明的另一目的在于提供用于制备新型吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的方法。

[0027] 本发明的进一步的目的在于提供一种含有吡唑衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的用于预防或治疗增殖性疾病的药物组合物。

[0028] 技术方案

[0029] 为了实现以上目的, 本发明提供了新型吡唑衍生物、其药学上可接受的盐、用于制备新型吡唑衍生物的方法。

[0030] 在本发明的另一方面, 本发明提供了一种含有新型吡唑衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物。

[0031] 有益效果

[0032] 发现本发明的吡唑衍生物对诸如 b-raf、KDR、Fms、Tie2、SAPK2a 和 Ret 的蛋白激酶 (这些蛋白激酶诱发由异常细胞增殖引起的疾病) 具有有效的抑制活性, 所述新型吡唑衍生物可以用于预防或治疗由异常细胞增殖引起的疾病。

附图说明

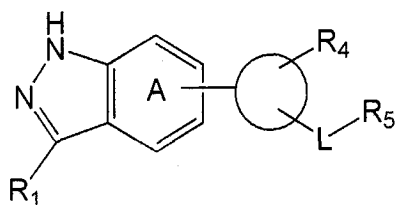
[0033] 图 1 提供了根据本发明的新型吡唑化合物的蛋白印迹 (western blotting) 的图像。

[0034] 用于实施本发明的最佳方式

[0035] 本发明提供了由下面的化学式 1 表示的新型吡唑衍生物和其药学上可接受的盐:

[0036] [化学式 1]

[0037]



[0038] 其中,

[0039] R_1 为 HOCH_2- 或 ;

[0040] R_2 为氢、羟基、 C_1-C_3 烷氧基或 $\text{R}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-$;

[0041] R_3 为氢、二甲胺、吗啉基、苯基、杂芳基、取代有 CF_3 的苯基, 或 C_3-C_6 环烷基;

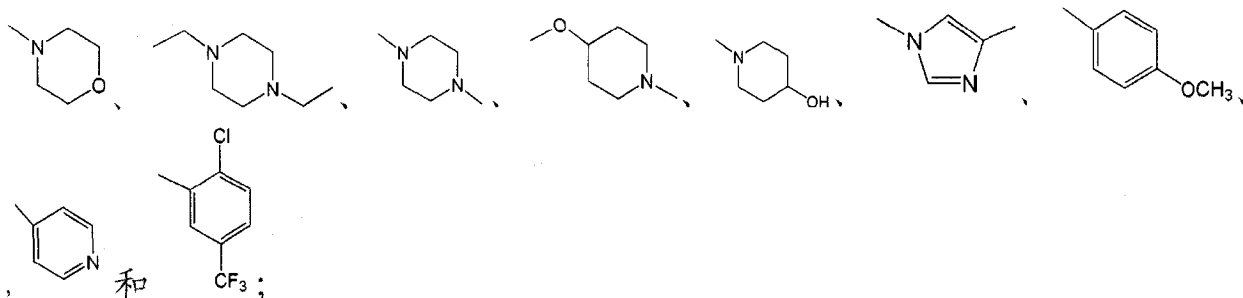
[0042] A 为取代有 R_4 和 LR_5 的 5-6 元芳基或杂芳基;

[0043] R_4 为氢或 C_1-C_3 烷基;

[0044] L 为 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$;

[0045] R_5 为氢、 $-\text{C}(\text{O})-\text{R}_6$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{R}_6$ 或 $-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}_6$;

[0046] R_6 是从由苯基、苯甲基、5 元或 6 元杂芳基、萘基和苯并噁吩基组成的组中选择的一种, 其中, 每一种取代有从由以下取代基组成的组中选择一个或两个取代基: 氢、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、



[0047] n 为 0、1 或 2。

[0048] 优选地, R_6 的 5 元或 6 元杂芳基为噁吩基、呋喃基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、吡唑基、异噻唑基、吡啶基、哒嗪基或吡嗪基。

[0049] 更优选地, R_6 为苯基、(三氟甲基)苯基、4-硝基-3-(三氟甲基)苯基、3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基、4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯基、3,4-二氯苯基、4-氯-3-(三氟甲基)苯基、3,5-二(三氟甲基)苯基、3,4-二甲氧基苯基、3-吗啉代-5-(三氟甲基)苯基、2,3-二氯苯基、2,4-二甲基苯基、4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基、4-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基、3-(4-羟基哌啶-1-基)-5-(三氟甲基)苯基、4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯基、苯甲基、3,4-二甲氧基苯甲基、噁吩基、5-溴噁吩基、吡嗪基、呋喃基、2,5-二甲基呋喃基、5-(4-甲氧基苯基)呋喃基、5-(2-氯-5-(三氟甲基)苯基)呋喃基、异噁唑基、5-甲基异噁唑基、吡唑基、1-(4-甲氧基苯基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑基、哒嗪基、吡啶基、3-氯吡啶基、噻唑基、4-(2-(吡啶-4-基)噻唑基)、萘基、4,7-二甲氧基萘基、苯并[b]噁吩基、噻啶基、咪唑基、吡咯基、二氢吡咯基、噁唑基、三唑基、噻二唑基、苯并咪唑基、喹啉基、四氢喹啉基、苯并噻唑基、苯并噻唑苯基、苯并间二氧杂环戊烯基、吲唑基、吲哚基、吲哚基、二氢吲哚基或二氢苯并呋喃基。

[0050] 根据本发明的吲唑衍生物的具体示例如下:

[0051] 1) 6-(4-氨基苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;

[0052] 2) 6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;

[0053] 3) 6-(4-(5-溴噁吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;

[0054] 4) 6-(4-(吡嗪-2-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯;

- [0055] 5)6-(4-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0056] 6)6-(4-(2,5-二甲基咪唑-3-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0057] 7)6-(4-(5-甲基异噻唑-3-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0058] 8)6-(4-(1-(4-甲氧基苯基)-5-(三氟甲基)-1H-吡啶-4-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0059] 9)6-(4-(4-硝基-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0060] 10)6-(4-(哒嗪-4-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0061] 11)6-(4-(2-(3,4-二甲氧基苯基)乙酰氨基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0062] 12)6-(4-(5-(4-甲氧基苯基)咪唑-2-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0063] 13)6-(4-(3-氯异烟酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0064] 14)6-(4-(噻唑-4-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0065] 15)6-(4-(4,7-二甲氧基-1-萘甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0066] 16)6-(4-(5-(2-氯-5-(三氟甲基)苯基)咪唑-2-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0067] 17)6-(4-(2-(吡啶-4-基)噻唑-4-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0068] 18)6-(4-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0069] 19)6-(4-(4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0070] 20)6-(4-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0071] 21)6-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0072] 22)6-(4-(3-(3,5-二(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0073] 23)6-(4-(3-(3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0074] 24)N-甲基-6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0075] 25)6-(4-(5-(4-甲氧基苯基)咪唑-2-酰胺基)苯基)-N-甲基-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0076] 26)6-(4-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-甲基-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0077] 27)6-(4-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-甲基-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0078] 28)6-(4-(3-(3,5-二(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-N-甲基-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0079] 29)N-甲基-6-(4-(3-(3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0080] 30)N-(2-吗啉代乙基)-6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0081] 31)6-(4-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0082] 32)6-(4-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0083] 33)6-(4-(2,5-二甲基咪唑-3-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0084] 34)6-(4-(1-(4-甲氧基苯基)-5-(三氟甲基)-1H-吡啶-4-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；

- 基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0085] 35)6-(4-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-(3-(三氟甲基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0086] 36)6-(4-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0087] 37)N-甲基-6-(4-(哒嗪-4-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0088] 38)5-甲基-N-(4-(3-(甲基氨基甲酰基)-1H-吡啶-6-基)苯基)异噻唑-3-酰胺；
- [0089] 39)N-甲基-6-(4-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0090] 40)N-甲基-6-(4-(4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0091] 41)N-(4-(3-(甲基氨基甲酰基)-1H-吡啶-6-基)苯基)噻唑-4-酰胺；
- [0092] 42)5-(4-氨基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯；
- [0093] 43)5-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯；
- [0094] 44)6-(3-氨基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0095] 45)6-(3-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0096] 46)6-(3-(5-甲基异噻唑-3-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0097] 47)6-(3-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0098] 48)6-(3-(2-(3,4-二甲氧基苯基)乙酰氨基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0099] 49)6-(3-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0100] 50)N-(2-吗啉代乙基)-6-(3-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0101] 51)6-(3-氨基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯；
- [0102] 52)6-(3-(3-吗啉代-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯；
- [0103] 53)6-(5-氨基-2-甲基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0104] 54)6-(3-(3-(2,3-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0105] 55)6-(3-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0106] 56)6-(3-(3-(2,4-二甲基苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯；
- [0107] 57)6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0108] 58)6-(3-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0109] 59)6-(3-(3-吗啉代-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0110] 60)6-(3-(3-(2,3-二氯苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0111] 61)6-(3-(3-(2,3-二氯苯基)脲基)苯基)-N-乙基-1H-吡啶-3-酰胺；

- [0112] 62)6-(3-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-N-乙基-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0113] 63)6-(3-(3-(2,4-二甲基苯基)脲基)苯基)-N-乙基-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0114] 64)6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0115] 65)6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-N-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0116] 66)6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-N-环丙基-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0117] 67)6-(2-甲基-5-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0118] 68)6-(3-(3-(三氟甲基)苯基亚磺酰氨基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0119] 69)6-(3-(3-(4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0120] 70)6-(3-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯；
- [0121] 71)6-(2-甲基-5-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0122] 72)5-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0123] 73)N-甲基-6-(2-甲基-5-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0124] 74)6-(2-甲基-5-(3-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0125] 75)N-甲基-6-(2-甲基-5-(3-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0126] 76)6-(3-(3-(4-羟基哌啶-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；
- [0127] 77)6-(3-(3-(4-羟基哌啶-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺；
- [0128] 78)6-(3-(4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸甲酯；
- [0129] 79)1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(3-(3-(羟基甲基)-1H-吡啶-6-基)苯基)脲；
- [0130] 80)6-(5-(3-(三氟甲基)苯基氨基甲酰基)噻吩-3-基)-1H-吡啶-3-羧酸乙酯；或
- [0131] 81)6-(4-(2,5-二甲基咪唑-3-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺盐酸盐。

[0132] 可以以药学上可接受的盐的形式使用本发明的由化学式 1 表示的吡啶衍生物。具有药学上可接受的游离酸的酸加成盐是有用的。游离酸可以是无机的或有机的。有用的无

机游离酸的示例包括盐酸、硝酸、磷酸、硫酸、高氯酸、溴酸。作为有机酸,可以使用乙酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、富马酸、马来酸、丙二酸、苯二甲酸、琥珀酸、乳酸、柠檬酸、葡萄糖酸、酒石酸、水杨酸、苹果酸、草酸、苯甲酸、恩波酸 (embonate)、天冬氨酸或谷氨酸。

[0133] 另外,本发明的由化学式 1 表示的吡唑衍生物可以是传统上可生产的其盐、水合物和溶剂合物以及药学上可接受的盐的形式。

[0134] 可以使用传统的方法来制备根据本发明的加成盐。例如,它们可以如下制备:将化学式 1 的化合物溶于可与水混溶的有机溶剂诸如丙酮、甲醇、乙醇或 1,4- 二氧杂环己烷中;加入过量的有机酸或过量的游离碱,以使盐沉淀或结晶。在示例 81 中描述了游离碱的制备方法。

[0135] 此外,本发明提供了用于制备新型吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的方法。优选地,可以通过在下面的反应式中描述的方法来制备由所述化学式 1 描述的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐,但是这些方法不受这些反应式的限制。特别地,本领域技术人员可以理解,可以使用在本领域中已知的技术通过多种方式来制备由所述化学式 1 描述的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐。

[0136] 根据本发明的实施例,如由下面的反应方案 1 示出的用于制备化学式 5 的中间体的方法包括:

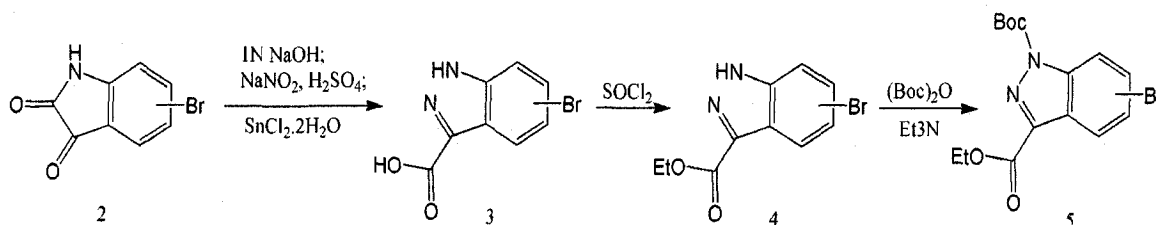
[0137] 通过 3 步反应从化学式 2 的化合物制备化学式 3 的化合物 (步骤 1);

[0138] 通过酯化作用从步骤 1 的化学式 3 的化合物制备化学式 4 的化合物 (步骤 2);

[0139] 通过步骤 2 的化学式 4 的化合物的官能团的保护制备化学式 5 的化合物 (步骤 3);

[0140] [反应方案 1]

[0141]



[0142] 其中, Boc 为叔丁氧羰基。

[0143] 根据本发明的另一实施例,如由下面的反应方案 2 示出的用于制备化学式 1a 的新型吡唑衍生物的方法包括:

[0144] 通过 Suzuki 交叉偶联反应从化学式 5 的化合物和化学式 6 的化合物制备化学式 7 的化合物 (步骤 1);

[0145] 通过步骤 1 的化学式 7 的化合物的去保护和还原来制备化学式 8 的化合物 (步骤 2);

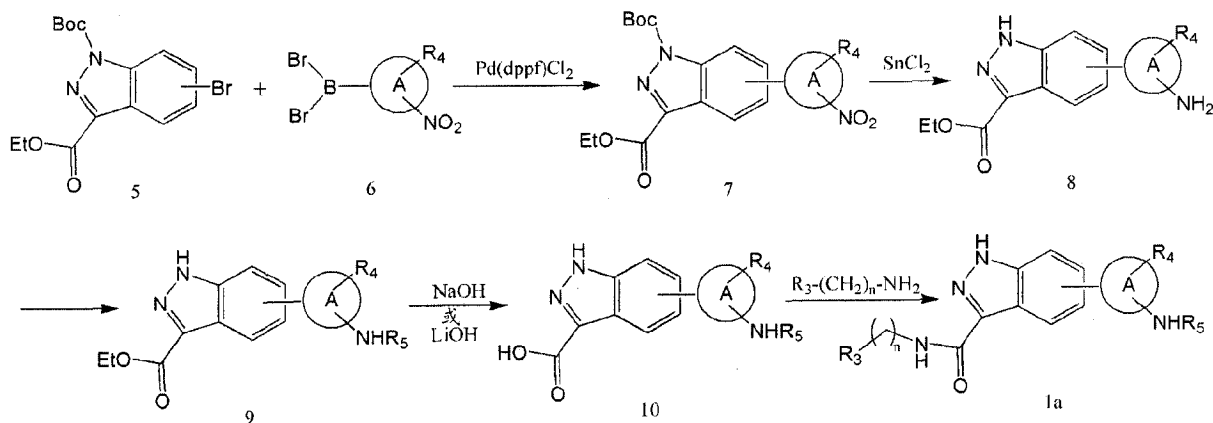
[0146] 通过步骤 2 的化学式 8 的化合物的取代来制备化学式 9 的化合物 (步骤 3);

[0147] 通过步骤 3 的化学式 9 的化合物的水解来制备化学式 10 的化合物 (步骤 4);

[0148] 通过步骤 4 的化学式 10 的化合物与胺 ($R_3-(CH_2)_n-NH$) 的偶联反应 (酰胺化) 来制备化学式 1a 的化合物 (步骤 5);

[0149] [反应方案 2]

[0150]



[0151] 其中, R_3 、 R_4 、 R_5 、A 和 n 如在化学式 1 中所定义的;化学式 1a 的化合物属于化学式 1 的化合物;Pd(dppf)Cl₂ 是 1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁二氯化钯。

[0152] 根据本发明的进一步的实施例,如由下面的反应方案 3 示出的用于制备化学式 1b 的新型吲唑衍生物的方法包括:

[0153] 通过化学式 7 的化合物的去保护和水解来制备化学式 11 的化合物(步骤 1);

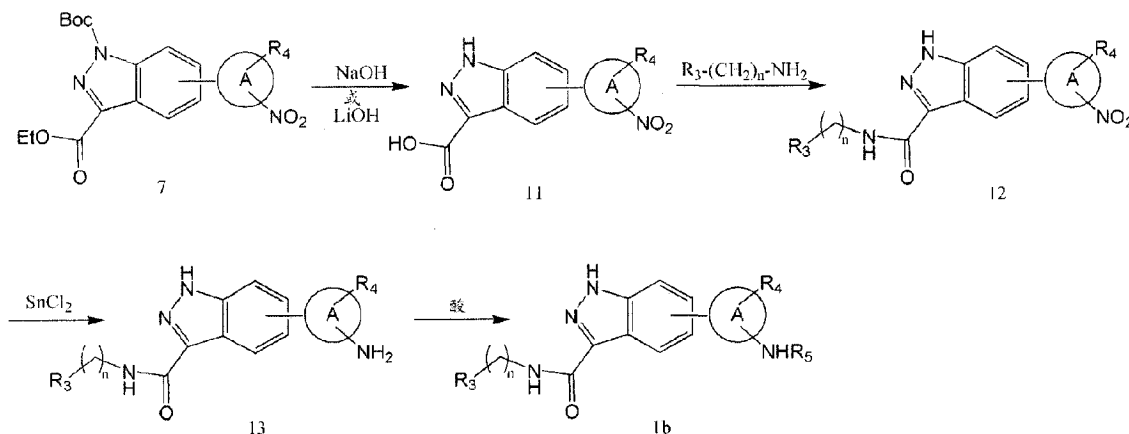
[0154] 通过步骤 1 的化学式 11 的化合物与胺($R_3-(CH_2)_n-NH$)的偶联反应(酰胺化)来制备化学式 12 的化合物(步骤 2);

[0155] 通过步骤 2 的化学式 12 的化合物的还原来制备化学式 13 的化合物(步骤 3);

[0156] 通过步骤 3 的化学式 13 的化合物与羧酸的偶联反应来制备化学式 1b 的化合物(步骤 4):

[0157] [反应方案 3]

[0158]



[0159] 其中, R_3 、 R_4 、 R_5 、A 和 n 如在化学式 1 中所定义,化学式 1b 的化合物属于化学式 1 的化合物。

[0160] 此外,本发明提供了一种含有由化学式 1 表示的吲唑衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的用于预防或治疗由异常细胞增殖引起的疾病的药物组合物。

[0161] 由于对诸如 b-raf、KDR、Fms、Tie2、SAPK2a 和 Ret 的蛋白激酶(这些蛋白激酶诱发由异常细胞增殖引起的疾病)具有有效的抑制作用,所以该新型吲唑衍生物可以用于预防或治疗由异常细胞增殖引起的疾病。

[0162] 由异常细胞增殖引起的疾病选自于由胃癌、肺癌、肝癌、结直肠癌、胰腺癌、脑癌、骨癌、黑素瘤癌、乳腺癌、结节性硬化病、子宫癌、子宫颈癌、头颈癌、食道癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾细胞癌、骨肉瘤、前列腺癌、尿道癌、膀胱癌、血癌、淋巴瘤、牛皮癣和纤维腺瘤组成的组。

[0163] 血癌选自于由白血病、多发性骨髓瘤和骨髓增生异常综合症组成的组。

[0164] 淋巴瘤是霍奇金病或非霍奇金淋巴瘤。

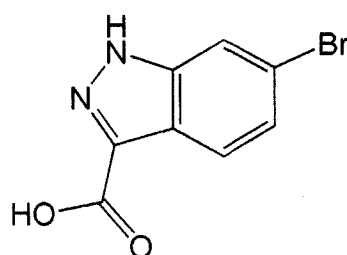
[0165] 用于本发明的方式

[0166] 可以通过下面举例阐述的示例获得本发明的更好的理解,但是不应当将下面的示例解释为限制本发明。

[0167] 示例 1 :6-(4-氨基苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯的制备

[0168] 步骤 1 :6-溴-1H-吲唑-3-羧酸的制备

[0169]

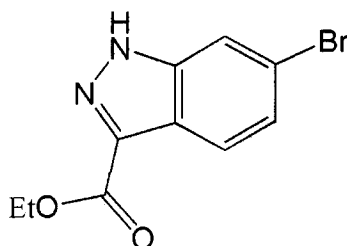


[0170] 在 50°C 下将 6-溴靛红 (10g, 22mmol) 溶于 1N NaOH 水溶液 (48mL) 中的溶液搅拌 1 小时。将该混合物冷却至 0°C。在 0°C 下以 15 分钟逐滴加入亚硝酸钠 (3g, 22mmol) 的水 (11mL) 溶液。在 0°C 下以 15 分钟将该混合物加入到水 (90mL) 和硫酸 (4.6mL) 的溶液中。将该混合物加入到浓盐酸 (40mL) 和 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (24g, 53mmol) 的溶液中。在 1 小时之后, 过滤该混合物, 并用水进行洗涤。通过空气流来干燥固体, 从而得到题述的化合物 (8.98g)。

[0171] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6) δ 13.76 (bs, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.55 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.27 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 2.44 (s, 3H)。

[0172] 步骤 2 :6-溴-1H-吲唑-3-羧酸乙酯的制备

[0173]

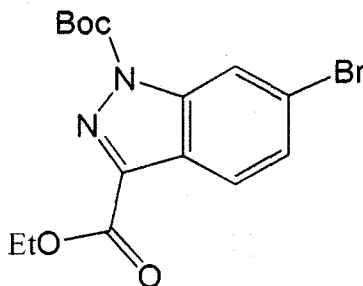


[0174] 在搅拌状态下, 将亚硫酸氯 (8mL, 104mmol; SOCl_2) 加入到 6-溴-1H-吲唑-3-羧酸 (5g, 21mmol) 的乙醇 (160mL) 溶液中。将该混合物回流 3 小时, 冷却至室温, 并在减压下浓缩。加入乙酸乙酯。用饱和碳酸氢钠溶液洗涤有机层, 通过硫酸镁进行干燥, 并在减压下浓缩。通过快速柱色谱 (硅胶, $\text{DCM} : \text{MeOH} = 9 : 1$) 将剩余物纯化, 从而得到 6-溴-1H-吲唑-3-羧酸乙酯 (2.8g)。

[0175] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 14.04 (br s, 1H), 8.00 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.91 (d, $J = 1.2\text{Hz}$, 1H), 7.45 (dd, $J = 1.5, 8.7\text{Hz}$, 1H), 4.39 (q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.35 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0176] 步骤 3 :6-溴-1H-吲唑-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 3-乙酯的制备

[0177]

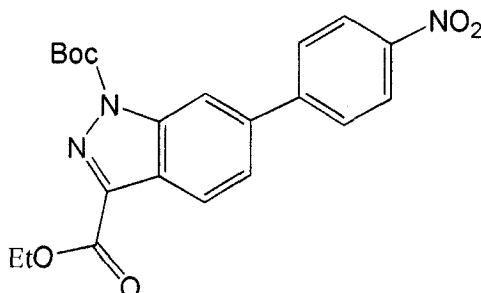


[0178] 在搅拌状态下,在0℃下向6-溴-1H-吲唑-3-羧酸乙酯(1.68g,6.6mmol)的二氯甲烷(44mL)溶液中连续地加入N,N-二甲基氨基吡啶(20mg,0.66mmol)、三乙胺(0.26mL,7.3mmol)和(Boc)₂O(0.76mL,1.65mmol)。在1小时后,将混合物加热至室温,保持3小时,并加入二氯甲烷。用水洗涤有机层,通过硫酸镁进行干燥,并在减压下浓缩。通过快速柱色谱(硅胶,Hex/EA=4:1)将剩余物纯化,从而得到6-溴-1H-吲唑-1,3-二羧酸1-叔丁酯3-乙酯(2.2g)。

[0179] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8.29(d, J = 1.6Hz, 1H), 8.06(d, J = 8.8Hz, 1H), 7.67(dd, J = 1.6, 8.8Hz, 1H), 4.47(q, J = 7.2Hz, 2H), 1.41(t, J = 7.2Hz, 3H)。

[0180] 步骤4:6-(4-硝基苯基)-1H-吲唑-1,3-二羧酸1-叔丁酯3-乙酯的制备

[0181]

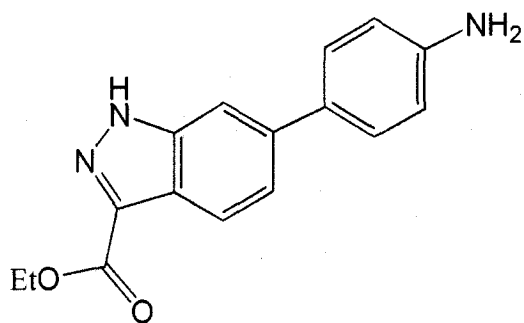


[0182] 在室温下将6-溴-1H-吲唑-1,3-二羧酸1-叔丁酯3-乙酯(1.3g)、对硝基苯基硼酸(666mg)、Pd(dppf)Cl₂(92mg)和碳酸钾(1g)与N,N-二甲基甲酰胺/水(4:1,20mL)的混合物搅拌24小时。加入乙酸乙酯和水。分离有机层,用水进行洗涤,通过硫酸镁进行干燥,并在减压下进行浓缩。通过快速柱色谱(硅胶,只有EA)将剩余物纯化,从而得到6-(4-硝基苯基)-1H-吲唑-1,3-二羧酸1-叔丁酯3-乙酯(1.3g)。

[0183] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8.48(s, 1H), 8.38(d, J = 8.8Hz, 2H), 8.29(d, J = 8.4Hz, 1H), 8.06(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.93(dd, J = 1.6, 8.4Hz, 1H), 4.48(q, J = 7.2Hz, 2H), 1.42(t, J = 7.2Hz, 3H)。

[0184] 步骤5:6-(4-氨基苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯的制备

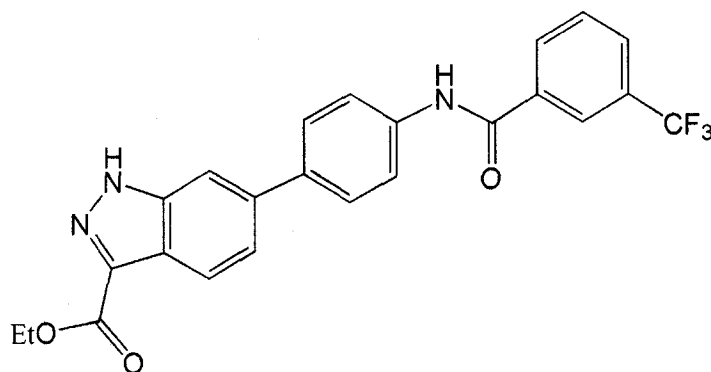
[0185]



[0186] 在搅拌状态下,向 6-(4-硝基苯基)-1H-吲唑-3-羧酸 1-叔丁酯 3-乙酯 (879mg, 2.14mmol) 的乙醇 (40mL) 溶液中加入 SnCl_2 (2.4g, 10.7mmol), 并在 80°C 下将该混合物搅拌 3 小时。将该混合物冷却至室温, 并加入饱和碳酸氢钠水溶液。将有机层萃取三次, 并通过硫酸钠干燥汇集的有机层, 并且在减压下浓缩。将剩余物在乙酸乙酯和己烷中磨碎, 从而得到 6-(4-氨基苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯 (442mg)。

[0187] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.80 (s, 1H), 8.03 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.53 (dd, $J = 1.2, 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.44 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 6.67 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 5.30 (s, 2H), 4.39 (q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.38 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

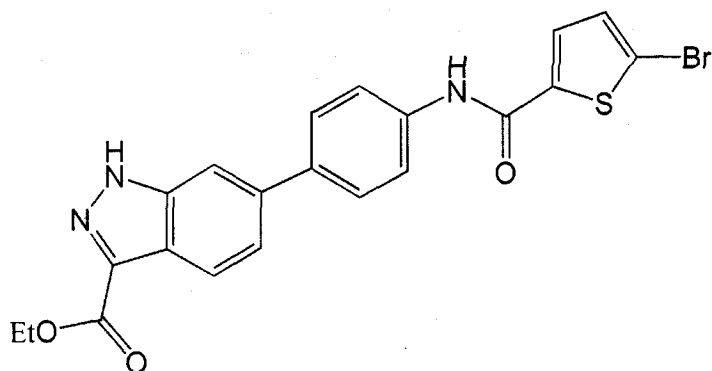
[0188] 示例 2: 6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯的制备
[0189]



[0190] 在搅拌状态下,向 6-(4-氨基苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯 (40mg)、3-三氟甲基-苯甲酸 (35.2mg)、三乙胺 ($40\ \mu\text{L}$) 和 HOBt (25mg) 的 N,N -二甲基甲酰胺溶液中加入 EDCI (40.6mg)。在 70°C 下将该混合物搅拌 12 小时。将该混合物冷却至室温, 并加入乙酸乙酯和水。用乙酸乙酯将该混合物萃取三次。用饱和碳酸氢钠溶液洗涤汇集的有机层, 通过硫酸钠进行干燥, 并在减压下进行浓缩。通过乙酸乙酯/己烷磨碎剩余物, 从而得到 6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯 (46.6mg)。

[0191] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.98 (s, 1H), 10.62 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.30 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 8.13 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.99 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.93 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.81 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.80 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.65 (br d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 4.41 (q, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H), 1.40 (t, $J = 6.8\text{Hz}$, 3H)。

[0192] 示例 3: 6-(4-(5-溴噁吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吲唑-3-羧酸乙酯的制备
[0193]

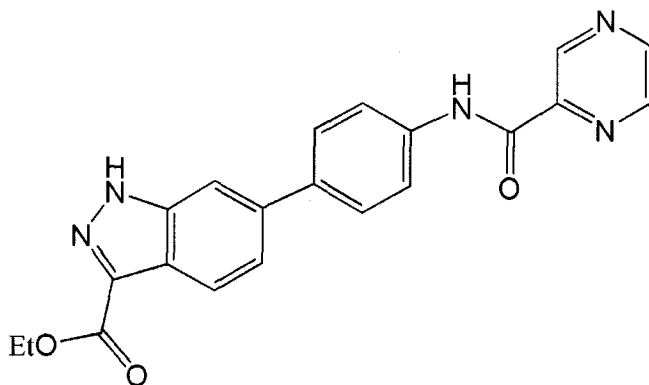


[0194] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0195] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.98(br s, 1H), 10.42(s, 1H), 8.12(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.90(d, $J = 4\text{Hz}$, 1H), 7.85(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.84(s, 1H), 7.78(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.65(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.39(d, $J = 4\text{Hz}$, 1H), 4.41(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.40(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0196] 示例 4 :6-(4-(吡嗪-2-酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯的制备

[0197]

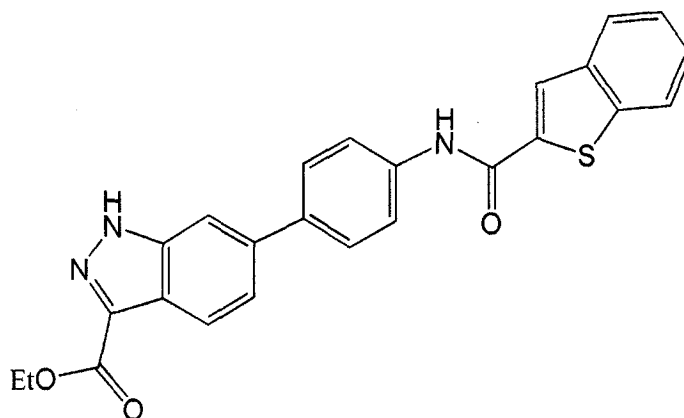


[0198] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0199] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.99(br s, 1H), 10.91(s, 1H), 9.33(s, 1H), 8.95(s, 1H), 8.84(s, 1H), 8.12(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.06(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.86(s, 1H), 7.80(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.66(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 4.41(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.40(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0200] 示例 5 :6-(4-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯的制备

[0201]

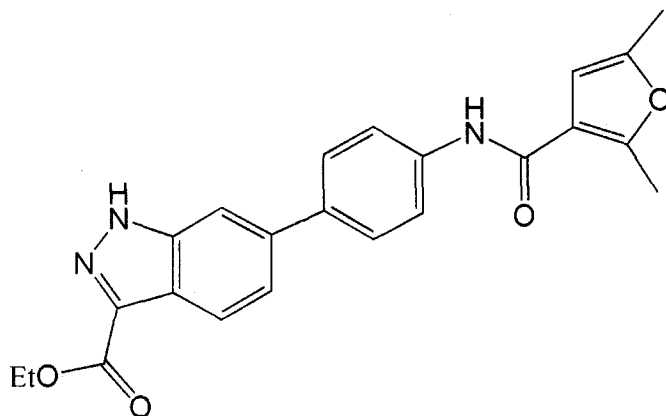


[0202] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0203] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.99 (s, 1H), 10.73 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 8.07 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 1H), 7.93 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.81 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.66 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.53-7.48 (m, 2H), 4.42 (q, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 1.40 (t, $J = 8.8\text{Hz}$, 3H)。

[0204] 示例 6: 6-(4-(2,5-二甲基呋喃-3-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0205]



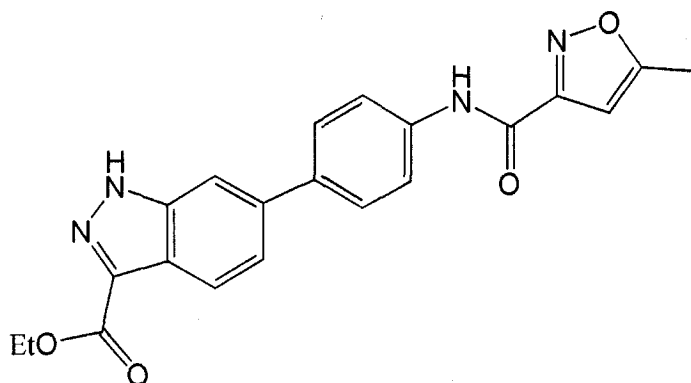
[0206] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0207] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 14.01 (br s, 1H), 9.72 (s, 1H), 8.11 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.86 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.83 (s, 1H), 7.74 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.64 (dd, $J = 1.2, 8.8\text{Hz}$, 1H), 6.69 (s, 1H), 4.41 (q, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.39 (t, $J = 6.8\text{Hz}$, 3H)。

[0208]

示例 7: 6-(4-(5-甲基异噁唑-3-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0209]

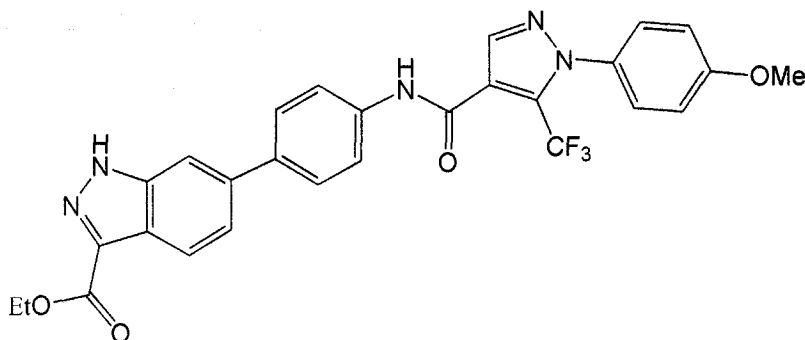


[0210] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0211] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.96 (br s, 1H), 10.79 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 11.2\text{Hz}$, 1H), 7.93 (d, $J = 11.6\text{Hz}$, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 11.6\text{Hz}$, 2H), 7.65 (d, $J = 11.2\text{Hz}$, 1H), 6.69 (s, 1H), 4.41 (q, $J = 9.6\text{Hz}$, 2H), 1.39 (t, $J = 9.6\text{Hz}$, 3H)。

[0212] 示例 8: 6-(4-(1-(4-甲氧基苯基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0213]

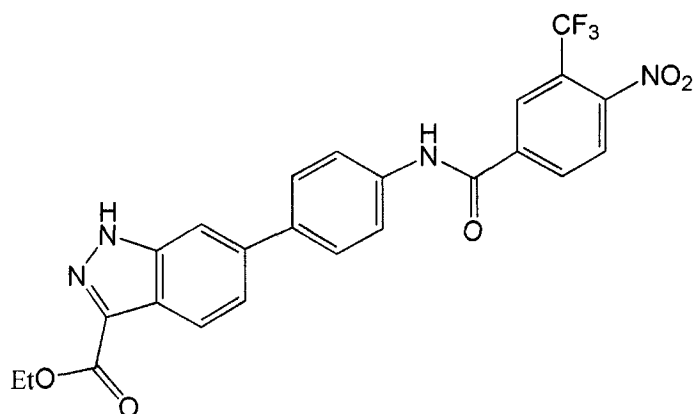


[0214] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0215] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.88(br s, 1H), 10.65(s, 1H), 8.29(s, 1H), 8.12(d, $J = 10.8\text{Hz}$, 1H), 8.03(d, $J = 11.2\text{Hz}$, 2H), 7.84(s, 1H), 7.78(d, $J = 11.2\text{Hz}$, 2H), 7.65(d, $J = 9.6\text{Hz}$, 1H), 7.47(d, $J = 11.6\text{Hz}$, 2H), 7.13(d, $J = 12\text{Hz}$, 2H), 4.41(q, $J = 9.6\text{Hz}$, 2H), 3.86(s, 3H), 1.40(t, $J = 9.6\text{Hz}$, 3H)。

[0216] 示例 9 :6-(4-(4-硝基-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯的制备

[0217]

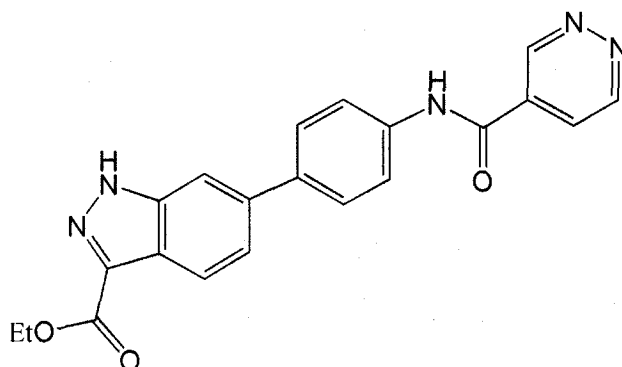


[0218] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0219] ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ 13.99(s, 1H), 10.81(s, 1H), 8.53(s, 1H), 8.51(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.35(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.93(d, $J = 8.1\text{Hz}$, 2H), 7.88(s, 1H), 7.86(d, $J = 8.1\text{Hz}$, 2H), 7.67(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 4.41(q, $J = 6.9\text{Hz}$, 2H), 1.39(t, $J = 6.9$)。

[0220] 示例 10 :6-(4-(咪嗪-4-酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯的制备

[0221]

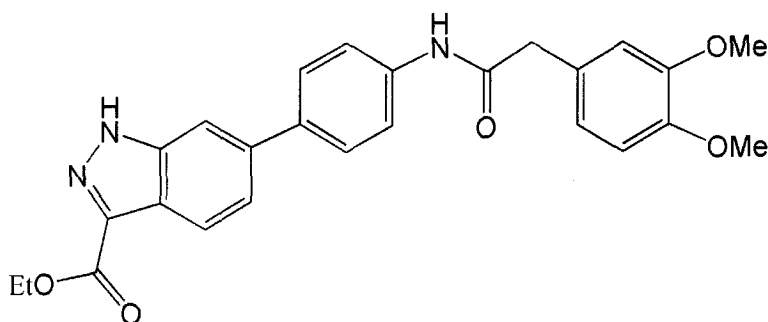


[0222] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0223] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.94(br s, 1H), 10.92(br s, 1H), 9.68(s, 1H), 9.51(dd, $J = 1.6, 7.2\text{Hz}$, 1H), 8.16(d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 8.13(d, $J = 11.6\text{Hz}$, 1H), 7.92(d, $J = 11.6\text{Hz}$, 2H), 7.87(s, 1H), 7.82(d, $J = 11.6\text{Hz}$, 2H), 7.66(dd, $J = 2, 11.6\text{Hz}$, 1H), 4.41(q, $J = 9.2\text{Hz}$, 2H), 1.40(t, $J = 9.2\text{Hz}$, 3H)。

[0224] 示例 11 :6-(4-(2-(3,4-二甲氧基苯基)乙酰氨基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0225]

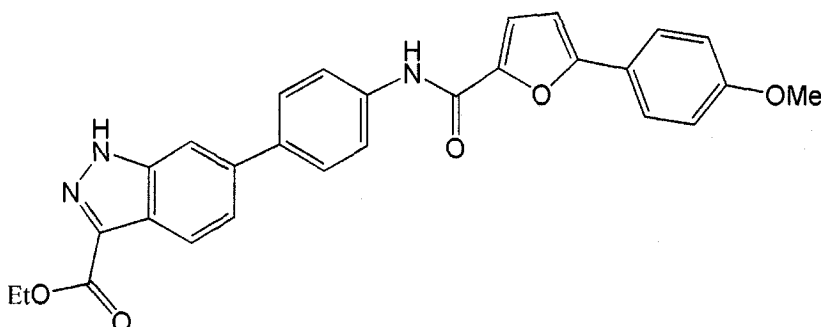


[0226] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0227] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.95(br s, 1H), 10.24(br s, 1H), 8.10(d, $J = 11.6\text{Hz}$, 1H), 7.80(s, 1H), 7.72(br s, 4H), 7.61(dd, $J = 1.6, 11.6\text{Hz}$, 1H), 6.96(d, $J = 2.4\text{Hz}$, 1H), 6.91(d, $J = 11.2\text{Hz}$, 1H), 6.86(dd, $J = 2.4, 10.8\text{Hz}$, 1H), 4.41(q, $J = 9.6\text{Hz}$, 2H), 3.75(s, 3H), 3.72(s, 3H), 3.60(s, 2H), 1.39(t, $J = 9.6\text{Hz}$, 3H)。

[0228] 示例 12 :6-(4-(5-(4-甲氧基苯基)呋喃-2-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0229]

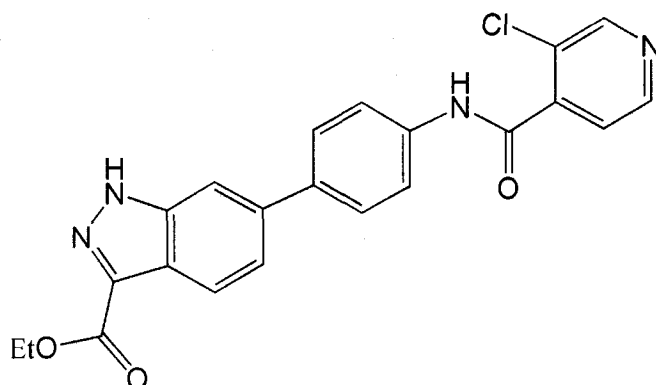


[0230] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0231] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.99(br s, 1H), 10.26(s, 1H), 8.12(d, $J = 11.6\text{Hz}$, 1H), 7.92(d, $J = 12\text{Hz}$, 4H), 7.86(s, 1H), 7.80(d, $J = 12\text{Hz}$, 2H), 7.67(d, $J = 11.6\text{Hz}$, 1H), 7.42(d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 7.07(d, $J = 12.8\text{Hz}$, 2H), 7.03(d, $J = 5.2\text{Hz}$, 1H), 4.41(q, $J = 9.2\text{Hz}$, 2H), 3.83(s, 3H), 1.40(t, $J = 9.2\text{Hz}$, 3H)。

[0232] 示例 13 :6-(4-(3-氯异烟酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0233]

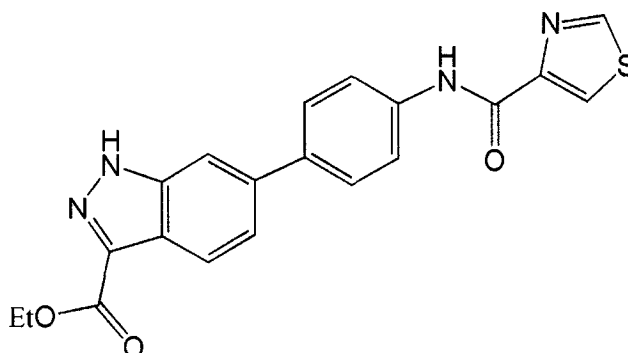


[0234] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0235] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.99 (s, 1H), 10.85 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.69 (d, $J = 6.4\text{Hz}$, 1H), 8.13 (d, $J = 11.6\text{Hz}$, 1H), 7.82 (m, 5H), 7.70 (d, $J = 6.4\text{Hz}$, 1H), 7.65 (d, $J = 10\text{Hz}$, 1H), 4.41 (q, $J = 9.6\text{Hz}$, 2H), 1.40 (t, $J = 9.6\text{Hz}$, 3H)。

[0236] 示例 14 :6-(4-(噻唑-4-酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯的制备

[0237]

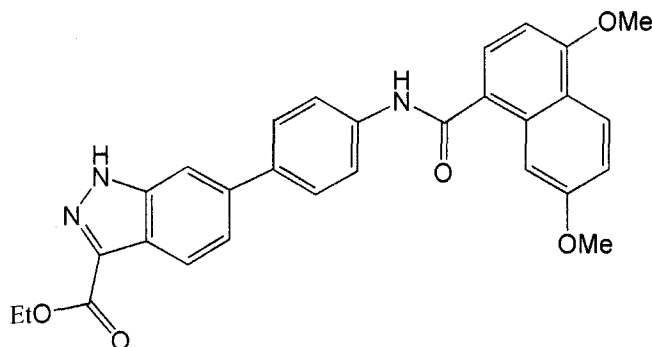


[0238] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0239] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.97 (br s, 1H), 10.51 (s, 1H), 9.29 (d, $J = 2.4\text{Hz}$, 1H), 8.54 (d, $J = 2.8\text{Hz}$, 1H), 8.12 (d, $J = 11.2\text{Hz}$, 1H), 8.01 (d, $J = 11.6\text{Hz}$, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 11.6\text{Hz}$, 2H), 7.65 (dd, $J = 1.6, 11.2\text{Hz}$, 1H), 4.41 (q, $J = 9.6\text{Hz}$, 2H), 1.39 (t, $J = 9.2\text{Hz}$, 3H)。

[0240] 示例 15 :6-(4-(4,7-二甲氧基-1-萘甲酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯的制备

[0241]

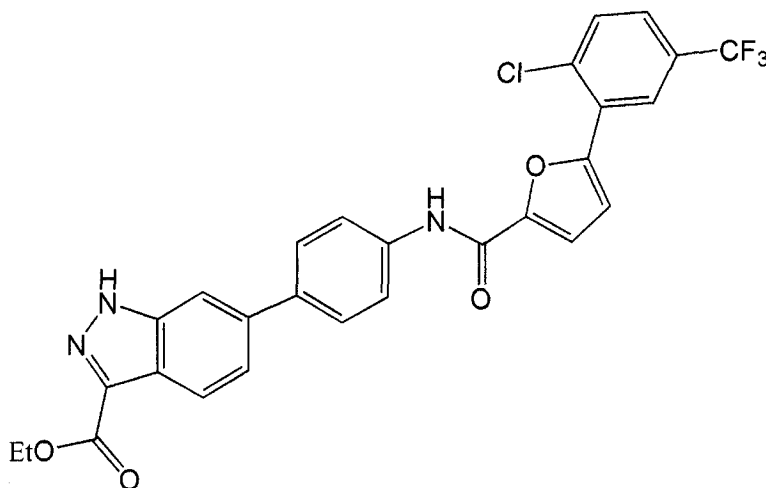


[0242] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0243] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 1.40 (t, 3H), 3.82 (s, 3H), 4.03 (s, 3H), 4.42 (q, 2H), 6.94 (dd, 1H), 7.23 (dd, 1H), 7.66 (dd, 1H), 7.79 (m, 4H), 7.85 (s, 1H), 7.94 (dd, 2H), 8.14 (m, 2H), 10.53 (s, 1H)。

[0244] 示例 16 :6-(4-(5-(2-氯-5-(三氟甲基)苯基)咪唑-2-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0245]

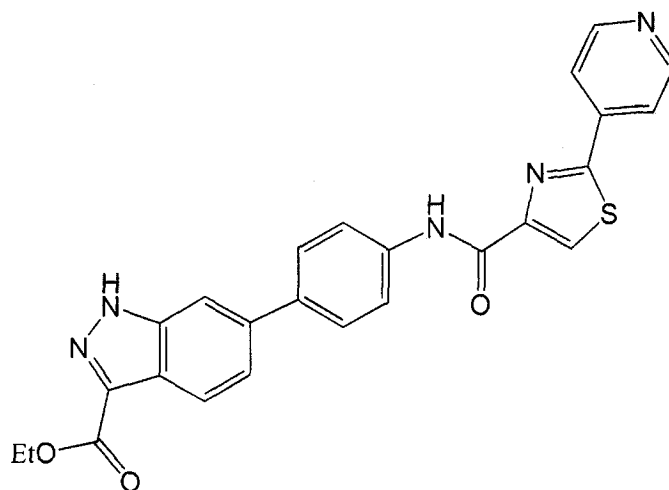


[0246] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0247] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 1.40 (t, 3H), 4.42 (q, 2H), 7.51 (m, 2H), 7.65 (dd, 1H), 7.80 (dd, 3H), 7.86 (dd, 2H), 7.91 (dd, 2H), 8.12 (dd, 1H), 8.49 (s, 1H), 10.52 (s, 1H)。

[0248] 示例 17 :6-(4-(2-(吡啶-4-基)噻唑-4-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0249]

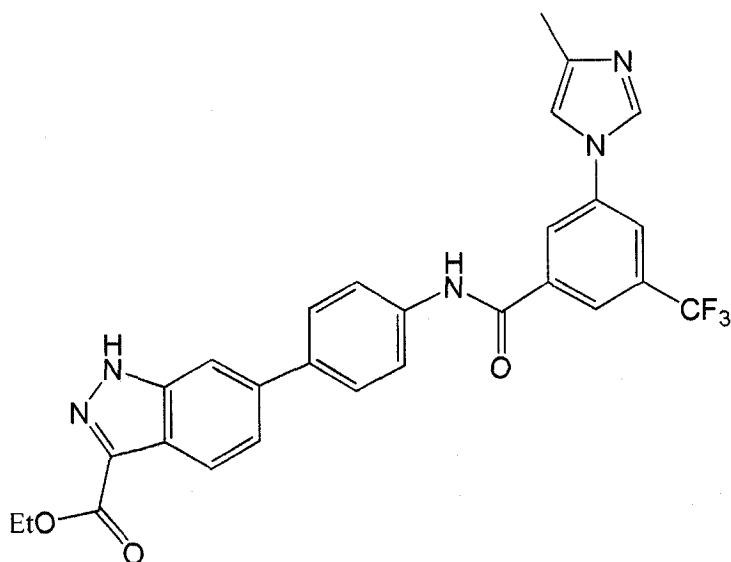


[0250] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0251] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 1.40 (t, 3H), 4.42 (q, 2H), 7.66 (dd, 1H), 7.83 (d, 2H), 7.92 (s, 1H), 8.03 (dd, 2H), 8.13 (m, 3H), 8.67 (s, 1H), 8.79 (dd, 2H), 10.45 (s, 1H)。

[0252] 示例 18 :6-(4-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0253]

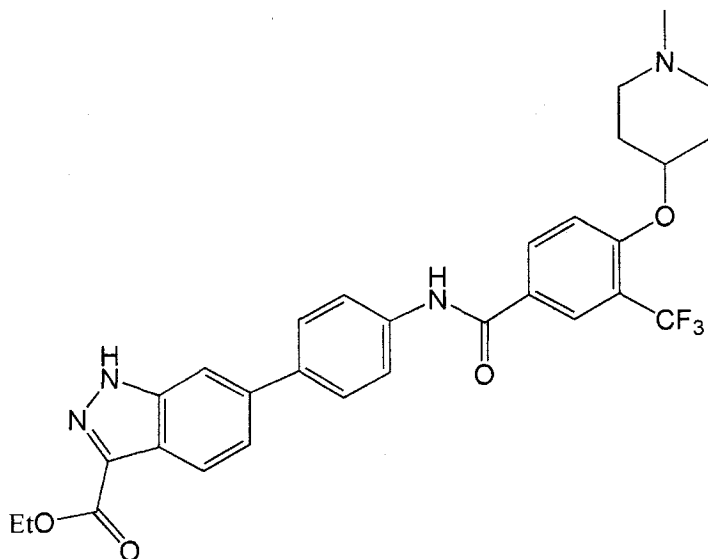


[0254] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0255] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.96(br s, 1H), 10.65(s, 1H), 8.48(s, 1H), 8.42(s, 1H), 8.26(s, 1H), 8.20(s, 1H), 8.14(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.93(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.87(s, 1H), 7.83(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.73(s, 1H), 7.67(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 4.42(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.20(s, 3H), 1.40(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0256] 示例 19 :6-(4-(4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0257]

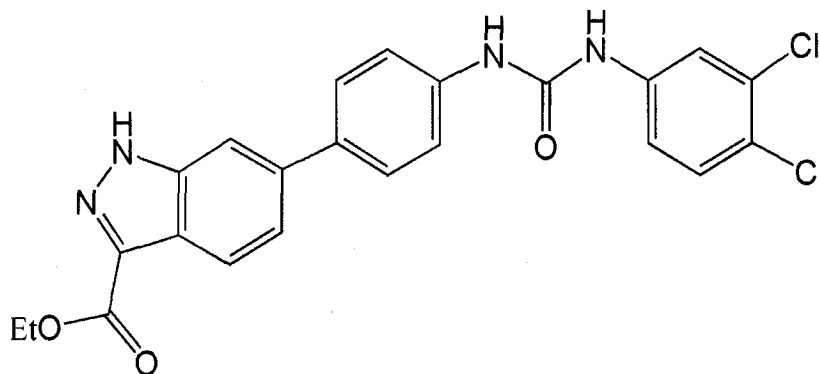


[0258] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0259] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 14.01(s, 1H), 10.43(s, 1H), 8.27(s, 1H), 8.25(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.13(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.91(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.85(s, 1H), 7.80(s, 1H), 7.78(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.57(d, $J = 9.2\text{Hz}$, 1H), 7.48(d, $J = 9.2\text{Hz}$, 1H), 4.79(m, 1H), 4.41(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.31(m, 4H), 2.18(s, 3H), 1.97(m, 2H), 1.75(m, 2H), 1.40(t, $J = 6.8\text{Hz}$, 3H)。

[0260] 示例 20 :6-(4-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0261]

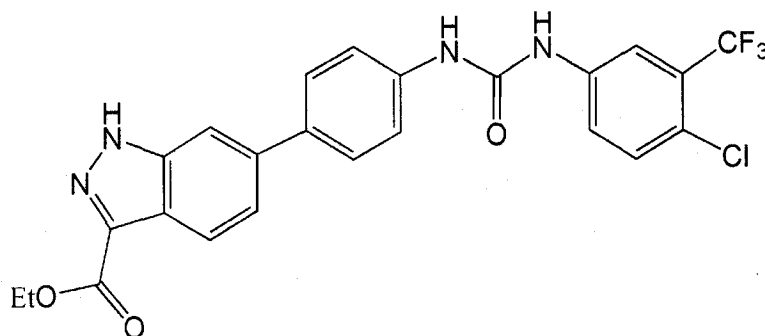


[0262] 在室温下将 6-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯 (40mg) 和 3,4-二氯苯基异氰酸酯与四氢呋喃 (3mL ;THF) 的混合物搅拌 24 小时。加入乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠溶液。用乙酸乙酯萃取水层,并通过硫酸镁干燥汇集的有机层,并且在减压下浓缩。通过 THF/ 己烷将剩余物磨碎,从而得到 6-(4-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯 (17.4mg)。

[0263] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 1.39(t, 3H), 4.40(q, 2H), 7.59(m, 4H), 7.71(m, 2H), 7.81(s, 1H), 8.12(m, 3H), 9.51(s, 1H), 9.21(s, 1H), 13.95(s, 1H)。

[0264] 示例 21 :6-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0265]

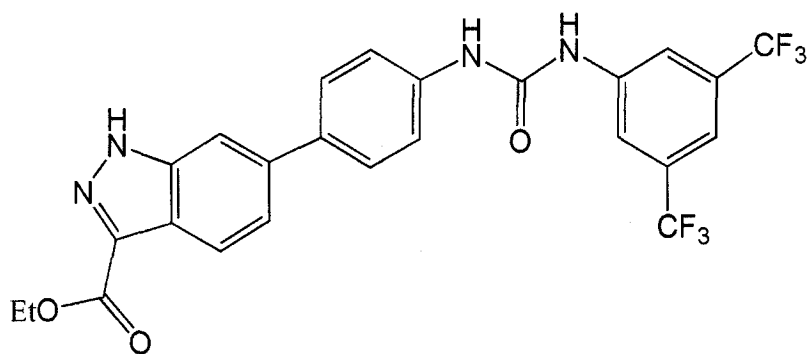


[0266] 通过重复在示例 20 中描述的过程来制备题述化合物。

[0267] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.97(br s, 1H), 9.65(br s, 1H), 9.42(br s, 1H), 8.15(d, $J = 2.4\text{Hz}$, 1H), 8.10(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.81(s, 1H), 7.70(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.66(br s, 1H), 7.62(br d, $J = 8.8\text{Hz}$, 4H), 4.41(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.39(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0268] 示例 22 :6-(4-(3-(3,5-二(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0269]

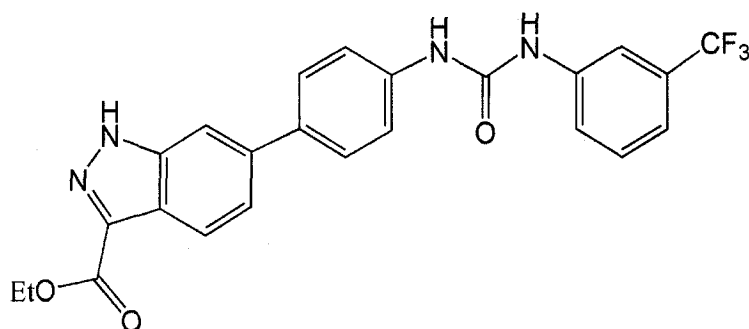


[0270] 通过重复在示例 20 中描述的过程来制备题述化合物。

[0271] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 1.39(t, 3H), 4.40(q, 2H), 7.34(dd, 1H), 7.52(d, 1H), 7.61(m, 3H), 7.70(dd, 2H), 7.80(s, 1H), 7.90(d, 1H), 8.09(d, 1H), 9.13(br, 2H), 13.94(s, 1H)。

[0272] 示例 23 :6-(4-(3-(3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0273]



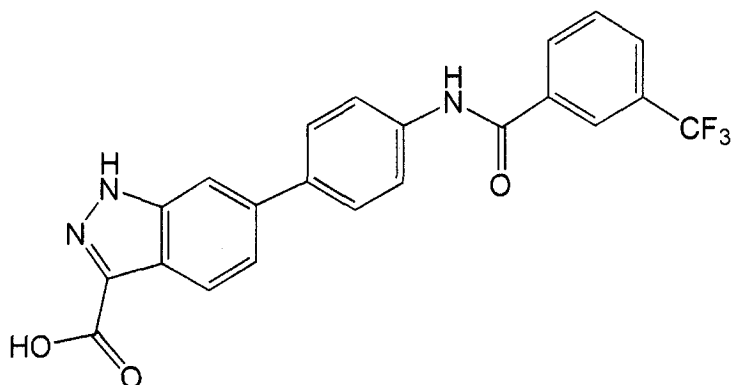
[0274] 通过重复在示例 20 中描述的过程来制备题述化合物。

[0275] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 1.39(t, 3H), 4.39(q, 2H), 7.33(d, 1H), 7.62(m, 5H), 7.70(d, 2H), 7.81(s, 1H), 8.04(s, 1H), 8.12(d, 1H), 9.00(s, 1H), 9.14(s, 1H), 13.96(s, 1H)。

[0276] 示例 24 :N-甲基-6-(4-(3-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0277] 步骤 1 :6-(4-(3-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸的制备

[0278]

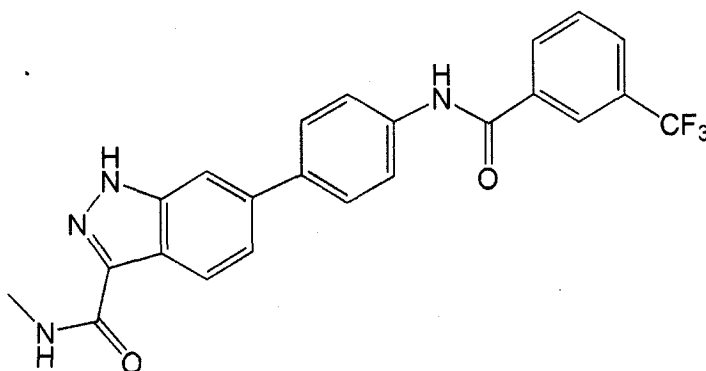


[0279] 在搅拌状态下,向 6-(4-(3-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧

酸乙酯 (12mg, 25 μ mol) 的 THF/ 水 / 甲醇 (10/1/1, 2.5mL) 溶液加入 1N 氢氧化钠水溶液 (1.3mL)。将该混合物在 70°C 下搅拌 12 小时, 并冷却至室温。用 1N 盐酸水溶液将溶液的 pH 调节至 4-5。用乙酸乙酯萃取水溶液, 并用水洗涤汇集的有机层, 通过硫酸镁进行干燥, 并且在减压下进行浓缩, 从而得到不需纯化就用于下一个步骤的 6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸 (13.5mg)。

[0280] 步骤 2 : N-甲基-6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0281]

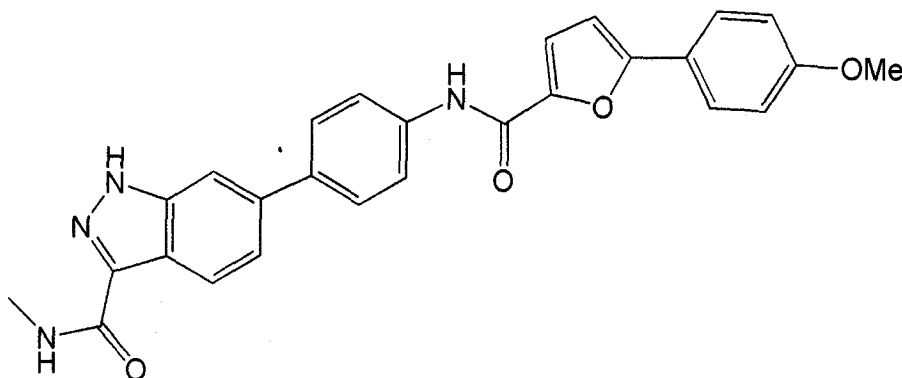


[0282] 在搅拌状态下, 向 6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸 (26mg, 61 μ mol)、盐酸甲胺 (6.2mg, 92 μ mol)、HOBt (12mg, 92 μ mol) 和三乙胺 (43 μ L, 0.3mmol) 的 N, N-二甲基甲酰胺 (0.6mL) 溶液中加入 EDCI (18mg, 92 μ mol)。在 70°C 下将该混合物搅拌 12 小时之后, 将该混合物冷却至室温, 并加入乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠溶液。用乙酸乙酯萃取水层, 并通过硫酸镁干燥汇集的有机层, 并且在减压下进行浓缩。在乙酸乙酯 / 己烷中磨碎剩余物, 从而得到 N-甲基-6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺 (20mg)。

[0283] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.62 (br s, 1H), 10.61 (s, 1H), 8.37 (q, J = 4.8Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.30 (d, J = 7.6Hz, 1H), 8.22 (d, J = 8.4Hz, 1H), 7.99 (d, J = 8Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.8Hz, 2H), 7.80 (m, 4H), 7.58 (d, J = 8.8Hz, 1H), 2.82 (d, J = 4.8Hz, 3H)。

[0284] 示例 25 : 6-(4-(5-(4-甲氧基苯基)呋喃-2-酰胺基)苯基)-N-甲基-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0285]

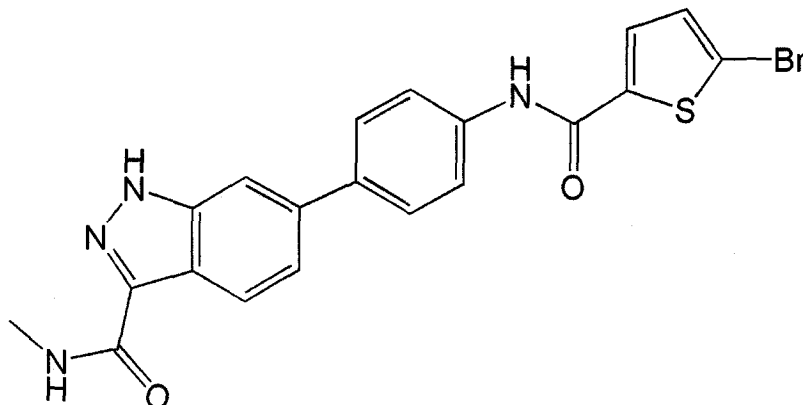


[0286] 通过重复在示例 24 中描述的过程来制备题述化合物。

[0287] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.62 (br s, 1H), 10.26 (s, 1H), 8.39 (q, J = 6Hz, 1H),

8.22(d, J = 11.2Hz, 1H), 7.93(d, J = 12Hz, 2H), 7.91(d, J = 11.6Hz, 2H), 7.80(s, 1H), 7.79(d, J = 11.6Hz, 2H), 7.59(d, J = 11.6Hz, 1H), 7.42(d, J = 4.8Hz, 1H), 7.07(d, J = 12Hz, 2H), 7.05(d, J = 5.6Hz, 1H), 3.83(s, 3H), 2.83(d, J = 6.4Hz, 3H)。

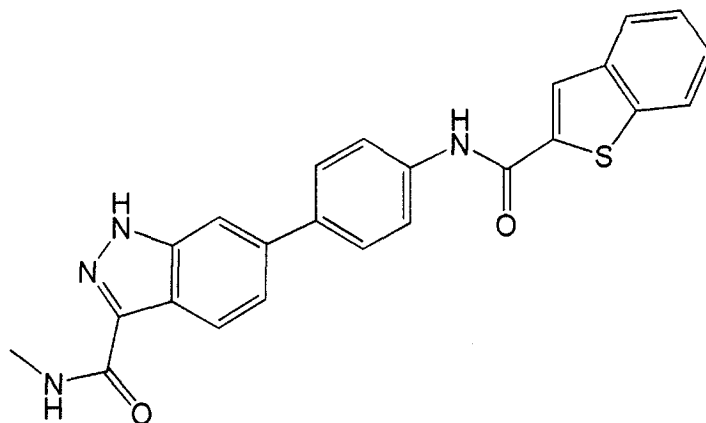
[0288] 示例 26 :6-(4-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-甲基-1H-吡唑-3-酰胺的制备
[0289]



[0290] 通过重复在示例 24 中描述的过程来制备题述化合物。

[0291] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.61(brs, 1H), 10.42(s, 1H), 8.38(q, J = 4.5Hz, 1H), 8.21(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.90(d, J = 3.9Hz, 1H), 7.85(d, J = 8.7Hz, 2H), 7.79(s, 1H), 7.77(d, J = 8.7Hz, 2H), 7.57(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.39(d, J = 4.2Hz, 1H), 2.82(d, J = 4.5Hz, 3H)。

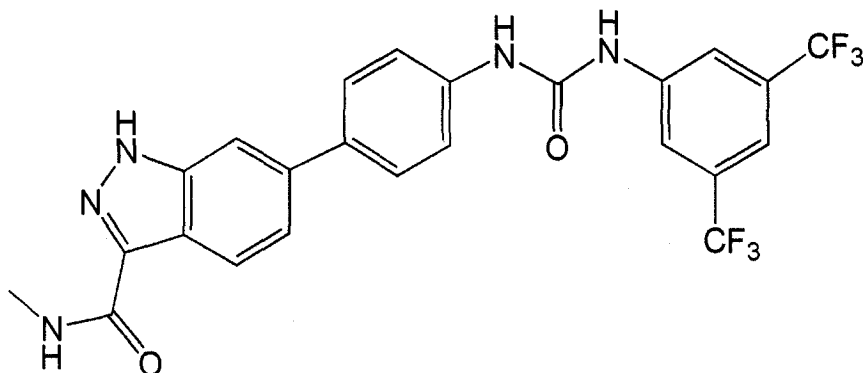
[0292] 示例 27 :6-(4-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-甲基-1H-吡唑-3-酰胺的制备
[0293]



[0294] 通过重复在示例 24 中描述的过程来制备题述化合物。

[0295] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.62(br s, 1H), 10.67(s, 1H), 8.41(s, 1H), 8.38(m, 1H), 8.22(d, J = 8.4Hz, 1H), 8.07-8.00(m, 3H), 7.93(d, J = 8.7Hz, 2H), 7.80(d, J = 8.7Hz, 2H), 7.80(s, 1H), 7.69(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.54-7.44(m, 2H), 2.83(d, J = 4.8Hz, 3H)。

[0296] 示例 28 :6-(4-(3-(3,5-二(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-N-甲基-1H-吡唑-3-酰胺的制备
[0297]

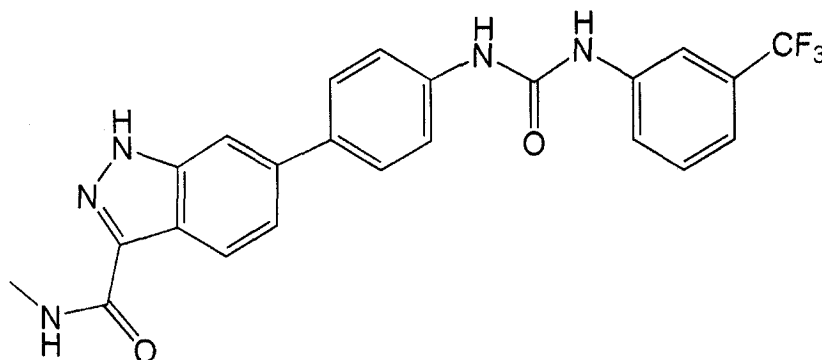


[0298] 通过重复在示例 24 中描述的过程来制备题述化合物。

[0299] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 2.81 (d, 3H), 7.36 (dd, 1H), 7.52 (m, 3H), 7.58 (m, 2H), 7.68 (dd, 2H), 7.74 (s, 1H), 7.90 (d, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.35 (q, 1H), 9.20 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 13.94 (s, 1H) 1H), 8.09 (d, 1H), 9.13 (宽, 2H), 13.94 (s, 1H)。

[0300] 示例 29 :N-甲基-6-(4-(3-(3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-咪唑-3-酰胺的制备

[0301]



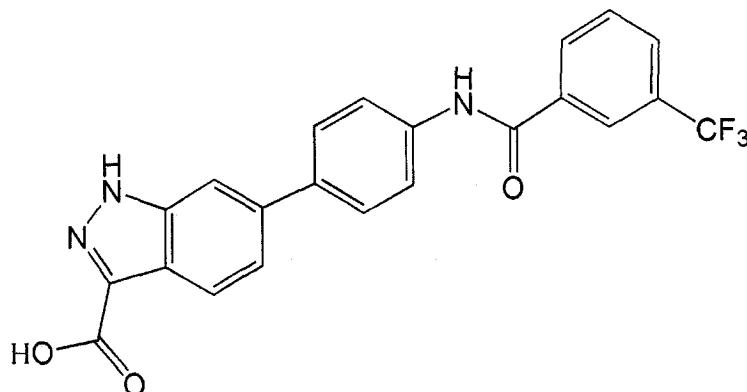
[0302] 通过重复在示例 24 中描述的过程来制备题述化合物。

[0303] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 2.83 (d, 3H), 7.30 (q, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.60 (m, 3H), 7.69 (dd, 2H), 7.74 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 8.19 (d, 1H) 8.35 (q, 1H), 9.12 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 13.56 (s, 1H)。

[0304] 示例 30 :N-(2-吗啉代乙基)-6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-酰胺的制备

[0305] 步骤 1 :6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸的制备

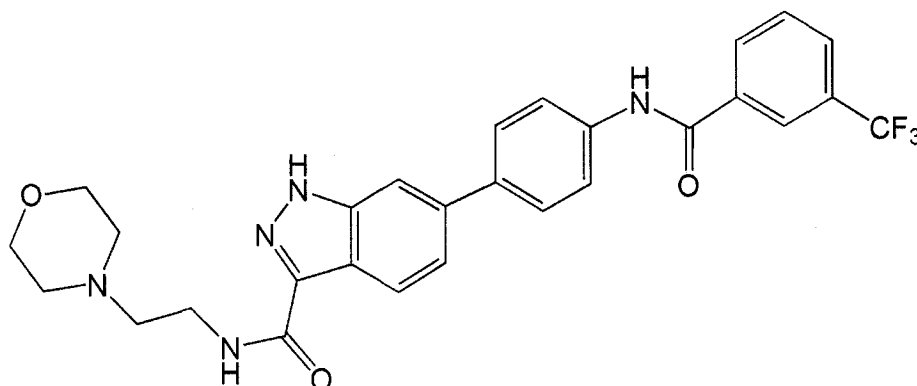
[0306]



[0307] 通过重复在示例 24 中的步骤 1 中描述的过程来制备题述化合物。

[0308] 步骤 2 :N-(2-吗啉代乙基)-6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺的制备

[0309]

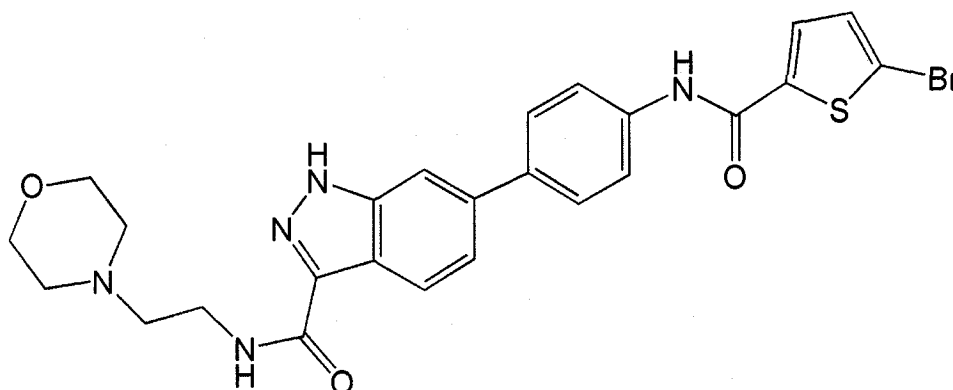


[0310] 在搅拌状态下,向 6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-羧酸 (6mg, 14 μ mol)、吗啉代乙胺 (3 μ L, 17 μ mol)、HOBt (3mg, 17 μ mol) 和三乙胺 (4 μ L, 28 μ mol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (0.3mL) 溶液中加入 EDCI (4mg, 21 μ mol)。在 70 $^{\circ}$ C 下将该混合物搅拌 12 小时,将该混合物冷却至室温,并加入乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠溶液。用乙酸乙酯萃取水层,并通过硫酸镁干燥汇集的有机层,并且在减压下进行浓缩。在乙酸乙酯/己烷中将剩余物磨碎,从而得到 N-(2-吗啉代乙基)-6-(4-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡啶-3-酰胺 (4mg)。

[0311] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.61 (br s, 1H), 10.60 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.30 (d, J = 7.6Hz, 1H), 8.26 (t, J = 8Hz, 1H), 8.22 (d, J = 8.4Hz, 1H), 7.99 (d, J = 8Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.8Hz, 2H), 7.80 (m, 4H), 7.58 (d, J = 8.8Hz, 1H), 3.60-3.57 (m, 4H), 3.37-3.33 (m, 2H), 2.47 (m, 6H)。

[0312] 示例 31 :6-(4-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺的制备

[0313]

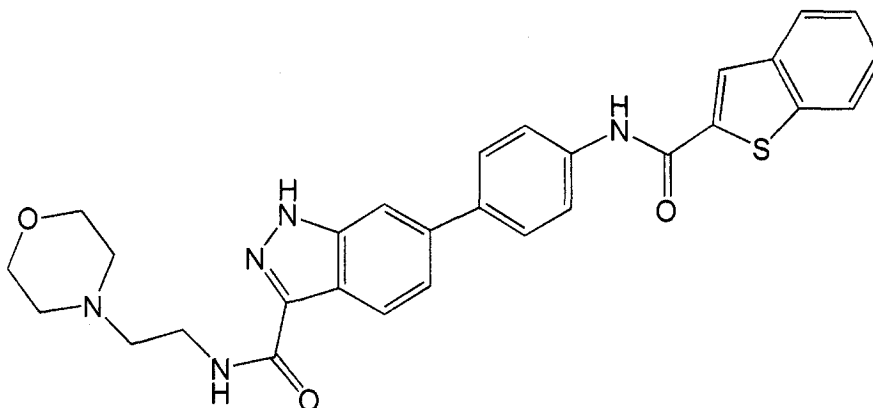


[0314] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0315] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.62 (s, 1H), 10.41 (s, 1H), 8.25 (t, J = 5.6Hz, 1H), 8.21 (d, J = 8.8Hz, 1H), 7.90 (d, J = 4Hz, 1H), 7.84 (d, J = 8.8Hz, 2H), 7.79 (s, 1H), 7.77 (d, J = 8.8Hz, 2H), 7.57 (dd, J = 1.2, 8.4Hz, 1H), 7.39 (d, J = 4Hz, 1H), 3.60-3.57 (m, 4H), 3.37-3.33 (m, 2H), 2.47 (m, 6H)。

[0316] 示例 32 :6-(4-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0317]

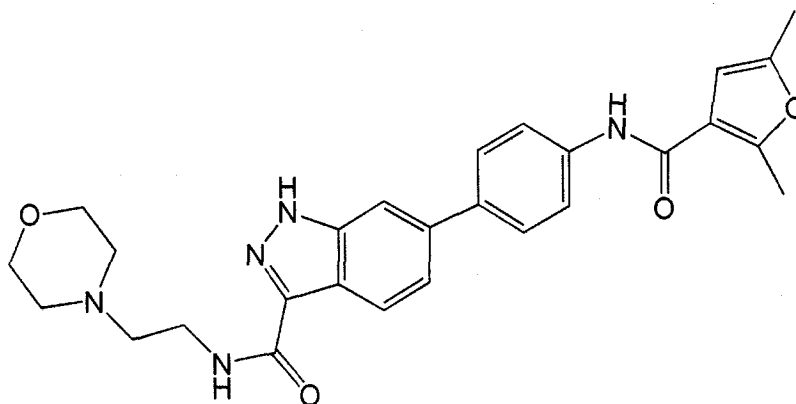


[0318] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0319] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.63(s, 1H), 10.66(s, 1H), 8.41(s, 1H), 8.26(t, $J = 5.6\text{Hz}$, 1H), 8.22(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.07(br d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 8.03(br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.92(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.81(s, 1H), 7.80(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.59(br d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.52-7.48(m, 2H), 3.59(br t, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 3.47-3.42(m, 2H), 2.46-2.44(m, 6H)。

[0320] 示例 33 :6-(4-(2,5-二甲基呋喃-3-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0321]

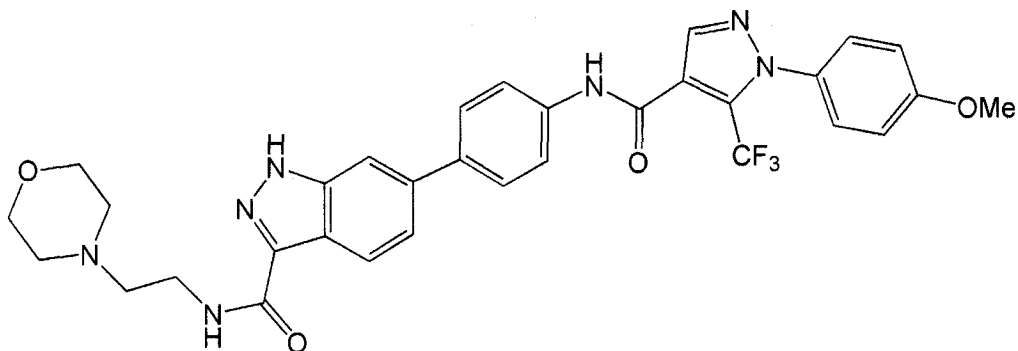


[0322] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0323] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) δ 13.61(br s, 1H), 9.72(s, 1H), 8.26(t, $J = 6\text{Hz}$, 1H), 8.21(d, $J = 6.3\text{Hz}$, 1H), 7.86(d, $J = 6.3\text{Hz}$, 2H), 7.78(s, 1H), 7.73(d, $J = 6.3\text{Hz}$, 2H), 7.56(d, $J = 6.3\text{Hz}$, 1H), 6.69(s, 1H), 3.58(m, 4H), 3.45(m, 2H), 2.52(s, 3H), 2.45(m, 6H), 2.28(s, 3H)。

[0324] 示例 34 :6-(4-(1-(4-甲氧基苯基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0325]

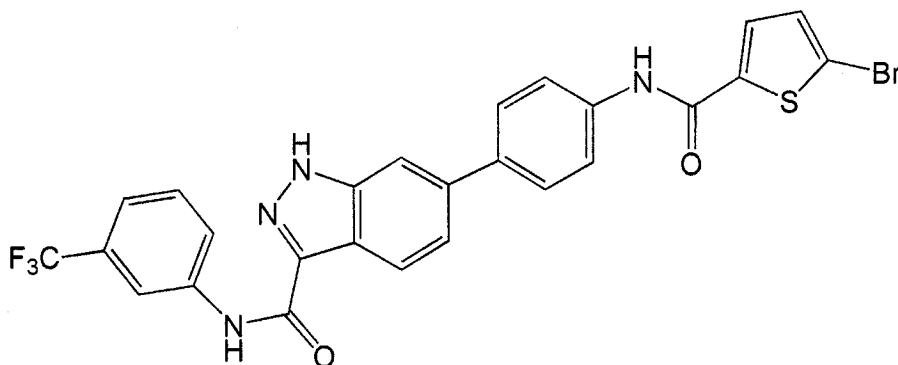


[0326] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0327] ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ 13.67 (br s, 1H), 10.65 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.27 (t, $J = 5.7\text{Hz}$, 1H), 8.22 (d, $J = 9\text{Hz}$, 1H), 7.85 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 2H), 7.79 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 2H), 7.57 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.47 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 2H), 7.13 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.59 (m, 4H), 3.44 (m, 2H), 2.49 (m, 6H)。

[0328] 示例 35 :6-(4-(5-溴噁吩-2-酰胺基)苯基)-N-(3-(三氟甲基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0329]

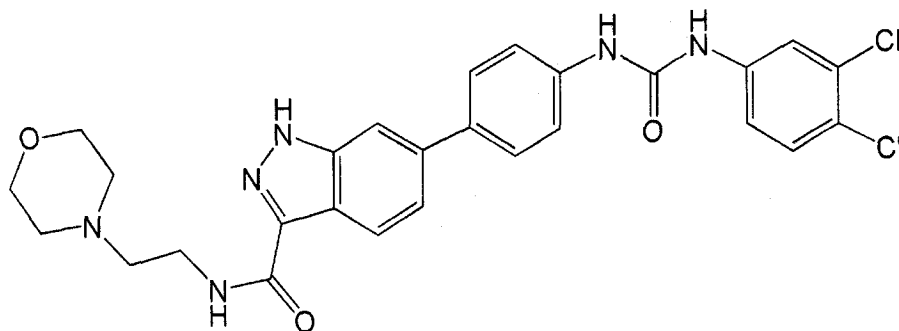


[0330] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0331] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.94 (br s, 1H), 10.78 (s, 1H), 10.43 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.28 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.18 (br d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.91 (d, $J = 4\text{Hz}$, 1H), 7.87 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.81 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.65 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.60 (t, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.45 (d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.40 (d, $J = 4\text{Hz}$, 1H)。

[0332] 示例 36 :6-(4-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0333]



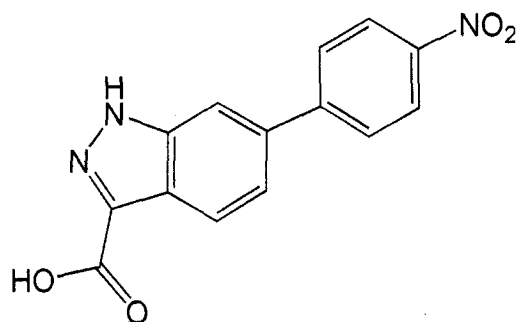
[0334] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0335] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 2.47 (m, 6H), 3.37-3.33 (m, 2H), 3.60-3.57 (m, 4H), 7.48 (dd, 1H), 7.67 (m, 5H), 7.75 (s, 1H), 8.18 (m, 3H), 8.24 (m, 1H), 9.63 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 13.59 (s, 1H)。

[0336] 示例 37 :N-甲基-6-(4-(吡嗪-4-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0337] 步骤 1 :6-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸的制备

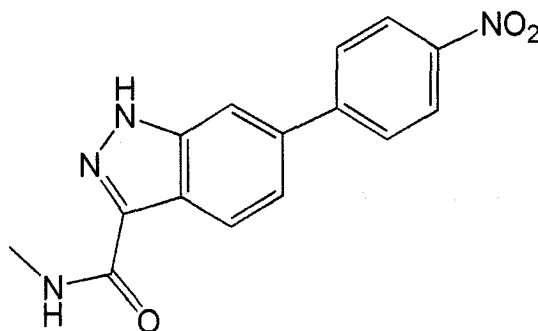
[0338]



[0339] 在搅拌状态下,向 6-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 3-乙酯 (200mg, 0.49mmol) 的 THF/水/甲醇 (10/1/1, 44mL) 溶液中加入 1N 氢氧化钠水溶液 (24mL)。在 70°C 下将该混合物搅拌 12 小时,并冷却至室温。用 1N 盐酸水溶液将溶液的 pH 调节至 4-5。用乙酸乙酯萃取水溶液,并用水洗涤汇集的有机层,通过硫酸镁进行干燥,并在减压下进行浓缩,从而得到无需纯化就用于下一个步骤中的 6-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸 (127mg)。

[0340] 步骤 2 :N-甲基-6-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0341]



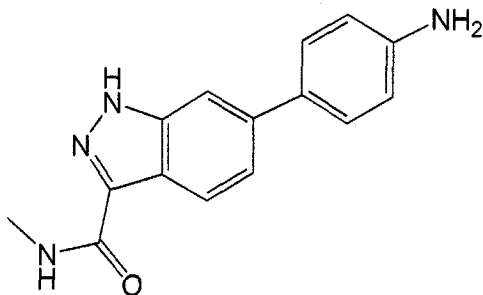
[0342] 在搅拌状态下,向 6-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸 (140mg, 0.5mmol)、盐酸甲胺 (45mg, 0.6mmol)、HOBt (80mg, 0.6mmol) 和三乙胺 (0.3mL, 2mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺

(5mL) 溶液中加入 EDCI (142mg, 0.7mmol)。在 70℃ 下将该混合物搅拌 12 小时之后, 将该混合物冷却至室温, 并加入乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠溶液。用乙酸乙酯萃取水层, 并通过硫酸镁干燥汇集的有机层, 并且在减压下浓缩, 从而得到 N-甲基-6-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-3-酰胺 (70mg)。

[0343] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.78(s, 1H), 8.41(q, J = 4.8Hz, 1H), 8.34(d, J = 8.8Hz, 2H), 8.29(d, J = 8Hz, 1H), 8.06(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.96(s, 1H), 7.65(dd, J = 1.2, 8.8Hz, 1H), 2.83(d, J = 4.8Hz, 3H)。

[0344] 步骤 3: 6-(4-氨基苯基)-N-甲基-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0345]

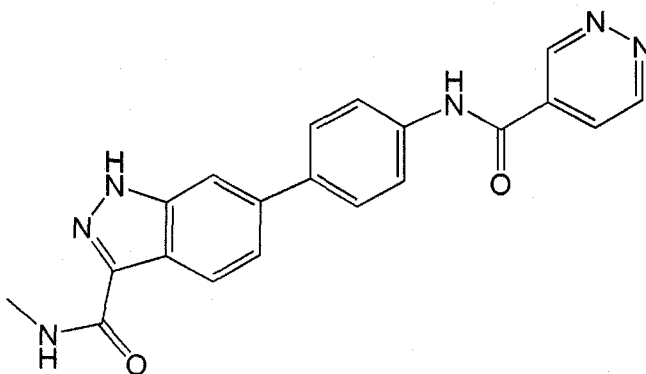


[0346] 在搅拌状态下, 向 N-甲基-6-(4-硝基苯基)-1H-吡唑-3-酰胺 (154mg, 0.52mmol) 的乙醇 (10mL) 溶液中加入 SnCl_2 (588mg, 2.6mmol), 并在 80℃ 下将该混合物搅拌 3 小时。将该混合物冷却至室温, 并加入饱和碳酸氢钠水溶液。将有机层萃取三次, 并通过硫酸钠将汇集的有机层干燥, 并且在减压下进行浓缩。在乙酸乙酯和己烷中磨碎剩余物, 从而得到 6-(4-氨基苯基)-N-甲基-1H-吡唑-3-酰胺 (130mg)。

[0347] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.43(s, 1H), 8.31(q, J = 4.8Hz, 1H), 8.12(d, J = 8.8Hz, 1H), 7.66(s, 1H), 7.45(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.44(d, J = 8.4Hz, 2H), 6.66(d, J = 8Hz, 2H), 2.81(d, J = 4Hz, 3H)。

[0348] 步骤 4: N-甲基-6-(4-(哒嗪-4-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0349]



[0350] 在搅拌状态下, 向 6-(4-氨基苯基)-N-甲基-1H-吡唑-3-酰胺 (15mg, 56 μmol)、哒嗪-4-羧酸 (9mg, 73 μmol)、三乙胺 (24 μL , 169 μmol) 和 HOBt (10mg, 73 μmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (0.6mL) 溶液中加入 EDCI (16mg, 85 μmol)。在 70℃ 下将该混合物搅拌 12 小时。将该混合物冷却至室温, 并加入乙酸乙酯和水。用乙酸乙酯将该混合物萃取三次。用饱和碳酸氢钠溶液洗涤汇集的有机层, 通过硫酸钠进行干燥, 并在减压下进行浓缩。通过乙酸乙酯 / 己烷磨碎剩余物, 从而得到 N-甲基-6-(4-(哒嗪-4-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-酰

胺 (12mg)。

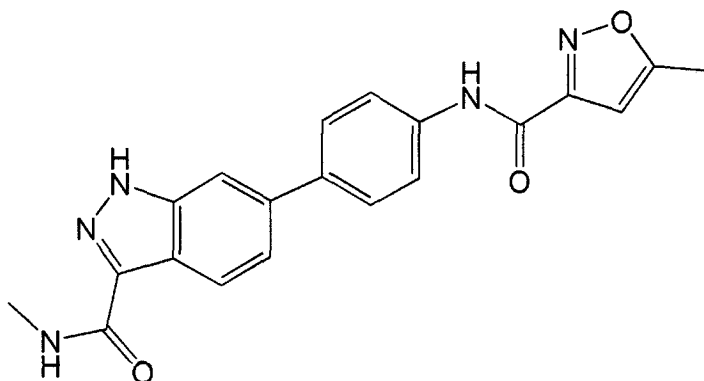
[0351] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.61(br s, 1H), 10.84(br s, 1H), 9.68(s, 1H), 9.51(d, J = 4Hz, 1H), 8.38(q, J = 4.4Hz, 1H), 8.22(d, J = 8.4Hz, 1H), 8.15(dd, J = 2.4, 5.2Hz, 1H), 7.91(d, J = 8.4Hz, 2H), 7.81(d, J = 8.4Hz, 2H), 7.80(s, 1H), 7.58(dd, J = 1.2, 8.4Hz, 1H), 2.83(d, J = 4.8Hz, 3H)。

[0352]

示例 38: 5-甲基-N-(4-(3-(甲基氨基甲酰基)-1H-咪唑-6-基)苯基)异噁唑-3-

酰胺的制备

[0353]

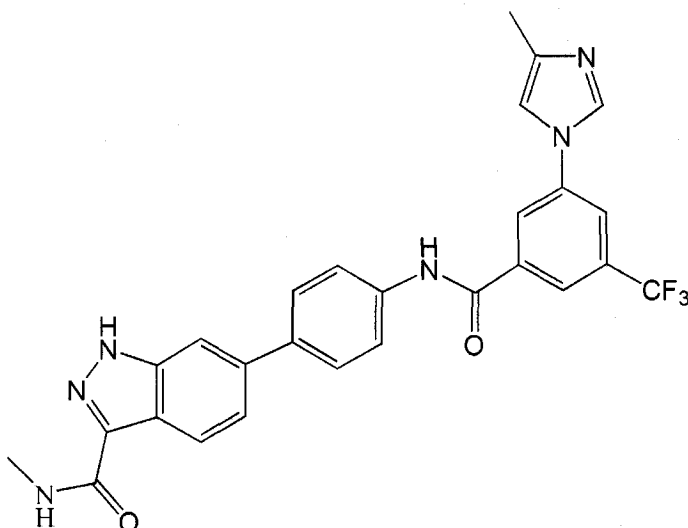


[0354] 通过重复在示例 37 中描述的过程来制备题述化合物。

[0355] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.59(br s, 1H), 10.78(s, 1H), 8.37(q, J = 4.4Hz, 1H), 8.21(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.92(d, J = 8.4Hz, 2H), 7.78(s, 1H), 7.77(d, J = 8.4Hz, 2H), 7.56(d, J = 8.4Hz, 1H), 6.69(s, 1H), 2.82(d, J = 4.4Hz, 3H), 2.51(s, 3H)

[0356] **示例 39: N-甲基-6-(4-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-酰胺的制备**

[0357]



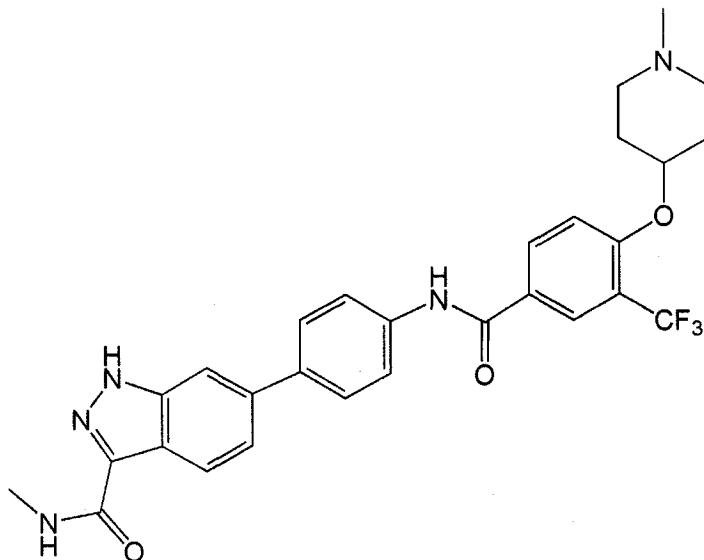
[0358] 通过重复在示例 38 中描述的过程来制备题述化合物。

[0359] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.58(br s, 1H), 10.64(s, 1H), 8.48(s, 1H), 8.42(s, 1H), 8.37(q, J = 4.8Hz, 1H), 8.26(s, 1H), 8.22(d, J = 8.4Hz, 1H), 8.20(s, 1H), 7.92(d, J

= 8.8Hz, 2H), 7.82(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.81(s, 1H), 7.74(s, 1H), 7.59(d, J = 8.4Hz, 1H), 2.83(d, J = 4.8Hz, 3H), 2.20(s, 3H)。

[0360] 示例 40 :N-甲基-6-(4-(4-(1-甲基哌啶-4-基氧)-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0361]

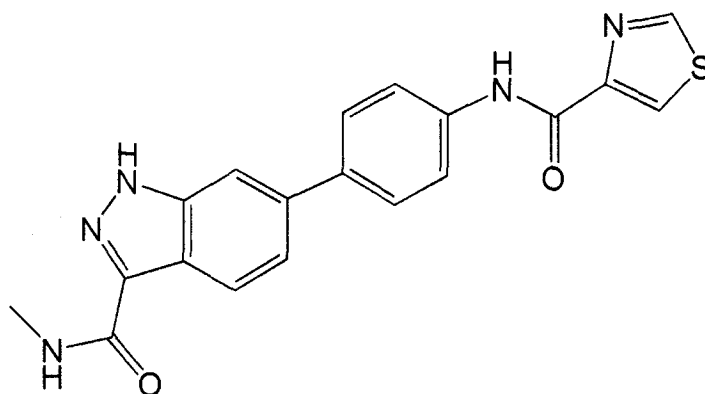


[0362] 通过重复在示例 37 中描述的过程来制备题述化合物。

[0363] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.59(s, 1H), 10.42(s, 1H), 8.27(s, 1H), 8.26(d, J = 7.6Hz, 1H), 8.22(d, J = 8Hz, 1H), 7.90(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.78(s, 1H), 7.77(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.57(d, J = 9.2Hz, 1H), 7.49(d, J = 9.2Hz, 1H), 4.79(m, 1H), 2.83(d, J = 4.8Hz, 3H), 2.31(m, 4H), 2.21(s, 3H), 1.98(m, 2H), 1.75(m, 2H)。

[0364] 示例 41 :N-(4-(3-(甲基氨基甲酰基)-1H-吡唑-6-基)苯基)噻唑-4-酰胺的制备

[0365]

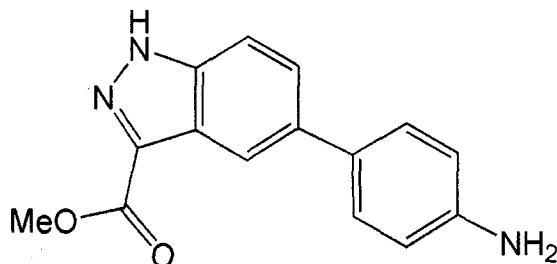


[0366] 通过重复在示例 37 中描述的过程来制备题述化合物。

[0367] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.61(br s, 1H), 10.50(s, 1H), 9.29(d, J = 2Hz, 1H), 8.53(d, J = 1.6Hz, 1H), 8.38(q, J = 4.4Hz, 1H), 8.21(d, J = 8.4Hz, 1H), 8.00(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.79(s, 1H), 7.76(d, J = 8.4Hz, 2H), 7.57(dd, J = 1.6, 8.4Hz, 1H), 2.82(d, J = 4.8Hz, 3H)。

[0368] 示例 42 :5-(4-氨基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸甲酯的制备

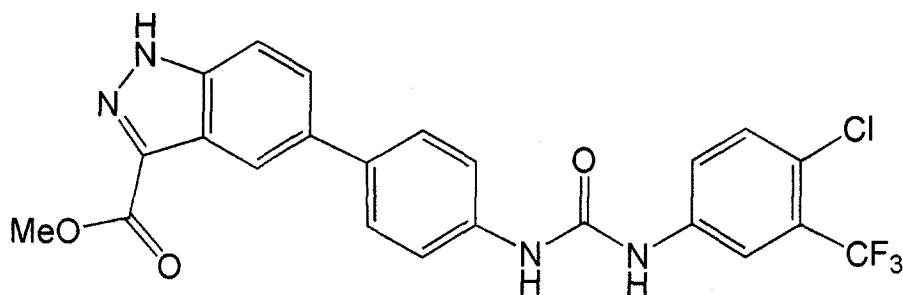
[0369]



[0370] 通过重复在示例 1 中描述的过程来制备题述化合物。

[0371] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.88(s, 1H), 8.11(s, 1H), 7.65(s, 2H), 7.38(d, J = 8.4Hz, 2H), 6.67(d, J = 8.4Hz, 2H), 5.23(s, 2H), 3.93(s, 3H)。[0372] 示例 43 :5-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸甲酯的制备

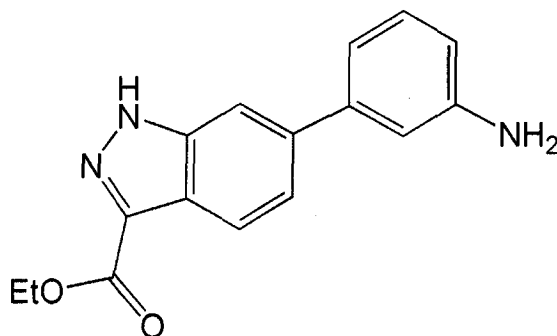
[0373]



[0374] 通过重复在示例 20 中描述的过程来制备题述化合物。

[0375] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.97(s, 1H), 9.26(s, 1H), 9.08(s, 1H), 8.45(d, J = 8Hz, 1H), 8.42(d, J = 2.4Hz, 1H), 8.36(s, 1H), 8.18(d, J = 8.4Hz, 1H), 8.14(s, 1H), 8.04(d, J = 8Hz, 1H), 7.75(d, J = 8.8Hz, 1H), 7.65(m, 3H), 4.05(s, 3H)。[0376] 示例 44 :6-(3-氨基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

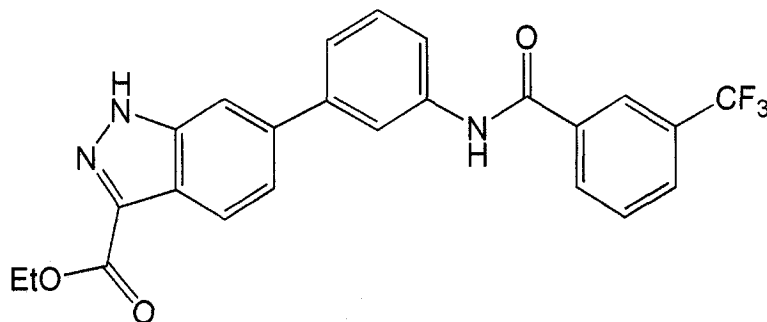
[0377]



[0378] 通过重复在示例 1 中描述的过程来制备题述化合物。

[0379] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.80(s, 1H), 8.03(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.66(s, 1H), 7.53(dd, J = 1.2, 8.4Hz, 1H), 7.44(d, J = 8.4Hz, 2H), 6.67(d, J = 8.4Hz, 1H), 5.30(s, 2H), 4.39(q, J = 7.2Hz, 2H), 1.38(t, J = 7.2Hz, 3H)。[0380] 示例 45 :6-(3-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0381]



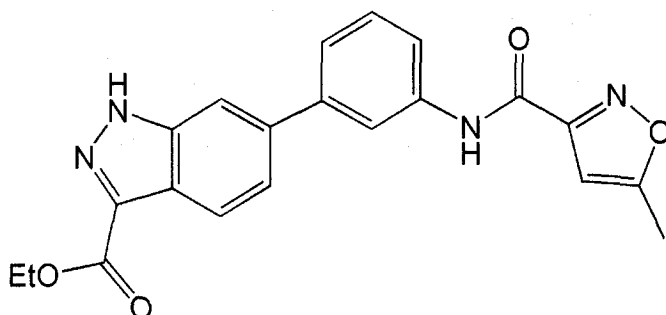
[0382] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0383] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 0.60 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.30 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.97 (d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.86-7.79 (m, 3H), 7.63 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.52 (m, 2H), 4.43 (q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.39 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0384]

示例 46: 6-(3-(5-甲基异噁唑-3-酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯的制备

[0385]

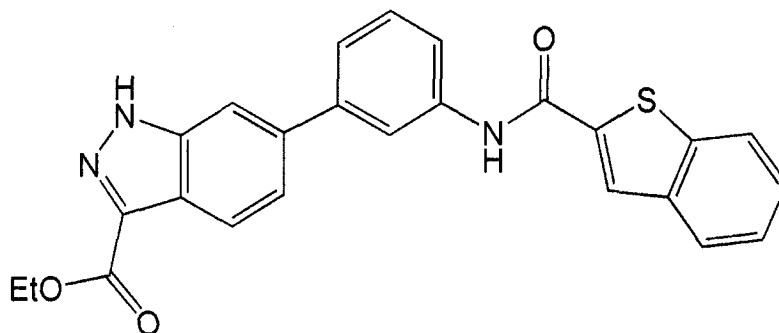


[0386] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0387] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 14.02 (s, 1H), 10.76 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.15 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.51 (m, 3H), 6.69 (s, 1H), 4.40 (q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.51 (s, 3H), 1.39 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0388] 示例 47: 6-(3-(苯并[b]噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯的制备

[0389]



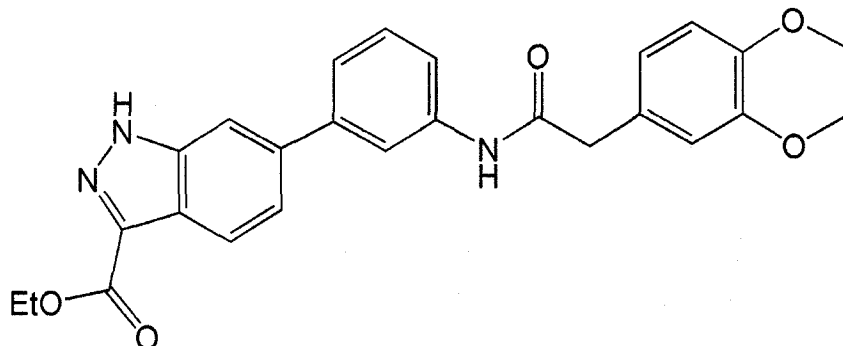
[0390] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0391] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 14.03 (s, 1H), 10.66 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.17 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.07 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 1H), 7.86 (s, 1H),

7.83(m, 1H), 7.64(d, $J = 9.6\text{Hz}$, 1H), 7.50(m, 4H), 4.42(q, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H), 1.40(t, $J = 6.8\text{Hz}$, 3H)。

[0392] 示例 48 :6-(3-(2-(3,4-二甲氧基苯基)乙酰氨基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0393]

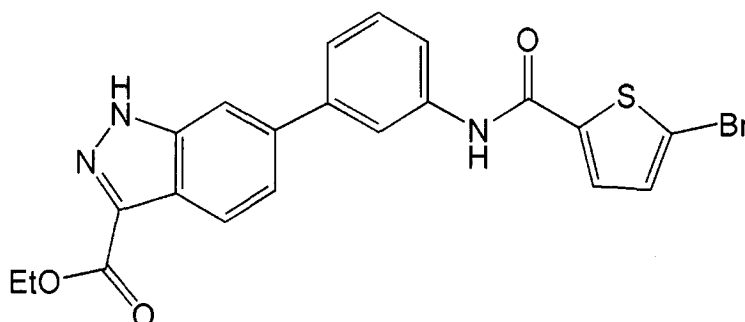


[0394] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0395] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 13.98(s, 1H), 10.25(s, 1H), 8.13(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.02(s, 1H), 7.78(s, 1H), 7.57(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.42(d, $J = 5.2\text{Hz}$, 2H), 6.96(s, 1H), 6.89(t, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 6.86(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 4.41(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 3.75(s, 3H), 3.72(s, 3H), 3.59(s, 2H), 1.39(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0396] 示例 49 :6-(3-(5-溴噻吩-2-酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0397]

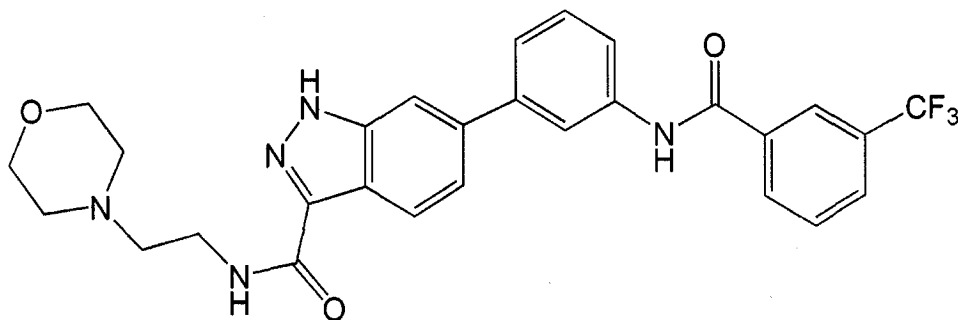


[0398] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0399] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 14.01(s, 1H), 10.42(s, 1H), 8.15(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.11(s, 1H), 7.91(d, $J = 4.4\text{Hz}$, 1H), 7.83(s, 1H), 7.76(br d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 7.62(br d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.51(m, 2H), 7.40(d, $J = 4\text{Hz}$, 1H), 4.41(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.39(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0400] 示例 50 :N-(2-吗啉代乙基)-6-(3-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0401]

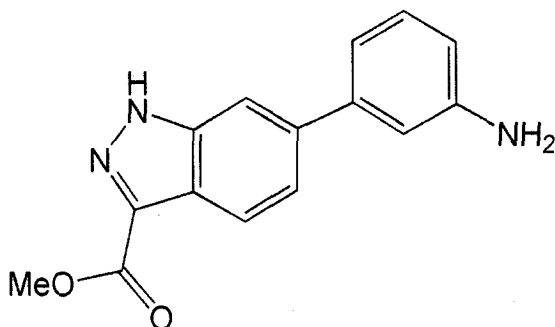


[0402] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0403] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.67 (s, 1H), 10.48 (s, 1H), 8.29-8.24 (m, 2H), 8.15 (s, 1H), 7.84 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.57-7.52 (m, 2H), 7.41 (s, 1H), 3.78 (m, 4H), 3.58 (m, 4H), 3.44 (m, 2H), 3.32 (m, 4H), 2.43 (m, 6H)。

[0404] 示例 51 :6-(3-氨基苯基)-1H-咪唑-3-羧酸甲酯的制备

[0405]

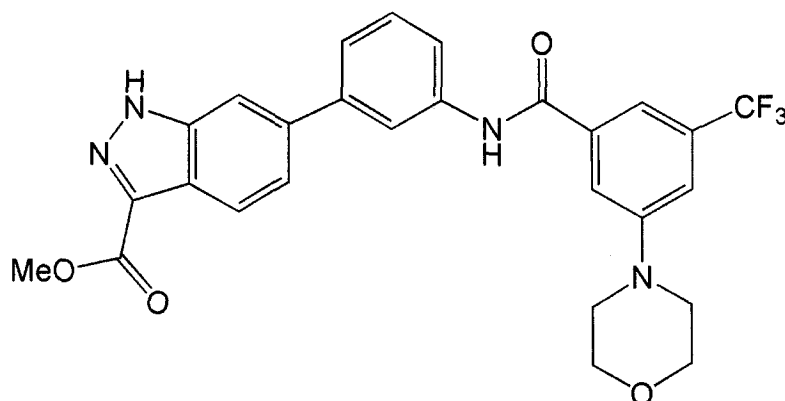


[0406] 通过重复在示例 1 中描述的过程来制备题述化合物。

[0407] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.95 (s, 1H), 8.09 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.53 (dd, $J = 1.6, 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.13 (t, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 6.91 (br s, 1H), 6.85 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 6.60 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 5.22 (br s, 2H), 3.93 (s, 3H)。

[0408] 示例 52 :6-(3-(3-吗啉代-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸甲酯的制备

[0409]

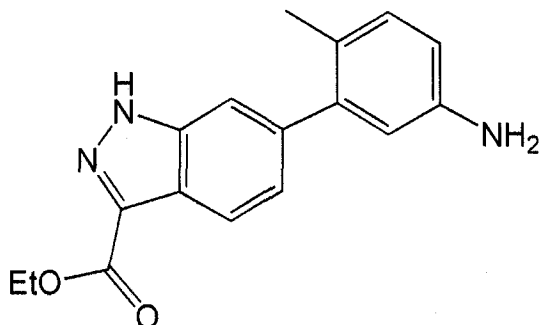


[0410] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0411] ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ 14.05(br s, 1H), 10.50(s, 1H), 8.16(d, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 8.15(s, 1H), 7.85(br s, 2H), 7.76(s, 1H), 7.69(s, 1H), 7.64(d, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 7.50(m, 2H), 7.41(s, 1H), 3.94(s, 3H), 3.77(m, 4H), 3.31(m, 4H)。

[0412] 示例 53 :6-(5-氨基-2-甲基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0413]

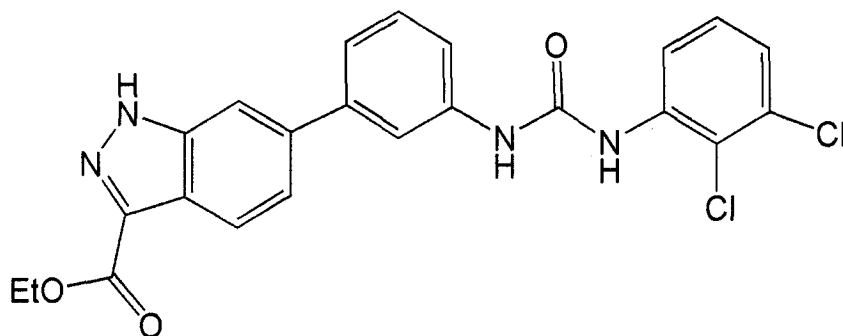


[0414] 通过重复在示例 1 中描述的过程来制备题述化合物。

[0415] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.89(s, 1H), 8.06(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.46(s, 1H), 7.24(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 6.95(d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 6.51(d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 6.50(s, 1H), 4.96(br s, 1H), 4.40(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.05(s, 3H), 1.38(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0416] 示例 54 :6-(3-(3-(2,3-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0417]

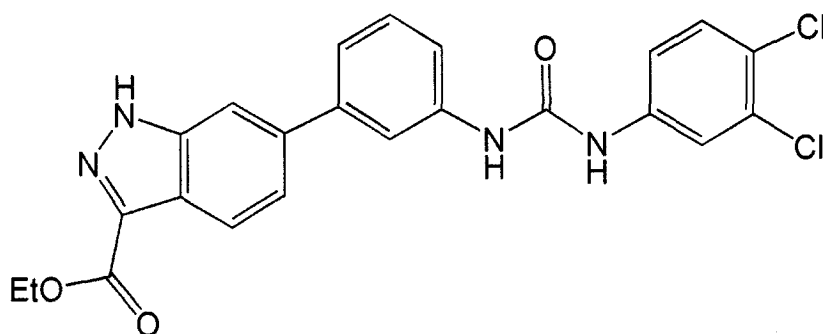


[0418] 通过重复在示例 20 中描述的过程来制备题述化合物。

[0419] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.99(s, 1H), 9.67(s, 1H), 8.54(s, 1H), 8.19(dd, $J = 1.6, 8\text{Hz}$, 1H), 8.14(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.93(s, 1H), 7.82(s, 1H), 7.60(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.45-7.29(m, 5H), 4.41(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.39(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0420] 示例 55 :6-(3-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0421]

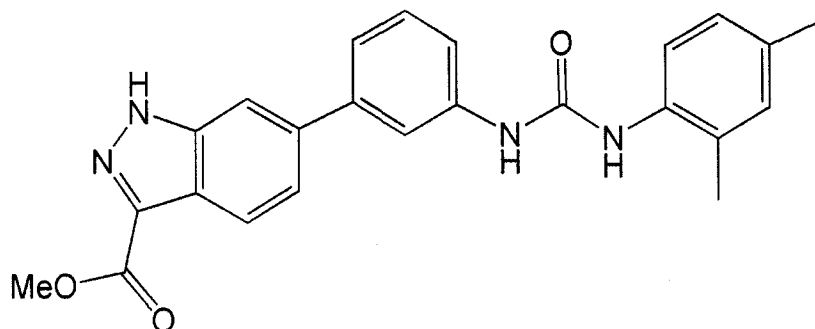


[0422] 通过重复在示例 20 中描述的过程来制备题述化合物。

[0423] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.97(s, 1H), 9.14(s, 1H), 9.03(s, 1H), 8.15(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.93(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.82(s, 1H), 7.60(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.53(d, J = 8.8Hz, 1H), 7.37(m, 4H), 4.41(q, J = 7.2Hz, 2H), 1.41(t, J = 7.2Hz, 3H)。

[0424] 示例 56 :6-(3-(3-(2,4-二甲基苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸甲酯的制备

[0425]

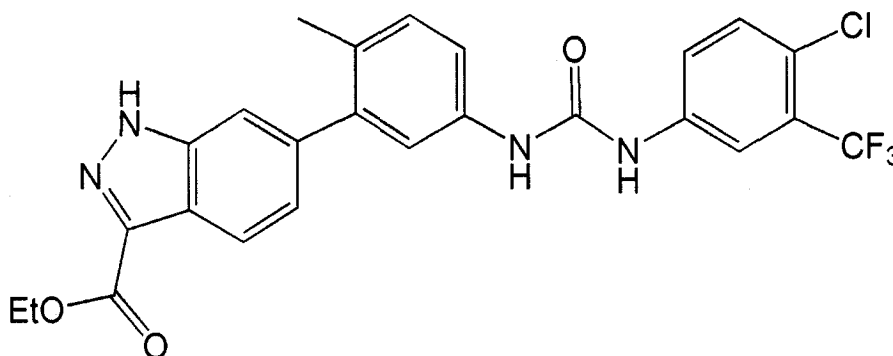


[0426] 通过重复在示例 20 中描述的过程来制备题述化合物。

[0427] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 14.04(br s, 1H), 9.13(s, 1H), 8.13(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.92(s, 2H), 7.81(s, 1H), 7.67(d, J = 8Hz, 1H), 7.60(d, J = 8.8Hz, 1H), 7.41(s, 1H), 7.40(t, J = 8Hz, 1H), 6.99(s, 1H), 6.95(d, J = 8Hz, 1H), 3.94(s, 3H), 2.23(s, 3H), 2.21(s, 3H)。

[0428] 示例 57 :6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0429]

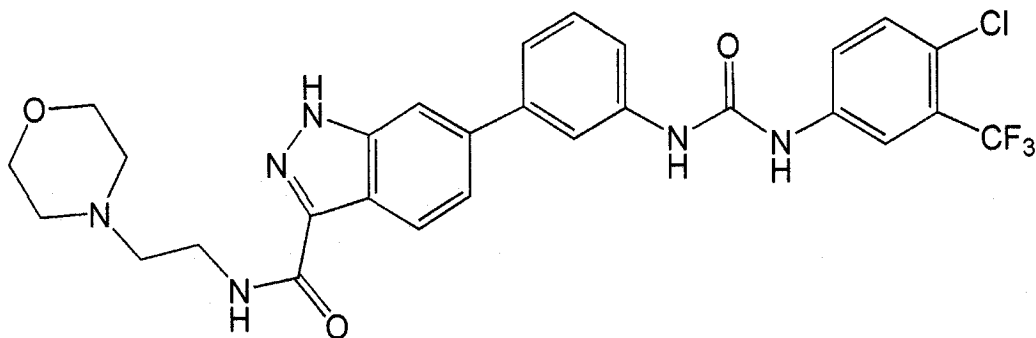


[0430] 通过重复在示例 20 中描述的过程来制备题述化合物。

[0431] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.95(s, 1H), 9.17(s, 1H), 8.86(s, 1H), 8.11(d, J = 8Hz, 1H), 8.10(s, 1H), 7.62-7.58(m, 2H), 7.54(s, 1H), 7.46(d, J = 2Hz, 1H), 7.36(dd, J = 2.4, 8.4Hz, 1H), 7.30(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.24(d, J = 8.4Hz, 1H), 4.41(q, J = 7.2Hz, 2H), 2.18(s, 3H), 1.39(t, J = 7.2Hz, 3H)。

[0432] 示例 58 :6-(3-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0433]

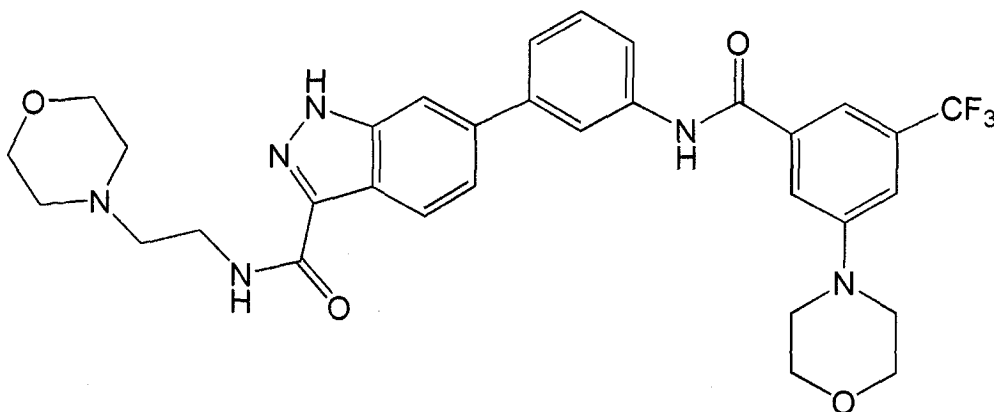


[0434] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0435] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.61 (s, 1H), 8.25-8.22 (m, 2H), 8.16 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.70 (d, $J = 11.2\text{Hz}$, 1H), 7.60 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.52 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.46 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.41 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.36 (t, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 3.58 (m, 4H), 3.36 (m, 2H), 2.40 (m, 6H)。

[0436] 示例 59 :6-(3-(3-吗啉代-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0437]

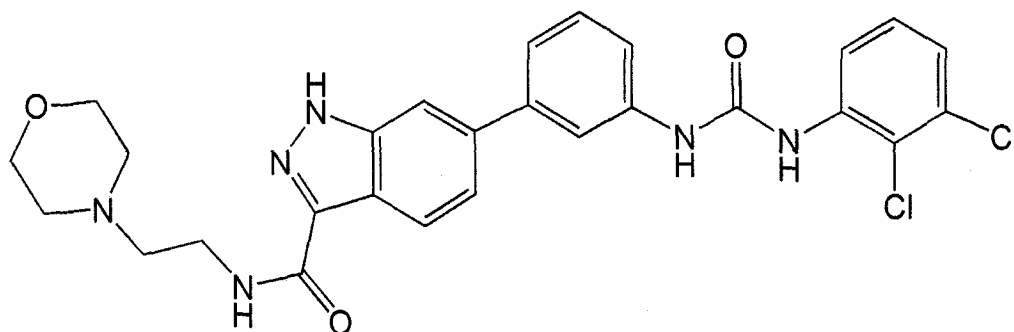


[0438] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0439] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.67 (s, 1H), 10.48 (s, 1H), 8.29-8.24 (m, 2H), 8.15 (s, 1H), 7.84 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.56 (br d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.51 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.41 (s, 1H), 3.78 (m, 4H), 3.58 (m, 4H), 3.44 (m, 2H), 3.33 (m, 4H), 2.43 (m, 6H)。

[0440] 示例 60 :6-(3-(3-(2,3-二氯苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0441]

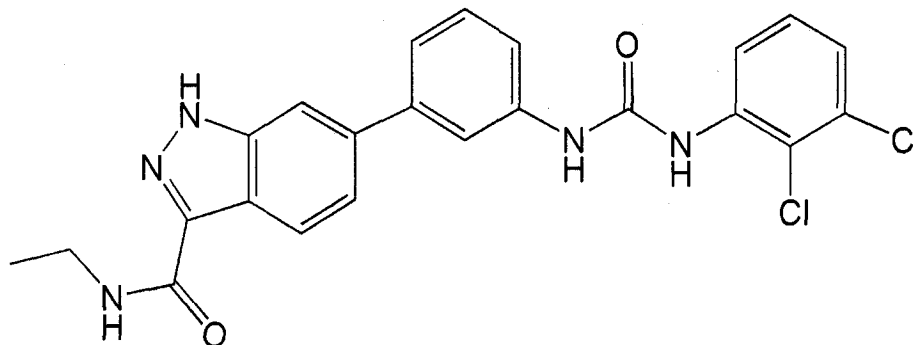


[0442] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0443] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.98 (s, 1H), 9.66 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.19 (dd, $J = 1.6, 8\text{Hz}$, 1H), 8.14 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.61 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.45-7.30 (m, 5H), 4.41 (q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.39 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0444] 示例 61 :6-(3-(3-(2,3-二氯苯基)脲基)苯基)-N-乙基-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0445]

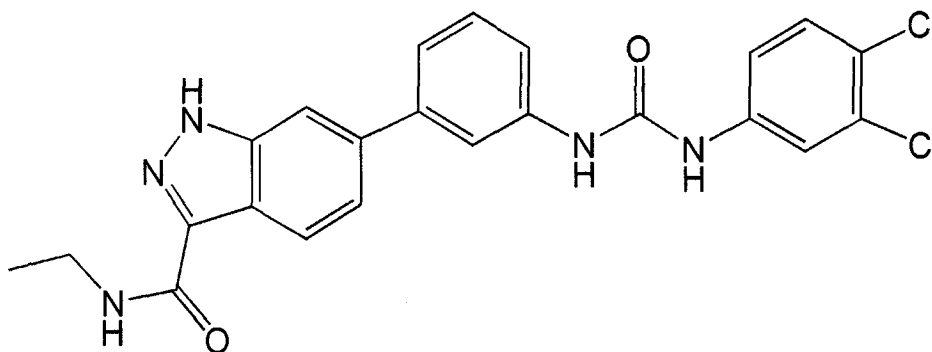


[0446] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0447] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.61 (s, 1H), 9.65 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.43 (br s, 1H), 8.23 (m, 2H), 7.93 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.53-7.28 (m, 5H), 6.86 (s, 1H), 3.60 (br s, 2H), 1.13 (br s, 3H)。

[0448] 示例 62 :6-(3-(3-(3,4-二氯苯基)脲基)苯基)-N-乙基-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0449]

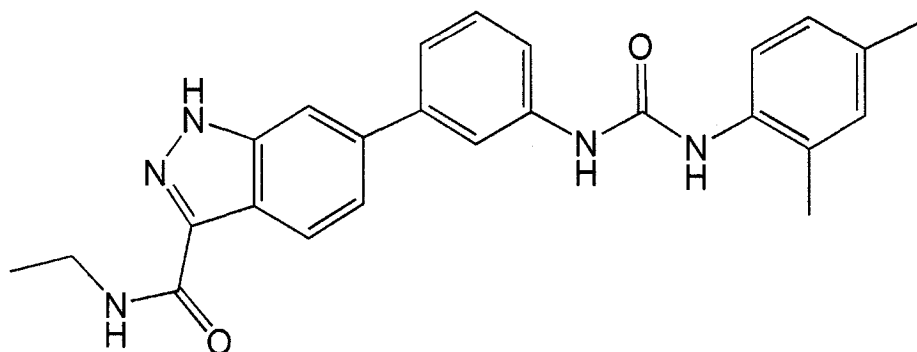


[0450] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0451] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.60 (s, 1H), 9.25 (br s, 1H), 9.13 (br s, 1H), 8.43 (br t, $J = 5.2\text{Hz}$, 1H), 8.26 (d, $J = 9.2\text{Hz}$, 1H), 7.93 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.52 (br d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.38 (m, 4H), 3.31 (q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.15 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0452] 示例 63 :6-(3-(3-(2,4-二甲基苯基)脲基)苯基)-N-乙基-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0453]

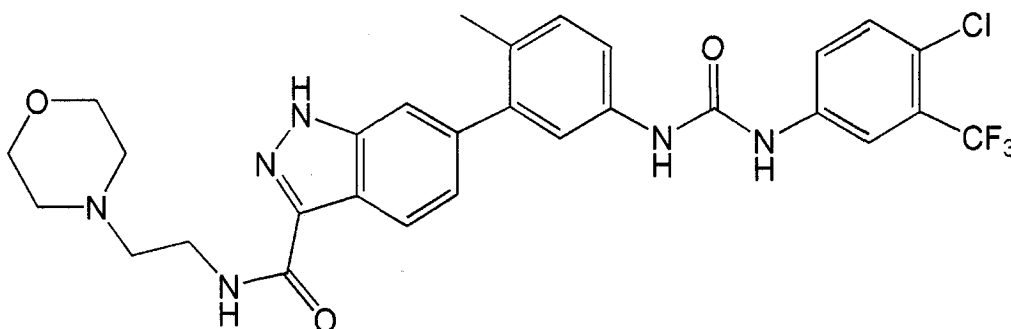


[0454] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0455] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.72 (br s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.42 (t, $J = 6\text{Hz}$, 1H), 8.22 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.99 (br s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.67 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.51 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.29 (br s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.93 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 3.33 (br q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.15 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0456] 示例 64 :6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0457]

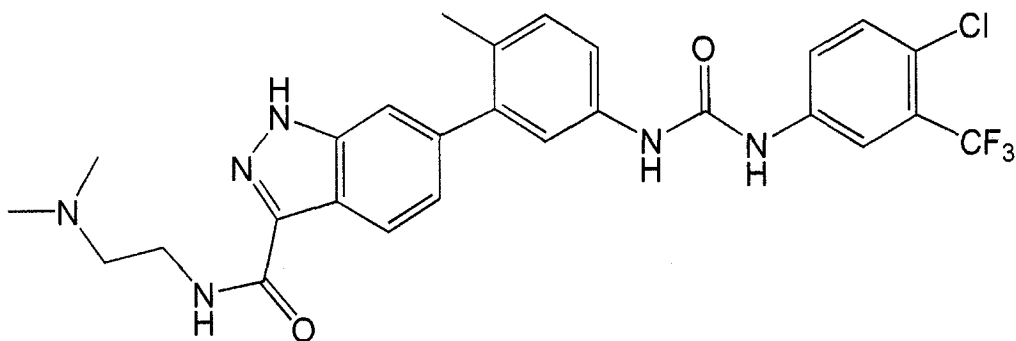


[0458] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0459] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.57 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.27 (br t, $J = 5.6\text{Hz}$, 1H), 8.20 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.10 (d, $J = 2.8\text{Hz}$, 1H), 7.62 (d, $J = 2\text{Hz}$, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.45 (d, $J = 3\text{Hz}$, 1H), 7.35 (dd, $J = 2.8\text{Hz}$, 1H), 7.24 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.21 (dd, $J = 1.6, 8.4\text{Hz}$, 1H), 3.58 (br t, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 3.45 (m, 2H), 2.46 (m, 6H), 2.18 (s, 3H)。

[0460] 示例 65 :6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-N-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0461]

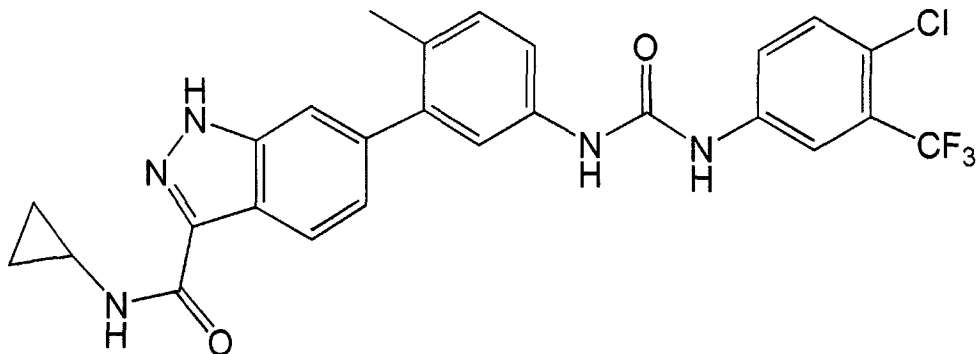


[0462] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0463] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.58(s, 1H), 9.25(s, 1H), 8.93(s, 1H), 8.18(m, 2H), 8.10(d, J = 2Hz, 1H), 7.62(m, 2H), 7.49(s, 1H), 7.45(d, J = 2.5Hz, 1H), 7.35(dd, J = 2.4, 8.4Hz, 1H), 7.23(d, J = 9.6Hz, 1H), 7.21(dd, J = 1.5, 8.4Hz, 1H), 3.41(q, J = 6.8Hz, 2H), 2.44(t, J = 6.8Hz, 2H), 2.20(s, 6H), 2.18(s, 3H)。

[0464] 示例 66 :6-(5-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)-2-甲基苯基)-N-环丙基-1H-咪唑-3-酰胺的制备

[0465]

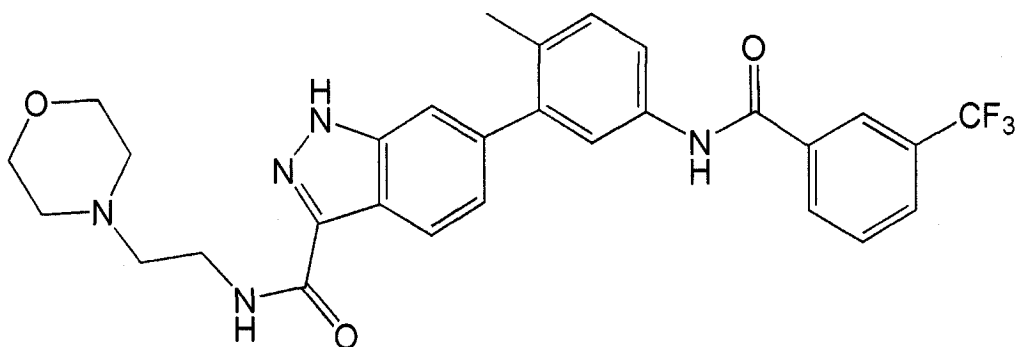


[0466] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0467] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.57(s, 1H), 9.18(s, 1H), 8.86(s, 1H), 8.44(d, J = 4.4Hz, 1H), 8.19(d, J = 8.4Hz, 1H), 8.10(s, 1H), 7.61(m, 2H), 7.47(s, 1H), 7.44(s, 1H), 7.35(d, J = 8.8Hz, 1H), 7.23(d, J = 9.6Hz, 1H), 7.21(d, J = 9.2Hz, 1H), 3.32(m, 1H), 2.18(s, 3H), 1.23(m, 1H), 0.64(m, 3H)。

[0468] 示例 67 :6-(2-甲基-5-(3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-咪唑-3-酰胺的制备

[0469]

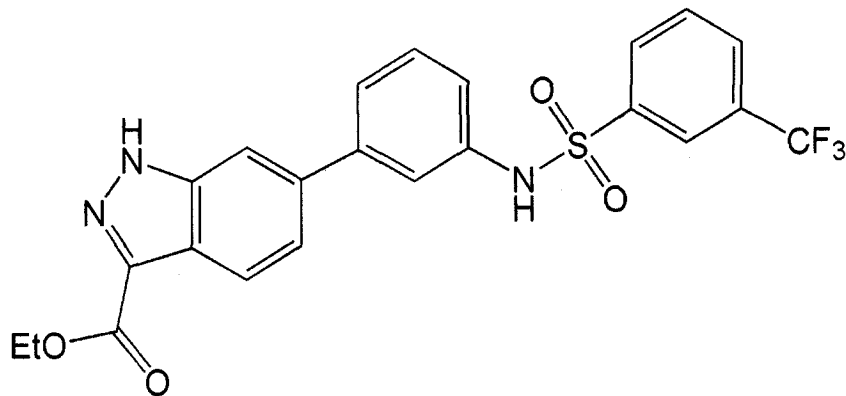


[0470] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0471] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 13.70 (s, 1H), 10.48 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.26 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.96 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.78 (t, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.73 (s, 2H), 7.52 (s, 1H), 7.33 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.24 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 3.59 (br s, 4J), 2.44 (m), 2.23 (s, 3H)。

[0472] 示例 68 :6-(3-(3-(三氟甲基)苯基亚磺酰氨基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0473]

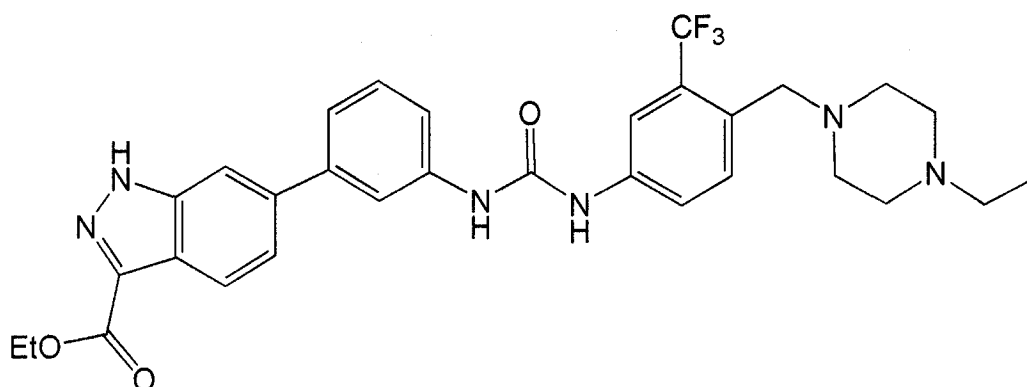


[0474] 在搅拌状态下,在室温下向 6-(3-氨基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯 (10mg) 的吡啶 (1mL) 溶液中加入 3-三氟甲基苯磺酰氯 (6.3 μL)。3 小时后,通过蒸发去除吡啶。加入乙酸乙酯和水,并用乙酸乙酯将水层萃取三次。通过硫酸镁将汇集的有机层进行干燥,并在减压下进行浓缩。在乙酸乙酯/己烷中将磨碎剩余物,从而得到 6-(3-(3-(三氟甲基)苯基亚磺酰氨基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯 (8.6mg)。

[0475] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 14.11 (s, 1H), 10.64 (s, 1H), 8.08 (m, 4H), 7.83 (t, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 7.43 (m, 4H), 7.12 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 4.40 (q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.39 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0476] 示例 69 :6-(3-(3-(4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0477]



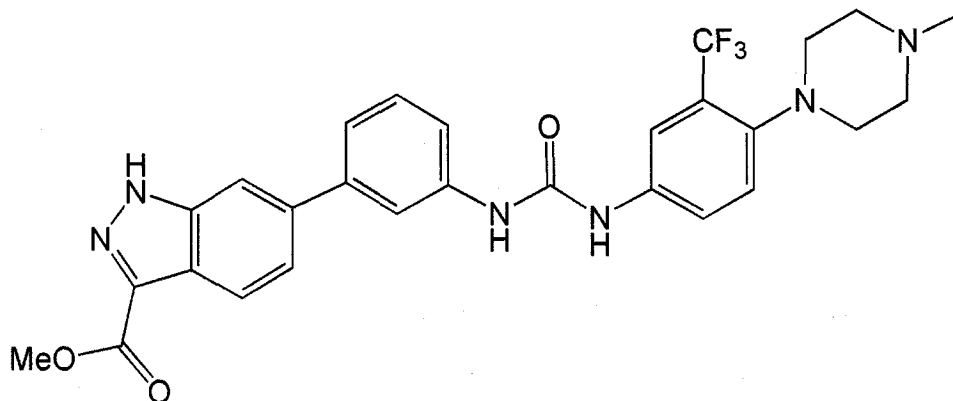
[0478] 在搅拌状态下,在室温下向 4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯胺 (30.6mg) 的 1,4-二氧杂环己烷 (1mL) 溶液中加入 4-硝基苯基氯甲酸酯 (21.6mg)。在 60°C 下保持 1 小时之后,将该混合物冷却至室温,并加入 6-(3-氨基苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯 (30mg)。在 90°C 下将该混合物搅拌 12 小时。加入乙酸乙酯和水,并用乙酸乙酯将

水层萃取三次。通过硫酸镁将汇集的有机层进行干燥,并在减压下进行浓缩。在乙酸乙酯/己烷中磨碎剩余物,从而得到 6-(3-(3-(4-((4-乙基哌嗪-1-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯 (16.2mg)。

[0479] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.98(s, 1H), 9.09(s, 1H), 8.93(s, 1H), 8.15(8.4Hz, 1H), 7.99(s, 1H), 7.93(s, 1H), 7.81(s, 1H), 7.62(m, 3H), 7.43(br d, $J = 4.4\text{Hz}$, 2H), 7.28(m, 1H), 4.41(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 3.54(s, 2H), 2.49(m, 10H), 1.39(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0480] 示例 70: 6-(3-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸甲酯的制备

[0481]

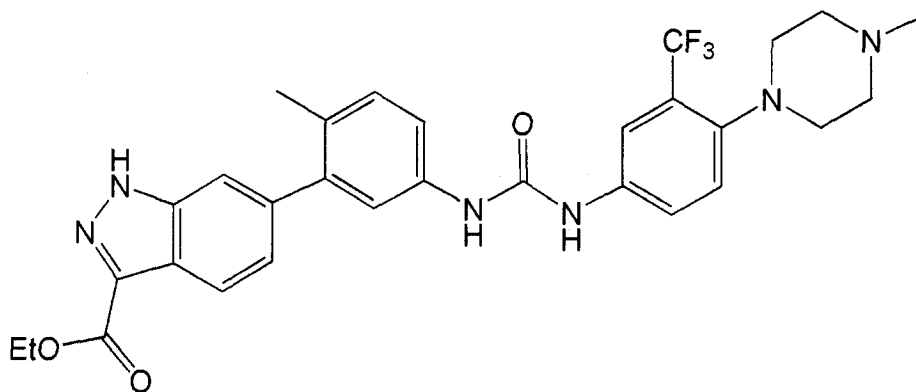


[0482] 通过重复在示例 69 中描述的过程来制备题述化合物。

[0483] ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ 14.01(s, 1H), 9.32(br s, 1H), 9.21(br s, 1H), 8.14(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.93(s, 1H), 7.81(s, 1H), 7.59(br d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.52-7.23(m, 4H), 6.86(s, 1H), 3.94(s, 3H), 3.61(br s, 4H), 2.81(br s, 4H), 2.21(s, 3H)。

[0484] 示例 71: 6-(2-甲基-5-(3-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0485]

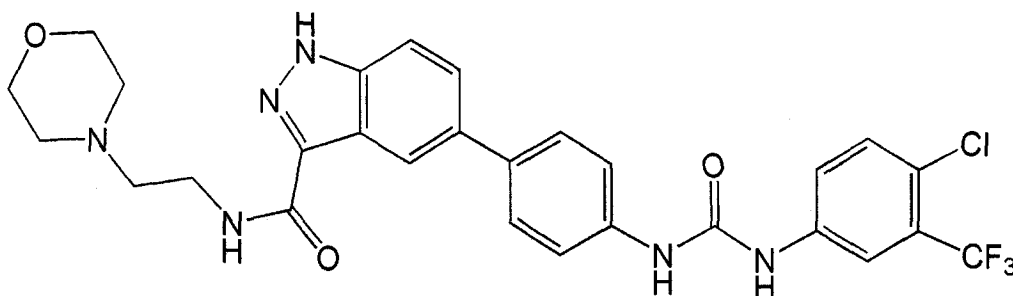


[0486] 通过重复在示例 69 中描述的过程来制备题述化合物。

[0487] ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ 13.95(s, 1H), 8.93(s, 1H), 8.74(s, 1H), 8.11(m, 1H), 7.89(d, $J = 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.56(dd, 1H), 7.48(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 7.46(d, $J = 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.34(dd, $J = 2.4, 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.30(dd, $J = 1.2, 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.23(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 6.92(d, $J = 9.2\text{Hz}$, 1H), 4.41(q, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.80(m, 4H), 2.44(m, 4H), 2.22(s, 3H), 2.17(s, 3H), 1.39(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H)。

[0488] 示例 72 :5-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0489]

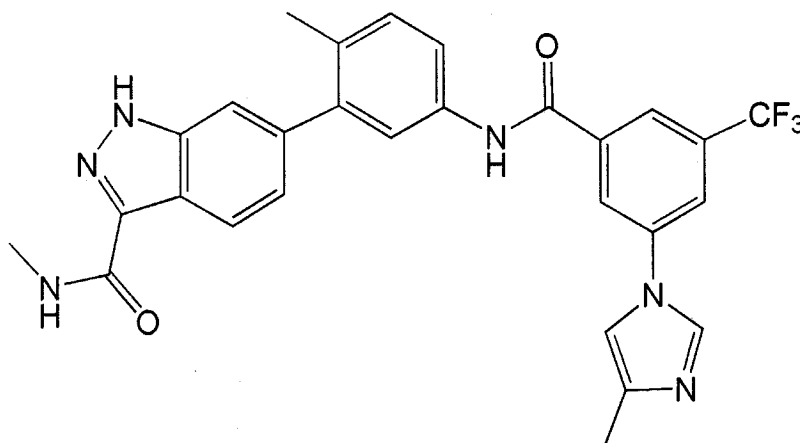


[0490] 通过重复在示例 30 中描述的过程来制备题述化合物。

[0491] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.60 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.27 (br t, $J = 6\text{Hz}$, 1H), 8.14 (d, $J = 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.72-7.52 (m, 8H), 3.58 (br t, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 3.44 (m, 2H), 2.44 (m, 6H), 1.98 (s, 3H)。

[0492] 示例 73 :N-甲基-6-(2-甲基-5-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基))-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0493]

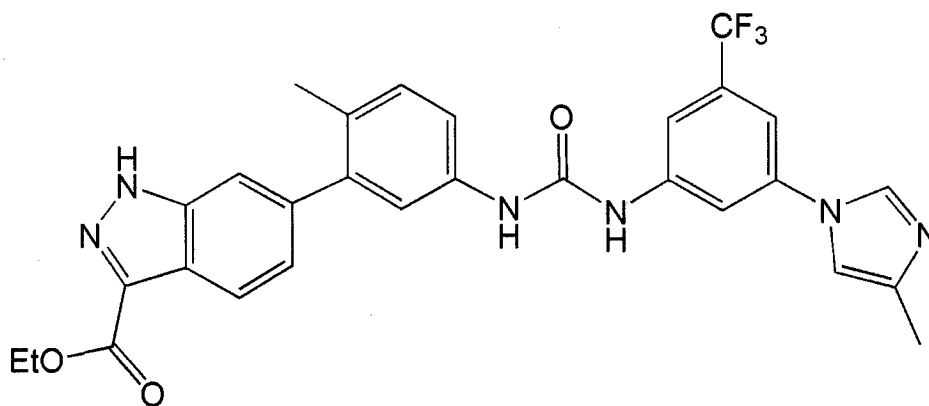


[0494] 通过重复在示例 24 中描述的过程来制备题述化合物。

[0495] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 13.92 (s, 1H), 10.54 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.39 (m, 2H), 8.23 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 9.3\text{Hz}$, 1H), 7.71 (br s, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.35 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.24 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 2.83 (d, $J = 4.5\text{Hz}$, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.18 (s, 3H)。

[0496] 示例 74 :6-(2-甲基-5-(3-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基))-5-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0497]

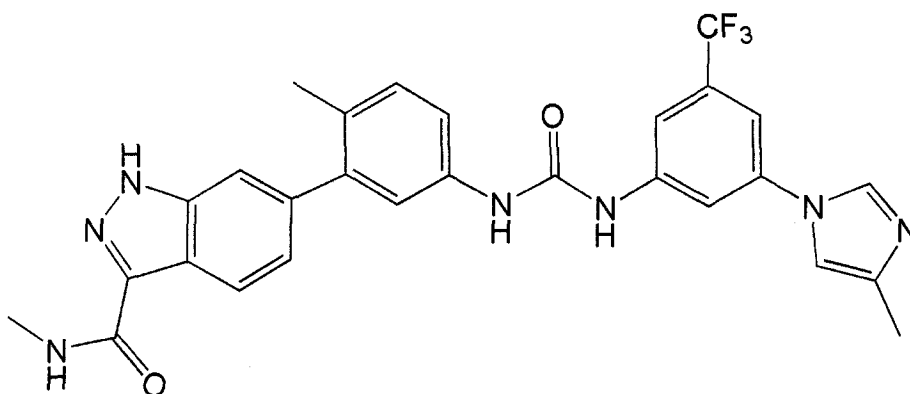


[0498] 通过重复在示例 69 中描述的过程来制备题述化合物。

[0499] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 13.94(s, 1H), 9.17(s, 1H), 8.98(s, 1H), 8.18(s, 1H), 8.11(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.83(br s, 2H), 7.55(s, 2H), 7.49(d, J = 2.4Hz, 1H), 7.47(s, 1H), 7.36(dd, J = 2, 8.4Hz, 1H), 7.30(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.25(d, J = 8Hz, 1H), 4.42(q, J = 7.2Hz, 2H), 2.18(s, 3H), 2.16(s, 3H), 1.39(t, J = 7.2Hz, 3H)。

[0500] 示例 75 :N-甲基-6-(2-甲基-5-(3-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0501]

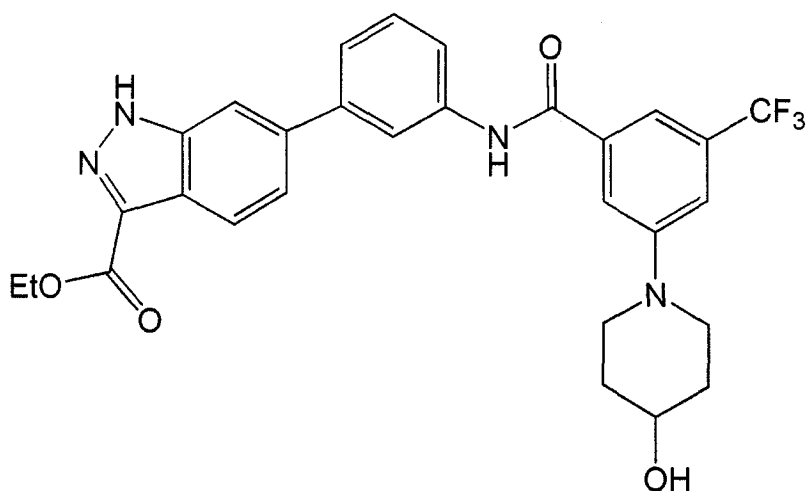


[0502] 通过重复在示例 24 中描述的过程来制备题述化合物。

[0503] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 13.57(s, 1H), 9.21(s, 1H), 9.01(s, 1H), 8.38(m, 1H), 8.20(m, 2H), 7.84(s, 2H), 7.55(s, 1H), 7.48(m, 3H), 7.37(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.23(m, 2H), 6.86(s, 1H), 2.82(d, J = 4.8Hz, 3H), 2.18(s, 3H), 2.16(s, 3H)。

[0504] 示例 76 :6-(3-(3-(4-羟基哌啶-1-基)-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸乙酯的制备

[0505]

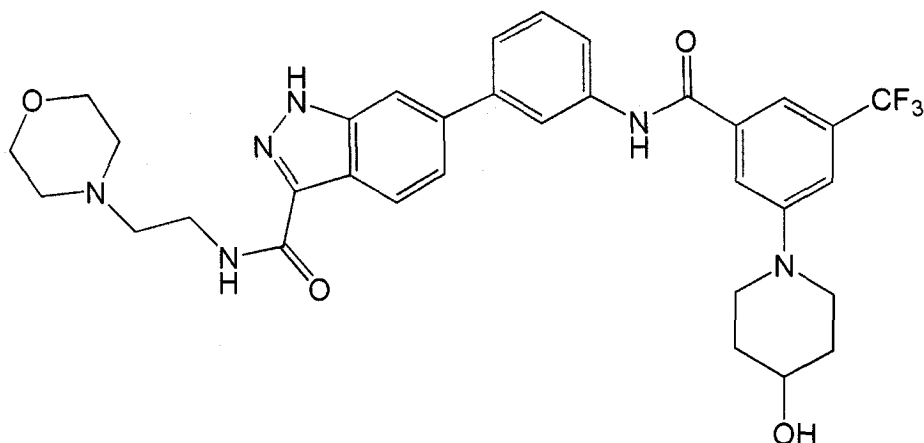


[0506] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0507] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 10.49(s, 1H), 8.15(m, 2H), 7.85(br s, 2H), 7.74(s, 1H), 7.63(m, 2H), 7.51(m, 2H), 7.36(s, 1H), 3.68(m, 1H), 1.98(m, 4H), 1.41(m, 4H)。

[0508] 示例 77:6-(3-(3-(4-羟基哌啶-1-基))-5-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡唑-3-酰胺的制备

[0509]

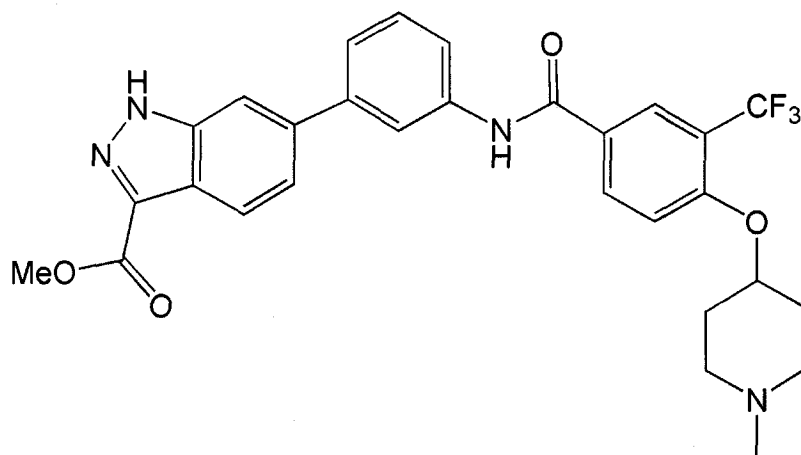


[0510] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0511] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 13.66(s, 1H), 10.45(s, 1H), 8.27(m, 2H), 8.15(s, 1H), 7.83(d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.79(s, 1H), 7.74(s, 1H), 7.60-7.49(m, 4H), 7.36(s, 1H), 3.71(m, 4H), 3.67(m, 1H), 3.45(m, 2H), 2.44(m, 6H), 1.83(m, 4H), 1.47(m, 4H)。

[0512] 示例 78:6-(3-(4-(1-甲基哌啶-4-基氧))-3-(三氟甲基)苯甲酰胺基)苯基)-1H-吡唑-3-羧酸甲酯的制备

[0513]

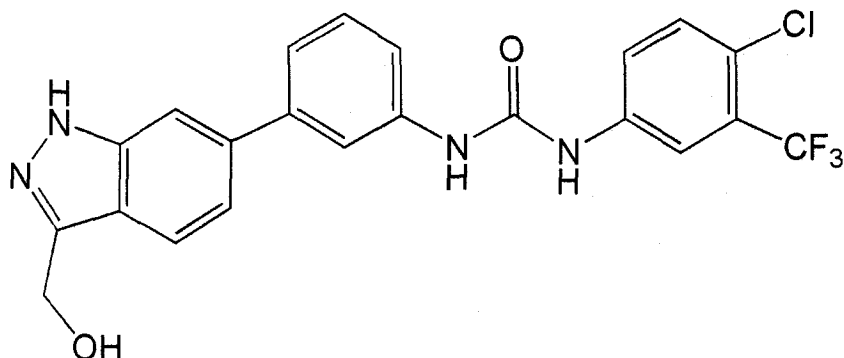


[0514] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0515] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 13.99(s, 1H), 10.43(s, 1H), 8.28(m, 2H), 8.16(br s, 2H), 7.84(br s, 2H), 7.63(m, 1H), 7.47(m, 3H), 4.79(m, 1H), 3.95(s, 3H), 2.31(m, 4H), 2.17(s, 3H), 1.94(m, 4H)。

[0516] 示例 79: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(3-(3-(羟基甲基)-1H-咪唑-6-基)苯基)脲的制备

[0517]

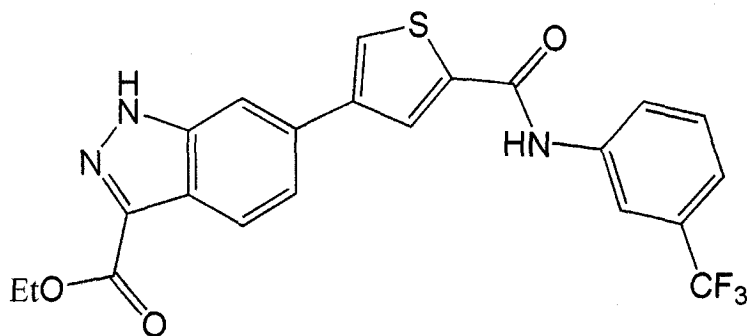


[0518] 在搅拌状态下, 在室温下向 6-(3-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯(73.7mg)的四氢呋喃(5mL)溶液中加入氢硼化锂(0.44mL; LiBH_4), 然后在 70°C 下将该混合物搅拌 12 小时。加入饱和碳酸氢钠溶液和乙酸乙酯。用乙酸乙酯萃取水层, 并通过硫酸镁干燥汇集的有机层, 并且在减压下进行浓缩。通过快速柱色谱将剩余物纯化, 从而得到 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(3-(3-(羟基甲基)-1H-咪唑-6-基)苯基)脲(32.1mg)。

[0519] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 12.85(s, 1H), 9.32(s, 1H), 9.09(s, 1H), 8.12(s, 1H), 7.92(m, 2H), 7.69-7.61(m, 3H), 7.41-7.36(m, 4H), 5.26(t, $J = 6\text{Hz}$, 1H), 4.79(d, $J = 6\text{Hz}$, 2H)

[0520] 示例 80: 6-(5-(3-(三氟甲基)苯基氨基甲酰基)噻吩-3-基)-1H-咪唑-3-羧酸乙酯的制备

[0521]

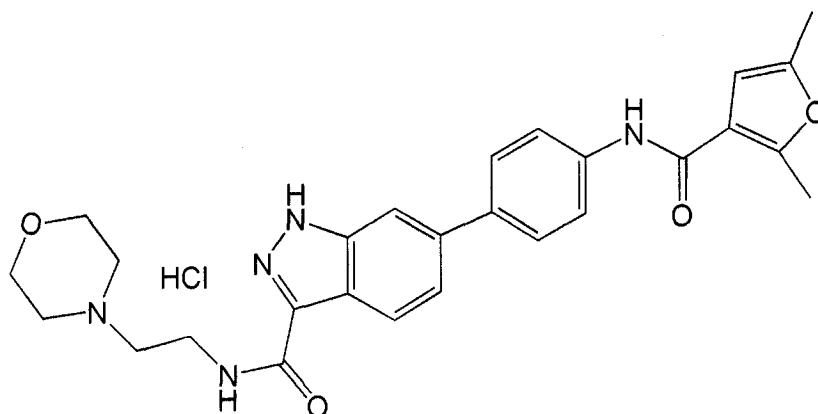


[0522] 通过重复在示例 2 中描述的过程来制备题述化合物。

[0523] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 10.64(s, 1H), 8.60(s, 1H), 8.36(m, 1H), 8.20(s, 1H), 8.05(d, J = 8Hz, 1H), 7.94(s, 2H), 7.85(s, 1H), 7.65(t, J = 8Hz, 1H), 7.49(d, J = 5.6Hz, 1H), 4.39(q, J = 7.2Hz, 2H), 1.39(t, J = 7.2Hz, 3H)。

[0524] 示例 81:6-(4-(2,5-二甲基咪唑-3-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺盐酸盐的制备

[0525]



[0526] 在搅拌状态下,在室温下向 6-(4-(2,5-二甲基咪唑-3-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺 (38mg, 78 μmol) 的四氢咪唑 (1mL) 溶液中加入 4N 盐酸的二氧杂环己烷 (20 μL) 溶液。在 30 分钟后,将得到的固体进行过滤并干燥,从而得到 6-(4-(2,5-二甲基咪唑-3-酰胺基)苯基)-N-(2-吗啉代乙基)-1H-吡啶-3-酰胺盐酸盐 (35mg)。

[0527] ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ 13.79(s, 1H), 10.26(br s, 1H), 9.74(s, 1H), 8.77(t, J = 5.6Hz, 1H), 8.21(d, J = 8.8Hz, 1H), 7.87(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.80(s, 1H), 7.73(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.59(d, J = 8.8Hz, 1H), 6.71(s, 1H), 3.98(br d, J = 8.0Hz, 2H), 3.73(m, 4H), 3.59(m, 2H), 3.15(m, 4H), 2.52(s, 3H), 2.27(s, 3H)。

[0528] 实验示例 1 :B-Raf 激酶酶化验

[0529] <1-1>MAP 激酶 2/Erk2 由 B-raf 激活

[0530] 将 10 μL 氯化镁 /ATP 溶液 (500 μM ATP, 75mM 氯化镁) 种植在艾芬道夫 (eppendorf) 管中。将 2.5 μL B-Raf-V600E 种植在艾芬道夫管中 (最终浓度 1ng), 并用 1.6 μL 灭活的 MEK1 (最终浓度 0.4 μg) 进行处理。用 4 μL 灭活的 MAP 激酶 2/Erk2 (最终浓度 1.0 μg) 处理该混合物。并且使用溶于有序稀释的二甲亚砷中的 1 μL 样品溶液 (10mM) 处理该混合物。然后,向其中加入化验稀释缓冲液 I (ADBII) (最终体积 38 μL), 从而使最终

体积为 38 μ L, 并使其在 30 $^{\circ}$ C 下反应 30 分钟。使用 5 μ L 的所得溶液用于下面的实验。

[0531] <1-2> 髓磷脂碱性蛋白 (MBP) 的磷酸化

[0532] 使用 10 μ L 化验稀释缓冲液来处理 5 μ L 上述得到的溶液, 然后使用 10 μ L 髓磷脂碱性蛋白 (MBP, 2mg/mL) 进行处理。在 30 $^{\circ}$ C 下使用经过稀释的 10 μ L 稀释的 (1/10) [γ 32 P] ATP (100 μ Ci/管) 将该混合物溶液处理 10 分钟。将 25 μ L 该混合物溶液沾到 P81 纸上, 并在闪烁管中使用 0.75% 磷酸将纸洗涤 10 分钟 4 次, 并使用丙酮洗涤 5 分钟 1 次。在闪烁管中加入 5mL 闪烁液 (scintillation cocktail solution) 之后, 通过闪烁计数器来分析信号。

[0533] 示例的所述化合物具有 B-Raf-V600E 激酶的抑制活性, 并且 IC₅₀ 的范围为 0.035-20 μ M。在下面的表 1 中示出了关于 B-Raf-V600E 激酶的代表性示例的激酶活性。

[0534] 表 1

[0535]

[0536]

[0537]

示例	b-raf-V600E 激酶抑制活性(IC ₅₀ , μ M)	示例	b-raf-V600 激酶抑制活性(IC ₅₀ , μ M)
示例 8	< 10	示例 54	< 10
示例 17	< 10	示例 57	< 10
示例 21	< 10	示例 58	< 10
示例 24	< 10	示例 64	< 10
示例 48	< 10	示例 79	< 10
示例 50	< 10		

[0538] 另外, 如上所述, 我们使用激酶活性谱型服务 (profiling service) (Millipore UK Ltd Gemini Crescent, Dundee Technology Park, Dundee DD2 1SW, UK) 来测试示例的代表性化合物的激酶活性。在下面的表 2 中示出了结果。

[0539] 表 2

[0540]

[0541]

[0542]

示例	激酶抑制活性(IC ₅₀ , μ M)					
	c-RAF (h)	Fms (h)	KDR (h)	Ret (h)	SAPK2a (h)	Tie2 (h)
示例 64	137	141	332	603	167	1511

[0543] 实验示例 2: 对 A375P 细胞系 (恶性黑素瘤) 的抗增殖活性

[0544] 从美国标准菌种收藏中心 (American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, US)) 购得 A375P 细胞, 并在 37 $^{\circ}$ C 的具有 5% CO₂ 的潮湿环境中保持在补充有 10% FBS (Welgene) 和 1% 青霉素 / 链霉素 (Welgene) 的 DMEM 介质 (Welgene, Daegu, Korea) 中。从具有 0.05% 胰岛素 - 0.02% EDTA 的培养基取出 A375P 细胞, 并以 5 \times 10³ 细胞 / 孔的密度涂在 96 孔板中, 然后在各种浓度的试验化合物 (三倍系列稀释, 12 点) 的处

理之前,在具有 5% CO₂ 的潮湿环境中在 37°C 培育 24 小时。通过常规的 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基溴化四唑 (MTT) 还原化验来估测 A375P 细胞生存能力。根据制造商的用法说明,使用 Cell Titer 96 (Promega) 来实施 MTT 化验。

[0545] 1 天后,向其中加入示例的 0.5 μL 代表性化合物。通过 10mM 储备液在 DMSO 中的三倍系列稀释 (12 点) (最终浓度 DMSO 0.5%) 来准备示例的代表性化合物。然后,在每个孔中加入 15 μL 染料。2 小时后,将 100 μL 停止液加入到每个孔中。24 小时后,测量吸光度。使用 EnVision2103 (PerkinElmer ;Boston,MA,US) 记录 590nm 下的吸光度。使用 GraphPad Prism 4.0 软件计算 IC₅₀ 值。

[0546] 本发明中的化合物对 A375P (即, b-raf-V600E 突变种被过表达的人黑素瘤细胞系) 显示出 1nM 至 10 μM 的范围内的 GI₅₀ 值。

[0547] 在下面的表 3 中示出了代表性示例对 A375P 的抗增殖活性。

[0548] 表 3

[0549]

[0550]

[0551]

示例	A375P 抗增殖活性 (GI ₅₀ , μM)	示例	A375P 抗增殖活性 (GI ₅₀ , μM)
示例 2	< 10	示例 48	< 10
示例 8	< 10	示例 49	< 10
示例 10	< 10	示例 52	< 10
示例 11	< 10	示例 54	< 10
示例 13	< 10	示例 55	< 10
示例 15	< 10	示例 56	< 10
示例 16	< 10	示例 57	< 10
示例 19	< 10	示例 58	< 10
示例 20	< 10	示例 59	< 10
示例 21	< 10	示例 60	< 10
示例 22	< 10	示例 61	< 10
示例 23	< 10	示例 62	< 10
示例 24	< 10	示例 63	< 10
示例 25	< 10	示例 64	< 10
示例 26	< 10	示例 65	< 10
示例 27	< 10	示例 66	< 10
示例 30	< 10	示例 67	< 10
示例 31	< 10	示例 68	< 10

[0552]	示例 32	< 10	示例 69	< 10
	示例 33	< 10	示例 70	< 10
	示例 34	< 10	示例 71	< 10
	示例 35	< 10	示例 72	< 10
	示例 36	< 10	示例 73	< 10
	示例 39	< 10	示例 75	< 10
	示例 40	< 10	示例 76	< 10
	示例 43	< 10	示例 77	< 10
	示例 46	< 10	示例 78	< 10
	示例 47	< 10	示例 79	< 10

[0553] 实验示例 3 :蛋白印迹

[0554] 使用本发明的示例 64 的化合物执行蛋白印迹。

[0555] 通过使用含有磷酸酶抑制剂 (磷酸酶抑制剂混合液 (Phosphatase inhibitor cocktail) I&II) 和蛋白酶抑制剂 (Complete, Mini, 不含 EDTA ;Roche Applied Science) 的 RIPA 缓冲液 (50mM tris pH 7.4, 150mM NaCl, 1mM EDTA, 1% NP-40, 0.25% 脱氧胆酸钠) 来裂解 A375P 细胞系, 并以 13000rpm 离心分离 10 分钟。总蛋白使用 Bio-Rad 剂 (bio-rad#500-0006) 进行染色, 并通过与 BSA (阳性对照) 进行比较来量化。通过使用 30% 丙烯酰胺、1.5M Tris (pH8.8)、10% SDS 溶液、10% PAS 溶液和 TEMED 来制备 12% 凝胶。在凝胶的每一个泳道负载 100 μ g 蛋白之后, 通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE, 250mM Tris 碱, 2.5M 甘氨酸, 0.1% SDS, 140V, 电泳 2 小时) 分离蛋白, 并在 200mA 下以 2 小时转移至硝化纤维过滤器。使所得物在 4°C 下与抗体 [兔抗 -Map 激酶 (Zymed#61-7400) 和磷 -p44/42 MAP 激酶 (Thr202/Tyr204) (细胞信号传导 #9101)] 发生弱反应达 1 天。此外, 使用含有 0.05% 吐温 20 的 TBST 缓冲液将其洗涤 4 次, 每次 5 分钟。使所得物在室温下与二抗体 [抗兔 IgG (Amersham#NA934V)] 发生弱反应达 1 小时, 并通过相同方式进行洗涤。使用照相设备 (Gelliance) 识别蛋白区带。在图 1 中示出了结果。

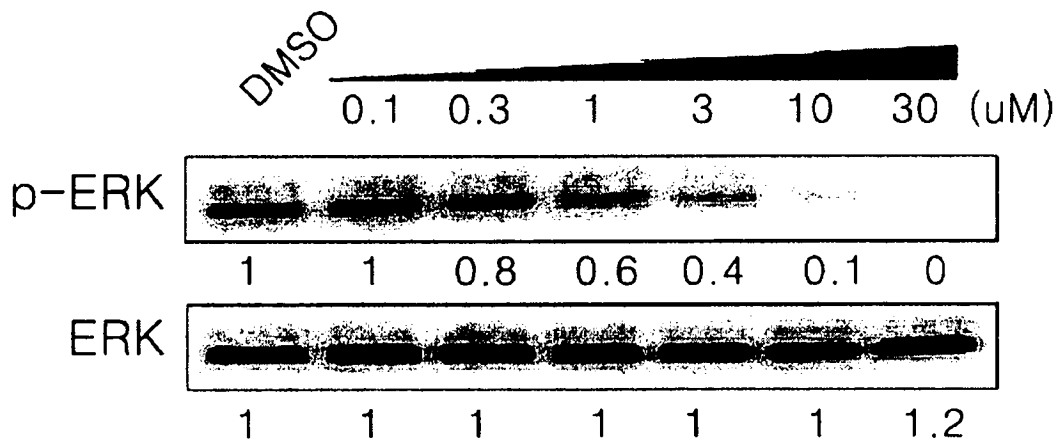


图 1