



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 120035587 A

(43) 申请公布日 2025. 05. 23

(21) 申请号 202380072626.0

李智雨 安智慧 黄文海 罗明成

(22) 申请日 2023.10.12

(74) 专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有限公司 11270

(30) 优先权数据

专利代理师 张铮铮 李雪

10-2022-0130925 2022.10.12 KR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int.Cl.

2025.04.11

C07D 405/12 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 31/416 (2006.01)

PCT/KR2023/015723 2023.10.12

A61K 31/5377 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

A61K 31/454 (2006.01)

W02024/080780 KO 2024.04.18

A61K 31/496 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(71) 申请人 高丽大学校产学协力团

C07D 405/14 (2006.01)

地址 韩国首尔

C07D 401/14 (2006.01)

申请人 首尔大学校产学协力团

C07D 401/06 (2006.01)

(72) 发明人 徐载弘 金智瑛 金润在 朴珉帅

权利要求书24页 说明书57页 附图17页

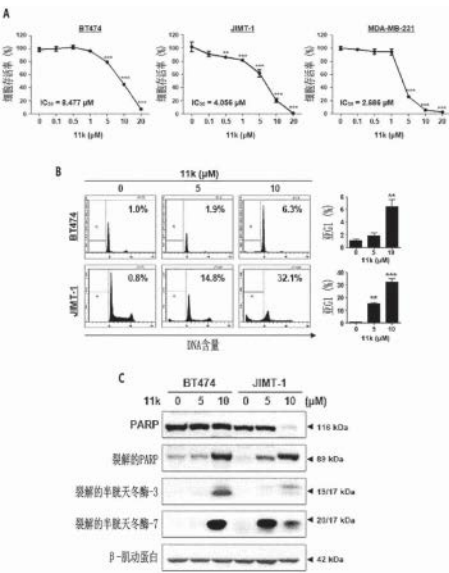
徐朱演 高东美 金晟载 朴昭垠

(54) 发明名称

新型吡唑衍生物或其药学上可接受的盐及其用途

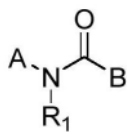
(57) 摘要

本发明涉及一种吡唑(indazole)衍生物或其药学上可接受的盐,以及包括所述衍生物或其盐作为活性成分的用于预防、治疗或改善癌症的组合物。本发明的吡唑衍生物旨在与Hsp90的C末端结构域形成强结合,并且不影响Hsp90与HSF-1的复合结构,从而不会诱导HSF-1的活化或Hsp基因的表达,从而有效促进癌细胞的凋亡,由此,可用于预防、治疗或改善癌症。

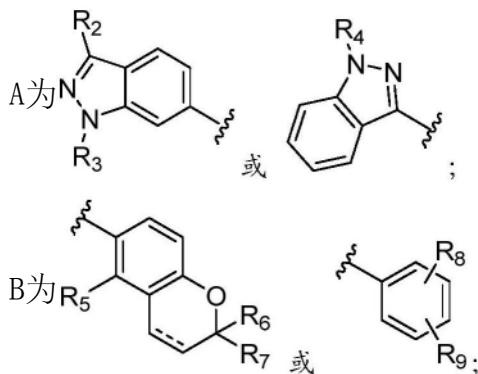


1. 一种由下述[化学式1]表示的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐：

[化学式1]



其中在所述化学式1中，



R_1 和 R_2 彼此相同或不同，分别为氢或 C_1 - C_6 链状烷基；

R_3 和 R_4 彼此相同或不同，分别为氢或 C_1 - C_6 链状烷基，其中所述烷基的一个以上的氢未被取代或被 C_1 - C_6 烷氧基、 C_5 - C_{10} 杂环烷基或 C_5 - C_{10} 杂芳基取代，其中所述烷氧基未被取代或被

C_1 - C_6 烷氧基取代，所述杂环烷基未被取代或被 C_1 - C_6 链状烷基、或取代；

R_5 为卤素基或 C_1 - C_6 烷氧基；

R_6 和 R_7 彼此相同或不同，分别为 C_1 - C_6 链状烷基；

R_8 为 $NR_{10}C(O)R_{11}$ 、 OR_{12} 、 C_5 - C_{10} 杂芳基或四氢吡喃胺基；

R_9 为氢、 C_1 - C_6 烷氧基或 C_5 - C_{10} 杂环烷基，其中所述杂环烷基未被取代或被 C_1 - C_6 链状烷基取代；

R_{10} 和 R_{11} 彼此相同或不同，分别为 C_1 - C_6 链状烷基或 C_5 - C_{10} 芳基，其中所述烷基未被取代或被甲基哌嗪基取代；

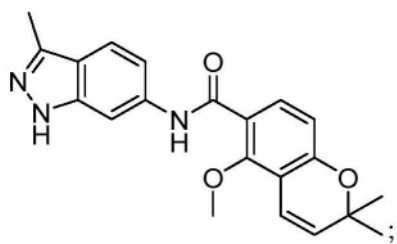
R_{12} 为 C_5 - C_{10} 芳基或 C_5 - C_{10} 苄基，其中所述苄基未被取代或被卤素基取代；

$\equiv$ 为单键或双键。

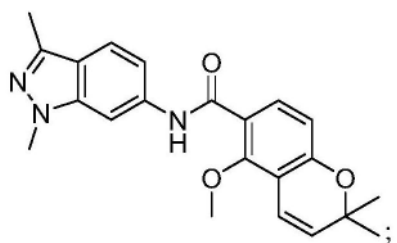
2. 根据权利要求1所述的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐，其特征在于，

所述由[化学式1]表示的吡唑衍生物为从由以下化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一种以上：

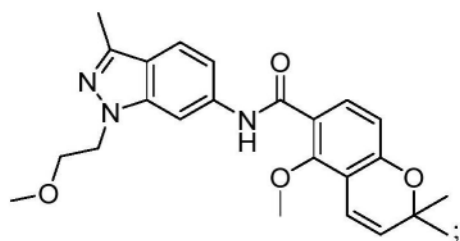
[化学式1-1]



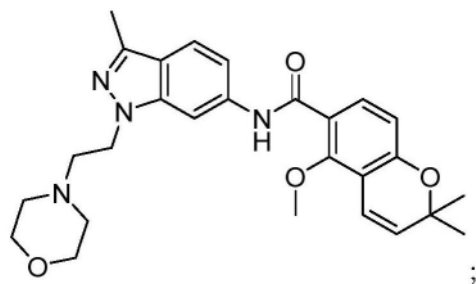
[化学式1-2]



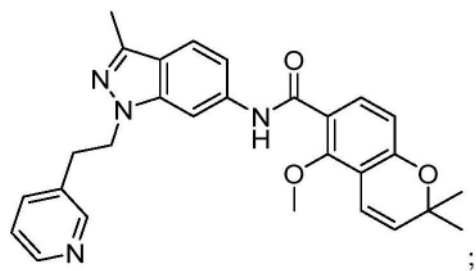
[化学式1-3]



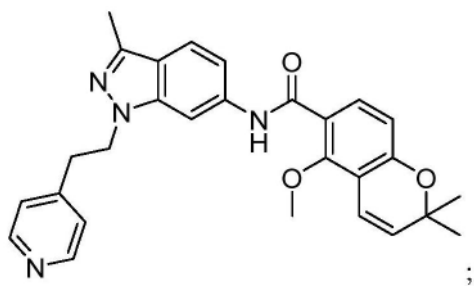
[化学式1-4]



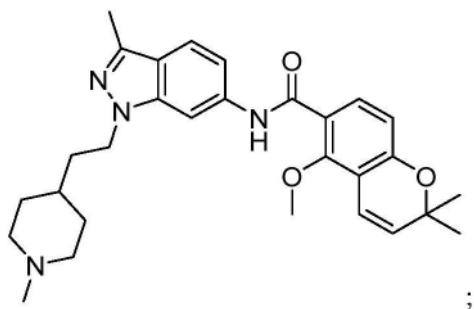
[化学式1-5]



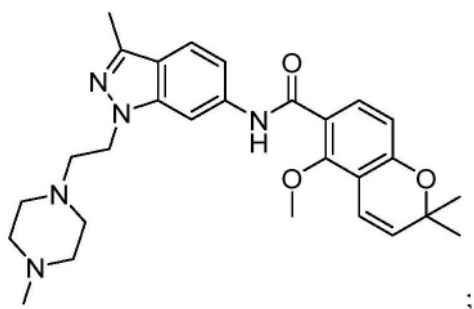
[化学式1-6]



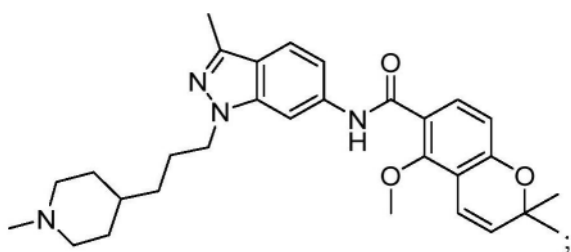
[化学式1-7]



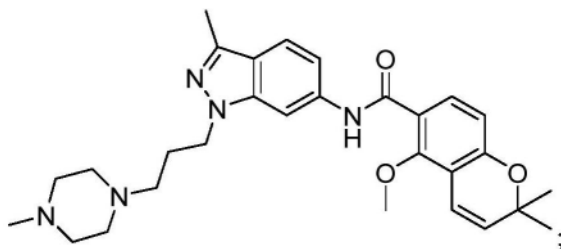
[化学式1-8]



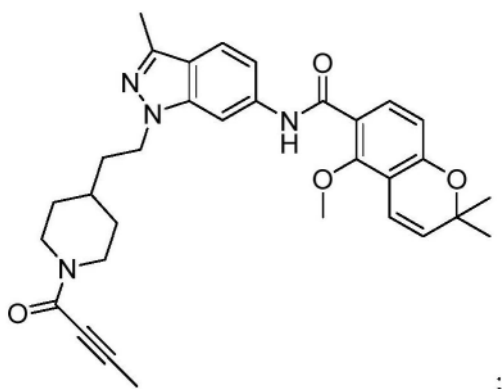
[化学式1-9]



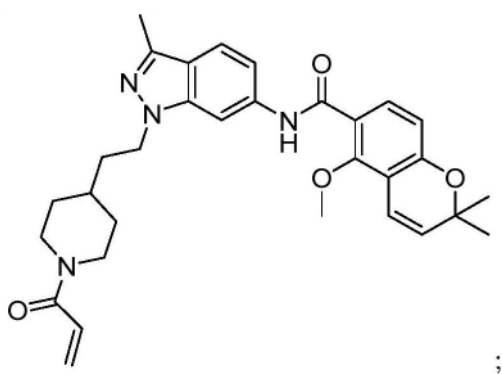
[化学式1-10]



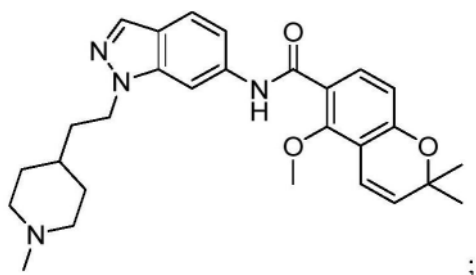
[化学式1-11]



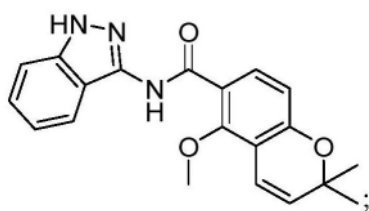
[化学式1-12]



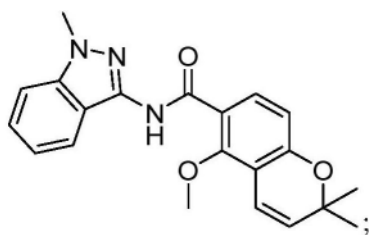
[化学式1-13]



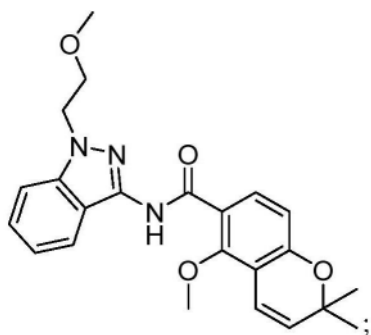
[化学式1-14]



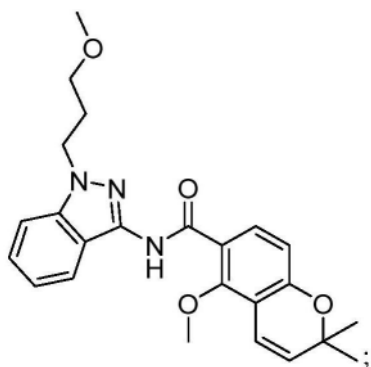
[化学式1-15]



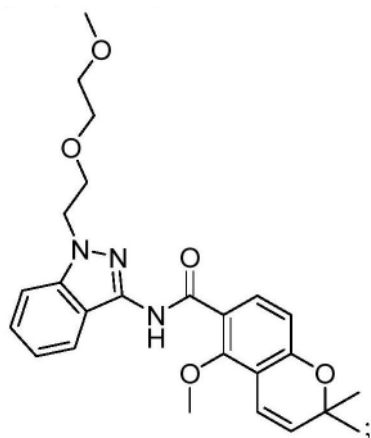
[化学式1-16]



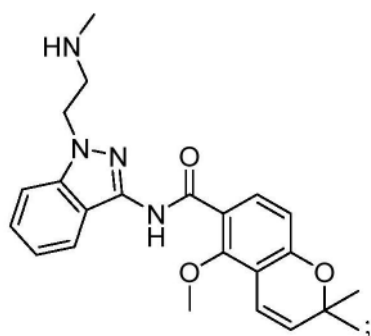
[化学式1-17]



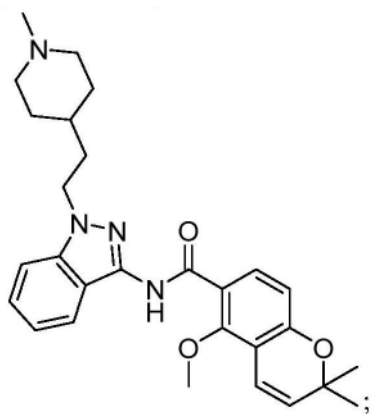
[化学式1-18]



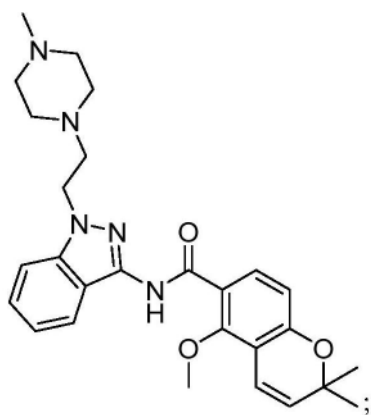
[化学式1-19]



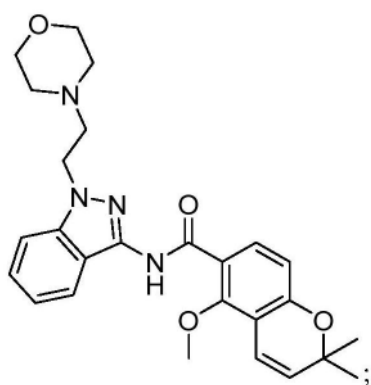
[化学式1-20]



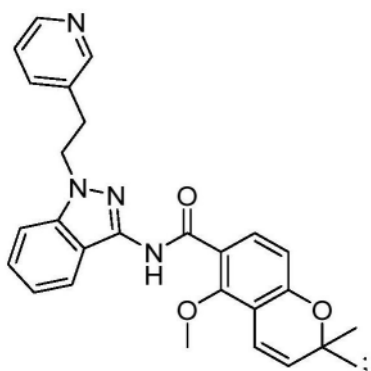
[化学式1-21]



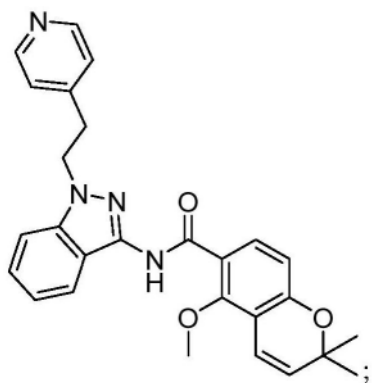
[化学式1-22]



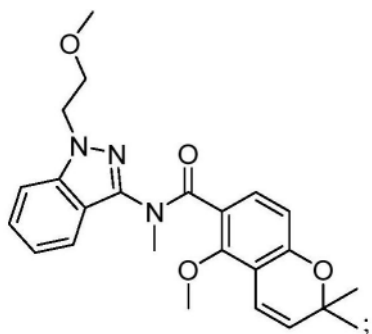
[化学式1-23]



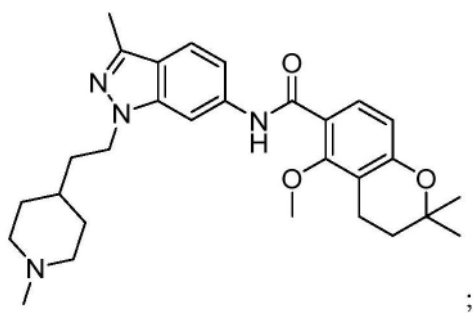
[化学式1-24]



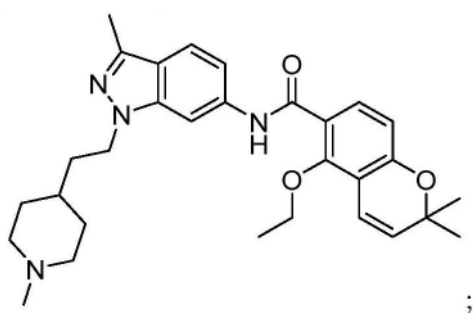
[化学式1-25]



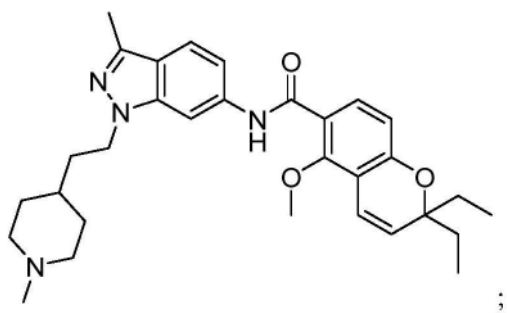
[化学式1-26]



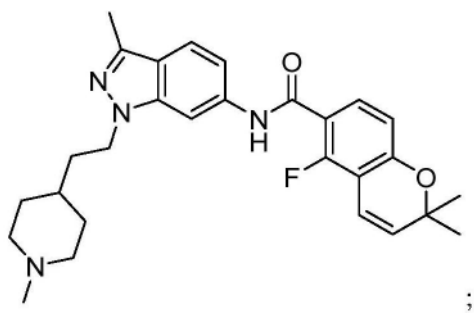
[化学式1-27]



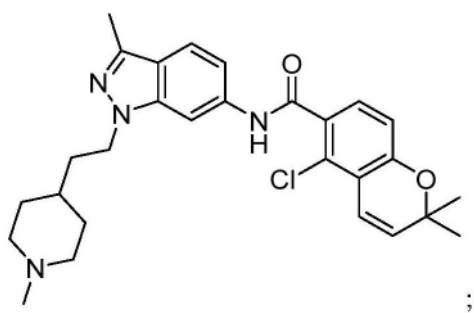
[化学式1-28]



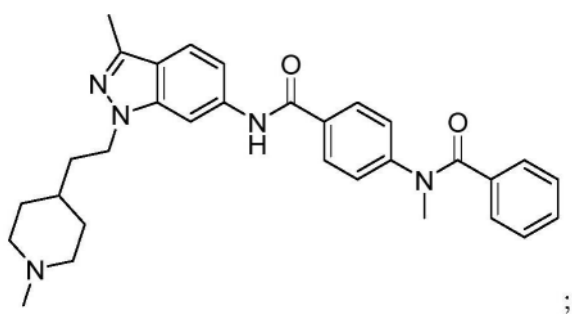
[化学式1-29]



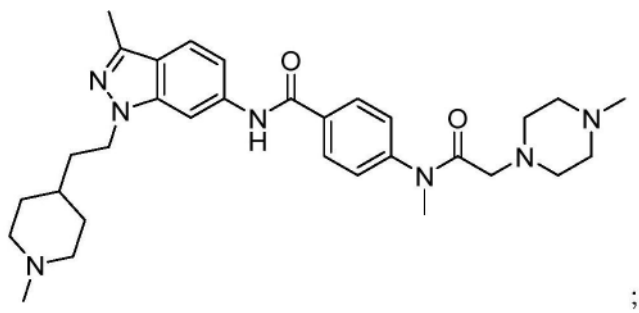
[化学式1-30]



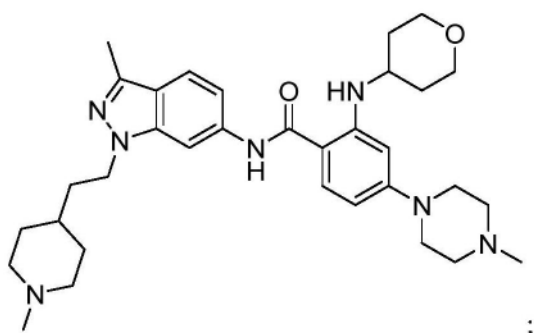
[化学式1-31]



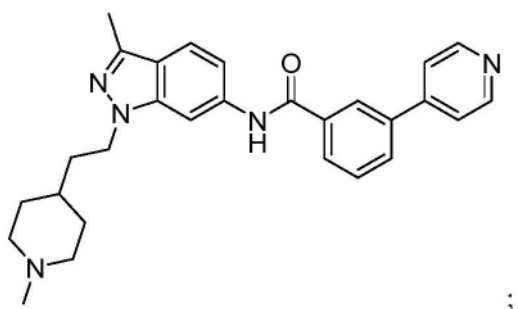
[化学式1-32]



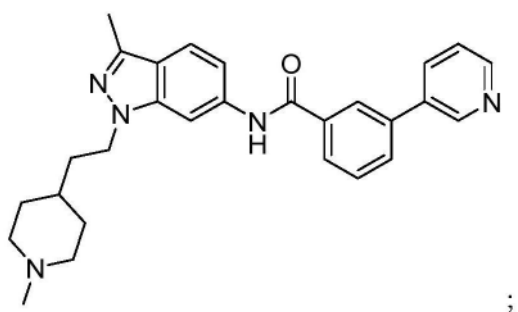
[化学式1-33]



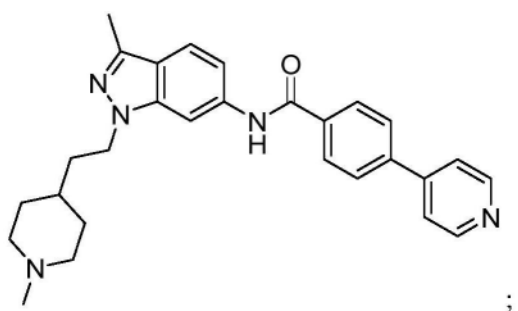
[化学式1-34]



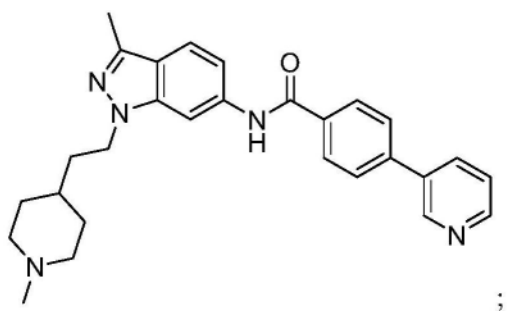
[化学式1-35]



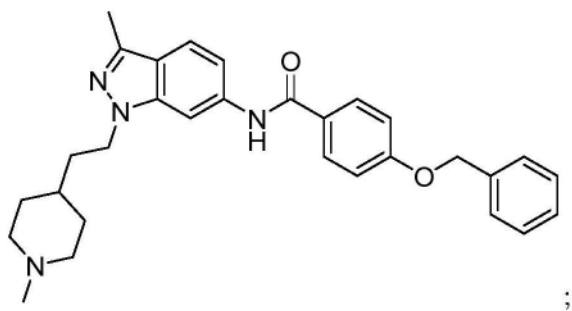
[化学式1-36]



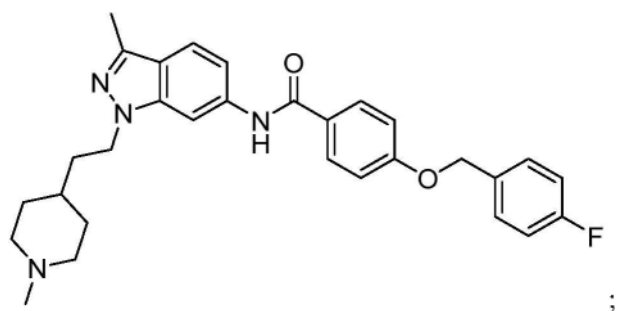
[化学式1-37]



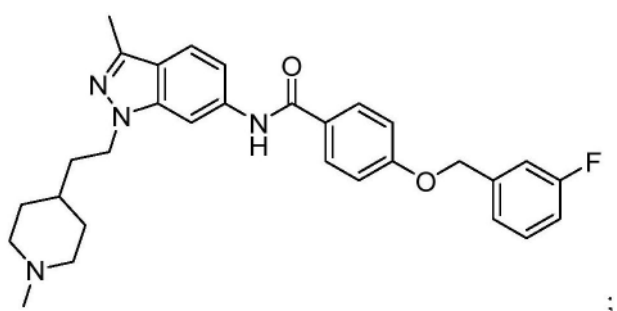
[化学式1-38]



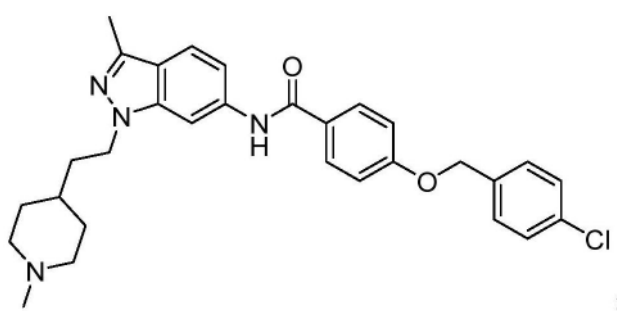
[化学式1-44]



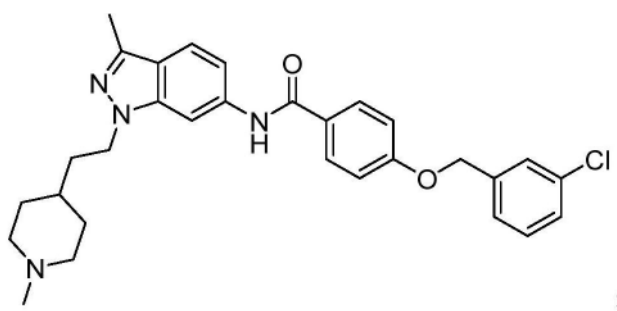
[化学式1-45]



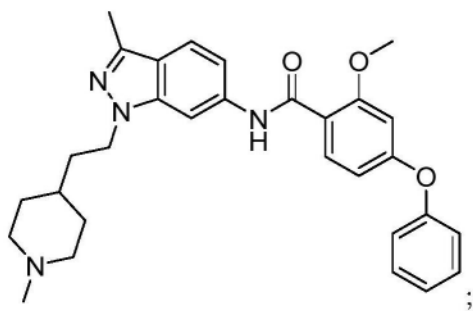
[化学式1-46]



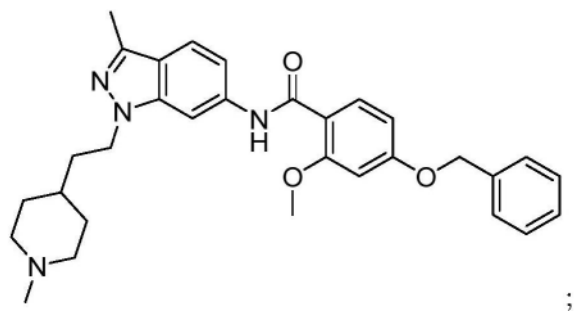
[化学式1-47]



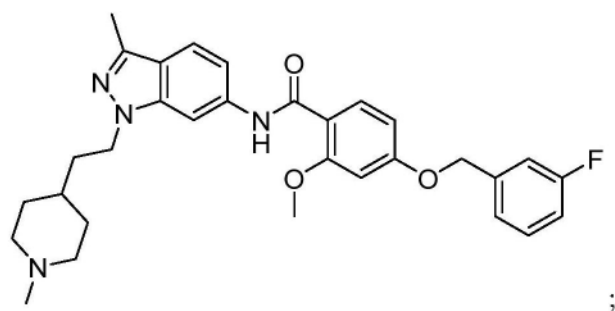
[化学式1-48]



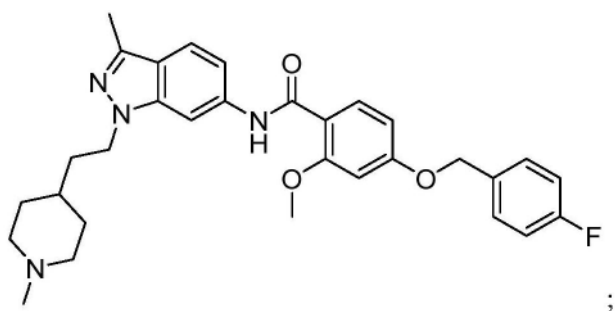
[化学式1-49]



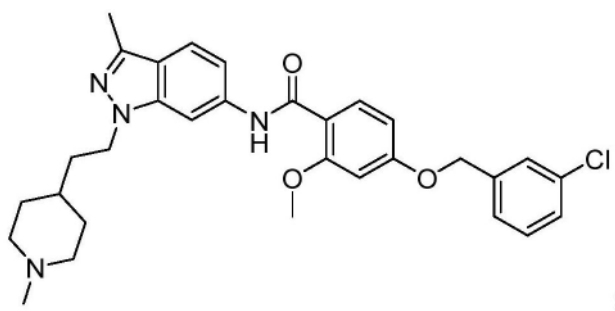
[化学式1-50]



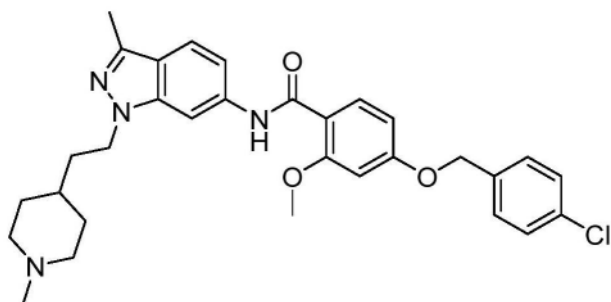
[化学式1-51]



[化学式1-52]

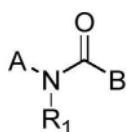


以及[化学式1-53]

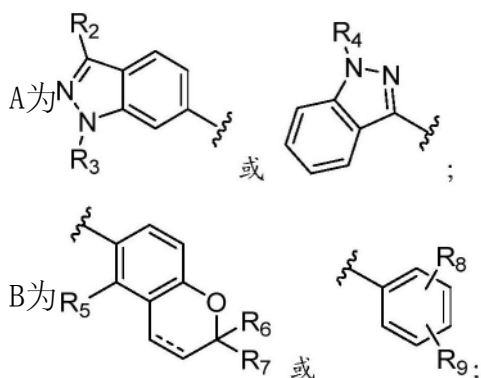


3. 一种用于预防或治疗癌症的药物组合物,其包括由下述[化学式1]表示的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分:

[化学式1]



其中在所述化学式1中,



R_1 和 R_2 彼此相同或不同,分别为氢或 C_1 - C_6 链状烷基;

R_3 和 R_4 彼此相同或不同,分别为氢或 C_1 - C_6 链状烷基,其中所述烷基的一个以上的氢未被取代或被 C_1 - C_6 烷氧基、 C_5 - C_{10} 杂环烷基或 C_5 - C_{10} 杂芳基取代,其中所述烷氧基未被取代或被

C_1 - C_6 烷氧基取代,所述杂环烷基未被取代或被 C_1 - C_6 链状烷基、或取

代;

R_5 为卤素基或 C_1 - C_6 烷氧基;

R_6 和 R_7 彼此相同或不同,分别为 C_1 - C_6 链状烷基;

R_8 为 $NR_{10}C(O)R_{11}$ 、 OR_{12} 、 C_5 - C_{10} 杂芳基或四氢吡喃胺基;

R_9 为氢、 C_1 - C_6 烷氧基或 C_5 - C_{10} 杂环烷基,其中所述杂环烷基未被取代或被 C_1 - C_6 链状烷基取代;

R_{10} 和 R_{11} 彼此相同或不同,分别为 C_1 - C_6 链状烷基或 C_5 - C_{10} 芳基,其中所述烷基未被取代或被甲基哌嗪基取代;

R_{12} 为 C_5 - C_{10} 芳基或 C_5 - C_{10} 苄基,其中所述苄基未被取代或被卤素基取代;

==为单键或双键。

4. 根据权利要求3所述的用于预防或治疗癌症的药物组合物,其特征在于,

所述吡唑衍生物通过抑制Hsp90来诱导细胞凋亡。

5. 根据权利要求3所述的用于预防或治疗癌症的药物组合物,其特征在于,

所述癌症为从由皮肤癌、乳腺癌、子宫癌、食道癌、胃癌、脑瘤、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌、外阴癌、肾癌、血癌、胰腺癌、前列腺癌、睾丸癌、喉癌、头颈癌、甲状腺癌、肝癌、膀胱癌、骨肉瘤、淋巴瘤、白血病、胸腺癌、尿道癌、支气管癌及其组合组成的群组中选择的任一种以上。

6. 根据权利要求3所述的用于预防或治疗癌症的药物组合物,其特征在于,

所述药物组合物还包括:

所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐;以及

从由药学上可接受的载体、赋形剂、稀释剂、稳定剂及防腐剂组成的群组中选择的任一种以上的附加组分。

7. 根据权利要求3所述的用于预防或治疗癌症的药物组合物,其特征在于,

所述药物组合物还包括:

所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐;以及

抗癌剂。

8. 根据权利要求7所述的用于预防或治疗癌症的药物组合物,其特征在于,

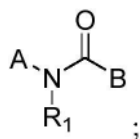
所述抗癌剂为从由紫杉醇、多西他赛、阿霉素、索拉非尼、维莫非尼、伊立替康、顺铂、镭223氯化物(alpharadin)、米托蒽醌、环磷酰胺、长春碱、卡铂、放线菌素-D、依托泊苷、替尼泊苷、比生群、高三尖杉酯碱、格列卫(STI-571)、5-氟尿嘧啶、白消安、苯丁酸氮芥、美法仑、氮芥、亚硝基脲类药物及其组合组成的群组中选择的任一种以上。

9. 根据权利要求3所述的用于预防或治疗癌症的药物组合物,其特征在于,

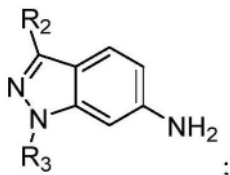
所述药物组合物具有从由粉末、颗粒、片剂、胶囊剂及注射剂组成的群组中选择的任一种以上的剂型。

10. 一种由下述[化学式1]表示的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,其包括将由下述[化学式2]或[化学式3]表示的化合物与[化学式4]或[化学式5]表示的化合物反应的步骤:

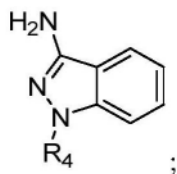
[化学式1]



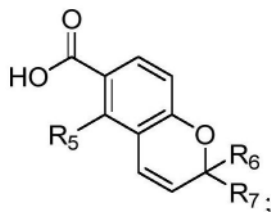
[化学式2]



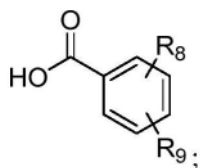
[化学式3]



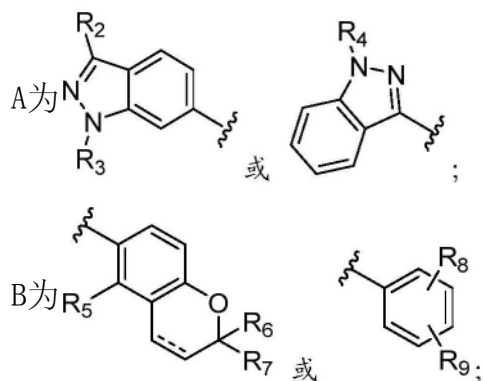
[化学式4]



[化学式5]



其中在所述化学式1中,



R_1 为氢或 C_1 - C_6 链状烷基;

其中在所述化学式1及化学式2中,

R_2 为氢或 C_1 - C_6 链状烷基;

R_3 为氢或 C_1 - C_6 链状烷基,所述烷基的一个以上的氢未被取代或被 C_1 - C_6 烷氧基、 C_5 - C_{10} 杂环烷基或 C_5 - C_{10} 杂芳基取代,其中所述烷氧基未被取代或被 C_1 - C_6 烷氧基取代,所述杂环烷基

未被取代或被 C_1 - C_6 链状烷基、或取代;

其中在所述化学式1及化学式4中,

R_5 为氢或 C_1 - C_6 链状烷基;

R_6 和 R_7 彼此相同或不同,分别为 C_1 - C_6 链状烷基;

其中在所述化学式1及化学式5中,

R_8 为 $NR_{10}C(O)R_{11}$ 、 OR_{12} 、 C_5 - C_{10} 杂芳基或四氢吡喃胺基;

R_9 为氢、 C_1 - C_6 烷氧基或 C_5 - C_{10} 杂环烷基,其中所述杂环烷基未被取代或被 C_1 - C_6 链状烷基取代;

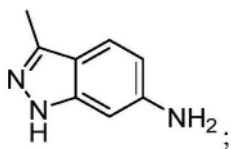
R_{10} 和 R_{11} 彼此相同或不同,分别为 C_1 - C_6 链状烷基或 C_5 - C_{10} 芳基,其中所述烷基未被取代或被甲基哌嗪基取代;

R_{12} 为 C_5 - C_{10} 芳基或 C_5 - C_{10} 苄基,其中所述苄基未被取代或被卤素基取代。

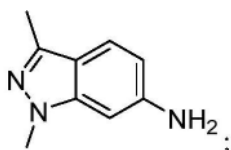
11. 根据权利要求10所述的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在于,

由所述[化学式2]表示的化合物为从由下述化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一中以上:

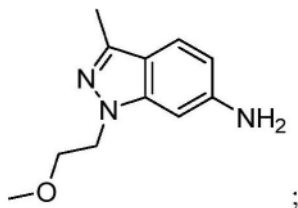
[化学式2-1]



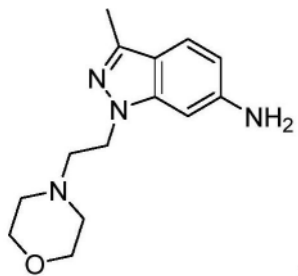
[化学式2-2]



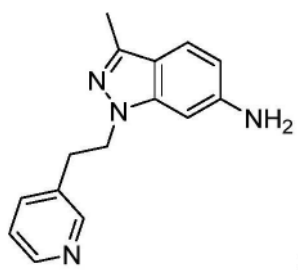
[化学式2-3]



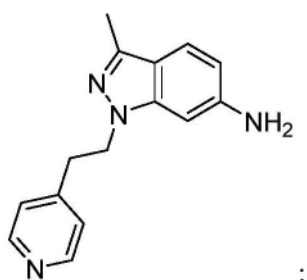
[化学式2-4]



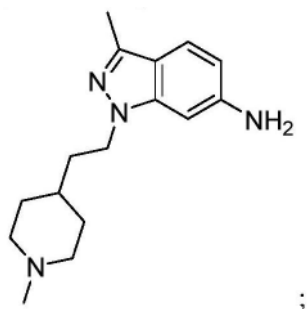
[化学式2-5]



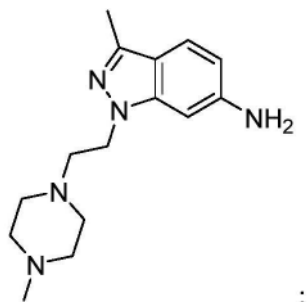
[化学式2-6]



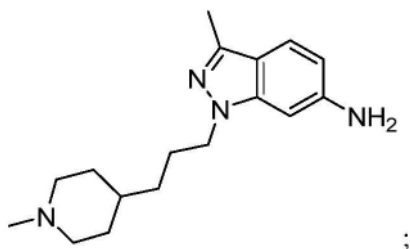
[化学式2-7]



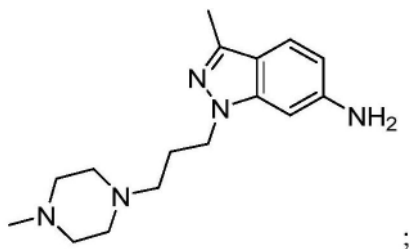
[化学式2-8]



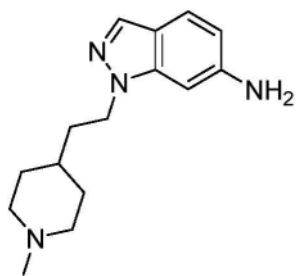
[化学式2-9]



[化学式2-10]



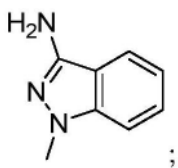
以及[化学式2-11]



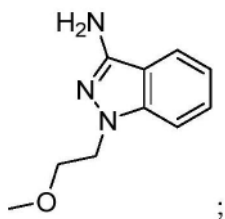
12. 根据权利要求10所述的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在于,

由所述[化学式3]表示的化合物为从由下述化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一中以上:

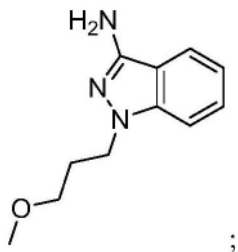
[化学式3-1]



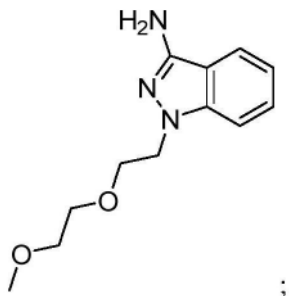
[化学式3-2]



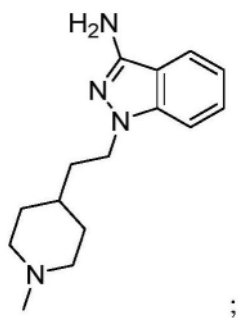
[化学式3-3]



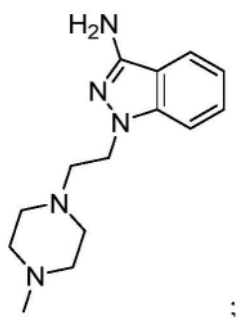
[化学式3-4]



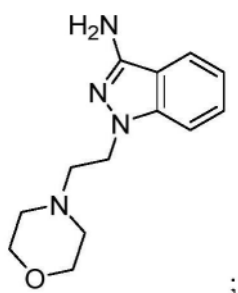
[化学式3-5]



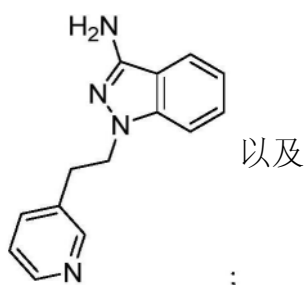
[化学式3-6]



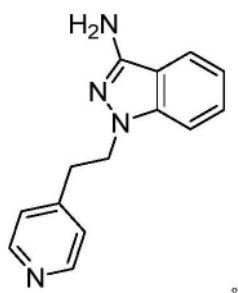
[化学式3-7]



[化学式3-8]



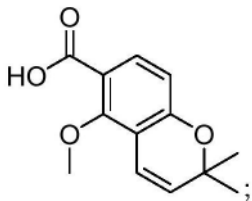
[化学式3-9]



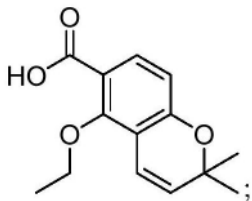
13. 根据权利要求10所述的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在
于,

由所述[化学式4]表示的化合物为从由下述化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一中以上：

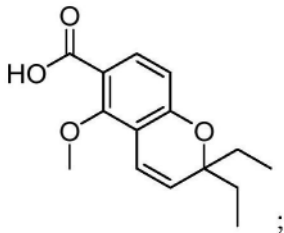
[化学式4-1]



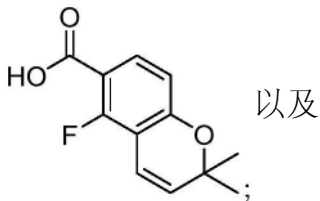
[化学式4-2]



[化学式4-3]

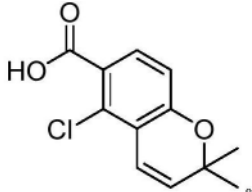


[化学式4-4]



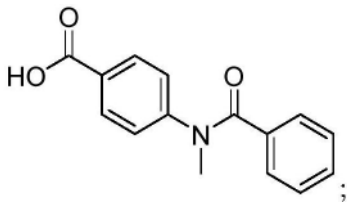
以及

[化学式4-5]

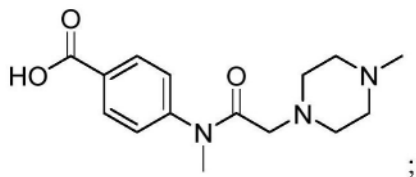


14. 根据权利要求10所述的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在于,

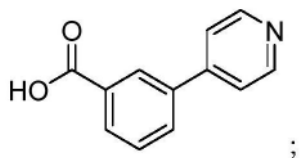
由所述[化学式5]表示的化合物为从由下述化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一中以上:[化学式5-1]



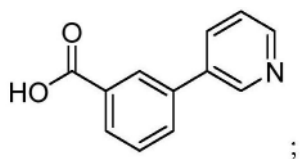
[化学式5-2]



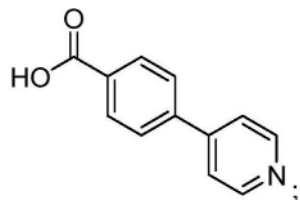
[化学式5-3]



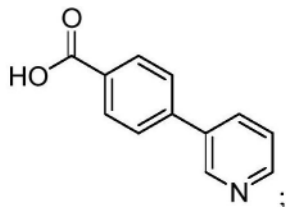
[化学式5-4]



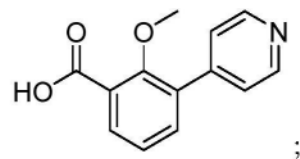
[化学式5-5]



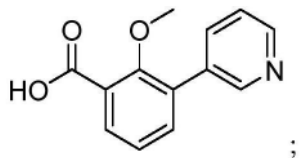
[化学式5-6]



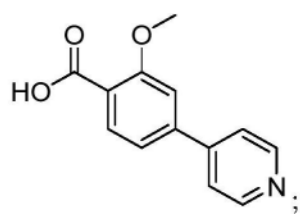
[化学式5-7]



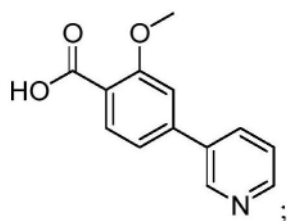
[化学式5-8]



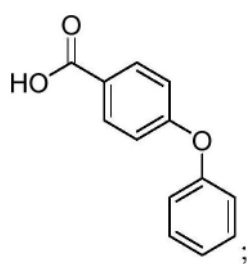
[化学式5-9]



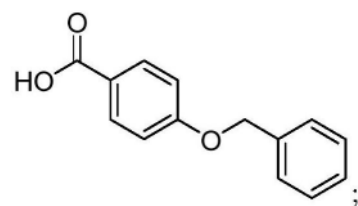
[化学式5-10]



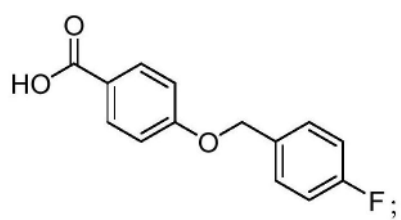
[化学式5-11]



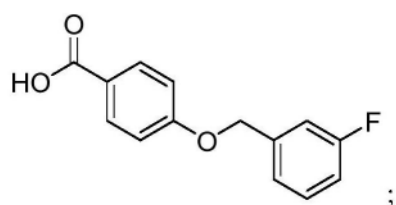
[化学式5-12]



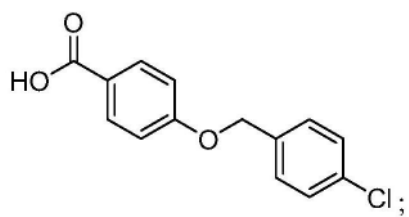
[化学式5-13]



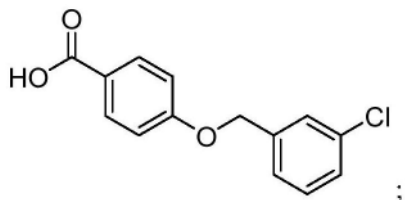
[化学式5-14]



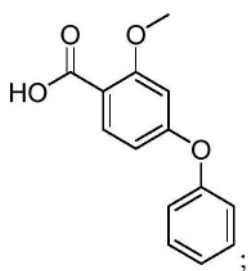
[化学式5-15]



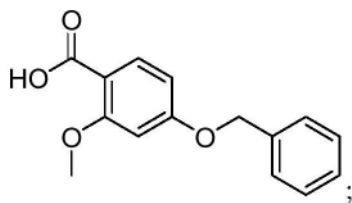
[化学式5-16]



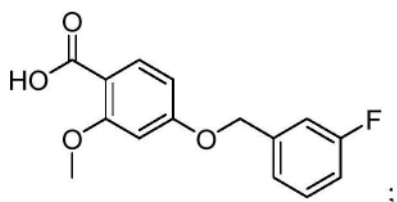
[化学式5-17]



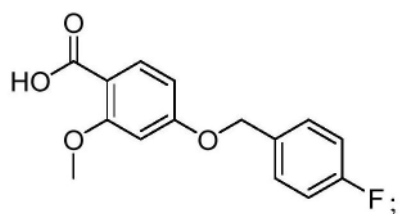
[化学式5-18]



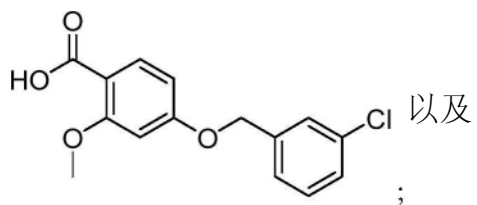
[化学式5-19]



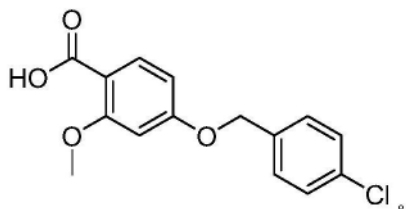
[化学式5-20]



[化学式5-21]



[化学式5-22]



15. 根据权利要求10所述的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法, 其特征在于,

通过将由所述[化学式2]或[化学式3]表示的化合物添加到由所述[化学式4]或[化学式5]表示的化合物、羟基苯并三唑 (HOBt)、三乙胺 (Et_3N) 及EDC $\cdot$ HCl的混合物中进行反应。

新型吡唑衍生物或其药学上可接受的盐及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种新型吡唑衍生物或其药学上可接受的盐、其制备方法以及包括其作为活性成分(active ingredient)的用于预防、治疗或改善癌症的组合物等。

背景技术

[0002] 乳腺癌自上世纪90年代以来在韩国和海外呈上升趋势,进入21世纪后,乳腺癌已成为女性中最常见的癌症,其发病率和死亡率均居首位。HER2阳性乳腺癌是一种HER2(人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2))过度表达的癌症,HER2是一种存在于癌细胞膜上的膜蛋白受体。在所有乳腺癌患者中,有20-30%的患者患有HER2阳性乳腺癌,其预后比HER2阴性患者更差,导致生存率明显降低,并且对常用的细胞毒性抗癌药物的反应性极低。

[0003] HER2阳性乳腺癌的靶向治疗包括单克隆抗体曲妥珠单抗(trastuzumab)(商品名:®赫赛汀)、帕妥珠单抗(商品名:®帕捷特)及T-DM1(商品名:®凯素达)等,但其高昂的价格给患者带来了沉重的经济负担。尤其,曲妥珠单抗主要用于HER2阳性乳腺癌患者的一线治疗药物(First-line treatment),但约有40-50%的患者在初始治疗中表现出原发性耐药,即使在初始反应良好的患者中,也有约90%的患者在一年内出现继发性耐药。这种耐药是导致复发及转移的主要原因,是降低患者生存率的关键因素。

[0004] 此外,三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer)(ER-、PR-、HER2-)患者占所有乳腺癌患者的10-15%,他们缺乏激素受体(ER(雌激素受体)、PR(孕激素受体))和HER2蛋白,因此无法从激素治疗或HER2靶向治疗中获益。目前,三阴性乳腺癌的标准治疗完全依赖于一般的细胞毒性抗癌药物(紫杉醇(Taxane)类或蒽环(Anthracycline)类)。由于没有成熟的靶向治疗,其他亚型的治疗策略多样性不如乳腺癌。更为严重的是,大多数患者在手术或化疗后2-3年内出现复发,且容易诱发肺、肝、脑、骨等其他器官的转移,从而影响患者的生存率。

[0005] 被确诊为III期(stage-III)的患者的5年总生存率低于55%,晚期转移患者(advanced stage)的5年总生存率非常低,不足30%。这些患者大多数最终会在几年内死亡,这是一种非常严重的疾病。

[0006] Hsp90抑制剂是与血管生成相关疾病的潜在化疗药物,尤其是针对HER2,其为Hsp90的主要客户蛋白之一,其激酶活性受Hsp90直接调控。因此,Hsp90抑制可以直接抑制作为导致耐药的主要原因的p95HER2的激活和HER2/HER3二聚化(dimerization),因此Hsp90抑制剂可以作为HER2的上游靶向药物,因此作为克服耐药性的药物具有很高的价值。

[0007] 然而,目前临床试验中的大多数Hsp90抑制剂抑制的是N-末端Hsp90,其中大多数由于严重的副作用而失败或中止,例如缺乏药理活性、毒性、诱导热休克反应等。

[0008] 由此,本发明的发明人确认了新型吡唑衍生物或其药学上可接受的盐对Hsp90的C-末端赋予强烈的结合能力,从而抑制Hsp90的活性,抑制癌细胞的生长和增殖,并诱导有效的细胞凋亡(apoptosis),从而完成了本发明。

发明内容

[0009] 要解决的技术问题

[0010] 本发明的目的在于提供一种吡唑衍生物或其药学上可接受的盐。

[0011] 另外,本发明的另一目的在于提供一种用于预防、治疗或改善癌症的组合物,其包括所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分。

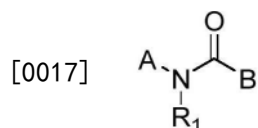
[0012] 另外,本发明的另一目的在于提供一种制备所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的方法。

[0013] 然而,本发明要解决的技术问题并非受限于上述言及的问题,未言及的其他问题将通过下面的记载由本领域普通技术人员所明确理解。

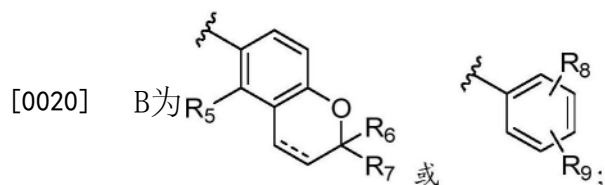
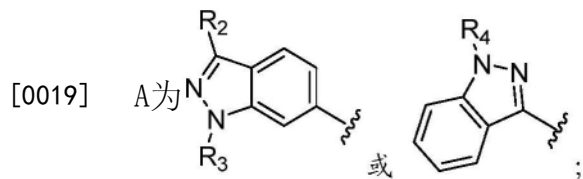
[0014] 解决问题的技术方案

[0015] 为了解决上述问题,本发明提供一种由下述[化学式1]表示的吡唑衍生物、其外消旋体、异构体、溶剂化物或药学上可接受的盐:

[0016] [化学式1]

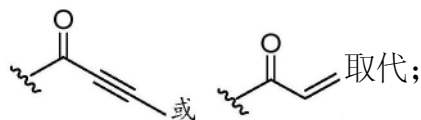


[0018] 其中在所述化学式1中,



[0021] R_1 和 R_2 彼此相同或不同,分别为氢或 C_1-C_6 链状烷基;

[0022] R_3 和 R_4 彼此相同或不同,分别为氢或 C_1-C_6 链状烷基,其中所述烷基的一个以上的氢未被取代或被 C_1-C_6 烷氧基、 C_5-C_{10} 杂环烷基或 C_5-C_{10} 杂芳基取代,其中所述烷氧基未被取代或被 C_1-C_6 烷氧基取代,所述杂环烷基未被取代或被 C_1-C_6 链状烷基、



[0023] R_5 为卤素基或 C_1-C_6 烷氧基;

[0024] R_6 和 R_7 彼此相同或不同,分别为 C_1-C_6 链状烷基;

[0025] R_8 为 $NR_{10}C(O)R_{11}$ 、 OR_{12} 、 C_5-C_{10} 杂芳基或四氢吡喃基;

[0026] R_9 为氢、 C_1-C_6 烷氧基或 C_5-C_{10} 杂环烷基,其中所述杂环烷基未被取代或被 C_1-C_6 链状烷基取代;

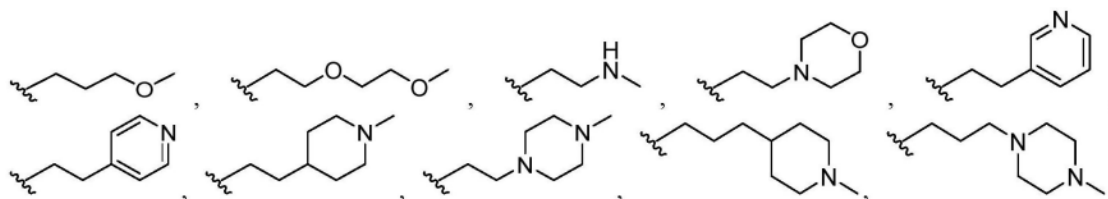
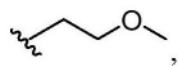
[0027] R_{10} 和 R_{11} 彼此相同或不同,分别为 C_1-C_6 链状烷基或 C_5-C_{10} 芳基,其中所述烷基未被取代或被甲基哌嗪基取代;

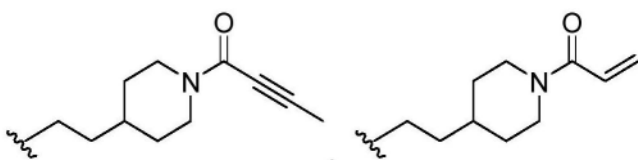
[0028] R_{12} 为 C_5 - C_{10} 芳基或 C_5 - C_{10} 苄基,其中所述苄基未被取代或被卤素基取代;

[0029] $\equiv$ 可以为单键或双键。

[0030] 在本发明的一实施例中,所述杂环烷基可以为吗啉基(morpholino)、哌啶基(piperidinyl)、哌嗪基(piperazinyl)、吡咯烷基(pyrrolidinyl)等,但并不限于此。所述杂芳基可以为吡啶基(pyridinyl)、嘧啶基(pyrimidinyl)、吡嗪基(pyrazinyl)、呋喃基(furyl)、噻吩基(thiophenyl)、恶唑基(oxazolyl)、苯并咪唑基(benzimidazolyl)、吲哚基(indolyl)等,优选可以为吡啶基,但并不限于此。

[0031] 在本发明的另一实施例中,所述 R_3 和 R_4 彼此相同或不同,分别可以是氢、甲基、



[0032]  及其组合组成的群组中选择的任

一个,但并不限于此。

[0033] 在本发明的另一实施例中,所述由[化学式1]表示的吲唑衍生物可以为从由以下化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一种以上,但并不限于此:

[0034] (1) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamid)(化学式1-1,6a);

[0035] (2) N-(1,3-二甲基-1H-吲唑-6-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(N-(1,3-dimethyl-1H-indazol-6-yl)-5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide)(化学式1-2,6b);

[0036] (3) 5-甲氧基-N-(1-(2-甲氧基乙基)-3-甲基-1H-吲唑-6-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-N-(1-(2-methoxyethyl)-3-methyl-1H-indazol-6-yl)-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide)(化学式1-3,6c);

[0037] (4) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-吗啉基乙基)-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-morpholinoethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide)(化学式1-4,6d);

[0038] (5) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide)(化学式1-5,6e);

[0039] (6) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide)(化学式1-6,6f);

[0040] (7) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-7,11k);

[0041] (8) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-8,11l);

[0042] (9) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(3-(1-甲基哌啶-4-基)丙基)-1H-异吡啶-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(3-(1-methylpiperidin-4-yl)propyl)-1H-isindol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-9,11m);

[0043] (10) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-10,11n);

[0044] (11) N-(1-(2-(1-(丁-2-炔酰基)哌啶-4-基)乙基)-3-甲基-1H-吡唑-6-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺 (N-(1-(2-(1-(but-2-ynoyl)piperidin-4-yl)ethyl)-3-methyl-1H-indazol-6-yl)-5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-11,11o);

[0045] (12) N-(1-(2-(1-丙烯酰基哌啶-4-基)乙基)-3-甲基-1H-吡唑-6-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺 (N-(1-(2-(1-acryloylpiperidin-4-yl)ethyl)-3-methyl-1H-indazol-6-yl)-5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-12,11p);

[0046] (13) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-13,12k);

[0047] (14) N-(1H-吡唑-3-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺 (N-(1H-indazol-3-yl)-5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-14,18a);

[0048] (15) 5-甲氧基-N,2,2-三甲基-N-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-N,2,2-trimethyl-N-(1-methyl-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-15,18b);

[0049] (16) 5-甲氧基-N-(1-(2-甲氧基乙基)-1H-吡唑-3-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-N-(1-(2-methoxyethyl)-1H-indazol-3-yl)-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-16,18c);

[0050] (17) 5-甲氧基-N-(1-(3-甲氧基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-N-(1-(3-methoxypropyl)-1H-indazol-3-yl)-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-17,18d);

- [0051] (18) 5-甲氧基-N-(1-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-N-(1-(2-(2-methoxyethoxy)ethyl)-1H-indazol-3-yl)-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-18,18e);
- [0052] (19) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(甲基氨基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-(methylamino)ethyl)-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-19,19l);
- [0053] (20) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-20,18g);
- [0054] (21) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl)-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-21,18h);
- [0055] (22) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-吗啉基乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-morpholinoethyl)-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-22,18i);
- [0056] (23) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-23,18j);
- [0057] (24) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-24,18k);
- [0058] (25) 5-甲氧基-N-(1-(2-甲氧基乙基)-1H-吡唑-3-基)-N,2,2-三甲基-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-Methoxy-N-(1-(2-methoxyethyl)-1H-indazol-3-yl)-N,2,2-trimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-25,20c);
- [0059] (26) 5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)色烯-6-甲酰胺 (5-methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)chroman-6-carboxamide) (化学式1-26,34);
- [0060] (27) 5-乙氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-ethoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-27,35);
- [0061] (28) 2,2-二乙基-5-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (2,2-diethyl-5-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-28,36);
- [0062] (29) 5-氟-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-fluoro-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学

式1-29,37) ;

[0063] (30) 5-氯-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-chloro-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (化学式1-30,38) ;

[0064] (31) N-甲基-N-(4-((3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)氨基甲酰基)苯基)苯甲酰胺 (N-methyl-N-(4-((3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)carbamoyl)phenyl)benzamide) (化学式1-31,42a) ;

[0065] (32) N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯甲酰胺 (N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(N-methyl-2-(4-methylpiperazin-1-yl)acetamido)benzamide) (化学式1-32,42b) ;

[0066] (33) N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-((四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)苯甲酰胺 (N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)benzamide) (化学式1-33,46) ;

[0067] (34) N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-3-(吡啶-4-基)苯甲酰胺 (N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-3-(pyridin-4-yl)benzamide) (化学式1-34,50a) ;

[0068] (35) N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-3-(吡啶-3-基)苯甲酰胺 (N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-3-(pyridin-3-yl)benzamide) (化学式1-35,50b) ;

[0069] (36) N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(吡啶-4-基)苯甲酰胺 (N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(pyridin-4-yl)benzamide) (化学式1-36,50c) ;

[0070] (37) N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(吡啶-3-基)苯甲酰胺 (N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(pyridin-3-yl)benzamide) (化学式1-37,50d) ;

[0071] (38) 2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-3-(吡啶-4-基)苯甲酰胺 (2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-3-(pyridin-4-yl)benzamide) (化学式1-38,50e) ;

[0072] (39) 2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-3-(吡啶-3-基)苯甲酰胺 (2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-3-(pyridin-3-yl)benzamide) (化学式1-39,50f) ;

[0073] (40) 2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(吡啶-4-基)苯甲酰胺 (2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(pyridin-4-yl)benzamide) (化学式1-40,50g) ;

[0074] (41) 2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(吡啶-3-基)苯甲酰胺 (2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)

ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(pyridin-3-yl)benzamide) (化学式1-41, 50h);

[0075] (42) N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-4-苯氧基苯甲酰胺 (N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-phenoxybenzamide) (化学式1-42, 57a);

[0076] (43) 4-(苄氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-(benzyloxy)-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (化学式1-43, 57b);

[0077] (44) 4-((4-氟苄基)氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-((4-fluorobenzyl)oxy)-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (化学式1-44, 57c);

[0078] (45) 4-((3-氟苄基)氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-((3-fluorobenzyl)oxy)-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (化学式1-45, 57d);

[0079] (46) 4-((4-氯苄基)氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-((4-chlorobenzyl)oxy)-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (化学式1-46, 57e);

[0080] (47) 4-((3-氯苄基)氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-((3-chlorobenzyl)oxy)-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (化学式1-47, 57f);

[0081] (48) 2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-4-苯氧基苯甲酰胺 (2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-phenoxybenzamide) (化学式1-48, 57g);

[0082] (49) 4-(苄氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-(benzyloxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (化学式1-49, 57h);

[0083] (50) 4-((3-氟苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-((3-fluorobenzyl)oxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (化学式1-50, 57i);

[0084] (51) 4-((4-氟苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-((4-fluorobenzyl)oxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (化学式1-51, 57j);

[0085] (52) 4-((3-氯苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-((3-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (化学式1-52, 57k); 以及

[0086] (53) 4-((4-氯苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺 (4-((4-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (1-53, 57l)。

[0087] 在本发明的另一实施例中,所述吡啶衍生物的药学上可接受的盐可以为从由盐酸

盐、溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、柠檬酸盐、醋酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、马来酸盐、葡萄糖酸盐、琥珀酸盐、甲酸盐、三氟醋酸盐、草酸盐、富马酸盐、戊二酸盐、己二酸盐、甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、樟脑磺酸盐、钠盐、钾盐、锂盐、钙盐、镁盐及其组合组成的群组中选择的任一种以上,但并不限于此。

[0088] 此外,本发明还提供一种用于预防或治疗癌症的药物组合物,其包括所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分。

[0089] 在本发明的一实施例中,所述吡唑衍生物可以作为Hsp90抑制剂,抑制癌细胞的生长增殖,诱导细胞凋亡(apoptosis)。

[0090] 在本发明的另一实施例中,所述癌症可以为从由皮肤癌、乳腺癌、子宫癌、食道癌、胃癌、脑瘤、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌、外阴癌、肾癌、血癌、胰腺癌、前列腺癌、睾丸癌、喉癌、头颈癌、甲状腺癌、肝癌、膀胱癌、骨肉瘤、淋巴瘤、白血病、胸腺癌、尿道癌、支气管癌及其组合组成的群组中选择的任一种以上,优选可以为乳腺癌,更优选可以为HER-2阳性乳腺癌或三阴性乳腺癌,但并不限于此。

[0091] 在本发明的另一实施例中,所述药物组合物还可以包括:所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐;以及从由药学上可接受的载体、赋形剂、稀释剂、稳定剂及防腐剂组成的群组中选择的任一种以上的附加组分,但附加组分的种类并不限于此。

[0092] 在本发明的另一实施例中,所述药物组合物还可以包括:所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐;以及抗癌剂。

[0093] 在本发明的另一实施例中,所述抗癌剂可以为从由紫杉醇、多西他赛、阿霉素、索拉非尼、维莫非尼、伊立替康、顺铂、镭223氯化物(alpharadin)、米托蒽醌、环磷酰胺、长春碱、卡铂、放线菌素-D、依托泊苷、替尼泊苷、比生群、高三尖杉酯碱、格列卫(STI-571)、5-氟尿嘧啶、白消安、苯丁酸氮芥、美法仑、氮芥、亚硝基脲类药物及其组合组成的群组中选择的任一种以上,但并不限于此。

[0094] 在本发明的另一实施例中,所述药物组合物可以具有从由粉末、颗粒、片剂、胶囊剂及注射剂组成的群组中选择的任一种以上的剂型,但并不限于此。

[0095] 此外,本发明提供一种预防或治疗癌症的方法,其包括向受试者施用所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐。

[0096] 此外,本发明提供所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐在制造用于预防或治疗癌症的药物中的用途。

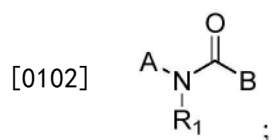
[0097] 此外,本发明提供一种用于预防或改善癌症的化妆品组合物,其包括所述吡唑衍生物或其化妆品上可接受的盐作为活性成分。

[0098] 此外,本发明提供一种用于预防或改善癌症的食品组合物,其包括所述吡唑衍生物或其食品学上可接受的盐作为活性成分。

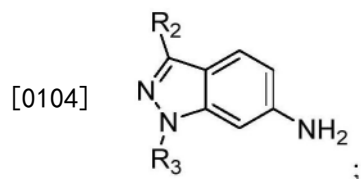
[0099] 此外,本发明提供一种用于预防或治疗癌症的饲料组合物,其包括所述吡唑衍生物或其饲料学上可接受的盐作为活性成分。

[0100] 此外,本发明还提供一种由[化学式1]表示的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,包括将由下述[化学式2]或[化学式3]表示的化合物与[化学式4]或[化学式5]表示的化合物反应的步骤:

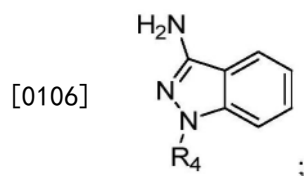
[0101] [化学式1]



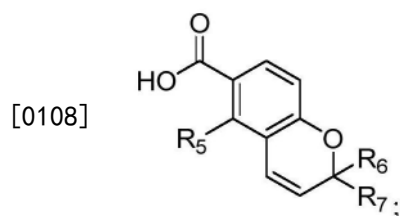
[0103] [化学式2]



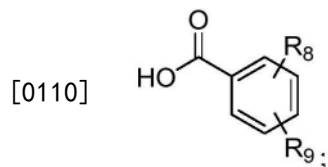
[0105] [化学式3]



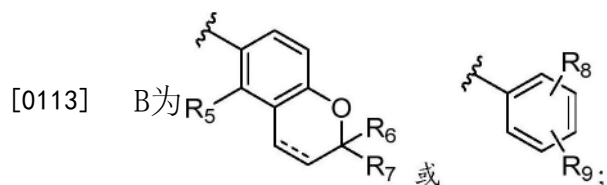
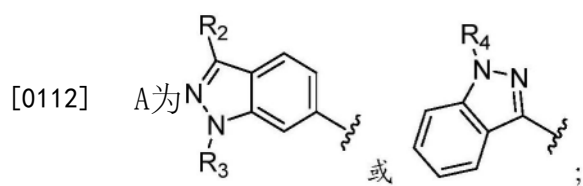
[0107] [化学式4]



[0109] [化学式5]



[0111] 其中在所述化学式1中,

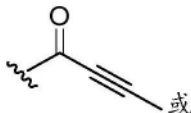
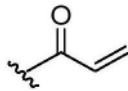


[0114] R₁为氢或C₁-C₆链状烷基;

[0115] 其中在所述化学式1及化学式2中,

[0116] R₂为氢或C₁-C₆链状烷基;

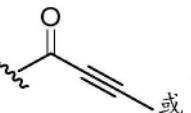
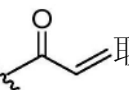
[0117] R₃为氢或C₁-C₆链状烷基,所述烷基的一个以上的氢未被取代或被C₁-C₆烷氧基、C₅-C₁₀杂环烷基或C₅-C₁₀杂芳基取代,其中所述烷氧基未被取代或被C₁-C₆烷氧基取代,所述杂

环烷基未被取代或被C₁-C₆链状烷基、或取代；

[0118] 其中在所述化学式1及化学式3中，

[0119] R₄为氢或C₁-C₆链状烷基；

[0120] 所述烷基的一个以上的氢未被取代或被C₁-C₆烷氧基、C₅-C₁₀杂环烷基或C₅-C₁₀杂芳基取代，其中所述烷氧基未被取代或被C₁-C₆烷氧基取代，所述杂环烷基未被取代或被C₁-C₆

链状烷基、或取代；

[0121] 其中在所述化学式1及化学式4中，

[0122] R₅为氢或C₁-C₆链状烷基；

[0123] R₆和R₇彼此相同或不同，分别为C₁-C₆链状烷基；

[0124] 其中在所述化学式1及化学式5中，

[0125] R₈为NR₁₀C(O)R₁₁、OR₁₂、C₅-C₁₀杂芳基或四氢吡喃胺基；

[0126] R₉为氢、C₁-C₆烷氧基或C₅-C₁₀杂环烷基，其中所述杂环烷基未被取代或被C₁-C₆链状烷基取代；

[0127] R₁₀和R₁₁彼此相同或不同，分别为C₁-C₆链状烷基或C₅-C₁₀芳基，其中所述烷基未被取代或被甲基哌嗪基取代；

[0128] R₁₂为C₅-C₁₀芳基或C₅-C₁₀苄基，其中所述苄基未被取代或被卤素基取代。

[0129] 在本发明的一实施例中，由所述[化学式2]表示的化合物可以为从由下述化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一中以上，但并不限于此：

[0130] (1) 3-甲基-1H-吡唑-6-胺 (3-Methyl-1H-indazol-6-amine) (化学式2-1, 5a)；

[0131] (2) 1,3-二甲基-1H-吡唑-6-胺 (1,3-Dimethyl-1H-indazol-6-amine) (化学式2-2, 5b)；

[0132] (3) 1-(2-甲氧基乙基)-3-甲基-1H-吡唑-6-胺 (1-(2-Methoxyethyl)-3-methyl-1H-indazol-6-amine) (化学式2-3, 5c)；

[0133] (4) 3-甲基-1-(2-吗啉基乙基)-1H-吡唑-6-胺 (3-Methyl-1-(2-morpholinoethyl)-1H-indazol-6-amine) (化学式2-4, 5d)；

[0134] (5) 3-甲基-1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吡唑-6-胺 (3-Methyl-1-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazol-6-amine) (化学式2-5, 5e)；

[0135] (6) 3-甲基-1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-胺 (3-Methyl-1-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-amine) (化学式2-6, 5f)；

[0136] (7) 3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-胺 (3-Methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-amine) (化学式2-7, 9k)；

[0137] (8) 3-甲基-1-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)-1H-吡唑-6-胺 (3-Methyl-1-(2-(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl)-1H-indazol-6-amine) (化学式2-8, 9l)；

[0138] (9) 3-甲基-1-(3-(1-甲基哌啶-4-基)丙基)-1H-吡唑-6-胺 (3-methyl-1-(3-(1-methylpiperidin-4-yl)propyl)-1H-indazol-6-amine) (化学式2-9, 9m)；

[0139] (10) 3-甲基-1-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基)-1H-吡唑-6-胺 (3-methyl-1-(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1H-indazol-6-amine) (化学式2-10, 9n); 以及

[0140] (11) 1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-胺 (1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-amine) (化学式2-11, 10k)。

[0141] 在本发明的一实施例中, 由所述[化学式3]表示的化合物可以为从由下述化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一中以上, 但并不限于此:

[0142] (1) 1-甲基-1H-吡唑-3-胺 (1-Methyl-1H-indazol-3-amine) (化学式3-1, 17b);

[0143] (2) 1-(2-甲氧基乙基)-1H-吡唑-3-胺 (1-(2-Methoxyethyl)-1H-indazol-3-amine) (化学式3-2, 17c);

[0144] (3) 1-(3-甲氧基丙基)-1H-吡唑-3-胺 (1-(3-Methoxypropyl)-1H-indazol-3-amine) (化学式3-3, 17d);

[0145] (4) 1-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)-1H-吡唑-3-胺 (1-(2-(2-Methoxyethoxy)ethyl)-1H-indazol-3-amine) (化学式3-4, 17e);

[0146] (5) 1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-3-胺 (1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-3-amine) (化学式3-5, 17g);

[0147] (6) 1-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)-1H-吡唑-3-胺 (1-(2-(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl)-1H-indazol-3-amine) (化学式3-6, 17h);

[0148] (7) 1-(2-吗啉基乙基)-1H-吡唑-3-胺 (1-(2-Morpholinoethyl)-1H-indazol-3-amine) (化学式3-7, 17i);

[0149] (8) 1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吡唑-3-胺 (1-(2-(Pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazol-3-amine) (化学式3-8, 17j); 以及

[0150] (9) 1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-3-胺 (1-(2-(Pyridin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-3-amine) (化学式3-9, 17k)。

[0151] 在本发明的一实施例中, 由所述[化学式4]表示的化合物可以为从由下述化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一中以上, 但并不限于此:

[0152] (1) 5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-羧酸 (5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylic acid) (化学式4-1, 29);

[0153] (2) 5-乙氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-羧酸 (5-ethoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylic acid) (化学式4-2, 30);

[0154] (3) 2,2-二乙基-5-甲氧基-2H-色烯-6-羧酸 (2,2-diethyl-5-methoxy-2H-chromene-6-carboxylic acid) (化学式4-3, 31);

[0155] (4) 5-氟-2,2-二甲基-2H-色烯-6-羧酸 (5-fluoro-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylic acid) (化学式4-4, 32); 以及

[0156] (5) 5-氯-2,2-二甲基-2H-色烯-6-羧酸 (5-chloro-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylic acid) (化学式4-5, 33)。

[0157] 在本发明的一实施例中, 由所述[化学式5]表示的化合物可以为从由下述化学式表示的化合物组成的群组中选择的任一中以上, 但并不限于此:

[0158] (1) 4-(N-甲基苯甲酰氨基)苯甲酸 (4-(N-methylbenzamido)benzoic acid) (化学式5-1, 41a);

- [0159] (2) 4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰氨基)苯甲酸(4-(N-methyl-2-(4-methylpiperazin-1-yl)acetamido)benzoic acid) (化学式5-2,41b);
- [0160] (3) 3-(吡啶-4-基)苯甲酸(3-(pyridin-4-yl)benzoic acid) (化学式5-3,49a);
- [0161] (4) 3-(吡啶-3-基)苯甲酸(3-(pyridin-3-yl)benzoic acid) (化学式5-4,49b);
- [0162] (5) 4-(吡啶-4-基)苯甲酸(4-(pyridin-4-yl)benzoic acid) (化学式5-5,49c);
- [0163] (6) 4-(吡啶-3-基)苯甲酸(4-(pyridin-3-yl)benzoic acid) (化学式5-6,49d);
- [0164] (7) 2-甲氧基-3-(吡啶-4-基)苯甲酸(2-methoxy-3-(pyridin-4-yl)benzoic acid) (化学式5-7,49e);
- [0165] (8) 2-甲氧基-3-(吡啶-3-基)苯甲酸(2-methoxy-3-(pyridin-3-yl)benzoic acid) (化学式5-8,49f);
- [0166] (9) 2-甲氧基-4-(吡啶-4-基)苯甲酸(2-methoxy-4-(pyridin-4-yl)benzoic acid) (化学式5-9,49g);
- [0167] (10) 2-甲氧基-4-(吡啶-3-基)苯甲酸(2-methoxy-4-(pyridin-3-yl)benzoic acid) (化学式5-10,49h);
- [0168] (11) 4-苯氧基苯甲酸(4-phenoxybenzoic acid) (化学式5-11,56a);
- [0169] (12) 4-(苄氧基)苯甲酸(4-(benzyloxy)benzoic acid) (化学式5-12,56b);
- [0170] (13) 4-((4-氟苄基)氧基)苯甲酸(4-((4-fluorobenzyl)oxy)benzoic acid) (化学式5-13,56c);
- [0171] (14) 4-((3-氟苄基)氧基)苯甲酸(4-((3-fluorobenzyl)oxy)benzoic acid) (化学式5-14,56d);
- [0172] (15) 4-((4-氯苄基)氧基)苯甲酸(4-((4-chlorobenzyl)oxy)benzoic acid) (化学式5-15,56e);
- [0173] (16) 4-((3-氯苄基)氧基)苯甲酸(4-((3-chlorobenzyl)oxy)benzoic acid) (化学式5-16,56f);
- [0174] (17) 2-甲氧基-4-苯氧基苯甲酸(2-methoxy-4-phenoxybenzoic acid) (化学式5-17,56g);
- [0175] (18) 4-(苄氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-(benzyloxy)-2-methoxybenzoic acid) (化学式5-11,56h);
- [0176] (19) 4-((3-氟苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-((3-fluorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic acid) (化学式5-11,56i);
- [0177] (20) 4-((4-氟苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-((4-fluorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic acid) (化学式5-11,56j);
- [0178] (21) 4-((3-氯苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-((3-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic acid) (化学式5-11,56k);以及
- [0179] (22) 4-((4-氯苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic acid) (化学式5-11,56l)。
- [0180] 在本发明的另一实施例中,可以通过将由所述[化学式2]或[化学式3]表示的化合物添加到由所述[化学式4]或[化学式5]表示的化合物、羟基苯并三唑(HOBt)、三乙胺(Et₃N)及EDC·HCl的混合物中进行反应,此时溶剂可以为二氯甲烷(DCM),但并不限于

此。

[0181] 在本发明的另一实施例中,还可以包括所述反应后萃取有机化合物、洗涤、干燥、在真空中浓缩等步骤。

[0182] 发明的效果

[0183] 本发明涉及一种吡唑衍生物或其药学上可接受的盐,以及包括所述衍生物或其盐作为活性成分的用于预防、治疗或改善癌症的组合物。本发明的吡唑衍生物不影响Hsp90和HSF-1的复合体结构,因此不会诱导HSF-1的活化或Hsp基因的表达,从而有效促进癌细胞的死亡,因此可用于预防、治疗或改善癌症。

[0184] 本发明的效果并非受限于上述言及的效果,未言及的其他效果将通过下面的记载由本领域普通技术人员所明确理解。

附图说明

[0185] 图1示出在JIMT-1及MDA-MB-231细胞株(cell line)中处理本发明的吡唑衍生物(对应于化学式1-1至化学式1-13)后的细胞存活率。

[0186] 图2示出在JIMT-1及MDA-MB-231细胞株中处理本发明的吡唑衍生物(对应于化学式1-14至化学式1-25)后的细胞存活率。

[0187] 图3示出在JIMT-1及MDA-MB-231细胞株中处理本发明的吡唑衍生物(对应于化学式1-26至化学式1-41)后的细胞存活率。

[0188] 图4示出在JIMT-1及MDA-MB-231细胞株中处理本发明的吡唑衍生物(对应于化学式1-42至化学式1-53)后的细胞存活率。

[0189] 图5示出化合物18c(化学式1-16)在乳腺癌细胞株中的抗癌效果,其中,图5的A示出BT474、JIMT-1及MDA-MB-231中细胞存活率呈浓度依赖性下降;图5的B示出流式细胞术确认的癌细胞的凋亡程度;图5的C示出通过蛋白质印迹法(western blotting)确认的细胞凋亡相关蛋白的表达。

[0190] 图6示出化合物11k(化学式1-7)在乳腺癌细胞株中的抗癌效果,其中,图6的A示出BT474、JIMT-1及MDA-MB-231中细胞存活率呈浓度依赖性下降;图6的B示出流式细胞术确认的癌细胞的凋亡程度;图6的C示出通过蛋白质印迹法确认的细胞凋亡相关蛋白的表达。

[0191] 图7示出化合物11m(化学式1-9)、化合物11n(化学式1-10)及化合物12k(化学式1-13)在JIMT-1和MDA-MB-231细胞株中细胞存活率呈浓度依赖性下降。

[0192] 图8示出化合物38(化学式1-30)在乳腺癌细胞株中的抗癌效果,其中,图8的A示出MDA-MB-231细胞存活率呈浓度依赖性下降;图8的B示出BT549细胞存活率呈浓度依赖性下降;图8的C示出4T1细胞存活率呈浓度依赖性下降;图8的D示出细胞形态变化;图8的E示出细胞凋亡。

[0193] 图9示出图9的A中的化合物18c(化学式1-16)和图9的B中的化合物11k(化学式1-7)的Hsp90客户蛋白的表达测量结果。

[0194] 图10示出化合物18c(化学式1-16)在体内的抗癌效果,其中,图10的A示出处理化合物18c时的肿瘤体积的变化;图10的B示出处理化合物18c时的肿瘤重量和大小的变化;图10的C示出处理化合物18c时的体重的变化;图10的D示出处理化合物18c时的检查其他器官(肝脏、肾脏和肺)的组织形态学变化的结果;图10的E示出处理化合物18c时的检查肝肾功

能异常与否的结果。

[0195] 图11示出化合物11k(化学式1-7)在体内的抗癌效果,其中,图11的A示出处理化合物11k时的肿瘤体积的变化;图11的B示出处理化合物11k时的肿瘤重量和大小的变化;图11的C示出处理化合物11k时的体重的变化;图11的D示出处理化合物18c时的检查其他器官(肝脏、肾脏和肺)的组织形态学变化的结果;图11的E示出处理化合物18c时的检查肝肾功能异常与否的结果。

[0196] 图12示出针对白血病细胞株(HL-60)、肝癌细胞株(HepG2)、结肠癌细胞株(HCT116)、前列腺癌细胞株(Du145)、卵巢癌细胞株(SKOV3)及非小细胞肺癌细胞株(NCI-H1299和A549)处理化合物11k(化学式1-7)后的细胞存活率。

[0197] 图13示出根据化合物11k(化学式1-7)与紫杉醇的联合处理浓度的联合指数(CI, combination index)。

[0198] 图14示出合用化合物11k(化学式1-7)与紫杉醇时的体内抗癌效果,其中,图14的A示出联合用药时肿瘤体积的变化;图14的B示出联合用药时肿瘤重量的变化;图14的C示出联合用药时肿瘤大小的变化;图14的D示出联合用药时体重的变化;图14的E示出联合用药时肝毒性和肾毒性的评估。

[0199] 图15示出在BT474细胞株中处理本发明的吡唑衍生物和在先发明(KR10-23045320)的色烯(Benzopyran)衍生物后的细胞存活率。

[0200] 图16示出在JMT-1细胞株中处理本发明的吡唑衍生物和在先发明(KR10-23045320)的色烯衍生物后的细胞存活率。

[0201] 图17示出在MDA-MB-231细胞株中处理本发明的吡唑衍生物和在先发明(KR10-23045320)的色烯衍生物后的细胞存活率。

具体实施方式

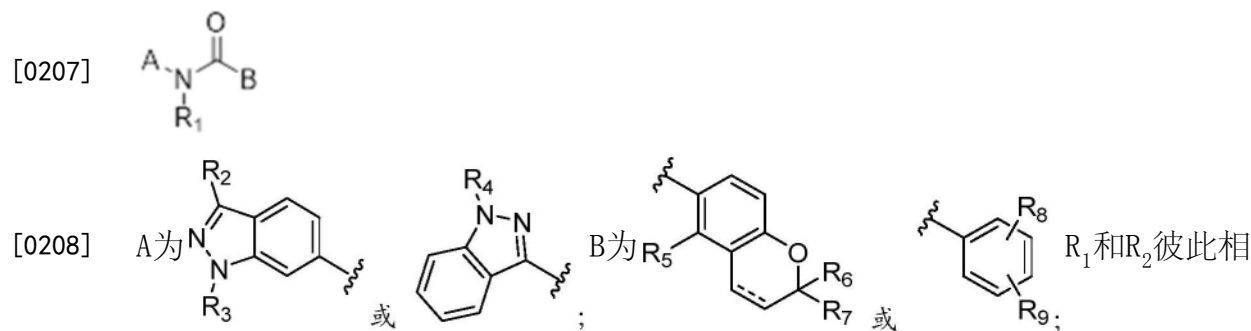
[0202] 本发明人对吡唑衍生物或其药学上可接受的盐进行了研究,证实了所述衍生物的抗癌活性,从而完成了本发明。

[0203] 更具体地,证实了所述吡唑衍生物通过抑制Hsp90来抑制癌细胞生长和增殖,诱导细胞凋亡,并表现出细胞毒性,尤其特异性地抑制肿瘤生长,并且不影响正常器官。

[0204] 基于上述结果,本发明提供由下述[化学式1]表示的吡唑衍生物、其外消旋体、异构体、溶剂化物或其药学上可接受的盐。

[0205] [化学式1]

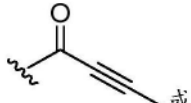
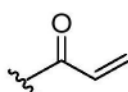
[0206] 其中在所述化学式1中,



同或不同,分别为氢或C₁-C₆链状烷基;R₃和R₄彼此相同或不同,分别为氢或C₁-C₆链状烷基,

其中所述烷

[0209] 基的一个以上的氢未被取代或被 C_1 - C_6 烷氧基、 C_5 - C_{10} 杂环烷基或 C_5 - C_{10} 杂芳基取代,其中所述烷氧基未被取代或被 C_1 - C_6 烷氧基取代,所述杂环烷基未被取代或被 C_1 - C_6 链状

烷基、 或  取代; R_5 为卤素基或 C_1 - C_6 烷氧基; R_6 和 R_7 彼此相同或不同,分

别为 C_1 - C_6 链状烷基; R_8 为 $NR_{10}C(O)R_{11}$ 、 OR_{12} 、 C_5 - C_{10} 杂芳基或四氢吡喃胺基; R_9 为氢、 C_1 - C_6 烷氧基或 C_5 - C_{10} 杂环烷基,其中所述杂环烷基未被取代或被 C_1 - C_6 链状烷基取代; R_{10} 和 R_{11} 彼此相同或不同,分别为 C_1 - C_6 链状烷基或 C_5 - C_{10} 芳基,其中所述烷基未被取代或被甲基哌嗪基取代; R_{12} 为 C_5 - C_{10} 芳基或 C_5 - C_{10} 苄基,其中所述苄基未被取代或被卤素基取代;≡可以为单键或双键。

[0210] 本发明中,术语“取代”是指化合物分子中包括的原子或原子团被其它原子或原子团取代的反应。

[0211] 本发明中,术语“链状烷基”是指由具有特定碳原子数且具有至少一个原子价的直链或支链饱和脂肪族烃衍生的基团。此类烷基的示例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、2-丁基、3-丁基、戊基、正己基等。

[0212] 本发明中,术语“环烷基”又称环状烷基,是指具有一个以上的饱和环且环上所有原子均为碳的单价基团。此类环烷基的示例包括但不限于环丁基、环戊基、环己基。

[0213] 本发明中,术语“杂环烷基”是指饱和或不饱和(但非芳香族)环烃(Cyclohydrocarbon),其可以是选择性的未取代、单取代或多取代,且其结构中至少一个选自N、O或S杂原子。

[0214] 本发明中,术语“芳基”是指具有单环(例如苯基)或多个稠合环(例如萘基)的6至20个碳原子的不饱和芳香族环化合物。此类芳基的示例包括但不限于苯基、萘基等。

[0215] 本发明中,术语“杂芳基”是指单环或多个稠合环,其中构成环的原子中至少一个带有N、O或S杂原子。

[0216] 本发明中,术语“烷氧基”是指氧原子与烷基结合形成的原子团 $C_nH_{2n+1}O-$,此类烷氧基的示例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基或丁氧基等。

[0217] 本发明中,术语“卤素基”可以为属于元素周期表第17族的元素,例如氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)等。

[0218] 本发明中,“药学上可接受的盐”是指化合物的剂型,其中化合物不会对其施用的生物体造成严重的刺激,并且不会损害该化合物的生物活性和物理性质。所述药学上可接受的盐可以通过将本发明的化合物与盐酸、溴酸、硫酸、硝酸及磷酸等无机酸;甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸等磺酸;酒石酸、甲酸、柠檬酸、乙酸、三氯乙酸、三氟乙酸、癸酸、异丁酸、丙二酸、琥珀酸、邻苯二甲酸、葡萄糖酸、苯甲酸、乳酸、富马酸、马来酸、水杨酸等有机羧酸反应而获得。另外,本发明的化合物还可以通过与碱反应形成铵盐、钠盐或钾盐等碱金属盐;钙盐或镁盐等碱土金属盐;二环己胺、N-甲基-D-葡萄糖胺、三(羟甲基)甲胺等有机碱的盐;精氨酸、赖氨酸等氨基酸盐等盐而获得。

[0219] 此外,所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐不仅包括药学上可接受的盐,还包括所有可通过常规方法制备的盐、水合物和溶剂化物。

[0220] 此外,本发明可以提供用于预防、治疗癌症的药物组合物,其包括所述衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分。

[0221] 本发明中,术语“预防”是指通过施用本发明的组合物来抑制或延迟癌症的发生、扩散或复发的任何行为;“治疗”是通过施用本发明的组合物来指改善或有益地改变所述疾病症状的任何行为。

[0222] 本发明中,术语“药物组合物”是指用于预防或治疗所述疾病的制剂,可以按照常规方法配制并以各种形式使用。例如,可以配制成粉剂、颗粒剂、片剂、胶囊剂、混悬剂、乳剂、糖浆剂等口服剂型,也可以配制成外用制剂、栓剂、无菌注射液等形式使用。

[0223] 本发明中,“作为活性成分包括”是指包括的该成分的量为实现所需的生物学效应所必需或足够的量。在实际应用中,作为活性成分所含量的确定,可根据治疗目标疾病的量和不引起其他毒性来确定,并且可能因所治疗的疾病或病症、所施用组合物的形式、受试者的体型或疾病或病症的严重程度而异。本领域技术人员可以根据经验确定单个组合物的有效量,而无需进行过多的实验。

[0224] 此外,本发明的药物组合物除了上述活性成分以外,还可以根据各剂型包括一种以上的药学上可接受的载体。

[0225] 所述药学上可接受的载体可以是生理盐水、无菌水、林格氏溶液、缓冲生理盐水、葡萄糖溶液、麦芽糊精溶液、甘油、乙醇以及上述一种以上成分的混合物,还可以根据需要添加其他常规添加剂,如抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂等。此外,还可以通过添加稀释剂、分散剂、表面活性剂、粘合剂、润滑剂等制成注射剂型,例如水溶液、混悬剂、乳剂等,以及丸剂、胶囊剂、颗粒剂或片剂等。此外,可以优选地根据每种疾病或成分,使用本领域的适当方法或雷明顿制药科学(Remington's Pharmaceutical Science) (Mack Publishing Company, Easton PA) 中公开的方法进行配制。

[0226] 本发明的组合物可以根据所需方法以药学有效量口服或胃肠外给药。本发明的术语“药学有效量”是指足以以适用于医疗的合理的效益/风险比治疗疾病的量且不会引起副作用的剂量。可以根据患者的健康状况、严重程度、药物活性、对药物的敏感性、给药方式、给药时间、给药途径和排出率、治疗周期以及医疗领域中众所周知的其他因素(包括联合用药或同时用药)等因素来确定有效剂量水平。

[0227] 此外,本发明还可以提供一种预防或治疗癌症的方法,其包括向个体施用所述吡啶衍生物或其药学上可接受的盐的步骤。

[0228] 本发明中,术语“个体”是指需要预防、治疗和/或诊断所述疾病的哺乳动物,例如牲畜、人类等,但并不限于此,且优选为人类。

[0229] 本发明中,术语“给药”是指通过任何适当的方法向患者提供预定的物质,本发明的药物组合物可以配制成多种形式以施用于个体,并且,肠胃外给药的典型配方是注射剂型,优选地,等渗水溶液或混悬液。注射剂型可以根据本领域已知技术,采用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来制备。例如,可以将各成分溶解于生理盐水或缓冲溶液中,并配制成注射剂型。此外,口服剂型包括,例如,可摄取的片剂、口腔片剂、含片、胶囊、酏剂、混悬剂、糖浆和薄片等,这些剂型除了活性成分之外,还可以包括稀释剂(例如,乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素和/或甘氨酸)和润滑剂(例如,二氧化硅、滑石粉、硬脂酸及其镁盐或钙盐和/或聚乙二醇)。所述片剂可以包括硅酸镁铝、淀粉糊、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羧

甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮等粘合剂,还可根据需要额外包括淀粉、琼脂、海藻酸或其钠盐等崩解剂;吸收剂;着色剂;调味剂和/或甜味剂。所述制剂可以通过常规的混合、制粒或包衣方法进行制备。

[0230] 此外,本发明的药物组合物还可以包括防腐剂、保湿剂、乳化促进剂、用于控制渗透压的盐或缓冲剂等助剂,以及其他有治疗作用的物质,并可按照常规方法进行配制。

[0231] 本发明的药物组合物可以通过各种途径给药,包括口服、透皮、皮下、静脉或肌肉注射,并且可以根据各种因素,例如给药途径、患者的年龄、性别、体重或严重程度等,适当地选择活性成分的剂量。此外,本发明的组合物可以与可增强所需效果的已知化合物组合施用。

[0232] 本发明的药物组合物可以以口服或胃肠外方式施用于人和动物,例如静脉内注射、皮下注射、鼻内注射或腹膜内注射。口服给药还包括舌下给药。肠外给药包括皮下注射、肌肉注射、静脉注射等注射方法和滴注方法。

[0233] 在本发明的药物组合物中,根据本发明的吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的总有效量可以作为单剂量(singledose)施用于患者,或者可以通过分次治疗方案(fractionated treatment protocol)在较长时间内以多剂量(multipledose)施用于患者。本发明的药物组合物可以根据疾病的严重程度改变活性成分的含量,但可以每天多次重复给药,通常以成人为基准每次给药的有效剂量为100 μ g至3,000mg,但并不限于此含量,并且除了给药途径、治疗次数外,还可以通过考虑各种因素来确定吡唑衍生物或其药学上可接受的盐的浓度作为患者的有效剂量,例如患者的年龄、体重、健康状况、性别、疾病严重程度、饮食、排泄率等。

[0234] 此外,本发明的药物组合物只要能发挥本发明的效果,其剂型、给药途径及给药方法等没有特别限制,本发明的药物组合物除了所述吡唑衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分外,还可以包括已知药物,并可以与其他已知治疗方法联合用于治疗这些疾病。作为其非限制性示例,可以与已知的抗癌剂联合施用,所述抗癌剂可以为紫杉醇、多西他赛、阿霉素、索拉非尼、维莫非尼、伊立替康、顺铂、镭223氯化物(alpharadin)、米托蒽醌、环磷酰胺、长春碱、卡铂、放线菌素-D、依托泊苷、替尼泊苷、比生群、高三尖杉酯碱、格列卫(STI-571)、5-氟尿嘧啶、白消安、苯丁酸氮芥、美法仑、氮芥、亚硝基脲类药物等,但并不限于此。

[0235] 此外,本发明还提供一种用于预防或改善癌症的化妆品组合物,其包括所述吡唑衍生物或其化妆品上可接受的盐作为活性成分。

[0236] 本发明中,术语“改善”是指至少降低与所治疗病症相关的参数(例如症状程度)、或使病情好转的所有行为。

[0237] 所述化妆品组合物例如包括所述吡唑衍生物或其化妆品上可接受的盐作为活性成分,并可以与皮肤病学上可接受的赋形剂一起制成基础化妆品组合物(爽肤水、面霜、精华素、洁面泡沫和洁面水等清洁剂、面膜、身体油)、彩色化妆品组合物(粉底、口红、睫毛膏、妆前乳)、发品组合物(洗发水、润丝、护发素、发胶)及肥皂等形式。

[0238] 所述赋形剂可以包括例如皮肤软化剂、皮肤渗透促进剂、着色剂、香料、乳化剂、增稠剂及溶剂,更具体地,可以包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、小麦粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石粉、氯化钠、无水脱脂牛奶、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等,但并不限于此。

[0239] 此外,本发明还提供一种用于预防或改善癌症的食品组合物,其包括所述吡啶衍生物或其食品上可接受的盐作为活性成分。

[0240] 所述食品组合物包括例如所述吡啶衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分,当将所述吡啶衍生物作为食品组合物的添加剂使用时,可以直接添加或与其他食品或食品成分一起使用,并可以根据常规方法适当使用。一般在制造食品或饮料时,本发明的组合物以原料为基础添加量为15重量%以下,优选10重量%以下。然而,在为了健康卫生或健康管理的目的而长期摄取的情况下,可以低于上述范围,由于在安全性方面没有问题,因此也可以以高于上述范围的量使用活性成分。即,可以根据预防、保健或治疗等各种使用目的适当确定活性成分的混合量。

[0241] 所述食品组合物的剂型可以是粉剂、颗粒剂、丸剂、片剂、胶囊剂的形式、也可以是任何一般食品或饮料的形式。

[0242] 本发明的食品可以采用本领域常用的方法制造,并可以在制造过程中添加本领域常用的原料和配料来制造。具体地,其可以包括蛋白质、碳水化合物、脂肪、营养素、调味剂和增香剂,所述碳水化合物的示例包括但不限于葡萄糖、果糖、麦芽糖、蔗糖、寡糖、糊精、环糊精、木糖醇、山梨醇、赤藓糖醇、糖精或合成增香剂。

[0243] 此外,本发明还提供一种用于预防或改善癌症的饲料组合物,其包括所述吡啶衍生物或其饲料上可接受的盐作为活性成分。

[0244] 所述饲料组合物包括例如所述吡啶衍生物或其饲料上可接受的盐作为活性成分,本发明中,术语“饲料”是指任何供牲畜摄食和消化或适合其的天然或人工的饲料、膳食等或上述膳食的成分。所述饲料可以包括饲料添加剂或补充饲料。

[0245] 所述饲料的种类没有特别限制,可以使用相关技术领域常用的饲料。上述饲料的非限制性例子包括植物饲料,例如谷物、根、食品加工副产品、藻类、纤维、药物副产品、脂肪、淀粉、粗粉或谷物副产品;动物饲料,例如蛋白质、无机物质、脂肪、矿物质、油脂、单细胞蛋白质、浮游动物或食物。这些可以单独使用或两种或多种组合使用。

[0246] 实施例中使用的术语仅用于描述目的,不应被视为限制。在内容中没有特别说明的情况下,单数表达包括复数含义。在本说明书中,“包括”或者“具有”等术语用于表达存在说明书中所记载的特征、数字、步骤、操作、构成要素、配件或其组合,并不排除还具有一个或以上的其他特征、数字、步骤、操作、构成要素、配件或其组合,或者附加功能。

[0247] 在没有其他定义的情况下,包括技术或者科学术语在内的在此使用的全部术语,都具有本领域普通技术人员所理解的通常的含义。通常使用的与词典定义相同的术语,应理解为与相关技术的通常的内容相一致的含义,在本申请中没有明确言及的情况下,不能过度理想化或解释为形式上的含义。

[0248] 在对实施例的组件的描述中,可以使用第一、第二、A、B、(a)、(B)等术语。这些术语仅用于区分其构成元素和另一构成元素,该元素的性质、序列或顺序不受这些术语的限制。当一构成元素被描述为“连接”、“耦合”或“接触”到另一构成元素时,应理解为其构成元素可以直接连接或接触到另一构成元素,也可以理解为另一构成元素“连接”、“耦合”或“接触”到各构成元素之间。

[0249] 以下,将参照附图对实施例进行详细说明。然而,能够对实施例进行多种变更,本发明的权利范围并非受到这些实施例的限制或限定。对于实施例的全部应变、等同物或替

代物均包括在权利范围内。

[0250] 并且,在参照附图进行说明的过程中,与附图标记无关,相同的构成要素赋予相同的附图标记,并省略对此的重复的说明。在描述实施例的过程中,当判断对于相关公知技术的具体描述会不必要地混淆实施例时,将省略对其详细描述。

[0251] 本发明可以以各种方式进行修改并具有各种实施例,因此在附图中示出了特定实施例并在以下的详细描述中进行了详细描述。然而,这并不意味着将本发明限制于特定实施例,而应理解其包括本发明的精神和技术范围内包括的所有修改、等同物或替代物。在描述本发明过程中,当判断对于相关公知技术的具体描述会不必要地混淆本发明的主旨时,将省略对其详细描述。

[0252] 实施例1、一般制备方法

[0253] 实施例1.1、吡啶的N-烷基化反应(程序A)

[0254] 方法I:将烷基卤化物(1.1当量)加入到DMF中6-硝基吡啶(1.0当量)和 Cs_2CO_3 (1.5当量)的混合物中,在室温至60℃搅拌4小时。反应完成后,将反应混合物冷却至室温,加入水,并用乙酸乙酯萃取两次。收集有机层,用水洗涤三次,用 MgSO_4 干燥,并在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0255] 方法II:在0℃下,将DIAP(偶氮二甲酸二异丙酯,1.1当量)加入到无水THF中的6-硝基吡啶(1.0当量)、 Ph_3P (1.1当量)和2-取代乙醇(1.1当量)的混合物中,并在室温下搅拌4小时。反应完成后,在真空(in vacuo)中浓缩并除去溶剂,通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0256] 方法III:在0℃下,将1,3-二溴乙烷或1,3-二溴丙烷(1.2当量)加入到DMF中的3-甲基-6-硝基吡啶(1.0当量)和 Cs_2CO_3 (1.5当量)的混合物中。将反应混合物在室温下搅拌18小时,然后加水进行淬灭。用乙酸乙酯萃取反应混合物,并用水洗涤。用 MgSO_4 干燥有机层,并在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0257] 实施例1.2、氢化反应(程序B)

[0258] 将10%的Pd/C加入到MeOH-THF或MeOH共溶液中起始原料(1.0当量)的溶液中,脱气并重新充入氢气。在室温下搅拌混合物2-4小时。反应完成后,将反应混合物通过硅藻土过滤,并用MeOH洗涤两次。将过滤物在真空(in vacuo)下浓缩,通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0259] 实施例1.3、酰胺偶联反应(程序C)

[0260] 方法I:在室温下,将 RNH_2 (1.0当量)加入到DCM中羧酸(1.1当量)、HOBt(1.5当量)、三乙胺(2.0当量)和EDC·HCl(1.5当量)的溶液中,反应15小时。反应完成后,用乙酸乙酯萃取有机化合物,并用清水洗涤数次。用盐水洗涤合并的有机层,用 MgSO_4 进行干燥,并在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0261] 方法II:将THF中的 RNH_2 或 $\text{R}_1\text{R}_2\text{NH}$ (1.0当量)加入到2M的NaOH(aq)中,在室温下搅拌,然后逐滴加入酰氯(1.2当量),并在室温下搅拌2小时。除去溶剂后,用1M的HCl(aq)酸化混合物。用乙酸乙酯萃取有机化合物,用水洗涤,用 Na_2SO_4 干燥,并在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0262] 方法III:将 SOCl_2 (0.5mL)加入到DCM中的羧酸(1.0当量)和催化量的DMF的混合物中,并在室温下搅拌2小时。反应完成后,除去溶剂,将反应混合物溶解于DCM,并在0℃下加

入胺(1.0当量)和 Et_3N (2.0当量)。在室温下一小时后,通过硅胶柱色谱法纯化粗混合物,从而得到目标产物。

[0263] 实施例1.4、Boc脱保护(程序D)

[0264] 在 0°C 下将TFA(20.0当量)逐滴加入到DCM中Boc-保护的化合物的溶液中,并在室温下搅拌2-4小时。除去溶剂,通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0265] 实施例1.5、还原胺化反应(程序E)

[0266] 方法I:向MeOH中的一级芳胺(1.0当量)、酮或醛(1.0当量)的混合物中加入乙酸(5.0当量),然后加入 NaBH_3CN (3.0当量),并在 40°C 下搅拌。16小时后,用 $\text{NaHCO}_3(\text{aq})$ 将反应混合物碱化,然后用DCM萃取。在真空(in vacuo)中浓缩有几层,并通过硅胶柱色谱法进行纯化,从而得到目标产物。

[0267] 方法II:向DCM(2mL)中胺(1.0当量)和四氢-4H-吡喃-4-酮(5.0当量)的溶液加入TFA(0.1mL),然后加入 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (5.0当量),在室温下搅拌18小时。将混合物用10%的 $\text{K}_2\text{CO}_3(\text{aq})$ 中和,用DCM萃取,并用水洗涤。用 Na_2SO_4 干燥有机层,在真空(in vacuo)中浓缩,并通过分馏层析纯化,从而得到目标产物。

[0268] 实施例1.6、哌啶衍生物的制备(程序F)

[0269] 方法I:向将2-(哌啶-4-基)乙基取代的中间体(1.0当量)加入到DCM中的EDC·HCl(1.5当量)、丁炔酸(2.0当量)、 Et_3N (2.0当量)和HOBt(1.5当量)的混合物中。搅拌15小时后,用乙酸乙酯萃取混合物,并用盐水洗涤。用 MgSO_4 干燥有机层,并在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0270] 方法II:将 Et_3N (2.0当量)加入到DCM中的2-(哌啶-4-基)乙基取代中间体(1.0当量)的混合物中,然后在 0°C 下加入丙烯酰氧基氯(2.0当量)。将反应混合物在室温下搅拌3小时,用乙酸乙酯萃取,并用盐水洗涤。用 MgSO_4 干燥有机层,并在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0271] 实施例1.7、哌嗪衍生物的制备(程序G)

[0272] 将N-甲基哌嗪(3.0当量)加入到乙腈中的2-溴乙基或2-溴丙基吡啶中,并在室温下搅拌15小时。用DCM稀释反应混合物,用水洗涤两次,用 MgSO_4 干燥,在真空(in vacuo)下浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0273] 实施例1.8、苯酚的O-烷基化反应(程序H)

[0274] 方法I:在 40°C 下将DMF(4mL)中的ROH(1.0当量)、RX(1.5当量)和 K_2CO_3 (2.0当量)的混合物搅拌3小时。将反应混合物冷却至室温,用乙酸乙酯萃取,并用水洗涤。用无水 Na_2SO_4 干燥有机层,在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0275] 方法II:将烷基卤化物(2.0当量)加入到EtOH中ROH(1.0当量)和20%的NaOH(aq, 10当量)的溶液中。将反应混合物在回流搅拌18小时。反应完成后,除去溶剂,用1M的HCl(aq)酸化残留物,并用乙酸乙酯萃取。用水洗涤有机层,并用无水 Na_2SO_4 干燥有机层,在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0276] 方法III:室温下,将 K_2CO_3 (2.0当量)、KI(2.0当量)、CuI(0.05当量)和RX(1.1当量)加入到DMF(2mL)中的ROH(1.0当量)溶液中,反应15小时。用乙酸乙酯萃取混合物,并用水洗。用无水 Na_2SO_4 干燥有机层,在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从

而得到目标产物。

[0277] 实施例1.9、2,2-二烷基-2H-色烯的制备(程序I)

[0278] 方法I(分子内环化):将邻二甲苯(2mL)中的起始原料溶液在180℃下加热1小时。蒸发溶剂,用乙酸乙酯萃取残留物,并用水洗涤。用 Na_2SO_4 干燥有机层,在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0279] 方法II(分子间环化):将3-甲基-2-丁烯醇(2.0当量)、无水氯化钙(1.0当量)和三乙胺(2.0当量)加入到乙醇中的苯酚衍生物(1.0当量)溶液中,回流2小时。除去溶剂,稀释残留物,用乙酸乙酯萃取,用 MgSO_4 干燥,在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0280] 实施例1.10、平尼克氧化(Pinnick oxidation)反应(程序J)

[0281] 在0℃下,向乙腈中醛(1.0当量)、30%的 H_2O_2 (1.0当量)和 NaH_2PO_4 (0.2当量)的混合物中加入 NaClO_2 (1.5当量)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。用水将混合物淬灭,用乙酸乙酯萃取,并用 MgSO_4 干燥。通过硅胶柱色谱法对残留物进行纯化,从而获得目标产物。

[0282] 实施例1.11、水解反应(程序K)

[0283] 向EtOH(4mL)及 H_2O (1mL)中腈衍生物(1.0当量)的溶液加入NaOH(10.0当量)。将反应混合物在120℃下(在密封管中)搅拌3小时。用2N HCl(aq)酸化混合物,用乙酸乙酯萃取,用无水 Na_2SO_4 干燥,并在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0284] 实施例1.12、铃木偶联(Suzuki Coupling)反应(程序L)

[0285] 将EtOH: H_2O (1:1)或BuOH: H_2O (1:1)中硼酸(1.0当量)、RBr(1.0当量)、 K_2CO_3 (3.0当量)及 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.05当量)的混合物在90℃或110℃下搅拌。蒸发溶剂,将粗混合物溶解于水中,并通过硅藻土过滤。用甲酸将过滤物酸化至pH3,并用乙酸乙酯萃取。用无水 Na_2SO_4 干燥有机层,并在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0286] 实施例1.13、苄基脱保护(程序M)

[0287] 将1-氯乙基氯甲酸酯(1.0当量)添加至DCM中RBn的溶液中,回流1小时。通过加入 NaHCO_3 (aq)完成反应,用DCM萃取,用 MgSO_4 干燥,并在真空(in vacuo)中浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到目标产物。

[0288] 实施例1.14、邻苯二甲酰亚胺脱保护(程序N)

[0289] 将EtOH中RPhth(1.0当量)的溶液中加入水合肼(5.0当量),并在室温下搅拌15小时。过滤固体残留物,并在真空(in vacuo)中浓缩过滤物。残留物无需纯化即可用于下一步骤。

[0290] 实施例2、6-氨基吡啶衍生物的制备

[0291] 6-氨基吡啶衍生物的制备方法如下列反应式1所示。此时,(a)[方法A] RX 、 Cs_2CO_3 、DMF、室温、15小时;[方法B] ROH 、DEAD、 Ph_3P 、THF、室温、15小时;(b) H_2 、10%Pd/C、THF-MeOH、室温、2小时;(c)29、EDC·HCl、HOBt、 Et_3N 、DCM、室温、15小时;(d)TFA、DCM、室温、3小时;(e)对于7k、8k和7m,[方法A](i) $(\text{HCHO})_n$ 、 ZnCl_2 、MC,(ii) NaBH_4 ;对于7l、7n,[方法B]1-甲基哌嗪、 K_2CO_3 、 CH_3CN 、70℃、3小时;(f)对于11o,[方法A] RCI 、 Et_3N 、MC、0℃至室温、3小时;对于11p,[方法B] RCOOH 、EDC·HCl、HOBt、 Et_3N 、MC、室温、15小时。

1 $R_1 = \text{Me}$
 2 $R_1 = \text{H}$

3a-3j $R_1 = \text{Me}$
 4g $R_1 = \text{H}$

5a-5g $R_1 = \text{Me}$

6a-6g $R_1 = \text{Me}$

7k-7n $R_1 = \text{Me}$
 8k $R_1 = \text{H}$

9k-9n $R_1 = \text{Me}$
 10k $R_1 = \text{H}$

11k-11p $R_1 = \text{Me}$
 12k $R_1 = \text{H}$



29

a R₂ = H b R₂ = Me c R₂ = (CH₂)₂OCH₃ d R₂ = (吗啉-4-基) 乙基 e R₂ = (吡啶-3-基) 乙基 f R₂ = (吡啶-4-基) 乙基	g R₂ = (N-Boc-哌啶-4-基) 乙基 h R₂ = (N-Boc-哌啶-4-基) 丙基 i R₂ = 溴乙基 j R₂ = 溴丙基	k R₂ = (1-甲基哌啶-4-基) 乙基 l R₂ = (4-甲基哌啶-1-基) 乙基 m R₂ = (1-甲基哌啶-4-基) 丙基 n R₂ = (4-甲基哌啶-1-基) 丙基 o R₂ = (1-丁基-2-丙基哌啶-4-基) 乙基 p R₂ = (1-丙基哌啶-4-基) 乙基
--	---	--

[0303] 实施例2.2、N-(1,3-二甲基-1H-吡唑-6-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-

甲酰胺(化学式1-2,6b)的制备

[0304] 实施例2.2.1、1,3-二甲基-6-硝基-1H-吡唑(1,3-Dimethyl-6-nitro-1H-indazole) (3b)的制备使用程序A-方法I,从化合物1及碘乙烷制备出黄色固体的化合物3b,产率为62%。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ8.58 (dd, J=1.83, 0.75Hz, 1H), 7.81 (dd, J=9.15, 2.01Hz, 1H), 7.63 (dd, J=9.15, 0.57Hz, 1H), 4.16 (s, 3H), 2.56 (s, 3H)。

[0305] 实施例2.2.2、1,3-二甲基-1H-吡唑-6-胺(1,3-Dimethyl-1H-indazole-amine) (5b)的制备

[0306] 使用程序B,从化合物3b制备出微红色固体的化合物5b,产率为92%。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ7.37 (d, J=8.22Hz, 1H), 5.22-6.50 (m, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.85 (brs, 2H), 2.46 (s, 3H)。

[0307] 实施例2.2.3、N-(1,3-二甲基-1H-吡唑-6-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(N-(1,3-dimethyl-1H-indazole-6-yl)-5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (6b)的制备

[0308] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物5b及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物6b,产率为87%。mp 166-1s67°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ9.90 (s, 1H), 8.31 (d, J=1.28Hz, 1H), 7.98 (d, J=8.64Hz, 1H), 7.95 (d, J=8.48Hz, 1H), 6.86 (dd, J=8.56, 1.68Hz, 1H), 6.72 (d, J=8.68Hz, 1H), 6.59 (d, J=10.0Hz, 1H), 5.72 (d, J=10.0Hz, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 1.46 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺ 378。

[0309] 实施例2.3、5-甲氧基-N-(1-(2-甲氧基乙基)-3-甲基-1H-吡唑-6-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-3,6c)的制备

[0310] 实施例2.3.1、1-(2-甲氧基乙基)-3-甲基-6-硝基-1H-吡唑(1-(2-Methoxyethyl)-3-methyl-6-nitro-1H-indazole) (3c)的制备

[0311] 使用程序A-方法I,从化合物1及2-溴乙基甲醚制备出黄色固体的化合物3c,产率为42%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.39 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.95 (dd, J=8.4, 1.6Hz, 1H), 7.71 (d, J=8.8Hz, 1H), 4.54 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.81 (t, J=5.2Hz, 2H), 3.29 (s, 3H), 2.60 (s, 3H)。

[0312] 实施例2.3.2、1-(2-甲氧基乙基)-3-甲基-1H-吡唑-6-胺(1-(2-Methoxyethyl)-3-methyl-1H-indazole-6-amine) (5c)的制备

[0313] 使用程序B,从所述化合物3c制备出微红色固体的化合物5c,产率为95%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.37 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.54-6.50 (m, 2H), 4.32 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.82 (brs, 2H), 3.76 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.30 (s, 3H), 2.47 (s, 3H)。

[0314] 实施例2.3.3、5-甲氧基-N-(1-(2-甲氧基乙基)-3-甲基-1H-吡唑-6-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-N-(1-(2-methoxyethyl)-3-methyl-1H-indazole-6-yl)-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (6c)的制备

[0315] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物5c及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物6c,产率为73%。mp 113-114°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ9.92 (s, 1H), 8.31 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.98 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.54 (d, J=8.8Hz, 1H), 6.93 (dd, J=8.8, 2.0Hz, 1H), 6.73 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.60 (d, J=9.6Hz, 1H), 5.73 (d, J=10Hz, 1H), 4.48 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.82 (t, J=5.2Hz, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.54 (s, 3H), 1.47 (s, 6H)。ESI-MS [M+

H]⁺422。

[0316] 实施例2.4、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-吗啉基乙基)-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-4,6d)的制备

[0317] 实施例2.4.1、4-(2-(3-甲基-6-硝基-1H-吲唑-1-基)乙基)吗啉(4-(2-(3-Methyl-6-nitro-1H-indazol-1-yl)ethyl)morpholine) (3d)的制备

[0318] 使用程序A-方法II,从化合物1及4-(2-羟乙基)吗啉制备出黄色固体的化合物3d,产率为61%。

[0319] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.38 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.95 (dd, J=8.8, 2.0Hz, 1H), 7.71 (d, J=8.8Hz, 1H), 4.49 (t, J=6.0Hz, 1H), 3.64 (br, 4H), 2.84 (t-like, 2H), 2.59 (s, 2H), 2.50 (br, 4H)。

[0320] 实施例2.4.2、3-甲基-1-(2-吗啉乙基)-1H-吲唑-6-胺(3-Methyl-1-(2-morpholinoethyl)-1H-indazole-6-amine) (5d)的制备

[0321] 使用程序B,从所述化合物3d制备出棕色色固体的化合物5d,产率为91%。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ7.38 (d, J=9.2Hz, 1H), 6.53-6.50 (m, 2H), 4.34 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.85 (brs, 1H), 3.72 (t, J=4.0Hz, 4H), 2.85 (br, 2H), 2.55 (br, 4H), 2.46 (s, 3H)。

[0322] 实施例2.4.3、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-吗啉及乙基)-1H-吲唑-6-基)2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-morpholinoethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (6d)的制备

[0323] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物5d及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物6d,产率为88%。mp 89-90℃。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ9.93 (s, 1H), 8.36 (d, J=0.8Hz, 1H), 7.96 (d, J=4.4Hz, 1H), 7.52 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.65 (dd, J=8.8, 1.2Hz, 1H), 6.71 (d, J=8.8Hz, 1H), 6.58 (d, J=10.0Hz, 1H), 5.71 (d, J=10.0Hz, 1H), 4.42 (t, J=7.2Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.67 (t, J=4.4Hz, 4H), 2.84 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.53-2.51 (m, 6H), 1.45 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺477。

[0324] 实施例2.5、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-5,6e)的制备

[0325] 实施例2.5.1、3-甲基-6-硝基-1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吲唑(3-Methyl-6-nitro-1-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazole) (3e)的制备

[0326] 使用程序A-方法II,从化合物1及2-(吡啶-3-基)乙醇制备出黄色固体的化合物3e,产率为73%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.41 (dd, J=5.2, 2.0Hz, 1H), 8.25 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.98 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.91 (dd, J=9.2, 2.0Hz, 1H), 7.70 (d, J=9.2Hz, 1H), 7.55-7.43 (1H, mix), 7.16 (dd, J=8.0, 4.8Hz, 1H), 4.59 (t, J=7.2Hz, 2H), 3.24 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.61 (s, 3H)。

[0327] 实施例2.5.2、3-甲基-1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吲唑-6-胺(3-Methyl-1-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazole-6-amine) (5e)的制备

[0328] 使用程序B,从所述化合物3e制备出棕色色固体的化合物5e,产率为92%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.43 (d, J=4.8Hz, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.37 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.35 (dt, J=7.6, 2.0Hz, 1H), 7.12 (dd, J=7.6, 4.8Hz, 1H), 6.48 (dd, J=8.8, 1.6Hz, 1H), 6.25 (d, J=1.6Hz, 1H), 4.35 (t, J=7.2Hz, 2H), 7.38 (brs, 2H), 3.15 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.48 (s, 3H)。

[0329] 实施例2.5.3、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (6e)的制备

[0330] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物5e及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物6e,产率为80%。mp 119-120℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ9.91(s,1H),8.42(dd,J=5.2,2.0Hz,1H),8.38(d,J=1.6Hz,1H),8.21(d,J=0.8Hz,1H),7.97(d,J=8.8,1H),7.54(d,J=8.0Hz,1H),4.48(dt,J=7.6,1.6Hz,1H),7.17(dd,J=7.6,5.6Hz,1H),6.86(dd,J=8.8,1.6Hz,1H),6.73(d,J=8.8Hz,1H),6.60(d,J=10.0Hz,1H),5.74(d,J=10.0Hz,1H),4.16(t,J=7.2Hz,2H),3.90(s,3H),3.22(t,J=7.6Hz,2H),2.54(s,3H),1.47(s,6H)。ESI-MS[M+H]⁺469。

[0331] 实施例2.6、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-6,6f)的制备

[0332] 实施例2.6.1、3-甲基-6-硝基-1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吡唑(3-Methyl-6-nitro-1-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-1H-indazole) (3f)的制备

[0333] 使用程序A-方法II,从化合物1及2-(吡啶-4-基)乙醇制备出黄色固体的化合物3f,产率为67%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.44(dd,J=4.8,1.6Hz,2H),8.08(d,J=1.6Hz,1H),7.93(dd,J=8.4,1.6Hz,1H),7.71(d,J=8.8Hz,1H),7.02(d,J=6.0Hz,2H),4.61(t,J=7.2Hz,2H),3.24(t,J=6.8Hz,2H),2.61(s,3H)。

[0334] 实施例2.6.2、3-甲基-1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-胺(3-Methyl-1-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-1H-indazole-6-amine) (5f)的制备

[0335] 使用程序B,从所述化合物3f制备出红色固体的化合物5f,产率为90%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.45(dd,J=4.8,2.0Hz,2H),7.38(d,J=8.4Hz,1H),7.05(d,J=6.0Hz,2H),6.50(dd,J=8.8,2.0Hz,1H),6.28(d,J=1.2Hz,1H),4.37(t,J=7.2Hz,2H),3.79(s,2H),3.14(t,J=7.6Hz,2H),2.48(s,3H)。

[0336] 实施例2.6.3、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (6f)的制备

[0337] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物5f及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物6f,产率为89%。mp 150-151℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ9.91(s,1H),8.44(d,J=4.8Hz,2H),7.97(d,J=8.8Hz,1H),7.54(d,J=8.4Hz,1H),7.09(d,J=5.6,2H),6.83(dd,J=8.8,2.0Hz,1H),6.73(d,J=8.0Hz,1H),6.60(d,J=10.0Hz,1H),5.73(d,J=10.0Hz,1H),4.54(t,J=7.6Hz,2H),3.90(s,3H),3.21(t,J=8.0Hz,2H),2.54(s,3H),1.47(s,6H)。ESI-MS[M+H]⁺469。

[0338] 实施例2.7、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-7,11k)的制备

[0339] 实施例2.7.1、4-(2-(3-甲基-6-硝基-1H-吡唑-1-基)乙基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(tert-butyl 4-(2-(3-methyl-6-nitro-1H-indazol-1-yl)ethyl)piperidine-1-carboxylate) (3g)的制备

[0340] 使用程序A-方法I,从化合物1及4-(2-溴乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯制备出黄色固

体的化合物3g,产率为63%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.65(dd,J=1.9,0.7Hz,2H),7.86(dd,J=8.8,1.9Hz,1H),4.47(t,J=7.2Hz,2H),3.92-3.81(m,2H),2.67-2.53(m,2H),2.51(s,3H),1.73(q,J=7.1Hz,2H),1.68-1.62(m,2H),1.44-1.36(m,1H),1.34(s,9H),1.01(qd,J=12.2,4.2Hz,2H)。

[0341] 实施例2.7.2、3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-6-硝基-1H-吡唑(3-Methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-6-nitro-1H-indazole)(7k)的制备

[0342] 使用程序D和程序E-方法I,从所述化合物3g制备出黄色固体的化合物7k,产率为84%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.27(d,J=1.6Hz,1H),7.95(dd,J=9.2,2.0Hz,1H),7.72(d,J=8.8Hz,1H),4.39(t,J=7.2Hz,2H),2.83(d,J=11.6Hz,2H),2.59(s,3H),2.46(s,3H),2.24(s,3H),1.89-1.84(m,4H),1.73(d,J=12.8Hz,2H),1.35(qd,J=12.4,3.6Hz,2H),1.29-1.21(m,1H)。

[0343] 实施例2.7.3、3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-胺(3-Methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-amine)(9k)的制备

[0344] 使用程序B,从所述化合物7k制备出棕色固体的化合物9k,产率为98%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.37(d,J=8.8Hz,1H),6.50(dd,J=8.0,2.0Hz,1H),6.43(d,J=2.0Hz,1H),4.16(t,J=7.2,2H),3.83(s,2H),2.79(d,J=11.6Hz,2H),2.46(s,3H),2.22(s,3H),1.88-1.70(m,6H),1.36-1.20(m,3H)。

[0345] 实施例2.7.4、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide)(11k)的制备

[0346] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物9k及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物11k,产率为83%。mp 103-104°C。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ9.44(s,1H),8.33(d,J=1.2Hz,1H),7.98(d,J=8.8Hz,1H),7.54(d,J=8.8Hz,1H),6.85(dd,J=8.4,1.6Hz,1H),6.73(d,J=8.8Hz,1H),6.60(d,J=9.6Hz,1H),5.73(d,J=10.0Hz,1H),4.32(t,J=7.6Hz,2H),3.90(s,3H),2.90(d,J=9.6Hz,2H),2.53(s,3H),2.29(s,3H),1.98(t,J=11.2Hz,2H),1.86(q,J=7.2Hz,2H),1.79(d,J=12.8Hz,2H),1.46(s,6H),1.46-1.32(m,3H)。ESI-MS[M+H]⁺491。

[0347] 实施例2.8、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-8,111)的制备

[0348] 实施例2.8.1、1-(2-溴乙基)-3-甲基-6-硝基-1H-吡唑(1-(2-bromoethyl)-3-methyl-6-nitro-1H-indazole)(3i)的制备

[0349] 使用程序A-方法III,从化合物1及1,2-二溴乙烷制备出无色油状物的化合物3i,产率为49%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.39(d,J=1.6Hz,1H),7.95(dd,J=8.8,2.0Hz,1H),4.72(t,J=6.4Hz,2H),3.75(t,J=6.4Hz,2H),2.59(s,3H)。

[0350] 实施例2.8.2、3-甲基-1-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)-6-硝基-1H-吡唑(3-Methyl-1-(2-(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl)-6-nitro-1H-indazole)(71)的制备

[0351] 使用程序G,从所述化合物3i制备出淡黄色固体的化合物71,产率为97%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.39(d,J=1.6Hz,1H),7.95(dd,J=8.4,1.6Hz,1H),7.70(d,J=9.2Hz,

1H), 4.48 (t, J=6.8, 2H), 2.83 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.59 (s, 3H), 2.54 (brs, 4H), 2.40 (brs, 4H), 2.25 (s, 3H)。

[0352] 实施例2.8.3、3-甲基-1-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)-1H-吲唑-6-胺(3-Methyl-1-(2-(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl)-1H-indazol-6-amine) (9l) 的制备

[0353] 使用程序B,从所述化合物7l制备出棕色固体的化合物9l,产率为94%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.37 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.52-6.48 (m, 2H), 4.29 (t, J=7.60Hz, 2H), 3.83 (s, 2H), 2.80 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.57 (br, 4H), 2.47 (s, 3H), 2.43 (br, 4H), 2.27 (s, 3H)。

[0354] 实施例2.8.4、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (11l) 的制备

[0355] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物9l及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物11l,产率为78%。mp 90-91℃。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ9.93 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.96 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.53 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.85 (dd, J=8.4, 1.2Hz, 1H), 6.73 (d, J=8.8Hz, 1H), 6.60 (d, J=10.4Hz, 1H), 5.73 (d, J=10.0Hz, 1H), 4.16 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.66 (br, 8H), 2.52 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 1.46 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺490。

[0356] 实施例2.9、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(3-(1-甲基哌啶-4-基)丙基)-1H-异吲哚-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-9, 11m) 的制备

[0357] 实施例2.9.1、4-(2-(3-甲基-6-硝基-1H-吲唑-1-基)丙基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(tert-butyl 4-(2-(3-methyl-6-nitro-1H-indazol-1-yl)propyl)piperidine-1-carboxylate) (3h) 的制备

[0358] 使用程序A-方法I,从化合物1及4-(3-溴丙基)哌啶-1-羧酸叔丁酯制备出黄色固体的化合物3h,产率为67%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.28 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.96 (dd, J=8.8, 1.9Hz,

[0359] 1H), 7.73 (d, J=8.9Hz, 1H), 4.36 (t, J=7.2Hz, 2H), 4.04 (d, J=13.1Hz, 2H), 2.66-2.59 (m, 5H), 1.99-1.90 (m, 2H), 1.63-1.60 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.40-1.33 (m, 1H),

[0360] 1.29-1.23 (m, 2H), 1.10-0.98 (m, 2H)。

[0361] 实施例2.9.2、3-甲基-1-(3-(1-甲基哌啶-4-基)丙基)-6-硝基-1H-吲唑(3-methyl-1-(3-(1-methylpiperidin-4-yl)propyl)-6-nitro-1H-indazole) (7m) 的制备

[0362] 使用程序D和程序E-方法I,从所述化合物3h制备出黄色固体的化合物7m,产率为84%。¹H NMR (400MHz, MeOD) δ8.48 (dd, J=1.9, 0.7Hz, 1H), 7.93 (dd, J=8.8, 1.9Hz, 1H), 7.86 (dd, J=8.9, 0.7Hz, 1H), 4.42 (t, J=6.9, 2H), 2.86-2.79 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.03-1.94 (m, 2H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.68-1.62 (m, 2H), 1.24-1.09 (m, 5H)。

[0363] 实施例2.9.3、3-甲基-1-(3-(1-甲基哌啶-4-基)丙基)-1H-吲唑-6-胺(3-methyl-1-(3-(1-methylpiperidin-4-yl)propyl)-1H-indazol-6-amine) (9m) 的制备

[0364] 使用程序B,从所述化合物7m制备出浅红色固体的化合物9m,产率为91%。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ7.24 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.39 (dd, J=8.5, 1.7Hz, 1H), 6.35 (d, J=1.7Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 3.98 (t, J=7.0Hz, 2H), 2.64 (dt, J=11.3, 3.2Hz, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.76-1.65 (m, 4H), 1.51 (d, J=11.6Hz, 2H), 1.17-0.96 (m, 5H)。

[0365] 实施例2.9.4、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(3-(1-甲基哌啶-4-基)丙基)-1H-吡啶-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(3-(1-methylpiperidin-4-yl)propyl)-1H-indol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide)(11m)的制备

[0366] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物9m及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物11m,产率为89%。mp 62-63℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ9.95(s,1H),8.35(d,J=1.7Hz,1H),7.97(d,J=8.7Hz,1H),7.55(d,J=8.5Hz,1H),6.84(dd,J=8.6,1.7Hz,1H),6.73(d,J=8.6Hz,1H),6.60(d,J=10.0Hz,1H),5.74(d,J=10.0Hz,1H),4.27(t,J=7.2Hz,2H),3.91(s,9H),3.05-2.84(m,2H),2.53(s,3H),2.35(s,3H),2.16-2.02(m,2H),1.91(p,J=7.3Hz,2H),1.73-1.67(m,2H),1.47(s,6H),1.42-1.25(m,5H)。FAB-MS[M+H]⁺ 503。

[0367] 实施例2.10、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基)-1H-吡啶-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-10,11n)的制备

[0368] 实施例2.10.1、1-(3-溴丙基)-3-甲基-6-硝基-1H-吡啶(1-(3-bromopropyl)-3-methyl-6-nitro-1H-indazole)(3j)的制备

[0369] 使用程序A-方法III,从化合物1及1,3-二溴丙烷制备出无色油状物的化合物3j,产率为45%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.40(d,J=1.6Hz,1H),7.97(dd,J=8.8,1.8Hz,1H),7.73(d,J=8.8Hz,1H),4.55(t,J=6.4Hz,2H),3.34(t,J=6.2Hz,2H),2.60(s,3H),2.50(p,J=6.3Hz,2H)。

[0370] 实施例2.10.2、3-甲基-1-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基)-6-硝基-1H-吡啶(3-methyl-1-(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-6-nitro-1H-indazole)(7n)的制备

[0371] 使用程序G,从所述化合物3j制备出无色油状物的化合物7n,产率为91%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.44(d,J=1.9Hz,1H),7.94(dd,J=8.8,1.9Hz,1H),7.70(d,J=8.9Hz,1H),4.46(t,J=6.3Hz,2H),2.59(s,3H),2.70-2.25(m,8H),2.32(s,3H),2.21(t,J=6.5Hz,2H),2.08(p,J=6.4Hz,3H)。

[0372] 实施例2.10.3、3-甲基-1-(3-(4-甲基哌啶-1-基)丙基)-1H-吡啶-6-胺(3-methyl-1-(3-(4-methylpiperidin-1-yl)propyl)-1H-indazol-6-amine)(9n)的制备

[0373] 使用程序B,从所述化合物7n制备出浅红色固体的化合物9n,产率为96%。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.24(d,J=8.5Hz,1H),6.40(dd,J=8.5,1.7Hz,1H),6.35(d,J=1.3Hz,1H),5.20(s,2H),4.03(t,J=6.9Hz,2H),2.45-2.12(m,11H),2.15(t,J=7.0Hz,2H),2.10(s,3H),1.82(p,J=6.9Hz,2H)。

[0374] 实施例2.10.4、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基)-1H-吡啶-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-methoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl)-1H-indazole-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide)(11n)的制备

[0375] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物9n及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物11n,产率为57%。mp 88-89℃。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ10.21(s,1H),8.16(s,1H),7.57(d,J=8.6Hz,1H),7.40(d,J=8.5Hz,1H),7.17(dd,J=8.6,1.7Hz,1H),6.64(d,J=8.5Hz,1H),6.58(d,J=10.0Hz,1H),5.84(d,J=10.0Hz,1H),4.22(t,J=6.7Hz,2H),

3.76(s,3H),2.40(s,3H),2.50-2.02(m,8H),2.15(t,J=6.8Hz,2H),2.07(s,3H),1.89(p,J=6.9Hz,2H),1.38(s,6H).FAB-MS[M+H]⁺504。

[0376] 实施例2.11、N-(1-(2-(1-(丁-2-炔酰基)哌啶-4-基)乙基)-3-甲基-1H-吡唑-6-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-11,11o)的制备

[0377] 实施例2.11.1、4-(2-(6-氨基-3-甲基-1H-吡唑-1-基)乙基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(tert-butyl 4-(2-(6-amino-3-methyl-1H-indazol-1-yl)ethyl)piperidine-1-carboxylate)(5g)的制备

[0378] 使用程序B,从按照实施例2.7.1制备的3g制备出白色固体的化合物5g,产率为99%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.40(d,J=8.6Hz,1H),6.56(dd,J=8.5,1.8Hz,1H),6.50(d,J=1.8Hz,1H),4.19(t,J=7.4Hz,2H),4.13-3.98(m,2H),2.70-2.61(m,2H),2.47(s,3H),1.79(q,J=7.2Hz,2H),1.73-1.66(m,2H),1.45-1.37(m,10H),1.20-1.09(m,2H)。

[0379] 实施例2.11.2、4-(2-(6-(5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺基)-3-甲基-1H-吡唑-1-基)乙基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(tert-butyl 4-(2-(6-(5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamido)-3-methyl-1H-indazol-1-yl)ethyl)piperidine-1-carboxylate)(6g)的制备

[0380] 使用程序C-方法II,从所述化合物5g制备出白色固体的化合物6g,产率为53%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ10.00(s,1H),8.41(s,1H),7.98(d,J=8.6Hz,1H),7.59(d,J=8.6Hz,1H),6.88(dd,J=8.5,1.7Hz,1H),6.74(d,J=8.7Hz,1H),6.60(d,J=9.9Hz,1H),5.74(d,J=10.3Hz,1H),4.41(t,J=7.5Hz,2H),4.10-4.02(m,2H),3.91(s,3H),2.71-2.62(m,2H),2.59(m,3H),1.88(q,J=7.0Hz,2H),1.78-1.70(m,2H),1.47(s,6H),1.43(s,

[0381] 10H),1.22-1.12(m,2H)。

[0382] 实施例2.11.3、N-(1-(2-(1-(丁-2-炔酰基)哌啶-4-基)乙基)-3-甲基-1H-吡唑-6-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(N-(1-(2-(1-(but-2-ynoyl)piperidin-4-yl)ethyl)-3-methyl-1H-indazol-6-yl)-5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide)(11o)的制备

[0383] 使用程序D和程序F-方法I,从所述化合物6g制备出白色固体的化合物11o,产率为26%。mp 71-72℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ9.96(s,1H),7.98(d,J=8.6Hz,1H),7.56(d,J=8.5Hz,

[0384] 1H),6.84(dd,J=8.6,1.6Hz,1H),6.74(d,J=8.7Hz,1H),6.60(d,J=10.0Hz,1H),5.74(d,J=10.0Hz,1H),4.56-4.45(m,1H),4.41-4.29(m,3H),3.91(s,3H),3.04-2.95(m,1H),2.63-2.56(m,1H),2.55(s,3H),1.99(s,3H),1.94-1.71(m,4H),1.63-1.51(m,1H),1.47(s,6H),1.24-1.10(m,2H).FAB-MS[M+H]⁺541。

[0385] 实施例2.12、N-(1-(2-(1-丙烯酰基哌啶-4-基)乙基)-3-甲基-1H-吡唑-6-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-12,11p)的制备

[0386] 使用程序D和程序F-方法II,从根据实施例2.11.2制备的6g制备出白色固体的化合物11p,产率为65%。mp 69-70℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ9.98(s,1H),8.40(d,J=1.3Hz,1H),7.98(d,J=8.7Hz,1H),7.56(d,J=8.5Hz,1H),6.84(dd,J=8.6,1.7Hz,1H),6.74(dd,J=8.7,0.8Hz,1H),6.64-6.52(m,2H),6.23(dd,J=16.9,2.0Hz,1H),5.74(d,J=10.0Hz,1H),5.64(dd,J=10.6,2.0Hz,1H),4.67-4.56(m,1H),4.37(t,J=7.3Hz,2H),4.01-3.94

(m,

[0387] 1H), 3.91 (s, 3H), 3.07-2.94 (m, 1H), 2.64-2.56 (m, 1H), 2.55 (s, 3H), 1.90-1.80 (m, 4H), 1.58-1.53 (m, 1H), 1.47 (s, 6H), 1.23-1.15 (m, 2H). FAB-MS [M+H]⁺ 529.

[0388] 实施例2.13、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-13, 12k)的制备

[0389] 实施例2.13.1、4-(2-(6-硝基-1H-吡唑-1-基)乙基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(tert-butyl 4-(2-(6-nitro-1H-indazol-1-yl)ethyl)piperidine-1-carboxylate) (4g)的制备

[0390] 使用程序A-方法I,从化合物2及4-(2-溴乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯制备出黄色固体的化合物4g,产率为47%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.35 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.01 (dd, J = 8.9, 2.0 Hz, 1H), 7.83 (dd, J = 8.8, 1.4 Hz, 1H), 4.50 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.14-4.01 (m, 2H), 2.73-2.56 (m, 2H), 1.91 (q, J = 7.0, 6.6 Hz, 2H), 1.47-1.41 (m, 10H), 1.79-1.68 (m, 2H), 1.27-1.12 (m, 2H)。

[0391] 实施例2.13.2、1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-6-硝基-1H-吡唑(1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-6-nitro-1H-indazole) (8k)的制备

[0392] 使用程序D和程序E-方法I,从所述化合物4g制备出黄色固体的化合物8k,产率为58%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.36-8.35 (m, 1H), 8.10 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 8.01 (dd, J = 8.8, 1.9 Hz,

[0393] 1H), 7.83 (dd, J = 8.9, 0.7 Hz, 1H), 4.50 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.03-2.85 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.08-2.02 (m, 2H), 1.94 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 1.83-1.75 (m, 2H), 1.58-1.47 (m, 5H), 1.35-1.25 (m, 1H)。

[0394] 实施例2.13.3、1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-胺(1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-amine) (10k)的制备

[0395] 使用程序B,从所述化合物8k制备出浅红色固体的化合物10k,产率为92%。¹H NMR (401MHz, CDCl₃) δ 7.77 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.46 (dd, J = 8.6, 0.7 Hz, 1H), 6.55 (dd, J = 8.5, 1.8 Hz, 1H), 6.51 (dt, J = 1.8, 0.9 Hz, 1H), 4.25 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 2.94-2.84 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 1.99-1.93 (m, 2H), 1.83 (q, J = 6.9 Hz, 2H), 1.79-1.71 (m, 2H), 1.48-1.36 (m, 2H), 1.32-1.21 (m, 1H)。

[0396] 实施例2.13.4、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (12k)的制备

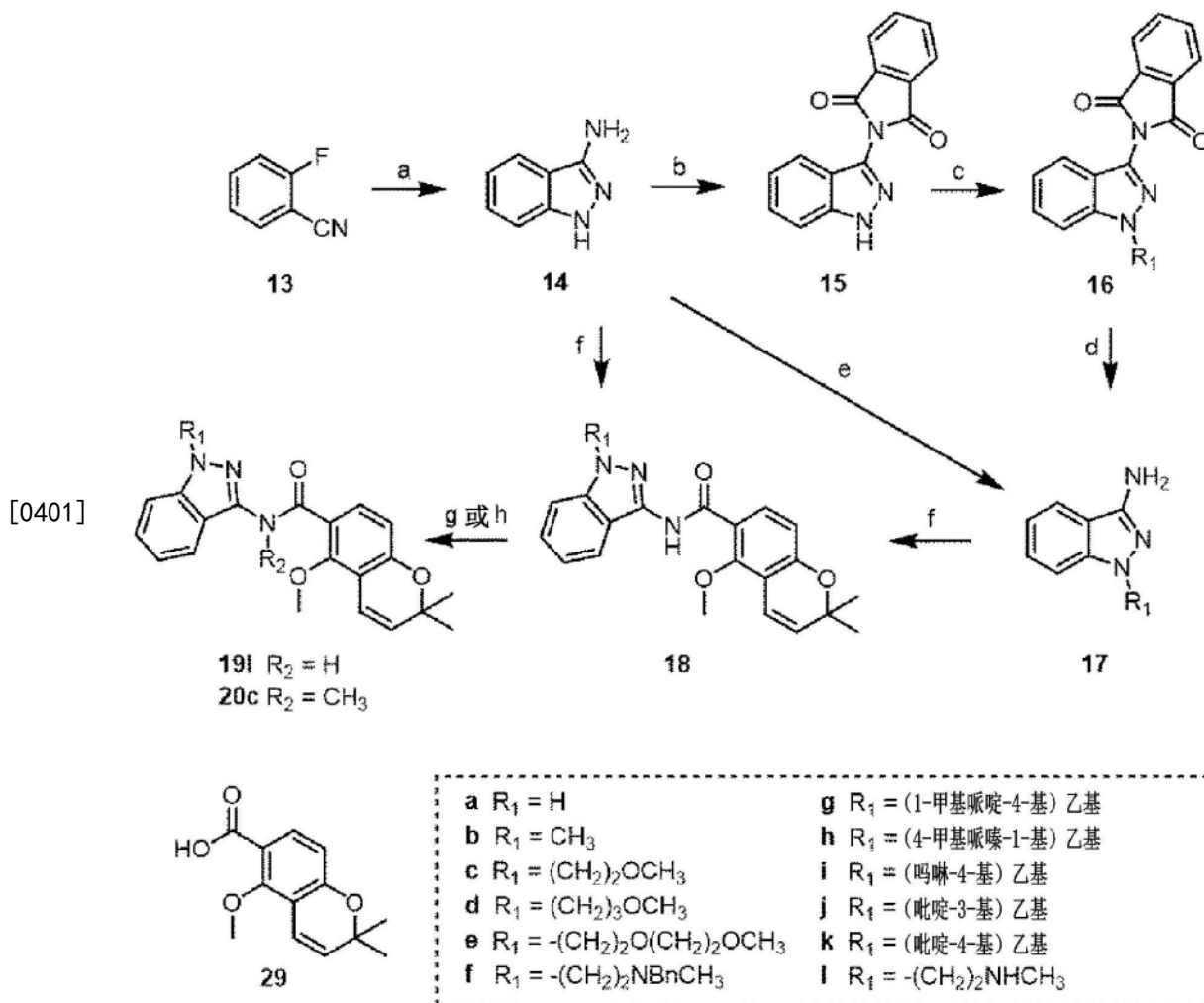
[0397] 使用程序C-方法I,从根据所述化合物10k及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物12k,产率为52%。mp 78-79°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.96 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.98 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.88 (dd, J = 8.6, 1.7 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 5.73 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.41 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.90-2.84 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.97-1.91 (m, 2H), 1.91-1.86 (m, 2H), 1.81-1.75 (m, 2H), 1.47 (s, 6H), 1.43-1.33 (m, 2H), 1.33-1.25 (m, 1H). FAB-MS [M+H]⁺ 475。

[0398] 实施例3、3-氨基吡唑衍生物的制备

[0399] 3-氨基吡唑衍生物的制备方法如下列反应式2所示。此时, (a) N₂H₄·H₂O、t-BuOH、回

流、18小时；(b) 邻苯二甲酸酐、1,4-二氧六环、回流、15小时；(c) 烷基卤化物、 Cs_2CO_3 、DMF、60℃、4小时；(d) $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、EtOH、室温、15小时；(e) 对于17k, 4-乙烯基吡啶、 K_3PO_4 、 H_2O 、微波180℃、20分钟；(f) i) 29、 $(\text{COCl})_2$ 、DMF、THF、室温、2小时, ii) 胺、TEA、DCM、室温、1小时或-20℃、4小时；(g) ACE-Cl、DCM、-5℃、2小时；(h) NaH、THF、 CH_3I 、0℃至室温、4小时。

[0400] [反应式2]



[0402] 实施例3.1、N-(1H-吡唑-3-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-14, 18a)的制备

[0403] 实施例3.1.1、1H-吡唑-3-胺(1H-indazol-3-amine) (14)的制备

[0404] 将t-BuOH中的2-氟苯胺(1.0当量)和一水合肼(1.05当量)的混合物加热并回流过夜。反应完成后,在低压下除去t-BuOH。将水添加至残留物,进行过滤,并用水进行洗涤。收集过滤物,并用乙酸乙酯萃取两次。用水洗涤有机层,并用 MgSO_4 干燥并浓缩。合并固体,并储存以备下一步使用(86%)。

[0405] ^1H NMR(400MHz, CD_3OD) δ 7.56(d, $J=7.04\text{Hz}$, 1H), 7.36-7.26(m, 2H), 6.98(ddd, $J=7.92, 5.84, 1.88\text{Hz}$, 1H)。

[0406] 实施例3.1.2、2-(1H-吡唑-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-(1H-indazol-3-yl) isoindoline-1,3-dione) (15)的制备

[0407] 在1,4-二氧六环中向所述化合物14的溶液中添加化学计量的邻苯二甲酰亚胺。将

混合物加热并回流过夜。然后将混合物在真空中蒸发,收集残留固体,用己烷洗涤,并进行干燥,从而得到灰白色的固体(产率为89%)。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ8.05-7.99 (m, 2H), 7.83-7.80 (m, 2H), 7.55 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.48-7.44 (m, 2H), 7.21-7.18 (m, 1H)。

[0408] 实施例3.1.3、N-(1H-吡唑-3-基)-5-甲氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(N-(1H-indazol-3-yl)-5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (18a)的制备

[0409] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物15及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18a,产率为86%。mp 222-223°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.31 (s, 1H), 8.08 (d, J=8.28Hz, 1H), 8.01 (d, J=8.72Hz, 1H), 7.48 (d, J=8.44Hz, 1H), 7.42 (t, J=7.88Hz, 1H), 7.18 (t, J=7.64Hz, 1H), 6.71 (d, J=8.68Hz, 1H), 6.60 (d, J=10.0Hz, 1H), 5.71 (d, J=10.0Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 1.47 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺350。

[0410] 实施例3.2、5-甲氧基-N,2,2-三甲基-N-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-15, 18b)的制备

[0411] 实施例3.2.1、2-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-(1-Methyl-1H-indazol-3-yl)isoindoline-1,3-dione) (16b)的制备

[0412] 使用程序A-方法I,从按照实施例3.1.2制备的15及碘甲烷制备出白色固体的化合物16b,产率为51%。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ8.00-7.98 (m, 2H), 7.82-7.80 (m, 2H), 7.54 (d, J=8.28Hz, 1H), 7.44-7.43 (m, 2H), 7.20-7.17 (m, 1H), 4.13 (s, 3H)。

[0413] 实施例3.2.2、1-甲基-1H-吡唑-3-胺(1-Methyl-1H-indazol-3-amine) (17b)的制备

[0414] 使用程序N,从所述化合物16b制备出棕色固体的化合物17b,产率为87%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.50 (m, J=8.4, 1H), 7.34-7.27 (m, 2H), 7.00 (m, 1H), 4.07 (brs, 2H), 3.91 (s, 3H)。

[0415] 实施例3.2.3、5-甲氧基-N,2,2-三甲基-N-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-N,2,2-trimethyl-N-(1-methyl-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (18b)的制备

[0416] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物17b及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18b,产率为92%。mp 103-104°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.10 (s, 1H), 8.07 (d, J=8.25Hz, 1H), 8.03 (d, J=8.65Hz, 1H), 7.38 (t, J=7.85Hz, 1H), 7.29 (d, J=8.55Hz, 1H), 7.13 (t, J=7.35Hz, 1H), 6.72 (d, J=8.70Hz, 1H), 6.60 (d, J=10.05Hz, 1H), 5.71 (d, J=10.0Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 1.46 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺364。

[0417] 实施例3.3、5-甲氧基-N-(1-(2-甲氧基乙基)-1H-吡唑-3-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-16, 18c)的制备

[0418] 实施例3.3.1、2-(1-甲氧基乙基-1H-吡唑-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-(1-Methoxyethyl-1H-indazol-3-yl)isoindoline-1,3-dione) (16c)的制备

[0419] 使用程序A-方法I,从按照实施例3.1.2制备的15及2-溴乙基甲醚制备出白色固体的化合物16c,产率为67%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.03-7.98 (m, 2H), 7.84-7.80 (m, 2H), 7.53 (dd, J=9.2, 0.8Hz, 2H), 7.42 (td, J=7.6, 1.2Hz, 1H), 7.18 (td, J=8.0, 0.8Hz, 1H), 4.60 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.87 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.31 (s, 3H)。

[0420] 实施例3.3.2、1-(2-甲氧基乙基)-1H-吲唑-3-胺(1-(2-Methoxyethyl)-1H-indazol-3-amine) (17c)的制备

[0421] 使用程序N,从所述化合物16c制备出棕色固体的化合物17c,产率为75%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.51 (dt, J=8.4, 0.8Hz, 1H), 7.35-7.26 (m, 2H), 7.00 (ddd, J=8.0, 6.4, 0.8Hz, 1H), 4.31 (t, J=5.2Hz, 2H), 4.03 (brs, 2H), 3.75 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.29 (s, 3H)。

[0422] 实施例3.3.3、5-甲氧基-N-(1-(2-甲氧基乙基)-1H-吲唑-3-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-N-(1-(2-methoxyethyl)-1H-indazol-3-yl)-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (18c)的制备

[0423] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物17c及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18c,产率为76%。mp 92-93°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.07 (s, 1H), 8.06 (d, J=8.8Hz, 1H), 8.03 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.40-7.35 (m, 2H), 7.12 (ddd, J=8.4, 6.0, 2.0Hz, 1H), 6.72 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.61 (d, J=10.4Hz, 1H), 5.72 (d, J=10.0Hz, 1H), 4.47 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.81 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.30 (s, 3H), 1.50 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺ 408。

[0424] 实施例3.4、5-甲氧基-N-(1-(3-甲氧基丙基)-1H-吲唑-3-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-17, 18d)的制备

[0425] 实施例3.4.1、2-(1-(3-甲氧基丙基)-1H-吲唑-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-(1-(3-Methoxypropyl)-1H-indazol-3-yl)isoindoline-1,3-dione) (16d)的制备

[0426] 使用程序A-方法I,从按照实施例3.1.2制备的15及3-溴丙基甲醚制备出白色固体的化合物16d,产率为42%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.99 (dd, J=5.6, 2.8Hz, 2H), 7.82 (dd, J=5.6, 3.2Hz, 2H), 7.54 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.50 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.44-7.40 (m, 1H), 7.20-7.16 (m, 1H), 4.55 (t, J=7.2Hz, 2H), 3.33 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.31 (s, 3H), 2.21 (五重峰, J=6.0Hz, 2H)。

[0427] 实施例3.4.2、1-(3-甲氧基丙基)-1H-吲唑-3-胺(1-(3-Methoxypropyl)-1H-indazol-3-amine) (17d)的制备

[0428] 使用程序N,从所述化合物16d制备出棕色固体的化合物17d,产率为71%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.49 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.23 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.98-6.95 (m, 1H), 4.22 (t, J=6.4Hz, 2H), 4.10 (brs, 2H), 3.24 (s, 3H), 3.24 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.05 (五重峰, J=6.0Hz, 2H)。

[0429] 实施例3.4.3、5-甲氧基-N-(1-(2-甲氧基丙基)-1H-吲唑-3-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-N-(1-(2-Methoxypropyl)-1H-indazol-3-yl)-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide) (18d)的制备

[0430] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物17d及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18d,产率为65%。mp 95-97°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.09 (s, 1H), 8.07 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.03 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.37-7.36 (m, 2H), 7.15-7.09 (m, 1H), 7.72 (d, J=8.8Hz, 1H), 6.61 (d, J=10.0Hz, 1H), 5.71 (d, J=10.0Hz, 1H), 4.40 (t, J=6.4Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.29 (s, 3H), 3.29 (t, J=5.6Hz, 2H), 2.14 (五重峰, J=6.0Hz, 2H), 1.47 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺ 422。

[0431] 实施例3.5、5-甲氧基-N-(1-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)-1H-吲唑-3-基)-2,2-二

甲基-2H-色烯-

[0432] 6-甲酰胺(化学式1-18,18e)的制备

[0433] 实施例3.5.1、2-(1-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)-1H-吡唑-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-(1-(2-(2-Methoxyethoxy)ethyl)-1H-indazol-3-yl)isoindoline-1,3-dione)(16e)的制备

[0434] 使用程序A-方法I,从按照实施例3.1.2制备的15及1-溴-2-(2-甲氧基乙氧基)乙烷制备出白色固体的化合物16e,产率为34%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.01-7.97(m,2H), 7.84-7.80(m,2H), 7.56(d,J=6.0Hz,1H), 7.52(d,J=8.0Hz,1H), 7.41(t,J=8.8Hz,1H), 7.17(t,J=7.6Hz,1H), 4.62(t,J=6.0Hz,2H), 3.97(t,J=6.0Hz,2H), 3.55-3.52(m,2H), 3.43-3.41(m,2H), 3.29(s,3H)。

[0435] 实施例3.5.2、1-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)-1H-吡唑-3-胺(1-(2-(2-Methoxyethoxy)ethyl)-1H-indazol-3-amine)(17e)的制备

[0436] 使用程序N,从所述化合物16e制备出棕色固体的化合物17e,产率为67%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.51-7.49(m,1H), 7.34-7.29(m,2H), 7.01-7.92(m,1H), 4.33(t,J=6.0Hz,2H), 3.83(t,J=6.4Hz,2H), 3.51-3.49(m,2H), 3.42-3.38(m,2H), 3.29(s,3H)。

[0437] 实施例3.5.3、5-甲氧基-N-(1-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-N-(1-(2-(2-Methoxypropyl)ethyl)-1H-indazol-3-yl)-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxamide)(18e)的制备

[0438] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物17e及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18e,产率为64%。mp 104-105℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ10.09(s,1H), 8.05(d,J=8.0Hz,1H), 8.03(d,J=8.4Hz,1H), 7.42(d,J=8.4Hz,1H), 7.36(t,J=6.3Hz,1H), 7.12(t,J=7.2Hz,1H), 6.72(d,J=8.4Hz,1H), 6.61(d,J=10.0Hz,1H), 5.72(d,J=10.4Hz,1H), 4.49(t,J=6.0Hz,2H), 3.95(s,3H), 3.91(t,J=6.0Hz,2H), 3.54-3.52(m,2H), 3.44-3.41(m,2H), 3.31(s,3H), 1.47(s,6H)。ESI-MS[M+H]⁺452。

[0439] 实施例3.6、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(1-甲基氨基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-19,19l)的制备

[0440] 使用程序M,从化合物18f制备出白色固体的化合物19l,产率为56%。mp 92-93℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ10.08(s,1H), 7.98(d,J=8.0Hz,1H), 7.95(d,J=8.8Hz,1H), 7.36-7.32(m,1H), 7.10-7.06(m,1H), 6.69(d,J=8.4Hz,1H), 6.59(d,J=10.0Hz,1H), 5.71(d,J=10.0Hz,1H), 4.52(t,J=6.0Hz,2H), 3.92(s,3H), 3.19(t,J=5.6Hz,2H), 2.51(s,3H), 1.46(s,6H)。ESI-MS[M+H]⁺407。

[0441] 实施例3.7、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-20,18g)的制备

[0442] 使用程序C-方法I,从按照化合物17g及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18g。mp 97-98℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ10.08(s,1H), 8.08(d,J=8.0Hz,1H), 8.03(d,J=8.8Hz,1H), 7.39-7.35(m,1H), 7.29(d,J=8.4Hz,1H), 7.14-7.10(m,1H), 6.72(d,J=8.8Hz,1H), 6.61(d,J=10.0Hz,1H), 7.72(d,J=10.4Hz,1H), 4.32(t,J=7.2Hz,2H), 3.94(s,3H), 2.83(d,J=11.6Hz,2H), 2.25(s,3H), 1.91-1.82(m,4H), 1.75(d,J=12.0Hz,2H), 1.48(s,6H), 1.42-1.26(m,3H)。ESI-MS[M+H]⁺475。

[0443] 实施例3.8、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-21,18h)的制备

[0444] 使用程序C-方法I,从按照化合物17h及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18h。mp 102-103°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 10.08 (s, 1H), 8.06 (d, J=8.0Hz, 1H), 8.02 (dd, 8.8, 2.8Hz, 1H), 7.38-7.32 (m, 2H), 7.11 (t, J=6.8Hz, 1H), 6.60 (d, J=10Hz, 1H), 5.71 (d, J=10.4Hz, 1H), 4.42 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 2.86 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.58-2.41 (br, 8H), 2.28 (s, 3H), 1.46 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺ 476。

[0445] 实施例3.9、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-吗啉基乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-22,18i)的制备

[0446] 实施例3.9.1、2-(1-(2-吗啉基乙基)-1H-吡唑-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-(1-(2-Morpholinoethyl)-1H-indazol-3-yl)isoindoline-1,3-dione) (16i)的制备

[0447] 使用程序A-方法I,从按照实施例3.1.2制备的15及4-(2-溴乙基)吗啉制备出白色固体的化合物16i,产率为61%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.02-7.95 (m, 2H), 7.85-7.80 (m, 2H), 7.54 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.51 (br, 1H), 7.44 (t, J=8.4Hz, 1H), 7.20 (t, J=7.6Hz, 1H), 4.61 (br, 2H), 3.71 (br, 4H), 2.98 (br, 2H), 2.56 (br, 4H)。

[0448] 实施例3.9.2、1-(2-吗啉基乙基)-1H-吡唑-3-胺(1-(2-Morpholinoethyl)-1H-indazol-3-amine) (17i)的制备

[0449] 使用程序N,从所述化合物16i制备出棕色固体的化合物17i,产率为71%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.51 (d, J=5.6Hz, 1H), 7.34 (t, J=7.2Hz, 1H), 7.27 (d-like, 1H), 7.02 (t, J=7.6Hz, 1H), 4.33 (br, 2H), 4.04 (br, 2H), 3.70 (br, 4H), 2.85 (br, 2H), 2.55 (br, 4H)。

[0450] 实施例3.9.3、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-吗啉基乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-morpholinoethyl)-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (18i)的制备

[0451] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物17i及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18i,产率为85%。mp 84-85°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 10.09 (s, 1H), 8.07 (d, J=8.0Hz, 1H), 8.02 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.39-7.33 (m, 2H), 7.14-7.10 (m, 1H), 6.71 (d, J=9.2Hz, 1H), 6.59 (d, J=9.6Hz, 1H), 5.71 (d, J=10.4Hz, 1H), 4.43 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.67 (t, J=4.4Hz, 4H), 2.85 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.52 (t, J=4.0Hz, 4H), 1.46 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺ 463。

[0452] 实施例3.10、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吡唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-23,18j)的制备

[0453] 实施例3.10.1、2-(1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吡唑-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(2-(1-(2-(Pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazol-3-yl)isoindoline-1,3-dione) (16j)的制备

[0454] 使用程序A-方法I,从按照实施例3.1.2制备的15及2-(吡啶-3-基)乙基4-甲基苯磺酸盐制备出白色固体的化合物16j,产率为67%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.49 (d, J=1.6Hz, 1H), 8.42 (d, J=3.6Hz, 1H), 8.03-7.99 (m, 2H), 7.86-7.81 (m, 2H), 7.52 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.36-7.31 (m, 2H), 7.21 (d, J=6.0Hz, 1H), 7.15 (t, J=7.2Hz, 1H), 7.09 (dd, J=7.6, 5.2Hz, 1H), 4.64 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.30 (t, J=7.2Hz, 2H)。

[0455] 实施例3.10.2、1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吲唑-3-胺(1-(2-(Pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazol-3-amine) (17j)的制备

[0456] 使用程序N,从所述化合物16j制备出棕色固体的化合物17j,产率为87%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.41-8.38 (m, 2H), 7.49 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.32 (dt, J=7.6, 2.0Hz, 1H), 7.21 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.08 (dd, J=7.6, 4.4Hz, 1H), 6.98-6.95 (m, 2H), 4.34 (t, J=7.6Hz, 2H), 4.08 (brs, 2H), 3.13 (t, J=6.8Hz, 2H)。

[0457] 实施例3.10.3、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(吡啶-3-基)乙基)-1H-吲唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (18j)的制备

[0458] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物17j及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18j,产率为89%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.12 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.43 (d, J=4.0Hz, 1H), 8.08 (d, J=8.0Hz, 1H), 8.04 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.34 (dt-like, J=7.6Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.13-7.08 (m, 3H), 7.73 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.62 (d, J=10.4Hz, 1H), 5.73 (d, J=9.6Hz, 1H), 4.51 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.22 (t, J=7.2Hz, 2H), 1.47 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺455。

[0459] 实施例3.11、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-24, 18k)的制备

[0460] 实施例3.11.1、1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-3-胺(1-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-3-amine) (17k)的制备

[0461] 将3-氨基吲唑(1.0当量)、磷酸钾(2.0当量)、4-乙烯基吡啶(1.5当量)和TBAB(20mol%)的混合物放入带有磁力搅拌棒的玻璃微波炉小瓶中。将所述小瓶放入微波炉中,在180℃下处理20分钟。反应完成后,将混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯萃取。用盐水洗涤乙酸乙酯层,并用MgSO₄干燥、浓缩。用乙酸乙酯/正己烷(1/2)作为洗脱剂,通过硅胶柱色谱法纯化残留物,从而得到灰白色固体,产率为56%。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ8.41 (br, 2H), 7.49 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.25-7.21 (m, 1H), 7.08-6.95 (m, 3H), 4.35 (t, J=7.2Hz, 2H), 3.11 (t, J=7.2Hz, 2H)。

[0462] 实施例3.11.2、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(1-(2-(吡啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-3-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-Methoxy-2,2-dimethyl-N-(1-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-3-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (18k)的制备

[0463] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物17k及实施例2.1.3制备的29制备出白色固体的化合物18k,产率为93%。mp 68-69℃。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.11 (s, 1H), 8.46 (br, 2H), 8.08 (d, J=8.0Hz, 1H), 8.03 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.30 (t, J=8.4Hz, 1H), 7.13-7.05 (m, 4H), 6.72 (d, J=8.8Hz, 1H), 6.61 (d, J=10.4Hz, 1H), 5.72 (d, J=10.4Hz, 1H), 4.52 (t, J=7.2Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.17 (t, J=6.8Hz, 2H), 1.47 (s, 6H)。ESI-MS [M+H]⁺455。

[0464] 实施例3.12、5-甲氧基-N-(1-(2-甲氧基乙基)-1H-吲唑-3-基)-N,2,2-三甲基-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-25, 20c)的制备

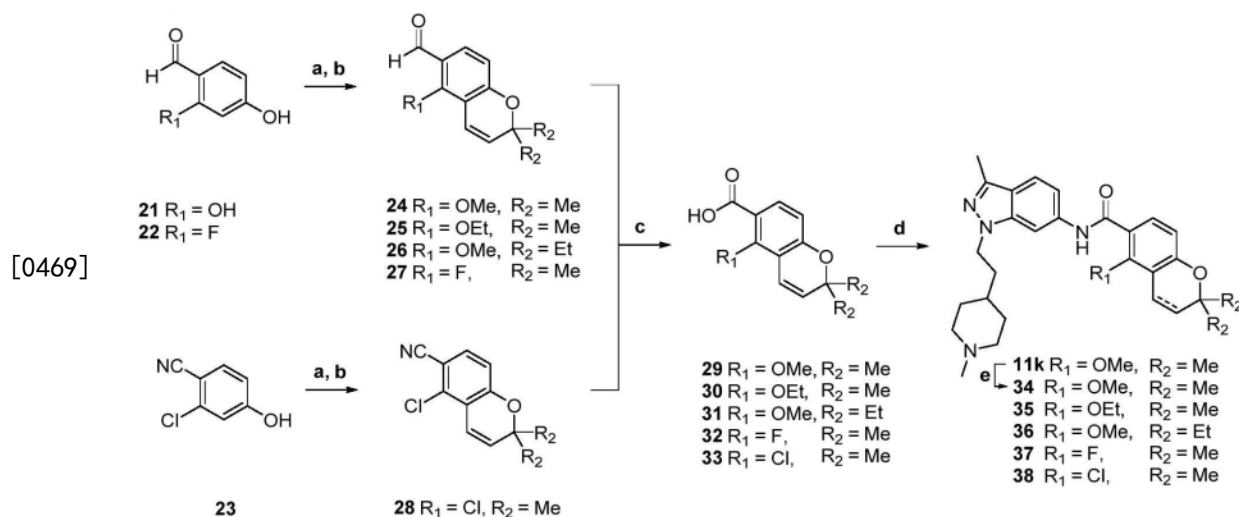
[0465] 使用程序C-方法I,从按照实施例3.3.2制备的17c及实施例2.1.3制备的29制备出化合物18c。0℃,在氮气存在下,将NaH(1.1当量)添加到无水THF中化合物18c的溶液中。搅拌混合物,一次性加入碘甲烷(3.0当量)。移除冰浴后,在室温下再搅拌混合物4小时。然后

用水淬灭反应产物,用乙酸乙酯萃取,并用 MgSO_4 干燥、浓缩,并用乙酸乙酯/己烷(1/1)作为洗脱剂通过硅胶柱色谱法进行纯化,从而得到化合物20c(白色固体,产率94%)。mp 78-79 $^{\circ}\text{C}$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.56 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.43 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.31 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.01 (t, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 6.82 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 6.39 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 6.16 (d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 5.60 (d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 4.29 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.54 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.50 (s, 6H), 3.07 (s, 3H), 1.25 (s, 6H)。ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 422。

[0466] 实施例4、2-色烯-6-羧酸衍生物的制备

[0467] 2-色烯-6-羧酸衍生物的制备方法如下列反应式3所示。此时, (a) [方法A] 3-甲基-2-丁烯醛、 CaCl_2 、 Et_3N 、 EtOH 、回流、2小时; [方法B] (i) $\text{R}_2\text{C}(\text{OH})\text{CCH}$ 、conc. HCl 、 CuCl 、 Cu 、 CaCl_2 、 0°C 、1小时, (ii) CuI 、 K_2CO_3 、 KI 、 DMF 、室温、15小时, (iii) o-二甲苯、 180°C 、1小时; (b) 对于24、25, RI 、 K_2CO_3 、 DMF 、 40°C 、3小时; (c) 对于29-32, [方法A] 27% H_2O_2 (aq)、 NaClO_2 、 NaH_2PO_4 、 CH_3CN 、 0°C 、2小时; 对于33, [方法B] NaO 、 EtOH 、 H_2O 、 120°C 、2小时; (d) 9k、 $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$ 、 HOBt 、 Et_3N 、 MC 、室温、15小时; (e) H_2 、10% Pd/C 、 MeOH 、室温、3小时。

[0468] [反应式3]



[0470] 实施例4.1、5-甲氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)色烯-6-甲酰胺(化学式1-26,34)的制备

[0471] 使用程序B,从按照实施例2.7.4制备的11k制备出白色固体的化合物34,产率为99%。mp 74-75 $^{\circ}\text{C}$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 9.91 (s, 1H), 8.34 (d, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 7.94 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.54 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 6.85 (dd, $J=8.5, 1.7\text{Hz}$, 1H), 6.73 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 4.32 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 3.89 (s, 3H), 2.95-2.87 (m, 2H), 2.81 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.03-1.92 (m, 2H), 1.91-1.75 (m, 6H), 1.46-1.39 (m, 2H), 1.36 (s, 6H), 1.34-1.30 (m, 1H)。FAB-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 491。

[0472] 实施例4.2、5-乙氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-27,35)的制备

[0473] 实施例4.2.1、5-乙氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲醛(5-ethoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carbaldehyde) (25)的制备

[0474] 使用程序I-程序II和程序A-方法I,从化合物21用碘甲烷制备出淡黄色油状物的化合物25,产率为63%。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 10.17 (s, 1H), 7.65 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 6.63

(d, $J=8.6\text{Hz}$,

[0475] 1H), 6.57 (dd, $J=10.0, 0.8\text{Hz}$, 1H), 5.66 (d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 4.03 (q, $J=7.0\text{Hz}$, 2H),

[0476] 1.45 (s, 6H), 1.43 (t, $J=7.1\text{Hz}$, 3H)。

[0477] 实施例4.2.2、5-乙氧基-2,2-二甲基-2H-色烯-6-羧酸 (5-ethoxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylic acid) (30) 的制备

[0478] 使用程序J, 从所述化合物25制备出白色固体的化合物30, 产率为55%。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 12.46 (s, 1H), 7.53 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 6.58-6.52 (m, 2H), 5.78 (d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 3.87 (q, $J=7.0\text{Hz}$, 2H), 1.35 (s, 6H), 1.26 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 3H)。

[0479] 实施例4.2.3、5-乙氧基-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-ethoxy-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (35) 的制备

[0480] 使用程序C-程序I, 从按照所述化合物30及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物35, 产率为30%。mp 72-73°C。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 10.04 (s, 1H), 7.96 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 7.55 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 6.84 (dd, $J=8.5, 1.8\text{Hz}$, 1H), 6.72 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 6.57 (d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 5.72 (d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 4.32 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 4.04 (q, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 3.05-2.95 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 2.17-2.06 (m, 2H), 1.87 (q, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 1.84-1.77 (m, 2H), 1.54-1.47 (m, 5H), 1.46 (s, 6H), 1.39-1.31 (m, 1H)。FAB-MS $[M+H]^+$ 503。

[0481] 实施例4.3、2,2-二乙基-5-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (化学式1-28, 36) 的制备

[0482] 实施例4.3.1、2,2-二乙基-5-甲氧基-2H-色烯-6-甲醛 (2,2-diethyl-5-methoxy-2H-chromene-6-carbaldehyde) (26) 的制备

[0483] 使用程序H-程序III、程序I-方法I和程序A-方法A, 从3-氯-3-乙基戊-1-炔 (3-chloro-3-ethylpent-1-yne) 和化合物21制备出无色油状物的化合物26, 产率为41%。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 10.14 (s, 1H), 7.63 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 6.69 (d, $J=10.2\text{Hz}$, 1H), 6.62 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 5.53 (d, $J=10.3\text{Hz}$, 1H), 3.88 (s, 3H), 1.86-1.57 (m, 4H), 0.93 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 6H)。

[0484] 实施例4.3.2、2,2-二乙基-5-甲氧基-2H-色烯-6-羧酸 (2,2-diethyl-5-methoxy-2H-chromene-6-carboxylic acid) (31) 的制备

[0485] 使用程序J, 从所述化合物26制备出白色固体的化合物31, 产率为67%。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 10.73 (s, 1H), 7.88 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 6.68 (dd, $J=8.7, 0.8\text{Hz}$, 1H), 6.63 (dd, $J=10.2, 0.8\text{Hz}$, 1H), 5.59 (d, $J=10.3\text{Hz}$, 1H), 3.93 (s, 3H), 1.85-1.60 (m, 4H), 0.93 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 6H)。

[0486] 实施例4.3.3、2,2-二乙基-5-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (2,2-diethyl-5-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (36) 的制备

[0487] 使用程序C-程序I,从按照所述化合物31及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物36,产率为53%。mp 66-67℃。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ10.21 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.58 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.37 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.19 (dd, J=8.7, 1.7Hz, 1H), 6.69 (d, J=10.3Hz,

[0488] 1H), 6.62 (dd, J=8.5, 0.7Hz, 1H), 5.71 (d, J=10.3Hz, 1H), 4.23 (t, J=7.1Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.94-2.80 (m, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.21-2.01 (m, 2H), 1.77-1.55 (m, 8H), 1.29-1.18 (m, 3H), 0.85 (t, J=7.4Hz, 6H)。FAB-MS[M+H]⁺517。

[0489] 实施例4.4、5-氟-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-2H-

[0490] 色烯-6-甲酰胺(化学式1-29,37)的制备

[0491] 实施例4.4.1、5-氟-2,2-二甲基-2H-色烯-6-甲醛(5-fluoro-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carbaldehyde) (27)的制备

[0492] 使用程序H-程序III和程序I-方法I,从3-氯-3-甲基丁-1-炔(3-chloro-3-methylbut-1-yne)和化合物22制备出无色油状物的化合物27,产率为21%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.16 (d, J=0.8Hz,

[0493] 1H), 7.63 (dd, J=8.6, 7.9Hz, 1H), 6.64 (dd, J=8.6, 0.9Hz, 1H), 6.57 (dd, J=10.1, 0.8Hz, 1H), 5.70 (d, J=10.1Hz, 1H), 1.47 (s, 6H)。

[0494] 实施例4.4.2、5-氟-2,2-二甲基-2H-色烯-6-羧酸(5-fluoro-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylic acid) (32)的制备

[0495] 使用程序J,从所述化合物27制备出白色固体的化合物32,产率为27%。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ7.57 (t, J=8.6Hz, 1H), 6.61 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.52 (d, J=10.1Hz, 1H), 5.85 (d, J=10.0Hz, 1H), 1.37 (s, 6H)。

[0496] 实施例4.4.3、5-氟-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(5-fluoro-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (37)的制备

[0497] 使用程序C-程序I,从按照所述化合物32及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物37,产率为40%。mp 69-70℃。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ10.32 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.59 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.43 (t, J=8.4Hz, 1H), 7.18 (dd, J=8.7, 1.6Hz, 1H), 6.71 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.58 (d, J=10.0Hz, 1H), 5.92 (d, J=10.0Hz, 1H), 4.23 (t, J=7.1Hz, 2H), 3.03-2.84 (m, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.26-2.02 (m, 2H), 1.79-1.65 (m, 4H), 1.40 (s, 6H), 1.30-1.20 (m, 3H)。FAB-MS[M+H]⁺477。

[0498] 实施例4.5、5-氯-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺(化学式1-30,38)的制备

[0499] 实施例4.5.1、5-氯-2,2-二甲基-2H-色烯-6-腈(5-chloro-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carbonitrile) (28)的制备

[0500] 使用程序H-程序III和程序I-方法I,从3-氯-3-甲基丁-1-炔(3-chloro-3-methylbut-1-yne)和化合物23制备出白色油状物的化合物28,产率为50%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.38 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.72 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.66 (d, J=10.2Hz, 1H),

5.80 (d, $J=10.2\text{Hz}$, 1H), 1.45 (s, 6H)。

[0501] 实施例4.5.2、5-氯-2,2-二甲基-2H-色烯-6-羧酸 (5-chloro-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylic acid) (33) 的制备

[0502] 使用程序K,从所述化合物28制备出白色固体的化合物33,产率为87%。程序K,白色固体,产率87%。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 13.03 (br s, 1H), 7.55 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 6.76 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 6.70 (d, $J=10.2\text{Hz}$, 1H), 5.95 (d, $J=10.1\text{Hz}$, 1H), 1.37 (s, 6H)。

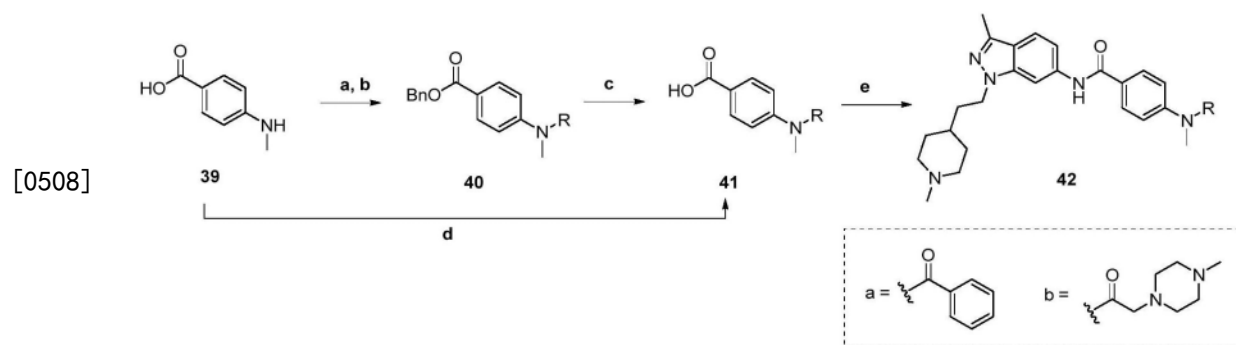
[0503] 实施例4.5.3、5-氯-2,2-二甲基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-2H-色烯-6-甲酰胺 (5-chloro-2,2-dimethyl-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-2H-chromene-6-carboxamide) (38) 的制备

[0504] 使用程序C-程序I,从按照所述化合物33及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物38,产率为35%。mp 146-147°C。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10.50 (s, 1H), 8.11 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.58 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 7.32 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 7.17 (dd, $J=8.7, 1.6\text{Hz}$, 1H), 6.82 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.69 (d, $J=10.1\text{Hz}$, 1H), 5.99 (d, $J=10.1\text{Hz}$, 1H), 4.21 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 2.70-2.62 (m, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.74-1.62 (m, 6H), 1.39 (s, 6H), 1.17-1.10 (m, 3H)。FAB-MS $[M+H]^+$ 493。

[0505] 实施例5、4-甲基氨基苯甲酰胺衍生物的制备

[0506] 4-甲基氨基苯甲酰胺衍生物的制备方法如下列反应式4所示。此时, (a) BnBr、 K_2CO_3 、DMF、室温、18小时; (b) RCI 、 Et_3N 、MC、室温、3小时; (c) H_2 、Pd/C、MeOH、室温、3小时; (d) BzCl 、NaOH、THF、 H_2O 、室温、2小时; (e) 9k、EDC·HCl、HOBT、 Et_3N 、MC、室温、15小时。

[0507] [反应式4]



[0509] 实施例5.1、N-甲基-N-(4-((3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)氨基甲酰基)苯基)苯甲酰胺 (化学式1-31, 42a) 的制备

[0510] 实施例5.1.1、4-(N-甲基苯甲酰胺基)苯甲酸 (4-(N-methylbenzamido) benzoic acid) (41a) 的制备

[0511] 使用程序C-方法II,从化合物39和苯甲酰氯制备出白色固体的化合物41a,产率为36%。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.94 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 2H), 7.32-7.25 (m, 3H), 7.18 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 7.10 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 2H), 3.53 (s, 3H)。

[0512] 实施例5.1.2、N-甲基-N-(4-((3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)氨基甲酰基)苯基)苯甲酰胺 (N-methyl-N-(4-((3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)carbamoyl)phenyl)benzamide) (42a) 的制备

的制备

[0513] 使用程序C-程序I,从按照所述化合物41a及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物42a,产率为33%。mp 201-202°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.17-8.08 (m, 2H), 7.79-7.73 (m, 2H), 7.53 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.32-7.24 (m, 3H), 7.21-7.16 (m, 2H), 7.12 (d, J=8.5Hz, 2H), 6.92 (dd, J=8.6, 1.7Hz, 1H), 4.27 (t, J=7.5Hz, 2H), 3.51 (s, 3H), 2.90-2.76 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 1.92-1.77 (m, 4H), 1.76-1.69 (m, 2H), 1.38-1.26 (m, 3H)。FAB-MS [M+H]⁺510。

[0514] 实施例5.2、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯甲酰胺(化学式1-32, 42b)的制备

[0515] 实施例5.2.1、4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯甲酸苄酯(Benzyl 4-(N-methyl-2-(4-methylpiperazin-1-yl)acetamido)benzoate) (40b)的制备

[0516] 使用程序H-方法I,将化合物39和溴化苄与氯乙酰氯进行酰化反应,然后在MC中,在Et₃N的存在下,用1-甲基哌嗪取代,从而制备出白色固体的化合物40b,产率为62%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.11 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.48-7.33 (m, 5H), 7.28 (d, J=8.6Hz, 2H), 5.37 (s, 2H), 3.28 (s, 3H), 2.96 (s, 2H), 2.70-2.37 (m, 8H), 2.32 (s, 3H)。

[0517] 实施例5.2.2、4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯甲酸(4-(N-methyl-2-(4-methylpiperazin-1-yl)acetamido)benzoic acid) (41b)的制备

[0518] 使用程序B,从所述化合物40b制备出淡黄色固体的化合物41b,产率为97%。¹H NMR (400MHz, MeOD) δ7.99 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.28 (d, J=8.4Hz, 2H), 3.26 (s, 3H), 3.03 (s, 2H), 2.96-2.79 (m, 4H), 2.74-2.43 (m, 7H)。

[0519] 实施例5.2.3、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯甲酰胺(N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(N-methyl-2-(4-methylpiperazin-1-yl)acetamido)benzamide) (42b)的制备

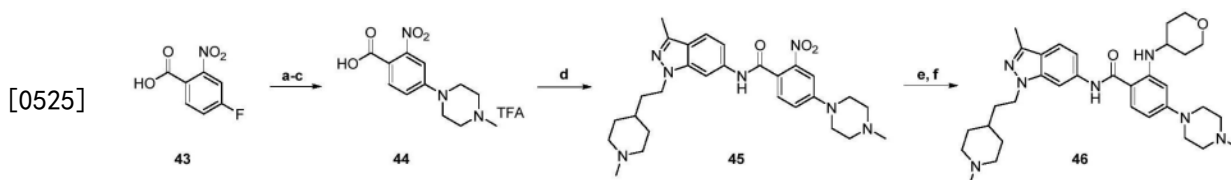
[0520] 使用程序C-方法III,从按照所述化合物41b及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物42b,产率为18%。mp 52-53°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ10.36 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.99 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.61 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.47 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.34 (dd, J=8.7, 1.6Hz,

[0521] 1H), 4.23 (t, J=7.3Hz, 2H), 3.21 (s, 3H), 2.98 (s, 2H), 2.69-2.63 (m, 2H), 2.41 (s, 3H), 2.38-2.10 (m, 8H), 2.06 (s, 3H), 1.74-1.66 (m, 4H), 1.66-1.62 (m, 2H), 1.17-1.12 (m, 3H)。FAB-MS [M+H]⁺546。

[0522] 实施例6、2,4-二取代苯甲酰胺胺衍生物的制备

[0523] 2,4-二取代苯甲酰胺胺衍生物的制备方法如下列反应式5所示。此时, (a) Boc₂O、DMAP、t-BuOH、MC、室温、20小时; (b) 1-甲基哌啶、室温、12小时; (c) TFA、MC、室温、3小时; (d) (i) SOCl₂、MC、DMF、室温、2小时; (ii) 9k、Et₃N、MC、室温、1小时; (e) H₂、10% Pd/C、甲醇、室温、3小时; (f) 四氢-4H-吡喃-4-酮、NaBH(OAc)₃、TFA、MC、室温、18小时。

[0524] [反应式5]



[0526] 实施例6.1、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-((四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)苯甲酰胺(化学式1-33,46)的制备

[0527] 实施例6.1.1、4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-硝基苯甲酸叔丁酯(*tert*-butyl 4-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-nitrobenzoate) (44)的制备

[0528] 将化合物43(1.0当量)溶解在*t*-BuOH(2mL)和MC(2mL)的混合物中。然后向混合物中添加(Boc)₂O(2.0当量)和4-(*N,N*-二甲基氨基)吡啶(0.3当量)。将反应混合物在室温下搅拌20小时。将溶剂蒸发至干,用乙酸稀释残留物,并用1M的HCl和水进行洗涤。有机层在无水Na₂SO₄上被干燥并蒸发至干。向残留物中添加了1-甲基哌嗪(2mL)。将混合物在室温下搅拌12小时。之后,向溶液中添加水(20mL),并在室温下持续搅拌12小时。通过过滤固体、用水洗涤并在40℃下干燥,得到黄色固体,然后用TFA(2mL)在MC(2mL)中脱保护,得到黄色固体的化合物44,产率为68%(TFA盐)。¹H NMR(400MHz, MeOD) δ7.82(d, *J*=8.8Hz, 1H), 7.28(d, *J*=2.5Hz, 1H), 7.18(dd, *J*=8.8, 2.6Hz, 1H), 3.69-3.09(m, 8H), 2.94(s, 3H)。

[0529] 实施例6.1.2、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-硝基苯甲酰胺(N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-nitrobenzamide) (45)的制备

[0530] 使用程序C-方法III,从按照所述化合物44及实施例2.7.3制备的9k制备出黄色固体的化合物45,产率为52%。¹H NMR(400MHz, DMSO-*d*₆) δ10.36(s, 1H), 8.12(s, 1H), 7.99(d, *J*=8.3Hz, 2H), 7.61(d, *J*=9.0Hz, 1H), 7.47(d, *J*=8.3Hz, 2H), 7.34(dd, *J*=8.7, 1.6Hz, 1H), 4.23(t, *J*=7.3Hz, 2H), 3.21(s, 3H), 2.98(s, 2H), 2.69-2.63(m, 2H), 2.41(s, 3H), 2.38-2.10(m, 8H), 2.06(s, 3H), 1.74-1.66(m, 4H), 1.66-1.62(m, 2H), 1.17-1.12(m, 3H)。

[0531] 实施例6.1.3、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-((四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)苯甲酰胺(N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)benzamide) (46)的制备

[0532] 使用程序B和程序E-方法II,从所述化合物45制备出白色固体的化合物46,产率为34%。mp 123-124℃。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.93(d, *J*=7.4Hz, 1H), 7.90(d, *J*=1.7Hz, 1H), 7.84(s,

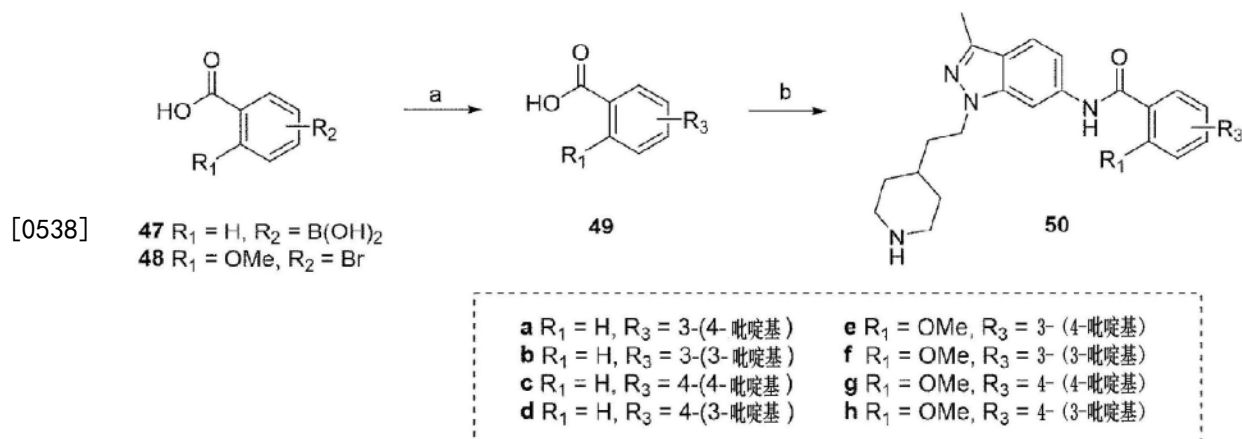
1H), 7.53(d, *J*=8.5Hz, 1H), 7.43(d, *J*=8.9Hz, 1H), 6.89(dd, *J*=8.6, 1.7Hz, 1H), 6.21(dd, *J*=8.9, 2.3Hz, 1H), 6.10(d, *J*=2.3Hz, 1H), 4.29(t, *J*=7.4Hz, 2H), 3.99(dt, *J*=11.9, 4.0Hz, 2H), 3.64-3.49(m, 3H), 3.29(t, *J*=5.1Hz, 4H), 2.90-2.82(m, 2H), 2.55(t, *J*=5.1Hz, 4H), 2.52(s, 3H), 2.35(s, 3H), 2.26(s, 3H), 2.08-2.00(m, 2H), 1.98-1.89(m, 2H), 1.84(q, *J*=7.0Hz, 2H), 1.80-1.72(m, 2H), 1.70-1.56(m, 2H), 1.46-1.33(m, 2H), 1.32-1.25(m, 1H)。FAB-MS[M+H]⁺574。

[0534] 实施例7、吡啶基苯甲酰胺衍生物的制备

[0535] 吡啶基苯甲酰胺衍生物的制备方法如下列反应式6所示。此时, (a) [方法A] 间或对溴吡啶、

[0536] $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 、 K_2CO_3 、 EtOH 、 H_2O 、 90°C 、18小时, [方法B] 间或对吡啶硼酸、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 、 K_2CO_3 、 $n\text{-BuOH}$ 、 H_2O 、 110°C 、18小时; (b) 9k、 $\text{EDC} \cdot \text{HCl}$ 、 HOBt 、 Et_3N 、 MC 、室温、15小时。

[0537] [反应式6]



[0539] 实施例7.1、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-3-(吡啶-4-基)苯甲酰胺(化学式1-34, 50a)的制备

[0540] 实施例7.1.1、3-(吡啶-4-基)苯甲酸(3-(pyridin-4-yl)benzoic acid) (49a)的制备

[0541] 使用程序L, 通过从3-羧基苯基硼酸和4-溴吡啶处理 EtOH , 从而制备出白色固体的化合物49a, 产率为73%。 ^1H NMR (401MHz, DMSO-d_6) δ 8.63 (dd, $J=4.6, 1.6\text{Hz}$, 2H), 8.25 (t, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 8.05-7.97 (m, 2H), 7.72 (dd, $J=4.6, 1.7\text{Hz}$, 2H), 7.63 (t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H)。

[0542] 实施例7.1.2、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-3-(吡啶-4-基)苯甲酰胺(N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-3-(pyridin-4-yl)benzamide) (50a)的制备

[0543] 使用程序C-方法I, 从按照所述化合物49a及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物50a, 产率为41%。mp $57\text{--}58^\circ\text{C}$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8.72-8.58 (m, 2H), 8.49 (m, 2H), 8.49 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.96 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.80 (d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 7.61 (t, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 7.57 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 7.52 (d, $J=6.2\text{Hz}$, 2H), 7.04 (dd, $J=8.6, 1.7\text{Hz}$, 1H), 4.29 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 2.89-2.81 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 1.98-1.89 (m, 2H), 1.88-1.81 (m, 2H), 1.78-1.70 (m, 2H), 1.44-1.33 (m, 2H), 1.32-1.27 (m, 1H)。FAB-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 454。

[0544] 实施例7.2、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-3-(吡啶-3-基)苯甲酰胺(化学式1-35, 50b)的制备

[0545] 实施例7.2.1、3-(吡啶-3-基)苯甲酸(3-(pyridin-3-yl)benzoic acid) (49b)的制备

[0546] 使用程序L, 通过从3-羧基苯基硼酸和3-溴吡啶在溶剂 H_2O 中处理 EtOH , 从而制备出白色固体的化合物49b, 产率为67%。 ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 8.88 (d, $J=2.6\text{Hz}$, 1H), 8.57 (dd, $J=4.7, 1.6\text{Hz}$, 1H), 8.17 (t, $J=1.9\text{Hz}$, 1H), 8.09 (dt, $J=8.0, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.99-

7.89(m,2H),7.60(t,J=7.8Hz,1H),7.48(dd,J=7.9,4.7Hz,1H)。

[0547] 实施例7.2.2、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-3-(吡啶-3-基)苯甲酰胺(N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-3-(pyridin-3-yl)benzamide)(50b)的制备

[0548] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物49b及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物50b,产率为60%。mp 56-57℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.83(s,1H),8.59(d,J=4.9Hz,1H),8.53(s,1H),8.20(s,1H),8.11(t,J=1.8Hz,1H),7.94-7.84(m,2H),7.74-7.70(m,1H),7.61-7.50(m,2H),7.35(dd,J=7.9,4.8Hz,1H),7.02(dd,J=8.6,1.7Hz,1H),4.28(t,J=7.5Hz,2H),2.86-2.77(m,2H),2.52(s,3H),2.22(s,3H),1.95-1.79(m,4H),1.76-1.68(m,2H),1.40-1.25(m,3H)。FAB-MS[M+H]⁺454。

[0549] 实施例7.3、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-4-(吡啶-4-基)苯甲酰胺(化学式1-36,50c)的制备

[0550] 实施例7.3.1、4-(吡啶-4-基)苯甲酸(4-(pyridin-4-yl)benzoic acid)(49c)的制备

[0551] 使用程序L,通过从4-羧基苯基硼酸和4-溴吡啶在溶剂H₂O中处理EtOH,从而制备出白色固体的化合物49c,产率为83%。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.64(dd,J=4.6,1.7Hz,2H),8.03(d,J=8.4Hz,2H),7.90(d,J=8.4Hz,2H),7.73(dd,J=4.3,1.6Hz,2H)。

[0552] 实施例7.3.2、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-4-(吡啶-4-基)苯甲酰胺(N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(pyridin-4-yl)benzamide)(50c)的制备

[0553] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物49c及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物50c,产率为41%。mp 156-157℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.70(d,J=5.5Hz,2H),8.23-8.20(m,2H),8.03(d,J=8.4Hz,2H),7.75(d,J=8.5Hz,2H),7.58(d,J=8.5Hz,1H),7.53(dd,J=4.7,1.5Hz,2H),6.98(dd,J=8.5,1.7Hz,1H),4.31(t,J=7.5Hz,2H),2.89-2.80(m,2H),2.54(s,3H),2.26(s,3H),1.97-1.89(m,2H),1.88-1.82(m,2H),1.78-1.72(m,2H),1.43-1.33(m,2H),1.31-1.26(m,1H)。FAB-MS[M+H]⁺454。

[0554] 实施例7.4、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-4-(吡啶-3-基)苯甲酰胺(化学式1-37,50d)的制备

[0555] 实施例7.4.1、4-(吡啶-3-基)苯甲酸(4-(pyridin-3-yl)benzoic acid)(49d)的制备

[0556] 使用程序L,通过从4-羧基苯基硼酸和3-溴吡啶在溶剂H₂O中处理EtOH,从而制备出白色固体的化合物49d,产率为44%。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.92(d,J=2.4Hz,1H),8.58(dd,J=4.8,1.6Hz,1H),8.1(dt,J=8.0,2.0Hz,1H),8.01(d,J=8.3Hz,2H),7.83(d,J=8.4Hz,2H),7.49(dd,J=8.0,4.8Hz,1H)。

[0557] 实施例7.4.2、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-4-(吡啶-3-基)苯甲酰胺(N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(pyridin-3-yl)benzamide)(50d)的制备

[0558] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物49d及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物50d,产率为35%。mp 71-72℃。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.86(s,1H),8.64(d,J=

4.8Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.21 (d, J=1.7Hz, 1H), 8.02 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.91 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.70 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.58 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.40 (dd, J=7.9, 4.8Hz, 1H), 7.01 (dd, J=8.6, 1.8Hz, 1H), 4.31 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.97-2.85 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.03-1.94 (m, 2H), 1.91-1.84 (m, 2H), 1.78-1.73 (m, 2H), 1.48-1.36 (m, 2H), 1.34-1.28 (m, 1H). FAB-MS [M+H]⁺ 454.

[0559] 实施例7.5、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-3-(吡啶-4-基)苯甲酰胺(化学式1-38, 50e)的制备

[0560] 实施例7.5.1、2-甲氧基-3-(吡啶-4-基)苯甲酸(2-methoxy-3-(pyridin-4-yl) benzoic acid) (49e)的制备

[0561] 使用程序L, 通过从3-溴-2-甲氧基苯甲酸和3-吡啶基硼酸在溶剂H₂O中处理BuOH, 从而制备出白色固体的化合物49e, 产率为55%。¹H NMR (400MHz, MeOD) δ8.68-8.49 (m, 2H), 7.82 (dd, J=7.8, 1.8Hz, 1H), 7.65 (d, J=5.1Hz, 2H), 7.57 (dd, J=7.7, 1.7Hz, 1H), 7.29 (t, J=7.7Hz, 1H), 3.53 (s, 3H)。

[0562] 实施例7.5.2、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-3-(吡啶-4-基)苯甲酰胺(2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl) ethyl)-1H-indazol-6-yl)-3-(pyridin-4-yl)benzamide) (50e)的制备

[0563] 使用程序C-方法I, 从按照所述化合物49e及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物50e, 产率为14%。mp 147-148°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.10 (s, 1H), 8.94-8.54 (m, 2H), 8.35 (d, J=1.7Hz, 1H), 8.28 (dd, J=7.9, 1.8Hz, 1H), 7.61-7.50 (m, 4H), 7.41 (t, J=7.7Hz, 1H), 6.90 (dd, J=8.6, 1.7Hz, 1H), 4.34 (t, J=7.3Hz, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.03-2.86 (m, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 2.14-1.98 (m, 2H), 1.88 (q, J=7.0Hz, 2H), 1.85-1.77 (m, 2H), 1.55-1.41 (m, 2H), 1.38-1.29 (m, 1H). FAB-MS [M+H]⁺ 484.

[0564] 实施例7.6、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-3-(吡啶-3-基)苯甲酰胺(化学式1-39, 50f)的制备

[0565] 实施例7.6.1、2-甲氧基-3-(吡啶-3-基)苯甲酸(2-methoxy-3-(pyridin-3-yl) benzoic acid) (49f)的制备

[0566] 使用程序L, 通过从3-溴-2-甲氧基苯甲酸和3-吡啶基硼酸在溶剂H₂O中处理BtOH, 从而制备出白色固体的化合物49f, 产率为36%。¹H NMR (401MHz, MeOD) δ8.71 (d, J=2.3Hz, 1H), 8.53 (dd, J=4.9, 1.6Hz, 1H), 8.04 (dt, J=7.9, 1.9Hz, 1H), 7.82 (dd, J=7.8, 1.8Hz, 1H), 7.56 (dd, J=7.6, 1.8Hz, 1H), 7.52 (dd, J=7.9, 5.0Hz, 1H), 7.34-7.26 (m, 1H), 3.50 (s, 3H)。

[0567] 实施例7.6.2、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-3-(吡啶-3-基)苯甲酰胺(2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl) ethyl)-1H-indazol-6-yl)-3-(pyridin-3-yl)benzamide) (50f)的制备

[0568] 使用程序C-方法I, 从按照所述化合物49f及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物50f, 产率为56%。mp 105-106°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.13 (s, 1H), 9.01-8.77 (m, 1H), 8.77-8.55 (m, 1H), 8.35 (d, J=1.7Hz, 1H), 8.26 (dd, J=7.8, 1.8Hz, 1H), 7.95 (dt, J=7.9, 1.9Hz, 1H), 7.57 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.53 (dd, J=7.6, 1.8Hz, 1H), 7.48-7.37 (m, 2H), 6.90 (dd, J=8.5, 1.7Hz, 1H), 4.34 (t, J=7.4Hz, 2H), 3.54 (s, 3H), 2.99-2.88 (m,

2H), 2.54 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.09-1.95 (m, 2H), 1.88 (q, $J=7.0\text{Hz}$, 2H), 1.84-1.77 (m, 2H), 1.52-1.40 (m, 2H), 1.38-1.27 (m, 1H). FAB-MS $[M+H]^+$ 484.

[0569] 实施例7.7、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(吡啶-4-基)苯甲酰胺(化学式1-40, 50g)的制备

[0570] 实施例7.7.1、2-甲氧基-4-(吡啶-4-基)苯甲酸(2-methoxy-4-(pyridin-4-yl) benzoic acid) (49g)的制备

[0571] 使用程序L, 通过从4-溴-2-甲氧基苯甲酸和4-吡啶基硼酸在溶剂 H_2O 中处理EtOH, 从而制备出白色固体的化合物49g, 产率为74%。 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.63 (dd, $J=4.5, 1.6\text{Hz}$, 2H), 7.75 (dd, $J=4.4, 1.7\text{Hz}$, 2H), 7.69 (d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 7.41 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.36 (dd, $J=7.9, 1.7\text{Hz}$, 1H), 3.89 (s, 3H)。

[0572] 实施例7.7.2、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(吡啶-4-基)苯甲酰胺(2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl) ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(pyridin-4-yl)benzamide) (50g)的制备

[0573] 使用程序C-方法I, 从按照所述化合物49g及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物50g, 产率为42%。mp 138-139°C。 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 10.01 (s, 1H), 8.71 (d, $J=4.9\text{Hz}$, 2H), 8.41 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 8.36 (d, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 7.55 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 7.53 (d, $J=6.1\text{Hz}$, 2H), 7.41 (dd, $J=8.2, 1.6\text{Hz}$, 1H), 7.25 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 6.85 (dd, $J=8.6, 1.7\text{Hz}$, 1H), 4.33 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 4.18 (s, 3H), 2.90-2.84 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 1.97-1.90 (m, 2H), 1.86 (q, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 1.82-1.75 (m, 2H), 1.43-1.32 (m, 3H). FAB-MS $[M+H]^+$ 484.

[0574] 实施例7.8、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(吡啶-3-基)苯甲酰胺(化学式1-41, 50h)的制备

[0575] 实施例7.8.1、2-甲氧基-4-(吡啶-3-基)苯甲酸(2-methoxy-4-(pyridin-3-yl) benzoic acid) (49h)的制备

[0576] 使用程序L, 通过从4-溴-2-甲氧基苯甲酸和3-吡啶基硼酸在溶剂 H_2O 中处理EtOH, 从而制备出白色固体的化合物49h, 产率为57%。 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.94 (d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.58 (dd, $J=4.8, 1.6\text{Hz}$, 2H), 8.13 (dt, $J=8.0, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.71 (d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 7.48 (dd, $J=8.0, 4.8\text{Hz}$, 1H), 7.38 (d, $J=1.4\text{Hz}$, 1H), 7.31 (dd, $J=8.0, 1.6\text{Hz}$, 1H), 3.89 (s, 3H)。

[0577] 实施例7.8.2、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-(吡啶-3-基)苯甲酰胺(2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl) ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-(pyridin-3-yl)benzamide) (50h)的制备

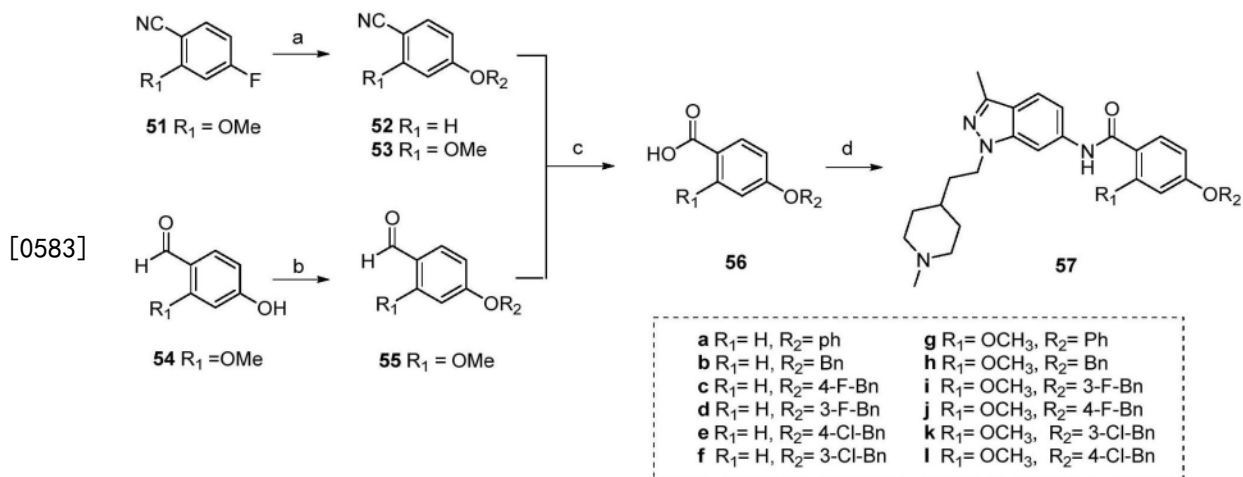
[0578] 使用程序C-方法I, 从按照所述化合物49h及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物50h, 产率为39%。mp 149-150°C。 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 10.02 (s, 1H), 8.96-8.78 (m, 1H), 8.73-8.60 (m, 1H), 8.40 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 8.36 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.92 (dt, $J=8.0, 1.8\text{Hz}$, 1H), 7.55 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 7.41 (dd, $J=8.0, 4.8\text{Hz}$, 1H), 7.36 (dd, $J=8.1, 1.6\text{Hz}$, 1H), 7.22 (d, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 6.85 (dd, $J=8.6, 1.7\text{Hz}$, 1H), 4.33 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 4.17 (s, 3H), 2.98-2.89 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.07-1.98 (m, 2H), 1.87 (q, $J=6.9\text{Hz}$, 2H), 1.83-1.75 (m, 2H), 1.50-1.38 (m, 2H), 1.35-1.27 (m, 1H). FAB-MS $[M+H]^+$ 484.

[0579] 实施例8、苯氧基、苄氧基苯甲酰胺衍生物的制备

[0580] 苯氧基、苄氧基衍生物的制备方法如下列反应式7所示。此时, (a) 苯酚、 K_2CO_3 、DMF、 $140^\circ C$ 、6小时; (b) R_2Br 、 K_2CO_3 、DMF、 $40^\circ C$ 、3小时; (c) [方法A] NaOH、EtOH、水、 $120^\circ C$ 、3小时,

[0581] [方法B] $NaClO_2$ 、 NaH_2PO_4 、 H_2O 中27%的 H_2O_2 、乙腈、 $0^\circ C$ 至室温、2小时; (d) 9k、EDC·HCl、HOBT、 Et_3N 、MC、室温、15小时。

[0582] [反应式7]



[0584] 实施例8.1、N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)-4-苯氧基苯甲酰胺(化学式1-42, 57a)的制备

[0585] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物56a及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57a,产率为67%。mp $136-137^\circ C$ 。 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 8.20 (d, $J=1.8Hz$, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.87 (d, $J=8.8Hz$, 2H), 7.57 (d, $J=8.5Hz$, 1H), 7.40 (dd, $J=8.6, 7.4Hz$, 2H), 7.22-7.17 (m, 1H), 7.09-7.04 (m, 4H), 6.90 (dd, $J=8.6, 1.7Hz$, 1H), 4.31 (t, $J=7.5Hz$, 2H), 2.87-2.76 (m, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 1.94-1.82 (m, 4H), 1.79-1.72 (m, 2H), 1.39-1.28 (m, 3H)。FAB-MS $[M+H]^+$ 469。

[0586] 实施例8.2、4-(苄氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)苯甲酰胺(化学式1-43, 57b)的制备

[0587] 使用程序C-方法I,从按照化合物56b及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57b,产率为73%。mp $150-151^\circ C$ 。 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 8.16 (d, $J=1.9Hz$, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.88 (d, $J=8.8Hz$, 2H), 7.56 (d, $J=8.5Hz$, 1H), 7.46-7.32 (m, 5H), 7.06 (d, $J=8.6Hz$, 2H), 6.96 (dd, $J=8.5, 1.7Hz$, 1H), 5.14 (s, 2H), 4.31 (t, $J=7.1Hz$, 2H), 3.09-3.00 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.24-2.21 (m, 2H), 1.89 (q, $J=7.0Hz$, 2H), 1.84-1.78 (m, 2H), 1.63-1.52 (m, 2H), 1.38-1.31 (m, 1H)。FAB-MS $[M+H]^+$ 483。

[0588] 实施例8.3、4-((4-氟苄基)氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)苯甲酰胺(化学式1-44, 57c)的制备

[0589] 使用程序C-方法I,从按照化合物56c及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57c,产率为27%。mp $149-150^\circ C$ 。 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 8.19 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.87 (d, $J=8.6Hz$, 2H), 7.56 (d, $J=8.5Hz$, 1H), 7.41 (dd, $J=8.4, 5.3Hz$, 2H), 7.12-7.02 (m, 4H), 6.90 (dd, $J=8.5, 1.7Hz$, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.31 (t, $J=7.5Hz$, 2H), 2.90-2.80 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.90-1.80 (m, 4H), 1.77-1.70 (m, 2H), 1.38-1.29 (m, 3H)。FAB-MS

[M+H]⁺501。

[0590] 实施例8.4、4-((3-氟苄基)氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺(化学式1-45,57d)的制备

[0591] 使用程序C-方法I,从按照化合物56d及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57d,产率为38%。mp 144-145°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.19 (d, J=1.7Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.87 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.56 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.36 (ddd, J=7.9, 7.9, 5.7Hz, 1H), 7.20 (ddd, J=7.5, 1.1, 1.1Hz, 1H), 7.18-7.14 (m, 1H), 7.08-7.00 (m, 3H), 6.90 (dd, J=8.6, 1.8Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.31 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.88-2.81 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.92-1.83 (m, 4H), 1.76-1.73 (m, 2H), 1.41-1.28 (m, 3H)。FAB-MS [M+H]⁺501。

[0592] 实施例8.5、4-((4-氯苄基)氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺(化学式1-46,57e)的制备

[0593] 使用程序C-方法I,从按照化合物56e及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57e,产率为24%。mp 148-149°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.18 (d, J=1.7Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.86 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.55 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.40-7.34 (m, 4H), 7.03 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.91 (dd, J=8.5, 1.7Hz, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.30 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.93-2.78 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.93-1.80 (m, 4H), 1.79-1.71 (m, 2H), 1.41-1.28 (m, 3H)。FAB-MS [M+H]⁺517。

[0594] 实施例8.6、4-((3-氯苄基)氧基)-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)苯甲酰胺(化学式1-47,57f)的制备

[0595] 使用程序C-方法I,从按照化合物56f及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57f,产率为53%。mp 136-137°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.19 (d, J=1.7Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.87 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.56 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.44 (t, J=2.1Hz, 1H), 7.34-7.29 (m, 3H), 7.05 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.90 (dd, J=8.5, 1.7Hz, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.31 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.88-2.78 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.92-1.84 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 2H), 1.40-1.27 (m, 3H)。FAB-MS [M+H]⁺517。

[0596] 实施例8.7、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡啶-6-基)-4-苯氧基苯甲酰胺(化学式1-48,57g)的制备

[0597] 实施例8.7.1、2-甲氧基-4-苯氧基苯甲腈(2-methoxy-4-phenoxybenzonitrile)(53)的制备

[0598] 将化合物51(1.0当量)、苯酚(1.5当量)及K₂CO₃(2.0当量)的混合物在DMF(4mL)中在140°C下加热6小时。将反应混合物冷却至室温,用水淬灭,并用EA萃取。通过无水硫酸钠将有机层干燥并进行浓缩。通过硅胶柱色谱进行纯化(正己烷(Hex):乙酸乙酯(EA)=10:1),从而制备出白色固体的化合物53,产率为95%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.45 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.40 (dd, J=8.5, 7.4Hz, 2H), 7.24-7.19 (m, 1H), 7.06 (dd, J=8.6, 1.2Hz, 2H), 6.56 (d, J=2.2Hz, 1H), 6.48 (dd, J=8.6, 2.2Hz, 1H), 3.85 (s, 3H)。

[0599] 实施例8.7.2、2-甲氧基-4-苯氧基苯甲酸(2-methoxy-4-phenoxybenzoic acid)(56g)的制备

[0600] 使用程序K,从所述化合物53制备出白色固体的化合物56g,产率为88%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.49 (br s, 1H), 8.10 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.47-7.37 (m, 2H), 7.24-7.20

(m, 1H), 7.12-7.03 (m, 2H), 6.65 (d, J=2.2Hz, 1H), 6.60 (dd, J=8.8, 2.2Hz, 1H), 4.00 (s, 3H)。

[0601] 实施例8.7.3、2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)-4-苯氧基苯甲酰胺(2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)-4-phenoxybenzamide) (57g)的制备

[0602] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物56g及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57g,产率为57%。mp 84-85°C。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ9.91 (s, 1H), 8.34 (d, J=1.6Hz, 1H), 8.24 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.53 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.40 (dd, J=8.5, 7.4Hz, 2H), 7.24-7.17 (m, 1H), 7.09 (dd, J=8.6, 1.1Hz, 2H), 6.82 (dd, J=8.5, 1.7Hz, 1H), 6.70 (d, J=2.2Hz, 1H), 6.65 (dd, J=8.7, 2.2Hz, 1H), 4.31 (t, J=7.5Hz, 2H), 4.03 (s, 3H), 2.86-2.79 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 1.91-1.82 (m, 4H), 1.79-1.75 (m, 2H), 1.40-1.27 (m, 3H)。FAB-MS [M+H]⁺499。

[0603] 实施例8.8、4-(苄氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)

[0604] 苯甲酰胺(化学式1-49, 57h)的制备

[0605] 实施例8.8.1、4-(苄氧基)-2-甲氧基苯甲醛(4-(benzyloxy)-2-methoxybenzaldehyde) (55h)的制备

[0606] 使用程序H-方法I,从化合物54及苄基溴制备出白色固体的化合物55h,产率为85%。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ10.28 (d, J=0.7Hz, 1H), 7.80 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.44-7.32 (m, 5H), 6.61 (ddd, J=8.7, 2.3, 0.8Hz, 1H), 6.52 (d, J=2.2Hz, 1H), 5.12 (s, 2H), 3.87 (s, 3H)。

[0607] 实施例8.8.2、4-(苄氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-(benzyloxy)-2-methoxybenzoic acid) (56h)的制备

[0608] 使用程序J,从所述化合物55h制备出白色固体的化合物56h,产率为70%。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ10.50 (br s, 1H), 8.13 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.44-7.34 (m, 5H), 6.71 (dd, J=8.8, 2.3Hz, 1H), 6.61 (d, J=2.3Hz, 1H), 5.12 (s, 2H), 4.01 (s, 3H)。

[0609] 实施例8.8.3、4-(苄氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)苯甲酰胺(4-(benzyloxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (57h)的制备

[0610] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物56h及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57h,产率为66%。mp 123-124°C。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ9.92 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.26 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.53 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.46-7.33 (m, 5H), 6.81 (dd, J=8.6, 1.7Hz, 1H), 6.75 (dd, J=8.8, 2.3Hz, 1H), 6.63 (d, J=2.2Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.32 (t, J=7.4Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 2.98-2.88 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.05-1.95 (m, 2H), 1.87 (q, J=7.1Hz, 2H), 1.83-1.76 (m, 2H), 1.50-1.39 (m, 2H), 1.36-1.26 (m, 1H)。FAB-MS [M+H]⁺513。

[0611] 实施例8.9、4-((3-氟苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吲唑-6-基)苯甲酰胺(化学式1-50, 57i)的制备

[0612] 实施例8.9.1、4-((3-氟苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲醛(4-((3-fluorobenzyl)

oxy)-2-methoxybenzaldehyde) (55i) 的制备

[0613] 使用程序H-方法I,从化合物54及3-氟苄基溴制备出白色固体的化合物55i,产率为82%。¹H NMR (400MHz, DMSO-D₆) δ10.14 (d, J=0.7Hz, 1H), 7.63 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.48-7.37 (m, 1H), 7.32-7.26 (m, 2H), 7.20-7.11 (m, 1H), 6.77 (d, J=2.3Hz, 1H), 6.70 (ddd, J=8.7, 2.2, 0.8Hz, 1H), 5.22 (s, 2H), 3.86 (s, 3H)。

[0614] 实施例8.9.2、4-((3-氟苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-((3-fluorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic acid) (56i) 的制备

[0615] 使用程序J,从所述化合物55i制备出白色固体的化合物56i,产率为90%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.46 (br s, 1H), 8.14 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.37 (td, J=8.0, 5.8Hz, 1H), 7.18 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.14 (dt, J=9.5, 2.1Hz, 1H), 7.04 (td, J=8.3, 2.3Hz, 1H), 6.69 (dd, J=8.8, 2.3Hz, 1H), 6.61 (d, J=2.3Hz, 1H), 5.12 (s, 2H), 4.03 (s, 3H)。

[0616] 实施例8.9.3、4-((3-氟苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)苯甲酰胺(4-((3-fluorobenzyl)oxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (57i) 的制备

[0617] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物56i及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57i,产率为49%。mp 145-146°C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ9.91 (s, 1H), 8.34 (d, J=1.3Hz, 1H), 8.26 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.53 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.37 (td, J=8.0, 5.8Hz, 1H), 7.20 (dt, J=7.6, 1.2Hz, 1H), 7.17 (dt, J=9.6, 2.2Hz, 1H), 7.04 (ddt, J=8.7, 7.9, 1.6Hz, 1H), 6.81 (dd, J=8.5, 1.7Hz, 1H), 6.72 (dd, J=8.8, 2.3Hz, 1H), 6.64 (d, J=2.3Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.32 (t, J=7.3Hz, 2H), 4.06 (s, 3H), 3.02-2.88 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 2.14-1.99 (m, 2H), 1.87 (q, J=7.1Hz, 2H), 1.84-1.78 (m, 2H), 1.56-1.45 (m, 2H), 1.38-1.29 (m, 1H)。FAB-MS [M+H]⁺531。

[0618] 实施例8.10、4-((4-氟苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)苯甲酰胺(化学式1-51, 57j) 的制备

[0619] 实施例8.10.1、4-((4-氟苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲醛(4-((4-fluorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzaldehyde) (55j) 的制备

[0620] 使用程序H-方法I,从化合物54及4-氟苄基溴制备出白色固体的化合物55j,产率为75%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.28 (s, 1H), 7.80 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.40 (dd, J=8.2, 5.3Hz, 2H), 7.08 (t, J=8.7Hz, 2H), 6.60 (dd, J=8.7, 2.1Hz, 1H), 6.51 (d, J=2.2Hz, 1H), 5.07 (s, 2H), 3.88 (s, 3H)。

[0621] 实施例8.10.2、4-((4-氟苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-((4-fluorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic acid) (56j) 的制备

[0622] 使用程序J,从所述化合物55j制备出白色固体的化合物56j,产率为90%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.46 (br s, 1H), 8.14 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.40 (dd, J=8.5, 5.4Hz, 2H), 7.09 (t, J=8.6Hz, 2H), 6.70 (dd, J=8.8, 2.3Hz, 1H), 6.60 (d, J=2.3Hz, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.02 (s, 3H)。

[0623] 实施例8.10.3、4-((4-氟苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)苯甲酰胺(4-((4-fluorobenzyl)oxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (57j) 的

制备

[0624] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物56j及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57j,产率为41%。mp 126-127°C。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ9.91(s,1H),8.34(d,J=1.0Hz,1H),8.26(d,J=8.8Hz,1H),7.53(dd,J=8.5,0.7Hz,1H),7.42(dd,J=8.7,5.3Hz,2H),7.09(t,J=8.7Hz,2H),6.81(dd,J=8.5,1.7Hz,1H),6.73(dd,J=8.8,2.3Hz,1H),6.62(d,J=2.3Hz,1H),5.09(s,2H),4.33(t,J=7.2Hz,2H),4.05(s,3H),3.10-2.92(m,2H),2.53(s,3H),2.39(s,3H),2.39(s,3H),2.21-2.08(m,2H),1.92-1.80(m,4H),1.61-1.50(m,2H),1.39-1.28(m,1H)。FAB-MS[M+H]⁺531。

[0625] 实施例8.11、4-((3-氯苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)苯甲酰胺(化学式1-52,57k)的制备

[0626] 实施例8.11.1、4-((3-氯苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲醛(4-((3-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzaldehyde)(55k)的制备

[0627] 使用程序H-方法I,从化合物54及3-氯苄基溴制备出白色固体的化合物55k,产率为88%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ10.29(d,J=0.7Hz,1H),7.81(d,J=8.6Hz,1H),7.46-7.41(m,1H),7.34-7.27(m,3H),6.59(dd,J=8.7,2.2Hz,1H),6.52(d,J=2.2Hz,1H),5.09(s,2H),3.89(s,3H)。

[0628] 实施例8.11.2、4-((3-氯苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-((3-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic acid)(56k)的制备

[0629] 使用程序J,从所述化合物55k制备出白色固体的化合物56k,产率为94%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ10.44(br s,1H),8.14(d,J=8.8Hz,1H),7.44-7.41(m,1H),7.35-7.27(m,3H),6.69(dd,J=8.8,2.3Hz,1H),6.61(d,J=2.3Hz,1H),5.09(s,2H),4.03(s,3H)。

[0630] 实施例8.11.3、4-((3-氯苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)苯甲酰胺(4-((3-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide)(57k)的制备

[0631] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物56k及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物57k,产率为62%。mp 152-153°C。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ9.91(s,1H),8.33(d,J=1.6Hz,1H),8.26(d,J=8.8Hz,1H),7.53(dd,J=8.5,0.7Hz,1H),7.47-7.44(m,1H),7.34-7.30(m,3H),6.81(dd,J=8.6,1.7Hz,1H),6.72(dd,J=8.8,2.3Hz,1H),6.64(d,J=2.3Hz,1H),5.10(s,2H),4.33(t,J=7.1Hz,2H),4.06(s,3H),3.10-2.94(m,2H),2.53(s,3H),2.40(s,3H),2.26-2.09(m,2H),1.91-1.81(m,4H),1.63-1.50(m,2H),1.38-1.29(m,1H)。FAB-MS[M+H]⁺547。

[0632] 实施例8.12、4-((4-氯苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)苯甲酰胺(1-53,57l)的制备

[0633] 实施例8.12.1、4-((4-氯苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲醛(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzaldehyde)(55l)的制备

[0634] 使用程序H-方法I,从化合物54及4-氯苄基溴制备出白色固体的化合物55l,产率为90%。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ10.28(d,J=0.7Hz,1H),7.80(d,J=8.6Hz,1H),7.41-7.32(m,4H),6.58(dd,J=8.7,2.2Hz,1H),6.51(d,J=2.2Hz,1H),5.08(s,2H),3.88(s,3H)。

[0635] 实施例8.12.2、4-((4-氯苄基)氧基)-2-甲氧基苯甲酸(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxybenzoic acid) (561)的制备

[0636] 使用程序J,从所述化合物551制备出白色固体的化合物561,产率为90%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ10.45(br s, 1H), 8.13(d, J=8.8Hz, 1H), 7.43-7.30(m, 4H), 6.69(dd, J=8.8, 2.3Hz, 1H), 6.59(d, J=2.3Hz, 1H), 5.08(s, 2H), 4.02(s, 3H)。

[0637] 实施例8.12.3、4-((4-氯苄基)氧基)-2-甲氧基-N-(3-甲基-1-(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙基)-1H-吡唑-6-基)苯甲酰胺(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)-2-methoxy-N-(3-methyl-1-(2-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indazol-6-yl)benzamide) (571)的制备

[0638] 使用程序C-方法I,从按照所述化合物56k及实施例2.7.3制备的9k制备出白色固体的化合物571,产率为55%。mp 134-135°C。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ9.90(s, 1H), 8.33(d, J=1.6Hz, 1H), 8.25(d, J=8.8Hz, 1H), 7.53(d, J=8.5, 1H), 7.41-7.34(m, 4H), 6.81(dd, J=8.4, 1.7Hz, 1H), 6.72(dd, J=8.8, 2.3Hz, 1H), 6.62(d, J=2.3Hz, 1H), 5.09(s, 2H), 4.33(t, J=7.0Hz, 2H), 4.05(s, 3H), 3.21-2.96(m, 2H), 2.52(s, 3H), 2.44(s, 3H), 2.34-2.11(m, 2H), 1.93-1.81(m, 4H), 1.71-1.52(m, 2H), 1.41-1.29(m, 1H)。FAB-MS[M+H]⁺547。

[0639] 实验例1、乳腺癌细胞中筛选细胞存活率

[0640] 实验中使用了HER2阳性乳腺癌(HER2 positive breast cancer)(HER2+BC)细胞株JIMT-1(细胞接种数:1.0(JIMT)×10⁴细胞/孔(汇合度≤30%))和三阴性乳腺癌(TNBC, triple-negative breast cancer)细胞株MDA-MB-231(细胞接种数:1.0(M231)×10⁴细胞/孔(汇合度≤30%))。

[0641] 将上述细胞株在含有10%胎牛血清(FBS)、链霉素-青霉素(100U/ml)和Fungizone(0.625μg/ml)的Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM)或Eagle最低必需培养基(MEM)中培养,分别在5%的CO₂、37°C环境下进行。

[0642] 将本发明的吡唑衍生物(化学式1-1至化学式1-53)以10μM的浓度处理所述JIMT-1细胞株和MDA-MB-231细胞株72小时,然后使用MTS检测技术测量细胞存活率。此时,对照组以DMSO处理作为本发明的吡唑衍生物的未处理组(0μM)。

[0643] 具体地,将细胞附着在96孔板24小时后,用所述吡唑衍生物处理72小时,用MTS显色4小时。然后,使用Spectramax Plus384微孔板分析仪在490nm处测量吸光度,其结果如图1至图4所示。此时,对照组与实验组之间的差异通过非配对学生t检验(unpaired Students t-test)来进行验证(*p<0.01;DMSO对照组vs吡唑系列)。

[0644] 结果表明,与对照组相比,大多数所述吡唑衍生物抑制了JIMT-1细胞株和MDA-MB-231细胞株中的细胞存活率(图1至图4)。

[0645] 实验例2、体外(in vitro)抗癌效果的评估

[0646] 实验例2.1、通过浓度确认细胞存活率

[0647] 使用了HER2阳性乳腺癌细胞株,对曲妥珠单抗(trastuzumab)敏感的BT474(细胞接种数:2.0(JIMT)×10⁴细胞/孔(汇合度≤30%))、对曲妥珠单抗有抗性的JIMT-1(细胞接种数:1.0(JIMT)×10⁴细胞/孔(汇合度≤30%))、以及三阴性乳腺癌细胞株MDA-MB-231(细胞接种数:1.0(M231)×10⁴细胞/孔(汇合度≤30%))。

[0648] 分别用化合物18c(化学式1-16)和化合物11k(化学式1-7)以0(DMSO)、0.1、0.5、1、

5、10和20 μ M的浓度处理所述BT474、JIMT-1和MDA-MB-231细胞株72小时,然后使用实验例1所述的MTS测定技术来测量细胞存活率。此时,独立进行三次细胞存活率实验,并通过单因素方差分析(One-Way Anova)、Bonferroni事后检验(Bonferroni post-hoc test)来验证了实验结果(* $p < 0.01$;DMSO对照组vs化合物18c或化合物11k)。

[0649] 结果表明,在三种乳腺癌细胞株中,细胞存活率均以浓度依赖性方式显著降低。具体地,化合物18c的 IC_{50} 值分别为4.976 μ M(BT474)、4.602 μ M(JIMT-1)、6.838 μ M(MDA-MB-231)(图5的A),化合物11k的 IC_{50} 值分别为8.477 μ M(BT474)、4.056 μ M(JIMT-1)、2.686 μ M(MDA-MB-231),示出非常低的值(图6的A)。

[0650] 此外,用化合物11m(化学式1-9)、化合物11n(化学式1-10)和化合物12k(化学式1-13)分别以0(DMSO)、0.1、1、5、10和20 μ M的浓度处理所述JIMT-1和MDA-MB-231细胞株72小时,然后测量细胞存活率。

[0651] 结果显示,上述三种化合物均以浓度依赖性方式降低细胞存活率。具体地,化合物11m的 IC_{50} 值分别为2.104(JIMT-1)和1.50(MDA-MB-231),化合物11n的 IC_{50} 值分别为3.276 μ M(JIMT-1)和3.65 μ M(MDA-MB-231),化合物12k的 IC_{50} 值分别为5.559 μ M(JIMT-1)和2.05 μ M(MDA-MB-231),均示出非常低的值(图7)。

[0652] 同时,用化合物38(化学式1-30)以0(DMSO)、0.1、0.5、1、2、5、10、20 μ M的浓度处理三阴性乳腺癌细胞株MDA-MB-231和BT549、小鼠乳腺癌细胞株4T1 72小时,然后测量细胞存活率。

[0653] 结果显示,与化合物18c(化学式1-16)和化合物11k(化学式1-7)类似,细胞存活率以浓度依赖性方式降低, IC_{50} 值也很低,分别为3.67 μ M(MDA-MB-231)、4.84 μ M(BT549)和1.21 μ M(4T1)(图8的A至图8的C)。

[0654] 实验例2.2、细胞周期停滞及细胞凋亡的确认

[0655] 通过流式细胞仪(Flow cytometry)分析DNA含量,由此测量了本发明的吡唑衍生物对癌细胞的死亡的程度。将化合物18c(化学式1-16)和化合物11k(化学式1-7)以0(DMSO)、5和10 μ M的浓度处理72小时,然后收获上述细胞,之后用含有0.5%吐温-20(Tween)的95%乙醇固定24小时,用碘化丙啶(PI, 50 μ g/mL)和核糖核酸酶(50 μ g/mL)染色30分钟。之后,使用流式细胞仪分析癌细胞的死亡程度。

[0656] 通常,细胞周期(cell cycle)根据细胞内DNA含量分为G1(细胞生长期)-S(细胞复制期)-G2/M(细胞分裂期),当诱导细胞凋亡时,DNA发生断裂(DNA fragmentation),各细胞内DNA含量明显少于G1期。此类细胞凋亡的结果在细胞周期中表现为亚G1(Sub-G1)区,本发明的吡唑衍生物的亚G1比例以数值表示,如图5的B和图6的B所示。

[0657] 结果表明,所述化合物18c(化学式1-16)和化合物11k(化学式1-7)在BT474和JIMT-1乳腺癌细胞株中显著诱导细胞凋亡(亚G1群体),并阻滞细胞周期的G2/M期。

[0658] 同时,用化合物38(化学式1-30)处理三阴性乳腺癌细胞株MDA-MB-231和BT549细胞株,然后通过模联蛋白-V(Annexin V)/PI染色确认细胞死亡的类型。结果表明,诱导了癌细胞的早期和晚期凋亡(图8的E)。

[0659] 实验例2.3、与细胞凋亡有关的蛋白质的表达的确认

[0660] 为了研究化合物18c(化学式1-16)和化合物11k(化学式1-7)的细胞凋亡机制,通过蛋白质印迹法确认了与细胞凋亡相关的因子半胱氨酸蛋白酶家族成员(caspase family

member)的激活。

[0661] 为了进行蛋白质印迹法,将对照组(DMSO)、化合物18c和化合物11k分别以10 μ M的浓度处理72小时,然后将BT-474和JIMT-1细胞株在含有磷酸酶和蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液(lysis buffer;30mM NaCl、0.5%Triton X-100、50mM Tris-HCl;pH7.4)中裂解,并收获上清液中存在的蛋白质。此时,用Bradford蛋白测定试剂盒来测定蛋白浓度,并从每个实验组中平均提取30 μ g蛋白质,经SDS-聚丙烯酰胺凝胶(8-15%)电泳后电转移到硝酸纤维素膜上。所述膜与用5%牛血清白蛋白(BSA)稀释的一抗[PRO PARP(1:1000)、裂解的PARP(cleaved PARP)(1:2000)、裂解的半胱天冬酶-3(cleaved caspase-3)(1:1000)、裂解的半胱天冬酶-7(cleaved caspase-7)(1:1000)、 β -肌动蛋白(β -actin)(1:5000)]在4 $^{\circ}$ C反应24小时,再与二抗辣根过氧化物酶(HRP)偶联的兔IgG(1:3000)在室温下反应2小时。使用增强化学发光试剂盒和X射线胶片显色确认上述蛋白质的信号强度。

[0662] 如图5的C和图6的C所示,通过蛋白质印迹法确认了BT474和JIMT-1细胞株中的裂解的半胱天冬酶-3和裂解的半胱天冬酶-7的量,结果证实化合物18c和化合物11k处理组与对照组相比,蛋白质量显著增加。对于DNA修复因子PARP(Poly(ADP-ribose)polymerase)而言,其为半胱天冬酶-3的底物,裂解的PARP(89kDa)的增加表明,在由化合物18c和化合物11k处理诱导的半胱天冬酶-3的激活作用下,其被裂解。这表明,本发明的吡唑衍生物诱导的细胞凋亡与半胱天冬酶激活有关。

[0663] 实验例2.4、细胞形态变化的确认

[0664] MDA-MB-231和BT549细胞株分别以0(DMSO)、5和10 μ M的浓度用化合物38(化学式1-30)处理72小时,然后,通过相差显微镜观察细胞形态的变化来评估药物诱导的细胞毒性。使用相差显微镜以200倍放大率拍摄了照片,如图8的D所示。

[0665] 在用化合物38(化学式1-30)处理时,MDA-MB-231和BT549细胞株均表现出形态变化,其中细胞质收缩,并且由于细胞毒性,大多数细胞呈漂浮状态(图8的D)。

[0666] 实验例2.5、Hsp90客户蛋白(clients)的表达的研究

[0667] 采用蛋白质印迹法(western blotting)研究Hsp90抑制剂化合物18c(化学式1-16)和化合物11k(化学式1-7)是否能够下调BT474和JIMT-1细胞株中Hsp90代表性客户蛋白HER2和HER3的表达和活性(磷酸化)。此外,还研究了作为Hsp90客户蛋白的细胞存活关键因子Akt、MEK、ERK、Bcl-2、细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)和生存素(Survivin)的表达。进行蛋白质印迹法的方法与上述实验例2.3相同。

[0668] 用于所述蛋白质印迹法的一抗为[HER2(1:5000)、磷酸化-HER2(Tyr1221/1222,1:1000)、HER3(1:2000)、磷酸化-HER3(Tyr1289,1:2000)、Akt(1:2000)、MEK(1:2000)、ERK(1:2000)、磷酸化-ERK(Thr202/Tyr204,1:2000)、Bcl-2(1:2000)、细胞周期蛋白D1(1:3000)、生存素(1:1000)],并在5%牛血清白蛋白(BSA)中稀释后使用。

[0669] 当将化合物18c和化合物11k以10 μ M的浓度处理72小时时,确认了BT474和JIMT-1细胞株中HER2和HER3的表达降低,并且活化的磷酸化-HER2和磷酸化-HER3的表达也显著降低。此外,还确认两种化合物均抑制细胞增殖因子Akt、MEK、ERK、Bcl-2、细胞周期蛋白D1和生存素的表达(图9)。

[0670] 实验例3、体内(in vivo)抗癌效果的评估

[0671] 实验例3.1、肿瘤生长确认

[0672] 使用移植有JIMT-1乳腺癌细胞株的动物模型(异种移植小鼠模型),在体内环境下进行了以下实验。

[0673] 具体地,购买6周龄小鼠(Balb/c裸鼠),在可自由供给食物和水的环境中饲养,适应7天以上后移植肿瘤细胞。将JIMT-1乳腺癌细胞以每只 3×10^6 个细胞/mL的密度皮下注射到乳腺组织中,当肿瘤大小达到50至100mm³时,将本发明中的吡唑衍生物腹腔内注射,并测量肿瘤的生长情况。实验组分别接收30mg/kg的化合物18c(化学式1-16)或20mg/kg的化合物11k(化学式1-7)的治疗,从给药开始到结束,每隔3至4天测量肿瘤体积、肿瘤重量、体重等。

[0674] 结果表明,与对照组相比,所述化合物18c和化合物11k处理组的肿瘤体积(图10的A和图11的A)和重量(图10的B和图11的B)在统计学上均显著减低。尤其,通过目测发现,对照组的肿瘤大小持续增加,但在本发明的吡唑衍生物处理组中,肿瘤大小减小了一半以上。此时可以看出体重得以维持,表明仅特异性地抑制了肿瘤生长,而没有因给药而产生严重的毒性作用(图10的C和图11的C)。

[0675] 实验例3.2、毒性确认

[0676] 为了确认本发明的吡唑衍生物治疗是否会影响正常器官,进行了毒性分析。

[0677] 首先,处死小鼠模型后,将肝脏、肾脏和肺组织在4%的多聚甲醛中固定24小时,在PBS缓冲液中清洗,然后包埋在石蜡中。将组织样本切片并用H&E(苏木精和伊红)染色。

[0678] 此外,从小鼠模型中采集血液,以确认可预测肝毒性的AST(天冬氨酸氨基转移酶)和ALT(丙氨酸氨基转移酶)蛋白的水平,并进行了与肾毒性相关的BUN(血尿素氮)测定。

[0679] 结果表面,肝脏、肾脏及肺组织的功能异常程度与对照组相似(图10的D、图10的E、图11的D及图11的E)。这表明本发明的吡唑衍生物仅影响肿瘤,而不影响正常细胞。

[0680] 实验例4、对其他癌细胞株的抗癌活性的确认

[0681] 除乳腺癌细胞株外,用化合物11k(化学式1-7)分别以0(DMSO)、0.1、0.5、1、2、5、10及20 μ M的浓度处理白血病细胞株HL-60、肝癌细胞株HepG2、结直肠癌细胞株HCT116、前列腺癌细胞株Du145、卵巢癌细胞株SKOV3、非小细胞肺癌细胞株NCI-H1299及A549细胞株72小时,然后使用实验例1中所述的MTS测定技术测量细胞存活率。此时,通过非配对学生t检验(unpaired Students t-tests)来验证对照组和实验组之间的差异(* $p < 0.01$; DMSO对照vs 化合物11k)。

[0682] 结果表明,本发明的吡唑衍生物不仅对乳腺癌而且对其他癌细胞株也具有优异的细胞存活率抑制效果(图12)。

[0683] 实验例5、与紫杉醇联合用药

[0684] 实验例5.1、体外(in vitro)协同效应的确认

[0685] 实验中使用了对曲妥珠单抗(trastuzumab)敏感的HER2阳性乳腺癌细胞株BT474(细胞接种数: $2.4 \text{ (BT474)} \times 10^4$ 细胞/孔(汇合度 $\geq 50\%$))和对曲妥珠单抗耐药的JIMT-1(细胞接种数: $1.0 \text{ (JIMT-1)} \times 10^4$ 细胞/孔(汇合度 $\geq 30\%$))。

[0686] 将化合物11k(化学式1-7)及代表性抗癌药紫杉醇共同给药至上述BT474及JIMT-1细胞株。此时,化合物11k以0(DMSO)、2.5 μ M的浓度处理,紫杉醇以0(DMSO)、0.01、0.05、0.1 μ M的浓度处理72小时,然后测定细胞存活率。另外,使用根据化合物11k与紫杉醇联合处理的浓度的联合指数(CI),计算联合处理时的协同效应(synergistic effect)。

[0687] 结果表明,当化合物11k与紫杉醇联合处理时,细胞存活率进一步降低,尤其在JIMT-1细胞株中确认了非常强的协同效应(图13)。

[0688] 实验例5.2、体内(in vivo)协同效应的确认

[0689] 如实验例3所述,准备移植有JIMT-1乳腺癌细胞株的异种移植小鼠模型(xenograft mouse model),并测量化合物11k与紫杉醇单独处理时和化合物11k与紫杉醇联合处理时的肿瘤体积、肿瘤重量、体重等。

[0690] 结果显示,与对照组、化合物11k或紫杉醇单独处理群相比,化合物11k和紫杉醇联合处理群的肿瘤体积(图14的A)和肿瘤重量(图14的B)在统计学上显著降低。此外,还确认肿瘤大小也显著减小(图14的C)。具体地,在给药后40天测量各组的肿瘤体积,结果如下:对照组为 1246.91mm^3 ;化合物11k和紫杉醇单独处理群分别为 786.392mm^3 和 813.356mm^3 ;化合物11k和紫杉醇联合处理群为 451.915mm^3 ,其表现出良好的协同效应。同样地,肿瘤切除后测得的肿瘤重量为:对照组为 761.667mg ;化合物11k单独处理群为 500mg ;紫杉醇单独处理群为 488.333mg ;化合物11k和紫杉醇联合处理群为 298.333mg 。此时,化合物11k单独处理群、紫杉醇单独处理群、化合物11k与紫杉醇联合处理群的体重均保持不变(图14的D)。

[0691] 另外,从小鼠模型中采血,测量AST、ALT水平,并进行BUN测定。结果表明,化合物11k单独处理群、紫杉醇单独处理群、化合物11k与紫杉醇联合处理群均表现出与对照组相似的水平(图14的E)。

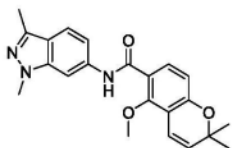
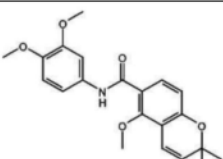
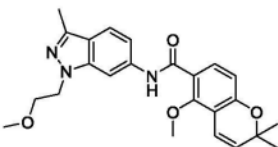
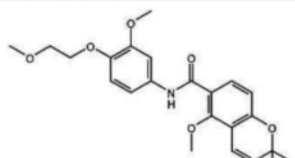
[0692] 这意味着,当本发明的吡唑衍生物与代表性抗癌药物紫杉醇联合给药时,这仅可以特异性抑制肿瘤生长,且仅影响肿瘤而不影响正常细胞。

[0693] 实验例6、与在先发明(KR 10-2304532)的比较

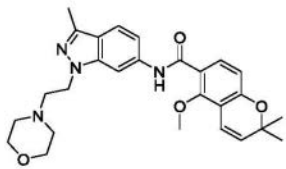
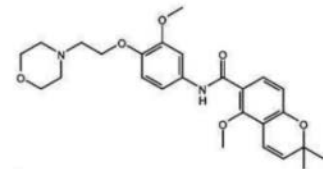
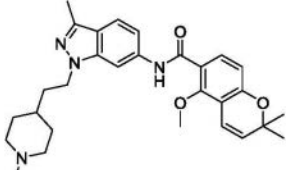
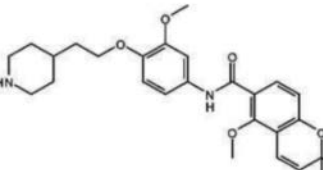
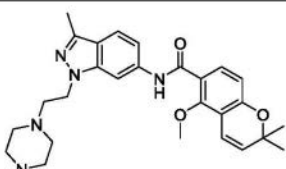
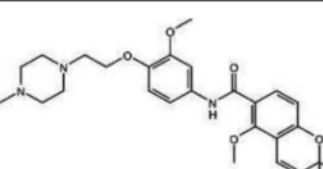
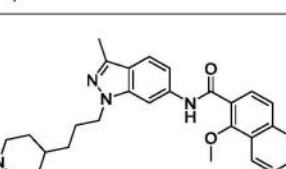
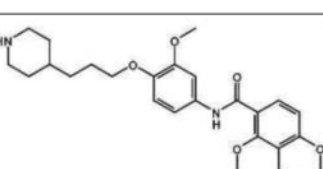
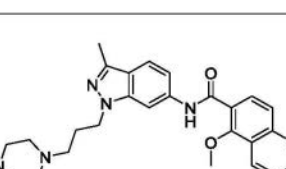
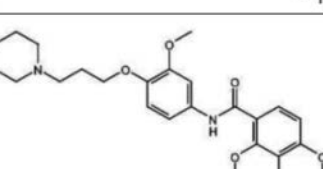
[0694] 在BT474、JIMT-1和MDA-MB-231细胞株中比较在先发明(KR 10-2304532)的苯并吡喃衍生物和本发明的吡唑衍生物的细胞存活率(表1)。此时,将所述苯并吡喃衍生物和吡唑衍生物分别以 $10\mu\text{M}$ 的浓度处理72小时,然后测量细胞存活率。

[0695] [表1]

[0696]

本发明	化合物	在先发明	化合物
化合物 6b (化学式 1-2)		NCT-88 (化学式 2)	
化合物 6c (化学式 1-3)		NCT-368 (化学式 3)	

[0697]

化合物 6d (化学式 1-4)		NCT-21 (化学式 14)	
化合物 11k (化学式 1-7)		NCT-44 (化学式 18)	
化合物 11l (化学式 1-8)		NCT-25 (化学式 16)	
化合物 11m (化学式 1-9)		NCT-394 (化学式 23)	
化合物 11n (化学式 1-10)		NCT-364 (化学式 21)	

[0698] 其结果可知,即使具有相似的取代基,本发明的吡唑衍生物表现出更优异的细胞存活抑制效果(图15至图17)。

[0699] 综上,通过有限的附图对实施例进行了说明,本领域普通技术人员能够基于所述记载进行多种更改与应变。例如,所说明的技术按照与说明的方法不同的顺序执行,和/或所说明的系统、结构、装置、电路等构成要素按照与说明的方法不同的形态进行结合或组合,或者由其他构成要素或者等同物置换或代替,也能得到适当的结果。

[0700] 由此,其他体现,其他实施例以及权利要求范围的等同物,均属于本发明的权利要求范围。

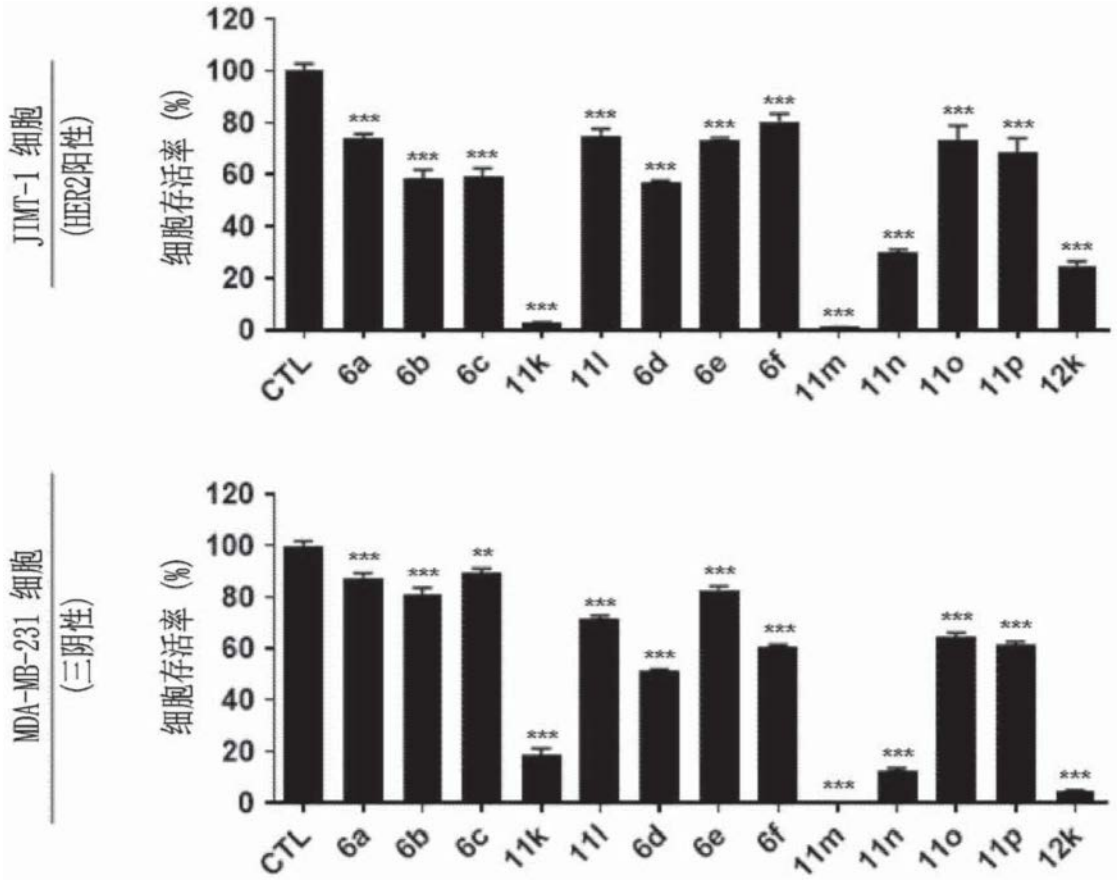


图1

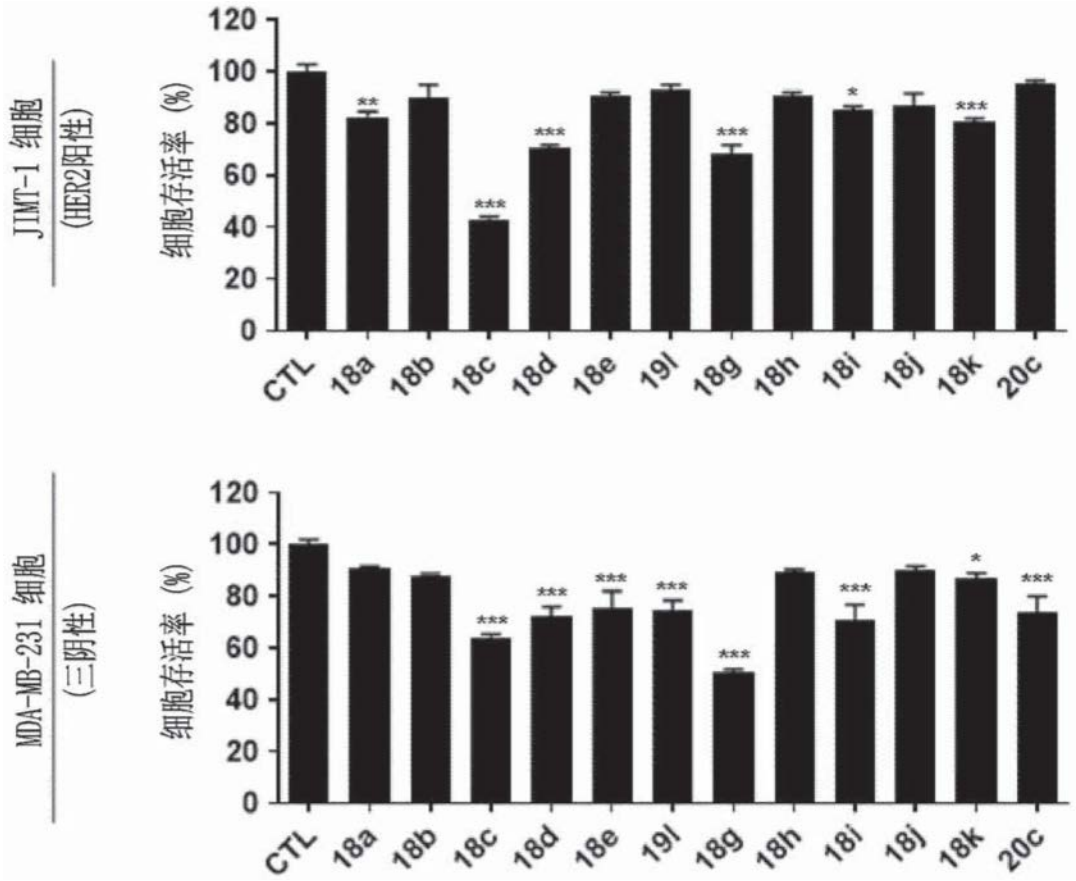


图2

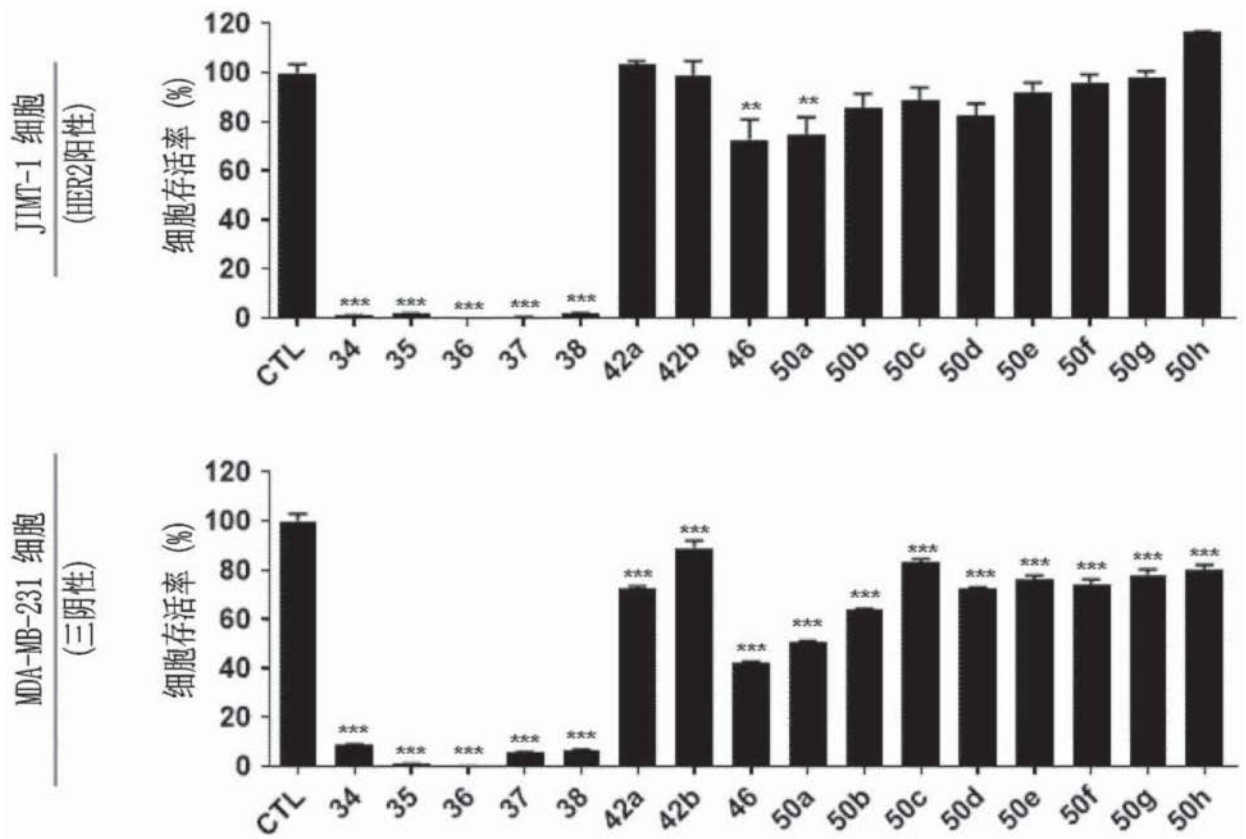


图3

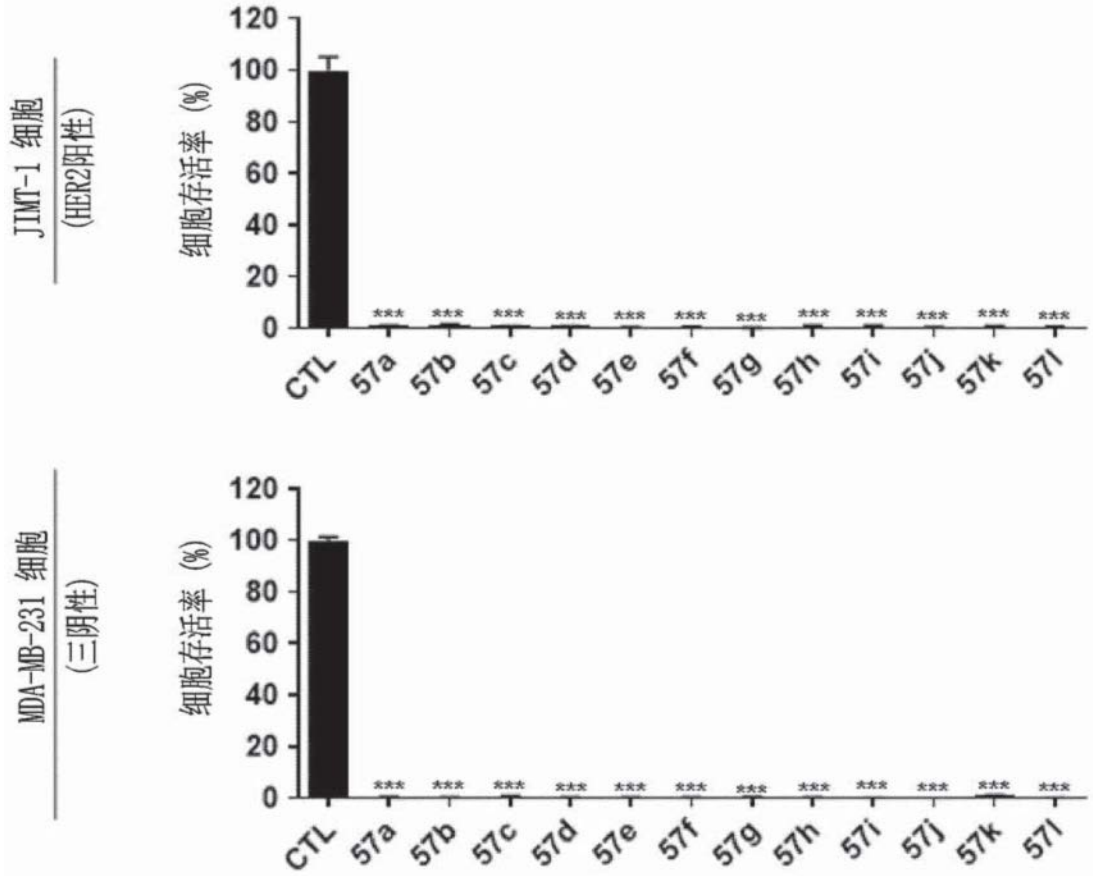


图4

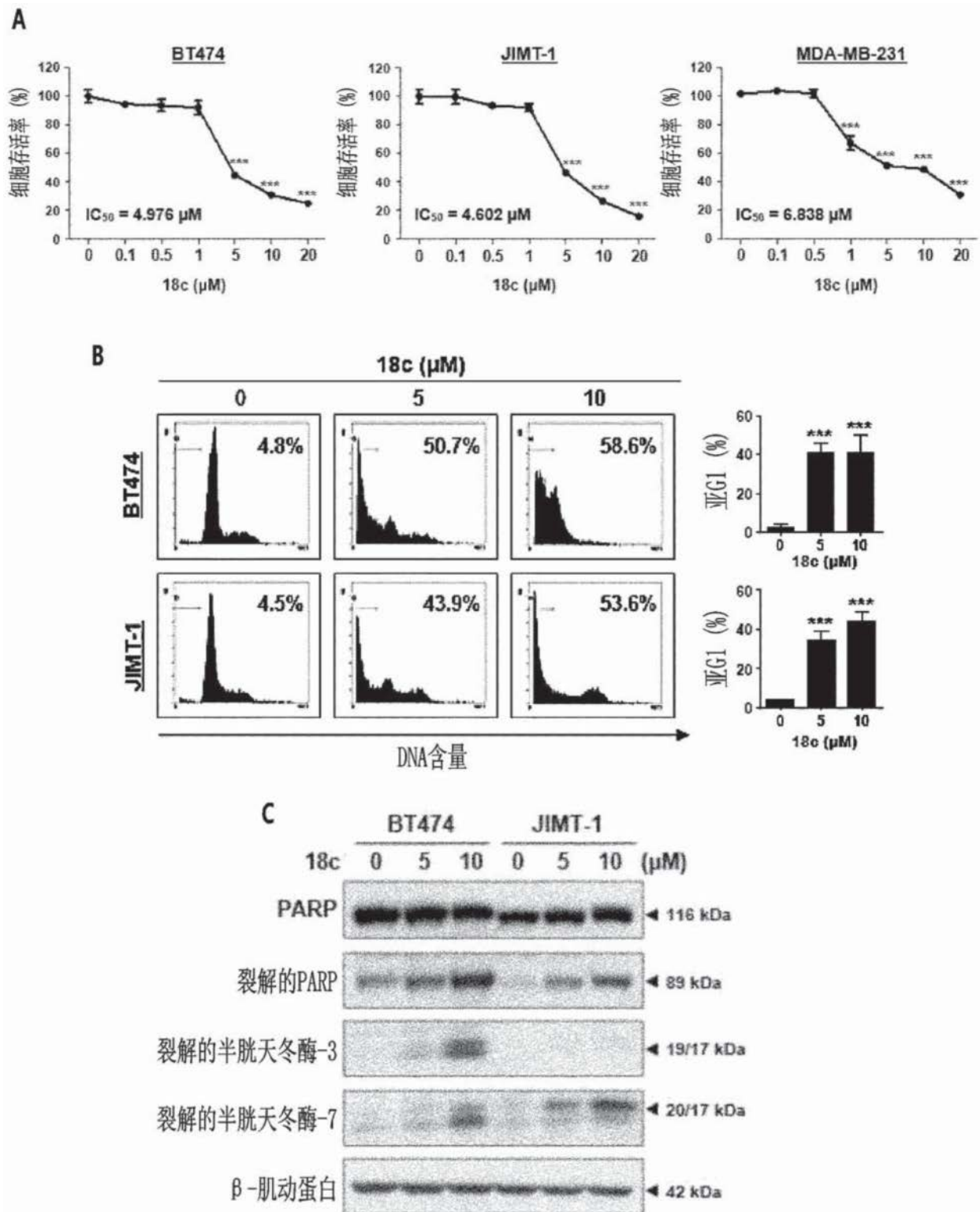


图5

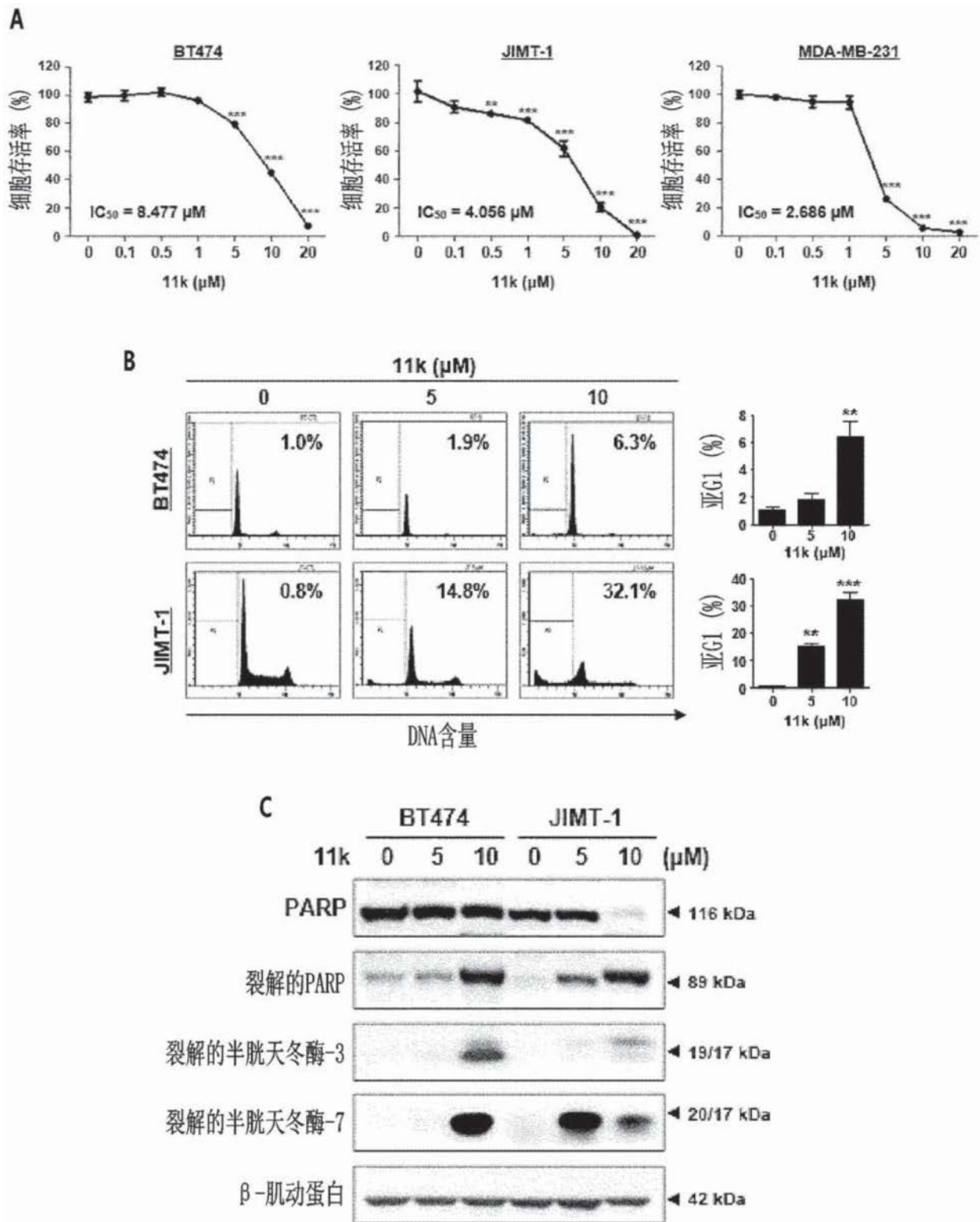


图6

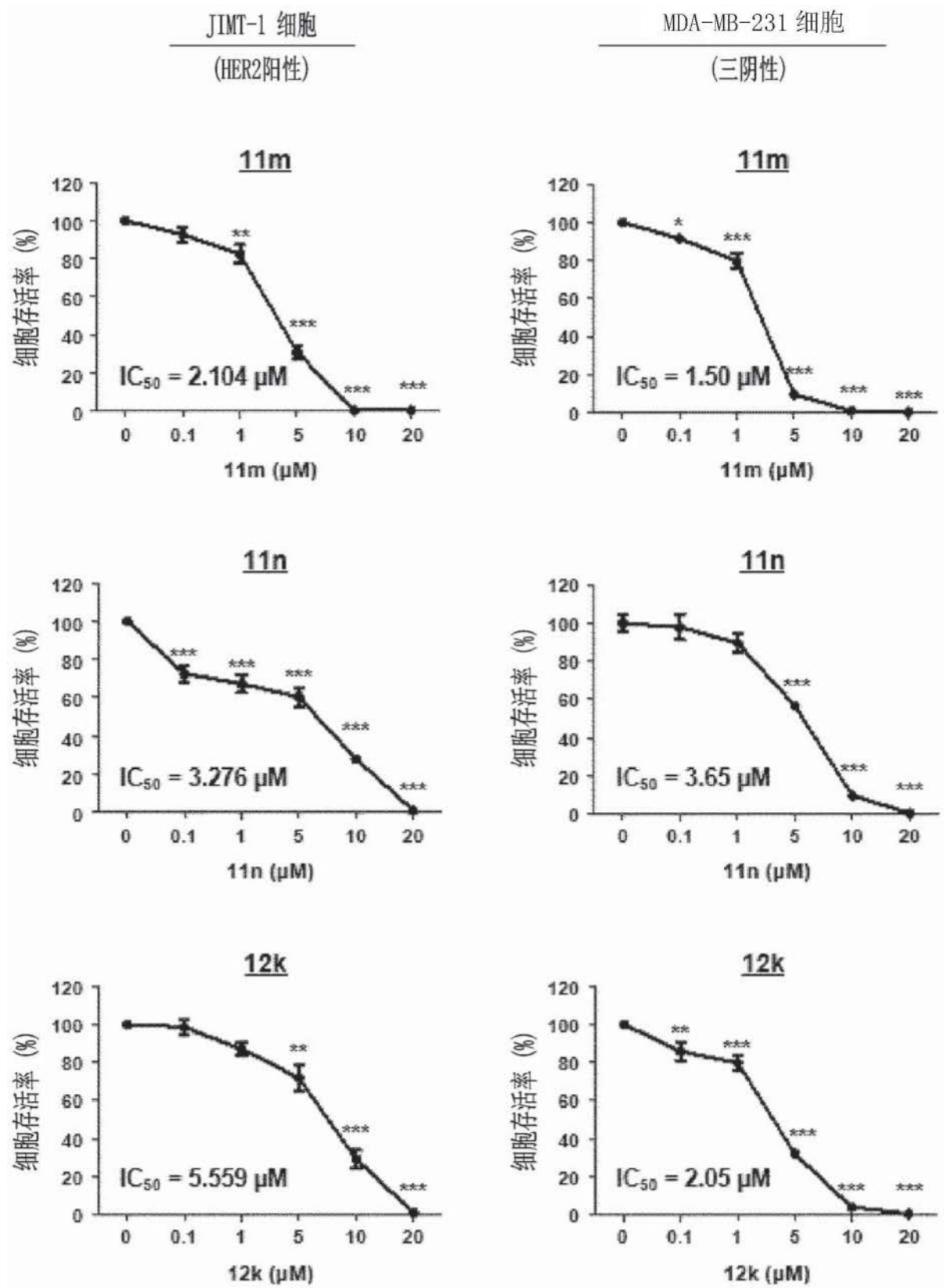


图7

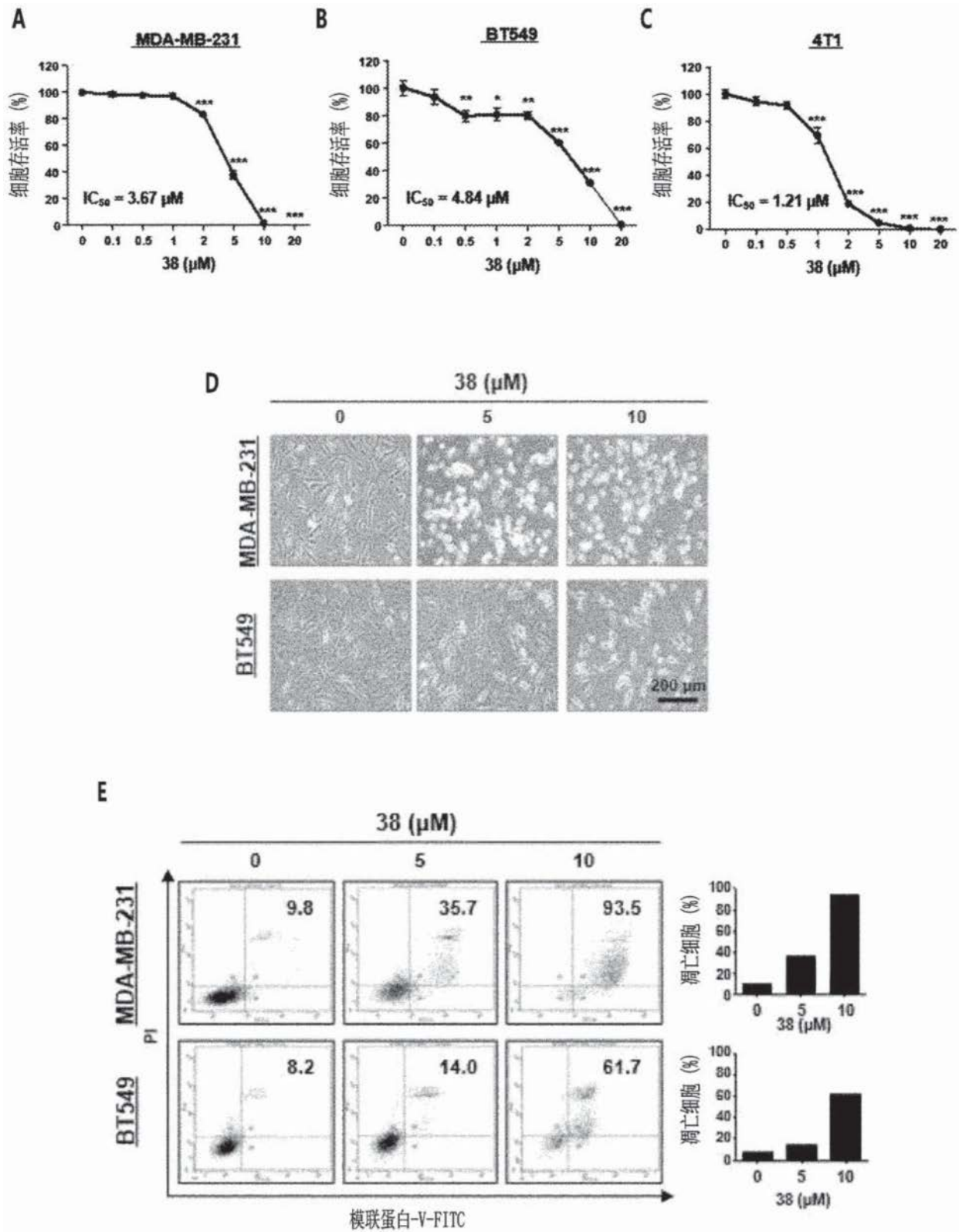


图8

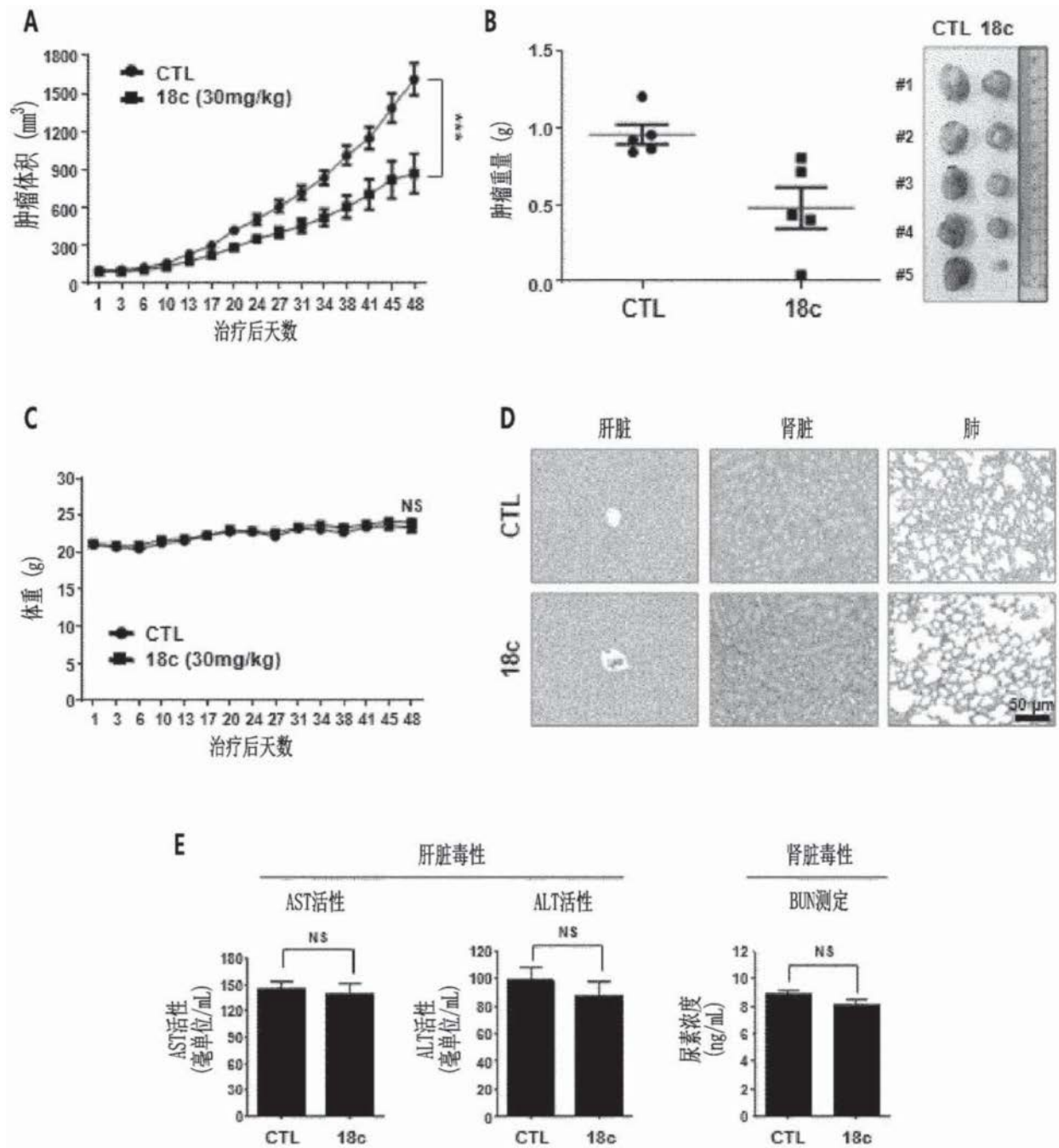


图10

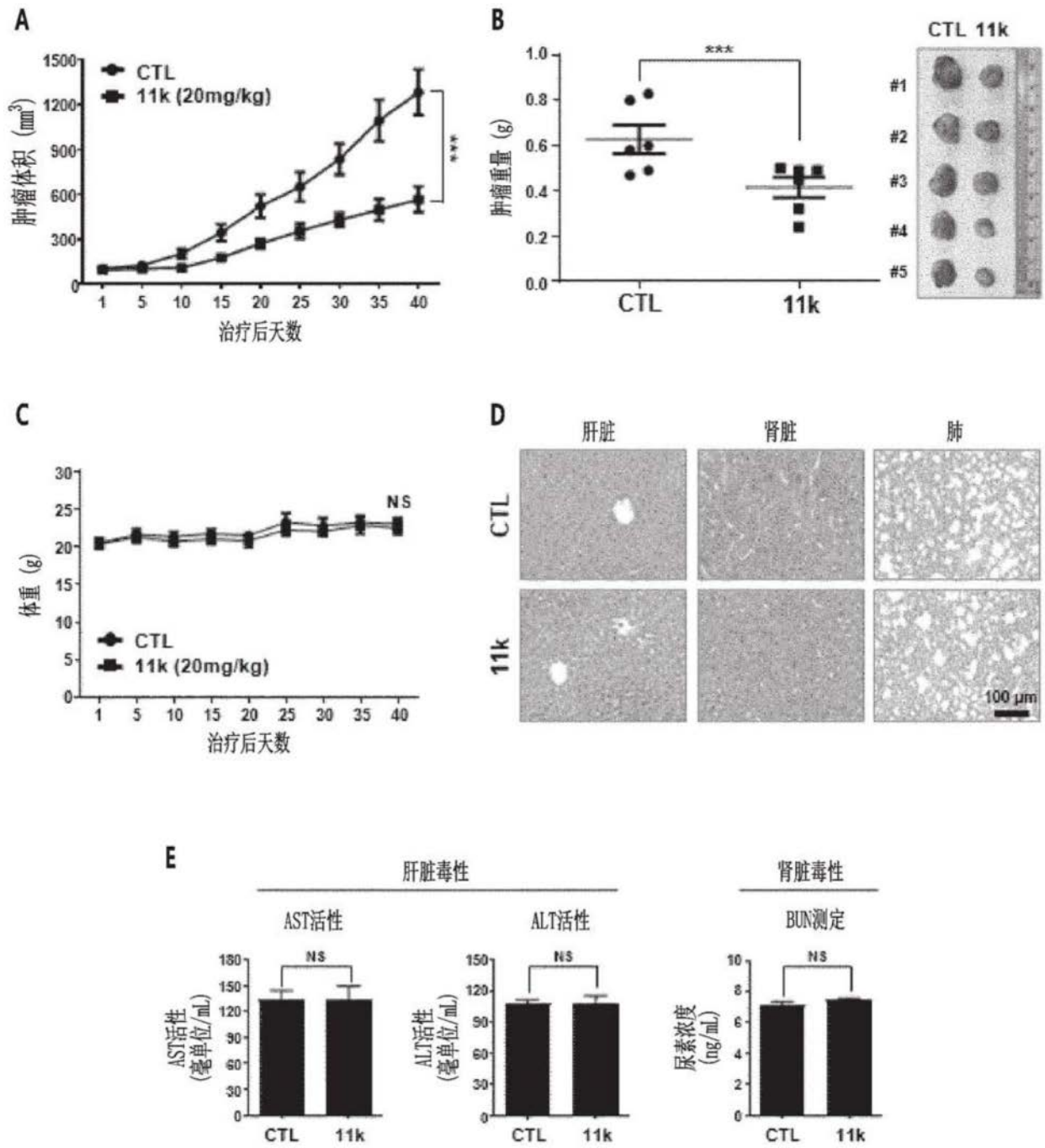


图11

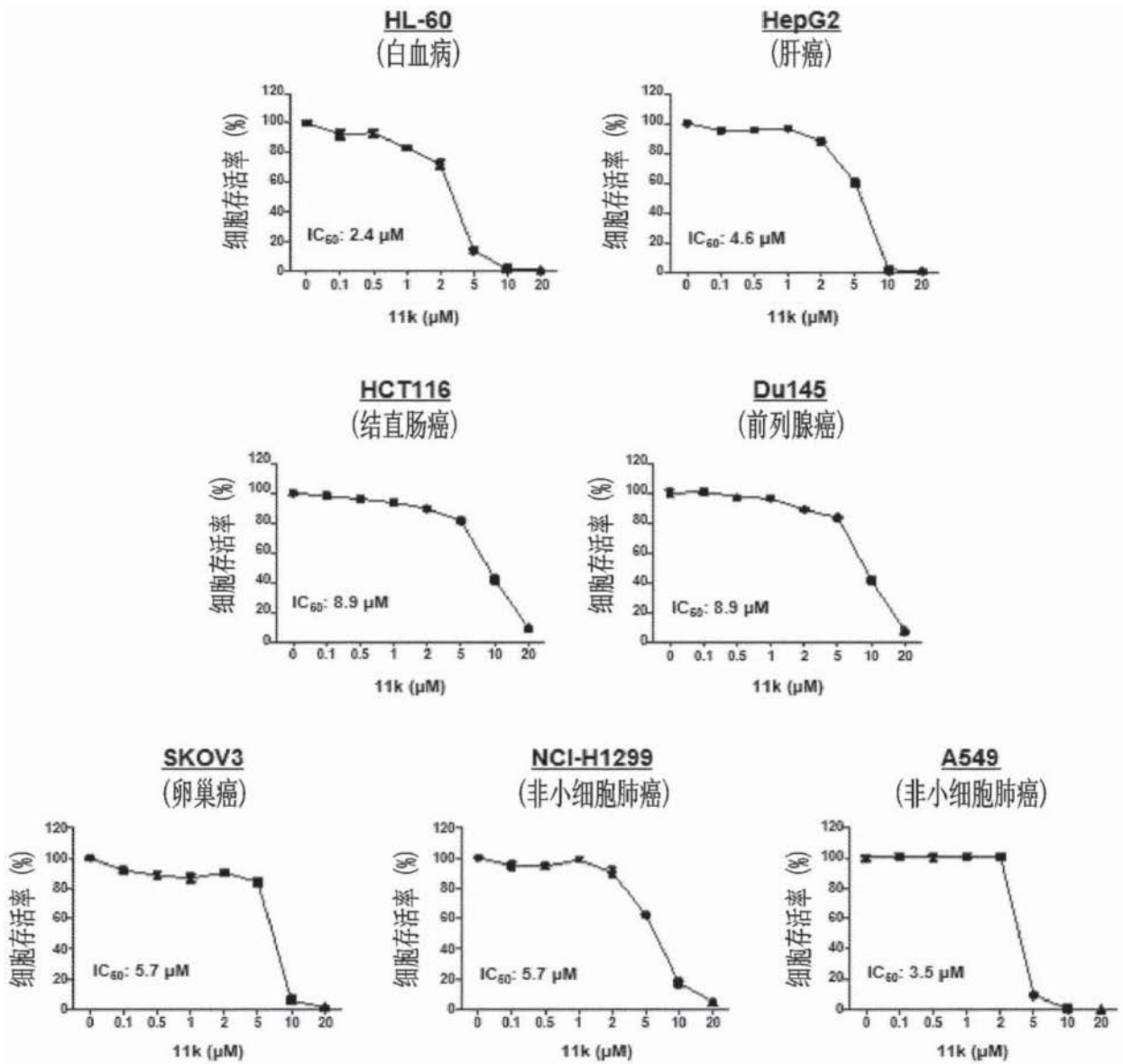


图12

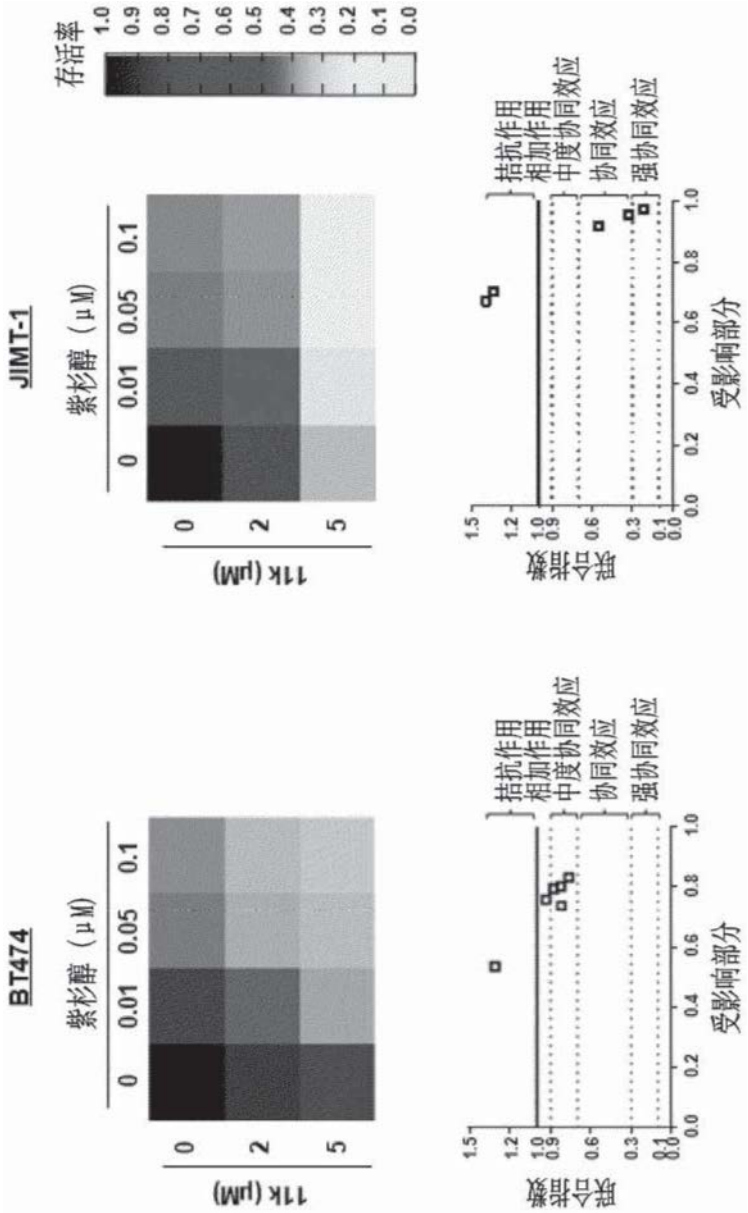


图13

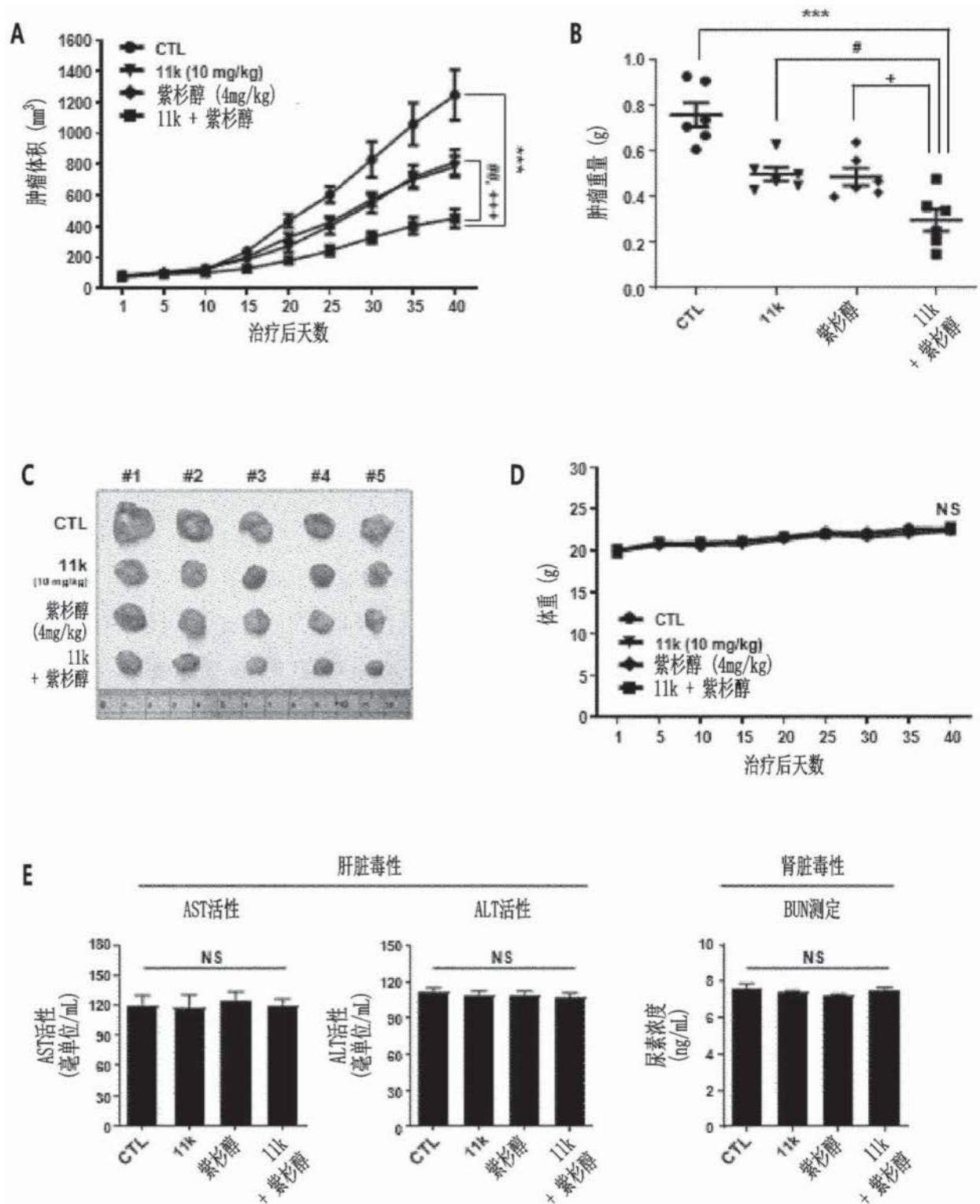


图14

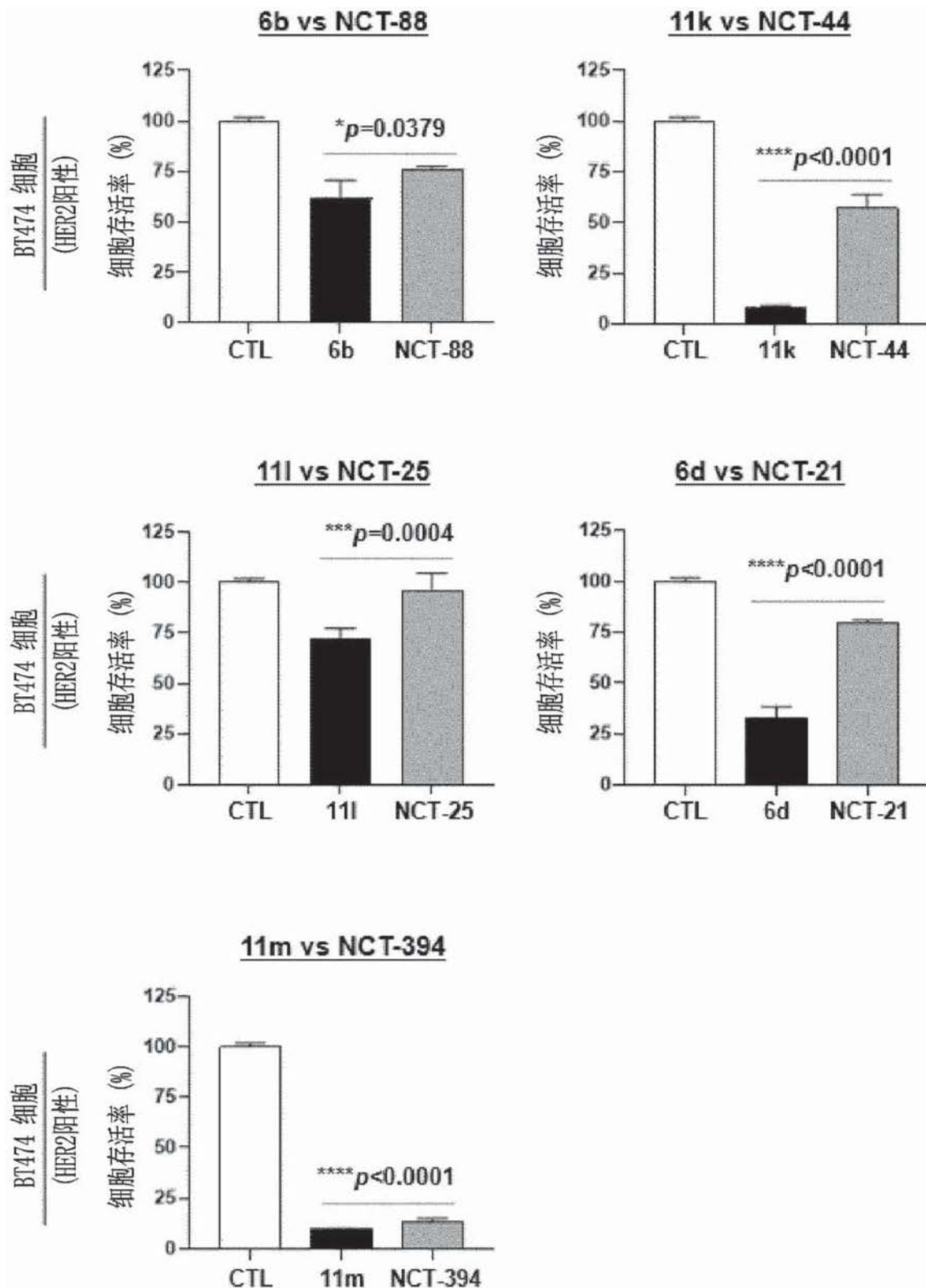


图15

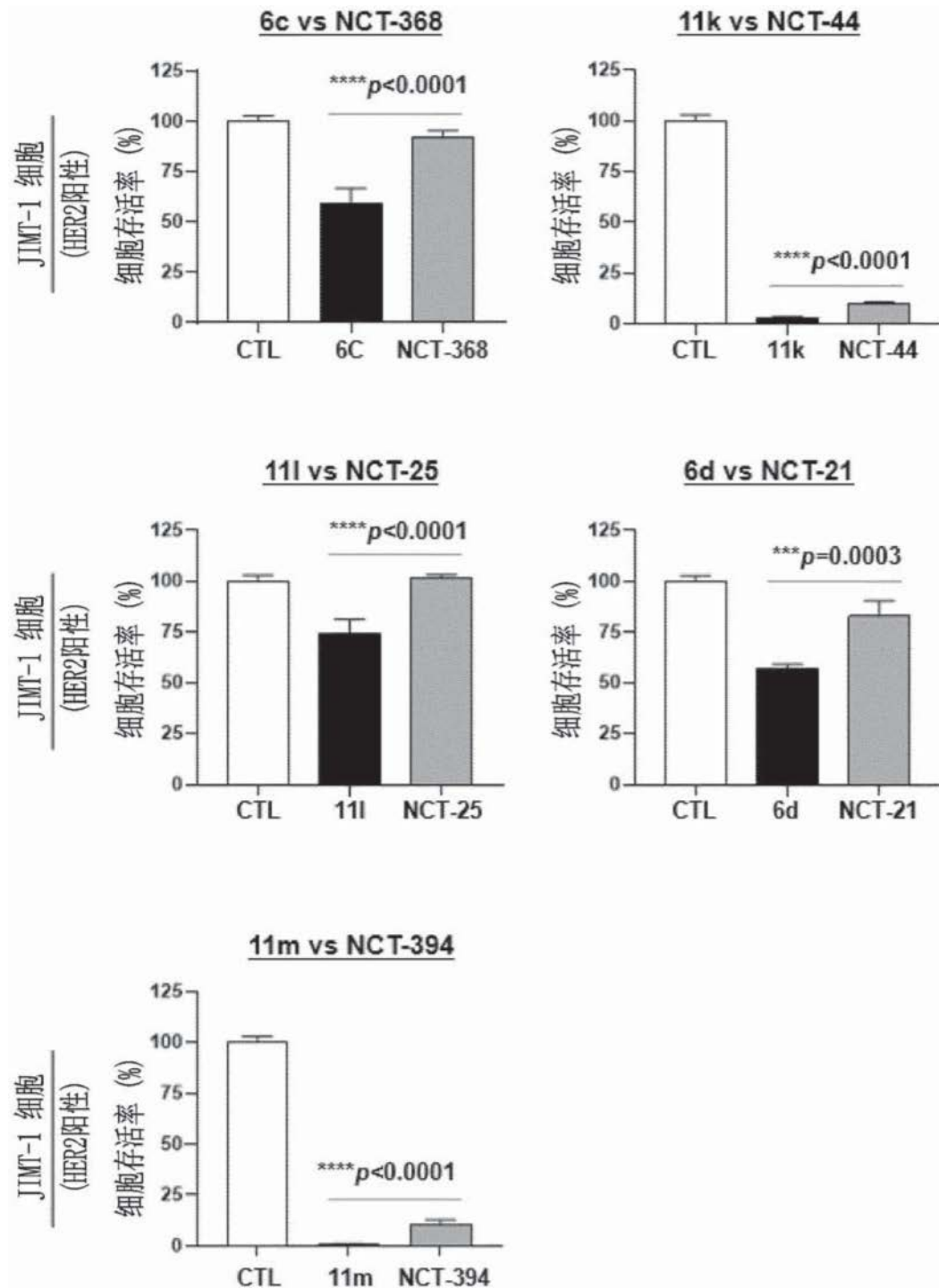


图16

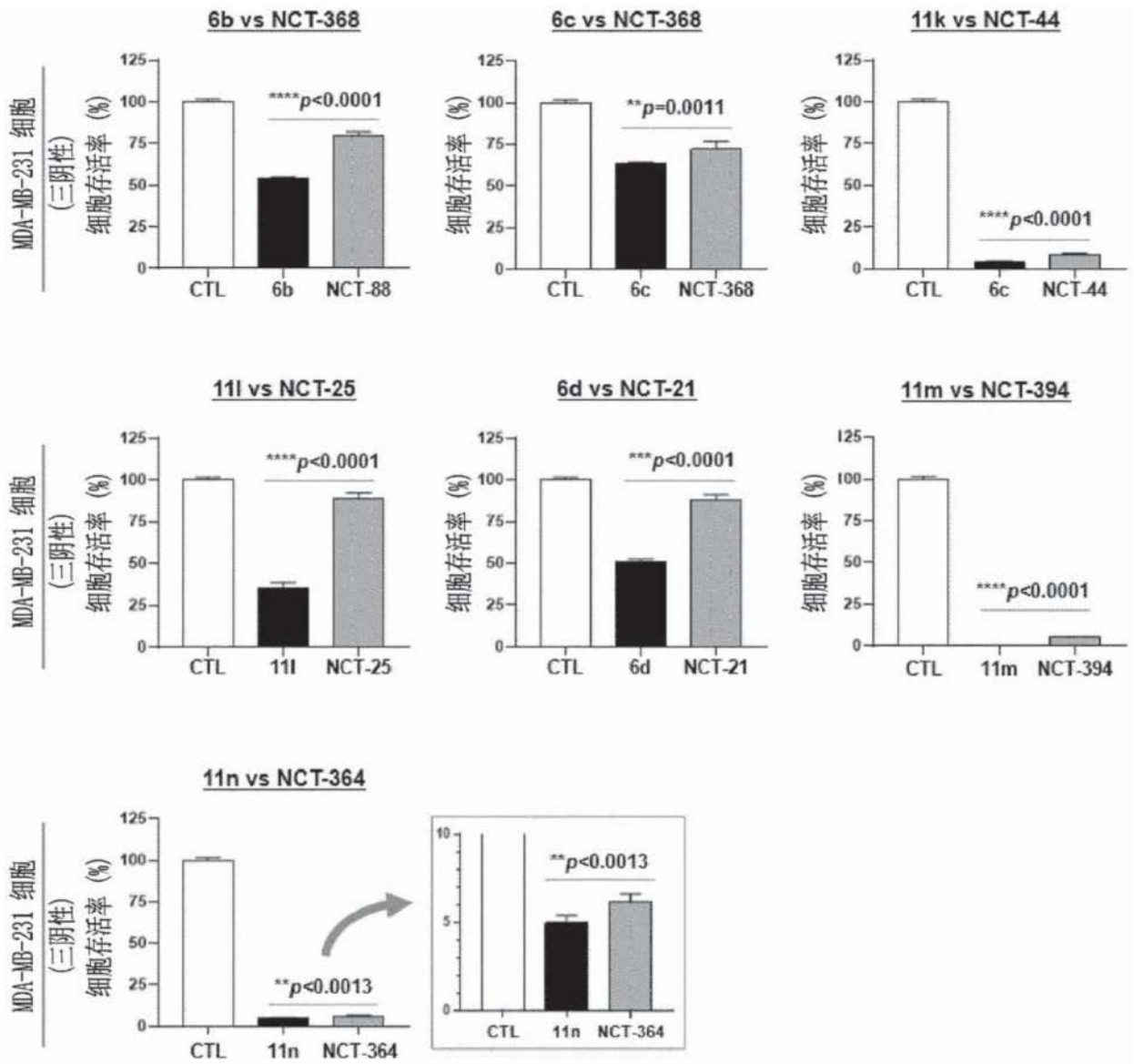


图17